

アセトンシアノヒドリンの測定・分析手法に
関する検討経過報告書

令和 2 年 2 月 27 日

測定手法検討分科会

目次

1. はじめに.....	1
2. 文献調査.....	1
3. 試験方法.....	2
3-1. GC-MS 法のための作業環境気中アセトンシアノヒドリンの捕集方法	2
3-2. 試料の前処理	2
3-3. アセトンシアノヒドリン標準原液及び標準溶液の調製.....	2
3-3-1. 検量線	2
3-3-2. 捕集効率と保存性	2
4. GC-MS 分析条件	2
4-1. GC 条件	2
4-2. 検量線（直線性）	3
4-3. ブランク	4
5. 破過.....	4
6. 脱着率	4
7. 定量.....	5
7-1. 濃度の算出.....	5
7-2. 検出下限と定量下限	5
7-3. ACH 標準溶液クロマトグラムとマススペクトル.....	6
7-4. 添加回収に関する実験結果	7
7-5. 捕集後の試料の保存安定性	8
8. まとめ	8
9. 引用文献.....	8

1. はじめに

アセトンシアノヒドリン (Acetone Cyano-Hydrine) (以下、ACH と略記) の物理化学的性質と有害性 GHS 分類に関する情報¹⁾については、表 1-1 に要約した。また、表 1-2 に、国際的な機関によって勧告された ACH の職業性ばく露限界値 (OEL (Occupational Exposure Limit)) を示した¹⁻³⁾。

表 1-1.ACH の物理化学的性質及び有害性 GHS 情報¹⁻³⁾

構造式	$\begin{array}{c} \text{C} \equiv \text{N} \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	比重	0.932 g/cm ³ (19°C)
		蒸気密度	2.98 (Air = 1)
		蒸気圧	0.341 mmHg (25°C)
CAS No.	75-86-5	分配係数 log Pow	-0.03
分子式	C ₄ H ₇ NO	加水分解性	文献なし
分子量	85.11	分解温度	119°C
融点	-21.2°C	スペクトルMS (m/z)	70.0、43.0、27.0
沸点	95°C	吸脱着性	文献なし
引火点	75°C	溶解度 (水)	水と完全に混和 (水中で青酸を生じる)
発火点	2.2-12%	換算係数	1 mg/m ³ = 0.25ppm 1 ppm = 4mg/m ³
爆発限界	2.25-11%	急性毒性：ラット、経口	LD50 : 18.65 mg/kg
溶解性	ジエチルエーテルとエタノールに易溶	急性毒性：ラット、4時間吸入	腎臓障害
外観	無色液体	急性毒性：ラット、経皮	LD50 : 140 mg/kg

表 1-2.主要国際機関による ACH の職業性ばく露限界値勧告¹⁻³⁾

機関	職業性ばく露限界値
日本産業衛生学会	未設定
厚生労働省 (管理濃度)	未設定
ドイツ学術協会 (DFG)	未設定
米国国立職業安全衛生研究所 (US.NIOSH REL)	天井値 (Ceiling) (1.0 ppm (4 mg/m ³)) 15 min値 ²⁾
米国労働衛生専門家会議 (ACGIH)	天井値 (Ceiling) (TLV: 4.7 ppm (5 mg/m ³)) ³⁾ シアンとして

2. 文献調査

米国国立職業安全衛生研究所 (NIOSH)³⁾と米国労働衛生専門家会議 (ACGIH)⁴⁻⁵⁾は、急性毒性影響からの労働者保護を目的として、それぞれ Recommended Exposure Limit (REL) と Threshold Limit Value (TLV) として、Occupational Exposure Limit (OEL) 天井値 (Ceiling) 値を勧告している。NIOSH REL³⁾は作業環境気中 ACH 分子を対象として GC 分析しているが、ACGIH TLV は、ACH 分解生成物のシアン(CN)を対象と

している^{4,5)}。本報告書では、NIOSH RELとして勧告された1 ppm (4 mg/m³)を暫定二次評価値 (E)とし1/1000Eから2Eの範囲における捕集および分析方法について、検討を行った。分析方法は、NIOSHのACH分析法 (NIOSH Manual of Analytical Method4))を参考にして、ガスクロマトグラフィー質量分析装置 (GC-MS)法を採用した。

3. 試験方法

3-1. GC-MS法のための作業環境気中アセトンシアノヒドリンの捕集方法

サンプラー：固体捕集管 Porapak-Q [Cat.No.226-115] (SKC 製)

