

報 文

重力滴下-蒸発法によるホルムアルデヒド標準ガス発生法の開発と
呼気ホルムアルデヒド分析への応用上 田 実¹, 手嶋 紀雄^{®1}, 酒井 忠雄¹

新規な重力滴下-蒸発法を用いるホルムアルデヒド (HCHO) 標準ガスの発生法を開発した。シリンジにキャピラリーチューブを固定し、そのシリンジ内に HCHO 標準溶液を入れる。これを垂直に保持することで重力により標準溶液をキャピラリーを通して 39.5 nL/min の速度で滴下する。滴下部は 40℃ に加温されるので、標準溶液が完全気化し、HCHO 標準ガスが発生する。この標準ガス発生法により、HCHO の拡散スクラバー捕集-フローインジェクション (FI) 蛍光分析システムの濃度校正を行うことが可能であり、HCHO 3.68~147 ppbv の濃度範囲で良好な検量線を得た。HCHO は 5,5-ジメチルシクロヘキサン-1,3-ジオンを用いて蛍光誘導体化して検出した (励起波長 395 nm, 蛍光波長 463 nm)。1 時間当たり 20 試料の HCHO を計測することが可能である。本システムを呼気 HCHO 分析に応用したところ、4 名のボランティアから 5.8~11.8 ppbv の HCHO を検出した。また、喫煙習慣のあるもう 1 人のボランティアでは、喫煙により HCHO 濃度の上昇が確認された。

1 緒 言

ガスを分析対象とする分析機器の校正には、一般に標準ガスが必要である。しかし、市販の標準ガスは非常に高価であり、長期間保存すると濃度に変化してしまう問題がある。また、目的の濃度までガスを希釈するシステムが必要であり、操作が煩雑となる。このため、安価で簡便な標準ガス発生法が求められている。Hori ら¹⁾は、固体のパラホルムアルデヒドを用いるホルムアルデヒド (HCHO) ガス発生装置を開発した。また、オンサイトで校正可能な小型のガス発生装置も開発されている²⁾。

一般的に臨床化学分析においては血液試料を用いて疾病の診断や健康状態の把握が行われる。しかし、最近、痛みや苦痛を伴わない非侵襲的検査として、呼気分析が注目を集めている³⁾⁴⁾。生体内で生成された化学物質は、血液に溶け込み、肺胞を通して呼気に排出されるため、呼気には様々な化学物質が含まれている。代表的な呼気中の揮発性有機化合物 (VOCs) として、イソプレン (12~580 ppbv)、アセトン (1.2~1880 ppbv)、エタノール (13~1000 ppbv)、メタノール (160~2000 ppbv) などが挙げられる⁵⁾。これらの内、特定の疾病と関連する化学物質が存在する。例えば、糖尿病患者の呼気に含まれるアセトンの濃度は、健康者に比べて高いことが知られている⁶⁾。

呼気分析の手法として、ガスクロマトグラフィー/質量

分析法 (GC/MS)⁷⁾⁸⁾ が広く利用されている。Phillips ら⁹⁾ は、GC/MS を用いて 50 人の呼気を分析し、平均で約 200 種類の VOCs を検出した。そのほか、フーリエ変換赤外吸収法 (FT-IR)¹⁰⁾¹¹⁾、陽子移動反応質量分析法 (PTR-MS)¹²⁾¹³⁾ や selected ion flow tube-mass spectrometry (SIFT-MS)^{14)~16)} を利用した例も多く報告されている。これらの機器分析は多成分の VOCs の計測には適しているが、単独の呼気成分に着目する場合は、より簡便な装置が望ましい。呼気中に比較的高濃度に存在する成分の分析法として、サリチルアルデヒドを用いる呼気アセトン分析¹⁷⁾、液膜伝導率センサーを用いる呼気アンモニア分析¹⁸⁾、オゾンとの気相反応を用いる呼気イソプレン分析¹⁹⁾ が既に報告されている。また、化学発光を用いる呼気過酸化水素も測定されている²⁰⁾。しかし、呼気 HCHO を単独で計測する簡便な流れ分析法は報告されていない。

