

## 原著論文

住居環境中のホルムアルデヒドのパッシブサンプリング  
—高速液体クロマトグラフィーによる定量法吉田俊明<sup>1</sup>・松永一朗<sup>1</sup>・安藤 剛<sup>1</sup>

[受付 1999. 2. 12] [受理 1999. 7. 30]

Determination of Formaldehyde in Residential Air by High-  
Performance Liquid Chromatography after Passive SamplingToshiaki YOSHIDA<sup>1</sup>, Ichiro MATSUNAGA<sup>1</sup> and Katashi ANDOH<sup>1</sup>

[Received Feb 12, 1999] [Accepted Jul 30, 1999]

## 要 旨

パッシブサンプリング—高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた家庭環境中ホルムアルデヒド (FA) の簡易で精密な定量法を開発した。

トリエタノールアミンを含浸したシリカゲルを多孔性のフッ化エチレン樹脂 (PTFE) 製チューブに充填した市販のパッシブサンプラーを用い、環境空气中 FA を 24 時間捕集した。捕集後取り出したシリカゲルに 0.5M-りん酸 7 ml を加えて FA を抽出した。さらに、アセトニトリル 2.7 ml および 2,4-ジニトロフェニールヒドラジン (DNPH) のアセトニトリル溶液 (20 mg/ml) 0.3 ml を加えて FA のヒドラゾン誘導体 (FA-DNPH) を形成し、逆相系カラムを用いた HPLC により FA-DNPH を定量した。未使用のパッシブサンプラーから取り出したシリカゲルも同様に処理し、ブランクとして分析した。

FA は 24 時間捕集した際、空气中濃度 1 ~ 約 200 ppb (v/v) において定量可能であった。FA の捕集から分析操作を含めた変動係数は、試験された全濃度において 5 % 以下であった。また、FA を捕集したパッシブサンプラーおよび分析用に調製した試料溶液は、いずれも 4 °C 遮光保存で 1 ヶ月間は安定であった。従来より空气中 FA の測定に用いられている 4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール (AHMT) を用いた吸光度法および DNPH-カートリッジを用いた HPLC 法と本分析法とを比較した。本法は、従来法それぞれの問題点を解決する簡易で再現性の良い分析法であると考えられた。

## Abstract

A simple and precise analytical method is described for the determining the presence of formaldehyde (FA) in residential air by high-performance liquid chromatography (HPLC) after passive sampling.

FA in the air was collected for 24 hours using a commercial porous PTFE (polytetrafluoroethylene) tube packing silica gel impregnated with triethanolamine. After sampling, FA was extracted from the silica gel with 7 ml of 0.5-M phosphoric acid. A 0.3 ml of acetonitrile dissolved 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) (20 mg/ml) and 2.7 ml of acetonitrile were added to the extract, and FA was allowed to convert to hydrazone derivative (FA-DNPH). The compound was quantified by reversed-phase HPLC. Silica gel taken out of a fresh sampler was similarly treated, and analyzed as a control.

The concentration of FA in the air could be determined linearly from 1 to about 200 ppb (v/v). For all concentrations examined, the coefficient of variation on replicate assays of the whole preparation was less than 5%. Both the FA in used sampler and the FA-DNPH in prepared analytical solutions were stable for up to one month at 4 °C in the dark. Present method was compared with colorimetric method using 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole (AHMT) and HPLC method using DNPH-cartridge for quantifying FA in air.

**Key words:** residential air, formaldehyde, high-performance liquid chromatography, passive sampling, determination

## 1. 緒 言

近年、建築材料や家具などから放散されるホルムアルデヒド (FA) が、「シックハウス症候群」の原因物質の一つとして指摘されている。FA は主に合板や壁

紙の接着剤に含まれており、住人は慢性的に曝露されている。FA は呼吸器等の粘膜に対して刺激性が強い気体であり、また、ラットやマウスを用いた毒性実験において発ガン性が認められている<sup>1-4)</sup>。家庭は一日

1 大阪府立公衆衛生研究所 〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69

Osaka Prefectural Institute of Public Health 1-3-69, Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

の大半を過ごす場所であり、家庭環境中のFA濃度の把握はその毒性と長い曝露期間などという点で重要と考えられる。世界保健機関 (World Health Organization: WHO) では、ガイドラインとして室内FA濃度0.08ppm (v/v) を勧告している<sup>5)</sup>。また、わが国においても厚生省は1997年にWHOと同様にその刺激性の観点から住居環境内の指針値を30分平均値で0.08ppm以下と提案している<sup>6)</sup>。

従来より、空気中FAの定量には空気をポンプで吸引してインピンジャー中の吸収液にFAを捕集 (湿式捕集) し、発色試薬と反応後その吸光度を分光光度計で測定する方法が主として用いられてきた<sup>7-12)</sup>。また、これらの反応を利用した自動測定器も多数開発されている<sup>13-15)</sup>。さらに、インピンジャーを用いて捕集したFAを種々の試薬と反応させたのち高速液体クロマトグラフィー (HPLC) やガスクロマトグラフィー (GC) により定量する方法も考案されている<sup>16-21)</sup>。一方、空気中FAの捕集にインピンジャーを使用しない乾式捕集用のキットが開発されている<sup>22-28)</sup>。乾式捕集は湿式捕集に比較してサンプラーが小型であり、サンプリング現場への運搬がはるかに容易である。現在わが国では、トリエタノールアミン (TEA) を含浸したシリカゲルを多孔性のフッ化エチレン樹脂 (PTFE) 製チューブに充填したサンプラーや、2,4-ジニトロフェニールヒドラジン (DNPH) を含浸したシリカゲルをポリエチレンチューブに充填したサンプラー等が、市販の乾式捕集用キットとして入手可能である。前者は分子拡散により捕集 (パッシブサンプリング) したFAを脱着後4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール (AHMT) で発色させ分光光度計で分析するキットであり、ポンプを必要とせず試料の採取が簡易である。しかし、他の発色成分が混在する場合には定量値に影響をあたえる可能性がある。また標準とするFAの標定が必要であり、分析がやや複雑になる。後者はサンプラーに連結したポンプで空気を吸引 (アクティブサンプリング) してサンプラー中でFAとDNPHとを反応させ、生成したヒドラゾン誘導体を抽出後HPLCまたはGCで定量するキットである。分析までの前処理が簡易であり、他の多くのカルボニル化合物の同時分析が可能である。一方、ポンプを用いるため騒音や経済的な問題から、同時に多数のポイントでの捕集が困難である。また、空気中の二酸化窒素<sup>29)</sup> がFAの捕集量に影響を与える。両者いずれも一長一短の特徴を兼ね備えている。これ

