

分担研究報告書

Thermo Scientific DFS Dual Data XL システムによる油症患者血液中ダイオキシン類 分析法の検討

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
	梶原 淳睦	公益財団法人北九州生活科学センター	参事
	千々和 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 Thermo Fisher Scientific DFS Dual Data XL システムに Programmed Temperature Vaporization-Large Volume Injection (PTV-LVI) システム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、油症患者血液中ダイオキシン類の高感度分析法を検討した。その結果、感度的に測定は可能ですが、従来法と比較した場合、低塩素化体の感度が約 1/3 低下していた。今後、この問題を解決するために、PTV-LVI システムの設定条件、注入口の初期温度、試料の注入速度およびキャリアガス流量を最適化し、新しい分析法を確立した上で、従来法との妥当性評価を行う。

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す。油症患者の生体試料中（血液、母乳、皮脂および脂肪組織）ダイオキシン類 (PCDDs, PCDFs および PCBs) の分析は、油症研究の一環として、1980 年代の後半から福岡県保健環境研究所の飯田らによって行われてきた¹⁾。高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置を用いて血液中ダイオキシン類を精度よく定量する場合、100fg オーダーの分析が可能な装置でも 50-100g の血液量が必要であった。2000 年頃から大量注入法が検討され、装置の感度が 10 倍程度向上したので、抽出・精製に用いる血液

量も 1/10 量で行えるようになった^{2) 3)}。近年、使用していた装置の生産が終了し、装置のフルメンテナンサポートも限定サポートに移行する事態が発生している。したがって、装置の故障発生時に部品供給が得られない場合、血液中ダイオキシン類の分析業務が出来なくなります。

油症の発生から 50 年以上経過した現在も何人かの患者が、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、患者の血液中ダイオキシン類濃度の測定を行ってきた。今後も油症事業を継続して行うのであれば、新しい装置によるダイオキシン類の高感度分析法の開発が必要です。従来行っていた大量注入法は、細かい圧力バランスによって制御され、適正な圧力バランスを維持することで、注入

した試料中の溶媒がプレカラムにより系外に排出され、分析目的物質もロスなく分析カラムに導入することが可能ですが、条件設定が非常に複雑です。

今回、Thermo Scientific DFS Dual Data XL システムに PTV-LVI システム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、従来法よりも装置を簡素化し、圧力バランス等の細かい条件設定を必要としない大量注入法を検討した。

B. 研究方法

PTV-LVI 装置 (PTV-BKF、Thermo Fisher Scientific) 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 (DFS、Thermo Fisher Scientific) を使用した。カラムは Agilent Technologies 社製で、プレカラムはフューズドシリカチューブ (0.15mm×10m) および分析カラムは VF-5ms (5% フェニルメチルカラム, 0.15mm×30m, 膜厚 0.15 μm) を用いた。

(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

油症患者の血液中ダイオキシン類濃度の分析は、胃袋型インサートを備えた LVI-S200 (AiSTI Science 社) と Solvent Cut Large Volume Injection システム (Trajan 社) を連結した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 (AutoSpec Premier, Waters 社) を用いて行ってきた。大量注入法のメカニズムに関して、注入口初期温度を試料溶媒の沸点より低く設定し、液体状態でインサートの胃袋形状部分に保持させた後、インサート内で濃縮を行う (図 1)。さらに、注入口温度の上昇に伴い、分析目的物質をプレカラムに導入

し、カラム恒温槽の昇温が開始される。試料はプレカラムで分析目的物質と溶媒に分離され、溶媒のみをパージラインから排出させた後、分析目的物質は液化炭酸ガスが噴霧されたコールドトラップ部にトラップされる (図 2)。その後、カラム恒温槽を設定の温度まで下温させ、コールドトラップを解除する。直ちに、恒温槽の昇温を開始し、分析目的物質を分析カラムへ導入し、ダイオキシン類異性体の分離・分析が行われる³⁾。このシステムは、試料注入後、分析目的物質のみ分析カラムに導入されるので、通常よりも内径の細い分析用キャピラリーカラムを用いることで可能です。その結果、各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、ピーク強度が相対的に向上し、ダイオキシン類異性体の S/N 比が改善される。しかしながら、条件設定が非常に複雑で装置維持のためのメンテナンスにも熟練および高度な知識が必要です。

