

4,4' -メチレンジアニリン
分析法検討に関する報告書

1. 目的
化学物質である 4,4'-メチレンジアニリンの捕集・分析方法を検討する。

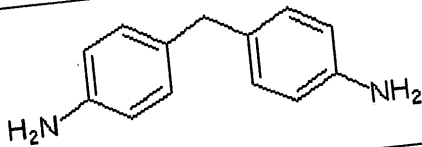
実験機関

実験担当者及び報告者

検討日時 2007 年 10 月～2008 年 2 月

2. 4,4'-メチレンジアニリンの性状
4,4'-メチレンジアニリンの性状を表 1 に示す。

表 1. 4,4'-メチレンジアニリンの性状

CAS No.	101-77-9
別名	4,4'-ジアミノジフェニルメタン
構造式	
化学式	$C_{13}H_{14}N_2$
分子量	198.3
外観	白色～うすい黄色、フレーク～粉末
におい	弱いアミン様臭
沸点	399°C
融点	91°C
引火点	220°C
蒸気圧	133Pa / 197°C
溶解性	易溶: アルコール、ベンゼン、エーテル、アセトン 難溶: 水 (1g / L, 25°C)
オクタノール/水分配係数	1.6
安定性	空気にさらされると徐々に着色する
反応性	強酸化剤と激しく反応し、火災や爆発の危険をもたらす
許容濃度等	日本産衛学会 0.4mg/m ³ (skin) ACGIH TLV TWA 0.1ppm (skin)

3. 分析法

(1) 分析概要

環境気中の 4,4'-メチレンジアニリン（別名 4,4'-ジアミノジフェニルメタン。以下、MDA）を小型ポンプにより硫酸含浸フィルターに捕集する。MDA はフィルター上で安定かつ蒸発しにくいアミン硫酸塩に変換される。フィルターからの脱着は水酸化カリウム・メタノール溶液で行い硫酸塩を元の MDA へ戻す。この物質が特徴的な吸収波長を持つことを利用して、液体クロマトグラフ / UV 検出器で分析する。

(2) 試薬・器具・装置

使用した試薬・器具・装置を表 2 に示す。

表 2-1. 試薬

試薬名	販売元	規格等
4,4'-ジアミノジフェニルメタン	東京化成	純度 98.0%以上
水酸化カリウム	関東化学	特級
メタノール	関東化学	高速液体クロマトグラフィー用
アンモニア水	関東化学	特級
水酸化アンモニウム	和光純薬	特級
アセトニトリル	関東化学	高速液体クロマトグラフィー用
硫酸含浸フィルター	SKC	37mm、2 層式

表 2-2. 器具・装置

器具・装置名	販売元	
小型ポンプ	SKC	Air Chek 2000
高速液体クロマトグラフ	日立	L-2000 シリーズ
カラム	Shodex	ODP2 HP-4E
遠心分離機		

(3) 試料の捕集方法

石鹼膜流量計を用いて小型ポンプの流量を調整する。硫酸含浸フィルター (SKC 社 Cat.No.225-9004) のホルダー両端のキャップを外し、チューブでポンプとつなぎ、採気を行う。試料採取後のフィルターはホルダー両端のキャップを取り付け、冷蔵で輸送・保管を行う。

(4) 試料の前処理

ホルダーから硫酸含浸フィルターを取り出して試験管に移し、0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液を 3mL 加える。栓をして攪拌し、室温で 15 分間静置する。遠心分離機で約 $2000 \times g$ で 10 分間遠心する。上澄をバイアルへ移し、栓をして冷蔵保存する。

(5) 標準液の作製

MDA を精密に量り取り、0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液 (脱着溶液) で溶解および適当な濃度に希釈して標準系列を作製する。

(6) 液体クロマトグラフによる測定

液体クロマトグラフによる測定条件を表 3 に示す。

表 3. 測定条件

移動相	20mM アンモニウム緩衝液(pH10.0) / アセトニトリル = 60 : 40
流量	0.5mL / 分
カラム	ODP2 HP-4E (4.6 × 250mm, 5 μ m)
カラム温度	30°C
注入量	20 μ L
測定波長	201nm

