

平成 25 年度 公益財団法人 中国労働衛生協会
「医学に関する研究助成」

有害化学物質ばく露評価のための日常分析に適した
生物学的モニタリング法の開発

研究責任者

奈女良 昭 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院法医学 准教授)

有害化学物質ばく露評価のための日常分析に適した 生物学的モニタリング法の開発

研究責任者：奈女良 昭

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院法医学・准教授)

研究協力者：竹内靖人

(中央労働災害防止協会 大阪労働衛生総合センター)

【研究の目的】

化学物質は、産業や医療など人間の生活に革命的な変化をもたらしたが、使用法を誤ると生命の危機をもたらすことにもなり“諸刃の剣”である。特に、産業界では様々な有害化学物質が使用されており、それらを取り扱う作業者のばく露評価を正確に行うとともに健康障害を早期に発見するためには、作業者の生体試料（血液または尿）中の有害物測定値からばく露の程度を評価する、いわゆる“生物学的モニタリング”が有効である。生物学的モニタリングは、現行の特別則（有機溶剤中毒予防規則や特定化学物質障害予防規則など）においても、特殊健康診断項目の一つとして、数種類の物質について採用されている。また、中央労働災害防止協会の「特殊健康診断の健診項目に関する調査研究」報告書の中では、産業基盤構造や医療技術の向上に従い、生物学的モニタリングは国際的にも常に新しい知見が付け加わっていることから、一定の期間ごとに、特殊健診の項目として採用又は変更の必要性を検討することが望ましいと指摘されている。

しかし、検査試料の管理や分析技術の不十分さ故に、①ばく露量と生体中濃度の相関性（基準値）の未設定、②検査値の不確かさ、③対費用効果の低さ（検査法の煩雑さと費用）、④法規制の掛らない代替品の使用等が障害となり、作業従事者の健康を担保する十分な検査が実施されているとは言い難く、労働衛生機関等での日常分析に適した分析技術の確立が喫緊の課題である。

そこで、本研究期間中には、下記3項目について重点的に検討を行う。

①生物学的モニタリングに有効な現行分析法および最先端分析法の調査

(日常分析に適した分析法の有無について検討を加える)

②対象となる化学物質や生体内での代謝物の整備

(生物学的モニタリングを実施するうえでの対象物質候補の選定を加える)

③汎用分析機器による日常分析に適した簡便かつ低コストな測定法の開発

対象物質：4,4'-メチレンビス(2-クロロアニリン) (MBOCA)

(上記の中央労働災害防止協会報告書の中で、新たな生物学的モニタリング対象として挙げられているが、労働衛生機関等での日常分析に適した方法がないため)

対象物質：マンデル酸類

(平成25年の特定化学物質障害予防規則の改定により、エチルベンゼンの代謝物であるマンデル酸の測定が一次健康診断項目に追加されたため)

対象物質：水銀

(定量値のばらつきなどが指摘され、十分な基準値設定のための分析技術が確立されていない。)

なお、本検討に際しては、汎用分析機器として高速液体クロマトグラフ (HPLC) やガスクロマトグラフ (GC) を使用する。

1. 生物学的モニタリングに有効な現行分析法および最先端分析法の調査

有害化学物質を取り扱う作業者のばく露評価を正確に行うとともに健康障害を早期に発見するためには、作業者の血液や尿中の有害物測定値からばく露の程度を評価する、いわゆる“生物学的モニタリング”が有効であるとされている。生物学的モニタリングは、現行の特別則（有機溶剤中毒予防規則や特定化学物質障害予防規則など）においても、特殊健康診断項目の一つとして、数種類の物質について採用されている。しかし、検査試料の管理や分析技術の不十分さ故に、①ばく露量と生体中濃度の相関性（基準値）の未設定、②検査値の不確かさ、③対費用効果の低さ（検査法の煩雑さと費用）、④法規制の掛らない代替品の使用等が障害となり、作業従事者の健康を担保する十分な検査が実施されているとは言い難く、労働衛生機関等での日常分析に適した分析技術の確立が喫緊の課題である。

下記に現行で実施されている分析法と論文などで報告されている分析法を列記した。近年、MS/MS や TOF/MS を活用した分析が主流となってきているが、体内の微量成分の定量や変動をモニタリングする必要性は薄いため、必ずしも最新の機器に移行する必要はないと考える。

表 1 有機溶剤中毒予防規則に基づく生物学的モニタリング対象化学物質と分析対象物質

化学物質名	試料	測定物質	現行法	最新法
トルエン	尿	馬尿酸	HPLC	LC-MS/MS 1)
キシレン	尿	メチル馬尿酸	HPLC	LC-MS/MS 2)
スチレン	尿	マンデル酸	HPLC	LC-MS/MS 3)
テトラクロロエチレン	尿	トリクロロ酢酸又は総三塩化物	GC	GC
1,1,1-トリクロロエタン	尿	トリクロロ酢酸又は総三塩化物	GC	GC
トリクロロエチレン	尿	トリクロロ酢酸又は総三塩化物	GC	GC
N,N-ジメチルホルムアミド	尿	N-メチルホルムアミド	GC	LC-MS/MS 4)
ノルマルヘキサン	尿	ヘキサンジオン	GC/MS	LC-MS/MS 5)
鉛	血液	鉛	原子吸光	ICP/MS
	尿	δ -アミノレブリン酸	HPLC	LC-MS/MS 6)

1) J Pharm Biomed Anal, 52, 534–543, 2010, 2) Arch Toxicol, 77, 80-85, 2003.

