

レスルシノールの測定・分析手法に関する検討結果報告書

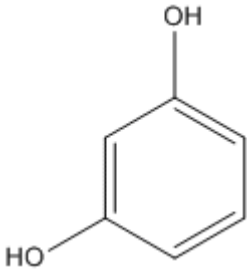
目 次

1. はじめに.....	- 3 -
2. 文献調査.....	- 3 -
3. 予備検討.....	- 4 -
4. 捕集および分析条件.....	- 4 -
4-1. 試薬.....	- 5 -
4-2. HPLC 条件.....	- 5 -
4-3. 捕集方法.....	- 5 -
4-3-1. 捕集操作フロー.....	- 6 -
5. ブランク.....	- 7 -
6. 光分解の確認.....	- 7 -
7. 破過.....	- 7 -
8. 脱着率.....	- 8 -
9. 検量線.....	- 8 -
10. 検出下限および定量下限.....	- 9 -
11. 添加回収率（通気試験）.....	- 9 -
12. 保存性.....	- 10 -
14. 参考文献.....	- 11 -
(別紙) レソルシノール標準測定分析法.....	- 12 -

1. はじめに

レソルシノールは、タイヤ、コンベアベルト、駆動ベルト等の強化ゴム原料、木材の高級接着剤、染料、医薬品の合成原料などに用いられている。表1に物理化学的性状および許容濃度を示す¹⁾。外観は白色の固体、蒸気圧は0.000489 mmHg (25℃)、水およびアルコールへの溶解度は1 g/0.9 mLである。また、大気や光の存在下で淡赤色になり、高吸湿性を示す²⁾。

表1 レソルシノールの物理化学的性状

CAS No.	108-46-3	
別名	1,3-ジヒドロキシベンゼン、3-ヒドロキシフェノール、レゾルシン	
用途	タイヤ、コンベアベルト、駆動ベルト等の強化ゴム原料、木材の高級接着剤、染料、医薬品の合成原料	
構造式		
分子式/分子量	C ₆ H ₆ O ₂	110.11
物性	比重 (密度)	1.272
	融点	110℃
	沸点	280℃
	蒸気圧	0.000489 mmHg (25℃)
	形状	白色固体
許容濃度等	日本産業衛生学会	未設定
	OSHA	未設定
	NIOSH	(REL) TWA 10 ppm STEL 20 ppm
	ACGIH	(TLV) TWA 10 ppm STEL 20 ppm

ばく露防止および保護措置における管理濃度は現在未設定である。許容濃度は、日本産業衛生学会が未設定、NIOSHおよびACGIHはTWA 10 ppm STEL 20 ppmに設定している³⁾。そこで、目標気中濃度としてTLV-TWA 10 ppmの1/1000から2倍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

現在、レソルシノールの測定およびその分析方法に関する公定法は、OSHA Method No.PV2053が示されている。捕集方法は、XAD-7 OVS チューブ (15-50 メッシュ、ガラス繊維フィルタ入り、前部270 mg+後部140 mg) を用いた固体捕集方法が採用されており、メタノール2 mLによる脱着後、GC-FIDで分析している⁴⁾。また、医薬品・医薬部外品の分析としてHPLC 逆相クロマトグラフィーで測定したアプリケーションも公開されている⁵⁾。

3. 予備検討

OSHA Method No.PV2053 の分析条件は GC-FID が採用されている。本検証試験では HPLC を使用する事とし、HPLC 測定条件の検討を行った。溶離液は 15%メタノールを用い、カラムは C18 充填剤を使用した逆相クロマトグラフィーとした。表 2-1 に試薬詳細、表 2-2 に装置および HPLC 予備検討条件を示す。

表 2-1 予備検討に用いた試薬詳細

試薬名	メーカ	グレード	純度	Cat.No.
レスルシノール	和光純薬工業(株)	特級	99.0%	182-00072
メタノール	和光純薬工業(株)	HPLC 用	99.7%	132-06471

1) レスルシノール標準溶液 (100 µg/mL)

レスルシノール (和光純薬工業製) を 100 mg 秤量し、メタノールで溶解の後、全量 10 mL に定容し 1%の標準原液とした。この標準原液をメタノールで適宜希釈し 100 µg/mL の標準溶液を調製した。

表 2-2 装置および HPLC 予備検討条件

装置	日立高速液体クロマトグラフ Chromaster
カラム	LaChrom II C18 (4.6 mm I.D.×150 mmL、5 µm) 日立ハイテクサイエンス
移動相	検討 1) H ₂ O/メタノール= 85/15 (v/v) 検討 2) (A) H ₂ O/ (B) メタノール (v/v) 15% B (0 - 1 min) →85% B (1 - 5 min) →15 B% (5 - 10 min)
流速	1.0 mL/min
カラム温度	40 °C
検出器 (DAD)	測定波長 280 nm/バンド幅 10 nm (波長範囲 200 ~ 400 nm)
試料注入量	10 µL

