

アニリンの測定手法検討結果

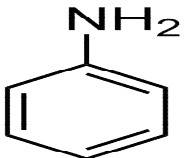
目 次

- 1 . はじめに
- 2 . 文献調査
- 3 . 予備調査
 - 3 . 1 試薬
 - 3 . 2 抽出条件
 - 3 . 3 フィルターへのアニリン添加方法
 - 3 . 4 ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/MS) 分析条件
 - 3 . 5 ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/FID) 分析条件
- 4 . 脱着率
- 5 . 回収率
- 6 . 保存性
- 7 . 検量線
- 8 . 検出下限および定量下限
- 9 . まとめ
- 10 . 検討担当機関
- 11 . 参考文献

1. はじめに

表 1 にアニリンの物理化学的性状¹⁾および許容濃度¹⁻³⁾、図 1 に構造式を示す。

表 1 アニリンの物理化学的性状等

CAS No.	62-53-3	
別名	アニリンオイル、アミノベンゼン フェニルアミン、ベンゼンアミン	
構造式		
分子式	C ₆ H ₇ N	
分子量	93.13	
物性	比重(液体)	1.022g/mL(20)
	沸点	84
	融点	- 6
	蒸気圧	40 Pa(20)
	水への溶解度	3.4 g/100 ml(20)
	log Pow (オクタノール/水分配係数)	0.94
許容濃度等	OSHA	5ppm (PEL)
	ACGIH	2ppm (TLV-TWA)
	NIOSH	Ca
	日本産業衛生学会	1ppm

性状：無色または淡黄色の液体で特有の臭気があり、次第に澄紅色になる。また、空気中では赤褐色になる。

主な用途：染料、媒染料、中間物(アニリンソルト、ジエチルアニリン、スルファニル酸、アセトアニリドなど)、ゴム薬品(硫化促進剤)、医薬品(肺炎、化膿疾患、解熱剤)、有機合成、火薬原料(ヘキサソ、テトリール)、キャラコなっ染染色、殺菌剤、ペイント、ワニス、香料調薬、写真薬用のヒドロキソなどの原料、ペントースの検出試薬、鉄・クロム・鉛イオンなどの定量試薬

2. 文献調査

大気中のアニリンの分析についての報告を表 2 に示す。

本報告では最大捕集量で日本産業衛生学会の勧告値である 1ppm の 1/1000 倍まで測定できる方法を目指すため、サンプラーには硫酸含浸ガラスファイバーフィルターを使用し、感度および選択性に優れたガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/MS) 法で分析することを検討した。

硫酸含浸ガラスファイバーフィルターは NIOSH Method No.2017 でアニリンの捕集に用いられている他、アニリン類の分析にも用いられている (OSHA Method No.57,65,71,73,78, 87,93,105、NIOSH Method No.2017,5029)。その多くでは 1L/min で 100L までの捕集が推奨されており、高感度に分析が可能と判断した。

また、Tenax-TA による加熱脱着による方法は特殊な装置が必要となることから、リン酸処理 SEP-PACK C18 については市販品がないことから検討を見送った。

表2 大気中のアニリンの分析についての報告

文献	サンプラー	分析方法
NIOSH Method No.2002	シリカゲル	GC/FID
NIOSH Method No.2017	硫酸含浸フィルター +シリカゲル	GC/FID
OSHA Method No.PV2079	リン酸処理 XAD-7	GC/FID
化学物質分析法開発調査報告書 (平成8年度) 環境庁環境保健部環境安全課	Tenax-TA	加熱脱着 GC/MS
化学物質分析法開発調査報告書 (平成元年度) 環境庁環境保健部保健調査室	リン酸処理 SEP-PACK C18	GC/MS

硫酸含浸ガラスファイバーフィルターからの脱着方法は、NIOSH Method No.2017 においてはエチルアルコールを、OSHA Method No.PV2079 ではアンモニア性メタノールを用いている。しかし、この方法ではフィルターに含浸してある硫酸や余剰のアンモニアがサンプルに混入してしまし、分析機器を傷める可能性がある。このため、他の方法を検討することとした。

