

1-ナフチル-N-メチルカルバメートの測定・分析手法に関する検討結果報告書

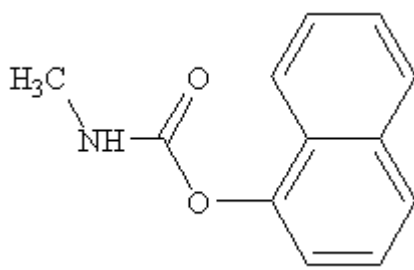
1. はじめに.....	1
2. 文献調査.....	1
3. 予備検討.....	2
4. 捕集および分析条件.....	3
4-1. 試薬.....	3
4-2. HPLC 測定条件.....	4
4-3. 捕集方法.....	4
5. ブランク.....	6
6. 光分解の確認.....	6
7. 破過.....	7
8. 脱着率.....	7
9. 検量線.....	8
10. 検出下限および定量下限.....	9
11. 添加回収率（通気試験）.....	9
12. 保存性.....	10
13. まとめ.....	11
14. 参考文献.....	11

(別紙) 1-ナフチル-N-メチルカルバメート (NAC) 標準測定分析法

1. はじめに

1-ナフチル-N-メチルカルバメート (NAC) は、カルバメート系殺虫剤であり、農薬や動物用医薬品として用いられている。表1に物理化学的性状および許容濃度を示す。外観は白色結晶。可燃性であり、燃焼や加熱により窒素酸化物などの有害なヒュームを生じる。蒸気圧は 4.16×10^{-5} Pa (23.5 °C) である。水に微溶であり、アセトン、酢酸エチルおよび n-ヘプタンに可溶である¹⁾。

表1 1-ナフチル-N-メチルカルバメートの物理化学的性状

CAS No.	63-25-2	
別名	1-ナフチル-N-メチルカーバメート、カルバリル、NAC	
用途	農薬、動物用医薬品	
構造式		
分子式/分子量	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201.22
物性	比重 (密度)	1.232 (20°C)
	融点	142°C
	沸点	210 ± 2°C
	蒸気圧	4.16×10^{-5} Pa (23.5°C)
	形状	白色結晶、黄白色粉末
許容濃度等	日本産業衛生学会	5 mg/m ³ (2005 年)
	OSHA	PEL-TWA 5 mg/m ³ (2004 年)
	NIOSH	REL-TWA 5 mg/m ³ (2016 年)
	ACGIH	TLV-TWA 5 mg/m ³ (2007 年)

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。日本産業衛生学会、OSHA、NIOSH および ACGIH とともに 5 mg/m³ に設定している¹⁾。そこで、暫定 2 次評価値 (E) を 5 mg/m³ とし 1/1000E から 2E の範囲の濃度における捕集および分析方法についての検討を行った。

2. 文献調査

現在、NAC の測定およびその分析方法に関する公定法として、OSHA Method No.63 が示されている。捕集方法は、OVS-2 チューブ (ガラス繊維フィルター、XAD-2 吸着剤 270 mg+140 mg) を用い、1 L/min で空気を 60 分間吸引した固体捕集方法が採用されており、アセトニトリル 2 mL による脱着後、HPLC-UV (280 nm) で測定している²⁾。

3. 予備検討

OSHA Method No.63 は、HPLC-UV (280 nm) にて 55%アセトニトリル移動相を用いたアイソクラティック溶離を採用している。本検討では、ばく露実態調査において作業環境中に NAC 以外のカルバメート系殺虫剤が共存捕集されることを想定し、グラジエント溶離による分離条件の検討を行った。表 2 に共存捕集されることを想定したカルバメート系殺虫剤を示した。

表 2 予備検討に用いたカルバメート系殺虫剤

試薬名	メーカー	グレード	純度	Cat.No.
NAC 標準物質	和光純薬工業(株)	残留農薬用	99.8%	144-09031
オキサミル	GL サイエンス(株)	—	98.0%	1021-34237
メチオカルブスルホキシド標準品	和光純薬工業(株)	残留農薬用	98.0%	135-12191
メチオカルブスルホン標準品	和光純薬工業(株)	残留農薬用	98.0%	131-12171
アルジカルブ標準品	和光純薬工業(株)	残留農薬用	98.0%	012-14111
ベンダイオカルブ	GL サイエンス(株)	—	98.0%	1021-34230
エチオフェンカルブ	和光純薬工業(株)	残留農薬用	99.0%	051-04033
ピリミカーブ標準品	和光純薬工業(株)	残留農薬用	99.0%	164-14803
BPMC 標準品 (フェノブカルブ)	和光純薬工業(株)	残留農薬用	98.0%	023-06773
メチオカルブ	GL サイエンス(株)	—	98.0%	1021-34275
ベノミル	和光純薬工業(株)	残留農薬試験用	98.0%	028-18411

1) 分離検討カルバメート系殺虫剤標準溶液

各カルバメート系殺虫剤を 10 mg 秤量し、メタノールで溶解後、全量 10 mL に定容し 1000 µg/mL の標準溶液原液を調製した。この標準原液をメタノールで 10 倍に希釈し、100 µg/mL の標準溶液を調製した。

