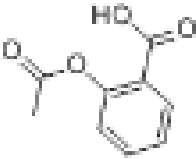


アセチルサリチル酸の測定・分析手法に関する
検討結果

1. はじめに

アセチルサリチル酸の物理化学的性状を示す 1) (表 1)。

表 1 アセチルサリチル酸の物理化学的性状

CAS No.	50-78-2	
別名	アスピリン、2-(アセチルオキシ)安息香酸	
用途	鎮痛剤、解熱剤、抗リウマチ剤	
構造式		
分子量	180.16	
物性	比重	1.4
	融点	135°C
	形状	無色～白色の結晶又は結晶粉末
許容濃度等	OSHA	—
	NIOSH	—
	ACGIH	5mg/m3

気中濃度として、アセチルサリチル酸の目標濃度（TLV-TWA：5mg/m3）の 1/100 の（0.05mg/m3）から 2 倍（10mg/m3）の範囲における捕集および分析方法について検討を行った。

2. 文献調査及び予備試験

アセチルサリチル酸の作業環境測定方法は、存在するが詳細な方法は記載されていない。また、性状が近い物質として salicylic acid、4-hydroxy benzoic acid についても調査を行ったが、同様の結果であり、医薬品の機器測定アプリケーションがあるのみであった。このため、フィルター捕集－HPLC 法にて測定を行うこととした。

表 2 に調査結果を示す。

表 2 文献調査結果

	acetylsalicylic acid ²⁾	m-hydroxy benzoic acid ³⁾
method	Primary Laboratory Sampling/Analytical Method (SLC1)	
sampling media	glass fiber filters (37 mm)	mixed cellulose ester filter 0.8 μ m
analytical solvent	methanol	methanol: water (10:90)
max. vol.	120L	200L
max. flow rate	1.0L/min	
analytical method	HPLC(UV)	
column	C18	
mobile phase	—	25:75:0.1 (methanol: water: H3PO4)
wave length	—	240 or 280nm

使用するろ紙は、文献調査ではガラス繊維ろ紙とメンブランフィルターを使用しているが、予備試験では、一般的に使用されているガラス繊維ろ紙（GB-100R：アドバンテック東洋社製）及びテフロンバインダーろ紙（T60A20：pallflex 社製）の 2 種類を選択した。また、ろ紙径は、個人暴露用として ϕ 25mm 径のものを使用することとした。

抽出溶媒は、文献調査では、methanol 及び methanol/water(10/90)を使用しているが、アセチルサリチル酸は、水分により容易に加水分解が起こることが知られているため、methanol 溶液と 10mM リン酸緩衝液(pH2.6)/methanol(20/80)溶液を用いて標準液の安定性を確認し使用することとした。

安定性試験の結果アセチルサリチル酸は、methanol 溶液では 15 時間で 67.6%まで減少し、10mM リン酸緩衝液(pH2.6)/methanol (20/80)溶液では 15 時間で 94.6%まで減少していることが確認できた。