硫酸含浸ガラスファイバーフィルターを用いた分析の OSHA Method No.57 (4,4'-Methylenedianiline) においては水酸化ナトリウムとトルエンを用い硫酸含浸ガラスファイバーフィルターから目的物質を抽出した後、誘導化し、GC/ECD で分析する方法が採用されている(図1)。しかし、誘導化は煩雑であることから、本検討では誘導化前のトルエン溶液を GC/MS または FID を用いて分析することを検討した(図2)。

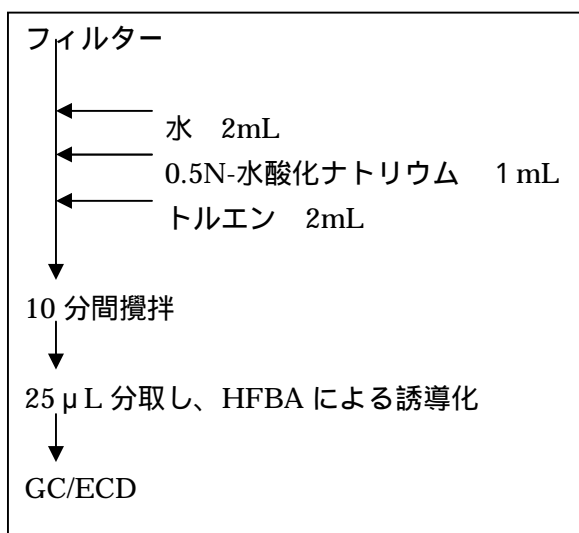


図1 OSHA Method No.57 分析手順

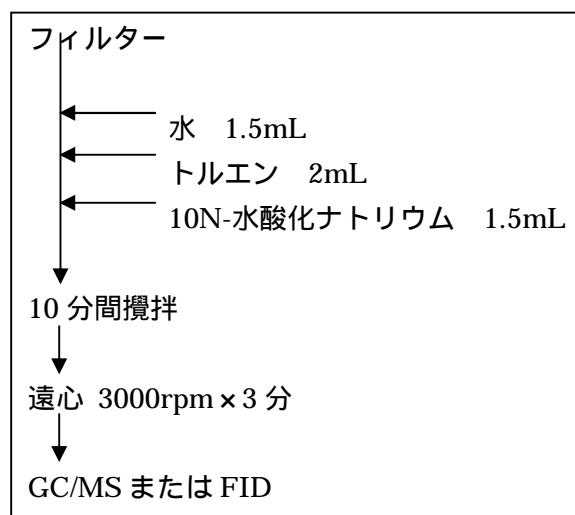


図2 検討分析手順

以上の文献調査結果から、目標濃度は 100L 捕集、2mL 脱着時に日本産業衛生学会の勧告

値 (1E) である 1ppm の 1/1000 倍となる 0.19 $\mu\text{g/mL}$ とし、100L 捕集、2mL 脱着時に日本産業衛生学会の勧告値である 1ppm の 2 倍 (2E) となる 387 $\mu\text{g/mL}$ までの濃度において検討を行った。

検討に使用した硫酸含浸ガラスファイバーフィルターは NIOSH Method や OSHA Method において多くのアニリン類に使用されている SKC 製 (Cat.No.225-9004) とし、捕集は同分析方法の推奨値となる通気速度 1L/min、最大捕集量 100L 以下とした。

3. 予備調査

3.1 試薬

アニリン シグマ・アルドリッチ製 ACS グレード 99.5%
トルエン 関東化学製 高速液体クロマトグラフィー用
ナフタレン-d8 Cambridge Isotope Laboratories 社製 (D8, 99%)
メタノール 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用 (300 倍濃縮)
水酸化ナトリウム 関東化学製 特級
蒸留水 関東化学製 高速液体クロマトグラフィー用

