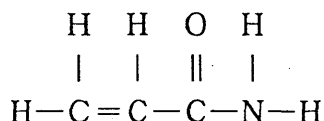


## アクリルアミド

Acrylamide

構造式



別名：プロペンアミド，アクリル酸アミド

分子式：C<sub>3</sub> H<sub>5</sub> ON

分子量：71.09

融点：84.5 °C

沸点：125 °C (25mmHg)

蒸気圧：2 mmHg (87°C)

比重：1.122(30°C)

log P<sub>ow</sub>：-0.54

水溶解度：2.15g/ml (30°C)

有機溶媒への溶解度 (30°C)：

メタノール；1.55 g/ml, エタノール；0.86 g/ml, アセトン；0.63 g/ml,  
 エチルアセトン；0.13 g/ml, クロロホルム；0.03 g/ml,

無極性溶媒にはほとんど不溶

用途：凝集剤，土壤改良剤，繊維の改質，樹脂加工，紙力増強剤，接着剤，  
 塗料，土壤安定剤

## § 1 分 析 法

水質試料については、プレカラムとしてC<sub>18</sub>カートリッジカラムを取り付けた活性炭カートリッジカラムに水質試料を通し、アクリルアミドを固相抽出する。活性炭カートリッジカラムを取り出して水洗と脱水をした後、メタノールでアクリルアミドを溶出させる。溶出液を濃縮後、キサントヒドロールを加えて誘導体化を行う。生成した誘導体をジクロロメタンで抽出し、抽出液を脱水・濃縮した後、GC/MS-SIMで定量する。底質試料については、水抽出によってアクリルアミドを分離する。得られた水抽出液を水質試料の場合と全く同様に前処理し、アクリルアミドの固相抽出及び誘導体化を行い、GC/MS-SIMで定量する。

## 試験法

## 【試料の採取及び保存】

環境庁「化学物質環境調査試料採取要領」に従う。

### 【試料の前処理】

〔水質試料〕 あらかじめ精製水で十分に洗浄したガラス繊維ろ紙を用い、試料 500mlをろ過する。得られた試料ろ液を、プレカラムとして Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジカラム（注1）を取り付けた Sep-Pak AC-2 活性炭カートリッジカラム（注2）に流速 5 ml/min（注3）で通過させ、試料ろ液中のアクリルアミドを活性炭カートリッジカラムで固相抽出する。試料ろ液を通過させた後、活性炭カートリッジカラムを取り出し、精製水10mlを流速 5 ml/min 程度で通過させて洗浄する。これを通気して脱水した後、メタノール 5 ml を流速 5 ml/min 程度で通過させ、アクリルアミドを活性炭カートリッジカラムから溶出させる。溶出液を容量10mlの共栓付き試験管にとり、温度40℃の水浴で加温しながら窒素ガスを吹きつけて、溶出液を 1mlに濃縮する。濃縮したメタノール溶出液に10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100  $\mu$ l と 3M塩酸 1滴を加えて密栓し、よく振り混ぜる（注4）。この共栓付き試験管を40℃の恒温水槽に入れ、時々振り混ぜながら2時間放置し、アクリルアミドの誘導体化を行う。誘導体化終了後、精製水10mlを反応溶液に加えて振り混ぜて白濁させ、あらかじめ精製水70mlを入れた分液ロート（容量 200ml）に流し込む。再度、精製水10mlで反応容器を洗浄し、洗液も分液ロートに流し込む。次いで、反応容器を10mlのジクロロメタンで二度洗浄し、洗液を分液ロートに流し込む。最後にもう一度、精製水10mlで反応容器を洗浄し、この洗液も分液ロートに入れる。分液ロートを5分間激しく振とうして、生成した誘導体をジクロロメタンで抽出する。静置後、ジクロロメタン層を分取し、再度ジクロロメタン20mlを加えて抽出を行う。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、試料前処理液とする。

〔底質試料〕 試料 20gを 200ml遠沈管にとり、精製水 150mlを加える。スパチュラで試料と精製水を混合して十分に分散させた後、15分間超音波抽出を行う。これを 2500rpmで10分間遠心分離し、上澄み液を水抽出液として分取する。この水抽出液を、あらかじめ精製水で十分に洗浄したガラス繊維ろ紙を用いてろ過する。得られた水抽出液のろ液を、プレカラムとして Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジカラム（注1）を取り付けた Sep-Pak AC-2 活性炭カートリッジカラム（注2）に、流速 5 ml/min（注3）で通過させ、ろ液中のアクリルアミドを活性炭カートリッジカラムで固相抽出する。水抽出液のろ液を通過させた後、活性炭カートリッジカラムを取り出し、精製水10mlを流速 5 ml/min 程度で通過させて洗浄する。これを通気して脱水した後、メタノール5 mlを流速5 ml/min 程度で通過させ、アクリルアミドを活性炭カートリッジカラムから溶出させる。溶出液を容量10mlの共栓付き試験管にとり、温度40℃の水浴で加温しながら窒素ガスを吹きつけて、溶出液を 1 mlに濃縮する。濃縮したメタノール溶出液に、10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100  $\mu$ l と 3M塩酸 1滴を加えて密栓し、よく振り混ぜる（注4）。この共栓付き試験管を40℃の恒温水槽に入れ、時々振り混ぜながら2時間放置し、アクリルアミドの誘導体化を行う。誘導体化終了後、精製水10mlを反応溶液に加えて振り混ぜて白濁させ、あらかじめ精製水70mlを入れた容量 200mlの分液ロートに流し込む。再度、精製水10mlで反応容器を洗浄し、洗液も分液ロートに流し込む。次いで、反応容器をジクロロメタン10mlで二度洗浄し、洗液を分液ロートに流し込む。最後にもう一度、精製水10mlで反応容器を洗浄し、この洗液も分液ロートに入れる。分液ロートを5分間激しく振とうして、生成した誘導体をジクロロメタンで抽出する。静置後、ジクロロメタン層を分取し、再度ジクロロメタン20mlを加えて抽出を行う。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、試料前処理液とする。

### 【試料液の調製】

試料前処理液をロータリーエバポレーター（湯浴温度35℃）で 5ml程度まで濃縮する。これを濃縮用受器に移し、濃度10  $\mu$ g/mlの内標準溶液（クリセン-d<sub>12</sub>のヘキサン溶液）を正確に25  $\mu$ l 添加

した後、窒素ガスを吹きつけて 1mlの定容としてGC/MS-SIM測定用の試料液とする。

#### 【空試料液の調製】

水質試料については 500mlの、底質試料については 150mlの精製水をそれぞれ用い、【試料の前処理】及び【試料液の調製】と同様に操作を行い、得られたものを空試料液とする。

#### 【標準液の調製】

アクリルアミドの標準品 10mg を正確にはかりとり、精製水を加えて溶解して正確に 100mlとし、濃度 100  $\mu\text{g/ml}$ の標準品原液とする。標準品原液を精製水で希釈し、25  $\mu\text{g/ml}$ の標準品溶液を調製する。内標準原液については、クリセン- $\text{d}_{12}$  10mg を正確にはかりとり、ヘキサンを加えて正確に 100 mlとして調製する。内標準原液をヘキサンで希釈して10  $\mu\text{g/ml}$ とし、内標準溶液とする。

容量10mlの共栓付き試験管にメタノール 1mlを入れたものを、調製する標準液の個数分用意する。これらに、標準品溶液の10~40  $\mu\text{l}$  を段階的にそれぞれ添加する。次いで、10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100  $\mu\text{l}$  と 3M塩酸 1滴を加えて密栓してよく振り混ぜる。これ以降の操作は、【試料の前処理】及び【試料液の調製】に示した該当部分と同様の操作を行い、得られたものを各標準液とする。

#### 【測定】

##### 〔GC/MS-SIMの測定条件〕

使用機種 : MS ; 日本電子 JMS - DX303, GC ; HP 5890J  
使用カラム : DB-5 ms, 0.25mm  $\times$  30m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$  (注5)  
カラム温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$  (2 min)----- 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  ----- 300 $^{\circ}\text{C}$  (5 min)  
キャリアーガス : He, 定流量モード (2.10 ml/min)  
注入方法 : スプリットレス (パージオフ時間 ; 1.5 min )  
注入口温度 : 250  $^{\circ}\text{C}$ , 注入量 : 1  $\mu\text{l}$   
イオン源温度 : 250  $^{\circ}\text{C}$ , セパレーター温度 : 250  $^{\circ}\text{C}$   
イオン化電圧 : 70 V, イオン化電流 : 300  $\mu\text{A}$   
モニターイオン : 定量用 ; m/z 251.0, 確認用 ; m/z 207.0, 234.0  
内標準 (クリセン- $\text{d}_{12}$ ) 用 ; m/z 240.2

