

生体試料中の微量有機化合物の 超高感度測定GCシステム (ろ紙血PCBs測定法開発)

松村 徹¹, ○森 大樹¹, 中村 好宏¹, 中井 隆志², 笠松 隆志²
(1 いであ株式会社, 2 アジレント・テクノロジー株式会社)

Toru MATSUMURA¹, Taiki MORI¹, Yoshihiro NAKAMURA¹, Takashi NAKAI², Takashi KASAMATSU²
(1 IDEA Consultants, Inc., 2 Agilent Technologies Japan, Ltd.)

e-mail: mtm19115@ideacon.co.jp
mri20909@ideacon.co.jp

日本衛生学会 COI開示

筆頭発表者および共同演者：松村 徹，森 大樹，中村 好宏，中井 隆志，笠松 隆志

本発表に関連して、共同演者含め開示すべき
利益相反に該当する項目はありません。

【開発/命名】

Solvent Cut Large Volume (SCLV) Injection Double Cryo-Focusing CG System

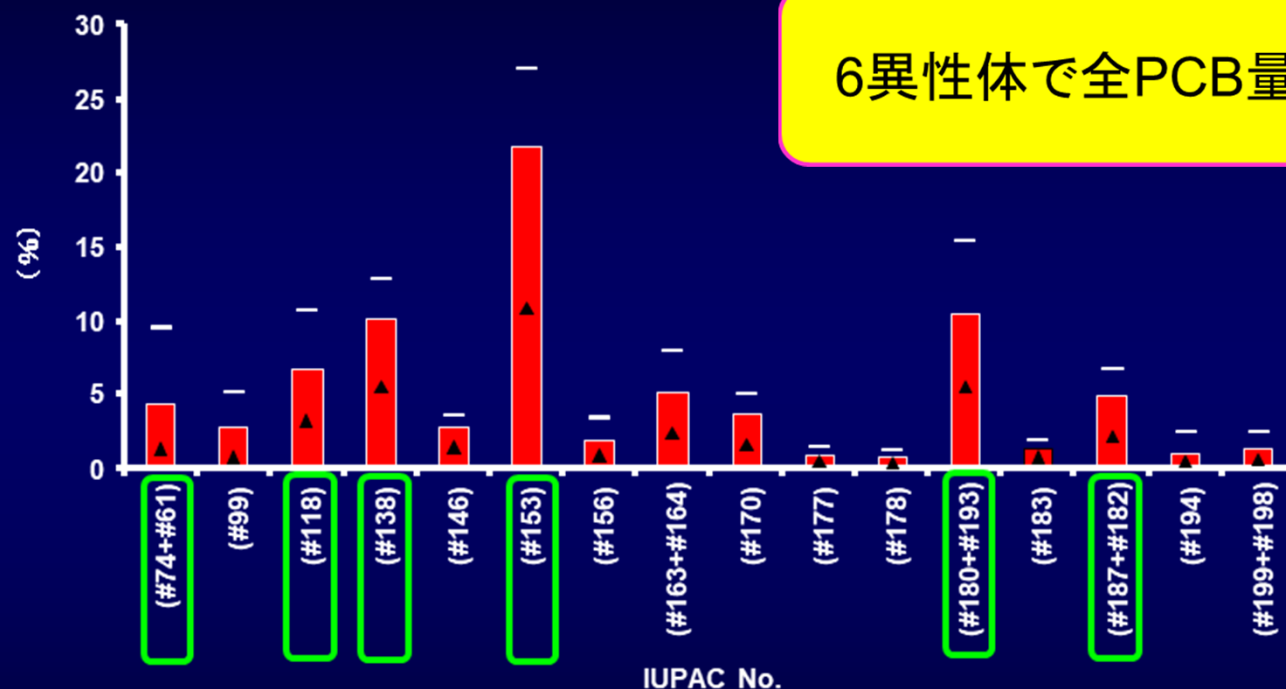
【結果】

- ✓ ろ紙血試料 (Dried blood spot: DBS) 中のポリ塩化ビフェニル類 (PCBs) の測定の結果、1スポットでのPCBs※の検出が可能となった

※本発表では血液中の主要PCBs6種とした

測定対象異性体の選定 ヒト血液中の主要PCB組成(濃度分布)

全PCBの合計濃度に対する存在比



6異性体で全PCB量の約60%を占める

ヒトの血液中の 上位16 異性体 (n = 190)

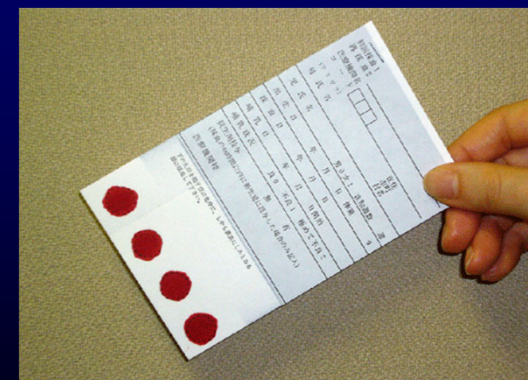
(—: maximum value, ▲: minimum value)

Satoh H. *et al.* 30th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2010)

