

## 化学物質安全衛生情報シート:メチルイソブチルケトン

<b>名称</b>		<b>化学式</b>	
Methylisobutylketone 別名: MIBK			
Cas No.108-10-1			
<b>有害性</b>			
<b>短期曝露</b>		<b>長期曝露</b>	
(眼)眼、粘膜 刺激性 (皮膚)皮膚 軽度刺激性		脱力感・頭痛・眼の灼熱感・咽頭痛 胃痛・悪心嘔吐	
(吸入)			
鼻腔・気管粘膜 刺激性 中枢神経系影響(頭が重いなどの自覚症状増加) 嗅覚閾値 8ppm~15ppm			
TLV(ACGIH)設定の根拠:刺激作用, 腎機能			
<b>発がん性</b>	<b>変異原性</b>	<b>妊娠リスク</b>	<b>生殖毒性</b>
リストされていない	エイムス試験 陰性	許容値以下の 曝露ではリスク 低い	データなし
<b>感作性</b>	<b>皮膚吸収</b>		
データなし	皮膚からの吸収は 考慮しなくてもよい		
<b>応急処置</b>			
眼: 15分以上、流水でよく洗う 皮膚: 水でよく洗う 誤飲: 直ちに水で口をすすぎ、コップ1~2杯の水を飲ませる。医師の指示があった場合のみ吐かせる 意識のない場合は口から何も与えてはならないし、無理に吐かせようとしてはならない 吸入: 大量の蒸気、ミストを吸入した場合は、速やかに空気の新鮮な場所に移す			
<b>作業環境管理</b>			<b>該当法規</b>
<b>局排装置</b>			安衛法有2種 消防法4-1 安衛法通知物質
密閉された装置、機器または局所排気装置を使用 制御風速: 囲い式フード0.4m/s、外付け式フード0.5m/s以上			
作業環境測定: 6ヶ月に1回作業環境測定を実施する。			
<b>作業管理</b>			<b>作業環境管理濃度</b>
<b>呼吸用保護具</b>			50ppm
有機ガス用マスク ~500ppm:直結小型式(三光製吸収缶G102の破過時間: 500ppm 200分(20°C/50%)) 500-5000ppm:直結式(三光製吸収缶G52の破過時間: 5000ppm30分(20°C/50%)) 5000ppm以上:送気マスク 高温や高湿条件下では、破過時間が短くなることに注意。			<b>個人曝露許容値</b>
			日産衛50ppm ACGIH TWA 50ppm
<b>保護衣類</b>			<b>体内曝露許容値</b>
不浸透性保護手袋 適○ 可△ 不可× ポリビニルアルコール			尿中MIBK: 2mg/l 作業終了前2時間
<b>眼・顔用保護具</b>			
<b>健康管理</b>			<b>教育</b>
安衛法有機則 特殊健康診断(6ヶ月に1回)			

## 化学物質安全衛生情報シート:メチルエチルケトン

<b>名称</b>		<b>化学式</b>			
methylethylketone					
Cas No.78-93-3					
<b>有害性</b>					
<b>短期曝露</b>		<b>長期曝露</b>			
(眼)眼、粘膜 刺激性 (皮膚)皮膚 軽度刺激性		他の溶剤との混合で中枢神経抑制・末梢神経炎の報告あり			
(吸入)					
鼻腔・気管粘膜 刺激性 中枢神経系影響(頭が重いなどの自覚症状増加) 100ppm程度から刺激症状					
TLV(ACGIH)設定の根拠: 刺激作用, 中枢神経系影響					
<b>発がん性</b>	<b>変異原性</b>	<b>妊娠リスク</b>	<b>生殖毒性</b>	<b>感作性</b>	<b>皮膚吸収</b>
リストされていない	エイムス試験陰性	許容値以下の曝露ではリスク低い	データなし	データなし	皮膚からの吸収は考慮しなくてもよい
<b>応急処置</b>					
眼: 15分以上、流水でよく洗う 皮膚: 水でよく洗う 誤飲: 直ちに水で口をすすぎ、コップ1~2杯の水を飲ませる。医師の指示があった場合のみ吐かせる 意識のない場合は口から何も与えてはならないし、無理に吐かせようとしてはならない 吸入: 大量の蒸気、ミストを吸入した場合は、速やかに空気の新鮮な場所に移す					
<b>作業環境管理</b>				<b>該当法規</b>	
<b>局排装置</b>				安衛法有2種 毒劇法劇物 消防法4-1 安衛法通知物質	
密閉された装置、機器または局所排気装置を使用 制御風速: 囲い式フード0.4m/s、外付け式フード0.5m/s以上					
<b>作業環境測定</b>				6ヶ月に1回作業環境測定を実施する。	
<b>作業管理</b>				<b>作業環境管理濃度</b>	
<b>呼吸用保護具</b>				200ppm (安衛法)	
有機ガス用マスク ~1000ppm:直結小型式(三光製吸収缶G102の破過時間: 500ppm 200分(20°C/50%) 1000-10000ppm:直結式(三光製吸収缶G52の破過時間: 5000ppm30分(20°C/50%) 10000ppm以上:送気マスク 高温や高湿条件下では、破過時間が短くなることに注意。				<b>個人曝露許容値</b>	
				日産衛 200ppm (64) ACGIH TWA 200ppm STEL 300ppm	
<b>保護衣類</b>				<b>体内曝露許容値</b>	
不浸透性保護手袋 適○ 可△ 不可× ブチルゴム ポリビニルアルコール 塩化ビニル シルバースールド ニトリルゴム ネオプレン 天然ゴム				尿中MEK 2mg/L(作業終了時)	
<b>眼・顔用保護具</b>				ゴーグル	
<b>健康管理</b>				<b>教育</b>	
安衛法有機則 特殊健康診断(6ヶ月に1回)					

### III. 産業現場における効果的な健康リスクアセスメントの実施

#### 1. 変異原性化学物質 ジクロロメタンの曝露評価・健康リスク評価手法の検討

ジクロロメタン(以下 DCM)は、産業現場で溶剤、洗浄剤として広く用いられる化学物質である。そのヒト発がん性は現在確定してはいないものの、高濃度、また長期間にわたって曝露を受けた作業員が発がん等の健康影響を生じる可能性は否定できない。従来から、強変異原性物質であることは知られていたが、平成 14 年 1 月に、それまで発がん性がないとされていたラットでの発がんが報告されたことを受けて、厚生労働省労働基準局から DCM による健康障害を防止するための指針が公表されているとおり、DCM を扱っている産業現場ではこれまで以上に曝露の現状を把握し、作業員の教育を充実させるとともに、作業環境を再検討することが求められている。