〔検量線〕 標準品の濃度として 250~1000 ng/mlの各標準液 (内標準濃度 : 250ng/ml) 1  $\mu\text{l}$  をGC/MSに注入し、得られたクロマトグラムの標準品誘導体と内標準物質のピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕 試料液の 1  $\mu\text{l}$  をGC/MSに注入し、得られたクロマトグラムの誘導体と内標準物質のピーク面積比を求め、検量線から定量する。

#### 〔計算〕

$$\text{計算値} (\mu\text{g/l} \text{ または } \mu\text{g/kg}) = \text{検出濃度} (\text{ng/ml}) \times \frac{0.001}{\text{試料量} (\text{l} \text{ または } \text{kg})}$$

〔検出限界及び定量限界〕 本分析法の検出限界及び定量限界を以下に示す（注6）。

試料	試料量	検出限界	定量限界
水質	500 ml	0.12 $\mu\text{g/l}$	0.41 $\mu\text{g/l}$
底質	20 g	4.0 $\mu\text{g/kg}$	—

## 試薬・器具

### 【試薬】

アクリルアミド（モノマー）：東京化成製 EP (>98%)  
クリセン-d<sub>12</sub>：CIL製  
キサントヒドロール（10%メタノール溶液）：東京化成製  
メタノール：和光純薬製 残留農薬試験用(300)  
ヘキサン：和光純薬製 残留農薬試験用(300)  
ジクロロメタン：和光純薬製 残留農薬試験用(300)  
塩酸：和光純薬製 有害金属測定用  
無水硫酸ナトリウム：和光純薬製 残留農薬試験用（600℃で一夜加熱処理）  
精製水：Milli-Q SP.TOC. 超純水製造装置（ミリポア製）による精製水  
Sep-Pak C<sub>18</sub>カートリッジカラム：セップパックプラス（充填剤量 360mg）ウォーターズ製  
Sep-Pak 活性炭カートリッジカラム：Sep-Pak AC-2（充填剤量 400mg）ウォーターズ製  
ガラス繊維ろ紙：アドバンテック東洋製 GA 100（55 mmφ）

### 【器具】

吸引鐘：固相抽出時及びろ過時の吸引用  
真空計：固相抽出時の流速制御用  
ニードルバルブ：固相抽出時の流速制御用  
振とう器：生成誘導体の溶媒抽出用  
超音波洗浄器：試料の水抽出用  
遠心分離器：水抽出液の分離用  
ロータリーエバポレーター：抽出溶媒の濃縮用  
恒温水槽：誘導体化反応の温度制御用

## ~~~~~ 注 解 ~~~~~

- (1) 使用直前にメタノール 5 ml、次いで精製水 10ml でコンディショニングする。
- (2) 使用直前にアセトン 10ml、次いで精製水 10ml でコンディショニングする。
- (3) 固相抽出時のカートリッジカラム内の流速は、厳密に 5±0.5 ml/minとする。流速が大きく

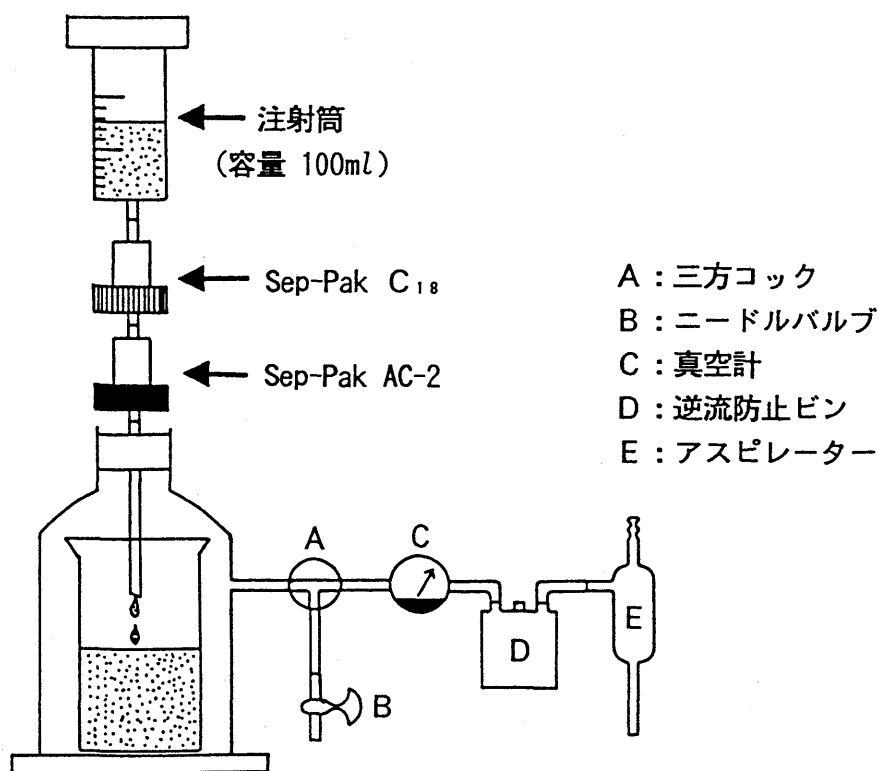


図-1 アクリルアミドの固相抽出の概略

なると抽出効率が低下し、流速の変動が大きくなると測定値の再現性が低下する。図-1に示したように、真空計とニードルバルブを用いると、比較的容易に厳密な流速の制御が可能である。また、リザーバーに容量 100mlの注射筒を利用すると、抽出液の時間当たりの通過量が正確に把握できるので便利である。

- (4) 試験管の密栓が不完全な場合、誘導体化反応中に反応溶液の損失が生じ、測定値が低くなる。
- (5) 使用するカラムについては、DB-5 m s の他、Ultra 2 (0.32mm X 25m, 膜厚 0.52  $\mu$ m) を用いても、同等の結果が得られる。
- (6) 検出限界及び定量限界は、「化学物質分析法開発マニュアル(案)」(昭和62年3月)に定められた方法により、以下のように算出した。

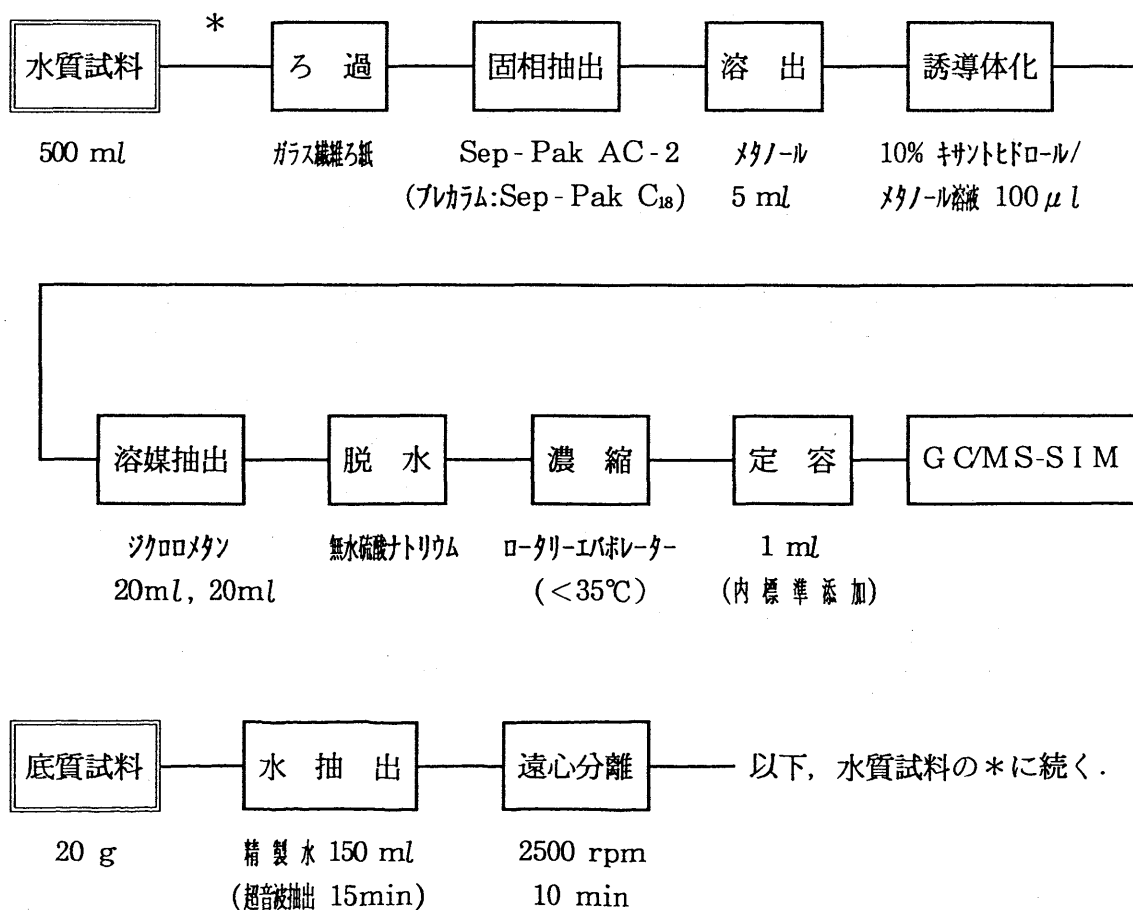
	水 質		
試料濃度 ( $\mu$ g/l)	0.40	0.80	1.2
応答値 (x)	0.0291	0.0759	0.122
標準偏差 ( $\sigma_R$ )	0.00212	0.00256	0.00222
検出力 ( $D_n$ )	0.0464	0.0429	0.0347
検出限界 ( $D \times 3$ )		0.12	
定量限界 ( $D \times 10$ )		0.41	
不偏分散 ( $F_d$ )		1.49	