らの問題を解決するため、パッシブサンプリング-HPLC定量法がいくつか開発されている<sup>27,28,30)</sup>。廣井ら<sup>27)</sup> および森本ら<sup>28)</sup> の方法はいずれも、実験室でのサンプラーの作成、また、その際のFA汚染に対する配慮が必要であり、あまり簡便な分析法とは言い難い。また、松村ら<sup>30)</sup> は市販のパッシブサンプラーを用いて捕集したFAをDNPHと反応させた後HPLCで定量する方法を考案している。FAとDNPHとの反応は塩酸性下で行っており、強力な発ガン物質であるビスクロロメチルエーテルの生成<sup>31)</sup> が懸念される。今回我々は、松村ら<sup>30)</sup> と同様の市販のパッシブサンプラーにより捕集したFAをりん酸酸性下でDNPHと反応させる、より簡易で安全性の高いHPLC定量法を検討したので報告する。

## 2. 方法

### 2.1 試薬および材料

りん酸、TEA、DNPH (水との等量混合物) およびFA水溶液 (約37%、標定結果36.828%) はいずれも特級、アセトニトリルは高速液体クロマトグラフ用を用いた。ホルムアルデヒド2,4-ジニトロフェニールヒドラゾン (FA-DNPH、純度>98%) は東京化成工業から入手した。他の試薬はすべて和光純薬工業より入手した。水はすべて純水装置 (Millipore製Milli-RX12) により精製したものを使用した。また、器具はすべて水で洗浄後、さらにアセトニトリルで洗浄したものを使用した。DNPH溶液は、アセトニトリル20mlにDNPH0.4gを加えて調製した。過飽和となった場合は、その上清を使用した。また、標準溶液調製のTEA含有0.5Mりん酸溶液は、0.5Mりん酸溶液300mlに6.4mlのTEAを加えて調製した。

空気中のFAの捕集には、TEAを含浸したシリカゲルを多孔性のPTFEチューブに充填した柴田科学器械工業製Passive Gas Tubes (HCHO・NO<sub>2</sub>用) (パッシブサンプラー) を用いた。

### 2.2 空気中のホルムアルデヒドの捕集

パッシブサンプラーを床上1~1.5mに吊るして約24時間放置し、FAを採取した。捕集終了後サンプラーを付属の保存袋に入れて密封し、分析までの期間冷蔵庫に保管した。捕集時間は正確に記録した。

### 2.3 分析試料の調製

パッシブサンプラーの両端のテフロン栓をはずし、充填されているシリカゲルを10-mlねじ口試験管にス

パーテル等で押し取り出した。0.5Mりん酸溶液7 mlを加え、ローリングミキサー（サーモニクス製 ウェイブローター Model WR-100）で30分間攪拌してFAを抽出した。さらに、アセトニトリル2.7mlおよびDNPH液0.3mlを加えて混和し、室温（約25℃）に30分間放置した。また、直ちに分析しない場合は、アルミホイル等で遮光して冷蔵庫に保存した。分析時、遠心沈降（3000rpm × 15min at 4℃, 日立製作所製 Model himac CF 7 D）させ、その上清を分析試料溶液として用いた。

未使用のパッシブサンプラー中のシリカゲルを新たに取り出し、同様に処理し、ブランクとして使用した。

#### 2.4 標準溶液の調製

FA-DNPH 21mgをアセトニトリル10mlに溶かした（10 μmol/ml）。アセトニトリルで倍々希釈し、0～10 μmol/mlの8濃度の溶液を調製した。各溶液0.1mlを分取し、TEA含有0.5Mりん酸溶液7 mlを加えた。さらに、アセトニトリル2.6mlおよびDNPH液0.3mlを加え、標準溶液とした。直ちに分析しない場合は、アルミホイル等で遮光して冷蔵庫に保存した。各溶液中のFA-DNPHのモル数は、0, 62.5, 125, 250, 500および1000nmolとなる。

#### 2.5 高速液体クロマトグラフィー

調製した分析試料溶液はHPLCにより測定した。高速液体クロマトグラフには、日立製作所製L-6200型 Intelligent Pump, 655A-52型 Column Oven, L-4000型 UV Detector および D-2500型 Chromato-integrator を使用した。インジェクターには、Rheodyne製の100 μl-injection loop 付き7125型 Chromatographic Injectorを用いた。分離分析は以下の条件のもと行った。カラム：LiChlospher 100 RP-18 (e) (250mm × 4 mm, 粒子径5 μm) (Merck), ガードカラム：LiChlospher 100 RP-18 (e) (4 mm × 4 mm, 粒子径5 μm) (Merck), 溶離液：アセトニトリル：水=60：40 (v/v), 流速：1 ml/min, オープン温度：40℃, 検出波長：360nm, 注入量：20 μl。溶離液は、超音波洗浄機（Elma製T 570型）により、脱気した後使用した。

#### 2.6 Sampling Rateの算出

本分析法で用いるパッシブサンプラーのSampling Rateを算出するため、アクティブサンプリングを併

用し、室内空気中FA濃度を測定した。アクティブサンプリングには、柴田科学器械工業製TEA含浸シリカゲルチューブ（HCHO・NO<sub>2</sub>捕集用）およびDuPONT製P-200型携帯用小型吸引ポンプを使用し、流速100ml/minで吸引して空気中FAを捕集した。両法により捕集されたFAを上記の分析試料の調製法に従い処理した後定量した。ただし、アクティブサンプリング用のチューブに充填されているシリカゲルの量（2.3g）は、パッシブサンプラーに充填されている量（1.5g）の約1.5倍であるため、アクティブサンプラーで捕集されたFAの定量に使用するりん酸溶液、アセトニトリル、DNPH液はすべてパッシブサンプラーで使用する量の1.5倍とした。次式よりパッシブサンプラーによるFAのSampling Rateを算出した。

$$\text{Sampling Rate (ng/ppb/h)} = M / (C \cdot T) \quad (1)$$

M：パッシブサンプラーにより捕集されたFAの量 (ng)

