

パラ-ニトロクロロベンゼンの測定・分析手法検討結果

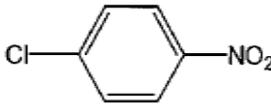
1. はじめに

パラ - ニトロクロロベンゼンはアゾ染料、硫化染料、医薬品等の合成原料として使用される。(表 1)にパラ - ニトロクロロベンゼンの物理化学的性状を示した。^{1) 2)}

パラ - ニトロクロロベンゼンの人への健康影響には、皮膚、肺、腸管から容易に吸収されるとあり、体内では大部分は脂肪に存在し、ついで血液、腎臓、肝臓、および脾臓に蓄積するとある。また、高濃度暴露による急性毒性はメトヘモグロビン形成に起因する溶血性貧血のほか、悪心、嘔吐、頭痛などの自覚症状が発現する。¹⁾

ACGIH(2007)では分類 A2、人への発がん性が疑われる物質とされている。本報告では ACGIH 許容濃度値 0.1ppm を基準とし、1/1000~2 倍(0.0001 ppm~0.2 ppm)の測定手法を開発することを目的とした。³⁾ なお、労働者の個人ばく露濃度を評価するために、4 時間にわたる通気試験 (吸引速度 0.3L/min)を行った。

表 1 パラ - ニトロクロロベンゼンの物理化学的性状

CAS No.	100-00-5	
別名	4 - クロロニトロベンゼン 1 - クロロ-4-ニトロベンゼン P - クロロニトロベンゼン	
用途	染料、農薬、酸化防止剤、オイル添加剤、 抗マラリア薬およびゴム薬品。	
構造式	 C ₆ H ₄ ClNO ₂	
分子量	157.56	
物性	比重	1.52 g/cm ³ (22°C)
	沸点	242°C
	融点	80-84°C
	蒸気圧	0.0219 mmHg (25°C)
	形状	固体
許容濃度等	日本産業衛生学会	0.1 ppm(0.64 mg/m ³)
	OSHA	0.16 ppm(1.03 mg/m ³)
	NIOSH	
	ACGIH	0.1 ppm(0.644 mg/m ³)

2. 文献調査

現在、パラ - ニトロクロロベンゼンの測定およびその分析方法に関する公定法として、NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)2005,³⁾および作業環境測定ガイドブック 3 特定化学物質関係 3026 が示されている。⁴⁾ このことから、本研究では上記公定法を引用し、GC-FID 分析の代わりに GC-MS 分析を採用し検討を行った。

3. 捕集および分析条件

3 - 1 試薬・器具

【試薬】

パラ-ニトロクロロベンゼン：東京化成工業株式会社
 オルト-ニトロクロロベンゼン(確認用)：東京化成工業株式会社
 メタ-ニトロクロロベンゼン(確認用)：東京化成工業株式会社
 ニトロベンゼン-d5：シグマアルドリッチジャパン合同会社
 アセトン 残留農薬試験用：和光純薬工業株式会社

【器具】

捕集剤：シリカゲルチューブ-スタンダード型 (20~40 メッシュ；前部：520 mg、後部：260 mg)
 ;柴田科学株式会社
 ポンプ：MP-Σ30；柴田科学株式会社
 ろ紙：0.45µm フィルター (有機溶媒用)；メルク株式会社

3-2 捕集方法と測定条件

測定範囲：0.0001 ppm~0.2 ppm

気中濃度として、ACGIH の TWA-0.1 ppm の 1/1000~2 倍の範囲における捕集および測定方法について検討を行った。

表 2 パラ-ニトロクロロベンゼン溶液の添加量

パラ-ニトロクロロベンゼン (東京化成工業株式会社)

927.2mg/100mL (P-ニトロクロロベンゼン)	25 µL/50mL ⇒ 25mL/50mL ⇒ ⇒	標準溶液 (µg/ml)	10 µL 添加としての 添加量 (µg)	4時間捕集としての 濃度 (ppm)	相当の濃度
		①	4.636	0.04636	0.0001
②	4636	46.36	0.1	二次評価値 (許容濃度)	
③	9272	92.72	0.2	二次評価値×2 (許容濃度×2)	

(表 2) に示す濃度のパラ-ニトロクロロベンゼン溶液をシリカゲルチューブに直接添加し、流量 0.3 L/min で 4 時間通気後、4°C の冷蔵庫で一昼夜保存する。

