

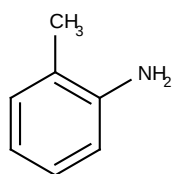
トルイジン

Toluidine

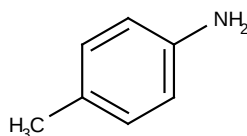
2-アミノ-1-メチルベンゼン (*o*-トルイジン)、4-アミノ-1-メチルベンゼン (*p*-トルイジン)、3-アミノ-1-メチルベンゼン (*m*-トルイジン)

別名：アミノトルエン、メチルアニリン、アミノメチルベンゼン

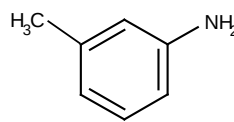
【対象物質の構造】

*o*-トルイジン

CAS 番号：95-53-4

分子式：C₇H₉N*p*-トルイジン

CAS 番号：106-49-0

分子式：C₇H₉N*m*-トルイジン

CAS 番号：108-44-1

分子式：C₇H₉N【物理化学的性状】¹⁾

	<i>o</i> -トルイジン	<i>p</i> -トルイジン	<i>m</i> -トルイジン
分子量 (平均分子量)	107.2	107.2	107.2
分子量 (モノアイソトピック質量)	107.07327	107.07327	107.07327
沸点	200°C	200°C	203°C
融点	-16°C	44~45°C	-30°C
比重	1.00 g/cm ³	1.05 g/cm ³	0.99 g/cm ³
蒸気圧	34.5 Pa (25°C)	0.13 kPa (42°C)	17 Pa(25°C)
溶解性	1.62 g/100 mL (20°C)	0.75 g/100 mL (20°C)	0.1 g/100 mL (25°C)
log P _{ow}	1.43	1.39	1.40

【毒性、用途】

〔毒性〕

ACGIH-TLV 2ppm *o*-、*p*-：A3(動物実験では発がん性が確認されているが、

人との関連は不明な物質) *m*- : A4(人における発がん性が分類できていない物質)¹⁾。

労働衛生上の作業環境基準では、*o*-トルイジンについて 1 ppm と定められている²⁾。

[実験動物に対する急性毒性情報]

ラット (経口) LD₅₀ : *o*-:900 mg/kg³⁾ *p*-:332 mg/kg⁴⁾ *m*-:450 mg/kg⁵⁾

マウス (腹腔) LD₅₀ : *o*-:150 mg/kg³⁾

マウス (経口) LD₅₀ : *p*-:330 mg/kg⁴⁾ *m*-:740 mg/kg⁵⁾

ラット (吸入) LC₁₀ : *p*-:>640 mg/m³(1h)⁴⁾

ウサギ (経口) LD₅₀ : *p*-:270 mg/kg⁴⁾

[用途]

染料の主原料 (アゾ系及び硫化系染料)、有機合成、溶剤⁶⁾

出典

- 1) 国際化学物質安全性カード
- 2) 許容濃度等の勧告(2015年度)、産衛誌 57 巻, 2015
- 3) 後藤稠 編(1994)産業中毒便覧 (増補版)、医歯薬出版
- 4) US National Institute for Occupational Safety and Health, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database.
- 5) 環境省 化学物質の環境リスク評価書 第5巻
- 6) (社) 日本化学工業協会調査資料(2001)

§1 分析法

(1) 分析法の概要

大気試料は、リン酸とアスコルビン酸を含浸させた固相抽出カートリッジに通気して捕集し、メタノールで溶出する。溶出液に内部標準物質を添加し、アンモニア水を添加してトルエンで抽出したものを LC/MS/MS (ESI-positive) で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

<i>o</i> -, <i>p</i> -, <i>m</i> -トルイジン	: 東京化成製 98.0%以上
<i>o</i> -, <i>p</i> -, <i>m</i> -トルイジン- <i>d</i> ₉	: C/D/N ISOTOPES製 98atom%D
リン酸	: 和光純薬工業製 試薬特級 85%
アスコルビン酸	: MP Biomedicals 製
トルエン	: 和光純薬工業製 ダイオキシン類測定用
メタノール	: 和光純薬工業製 LC/MS用
酢酸	: 和光純薬工業製 LC/MS用
精製水	: 和光純薬工業製 超純水 PFOS、PFOA測定用
アンモニア水	: 関東化学製 特級 (28~30%)
固相抽出カートリッジ	: アジレント製 Bond Elut PPL、500 mg/6 mL

【標準液の調製】

〔標準液〕

o-, *p*-, *m*-トルイジンの標準試薬をそれぞれメタノールに溶解し、1000 µg/mL に調製したものを標準原液とする。3 種類の標準原液を混合してトルエンで希釈し、それぞれを 0.10 µg/mL に調製したものを標準液とする。

〔内標準液〕

o-, *p*-, *m*-トルイジン-*d*₉の標準試薬をそれぞれメタノールに溶解し、1000 µg/mL に調製したものを内標準原液とする。3 種類の内標準原液を混合、トルエンで希釈し、それぞれを 0.10 µg/mL に調製したものを内標準液とする。

〔検量線用標準液の調製〕

0.10 µg/mL 標準液及び内標準液をトルエンで適宜希釈したものを検量線用標

準液とする。各濃度の標準液は、*o*-、*p*-、*m*-トルイジンとして 0.10 ～10 ng/mL、*o*-、*p*-、*m*-トルイジン-*d*₉として 1.0 ng/mL に相当するように調製する。

【試薬の調製】

〔リン酸-アスコルビン酸溶液〕

精製水 10 mL にアスコルビン酸 1 g を溶かし、リン酸 1 mL を加え、メタノールを加え、20 mL とする。

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性があるので、標準試薬を取り扱うときはドラフトの中で行うなど室内を汚染しないよう注意する。20℃ ではほとんど気化しない。しかし噴霧すると、浮遊粒子が急速に有害濃度に達することがある。とくに *o*-トルイジンは、労働災害を起こしている疑いがある。

【器具】（注 1）

ポンプ、ガスメーター、ねじロキャップ付き試験管(10 mL)、シリンジアダプター（6 mL 用）、注射筒。

(3) 分析法

【捕集管の調製】

固相抽出カートリッジにメタノール 5 mL を加えて自然落下させ、メタノールが落ち切ったら続いてリン酸・アスコルビン酸溶液を 1 mL 加え、落下させる。シリンジアダプターと注射筒を接続し、空気を送って樹脂部分の余分な溶液を取り除き、純窒素ガスなど対象物質を含まない気体を通気して乾燥させたものを捕集管とする（注 2）。試料採取まで汚染を受けないよう、アルミパックなどで密閉し冷蔵しておく。

【試料の捕集及び保存】

捕集管をポンプと接続し、50 mL/min の流速で大気を 24 時間通気して採取する。大気試料を採取した捕集管は、分析時までアルミパックなどで密閉し、冷蔵する。