C：アクティブサンプリングによる捕集量から算出されたFAの空気中濃度 (ppb)

T：捕集時間 (h)

#### 2.7 定量

試料およびブランク中のFAはピーク面積法により定量した。各標準溶液を分析した際得られる検量線（FA-DNPH量(x)－ピーク面積(y)）の回帰直線式を算出した。FAとDNPHは等モルずつ反応するため捕集したFAのモル数と測定されたFA-DNPHのモル数は等しく、以下の式により捕集したFA量がもとめられる。

$$\text{FA 捕集量 (nmol)} = \frac{(\text{試料のピーク面積} - \text{ブランクのピーク面積})}{\text{検量線の傾き}} \quad (2)$$

さらに、空気中FA濃度を以下の式により算出した。

$$\text{空気中濃度 (ppb)} = \frac{(\text{FA 捕集量 (nmol)} \times \text{FA 分子量})}{(\text{Sampling Rate (ng/ppb/h)} \times \text{捕集時間 (h)})} \quad (3)$$

ここで、FAの分子量は30.03である。

## 2.8 保存に対する安定性

18本のパッシブサンプラーを家庭内の同一場所に吊るし、24時間FAを捕集した。9本ずつ2組に分け、サンプラー中のFAおよび分析試料溶液中のFA-DNPHの4℃遮光保存における安定性について調べた。

### 2.8.1 パッシブサンプラー中ホルムアルデヒドの安定性

捕集終了日において9本のサンプラーのうち1本を処理して分析試料溶液を調製し、そのFA含量を測定した。この定量値を保存0日における含量とした。残りのサンプラーは分析までの期間4℃にて遮光して保存し、1日、2日、4日、7日、10日、15日、21日および30日後においてそれぞれその含量を測定した。各試料の調製の際には、新たに取り出した未使用のパッシブサンプラーを同様に処理し、ブランクとして用いた。

### 2.8.2 分析試料溶液中ホルムアルデヒド2,4-ジニトロフェニールヒドラゾンの安定性

捕集終了日において9本のサンプラー全てを処理して分析試料溶液を調製し、そのうちの1検体についてFAの含量を測定した。この定量値を保存0日における含量とした。残りのサンプラーは分析までの期間4℃にて遮光して保存し、1日、2日、4日、7日、10日、15日、21日および30日後においてそれぞれその含量を測定した。

## 2.9 他の分析法との比較

パッシブサンプラーの使用に際し、製造元ではFAの捕集後AHMTによる比色定量(AHMT法)を分析方法としてその取扱説明書に記載している<sup>32)</sup>。また、空気中FAの分析において、パッシブサンプラーの他にアクティブサンプリング用のDNPH-カートリッジが乾式捕集用キットとして市販されている。AHMT法およびDNPH-カートリッジ法と本分析法とをそれぞれ比較した。室内の同一の場所に複数個のパッシブサンプラーおよびDNPH-カートリッジをセットし、24時間空気中FAを捕集した。パッシブサンプラーは二分し、一方は我々の開発した方法で、他方はAHMT法<sup>32)</sup>により分析した。DNPH-カートリッジ法ではサンプラーにWaters製Sep-Pak XPoSure Aldehyde Samplerを使用し、Du Pont製P-200型携帯用小型吸引ポンプを連結して流速100ml/minで空気中FAを捕集した。サンプラー内でDNPHと反応して形成され

たFA-DNPHをアセトニトリル10mlで抽出した後、上記分析条件でHPLCにより定量した。

## 3 結果および考察

### 3.1 分析試料の調製法

#### 3.1.1 ホルムアルデヒドの抽出液と反応溶媒

一般にFAは、水、種々の酸および水溶性有機溶媒に可溶である。FAとDNPHとの反応はりん酸や塩酸等の酸性下で進行する。しかし、FAは塩化水素と反応し、発ガン物質であるビスクロロメチルエーテルを生成することが知られており<sup>31)</sup>、安全性を考慮した場合塩酸の使用は好ましくない。DNPHは、水、メタノール、エタノールにあまり溶けず、アセトニトリルには比較的よく溶ける。りん酸とアセトニトリルとはよく混和する。したがって、FAのシリカゲルからの抽出にはりん酸溶液を用い、ヒドラゾン誘導体の形成はりん酸溶液中でアセトニトリルに溶解したDNPHと反応させることにより行うこととした。

#### 3.1.2 シリカゲルからのトリエタノールアミン抽出量

FAの捕集には、TEAを含浸したシリカゲルを多孔性のPTFEチューブに充填したパッシブサンプラーを用いた。サンプラー一本あたりに充填されているシリカゲルの量は約1.5gであるが、含浸されているTEAの量は明らかにされていない。含有されているTEAは反応に用いるりん酸-アセトニトリル混合液の性状に影響を及ぼすため、その抽出量を調べた。パッシブサンプラーから取り出したシリカゲルに0.5Mりん酸7mlおよびアセトニトリル3mlを加えて30分間攪拌してTEAを抽出した。抽出液1mlに1N水酸化ナトリウム溶液0.4mlを加えた後、適当な濃度となるように水-アセトニトリル混合液(70:30, v/v)で希釈した。分光光度計(日立製作所製Spectrophotometer Model 200-20)により205nmにおける吸光度を測定し、標準添加法により定量した。TEAの抽出量を算出した結果、パッシブサンプラーの製造ロットにより若干異なるが、FAの分析の際に約0.09~0.15mlのTEAがシリカゲルから抽出されると推察された。

#### 3.1.3 りん酸-アセトニトリルの混合比

本来、りん酸溶液とアセトニトリルはいずれの混合比率においても自由に混和するが、この混液にTEAを加えると混液の組成によっては液が二層に分離する場合があります。目的物質の定量に支障をきたす。混液が分離しない混合比率を調べた。種々の混合比率の

0.5M リン酸溶液-アセトニトリル混液 (8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6) 10ml に DNPH 20mg, TEA 0.15ml および FA-DNPH 1  $\mu$ mol を加え、一昼夜冷蔵庫にて保存した。0.5M リン酸溶液-アセトニトリル混液の混合比率 6:4, 5:5 および 4:6 では液が二層に分離したが、混合比率 8:2 および 7:3, すなわち、リン酸溶液の割合が70%以上では液は分離せず分析に適すと考えられた。一方、リン酸溶液の比率の増加に伴い、DNPH またはその反応物による析出物の量が増加する傾向が見られた。

