

2-クロロニトロベンゼン

測定・分析手法に関する検討結果報告書

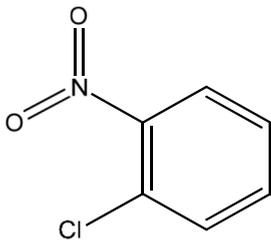
目次

1. はじめに.....	1
2. 文献調査.....	1
3. 捕集及び分析条件.....	2
3-1 試薬・器具.....	2
3-2 捕集方法と測定条件.....	2
4. ブランク.....	3
5. 破過.....	3
6. 脱着率.....	3
7. クロマトグラム.....	4
8. 検量線.....	5
9. 検出下限及び定量下限.....	6
10. 添加回収率（通気試験）.....	6
10-1 シリカゲル添加回収試験.....	6
10-2 ガラス濾紙フィルター添加回収試験.....	7
11. 保存性.....	7
12. まとめ.....	8
13. 検討機関.....	8
14. 参考文献.....	9

1. はじめに

2-クロロニトロベンゼンの物理化学的性状を示した¹⁾(表1)。

表1 2-クロロニトロベンゼンの物理化学的性状

CAS No.	88-73-3	
別名	o-クロロニトロベンゼン 2-ニトロ-1-クロロベンゼン	
用途	アゾ染料の原料 顔料原料 農薬原料、 ゴム酸化防止剤原料	
構造式	 <chem>C6H4ClNO2</chem>	
分子量	157.56	
物性	比重	1.368 g/cm ³
	沸点	246°C
	融点	32°C
	蒸気圧	4 Pa (0.03 mmHg) (20°C)
	形状	固体
許容濃度等	日本産業衛生学会	設定されていない
	OSHA	設定されていない
	NIOSH	設定されていない
	ACGIH	設定されていない

2-クロロニトロベンゼンの許容濃度や TLV-TWA は設定されていないため、異性体である 4-クロロニトロベンゼンの ACGIH TLV-TWA 0.1ppm を暫定 2 次評価値 (E) として 1/1000E ~2E (0.0001 ppm~0.2 ppm) の範囲における捕集及び分析方法について、検討を行った。

2. 文献調査

現在、2-クロロニトロベンゼンの測定及びその分析方法に関する公定法は示されていないが、異性体である 4-クロロニトロベンゼンの分析法として、4-クロロニトロベンゼン測定分析手法検討結果 (中央労働災害防止協会) 及び作業環境測定ガイドブック 3 特定化学物質関係で示されている。このことから、2-クロロニトロベンゼンは上記方法を引用し、GC/MS 分析を採用して検討を行った。

3. 捕集及び分析条件

3-1 試薬・器具

3-1-1 試薬

- 2-クロロニトロベンゼン : 東京化成工業株式会社
- m-クロロニトロベンゼン : 東京化成工業株式会社
- p-クロロニトロベンゼン : 東京化成工業株式会社
- アセトン : 関東化学株式会社 電子工業用

3-1-2 器具

- 捕集材 : シリカゲルチューブ・スタンダード型 (20~40 メッシュ ; 前部 : 520 mg、後部 : 260 mg) 柴田科学株式会社
- ポンプ : MP-Σ30 柴田科学株式会社

3-2 捕集方法と測定条件

測定範囲 : 0.0001 ppm~0.2 ppm

気中濃度として、1/1000E~2E (0.0001 ppm~0.2 ppm)の範囲における捕集及び分析方法について検討を行った。

表2 2-クロロニトロベンゼンの溶液の添加量

2-クロロニトロベンゼン (東京化成工業株式会社)

618.1 mg/100 mL (2-クロロニトロ ベンゼン)	25 µL/50 mL ⇒ 25 mL/50 mL ⇒ ⇒		溶液濃度 (µg/mL)	10µL 添加として の添加量 (µg)	4 時間捕集として の濃度 (ppm)	相当の 濃度
		①	3.09	0.0309	0.0001	1/1000E
		②	3091	30.91	0.1	1E
		③	6181	61.81	0.2	2E