ピーク面積により定量計算を行う。

4. 分析検討事項

(1) 移動相 pH の選択

MDA はアミノ基を 2 つ持ち、その pK_b は $pK_{b1}=5.2$ 、 $pK_{b2}=4.0$ である。イオンに解離していない分子型 MDA として分離・検出するために、中〜アルカリ性緩衝液 (アセトニトリルと混合して使用) を用いて pH の比較を行った。ピーク形状および感度の最も良かった pH10.0 アンモニウム緩衝液を移動相として使用することとした。また、汎用の ODS カラムではアルカリ性条件下でシリカゲル溶出によるカラム劣化が起こるため、アルカリ性側でも使用可能なポリマー系カラムを使用することとした。

表 4. 緩衝液 pH の比較

pH 7.0	りん酸緩衝液	ピーク形状不良
pH 8.0	りん酸緩衝液	ピークがややブロード
pH 9.0	アンモニウム緩衝液	ピークがややブロード

pH 10.0	アンモニウム緩衝液	最適
pH 11.0	ナトリウム緩衝液	感度の著しい低下
pH 11.5	炭酸緩衝液	感度の著しい低下
蒸留水		ピーク形状不良

(2) 測定波長の選択

ダイオードアレイ検出器を用いて、移動相中の MDA の紫外吸収スペクトルを測定した。201nm と 243 nm に吸収が見られたが、吸収が強い極大波長 201nm を測定波長として使用することとした。単一波長の測定なので、UV 検出器での分析が可能である。

(3) 脱着液の選択

MDA は捕集された硫酸含浸フィルター上でアミンの硫酸塩として存在する。MDA メタノール溶液 (100 μ g/mL) 100 μ L を硫酸含浸フィルターに添加し室温で乾燥させた後、5 種類の溶液で脱着試験を行った。同量の MDA メタノール溶液を各溶液で希釈したものを対照試料とした。0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液で脱着率 (脱着試料のピーク面積 / 対照試料のピーク面積) が 96.5% と最も良く、脱着試料間の変動 (n=3) も 1.0% と良好だった。

表5. MDA の脱着率

溶液	脱着率 %	脱着試料間の変動 %
蒸留水	73.3	28.4
アセトニトリル	5.7	17.4
0.2M 水酸化ナトリウム水溶液	83.5	14.5
0.5M 水酸化ナトリウム水溶液	93.8	12.9
0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液	96.5	1.0

n=3

(4) 検量線の直線性

粒状の MDA 約 100mg を精密に量りとり、脱着液と同じ 0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液で 100mL に定容した (=1000 μ g/mL)。これを標準原液とし 0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液で希釈し、0/0.05/0.1/0.2/0.5/1/5/10 μ g/mL の標準系列を作製した。10 μ g/mL までの直線性が確認でき、相関係数 1.000 と良好だった。また、この検量線の傾きの日間変動 (n=6) は 3.5% と良好だった。

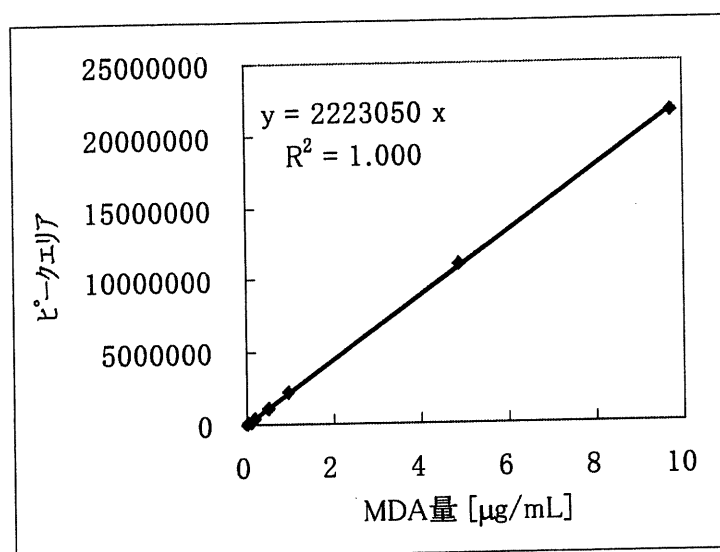


図 1. MDA 検量線

(5) 定量下限の算出

標準液 $0.1\mu\text{g/mL}$ を 5 回分析し、その標準偏差の 2.132 倍である $0.03\mu\text{g/mL}$ を分析法の検出下限、その約 3 倍の $0.10\mu\text{g/mL}$ を定量下限とした。ポンプ流量 1 L / 分 で 10 分採気した場合（採気量 10 L ）気中濃度の定量下限は 0.003 ppm (0.03 mg / m^3)、30 分採気した場合（採気量 30 L ） 0.001 ppm (0.01 mg / m^3) となる。

