

アニリンの測定方法

・固相抽出 - ガスクロマトグラフ質量分析法

1 試薬

- ・標準物質：アニリン標準品（試薬特級）
- ・サロゲート内標準物質：アニリン-2,3,4,5,6- d_5 （99.6 atom% D）
- ・シリンジスパイク内標準物質：ナフタレン- d_8 標準品（98%）（注1）
- ・水：日本工業規格 K 0557 に規定する A1～A4 の水（注2）
- ・アセトン：残留農薬・PCB 試験用
- ・ヘキサン：残留農薬・PCB 試験用
- ・ジクロロメタン：残留農薬・PCB 試験用
- ・メタノール：残留農薬・PCB 試験用
- ・酢酸メチル：環境分析用
- ・硫酸ナトリウム：残留農薬・PCB 試験用
- ・水酸化ナトリウム：特級
- ・固相抽出カートリッジカラム（注3）：スチレンジビニルベンゼン共重合体

（注1）シリンジスパイク内標準物質にはアニリンを妨害せず、安定して検出されるものを使用する。また、アニリンの保持時間と大きく離れないものが望ましい。ここではナフタレン- d_8 を使用した。

（注2）アニリンの空試験濃度が十分に低いもの。

（注3）スチレンジビニルベンゼン共重合体を充填した固相カートリッジカラムとして、GLサイエンス製 InertSep® PLS-2、Waters 社製の Sep-Pak® PS-2 等がある。

2 器具・装置

- ・ガラス器具類：使用前に水で洗浄した後、更にアセトン、次いでヘキサンで洗浄し、乾燥したものを使用する。
- ・pH 計：校正して使用する。
- ・固相抽出用器具：カートリッジ、コンセンレーター、注射筒等
- ・窒素吹き付け濃縮装置
- ・ガスクロマトグラフ/質量分析計：キャピラリーカラムを装着できるもの

3 試験操作

(1) 試料の採取・運搬

水質試料は細口褐色ガラス瓶（内容積は 500～1,000 mL 程度。金属キャップ付き）に、試料水で内部を 2～3 回共洗い後、泡立てないように静かに容器に流し入れて満水にし、直ちに密栓する。密栓の後、容器中に気泡が無いことを確認する。採取した試料は冷蔵状態で試験室まで運搬し、すみやかに分析する（注 4）。なお、試料水に保存の目的で塩酸を添加してはならない。

また、試料容器のガラス瓶は、洗剤、水、アセトン、ヘキサンの順で洗浄し、乾燥後密栓したものを使用する。

(2) 前処理及び試験液の調製

(ア) 試料を振り混ぜ均一化した後、100 mL を分取し（注 5）、サロゲート溶液としてアニリン- d_5 溶液（200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を加えた後（例えば各 10 μL ）水酸化ナトリウムで pH11～12 に調整する（注 6）。その後、加圧法により試料を固相カートリッジカラム（注 7）に 5～10 mL/min の速度で通水する。（注 8）

(イ) 試料を通水後、注射筒（10 mL）でゆっくりと空気 10 mL を通気してカラム内の水分を取り除く（注 9）。その後、酢酸メチル 4 mL で溶出する（注 10）。なお、溶出流量は一滴 / 秒程度とする。

(ウ) この溶出液に窒素を緩やかに吹き付け、約 1 mL になるまで濃縮する（注 11）（注 12）、（注 13）。この濃縮液にヘキサンを加え 10 mL に定容する。その後、シリンジスパイク内標準液を添加し、硫酸ナトリウム 3g を加えて脱水し（注 14）、測定用バイアルに分取したものを試験液とする。

(3) 空試験液の調製

試料と同量の水を用いて、「3 試験操作（2）前処理及び試験液の調製」に従って試料と同様の処理をして得た試験液を空試験液とする。

(4) 標準液の調製

標準物質及びサロゲート内標準物質はそれぞれ 100 mg を精秤して酢酸メチルで正確に 100 mL に定容し、1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準原液及びサロゲート溶液を調製する。また、シリンジスパイク内標準物質は 50 mg を精秤してジクロロメタンで正確に 50 mL に定容し、1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のシリンジスパイク内標準原液を調製する。