表2に示す濃度の2-クロロニトロベンゼン溶液をシリカゲルチューブに直接添加し、流量0.2 L/minで4時間通気後、4℃の冷蔵庫で一昼夜保存する。

シリカゲルの前層と後層を別々に取り出し、バイアル瓶に入れる。アセトンを2.0 mL入れ、超音波で20分脱着し、GC/MS測定に供した(表3)。

表3 GC/MS の測定条件

装置	7820A GC System/5977B MSD (Agilent Technologies 製)
カラム	DB-WAX (0.25 mm×30 m×0.25 μm)
注入法	スプリットレス
注入量	1.0 μL
キャリアガス	He (1.0 mL/min)
注入口温度	240°C
カラム温度	50°C(2分) → 10°C/min-250°C (5min)
インターフェイス温度	240°C
イオン源温度	230°C
四重極温度	150°C
イオン化法	EI 法 (70eV)
測定モード	SIM
測定イオン (m/z)	2-クロロニトロベンゼン:111 (確認用 157)

4. ブランク

脱着溶媒及び捕集材のブランクの確認を GC/MS で行ったところ、目的物質のピークは認められなかった。

5. 破過

2-クロロニトロベンゼンの2Eに相当する量をシリカゲルに直接添加し、清浄空気 0.2 L/min で 4 hr 通気させて後層への破過を確認する。前層と後層をそれぞれ分析して値を比較し、後層で検出された量と前層で検出された量を求めた。その結果、240 分間通気させても後層への破過は生じなかった (表 4)。

表4 破過試験結果

添加液濃度 (μg/mL)	添加液量 (mL)	前層 回収量 (μg)	後層 回収量 (μg)
6,181	0.01	59.00	0

6. 脱着率

脱着率試験は 1/1000E~2E の気中空気を 0.2 L/min で 4 hr 吸引した時に、捕集管に捕集される 2-クロロニトロベンゼンの絶対量を算出し、その範囲の量になるように溶媒で調製した標準溶液をシリカゲル管の前層に添加する。実際の気中濃度換算値を求めた後、標準溶液をシリカゲルに添加し、清浄空気を 0.2 L/min で 4 hr 通気させ冷蔵庫 (4°C) で一晩安定させて翌日に脱着・分析操作を行い、脱着率を求めた結果、93~98%となった (表 5)。

表 5 脱着率測定結果

	添加液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	添加液量 (mL)	脱着率(n=5) (%)	RSD (%)
①	3.09	0.01	98	3.5
②	3091	0.01	93	3.5
③	6181	0.01	95	0.8