3) Curr Anal Chem, 9, 439-446, 2013, 4) Toxicol Let, 229, S220 -S221, 2014, 5) Toxicol Let, 221, S63, 2013, 6) J Chromatogr B, 879, 2389–2396, 2011.

表2 生物学的モニタリングの対象となる特定化学物質と分析対象物質

化学物質名	試料	測定物質	現行法	最新法
アクリロニトリル	血漿	コリンエステラーゼ活性値	生化学的方法 (基質法)	GC/MS
インジウム	血清	インジウム (一次)	ICP/MS	ICP/MS
エチルベンゼン (塗装業務)	尿	マンデル酸 (一次)	HPLC	LC-MS/MS
オルトーフタロジニトリル	尿	フタル酸		
水銀またはその無機化合物	尿	水銀	原子吸光	ICP/MS
五酸化バナジウム	尿	バナジウム	ICP/MS	ICP/MS
コバルト及びその無機化合物	尿	コバルト	ICP/MS	ICP/MS
ニッケル化合物	尿	ニッケル	ICP/MS	ICP/MS
ニッケルカルボニル	尿または血液	ニッケル	原子吸光	ICP/MS
ニトログリコール	尿または血液	ニトログリコール	(不明)	GC/MS
パラ-ニトロクロルベンゼン	尿	アニリンもしくはパラ-アミノフェノール	(不明)	GC/MS
	血液	ニトロソアミンおよびヒドロキシアミン, アミノフェノール, キノゾイミン等の代謝物	(不明)	GC/MS
砒素又はその化合物	尿	砒素化合物 (砒酸, 亜砒酸およびメチルアルソン酸に限る.)	ICP/MS	ICP/MS LC-MS/MS GC/MS
弗化水素	尿	弗素	イオン電極	GC/MS
	血液	酸性ホスファターゼもしくは	生化学的方法 (基質法)	
		カルシウム	イオン電極, 原子吸光	
ペンタクロルフェノール	尿	ペンタクロルフェノール	GC	GC/MS
ベリリウム	尿もしくは血液	ベリリウム	原子吸光	ICP/MS
マンガン	尿または血液	マンガン	原子吸光	ICP/MS

2. 対象となる化学物質や生体内での代謝物の整備

本研究期間中に労働安全衛生法の重要な改正が行われた。すなわち現在、努力義務である化学物質のリスクアセスメントの実施が、今後は義務化されることとなる。リスクアセスメントの対象となるのは、現行における安全データシート（SDS）交付義務対象物質である640物質という膨大な数の物質である。リスクアセスメントの具体的な実施方法は、今後指針等で示されるようであるが、基本的な考え方は従来通りと推察される。

現在、リスクアセスメントを実施する際に用いられる主な曝露評価ツールは、作業環境測定、個人曝露濃度測定および生物学的モニタリングの3つである。作業環境測定は作業場の空気環境の状況を推定し、個人曝露濃度測定は各作業者の経気道曝露量を推定し、生物学的モニタリングは生体試料を用いて、曝露経路に関係なく生体に取り込まれた量を推定するものである。そして、それぞれに対応する曝露評価値は、管理濃度、許容濃度および生物学的許容値であり、測定値と評価値との比較によりリスク評価が行われる。なお、管理濃度は法規制値であり、許容濃度および生物学的許容値は日本産業衛生学会が提案しているものである。

これらの曝露評価ツールの内、作業環境測定および個人曝露濃度測定は、あくまでも空气中濃度から曝露量を推定しているに過ぎず状況証拠としかかなり得ない。それに対し、生物学的モニタリングは実際に作業者に取り込まれた量を測定するため、より正確なリスク評価を行うことができ、その後の改善や継続的なリスクコントロールを行うには、最も有効なツールとなり得る。しかしながら、現在、生物学的許容値が出されている物質数は、許容濃度と比べると圧倒的に少ないため、今後は、上記の640物質を対象とした生物学的許容値の充実が必要とされるものと思われる。生物学的許容値に関する研究は、曝露量と生体試料中濃度の相関関係を調べることにより行われるため、推定される代謝物の標準品の合成や測定方法の開発なども必要となる。

また一方で、現在生物学的許容値が提案されている物質については、労働衛生機関での日常分析に適した簡便かつ低コストな測定法の確立が必要である。すなわち、前処理や分析方法などを統一し、できるだけ一斉分析が可能となるように、個々の測定方法を改良するべきである。更に、より作業者の負担を軽減するために、唾液などの代替試料を用いた生物学的モニタリングに関する研究も望まれる。

3. 汎用分析機器による日常分析に適した簡便かつ低コストな測定法の開発

生物学的モニタリングは、現行の特別則（有機溶剤中毒予防規則や特定化学物質障害予防規則など）においても、特殊健康診断項目の一つとして、数種類の物質について採用されている。また、中央労働災害防止協会の「特殊健康診断の健診項目に関する調査研究」報告書（平成 19 年度報告書：平成 20 年 3 月 中央労働災害防止協会労働衛生調査分析センター；<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/08/dl/s0827-8b.pdf>）の中では、産業基盤構造や医療技術の向上に従い、生物学的モニタリングは国際的にも常に新しい知見が付け加わっていることから、一定の期間ごとに、特殊健診の項目として採用又は変更の必要性を検討することが望ましいと指摘されている。

