

## 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 (2)

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再検討した。今回、従来法の原理を踏襲した大量注入法の開発を試みたが、ダイオキシン類各異性体の S/N 比が、従来法と比較して相対的に低下していた。今後、PTV-LVI システムの設定条件の最適化を行い、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<sup>1)2)</sup>。昨年度、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、血液中ダイオキシン類の高感度分析法を検討した。PTV-LVI 方式による大量注入法は、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、インサート内で濃縮を行う。さらに、注入口温度の上昇に伴い、分析目的物質をカ

ラムに導入し、測定する方法である(図 1)。この注入法を用いると、試料を 200  $\mu$ l 注入することが可能ですが、インサート内での試料濃縮が不十分の場合、残った試料溶媒がカラムに導入され、測定に支障を及ぼす。また、濃縮し過ぎると分析目的物質に悪影響を及ぼし、測定感度が低下するので、測定条件の設定が非常に困難でした。従来法のように、インサート内での濃縮が不十分でも、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より分離・分析される方法が効果的であると考えられる。

今回、Dual Data XL モジュール装置に Micro Channel Device Wafer (MCDW) を組み合わせて、ソルベントカットバルブとして代用することで、装置を簡素化した。さらに、従来法のように、細かい圧力設定を廃止し、高精度・高感度な分析を行える新しい大量注入法について検討を行った。

## 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。DFS 装置に付属してある Dual Data XL モジュール装置に、Micro Chanel Device Wafer (MCDW, Thermo Fisher Scientific) を組み合わせて、ソルベントカットバルブとして代用した。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。本法は、注入口初期温度を試料溶媒の沸点より低く設定し、100 μl の試料注入後、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 20 μl まで濃縮を行う (図 2)。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、溶媒のみをパーズ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。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 (図 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する。さらに、試料中に含まれる不揮発性化合物や高沸点化合物類等のマトリックスもプレカラムにより系外に排出させ、分析カラムに導入しないので、クロマトグラムのベースラインを昨年検討した方法と比較した場合、ノイズレベルの差が顕著であった。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から算出したダイオキシン類各異性体の S/N 比を比較した結果、昨年検討した方法の値は、従来法の約 1/5 であった。

今回、従来法の原理を踏まえた上で高感度分析法の検討を行った。その方法に関して、注入された試料 (100 μl) はインサート内で 20 μl 以下まで濃縮され、注入後 3.0 分以内に溶媒はプレカラムにより分離され、系外に排出される。分析目的成分のプレカラムからの溶出が終了した時点でソルベントカットバルブを開くと同時に、恒温槽の昇温を開始し、分析目的成分を分析カラムへ導入する方法です (図 4)。ダイオキシン類標準液を用いて算出した S/N 比を従来法の値と比較した。その結果、今回検討した方法は、従来法より相対的にピーク強度が 1/2 程度低く、S/N 比に関しても約 1/2 であった。しかしながら、従来法よりも操作を簡略化したことで、分析時間も 40 分程度となり、測定時間が 20 分短縮可能となった。

## D. 結論

今回、従来法の原理を踏襲した新しい

大量注入法の検討を行った。検討した方法は従来使用していた方法と比較して、コールドトラップ部を省いたことにより液化炭酸ガスを使用しないこと;装置が簡素化され再現性が高いこと;測定時間が短縮されたことが優れていたが、ダイオキシン類各異性体の S/N 比が相対的に低下していた。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、試料の濃縮条件、溶媒カットの時間および分析目的成分の追いつき時間に関して最適化を行い、従来法よりも高感度・高精度な分析法の開発を目指す。

一昨年度、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。今年度も新型コロナウイルス感染症の影響により、海外から検討に必要なパーツ類が十分に供給されないため、新しい装置の調整が遅れ、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、新しい分析法を完全に確立した上で、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) 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.

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): 110-116.

