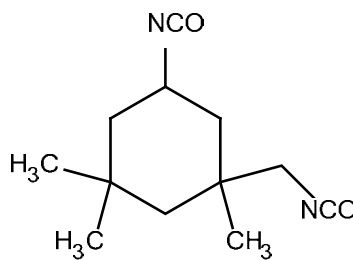


3-イソシアナトメチル-3,5,5-トリメチルシクロヘキシル=イソシアネート

3-Isocyanatomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylisocyanate-methyl-1,3-diphenyl=diisocyanate

別名：ジイソシアン酸イソホロン、イソホロンジイソシアネート、IPDI

【対象物質の構造】



CAS 番号：4098-71-9

分子式：C₁₂H₁₈N₂O₂

【物理化学的性状】

物質名	分子量 (モノアイソトピック質量)	融点 (°C)	沸点 (°C)	蒸気圧 (mmHg)	水溶解度	log P _{ow}
IPDI	222.3 (222.1368)	-60	158	0.0003	水と反応	4.75

【毒性、用途等】

〔毒性〕

工業製品の IPDI は、*cis*-、*trans*-異性体の混合物であるが、比率は製造法により変化する。

吸入：LC₅₀：123 mg/m³（ラット 4 時間）、経皮：ラット LD₅₀：1060 mg/kg
20°C で気化すると、やや急速に危険濃度に達することがある。

TWA-ACGIH：0.005ppm

〔用途〕

合成樹脂原料 ポリウレタンはイソシアネートとポリオールを原料として数多くの種類がある。対象物質はその主原料の一つである。

*【物理化学的性状】、【毒性、用途等】は、神奈川県化学物質安全情報提供システムによるデータベース、国際化学物質安全性カードなどを参考にした。

§1 分析法

(1) 分析法の概要

大気試料は捕集用カセット（ORBO 80：ガラス繊維濾紙に誘導体化試薬 1-(2-ピリジル)ピペラジン(12PP)を含浸させ専用カセットにセットしたもの）を用いて誘導体化捕集、溶媒抽出したものを LC/MS/MS(ESI-positive)で測定する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

IPDI	： 東京化成製(>99%)
12PP	： Sigma-Aldrich製
酢酸アンモニウム水溶液	： 1 mol/L 和光純薬工業製 HPLC用
酢酸	： 和光純薬工業製 LC/MS用
メタノール	： 和光純薬工業製 LC/MS用
アセトニトリル	： 和光純薬工業製 LC/MS用
超純水	： 和光純薬工業製 PFOS、PFOA測定用

開封後は IPDI と 12PP を同じ場所で保管しない方がよい。また IPDI の試薬瓶は、ねじ口部分に試薬が付着していると、ふたが開かなくなるおそれがあるので注意する。

【試薬の安全性・毒性】

高濃度では中毒の危険性もある。標準試薬を取り扱うときはドラフトの中で行うなど室内を汚染させないように注意する。誘導体化前の試薬は水やアルコールと反応して発熱する。

【標準液の調製】

IPDI の標準試薬をアセトニトリルに溶解して希釈し、10.0 ng/mL の標準原液を調製する。また 12PP をアセトニトリルに溶解して希釈し、0.1 mg/mL の 12PP 溶液を調製する。12PP 溶液 0.1 mL に IPDI 標準液を添加して 1 時間以上置き、メタノール/超純水 (4:1) で 1.0 mL にして、IPDI として 0.0200～0.500 ng/mL としたものを検量線用標準液とする。IPDI と 12PP はアセトニトリル溶液中で反応し、測定対象である誘導体化物 IPDIP になる。（注 1）

【器具】

捕集用カセット	: Sigma-Aldrich 製 ORBO 80 (注 2)
抽出ビン	: ねじ口式ガラス遠沈管 内容量 10 mL。共栓付きは不可 (注 3) アズワン製 NS-10 など
接続	: オス型ルアーフィッティング (注 4)
その他	: 遠心分離器

