九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

質量分析を用いた法科学領域における化学物質の迅速かつ特異的分析法の開発

脇川，憲吾

https://doi.org/10.15017/1441061

出版情報：九州大学，2013，博士（工学），課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

博士論文

質量分析を用いた
法科学領域における化学物質の
迅速かつ特異的分析法の開発

九州大学大学院システム生命科学府システム生命科学専攻

2014 年 2 月

脇川憲吾

目次

第 1 章　緒言 1

1.1　法科学 1
1.2　法化学検査
　1.2.1　同定 1
　1.2.2　異同識別 2
1.3　法科学領域における質量分析の応用 3
1.4　本研究の目的 12
1.5　本論文の構成 12
参考文献 14

第 2 章　GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法の開発 25

2.1　序論 25
2.2　実験方法 27
　2.2.1　試薬 27
　2.2.2　誘導体化および抽出 27
　2.2.3　装置および分析条件 27
2.3　結果および考察 28
　2.3.1　誘導体化条件および抽出条件の最適化 28
　　(1)　誘導体化剤の検討 28
　　(2)　誘導体化における pH の影響 31
　　(3)　抽出溶媒、誘導体化時間および抽出時間の検討 32
　2.3.2　GC/MS による水溶液中 FAC の分析 34
　2.3.3　分析法バリデーション 35
　2.3.4　共存物質の影響 38
　2.3.5　各種製品（漂白剤，殺菌剤）への適用 40
　2.3.6　模擬法科学試料の分析 40
2.4　結論 41
参考文献 42

第 3 章　CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^- の迅速かつ特異的同時分析法の開発 46

3.1　序論 46
3.2　実験方法 48
　3.2.1　試薬 48
　3.2.2　誘導体化 48
　3.2.3　装置および分析条件 48
3.3　結果および考察 49
　3.3.1　カチオン性キャピラリーの選定 49
　3.3.2　誘導体化時間の検討 52
　3.3.3　分析法バリデーション 53
　3.3.4　共存物質の影響 54
　3.3.5　各種飲料試料への適用 55
　3.3.6　模擬法科学試料の分析 57
3.4　結論 58
参考文献 59

第 4 章　CE/TOF-MS による全血中 Li^+ の迅速かつ特異的分析法の開発 63

4.1　序論 63
4.2　実験方法 66
　4.2.1　試薬 66
　4.2.2　試料調製 66
　4.2.3　装置および分析条件 66
4.3　結果および考察 67
　4.3.1　分析条件の最適化 67
　　(1)　誘導体化剤の検討 67
　　(2)　分離条件の検討 68
　　(3)　シース液中 DB14C4 濃度の検討 72
　4.3.2　模擬法科学試料の分析 72
4.4　結論 73
参考文献 74

第 5 章　結言 77

謝辞 80

本論文で使用する略語

AAS	atomic absorption spectrometry
AMPA	aminomethylphosphonic acid
AZA12C4	1-aza-12-crown-4-ether
BGE	background electrolyte
BIAL	bialaphos
12C4	12-crown-4-ether
15C5	15-crown-5-ether
18C6	18-crown-6-ether
21C7	21-crown-7-ether
AZO15C4	15-crown-4[4-(2,4-dinitrophenylazo)phenol]
CE	capillary electrophoresis
CE/MS	capillary electrophoresis/mass spectrometry
DB14C4	dibenzyl-14-crown-4
DBPT	2,9-di-*n*-butyl-1,10-phenanthroline
DQ	diquat
EI	electron ionization
EMPA	ethyl methylphosphonic acid
EOF	electroosmotic flow
ESI	electrospray ionization
FAC	free available chlorine
FIA	flow injection analysis
GC	gas chromatography
GC/MS	gas chromatography/mass spectrometry
GLUF	glufosinate
GLYP	glyphosate
GUS	general unknown screening

IC	ion chromatography
IC/MS	ion chromatography/mass spectrometry
IMPA	isopropyl methylphosphonic acid
IS	internal standard
ISE	ion-selective electrode
LC	liquid chromatography
LC/MS	liquid chromatography/mass spectrometry
LOD	limit of detection
LOQ	limit of quantification
MPA	methylphosphonic acid
MPPA	3-methylphosphinicopropionic acid
MS	mass spectrometry
PMPA	pinacolyl methylphosphonic acid
PQ	paraquat
RSD	relative standard deviation
SD	standard deviation
S/N	signal-to-noise ratio
SWGDRUG	Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs
t-BDMS	*tert*-butyldimethylsilyl
THC-COOH	11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid
THC-COOH-glu	11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid glucuronide
TMS	trimethylsilyl
TOF-MS	time of flight-mass spectrometry

第 1 章　緒言

1.1　法科学

法科学は，Saferstein によれば，“Forensic science in its broadest definition is the application of science to law[1)] ”と定義されている．

国内において法科学に携わる公的機関として，警察庁の附属機関である科学警察研究所，各都道府県警察の附置機関である科学捜査研究所などがある．これらの機関の主な役割は，(1) 犯罪・事故捜査の過程で収集された客観的証拠を鑑定して，犯罪・事故を科学的に解明・立証すること，(2) 多様化する犯罪・事故に対処するための最先端科学技術の導入および新しい鑑定法に関する研究開発を行うことである．犯罪・事故に関与するあらゆるものが法科学検査の対象であるために，幅広い分野の専門知識が必要となる．したがって，法科学には，個々の専門分野を深化させた法化学，法医学，法生物学，法工学，法文書学，法心理学，法地質学，法植物学などの様々な学問分野が存在する．社会発展とともに犯罪・事故も複雑・巧妙化していく中で，法科学領域はさらに広がり，科学警察研究所，科学捜査研究所などの法科学機関の果たすべき役割は，今後ますます重要になっていくものと考えられる．

1.2　法化学検査

法化学とは, その名のとおり, 法律への化学の応用である. 法化学検査は,「同定」と「異同識別」に大別される [2,3)].

1.2.1　同定

「同定」とは，証拠資料が何であるか，あるいはその物質が何であるかを化学的に証明することである．例えば，覚醒剤・麻薬・大麻・シンナーなどの規制薬物，薬物乱用者の生体試料中の規制薬物，変死者・服毒自殺者・中毒者などの生体試料中の薬毒物, 殺人・昏睡強盗・性犯罪などの被疑者・被害者の生体試料中の薬毒物，自動車などの運転手の血液中エチルアルコール，食品に意図的に混入された薬毒物，

意図的に枯らされた作物に付着の農薬，放火に使用された油，拳銃射撃による発射薬成分・雷管成分・弾丸成分などの射撃残渣，手榴弾・ダイナマイト・手製爆薬などによる爆発残渣，被疑者の手に付着した微物は繊維であるか否か，被疑者の靴底に付着した微物は土砂であるか否か，自動車に付着した微物は塗膜であるか否か，不審物件，その他犯罪・事故現場に遺留された不明物質などを化学分析により明らかにすることである．

1.2.2　異同識別

「異同識別」とは，人と人，人と物，物と物の接触の事実を化学的に証明することである．例えば，被疑者の手に付着の繊維と被害者の着衣の構成繊維との比較，犯罪現場の土砂と被疑者の靴底に付着の土砂との比較，自動車同士の接触時に相互に付着した塗膜の比較などを行い，両者が同じ起源に由来するか否かを化学分析により明らかにすることである．両者に著しい類似性が認められれば，得られた分析結果（鑑定結果）は接触の事実を証明する有力な証拠となる[4)]．

異同識別においては，主成分の分析による比較は当然のことながら，構成成分，形態的特徴，物理的性質，微量元素など可能な限り比較を行うことによって，異同識別の精度を指数関数的に向上することができる[2)]．

構成成分の詳細な分析に基づく識別法として，界面活性剤を有効成分とする食器用洗剤類[5,6)]，マヨネーズなどの半固体状ドレッシング類[7)]，ガソリン・灯油などの油類[8–10)]，植物油・動物油などの油脂類[11,12)]，無煙火薬などの火薬類[13)]，各種燃焼物の煤類[14–19)]，木綿・絹・羊毛などの天然繊維類[20–22)]，ポリエステル・ナイロン・アクリルなどの化学繊維類[23)]，自動車用などの塗膜類[24,25)]，インクジェット用などのインク類[26,27)]，複写機用のトナー類[28)]，印鑑用の朱肉類[29)]，クラフト粘着テープ・ポリ塩化ビニル製粘着テープ・布粘着テープなどの粘着テープ類[30–33)]，新聞紙・ダンボール・トイレットペーパーなどの紙類[34)]，口紅などの化粧品類[35)]，糞などの人畜排泄物類[36)]，微生物や鉱物を含む土砂類[37–39)]などの識別が報告されている．

形態的特徴に基づく識別法として，画像処理ソフトを用いたクラフト粘着テープ・画用紙・PPC 用紙・ティッシュペーパーなどの紙類の表面状態の詳細な形態解

析による識別[40–45]，蛍光顕微鏡を用いた単繊維の断面形態観察による識別[46]，顕微鏡（反射光および透過光）を用いたネイルエナメル塗膜中の光輝顔料の形態・干渉色による識別[47]などが報告されている．

物理的性質に基づく識別として，自動車フロントガラス・板ガラスなどのガラス類の屈折率による識別[48,49]，上質紙などの紙類の色素点着挙動による識別[50]，ポリエステル単繊維の偏光および散乱光強度による識別[51]などが報告されている．

微量元素の分析に基づく識別法として，ガラス類[52–59]，タバコおよび吸殻類[4]，アルミ箔類[60]，木炭灰類[61]，軟鋼線材類[62]，ハンダ類[63]，粘着テープ類[64,65]，塗料類[66,67]，皮革類[67]，銃弾類[68]，単繊維類[69,70]，ステロイド類[71]などの識別が報告されている．

また，広義の意味では，犯罪に使用された化学物質の製造元推定も異同識別の一つである[72]．1998 年に発生した和歌山亜ヒ酸混入カレー事件における亜ヒ酸の製造元推定[73,74]，2008 年に発生したメタミドホス混入中国製冷凍ギョウザ事件におけるメタミドホスの製造元推定[75]は，この実例である．

1.3　法科学領域における質量分析の応用

法化学検査で取り扱う化学物質は，規制薬物，違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ），シンナー，アルコール，有害性ガス，医薬品，農薬，天然毒，爆発物，化学兵器用剤，繊維，ガラス，塗膜，インク，トナー，顔料，コンクリート，木材，紙，油，プラスチック，ゴム，土砂，金属，その他不明の化学物質と挙げれば枚挙にいとまがない．また，実際の試料としても血液，尿，胃内容物，各種臓器，毛髪，食品，植物，土砂など多種多様である．このように複雑なマトリックスで，しかも試料量に制限がある唯一無二の法科学試料から，微量な分析対象物質を高感度かつ正確に検出しなければならない．

法化学検査は様々な分析装置を駆使して行われているが，その中でも質量分析計は，有力な高感度分析装置として汎用されている．しかも，質量分析は化学構造を反映する質量スペクトルに基づいて化学物質を同定する確度の高い分析法であるので，公判で事実関係が審理されることを前提とする法化学検査においては，物質

同定の最終的な手段の一つとして位置づけられており[76]，公判でもその有効性が広く認められている．1994 年に発生した松本サリン事件[77]，続く 1995 年の日本中を震撼させた東京地下鉄サリン事件[77]，前述した和歌山亜ヒ酸混入カレー事件[78,79]およびメタミドホス混入中国製冷凍ギョウザ事件[72]においても，質量分析はその威力を発揮した．質量分析は，他の多くの分野（臨床分析[80]，ドーピング検査[81]，職業性中毒分析[82]，食品分析[83]，環境分析[84]）でも化学物質の確認分析法として用いられている．

質量分析は，ガスクロマトグラフィー（gas chromatography, GC），液体クロマトグラフィー（liquid chromatography, LC），キャピラリー電気泳動（capillary electrophoresis, CE），イオンクロマトグラフィー（ion chromatography, IC）などの様々な分離分析法と組み合わせることで，その能力が最大限に発揮される．イオン化法として，電子イオン化（electron ionization, EI），正イオン化学イオン化，負イオン化学イオン化，エレクトロスプレーイオン化（electrospray ionization, ESI），大気圧イオン化，大気圧化学イオン化，高速原子衝撃，電界脱離，マトリックス支援レーザー脱離イオン化，誘導結合プラズマなどがある．また，検出法としても，四重極質量分析，イオントラップ質量分析，飛行時間型質量分析（time of flight-mass spectrometry, TOF-MS），フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析，タンデム質量分析など多種多彩である．これらを組み合わせた様々な質量分析計が開発されており，分析対象物質の特性，分析の目的に応じて選択される．