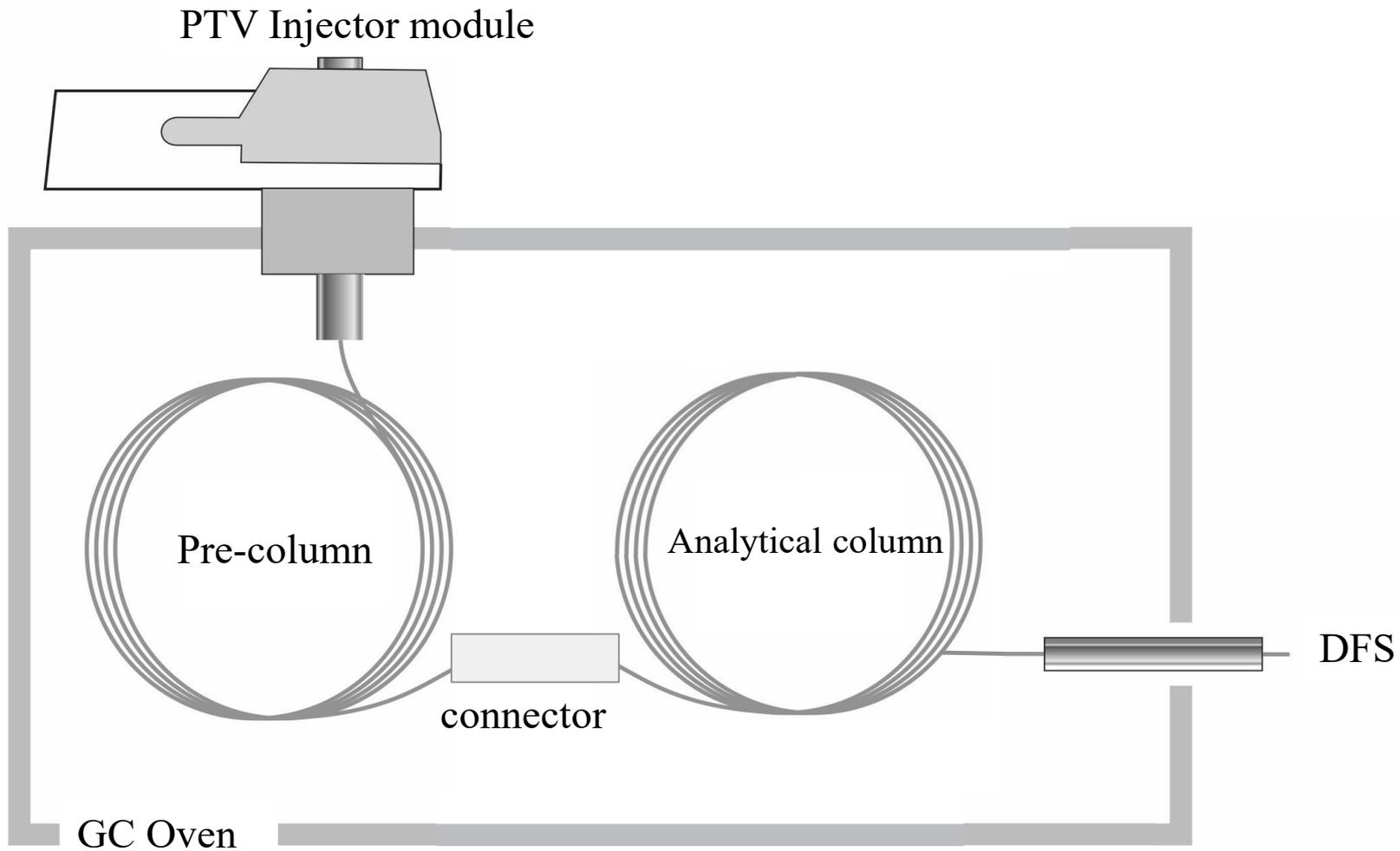


図 1 昨年検討した大量注入法の概要