底 質	
検出限界推定値 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	4.0
試料濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	20
分析値 (X)	16.7
標準偏差 (Sc)	1.29
検出限界 (DL)	4.0
95%信頼区間	2.6 ~ 8.8

## § 2 解 説

### 【分析法】

〔フローチャート〕



## [分析法の検討]

### 1. アクリルアミドの誘導体化

従来、アクリルアミドの分析法としては、直接GC-FIDで定量するか、炭素原子間の二重結合に臭素を付加して2,3-ジブロモプロピオンアミドとしてGC-ECDで定量する方法が、一般に採用されている。しかし、これらの方法では対象物質中のアミド基(-CONH<sub>2</sub>)を誘導体化せずにそのままにしているため、GC分析における対象物質の分離やピークの形状が悪く、また、SIM測定に適したモニタリング質量を確保できないため、アクリルアミドに対して選択性のよいGC/MS-SIM法を適用することができなかった。

アミド基の誘導体化が難しいのは、アミド基の-NH<sub>2</sub>が第一アミンの-NH<sub>2</sub>に比較して反応性に乏しく、第一アミンには適用できるシリル化やアシル化による誘導体化反応も、アミドにはほとんど適用できないことに原因している。また、アクリルアミドは酸やアルカリの存在下で加水分解しやすいため、酸性下や塩基性下の水溶液中での誘導体化も非常に困難である。

一方、キサントヒドロールは、有機定性分析で酸アミドを確認するために使用されたり、血清尿素の比濁定量法に使用されている。しかし、キサントヒドロールを誘導体化試薬とし、アクリルアミドを定量する方法はまだ報告されていない。そこで、本法では図-2に示したように、アクリルアミドのアミド基をターゲットとして、キサントヒドロールによる誘導体化を試み、生成が予測されるN-キサントシルアクリルアミドをGC/MS-SIMで定量する方法を開発することとした。

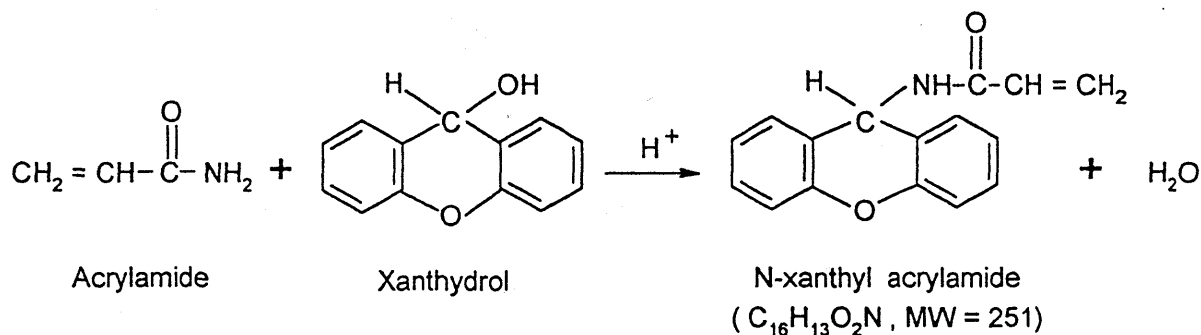


図-2 キサントヒドロールによるアクリルアミドの誘導体化反応

### 2. 誘導体化の反応条件並びに生成誘導体の抽出と安定性

#### ①反応溶媒と酸触媒の選定

有機定性分析におけるキサントヒドロールの酸アミドとの反応や、キサントヒドロールによる血清尿素の比濁定量では、反応溶媒として酢酸が用いられている。しかし、アクリルアミドの場合は、反応溶媒として酢酸を用いても、誘導体の生成は認められなかった。そこで、アクリルアミドとキサントヒドロールの両方を溶解するメタノールを、反応溶媒として検討することにした。

アクリルアミドとキサントヒドロールの混合物は、メタノール中で加温しても誘導体を生成しなかったが、少量の酸を添加すると目的の誘導体を生成することが確認された。添加する酸として塩酸、硫酸、リン酸及び酢酸を比較検討した。これらの内、塩酸と硫酸に反応触媒として効果が認められ、特に塩酸はもっとも効果的に作用することが分かった。本法では、メタノール反応溶液 1 ml に対し 3M塩酸 1 滴を添加し、誘導体化を行うこととした。

## ②反応温度及び反応時間

アクリルアミドの標準品 500ngを含むメタノール 1 ml を共栓付き試験管（容量10ml）に入れ、10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100 $\mu$ l と 3M塩酸 1滴を加え、密栓してよく混合したものを用い、誘導体化に適した反応温度と反応時間を検討した。

図-3には、反応時間を3時間と一定にし、反応温度を20 $^{\circ}$ C~80 $^{\circ}$ Cに変化させたときの誘導体生成量の変化を、SIMクロマトグラムの誘導体と内標準とのピーク面積比によって示した。誘導体の生成量は反応温度の影響を受けやすく、40 $^{\circ}$ Cの反応温度が最適であることが分かった。

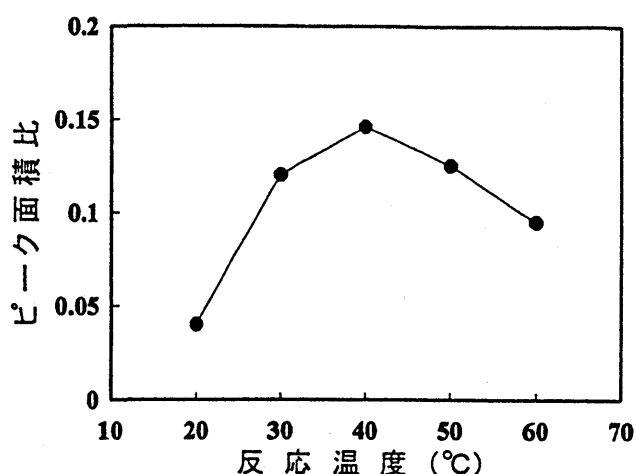


図-3 誘導体生成量と反応温度の関係

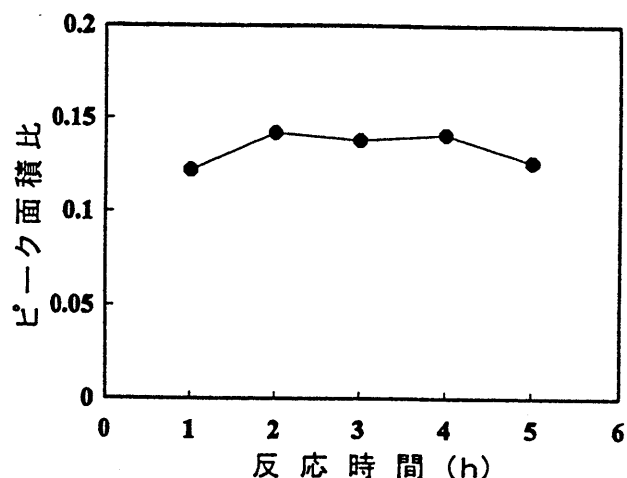


図-4 誘導体生成量と反応時間との関係

一方、図-4には、反応温度を40 $^{\circ}$ Cとしたときの、反応時間と誘導体生成量との関係を示した。誘導体生成量は2~4時間の反応でほぼ一定となり、その後は減少する傾向を示した。この結果から、反応時間は2時間とすることとした。

## ③反応試薬の添加量

反応温度を40 $^{\circ}$ C、反応時間を2時間とし、アクリルアミドの標準品 500ngを含むメタノール 1 ml と 3M塩酸 1滴を共栓付き試験管（容量10ml）入れ、添加する10%キサントヒドロール/メタノール溶液の量を変化させ、誘導体化に必要な添加量を検討した。