法化学検査においては，これらの多種多彩な特性の異なる質量分析計を用い，それぞれの分析法の特徴を活かして，網羅的な物質同定が行われている．ガスクロマトグラフィー/質量分析（gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS）は低極性，揮発性，熱に安定な化学物質の分析に適しているために，このような性質を有する薬毒物や農薬などの分析に主に用いられている．GC/MS はフラグメントイオンが多く，特徴ある EI 質量スペクトルを与えるので，化学物質に関する構造情報量が多い．したがって，未知試料の物質同定が容易に行うことができる．また，GC/MS は歴史が古く，長年に渡って蓄積された膨大な EI 質量スペクトルデータベースを利用できるので，未知試料のスクリーニング分析，いわゆる GUS（general unknown

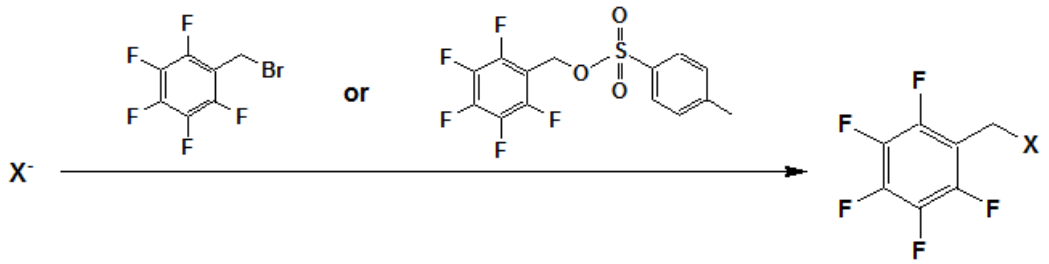
screening）において，確固たる地位を確立している[3]．液体クロマトグラフィー/質量分析（liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS）は GC/MS が不得意とする物質，すなわち高極性，難揮発性，熱分解性の物質の分析に主に用いられている．例えば，極性の高い薬物代謝物，揮発しにくい高分子量のタンパク質やペプチド，熱分解を受けやすいカルバメート系農薬などの分析であり，GC/MS の短所を補完している．逆に，GC/MS が得意とする低極性の化学物質の中でも，特にイオン化されにくい化学物質に対しては，LC/MS の感度は極端に低い．キャピラリー電気泳動/質量分析（capillary electrophoresis/mass spectrometry, CE/MS）も LC/MS と同じく，GC/MS の短所を補完する分析法であるが，さらに LC/MS でも分析が困難な無機イオンの分析などにも用いられている．短所に関しても LC/MS と同様，イオン化されにくい低極性の化学物質には不向きである．このように，いずれの分析法も万能ではないが，その短所を互いに補完することで，広範囲にわたる膨大な種類の化学物質の同定を可能にしている．

SWGDRUG（Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs：アメリカの司法省麻薬取締局が中心となって運営している薬物分析に関する国際団体）によるガイドラインでは，分析法はその識別能力が高い順にカテゴリーA（質量分析，赤外分光法，核磁気共鳴分光法，ラマン分光法など），カテゴリーB（GC，LC，CE など），カテゴリーC（発色試験，蛍光分光法，紫外分光法，イムノアッセイなど）に分類されている[85]．SWGDRUG による物質同定は，原理の異なる分析法を二つ以上用いて行うこととされており，識別能力が最も高いカテゴリーA から一つとカテゴリーA～C の中から少なくとも一つを組み合わせた方法で行うことが推奨されている．GC/MS，LC/MS，CE/MS などは，1 回の分析でカテゴリーA および B の情報が同時に得られ，この推奨条件を満たす優れた分析法である．また，アメリカの学術団体である American Academy of Forensic Sciences と Society of Forensic Toxicologists による共同ガイドライン[86]，イギリスの学術団体である United Kingdom and Ireland Association of Forensic and Toxicologists によるガイドライン[87]においても，物質同定は原理の異なる二つの分析法で行い，そのうちの一つは GC/MS，LC/MS などの公判においても十分な証明力を示す質量分析で行うことが推奨されている．したがっ

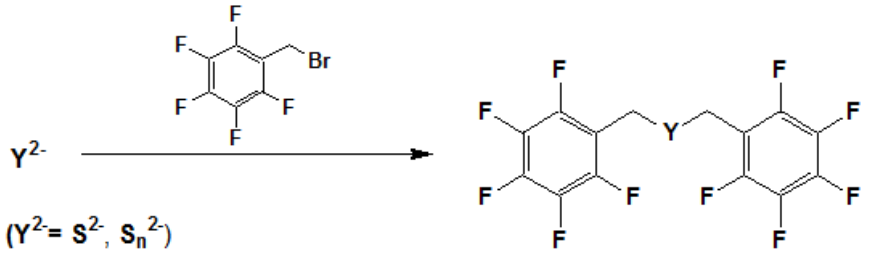
て，法科学領域においては，質量分析計を用いた物質同定法に関する研究開発が精力的に行われてきた[3,88–94]．

法科学試料は，複雑なマトリックスであることが多いので，質量分析計へ導入する前に，複雑なマトリックスから分析対象物質を可能な限り分離する必要がある．したがって，質量分析計へ導入する前に，試料をクリーンアップする目的で除タンパク，液液抽出，固液抽出，固相抽出，固相マイクロ抽出，分散固相抽出などの前処理，分析対象物質の特性に応じた分離カラム・分離条件の選定・最適化，分離を改善する目的で分析対象物質の誘導体化などが行われる．

誘導体化は，分離改善のためだけではなく，特徴的なフラグメンテーションを誘起する物質へ変換するため，適度な *m/z* を付与し質量分析可能な物質へ変換するため，難揮発性物質を揮発性・熱安定性の物質へ変換するため，検出器に強い応答を示す物質へ変換するためにも行われる．典型的には，求核能力を持つヒドロキシル基，カルボキシ基，アミノ基，リン酸基，無機アニオンなどに対して，シリル化，アシル化，アルキル化などの誘導体化が行われる[95,96]．これまでに，硫化物イオン（S^{2-}）[97,98]，多硫化物イオン（S_n^{2-}）[99]，シアン化物イオン（CN^-）[98,100,101]，シアン酸イオン（OCN^-）[101]，チオシアン酸イオン（SCN^-）[100,101]，硝酸イオン（NO_3^-）[98,101,102]，亜硝酸イオン（NO_2^-）[98,101,102]，アジ化物イオン（N_3^-）[98,101,103,104]，ギ酸イオン（$HCOO^-$）[105]，酢酸イオン（CH_3COO^-）[105]，フッ化物イオン（F^-）[106]，塩化物イオン（Cl^-）[101]，臭化物イオン（Br^-）[107]，ヨウ化物イオン（I^-）[101]をペンタフルオロベンジル化し GC/MS で分析する方法（Fig. 1-1），農薬である含リンアミノ酸およびその分解物を *tert*-ブチルジメチルシリル（*tert*-butyldimethylsilyl, *t*-BDMS）化し GC/MS で分析する方法[108]（Fig. 1-2），同じく含リンアミノ酸およびその分解物を *N*-アセチル化，*O*-メチル化し LC/MS で分析する方法[109]（Fig. 1-3），フグ毒であるテトロドトキシンをアルカリ処理後，トリメチルシリル（trimethylsilyl, TMS）化し GC/MS で分析する方法[110]（Fig. 1-4），神経ガスであるサリン，ソマン，VX の分解物を *t*-BDMS 化し GC/MS で分析する方法[111–113]（Fig. 1-5）などが報告されており，質量分析困難であった多くの法科学試料中の化学物質が質量分析可能となった．



(X^- = CN^-, OCN^-, SCN^-, NO_3^-, NO_2^-, N_3^-, $HCOO^-$, CH_3COO^-, F^-, Cl^-, Br^-, I^-)



(Y^{2-}= S^{2-}, S_n^{2-})

Fig. 1-1 Derivatization reactions of anions with pentafluorobenzyl bromide or pentafluorobenzyl *p*-toluene sulfonate.

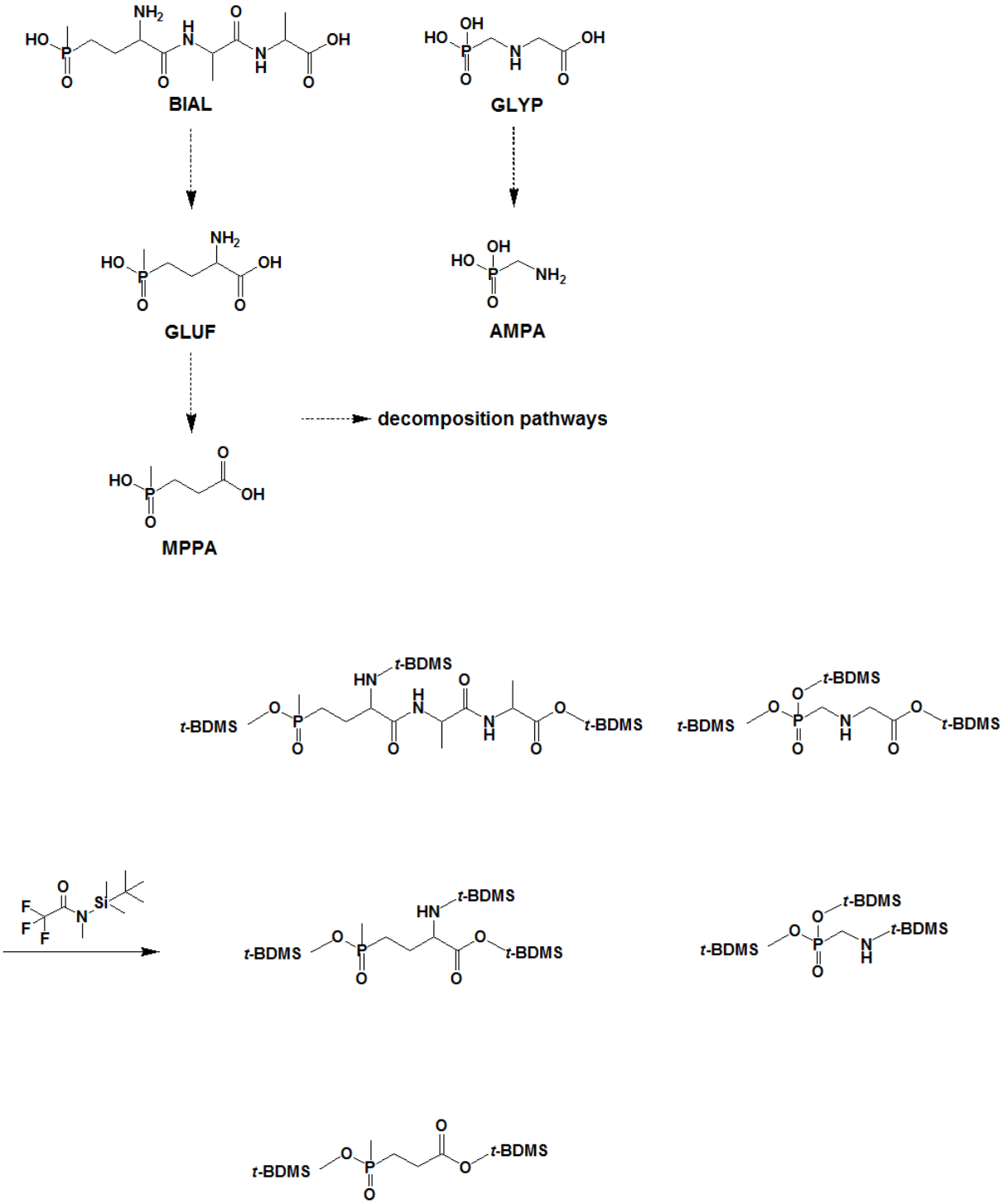


Fig. 1-2 Derivatization reactions of phosphorus-containing amino acid-type herbicides and its decompositions with *N*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyl-trifluoroacetamide. BIAL: bialaphos, GLYP: glyphosate, GLUF: glufosinate, AMPA: aminomethylphosphonic acid, MPPA: 3-methylphosphinicopropionic acid.