以上のような背景から、化学物質の自主管理指針に示されるような形でジクロロメタン曝露に関するリスクアセスメントを行い、さらにリスクコミュニケーションとして結果を現場にフィードバック、あるいはリスクマネジメントとして作業環境管理、作業管理の改善を促すことは、本研究の目的に合うものであると考えられた。

DCM 曝露は、ヒトでは主に肝臓で CYP2E1, GSTT1 の 2 経路の代謝を受ける。DCM は、その代謝経路において、第一には CYP2E1 によって代謝を受け、CYP2E1 が飽和した後に GSTT1 が DCM 代謝にかかわる。前者では、CO が産生され、後者では CO<sub>2</sub> が産生される。これらのうち、GSTT1 による代謝産物である formaldehyde と

S-chloromethyl glutathione が遺伝子傷害性を示すことが知られている。

曝露評価としては、個人曝露濃度の測定に加え、生物学的モニタリングとしての血液中・尿中ジクロロメタン濃度の測定、遺伝子影響の程度に関わるマーカーとしての血液中・尿中ホルムアルデヒド濃度の測定を行うことが重要である。そこで本年度は、これらの曝露評価を行うために必要な測定方法の開発を行った。

また、CYP2E1, GSTT1 には遺伝子多型が存在することが知られている。本研究においては、協力依頼可能なジクロロメタン曝露作業員集団を対象として、生物学的モニタリングを含むジクロロメタン曝露評価と同時に、その代謝酵素の遺伝子多型を測定し、さらに代謝産物の生体内濃度を測定することによって、作業員に対するジクロロメタンの変異原性のリスクを評価することを計画している。その計画については、すでに文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」および慶應義塾大学医学部倫理委員会規定に則って研究実施計画を策定、慶應義塾大学倫理審査委員会にて審査を経て承認を得た。遺伝子多型の測定については、現在その測定条件の最終的な調整を行っており、来年度に実際の測定と評価を行う予定である。

(1) ヘッドスペース GC/MS による生体試料中のジクロロメタン定量法の確立

#### 【目的】

有機溶剤の一種であるジクロロメタン(DCM)は、ベイントリムーパー、脱臭剤、エアゾール、代替フロンなど広く多量に産業界で使用されている。化学的危険性が高く、高温面や炎に触れると分解し、有害で腐食性のフュームを生成する。アルミニウム粉末などの金属、強塩基、強力な酸化剤と激しく反応し、火災や爆発の危険性をもたらすと言われている。また、生体影響としては、眼、皮膚、気道を刺激し、意識が低下することがある。曝露の程度によって、定期検診が必要とされている。現在 DCM 曝露の指標として、個人曝露濃度や尿中 DCM が優れているとされている。主に環境及び尿中の DCM のデータが数多く報告されているが、血液中 DCM のデータは少ない。

そこで、

- ① DCM の一般的な測定方法を参照し、ヘッドスペース GC/MS(HSGC/MS)法を用いて定量方法の検討
  - ② DCM は超揮発性のため分注は現地で速やかにヘッドスペースバイアルに封入をさせることが好ましいが、コンタミしやすい欠点がある。このため尿を用いて DCM の最適分注方法をについて検討
  - ③ 職業性の DCM 曝露の生物学的曝露指標として、血液中濃度と尿中濃度の関係について検討
- の 3 点について、DCM の低曝露作業者の血液及び尿を測定し検討した。

#### 【方法】

装置は、GC/MS は Hewlett Packard 社製

P6890/5973 MSD system, ヘッドスペースサンプラーは、Hewlett Packard 社製 HP7694 を使用した。測定条件は Table 1 に示した。B-DCM の定量操作は、水 1ml, 血液 1ml を直接 10ml のヘッドスペースバイアルに封入し、加温して DCM を気化させ、3ml を GC/MS に注入して測定した。但し、DCM の沸点が 40°C で超揮発性のため、分注は水中で行った。検量線の作成は、検量線用標準溶液 (0, 0.50, 1.0, 2.0  $\mu$ g/ml) を調整し、血液試料と全く同様な操作で行い、エレクトロイオンクロマトグラム(EI)のターゲットイオン(m/z84), クオリファイアイオン(m/z49)のピーク面積比から検量線を作成した。U-DCM は水 1ml, 尿 1ml を直接 10ml のヘッドスペースバイアルに封入し、以後は血液と同様な操作で測定し、検量線用標準溶液も同様に調整した。DCM の低曝露者のプール血液及び尿を用いて再現性、回収率(DCM を血液と尿いずれも 0.5  $\mu$ g/ml となるように添加)等を検討した。さらに、DCM の低曝露者の血液及び尿を上述の分析方法で測定した。検体輸送はクール宅急便で行い、分注は、血液は翌日実験室、尿においては現地と翌日実験室でそれぞれ行った。水は Milli-Q Gradient A10 で精製したものを使用した。

#### 【結果及び考察】

- ① GC/MS の測定精度、マスキングと回収率、検出限界

瀬野らの測定方法を参照にして GC/MS の測定条件を Table 1 に示した。この測定条件と上記の分析操作(3 方法)を用いて DCM の検量線用標準溶液 0.5  $\mu$ g $\sim$ 2  $\mu$ g/ml を気化させ検量線を作成したところ、この

濃度範囲で良好な直線性が得られた (Fig.1).

DCM の低曝露者のプール血液及び尿を用いて DCM 無添加の血液及び尿各 4 本と血液と尿に  $1 \mu\text{g/ml}$  となるように添加した試料を各 4 本, それぞれ連続して測定した時の変動係数は, 4.6%, 3.9%, 2.5%, 3.7% であり, 満足できる分析精度を得ることができた.

本分析方法で定量した血液及び尿の DCM の TI と EI のマスプロファイルを Fig.2—Fig.4 に示した. TI の DCM ピークの保持時間は 5.7min で, EI マススペクトルは  $m/z$  84 の分子イオンピーク,  $m/z$  49 ( $\text{CH}_2\text{Cl}^+$ ) のベースイオンピークが観察された. 1 試料あたりの GC/MS の測定時間は 30 分でした. 次に, 現性を調べたときの血液及び尿の試料を用いて添加回収実験を行った. Table 2 に示したように血液及び尿いずれも, 97.1%(平均土標準偏差,  $n=3$ , 範囲 93.8~98.8%), 97.5%(平均土標準偏差,  $n=3$ , 範囲 92.0~100.9%) で良好な回収率であった.

また, 検出限界はノイズの 5 倍として 3 ng/ml で非常に高感度な結果が得られた (Table 2).

