

にメチルエフェドリンを含む5成分が完全に分離し、尿に検出された主要な成分はエフェドリンとフェニルプロパノールアミン（エフェドリンの代謝物ノルエフェドリン）であることが確認された。この例では、誘導体化によって官能基に導入されたアシル基やトリメチルシリル基によって異性体の立体構造の違いが強調され、結果的に分離改善した。このように誘導体化した場合としない場合、あるいは2種類以上の異なる誘導体化や異なるGC分離条件下で標準試料と未知試料とを比較しても、同一物質であればGCの保持時間、MSスペクトルのいずれも両者間で一致するはずであるから、複数の条件下で比較によって得られた同定の精度は単一の条件での確認よりも信頼性が高いという事ができる。

3. 4. c 確認分析における試料の前処理
GC/MS で生体試料の分析をする場合には試料の加水分解、抽出、誘導体化などの前処理を必要とする。一般に抽出は液-液抽出法または固相抽出法によって行われるが、液-液抽出法による前処理では、古典的な有機定性と同様に塩基性下、または酸性下で有機溶剤抽出し必要に応じて適宜誘導体化したのち、塩基性画分は興奮剤、麻薬などの塩基性薬物、また酸性画分は利尿剤などの酸性薬物を対象に分析する。近年逆相系のオクタデシルシリカカートリッジカラムや、イオン交換性を併せ持ったミックスドファンクショナルな固相抽出カラムも登場し、塩基性薬物の抽出に用いられるようになってきた。未変化体と代謝物で二液間の抽出挙動が大きく異なる場合には固相抽出でより良い結果が得られる場合がある。いずれの前処理でも抽出率を確認し補正するために内部標準物質の使用が推奨され

る。GC/MS で前処理の回収率補正に用いる内部標準として最も適しているのは目的物質の重水素ラベル化体で、一般には最低三つ以上の軽水素が重水に置き換わったもの（質量数に3マス以上の差があるラベル化体）を用いる。規制薬物の重水素ラベル化体も同様に規制され、入手が困難な化合物が多いので、その場合には目的物質と類似の抽出挙動とGC挙動を示し、検出イオンのイオン質量数が近いものを選択する。

確認分析は最終確認として行う分析であるから、個人差を極力排除するためにもあらかじめカットオフ濃度を定め、陽性基準を明確にしておく事が重要である。カットオフ値は、安定して検出でき分析条件による変動要因の影響を受けない最低濃度と考えることができるので、例として次のように定めることもできる。（公式な定義ではない）

$$\begin{aligned} \text{最小検出濃度(LOD)} &= \text{盲検試料の} \\ &\quad \text{バックグラウンドの平均} + 3 \text{ SD} \\ \text{最小定量濃度(LOQ)} &= \text{盲検試料の} \end{aligned}$$

バックグラウンドの平均 + 10 SD
ただし大麻のように喫煙によって乱用されるものは密室で間接的に暴露されて尿検査が陽性反応を示す場合があるので、測定機器の感度が良いからと言ってもカットオフ値を低く設定出来ない場合がある。

薬物の系統的な分析方法の詳細については既に報告しているので参照願いたい^{35) 36) 37)}。

4. まとめ

毒劇物・薬物中毒がある程度の広がりを持って発生するという事を想定して全国的な検査態勢を整えることの必要性は、近年の連鎖反動的な毒物混入事件の例を見るまでもなく明らかである。医療機関が、非定常的な日々

の救命救急治療に加えて、いつ発生するかわからない事態に常に待機し、事件発生時に即座に対応できるような体制を整えるのはたやすいことではない。毒劇物・薬物の検査を行うとする医療機関では緊急時の対処を文書化し、簡易迅速測定キットなどの設備を有効に利用して一次スクリーニングの実施体制を整備するのが現実的な対応である。更に高度な検査が必要となった場合に備えて、現場の医療機関を支援する高度救命救急センター、地区の衛生公害研究所、科学警察研究所、専門分析機関など、緊急時の協力体制を作っておくことも必要になる。海外でごく日常的に実施されているような規制薬物の体外診断薬の輸入と、検査用標準試薬の流通簡素化を是非とも実現したいところである。過去の毒物混入事件では情報不足から少なからず混乱が生じたが、インターネットなどを通じた迅速な支援情報の提供も必要である。インターネットのような公共のメディアには質の高い情報とそうでない情報が混在しているので、両者を見分ける知識や手段も必要となる。ボランティアに質の高い情報を提供する中毒情報ネットワークを支援育成し、すべての関係者が情報を共有しピットフォールに陥ることの無いような体制を築くことが望まれる。

先に述べたように、我が国における毒劇物・薬物検査体制は機器分析手法を中心として整備されてきており、緊急対策においても本来汎用機として用いられる HPLC、蛍光 X 線測定器、ICP などの機器を中毒起因物質の検索用に特化した装置が救命救急センターなどの医療機関に配備される。それらの機器のメーカー推奨条件では測定前の準備を極力行わないでそのまま測定するように配慮されているようである。しかし、簡単な抽出や濃縮・精製

などの工夫を追加することによって、より感度良く確実に目的物質を同定することができ、また検索対象成分のレパトリーが順次拡張できるのも汎用機の大きな特徴である。今回評価対象とした装置の中で、特に蛍光 X 線検出装置における運用方法の重要性を指摘したい。蛍光 X 線測定装置は、直接測定できるというスクリーニングに適した特徴をもつ装置ではあるが、その利点が強調されるあまり生体試料の前処理という点について検討した報告は見られなかった。簡単な前処理で生体試料特有のバックグラウンドを軽減できれば、装置の性能を更に最大限に活かすことも可能となる。たとえば、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (ammonium pyrrolidine dithiocarbamate) で金属錯体を形成し、メチルイソブチルケトン (MIBK:methylisobutyl ketone) で抽出を行う APDC-MIBK 法³⁸⁾、フレイム原子吸光法による単一元素測定のための前処理方法として既に広く用いられ、その評価も確定しているが、このようにフレイム原子吸光用に開発された前処理を行ったのち、その抽出液を乾固して測定すれば、蛍光 X 線測定による多元素測定を感度良く行える可能性がある。毒劇物・薬物の中にはロコミで次第に広がって行くものもあり、その時代の流行に合わせて検査システムや測定条件を順次改善して行くことが、より高い検出率を実現する上で必要不可欠である。

5. 参考文献

- 1) 渡辺正一, フレイムレス原子吸光法: 日本臨床, 54, (1), 228-232 (1996)
- 2) 労働衛生精度向上研究会: 特定化学物質関係の生体試料測定法 (1993)
- 3) 吉永 淳, 誘導結合プラズマ発光分析法お

- よび ICP 質量分析法：日本臨床,54,(1),202-206(1996)
- 4) 岡本研作,必須微量元素の測定値をめぐる諸問題：日本臨床,54,(1),186-191(1996)
 - 5) 千葉百合子,必須微量元素の血中濃度と測定法概論：日本臨床,54,(1),179-185(1996)
 - 6) H.Vanhoe, A Review of the capabilities of ICP-MS for trace element analysis in body fluids and tissues:*J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*,7,131-139(1993)
 - 7) Liu Ping, Internal standardization in energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometric determination of trace elements in urine after pre-concentration with a chelating filter:*Anal. Chem.*,55,1819-1821(1983)
 - 8) Winstanley R., The determination of toxic metals in simulated stomach contents by energy dispersive x-ray fluorescence analysis and a fatal case of mercury poisoning:*Forensic Sci. Int.*,35,(2-3)181-187(1987)
 - 9) Greschoning H., Capillary electrophoretic separation of inorganic and organic arsenic compounds:*J. Anal. Chem.*,362,(2),218-223 (1998)
 - 10) 角田紀子,ヒ素中毒と毒物鑑定：ファルマシア,34,(12),1237-1241(1998)
 - 11) Kavanagh, Urinary arsenic species in Devon and Cornwall residents:*Analyst*, 123,(1), 27-29(1998)
 - 12) 株式会社三菱化学ビーシーエル 1998 年度検査案内
 - 13) Sunderman F.W., Rapid analysis of nickel in serum and whole blood by electrothermal atomic spectrophotometry:*Ann. Clin. Lab. Sci.*, 14,232-241(1984)
 - 14) 野本昭三, 非必須重金属 (Hg, Cd, Pb, Cr, Ni) : *Medical technology*, 6,(13),(1978)
 - 15) 労働安全衛生法鉛中毒予防規則第 55 条 (1989)
 - 16) Yang G.,Endemic selenium intoxication of humans in China:*Am. J. Clin. Nutr.*,37,872-881(1983)
 - 17) Watanabe T., Cadmium levels in the blood of inhabitants in non-polluted areas in Japan with special references to aging and Smoking:*Environ. Res.*,31,(2), 472-483(1983)
 - 18) Kowal N.E., Normal levels of cadmium in diet, urine, blood and tissues of inhabitants of the United States:*J. Toxicol. Environ. Health*,5,(6), 995-1014(1979)
 - 19) 吉川博,化学的因子クロム：臨床検査,28,(11),1377-1381(1984)
 - 20) K.H.Schaller, The quantitative determination of chromium in urine by flame-less atomic absorption spectroscopy:*Atomic Absorption Newsletter*,12,(6), (1973)
 - 21) Mayer D.R., Essential trace elements in humans. Serum arsenic concentrations in hemodialysis patients in comparison to healthy controls: *Biol. Trace Elem. Res.*,37,27-38(1993)
 - 22) 坂井 公：日本臨床,53,846-849(1995)
 - 23) Niebor E., Absorption, distribution and excretion of nickel: *Nickel and Human Health*, 49-68(1992)
 - 24) 荻田香苗：日本臨床,53, 843-845(1995)
 - 25) 和田 攻,重金属中毒：総合臨床,38,649-654(1989)
 - 26) Wierniknikoski A., Clinical and toxicologic problem related to acute poisoning with chromium:*Pol. Tyg. Lek.*,46,(24-26),448-451 (1991)