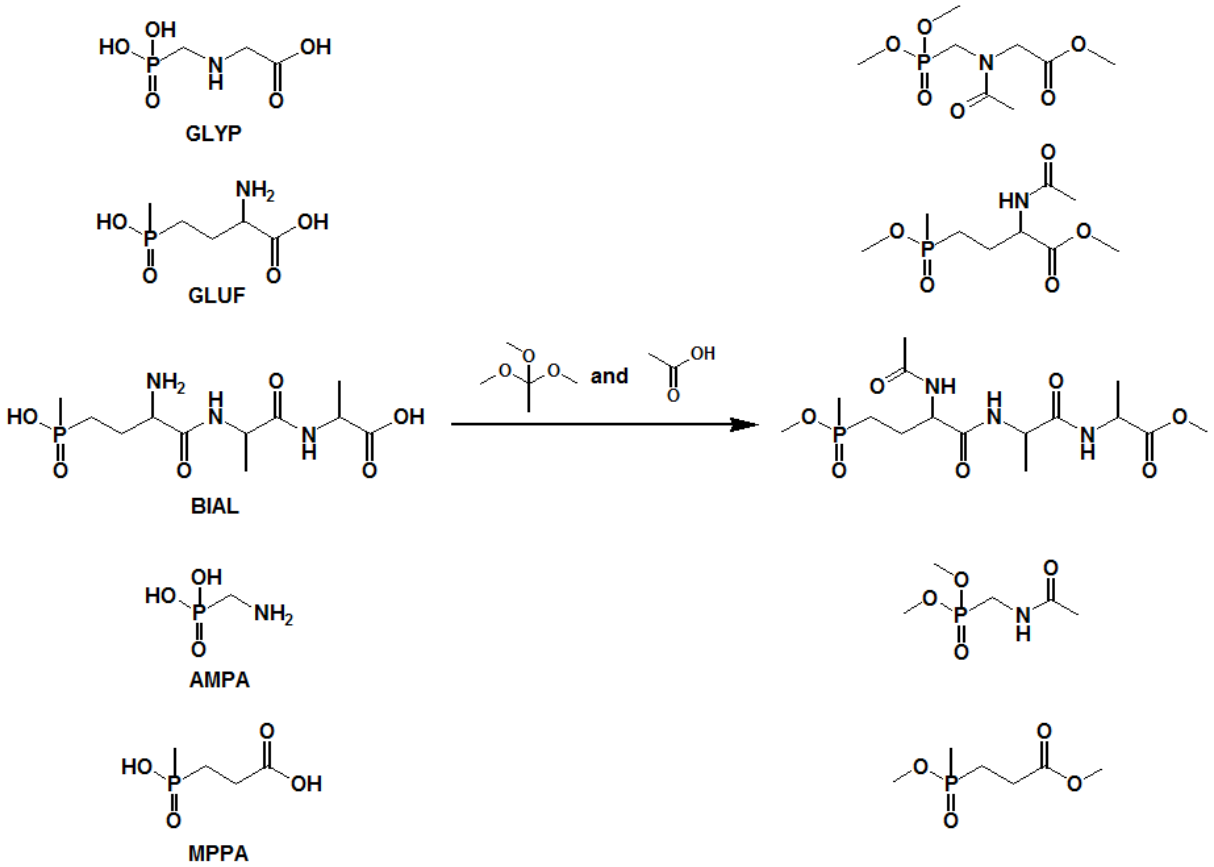


Fig. 1-3 Derivatization reactions of phosphorus-containing amino acid-type herbicides and its decompositions with acetic acid and trimethyl orthoacetate.

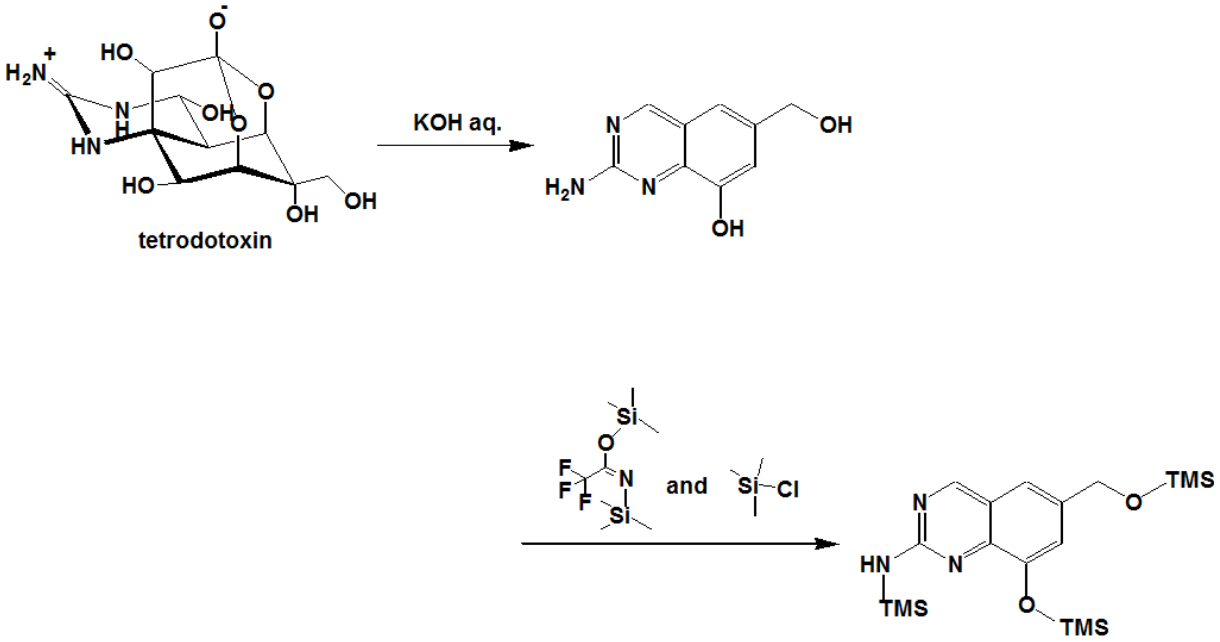


Fig. 1-4 Derivatization reactions of alkali-treated tetrodotoxin with *N*,*O*-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide and trimethylsilyl chloride.

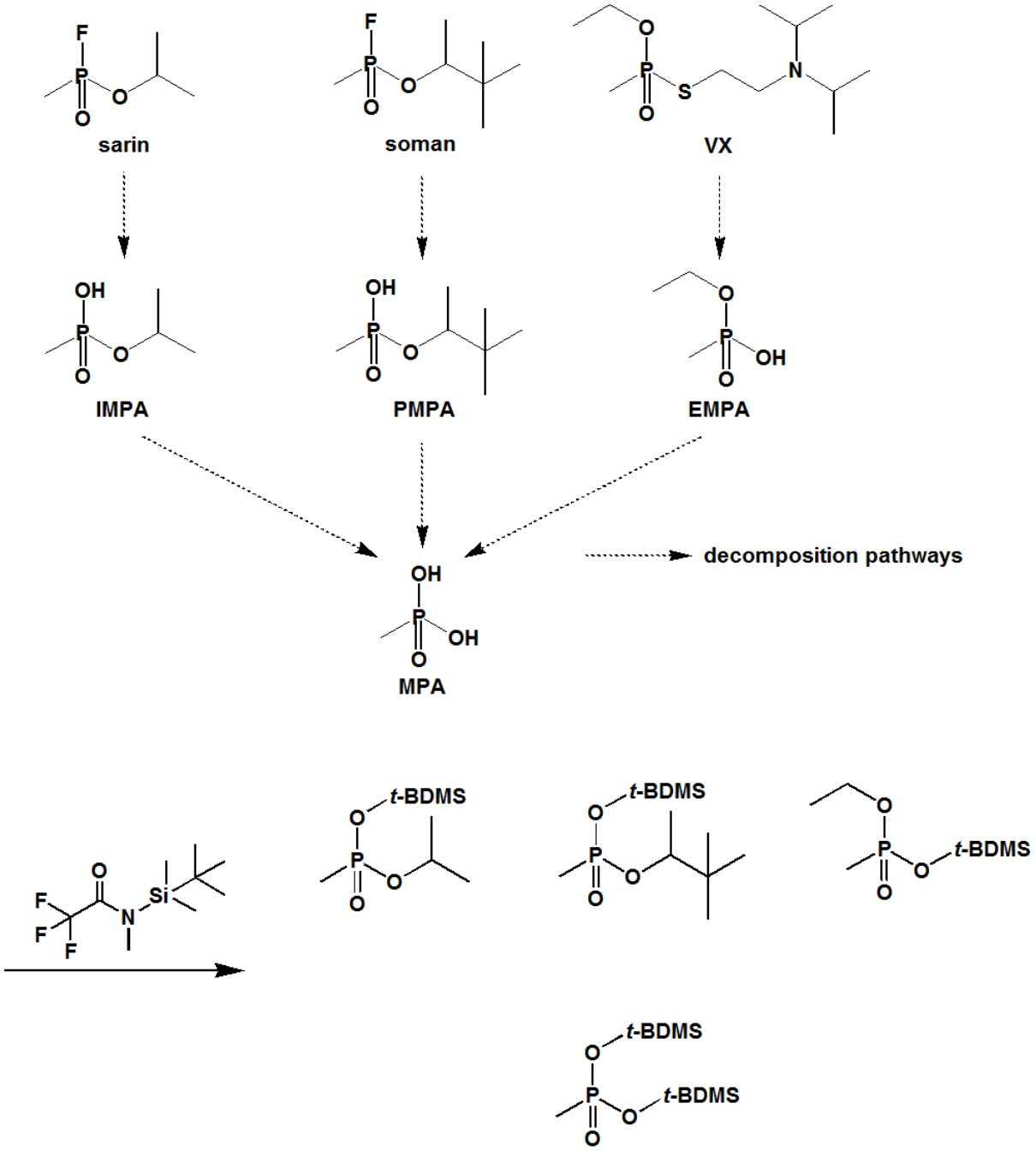


Fig. 1-5 Derivatization reactions of nerve agent hydrolysis products with *N*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyl-trifluoroacetamide. IMPA: isopropyl methylphosphonic acid, PMPA: pinacolyl methylphosphonic acid, EMPA: ethyl methylphosphonic acid, MPA: methylphosphonic acid.

1.4　本研究の目的

法科学領域において，犯罪・事故に化学物質の使用が疑われた場合，早期対応・解決のために，その化学物質を迅速かつ正確に同定することが要求される．この分析結果（鑑定結果）は犯罪・事故を立証する有力な証拠となるので，科学的信頼性の高い方法で導き出さなければならない．また，法科学試料は複雑なマトリックスで，しかも試料量に限りがあるために，微量な分析対象物質を検出するには高感度かつ正確な分析法が必須である．

高感度分析法である質量分析は，化学構造を反映する質量スペクトルに基づいて化学物質を同定する確度の高い分析法でもある．したがって，公判で事実関係が審理されることを前提とする法化学検査において，質量分析は物質同定の最終的な手段の一つとして位置づけられており，公判でもその有効性が広く認められている．国外の法科学領域におけるいくつかのガイドラインにおいても，識別能力の高い質量分析で物質同定を行うことが推奨されており，質量分析は証明力の高い分析法として確固たる地位を確立している．前記 1.3 で述べた誘導体化技術を駆使して開発された質量分析による法科学試料中の化学物質分析法は，科学的信頼性が高く，数多くの犯罪・事故の解明・立証に貢献してきた．しかし，未だ質量分析計を用いた法科学領域における分析法が確立されていない化学物質もいくつかある．したがって，犯罪・事故の正確な真実究明，公判における科学的信頼性確保のために，これらの化学物質の質量分析による迅速かつ特異的分析法の確立が強く望まれている．

そこで本研究では，質量分析計を用いた法科学領域における分析法が確立されていない，なおかつ全国的に数多く犯罪・事故で散見する化学物質の中から遊離有効塩素（free available chlorine, FAC），リチウムイオン（Li^+）を選定し，誘導体化を駆使した質量分析による迅速かつ特異的分析法の開発を行った．

1.5　本論文の構成

本論文は全 5 章から構成されている．概要を以下に列挙する．

続く第 2 章では，GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法の開発を行った．FAC のアルケンへの求電子付加反応を利用して，安定なスチレンクロロヒ

