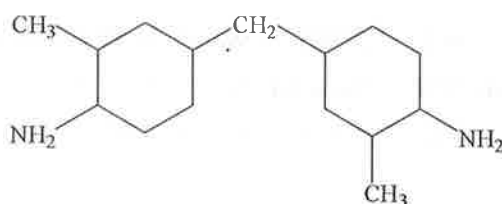


4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)
(別名：3,3'-ジメチル-4,4'-ジアミノジシクロヘキシルメタン)
4,4'-methylenebis-(2-cyclohexanamine)

【対象物質の構造】

CAS 番号：6864-37-5



【物理化学的性状】

分子量	融点(°C)	沸点(°C)	蒸気圧(mPa)	水溶解度(mg/L)	LogPow
238.5	-7	342	80(20°C)	4000(20°C)	2.5(文献値)

出典)国際化学物質安全性カード(WHO/IPCS/ILO)

【毒性、用途】

毒性：ラット(吸入、液体エアロゾル LD₅₀) 0.42mg/L(4時間)ウサギ(経皮 LD₅₀) >200<400mg/kg bw

用途：化学合成原料、その他硬化促進剤として利用。エポキシ樹脂、ポリアミドの硬化剤。

§ 1 分 析 法

(1) 分析法概要

大気試料(1m³)を、1%リン酸処理固相カートリッジに一定流量(0.7 L/min)で24時間通気して対象物質を採取後、1%ギ酸メタノール溶液 10mLで溶出し、濃縮乾固後、0.1%ギ酸水溶液 1mLで再溶解しLC/MS/MS-SRM法で定量する。なお、標準品は異性体混合物のため、異性体の合計値として扱う。

(2) 試薬・器具

【試薬】

4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン) (注1)

: Aldrich(99% mixture of isomers)

メタノール、超純水、ギ酸

: 和光純薬工業株式会社(LC/MS用)

ギ酸アンモニウム

: 和光純薬工業株式会社(和光特級)

リン酸

: 和光純薬工業株式会社(和光特級)

固相カートリッジ

: Waters社製 Sep-pak PS-Air

【試薬の安全性・毒性】

可燃性の液体。誤飲や暴露により急性中毒の恐れがある。皮膚、眼、粘膜を強く刺激し、重度の炎症や薬傷を起こす。眼に入ると失明の恐れがある。環境中に残存するので放出しないよう注意する。取り扱いに際しては適切な保護具を使用する。

【器具】

注射筒(20mL)、濃縮管、Waters 社製 Sep-Pak Connections Kit

Whatman 社製 13mmGD/X シリンジフィルタ PVDF0.2 μ m

吸引ポンプ及びガスメーター (注 2)

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。前処理操作は試料採取後、速やかに行う。やむを得ず困難な場合は、密栓し冷蔵庫内に保存し可能な限り速やかに行う。

【試料の前処理及び試料液の調製】

〔大気〕

1%リン酸処理固相カートリッジ(注 3)をポンプに接続し、0.7L/min の流速で 24 時間大気試料を捕集する。固相カートリッジはアルミホイルなどで遮光する。捕集後の固相カートリッジをバックフラッシュにより 1%ギ酸メタノール溶液 10mL を用いて溶出し、濃縮管に受け、窒素ガスを吹き付けて濃縮乾固させる。0.1%ギ酸水溶液 1mL を正確に加え再溶解し、ろ過後試料液とする。(注 4)

【空試験液の調製】

試料採取しない 1%リン酸処理固相カートリッジを用い【試料の前処理及び試料液の調整】の項に従って操作し、得られた試料液を空試験液とする。

【標準液の調製】

標準品 100mg を正確に秤取り、0.1%ギ酸水溶液 100mL に定容し、1000 μ g/mL 濃度の標準原液とする。標準原液を 0.1%ギ酸水溶液で順次希釈し、0.5~20ng/mL の標準液を調製する。(注 5)

