

クロロホルムの測定手法検討結果

目次

- 1 . はじめに
- 2 . 試験方法
 - 2 - 1 . 捕集方法の決定
 - 2 - 2 . 検出方法の選択 (GC-MS 法)
 - 2 - 3 - 1 . 試料の前処理
 - 2 - 3 - 2 . GC-MS 分析条件
 - 2 - 4 . 捕集及び分析条件
 - 2 - 5 . 添加回収率
 - 2 - 6 . 捕集後のサンプラーの保存安定性
 - 2 - 7 . 検量線 (直線性)
 - 2 - 8 . 検出下限及び定量下限
- 3 . まとめ及び考察
- 4 . 引用文献

1. はじめに

クロロホルム (CHCl₃) は、主に、抽出剤や溶剤として多用されているが、他の化学商品の出発物質としても用いられている。表 1-1 に CHCl₃ の物理化学的性質と有害性 GHS 情報を要約した。CHCl₃ は、GHS 分類では眼に対する重篤な損傷性/眼刺激性で区分 1、標的臓器/全身毒性 (単回及び反復ばく露) で区分 1 に分類される。表 1-2 に、国際的な機関によって勧告されている CHCl₃ の職業性ばく露限界値(OEL)を示した。表 1-3 に IARC を含む国際機関が公表している CHCl₃ の発がん分類を示した。CHCl₃ は発がん性物質であり、NIOSH は職業性発がん物質として指定しており、厚生労働省も安衛法第 28 条第 3 項に基づく健康障害予防指針(発がん物質)の対象物質に指定している。CHCl₃ の OEL は、2 ppm から 50 ppm の値が種々の国際機関によって勧告されている (表 1-2)。日本産業衛生学会は CHCl₃ の許容濃度として 3 ppm を勧告している¹⁾。本報告書では、日本産業衛生学会の許容濃度 3 ppm を二次評価値として暫定的に採用し、労働者の個人ばく露濃度を評価するために 4 時間にわたる気中 CHCl₃ 蒸気の採取 (吸引速度 0.1 L/min) によって二次評価値 3 ppm の 1/1,000 を目標濃度 (定量下限) として設定し、二次評価値の 2 倍の濃度と目標濃度間に直線性の検量線が成立する定量分析法を開発することを目的とした。作業環境気中の CHCl₃ 分析法では、CHCl₃ の管理濃度が 3 ppm に設定され、10 分間の短い捕集時間 (吸引速度 0.1 L/min) に気中サンプリングし、10 ppm の 1/10 の濃度の気中 CHCl₃ を定量し得る捕集及び分析法が開発されている^{2, 3)}。本研究で開発された GC-MS (Gas chromatograph-Mass spectrometer) 分析法は、作業環境中の CHCl₃ 分析に適用し得ることを確認することも本報告書の目的とした。

表 1-1. クロロホルム (CHCl₃) の分子構造と物理化学的性質及び有害性 GHS 情報

構造式		変換係数	1 ppm = 4.87 mg/m ³
			1 mg/m ³ = 0.206 ppm
CAS No.	67-66-3	主要な用途	原料、抽出剤、溶剤
分子式	CHCl ₃	急性毒性(吸入：蒸気)	分類できない
分子量	119.38	皮膚腐食性/刺激性	区分1A-1C
融点	- 63.5	眼に対する重篤な損傷性/眼刺激性	区分 1
沸点	61.2	呼吸器感作性又は皮膚感作性	ともに分類できない
蒸気圧	100 torr at 10.4	生殖毒性	区分 2
溶解性	-	標的臓器・全身毒性 (単回ばく露)	区分 1 (肝臓、腎臓)、区分 3 (麻酔作用)
比重	1.485 at 20	標的臓器・全身毒性 (反復ばく露)	区分 1 (中枢神経系、肝臓、腎臓、呼吸器)
蒸気密度	4.12 (air=1)	発がん性	区分 2
安定性 (分解温度)	-	生殖細胞変異原性	区分 2

表 1-2. 主要な機関によるクロロホルム (CHCl₃) の職業性ばく露限界値の勧告

機関	職業性ばく露限界値
米国労働衛生専門家会議 (ACGIH)	10 ppm
日本産業衛生学会	3 ppm (14.7 mg/m ³)
厚生労働省(管理濃度)	3 ppm
ドイツ学術協会(DFG)	0.5 ppm (2.5 mg/m ³)
US.NIOSH REL	2 ppm (9.78 mg/m ³) STEL
US.OSHA PEL	C 50 ppm (C 240 mg/m ³)

