原 著

ヘッドスペース・ガスクロマトグラフ (HS・GC) 法による尿中トリクロロ酢酸とトリクロロ エタノールの分離定量

大原 昭男*, 道辻 広美*, 城山 康*
山口 恭平*, 藤木 幸雄*

DETERMINATION OF TRICHLOROACETIC ACID AND TRICHLOROETHANOL BY HEAD-SPACE GAS CHROMATOGRAPHY (HS・GC)

Akio OHARA,* Hiromi MICHITSUJI,* Yasushi JYOYAMA,*
Kyohei YAMAGUCHI* and Yukio FUJIKI*

Simultaneous determination of trichloroacetic acid (TCA) and trichloroethanol (TCE) in urine was made using head-space gas chromatography (HSGC). TCA was analyzed after methylesterification by methanol, and TCE was measured with decomposition of conjugation adding sulfuric acid.

(1) As preliminary treatment, 0.1 ml of urine and 0.6 ml of esterizer (pure water : sulfuric acid : methanol=6 : 5 : 1, V/V/V) were mixed in a sample vial, which was sealed a septum. This was analyzed in HSGC.

(2) By this method, the recovery, standard deviation and coefficient of variation of TCA were 95.7-104.3%, 0.001-0.783 mg/l and 0.8-4.0%, respectively, while those of TCE were 98.6-102.5%, 0.024-1.603 mg/l and 0.8-4.0%, respectively.

(3) Calibration curves were linear up to 30 mg/l for TCA ($y=1.838x+0.023$, $r=0.999$, $n=8$) and 60 mg/l for TCE ($y=0.963x+0.072$, $r=0.999$, $n=8$).

(4) A high correlation between HSGC and alkaline pyridine spectrophotometry was found for both TTC (TCA+TCE=TTC), ($y=0.917x-3.08$, $r=0.980$, $n=100$, $p<0.001$) and TCA ($y=0.891x-2.36$, $r=0.928$, $n=100$, $p<0.001$). The values for TCA and TCE obtained with HSGC were lower than those obtained with spectrophotometry.

(5) The limits of the detection obtained with this method were 0.002 mg/l for TCA and 0.005 mg/l for TCE according to the formula recommended by International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

These results indicate that this simple method is accurate and useful in simultaneous detection of TCA and TCE.

Key words: urine; simultaneous determination; head-space gas chromatography; trichloroethanol; trichloroacetic acid

I. 緒 言

トリクロロエチレン (TE) や 1,1,1-トリクロロエタン (MC) は、金属部品の脱脂洗浄に、また、テトラクロロエチレン (PC) はドライクリーニング等に使用され

ている。これらを取り扱っている作業者の、生物学的モニタリングとして、尿中トリクロロ酢酸 (TCA)、トリクロロエタノール (TCE)、あるいは総三塩化物 (TTC=TCA+TCE) が用いられている¹⁻³⁾。

これらの代謝物の分析法には、吸光光度法⁴⁻⁸⁾、高速液体クロマトグラフ⁹⁾、ガスクロマトグラフ法¹⁰⁻¹³⁾、およびヘッドスペース・ガスクロマトグラフ (HS・GC) 法¹⁴⁻¹⁶⁾ が知られている。吸光光度法での分析は、アルカリピリジン (ALK-P) 法が用いられ、全国衛生団体連

* 松下産業衛生科学センター
平成2年8月31日受付

* Matsushita Science Center of Industrial Hygiene
Received for publication, August 31, 1990

合会¹⁷⁾のコントロールサーベイ参加機関のほとんどが、この方法で分析を行っている。多くの機関でこの方法が用いられているのは、これに変わる良い分析方法が、見いだされなかったことによるものと思われる。

ALK-P 法は特異性に欠ける、操作が繁雑である、自動化が難しい等の問題がある。そこで著者らは、TCA をメチルエステル化し、TCE は抱合を解いて HS・GC 法で分析した結果、良好な結果を得たので報告する。

II. 方 法

1. 装置およびカラム

GC はパーキンエルマー (PE) 社製 Sigma 2000, (ECD-⁶³Ni) で HS 部は同社製 HS-100 を用いた。データ処理装置は島津社製 CR-4A を用い、定量計算にはピーク面積 ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$) を用いた。