【測定】

〔LC/MS 条件〕（注 6）

（LC 条件）

機種名：Waters 社製 Alliance2795

カラム：Waters 社製 Atlantis dC18 (2.1 mm×150mm×3 μm)

移動相：A；0.2% 塩酸水溶液：20mM 塩酸アンモニウム水溶液=1：1

B；メタノール

A：B = 80：20

流量：0.2mL/min

カラム温度：40℃

注入量：10 μL

（MS）

使用機種：Waters 社製 Quattro Premier XE

キャピラリー電圧：1 kV

イオン源温度：110℃

デソルベーション温度：400℃

コーンガス流量：50L/hr

デソルベーションガス流量：1000L/hr

コリジョンガス流量：0.2mL/min

イオン化法及びモニターイオン：

イオン化 方法	コーン電圧 (V)	コリジョン エネルギー(eV)	プリカーサー イオン	プロダクト イオン
ESI(+)	25	20	239	95

〔検量線〕

0.5～20ng/mL の標準溶液 10 μL を LC/MS/MS に注入し、標準物質の注入量と 4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)の異性体ピーク面積の総和を用いて検量線を作成する。

〔定量〕

試料液 10 μL を LC/MS/MS に注入し、ピーク面積より試料液中の 4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)の濃度を測定する。

〔濃度の算出〕

$$C = (W - W_b) \times \frac{(273 + t)}{V \times (273 + 20)} \times \frac{101.3}{P}$$

C : 大気試料中の濃度 (ng/m³)

W : 試料液中の測定物質質量(ng)=検出量(pg)× $\frac{\text{最終液量 (mL)}}{\text{注入量 (μL)}}$

W_b : 空試験液中の測定物質質量(ng)=検出量(pg)× $\frac{\text{最終液量 (mL)}}{\text{注入量 (μL)}}$

V : 大気試料採取量(m³)

t : 試料採取時における平均気温(°C)

P : 試料採取時における平均大気圧(kPa)

〔装置検出下限(IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS-SRM(Waters 社製 Quattro Premier XE) の IDL を下表に示す (注 7)。

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m ³)
4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)	0.044	1	1	0.044

〔測定方法の検出下限(MDL)、定量下限(MQL)〕

本測定方法における LC/MS/MS-SRM(Waters 社製 Quattro Premier XE) の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)を下表に示す(注 8)。

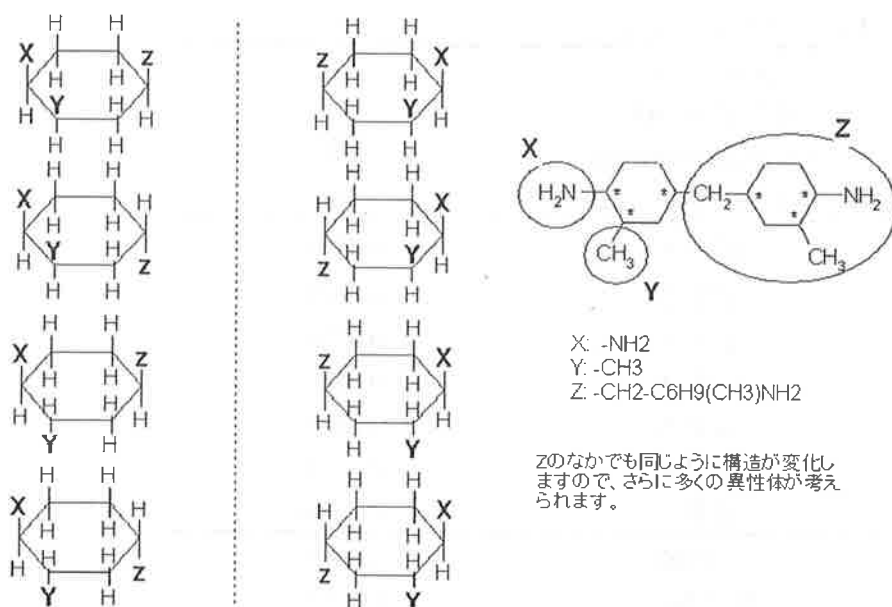
ただし、MDL、MQL算出に際しては大気試料 1m³を採取後の 1%リン酸処理固相カートリッジに標準液を添加して行った。

