

固相マイクロ抽出の基礎

固相マイクロ抽出 (SPME)

固相マイクロ抽出 (SPME) は、溶媒を使用しないサンプル前処理技術です。SPME では、吸着または吸収と脱着の原理に基づいて、コーティングされたファイバまたは Arrow を使用して、サンプルから揮発性化合物と半揮発性化合物を濃縮します。SPME では、サンプルマトリックス中、サンプル上部のヘッドスペース、およびポリマーコーティングされたフューズド相において、成分が平衡状態となります。SPME には、ヘッドスペース (最も一般的) および直接浸漬 (DI) という 2 つのカテゴリがあり、浸漬では、SPME ファイバまたは Arrow を水溶性サンプルに浸漬します (アプリケーションにより異なります)。

SPME 分析は、次の 2 つのプロセスで構成されています。

1. コーティングとサンプル間での成分の分離 (図 1)

このプロセスは、サンプルマトリックスへの SPME デバイスの挿入、およびサンプルへの相の曝露で構成されています。ターゲット化合物は、サンプルから相へ吸着または吸収されます (相に依存)。平衡状態に達したら、相はニードル中に引き込まれ、サンプル容器から取り除かれます。

2. 分析機器への濃縮済み成分の脱着



図 1. SPME プロセス - 直接浸漬 (DI) の例を示しています。

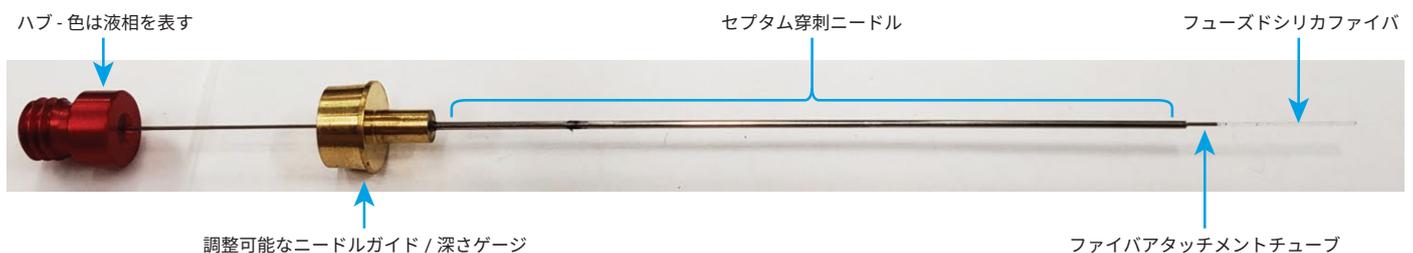


図 2. SPME ファイバの特徴 (Agilent SPME ファイバ、PDMS-100/10-P3、赤、3 個、p/n 5191-5872)

SPME ファイバおよび SPME Arrow

SPME は、1990 年代初期にカナダのオンタリオ州にあるウォータールー大学の Pawliszyn 教授によって考案され、化学修飾されたフューズドシリカファイバとして導入されました。SPME は、過去数十年の間に、環境、食品、および臨床分析分野において最も広く使用されている抽出技術の 1 つになりました。ただし、この技術は、機械的安定性が不十分である、相容量が小さいなど、いくつかの欠点により、大きな変化がありませんでした。2016 年、微量分析感度と機械的に高い堅牢性を兼ね備えた、マイクロ抽出用の新しい特許技術である PAL SPME Arrow が開発されました。PAL SPME Arrow の外径は 1.1 または 1.5 mm であるため、吸着相の表面積と容量が大きくなると同時に、矢じり状のチップにより、バイアルと注入口のセプタムをスムーズに貫通できます。

SPME ファイバの利点は、次のとおりです。

- 独自に試験したデザイン
- 溶媒が不要
- 自動化が容易
- サンプルを非破壊で分析
- ファイバは再利用可能
- GC または HPLC 機器に対応

Agilent SPME ファイバはすべて標準長が 10 mm で、23 ゲージニードルを備えています。SPME ファイバには、100 μm × 10 mm、0.6 μL の吸着相が備えられています (図 2)。

SPME Arrow の利点は、次のとおりです。

- SPME ファイバと同じ利点に加え、以下が追加されます。
- 吸着相の表面積の拡大
- 相容量の増大
- 寿命の向上

Agilent SPME Arrow はすべて標準長が 20 mm で、ニードルの外径は 1.1 mm または 1.5 mm のいずれかです (図 3)。SPME Arrow は、吸着相の表面積が大きく (最大 6 倍)、容量も大きくなっています (最大 20 倍)。