## ② DCM の最適分注操作法

DCM 曝露者 43 人の尿を用いて, 現地 (採尿直後) と実験室 (採尿翌日まで密栓  $4^\circ\text{C}$  冷蔵保存) で分注し, それぞれ本分析方法により DCM の定量を行った. その結果, 現地及び実験室で分注した時の U—DCM の平均値は,  $0.071\text{mg/l}$ ,  $0.068\text{mg/l}$  であり良く一致していた. よって, 尿の容器として中蓋付き褐色ポリびんを使用して DCM が外に漏れないように注意の上, 検体輸送をク

ル便で行えば, 実験室で分注 (氷冷) することが可能と考えられた. 一般的には DCM は低沸点で揮発性が高いため, 分注は現地で速やかにヘッドスペースバイアルに封入することが推奨されているが, 一方でこの分注操作は, コンタミの問題, 現地での作業負担が大きいという欠点がある. したがって, 一定の操作手順を守れば, 翌日, 実験室で分注操作できることは, 操作性の点で優れているといえる.

## ③ HSGC/MS による DCM 曝露作業者の血液中及び尿中 DCM 測定

DCM 低曝露者 30 人と DCM 非曝露者 8 人の血液及び尿を本分析方法により DCM の定量を行った結果を Table 3 に示した. B—DCM は  $90 \pm 92 \mu\text{g/l}$  (平均土標準偏差, 範囲  $10 \sim 378 \mu\text{g/l}$ ), U—DCM は  $49 \pm 50 \mu\text{g/l}$  (平均土標準偏差, 範囲  $6 \sim 218 \mu\text{g/l}$ ),  $35 \pm 33 \mu\text{g/g}\cdot\text{Cr}$  (平均土標準偏差, 範囲  $4 \sim 13 \mu\text{g/g}\cdot\text{Cr}$ ) であった. DCM 非曝露者は B—DCM は  $7 \pm 1 \mu\text{g/l}$  (平均土標準偏差, 範囲  $6 \sim 11 \mu\text{g/l}$ ), U—DCM は  $3 \pm 1 \mu\text{g/l}$  (平均土標準偏差, 範囲  $2 \sim 4 \mu\text{g/l}$ ),  $7 \pm 7 \mu\text{g/g}\cdot\text{Cr}$  (平均土標準偏差, 範囲  $1 \sim 22 \mu\text{g/g}\cdot\text{Cr}$ ) で極微量の DCM が検出された. 更に, B—DCM と U—DCM との相関は, 相関係数  $r=0.93$ ,  $r=0.70$  で高い相関関係が認められた (Fig.5, Fig6). 特にクレアチニン補正しない U—DCM との相関が高値を示した.

以上の結果より, 本分析方法は, 同一試料の繰り返し測定からも再現精度の良いことが確認された. また, 検出下限値も血液及び尿いずれも 3 ng/ml で高感度法と言える.

さらに, 本分析方法により血液及び尿を水で希釈するだけの簡便な前処理操作の

みで DCM の定量が可能となった。よって、 た。  
血液及び尿の DCM のスクリーニング分析方法  
として適用可能であることが明らかになっ

Table 1 Operation conditions of GC/MS and Headspace Autosampler

GC/MS condition	
Column	DB-WAX 122-7062 60m × 250 μm × 25 μm
Column temperature	60°C isothermal for 3min 5°C/min to 150°C 20°C/min to 220°C
Carrier gas	He 8.2ps
injection temperature	200°C
Ionization voltage	70 ev
Ion source temperature	200°C(EI)
<b>Headspace Autosampler condition</b>	
Needle temperature	120°C
Injection time	1min
Transfer temperature	180°C
Pressurization time	1min
Thermostic temperature	80°C
Pressure of helium	20pis
Thermostic time	120min

