

シクロヘキシルアミンの測定・分析手法に関する検討結果報告書

目 次

1. はじめに	- 3 -
2. 目的	- 4 -
3. 捕集および分析方法 (OSHA Method no. 34 改良)	- 4 -
4. ブランク	- 4 -
5. 破過	- 5 -
6. 脱着率.....	- 5 -
8. 誘導体化条件の検討.....	- 5 -
9. 検量線.....	- 7 -
1 1. 添加回収率(通気試験).....	- 8 -
1 2. 保存性	- 9 -
1 3. 追加検討 (検量線)	- 9 -
1 4. まとめ	- 10 -
1 5. 参考文献	- 10 -

1. はじめに

シクロヘキシルアミンの物理化学的性状を示した。

シクロヘキシルアミン

Cyclohexylamine

CAS 番号:108-91-8

分子式:C₆H₁₃N

[物理化学的性状]

項目	値	測定条件	備考	出典
分子量	99.18~99.2			1
モノアイソトピック質量	99.1048			
比重	0.86~0.865	20~25°C		1
沸点	134.5°C	-		2
融点	-17.7°C	-		2
蒸気圧	14 hPa	20°C		3
水溶解度	1×10 ⁶ mg/L	25°C		4
log P _{ow}	1.49	-		1
ヘンリー定数	4.16×10 ⁻⁶ atm·m ³ /mol	25°C		5
引火点	28°C	closed cup		6
発火点	293°C	-		7
燃焼範囲	1.5~9.4 vol%	-		8

[実験動物に対する急性毒性情報]¹⁾

動物種	経路	致死量、中毒量等	
ラット	経口	LD ₅₀	156 mg/kg

[用途]

染料、染料助剤、顔料、塗料、界面活性剤、殺虫剤、防虫剤、金属防錆・防蝕剤、ゴム用薬品、清缶剤、酸素吸収剤、不凍液¹⁾

出典

- 1) 神奈川県化学物質安全情報提供システム (kis-net)
- 2) Budavari, S.,(Ed), The Merck Index Ver.12:2
- 3) Lide, D.R,(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition
- 4) Philip H. Howard, William M. Meylan, Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals
- 5) Altschuh J et al; Chemosphere 39: 1871-1877 (1999)
- 6) International Chemical Safety Cards ICSC0245
- 7) Lide, D.R,(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 88th Edition
- 8) Fire Hazard Properties of Flammable Liquids, Gases, and Volatile Solids (1994 Edition);NFPA325

対象物質の許容濃度

名称	許容濃度		測定方法
シクロヘキシルアミン	10 ppm	41 mg/m ³	LC/FL(蛍光検出器)

2. 目的

ジメチルアミン、ジエチルアミンの分析法として、誘導体化試薬 4-クロロ-7-ニトロベンゾフラザン (NBD-Chloride) を用いた誘導体化-固体捕集法が報告されている (OSHA Method no. 34, 41)。NBD-Chloride による誘導体化法は、1,2 級アミンに適応可能な方法であることから、シクロヘキシルアミンへの適応を検討した。

3. 捕集および分析方法 (OSHA Method no. 34 改良)

NBD-Chloride がコーティングされた XAD-7 充填ガラスチューブ (SKC 社製) に大気試料を 0.1 L/min の流速で 24 L 捕集する。捕集した XAD-7 をバイアルに移し、テトラヒドロフラン 2 mL と炭酸水素ナトリウム飽和水溶液 100 μ L を添加して密封し、2 時間振とうする。これを HPLC/FL (蛍光検出器) で測定する。

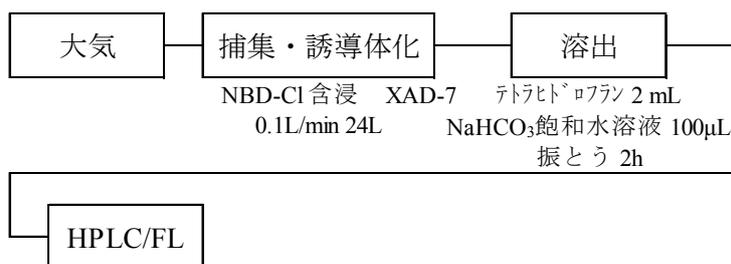


図1 分析法のフローチャート

[HPLC/FL 分析条件]

