

フェニルヒドラジンの測定手法検討結果

平成24年3月9日

測定手法検討分科会

フェニルヒドラジンの測定手法検討結果

【1. 検討内容】

フェニルヒドラジンの測定手法については、「フェニルヒドラジンの測定・分析法に関する検討結果報告書（平成21年度職場における化学物質のリスク評価推進事業実施結果報告書：中央労働災害防止協会）」（以下、「フェニルヒドラジン検討結果報告」という。）に基づき、マイクロインピンジャー（柴田科学（080030-8）図-1）が保管性能試験（4時間通気条件）において使用可能か確認した。また、フェニルヒドラジン標準溶液の代替品としてのフェニルヒドラジン硫酸塩を検討した。

【2. 検討項目】

検討1：マイクロインピンジャー通気時のサンプルの回収率とその通気サンプルの保管試験

検討2：マイクロインピンジャー茶染加工（遮光目的）、飛散防止加工の効果確認試験

検討3：フェニルヒドラジン硫酸塩の分析標準としての適用確認試験

【3. 検討結果】

検討1：マイクロインピンジャーによるフェニルヒドラジンの通気、保管試験について、ACGIH TLV 値に近い0.16ppm、TLV×3 倍量0.32ppmにおいて90%以上の良好な回収率を示した。ただしTLV 濃度1/3に近い0.03ppmについて80%程度の低率の回収率となったが実用上問題ないと思われる。保管試験についてはフェニルヒドラジンの通気後の溶液を冷蔵保管した場合は5日まで、上記捕集濃度条件において問題ないことが確認できた。これらの結果は「フェニルヒドラジン検討結果報告」における保管試験の結果とほぼ同等であった。

検討2：マイクロインピンジャーに通気中遮光対策を未実施の場合、最大回収率が75%に減少する事例が検討1で見受けられた。そこでガラス部への遮光、飛散防止処理をしたマイクロインピンジャーについて確認し、TLV1/3 濃度において当該処理を行わないマイクロインピンジャーと比較し回収率において誘導体1（PH1）にて0～6%、誘導体2（PH2）にて0～8%程度の優位を示した。これにより遮光処理は若干であるが有効と思われる。

検討3：フェニルヒドラジン硫酸塩試薬を用いた標準液系列の吸光度はフェニルヒドラジンを用いた「フェニルヒドラジン検討結果報告」と同様な結果を示した。サンプリング時捕集液が希硫酸を用いることから本硫酸塩を利用することは妥当であると示された。

【4. 実験条件】

検討 1

「フェニルヒドラジン検討結果報告」に基づき分析を行った。個人ばく露条件として通気速度 120ml/min 付近とし、4 時間ばく露を想定した。測定手法はフルフラール誘導体化－溶媒抽出－窒素濃縮－高速液体クロマト法（340nm）にて実施。（図-1）に実験フローを示す。本検討 1 では、マイクロインピンジャーへの遮光（アルミフォイルにて巻く）、通気速度、捕集後の調整液量、溶媒振とう時間の設定、遠心分離機での回転速度の減速等、上記 H22 報告より変更、追加している。保管試験は通気無し（BL）、通気後（0 日（直後）、1 日後、3 日後、5 日後）同様に測定を実施する。すべてのサンプルの保管方法は冷蔵（4℃）とした。

検討 2

検討 1 における通気後（0 日（直後））の試験を茶染め、飛散防止加工したインピンジャーにて実施した。その他分析測定条件は検討 1 と同様。（n=3）

検討 3

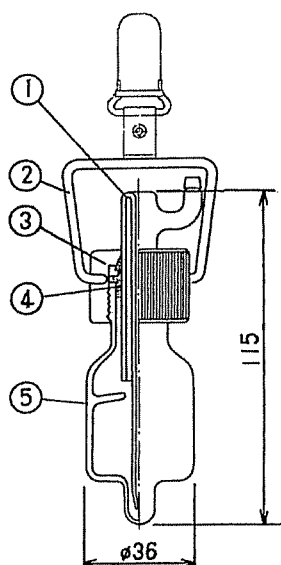
フェニルヒドラジン硫酸塩試薬（東京化成）をフェニルヒドラジン試薬の代わりに用い、検討 1 の分析条件にて、フルフラール誘導体化－溶媒抽出－窒素濃縮－高速液体クロマト法にてフェニルヒドラジン検量線を確認した。