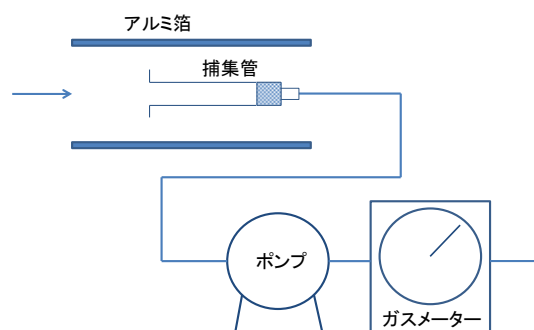


図 1 試料採取装置

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を捕集した固相抽出カートリッジの下部にねじ口試験管(10 mL)をセットし、メタノールを自然落下で 2 mL 溶出させる (注 3)。溶出液に内標準液(0.10 ng/μL) 20 μL を加えてよく混和し、さらにアンモニア水／精製水(1:9)を 2 mL 加えたものにトルエン 2.0 mL を加えてキャップを閉め、2 分間程度振とうする。2 分静置し、上層のトルエン部分を試験液 (注 4) とし、LC/MS/MS-SRM (selected reaction monitoring) モードで測定し定量する。

【空試験液の調製】

大気試料を捕集していない捕集管を用い、【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/MS 条件〕 (注 5)

使用機種	: 島津製作所製 LC-MS 8050
使用カラム	: Waters 製 CORTECS C18+ (2.1 mm × 150 mm, 2.7 μm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: A : 0.01%酢酸水溶液 B : メタノール 0.0→5.0 min A:90→10 B:10→90 linear gradient 5.0→7.0 min A:B=10:90 7.0→8.0 min A:10→90 B:90→10 linear gradient 8.0→15 min A:B=90:10
カラム流量	: 0.2 mL/min
注入液量	: 5 μL
イオン化法	: ESI-positive
インターフェイス電圧	: 4.0 kV
コリジョンエネルギー	: 21 eV
インターフェイス温度	: 300°C
脱溶媒ライン温度	: 250°C
ヒートブロック温度	: 400°C
ネブライザーガス流量	: 3.0 L/min
乾燥ガス流量	: 10.0 L/min
加熱ガス流量	: 10.0 L/min
コリジョンガス	: Ar (270 psi)
モニターイオン	: <i>o</i> -, <i>p</i> -, <i>m</i> -トルイジン <i>m/z</i> 108 > 91 (定量) 108 > 65 (確認) : <i>o</i> -, <i>p</i> -, <i>m</i> -トルイジン- <i>d</i> ₉ <i>m/z</i> 115 > 98 (注 6)

〔検量線〕

標準液 5 μL を LC/MS に注入して分析する。対象物質と内標準物質の濃度及び得られたピーク面積の比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 5 μL を LC/MS に注入して分析する。得られた対象物質のピーク面積と内標準物質のピーク面積の比を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

大気試料中の濃度 C (ng/m³) は次式から算出する。

$$C = R \cdot Q / V \times (273 + t) / (273 + 20.0) \times (101 / P)$$

R ：検量線から求めた試料液中の内標準物質に対する対象物質の濃度比

Q ：試料中に添加した内標準物質の量(ng)

(= 添加した内標準液の濃度 (ng/μL) × 添加した内標準液の量 (μL))

V ：試料量 (m³)

t ：捕集時の平均気温 (°C)

P ：捕集時の平均気圧 (kPa)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 2.0 \text{ (ng)}$$

(= 添加した内標準液の濃度 (0.10 ng/μL) × 添加した内標準液の量 (20 μL))

$$V = 0.072 \text{ (m}^3\text{)}$$

即ち、

$$C = R \times 27.8 \times (273 + t) / (273 + 20.0) \times (101 / P) \text{ (ng/m}^3\text{)}$$

である。

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS の IDL を下記に示す（注 7）。

表 1 IDL 算出の結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m ³)
<i>o</i> -トルイジン	0.079	0.072	2.0	0.44
<i>p</i> -トルイジン	0.054	0.072	2.0	0.30
<i>m</i> -トルイジン	0.079	0.072	2.0	0.44

〔分析方法の検出下限 (MDL)及び定量下限(MQL)〕

本分析の MDL 及び MQL を下記に示す（注 8）。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m ³)	MQL (ng/m ³)
<i>o</i> -トルイジン	0.072	2.0	1.8	4.7
<i>p</i> -トルイジン	0.072	2.0	1.4	3.5
<i>m</i> -トルイジン	0.072	2.0	0.91	2.3

注 解

- (注1) JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理ないしはバリデーションされたものを用いることを基本とし、測定誤差2%以下となることを担保しておくのが望ましい。
- (注 2) 完全に乾燥させる必要はない。通気ポンプに負担がかからない程度で十分である。捕集管に水分が残っている場合は、乾燥が進むにつれて樹脂の圧力抵抗が変わるため、流速が変化することがある。リン酸やアスコルビン酸が含浸されていない捕集管では、回収率が低く安定しなかった。
- (注 3) 自然落下では時間がかかりすぎる場合は、カートリッジアダプターと注射筒をつけて加圧する。ただし落下速度は 1 mL/min を超えないようにする。

- (注 4) 対象物質と内標準物質は、トルエンに抽出されるが、リン酸とアスコルビン酸は水-メタノール層に残留する。トルエンは正確に 2.0 mL とは言えなくなるが、定量は事前に添加した内標準物質を基準とした相対検量線法に基づくので、誤差は相殺される。トルエンと水-メタノール層を接したままにしておく、と、汚染のおそれがあるので、分離したらすみやかにトルエン層を測定用バイアルに移す。
- (注 5) LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種(島津製作所製 LC/MS 8050)の例である。
- (注 6) 内標準物質に用いているのは、対象物質の 9 つの水素原子が重水素に置換した安定同位体置換物質であるが、プレカーサーイオンに用いるのは対象物質のプレカーサーイオン+9ではなく、+7であることに注意する。アミノ基の 2 つの重水素が容易に水素に置換するためだろう。

(注 7) IDL は、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、下記表 3 のとおり算出した。

表 3 IDL の算出結果

物質名	トルイジン		
	<i>o</i> -	<i>p</i> -	<i>m</i> -
試料量 (m ³)	0.072	0.072	0.072
最終液量 (mL)	2	2	2
注入液濃度 (ng/mL)	0.10	0.10	0.10
注入量 (pg)	0.50	0.50	0.50
装置注入液量 (μL)	5	5	5
結果 1 (pg)	0.497	0.490	0.485
結果 2 (pg)	0.517	0.459	0.435
結果 3 (pg)	0.474	0.490	0.469
結果 4 (pg)	0.521	0.504	0.476
結果 5 (pg)	0.483	0.484	0.491
結果 6 (pg)	0.480	0.491	0.477
結果 7 (pg)	0.471	0.488	0.447
平均値 (pg)	0.4918	0.4866	0.4685
標準偏差 (pg)	0.0204	0.0139	0.0205
IDL (pg)*	0.079	0.054	0.079
IDL 試料換算値 (ng/m ³)	0.44	0.30	0.44
S/N 比	6.6	0	13
CV(%)	4.1	2.9	4.4

