

キャピラリー電気泳動法による有機溶剤作業者の尿中馬尿酸，マンデル酸，クレアチニンの定量

藤井俊子*1 河辺聡子*1

要 約

産業保健分野でのキャピラリー電気泳動法（HPCE）の実用化を検討するために，HPCEにより，トルエンの尿中代謝産物である馬尿酸（HA）濃度と，スチレンの尿中代謝産物であるマンデル酸（MA）濃度をいずれも尿中常在成分のクレアチニン濃度と同時に測定した。

トルエン作業員56人およびスチレン作業員13人の健康診断時に採取した尿を試料として，トルエン作業員については尿中HAとクレアチニン濃度を，スチレン作業員については尿中MAとクレアチニンの濃度をHPCEにより測定した。

尿中代謝産物濃度は，泳動溶液として15mMの β -シクロデキストリンを添加した20mM四ホウ酸ナトリウム緩衝液（pH9.65）を用い，15kVの印加電圧と50～55 μ Aの印加電流で泳動し，波長200および225nmにおける紫外吸収を測定して求めた。

このシクロデキストリン動電クロマトグラフ法（CDEKC）による尿中クレアチニン，HA，MA濃度の測定値は，高速液体クロマトグラフ法（HPLC）による値と良く一致した。また，クレアチニン濃度についてはFolin法による値ともよく一致した。

緒 言

芳香族有機溶剤に暴露されている作業員に対して，有機溶剤中毒予防規則では特殊健康診断の項目としてトルエン作業員には尿中馬尿酸（Hippuric acid, HA）の測定，スチレン作業員には尿中マンデル酸（Mandelic acid, MA）を測定することを定めている。これまでの研究成果¹⁻³⁾から芳香族有機溶剤の暴露量とこれらの尿中代謝産物濃度が良い相関を示すことが認められているが，尿中代謝産物量を尿中クレアチニン量で補正することがElkins⁴⁾やLauwerys⁵⁾によって提唱され，この補正は特に濃い尿や薄い尿に適用できると考えられている。したがって，生物学的暴露指標（Biological Exposure Indices, BEI）では，トルエン暴露の場合はHAの尿中濃度をクレアチニン補正值（HA g/g creatinine）で，スチレン暴露の場合はMAの尿中濃度をクレアチニン補正值（MA g/g creatinine）で表している⁶⁾。

尿中代謝産物濃度の同時測定法としては，高速液体クロマトグラフ法（High-performance Liquid

Chromatography, HPLC）が正確で信頼度の高い結果が得られているという理由で広く用いられている^{2,3,7,8)}。しかし，HPLCは移動相として多量の有機溶剤を要し，それが多量に排出されることが環境汚染の一因となること，また，分析時間が長くなることなども実用面で問題視されている。一方，ガスクロマトグラフ法（Gas Chromatography, GC）も芳香族有機溶剤代謝産物の定量によく用いられている^{9,10)}が，試料の前処理などが煩雑である。

近年，キャピラリー電気泳動法（High-performance Capillary Electrophoresis, HPCE）がさまざまな分野で強力な分析技術として発展してきている¹¹⁾。しかしながら，芳香族有機溶剤作業員の尿中代謝産物の測定については，泳動溶液に界面活性剤を添加して分析するミセル動電クロマトグラフ法（MEKC）を用いて尿中HAとメチル馬尿酸（Methylhippuric acid, MHA）を測定する方法¹²⁾，スチレンの代謝産物であるMAとフェニルグリオキシル酸（Phenylglyoxylic acid, PGA）の測定法¹³⁾がみられる程度である。そこで，著者らはシクロデキストリン動電クロマトグラフ法（CDEKC）を用いたHA, *o*-, *m*-, *p*-MHA,

*1 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科
（連絡先）藤井俊子 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学

MA, 尿中クレアチニンの同時分析法を開発し, その方法を用いてトルエンとキシレンの混合溶剤作業員40名の尿中 HA とクレアチニン濃度を測定し, HPCE による HA 測定濃度と HPLC による値が良好な相関を示すことを認め, HPCE が産業保健の分野において活用できる可能性について報告した¹⁴⁾.

今回は, トルエン作業員56名とスチレン作業員13名の尿中 HA, MA およびクレアチニンを CDEKC を用いて測定し, それらの成績を HPLC による成績と比較検討し, クレアチニンについては Folin 法¹⁵⁾による成績とも比較し, いずれも高い相関があることを認めたのでここに報告する.

