

キシリジン分析測定法に関する検討結果

平成 22 年 3 月 19 日

測定・分析手法検討チーム



目次

はじめに	3
1. 文献調査	3
2. 予備試験	4
2-1. 分析条件	5
2-2. 抽出率	6
2-3. 誘導体化の確認	7
2-4. 誘導体化条件	9
3. 本試験	11
3-1. 補修及び分析条件	11
3-2. 補修時間（採気量）の決定	12
3-3. 添加回収率	13
3-4. 補修後のサンプラーの保存安定性	16
3-5. 前処理後の試料の保存安定性	16
3-6. 検量線（直線性）	20
3-7. 検出下限及び定量下限	20
4. 参考文献	22
5. 検討実施者	22

はじめに

キシリジン (Xylidine ; XLD) は、ビタミン B2 の中間体、ゴム薬品・油性染料中間体などに使用されており、市販のキシリジンは主に 2,4-, 2,5-, 2,6-異性体の混合物である。キシリジン異性体の物理化学的性質はそれぞれ異なっている。

1. 文献調査

作業環境中および大気中芳香族アミン類の測定法に関する文献をまとめた (表 1)。

表 1 芳香族アミンの文献概要

分析法	物質	サンプラー	脱着溶媒	濃度範囲 定量・検出下限値	特記事項
山本ら	o-toluidine	硫酸含浸 フィルター	水酸化ナトリウム, トルエン	5 ppb (10L)	HFAA で誘導 体化
OSHA No.73	o-toluidine	硫酸含浸 フィルター	水酸化ナトリウム, トルエン	0.97 μ g/ml(100L)	HFAA で誘導 体化
	m-toluidine			0.79 μ g/ml(100L)	
	p-toluidine			0.55 μ g/ml(100L)	
NIOSH No.2002	amines	シリカゲル	95%エタノール	11.7-46.9mg/m ³ (50L)	
	aromatic				
NIOSH No.2017	aniline	硫酸含浸	エタノール	31~255 μ g	
	o-toluidine	フィルター/シリカゲル		30~252 μ g	
	nitrobenzene			27~460 μ g	
化学物質分析法開発 報告書: 1985 (環境 庁環境保健部保健調 査室)	o-toluidine	リン酸処理 SEP-PAK ^{RC} ₁₈	エーテル	5pg(100L)	臭素酢酸で誘 導体化
	m-toluidine				
	p-toluidine				
化学物質分析法開発 報告書: 1997 (環境 庁環境保健部保健調 査室)	aniline	Tenax-TA	—	4.6ng/m ³ (10L)	加熱脱着法
化学物質分析法開発 報告書: 1990 (環境 庁環境保健部保健調 査室)	aniline	リン酸処理 SEP-PAK ^{RC} ₁₈	エチルアルコール	6pg	
	2,3-Xylidine			1pg	
	2,4-Xylidine			1pg	
	3,4-Xylidine			1pg	
	N-Methylaniline			0.5pg	
	N-Ethylaniline			0.5pg	
	N,N-Dimethylaniline			0.5pg	

2. 予備実験

XLD は *o*-トルイジンと構造が類似しており、アミノ基を持つ化合物であるため、*o*-トルイジンの公定法である OSHA methods No.73 および当協会中国四国安全衛生サービスセンターが開発した *o*-トルイジン測定法（山本ら）に準じた方法で測定できると推察された。

すなわち、XLD を硫酸含浸フィルターに捕集し、アルカリ溶液を用いて遊離し、トルエンで抽出を行う。その後、抽出した XLD のアミノ基を Heptafluoro butyric Anhydride (HFAA) でアシル化（図 1-1）し、感度の向上をはかる。

HFAA での誘導体化は、感度向上の他に、ピーク形状の改善と、XLD およびトルイジンの一斉分析のために必要と思われる。XLD およびトルイジンは、アミノ基を持つ化合物であるため誘導体化せずに GC で分析するには、中極性以上のカラム（DB-624 や DB-WAX など）を用いなければならない（無極性カラム（DB-1 など）では、ピーク形状が悪い（テーリング））。しかしながら、DB-WAX では *m*-トルイジンと 2,6-XLD のピークが（図 1-2）、DB-624 では *p*-トルイジンと *o*-トルイジンのピークが重なる。HFAA で誘導体化した場合、無極性カラムで全て分離することができる。

なお検討は、全ての異性体（6 種類：2,3-XLD, 2,4-XLD, 2,5-XLD, 2,6-XLD, 3,4-XLD, 3,5-XLD）について行った。

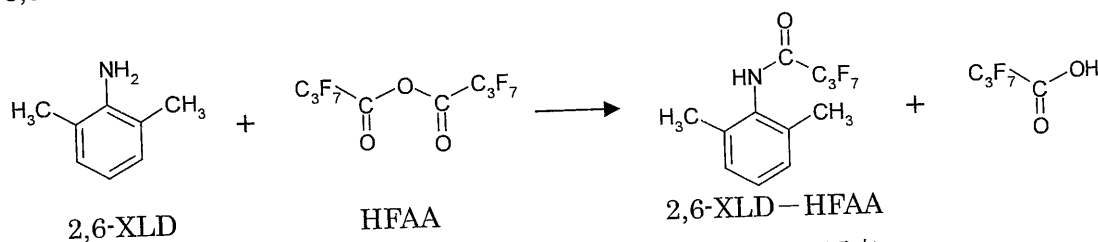


図 1-1 XLD（例；2,6-XLD）と HFAA の反応

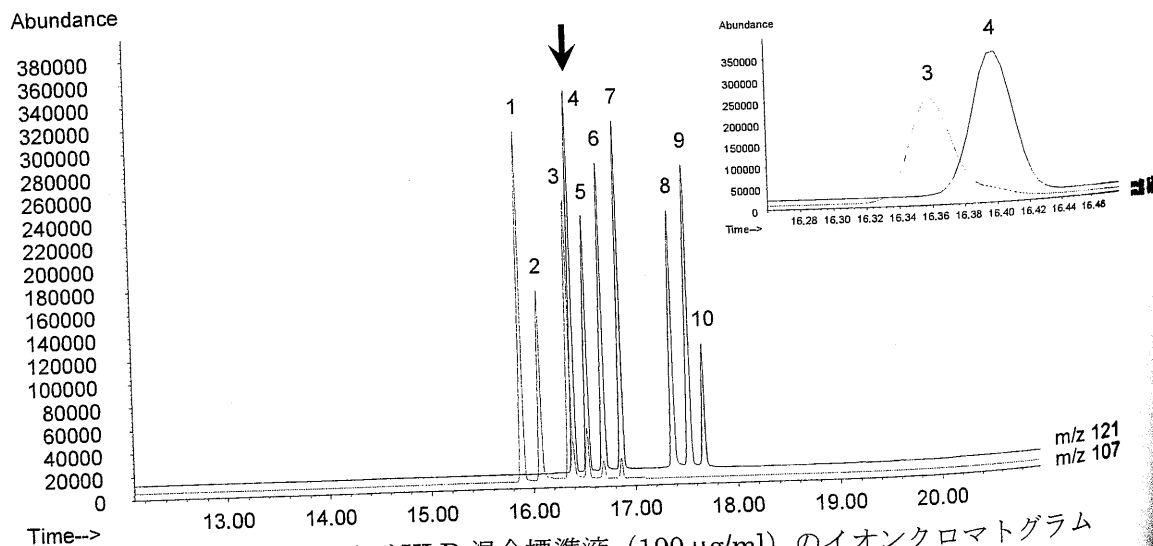


図 1-2 トルイジン及び XLD 混合標準液（100 µg/ml）のイオンクロマトグラム
 1: *o*-トルイジン, 2: *p*-トルイジン, 3: *m*-トルイジン, 4: 2,6-XLD 5: *o*-エチルアニリン,
 6: 2,4-XLD, 7: 2,5-XLD, 8: 3,5-XLD, 9: 2,3-XLD, 10: 3,4-XLD

2-1. ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) の分析条件

抽出率実験時及び誘導体化実験時の GC-MS の分析条件 (表 2, 3) を示す.

