

p*-アニシジン**p*-Anisidine**

別名：4-メトキシアニリン

4-Methoxyaniline

m*-アニシジン**m*-Anisidine**

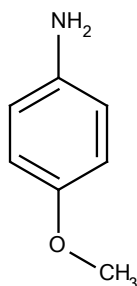
別名：3-メトキシアニリン

3-Methoxyaniline

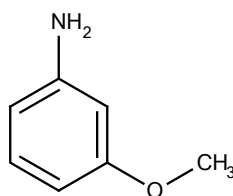
o*-アニシジン**o*-Anisidine**

別名：2-メトキシアニリン

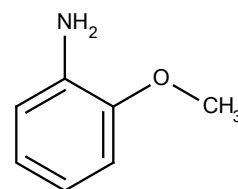
2-Methoxyaniline

【対象物質の構造】*p*-アニシジン

CAS 番号：104-94-9

分子式：C₇H₉NO*m*-アニシジン

CAS 番号：536-90-3

分子式：C₇H₉NO*o*-アニシジン

CAS 番号：90-04-0

分子式：C₇H₉NO**【物理化学的性状】**

	<i>p</i> -アニシジン	<i>m</i> -アニシジン	<i>o</i> -アニシジン
[平均分子量]	123.15	123.15	123.15
[モル質量]	123.0684	123.0684	123.0684
[融点]	57.2°C ¹⁾	-1°C ¹⁾	6.2°C ¹⁾
[沸点]	243°C ¹⁾	251°C ¹⁾	224°C ¹⁾
[比重]	1.071 (57°C) ¹⁾	1.096(20°C) ¹⁾	1.0923(20°C) ¹⁾
[蒸気圧]	0.006 mmHg (25°C) ²⁾	0.00233 mmHg (20°C) ²⁾	0.08 mmHg (25°C) ⁴⁾
[溶解性]	15.4 g/L (25°C 水) ³⁾	20.5 g/L (20°C 水) ³⁾	12.6 g/L (25°C 水) ³⁾
[log P _{ow}]	0.95 (計算値) ²⁾	0.93 (計算値) ²⁾	1.18 (計算値) ²⁾
[pKa]	5.34 ⁵⁾	4.24 ⁵⁾	4.53 ⁵⁾

【毒性、用途】

[実験動物に対する急性毒性情報] ⁶⁾

	<i>p</i> -アニシジン	<i>m</i> -アニシジン	<i>o</i> -アニシジン
マウス（経口）LD ₅₀	—	1400 mg/kg	1400 mg/kg
ラット（経皮）LD ₅₀	3200 mg/kg	—	—
ラット（経口）LD ₅₀	1400 mg/kg	—	1400 mg/kg

[用途] ⁶⁾

染料中間体

出典：

- 1) Lide, D.R.(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition
- 2) International Chemical Safety Cards ICSC0971
- 3) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
- 4) International Uniform Chemical Information Database IUCLID Data Set
- 5) SRC, PhysProp Database (2011)
- 6) 神奈川県化学物質安全情報提供システム(kis-net)

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート物質を添加した後、固相抽出カラムに通水し、メタノールで溶出する。溶出液を定容した後、LC/MS/MS-SRM(ESI+)で分析する。

2012年度環境調査において、検体そのままではサロゲート回収率が4～6割のためアンモニア水を添加(試料100mLに25%-NH₃水100μL)した例があった(添加後のサロゲート回収率は90-100%)。(2013年度精査等検討会コメント)

(2) 試薬・器具

【試薬】

<i>p</i> -アニシジン	：和光純薬工業製 特級（純度 98.0%）
<i>m</i> -アニシジン	：和光純薬工業製 化学用（純度 95.0%）
<i>o</i> -アニシジン	：和光純薬工業製 特級（純度 98.0%）
4-メトキシアニリン-2,3,5,6- <i>d</i> ₄	：CDN 製 (99.1 atom%D)
2-メトキシ- <i>d</i> ₃ -アニリン-3,4,5,6- <i>d</i> ₄	：CDN 製 (99 atom%D)
精製水	：Milli-Q 水

メタノール : 和光純薬工業製、LC/MS 用
固相カートリッジ : Waters 製 Oasis HLB Plus type 225 mg

【標準液の調製】

〔標準液〕

p-アニシジン 50.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 50 mL に溶解し、1000 mg/L の *p*-アニシジン標準原液とする。

m-アニシジン 50.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 50 mL に溶解し、1000 mg/L の *m*-アニシジン標準原液とする。

o-アニシジン 50.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 50 mL に溶解し、1000 mg/L の *o*-アニシジン標準原液とする。

p-アニシジン標準原液、*m*-アニシジン標準原液及び *o*-アニシジン標準原液をそれぞれ 100 µL 分取し、100 mL 容のメスフラスコに加え、メタノールで 100 mL に定容する (*p*-、*m*-、*o*-アニシジン 1000 ng/mL 混合標準液)。

〔サロゲート標準液〕

4-メトキシアニリン-2,3,5,6-*d*₄ 50.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 50 mL に溶解し 1000 mg/L の 4-メトキシアニリン-2,3,5,6-*d*₄ サロゲート標準原液とする(*p*-アニシジン-*d*₄)。

2-メトキシ-*d*₃-アニリン-3,4,5,6-*d*₄ 50.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリル 50 mL に溶解し 1000 mg/L の 2-メトキシ-*d*₃-アニリン-3,4,5,6-*d*₄ サロゲート標準原液とする(*o*-アニシジン-*d*₇)。

4-メトキシアニリン-2,3,5,6-*d*₄ サロゲート標準原液及び 2-メトキシ-*d*₃-アニリン-3,4,5,6-*d*₄ サロゲート標準原液をそれぞれ 100 µL 分取し、100 mL 容のメスフラスコに加え、メタノールで 100 mL に定容する (*p*-アニシジン-*d*₄ 及び *o*-アニシジン-*d*₇ 各 1000 ng/mL 混合サロゲート標準液)。

〔検量線用標準液〕

p-、*m*-、*o*-アニシジン 1000 ng/mL 混合標準液をメタノールで順次希釈し、*p*-、*m*-、*o*-アニシジンとして 0.300 ng/mL から 100 ng/mL の標準液を作成する。各濃度の標準液にはサロゲート物質として、*p*-アニシジン-*d*₄ 及び *o*-アニシジン-*d*₇ 各 1000 ng/mL 混合サロゲート標準液を 10.0 ng/mL の濃度になるように添加し、検量線用標準液とする。

【器具】

メスフラスコ(100 mL)、マイクロピペット(10-100 µL)、(100-1000 µL)、共栓目盛

付遠心管 (10 mL)、注射筒 (ガラス製、10 mL)、固相抽出装置 (加圧送液装置及び吸引マニホールド)、LC オートサンプラー用バイアル瓶

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従う。試料は採取後、速やかに試験操作を行う。速やかに行えない場合は、冷暗所に保存する。

【試料の前処理及び試験液の調製】(注 1)

水質試料 100 mL に、サロゲートとして、*p*-アニシジン-*d*₄ 及び *o*-アニシジン-*d*₇ 各 1000 ng/mL 混合標準液 50 µL 添加し、あらかじめコンディショニングをした固相カートリッジ Oasis HLB (注 2) に 10 mL/min の流速で通水する。次に固相に精製水 10 mL を通して洗浄した後、注射器で空気を 10 mL 通気して固相中の水分を除去する。その後、メタノールで対象物質を溶出し、共栓目盛付遠心管 (10 mL 容) 中に最初の 5 mL を分取し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水の代わりに精製水を用いて、【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従って操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【測定】

〔LC/MS 測定条件〕(注 3)、(注 4)

LC/MS 機器	: Waters 2695/ Quattro micro API
〔LC 条件〕	
LC 機種	: Waters 2695
カラム	: Waters 製 Atlantis T3 2.1 mm × 150 mm, 5 µm
移動相	: A: 精製水、B: メタノール
	0→10 min A: 90→5% B: 10→95% linear gradient
	10→15 min A: 5% B: 95%
	15→25 min A: 90% B: 10%
カラム流量	: 0.2 mL/min
カラム温度	: 40°C
試料注入量	: 2 µL

〔MS 条件〕

MS 機種	: Waters Quattro micro API	
キャピラリー電圧	: 3 kV	
コーン電圧	: 30 V	
コリジョン電圧	: 18 V	
ソース温度	: 120°C	
デゾルベーション温度	: 300°C	
コーンガス量	: 50 L/Hr	
デゾルベーション流量	: 350 L/Hr	
イオン化法	: ESI-Positive	
測定モード	: SRM	
モニターイオン	: <i>p</i> -アニシジン	: <i>m/z</i> 124.1 > 92.8 (定量用)
	: <i>p</i> -アニシジン	: <i>m/z</i> 124.1 > 91.9 (確認用)
	: <i>m</i> -アニシジン	: <i>m/z</i> 124.1 > 91.9 (定量用)
	: <i>m</i> -アニシジン	: <i>m/z</i> 124.1 > 92.8 (確認用)
	: <i>o</i> -アニシジン	: <i>m/z</i> 124.1 > 108.9 (定量用)
	: <i>o</i> -アニシジン	: <i>m/z</i> 124.1 > 91.9 (確認用)
	: <i>p</i> -アニシジン- <i>d</i> ₄	: <i>m/z</i> 128.1 > 96.8 (定量用)
	: <i>o</i> -アニシジン- <i>d</i> ₇	: <i>m/z</i> 131.2 > 112.9 (定量用)

