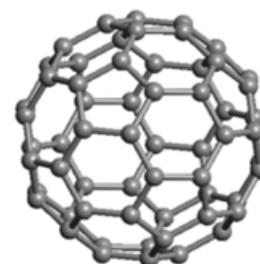


## 作業環境中のフラーレンの HPLC による定量

○小野真理子、鷹屋光俊、芹田富美雄、齊藤宏之、甲田茂樹  
独立行政法人 労働安全衛生総合研究所

**【はじめに】**近年、機能性材料として工業用ナノ材料の使用量が増大している。炭素系のナノ粒子であるフラーレンは炭素のみからなる物質で、炭素数 60 個からなる  $C_{60}$  がよく知られている (図 1)。フラーレンの用途としては、樹脂に添加したコンポジットや、金属内包フラーレン等が開発され、また抗酸化力が強いため化粧品に添加されるなどして、市場化されている。工業化されると製造時の労働者へのばく露による健康影響が懸念されるが、フラーレンについては顕著に有害との結果は現状では得られていないようである。有害性の評価とは別に、職場でのばく露を測定する方法が求められている。粒子の個数や表面積等をリアルタイムに測定する方法が実用化されているが、環境中の種々の粒子が測定を妨害するため、フラーレンのみを分別して測定する方法が必要である。高速液体クロマトグラフ (HPLC) はフラーレンの精製に用いられており、また生体中のフラーレンの分析法として Xia ら<sup>1)</sup> の報告がある。そこで本研究では、作業環境空气中に浮遊するフラーレンをろ紙に捕集して、有機溶媒に溶解した後、HPLC-紫外分光法 (UV) により定量する方法を検討し、株式会社イデアルスターの協力を得て、現場での測定に応用した。粒子の捕集場所等の概要は関連演題<sup>2)</sup> に記す。



(直径 0.7nm)

図1 フラーレン ( $C_{60}$ )

**【方法】** 1) 標準試料: 試薬のフラーレン  $C_{60}$  (純度 99.5%) と  $C_{70}$  (純度 99%) (Sigma-Aldrich 製) を使用した。10 mg のフラーレンを精秤し、トルエンに超音波を用いて溶解、ろ過して 1000  $\mu\text{g/mL}$  の標準原液を調製した。分析には標準原液をトルエンを用いて適宜希釈して用いた。2) HPLC の条件: 分析には HPLC の HP1050 システム (ヒューレットパッカード社製) を使い、カラムは逆相系の Develosil RPFULLERENE (4 mm x 150 mm) とガードカラム Develosil C30-UG-5 (4 mm x 10 mm)

(野村化学株式会社製) を使用した。溶離液はトルエン/アセトニトリル=70/30、流速 1.0 mL/min とした。カラム温度は 30°C、オートサンプラーを使用し、注入量は 5, 10, 20  $\mu\text{L}$  とした。 $C_{60}$  溶液の吸収波長をあらかじめ分光光度計 (Shimadzu160A) を用いて測定し、最大吸収波長の 335 nm を UV の検出波長とした。3) 作業環境における粒子の捕集: 作業場はクリーンルーム仕様となっており、捕集は粉体フラーレン  $C_{60}$  の処理装置の近傍で行った。捕集には PM2.5 を分級する Sioutas インパクト (SKC 製) を使用し、捕集用のろ紙には石英繊維ろ紙 (QAT-UP, Pall 社製) を用いた。捕集流速は 9LPM、捕集時間は作業に応じて 2-4 時間とし、捕集空気量は 1.5-3.0  $\text{m}^3$  程度であった。4) 粒子状フラーレンの分析手順: 粒子を捕集した石英繊維ろ紙の一部を切り抜き、トルエン 1 mL に投入して超音波処理を 5 分間行った後、ろ紙細片をろ別してから HPLC で分析を行った。なお、ろ紙からの  $C_{60}$  の回収率はあらかじめ確認した。目的とする濃度近傍の一定濃度の  $C_{60}$  トルエン溶液に、切り抜いたろ紙を投入して、粒子の分析と同様の手順を行って  $C_{60}$  濃度の変化を確認した。 $C_{60}$  の濃度によらず、89-115 % 程度の回収率であった。

【結果】それぞれ 0.02 $\mu\text{g}$  の  $\text{C}_{60}$  と  $\text{C}_{70}$  を注入した際のクロマトグラムは図 2 のようであった。 $\text{C}_{60}$  は約 5.8 分で、 $\text{C}_{70}$  は約 8.0 分で溶出した。定量下限付近の濃度の溶液を 10 回測定し、その  $3\sigma$  を検出限界、 $10\sigma$  を定量限界としたところ、 $\text{C}_{60}$  については HPLC への注入量として検出限界 0.0007 $\mu\text{g}$ 、定量限界 0.0023 $\mu\text{g}$  であった。 $\text{C}_{60}$  の検量線 (0.002–0.03 $\mu\text{g}$ ) は図 3 のように良好な直線性を示した。高濃度側では 2  $\mu\text{g}$  まで直線性が確認さ