実験方法

1. 試薬および調製法

(1) 試薬

HA, MA, *o*-, *m*-, *p*-MHA および 1-デカンスルホン酸ナトリウムは東京化成工業株式会社製を, クレアチニン, 塩化ナトリウム, 蒸留水 (HPLC 用), 0.1 mol/L および 1 mol/L 水酸化ナトリウム, アセトニトリル (HPLC 用), リン酸 (試薬特級) およびピクリン酸はナカライテスク株式会社製を, 尿酸, 四ほう酸ナトリウム (試薬特級), β -シクロデキストリン (β -CD, 試薬一級), リン酸二水素カリウム (試薬特級), メタノール (HPLC 用) および有機溶剤代謝産物混合標準溶液 (HA, *o*-, *m*-, *p*-MHA, MA, クレアチニン混合, 各1mg/L, 20vol%メタノール溶液) は和光純薬工業株式会社製を用いた.

(2) 標準溶液

HPCE 用: HA, *o*-MHA, *m*-MHA, *p*-MHA, MA, クレアチニンの標準原液1,000mg/Lを個別に調製した. 尿酸の標準原液は, 168mg/Lとした. 溶媒は50mM塩化ナトリウム溶液を用いた. 標準溶液は, 分析時に標準原液から各濃度別に希釈し, 0.2 μ mのメンブランフィルター (DISMIC-25, 東洋濾紙株式会社製) を用いて濾過し, 超音波洗浄器で10分間脱気後分析に供した.

HPLC 用: HA, *o*-MHA, *m*-MHA, *p*-MHA, MA, クレアチニンを50%メタノールに溶解し1,000mg/L標準原液を個別に調製した. 標準溶液は, 分析時に標準原液から濃度別に HPCE 同様に希釈し濾過, 脱気後分析に供した.

(3) HPCE 用泳動溶液

CDEKC 用には, 20mM 四ほう酸ナトリウム溶液に β -CDを15mMになるように添加したものを用いた. すなわち, 四ほう酸ナトリウム0.763gを蒸留水に溶解後100mLに定容し (通常 pH9.65), β -CDを1.7025g混和し, 超音波洗浄器を用いて30分間脱気

して泳動溶液とした.

(4) HPLC 用移動相

りん酸二水素カリウム2.314gを蒸留水850mLに溶解し, リン酸85 μ Lを加えて pH3.3に調整し, 1-デカンスルホン酸ナトリウム1.038g混和した緩衝液850mLにアセトニトリル150mLを加えてよく混合したものを移動相とした.

2. 試料および試料調製法

(1) 試料

岡山県内の芳香族有機溶剤作業場 A, B において, 従業員の健康診断時に採取した尿を試料とした.

A: トルエンを使用しているビール缶印刷工場, 男性56名 (25歳~54歳).

B: スチレンを使用している合成樹脂加工場, 男性8名 (22歳~57歳), 女性5名 (29~57歳) の計13名.

(2) 試料調製法

HPCE 用: 試料を蒸留水で10倍に希釈したものを遠心分離 (1,680 \times g, 5 $^{\circ}$ C, 10分間) し, 上清を濾過, 脱気した.

HPLC 用: 試料を50%メタノールで100倍に希釈したものを遠心分離 (1,680 \times g, 5 $^{\circ}$ C, 10分間) し, 上清を濾過, 脱気した.

3. 分析装置および測定条件

HPCE 装置: 大塚電子株式会社製マルチチャンネルキャピラリー電気泳動装置 (CAPI-3001), フォトダイオードアレイ検出器 (512ch) 付きを用いた. 測定条件: キャピラリー (熔融シリカ製, ポリイミドで被覆), 内径75 μ m \times 長さ50cm, 検出器までの長さ37.5cm; 光源, 25W 重水素ランプ; 測定波長, 200nm, 225nm; カラム温度, 25 $^{\circ}$ C; 印加電圧, 15kV; 試料注入量, 15mm \times 30sec (注入量約10nL).

HPLC 装置: 島津製作所製ワークステーション (CLASS-LC/M10A); フォトダイオードアレイ紫外可視検出器, SPD-10; 送液ユニット, LC-9A; 脱気装置, DGU-14; カラムオーブン, CTO-10A; システムコントローラー, SCL-6B; オートインジェクター, SIL-6Bを用いた. 測定条件: カラム, ODS-80TM (内径4.6mm \times 長さ150mm); 測定波長, 200nm, 225nm; 流速, 0.7mL/min; 注入量, 20 μ L.

