

裁判化学における熱分解-GC の応用

近畿管区警察局 土橋 均

1. はじめに

裁判化学は、鑑識化学、犯罪化学ともいわれ、国際的には法科学 (Forensic Science) の一分野である法化学 (Forensic Chemistry) として体系化され、犯罪に関連する証拠物件 (鑑定物件) を化学的に解明し、事件の事実を証明する証拠を与えることを目的としている。鑑定物件の種類は我々の生活環境のあらゆるものが対象となるので非常に多種多様であり、目的物質が不明であることが多く、また、極めて微量であるうえ純品であることが少ないことから、化学的な基礎知識を応用し適確な分析法をデザインしなければならない。

鑑定物件が微量なことから機器分析を中心とし鑑定を行っているが、その機器分析の中でも熱分解ガスクロマトグラフィー (pyrolysis - GC, PGC) は、前処理をはとんど必要としないこと、0.1mg 程度の微量試料で、比較的他の分析法では得難い多くの情報が簡単に得られることから塗膜片、各種プラスチック・ゴム片、接着剤、繊維等の異同識別や材質検査、製造元の特定的手段として広く鑑定に利用されている。このように従来合成高分子化合物を対象とした分析に多用されている PGC であるが、演者はこれを天然高分子化合物や薬物の分析に応用した。

本稿では、アミノ酸や単純タンパク質の PGC の基礎的条件と、皮革類や動物性繊維等天然高分子の分析の応用例を示す。また、不揮発性のためガスクロマトグラフィー (GC) が困難な塩化スキサメトニウムや臭化パンクロニウム等 8 種類の第四級アンモニウム塩系薬物の熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析計 (PGC - MS) による一斉分析法と、薄層クロマトグラフィー (TLC) のプレートから分取したスポットをシリカゲルごと PGC を行う方法についても概説する。さらに鑑定への利用として、アクリル繊維 ポリエステル繊維や自動車塗膜片、コピー機用トナー、木材等の PGC についても概説する。

2. アミノ酸及びタンパク質試料の分析 1, 2)

タンパク質関連物質は自然界で最も重要な化学物質の一つであり，裁判化学分野でも，ウール，絹等の動物性繊維・皮革類，毛髪，獣毛，皮膚等の組織片等犯罪の捜査や立証を行う上で鑑定要望の多いものである．これらタンパク質関連試料はその種類によってアミノ酸組成が異なることから，その分析においてはアミノ酸組成を明らかにすることが必要であるが，通常分析法は比較的多くの試料量が必要で，前処理にも長時間を要するため裁判化学的には不向きであった．そこで，タンパク質のアミノ酸分析に前処理をほとんど必要としないPGCを応用することにした．

主要 L- - アミノ酸の熱分析生醜物

主要 L- - アミノ酸 21 種類の PGC を検討したところ，590 °C，3 秒間の熱分解の結果，Fig. 1 に示すように各アミノ酸からそれぞれ固有のパイログラム

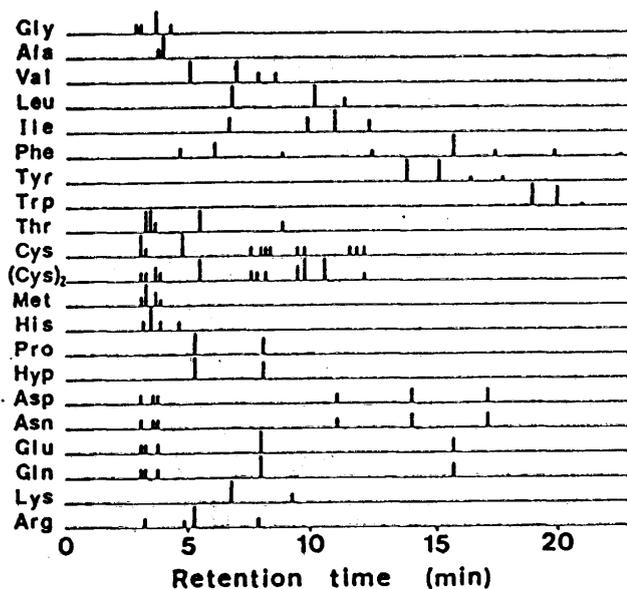


Fig. 1. Chart of Peak Bands Observed in Pyrograms of 21 L- α -Amino Acids

Gly:Glycine, Ala:Alanine, Val:Valine, Leu:Leucine, Ile:Isoleucine, Phe:Phenylalanine, Tyr:Tyrosine, Trp:Tryptophan, Thr:Threonine, Cys:Cysteine, (Cys)₂:Cystine, Met:Methionine, His:Histidine, Pro:Proline, Hyp:Hydroxyproline, Asp:Aspartic acid, Asn:asparagine, Glu:Glutamic acid, Gln:Glutamine, Lys:Lysine, Arg:Arginine

