

表9 各サンプルにおいて観察されたピーク (○印)

分子量 (kDa)	サンプル		
	Exposed	Cont. Pla	Cont. Lys
7.5	○		○
7.8	○		○
15-1	○		
15-2	○		○
15-3	○		
15.6	○	○	○
15.7	○		
30	○	○	○
46	○	○	○
61	○	○	○
77	○		○

表10 各分画に含まれる総ヒ素濃度 (ppb)

		Antibody	
		(+)	(-)
Exp_ivt	Eluate	0.148 ± 0.008	0.040 ± 0.003
	Beads	0.257 ± 0.021	0.131 ± 0.009
	Sup	2.872 ± 0.013	3.097 ± 0.029
Cont_Lys_ivt	Eluate	0.011 ± 0.003	0.032 ± 0.005
	Beads	ND	ND
	Sup	ND	ND
Exp_ivv	Eluate	0.026 ± 0.002	0.014 ± 0.005
	Beads	0.086 ± 0.004	0.019 ± 0.004
	Sup	0.704 ± 0.026	0.63 ± 0.015
Cont_ivv	Eluate	ND	ND
	Beads	ND	ND
	Sup	ND	ND

5回測定した平均 ± 標準偏差。

本測定においては、検出限界は0.008 ppbであり、検量線は0.025 ppbから10 ppbまでの5点で作成した (R = 1.000)。

(2) DMACの適切なBM法の開発

① DMACの概要

CAS番号：127-19-5、分子量：87.1、沸点165℃、比重0.94)は、刺激性のある無色の液体で水によく混和する。アルキルアミド類の一つで、繊維、樹脂の溶剤、医薬品、写真薬などの各種反応溶剤として使用されており、日本における製造・輸入量は2008年において10,000～100,000tである。N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) と構造が類似し、同様の用途で使用されている。毒性もDMFと比較し低いとされているため、使用量が増加しており、国における化学物質のリスク評価推進事業で調査対象物質に挙げられている。DMACの職業性ばく露による影響は、ウレタン繊維工場でDMAC取り扱い作業員における急性肝炎が報告されている。皮膚からも吸収される。ヒトにおける発がん性は分類できていない。許容濃度は、日本産業衛生学会が10 ppm (36 mg/m³) (皮) を勧告しており、米国ACGIHは10 ppm (36 mg/m³) (skin)、英国HSEが10 ppm (36 mg/m³) を勧告している。DMACは主に体内で、N-ヒドロキシメチル-N-メチルアセトアミド (DMAC-OH)、N-メチルアセトアミド (NMAC)、N-ヒドロキシメチルアセトアミド (NMAC-OH) を経てS-アセトアミドメチル-L-アセチルシステイン (AMMC) およびアセトアミドに代謝され、DMACばく露者尿中にはDMAC-OHとNMACが多く排泄されるとされている。DMACはDMFと同様に皮膚吸収があることから、作業員の正確なばく露量を知るためには生物学的モニタリングによるばく露評価が重要となる。生物学的許容値は、日本においては勧告されておらず、ACGIH

が尿中NMACとして週末の作業終了後で30 mg/g creatinine、HSEが尿中NMACとして作業終了後で100mmol/mol creatinineを勧告している。

② NMAC検査受託状況

労働衛生検査精度向上研究会会員機関に対し調査したところ、NMAC測定を各社合計で、年間1300件程度の受託が確認された。濃度レベルとして、ACGIHのBEIである30 mg/cr以上が7%程度存在していた。また、DMACはDMFの混合物として使用されている可能性がある。そこで、DMF健診での尿中NMF測定のクロマトグラムにNMACのピークが含まれているかどうか、その検体数の割合の調査を依頼した。NMF検体数13,878のうち、0.8%とわずかではあるがNMFクロマトグラムにNMACピーク(3 mg/L以上)が確認された検体があった。

③ クロスチェック予備調査結果

NMACクロスチェック(暴露尿2試料)は6施設が参加した。2試料の変動係数(CV)は、低濃度試料で24.4%、高濃度試料で7.1%であった。測定方法は各施設のNFM測定と同じ方法で実施した。5施設がGC-高感度窒素リン検出器(NPD)法、3施設がGC-質量分析(MS)法であり、使用カラムは極性カラム、定量は内部標準法を採用していた。また、炭酸カリウム処理は、5施設で行われ、注入口温度は、150℃から280℃であった。150℃の2施設では、炭酸カリウム処理を行っていた。NMFとNMACのリテンションタイムは各施設とも近接していた。2011年度のクロスチェックは、NMAC単独の溶液を用いたが、2012年度からはNMFとの混合液を使用しピークの近接による誤差がないかを検討する。

④ ジメチルアセトアミドのBMの文献調査

主な代謝物である DMAC-OH と NMAC(図 30)の測定法に関する文献調査の結果を表 11 に示す。尿中 NMAC の測定にはガスクロマトグラフ (GC/FID, FTD, MS) 法が多く用いられている。NMAC が極性物質のため極性カラムの使用が多い。近年では DMAC の最終代謝物である AMMA を測定対象成分とする報告もある。AMMA は分子構造が大きく、極性物質であるため測定に高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いる方法が報告されている。また、いくつかの文献において、GC 注入口の熱によって DMAC-OH が脱メチルし NMAC に変換されることが報告されている。なお、AMMA, DMAC-OH 等は市販の標準品がなく試薬を合成して用いている。

各国の基準値を表 12 に示す。DMAC の職業的ばく露限界値は日本においては、日本産業衛生学会が 10 ppm(36 mg/m³) (皮) を勧告しており、米国の ACGIH は 10 ppm

(36 mg/m³) (skin), Occupational Safety and Health Administration (OSHA) は Permissible Exposure Limit (PEL)として 10 ppm (36 mg/m³) (skin)、National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) は Recommended Exposure Limit (REL)として 10 ppm (35 mg/m³) (skin)、ドイツの Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) は Maximum Concentration Values in the Workplace (MAKs)として 10 ppm (36 mg/m³) (skin)、英国の Health and Safety Executive (HSE)が Work Place Exposure Limit (WEL)として 10 ppm (36 mg/m³)を勧告している。各国とも 10 ppm であり、20-25 ppm の DMAC を反復してばく露された作業者に黄疸が起こったが、これは経皮吸収が一因との報告があり、経皮ばく露が防護されていれば 10 ppm で肝障害や胎児への悪影響が防護できるとし、これが職業的ばく露限界値の根拠となり、勧告値または規制値とされている。

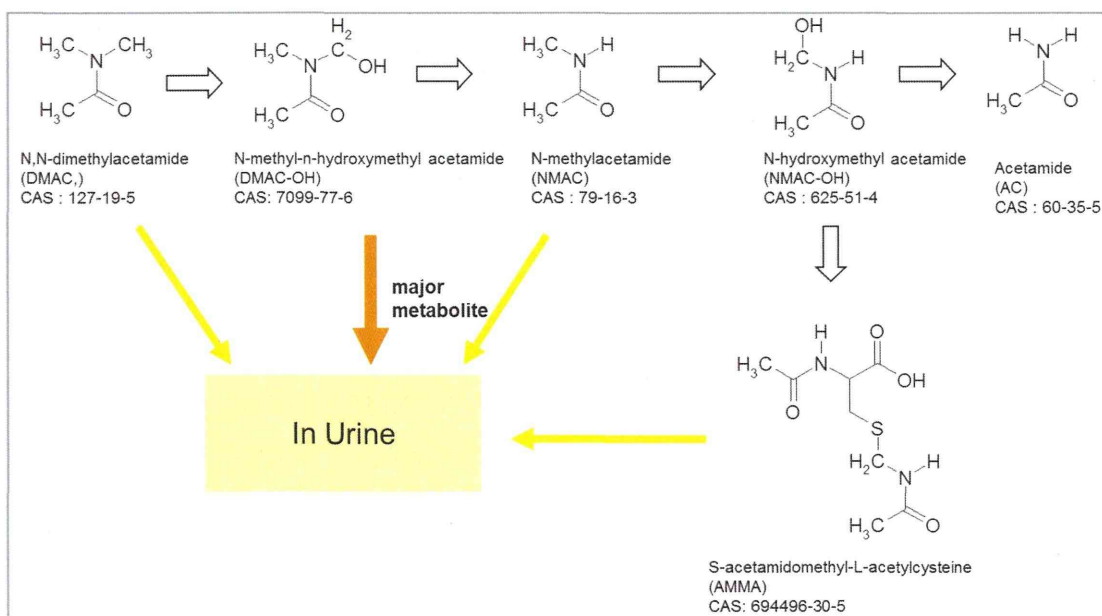


図 30 N,N-ジメチルアセトアミド代謝経路¹⁾

表 11 文献調査結果

年	筆頭著者	測定対象成分	サンプル	分析機器	備考
1974	J.R.Barnes ²⁾	NMAC, NMF	urine	GC-FID	ACGIH BEIs の ref.
1987	Paul J.A. Borm ³⁾	NMAC	urine	GC-FID	
1997	T. Kawai ⁴⁾	NMAC, NMF	urine	GC-FTD	注入口温度の影響を報告
2000	T. Nomiyama ⁵⁾	NMAC	urine	GC-FTD	
2003	L Perbellini ⁶⁾	DMAC, NMAC	urine	GC-MS	
2005	宮内博幸 ⁷⁾	NMAC, NMF	urine	GC-MS	
2006	O. Doris ⁸⁾	DMAC	plasma	LC-MS	
2010	P. Andrea ⁹⁾	NMAC	urine	GC-MS	
		AMMA	urine	LC-MS	