7. クロマトグラム

表 3 に記す測定条件で 2-クロロニトロベンゼンを測定した結果、16.37 分に目的ピークが検出された (図 1-1、図 1-2)。

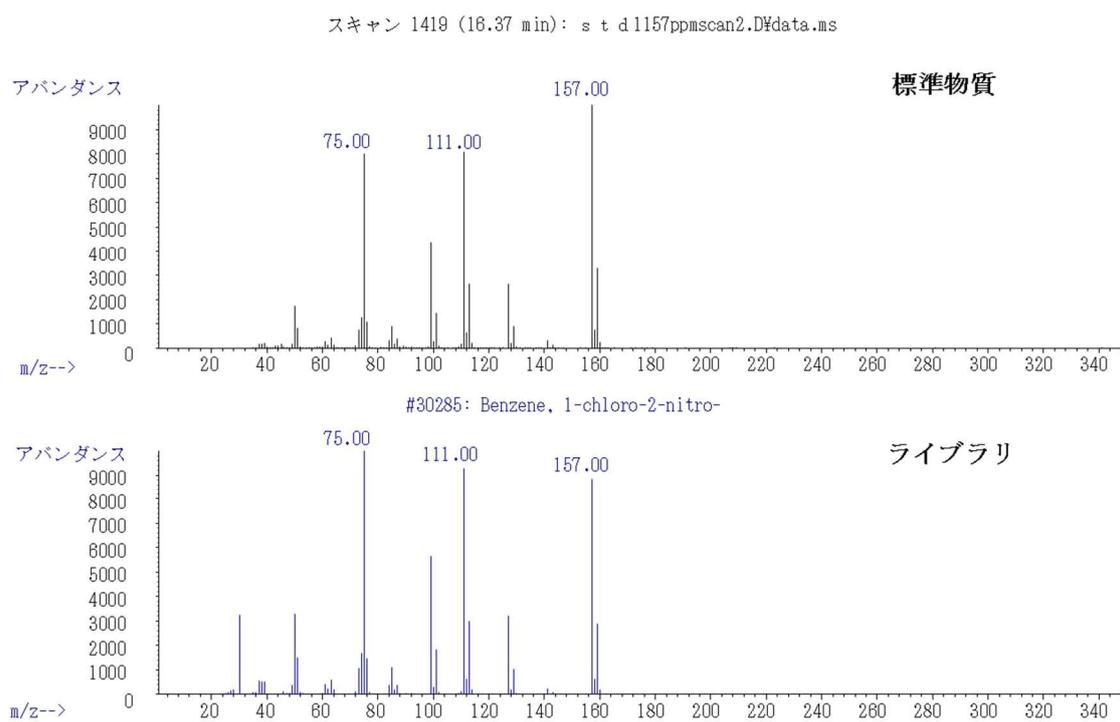


図 1-1 2-クロロニトロベンゼンの質量スペクトル

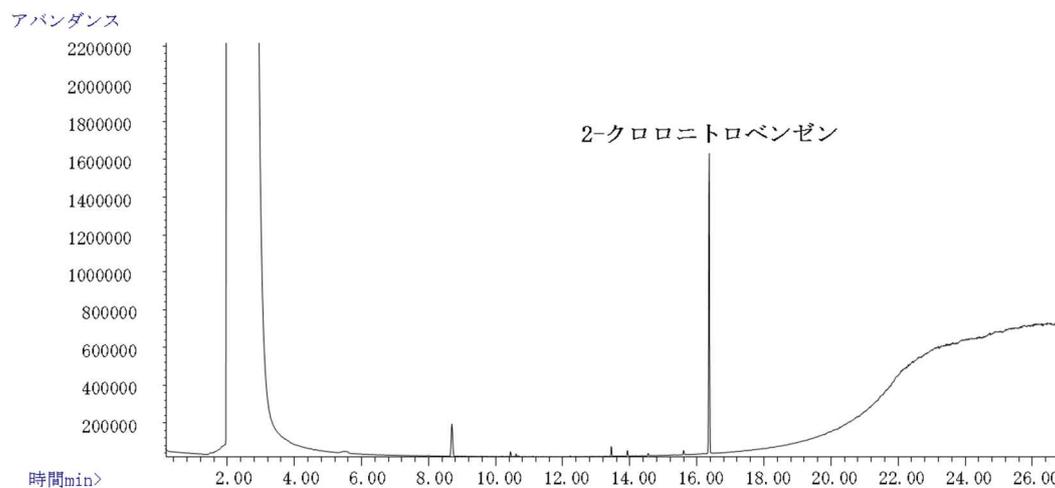


図 1-2 2-クロロニトロベンゼンのクロマトグラム

また、混合溶液(2-クロロニトロベンゼン 10.01 $\mu\text{g/ml}$ 、3-クロロニトロベンゼン 10.22 $\mu\text{g/ml}$ 、4-クロロニトロベンゼン 9.77 $\mu\text{g/ml}$) を作製し、表 3 に示す測定条件で異性体の分離を確認した。その結果、3-クロロニトロベンゼンは 15.28 分、4-クロロニトロベンゼンは 15.72 分、2-クロロニトロベンゼンは 16.38 分に検出され、良好な分離が確認できた (図 2)。