(3)分析法

【捕集用カセットの構造】

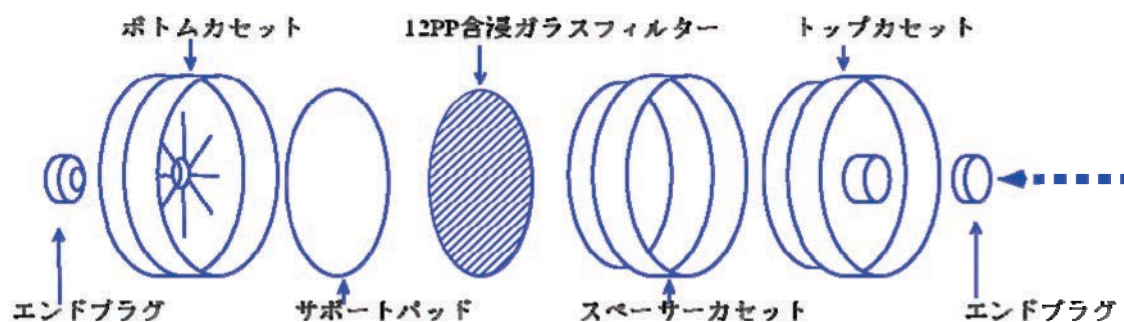


図1 捕集用カセットの構造

【試料の採取及び保存】

あらかじめ操作ブランクを測定し、濾紙や器具などのコンタミが十分低いことを確認しておく。捕集用カセットは12PPを含浸させたガラス繊維濾紙をカセットで保持する構造をしている。試料採取まで汚染を受けないようアルミパックなどで密閉し冷蔵しておく。両端のプラグとトップカセット（注 5）を外してオス型ルアーフィッティングなどを用いてポンプと接続し、0.07 L/min の流速で大気を24時間通気して採取する。

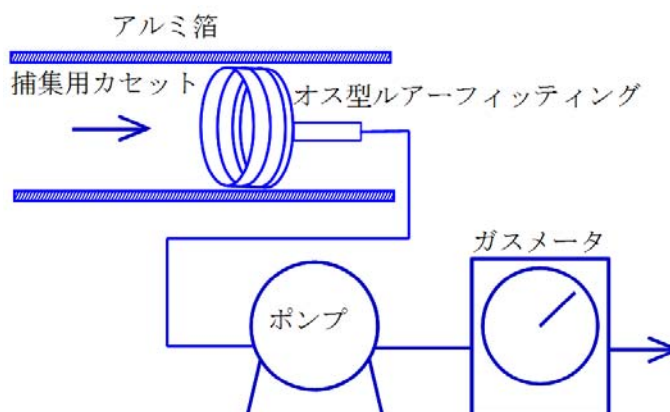


図2 大気試料採取装置

【試料の送付方法】

試料を採取した捕集用カセットの両端にプラグをはめてアルミバックなどに入れ、冷蔵して送付する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料を捕集した濾紙を抽出ビン（遠沈管、バイアルビンなど）に移し入れ、メタノール 4 mL を加えてキャップを閉めて 1 時間以上置き、振り混ぜたものに超純水を加えて 5.0 mL としたものを試験液とする。試験液を遠心分離して、その上澄みを LC/MS/MS-SRM で分析し定量する。

【空試験液の調製】

試料を捕集する以外は、すべて試験液と同様に調製したものを空試験液とする。

【誘導体化反応】

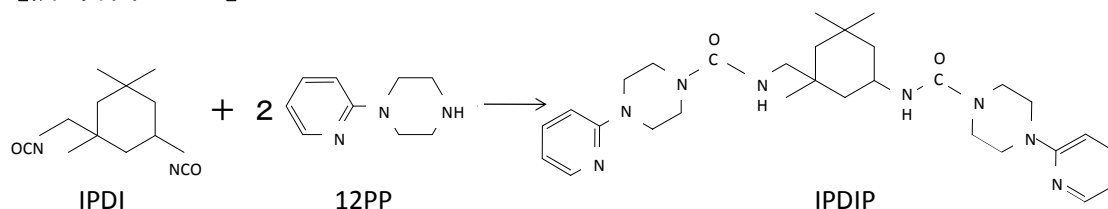


図 3 誘導体化反応

【測定】

〔LC/MS/MS 条件〕（注 6）

使用機種	: Waters Acquity-UPLC Micromass Quattro premier XE
使用カラム	: Acquity-UPLC BEH-C ₁₈ (1.7 μm, 2.1 mm × 30 mm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: A: 10 mmol/L 酢酸アンモニウム 0.05% 酢酸 B: メタノール A: B = 37:63 0.2 mL/min
バルブ切り替え	: 1.4 min（注 7）測定時間 3 min
注入量	: 5.00 μL
イオン化法	: ESI positive
コーン電圧	: 30 V
キャピラリー電圧	: 4.5 kV
コリジョンエネルギー	: 30 eV
ソース温度	: 120°C
脱溶媒温度	: 500°C
脱溶媒ガス流量	: 900 L/hr
コーンガス流量	: 50 L/hr

コリジョンガス : 0.30 mL/min Ar
 モニターイオン : 549.3>163.8

〔検量線〕

検量線用標準液 5.00 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。標準の濃度と得られた標準物質のピーク面積から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 5.00 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた物質のピーク面積を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

