

(3) ガスクロマトグラフィー (GC)¹⁾

i) 操作法

- 1) 5 ml の注射器²⁾(CO解離用)に採血針³⁾を刺入する(図A).
- 2) 血液(水で5倍希釈)あるいは体腔液約1gを注射筒に滴下し、重量を精秤する.
- 3) ガラス球を1個⁴⁾, 4%トリトンX-100(溶血剤)を3滴, n-オクタノール(消泡剤)3滴を加える.
- 4) 塩化リチウム飽和液を塗布したプランジャーを挿入し、空気を追い出す.
- 5) 注射器を逆にし(図B), 注射針をGC用セプタム取り付け位置まで抜いた後, プランジャーを押して完全に脱気する.
- 6) GCのキャリアーガス排出口に接続したゴム管に注射針を刺入し, ヘリウム約1mlを吸入後, 採血針を抜取り, 注射器を5分間振盪する⁵⁾.
- 7) 塩化リチウム飽和液で気密にし, ヘリウムで置換した1mlの注射器⁶⁾に5mlの注射器の気相を取り, GCに注入する(腐敗によるメタンガスがないことを確認)⁷⁾.
- 8) 5mlの注射器に再度採血針を取り付け, 新たにヘリウムガス0.5mlを吸入した後, 採血針を抜取り, マイクロシリンジで内部標準ガスとしてメタンガス20 μ l⁸⁾を加える.
- 9) 20%フェリシアン化カリウム液(解離剤)0.3ml⁹⁾を添加する.
- 10) 5分間振盪し, ヘリウムで置換した1mlの注射器⁶⁾で気相を採取し, GCに注入する.

【注 解】

- 1) 本法は図1のように, 注射器内で血液にフェリシアン化カリウムを加えて反応させ, 解離したCOを注射器で採取し, GCで分析する.
- 2) 予め注射針取付部にユニチューブでGC用セプタムを取り付けておく.
- 3) テルモ社のマルチプル採血針 MN-2238M, 22G x 11/2" (1.5") (0.70 x 38 mm).
- 4) 直径約0.7cmのガラス球を使用.
- 5) イワキ KM-Shaker V-S 振盪盤などを使用.
- 6) 注射針を取り付け, GC用セプタムから5mlの注射筒に刺入する.
- 7) 腐敗した試料ではメタンが検出されるが, メタンの妨害がなくなるまでヘリウム洗浄を2~3回繰り返す.
- 8) CO-Hbが3%以下の時は2 μ lを加える. 100 μ lまたは10 μ lのマイクロシリンジを使用.
- 9) 0.5mlのツベルクリン用注射器とマント針(ミサワ工業製)を使用.
- 10) 注射器は全てガラス製で, ディスポは不適. また, セプタムは10検体程度で交換する.
- 11) CO-Hb飽和度の算出: 次の計算式によって算出する.

$$\text{CO-Hb (\%)} = 100 \times V / (\text{Hb} \times 4 \times 22.4 \times 1,000 / 64,458)$$

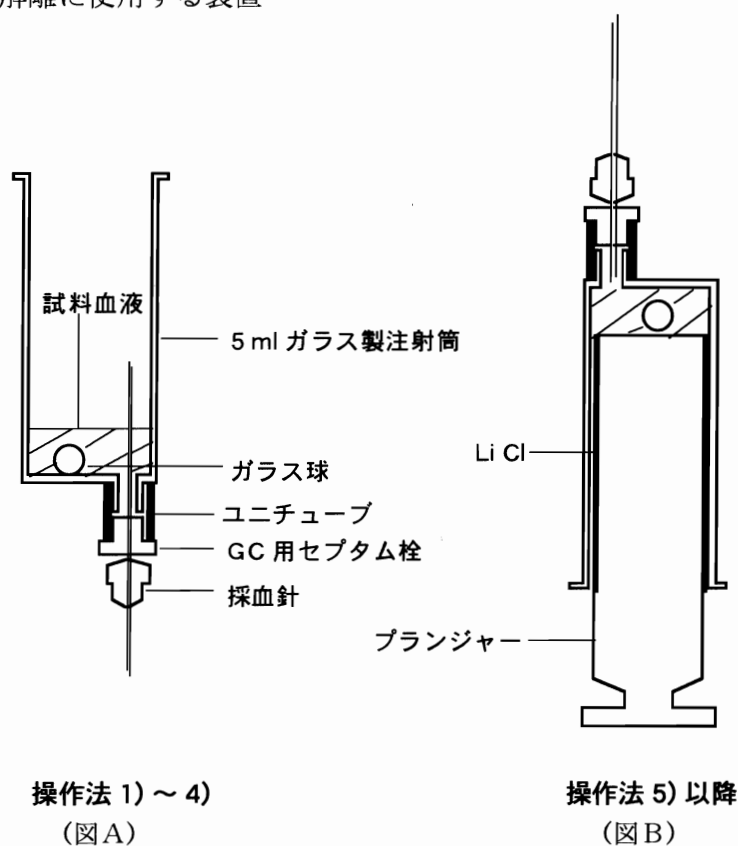
V: 試料中のCO量 (ml/100g, 標準状態)

Hb: 試料中の総Hb量 (g/100g)

64,458: ヘモグロビンの分子量

- 12) 総ヘモグロビンの測定は, 和光純薬製の総ヘモグロビン測定用キット(シアンメトヘモグロビン法)を用いる.

図1 COの解離に使用する装置



ii) GC の条件

装置	: ガスクロマトグラフ
検出器	: FID (水素炎イオン化検出器) または TCD (熱伝導度検出器)
カラム ¹⁾	: Molecular Sieve 5A (60-80 mesh), 2.1 m x 3 mm i.d.
温度	: カラム 100°C ; 注入部 110°C ; 検出器 100°C
キャリアガス	: ヘリウム 0.6 Kg/cm ² , (約 24 ml/min)

【注解】

- 1) 使用前に 250°C で 12 時間以上エージングしておく。
- 2) 酸素, 窒素, メタン (内部標準物質) および CO の保持時間はそれぞれ 1.1 分, 1.6 分, 2.5 分および 4.2 分である。

【文献】

1. 小嶋 亨 他. 日法医誌 1981 ; 35 : 305-311.