図 1 に経過時間とアセチルサリチル酸の安定性を示す。

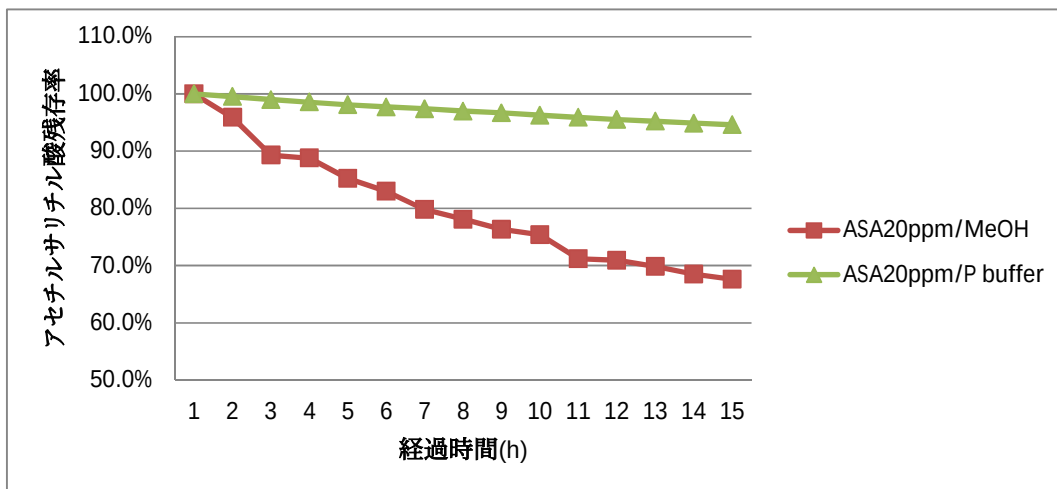


図1 アセチルサリチル酸の安定性

次に、ガラス繊維ろ紙 GB-100R にアセチルサリチル酸 methanol 溶液を添加・乾燥し、SKC 製 3p カセットにセットした後、室内空気を 4L/min (19cm/sec) の流量で 2 時間吸引した際のアセチルサリチル酸の挙動の確認を行った。

図 2 に 10mM リン酸緩衝液(pH2.6)/methanol (20/80)溶液で抽出を行った試料のクロマトグラムを示す。

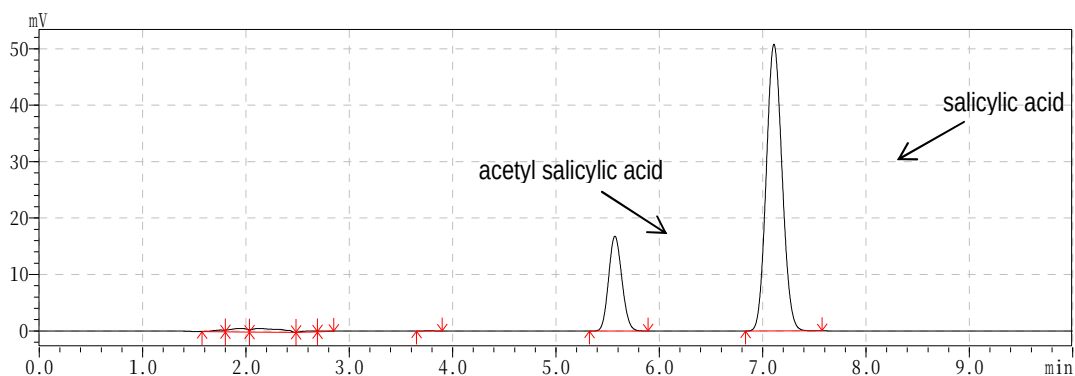


図2 吸引時のアセチルサリチル酸の安定性

図 2 の結果から、2 時間の吸引時に加水分解が進んでいることが確認できた。

実際には、HPLC のサンプルクーラーなどで試料を冷蔵し、カラム槽温度を 30℃程度にすることで、測定及び測定待ち時間中の分解を防ぐことはでき、採取時の試料についてもある程度の粒径を持ったものであることから予備試験時よりも分解は少ないと推察されるが、すべての作業環境測定登録機関がサンプルクーラーを所有し、室温 20℃程度に空調している測定室に HPLC を設置しているとは限らないことから、本検討では、アセチルサリチル酸をアルカリ分解してサリチル酸として測定することとした。

測定波長については、アセチルサリチル酸及びサリチル酸の UV スペクトルを測定し、

アセチルサリチル酸は、275nm、サリチル酸は 302nm 付近に極大吸収を持つことが確認できたので、この波長を検出波長とすることとした。

UV スペクトルを図 3、4 に示す。

また、アセチルサリチル酸の分解は、10mM 水酸化ナトリウム水溶液/methanol (10/90) 溶液を 60℃で 1 時間加熱することで 100%サリチル酸に加水分解されることが確認できたので、10mM 水酸化ナトリウム水溶液/methanol (10/90) 溶液を抽出液として使用することとした。