ドリンへ選択的に誘導体化することで，GC/MS による水溶液中 FAC 分析が可能となった．

第 3 章では，CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および塩素酸イオン（ClO_3^-）の迅速かつ特異的同時分析法の開発を行った．FAC は塩基性水溶液以外では分解しやすく，FAC そのものを検出することが困難な場合がある．このような場合，ClO_3^-を検出することで，FAC が存在していたことを推定する必要がある．FAC 水溶液は分解生成物である ClO_3^-を必ず含有しているので，ClO_3^-の検出は FAC 使用の指標となる．第 2 章で開発した誘導体化法を応用して，FAC を安定な水溶性の *p*-スチレンスルホン酸クロロヒドリンへ選択的に誘導体化することで，CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^-同時分析が可能となった．

第 4 章では，CE/TOF-MS による全血中 Li^+の迅速かつ特異的分析法の開発を行った．CE で分離後にシース液中に添加したクラウンエーテルと Li^+を選択的に錯形成させる，いわゆるポストキャピラリー誘導体化法で誘導体化することで，CE/TOF-MS による全血中 Li^+分析が可能となった．

第 5 章では，本研究で得られた成果を総括した．

参考文献

1) Saferstein R., Introduction, in: *Criminalistics: An Introduction to Forensic Science. ninth ed.*, pp. 1–35, Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, 2007.
2) 丸茂義輝，法化学，高取健彦（編）捜査のための法科学 第二部〈法工学・法化学〉．第 1 版，pp. 181–185，令文社，東京，2005.
3) 安達美和, 質量分析の法化学への応用. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **52**, 93–101, 2004.
4) 鈴木康弘，鈴木真一，ICP-MS によるたばこ及びたばこ吸殻中微量元素の分析と法科学的異同識別への応用. 分析化学（*Bunseki Kagaku*）, **61**, 911–916, 2012.
5) 安達美和，髙橋知行，高速液体クロマトグラフィー質量分析による食器用洗剤の異同識別．日本法科学技術学会誌，**10**，99–109，2005.
6) 安達美和，髙橋知行，食器用洗剤混入事件のための界面活性剤抽出法．日本法科学技術学会誌，**12**，45–51，2007.
7) 山口和隆，倉田正治，GC/MS 及び LC/MS による半固体状ドレッシング類の法科学的異同識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**62**，651–657，2013.
8) 肥田宗政，佐藤弘康，奥山修司，三井利幸，改重回帰分析法による熱変性ガソリンの識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**55**，869–874，2006.
9) 吉田浩陽, 鈴木真一, レギュラーガソリンとハイオクガソリンの識別法の検討. 日本法科学技術学会誌，**16**，49–55，2011.
10) 肥田宗政，佐藤弘康，奥山修司，三井利幸，改重回帰分析法を用いる灯油の燃焼残さの識別．日本法科学技術学会誌，**13**，59–66，2008.
11) 三熊敏靖，金子毅，液体クロマトグラフィー/質量分析法によるアシルグリセロールの直接検出を用いた植物油の法科学的異同識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**59**，399–404，2010.
12) 山口和隆，倉田正治，不けん化物のガスクロマトグラフィー/質量分析法による油脂の法化学的な異同識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**54**，1091–1100，2005.

13) 新井裕行，中村順，無煙火薬射撃残さの異同識別．日本鑑識科学技術学会誌，**1**，53–55，1996．

14) 高津正久，煤の識別に関する研究．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**44**，331–332，1995．

15) 高津正久, 山本忠弘, 芳香族炭化水素から生じた煤の識別. 日本化学会誌, **1988**, 1749–1752.

16) 高津正久，山本忠弘，プラスチック類の燃焼で生成したすすの識別．日本化学会誌，**1993**，1188–1193．

17) 高津正久，山本忠弘，熱分解ガスクロマトグラフィーによる芳香族炭化水素燃焼すすの識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**38**，449–453，1989．

18) 高津正久，山本忠弘，熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析法によるプラスチックの燃焼で生成したすすの識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**42**，543–549，1993．

19) 高津正久，山本忠弘，熱分解ガスクロマトグラフィーによる芳香族炭化水素の拡散炎に接しない位置で採取したすすの識別性. 日本化学会誌, **1990**, 880–887.

20) Matsuyama Y., Nagatani Y., Goto T. and Suzuki S., Discrimination of cultivated silk and wild silk by conventional instrumental analyses. *Forensic Sci. Int.*, **231**, e37–e42, 2013.

21) Suzuki S., Suzuki Y. and Sugita R., Forensic discrimination of yellow in similarly colored single wool fibers by ultraviolet-visible-microspectrophotometry and thin-layer chromatography. *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **15**, 159–163, 2010.

22) Suzuki S., Suzuki Y., Ohta H., Sugita R. and Marumo Y., Microspectrophotometric discrimination of single fibres dyed by indigo and its derivatives using ultraviolet-visible transmittance spectra. *Sci. Justice*, **41**, 107–111, 2001.

23) Suzuki S., Suzuki Y., Higashikawa Y., Kishi T. and Marumo Y., Analysis of dyestuffs in synthetic single fibers by high performance liquid chromatography using multi-wavelength detection method. *Anal. Sci.*, **7**, 117–120, 1991.

24) 向井中，艸谷卓，本多定男，中澄博行，SEM/EDX による元素分析を利用した

青色自動車塗膜の識別．日本法科学技術学会誌，**10**，119–125，2005．

25) 向井中，艸谷卓，中井清太，本多定男，中澄博行，SEM/EDX による元素分析を利用した青色自動車塗膜の識別（２）．日本法科学技術学会誌，**12**，53–60，2007．

26) 肥田宗政，伊藤健次郎，三井利幸，インクジェットプリンタで印刷された偽造紙幣のインク成分の異同識別．日本法科学技術学会誌，**11**，185–191，2006．

27) 若原克文，奥山修司，榊原浩之，木村巧，三井利幸，顕微分光分析と画像解析合成装置を用いた印刷物及びカラーコピーの異同識別．日本印刷学会誌，**37**，23–27，2000．

28) 東川佳靖，菅野弘晃，金子毅，鈴木真一，微細な乾式複写物の法科学的異同識別法．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**56**，1147–1152，2007．

29) 三井利幸，榊原浩之，多変量解析法による朱肉の異同識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**49**，777–782，1999．

30) 雲岡義雄, 布およびクラフト粘着テープに使用されているアクリル系粘着剤の熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法による分析. 日本法科学技術学会誌, **10**，11–18，2005．

31) 雲岡義雄, 熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法およびサイズ排除クロマトグラフィーによる粘着付与剤の分析．日本法科学技術学会誌，**10**，63–75，2005．

32) Williams E. and Munson T. O., The comparison black polyvinylchloride(PVC) tapes by pyrolysis gas chromatography. *J. Forensic Sci.*, **36**, 84–91, 1988.

33) 肥田宗政，佐藤弘康，奥山修司，ガスクロマトグラフィ/質量分析法による同色ポリ塩化ビニルテープの識別. 分析化学（*Bunseki Kagaku*）, **58**, 881–886, 2009.

34) 小林侑，宮田瞳，工藤雅孝，法科学の分野における紙片の鑑別について．紙パルプ技術協会誌，**46**，1227–1235，1992．

35) 江原靖，大栗直毅，斉藤修二，丸茂義輝，口紅の法科学的分析のためのパージアンドトラップガスクロマトグラフィーの検討. 分析化学（*Bunseki Kagaku*），**46**，733–736，1997．

36) 本多正夫，篠原利明，糞中ステロイドの分析による人畜異同識別．衛生化学，**32**，114–122，1986．

37) Sugita R. and Marumo Y., Validity of color examination for forensic soil identification. *Forensic Sci. Int.*, **83**, 201–210, 1996.

38) Sugita R. and Marumo Y., Screening of evidence by a combination of simple techniques: validity of particle size distribution. *Forensic Sci. Int.*, **122**, 155–158, 2001.

39) 吉川ひとみ，藤浪良仁，横山栄二，杉田律子，安田二朗，鈴木真一，*Bacillus cereus* の VNTR 型解析による法科学的土壌資料の異同識別．日本法科学技術学会誌，**13**，167–175，2008．

40) 肥田宗政，佐藤弘康，奥山修司，スキャナで取デジタル画像を用いるクラフト粘着テープの識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**60**，853–858，2011．

41) Sasaoka S., Saito K., Higashi K., Limwikrant W., Moribe K., Suzuki S. and Yamamoto K., Discrimination of paper-based kraft tapes using Fourier transform of transmitted light images. *Forensic Sci. Int.*, **220**, 59–66, 2012.

42) 宮田瞳，下山昌彦，篠崎真，レーザ変位計と画像処理を用いた画用紙の異動識別法．紙パルプ技術協会誌，**57**，724–731，2003．

43) 宮田瞳，篠崎真，フーリエ変換と相互相関法による紙の異同識別法．紙パルプ技術協会誌，**54**，396–401，2000．

44) 篠崎真，宮田瞳，中山智仁，江前敏晴，フーリエ変換と相互相関法による紙の異同識別法（第 2 報）－市販 PPC 用紙への適用－．紙パルプ技術協会誌，**55**，514–521，2001．

45) 宮田瞳，篠崎真，2 次元フーリエ変換による紙の異同識別　箱入りティシュペーパー表面反射画像の周期性．木材学会誌，**51**，118–124，2005．

46) 鈴木正美，下田修，　白色系単繊維識別のスクリーニングへの蛍光顕微鏡の応用．日本法科学技術学会誌，**11**，95–104，2006．

47) 向井中，艸谷卓，野村惠章，谷口一雄，パール調ネイルエナメルの顕微鏡による異同識別．日本鑑識科学技術学会誌，**7**，139–144，2003．

48) 鈴木康弘，笠松正昭，杉田律子，鈴木真一，丸茂義輝，屈折率測定による板ガ

ラスの異同識別．日本鑑識科学技術学会誌，**5**，85–95，2001.

49) 杉田律子，鈴木康弘，鈴木真一，丸茂義輝，温度変化法によるガラス屈折率測定法の検討と自動車フロントガラスの異同識別への応用. 日本鑑識科学技術学会誌，**2**，89–94，1997.

50) 奥山修司，金子恵美子，肥田宗政，三井利幸，ブロモクロロフェノールブルー溶液を用いる上質紙の簡易異同識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**59**，1029–1034，2010.

51) 鈴木真一，渡邊誠也，ポリエステル単繊維の融点付近における偏光および散乱光強度の測定ならびに無機成分添加量の形態観察による法科学的異同識別について．日本法科学技術学会誌，**18**，57–64，2013.

52) Trejos T. and Almirall J. R., Effect of fractionation on the forensic elemental analysis of glass using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **76**, 1236–1242, 2004.

53) 鈴木康弘，笠松正昭，杉田律子，太田彦人，鈴木真一，中西俊雄，斉藤恭弘，下田修，渡邊誠也，西脇芳典，二宮利男，ヘッドライトガラスの異同識別における屈折率測定及び放射光蛍光 X 線分析法による微量不純物分析の応用．日本法科学技術学会誌，**11**，149–158，2006.

54) 鈴木康弘，笠松正昭，杉田律子，太田彦人，鈴木真一，丸茂義輝，放射光蛍光 X 線分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法によるヘッドライトガラス中微量不純物の分析と法科学的異同識別への応用．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**52**，469–474，2003.

55) Suzuki Y., Sugita R., Suzuki S. and Marumo Y., Forensic discrimination of bottle glass by refractive index measurement and analysis of trace elements with ICP-MS. *Anal. Sci.*, **16**, 1195–1198, 2000.

56) 吉田努，鈴木伸一，矢板毅，車のランプ系ガラスの蛍光 X 線分析法および放射光蛍光 X 線分析法による識別の検討. 日本法科学技術学会誌, **15**, 85–94, 2010.

57) 笠松正昭，吉川ひとみ，東川佳靖，鈴木康弘，鈴木真一，中西俊雄，高津正久，下田修，渡邊誠也，西脇芳典，宮本直樹，放射光蛍光 X 線分析法による加熱及

び非加熱板ガラス中の微量不純物分析と法科学的異同識別への応用. 分析化学（*Bunseki Kagaku*），**56**，1159–1164，2007.