【5. 実験機材】

実験室通気用器具：ガラスマニフォールドにオリフィスを加えマイクロインピンジャーへの通気流速を調整した。（写真 1 を参照）

窒素濃縮器具：パスツールピペットを用い、33℃以下の条件にて吹きつけ乾燥をさせた。※窒素 99.95%の純度品を用いた。

マイクロインピンジャー：Cat. No. 080030-8 SIBATA（図-1）



No.	品 名	備 考
①	中 管	φ 6 ホース口付
②	吊り金具	クリップ付
③	キャップ	PVC製 GL-22
④	パッキン	PTFE製
⑤	外 筒 管	

図-1 マイクロインピンジャー構成図

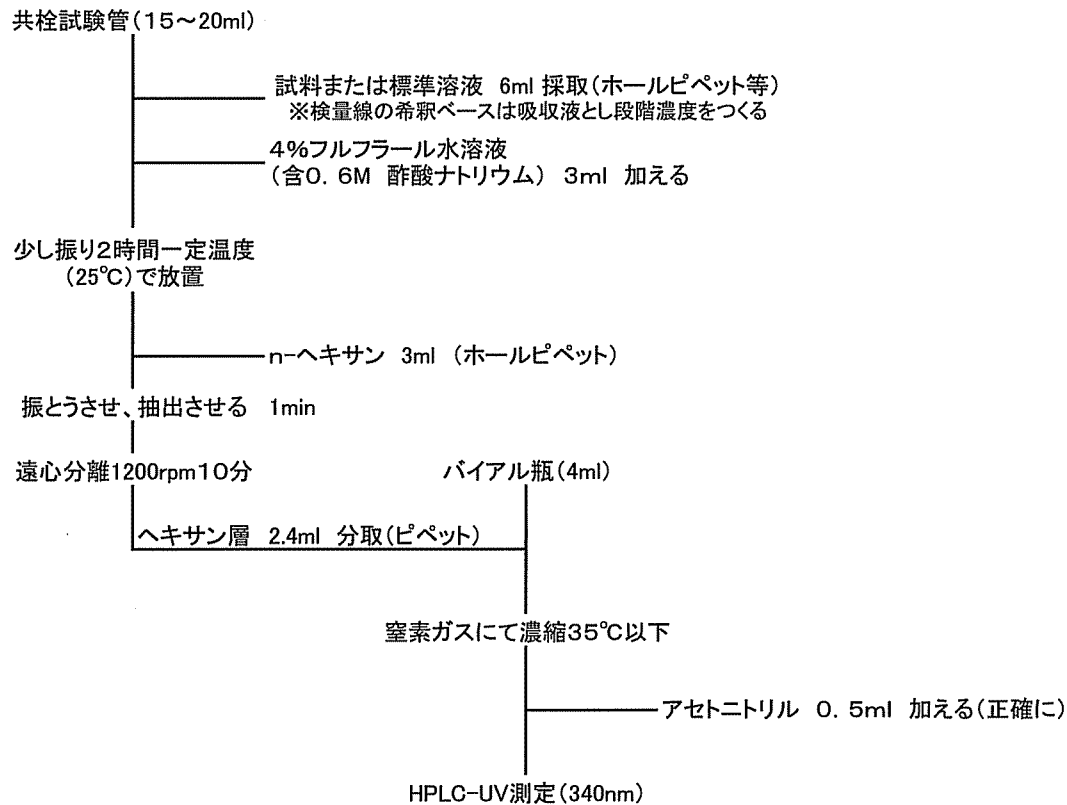
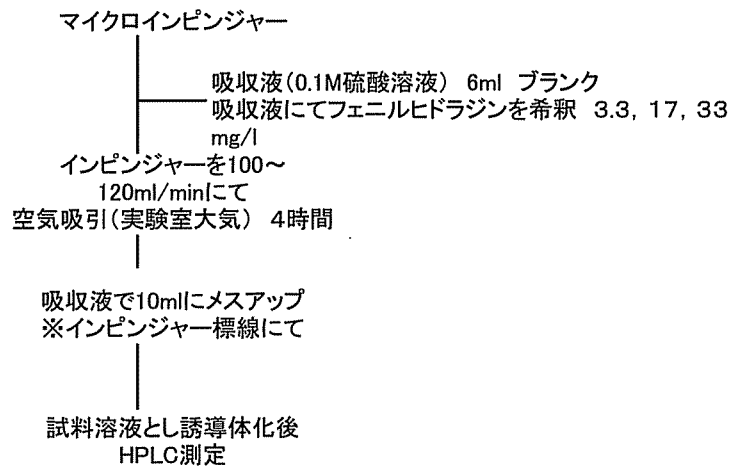