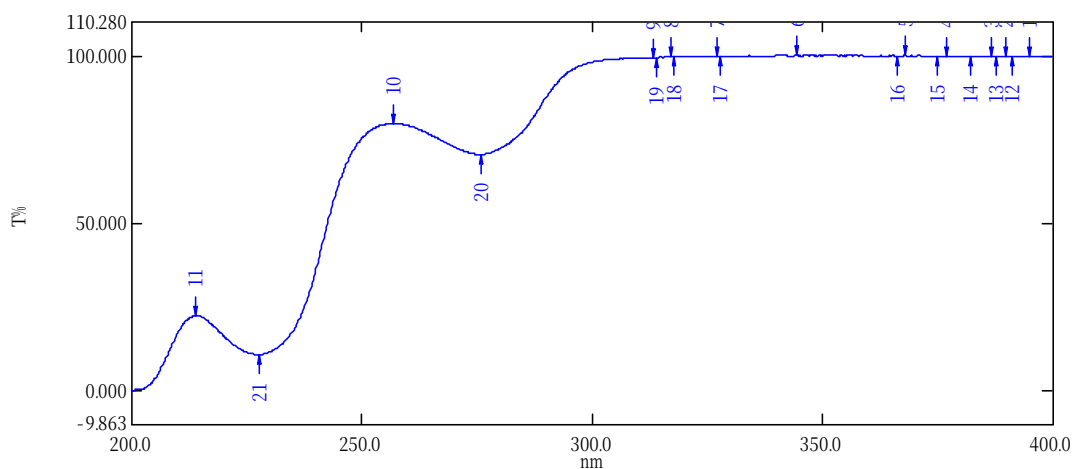


図 3 アセチルサリチル酸 UV スペクトル

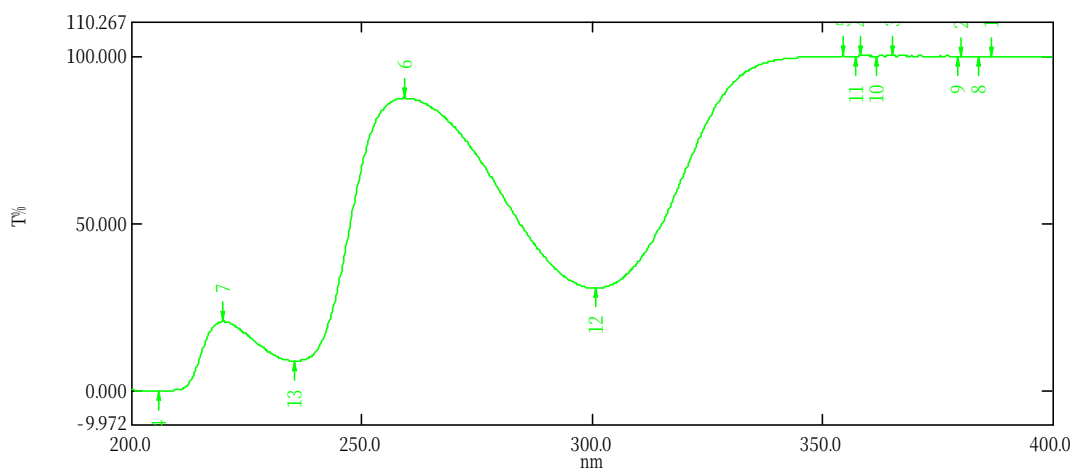


図 4 サリチル酸 UV スペクトル

3. 分析条件

分析条件を表 3 に示す。

表 3 分析条件

捕集剤	GB-100R：アドバンテック東洋社製（ガラス繊維ろ紙） T60A20：pallflex 社製（テフロンバインダーろ紙） 各ろ紙径 25mm
脱着溶媒及び量 脱着時間	10mM 水酸化ナトリウム水溶液/methanol（10/90）10mL 超音波抽出 5 分 60℃加温 1 時間（放冷後、混合） 遠心分離 3000rpm、5 分
装置	LC20A：島津製作所社製
カラム	Inertsil ODS-4 (内径 4.6mm × 長さ 150mm、粒径 5μm：GLscience 社製)
検出器	SPD20A：島津製作所社製
検出波長	275nm（アセチルサリチル酸：0～6.4min、9～10min） 302nm（サリチル酸：6.4～9.0min）
恒温槽温度	35℃
注入量	20μL
移動相流量	1.0mL/min
移動相	10mM リン酸緩衝液(pH2.6)/acetonitrile=30/70