今回、この報告書の中で新たな生物学的モニタリング対象として挙げられているが、労働衛生機関等での日常分析に適した方法が検討されていない 4,4'-メチレンビス(2-クロロアニリン)（別名：3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン、以下 MBOCA と略す）と定量値のばらつきなどが指摘され、十分な基準値設定のための分析技術が確立されていない水銀について、検討を加えた。また、平成 25 年の特定化学物質障害予防規則の改定により、一次健康診断項目に追加されたエチルベンゼンの代謝物であるマンデル酸についても検討した。

3. 1 尿中 4,4'-メチレンビス(2-クロロアニリン)の分析法

尿中 MBOCA の分析法としては、幾つかの方法が報告されている。尿中からの MBOCA 精製には液-液抽出や固相抽出法が、分離・検出には高速液体クロマトグラフやガスクロマトグラフが使用されている。高選択性と高感度な分析法を考慮した場合には、固相抽出法とタンデム質量分析計との組み合わせが好ましいが、設備投資やランニングコストを考慮すると実用的な運用は困難と想像される。そこで今回、低コストでの運用が可能で、かつ高感度な分析法の確立を目的に、液-液抽出法と電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフ（GC-ECD）を組み合わせた分析法を検討した。

【材料】

4,4'-メチレンビス(2-クロロアニリン)（MBOCA）は東京化成工業株式会社製を、3,3'-dichlorobenzidine（DCB：5000 μ g/ml メタノール溶液）はスペルコ製を、N-methyl-bis(trifluoroacetamide)（MBTFA）は：サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社製を用いた。水酸化ナトリウムおよびトルエンは、特級を用いた。

【方法】

尿試料 5ml に DCB（5mg/l、内部標準物質）50 μ l と水酸化ナトリウム（2M）2ml を加え、80°C で 1 時間加水分解する。トルエン 1ml を加えて攪拌した後、遠心分離（3,000rpm, 10min）

する。上清 0.5ml に MBTFA 10 μ l を加え、室温で 30 分間放置する。反応液 1 μ l を GC に注入して分析を行う。

分析法のバリデーションは、Guidance for Industry - bioanalytical methods validation (U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, May 2001) に準じて行った。

【分析条件】

使用機器：GC-ECD (Agilent Technologies, 7890A)

カラム：Equity-5 (30m, 0.25mm ID, 0.25 μ m, Supelco)

キャリアガス：ヘリウム (1.0 ml/min)

オープン温度：100 $^{\circ}$ C (1min) \sim 10 $^{\circ}$ C/min \sim 300 $^{\circ}$ C

注入口温度：250 $^{\circ}$ C

注入法：パルスドスプリットレス (25psi, 1min)

注入量：1 μ l

【結果および考察】

• 抽出溶液の濃縮および誘導体化

一般に、MBOCA などのアミン系化合物を分析では、使用する機材や分析機器への吸着などが原因となり、分析精度や感度の低下が懸念される。これを改善する目的に、アミノ基の保護(誘導体化)が行われるが、反応液中の水分が影響して誘導体化反応が損なわれるために、抽出溶媒や含有水分の除去が分析の精度を左右する。しかし、抽出溶媒などの除去には多大な時間を要するため、実用的なルーチン分析に用いるには避けたい工程である。

今回、水溶液中でも誘導体化反応が可能である塩化ギ酸アルキルでの誘導体化を検討したが、モノホルミル体とジホルミル体が混在することとなった(図1)。種々の条件を検討したが両者の生成比率は一定となることは無く、断念せざるを得なかった。

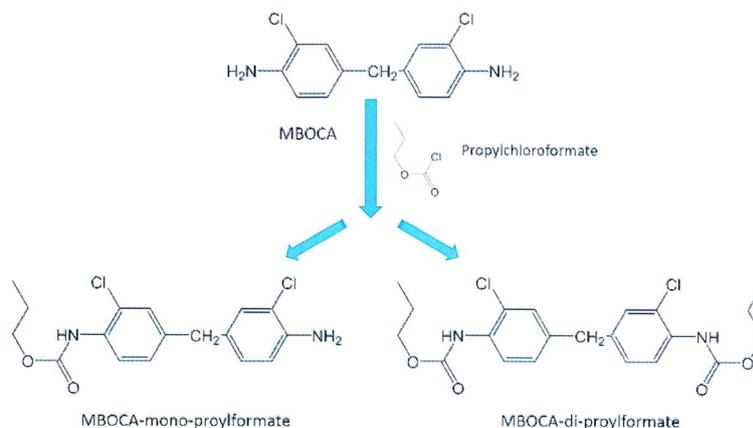


図1 塩化ギ酸アルキルによる MBOCA の誘導体化

次に MBTFA による誘導体化を検討した。抽出溶媒留去工程の短縮を目的に、抽出したトルエンに、直接 MBTFA を添加しての誘導体化を検討した結果、効率よく誘導体化されるとともに生成物はジアセチル体のみの生成であった (図 2)。他の溶媒でも検討したが、誘導体の生成効率などはトルエンが最適であったため、本検討ではトルエンを用いることとした。さらに、MBTFA の添加量、反応時間、反応温度などを詳細に検討した結果、MBTFA を $10 \mu\text{l}$ 加え、室温で 30 分間放置することで完全に誘導体化できることが判明した (図 3)。