が得られ、相互に識別が可能であった。

ヒドロキシプロリン、グルタミン、アスパラギンのパイログラムについては、それぞれプロリン、グルタミン酸、アスパラギン酸との差は認められず識別は困難であった。

また、主要ピークについて質量分析を行い熱分解生成物を同定した。Table I に芳香族アミノ酸の、Table II に脂肪族アミノ酸の主な熱分解生成物を示す。

TABLE I. Degradation Products Identified in Pyrograms of Aromatic Amino Acids

No.	L-Phenylalanine	L-Tyrosine	L-Tryptophan
1	Benzene	Phenol	Indole
2	Toluene	<i>p</i> -Cresol	Skatole
3	Styrene	<i>p</i> -Hydroxystyrene	3-Ethylindole
4	Unknown	Unknown	
5	Phenethylamine		
6	Diphenyl		
7	Dibenzyl		
8	Unknown		

TABLE II. Degradation Products Identified in Pyrograms of Aliphatic Amino Acids

No.	L-Alanine	L-Leucine	L-Isoleucine
1	CH ₃ -CHO	CH ₃ -CH(CH ₃)-CH ₂ -CHO	CH ₃ -CH ₂ -CH(CH ₃)-CHO
2	CH ₃ -CN	CH ₃ -CH(CH ₃)-CH ₂ -CN	CH ₃ -CH ₂ -CH(CH ₃)-CN
3		CH ₃ -CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₂ -N	CH ₃ -CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -N
		CH ₃ -CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₂ -N	CH ₃ -CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -N

単純タンパク質の熱分解生成物

アミノ酸組成既知の単純タンパク質としてペプシン，卵白リゾチーム，牛ヘモグロビン，人血清アルブミンのPGCを行ったところ，いずれの試料からも類似したパイログラムが得られた．ペプシンと牛ヘモグロビンのパイログラムを Fig. 2 に，また，主要な熱分解生成物を Table に示す．

ペプシンのパイログラムにはイソロイシンに由来する 2 - メチルブタナール（ピーク番号 3）と 2 - メチルブタンニトリル（ピーク番号 6）が検出されているが，牛ヘモグロビンからはこれらのピークは検出されなかった．これは牛ヘモグロビン中には構成アミノ酸としてイソロイシンが含まれていないことによるものと考えられる．また，プロリン，ヒドロキシプロリンに由来するピロール（ピーク番号 8）と，チロジンに由来するフェノール（ピーク番号 9）と p - クレゾール（ピーク番号 10）のピーク強度についてもペプシンと牛ヘモグロビン間で顕著な差異が見られ，これらは各試料のアミノ酸組成の違いを示唆しているものと考えられた．