表 2 GC-MS の分析条件 (抽出率実験)

装置	Agilent GC6890N + Agilent5973inert
カラム	DB-WAX 30 m×0.25 mm, 0.5 μm
カラム温度	40°C (1 min) - 10°C/min - 220°C
注入方法	パルスドスプリット(10:1) ; パルス圧 25 psi (1 min)
注入量	1 μl
注入口温度	250°C
MS インターフェイス温度	220°C
MS イオン源温度	230°C
m/z	XLD (121, 120)
(定量用, 確認用)	(o-エチルアニリン ; 106, 121)
キャリアーガス	He 1.00 ml/min

表 3 GC-MS の分析条件 (誘導体化実験)

装置	Agilent GC6890N + Agilent5973inert
カラム	InertCap 1MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm
カラム温度	60°C (1 min) - 10°C/min - 200°C
注入方法	パルスドスプリット(10:1) ; パルス圧 25 psi (1 min)
注入量	1 μl
注入口温度	250°C
MS インターフェイス温度	280°C
MS イオン源温度	230°C
m/z	XLD-HFAA (317, 148)
(定量用, 確認用)	(o-エチルアニリン-HFAA ; 317, 148)
キャリアーガス	He 1.00 ml/min

2-2. 抽出率

OSHA methods No.73 では、アルカリ抽出溶液 (0.17 N NaOH) からの *o*-トルイジン抽出にトルエンを用いているため、XLD についてもトルエン抽出による抽出率の確認を行った。また比較として、*n*-ヘキサン (水と混和せず、かつ水より比重の軽い) でも抽出率を確認した。

0.17 N 水酸化ナトリウム溶液 3 ml に、1-10000 ppm の 6 種混合標準液 (6.5 N 硫酸ベース) を 20 μ l 添加し、トルエン又は *n*-ヘキサン (内部標準物質含有, 2 ml) で抽出を行い、HFAA 誘導体化せずにそのまま GC-MS で分析した。なお、内部標準物質には、XLD と構造の近い *o*-エチルアニリン (*o*-EA) を用いた (9.5 μ g/ml)。

その結果、トルエンは *o*-EA および全ての XLD で良好な結果 (92-106%) を示した (表 4-1)。それに対し、*n*-ヘキサンは、トルエンより低い抽出率 (82-90%) を示した (表 4-2)。

以上のことから、抽出溶媒としてトルエンが、内部標準物質 (IS) として *o*-EA が適していることが確認された。

表 4-1 トルエン抽出率

添加量 (μ g)	抽出率 : % (mean $\pm$ SD)						
	<i>o</i> -EA	2,6- XLD	2,4- XLD	2,5- XLD	3,5- XLD	2,3- XLD	3,4- XLD
2	101 $\pm$ 0.5	100 $\pm$ 1.0	99 $\pm$ 1.0	97 $\pm$ 1.1	101 $\pm$ 1.3	96 $\pm$ 0.9	110 $\pm$ 2.1
20	99 $\pm$ 0.6	97 $\pm$ 2.2	96 $\pm$ 2.5	95 $\pm$ 2.3	98 $\pm$ 2.7	94 $\pm$ 2.3	109 $\pm$ 3.6
200	91 $\pm$ 2.0	90 $\pm$ 4.0	89 $\pm$ 3.8	87 $\pm$ 3.8	89 $\pm$ 3.9	86 $\pm$ 3.8	100 $\pm$ 4.1
Overall mean	97 $\pm$ 4.8	95 $\pm$ 5.1	95 $\pm$ 5.1	93 $\pm$ 5.0	96 $\pm$ 5.8	92 $\pm$ 5.0	106 $\pm$ 5.4

N = 6

表 4-2 *n*-ヘキサン抽出率

添加量 (μ g)	抽出率 : % (mean $\pm$ SD)						
	<i>o</i> -EA	2,6-XLD	2,4- XLD	2,5- XLD	3,5- XLD	2,3- XLD	3,4- XLD
2	92 $\pm$ 0.4	91 $\pm$ 2.4	87 $\pm$ 2.5	87 $\pm$ 2.2	85 $\pm$ 2.2	83 $\pm$ 2.3	82 $\pm$ 1.8
20	91 $\pm$ 0.5	91 $\pm$ 1.5	87 $\pm$ 1.5	87 $\pm$ 1.4	86 $\pm$ 1.7	83 $\pm$ 1.3	87 $\pm$ 1.8
200	85 $\pm$ 1.2	88 $\pm$ 3.0	85 $\pm$ 2.8	85 $\pm$ 2.8	84 $\pm$ 2.7	81 $\pm$ 2.6	88 $\pm$ 2.7
Overall mean	89 $\pm$ 3.0	90 $\pm$ 3.0	86 $\pm$ 2.4	86 $\pm$ 2.4	85 $\pm$ 2.4	82 $\pm$ 2.2	86 $\pm$ 3.3

N = 6

2-3. 誘導体化の確認

トルイジン異性体も含めた 11 種混合標準液 (10 ppm) を HFAA を用いて誘導体化したクロマトグラム (図 2) 及びマススペクトル (図 3-1-7) 示す。その結果、各物質の HFAA 誘導体の分子イオン及びフラグメントイオンが検出され、誘導体化が行われていることが確認された。