大気試料中の濃度 C (ng/m³) は次式から算出する。

$$C \text{ (ng/m}^3\text{)} = (A - Ab) \times E \times \frac{(273 + t)}{V \times (273 + 20)} \times \frac{101.3}{P}$$

A : 検量線から求めた測定物質濃度 (ng/mL)

Ab : 空試験液の測定物質濃度 (ng/mL)

E : 試験量 (mL) : 本法に従った場合は 5 mL

t : 試料採取時の平均気温 (°C)

V : 大気採取量 (m³) : 本法に従った場合は 0.10 m³

P : 試料採取時の平均気圧 (kPa)

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS の IDL を下記に示す (注 8)。

表 1 IDL 算出の結果

物質名	IDL (ng/mL)	大気採取量 (m ³)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/m ³)
IPDI	0.0033	0.10	5.0	0.16

〔測定方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL)〕

本分析の MDL 及び MQL を下記に示す (注 9)。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	大気採取量 (m ³)	最終液量 (mL)	MDL (ng/m ³)	MQL (ng/m ³)
IPDI	0.10	5.0	1.0	2.6

注 解

- (注 1) 12PP 試薬の代わりに、採取用濾紙を用いることもできる。
- (注 2) ORBO 80 の調製済み濾紙を用いない場合は、ガラス製濾紙 (37 mm 径 Type A/E (Pall corporation 製)) をメタノールで洗浄し、乾燥させてから 0.5% 12PP メタノール溶液 0.2 mL をなるべく均一に塗布して乾燥させる。一連の操作はクリーンルームなど汚染のない環境で行い、できあがった濾紙は密閉できる容器で保存する。この濾紙 1 枚は、誘導体化試薬 12PP を 1 mg 含んでいる。
市販品の調製済み濾紙を用いる場合でも自分で調製する場合でも、事前にコンタミのレベルを確認しておく必要がある。
- (注 3) 密閉できて汚染のおきにくい構造である必要がある。共栓のすり合わせ部分は特にコンタミしやすい。使用はなるべく一回限りとしたほうがいい。洗浄してもブランクが残る場合がある。洗浄の必要がある場合はジクロロメタンを用いる。
- (注 4) 使い古しの Sep Pak など、固相抽出カートリッジでも代用できる。
- (注 5) トップカセットまで取り外すのは濾紙部分を大気解放にしておくためである。濾紙から拡散した誘導体化試薬と対象物質が反応すると、カセットの内側に残留して濾紙に到達しないおそれがある。
- (注 6) LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters Quattro Premier XE) 特有のものである。HPLC でも測定可能である。〔HPLC での測定〕の項参照。
- (注 7) 試験液中には未反応の 12PP が高濃度に存在し、およそ 1 分で溶出する。LC/MS のイオン源を保護するために、最初の 1.4 分はイオン源に流れ込まないようにした方がよい。

(注 8) IDL は、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従って、下記のとおり算出した。

表3 IDL の算出結果

物質名	IPDI
試料量 (L)	100
最終液量 (mL)	5.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.0200
装置注入量 (μL)	5.00
結果 1 (ng/mL)	0.0208
結果 2 (ng/mL)	0.0186
結果 3 (ng/mL)	0.0195
結果 4 (ng/mL)	0.0193
結果 5 (ng/mL)	0.0188
結果 6 (ng/mL)	0.0182
結果 7 (ng/mL)	0.0187
平均値 (ng/mL)	0.01914
標準偏差 (ng/mL)	0.000843
IDL (ng/mL)*	0.0033
IDL 試料換算値 (ng/m ³)	0.16
S/N比	20 (peak 1)、9 (peak 2)
CV (%)	4.4

* IDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

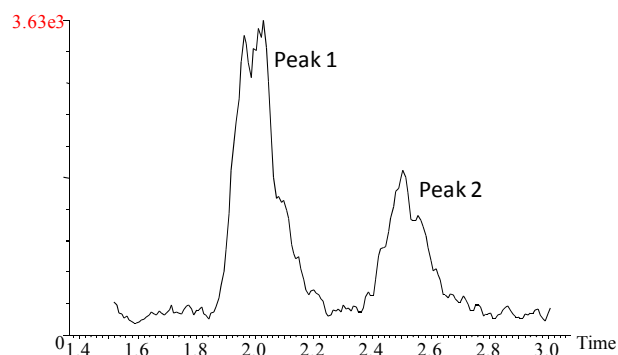


図4 IDL 測定時のクロマトグラム (0.02 ng/mL)

このように対象物質は 1 つであるが、ピークは 2 本生じる。どちらもマスペクトルに差は見られなかった。IPDI には *cis*-、*trans*-の異性体が存在するので、それに由来していると思われる。評価は 2 本のピーク面積を合算して行う。

