

尿中のフェニルグリオキシル酸およびマンデル酸の分析

労働安全衛生法第 66 条¹⁾に基づき、事業者は労働者に対し健康診断を実施しなければなりません。そのうち特定化学物質障害予防規則²⁾により、特定有機溶剤の作業者は特定化学物質健康診断を受けなければなりません。

令和 2 年 7 月 1 日より発がんリスクを踏まえて、特定有機溶剤の一つであるスチレンの尿中代謝物としての測定項目に、従来のマンデル酸に加えてフェニルグリオキシル酸が追加されました³⁾。

ここでは Prominence™-i と Shim-pack™ GIST C18-AQ カラムを用いて、尿中のフェニルグリオキシル酸、マンデル酸、そして尿の濃度補正に使用されることのあるクレアチンを同時分析した例をご紹介します。

M. Oshiro

■ フェニルグリオキシル酸について

図 1 にフェニルグリオキシル酸、マンデル酸、クレアチニンの UV スペクトルを示し、図 2 にフェニルグリオキシル酸の構造式を示します。フェニルグリオキシル酸は 252 nm に極大波長を持つことがわかります。そのため、フェニルグリオキシル酸は 252 nm で、マンデル酸、クレアチンは 210 nm で測定しました。

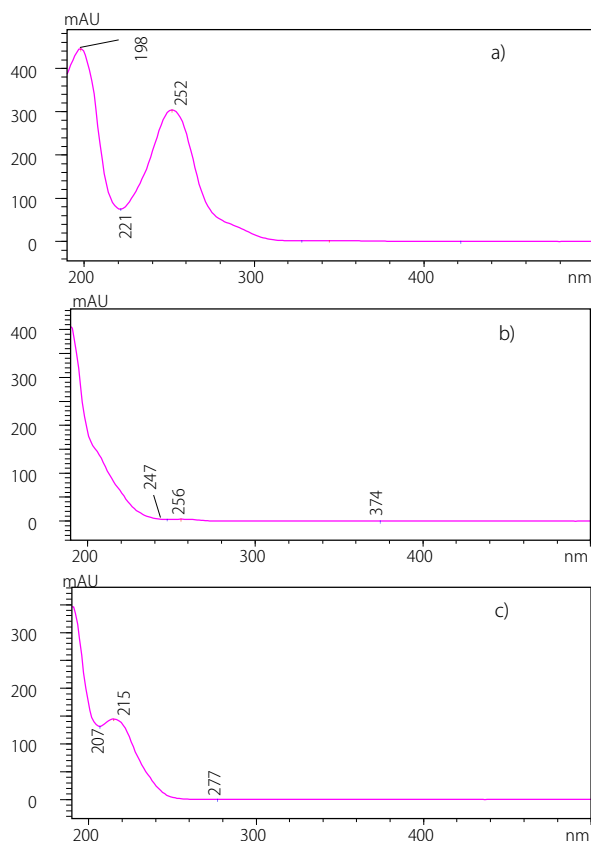


図 1 各成分の UV スペクトル

a) : フェニルグリオキシル酸、b) : マンデル酸、c) : クレアチニン

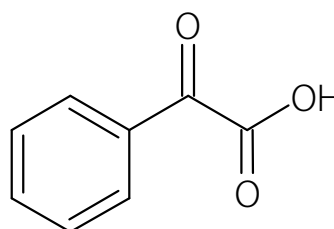


図 2 フェニルグリオキシル酸

■ 標準試料の分析

図 3 に各濃度 0.3 g/L のフェニルグリオキシル酸、マンデル酸、クレアチニンの混合標準試料を分析した結果を示します。表 1 に分析条件を示します。

表 1 分析条件

Column	: Shim-pack GIST C18-AQ*1 (250 mm × 3.0 mm I.D., 3 μm)
Mobile Phase	: A) 10 mmol/L (Sodium) Phosphate Buffer (pH 2.6) B) Acetonitrile A : B = 90 : 10 Containing 0.5 mmol/L Sodium 1-Nonanesulfonate
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 1.0 μL
Vial	: Shimadzu LabTotal Vial for LC, Glass*2
Detection	: 210 nm, 252 nm (PDA)

*1 : P/N 227-30722-08、*2 : P/N 227-34001-01

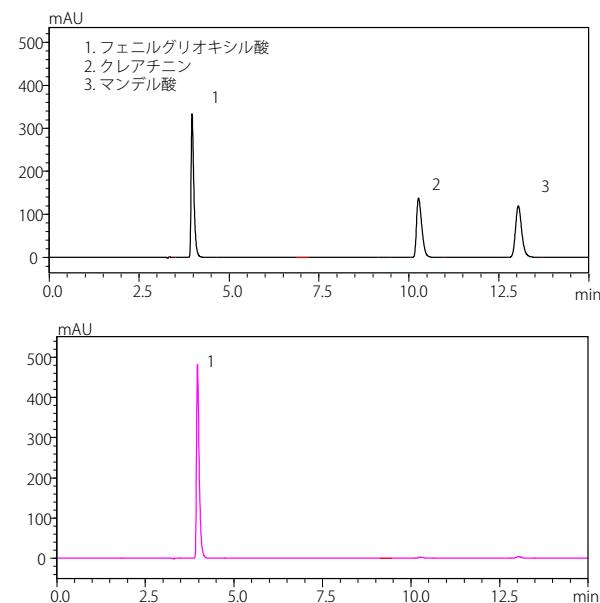


図 3 各成分 0.3 g/L 混合標準試料のクロマトグラム
(上段 : 測定波長 210 nm、下段 : 測定波長 252 nm)