〔検量線〕

検量線用標準液 2 μL を LC/MS に注入し、得られた標準物質とサロゲート物質の濃度比及びピーク面積比から *p*-、*m*-及び *o*-アニシジンの検量線を作成する。
(注 5)

〔定量〕

試験液 2 μL を LC/MS に注入し、対象物質とサロゲート物質の面積比から、*p*-、*m*-及び *o*-アニシジンの検出量を求める。(注 5)

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 *C* (μg/L) は次式により算出する。

$$C = R \cdot Q/V$$

R ：検量線から求めたサロゲート物質濃度に対する対象物質濃度の比
 Q ：試料中に添加したサロゲート物質の量(ng)
 (=添加するサロゲート物質標準液の濃度 (ng/μL) × 添加するサロゲート標準液の容量 (μL))
 V ：試料水量 (mL)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 50 \text{ (ng)}$$

(=添加するサロゲート標準液の濃度 (1.00 ng/μL) × 添加するサロゲート標準液の容量 (50 μL))

$$V = 100 \text{ (mL)}$$

即ち、

$$C = R \times 0.5 \text{ (μg/L)}$$

である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS の IDL を表 1 に示す (注 6)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μg/L)
<i>p</i> -アニシジン	0.090	0.100	5.00	0.0045
<i>m</i> -アニシジン	0.14	0.100	5.00	0.0068
<i>o</i> -アニシジン	0.13	0.100	5.00	0.0067

〔測定方法における検出下限値 (MDL)及び定量下限値 (MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 7)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (μg/L)	MQL (μg/L)
<i>p</i> -アニシジン	海水	0.100	5.00	0.0068	0.017
<i>m</i> -アニシジン	海水	0.100	5.00	0.010	0.026
<i>o</i> -アニシジン	海水	0.100	5.00	0.013	0.034

注 解

- (注 1) 本法では窒素吹き付けにより、回収率が低下する傾向が見出されたので、窒素吹き付けによる濃縮操作は実施しないこととした。
- (注 2) 固相カートリッジは、使用直前にアセトン 10 mL、メタノール 10 mL と精製水 20 mL でコンディショニングする。
- (注 3) 本試験法の LC/MS 分析では、感度が安定するのに時間がかかる。原因についてはアニシジンがカラム活性点に吸着するためと思われるが、詳細は明らかではない。従って、各アニシジン 10～100 ng/mL 程度の同一標準液を連続注入し、感度、保持時間が安定するのを確認してから、必要な LC/MS 分析を行う。一晩以上、注入が必要な場合もある。o-アニシジン及び o-アニシジン- d_7 の安定が最も遅い傾向にある。
- (注 4) LC/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters Quattro micro API) 特有のものである。
- (注 5) *m*-アニシジンのサロゲート物質については市販されておらず、異性体のサロゲートである o-アニシジン- d_7 を疑似的にサロゲートとして計算するか、絶対検量線法を用いて計算することになる。本分析では前法により計算する方法を示した。なお、参考までに *m*-アニシジンの絶対検量線を図 1 に、そのデータを表 3 に示した。

(参考)

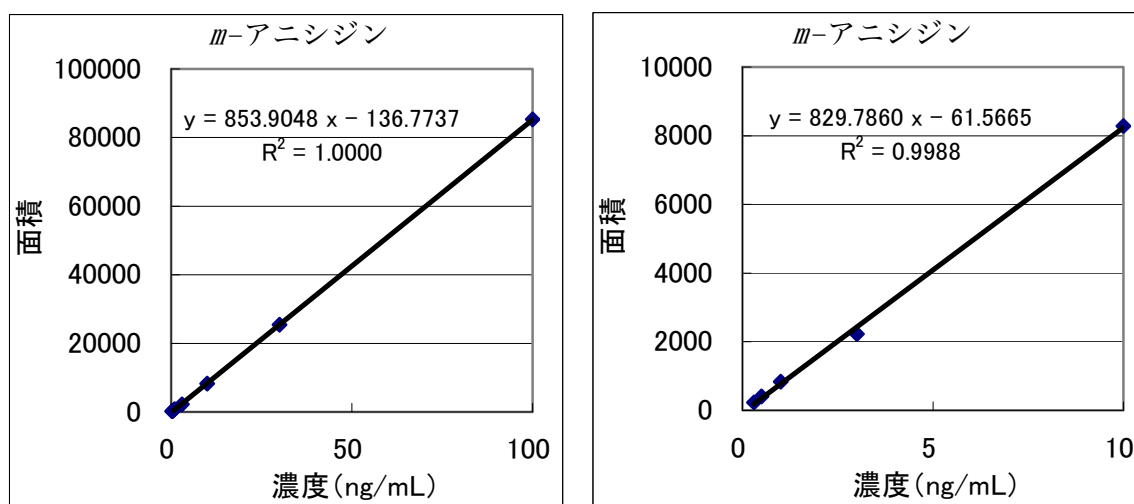


図 1 *m*-アニシジンの絶対検量線
(対象物質濃度範囲 0.3～100 ng/mL (図左)；0.3～10.0 ng/mL (図右))

表3 絶対検量線作成用データ (*m*-アニシジン) (参考)

標準液濃度 (Cs)	応答値(面積)
	対象物質
	(As)
(ng/mL)	<i>m/z</i> 124.1>91.9
0.00	0
0.30	228
0.50	404
1.0	831
3.0	2222
10.0	8288
30.0	25431
100	85284

(注6) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成21年3月)に従って、表4のとおり算出した。また、図2にIDL測定のためのクロマトグラムを示した。

表4 IDLの算出結果

物質名	<i>p</i> -アニシジン	<i>m</i> -アニシジン	<i>o</i> -アニシジン
試料量 (mL)	100	100	100
最終液量 (mL)	5.0	5.0	5.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.300	0.300	0.300
注入量 (μL)	2.0	2.0	2.0
結果 1 (ng/mL)	0.277	0.311	0.336
結果 2 (ng/mL)	0.313	0.253	0.255
結果 3 (ng/mL)	0.313	0.312	0.342
結果 4 (ng/mL)	0.274	0.282	0.327
結果 5 (ng/mL)	0.248	0.311	0.300
結果 6 (ng/mL)	0.292	0.273	0.356
結果 7 (ng/mL)	0.279	0.361	0.300
平均値 (ng/mL)	0.2851	0.3005	0.3165
標準偏差 (ng/mL)	0.02312	0.03519	0.03437
IDL (ng/mL)*	0.090	0.14	0.13
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.0045	0.0068	0.0067
S/N 比	13	9.5	7.0
CV (%)	8.1	12	11