アバundance

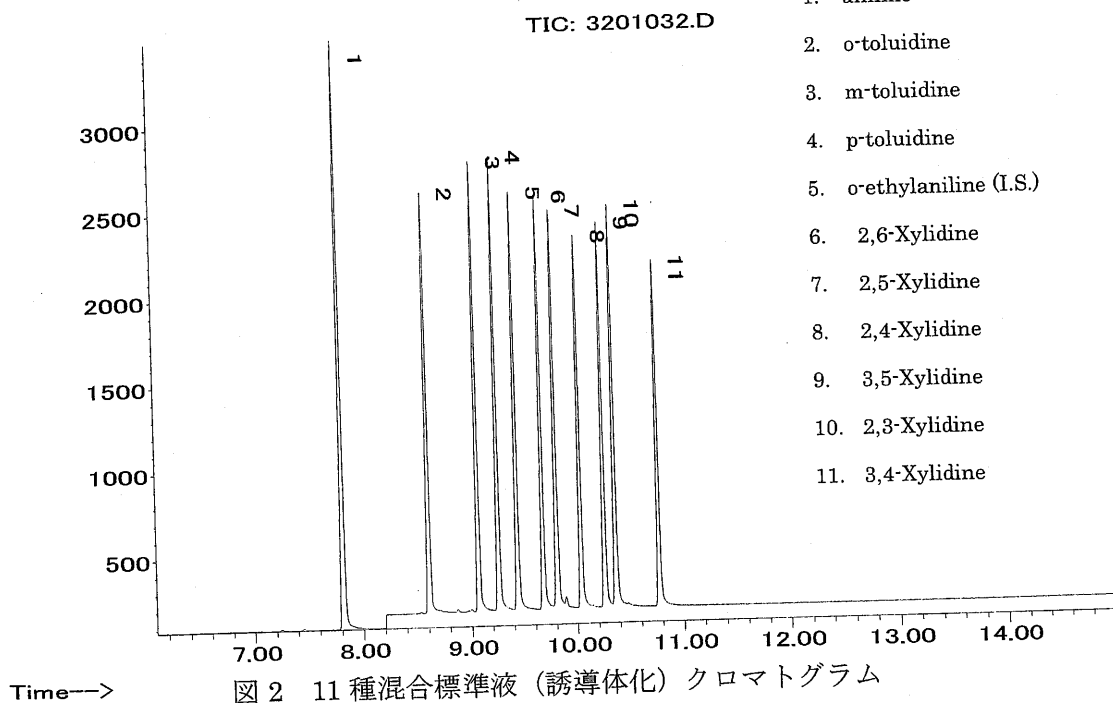


図 2 11 種混合標準液 (誘導体化) クロマトグラム

アバundance

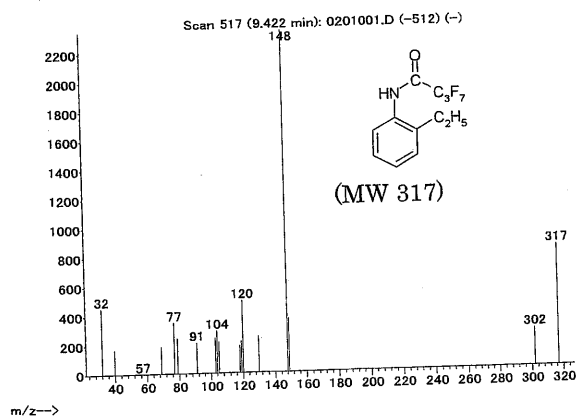


図 3-1 o-エチルアニリン-HFAA マススペクトル

アバundance

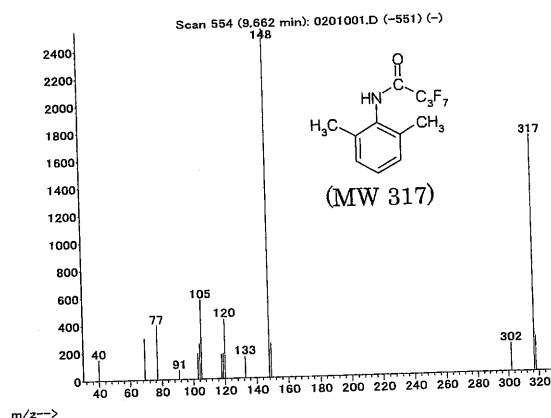


図 3-2 2,6-XLD-HFAA マススペクトル

アバundance

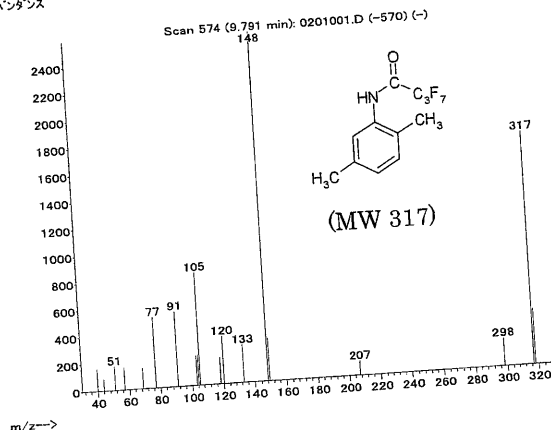


図 3-3 2,5-XLD-HFAA マススペクトル

アバundance

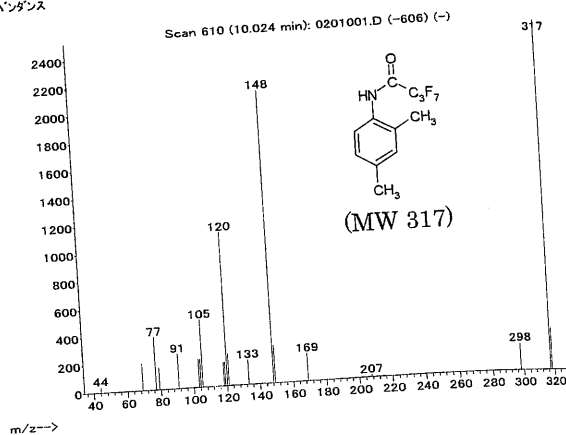


図 3-4 2,4-XLD-HFAA マススペクトル

アバundance

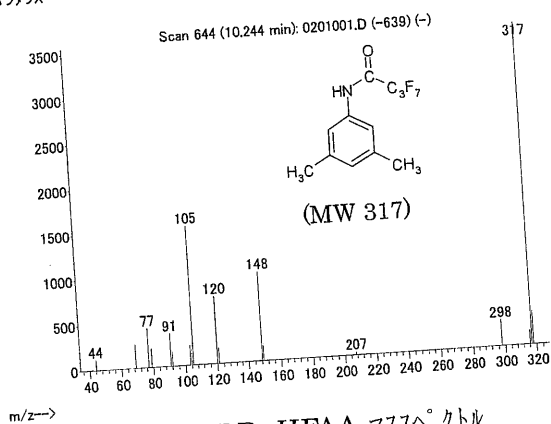


図 3-5 3,5-XLD-HFAA マススペクトル

アバundance

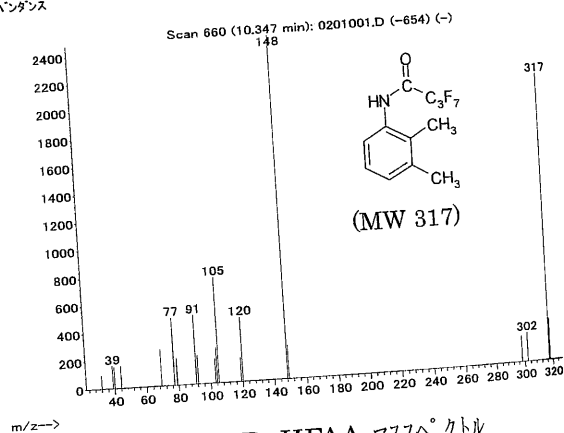


図 3-6 2,3-XLD-HFAA マススペクトル

アバundance

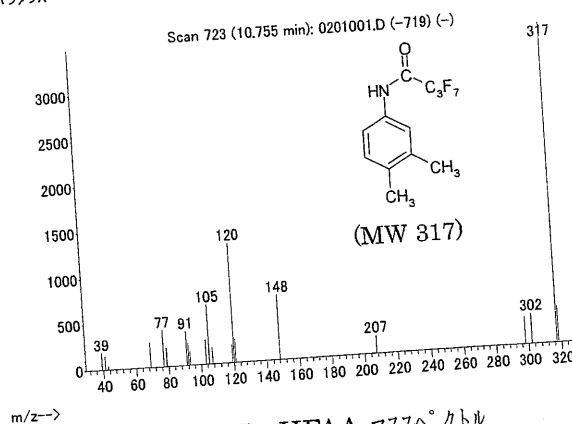


図 3-7 3,4-XLD-HFAA マススペクトル

2-4. 誘導体化条件

誘導体化の最適条件を得るために、以下の要因について検討を行った。なお、結果は全て Area で評価した。

- ① 誘導体化試薬添加量
- ② 反応温度
- ③ 反応時間

① 誘導体化試薬添加量

XLD 混合標準液 (IS 成分も含む ; 10 ppm) をトルエン (2 ml) に添加し (25 μ l), 誘導体化試薬添加量を変化させ (10-50 μ l), 誘導体化 (反応温度 : 25°C (室温), 反応時間 : 30 分間) を行った。

その結果、全ての XLD において、誘導体化試薬の添加量が多くなるにしたがって、Area は若干小さくなる傾向を示したが、添加量による著しい影響はなく、誘導体化試薬添加量は 25 μ l を選択した (図 4)。

② 反応温度

XLD 混合標準液 (IS 成分も含む ; 10 ppm) をトルエン (2 ml) に添加し (25 μ l), 反応温度を変化させ (25°C (室温) - 80°C), 誘導体化 (誘導体化試薬添加量 : 25 μ l, 反応時間 : 30 分間) を行った (図 5)。

その結果、全ての XLD において、反応温度が高くなるにつれて、Area は若干小さくなる傾向を示した。従って、反応温度は 25°C (室温) に決定した。

③ 反応時間

XLD 混合標準液 (IS 成分も含む ; 10 ppm) をトルエン (2 ml) に添加し (25 μ l), 反応時間を変化させ (0-60 分間), 誘導体化 (誘導体化試薬添加量 : 25 μ l, 反応温度 : 25°C (室温)) を行った。

その結果、全ての XLD において、反応は誘導体化試薬添加後、直ちに完了するものと思われた。したがって、反応時間は 5 分間に決定した (図 6)。

以上の結果から、誘導体化条件は誘導体化試薬添加量 25 μ l, 反応温度 25°C (室温), 反応時間 5 分間に決定した。

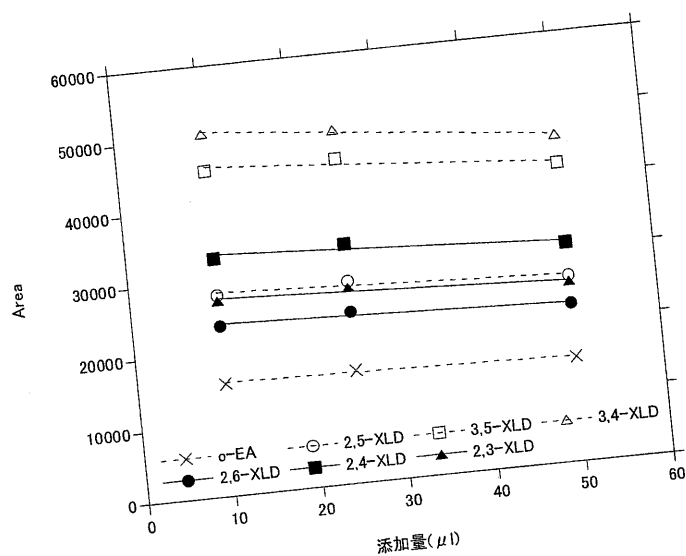


図 4 誘導体化試薬添加量

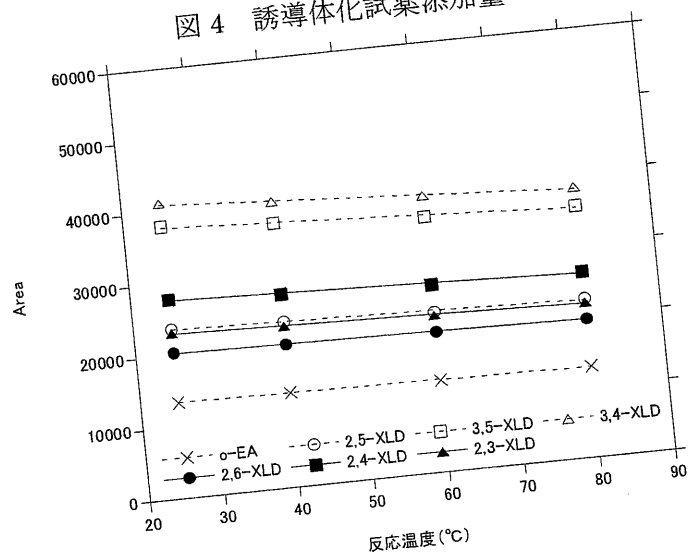


図 5 反応温度

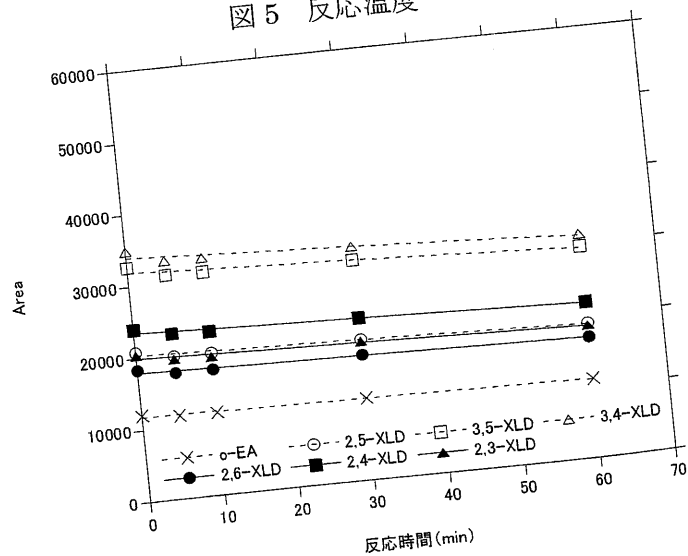


図 6 反応時間

3. 本試験

3-1. 捕集及び分析条件

予備検討の結果から決定した、捕集・前処理および GC-MS の分析条件を示した (表 5, 図 7).

