神奈川県環境科学センター

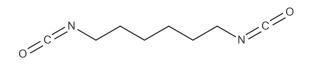
[対象媒体:大気]

ヘキサメチレン=ジイソシアネート

Hexamethylene=diisocyanate,

IUPAC 名: 1,6-Diisocyanatohexane 別名: HMDI, 1,6-HDI

【対象物質の構造】



CAS 番号: 822-06-0 分子式: C₈H₁₂N₂O₂

【物理化学的性状】

分子量	融点	沸点	蒸気圧	水溶解度	log D
(モノアイソトヒ゜ック質量)	(°C)	(°C)	(hPa)	(mg/L)	log P _{ow}
168.19 ²⁾	-67 ²⁾	255 ¹⁾	700 (25°C) 1)	□広する ¹⁾	1.08 ¹⁾
(168.089876)	-0/	233	700 (23°C)	火心する	1.00

【毒性、用途等】

[畫件] ³⁾

ラット(経口) $LD_{50}:105$ -960 mg/kg 、マウス(経口) $LD_{50}:350$ -1979 mg/kg ラット(吸入、6 時間) $LC_{50}:385$ mg/m³、ラット(吸入、4 時間) $LC_{50}:124$ -350 mg/m³、ラット(吸入、1 時間) $LC_{50}:290$ mg/m³、マウス(吸入、2 時間) $LC_{50}:30$ mg/m³、ウサギ(経皮) $LC_{50}:570$ -599 mg/kg

IARC 、EPA、EU、NIP(発がん性評価:該当無し) TWA (日本産業衛生学会): 0.005 ppm (0.034 mg/m³)

TWA (ACGIH (2010)): 0.005 ppm

[用途]

ポリウレタン塗料原料、ポリウレタン樹脂原料、自動車・建材用塗料原料、レトルトパウチ、ラミネート材原料

出典:

- 1) 国際化学物質安全性カード
- 2) 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
- 3) (独) 製品評価技術基盤機構:化学物質総合情報提供システム(CHRIP)

§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: ガラス繊維ろ紙に誘導体化試薬 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】

HMDI(注1): 東京化成製 (>98%)

HMDIP (注2) : 1000 μg/mL DMSO溶液 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

ぎ酸 : 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

ヘキサン (注3) : 和光純薬工業製 ダイオキシン用

精製水 : 超純水 和光純薬工業製 PFOS、PFOA測定用

【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注意する。

【標準液の調製】

市販の HMDIP 標準液(1000 μ g/mL) をメタノールで適宜希釈し、10.0 η mL の標準原液を調製する。標準原液をメタノール/ 超純水(4:1, η v)で希釈して、HMDIP として $0.0200\sim0.500$ η g/mL (HMDI として $0.0068\sim0.170$ η g/mL) としたものを検量線用標準液とする。

回収率や MDL の算出などに使用する誘導体化前の HMDI 標準液は、HMDI を量り取り、ヘキサンで適宜希釈して標準液を調製する。

【器具】

捕集用カセット : Sigma-Aldrich 製 ORBO 80 (注 4)

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5) 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 6)

その他 : 遠心分離器

(3)分析法

【捕集用カセットの構造】

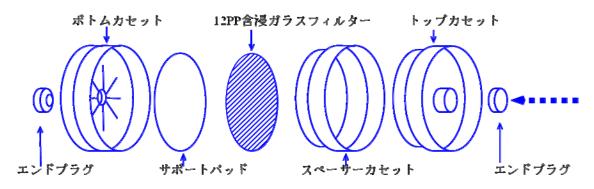


図1 捕集用カセットの構造

【試料捕集法】

あらかじめ操作ブランクを測定し、ろ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ろ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 7)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。

