

- 2) 操作が簡便であり、特殊な器具を必要としないので、現場で検査できる。
- 3) キットとして販売されているので、携帯が可能である。
- 4) 水などの無着色の飲料中のシアンは検出できる。

◎欠点

- 1) 色の濃い分析試料は、イオン検出部も着色して、判別困難である。
- 2) 酸性の飲料には、適用できない。
- 2) 生体試料の分析には、不向きである。

2. ヒ素化合物

近年、ヒ素による急性中毒事故は少なくなったが、ヒ酸、亜ヒ酸銅、ヒ酸鉛、ヒ酸石灰等による急性または亜急性中毒が時々問題となる。また、ヒ素化合物に汚染された食品の長期摂取による慢性中毒も見逃すことは出来ない。

ヒ素はタンパクのSH基と結合することにより、解糖系の諸酵素だけでなく、アミノ酸酸化酵素やモノアミン酸化酵素などの活性を阻害する。

5価のヒ素化合物は毒性が低く、3価のヒ素化合物(-As=O)が最も毒性が高くなる。亜ヒ酸の中毒量は、5~50mg、致死量は、100~300mgとされている。このヒ素化合物はアダムサイトやレイサイトのような毒ガスと使用されていたこともあるが、サルバルサンのように梅毒の特効薬として使用されたものもある。

現在日本でも殺虫剤や防腐剤として使用されているが、ヒ素中毒は、農薬の製造過程での職業病として見られることが多かったが、まれに自殺に用いられることもある。

2-1) ラインシュ法

無機金属の予試験として利用される方法である。これは、銅との親和性を利用して検査試料中の無機

金属を銅表面に付着させ、金属種を判別する方法である。この方法によってヒ素、水銀、アンチモンが検出できる。

【方法】

操作の概略は、図6に示した。

- 1) 検査試料の一部をビーカー等の容器に入れ、塩酸を加えて酸性とする。
- 2) よく磨いた銅片を投入し、15分間加熱する。
- 3) 銅表面を観察する。
- 4) 銅表面を擦って、光沢が出れば水銀の可能性はある。
- 5) 銅表面の被覆物をナイフなどで削り取り、ガラス管に入れて加熱する。
- 6) ガラス管の冷たい部分に昇華物が現れるので、それを観察し、ヒ素かアンチモンであるかを判断する。

◎利点

- 1) 特別な機器を必要とせず、簡便である。
- 2) 短時間で結果が出せる。

◎欠点

- 1) 陽性の判断や金属種の判断には経験を要し、素人には困難である。

2-2) 北川式検知管(グッツアイト法)

食品や化粧品などに含まれている微量のヒ素の定量法として、従来行われてきた臭化第二水銀紙を用いるグッツアイト法は、定性分析には十分であるが、定量分析としては測定精度に欠けるといった難点があった。北川式検知管は、従来のグッツアイト法における濾紙の代わりに検知管を使用することによって、精度と感度を高めるように改良されたものである。

【方法】

装置の概略は、図7に示した。

- 1) 検査試料40mlを発生ビン(内容量100ml)

に入れる。

- 2) 塩酸 8ml、15%ヨウ化カリウム液 5ml、塩化第一スズ（飽和溶液）液 4 滴を加える。
- 3) 25℃、30 分間放置した後、水を加えて 65ml とする。
- 4) 図のような装置を組み立て、亜鉛 5g を加えて、直ちに密栓する。
- 5) 装置を 20～25℃の水浴に 45 分間漬る。
- 6) 検知管の着色層の長さを計り、ヒ素濃度を算出する。

◎利点

- 1) 特別な機器を必要とせず、簡便である。
- 2) 定性のみならず定量も可能である。
- 3) 検査試料の形態に関わらず、検査可能である。

◎欠点

- 1) 検査試料を灰化する必要があるため、検査を開始するまでに手間と時間を要する。

2-3) パックテスト

パックテストは、水質検査用に水中のヒ素を検出するキットとして（株）共立理化学より市販されているキットである。このキットの原理は、ベルリンブルー法を利用し、発色時間の短縮化や色素の安定性に工夫をこらしたものである。これまでは河川水などを対象としたものであったが、今回、市販飲料やカレーなどのレトルト食品中のヒ素や生体試料中のヒ素の検出に可能であるか否かを検討した。

【対象】

市販飲料やレトルト食品に致死量の半分（AsO₃:50mg/250ml）となるように亜ヒ酸ナトリウムを添加し、検査試料とした。また生体試料としては、医薬品を服用していない健常人から採取した血清および尿に亜ヒ酸ナトリウムを添加して検査試料とした。

【方法 1】

検査方法は、パックテストの添付書類の方法に従って行った。

- 1) 検査試料をパックテストの付属の瓶(約 3 ml)に入れた。
- 2) 滴瓶の K-1 試薬を 8 滴加え、蓋をして 2～3 回振って混和した。
- 3) 滴瓶の K-2 試薬を 1 滴加えた。
- 4) 発色パックの端の方にピンで穴をあけ、検査試料をパックの半分くらいまで吸い込む。
- 5) 良く振り混ぜ、2 分後に色を見る。

【方法 2】

検査方法は、パックテストの添付書類の方法に従って行った（図 8）。

- 1) 検査試料 5ml（レトルト食品などは 5g）をビーカー等の容器に入れ、塩酸 1.5ml を加えて酸性とした。
- 2) よく磨いた銅片（10 円玉）を投入し、15 分間加熱した。
- 3) 銅片を取り出し、蒸留水で洗浄した後、試験管（φ 30×200mm）に入れた。
- 4) 試験管の底をバーナーで炙り、ヒ素を昇華させ、試験管の壁に付着させた。
- 5) 試験管壁を塩酸 1.5ml で洗浄し、ヒ素を溶解させた。
- 6) 洗液を水酸化ナトリウムで中和した。
- 7) この中和した液をパックテストの付属の瓶（約 3 ml）に入れた。
- 8) 滴瓶の K-1 試薬を 8 滴加え、蓋をして 2～3 回振って混和した。
- 9) 滴瓶の K-2 試薬を 1 滴加えた。
- 10) 発色パックの端の方にピンで穴をあけ、検査試料をパックの半分くらいまで吸い込む。
- 11) 良く振り混ぜ、2 分後に色を見る。

【結果】

- 1) 方法 1 では、ヒ素の有無に関わらず、検査し

た全ての飲料で陽性反応が出た。この理由は、バックテストの発色法が、モリブデンブルー反応でヒ素を発色させているが、リン酸にも反応したためである。

2) 検査試料中のリン酸の影響を回避する目的でラインシュ法との組み合わせた方法2を検討した。その結果、検査試料中のリン酸に影響されることなく、検査試料中のヒ素を検出することが可能となった。