表 5 捕集・前処理及び GC-MS の分析条件

捕集材	硫酸含浸フィルター ; SKC 社製 (No. 225-9004)
抽出液	3 ml 0.17N 水酸化ナトリウム溶液 2 ml トルエン (特級)
誘導体化試薬	Heptafluorobutyric Anhydride (HFAA)
内部標準物質	o-ethylaniline ; 9.5 µg/ml
装置	7890A GC System + 5975C inert XL MSD (Agilent)
カラム	InertCap 1MS 30 m×0.25 mm, 0.25 µm (GL Sciences)
カラム温度	60°C (1 min) - 10°C/min - 200°C
注入方法	パルスドスプリット(10:1) ; パルス圧 25 psi (1 min)
注入量	1 µl
注入口温度	250°C
MS インターフェイス温度	280°C
MS イオン源温度	230°C
m/z	定量イオン ; 317, 確認イオン ; 148 (o-ethylaniline 定量イオン ; 317, 確認イオン ; 148)
キャリアーガス	He 1.00 ml/min

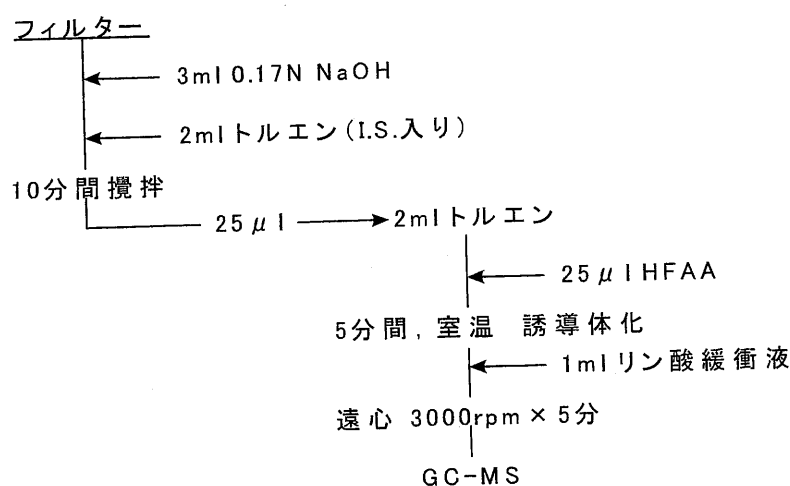


図 7 前処理フローチャート

3-2. 捕集時間 (採気量) の決定

捕集時間 (採気量) の増加に伴い、回収率の低下を生じるか否かについて、確認を行った。硫酸含浸フィルターに XLD 混合標準液 (1000, 10000 ppm) を添加 (20 μ l) し、窒素ガスを流速 1.0 l/min で 15, 60, 120, 240, 360, 480 分間吸引した後、抽出・誘導体化及び分析を行った。

その結果、窒素ガスを 480 分間吸引させた場合でも、2 層目のフィルターには XLD は検出されず、1 層目のフィルターに保持されていることが確認された (表 6)。

したがって、この手法で少なくとも 480 分間はサンプリングが可能である。なお、今回は個人ばく露測定 of 測定時間を 4 時間 (240 分間) とした。

表 6 捕集時間 (採気量) の決定

捕集時間 (min)	添加量 (μ g)	回収率 ; % (mean $\pm$ SD)	添加量 (μ g)	回収率 ; % (mean $\pm$ SD)
2,6-XLD	19.4	100 $\pm$ 1.3	194	95 $\pm$ 1.0
		101 $\pm$ 0.3		101 $\pm$ 2.7
		99 $\pm$ 1.0		100 $\pm$ 2.2
		99 $\pm$ 8.9		101 $\pm$ 3.4
		102 $\pm$ 0.8		98 $\pm$ 0.8
		100 $\pm$ 2.2		100 $\pm$ 4.6
2,5-XLD	18.6	96 $\pm$ 0.6	186	92 $\pm$ 1.2
		97 $\pm$ 0.6		98 $\pm$ 2.5
		93 $\pm$ 1.6		97 $\pm$ 2.2
		94 $\pm$ 9.3		97 $\pm$ 3.2
		96 $\pm$ 1.1		94 $\pm$ 0.6
		94 $\pm$ 2.9		96 $\pm$ 4.5
2,4-XLD	18.6	97 $\pm$ 0.8	186	93 $\pm$ 1.2
		97 $\pm$ 1.1		98 $\pm$ 3.1
		94 $\pm$ 1.2		98 $\pm$ 2.2
		93 $\pm$ 9.2		98 $\pm$ 3.4
		95 $\pm$ 1.5		95 $\pm$ 0.7
		95 $\pm$ 6.0		96 $\pm$ 4.3

N = 3

表6の続き

	捕集時間 (min)	添加量 (μg)	回収率 ; % (mean $\pm$ SD)	添加量 (μg)	回収率 ; % (mean $\pm$ SD)
3,5-XLD	15	19.0	96 $\pm$ 1.2	190	92 $\pm$ 0.5
	60		95 $\pm$ 0.6		98 $\pm$ 3.4
	120		91 $\pm$ 0.6		97 $\pm$ 2.3
	240		91 $\pm$ 8.8		98 $\pm$ 5.5
	360		92 $\pm$ 3.0		95 $\pm$ 2.3
	480		93 $\pm$ 6.4		96 $\pm$ 7.6
2,3-XLD	15	19.8	96 $\pm$ 0.9	198	91 $\pm$ 1.0
	60		95 $\pm$ 0.8		96 $\pm$ 2.9
	120		92 $\pm$ 0.6		95 $\pm$ 2.3
	240		91 $\pm$ 9.2		96 $\pm$ 3.4
	360		94 $\pm$ 0.9		93 $\pm$ 1.1
	480		92 $\pm$ 3.8		94 $\pm$ 4.0
3,4-XLD	15	19.9	99 $\pm$ 0.6	199	96 $\pm$ 1.2
	60		99 $\pm$ 1.1		101 $\pm$ 4.0
	120		95 $\pm$ 1.3		101 $\pm$ 2.3
	240		95 $\pm$ 9.3		102 $\pm$ 3.3
	360		97 $\pm$ 0.1		98 $\pm$ 0.8
	480		98 $\pm$ 12.1		98 $\pm$ 4.0

N = 3

3-3. 添加回収率

硫酸含浸フィルターに, XLD 混合標準液 (6.5 N 硫酸ベース, 個人ばく露測定: 12.5-20000 ppm, 作業環境測定: 12.5-2500 ppm) を添加 (20-60 μl) し, 室内空気 (個人ばく露測定: 20.9 $\pm$ 0.32°C 26 $\pm$ 3.1%, 作業環境測定: 21.2 $\pm$ 0.27°C 26 $\pm$ 2.9%) を流速 1.0 l/min で所定時間 (個人ばく露測定: 4 時間, 作業環境測定: 10 分間) 吸引した後, 抽出・誘導体化及び分析を行った. 個人ばく露測定と作業環境測定の場合とも, 0.2 μg 添加時の回収率は 80% 以下もしくは 15% 以上の RSD を示したため, 本法において回収可能な捕集量は 0.6 μg と考えられた. 0.6 μg 以上の添加量において, 全ての異性体の個人ばく露測定と作業環境測定の添加回収率は, それぞれ 83-101% と 92-100% と良好であった (表 7, 表 8).