図-5に誘導体の生成量と反応試薬の添加量の結果を示したが、上記の条件下では、10%キサントヒドロール/メタノール溶液の添加量が 100 $\mu$ l 以上で、誘導体の生成量はほぼ一定になることが分かった。このことから、本法ではメタノール 1 ml の反応溶液に対し、10%キサントヒドロール/メタノール溶液を 100 $\mu$ l 添加することとした。

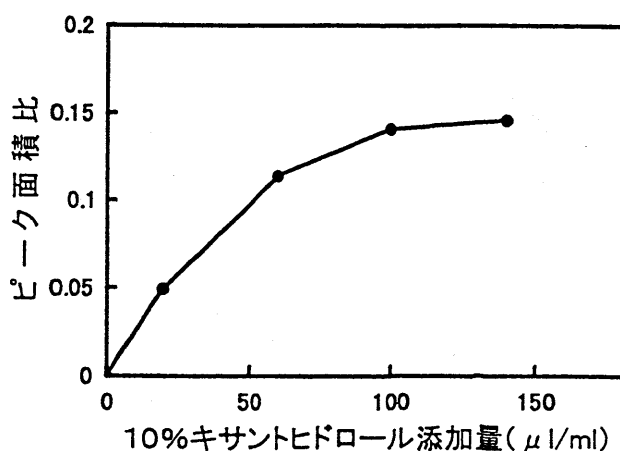


図-5 誘導体生成量と反応試薬添加量の関係

#### ④生成誘導体の抽出溶媒

生成した誘導体をメタノール及び塩酸から分離するため、反応終了後、メタノール溶液を精製水で希釈し、誘導体を疎水性溶媒で抽出するが、このとき使用する溶媒として、ヘキサン、ジクロロメタン、酢酸エチルの3種の溶媒を検討した。SIMクロマトグラムにおける抽出された誘導体と内標準とのピーク面積比の値は、ジクロロメタンを用いた場合を100とすると、ヘキサンは4しかなく、抽出効率が極めて低いことが示された。また、酢酸エチルも80で、ジクロロメタンに比較し抽出効率が劣ることから、抽出溶媒としてはジクロロメタンを採用した。

一方、抽出時の塩析効果については、塩化ナトリウムを用いて検討したが、抽出効率への塩析効果は全く認められなかったため、抽出時における塩類の添加は行わないことにした。

#### ⑤誘導体の安定性

ジクロロメタン中における誘導体の安定性について、低濃度(200ng/ml)と高濃度(800ng/ml)の2種を使用して検討した。いずれの試料の場合も、室内暗所における3日間程度の放置であれば、誘導体は十分安定であることが確認された。

### 3. 誘導体のマスペクトル及びSIMの質量数の設定

図-6に、アクリルアミドとキサントヒドロールとの反応によって生成した、N-キサンチルアクリルアミド( $C_{16}H_{13}O_2N$ , MW=251)のマスペクトルを示した。 $m/z$  181が基準ピークとなるが、実試料ではSIMクロマトグラムのベースが高く、妨害ピークも多いことからモニターイオンとしては採用できなかった。 $m/z$  251の分子イオンピークは比較的感度もあり、妨害ピークも少ないことから、本法では $m/z$  251を定量用モニターイオンとした。また、確認用のモニターイオンとしては、やはり妨害ピークが少ないという理由から $m/z$  207と $m/z$  234を使用することとした。一方、内標準として用いたクリセン- $d_{12}$ については、 $m/z$  240をモニターイオンとした。ただし、本法に用いた質量分析計では $m/z$  240.2としてモニターした。