- 27) Rosees O.E., Mass poisoning by sodium arsenite: *Clinical Toxicology*, **29**,(2),209-214 (1991)
- 28) TOP 20 Hazardous Substances ATSDR/EPA Priority List for 1997. Internet URL: <http://atsdr1.atsdr.cdc.gov:8080/cxcx3.html>
- 29) Medical Management Guidelines for Acute Chemical Exposures 1992. Internet URL: <http://aepo-xdv-www.epo.cdc.gov/wonder/prevguid/p0000016/0000016.htm>
- 30) US Department of Health and Human Services, Federal Workplace Drug Testing, *Federal Register*, **59**, 11970 (1988)
- 31) National Institute on Drug Abuse -U.S. Dept. of Health and Human Services-, Laboratory Inspector Training Manual for the National Laboratory Certification Program. Revised May 1991
- 32) Massachusetts Poison Control Center, "Massachusetts Poison Control System", 1997 *Annual Statistical Report* (Private Letter, USA)
- 33) Schänzer W., Delahaut P., Geyer H., Machnik M., Horning S, "Long-term Detection and Identification of Metandienone and Stanozolol Abuse in Athlete by GC/HR-MS:J. *Chromatogra.B*, 687, 93 (1996)
- 34) Bowers L., Catlin D., Hemmersbach P., Kazlauskas R., Pascual T., Schänzer W., Segura J., Ueki M., Yang Z., Analytical Criteria for Reporting Low Concentrations of Anabolic Steroids, *IOC Medical Commission Guideline*, March 1998 (Lausanne, Switzerland)
- 35) 植木眞琴: "ドーピング検査への応用", 上野民夫、平山和雄、原田建一編「バイオロジカルマススペクトロメトリー」, 現代化学 (増刊 31) 204-214(1997), (東京化学同人)
- 36) 藤崎誠, 植木眞琴, 広範囲の乱用薬物を対象とする系統的な検査方法: 法中毒, 13, 163-181(1995)
- 37) 植木眞琴, 臨床分析ー生体成分・薬剤ーキヤピラリーガスクロマトグラフィー, (日本分析化学会 GC 研究懇談会編), 123-131(1997), (朝倉書店)
- 38) 保田和雄、長谷川敬彦、「試料の前処理」、原子吸光分析: 保田和雄、長谷川敬彦編著、229-241, 講談社サイエンティフィック (東京 1980)

表1 測定方式および装置条件

蛍光X線分析 装置メーカー	前処理	測定方式	測定時間(秒)	試料室雰囲気	励起電圧(KV)	管電流(μA)	管球元素
a	直接測定	エネルギー分散	200	大気	30	204	Rh
b	直接測定	エネルギー分散	500	大気	50	3	Rh
c	点滴法	エネルギー分散	600	ヘリウム	50	500	Rh
d	点滴法	エネルギー分散	300	真空	45	260	Rh
e	直接測定	エネルギー分散 モノクロX線	200	大気	25~60	10~30	W-Mo
f	点滴法	波長分散	1200	真空	30~50	*80~130	Rh

*mA

ICP発光分析

対象元素	前処理	吸引時間(秒)	洗浄時間(秒)	Uptake Delay(秒)	測定回数	測定時間(秒)
全元素	100倍希釈	15	10	30	5	10

原子吸光分析

対象元素	検査材料	前処理	測定方式	測定波長(nm)	ランプ電流(mA)
Pb	血液 尿	300~500	フレームレス D ₂ 補正方式	283.3	6
			フレームレス D ₂ 補正方式	283.3	4
Cr	血液 尿	倍希釈	フレームレス D ₂ 補正方式	357.9	2
			フレームレス D ₂ 補正方式	357.9	2
Se	血液 尿	倍希釈	電気炉加熱式 還元気化法	196.0	21
			電気炉加熱式 還元気化法	196.0	19
Ni	血液 尿	倍希釈	フレームレス セーマン補正方式	232.0	8
			フレームレス D ₂ 補正方式	232.0	3
Cd	血液 尿	倍希釈	フレームレス セーマン補正方式	228.8	3
			フレームレス D ₂ 補正方式	228.8	3

表2 蛍光X線法によるテストサンプルの測定結果

機種および測定方式	サンプル名	Ni	Pb	Se	Cd	Cr	As
a 社	A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
b 社	A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
c 社	A	5.6	12.0	4.4	8.7	4.5	n.d.
	B	n.d.	6.9	0.8	n.d.	n.d.	n.d.
	C	n.d.	25.0	4.2	n.d.	n.d.	n.d.
	D	n.d.	23.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
d 社	A	d	d	d	n.d.	d	d
	B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C	d	d	d	n.d.	d	d
	D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	d	n.d.
e 社	A	4.0	10.0	11.0	8.0	2.0	6.0
	B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C	5.0	3.0	6.0	5.0	2.0	5.0
	D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
f 社	A	d	d	d	d	d	d
	B	d	n.d.	n.d.	n.d.	d	n.d.
	C	d	d	d	d	d	d
	D	d	n.d.	n.d.	n.d.	d	n.d.

d : 検出(s/n>3)

n.d. : 不検出

中毒レベル: 全血A, 尿C 添加量 5ppm

正常レベル: 全血B, 尿D

単位: ppm

表3 原子吸光法によるテストサンプルの測定結果

検体 元素	A	B	C	D
Ni	4.554	0.002	5.330	0.010
Pb	4.750	0.004	3.413	n.d.
Se	5.710	0.001	4.400	0.018
Cd	3.273	0.005	4.150	n.d.
Cr	5.300	n.d.	4.350	n.d.

単位: ppm n.d.: 不検出

表4 正常者のレベルと中毒時の血液および尿中濃度の報告例

出典	Ni		Pb		Se		Cd		Cr		As	
	血液	尿	血液	尿	血液	尿	血液	尿	血液	尿	血液	尿
正常レベル	¹²⁾ 0.008	¹²⁾ 0.005	¹²⁾ 0.200	¹²⁾ 0.030			¹²⁾ 0.010	¹²⁾ 0.004				
文献値等	¹³⁾ 0.002	¹⁴⁾ 0.005	¹⁵⁾ 0.200		¹⁶⁾ 0.095	¹⁶⁾ 0.026	¹⁷⁾ 0.004	¹⁸⁾ 0.001	¹⁹⁾ 0.030	²⁰⁾ 0.005	²¹⁾ 0.009	²²⁾ 0.143
中毒レベル	²³⁾ 0.01	²⁴⁾ 0.15	²⁵⁾ 1.20	²⁵⁾ 0.25	¹⁶⁾ 1.3	¹⁶⁾ 0.9	²⁵⁾ 0.01	²⁵⁾ 0.05	²⁶⁾ 10	²⁵⁾ 0.05	¹⁰⁾ 0.4	²⁷⁾ 0.75