### 3.1.4 リン酸濃度と2,4-ジニトロフェニールヒドラジン添加量

FA と DNPH との反応に及ぼすリン酸濃度と DNPH 添加量の影響について検討した。各濃度 (0.067, 0.17, 0.33, 0.5, 0.67, 0.83, 1 または 1.5M) のリン酸 7 ml, アセトニトリル 3 ml に種々の量の DNPH (2, 4, 6, 8, 10, 12, 20 および 60mg), TEA 0.15ml および FA 1  $\mu$ mol を加え、30分間室温にて放置後 HPLC により分析した。さらに、一昼夜冷蔵庫にて保存し、翌日同様に分析した。調製翌日の分析において DNPH を 8 mg 以上添加した試料では沈殿が析出し、定量値が調製当日の値よりも減少した。一方、DNPH の添加量の減少に伴い、FA との反応に要する時間が増加する傾向が見られた。また、用いたリン酸濃度が 0.33M 以下の試料では一昼夜経過後においても反応が十分進行していなかった。したがって、FA のヒドラゾン誘導体の形成は、濃度 0.5M 以上のリン酸溶液中で 6 mg 以下の DNPH を用いて行うことが適当であると考えられた。また、逆相系カラムを使用した HPLC では、カラムへの負荷を考慮した際、酸性試料の pH はできるだけ高いほうが好ましいため、用いるリン酸溶液の濃度は 0.5M とした。

### 3.1.5 反応時間

FA と DNPH との反応に要する時間について検討した。0.5M リン酸 7 ml にアセトニトリル 3 ml, DNPH 6 mg, TEA 0.15ml および FA 1  $\mu$ mol を加え、室温暗所または冷蔵庫 (約 4℃) に放置した。一定時間経過後、生成した FA-DNPH を測定した (Fig. 1)。室温暗所に放置した試料では反応開始30分以降においてピーク面積はほとんど増加しなかった。一方、冷蔵庫に放置した試料では3時間後までわずかにピーク面積が増加したが、それ以後は変化なく室温放置の試料のピーク面積とほぼ同じ値となった。一日放置後の測定値はいずれの試料においても変化なかった。した

がって、室温暗所では30分、冷蔵庫では3時間でほぼ反応は終了すると考えられた。このことから、分析試料の処理において、DNPH 液を添加後直ちに冷蔵庫に保存し翌日分析することが可能であると考えられた。

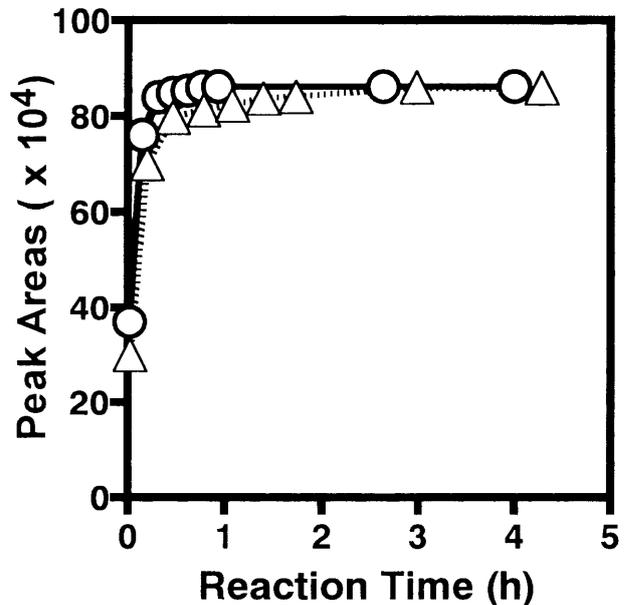


Fig. 1. Effects of temperature and reaction time on the formation of FA-DNPH from FA.

A 1  $\mu$ mol of FA was added to a mixture of 7 ml of 0.5-M phosphoric acid, 3ml of acetonitrile, 0.15ml of TEA and 6mg of DNPH. The mixture was allowed to react in a refrigerator (ca. 4°C) ( $\Delta$ ) or at room temperature (ca. 25°C) in the dark ( $\circ$ ).

以上の結果から、捕集した FA は、パッシブサンプラーから取り出したシリカゲルに 0.5M リン酸 7 ml を加え 30分間室温で攪拌して抽出後、アセトニトリル 2.7ml, 20mg/ml DNPH アセトニトリル溶液 0.3ml を加えて FA-DNPH とし、30分室温暗所に放置後、または冷蔵庫で放置後翌日、HPLC により分析することとした。

## 3.2 標準溶液の調製

用いたパッシブサンプラーの製造元では、試料の捕集後、標定した FA を標準として AHMT 法により比色定量する方法をその取扱説明書に記載している<sup>32)</sup>が、分析を簡易に行うため、FA-DNPH を標準とする標準溶液の調製法について検討した。0.5M リン酸 7 ml にアセトニトリル 3 ml および TEA 0.15ml を加えた混液に FA-DNPH 1  $\mu$ mol を添加し、さらに、

DNPH 6 mg の添加または無添加により 2 種の試料を調製し、30 分間室温暗所にて放置後それぞれ分析した。分析の結果、DNPH 無添加試料のピーク面積は DNPH 添加試料のピーク面積より約 1 割程度小さかった。この差は、未使用のパッシブサンプラーより調製されたブランクから検出される FA-DNPH 量に比較してかなり大きく、添加した DNPH の汚染のみに基づくものではないと考えられた。過剰量の DNPH がないと FA-DNPH の定量値は減少することが示唆された。したがって、FA-DNPH を標準として用いる際にも DNPH を添加する必要があると考えられた。

### 3.3 検量線の直線性と定量下限界

Fig. 2 に標準溶液の検量線を示した。FA-DNPH 量 0 ~ 1000 nmol (24 時間捕集の際の空气中 FA 濃度 0 ~ 187 ppb に相当) の範囲においてその量とピーク面積の間に直線性が見られ、その回帰直線式は  $y = 847x + 8893$  ( $r = 0.999$ ) であった。添加した DNPH 液にも若干量の FA または FA-DNPH が含有されているため、直線が原点を通らないものと考えられた。

