

平成 25 年度ばく露実態調査対象物質の測定分析法（案）

平成 25 年度にばく露実態調査を予定している物質のうち測定分析法の承認を受けていない下記の物質

- 1-1 4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド
- 1-2 2-エチルヘキサン酸
- 1-3 エチレングリコールモノメチルエーテルアセテート
- 1-4 エチレンクロロヒドリン
- 1-5 グルタルアルデヒド
- 1-6 タリウムおよびその水溶性化合物
- 1-7 デカボラン
- 1-8 2-ブロモプロパン
- 1-9 ペンタボラン
- 1-10 メタクリロニトリル
- 1-11 リン化水素
- 1-12 アジピン酸
- 1-13 アセトニトリル
- 1-14 イプシロン-カプロラクタム
- 1-15 1,2-ジクロロプロパン
- 1-16 1-ブロモブタン
- 1-17 一酸化二窒素
- 1-18 ナノ粒子酸化チタン
- 1-19 多層カーボンナノチューブ（MWCNT）とカーボンブラック

4,4'-ジアミノジフェニルスルフィドの測定手法検討結果

1. はじめに

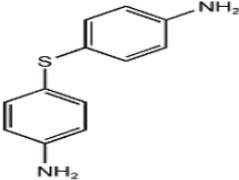
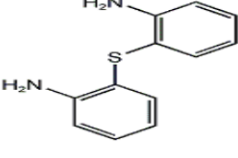
4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド (別名: 4,4'-チオジアニン、以下、4,4'-DADPS) の用途は、ポリイミド合成原料 (東京化成工業 MSDS) 等であり、毒性は IARC、日本産業衛生学会で 2B とされている。

表-1 に構造式と物性を示した。併せて、異性体である 2,2'-ジアミノジフェニルスルフィド (以下、2,2'-DADPS) についても示した。

測定手法検討は昨年度に実施された。しかし、分析法としては HPLC を用いた良好な分析法を開発できたが、ろ過捕集法の予備検討としてフィルターを用いた添加回収試験を行った結果が良好ではなかった。

本年度は、昨年度開発した分析法を用いて、ろ紙を用いた添加回収試験の再確認、捕集法・分析法の再検討、新たに検討した方法による添加回収試験、保存性試験を実施した。

表-1. 4,4'-及び 2,2'-ジアミノジフェニルスルフィドの構造と物性

構造式	4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド	2,2'-ジアミノジフェニルスルフィド
		
CAS No.	139-65-1	5873-51-8
M.W.	216.31 (和光純薬MSDS)	
m.p.	108~112°C (和光純薬MSDS)	87°C (東京化成MSDS)
b.p.	データなし	データなし
蒸気圧	1.11x10 ⁻⁵ mmHg (25°C) (推定値) (NITE-MSDS)	
安定性	光により変質する (和光純薬MSDS)	
避ける条件	光、熱 (和光純薬MSDS)	
溶解性	塩酸に易溶、水に不溶 (和光純薬MSDS) 水に不溶 (和光純薬MSDS)	メタノールに可溶 (東京化成MSDS) 水に不溶 (和光純薬MSDS)
用途	ポリイミド樹脂製造 (NITE-MSDS)	ポリイミド合成原料 (東京化成MSDS)
生産量	15509の化学商品になし	15509の化学商品になし
特徴	RoHS指令、グリーン調達のアゾ色素類に分類されている	

2. 文献調査

4,4'-DADPS 測定法については、NIOSH、OSHA、DFG、EPA、NIES においては示されていない。また、規制値等も現在示されていないことから、個人ばく露濃度測定で 1L/min、4 時間(240 分)採気の場合で 1 μg/m³ を測定できることを目標として検討を実施した。

3. ろ紙を用いた添加回収試験の再確認

昨年度、捕集材の検討として、ガラス繊維ろ紙 (GB-100R)、テフロンバインダーガラス繊維ろ紙 (T60A20)、及び 2 層式硫酸含浸ろ紙 (SKC 225-9012) に 4,4'-DADPS のエタノール溶液、塩酸/エタノール溶液等で 20~100 μL をフィルター上にマイクロシリンジで塗布し、1~2 時間風乾した後、抽出溶媒としてエタノール、1%V-C/エタノール、水、KOH/エタノール、NaOH/エタノール及び水を 4 または 3mL で抽出する添加回収試験を行った。その結果、いずれも回収率が低かった。

