

ニトロベンゼンの測定・分析法に関する検討結果報告書

報告書作成日 平成 21 年 2 月 27 日



1. 目的

一般的にニトロベンゼンはベンゼンから製造され、90%以上はアニリンの製造原料となる。環気中浮遊するニトロベンゼンの捕集・分析方法を検討し、環気濃度の定量下限値として1日（作業時間8時間）で0.001ppm（5.12ug/m³）の定量が可能であることを保証する。

検討機関

検討日時 2009年1月～2009年2月27日

担当者

2. 分析・捕集方法の検討

1) ニトロベンゼンの物理化学的性質

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) 名はニトロベンゼン (Nitrobenzene) 別名ミルバン油、ニトロベンゾールと言われる。物理化学的性質は黄色液体で刺激臭があり、水には約 2mg/L(25℃)溶ける。表1に物理化学的性質を示す。

表1. ニトロベンゼンの物理化学的性質

名称	ニトロベンゼン	
別名	ミルバン油	ニトロベンゾール
CAS No	98-95-3	
分子式	C ₆ H ₅ NO ₂	
分子量	123.11	
物性		
形状	黄色液体	
融点	5.7℃	
比重	1.2g/mL	
沸点	210.8℃	
蒸気圧	20Pa(20℃)	
許容濃度等		
日本産業衛生学会	1ppm	
ACGIH	1ppm	
換算計数	1ppm=5.03mg/m ³ とする	

2) 分析方法の検討

ニトロベンゼンの分析方法は、吸光光度法、液体クロマトグラフ法、ガスクロマトグラフ (GC) 法が考えられる。GC 法では検出器として質量検出器 (MS)、水素フラーム検出器 (FID)、窒素検出器 (NPD)、またニトロ基は求核電子をもつことから電子捕獲検出器 (ECD) での分析が可能である。米国 NIOSH の分析方法では GC/FID が採用されている。検討目的の一つに労働時間 (8 時間/1 日) で 0.001ppm ($5.12\mu\text{g}/\text{m}^3$) の測定を可能とする様に要望されていることから検出感度、および分析種類の特異性のある GC/ECD を用いて検討した。検討は精度、特異性、検出限界、定量限界、直線性、範囲などが含まれる。

3) 捕集剤の検討

ニトロベンゼンの捕集は米国 NIOSH 方法 (2005) では捕集剤としてシリカゲル管が用いられ、米国 NIOSH 方法 (2017) ではニトロベンゼンとアニリン、オルトトルイジンを同時に測定する方法として、硫酸処理されたガラスフィルターとシリカゲル管が用いられている。今回の検討はニトロベンゼン単一物質の測定が求められているので、NIOSH (2005) 方法に沿ってシリカゲル管を用いて検討した。検討項目は脱着溶媒と脱着率、捕集率、保存性の検討である。

3. 器具・試薬等

1) 器具・試薬

検討に使用した器具・試薬は表 2 に示す。

特に試薬についてはトレーサビリティが確認できるものではなく市販に示された純度を採用した。標準溶液等の濃度は重量により求め純度補正をした。また高濃度溶液を予め GC/FID で分析し、検出される不純物の % を確認した。

表2. 器具・試薬

試薬	製造会社	製造国	純度 (%)	目的
ニトロベンゼン	和光純薬	日本	99%以上	標準物質
エタノール	関東化学	日本	99.5%以上	希釈・抽出溶剤
2-ニトロトルエン	和光純薬	日本	99%以上	内部標準溶液
捕集機器等				
捕集剤	シリカゲル管 (520/260mg) SKC Cat.No226-15			
捕集ポンプ	SKC Airchek XR 5000			

4. 結果

A. 分析方法の結果

1) 分析条件

分析機器と分析条件を表3に示す。マニアル注入で実施した。

表3. 分析機器と分析条件

ガスクロマトグラフ	HEWLETT PACKARD 5890 SERIES II
カラム	DB-WAX 60m × 0.53mm, 1.0um
カラム温度	185°C (定温分析)
キャリアガス	He 5.4ml/min
注入法と注入量	スプリットレス、2uL、マニアル注入
注入口温度	300°C
検出器と温度	300°C ECD
分析方法	溶媒抽出(内部標準法: 2-ニトロトルエン)

2) 選択性および特異性

分析法は選択性を上げるために分離分析で行い、また物質は液体であること、溶媒に解けやすいこと、気化生物質であることから GC 法を用いた。また選択性および特異性を上げることと、感度を上げるために ECD 検出器を用いた。この検出器では溶媒、ベンゼン、アニリン等の影響を受けない (図1)。

