

誘導体化反応により有害物質を捕集するパッシブサンプラー の共存物質による問題点と 複数物質同時測定の可能性評価方法の検討†

井上直子*1*2, 鷹屋光俊*1*3

個人ばく露測定や個人サンプリングの方法を用いた時に、ポンプ装着による作業員への負担の低い方法として、パッシブサンプラーの活用が期待されている。また、複数の測定物質をそれぞれの方法により測定を行うよりも、同一の方法で同時に測定を行える方が、測定者等の負担が軽減される。そのため、作業環境の測定やリスクアセスメントへのパッシブサンプラー活用のため、誘導体化反応により有害物質を捕集するパッシブサンプラーを用いる場合の捕集時の問題点や複数物質の同時測定の可能性を、ホルムアルデヒド用 DNPH パッシブサンプラーをモデルサンプラーとして用いて、パッシブサンプラーのフィルターに試料溶液を添加する方法により調査した。DNPHはアセトンとも反応するため、アセトンが高濃度で共存する場合、ホルムアルデヒド測定への妨害となる可能性が懸念されるが、ホルムアルデヒドは、高濃度のアセトン共存下においても、測定が可能であることが明らかとなった。また、複数物質の同時測定の可能性については、DNPH フィルター上でのサンプルの反応が速く、濃度変化を測定することが困難であったため、相対反応速度定数比を比較し、比較的簡便に、既存の方法への適用の可否について確認を行うことが出来た。

キーワード: パッシブサンプラー, ホルムアルデヒド, 評価方法, フィルター表面, 反応速度, DNPH

1. はじめに

1) 事業所への負担の少ない作業環境における有害物質の測定

平成 28 年 6 月 1 日より、一定の危険有害性のある化学物質 (640 物質¹⁾, 平成 30 年 7 月からは 673 物質²⁾ について、事業所におけるリスクアセスメントが義務化されている。このリスク見積もり方法は数種類あり、その一つに、作業環境の測定を実施し、気中濃度等をその化学物質のばく露限界と比較する方法がある。この方法は実際の作業環境中の有害物質濃度を把握できる利点があるが、対象物質が多い場合には事業所でこのリスクの見積もり方法を敬遠する可能性もある。

一般的に、複数の測定物質をそれぞれの方法により測定を行うよりも、同一の方法で同時に測定を行える方が、測定者等の負担が軽減されると考えられるが、作業環境の測定についても同様に様々な負担が軽減される。そのため、事業所において作業環境中の物質を測定することによるリスクアセスメントを選択した場合においても、事業者が実施しやすくなると考えられる。

また、個人ばく露測定や個人サンプリングの方法では、ポンプ装着による作業員への負担が生じるが、これらの軽減の

ため、パッシブサンプラーの活用が期待されている。パッシブサンプラーを用いて、同時に複数種類の有害物質等を測定できれば、測定者や事業所の負担が低いだけでなく、作業員にも負担が低い。そのため、パッシブサンプラーで測定できる可能性のある作業環境測定の対象物質 (ホルムアルデヒド) 及びリスクアセスメント対象物質等と、作業員の負担軽減が図れるパッシブサンプラーを選定し、捕集時の問題点や複数物質の同時測定の可能性を調査した。

2) ホルムアルデヒドと作業環境測定



図 1 ホルムアルデヒドの構造式

ホルムアルデヒド (図 1) は、樹脂・接着剤の原料、防腐剤として広く産業利用があるが、気道感作性、呼吸器感作性があり、発がん性 (鼻咽腔がん, nasopharyngeal cancer) が懸念され、国際がん研究機関 (IRAC: International Agency for Research on Cancer) ではグループ 1 に分類されており³⁾, 労働安全衛生法上では特定化学物質として指定されている (管理濃度 0.1ppm)⁴⁾. 労働環境中のホルムアルデヒドの分析方法は、2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) (図 2) をシリカゲルに添着させた捕集管を用いて捕集し、DNPH 誘導体化ホルムアルデヒドを抽出後、高速液体クロマトグラフィー (high-performance liquid chromatography: HPLC) で分析する方法等が用いられている^{4,5)}.