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

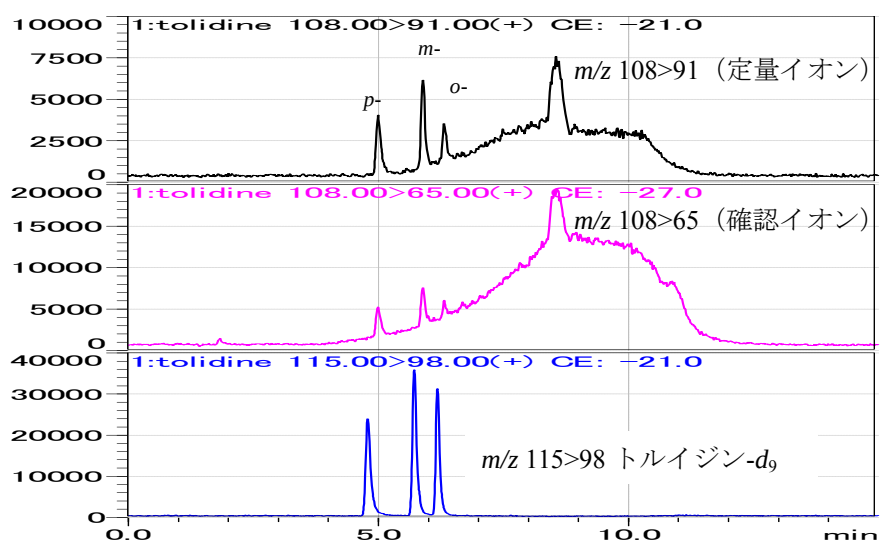


図2 IDL 測定時の正イオン SRM クロマトグラム
 (対象物質濃度：0.10 ng/mL、内標準物質濃度：1.0 ng/mL)

(注 8) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)により、表 4-1 及び表 4-2 のとおり算出した。ただし、対象物質は大気から常時検出されたため、捕集管を 2 連にし、後段の捕集管に標準物質を添加して測定した。注入液濃度の $+α$ は、操作ブランク相当分である。MDL 測定時のクロマトグラムを図 3 に示す。

表 4-1 MDL 及び MQL の算出結果 (標準添加)

物質名	トルイジン					
	o-	d_9 回収率	p-	d_9 回収率	m-	d_9 回収率
試料	大気	-	大気	-	大気	-
試料量 (m^3)	0.072	-	0.072	-	0.072	-
標準添加量 (ng)	0.20	-	0.20	-	0.20	-
標準換算濃度 (ng/ m^3)	2.78	-	2.78	-	2.78	-
最終液量 (mL)	2	-	2	-	2	-
注入液濃度 (ng/mL)	$0.1+α$	-	$0.1+α$	-	$0.1+α$	-
装置注入量 ($μL$)	5	-	5	-	5	-
操作ブランク平均 (ng/ m^3)* ¹	(3.3)	-	(1.9)	-	(0.7)	-
無添加平均 (ng/ m^3)* ²	<0.90	-	<1.4	-	<2.3	-
結果 1 (ng/ m^3)	5.46	66.3	3.14	57.0	2.36	62.1
結果 2 (ng/ m^3)	5.38	66.3	3.62	56.8	2.65	63.7
結果 3 (ng/ m^3)	5.82	78.5	3.05	69.8	2.48	77.2
結果 4 (ng/ m^3)	5.25	82.4	3.68	69.3	2.24	77.9
結果 5 (ng/ m^3)	5.86	65.4	3.98	54.7	2.86	62.1
結果 6 (ng/ m^3)	5.67	66.4	3.27	55.0	2.60	64.2
結果 7 (ng/ m^3)	5.43	67.5	3.13	55.6	2.22	64.4
平均値 (ng/ m^3)	5.551	70.4	3.412	59.8	2.488	67.4
標準偏差 (ng/ m^3)	0.231		0.351		0.234	
MDL (ng/ m^3)* ³	0.90		1.4		0.91	
MQL (ng/ m^3)* ⁴	2.3		3.5		2.3	
S/N 比	9.4		8.6		13	
CV(%)	4.2		10		9.4	

*1 : 空気試液を測定した値の平均値 ($n = 2$) : 記載の値は実験室内空気の測定例。

*2 : 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 ($n = 2$) : 操作ブランク値を差し引いている。

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

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



図 3-1 MDL 測定時の正イオン SRM クロマトグラム
(対象物質添加量 : 0.20 ng、内標準物質濃度 : 1.0 ng/mL)

操作ブランクを生じたので、ブランク値からも MDL などを算出した。

表 4-2 MDL 及び MQL の算出結果 (操作ブランク)

物質名	トルイジン		
	<i>o</i> -	<i>p</i> -	<i>m</i> -
試料量 (m ³)	0.072	0.072	0.072
標準添加量 (ng)	0	0	0
最終液量 (mL)	2	2	2
注入液濃度 (ng/mL)	<0.1	<0.1	<0.1
装置注入量 (μL)	5	5	5
結果 1 (ng/ m ³)	3.88	2.66	2.33
結果 2 (ng/ m ³)	3.41	2.39	2.44
結果 3 (ng/ m ³)	2.73	2.68	2.44
結果 4 (ng/ m ³)	3.62	2.76	2.44
結果 5 (ng/ m ³)	3.35	2.15	2.41
結果 6 (ng/ m ³)	3.58	2.09	2.24
結果 7 (ng/ m ³)	2.63	2.43	2.02
平均値 (ng/ m ³)	3.31	2.40	2.33
標準偏差 (ng/ m ³)	0.468	0.265	0.157
MDL (ng/ m ³) *1	1.8	1.0	0.61
MQL (ng/ m ³) *2	4.7	2.6	1.6
S/N 比	13	7.1	11
CV(%)	14	11	6.7

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

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

表 4-1 と 4-2 を比較すると、*o*-トルイジンの MDL はブランク値から算出した値の方が大きかったので、*o*-トルイジンの MDL のみ、操作ブランクから算出した値を採用した。



図 3-2 MDL 測定時の正イオン SRM クロマトグラム (操作ブランク)
(対象物質無添加、内標準物質濃度 : 1.0 ng/mL)