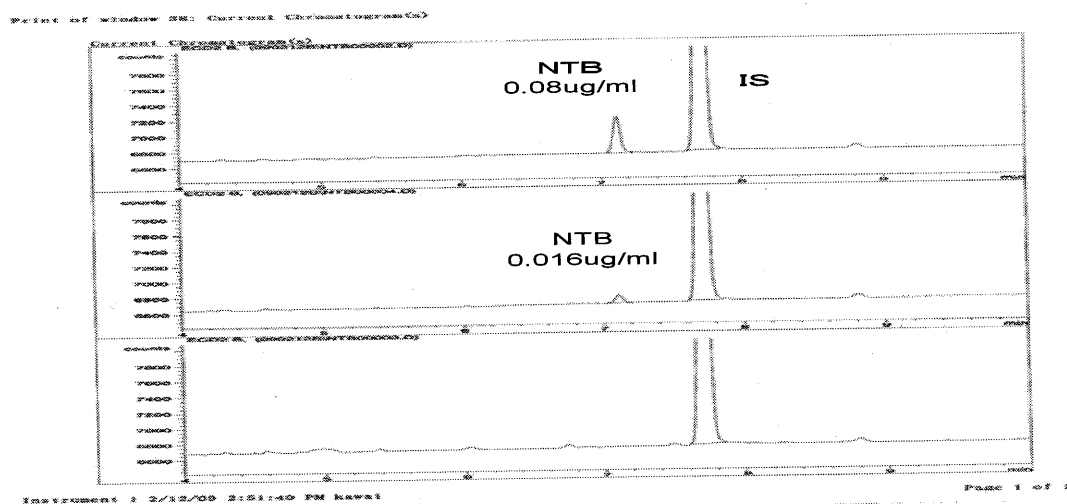


図1. ニトロベンゼンのクロマトグラム

3) 直線性 (検量線範囲)

検量線は希釈溶液として内部標準 2-ニトロトルエンが含有 (2.5ug/mL) されたエタノールを用いて作成した。検量線濃度はニトロベンゼンが含有されていないエタノールを 0ug/mL とし、0.0032、0.016、0.08、0.40、2.0、10.0、50.0ug/mL の 7 濃度を作成した。濃度範囲が 0.016 から 10.0ug/mL は直線が良好と判断された (濃度と検出面積比の相関係数が良いことと相対感度計数*の平均値を指標にして相対標準偏差が 7.6% であること)。検量線図を図 2 に示す。

*相対感度計数 (RRF) とは $IS \text{ 濃度} / NTB \text{ 濃度} \times NTB \text{ 面積} / IS \text{ 面積}$
IS: ニトロトルエン、NTB: ニトロベンゼン