なぜ生体試料中の微量有機化合物の超高感度測定が必要なのか？

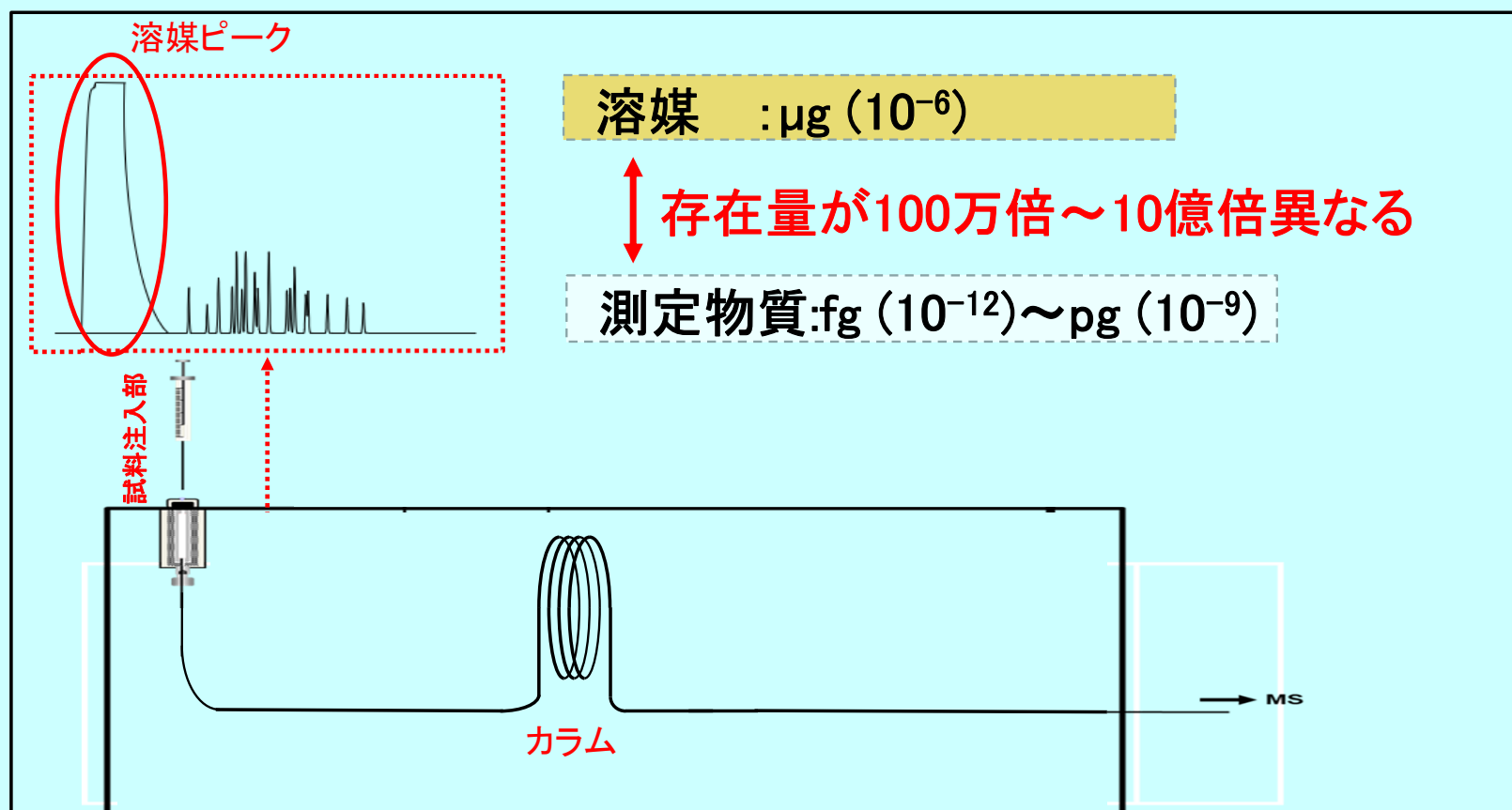
- ✓ バイオモニタリングにおける化学物質測定には試料量の制限が問題
(採血管採血: 約7 mL、ろ紙スポット採血: 1滴 約40 μ L等)
- ✓ 試料量(採血量)が少なければ被験者負担軽減にも繋がる
- ✓ GC/MS(二重収束型質量分析計)でのPCBs測定においても血液量8 mL必要
- ✓ 現状のGC/MSシステムでは限界がある
(ろ紙血でのPCBsの測定は前例が無い)