4. 尿中クレアチニン分析法

Jaffe 反応を利用した Folin 法によって分析した. すなわち, 3本の試験管に, 100倍に希釈した尿, クレアチニン標準液, 蒸留水 3 mL をそれぞれ採取し,

1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液とピクリン酸を各 1 mL 加え、室温で 30 分間放置後 520 nm の吸光度を測定し、試料、標準液の値から対照値を差し引いてクレアチニン濃度を計算した。

結果および考察

1. 作業員尿の HPCE

図 1 (a) にトルエン暴露を受けていないブランク尿、(b) にトルエン作業員尿の HPCE フェログラムを示す。

ブランク尿、作業員尿のいずれにおいてもクレアチニンが 3.2 分、HA が 5.1 分、尿酸が 6.0 分に泳動している。これまでの HPCE による尿中 HA の測定についてみると、Lee ら¹²⁾ は HA の泳動に 8 分以上要することを報告している。これらの報告では尿の常在成分であるクレアチニンや尿酸を分析していない。したがって、クレアチニン、HA、尿酸の尿中常在成分を同時に分析できる本 HPCE は、トルエン作業員尿の分析が短時間にできる点でまず評価できる。

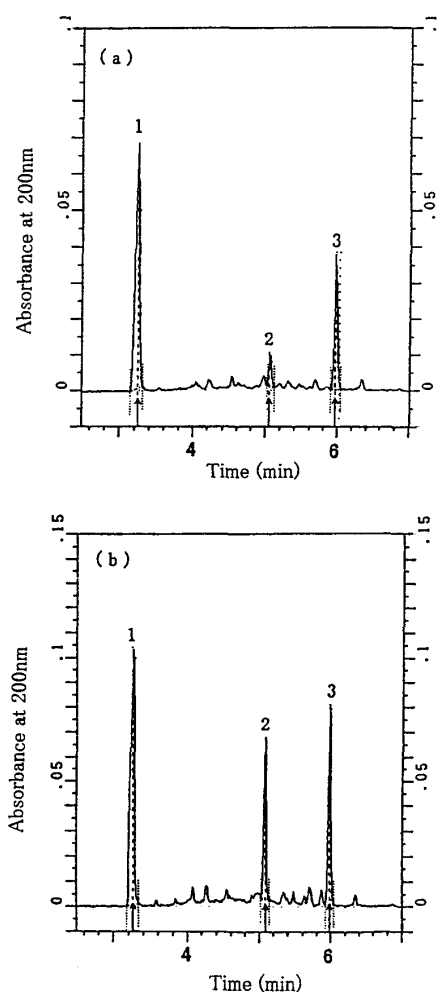


図 1 High-performance capillary electropherograms of creatinine, hippuric acid and uric acid in the diluted urine samples of (a) an unexposed subject and (b) a worker exposed to toluene vapors. Peak 1; creatinine; 2, hippuric acid; 3, uric acid.

スチレン取り扱い作業員尿の HPCE フェログラムと各ピークの紫外外部吸収曲線を図 2 に示す。スチレンの尿中代謝産物である PGA, HA, MA のピークと常在成分のクレアチニン、尿酸のピークが認められた。これまでの HPCE による尿中 PGA と MA の同時分析法についての Simon らの報告¹³⁾ では、PGA の泳動に 15 分、MA の泳動に 22 分を要するのに対し、本 HPCE 法ではより短時間分析ができ、かつ、クレアチニンや尿酸の同時分析が可能である利点が認められる。