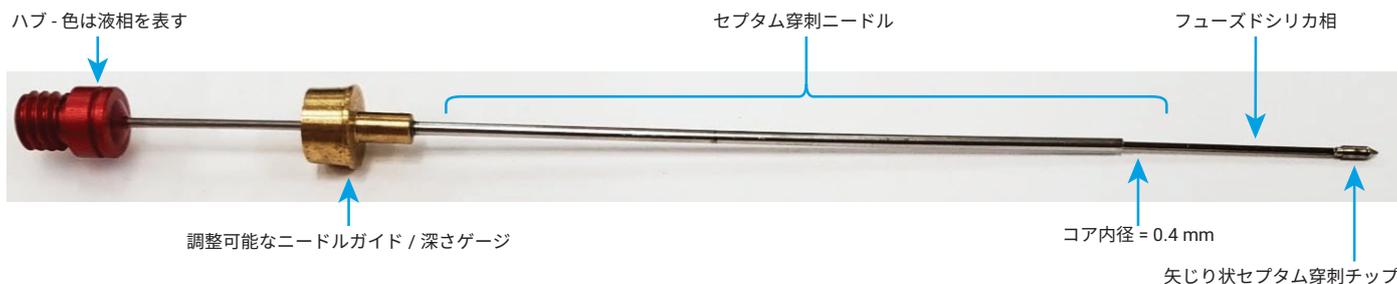


図 3. SPME Arrow の特徴 (Agilent SPME Arrow, PDMS (ポリジメチルシロキサン)、1.10 mm、100 μm、赤、3 個、p/n 5191-5862)

SPME 相の選択

SPME 相を選択する際には、考慮すべき基準がいくつか存在します。これらの基準には、ターゲット化合物の分子量と極性、濃度、そしてマトリックスの複雑度があります。

- 化合物の分子量 (MW)

化合物の MW により、相コーティングの内外およびサンプル中を化合物が移動できる速度が決まります。低分子量の化合物の場合、より高速に拡散するため、平衡化に要する時間は短くなります。高分子量の化合物の場合、コーティングおよびサンプル中を移動する速度が遅くなるため、平衡化に達するまでの時間が長くなります。

- 化合物の極性 (図 4)

コーティングに極性がある場合、フェノールやエステルのような極性化合物に対する選択性がより高くなり、非極性化合物に対する選択性がより低くなる場合があります。

- 化合物の濃度 (図 5)

- 吸収性のある相の場合、抽出される化合物の量は相容量に直接的に比例します。コーティングのフィルムが厚くなるにつれて、サンプルから抽出できる化合物が多くなります。

- 吸着タイプのファイバの場合、低濃度で存在する化合物をより適切に抽出でき、多数の化合物の検出下限がより低くなります。

- マトリックスの複雑度

PDMS コーティングは、複雑なマトリックスを直接分析する際の最も堅牢なオプションであり、対象分析物に対するこのコーティングの感度に関係なく、優先されるオプションです。¹