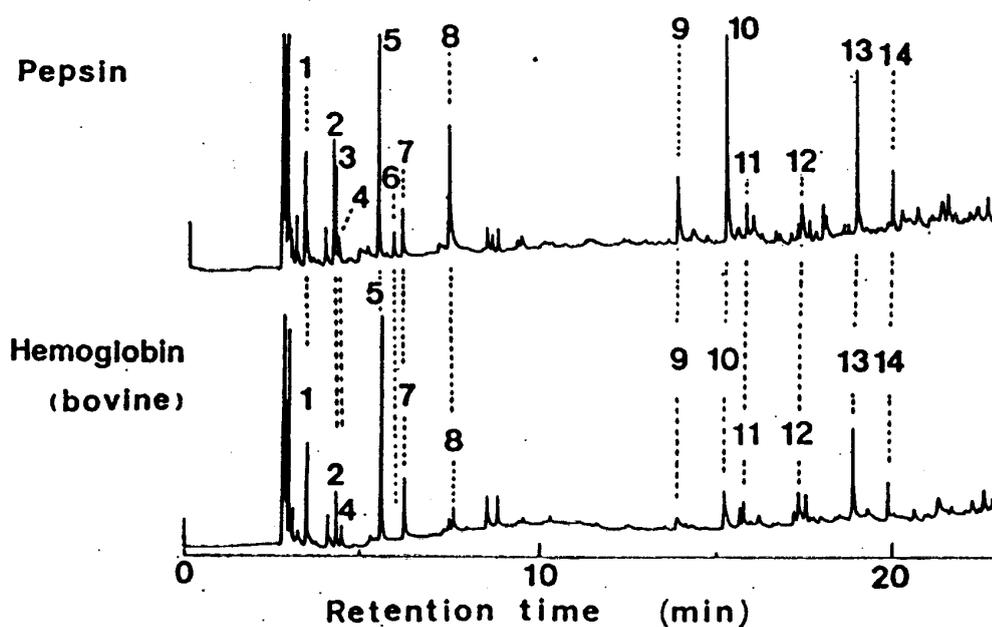


Fig.2. Pyrograms of Pepsin and Hemoglobin

TABLE III. Degradation Products Identified in Pyrograms of Pepsin

Peak No.	Degradation products	Amino acid residues assigned
1	Acetaldehyde	Alanine
2	3-Methylbutanal	Leucine
3	2-Methylbutanal	Isoleucine
4	2-Methylpropanenitrile	Valine
5	Toluene	Phenylalanine
6	2-Methylbutanenitrile	Isoleucine
7	3-Methylbutanenitrile	Leucine
8	Pyrrole	Proline, hydroxyproline
9	Phenol	Tyrosine
10	<i>p</i> -Cresol	Tyrosine
11	Unknown	Glutamic acid, glutamine
12	Unknown	Aspartic acid, asparagine
13	Indole	Tryptophan
14	Skatole	Tryptophan

a) Peak numbers correspond to those in the pyrogram of pepsin

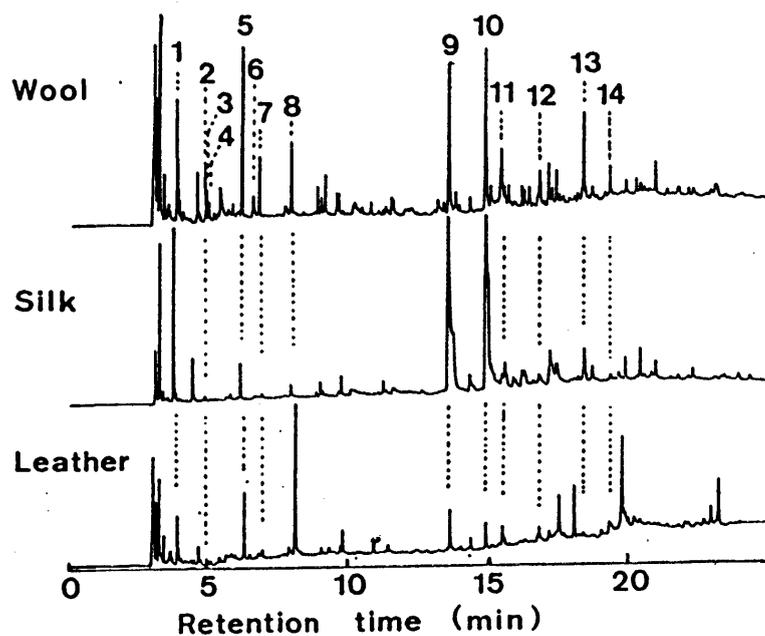


Fig.3. Pyrograms of Wool Fiber, Silk Fiber and Leather

ウール等の天然タンパク質の PGC

ウール，絹糸，牛皮革の PGC を行ったところ Fig.3 に示すようなパイログラムが得られ，その主要ピークは，いずれも Table に示したものと同様に各アミノ酸残基に由来する熱分解生成物であった．絹糸では，チロシンに由来するフェノールと p - クレゾールが，また，牛皮革ではプロリン又はヒドロキシプロリンに由来するピロールのピークが目立って大きく現れている．牛皮革でトリプトファンに由来するインドールとスカトールのピークが検出されないのは，一般的に知られている皮革類では構成アミノ酸としてトリプトファンを含まないということと矛盾のない結果である．