*: $IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

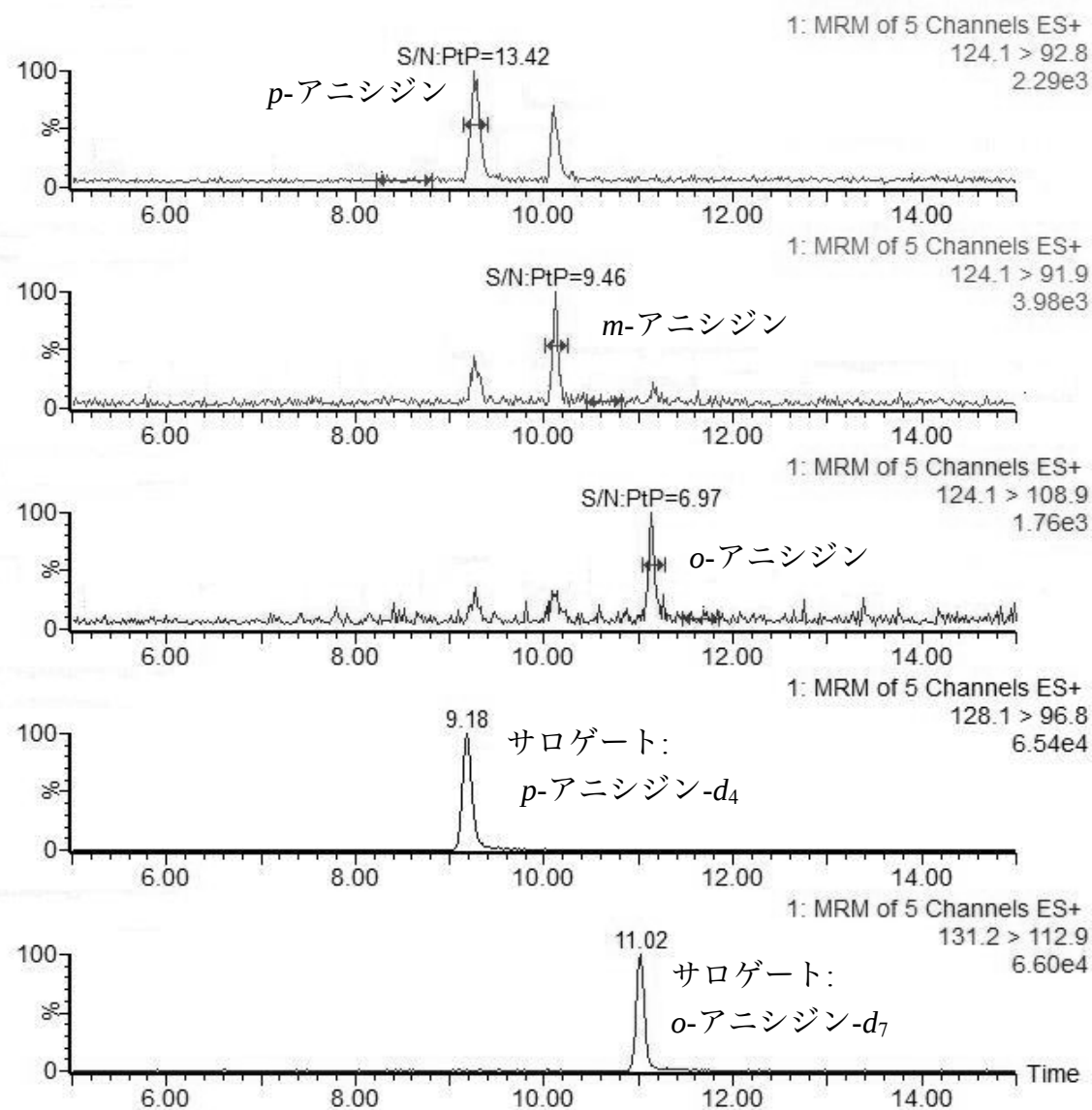


図2 IDL 測定時のクロマトグラム (p-, m-, o-アニシジン 各 0.300 ng/mL)

(注7) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従って、表 5 のとおり算出した。また、図 3 に MDL 測定時のクロマトグラムを示した。

表 5 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	<i>p</i> -アニシジン		<i>m</i> -アニシジン		<i>o</i> -アニシジン	
試料	海水	-	海水	-	海水	-
試料量 (L)	0.100	-	0.100	-	0.100	-
標準添加量 (μg)	0.0025	-	0.0025	-	0.0025	-
試料換算濃度 (μg/L)	0.025	-	0.025	-	0.025	-
最終液量 (mL)	5	-	5	-	5	-
注入液濃度 (ng/mL)	0.5	-	0.5	-	0.5	-
装置注入量 (μL)	2	-	2	-	2	-
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	ND	(84) ^{*5}	ND	(100)	ND	(100)
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	ND	(102)	ND	(108)	ND	(108)
結果 1 (μg/L)	0.0287	(92)	0.0288	(101)	0.0288	(101)
結果 2 (μg/L)	0.0244	(101)	0.0282	(110)	0.0225	(110)
結果 3 (μg/L)	0.0282	(97)	0.0295	(101)	0.0317	(101)
結果 4 (μg/L)	0.0276	(89)	0.0221	(102)	0.0272	(102)
結果 5 (μg/L)	0.0275	(101)	0.0246	(113)	0.0274	(113)
結果 6 (μg/L)	0.0289	(98)	0.0264	(108)	0.0272	(108)
結果 7 (μg/L)	0.0252	(96)	0.0254	(106)	0.0329	(106)
平均値 (μg/L)	0.02721	(96)	0.02643	(106)	0.02824	(106)
標準偏差 (μg/L)	0.001743		0.002625		0.003411	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.0068		0.010		0.013	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.017		0.026		0.034	
S/N 比	27		8.8		6.9	
CV (%)	6.4	(4.6) ^{*6}	9.9	(4.5) ^{*6}	12	(4.5) ^{*6}

*1 操作ブランク平均：試料マトリクスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値 (n = 2)

*2 無添加平均：MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n = 2)

*3 $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

*5 括弧内の数値はサロゲートの回収率

*6 括弧内の数値はサロゲートの CV (%)

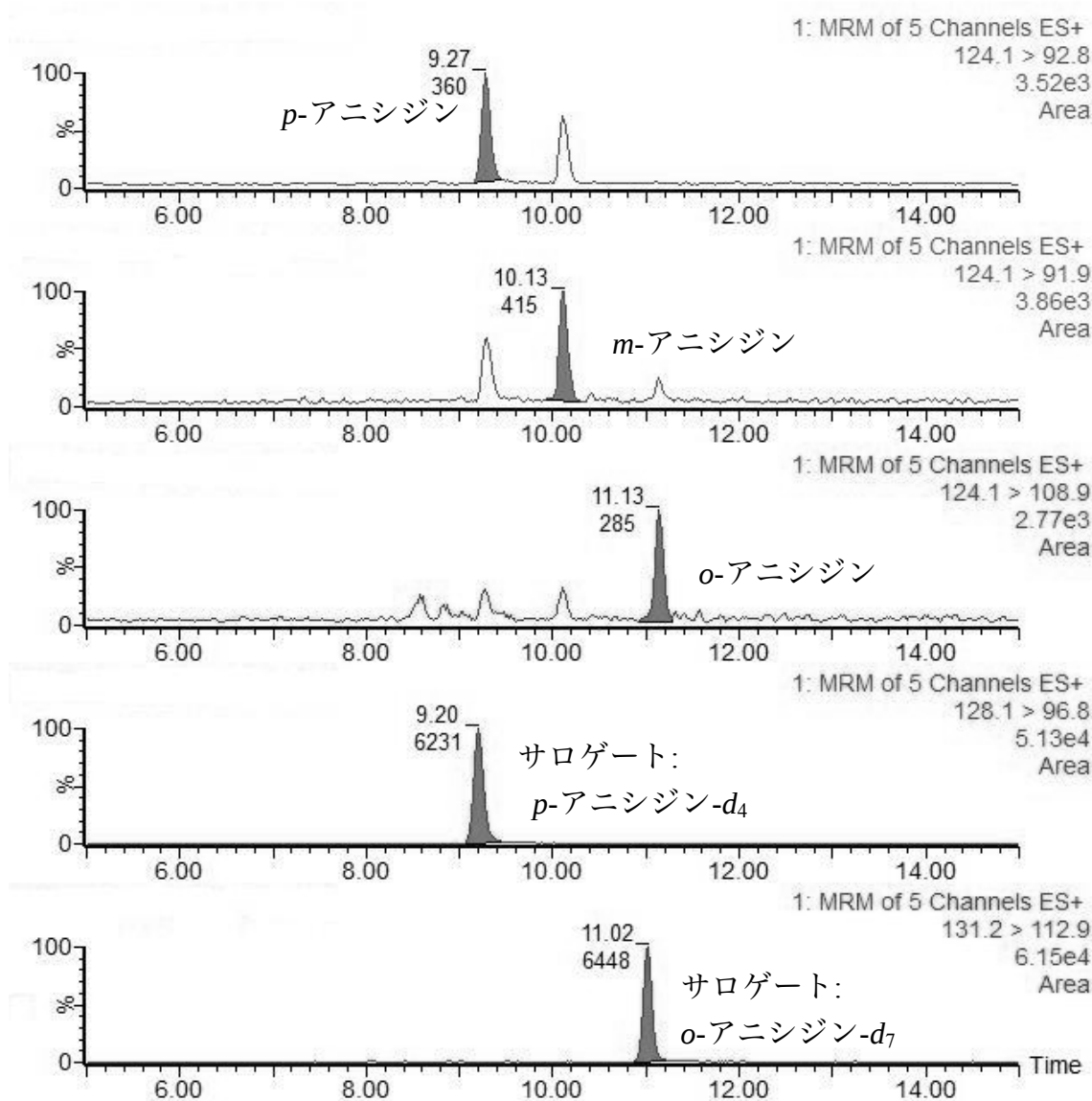


図3 MDL 試験試料のクロマトグラム
(試料換算濃度 *p*-, *m*-, *o*-アニシジン 各 0.025 µg/L)