標準原液及びサロゲート溶液は適宜酢酸メチルで希釈し、標準液は 5 段階以上になるように酢酸メチル溶液として調製する（注 15）。サロゲート溶液は各標準液に一定濃度で調製

する。また、各標準液にシリンジスパイク内標準液として、ナフタレン-*d*₈を一定濃度となるよう添加する。

これを検量線作成用標準液とし、それぞれの一定量（試験液と同量。例えば、1μL）をGC/MSに注入する。

(5)分析

(ア)GC/MS測定条件

(a)GC

- ・カラム：ポリエチレングリコール化学結合型（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm 程度）カラム又は同等以上の分離性能をもつもの（注 16）
- ・キャリアガス：ヘリウム、1 mL/min
- ・カラム温度：60（1min）→5 /min→145（0min）→10 /min→240（0 min）
- ・注入口温度：250
- ・注入方法：スプリットレス（パージ開始時間 1 min）
- ・注入液量：1 μL

(b)MS

- ・イオン源温度：230
- ・イオン化法：EI
- ・検出モード：SIM

(c)選択イオン

表 1 対象物質の選択イオン（注 17）

物質名	定量イオン (<i>m/z</i>)	確認イオン (<i>m/z</i>)
アニリン	93	65 (66)
アニリン- <i>d</i> ₅	98	71
ナフタレン- <i>d</i> ₈	136	108

(イ)検量線（注 18）（注 19）

検量線作成用標準液の一定量を GC/MS に注入して、検量線作成用標準液中のアニリンとアニリン-*d*₅の面積比を求め、検量線を作成する。

(ウ)試験液の測定

試験液の一部を GC/MS に注入する。試験液中のアニリンとアニリン-*d*₅の各測定イオンの面積を求める。

(エ) 同定

各対象物質について、定量イオン及び確認イオンが、検量線作成に用いた標準物質の保持時間の±5 秒以内に出現し(注 20)、確認イオンの強度比が検量線作成に用いた標準物質における強度比の±20%以下であれば、対象物質等が存在していると思なす。

(オ) 定量及び計算

試験液中のアニリン及びアニリン- d_5 の面積比並びにアニリン- d_5 の添加量から、(イ)で作成した検量線を用いて、アニリンの量(検出量)を求め、次式によって試料中のアニリンの濃度を計算する。

$$\text{アニリン濃度}(\mu\text{g/L}) = (\text{検出量}(\text{ng}) - \text{空試験液の検出量}(\text{ng}) (\text{注 21})) / \text{試料量}(\text{mL})$$

(注4) アニリンは光分解や生分解することが報告されている。

(注5) 吸引ろ過により試料が減圧状態に置かれることでアニリンが揮散してしまうため、試料に SS があってもろ過操作を行わない。

(注6) 海水等の多量に塩類が含まれる試料では水酸化ナトリウムを溶解させたとき、不溶性の水酸化物を生じる。その場合は 30 分 ~ 1 時間程度静置して沈降させる。

(注7) 使用前に酢酸メチル約 10 mL、メタノール約 5 mL、次いで精製水約 10 mL を通して洗浄する。

(注8) 固相抽出時にはコンセントレーターの吸水口を試料容器の底部から 2~3 cm の位置にセットし、大部分の試料が通水するまで出来るだけ SS 分を吸引しないようにする。また、(注 6) の沈殿させた試料においても、同様に沈殿物を最後に吸引させて通水する。