図 1 は、表 2-2 予備検討条件にて測定したクロマトグラムおよびスペクトルを示す。検討 1) は移動相 85%メタノールを用いたアイソクラティック溶離、検討 2) はメタノール比率を 15%から 85%に順次上げていくグラジエント溶離を検討した。検討 1) レスルシノールは保持時間 約 6 分に検出するが、移動相と試料溶媒の溶出力が異なるためピーク形状がブロードになった。そこで、HPLC 条件は検討 2) のグラジエント溶離を採用し、測定波長は 273 nm とした。

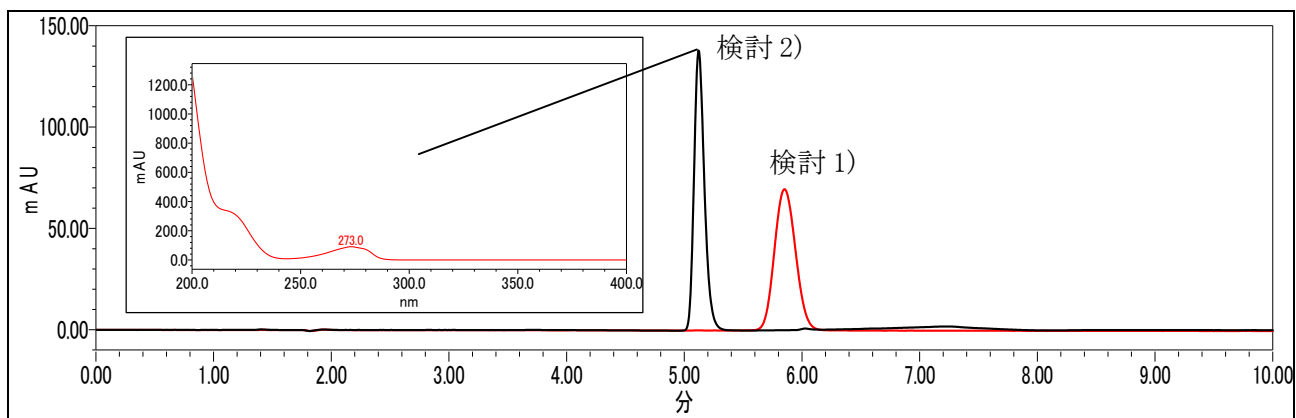


図 1 HPLC 予備検討条件(表 2-2)にて測定したクロマトグラムおよびスペクトル

4. 捕集および分析条件

4-1. 試薬

検討には、表 2-1 予備検討に用いた試薬を使用した。

1) レソルシノール標準原液

レソルシノール 2201.70 mg を秤量し、メタノールで溶解の後、全量 10 mL に定容し 22.017% の標準原液を調製した。レソルシノール標準原液の保存は、褐色バイアル瓶で密閉し冷蔵保存 (4℃) とした。

2) レソルシノール標準溶液

検量線作成および捕集の溶液添加に用いるレソルシノール標準溶液は、レソルシノール標準原液をメタノールで段階的に希釈し調製した。なお、このレソルシノール標準溶液の保存は、褐色バイアル瓶で密閉し冷蔵保存 (4℃) とした。

4-2. HPLC 条件

装置および HPLC 条件を表 3 に示す。装置は、日立ハイテクサイエンス製の高速液体クロマトグラフ Chromaster を使用した。

表 3 装置および HPLC 条件

装置	日立高速液体クロマトグラフ Chromaster
カラム	LaChrom II C18 (4.6 mm I.D.×150 mmL、5 μm) P/N 889-0911 日立ハイテクサイエンス製
移動相	(A) H ₂ O/ (B) メタノール (v/v) 15% B (0 – 1 min) → 85% B (1 – 5 min) → 15 B% (5 – 10 min)
流速	1.0 mL/min
カラム温度	40 °C
検出器 (UV-VIS)	測定波長 273 nm 応答速度 1 s、収集間隔 400 ms
試料注入量	10 μL