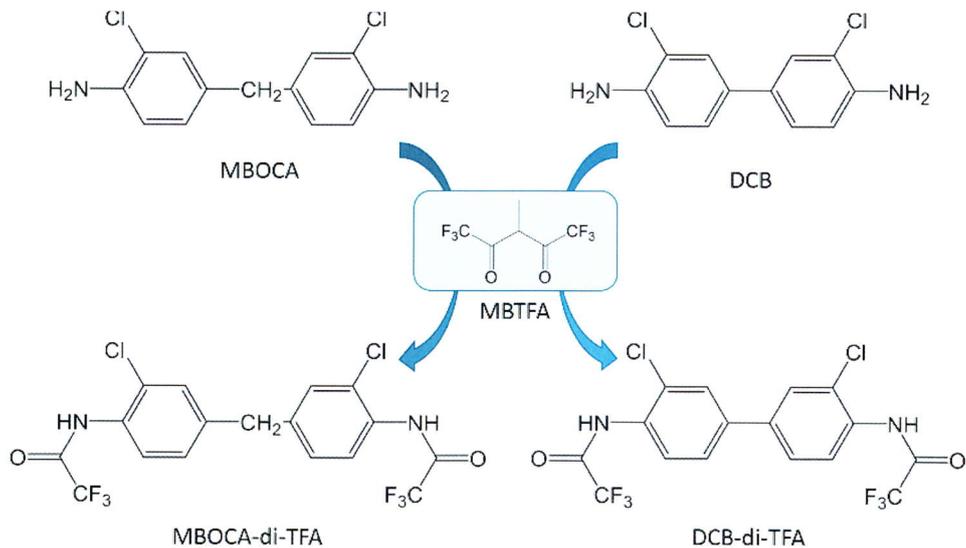


図 2 MBTFA による MBOCA の誘導体化

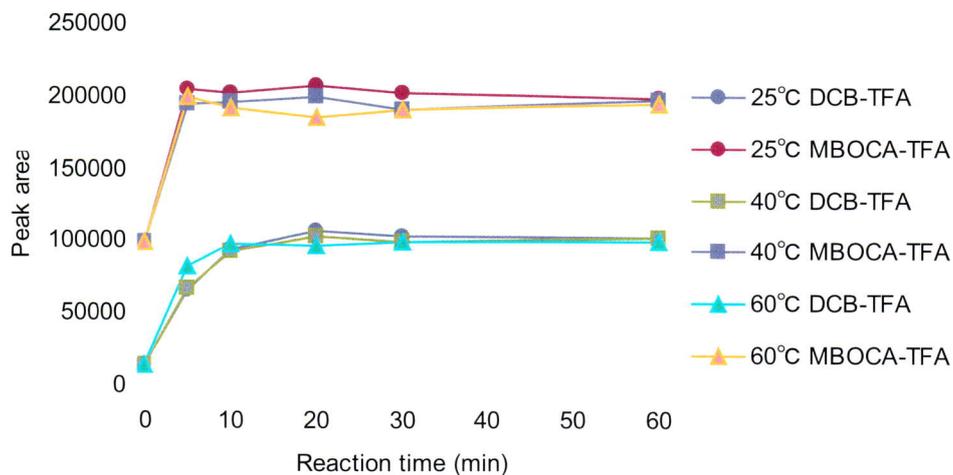


図 3 誘導体化温度の違いによる MBOCA の TFA 誘導体の生成量の変化

- バリデーションデータ

ブランク尿とブランク尿に MBOCA を添加した試料を分析したクロマトグラムを図 4 に示す。MBOCA-di-TFA のピークが認められる 19 分付近には妨害成分の影響も無く、綺麗なクロマトグラムが得られた。