今回、再確認として、添加溶液による着色がなく、比較的回収率の良かった 2 層式硫酸含浸ろ紙 (SKC 225-9012) に 4,4'-DADPS エタノール溶液を 2.45、98 μg となるように添加し、1 L/min の流量で実験室中にて 2 時間通気後、0.1M KOH/エタノール溶液 4mL で抽出を行った。なお、4,4'-DADPS は光により変質するとの情報があることから、通気は遮光した状態で実施した。分析法は昨年と同様とした。

その結果を表-2に示す。

いずれも回収率は低く、変動も大きかった。昨年度と違い遮光した状態でも回収率が低下したことから、酸化等が原因と思われる。このことから、硫酸含浸ろ紙等を用いたろ過捕集法は現実的でないことが確認された。

表-2 硫酸含浸ろ紙への添加回収率

フィルターNo.	添加量 (μ g)	回収率 (%)
A(1層目)	2.45	52.5
B(1層目)	2.45	59.1
C(1層目)	2.45	75.0
D(1層目)	98	32.2
E(1層目)	98	96.3
F(1層目)	98	88.0

※ いずれも2層目では検出されず

4. 捕集法の再検討

昨年度の検討、及び3. ろ紙を用いた添加回収試験の再確認の結果より、ろ紙を用いたろ過捕集法が現実的でなかったことから、他の捕集法を検討した。

4,4'-DADPSは常温・常圧下で固体であることから、ろ過捕集法以外に考えられる方法には液体捕集法がある。そこで、塩酸、硫酸及びリン酸について4,4'-DADPSの溶解性を目視にて確認し、捕集液として使えるかどうか検討した。

各酸の濃度は0.1Mとし、各溶液50mLに0.1gの4,4'-DADPSを溶かし、溶解性を確認した。その結果を表-3に示す。

溶解性は、MSDSにも情報があつたように、塩酸が最も良く、目視では短時間で完全に溶解した。リン酸は塩酸よりも時間を要し、硫酸はなかなか溶けない状態であった。このことから、4,4'-DADPSの溶解性は、塩酸溶液が最も良いことが確認できた。

以上より、4,4'-DADPSの新たな捕集法を、0.1M塩酸を捕集液とした液体捕集法とすることとし、次の予備検討を行った。

表-3 各酸への溶解性

酸の種類 (濃度: 0.1M)	溶解性
塩酸	易溶
硫酸	難溶
リン酸	やや易溶

5. 予備検討

4,4'-DADPS を液体捕集で捕集する場合、問題となると考えられる以下の点について、予備検討を実施した。

- ①捕集液を 0.1M 塩酸とした場合の昨年度報告の HPLC 分析条件の妥当性
- ②捕集液中の 4,4'-DADPS が採気することにより捕集液より移動しないかどうか
- ③長時間採気することにより捕集液中濃度がどの程度変化するかどうか

①HPLC 分析条件の妥当性

昨年度の分析条件において 0.1M 塩酸中濃度 $98 \mu\text{g/mL}$ の 4,4'-DADPS 標準液を分析したところ、そのピークが二つに分離する現象が現れた。これは標準液中の酸濃度が増加したためと考えられたことから、移動相として用いている 20mM 塩化アンモニウム緩衝液の pH を「10」から「11」としたところ、ピークの分離がなくなり、感度(ピーク面積)も昨年度と同様になった。そのため、以後の検討は移動相の 20mM 塩化アンモニウム緩衝液の pH を「11」として行った。

なお、移動相に塩素イオンが含有されているため、HPLC にステンレス配管を用いていた場合、ステンレスの腐食が考えられたが、HPLC 製造メーカーに確認したところ、この程度の濃度であれば問題ない、との回答を得た。

