

Application News

No. G286A

ガスクロマトグラフィー

血中一酸化炭素の分析

一酸化炭素 (CO) は有毒性ガスとして知られており、有機化合物の不完全燃焼で発生します。CO は中毒発生機会の多いガスであり、CO による中毒判断の指標として一酸化炭素ヘモグロビン飽和度の測定が行われます。血中一酸化炭素を遊離させて分析する間接測定法にはガスクロマトグラフィー熱伝導検出器 (GC-TCD) が使われますが、感度はそれほど高くありません。バリア放電イオン化検出器 (BID) は、ヘリウムとネオンを除くほとんどの化合物を TCD と比較して高感度に検出することが可能です。高感度に測定できれば、分析に使用する血液サンプル量を減らすことができ、他の分析に血液サンプルを使用することが出来るため BID による分析は有効です。本アプリケーションニュースでは、GC-BID を用いて血中一酸化炭素を測定した例を紹介いたします。

S. Uchiyama

■ 分析方法

前処理方法は「薬毒物試験法と注釈 2006」II-1 有毒ガス試験法 定量試験 1・2 (2) を参考に下記のように行いました。

- ① フェリシアン化カリウム水溶液の調製 (酸化剤)
フェリシアン化カリウム 20 g とサポニン 5 g を蒸留水に溶解し、100 mL に定容しました。
- ② 試料溶液の調製
9 mL 容積のバイアルに、血液サンプル 0.25 mL、蒸留水 0.5 mL、および酸化剤 0.25 mL を加え、直ちに密閉しました。
- ③ 測定
血液試料 30 °C で 90 min 保温し、ヘッドスペースガス 0.1 mL をガスタイトシリンジで GC に導入し測定しました。カラムには Rt-Msieve 5A を用いました。

分析条件を表 1 に前処理方法のフローチャートを図 1 に示しました。

表 1 分析条件

Model	: Tracera™ (GC-2010 Plus + BID-2010 Plus)
Column	: RESTEK Rt-Msieve 5A (30 m×0.53 mm I.D., df = 50 μm) with Particle Trap 2.5 m
Column Temp.	: 100 °C
Inj. Mode	: Split 1:7
Inj. Temp	: 250 °C
Carrier Gas	: He 45 cm/sec (constant linear velocity mode)
Det. Temp.	: 280 °C
Discharge Gas	: 50 mL/min (He)
Inj. Volume	: 0.1 mL

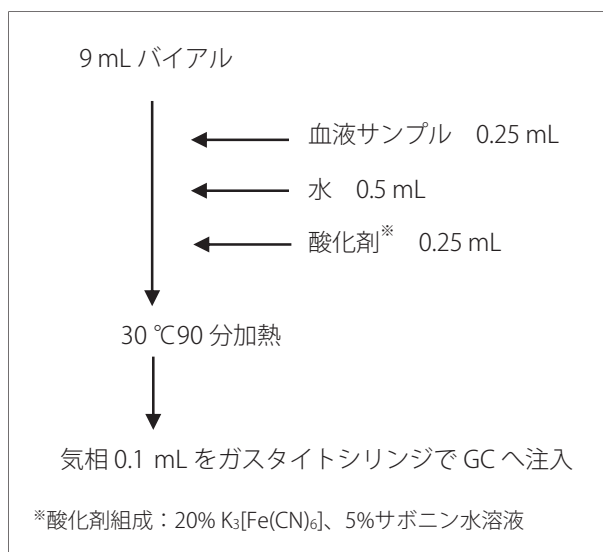


図 1 サンプルの前処理例

■ 一酸化炭素飽和血液サンプルの測定

血液 25 mL に CO ガス 10 mL をバブリングして攪拌し、これを 9 回繰り返して一酸化炭素飽和血液サンプルを作成しました。未処理血液サンプル及び一酸化炭素飽和血液サンプルを分析方法②③に従い分析を行い、得られたクロマトグラムを図 2 に示します。

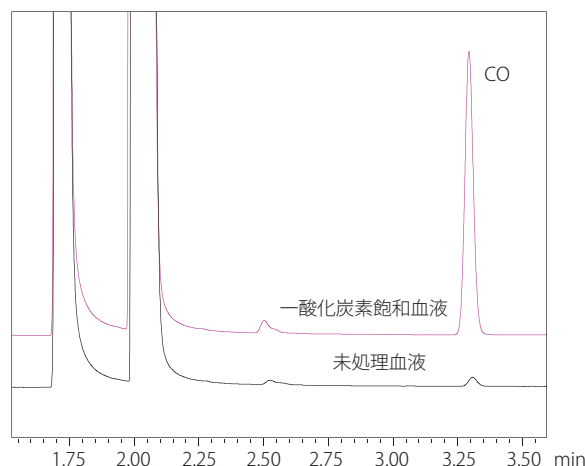


図 2 未処理血液及び一酸化炭素飽和血液の比較

■ 検量線の直線性

一酸化炭素標準ガスを空気で希釈して、2-3900 ppm の検量線を作成しました。図3に検量線を示します。2 ppm と非常に低濃度でも十分な感度があり、TCD で検出することのできない低濃度まで検出することが可能です。