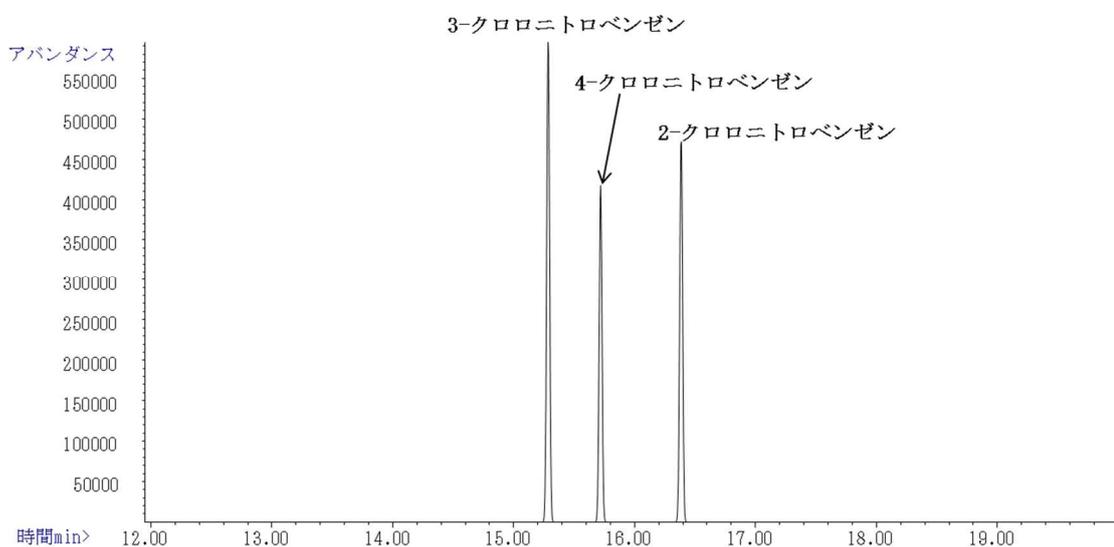


図 2 ニトロクロロベンゼン異性体のクロマトグラム

8. 検量線

標準溶液をアセトンで希釈し、検量線の直線性について確認を行った。その結果、0.01545 $\mu\text{g/ml}$ ~30.905 $\mu\text{g/ml}$ は直線性が低く、0.01545 $\mu\text{g/ml}$ ~0.6181 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で良好な直線性が得られた (図 3、図 4)。

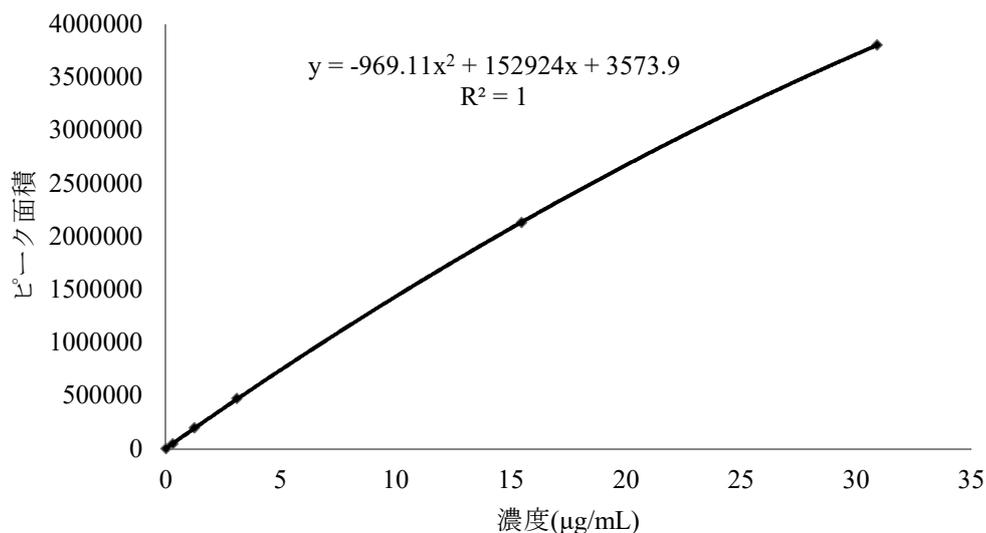


図 3 2-ニトロクロロベンゼンの検量線 (0.01545 $\mu\text{g/ml}$ ~30.905 $\mu\text{g/ml}$)