† 本報は、プロジェクト研究で得られた成果 (参考文献 6-13) をもとに報告書としてまとめたものである。

*1 労働安全衛生総合研究所 作業環境研究グループ

*2 現所属 労働安全衛生総合研究所 環境計測研究グループ

*3 現所属 労働安全衛生総合研究所 化学物質情報管理研究センター ばく露評価研究部

連絡先: 〒214-8585 神奈川県川崎市多摩区長尾 6-21-1

独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所

環境計測研究グループ 井上直子*2

E-mail: inoue@h.jniosh.johas.go.jp

また、DNPH を含浸した紙状のフィルターが組み込まれた、ホルムアルデヒド測定用のパッシブサンプラーも市販されている。



図 2 DNPH とアルデヒド及びケトンとの反応

2. DNPH を用いたホルムアルデヒド測定における測定妨害物質の影響

DNPH はホルムアルデヒド等のアルデヒドの他に、ケトンとも反応する (図 2)。洗浄等で用いられるアセトンはケトン類であり、DNPH と反応し、DNPH 誘導体である DNPH・アセトンを生成する。アセトンの管理濃度は 500 ppm であり、ホルムアルデヒドと同じ作業環境でより高濃度で存在する可能性があるため、ホルムアルデヒド測定の影響となる懸念がある。そのため、このような作業環境における、正確な作業環境把握、つまり、ホルムアルデヒド濃度の正確な分析を行うには、高濃度のアセトン共存下において、DNPH とホルムアルデヒドの反応に、アセトン濃度がどのように影響するかを把握する必要がある。しかし、高濃度のアセトン濃度環境下という状況は、化合物を取り扱う事業所等の作業環境では起こりうるが、事務所や家庭等での一般的な室内環境や自然環境では可能性が低いことから、労働衛生分野だけでなく、他の分野においても高濃度のアセトン濃度環境下という状況を想定した研究はこれまで行われておらず、また、化学反応の分野においても、高濃度のアセトン共存下におけるホルムアルデヒドの DNPH フィルター表面上での誘導体化反応への影響については研究されていなかった。そのため、アセトン共存下における DNPH フィルター上で誘導体化されたホルムアルデヒドの誘導体化量を測定し、その影響の有無を調査した。

この影響の確認には、パッシブサンプラー上でのアセトン及びホルムアルデヒドの様々な濃度における反応性を正確に確認する必要があるため、目的濃度の試料が添加されたパッシブサンプラーを作製した。サンプル添加サンプラー (フィルター) の作製方法には、目的濃度のホルムアルデヒド及び高濃度のアセトンを発生させ、パッシブサンプラーで捕集する、若しくはパッシブサンプラーに直接目的濃度のホルムアルデヒド及び高濃度のア

セトン溶液を添加する方法が考えられる。前者は実際の作業環境測定に近い条件により捕集し、試料添加したサンプラーを作成する方法であるため、作業環境測定の捕集試料と同じ方法であり、理想的な試料作製方法であるが、ホルムアルデヒド及びアセトンを目的濃度で、安価、簡便かつ正確に発生させることは困難であり、また、取り扱う化合物が特殊引火物等の場合、発生操作時の危険性が懸念される。しかし、後者は試料濃度を調整した溶液を滴下するのみであるため、フィルター上での化合物との反応量の測定や反応性の評価には、目的化合物の物質量を正確に添加でき、反応を追跡できるため適していると考えられた。