熱等により変化したタンパク質試料の分析

Fig . 3 にウール，絹糸，皮革類の PGC を挙げたが，天然繊維の鑑定の場合，顕微鏡による形態観察や赤外分光（IR）分析で十分その判定は可能である．しかし熱等により炭玉状に変化した試料の場合，顕微鏡や IR 分析では識別は困難である．しかし，炭玉状になったものや，IR 分析用の臭化カリウム錠剤にしたもの，炭玉状になったものを臭化カリウム錠剤にしたものを作成し PGC を行ったところ，このような試料においてもそれぞれの繊維の元のものと酷似するパイログラムが得られた（ウールのパイログラムを Fig . 4 に示す）．また，これらのパイログラムからトルエン（フェニルアラニン由来，ピーク番号 5），ピロール（プロリン又はヒドロキシプロリン由来，ピーク番号 8），フェノールと p - クレゾール（チロシン由来，ピーク番号 9，10），インドールとスカトール（トリプトファン由来，ピーク番号 13，4）の各ピークについてアミノ酸残基の構成比率の簡易定量を行ったところ，Fig . 5 に見られるように，ウール，絹糸，皮革ナイロンのいずれも燃焼前の文献値に近い値が得られ，炭玉状になったものや，さらにこれを臭化カリウム錠剤にしたものであってもそれぞれの識別が可能であった．

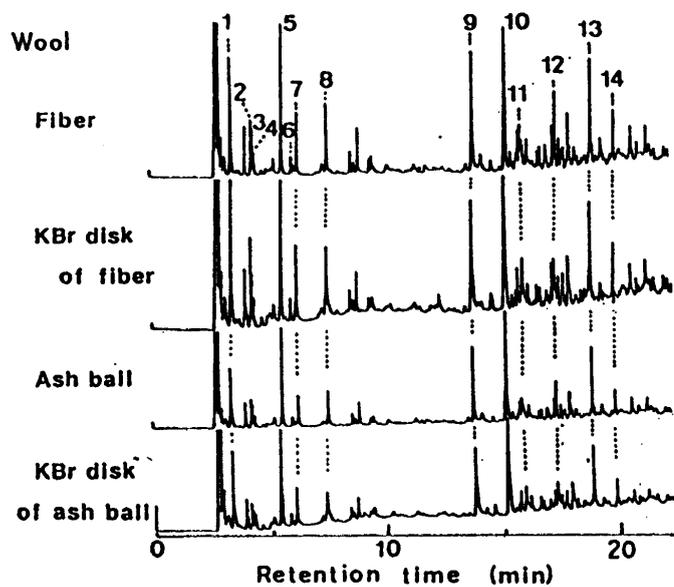


Fig.4. Pyrogram of Wool Fiber (Raw fiber,KBr disk of raw fiber, Ash ball of fiber and KBr disk of ash ball)

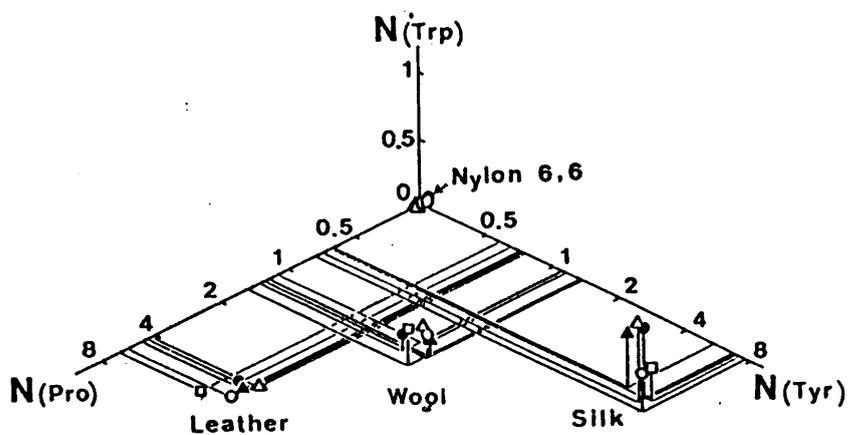


Fig.5. Plots of N(Pro),N(Tyr) and N(Trp) on PGC of Wool, Silk,Leather and Nylon 6,6

○:raw fiber, ●:KBr disk of raw fiber,
 ▲:ash ball of fiber, ▲:KBr disk of ash ball,
 □:N value determined using reported values

3. 第四級アンモニウム塩系薬物の分析 3.4)