§2 解 説

【分析法】

〔フローチャート〕

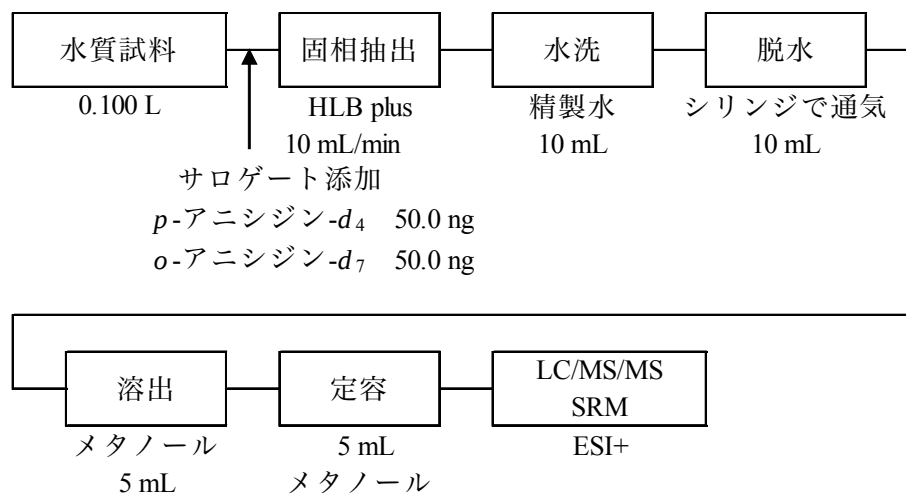


図4 分析法のフローチャート

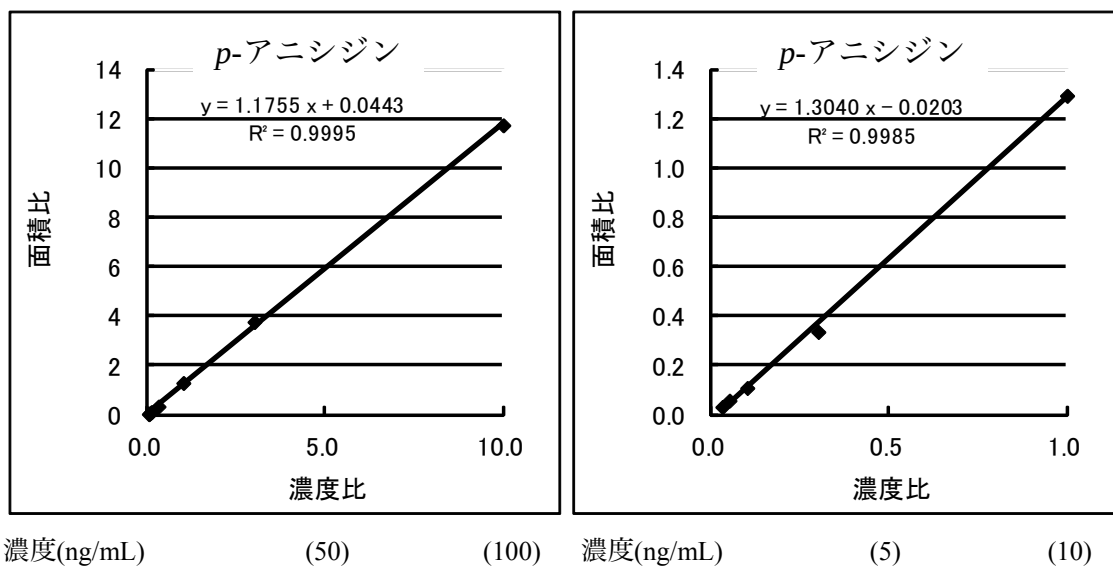
〔検量線〕

標準液をメタノールで適宜希釈し、0.300 ng/mL～100 ng/mL の検量線用標準液を作成する。各検量線用標準液 2 μ L を LC/MS に注入して、得られた標準物質のピーク面積とサロゲート物質の面積の比と濃度の比から検量線を作成する。検量線作成用データを表 6-1～表 6-3 に、検量線を図 5-1～図 5-3 に示す。

表 6-1 検量線作成用データ (p-アニシジン)

濃度比	標準液濃度(Cs) (ng/mL)	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質(As)	サロゲート物質(Ais)	
		m/z=124.1>92.8	m/z=128.1>96.8	
0.00	0.00	0	8342	0.000
0.03	0.300	250	7785	0.032
0.05	0.500	409	7078	0.058
0.10	1.00	813	7448	0.109
0.30	3.00	2454	7301	0.336
1.00	10.0	9007	6965	1.29
3.00	30.0	27418	7278	3.77
10.0	100	93239	7945	11.74

*：サロゲート物質濃度： 10 ng/mL



濃度(ng/mL) (50) (100) 濃度(ng/mL) (5) (10)

図 5-1 *p*-アニシジンの検量線
(対象物質濃度範囲 0.300～100 ng/mL (図左)；0.300～10.0 ng/mL (図右))

表 6-2 検量線作成用データ (*m*-アニシジン)

濃度比	標準液濃度(Cs) (ng/mL)	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質(As)	サロゲート物質(Ais)	
		<i>m/z</i> =124.1>91.9	<i>m/z</i> =131.2>112.9	
0.00	0.00	0	6681	0.000
0.03	0.300	228	6621	0.034
0.05	0.500	404	6103	0.066
0.10	1.00	831	6299	0.132
0.30	3.00	2222	6361	0.349
1.00	10.0	8288	6504	1.27
3.00	30.0	25431	6264	4.06
10.0	100	85284	6958	12.26

*：サロゲート物質濃度： 10 ng/mL

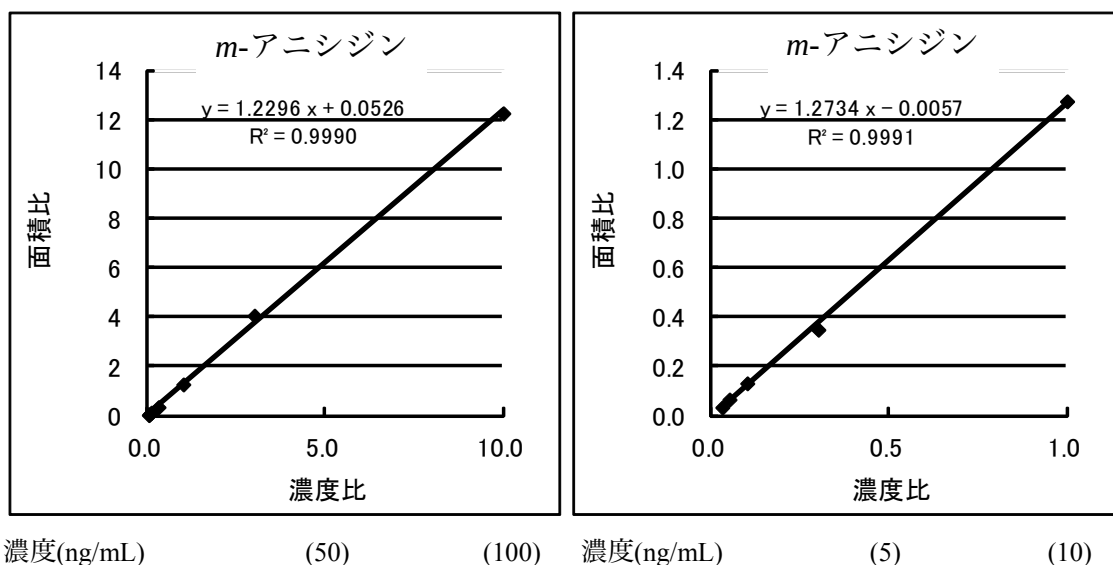


図 5-2 *m*-アニシジンの検量線
(対象物質濃度範囲 0.3～100 ng/mL (図左)；0.3～10.0 ng/mL (図右))

表 6-3 検量線作成用データ (*o*-アニシジン)

濃度比	標準液濃度(Cs) (ng/mL)	応答値		応答比 (As/Ais)
		対象物質(As)	サロゲート物質(Ais)	
		<i>m/z</i> =124.1>108.9	<i>m/z</i> =131.2>112.9	
0.00	0.00	0	6681	0.000
0.03	0.300	148	6621	0.022
0.05	0.500	202	6103	0.033
0.10	1.00	488	6299	0.077
0.30	3.00	1401	6361	0.220
1.00	10.0	5422	6504	0.83
3.00	30.0	16885	6264	2.70
10.0	100	59785	6958	8.59

