

イソホロンの測定・分析手法に関する検討結果報告書

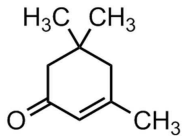
目 次

1. はじめに.....	- 3 -
2. 文献調査.....	- 3 -
3. 捕集および分析条件.....	- 4 -
4. ブランク.....	- 5 -
5. 破過.....	- 5 -
6. 脱着率.....	- 5 -
7. クロマトグラム.....	- 5 -
8. 検量線.....	- 6 -
9. 検出下限および定量下限.....	- 6 -
1 1. 保存性.....	- 7 -
1 2. まとめ.....	- 7 -
1 3. 参考文献.....	- 8 -

1. はじめに

イソホロンの物理化学的性状を示す¹⁾(表1)。

表1 イソホロンの物理化学的性状

CAS No.	78-59-1	
用途	特殊な塗料や印刷インク、樹脂やポリマーの溶剤、化学物質の中間体や除草剤。イソホロンジアミン及びイソホロンジイソシアネートの原料。	
構造式		
分子量	138.21g/mol	
物性	比重	0.918~0.923 g/mL(20 °C)
	沸点	213~214°C
	融点	-8.0°C
	蒸気圧	40Pa(20 °C)
	形状	常温・常圧で無色の液体。
許容濃度等	日本産業衛生学会	設定されていない
	NIOSH PEL TWA	4 ppm
	ACGIH(STEL C)	5 ppm(2014)

イソホロンの測定手法については、NIOSH及び環境省の平成19年度化学物質開発調査報告書で報告されている。しかし、個人ばく露濃度測定及び作業環境測定の測定手法は示されておらず、職場における化学物質リスク評価の対象物質となっていることから、これらの文献を参考に個人ばく露濃度測定及び作業環境測定手法の検討を行った。

2. 文献調査

イソホロンの測定方法に関する文献を表2に示す。

表2 イソホロンの測定方法に関する文献

出典	捕集方法	脱着溶媒	測定範囲	分析方法
NIOSH No.2508	固体捕集 石油系活性炭	二硫化炭素	67~283 mg/m ³	GC/FID
NIOSH No.2556	固体捕集 XAD-4	ジエチルエーテル	0.24~33.2 mg/m ³	GC/FID
平成19年度 化学物質分析法 開発調査報告書(環 境省)	固体捕集 Sep-Pak AC-2	ジクロロメタン	0.001~0.5 µg/m ³	GC/MS

3. 捕集および分析条件

本検討ではこれらの文献の手法を参考として、測定手法の検討を行うこととした。捕集剤には球状活性炭を用い、ジクロロメタンによる脱着率、回収率、保存安定性、及び破過の確認を行った。また、分析装置は低濃度域まで精度よく測定できる手法の確立を目指していることから GC/MS を採用し、GC/MS 法における検量線の直線性、定量下限、検出下限等を調べた。

3-1. 試薬

- イソホロン (和光純薬工業㈱ >97%)
- ジクロロメタン (和光純薬工業㈱ >99.5%)
- イソホロン-d8 (CIL 社 \geq 99.8%)

3-2. 捕集管及び吸引ポンプ

- 捕集管 : 球状活性炭 No.258 ガステック株式会社製
- 吸引ポンプ : Σ 30N 柴田科学株式会社製

3-3. サンプルング

個人ばく露濃度測定については 24 L(0.1 L/min で 4 時間)、作業環境測定については 1 L(0.1 L/min で 10 分間)のサンプルングを想定して測定手法の検討を行う。試料採取後の捕集管は、キャップをして冷蔵庫(4℃)で保管する。

3-4. 試料調製

1.5 mL バイアル瓶に捕集剤を移し入れ、1 mL のジクロロメタンを添加し、時々振り混ぜながら 30 分以上脱着した。

3-5. 測定機器

表 3 に測定条件を示す。

表 3 GC/MS 測定条件

装置	GC/MS 6890N/5973MSD(アジレント製)
カラム	Stabilwax 30m,0.25mm,0.50 μ m (Restec 製)
キャリアガス	He 1.2mL/min
注入量	1 μ L
注入法	50:1
オープン温度	40℃(1min)→20℃/min→230℃(1min)
注入口温度	250℃
イオン源温度	230℃
インターフェース温度	260℃
イオン化法	EI 法(70eV)
測定モード	SIM
測定イオン(m/z)	イソホロン : 138(確認用 82) イソホロン-d8(内標) : 146(確認用 88)
検量線	内部標準法