3) この方法を利用することにより、市販飲料のみならずカレーなどの半固形物（レトルト食品など）中のヒ素も検出することが可能となった。

◎利点

- 1) 特別な機器を必要とせず、ヒ素のみを検出できる。
- 2) 市販飲料のみならず、カレー中のヒ素も検出できる。

◎欠点

- 1) 操作が多少煩雑になる。
- 2) 生体試料中のヒ素濃度が微量であるため、本方法を使用しての生体試料中のヒ素分析には不向きである。

3. アジ化物

アジ化ナトリウムは、防腐剤として検査試薬などに添加されており、身近な毒物の一つである。しかし、自動車のエアバッグや航空機の緊急脱出用シュートを膨らませるための起爆剤に利用されている。

アジ化ナトリウムは、酸と反応してアジ化水素を発生する。このアジ化水素は沸点が低いために稀薄溶液からでも高濃度のアジ化水素が発生し、中毒を起こすことがある。

3-1) 沈殿法

アジ化ナトリウムを含むアジド類に3価の鉄を作

用させるとアジ化鉄 (FeN_3) の赤褐色の沈殿が生じる。この沈殿の生成を利用してアジ化物を検出することが可能である。

【方法】

- 1) 検査試料 2.0ml に 10% 塩化第二鉄溶液を 0.1ml 加えて攪拌する。
- 2) 反応液の沈殿の生成状況を見て、判定を行う。

◎利点

- 1) 特別な機器を必要とせず、アジ化物を検出できる。

◎欠点

- 1) 塩化第二鉄溶液が、濃赤色を呈するため、判断が困難である。
- 2) 色の濃い試料の検査には、不向きである。
- 3) 生体試料など、タンパクの多い試料の検査には不向きである。

3-2) 気化平衡法

アジ化ナトリウム等のアジ化物は、酸性溶液中でアジ化水素となり、気化しやすくなる。この性質を利用して気化したアジ化水素を検出することによって、検査試料中にアジ化物の存在を確認することが可能である。

【方法】

- 1) 検査試料を試験管に取る。
- 2) 10% 硫酸 2 滴を試験管に入れ、攪拌する。
- 3) 10% 塩化第二鉄を湿らせた濾紙を試験管の気相中（ヘッドスペース）に曝す。
- 4) 70℃で 15 分間、加温する。
- 5) 濾紙の変色を観察し、アジ化物の存在を確認する。

◎利点

- 1) 特別な機器を必要とせず、アジ化物を検出で

きる。

2) 検査試料の色や形態に関わらず、検査できる。

◎欠点

1) 低濃度の判断が困難である。

4. 有機リン系農薬

有機リン系農薬は、ドイツのバイエル社によって1940年前後に開発された。元来、神経ガスの研究から発展したものであって、パラチオンなどの初期の製品は、殺虫力が強力であるのと同時に、人に対する毒性も極めて高いものであった。その後、各国で低毒性化の研究開発が行われ、選択性の高い、低毒性の化合物が登場した。

有機リン系農薬は、典型的な酵素毒であり、体内のコリンエステラーゼとの間に共有結合を作り、その活性を特異的かつ不可逆的に阻害し、体内にアセチルコリンの蓄積をもたらす。その結果として、コリン作動性の症状が現れる。

有機リンの定性分析には、コリンエステラーゼ活性試験、DTNB法、Hestrin法があり、さらには薄層クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを用いていた。クロマトグラフィーを行うには、検査試料から有機リンを精製する必要があり、救急医療の現場で行うには手間を要するため、現状では、患者の症状とコリンエステラーゼ活性値から有機リン中毒を十分に推定できている。しかし、有機リン系農薬と同様にコリンエステラーゼの活性を阻害するものにカーバメート系農薬がある。カーバメート系農薬の治療には、有機リン系農薬の拮抗薬であるPAMは効果的でないため、いずれの農薬による中毒であるかが判明すれば、PAMの使用に参考データが提示できる。

4-1) DTNB法 (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid)

【方法】

- 1) 2本の試験管にDTNB溶液3ml、5%ヨウ化アセチルチオコリン溶液0.1ml、および正常血清20 μ lをとる。
- 2) 一方に試験管に蒸留水0.2mlを、他の試験管に濾過した検査試料0.2mlを加え、2分間放置する。
- 3) 両試験管の色調の変化を比べる。

◎利点

- 1) 簡便である。
- 2) 短時間で結果が出せる。

◎欠点

- 1) 正常血清を常備しておく必要がある。
- 2) コリンエステラーゼ活性を阻害する薬物全てに陽性反応が出る。

4-2) ニトロベンジルピリジン法

4-(4-ニトロベンジル)ピリジンは、ヨウ化メチルなどのアルキル化剤の呈色試薬として用いられていたもので、その後、薄層クロマトグラフでの有機リン系農薬の呈色試薬として利用されるようになった。しかし、直接溶液内に試薬を添加し、着色させるような検討はされておらず、生体試料中の有機リン系農薬の簡易検出法を検討したところ、本試薬で良好な結果が得られた。

【方法】

◎尿および液体試料

- 1) 検査試料1mlを試験管に取る。
- 2) 45%4-(4-ニトロベンジル)ピリジンのアセトン溶液0.1mlを加え、攪拌する。
- 3) 100℃で20分間加熱する。
- 4) 放冷後、テトラエチレンペンタミン0.1mlを加え、攪拌する。
- 5) ジエチルエーテル1mlを加え、攪拌した後、ジエチルエーテル層の吸光度を測定する。

◎血液、血清などタンパクを含む試料

- 1) 検査試料 1ml を試験管に取る。
- 2) 冷アセトニトリル 1ml を加え、攪拌する。
- 3) 遠心分離後、上清を新しい試験管に取る。
- 4) 45% 4-(4-ニトロベンジル)ピリジンのアセトン溶液 0.1ml を加え、攪拌する。
- 5) 100℃で 20 分間加熱する。
- 6) 放冷後、テトラエチレンペンタミン 0.1ml を加え、攪拌する。
- 7) ジエチルエーテル 1ml を加え、攪拌した後、ジエチルエーテル層の吸光度を測定する。

【結果】

- 1) 検査試料の着色具合に関わらず、有機リンが存在するとエーテル層は、紫色に変化した。
- 2) 4-(4-ニトロベンジル)ピリジンおよびテトラエチレンペンタミンの添加量、反応条件を詳細に検討した結果、手順に示した条件で最適な結果が得られた。
- 3) 検出下限は、概ね 0.3~3 $\mu\text{g/ml}$ であった。ただし、アセフェート、イソフェンフォス、バミドチオンは、発色が困難で、検出下限は 10 $\mu\text{g/ml}$ であった。
- 4) 血液（全血）や血清は、アセトニトリルで除蛋白することにより、呈色可能であった。
- 5) カーバメート系農薬や他の医薬品で妨害する化合物は無く、有機リン系農薬に特異的な反応であった。
- 6) 有機リン系農薬の代謝物や無機のリン酸化合物には反応しなかった。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検出できる。
- 2) 有機リン系農薬に特異的に反応する。

