

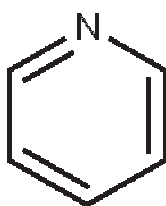
ピリジン

Pyridine

別名：アザベンゼン

Azabenzene, Azine

【対象物質の構造】



CAS 番号：110-86-1

分子式：C₅H₅N

【物理化学的性状】

項目	値	測定条件	出典
分子量	79.1 ～ 79.11	-	-
モノアイソトピック質量	97.0422	-	-
沸点	115.2 ～ 115.3°C	-	1
融点	- 41.6°C	-	1
対水溶解度	混和	-	1
蒸気圧	1.9 ～ 3.5 kPa	20 ～ 30°C	1
log P _{ow}	0.65	-	1
比重	0.98272	20°C / 4°C	1
蒸気密度	2.73 (air = 1)	-	1
引火点	20°C		1
発火点	482°C		1

【毒性、用途等】

〔毒性〕¹⁾

環境中運命	生分解性	好氣的条件下及び嫌氣的条件下で生分解されると推定される。
	生物濃縮性	水生生物への濃縮性は低いと推定される。
健康影響	急性毒性	ラット：経気道（4 時間）：LC ₅₀ : >4000 ppm
		ラット：経口：LD ₅₀ : 891 mg/kg
		マウス：経口：LD ₅₀ : 1500 mg/kg

発がん性²⁾

評価機関	評価内容
IARC : 評価ランク 2B (2017)	: ヒトに対して発がん性がある可能性がある。
ACGIH : 発癌性評価 A3 (2017)	: 動物に対して発がん性が確認された物質であるが、人への関連性は不明。

〔用途〕

医薬反応溶媒、無水金属塩の溶剤、界面活性剤原料、有機合成原料³⁾

抗菌剤ジンクピリチオン等の原料、医薬品合成溶剤、飼料添加剤原料、加硫促進剤原料、アルコール変性剤⁴⁾

医薬品（スルホンアミド剤、抗ヒスタミン剤）、無水金属塩の溶剤および反応媒介剤、医薬品原料、界面活性剤、加硫促進剤、鎮静剤、アルコールの変性⁵⁾

〔適用法令〕

化審法	: 既存化学物質 (5-710)
化管法（PRTR 法）	: 第一種指定化学物質 (1-342)
大気汚染防止法	: 特定物質
消防法	: 危険物第 4 類

出典：

1) NEDO 有害評価書

2) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム(CHRIP)

3) 化学工業日報社

4) NITE 初期リスク評価書

5) 厚生労働省初期リスク評価書

§1 分析法

(1) 分析法の概要

固相カートリッジに大気試料を通気して測定対象物質を捕集し、アセトンで溶出する。溶出液にシリンジスパイク内標準（以下「内標準」という）を添加後、GC/MS-SIM で分析する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

ピリジン : SIGMA-ALDRICH 製 2000 µg/mL (メタノール溶液)
ピリジン-*d*₅ : Dr. Ehrenstorfer 製 (98.0%)
アセトン : 関東化学製 残留農薬・PCB 試験用
固相カートリッジ : GL Sciences 製 InertSep RP-1 mini 230 mg

【試薬の調製】

〔標準液〕

市販のピリジン 2000 µg/mL (メタノール溶液) を標準原液とする。標準原液をアセトンで希釈して、2000 ng/mL の標準液を調製する。

〔内標準液〕

内標準物質 (ピリジン-*d*₅) を正確に 100 mg 量り取り、アセトンで 20 mL として 5000 µg/mL の内標準原液を調製する。これをアセトンで希釈して、1000 ng/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用標準液〕

2000 ng/mL の標準液をアセトンで順次希釈し、1.0 ～ 100 ng/mL の濃度範囲の検量線用標準液を調製する。各濃度の検量線用標準液には、内標準液を 20 ng/mL となるよう添加する。

【器具】

大気吸引ポンプ	: 流量調整機能をもち、積算流量値が表示されるもの
吸引マニホールド	: GL-SPE 吸引マニホールドキット
注射筒(10 mL)	: ガラス製のもの。固相カードリッジの溶出に用いる
窒素ガス供給器	: 圧縮窒素（純度 99.99%）を供給できるもの

(3) 分析法

【試料の捕集、保存及び輸送方法】

固相カートリッジは、事前にアセトン 5 mL 以上を通液して洗浄したのち、窒素ガスを通気して乾燥させておく。

上記固相カートリッジを 3 連結したもの（図 1）に 0.3 L/min の流速で、24 時間通気して大気を捕集する。大気試料を捕集した固相カートリッジは両端にキャップをはめ、密封できる袋などに入れ試験室に持ち帰り、速やかに試料の前処理を行う。また、試料の送付や返送時には、アルミバックなどに入れて送付する。

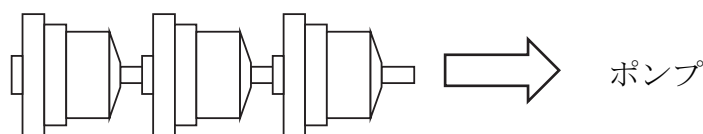


図 1 固相カートリッジの連結イメージ

【試料の前処理及び試験液の調製】

大気試料を採取した固相カートリッジは連結を解き、それぞれについて以下に示す前処理を行う。

はじめに窒素ガスを通気し、20 分乾燥させる。乾燥させた固相カートリッジに容量 10 mL の注射筒を接続し、アセトン 4 mL で溶出する。その後、1000 ng/mL の内標準液 0.10 mL（ピリジン- d_5 として 100 ng 相当）を添加したのち、アセトンで 5.0 mL に定容したものを試験液とする。

【空試験液の調製】

未使用の固相カートリッジを【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】

〔GC/MS 測定条件〕

使用機種	: GC : 7890B GC Agilent Technologies 製
	: MS : 5977B MSD Agilent Technologies 製
カラム	: TG-WAXMS B (60 m × 0.25 mm, 0.25 μm) (注 1) Thermo Scientific 製
カラム温度	: 40°C (3 min) → 4°C/min → 130°C (1 min) → 10°C/min → 195°C (1min) → 2°C/min → 200°C (3 min)
注入口温度	: 200°C
試料導入方法	: スプリットレス (パージ開始時間 0.50 min)
キャリアーガス	: ヘリウム、1.0 mL/min (定流量)
試料注入量	: 1μL
インターフェース温度	: 200°C
イオン源温度	: 200°C
イオン化エネルギー	: 70 eV
検出モード	: SIM
モニターイオン	: ピリジン <i>m/z</i> 79 定量用 <i>m/z</i> 51 確認用 : ピリジン- <i>d</i> ₅ <i>m/z</i> 84 定量用 <i>m/z</i> 56 確認用

〔検量線〕

検量線用標準液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質と内標準物質との濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 1 μL を GC/MS に注入し、得られた対象物質と内標準物質との濃度比及びピーク面積比から検量線により定量する。

〔濃度の算出〕

大気中の物質濃度 C (ng/m³) は次式により算出する。

$$C = (R \times Q / V) \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101.3 / P)$$

R : 検量線から求めた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)

V : 試料量 (m^3)

t : 試料採取時における平均気温 ($^{\circ}\text{C}$)

P : 試料採取時における平均気圧 (kPa)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 100 \text{ ng}$$

(= 添加内標準の濃度 (1000 ng/mL) $\times$ 添加内標準の容量 (0.1 mL))

$$V = 0.432 \text{ (m}^3\text{)}$$

即ち、

$$C = R \times 2.31 \times 10^2 \times ((273 + t) / (273 + 20.0)) \times (101.3 / P) \text{ (ng/m}^3\text{)}$$