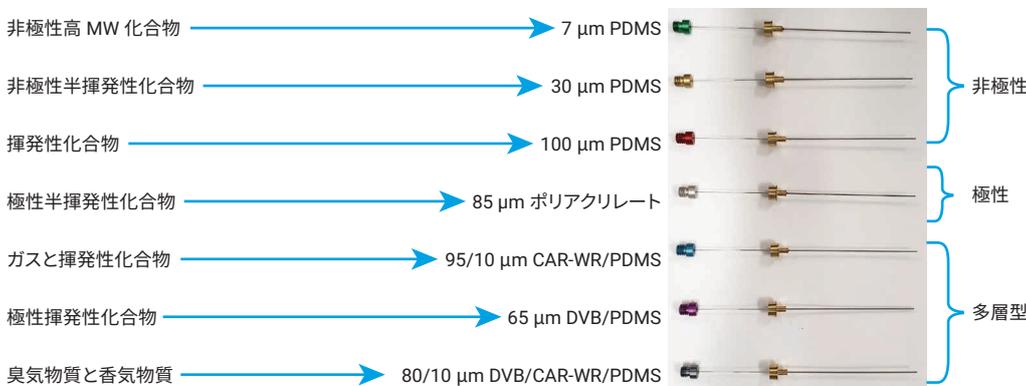


図 4. Agilent SPME ファイバ相およびその関連極性

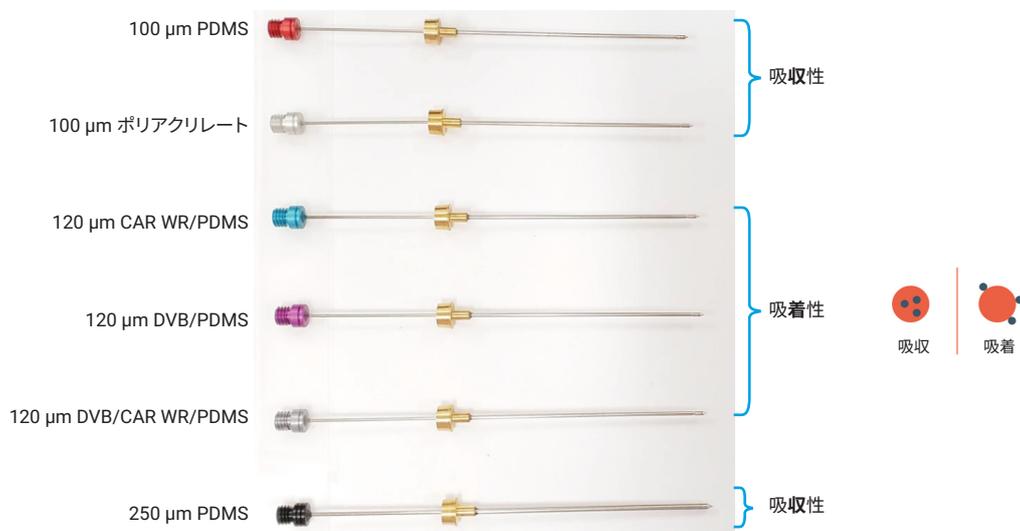


図 5. Agilent SPME Arrow 相およびその関連物質特性

相に関する一般的な推奨事項

- 非極性および揮発性化合物では通常、100 μm PDMS 相が必要です。
- CWR/PDMS により、低分子量の化合物が効果的に濃縮されます。
- 高分子量または半揮発性化合物は、30 または 7 μm PDMS 相により効果的に抽出されます。
- 極性サンプルから極性化合物を抽出するには、85 μm PA でコーティングされた相を使用します。

- アルコールやアミンのような揮発性極性化合物は 65 μm PDMS/DVB 相によりより効果的に吸着され、短時間で脱着されます。
- 微量の揮発性化合物の分析では、75 μm PDMS/CWR 相を推奨します。
- 対象化合物の範囲が広い場合 (C3 ~ C20) は、50/30 μm DVB/CWR/PDMS 相が最適です。
- HPLC 分析向けの汎用の相は、60 μm PDMS/DVB 相です。

SPME サンプル回収率

平衡化時間を延長する、抽出前にサンプルに塩を追加するなど、サンプル抽出メソッドを変更すると、サンプル回収率に影響を与えます。条件ごとに受ける影響（図 6）は、アプリケーションに依存します。そのため、SPME アプリケーションにとってメソッド開発は重要な要素です。