2) HPLC 測定条件

装置および HPLC 条件を表 3 に示す。検出器は DAD を使い、低濃度範囲は波長 220 nm、高濃度範囲は波長 280 nm の 2 波長抽出による測定を行った。

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. × 250 mmL, 5 µm) 日立ハイテクサイエンス製
移動相	(A)5%メタノール/(B)メタノール 35%B(0 - 1 min)→ 80%B(1 - 10 min)→ 80%B(10 - 13 min)→ 35%B(13.1 - 20 min)
流速	1.0 mL/min
カラム温度	40°C
検出器 (DAD)	波長範囲 : 200 ~ 400 nm、応答速度 : 1 s、収集間隔 : 400 ms 抽出波長 : 低濃度 220 nm (バンド幅 10 nm)、高濃度 280 nm (バンド幅 10 nm)
試料注入量	1 µL

表 3 の HPLC 条件にてカルバメート系殺虫剤 (11 成分) を測定し、NAC と分離について確認

した。

図1に各抽出波長のクロマトグラムを示す。NACは、他のカルバメート系殺虫剤10成分のピークと完全に分離し、当該カルバメート系殺虫剤が共存捕集されても測定に影響は無い事を確認した。

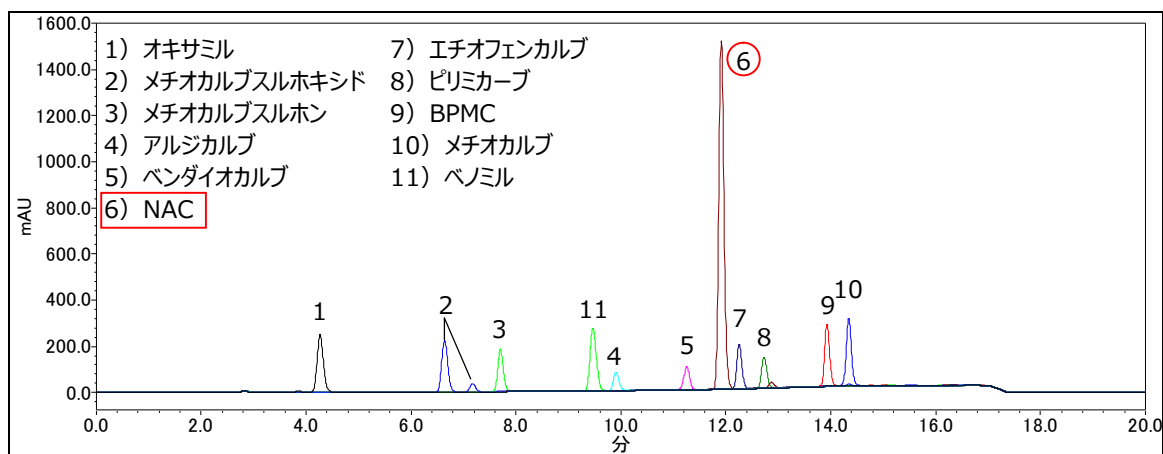


図1-1 抽出波長 220 nm のカルバメート系殺虫剤クロマトグラム

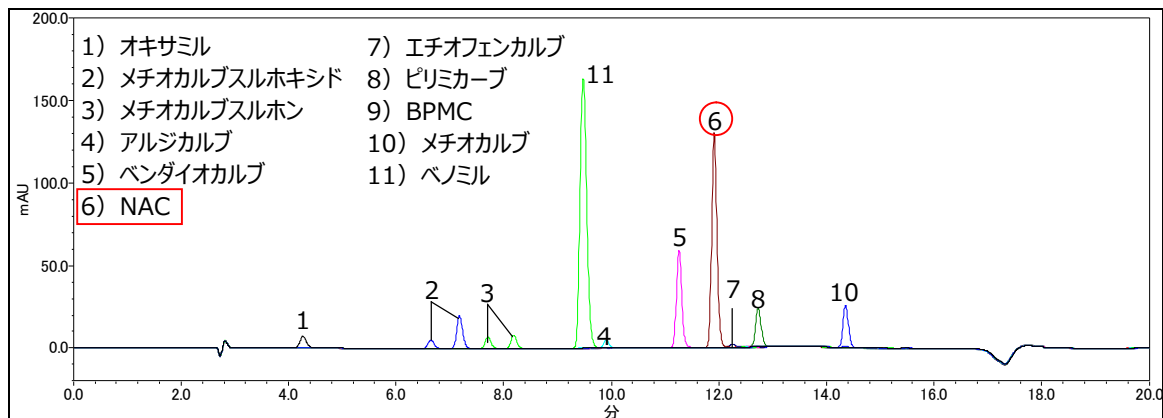


図1-2 抽出波長 280 nm のカルバメート系殺虫剤クロマトグラム

4. 捕集および分析条件

4-1. 試薬

表4 試薬詳細

試薬名	メーカー	グレード	純度	Cat.No.
NAC 標準物質	和光純薬工業(株)	—	99.8 %	144-09031
メタノール	和光純薬工業(株)	HPLC 用	99.7 %	132-06471
アセトン	和光純薬工業(株)	HPLC 用	99.7 %	014-08681