使用したカラムは、J & W 社製の溶融シリカキャピラリーカラム (DB-WAX) である。

尿比重の測定は、エルマ社製の屈折比重計を用いた。また、ALK-P 法の吸光度の測定は、島津社製 UV-140-02 型分光光度計を用い、530 nm で測定した。

HS に使用したバイアルは、内容積が 22.5 ml のガラス製で、セプタムはブチルゴムにテフロンシートを貼ったものを使用した。また、セプタムをバイアルに密着させるために用いる、スターリングとアルミキャップもすべて PE 社製のものである。

相関係数の計算には最小二乗法を用いた。一つの検討項目について、2 件または 5 件ずつ行ったものは、分析値の平均値を用いてデータの処理を行った。また、本検討を行う前に予備検討を行い、GC および HS の条件 (Table 1) を求めた。なお、分析は Table 1 の条件で行い、一部を変更して分析した場合は変更した箇所を文中に示した。

2. 試薬および標準液

試薬は、和光純薬社製特級を用いた。ただし、TCE は同社製一級を用いた。分析に使用した純水は、ミリポア社製のミリ-Q システムで市水道水を精製したものである。

標準液の調製：TCA の標準液は、1 l のメスフラスコに約 20 g の TCA を秤量して入れ、純水 1 l に溶解後、標定済みの 1/10 N-NaOH 液で滴定して、最終濃度が 300 mg/l になるように純水で希釈し保存原液とした。TCE の標準液は、TCE を 1.000 g 秤量し、純水 1 l に溶解し、1,000 mg/l の保存原液とした。保存原液は冷蔵庫で保存し、用時純水で希釈して使用した。

Table 1. Operating conditions of HS・GC.

Column	0.32 I.D., 30 m length
Oven temp. (°C)	130
Carrier gas (N ₂ ml/min)	2
Split ratio	40 : 1
Thermostating time (min)	65
Thermostating temp. (°C)	85
Transfer temp. (°C)	120
Pressurization time (min)	0.5
Injection time (s)	4.8

III. 結 果

1. サンプル量

有機溶剤非取扱いの尿 (比重 1.032) を 5 名分ブールした。この尿をバイアルに 0.01, 0.10, 0.20 および、0.30 ml 分取し、それぞれに硫酸 0.25 ml, メタノール 0.05 ml, 混合標準液 (標準液 1 l 中に TCA 15 mg, TCE 50 mg を含む) 0.10 ml を加えて、総容量が 0.70 ml になるように純水を添加した。その後セプタムで蓋をして分析を行った。この検討は、各尿量につき 2 件ずつ行った。

尿に硫酸を添加すると、発熱で TCE が飛散することが考えられるので、バイアルを氷水中に入れ、発熱を抑制しながら添加した。これ以後も硫酸の添加は氷水中で行った。

結果を Fig.1 および Fig.2 に示す。TCA の retention time (*R_t*) は 1.936 分で、TCE の *R_t* は 3.000 分であった。また、Fig.1 のごとく今回検討を行った 0.01 ml から 0.30 ml までは分離も良好で、検出器の選択性の強さから TCA と TCE のみしか検出されず、尿量の違いによる感度の変化も認められなかった。また、Fig.2 のごとく、ピーク面積はサンプル量の違いによる影響を受けていない。以上の結果から、尿の分取精度が良好に保てること、また、尿中に含まれる物質は、カラムや検出器を劣化させる原因になるので、できるだけ導入しないほうがよいことから尿量を 0.10 ml に決めた。

2. メタノールと硫酸の添加量

メタノールは TCA をメチルエステル化するために添加し、硫酸はメチルエステル化の反応を促進するとともに TCE の抱合を解くために添加している。

メチルエステル化の効率、尿中のマトリックスが多い場合と、少ない場合では、その効率が変わることが考えられる。そこで、尿比重をマトリックスの指標として、マトリックスが多い場合として尿を、ほとんどない

Fig.1. Chromatographic separations in various conditions of urine (0.01-0.30 ml). (1) Pure water 0.10 ml+mix. ST (TCA 15 mg, TCE 50 mg/l) 0.10 ml. (2) Non-exposed urine 0.01 ml+mix. ST (TCA 15 mg, TCE 50 mg/l) 0.10 ml. (3) Non-exposed urine 0.10 ml+mix. ST (TCA 15 mg, TCE 50 mg/l) 0.10 ml. (4) Non-exposed urine 0.20 ml+mix. ST (TCA 15 mg, TCE 50 mg/l) 0.10 ml. (5) Non-exposed urine 0.30 ml+mix. ST (TCA 15 mg, TCE 50 mg/l) 0.10 ml.