②捕集した 4,4'-DADPS が採気することにより捕集液より移動しないかどうか

液体捕集を長時間行った場合、捕集液中の水分等が蒸発し、それとともに捕集液中の 4,4'-DADPS 濃度が移動し、減少する可能性が考えられた。

これを確認するため、ポンプにマイクロインピンジャー 1 X(柴田科学社製、図-1 参照)を 2 本、直列に接続し、上流側(1 本目)のマイクロインピンジャーに捕集液として濃度 $98 \mu\text{g/mL}$ の 4,4'-DADPS 標準液を 5mL、下流側(2 本目)に $0 \mu\text{g/mL}$ の 4,4'-DADPS 標準液を 5mL 加え、1 L/min の流量で実験室中にて 4 時間採気し、2 本目のマイクロインピンジャーの捕集液に 4,4'-DADPS のピークが検出されないかどうか確認した(n=3)。その結果、全ての 2 本目のマイクロインピンジャーの捕集液から 4,4'-DADPS のピークは検出されなかった。このことから、4 時間採気を実施しても濃度 $98 \mu\text{g/mL}$ (絶対量 $490 \mu\text{g}$)までの 4,4'-DADPS 濃度であれば捕集液からの移動や減少はないと考えられた。

なお、捕集液に用いている塩酸は揮発性があるため、長時間採気した場合、酸濃度が変化する可能性が考えられた。そのため、4 時間の採気を行う前後の捕集液中の pH を確認したところ、採気開始前の pH が「1.05」、4 時間採気後の pH が「0.89」となっており、大きな変化はないと考えられた。

■ 構 成

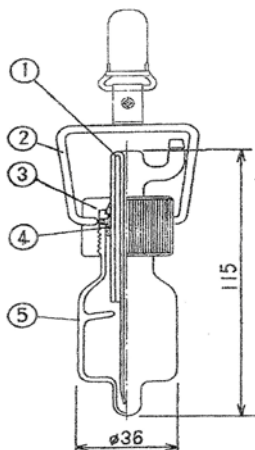


図-1 マイクロインピンジャー 1 X の構造

③長時間採気することにより捕集液中濃度がどの程度変化するかどうか

液体捕集において長時間採気することにより捕集液中の水分等が蒸発し、液量が減少することが考えられた。また、②の予備検討を実施した際にも1本目の捕集液の減少が見られた。このことから、長時間の採気を行った際の捕集液中の4,4'-DADPS濃度の変化を確認した。

マイクロインピンジャーに0.98 μg/mL及び98 μg/mLの4,4'-DADPS標準液を5mL加え、1 L/minの流量で実験室中にて1、2、4時間採気した後、それぞれの捕集液中濃度を標準液濃度のピーク面積を100として比較した(n = 1)。その結果を図-2に示す。

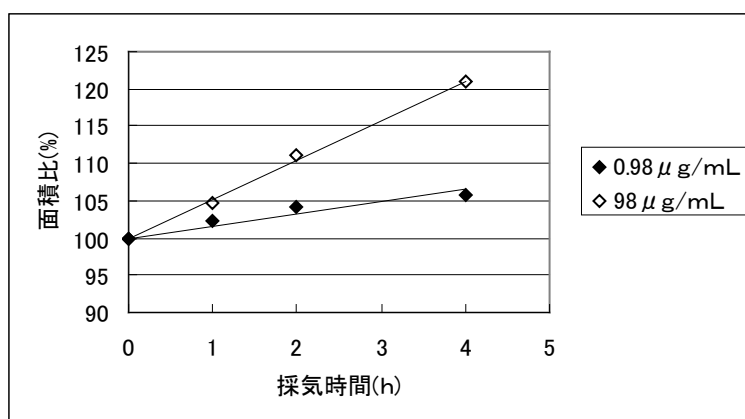


図-2 長時間採気による捕集液中濃度の変化(n = 1)
(開始時室温 : 23.8°C 湿度 : 20.6%)

このことより、採気時間が長くなるほど、捕集液量が減少し、相対的に4,4'-DADPS濃度が高くなっていくことが確認された。そのため、長時間の採気を実施した場合、4,4'-DADPS濃度を高く評価してしまうことになることから、長時間採気後の捕集液をマイクロインピンジャーに記載されている5mLの標線にあわせて、減少分を補充した場合、補正できるかどうかを確認した。確認は0.98 μg/mL及び98 μg/mLの4,4'-DADPS標準液5mLのものを、1 L/minの流量で4時間採気した後、5mLの標線にあわせて捕集液を補充し、回収率を比較した(n = 2)。その結果を表-4に示す。