上記の問題を解決するには高感度化のための新しいデバイス開発が必要！！



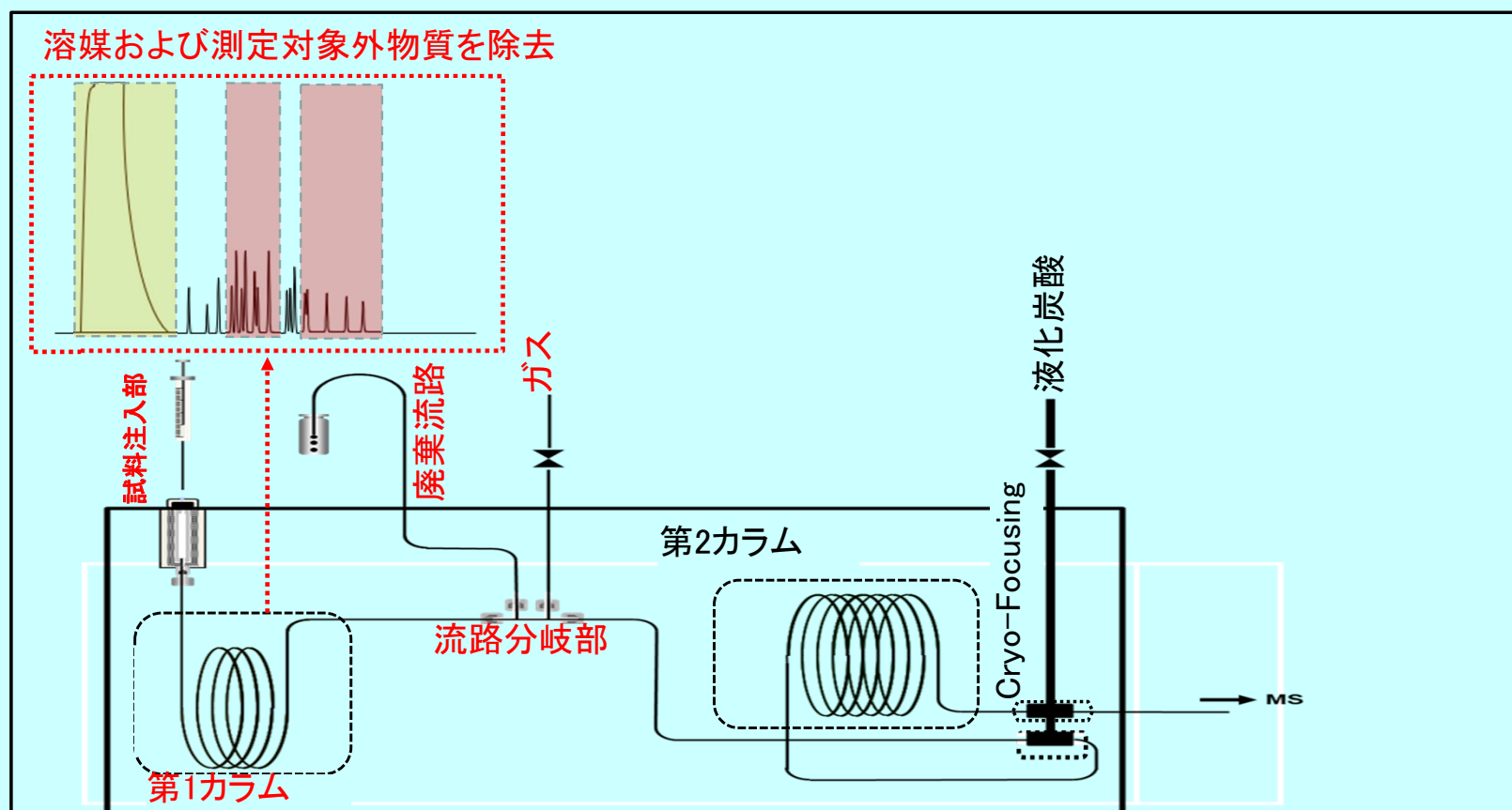
通常のガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS)

