



## シアンの新しい直接蛍光測定法

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 修, 服部, 秀樹 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1780">http://hdl.handle.net/10271/1780</a>

## 75

## シアンの新しい直接蛍光測定法

鈴木 修・服部 秀樹 (浜松医大)

従来のシアン測定法ではいずれも、微量拡散法とか蒸留法等シアン分離前処理を必要としていた。今回われわれはシアンがピリドキサルリン酸と反応し、きわめて強い蛍光を生ずることを見出した。この高感度性を利用して、使用するサンプル量を微量に抑え、サンプル内不純物による妨害をさけることにより、拡散法等の前処理を省略し、きわめて簡便なシアンの測定法を開発したので報告する。

## 実験材料と方法

## 試薬

- 1) ピリドキサルリン酸 (0.5ng/ml), 使用前に作成
- 2) 0.01 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4)
- 3) 10%トリクロル酢酸 (TCA) 液
- 4) 2M 酢酸カリウム緩衝液 (2M 酢酸に5N KOHを加えpH 3.8に合わせる)
- 5) KCN標準液 (2~4 $\mu$ g/ml)

## 測定法

小試験管に0.2 ml 0.01Mリン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.2 ml ピリドキサルリン酸液, 20 $\mu$ l サンプル (血液胃内容物または尿) ならびに水20 $\mu$ l を入れ、パラフィルムで封をし、80°C、45分加熱する。冷却後0.2 mlの10%TCA液を加え、生じた沈でん物を遠沈除去し、その上清0.4 mlに1.0 mlの2M酢酸緩衝液を加える。蛍光測定は励起波長320 nm、蛍光波長427 nmで行う。標準として2~4 $\mu$ g/mlのKCN液20 $\mu$ lを20 $\mu$ lの水の代わりに加えたものを用いる。ブランクとしては、0.2 mlの10%TCA液を80°Cで加熱する前に加えたものを用いる。蛋白質の少ないサンプルについてはTCA処理と遠沈操作を省略できる。

## 実験結果ならびに考察

KCNによる検量線を検討したところ、0.1~6.0 nmol/試験管の範囲で良好な直線性が得られ、検出限界は0.1 nmolであった。

本法の特異性をしらべるため各種イオンについて検討したところ、シアン化カリウム、シアン化ナトリウム以外にフェリシアン化カリウム、フェロシアン化カリウムも同様な蛍光を生じた。

本法の回収率について検討したところ82~120%であった。

本法は感度に優れ、前処理も要らず、操作が簡単のため、法医毒物学上有用であるものと思われる。

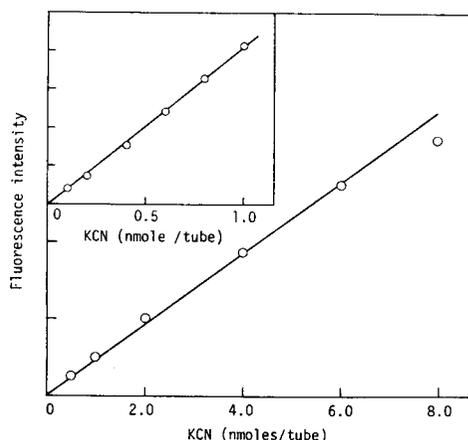


図 1. KCN の検量線

表 1. 回収率検討

## Determination of cyanide added to human samples

Sample	KCN added (nmoles/ml)	CN <sup>-</sup> detected <sup>a</sup> (nmoles/ml)	Recovery(%)
Blood	123	120	98
	92	92	100
	61	62	102
	31	31	100
Stomach contents	123	148	120
	61	50	82
Urine	61	60	98
	31	34	110

<sup>a</sup>Each value is the mean of duplicate determinations.