膀胱がん、前立腺がん患者から採取した尿のヘッドスペースから検出した HCHO の濃度は、健康者の濃度より高いことが報告されている²¹⁾。また、Wehinger ら²²⁾ は、PTR-MS を用いて呼気に含まれる HCHO が、肺がん診断に利用できる可能性を示唆した。したがって、呼気中の HCHO は、がんに対するバイオマーカーとして期待される。

Sakai ら²³⁾ は、5,5-ジメチルシクロヘキサン-1,3-ジオン (ジメドン) を用いた蛍光フローインジェクション (FI) システムを構築し、住環境中の HCHO ガスの定量を行った。しかし、ガスサンプルの捕集はインピンジャーを用い

¹ 愛知工業大学応用化学科: 470-0392 愛知県豊田市八草町八千草 1247

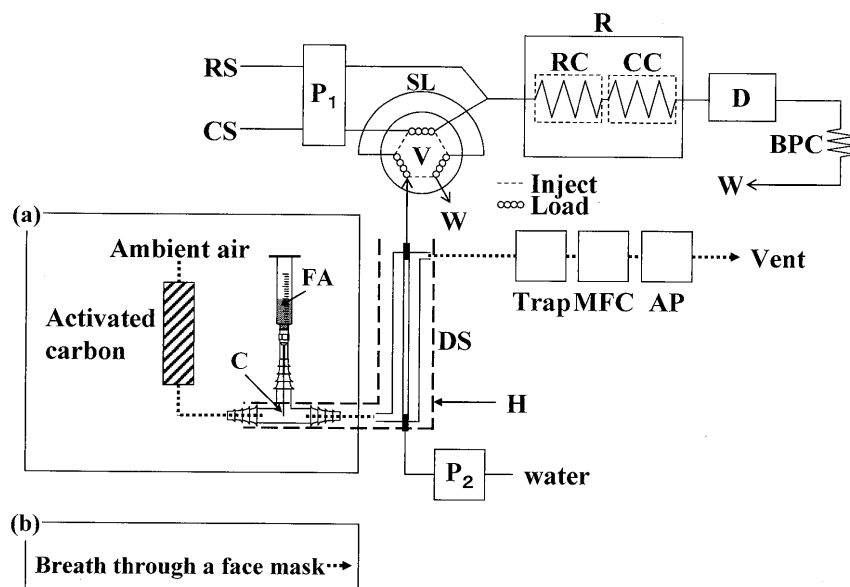


Fig. 1 Automated FIA system for gaseous formaldehyde

CS : Carrier solution (distilled water); RS : Reagent solution (0.3% dimedone in acetate buffer); P₁ : Double plunger pump (1.4 mL/min); V : Six way valve; SL : Sample loop (300 μ L); R : Reaction system; RC : Reaction coil (i.d. 0.5 mm $\times$ 7 m, 135 $^{\circ}$ C); CC : Cooling coil (i.d. 0.5 mm $\times$ 2 m); D : Fluorescence spectrophotometer (E_x : 395 nm, E_m : 463 nm); BPC : Back pressure coil (i.d. 0.25 mm $\times$ 2 m); W : Waste; FA : Formaldehyde solution; C : Capillary tube (i.d. 0.03 mm); MFC : Mass flow controller (0.4 SLPM); H : Heater (Broken line, 40 $^{\circ}$ C); P₂ : Peristaltic pump; DS : Diffusion scrubber; AP : Air pump; (a) instrument calibration; (b) breath analysis

たため、その操作はオフラインで行われた。

本研究では、新規な HCHO 標準ガス発生法を開発し、このガス発生法と拡散スクラバー (DS) を組み合わせて、HCHO をオンライン捕集する迅速・簡便な FI 蛍光分析システムを構築した。更に、この分析システムを呼気 HCHO の定量に応用したところ、良好な結果を得たので報告する。

2 実験

2.1 装置

本実験で用いた FIA システムを Fig. 1 に示す。ポンプ 1 (P₁) はエフ・アイ・エー機器製ダブルプランジャーポンプ (PD-2000) を使用した。ポンプ 2 (P₂) 及び六方インジェクションバルブ (V) は小川商会製前処理装置に搭載されたもので、それぞれ自動制御される。反応恒温槽 (R) は相馬光学製リアクションシステム (S-3850)²³⁾ を使用した。検出器 (D) は日本分光製蛍光検出器 (FP-2020 plus) を使用し、蛍光強度は日本ファイルコン製クロマトモニターを用いてパソコンに取り込んだ。溶液の流路には、バックプレッシャーコイルのみ内径 0.25 mm のテフロンチューブを使用し、その他の溶液の流路には、すべて内径 0.5 mm のテフロンチューブを使用した。サンプルガスの流路にはシリコンチューブ (内径 4 mm) を使用した。サン