58) Nishiwaki Y., Nakanishi T., Terada Y., Ninomiya T. and Nakai I., Nondestructive discrimination of small glass fragments for forensic examination using high energy synchrotron radiation x-ray fluorescence spectrometry. *X-Ray Spectrom.*, **35**, 195–199, 2006.

59) Nakanishi T., Nishiwaki Y., Miyamoto N., Shimoda O., Watanabe S., Muratsu S., Takatsu M., Terada Y., Suzuki Y., Kasamatsu M. and Suzuki S., Lower limits of detection of synchrotron radiation high-energy X-ray fluorescence spectrometry and its possibility for the forensic application for discrimination of glass fragments. *Forensic Sci. Int.*, **175**, 227–234, 2008.

60) 笠松正昭，鈴木康弘，鈴木真一，宮本直樹，渡邊誠也，下田修，高津正久，中西俊雄，放射光蛍光 X 線分析法及び誘導結合プラズマ発光分光分析法によるアルミ箔の分析と法科学的異同識別への応用．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**59**，537–541，2010.

61) 笠松正昭，鈴木康弘，ICP-MS を用いる木炭灰中の微量元素の分析と法科学的異同識別への応用．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**61**，577–581，2012.

62) 大崎博之，笠松正昭，鈴木康弘，鈴木真一，誘導結合プラズマ発光分析法による軟鋼線材中の微量元素の定量と法科学的異同識別への応用．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**56**，1191–1195，2007.

63) Ohsaki H., Murakami K., Kasamatsu M., Suzuki Y. and Suzuki S., Forensic discrimination of steel wires by quantitative elemental analysis with ICP-MS. *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **14**, 71–75, 2009.

64) 江原靖，塚目孝裕，沓澤道雄，布粘着テープ異同識別のための灰成分及び元素分析．日本鑑識科学技術学会誌，**1**，27–31，1996.

65) 法科学的異同識別を目的とした 3 次元偏光光学系高エネルギー蛍光 X 線分析装置を用いる布粘着テープの微量元素分析．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**57**，699–706，2008.

66) Nishiwaki Y., Watanabe S., Shimoda O., Saito Y., Nakanishi T., Terada Y., Ninomiya T. and Nakai I., Trace elemental analysis of titanium dioxide pigments and automotive white paint fragments for forensic examination using high-energy synchrotron radiation x-ray fluorescence spectrometry. *J. Forensic Sci.*, **54**, 564–570, 2009.

67) 井田博之，河合潤，焦電結晶を用いる蛍光 X 線分析による塗料・皮革製品の異同識別．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**53**，753–755，2004.

68) 島村佳典，中井泉，単一検出器型高分解能 ICP-MS を用いる鉛同位体比分析の銃弾識別への応用．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**62**，765–774，2013.

69) 廣間侑希，保倉明子，中井泉，レーザーアブレーションー誘導結合プラズマ質量分析装置を用いた微量元素分析によるトランクマット単繊維の異同識別法の検討．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**59**，759–769，2010.

70) Gallo J. M. and Almirall J. R., Elemental analysis of white cotton fiber evidence using solution ICP-MS and laser ablation ICP-MS (LA-ICP-MS). *Forensic Sci. Int.*, **190**, 52–57, 2009.

71) 植木眞琴, ステロイドのドーピング分析と異同識別. 分析化学（*Bunseki Kagaku*）, **50**，287–300，2001.

72) 太田彦人，食品分析と犯罪捜査．化学と生物，**48**，337–345，2010.

73) 読売新聞（1998 年 12 月 27 日付け朝刊）.

74) 毎日新聞（1998 年 12 月 27 日付け朝刊）.

75) 読売新聞（2008 年 2 月 16 日付け朝刊）.

76) 植木眞琴，薬毒物検査，鑑識分野における質量分析法．ぶんせき（*Bunseki*），**2003**，630–635.

77) 角田紀子，サリン事件と質量分析．*J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*，**53**，157–163，2005.

78) 鈴木真一，分析化学と和歌山毒物事件—分析化学の犯罪解決への挑戦—．化学と教育，**51**，674–677，2003.

79) 瀬戸康雄，毒劇物中毒事件における危機管理と分析化学の役割．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**56**，981–991，2007.

80) Roux A., Lison D., Junot C. and Heilier J.F., Application of liquid chromatography coupled to mass spectrometry-based metabolomics in clinical chemistry and toxicology: A review. *Clin. Biochem.*, **44**, 119–135, 2011.

81) Thevis M., Thomas A., Pop V. and Schänzer W., Ultrahigh pressure liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in human sports drug testing: Possibilities and limitations. *J. Chromatogr. A*, **1292**, 38–50, 2013.

82) Manini P., Andreoli R. and Niessen W. M. A., liquid chromatography-mass spectrometry in occupational toxicology: A novel approach to the study of biotransformation of industrial chemicals. *J. Chromatogr. A*, **1058**, 21–37, 2004.

83) Stefano V. D., Avellone G., Bongiorno D., Cunsolo V., Muccilli V., Sforza S., Dossena A., Drahos L. and Vékey K., Applications of liquid chromatography-mass spectrometry for food analysis. *J. Chromatogr. A*, **1259**, 74–85, 2012.

84) Petrovic M., Farré M., Lopez de Alda M., Perez S., Postigo C., Kőck M., Radjenovic J., Gros M. and Barcelo D., Recent trends in the liquid chromatography-mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. *J. Chromatogr. A*, **1217**, 4004–4017, 2010.

85) SWGDRUG Recommendations 2011-07-07 Ed. 6.0, Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs, available from: http://www.swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendatios%206%20Archived.pdf, accessed Jan 25, 2014.

86) Forensic Toxicology Laboratory Guidelines, Society of Forensic Toxicology/American Academy of Forensic Sciences, available from: http://www.soft-tox.org/files/Guidelines_2006_Final.pdf, accessed Aug 14, 2013.

87) Cooper G. A. A., Paterson S. and Osselton M. D., The United Kingdom and Ireland Association of Forensic Toxicologists Forensic toxicology laboratory guidelines (2010). *Sci. Justice*, **50**, 166–176, 2010.

88) Wood M., Laloup M., Samyn N., Ramierez Fernandez M., De Bruijn E. A., Maes R. A. A. and Boeck G. D., Recent applications of liquid chromatography-mass

spectrometry in forensic science. *J. Chromatogr. A*, **1130**, 3–15, 2006.

89) Peters F. T., Recent advances of liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. *Clin. Biochem.*, **44**, 54–65, 2011.

90) Maurer H. H., Multi-analyte procedures for screening for and quantification of drugs in blood, plasma, or serum by liquid chromatography-single stage or tandem mass spectrometry (LC-MS or LC-MS/MS) relevant to clinical and forensic toxicology. *Clin. Biochem.*, **38**, 310–318, 2005.

91) Maurer H. H., Systematic toxicological analysis of drugs and their metabolites by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **580**, 3–41, 1992.

92) Maurer H. H., What is the future of (ultra) high performance liquid chromatography coupled to low and high resolution mass spectrometry for toxicological drug screening?. *J. Chromatogr. A*, **1292**, 19–24, 2013.

93) Drummer H., Requirements for bioanalytical procedures in postmortem toxicology. *Anal. Bioanal. Chem.*, **388**, 1495–1503, 2007.

94) Kients C. E., Chromatography and mass spectrometry of chemical warfare agents, toxins and related compounds: state of the art and future prospects. *J. Chromatogr. A*, **814**, 1–23, 1998.

95) Pfleger K., Maurer H. H. and Weber A., *Mass Spectral and GC Data of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants, and Their Metabolites*. John Wiley & Sons, Weinheim, 2000.

96) Maurer H. H., Systematic toxicological analysis of drugs and their metabolitrs by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, **580**, 3–41, 1992.

97) Kage S., Nagata T., Kimura K. and Kudo K., Extractive alkylation and gas chromatographic analysis of sulfide. *J. Forensic Sci.*, **33**, 217–222, 1988.

98) 柘浩一郎，瀬戸康雄，陰イオン性毒物のペンタフルオロベンジル誘導体化 GC-MS 法を用いた同時検出．日本鑑識科学技術学会誌，**7**，19–35，2002.

99) Kage S., Nagata T. and Kudo K., Determination of polysulphides in blood by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **564**, 163–169, 1991.

100) Kage S., Nagata T. and Kudo K., Determination of cyanide and thiocyanate in blood by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, **675**, 27–32, 1996.

101) Sakayanagi M., Yamada Y., Sakabe C., Watanabe K. and Harigaya Y., Identification of inorganic anions by gas chromatography/mass spectrometry. *Forensic Sci. Int.*, **157**, 134–143, 2006.

102) Kage S., Kudo K. and Ikeda N., Simultaneous determination of nitrate and nitrite in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.*, **26**, 320–324, 2002.

103) Kikuchi M., Sato M., Ito T. and Honda M., Application of a new analytical method using gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry for the azide ion to human blood and urine samples of an actual case. *J. Chromatogr. B*, **752**, 149–157, 2001.

104) Kage S., Kudo K. and Ikeda N., Determination of azide in blood and urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.*, **24**, 429–432, 2000.

105) Kage S., Kudo K., Ikeda H. and Ikeda N., Simultaneous determination of formate and acetate in whole blood and urine from humans using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, **805**, 113–117, 2004.

106) Kage S., Kudo K., Nishida N., Ikeda H., Yoshioka N. and Ikeda N., Determination of fluoride in human whole blood and urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicol.*, **26**, 23–26, 2008.

107) Kage S., Kudo K., Ikeda H., Tsujita A. and Ikeda N., Determination of bromide in whole blood and urine from humans using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, **817**, 335–339, 2005.

108) Tsunoda N., Simultaneous determination of the herbicides glyphosate, glufosinate and bialaphos and their metabolites by capillary gas chromatography–ion-trap mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **637**, 167–173, 1993.

109) 佐藤満，山下敦士，菊池道大，伊藤達朗，本多正夫，*N*-Acetyl,*O*-Methyl 誘導体

化による生体試料中含リンアミノ酸系除草剤及びその代謝物の LC/MS 分析．日本法科学技術学会誌，**14**，35–43，2009．

110) Ohtsuka Y., Kudo K., Fukushima S., Tsuji A. and Ikeda N., Sensitive determination of tetrodotoxin in human plasma by gas chromatography/mass spectrometry. *Jpn. J. Forensic Toxicol.*, **22**, 188–192, 2004.

111) 瀬戸康雄，化学兵器用剤試験法，鈴木康男（編）薬毒物試験法と注解 2006－分析・毒性・対処法－．pp. 283–294，東京化学同人，東京，2006．

112) Purdon J. G., Pagotto J. G. and Miller R. K., Preparation, stability and quantative analysis by gas chromatography and gas chromatography–electron impact mass spectrometry of *tert.*-butyldimethylsilyl derivatives of some alkylphosphonic and alkyl methylphophonic acids. *J. Chromatogr.*, **475**, 261–272, 1989.

113) Katagi M., Nishikawa M., Tatsuno M. and Tsuchihashi H, Determination of the main hydrolysis product of *O*-ethyl *S*-2-diisopropylaminoethyl methylphosphonothiolate, ethyl methylphosphonic acid, in human serum. *J. Chromatogr. B*, **689**, 327–333, 1997.

第 2 章　GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法の開発

2.1　序論

FAC とは，分子状塩素（Cl_2），次亜塩素酸（HClO），次亜塩素酸イオン（ClO^-）の化学種の総称であり [1]，各化学種は水溶液中で Fig. 2-1 に示すような平衡反応で存在する．

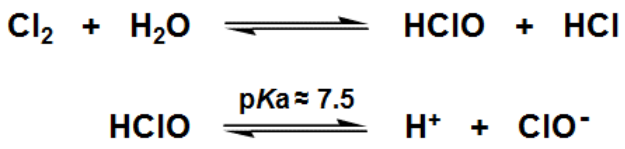


Fig. 2-1　Equilibria of Cl_2, HClO, and ClO^-.