4-3. 捕集方法

捕集ポンプは、SKC 製 Pocket Pump 210-1002 を使用した。OSHA Method No.PV2053 では、サンプラーに XAD-7 OVS チューブ (15・50 メッシュ、ガラス繊維フィルタ入り、前部 270 mg+後部 140 mg) を用い、1 L/min で空気吸引している。本検証試験では、ろ過捕集 (ガラス濾紙) および固体捕集 (ジビニルベンゼンメタクリレート共重合体 440 mg) が可能な日立ハイテクサイエンス製 NOBIAS RP-SG1WA (SG1WA) をサンプラーに採用した (図 2)。脱着溶媒はメタノール 5 mL を用い、バックフラッシュ法を採用した。

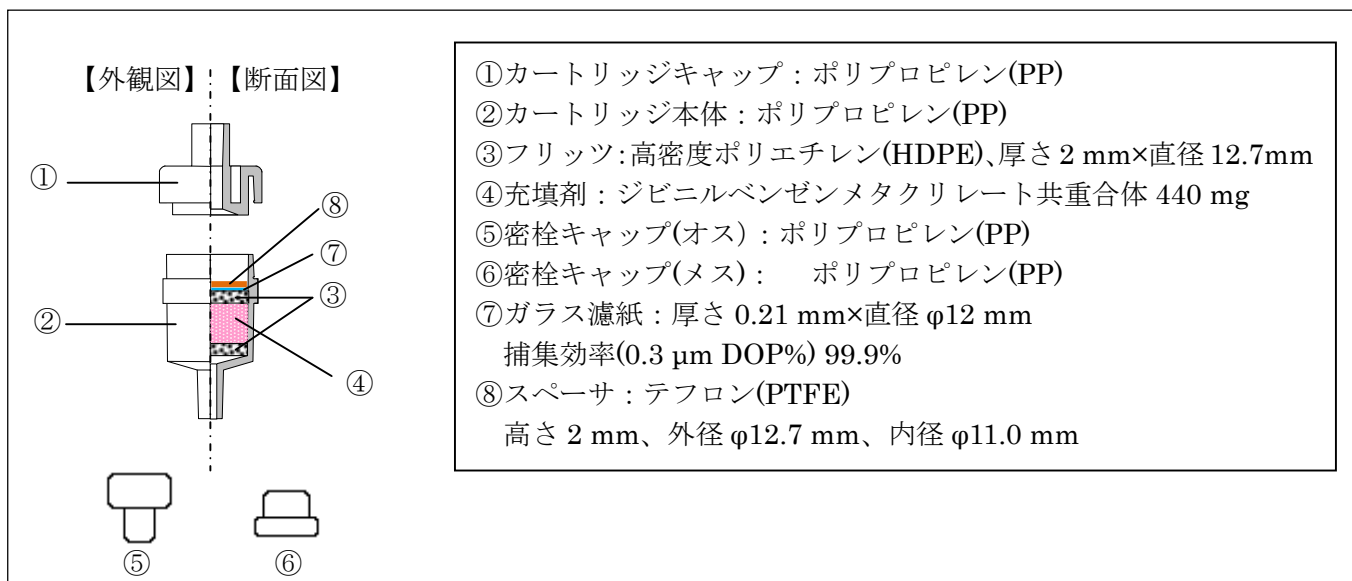


図2 NOBIAS RP-SG1WA の構造と材質

4-3-1. 捕集操作フロー

図3に基本捕集操作フローを示す。レゾルシノール標準溶液は、目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍 (110.09 μg/mL を 20 μL)、1/10 倍 (11008.5 μg/mL を 20 μL)、2 倍 (220170 μg/mL を 20 μL) になるよう SG1WA のガラス濾紙に直接添加して実験を行った。