4. ブランク

脱着溶媒のブランク試験を行ったところ、イソホロンは検出されず、妨害ピークも認められなかった。

5. 破過

捕集管を2連にし、気中濃度(24 L 中)が 8 ppm(NIOSH PEL TWA 4 ppm=1E とした場合、2E に相当)となるよう、前段の捕集管に標準を 1161 µg 添加した。その後 4 時間通気し、3-4. に従い調製した試料を前段と後段別々に分析し回収率を調べた。その結果、前段の回収率は 100.2% で、後段に接続した捕集管の回収率は 0.1% 未満であり、破過は確認されなかった。

6. 脱着率

0.1 L/min で 4 時間採気したとき、気中濃度(24 L 中)が約 0.004、0.04、8 ppm (NIOSH PEL TWA 4 ppm=1E とした場合、0.001E、0.01E、2E に相当)となるよう、捕集管に標準をそれぞれ 0.534µg、5.34 µg、1161 µg 添加した。その後 0.1 L/min で 10 分間通気し、一晩冷蔵庫保存(4℃)し、3-4. に従い調製した試料を分析し、脱着率を調べた。結果を表 4 に示す。いずれも回収率 90% 以上、CV±10% となり、良好な結果となった。

表 4 脱着率

単位 : %(mean±SD) n=5			
設定濃度(ppm at 24L)	0.004	0.04	8
	98.1 ± 4.4	98.4 ± 2.1	99.6 ± 3.3

7. クロマトグラム

イソホロンの質量スペクトルを図 2 に、測定クロマトグラムの例を図 3、4 に示す。

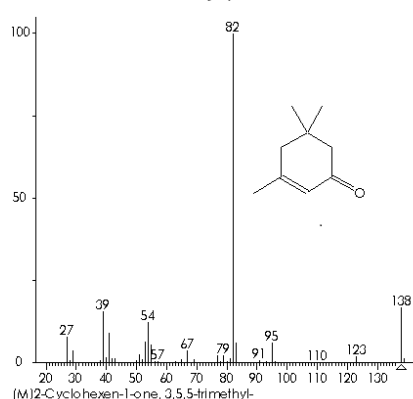


図 2 イソホロンの質量スペクトル

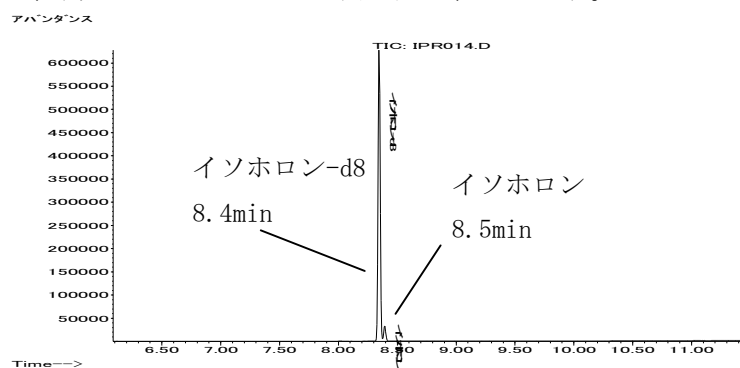


図 3 測定クロマトグラム

TIC スプリット 50:1

イソホロン濃度 0.446 µg/mL

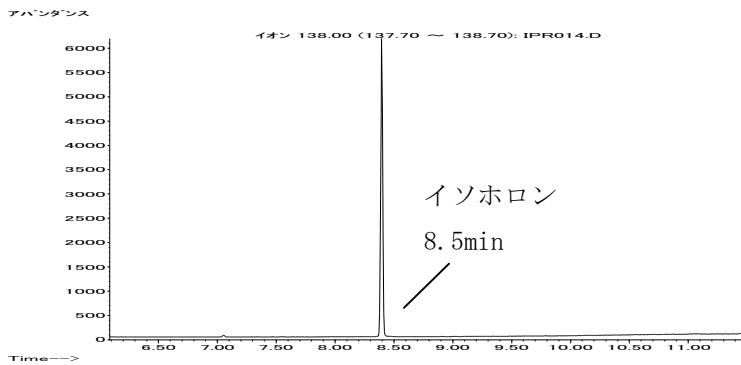


図4 測定クロマトグラム
測定イオン 138
イソホロン濃度 0.446 µg/mL
スプリット 50:1

8. 検量線

10 mL メスフラスコの標線付近までジクロロメタンを入れたのち、マイクロシリンジを用いてイソホロンを添加してメスアップし、446、1161 µg/mL の標準原液をそれぞれ調製した(なお、本検討では標準物質を純度 97%、密度 0.9205 g/mL として調製を行う)。これを順次希釈して 0.446、0.893、2.23、4.46、22.3、44.6、223、446、1161 µg/mL の標準系列を調製した。これは、1E = 4 ppm (NIOSH PEL TWA)と設定した場合、0.1 L/min で4時間サンプリングし、24 L採取したとき0.001~2E に相当する液濃度である。これらの標準系列を測定し、検量線の直線性について確認を行った。