Fig.2. Peak area of TCA and TCE in various amounts of added urine of non-exposed workers mixed with standard TCA and TCE.

場合として純水を用いて検討した。

メタノールおよび硫酸の添加量の検討では、ピーク面積の最も大きいものを100%として相対的な感度の比較を行った。また、各濃度2件ずつ検討した。

(1) メタノール添加量

TE 取扱者の尿 (比重 1.035) を10名分ブールした。この尿を10本のバイアルに0.10 mlずつ分取し、硫酸 0.25 ml とメタノールを 0~0.35 ml 加え、それぞれの総容量が 0.70 ml になるように純水を添加し、セブタムで蓋をして分析を行った。また、尿のかわりに純水を用いて同様の検討を行った。その結果、メタノール添加量とピーク面積の関係は Fig.3 のごとく、純水でも暴露尿でもほぼ同様な傾向を示し、TCA では 0.04~0.10 ml で最高のピーク面積が得られた。しかし、TCE はメタノールを添加しない場合のピーク面積が大きく、添加

量を増していくと急激に小さくなった。これらの結果から、メタノールの添加量はできるだけ少ないほうが望ましいと考え 0.05 ml とした。

(2) 硫酸添加量

メタノール添加量の検討に用いた尿を10本のバイアルに 0.10 ml ずつ分取し、メタノール 0.05 ml, 硫酸 0~0.45 ml を加えて、それぞれの総容量が 0.70 ml になるように純水を添加し、セブタムで蓋をして分析を行った。また、純水を用いて同様に検討した。この結果、硫酸添加量とピーク面積の関係は Fig.4 のごとく、純水に標準液を添加したもので、TCA が 0.25~0.35 ml, TCE が 0.15~0.25 ml で最高のピーク面積が得られた。暴露尿の場合は TCA が 0.25~0.35 ml, TCE が 0.25~0.30 ml の添加で最高のピーク面積が得られた。以上の結果から、TCA と TCE、純水と尿で最高のピーク面積が得られる 0.25 ml を添加量と決めた。

3. 加熱温度および加熱時間

サンプル量の検討に用いた尿を112本のバイアルに 0.10 ml ずつ分取し、混合標準液 (1 l 中に TCA 20 mg, TCE 60 mg を含む) を 0.10 ml 添加し、硫酸 0.25 ml, メタノール 0.05 ml, 純水 0.20 ml を添加したのちセブタムで蓋をした。その後、Thermostating Temp. (加熱温度) を 65, 75, 85 および 95°C で Thermostating Time (加熱時間) を 10, 20, 30, 40, 50, 60 および 70 分に設定し、分析条件は加熱温度および加熱時間以外は Table 1 の条件で分析した。各条件につき2件ずつ検討した。その結果、Fig.5 のごとく、TCA と TCE

Fig.3. Dependency of peak area on the amount of methyl alcohol.

Fig.4. Dependency of peak area on the amount of sulfuric acid.

Fig.5. Effect of thermostating time on the peak area of TCA and TCE at various heated temperatures (65-95°C).

Fig. 6. Standard curves for TCA and TCE.