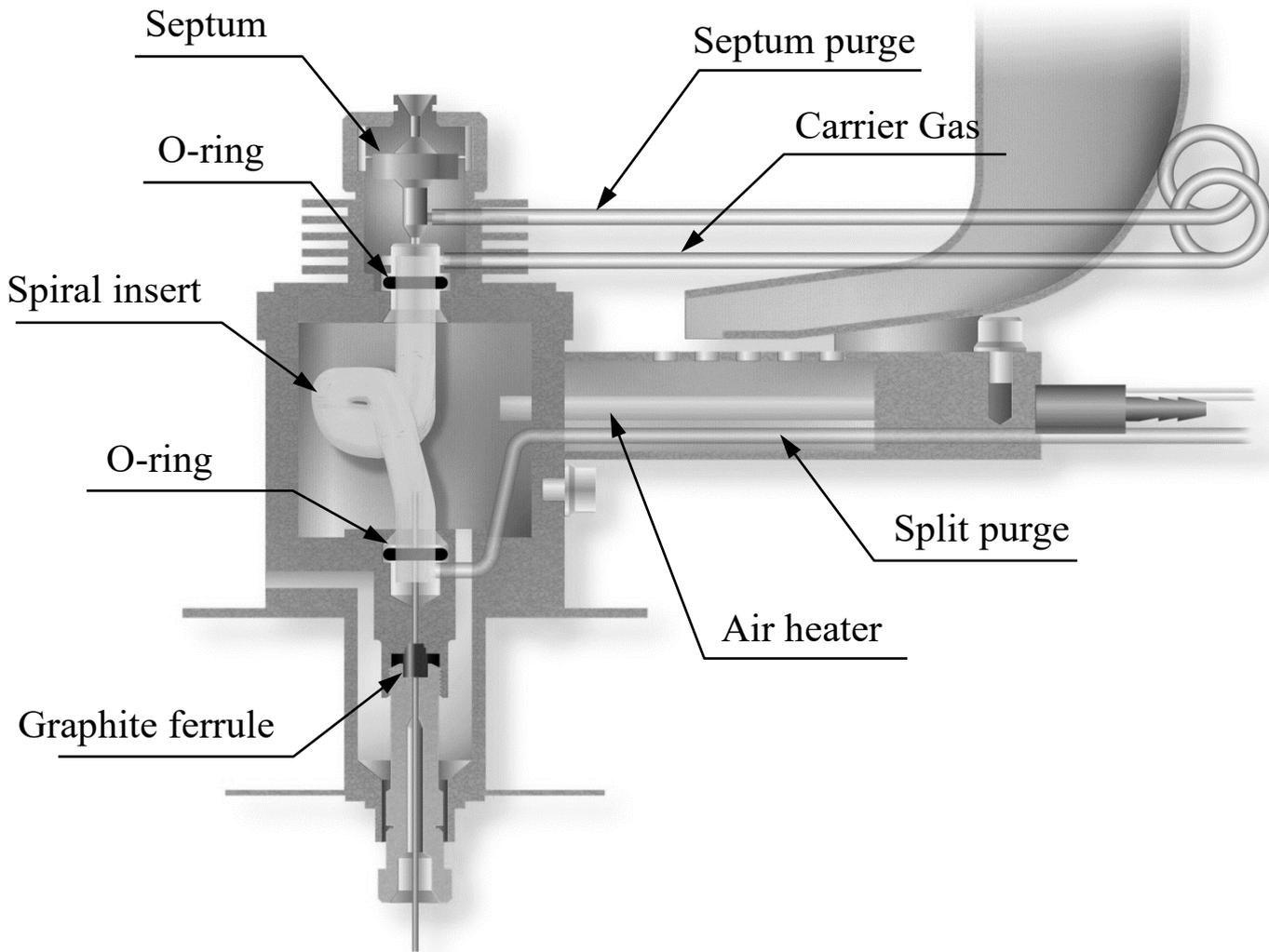


図 2 LaviStoma システムの概要