第四級アンモニウム塩系薬物の PGC-MS

筋弛緩薬である塩化スキサメトニウム，臭化パンクロニウムなどの第四級アンモニウム塩系薬物は，自殺等の目的で使用される例がときとして見られ，裁判化学上重要な薬物である．しかしこれら第四級アンモニウム塩の構造を持つものは，水溶性のために容易には有機溶剤抽出されず，試料からの分離濃縮に非常に手間がかかり，また不揮発性のため GC による分析も困難で，実際的な系統的分析法は確立されていないのが現状である．

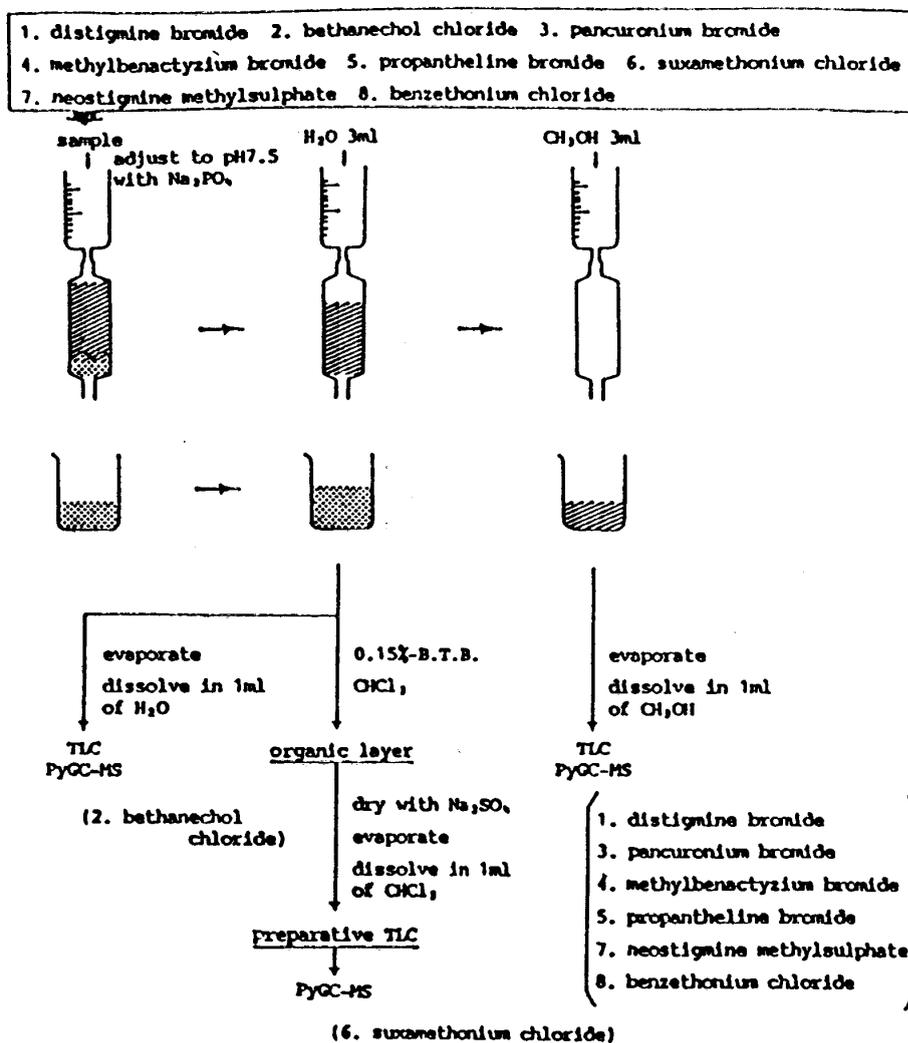


Fig.6. Analytical Procedure for Quaternary Ammonium Compounds in Human Urine

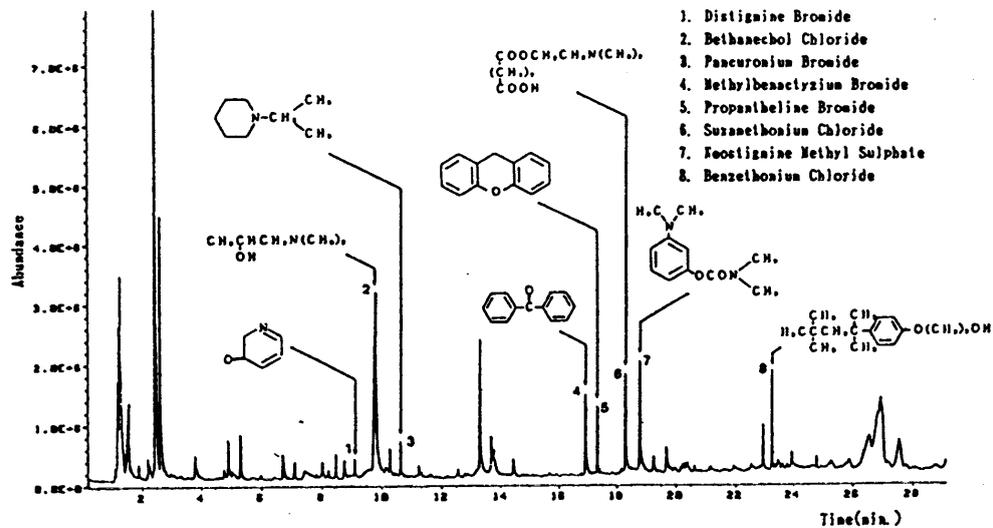


Fig.7. Total Ion Collector of Eight Quaternary Ammonium Compounds

本法は、8種類の尿中の第四級アンモニウム塩系薬物を、ODS - カートリッジで分離抽出し、熱分解装置として再現性に優れたキューリーポイントパイロライザー及び、高性能、高分離能を有する熔融シリカキャピラリーカラムを装填したPGC - MSで分析するものである。試料の精製は、Fig. 6に示す方法でSep - Pak C18を用いて行った。

カートリッジにより分離精製したものを、フェロマグネチックホイールにマイクログリッジではかりとり、ホットプレート上で若干の熱をかけながら溶媒を除去した後3秒間の熱分解時間で分析を行った。315, 386, 445, 590の各ホイールで分析し、8種類の薬物のメインピークの生成量を測定した。メインピークの生成量が最大を示す熱分解温度は各薬物によって異なるが、全体を考慮して445とした。445のフェロマグネチックホイールを用いて、8種類の混合試料をPGC - MS分析したときの、パイログラムをFig. 7に示す(各薬物の主分解物の構造を併記する)。

第四級アンモニウム塩系薬物の薄層クロマトグラフィー分取 PGC