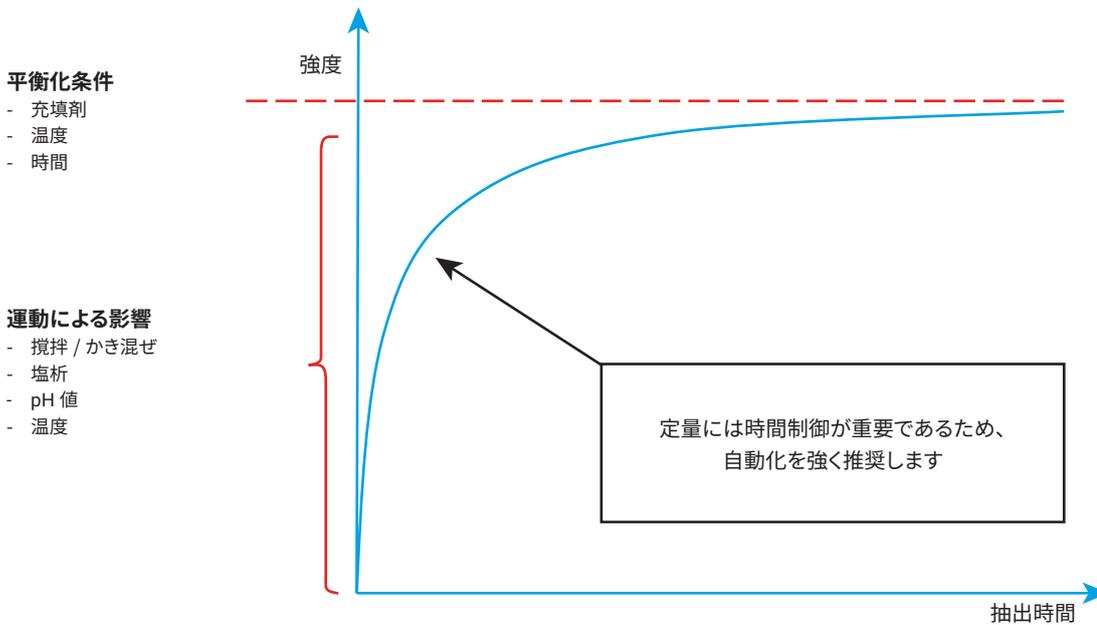


図 6. SPME によるサンプル回収率に影響を与える物理的要因

メソッドの感度を最適化する際には、適切なコーティングとその厚さを選択することに加えて、サンプル温度も重要なパラメータになります。一般的に、サンプル温度が上昇すると、沸点が高い成分の感度は向上しますが、沸点が低い成分の感度は低下します。また、抽出時には、温度も平衡化に影響を与え、温度が上昇すると平衡化時間が短くなります。

SPME アプリケーションにおいて影響を与える最も一般的な処理の 1 つは、「塩析」です。²これには、サンプルに対して飽和量の塩（通常は NaCl）を加えて、ターゲット化合物の分配係数（K）を低下させることにより、ヘッドスペース中での濃度を高くするという処理も伴います。次に実施する塩析により、特に極性化合物や有機揮発性化合物など、多数の化合物の抽出効率が向上します。ただし、塩析がすべてのアプリケーションで役に立つとは限らないことに注意してください。

直接浸漬 (DI)³

複雑または汚れたサンプル（食品および土壌サンプル）では多くの場合、ヘッドスペース SPME を選択します。ただし、親水性が高く揮発性が低い化合物、つまり溶液中での運動速度が比較的遅い化合物の場合、ヘッドスペースへの搬送に対する抵抗性が高くなります。このため、半揮発性および極性化合物に関するヘッドスペースサンプリングは、必ずしも効率的であるとは限りません。極性および半揮発性化合物の抽出効率は、DI-SPME の実施時に大幅に向上します。DI-SPME では、抽出モードの物質移動特性を規定するマトリックスを通しての拡散係数が、システム内に存在する低分子物質すべてにおいて類似しています（図 7）。クリーンなマトリックス由来の非揮発性極性化合物を分析する際に最も広く使用されているのは、ポリアクリレート（PA）相です⁴（図 8）。

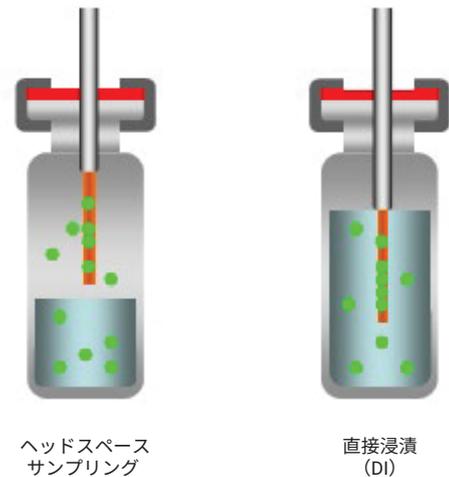


図 7. ヘッドスペースサンプリングおよび直接浸漬ファイバの位置決め



図 8. Agilent SPME Arrow、アクリレート（ポリアクリレート）、1.10 mm、100 μm 、グレー、3 個（p/n 5191-5858）

多孔質固相は、抽出効率の面で利点が存在するにもかかわらず、長時間にわたり複雑なマトリックスに直接曝露されるため、相表面の劣化に関連する特定の欠点も存在します。また、高濃度のターゲット化合物または干渉物質が含まれるマトリックスからの吸着が原因で、多孔質固相の表面が飽和する可能性もあります。DI-SPME は、特に複雑なマトリックスを処理する際に面倒な作業になる場合があります。ただし、正しく洗浄して適切にコンディショニングすることにより、相の寿命を延長できます。