である。

〔装置検出下限値 (IDL)〕 (注 2)

本分析に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m^3)
ピリジン	0.18	0.43	5.0	2.1

〔分析方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕 (注 3)

本分析方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (m^3)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m^3)	MQL (ng/m^3)
ピリジン	0.43	5.0	5.9	15

注 解

- (注 1) 市販品のキャピラリーカラムは長さが 30 m なので、カラムコネクターを用いて 2 本直列につなげて 60 m とする。
- (注 2) IDL は、環境省「化学物質環境実態調査の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って算出した。算出結果を表 3 に、測定時のクロマトグラムを図 2 に示す。

表 3 IDL の算出結果

物質名	ピリジン
試料量 (m ³)	0.43
最終液量 (mL)	5.0
注入液濃度 (ng/mL)	1.0
注入量 (pg)	1.0
装置注入液量 (μL)	1
結果 1 (pg)	1.04
結果 2 (pg)	0.963
結果 3 (pg)	1.09
結果 4 (pg)	0.980
結果 5 (pg)	0.982
結果 6 (pg)	0.940
結果 7 (pg)	0.986
結果 8 (pg)	0.988
結果 9 (pg)	1.06
平均値 (pg)	1.003
標準偏差 (pg)	0.0486
IDL (pg)*	0.18
IDL 試料換算値 (ng/m ³)	2.1
S/N 比	11
CV (%)	4.8

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

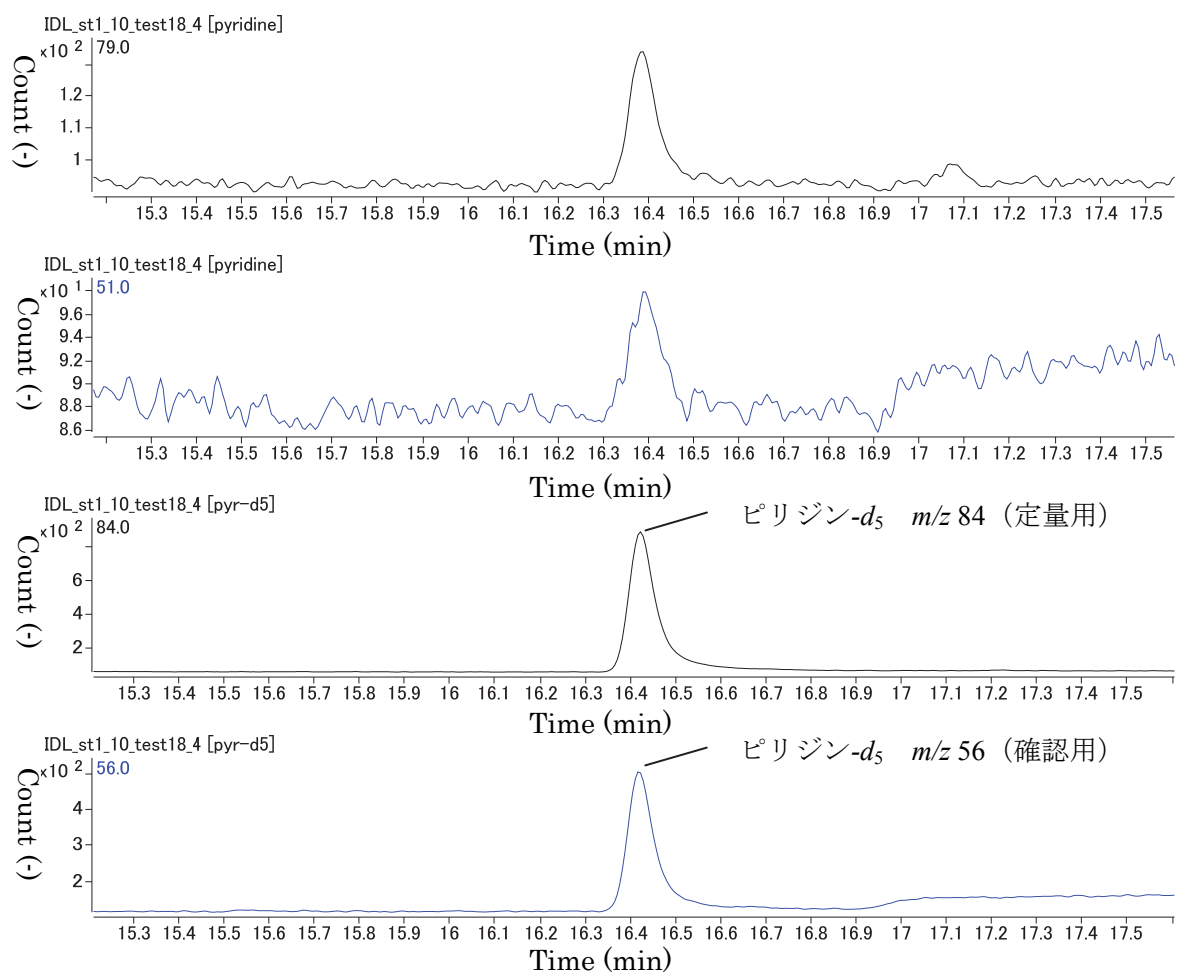


図2 IDL 測定時のクロマトグラム
(1.0 ng/mL)

(注 3) MDL は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って算出した。なお、一般環境大気中からピリジンが検出されたため、これを試料として繰り返し測定を行い、MDL を算出した。算出結果を表 4 に、測定時のクロマトグラムを図 3 に示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	ピリジン
試料量 (m ³)	0.43
標準添加量 (ng)	0
最終液量 (mL)	5.0
試料換算濃度 (ng/m ³)	18.4
注入液濃度 (ng/mL)	-
装置注入液量 (μL)	1
操作ブランク平均 (ng/m ³)* ¹	< 5.9
結果 1 (ng/m ³)	17.5
結果 2 (ng/m ³)	15.4
結果 3 (ng/m ³)	18.3
結果 4 (ng/m ³)	19.6
結果 5 (ng/m ³)	19.7
結果 6 (ng/m ³)	19.4
結果 7 (ng/m ³)	18.7
平均値 (ng/m ³)	18.37
標準偏差 (ng/m ³)	1.53
MDL (ng/m ³)* ²	5.9
MQL (ng/m ³)* ³	15
S/N 比	14
CV (%)	8.3

*1 : 空試験液を測定した値の平均値 (n=3)