表 12 各国の環境濃度指針値と個人ばく露濃度指針値の比較

	日本		米国 ¹⁾	ドイツ ¹⁰⁾	英国 ¹¹⁾
	管理濃度 (厚労省)	許容濃度 (産衛学会)	TLV-TWA (ACGIH)	MAK (DFG)	WEL (HSE)
環境濃度指針値	—	10 ppm (36mg/m ³)	10 ppm (36mg/m ³)	10 ppm (36mg/m ³)	10ppm (36mg/m ³)
個人ばく露濃度指針値	有機則 (厚労省)	生物学的ばく露指標 (産衛学会)	BEIs (ACGIH)	BAT (DFG)	BMGV (HSE)
	—	—	30 mg NMAC/g creatinine	30mg NMAC/g creatinine	100 mmol NMAC/mol creatinine

生物学的許容値は、日本においては勧告されておらず、米国の ACGIH が Biological Exposure Indices (BEI)として尿中 NMAC として週末の作業終了後の採尿で 30mg/g creatinine, ドイツの DFG が Biological Arbeitsstoff Toleranzwerte (BAT)として尿中 NMAC としてシフト後の採尿で 30 mg /g creatinine, 英国の HSE が Biological monitoring guidance values (BMGVs) として尿中 NMAC としてシフト後の採尿で 100 mmol/mol creatinine (64 mg/g creatinine) を勧告している (参考文献)

- 1) American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Inc. (ACGIH): TLVs and BEIs 7th Edition Documentation CD-ROM N,N,-dimethylacetamide (DMAC) Recommended BEI, 2001
- 2) J.R.BARNES and N.W.HENRY: The Determination of N-Methylformamide and N-Methylacetamide in Urine, AIHA journal:84—87,1974
- 3) Paul J.A.Borm et al.: Environmental and Biological monitoring of workers Occupationally Exposure to

- Dimethylacetamide: J Occup Med: 29(11): 898-903, 1987
- 4) T.Kawai et al.: Separate Determination by Gas-Chromatography of Dimethylformamide, Dimethylacetamide, Monomethylformamide and Monomethylacetamide in Urine for Biological Monitoring: J Occup Health: 39: 113-118, 1997
- 5) T.Nomiyama et al.: Dermal absorption of N,N-dimethylacetamide in human volunteers: Int Arch Occup Health: 73: 121-126, 2000
- 6) L Perbellini et al.: Biological monitoring of occupational exposure to N,N-dimethylacetamide with identification of a new metabolite: Occup Environ Med: 60(7): 746-751, 2003
- 7) 宮内博幸他: ジメチルアセトアミド, ジメチルホルムアミド曝露作業における時間断面研究 1. 個人曝露濃度と尿中代謝物の測定: 産衛誌: 47巻: 850, 2005
- 8) O.Doris et al.: Monitoring of N,N-dimethylacetamide in children during i.v.-busulfan therapy by liquid chromatography-mass spectrometry: J Chromatogr B: 838: 129-134, 2006
- 9) P.Andrea et al.: S-(acetamidomethyl) mercapturic acid (AMMA): A new biomarker for occupational exposure to N,N-dimethylacetamide: J Chromatogr B: 878: 2515-2519, 2010
- 10) Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): The MAK-collection Part IV: BAT Value Documentations, Vol.5, 2010
- 11) Health and Safety Executive(HSE): EH40/2005 List of approved workplace exposure limits, 2011 (http://www.hseni.gov.uk/eh40_2005.pdf#search='List of approved workplace exposure limits 2011')
- ⑤ 国内における DMAC 代謝物測定状況調査
- 有機溶剤健診として会員施設のうち 3 施設で NMAC の受託があり, 平成 24 年 4 月から 11 月の受託件数は 1,812 件であった。そのうち, 30 mg/L 以上を示す検体数は, 11.9%であった。昨年は, 1,279 件で, 30 mg/L 以上を示す検体数は, 7%であったことから, 増加していた。
- 有機溶剤健診として会員施設のうち平成 25 年度は 4 施設で NMAC 測定の受託があり, 平成 24 年 10 月から平成 25 年 9 月の受託件数は 2,276 件であった。そのうち, 30 mg/L 以上を示す検体数は, 5.7%であった。ちなみに, ACGIH の BEI は 30 mg/Cr である。
- ⑥ 現行測定手法での施設間差比較
- 平成 24 年度は, 測定実績のある 5 施設と佐賀大学を加えた 6 施設で施設間比較(クロスチェック)を行った。
- いずれの機関も ACGIH が勧告する尿中 NMAC30mg/L を指標に測定を実施している。各施設の分析条件を図 31, 表 13 に示す。4 施設が GC-高感度窒素リン検出器 (NPD,FTD) 法, 2 施設が GC-質量分析 (MS) 法であり, いずれの施設も NMAC,

NMF とともに同じ分析条件を用い、使用カラムは 1 施設を除いて極性カラム、定量は内部標準法を採用していた。また、炭酸カリウム処理は、4 施設で行われ、注入口温度は、150℃から 280℃であった。150℃の 1 施設では、炭酸カリウム処理を行っていた。NMF と NMAC のリテンションタイムは 2 施設を除いて近接していた。

各試料の施設別集計結果を図 32 に示した。参考として平成 23 年のばく露尿の結果も図 33 に表示する。尿中 NMAC の変動係数 (CV) は、平成 23 年は低濃度試料①で 24.4%，高濃度試料②で 7.1%であった。平成 24 年は、ばく露尿①14.5%，②8.5%，③11.5%，添加尿と水溶液はともに 10.3%であった。

両年のクロスチェックでは低濃度の資料ではばらつきが大きくなる傾向があった。2 年間の調査で前処理、分析条件を大きく変更した施設はなかったことから、日常の測定分析において高濃度試料では比較的精度よく測定分析できているものの、低濃度試料では何かしらの要因により測定値に影響を与える可能性が示唆された。24 年ばく露尿③、添加尿、水溶液は、NMF、NMAC 混合試料であったが、ピーク不分離等の影響はなかったようである。

平成 25 年度は測定実績のある 5 施設で NMAC の施設間比較(クロスチェック)を行った。

4 施設が GC-高感度窒素リン検出器 (NPD,FTD) 法、1 施設が GC-質量分析 (MS) 法であり、いずれの施設も NMAC、NMF とともに同じ分析条件を用い、使用カラムは 1 施設を除いて極性カラム、定量は内部標準法を採用していた。また、炭酸カリ

ウム処理は、4 施設で行われ、注入口温度は、150℃から 280℃であった。150℃の 1 施設では、炭酸カリウム処理を行っていた。NMF と NMAC のリテンションタイムは 1 施設を除いて近接していた。