§2 解説

【分析法】

分析法のフローチャートを図4に示す。

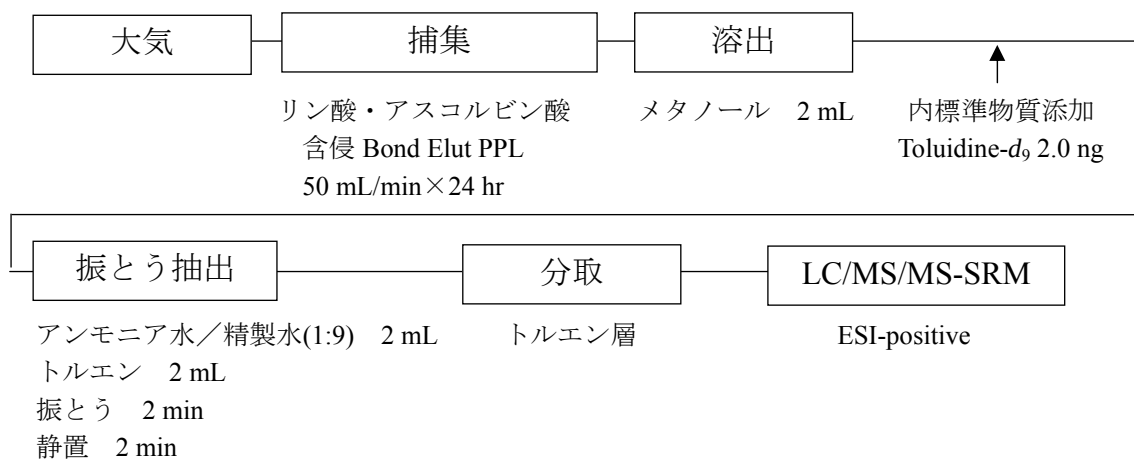


図4 分析法のフローチャート

【クロマトグラム】

標準液のクロマトグラムを図5に示す。

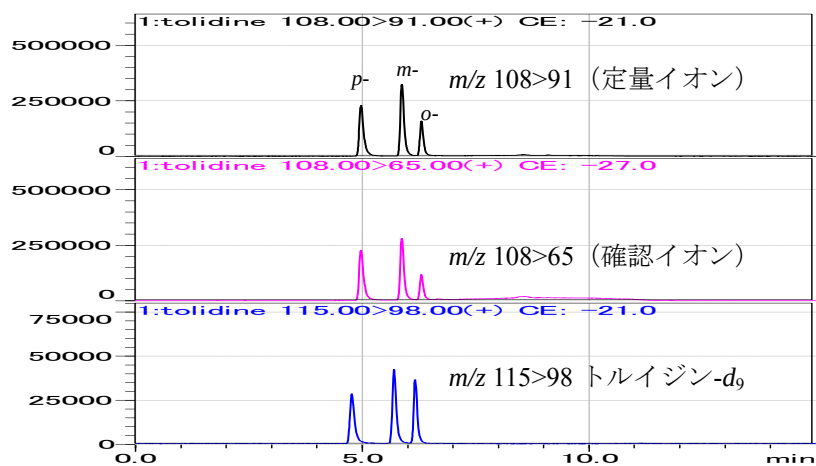


図5 標準液の正イオン SRM クロマトグラム
(対象物質濃度: 5.0 ng/mL、内標準物質濃度: 1.0 ng/mL)

〔検量線〕

検量線を図 6 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

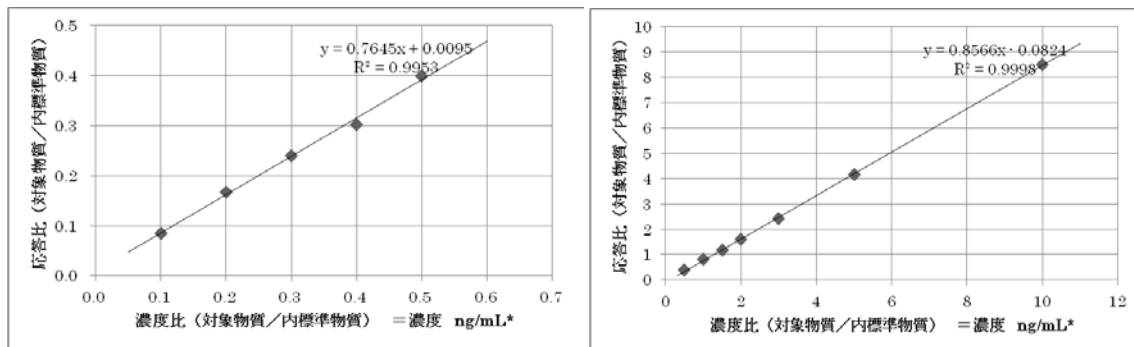


図6-1 左：低濃度域検量線（*o*-トルイジン：0.10 ～ 0.50 ng/mL、内標準物質：1.0 ng/mL）

右：高濃度域検量線（*o*-トルイジン：0.50 ～ 10 ng/mL、内標準物質：1.0 ng/mL）

*内標準物質濃度が 1.0 ng/mL なので、濃度比と濃度の数値は等しくなる。

表 5-1 *o*-トルイジンの検量線作成用データ

標準物質濃度 (ng/mL)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	標準物質(A_s)	内標準物質(A_{is})	
	<i>o</i> -トルイジン (m/z 108>91)	<i>o</i> -トルイジン- d_9 (m/z 115>98)	
0.10	15208	177818	0.086
0.20	24393	145998	0.17
0.30	42009	175389	0.24
0.40	57337	189914	0.30
0.50	67596	168848	0.40
1.0	178898	222210	0.81
1.5	225373	192133	1.17
2.0	335390	206996	1.62
3.0	451377	184736	2.44
5.0	882225	211578	4.17
10	1057638	124246	8.51

*内標準物質濃度：1.0 ng/mL

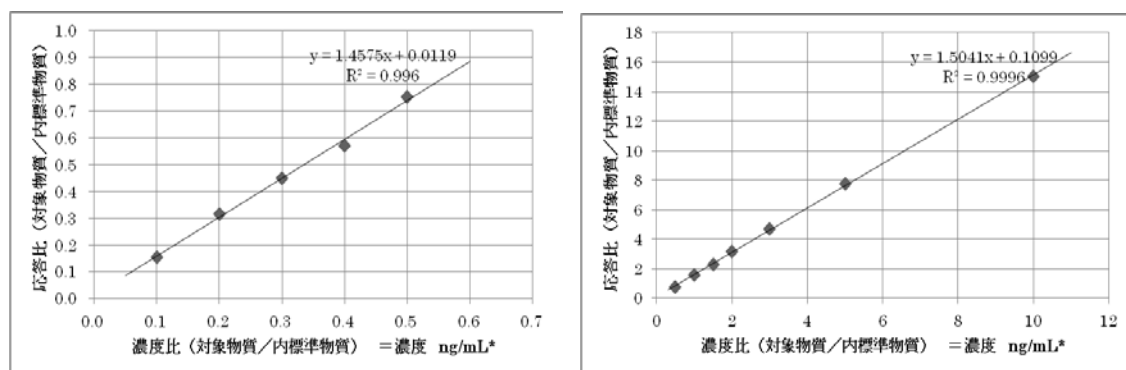


図6-2 左：低濃度域検量線 (*p*-トリプテン：0.10 ～ 0.50 ng/mL、内標準物質：1.0 ng/mL)
 右：高濃度域検量線 (*p*-トリプテン：0.50 ～ 10 ng/mL、内標準物質：1.0 ng/mL)
 *内標準物質濃度が 1.0 ng/mL なので、濃度比と濃度の数値は等しくなる。