一方、本分析法における定量下限界を求めるため、同じ製造ロットの未使用のサンプラー 10 本を分析し、ブランク中に含まれる FA 量を測定した。平均値およびその標準偏差は、それぞれ 13.45 および 0.57 nmol であった。標準偏差の 10 倍を定量下限界とし、24 時間捕集における空气中 FA 濃度に換算すると 1.1 ppb であった。したがって、FA は、24 時間の捕集において空气中濃度約 1 ~ 200 ppb で定量可能であると考えられた。

### 3.4 クロマトグラフィー

標準溶液、試料およびブランクのクロマトグラムを Fig. 3 に示した。FA-DNPH は約 4.5 分で溶出し、他の成分との分離は良好であった。ブランクからも若干量の FA-DNPH が検出された。サンプラーの製造過程における FA の汚染、または試料の前処理の際の汚染が原因と考えられ、試料の分析の際には捕集に用いたサンプラーと同じ製造ロットの未使用のサンプラーを同様に処理、分析し、ブランクとして定量値から差し引く必要があると考えられた。1 検体のクロマトグラフィーは約 15 分で終了した。

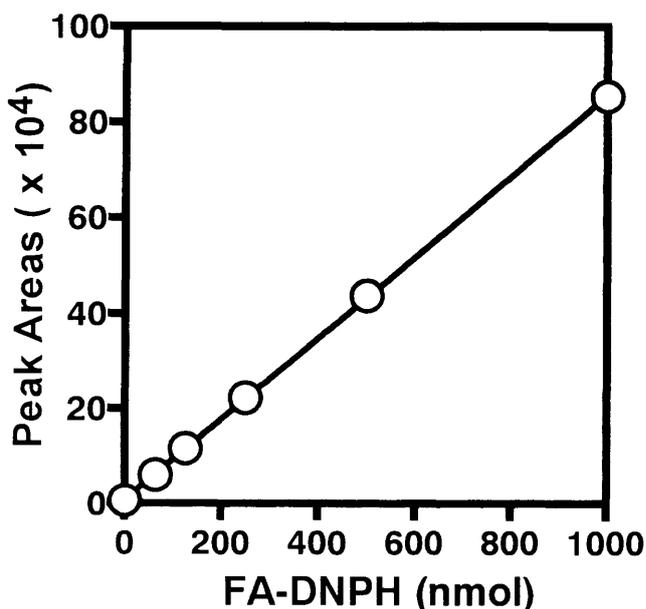


Fig. 2. Calibration curve of FA-DNPH.

A 0.1-ml portion of acetonitrile containing FA-DNPH (0 - 10  $\mu$ mol/ml) was added to a mixture of 7 ml of 0.5-M phosphoric acid containing 0.15ml of TEA, 0.3ml of acetonitrile dissolved DNPH (20mg/ml) and another 2.6ml of acetonitrile, and the mixtures were measured as described in the text. The equation for the normal linear regression line is  $y = 847x + 8893$  ( $r = 0.999$ ).

### 3.5 シリカゲルからのホルムアルデヒドの抽出率および反応率

捕集した FA のりん酸溶液による抽出率および DNPH との反応率について検討した。未使用のサンプラーから取り出したシリカゲルに種々の量 (0 ~ 1000 nmol) の FA を添加した試料に 0.5M りん酸 7 ml を加えて室温で 30 分間攪拌して FA を抽出し、さらに、アセトニトリル 2.7 ml および DNPH 液 0.3 ml を加え、30 分間室温暗所に放置後生成した FA-DNPH を HPLC により分析した。FA 添加量 0 ~ 1000 nmol の範囲において添加量とピーク面積の間に直線性がみられた。その回帰直線式は  $y = 852x + 11913$  ( $r = 0.999$ ) であった。シリカゲル中および DNPH 液中に FA または FA-DNPH が含有されているため、直線が原点を通らないものと考えられた。回帰直線の傾きは、Fig. 2 に示した FA-DNPH の検量線の傾きと一致した。したがって、0 ~ 1000 nmol の添加量、すなわち、空气中濃度約 200 ppb 以下の FA を 24 時間捕集した際、FA のシリカゲルからの抽出率および抽出された FA

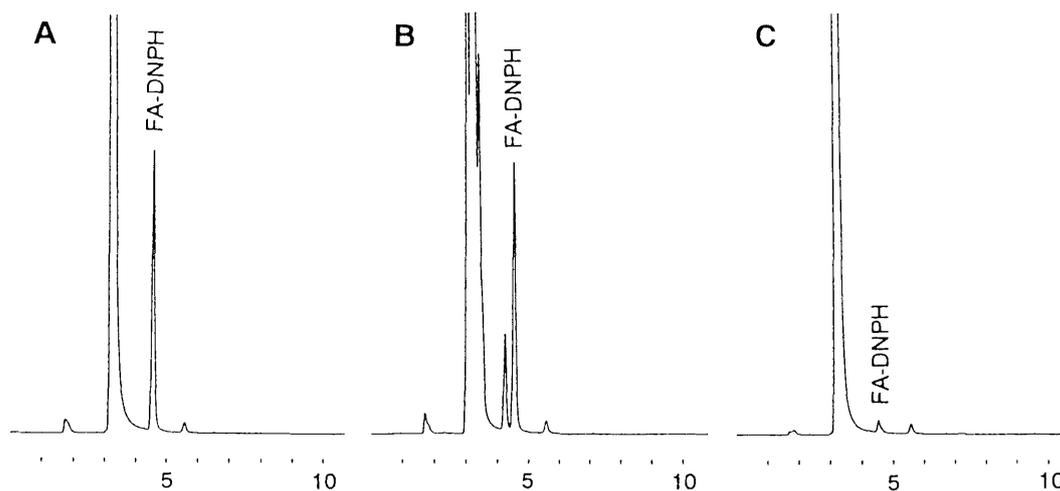


Fig. 3. Typical chromatograms of a standard solution of FA-DNPH (250 nmol) (A): a solution prepared from a sampler collected FA in residential air (ca. 45ppb) (B); and a solution from control sampler (C). Chromatographic conditions are given in the text.