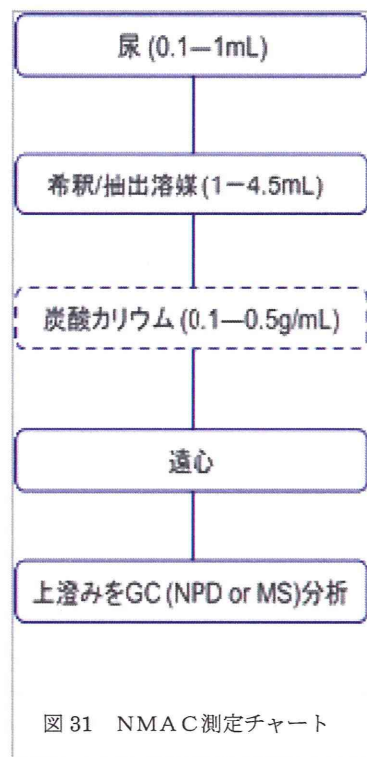


図 31 NMAC測定チャート

尿中 NMAC の変動係数 (CV) は、低濃度試料①で 13.8%，中、高濃度試料②，③で 2.2，6.0%であった。添加尿、水溶液は 7.7%であった。平成 24 年は、ばく露尿①14.5%，②8.5%，③11.5%，添加尿と水溶液はともに 10.3%であったので、昨年より改善している。

両年のクロスチェックでは低濃度の試料ではばらつきが大きくなる傾向があった。3 年間の調査で前処理、分析条件を大きく変更した施設はなかったことから、日常の測定分析において高濃度試料では比較的精度よく測定分析できているものの、低濃度試料では何かしらの要因により測定値に影響

を与える可能性が示唆された。

表 13 前処理及び分析条件

		施設	A	C	D	E	G	H
前処理	試料量(μL)		500	500	500	1000	500	300
	炭酸カリウム処理		0.25-0.5g/mL	0.5g/mL	0.2g/mL	0.5g/mL	無	無
	希釈溶媒		エタノール	エタノール	エタノール	エタノール	1,4-ジオキサン	メタノール
	溶媒量(μL)		4500	5000	2000	2000	1000	2700
	内部標準物質名		N,N-ジエチルホルムアミド'	キノリン	キノリン	キノリン	N,N-ジエチルホルムアミド'	N,N-ジエチルホルムアミド'
分析方法	検出器		GC-NPD	GC-NPD	GC-MS	GC-NPD	GC-NPD	GC-MS
測定条件	カラム (スベック)		Quadrex Methyl Silicone (0.32mm×50m, 1μm)	DB-WAX (0.25mm×60m, 0.25μm)	EC-WAX (0.25mm×30m, 0.25μm)	DB-WAX (0.25mm×30m, 0.5μm)	007-CW-25V (0.53mm×25m, 3μm)	HP-INNOWAX (0.25mm×30m, 0.25μm)
	注入口温度(°C)		250	250	150	240	280	250
	検出器温度(°C)		330	250	250	250	290	240
	カラム温度		90°C(1min)-7°C/min-200°C(5min)	100°C(5min)-10°C/min-7.5°C/min-200°C(2min)	45°C(0min)-30°C/min-250°C(4.5min)	150°C(0min)-5°C/min-200°C(0min)	130°C(1min)-10°C/min-170°C(0min)	40°C(1min)-10°C/min-200°C(0min)
	注入法		バルブスプリットレス	スプリット	スプリットレス	スプリット	スプリット	スプリット
	試料注入量(μL)		2	2	1	1	1	1
	キャリアーガス		He (3.0ml/min)	He (1.83ml/min)	He (2.0ml/min)	He (1.3ml/min)	He (15ml/min)	He (1.0ml/min)
定量	I.S	R.Time (min)	12.4	20.85	5.5	10.80	2.5	11.35
		NMF	R.Time (min)	7.8	13.61	4.5	5.91	4.2
		定量下限(mg/L)	1	1.0	0.5	0.5	0.5以下	0.5
	NMAC	R.Time (min)	11.39	13.37	5.9	5.7	4.1	13.47
		定量下限(mg/L)	1	0.5	0.5	0.5以下	0.5以下	0.5

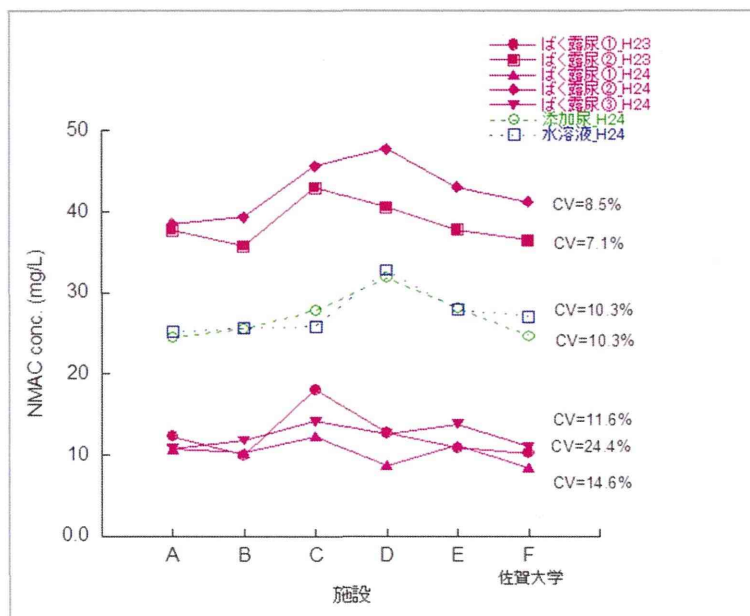


図32 尿中NMAC施設間比較

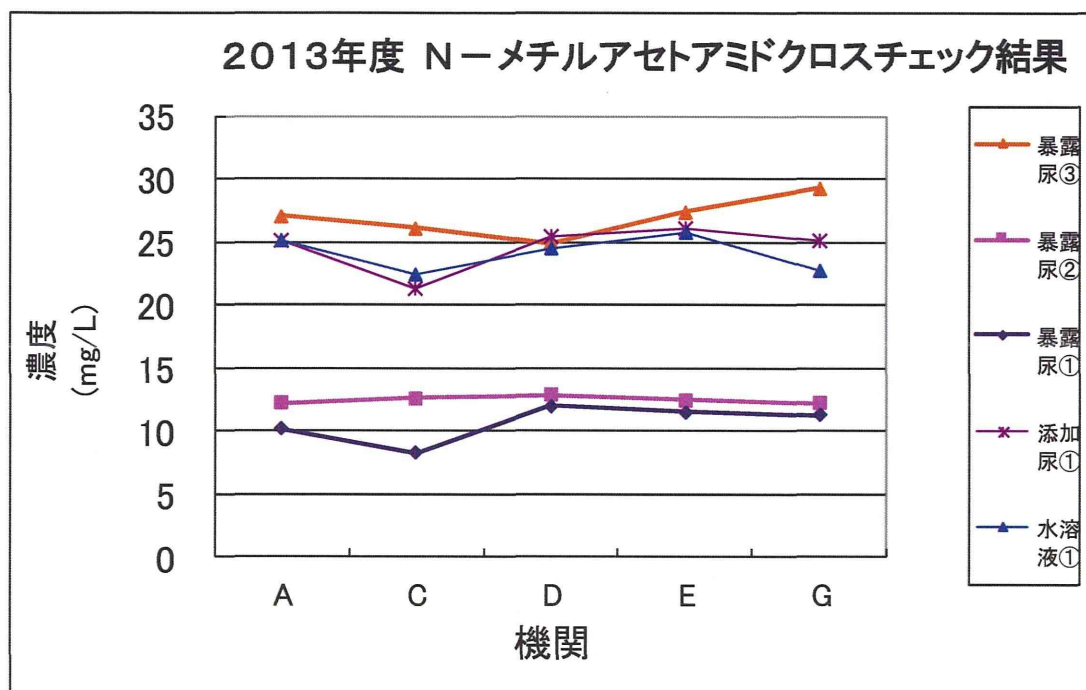


図33 2013年度の5尿中NMAC施設間比較結果

⑦ 代謝物一斉測定手法の検討

GC 注入口温度の影響で代謝物の組成が変わることがわかったので、注入手温度の影響を受けない代謝物一斉測定法を検討した。まず誘導体化による一斉分析を考えた。アミノ基の誘導体化試薬としてはアシル化剤が用いられることが多いが、水がある状態では反応しない試薬が多く、一度無極性溶媒に抽出する操作が必要である。しかしながら NMAC は水溶性が高いため抽出は困難である。そこで、法中毒の代謝物測定で用いられた報告のあるクロロギ酸アルキルおよび水やプロトン性溶媒中でも使用可能な脱水縮合剤である DMT-MM を用いて検討した。