C: Ceiling value

表 1-3. 主要な機関によるクロロホルム(CHCl₃)の発がん性分類

機関	発がん性分類
国際がん研究機関 (IARC)	2B
米国労働衛生専門家会議	A3
日本産業衛生学会	第 2 群 B
厚生労働省	健康障害防止指針 (安衛法第 28 条第 3 項) の対象物質
ドイツ学術協会(DFG)	Group 4
US.NIOSH	職業性発がん物質(Potential Occupational Carcinogen) に指定
US.OSHA	-

2 . 試験方法

2 - 1 . 捕集方法の決定

文献調査から、活性炭管にて固体捕集する方法が確立されている(作業環境測定ガイドブック 5 No.50143)、OSHA Method no 054)、NIOSH Manual 10035))ことが確認された。したがって、本報告書では、作業環境測定ガイドブック 5 No.50143)、OSHA Method no 054)、NIOSH Manual 10035)に準拠した方法、即ち、球状活性炭を捕集材として用い、ミニポンプで作業環境空気を吸引し、ガスクロマトグラフ法の代わりに GC-MS 分析法を採用した。

具体的な捕集方法は下記とした。

サンブラ - : ガラス管に球状活性炭 400 mg と 200 mg を 2 層充填した (ガステック製 258A) 構造。長さ 100 mm、外径 6mm、内径 4mm、第 1 層の前部にガラスウ - ル及び第 2 層の前後にウレタンが充填されている。

測定範囲 : 0.003 ~ 6 ppm (目標濃度(二次評価値の 1/1,000) ~ 二次評価値 × 2)、二次評価値 3 ppm , 日本産業衛生学会の CHCl₃ 許容濃度を二次評価値として採用)

サンブラ - に捕集される CHCl₃ 0.35 μg ~ 702.5 μg と設定される。

サンプリング流量 : 0.10 L/min

サンプリング時間 : 最大 4 時間 (採気量 : 最大 24 L)

2 - 2 . 検出方法の選択

作業環境測定ガイドブック 5 No.50143)、OSHA Method no 054)及び NIOSH Manual 10035)では、GC の検出器として FID (flame ionization detector)が採用されているが、本方法では GC-MS を用いて GC で分離したピーク成分を MS で同定した。

2 - 3 - 1 . 試料の前処理

脱着溶用媒の二硫化炭素 2.0ml を加えた共栓小試験管を 2 本用意し、CHCl₃ を吸着させた活性炭管の前層と後層の活性炭を別々に取り出し、上述の試験管に入れ、すばやく密栓した。これをときどき振とうし、約 1 時間放置して、上澄液を GC-MS 分析に供した。

2 - 3 - 2 . GC-MS 分析条件

キャピラリーカラムを GC 恒温槽内に取り付け、十分にエージングした。ガスクロマトグラフを分析条件に合わせて運転した。

最終試料液 1.0 μl をオートサンブラ - でガスクロマトグラフに導入し、得られるクロマトグラム上の測定対象物質のピーク面積を測定し、検量線を用いて最終試料液中の測定対象物質濃度を求めた。尚、定量イオンは m/z 83、確認イオンは m/z 47 及び m/z 87 とした。環境空气中濃度の計算は下記の式で行った。

$$C = c \times 2.0 \times \frac{24.47}{119.38} \times \frac{1}{Q} \times \frac{1}{\varepsilon}$$

C:環境空气中のクロロホルム濃度 (ppm)

c:最終試料液中のクロロホルム濃度 (μg/ml)

Q:吸引試料空気量 (L)

:脱着率

決定した分析条件を下記 (表 2) に示した。

表 2 GC-MS の分析条件

装置	6890N Net Work System (Agilent Technologies 製)
カラム	DB-WAX (0.32 mm × 60 m 膜厚 0.5 μm) (J&W 製)
注入法	パルスド・スプリット (10:1)
注入量	1 μL
キャリアガス	He (1.0 mL/min)
注入口温度	200
オ - プン温度	35 (2分)-3 /min-200 (2分)
インタ - フェイス温度	250
イオン源温度	220
四重極温度	160
定量イオン(確認イオン)	m/z 83 (m/z 47、m/z 87)



図 1-1 GC-MS によるクロロホルム (CHCl₃) の TIC (Total Ion Chromatogram)