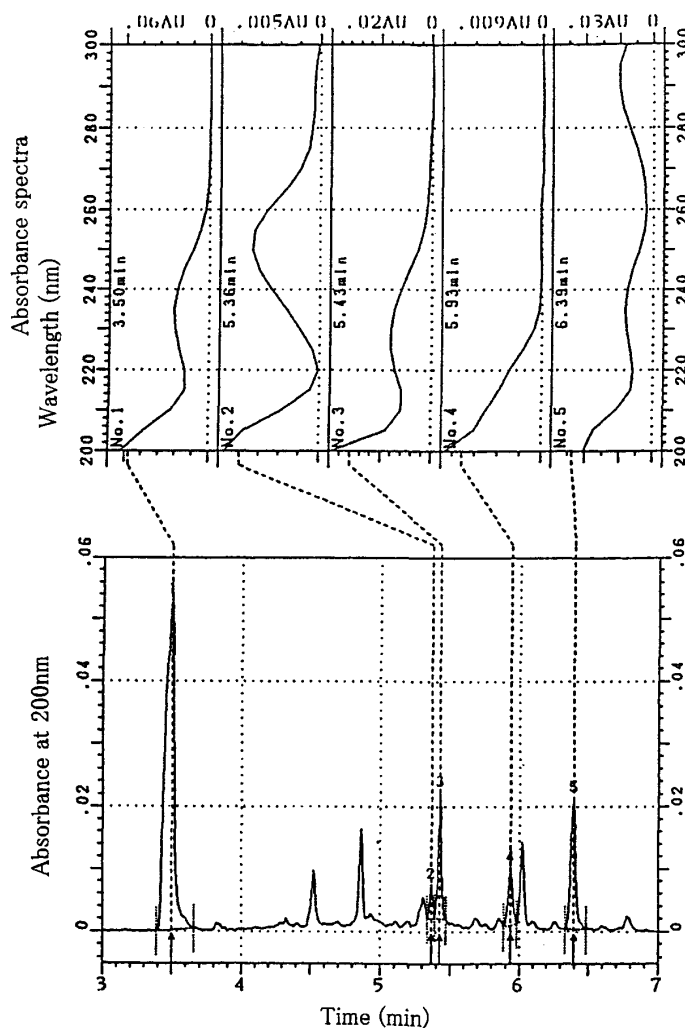


図 2 High-performance capillary electropherogram and absorbance spectra of creatinine, phenylglyoxylic acid, hippuric acid, mandelic acid and uric acid in the urine specimen of a subject exposed to styrene vapors. Buffer: 20 mM sodium tetra borate with 15 mM β -cyclodextrin. Peak 1, creatinine; 2, phenylglyoxylic acid; 3, hippuric acid; 4, mandelic acid; 5, uric acid.

2. 尿中代謝産物濃度の測定

トルエン作業員の健康診断に際し、有機溶剤中毒予防規則により尿中クレアチニンと HA の定量が必要となる。そこで、尿中クレアチニン濃度と HA 濃度について HPCE で試料尿 56 検体を測定した。なお、

HPCE と同時に尿中クレアチニンについて HPLC と Folin 法による測定を、尿中 HA は HPLC でも測定した。その結果、尿中クレアチニン濃度は 0.46 ~ 2.86 (g/L) の範囲にあり、平均濃度は 1.48 ± 0.61 (g/L) であった。この値は HPLC や Folin 法による測定値とほぼ同じ値であり、測定法別の有意の差異は認められなかった ($p \leq 0.001$)。尿中 HA の濃度は 0.03 ~ 3.28 (g/g クレアチニン) の範囲にあり、平均濃度は 0.39 ± 0.50 (g/g クレアチニン) で、HPCE と HPLC による測定値には、有意の差異は認められなかった ($p \leq 0.001$)。なお、HA の BEI は 2.5 (g/g クレアチニン) であるが、この値を上回るのはトルエン作業員 56 人中に 1 人であった。

スチレン作業員の健康診断に際し、有機溶剤中毒予防規則により尿中クレアチニンと MA の定量が必要である。そこで、試料尿 13 検体について尿中クレアチニンと MA 濃度を測定した。尿中クレアチニン濃度は 0.11 ~ 1.17 (g/g クレアチニン) の範囲にあり、トルエン作業員に比して低かったが、これは被験者の約 40% が女性であることによるためと推察された。尿中 MA の平均濃度は、HPCE で 0.42 ± 0.29 (g/g クレアチニン)、HPLC では 0.42 ± 0.30 (g/g クレアチニン) で、平均 MA 濃度に測定法別の有意の差異は認められなかった ($p \leq 0.01$)。なお、MA の BEI は 0.8 (g/g クレアチニン) であるが、この値を上回るのはスチレン作業員 13 人中に 1 人であった。

3. 尿中クレアチニン、HA および MA の測定法の検討

尿中クレアチニン、HA および MA の本 HPCE による測定法の信頼性を検討するために、HPCE による測定値と HPLC または Folin 法による測定値との関係を調べた。

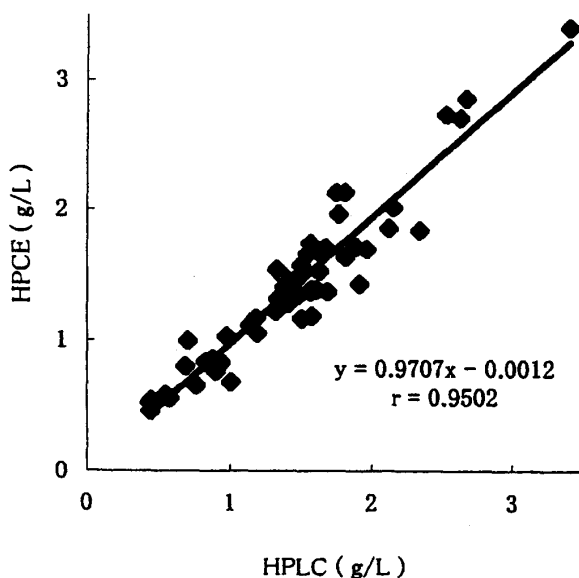


図 3 Correlation between urinary creatinine concentrations determined by HPCE and HPLC.

