

## 分担研究報告書

### 血液中ダイオキシン類分析における分析カラムの検討

研究分担者	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	室長
研究協力者	広瀬勇氣	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	上原口奈美	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	千々岩勝己	公益財団法人北九州生活科学センター	常務理事
	池田光政	公益財団法人北九州生活科学センター	理事長

**研究要旨** 油症患者の血液中ダイオキシン類濃度の測定は、大量注入装置を装備したガスクロマトグラフ高分解能質量分析装置を用いて行っている。大量注入装置内の分析カラムに関しては、他のカラムを検討することもなく、現在まで同じカラムを用いて分析を行ってきた。今回、現在使用しているカラムと固定相の極性が類似したカラムを選択して、ダイオキシン類異性体の S/N 比の改善に関して検討を行った。その結果、従来使用していたカラムと比較して、低ブリードであること；各異性体のピーク強度が向上していること；すべての異性体で高い S/N 比が得られていることから、従来よりも高精度・高感度な分析を行うことが可能となった。

#### A．研究目的

油症はポリ塩化ジベンゾダイオキシン(PCDDs)、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)、ポリ塩化ビフェニール(PCBs)およびポリ塩化クアテルフェニール(PCQs)が混入したカネミオイルを摂取して発症した複合中毒である。油症の発生から45年以上経過しているが、いまでも何人かの患者が、ダイオキシン類特有の症状に悩まされている。我々は、油症患者のダイオキシン類による人体汚染とその健康影響を把握する目的で、患者の血液中PCDDs、PCDFs、PCBsおよびPCQs濃度の測定を行ってきた。

油症患者の血液中ダイオキシン類濃度の分析は、大量注入装置を装備したガスクロマトグラフ高分解能質量分析装置を用いて行っている。大量注入装置内の分析カラムに関しては、他のカラムを検討

することもなく、常に同じカラムを用いて分析を行ってきた。近年、カラムブリードによる測定への悪影響が顕著になり、高精度・高感度な分析を維持するのが困難な状況なので、他の分析カラムを検討する必要性が生じた。今回、現在使用しているカラムと固定相の極性が類似しているカラムを選択し、ダイオキシン類異性体の S/N 比の改善に関して検討を行った。

#### B．研究方法

##### 1．分析カラム

これまで血液中ダイオキシン類の測定に用いていたカラムは、プレカラムとして、BPX5 (5%フェニルポリシルフェニレンシロキサンカラム、7m×0.25 mm)で膜厚0.25 μm、分析カラムとして、BPX系(30 m×0.15 mm)を使用してきた(膜厚に関

する情報は企業秘密)。今回、Agilent Technologies の VF-5ms( 5%フェニルメチルカラム) を現在使用しているカラムと同じ長さおよび同じ径のサイズで、プレカラムとして膜厚 0.15、0.20 および 0.25  $\mu\text{m}$  の 3 種類と、分析カラムとして膜厚 0.10、0.15 および 0.20  $\mu\text{m}$  の 3 種類を製造依頼した。ダイオキシン類の分析条件に関しては、従来使用していたカラム使用時と、すべて同じ条件下で行った。

## 2. 分析方法

ダイオキシン類の分析には、胃袋型インサートを取り付けた PTV 注入口装置 (LVI-S200、アイスティサイエンス社製) と Solvent cut large volume injection system (TRAJAN 社製) を装備した高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置 (HRGC/HRMS) を使用した (図 1)。HRGC/HRMS に関して、GC 部は Agilent 社製 7890A、MS 部は Micromass 社製 AutoSpec Premier を用い、注入には 100  $\mu\text{l}$  のシリンジを備えたオートサンプラー Combi-PAL (CTC Analytics 社製) を使用した<sup>1)2)</sup>。