(注 9) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)により、下記のとおり算出した。添加したのは未反応の標準物質ヘキサン溶液であるが、ガス状で標準物質を定量的に添加するのは事実上不可能だったので、添加は濾紙に直接行った。

表4 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	IPDI
試料	環境大気
試料量 (L)	100
標準添加量 (ng)	0.200
試料換算濃度 (ng/m ³)	2.00
最終液量 (mL)	5.0
注入液濃度 (ng/mL)	0.0400
装置注入量 (μL)	5.00
操作ブランク平均 (ng/m ³)* ¹	<MDL(0.2)
無添加平均 (ng/m ³)* ²	<MDL(0.2)
結果1 (ng/m ³)	1.58
結果2 (ng/m ³)	1.80
結果3 (ng/m ³)	1.79
結果4 (ng/m ³)	2.01
結果5 (ng/m ³)	1.53
結果6 (ng/m ³)	2.20
結果7 (ng/m ³)	1.52
平均値 (ng/m ³)	1.776
標準偏差 (ng/m ³)	0.257
MDL (ng/m ³)* ³	1.0
MQL (ng/m ³)* ⁴	2.6
S/N比	37 (peak 1) ,18 (peak 2)
CV (%)	14

*1: 試料マトリ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 (n=2)

*2: 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 (n=2)

*3: $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4: $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

§2 解 説

【分析法】

〔フローチャート〕

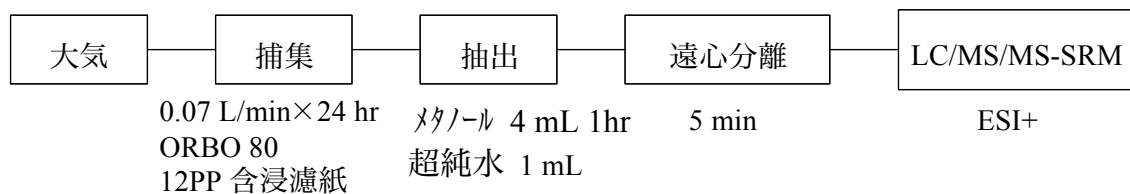


図 5 分析法のフローチャート

〔検量線〕

表 5 検量線作成用データ一覧

標準試料濃度 (ng/mL)	対象物質応答値	
	IPDI	
	(m/z = 549>164)	
0.0200	1556	(1060+ 497)
0.0400	3236	(2166+ 1070)
0.0600	4579	(3082+ 1497)
0.0800	6126	(4148+ 1978)
0.100	7680	(5153+ 2527)
0.200	15574	(10116+ 5458)
0.300	23108	(15137+ 7971)
0.400	31642	(20689+10952)
0.500	39724	(27060+12663)