0.446~1161 µg/mL の範囲では図5のようになり、高濃度側で直線性が得られなかった。なお、0.446~223 µg/mL の範囲では図6のように直線性が確認できた(R = 0.9998)。従って、この範囲で定量できる濃度は24 L採取した場合、0.004~1.65 ppm(0.001E~0.4E相当)であることから、この定量範囲より高い濃度の検体は、希釈操作をするなどして分析することを推奨する。

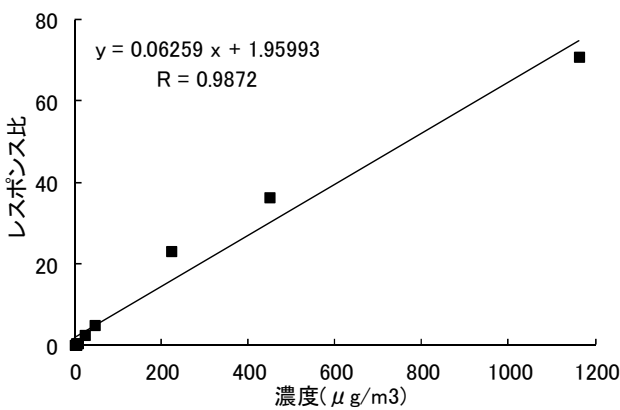


図5 検量線(0.446~1161 µg/mL)

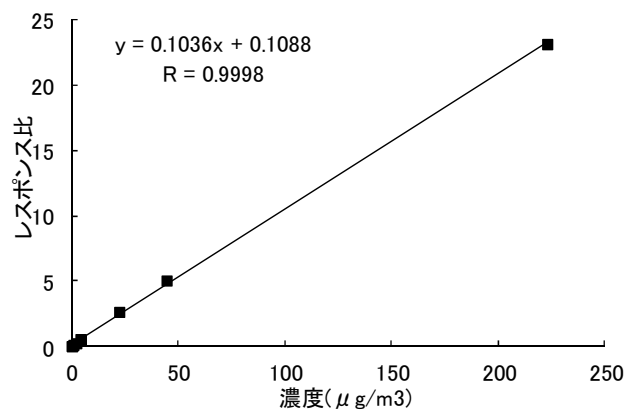


図6 検量線(0.446~22.3 µg/mL)

9. 検出下限および定量下限

0.446 µg/mL の標準液を10回繰り返し測定して標準偏差(SD)を求め、検出下限値及び定量下限値を算出した。その結果、24 L及び1 L採気時の気中濃度の検出下限値及び定量下限値は表5のようになり、個人ばく露濃度測定については TLV-TWA の 1/6060 まで、作業環境測定については TLV-

TWA の 1/250 まで定量が可能である。

表 5 検出下限と定量下限

	液中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	気中濃度 個人ばく露濃度測定 (ppm at 24L)	気中濃度 作業環境測定 (ppm at 1L)
検出下限値(3SD)	0.0265	0.00020	0.0047
定量下限値(10SD)	0.0884	0.00066	0.016

備考：液中濃度は、有効数字 3 桁。気中濃度は有効数字 2 桁で、3 桁目を切り上げた。

1 0. 添加回収率(通気試験)

脱着率試験と同様に、捕集管に標準をそれぞれ 0.534 μg 、5.34 μg 、1161 μg 添加した。その後、4 時間通気し(室内空気温湿度は表のとおり)、3 - 4. に従い調製した試料を分析し、回収率を調べた結果を表 6 に示す。いずれも回収率 90~100%の範囲内で、CV \pm 10%となり、良好な結果であった。

表 6 添加回収率(通気試験)

	単位：%(mean \pm SD) n=5		
設定濃度(ppm at 24L)	0.004	0.04	8
	97.1 \pm 2.7	91.1 \pm 4.7	98.5 \pm 4.0

気温 20 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 50 \pm 10%

1 1. 保存性

脱着率、保存性試験と同様に、気中濃度(24L 中)が約 0.004、8ppm となるよう、捕集管に標準をそれぞれ 0.534 μg 、1161 μg 添加した。0.1L/min で 10 分間通気した後、0 日、1 日、3 日、6 日間冷蔵庫保存(4 $^{\circ}\text{C}$)し、3 - 4. に従い調製した試料を分析し、回収率を調べた。結果は表 7 のようになり、6 日間保存後も回収率 90%以上を得ることができ、安定であった。