注入した試料全量を測定



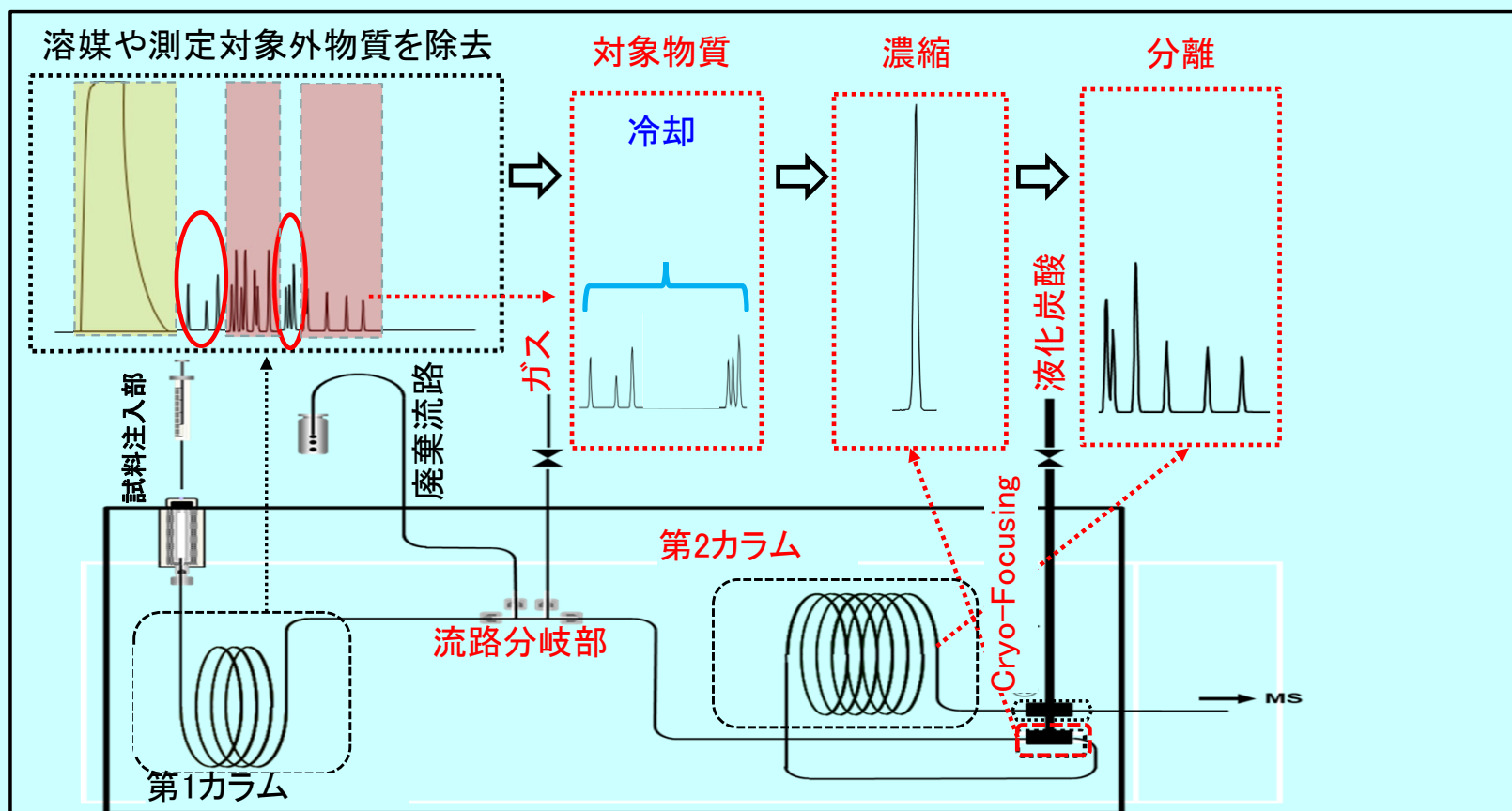
開発した装置の概略と作動イメージ

測定対象外物質をGC/MS系外へ排出



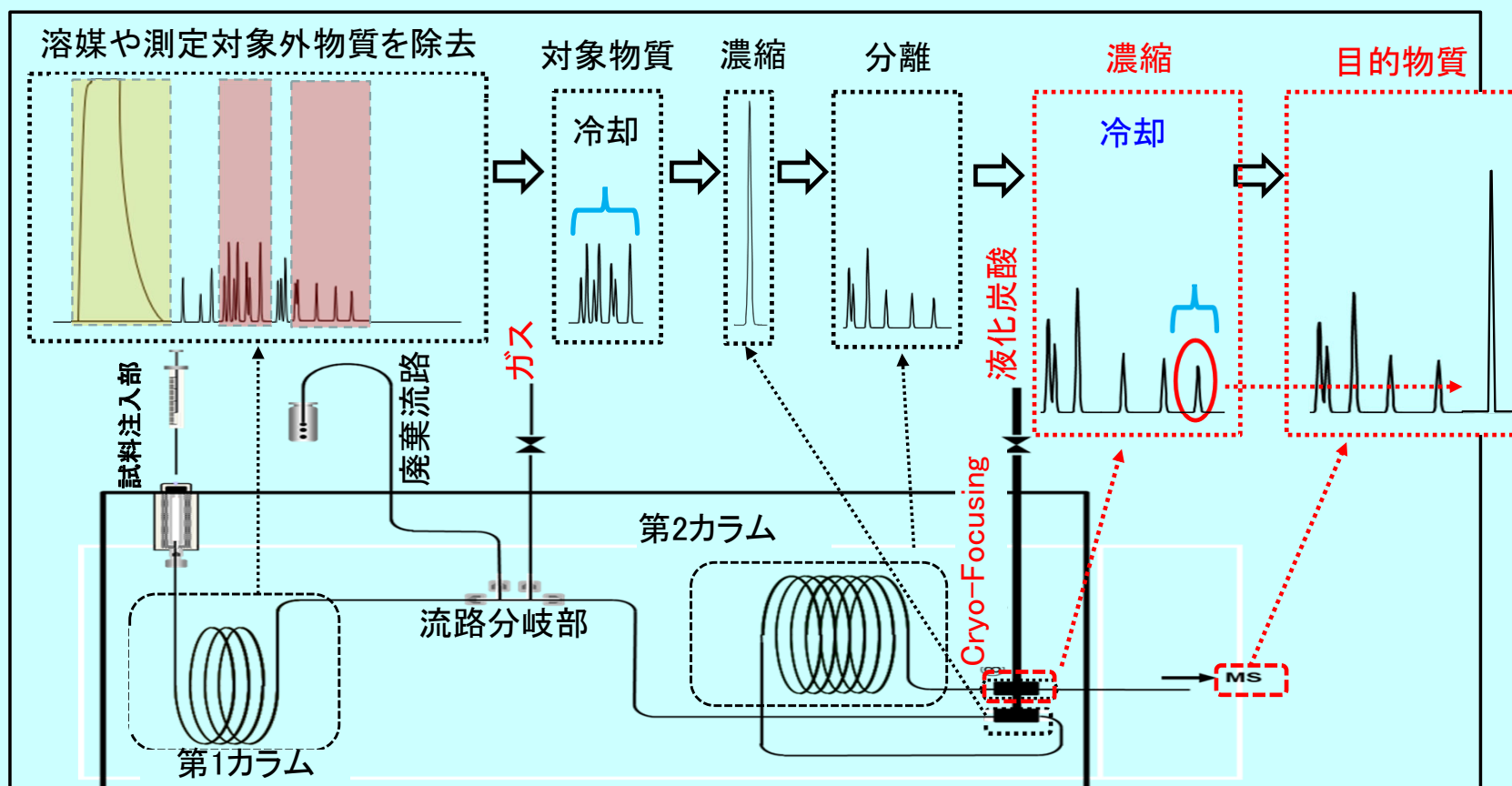
開発した装置の概略と作動イメージ