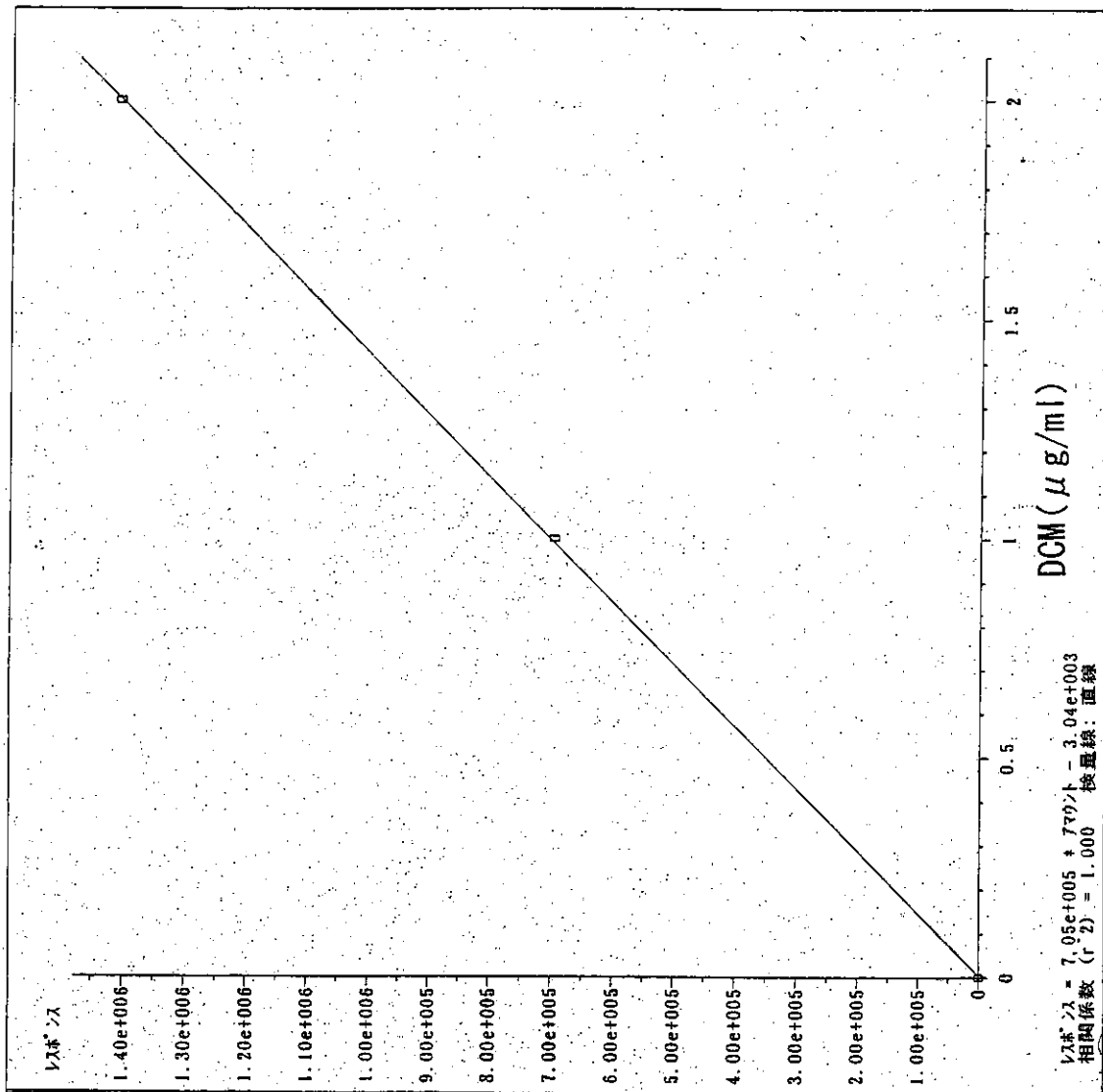


Fig.1 Calibration curves for DCM



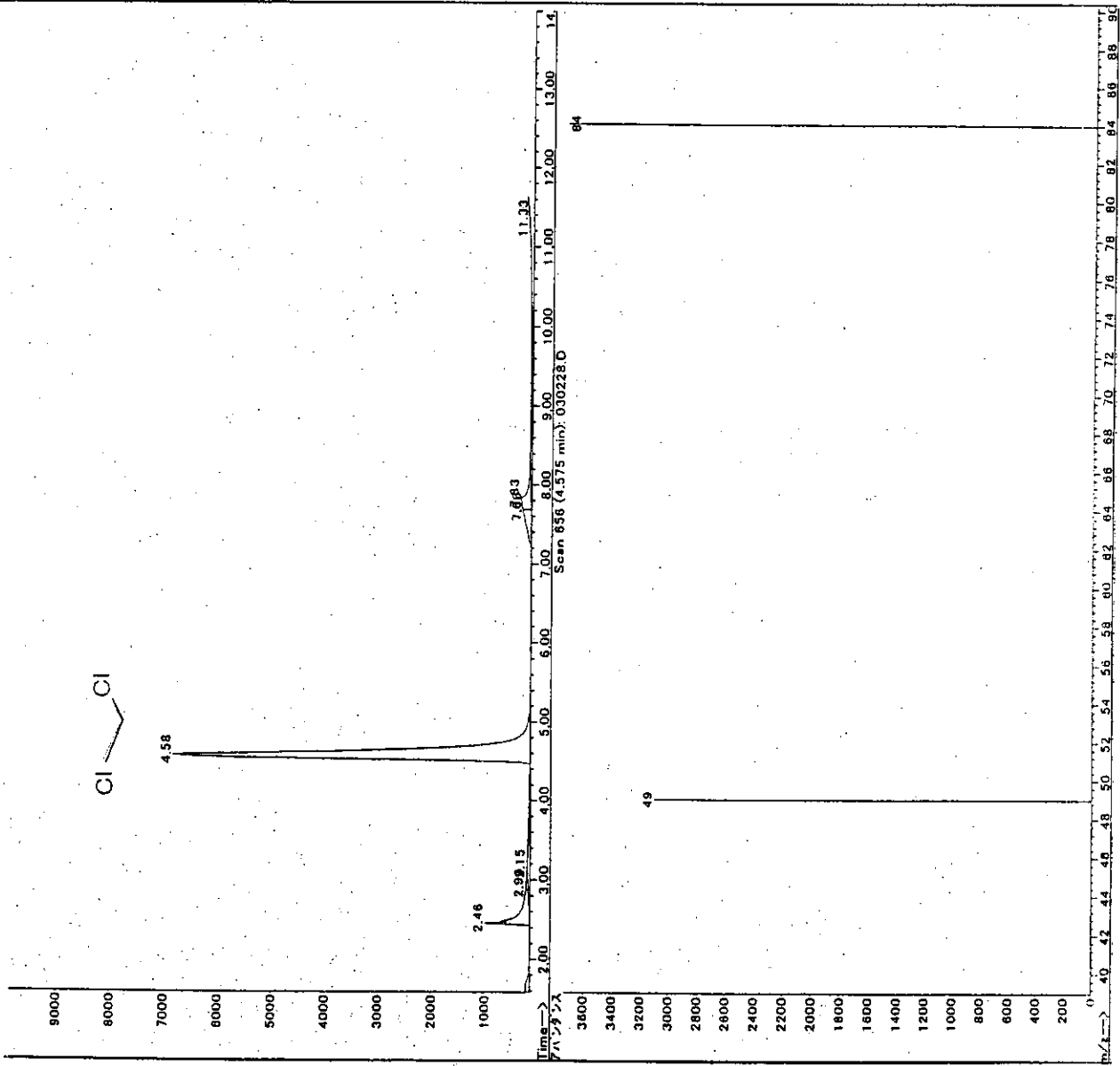


Fig. 2 TI and EI chromatogram of DCM

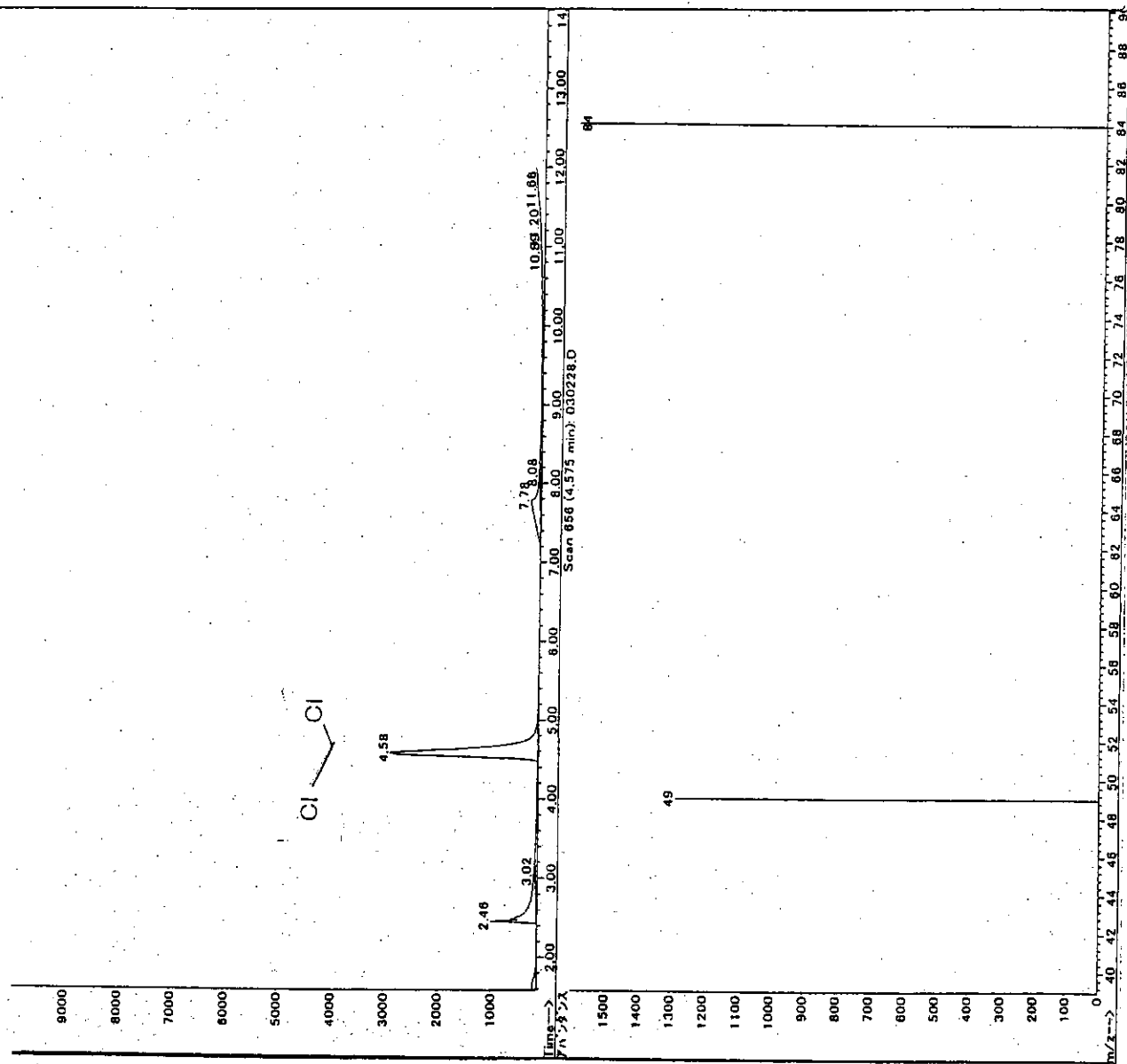


Fig. 3 TI and EI chromatogram of DCM

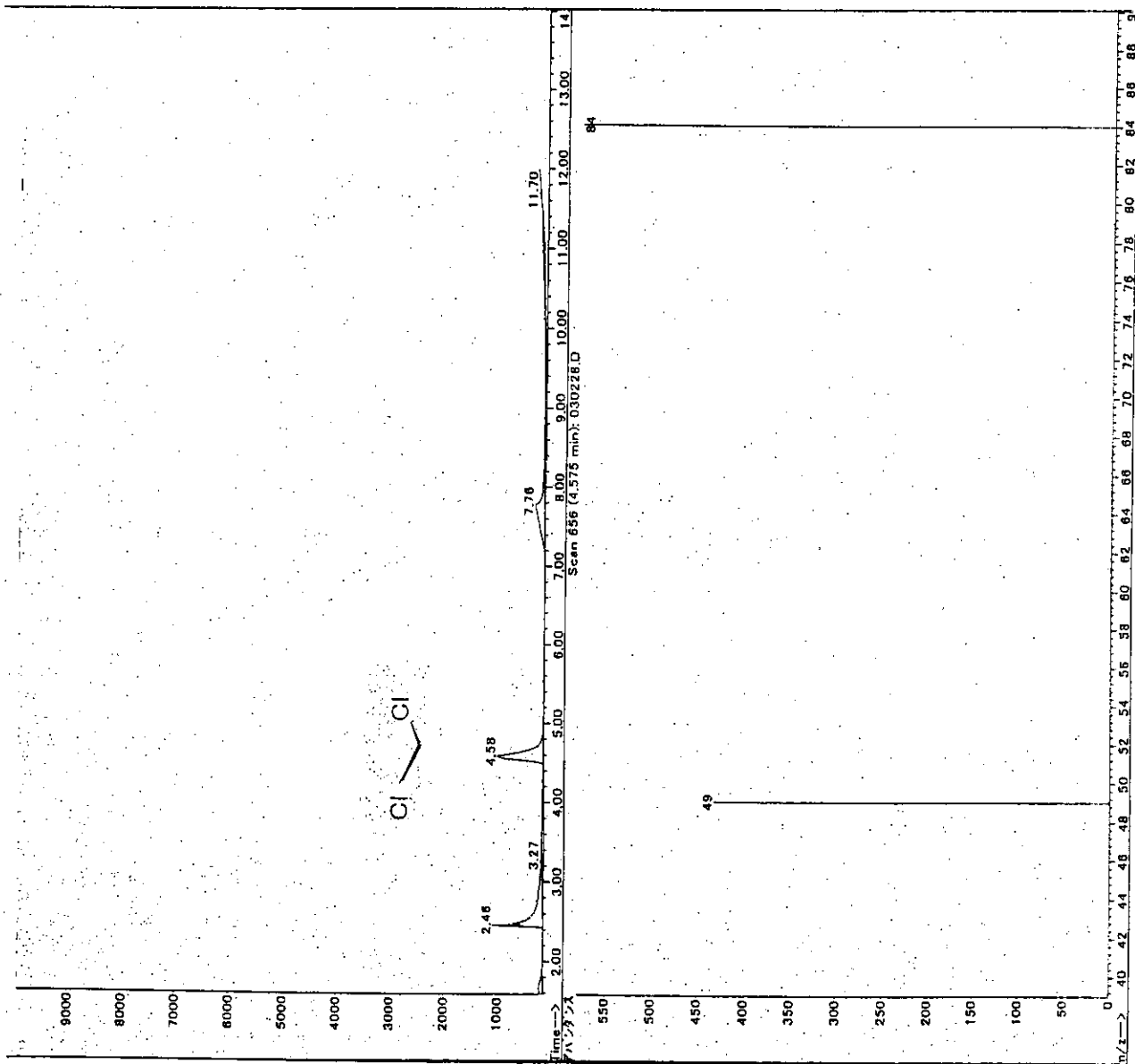


Fig. 4 TI and EI chromatogram of DCM

Table 2 Recoveries of DCM from blood and urine and detection limits (N=3)

Sample	Added	Recoveries %	Detection
	$\mu\text{g}$	Range	Mean
			limit ng/ml
Blood	1.0	93.8~98.8	97.1
			3
Urine	1.0	92.0~100.9	97.5
			3

Table 3

	Non exposed			Exposed		
	N	Mean	SD Range	N	Mean	SD Range
B-DCM( $\mu$ g/l) 8	8	6.8	1.7 6-11	30	90.3	92.3 10-373
U-DCM( $\mu$ g/l) 8	8	3.6	0.9 2-4	30	49.0	50.5 6-218
U-DCM( $\mu$ /g-C8)	8	6.8	7.4 1-22	30	34.9	33.5 4-130