プルガスは光明理化学工業製 S-21 エアサンプラー (AP) を使用して DS に導入した。この際、ガスの流量はコフロック製 8100MC-1 マスフローコントローラー (MFC) を用いて制御し、ガス流路の加熱にはフレキシブルリボンヒーター (H) (大科電器製, FHU-8) を使用した。

DS は、文献²⁴⁾と同様に、ポリテトラフルオロエチレン (PTFE) チューブ (内径 3 mm) に、多孔質 PTFE チューブ (住友電工ファインポリマー製、ポアフロム TB-0201, 内径 1 mm, 長さ 30 cm) を通した二重管型スクラバーを用いた。2つのチューブの間にサンプルガスを流し、多孔質 PTFE チューブ内に充填した水にサンプルガスを捕集濃縮した。

2.2 試薬

本実験では、すべて Advantec Aquarius GSH-200 を用いて精製した超純水を使用した。

HCHO 標準溶液：ホルムアルデヒド液 (ナカライテスク製) をヨウ素滴定により標定し、標定の結果をもとに 1% 標準溶液を調製した。この溶液を適宜希釈し、HCHO 標準溶液とした。

酢酸溶液：酢酸 (ナカライテスク製) 12.5 mL を水で 100 mL に希釈したものを 12.5% 酢酸溶液として用いた。

酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム (シグマア

Table 1 FIA protocol for measurement of gaseous formaldehyde

	Mode			
	Filling up DS with water	Collection of sample gas	Loading of sample into loop	Injection of sample to flow system and washing DS
V	Inject	Inject	Load	Inject
P ₂	on	off	on	on
Working time	30 s	1 min	30 s	1 min

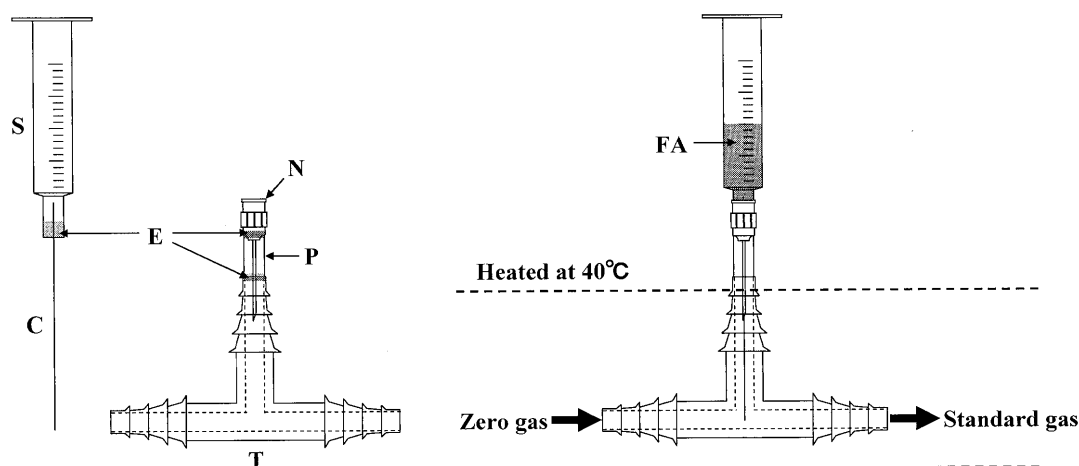
Abbreviations (DS, V and P₂) as in Fig. 1

Fig. 2 Schematic representation of the standard gas generation part

S: Syringe; C: Capillary tube (i.d. 0.03 mm); N: Needle; P: Polypropylene tube; T: Tee; E: Epoxy adhesive; FA: Formaldehyde solution ranged from 0.005 to 0.2 w/v%