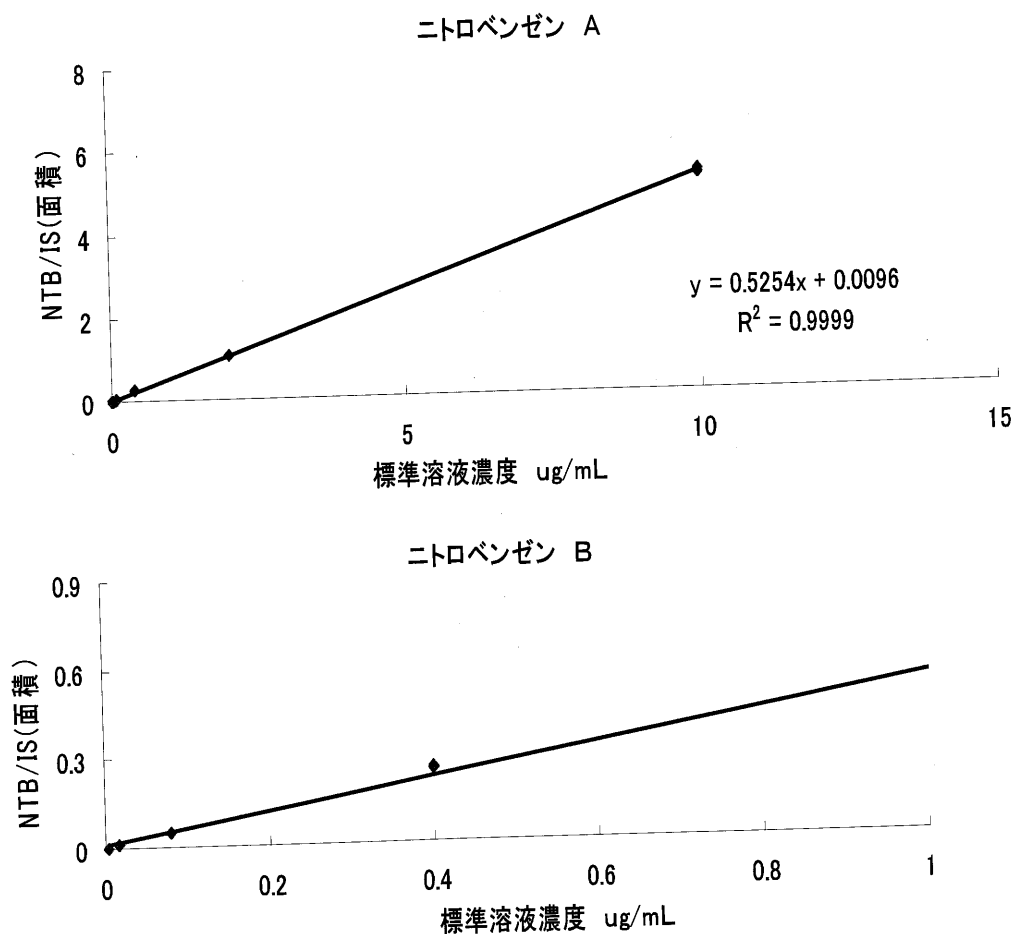


図 2. ニトロベンゼンの検量線

Aは高濃度範囲、BはAの低濃度範囲を図示した。

4) 検出下限値及び定量下限値

使用機器によるニトロベンゼンの定量下限値は次に示す方法から求めた。ニトロベンゼンの定量下限値は計算からは 0.011ug/mL が得られたが安全を考慮して 0.02ug/mL と決定した。(表 4)。

(a) 装置検出下限値 (IDL : Instrument Detection Limit)

感度は装置検出下限値 (IDL: Instrument Detection Limit) で評価した。最低シグナル/ノイズ (S/N) 比が 5~15 程度に相当する標準溶液濃度として 0.08ug/mL を選び 7 回測定し、得られた測定値から標準偏差を求め、IDL を算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times 2SD = 1.943 \times 2SD$$

ここで、 $t(n-1, 0.05)$ は自由度 $n-1$ の危険率 5% (片側) の t 値である。7 回測定なので 1.943 となる。

(c) 定量下限値 (LOQ: Limit of quantitation)

IDL で得られた標準偏差の 10 倍測定方法の定量下限値とした。

表 4. 機器定量下限値

物質名	ニトロベンゼン
標準溶液濃度 ug/mL	0.080
1	0.076
2	0.073
3	0.074
4	0.074
5	0.074
6	0.073
7	0.075
平均値	0.074
標準偏差(SD)	0.0011
$IDL = 2 \times SD \times t(n-1, 0.05)$	0.0043
$LOQ = SD \times 10$	0.011
報告書定量下限	0.020
装置の検出下限値 (IDL: Instrument Detection Limit)	
装置定量下限値 (IQL: Instrument Quantification Limit)	

5) サンプリング時間と評価下限値

ニトロベンゼンの定量下限値は 0.02ug/mL でありシリカゲルからの抽出はエタノール 2mL で行うものとする。絶対量は 0.04ug(0.02ug/mL*2mL)となる。ポンプの吸引速度 100mL/min で 8 時間捕集すると 48L となり、気中濃度は 0.83ug/m³(0.04ug*1/48L)で ppb に換算すると 0.17(0.2)となり、第一評価値(1ppb)の測定は十分測定可能である(表 5)。また環境 10 分間の測定も環境濃度の第一評価(10ppb)に対応する。

表5. 曝露評価下限値

ポンプ捕集	捕集速度 mL/min	捕集時間 min	捕集容量 m ³	定量下限 ug	評価下限可 能濃度 ug/m ³	ppb	目標濃度 ppb
曝露	100	480	0.048	0.04	0.83	0.2	1
環境(A、B測定)	100	10	0.001	0.04	40	8	10

B. 捕集方法の結果

1) 捕集剤と捕集位置

捕集剤は米国 NIOSH で示されているシリカゲル管を用いた。この捕集管は前方ガラスウール (A)、前方シリカゲル (B)、中間ガラスウール (C)、後方シリカゲル (D)、固定樹脂からなる。約 5 L のデシケータ内で未知の濃度のニトロベンゼンを発生させ、SKC ポンプで 10 分間吸引した後 1 日冷蔵保存し分析した。捕集量は 22 から 27ug/mL であった。表 6 は捕集位置の捕集量割合を示す。捕集は前方シリカゲルに 98%捕集されるが 1.6%は前方のガラスウールにも吸着されている。この結果から脱着溶媒と脱着率、捕集率、保存性の検討は前方ガラスウール (A) と前方シリカゲル (B) をまとめて抽出し検討した。