◎欠点

- 1) 100℃で加温できる装置が必要である。
- 2) 目視的に判断するために、エーテルを使用し

ている。

- 3) プロバホスなど、微量では発色しないものがある。

4-3) コリンエステラーゼ阻害

有機リン系農薬およびカーバメート系農薬の中毒の指標としてコリンエステラーゼ阻害活性値が用いられる。各検査室には自動分析装置が装備されているとは言え、即座に検査値を出すには困難であることがあり、誰でもが検査できるように、市販の検査キットの利用を試みた。

【方法】

- 1) 検査試料を付属のピーカーに入れる。
- 2) アクティベーターアンプルを入れと後、ガラス棒を使用して試料中で割り、3分間攪拌する。
- 3) 農薬検出チケットを袋から出し、酵素ディスク部を露出する。
- 4) 酵素ディスク部を1分間反応液中に浸す。
- 5) ホイル全部をはがして基質ディスク部を出し、チケットを折り曲げて酵素ディスク部と基質ディスク部を重ねる。
- 6) 3分間、親指と人差し指ではさみ反応させる。

【結果】

- 1) 液体試料に加え、尿試料にも、適応可能であった。
- 2) 着色した検査試料の場合、蒸留水で希釈することで検査可能となった。
- 3) 血液（全血）や血清などは、検討しなかった。
- 5) コリンエステラーゼの阻害活性を検査しているため、有機リン系農薬の他にカーバメート系農薬や他のコリンエステラーゼ阻害を示す化合物でも陽性反応を示した。
- 6) 有機リン系農薬の代謝物や無機のリン酸化合物には反応しなかった。

◎利点

- 1) 有機リン系農薬に限らずカーバメート系農薬などコリンエステラーゼ阻害作用を持つ農薬が検出できる。

◎欠点

- 1) 微量では発色しないものがある。
- 2) 農薬以外にもコリンエステラーゼ阻害作用のある薬物でも反応する。

4-4) PaPID Assay Kits

PaPID Assay Kits は、OHMICRON 社の開発した酵素免疫法 (EIA) を用いた残留農薬検査キットである。ポリクローナル抗体を用いているが、全ての農薬を検出することは不可能であり、検出しようとする農薬に適したキットを選択する必要がある。現在市販されているのは、アラクロール、アルディカルブ/メソミル、アトラジン、カルボフラン、メトラクロール、カルバリル、ダニコール、シアナジン、プロシミドン、ベノミル、キャプタン、2,4-D、パラコート、ペンタクロロフェノール、クロルピリフォスの 15 タイプである。

【方法】

操作の概略は、図 9 に示した。

- 1) 検査試料 0.1ml、標識抗原 0.25ml、抗体 0.5ml を加える。
- 2) 1～2 秒間攪拌し、15 分間放置する。
- 3) マグネットラックをセットし、2 分間静置する。
- 4) 溶液を捨て、洗浄液を加えて 2 分間静置後、洗浄液を捨てる。(2 回繰り返す)
- 5) マグネットラックからはずし、発色剤 0.5ml を加える。
- 6) 1～2 秒間攪拌し、20 分間放置する。
- 7) 停止液 0.5ml を加えて発色を停止させ、15 分以内に分光光度計で測定する。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) 抗原抗体反応を利用しているため、高感度に検出できる。
- 3) 交差反応により、代謝物も検出できる。

◎欠点

- 1) 抗原抗体反応を利用しているため、対象となる農薬ごとに使用するキットが異なる。つまり、スクリーニングには使用できない。
- 2) 交差反応のため、類似化合物を検出してしまふ。

5. パラコート

パラコートなどのアルキルピリジニウム塩系農薬は、強力な殺草効果とその使いやすさのため、わが国で汎用されている除草剤である。パラコートジクロライド 24% 含有のもの、パラコートジメチルサルフェート 38% 含有のもの 2 種類が製品として市販されている。パラコートは人畜に強い毒性を示し、医薬品外毒物の指定を受けているが、現実には保管や管理不十分のため、誤飲や自殺目的の事故が多発している。

パラコート中毒者の初期症状は特徴が乏しく、意識明瞭なことも多く、中毒患者に対して最も重要な初期診断時にパラコート服用の事実を見逃す危険性がある。

1) ハイドロサルファイト反応

パラコートは、古くからメチルピオローゲンという酸化還元指示薬として知られており、アルカリ性の水溶液中でハイドロサルファイトなどの還元剤により 1 電子還元を受けると、青色のパラコートラジカルに変化する。これを利用し、検査試料中のパラコートを検出することが出来る。

【方法】

- 1) 検査試料 1ml を試験管に取る。
- 2) 0.1%ハイドロサルファイト含有 1 N NaOH 水溶液 1ml を加え、攪拌する。
- 3) 検査試料の変色を確認し、パラコートの存在を判断する。

【結果】

- 1) 液体試料に加え、尿試料にも、適応可能であった。
- 2) 着色した検査試料の場合、蒸留水で希釈することで検査可能となった。
しかし、検出下限は低下した。
- 3) 血液（全血）の場合、血色素によって判別が困難であった。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) 比色による定量も可能である。

◎欠点

- 1) 試薬を用時調製する必要がある。
- 2) ハイドロサルファイトが失活していると、着色しない。

2) PaPID Assay Kits

PaPID Assay Kits は、OHMICRON 社の開発した酵素免疫法 (EIA) を用いた残留農薬検査キットである。ポリクローナル抗体を用いているが、全ての農薬を検出することは不可能であり、検出しようとする農薬に適したキットを選択する必要がある。

【方法】

- 1) 検査試料 0.1ml、標識抗原 0.25ml、抗体 0.5ml を加える。
- 2) 1～2 秒間攪拌し、15 分間放置する。
- 3) マグネットラックをセットし、2 分間静置する。

- 4) 溶液を捨て、洗浄液を加えて 2 分間静置後、洗浄液を捨てる。（2 回繰り返す）
- 5) マグネットラックからはずし、発色剤 0.5ml を加える。
- 6) 1～2 秒間攪拌し、20 分間放置する。
- 7) 停止液 0.5ml を加えて発色を停止させ、15 分以内に分光光度計で測定する。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) 水以外に尿や血液などの生体試料にも適用できる。