7-1) クロロギ酸アルキルを用いた誘導体化

NMAC, DMAC-OH とクロロギ酸アルキルの反応を図 33 に示す。検討に用いたのは、クロロギ酸メチル、エチル、ブチル、ヘキ

シル、フェニル、ベンジルである。クロロギ酸フェニルは反応の段階で白色の固形物が析出したため、分析から除外した。クロロギ酸メチル、エチル、ブチルの 3 種類は誘導体らしいピークが検出されなかった。クロロギ酸ヘキシルおよびベンジルは誘導体らしきピークが確認されたが反応生成物の分子イオンが検出されず誘導体ピークかの同定ができなかった。

7-2) 4-(4,6-Dimethoxy[1,3,5]triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium (DMT-MM)を用いた誘導体化

NMAC と DMT-MM の反応を図 34 に示す。誘導体と思われるピークを確認することができなかった。反応の順番、反応条件（時間、温度）を変えておこなっても同様の結果であった。なお、他のメチルアミンでは水中で反応していたが、NMF においても反応しなかった。

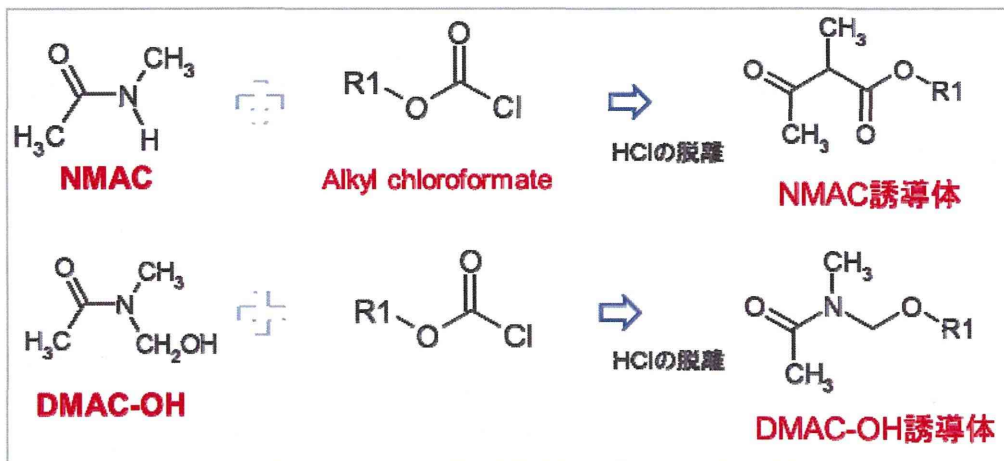


図 33 NMAC, DMAC-OH とクロロギ酸ベンジルの反応

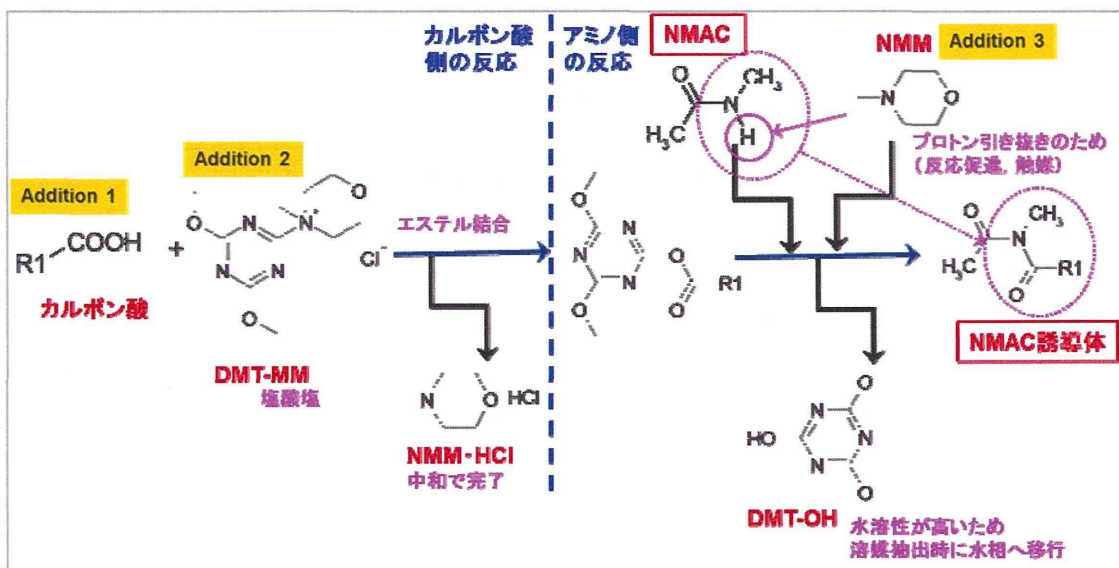


図 34 NMAC と DMT-MM の反応

7-3) HPLC-UV による一斉分析

UV 検出器においては精製水マトリックスの標準液試料低波長(190nm)でピークが確認された

汎用性の高い HPLC-UV を用い、DMAC 代謝物の分離定量を試みた。カラムは一般的に用いられる C18 (ODS) カラムを用いた。DMF と DMAC, DMAC-OH, NMAC の分離定量を試みた。測定条件とクロマト

グラムを表 14 に示す。希釈溶媒が水の場合、DMAC, NMAC, DMF, NMF, DMAC-OH の分離は可能であったが、AMMA、AMCC は 5 分以降に検出された。希釈溶媒が尿の場合、ベースラインが高くなった。馬尿酸、m-馬尿酸との分離は可能であり、5 分以後に検出できる。UV190nm 以上の吸収波長だとベースラインが高くなりピークが特定できなかった。

表 14 HPLC-UV の測定条件

装置	島津 Prominence UFLC
検出器	UV (190nm)
カラム	Shim-pack XR-ODS (3 mm ID, 75 mm)
カラム温度	40℃
移動相	A: 2 mM ぎ酸、B: アセトニトリル (A : B = 95 : 5)
流速	0.5 mL/min
注入量	5 μL

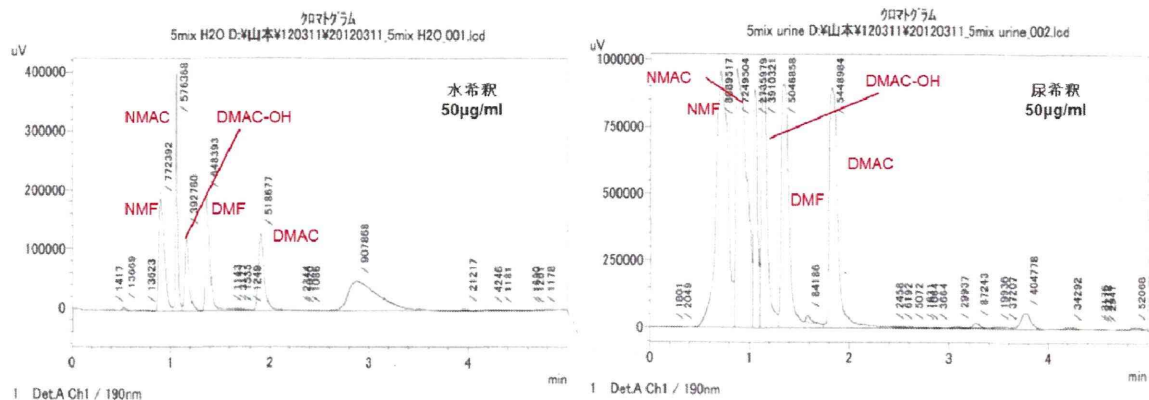


図35クロマトグラム

7-4) HPLC-UV を用いた代謝物一斉測定手法の検討

汎用性の高い HPLC-UV を用い、DMAC 代謝物の分離定量を試みた。カラムは一般的に用いられる C18 (ODS) カラムを用いた。DMF と DMAC, DMAC-OH, NMAC の分離定量を試みた。測定条件とクロマトグラムを表 2 に示す。希釈溶媒が水の場合、DMAC, NMAC, DMF, NMF, DMAC-OH の分離は可能であったが、AMMA、AMCC は 5 分以上に検出された。希釈溶媒が尿の場合、ベースラインが高くなった。馬尿酸、m-馬尿酸との分離は可能であり、5 分以上に検出できる。UV190nm 以上の吸収波長だとベースラインが高くなりピークが特定