1) 検量線作成用 NAC 標準溶液

NAC を 10 mg 秤量し、メタノールで溶解の後、全量 10 mL に定容し 1000 µg/mL の NAC 標準溶液原液を調製した。この標準原液をメタノールで段階的に希釈し、検量線作成用 NAC 標準溶液を調製した。標準溶液の保存は、褐色バイアル瓶で密閉し冷蔵保存 (4°C) とした。

2) 捕集試験用 NAC 標準溶液

NAC 標準物質を 50.03 mg 秤量し、アセトンで溶解の後、全量 10mL に定容し 5003 µg/mL の捕集試験用 NAC 標準原液を調製した。この標準原液をアセトンで段階的に希釈し、500.3 µg/mL、5.003 µg/mL の標準溶液を調製した。標準溶液の保存は、褐色バイアル瓶で密閉し冷蔵保存 (4°C) とした。

4-2. HPLC 測定条件

装置および HPLC 条件を表 5 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 5 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.× 250 mmL、5 µm) 日立ハイテクサイエンス製
移動相	(A)5%メタノール/(B)メタノール 35%B(0-1 min)→ 80%B(1-10 min)→ 80%B(10-13 min)→ 35%B(13.1-20 min)
流速	1.0 mL/min
カラム温度	40°C
検出器 (DAD)	波長範囲 : 200 ~ 400 nm、応答速度 : 1 s、収集間隔 : 400 ms 抽出波長 : 低濃度 220 nm (バンド幅 10 nm)、高濃度 280 nm (バンド幅 10 nm)
試料注入量	25 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.63 では、サンプラーに OVS-2 チューブ (ガラス繊維フィルター、XAD-2 吸着剤 270mg+140mg) を用い、1 L/min で空気吸引している。本検討では、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) サンプラーを採用した (図 2)。脱着溶媒はメタノールを用い、バックフラッシュ法にてメタノールを通液した。

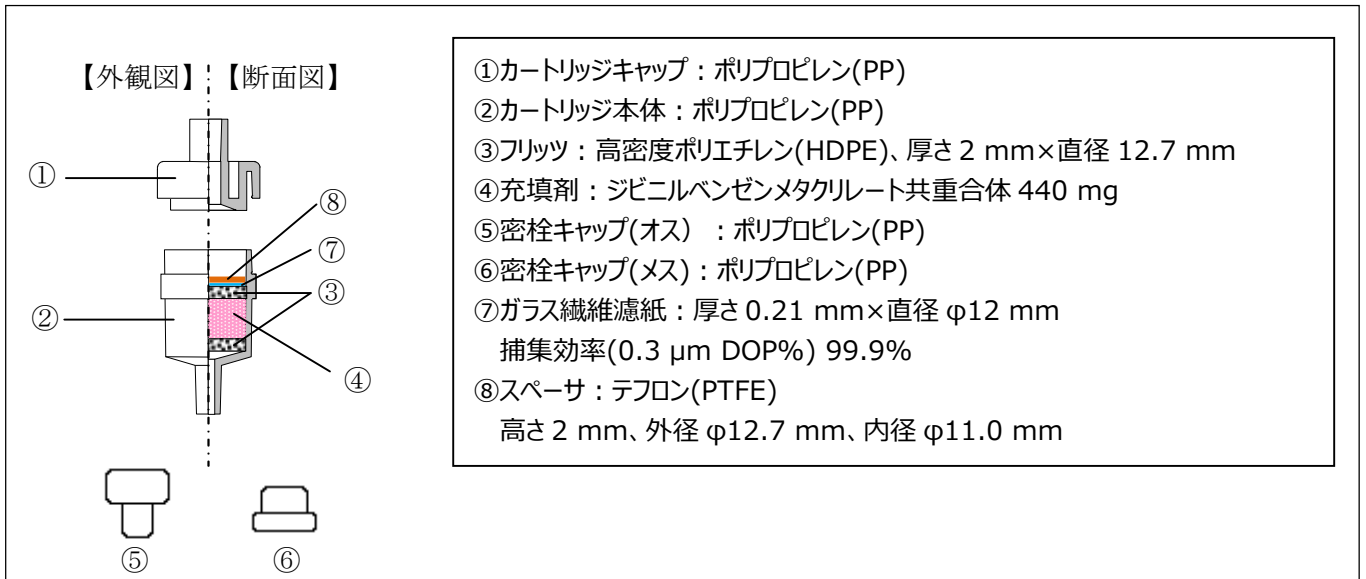


図2 NOBIAS RP-SG1WA の構造と材質

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。捕集試験用 NAC 標準溶液を 1/1000E (5.003 μg/mL を 50 μL)、1/10E (500.3 μg/mL を 50 μL)、2E (5003 μg/mL を 100 μL) になるよう SG1WA のガラス繊維濾紙に直接添加した。15 分間放置して溶媒を気化させてから室内空気を 0.2 L/min (面速度 20.1 cm/s) で 240 分間吸引した。脱着溶媒はメタノールを用い、バックフラッシュ法にてメタノールを通液し、PP 製 15 mL 遠沈管の目盛りで 10 mL に定容した。