ルドリッチジャパン製) 12.5 g を水に溶かして 100 mL としたものを 12.5% 酢酸アンモニウム溶液として用いた。

緩衝液: 12.5% 酢酸溶液と 12.5% 酢酸アンモニウム溶液を pH 5.0 になるように混合したものをを用いた。

反応試薬: ジメドン (東京化成工業製) 0.6 g を緩衝液に溶かし 200 mL としたものを反応試薬として用いた。

2.3 操 作

本システムはポンプ P₂ の ON/OFF とバルブ V の切り替えにより自動分析を行う。したがって、キャリアー溶液、反応試薬、サンプルガスは常に流れた状態で分析する。自動分析のプロトコルを Table 1 に示す。まず、バルブ V が Inject の状態でポンプ P₂ が ON になる。これにより DS 内に水が充填される。水が充填されるとポンプ P₂ が OFF になる。DS 内を流れている水の流れが止まり、この間に多孔質 PTFE チューブを透過したサンプルガスが捕集濃縮される。1 分間サンプルガスを捕集濃縮した後、バルブ V が Load に切り替わり、同時にポンプ P₂ が ON になる。これによりサンプルガスを捕集濃縮した水はサンプルループに充填される。充填後バルブ V が Inject に切り替わり、捕集溶液がキャリアーの流れに注入される。FIA システム

で蛍光誘導体の蛍光強度 (励起波長 395 nm, 蛍光波長 463 nm) を測定した。

3 結果と考察

3.1 HCHO 標準ガス発生法

キャピラリーチューブを通して HCHO 標準溶液を滴下し、完全気化させることにより標準ガスを発生させた。この方法を重力滴下-蒸発法と呼ぶことにする。標準ガス発生部の模式図を Fig. 2 に示す。長さ 7.5 cm の熔融シリカキャピラリーチューブ (内径 0.03 mm) をシリンジの先端にエポキシ系接着剤を用いて固定し、シリンジ内に、メンブランフィルター (孔径 0.45 μm) を通した HCHO 標準溶液を入れ、シリンジを垂直に保持し、重力により HCHO 標準溶液を滴下した。T 字型チューブコネクタの一方から、室内空気を活性炭に通し不純物を取り除いたゼロガスを流し、T 字型チューブコネクタの上部に固定された注射針にシリンジを差し込むことで、キャピラリーチューブの先端をガスの流路に設置した。コネクタは 40°C に保たれているため、キャピラリーチューブの先端から出た HCHO 標準溶液の液滴は、瞬時に気化しゼロガスと混合し、HCHO 標準ガスとなる。生成した標準ガス

Table 2 Verification of the proposed standard HCHO gas generator by DNPH-HPLC

Standard	Concentration of gaseous formaldehyde ^{a)} /ppbv	
	Computed value	DNPH-HPLC
1 ^{b)}	73.7	75.9
2 ^{c)}	147	146

DNPH-HPLC: 2,4-dinitrophenylhydrazine-HPLC method; a) Generated by this method based on gravitational dispensing-vaporization; b) 0.100% formaldehyde solution was gravitationally introduced; c) 0.200% formaldehyde solution was gravitationally introduced

の濃度は以下の式を用いて算出した。

$$C_1 = \frac{F_1 \times C_2}{30.03} \times \frac{1}{F_2} \quad (1)$$

ここで、 C_1 は HCHO 標準ガスの濃度 (ppbv)、 C_2 はキャピラリーを通して流れる HCHO 標準溶液の濃度 (g/L)、 F_1 はキャピラリーを通して流れる HCHO 標準溶液の流量 (nL/min)、 F_2 はサンプルガスの流量 [SLPM (standard liters per minute)] である。したがって、 F_1 、 F_2 を一定にすることで、標準ガスの濃度を滴下する標準溶液の濃度で制御できる。