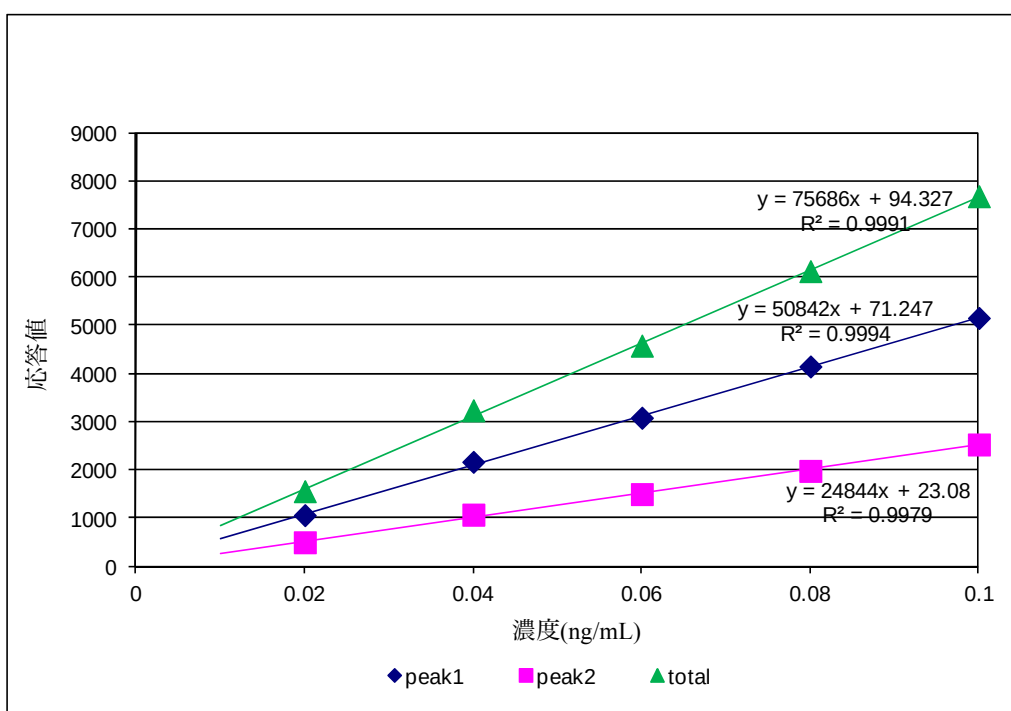
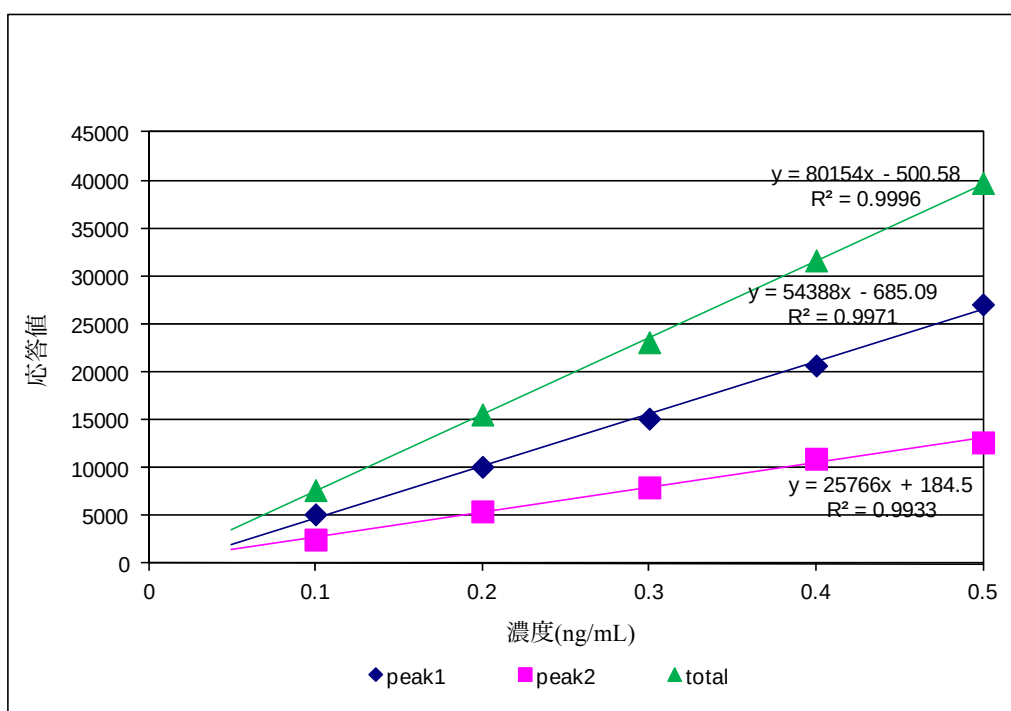
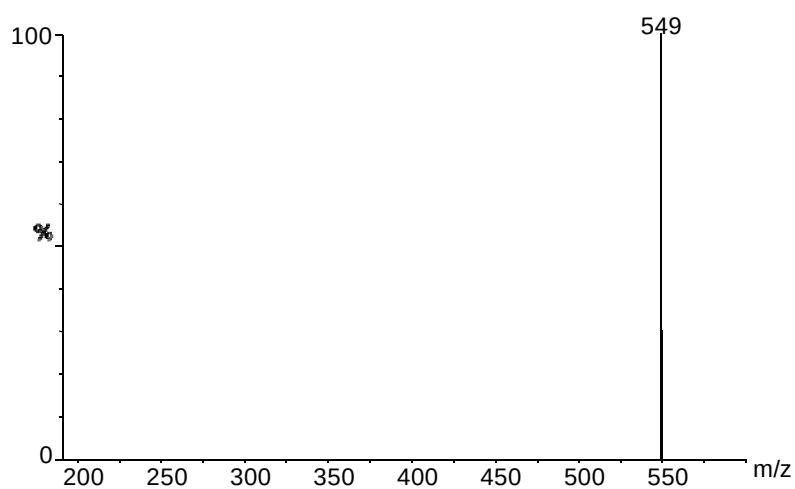
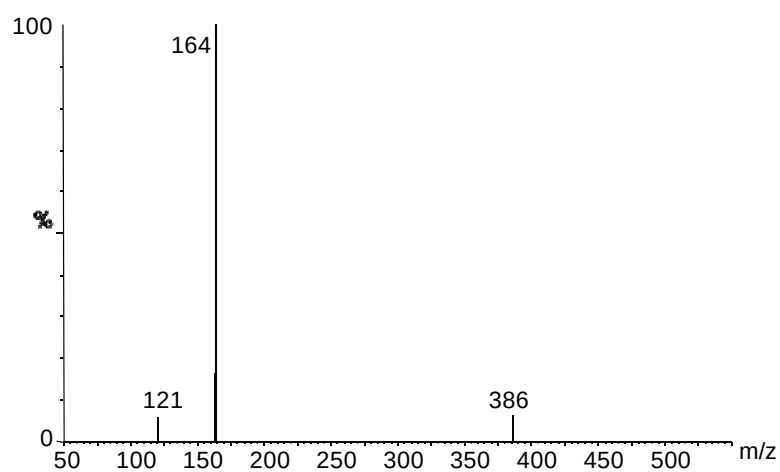


