

短報

ヘッドスペースGC/MSによる環境水中のアニリンの迅速分析法

古閑豊和・馬場義輝

ヘッドスペースGC/MS法による環境水中のアニリンの迅速な分析法の開発を目的とし、塩析剤と分析条件の検討を行った。試料 10 mLに炭酸ナトリウム 2 gを添加し、加温温度 80 °C, 20 分間保持で最大感度が得られた。最適条件を用いて、検量線の直線性、検出下限、定量下限及び実試料への添加回収率を調査したところ、本分析法の検出下限は 0.36 $\mu\text{g/L}$ で、定量下限は 0.96 $\mu\text{g/L}$ となった。また、河川水にアニリンを添加し回収率 (n=5) を求めたところ 105 % (RSD 5.4 %) であり良好であった。本法を福岡県内で採取した河川水に適用したところ、いずれの試料からもアニリンは検出されなかった。

[キーワード: アニリン、水生生物の保全に係る環境基準、ヘッドスペースGC/MS]

1 はじめに

アニリンは、染料、医薬品等に使われている芳香族アミン類の一種であるが、水生生物に対し毒性影響を示すことが判明した¹⁾²⁾ため、我が国では、平成 24 年 3 月に水生生物の保全を目的にした要監視項目に追加されている³⁾。

現在、環境水中のアニリンの測定法として水質試料にサロゲート物質を添加し、固相抽出カートリッジに吸着捕集した後に溶媒溶出してGC/MS-SIM法で定量する方法が環境省から示されている³⁾。この方法は、前処理時に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こと等の注意事項が記されており、前処理操作に一定の配慮が必要となる。

アニリンは、水中に排出されると大気中に移行することはないと推測されているが、世界保健機関 (WHO) の定義⁴⁾にあてはめると揮発性物質に分類され、高揮発性有機化合物の分析法を適用できる可能性がある。

そこで今回、前処理が簡便であり、揮発性有機化合物の分析に広く用いられているヘッドスペースGC/MS (HS-GC/MS) を用いた分析法を検討し良好な結果が得られたので報告する。

2 実験方法

2・1 試薬

アニリン標準溶液は、SUPELCO製 (2000 mg/Lメタノール溶液) を、またサロゲート内標準物質としてCIL製のアニリン-d5を、シリンジスパイク内標準物質として和光純薬工業製の4-ブロモフルオロベンゼン (4-BFB) を用いた。

塩化ナトリウムと硫酸ナトリウムは、和光純薬工業製のPCB試験用を、炭酸ナトリウムは、関東化学製の特級試薬

を、使用前に 450 度で 3 時間加熱処理しデシケータ内で室温まで放冷した後に用いた。

塩化カルシウムは、和光純薬工業製の特級試薬を、水酸化ナトリウムは、関東化学製の特級試薬を用いた。

ブランク水は、Millipore製Milli-Q Academic A10で精製した水を使用しクロマトグラム中にアニリンのピークが無いことを確認した。

また、分析に使用するバイアルは、105 °Cで 3 時間加熱処理し、室温まで放冷した後に用いた。

2・2 装置

ヘッドスペースオートサンブラは、島津製作所製HS-20を、GC/MSは、島津製作所製QP2010-Ultraを用いた。測定条件を、表1 に示す。

3 結果と考察

3・1 塩析剤の検討

塩析剤の種類と添加量による塩析の効果を確認するため、各塩析剤の添加量を飽和量近くまで変化させて検討を行った。

ヘッドスペースオートサンブラの条件は、バイアル加熱温度を 70 °C、バイアル加熱時間を 15 分とし、その他の条件とGCの条件は、表1 と同様とした。実験方法として、バイアルにブランク水を 10 mL入れ、アニリン、アニリン-d5、内標準物質を 5 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し、塩析剤を加えクリンブキャップにて密栓した後に塩析剤を溶解させてHS-GC/MSで測定した。塩析剤には、塩化ナトリウムとその他のナトリウム塩として硫酸ナトリウムと炭酸ナトリウム、さらにカルシウム塩として塩化カルシウムを用いた。表2 に各塩析剤の溶解度を示す。