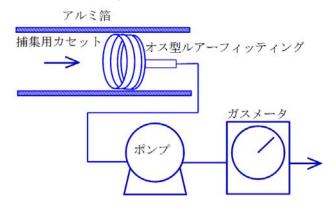


図2 大気試料採取装置

【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】

試料を捕集したろ紙を抽出ビン(遠沈管、バイアルビンなど)に移し入れ、メタノール $4\,\mathrm{mL}$ を加えてキャップを閉めて、振り混ぜたものに精製水を加えて $5.00\,\mathrm{mL}$ としたものを試験液とする。試験液を $5\,\mathrm{分間遠心分離して}$ 、その上澄みを $\mathrm{LC/MS/MS-SRM}$ 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】

OCN NCO + 2
$$N$$
 NH N NH N HMDIP

図3 誘導体化反応

【測定】

[LC/MS/MS 条件] (注 8)

使用機種 : Waters 製 Acquity-UPLC Micromass Quattro premier XE

使用カラム : Sigma-aldrich 製 Ascentis RP-Amide

 $(3 \mu m, 2.1 \text{ mm} \times 150 \text{ mm})$

カラム温度 : 40°C

移動相 : A: 0.01%ぎ酸含有 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B:メタノール

A: B = $40:60 \quad 0.2 \text{ mL/min} \quad (T \land Y \land D \ni T \land Y \land D)$

バルブ切り替え : 3.5 min (注 9)、測定時間 6 min

イオン化法 : ESI positive 試料注入量 : 5.00 μL

コーン電圧 : 30 V 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 : 0.35 mL/min Ar モニターイオン : *m/z* 495.2>163.8

[検量線]

検量線用標準液 $5 \mu L$ を LC/MS/MS に注入して分析する。対象物質の濃度と得られたピーク面積から検量線を作成する。

[定量]

試験液 $5 \mu L$ を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた対象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 $C(ng/m^3)$ は次式から算出する。

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

A : 検量線から求めた対象物質濃度 (ng/mL)

Ab : 空試験液の対象物質濃度 (ng/mL)

E:試験液量 (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 (m^3) : 本法に従った場合は $0.10 \, m^3$

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 10)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL	大気採取量	最終液量	IDL 試料換算值
	(ng/mL)	(m^3)	(mL)	(ng/m^3)
HMDI	0.0014	0.100	5.00	0.072

〔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11)。

	1 2	MDL X 0 MQL		
物質名	大気採取量	最終液量	MDL	MQL
	(m^3)	(mL)	(ng/m^3)	(ng/m^3)
HMDI	0.100	5.00	0.14	0.37

表 2 MDL 及び MOL の算出結果

注 解

- (注1)添加回収試験に用いた未反応の対象物質である。
- (注 2) HMDIP: *N,N*'-1,6-Hexanediylbis(4-(2-pyridinyl)-1-piperazine)) 測定時の標準物質となる、誘導体化後の試薬である。
- (注3) 回収率や MDL の算出時に、未反応の試薬を希釈するのに用いた。ジイ ソシアネート類は反応性が高く、アルコール類などで希釈すると、反応 して濃度が変動するおそれがある。
- (注 4) ORBO 80 の調製済みろ紙を用いない場合は、ガラス製ろ紙 (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、できあがったろ紙は密閉できる容器で保存する。このろ紙 1 枚は、誘導体化試薬 12PP を 1 mg 含んでいる。

市販品の調製済みろ紙を用いる場合でも自分で調製する場合でも、事前に汚染レベルを確認しておく必要がある。

- (注 5) 密閉できて汚染しにくい構造である必要がある。共栓のすり合わせ部分は、特に二次汚染しやすい。使用はなるべく一回限りとしたほうが良い。
- (注6) 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7)トップカセットまで取り外すのはろ紙部分を大気解放にしておくためである。ろ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ろ紙に到達しないおそれがある。
- (注 8) 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。
- (注9)試験液中には未反応の12PPが高濃度に存在し、およそ3分で溶出する。 LC/MSのイオン源を保護するために、最初の3.5分はイオン源に流入ないようにした方が良い。