SPME 相はすべて、特定の溶媒に曝露されると膨張する場合があります（特に、塩素化溶媒の場合）。例えば、非極性溶媒（炭化水素、トルエン、ジクロロメタンなど）と接触すると、PDMS は膨張します。

膨張という点を考慮すると、CWR/PDMS 相は、PDMS/DVB および DVB/CWR/PDMS 相と比較して（同じ動作条件下で）、コーティングの飽和に関連する不自然な結果が生じにくいことに注意する必要があります。その理由は、CWR 粒子は DVB と比較して表面積が大きいいため、CWR/PDMS は PDMS/DVB よりも全体の相容量が大きくなるためです。⁵また CWR/PDMS 相は、低分子量の化合物を吸収するのに十分な程度に小さく、狭い微小孔も備えているため、PDMS/DVB 相と比較して、低分子量および極性化合物に対する親和性が高くなる傾向があります。⁵ CWR/PDMS SPME Arrow は、大きな吸着相を備えており容量も外径も大きい（1.5 mm）ため、DI-SPME 分析用の最適なソリューションです（図 9）。



図 9. Agilent Smart SPME Arrow、カーボン WR/PDMS（カーボンワイドレンジ、ポリジメチルシロキサン）、1.50 mm、120 μm 、ライトブルー、3 個（p/n 5610-5863）

Agilent SPME のポートフォリオ

アジレントでは、固相マイクロ抽出 (SPME) サンプル前処理用の高品質の製品を提供しています。また、SPME Arrow とファイバを 3 パックで提供しており、この中にはファイバホルダや注入口ガイドなどの関連アクセサリも含まれています。

表 1. Agilent SPME 製品ポートフォリオ内の SPME ファイバおよび Arrow、Smart: PAL3 対応

部品番号	ファイバ/Arrow	Smart	製品概要	ファイバゲージ/ Arrow 外径	相の長さ	相の厚さ	色	パック	
5191-5877、 G7371-67001	両方	いいえ	SPME ファイバおよび SPME Arrow 用 マニュアル注入キット	NA	NA	NA	NA	各 1 個	
5191-5876	ファイバ	いいえ	アクリレート (ポリアクリレート)	23	10 mm	85 µm	グレー	3 パック	
5610-5876	ファイバ	はい		23	10 mm	86 µm	グレー	3 パック	
5191-5858	Arrow	いいえ		1.1 mm	20 mm	100 µm	グレー	3 パック	
5610-5858	Arrow	はい		1.10 mm	20 mm	100 µm	グレー	3 パック	
5191-5875	ファイバ	いいえ	カーボン WR/PDMS (カーボンワイドレンジ/PDMS)	23	10 mm	95 µm	ダークブルー	3 パック	
5610-5875	ファイバ	はい		23	10 mm	95 µm	ダークブルー	3 パック	
5191-5859	Arrow	いいえ		1.1 mm	20 mm	120 µm	ライトブルー	3 パック	
5191-5863	Arrow	いいえ		1.5 mm	20 mm	120 µm	ライトブルー	3 パック	
5610-5859	Arrow	はい		1.10 mm	20 mm	120 µm	ライトブルー	3 パック	
5610-5863	Arrow	はい		1.50 mm	20 mm	120 µm	ライトブルー	3 パック	
5191-5874	ファイバ	いいえ		DVB/カーボン WR/PDMS	23	10 mm	80 µm	ダークグレー	3 パック
5610-5874	ファイバ	はい			23	10 mm	80 µm	ダークグレー	3 パック
5191-5861	Arrow	いいえ	1.1 mm		20 mm	120 µm	ダークグレー	3 パック	
5191-5864	Arrow	いいえ	1.5 mm		20 mm	120 µm	ダークグレー	3 パック	
5610-5861	Arrow	はい	1.10 mm		20 mm	120 µm	ダークグレー	3 パック	
5610-5864	Arrow	はい	1.50 mm		20 mm	120 µm	ダークグレー	3 パック	
5191-5870	ファイバ	いいえ	PDMS (ポリジメチルシロキサン)		23	10 mm	7 µm	緑	3 パック
5610-5870	ファイバ	はい			23	10 mm	7 µm	緑	3 パック
5191-5871	ファイバ	いいえ		23	10 mm	30 µm	黄	3 パック	
5610-5871	ファイバ	はい		23	10 mm	30 µm	黄	3 パック	
5191-5872	ファイバ	いいえ		23	10 mm	100 µm	赤	3 パック	
5610-5872	ファイバ	はい		23	10 mm	100 µm	赤	3 パック	
5191-5862	Arrow	いいえ		1.1 mm	20 mm	100 µm	赤	3 パック	
5191-5866	Arrow	いいえ		1.5 mm	20 mm	100 µm	赤	3 パック	
5610-5862	Arrow	はい		1.10 mm	20 mm	100 µm	赤	3 パック	
5610-5866	Arrow	はい		1.50 mm	20 mm	100 µm	赤	3 パック	
5191-5867	Arrow	いいえ		1.5 mm	20 mm	250 µm	黒	3 パック	
5610-5867	Arrow	はい		1.50 mm	20 mm	250 µm	黒	3 パック	
5191-5873	ファイバ	いいえ		PDMS/DVB (PDMS/ジビニルベンゼン)	23	10 mm	65 µm	紫	3 パック
5610-5873	ファイバ	はい			23	10 mm	65 µm	紫	3 パック
5191-5860	Arrow	いいえ			1.1 mm	20 mm	120 µm	紫	3 パック
5191-5865	Arrow	いいえ			1.5 mm	20 mm	120 µm	紫	3 パック
5610-5860	Arrow	はい	1.10 mm		20 mm	120 µm	紫	3 パック	
5610-5865	Arrow	はい	1.50 mm		20 mm	120 µm	紫	3 パック	