尿中クレアチニン：図 3 は、y 軸に HPCE によるトルエン作業員の尿中クレアチニン濃度の測定値 (g/L) を、x 軸に HPLC による測定値を示したものである。回帰直線は $y = 0.9707x - 0.0012$ 、相関係数は $r = 0.9502$ であった。したがって、尿中クレアチニン濃度は HPCE による測定値と HPLC による値との相関がきわめて高いことが認められた。図 4 は、y 軸に (a) HPCE による測定値 (g/L) を、(b) HPLC による測定値 (g/L) を、x 軸に (a), (b) いずれも Folin 法による測定値を示した。図 4 においても (a) (b) いずれの回帰直線も傾斜が 1.0 に近似しており、相関係数もきわめて高かった。

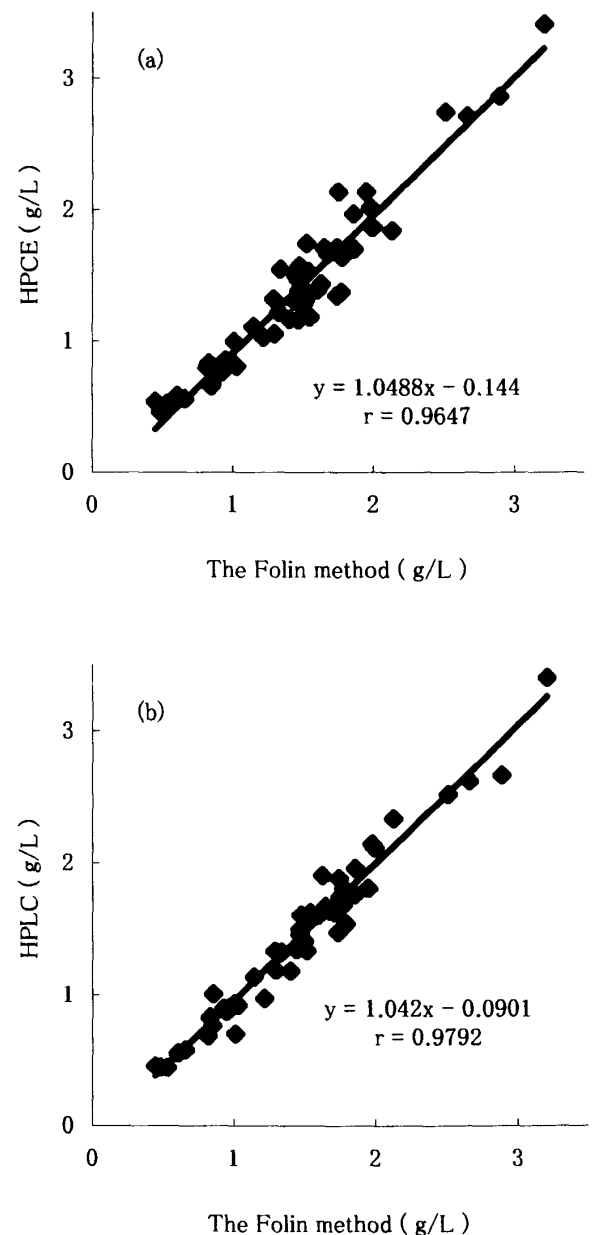


図 4 Correlation between urinary creatinine concentrations determined by the Folin method and HPCE (a) or HPLC (b).

尿中クレアチニンの HPCE による測定法として、中空キャピラリー電気泳動法 (CZE) を用いるもの¹⁶⁾、ミセル動電クロマトグラフ法 (MEKC) を用いるもの^{17,18)}、電気化学検出器を用いるもの¹⁹⁾、

などが報告されている。このうち、測定法別の検討をしたものは1例¹⁶⁾で、CZEとTECHNICON SMA II CREATININE METHODとの回帰直線が $y=1.052x-0.003$ 、相関係数は $r=0.9834$ であった。電気化学検出器による分析では尿の分析時間に120分を、クレアチニンの泳動に90分を要するなど実用向きではない。また、泳動溶液にドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を添加するMEKCモードでは、尿酸が泳動し終わるのに15分¹⁷⁾および20分以上¹⁸⁾を要している。そこで、筆者らはMEKCモードでクレアチニンとHAの分析を行なったところ、SDS無添加の泳動溶液を用いる本HPCEに比してMEKCではクレアチニンの泳動時間に変化がなく、むしろHAの泳動時間が長くなる結果²⁰⁾を得た。したがって、本HPCEによる尿中クレアチニンの測定は、芳香族有機溶剤中毒予防のための尿中クレアチニン定