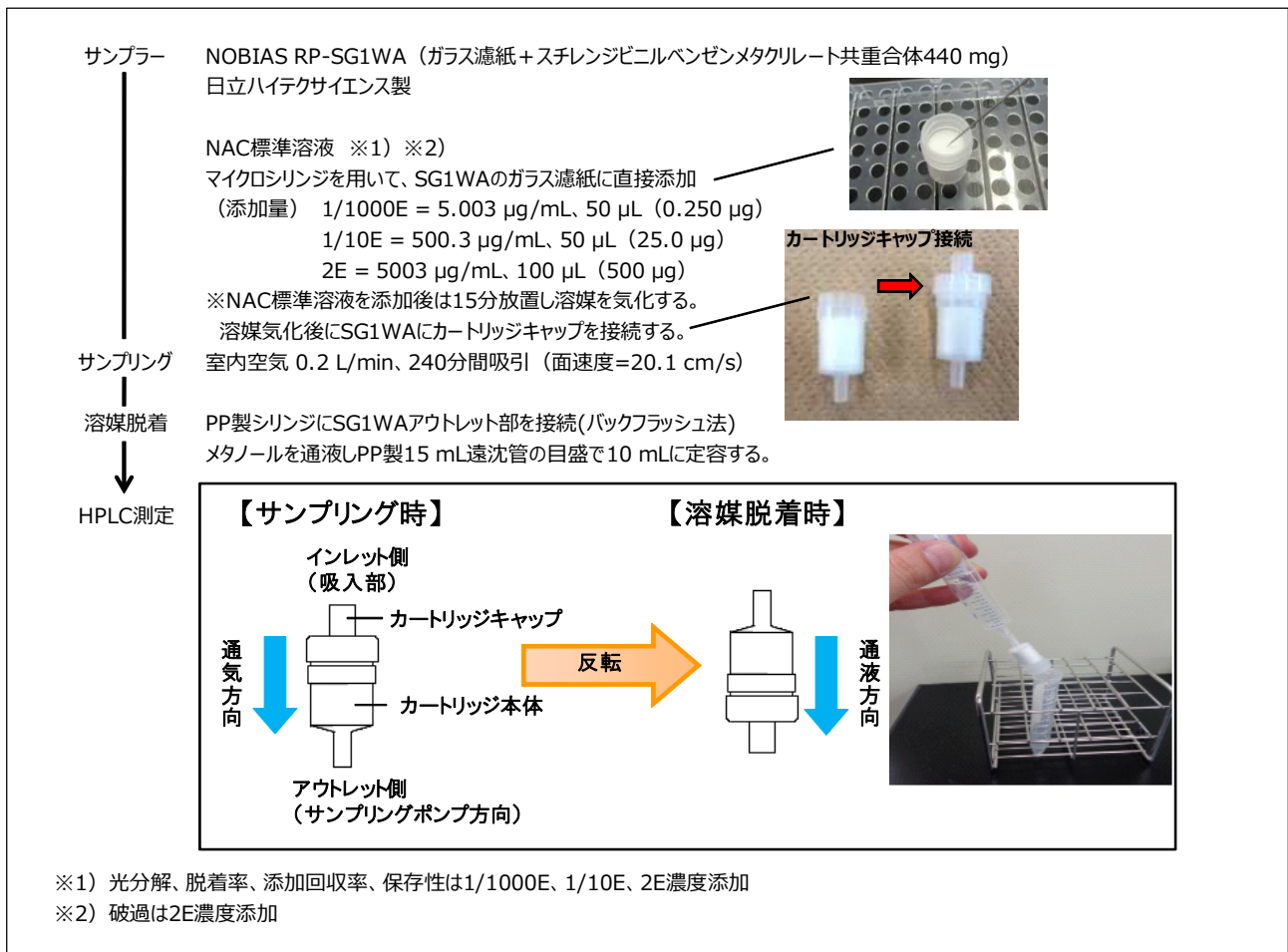
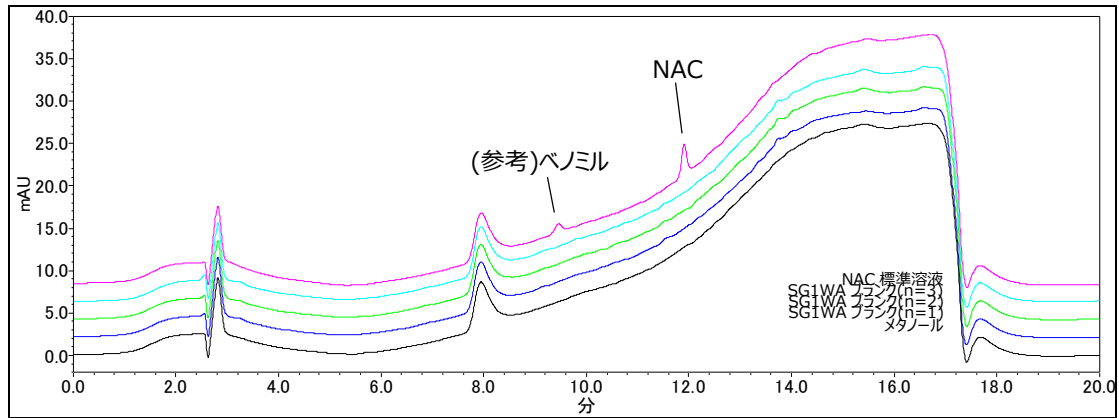