単位: ppm

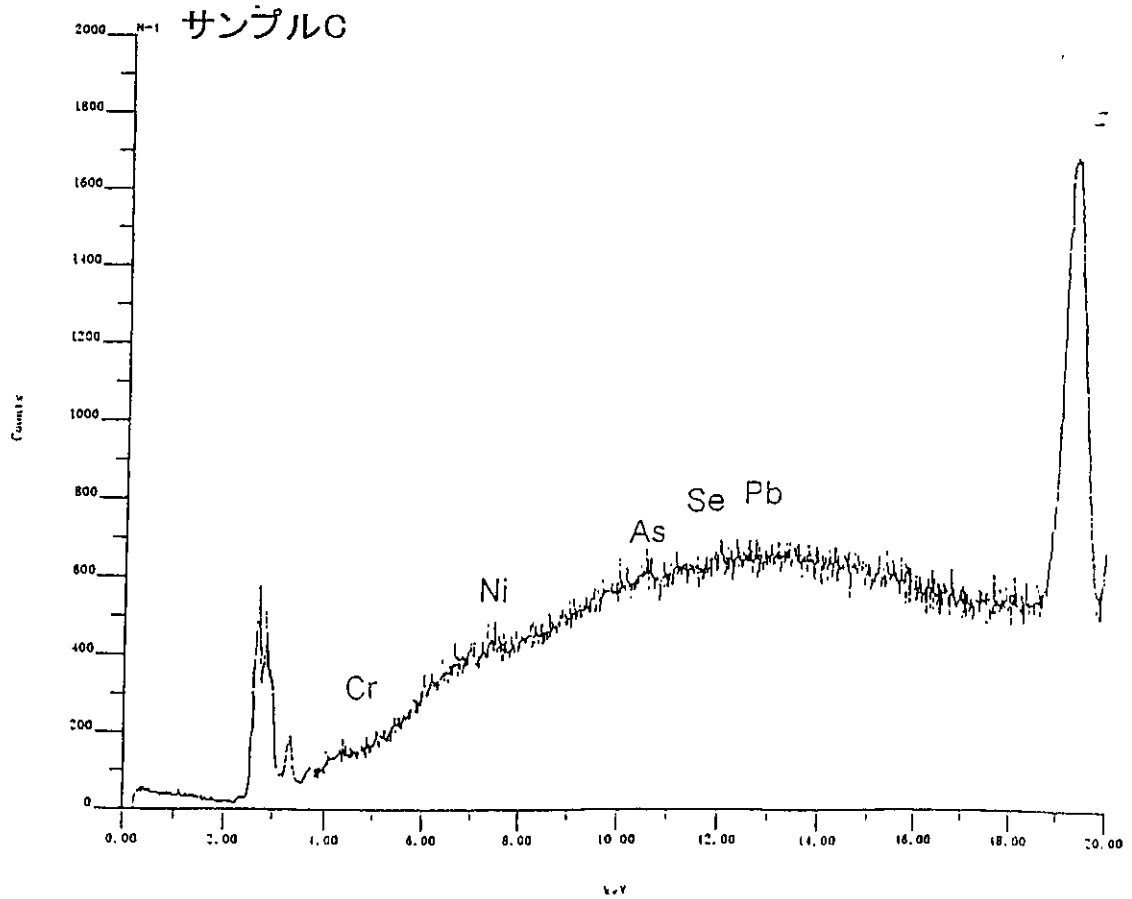
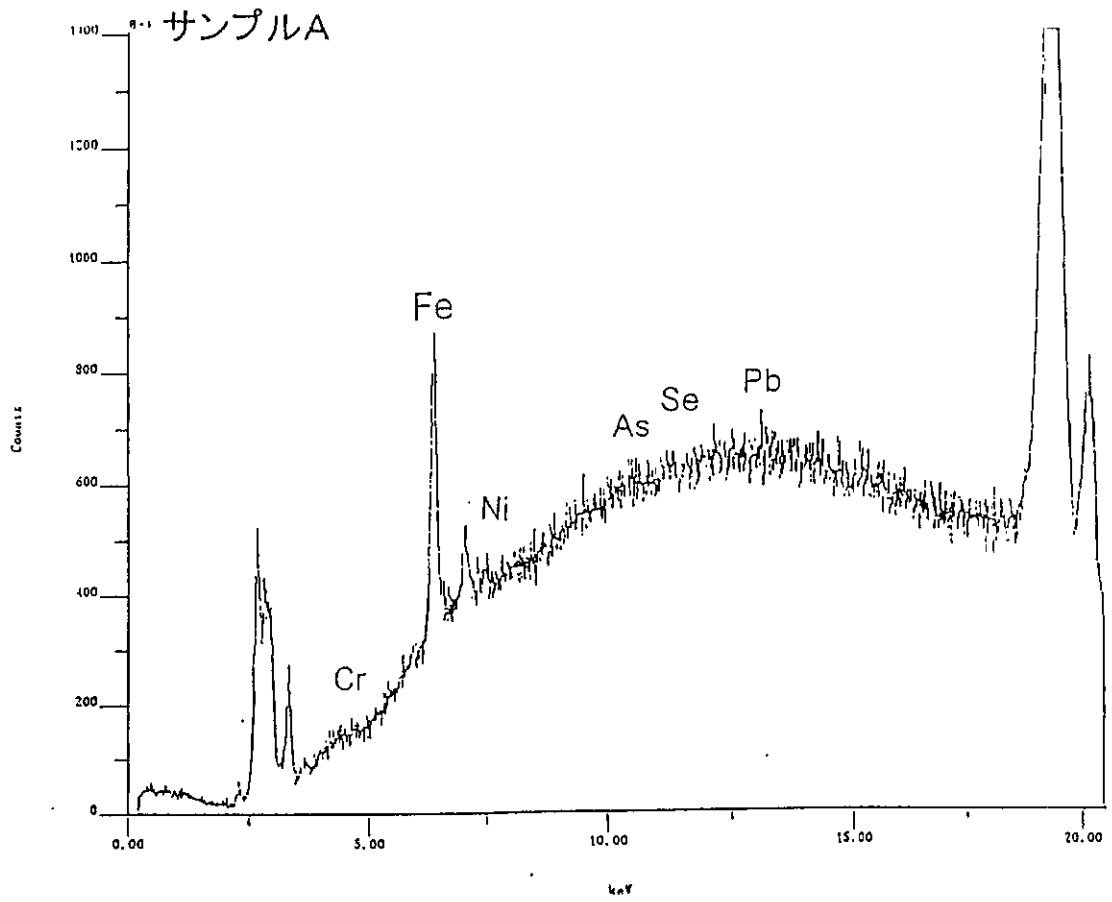
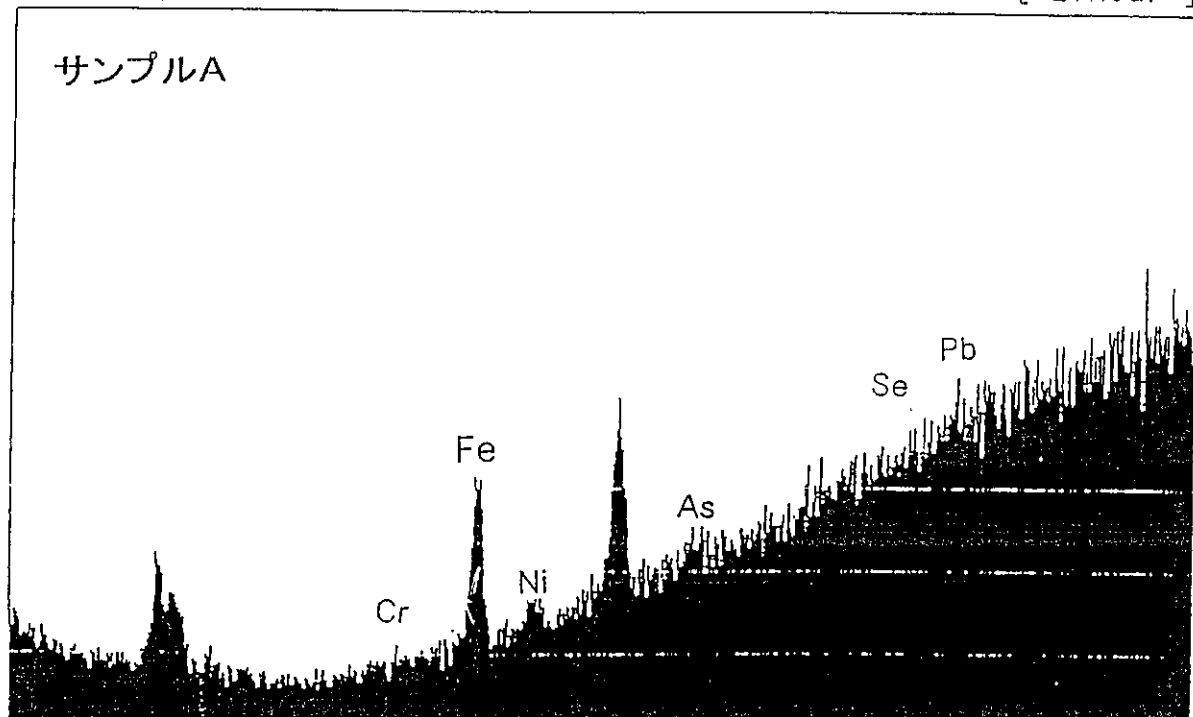


図1 a社 蛍光X-線スペクトル

3.748 cps

[Linear]

サンプルA



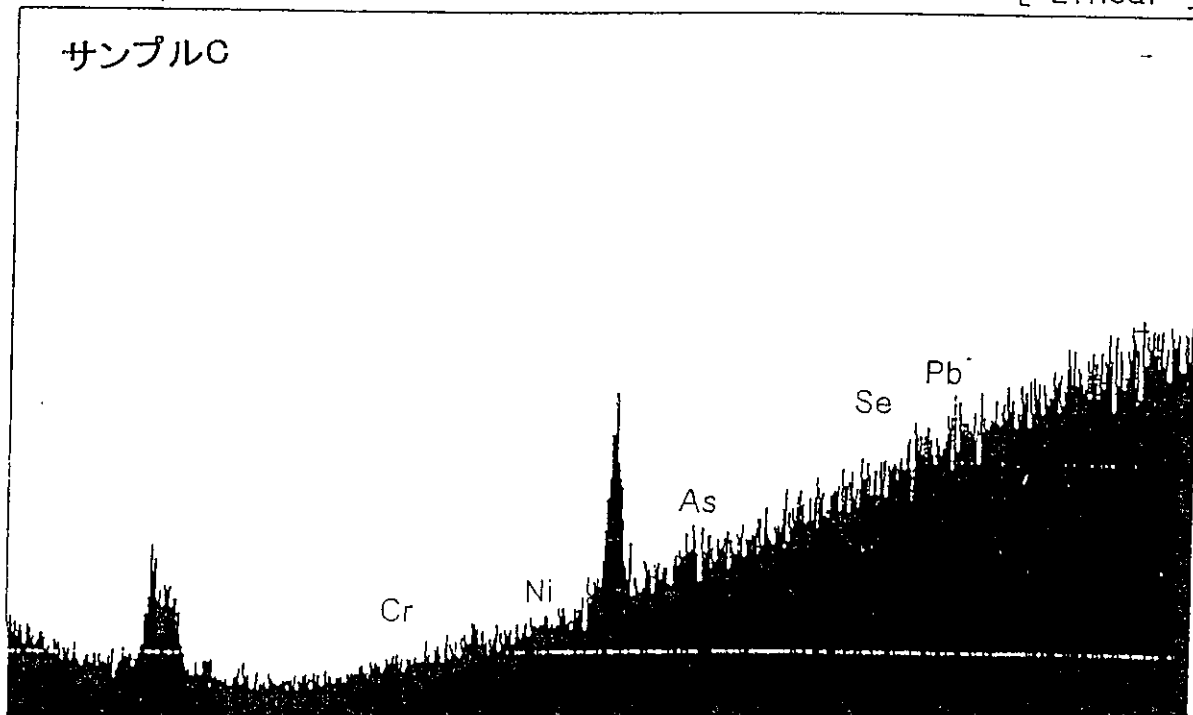
0.99 keV

14.76 keV

3.748 cps

[Linear]

