

ヒドラジン分析測定法に関する検討結果報告書

# 1. 検討の目的

ヒドラジンの ACGIH の TLV は 0.01ppm(10ppb)、OSHA の PEL は 1ppm となっている。また、日本産業衛生学会による許容濃度は 0.1ppm となっている。このことから本検討では、最も濃度の低い ACGIH の TLV を十分に定量できる測定分析法の検討を行った。

# 2. ヒドラジンについて

検討の対象であるヒドラジンの物理的性質を以下に示した。

表 1 ヒドラジンについて (ICSC より抜粋)

| 物理的性質   |               |
|---------|---------------|
| CAS 番号  | 302-01-2      |
| 沸点      | 114°C         |
| 融点      | 2°C           |
| 比重(水=1) | 1.01          |
| 蒸気圧     | 1.4kPa (20°C) |
| 分子量     | 32.06         |

# 3. 捕集方法および分析方法について

ヒドラジンの測定分析法は OSHA、NIOSH にて示されている。このうち NIOSH による測定分析法はバブラーを用いた方法である。OSHA による測定分析法は硫酸含浸フィルターを用いている。このことより本検討は OSHA による測定分析法 (OSHA 108、以下、OSHA 法という。)に従って測定し、表 2 の液体クロマトグラフ (HPLC) 分析条件で分析を行うこととした。以下に OSHA 法の測定分析法の概略を示す。

## ① 捕集

硫酸を含浸させた直径 37mm のグラスファイバーフィルターを 2 枚保持するフィルターカセット (SKC 社製、225-9012) を用い、1L/min の捕集速度で 10 分以上空気を捕集する。

## ② 抽出

グラスファイバーフィルターを 7mL バイアル瓶に移し、EDTA-2Na (0.05M)・リン酸二水素ナトリウム (0.1M) 溶液の pH をリン酸で 3.5 に調製した緩衝液 5mL を加え、振とう器で 30 分間攪拌し、ヒドラジンを抽出する。その後、20 分間、2000rpm で遠心分離する。

## ③ 前処理

3. の抽出液 1mL を 2mL バイアル瓶に移し、ベンズアルデヒドのアセトニトリル溶液 (1% V/V) を 0.5mL 添加しよく混合する。その後、室温で 30 分以上反応させ誘導体化する。

## ④ 分析

HPLC を用いて、誘導体であるベンザルアジンの 300nm の吸収を測定する。

表 2 分析条件

|       |                                           |
|-------|-------------------------------------------|
| 分析機器  | 液体クロマトグラフ分析計 1100 シリーズ (Agilent 社製)       |
| 検出器   | フォトダイオードアレイ検出器                            |
| カラム   | Mightysil RP-18 GP 150-2.0 (3μm) (関東化学社製) |
| 移動相   | アセトニトリル/水=67/33 (V/V%)                    |
| 流量    | 0.3mL/min                                 |
| 試料注入量 | 10μL                                      |
| 検出器波長 | 300nm                                     |

# 4. 検討項目

#### 4.1. 検量線の直線性の確認

ヒドラジン濃度として  $0\mu\text{g/mL} \sim 1.6\mu\text{g/mL}$  を検量線範囲として直線性を確認した。

#### 4.2. 検出下限値、定量下限値の確認

ヒドラジン濃度として  $0.05\mu\text{g/mL}$  (標準系列の内最も低い濃度の  $1/4$ ) を5回繰り返し測定し、その偏差の3倍を検出下限値、10倍を定量下限値とした。

#### 4.3. フィルターブランクの確認

ブランクフィルターに含まれるヒドラジン量を確認するため、未使用のフィルターカセットから前層と後層のフィルターを取り出し、別々に分析した。

#### 4.4. 回収率の確認

フィルターカセットの前層フィルターに空気を吸引しながら、ヒドラジン濃度が  $9.9\mu\text{g/mL}$  のメタノール溶液  $50\mu\text{L}$  (ヒドラジン絶対量として  $0.49\mu\text{g}$ ) を添加し、その後  $1\text{L/min}$  の流量で10分間空気を吸引し、3.に従って抽出、前処理、分析を行い、回収率を確認した。また、同様にヒドラジン濃度が  $98.9\mu\text{g/mL}$  のメタノール溶液を  $70\mu\text{L}$  (ヒドラジン絶対量として  $6.92\mu\text{g}$ ) 添加したものの回収率も確認した。