できなかった。

7-5) LC/MSMS を用いた検討

LC/MSMS 分析においてはカラムの選定、移動相の分配が分離に影響を与えるため各種条件で検討を行った。

DMAC は親水性の高い物質であるため、一般的に使用される逆相モードでは保持が弱い。そこで、順相カラム (Inertsil Diol 2.1mmID 150mm, 5μm : GL サイエンス社製) および、親水性の固定相を使用し、移動相にアセトニトリル・水混液等を用いることができ、親水性の高い成分ほど保持が強いとされる親水性相互作用 (HILIC) を利用した分析モードカラム (Inertsil Amide 2.1mmID,150mm, 3μm : GL サ

イエンス社製) を選択した。

溶媒はアセトニトリルを使用した。(表 15)

分析条件とクロマトグラムを示す。希釈

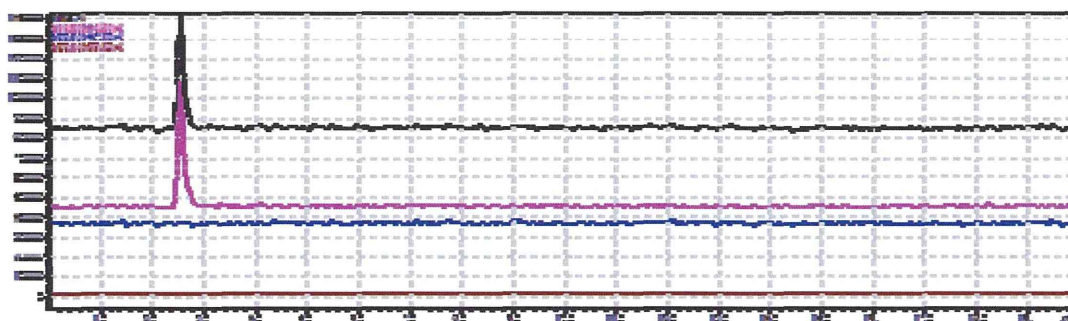
表 15 LC/MSMS の測定条件

装置	島津 LCMS-8030
カラム	Inertsil Diol (2.1 mm ID, 150 mm, 5 μ m) Inertsil Amide (2.1 mm ID, 150 mm, 5 μ m)
移動相	A: 10 mM ぎ酸アンモニウム、B: アセトニトリル (A : B = 5 : 95)
流量	0.2 mL/min
カラムオープン温度	40 $^{\circ}$ C
注入量	1 μ L
DL 温度	250 $^{\circ}$ C
ヒートブロック温度	400 $^{\circ}$ C
MRM	DMAC 88.15 > 46.10
	DMAC-OH 122.15 > 30.10
	NMAC 74.15 > 43.05
	AMMA 230.10 > 164.00

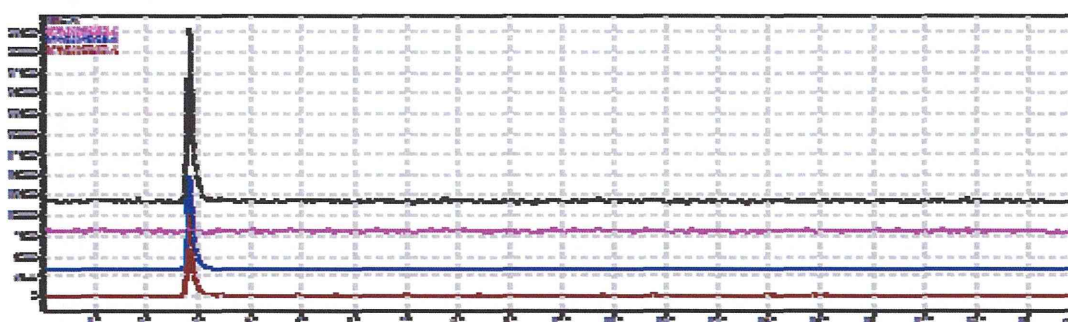
(Diol カラム)
C18 カラムと比較し保持は若干強くなっ
たが、DMAC、NMAC は夾雑ピークと重な

る保持時間であった。原因は不明であるが、
DMAC-OH のピークは検出されなかった。

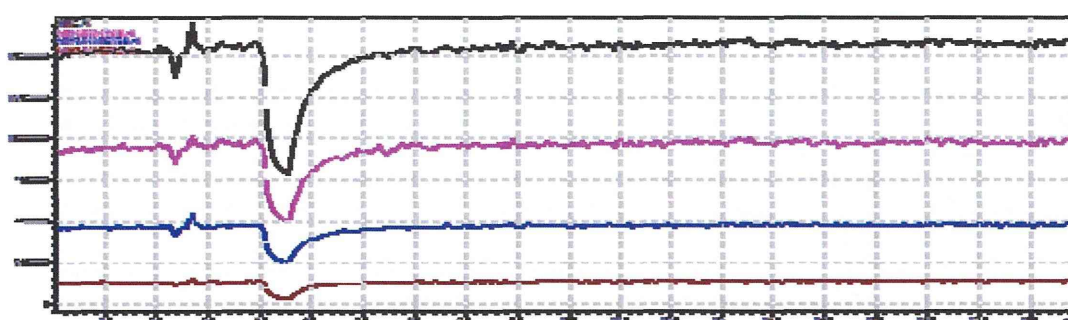
DMAC_9.3μg/ml



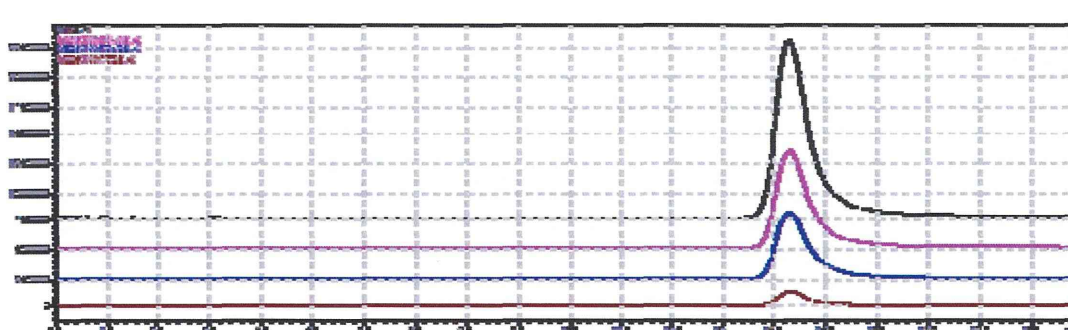
NMAC_9.9μg/ml



DMAC-OH_10.4μg/ml



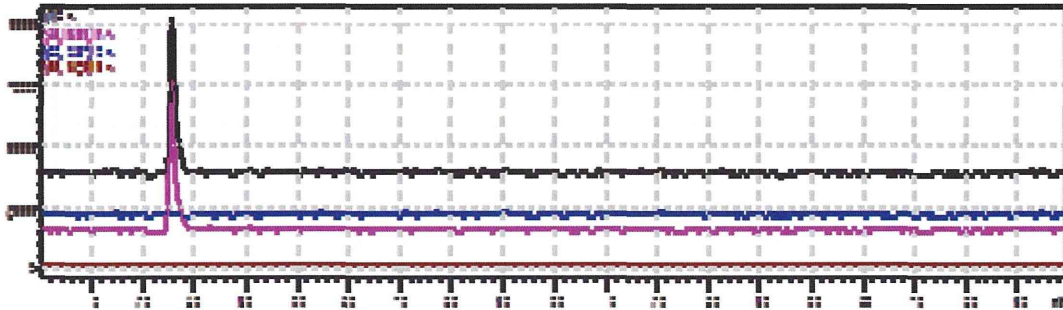
AMMA_9.9μg/ml



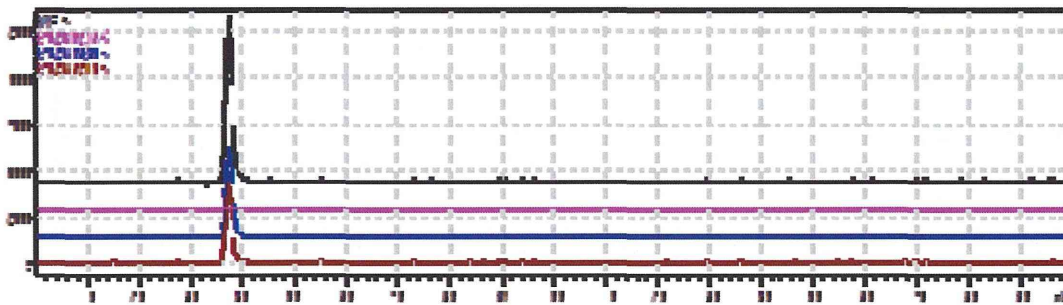
(Amide カラム)
C18カラムと比較し保持は若干強くなった
が、DMAC、NMAC は夾雑ピークと重な