サンプリング流量：0.2 L/min

サンプリング時間：最大4時間 (採気量：最大48 L (0.048 m³))

3-2. 試料の前処理

作業環境中の空気を吸引速度0.2 L/minで4時間にわたって固体捕集管 Porapak-Qに吸引した試料は、充填剤の前層と後層を別々に取り出し、容量2 mLのバイアル瓶に別々に入れ、そこに酢酸エチル (富士フィルム和光純薬、特級)を1 mL加えて直ちに密栓する。これを超音波水槽内で約1時間放置して脱着させ、上澄液を分析試料とする。

3-3. アセトンシアノヒドリン標準原液及び標準溶液の調製

3-3-1. 検量線

検量線作成用の標準溶液については、ACH試薬 (99%) No.A10000 (シグマ-アルドリッチ) 16.7 mgを電子天秤で秤量し、50 mLの酢酸エチルに溶解し、この溶液を標準原液 (濃度0.334 mg/mL)として用いた。この標準原液を酢酸エチルで段階的に希釈し、異なった濃度の標準溶液を作成した。

3-3-2. 捕集効率と保存性

捕集効率と保存性試験のための標準液については、ACH試薬1.67 gを電子天秤で秤量し、50 mLの酢酸エチルに溶解し、標準原液 (濃度33.4 mg/mL)を作成した。この標準原液を酢酸エチルで段階的に希釈し、標準溶液を作成した。酢酸エチルで希釈された3段階の異なった濃度の標準溶液 33.4 mg/mL、16.7 mg/mLと16.7 µg/mLを作成した。なお、この3段階のACH濃度は、それぞれ作業環境気中ACH濃度2 ppm、1 ppm、0.001 ppmを0.2 L/minの吸引速度で4時間にわたり、固体捕集管に捕集し、酢酸エチル1 mLでACHを脱着させた溶液濃度に相当する。

4. GC-MS分析条件

4-1. GC条件

GC-MSの分析条件を下表に示した (表2)

表 2. GC-MS の分析条件

装置	6890N Net Work System (Agilent Technologies 社製)
カラム	HP-5MS UI (30 m × 0.250 mm、膜厚 0.5μm) (Agilent Technologies 社製)
注入法	パルスド・スプリット (10 : 1)
注入量	1 μL
キャリアガス	He (1.0mL/min)
注入口温度	110℃
オープン温度	40℃ (1分) -3℃/min-110℃ (2分)
インターフェース温度	250℃
イオン源温度	220℃
四重極温度	160℃
定量イオン (確認イオン)	m/z 70 (m/z 43, m/z 27)

4-2. 検量線 (直線性)

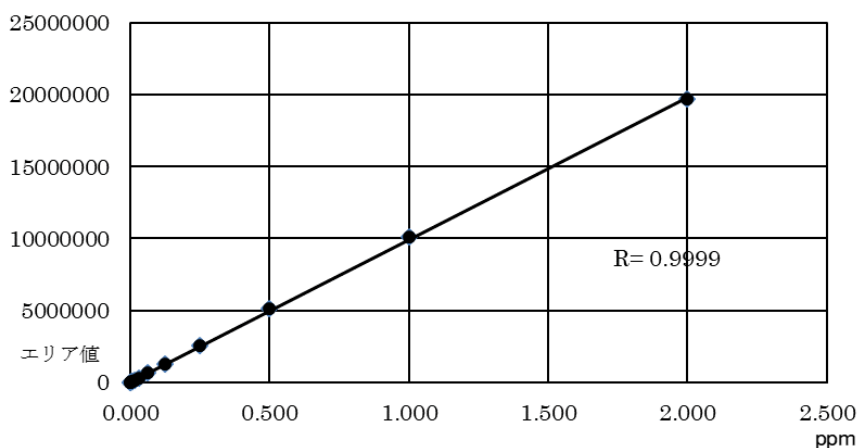


図 1. ACH の検量線

ACH 標準原液を酢酸エチルで希釈し、0.17~334 μg/mL の範囲で標準系列を調製し、検量線作成用の標準溶液 1 μL を GC-MS に導入し、得られたピーク面積と標準溶液の濃度から検量線を作成した。検量線の直線性について確認を行った。その結果、0.17~334 μg/mL の範囲で良好な直線性を示した (図 1)。

表 3. ACH の標準系列の GC-MS 測定結果 (0.17~334 μg/mL)

