

2-プロパノールを含む移動相を用いた尿中有機溶剤代謝物の分析

Analysis of metabolites of organic solvents in human urine by using the mobile phase containing 2-propanol

ヒトの有機溶剤曝露の指標として、尿中代謝物の測定や、血中や呼気中の当該物質の測定が行われています。特に、尿中代謝物の測定は、継続的な曝露状態を反映するため、作業環境評価法として以前から行われてきました。

曝露頻度が高い有機溶剤には、トルエン、スチレン、キシレンの3種類があり、その各代謝物である馬尿酸、マンデル酸、メチル馬尿酸が、測定の分析種とされています。測定には、逆相クロマトグラフィーによるHPLC法が用いられてきましたが、移動相中の良溶媒としてアセトニトリルやメタノールを使用した場合、メチル馬尿酸の *m* 体と *p* 体が分離されないという課題がありました。また、それら異性体を分離する目的で、THF や 1,4-ジオキサンを用いる例も報告されていますが、安定性や刺激臭の問題がありました。

本報では、移動相中の良溶媒として 2-プロパノールを用いて尿中代謝物とクレアチニンの同時分

析を行った例を紹介します。尿中の代謝物の濃度は、採尿時の尿濃度によって変化するため、尿濃度による補正が必要となります。一般的に、測定結果をクレアチニン濃度との比で表すクレアチニン補正が用いられています。そのため、本分析例でも、クレアチニンを分析種としました。

カラムには、TSKgel Super-Octyl (4.6 mm I.D. x 100 mm, 2.3 μ m) を使用し、2-プロパノールを 5 % 含む移動相を用いました。1 試料当たりの分析は、約 7 分で終了しています。各分析種ともに、1.0~50 mg/L の濃度範囲において良好な直線性を有する検量線が得られています。

図 3 に、ヒト尿試料の分析例を示します。夾雑成分の影響を受けることなく良好なクロマトグラムが得られています。馬尿酸のピークが検出され、尿原液中濃度は 515 mg/L、クレアチニン補正值は 613 mg/gCr の結果が得られました。

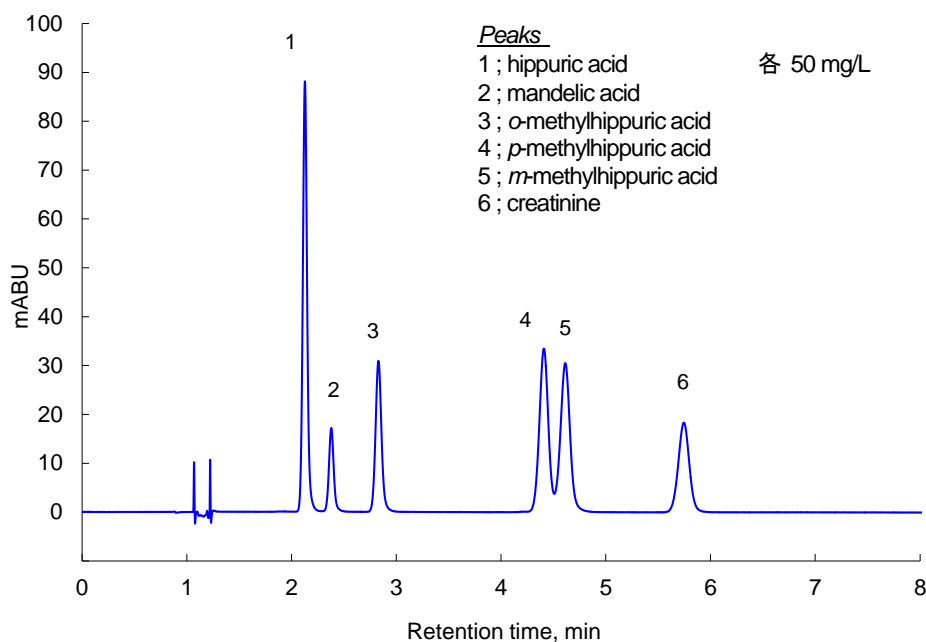


図 1 各標準試料のクロマトグラム

表 1 分析条件

Column :	TSKgel Super-Octyl (4.6 mmI.D. x 100 mm)
Eluent :	2-propanol / 5 mmol/L KH ₂ PO ₄ (pH 2.5) + 2 mmol/L sodium 1-decanesulfonate = 5 / 95
Flow rate :	1.0 mL/min
Column temp. :	40 °C
Injection volume :	5 μL
Detector :	UV 225 nm