図-2 分析フロー



注意) フェニルヒドラジンは空気、光により酸化されるので、遮光、冷蔵保存する。

図-3 マイクロインピンジャー通気フロー

通気環境は実験室室内 (25~28℃ Rh50~70%) にて実施。

【6. 試薬、調整方法】

検討－1、2

1) 吸収液 0.1M 硫酸

市販品 1 M硫酸を使用時に 1 0 倍希釈して作成する。

2) 標準 フェニルヒドラジン (1083 μ g/ml) (和光純薬)

フェニルヒドラジン原液をマイクロピペットにて 0.5ml 採取し全量 50ml としたものを吸収液 1) で希釈作成した。

3. 6 1 μ g/ml 溶液：0. 3 ml 標準を採取し 9 0 ml 吸収液と混合したもの。

1 8 μ g/ml 溶液：1 ml 標準を採取し 5 9 ml 吸収液と混合したもの。

3 6 μ g/ml 溶液：2 ml 標準を採取し 5 8 ml 吸収液と混合したもの。

3) 誘導体化試薬 4%フルフラール溶液 (0. 6 M酢酸ナトリウムベース)

反応性が高いので遮光冷蔵保存

4) 抽出溶媒 n-ヘキサン

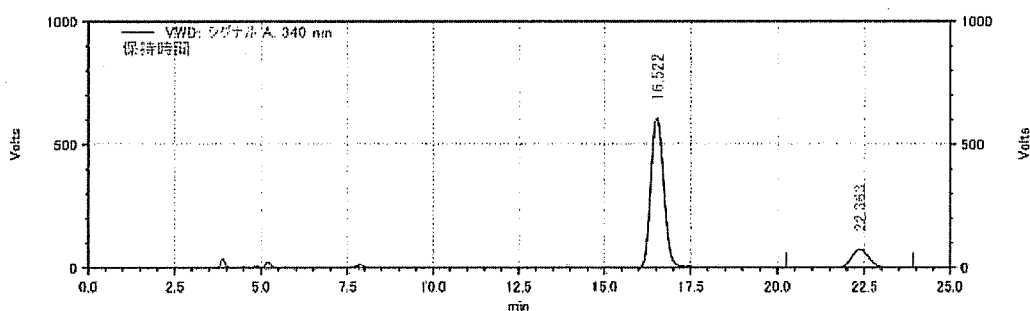
(HPLC グレード) 高純度品をそのまま使用

5) アセトニトリル シグマアルドリッチ製 HPLC用

検討－3

1) フェニルヒドラジン硫酸塩 P 0 1 8 6 2 5 g (東京化成) を用い希釈調整した。

採取量は硫酸塩 (PHS) からフェニルヒドラジン (PH) へ換算 (検討－1 と適合させるために (PH 量 (g) = PHS 採取量 (g) $\times$ PH 分子量 / PHS 分子量) とした。