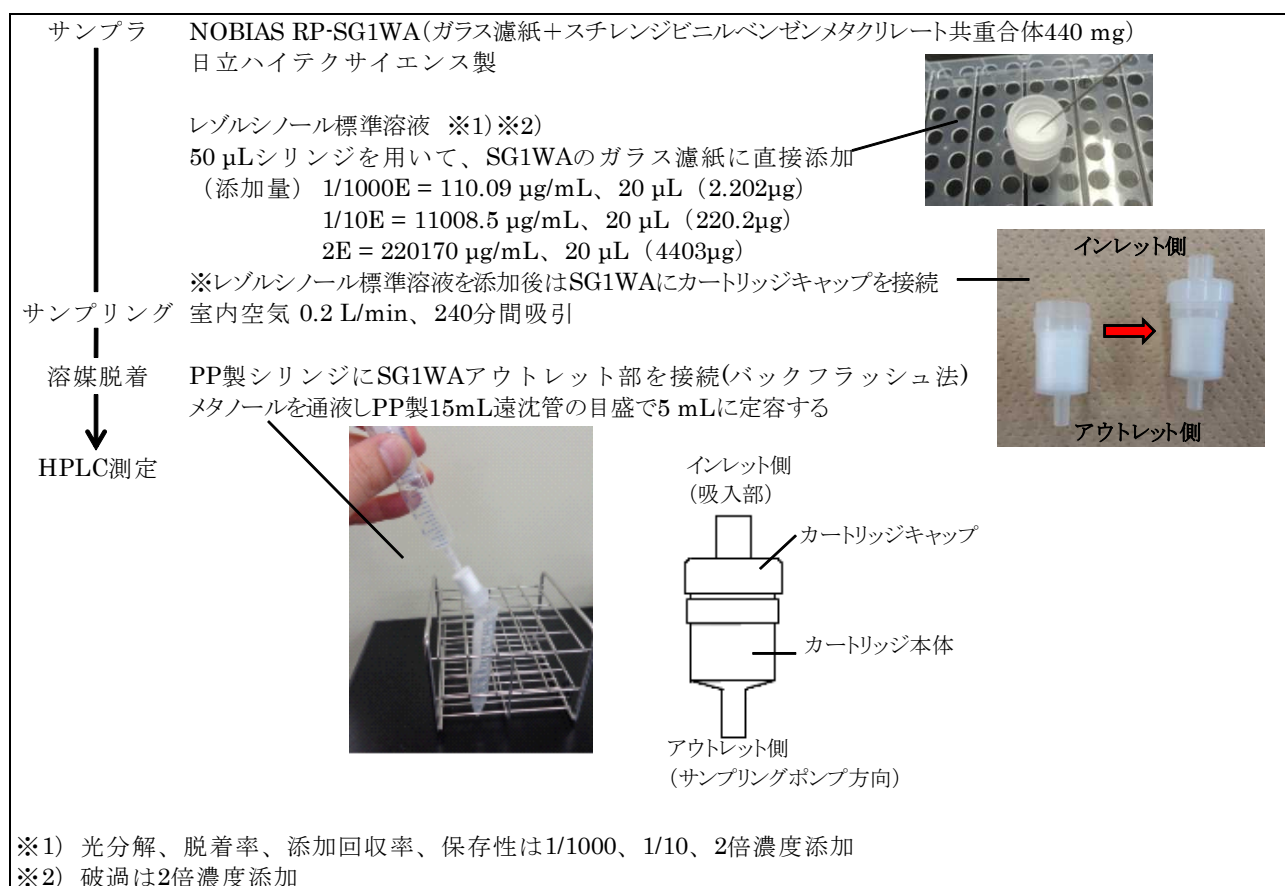


図3 基本捕集操作フロー

5. ブランク

未使用の SG1WA にカートリッジキャップを接続し、バックフラッシュ法にてメタノールを通液し、PP 製 15 mL 遠沈管の目盛で 5 mL に定容した。脱着試料液は、HPLC 用褐色バイアルに移し入れブランク溶液とした。図 4 にブランク溶液のクロマトグラムを示す。確認に供した SG1WA からは、レソルシノールのピーク保持時間に重なる夾雑成分の溶出は認められなかった。

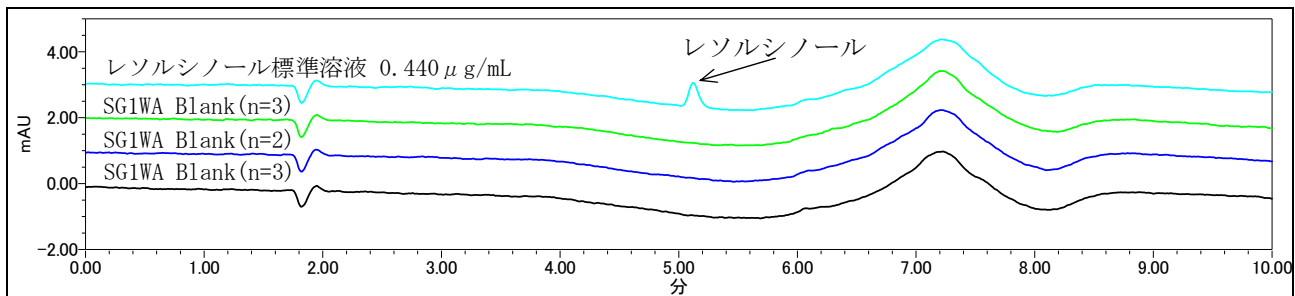


図 4 ブランク溶液のクロマトグラム

(保持時間確認：レソルシノール標準溶液 0.440 μ g/mL (1/1000E 溶液濃度))