る保持時間であった。原因は不明であるが、
DMAC-OH のピークは検出されなかった。

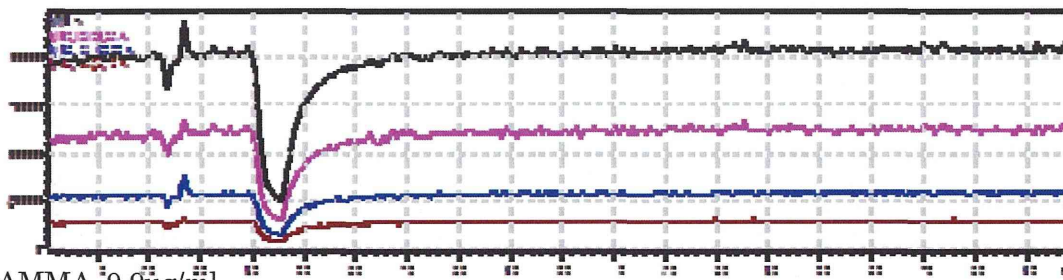
DMAC_9.3 μ g/ml



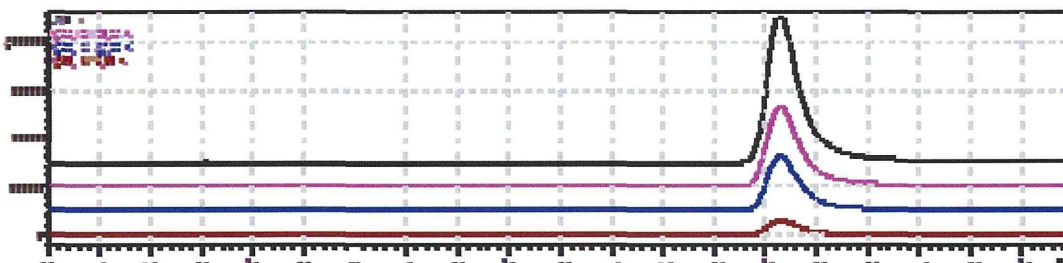
NMAC_9.9 μ g/ml



DMAC-OH_10.4 μ g/ml



AMMA_9.9 μ g/ml



(MF カラム)

Diol、Amide カラムでは DMAC-OH のピークが検出されなかったため、DMF の代謝物を測定している論文¹⁾で使用されていたカラム (CapcellPak MF SG 80 2.0mmID 150mm, 5 μ m : 資生堂社製) を用いた。

このカラムは粉体表面処理技術を応用することにより、ポリマーコート型充填剤(カプセル) とすることで、シリカゲル系、ポリマー系それぞれの特長を併せた高性能充填剤、すなわち既存 ODS-シリカゲルの持

つ耐圧性、耐溶媒性、高分離能をそのままに、耐アルカリ性を付与し耐久性を向上させたカラムである。汎用性の高い ODS に代表されるシリカゲル系の充填剤の欠点は、塩基性化合物はアルカリ性移動相溶媒で回収率が向上できるとされるが、シリカゲル系充填剤はアルカリ側で溶け出すため使用できないことである。

このカラムを用いて移動相溶媒をアセトニトリル、メタノールとしてそれぞれを検討した。測定条件を示す。

表 4 LC/MSMS の測定条件

装置	島津 LCMS-8030	
カラム	CAPCELL PAK MF C18 (2.0 mm ID, 150 mm, 5 μ m)	
移動相	A: 2 mM ぎ酸、B: アセトニトリル(A : B = 90 : 10)	
	or	
	A: 2 mM ぎ酸、B:メタノール (A : B = 90 : 10)	
流量	0.2 mL/min	
カラムオープン温度	40°C	
注入量	1 μ L	
DL 温度	250°C	
ヒートブロック温度	400°C	
MRM	DMAC	88.15 > 46.10
	DMAC-OH	104.00 > 44.05
	NMAC	74.15 > 43.05
	AMMA	230.10 > 164.00

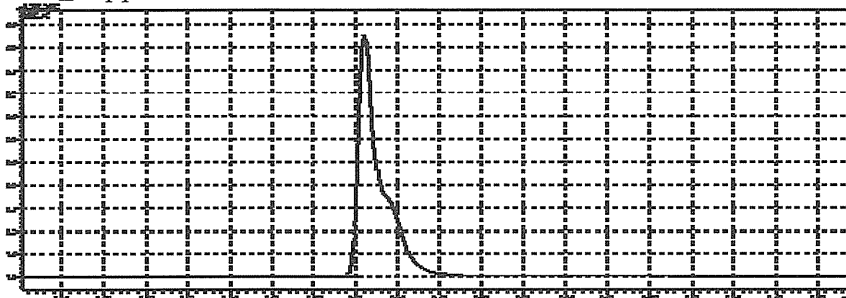
(Capcell Pak MFC18 カラム)

ピーク形状は DMAC については移動相がメタノールでテーリングがあり、アセトニトリルの方が良好なピーク形状であった。しかしながら、感度はメタノールの方が良

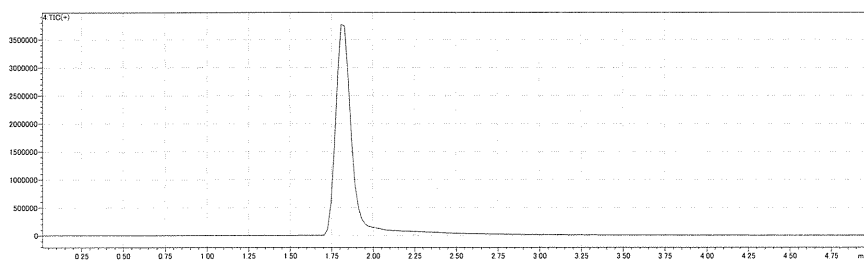
い。AMMA は 10ppm(v/v)ではピークを特定することができず 100ppm(v/v)でも 10 回以上繰り返し分析しないとピークの再現性が得られなかった。