のピーク面積は加熱時間よりも加熱温度の影響を強く受け、特に TCE は加熱温度が 65°C のときと 95°C のときを比べると、95°C では約 3 倍ピーク面積が大きくなっている。TCA は加熱温度が高く、加熱時間が長いほどピーク面積が大きくなる傾向があるが、TCE のように加熱温度による強い影響はみられなかった。以上の結果から、加熱温度は 95°C で加熱時間は 30~50 分が最良であるように思われる。しかし、95°C では尿の水分が水蒸気になり、カラムに入りベースラインが変動することが懸念される。また、加熱温度をあまり高くすると、バイアルが割れやすくなる等の問題がある。これらのことから、加熱時間は 40 分で加熱温度は 85°C が最適のように思われる。

4. 検量線の直線性

有機溶剤非取扱者の尿（比重 1.032）を 5 名分ブールした。この尿を 22 本のバイアルに 0.10 ml ずつ分取し、一つのバイアルに TCA の標準液（0~100 mg/l）と TCE の標準液（0~200 mg/l）をそれぞれ 0.10 ml ずつ添加し、硫酸 0.25 ml、メタノール 0.05 ml、純水 0.20 ml を添加してセプタムで蓋をして分析を行った。この検討も各濃度につき 2 件ずつ行った。この結果、Fig. 6 のごとく、TCA が 30 mg/l、TCE が 60 mg/l まで良好な直線性（TCA: $y = 1.838x + 0.023$, $r = 0.999$, $n = 8$; TCE: $y = 0.963x + 0.072$, $r = 0.999$, $n = 8$) を示したが高濃度になると直線性がなくなるため、これらの濃度を越える検体は、尿を希釈し再度測定する必要がある。

両物質の検出限界を国際純正・応用化学連合 (International Union of Pure and Applied Chemistry: IUPAC)¹⁸⁾ の勧告基準で求めると、TCA が 0.002 mg/l

および TCE が 0.005 mg/l になる。

5. 再現性および回収率

MC 取扱者の尿で比重が 1.008, 1.023 および 1.032 の尿をそれぞれ 3 名分ブールした。三種類の尿をそれぞれ別々に 0.10 ml ずつ 20 本、計 60 本のバイアルに分取した。標準液 1 l 中に TCA と TCE がそれぞれ 0~30.0 mg と 0~100.0 mg 含まれる混合標準液を調製した。この混合標準液をそれぞれのバイアルに 0.10 ml、メタノール 0.05 ml、硫酸 0.25 ml および純水 0.20 ml を加えセプタムで蓋をした。その後、Table 1 の条件で加熱時間を 40 分に変更して分析を行った。また、この検討は各濃度につき 5 件ずつ行った。その結果を Table 2 に示す。再現性や回収率は、尿比重の違いによる影響をほとんど受けていない。変動係数はすべて 5% 以内で、回収率も 95.7~105.0% で良好な結果が得られた。この結果から、本法は尿中のマトリックスの影響をほとんど受けず、尿検体を検量線法で分析することができる。

6. ALK-P 法と HS・GC 法の相関

TE 取扱者の尿（比重 1.005~1.033）100 検体を用いて両法で分析を行った。ALK-P 法は多田⁹⁾の方法に準じた。ALK-P 検量線法では標準液（純水）と測定するサンプルの組成が、測定値の信頼性に影響するので、われわれはこの欠点を補うために標準添加法で行った。すなわち、それぞれの尿に標準液を添加する一点添加法を用い、組成をまったく同じにして分析を行った。

HS・GC 法では尿 0.10 ml にメタノール 0.05 ml、硫酸 0.25 ml、純水 0.30 ml を添加して分析を行っていたが、添加する試薬はいずれも少量でメタノールは沸点が低く、また、硫酸は比重が高く、精度よく添加する

Table 2. Reproducibility and recovery of TCA and TCE added to non-exposed urine with different specific gravities.

	Non-exposed urine	Added (mg/ml)	Detected (mg/ml)	SD (mg/ml)	CV (%)	Recovery (%)
TCA	SG*	0	ND**	—	—	—
	1.008	3	2.87	0.069	2.4	95.7
		10	10.05	0.001	1.3	100.5
		30	30.68	0.614	2.0	102.3
	SG	0	ND	—	—	—
	1.023	3	2.90	0.041	1.4	96.7
		10	10.28	0.216	2.1	102.8
		30	31.30	0.783	2.5	104.3
	SG	0	0.25	0.010	4.0	—
	1.032	3	3.22	0.081	2.5	99.0
		10	10.75	0.086	0.8	105.0
		30	31.25	0.563	1.8	103.3
	SG	0	ND	—	—	—
	1.008	10	9.88	0.247	2.4	98.8
		33.3	33.80	0.507	1.3	101.5
		100	100.16	1.603	2.0	100.2
TCE	SG	0	0.98	—	—	—
	1.023	10	10.98	0.318	1.4	100.0
		33.3	34.80	0.522	2.1	101.6
		100	99.60	0.299	2.5	98.6
	SG	0	1.22	0.024	4.0	—
	1.032	10	11.47	0.298	2.5	102.5
		33.3	34.90	0.279	0.8	101.1
		100	100.30	1.304	1.8	99.1