F_1 の値は、以下の方法で測定した。キャピラリーチューブを固定したシリンジとそれと同一でキャピラリーチューブの先端を接着剤でふさいだものを用意した。先端をふさいでいないキャピラリーチューブを固定したシリンジに水を入れ、重量を量り、その重さを w_1 とした。同様にキャピラリーチューブの先端を接着剤でふさいだシリンジにも水を入れ重量を量り、その重さを w_2 とした。二つのシリンジを約 5 時間垂直に保持し、再び重量を測定し、その重さをそれぞれ w'_1 、 w'_2 とした。水を滴下したときも HCHO 標準溶液を滴下したときも流量は同じと仮定し、次の式からキャピラリーを通して流れる HCHO 標準溶液の流量を算出した。

$$F_1 = \frac{(w_1 - w'_1) - (w_2 - w'_2)}{t} \quad (2)$$

ここで、 t は垂直に保持した時間 (min) である。式(2)の分子は、シリンジ上部から蒸発によって損失する水を除いた正味の滴下された水の質量である。測定の結果、キャピラリーを通して流れる HCHO 標準溶液の流量は、39.5 nL/min であった。なお、水の密度は 1.00 g/cm³ として計算した。 F_2 は、マスフローコントローラーを用いて、0.4 SLPM に制御した。よって、0.100 w/v% の HCHO 標準溶液を用いると、理論上 73.7 ppbv の HCHO 標準ガスを生

成することができる。これを 3・2 で示す実験で確認した。

3・2 DNPH-HPLC 法による標準ガス濃度の検定

重力滴下-蒸発法を用いて 0.100 及び 0.200 w/v% の HCHO 標準溶液から発生させた HCHO ガスを 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) カートリッジ (SPELCO 製, LpDNPH S10L) に捕集後、アセトニトリルで溶出し、その抽出液を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した。結果を Table 2 に示す。式(1)で計算される濃度は、73.7、147 ppbv であるが、いずれも DNPH-HPLC 法による測定値と良い一致を示した。この実験により、本 HCHO 標準ガス発生法の有効性が立証された。

3・3 FIA システムの最適化

フローインジェクション分析 (FIA) システムの最適条件の検討を行った。ここでの検討はガスサンプルではなく、50 µg/L の HCHO 標準溶液をバルブ V から FIA システムに注入して行った。

本システムの検出反応は酢酸アンモニウム存在下で起こるため、酢酸溶液と酢酸アンモニウム溶液による緩衝液を調製し、濃度を 5~15% の濃度範囲で変化させ、その濃度の影響を検討した。緩衝液の濃度が上昇するにつれて、蛍光強度は増大した。しかし、ベースラインのドリフトも顕著に現れたため、緩衝液の濃度は、12.5% を選択した。

また、酢酸溶液と酢酸アンモニウム溶液の混合比を変えて pH 4.0~6.0 の緩衝液を調整し、pH の影響を検討したところ、pH 5.0 で最大の蛍光強度を得た。

反応試薬であるジメドンの濃度を 0.1~0.5% の範囲で検討したところ、0.3% で最大の蛍光強度を得た。

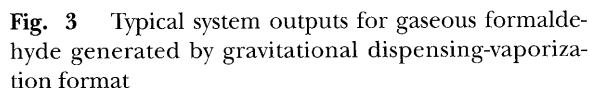
リアクションシステムの加熱部の温度を 120~140℃ の範囲で変化させ、反応温度の検討をしたところ、反応温度の上昇に伴い蛍光強度も増大した。しかし、同時にベースラインに乱れが生じた。ベースラインの安定性と感度を考慮し、反応温度は 135℃ とした。

反応コイルの長さを 5~9 m の範囲で検討した結果、9 m で最大のピーク高さを示したが、ベースラインが乱れたため 7 m を選択した。

キャリアー溶液、試薬溶液の流量を各々 0.6~1.1 mL/min の範囲で検討した結果、0.7 mL/min が良好な結果を示した。

3・4 検量線の作成

最適条件下で HCHO ガスの検量線を作成した。得られた検量線は、3.68~147 ppbv の濃度範囲で、 $y = 4.03x + 0.490$ (y は相対蛍光強度、 x は ppbv で表した HCHO ガスの体積濃度) となり、相関係数は 0.999 であった。その際のフローシグナルを Fig. 3 に示す。3.68、7.37、73.7、



Tolerance limit/mg L ⁻¹	Added compound
10000	Methanol, Ammonia
1000	Ethanol, Acetone
250	MIBK
200	Isoprene
50	2-Butanone
0.1	Butyraldehyde
0.05	Propionaldehyde
0.02	Acetaldehyde

