

グルタルアルデヒドの測定手法検討結果

1. はじめに
2. 予備試験
 - 2-1. 捕集方法の決定
 - 2-2. 検出方法の選択 (HPLC 法)
 - 2-3-1. 前処理
 - 2-3-2. HPLC 分析条件
3. 本試験
 - 3-1. 捕集及び分析条件
 - 3-2. 添加回収率
 - 3-3. 捕集後のサンプラーの保存安定性
 - 3-4. 検量線 (直線性)
 - 3-5. 検出下限及び定量下限
 - 3-6. 本分析方法の作業環境中 GA 分析への適用
 - 3-7. 考察及びまとめ

1. はじめに

グルタルアルデヒド (GA) は、主に、医療器具の滅菌剤として用いられているが、電子顕微鏡の固定剤や遺体処理にも使用されている。表 1-1 に GA の物理化学的性質と有害性情報を要約した。GHS 有害性分類では、GA は、呼吸器・皮膚感作性で区分 1 (職業喘息)、特性標的臓器 (反復ばく露) で区分 1 (気道)、皮膚腐食・刺激性で区分 1 に分類されるので、取扱い量の多少にかかわらず、管理手法は 4 (専門家の助言) である。表 1-2 に、国際的な機関によって勧告されている GA の職業性ばく露限界値(OEL)を示した。GA の OEL は、非常に低濃度であること及び天井値(Ceiling 値、最大許容濃度)であることを特徴とする。特に、後者の天井値の設定は、GA が呼吸・皮膚感作性を示すことに起因する。

作業環境測定 of GA 分析法では、0.03~0.05 ppm の低濃度 GA 蒸気を約 10 分間の短い捕集時間にサンプリングし、0.03~0.05 ppm の 1/10 の濃度を定量し得る捕集法及び分析法を確立することが要求されることを考慮し、本検討においては 4 時間の捕集時間による個人曝露濃度測定にて 0.03 ppm の 1/100 以下の濃度を定量することを目的として行った。

表 1-1. グルタルアルデヒドの分子構造と物理化学的性質及び有害性 GHS 情報

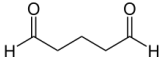
構造式	
CAS No.	11-30-8
分子式	C ₅ H ₈ O ₂
分子量	100.11
融点	-14℃
沸点	200.9℃
蒸気圧	2200 Pa (20℃)
溶解性	水、アルコール、エーテル、有機溶剤に可溶
比重	0.99-1.13 g/cm ³ (20℃)
蒸気密度	3.4 (空気=1)
安定性（分解温度）	187-189℃(760 mmHg)
変換係数	1 ppm=4.1 mg/m ³ 1 mg/m ³ =0.24 ppm
主要な用途	医療器具の滅菌、遺体処理、組織固定
生産量	不明
GHSハザードのランク分けと管理手法	E、管理手法 4（専門家の指導）
呼吸器感作性又は皮膚感作性	区分1（職業喘息）
特定標的臓器・全身毒性（反復ばく露）	区分1（気道）
皮膚腐食性・刺激性	区分1
発がん性	区分外 (ACGIH: A4)
変異原性	陽性 (Ames Test)

表 1-2. 主要な機関によるグルタルアルデヒドの職業性曝露限界値の勧告

機関	職業性ばく露限界値	障害
米国労働衛生専門家会議 (ACGIH)	TLV-Ceiling 0.05 ppm (1999)	呼吸・皮膚感作性
日本産業衛生学会	最大許容濃度 0.03 ppm (2006)	呼吸・皮膚感作性
厚生労働省通達	管理すべき濃度 0.05 ppm (2005)	皮膚・気道に対する刺激性と感作性
ドイツ学術協会(DFG)	MAK 0.05 ppm (ピーク制限I(2))	呼吸・皮膚感作性 (Sah)、妊娠リスク群C
U.S.NIOSH REL	Ceiling 0.2 ppm (NIOSH Pocket Guide)	
U.S.OSHA PEL	未設定	

2. 予備試験

2-1. 捕集方法の決定

文献調査から、2,4-DNPH (2,4-Dinitrophenylhydrazine) 誘導体化剤を含浸させたサンプラーを用いる捕集方法がいくつか報告されている (OSHA Method No.64、NIOSH Method No.2532)。