図6 検量線（上：0.1～0.5 ng/mL、下：0.02～0.1 ng/mL）

〔マススペクトル〕



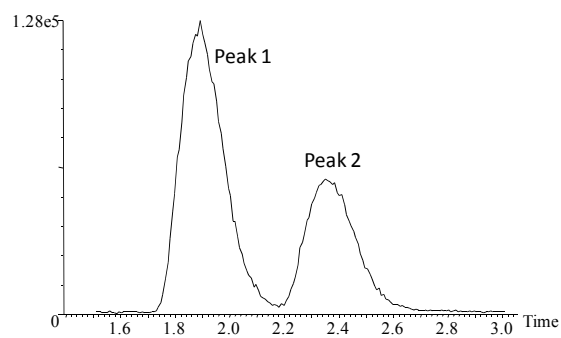
IPDI のスキンスペクトル



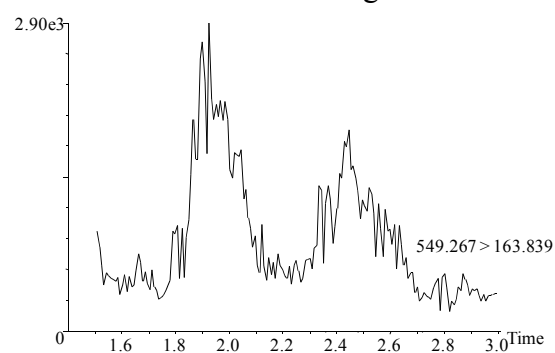
$m/z = 549$ をプレカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトル

図7 マススペクトル

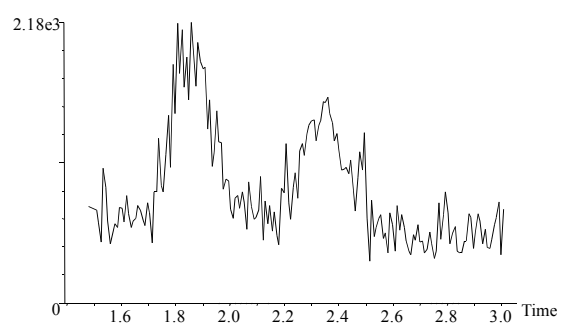
〔クロマトグラム〕



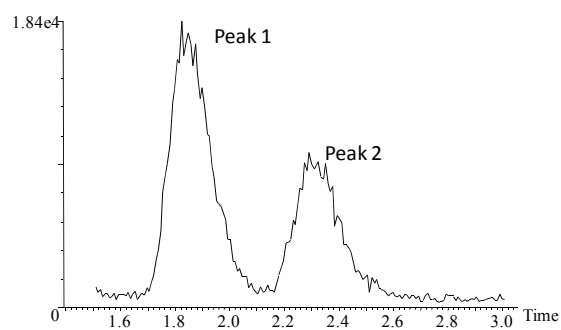
標準物質 0.5 ng/mL



操作ブランク



環境大気 101 L



環境大気 0.2 ng 添加 (MDL 測定時)

図8 クロマトグラム

〔操作ブランク〕

図 8 のクロマトグラムのように、操作ブランクにしばしば対象物質のピークらしきものが見られ、それと同レベルで環境大気試料からも見られた。しかし、定量しても濃度は 0.01 ng/mL に満たず、MDL に達しない。同様の傾向は平成 22 年度検討した TDIIs にも見られ、極低濃度の検出を困難にしていた。考えられる対策は取って、ピークが現れなくなることもあったが長続きせず、操作ブランクが検出されても定量できる高めの MDL での測定が現実的と思われる。

〔添加回収試験〕

未反応標準物質を添加した捕集管の添加回収率を求めた。添加は 40 ng/mL の溶液を 25 μ L、濾紙に直接行った。通常の実施方法のように、標準液を上流の石英ウールなどに添加すると、気化した 12PP と反応して石英ウール上に残留してしまい、定量的に濾紙に添加することが困難であるからである。表 6 に示すように回収率、変動係数とも良好であった。また濾紙を 2 枚重ね、通気しながらガス体で添加した場合、およそ 70%が前段の濾紙から検出され、後段の濾紙は操作ブランクと差がなかった。よって対象物質はガス体であっても 1 枚の濾紙で捕集されていると考えられる。