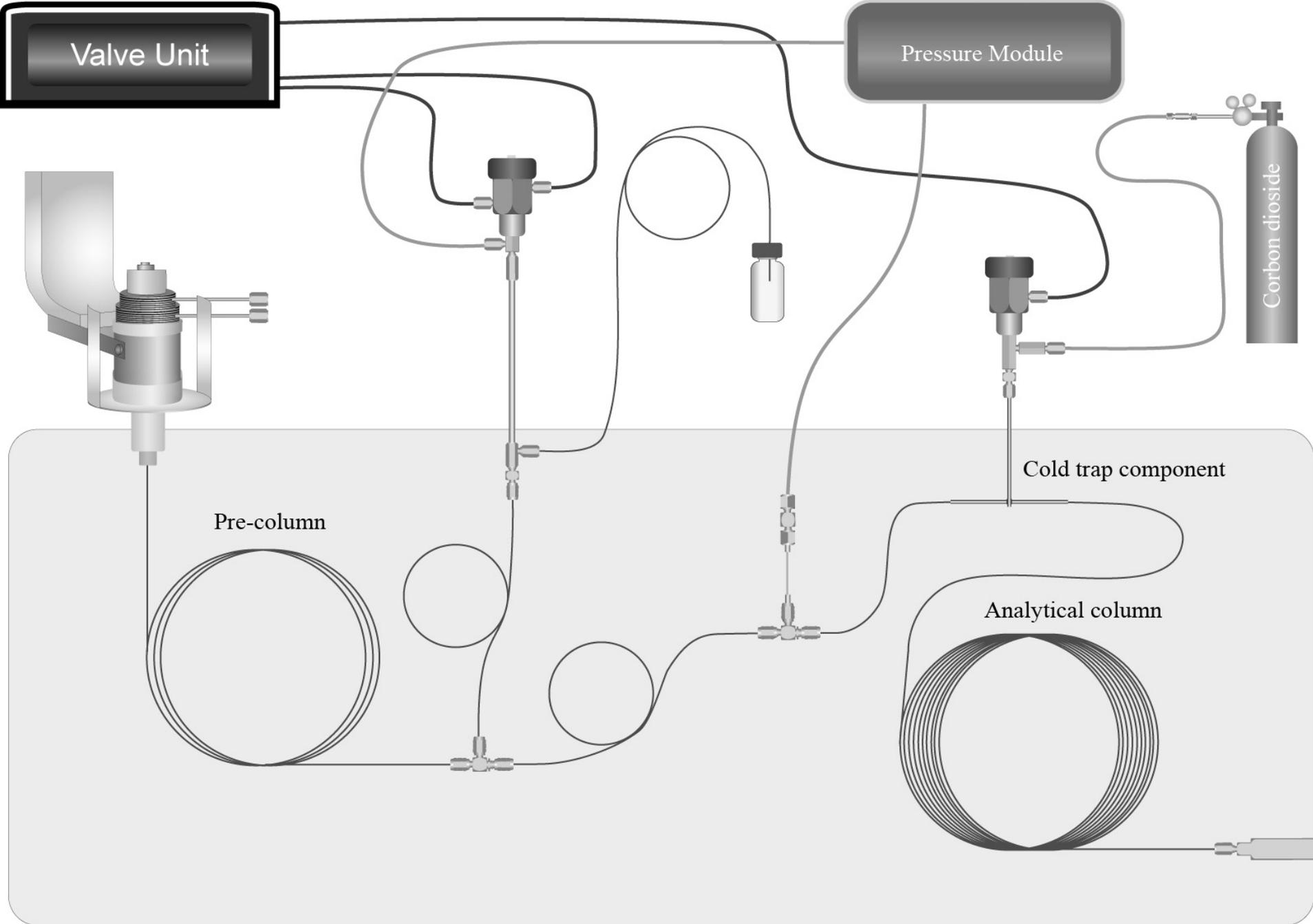


図 3 大量注入法（従来法）の概要