#### 4.5. 捕集後の保存性の確認

フィルターに捕集したヒドラジンの保存性を確認するため、ヒドラジン量が  $0.49\mu\text{g}$ 、 $6.92\mu\text{g}$  となるように4.4と同様に添加(それぞれ2個ずつ)し、添加後0日目、1日目、3日目、7日目に分析を行った。

### 5. 検討結果

#### 5.1. 検量線の直線性の確認

ヒドラジン濃度を  $0$ 、 $0.20$ 、 $0.39$ 、 $0.79$ 、 $1.56\mu\text{g/mL}$  として検量線の直線性について確認を行った結果、以下のように良好な直線性が得られた。

表3 標準液濃度と信号強度

| ヒドラジン濃度<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | ピーク面積<br>( $\text{mAu} \times \text{s}$ ) |
|---------------------------------|-------------------------------------------|
| 0.00                            | 0                                         |
| 0.20                            | 150.3996                                  |
| 0.39                            | 321.0502                                  |
| 0.79                            | 661.5989                                  |
| 1.56                            | 1336.2719                                 |

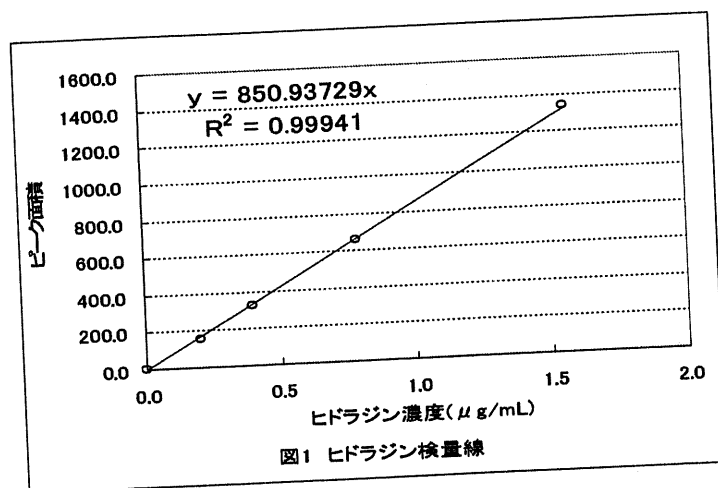


図1 ヒドラジン検量線

#### 5.2. 検出下限値、定量下限値の確認

ヒドラジン濃度として $0.05 \mu\text{g/mL}$  (標準系列の内最も低い濃度の $1/4$ )を5回繰り返し分析し、その結果の標準偏差の3倍を検出下限濃度、10倍を定量下限濃度として計算すると以下のようになった。

表4 検出下限値、定量下限値の確認結果

| 分析回数 | ピーク面積<br>( $\text{mAu} \times \text{s}$ ) | ピーク面積 ( $\text{mAu} \times \text{s}$ ) |                   | 検出下限濃度<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 定量下限濃度<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|------|-------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|      |                                           | 平均                                     | 標準偏差 ( $\sigma$ ) |                                |                                |
| 1回目  | 43.99778                                  | 43.96085                               | 0.24448           | 0.001                          | 0.003                          |
| 2回目  | 43.63274                                  |                                        |                   |                                |                                |
| 3回目  | 44.15165                                  |                                        |                   |                                |                                |
| 4回目  | 44.28342                                  |                                        |                   |                                |                                |
| 5回目  | 43.73866                                  |                                        |                   |                                |                                |

表4の定量下限濃度るとき、緩衝液量を $5\text{mL}$ として採気量(採気時間)を変化させた場合の気中濃度(気中濃度定量下限値)を計算すると、以下のようになる。測定時には以下の採気量を参考に捕集する必要がある。

表5 気中濃度定量下限値の確認

| 採気量(L) | 採気流量<br>( $\text{L/min}$ ) | 採気時間<br>(min) | 緩衝液量<br>( $\text{mL}$ ) | ヒドラジン<br>総捕集量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 気中濃度<br>定量下限値<br>(ppm) | 気中濃度<br>定量下限値<br>(ppb) |
|--------|----------------------------|---------------|-------------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|
| 10     | 1.0                        | 10            | 5                       | 0.015                              | 0.00113                | 1.13                   |
| 20     | 1.0                        | 20            | 5                       | 0.015                              | 0.00056                | 0.56                   |
| 60     | 1.0                        | 60 (1h)       | 5                       | 0.015                              | 0.00019                | 0.19                   |
| 120    | 1.0                        | 120 (2h)      | 5                       | 0.015                              | 0.00009                | 0.09                   |
| 240    | 1.0                        | 240 (4h)      | 5                       | 0.015                              | 0.00005                | 0.05                   |
| 480    | 1.0                        | 480 (8h)      | 5                       | 0.015                              | 0.00002                | 0.02                   |