図 1-2 クロロホルム (CHCl₃) の SIM 質量スペクトル

CHCl₃ は TIC (total ion chromatogram) とマススペクトルデータより、約 15.0 分に大きなピークとして確認された。この GC ピークは、標準物質 CHCl₃ 質量スペクトルのイオン強度比との一致から、CHCl₃ と同定された。

2 - 4 . 捕集及び分析条件

予備検討の結果に基づいて決定した捕集方法、前処理操作および GC-MS 分析条件により行った。

2 - 5 . 添加回収率

活性炭管に CHCl₃ 二硫化炭素溶液 (35 µg/ml、0.351 mg/ml、35.13 mg/ml、70.25 mg/ml) を 10 µl 添加後 (各々 n=5) 室内空気 (25.0、40.0%) を流速 0.1 L/min で 240 分間吸引し、4 の冷蔵庫にて 12 時間保存し、分析を行った。添加回収率は 90.3% ~ 96.6% であった (表 3)。なお、今回の検討に用いたサンプラーの Blank からは CHCl₃ は検出されなかった。

表3 添加回収率

クロロホルムとしての 添加量(μg)	4時間捕集としての 濃度(ppm)	相当の濃度	回収率(%) (n = 5)		RSD(%)
			Mean	SD	
0.35	0.003	目標濃度	90.3	4.9	5.4
3.51	0.03	目標濃度 × 10	96.0	4.2	4.4
351.3	3	2次評価値	96.6	2.0	2.1
702.5	6	2次評価値 × 2	94.4	4.0	4.2

2 - 6 . 捕集後のサンプラーの保存安定性

活性炭チューブ(球状活性炭)に、CHCl₃標準液(35 μg/ml、35.13 mg/ml、70.25 mg/ml)を添加(10 μl)し、室内空気(25、40%)を流速0.1 L/minで30分間吸引した後、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、0、1、3、5日目の保存安定性を確認した(表4)。5日間の保存でも、添加回収率は90%以上であり、良好な保存安定性を示した。

表4 保存安定性

クロロホルムとしての 添加量(μg)	4時間捕集としての 濃度(ppm)	相当の濃度	保存日数	回収率(%) (n = 5)		RSD(%)
				Mean	SD	
0.35	0.003	目標濃度	0	104.5	7.2	6.9
			1	92.6	5.6	6.0
			3	90.4	6.7	7.4
			5	90.3	7.2	8.0
351.3	3	2次評価値	0	103.5	5.6	5.4
			1	96.5	4.4	4.6
			3	94.5	2.1	2.2
			5	93.3	1.8	1.9
702.5	6	2次評価値 × 2	0	96.4	3.3	3.4
			1	95.3	2.5	2.6
			3	97.2	5.4	5.6
			5	93.0	6.1	6.6

2 - 7 . 検量線 (直線性)