■直線性および再現性

各成分の濃度範囲が0.003~0.3 g/Lになるように検量線を作成しました。いずれの成分も寄与率 (R²) 0.999 以上と良好な結果を示しました。表 2 に検量線の下限濃度を 6 回分析した際の保持時間、面積の相対標準偏差 (%RSD)、S/N について示します。

表 2 再現性 (各成分 0.003 g/L、n=6)

成分	測定波長 (nm)	保持時間の %RSD	面積値の %RSD	S/N
フェニルグリオキシル酸	252	0.07	0.28	297
マンデル酸	210	0.04	1.78	73
クレアチニン	210	0.03	0.49	59

■実試料の分析

図 4 に市販のコントロール尿 (水にて 10 倍希釈) および標準試料を添加した市販のコントロール尿 (水にて 10 倍希釈、希釈後の標準試料濃度各 0.03 g/L) を分析した結果を示します。いずれの試料もフィルター過の後、分析に供しました。UV スペクトル測定に基づき、測定波長を最適化することで、フェニルグリオキシル酸を選択的に測定することが可能です。

各成分の添加回収率はフェニルグリオキシル酸およびマンデル酸は 100%、クレアチニンは 106%と良好でした。

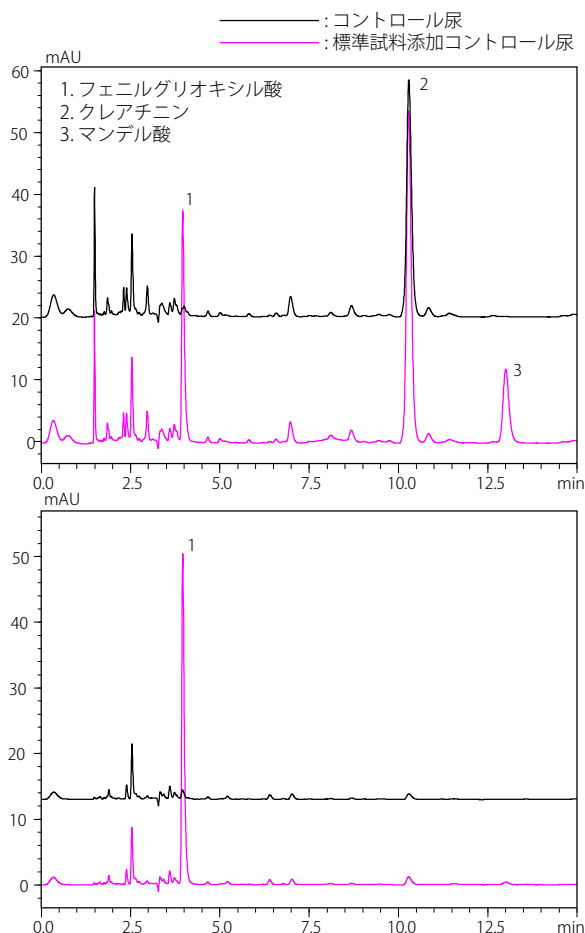


図 4 実試料のクロマトグラム
(上段：測定波長 210 nm、下段：測定波長 252 nm)

■移動相の調製について

本稿では、塩基性物質であるクレアチニンの保持を目的として、移動相にイオンペア試薬であるノナンスルホン酸ナトリウムを添加しています。図 5 に移動相中のイオンペア試薬濃度のみを変化させた条件で、標準試料を添加した市販のコントロール尿 (水にて 10 倍希釈、希釈後の標準試料濃度各 0.03 g/L) を分析した結果を示します。その他の条件は表 1 と同じです。

移動相中のイオンペア試薬の濃度により、クレアチニンの保持は大きく変化することがわかりました。従って、イオンペア試薬はできるだけ正確に秤量することが重要であると言えます。

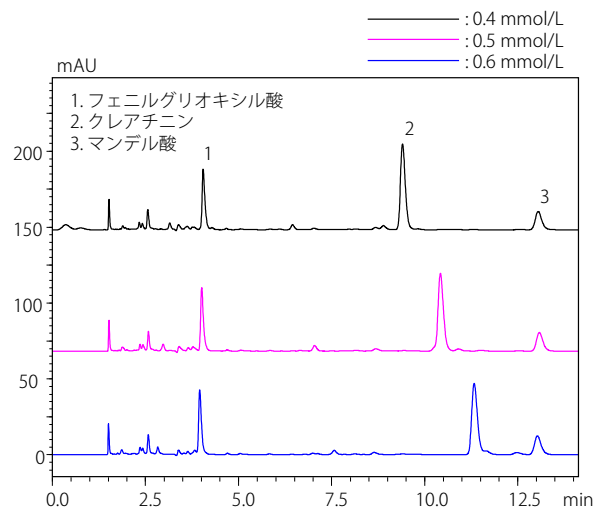


図 5 移動相中イオンペア試薬濃度が異なる場合の標準試料添加実試料のクロマトグラム (測定波長 210 nm)

■まとめ

Prominence-i と Shim-pack GISTC18-AQ カラムを用いて、尿中のフェニルグリオキシル酸、マンデル酸、クレアチニンを分析しました。測定波長とイオンペア試薬濃度を最適化することで、実試料中の夾雑の影響を抑えて、各成分を測定することが可能です。

<参考文献>

- 1) 労働安全衛生法、法律第 57 号、厚生労働省
- 2) 特定化学物質障害予防規則、労働省令第 39 号、厚生労働省
- 3) 労働安全衛生規則等の一部を改正する省令、令和 2 年厚生労働省令第 20 号、厚生労働省

Prominence および Shim-pack は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020 年 8 月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。