表 7 添加回収率 (個人ばく露測定 240 l; 1 l/min, 4時間)

添加量 (μg)	回収率 (%)		RSD (%)	添加量 (μg)	回収率 (%)		RSD (%)
	Mean	SD			Mean	SD	
2,6-XLD				3,5-XLD			
0.2	81	± 32.4	39.7	0.2	91	± 6.0	6.6
0.6	83	± 7.5	8.9	0.6	92	± 9.2	10.0
5.8	99	± 1.1	1.1	5.7	98	± 1.1	1.1
58.2	97	± 1.1	1.2	57.1	95	± 1.0	1.1
582.1	100	± 1.5	1.5	570.7	99	± 1.0	1.1
1164.2	98	± 1.4	1.5	1141.3	99	± 1.1	1.1
2,5-XLD				2,3-XLD			
0.2	91	± 21.7	23.8	0.2	78	± 6.7	8.5
0.6	86	± 8.9	10.3	0.6	94	± 9.5	10.1
5.6	98	± 1.9	2.0	5.9	98	± 2.1	2.1
55.7	96	± 1.0	1.0	59.4	96	± 0.9	0.9
556.9	101	± 0.9	0.9	594.0	99	± 1.1	1.1
1113.8	99	± 1.3	1.3	1188.0	100	± 1.3	1.3
2,4-XLD				3,4-XLD			
0.2	67	± 17.1	25.6	0.2	72	± 9.8	13.5
0.6	85	± 5.6	6.6	0.6	84	± 5.5	6.6
5.6	98	± 1.6	1.7	5.9	97	± 1.1	1.1
55.7	96	± 0.7	0.8	58.8	94	± 1.0	1.1
557.5	99	± 0.8	0.8	588.1	99	± 1.4	1.4
1114.9	99	± 1.2	1.2	1176.2	98	± 1.1	1.1

n = 5

表 8 添加回収率 (作業環境測定 10 l; 1 l/min, 10分間)

添加量 (μg)	回収率 (%)		RSD (%)	添加量 (μg)	回収率 (%)		RSD (%)
	Mean	SD			Mean	SD	
2,6-XLD				3,5-XLD			
0.2	99	± 24.8	25.0	0.2	105	± 7.9	7.5
0.6	94	± 6.3	6.7	0.6	93	± 6.0	6.5
2.4	95	± 2.6	2.7	2.4	93	± 2.2	2.4
5.8	100	± 2.6	2.6	5.7	97	± 3.8	3.9
24.3	100	± 2.0	2.0	23.8	97	± 1.8	1.9
48.5	98	± 2.3	2.3	47.6	96	± 2.9	3.0
2,5-XLD				2,3-XLD			
0.2	109	± 24.0	22.1	0.2	86	± 12.2	14.2
0.6	92	± 8.7	9.5	0.6	95	± 3.0	3.1
2.3	95	± 1.6	1.7	2.5	96	± 3.7	3.8
5.6	98	± 2.6	2.7	5.9	99	± 3.1	3.1
23.2	99	± 2.0	2.0	24.8	97	± 1.4	1.5
46.4	97	± 2.9	3.0	49.5	97	± 2.8	2.9
2,4-XLD				3,4-XLD			
0.2	93	± 21.0	22.4	0.2	96	± 3.8	4.0
0.6	97	± 8.5	8.8	0.6	92	± 4.1	4.4
2.3	94	± 1.9	2.0	2.5	95	± 0.9	0.9
5.6	96	± 3.1	3.2	5.9	96	± 2.2	2.3
23.2	97	± 1.9	2.0	24.5	95	± 1.8	1.9
46.5	95	± 2.6	2.7	49.0	93	± 3.3	3.5

n = 5

3-4. 捕集後のサンプラーの保存安定性

硫酸含浸フィルターに、XLD 混合標準液（6.5 N 硫酸ベース，30-20000 ppm）を添加（20-30 μ l）し，室内空気（ $20.6 \pm 0.19^\circ\text{C}$ 36 $\pm$ 0.9%）を流速 1.0 l/min で 4 時間吸引した後，速やかに両端にキャップをし，冷蔵保存した．そして，捕集直後を基準として，1，3，5 日目の保存性を確認した．その結果，全ての添加量において少なくとも 5 日目まで保存可能であることが確認された（表 9，図 8）．

3-5. 前処理後の試料の保存安定性

XLD 混合標準液（トルエンベース，300 ppm）を添加（20 μ l）した標準溶液を前処理し，冷凍保存した．そして，前処理直後を基準として，1，3，5，7 日目の保存性を確認した．その結果，少なくとも 7 日目まで保存可能であることが確認された（表 10）．

表 9 保存安定性 (個人ばく露測定 240 l; 1 l/min, 4時間)

添加量 (μg)	保存日数	回収率 (%)		RSD (%)	添加量 (μg)	保存日数	回収率 (%)		RSD (%)
		Mean	SD				Mean	SD	
2,6-XLD					3,5-XLD				
0.6	0	100	± 3.4	3.4	0.6	0	100	± 2.7	2.7
	1	100	± 10.4	10.4		1	102	± 1.9	1.9
	3	102	± 8.8	8.6		3	101	± 8.5	8.5
	5	101	± 11.4	11.3		5	106	± 0.3	0.3
5.8	0	100	± 1.0	1.0	5.7	0	100	± 0.4	0.4
	1	101	± 1.9	1.9		1	101	± 1.0	1.0
	3	99	± 1.9	1.9		3	100	± 1.9	1.9
	5	100	± 1.8	1.8		5	101	± 1.5	1.5
582.1	0	100	± 1.9	1.9	570.7	0	100	± 1.7	1.7
	1	99	± 1.0	1.0		1	98	± 1.0	1.0
	3	97	± 2.2	2.2		3	98	± 1.9	1.9
	5	98	± 1.1	1.2		5	99	± 1.4	1.4
2,5-XLD					2,3-XLD				
0.6	0	100	± 6.1	6.1	0.6	0	100	± 5.6	5.6
	1	98	± 2.8	2.9		1	97	± 3.4	3.5
	3	104	± 7.5	7.2		3	95	± 3.1	3.3
	5	101	± 7.5	7.4		5	102	± 3.5	3.4
5.6	0	100	± 1.5	1.5	5.9	0	100	± 1.5	1.5
	1	98	± 2.0	2.1		1	100	± 5.4	5.4
	3	97	± 1.1	1.1		3	101	± 1.6	1.6
	5	97	± 1.5	1.6		5	97	± 3.0	3.1
556.9	0	100	± 2.0	2.0	594.0	0	100	± 2.2	2.2
	1	99	± 0.7	0.7		1	99	± 0.8	0.8
	3	97	± 2.2	2.2		3	97	± 2.7	2.7
	5	99	± 1.3	1.3		5	100	± 2.0	2.0
2,4-XLD					3,4-XLD				
0.6	0	100	± 5.2	5.2	0.6	0	100	± 3.0	3.0
	1	100	± 7.6	7.7		1	99	± 10.1	10.2
	3	99	± 8.4	8.5		3	99	± 7.0	7.0
	5	97	± 5.2	5.3		5	99	± 4.9	5.0
5.6	0	100	± 2.6	2.6	5.9	0	100	± 1.7	1.7
	1	100	± 1.4	1.4		1	100	± 2.4	2.4
	3	102	± 2.6	2.5		3	102	± 1.2	1.1
	5	99	± 3.1	3.1		5	100	± 1.7	1.7
557.5	0	100	± 2.1	2.1	588.1	0	100	± 1.7	1.7
	1	98	± 1.0	1.0		1	98	± 0.4	0.4
	3	98	± 1.8	1.8		3	98	± 1.7	1.8
	5	98	± 1.4	1.4		5	99	± 0.3	0.3