本測定では低ブランクとして報告されている 2,4-DNPH コーティングした球状シリカゲルが充填されたアルデヒド用サンプラーを採用した。

DNPH による GA の誘導体化反応について、下記に示した (図 1)。

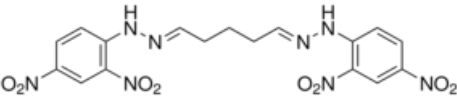
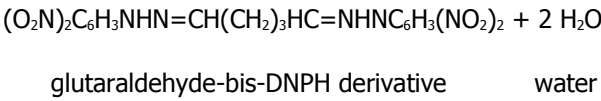
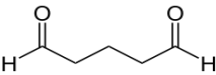
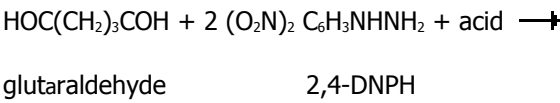


図 1 GA と 2,4-DNPH の反応

また、捕集については下記とした。

サンプラー：InertSep mini AERO (300 mg) (GL Science 製)

測定範囲：0.0003～2×最大許容濃度（0.03 ppm，日本産業衛生学会）ppm

サンプラーに捕集される GA は、0.3～58.9 μ g と設定される。

サンプリング流量：1 L/min

サンプリング時間：4 時間

採気量：240 L

2－2．検出方法の選択（HPLC 法）

GA-2,4-DNPH 誘導体が 360nm を吸収するため、HPLC の検出器は UV 検出器を用いた。

2－3－1．前処理

サンプラーより高純度分析用アセトニトリル（HLC-SOL アセトニトリル 関東化学製）
5 mL にて抽出した。

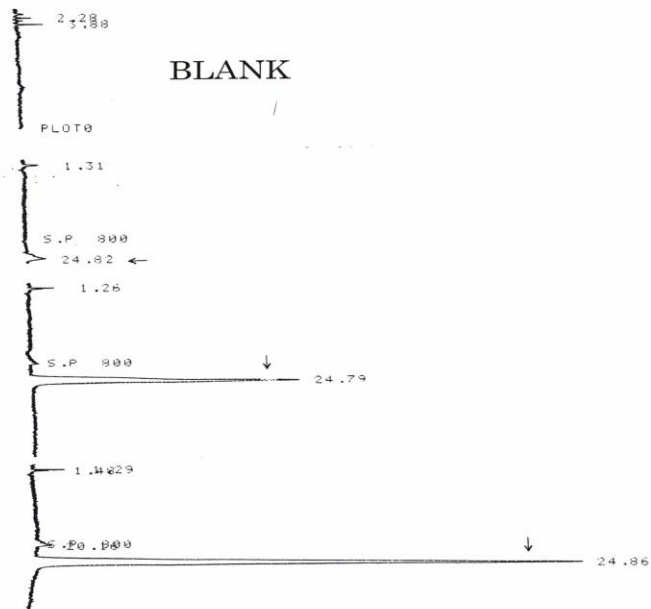
2－3－2．HPLC 分析条件

決定した分析条件を下記表 2 に示した。

表 2 HPLC の分析条件

装置	L-4200(日立製作所製)
カラム	HITACHI LaChrom C18(5 μ m)
	150×4.6 mm
カラム温度	40°C
移動相	acetonitrile/water (60/40)
流速	1.0 mL/min
検出器	UV 360 nm
注入量	50 μ L