表5-2 *p*-トリプテンの検量線作成用データ

標準物質濃度 (ng/mL)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	標準物質(A_s)	内標準物質(A_{is})	
	<i>p</i> -トリプテン (m/z 108>91)	<i>p</i> -トリプテン- d_9 (m/z 115>98)	
0.10	27181	175604	0.15
0.20	46250	147137	0.31
0.30	79089	175809	0.45
0.40	106077	185429	0.57
0.50	125349	166101	0.75
1.0	345342	214994	1.61
1.5	437223	192186	2.27
2.0	645296	203371	3.17
3.0	835818	176842	4.73
5.0	1632363	210110	7.77
10	2001978	132944	15.1

*内標準物質濃度：1.0 ng/mL

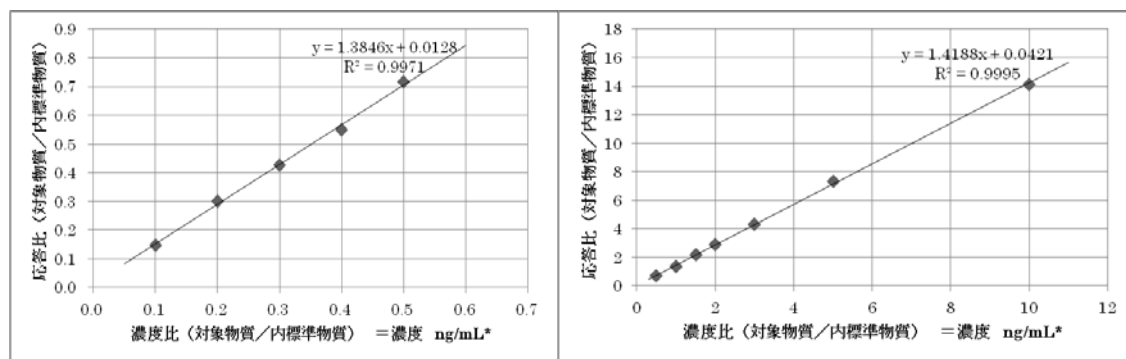


図6-3 左：低濃度域検量線（*m*-トリイジン：0.10 ～ 0.50 ng/mL、内標準物質：1.0 ng/mL）
 右：高濃度域検量線（*m*-トリイジン：0.50 ～ 10 ng/mL、内標準物質：1.0 ng/mL）
 *内標準物質濃度が1.0 ng/mL なので、濃度比と濃度の数値は等しくなる。

表5-3 *m*-トリイジンの検量線作成用データ

標準物質濃度 (ng/mL)	応答値		応答比 (A_s/A_{is})
	標準物質(A_s)	内標準物質(A_{is})	
	<i>m</i> -トリイジン (m/z 108>91)	<i>m</i> -トリイジン- d_9 (m/z 115>98)	
0.10	32583	221551	0.15
0.20	56544	187582	0.30
0.30	95788	223965	0.43
0.40	133783	243471	0.55
0.50	149237	208617	0.72
1.0	377624	276526	1.37
1.5	527855	241671	2.18
2.0	750959	260470	2.88
3.0	1021354	237792	4.30
5.0	1936711	263427	7.35
10	2329935	164871	14.1

*内標準物質濃度：1.0 ng/mL

[マススペクトル]

対象物質の正イオン SRM マススペクトルを図 7 に示す。

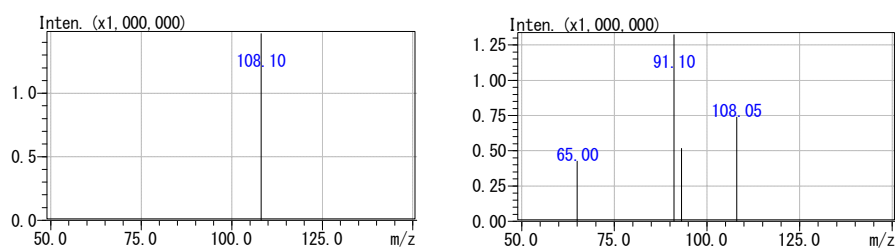


図 7-1-1 左：o-トルイジンの正イオン SRM マススペクトル 右：m/z 108 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

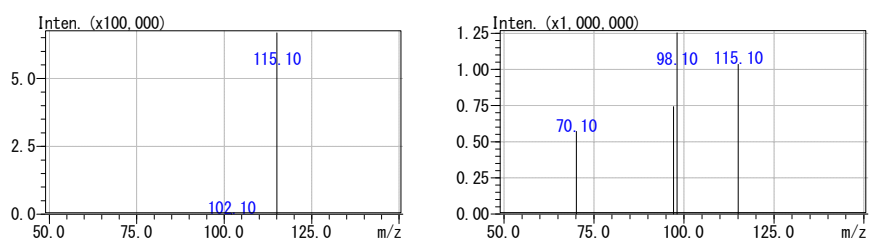


図 7-1-2 左：o-トルイジン-d₉ の正イオン SRM マススペクトル 右：m/z 115 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

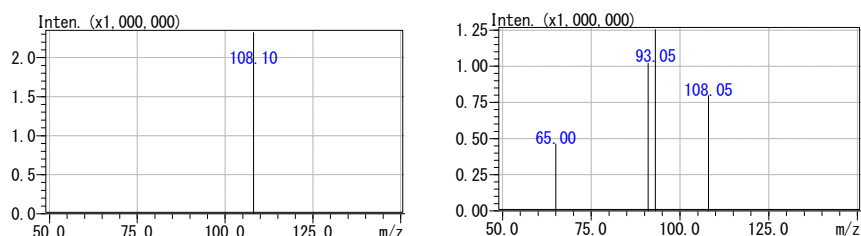


図 7-2-1 左：p-トルイジンの正イオン SRM マススペクトル 右：p-トルイジンの m/z 108 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

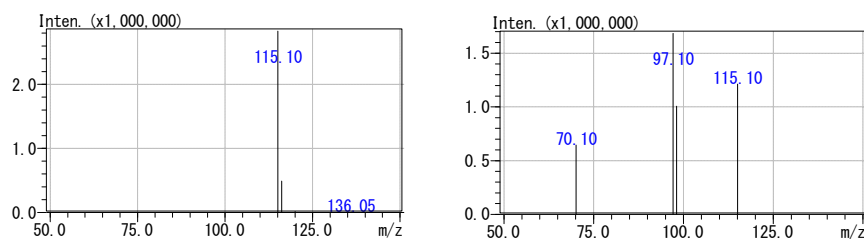


図 7-2-2 左：p-トルイジン-d₉ の正イオン SRM マススペクトル 右：p-トルイジン-d₉ の m/z 115 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