4. ブランク

脱着溶媒および捕集剤のブランクの確認を行ったところ、アセチルサリチル酸及びサリチル酸の検出位置に妨害ピークは認められなかった。

5. 脱着率

今回の検討で使用する GB-100R(アドバンテック東洋社製（ガラス繊維ろ紙）)及び T60A20(pallflex 社製（テフロンバインダーろ紙）)を用いて、インハラブルダスト径でのサンプリングを想定し、アセチルサリチル酸の第二評価値 5mg/m³ のガスをろ紙有効ろ過径 22mm に 19cm/sec で吸引した時の流量 4.33L/min で 10 分間捕集した際のアセチルサリチル酸の物質質量 216.5 μg 相当

$$\left(\frac{4.33L}{min} \times 10min \times \frac{5mg}{m^3} = 216.5\mu g \right) \text{ に当たる標準物質（約 0.5\%アセチルサリチル酸}$$

methanol 溶液 40μL）及びその 2 倍（約 1%アセチルサリチル酸 methanol 溶液 40μL）と 1/100 に当たる量（約 0.005%アセチルサリチル酸 methanol 溶液 40μL）のアセチルサリチル酸を添加・乾燥させた。その後、ネジ口試験管に入れ、翌日抽出を行った。

実際の粉じん粒径と試薬をろ紙に添加して乾燥させた時のアセチルサリチル酸の粒径は違うものになっているため、破過回収率試験は行わないこととした。

脱着率を表 4 に示す。

脱着率試験の結果、脱着率は 98.6 から 99.3%であった。

表 4 脱着率 (n=5)

添加量 (μg)	GB-100R			T60A20		
	脱着率(%)		RSD (%)	脱着率(%)		RSD (%)
	Mean	SD		Mean	SD	
2.036	99.3% $\pm$ 2.1%	2.2%		98.6% $\pm$ 0.5%	0.5%	
203.6	98.8% $\pm$ 0.4%	0.4%		98.6% $\pm$ 0.2%	0.2%	
407.3	98.9% $\pm$ 0.1%	0.1%		98.6% $\pm$ 0.5%	0.5%	

6. クロマトグラム

標準液のクロマトグラムを図 5 に示す。

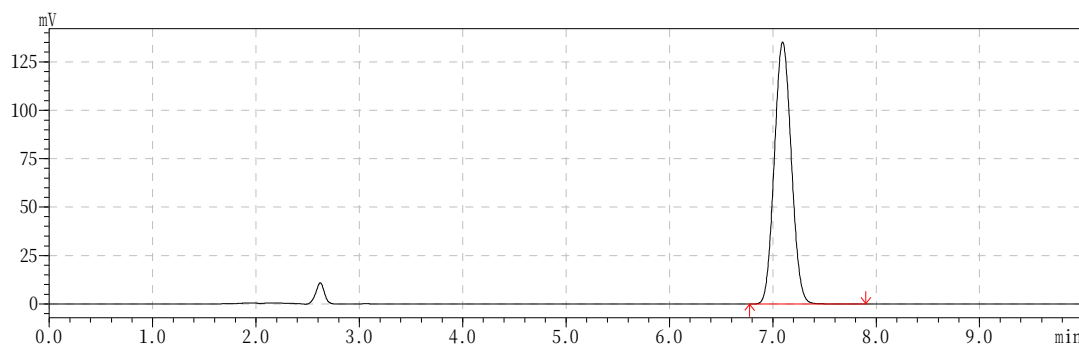


図 5 標準液のクロマトグラム

7. 検量線

サリチル酸を methanol で希釈し、6 段階の標準系列を調製し (0.1906 $\mu\text{g/mL}$ から 47.64 $\mu\text{g/mL}$ の範囲となる)、検量線の直線性について確認を行った。