### 5.3. フィルターブランクの確認

3個の未使用のフィルターカセットから前層と後層のフィルターを取り出し、3.に示した測定分析法に従ってそれぞれ分析し、ブランクフィルターに含まれるヒドラジン量を確認した。その結果、表6に示すようにいずれのフィルターからもヒドラジンは検出されなかった。

表6 フィルターブランクの確認

| サンプル名           |    | ヒドラジン<br>総捕集量<br>( $\mu\text{g}$ ) |
|-----------------|----|------------------------------------|
| フィルター<br>カセット-1 | 前層 | 0.005 未満                           |
|                 | 後層 | 0.005 未満                           |
| フィルター<br>カセット-2 | 前層 | 0.005 未満                           |
|                 | 後層 | 0.005 未満                           |
| フィルター<br>カセット-3 | 前層 | 0.005 未満                           |
|                 | 後層 | 0.005 未満                           |

### 5.4. 回収率の確認

ヒドラジン絶対量が $0.49\mu\text{g}$ と $6.92\mu\text{g}$ となるように添加したフィルターカセット(各3個ずつ)を3.の測定分析法により分析を行い求めた回収率は表7のようになった。なお、後層のフィルターからは全てのサンプルでヒドラジンが検出されなかったため、表の分析値は前層フィルターのものである。

いずれの絶対量でも80%を超える回収率となったが、若干ばらつきが大きかった。なお、(独)産業医学総合研究所作業環境計測研究部の資料によると回収率は91%であった。

表7 回収率の確認

| No.             | 添加ヒドラジン量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 分析ヒドラジン量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回収率<br>(%) | 回収率<br>平均<br>(%) |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|------------|------------------|
| フィルター<br>カセット-1 | 0.49                          | 0.37                          | 76         | 83               |
| フィルター<br>カセット-2 | 0.49                          | 0.40                          | 82         |                  |
| フィルター<br>カセット-3 | 0.49                          | 0.45                          | 92         |                  |
| フィルター<br>カセット-4 | 6.92                          | 6.26                          | 90         | 87               |
| フィルター<br>カセット-5 | 6.92                          | 5.65                          | 82         |                  |
| フィルター<br>カセット-6 | 6.92                          | 6.22                          | 90         |                  |

#### 5.5. 捕集後の保存性の確認

フィルターに捕集したヒドラジンの保存性は添加後0日目の分析濃度を100%として保存後の分析濃度と比較し、その結果を表8と図2に示す。7日目までで約90%まで保存されていることが確認できた。

表8 捕集後の保存性の確認

| ヒドラジン<br>添加量( $\mu\text{g}$ ) | 分析値( $\mu\text{g}$ ) |      |         |      |
|-------------------------------|----------------------|------|---------|------|
|                               | 経過日数                 |      |         |      |
|                               | 0                    | 1    | 3       | 7    |
| 0.49                          | 0.31                 | 0.39 | 0.39    | 0.35 |
| 0.49                          | 0.36                 | 0.39 | 0.33    | 0.34 |
| 平均値                           | 0.34                 | 0.39 | 0.36    | 0.35 |
| 0日目に対する割合<br>(%)              | 100                  | 116  | 107     | 103  |
| 6.92                          | 6.38                 | 5.65 | (10.37) | 5.96 |
| 6.92                          | 6.34                 | 6.06 | 5.07    | 5.42 |
| 平均値                           | 6.36                 | 5.86 | 5.07    | 5.69 |
| 0日目に対する割合<br>(%)              | 100                  | 92   | 80      | 89   |