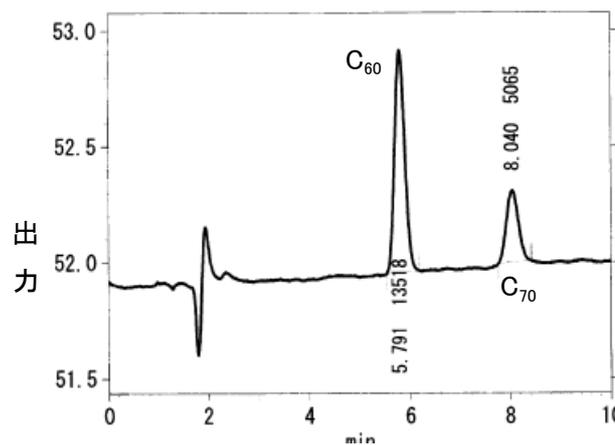


図 2  $\text{C}_{60}$  と  $\text{C}_{70}$  のクロマトグラム

れた。次に現場での測定例を図 4 に示す。粉体を

扱う作業場であるためか、比較的大きな粒子に  $\text{C}_{60}$  が観察された。

【考察】標準原液作成時にはわずかではあるが、フラーレンの溶け残りが認められた。従って、検量線は計算上のフラーレン量よりも少ない量で作成しており、実試料の測定を行う際には過大評価となる可能性がある。この残渣については酸化物の可能性はあるが、明確ではない。フラーレンの純度が、試薬と実試料では異なる可能性があることから、現場の測定の際には製品あるいは原料を標準品として使用することにより、より正確な検量線を作成できる。微小粒子側の  $\text{C}_{60}$  は検出はされたが定量下限以下であった。サンプリング計画を含めて、どの程度の感度が要求されるか検討する必要がある。本法の様に化学成分に着目した分析法を、個数濃度等を測定する方法と組み合わせることにより、より正確な作業環境濃度測定が可能になると考えられる。

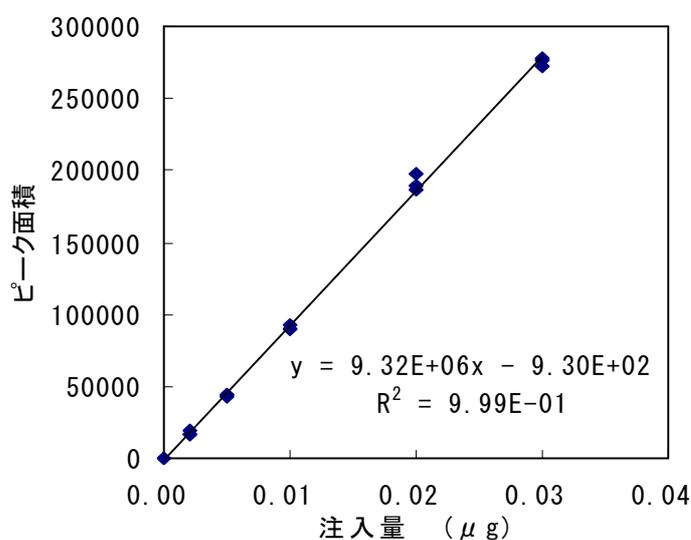


図 3  $\text{C}_{60}$  の検量線

#### 参考文献

- 1) Xia, X-R, et al, J chromatgr A, 216 1129 (2006)
- 2) 鷹屋ら、第 48 回日本労働衛生工学会 (2008)

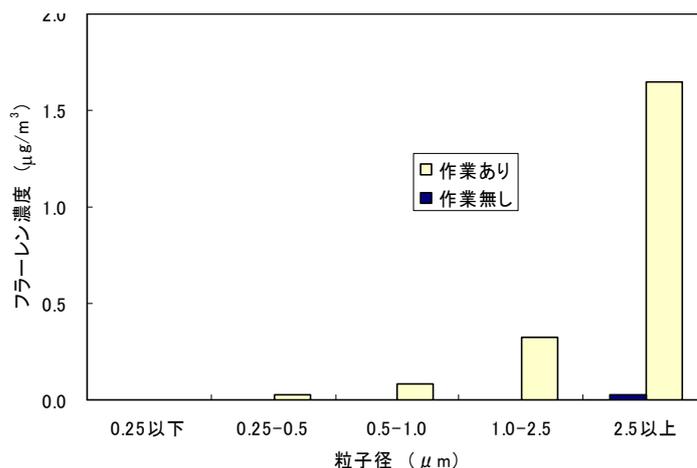


図 4 作業環境における  $\text{C}_{60}$  の測定例

小野 真理子

独立行政法人 労働安全衛生総合研究所  
〒214-8585 川崎市多摩区長尾 6-21-1  
044-865-6111