サンプルC



0.99 keV

14.76 keV

図2 b社 蛍光X-線スペクトル

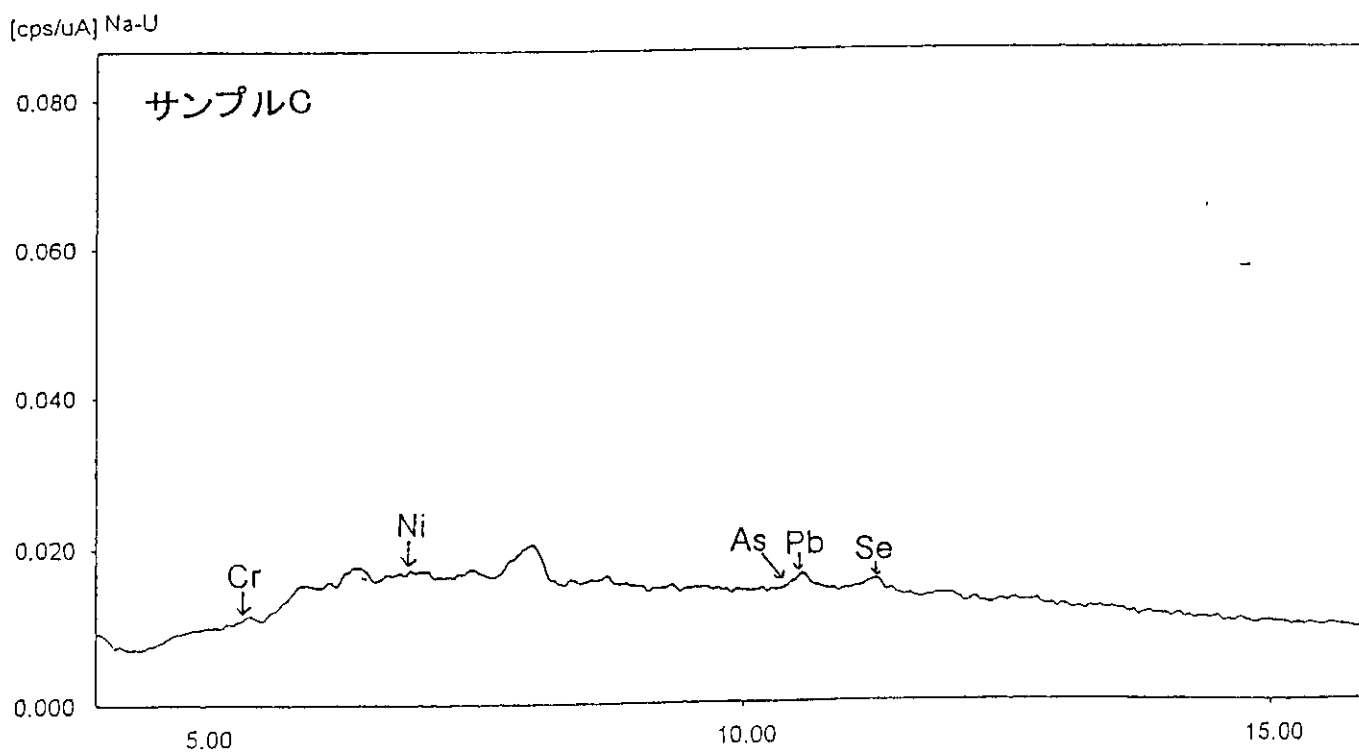
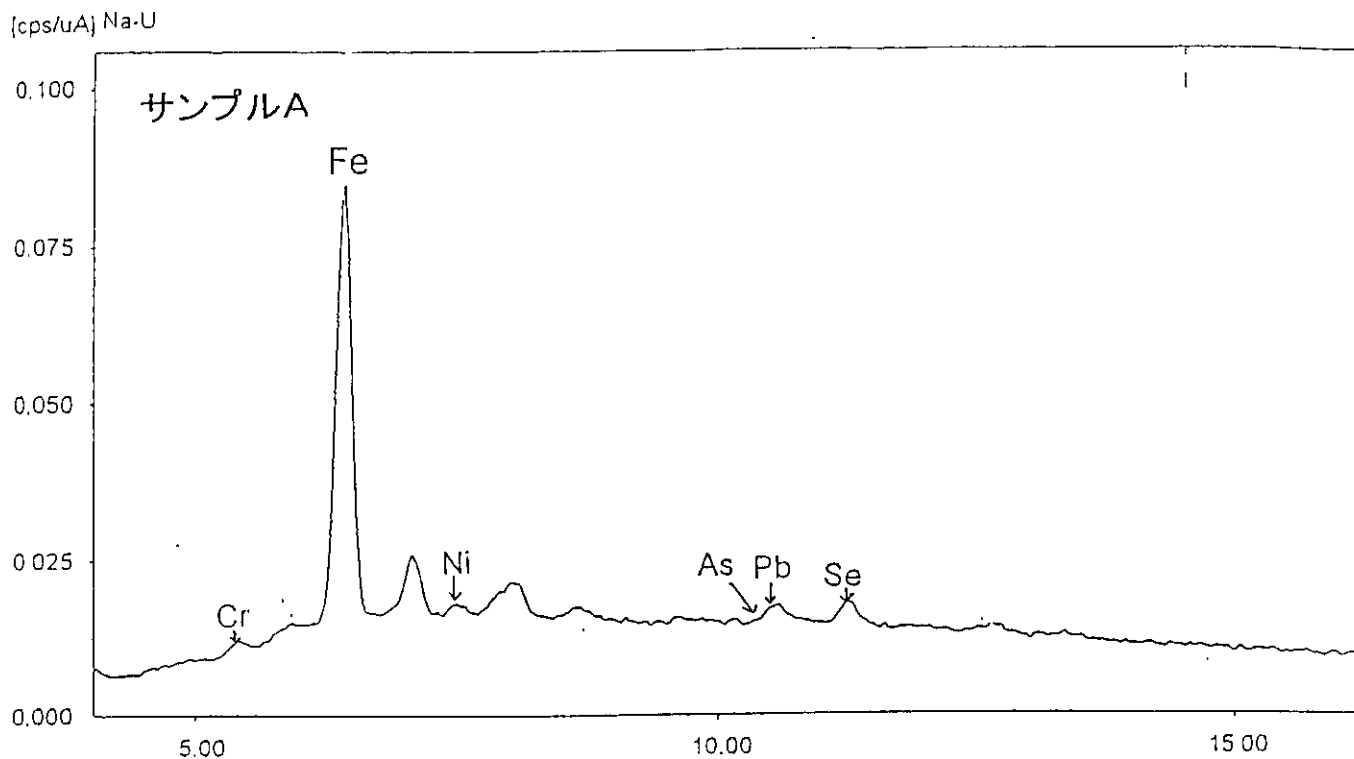
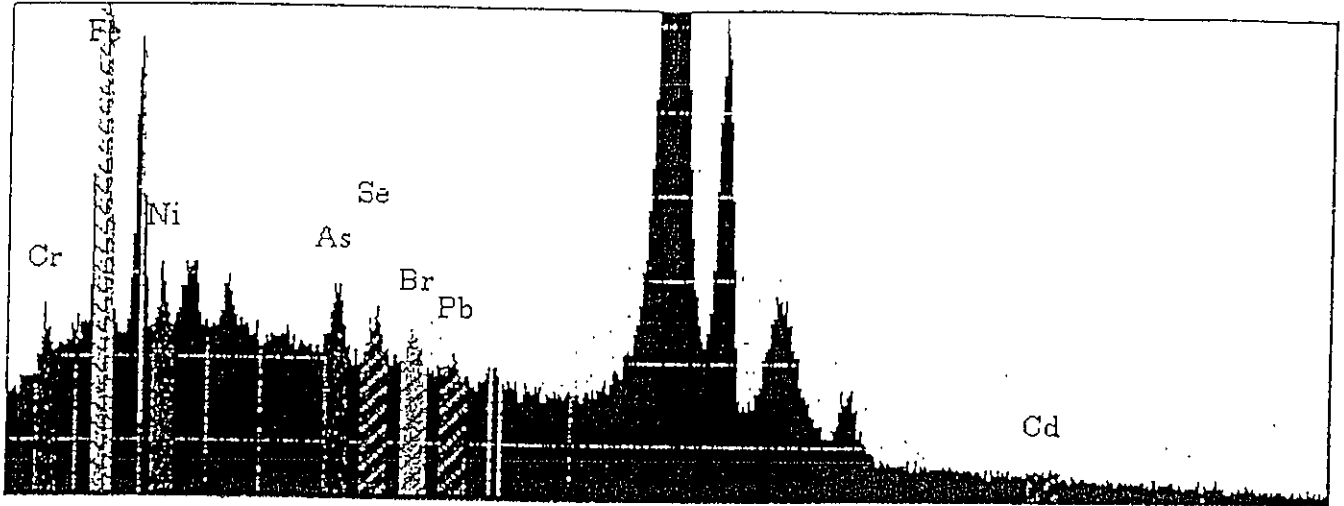