24 時間の通気後の濾紙を用いても、回収率が下がることはなかった。誘導体化試薬は 24 時間通気後も、十分残留していると考えられる。

表 6 添加回収試験結果

物質名	気温 湿度	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (ng/m ³)	回収率 (%)	変動係数 (%)
IPDI	16 ～ 20°C	0	2	<MDL	-	-
		1.0	7	9.66	94.6	5.8
	24 ～ 29°C >80%	0	1	<MDL	-	-
		1.0	3	8.33	83.3	3.7

〔保存性試験〕

同日同地点で環境大気を採取して、採取後に濾紙に標準液を添加して両端にキャップをはめ、アルミパックに入れて冷蔵庫内に保存し、保存期間と定量値の関係を求めた。初日の値を 100 とした場合の結果を図 9 に示す。

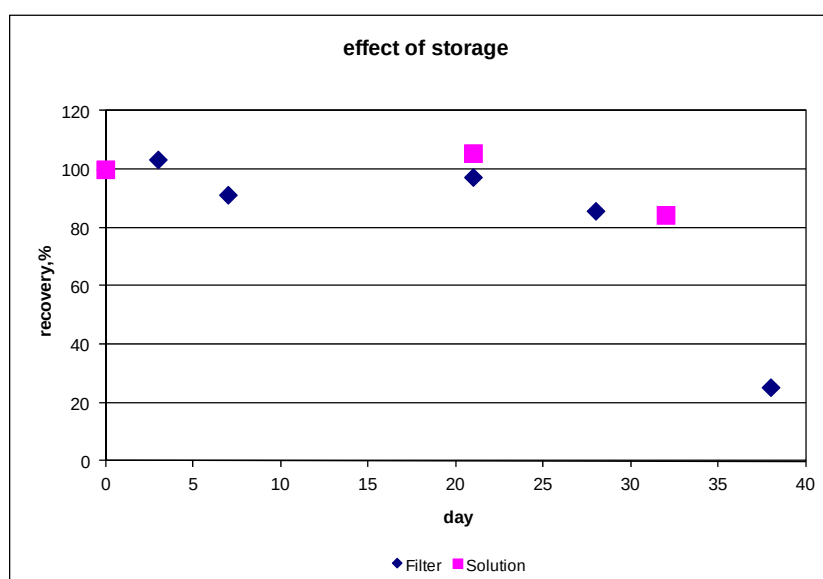


図9 保存性試験結果 (◆：濾紙 ■：試験液)

このように、ろ紙のままでも、15℃のサンプルトレイにあった抽出後の試験液も、およそ一ヶ月間の回収率はそれほど変動しなかったが、それ以降は幅が大きく、ほとんど変動しない検体もあったが、大きく低下した検体もあった。測定は試料採取後一ヶ月以内に実施した方が良い。

〔HPLCでの測定〕

本法で用いた、ACQUITY UPLC BEH-C₁₈ (1.7 μm, 2.1×30 mm)カラムに代えて、通常のHPLCで用いる、Xbridge C₁₈ (2.5 μm, 2.1×30 mm)カラムを用い、他の条件はすべてUPLCと同様に測定してみたところ、少々溶出は早くなって、分離は落ちるようだったが、IDLやピーク形状などもほとんど変わらなかった。HPLCでも測定は可能と考えられる。

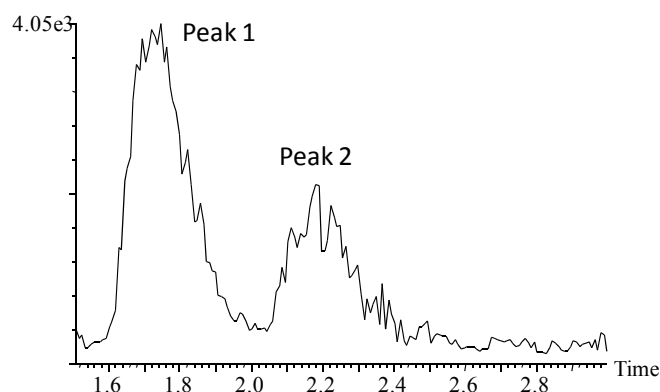


図10 Xbridge カラムを用いた IDL 測定時のクロマトグラム (0.02 ng/mL)