表1 ヘッドスペース GC/MS の分析条件

GC/MS	QP2010 Ultra (Shimadzu Co.)			
Headspace sampler	HS-20 (Shimadzu Co.)			
GC	Colum	Restek Rtx-624		
	Oven temperature	40°C(2.5 min)→35°C/min→200°C(5 min)		
	Carrier gas	He(1.28 mL/min)		
MS	Interface temperature	200°C		
	Ion source temperature	230°C		
	Detector voltage	0.25 kV		
	Measuring method	SIM		
	Selected monitor ion	aniline	93	66.65
		aniline-d ₅	98	71
		4-bromofluorobenzene	174	176
Headspace sampler	Oven temperature	80°C		
	Heating time	20 min		
	Head pressure	50 kpa		
	Pressuring time	0.5 min		
	Injection time	0.1 min		
	Sample line temperature	150°C		
	Transfer line temperature	150°C		

表2 塩析剤の水への溶解度

Salting-out reagent	Solubility ^{a)} (g/100g, 25°C)
NaCl	26.4
Na ₂ SO ₄	21.9
Na ₂ CO ₃	22.7
NaOH	45.5
CaCl ₂	45.3

a) Data were obtained from "Handbook of Chemistry" of reference⁵⁾

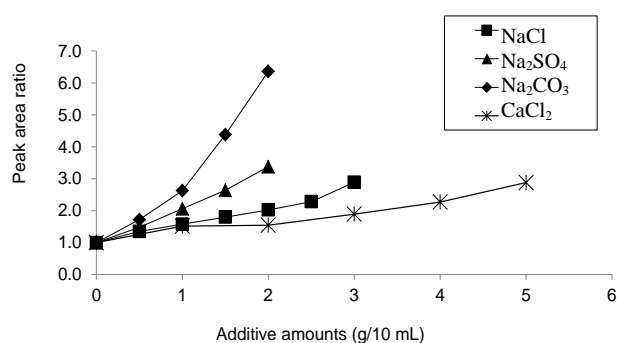


図1 アニリンに対する各塩析剤の塩析効果

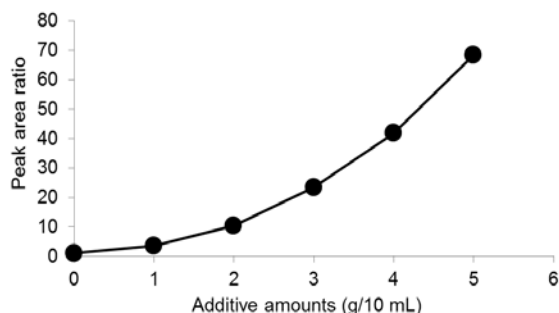


図2 アニリンに対する水酸化ナトリウムの塩析効果

各塩析剤の溶解度を参考に塩化ナトリウムは、0-3 g、硫酸ナトリウムと炭酸ナトリウムは、0-2 g、塩化カルシウムは、0-5 gまで変化させて添加し、測定を3回行った。その結果を図1に示す。アニリンのピーク面積は、塩析剤の違いにより異なり、各塩析剤の無添加時のピーク面積と添加量ごとのピーク面積の比により塩析の効果を考察することとした。塩化ナトリウムは、無添加のときと比べて3 g添加したときに約3倍ピーク面積比が増加した。炭酸ナトリウムでは、無添加のときと比べて2 g添加したときに約6.5倍ピーク面積比が増加した。

炭酸ナトリウムは、水溶液がアルカリ性を示すため、塩析効果が向上した原因がpHの影響を受けていることが考えられた。志水ら⁶⁾は、HS-GC/MSによる1,4ジオキサンの分析で水酸化ナトリウムの添加により感度が著しく向上することを報告しており、その原因がpHと塩析効果の相乗効果であると考察している。

そこで、pHと塩析効果の相乗効果を確認するために水酸化ナトリウムを塩析剤として用いて検討を行った。水酸化ナトリウムの添加量は、0-5 gまで変化させ、他の塩析剤で検討した方法と同様にHS-GC/MSにて測定を行った。結果を図2に示す。添加量を増加させていくに従いピーク面積比が増加した。添加量が5 gでは、無添加の時と比較して約70倍ピーク面積比が増加した。水酸化ナトリウム5 g添加では、炭酸ナトリウム2 g添加より約10倍ピーク面積比が向上していたことより、pHと塩析による相乗的な効果によりアニリンの水への溶解量が減少し気相中に移行していったことが推測される。水酸化ナトリウムを塩析剤として使用することでアニリンの感度を大幅に向上させることが判明したが、水酸化ナトリウムは、強アルカリ性で潮解性をもち溶解熱の発生など実際の操作に一定の配慮が必要となる。そのため、これ以降の検討では、水酸化