◎欠点

- 1) 冷蔵庫保存の試薬などは、充分室温に戻してから検査する必要がある。
- 2) 各操作を等間隔の時間で行わなければならない。
- 3) 反応条件を一致させないとばらつきが大きくなる。

3) 北川式検知管

【方法】

装置の概略は、図 10 に示した。

- 1) 検知管の両端をカットする。
- 2) 検査試料 2ml を注射器に取り、図のように検知管を接続する。
- 3) ゆっくりと試料を検知管内に注入する。
- 4) 検知管を取り外し、変色域を確認する。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。

◎欠点

- 1) 着色した試料を検査する場合には、判定困難である。
- 2) 腐敗血や凍結した血液には使用できない。

6. グルホシネート

グルホシネートは、ヘキストによって開発された除草剤であり、有機リンの構造を有しているが、有機リン系殺虫剤とは作用を異にしている。グルホシネートは、グルタミン酸合成酵素の拮抗的作用により、その毒性を示し、ヒトでは、眼振、意識障害、無呼吸発作、間代性痙攣などがおきる。しかし、グルホシネートの毒性から考えて、界面活性剤による作用が大きいともされている。

グルホシネートは、その分子内にアミノ酸の構造を有しているため、アミノ酸特有の呈色反応であるニンヒドリンによって呈色する。これを利用して、ペーパークロマトグラフィーにより生体成分と分離した後、ニンヒドリンを噴霧することによってグルホシネートを検出することが出来る。付属品をセットにしてヘキストより提供されている。

【方法】

- 1) 10%酢酸水溶液を展開槽に入れる。
- 2) イオン交換セルロース濾紙に鉛筆で下から約1.5cmの所に線を引く。
- 3) グルホシネート標準液と生体試料をマイクロピペットでスポットする。
(尿や胃液については、前処理は不要であるが、血清等は除蛋白を行う)
- 4) スポットが完全に乾いたら、濾紙をクリップで挿み、展開槽の蓋の内側にあるフックに引っかける。
- 5) 濾紙を展開槽の側面に触れないように入れ、濾紙の下端から5mm位が浸るようにつるす。
- 6) 濾紙が、酢酸溶液を、試料をスポットした線から約15cm吸い上げた時点で展開を終了させる。
- 7) 取り出した濾紙を乾燥させる。
- 8) 噴霧器に1%ニンヒドリン水溶液を入れ、乾燥させた濾紙に吹き付ける。
- 9) 濾紙を加熱し、発色させる。

7. 法規制薬物

ここでの法規制薬物とは、「毒物及び劇物取締法」で規制されているものではなく、「麻薬及び向精神薬取締法」、「あへん法」、「大麻取締法」および「覚せい剤取締法」で規制されている薬物である。

1) トライエージ (Triage™ +TCA)

トライエージは、金コロイド粒子免疫法に基づくイムノアッセイ法(ASCEND マルチイムノアッセイ法:AMIA)で、化学的に標識した薬物と尿中に存在する薬物との抗体に対する競合反応を利用している。トライエージで検出できる薬物は、フェンジクリジン(PCP)、ベンゾジアゼピン類(BZO)、コカイン類(COC)、アンフェタミン類(AMP)、大麻類(THC)、オピエート類(OPI)、バルビツール酸類(BAR)、三環系抗うつ薬類(TCA)の8種である。

【方法】

操作の概略は、図11に示した。

- 1) 尿 140 μ l を反応カップに入れ、10分間室温で放置する。
- 2) 反応液を薬物検出領域へ移す。
- 3) 反応液が完全に染み込んだ後、薬物検出領域へ付属の洗浄液を3滴滴下して染み込ませる。
- 4) 薬物検出ゾーンでの赤紫色のバンドの有無を読みとり、薬物の有無を判定する。

【結果】

- 1) 尿試料のみならず、胃内容物や血清、血液(全血)でも検査可能であった。
- 2) 胃内容物や血清は希釈するのみで検査できるが、血液を検査試料とする場合には、除蛋白を行う必要があった。
- 3) 検査結果をGC/MS分析と比較検討した結果、良い一致を示した。
- 4) 高濃度(約1mg/ml)のフェノールプロパノールアミン(ノルエフェドリン)が覚せい剤陽

性となった。

- 5) 腐敗試料を検査した場合、試料中の腐敗産物 (フェネチルアミン) で覚せい剤陽性となった。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) 1枚のキットで8種類の薬物群が検査できる。

◎欠点

- 1) 偽陽性反応のあることを承知しておく必要がある。
- 2) 腐敗した試料を検査する場合、25 μ g/ml 以上のフェネチルアミンが含有されていると AMP 陽性を示すので、腐敗した試料を検査する場合は注意を要する。
- 3) 他の簡易テストに比べて高価である。
- 4) 検査試料を機器分析した場合、Triage で検出され薬物そのものが検出されない場合がある。例えば、ベンゾジアゼピン類を検査試料から GC/MS で確認する場合、検査試料を加水分解する必要がある。

2) ビジュアライン

【方法】

操作の概略は、図12に示した。

- 1) キットに付属しているスポイドで尿を吸い取る。
- 2) デバイスの検査ゾーン (circular sample well) に3滴の尿を滴下する。
- 3) 滴下後5分間の間に検査ゾーンに現れるバンドの有無を読みとり、覚せい剤の有無を判定する。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) Triage と比較して、安価である。

◎欠点

- 1) バンドが見にくい。
- 2) 検査する薬物ごとにキット (デバイス) が異なる。
- 3) メタンフェタミンとベンゾジアゼピンのみ市販されている。

8. プロムワレリル尿素

プロムワレリル尿素 (プロバリン) 処方箋などの書類が無くても購入可能な睡眠薬で、自殺目的で大量服用し、急性中毒をおこす。また、「完全自殺マニュアル」にその利用法が掲載されたことにより、この薬剤を使用しての中毒が激増した。

プロムワレリル尿素は、熱に不安定な化合物であり、ガスクロマトグラフでは、検出困難な化合物の一つである。そのため高速液体クロマトグラフを使用しての分析法が検討されていたが、UV 検出器でモニタリングでは、薬物の同定が今一つ信頼性に欠けることと、結果が得られるまでに時間を要することから、簡易な同定法を検討した結果、簡便で選択性の高い検査法を確立できた。

4-(4-ニトロベンジル)ピリジンは、ヨウ化メチルなどのアルキル化剤の呈色試薬として用いられていたもので、その後、薄層クロマトグラフでの有機リン系農薬の呈色試薬として利用されるようになった。しかし、溶液中での呈色反応は検討されておらず、生体試料中のプロムワレリル尿素の簡易検出法を検討したところ、本試薬で良好な結果が得られた。