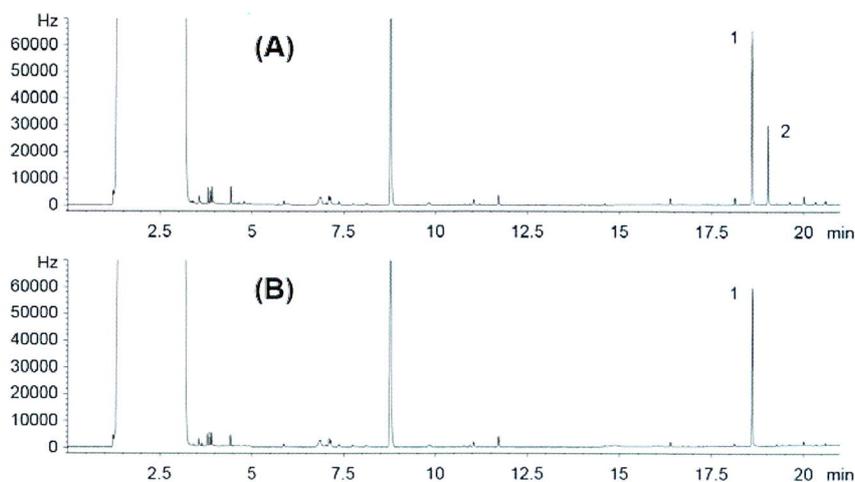


図 4 ブランク尿とブランク尿に MBOCA を添加した試料を分析したクロマトグラム
1 : DCB (IS)、2 : MBOCA

表 3 に示すように、本検討で確立した条件での回収率は 94~99% であり、検出下限は 0.2 $\mu\text{g/l}$ であった。また、検量線の範囲は 1~100 $\mu\text{g/l}$ であり、相関係数は $r=1.000$ と良好な直線性が得られた。さらに、異なる 3 濃度 (1, 25, 100 $\mu\text{g/l}$) の尿添加試料を用いてのばらつきを検討した結果、日内で RSD が 0.3~2.4%、日間で RSD が 0.3~4.1% と再現性にも優れていた。

Table 3 Limit of detection and quantification data of this method

Detection limit ($\mu\text{g/l}$)	Range of linearity ($\mu\text{g/l}$)	Linearity		Correlation coefficient
		Slope	Intercept	
0.20	1-100	0.0197	-0.017	1.000

Table 4 Precision of this method

Spiked urine concentration ($\mu\text{g/l}$)	Recovery (n = 5)		Intraday (n = 5)			Interday (n = 15)		
	Mean \pm SD (%)	RSD (%)	Mean \pm SD ($\mu\text{g/l}$)	RSD (%)	Accuracy (%)	Mean \pm SD ($\mu\text{g/l}$)	RSD (%)	Accuracy (%)
1	99 \pm 2.4	2.4	0.90 \pm 0.02	2.4	90.5	0.88 \pm 0.04	4.1	87.8
25	95 \pm 0.5	0.5	23.52 \pm 0.13	0.5	94.1	23.41 \pm 0.12	0.5	93.6
100	94 \pm 0.3	0.3	100.29 \pm 0.33	0.3	100.3	100.24 \pm 0.30	0.3	100.2

3. 2 マンデル酸類の一斉分析法

平成 25 年 1 月の特定化学物質障害予防規則改正により、安衛令別表第 3 第 2 号の第 2 類物質に「エチルベンゼン」が追加され、特殊健康診断等を行うこととなった。これを受け、尿中マンデル酸の量の測定が義務付けられた。

マンデル酸 (MA) は、スチレンの代謝物の一つでもあるために、有機溶剤中毒予防規則に係る特殊健康診断の検査項目として採用されており、スチレンの曝露の程度を判別するための分布区分 (分布 1 : 0.3 g/l 以下, 分布 2 : 0.3 g/l 超 1 g/l 以下, 分布 3 : 1 g/l 超) が示されている。しかしながら、「エチルベンゼン」は、その発がん性から特定化学物質障害予防規則に追加されたため、より低濃度までの曝露の有無を判別することが重要と考えられ、より低濃度の尿中マンデル酸を測定できることが求められている。

これまで尿中のマンデル酸およびフェニルグリオキシル酸 (PGA) の分析は HPLC 法にて実施されていた。尿を希釈するのみで簡便に測定できる利点はあるものの、内因性物質との分離が困難で、高感度 (低濃度まで) の分析は困難であった。その問題を解決するために、今回、より高い分離能を持つ GC-MS 法を検討した。更に、マンデル酸およびフェニルグリオキシル酸のみではなく、トルエン代謝物の馬尿酸類 (HA) とキシレン代謝物のメチル馬尿酸類 (o-MHA, m-MHA, p-MHA) の一斉分析法を検討した。

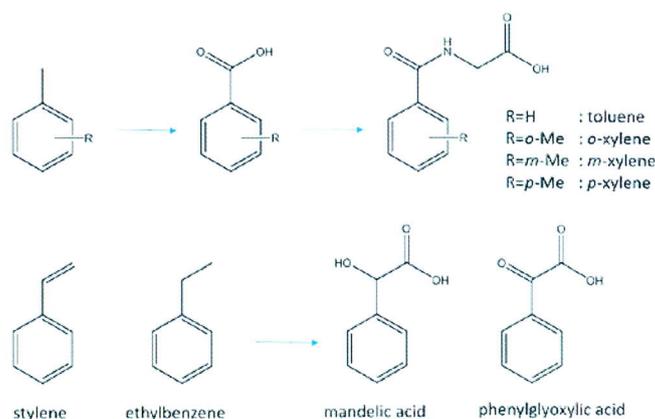


図 5 検討に用いた各代謝物

検討に際しては、これまでの HPLC 法での簡便かつ迅速性を考慮し、簡便な前処理を念頭に置いた。以前に我々が尿中ジメチルスルホキシド (DMSO) の分析に用いた 2,2-ジメトキシプロパン (2,2-dimethoxypropane : DMP) による脱水手法を用いることとした。本法では、DMP と水が反応することによりメタノールとアセトンが生成する。そこに塩酸を加え、生成したメタノールをメチル化剤として活用することで、同時にメチル化が可能となる。分析には、GC/MS を用いた。