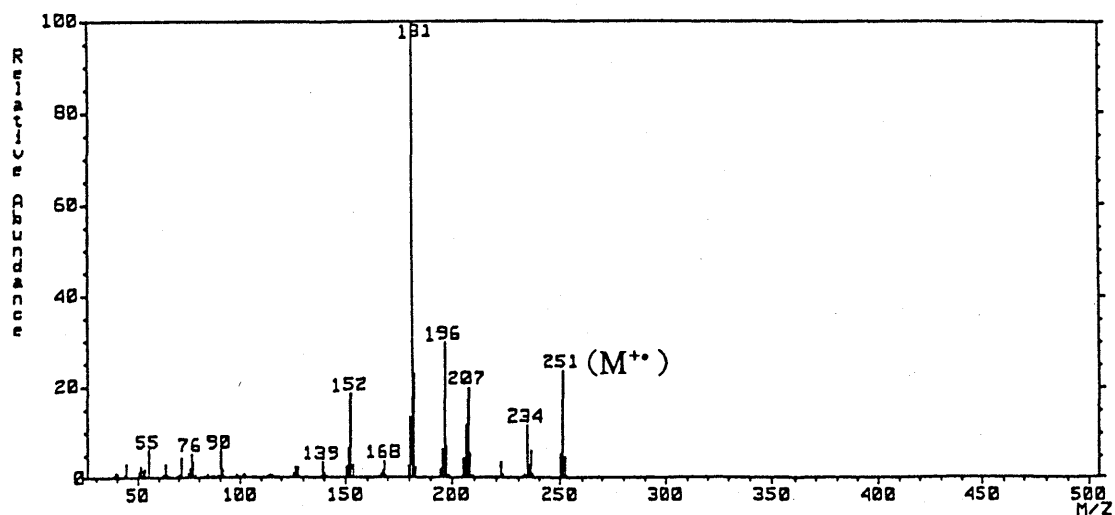


図-6 アクリルアミドの誘導体 (N-キサンチルアクリルアミド) のマスペクトル

#### 4. SIMクロマトグラム

図-7にアクリルアミドの標準品から得られた誘導体のSIMクロマトグラムの例を示した。

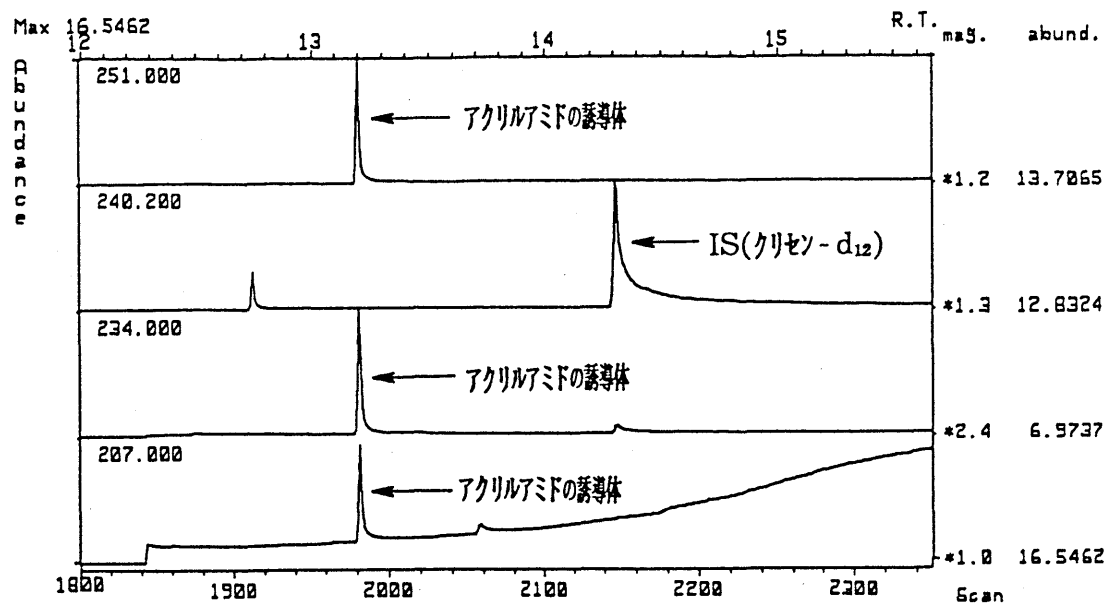


図-7 標準品から得られた誘導体のSIMクロマトグラム

#### 5. 検量線

図-8に検量線の例を示した。

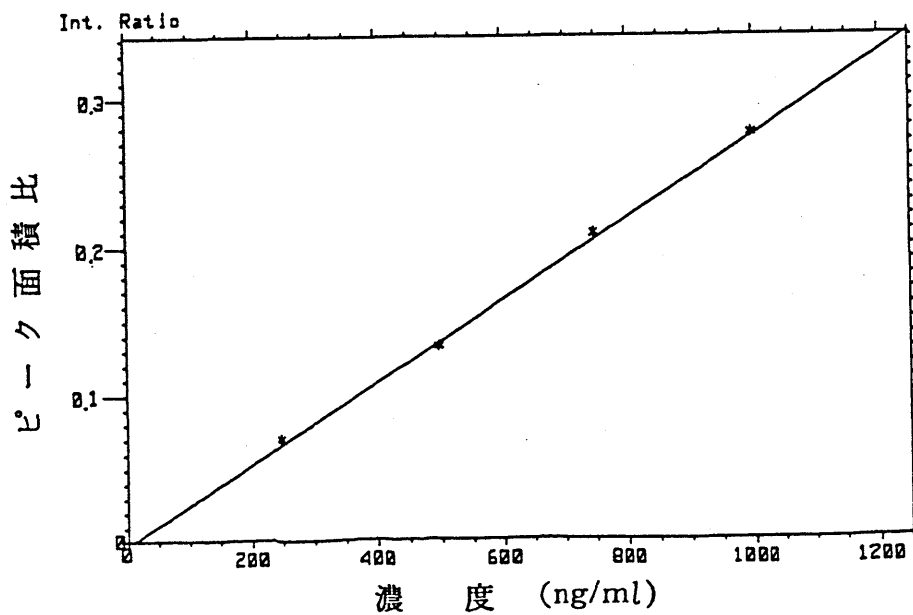


図-8 アクリルアミドの検量線例

## 6. 試料からのアクリルアミドの粗分離法

アクリルアミドは水に易溶で、疎水性の溶媒にほとんど溶けないこと、また、水溶液中での誘導体化が困難であることから、アクリルアミドの粗分離法として液液抽出法を適用することはできなかった。そこで、固相抽出法によって粗分離することとし、使用する固相として活性炭を検討対象とした。また、2. で述べたように、誘導体化はメタノール溶液中で行うので、固相からアクリルアミドを溶出させる溶媒には、メタノールを用いることを条件とした。

### ①活性炭オープンカラムによる固相抽出

内径10mmのカラムに、Active Carbon Beads-M と Ambersorb 572 の2種の活性炭をそれぞれ湿式で充填し、アクリルアミドの濃度 1 ng/mlの水溶液 500mlを流速 5 ml/min で負荷した。これを通気して脱水した後、メタノールでアクリルアミドを溶出させ、固相抽出の回収率を求めた。

表-1 に結果をまとめて示した。カラム充填高さ 5cmでは、いずれの活性炭の場合もメタノール10mlでアクリルアミドは溶出したが、回収率は約50%と低いものであった。Active Carbon Beads-Mについては、カラム充填高さを10cmとしたものも検討したが、回収率の改善はほとんど見られなかった。また、オープンカラムの場合、メタノールで溶出させる時点でカラム内で活性炭が発泡するため、カラムの転倒操作により気泡を取り除く必要があった。

以上のように、回収率が低いこと及び操作が複雑になることから、固相抽出に活性炭オープンカラムを採用することはできなかった。

表-1 活性炭オープンカラムによる固相抽出の回収率

活性炭の種類	Active Carbon Beads - M		Ambersorb 572
充填高さ	5 cm	10 cm	5 cm
メタノール溶出量			
0 ~ 5 ml	23.2 %	25.7 %	23.3 %
5 ~ 10 ml	25.5 %	29.0 %	25.8 %
10 ~ 15 ml	0.0 %	0.0 %	0.0 %
総回収率	48.7 %	54.7 %	49.1 %

### ②活性炭カートリッジカラムによる固相抽出

カートリッジカラムはオープンカラムに比較し、カラムを調製する手間がほとんど要らない点や、目的物質を溶出させるための溶媒が少量で済む点で優れている。ただ、一般に充填量がオープンカラムの 1/10 程度と少ないので、抽出効率を十分検討しておく必要がある。ここでは、活性炭カートリッジカラムとして、Sep-Pak AC-1とSep-Pak AC-2 (いずれも充填量は400 mg) 及び Carboxen 1000 (充填量は500 mg) の3種を使用した。これらをアセトン10mlと精製水10mlでコンディショニングした後、アクリルアミドの濃度 1 ng/mlの水溶液 500mlを流速 5 ml/min で負荷した。これを通気して脱水した後、メタノールでアクリルアミドを溶出させ、固相抽出の回収率を求めた。

アクリルアミドの溶出は、いずれのカラムについてもメタノール 5mlで十分であった。試料を通過させる流速は回収率に大きな影響を及ぼし、通過速度が速くなると回収率の低下が見られた。例えばAC-1では、流速を 10ml/min 及び 15ml/min と速くすると、回収率はそれぞれ 58.2%及び 54.7% と低下し、厳密な流速の制御が回収率の向上と再現性の確保に必要であることが分かった。本法では、流速を 5 ml/min の一定とし、これを厳密に制御することにした。Carboxen 1000 は

表-2 活性炭カートリッジカラムによる固相抽出の回収率

カラムの種類	試料数	平均回収率	変動係数
AC-1	5	75.9 %	3.2 %
AC-2	3	97.9 %	1.8 %
Carboxen 1000	3	76.5 %	6.7 %

活性炭の充填密度がやや小さく、流速 5 ml/min の厳密な制御ができなかったので、カラムを2本連結して使用した。

表-2には回収率の結果をまとめて示したが、AC-2が良好な回収率を示したので、本法ではAC-2による固相抽出法を採用することにした。なお、カートリッジカラムの回収率はコンディショニングにも影響されるため、アセトンと精製水の他に塩酸とアスコルビン酸も使用して検討したが、アセトンと精製水によるコンディショニングが最適であった。

## 7. クリーンアップ

実試料に対して6.に述べた固相抽出法を適用するには、試料をAC-2活性炭カートリッジカラムに負荷する前に、できるだけ共存物質を除去しておく必要がある。アクリルアミドは疎水性溶媒にほとんど溶けないので、ヘキサン等による溶媒洗浄法がクリーンアップとして考えられる。しかし、溶媒洗浄を行うと試料中に微量ながら溶媒が残存してしまい、表-2に示した回収率は保証されなくなると推測された。そこで、アクリルアミドに対しては不活性であるが、他の共存物質に対しては活性な固相抽出用のカートリッジカラムを選定し、これをAC-2カートリッジカラムのプレカラムとして用いることによって、クリーンアップと固相抽出を同時に行う方法を検討することにした。

クリーンアップ用のカートリッジカラムとして、Sep-Pak C<sub>18</sub> Plus (充填量 360mg) と Sep-Pak PS-2 Plus (充填量 265mg) の2種を使用した。C<sub>18</sub>カートリッジカラムについてはメタノール 5mlと精製水10mlで、PS-2カートリッジカラムについてはジクロロメタン 5ml、メタノール 5ml及び精製水 5mlで、それぞれコンディショニングを行った。これらをAC-2カートリッジカラムのプレカラムとして装着し、6.と同一の条件下でアクリルアミドの回収率を求めた。

その結果、PS-2カートリッジカラムをプレカラムとして装着すると、回収率が69.8%に低下するのに対し、C<sub>18</sub>については装着によっても回収率は全く影響を受けず、97.7%の値を示した。

以上のことから、本法ではSep-Pak C<sub>18</sub>カートリッジカラムを、固相抽出用カートリッジカラム(AC-2)のプレカラムとして使用することにより、試料のクリーンアップを行うことにした。

## 8. 低濃度添加回収実験結果

精製水 500ml、水質試料 500ml、底質試料 20gに既知濃度のアクリルアミドの標準品を添加し、本分析法にしたがって低濃度添加回収実験を実施した。その結果を表-3にまとめて示した。

表-3 低濃度添加回収実験結果

試料	試料量	添加量 ( $\mu\text{g}$ )	測定回数	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	500 ml	0.20	4	92.5	4.6
	500 ml	0.40	4	92.8	2.5
	500 ml	0.60	4	91.5	1.4
海水	500 ml	0.40	4	93.2	3.0
河川水	500 ml	0.40	4	92.9	3.7
底質	20 g	0.40	7	83.6	7.7