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

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

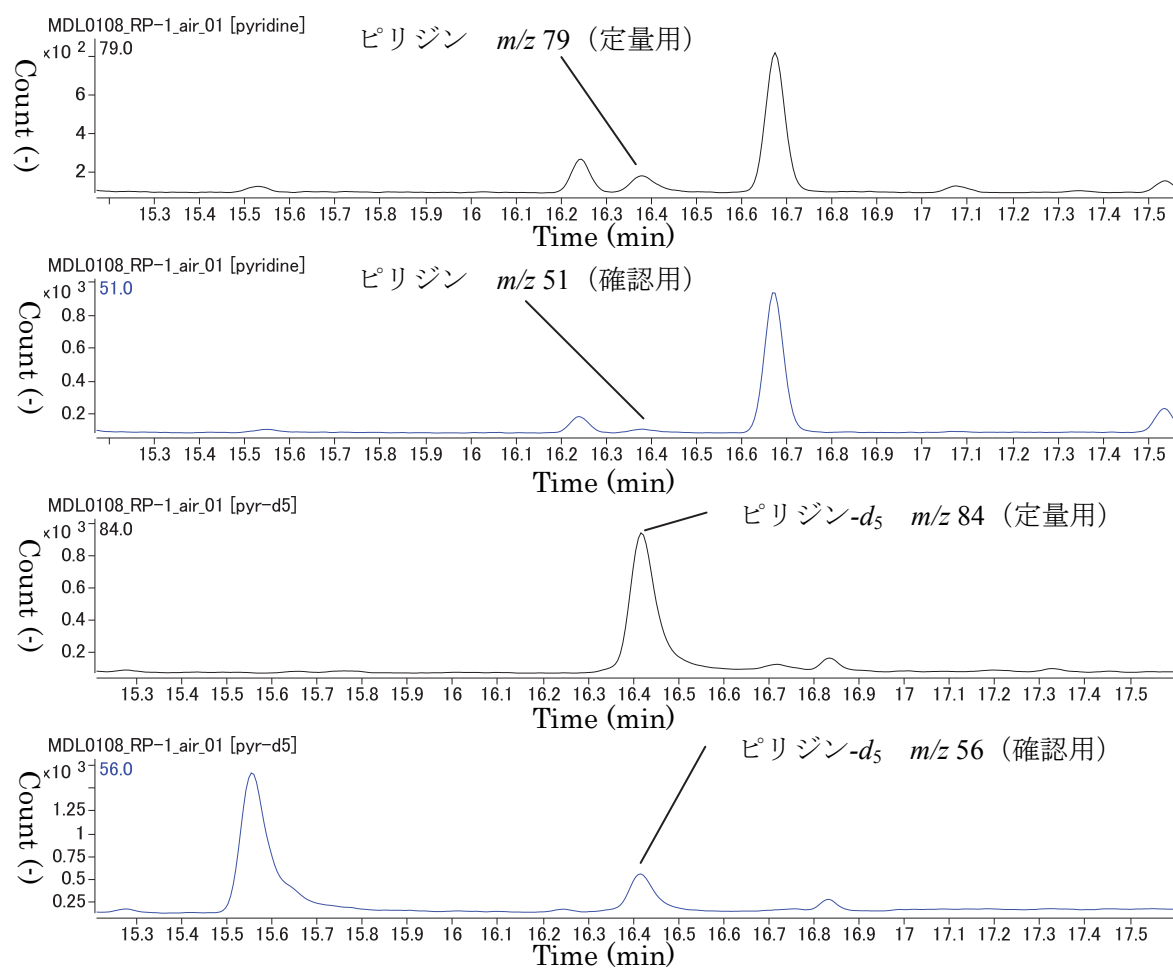


図3 MDL 測定時のクロマトグラム

§2 解 説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析のフローチャートを図 4 に示す。

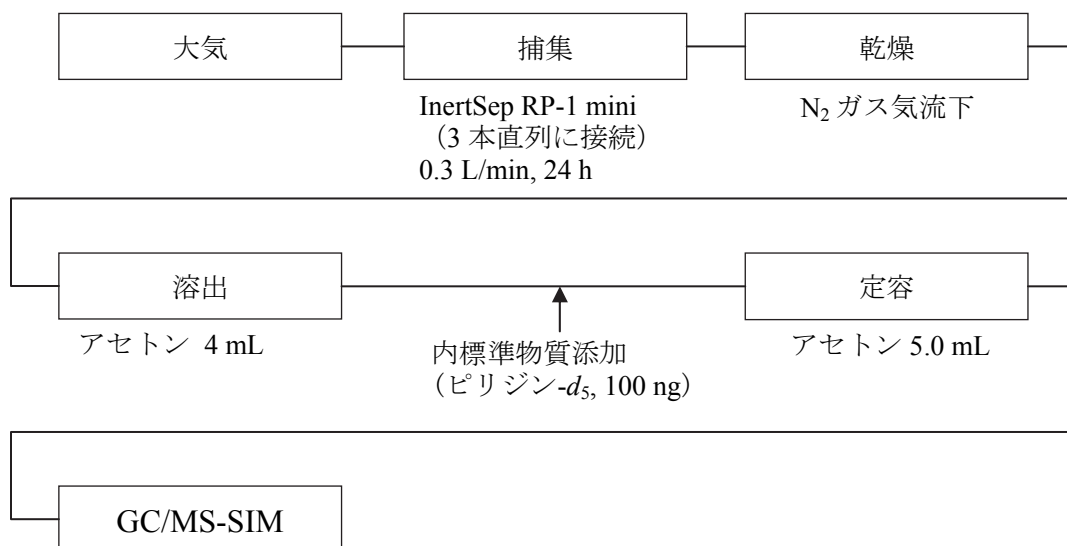


図 4 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 5 に、検量線作成用データを表 5 に示す。

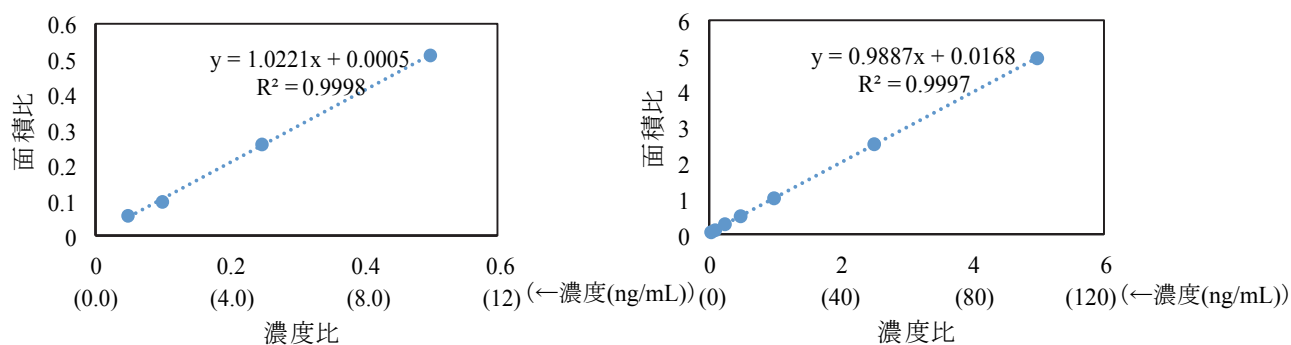


図 5 検量線

(左図：低濃度域(1.0～10 ng/mL)、右図：広濃度域(1.0～100 ng/mL))

(内標準濃度：20 ng/mL)

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} *)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質(A _s)	内標準物質(A _{is})	
		【ヒリジン】 (<i>m/z</i> 79)	【ヒリジン- <i>d</i> ₅ 】 (<i>m/z</i> 84)	
1.0	0.050	231	4282	0.0539
2.0	0.10	422	4279	0.0986
5.0	0.25	1122	4338	0.259
10	0.50	2406	4710	0.511
20	1.0	4580	4544	1.01
50	2.5	10943	4286	2.55
100	5.0	23212	4710	4.93