今回、従来法の原理を踏まえた上で検討を行い、PTV-LVI システムの濃縮条件を緩和するために、分析カラムの前に不活性化処理カラムを接続し、インサート内での溶媒濃縮が不十分でも注入した試料中の溶媒が不活性化処理カラム中である程度気化され、分析目的物質のみを分析カラムに導入する方法を検討した (図 3)。その結果、ダイオキシン類標準液 (250fg) を注入後に得られた各異性体のクロマトグラムから、感度的には十分測定可能と思われるが、従来法と比較した場合、低塩素化体 (TetraCB-77 および TetraCB-81) の感度が低下していた。今後、注入口の初期温度、試料の注入速度およびキャリアガス流量の条件設定を再検討する必要があるため、これらパラメータの最適化を行い、従来法よりも血液中のダイオキシン類を高感度および高精度に分析できる方法を確立する。

D. 結論

今回、PTV-LVI システムを装備した DFS Dual Data XL システムを用いて、従来法よりも装置を簡素化し、圧力バランス時の細かい条件設定を必要としない大量注入法を検討した。その結果、感度的には十分測定可能と思われるが、従来法と比較した場合、低塩素化体(TetraCB-77 および TetraCB-81)の感度が低下するという問題が生じた。今後、この問題を解決するために、PTV-LVI システムの設定条件、注入口の初期温度、試料の注入速度およびキャリアガス流量を最適化する必要性があり、これらパラメーターの最適化が、来年度の最重要課題として残された。

今年度、油症患者血液中ダイオキシン類濃度の測定に用いるガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置を更新した。しかしながら、新型コロナウイルス感染症の影響により、人の移動が制限される等のために新しい装置の搬入および装置の調整が遅れ、血液中ダイオキシン類濃度を高感度および高精度に分析できる方法を検討する時間が十分得られなかった。来年度も今年度のテーマを継続し、新しい分析法を確立した上で、従来法との妥当性評価を行う。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

- 1) 小栗一太、赤嶺昭文、古江増隆編、油症 30 年歩み。九州大学出版会、ISBN

4-87378-642-8.

- 2) Todaka T, *et al.* Improvement in dioxin analysis of human blood and their concentrations in blood of Yusho patients. Dermatological Science Supplement 2005; 1: 21-28.
- 3) 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): 110-116.