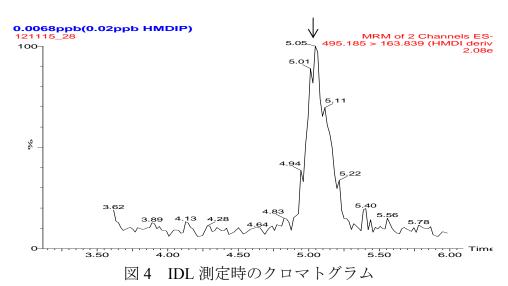
H26精査等検討時に、ヘキサメチレン=ジイソシアネート(HMDI)の安定性について開発機関から次の情報を得たので報告する。「未反応のHMDI(誘導体化でHDMIPとなる前)は、希釈すると安定性が低く、添加前に濃度が低下して見かけの回収率が低下する、という現象が分析法開発段階でしばしば見られた。捕集用ろ紙には、誘導体化試薬が含浸されており、その反応は極めて速やか、破過は見られず、反応後は極めて安定であった。未反応HMDIの濃度の低下は、溶媒の種類、ガラス器具の質、そもそもの濃度レベル等で違い、分析法に記載したヘキサン溶液では安定だった。」(2014年度精査等検討会コメント)

(注 10) 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	HMDI
試料量 (m³)	0.100
最終液量 (mL)	5.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.0068
装置注入量 (μL)	5.00
結果 1 (ng/mL)	0.00679
結果 2 (ng/mL)	0.00708
結果 3 (ng/mL)	0.00612
結果 4 (ng/mL)	0.00708
結果 5 (ng/mL)	0.00630
結果 6 (ng/mL)	0.00647
結果 7 (ng/mL)	0.00658
平均値 (ng/mL)	0.006632
標準偏差 (ng/mL)	0.000371
IDL (ng/mL)*	0.0014
IDL試料換算值 (ng/m³)	0.072
S/NH	10
CV (%)	5.6
* IDI + (1 0 07)	

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



(0.02 ng/mL(HMDIP) HMDI として 0.0068 ng/mL に相当する。)

(注 11) 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 物質へ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、添加はろ紙に直接行った。

表4 MDL 及びMQL の算出結果

Hm 压力	IIMDI
物質名	HMDI
試料	環境大気
試料量 (m³)	0.100
標準添加量 (ng)	0.085
試料換算濃度 (ng/m³)	0.85
最終液量 (mL)	5.00
注入液濃度 (ng/mL)	0.017
(HMD	OIPとして0.05 ng/mL)
装置注入量 (μL)	5.00
操作ブランク平均 $(ng/m^3)^{*1}$	ND
無添加平均 (ng/m³)*2	ND
結果1 (ng/m³)	0.798
結果2 (ng/m³)	0.756
結果3 (ng/m³)	0.700
結果4 (ng/m³)	0.707
結果5 (ng/m³)	0.736
結果6 (ng/m³)	0.719
結果7 (ng/m³)	0.692
平均值 (ng/m³)	0.7296
標準偏差 (ng/m³)	0.03702
$MDL (ng/m^3)^{*3}$	0.14
$MQL (ng/m^3)^{*4}$	0.37
S/N比	10
CV (%)	5.1
*1. 計学して トリクスのみがない性	能で外け同様の場作を行い

^{*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]

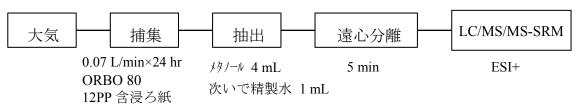


図5 分析法のフローチャート

[検量線]

表 5 検量線作成用データ

標準液濃度		対象物質応答値			
(ng/mL)		HMDIP			
HMDIP	(HMDI として)	(m/z 495>164)			
0.020	(0.0068)	294.4			
0.050	(0.0170)	742.4			
0.100	(0.0340)	1440.9			
0.200	(0.0680)	2905.3			
0.300	(0.1020)	4422.5			
0.400	(0.1360)	5794.9			
0.500	(0.1700)	7040.9			

