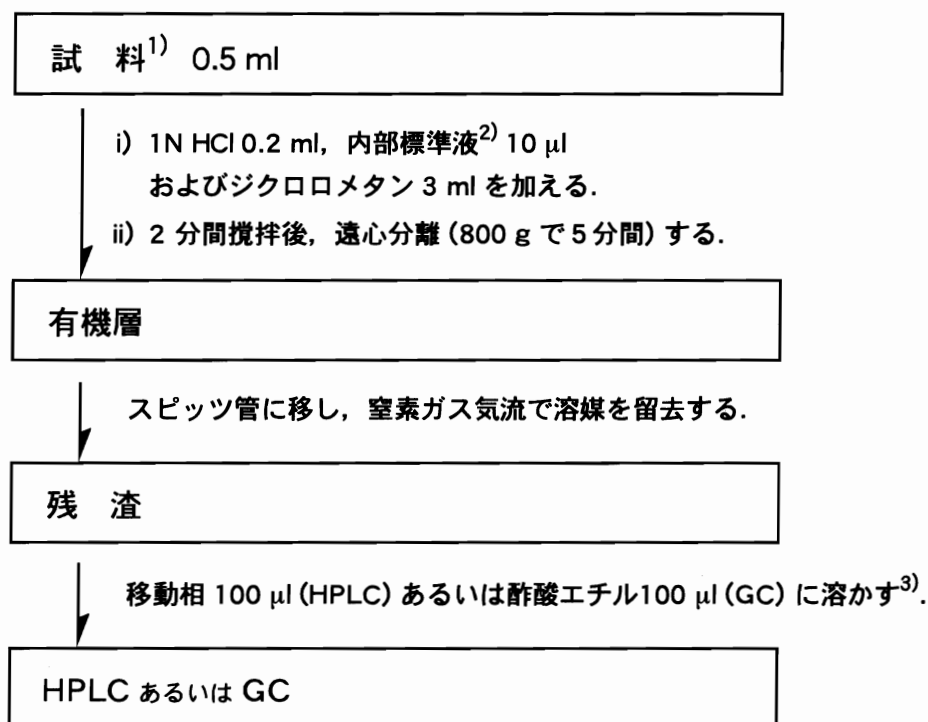


B. ブロムワレリル尿素

(1) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

i) 前処理



【注 解】

- 1) 試料は血清, 尿など. 尿試料の分析では, 尿成分のピークの妨害を受けるので, 同定には注意すること. 尚, 全血の分析では下記の論文に記載されている Extrelut や Sep-Pak C18 カートリッジカラムによる前処理法が良い.
- 2) 内部標準液はフェニトインの 500 μg/ml メタノール溶液を使用する.
- 3) HPLC には 10-50 μl を, GC には 1-2 μl を注入する.
- 4) 検量線はブロムワレリル尿素の 10 μg/ml メタノール溶液を用いて作成する. このメタノール溶液 (例えば 10, 25, 50, 100, 500, 1000 μl) を取り, 窒素ガス気流 (室温) で溶媒を留去し, 残渣に血清 0.5 ml を加えたものを用いる.

ii) HPLC の条件

装置	: 高速液体クロマトグラフ
検出器	: 紫外可視検出器
カラム	: ODS-80Ts ¹⁾ , 10 cm x 4.6 mm i.d. ; 粒径 5 μm
カラム温度	: 室温
移動相	: アセトニトリル / 8 mM KH ₂ PO ₄ 液 (35 : 65, v/v)
流速	: 0.7 ml/min
測定	: 波長 225 nm ; 時間 約 15 min

【注 解】

- 1) カラムは Zorbax ODS, Hypersil ODS などの ODS (オクタデシルシラン系シリカゲル) 同等品で代替できるが, 保持時間が異なってくる。
- 2) 本法によるブロムワレリル尿素の定量範囲は 0.05-5 μg/ml である。ブロムワレリル尿素および内部標準物質の保持時間はそれぞれ約 7.2 分および約 12.4 分である。
- 3) ブロムワレリル尿素による中毒死の血中レベルについて, 菱田らは 44.0-93.8 μg/ml, 真口らは 67-134 μg/ml, 寺田らは他剤と併用 37 μg/ml, 松原らは他剤と併用 23.6 μg/ml, 屋敷らは他剤と併用 31.5 μg/ml, 40.8 μg/ml ; 単剤 114 μg/ml と報告している。
- 4) 試験液 10 μl を HPLC に注入し, 得られたクロマトグラムを標準液のそれと比較し, 標準液から作成した検量線によって定量を行う。

【文 献】

1. 松原和夫 他. 衛生化学 1986 ; 32 : 368-372.
2. Miyauchi H et al. J Anal Toxicol 1991 ; 15 : 123-125.
3. 菱田 繁. 日法医誌 1968 ; 22 : 577.
4. 真口孝順. 北海道医誌 1961 ; 36 : 559.
5. 小嶋 亨 他. 日法医誌 1976 ; 30 : 365-367.
6. 寺田 賢 他. 日法医誌 1981 ; 35 : 456-461.
7. 屋敷幹雄 他. 日法医誌 1987 ; 41 : 452-456.