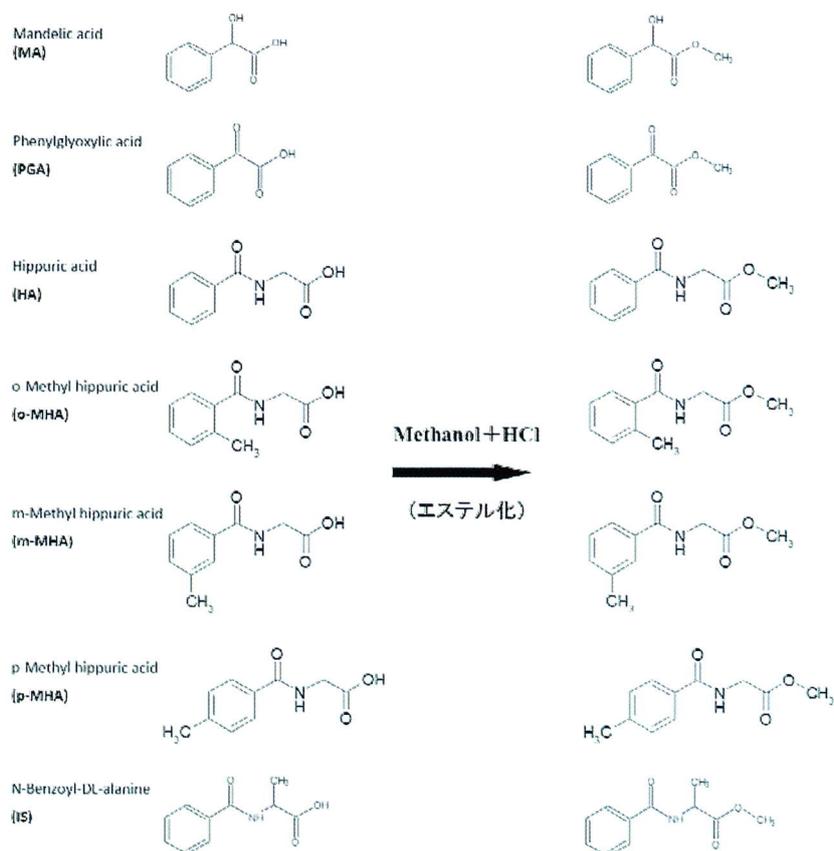


図6 検討に用いた各代謝物のエステル化反応による生成物（メチルエステル誘導体）

【材料】

馬尿酸（HA）とメチル馬尿酸（o-, m-, p-MHA）、2,2-dimethoxypropane（DMP）は東京化成工業株式会社製を、マンデル酸（MA）、フェニルグルオキシル酸（PGA）、N-ベンゾイル-DL-アラニン（BA）は和光純薬工業株式会社製を用いた。塩酸およびピリジンは、特級を用いた。

【方法】

尿 0.1ml に BA（0.5 g/l、内部標準物質）10 μ l と濃塩酸 10 μ l、DMP 1ml を加え、80°C で 30 分間加熱する。放冷後、ピリジン 20 μ l を加え、反応溶液 1 μ l を GC/MS に注入して分析する。

【分析条件】

使用機器：GC-MS（Agilent Technologies, 7890A+5975C）

カラム：DB-17（30m, 0.25mm ID, 0.25 μ m, Agilent Technologies）

キャリアガス：ヘリウム（1.0 ml/min）

オープン温度：100°C（1min） \sim 10°C/min \sim 300°C

注入口温度：250°C

注入法：パルスドスプリット (25psi, 1min), 20:1

注入量：1 μ l

インターフェイス温度：300 $^{\circ}$ C

イオン源温度：230 $^{\circ}$ C

四重極温度：150 $^{\circ}$ C

測定モード：SIM/Scan

【結果および考察】

脱水に必要な DMP の割合は、過去の論文を参考に 10 : 1 とした (Biomed. Chromatogr. 2010; 24: 465-471)。カルボキシル基のメチル化には加熱が必要であるため、加熱温度と時間を詳細に検討した。その結果、加熱温度および時間に依存して検出されるピークの高さが上昇 (誘導体の生成量が増加) した。マンデル酸については、検討した条件中で誘導体の生成量が一定となることはなかったが、それ以外の物質では、60 \sim 80 $^{\circ}$ C で 20 \sim 30 分間加熱することで、誘導体の生成量が一定となった。これらの結果を考慮し、本検討での最適条件を 80 $^{\circ}$ C で 30 分間加温することとした。