【対象】

胃内容物 (吐物)、血清、全血および尿を分析対象とした。

【方法】

- 1) 検査試料 1ml を試験管に取る。
- 2) 45% 4-(4-ニトロベンジル)ピリジンのアセトン溶液 0.1ml を加え、攪拌する。

- 3) 100℃の恒温槽で20分間加熱する。
- 4) 放冷後、テトラエチレンペンタミン0.1mlを加え、攪拌する。
- 5) ジエチルエーテル1mlを加え、攪拌した後、ジエチルエーテル層の吸光度を測定する。

【結果】

- 1) 検査試料の着色具合に関わらず、ブロムワレリル尿素が存在するとエーテル層は、紫色に変化した。
- 2) 4-(4-ニトロベンジル)ピリジンおよびテトラエチレンペンタミンの添加量、反応条件を詳細に検討した結果、手順に示した条件で最適な結果が得られた。
- 3) 検出下限は、10 μg/mlであった。
- 4) 血液（全血）や血清についても発色条件の検討を行ったが、反応しなかった。

◎利点

- 1) 簡便な操作でブロムワレリル尿素の検出が可能となった。

◎欠点

- 1) 有機リン系農薬でも同様の陽性反応が出るので、必ずコリンエステラーゼ阻害活性を確認する必要がある。
- 2) 退色が早いので、発色後10分以内に判定を行う。
- 3) 血清中のブロムワレリル尿素の検出には不向きであった。

9. アセトアミノフェン

アセトアミノフェンは、アミノピリンやアスピリンと並ぶ解熱鎮痛剤である。しかし、発ガン性や腎障害が問題になるに及んで市販の解熱鎮痛薬からこれらの薬物が姿を消し、最後に、容易に入手できる解熱鎮痛薬として、アセトアミノフェンが残った。

アセトアミノフェンは、代謝の過程で一部がN-アセチルベンゾキノミニンになる。このN-アセチルベンゾキノミニンは、通常は肝細胞中のグルタチオンによって解毒されるが、大量のアセトアミノフェンが体内にはいるとグルタチオンが枯渇し、解毒しきれないN-アセチルベンゾキノミニンがタンパクと結合して肝細胞の壊死を起こす。アセトアミノフェンによる肝障害の発生と血清中アセトアミノフェン濃度とは密接な関係があり、簡便に血清中アセトアミノフェン濃度が検出できれば肝障害の危険性を予知できる。

【方法】

- 1) 検査試料に5%トリクロロ酢酸1mlを加え、攪拌する。
- 2) 遠心分離後、上清を新しい試験管にとる。
- 3) 塩酸1mlを加え、100℃、20分間加熱する。
- 4) 放冷後、o-クレゾール、28%アンモニア水1mlを加え、攪拌する。

【結果】

- 1) 血清中のアセトアミノフェンが定量的に検出できた。
- 2) 使用する容器によって加水分解の程度が異なることが判明した。検査試料をアンプルに封入するなど、密閉容器を使用することで加水分解のばらつきを抑えることが出来た。
- 3) 発色試薬にフェノール、m-クレゾール、p-クレゾール、2,6-キシレノール、α-ナフトールなどを検討したが、o-クレゾールが最適であった。
- 4) アルカリ性にする試薬も種々検討したが、アンモニアで最適な結果が得られた。
- 5) 尿試料を用いて、同手法で検討したが、陽性反応は得られなかった。原因としては、尿中の成分によって加水分解が阻害されたものと考えられた。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) 治療域 (10~20 $\mu\text{g/ml}$) まで、検出可能であった。
- 3) 5~300 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で定量可能であった。

◎欠点

- 1) 使用する容器によって加水分解の程度が異なってくる。
- 2) 揮発性の試薬を使用するため、換気装置の使用を勧める。
- 3) 試薬として毒物が使用されている。

D. 結論

16 薬毒物群 (法規制薬物 8 種を含む) を対象として、26 種の検査キットならびに検査方法の検証を行った。そのなかで 5 種類の検査方法については、本研究の過程で開発ならびに適用範囲の拡大の図られた検査法である。検討を行った 16 種のいずれの薬毒物群についても、原末あるいは水溶液や飲料物に致死量に相当する高濃度で混在していれば、検出することが可能であった。しかし、生体中に微量しか存在しない、あるいは生体中の妨害を受けやすいシアン化合物、ヒ素化合物を簡易検査で検出することは困難であった。今回検討を加えた何れの検査方法 (検査キット) も一長一短があり、複数の検査方法を組み合わせて分析する必要がある。さらに誤った判断を下さないように、高性能の分析機器により、確認分析を行う必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表

- ・奈女良 昭、岡島和夫、内海兆郎、屋敷幹雄、今村 徹、小嶋 亨、ヒ素化合物検出におけるバックテストの有用性について、救急医学、in press.
- ・内海兆郎、奈女良 昭、屋敷幹雄、今村 徹、小嶋 亨、シアン化合物の簡易検査の有用性について、救急医学、in press.

2. 学会発表 (予定)

- ・奈女良 昭、内海兆郎、屋敷幹雄、今村 徹、大谷美奈子、小嶋 亨、生体試料中の有機リン系農薬の簡易検出法、第 83 次日本法医学会総会 (1999 年 4 月、広島)
- ・内海兆郎、奈女良 昭、屋敷幹雄、今村 徹、大谷美奈子、小嶋 亨、生体試料中のプロムワレリル尿素の簡易呈色法、第 83 次日本法医学会総会 (1999 年 4 月、広島)
- ・八十島 誠、奈女良 昭、内海兆郎、屋敷幹雄、今村 徹、岩崎泰昌、大谷美奈子、小嶋 亨、生体試料中のアセトアミノフェンの簡易定量法、第 21 回日本中毒学会総会 (1999 年 7 月、東京)
- ・内海兆郎、奈女良 昭、屋敷幹雄、今村 徹、大谷美奈子、小嶋 亨、生体試料中の有機リン系農薬の簡易検出法 - その 2 -、第 21 回日本中毒学会総会 (1999 年 7 月、東京)
- ・内海兆郎、奈女良 昭、屋敷幹雄、今村 徹、小嶋 亨、シアン検出における市販簡易キットの有用性について、第 21 回日本中毒学会総会 (1999 年 7 月、東京)
- ・奈女良 昭、内海兆郎、屋敷幹雄、今村 徹、大谷美奈子、小嶋 亨、市販キットを用いた薬毒物スクリーニング、第 21 回日本中毒学会総会 (1999 年 7 月、東京)

