

低温キャピラリーガスクロマトグラフィーによるクロロホルム、メチレンクロライドの高感度分析

著者	渡部 加奈子, 石井 晃, 妹尾 洋, 鈴木 修, 服部 秀樹
雑誌名	法中毒 = Japanese journal of forensic toxicology
巻	15
号	2
ページ	128-129
発行年	1997-05-01
URL	http://hdl.handle.net/10271/1712

0-7

低温キャピラリーガスクロマトグラフィーによるクロロホルム、メチレンクロライドの高感度分析

浜松医大 ○渡部加奈子、石井 晃、妹尾 洋、鈴木 修
愛知医大 服部秀樹

SENSITIVE DETERMINATION OF CHLOROFORM AND METHYLENE CHLORIDE IN WHOLE BLOOD BY CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY WITH CRYOGENIC OVEN TEMPERATURE

Kanako Watanabe, Akira Ishii, Hiroshi Seno and Osamu Suzuki
Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Hideki Hattori
Department of Legal Medicine, Aichi Medical University

[はじめに]

工場での事故、自殺、殺人等におけるクロロホルム、ジクロロメタンの中毒死は法中毒学の分野においてしばしば問題となる。上記2種化合物をヘッドスペース法で抽出し、パックドカラムを用いてGC分析する方法がいくつか報告されているが、いずれも感度、分離能は優れていない。今回我々は、ヘッドスペース5 mlの気相サンプルをロスなくミドルポアキャピラリーカラムに注入し、液化炭酸ガスによる低温カラムにトラップする事により生体試料中からの検出を試みた。その結果、いずれもシャープなピークが得られ、分離能も良く、感度の大幅な改善が得られたので報告する。

[実験方法]

- 1) 試薬：クロロホルム、ジクロロメタンを分析対象とし、一方の分析には他方を内部標準として用いた。
- 2) 試料：上記化合物の添加実験に用いたヒト全血は日本赤十字社から購入した。ラットに上記化合物の各々を吸入させ深麻酔を施した後、腹大動脈から採血し分析した。
- 3) 試料の調製：まず、各々10 ug/mlの濃度の上記2種化合物を含む水溶液を作成する。7 mlバイアルにヒト全血0.5 mlと上記水溶液（あるいは蒸留水のみ）0.5 mlを容れ、全量を1 mlとした後密閉し、ヒートブロックにて55℃で20分加熱する。その後、ガラスシリンジにてヘッドスペースサンプルを5 ml採取し、その全量をGCへ注入した。
- 4) GC分析：本実験では、FIDと液化炭酸ガスによる冷却装置を備えたHP 6890シ

リーズGC器で分析を行った。カラムはRtx-Volatiles (30 m x 0.32 mm, 膜厚 1.5 μ m) 熔融シリカキャピラリーを用いた。GCの条件は、カラムの初期温度は -30°C でこの温度のまま1分おいた後 280°C まで2段階の昇温を行った。注入口温度 250°C 、検出器温度 280°C 、ヘリウムガス流量3 ml/min.、ヘッドスペースサンプルはカラム温度 -30°C にてスプリットレスモードにて注入し、1分後にスプリットモードに切り替えた。

[結果および考察]

Rtx-Volatiles キャピラリーカラムによる低温分析を行うに当たり、カラムの初期温度を 0°C 、 -10°C 、 -20°C 、 -30°C ならびに -40°C にて検討した。 0°C では両方のピークはブロードで、低温にするにつれシャープになったが、 -40°C ではベースラインにノイズが出現したため、カラム初期温度を -30°C に設定した。以上の条件で分析した結果、回収率 ($n=5$) は各々、クロロホルムが11.5%、メチレンクロライドが20.0%であった。また、5 μg のISを含む0.5 ml 全血にクロロホルムまたはメチレンクロライドを添加し、検量線を作成したところ、0.1 – 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲でいずれも良好な直線性が得られた。検出限界はいずれも約2 ng/0.5 mlであった。また、今回の分析方法の再現性を検討するため、クロロホルム/メチレンクロライド (エリア比) について日内変動、日替わり変動も検討した。各々の化合物でラットに深麻酔を施した後、腹大動脈から採血し分析したところ、クロロホルム794 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、メチレンクロライド1270 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ($n=5$) であった。今回の実験では5 ml のヘッドスペースサンプルを低カラム温度でロスなくカラムにトラップする事が出来る。その結果、飛躍的に感度を向上させることが出来た。

[SUMMARY]

A new method of gas chromatography(GC), for measurements of chloroform or methylene chloride in whole blood which allowed us to introduce as much as a 5 ml volume of headspace vapor without any loss, is presented with use of a low oven temperature (-30°C). After heating a blood sample containing the two drugs (internal standard, *vice versa*) in a 7.0 ml vial at 55°C for 20 min, 5 ml of the headspace vapor was drawn into a glass syringe. All vapor was introduced through an injection port in the splitless mode into an Rtx-Volatiles middle-bore capillary column at -30°C of oven temperature for trapping entire amounts of compounds to be analyzed and the oven temperature was programmed up to 280°C for detection of the compounds. The present conditions gave sharp peaks for both compounds and very low background noises for whole blood samples. The calibration curves showed linearity in the range of 0.01- 5.0 $\mu\text{g}/0.5$ ml whole blood. The detection limit was about 2 ng / 0.5 μg whole blood.