シリカゲルの前層と後層を別々に取り出し、バイアル瓶に入れる。アセトンを 2.0 mL 入れ、超音波で 20 分間脱着する。0.45 µm のフィルターでろ過し、GC-MS 測定に供した。(表 3)

表 3 GC-MS の測定条件

装置	7890A GCSystem/ 5975C interMSD (AgilentTechnologies製)
カラム	DB-Wax (0.25mm×30m×0.25µm)
注入法	スプリットレス
注入量	1.0 µL
キャリアガス	He (1.0mL/min)
注入口温度	240°C
カラム温度	50°C (2分) →10°C/min-250°C (5min)
インターフェイス温度	240°C
イオン温度	230°C
四重極温度	150°C
定量イオン (確認イオン)	m/z111 (m/z157)
I. S. 定量イオン (確認イオン)	m/z82 (m/z128)

4. ブランク

脱着溶媒および捕集材のブランクの確認を GC-MS 測定法で行ったところ、目的物質のピークは認められなかった。

5. 質量スペクトルとクロマトグラム

表 3)に記す測定条件でパラ-ニトロクロロベンゼンを測定した結果、14.20 分に目的ピークが検出された。(図 1-1) (図 1-2)

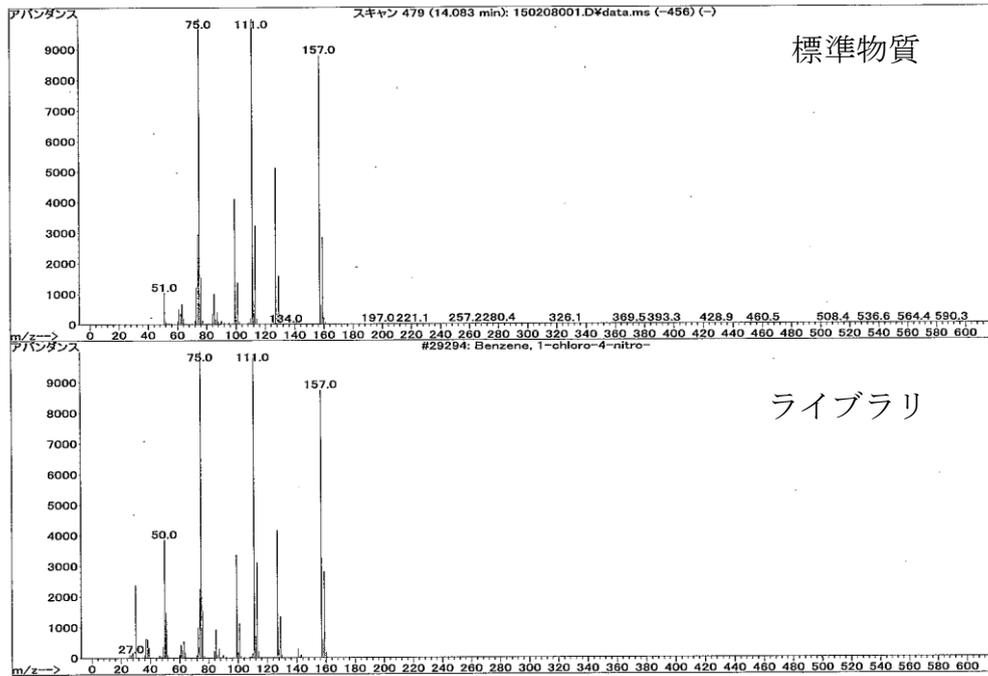


図 1-1 パラ-ニトロクロロベンゼンの質量スペクトル

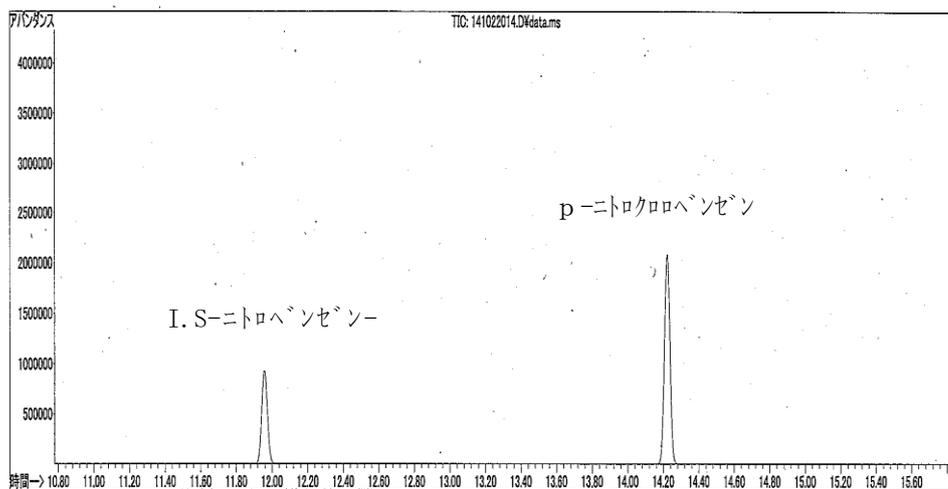