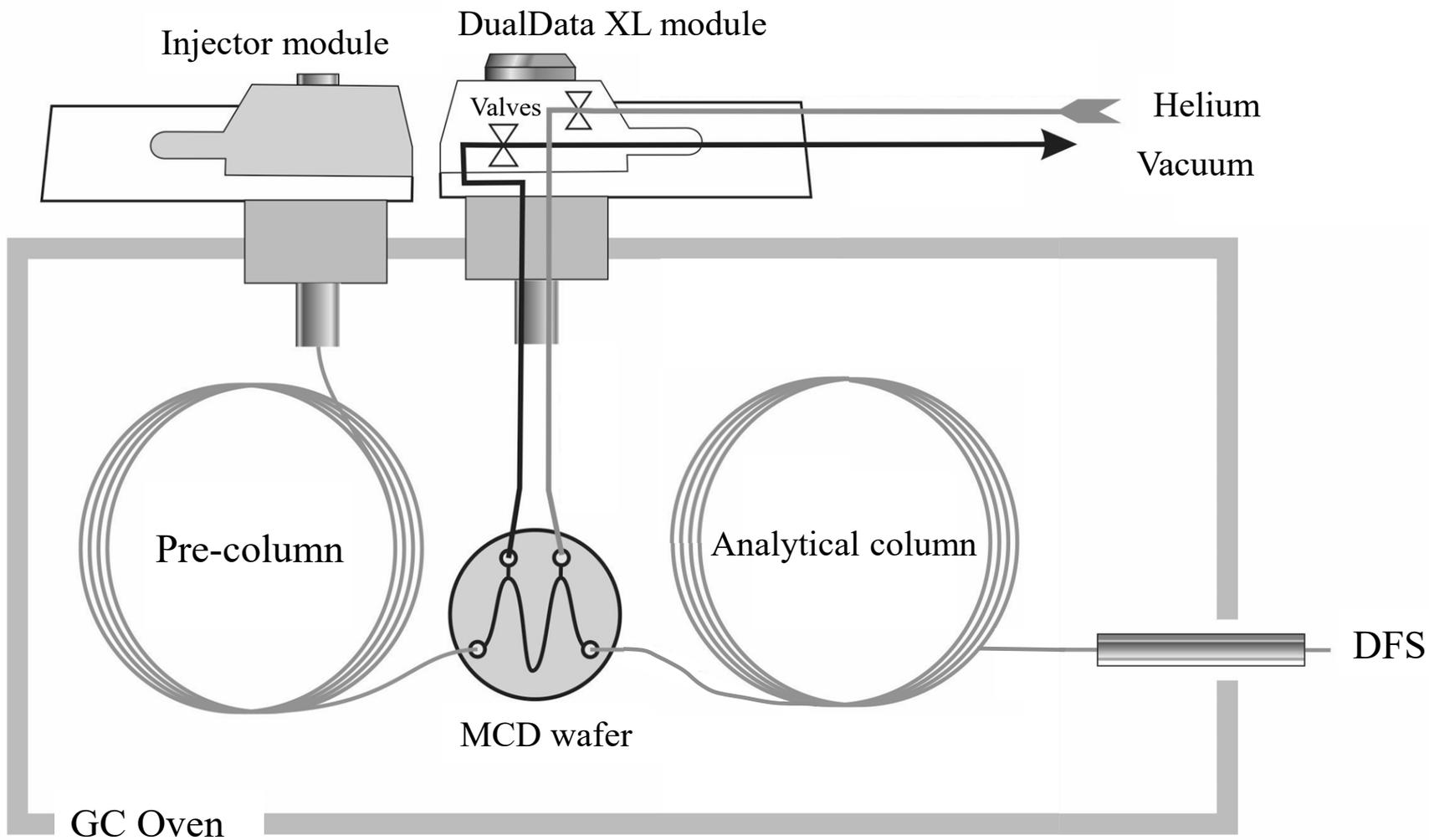


図 4 検討中の大量注入法の概要