と DNPH との反応率は、ほぼ100%であると考えられた。

### 3.6 Sampling Rate

空气中 FA の測定に吸引ポンプを用いたアクティブサンプリングを併用し、本分析に用いたパッシブサンプラーの Sampling Rate を算出した。室内の定点（4ヶ所、捕集時の平均気温12.2~19.5℃）において24時間空气中 FA を捕集し、分析した結果を Table 1 に示した。Sampling Rate は6.5~7.1ng/ppb/h（平均6.7ng/ppb/h）であり、気温差による大きな変化は見られなかった。この値は本パッシブサンプラー製造元の公表値6.7  $\mu\text{g}/\text{ppm}/\text{h}^{(2)}$  と一致する値であった。

### 3.7 測定値の再現性

FA 濃度の異なる室内の定点（8ヶ所）で FA を捕

集（1ヶ所あたり5検体）し、分析法の再現性について検討した。各室内の平均濃度、標準偏差および変動係数を Table 2 に示した。FA を24時間捕集した試料の分析における変動係数は空气中濃度2.8~175ppb において5%以下であり、FA の捕集から分析における再現性は良好であると考えられた。

### 3.8 保存性

4℃遮光保存におけるパッシブサンプラー中の FA および分析試料溶液中の FA-DNPH の安定性について検討した結果を Fig. 4 に示した。FA、FA-DNPH ともに30日の保存期間中ほとんど減少せず、ほぼ一定の定量値を示した。したがって、FA を捕集したサンプラーおよび調製された分析試料溶液は、1ヶ月間は冷蔵庫で保存可能であると考えられた。

Table 1. Estimation of the passive sampler sampling rate.

Sampling Point No.	Temperature (°C)	Passive (nmol)	Active (ppb)	Sampling Rate (ng/ppb/h)
1	19.5	44.7	8.3	6.6
2	15.4	199.9	38.1	6.7
3	12.2	209.5	37.3	7.1
4	17.4	229.4	46.4	6.5
Mean				6.7

Table 2. Precision of the analytical method to determine FA in residential air.

Sampling Point No. (n=5)	Formaldehyde (ppb)		Coefficient of Variation (%)
	Mean	S.D.	
1	2.8	0.1	4.5
2	4.6	0.2	4.1
3	14.5	0.7	4.9
4	28.9	1.2	4.3
5	43.8	1.1	2.5
6	74.9	0.7	0.9
7	109.9	1.9	1.7
8	174.8	8.0	4.6

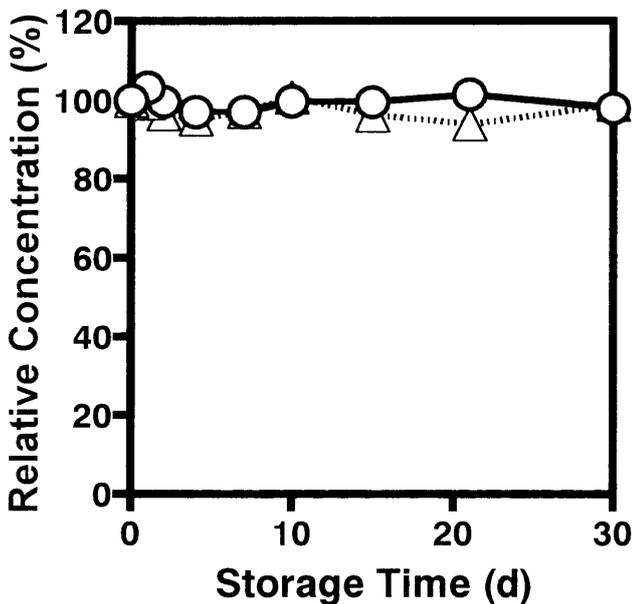


Fig. 4. Stabilities of FA in the passive sampler used in residential air (○) and FA-DNPH in the analytical solution prepared from the sampler (△) at 4°C in the dark. The concentration of each compound just before storage (time zero) was set at 100% (ca. 300 nmol).

### 3.9 他の分析法との比較

#### 3.9.1 本法と AHMT 吸光光度法との比較

2本のパッシブサンプラーを室内の同一場所にセット(12ヶ所)し、捕集したFAを本法とAHMT法<sup>32)</sup>で分析して得られた空气中濃度の関係をFig. 5に示した。回帰直線式は $y = 0.95x + 12.8$ であり、両定量値の間に高い相関性がみられた( $r = 0.987$ )。回帰直線の傾きはほぼ1であり定量値は概ね一致するが、直線は原点を通らず、低濃度ではAHMT法のほうがかなり高い値を示した。AHMT法は、比色定量法であるため、他の物質を測り込んでいる可能性があると考えられる。

#### 3.9.2 本法とDNPH-カートリッジ法との比較

パッシブサンプラーおよびDNPH-カートリッジを室内の同一場所(10ヶ所)にセットし、捕集したFAをそれぞれ分析して得られた空气中濃度の関係をFig. 6に示した。回帰直線式は $y = 0.97x - 3.4$ であり、両定量値の間に高い相関性が見られた( $r = 0.976$ )。ともにHPLCによる分離分析法であるが、大部分の測定点においてDNPH-カートリッジ法のほうが定量値が小さかった。捕集時の平均気温と両分析法による定量値の比率(DNPH-カートリッジ法/本法)との関係をFig. 7に示した。平均気温が約15°Cでは測定値の比率はほぼ1であるが、気温の低下に伴ってその比率が減少する傾向が見られ、約7°CではDNPH-カートリッジ法による定量値は本分析法による定量値のほぼ半分であった。気温が低いほど両測定値のずれが大きくなると考えられた。FA捕集時の平均気温の差がある室内の数ヶ所において、同じTEA

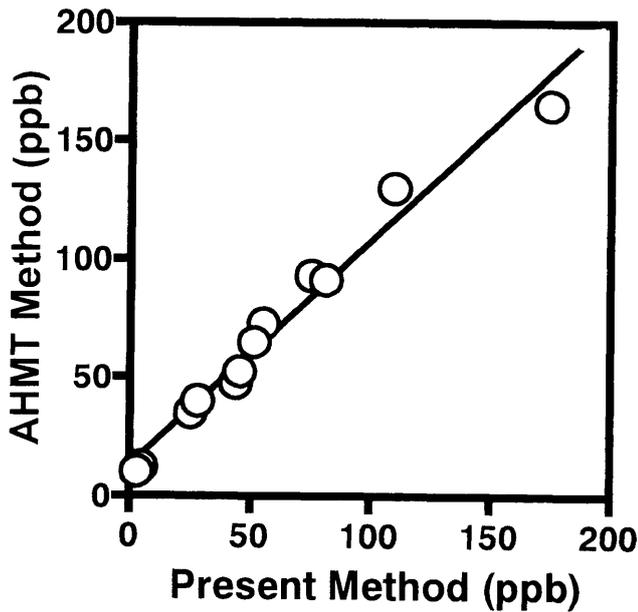


Fig. 5. Comparison between present method and AHMT method. The equation for the normal linear regression line is  $y = 0.95x + 12.8$  ( $r=0.987$ ).