n = 3

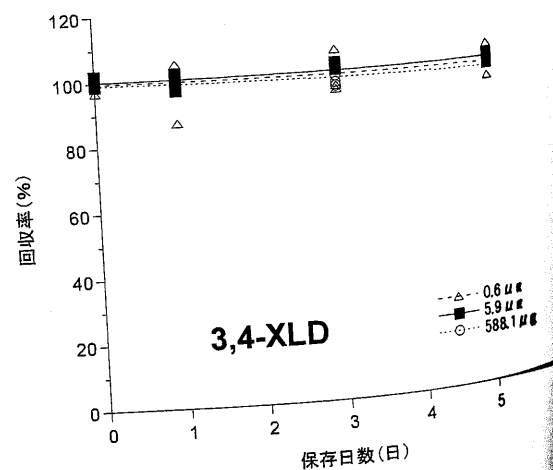
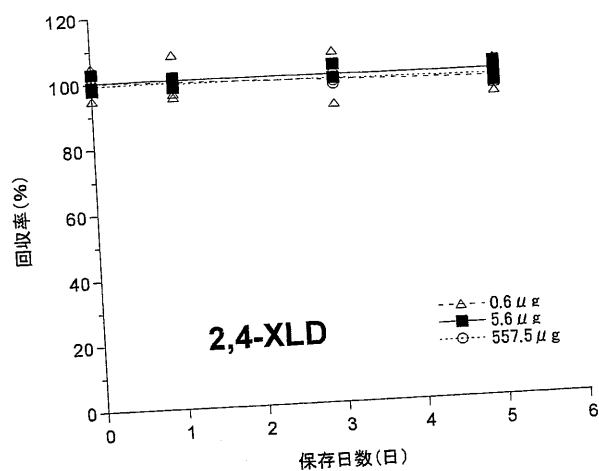
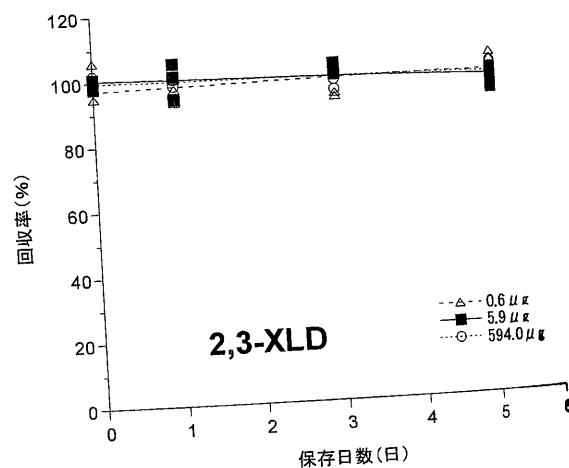
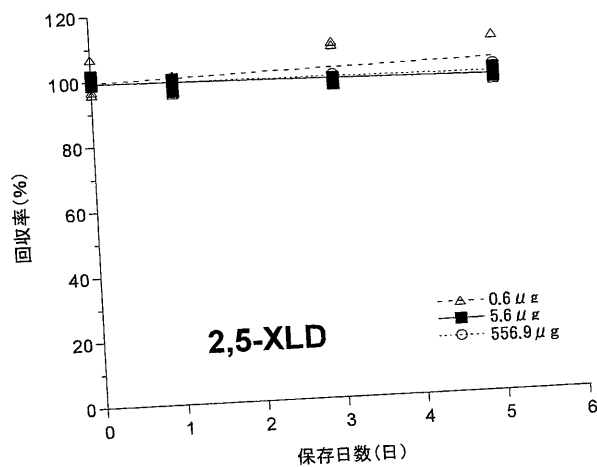
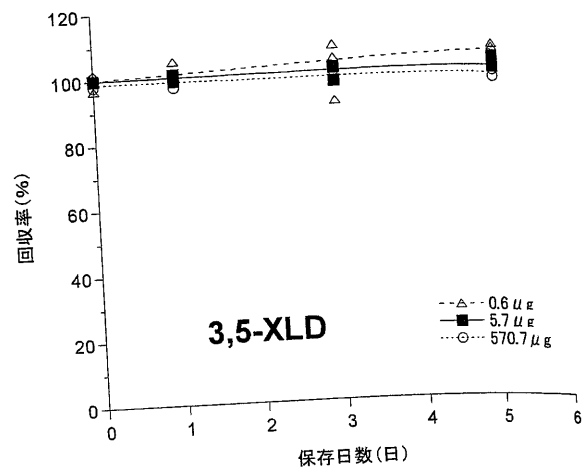
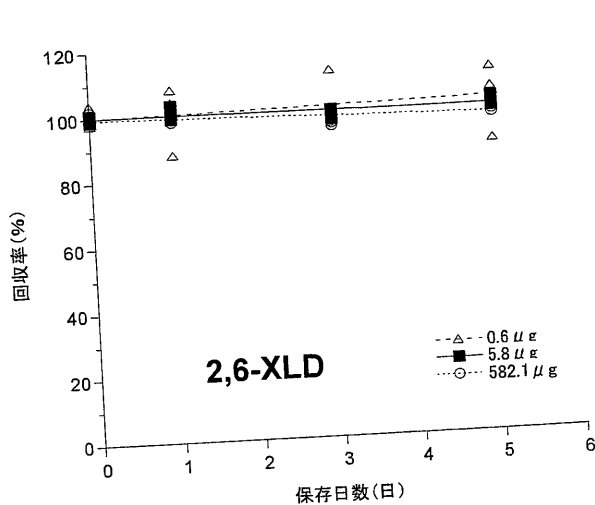


図8 保存安定性

表 10 前処理後の保存安定性

添加量 (μg)	保存日数	回収率 (%)		RSD (%)	添加量 (μg)	保存日数	回収率 (%)		RSD (%)
		Mean	SD				Mean	SD	
2,6-XLD					3,5-XLD				
5.8	0	100	± 2.2	2.2	5.7	0	100	± 1.9	1.9
	1	100	± 2.1	2.1		1	100	± 1.4	1.4
	3	102	± 2.3	2.3		3	102	± 2.4	2.3
	5	98	± 2.4	2.5		5	98	± 2.4	2.4
	7	99	± 3.2	3.2		7	97	± 1.8	1.8
2,5-XLD					2,3-XLD				
5.6	0	100	± 1.5	1.5	5.9	0	100	± 0.4	0.4
	1	97	± 1.5	1.5		1	101	± 3.6	3.5
	3	100	± 2.8	2.8		3	103	± 1.4	1.3
	5	96	± 1.8	1.9		5	92	± 3.1	3.4
	7	100	± 2.8	2.9		7	101	± 2.1	2.1
2,4-XLD					3,4-XLD				
5.6	0	100	± 2.4	2.4	5.9	0	100	± 1.8	1.8
	1	99	± 2.2	2.3		1	99	± 2.2	2.2
	3	106	± 0.8	0.7		3	103	± 1.4	1.3
	5	99	± 1.1	1.1		5	98	± 1.8	1.9
	7	101	± 3.0	3.0		7	99	± 2.0	2.1

n = 5

3-6. 検量線 (直線性)

XLD 混合標準溶液 (トルエンベース) を用いて, 0.125-600 ppm の範囲で 9 段階の標準系列を調製し, 誘導体化操作を行い, 検量線の直線性について確認を行った. その結果, 0-600 ppm の範囲で直線を示した (図 9).

3-7. 検出下限及び定量下限

検量線として調製した XLD 混合標準液の最低濃度 (0.125 ppm) を 5 サンプル分析し, XLD/o-EA を求め, その標準偏差 (SD) を算出した. 得られた標準偏差から検量線を用い, 次式より分析装置の検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ) を求めた (表 11).

$$\text{LOD } (\mu\text{g/sample}) = 3 \text{ SD}/a \quad \text{LOQ } (\mu\text{g/sample}) = 10 \text{ SD}/a$$

※ a は検量線の傾き

表 11 検出・定量下限

	捕集量 ($\mu\text{g/sample}$)		240 l 採気時の濃度 (ppb)		10 l 採気時の濃度 (ppb)	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
2,6-XLD	0.02	0.07	0.02	0.06	0.42	1.42
2,5-XLD	0.02	0.05	0.01	0.04	0.32	1.08
2,4-XLD	0.02	0.08	0.02	0.07	0.49	1.62
3,5-XLD	0.04	0.12	0.03	0.10	0.72	2.39
2,3-XLD	0.04	0.15	0.04	0.12	0.89	2.96
3,4-XLD	0.02	0.08	0.02	0.06	0.46	1.54

N = 5

また, 添加回収試験の結果から, 本法の定量下限は $0.6 \mu\text{g/sample}$ であった. したがって, 個人ばく露測定 (240 l 採気) および作業環境測定 (10 l 採気) の定量下限値は, それぞれ 0.50 と 12.12 ppb となった.