### 9. 分解性スクリーニング試験結果

平成2年度に広島県環境センターが実施したデータを、表-4に示した。

表-4 分解性スクリーニング結果

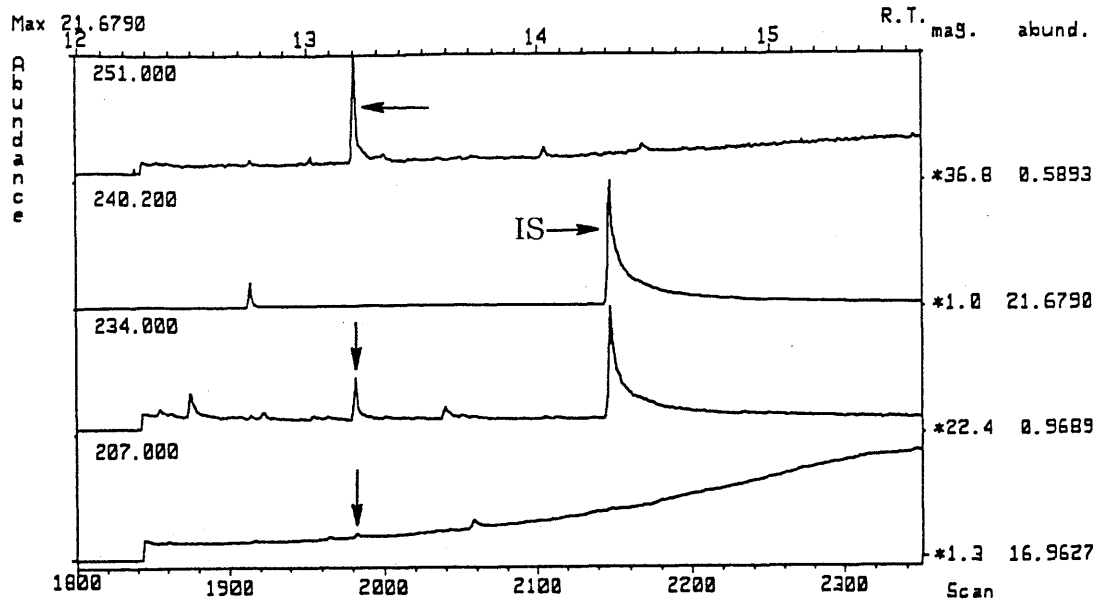
pH	初期濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	1時間後の 残存率 (%)	5日後の残存率 (%)	
			暗所	光照射
5	0.1	95	97	—
7	0.1	99	99	99
9	0.1	97	97	—

#### [環境試料の分析]

水質試料として愛知県内の環境基準B類型の河川水と海水、底質試料として平成9年度の共通底質（東京湾）の各試料について、本分析法を適用した。その結果、海水試料では検出されなかったが、河川水試料で  $0.25 \mu\text{g/l}$  のアクリルアミドが検出された。また、底質試料については、SIMクロマトグラム上にアクリルアミドのピークは出現したが、測定値は検出限界未満であった。

図-9から図-13には、河川水、海水、共通底質の各試料について、アクリルアミド標準品を添加したものと、無添加としたものの分析例、及び水質と底質の各空試料の分析例を示した。

無添加



0.40  $\mu$ g 添加

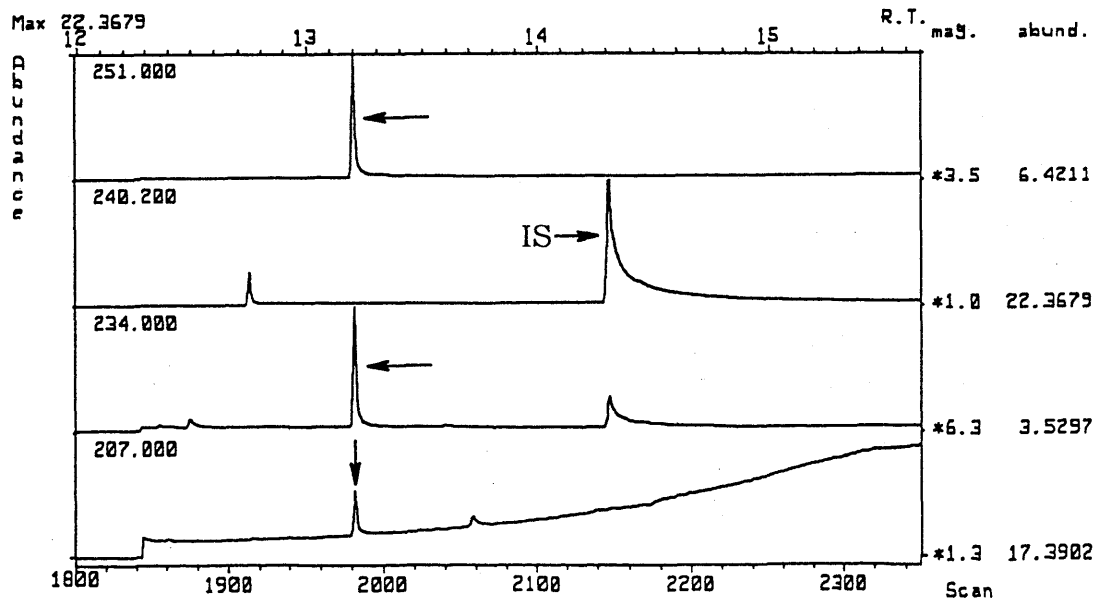
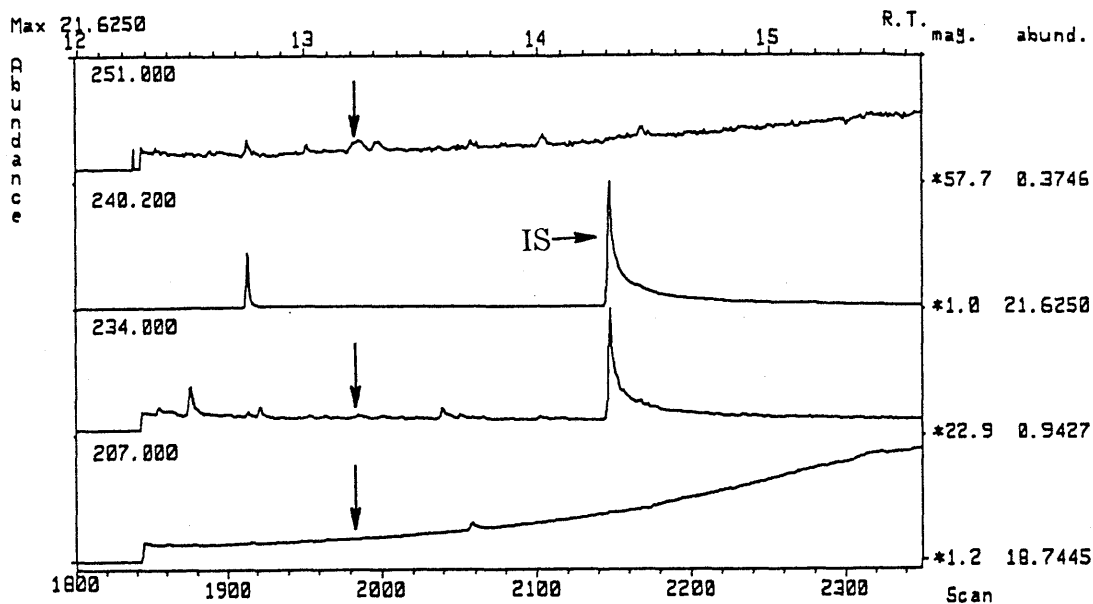