*：サロゲート物質濃度： 10 ng/mL

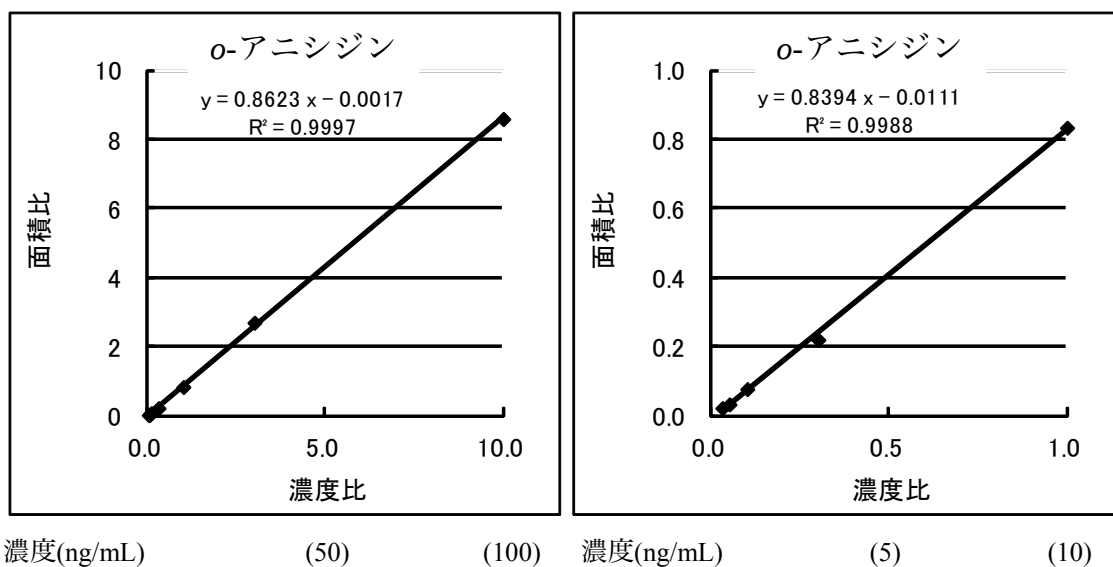


図 5-3 o-アニシジンの検量線
(対象物質濃度範囲 0.300～100 ng/mL (図左)；0.300～10.0 ng/mL (図右))

〔マススペクトル〕

p-, *m*-, *o*-アニシジン、*p*-アニシジン-*d*₄及び *o*-アニシジン-*d*₇のマススペクトルを図6に、それぞれをプレサーカイオンとしたプロダクトイオンのマススペクトルを図7に示す。

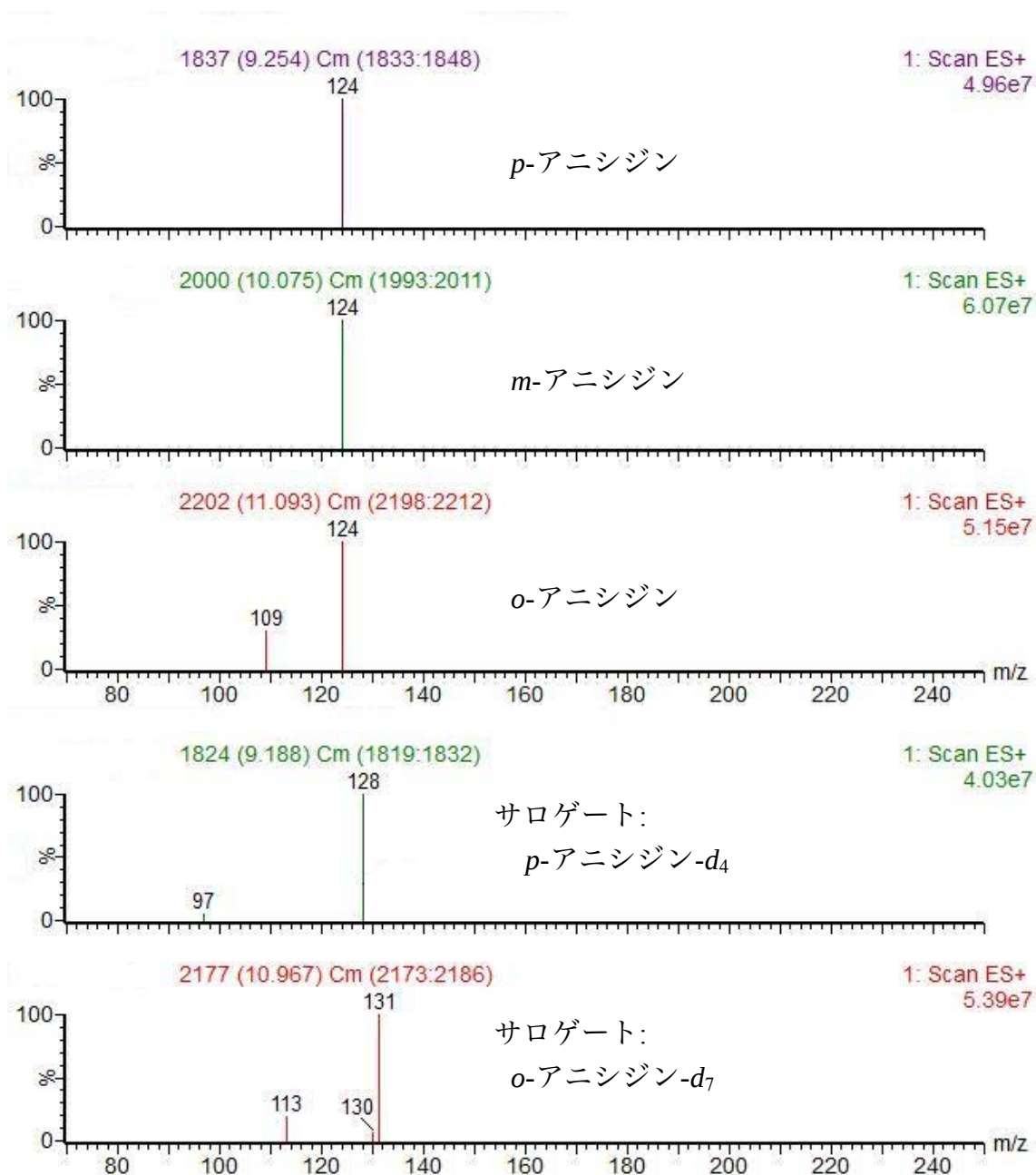


図6 *p*-, *m*-, *o*-アニシジン、*p*-アニシジン-*d*₄及び *o*-アニシジン-*d*₇のマススペクトル

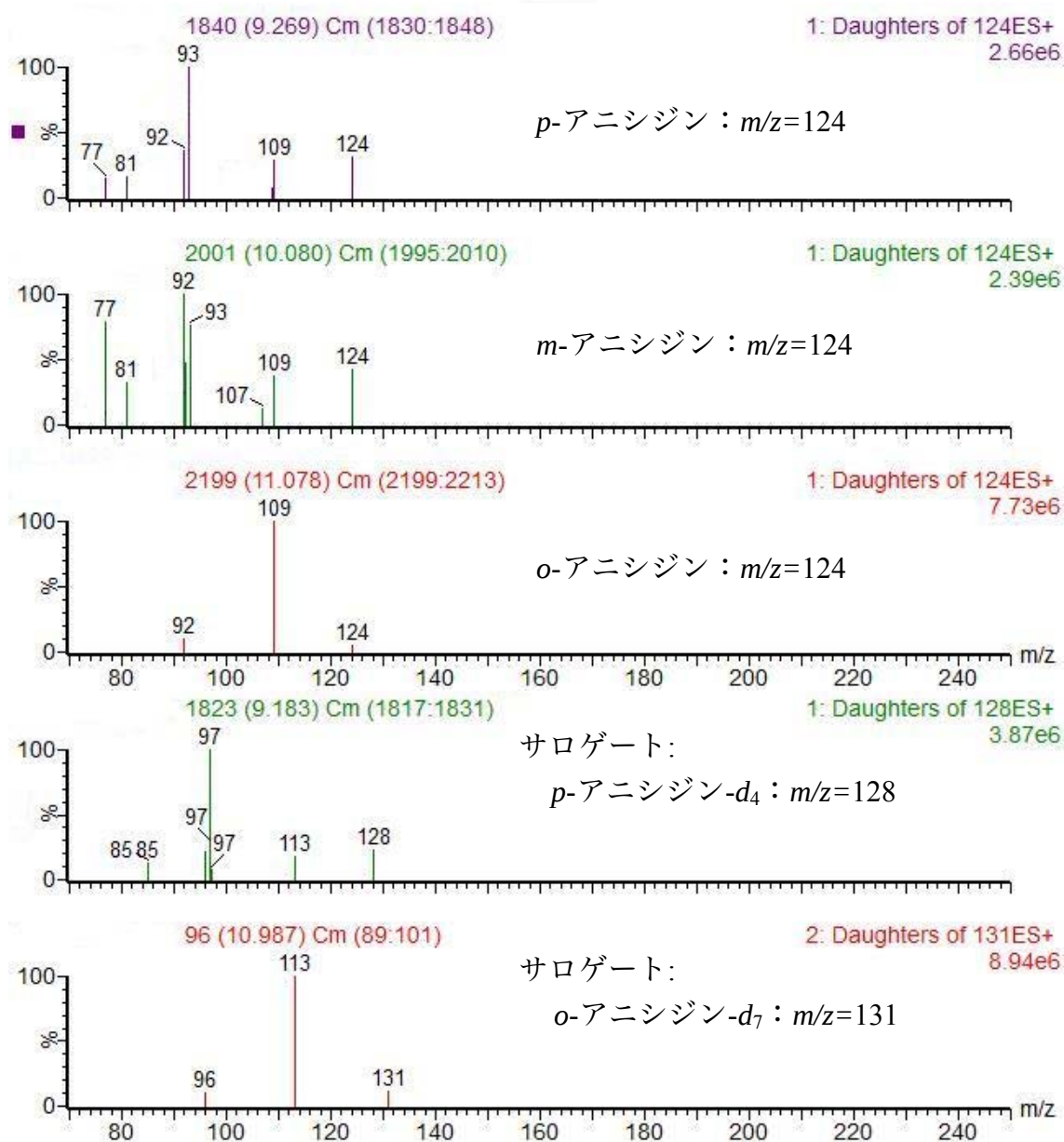


図7 プレカーサーイオン p -、 m -、 o -アニシジン: $m/z=124$ 、 p -アニシジン- d_4 : $m/z=128$ 及び o -アニシジン- d_7 : $m/z=131$ のプロダクトイオンのマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験結果を表7、クロマトグラムを図8に示す。