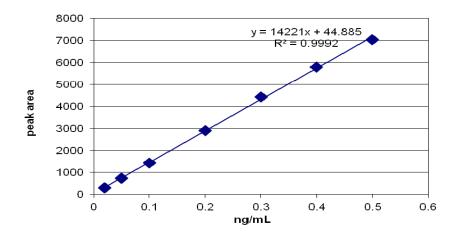


図 6 検量線(0.020~0.500 ng/mL(HMDIP として))

[マススペクトル]

10ppb scan 1201030_22 602 (2.179) Scan ES+ 495.1 7.59e5 100 400 420 440 460 480 500 m/z HMDIP のスキャンスペクトル

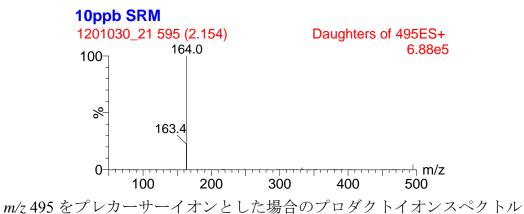


図7 マススペクトル

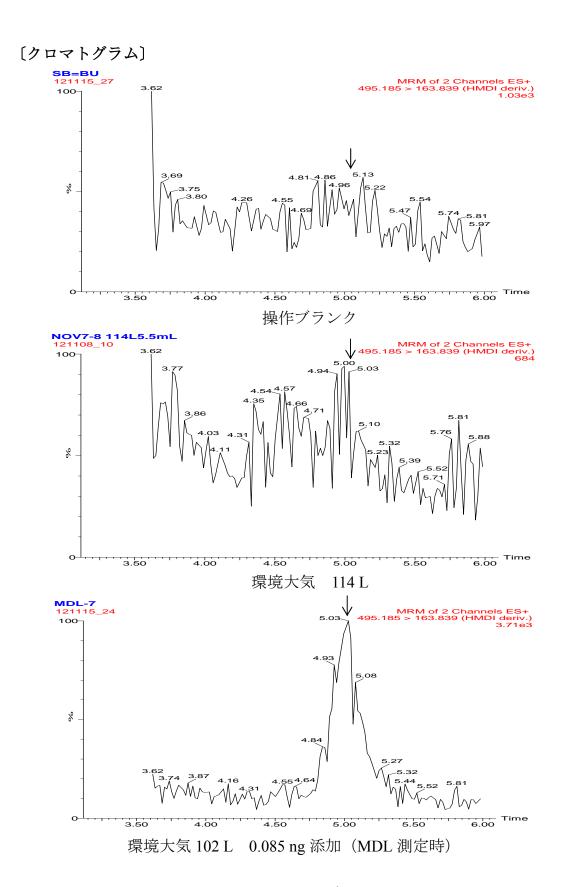


図8 クロマトグラム

[添加回収試験]

未反応標準物質を添加した捕集力セットの添加回収率を求めた。添加はろ紙に直接行った。類似物質である TDIs を検討したところ (「化学物質分析法開発調査報告書(平成 22 年度)」)、通常の手順で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、定量的にろ紙に添加することが困難であったため、HMDI でも同様の問題が起こる可能性が高かったためにろ紙に直接添加した。表 6 に示すように回収率、変動係数とも良好であった。またろ紙を 2 枚重ね、通気しながらガス体で添加した場合、およそ 80% が前段のろ紙から検出され、後段のろ紙は検出されなかった。よって対象物質はガス体であっても 1 枚のろ紙で捕集されていると考えられる。24時間の通気後のろ紙を用いても、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 添加回収実験結果

試料	試験	添加量 (ng)	大気採取量	回収率	変動係数
温度・湿度	数	(HMDIとして)	(m^3)	(%)	(%)
大気試料 1 40°C ·>80%	2	0.50	0.100	87.9	
大気試料 2 5-13°C · 58-66%	7	0.085	$0.100 \sim 0.114$	95.0	6.2

[保存性試験]