物質名	試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m ³)	MQL (ng/m ³)
4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)	1	1	0.24	0.65

【注解】

(注 1)

標準品の入手可能なメーカーは Aldrich 社、東京化成工業株式会社があり、両社製品を本測定法で確認した結果では、濃度、異性体パターンとも同様であった。なお、考えられる異性体は以下の通り。



資料提供：シグマ アルドリッチ ジャパン株式会社

(注 2)

ポンプは 0.7L/min が吸引可能なもの。

(注 3)

大気捕集時における対象物質の安定化のために固相カートリッジのリン酸処理を行う。1%リン酸処理固相カートリッジは、Sep-pak PS-Air を予めメタノール 10mL で洗浄し、1%リン酸水溶液 3mL を通水し含浸させ、吸引及び窒素気流下で脱水したものを使用する。(脱水はポンプで 0.7L/min が吸引可能な程度)。

(注 4)

本物質は酸性条件以外では不安定であるため、前処理操作はギ酸酸性下で取り扱う。また、ガラス容器内壁への吸着しやすいため注意が必要である。

(注 5)

アセトニトリルやメタノール中では時間とともに析出する場合がある。

(注 6)

LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters 社製 Quattro Premier XE) 特有のものである。

また、異性体の分離やピーク形状は、溶離液のギ酸アンモニウム濃度や LC カラムの種類 (メーカー) によって異なるため注意が必要である。

(注 7)

装置検出下限(IDL)は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成17年3月)に従って、表1のとおり算出した。

表 1. 装置検出下限 (IDL) の算出

4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)	
試料量(m ³)	1
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	0.5
装置注入量(μL)	10
結果 1	0.4906
結果 2	0.4612
結果 3	0.4717
結果 4	0.4886
結果 5	0.4634
結果 6	0.4724
結果 7	0.4734
平均値	0.4745
標準偏差	0.01133
IDL (ng/mL)	0.044
IDL試料換算値(ng/m ³)	0.044
S/N	3~14
CV (%)	2.39
IDL=t(n-1,0.05)×σ _{n-1} ×2	

(注 8)

測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成 17 年 3 月)により、表 2 のとおり算出した。

ただし、MDL、MQL算出に際しては大気試料 1m³を採取後の 1%リン酸処理固相カートリッジに標準液を添加して行った。

表 2. 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)	
試料量(m ³)	1
標準添加量(ng)	0.5
試料換算濃度(ng/m ³)	0.5
最終液量(mL)	1
注入液濃度(ng/mL)	0.5
装置注入量(μL)	10
操作ブランク平均(ng/m ³) ^①	0
無添加平均(ng/m ³) ^②	0
結果 1(ng/m ³)	0.4925
結果 2(ng/m ³)	0.3803
結果 3(ng/m ³)	0.5181
結果 4(ng/m ³)	0.4896
結果 5(ng/m ³)	0.3846
結果 6(ng/m ³)	0.5332
結果 7(ng/m ³)	0.4848
平均値	0.4690
標準偏差	0.06159
MDL(ng/m ³)	0.24
MQL(ng/m ³)	0.65
S/N	3~13
CV (%)	13.1
MDL=t(n-1,0.05)×σ _{n-1} ×2	
MQL=σ _{n-1} ×10	