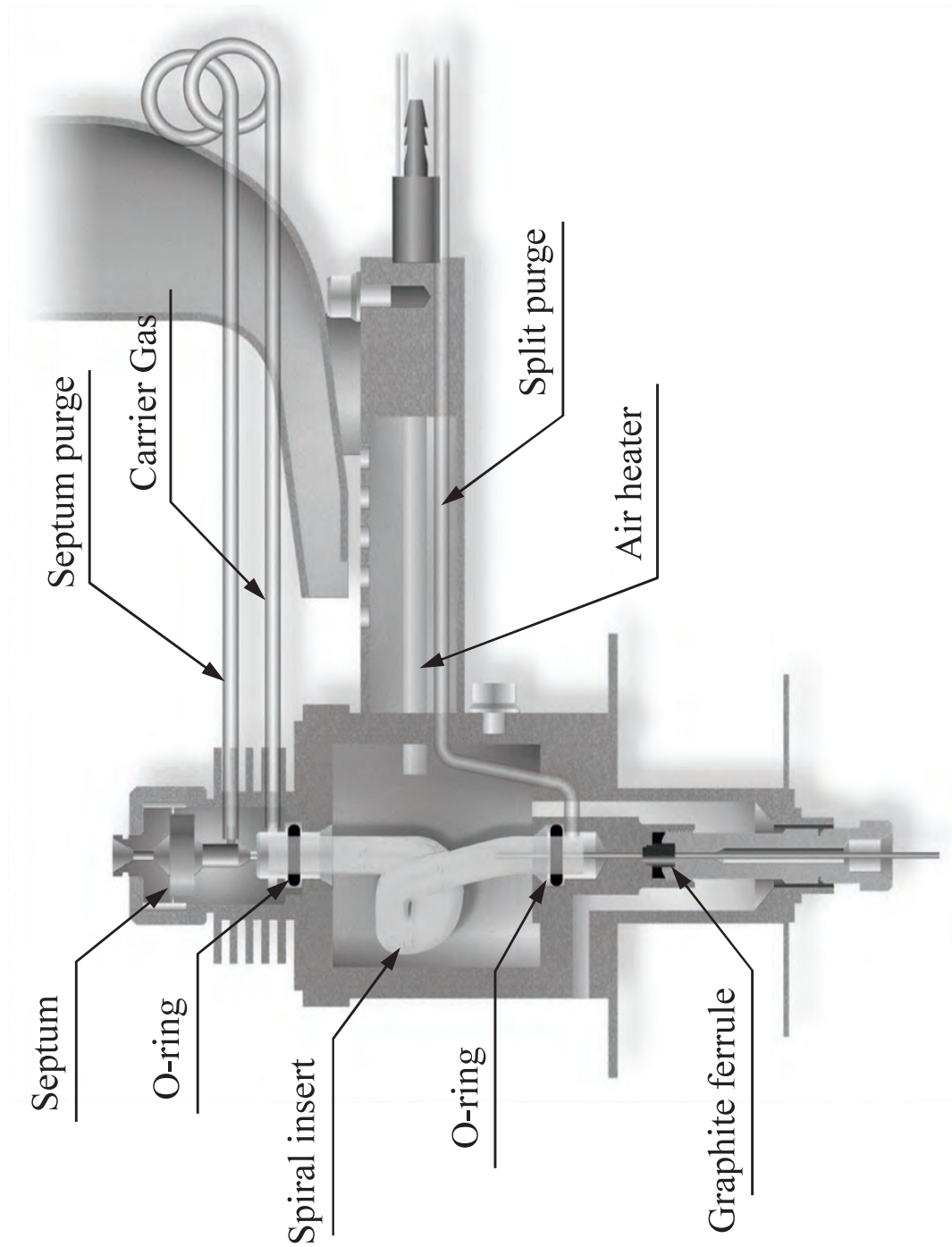


図 1 LaviStoma システムの概要

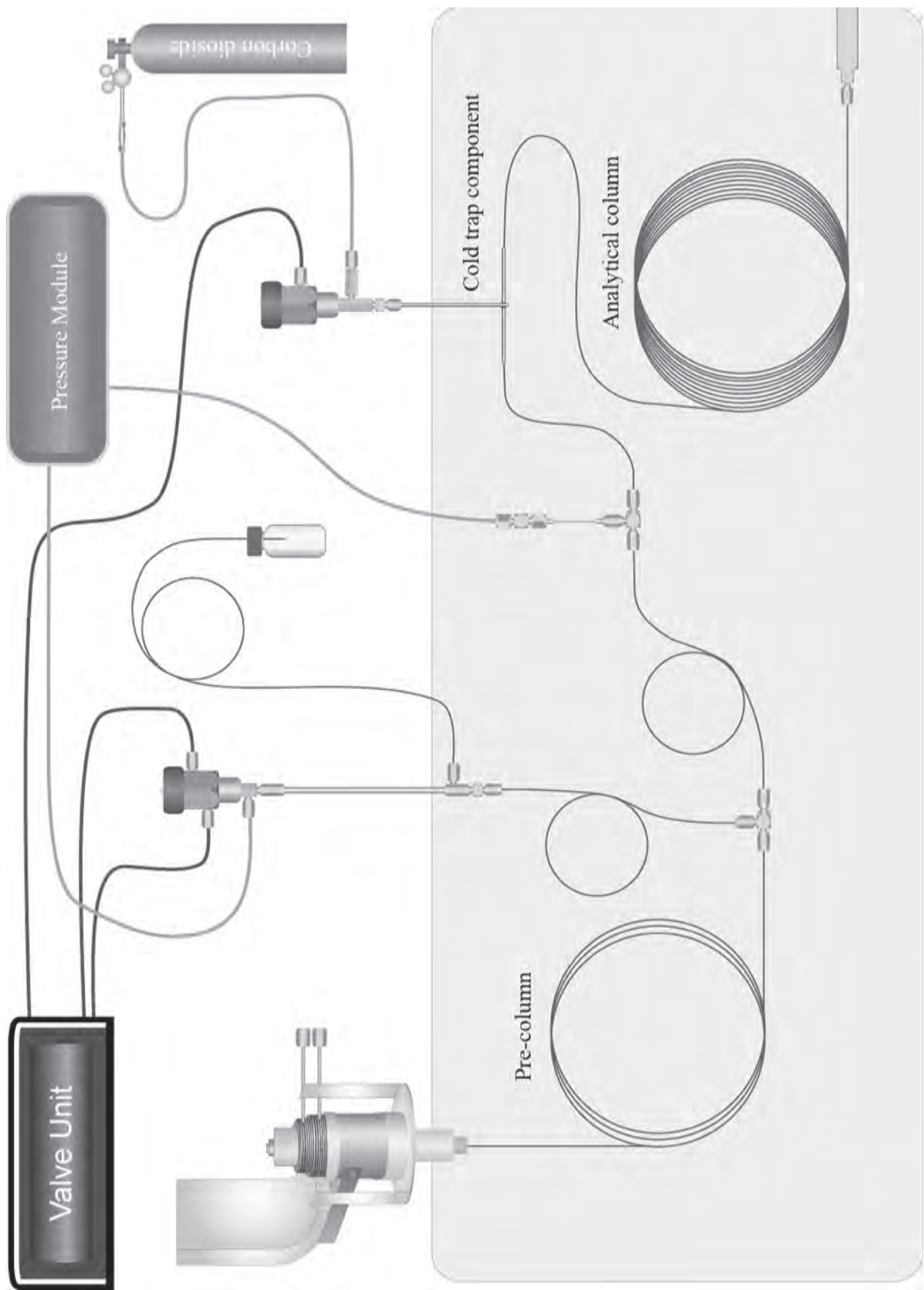