図3 c社 蛍光X-線スペクトル

サンプルA



サンプルC

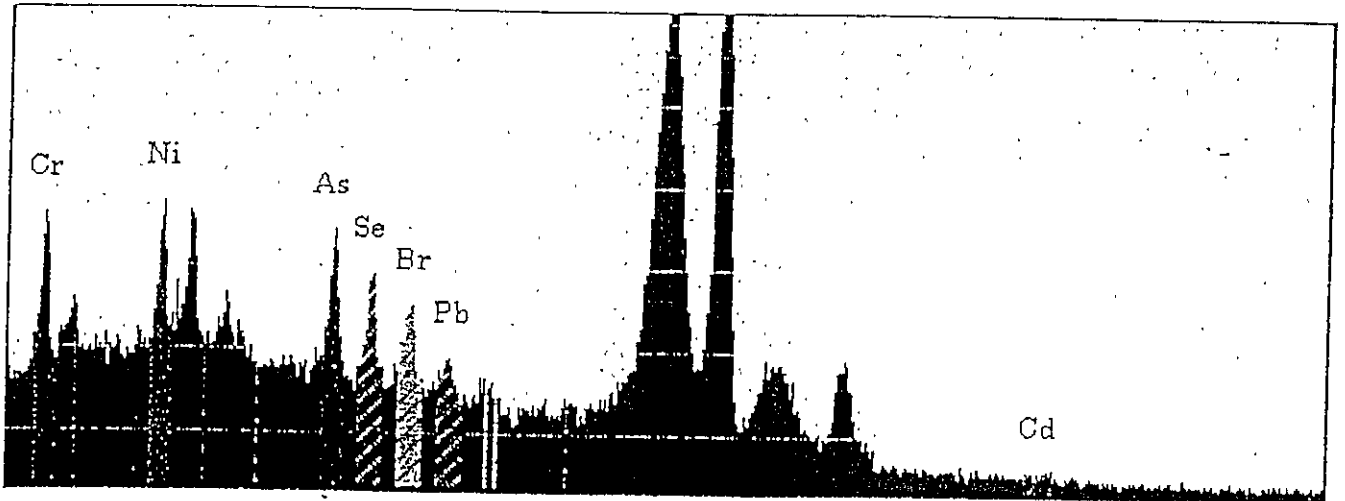


図4 d社 蛍光X-線スペクトル

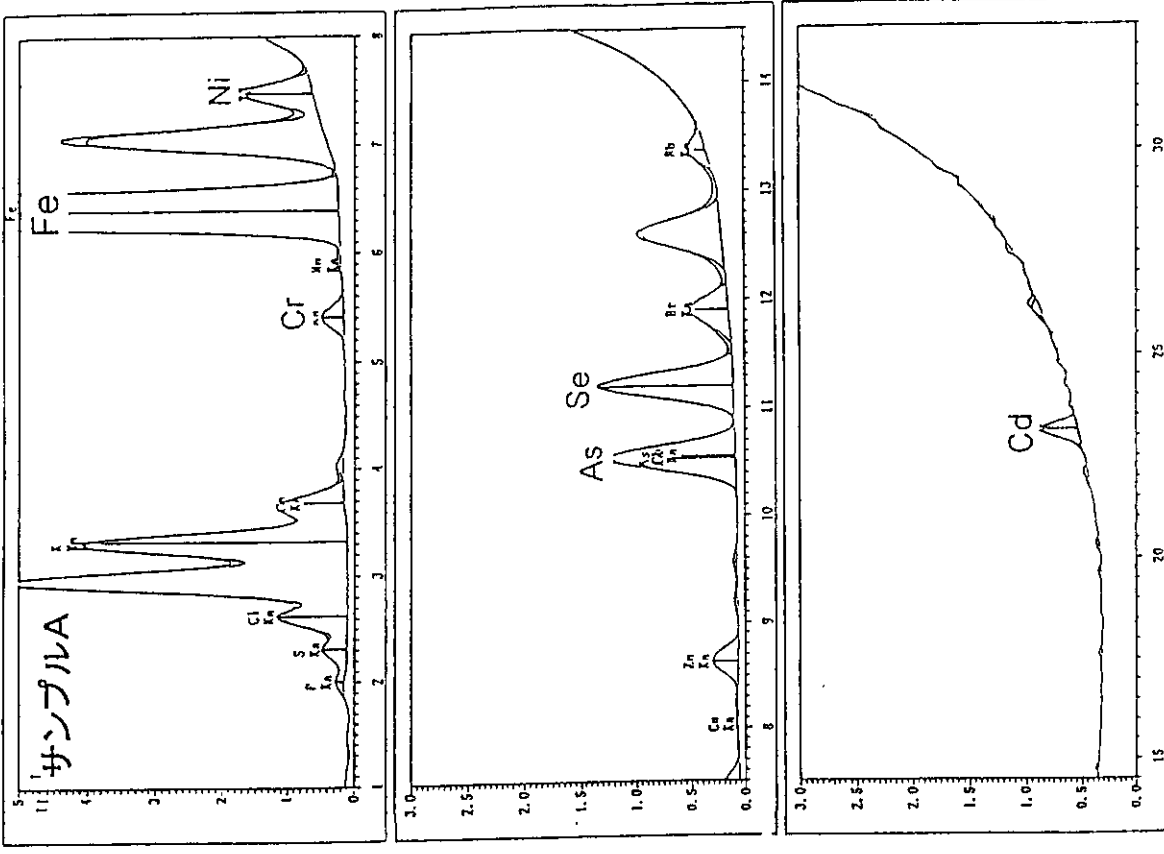
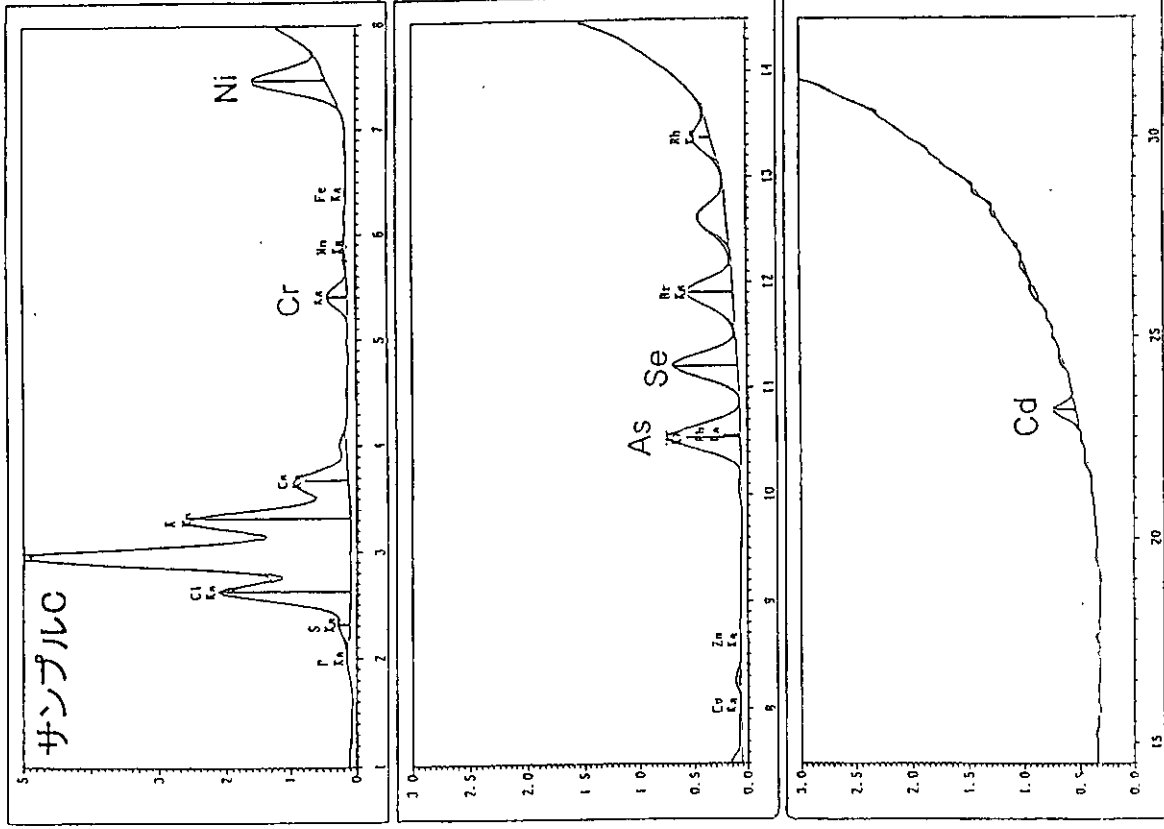


図5 e社 蛍光X-線スペクトル

サンプルA・B

サンプルC・D

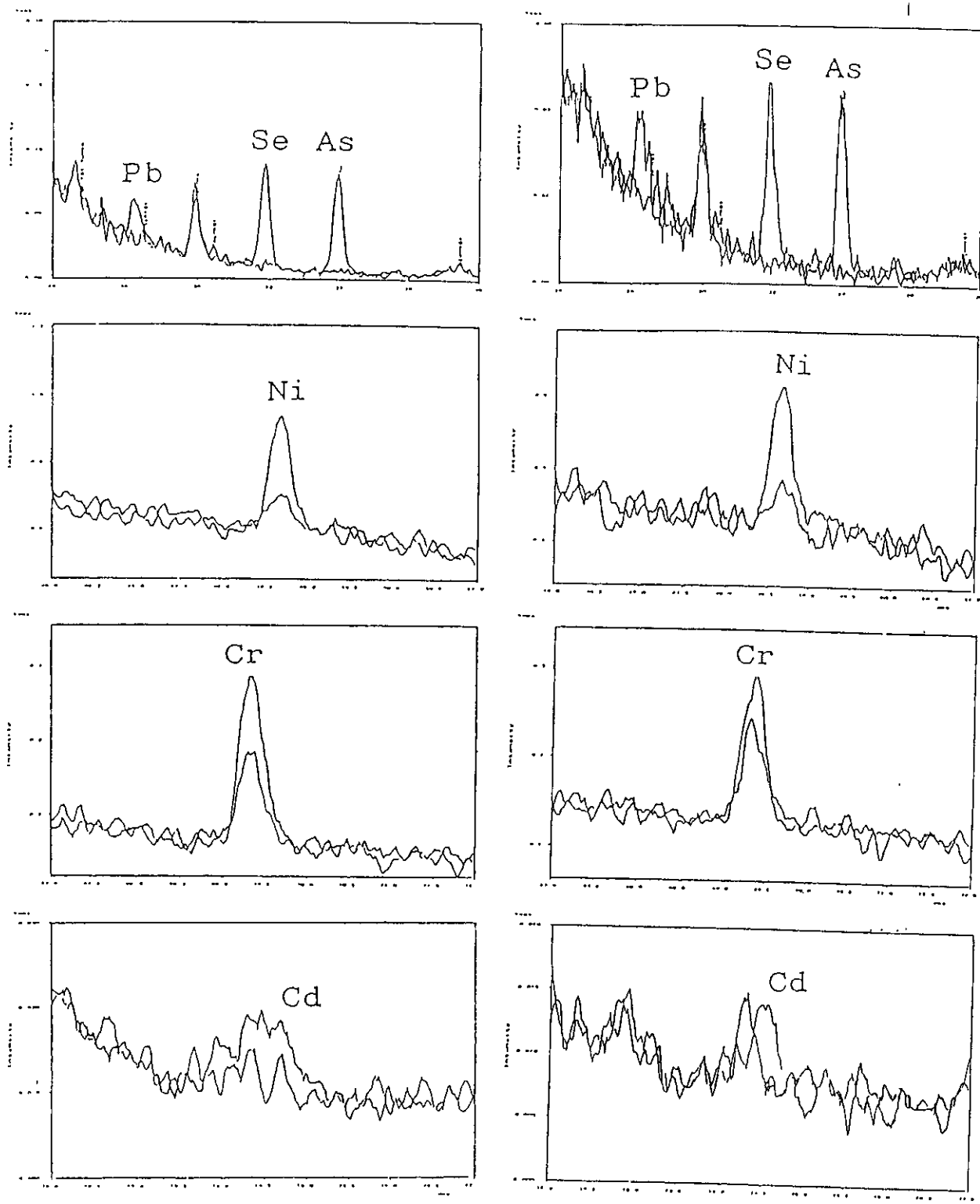
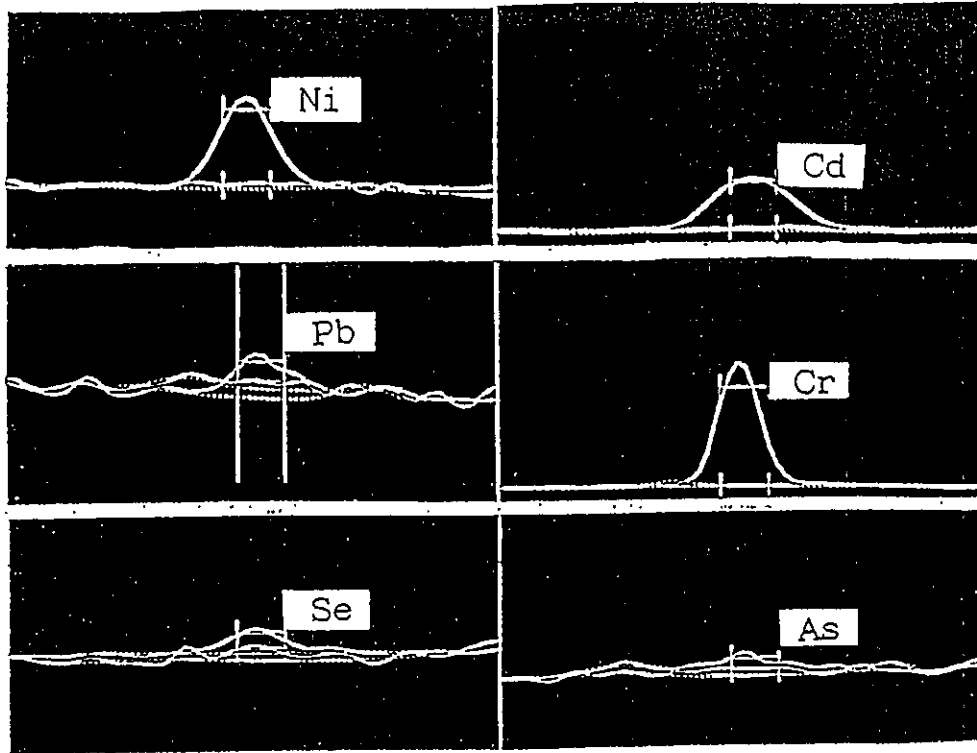