図 1-2 パラ-ニトロクロロベンゼンと I.S. のクロマトグラム

また、混合溶液(パラ-ニトロクロロベンゼン、メタ-ニトロクロロベンゼン、オルト-ニトロクロロベンゼン)を作成し、(表 3)に記す測定条件で異性体の分離を確認した。結果、良好な分離が確認できた。(図 2)

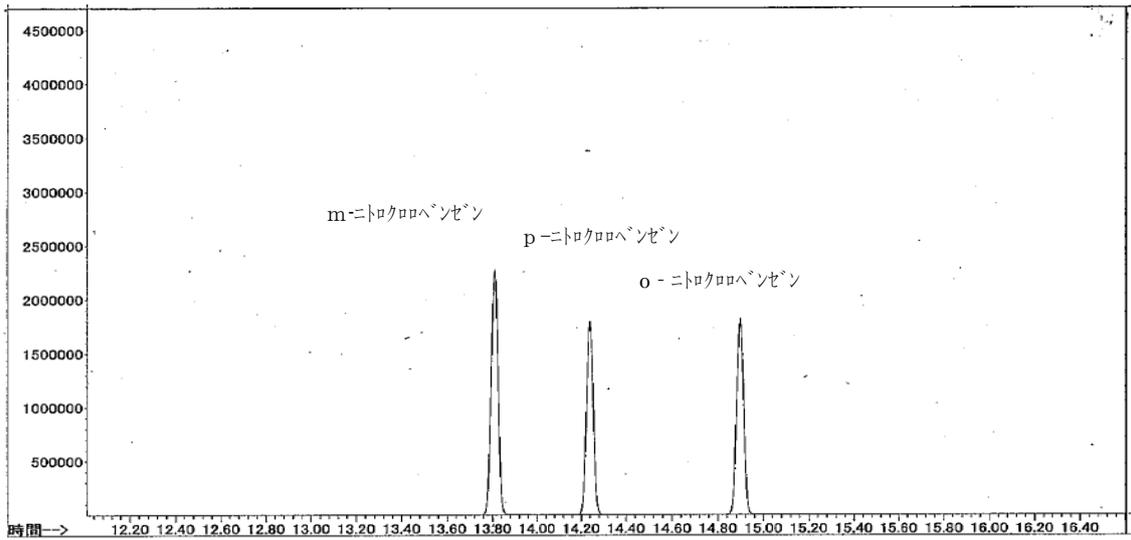


図2 ニトロクロロベンゼン異性体のクロマトグラム

6. 検量線

パラ-ニトロクロロベンゼンを、内標準物質(ニトロベンゼン-d5)入りアセトンで希釈し、液列を作成した。(表4、図3)

検量線の直線性について確認を行った結果、良好な直線性が得られた。

表4 パラ-ニトロクロロベンゼン標準液列

0.023~46.36 $\mu\text{g/mL}$

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	I. S. 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	面積	I. S. 面積	面積比	濃度比
0.023	5.0	2476	1268548	0.002	0.005
0.43	5.0	50529	1389204	0.036	0.086
1.85	5.0	214441	1447789	0.148	0.370
4.63	5.0	528430	1431300	0.369	0.926
27.80	5.0	2903407	1409170	2.06	5.56
46.36	5.0	4416390	1373092	3.22	9.27