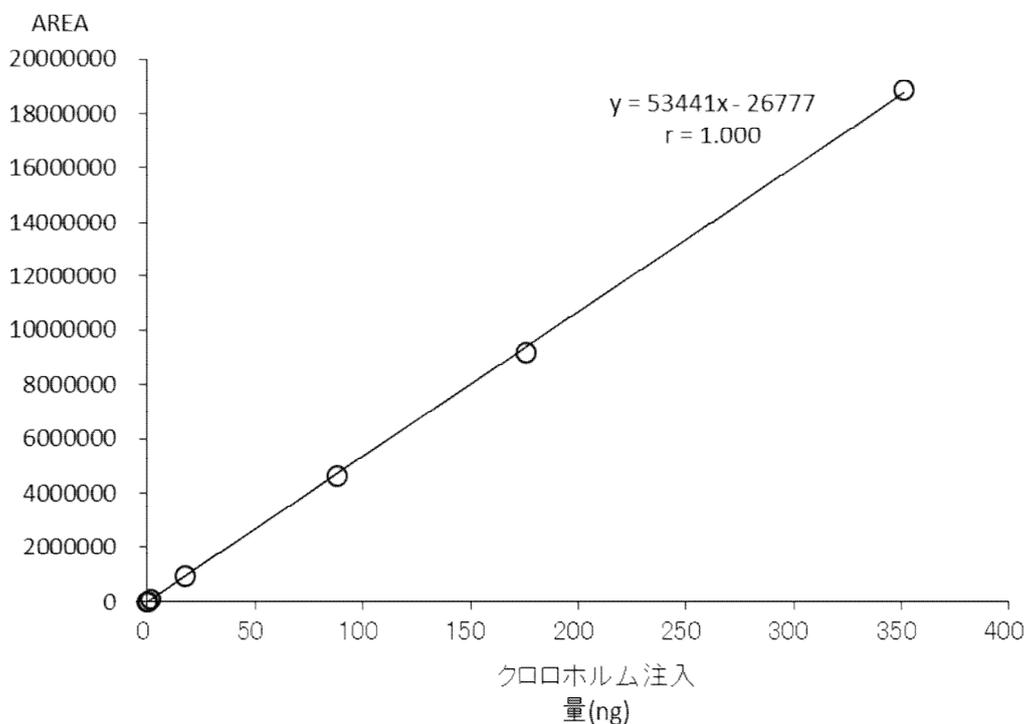


図2 CHCl₃ 検量線 (注入量 0 ~ 351.3 ng)

CHCl₃ 標準液を二硫化炭素により希釈し、0 ~ 351.3 μg/ml の範囲で標準系列を調製し、検量線の直線性について確認を行った。その結果、当該範囲で良好な直線性を示した(図 2、表 5)。

表 5 CHCl₃ の標準系列 (0 ~ 351.3 μg/ml)

クロロホルム濃度 (μg/ml)	クロロホルム注入量 (ng)	4時間捕集としての濃度 (ppm)	相当の濃度	AREA		
				83 m/z	47 m/z	85 m/z
351.3	351.3	6	2次評価値 × 2	18837483	3647470	10974140
175.6	175.6	3	2次評価値	9194203	1803635	5320741
87.8	87.8	1.5	2次評価値 / 2	4621155	910587	2587453
17.6	17.6	0.3	目標濃度 × 100	935838	186447	543084
1.76	1.76	0.03	目標濃度 × 10	105537	21025	63398
0.18	0.18	0.003	目標濃度	11040	2894	6462
0.00	0.00	0.00	ブランク	0	0	0

2 - 8 . 検出下限及び定量下限

表 6 に検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ) を示した。検出下限 (LOD) は目標濃度 (2 次評価値の 1/1,000) の標準液を 5 サンプル分析して標準偏差 (SD) を算出し、SD の

3 倍を検出下限値とした。LOQ ($\mu\text{g/sample}$) は目標濃度値の標準液を 5 サンプル分析し、その標準偏差 (SD) を算出し、SD の 10 倍を定量下限値とした。

表 6 検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ)

直線範囲 (ng)	0.18 ~ 351.3
相関係数	1.000
LOD ($\mu\text{g/sample}$)	0.113
LOQ ($\mu\text{g/sample}$)	0.377

また、添加回収試験の結果から、本法の定量下限は $0.377 \mu\text{g/sample}$ であったため、個人ばく露測定 (24 L 採気) の定量下限値は、3.22 ppb (0.00322 ppm) となった (表 7)。

表 7 測定法の定量下限

評価項目	定量下限	
クロロホルム量	0.188	($\mu\text{g/ml}$)
24 L 採気時の気中濃度	3.22 (ppb)	(0.00322 (ppm))

3. まとめ及び考察

3 - 1 . 個人ばく露濃度測定法

本分析法では、作業環境測定ガイドブック 5 No.50143)、OSHA Method no 054)、NIOSH Manual 10035)を参照して、作業環境気中の CHCl_3 濃度を定量する方法を検討した。本分析法の特徴は、気中 CHCl_3 を活性炭管(球状活性炭)にて捕集することにより、GC-MS にて精度・感度良く分析できることである。定量下限値は 24 L 採気 (吸引速度 0.1 L/min) で 3.22 ppb (0.00322 ppm)であり、4 時間の個人曝露濃度測定は目標濃度(0.003 ppm)までほぼ測定可能である。高濃度の領域では、2 次評価値の 2 倍の CHCl_3 濃度(6 ppm)までの定量分析が可能であることを確認した。また、保存は冷蔵(4)にて 5 日間安定である。結論として、本 GC-MS 分析法では、個人ばく露濃度は、十分な精度と感度でもって定量分析することが可能であることが判明した。また、本分析法では、GC-MS を用いているため、他の有機溶剤物質等の共存物質との分離をキャピラリーカラムによる保持時間、および標準物質質量スペクトルのイオン強度比の一致性から同定し、 CHCl_3 は正確に分離定量可能と結論付けられた。