表1 本研究で用いた簡易検査キットならびに検出方法

1. シアン化合物

商品名	原理	販売元	価格
パケットテスト	比色(p-リジン-カルボン酸)	(株) 共立理化学	4,000/35キット
シアンテストワコー	比色(o-トリジン)	和光純薬工業 (株)	16,000/50キット
北川式検知管(水中用)	o-トリジン	光明理化学 (株)	3,000/5キット
北川式検知管(血中用)	塩化第二水銀	光明理化学 (株)	3,000/10キット
ヨシテスト	ベルリンブルー法	吉富製薬	5,700/20キット
試験紙	酸化還元反応	東洋濾紙	2,640キット
10円玉 (銅板)	酸化還元反応	—	—

2. ヒ素化合物

商品名	原理	販売元	価格
10円玉 (銅板)	ラインシュ法	—	—
パケットテスト	モリブデンブルー法	(株) 共立理化学	4,000/35キット
北川式検知管	グッツアイト法	光明理化学 (株)	2,000/10キット
ヨシテスト		吉富製薬	9,000/20キット

3. アジ化物

商品名	原理	販売元	価格
—	沈殿法 (塩化第二鉄)	—	—
—	呈色 (塩化第二鉄)	—	—

4. 有機リン系農薬

商品名	原理	販売元	価格
Agri-Screen kit	リンエステラーゼ 活性	和光純薬	28,000/10キット
RaPID assay kit	抗原抗体反応	(株) 共立理化学	93,000~ 106,000/108キット
DTNB法	リンエステラーゼ 活性	—	—
—	4-(4-ニトロベンジル)ピリジン	広島大学法医学で改良	—

5. パラコート

商品名	原理	販売元	価格
—	ハイドロサルファイト反応	—	—
北川式検知管	ハイドロサルファイト反応	光明理化学（株）	3,000/10キット
RaPID assay kit	抗原抗体反応	（株）共立理化学	99,000/108キット

6. グリホシネート

—	—	—	—
パスタ定性キット	ペーパークロマト、ニトロリン反応	ヘキスト・ジャパン	無償提供

7. 法規制薬物

（フェンシクリジン、ベンゾジアゼピン系、覚せい剤、コカイン、大麻、オピエート、バルビツレート、三環系抗うつ薬など）

商品名	原理	販売元	価格
Triage	抗原抗体反応	国際試薬（株）	89,000/25キット
ビジュアルライン	抗原抗体反応	ダイアヤトロン	300/1キット

8. プロムワレリル尿素

商品名	原理	販売元	価格
—	4-(4-ニトロベンジル)ピリジン	広島大学法医学で改良	—

9. アセトアミノフェン

商品名	原理	販売元	価格
Acetaminophen assay kit	ニトロ化反応	SIGMA	36,200/100キット
—	インドフェノール法	広島大学法医学で改良	—