* SG : Specific gravities.

n=5

** ND : Non-detection (limit of detection : TCA 0.002 mg/l, TCE 0.005 mg/l).

には細心の注意を払う必要があった。そこで、この比率であらかじめ混合した、エステル化剤を調製した。エステル化剤の調製は 1 l の三角フラスコを冷水中に入れ、純水 300 ml に硫酸 250 ml を徐々に加えて放冷後、メタノール 50 ml を加える。調製後は褐色のガラス瓶に入れ冷蔵庫に保存する。

調製したエステル化剤が使用できるか否かを判断をするために、尿に試薬を別々に加える従来の方法と、エステル化剤を加える方法とを分析値で比較した結果、この両者間に統計的な有意差はみられなかった。したがって、HS・GC 法はそれぞれの尿をバイアルに 0.10 ml

分取し、エステル化剤を 0.60 ml 加える方法で求めた値を相関関係の算出に用いた。分析は Table 1 の条件で加熱時間を 40 分に変更して行った。

HS・GC 法では TCA 量と TCE 量を直接定量するが、ALK-P 法では TTC 量と TCA 量を求め、TTC 量から TCA 量を減じたものを TCE 量としているため、相関を求める場合は、HS・GC で求めた TCE 量を TCA 当量に換算して、この両者を加えたものを TTC 量として相関を求めた。その結果を Fig.7 に示す。ALK-P 法と HS・GC 法との相関は TTC が $r=0.980$ ($y=0.917x-3.08$, $n=100$), TCA が $r=0.928$ ($y=0.891x-$

Fig.7. Correlation between ALK-P method and HS-GC method for TTC and TCA in urine of exposed workers.

2.36, $n=100$)で、両法での相関はいずれも有意 ($p < 0.001$)であった。しかし、両者の値を比べると HS-GC 法より ALK-P 法のほうがやや高値を示した。

実際に尿検体を分析するときには、バイアルに尿 0.10 ml を入れエステル化剤を 0.60 ml 加えセプタムで蓋をするのみである。エステル化剤を使用することで、前処理もさらに簡単になり、氷水中で行っていた硫酸の添加も必要でなくなった。

IV. 考 察

Kolb¹⁹⁾によると平衡ヘッドスペース法の定量分析は、熱力学によって以下のように説明できるとしている。

HS-GC により得られるクロマトグラム上のピーク面積 A_i は、ヘッドスペース相における分圧 P_i に比例し、次式で表される。

$$A_i = k_i \cdot P_i \quad (1)$$

k_i は検出器に基づくレスポンスファクターにより決まる。一方、分圧 P_i は成分 i だけが単独に存在したときの蒸気圧 P_{oi} 、サンプル中での成分 i のモル分率 χ_i および、活量係数 γ_i とは次の関係がある。

$$P_i = P_{oi} \cdot \chi_i \cdot \gamma_i \quad (2)$$

γ_i の値が 1 に等しいときには、 $P_i = P_{oi} \cdot \chi_i$ となり、分圧はラウールの法則（ヘンリーの法則）に従う理想溶液になる。実際の HS-GC の定量は (1) および、(2) 式より得られた次式に基づいて行われている。

$$\chi_i = \frac{A_i}{k_i \cdot P_{oi} \cdot \gamma_i}$$

ここで、 $1/(k_i \cdot P_{oi} \cdot \gamma_i)$ は分析条件を定めると一定になり、校正定数として実験的に決定される。この原理に基づいて定量分析を行っている。