なお、今回の検討においては GC/MS と FID を同時に検討したため、GC/FID においても内部標準にはナフタレン-d8 を使用した。

3.2 抽出条件

抽出条件検討時のガスクロマトグラフ - FID 分析条件を表 3 に示す。

表 3 ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/FID) 分析条件

機器	Agilent Technologies 7890A
検出機	FID
カラム	DB-WAX 30m \times 0.25mm, 0.25 μm
オープン温度	40 (1min) 5 /min 200
キャリアーガス	窒素 1mL/min
注入方法	スプリットレス
注入量	1 μL
注入口温度	200
検出器温度	300

要調査項目等調査マニュアル (平成 12 年度版、環境庁水質保全局水質保全課) アニリン類の分析法において水質試料から固相抽出する際の添加する水酸化ナトリウム濃度が抽出率に影響するとのことから、本検討においても添加する水酸化ナトリウム濃度の影響を調査した。調査は 1.9 $\mu\text{g/mL}$ アニリン-トルエン溶液 2mL を 0.13N-硫酸 1mL と共にねじ口試験管 (16.5 \times 105 \times 10.0mm, スピッチグラス) 内で攪拌することでトルエン中のアニリンを水相に移行させた後、種々の濃度の水酸化ナトリウム 2mL を添加し、攪拌後、トルエン相 1 μL を GC/FID にて分析した (図 3)。抽出率は抽出操作前後のトルエン溶液中のアニリンの量から算出した。結果を図 4 に示す。水酸化ナトリウム濃度 5mol/L 以上でほぼ 100% 近

い抽出率となった。このことから図2の手順にける水酸化ナトリウムは $10\text{mol/L} \times 1.5\text{mL}$ (本抽出率検討の 5mol/L に相当) とした。

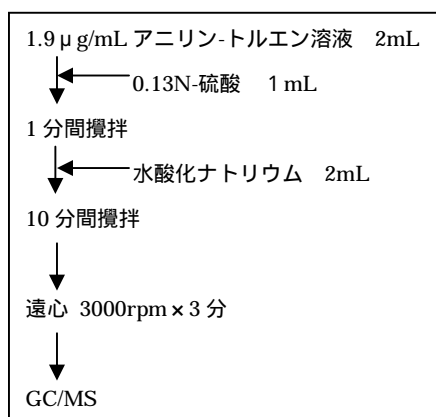


図3 抽出率調査手順

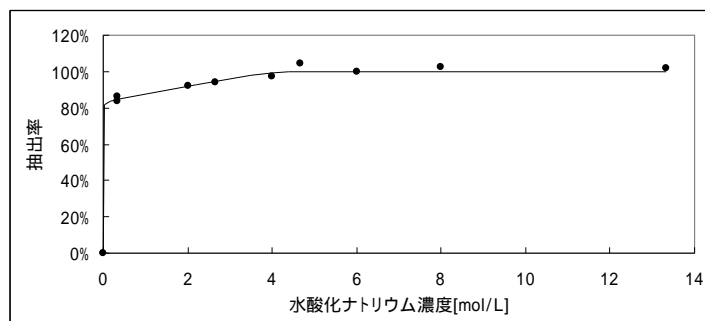


図4 水酸化ナトリウム濃度の抽出率への影響

3.3 フィルターへのアニリン添加方法

10L 捕集、2mL 脱着時に 2E 相当のアニリン ($78\mu\text{g}$) をトルエン溶液の濃度を変え、マイククロシリンジを用いて 4、 $86\mu\text{L}$ をフィルターに直接添加した。添加後は直ちにチャップをし、フィルターは通気方向に対して厚みがないことから 30 分静置後、 $0.1\text{L}/\text{min}$ で 5 分間室内空気を吸引させた後、図2の手順で脱着を行い分析を行った。

その結果、 $4\mu\text{L}$ 添加では 1 層目に 83%、2 層目に 0.04%、 $86\mu\text{L}$ 添加では 1 層目に 20%、2 層目に 26%といずれの添加量でも 90%を上回ることはできなかった。