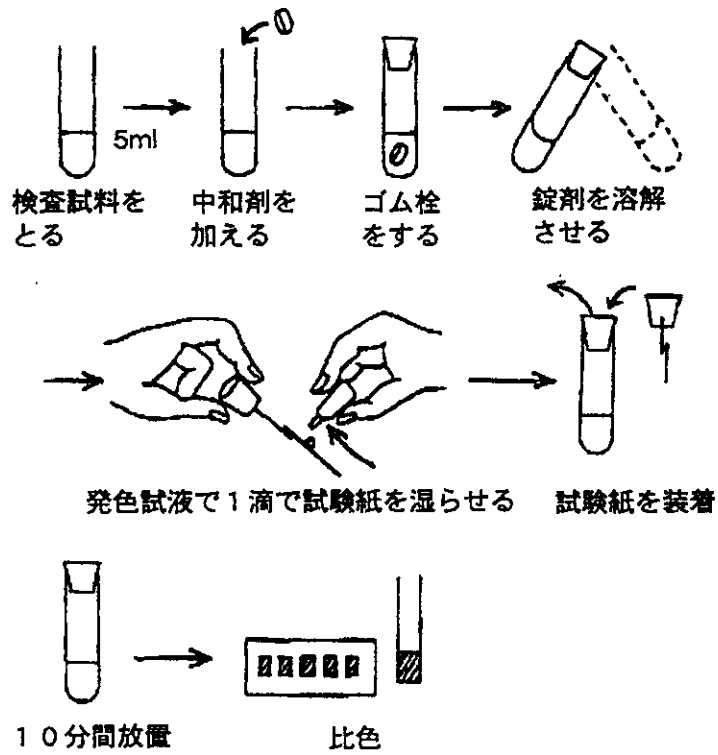


図1 シアン-テストワコーの操作図

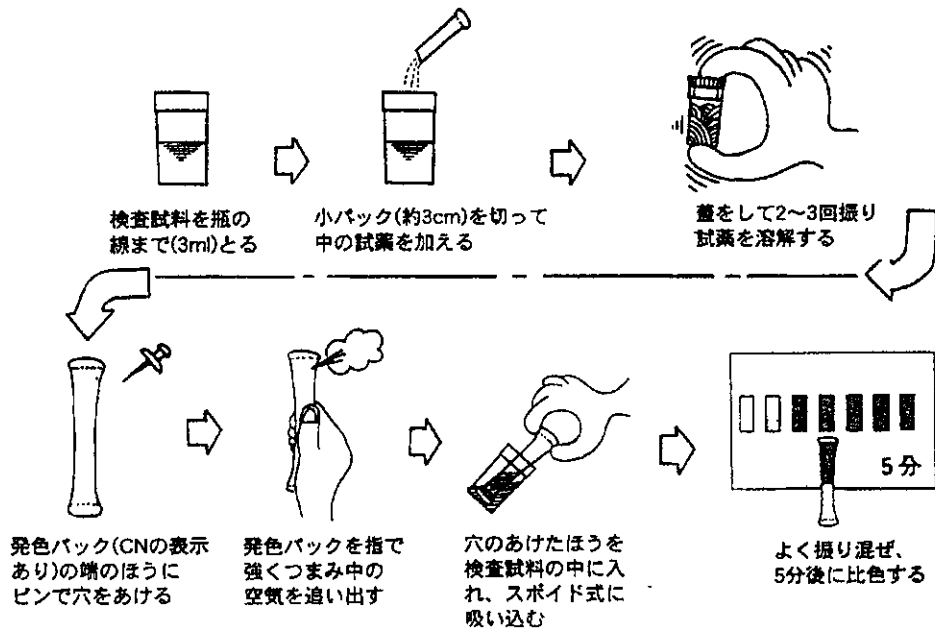


図2 パックテストの操作方法

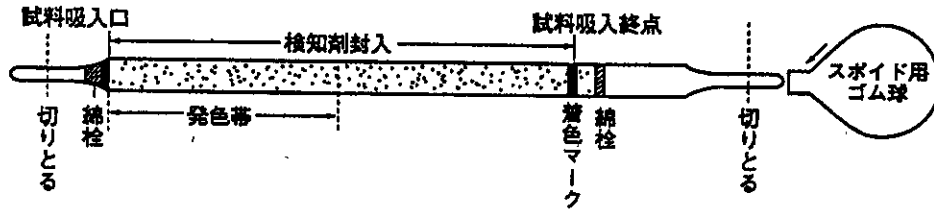


図3 ヨシテストの概要

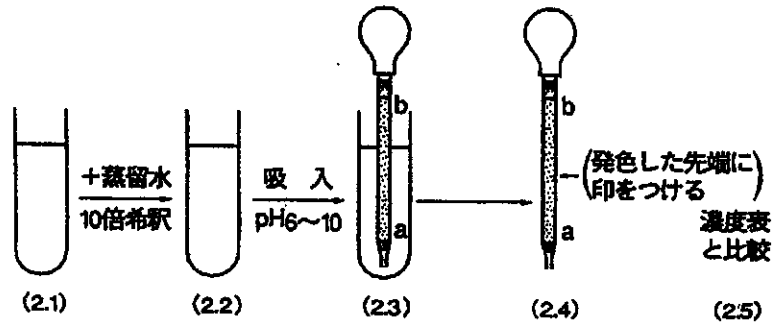


図4 ヨシテストの操作方法

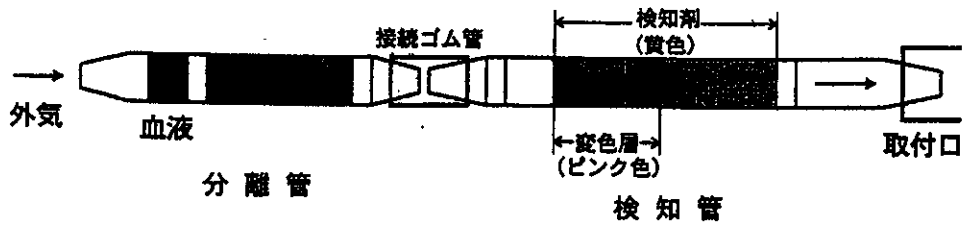


図5 北川式検知管（血中用）の概要図

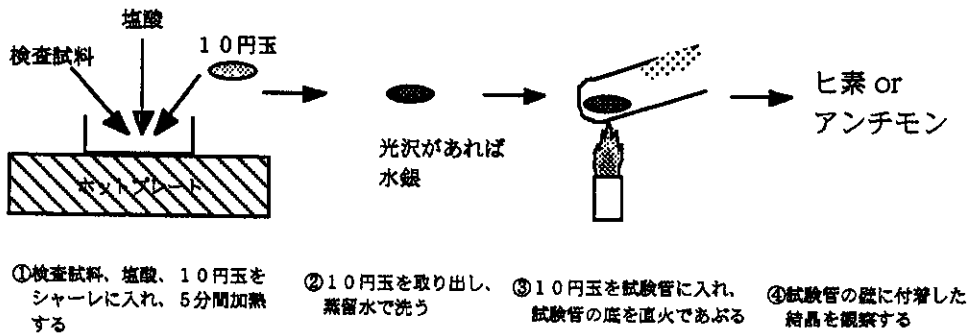


図6 ラインシュ法の操作方法

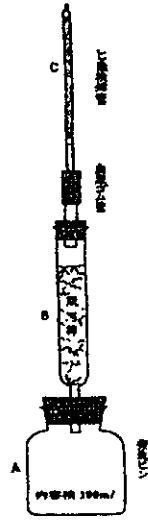


図7 グッツアイト法の検出装置

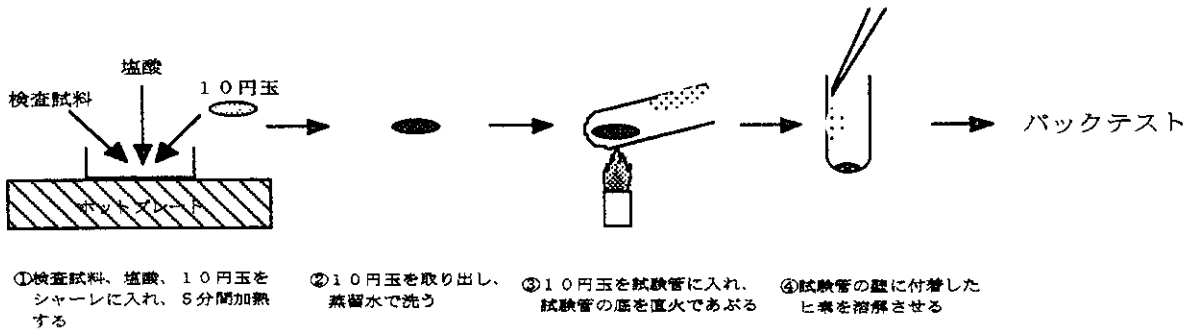


図8 ラインシュ法とバックテストを組み合わせたヒ素化合物の検出法

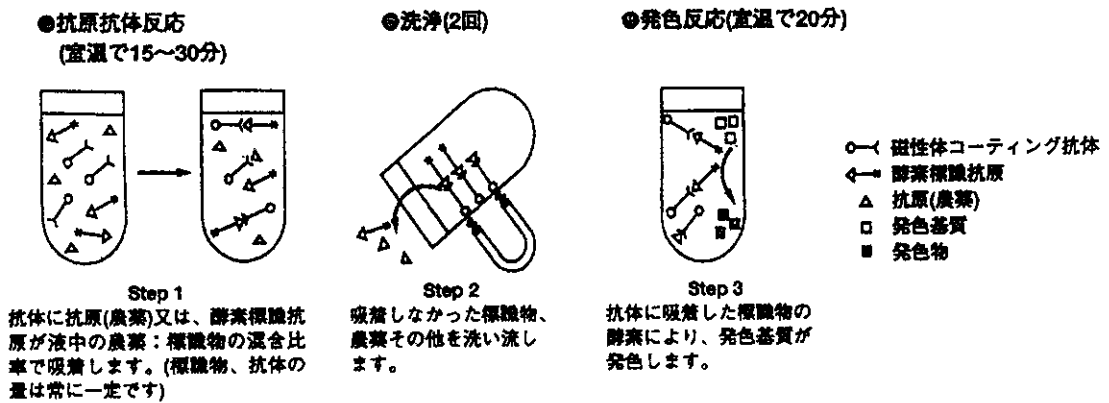


図9 PaPID Assay Kits の操作方法

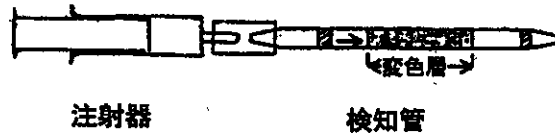


図10 北川式検知管の概略図

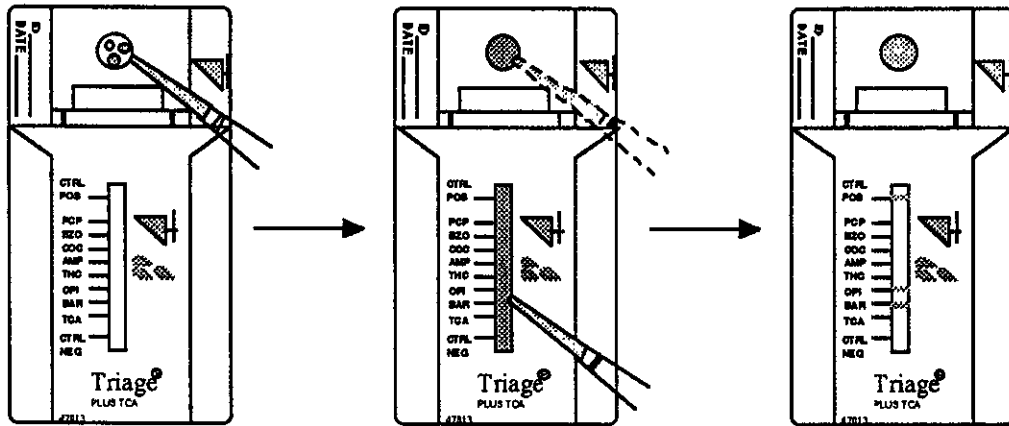


図11 Triageの操作方法

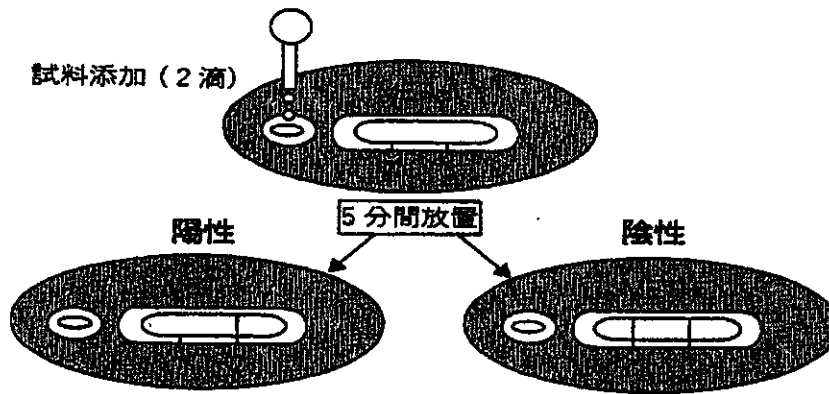


図12 ピジュアラインの操作方法

厚生科学研究費補助金（厚生省特別研究事業）
分担研究報告書

原因不明の中毒事故における情報提供体制のあり方と発生初期の分析法に関する研究

分担研究者 齋藤 行生 国立医薬品食品衛生研究所 副所長

研究要旨

中毒発生の原因となり得る物質、医薬品（睡眠剤、鎮静剤等約20種）、有毒植物成分（アコニチン等10成分）、農薬（有機リン農薬、カーバメイト農薬等53種、パラコート及びジクワット）、神経毒性ガス（サリン等5種）、かび毒（アフラトキシン等4種）、シアン化合物、メタノール、エチレングリコール、重金属（水銀、タリウム等13種）をとりあげ、これらの生体試料や食品からの分析法を、主に文献の中から選定した。