その結果、良好な直線性が得られた (図 6)。

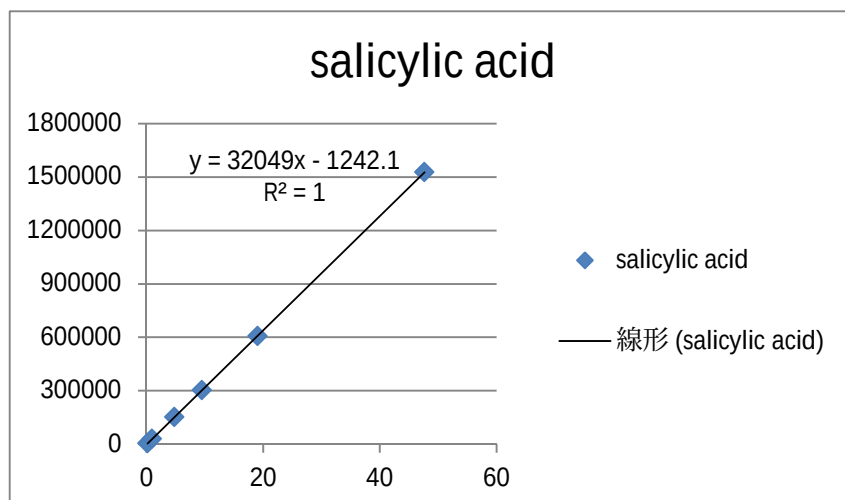


図 6 サリチル酸の検量線

8. 検出下限および定量下限

検量線作成で調製した標準溶液の最低濃度アセチルサリチル酸換算値 0.2486 μ g/mL (4.33L/min で 10min 採取した場合、気中濃度 0.057mg/m³ に相当)を 5 サンプル分析し、検出した Area 値の標準偏差 (SD) を算出した。

得られた SD を用い、3 SD を検出下限(LOD)、10 SD を定量下限(LOQ)とした。検出下限および定量下限は表 6 に示す。

作業環境測定で 4.33L/min で 10 分間採取した場合 (43.3L 採気) のアセチルサリチル酸の定量下限は第 2 評価値の 1/100 (0.05mg/m³) を満足しており、個人ばく露測定で 4.33L/min で 120 分間採取した場合 (519.6L 採気) においてもアセチルサリチル酸の第 2 評価値の 1/1000 (0.005mg/m³) を満足する結果となった。

表 6 検出下限、定量下限

	検出下限値(LOD)	定量下限値(LOQ)
溶液濃度(μ g/mL)	0.0147	0.0489
43.3L 採取時の気中濃度(mg/m ³)	0.00339	0.0113
519.6L 採取時の気中濃度(mg/m ³)	0.000282	0.000941

9. 保存性

5.脱着率の実験操作と同様に、アセチルサリチル酸の第 2 評価値の 2 倍 (約 1%アセチルサリチル酸 methanol 溶液 40 μ L) と 1/100 に当たる量 (約 0.005%アセチルサリチル酸 methanol 溶液 40 μ L) のアセチルサリチル酸を添加・乾燥させた後、ネジ口試験管に入れ、試験試料を各 n=3 で作成した。

捕集直後を0日目とし、1、3、5日後に脱着および分析し、保存性の確認を行った。
試料の保存は、4℃の条件で行った。

その結果、いずれの濃度でも5日目までは保存可能（5日目において保存率はそれぞれ95%以上）であることが確認された（表7、図7）。

表7 保存性

添加量 (μg)	保存日数 (day)	GB-100R				T60A20			
		脱着率(%)			RSD (%)	脱着率(%)			RSD (%)
		Mean	SD			Mean	SD		
2.036	0	100.2%	± 1.0%		1.0%	99.9%	± 0.9%		0.9%
	1	98.5%	± 1.4%		1.4%	98.5%	± 0.7%		0.7%
	3	98.1%	± 1.2%		1.2%	97.5%	± 1.0%		1.1%
	5	99.0%	± 2.9%		2.9%	98.2%	± 1.4%		1.4%
407.3	0	99.2%	± 0.2%		0.2%	99.5%	± 0.3%		0.3%
	1	98.9%	± 0.1%		0.1%	98.3%	± 0.4%		0.4%
	3	98.9%	± 0.5%		0.5%	98.8%	± 0.1%		0.1%
	5	98.4%	± 0.2%		0.2%	97.8%	± 0.5%		0.5%