表7 操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)
<i>p</i> -アニシジン	3	0.0068 未満
<i>m</i> -アニシジン	3	0.010 未満
<i>o</i> -アニシジン	3	0.013 未満

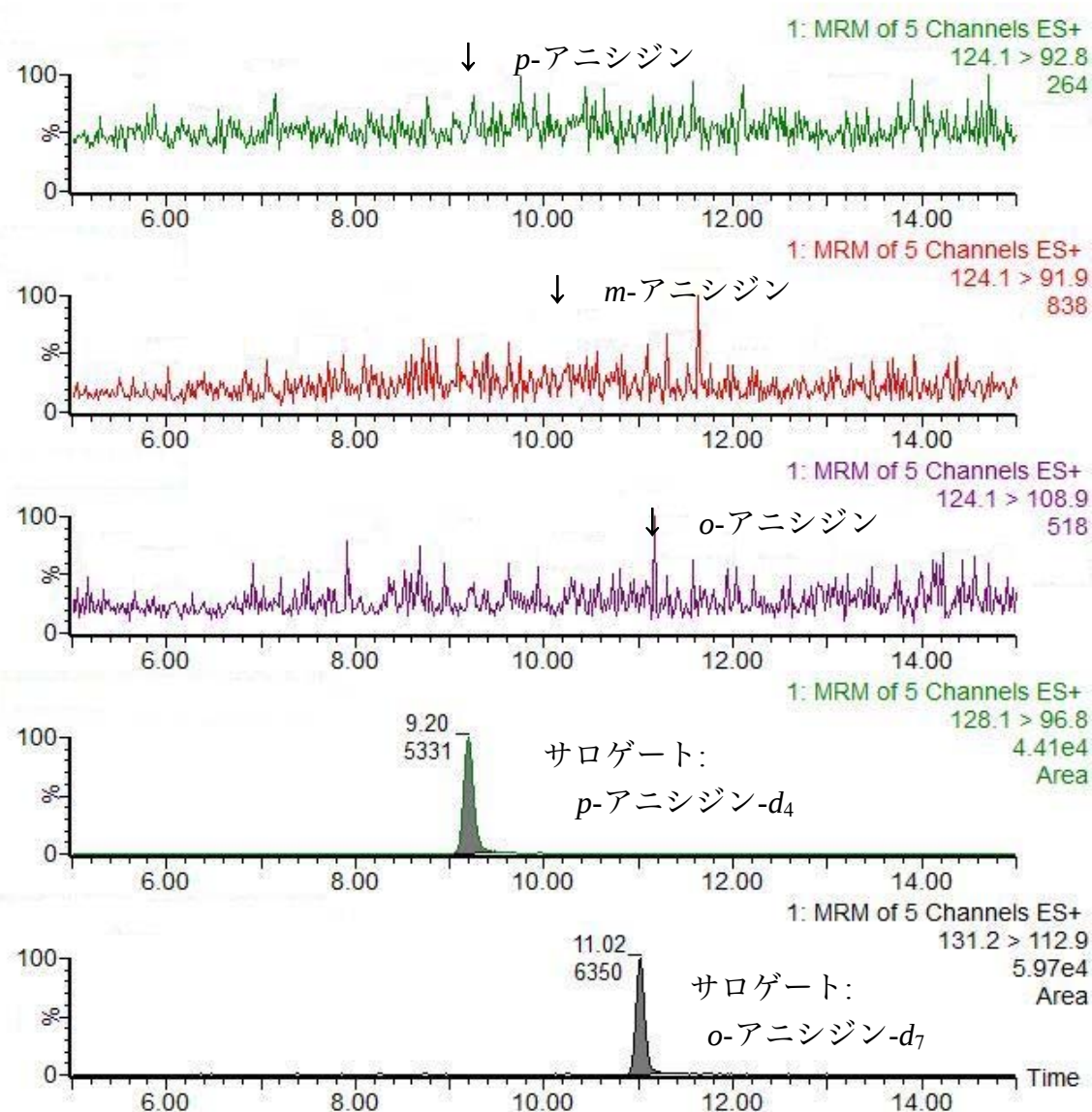


図8 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

海水(神戸港中央)への標準物質添加回収試験結果を表 8、クロマトグラムを図 9-1 及び 9-2 に示す。

表 8 添加回収試験結果

物質名	試料	試料量 (L)	添加量 (μg)	最終 液量 (mL)	試 験 数	検出 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回 収 率 (%)	変動 係数 (%)	ターゲット回収率 (%)
<i>p</i> -アニシ ジン	海水	0.1	無添加	5.0	3	0.0068>	-	-	102
		0.1	0.0025	5.0	7	0.0272	109	6.4	96
		0.1	0.030	5.0	5	0.271	90	2.0	96
	河川水	0.1	無添加	5.0	3	0.0068>	-	-	72
		0.1	0.030	5.0	5	0.289	96	1.5	76
<i>m</i> -ア ニ シ ジン	海水	0.1	無添加	5.0	3	0.010>	-	-	86
		0.1	0.0025	5.0	7	0.0264	106	9.9	93
		0.1	0.030	5.0	5	0.277	92	3.3	92
	河川水	0.1	無添加	5.0	3	0.010>	-	-	101
		0.1	0.030	5.0	5	0.297	99	1.8	99
<i>o</i> -アニシ ジン	海水	0.1	無添加	5.0	3	0.013>	-	-	86
		0.1	0.0025	5.0	7	0.0282	113	12.1	93
		0.1	0.030	5.0	5	0.280	93	4.3	92
	河川水	0.1	無添加	5.0	3	0.013>	-	-	101
		0.1	0.030	5.0	5	0.285	95	1.2	99