C_{is}* : 内標準濃度 : 20 ng/mL

〔クロマトグラム〕

標準液のクロマトグラムを図6に示す。

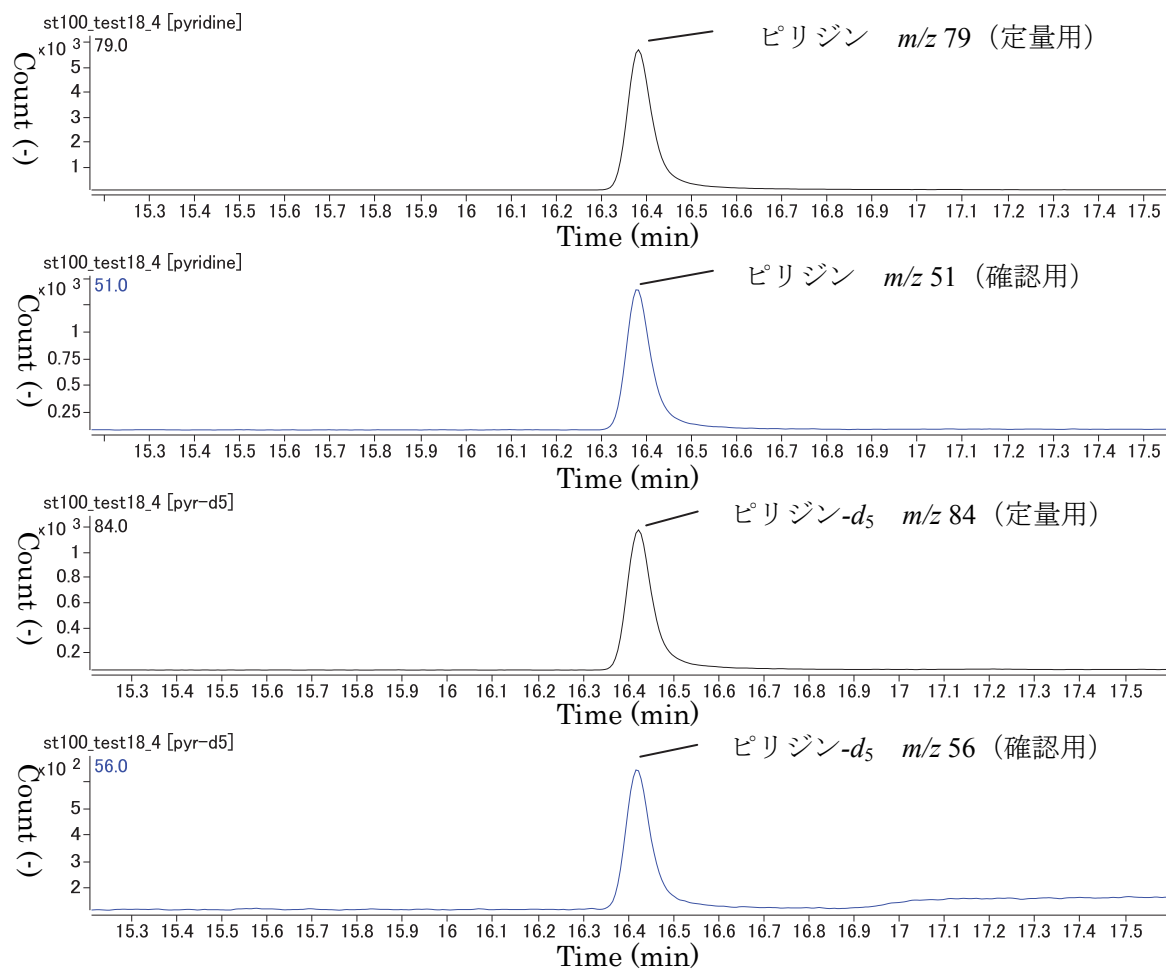


図6 標準液のクロマトグラム
(100 ng/mL)

[マススペクトル]