アニリンはフィルター上の硫酸と反応して捕集されることから、希釈溶媒は両者を溶解できる溶媒にする必要があると考え、希釈溶媒をメタノールとした。また、硫酸との反応を確実にするために添加後の静置時間を 1 時間に延長し、さらに、滴下の際には同じ場所に滴下しない様に注意しながら滴下することとした。

添加量はフィルターに厚みがないことから高濃度の溶液の滴下は破過が予想されること、1 枚のフィルター上に滴下している溶媒の量は $200\mu\text{L}$ が限度であることから、10L 捕集、2mL 脱着時に 2E および $1/100\text{E}$ 相当となるアニリン $3884\mu\text{g}/\text{mL}$ を $200\mu\text{L}$ と $968\mu\text{g}/\text{mL}$ を $4\mu\text{L}$ 添加し同様の試験を行った。

その結果、前者は 1 層目に 93.7%、2 層目に 1.5%が、後者は 1 層目に 100% (2 層目不検出) 捕集され、いずれにおいても 90%以上が回収された。

よって、フィルターへのアニリン添加溶媒はメタノール、静置時間は 1 時間、滴下の際には同じ場所に滴下しない様に注意しながら滴下することとした。

3.4 ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/MS) 分析条件

ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/MS) 分析条件を表4に示す。内部標準物質は当初アニリン-d5 を選択したが、アニリンの定量イオン (93) がアニリン-d5 でも検出されるため、定量性に問題があると判断した。そこで、今回は要調査項目等調査マニュアル (平成 12 年度版、環境庁水質保全局水質管理課) のアニリンの分析において真のアニリンの回

収率を求めるために添加しているナフタレン-d8 を内部標準物質として使用した。

ワックス系カラムで検討した際に前回分析したサンプルの影響を受け、分析値が安定せず、また検量線が曲がる傾向が確認された(図6中「不活性処理ライナ wax系カラム」)。

原因としてアニリンの吸着が考えられることから、カラムは極力アニリンの吸着を抑えることを考え、アミン分析用のカラムを、注入口インサートにはジーエルサイエンス株式会社今中氏の方法(図5)に従いアルカリで処理したライナを用いて検討を行った。

処理手順	
1)	プラスチック製パットを用意。
2)	0.1mol/L程度のNaOH水溶液を入れる。
3)	インサートを浸漬。(2、3時間)
4)	室温で乾燥
5)	60 程度の恒温槽で乾燥
分析上の注意点	
・	インサートは定期的な交換が必要。
・	使用回数は、注入する溶媒やマトリックスに依存するので、10～20分析に1回程度スタンダードを注入し、感度変動・ピーク形状確認する。

図5 ライナの処理方法
(ジーエルサイエンス(株) 今中氏の方法)

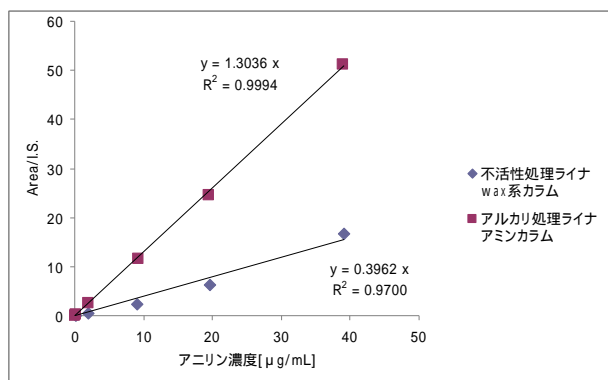


図6 アルカリ処理ライナ使用前後の検量線

表4 ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/MS) 分析条件

機器	Agilent Technologies 7890A
検出機	Agilent Technologies 5975C
カラム	CP-Sil 8 CB for amines 30m x 0.25mm, 0.5 μm または DB-wax 30m x 0.25mm, 0.25 μm
オープン温度	80 (8min) 10 /min 160 10 /min 320
キャリアーガス	ヘリウム 1mL/min
注入方法	パルスドスプリットレス (パルス圧25psi, 1min)
注入量	1 μL
注入口温度	200
注入口ライナ	アルカリ処理ライナ
MSインターフェイス温度	250
MSイオン源温度	230
四重極温度	150
MSモード	SIM
設定イオン (m/z)	アニリン: 93(定量)、66(確認) ナフタレン-d6: 136