このことから、長時間採気後に5mLの標線にあわせて補正した場合は回収率がほぼ100%程度になることが確認された。

なお、長時間採気後のマイクロインピンジャー内壁には捕集液が付着しており、標線にあわせて補正するにはこれら壁面に付着した捕集液を充分洗いこまないと回収率が悪くなる傾向が見られた。また、インピンジャー内の気泡の上昇を抑えるための仕切り上に捕集液が溜まってしまう場合もあるので、これらも併せて標線にあわせる必要がある。

表-4 標線で補正した際の回収率(n = 2)
(開始時室温 : 22.6°C 湿度 : 20.1%)

	標準液濃度 (μg/mL)	補正後分析濃度 (μg/mL)	回収率 (%)
A	0.98	0.92	94
B		0.92	94
C	98	98.8	101
D		97.0	99

6. 捕集及び分析条件

以上の再検討、予備検討より、4,4'-DADPS の捕集条件、分析条件を以下のとおりとした。(表-5、6)

表-5 捕集条件

捕集法	液体捕集法
サンプラー	マイクロインピンジャー 1 X (柴田科学社製)
捕集液	0.1M 塩酸
捕集液量	5mL
採気流量(最大時間)	1L/min(240min)
前処理	5mL 標線にあわせて捕集液を補充

表-6 分析条件

分析法	高速液体クロマトグラフ分析法
使用機器	Agilent 1100 シリーズ (アジレント・テクノロジー社製)
検出器	ダイオードアレイ検出器(DAD)
検出波長	265nm
カラム	Agilent PLRP-S 100 Å (3 μm) 2.1mm(i.d.)×15cm(Long) (アジレント・テクノロジー社製)
カラム温度	40°C
移動相	20mM 塩化アンモニウム緩衝液(pH=11)/アセトニトリル =35/65(v/v%)
流量	0.2mL/min
試料注入量	5 μL

7. クロマトグラム及びUV スペクトル

6. の分析条件によるクロマトグラムの例と UV スペクトルの例を以下に示す。(図-3、4、5) クロマトグラムを見ると、4,4'-DADPS と異性体である 2,2'-DADPS の分離は良好であった。

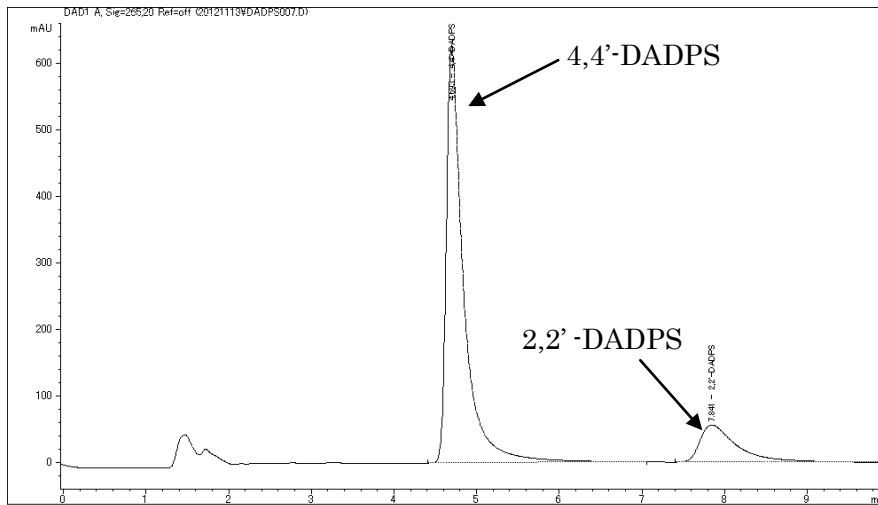


図-3 クロマトグラムの例(標準液濃度 98 μ g/mL)