①操作ブランク平均：試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値

②無添加平均：MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析のフローチャートを図1.に示す。

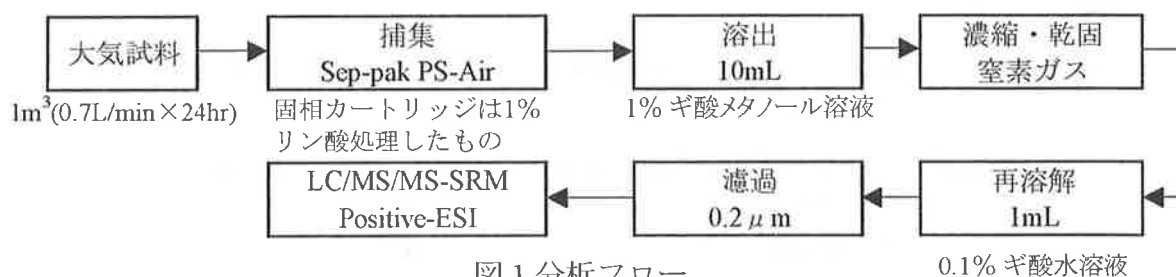


図1.分析フロー

〔検量線、クロマトグラム及びマススペクトル〕

検量線を図2に、検量線最低濃度のクロマトグラムを図3に示す。

また、本条件での異性体溶出時間は、およそ3.8～8.8minであった。

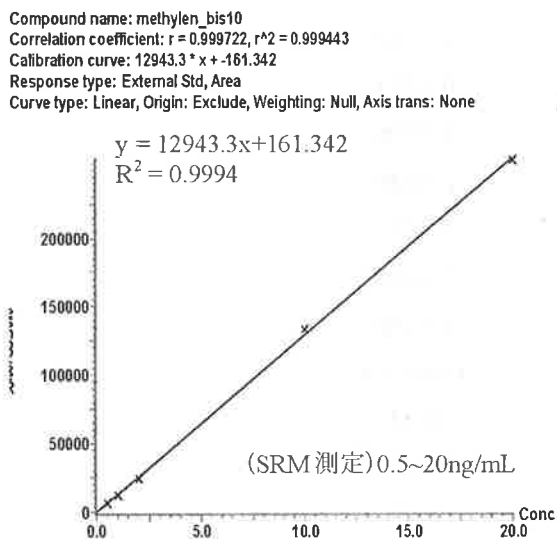


図2. 検量線

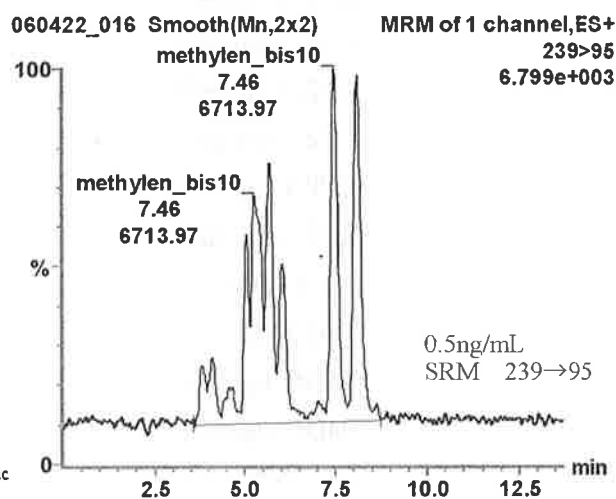


図3. クロマトグラム

〔マススペクトル〕

マススペクトル(プリカーサーイオン及びプロダクトイオン)を図4及び5に示す。

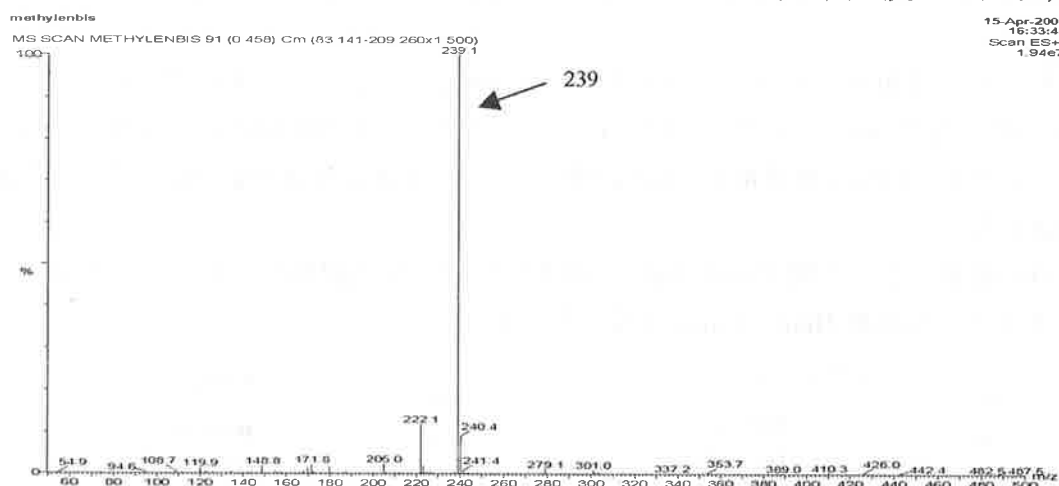


図4.プリカーサーイオン



図5. プロダクトイオン(プリカーサーイオン 239 に対するプロダクトイオン)

〔添加回収実験結果〕

1%リン酸処理固相カートリッジに標準物質を添加し、大気試料(東京都多摩市)1m³採取し【試料の前処理及び試料液の調製】の操作を行い、添加回収試験を行った。また、無添加の場合についても行った。結果を表3に示す。

表3. 添加回収実験結果

物質名	試料量 (m ³)	添加量 (ng)	測定回数 (回)	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)	変動係数 (%)
4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)	1	無添加	1	ND	—	—
	1	5	5	4.5	91	4.3

試験時の温度 13.7℃、湿度 39.0%(24 時間平均)

〔固相カートリッジ溶出溶媒等の検討〕

固相カートリッジの前処理及び、溶出溶媒と量について検討した。結果を図 6～10 に示す。

それぞれ、固相カートリッジをメタノール 10mL で洗浄しただけのものと、さらに 1%リン酸水溶液 3mL を通水し含浸させたものを用い、溶出溶媒としてメタノール、アセトニトリル、0.1%ギ酸水溶液、0.1%ギ酸メタノール溶液及び 1%ギ酸メタノール溶液で検討を行った。