図6 f社 蛍光X-線スペクトル

サンプルA・B



サンプルC・D

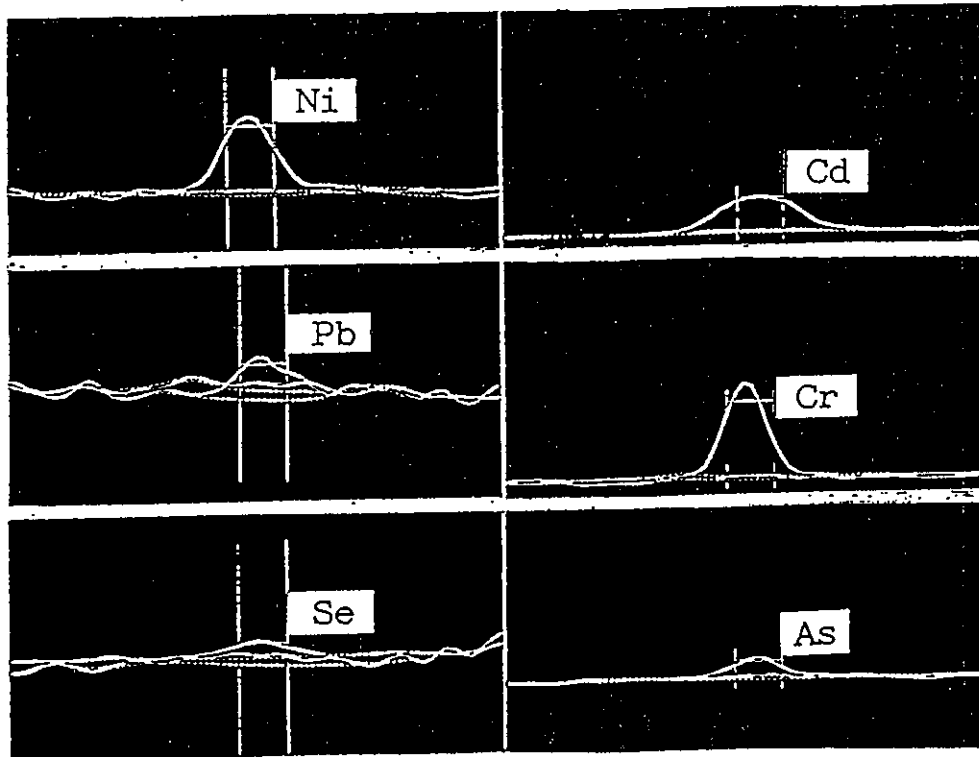
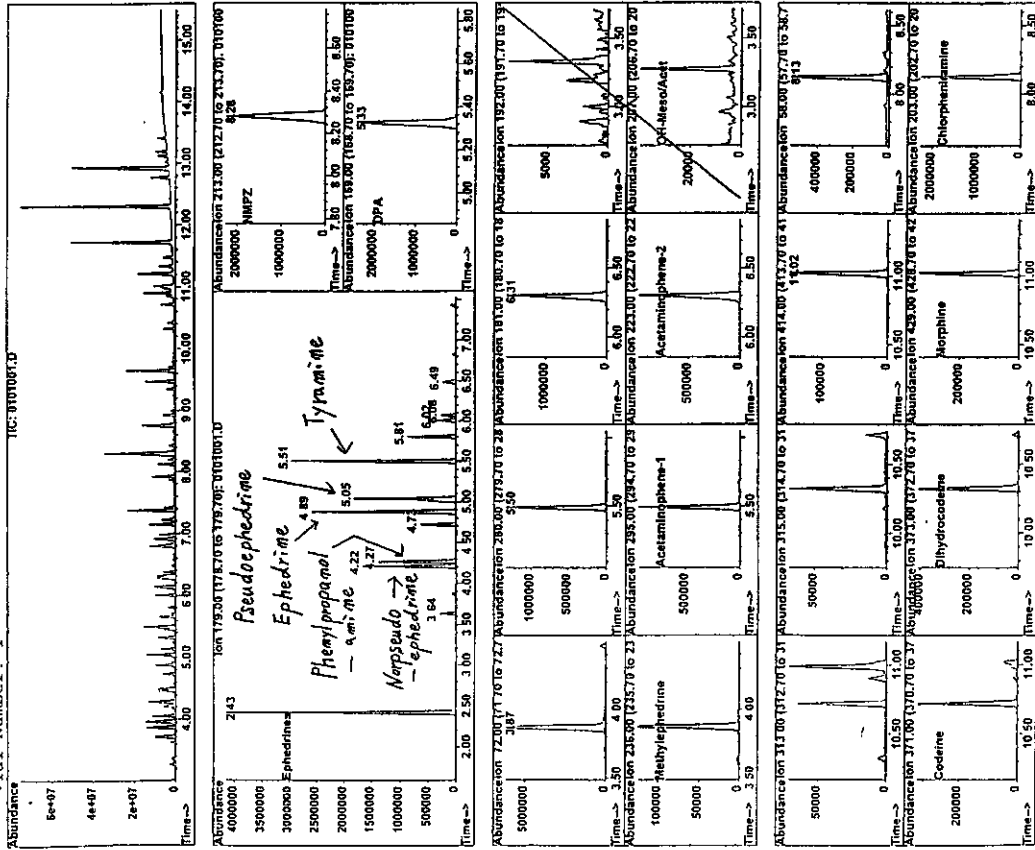
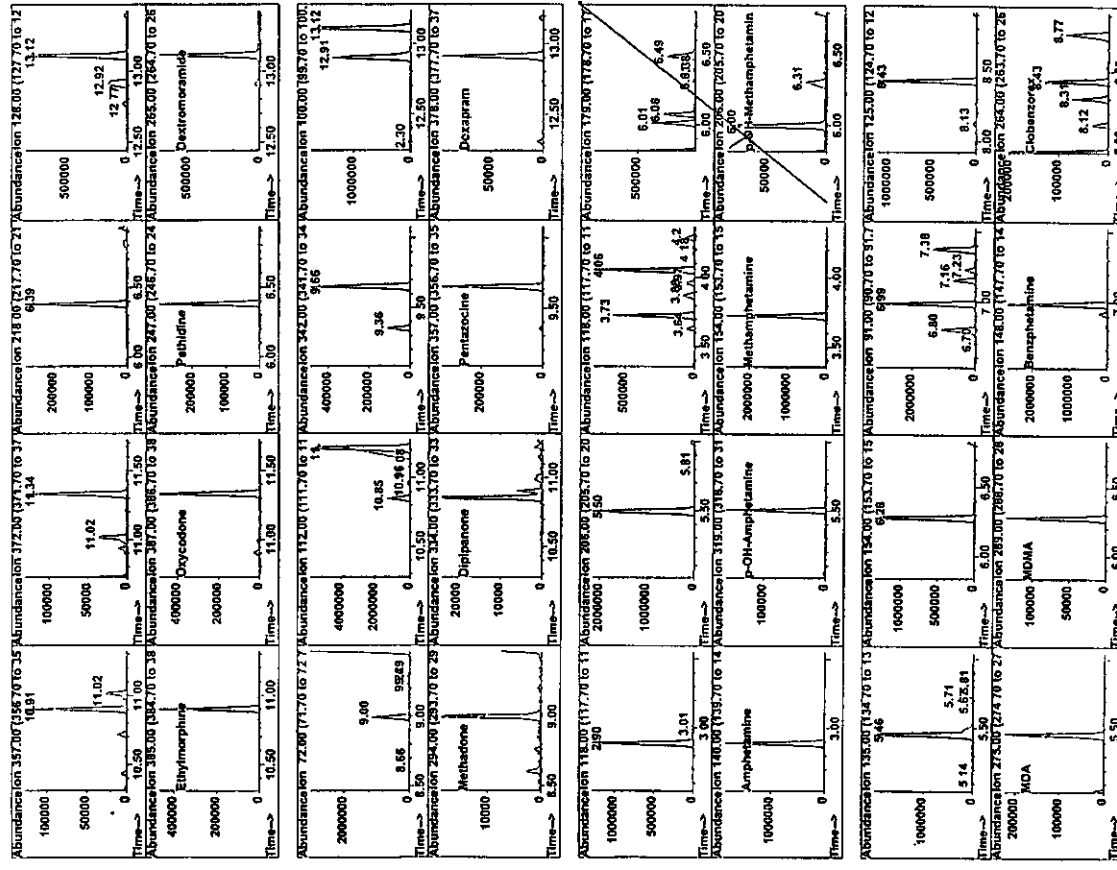


図7 g社ICP発光分析装置によるテストサンプル測定

File : D:\HPCHEM\1\DATA\1019a21\0101001.D
 Operator : m.sato
 Acquired : 19 Oct 98 3:00 pm using AcqMethod SC2
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name : direct standard
 Misc Info :
 Vial Number : 1



D:\HPCHEM\1\DATA\1019a21\0101001.D



※ 8 - a 代謝物を含む尿中難揮発性薬物の分析例 (1/2)

尿を塩酸加水分解後、塩基性下で有機溶剤抽出される抱合体を含む薬物及びその代謝物の分析結果。抽出時に添加された2種類の内部標準物質の位置から各薬物の予想位置を計算し、目的成分に特徴的な2種類のフラグメントイオン信号で表示される。アセトアミノフェン、アンフェタミン類は代謝物も併せて検出される。測定が正常であることを確認は、内因性のチラミンが Tyramine-O-TMS-N-TFA 誘導体としてエフェドリン付近に検出されることで確認。