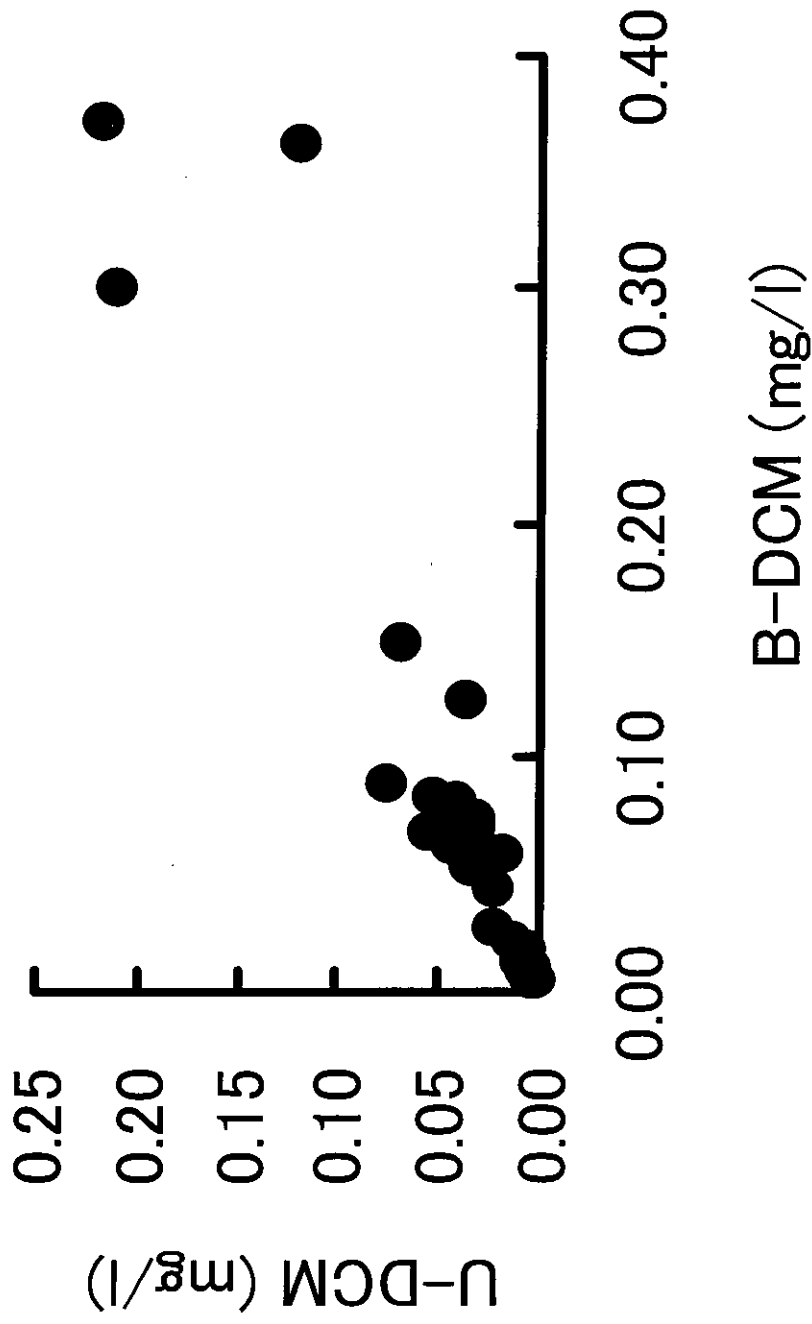


Fig.5 Relationship between B-DCM and U-DCM

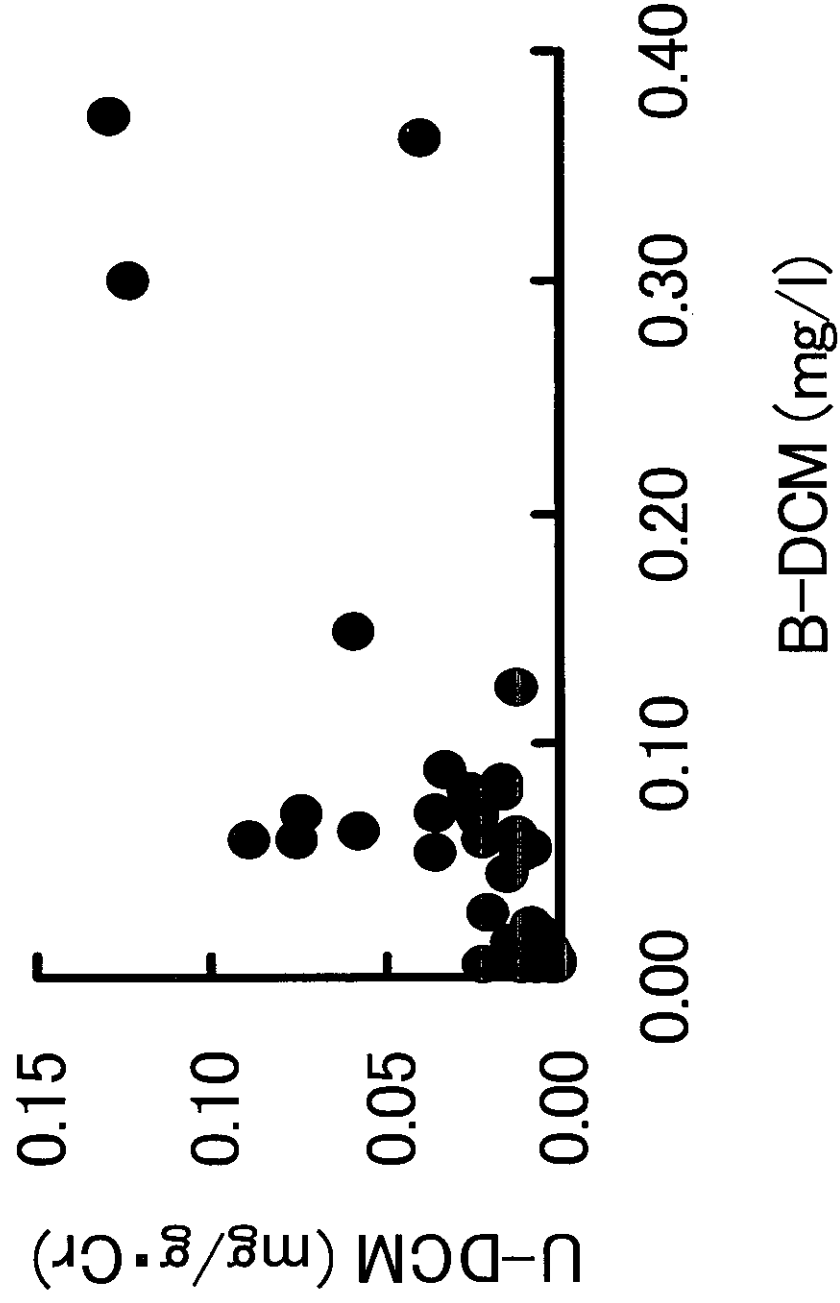


Fig.6 Relationship between B-DCM and U-DCM  
 (corrected by creatinine concentration)