使用機種	: 島津製作所製 LC-10ADvp
使用カラム	: Spelco sil LC 18 25 cm×4.6 mm
カラム温度	: 35°C
溶離液	: アセトニトリル/H ₂ O (70/30)
流量	: 0.8 ml/min
検出	: 励起波長 460 nm : 蛍光波長 535 nm
注入量	: 10 μ l

4. ブランク

脱着溶媒およびカートリッジのブランクの確認を行ったところ、シクロヘキシルアミンの定量に妨害を与えるピークは検出されなかった。

5. 破過

NBD-Chloride がコーティングされた XAD-7 充填ガラスチューブにシクロヘキシルアミンを 1000 μg (許容濃度相当) 添加し、後段にバックアップ用カートリッジを装着して室内空気を流速 0.1 L/min で 24 L 吸引して破過の検討を行なった。その結果、前段のカートリッジの回収率はシクロヘキシルアミン 100%であり、後段からは検出されなかった。

6. 脱着率

NBD-Chloride がコーティングされた XAD-7 充填ガラスチューブにシクロヘキシルアミンを添加後、室内空気を流速 0.1 L/min で 0.5 L 捕集し一晩保存し、脱着率の検討を行なった(表 1)。脱着率は 100~109%、変動係数が 1.6~4.2%と良好な結果が得られた。

表 1 シクロヘキシルアミンの脱着率検討結果 (n=5)

添加量 (μg)	相当濃度	脱着率 (%) (n=5)		変動係数 (%)
		平均	標準偏差	
1.00	目標濃度	101	4.24	4.2
1000	許容濃度	109	1.69	1.6
2000	許容濃度 \times 2	100	2.48	2.5

7. クロマトグラム

検量線標準液のクロマトグラムを図 2 に示す。

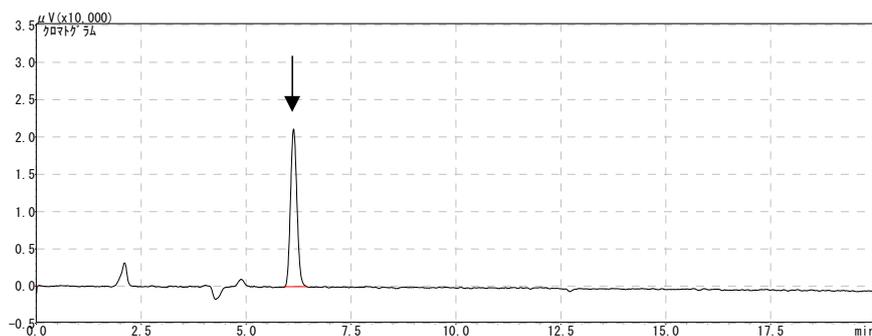


図 2 シクロヘキシルアミンのクロマトグラム (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

8. 誘導体化条件の検討

誘導体化試薬濃度 (4g/L を基準として 1~3 倍) と振とう時間の変化における誘導体化反応量を確認した(図 3)。NBD-Chloride THF 溶液 1 mL に検量線最高濃度 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) となるよう標準液を添加後、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液 50 μl を加えて振とうした。その結果、振とう時間 2 時間から 4 時間にお