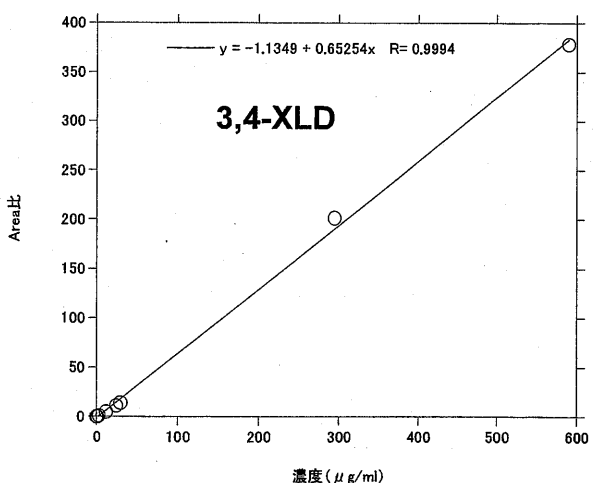
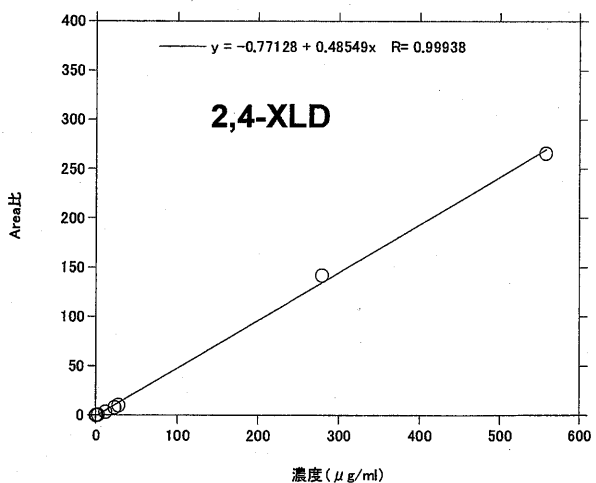
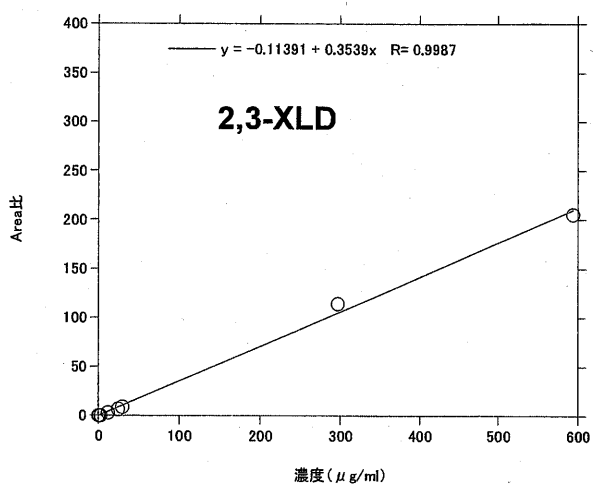
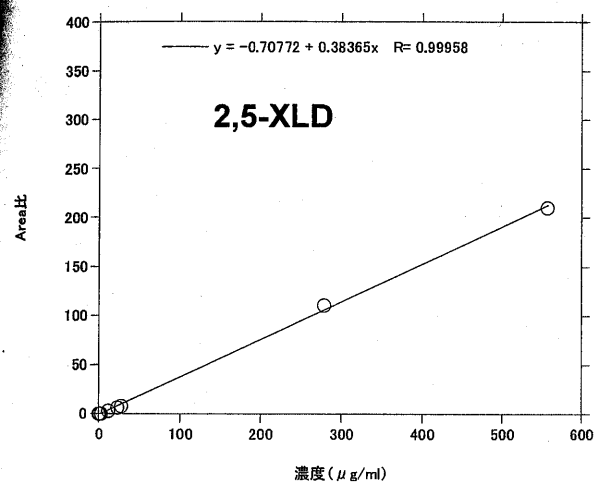
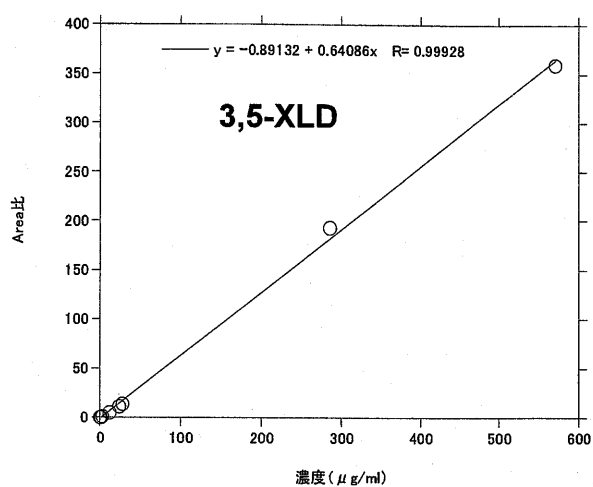
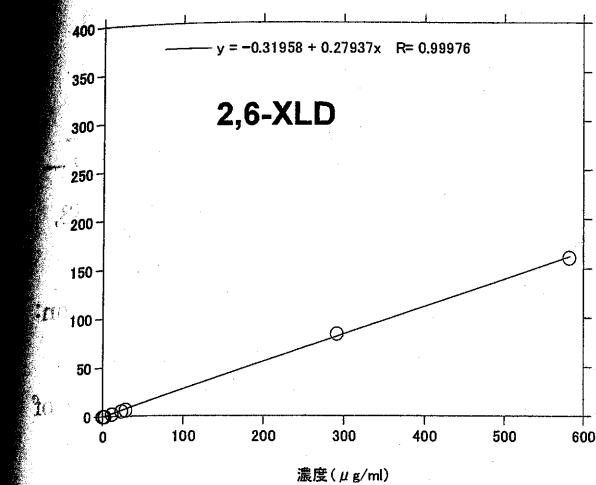


図9 検量線

4. 参考文献

1. 製品安全データシート (キシリジン) : 中央労働災害防止協会 安全衛生情報センター
2. 山本忍ほか: 作業環境中 o-トルイジンの測定方法の検討, 作業環境, 30 (2), 51-58, 2009
2. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Sampling & Analytical Methods Method no 73, 1998
3. U.S. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): Manual of Analytical Method no 2002, 1994
4. U.S. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): Manual of Analytical Method no 2017, 1998
5. 化学物質分析法開発調査報告書 (昭和 59 年度) : o-トルイジン、m-トルイジン、p-トルイジン」: p.193-198 : 環境庁環境保健部保健調査室
6. 化学物質分析法開発調査報告書 (平成 8 年度) : アニリン : p.159-166 : 環境庁環境保健部環境安全課
7. 化学物質分析法開発調査報告書 (平成元年) : アニリン、2,3-XLD、3,4-XLD、N-メチルアニリン、N-エチルアニリン、N,N-ジメチルアニリン」: p138-148 : 環境庁環境保健部保健調査室

5. 検討実施者



(別紙)

キシリジンの分析法

構造式： $(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2$ 分子量：121.18
 CAS No.：キシリジン 1300-73-8, 2,4-キシリジン 95-68-1, 2,5-キシリジン 95-78-3, 2,6-キシリジン 86-62-7,
 2,3-ジメチルアニリン 87-59-2, 2,4-ジメチルアニリン 95-68-1, 2,5-ジメチルアニリン 95-78-3, 2,6-ジメチルアニ
 リン 87-62-7, 3,4-ジメチルアニリン 95-64-7, 3,5-ジメチルアニリン 108-69-0

許容濃度等： ACGIH 0.5 ppm (TLV-TWA) 日本産業衛学会 —	物性等： 融点・凝固点：-15℃ -36℃ 沸点、初留点及び沸騰範囲：213-226℃ 224℃ 蒸気圧：<20 Pa(20℃) 8.4 Pa(0.138 mmHg(25℃))
--	---

別名：ジメチルアニリン アミノジメチルベンゼン ジメチルフェニルアミン

サンプリング	分析
サンプラー：硫酸含浸フィルター (No. 225-9004, SKC) サンプリング流量：1.0 L/min 保存性： 冷蔵で少なくとも5日間まで変化がない ことを確認（添加量 0.6-600.0 µg） ブランク： 検出されない	分析方法：ガスクロマトグラフ質量分析法 抽出：0.17N 水酸化ナトリウム 3 ml, トルエン 2 ml （内部標準物質；o-ethylaniline 9.5 µg/ml） 誘導体化試薬： Heptafluorobutyric Anhydride (HFAA) 機器： 7890A GC System+5975 inert XL MSD (Agilent) カラム：InertCap 1MS (GL Sciences) 30 m×0.25 mm, 0.25 µm 注入口温度：250℃ MSインターフェイスおよびイオン源温度：280℃, 230℃ m/z：定量イオン 317 確認イオン 148 (IS；定量イオン 317, 確認イオン 148) カラム温度：60℃ (1 min)-10℃/min-200℃ 注入法：パルスドスプリット(10:1) パルス圧 25 psi (1 min) 導入量：1 µl キャリアガス：He 1.00 ml/min 検量線：0.125-600 µg/ml の範囲で直線 リテンションタイム： キシリジン (2,6-, 2,5-, 2,4-, 3,5-, 2,3-, 3,4-の順)： 9.470, 9.604, 9.831, 10.053, 10.154, 10.562 (min) IS：9.229 (min)
精度	
回収率： 個人ばく露 83-101% (0.6-1200.0 µg) 作業環境 92-100% (0.6-50.0 µg) 装置の検出下限 (LOD) と定量下限 (LOQ) LOD 0.02-0.04 µg/Sample LOQ 0.05-0.15 µg/Sample 測定法の定量下限 (LOQ) 0.6 µg/Sample 個人ばく露測定 0.50 ppb (4 h 捕集時) 作業環境測定 12.12 ppb (10 min 捕集時)	

適用：個人ばく露測定および作業環境測定（芳香族アミン 9 成分は分離可能）

妨害：—

参考文献：

1. 製品安全データシート（キシリジン）：中央労働災害防止協会 安全衛生情報センター
2. 山本忍ほか：作業環境中 o-トルイジンの測定方法の検討，作業環境，30 (2)，51-58，2009
2. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Sampling & Analytical Methods Method no 73, 1998