本法は市販のシリカゲルプレートで TLC を行い，展開後のスポット部分を削り取ってシリカゲルごと PGC により分析するもので，非常に簡便であると同時に TLC による精製効果も期待でき，特に臭化メチルペナクチジウムにおいては前法 3) の抽出溶液における PGC より高感度で興味ある知見が得られた。また本法では，ドラージェンドルフ，塩化白金・ヨウ化カリウムなどの発色試薬を噴霧したスポットでも分析可能で，スクリーニングから確認検査が同試料で行えるものである。

試料は前法 3) と同様にカートリッジにより精製し，濃縮する。この濃縮液を・展開溶媒：5%ギ酸・メタノール・テトラヒドロフラン (6 : 7 : 7) で TLC (TLC プレートは，メルク社製シリカゲル 60F254) を行い，UV 照射により確認されたスポット部分 (確認限界以下のものについては対照と同 Rf 値部分) を分取する。分取したスポットを 590 のフェロマグネチックホイールにシリカゲルと共に包み，3 秒間の熱分解時間で GC 分析を行う。

臭化メチルペナクチジウムは，熱分解によって主分解物としてペンゾフェノン，次にジフェニルメタンが観察されるが，シリカゲルと共に熱分解した場合，主分解物としてジフェニルメタン，次にペンゾフェノンと生成量が逆転して観察された。それに伴ってピ - クの形状がシャープになりピーク高で 2 倍程度の向上が見られた。水溶液の熱分解と TLC 分取後の熱分解のパイログラムの対比を Fig. 8 に示す。

臭化メチルペナクチジウムの TLC における UV 照射での検出限界は 1 μg であるが，本法による検出限界 (ジフェニルメタンのピーク) を求めたところ 0.3 μg で，カートリッジからの抽出溶液をそのまま PGC するのと同程度であった。またドラージェンドルフ，塩化白金・ヨウ化カリウムなどの発色試薬を噴霧したスポットでも分析が可能であった。他の第四級アンモニウム塩系薬物の尿溶液をカートリッジ処理したものについて，溶液をそのまま mC したものと本法による PGC の比較を行ったところ，Table に示すように，塩化ベンゼトニウム，塩化スキサメトニウム，メチル硫酸ネオスチグミン，臭化ジスチダミン，臭化プロパンテリン，臭化パンクロニウムについて，25 - 800%の感度で検出された。

