

GC-MS Application Datasheet No.7

ヘッドスペース-GC-MSを用いた血液中エタノールの測定

飲酒による交通事故、酒の上での暴行、傷害あるいは殺人などの犯罪・事故などの科学捜査のために、血液中のエタノールが分析されます^[1,2]。血液中エタノール濃度は酩酊の度合いを知る上で重要であり、“道路交通法”および“道路交通法施行令”においては、血液中エタノール濃度が0.3 mg/mL以上を酒気帯びた状態としています。測定方法としては、パックドカラムGC-FID法やキャピラリーGC-FID法が知られていますが、科学捜査ではGCに代わってGC-MSが用いられる事例が多くなっています。今回、血液中エタノールをヘッドスペース-GC-MSで測定可能かを検討しました。

実験

試薬

内標準として血液試料に添加する1-プロパノール水溶液 (0.5 mg/mL) は、1-プロパノール(試薬特級;和光純薬工業)をミリQ水に溶解して調製しました。検量線作成に用いるエタノール標準水溶液は、エタノール(試薬特級;和光純薬工業)をミリQ水で段階的に希釈し、0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 2.0 mg/mLの濃度で調製しました。また、血液採取時に消毒用に使用されることがある2-プロパノールがエタノールおよび1-プロパノールとクロマトグラム上で分離していることを確認するため、エタノール、2-プロパノールと1-プロパノールの分離確認用水溶液を調製しました。実試料については、飲酒していない人から採血し、血液凝固防止剤が入っているスピッツ管に保存した血液を所定量はかりとり、エタノールを添加してVortexで攪拌し、エタノールスパイク血液試料 (0.3 mg/mL) としました。

処理

検量線用標準試料は、ヘッドスペースバイアル(22 mL)にエタノール標準水溶液 (0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 2.0 mg/mL)を0.5 mL添加し、次に内標準の1-プロパノール水溶液 (0.5 mg/mL)を0.5 mL添加し、すばやくヘッドスペースのキャップ(アルミキャップ:ブチルゴム/PTFE)で密栓しました。エタノールをスパイクした血液についても同様に、ヘッドスペースバイアルに0.5 mL添加し、次に内標準1-プロパノール水溶液 (0.5 mg/mL)を0.5 mL添加し、すばやくキャップで密栓しました。

機器

ヘッドスペースとGC-MSの接続はキャリアガスの使用量を削減できる直結方式を採用し、カラム間の接続にはプレスタイトコネクタ (P/N:221-38102-91)を用いました。Table 1に分析条件を示します。

Table 1 分析条件

HS	: TurboMatrix HS		
GC-MS	: GCMS-QP2010 Ultra		
[HS]		[GC]	
ヘッドスペースモード	: コンスタント	気化室温度	: 200°C
注入時間	: 0.05 分 ^{注)}	カラム	: Rtx®-BAC2 (長さ 30 m, 0.32 mm I.D., df=1.2 μm レステック社)
ゾーン温度設定	: (O/N/T)	カラムオープン温度	: 40°C (5分)→(40°C/分)→200°C (1分)
オープン温度	: 60°C	キャリアガス	: ヘリウム
ニードル温度	: 100°C		
トランスファ温度	: 150°C	[MS]	
サンプルシェーカー	: OFF	インターフェース温度	: 230°C
GCサイクル時間	: 20 分	溶媒溶出時間	: 0.7 分
加圧時間	: 1 分	測定モード	: Scan
引き上げ時間	: 0 分	イベント時間	: 0.5 秒
保温時間	: 15 分	検出器電圧	: -0.1 kV(相対値) ^{注)}
HSキャリアガス圧力	: 70 kPa	イオン源温度	: 200°C
		データ採取時間	: 1 - 10 分
		質量範囲	: m/z 29-300
		エミッション電流	: 150 μA (高感度)

注) ヘッドスペースサンブラの注入時間および検出器電圧は装置の状態によって異なりますので、最適化する必要があります。

結果

混合試料を測定して得られたトータルイオンカレントクロマトグラムをFig. 1に示します。今回検討した分析条件によって血液採取時に消毒用に使用される2-プロパノールは、クロマトグラム上で完全分離し、定量値が影響を受けないことを確認できました。内標準補正によって得られた検量線 (0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 2.0 mg/mL)をFig. 2に示します。その検量線を用いて、酒気帯びとみなされる血液中エタノール濃度 0.3 mg/mLの1/10の濃度に相当するエタノール濃度での水溶液とエタノールスパイク血液を測定した結果、得られたマスクロマトグラムと繰返し分析精度をFig. 3とTable 2に示します。