表 7 保存性

	単位：%(mean \pm SD) n=3	
保存日数(日)	設定濃度(ppm at 24L)	
	0.001	2
0	100.7 \pm 4.6	100.1 \pm 6.9
1	100.8 \pm 2.4	99.1 \pm 1.3
3	93.3 \pm 6.1	101.9 \pm 1.7
6	91.7 \pm 3.5	95.2 \pm 3.2

1 2. まとめ

GC/MS 法を用いて測定を実施したところ、検量線は気中濃度 0.004~1.65 ppm(24 L 採気)の範囲において良好な直線性を示した。濃度が 1.65 ppm 以上の検体の定量は、希釈操作等を行い定量することを推奨する。

定量下限(LOQ)は、0.0884 µg/mL となり 24 L 及び 1 L 採気時の気中濃度の定量下限は個人ばく露濃度測定については TLV-TWA の 1/6060 まで、作業環境測定については TLV-TWA の 1/250 まで定量が可能である。

また、固体捕集・溶媒脱着の標準添加による脱着率、保存安定性試験において回収率はいずれも 90%以上と良好であり、捕集後冷蔵庫保存で 6 日間安定であることを確認した。

通気安定性試験においても、各設定濃度での回収率が 90%以上となり、良好な結果が得られた。

1 3. 参考文献

- 1) 化学物質の環境リスク評価 第6巻、環境省環境保健部環境リスク評価室
- 2) The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH):ISOPHORONE: METHOD 2508 (1994)
- 3) The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH):ISOPHORONE: METHOD 2556 (2003)
- 4) 平成19年度化学物質分析法開発調査報告書(環境省)

(別紙)

イソホロン標準測定分析法

化学式: C ₉ H ₁₄ O	分子量: 138.21	CASNo: 78-59-1
許容濃度等: ACGIH: STEL Ceiling 5ppm(2014) NIOSH: PEL TWA 4ppm	物性等 沸点: 213~214℃ 融点: 8.0℃ 蒸気圧: 40Pa(20℃) 形状: 常温・常圧で無色の液体。	
別名 3,5,5-トリメチル-2-シクロヘキセン-1-オン		
サンプリング		分析
サンプラー: 球状活性炭 No.258 ガステック製 (100mg/50mg) サンプリング流量: 0.1L/min サンプリング時間: 4時間 (24L) 保存性: 冷蔵 (4℃) で少なくとも 6 日間保存可能 であることを確認。 ブランク: 検出せず		分析方法: ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS) 脱着: ジクロロメタン 1mL 30min 静置(時々振とう) 機器: Agilent 6890N/5973MSD <GC部> カラム: Stabilwax 内径 0.5μm×膜厚 0.25μm×長さ 30m 注入口温度 250℃ インターフェース温度 260℃ 昇温: 40℃(1min)→20℃/min→230℃ 注入法: スプリット(50:1) キャリアガス: He 1.2mL/min <MS部> イオン化法: EI イオン化電圧: 70eV 測定モード: SIM 測定質量数(m/z) イソホロン: 定量イオン 138(確認用 82) イソホロン-d8: 定量イオン 146(確認用 88) 検量線: 内部標準法 (範囲: 0.446~223μg/mL) 分析時のリテンションタイム 8.5min (イソホロン、イソホロン-d8 は分離できない)
精度		
脱着率; 添加量	0.534μg の場合 98.1%	
	5.34μg の場合 98.4%	
	1161μg の場合 99.6%	
回収率; 添加量 (4時間)	0.534μg の場合 97.1%	
	5.34μg の場合 91.1%	
	1161μg の場合 98.5%	
定量下限 (10SD) 0.0884μg/mL 0.00066ppm(v/v) 1/6060E* (採気量; 24L) 0.016ppm(v/v) 1/250E* (採気量; 1L) ※: 1E=4ppm(NIOSH PEL TWA)とした場合 検出下限 (3SD) 0.0265μg/mL 0.00020 ppm(v/v) (採気量; 24L) 0.0047 ppm(v/v) (採気量; 1L)		
適用: 個人ばく露濃度測定、作業環境測定		
妨害:		
文献:		
1. 化学物質の環境リスク評価 第6巻、環境省環境保健部環境リスク評価室 2. The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH):ISOPHORONE: METHOD 2508 (1994) 3. The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH):ISOPHORONE: METHOD 2556 (2003) 4. 平成 19 年度化学物質分析法開発調査報告書(環境省)		

作成日; 平成 28 年 2 月 16 日