測定対象物質のピークの冷却濃縮 (Single Cryo-Focusing)



開発した装置の概略と作動イメージ

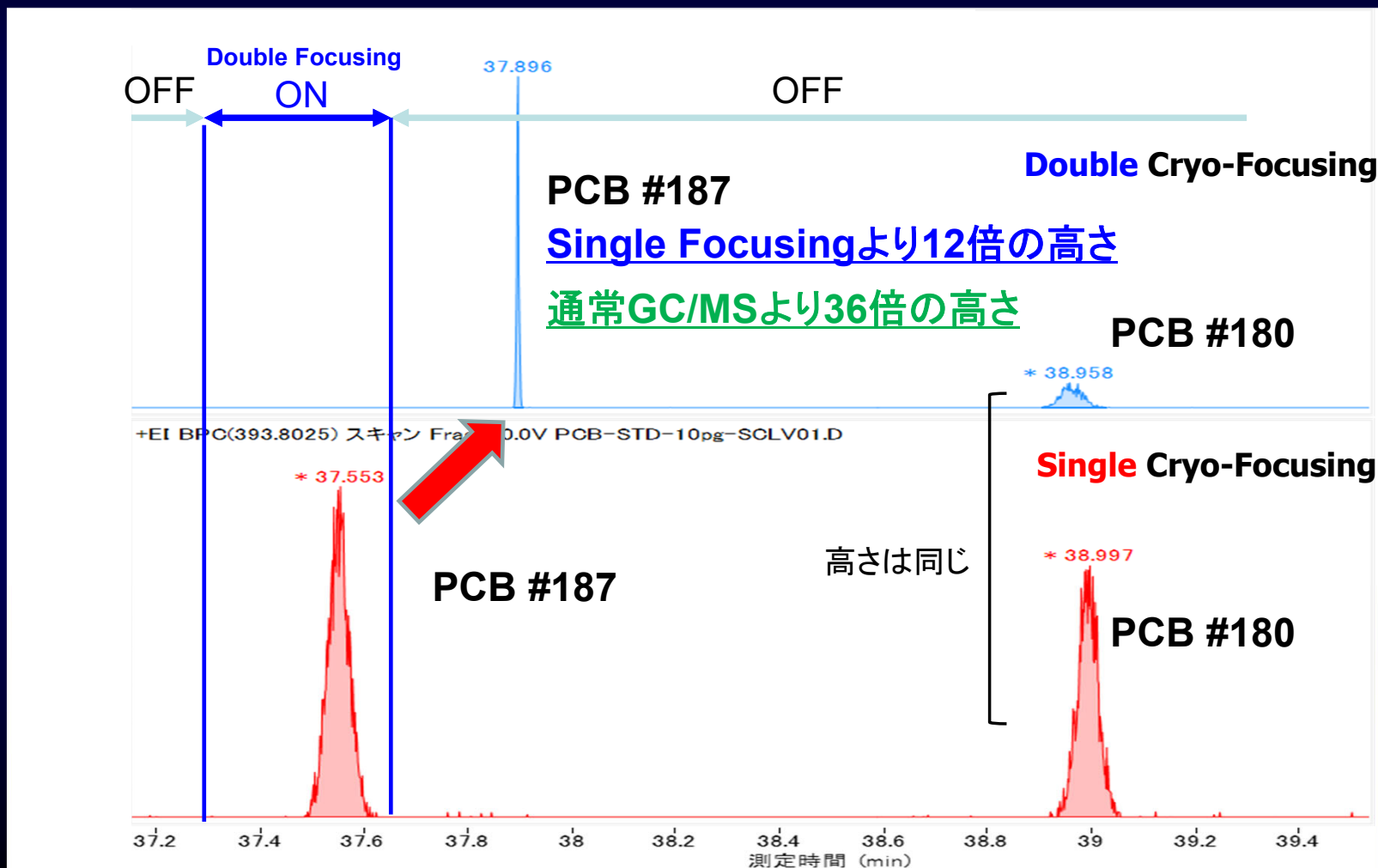
目的物質のピークのみを冷却濃縮 (Double Cryo-Focusing)