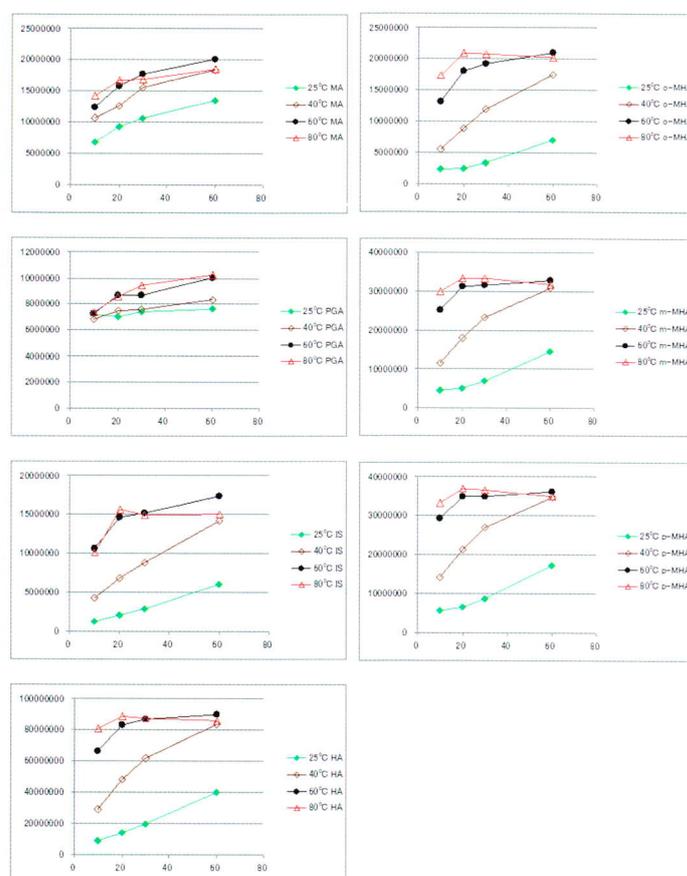


図7 誘導体化温度の違いによるメチルエステル誘導体の生成量の変化

図 8 に健常人の尿および健常人の尿に各化合物 1 g/l を添加した試料を分析して得られたクロマトグラムを示す。内因性物質の妨害なく、それぞれ誘導体化された対象物質が確認できる。

現在、バリデーションデータを採取しているところである。

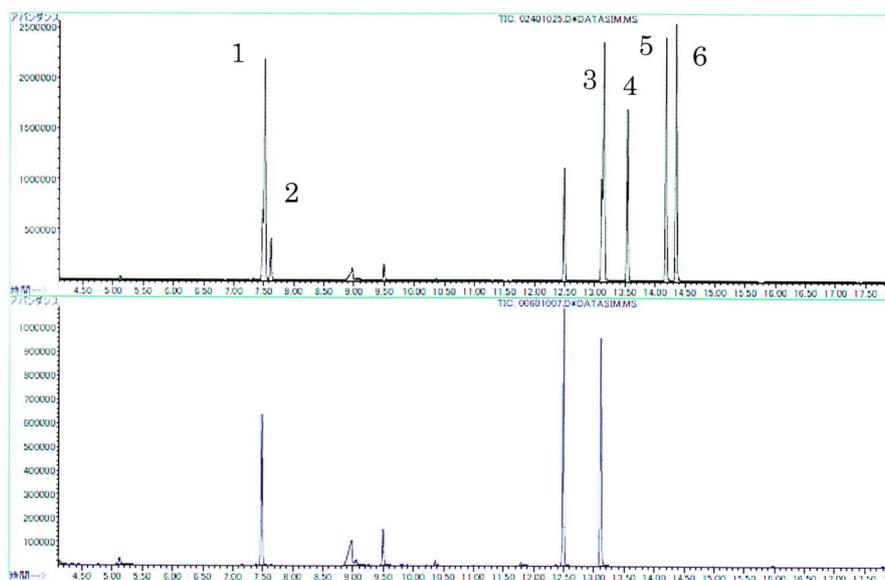


図 8 ブランク尿とブランク尿に MBOCA を添加した試料を分析したクロマトグラム

1 : GA、2 : PGA、3 : HA、4 : *o*-MHA、5 : *m*-MHA、6 : *o*-MHA

3. 3 尿中水銀の分析法

水銀は、金属水銀、無機水銀、有機水銀に分類され、それぞれ体内動態と毒性が異なることが知られている。ヒトへの暴露は、主として無機水銀と考えられる。吸収された無機水銀はほとんど代謝されることなく尿中に排泄されることから、尿中の水銀量が暴露の判断に用いられている。日本国内では、有機水銀が用いられることはないが、脂溶性が高いために食物連鎖で濃縮され、魚類などに蓄積されることが報告されている。このような現状で、有機水銀に汚染された魚類を摂取する危険性があるため、水銀の形態別分析は必要であると考えられる。

無機水銀は常温で容易に気化するため、灰化-還元気化原子吸光法が主である。有機水銀の場合は試料を分解せず溶媒抽出後、ガスクロマトグラフィーで分離し電子捕獲検出器や質量分析装置で検出する場合もある。定量値のばらつきなどが指摘され、十分な基準値設定のための分析技術が確立されていない。

そこで、尿中水銀の分析法開発と目的に、分析法としては確立されている GC/MS を用い、簡便な前処理と内部標準物質について検討を行った。

【材料】

テトラエチルホウ酸ナトリウムは和光純薬工業株式会社製を用いた。塩酸や水酸化ナトリウム、酢酸ナトリウム、ヘキサンは特級を用いた。

【方法】

尿試料 1ml に塩酸 40 μ L を添加し、50°C で 1 時間加温する。反応液に水酸化ナトリウム (36%) 40 μ l を加えて中和する。酢酸ナトリウム緩衝液 (0.2 M、pH4) 2ml、テトラエチルホウ酸ナトリウム水溶液 (1%) 40 μ l とヘキサン 1ml を加え、攪拌する。遠心分離後、上清を分取して上清 1 μ l を GC-MS で分析する。

【分析条件】

使用機器：GC-MS (Agilent Technologies, 7890A+5975C)

カラム：DB-5MS (30m, 0.25mm ID, 0.25 μ m, Agilent Technologies)

キャリアガス：ヘリウム (1.0 ml/min)