これらの化学種の存在比率は，水溶液の pH に依存する．すなわち，HClO の p*K*a は 25°C で約 7.5 [2]であるので，pH > 約 7.5 では HClO よりも ClO^-の存在比率が高く，逆に pH < 約 7.5 では ClO^-よりも HClO の存在比率が高い．さらに酸性側（pH < 約 4）では，HClO は Cl_2 へと変化する [3]．FAC は強力な酸化剤であるので，水道水，プール，入浴施設，下水道用などの消毒剤，そして漂白剤や殺菌剤などの家庭用洗浄剤として幅広く利用されている．しかし一方で，FAC はその濃度によっては，呼吸障害，喉の痛み，咳，灼熱感，皮膚刺激，腹痛，下痢，嘔吐などを引き起こしたり [4]，有機化合物と反応して生じる消毒副生成物による健康影響が懸念されている [5–7]．したがって，水溶液中の有効塩素濃度を正確に分析し，適正に濃度管理する必要がある．

法科学領域においても，FAC は重要な分析対象物質の一つである．FAC を含有する家庭用洗浄剤は，一般家庭においても入手可能であるため，全国的に数多く犯罪・事故で散見する化学物質の一つである．例えば，飲料中へ意図的に混入された薬毒物混入事件，衣服にかけられた器物損壊事件，身体にかけられた傷害事件，誤飲事故，自殺目的の意図的摂取などが過去に発生している．

これまでに，水溶液中 FAC 分析法として，滴定法 [8,9]，吸光光度法 [10–14]，化学発光法 [15,16]，フローインジェクション分析法（flow injection analysis, FIA）[3,17,18]，電気

化学分析法[19]，IC[20,21]，LC[22,23]，CE[24,25]などが報告されている．しかし，これらの分析法の多くは FAC の定量分析を主眼としたもので，保持時間や吸光度に基づく検出であり，物質同定の特異性に欠ける．法科学試料に適用した場合，法科学試料が複雑なマトリックスであることが多いので，場合によっては共存物質の影響により偽陽性を示す可能性がある．FAC が関与した数多くの犯罪・事故が発生しているにもかかわらず，このように特異性の高い FAC 分析法が確立されていない．GC/MS による FAC の直接分析は，FAC が熱に不安定な化学物質であるため，分解して検出できない．また，熱に不安定な化学物質の分析が可能な LC/MS や CE/MS による FAC の直接分析は，分離後に質量分析計へスプレーする際に分解するためか検出できない．このように FAC が非常に不安定な化学物質のため，質量分析による特異的分析法の確立を困難にしている．しかし，FAC が不安定な化学物質であるということは，見方を変えれば，反応性が高い化学物質であるということである．この高い反応性のために，FAC は水の存在下，温和な条件でアルケンに対して求電子付加し，クロロヒドリンを生成する[26–30]（Fig. 2-2）．その配向性は Markovnikov 則に従い，位置選択的にアルケンに付加する．この反応は不可逆反応であり，そして熱に安定なクロロヒドリンを生成するため，GC/MS による分析が可能であると考えられる．また，GC/MS は古くから汎用されている信頼性の高い分析法であり，なおかつ保持時間と化学構造を反映する質量スペクトルに基づいて化学物質を同定する極めて特異性の高い分析法である．

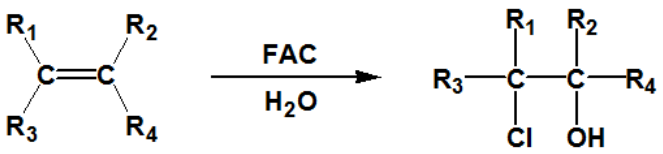


Fig. 2-2　Electrophilic addition of FAC to alkene.

そこで本章では，この FAC 特有の選択的反応を利用し，不安定な FAC を安定なスチレンクロロヒドリンへ変換する誘導体化条件を最適化し，GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法の開発を行った．

2.2　実験方法

2.2.1　試薬

次亜塩素酸ナトリウム水溶液（和光純薬工業製）を水で希釈し，有効塩素濃度として 1000 μg/mL の FAC 標準水溶液を調製した．有効塩素濃度は，ヨウ素滴定法により標定した [8]．誘導体化剤として，シクロヘキセン（和光純薬工業製），4–フェニル–1–ブテン（和光純薬工業製），スチレン（東京化成工業製）を用いた．ジフェニルメタン（東京化成工業製）をクロロホルムに溶解し，10 μg/mL の内部標準溶液を調製した. 回収率算出用のスチレンクロロヒドリン標準物質として, 2–クロロ–1–フェニルエタノール（Sigma-Aldrich 製）を用いた．水は Merck Millipore 製 Milli-Q SP RFG40 ICP-MS で精製した超純水を用いた.

2.2.2　誘導体化および抽出

試料 100 μL を 0.5 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5）300 μL に溶解し，スチレン 20 μL を加え，ボルテックスミキサーを用いて 30 秒間撹拌した．つづいて，この混合液に内部標準用クロロホルム溶液 200 μL を加え，ボルテックスミキサーを用いて 30 秒間撹拌した．遠心分離後，クロロホルム層を分析試料とした.

2.2.3　装置および分析条件

装置：島津製作所製 GCMS-QP2010，カラム：Agilent Technologies 製 DB-5MS（長さ 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm），カラム温度：40°C で 2 分間保持後，200°C まで 10°C/min で昇温し，次いで 250°C まで 30°C/min で昇温した後，250°C で 1 分間保持，気化室温度：250°C，注入法：スプリット（10:1），キャリアガス流量：1.8 mL/min（ヘリウム），インターフェース温度：250°C，イオン源温度：250°C，イオン化法 : EI，イオン化電流 : 150 μA，イオン化電圧 : 70 eV，測定範囲 : *m/z* 40～250，試料注入量 : 1 μL．定量は，FAC 誘導体 : *m/z* 107，内部標準 : *m/z* 168 を用いて行った.

2.3　結果および考察

2.3.1　誘導体化条件および抽出条件の最適化

誘導体化剤の種類，誘導体化の pH，抽出溶媒の種類，誘導体化時間および抽出時間について，検討を行った．

(1)　誘導体化剤の検討

Fig. 2-3に示す3種類の誘導体化剤（シクロヘキセン，4–フェニル–1–ブテン，スチレン）について，検討を行った．その結果，Fig. 2-4に示すように，スチレンが最も感度よく，しかも選択的にクロロヒドリンを生成した．

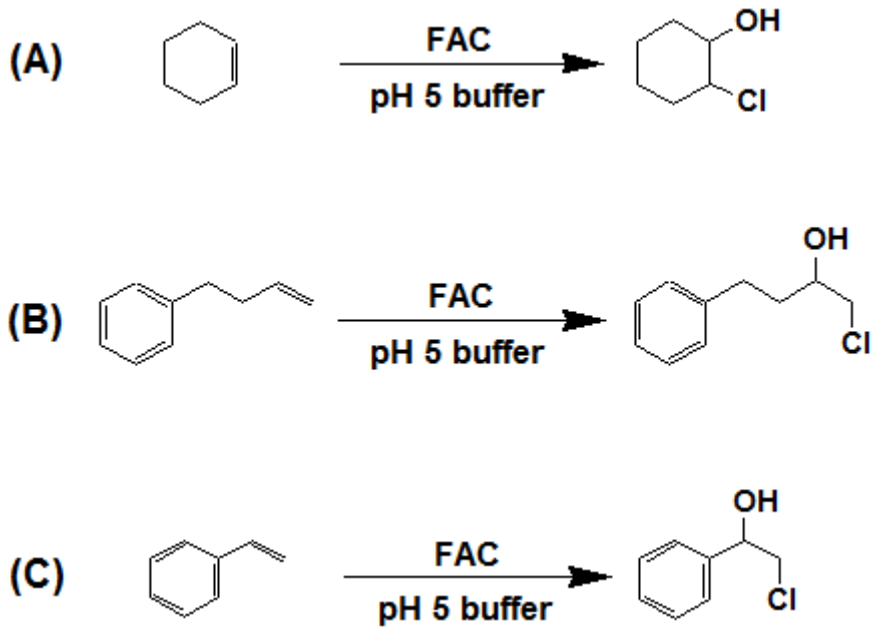


Fig. 2-3　Derivatization reactions of FAC with (A) cyclohexene, (B) 4-phenyl-1-butene, and (C) styrene.

求電子付加反応を利用したハロヒドリン生成については，まず求電子剤であるハロゲンがアルケンに付加して三員環状ハロニウムイオンを形成し，これに水分子がアンチ付加し，ハロヒドリンを生成する立体特異的かつ位置選択的な反応機構が受け入れられている[31–33]．アルケン炭素上に電子供与性基が位置すれば，二重結合の電子密度が高くなり，求電子剤によって攻撃されやすい[34]．また，三員環状ハロニ

ウムイオンの炭素–ハロゲン結合は，角ひずみのため弱くなっており結合の開裂が部分的に進み，電子供与性基で安定化された炭素の方がもう一つの炭素に比べてより強く正に分極する．続く水分子の攻撃は，この正に分極した炭素に起こる．つまり，配向性はMarkovnikov則に従う．このように，アルケンの反応性と付加反応の配向性は，正に分極した炭素の安定性で決定される[32]．すなわち，アルケン炭素上の置換基が反応性と配向性に大きな影響を及ぼす.

したがって，π電子が豊富で電子供与能力の高いフェニル基を有するスチレンは，反応性と選択性が極めて高く，効率よくスチレンクロロヒドリンを生成したと考えられる.

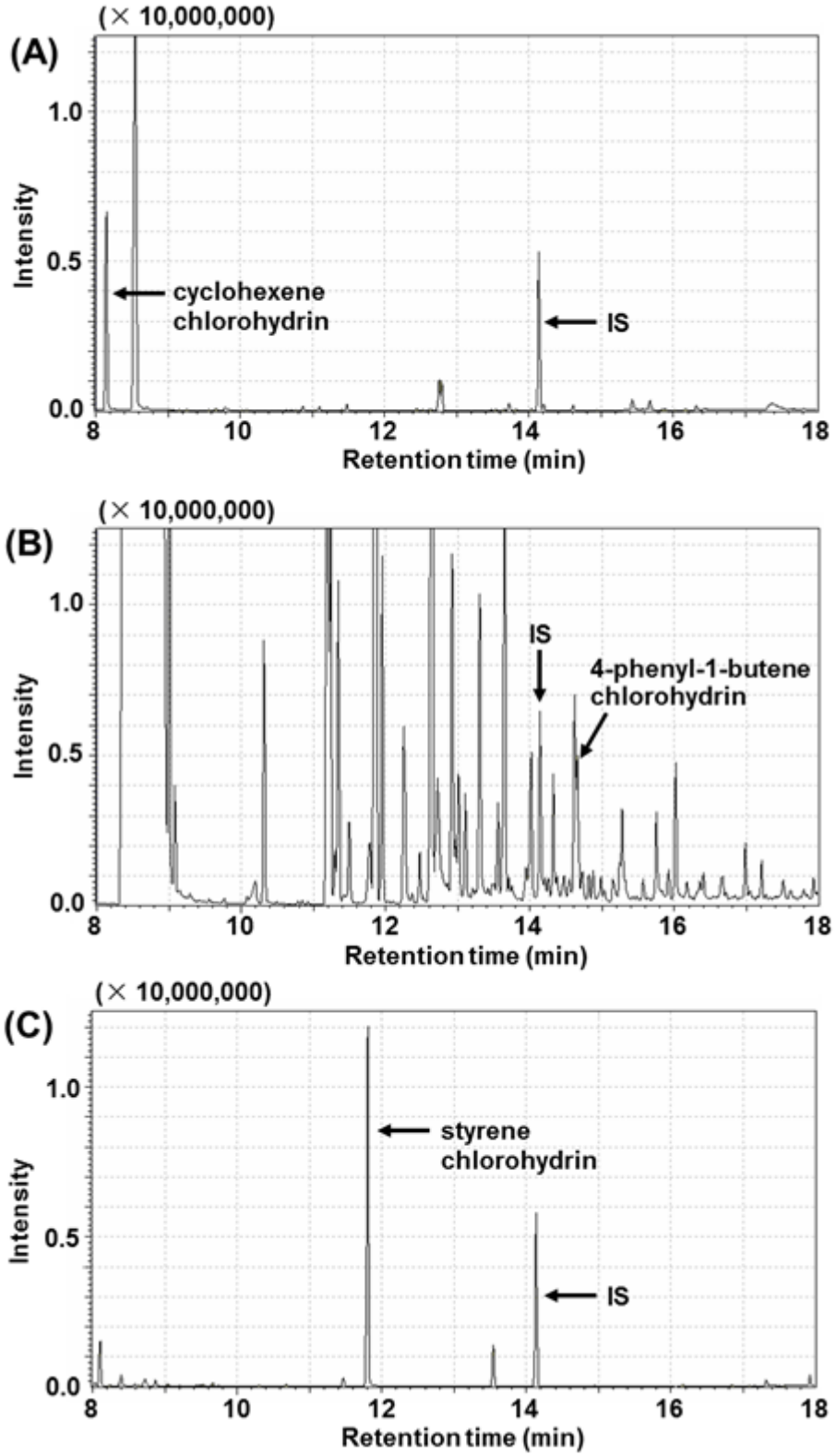


Fig. 2-4 Total ion chromatograms of the extracted products after derivatization with (A) cyclohexene, (B) 4-phenyl-1-butene, and (C) styrene. FAC concentration: 50 μg/mL. IS: internal standard.