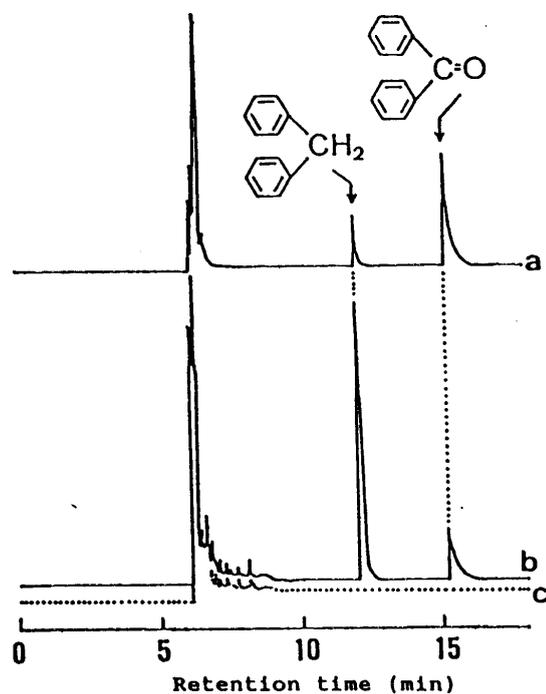


Fig.8. Pyrograms of methylbenactyzium bromide

- (a) urine sample effluent, directly pyrolyzed
- (b) urine sample effluent, pyrolyzed after PTLC
- (c) urine control effluent, pyrolyzed after PTLC

Table IV. Comparison of PGC and PTLC-PGC for 7 Quaternary Ammonium Compounds

Compounds	PTLC-PGC/PGC (%)
Distigmin bromide	150
Bethanechol chloride	n.d.
Pancuronium bromide	807
Propantheline bromide	341
Suxamethonium chloride	65
Neostigmine methylsulphate	76
Benzethonium chloride	25

n.d.: not detected

4. 鑑定への利用

繊維の識別

繊維の PGC から，十分なパイログラムを得るためには多量の試料を必要とし，微細試料を対象とした裁判化学分野では利用し難い面があった．しかし，ポリエステル繊維の異同識別において，改質ポリエステル繊維に加えられるイソフタル酸のオンカラムメチル化 PGC-MS (P・Me・GC - MS) による分析を試みたところ，わずか単繊維 5mm の試料で十分な差異が認められた (Fig・9)．また・アクリル繊維のアクリランの PGC に見られる 2 - methyl 5 - Vinylpyridine の分子イオンピーク m/z 19 のセレクトイッドイオンモニタリング (SIM) について検討したところ単繊維約 2mm で検出可能であった (Fig・10)．