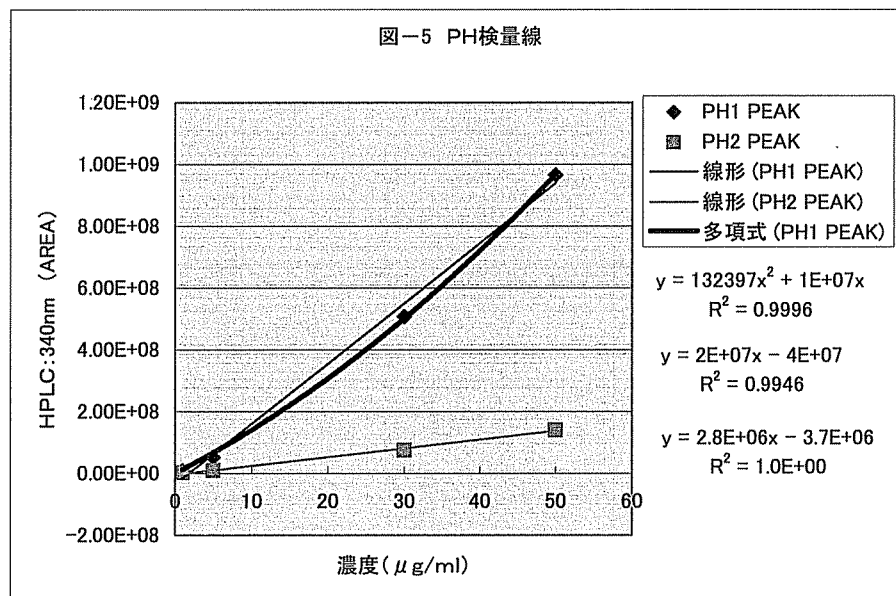


図－4 フェニルヒドラジン検量線 (34mg/ml における高速液体クロマトグラフ)

【7. 検量線】

検討－1， 2

PH1については二次式が良く一致したのでこれを採用した。



【8 試験結果】

検討－1

未通気溶液を分析測定したものを表－1に示す。

マイクロインピンジャー評価試験

表－1 未通気保管試料結果

(n=3 平均)

作成濃度 (μg/ml)	HPLC (μg/ml)			
	0 day	1day	3days	5days
	BLO	BL1	BL3	BL5
3.6	2.3	2.1	1.9	2.0
18	14.3	15.3	16.0	14.8
36	32.7	34.7	33.7	36.2

通気溶液サンプルの測定結果を表-2 に、回収率（表-1 BL0 を基準にした結果）を表-3 に示す。

表-2 通気結果 (n=3 平均)

作成濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	HPLC ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 day	1day	3days	5days
3.6	1.9	2.2	2.4	2.0
18	14.2	15.9	16.3	14.8
36	32.5	35.3	35.5	36.5

($\mu\text{g/ml}$)

表-3 未通気0を基準とした回収率

作成濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	Recover (%)			
	0 day	1day	3days	5days
3.6	82.5%	95.8%	101.6%	85.3%
18	99.4%	111.3%	114.5%	103.5%
36	99.3%	107.8%	108.7%	111.5%

表-3において3.6 $\mu\text{g/ml}$ を除き、100%近い回収率となり通気の影響は無いと見れる。

また5日までの冷蔵保管において回収率の減少は各濃度見られなかった。

3.6 $\mu\text{g/ml}$ 0day の値が低く光劣化などがあったと思われる。

検討-2

茶染め飛散防止加工品のマイクロインピンジャーを未処理品と比較した結果を表-4に示す。

表-4 茶染め品との比較結果

	PH1平均	PH2平均	回収率PH1	回収率PH2
透明Imp1	8653846	1807017	94%	87%
透明Imp2	9185904	1967696	99%	95%
茶染1	9235890	1965587	100%	95%
茶染2	9148296	1944512	99%	94%
対象標準	9255176	2066766	100%	100%