量法として優れていることを確認できた。

尿中HA: 図5(a)は、トルエン作業者の尿中HAの実測濃度(g/L)について、図5(b)は尿中HA濃度をクレアチニン補正值(g/gクレアチニン)で、それぞれy軸にHPCEによる測定値、x軸にHPLCによる測定値を示した。これらの回帰直線の傾斜はいずれも1.0に近似しており、相関係数も高かった。この図から、本HPCEによる尿中HA濃度は信頼できることが認められた。尿中HAのHPCEによる測定法として、Shiraoら²¹⁾は尿中の有機酸のうち蔞酸、蟻酸、コハク酸、クエン酸、ピルビン酸、乳酸およびHA等がCZEで検出できたと報告している。ただし、HAの泳動に12分以上を要し、かつ、尿酸については検討していない。Leeら¹²⁾は尿中HAのスクリーニングにMEKCが活用できると報告しているが、分析時間は本法の2倍以上を要して

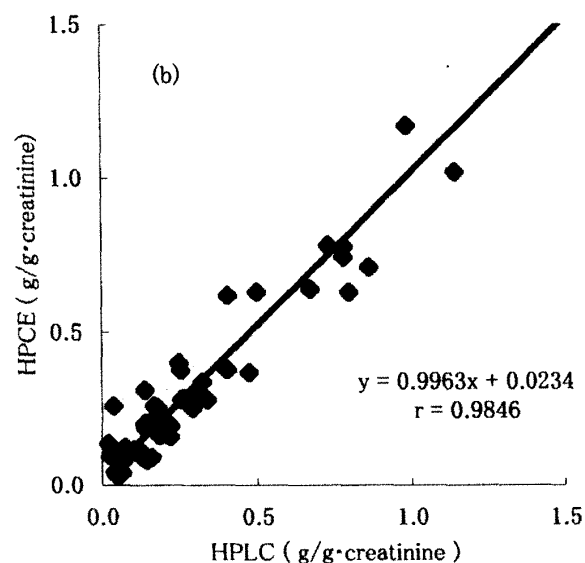
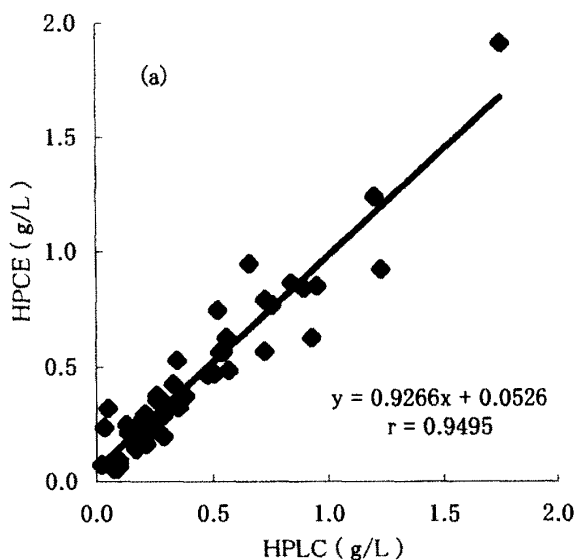


図5 Correlation between urinary hippuric acid concentrations determined by HPLC and HPCE.
(a) Actual concentration (g/L),
(b) Concentration corrected for creatinine (g/g-creatinine).