6. 光分解の確認

サンプリングによるレソルシノールの光分解を確認した。レソルシノール標準溶液を目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍、1/10 倍、2 倍になるよう SG1WA のガラス濾紙に直接添加し、カートリッジキャップを接続した。SG1WA をアルミホイルで覆ったものと覆わないものとを準備し、遮への有無による光分解を確認した。サンプリング操作は、図 3 基本捕集操作フローに準じて行った。表 4 に光分解試験結果を示す。遮へい無しの場合、1/1000 倍は 2.7%、1/10 倍は 2.0%、2 倍は 2.6% の回収率低下が確認された。この結果より、以降の確認は SG1WA をアルミホイルで覆いサンプリングすることとした。

表 4 光分解試験結果 (n=3)

室温 23.9~25.2 $^{\circ}$ C、湿度 35.0~57.0%

通気量 (L)	添加量 (μ g)		遮光	サンプル数	定量値 (μ g)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	2.202	1/1000E	有り	(n=3)	1.966	89.3	1.33	1.49
			無し		1.907	86.6	2.58	2.98
	220.2	1/10E	有り		208.4	94.6	2.34	2.47
			無し		204.0	92.7	1.68	1.81
	4403	2E	有り		4356	98.9	0.14	0.14
			無し		4242	96.3	0.32	0.33

7. 破過

破過試験は、SG1WA を 2 個直列に接続し、レソルシノール標準溶液を目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 2 倍濃度になるよう前側の SG1WA ガラス濾紙に直接添加し、カートリッジキャップを接続してアルミホイルで覆った。サンプリング操作は、図 3 基本捕集操作フローに準じて行うが、通気後の SG1WA は前側、後側と別々に脱着操作を行った。表 5 に破過試験結果を示す。室内空気を 0.2 L/min で 240 分間通気させても、SG1WA の 2 層目へ破過は生じない事を確認した。

表 5 破過試験結果 (n=3)

室温 23.9~25.2℃、湿度 35.0~57.0%

サンプル数	捕集量 (L)	添加量 (μg)		SG1WA 1 層目		SG1WA 2 層目	
				定量値 (μg)	回収率 (%)	定量値 (μg)	回収率 (%)
(n=3)	48	4403	2E	4356	98.9	0.0	0.0

8. 脱着率

脱着率試験は、レスルシノール標準溶液を目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍、1/10 倍、2 倍になるよう SG1WA ガラス濾紙に直接添加し、カートリッジキャップを接続してアルミホイルで覆った。その後、室内空気を 0.2 L/min で 10 分間通気した。通気後は、SG1WA の両端を付属の PP キャップで密栓し、SG1WA に付属の密閉チャック付きアルミ袋に入れ、室温 (25℃) で一晩安定させた。その後の脱着操作は、図 3 基本捕集操作フローに準じて行った。表 6 に脱着率試験結果を示す。脱着率は、1/1000 倍が 88.4%であった。1/10 倍、2 倍は 90%以上を示した。1/1000 倍濃度は、労働者の有害物によるばく露評価ガイドラン (ガイドライン) ⁶⁾ に示された目標脱着率の 90%に未達であったが、変動係数は 2.04%であり再現性に問題はない事を確認した。

表 6 脱着率試験結果 (n=5)

室温 23.9~25.2℃、湿度 35.0~57.0%

捕集量 (L)	添加量 (μg)		サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
2	2.202	1/1000E	(n=5)	1.946	88.4	1.80	2.04
	220.2	1/10E		205.5	93.3	1.94	2.08
	4403	2E		4339	98.5	1.58	1.60

9. 検量線

検量線は、目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍 (標準溶液濃度 0.440 $\mu\text{g}/\text{mL}$) から 2 倍 (標準溶液濃度 880.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$) の濃度範囲になるようレスルシノール標準原液をメタノールで段階的に希釈した。表 7 にピーク面積値、図 5 にはレスルシノール標準溶液クロマトグラム重ね書き、図 6 に検量線を示す。0.440 から 44.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の低濃度範囲および 0.440 から 880.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の広範囲濃度において、相関係数 (R^2) 1.0000 を示し良好な直線性が得られた。

表 7 ピーク面積値

濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.000	0.440	0.881	4.403	8.807	44.03	88.07	440.3	880.7
面積値	0	4127	8227	41053	82791	422557	847171	4262687	8438629