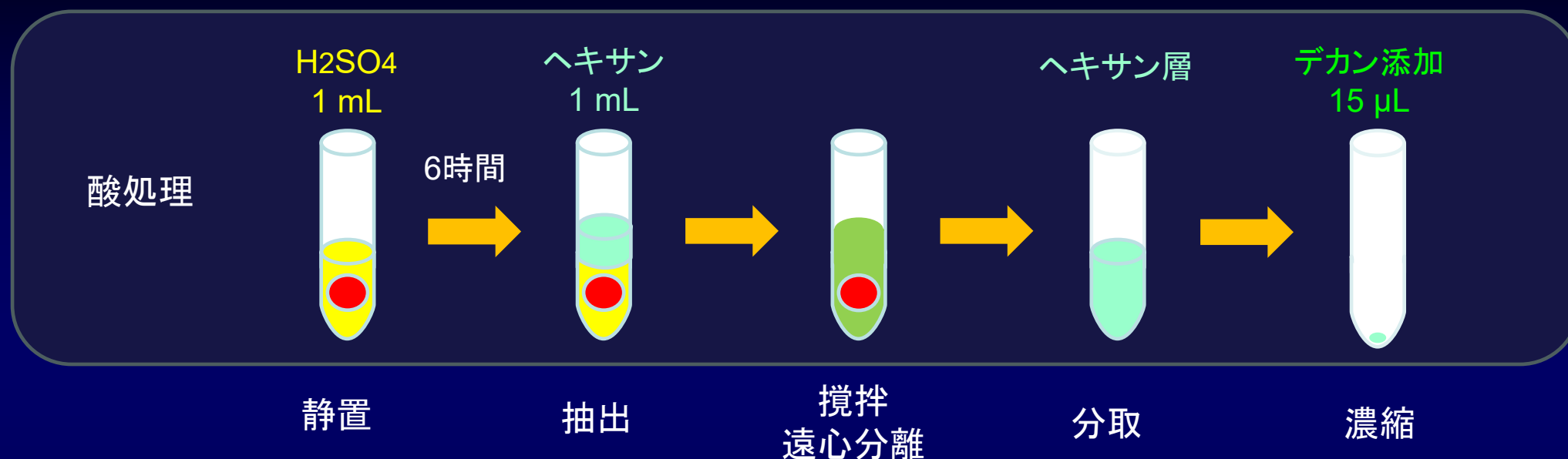
ピーク幅が非常に狭くなるので測定はスキャン速度が速いTOF/MSを使用

Single Cryo-FocusingとDouble Cryo-Focusingのピーク比較

- 約12倍のSN比の向上が確認された(7塩素化PCBの例)