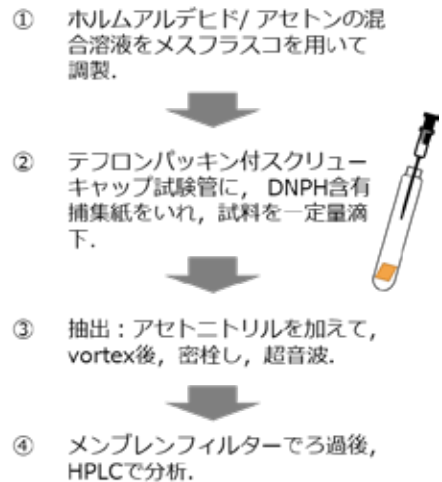


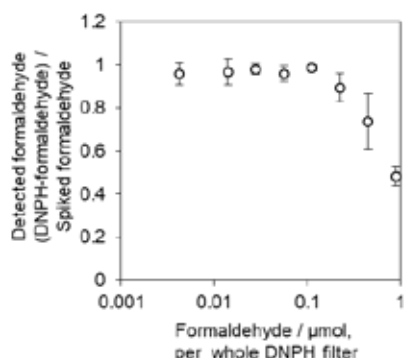
図 3 添加回収実験手順

そのため、DNPH パッシブサンプラーへホルムアルデヒド及びアセトン試料溶液を直接添加した添加回収実験 (図 3) により行った⁶⁻¹⁰⁾。パッシブサンプラーの捕集材へのホルムアルデヒドの添加量は、管理濃度 (0.1 ppm)、捕集時間や検出感度を考慮し実施した。

図 4 は、一定量のアセトン (70 μmol) を含む 0.004–0.898 μmol のホルムアルデヒドを添加し、ホルムアルデヒドの添加量 (横軸) と誘導体化率 (縦軸) を比較したものである。このフィルターは、気中に 0.2 ppm ホルムアルデヒドを 60 分捕集した場合、フィルター上に 0.014 μmol /DNPH フィルターのホルムアルデヒドが捕集されるサンプラーの捕集材であるため、8 時間捕集した場合においては、0.11 μmol /DNPH フィルターの量が捕集されるが、0.1 μmol /DNPH フィルターにおいても、約 600 倍以上の濃度のアセトン共存下においても反応が進行した。

また、一定量のホルムアルデヒド (0.028 μmol , 0.1 ppm ホルムアルデヒドを 4 時間捕集した時のホルムアルデヒド量に相当する。) を含む 1–140 μmol のアセトンを DNPH フィルターに添加し、誘導体化率を比較した場合においても反応が進行した。その他の濃度範囲に

についても検討したが、同様にホルムアルデヒドの測定が可能であった。そのため、高濃度のアセトン共存下において、ホルムアルデヒドの DNPH 誘導体化は影響されないことが明らかとなった⁶⁻¹⁰⁾。



Effect of acetone on the DNPH derivatization of formaldehyde (n = 3).

Each piece of a quartered DNPH filter was spiked with 0.001–0.225 μmol formaldehyde and 17.5 μmol acetone (0.004–0.898 μmol formaldehyde and 70 μmol acetone per whole filter).

Reproduced from Ref.10 with permission from the Royal Society of Chemistry.

図 4 高濃度アセトン共存下におけるのホルムアルデヒド誘導体化量

DNPH フィルター 1 枚あたり 0.004–0.898 μmol ホルムアルデヒド 70 μmol アセトンを添加した時の誘導体化量。縦軸はホルムアルデヒドの誘導体化率、横軸は添加したホルムアルデヒド量。

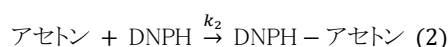
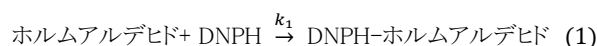
3. DNPH パッシブサンプラーのホルムアルデヒド以外の化合物への適用可否についての確認方法

同時に複数種類の有害物質等を測定できれば、測定者や事業所の負担が低くだけでなく、作業者にも負担が低い。そのため、DNPH パッシブサンプラーを他の作業環境測定やリスクアセスメント対象の化学物質のサンプラーとして使用できる可能性についても検討することとした。また、対象物質としては、DNPH と反応するアセトン（作業環境測定対象物質）及びアセトアルデヒド（リスクアセスメント対象物質）をモデル化合物として選定し、DNPH との反応性の違いにより捕集量に影響があると考えられるため、DNPH とホルムアルデヒドの反応速度との比較により適用可否について評価した。