今までによく用いられている HS 法は、サンプルをバイアルに入れセプタムで蓋をして、水浴中で一定時間加熱後、気層をガスタイトシリンジで採取し GC で分析する方法である。この方法では、サンプルの加熱時間を一定にするのが難しい。今回検討を行った TCA や TCE では、加熱時間の影響をそれほど受けないが、沸点が低く極性の強い物質は加熱時間の影響を受けやすい。また、尿のようにヒトそれぞれ含まれる成分が異なるものでは、バイアルの内圧が一定にならず、気層を一定量採取するのが困難である。さらに、サンプリングするガスタイトシリンジをサンプルと同じか、やや高い温度に保たなければ、極性物質や沸点の高い物質は、シリンジに吸着し再現性や回収率が悪くなるなどの問題がある。

われわれが使用している機器のサンプル加熱時間は常に一定である。これは機器自身が分析時間を考慮して、オートマチックにサンプルをアルミブロックヒーター中に取りこむからである。したがって最初のサンプルも最後のサンプルも加熱時間はすべて同じである。さらにサンプルの違いによる内圧差を除くために、圧力バランスシステムを採用している。この方式は、一定時間加熱されたバイアルは、ニードル（針状で外形 1.5 mm、長さ 142 mm）によってセプタムが破られ、その先端がヘッドスペース相（気相）に到達すると同時に、先端部に設けられた小孔から窒素ガスが圧入される。圧入は設定されたガス圧まで行われる。その後、小孔からヘッドスペース相がサンプリングされ、GC にその一部が導入される方式である。この方式ではすべてのバイアルが同じ内圧になる。

Kolb²⁰⁾ は、ガスタイトシリンジと圧力バランスシステムでサンプリングする場合の比較を行い、圧力バランスシステムの優位性を報告している。

同機器はニードルの温度制御も行われていることから、常に一定量を正確にしかも精度よくサンプリングすることができる。また、ニードルは白金イリジウム合金製であるため、酸性ガスによる影響も受けない。

Table 3. Comparison between HS・GC method and Alkali-pyridine method.

	HS・GC method	Alkali-pyridine method
Specificity	High	Low
Influence of matrix	None	Present
Procedure	Simple	Complicated
Reproducibility	Excellent	Low
Reagents	Sulfuric acid Methanol	Chromium(VI) oxide Pyridine Nitric acid Potassium hydroxide
Harmfulness	Less	More
Amount	Small	Great
Price of instrument	Expensive	Reasonable
Maintenance	Complex	Simple
Number of analysis/d/person	200 (calibration curve method)	50 (standard addition method)
Waste liquid	Small	Great

TCA のメチルエステル化に硫酸ジメチルがよく用いている¹⁴⁻¹⁶⁾。われわれ²¹⁾も当初は硫酸ジメチルでメチルエステル化を行っていたが、同物質が特定化学物質で毒性が強いことから、低毒性のメタノールに変更した。エステル化にメタノールを用いても分析上問題はなかった。

このシステムを導入するときに問題となったのが、酸性ガスによるキャピラリーカラムの劣化と ECD に対する悪影響であった。Breimer ら¹⁴⁾や Monster and Boersma¹⁵⁾は、メチルエステル化後の分離にバックドカラムを使用している。われわれも予備検討時には、バックドカラム (PEG-20 M, chromosorb WAW) を用いていたが、酸性ガスの影響で充填剤の劣化が著しく、約 70 件で十分な分離が得られなくなった。このことから、バックドカラムでルーチン分析を行うのは不可能と判断して、化学結合型のキャピラリーカラムに変更した。その結果、約 5 年を経過したがカラムの劣化は、ほとんど認められていない。ECD に対する酸性ガスの悪影響も、ベースラインのドリフトや感度から判断する限り現在のところみられていない。

キャピラリーカラムで分析を行う場合に最も問題となるのは、スプリッターである。キャピラリーカラムの定量性は、スプリッターで決まるといっても過言ではない。今回のようにサンプルが酸性ガスのときには、その選定が特に難しい。市販品や自作品で種々の検討を行った結果、分析カラムをスプリッターとして利用するのが

最もよい方法であることがわかった。例えば、内径 0.25 mm の 30 m のカラムを用いてスプリット比を 1/30 にするのであれば、ステンレス製の T 字管を用いて分析側に内径 0.32 mm の 30 m のカラムをつなぎ、排出側に同径のカラムを 1 m つければ 1/30 にすることができる。この方法でスプリットすれば、精度よく常に一定の比を得ることができしかも安価である。