ピリジンのマススペクトルを図 7 に、内標準物質（ピリジン- d_5 ）のマススペクトルを図 8 に示す。

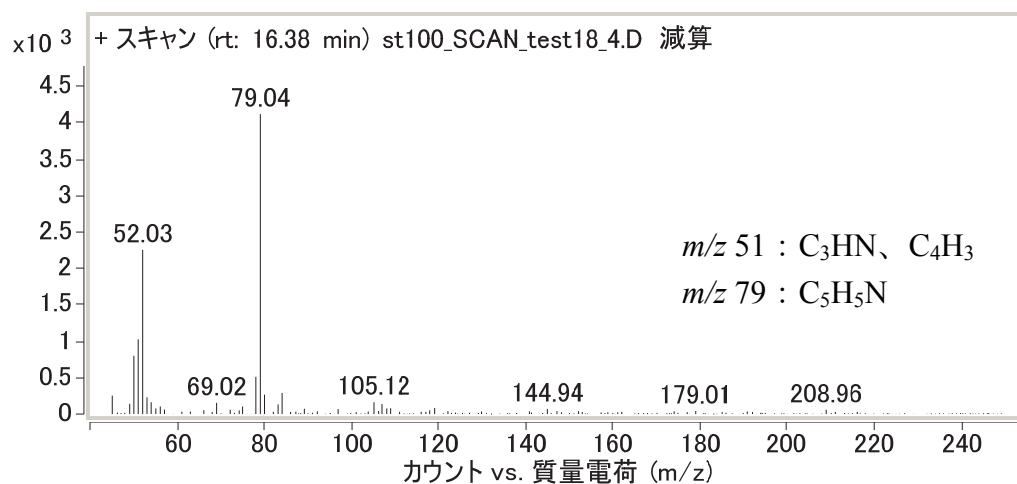


図 7 ピリジンのマススペクトル

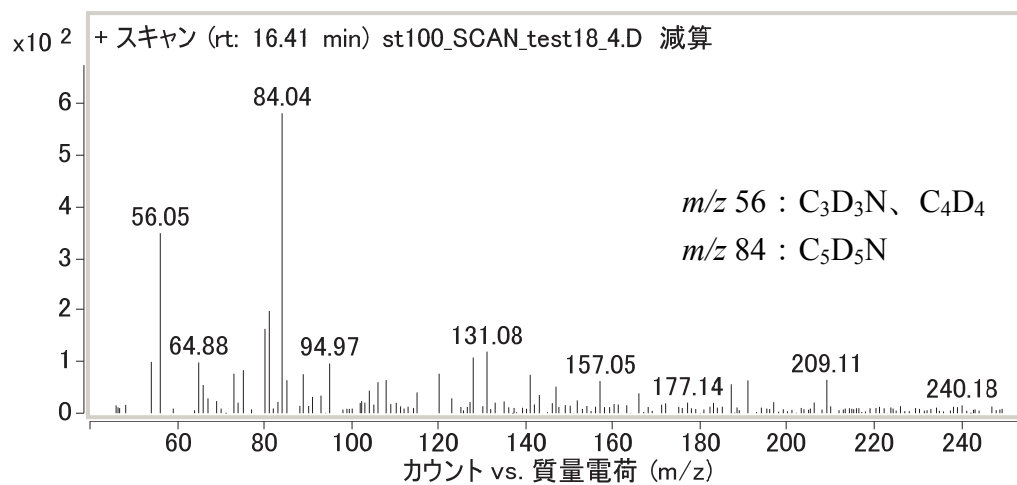


図 8 ピリジン- d_5 のマススペクトル

〔操作ブランク〕

操作ブランク測定時のクロマトグラムを図 9 に示す。操作ブランク試験の結果、ピリジンは MDL 未満($<5.9 \text{ ng/m}^3$)であった。

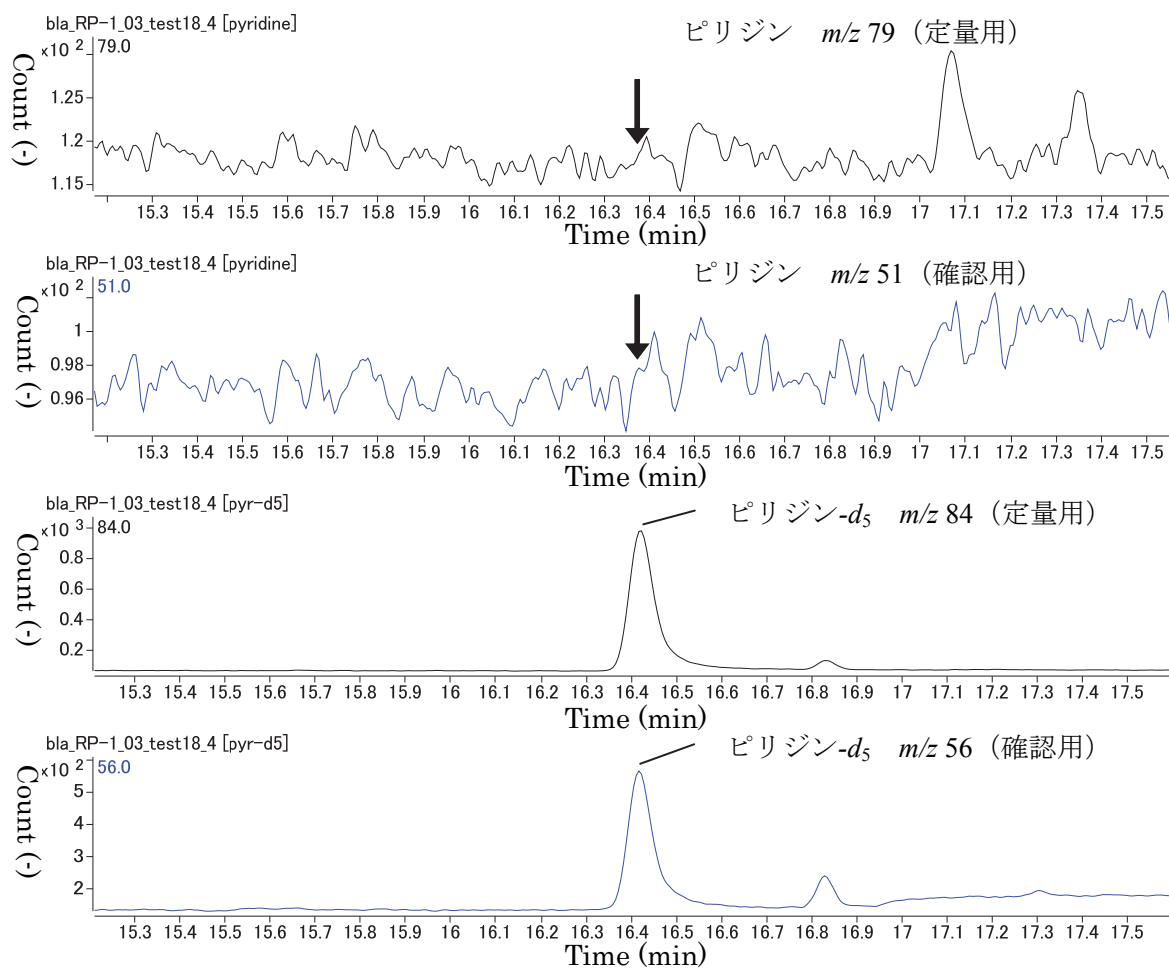


図 9 操作ブランク試験時のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

標準液 (250 ng/mL) を 100 μ L 添加した捕集管と無添加の捕集管に大気を採取して測定し、その定量値の差から回収率を求めた。添加回収試験の結果を表 6 に、添加回収試験時の添加試料及び無添加試料のクロマトグラムを図 10 に示す。結果は回収率、変動係数共に良好であった。

表 6 添加回収試験の結果（採取日：2019/1/31、気温：6.5°C、湿度：56%）
（無添加 $n=2$ 、添加 $n=6$ ）

試料	大気採取量 (m^3)	添加量 (ng)	検出量 (ng)	検出濃度 (ng/m^3)	回収率 (%)
無添加 1	0.432	0	7.08	15.7	-
無添加 2	0.432	0	6.31	14.0	-
添加 1	0.432	25	30.2	-	94
添加 2	0.432	25	31.2	-	98
添加 3	0.432	25	32.0	-	101
添加 4	0.432	25	30.7	-	96
添加 5	0.432	25	31.2	-	98
添加 6	0.432	25	32.6	-	104
平均回収率(%)					98
変動係数(%)					3.5

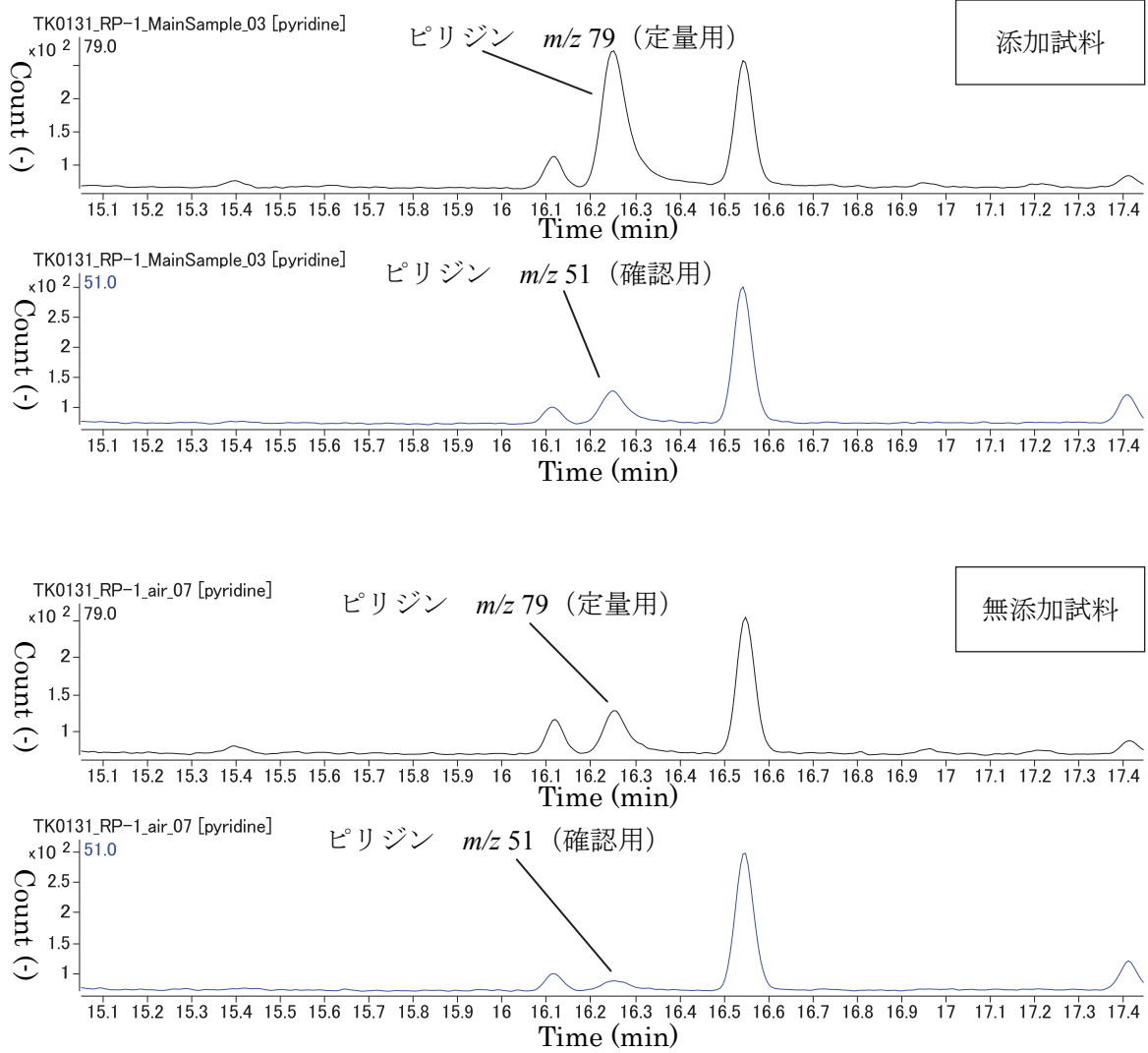


図 10 添加回収試験時のクロマトグラム
(上図：添加試料、下図：無添加試料)