(注9) アスピレータによる通気脱水を行うと、著しい回収率の低下の原因となる。ここでは完全に脱水しなくても間隙水を除く程度でよい。

(注10) 事前に試料量と同量の精製水に既知量の対象物質を添加し、固相抽出を行い、対象物質の溶出に必要な酢酸メチルの量を確認しておく。

(注11) 溶出後、0.3 mL 程水分が残るが、分取して除去せずに窒素により約 1 mL まで濃縮した後、硫酸ナトリウムを加えて脱水する。また、ここでは約 0.7 mL の酢酸メチルを残しておくこと。酢酸メチルが無くなると、ヘキサンと硫酸ナトリウムを添加して脱水したときにヘキサンに対象物質が移行しない。

(注12) 窒素を吹き付ける操作では、濃縮液が飛散しないように注意する。濃縮液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素の流量を調節する。また、乾固させると窒素の吹き付けによって対象物質が揮散することがあるので注意する。

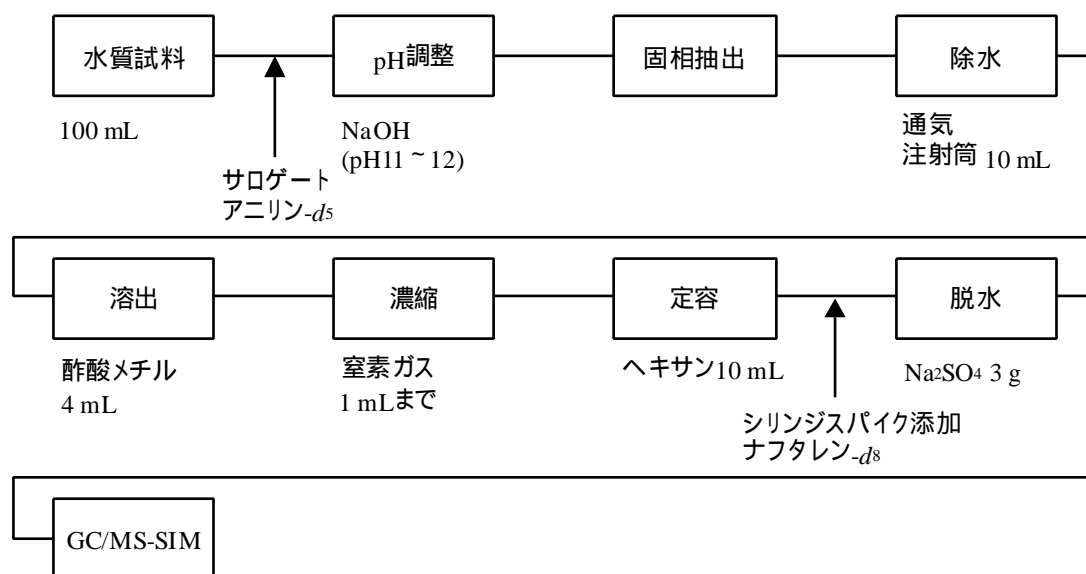
(注13) 液量が減る度に段階的に少量のヘキサンで濃縮容器の壁面を洗浄する。

- (注14) よく振とうして脱水する。この操作により対象物質はヘキサンに移行する。
- (注15) アセトンとの縮合反応による Siff 塩基の生成防止のため、標準液の調製用溶媒にアセトンを使用しないこと。
- (注16) ここでは InertCap® Pure WAX を使用した。
- (注17) アニリンの確認イオン m/z 65、66 はサロゲート物質からのフラグメントイオンの影響を受けるため、アニリン- d_6 の添加量はアニリンの定量に影響を与えないレベルで使用する。参考資料にアニリンとアニリン- d_6 のマスペクトルを示す。
- (注18) 検量線の切片は限りなく 0 (ゼロ) に近づける。
- (注19) 検量線の R^2 は 0.990 以上 (0.995 以上が望ましい) であることを確認する。これ以下の場合は、測定条件の見直しや検量線の範囲を狭くする等して、再度作成する。
- (注20) 試験液中に夾雑物が多い場合には、保持時間が変わることがあるので注意する。
- (注21) 空試験液における検出値が空試験に用いた水以外の試料に由来する場合は、空試験液の検出量を差し引くこと。