ナトリウムの次に感度向上が判明した炭酸ナトリウムを塩析剤として用いることとした。

3・2 バイアル加熱温度の検討

アニリンの気液平衡時の気相中濃度の加熱温度の影響を調査した。実験の方法は、バイアル加熱時間 15 分、その他の条件は表 1 のとおりとし、塩析剤として炭酸ナトリウム 2 g を添加した。バイアル加熱温度は、80 °C 以上に加熱すると水分が分析カラム等に影響を与えることが考えられるため、50 °C–80 °C まで変化させることとした。測定は、3 回行った。結果を図 3 に示す。

アニリン、アニリン-d5 ともに 80 °C までの温度の上昇に伴ってピーク面積が増加した。4-BFB は、ピーク面積がほとんど変化しなかった。アニリンは、沸点が 184 °C と他の揮発性物質と比較すると高い。そのため高温にすることで気相に移行しやすくなることが推測される。以上の結果より加熱温度は、80 °C として以降の検討を行うこととした。

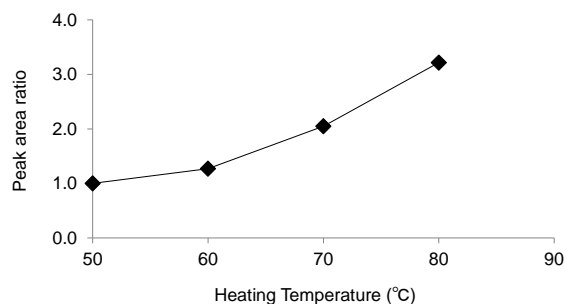


図 3 アニリンに対するバイアル加熱温度の影響

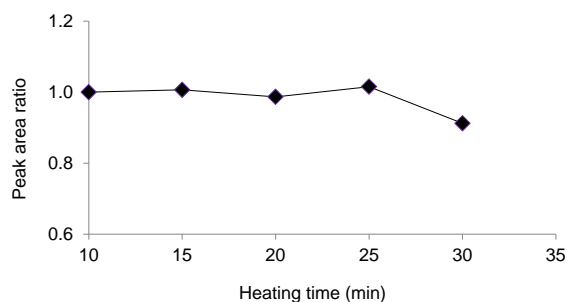


図 4 アニリンに対するバイアル加熱時間の影響

3・3 バイアル加熱時間の検討

バイアル加熱温度が 80 °C の時のアニリンの気液分配が平衡に達する時間の検討を行った。

実験の方法は、バイアル加熱時間以外は表 1 のとおりとし、塩析剤として炭酸ナトリウムを 2 g 添加し、バイアルの加熱時間を 10–30 分まで変化させた。測定は、3 回行った。その結果を図 4 に示す。

加熱時間 10 分で平衡に達した。また加熱時間 10–25 分ではアニリン、アニリン-d5 ともにピーク面積がほとんど変化しなかったが、20 分のときのアニリンのピーク面積のばらつきが小さかったため、バイアル加熱時間を 20 分として以降の検討を実施した。

3・4 検量線

2・1 の各標準溶液をメタノールで希釈した後、ブランク水に添加し、アニリンが 1、2、5、10、20、50 μg/L となるように調整した。サロゲート内標準物質は、アニリン-d5 が 5 μg/L、シリンジスパイク内標準物質は、4-BFB が 5 μg/L となるように添加し、塩析剤として炭酸ナトリウムを 2 g 添加した。また比較のため一般的な塩析剤として用いられる塩化ナトリウム 3 g を添加したものを測定した。炭酸ナトリウムを塩析剤として使用して得られた SIM クロマトグラムを図 5 に示す。クロマトグラムには、測定の妨害となるようなピークは見られなかった。また塩化ナトリウムを塩析剤として使うとアニリンの 1 μg/L の S/N 比が 10 に満たなかったため塩化ナトリウム使用時には、2 μg/L を検量線の下限值とした。