147 ppbv に対する各 4 回の繰り返し測定における相対標準偏差は、それぞれ 5.8, 1.7, 0.9, 0.9% であった、空試験値の 3σ から算出した検出限界は 0.16 ppbv, 10σ から算出した定量下限は 0.54 ppbv であった。ガスの捕集からピークの検出に要する時間は 3 分であり、迅速に測定することができる。

50 $\mu\text{g/L}$ の HCHO 標準溶液にカルボニル基を持つアルデヒド類、ケトン類、呼気に含まれる成分としてアルコール類、アンモニア、イソプレンを各々溶液として添加し、 $\pm 5\%$ 以内を許容として共存物質の影響を検討した。この検討は、DSを用いず、共存物質を添加した HCHO 標準溶液を V からキャリヤーに注入して行った。結果を Table 3 に示す。検討した共存物質の中でアセトアルデヒド (CH_3CHO) が最も大きな妨害を示した。呼気中の HCHO 、 CH_3CHO 濃度は、それぞれ 10 ppbv, 20 ppbv 程度との報告がある²⁵⁾。また、 CH_3CHO 濃度が 2~5 ppbv と極めて低い報告もある²⁶⁾。これらの報告から、呼気中に HCHO 、 CH_3CHO がほぼ同濃度含まれているとし、これらのアルデヒド類が DS を同程度透過したと仮定すると、本実験では CH_3CHO は約 10% の誤差を与えることが推測される。しかしながら、本実験と同じ管状多孔性 PTFE 膜を用いた報告²⁷⁾によれば、 CH_3CHO ガスのこの膜を介

Volunteer	Formaldehyde/ppbv ^{a)}	
	Jul. 31st ^{b)}	Aug. 2nd ^{b)}
A	10.4 ± 0.4	7.3 ± 0.2
B	8.0 ± 0.1	7.6 ± 0.3
C	10.9 ± 0.7	5.9 ± 0.3
D	11.8 ± 0.5	5.8 ± 0.1

する透過率は、HCHO ガスに比べて 1/100 であることが示されている。したがって、同程度の濃度の呼気 CH₃CHO は、本実験の呼気 HCHO の測定には影響が少ないと考えられる。

4 人のボランティアの呼気を採取し測定した。呼気の採取にはガスマスクを用いた。ガスマスク（住友スリーエム製 No.6000DDSR）にチューブを通し、DS と接続し、Fig. 1 (b) に示すように、呼気を直接 DS に導入し、測定した。4 人のボランティアはいずれも喫煙習慣がなく、測定当日も疾病はなかった。1 人当たり 4 回の繰り返し測定を行い、平均値を測定結果とした。結果を Table 4 に示す。ボランティアの呼気から、5.8～11.8 ppbv の HCHO を検出した。

次に、喫煙習慣のあるボランティアの呼気に含まれる HCHO の濃度を定量した。その際に得られたシグナルを Fig. 4 に示す。喫煙前の呼気からは 7.3 ppbv の HCHO を検出した。その後、ボランティアにタバコを 1 本吸ってもらい、その直後に測定したところ、12.5~10.6 ppbv と喫煙前の約 1.5 倍の濃度の HCHO が約 25 分間にわたり検出された。その後、HCHO の濃度は減少し、喫煙 30 分後には、ほぼ喫煙前の濃度に近い値まで減少した。喫煙に伴う HCHO の動態が呼気分析により解明できると考えられる。

本研究では、重力滴下-蒸発法を用いる簡便な HCHO 標準ガスの発生法を開発し、DNPH-HPLC 法により発生ガス濃度が正確であることが立証された。また、全自動化された HCHO の DS 捕集-FI 蛍光分析システムを構築した。本システムは、微量の HCHO ガスを 3 分間隔で測定することができる。本研究では、呼気中の HCHO の定量に応用し、喫煙による濃度上昇が確認されたが、今後、飲料や食品の摂取後との関連にも発展できると考えている。また、重力滴下-蒸発法は、他の標準ガス発生法としても応用が広がるものと期待される。