※ PH1とPH2はフルフルール誘導体化時の異性体

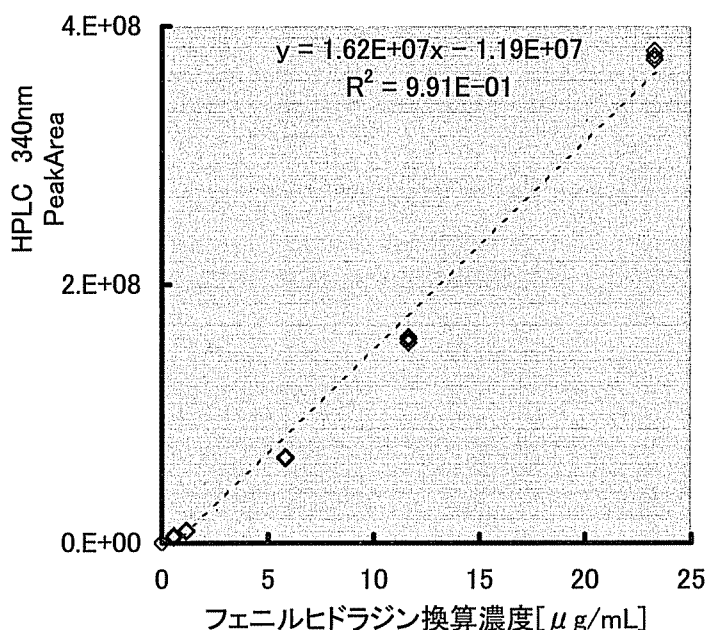
表—4において、茶染め飛散防止（茶染1，2）は対象標準液と比較して差異が殆ど無かった。また、未処理品（Imp1）において若干劣化がみられた。今回 PH2 の誘導体化異性体に影響がみられた。なお、PH1，PH2 の異性体は、

（1E）-1-(2-Forylmethylene)-2-phenylhydrazine (trans)、又は
（1Z）-1-(2-Forylmethylene)-2-phenylhydrazine (cis) の異性体である。

検討—3

フェニルヒドラジン硫酸塩を用いた場合の検量線結果を図-6 示す

図-6 フェニルヒドラジン硫酸塩検量線



検討-1 での PH 検量線（図—5）は PH1 において、有効直線範囲として、

$Y = 1.75E+07X - 2.06E+07$ （1 次式 0-30 $\mu\text{g/mL}$ 範囲にて）と再計算されます。

よって、上記フェニルヒドラジン硫酸塩での検量線は PH 検量線とほぼ一致した結果を示した。

【9. まとめ】

上記の結果からマイクロインピンジャーにおいて、4 時間のばく露条件にて標準溶液の損失は認められなかった。また、その通気溶液の保管も冷蔵 5 日間安定であることが確認できた。これらの結果は当測定対象物質における「フェニルヒドラジン検討結果報告」で検討した結果を裏づけるデータとなっており、本測定法が問題なく測定可能であることを示した。

また、検討—2 により、飛散コート茶染マイクロインピンジャーにおいて、4 時間のばく露条件にて 3.6 $\mu\text{g/mL}$ 標準溶液の室内空気通気時における損失は、遮光未処理の場合と比較して回収率が良い状況が確認された。

さらに検討3においてフェニルヒドラジン硫酸塩を用いた、検量線はフェニルヒドラジン単体を標準とした場合と殆ど同じであった。本硫酸塩は利用可能と思われる。

当測定対象物質における H22 測定手法において、フェニルヒドラジン原液から、原液採取し検量線を作成の場合、非常に不安定であり、酸化反応、採取融解時に沈殿物が発生するなどが見られた。原因としてフェニルヒドラジンの水への溶解度が低い点、酸素による酸化が速やかに行われると見られる。そこでフェニルヒドラジン硫酸塩を原液とした場合、水溶性が高く、標準溶液作成が容易であった点も評価したいと考える。