## (2) ヘッドスペース GC/MS による生体試料中のホルムアルデヒド定量法の確立

### 【目的】

ホルムアルデヒド(HCHO)は、建築材料、壁紙、塗装材料などに広く使用され、室内空気の放散が懸念される物質であることは良く知られている。DCM 曝露では、高濃度曝露時に、GSTT1 経路を通じて産生される可能性が指摘されている。

HCHO の一般的な測定方法は、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)の誘導体として、HPLC や GC など分析する方法がある。この DNPH の誘導体の分析は HPLC を用いた例が多い。GC では、高温での測定を必要とし、物質の安定性及び分離カラムの選択の面で不利であると言われている。そのため、より揮発性の高い誘導体化が必要とされる。O-ペンタフルオロベンジルヒドロキシアミン(PFBOA)は、カルボニル化合物と揮発性の高い誘導体を生成することから、DNPH 誘導体に代わって排ガス及び水中の微量アルデヒド類の分析などに応用されている。しかし、いずれの方法も環境、海水及び水質中 HCHO のデータは数多く報告されているが、生体試料中 HCHO のデータは少ない。そこで、我々は菅谷らの分析方法を引用して血液及び尿中 HCHO の測定法の開発を試みた。血液及び尿中に存在することが予想される HCHO を定量するために、PFBOA を用いて誘導体化し、ヘッドスペース GC/MS(HSGC/MS)法を用いて定量方法の検討を行った。また、健常人の血液及び尿中 HCHO(B-HCHO, U-HCHO)の定量し、バックグラウンドレベルを求めたので合わせて報告する。

### 【方法】

装置は、GC/MS は Hewlett Packard 社製 P6890/ 5973 MSD system, ヘッドスペースサンプラーは、Hewlett Packard 社製 HP7694 を使用した。その測定条件を Table 1 に示した。そして、B-HCHO の定量操作は、水で 50 倍希釈した血液 1ml, o-(2,3,4,5,6-ペンタフルオロベンジル)ヒドロキシアミン塩酸塩 (PFBOA) 0.5ml, 水 0.5ml を直接 20ml のヘッドスペースバイアルに封入し、加温して PFBOA formaldoxime を気化させ、1  $\mu$ l を GC/MS に注入して測定した。検量線の作成は、検量線用標準溶液(0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0  $\mu$ g/ml)を調整し、血液試料と全く同様な操作で行い、エレクトロイオンクロマトグラム(EI)のターゲットイオン(m/z181), クオリファイイオン(m/z195)のピーク面積比から検量線を作成した。U-HCHO は水で 10 倍希釈した尿 1ml, PFBOA 0.2ml, 水 0.8ml, NaCl2 3g を直接 10ml のヘッドスペースバイアルに封入し、以後は血液と同様な操作で測定した。検量線用標準溶液(0, 0.2, 0.4, 0.8  $\mu$ g/ml)も同様に調整した。最適誘導体分析条件は、新鮮血液及び尿を用いて再現性、回収率 (HCHO を血液は 2  $\mu$ g/ml, 尿は 1  $\mu$ g/ml となるように添加)及び日間変動(4°C, -20°C 保存)等を検討した。さらに、健常人 30 名の B-HCHO, U-HCHO を測定し、それぞれのバックグラウンドレベルを求めた。水は Milli-Q Gradient A10 で精製したものを使用した(水中 HCHO: N=6, 1.8  $\pm$  0.0003 ppb)。

### 【結果及び考察】

#### ① 誘導体化条件の検討



新鮮血液を用いて上述の同様な操作で、PFBOA濃度を0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg/mlとしてオキシム化反応におけるPFBOAの添加濃度の影響をPFBOA formaldoximeのピーク面積の大きさで調べた。その結果をFig.1に示した。PFBOA・塩酸塩の添加量が1mg/ml以上で誘導体生成量はほぼ一定になった。次に全容量を一定にして1mg/mlPFBOA溶液を0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 1.0mlとしてオキシム化反応における1mg/mlPFBOA溶液の添加量の影響を上記と同様に調べた結果、0.5 mlの時に誘導体生成量が一番高値を示した(Fig.2)。また、反応温度は菅谷らが用いた60℃で血液及び尿を反応させると、一定になるためには4時間以上必要であった。反応時間を短くするために80℃で反応時間の影響を調べたところ、ほぼ90分で一定になった(Fig.3)。さらに、ヘッドスペース部への移行を促進させるためNaCl<sub>2</sub>添加効果を検討した結果、NaCl<sub>2</sub>を加えた場合の影響を調べた。血液ではNaCl<sub>2</sub>1g添加した時PFBOA formaldoximeのピーク面積は減少し、NaCl<sub>2</sub>1g添加項加は見られなかった。尿に於いて、NaCl<sub>2</sub>を0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0gで添加効果を調べた結果、Fig.4示したようにNaCl<sub>2</sub>3g添加した時PFBOA formaldoximeのピーク面積はNaCl<sub>2</sub>無添加に比べて約2.8倍増加し、最も高い感度が得られた。添加効果が見られた尿ではNaCl<sub>2</sub>3gを添加することにした。従って、誘導体化条件の検討は、新鮮尿に3gのNaCl<sub>2</sub>加えて、以後は血液と同様な操作で行った。反応温度80℃で全容量を一定にして1mg/mlPFBOA溶液を20, 50, 100, 200, 400 μlでオキシム化反応における1mg/mlPFBOA溶液の添加量の影響を調べ

た結果、Fig.5に示したように200 μlの時にPFBOA formaldoximeの生成量が最高値であった。次に最適反応時間を調べた結果、120分で一定になった(Fig.6)。

上述をまとめて、血液及び尿の最適誘導体化条件をTable 2に示した。そして、本分析方法でB-HCHOを定量した(Fig.7)。

得られたPFBOA formaldoximeのマススペクトル(スキャンモード)は、保持時間は8.54分、m/z 225の分子イオンピーク、m/z181のベースイオンピーク及び他のフラグメントイオンとしてm/z195, m/z167, m/z161, m/z117が観察された。イオンピーク、m/z181のベースイオンピーク及び他のフラグメントイオンとしてm/z195が観察された。この結果は菅谷らのPFBOA formaldoximeのGC/MSによるマススペクトルの解析とよく一致した。

よって、8.54分のTIのピークはPFBOA formaldoximeであることが確認された。

## ② GC/MSの測定精度及び試料の安定性

HCHOの検量線用標準溶液1 μg~8 μg(血液)、0.1 μg~0.8 μg(尿)をPFBOAで誘導体化し、ターゲットイオン(m/z181)、クオリファイアイオン(m/z195)のピーク面積比から検量線を作成したところ、いずれもこの濃度範囲で良好な直線性が得られた(Fig.8, Fig.9)。

同健康人の新鮮血液及び尿各4本と血液は2 μg/ml, 尿は0.3 μg/mlとなるように添加した試料を各4本、それぞれ連続して測定した時の変動係数は、1.42%, 2.12%, 3.0%, 1.2%で良好な再現性が得られた。