その結果、検量線は直線性を示した(図6)。しかし、アニリンおよびナフタレン-d8の感度が落ち続け、温度条件を変更しても感度が低下するため、GC/MSでの検討を断念した。

3.6 ガスクロマトグラフ - 質量分析 (GC/FID) 分析条件

良好な GC/MS 分析条件を見出すことができなかったことから、GC/FID を用いた分析を検討した。検討は表 5 に示す分析条件にて、アニリンを内部標準物質（ナフタレン-d8）入りトルエンで希釈し、8 段階の標準系列を調製し（0.19 ~ 390 $\mu\text{g/mL}$ ）検量線の直線性について確認した。その結果、濃度範囲 0.19 ~ 390 $\mu\text{g/mL}$ （100L 捕集時：1/1000E~2E、10L 捕集時：1/100~20E に相当）において良好な直線性を示したことから、本検討における検出器は GC/FID とした。

なお、本検討に用いたカラムは GC/MS の検討結果より、抽出条件の検討の際に使用した wax 系カラムを使用した。また、注入口ライナは予備検討の濃度範囲（10L 捕集時の 1/100~2E、図 7）では大きな差が見られないものの、市販の不活性処理ライナにおいては若干検量線が曲がっているとも判断できることから、分析濃度範囲（100L 捕集の 1/1000E ~ 2E）の拡大を目指して、以後の検討においても注入口でのアニリンの吸着を抑制するためにアルカリ処理ライナを採用した。

表 5 ガスクロマトグラフ - 質量分析（GC/FID）分析条件

機器	Agilent Technologies 7890A
検出機	FID
カラム	DB-WAX 30m \times 0.25mm, 0.25 μm
オープン温度	65 (1min) 5 /min 155 20 /min 240
キャリアーガス	窒素 1mL/min
注入方法	スプリットレス
注入量	1 μL
注入口温度	200
注入口ライナ	アルカリ処理ライナ
検出器温度	300

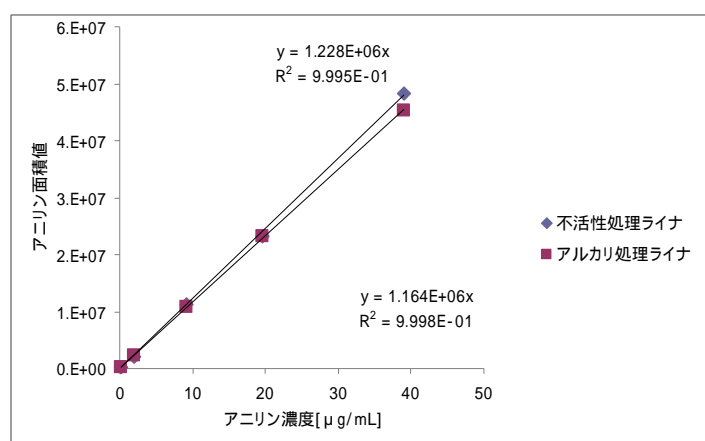


図 7 アルカリ処理ライナと市販不活性処理ライナの違い（予備検討）

4. 脱着率

脱着率は 100L 捕集、2mL 脱着時に目標濃度、1/10E および 2E 相当となる様にアニリン - メタノール溶液をフィルターに直接添加した（アニリン添加量：0.38、39、779 μg ）。添加後は直ちにチャップをし、1 時間静置後、0.1L/min で 5 分間室内空気を吸引（18.3 ~ 20.3