【10. 検討担当機関】

柴田科学株式会社 開発部

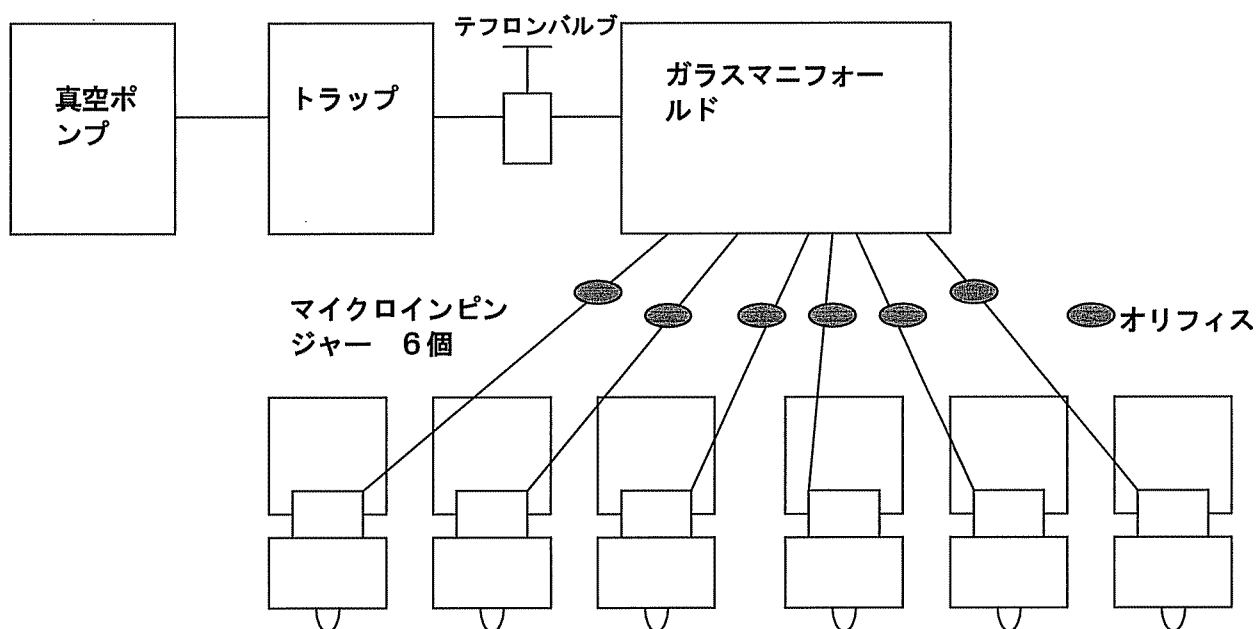
追加説明 1

今回の試験はインピンジャーのバブリング位置を外筒部の底面（飛び出たガラス部）から 5mm の位置にてノズルを固定し吸引しました。インピンジャーの吸収効率にはバブリングの接液時間（吸収液面高さ）に関係するといわれており、その他の位置について捕集した場合は回収率が異なる結果となる場合がありますので、運用時には取り扱いマニュアルに従って一定の高さになるように調整する必要があります。

