

低温トラッピングキャピラリーガスクロマトグラフィーによる血中エタノールの高感度分析

著者	渡部 加奈子, 妹尾 洋, 石井 晃, 鈴木 修, 服部 秀樹, 鈴木 加奈子
雑誌名	法中毒 = Japanese journal of forensic toxicology
巻	16
号	2
ページ	174-175
発行年	1998-05-10
URL	http://hdl.handle.net/10271/1717

低温トラッピングキャピラリーガスクロマトグラフィーによる 血中エタノールの高感度分析

浜松医大 ○鈴木(渡部) 加奈子、妹尾 洋、石井 晃、鈴木 修
愛知医大 服部秀樹

SENSITIVE DETERMINATION OF ETHANOL IN WHOLE BLOOD BY CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY WITH CRYOGENIC TRAPPING

Kanako Watanabe-Suzuki, Hiroshi Seno, Akira Ishii, Osamu Suzuki

Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Hideki Hattori

Department of legal medicine, Aichi Medical University

【はじめに】

人体試料中のエタノールの分析方法については以前から多数の研究報告がなされている。現在は、ヘッドスペース (HS) 抽出法、FID 検出器を用いた GC 分析法が法医学実務において最も簡便かつ迅速な定量法として確立されている。

今回、我々はエタノールの超高感度を確立した。これは、低温トラッピングキャピラリーガスクロマトグラフィー法を利用したものである。すなわち、GC 器に液化炭酸ガス蒸発装置を付け、GC 内カラム温度を 0°C 以下に冷却することで、気化したエタノールサンプル全量をカラム入口ヘトラップ、凝集し、検出するものである。人血中からのエタノール抽出法は従来の HS 法で、GC 操作も簡便である。この方法により、人全血中に添加した極微量のエタノールの高感度分析に成功した。又、内因性血中エタノール、飲酒後の呼気中エタノールの検出も試みたので報告する。

【実験方法】

- 1) 内部標準物質 (IS) : n-プロパノールを用いた。
- 2) 試料 : 上記化合物の添加実験に用いたヒト全血は健康な成人から採取した。内因性エタノール、飲酒後呼気中エタノールの分析サンプルは、本学学生 10 人の協力を得て、全血と呼気を採取した。
- 3) 試料の調整 : まずエタノール 5 μ g/10 μ l、n-プロパノール 0.5 μ g/10 μ l の濃度の水溶液を作成する。7ml バイアルびんにヒト全血 1ml とヒドロサルファトナトリウム (エタノールの抗酸化剤) 0.1g と硫酸ナトリウム (塩析効果剤) 0.5g を容れ、ガラス棒にてよく混和する。そこへ、上記水溶液 (あるいは水溶液のみ) 10 μ l を容れ、密栓後よく混ぜ、ヒートブロックにて 55°C で 15 分間加熱する。その後ガラスシリンジにて HS サンプル 5ml を採取

し、その全量を GC へ注入した。

4) GC 分析：液化炭酸ガスによる冷却装置を備えた HP6890 シリーズ GC 機器で分析を行った。カラムは Rtx-BAC2 (30m x 0.53mm, 2.0 μ m 膜厚) 熔融シリカキャピラリーを用いた。注入口温度 200°C、検出器温度 240°C、ヘリウムガス流量 3ml/min、5ml の HS サンプルは、カラム初期温度-60°Cにてスピリットレスモードにて注入し、同温のまま 1 分間保持後スピリットモードに切り替え、40°Cまでは昇温分析 (10°C/min)、その後 40°Cのまま 10 分間恒温分析、続いて 240°Cまで再び昇温分析 (20°C/min) を行った。

【結果及び考察】

Rtx-BAC2 キャピラリーカラムによる低温トラッピングを行うにあたり、カラム初期温度を-20°C、-30°C、-40°C、-50°C、-60°Cについて検討した結果、低温にする程ピークはシャープになった。冷却能の限界も考慮してカラム初期温度を-60°Cに設定した。次に、エタノールの酸化によるロスを防ぐため、抗酸化剤と塩析効果剤としてヒドロサルファイトナトリウム、硫酸ナトリウムを用いて、最大効果を引き出す各々の至適量の検討も行った。以上の条件で分析した結果、回収率は (n=5)、intra-day、inter-day につきエタノールでそれぞれ 2.87%、3.26%、n-プロパノールで 8.4%、8.2%であった。又、0.5 μ g の IS を含む 1ml 全血にエタノールを添加し検量線を作成したところ、0.1—5 μ g/ml の範囲でいずれも良好な直線性が得られた。検出限界は約 10ng/ml であった。次にエタノール 5 μ g/ml 全血と 1 μ g/ml 全血の 2 つの濃度において、intra-day variation、inter-day variation を検討した結果、5 μ g/ml 全血 については CV= 8.72%(intra-day)、9.47%(inter-day)、1 μ g/ml 全血については CV=9.53%(intra-day)、10.1%(inter-day)といずれも良好であった。加えて学生 10 人の飲酒前の血液につき、内因性エタノール濃度の検出を行ったところ 20.6—308 ng/ml 全血であり、飲酒後 30 分、60 分における呼気中エタノール濃度はそれぞれ 9.62—45.2ng/ml 呼気、6.23-29.0ng/ml 呼気であった。

【SUMMARY】

We have established sensitive determination of ethanol in whole blood by capillary gas chromatography with cryogenic trapping. After heating a blood sample containing ethanol and n-propanol (internal standard, IS) in a 7.0 ml vial at 55°C for 15 min, 5 ml headspace vapor was drawn into a glass syringe, and all vapor was injected into an Rtx-BAC2 wide-bore capillary column without any loss in the splittless mode at -60°C. The oven temperature was programmed up to 40°C (10°C/min), and held at the same temperature for 10 min, then elevated to 240°C (20°C/min) for detection of the ethanol and IS. This condition gave sharp peaks for ethanol and IS and very low background noises for blood samples. The calibration curves showed linearity in the range of 0.1-5 μ g / ml whole blood. The detection limit was about 10 ng / ml whole blood.