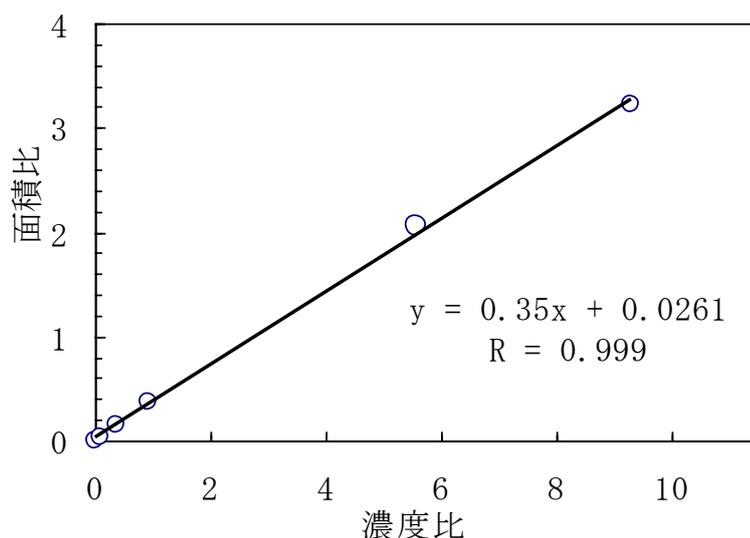


図3 パラ-ニトロクロロベンゼン検量線

7. 検出下限および定量下限

検量線作成で調製したパラ-ニトロクロロベンゼン標準溶液の最低濃度 0.023 $\mu\text{g/mL}$ (二次評価値の 1/1000 に相当) を 5 サンプル分析し、標準偏差 (SD) を算出した。得られた標準偏差の 3 倍を検出下限値 (LOD) とした。また、得られた標準偏差の 10 倍を定量下限値 (LOQ) とした。(表 5)

表 5 検出下限(LOD)と定量下限(LOQ)および気中濃度の定量下限

SD ($\mu\text{g/Sample}$)	0.00015
LOD ($\mu\text{g/Sample}$)	0.00045
LOQ ($\mu\text{g/Sample}$)	0.00152
パラ-ニトロクロロベンゼン量	0.00076 ($\mu\text{g/mL}$)
72 L 採取時の気中濃度の定量下限	0.0033 (ppb)

また、以下に分析方法の定量下限を示す。(表 6)

表 6 分析方法の定量下限

パラ-ニトロクロロベンゼン量	0.0232 ($\mu\text{g/mL}$)
72 L 採取時の気中濃度の定量下限	0.100 (ppb)

8. 添加回収率

3-2 の操作手順に従い、GC-MS 測定にて添加回収率を求めた。その結果、全ての濃度において回収率 95-102%、RSD(%)は 10%以内となった。(表 7)

表 7 パラ-ニトロクロロベンゼンの添加回収率

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	
0.04636	0.0001	目標濃度 (二次評価値 1/1000)	95	1.0	1.1
46.36	0.1	二次評価値 (許容濃度)	102	4.5	4.4
92.72	0.2	二次評価値 $\times 2$ (許容濃度 $\times 2$)	95	1.8	1.9

また、追加試験として、シリカゲルチューブに目的の濃度を直接添加し、流量 0.2 L/min と 1.0 L/min で 4 時間通気させ、同方法にて添加回収率を求めた。その結果、両流量の条件で、目標濃度、二次評価値×2 において 95%~108%の回収率を得ることができた。このことから流量 0.2 L/min~1.0 L/min の間では後層に破過することなく、良好な回収率が得られることが確認できた。

9. 保存安定性

3-2 の操作手順に従い試料を調整し、4℃の冷蔵庫で 0 日、1 日、3 日、5 日間保存した。保存後、回収率測定時と同様の脱着方法で試料を作成し、GC-MS 測定で保存性を求めた。その結果、すべての濃度において、ほぼ 100%の回収率が確認された。(表 8)

表 8 パラ-ニトロクロロベンゼンの保存安定性

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	保存率 (%) n=3		RSD (%)
				Mean	SD	
0.04636	0.0001	目標濃度 (二次評価値 1/1000)	0	102	0.0	0.0
			1	101	4.1	4.1
			3	99	0.2	0.3
			5	100	0.9	0.9
46.36	0.1	二次評価値 (許容濃度)	0	102	1.0	1.0
			1	103	1.3	1.2
			3	105	0.6	0.5
			5	105	0.2	0.2
92.72	0.2	二次評価値×2 (許容濃度×2)	0	103	1.1	1.0
			1	100	4.1	4.1
			3	103	0.7	0.7
			5	101	4.3	4.3