ACH 標準液 (μg/mL)	4 時間捕集時 の濃度 (ppm)	相当の濃度	Area		
			m/z70	m/z43	m/z42
334	2	2E	675102	742593	507841
167	1	E	329965	366291	263651
83.5	0.5	1/2E	668721	172495	122711
16.7	0.1	1/10E	137377	366291	263651
1.67	0.01	1/100E	14591	4088	2678
0.167	0.001	1/1000E	1547	567	298

4-3. ブランク

ACH 分析を妨害する可能性のある物質が固体捕集管に含有されているかどうかについて、脱着操作ブランクを GC-MS で分析した。その結果、ACH を含めて分析を妨害する物質は一切認められなかった。(図 2-1)

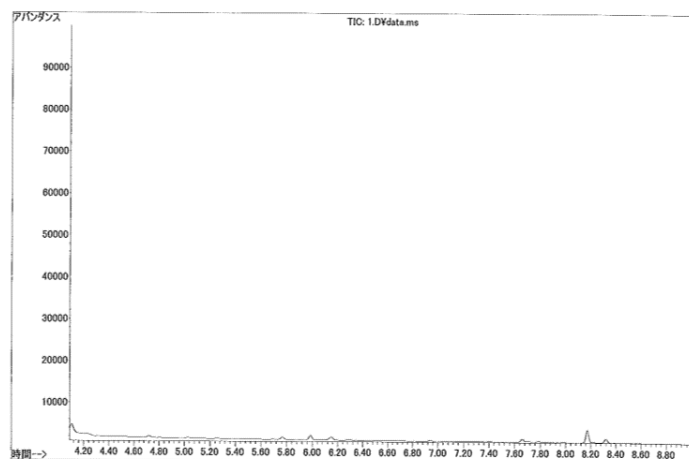


図 2-1 固体捕集管の脱着操作ブランクの Total Ion Chromatogram

5. 破過

破過試験は、ACH 標準液を 2E 濃度になるよう、固体捕集管 Porapak-Q の 1 層目に直接添加し、室内空気を 0.2 L/min で 240 分通気させた時に 2 層目への破過が生じていないかを確認した。表 4 に破過試験結果を示す。室内空気を 0.2 L/min で 240 分通気させても、2 層目へ破過は生じない事を確認した。

表 4 破過試験結果

添加量 (μg)	捕集量 (L)	サンプル数	1 層目		2 層目	
			定量値 (μg)	回収率 (%)	定量値 (μg)	回収率 (%)
2E (334)	48	(n=5)	324.3	97.1	0.0	0.0

6. 脱着率

脱着率は、MDHD32/2 の方法に従い検討した。すなわち、1/1000E~2E の気中空気を 0.2 L/min で 4 時間吸引した時に、サンプラーに捕集される絶対量 (捕集率 : 1 で算出) を算出し、その範囲となるように溶媒で調整した標準液を固体捕集管 Porapak-Q の 1 層目に添加した。添加後直ちに 0.2 L/min で 5 分間室内空気を吸引 (21.1°C、12%

(R.H.)) させ、脱着方法に従って脱着した。その結果、脱着率は、1/100E 以上の濃度で 90%以上であった。しかし、1/1000E では、80.9%とやや低い脱着率であった (表 5)。

表 5. 脱着率

ACH添加量 (μg)	4時間捕集 時の濃度 (ppm)	相当の濃度	脱着率 (%) (n=5)		RSD (%)
			Mean	SD	
334	2	2E	91.5	4.8	5.3
16.7	0.1	1/10E	97.3	8.5	8.7
1.67	0.01	1/100E	90.7	4.4	4.9
0.167	0.001	1/1000E	80.9	4.9	9.9

7. 定量

試料溶液 1 μL を GC-MS に導入し、得られた ACH のピーク面積を検量線に照らして定量する。

7-1. 濃度の算出

作業環境中の濃度 C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) は、以下の式から算出する。

$$C(\mu\text{g}/\text{m}^3) = (A_s - A_t) / (V \times 298 / (273 + t) \times P / 101.3)$$

C : 25 における作業環境気中の ACH 濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

A_s : 試料中の測定対象物質 (ACH) の値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

A_t : 測定対象物質の操作ブランク値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

V : 試料採取量 (m^3)

T : 試料採取時における平均気温 ($^{\circ}\text{C}$)

P : 試料採取時における平均大気圧 (kPa)