3 - 2 . 本分析方法の作業環境中 CHCl_3 濃度分析への適用

24L 採気時の気中 CHCl_3 濃度の定量下限は 3.22 ppb (0.00322 ppm)となった。一方、作

業環境測定のア測定、B測定の採気時間を10分間(吸引速度0.1 L/min)とすると採気量は1.0 L(0.10 L/min×10分)となり、この場合の定量下限は77.18 ppb(0.07718 ppm)になる。この値は2次評価値3.0 ppmの1/10以下であり、本分析法は、作業環境中のCHCl₃測定に十分な精度をもって適用できると考えられる。

4. 引用文献

- 1) 許容濃度等の勧告(2013年度) 産業衛生学雑誌 2013:55 巻 182 - 208 頁、日本産業衛生学会、東京
- 2) 作業環境測定ガイドブック0 総集編 第4版第4刷 日本作業環境測定協会 平成22年12月24日
- 3) 作業環境測定ガイドブック5 No.5014 改訂第1版 有機溶剤関係 228 - 230 頁、日本作業環境測定協会 編集発行 平成17年9月13日
- 4) OSHA Analytical Method no 05, Organic vapors. Occupational Safety and Health Administration (OSHA) Technical Center. United States Department of Labor, Salt Lake City, UT, USA. May 2000.
- 5) NIOSH Manual of Analytical Method (NMAM) 1003. Hydrocarbons, Halogenated, National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Cincinnati, OH, USA. 15 March 2003.

開発したクロロホルム分析法の要約

構造式: CHCl_3	分子量: 119.38	CAS : 67-66-3
許容濃度等: 産衛 (OEL) 3 ppm OSHA (PEL) 50 ppm NIOSH (REL) 2 ppm ACGIH (TLV-TWA) 10 ppm	管理濃度: 3 ppm	物性等: 比重: 1.485 at 20 BP: 61.2 MP: -63.5 VP: 100 torr at (10.4)
別名: Trichloromethane、Trichloroform		
サンプリング		分析
<p>サンプラー: 球状活性炭捕集管 258A (ガステック製)</p> <p>サンプリング流量: 0.1 L/min</p> <p>サンプリング時間: 240 min (24.0 L)</p> <p>保存性: 702.5 μg から 0.35 μg の添加の範囲で、冷蔵で 5 日間保存可能。</p> <p>ブランク: 脱着溶媒およびサンプラーブランクともに検出されない。</p>		<p>分析方法: 質量分析計型検出器付ガスクロマトグラフ (GC-MS) 分析法</p> <p>脱着: 二硫化炭素 (作業環境測定用) (和光純薬工業(株)), 2.0 mL (60 min 浸漬)</p> <p>機器: GC-MS, 6890N Net Work System (Agilent Technologies 製)</p> <p>カラム: DB-WAX (60 m \times 0.32 mm, 0.5 μm) (J&W 製)</p> <p>キャリアーガス: He (1.0 mL/min)</p> <p>オープン条件: 35 (2 min) - 3 /min - 200 (2 min)</p> <p>注入口温度: 200</p> <p>インタ-フェイス温度: 250</p> <p>イオン源温度: 220</p> <p>注入口モード: パルスドスプリット (10:1)</p> <p>注入量: 1 μL</p> <p>定量モード: SIM</p> <p>定量イオン (確認イオン): m/z 83 (m/z 47 m/z、m/z 87)</p> <p>検量線: 0.18 - 351.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で直線</p> <p>定量法: 絶対検量線法</p>
精度		
<p>添加回収率</p> <p>0.35 μg 添加で 90.3%、3.51 μg で 96.0%、351.3 μg で 96.6%、702.5 μg で 94.4%</p> <p>検出下限 (3SD)</p> <p>0.057 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.97 ppb, 0.1 L/min \times 4 h)</p> <p>定量下限 (10SD)</p> <p>0.188 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (3.22 ppb, 0.1 L/min \times 4 h)</p>		
適用: 個人ばく露濃度測定		
妨害: -		
<p>参考文献: 作業環境測定ガイドブック 5 No.5014 改訂第 1 版 有機溶剤関係 228 - 230 頁、日本作業環境測定協会 編集発行 平成 17 年 9 月 13 日</p> <p>NIOSH Manual of Analytical Method (NMAM) 1003. Hydrocarbons, Halogenated, National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Cincinnati, OH, USA. 15 March 2003.</p> <p>OSHA Analytical Method no 05, Organic vapors. Occupational Safety and Health Administration (OSHA) Technical Center. United States Department of Labor, Salt Lake City, UT, USA. May 2000.</p>		

作成日 平成 26 年 2 月 27 日