オープン温度：40°C (1min) \sim 10°C/min \sim 280°C

注入口温度：250°C

注入法：パルスドスプリットレス (25psi, 1min)

注入量：1 μ l

インターフェイス温度：280°C

イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

測定モード：SIM/Scan

【結果および考察】

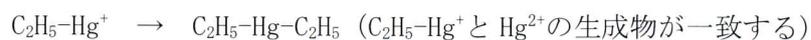
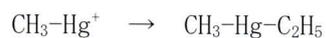
● 内部標準物質の検討

分析値のばらつきを小さくする手法としては、内部標準法の採用が有効と考えられる。本検討のように質量分析計を用いた分析法を主眼に置いた場合、安定同位体 (Stable Isotope) の使用が適している。有機化合物であれば、 ^2H や ^{13}C で置換された安定同位体が利用可能であるが、無機化合物の場合は該当しない。水銀においては、 $^{204}\text{HgCl}$ が市販されていたが、1,000,000 円/10mg との価格を考慮すると実用的ではないと判断した。それ故、今回は n-プロピル水銀を内部標準物質として採用した。

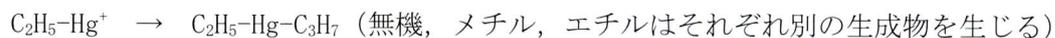
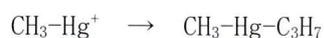
● 誘導体化剤の検討

テトラエチルホウ酸ナトリウムおよびテトラプロピルホウ酸ナトリウムが候補として挙げられた。

(テトラエチルホウ酸ナトリウムの場合)



(テトラプロピルホウ酸ナトリウムの場合)



テトラプロピルホウ酸ナトリウムが 0.5g で 6 万円以上高価なことと併せて、本検討では n-プロピル水銀を IS に用いることから、誘導体化剤はテトラエチルホウ酸ナトリウムにすることとした。健常人の尿と健常人の尿に水銀を添加した試料を分析したクロマトグラムを図に示す。

現在、バリデーションデータを採取しているところである。

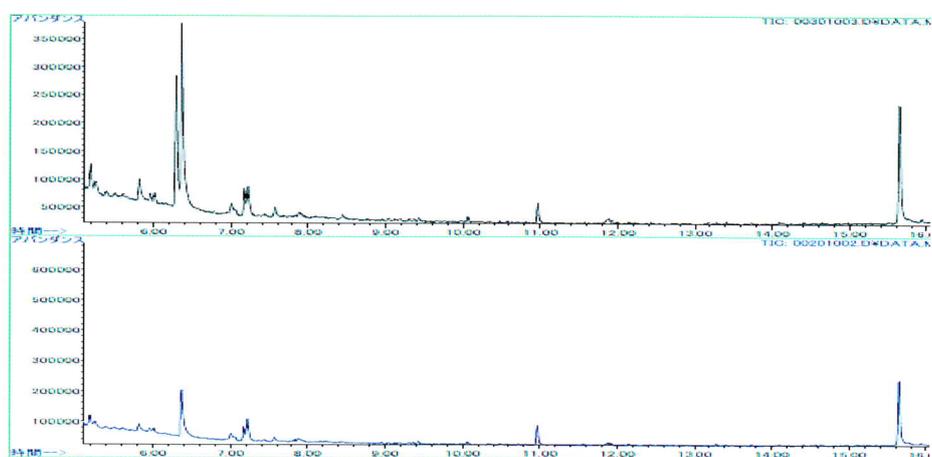


図9 ブランク尿とブランク尿にMBOCAを添加した試料を分析したクロマトグラム

【総括】

今回、本助成を契機に幾つかの生体試料中の化学物質の分析法の検討を行った。尿中MBOCAについては、労働衛生機関等での日常分析に適した方法を開発できたが、尿中マンデル酸類および尿中水銀については現在も検討中である。

また、本研究期間中に労働安全衛生法の重要な改正が行われ、SDS 交付義務対象の 640 物質について、リスクアセスメントの実施が義務化されることとなった。リスクアセスメントを実施する際に用いられる 3 つの主な曝露評価ツール（作業環境測定、個人曝露濃度測定および生物学的モニタリング）の内、生物学的モニタリングは実際に作業者に取り込まれた量を測定するため、より正確なリスク評価を行うことができ、その後の改善や継続的なリスクコントロールを行うための、最も有効なツールともなり得る。しかしながら、現在のところ、生物学的許容値が出されている物質数は、許容濃度と比べると圧倒的に少ない。

今後は、上記の 640 物質を対象とした生物学的許容値に関する研究が今まで以上に行われると考えられ、それに伴い、推定代謝物の標準品の合成や測定方法の開発なども必要となると考えられる。また、現在生物学的許容値が提案されている物質については、労働衛生機関での日常分析に適した簡便かつ低コストな測定法の確立が急務と考えられる。更に、より生物学的モニタリングを広く活用するために、より作業者の負担を軽減できる唾液などの代替試料に関する研究も望まれる。

【本助成に関する発表】

Akito Takeuchi, Akira Namera, Norihiro Sakui, Kenji Yamamuro, Toshio Kawai, Kimiaki Sumino. A method for routine analysis of urinary 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) by gas chromatography-electron capture detection. Accepted for publication in Journal of Occupational Health