本研究費の一部は、文部科学省学術フロンティア推進事業「21世紀を支えるための材料の開発—環境、エネルギー、情報に資す

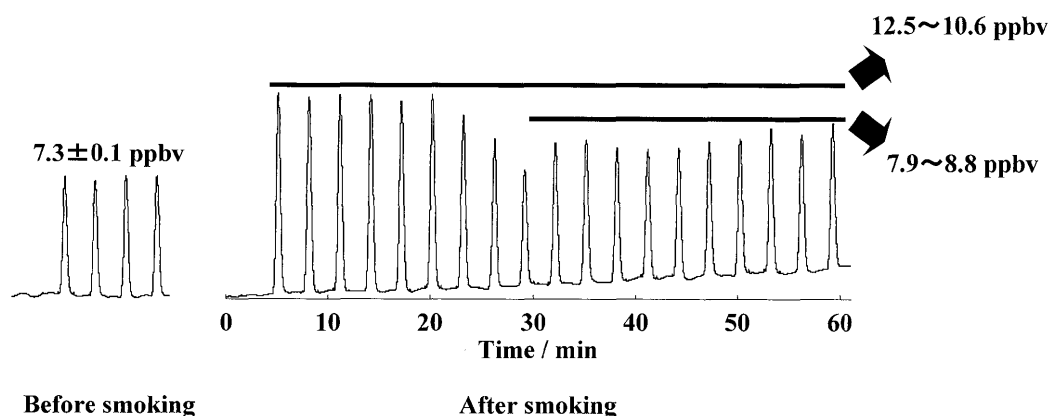


Fig. 4 System outputs for exhaled breath before and after smoking

る材料開発のための基礎研究に基づく新規デバイスの開発と実用化—, 科学研究費補助金(若手研究(B), No. 18750067)によるものである。本研究で用いたDSは、熊本大学大学院自然科学研究科の戸田 敬教授よりご提供いただいた。また、愛知県産業技術研究所の杉本賢一氏にはDNPH-HPLCの測定で貴重なご助言をいただいた。ここに記して深謝する。

文 献

- 1) H. Hori, K. Arashidani : *J. UOEH*, **19**, 123 (1997).
- 2) S. Ohira, K. Someya, K. Toda : *Anal. Chim. Acta*, **588**, 147 (2007).
- 3) D. Smith, P. Spanel : *Analyst*, **132**, 390 (2007).
- 4) W. Miekisch, J. K. Schubert, G. F. E. Noeldge-Schomburg : *Clin. Chim. Acta*, **347**, 25 (2004).
- 5) J. D. Fenske, S. E. Paulson : *J. Air Waste Manage. Assoc.*, **49**, 594 (1999).
- 6) M. J. Henderson, B. A. Karger, G. A. Wrenshall : *Diabetes*, **1**, 188 (1952).
- 7) T. Ligor, J. Szeliga, M. Jackowski, B. Buszewski : *J. Breath Res.*, **1**, 016001 (2007).
- 8) M. Phillips, R. N. Cataneo, R. Condos, G. A. R. Erickson, J. Greenberg, V. L. Bombardi, M. I. Munawar, O. Tietje : *Tuberculosis*, **87**, 44 (2007).
- 9) M. Phillips, J. Herrera, S. Krishnan, M. Zain, J. Greenberg, R. N. Cataneo : *J. Chromatogr. B*, **729**, 75 (1999).
- 10) O. Laakso, M. Haapala, T. Kuitunen, J. Himberg : *J. Anal. Toxicol.*, **28**, 111 (2004).
- 11) O. Laakso, M. Haapala, P. Jaakkola, R. Laaksonen, K. Luomanmaki, J. Nieminen, M. Pettersson, H. Paiva, M. Rasanen, J. Himberg : *J. Anal. Toxicol.*, **25**, 26 (2001).
- 12) P. Lirk, F. Bodrogi, M. Deibl, C. M. Kaehler, M. Joshua, B. Moser, G. Pinggera, H. Raifer, J. Rieder, W. Schoberberger : *Wiener Klinische Wochenschrift*, **116**, 21 (2004).
- 13) J. Rieder, P. Lirk, C. Ebenbichler, G. Gruber, P. Prazeller, W. Lindinger, A. Amann : *Wiener Klinische Wochenschrift*, **113**, 181 (2001).
- 14) R. N. Bloor, P. Spanel, D. Smith : *Addiction Biology*, **11**, 163 (2006).
- 15) S. M. Abbott, J. B. Elder, P. Spanel, D. Smith : *Int. J. Mass Spectrom.*, **228**, 655 (2003).
- 16) S. T. Senthilmohan, M. J. McEwan, P. F. Wilson, D. B. Milligan, C. G. Freeman : *Redox Report*, **6**, 185 (2001).
- 17) N. Teshima, J. Li, K. Toda, P. K. Dasgupta : *Anal. Chim. Acta*, **535**, 189 (2005).
- 18) K. Toda, J. Li, P. K. Dasgupta : *Anal. Chem.*, **78**, 7284 (2006).
- 19) S. Ohira, J. Li, W. A. Lonneman, P. K. Dasgupta, K. Toda : *Anal. Chem.*, **79**, 2641 (2007).
- 20) E. G. Vasilou, Y. M. Makarovska, I. A. Pneumatikos, N. V. Lolis, E. A. Kalogeratos, E. K. Papadakis, C. A. Georgiou : *J. Braz. Chem. Soc.*, **18**, 1040 (2007).
- 21) P. Spanel, D. Smith, T. A. Holland, W. A. Singary, J. B. Elder : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 1354 (1999).
- 22) A. Wehinger, A. Schmid, S. Mechtcheriakov, M. Ledochowski, C. Grabmer, G. A. Gastl, A. Amann : *Int. J. Mass Spectrom.*, **265**, 49 (2007).
- 23) T. Sakai, S. Tanaka, N. Teshima, S. Yasuda, N. Ura : *Talanta*, **58**, 1271 (2002).
- 24) K. Toda, S. Ohira, T. Tanaka, T. Nishimura, P. K. Dasgupta : *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 1529 (2004).
- 25) C. Turner, B. Parekh, C. Walton, P. Spanel, D. Smith, M. Evans : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 526 (2008).
- 26) A. M. Diskin, P. Spanel, D. Smith : *Physio. Meas.*, **24**, 107 (2003).
- 27) K. Toda, K. Yoshioka, K. Mori, S. Hirata : *Anal. Chim. Acta*, **531**, 41 (2005).