〔環境試料の測定例〕

本法を用いて神奈川県平塚市の大気を測定した結果、2本のピーク位置ともNDもしくはわずかにピークが見られたが、すべてMDL以下であった。

〔分析上留意すべきこと〕

実際に測定するのは対象物質の誘導体化物であるが、これらは極めてコンタミしやすい物質であった。高濃度の標準に曝露されたものは、洗浄後もブランクが消えないことが多かった。シリンジなどは濃度ごとに使い分け、ブランクを確認し、ガラス器具はなるべく一回限りのものを用いる必要がある。市販の含浸濾紙（Sigma-Aldrich 製、ORBO 80）は、本法のような高感度測定を想定してつくられているわけではないので、コンタミが十分小さいと保証されているものではない。事前に操作ブランクを確認しておく必要がある。

【評価】

本法でIPDIの大気中濃度を測定すると、すべての検体でMDL以下だった。比較的高濃度の添加回収率検討結果では良好な値が得られたが、MDL算出試験で実施した定量下限レベルの添加実験ではばらつきが大きかった。その原因は、操作ブランクを生じない濾紙の確保が困難であったためと思われる。そのため試料のほとんどでピークは見えるのに、定量するとMDL以下となった。回収率は下限値付近で概ね80%以上あるので、 1 ng/m^3 のレベルで検出することは可能と思われるが、要求感度を満足する測定には、コンタミの十分小さい濾紙を用いることが不可欠である。

【その他】

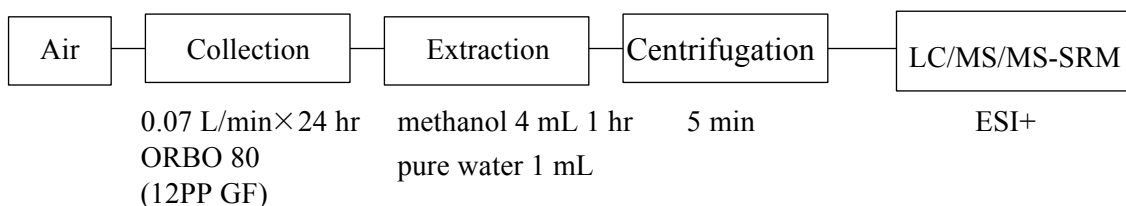
平成22年度開発した2,6-TDI、2,4-TDIの大気中濃度測定法と、採取、前処理までは同一である。同じ試験液を用い、LC/MS/MSの測定条件を変えれば、両物質とも測定することが可能である。

【担当者連絡先】

所属先名称 : 神奈川県環境科学センター
所属先住所 : 〒254-0014 平塚市四之宮 1-3-39
TEL : 0463-24-3311 FAX : 0463-24-3300
担当者名 : 調査研究部 長谷川敦子
E-mail : hasegawa@k-erc.pref.kanagawa.jp

3-isocyanatomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylisocyanate (IPDI)

A method for the determination of IPDI in ambient air with simultaneous collection and derivatization on filter followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) has been developed. Sample air is drawn through an adsorption cassette (ORBO 80 : adsorbent is glass fiber filter impregnated with 1 mg of 1-(2-pyridyl) piperazine(12PP)) at 0.07 L/min in flow rate. IPDI collected and derivatized to IPDIP on the filter is eluted with 4 mL of methanol, and one hour after the elution, 1 mL of pure water is added to the elute. After centrifugation, IPDIP in the solution is determined by LC/ MS/MS-SRM. The ionization mode is positive ESI (electrospray ionization). The precursor ion is protonated ion of IPDIP, the derivative of IPDI and 12PP. The precursor/product ion set in the SRM is 549/164. The recovery from air sample, relative standard deviation (RSD n=5), the method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) were 94.6%, 5.8%, 1.0 ng/m³ and 2.6 ng/m³, respectively. With this method, the airborne concentration of IPDI at Hiratsuka was determined. All results showed below the MDL.



物質名	分析法フローチャート	備 考
3-イソシアナト メチル-3,5,5-トリ メチルシクロ ヘキシル＝イソ シアネート IUPAC名：3-iso cyanatomethyl- 3,5,5-trimethylcy clo hexylisocya nate 別名： ジイソシアン酸 イソホロン、イ ソホロンジイソ シアネート、 IPDI	【大気】 <pre> graph LR A[大気] -- "0.07 L/min × 24 hr ORBO 80 12PP 含浸濾紙" --> B[捕集] B -- "メタノール 4 mL 1 hr 超純水 1 mL" --> C[抽出] C --> D[遠心分離 5 min] D --> E[LC/MS/MS-SRM ESI+] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Positive 検出下限値： 【大気】(ng/m³) IPDI：1.0 分析条件： 機器 LC/MS： Waters Acquity-UP LC Micromass Qu attro premier XE カラム Acquity-UPLC BE H-C₁₈ (1.7 μm, 2.1 mm × 30 mm)