7-2. 検出下限と定量下限

表 6 に検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ) を算出したデータを示す。検出下限と定量下限の算出方法は下記の通りである。1/1000E = 0.17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の ACH 標準溶液 1 μL を GC-MS に 5 回注入し、5 回の MS ピーク面積の平均と標準偏差 (SD) を算出し、3SD を検出下限値とした。LOQ ($\mu\text{g}/\text{sample}$) は 10SD を定量下限値とした。

表 6. ACH の標準溶液 (濃度 : 1/1000E) を 5 回注入した時の
検出下限と定量下限の推定

注入	MS peak area	($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	1549	0.167
2	1833	0.198
3	1755	0.189
4	1529	0.165
5	2291	0.247
Mean	1791	0.193
SD	308	0.033
RSD (%)	17.2	17.2
3SD	925	0.099
10SD	3083	0.332

表 7 検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ)

直線範囲	0~334 ng
相関係数	0.999
LOD (検出下限)	0.099 µg/ml
LOQ (定量下限)	0.332 µg/ml

検出下限値を 3SD とすると、1/1000E に相当する検出下限値は、個人ばく露測定 0.048 m³採気 (0.2 L/min×4 時間) の場合に 2.1 µg/ml となった。定量下限を 10SD とすると、個人ばく露測定 (0.048 m³採気として) の定量下限値は、6.9 µg/ml となった (表 7)。