炭酸ナトリウムを使用した際の検量線を図 6 に示す。炭

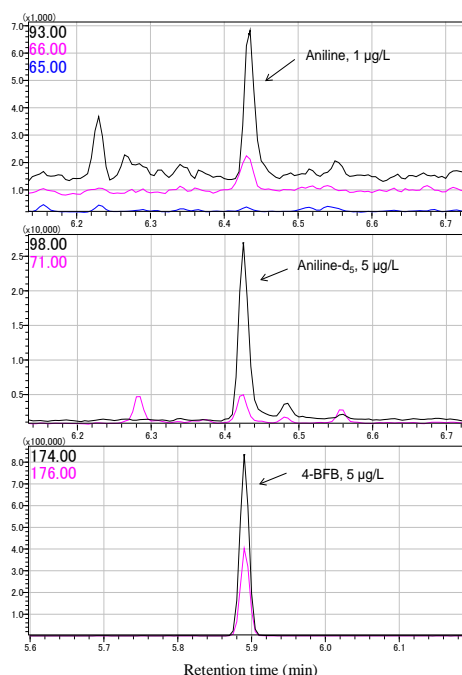


図 5 標準溶液中のアニリン、アニリン-d5、4-BFB の SIM クロマトグラム

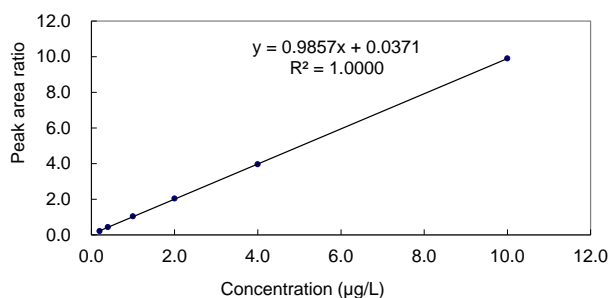


図 6 検量線 (塩析剤: 炭酸ナトリウム)

が、5 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し、HS-GC/MSにて測定し添加回収試験 (n=5) を行った。塩析剤は、塩化ナトリウム 3 g 又は炭酸ナトリウム 2 g を使用し、それぞれについて測定を行った。結果を表5 に示す。いずれの試料も回収率がほぼ 100 %となり良好であった。

3・7 福岡県内河川水中のアニリンの測定

今回検討した方法で福岡県内の河川水 (9 地点) を測定したところ、どの試料からもアニリンは検出されなかった。測定したSIMクロマトグラムの一例を図7 に示す。今後、底質中のアニリンの存在が推測されることから底質中のアニリンの迅速分析法の開発を検討する予定である。

文献

- 1) R.Kuhn *et al.*: Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test, *Wat.Res*, 23, 501-510, 1989.
- 2) J.H.Canton *et al.*: Reproducibility of Short-term and

reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments, *Hydrobiologia*, 59, 2, 135-140, 1978.

- 3) 環境省 : 環境省通知環水大発第1303272号, 2014.
- 4) World Health Organization, Indoor air quality: organic pollutants Report on a WHO Meeting, http://whqlibdoc.who.int/euro/r&s/EURO_R&S_111.pdf.
- 5) 鈴木信夫 : 化学便覧 基礎編II, 改訂4版, p.165-167, 1993 (丸善, 東京) .
- 6) 志水信弘ら : 廃棄物資源循環学会論文誌, 23, 5, 240-249, 2012.
- 7) 環境省 : 化学物質実態調査の手引き (平成20年度版), 2009.

(英文要旨)

Rapid Analysis of Aniline in Environmental Water by Headspace GC/MS

Toyokazu KOGA and Yoshiteru BABA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

A rapid determination method for aniline in environmental water by Headspace GC/MS has been developed. The sensitivity of aniline highest when 2 g sodium carbonate was added as a salting-out reagent at 80 °C during 20 min of heating. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) were 0.36 $\mu\text{g/L}$ and 0.96 $\mu\text{g/L}$, respectively. The average recovery was 105% (n=5, RSD5.3 %). Aniline was not detected in river water sampled in Fukuoka Prefecture.

[Key words ; Aniline, Environmental quality standards for the conservation aquatic life, Headspace GC/MS]