表6. シリカゲル管捕集位置の捕集%

測定位置	A	B	C	平均 %
前方ガラスウール(A)	1.7	1.7	1.3	1.6
前方シリカゲル(B)	97.6	98.2	98.7	98.2
中間ガラスウール(C)	0.2	0.0	0.0	0.1
後方シリカゲル(D)	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	100	100	100.0	100

Aの捕集量は37ug、Bは22ug、Cは29ug

2) 直接添加法による脱着率

脱着率は3種類の濃度で検討した。低濃度は第一評価値濃度、高濃度は第二評価値の2倍の濃度とその中間濃度で検討した。評価値は8時間捕集で得られる濃度(ppm)で示されているので計算から添加濃度(ug/mL)を求めた。第一次評価値0.001ppmは5.03ug/m³であり、吸引速度100mL/minで8時間サンプリングすると捕集量は0.048m³となる。評価値の絶対量は0.24ug(5.03ug/m³*0.048m³)となり添加されたニトロベンゼンは2mLで抽出されている。シリカゲル管への添加量は1uLであるので、添加濃度は0.48mgを添加することになる。高濃度は第二評価値の2倍の濃度を添加しているのでその濃度を計算するとシリカゲルに0.96g添加することになる。実際の実験では0.50mg、50mgを1uL添加し、500mgを2uL添加して10分間の吸引後、一晚冷蔵保存後、エタノール2mLで抽出し分析した。対象となる標準溶液は2mLのエタノールに1uLの標準溶液を加えた。実際の分析では必要に応じて5~50倍希釈して測定した。3濃度の脱着率は93%以上であった(表7)。

表7. 直接添加法による脱着率

	平均濃度ug/mL	標準偏差	脱着平均%	標準偏差
1. 最終濃度0.25ug/mLなるように添加(N:5)				
標準溶液濃度	0.250	0.016	100.1	6.6
シリカゲル添加	0.256	0.011	102.6	4.3
2. 最終濃度25ug/mLなるように添加(N:5)				
標準溶液濃度	25.0	0.54	100.0	2.2
シリカゲル添加	23.3	0.27	93.2	1.0
3. 最終濃度500ug/mLになるように添加(N:5)				
標準溶液濃度	496.0	13.7	100.0	2.8
シリカゲル添加	488.8	7.3	98.5	1.5

シリカゲルへの添加量は1uLである。添加濃度は2mLで脱着しているので2000倍の濃度を添加。添加後は5~10分間ポンプで吸引(100mL/min)した。

最終濃度25、500ug/mL添加サンプルは分析時5から50倍希釈して測定。

3) 捕集率

上記 2) 直接添加法による脱着率の検討の検討 に用いた濃度 3 種類をシリカゲル管に添加後、曝露測定時間 8 時間の間ポンプで新鮮空気を吸引(100mL/min)した。これは捕集されたサンプルが長時間吸引による移動、保持からの遊離を検査するために行った。実験終了後は前方ガラスウールと前方シリカゲルを 2 mL のエタノールで抽出分析した。また移動等を確認する為に後方のシリカゲルも抽出して測定した(表 8)。いずれの濃度でもシリカゲルにニトロベンゼンは保持されている。

表8. 捕集率

	平均濃度ug/mL	標準偏差	脱着平均%	標準偏差
1. 最終濃度0.25ug/mLなるよう添加(N:5)				
標準溶液濃度	0.25	0.012	100.0	4.7
前方ガラスウール・シリカゲル	0.29	0.022	116.8	9.1
中間ガラスウール後方シリカゲル	検出されず	検出されず	検出されず	検出されず
2. 最終濃度25ug/mLなるよう添加(N:5)				
標準溶液濃度	25	1.09	100.0	4.4
前方ガラスウール・シリカゲル	23.8	1.25	85.1	5.0
中間ガラスウール後方シリカゲル	検出されず	検出されず	検出されず	検出されず
3. 最終濃度500ug/mLになるよう添加(N:5)				
標準溶液濃度	500.0	26.7	100.0	5.3
前方ガラスウール・シリカゲル	475.1	14.1	95.0	2.8
中間ガラスウール後方シリカゲル	7.5	1.6	1.5	0.3