図-9 河川水試料のSIMクロマトグラム

無添加



0.40  $\mu$ g 添加

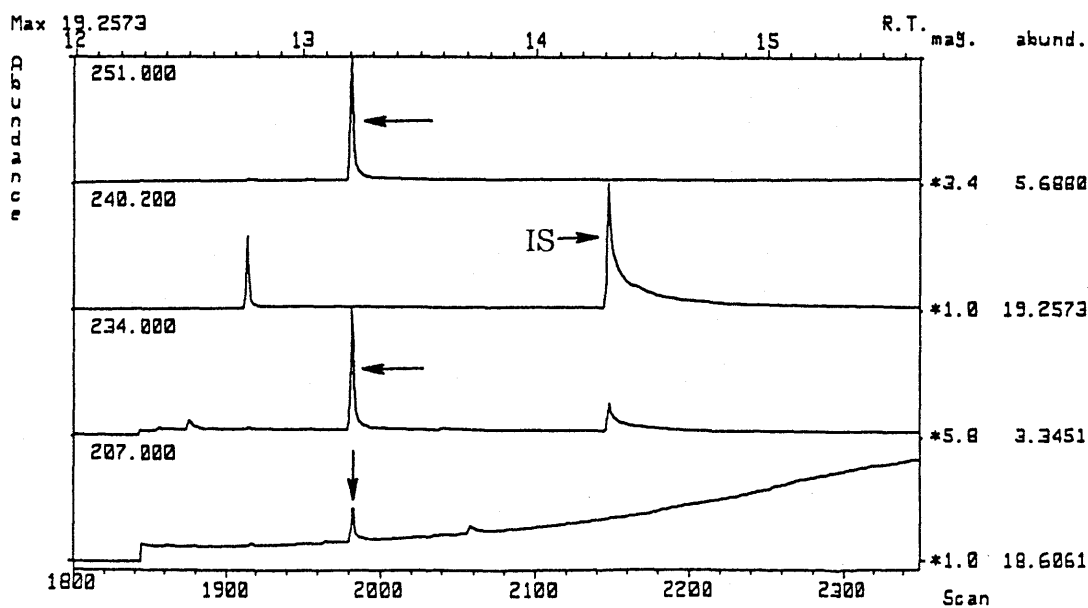


図-10 海水試料のSIMクロマトグラム

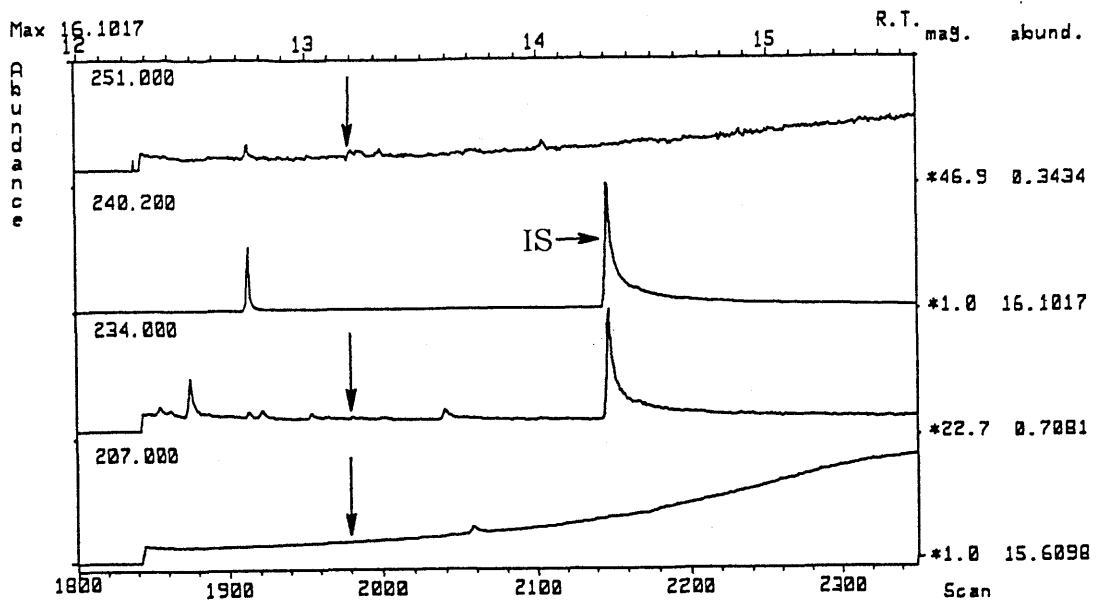


図-11 水質空試料のSIMクロマトグラム

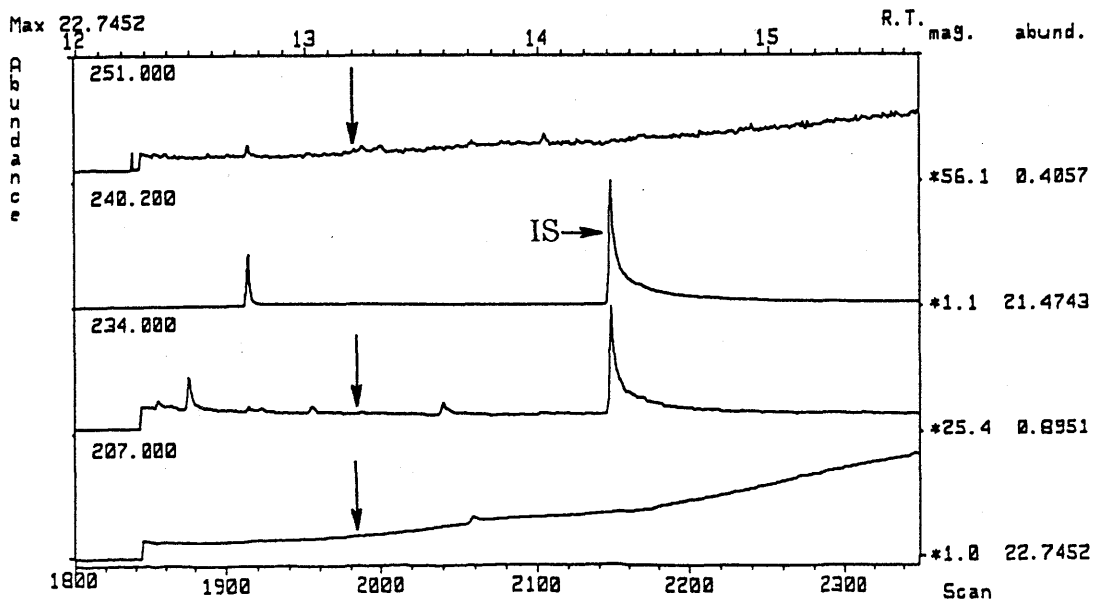
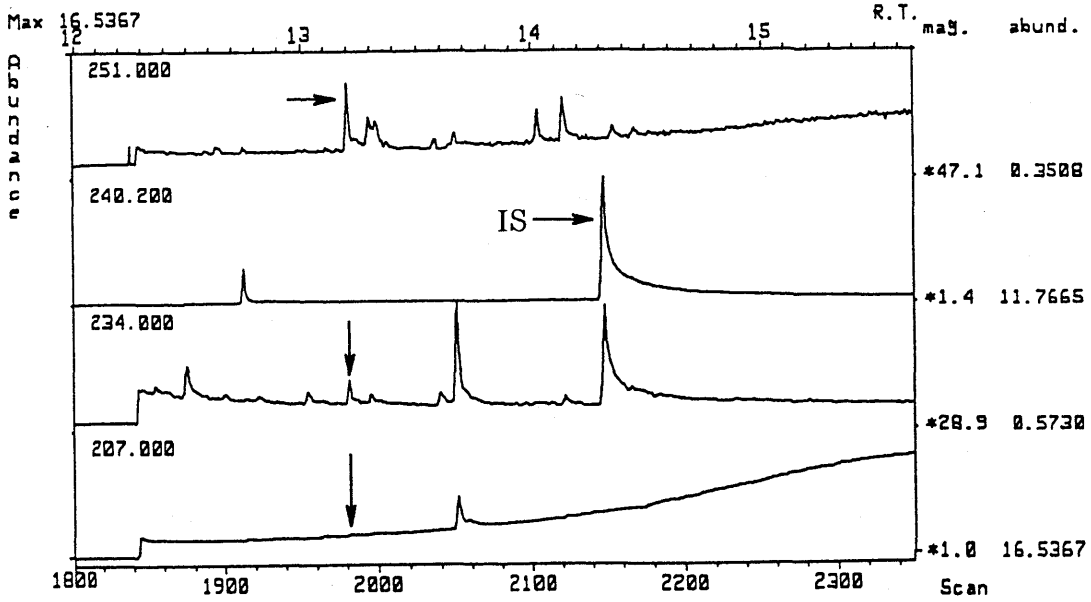


図-12 底質空試料のSIMクロマトグラム

無添加



0.40  $\mu$ g 添加

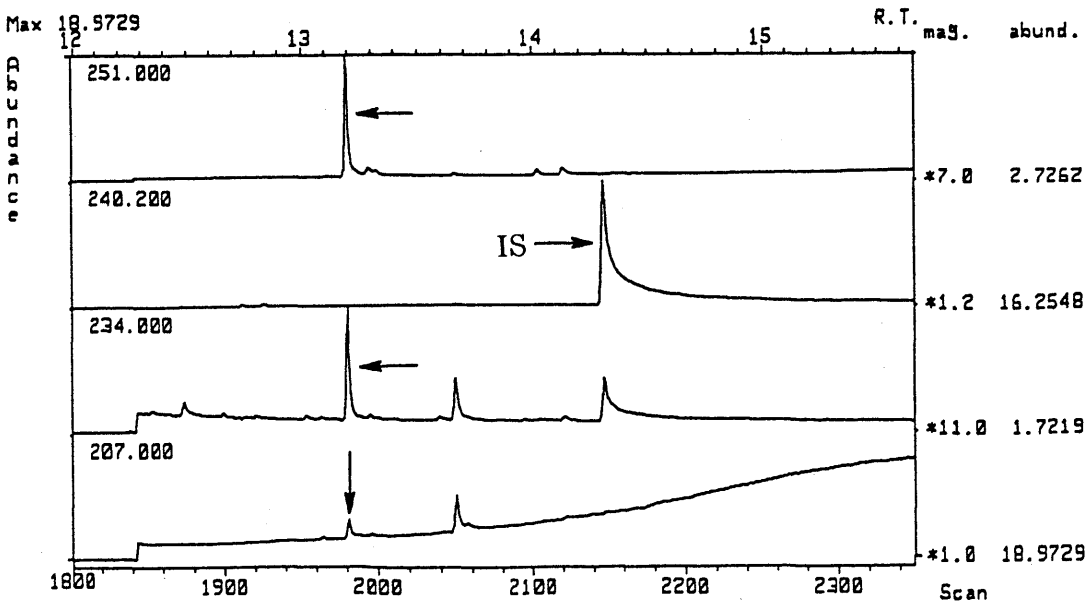


図-13 共通底質試料のSIMクロマトグラム

## 【評価】

本分析法により環境試料（水質及び底質）中に存在するアクリルアミドを ppbレベルで測定することが可能である。

## 参考文献

- 1)環境庁保健調査室：平成2年度化学物質分析法開発調査報告書，pp. 24 - 35
- 2)S.B.Matin and M.Rowland, *J. Pharm. Sci.*, 61, 1235 - 1240 (1972)