図3 基本捕集操作 (添加回収試験) フロー

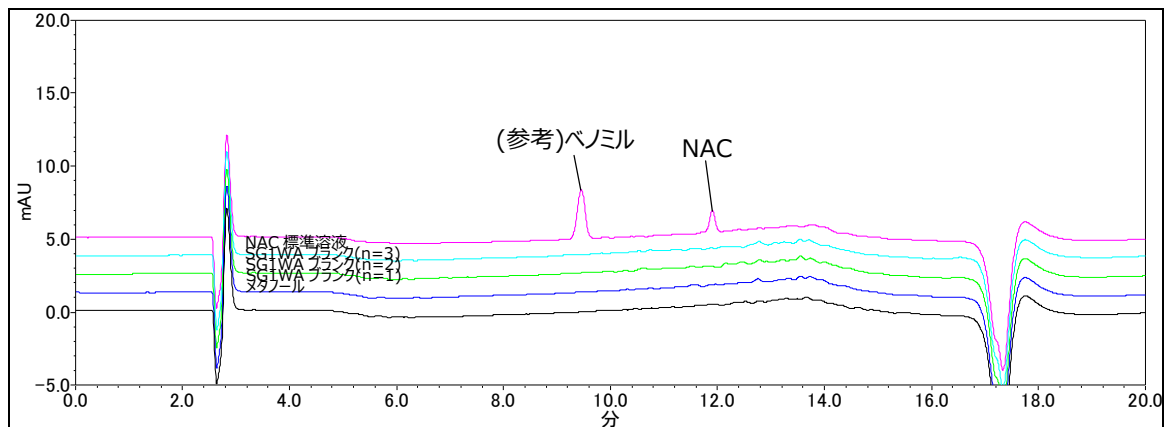
5. ブランク

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 10 mL に定容し、ブランク溶液とした。図 4 に各波長による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、NAC 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。



(保持時間確認：NAC 標準溶液 0.05 $\mu\text{g/mL}$)

図 4-1 SG1WA ブランク溶液のクロマトグラム (抽出波長 220 nm)



(保持時間確認：NAC 標準溶液 0.25 $\mu\text{g/mL}$)

図 4-2 SG1WA ブランク溶液のクロマトグラム (抽出波長 280 nm)

6. 光分解の確認

サンプリングによる NAC の光分解の有無を確認した。1/1000E、1/10E、2E になるよう SG1WA のガラス繊維濾紙に NAC 標準溶液を直接添加し、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を準備し、光の遮へい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 の基本捕集操作フローに準じて行った。表 6 に光分解試験結果を示す。光の遮へい無し場合、遮へい有りの場合と比べて、1/1000E は 8.9 %、1/10E は 4.3 %、2E は 2.5 % の回収率低下が確認された。この結果より、以降の検討は 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6 光分解試験結果 (n=3)

室温 23.5~26.4℃、湿度 34.7~67.0%

通気量 (L)	添加量 (μg)		遮光	サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0.250	1/1000E	有り	n=3	0.243	97.2	2.53	2.61
			無し		0.221	88.3	3.45	3.91
	25.0	1/10E	有り		24.2	96.7	1.29	1.33
			無し		23.1	92.4	2.14	2.32
	500	2E	有り		491	98.1	0.70	0.71
			無し		478	95.6	2.15	2.25

7. 破過

破過試験は、SG1WAを2個直列に接続し、NAC標準溶液を2E濃度になるよう前側のSG1WAのガラス繊維濾紙に直接添加し、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1層目（前側）、2層目（後側）は別々に脱着操作を行った。表7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7 破過試験結果 (n=2)

室温 23.5~26.4℃、湿度 34.7~67.0%

サンプルNo.	捕集量 (L)	添加量 (μg)		SG1WA 1層目 (前側)		SG1WA 2層目 (後側)	
				定量値 (μg)	回収率 (%)	定量値 (μg)	回収率 (%)
1	48	500	2E	481	96.2	0.0	0.0
2				501	100.2	0.0	0.0

8. 脱着率

脱着率試験は、NAC標準溶液を1/1000E、1/10E、2E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、冷蔵庫(4℃)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8に脱着率試験結果を示す。脱着率試験の回収率は、94.0~99.0%であり全ての濃度範囲において90%以上を示した。

表8 脱着率試験結果 (n=5)

室温 23.5~26.4℃、湿度 34.7~67.0%

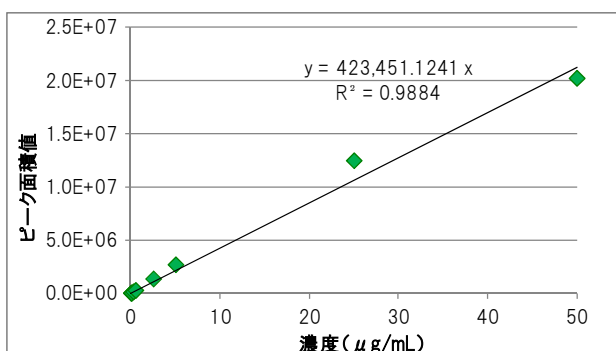
捕集量 (L)	添加量 (μg)		サンプル数	定量値 (μg)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
2	0.250	1/1000E		(n=5)	0.240	95.8	2.14
	25.0	1/10E	23.5		94.0	1.45	1.55
	500	2E	495		99.0	0.91	0.92