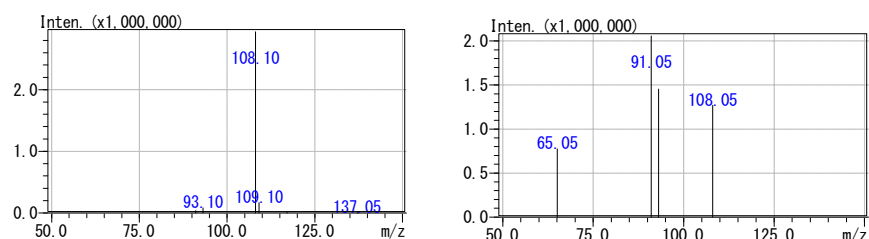


図 7-3-1 左：*m*-トリイジンの正イオン SRM マススペクトル 右：*m*-トリイジンの *m/z* 108 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

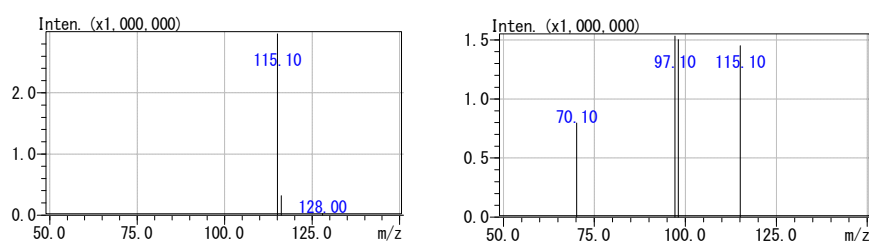


図 7-3-2 左：*m*-トリイジン-*d*₉ の正イオン SRM マススペクトル 右：*m*-トリイジン-*d*₉ の *m/z* 115 をプレカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトル

以上の結果から、*o*-、*p*-、*m*-トリイジンの定量イオンは *m/z* 108>91、確認イオンは *m/z* 108>65、*o*-、*p*-、*m*-トリイジン-*d*₉ の定量イオンは *m/z* 115>98 とした。*p*-、*m*-トリイジン-*d*₉ のフラグメントイオンは、*m/z* 115>97(-CD₃)の強度が高かったが、*o*-トリイジン-*d*₉ の *m/z* 115>98(-NH₃)に合わせることにした。

〔操作ブランク〕

操作ブランクは常時検出された。MDL 測定時の操作ブランククロマトグラム例を図 3-2 に示す。ブランク換算値は、しばしば MDL を上回った。図 8 にもっとも小さい場合の操作ブランククロマトグラム例を示す。IDL 以下であるが、ベースラインにふくらみが見られる。

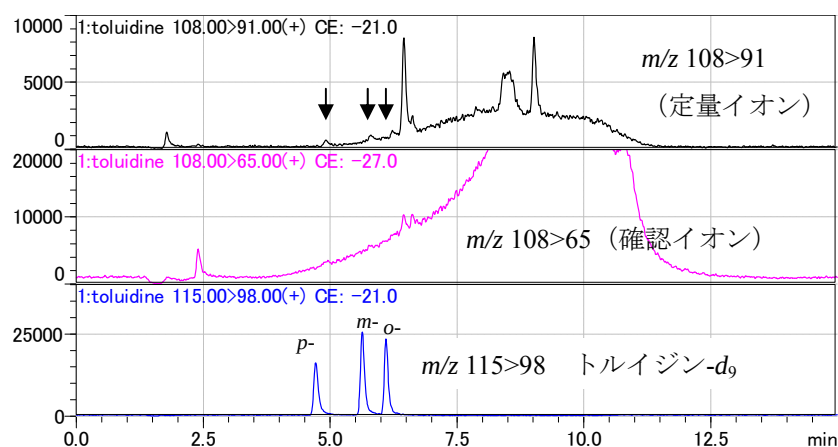


図 8 操作ブランクの正イオン SRM クロマトグラム

〔添加回収試験〕

表 6-1～6-3 に添加回収実験結果を示す。結果に示すように *d* 体の回収率、すなわちカートリッジからの溶出液（メタノール）から試験液（トルエン）への移行は 6～7 割程度であるが、対象物質の定量は相対検量線法によるので、定量性は担保されると考えられる。

表 6-1 *o*-トルイジンの添加回収試験結果

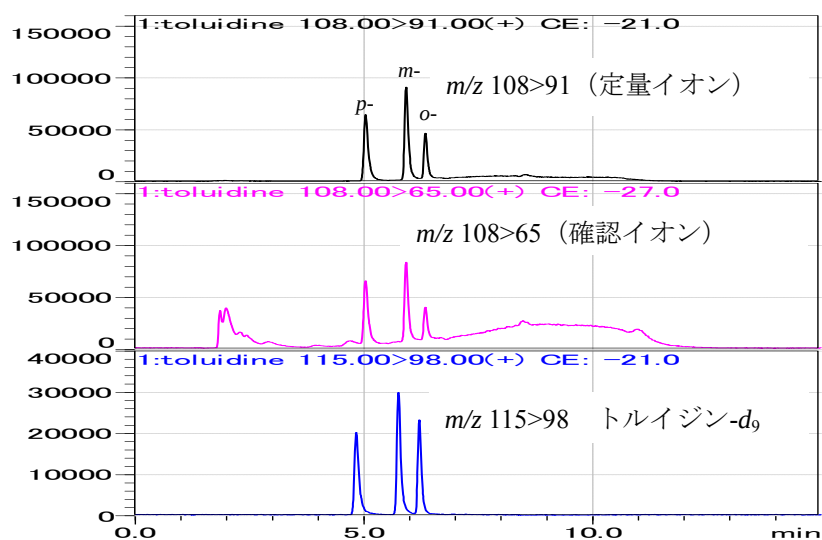
試料名	気温 (°C)	湿度 (%)	添加量 (ng)	換算濃度 (ng/m ³)	検出濃度 (ng/m ³)	試験 数	回収率 (%)	変動係 数(%)	<i>d</i> ₉ 回収 率(%)	<i>d</i> ₉ 変動 係数(%)
室内 空気	20	40	0.0	-	-	2	-	-	62.4	-
			0.20	2.8	3.2	7	115	7.3	70.4	9.9
	25	60	0.0	-	-	1	-	-	64.7	-
			5.0	69.4	59.3	6	85.4	1.5	70.7	5.5
	36	50	0.0	-	-	1	-	-	63.8	-
			5.0	69.4	53.6	2	77.1	-	77.2	-

表 6-2 *p*-トルイジンの添加回収試験結果

試料名	気温 (°C)	湿度 (%)	添加量 (ng)	換算濃度 (ng/m ³)	検出濃度 (ng/m ³)	試験 数	回収率 (%)	変動係 数(%)	<i>d</i> ₉ 回収 率(%)	<i>d</i> ₉ 変動 係数(%)
室内 空気	20	40	0.0	-	-	2	-	-	55.8	-
			0.20	2.8	2.6	7	91.8	14	59.8	11
	25	60	0.0	-	-	1	-	-	58.3	-
			5.0	69.4	68.1	6	98.0	4.2	60.4	6.0
	36	50	0.0	-	-	1	-	-	55.8	-
			5.0	69.4	48.9	2	70.4	-	65.9	-