検討の結果、1%リン酸水溶液 3mL を通水し含浸させた固相カートリッジを用い、1%ギ酸メタノール溶液 10mL で溶出することとした。

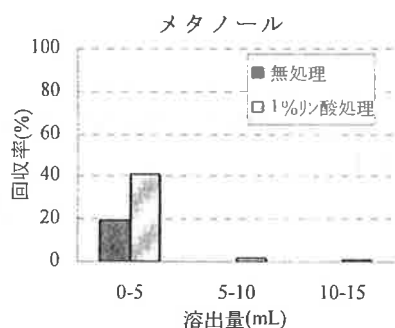


図 6. メタノールによる溶出試験結果

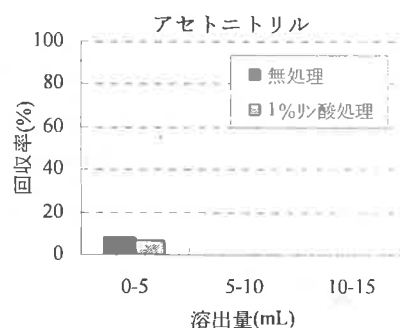


図 7. アセトニトリルによる
溶出試験結果

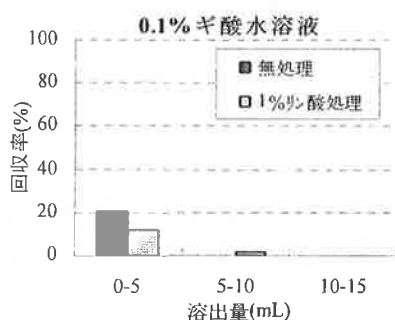


図 8. 0.1%ギ酸水溶液による溶出試験結果

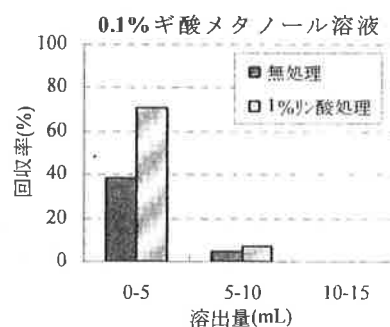


図 9. 0.1%ギ酸メタノール溶液による
溶出試験結果

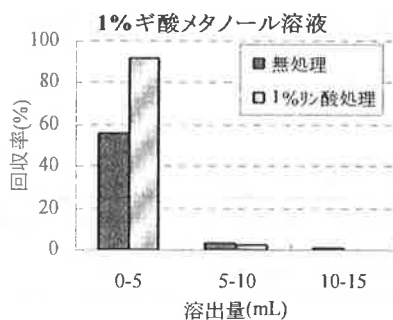


図 10. 1%ギ酸メタノールによる溶出試験結果

〔保存安定性〕

試料の保存安定性は検討していないが、今回の回収試験等の調査では全て当日に分析を終了した。

〔異性体ピークの測定方法〕

本分析法では、異性体ピーク面積の総和を用いて定量を行っているが、主要なピーク(図11の色塗りピーク)を選んで測定しIDL、MDL及びMQLを、本分析法と比較した結果を表4に示した。

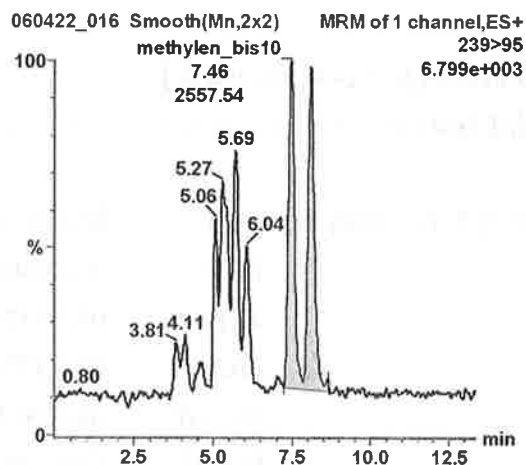


図11.主要なピークを選んだクロマトグラム

表4. 測定方法によるIDL、MDL及びMQL

測定方法	試料量 (m ³)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m ³)	MDL (ng/m ³)	MQL (ng/m ³)
異性体総和 (本分析法)	1	1	0.044	0.24	0.65
主要なピークのみ	1	1	0.040	0.25	0.64

〔環境試料分析例〕

環境大気(東京都 多摩市)からは4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)は検出されなかった。