23～24%R.H.)させ、再びキャップをした後、冷蔵庫で一晩保存したフィルターを分析することにより行った。結果を表6に示す。

いずれの濃度においても90%以上の脱着率であり、良好な脱着率を示した。

2層目にピークは検出されたものの、下限値以下または添加量の0.06%未満であったことから、問題無いと思われる。なお、室内空気を吸引したのみのフィルターからはアニリンは検出されなかった。

表6 脱着率

アニリン添加量 (μg)	100L捕集時の濃度 (ppm)	脱着率(%) (n=5)		
		Mean	SD	RSD
0.38	1ppb (1/1000E)	99.5(100.7)	0.6(0.8)	0.6(0.8)
39	0.1ppm (1/10E)	98.2(106.0)	0.5(2.8)	0.5(2.6)
779	2ppm (2E)	97.3(97.7)	0.8(2.4)	0.9(2.4)

()内はアニリン絶対量での計算値

5. 回収率

4. 脱着率と同様に、フィルターにアニリン - メタノール溶液を添加し(アニリン添加量: 0.38、39、779) 1時間静置後、1L/minで100分間室内空気を吸引(16.0～20.3, 23～36%R.H.)したフィルターを分析することにより行った。結果を表7に示す。

いずれの濃度においても回収率は90%異常であり、良好な回収率を示した。

表7 回収率

アニリン添加量 (μg)	100L捕集時の濃度 (ppm)	回収率(%) (n=5)		
		Mean	SD	RSD
0.38	1ppb (1/1000E)	96.4(101.6)	3.7(7.4)	3.8(7.3)
39	0.1ppm (1/10E)	99.2(100.6)	2.0(1.9)	2.0(1.9)
779	2ppm (2E)	97.7(92.7)	0.7(1.6)	0.8(1.7)

()内はアニリン絶対量での計算値

6. 保存性

4. 脱着率と同様に、フィルターにアニリン - メタノール溶液を添加し(アニリン添加量: 0.38、779 μg) 1時間静置後、0.1L/minで5分間室内空気を吸引(17.3～20.3, 23～24, %R.H.)した後、冷蔵庫に保管した(0,1,3,5日間)フィルターを分析することにより行った。結果を表8、図9に示す。5日間保管しても脱着率は90%以上であり、良好な保存性を示した。

表8 保存性

アニリン添加量 (μg)	100L捕集時の濃度 (ppm)	保存日数 (日)	脱着率(%) (n=3)		
			Mean	SD	RSD
0.38	1ppb (1/1000E)	0	99.8(100.4)	0.7(0.9)	0.7(0.9)
		1	98.7(101.3)	3.2(3.4)	3.2(3.4)
		3	94.0(98.4)	1.1(2.6)	1.2(2.7)
		5	99.3(94.1)	2.9(3.1)	3.0(3.3)
779	2ppm (2E)	0	96.9(99.2)	0.5(0.6)	0.6(0.6)
		1	96.3(102.4)	2.8(2.1)	2.9(2.0)
		3	98.1(102.9)	1.3(3.7)	1.4(3.6)
		5	97.5(91.5)	0.2(1.0)	0.2(1.1)