ける変動係数は 1.0~2.0%を示し、反応量に変化は認められなかった。以上の結果より、誘導体化試薬濃度は 4g/L、振とう時間は 2 時間とした。

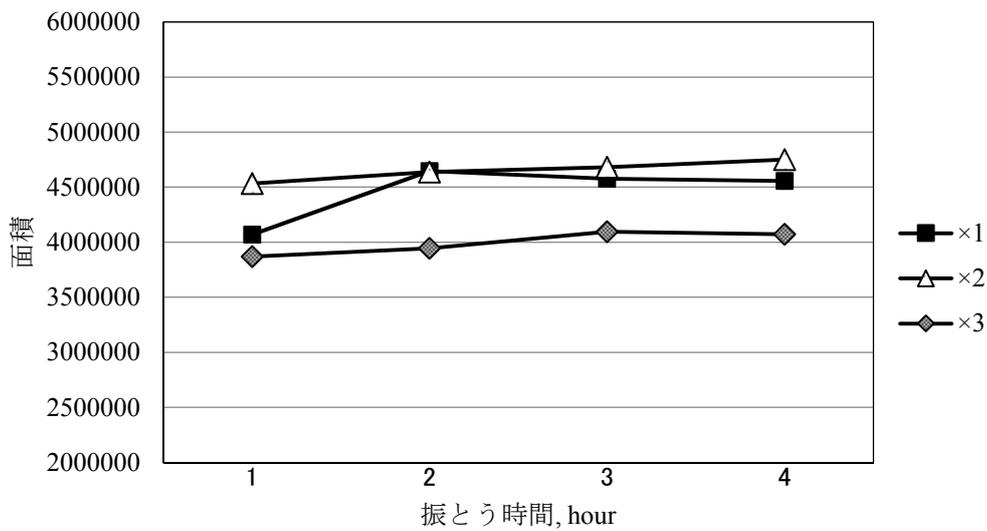
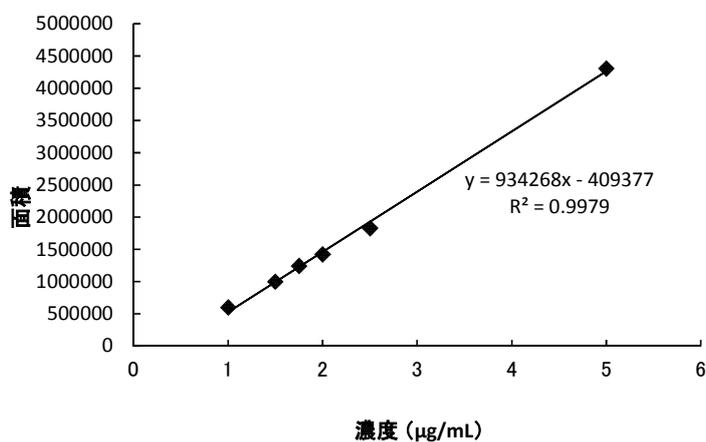


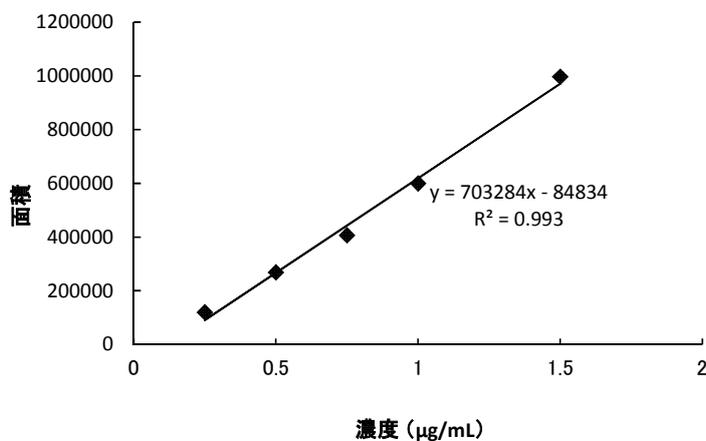
図 3 誘導体化試薬濃度と振とう時間の関係

9. 検量線

標準液を 4 g/L NBD-Chloride THF 溶液 1 mL に添加後、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液 50 μ L を加えて 2 時間振とうする。この操作を各検量線濃度毎に行い検量線標準液を調製し、検量線の直線性について確認した。各濃度域で検量線の傾きと切片が異なることから、試験液中濃度に応じて検量線を使い分ける必要がある (図 4)。尚、二次曲線を用いた場合、切片は一次回帰よりも二次回帰の切片が小さく、相関係数も高くなった (図 5)。



濃度 (μ g/mL)	応答値	応答値/濃度
1.00	598911	598911
1.50	996167	664111
1.75	1241253	709287
2.00	1420478	710239
2.50	1828118	731247
5.00	4304994	860999
平均		712466
標準偏差		86790



濃度 (μ g/mL)	応答値	応答値/濃度
0.25	119584	478386
0.50	268299	536598
0.75	406006	541341
1.00	598911	598911
1.50	996167	664111
平均		563860
標準偏差		70434

図 4 シクロヘキシルアミンの検量線及び検量線作成用データ (一次回帰 上図高濃度、下図低濃度)