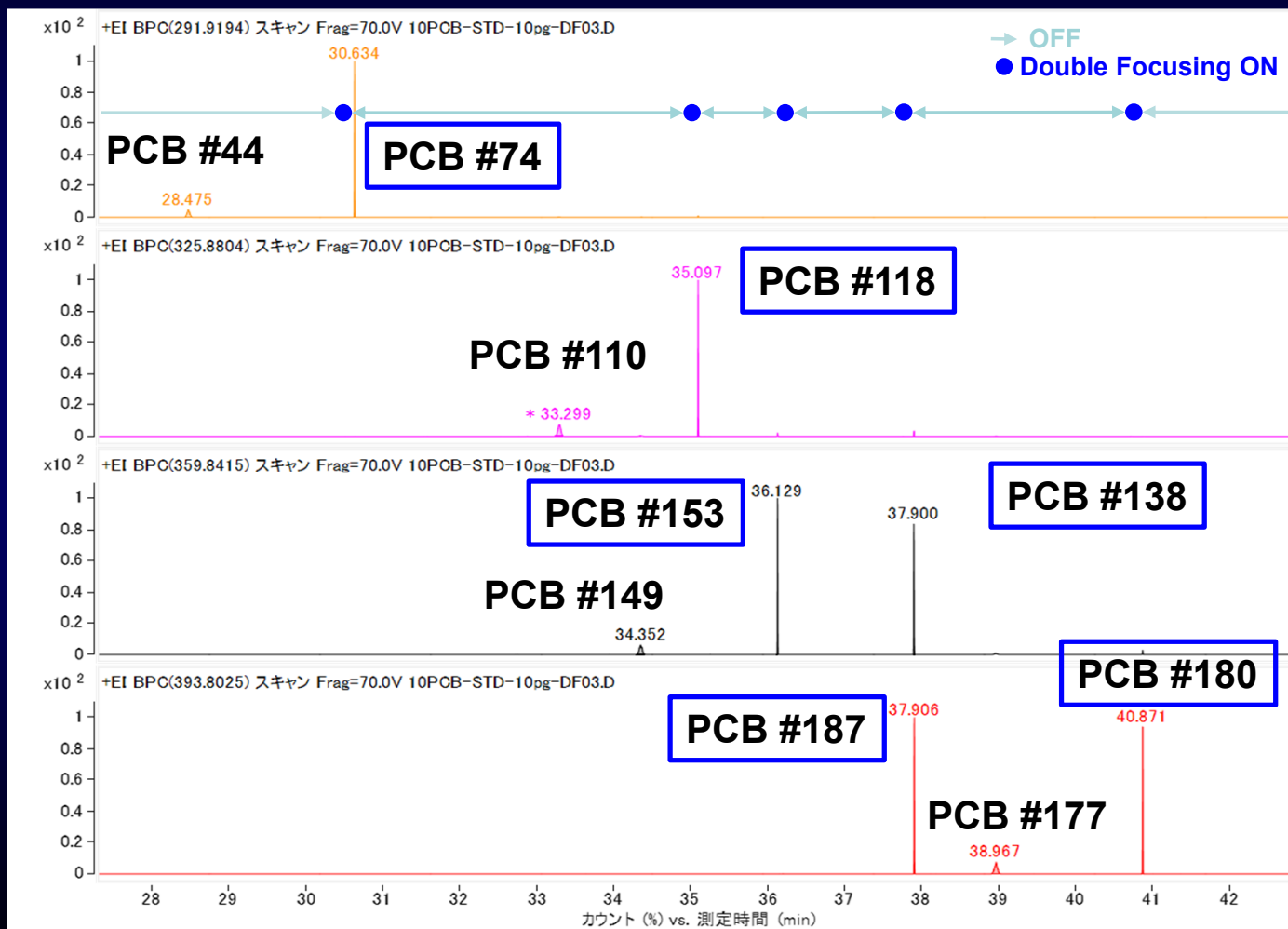


乾燥血液スポット(DBS)試料前処理方法

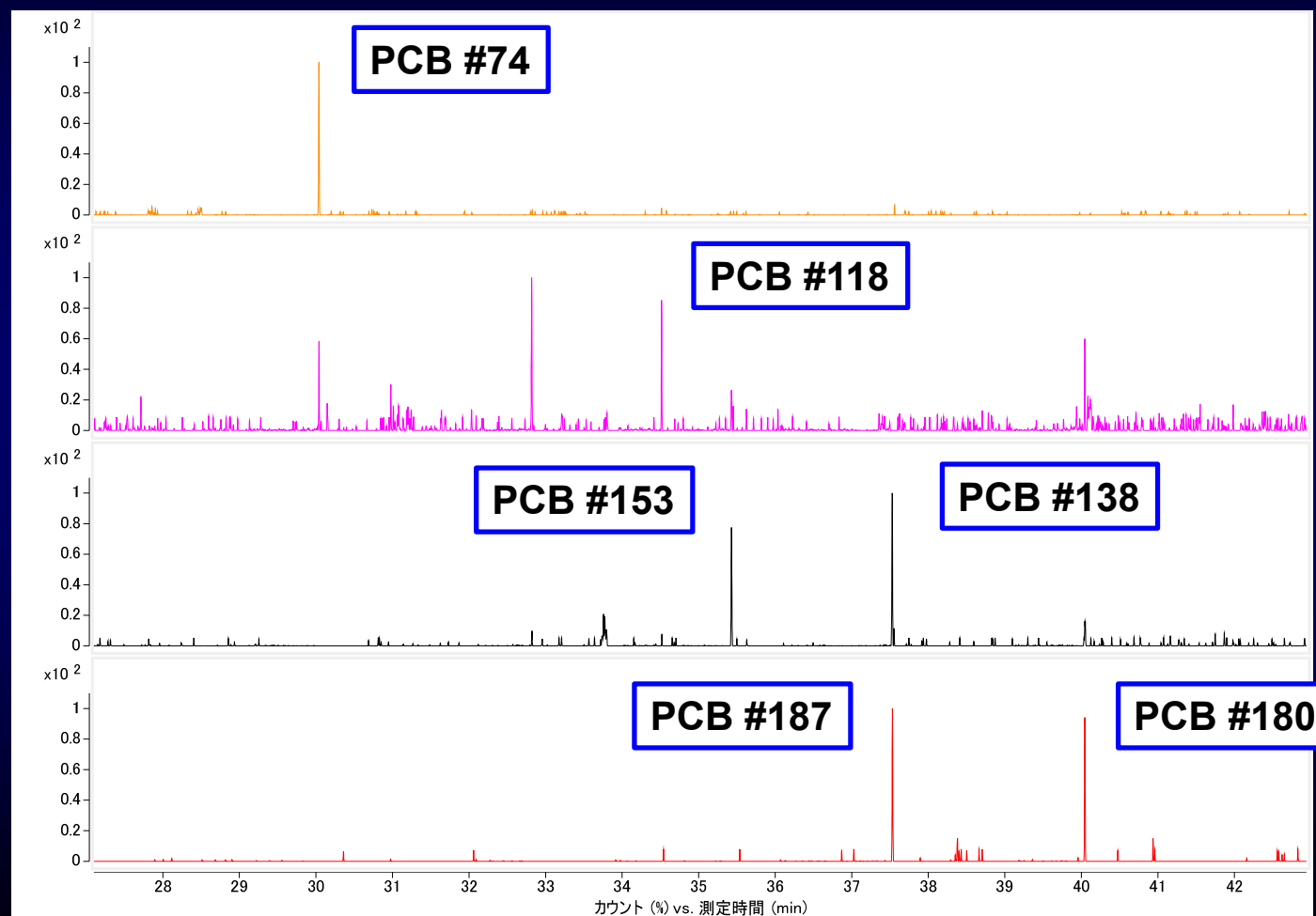


- DBS試料は、ろ紙に血液試料を40 μL を添加し、デシケーターで3時間乾燥
- 40 μL 全量分をくり抜いて分析試料とした

開発した装置を用いた測定クロマトグラム (PCB標準物質10 pg/ μ Lを1 μ L注入)