血液及び尿のHCHO経日変化は4℃、-20℃で保存した健常人の血液及び尿を用いて、0日目、1日目、2日目、3日目そして

5日目延べ5回それぞれ測定した。但し、尿は、-20℃では8日目の尿のみ測定した。得られた結果は、Fig.10, Fig.11示したように、血液は4℃(CV:1.7%), -20℃(CV:2.2%)いずれも5日間安定、尿は、4℃(CV:2.9%)で5日間安定、-20℃で保存させた8日目(CV:1.6%)の尿試料も変化せず安定していた。血液及び尿のHCHOは非常に安定しているため4℃、-20℃で5日間保存できることが明らかになった。

### ③ 回収率及び検出限界

血液は2 µg/ml, 尿は0.3 µg/mlとなるように添加した各3本の試料をそれぞれ測定し、添加回収実験を行った。回収率はいずれも99.6 (CV: 0.77)%, 102.0(CV: 0.21)%と良好値を示し満足すべき結果が得られた (Table 3)。

また、血液はBlank×2×50, 尿はBlank×2×10として算出した本分析方法の検出限界は、1.91 µg/ml, 0.38 µg/mlであった。非常に高感度であるため血液(50倍)及び尿(10倍)を希釈できるので干渉妨害もなく、煩雑な前処理を必要としない極めて簡便で有用性の高い方法であった。

### ④ 実試料への応用

健康人30人の血液及び尿を本分析法によりHCHOの定量を行った。その結果をTable 4に示し、尿中HCHOのPFBOA formaldoximeのマススペクトル(SIMモード)をFig.10に示した。PFBOA formaldoximeの保持時間は8.55分(血液), 7.93分(尿)であったが、血液と尿のTIの保持時間が異なっている理由は、尿の測定に用いたカラムの長さが20cmぐらい短くなっているためである。

以上の結果より、本研究においてヘッドスペースGC/MS法による血液及び尿のHCHOの分析法の検討を行った結果、超高感度、迅速かつ精度に優れていることが明らかとなった。また、ヘッドスペース法を使用した本分析法は誘導体や抽出などの試料の煩雑な前処理を必要とせず、簡単な試料の希釈のみで血液及び尿を水で希釈するだけの簡便な前処理操作のみで血液及び尿のHCHOの定量が可能となった。

**Table 1 Operational conditions of GC/MS and Headspace Autosampler**

GC/MS condition	
Column	HP-5MS 5%Phenyl Methyl Siloxane 30m × 250 μm × 0.25 μm
Column temperature	60°C isothermal for 3min 5°C/min to 150°C 20°C/min to 220°C
Carrier gas	He 8.2pis
Injection temperature	200°C
Ionization voltage	70 ev
Ion source temperature	200°C ( EI )
Headspace autosample condition	
Needle temperature	120°C
Injection time	1min
Transfer temperature	180°C
Pressurization time	1min
Thermostic temperature	80°C
Pressure of helium	20pis
Thermostic time	120min

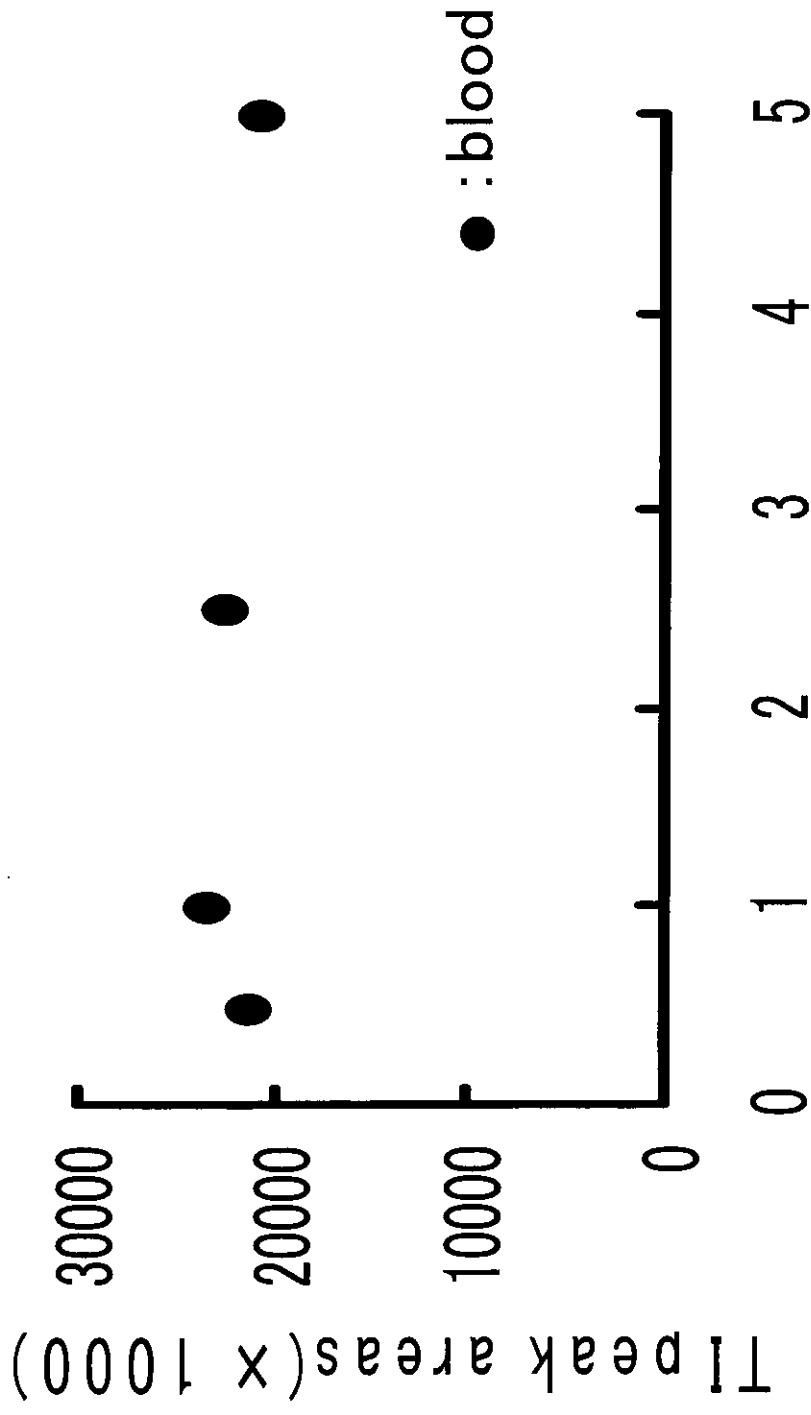


Fig.1 Effect of the amount of PFBOA on the formation of its derivatives