(6) 添加回収試験

MDA メタノール溶液 ($100\mu\text{g/mL}$) $90\mu\text{L}$ および $180\mu\text{L}$ を硫酸含浸フィルターに添加し室温で乾燥させた後、 0.1 M 水酸化カリウム・メタノール溶液 3 mL で脱着して添加回収試験を行った。同量の MDA メタノール溶液を脱着液で希釈したものを対照試料とした。添加回収率（回収量 / 添加量）は $99.1\sim 101.2\%$ 、添加回収試料間の変動 ($n=5$) は $0.9\sim 1.8\%$ と良好だった。

表6.MDA の添加回収率

添加量 μg	回収量 μg	添加回収率 %	添加回収試料間 の変動 %
8.84	8.93	101.0	0.9
17.49	17.34	99.1	1.8

$n=5$

(7) 漏出試験

ホルダーの1層目にMDAメタノール溶液(100 μ g/mL) 180 μ Lを添加し室温で乾燥させた硫酸含浸フィルターを、2層目にMDAを添加していないフィルターをセットし、小型ポンプで清浄空気を1L/分、60分間通気させた後、2枚のフィルターをそれぞれ分析することを漏出試験として行った。2層目のフィルターに捕集されたものを漏出とみなす。流量1L/分では漏出は起こっていないと判断した。

表7. MDAの漏出

	添加量 μ g	捕集量 μ g	試料間の変動 %
1層目	17.49	17.06	2.0
2層目	添加なし	0.30 未満	—

n=3

(8) 捕集試験

MDAメタノール溶液をミゼットインピンジャーに入れ、室温を想定した25 $^{\circ}$ Cの水浴でインピンジャーを温めながら通気することにより、MDAを発生させる系を作成した。この系では、管内の液に目的物質を捕集するためではなく、曝気により管内の溶液から目的物質を管外へ追い出すためにインピンジャーを用いる。インピンジャー⇒ホルダー(硫酸含浸フィルター2枚入り)⇒小型ポンプの順(⇒は空気の通る方向)につなぎ、インピンジャー中の液を30分毎に取り替えながら、清浄空気を1L/分で15、30および60分間通気させた後、2枚のフィルターをそれぞれ分析した。採気時間の増加すなわちMDA発生量の増加に伴い硫酸含浸フィルター1層目への捕集量が増加していること、また、フィルター2層目へは捕集されていないことから、1層目の硫酸含浸フィルターが発生したMDAを捕集し、フィルター後方への漏出はないと判断した。