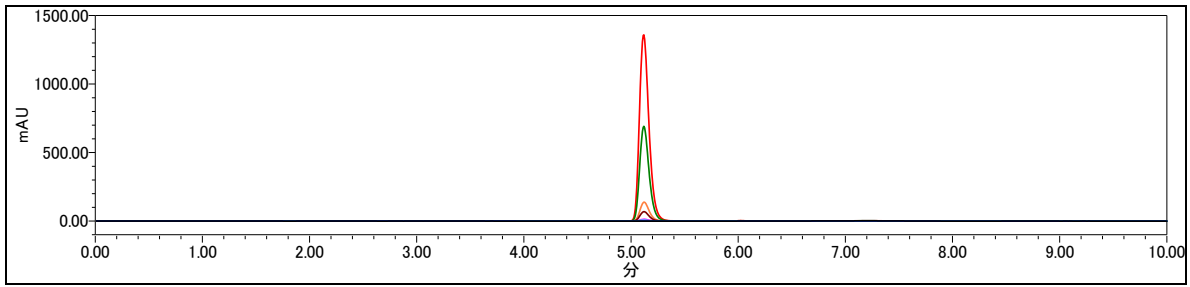


図5 レソルシノール標準溶液(0.440-880.7 μg/mL)クロマトグラム重ね書き

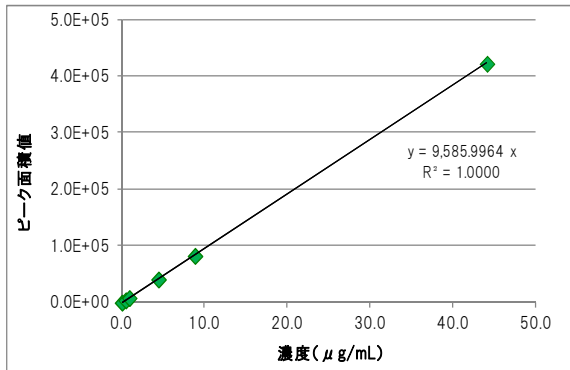


図6-1 検量線(0.440-44.03 μg/mL)

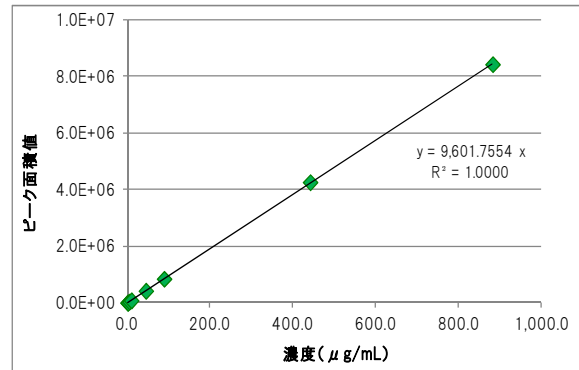


図6-2 検量線(0.440-880.7 μg/mL)

10. 検出下限および定量下限

目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍濃度となるレソルシノール標準溶液 0.440 μg/mL を 6 検体測定し、定量値から検出限界 (3σ) および定量下限 (10σ) を求めた。表 8 に検出限界および定量下限の結果を示す。繰り返し測定による定量値の変動係数は 0.4173%、検出限界は 0.0054 μg/mL、定量下限は 0.0181 μg/mL であった。定量下限より求めた気中濃度は、48 L 通気で 0.000420 ppm であり、目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/23810 となった。

表 8 検出限界および定量下限

	検出限界 (3σ)	定量下限 (10σ)
溶液濃度 (μg/mL)	0.0054	0.0181
48L 通気による気中濃度 (ppm)	0.000126	0.000420

$$\text{気中濃度(ppm)} = \text{溶液濃度(μg/mL)} \times \text{最終試料液量(mL)} \times \frac{24.47(\text{L})}{110.11 \times \text{吸引空気捕集量(L)}}$$

11. 添加回収率 (通気試験)

添加回収率 (通気試験) は、図 3 基本捕集操作フローに準じて行った。レソルシノール標準溶液は、目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍、1/10 倍、2 倍になるよう SG1WA ガラス濾紙に直接添加し、カートリッジキャップを接続してアルミホイルで覆った。その後のサンプリングおよび溶媒脱着操作は図 3 基本捕集操作フローに準じて行った。表 9 に添加回収率 (通気試験) 結果を示す。1/1000 倍濃度は 89.3%、1/10 倍、2 倍は 90% 以上を示した。1/1000 倍濃度は、ガイドラインに示された目標添加回収率の 90% に未達であるが、変動係数は 1.49% と再現性に問題はない事を確認した。

表 9 添加回収率（通気試験）結果（n=3）

室温 23.9~25.2℃、湿度 35.0~57.0%

捕集量 (L)	添加量 (μg)		サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	2.202	1/1000E	(n=3)	1.965	89.3	1.33	1.49
	220.2	1/10E		208.4	94.6	2.34	2.47
	4403	2E		4356	98.9	0.14	0.14