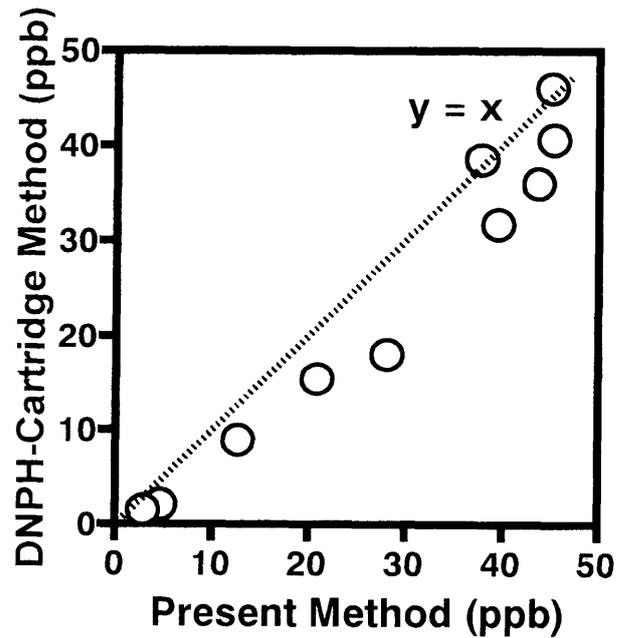


Fig. 6. Comparison between present method and DNPH-cartridge method. The equation for the normal linear regression line is  $y = 0.97x - 3.4$  ( $r=0.976$ ).

を含浸したシリカゲルを用いてパッシブサンプリングとアクティブサンプリングによりパッシブサンプラーの Sampling Rate を算出した結果、Table 1 に示すように各測定点における Sampling Rate はほぼ一定の値であり大差はなかった。すなわち、このことは捕集方法の異なる両者の測定値は捕集時の気温に影響されずほぼ一致することを示している。パッシブサンプラーによる FA 捕集量の気温による変化は、FA 分析時の誤差に比較して小さく、ほとんど無視できるものと考えられる。一方 Tejada<sup>33)</sup> は、空気中 FA の捕集に DNPH-カートリッジと捕集液に DNPH を含むインピンジャーとを使用して両者の定量値を比較した結果、低温での捕集における DNPH-カートリッジ法の定量値はインピンジャーを用いた際の定量値よりも小さく、気温10℃以下で DNPH-カートリッジを使用する際には保温する必要があると報告している。この報告は今回の我々の結果を支持するものであり、DNPH-カートリッジの FA 捕集率は空気中の二酸化窒素のほかに気温によっても影響される可能性があると考えられた。

現在、乾式捕集用キットを用いた空気中 FA の捕集分析は、主に「アクティブサンプリング-HPLC 分析」または「パッシブサンプリング-比色分析」のど

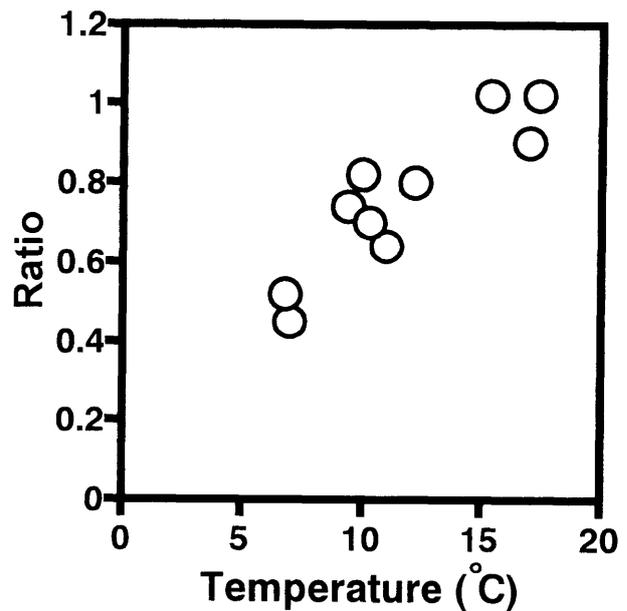


Fig. 7. Relation between average temperature during FA sampling and ratio of concentrations of FA determined by both present method and DNPH-cartridge method (DNPH-cartridge method / present method).

ちらかにより行われている。前者では、一定流量を長時間持続できるポンプが高価である事、捕集時の騒音、二酸化窒素の測定に及ぼす影響など、また、後者では、目的成分定量に対する類似物質の影響、定量操作の煩雑さなどが問題点となるが、今回確立した分析法「パッシブサンプリングーHPLC分析」は、簡易で再現性の良い方法であり、これらの問題を解決することが可能と考えられた。