図 2 大量注入装置（従来法）の概要

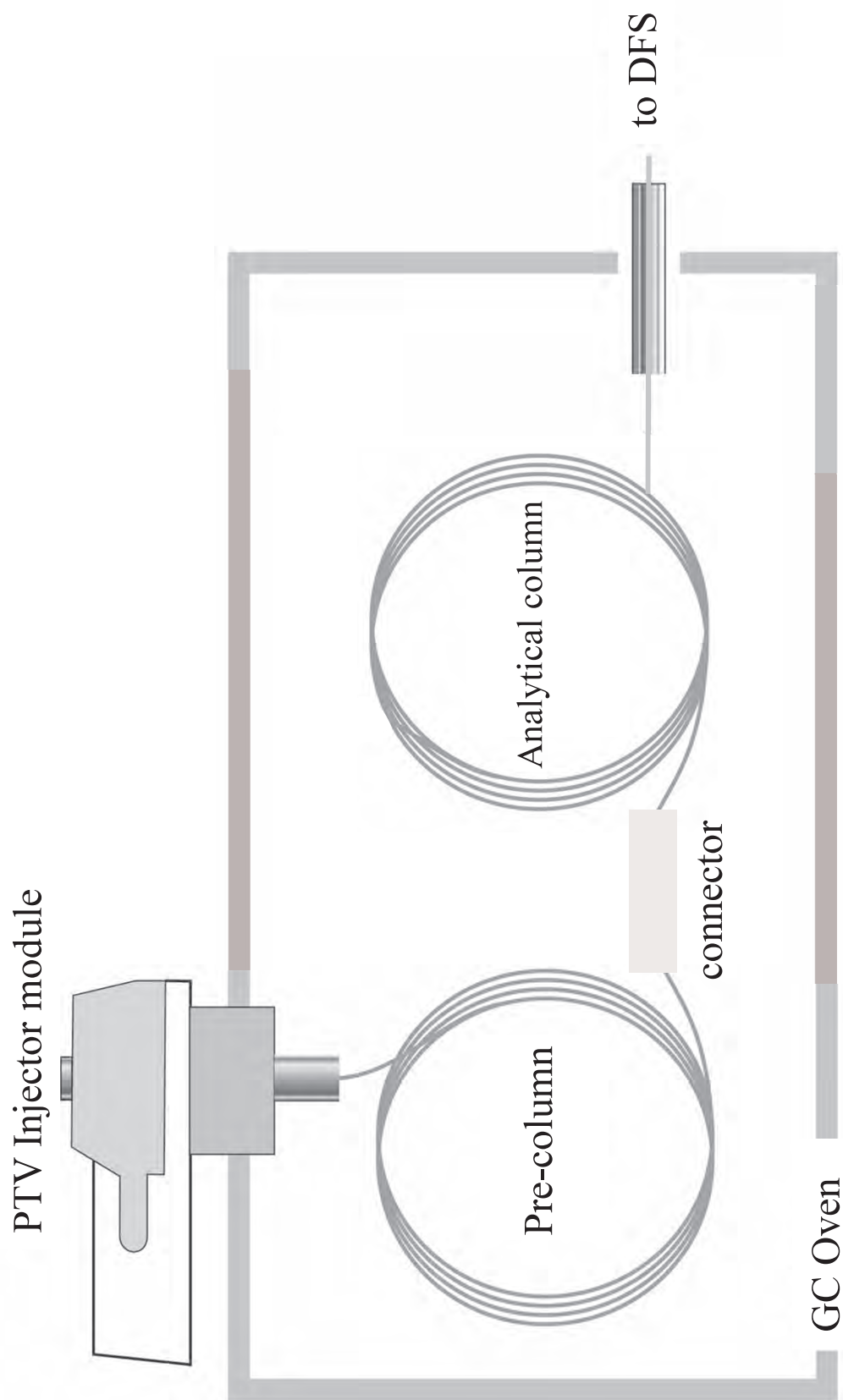


図 3 検討中の大量注入法の概要