### (倫理面への配慮)

本研究の結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

## C. 研究結果・考察

膜厚 0.10  $\mu\text{m}$  の分析カラム (30  $\text{m} \times 0.15$  mm) を用い、ダイオキシン類異性体の溶出パターンおよび S/N 比に及ぼすプレカラムの膜厚の影響を調べた。プレカラム (7  $\text{m} \times 0.25$  mm) として膜厚 0.15、0.20 および 0.25  $\mu\text{m}$  を用い、ダイオキシン類標準液 (0.25pg) を注入後に得られた各クロマトグラムを比較した結果、各異性体の溶出パターンは従来使用していたカラムとすべて同様であった。各プレカラム使

用時に得られたクロマトグラムから算出したダイオキシン類異性体の S/N 比は、顕著な差はなくほとんど同じで、プレカラムの膜厚はダイオキシン類異性体の分析にほとんど影響を及ぼさなかった。従来法と同様に、プレカラムとして膜厚 0.25  $\mu\text{m}$  のカラム、分析カラムとして膜厚 0.10、0.15 および 0.20  $\mu\text{m}$  のカラムを用いて、標準液 (0.25pg) を注入後、得られたクロマトグラムを比較した。各異性体の S/N 比に関しては、膜厚が薄いカラムの方が若干高い S/N 比が得られたが、膜厚 0.10 および 0.15  $\mu\text{m}$  の分析カラムを使用した場合、高塩素化体のピークがテーリングしていた。hexaCDDs および hexaCDFs の分離に関しては、膜厚が厚いタイプの方が、分離が良好であった。以上の結果から、今回検討した分析カラムの中で、膜厚 0.20  $\mu\text{m}$  の分析カラムを用いた場合に最も良好な結果が得られた。この条件下で、標準液 (0.25pg) を注入後に得られた各異性体のクロマトグラムから算出した S/N 比を従来法の結果と比較した。その結果、今回検討したカラムの方が、従来使用していたカラムよりカラムブリードが少なく、すべてのダイオキシン類異性体で高い S/N 比が得られていた (表 1)。

## D. 結論

近年、血液中ダイオキシン類の分析に使用していた分析カラムのカラムブリードによる測定への悪影響が顕著に見られ、この問題を解決するために現在使用しているカラムと固定相の極性が類似したカラムを選択して、ダイオキシン類異性体の S/N 比の改善に関して検討を行った。今回、Agilent Technologies 製のカラムに関する検討を行い、プレカラムとして膜厚 0.25  $\mu\text{m}$  および分析カラムとして膜厚 0.20  $\mu\text{m}$  のカラムを用いた場合、従来使用していたカラムと比較して、低ブリ

ードであること；各異性体のピーク強度が向上していること；すべての異性体で高いS/N比が得られていることから、従来よりも高精度・高感度な分析を行うことが可能となった。

血液中ダイオキシン類の分析を、胃袋型インサートを備えた大量注入法とSCLV injection systemを連結して行った場合、試料注入後、注入した試料中の溶媒がほとんどプレカラムにより系外に排出され、分析目的成分のみが分析カラムに導入される。そのため、ダイオキシン類異性体の良好な分離が得られるばかりでなく、ピークの半値幅が狭くなり、ピーク強度が向上する。この原理を応用して、さらに内径の細い分析用ナローボアカラムを用いることでダイオキシン類異性体のピーク強度が向上しS/N比の改善が期待される。この新しいテクニックを現在検討中である。

## E．研究発表

### 1．論文発表

なし

### 2．学会発表

1) 広瀬勇気、戸高尊、上原口奈美、福島直、今地政美、三苫千景、古江増隆：血液中ダイオキシン類分析における分析カラムの検討、第27回環境化学討論会(沖縄) 2018年5月22-25日。

## F．知的財産権の出願・登録状況

なし

## 参考文献

1) Todaka T, *et al.* Concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-*ortho* and mono-*ortho* polychlorinated biphenyls in blood of Yusho

patients. *Chemosphere* 2007; 66: 1983-1989.

2) Todaka T, *et al.* Development of a Newly Large-Volume Injection System for Dioxin Determinations in Blood of Yusho Patients. *Fukuoka Acta Medica* 2013; 104(4).