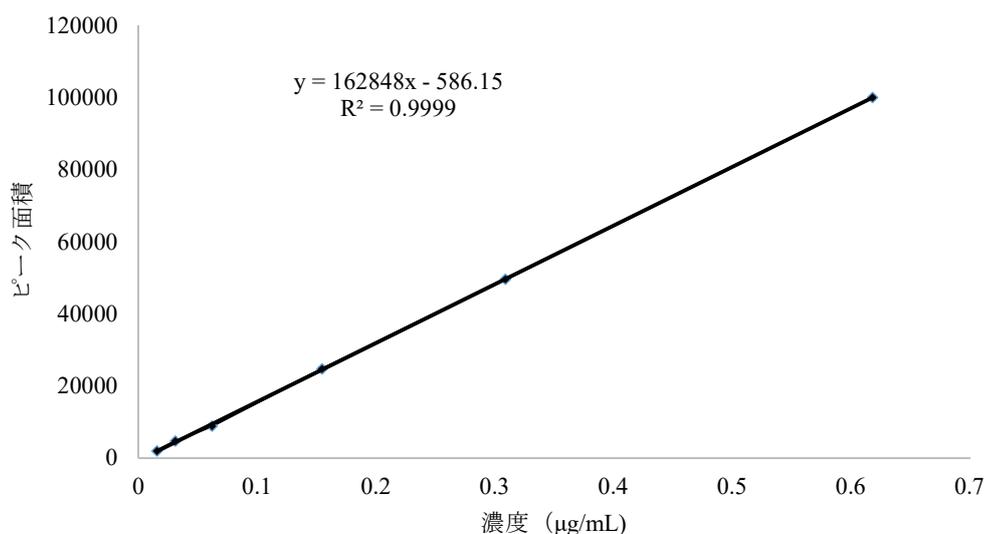


図 4 2-ニトロクロロベンゼンの検量線 (0.01545 µg/ml~0.6181 µg/ml)

9. 検出下限及び定量下限

検量線作成で調製した混合標準溶液の最低濃度 0.1545 µg/mL (0.2 L/min で 4 時間測定した場合：気中濃度 0.0001 ppm、1/1000E に相当) を 5 サンプル分析し、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、次式より検出下限及び定量下限を求めた。

$$\text{検出下限 (}\mu\text{g/mL)} = 3\text{SD} \qquad \text{定量下限 (}\mu\text{g/mL)} = 10\text{SD}$$

その結果、検出下限及び定量下限は表 6 に示す通りとなった。定量下限値より求められる気中濃度は、48 L 採気で 0.00006 ppm となり、4-クロロニトロベンゼンの 1/1000E 未満となる (表 6)。

また、作業環境測定において、A 測定、B 測定の採気時間を 10 分間とすると全採気量は 2 L (0.2 L/min×10 min) となり、この場合の定量下限は、0.001 ppm となり、暫定 2 次評価値 (0.1 ppm) の 1/10 以下であることから、作業環境測定への応用も可能と考えられる。

表 6 検出下限と定量下限及び気中濃度の定量下限

SD (µg/mL)	0.00085
検出下限 (µg/mL)	0.003
定量下限 (µg/mL)	0.009
48 L 採取時の気中濃度の定量下限 (ppm)	0.00006

10. 添加回収率 (通気試験)

10-1 シリカゲル添加回収試験

3-2 の操作手順に従い GC/MS 測定にて添加回収率を求めた。その結果、全ての濃度において回収率 93~98%、RSD (%) は 10%以内となった (表 7)。

表7 2-クロロニトロベンゼンの添加回収率

添加量 (μg)	4時間捕集としての 濃度(ppm)	相当の濃度	回収率(%) n=5		RSD (%)
			Mean	SD	
0.0309	0.0001	1/1000E	98	3.4	3.5
30.91	0.1	1E	93	2.3	2.5
61.81	0.2	2E	95	0.8	0.8