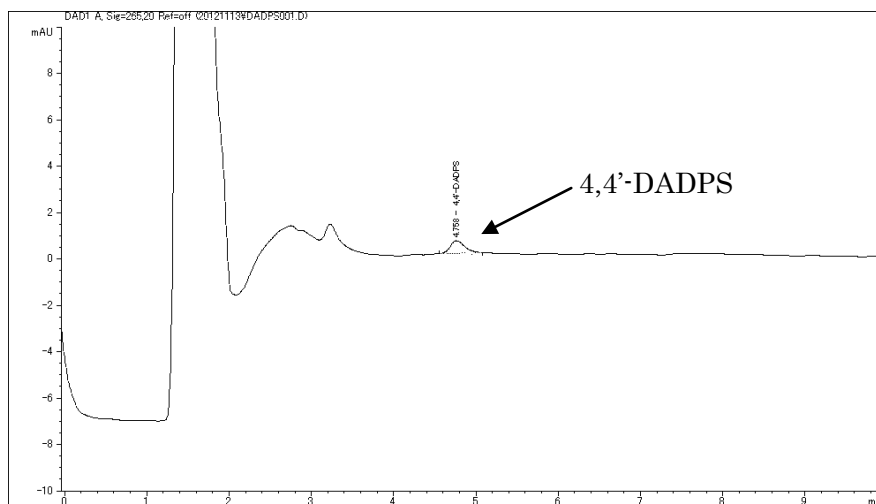


図-4 クロマトグラムの例(標準液濃度 0.098 μ g/mL)

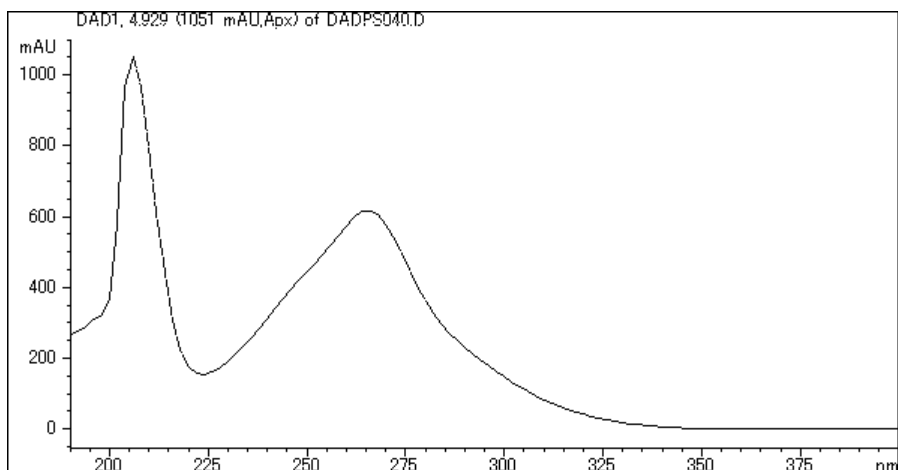


図-5 UV スペクトルの例

8. 使用試薬

6. の捕集条件、分析条件で使用する試薬は以下のとおりである。(表-7)

表-7 使用試薬

4,4'-DADPS	東京化成、1級、98%
2,2'-DADPS	東京化成、1級、98%
塩化アンモニウム	和光純薬、特級、99.5%
アンモニア水	和光純薬、特級、28%
アセトニトリル	和光純薬、HPLC用
塩酸	関東化学、有害金属測定用、35~37%
水	比抵抗 18.0~18.3MΩcm の超純水

9. 本検討

①検量線の直線性

捕集液をベースに 0、0.098、0.49、0.98、4.9、9.8、49、98 μg/mL の標準系列を作成し、6. の分析条件にて、検量線の直線性について確認を行った。

その結果、良好な直線性が得られた(図-6)。

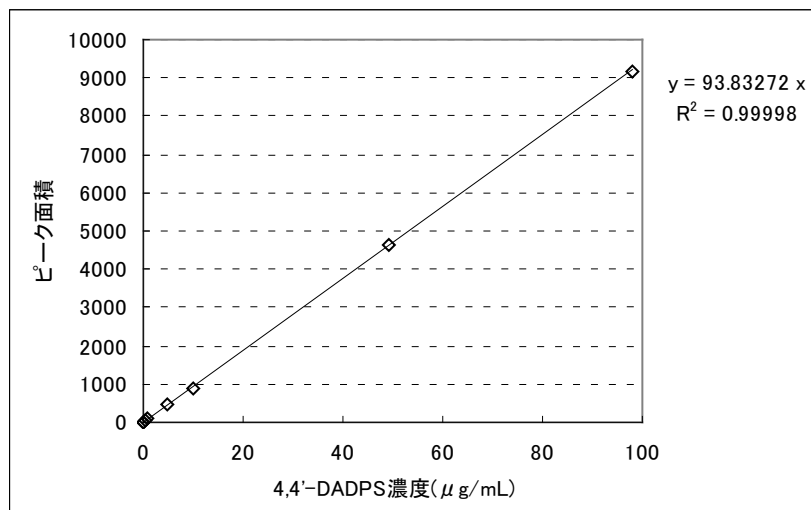


図-6 検量線の例

②検出下限及び定量下限

検量線作成で調製した 4,4'-DADPS 標準液の最低濃度 0.098 μg/mL (1L/min で 4 時間採気した場合、気中濃度 2.0 μg/m³ に相当) 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。