9. 検量線

検量線は、1/1000E (NAC 標準溶液濃度 0.025 $\mu\text{g/mL}$) から 2E (NAC 標準溶液濃度 50 $\mu\text{g/mL}$) の濃度範囲の NAC 標準溶液を使用した。表 9 にピーク面積値、図 5 には検量線、図 6 にクロマトグラムを示す。測定波長 220 nm では 0.025~50 $\mu\text{g/mL}$ の広範囲濃度の寄与率 (R^2) は 0.9884 となり良好な直線性を得ることは困難であった。そこで、低濃度範囲を波長 220 nm、高濃度範囲は波長 280 nm として 2 波長抽出による検量線を作成した。波長 220 nm 低濃度用検量線 0.025~5 $\mu\text{g/mL}$ の寄与率 (R^2) は 1.0000、波長 280 nm 高濃度用検量線 0.25~50 $\mu\text{g/mL}$ の寄与率 (R^2) は 1.0000 であった。

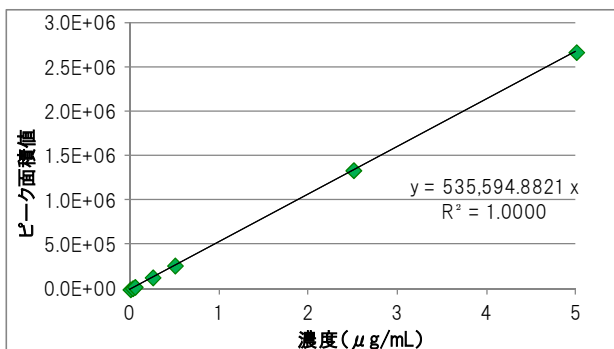
表 9 ピーク面積値

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	0.025	0.05	0.25	0.5	2.5	5	25	50
220 nm [低濃度範囲]	12576	27036	134640	268522	1343502	2675609	12441081	20174357
280 nm [高濃度範囲]	N.D.	N.D.	11042	23978	114233	228354	1155553	2316000



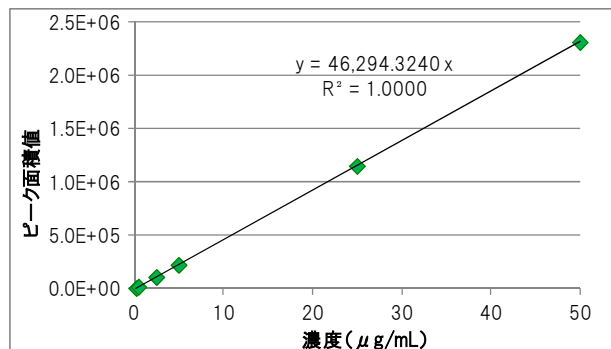
(広範囲濃度 0.025-50 $\mu\text{g/mL}$)

図 5 - 1 測定波長 220nm 検量線



(低濃度用 0.025-5 $\mu\text{g/mL}$)

図 5 - 2 測定波長 220nm 検量線



(高濃度用 0.25-50 $\mu\text{g/mL}$)

図 5 - 3 測定波長 280nm 検量線

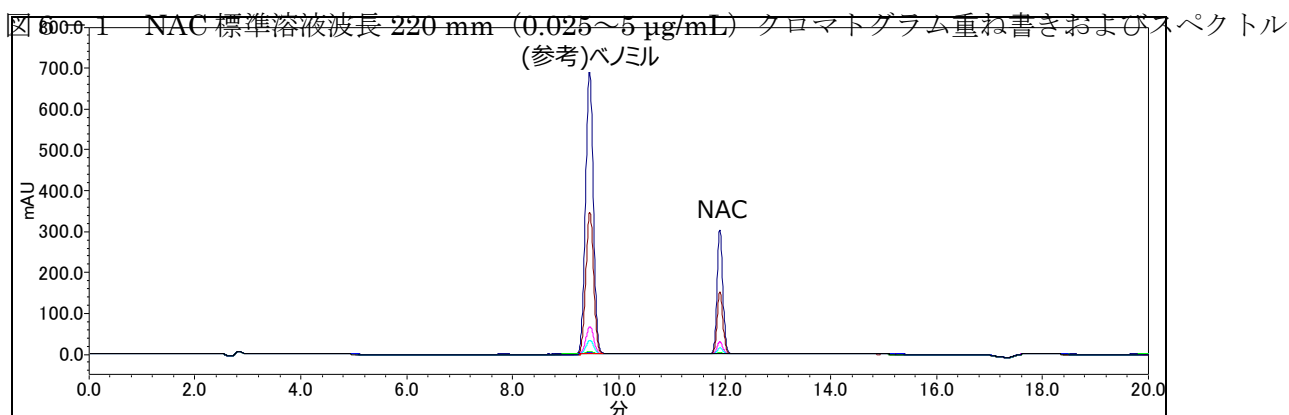
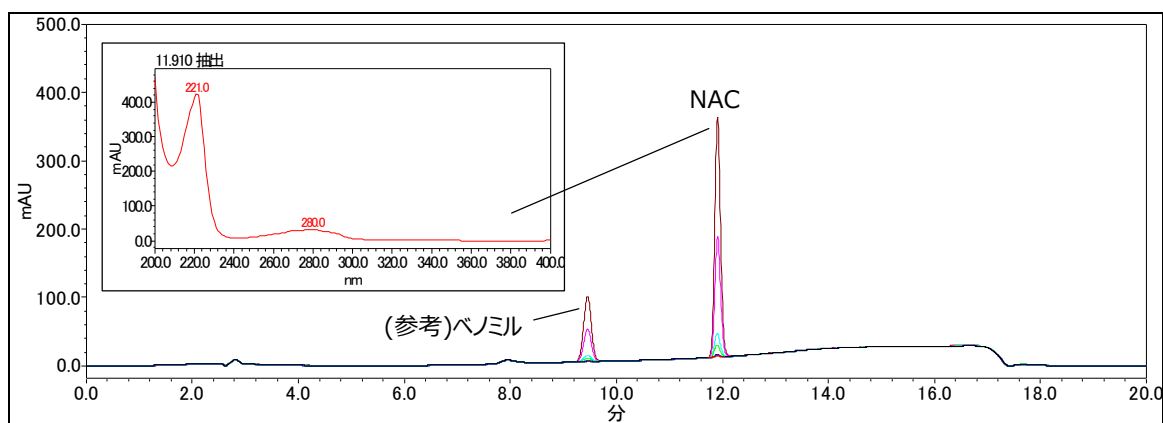