10-2 ガラス濾紙フィルター添加回収試験

2-クロロニトロベンゼンは常温では固体であることから、粒子状物質の捕集法を検討した。1/1000E、1E、2Eに相当する2-クロロニトロベンゼン溶液をガラス濾紙フィルター（ジーエルサイエンス社製）にそれぞれ添加し、流量0.2 L/minで4時間通気後、4°Cの冷蔵庫で一昼夜保存する。その後、ガラス濾紙フィルターをバイアル瓶に入れ、アセトン2.0 mLを加え、超音波で20分脱着し、GC/MS測定にて添加回収率を求めた。その結果、抽出液から2-クロロニトロベンゼンは検出されなかった。原因として、ガラス濾紙フィルター上の2-クロロニトロベンゼンは完全に昇華し、ガス状になったことが考えられる。昇華ガスの確認及び捕集法の検討として、1/1000E、1E、2Eに相当する2-クロロニトロベンゼン溶液を添加したガラス濾紙フィルターの後段にシリカゲルチューブ・スタンダード型（20~40メッシュ；前部：520 mg、後部：260 mg）を接続し、同様の捕集・分析条件で、それぞれの抽出液を測定した。その結果、2-クロロニトロベンゼンは、ガラス濾紙フィルターからは検出されず、シリカゲルからは検出された。この結果から、捕集時にガラス濾紙フィルターから昇華した2-クロロニトロベンゼンがシリカゲル管へ移動することを確認した。また、240分の通気時間でガラス濾紙フィルター上の2-クロロニトロベンゼンは完全に昇華したものと仮定すると、シリカゲルで捕集された昇華ガスの回収率は91~96%で、RSD (%)は10%以内となった（表8）。

表8 2-クロロニトロベンゼンの昇華ガス回収率

添加量 (μg)	4時間捕集としての 濃度(ppm)	相当の濃度	回収率(%) n=5		RSD (%)
			Mean	SD	
0.0309	0.0001	1/1000E	91	7.4	8.1
30.94	0.1	1E	96	7.1	7.4
61.88	0.2	2E	93	5.9	6.3

11. 保存性

3-2の操作手順に従い試料を調製し、4°Cの冷蔵庫で0日、1日、3日、5日間保存した。保存後、回収率測定時と同等の脱着方法で試料を作製し、GC/MS測定で保存性を求めた。その結果、すべての濃度において、90~98%の回収率が確認された（表9、図5）。

表9 2-クロロニトロベンゼンの保存安定性

添加量 (μg)	4時間捕集 としての 濃度(ppm)	相当の濃度	保存日数	シリカゲル保存率(%)		RSD (%)
				n=3		
				Mean	SD	
0.0309	0.0001	1/1000E	0	96	4.5	4.7
			1	98	4.8	4.9
			3	97	1.5	1.6
			5	98	2.0	2.0
30.91	0.1	1E	0	97	0.7	0.7
			1	95	2.0	2.1
			3	90	1.9	2.1
			5	92	0.6	0.6
61.81	0.2	2E	0	93	3.0	3.2
			1	95	1.0	1.1
			3	95	1.6	1.6
			5	91	0.9	1.0