ALK-P 法と HS・GC 法で分析する場合を比較すると、Table 3 のごとくである。HS・GC 法の最大の特徴は、特異性が高いことである。ALK-P 法は TCE を TCA に変えて TTC として測定しているが、HS・GC 法では、TCA と TCE そのものを測定している。ALK-P 法と HS・GC 法の値を比較すると、ALK-P 法がやや高い。道辻ら²²⁾によれば、ALK-P 法では抱水クロロール等も TCA や TCC と同様に発色すると報告していることから、ALK-P 法の値がやや高いのは、TCA や TCE 以外の物質を測り込んでいる可能性がある。

分析時のステップ数は、HS・GC 法に比べ ALK-P 法は非常に多く複雑である。また、HS・GC 法は試薬として少量の硫酸とメタノールのみを使用するのに対し、ALK-P 法では六価クロム、硝酸、ピリジンや水酸化カリウムを多量に使用し、クリーンアナリシスに程遠い。

分析者自身の健康影響や分析室の環境汚染も問題となり、さらに、この分析を行うと分析室全体がクロムに汚染されて、分析後二三日は尿中クロムの分析ができなくなる等の問題もある。

一般的に、HS 法で定量分析を行う場合、内部標準物質がよく用いられている。内部標準物質の条件として、

1) 安定で対象サンプル中に存在しない。2) クロマトの分離が容易で、対象成分と類似の保持時間を持ち、さらに、サンプル中の他の成分の干渉を受けない。3) 前処理操作に対し、対象成分と類似挙動をする。4) 蒸気圧特性が類似している等の条件が必要である。しかし、現実にはこのような特性を持つ内部標準物質を見いだすのは、困難なことが多い。われわれが行っている TCA の分析は、TCA をメチルエステル化しているため内部標準物質の選定がさらに難しい。したがって、われわれは内部標準物質を使用せずに定量分析を行っている。内部標準物質を使用しないかわりに、暴露者尿をプールしてコントロール尿を作り内部精度管理を行っている。コントロール尿は、ディープフリーザー (-85°C) に保存し分析ごとにサンプルと同様に分析し管理を行っているが、精度的に問題はない。

有機溶剤中毒予防規則の一部改正(平成元年6月30日)に伴い、TE、MC や PC を取り扱う作業者の尿中代謝物(TCA または TTC)の測定が義務づけられた。その結果、当松下産業衛生科学センターでも依頼件数が大幅に増加してきている。これらの検体を用手法で処理することは時間的にも人間的にも不可能であり、フルオート分析装置に頼らざるを得ない。今回検討に用いた機器はフルオートでの運転が可能で、オートサンプラーに100サンプルをセットすることができる。

将来、我が国でもドイツのように血液中の有機溶剤を測定して、暴露評価を行う²³⁾ようになることも考えられ、これらの測定にも適している HS・GC 法は有効な分析手段であり、将来注目されるようになるものと思われる。

V. 結 語

HS・GC 法で尿中 TCA および、TCE の同時定量分析を試みた結果、前処理をほとんど必要とせず、しかも精度よく分析することができた。また、1件当たりの分析時間も3分と短く大量処理が可能である。

HS・GC 法は尿中 TCA や TCE だけでなく、遊離の TCE、血中や臓器中の有機溶剤、さらには臓器中の中間代謝物の分析も可能である。現在ではまだ、一般的な分析法といいがたいが、前処理の簡便さや特異性が高いなど、比色法にない優れた点が多く、将来、ALK-P 法に変わる分析法として期待される。