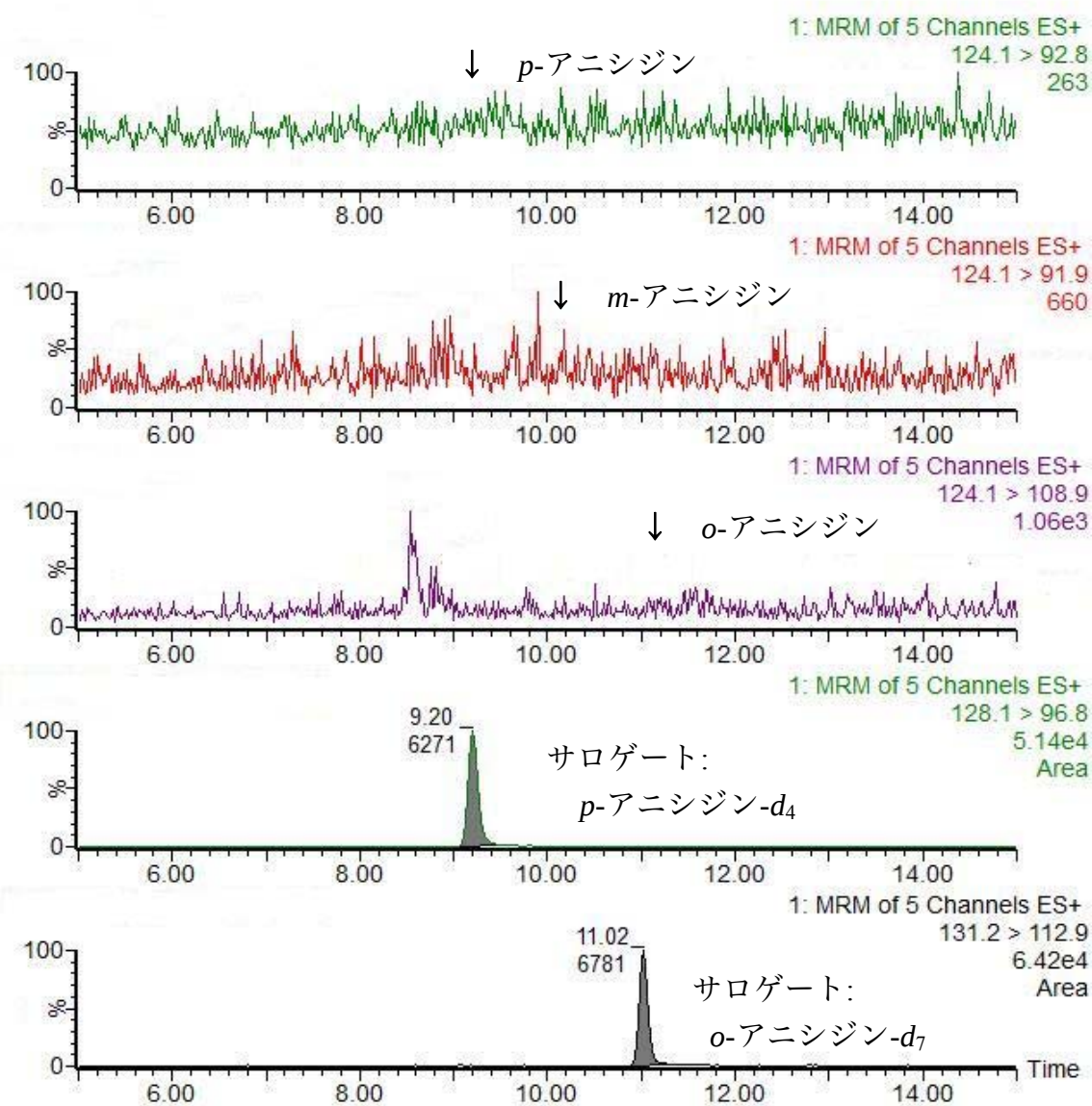


図 9-1 添加回収試験 (海水) のクロマトグラム (無添加)

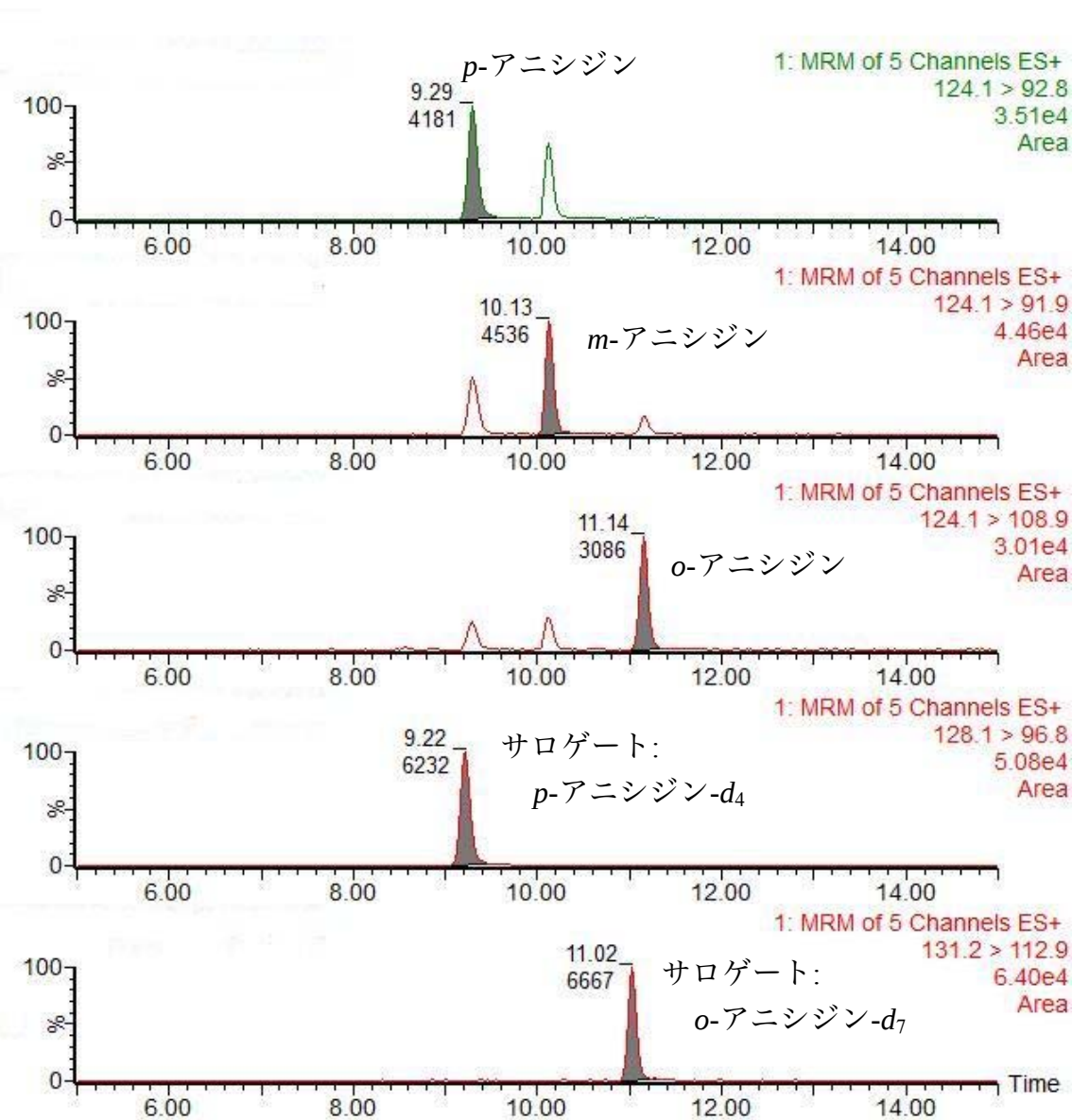


図 9-2 添加回収試験(海水)のクロマトグラム(添加)

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験の結果を表 9 に示す。

表 9 分解性スクリーニング試験結果

物質名	pH	初期濃度 (ng/mL)	1 時間後の 残存率 (%)	7 日後の残存率 (%)	
				暗所	明所
<i>p</i> -アニシジン	5	10.0	101	105	—
	7	10.0	101	102	97
	9	10.0	104	103	—
<i>m</i> -アニシジン	5	10.0	100	104	—
	7	10.0	101	105	103
	9	10.0	97	102	—
<i>o</i> -アニシジン	5	10.0	101	105	—
	7	10.0	105	95	89
	9	10.0	102	97	—

〔保存性試験〕

試料、捕集液及び標準液の保存性試験を表 10 に示した。

試料については【試料の採取及び保存】に示したように、*p*-アニシジンを添加した水質試料を、冷蔵保存した後の濃度を測定した。

捕集液については、添加回収試験から得られた捕集液を冷蔵保存し、14 日後に測定した。

標準液については検量線用標準液を冷蔵保存し、1 ヶ月後に測定した。

なお、*p*-アニシジンについては、試料中での残存率が、海水で 67%、河川水で 52%であったことより、採水後、すみやかに (3 日以内) 試験液を調製する必要がある。

表 10 保存性試験結果

物質名	試料名	初期濃度 (ng/mL)	残存率 (%)		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
<i>p</i> -アニシジン	試料	海水	0.050	67	-
		河川水	0.050	52	-
	捕集液	海水	6.00	-	79
	標準液	MDL の 10 倍程度	1.00	-	-
		検量線の最高濃度	100	-	92
<i>m</i> -アニシジン	試料	海水	0.050	91	-
		河川水	0.050	87	-
	捕集液	海水	6.00	-	93
	標準液	MDL の 10 倍程度	1.00	-	-
		検量線の最高濃度	100	-	90
<i>o</i> -アニシジン	試料	海水	0.050	88	-
		河川水	0.050	82	-
	捕集液	海水	6.00	-	95
	標準液	MDL の 10 倍程度	1.00	-	-
		検量線の最高濃度	100	-	102

〔環境試料の分析例〕

本法を用いて、神戸市内の河川水(志染川)及び海水(神戸港)を測定した結果、*p*-、*m*-及び *o*-アニシジンはいずれも MDL 未満であった(図 10)。