() 内はアニリン絶対量での計算値

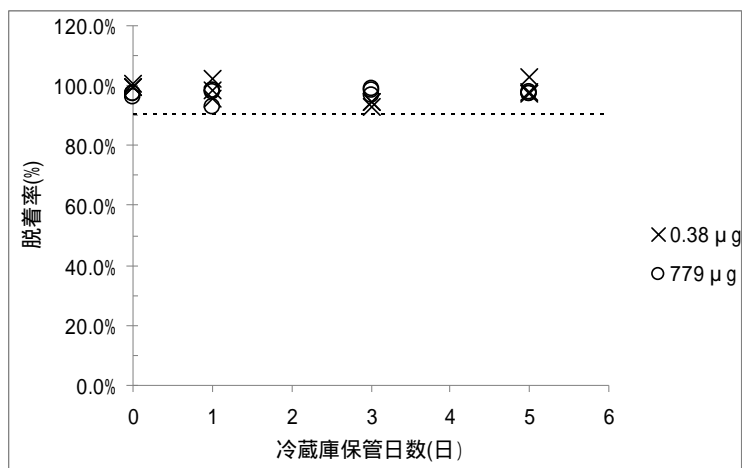


図9 保存性

7. 検量線

アニリンを内部標準物質 (ナフタレン-d8) 入りトルエンで希釈し、8段階の標準系列を調製し (0.19 ~ 390 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、検量線の直線性について確認した (図9)。

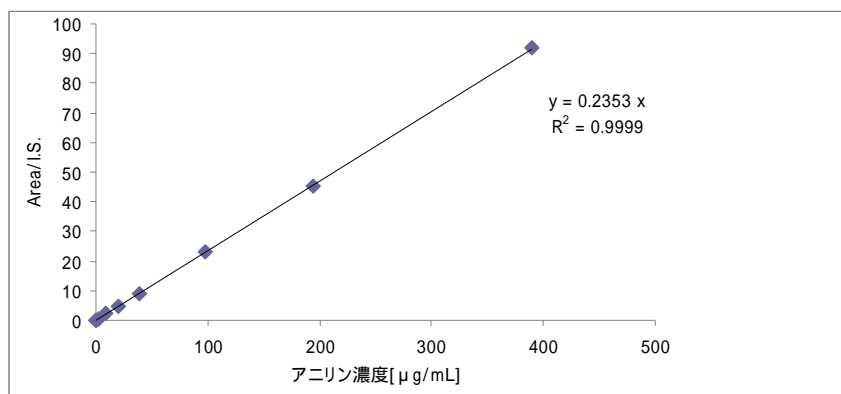


図9 アニリンの検量線

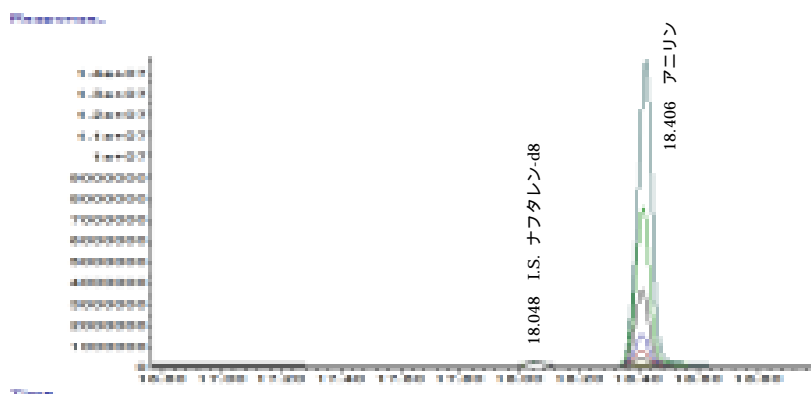


図 10 アニリンのクロマトグラム

その結果、アニリン濃度 0.19 ~ 390 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で良好な直線性を示した。

8. 検出下限および定量下限

検量線作成で調製した混合標準溶液の最低濃度 0.19 $\mu\text{g/mL}$ (1L/min で 10 および 100 分間捕集した場合、気中濃度 0.01ppm および 1ppb に相当) を 5 サンプル分析し、その標準偏差 (SD) を算出し、SD の 3 倍を検出下限値 (LOQ) 10 倍を定量下限値 (LOQ) とした (表 8)。

その結果、個人ばく露測定を想定した 1L/min の 100 分間捕集の場合の定量下限は 0.16ppb、環境測定を想定した 1L/min の 10 分間捕集の場合の定量下限は 1.6ppb となった。

表 8 アニリンの検出下限と定量下限

検量線	直線範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	0.19 ~ 390
	相関係数	0.9999
	検出下限 ($\mu\text{g/sample}$)	0.018
	定量下限 ($\mu\text{g/sample}$)	0.061
ばく露測定 (100L 捕集時)	定量下限 (ppb)	0.16
環境測定 (10L 捕集時)	定量下限 (ppb)	1.6