〔高温高湿条件の添加回収試験〕

高温高湿条件下（恒温器内にて、ガス洗浄瓶に精製水を入れて加湿した空気を捕集した）で添加回収試験を実施した。捕集管は3～5本を連結し、ピリジン標準液 100 μL を前段の捕集管に添加して試験を行った。結果は表 7 に示すように、回収率、変動係数共に良好であった。

捕集管ごとのピリジン検出量をみると、表 8 に示すように後段への移行が認められた。しかし、いずれの場合も最後段（3 または 4 本目）の捕集管のピリジン濃度は MDL 未満(<5.9 ng/m^3)であった。なお、高温高湿条件下においては添加したピリジンは揮発前の溶媒（メタノール）とともに後段の捕集管へ移行しているものと考えられたため、ピリジンを添加した捕集管は前段として取り扱っている。

捕集管の接続数による回収率を表 9 に示す。いずれの場合も 3 本目の捕集管までに 94%以上の回収率を得ることができた。

表 7 高温高湿条件での添加回収試験の結果
(各試験 無添加 $n=1$ 、添加 $n=2$)

平均気温($^{\circ}\text{C}$) 平均湿度(%)	試料	添加量 (ng)	大気 採取量 (m^3)	検出量 (ng)	検出 濃度 (ng/m^3)	回収率 (%)	平均 回収率 (%)
24.3 (22.7~27.4)* 75 (17~90)*	無添加 1	0	0.432	24.1	56.7	-	103
	添加 1-1	25	0.432	50.4	-	105	
	添加 1-2	25	0.432	49.3	-	101	
27.1 (25.4~28.9)* 73 (62~82)*	無添加 2	0	0.432	24.1	57.2	-	101
	添加 2-1	25	0.432	49.4	-	101	
	添加 2-2	25	0.432	49.5	-	102	
26.8(25.4~28.8)* 64 (56~81)*	無添加 3	0	0.432	25.7	60.8	-	94
	添加 3-1	50	0.432	73.1	-	95	
	添加 3-2	50	0.432	72.5	-	94	

*：括弧内の値は気温及び湿度の変動範囲

表 8 高温高湿条件での添加回収試験における捕集管ごとの検出量
(各試験 無添加 $n=1$ 、添加 $n=2$)

試料	検出量(ng) (総検出量に対する割合 (%))					総検出量 (ng)
	前段	1 本目	2 本目	3 本目	4 本目	
無添加 1	-	10.8	13.3	< MDL	-	24.1
添加 1-1	11.8	25.7	12.9	< MDL	-	50.4
添加 1-2	11.6	27.9	9.8	< MDL	-	49.3
無添加 2	-	9.6	12	2.5	-	24.1
添加 2-1	8.6	10.7	26.5	3.5	< MDL	49.4
添加 2-2	8.6	10.8	27	3.2	< MDL	49.5
無添加 3	-	9.2	10.9	5.5	-	25.7
添加 3-1	10.1	25.9	37.1	< MDL	< MDL	73.1
添加 3-2	10.6	50.5	11.4	< MDL	< MDL	72.5

表 9 捕集管の接続数と総検出量及び回収率
(各試験 無添加 $n=1$ 、添加 $n=2$)

試料	添加量 (ng)	大気採取量 (m ³)	総検出量(ng) (回収率(%))		
			2 本目まで	3 本目まで	4 本目まで
無添加 1	0	0.432	24.1	-	-
添加 1-1	25	0.432	50.4 (105)	50.4 (105)	-
添加 1-2	25	0.432	49.3 (101)	49.3 (101)	-
無添加 2	0	0.432	21.6	24.1	-
添加 2-1	25	0.432	45.9 (87)	49.4 (101)	49.4 (101)
添加 2-2	25	0.432	46.4 (89)	49.5 (102)	49.5 (102)
無添加 3	0	0.432	20.2	25.7	-
添加 3-1	50	0.432	73.1 (95)	73.1 (95)	73.1 (95)
添加 3-2	50	0.432	72.5 (94)	72.5 (94)	72.5 (94)

〔保存性試験〕

標準液 (250 ng/mL) を 100 μ L 添加し、大気を 24 時間捕集した捕集管及びその粗抽出液を、それぞれ密栓及び遮光して冷蔵保存 (4°C) し保存性試験を行った。試験の結果を表 10 に示す。捕集管、抽出液及び標準液で残存率はいずれも 90%以上と良好であったため、保存性試験期間中において対象物質は安定であるといえる。

表 10 保存性試験の結果

試料名	調製濃度 ^{*1} (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%) ^{*2})			
		5 日間	7 日間	14 日間	1 ヶ月
捕集管	5.0	4.7 (94)	4.7 (94)	-	-
抽出液	5.0	-	4.9 (98)	5.1 (102)	-
標準液	MDL の 10 倍程度	5.0	-	-	5.3 (102)
	検量線最高濃度	100	-	-	100.6 (101)

*1：捕集管、抽出液については、測定時の濃度が調製濃度となるように添加

*2：残存率(%)：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔GC カラムの検討〕

Agilent Technologies 製 CAM (60 m $\times$ 0.25 mm , 0.25 μ m) 、Agilent Technologies 製 DB-WAX UI (60 m $\times$ 0.25 mm , 0.25 μ m) 、Thermo Scientific 製 TG-WAXMS B (60 m $\times$ 0.25 mm , 0.25 μ m : 30 m を 2 本直列に接続したもの) の 3 種のカラムについて検討を行った。

Agilent Technologies 製 DB-WAX UI はピリジンと *o*-キシレンのピークがほぼ同じ溶出時間に現れたため (図 11)、本分析法には適さないと考えられた。

Agilent Technologies 製 CAM については、ピリジンと *o*-キシレンのピークは分離できたが (図 12)、操作ブランクのクロマトグラム (図 13) を見ると、ピリジンのピーク近傍で夾雑ピークによるベースラインの乱れが確認された。

Thermo Scientific 製 TG-WAXMS B については、前述のような問題は見受けられなかった (図 12、図 13)。以上のことから、Thermo Scientific 製 TG-WAXMS B を直列に接続し 60 m としたカラムを分析法に採用することとした。