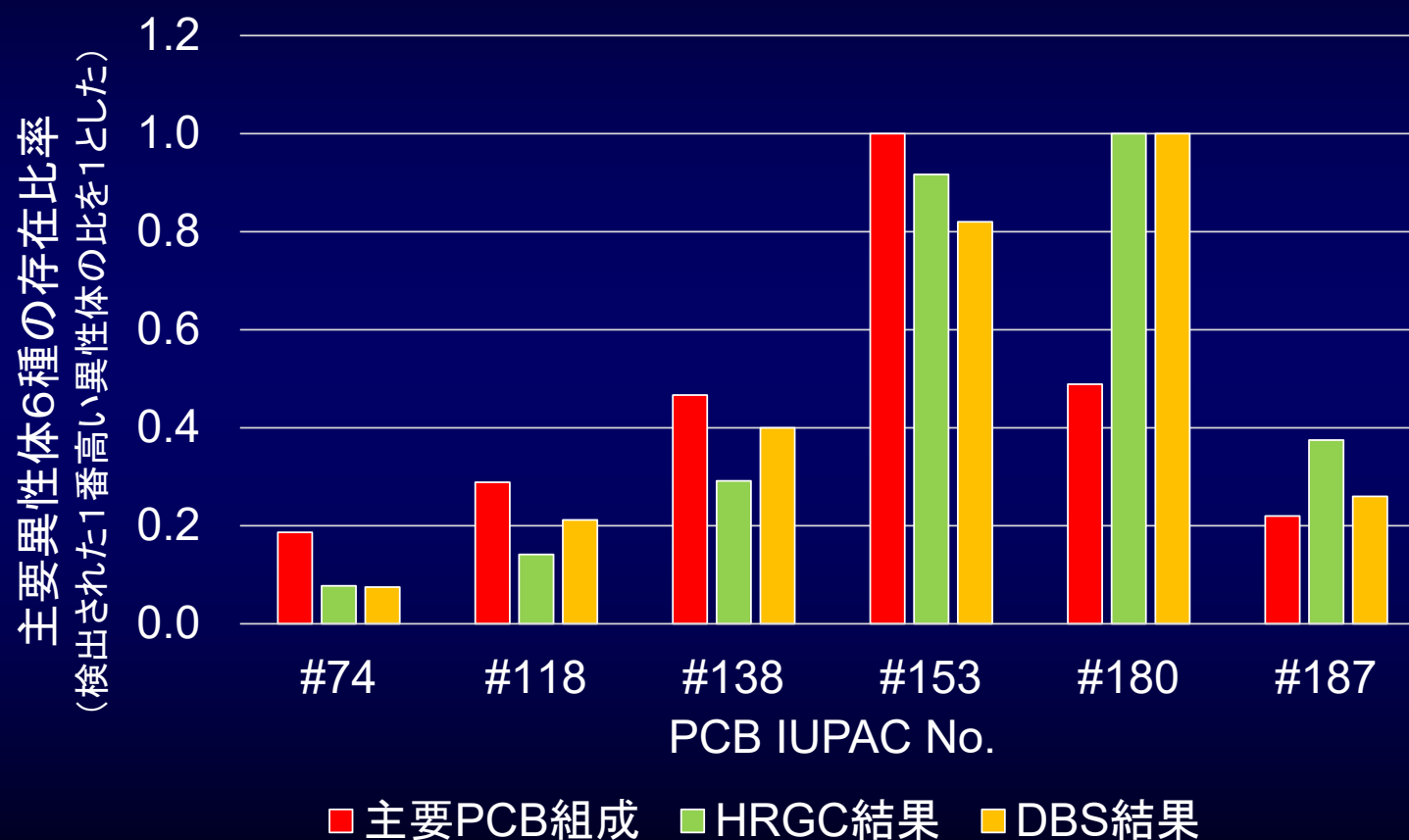


乾燥血液スポット(DBS)試料測定クロマトグラム (DBS1スポット40 μ L (血液約26 μ L相当)注入)



乾燥血液スポット(DBS)試料測定結果

✓ 同じ血液試料をGC/MS(二重収束型質量分析計)で測定した結果と同等



HRGCの結果はDBS試料と同様の血液8 mLからPCBsを抽出し約5 mL相当を注入し測定した結果

まとめ

✓ 感度

Single Cryo-Focusing → Double Cryo-Focusing

約12倍の高感度化 (PCBs)

通常のGC/MS測定と比較して約36～60倍の高感度化

✓ DBS試料

DBS (血液量約40 μ L) で主要6化合物の検出が可能

硫酸処理を行うことで操作手順も少なく夾雑物の影響も除去可能

今後の課題

✓ DBS試料の定量性の問題

1スポットの血液量を面積から算出

(径3 mmのパンチアウト片に約3 μ Lの全血が含有)

1スポットの血液量を重量から算出

(一定重量の血液をろ紙にスポットし、乾燥後の重量を測定)

重量から算出の際は多数の血液試料重量を測定して乾燥重量のばらつきを算出する必要がある

✓ 多検体のDBS試料分析への適用

多くのDBS試料を迅速かつ簡便に処理できる方法の開発