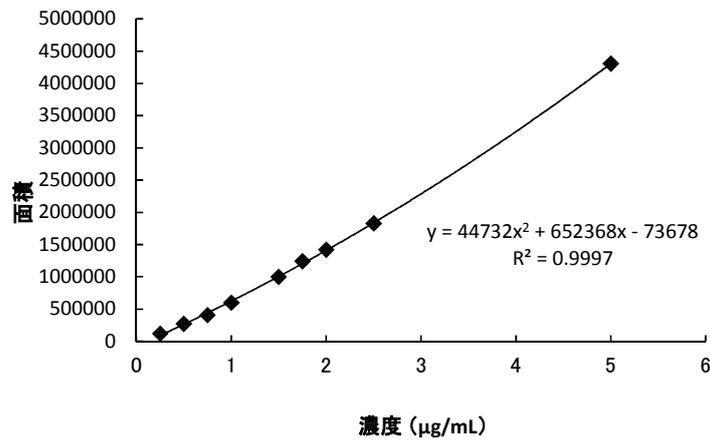


図5 シクロヘキシルアミンの検量線及び検量線作成用データ（二次回帰 濃度範囲 0.25～5 µg/mL）

10. 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 0.25 µg/mL 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、次式より検出下限およ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、検出下限および定量下限は表2に示すとおりとなった。

表2 シクロヘキシルアミンの検出下限及び定量下限

直線範囲 (µg/mL)	3SD	10SD
溶液濃度 (µg/mL)	0.0122	0.0408
24 採気時の気中濃度 (mg/m ³)	0.00102	0.00340

11. 添加回収率(通気試験)

NBD-Chloride がコーティングされた XAD-7 充填ガラスチューブに測定物質を添加後、室内空気を流速 0.1 L/min で 24 L 捕集し添加回収試験を行なった（表3）。回収率は 97~113%、変動係数が 2.2~2.6% と良好な結果が得られた。

表3 シクロヘキシルアミンの添加回収試験結果 (n=5)

添加量 (µg)	試料換算濃度 (mg/m ³)	相当濃度	回収率 (%) (n=5)		変動係数 (%)
			平均	標準偏差	
1.00	0.0417	目標濃度	102	2.62	2.6
1000	41.7	許容濃度	113	2.81	2.5
2000	83.3	許容濃度×2	97	2.12	2.2

環境空气中濃度 C (mg/m^3) は次式により算出した。

$$C=c \cdot 2/Q$$

c : 最終試料中の測定物質濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Q : 吸引試料空気量 (L)

1.2. 保存性

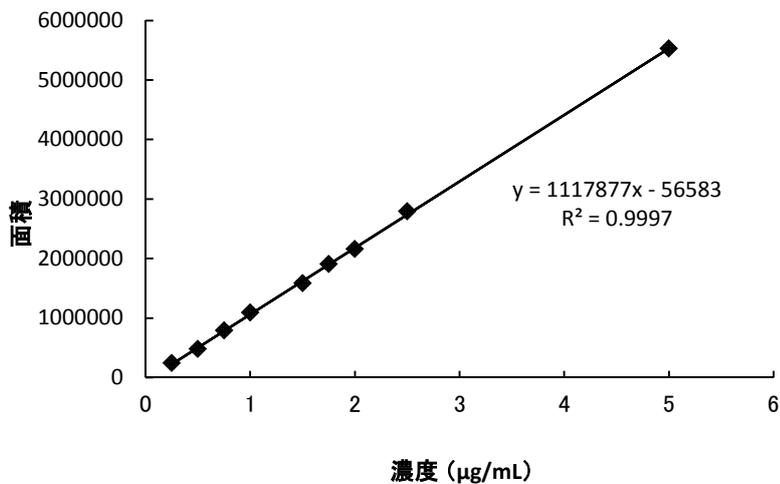
NBD-Chloride がコーティングされた XAD-7 充填ガラスチューブにシクロヘキシルアミンを表 4 の添加量になるように添加後、室内空気を流速 0.1 L/min で 24 L 捕集し、両端をキャップした。その後捕集管を冷蔵庫 (4°C) に保存した。サンプル作製直後を基準 (0 日目) とし、1, 3, 5 日後に脱着および分析し、保存性の確認を行なった (表 4)。その結果、回収率は 85~111% と良好な結果が得られた。また、回収率の変動係数が 1.2~7.6% と良好な結果が得られた。

表 4 シクロヘキシルアミンの保存性試験結果 (n=3)