表 2. Agilent SPME ファイバおよび Arrow バリエティキット

部品番号	ファイバ/Arrow	Smart	製品概要	ファイバゲージ/ Arrow 外径	相の長さ	相の厚さ	色	パック
5191-5879	ファイバ	いいえ	SPME ファイバセレクションセット 2 – PDMS (7 µm, 30 µm, および 100 µm)、DVB/CWR/PDMS (80 µm)、DVB/PDMS (65 µm)	23	10 mm	複数	複数	5 パック
5610-5879	ファイバ	はい	Smart SPME ファイバセレクションセット 2 – PDMS (7 µm, 30 µm, および 100 µm)、ポリアクリレート (85 µm)、CWR/PDMS (95 µm)	23	10 mm	複数	複数	5 パック
5191-5878	ファイバ	いいえ	SPME ファイバセレクションセット 1 – PDMS (100 µm)、ポリアクリレート (85 µm)、CWR/PDMS (95 µm)、DVB/PDMS (65 µm)、DVB/CWR/PDMS (80 µm)	23	10 mm	複数	複数	5 パック
5610-5878	ファイバ	はい	Smart SPME ファイバセレクションセット 1 – PDMS (100 µm)、ポリアクリレート (85 µm)、CWR/PDMS (95 µm)、DVB/PDMS (65 µm)、DVB/CWR/PDMS (80 µm)	23	10 mm	複数	複数	5 パック
5191-5869	Arrow	いいえ	SPME Arrow セレクションセット 2 – PDMS (1.10 mm, 100 µm)、ポリアクリレート (1.10 mm, 100 µm)、CWR/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、DVB/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、DVB/CWR/PDMS (1.10 mm, 120 µm)	1.1 mm	20 mm	複数	複数	5 パック
5610-5869	Arrow	はい	Smart SPME Arrow セレクションセット 2 – Smart SPME Arrow, PDMS (1.10 mm, 100 µm)、Smart SPME Arrow, ポリアクリレート (1.10 mm, 100 µm)、Smart SPME Arrow, CWR/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、Smart SPME Arrow, DVB/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、Smart SPME Arrow, DVB/CWR/PDMS (1.10 mm, 120 µm)	1.10 mm	20 mm	複数	複数	5 パック
5191-5868	Arrow	いいえ	SPME Arrow セレクションセット 1 – PDMS (1.10 mm, 100 µm)、ポリアクリレート (1.10 mm, 100 µm)、CWR/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、DVB/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、PDMS (1.50 mm, 250 µm)	複数	20 mm	複数	複数	5 パック
5610-5868	Arrow	はい	Smart SPME Arrow セレクションセット 1 – Smart SPME Arrow, PDMS (1.10 mm, 100 µm)、Smart SPME Arrow, ポリアクリレート (1.10 mm, 100 µm)、Smart SPME Arrow, CWR/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、Smart SPME Arrow, DVB/PDMS (1.10 mm, 120 µm)、Smart SPME Arrow, PDMS (1.50 mm, 250 µm)	複数	20 mm	複数	複数	5 パック