パッシブサンプラーへの添加試料作製は、前述の DNPH を用いたホルムアルデヒド測定における測定妨害と同様に、試料溶液添加により行った。反応速度確認のため、ホルムアルデヒドを添加した DNPH フィルタ

ーを作成し、時間経過による DNPH 誘導体化生成量を測定したが、フィルター上に添加直後にすべてのホルムアルデヒドが DNPH と反応したため、反応時間に対する DNPH 誘導体化量を測定することが困難であった。しかし、2 種類の化合物を DNPH と同時に反応させた場合、DNPH より 2 種類の化合物の物質が多ければ、相対的に 2 種類の化合物の誘導体化速度を測定できると考えられるため、DNPH 誘導体化速度ではなく、共存する化合物に対する相対的な誘導体化速度により、サンプラーの評価を行った。

式(1)、(2)に DNPH とホルムアルデヒド及びアセトンとの反応を示す。

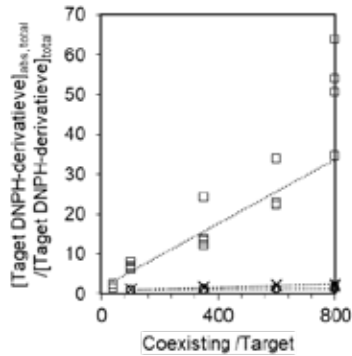


この式について、DNPH < 総化合物の物質質量条件等を考慮し、(1) 及び (2) から、添加したホルムアルデヒド量、添加したアセトン量、誘導体化されたホルムアルデヒド量 (DNPH・ホルムアルデヒド量)、及び非アセトン共存下での誘導体化されたホルムアルデヒド量 (DNPH・ホルムアルデヒド量) を用いて、式 (3) のように示せる¹⁰⁾。

$$\frac{k_2}{k_1} \times \frac{[\text{アセトン}]_0}{[\text{ホルムアルデヒド}]_0} + 1 \propto \frac{[\text{DNPH-ホルムアルデヒド}]_{\text{非共存下}}}{[\text{DNPH-ホルムアルデヒド}]_{\text{共存下}}} \quad (3)$$

さらに、式 (3) および実験値から、図 5 のグラフが得られ、このグラフから相対速度定数比を計算した。その結果、ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドの反応速度の違いに比べ、アセトンは大きく異なり、それぞれ、ホルムアルデヒド/アセトン、アセトアルデヒド/アセトン、ホルムアルデヒド/アセトアルデヒドは、202, 67.2, 3.00 であった (同一ロットで測定。) ^{10, 11)}。

そのため、ホルムアルデヒド用サンプラーで捕集・抽出し、HPLC 等で測定し得られたデータを DNPH-アセトン等の標準品により濃度を算出した場合、実際の濃度より低い濃度結果となった。これらの結果から、DNPH-ホルムアルデヒド (標準品) と比較により濃度を算出するホルムアルデヒドの方法と同様には、HPLC のデータから標準品 (DNPH-アセトン) と比較する方法をアセトンの場合はそのまま適用できないことが明らかになった。また、この方法により、サンプラーの目的対象以外の物質に対する、使用の可否の確認をすることが可能であった。



Competition plots of the reciprocal yields of target DNPH-derivatives vs. the ratios of the coexisting sample and target concentrations ($n = 4$).

Circles: acetone / formaldehyde; crosses: acetone / acetaldehyde; squares: acetaldehyde / formaldehyde. The lines are the least-squares fits to the data with the exception of $x = 800$.

Reproduced from Ref.10 with permission from the Royal Society of Chemistry.

図5 目的化合物のDNPH誘導体量(共存なし/あり)対共存化合物量/目的化合物量比

○: アセトン/ホルムアルデヒド, ×: アセトン/アセトアルデヒド, □: アセトアルデヒド/ホルムアルデヒド.