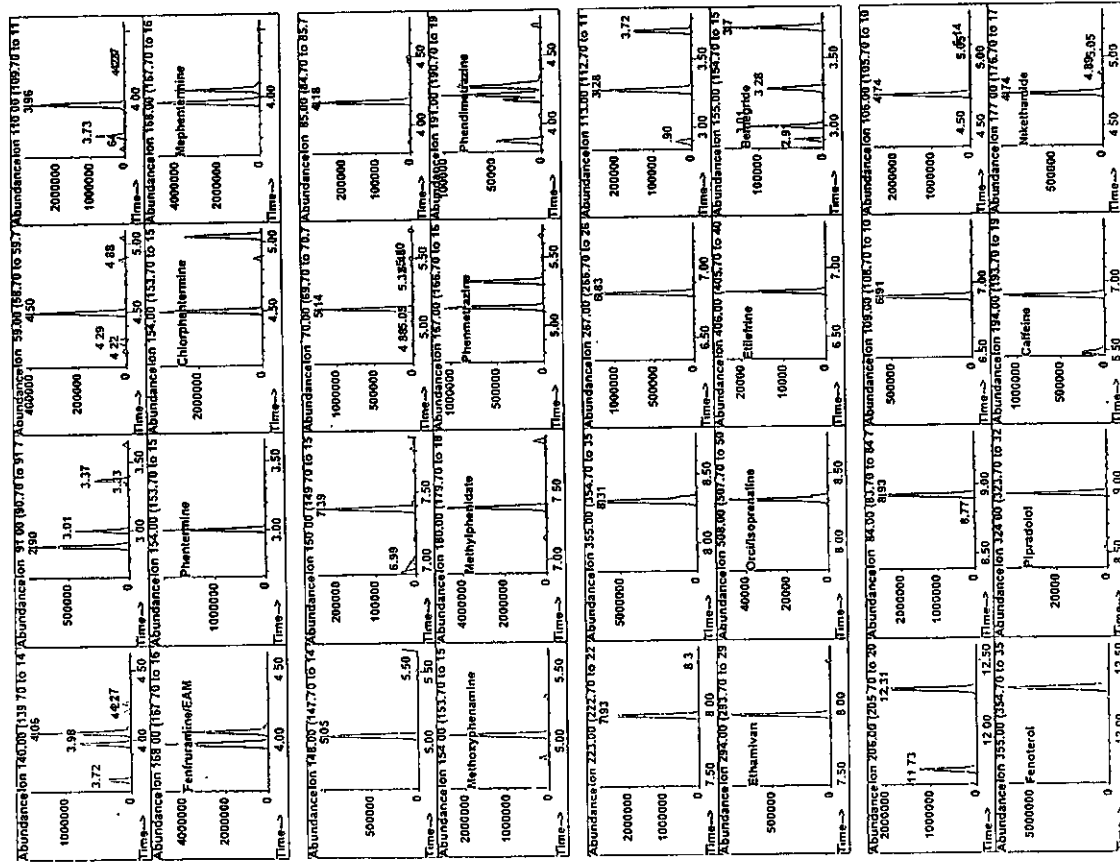
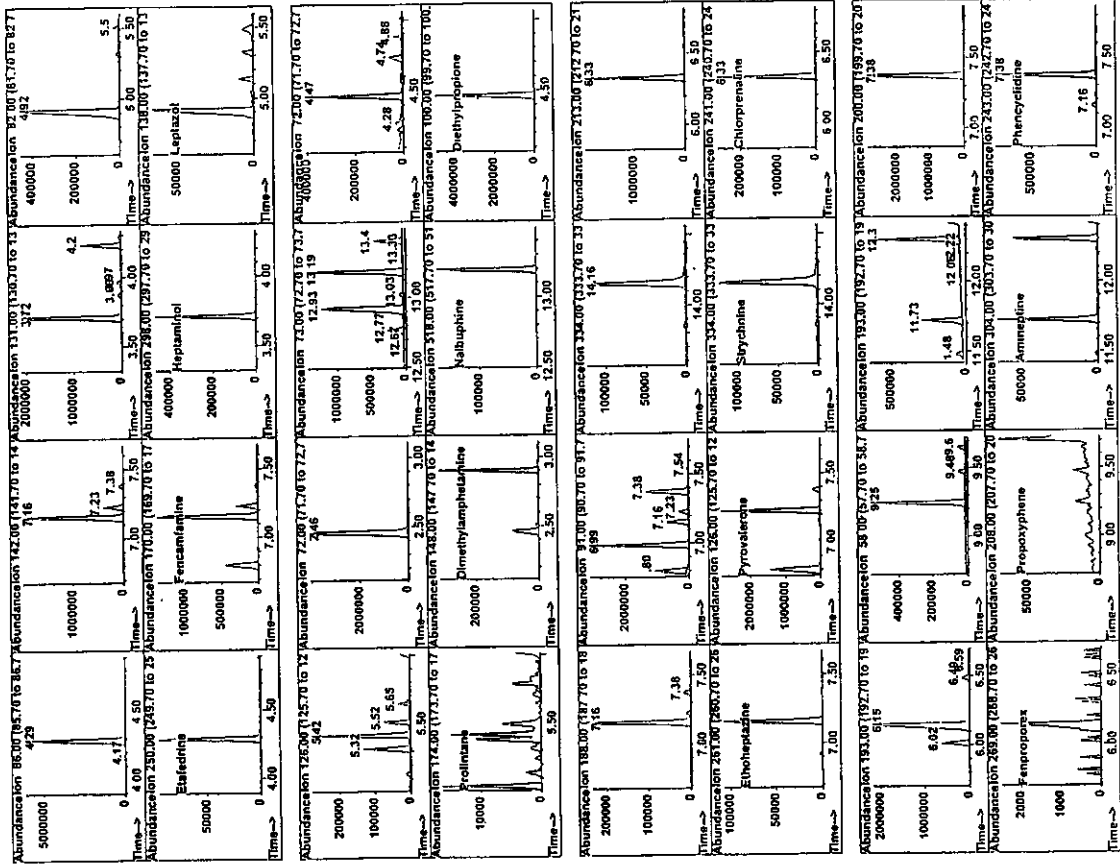


図 8 - b 代謝物を含む尿中難揮発性薬物の分析例 (2/2)

図 8 - a と同じデータの 2 ページ目。各標的化合物の O-TMS-N-TFA 誘導体は、成分に特徴的な 2 から 3 種類のイオン:m/z (この例では 2 種類) で表示されており、それらイオン信号で検出されたピークの保持時間が標品と一致し、ピーク形状が相似型で(未知ピークの重複がなく)、かつ検出された成分のイオン強度比が標準試料のそれと一致した場合その成分の確率分析へ進む。ここで大部分の偽陽性が排除される。

File : D:\HPCHEM\1\DATA\al019a21\0201002.D
 Operator : m.sato
 Acquired : 19 Oct 98 4:18 pm using AcqMethod SC2
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: positive control
 Misc Info :
 Vial Number: 2

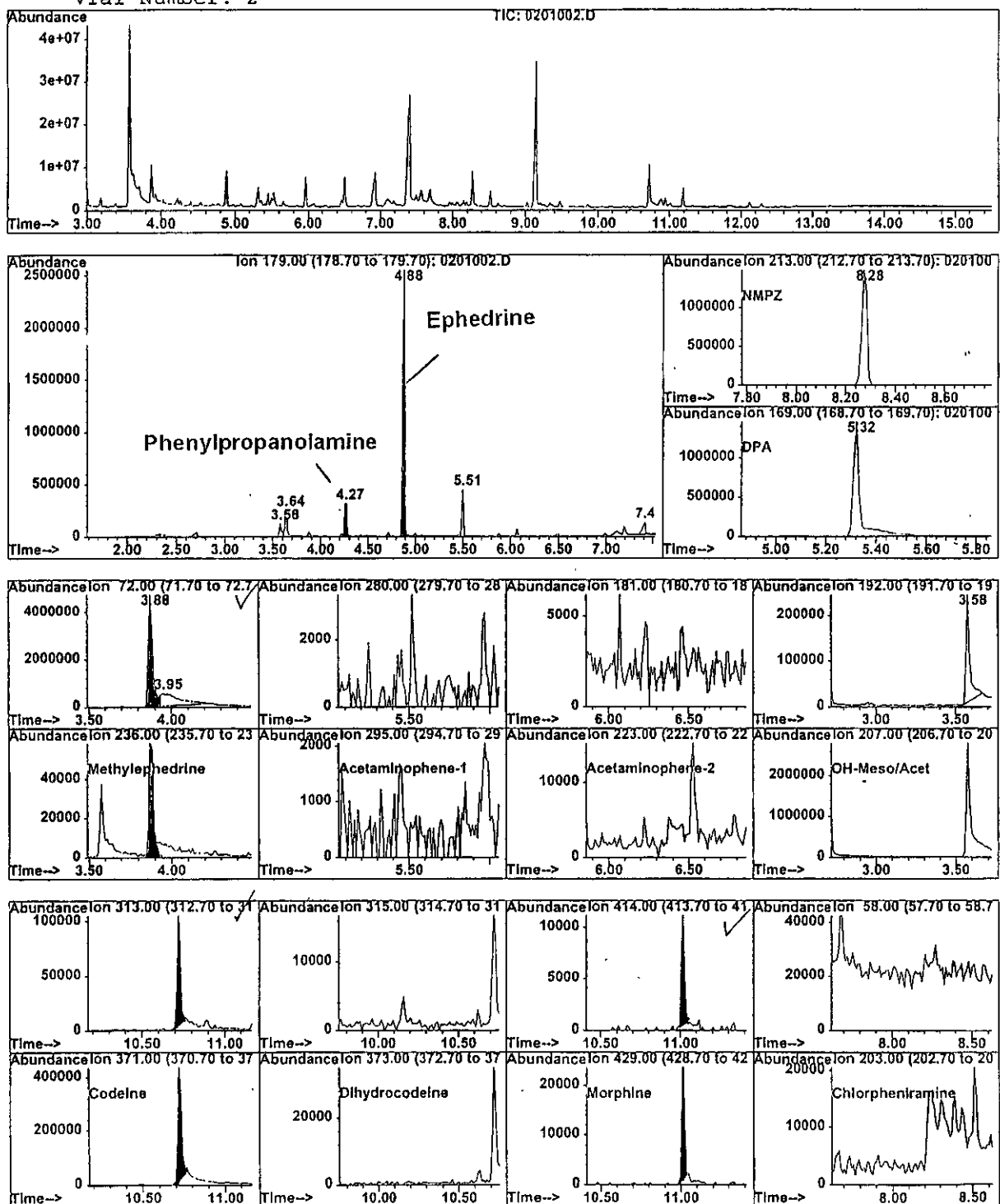


図9 市販感冒薬服用者の尿分析例

リン酸コデインとメチルエフェドリンを含有する風邪薬の服用により、コデインの1/10程度のモルヒネ（コデイン代謝物）と、メチルエフェドリンの脱メチル体であるエフェドリンとフェニルプロパノールアミンが検出された。阿片類のスクリーニングで陽性の場合には麻薬の常習だけでなく、感冒薬の使用も想定して服薬歴を調査する必要がある。