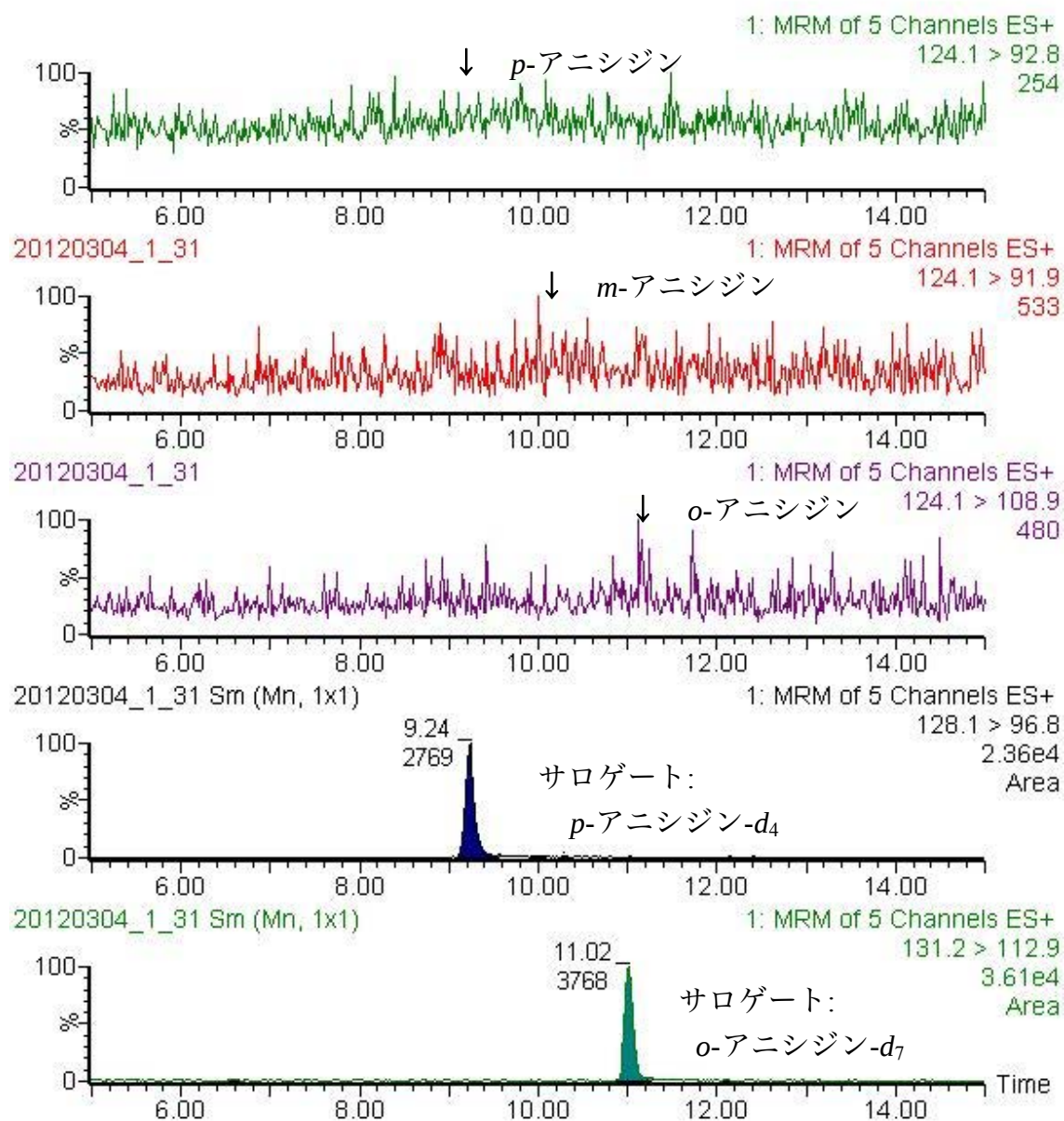


図 10 環境試料(河川水)のクロマトグラム

【評価】

本分析法で用いた LC/MS/MS での IDL は *p*-、*m*-、*o*-アニシジンの順に 0.090 ng/mL、0.14 ng/mL、0.13 ng/mL (試料換算濃度 0.0045 µg/L、0.0068 µg/L、0.0067 µg/L) であり、*p*-、*m*-、*o*-アニシジン共に 0.3~100 ng/mL の範囲で直線性 ($r^2 > 0.99$) が確認された。固相抽出法による前処理を行う本分析法の MDL 及び MQL は *p*-、*m*-、*o*-アニシジンの順に 0.0068 µg/L 及び 0.017 µg/L、0.010 µg/L 及び 0.026 µg/L、0.013 µg/L 及び 0.034 µg/L であった。海水 100 mL に対象物質を 0.0025 µg 及び 0.030 µg 添加した時の回収率は *p*-、*m*-、*o*-アニシジンの順に 109% 及び 90%、106% 及び 92%、113% 及び 93%、変動係数は 6.4% 及び 2.0%、9.9% 及び 3.3%、12.1% 及び 4.3% であった。本法で神戸市内河川及び神戸沿岸海域の海水各 1 検体を測定したところ、*p*-、*m*-、*o*-アニシジンはいずれも MDL 未満であった。以上の結果から、本法は水質試料中に含まれる 0.01 µg/L オーダーの *p*-、*m*-、*o*-アニシジンの定量分析法に適用できるものと判断される。

【参考文献】

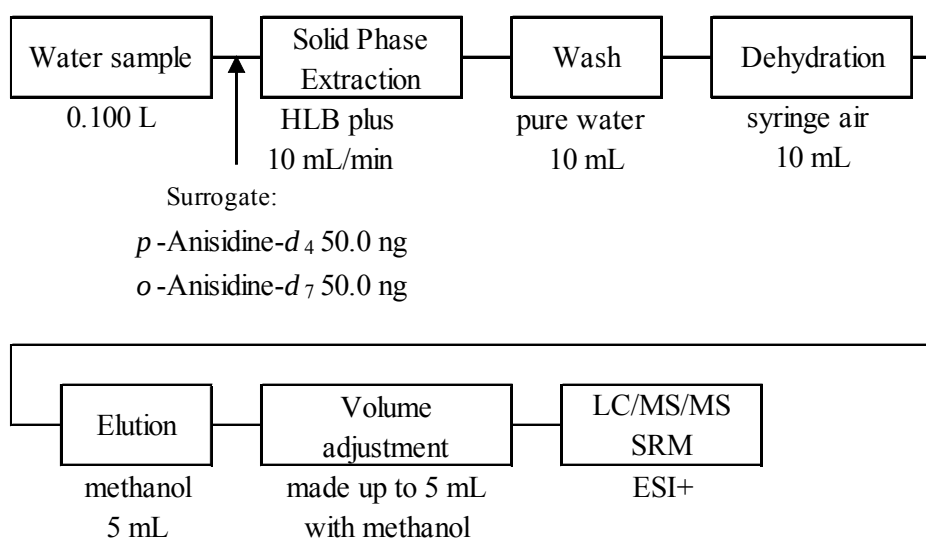
- (1) 環境庁環境保健部保健調査室：平成元年度化学物質分析法開発調査報告書、1-18 (1989)、(開発担当：大阪府公害監視センター)

【担当者連絡先】

所属先名称 : 神戸市環境保健研究所
所属先住所 : 〒650-0046 神戸市中央区港島中町 4-6
TEL : 078-302-6302、FAX : 078-302-6302
担当者名 : 八木 正博、山路 章
E-mail : masahiro_yagi@office.city.kobe.lg.jp
akira_yamaji@office.city.kobe.lg.jp

***p*-Anisidine, *m*-Anisidine, *o*-Anisidine,**

This method provides procedures for the determination of *p*-, *m*- and *o*-anisidine in water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry(LC/MS/MS). After 50 µL of *p*-anisidine-*d*₄ and *o*-anisidine-*d*₇ (surrogate, 1 ng/µL) is spiked into 100 mL of water sample, the sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Oasis HLB plus). The extract is eluted with 5 mL methanol. And the solution is analyzed by LC/MS/MS-SRM (ESI positive). Method detection limits (MDL) of *p*-, *m*- and *o*-anisidine in water samples are 0.0068 µg/L, 0.010 µg/L and 0.013 µg/L, respectively. The average percent recoveries (and percent relative standard deviations) of *p*-, *m*- and *o*-anisidine in sea water spiked with 30 ng of *p*-, *m*- and *o*-anisidine were 90(2.0)%, 92(3.3)% and 93(4.3)%, respectively. *p*-, *m*- and *o*-anisidine were not detected in river and sea water (Kobe) by the method.



物質名	分析法フローチャート	備考
[1] <i>p</i>-アニシジン [2] <i>m</i>-アニシジン [3] <i>o</i>-アニシジン	<pre> graph LR A[水質試料 0.100 L] --> B[固相抽出 HLB plus 10 mL/min サロゲート添加] B --> C[水洗 精製水 10 mL] C --> D[脱水 シリンジで通気 10 mL] D --> E[溶出 メタノール 5 mL] E --> F[定容 メタノール 5 mL] F --> G[LC/MS/MS SRM ESI+] </pre> サロゲート添加 <i>p</i>-アニシジン-<i>d</i>₄ 50.0 ng <i>o</i>-アニシジン-<i>d</i>₇ 50.0 ng	分析原理: LC/MS-SRM ESI-ポジティブ 検出下限値: 〔水質〕 (μg/L) [1] 0.0068 [2] 0.010 [3] 0.013 分析条件: 機器 LC: waters 2695 MS: waters Quattro micro API カラム Atlantis T3 2.1 mm × 150 mm, 5μm