表 6-3 *m*-トルイジンの添加回収試験結果

試料名	気温 (°C)	湿度 (%)	添加量 (ng)	換算濃度 (ng/m ³)	検出濃度 (ng/m ³)	試験 数	回収率 (%)	変動係 数(%)	<i>d</i> ₉ 回収 率(%)	<i>d</i> ₉ 変動 係数(%)
室内 空気	20	40	0.0	-	-	2	-	-	59.7	-
			0.20	2.8	2.0	7	71.4	12	67.4	10
	25	60	0.0	-	-	1	-	-	67.4	-
			5.0	69.4	57.8	6	83.2	3.9	70.4	5.7
	36	50	0.0	-	-	1	-	-	60.2	-
			5.0	69.4	44.4	2	63.9	-	75.6	-

図 9 添加回収試験の正イオン SRM クロマトグラム (添加量 5.0 ng)
(室内空気、気温 20°C、湿度 50%)

〔保存性試験〕

24 時間大気試料を吸引した捕集管に、標準物質 5.0 ng を添加し、アルミパックに入れて冷蔵庫に保存し、当日と 7 日後、17 日後（各 2 検体）に測定して、回収率を求めた結果を表 7-1～7-3 に示す。結果に示すように捕集管のままだは、減少傾向が見られた。前処理後の試験液は、5℃ に冷却された LC/MS のサンプルトレーにおいて 2 週間後も変化は見られなかったので、試料を採取したら捕集管は冷蔵保存し、1 週間以内に試験液に調製する必要がある。

表 7-1 o-トルイジンの保存性試験結果

試料名	調製濃度または 初日検出濃度	検出濃度（残存率(%)*)		
		7 日後	14 日後	17 日後
捕集管	69 ng/m ³	60(86)	-	41(59)
試験液	2.5 ng/mL	-	2.7(106)	-
標準液	MDL の 10 倍程度	0.1 ng/mL	0.1(99)	-
	検量線最高濃度	10 ng/mL	-	10(103)

*残存率（調製濃度または初日検出濃度に対する検出濃度の割合）

表 7-2 p-トルイジンの保存性試験結果

試料名	調製濃度または 初日検出濃度	検出濃度（残存率(%)*)		
		7 日後	14 日後	17 日後
捕集管	58 ng/m ³	65(112)	-	36(62)
試験液	2.1 ng/mL	-	2.2(104)	-
標準液	MDL の 10 倍程度	0.1 ng/mL	0.1(110)	-
	検量線最高濃度	10 ng/mL	-	10(105)

*残存率（調製濃度または初日検出濃度に対する検出濃度の割合）

表 7-3 m-トルイジンの保存性試験結果

試料名	調製濃度または 初日検出濃度	検出濃度（残存率(%)*)		
		7 日後	14 日後	17 日後
捕集管	59 ng/m ³	50(85)	-	24(41)
試験液	2.1 ng/mL	-	2.3(106)	-
標準液	MDL の 10 倍程度	0.1 ng/mL	0.1(100)	-
	検量線最高濃度	10 ng/mL	-	10(99)

*残存率（調製濃度または初日検出濃度に対する検出濃度の割合）

〔カートリッジの選択〕

固相抽出カートリッジの Bond elut PPL (500 mg/6cc) (略して PPL)、NEXUS (500 mg/12cc)、Sep- pak PS-2 (500 mg/3cc) (PS-2)、Sep-pak silica plus long(silica)、Sep-pak C18 plus long(C18)、Oasis HLB plus(HLB)にリン酸を含浸させたものと Oasis MCX plus(MCX)及び Sep-pak Accel CM plus(CM)に標準物質を各 5.0 ng 添加し、毎分 10 mL の流速で通気した場合の回収率を表 8 に示す。抽出はメタノール、イオン交換樹脂である MCX と CM はアンモニア/メタノール(1:9)である。24 時間通気しても回収率が高かった PPL を用いることとした。

表 8 各固相抽出カートリッジの通気時間と回収率の関係

通気時間 (hr)	物質名	回収率(%)							
		PPL	NEXUS	PS-2	silica	C18	HLB	MCX	CM
2	<i>o</i> -トルイジン	98	99	95	2	110	90	89	74
	<i>p</i> -トルイジン	92	96	70	2	98	84	73	62
	<i>m</i> -トルイジン	96	107	68	1	97	87	75	63
4	<i>o</i> -トルイジン	98	106	-	-	65	74	83	78
	<i>p</i> -トルイジン	104	95	-	-	38	62	69	55
	<i>m</i> -トルイジン	105	100	-	-	23	68	73	63
24	<i>o</i> -トルイジン	106	41	-	-	36	-	68	-
	<i>p</i> -トルイジン	94	32	-	-	13	-	53	-
	<i>m</i> -トルイジン	91	65	-	-	20	-	55	-

〔カートリッジからの溶出試験〕

捕集管に用いる固相抽出カートリッジ(Bond elut PPL (500 mg/6cc))に対象物質 5.0 ng を添加し、メタノールで溶出させたときの各画分毎の回収率を図 10 に示す。0.5 mL で多くが溶出するが、安全を見て溶出量は 2 mL とした。溶出量を多くすると、トルエンへの抽出率が下がって、内部標準物質の回収率も落ちる。

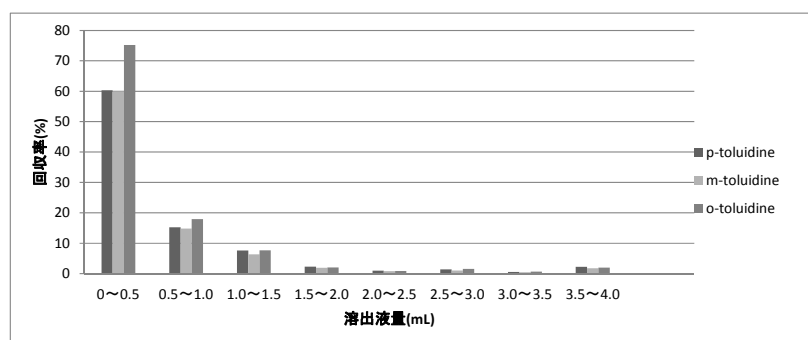


図 10 カートリッジからの溶出試験結果

〔環境試料の測定例〕

本法を用いて神奈川県平塚市の大気を分析した。o-トルイジンは最大 44 ng/m³、p-トルイジンは最大 19 ng/m³、m-トルイジンは最大 29 ng/m³ 検出された。秋期はすべての試料から 3 異性体とも検出されたが、冬期には検出下限値未満の試料が見られた。クロマトグラムの例を図 11 に示す。