1 2. 保存性

保存性試験は、図 3 基本捕集操作フローに準じて行うが、サンプリングは SG1WA をアルミホイルで覆い通気した。通気後は、SG1WA の両端を付属の PP キャップで密栓し、SG1WA に付属の密閉チャック付きアルミ袋に入れ室温（25℃）で保存した。保存日数は、通気直後の 0 日目を基準とし、1、3、7 日後に脱着操作を行い HPLC で測定した。表 10、図 7 に保存性試験結果を示す。1/10 倍、2 倍濃度は、0 から 7 日間の保存において、保存率は 90%以上を示した。1/1000 倍濃度は、ガイドラインに示された目標保存率 90%および保存期間 5 日間に未達であったが、3 日間の保存であれば 80%以上を確保でき、変動係数は 0.55%と再現性に問題がない事を確認した。この結果から、全ての濃度におけるレソルシノールの保存日数は、3 日間までであれば安定した分析が可能であることを確認した。

表 10 保存性試験結果（n=3）

室温 23.9~25.2℃、湿度 35.0~57.0%

添加量 2.202 μg (1/1000E)							
捕集量 (L)	保存日数 (日)	サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	保存率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0	(n=3)	1.965	89.3	100.0	1.33	1.49
	1		1.967	89.4	100.1	0.83	0.93
	3		1.839	83.6	93.6	0.46	0.55
	7		1.712	77.8	87.2	2.58	3.31
添加量 220.2 μg (1/10E)							
捕集量 (L)	保存日数 (日)	サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	保存率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0	(n=3)	208.4	94.6	100.0	2.34	2.47
	1		207.8	94.4	99.7	2.82	2.98
	3		203.7	92.5	97.8	2.10	2.27
	7		204.0	92.7	97.9	1.68	1.81
添加量 4403 μg (2E)							
捕集量 (L)	保存日数 (日)	サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	保存率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0	(n=3)	4356	98.9	100.0	0.14	0.14
	1		4250	96.5	97.6	0.91	0.94
	3		4179	94.9	95.9	1.78	1.87
	7		4242	96.3	97.4	0.32	0.33

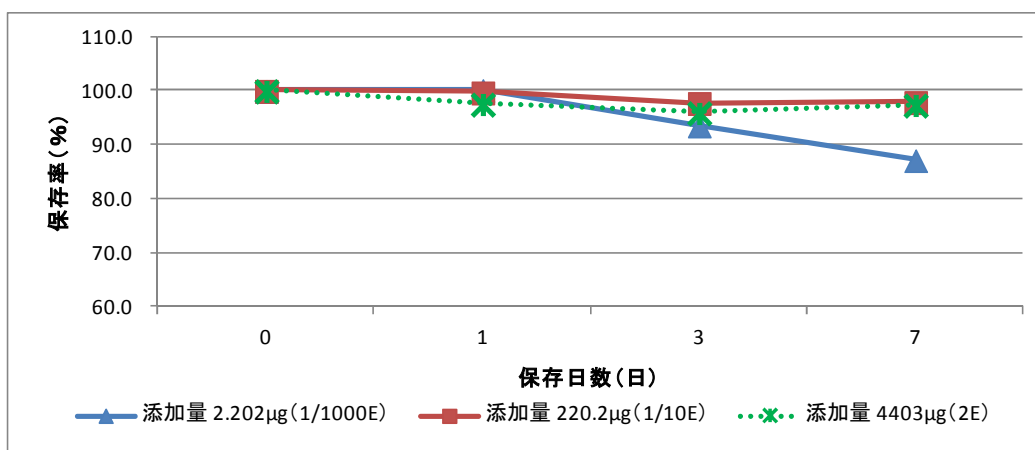


図7 0-7日間の保存性試験結果

1.3. まとめ

本検証試験の結果、本法は個人ばく露濃度測定手法として、目標気中濃度 TLV-TWA 10 ppm の 1/1000 倍から 2 倍となる 0.01019 から 20.38704 ppm の濃度範囲を分析する場合、1/1000 倍はガイドラインに示された回収率 90% に未達 (80% 台) となるが、再現性に問題はなく、保存日数が 3 日間以内であれば安定した分析ができる手法である事を確認した。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。