7-3. ACH 標準溶液クロマトグラムとマススペクトル

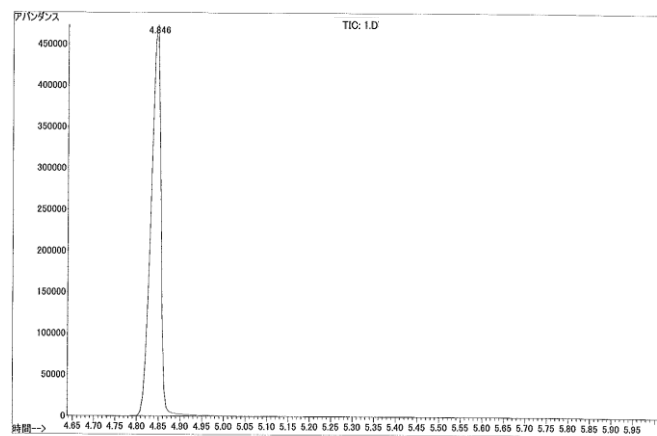


図 2-2 ACH 標準溶液の Total Ion Chromatogram

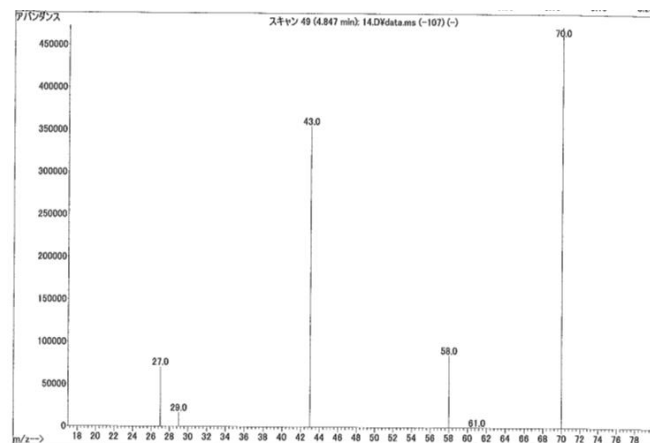


図 2-3 ACH (4.85min) のマススペクトル

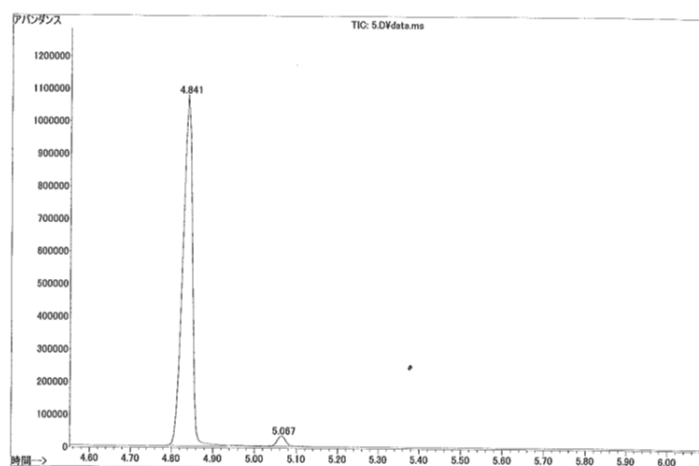


図 2-4 サンプル溶液の Total Ion Chromatogram

ACH 試薬を 52 μ g/mL 含む酢酸エチルで希釈した標準溶液の TIC (Total Ion Chromatogram) を図 2-2 に示した。TIC 上に、ACH は保持時間約 4.85 分の大きなピークとして確認された (図 2-2)。このピークの MS スペクトルを図 2-3 に示した。定量には m/z 70 を用い、確認には m/z 43、m/z 42 を用いた。固体捕集管 Porapak-Q [Cat.No.226-115] (SKC 社製) に捕集された ACH を、酢酸エチルにて抽出したサンプル溶液の TIC を図 2-4 に示した。

7-4. 添加回収に関する実験結果

前処理：

固体捕集管 Porapak-Q に ACH—酢酸エチル溶液 33.4 mg/mL (2E : 2 ppm)、16.7 mg/mL (E : 1 ppm)、16.7 μ g/mL (1/1000E : 0.001 ppm) をそれぞれ 10 μ L 添加後 (各々 n=5)、作業環境室内空気 (25.0 $^{\circ}$ C、40.0%) を流速 0.2 L/min で 240 分間吸引し、4 $^{\circ}$ C の冷蔵庫にて 12 時間保存した。

分析方法：

ACH を捕集した固体捕集管 Porapak-Q を酢酸エチル 1 mL で脱着し、分析試料とした。添加回収率は、334 μ g、167 μ g、1.67 μ g 及び 0.167 μ g を固体捕集管に添加した結果 (表・8) から、1/100E 以上の濃度では、アセトンシアノヒドリンは、ほぼ定量的に回収されることを実証された。

表 8 添加回収率

ACH 添加量 (μ g)	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	
334	2	2E	97.1	4.0	4.1
167	1	E	91.7	3.8	4.1
1.67	0.01	1/100E	106.2	8.3	7.8
0.167	0.001	1/1000E	79.9	9.3	11.7

7-5. 捕集後の試料の保存安定性

固体捕集管 Porapak-Q に、ACH 標準液（33.4 mg/mL、16.7 mg/mL、16.7 µg/mL）を添加（10 µL）し、室内空気（25.0°C、40.0%）を流速 0.2 L/min で 30 分間吸引した後、速やかに両端にキャップをし、冷蔵保存した。そして、捕集直後を基準として、0 日目と 1 日目の両日のみが良好な保存安定性を示すことを確認した（表 9）。

表 9 保存安定性

ACH添加量 (µg)	4時間捕集 時の濃度 (ppm)	相当の濃 度	保存日数	回収率 (%) (n=5)		RSD (%)
				Mean	SD	
334	2	2E	0	100.7	5.7	5.7
			1	95.6	6.2	6.5
			3	—	—	—
			5	—	—	—
167	1	E	0	95.9	6.4	6.6
			1	92.0	8.0	80.7
			3	—	—	—
			5	—	—	—
0.167	0.001	1/1000E	0	81.8	10.6	13.0
			1	77.5	9.5	12.2
			3	—	—	—
			5	—	—	—

(注) 保存日数 3 日目と 5 日目の回収率は、バラツキも大きく、且つ、低い値を示した。厚労省検討会（委員会）で指示された望ましい回収率に達し得なかった¹⁾。従って、具体的な数値を記入せず²⁾、再度の実験によって低下した回収率を求めて、その原因を解明したい。

8. まとめ

現在検討中

9. 引用文献

- 1) 職場のあんぜんサイト：化学物質：アセトンシアノヒドリン：<http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/7586-5.html>.
- 2) National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). NIOSH Pocket guide to chemical hazards: Acetone cyanohydrin. <https://www.cdc.gov/NIOSH/npgd-0005.html>.
- 3) National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Criteria for a Recommended Standard: Occupational exposure to nitriles.
- 4) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Threshold

- limit values for chemical substances in the work environment. 2016, ACGIH, Cincinnati, OH, USA.
- 5) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Acetone Cyanohydrin. Documentation of Threshold limit values for chemical substances in the work environment. 2001, ACGIH, Cincinnati, OH, USA.
 - 6) National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM) for acetone cyanohydrin.
<https://www.cdc.gov/NIOSH/docs/2003-154/pdfs/2506.pdf>.
 - 7) Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). SIDS Initial Assessment Profile for Acetone Cyanohydrin. OECD, SIAM 2, 4-6 July, 1994.