(2)　誘導体化における pH の影響

pH 1～9 の範囲で検討を行った．その結果，Fig. 2-5 に示すように，誘導体化は pH 5 で最も効率的に進行した．

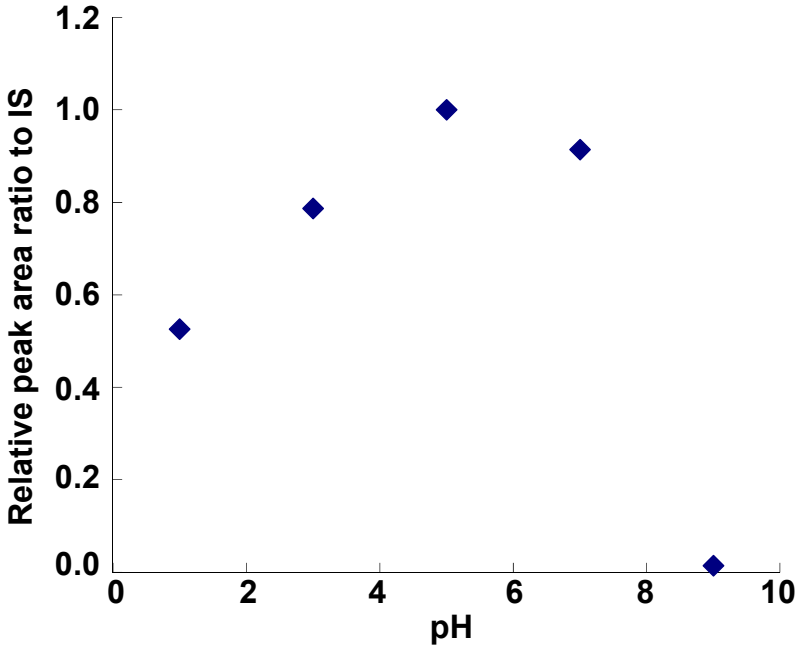


Fig. 2-5　The effect of buffer pH on the derivatization. The derivatizations with styrene were carried out in 0.5 M potassium chloride/hydrochloric acid buffer (pH 1), 0.5 M sodium formate/formic acid buffer (pH 3), 0.5 M sodium acetate/acetic acid buffer (pH 5), 0.5 M sodium hydrogen phosphate/sodium dihydrogen phosphate (pH 7), or 0.5 M sodium carbonate/sodium hydrogen carbonate (pH 9). FAC concentration: 50 μg/mL. Each value represents the mean of three measurements.

pH 5 では，FAC は HClO として存在する [3]．この HClO は ClO^-よりもアルケンへの求電子付加反応性が高い [34,35]ので，誘導体化は pH 5 で最も効率的に進行したと考えられる．

pH 5 より塩基性側（pH 7，9）では，誘導体化率は低かった．pH 7 では HClO の一部は解離して ClO^-を生成し，さらに塩基性側に傾いた pH 9 ではそのほとんどが解離して ClO^-として存在する [3]．この HClO の低下が誘導体化率を低下させたと考

えられる．さらに，クロロヒドリンは塩基性条件下で，容易に塩化水素が脱離してエポキシドを生成する[36]ことから，pH 9 ではこの分解反応の寄与も考えられる．

一方，pH 5より酸性側（pH 1，3）においても，誘導体化率は低かった．酸性条件下ではCl_2の存在比率が高い．アルケン，水，塩素によるクロロヒドリン合成において，このCl_2とアルケンが反応してジクロロ体が副生することが知られている[37–39]．本実験においても，pH1，3でジクロロ体が観測されたことから，このジクロロ体の副生が誘導体化率を低下させた一要因であると考えられる．

(3)　抽出溶媒、誘導体化時間および抽出時間の検討

3種類の抽出溶媒（クロロホルム、トルエン，ヘキサン）について，検討を行った．その結果，Fig. 2-6に示すように，最も極性が高いクロロホルムで最も高い抽出効率を示した．つぎに誘導体化時間を0～300秒の範囲で検討を行った．Fig. 2-7に示すように，30秒で誘導体化は終了した．また，抽出時間を0～300秒の範囲で検討を行った結果，Fig. 2-8に示すように，30秒で平衡に達した．

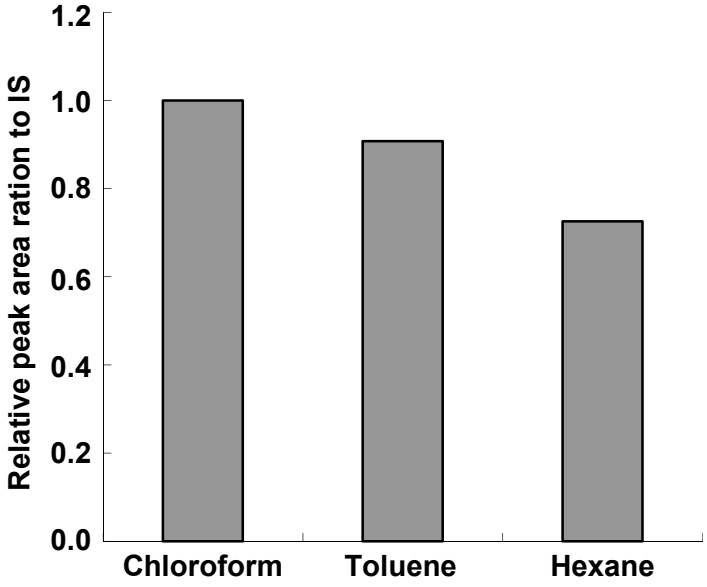


Fig. 2-6　Optimization of extracting solvent. FAC concentration: 50 μg/mL. Each value represents the mean of three measurements.

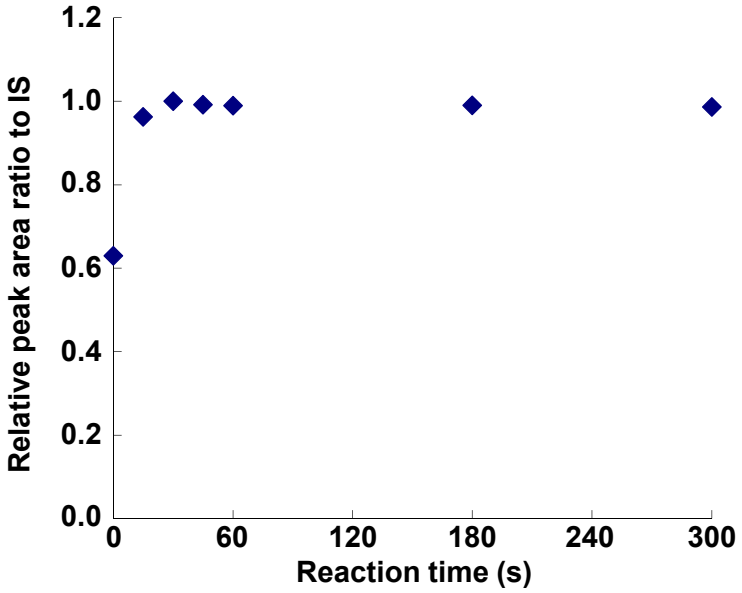


Fig. 2-7　Time course of the reaction of FAC with styrene. FAC concentration: 50 μg/mL. Each value represents the mean of three measurements.

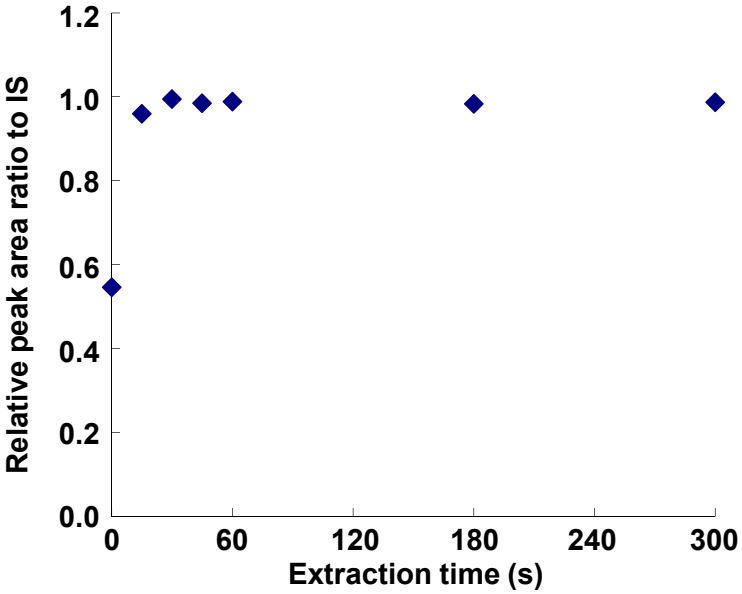


Fig. 2-8　Extraction time profile of FAC derivative. FAC concentration: 50 μg/mL. Each value represents the mean of three measurements.

2.3.2　GC/MS による水溶液中 FAC の分析

最適化された条件で誘導体化し, GC/MS により分析した. 得られた FAC 誘導体, 内部標準の質量スペクトルを Fig. 2-9 に示す．FAC 誘導体の質量スペクトルでは, 分子イオン（*m/z* 156）が観測された．この分子イオンは塩素に由来する特徴的な同位体パターン（^{35}Cl:^{37}Cl = 3:1）を示し，塩素が確実に導入されていることが確認された．また，ベンジル位での開裂に伴い，FAC 誘導体から CH_2Cl が脱離したフラグメントイオン（*m/z* 107）がベースピークとして観測された．一方，内部標準の分子イオン（*m/z* 168）はベースピークとして観測された．

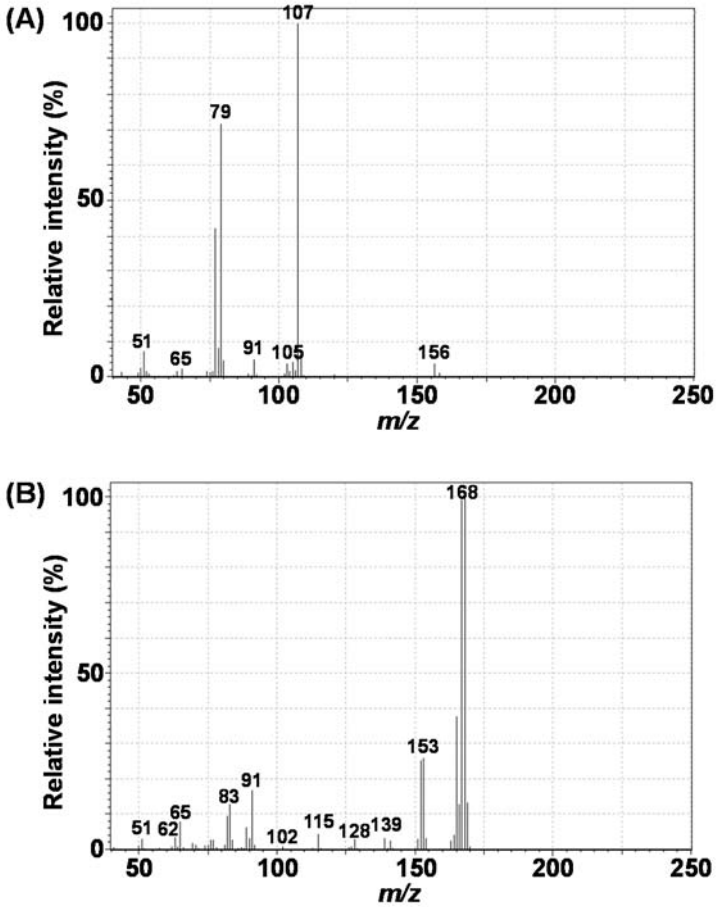


Fig. 2-9　Mass spectra of (A) FAC derivative and (B) IS.