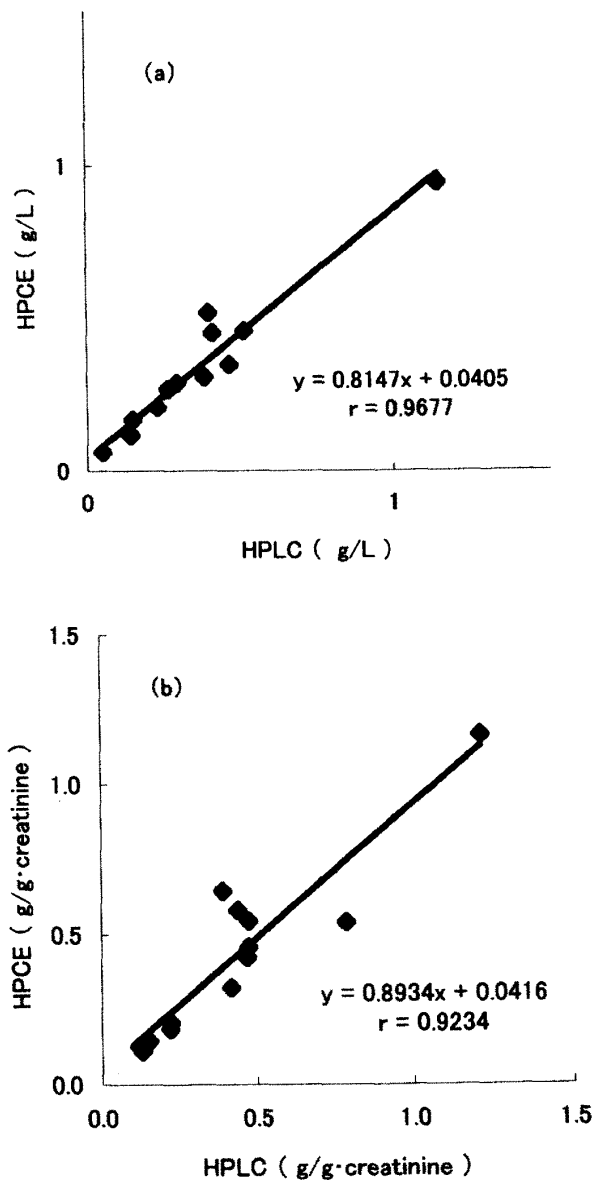


図6 Correlation between urinary mandelic acid concentrations determined by HPLC and HPCE.
(a) Actual concentration (g/L).
(b) Concentration corrected for creatinine (g/g-creatinine).

いる。したがって、本 HPCE は芳香族有機溶剤中毒予防のための尿中 HA 測定法としても、また、尿中 HA のスクリーニングとしても優れていると思われる。

尿中 MA：図 6 (a) はスチレン作業者の尿中 MA の実測濃度 (g/L) について、(b) は同クレアチニン補正值 (g/g クレアチニン) について、y 軸に HPCE による測定値、x 軸に HPLC による測定値を示した。回帰直線の傾斜は (a) は 0.81 と (b) は 0.89 であり、相関係数も高かった。しかし、今後例数をあげて検討する必要があると思われ、今後の課題である。

ま と め

トルエン作業者 56 人とスチレン作業者 13 人の健康診断時に採取した尿を試料として 20mM 四ほう酸ナトリウム溶液 (15mM β -シクロデキストリン添加) を泳動溶液とするキャピラリー電気泳動を行なった。トルエン作業者の尿のフェログラムにはクレアチニン、馬尿酸、尿酸のピークが、スチレン作業者の尿にはクレアチニン、フェニルグリオキシル酸、馬尿酸、マンデル酸、尿酸のピークが認められた。これらの尿中代謝産物のうち、①トルエン作業者尿のクレアチニンと馬尿酸、②スチレン作業者尿のクレアチニンとマンデル酸の濃度を HPCE により測定した。同時にクレアチニン、馬尿酸、マンデル酸

の濃度について高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) による測定を行い、クレアチニンについてはさらに Folin 法による濃度の測定も行なった。

各尿中代謝産物濃度について測定法別に相関関係を調べた結果、

1. トルエン作業者尿では、クレアチニン濃度の HPCE と HPLC との測定値間に、および、HPCE または HPLC と Folin 法との測定値間に強い正相関が認められた。馬尿酸濃度の測定値は HPCE と HPLC との測定値間に、実測濃度、クレアチニン補正濃度ともに強い正相関が認められた。
2. スチレン作業者尿では、マンデル酸は実測濃度とクレアチニン補正濃度ともに HPCE と HPLC の測定値間に正相関が認められたが、今後例数をあげて検討する必要がある。

以上の成績から、本 HPCE による尿中馬尿酸およびクレアチニン濃度は信頼できることが認められ、HPCE が産業保健の分野でも活用できる可能性が示された。

本研究は平成 11 年度の川崎医療福祉大学のプロジェクト研究費の助成を受けました。また、本研究に際し、貴重な試料を提供して下さった淳風会旭丘病院の堀家徳士先生に感謝します。

文 献

- 1) Veulemans H, Van Vlem E, Janssens H and Masschelein R (1979) Exposure to toluene and urinary hippuric acid excretion in a group of heliorotagravure printing workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **44**, 99-107.
- 2) Ogata M and Taguchi T (1986) Quantitative analysis of urinary glycine conjugates by high performance liquid chromatography: excretion of hippuric acid and methylhippuric acids in the urine of subjects exposed to vapours of toluene and xylenes. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **58**, 121-129.
- 3) Ogata M and Taguchi T (1988) Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, methylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **61**, 131-140.
- 4) Elkins HB, Pagnotto LD and Smith HL (1974) Concentration adjustment in urinalysis. *American Industrial Hygiene Association Journal*, **35**(3), 559-225.
- 5) Lauwerys R (1983) Benzene. In Alessio L, Berlin A, Boni RA eds, *Human Biological Monitoring of Industrial Chemicals*, Commission of the European Communities, Luxembourg, pp5-22.
- 6) ACGIH 編 緒方正名訳 (1989) 生物学的暴露指標. 産業医学振興財団, 東京, pp22-26.
- 7) Chua SC, Lee BL, Liao LS and Ong CN (1993) Determination of mandelic acid and phenylglyoxylic acid in the urine and its use in monitoring of styrene exposure. *Journal of Analytical Toxicology*, **17**(3), 129-132.
- 8) Inoue O, Seiji K, Kawai T, Watanabe T, Jin C, Cai SX, Chen Z, Qu QS, Zhang T and Ikeda M (1993) Excretion of methylhippuric acids in urine of workers exposed to a xylene mixture: comparison among three xylene isomers and toluene. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **64**(7), 533-

539.