\* 保存性3日目の括弧は、異常値のためデータを削除した。

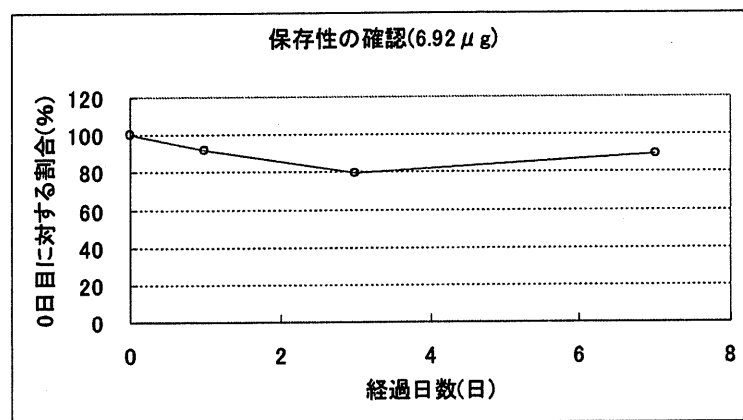
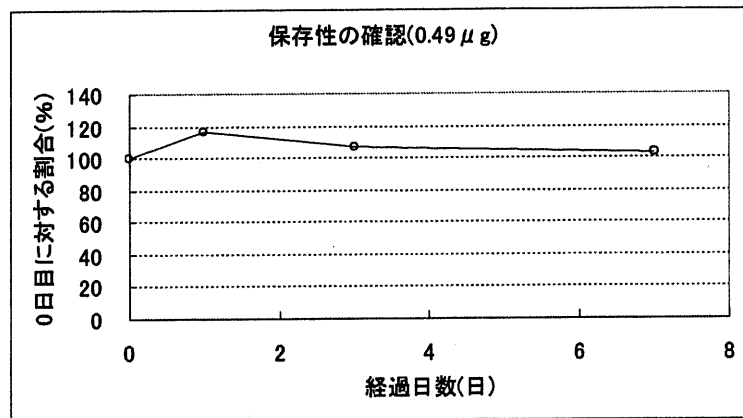


図2 捕集後の保存性の確認

## 6. まとめ

本検討の結果、ヒドラジンを分析できることが確認できた。また、本検討による測定分析法によると、定量下限値は採気量が10Lの場合ACGIHのTLVの約1/9、採気量が120Lの場合約1/100とすることができる。

以上の検討結果を標準測定分析法として別紙にまとめた。

## 別紙

## ヒドラジン標準測定分析法

CASNo.: 302-01-2

構造式:  $\text{H}_2\text{NNH}_2$ 

許容濃度等: 日本産業衛生学会: 0.1ppm  
 ACGIH TLV: 0.01ppm  
 OSHE PEL: 1ppm

## 物性等

分子量: 32.06  
 比重: 1.01  
 沸点: 114°C  
 融点: 2°C

## 別名

| サンプリング                                                                                                                                                                                                                              | 分析                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>サンプラー: 37mmφ硫酸含浸グラスファイバー<br/>           フィルター<br/>           (225-9012・SKC 社製)</p> <p>サンプリング流量: 1.0L/min<br/>           サンプリング時間: 10min~<br/>           採気量: 10L 以上<br/>           保存性: 7 日目までで約 90%の保存を確認</p> <p>ブランク: 検出せず</p> | <p>分析方法: HPLC 法<br/>           抽出: 緩衝液 (EDTA-2Na (0.05M)・リン酸二水素ナトリウム (0.1M) 溶液 (pH=3.5)) 5mL<br/>           : 振とう器にて 30 分間攪拌。その後、20 分間、2000rpm で遠心分離。<br/>           抽出液 1mL をバイアルに移した後、ベンズアルデヒドのアセトニトリル溶液 (1%V/V) 0.5mL を加え、混合後室温にて 30 分以上放置。</p> <p>機器: HPLC1100 シリーズ (Agilent 社製)<br/>           検出器: フォトダイオードアレイ検出器<br/>           カラム: Mightysil RP-18 GP 150-2.0 (3μm)<br/>           (関東化学社製)</p> <p>移動相: アセトニトリル/水=67/33 (V/V%)<br/>           流量: 0.3mL/min<br/>           試料導入量: 10μL<br/>           波長: 300nm<br/>           検量線: メタノールで 1/10000 に調整したものを標準原液とする。<br/>           緩衝液 5mL に以下の濃度となるように標準原液を添加。<br/>           0μg/mL<br/>           0.20μg/mL<br/>           0.39μg/mL<br/>           0.79μg/mL<br/>           1.56μg/mL</p> <p>定量法: 絶対検量線</p> |
| 精度                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <p>回収率<br/>           83~87%</p> <p>定量下限 (10σ)<br/>           0.015μg/mL<br/>           0.00113ppm (採気量 10L)<br/>           0.00002ppm (採気量 480L)</p>                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

## 適用

## 妨害

作成日 2008/02/29