図 6 - 2 NAC 標準溶液波長 280 nm (0.25~50 µg/mL) クロマトグラム重ね書き

10. 検出下限および定量下限

1/1000E 濃度となる NAC 標準溶液 0.025 µg/mL を 6 検体測定し、定量値の標準偏差から検出限界 (3SD) および定量下限 (10SD) を求めた。繰り返し測定による定量値の変動係数は 2.312 %、検出限界は 0.0015 µg/mL、定量下限は 0.0052 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 0.001076 mg/m³ であり、許容濃度 TLV-TWA 5 mg/m³ の 1/4646 となった (表 10)。

表 10 検出限界および定量下限

	検出限界 (3SD)	定量下限 (10SD)
溶液濃度 (µg/mL)	0.0015	0.0052
48 L 通気による気中濃度 (mg/m ³)	0.000323	0.001076

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。NAC 標準溶液は、1/1000E、1/10E、2E になるよう SG1WA のガラス繊維濾紙に直接添加し、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 1 1 に添加回収率（通気試験）結果を示す。添加回収率は、96.7～98.1%であり全ての濃度範囲において 90%以上を示した。

表 11 添加回収率（通気試験）結果（n=3）

室温 23.5～26.4℃、湿度 34.7～67.0%

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	0.250	1/1000E	n=3	0.243	97.2	2.53	2.61
	25.0	1/10E		24.2	96.7	1.29	1.33
	500	2E		491	98.1	0.70	0.71

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。サンプリング後は、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冷蔵庫（4℃）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 12、図 7 に保存性試験結果を示す。全ての濃度および保存日数において保存率は 90%以上を示し、7 日間保存できる事を確認した。

表 1 2 保存性試験結果（n=3）

室温 23.5～26.4 °C、湿度 34.7～67.0 %

添加量 0.250 μg (1/1000E)							
捕集量 (L)	保存日数 (日)	サンプル数	定量値 (μg)	保存率 (%)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0	n=3	0.243	100.0	97.2	2.53	2.61
	1		0.241	99.2	96.4	3.12	3.24
	3		0.239	98.3	95.5	1.67	1.75
	7		0.239	98.1	95.4	2.53	2.65
添加量 25.0 μg (1/10E)							
捕集量 (L)	保存日数 (日)	サンプル数	定量値 (μg)	保存率 (%)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0	n=3	24.2	100.0	96.7	1.29	1.33
	1		24.2	99.8	96.5	2.70	2.79
	3		24.1	99.6	96.3	1.67	1.73
	7		23.5	96.9	93.7	2.82	3.01
添加量 500 μg (2E)							
捕集量 (L)	保存日数 (日)	サンプル数	定量値 (μg)	保存率 (%)	回収率 (%)	標準偏差 (σ)	変動係数 (C.V.%)
48	0	(n=3)	491	100.0	98.1	0.70	0.71
	1		487	99.3	97.4	1.31	1.34
	3		490	99.8	97.9	2.04	2.09
	7		492	100.2	98.3	1.04	1.06