移動相：2mM ぎ酸：メタノール=90:10

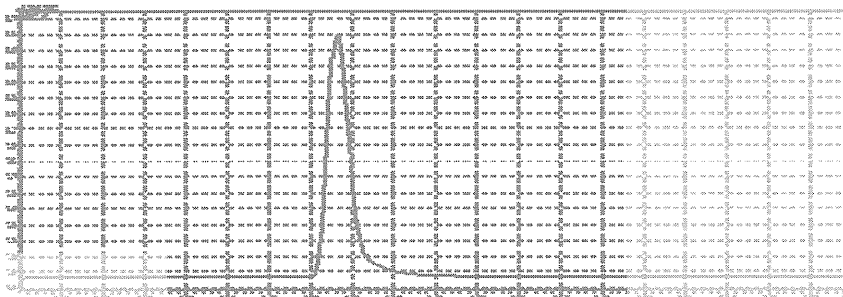
DMAC_10ppm



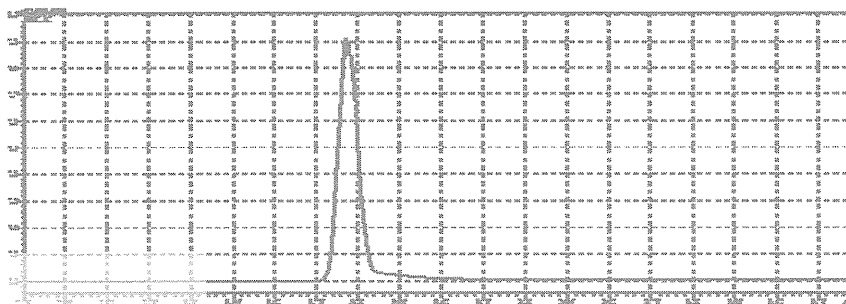
DMAC-OH_10ppm



NMAC_10ppm

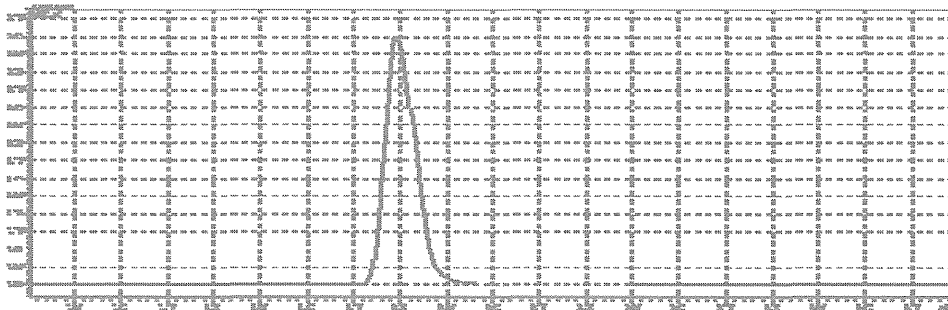


AMMA_100ppm

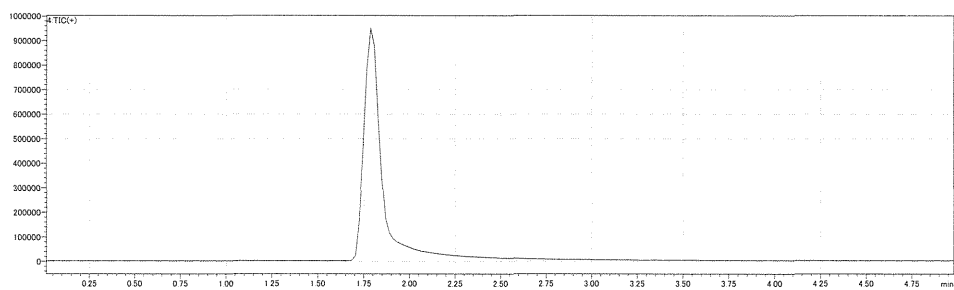


移動相：2mM ぎ酸：アセトニトリル=90:10

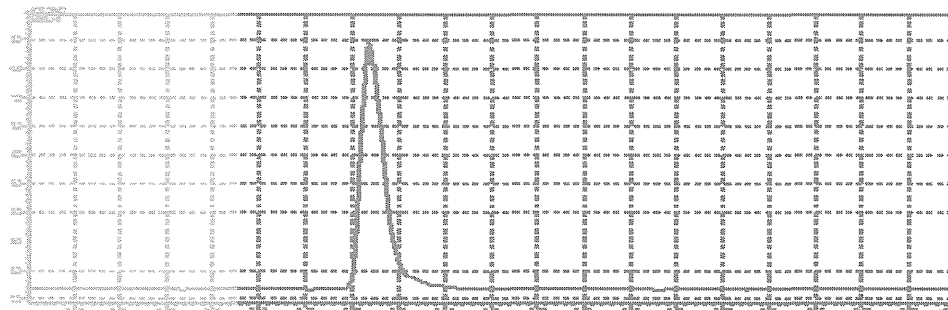
DMAC_10ppm



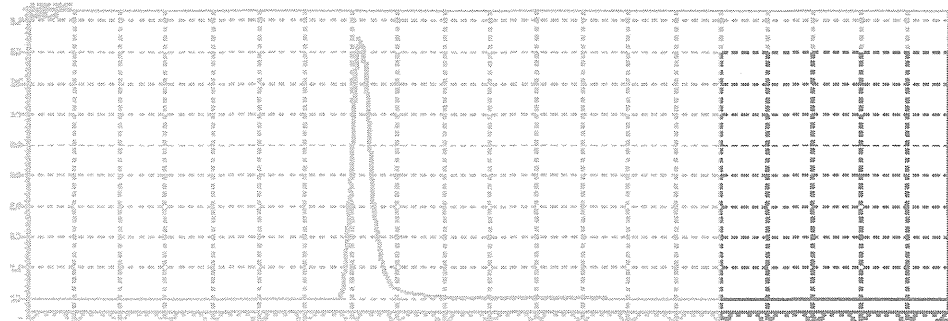
DMAC-OH_10ppm



NMAC_10ppm



AMMA_100ppm

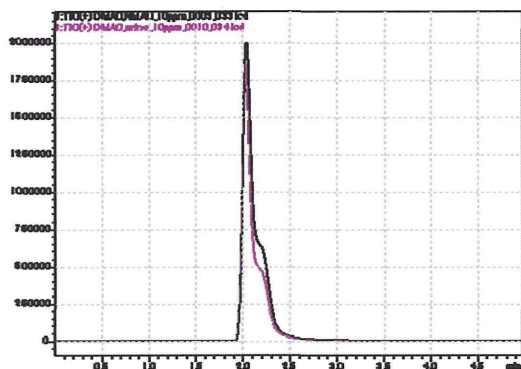


(尿で希釈した標準液とメタノールで希釈した標準液の違い)

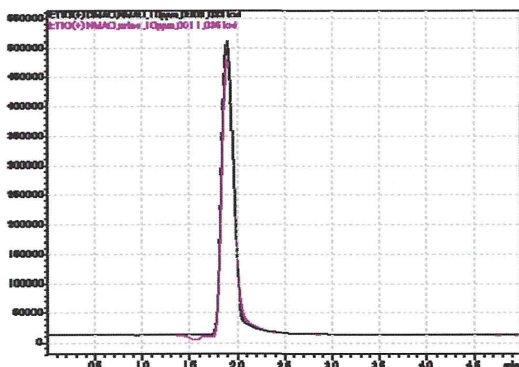
DMAC、NMAC はメタノール希釈と尿希釈でピーク感度の違いはほぼなかったが、DMAC-OH では希釈溶媒の違いでピーク感度にも大きな違いがでた。したがっ

て、検量線は尿希釈で書くことが必要である。DMAC-OH のピークの前に unknown ピークがあり低濃度域では定量誤差の要因となる恐れがある。AMMA は再現性が得られなかった。

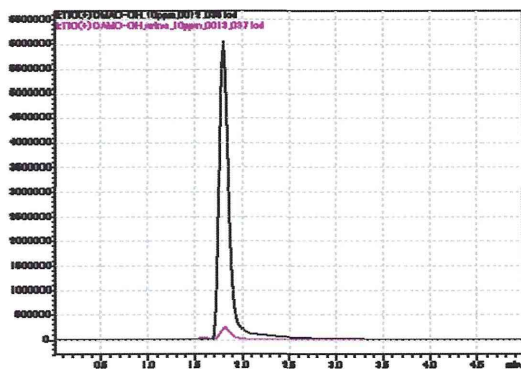
DMAC_10ppm (黒 ; メタノールで希釈, ピンク ; 尿で希釈)



NMAC_10ppm (黒 ; メタノールで希釈, ピンク ; 尿で希釈)



DMAC-OH_10ppm (黒 ; メタノールで希釈, ピンク ; 尿で希釈)



(定量分析のための前処理)

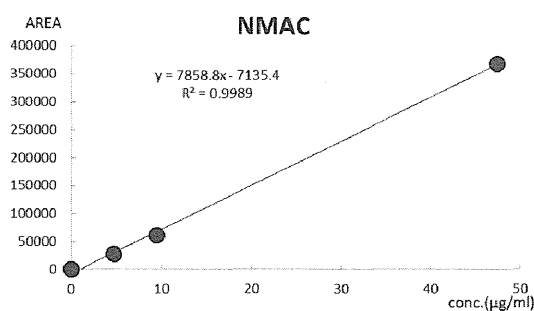
右記の前処理法で検量線を作成し、精度向上研究会で実施したクロスチェック試料を用いて分析した。機関 A~D は従来より用いられている GC 法で NMAC を定量分析し、佐賀大学は LCMS 法で DMAC-OH と NMAC の定量分析を行った。結果とクロマトグラムを示す。

ばく露尿において、各機関の GC 法によ

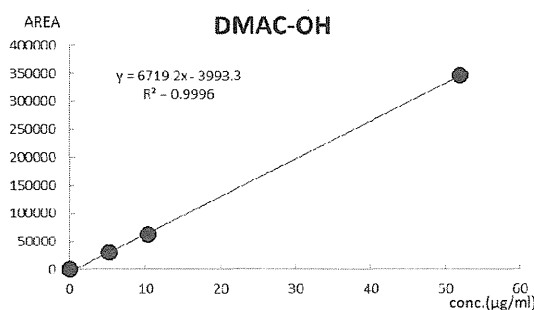
る NMAC 濃度と佐賀大学による LC-MS 法による DMAC-OH と NMAC 合計濃度を比較すると、ばく露尿②は若干、値に差が出たが、ばく露尿①、③が機関 A~D の値の範囲内であることから、両方法で大きな差は見られなかった。