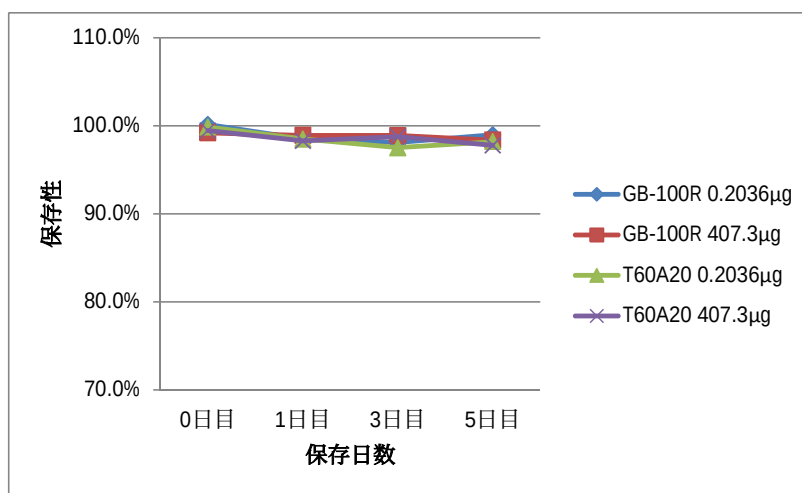


図7 保存性

11. まとめ

本検討の結果、アセチルサリチル酸を低濃度まで良好に測定・分析できることが確認できた。

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。

12. 参考文献

職場のあんぜんサイト（アセチルサリチル酸）、厚生労働省

<http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/0633.html>

OSHA Chemical Sampling Information (acetylsalicylic acid)

https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_217015.html

OSHA Chemical Sampling Information (m-hydroxy benzoic acid)

https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_246901.html

(別紙)

アセチルサリチル酸標準測定分析法

化学式: C ₉ H ₈ O ₄	分子量: 180.16	CASNo: 50-78-2
許容濃度等: OSHA — NIOSH — ACGIH 5mg/m ³ (TLV-TWA)	物性等 沸点: 140°C 融点: 135°C 形状: 無色～白色の結晶又は結晶粉末	
別名	アスピリン、2- (アセチルオキシ) 安息香酸	
サンプリング	分析	
サンプラー : GB-100R (ガラス繊維ろ紙) T60A20 (テフロンバインダーろ紙) サンプリング流量: 4.3L/min (インハラブルダ スト径での捕集を想定) サンプリング時間: 4 時間 (519.6L) 保存性: 添加量 2.036μg、407.3μg いずれの場 合も、冷蔵 (4°C) で少なくとも 5 日間までは変 化がないことを確認	分析方法: HPLC 法(UV) 脱着: 10mM 水酸化ナトリウム水溶液 /methanol (10/90) 溶液 10mL 超音波抽出 5 分 加温 60°C、1 時間 放冷・振とう 遠心分離 3000rpm、5 分 機器: Shimadzu LC20A カラム: GLscience Inertsil-ODS (内径 4.6mm×長さ 150mm、粒径 5.0μm) カラム槽温度: 35°C 検出器波長: 302nm (サリチル酸) 275nm (アセチルサリチル酸) 移動相: 10mM リン酸緩衝液(pH2.6)/ acetonitrile = 30/70 移動相流量: 1.0mL/min 試料液導入量: 20μL 検量線: 0.1906～47.64mg/L の範囲で直線 定量法: 絶対検量線法	
精度		
GB-100R		
脱着率: 添加量 2.036μg の場合	99.3%	
203.6μg	98.8%	
407.3μg	98.9%	
T60A20		
脱着率: 添加量 2.036μg の場合	98.6%	
203.6μg	98.6%	
407.3μg	98.6%	
定量下限 (10σ)		
0.0489μg/mL		
0.000941mg/m ³ (採気量: 519.6L)		
検出下限 (3σ)		
0.0147μg/mL		
0.000282mg/m ³ (採気量: 519.6L)		
適用:		
妨害:		

作成日 平成 26 年 2 月 27 日