表8. 1層目・2層目捕集量

通気時間	1層目捕集量 μ g	2層目捕集量 μ g
15分	0.30 未満	0.30 未満
30分	1.40	0.30 未満
60分	2.41	0.30 未満

n=3

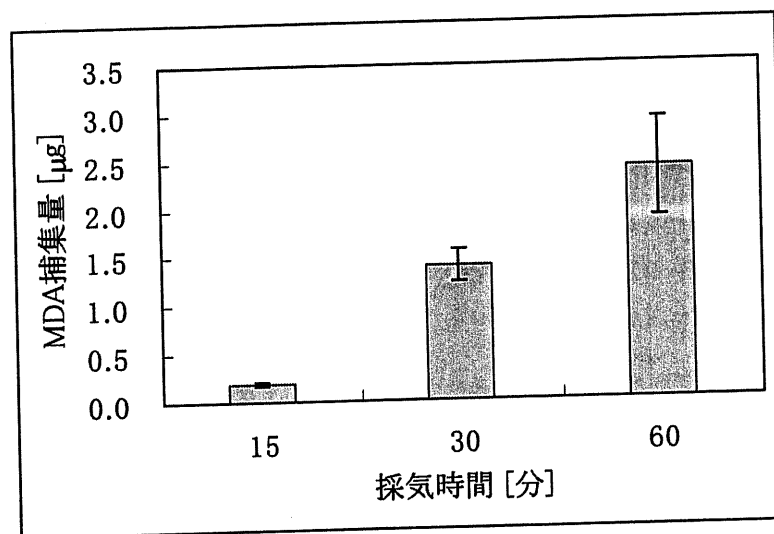


図2. 採気時間と1層目MDA捕集量の関係

(9) 脱着後の試料液の保存安定性

MDA メタノール溶液 (100μg/mL) 90μL または 180μL を硫酸含浸フィルターに添加し室温で乾燥させた後、0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液 3mL で脱着を行い、脱着後直ちに分析したものと密栓し5日間冷蔵保存した後に分析したものと濃度を比較した。脱着後の試料液は冷蔵保存で5日間は安定であった。

表9. 脱着後の試料液中MDA量の経日変化

脱着直後 MDA 量 μg	5日後 MDA 量 μg	保存率 %	5日後の試料間の変動 %
8.93	8.35	93.5	1.3
17.34	16.55	95.5	2.9

捕集後のフィルターの保存安定性

MDA メタノール溶液 (100μg/mL) 90μL または 180μL を硫酸含浸フィルターに添加し室温で乾燥させた後、直ちに0.1M 水酸化カリウム・メタノール溶液 3mL で脱着を行ったものと、乾燥させたフィルターをホルダーにセットしなおし、キャップをした状態で6日間冷蔵保存後に脱着を行ったものと濃度を比較した。捕集後のフィルターは冷蔵保存で6日間は安定であった。

表 10. 捕集後のフィルター上 MDA 量の経日変化

捕集直後 MDA 量 μg	6日後 MDA 量 μg	保存率 %	6 日後の試料間の 変動 %
8.93	8.54	95.7	1.6
17.34	16.83	97.0	1.7

5. 結論

- (1) 小型ポンプ、硫酸含浸フィルター、液体クロマトグラフ / UV 検出器（測定波長 201nm）により、MDA の捕集・分析が可能である。
- (2) 定量下限は 10L 採気で 0.003ppm ($0.03\text{mg} / \text{m}^3$)、30L 採気で 0.001ppm ($0.01\text{mg} / \text{m}^3$) であり、許容濃度等と比較しても十分な低濃度領域まで測定が可能である。
- (3) この分析方法では誘導体化の前処理操作が不要であり、また、作業環境測定機関で汎用される液体クロマトグラフ / UV 検出器により分析できることから、多くの測定機関で測定可能である。

(別紙 1)

4,4'-メチレンジアニリンの分析法

化学式: $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ 分子量: 198.3 CAS No.: 101-77-9

許容濃度等:	物性等
OSHA —	BP : 399°C
NIOSH —	MP : 91°C
ACGIH 0.1ppm (skin)	VP : 133Pa / 197°C
日本産業衛学会 0.4mg / m ³ (skin)	

別名 4,4'-メチレンジアニリン

サンプリング	分析
サンプラー: 硫酸含浸フィルター サンプリング流量: 1.0L / min 保存性: 硫酸含浸フィルター上で6日間、 脱着液中で5日間、冷蔵 (4°C) 保存可能	分析方法: 高速液体クロマトグラフ / UV 法 脱着: 0.1M 水酸化カリウム・メタノール 3mL 分析機器: 日立 L2000 シリーズ 注入量: 20μL 移動相: 20mM アモニウム緩衝液 (pH10.0) / アセトリル=60:40 流量: 0.5mL / 分 カラム: ODP2 HE-4P (4.6×250mm, 5μm) カラム温度 30°C 測定波長: 201nm 検量線: 0.00~10.00μg / ml の範囲で直線 定量法: 絶対検量線法
精度	
フィルターでの添加回収率 9μg で 101.2%、18μg で 99.1%	
検出下限 0.03μg / mL	
定量下限 (検出下限の3倍) 0.1μg / mL 採気量 10L 0.003ppm (0.03mg / m ³) 採気量 30L 0.001ppm (0.01mg / m ³)	

適用:

妨害: 4,4'-Diphenylmethane diisocyanate(MDI)が酸含浸フィルター上でMDAに変化するとされている (NIOSH 5029)

参考文献: NIOSH 5029