添加量 (μg)	試料換算濃度 (mg/m^3)	相当濃度	保存日数	回収率 (%) (n=3)		変動係数 (%)
				平均	標準偏差	
1	0.0417	目標濃度	0	98	2.73	2.8
			1	100	3.03	3.0
			3	111	8.39	7.6
			5	99	1.30	1.3
			0	102	2.62	2.6
2000	83.3	許容濃度 $\times 2$	1	94	1.12	1.2
			3	85	4.86	5.7
			5	95	3.57	3.8

1.3. 追加検討 (検量線)

各検量線濃度毎に誘導体化を行うと検量線が二次曲線を描くことから、高濃度の誘導体化標準液 (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を調製し、これをテトラヒドロフランで希釈して段階的に検量線溶液を調製し直線性を確認した (図 6)。また、本検量線を用いて添加回収試験を行い、添加回収率の評価も行った (表 5)。検量線は $R > 0.999$ と直線性の向上が認められた。しかし、目標濃度相当の添加回収試験では回収率が 80% と低く、定量性が得られなかった。ガラスチューブ中の XAD-7 にコーティングされた NBD-Chloride が全て溶出したと仮定すると、溶出液中 NBD-Chloride の濃度は約 5g/L であり、希釈調整した検量線最低濃度との濃度差は約 2000 倍となる。各検量線濃度毎に誘導体化を行った場合は定量性を得られることから、検量線溶液中の誘導体化試薬濃度が検量線の直線性や定量性に影響することが示唆される。



濃度 (µg/mL)	応答値	応答値/ 濃度
0.25	241106	96442
0.50	473547	94709
0.75	788521	105136
1.00	1085533	108555
1.50	1579105	105274
1.75	1903093	108748
2.00	2155963	107798
2.50	2786208	111448
5.00	5525308	110506
平均		1054017
標準偏差		59600

図 6 シクロヘキシルアミンの検量線 (0.25 µg/mL～5.00 µg/mL)

表 5 シクロヘキシルアミンの添加回収検討結果 (n=2)

添加量 (µg)	相当濃度	回収率 (%) (n=2)		変動 係数 (%)
		平均	標準偏差	
1.00	目標濃度	80	2.07	2.6

1 4. まとめ

作業環境中のシクロヘキシルアミンの分析法開発を検討した。その結果、添加回収率、保存性試験共に良好な結果を示したことから、本方法は作業環境中のシクロヘキシルアミンの分析に有効であることが示唆された。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。

1 5. 参考文献

OSHA Method no. 34, 41

別紙)

シクロヘキシルアミン標準測定分析法

化学式: C ₆ H ₁₃ N	分子量: 99.18~99.2	CASNo: 108-91-8
許容濃度等 : 10 ppm 41 mg/m ³	物性等 沸点 : 134.5□ 融点 : -17.7□ 蒸気圧 : 14hPa(20□)	
別名		
サンプリング		分析
サンプラー : NBD-Chloride コーティング XAD-7 ガラスチューブ (SKC 社製) サンプリング流量 : 0.1 L/min サンプリング時間 : 4 時間 (24L) 保存性 : 冷蔵で少なくとも 5 日間までは変化がないことを確認		分析方法 : HPLC/FL 機器 : 島津製作所 LC-10ADvp 分析条件 : 使用カラム : Spelco sil LC 18 25 cm×4.6 mm カラム温度 : 35°C 溶離液 : アセトニトリル/H ₂ O (70/30) 流量 : 0.8 ml/min 検出 : 励起波長 : 460 nm 蛍光波長 : 535 nm 注入量 : 10 μL 検量線 : 0.25 - 1.5, 1.0-5.0 μg/mL の範囲で直線性が得られている。 定量法 : 絶対検量線法
精度		
回収率 ; 添加量 0.4μg の場合 (採気量 ; 24L) 0.50μg/mL (0.0417 mg/m ³) 101% 定量下限 (10σ) 0.0408 μg/mL 0.00340mg/m ³ (採気量 ; 24L) 検出下限 (3σ) 0.0122 μg/mL 0.00102mg/m ³ (採気量 ; 24L)		
適用 : 個人ばく露測定、作業環境測定		
参考文献 : OSHA Method no. 34, 41		
妨害 :		

作成日 ; 平成 28 年 2 月 15 日