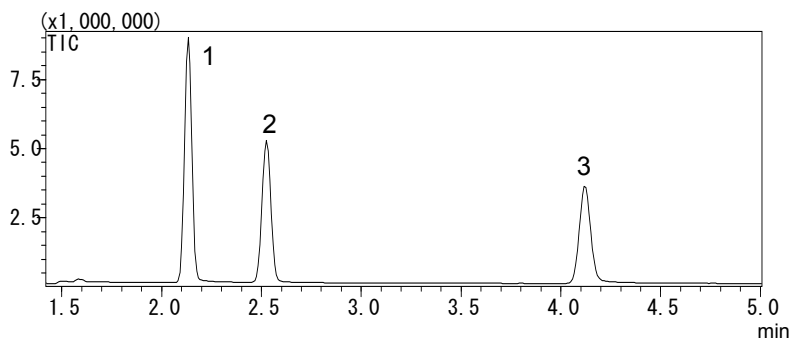


Fig. 1 トータルイオンカレントクロマトグラム
1 = エタノール; 2 = 2-プロパノール; 3 = 1-プロパノール

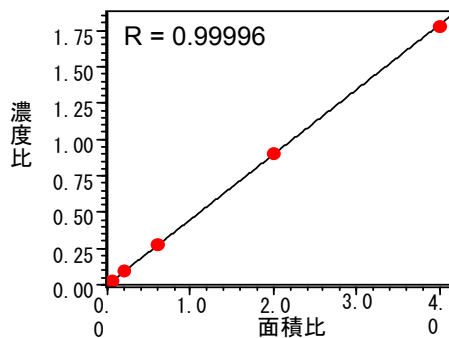


Fig. 2 エタノールの検量線
エタノール濃度: 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 2.0 mg/mL
1-プロパノール濃度: 0.5 mg/mL

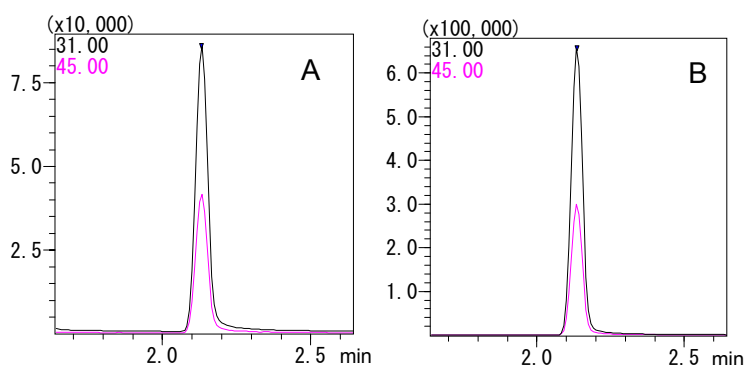


Fig. 3 (A)エタノール水溶液 (0.03 mg/mL) および
(B)エタノールスパイク血液(0.3 mg/mL)のマスクロマトグラム

Table 2 定量結果と繰返し分析精度

	エタノール水溶液	エタノールスパイク血液
1	0.0299	0.296
2	0.0293	0.303
3	0.0293	0.302
4	0.0304	0.303
5	0.0294	0.296
6	0.0295	0.293
7	0.0291	0.291
平均	0.0296	0.298
%RSD	1.5563	1.697
最大	0.0304	0.303
最小	0.0291	0.291
標準偏差	0.0005	0.005

単位 mg/mL, n = 7

まとめ

血液中のエタノール濃度は酩酊度合いによって異なりますが、一般的に3.5 mg/mL 以上では大多数のものが昏睡状態に陥り、呼吸中枢麻痺により死亡すると報告されています^[1,2]。そのため今回の検討では、道路交通法で酒気帯びとみなされる血液中エタノール濃度0.3 mg/mLの1/10に相当する0.03 mg/mLの濃度から2.0 mg/mLまでの濃度までの検量線を作成しました。その結果、相関係数で0.99996と良好な直線性を示しました。また、エタノール水溶液(0.03 mg/mL)とエタノールスパイク血液(0.3 mg/mL)を測定した結果、定量の平均値はそれぞれ0.0296 mg/mL (CV1.56%)と0.298 mg/mL (CV1.70%)と良好な定量性が示されました。

引用文献

- [1] 鈴木 修・屋敷幹雄編:薬毒物分析実践ハンドブック-クロマトグラフィーを中心として- じほう 東京 平成14年
- [2] 日本薬学会編:薬毒物試験法と注解2006-分析・毒性・対処法- 東京化学同人 東京 2006

このデータ集は弊社が得た情報および内容のままにご提供するものであり、作成にあたり万全を期していますが、その正確性および特定の目的における有用性について保証するものではありません。弊社は、このデータ集の使用により直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても責任を負えないものであり、その使用により生じた結果および現象については使用者の責任とします。また、このデータ集の内容は将来予告なしに変更することがあります。

Copyright © 2011 Shimadzu Corporation. All right reserved.