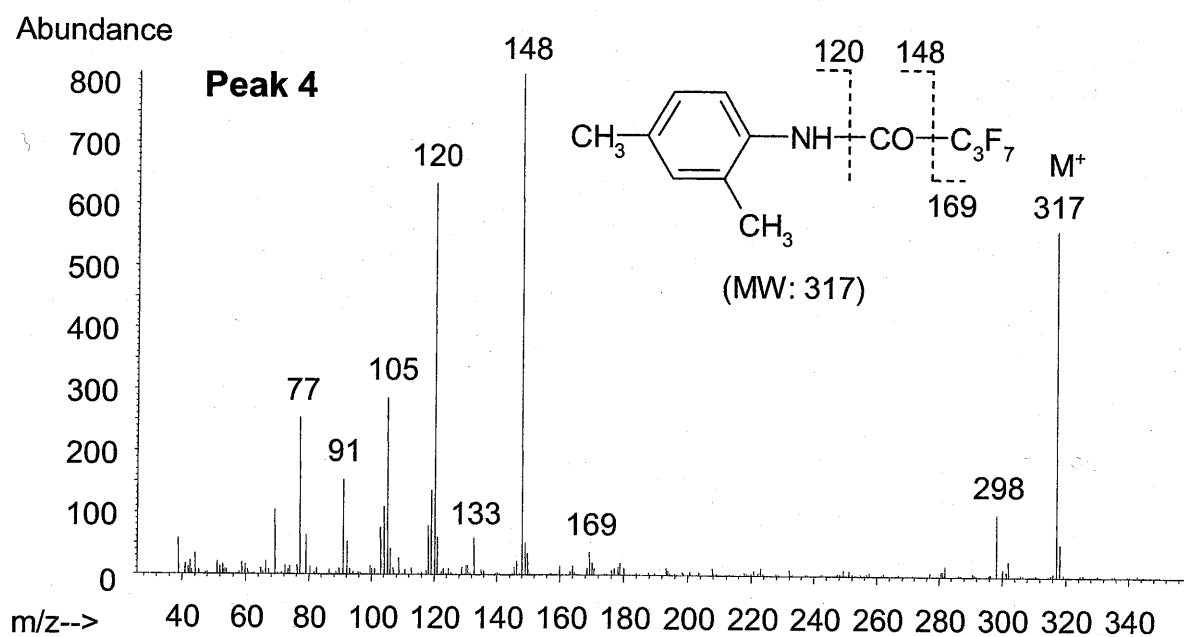
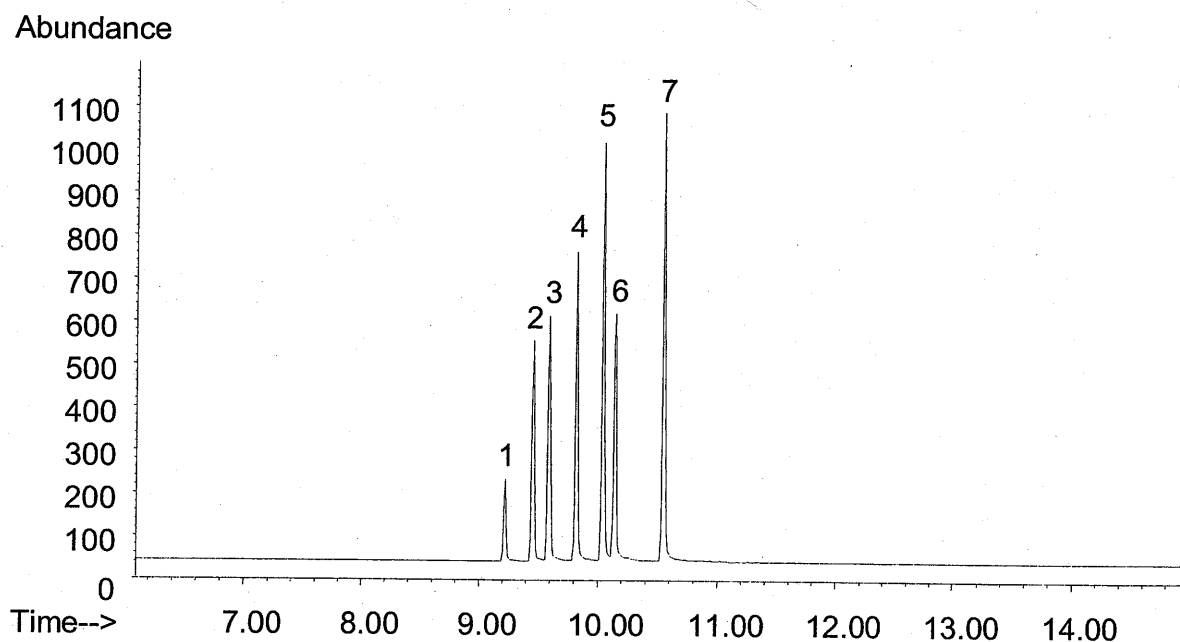
作成日 平成 22 年 3 月 19 日

参考1

目標濃度と実験濃度のまとめ

	個人ばく露測定(1 l/min, 240 min)			作業環境測定(1 l/min, 10 min)		
	目標濃度 (ppb)	実験濃度 (ppb)	添加量 (μ g)	目標濃度 (ppb)	実験濃度 (ppb)	添加量 (μ g)
添加回収試験 および検量線	5	0.2	0.25	5	5.0	0.25
		0.5	0.60		12.1	0.60
		5.0	6.00		50.0	2.50
	500 1000	50.5	60.00	500 1000	121.1	6.00
		504.7	600.00		504.7	25.00
		1009.5	1200.00		1009.5	50.00
保存安定性試験	5	0.5	0.60			
		5.0	6.00			
	500 1000	504.7	600.00			

参考 2



XLD-HFAA 混合標準液 (12.5 $\mu\text{g/ml}$) のイオンクロマトグラム (m/z 317) と
マススペクトル 例 (Peak 4: 2,4-XLD-HFAA)

Peak 1: o-EA-HFAA, Peak 2: 2,6-XLD-HFAA, Peak 3: 2,5-XLD-HFAA,
Peak 4: 2,4-XLD-HFAA, Peak 5: 3,5-XLD-HFAA, Peak 6: 2,3-XLD-HFAA,
Peak 7: 3,4-XLD-HFAA

硫酸含浸フィルターについて

今回検討に用いた硫酸含浸フィルターは、米国 SKC 社製 (No. 225-9004) のフィルターである。このフィルターは日本の代理店を通して入手となるため、価格・迅速性・安定供給等の面を考えると、国内メーカーからの同等品の供給も必要と思われる。

硫酸含浸フィルターの作成方法は、OSHA の Sampling and Analytical Method No. 73 に詳細に記載されており、自作も可能である。しかしながら、我々が作成した際には、フィルターの変形および変色を生じ、使用可能なフィルターを多量に作成することは困難であった。そこで、作成に必要な技術および設備を持つ株式会社ガステックに相当品の試作を依頼し、ご協力頂いた。

試作品の評価は、添加回収試験により行なった。結果を下表に示す。ガステック社製の添加回収率は、SKC 社製と比較して添加量が少ない場合は、若干低い回収率を示したが、添加量の多い場合は著しい違いはなかった。また作成から 2 ヶ月経過しても、変形・変色等の外観上の変化は観察されなかった。したがって、ガステック社製は SKC 社製と比較して、性能上の著しい違いはないものと思われる。

今後は、保存安定性などの他の試験も行い、使用可能か否かを評価する必要があると思われる。
(試験方法)

硫酸含浸フィルターに、XLD 混合標準液 (6.5 N 硫酸ベース, 300 および 20000 ppm) を添加 (それぞれ, 20 と 60 μ l) し、室内空気を流速 1.0 l/min で 4 時間吸引した後、分析を行った。

添加量 (μ g)	SKC社製		Gastec社製	
	回収率 (%)		回収率 (%)	
	Mean	SD	Mean	SD
2,6-XLD				
5.8	99 $\pm$ 1.1	1.1	92 $\pm$ 2.3	2.5
1164.2	98 $\pm$ 1.4	1.5	101 $\pm$ 1.6	1.6
2,5-XLD				
5.6	98 $\pm$ 1.9	2.0	91 $\pm$ 1.3	1.4
1113.8	99 $\pm$ 1.3	1.3	101 $\pm$ 2.0	1.9
2,4-XLD				
5.6	98 $\pm$ 1.6	1.7	89 $\pm$ 2.1	2.3
1114.9	99 $\pm$ 1.2	1.2	101 $\pm$ 1.9	1.8
3,5-XLD				
5.7	98 $\pm$ 1.1	1.1	92 $\pm$ 1.4	1.6
1141.3	99 $\pm$ 1.1	1.1	101 $\pm$ 2.4	2.4
2,3-XLD				
5.9	98 $\pm$ 2.1	2.1	93 $\pm$ 1.1	1.2
1188.0	100 $\pm$ 1.3	1.3	103 $\pm$ 2.6	2.5
3,4-XLD				
5.9	97 $\pm$ 1.1	1.1	87 $\pm$ 1.8	2.1
1176.2	98 $\pm$ 1.1	1.1	101 $\pm$ 2.3	2.2

n = 5