9. まとめ

本検討は硫酸含浸ガラスファイバーフィルターを用いた分析の OSHA Method No.57 (4,4'-Methylenedianiline) を参考に作業環境中のアニリンを分析装置に GC/FID を用い検討を行った。その結果、個人ばく露測定 (1L \times 100 分間採気) を想定した場合には第 2 評価値の 1/1000 ~ 2 倍となる 1ppb ~ 2ppm の範囲で良好に分析できることが確認できた (作業環境測定 (1L \times 10 分間採気) を想定した場合には第 2 評価値の 1/100 ~ 20 倍となる 10ppb ~ 20ppm)。

以上の検討結果を標準測定分析法として別紙にまとめた。

GC/MS 分析条件については、今回の検討においては良好な分析条件を見出すことはできなかった。感度が落ち続ける原因についてはカラム、アニリン不純物およびアルカリ処理ライナの影響が考えられるが、今回の検討においてはその原因を特定できなかった。

10 . 検討担当機関

光明理化学工業株式会社

11 . 参考文献

- 1) 国際化学物質安全性カード(ICSC)日本語版 , ICSC 番号 0011 (2013 年 12 月更新)
- 2) ACGIH 2013
- 3) Recommendation of Occupational Exposure Limits(2013-2014), The Japan Society for Occupational Health, May, 14, 2013

(別紙)		アニリンの標準測定分析法	
化学式: C ₆ H ₅ NH ₂	分子量: 93.13	CAS No: 62-53-3	
許容濃度等: 産業衛生学会 1ppm ACGIH 2ppm(TWA) OSHA 5ppm(PEL)	物性等: 沸点 86 融点 -6 形状: 無色または淡黄色の液体		
別名: アミノベンゼン、フェニルアミン、ベンゼンアミン			
サンプリング		分析	
サンプラー: 硫酸含浸ガラスファイバー フィルター (SKC 社製 Cat.No.225-9004) サンプリング流量: 1.0 L/min サンプリング時間: 10分(10L) 100分(100L) 保存性: 冷蔵4 で少なくとも5日間は安定 ブランク: 脱着溶媒およびサンプラーブランク共に検出されない。		分析方法: ガスクロマトグラフ FID 分析法 抽出溶液: 水 (1.5mL) + トルエン (2mL) + 10N-水酸化ナトリウム (1.5 mL) 抽出操作: 振とう (10min) 遠心 (3000rpm, 3min) 装置: Agilent Technologies 7890A 検出器: FID 検出器温度: 300 カラム: DB-WAX 30m × 0.25mm, 0.25 μm (Agilent Technologies 社製) カラム温度: 65 (1min) 5 /min 155 20 /min 240 (8min) キャリアーガス: 窒素 1mL/min 注入口ライナ: 下記 参照 注入口温度: 200 注入方法: パルスドスプリットレス 25psi, 1min 注入量: 1 μL 検量線: 0.18 ~ 390 μg/mL の範囲で直線性が得られている。 定量法: 内部標準法	
精度			
脱着率: 添加量 0.38 μg の場合 99.5% 39 μg の場合 98.2% 779 μg の場合 97.3% 回収率: (100L 通気) 添加量 0.38 μg の場合 96.4% 39 μg の場合 99.2% 779 μg の場合 97.7%			
検出下限(3): 0.009 μg/mL (最終液濃度) 採気量 100L 0.047ppb 採気量 10L 0.47ppb 定量下限(10): 0.031 μg/mL (最終液濃度) 採気量 100L 0.16ppb 採気量: 10L 1.6 ppb			
適用:			
妨害:			
注入口ライナはアニリンの吸着の少ないものを用いること。分析方法の検討においてはアルカリで処理したライナを用いた。			

作成日 平成 26 年 2 月 27 日