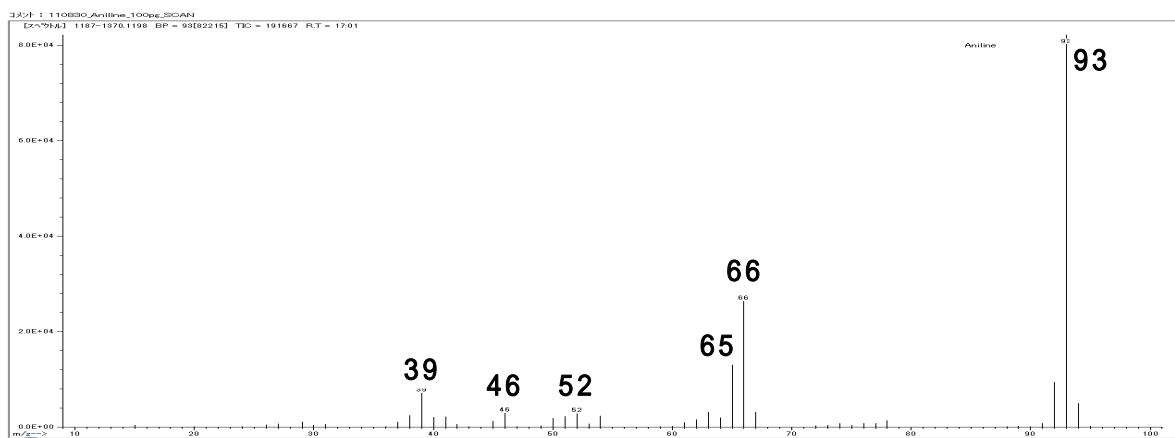
備考

- 1 ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものを用いてもよい。
- 2 この測定方法における用語の定義その他で、この測定方法に定めのない事項については日本工業規格に定めるところによる。

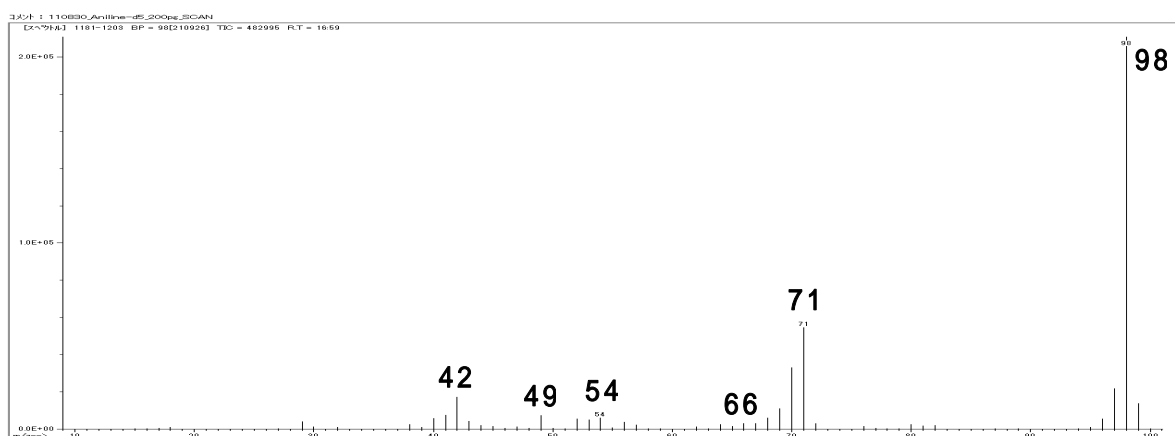
分析法フローチャート



参考資料: アニリンとアニリン- d_5 のマススペクトル



アニリンのマススペクトル



アニリン- d_5 のマススペクトル