10. まとめ

10-1 個人ばく露濃度測定法

本研究では、公定法を引用し作業環境中のパラ-ニトロクロロベンゼン濃度を定量する方法を検討した。

目標濃度(二次評価値の 1/1000)の回収率は精度、感度ともに良く測定できることが確認できた。また、分析の定量下限値は 0.100 ppb であるため、4 時間の個人ばく露濃度測定の目標濃度 (0.0001 ppm)まで測定可能と考えられる。保存安定性の確認においては、全濃度において 5 日目までは十分な保存ができることが確認できた。

結論として、本測定方法によって個人ばく露濃度は十分な精度と手法をもって測定することが可能であると考えられる。

10-2. 作業環境中のパラ-ニトロクロロベンゼン濃度測定への適用

72 L(0.3 L/min)採気中のパラ-ニトロクロロベンゼン濃度の定量下限は 0.100 ppb であった。一方、作業環境中の A 測定、B 測定の採気時間を 10 分間とすると全採気量は 3.0 L (0.3 L/min × 10 min)となり、この場合の定量下限は 2.4 ppb となる。この値は許容濃度 0.1 ppm の 1/10 以下であり、作業環境中の測定への応用も可能と考えられる。

1 1. 参考文献

- 1) CERI 有害性評価書 p-ニトロクロロベンゼン 2-16 項 財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所 H18 年 3 月発行
- 2) 職場のあんぜんサイト 製品安全データシート パラ-ニトロクロロベンゼン 1-5 項
- 3) NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)2005 NITROAROMATIC COMPAOUNDS
- 4) 作業環境測定ガイドブック 3 特定化学物質関係 3026 パラ-ニトロクロロベンゼン 302-309 項 日本作業環境測定協会 平成 25 年 8 月 29 日 第 2 刷

(別紙) パラ - ニトロクロロベンゼン 標準測定分析法

化学式: C ₆ H ₄ ClNO ₂ 分子量:157.55 CASNo:100-00-5	
許容濃度等:	物性等
OSHA 0.16ppm (1.03mg/m ³)	沸点: 242℃
日本産業衛生学会 0.1ppm (0.64mg/m ³)	融点: 80-84℃
ACGIH 0.1ppm (0.644mg/m ³)	蒸気圧: 0.0219 mmHg(25℃)
	形状: 固体
別名: 4-クロロニトロベンゼン、1-クロロ-4-ニトロベンゼン、P-クロロニトロベンゼン	
サンプリング	分析
サンプラー: シリカゲルチューブ (スタンダード型)	分析方法: GC-MS 質量分析法
サンプリング流量: 0.3L/min	脱着溶媒: アセトン 超音波脱着 20 分間
サンプリング時間: 4 時間 (72L)	内部標準物質(I.S.): ニトロベンゼン-d5
保存性: すべての濃度において、冷蔵保存で 5 日 間までは変化がないことを確認	機器: Agilent 7890A GCSystem/5975C interMSD
精度	カラム: DB-Wax (0.25mm×30m×0.25μm)
回収率; 添加量	注入口温度: 240℃
添加回収率 0.04636μg 添加 -95%	インターフェイス温度: 240℃
43.04μg 添加 -102%	MS イオン源温度: 230℃
92.72μg 添加 -95%	カラム温度条件: 50℃(2min)-10℃/min-250℃ (5min)
検出下限 (3SD)	注入量: 1.0μL
0.00022μg/mL	注入法: スプリットレス
0.00096ppb (採気量; 72L)	定量イオン; m/z 111 確認イオン; m/z 157
定量下限 (10SD)	I.S.イオン; m/z 82 確認イオン; m/z 128
0.00076μg/mL	検量線: 低濃度 (0.011-0.46μg/mL)
0.0033ppb (採気量; 72L)	高濃度 (4.64-55.6μg/mL)
	上記、各範囲で直線性が得られている。
	定量法: 内標準検量線法
適用: 個人ばく露濃度測定、作業環境測定 ただし蒸気状物質に限る	
妨害: -	
参考文献:	
1) CERI 有害性評価書 p-ニトロクロロベンゼン 2-16 項 財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所 H18 年 3 月発行	
2) 職場のあんぜんサイト 製品安全データシート パラ-ニトロクロロベンゼン 1-5 項	
3) NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)2005 NITROAROMATIC COMPOUNDS	
4) 作業環境測定ガイドブック 3 特定化学物質関係 3026 パラ-ニトロクロロベンゼン 302- 309 項 日本作業環境測定協会 平成 25 年 8 月 29 日 第 2 刷	

作成日; 平成 27 年 2 月 27 日