GA-2,4-DNPH 標準物質のチャート



サンプラーから抽出した GA-2,4-DNPH のチャート

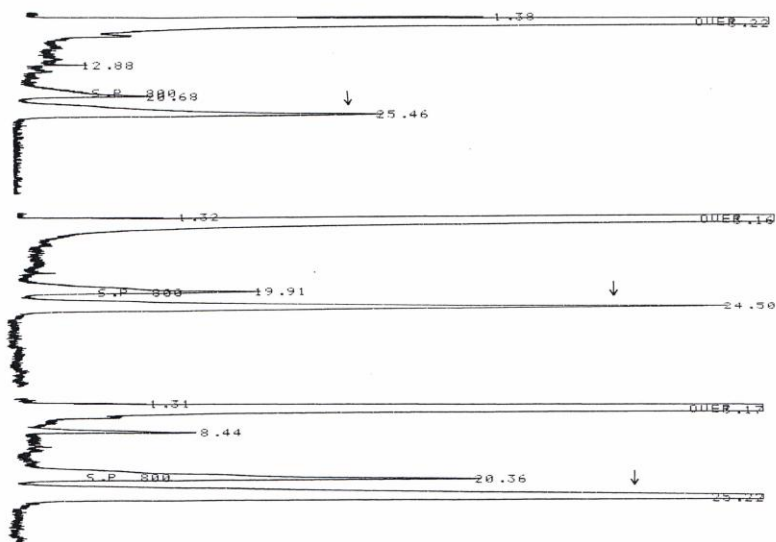


図 2 2,4-DNPH による GA の誘導体のクロマトグラム

2,4-DNPH による GA の誘導体は、約 24 分に大きなピークとして確認された。

3. 本試験

3-1. 捕集及び分析条件

予備検討の結果から決定した、捕集および前処理操作、および HPLC 分析条件により行った。

3-2. 添加回収率

GA50%溶液（和光純薬工業）を希釈し、29.5 $\mu\text{g/mL}$ 、2950 $\mu\text{g/mL}$ 、5890 $\mu\text{g/mL}$ を調製し、各 10 μL を 2,4-DNPH コーティングした球状シリカゲルに添加（各々 $n=5$ ）した(GA 量として 0.3 μg 、29.5 μg 、58.9 μg)。その後、室内空気 (25°C・40%) を流速 1.0 L/min で 240 分間吸引した後、4°C の冷蔵庫にて 12 時間保存し、分析を行った。添加回収率 92.9 % ~ 98.4 % であった（表 3）。なお、今回の検討に用いたサンプラーの Blank は検出されなかった。

表 3 添加回収率

GAとしての 添加量(μg)	4時間捕集としての濃 度(ppm)	相当の濃度	回収率(%)		RSD(%)
			mean	SD	
0.3	0.0003	目標濃度	92.9	2.8	3.0
29.5	0.0300	2次評価値	98.4	3.1	3.1
58.9	0.0600	2次評価値 $\times 2$	97.4	2.1	2.2

3-3. 捕集後のサンプラーの保存安定性

2,4-DNPH コーティングした球状シリカゲルに、GA 標準液 (29.5 $\mu\text{g/mL}$ 、2950 $\mu\text{g/mL}$ 、5890 $\mu\text{g/mL}$) を添加 (10 μL) し、室内空気 (21.0~21.5°C・33~34 %) を流速 1.0 L/min で 30 分間吸引した後、速やかに両端にキャップをし、冷蔵保存した。そして、捕集直後を基準として、1, 3, 5 日目の保存安定性を確認した。その結果、全ての添加量において少なくとも 5 日目まで保存可能であることが確認された（表 4）。

表 4 保存安定性

GAとしての 添加量(μ g)	4時間捕集として の濃度(ppm)	相当の濃度	保存 日数	回収率(%)		RSD(%)
				neam	SD	
0.3	0.0003	目標濃度	0	98.8	2.0	2.0
			1	93.7	2.2	2.3
			3	91.7	4.0	4.4
			5	90.1	5.1	5.7
29.5	0.0300	2次評価値	0	99.8	3.2	3.2
			1	95.3	2.0	2.1
			3	93.5	4.7	5.0
			5	91.0	3.4	3.7
58.9	0.0600	2次評価値×2	0	100.7	1.9	1.9
			1	98.9	3.6	3.6
			3	95.6	1.7	1.8
			5	91.1	4.6	5.0

3－4．検量線（直線性）

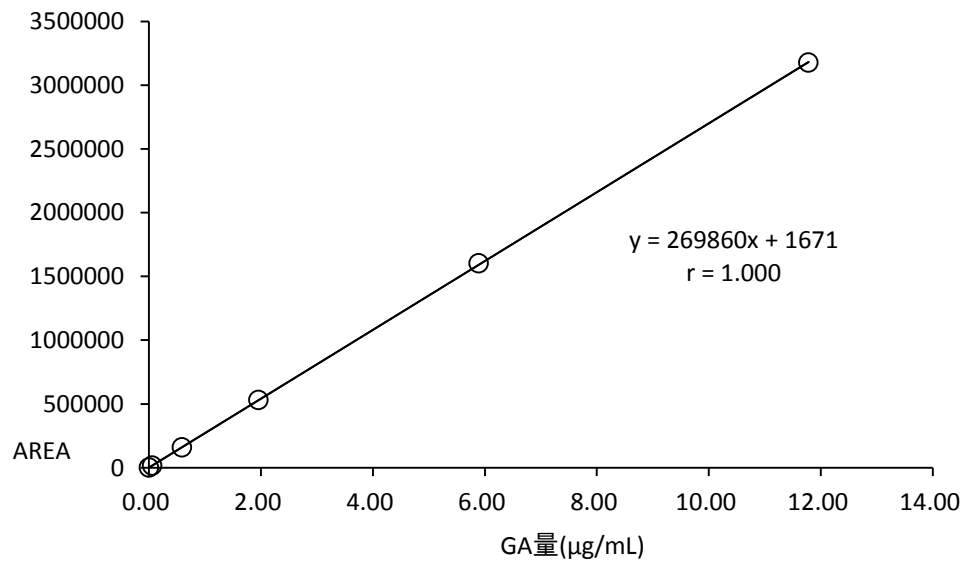


図 3 GA 検量線 (0～11.78 $\mu\text{g/mL}$)