## 文献

- 1) International Agency for Research on Cancer: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, wood dust and formaldehyde, vol. 62, Lyon, France, IARC (1995).
- 2) J. A. Swenberg, W. D. Kerns, R. I. Mitchell, E. J. Gralla, K. L. Pavkov: Induction of squamous cell carcinomas of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapor, *Cancer Res.*, 40, 3398-3402 (1980).
- 3) W. D. Kerns, K. L. Pavkov, D. J. Donofrio, E. J. Gralla, J. A. Swenberg: Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure, *ibid.*, 43, 4382-4392 (1983).
- 4) T. M. Monticello, J. A. Swenberg, E. A. Gross, J. R. Leininger, J. S. Kimbell, S. Seikop, T. B. Starr, J. E. Gibson, K. T. Morgan: Correlation of regional and nonlinear formaldehyde-induced nasal cancer with proliferating populations of cells, *ibid.*, 56, 1012-1022 (1996).
- 5) World Health Organization: Indoor air quality research, EURO reports and studies WHO regional office Europe, Switzerland, WHO (1989).
- 6) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室: 快適で健康的な住宅に関する検討会議 健康住宅関連基準策定専門部会化学物質小委員会報告書 (1997).
- 7) R. R. Miksch, D. W. Anthon, L. Z. Fanning, C. D. Hollowell, K. Revzan, J. Glanville: Modified pararosaniline method for the determination of formaldehyde in air, *Anal. Chem.*, 53, 2118-2123 (1981).
- 8) A. P. Altschuller, D. L. Miller, S. F. Sleva: Determination of formaldehyde in gas mixtures by the chromotropic acid method, *ibid.*, 33, 621-625 (1961).
- 9) D. A. Levaggi, M. Feldstein: The determination of formaldehyde, acrolein, and low molecular weight aldehydes in industrial emissions on a single collection sample, *J. Air Poll. Control Assoc.*, 20, 312-313 (1970).
- 10) 三村春雄, 金子幹宏, 西山信一, 福井昭三, 菅野三郎: 4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール法 (AHMT法) によるホルムアルデヒド定量法, *衛生化学*, 22, 39-41 (1976).
- 11) E. Sawicki, T. R. Hauser, T. W. Stanley, W. Elbert: The 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone test: Sensitive new methods for the detection, rapid estimation, and determination of aliphatic aldehydes, *Anal. Chem.*, 33, 93-96 (1961).
- 12) T. R. Hauser, R. L. Cummins: Increasing sensitivity of 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone test for analysis of aliphatic aldehydes in air, *ibid.*, 36, 679-681 (1964).
- 13) 山手昇, 松村年郎, 外村正治: 大気中ホルムアルデヒドの比色法による連続測定について, *衛生試験所報告*, 86, 58-64 (1968).
- 14) 松村年郎, 樋口英二, 谷村顕雄, 山手昇, 亀谷勝昭: 大気中のホルムアルデヒド自動計測器の改良, *日本化学会誌*, 639-644 (1980).
- 15) 守屋正裕, 川地武, 桜町多佳子: 新築集合住宅における HCHO 濃度の実態調査, 第15回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会予稿集, p367-372 (1997).
- 16) K. Kuwata, M. Uebori, Y. Yamasaki: Determination of aliphatic and aromatic aldehydes in polluted airs as their 2,4-dinitrophenylhydrazones by high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, 17, 264-268 (1979).
- 17) R. A. Smith, I. Drummond: Trace determination of carbonyl compounds in air by gas chromatography of their 2,4-dinitrophenylhydrazones, *Analyst*, 104, 875-877 (1979).
- 18) F. Lipari, S. J. Swarin: Determination of formaldehyde and other aldehydes in automobile exhaust with an improved 2,4-dinitrophenylhydrazine method, *J. Chromatogr.*, 247, 297-306 (1982).
- 19) A. Yasuhara, T. Shibamoto: Formaldehyde quantitation in air samples by thiazolidine derivatization: Factors affecting analysis, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72, 899-902 (1989).
- 20) 大野勝弘, 早川友邦: イミダゾリジン誘導体としてのアルデヒド類のガスクロマトグラフィー, *分析化学*, 28, 500-503 (1979).
- 21) 西川治光, 高原康光, 森 仁, 早川友邦: *o*-2,3,4,5,6-ペンタフルオロベンジルオキシアミンを用いた大気中微量ホルムアルデヒドのガスクロマトグラフ定量, *大気汚染学会誌*, 19, 387-391 (1984).
- 22) K. Kuwata, M. Uebori, H. Yamasaki, Y. Kuge, Y. Kiso: Determination of aliphatic aldehydes in air by liquid chromatography, *Anal. Chem.*, 55, 2013-2016 (1983).
- 23) 松村年郎, 亀谷勝昭, 村松学, 義平邦利, 古田栄敬, 山田久志: 室内空気汚染に関する研究 (第4報) -ホルムアルデヒドの個人曝露濃度について-, *日本公衆衛生雑誌*, 32, 287-295 (1985).

- 24) 松村年郎, 大塚健次, 武田明治, 長田英二, 小嶋茂雄, 松延邦明: 高速液体クロマトグラフを用いた空気中のホルムアルデヒドのモニタリング法について, 空気清浄, 30, 49-54 (1993).
- 25) 町田祥子, 飯島絵理子: Sep-Pak XPoSure を用いた室内環境中アルデヒド分析法の確立, 第36回大気環境学会年会講演要旨集, p 377 (1995).
- 26) 森康明, 辻清美, 節田節子, 後藤純雄, 小野寺祐夫, 松下秀鶴: *o*-(2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl) hydroxylamine 含浸シリカゲル捕集-溶媒抽出ガスクロマトグラフ法による室内空気中のアルデヒド類の定量, 衛生化学, 42, 500-506 (1996).
- 27) 廣井秀美, 烏蘭参丹, 雨谷敬史, 松下秀鶴: パッシブサンプラーを用いた室内空気中のアルデヒド類の多成分同時簡易分析法に関する研究, 第33回大気汚染学会講演要旨集, p 448 (1992).
- 28) 森本裕樹, 鄭元台, 雨谷敬史, 松下秀鶴: パッシブサンプラーを用いた室内のアルデヒド・ケトン濃度の簡易測定法の開発とその応用に関する研究, 第35回大気汚染学会講演要旨集, p 433 (1994).
- 29) 佐々木左宇介: ホルムアルデヒド測定 (DNPH-HPLC法) における  $\text{NO}_2$  共存の影響, 第35回大気汚染学会講演要旨集, p 551 (1994).
- 30) 松村年郎, 関川 寛, 浜田実香, 安藤正典, 長田英二, 大塚健次: 化学物質による室内汚染 (19) ホルムアルデヒドパッシブサンプラーの評価, 第37回大気環境学会年会講演要旨集, p 421 (1996).
- 31) 梅田弘志: ホルムアルデヒドによる環境汚染 (総説), 兵庫県公害研究所研究報告, 18, 1-14 (1986).
- 32) 柴田科学器械工業: パッシブガスチューブ (HCHO・ $\text{NO}_2$  用) 取扱説明書, 東京.
- 33) S. B. Tejada: Evaluation of silica gel cartridges coated *in situ* with acidified 2,4-dinitrophenylhydrazine for sampling aldehydes and ketones in air, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 26, 167-185 (1986).