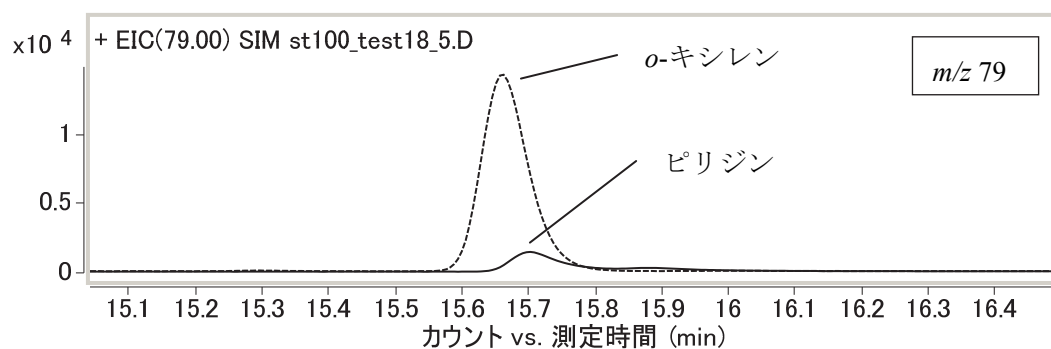


図 11 Agilent Technologies 製 DB-WAX UI 使用時のクロマトグラム

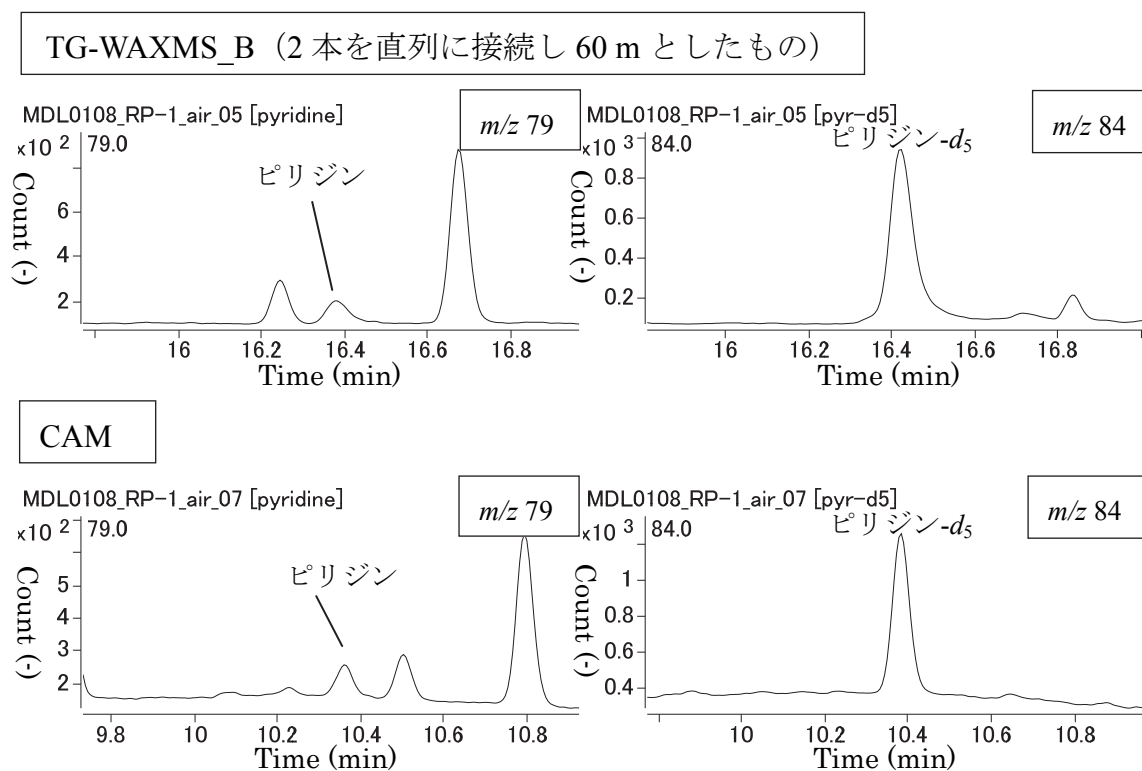


図 12 カラムごとの環境大気試料の分析結果

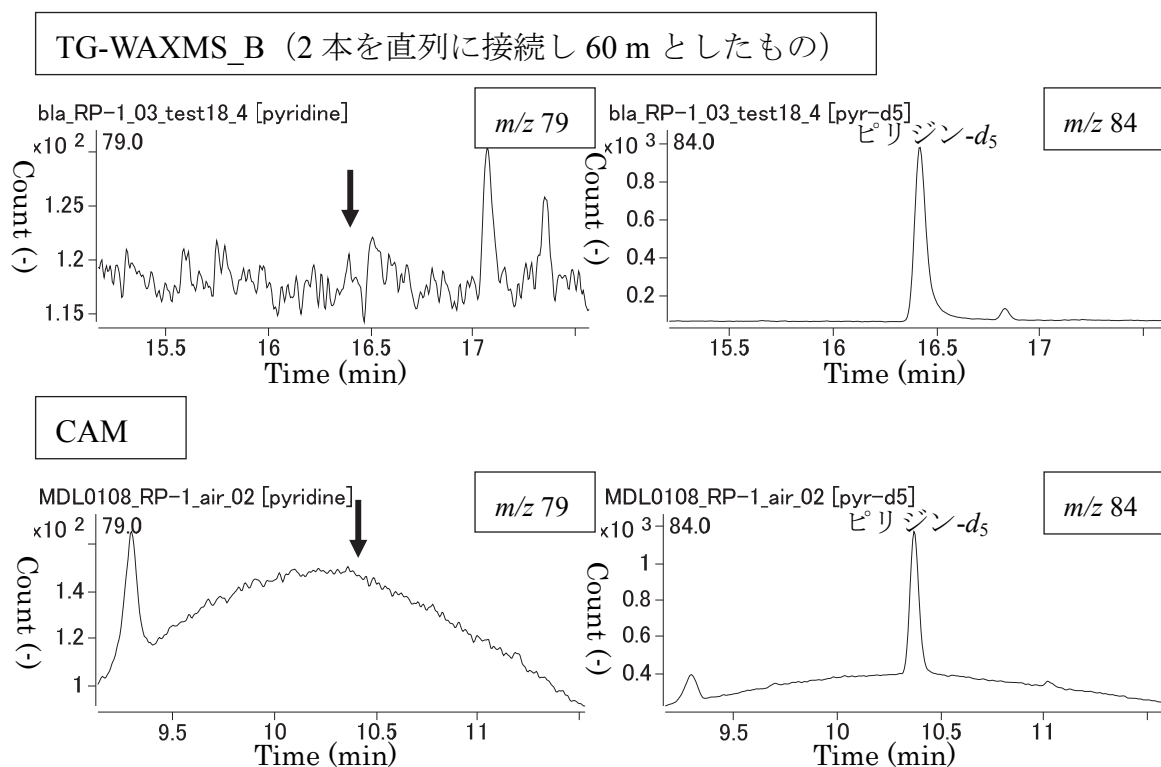


図 13 カラムごとの操作blank試料の分析結果

〔環境試料の分析例〕

本分析法によりさいたま市内で実施した環境大気試料の測定結果を表 11 に示す。

さいたま市健康科学研究センター屋上ではピリジンは最大 19.0 ng/m³ 検出された。クロマトグラムの例を図 14 に示す。

表 11 環境大気試料の測定結果

試料採取場所	周辺状況	平均気温 (°C)	平均湿度 (%)	測定結果 (ng/m ³)
センター屋上	都市部	6.5	56	14.9
	住宅地域	(0.1~20.3)*	(19~100)*	(n=2)
センター屋上	都市部	7.5	37	19.0
	住宅地域	(0.5~20.9)*	(17~61)*	(n=8)

