

Phenol 暴露作業における尿中代謝産物の 高速液体クロマトグラフによる測定

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (指導: 緒方正名教授)

山 崎 吉 郎

(昭和59年2月27日受稿)

Key words : phenol, phenylsulfate,
phenylglucuronide

緒 言

先に緒方¹⁾は、ラットにおける phenol および benzene の尿中代謝産物の分析が高速液体クロマトグラフ (HPLC) によって可能であることを報告した。また著者は²⁾、ラットに phenol を 1 mMol/kg 経口投与した場合の尿中代謝産物について報告した。ヒトにおける phenol の尿中代謝産物についての実験は池田ら³⁾によってなされているが、発色法の操作が複雑であり分析精度に劣ると思われる。

今回著者は、ヒトにおける phenol の尿中代謝産物を HPLC によって迅速、精密に測定し、作業現場における暴露濃度を推定する生物学的モニタリングの可能性を試みた。分析の対照として、phenol 使用化学繊維工場における作業者の尿について行なった。その結果 phenol 暴露量の推定の可能性を見出したのでここに発表する。

実験方法

1. 試料

試料尿は、化学繊維の強化の目的で繊維を phenol 浴槽 (温度 30~40°C) につけた後、ベルトコンベアーで熱風乾燥する流れ作業を主としている作業員 8 名のものを用いた。採尿は午後 3 時から 4 時にかけて行なった。

2. 分析条件

気中 phenol の分析: アルカリ性ホウ酸ナトリウムに吸入させた後 Gibbs 法⁴⁾によって測定した。

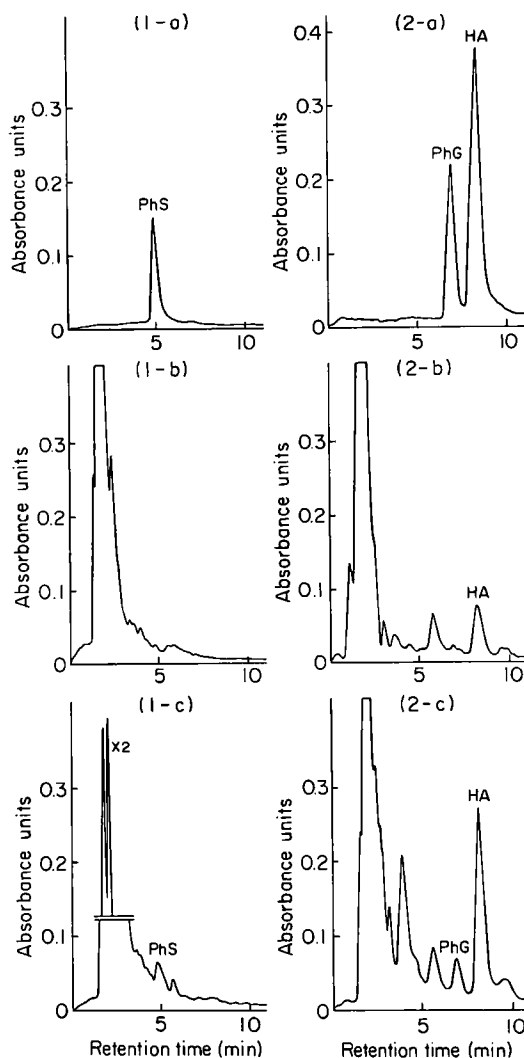


Fig. 1. High performance liquid chromatograms of phenylsulfate and phenylglucuronide
1-a, 2-a: authentic samples, 1-b, 2-b: normal human urine, 1-c, 2-c: urine of workmen exposed to phenol

Table 1. Urinary excretion of phenylsulfate and phenylglucuronide from men exposed to phenol in air

| Conc. ppm | phenylsulfate mg/l (mMol/l) | phenylglucuronide mg/l (mMol/l) | Total mMol/l | PhS(Mol) / PhG(Mol) ratio |
|-----------|-----------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------|
| 2.73±1.36 | 147 (0.84) | 443 (1.65) | 2.49 | 0.51 |
| | 111 (0.64) | 413 (1.54) | 2.18 | 0.41 |
| 2.52±1.47 | 182 (1.04) | 550 (2.04) | 3.08 | 0.51 |
| | 77 (0.44) | 363 (1.35) | 1.79 | 0.33 |
| 1.95±1.41 | 95 (0.55) | 508 (1.89) | 2.44 | 0.29 |
| | 42 (0.24) | 260 (0.97) | 1.21 | 0.25 |
| | 93 (0.53) | 286 (1.06) | 1.59 | 0.50 |
| 1.22±1.61 | 67 (0.38) | 270 (1.00) | 1.38 | 0.38 |
| 0 | 14±6.6 (0.08) | 49±32.2(0.18) | 0.26 | 0.44 |

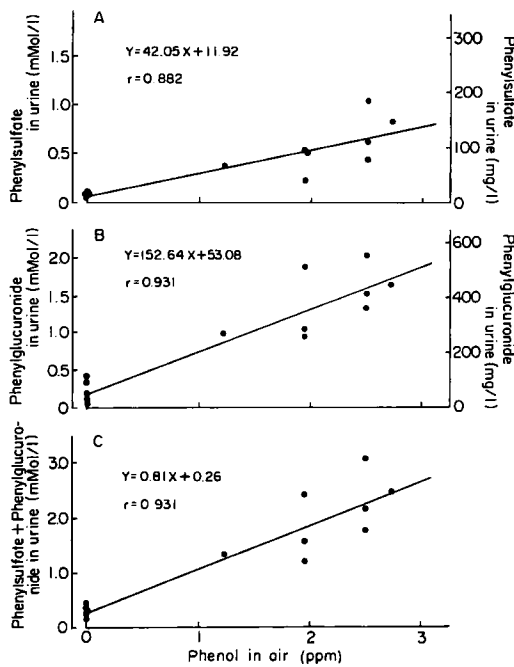


Fig. 2. Urinary excretion of phenylsulfate and phenylglucuronide from men exposed to phenol in air at various concentration
 A: phenylsulfate, B: phenylglucuronide, C: phenylsulfate+phenylglucuronide