文 献

- 1) 池田正之, 原 一郎. 尿中代謝物測定による有機溶剤暴露の評価. 産業医学 1980; 22: 3-17.
- 2) 多田 治. 有害物暴露評価の方法. III. 有機有害物質の代謝物検査法について. 労働科学 1982; 58(11): 553-569.
- 3) 野見山一生, 野見山紘子. トリクロロエチレンの健康影響. 産業医学 1979; 21: 311-334.
- 4) Tanaka S, Ikeda M. A method for determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in urine. Br J Ind Med 1968; 25: 214-219.
- 5) Imamura T, Ikeda M. A time-saving procedure for the determination of total trichloro compounds in human urine. Int Arch Occup Environ Health 1973; 31: 333-338.
- 6) 多田 治, 中明賢二, 深堀すみ江. 尿中クロロ炭化水素類および尿中代謝産物の測定について. 労働科学 1968; 44(9): 500-516.
- 7) Ogata M, Tomokuni K, Asahara H. Simple microdetermination of trichloroethanol glucuronide and trichloroacetic acid in urine. Int Arch Occup Environ Health 1974; 32: 203-215.
- 8) Ogata M, Shimada Y, Taguchi T. A new microdetermination of method used in an analysis of the excretion of trichloro-compounds in the urine of workers exposed to trichloroethylene vapour. Ind Health 1987; 25: 103-112.
- 9) Ogata M, Yamazaki Y. Quantitative determination of urinary trichloroacetic acid as an index of trichloroethylene exposure by high performance liquid chromatography. Acta Med Okayama 1979; 33: 479-481.
- 10) Ogata M, Saeki T. Measurement of chloral hydrate, trichloroethanol, trichloroacetic acid and monochloroacetic acid in the serum and in the urine by gas chromatography. Int Arch Occup Environ Health 1974; 33: 49-58.
- 11) Humbert BE, Fernandez JG. Simultaneous determination of trichloroacetic acid and trichloroethanol by gas chromatography. Int Arch Occup Environ Health 1976; 36: 235-241.
- 12) Nomiyama H, Nomiyama K, Uchiki H. Gas-liquid chromatographic determination of trichloroethylene metabolites in urine. Am Ind Hyg Assoc J 1978; 39: 506-510.
- 13) 芳原達也, 小林春男, 東原英治, ほか. イヌを用いたトラクロロエチレンの吸収, 排泄, 代謝に関する実験的研究. 産業医学 1983; 25: 367-374.
- 14) Breimer DD, Ketelaars HJ, Van Rossum JM. Gas chromatographic determination of chloral hydrate, trichloroethanol and trichloroacetic acid in blood and urine employing head-space analysis. J Chromatol 1974; 88: 55-63.
- 15) Monster AC, Boersma G. Simultaneous determination of trichloroethylene and metabolites in blood and exhaled air by gas chromatography. Int Arch Occup Environ Health 1975; 35: 155-163.
- 16) Triebig G. Quantitative analysis of trichloroethylene, trichloroethanol and trichloroacetic acid in blood and urine by headspace chromatography. In: Kolb B, ed. Applied head space gas chroma-

- tography. London: Heyden, 1980: 133-139.
- 17) 社団法人全国労働衛生団体連合会. 企業外健康診断機関業務適正化のための精度管理調査結果報告書. その1 生体試料測定による精度管理. 東京: 全国労働衛生団体連合会, 1986: 158-165.
- 18) International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II. data interpretation (rules approved 1975). Pure Appl Chem 1976; 45: 101-103.
- 19) Kolb B, ed. Applied headspace gas chromatography. London: Heyden & son, 1980: 1-11.
- 20) Kolb B, Pospisil P. 10 Headspace gas chromatography (HSGC) with capillary columns. In: Sandra P, ed Sample introduction in capillary gas chromatography, Vol.1. Heidelberg: Huethig, 1985: 191-216.
- 21) 城山 康, 道辻広美, 大原昭男, ほか. ヘッドスペースガスクロマトグラフ法による尿中のトリクロロ酢酸 (TCA) とトリクロロエタノール (TCE) の同時分離定量. 松仁会医誌 1986; 25(2): 225-231.
- 22) 道辻広美, 大原昭男, 山口恭平, ほか. 尿中TTC分析法における問題点とその対策. 松仁会医誌 1986; 25(1): 119-124.
- 23) Maximum concentration at the workplace and biological tolerance values for working materials. Bonn: VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1987: 78-82.

著者への通信先: 大原昭男, 〒571 門真市殿島町7番6号 松下産業衛生科学センター
Reprint requests to Matsushita Science Center of Industrial Hygiene, 7-6 Tonoshima-cho,
Kadoma, 571 Japan (A. Ohara)