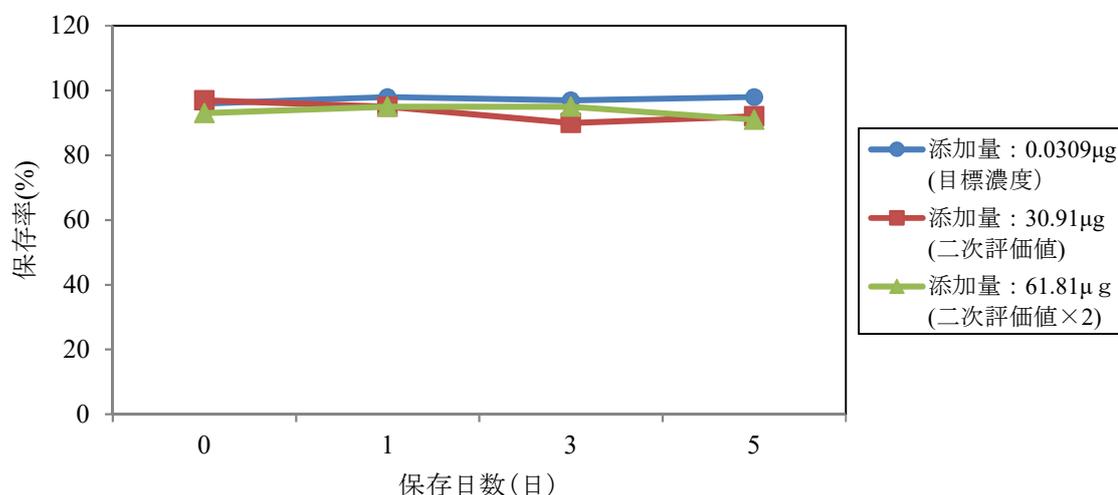


図5 2-クロロニトロベンゼンの保存安定性

12. まとめ

本検討の結果、2-クロロニトロベンゼンを本手法において暫定2次評価値(E)の2倍から1/1000倍の濃度領域において脱着率、回収率、破過試験を検証した結果、4時間の捕集が可能であることを確認した。サンプリング後の試料については5日間の冷蔵保管が可能であり問題はなかった。但し、粒子状の2-クロロニトロベンゼンを考慮する場合、シリカゲルチューブ前段にガラス濾紙フィルターを装着し、昇華ガスをシリカゲルで捕集し、ガラス濾紙フィルター及びシリカゲルを分析し、濃度を求める必要がある。

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。

13. 検討機関

東芝ナノアナリシス株式会社

14. 参考文献

- 1) 物質に関する基本的事項[4]2 o-クロロニトロベンゼン (環境省)
- 2) p-クロロニトロベンゼン測定分析手法検討結果 (中央労働災害防止協会)
- 3) 作業環境測定ガイドブック 3 特定化学物質関係 3026 パラ・ニトロクロロベンゼン
302-309 頁 (日本作業環境測定協会)

(別紙) 2-クロロニトロベンゼン標準測定分析法

化学式：C ₆ H ₄ ClNO ₂		分子量：157.56	CAS No.：88-73-3
許容濃度等：		物性等	
OSHA	設定されていない	沸点：246℃	
日本産業衛生学会	設定されていない	融点：32℃	
ACGIH	設定されていない	蒸気圧：0.04 hPa (0.03 mmHg) (20℃)	
		形状：固体	
別名：o-クロロニトロベンゼン、2-ニトロ-1-クロロベンゼン			
サンプリング		分析	
<p>サンプラー：シリカゲルチューブ（スタンダード型）</p> <p>サンプリング流量：0.2 L/min</p> <p>サンプリング時間：4時間（48L）</p> <p>保存性：冷蔵で5日間までは変化がないことを確認</p> <p>※粒子状の2-クロロニトロベンゼンを考慮する場合、シリカゲルチューブ前段にガラス濾紙フィルターを装着することを推奨。</p>		<p>分析方法：ガスクロマトグラフ質量分析法</p> <p>脱着：アセトン超音波脱着 20分間</p> <p>機器：Agilent 7820A GC System/5977B MSD</p> <p>カラム：DB-WAX (0.25 mm×30 m×0.25 μm)</p> <p>注入法：スプリットレス</p> <p>注入量：1.0 μL</p> <p>キャリアガス：He (1.0 mL/min)</p> <p>注入口温度：240℃</p> <p>カラム温度：50℃(2分)→10℃/min-250℃(5 min)</p> <p>インターフェイス温度：240℃</p> <p>イオン源温度：230℃</p> <p>四重極温度：150℃</p> <p>イオン化法 EI法 (70eV)</p> <p>測定モード SIM</p> <p>測定イオン (m/z)：m/z111</p> <p>確認イオン：m/z157</p> <p>リテンションタイム：16.37分</p> <p>検量線：0.01545-0.60181 μg/mL の範囲で直線性が得られている。</p> <p>定量法：絶対検量線法</p>	
精度			
回収率； 添加量	0.03091 μg	98%	
添加量	30.91 μg	93%	
添加量	61.81 μg	95%	
定量下限 (10SD)	0.009 μg/mL		
	0.00006 ppm (採気量； 48 L)		
検出下限 (3SD)	0.003 μg/mL		
	0.00002 ppm (採気量； 48 L)		
適用：個人ばく露濃度測定、作業環境測定			
妨害：確認されていない			
参考文献			
1) 物質に関する基本的事項[4]2 o-クロロニトロベンゼン (環境省)			
2) p-クロロニトロベンゼン測定分析法検討結果 (中央労働災害防止協会)			
3) 作業環境測定ガイドブック 3 特定化学物質関係 3026 パラ・ニトロクロロベンゼン 302-309 頁 日本作業環境測定協会			

作成日：平成 30 年 1 月 17 日