担 当：愛知県環境調査センター  
住 所：〒462-0032 名古屋市北区辻町流7-6  
電 話：052-911-3111  
FAX：052-991-6241  
担当者：角 脇 怜， 本 田 富 義

## 分析試料の送付方法

### 1. 試料の前処理を行わない場合

〔水質試料〕 試料をヘッドスペースの残らないようにガラス瓶に入れ、梱包して送付する。

〔底質試料〕 均一化した試料をガラス瓶に入れ、ドライアイスで冷却した状態で梱包して送付する。

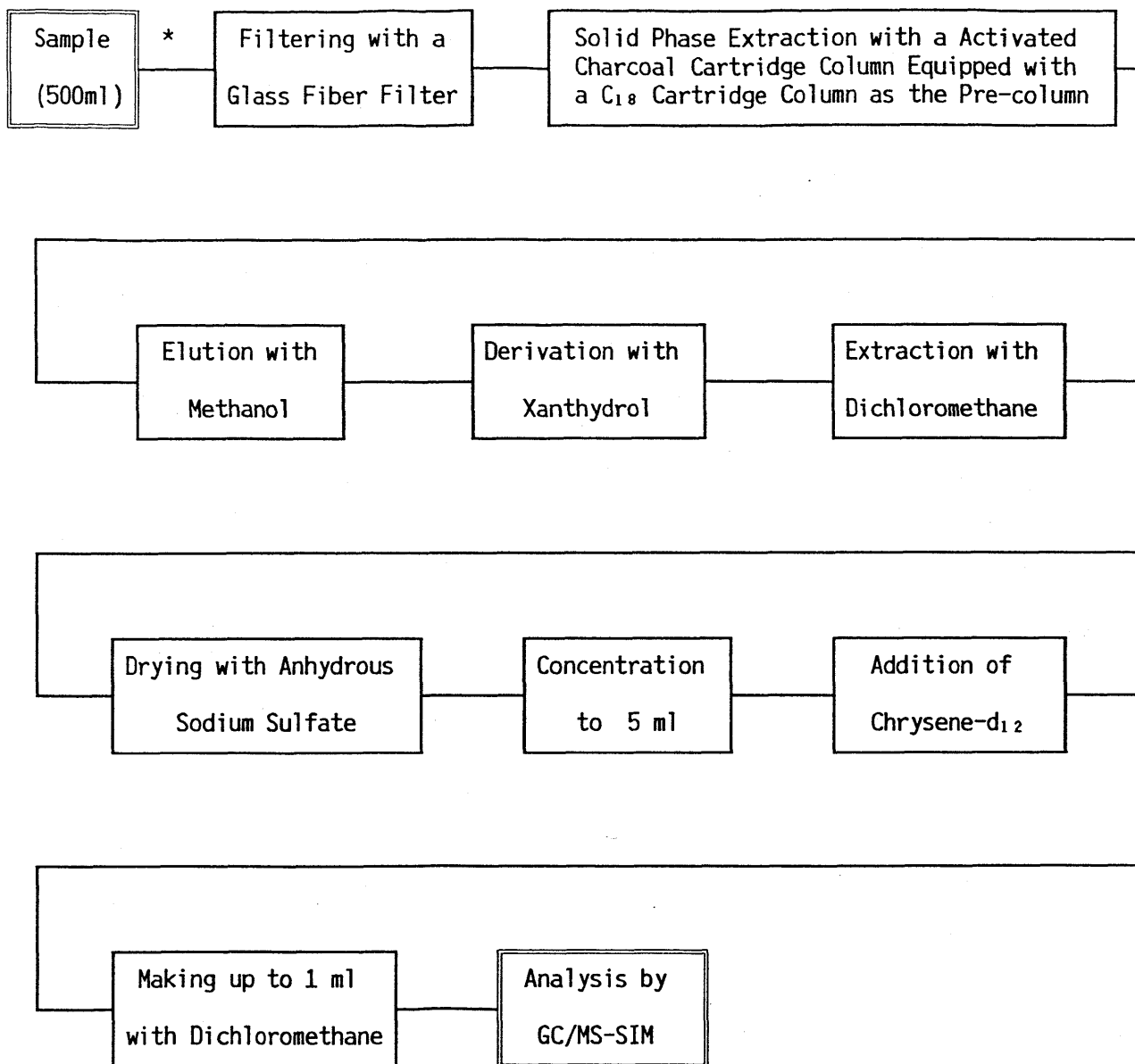
### 2. 試料の前処理を行う場合

水質試料及び底質試料とも、分析法に示した【試料の前処理】で得られた試料前処理液を約5 mlまで濃縮し、アンプルまたはバイアル瓶に密封して送付する。

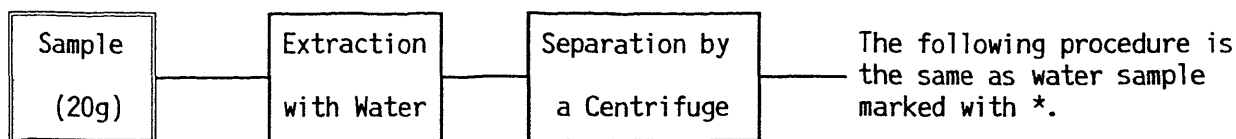
物質名	分析法フローチャート	備考
7カドミウム	<p>(水質)</p> <pre>       graph LR         A[試料 500 ml] -- "*" --&gt; B[ろ過 ガラス繊維]         B --&gt; C[固相抽出 Sep-Pak AC-2 (カラム: Sep-Pak C18)]         C --&gt; D[溶出 メノール 5 ml]         D --&gt; E[誘導体化 10% キノホル/メノール 100 μl]         E --&gt; F[溶媒抽出 シロメタン 20ml, 20ml]         F --&gt; G[脱水 無水ナトリウム]         G --&gt; H[濃縮 ロータリーエバポレーター (&lt;35°C)]         H --&gt; I[定容 1 ml (内標準添加)]         I --&gt; J[GCMS-SIM]           </pre> <p>(底質)</p> <pre>       graph LR         K[試料 20 g] --&gt; L[水抽出 精製水 150ml (超音波抽出 15min)]         L --&gt; M[遠心分離 2500 rpm 10 min]         M --&gt; N[以下、水試料の *に続く。]           </pre>	<p>GC/MS-SIM</p> <p>カラム: DB-5ms カラム長: 30m カラム径: 0.25mm 膜厚: 0.25 μm</p> <p>検出限界</p> <p>水質: 0.12 μg/l 底質: 4.0 μg/kg</p>

# Acrylamide

(Water Sample)



(Sediment Sample)



# Acrylamide

( ABSTRACT )

A water sample, 500 ml, was filtered through a glass fiber filter, and the filtrate was passed through a activated charcoal cartridge column, Sep-Pak AC-2, equipped with a Sep-Pak C<sub>18</sub> cartridge column as the pre-column at a flow rate of 5 ml/min, for the solid phase extraction of acrylamide in the filtrate. The acrylamide in the Sep-Pak AC-2 cartridge column was eluted with 5 ml of methanol. The effluent was concentrated to 1 ml for the following derivatization reaction. The concentrate was added 100  $\mu$ l of 10 % xanthyrol in methanol and one drop of 3 M HCl and then was warmed at 40°C for 2 h to form its derivative of N-xanthyl acrylamide. After the reaction solution had been diluted with water, the derivative was extracted into dichloromethane. The extract was dehydrated with anhydrous sodium sulfate and then was concentrated to 1 ml after having been added chrysene-d<sub>12</sub> as the internal standard. The derivative was determined by GC/MS-SIM.

A sediment sample, 20 g, was extracted by sonication with 150 ml of water. The water extract was filtered through a glass fiber filter after centrifuging and removing the precipitate. The acrylamide in the filtrate was treated by the same procedure for water samples and was determined by GC/MS-SIM as its derivative of N-xanthyl acrylamide.