試料尿の分析：日立高速液体クロマトグラフ (635型), カラム：4.0mmφ×150mm, 充填剤：Nucleosil 5 C₁₈ (Machery Nagel), 検出器

：UV 254 nm, 移動相：phenylglucuronide(PhG) 分析用に0.05 M tetra-n-butylammonium bromide(TBAB) 含有 MeOH/H₂O/AcOH(20/80/0.2) phenylsulfate(Phs) 分析用に0.05 M TBAB 含有 MeOH/H₂O/AcOH(50/50/0.2), 流量：1.0 ml/min, 圧力：200 kg/cm²

実験結果

化学繊維の phenol による強化後の工程は密閉式になっているが完全ではなく数 cm のすき間が数箇所であり, phenol 蒸気の漏れを生じている。気中濃度は 1~3 ppm であった。phenol 暴露作業者の尿中代謝産物 PhG と PhS の HPLC による分析のクロマトグラムを, Fig 1 に示す。Fig 1 の 1-a, 2-a に標品のピーク, 1-b, 2-b に正常尿, 1-c, 2-c に phenol 暴露作業者のクロマトグラムを示す。Table 1 に各種 phenol 濃度の作業環境下における作業者 8 名および非暴露者の尿中 PhG, PhS 濃度を示した。PhS/PhG のモル比は 0.25~0.51 であり, 若干個人差によると推定されるバラツキを示した。各尿は 1.024 に比重補正した。Fig 2 に作業環境における phenol 濃度と作業者の尿中代謝産物濃度との関係のグラフを示した。相関係数は PhG で $r=0.931$, PhS で $r=0.882$, 総 phenol(PhG+PhS) では $r=0.931$ を示した。phenol の許容濃度は 5

ppm であるので、それに相当する値は外挿法では PhG で 3.03 mMol/l, PhS で 1.28 mMol/l, 総 phenol (PhG+PhS) で 4.31 mMol/l であるが今後 5 ppm 付近の尿の分析を行なって確定したいと考えている。

考 察

ヒトでは phenol が暴露された場合、その大部分は尿中に排泄される。気中 phenol 濃度と尿中 phenol 排出濃度との間に直線的な比例関係が存在することから代謝産物より吸収量の推定が可能である。

本実験では、HPLC を用いることによりヒトの尿中 phenol 代謝産物である PhG, PhS を直接分析することができた。しかし暴露尿中 PhG, PhS 濃度の比にバラツキが見られたため、個人差の影響が大きいと思われた。そのため phenol 暴露尿から作業環境気中濃度を推定するためには、PhG または PhS 濃度の分析結果だけでなく、両者の和についても比較検討する必要があると思われた。

本実験結果に比較して池田らが発色法で行なった値は PhS では同様であったが PhG ではやや高い値を示していた。

気中濃度に対する尿中 PhG, PhS および総 phenol (PhG+PhS) 濃度においては、比較的高い相関が得られたため作業現場におけるモニタリングは可能であることが指摘された。

結 論

化学繊維の加工作業者の phenol 暴露尿中代謝産物 PhG, PhS を高速液体クロマトグラフを用いて分析した結果、以下の成績を得た。

1. phenol の許容濃度 5 ppm 以下の暴露においても尿中代謝産物 PhG, PhS の高速液体クロマトグラフによる分析は可能であった。
2. 代謝産物 PhG と PhS の比率においては一定でなく個人差があると思われた。
3. 代謝産物 PhG, PhS および PhG+PhS による回帰直線から気中 phenol 暴露濃度の推定が可能である。

本稿を終るにさいし、岡山大学医学部公衆衛生学教室緒方正名教授に、ご懇切ご丁寧なご指導をいただきましたことに深謝いたします。

また、気中濃度の測定および試料提供にご援助を賜りました中央労働災害防止協会近畿センター河合俊夫氏に感謝いたします。

文 献

1. Ogata, M. and Yamasaki, Y.: High performance liquid chromatography for the quantitative determination of urinary phenylsulfate and phenylglucuronide as indices of benzene and phenol exposure in rats. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 44, 177—184, 1979.
2. 山崎吉郎: Phenol 経口投与ラット尿中における Phenylsulfate と Phenylglucuronide の排泄について。岡山医学会雑誌, 93, 845—849, 1981.
3. Ohtsuji, H. and Ikeda, M.: Quantitative relationship between atmospheric phenol vapour and phenol in the urine of workers in Bakelite factories. *Br. J. Ind. Med.* 29, 70—73, 1972.
4. Gibbs, H.D.: Phenol tests. The indophenol test. *J. Biol. Chem.* 72, 649—664, 1927.

**Quantitation of urinary metabolites of workers exposed
to phenol by high performance liquid chromatography**

Yoshio YAMASAKI

Department of Public Health, Okayama University Medical School, Okayama Japan

(Director: Prof. M. Ogata)

The metabolites phenylglucuronide (PhG) and phenylsulfate (PhS) in urine samples collected from male, chemical fiber factory workers were analysed by high performance liquid chromatography (HPLC). Even when the phenol concentration was below the threshold limit value of 5 ppm, phenol metabolites could be analyzed by HPLC. The PhS/PhG ratio was not constant, probably because work conditions varied among individuals. The concentration of atmospheric phenol could be estimated from the regression equations using the PhG, PhS and total phenol (PhG+PhS) levels in urine.