シリカゲルへの添加量は1uLある。添加濃度は2mL脱着しているので2000倍の濃度を添加。添加後は8時間(480分)ポンプで吸引(100mL/min)した。

最終濃度25、500ug/mLの添加サンプルは分析時5から50倍希釈して測定している。

4) 保存性

保存性は 2) 直接添加法による脱着率の検討 で用いた第一評価値濃度、と第二評価値の 2 倍の濃度になる溶液をシリカゲルに添加し、10 分間新鮮空気を吸引したものを検討試料とした。保存は添加当日を 0 日とし、2、4、7 日後に測定した。保存は一般的に捕集された試料は密閉し、冷蔵保存(4℃)するのが慣例

であることから冷蔵保存とした。また 7 日間の保存とした理由は金曜日に調査した場合、月曜日に測定基地に発送することになり、測定基地への到着は火曜日となる。到着したサンプルの処理は当日か次の日（水曜日）に行われる。1 日余裕をみて 7 日の保存で検討した(表 9)。2 種類の濃度試料とも 7 日間の保存でも減少を示さなかった。

表9.保存性

	保存日			
	0日目	2日目	4日目	7日目
第一評価値濃度(最終濃度が0.25ug/mLになる様に添加した試料 N:4)				
濃度(ug/mL)	0.189	0.195	0.193	0.204
標準偏差(ug/mL)	0.023	0.007	0.004	0.014
保存率(%)	100	104	103	109
標準偏差	12.2	4.7	2.4	7.9
第二評価値の2倍の濃度(最終濃度が500ug/mLになる様に添加した試料 N:4)				
濃度(ug/mL)	445.2	427.9	420.7	447.1
標準偏差(ug/mL)	6.7	17.5	17.7	16.2
保存率(%)	100	96	95	100
標準偏差	1.5	3.9	4	3.6

%は0日目(添加日)の抽出試料を100%とした。

結論

- 1) 分析機器として GC/ECD を用いることで、8 時間曝露に対する評価値の測定は可能である。
- 2) ECD で分析する場合 10ug/mL 以上の濃度サンプルは希釈して測定使用機器の直線範囲を確認が必要。
- 3) ニトロベンゼンの製造の原料、ニトロベンゼンから主に製造されるアニリンは分析の妨害とならない。
- 4) シリカゲル管で捕集が可能である。
- 5) 捕集後、7 日間は冷蔵保存 (4℃) でも捕集剤に保持される
- 6) 8 時間の捕集吸引においても、捕集剤に保持される。
- 7) 抽出溶剤エタノールは環境、人への影響が少なく、クリーン化学である。

ニトロベンゼンの分析

ニトロベンゼンの分析		
構造式: C6H5NO2	分子量: 123.1	CASNo: 98-95-3
許容濃度等: 日本産業衛生学会 1ppm ACGIH 1 ppm		物性等 比重: 1.2g/mL 沸点: 210.8℃; 融点: 5.7℃ 蒸気圧: 20 Pa (20℃)
別名	ニトロベンゾール、ミルバン油	
サンプリング		分析
サンプラー: シリカゲル (150/75mg) サンプリング流量: 0.1 L/min サンプリング時間: 480min 採気量: 48L 保存性: シリカゲル管に添加し、冷蔵保存の場合、添加日より7日間まで冷蔵保存で変化なし。 ブランク: 検出せず		分析方法: ガスクロマトグラフ法 脱着: エタノール 2 mL (内部標準物質を含む: 2 ニトロトルエン (25 ug/100mL エタノール)) 20min (超音波) 振とう攪拌 機器: HEWLETT PACKARD HP6890 SERIES II カラム: DB-WAX 60m×0.53mm×1.0um 注入口温度: 300℃ 検出器: ECD 300℃ カラム温度: 185℃ 10min (定温) 分析時間 8 min 注入法: スプリットレス 導入量: 2 uL キャリアガス: He 5.4 mL/min 検量線: エタノールで調製 0.016 から 10.0ug/mL まで直線性確認 (内部標準法)
精度		
脱着 (回収) 率 1. 直接添加法 50mg/mL, 1uL 添加、2mL のエタノールで脱着のとき脱着率 93.2% 定量下限 0.02ug/mL (脱着液 2mL で) 0.008ppm (採気量 1 L として) 8 時間曝露の場合 0.00002ppm		
適用: ポンプ法によるばく露濃度測定可能		
妨害		
メソッド 参考: NIOSH (NMAM) 2005		