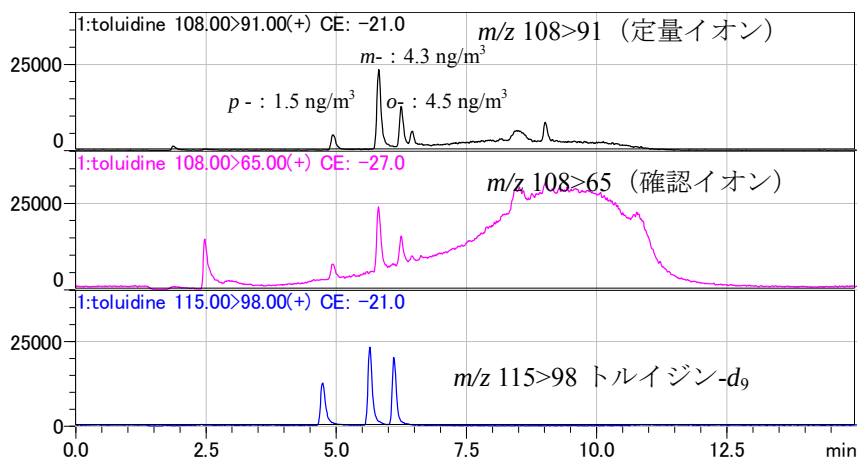


図 11 環境大気の正イオン SRM クロマトグラム(2017 年 6 月平塚市内 0.080 m³)

【評価】

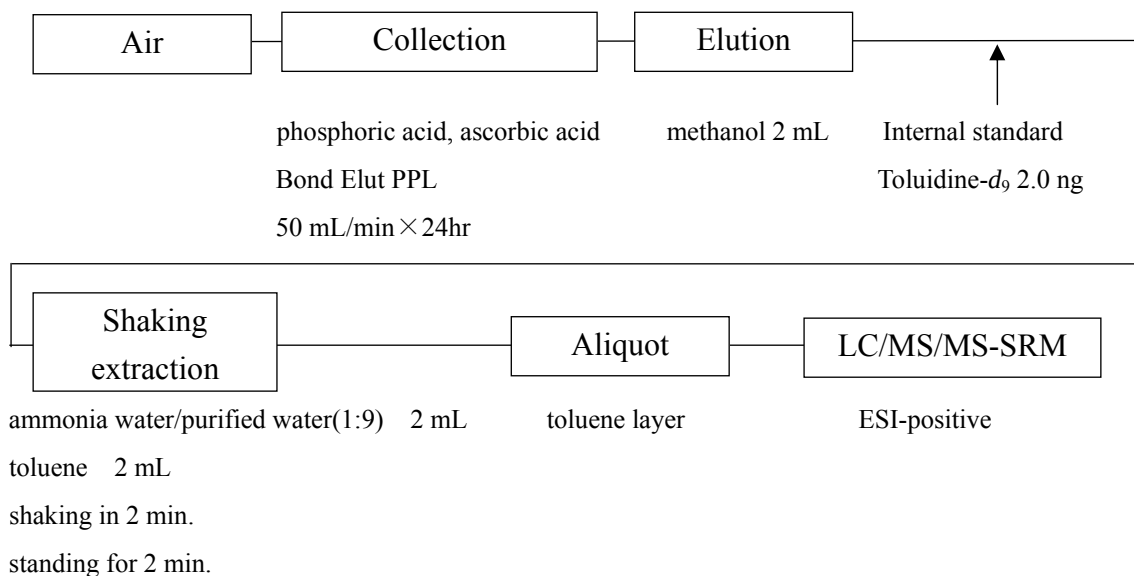
本法で大気中トルイジン濃度を測定すると、MDL として算出された 0.91～1.8 ng/m³ のレベルで検出することが可能である。だが実試料は、空試験値の影響を受けると考えられるので、空試験値の正確な定量が必須である。神奈川県平塚市では、秋季はすべての試料から 3 異性体とも検出されたが、冬季には検出下限値未満の試料が見られた。試料採取後の捕集管は、室温のまま放置すると回収率の低下が認められることから、速やかに冷蔵する必要がある。冷蔵であっても、採取から前処理終了まで 1 週間以内に終了させる。試料量 0.072 m³、添加量 5.0 ng の場合、回収率は 83～98%、変動係数は 1.5～4.2%であった。

【担当者連絡先】

所属先 : 神奈川県環境科学センター
所属先住所 : 〒254-0014 平塚市四之宮 1-3-39
TEL : 0463-24-3311 FAX : 0463-24-3300
担当者名 : 調査研究部 長谷川敦子
E-mail : hasegawa.j3i@pref.kanagawa.jp

Toluidine

An analytical method was developed for the determination of toluidine (*o*-toluidine, *p*-toluidine, *m*-toluidine) in ambient air by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) coupled with solid-phase adsorption and solvent desorption. Ionization mode is positive ESI (electrospray ionization). The SRM ion pairs of m/z 108/91 and 115/98 were respectively used for the quantification of toluidine and the internal standard of toluidine- d_9 . The method was applied to environmental samples. Sample air was drawn through an adsorption tube (Agilent bond elut PPL cartridge (500 mg / 6 mL) impregnated with phosphoric acid and ascorbic acid) at a flow rate of 0.05 L/min for 24 hours. Then toluidine was eluted from the cartridge with 2 mL of methanol. After addition of toluidine- d_9 , as internal standard, and 2 mL of ammonia water/purified water (1:9) to the eluent, toluidine and toluidine- d_9 were extracted with 2 mL of toluene and then analyzed by LC/MS/MS-SRM. The method recovery, the relative standard deviation (RSD), the method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) were 83~98%, 1.5~4.2%, 0.91~1.8 ng/m³ and 2.3~4.7 ng/m³, respectively. Concentrations of toluidine isomers in air at Hiratsuka city area were from less than MDL to 44 ng/m³.



物質名	分析法フローチャート	備 考
トルイジン [1] <i>o</i> -トルイジン (別名：2-アミノ-1-メチルベンゼン) [2] <i>p</i> -トルイジン (別名：4-アミノ-1-メチルベンゼン) 、 [3] <i>m</i> -トルイジン (別名：3-アミノ-1-メチルベンゼン)	【大気】 <pre> graph TD A[大気] --> B[捕集] B --> C[溶出] C --> D[振とう抽出] D --> E[分取] E --> F[LC/MS/MS-SRM] </pre> リン酸・アスコルビン酸 含浸 Bond Elut PPL 50 mL /min × 24 時間 メタノール 2 mL 内標準物質添加 Toluidine-<i>d</i>₉ 2 ng アンモニア水／精製水(1:9) 2 mL トルエン層 トルエン 2 mL 振とう 2 分 静置 2 分 LC/MS/MS-SRM ESI-positive	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Positive 検出下限値： 【大気】 (ng/m³) [1] 1.8 [2] 1.4 [3] 0.91 分析条件： 機器 LC/MS： Shimadzu LC-MS 8050 カラム Waters Cortecs C18+ (2.1 mm × 150 mm, 2.7 μm)