同日同地点で環境大気を採取して、23 時間後にろ紙に標準液を添加した。採取後に捕集用カセットの両端にプラグをはめ、アルミパックに入れて冷蔵庫(5°C)内に保存し、保存期間と回収率の関係を求めた。結果を図9に示す。試験液を 15°C のサンプルトレイにおいたものと、抽出後ろ紙を入れたまま実験室($20\sim25$ °C)に放置したものもあわせて検討した。このように、ろ紙のまま(\spadesuit : GFF 冷蔵庫保存)でも、抽出後の試験液(\square : 測定用バイアル 15°C のサンプルトレイ、 \blacktriangle : ろ紙を入れたまま実験室に放置)も、およそ一ヶ月間の回収率はほとんど変動しなかった。

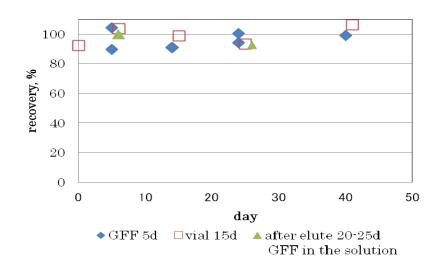


図9 保存性試験結果

[環境試料の測定]

本法を用いて神奈川県平塚市の大気を測定した結果、本試験ではすべて不検出であった。

〔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毎に使い分け、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。市販の含浸ろ紙(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ものではないので、汚染が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 HMDI の大気環境試料を分析したところ、全ての試料で不検出であった。MDL 算出試験で実施した定量下限レベルの倍程度の添加実験で、良好な回収率(95%) が得られ、0.4 ng/m³のレベルで定量することは可能と思われる。

【その他】

平成 22 年度に開発した 2,6-TDI、2,4-TDI の大気中濃度測定法と、同じ手順で測定でき、同時分析が可能である。しかし TDIs の要求感度 (0.4 ng/m^3) を満足する測定をする上で、一番問題になったのは、ろ紙に汚染があったことであった。本開発で購入したろ紙からは、2.6-TDI に相当するピークは現れず、2.4-TDI の

ピーク位置に現れるベースラインの盛り上がりは、最大に見積もっても要求感度以下ではあったので、ぎりぎりではあるが要求感度レベルの測定は可能であった。2,6-と2,4-の間にピークを生じるろ紙もあった。

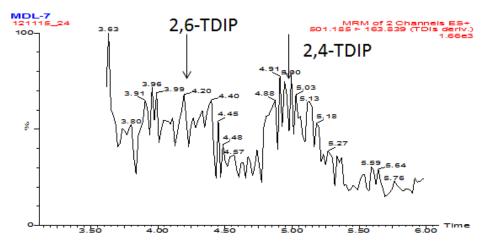


図 10 平成 24 年度購入の ORBO80 用ろ紙の TDIP のブランク測定結果

【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

Hexamethylene=diisocyanate (HMDI),

A simple method for the determination of HMDI in ambient air by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) coupled with filter sampling with derivatization, solvent desorption has been developed. Sample air is drawn through an adsorption tube (ORBO 80 : adsorbent is glass fiber filter impregnated 1 mg of 1-(2-pyridyl) piperazine(12PP), good on the market or be made by ourselves) at 0.07 L/min in flow rate. After HMDI collected and derivated to HMDIP (N,N' -1,6-hexanediylbis(4-(2-pyridinyl)-1-piperazine)) on the filter is eluted with 4 mL of methanol, 1 mL of water is added. After centrifugation, the solution is determined by LC/MS/MS-SRM. Ionization mode is positive ESI (electrospray ionization). Precursor ion is [M+H]+, M is HMDIP, derivative of HMDI and 12PP. Precursor/product ion set is m/z 495/164. The recovery from air sample, relative standard deviation (RSD n=7), the method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) were 95.0%, 6.2%, 0.14 ng/m³, 0.37 ng/m³, respectively. Using this method, the concentration at Hiratsuka was determined. All results showed below MDL. Using this method, 2,6- and 2,4-TDI (tolylene=diisocyanate, ion set is m/z 501/164) could determined, too.