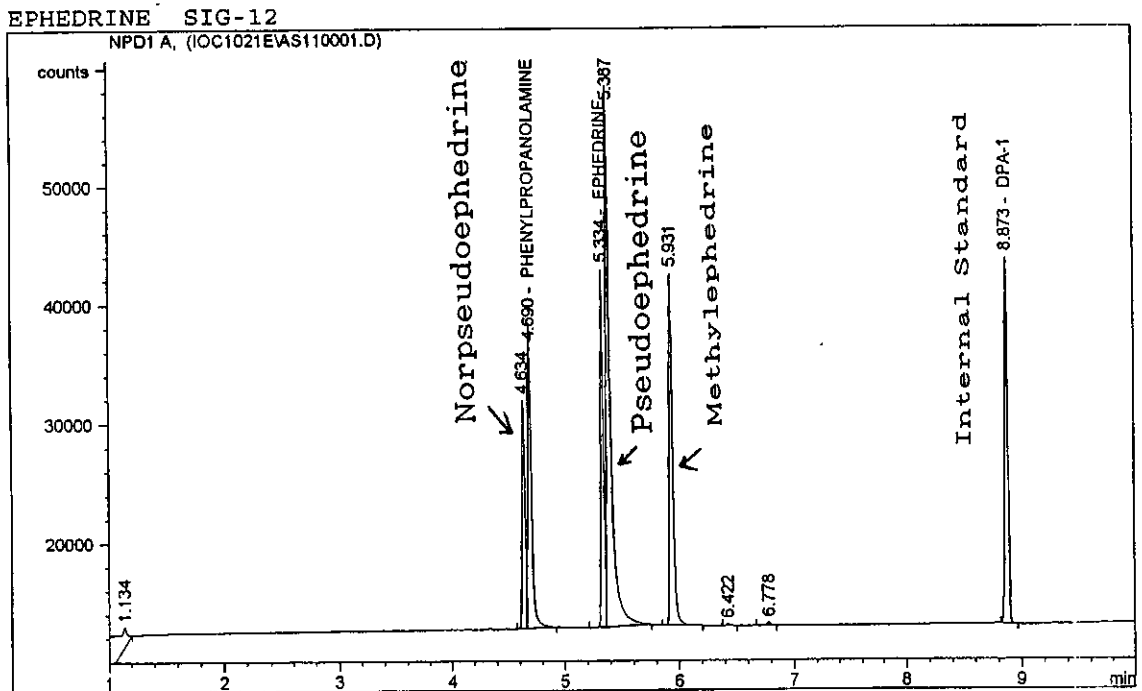
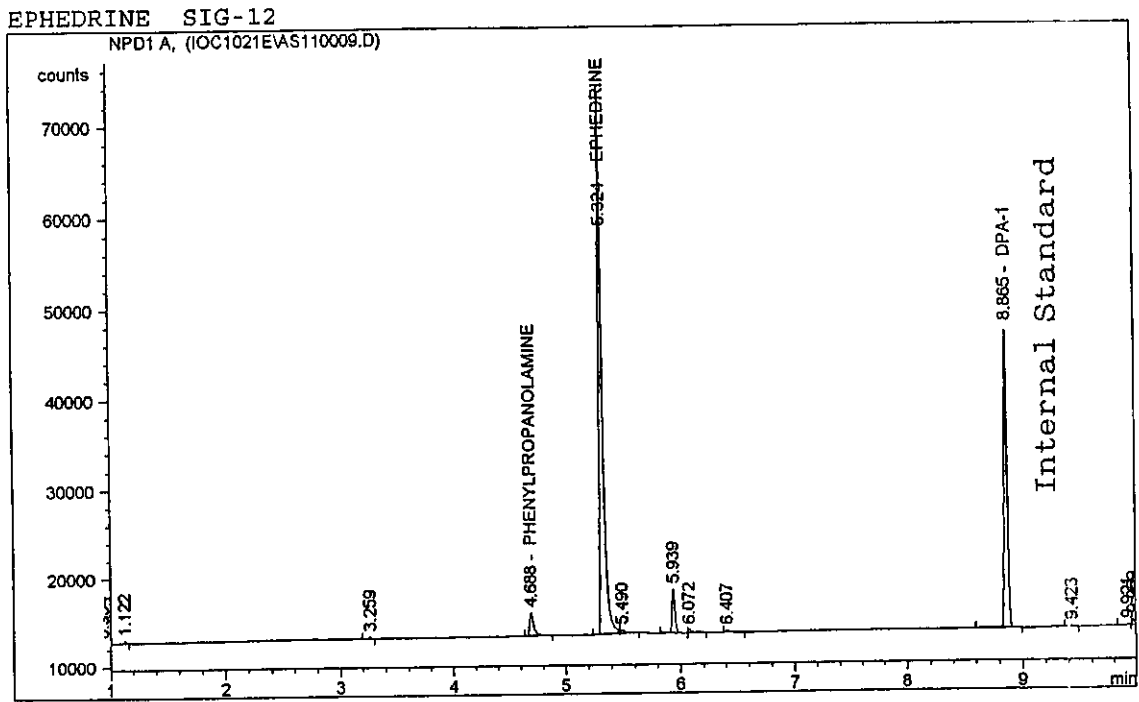
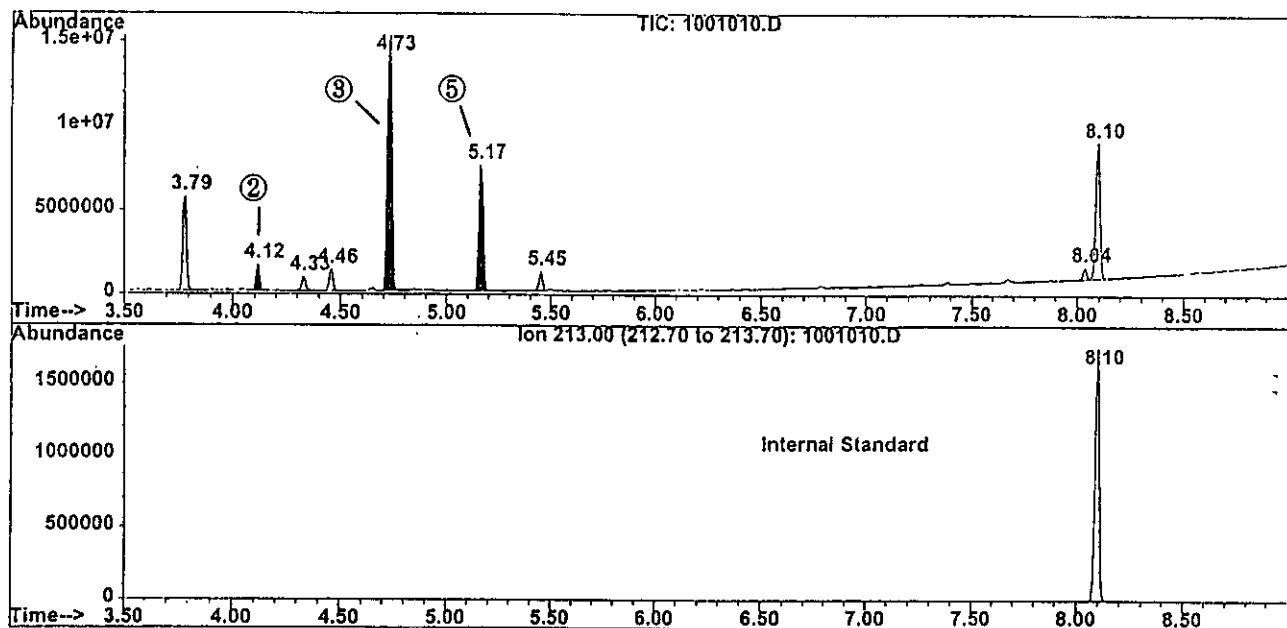


図 1 1 GC窒素リン検出による興奮剤のスクリーニング例
尿のジエチルエーテル抽出液をGCでそのまま分析すると遊離の興奮剤が検出される。例ではエフェドリンとフェニルプロパノールアミンが検出されているが異性体との分離は十分でない。

File : D:\HPCHEM\1\DATA\IOCCONF\1001010.D
 Operator :
 Acquired : 24 Oct 98 2:41 am using AcqMethod EPHEd
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: 18-6
 Misc Info :
 Vial Number: 10



File : D:\HPCHEM\1\DATA\IOCCONF\0701007.D
 Operator :
 Acquired : 24 Oct 98 1:47 am using AcqMethod EPHEd
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: 5mix standard
 Misc Info :
 Vial Number: 7

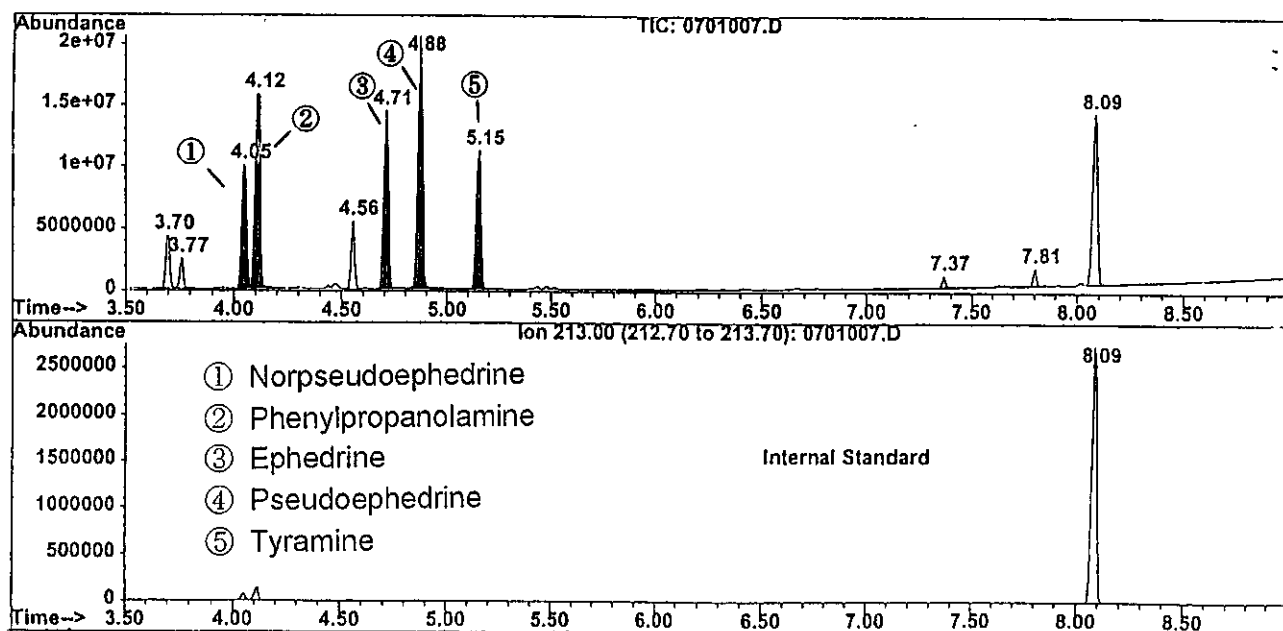


図 12 GC/MSによるエフェドリン類の確認分析
 エフェドリン類を O-TMS-N-TFA 化すると、誘導体化前には分離が不十分だった異性体が完全分離された。同じ条件で実際の尿からエフェドリンとフェニルプロパノールアミンが同定された。