GC 法による NMAC 濃度はばく露尿に含まれる DMAC-OH が NMAC に完全に変化していることが重要である。

(検量線)



(検量線範囲：4.8－47.5µg/ml)



(検量線範囲：5.2－52.0µg/ml)

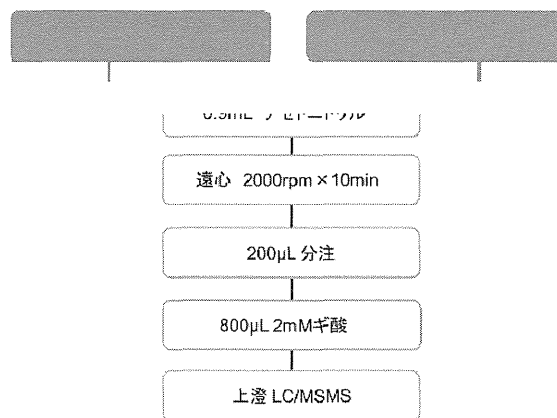
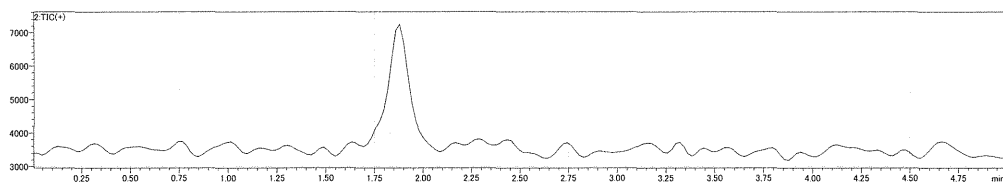


表 尿中の NMAC、DMAC-OH 濃度の測定結果 (µg/ml)

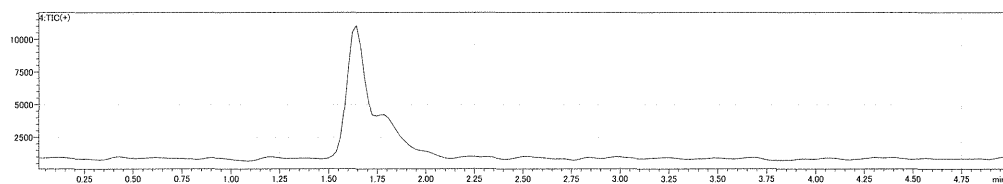
	NMAC					DMAC-OH	NMAC +DMAC-OH
	機関 A	機関 C	機関 D	機関 E	機関 G	佐賀大学	
尿①	10.2	8.3	12.0	11.5	11.3	4.2	9.3
尿②	12.2	12.6	12.9	12.5	12.3	3.7	18.7
尿③	27.1	26.1	24.9	27.4	29.3	12.7	26.7

(クロマトグラム)

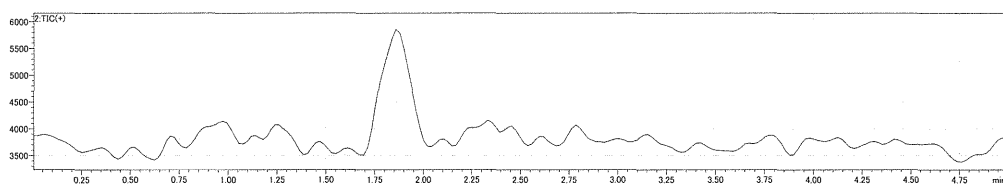
ばく露尿①_NMAC



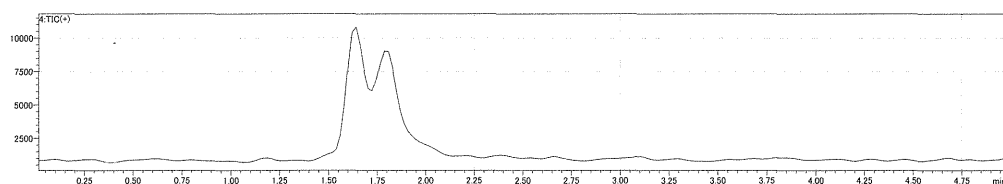
ばく露尿①_DMAC-OH



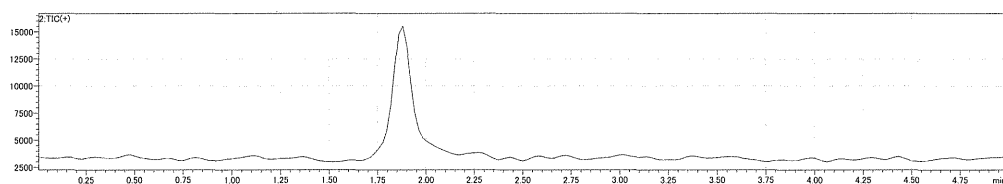
ばく露尿②_NMAC



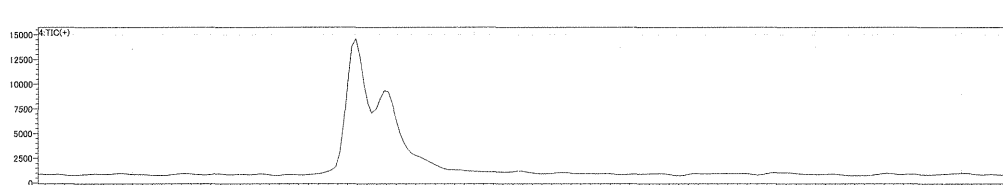
ばく露尿②_DMAC-OH



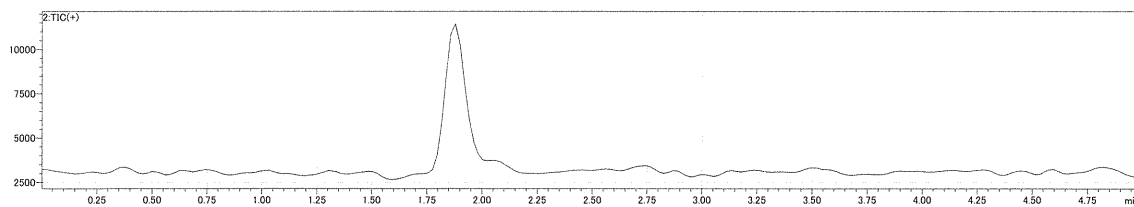
ばく露尿③_NMAC



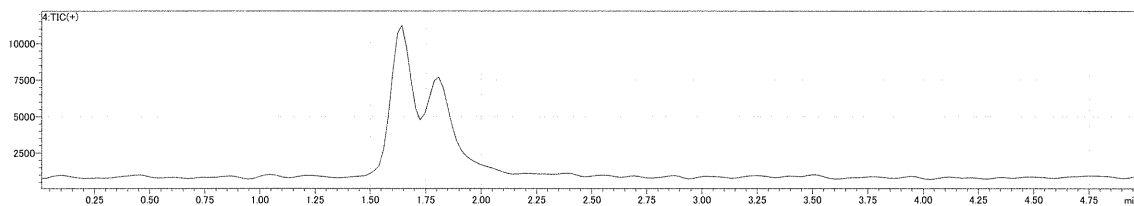
ばく露尿③_DMAC-OH



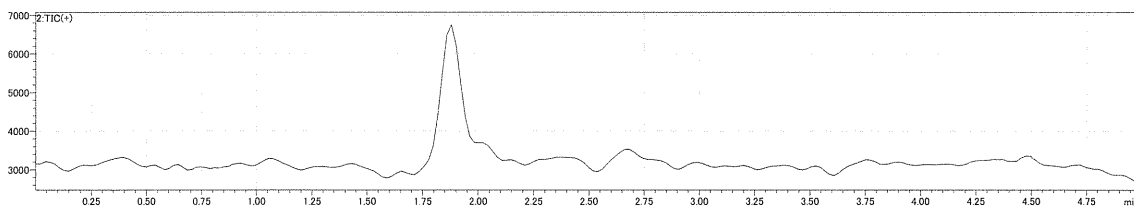
std.10ppm(v/v)_NMAC



std.10 ppm(v/v)_DMAC-OH



std.5 ppm(v/v)_NMAC



std.5 ppm(v/v)_DMAC-OH