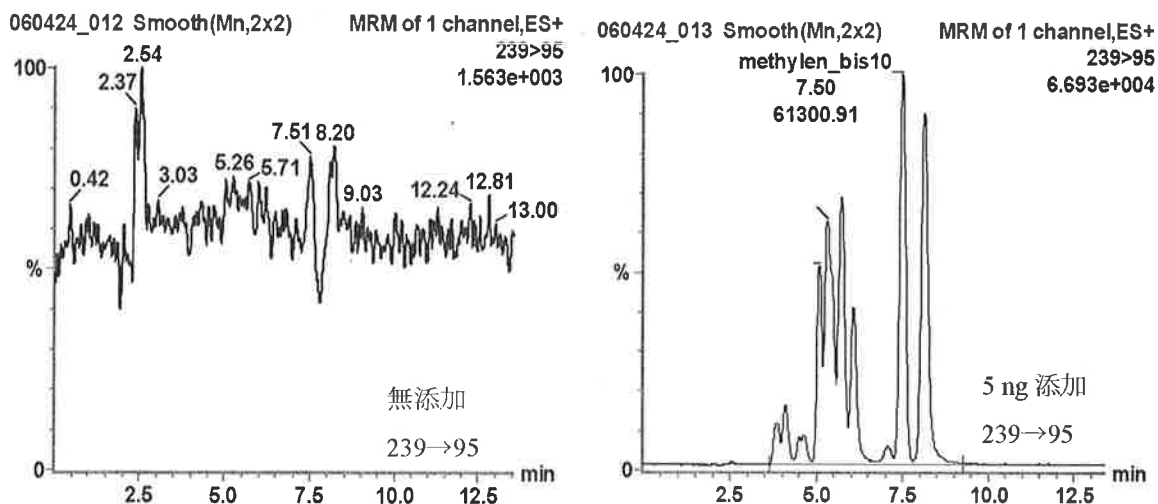


図12.クロマトグラム 環境大気(東京都 多摩市)

【評価】

本法により、大気試料中4,4'-メチレンビス(2-メチルシクロヘキサンアミン)の 1ng/m^3 以下のレベルでの定量が可能である。

【採取試料及び試料液の輸送】

捕集後のカートリッジはキャップをし、気密容器に入れ、冷蔵で輸送する。

【担当者名・連絡先】

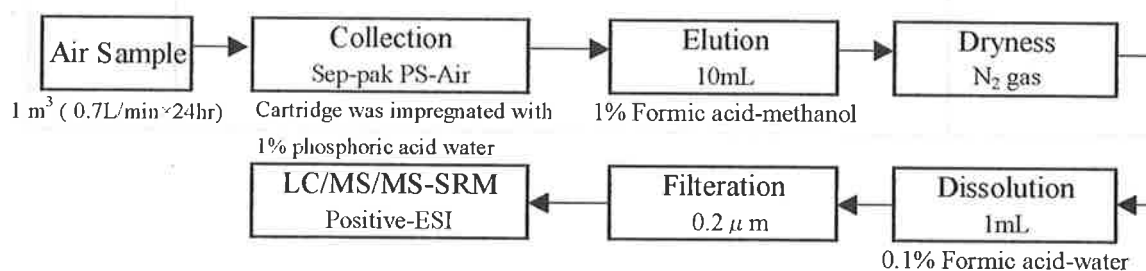
担当	: 財団法人 日本食品分析センター
住所	: 〒206-0025 東京都多摩市永山 6-11-10
TEL	: 042-372-6701
FAX	: 042-372-6717
担当者	: 福沢栄太、野村孝一
E-mail	: fukuzawae@jfri.or.jp

4,4'-methylenebis-(2-cyclohexanamine)

An analytical method was developed in the ambient air by liquid-chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) .

Air samples were collected by cartridge of Sep-pak PS-Air (impregnated with 1% phosphoric acid). The air sample passed through the cartridge at the flow rate of 0.7L/min(total volume was 1.0m³). The extract was eluted with 10mL of 1% formic acid/methanol after reverse the cartridge and dried. Sample extract dissolved in 1mL of 0.1% formic acid-water. The sample solutions were filtrated by the membrane filter (0.2 micron) and analyzed by LC/MS/MS.

Recovery for standard was 91%. This relative standard deviation was 4.3%. Detection limit of the 4,4'-methylenebis-(2-cyclohexanamine) was 0.24ng/m³.



物質名	分析法フローチャート	備考
4,4'-メチレンビス (2-メチルシクロヘキサンアミン)	<pre> graph TD A[大気試料 1m³ (0.7L/minで24時間)] --> B[捕集 Sep-pak PS-Air 固相カートリッジは1%リン 酸処理したもの] B --> C[溶出 10mL 1%ギ酸メタノール溶液] C --> D[濃縮・乾固 窒素ガス] D --> E[再溶解 1mL 0.1% ギ酸水溶液] E --> F[濾過 0.2 μ m] F --> G[LC/MS/MS-SRM Positive-ESI] </pre>	LC/MS/MS カラム Atlantis dC18 長さ 150mm 内径 2.1mm 粒経 3 μ m 検出下限 <大気> 0.24ng/m ³