$$\text{検出下限 (}\mu\text{g/mL)} = 3\text{SD}/a$$

$$\text{定量下限 (}\mu\text{g/mL)} = 10\text{SD}/a$$

※ a は検量線の傾き

その結果、検出下限および定量下限は表-8 に示すとおりとなり、1L/min で 4 時間採気した場合 (240L 採気)、目標濃度 (1 μg/m³) を下回ることができた。

表－8 検出下限及び定量下限

	検出下限値 (3SD)	定量下限値 (10SD)
溶液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	0.0071	0.0235
240L 採気時の気中濃度 ($\mu\text{g/m}^3$)	0.15	0.49

③添加回収率

5. 予備検討の③と同様に、マイクロインピンジャーに 0.098、0.49、4.9、98 $\mu\text{g/mL}$ の 4,4'-DADPS 標準液を 5mL 加えたもの(捕集液中の絶対量としては、0.49、2.45、24.5、490 μg)をそれぞれ 5 個ずつ用意し、1 L/min の流量で実験室中にて 4 時間採気(室温 20.9~22.2°C、湿度 30.2~29.5%)した後、5mL の標線にあわせて捕集液を補充し攪拌後、その捕集液を分析した。その結果、標準液濃度 0.49 $\mu\text{g/mL}$ (捕集液中絶対量 2.45 μg)を超えたもので回収率が 80%以上となった。(表－9)

なお、標準液濃度 0.098 $\mu\text{g/mL}$ (捕集液中絶対量 0.49 μg)については回収率が 80%以下となったことから、本測定法の最終的な定量下限値は、捕集液中濃度として 0.49 $\mu\text{g/mL}$ (捕集液中絶対量 2.45 μg)とした。これは、4 時間(240 分)採気をした場合の気中濃度として、11 $\mu\text{g/m}^3$ となる。

表－9 添加回収率

標準液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	捕集液中絶対量 (μg)	4,4'-DADPS			RSD(%)
		回収率(%)			
		平均	標準偏差		
0.098	0.49	73	\pm 1.5	2.1	
0.49	2.45	83	\pm 2.6	3.1	
4.9	24.5	94	\pm 2.0	2.1	
98	490	99	\pm 2.0	2.0	

(n=5)

④保存性

③添加回収の方法と同様に、マイクロインピンジャーに 0.098、4.9、98 $\mu\text{g/mL}$ の 4,4'-DADPS 標準液を 5mL 加えたものをそれぞれ 5 個ずつ用意し、1 L/min の流量で実験室中にて 4 時間採気(室温 20.9~22.2°C、湿度 30.2~29.5%)した後、5mL の標線にあわせて捕集液を補充し攪拌後、その捕集液をバイアル瓶に密閉し、冷蔵保存した。そして、捕集当日(0 日目)の分析濃度を基準として、0、1、13 日目までの保存安定性を確認した。なお、0.098 $\mu\text{g/mL}$ の濃度については、③添加回収の検討において、回収率が 80%を下回ってしまったが、保存安定性の検討においては、この分析濃度を基準とするため問題ないと考え、今回は検討を継続した。

その結果、いずれの濃度でも 13 日目までは保存可能(13 日目において保存率はそれぞれ 90%以上)であることが確認された(表－10、図－7)。

表-10 添加回収率

標準液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	保存日数 (日)	4,4'-DADPS			
		回収率(%)		RSD(%)	
		平均	標準偏差		
0.098	0	100	±	—	—
	1	94	±	5.9	6.3
	13	98	±	9.1	9.4
4.9	0	100	±	—	—
	1	103	±	1.3	1.3
	13	101	±	2.4	2.4
98	0	100	±	—	—
	1	101	±	1.9	1.9
	13	101	±	2.0	2.0