- 9) Kataoka H, Manabe S, Nakase S and Makita M (1991) Determination of hippuric acid and o-, m- and p-methylhippuric acids in urine by capillary gas chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **9**(9), 699–704.
- 10) Carvalho DD, Lanchote VL, Bonato PS, Queiroz RHC, Santos AC and Dreossi AC(1993) A new derivatization procedure for the analysis of hippuric acid and m-methyl-hippuric acid by gas chromatography. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **63**(1), 33–37.
- 11) Li SFY (1993) Capillary Electrophoresis, Principles, Practice and Applications. *Journal of Chromatography Library*-vol.52, Elsevier, Amsterdam, pp1–30.
- 12) Lee KJ, Lee JJ and DC Moon (1994) Application of micellar electrokinetic capillary chromatography for monitoring of hippuric and methylhippuric acid in human urine. *Electrophoresis*, **15**(1), 98–102.
- 13) Simon P and Nicot T (1996) Capillary electrophoresis and supercritical chromatography, complementary and alternative techniques for determination of urinary metabolites of styrene. *Journal of Chromatography B*, **679**, 103–112.
- 14) Fujii T, Kawabe S, Horike T, Taguchi T and Ogata M (1999) Simultaneous determination of the urinary metabolites of toluene, xylene and styrene using high-performance capillary electrophoresis Comparison with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, **730**, 41–47.
- 15) 林 淳三 (1989) 生化学実験. 第3版, 建帛社, 東京, pp133–135.
- 16) Xu X, Kok WT, Kraak JC and Poppe H (1994) Simultaneous determination of urinary creatinine, calcium and other inorganic cations by capillary zone electrophoresis with indirect ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*, **661**, 35–45.
- 17) Shirao MK, Suzuki S, Kobayashi J, Nakazawa H and Motizuki E (1997) Analysis of creatinine, vanilmandelic acid and uric acid in urine by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography B*, **693**, 463–467.
- 18) Miyake M, Shibukawa A and Nakagawa T (1991) Simultaneous determination of creatinine and uric acid in human plasma and urine by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*, **14**(3), 181–185.
- 19) Hong J and Baldwin RP (1997) Profiling clinically important metabolites in human urine by capillary electrophoresis and electrochemical detection. *Journal of Capillary Electrophoresis*, **4**(2), 65–71.
- 20) 河辺聡子 (2000) 食品および生体試料中の微量成分の定量法に関する研究. 平成12年度川崎医療福祉大学大学院医療技術学研究科臨床栄養学専攻修士論文, p25.
- 21) Shirao M, Furuta R, Suzuki S, Nakazawa H, Fujita S and Maruyama T (1994) Determination of organic acids in urine by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, **680**, 247–251.

(平成12年5月24日受理)

Quantitative Analysis of Creatinine and the Metabolites of Toluene and Styrene by High-Performance Capillary Electrophoresis

Toshiko FUJII and Satoko KAWABE

(Accepted May 24, 2000)

Key words : OCCUPATIONAL EXPOSURE, URINARY HIPPURIC ACID, URINARY MANDELIC ACID, URINARY CREATININE, HIGH-PERFORMANCE CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Abstract

The aim of this study was to assess the possibility of using high-performance capillary electrophoresis (HPCE) to determine the urinary metabolites of toluene and styrene in the field of occupational hygiene, while at the same time determining the endogenous urinary metabolite, creatinine.

HPCE was used to determine creatinine and hippuric acid in the urine specimens of 56 subjects exposed to toluene vapors, and urinary creatinine and mandelic acid of 13 subjects exposed to styrene vapors.

The compounds were well separated from each other on a fused silica capillary utilizing a 20mM sodium tetraborate buffer (pH 9.65) with 15mM β -cyclodextrin. Separation was achieved with a constant voltage of 15kV with a current of 50-55 μ A and UV absorption was determined at 200 and 225nm.

Results obtained with the cyclodextrin electrokinetic chromatography (CDEKC) method showed a good correlation with those by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method with respect to urinary concentrations of creatinine, hippuric acid and mandelic acid. Furthermore, urinary creatinine concentrations determined by CDEKC correlated well with those determined by the Folin method.

Correspondence to : Toshiko FUJII

Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medical Professions
Kawasaki University of Medical Welfare
Kurashiki, 701-0193, Japan
(Kawasaki Journal of Medical Welfare Vol.10, No.1, 2000 147-154)