GA-2,4-DNPH 標準液(100 $\mu\text{g/mL}$) アセトニトリルベース(SIGMA-ALDRICH 製) を、アセトニトリルを用いて希釈し、0～11.78 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で標準系列を調製し、検量線の直線性について確認を行った。その結果、実験の範囲で直線性を示した (図 3, 表 5)。

表 5 GA の標準系列 (0～11.78 μ g/mL)

GA濃度 (μ g/L)	4時間捕集としての濃度(ppm)	相当の濃度	面積
11.78	0.0600	2次評価値 $\times$ 2	3175952
5.89	0.0300	2次評価値	1602474
1.96	0.0100	2次評価値 $\times$ 1/3	530217
0.59	0.0030	目標濃度 $\times$ 10	159105
0.06	0.0003	目標濃度	15745
0	0.0000	ブランク	0

3－5．検出下限及び定量下限

表 6 に検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ) を示した。検出下限 (LOD) は目標濃度 (2 次評価値の 1/100) の標準液を 5 サンプル分析して標準偏差 (SD) を算出し、SD の 3 倍を定量下限値とした。LOQ (μ g/sample) は目標濃度の標準液を 5 サンプル分析した標準偏差 (SD) の 10 倍を定量下限値とした。

表 6 検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ)

直線範囲 (μ g/mL)	0～11.78
相関係数	1.000
LOD (μ g/sample)	0.018
LCQ (μ g/sample)	0.059

また、本法の定量下限は 0.059 μ g/sample であったため、個人ばく露測定 (240 L 採気) の定量下限値は 0.06 ppb となった (表 7)。

表 7 測定法の定量下限

評価項目	定量下限
GA量	0.012 (μ g/mL)
240 L採気時の気中濃度	0.06 (ppb)

3－6．本分析方法の作業環境中 GA 濃度分析への適用

240 L 採気時の気中 GA 濃度の定量下限は 0.06 ppb となった。一方、作業環境測定のア測定、B 測定の採気時間を 10 分間とすると採気量は 10.0 L(1.0 L/分×10 分)となり、この場合の定量下限は 1.44 ppb(0.00144 ppm)になる。この値は 2 次評価値 0.03 ppm の 1/10 以下であり、作業環境中の測定への応用が可能と言える。

また、本検討条件による GA-2,4-DNPH の保持時間は約 24 分であるのに対して、共存物質と考えられるホルムアルデヒドと 2,4-DNPH との反応物質の保持時間は約 4 分であり、他のアルデヒド類も含めて分離は十分に可能と推定される。

3－7．考察及びまとめ

本検討は、NIOSH Analytical Method No.2532 を参照して、作業環境気中の GA 濃度を定量する方法を検討した。本分析法の特徴は、気中 GA を 2,4-DNPH にてコーティングした球状シリカゲルを充填した捕集装置により捕集し、HPLC にて精度・感度良く分析できることである。定量下限値は 240 L 採気で 0.06 ppb であり、4 時間の個人曝露濃度測定にて目標濃度(0.0003 ppm)まで測定可能である(吸引速度は 1.0 L/min)。また、保存は冷蔵(4℃)にて 5 日間安定である。結論として、本分析法によって個人曝露濃度は、十分な精度と感度でもって分析することが可能となり、個人曝露濃度測定および作業環境測定の評価を実施することが可能となった。