(n=5)

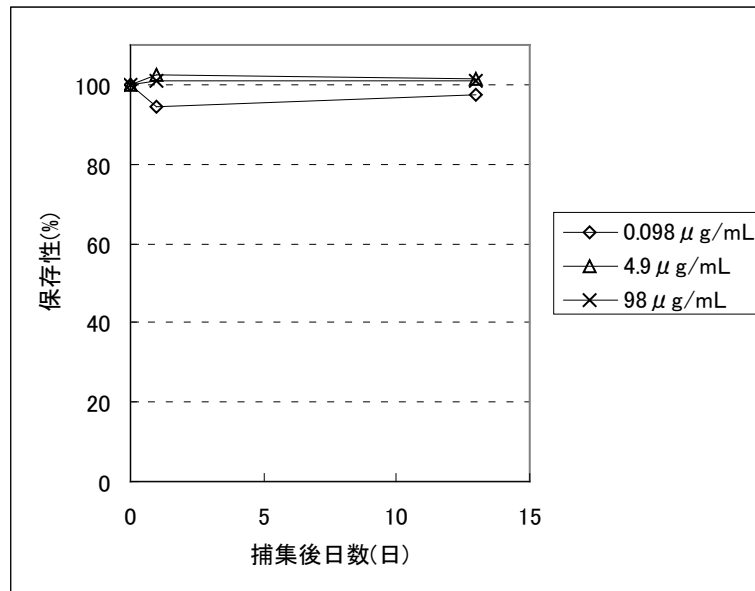


図-7 保存安定性

10. まとめ

本検討の結果、本測定手法により、個人ばく露測定(4時間採気)を想定した場合には11~2041 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲の4,4'-DADPSを良好に測定・分析できることが確認できた。

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。

11. 検討機関

中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター

(別紙)

4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド

化学式: (H ₂ NC ₆ H ₄) ₂ S	分子量:216.31	CASNo.:139-65-1
許容濃度等 : OSHA — NIOSH — ACGIH — 産業衛生学会 —	物性等 沸点 : データなし 融点 : 108~112°C 形状 : 結晶~結晶性粉末(白~微褐色)	
別名 4,4'-チオジアニン		
サンプリング	分析	
方法サンプリング : 液体捕集法 サンプラー : マイクロインピンジャー 1 X (柴田科学社製) 捕集液 : 0.1M 塩酸(5mL) サンプリング流量 : 1 L/min サンプリング時間 : 4 時間 (240L) 保存性 : 添加量 0.49 μg, 24.5 μg, 490 μg において、冷蔵で少なくとも 13 日間までは変化がないことを確認	分析方法 : 液体クロマトグラフ分析法 前処理 : サンプルリング後、捕集液を用いて、インピンジャー内を十分に洗い込み、5mL の標線に合わせ、バイアル瓶等の密閉容器に分注。 機器 : Agilent 1100 シリーズ (アジレント・テクノロジー社製) カラム : Agilent PLRP-S 100 Å (3 μm) 2.1mm(i.d.)×15cm(Long) (アジレント・テクノロジー社製) カラム温度 : 40°C 移動相 : 20mM 塩化アンモニウム緩衝液(pH=11)/ アセトリル=35/65(v/v%) 流量 : 0.2mL/min 検出器 : ダイオードアレイ検出器(DAD) 検出波長 : 265 nm 試料注入量 : 5 μL リテンションタイム : 約 4.8min	
精度		
回収率 : 80~99%(2.45~490 μg、4 時間捕集時) 検量線 : 0.098~98 μg/mL 定量法 : 絶対検量線法 装置の定量下限(10σ) : 0.0235 μg/mL 0.49 μg/m ³ (採気量:240L) 装置の検出下限(3σ) : 0.0071 μg/mL 0.15 μg/m ³ (採気量:240L) 個人ばく露濃度測定時の定量下限 : 11 μg/m ³ (採気量:240L)	※長時間サンプルリングの際には捕集液の液量に注意。また、サンプルリング後の液量補正を適切に行わないと、誤差となる。その際にはマイクロインピンジャー壁面に付着した捕集液を十分に洗いこむこと。	
適用 : 個人ばく露濃度測定		
妨害 : 異性体である 2,2'-ジアミノジフェニルスルフィドは妨害とならない。		