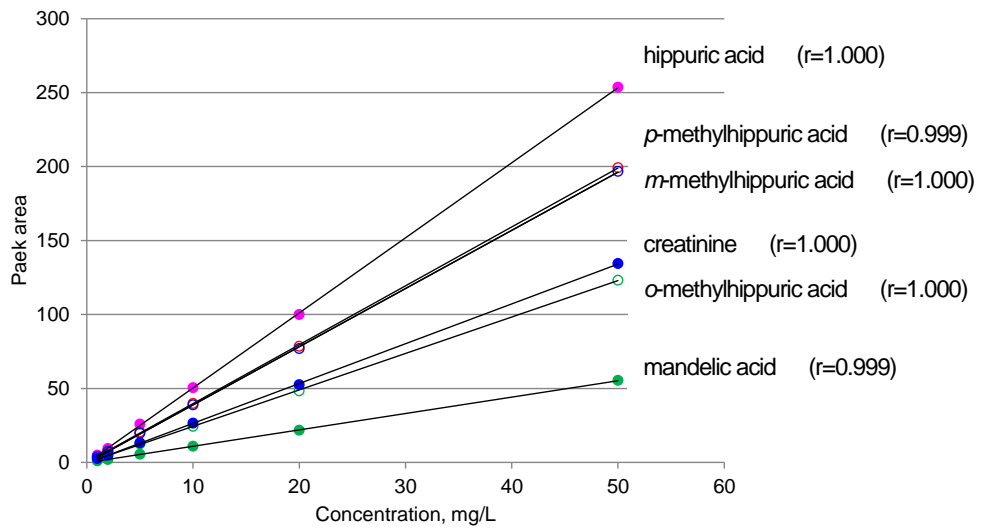


図 2 各分析種の検量線

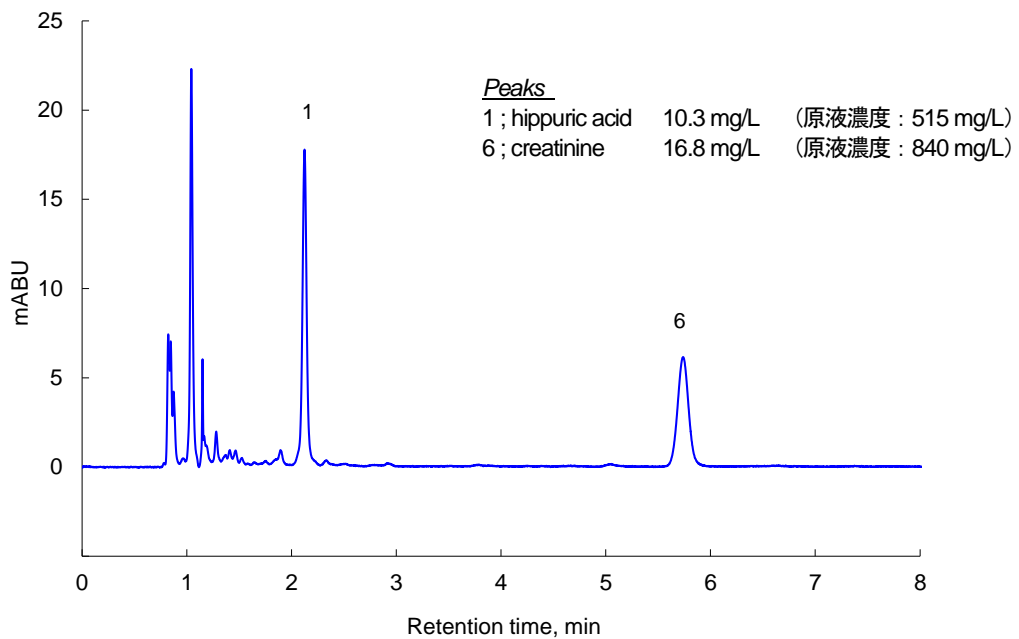


図 3 尿試料のクロマトグラム

尿試料を純水で50倍に希釈、ろ過(酢酸セルロース膜、0.45μm)した後、測定