*：括弧内の値は気温及び湿度の変動範囲

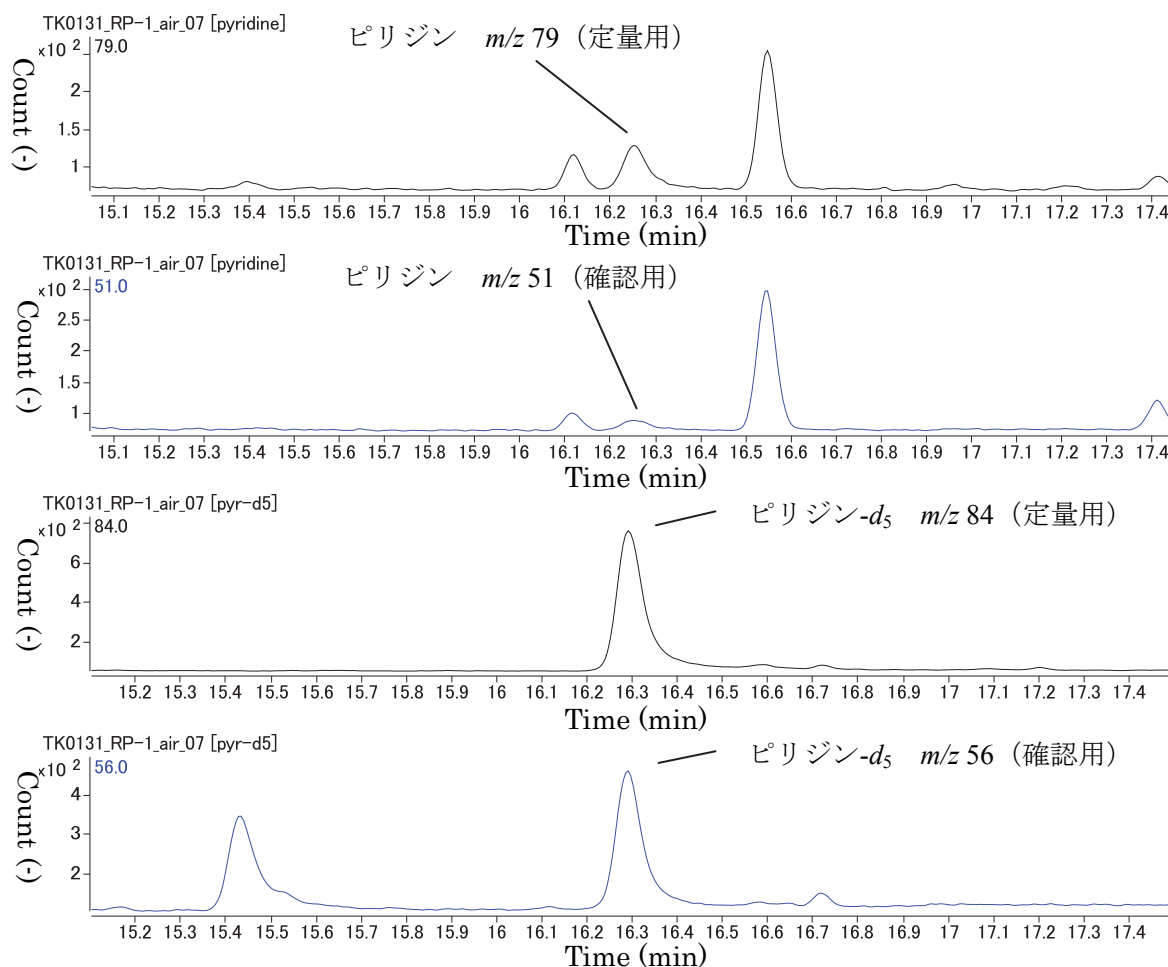


図 14 環境試料測定時のクロマトグラム

【評価】

本法におけるピリジンの IDL は 0.18 pg (試料換算値 2.1 ng/m^3) であり、 $1.0 \sim 100 \text{ ng/mL}$ の濃度範囲では検量線の直線性 ($r^2 \geq 0.9997$) が確認された。本法の MDL は 5.9 ng/m^3 、MQL は 15 ng/m^3 であった。大気試料に対する添加回収試験の結果、回収率は 98% (添加濃度: 57.8 ng/m^3 、変動係数 3.5%) であった。

本法を用いて埼玉県さいたま市で環境大気を測定した結果、ピリジンは最大で 19.0 ng/m^3 検出された。以上の結果から本法は環境大気中に含まれる 6 ng/m^3 レベルのピリジンの検出に適用可能であると判断される。

【参考文献】

- 1) 環境庁環境保健部環境安全課：平成 10 年（1998 年）版 化学物質と環境 (1998)

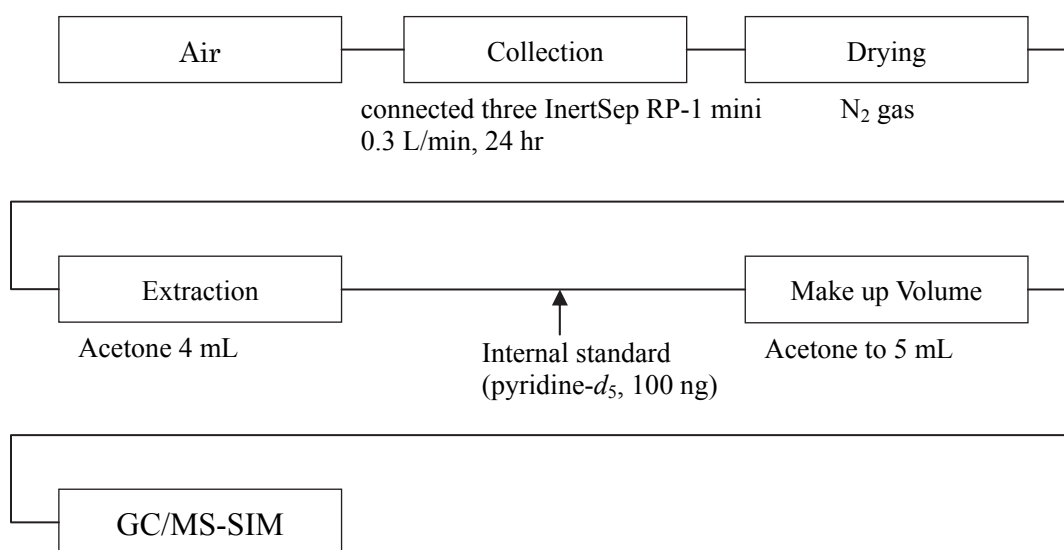
【担当者連絡先】

所属先名称 : さいたま市健康科学研究センター
所属先住所 : 〒338-0013 さいたま市中央区鈴谷 7-5-12
TEL : 048-840-2265 FAX : 048-840-2267
担当者氏名 : 環境科学課 三上 恭弘、城 裕樹
E-mail : kankyo-kagaku@city.saitama.lg.jp

Pyridine

An analytical method has been developed for the determination of pyridine in ambient air by gas chromatography - mass spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS-SIM).

The method involves solid-phase collection using three RP-1 mini cartridges coupled together. Each of the cartridges previously washed with 5 mL of acetone and dried with high purity nitrogen gas. An ambient air sample is collected at a flow rate of 0.3 L/min for 24 h (total volume is 0.432 m³) by the cartridges, which are then dried with high purity nitrogen gas. Pyridine is eluted with 4 mL of acetone from the cartridges. Then an internal standard (100 ng of pyridine-*d*₅) is added to the eluate. The final volume is adjusted to 5 mL with acetone, and analyzed by GC/MS-SIM. The instrument detection limit (IDL) is 0.18 pg. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) is 5.9 ng/m³ and 15 ng/m³, respectively. The average of recoveries from six ambient air samples prepared at 58 ng/m³ of pyridine was 98% with the relative standard deviation of 3.5%.



物質名	分析法フローチャート	備考
ピリジン 別名： アザベンゼン	【大気】 <pre> graph TD A[大気] --> B[捕集 InertSep RP-1 mini (3本直列に接続) 0.3 L/min, 24 h] B --> C[乾燥 N2 ガス気流下] C --> D[溶出 アセトン 4 mL] E[内標準物質添加 (ピリジン-d5, 100 ng)] --> D D --> F[定容 アセトン 5 mL] F --> G[GC/MS-SIM] </pre>	分析原理： GC/MS-SIM 検出下限値： 【大気】(ng/m ³) 5.9 分析条件： 機器 GC：Agilent 7890B MS：Agilent 5977B カラム TG-WAXMS_B (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, Thermo を 2 連 結したもの)