2-3900 ppm の濃度範囲での相関係数 (R²) は 0.999 以上と良好な直線性を示しました。

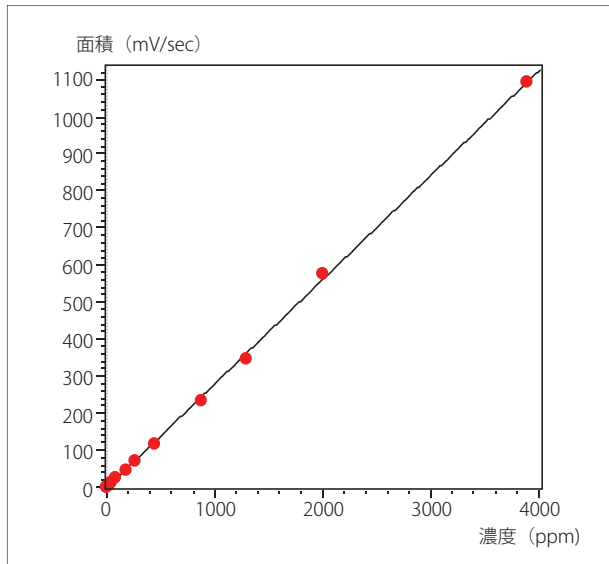


図3 検量線

■ 血中一酸化炭素の分析

喫煙者と非喫煙者の血中一酸化炭素を分析した結果を図4に示します。喫煙者と非喫煙者で CO の濃度に優位差が見られました。

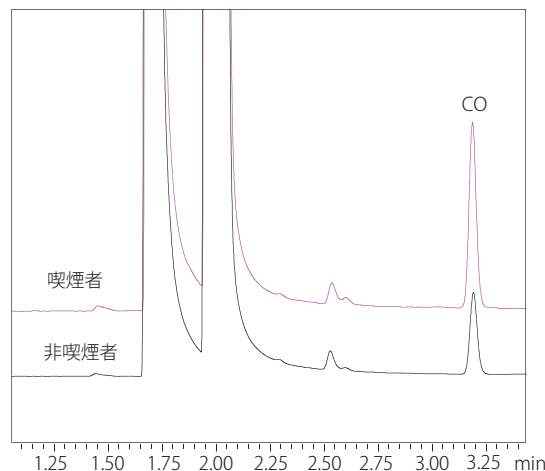


図4 喫煙者と非喫煙者の比較

■ 一酸化炭素ヘモグロビン飽和度の算出

一酸化炭素ヘモグロビン飽和度% (以下 CO-Hb (%)) は CO 中毒の程度に関係しており、CO-Hb (%) を求める必要があります。喫煙者 6 名、非喫煙者 6 名からそれぞれ血中一酸化炭素濃度を求め、CO-Hb (%) を求めた結果を表2に示します。

表2 一酸化炭素ヘモグロビン飽和度の算出

		1	2	3	4	5	6
喫煙者	分析定量値 (ppm)	414	452	285	240	339	318
	CO-Hb 結合量 (μmol)	0.133	0.146	0.092	0.077	0.109	0.102
	CO-Hb 最大結合量 (μmol)	2.191	2.412	2.558	2.601	2.586	2.657
	CO-Hb (%)	6.084	6.034	3.587	2.971	4.211	3.854
非喫煙者	分析定量値 (ppm)	146	158	218	188	207	255
	CO-Hb 結合量 (μmol)	0.047	0.051	0.07	0.061	0.067	0.082
	CO-Hb 最大結合量 (μmol)	2.617	2.357	2.613	2.530	2.395	2.766
	CO-Hb (%)	1.794	2.156	2.689	2.393	2.777	2.964

※CO-Hb 最大結合量 (μmol) は分光光度計を用いて求めました。

計算式

CO-Hb 結合量 (μmol) = ヘッドスペース中総 CO 量 = A*B/0.082/303/1000

A : CO 定量値 (ppm)

CO-Hb 最大結合量 (μmol) = 血液試料中の総ヘム量 = C*D*4*369.2*1000/64500

B : ヘッドスペース容量 (mL)

CO-Hb (%) = CO-Hb 結合量 / CO-Hb 最大結合量 * 100

C : 540 nm の吸光度「薬毒物試験法と注釈 2006」

II-1 有毒ガス試験法 定量試験 1・2 (1) に準拠

D : 使用した血液量 (mL)

本アプリケーションニュース作成にあたり、科学警察研究所 大森毅様、瀬戸康雄様よりデータ提供及び作成のご協力をいただきました。

参考文献：薬毒物試験法と注釈 2006 一分析・毒性・対処法 日本薬学会編

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認を受けておりません。

治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

Tracera は、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

Rt は、Restek Corporation の商標です。

なお、本文中には TM、®マークを明記していない場合があります。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2017年2月
A改訂版発行：2019年2月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。