4. まとめ

個人ばく露測定や個人サンプリングの方法を用いた時に、ポンプ装着による作業員への負担の低い方法として、パッシブサンプラーの活用が期待されている。そのため、作業環境の測定やリスクアセスメントへのパッシブサンプラー活用のため、誘導体化による有害物質を捕集するパッシブサンプラーを用いる場合の、捕集時の問題点や複数物質の同時測定の可能性を、ホルムアルデヒド用DNPHパッシブサンプラーをモデルサンプラーとして用いて調査した。捕集時の問題点として、DNPHと反応し、高濃度で共存する可能性が高いアセトンが、ホルムアルデヒド測定への妨害となる可能性が懸念されていたが、高濃度アセトンを含むホルムアルデヒド溶液をフィルターに添加した場合においても(0.2 μmolホルムアルデヒド・70 molアセトン/フィルター)、反応が進行し、高濃度のアセトン共存下においても、測定が可能であることが明らかとなった。また、複数物質の同時測定の可能性については、試料溶液添加フィルターを用いて行い、相対反応速度定数比を比較し、比較的簡便に、既存の方法へ適用の可否について確認できた。現在、更に簡便な確認方法の検討を行っている^{12, 13)}。

参考文献

- 1) 労働災害を防止するためリスクアセスメントを実施しましょう. <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11300000-Roudoukijunkyokuanzeniseibu/0000099625.pdf> (2020年6月確認済み).
- 2) 表示・通知対象物質の一覧・検索. <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/gmsds640.html> (2020年6月確認済み).
- 3) International Agency for Research on Cancer (IARC). FORMALDEHYDE. IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS Volume 100F. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono100F-29.pdf> (2019年3月確認済み).
- 4) 厚生労働省. 厚生労働省法令等データベースサービス http://www.hourei.mhlw.go.jp/hourei/html/hourei_contents.html (2020年6月確認済み).
- 5) 特定化学物質関係—金属類を除く—4版. 作業環境測定ガイドブック, 2012:(社)日本作業環境測定協会.
- 6) 井上直子, 鷹屋光俊. DNPHパッシブサンプラー捕集を想定したアセトン共存下でのホルムアルデヒドの分析評価. 日本分析化学会第66年会. 日本分析化学会第66年会講演要旨集. 2017; 390.
- 7) 井上直子, 鷹屋光俊. DNPHパッシブサンプラー捕集を想定したアセトン共存下でのホルムアルデヒドの分析評価2. 日本分析化学会第67年会. 日本分析化学会第67年会講演要旨集. 2018; 384.
- 8) 井上直子, 鷹屋光俊. 高濃度のアセトン共存下を想定したDNPHパッシブサンプラーによるホルムアルデヒド分析への影響. 第58回日本労働衛生工学会. 第58回日本労働衛生工学会第39回作業環境測定研究発表会抄録集. 2018; 104-105.
- 9) 井上直子, 鷹屋光俊. アセトン共存下を想定したDNPHパッシブサンプラーによるホルムアルデヒド測定への影響. 第91回日本産業衛生学会. 第91回日本産業衛生学会講演集. 2018; 415.
- 10) N. Inoue, M. Takaya, Reactivity and relative reaction rates of formaldehyde, acetaldehyde, and acetone coexisting with large quantities of acetone on 2,4-dinitrophenylhydrazine-impregnated filters. *Analytical Methods*, 2019; 11(21): p. 2785-2789.
- 11) 井上直子, 鷹屋光俊. DNPHパッシブサンプラー用フィルター上での、高濃度アセトン共存下におけるホルムアルデヒド及びアセトンの相対反応速度.

日本分析化学会第 68 年会. 日本分析化学会第 68 年会講演要旨集. 2019; 637.

- 12) N. Inoue, M. Takaya. A simple test to check relative reactivity of formaldehyde, acetaldehyde, and acetone on 2,4-dinitrophenylhydrazine impregnated filters. HPLC 2019 Kyoto, 49th International Symposium on High Performance

Liquid Phase Separations and Related Techniques. HPLC 2019 KYOTO (USB Memory). 2019; PW-1010.

- 13) 井上直子, 鷹屋光俊. DNPH サンプラーによるホルムアルデヒド以外の化合物測定の可否の簡易確認方法. 第 93 回日本産業衛生学会, 第 93 回日本産業衛生学会講演集. 2020; 611.