4．検討機関

財団法人 産業保健協会

引用文献

- 1) 新訂 労働衛生管理とデザイン・サンプリングの実務 労働省安全衛生部環境改善室編
日本作業環境測定協会 東京、2000, p121.
- 2) NIOSH Manual of Analytical Method 2532. Glutaraldehyde. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Cincinnati, OH, USA. 1994
- 3) OSHA Analytical Methods Manual Glutaraldehyde. Manual 64. Occupational Safety and Health Administration (OSHA) Technical Center. United State Department of Labor, Salt Lake City, UT, USA. 1989.
- 4) Kennedy ER, Hill Jr RH. Determination of formaldehyde in air as an oxazolidine derivative by capillary gas chromatography. Anal Chem 1982; 54: 1738 – 1742.
- 5) Lipari F, Swalin SJ. Determination of formaldehyde and other aldehydes in automobile exhaust with an improved 2,4-dinitrophenylhydrazine method. J Chromatog 1982; 247: 297 – 306.
- 6) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2012 TLVs and BEIs based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices. ACGIH. Cincinnati, OH, USA.
- 7) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Glutaraldehyde. In: Documentation of the Threshold Limit Values (TLVs) and Biological Exposure Indices (BEIs) [CD-ROM 2007]. ACGIH. Cincinnati, OH, USA.
- 8) CDC-NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards-Glutaraldehyde. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Cincinnati, OH, USA.
<http://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0301.html>. accessed on July 31, 2012.
- 9) 許容濃度等の勧告(2011 年度) 産業衛生学雑誌 2011;53 巻 177 – 203 頁、日本産業衛生学会、東京
- 10) グルタルアルデヒド許容濃度提案理由書 産業衛生学雑誌 2006;48 巻 128 – 134.
- 11) 基発第 0224007 号 医療機関におけるグルタルアルデヒドによる労働者の健康障害防止について 厚生労働省通達
<http://www.jaish.gr.jp/anzen/hor/hombun/hor1-46/hor1-46-6-1-0.htm>.

(別紙)

グルタルアルデヒド標準測定分析法

構造式： $C_5H_8O_2$	分子量：100.11	CAS No.：11-30-8
許容濃度等：産衛(最大許容濃度)0.03 ppm NIOSH (Ceiling) 0.2 ppm ACGIH(TLV-Ceiling)0.05 ppm	物性等：比重：0.99-1.13 g/mL (20℃) BP：200.9℃ MP：-14℃ Vp：2.2 kPa (20℃)	

別名：1,5-Pentanedial (Glutaral, 1,3-diformylpropan)

サンプリング	分析
サンプラー：2,4-DNPH コーティング球状シリカゲル InertSep mini AERO (300mg) (GL Science 製) 保存性：GA として 58.9 μg から 0.3 μg の添加の範囲で、冷蔵で 5 日間保存可能。 ブランク：脱着溶媒およびサンプラーブランクともに検出されない。	分析方法：高速液体クロマトグラフ (HPLC) 分析法 脱着：アセトニトリル(関東化学製 HLC-SOL アセトニトリル) 5mL 機器：L-4200 (HITACHI 製) カラム：LaChromC18 (5 μm) (150cm×4.6mm) (HITACHI 製) カラム温度：40℃ 移動相：acetonitrile/water (60/40) 流速：1.0 mL/min 検出器：UV 360nm 注入量：50 μL 検量線：0.06－11.78 μg/ mL の範囲で直線 定量法：絶対検量線法
精度	
添加回収率 0.3 μg 添加で 92.9%、29.5 μg で 98.4%、58.9 μg で 97.4% 検出下限 (3SD) 0.004 μg/ mL (0.02 ppb, 1.0 L/min×4 h) 定量下限 (10SD) 0.012 μg/ mL (0.06 ppb, 1.0 L/min×4 h)	

適用：個人ばく露濃度測定

妨害：－

参考文献：・新訂 労働衛生管理とデザイン・サンプリングの実務 労働省安全衛生部環境改善室編 日本作業環境測定協会 東京、2000、p121. ・NIOSH Manual of Analytical Method 2532. Glutaraldehyde. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Cincinnati, OH, USA. 1994 ・OSHA Analytical Methods Manual Glutaraldehyde. Manual 64. Occupational Safety and Health Administration (OSHA) Technical Center. United State Department of Labor, Salt Lake City, UT, USA. 1989. ・Kennedy ER, Hill Jr RH. Determination of formaldehyde in air as an oxazolidine derivative by capillary gas chromatography. Anal Chem 1982; 54: 1738 - 1742.

・Lipari F, Swalin SJ. Determination of formaldehyde and other aldehydes in automobile exhaust with an improved 2,4-dinitrophenylhydrazine method. J Chromatog 1982; 247: 297 - 306. ・American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2012 TLVs and BEIs based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices. ACGIH. Cincinnati, OH, USA.

・American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Glutaraldehyde. In: Documentation of the Threshold Limit Values (TLVs) and Biological Exposure Indices (BEIs) [CD-ROM 2007]. ACGIH. Cincinnati, OH, USA. ・CDC-NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards-Glutaraldehyde. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Cincinnati, OH, USA. <http://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0301.html>. accessed on July 31, 2012. ・許容濃度等の勧告(2011年度) 産業衛生学雑誌 2011;53巻 177 - 203 頁、日本産業衛生学会、東京

・グルタルアルデヒド許容濃度提案理由書 産業衛生学雑誌 2006;48巻 128 - 134. ・基発第 0224007 号 医療機関におけるグルタルアルデヒドによる労働者の健康障害防止について、厚生労働省通達