更に一部に改良を加え、中毒発生初期の分析法として必要な条件、即ち簡便性、迅速性を具備した分析法として提示し、使用の便を考慮してチャート形式で示した。分析法としては、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー（GC）、液体クロマトグラフィー、GC-質量分析法、ICP発光分析法、炎光分析法等である。

分担研究報告書

A. 研究目的

中毒が発生した場合、原因物質の定性及び定量には迅速性が要求される。従ってその分析法は簡便で多成分を同時に分析できることが望ましい。その際、アコニチンのような毒性の強い物質以外は中毒試料中の原因物質の濃度は一般に高いと推測されるので、その点も考慮して分析法を文献により組み立てた（又、中毒量及び致死量が分かる場合には記入することとした）。

中毒患者治療の現場では種々の情報を勘案して治療が行われると思われるが事故発生後早い時期に、取り敢えず実施する検索分析の一つとして本分析法を提示するというスタンスでまとめた。従ってここに示された分析法が唯一絶対の分析法ではない。

B. 研究方法

最近の文献の中から分析法を選定し、必要に応じて改良を加え、同時分析法として提示した。一例として、有機リン農薬の分析法を右に示す。

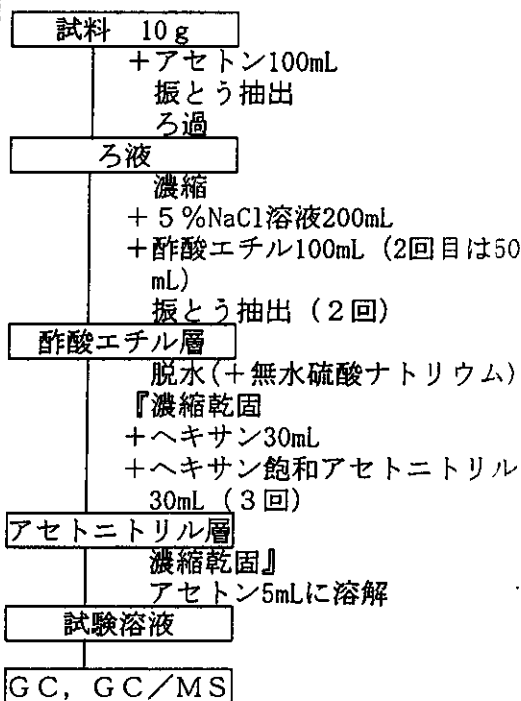
C. 研究結果

分析対象が有機化合物の場合には、主として薄層クロマトグラフィー又はGCにより同時分析法を実施し、分析対象が無機物質の場合にはICP発光分析法を用いることにより迅速に確実に原因物質の定性が可能である。

D. 考察

多成分同時分析法の設定を念頭において代表的な物質をとりあげ分析法を組み立てたが、今後は過去の中毒事例と原因物質を調査し、本法を中毒原因物質の検査分析法として更に充実化することが望まれる。

化学物質による食中毒は毎年少数ながら発生しており、地方の衛生研究所等と連携することも考慮しなければならない要素である。



『～』の部分は油脂成分が少ない試料では省略できる。これにより分析時間が大幅に短くなる。

原因不明の中毒事故における情報提供体制の
あり方と発生初期の分析法に関する研究

分担研究者 齋藤行生

国立医薬品食品衛生研究所

医薬品

研究協力者 小嶋茂雄