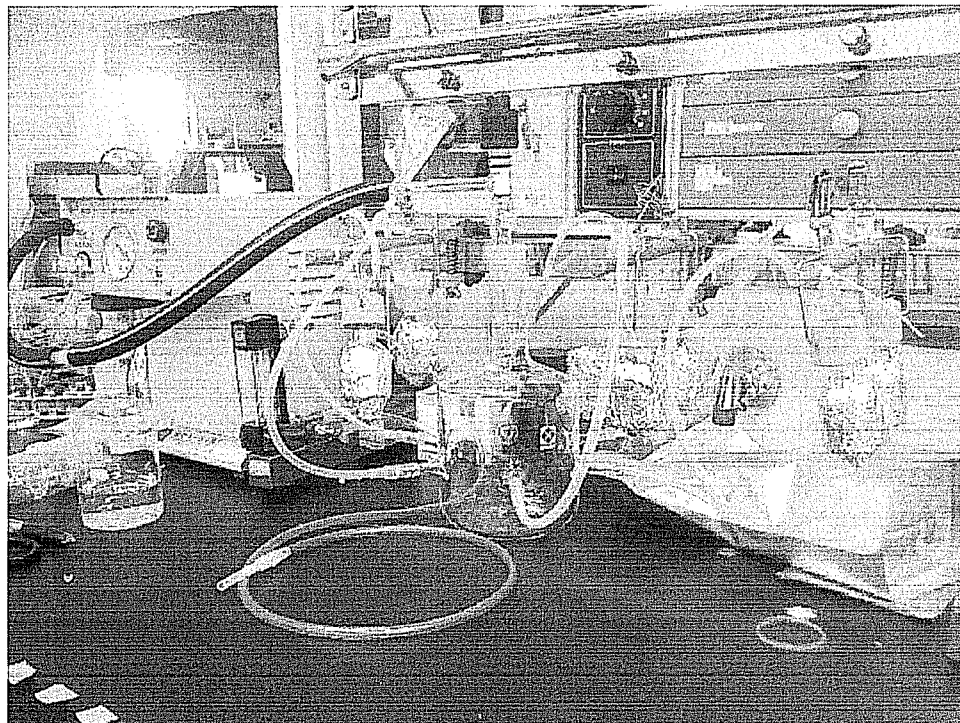
追加説明 2

通気実験図について概要を以下に示す。

追記説明図—1 通気時概要図



※ 硫酸溶液のため金属バルブは用いていない。オリフィスも樹脂製。
ガラスマニフォルドは減圧バッファーとなり、負荷圧変動を安定化させる役目である。



(別紙) マイクロインピンジャーによるフェニルヒドラジン標準測定分析法

構造式 C ₆ H ₅ NNH ₂		CAS No.: 100-63-0
許容濃度等 : ACGIH TLV : 0.1ppm OSHA PEL : 5ppm NIOSH C : 0.14ppm/120min.		物性等 分子量 : 108.14 比重 : 1.098 沸点 : 243.5°C (分解) 融点 : 19.5°C
別名 hydrazinobenzene, hydrazine-benzene		
サンプリング		分析
サンプラー : マイクロインピンジャー (6mL、0.1M 硫酸) サンプリング流量 : 0.1L/min サンプリング時間 : 240min 採気量 (MAX) : 保存性 : 通気後 (24L) 6ml を 10ml へ吸収液で容 量調整後、遮光冷蔵保存にて 5 日目 3.6 µg/mL、85% (0 日比) 18 µg/mL、104% (0 日比) 36 µg/mL、111% (0 日比) ※保管濃度は × 0.6 ブランク : 検出せず		分析方法 : HPLC-UV 法 誘導体化 : 捕集液または標準液 6mL に 4%フル ラール水溶液 (含 0.6M 酢酸ナトリウム) 3mL を 加え 2 時間放置。その後、3mL n-ヘキサン を加え抽出する。3000r.p.m. で 10 分間 遠心分離。ヘキサン相を 2.4mL 分取し、35°C 以下の温浴中で、窒素気流下濃縮する。 アセトニトリル 0.5mL に転溶し、HPLC 分析する。 機器 : HPLC1100 シリーズ (Agilent 社製) 検出器 : UV/VIS 検出器 カラム : TSK-gel ODS 100S (2.0mm (i.d.) × 25cm (Length) (5 µm) 移動相 : 水/アセトニトリル = 55/45 (V/V%) カラム温度 : 40°C 流量 : 0.2mL/min 試料導入量 : 2 µL 波長 : 340nm 検量線 : 100 µL を 0.1M 硫酸 100mL に溶解した ものを、標準原液 (1083 µg/mL) とす る。以下の溶液を誘導体化、抽出、 濃縮し、検量線とする。 0 µg/mL 1.08 µg/mL 5.42 µg/mL 27.1 µg/mL 54.2 µg/mL 定量法 : 絶対検量線 注意 : 用時調製 溶出時間 (R.T.) 主成分 : 16.5 分 (PH1)、微量成分 : 22.3 分 (PH2) ※標準物質 (フェニルヒドラジン) の代替品 としてフェニルヒドラジン硫酸塩を用いるこ とが可能である。
精度 (H22 報告)		
検出下限 (3σ) 0.045 µg/mL 定量下限 (10σ) 0.151 µg/mL 定量下限気中濃度 0.0036 ppm (採気量 10L) 0.0018 ppm (採気量 30L) 0.0009 ppm (採気量 60L) 0.0005 ppm (採気量 120L)		
適用 : 同誘導体化にてヒドラジン、N,N-ジメチルヒドラジンも分析可能		
注意 : (1) 空気、光により酸化されるので遮光、冷蔵保存する。また、マイクロインピンジャー捕集時 の遮光についても茶染め加工や遮光について留意する。 (2) 誘導体はシス体、トランス体の 2 種に分離され、メインピークの面積比は 80~85% である。		
参考文献 : 昭和 59 年度化学物質分析法開発調査報告書 (環境庁環境保健部保健調査室)		