1.4. 参考文献

- 1) GHS モデルラベル・SDS 情報 製品安全データシート「レスルシノール」2010 年 3 月 31 日改定、厚生労働省、入手先<<http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/108-46-3.html>>, 参照 2015/10/9.
- 2) IPCS (2006) No.71 Resorcinol, Concise International Chemical Assessment Document. 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部 (2009), 入手先<<http://www.nihs.go.jp/hse/cicad/full/no71/full71.pdf>>, 参照 2015/12/3
- 3) 日本産業衛生学会, 2009、ACGIH, 2009.
- 4) OSHA (01/19/2007) Chemical sampling information, Resorcinol. Washington, DC, US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, at website. <<https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv2053/2053.html>>, 参照 2015/10/9.
- 5) 和光純薬工業 (株)、HPLC アプリケーション、レスルシノールの分析. <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/chromato/pdf_app/resor.pdf>, 参照 2015/10/9.
- 6) 厚生労働省, 労働者の有害物によるばく露評価ガイドライン. 平成21年12月 化学物質のリスク評価検討会ばく露評価小検討会.

(別紙)

レスルシノール標準測定分析法

化学式：C₆H₆O₂

分子量：110.11

CASNo108-46-3

許容濃度等： ACGIH TLV-TWA：TWA 10 ppm NIOSH REL-TWA：TWA 10 ppm 日本産業衛生学会：未設定	物性等 沸点：280℃ 融点：110℃ 蒸気圧：0.000489 mmHg (25℃) 形状：白色固体
別名 1,3-ジヒドロキシベンゼン、3-ヒドロキシフェノール、レスルシン	
サンプリング	分析
<p>サンプラー：NOBIAS RP-SG1WA、 ガラス濾紙入り、ジビニルベンゼン メタクリレート共重合体 440 mg、 (日立ハイテクサイエンス製)</p> <p>サンプリング流量：0.2 L/min サンプリング時間：4 時間 (48 L) 遮蔽要 保存性：添加量 2.202 µg、220.2 µg、4403 µg に おいて室温 (25℃)、遮光保存で少なく ても 3 日間までは安定。</p>	<p>分析方法：高速液体クロマトグラフ法 抽出溶液：メタノール 5 mL 脱着操作：バックフラッシュ法 標準原液：レスルシノールを 2201.7 mg 秤量 し、メタノールで溶解の後、全量 10 mL に定容し 22.017% の標準原 液を調製した。 標準溶液：標準原液をメタノールで段階的に希 釈し調製した。</p> <p>分析条件： 機器：Chromaster (株)日立ハイテクサイエンス製 カラム：LaChrom II C18 (4.6 mm I.D.×150 mm L, 5 µm) (株)日立ハイテクサイエンス製 カラム温度：40℃ 移動相：(A) H₂O/ (B) メタノール (v/v) 15%B (0 - 1 min) → 85%B (1 - 5 min) → 15%B (5 - 10 min) 流速：1.0 mL/min 検出器：UV273 nm 試料注入量：10 µL</p> <p>検量線：0.440～880.7 µg/mL の範囲で直線性 が得られている。</p> <p>定量法：絶対検量線法線法</p>
精度	
<p>脱着率；添加量 2.202 µg の場合 88.4%</p> <p>220.2 µg 93.3%</p> <p>4403 µg 98.5%</p> <p>回収率；添加量 2.202 µg の場合 89.3%</p> <p>(4 時間) 220.2 µg 94.6%</p> <p>4403 µg 98.9%</p> <p>定量下限 (10σ) 0.0181 µg/mL 0.000420 ppm</p> <p>検出限界 (3σ) 0.0054 µg/mL 0.000126 ppm</p>	
適用：	
妨害：	
<p>1) GHS モデルラベル・SDS 情報 製品安全データシート「レスルシノール」2010 年 3 月 31 日 改定、厚生労働省、入手先<http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/108-46-3.html>、参 照 2015/10/9.</p> <p>2) IPCS (2006) No.71 Resorcinol, Concise International Chemical Assessment Document. 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部 (2009), 入手先<http://www.nihs.go.jp/hse/cicad/full/no71/full71.pdf>、参照 2015/12/3</p> <p>3) 日本産業衛生学会, 2009、ACGIH, 2009.</p> <p>4) OSHA (01/19/2007) Chemical sampling information, Resorcinol. Washington, DC, US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, at website. <https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv2053/2053.html>, 参照 2015/10/9.</p> <p>5) 和光純薬工業 (株)、HPLC アプリケーション、レスルシノールの分析。 <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/chromato/pdf_app/resor.pdf>, 参照 2015/10/9.</p> <p>6) 厚生労働省, 労働者の有害物によるばく露評価ガイドライン. 平成 21 年 12 月 化学物質のリ スク評価検討会ばく露評価小検討会.</p>	

作成日；平成 27 年 1 月 18 日