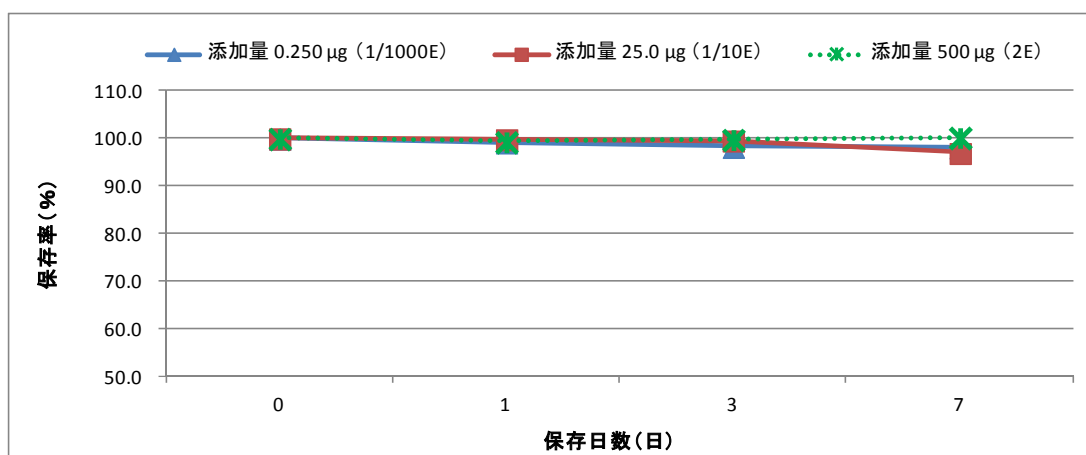


図7 0~7日間の保存性試験結果

1.3. まとめ

本検討の結果、本法は個人ばく露濃度測定手法として 1/1000E から 2E となる 0.005 から 10 mg/m³ の濃度範囲を分析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「1-ナフチル-N-メチルカルバメート (別名カルバリル)」2006年8月21日改定、厚生労働省
<http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/0073.html>, 参照 2017/1/16.
- 2) Occupational Safety and Health Administration (OSHA) : Carbaryl (Sevin) Method 63 (1987)
<https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org063/org063.html>, 参照 2017/1/16.

(別紙)

1-ナフチル-N-メチルカルバメート (NAC) 標準測定分析法

化学式 : C ₁₂ H ₁₁ NO ₂		分子量 : 201.22	CASNo : 63-25-2
許容濃度等 : ACGIH : TLV-TWA : TWA 5 mg/m ³ NIOSH : REL-TWA : TWA 5 mg/m ³ OSHA : PEL-TWA : TWA 5 mg/m ³ 日本産業衛生学会 : 5 mg/m ³		物性等 沸点 : 210±2 °C 融点 : 142 °C 蒸気圧 : 4.16×10 ⁻⁵ Pa (23.5 °C) 形状 : 白色結晶。黄白色粉末	
別名 : 1-ナフチル-N-メチルカーバメート、カルバリル、NAC			
サンプリング		分析	
サンプラー : NOBIAS RP-SG1WA (日立ハイテクサイエンス製)、ガラス繊維濾紙入り、ジビニルベンゼンメタクリレート共重合体 440 mg、 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) ※サンプリング時は、SG1WA をアルミホイルで覆い光を遮へいする。 保存性 : 添加量 0.250 µg、25.0 µg、500 µg において冷蔵保存 (4°C) で少なくとも 7 日間までは変化がない事を確認。		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 10 mL 脱着操作 : バックフラッシュ法 検量線作成用 NAC 標準溶液 : NAC 標準物質を 10 mg 秤量し、メタノールで溶解後、全量 10 mL に定容する (1000 µg/mL)。この標準原液をメタノールで段階的に希釈する。 分析条件 : 機器 : Chromaster (日立ハイテクサイエンス製) カラム : LaChrom II C18 (4.6 mmI.D.×250 mmL, 5 µm) (日立ハイテクサイエンス製) カラム温度 : 40°C 移動相 : (A) 5%メタノール/(B)メタノール 35%B(0 - 1 min)→ 80%B(1 - 10 min)→ 80%B(10 - 13 min)→ 35%B(13.1 - 20 min) 流速 : 1.0 mL/min 検出器 : DAD (200~400 nm) 抽出波長 : 低濃度 220 nm、高濃度 280 nm 試料注入量 : 25 µL 検量線 : 低濃度 220 nm : 0.025~5 µg/mL (R ² =1.0000) 高濃度 280 nm : 0.25~50 µg/mL (R ² =1.0000) 定量法 : 絶対検量線法 ※分析法バリデーションを行う場合 捕集試験用 NAC 標準溶液 : NAC 標準物質を 50 mg 秤量し、アセトンで溶解後、全量 10 mL に定容し (5000 µg/mL) この標準原液をアセトンで段階的に希釈する。	
精度			
脱着率 ; 添加量	0.250 µg の場合	95.8 %	
	25.0 µg	94.0 %	
	500 µg	99.0 %	
回収率 ; 添加量	0.250 µg の場合	97.2 %	
(4 時間)	25.0 µg	96.7 %	
	500 µg	98.1 %	
定量下限 (10SD)		0.0052 µg/mL 0.001076 mg/m ³	
検出限界 (3SD)		0.0015 µg/mL 0.000323 mg/m ³	
適用 : 個人ばく露濃度測定、作業環境測定			
妨害 : なし			
文献 : 1)厚生労働省 職場の安全サイト GHS モデル SDS 情報 2)Occupational Safety and Health Administration(OSHA) : Carbaryl Method 63(1987)			

作成日 ; 平成 29 年 2 月 10 日