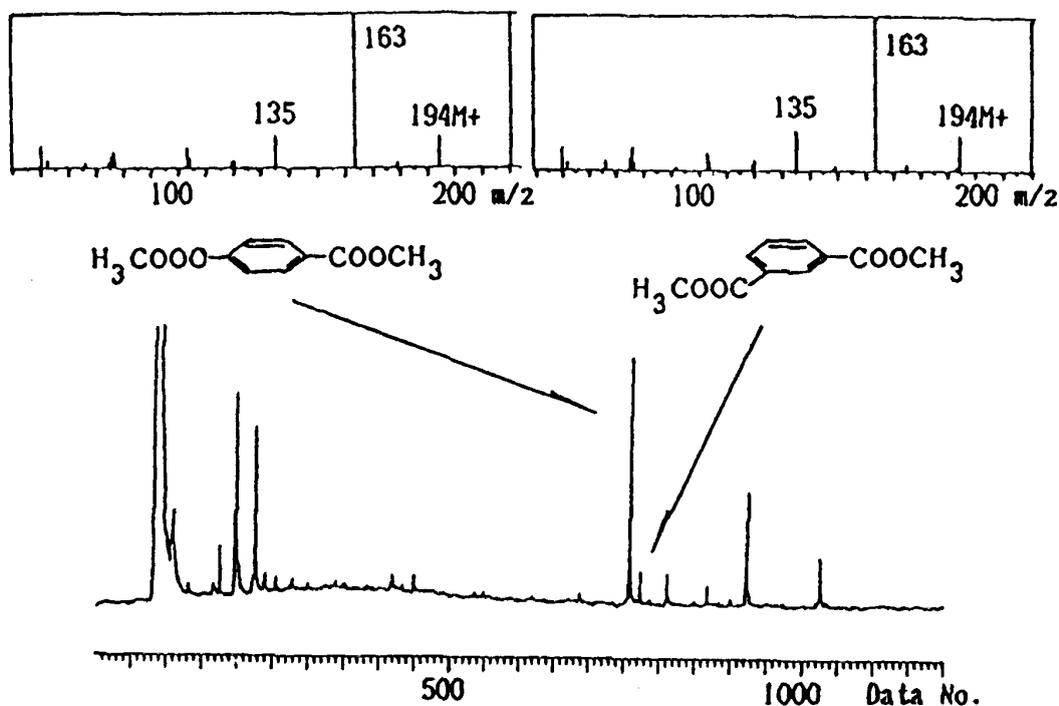


Fig.9. P・Me・GC-MS of Polyester Fiber

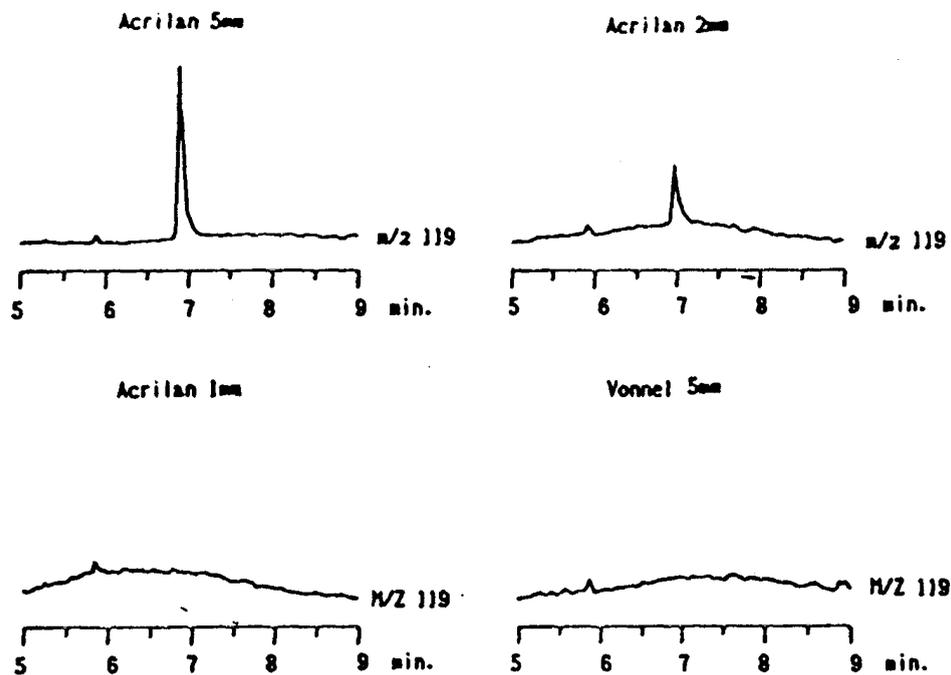


Fig.10. SIM of 2-Methyl-5-vinylpyridine

自動車塗膜片

自動車塗膜片は一般に、上塗り・中塗り・下塗りなど各層について IR 分析や X 線マイクロアナライザーで分析されるが、併せて PGC が行われることがある。

コピー機用トナー

近年云 OA 機器の普及に伴い、犯罪に使用される文書類もワープロを使用したものやコピーされたものなどが増加している。そこでコピーの文字からトナーを削り取り PGC で分析する方法を紹介する。

文献

- 1) 土橋均, 三木昭宏, 衛生化学・34・430 (1988)
- 2) 三木昭宏, 土橋均, 衛生化学・34・503 (1990)・
- 3) 土橋均, 辰野道昭, 西川眞弓・衛生化学・36, 28 (1990)・
- 4) M.Nishikawa, M Tatuno, S.Suzuki and II.tsuchihashi, Forensic Science Int 49, 197 (1991)