Development of Formaldehyde Standard Gas Generator Based on Gravitational Dispensing-Vaporization and Its Application to Breath Formaldehyde Determination

Minoru UEDA¹, Norio TESHIMA¹ and Tadao SAKAI¹

¹ Department of Applied Chemistry, Aichi Institute of Technology, 1247, Yachigusa, Yakusa-cho, Toyota-shi, Aichi 470-0392

(Received 22 March 2008, Accepted 22 May 2008)

A new formaldehyde (HCHO) standard gas generation method based on gravitational dispensing-vaporization was developed, and an automated flow injection analysis (FIA) system coupled with a porous membrane-based diffusion scrubber (DS) is proposed for the determination of gaseous HCHO in human breath. An HCHO standard solution in a 2-mL Terumo[®] syringe was dispensed gravitationally via a fused-silica capillary tip through a perpendicular arm of a tee heated at 40°C. The HCHO standard solution was delivered at a flow rate of 39.5 nL/min and completely vaporized by airflow through the tee-arm. The gaseous HCHO was collected into a water absorber in the DS. The solution dissolved sample gas was injected into the FIA system. The fluorescent derivative was produced by merging HCHO and 5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione at pH 5.0. The intensity was recorded at the excitation wavelength of 395 nm and the emission wavelength, 463 nm. In this manner, reliable instrument calibration of the FIA system could be carried out. Under the optimum condition, a linear calibration curve for HCHO was obtained in the range of 3.68 to 147 ppbv. The limit of detection ($S/N = 3$) was 0.16 ppbv. The collection of a gaseous sample and HCHO detection were automatically operated with a home-made protocol. The proposed method was applied to the determination of HCHO in exhaled human breath. The concentration range in 4 healthy volunteer subjects (nonsmoker) ranged from 5.8 to 11.8 ppbv. We also found that for another subject (smoker) smoking increased the breath HCHO concentration to approximately 1.5-fold, and then the concentration later returned to the initial level 30 min after the smoking.

Keywords : standard gas generation ; gravitational dispensing-vaporization ; breath formaldehyde ; automated analysis system ; diffusion scrubber.