表 3. 推奨 Agilent SPME 消耗品

部品番号	製品概要
5191-5877	SPME ファイバまたは Arrow マニュアル注入キット
392609902	Merlin マイクロシール SPME 交換用マイクロシール、Varian/Bruker 1079 GC 用、23 ゲージ
5182-3442	Merlin マイクロシールスタータキット、汎用 (100 psi)、ナットとマイクロシールを含む
5182-3444	Merlin マイクロシール汎用 (100 psi)、交換用マイクロシール
5182-3445	Merlin マイクロシール 100 psi ナット
5182-3446	SPME Arrow 用 Merlin マイクロシールナット
5182-3447	1.1 mm Arrow SPME プローブ用の交換用マイクロシール
5182-3448	1.5 mm Arrow SPME プローブ用の交換用マイクロシール
5183-4757	注入口セプタム、プリード/温度最適化 (BTO)、ノンスティック、11 mm
5183-4759	注入口セプタム、高性能グリーン、ノンスティック、11 mm
5190-4048	注入口ライナ、ウルトラライナート、スプリットレス、ストレート、内径 0.75 mm、SPME 用
5190-6168	注入口ライナ、ウルトラライナート、スプリットレス、ストレート、内径 2 mm
5182-0837	バイアル、クリンプトップ、ヘッドスペース、透明、平底、20 mL、23 × 75 mm、100 個
5188-2753	バイアル、スクリュートップ、ヘッドスペース、透明、20 mL、23 × 75 mm、100 個、バイアルサイズ：22.75 × 75 mm (18 mm キャップ)
5188-6537	バイアル、スクリュートップ、ヘッドスペース、茶色、丸底、20 mL、23 × 75 mm、100 個、バイアルサイズ：22.75 × 75 mm (18 mm キャップ)
5190-2239	バイアル、クリンプトップ、ヘッドスペース、茶色、丸底、認定、20 mL、23 × 75 mm、100 個
5190-2286	バイアル、クリンプトップ、ヘッドスペース、茶色、目盛およびラベル付き、平底、認定、20 mL、23 × 75 mm、100 個
5188-2759	キャップ/セプタム、スクリュ、ヘッドスペース、スチール、高温セプタム、認定、18 mm、100 個、キャップサイズ：18 mm
8010-0165	キャップ/セプタム、クリンプ、ヘッドスペース、20 mm、銀マグネティック、茶褐色 PTFE/シリコン、100 個、キャップサイズ：20 mm
8010-0420	キャップ/セプタム、クリンプ、ヘッドスペース、20 mm、バイメタルマグネティック、PTFE/シリコンセプタム、100 個、キャップサイズ：20 mm
G3450-60638	8860/8890 注入口ウェルドメント、SPME Arrow 用
G3452-60930	7890 ターントップアセンブリ、拡張内径、イナート
G4585-60633	9000 注入口ウェルドメント、SPME Arrow 用
G7371-67001	PAL3 位置決めリング (グレー)、S/SL 注入口用
G6500-88020	10/20 mL バイアル輸送用マグネット、PAL シリーズオートサンプリングシステム (PAL XT システム) で使用
G6500-88043	スプリット/スプリットレスアダプタリング、PAL シリーズオートサンプリングシステム (PAL XT システム) で使用

参考文献

1. Ridgway, K.; Lalljie, S. P. D.; Smith, R. M. Sample Preparation Techniques for the Determination of Trace Residues and Contaminants in Foods. *J. Chromatog. A* **2007**, 1153(1-2), 36-53.
2. Westland, J. SPME ヘッドスペースアプリケーションによる塩を用いた成分濃度の増加の評価. Agilent Technologies application note, publication number 5994-3159JAJP, **2021**.
3. Lancioni, C. et al. Headspace Solid-Phase Microextraction: Fundamentals and Recent Advances. *Advances in Sample Preparation* **2022**, 3, 100035.
4. Westland, J. Analysis of Parathion-Ethyl in Water with 85 μm Polyacrylate SPME Fibers. Agilent Technologies application note, publication number 5994-1546EN, **2019**.
5. Pawliszyn, J. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. **2012**, 61-97.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE65296671

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, February 13, 2023

5994-5775JAJP