つぎに，FAC誘導体，内部標準のマスクロマトグラムをFig. 2-10に示す．FAC誘導体は11.8分，内部標準は14.1分にそれぞれ対称的で鋭いピークとして観測された．

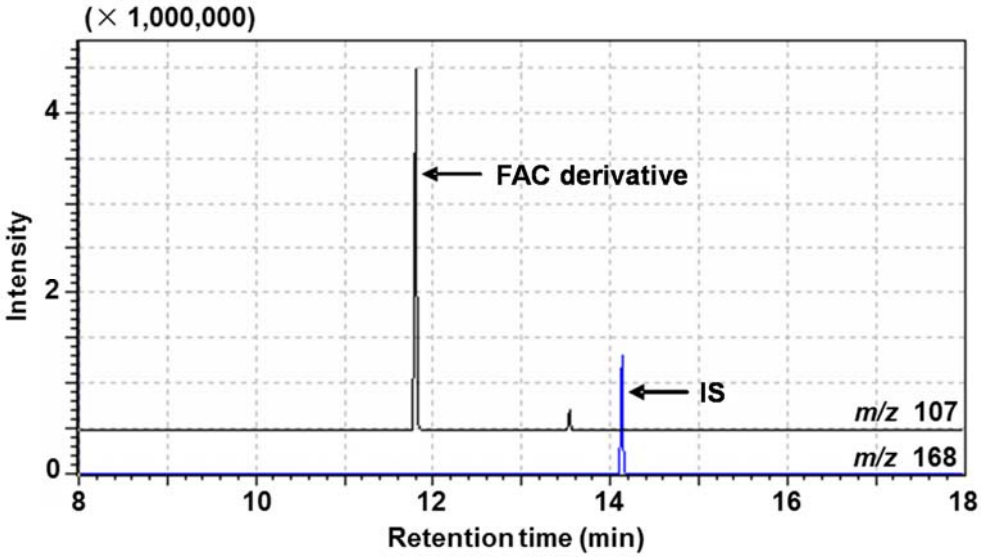


Fig. 2-10　Mass chromatograms of the derivatized extract obtained from the water spiked with FAC at 50 μg/mL.

2.3.3　分析法バリデーション

検量線は0.2～100 μg/mLの範囲で良好な直線性を示し，相関係数は1/*x*の重み付けを行い0.998であった（Fig. 2-11）．検出限界（limit of detection, LOD）は0.1 μg/mL（signal-to-noise ratio, S/N > 3）であり，定量限界（limit of quantification, LOQ）は0.2 μg/mL（S/N > 10）であった．

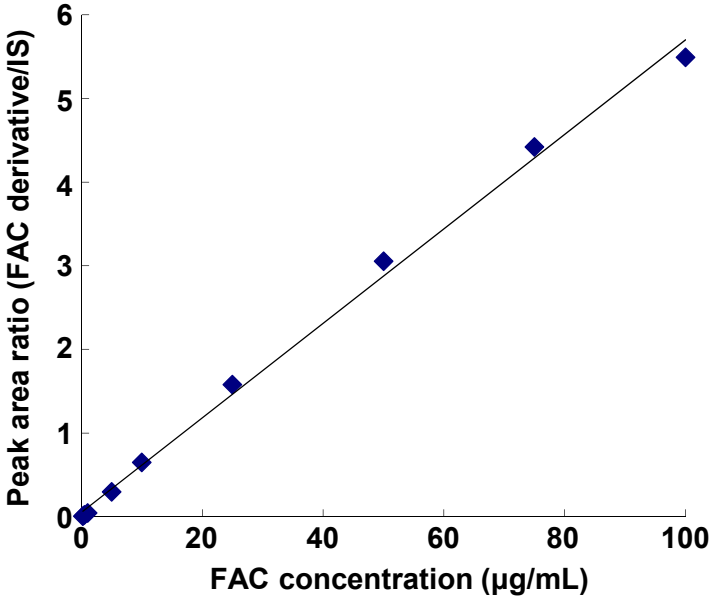


Fig. 2-11　Calibration curve of FAC in water

3種類の濃度（10，50，75 μg/mL）における日内・日間の真度・精度評価を行った．真度は次式で定義した：（検量線から読み取った濃度－添加濃度）/ 添加濃度×100．精度は次式で定義した：検量線から読み取った濃度の標準偏差 / 検量線から読み取った濃度の平均値×100．Table 2-1に示すように，確度の高い再現性ある良好な結果が得られた．

Table 2-1　Intra- and interday precision and accuracy.

Nominal concentration (μg/mL)	Intraday (n = 5)			Interday (n = 3)		
	Mean ± SD[a)]	Precision (%RSD[b)])	Accuracy (%Bias)	Mean ± SD	Precision (%RSD)	Accuracy (%Bias)
10	10.7 ± 0.2	1.4	6.9	10.7 ± 0.3	2.5	6.9
50	52.4 ± 1.1	2.1	4.8	54.0 ± 1.7	3.1	8.0
75	74.0 ± 1.1	1.5	–1.3	77.8 ± 3.5	4.5	3.8

a) Standard deviation.

b) Relative standard deviation.

また，3種類の濃度（10，50，75 μg/mL）における水溶液からの回収率を算出した．回収率は，抽出操作を行わない標準溶液中の内部標準に対するスチレンクロロヒドリン標準物質のレスポンスを100%として，算出した．すなわち，ここで示す回収率は，誘導体化率および抽出率を含めたトータルの回収率である．Table 2-2に示すように，いずれの濃度においても安定した回収率が得られた．

Table 2-2　Recoveries from the water spiked with FAC.

Nominal concentration (μg/mL)	Recovery[a)] (%)
10	45.1 ± 0.2
50	53.2 ± 0.9
75	55.4 ± 0.2

[a)] Mean ± SD (n = 3).

つぎに，室温におけるクロロホルム中のFAC誘導体の安定性を評価するために，分析試料（FAC濃度：100 μg/mL）をオートサンプラーにセットし，調製直後から24時間，分析した．その結果，FAC誘導体の減少は見られず，クロロホルム中で安定に存在することが確認された（Fig. 2-12）．

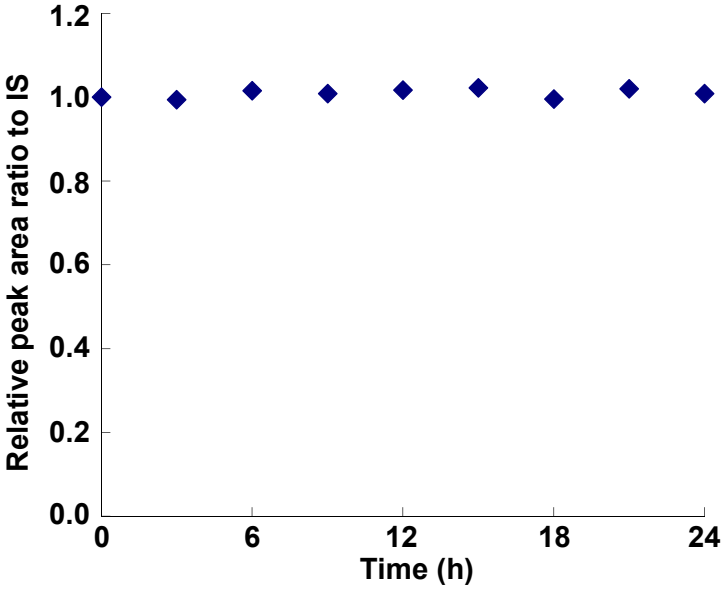


Fig. 2-12　Stability of FAC derivative in chloroform at room temperature. FAC concentration: 100 μg/mL.

2.3.4　共存物質の影響

飲料中へのFAC混入事件を想定して，Table 2-3に示す食品，あるいは食品添加物である各種共存物質（塩化マグネシウム，スクロース，フマル酸，ベンズアルデヒド，クエン酸，アスコルビン酸，アラニン，塩化アンモニウム）のFAC検出に及ぼす影響について検討を行った. 評価法としては, 各種共存物質をFACに対して0.1 eq. 添加した100 μg/mL FACの混合液をそれぞれ調製し，FACの回収率を求めた．回収率は，共存物質を含まないFACのみの水溶液から得られた内部標準に対するFAC誘導体のレスポンスを100%として，算出した．その結果，塩化マグネシウム，スクロース，フマル酸，ベンズアルデヒド，クエン酸はFACの検出を妨害しなかったが，アスコルビン酸，アラニン，塩化アンモニウムは妨害した．

Table 2-3　Effect of some potentially interfering substances on the determination of FAC[a)].

Species added	Recovery[b)] (%)
Magnesium chloride	100.5 ± 1.0
Sucrose	100.0 ± 1.7
Fumaric acid	100.8 ± 1.4
Benzaldehyde	100.2 ± 0.8
Citric acid	99.9 ± 0.8
Ascorbic acid	84.6 ± 0.4
Alanine	55.5 ± 0.2
Ammonium chloride	43.3 ± 0.2

[a)] FAC concentration: 100 μg/mL. Additive amount: 0.1 mole equivalent to FAC.

[b)] Mean ± SD (n = 3).

FAC検出を妨害した化学物質とFACは，以下のように反応することが知られている．還元剤であるアスコルビン酸は，酸化剤であるFACと瞬時に酸化還元反応を起こし，デヒドロアスコルビン酸を生成する[40)]（Fig. 2-13）．アラニンのようなα–アミノ酸はFACと反応し，クロラミン生成，脱炭酸などの過程を経由して，最終的には

アンモニア，カルボニル化合物，ニトリル化合物を生成すると考えられている[36]（Fig. 2-14）．塩化アンモニウムの共役塩基であるアンモニアはFACと反応し，クロラミンを生成する[41]（Fig. 2-15）．

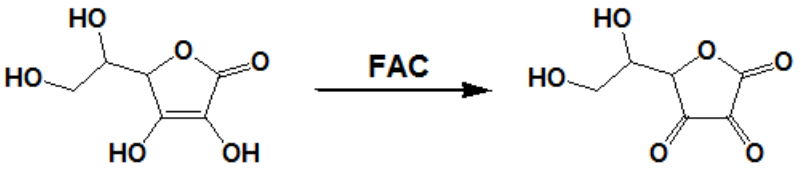


Fig. 2-13　Reaction of FAC with ascorbic acid.

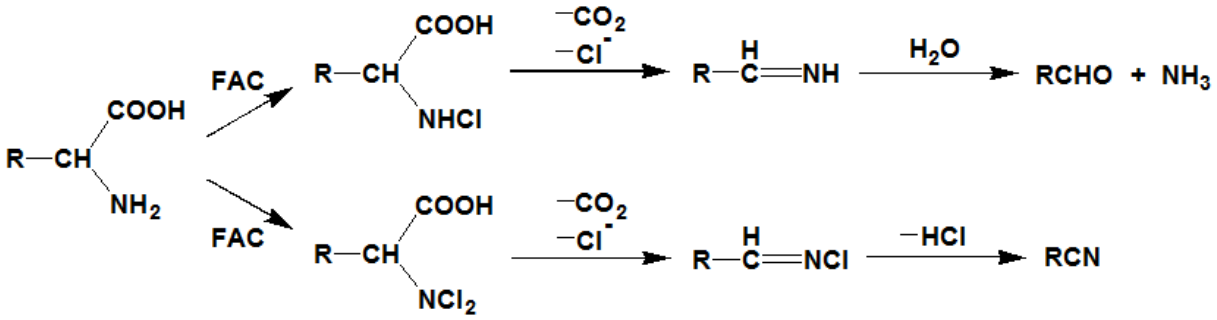


Fig. 2-14　Reactions of FAC with α-amino acid.

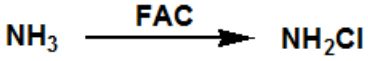


Fig. 2-15　Reaction of FAC with ammonia.

したがって，回収率の低下は，これらの共存物質がFACと反応してFAC濃度を低下させたことに起因すると考えられる．このようなFACと反応する共存物質による回収率の低下は，他のFAC分析法でも報告されている[3,42]．

2.3.5　各種製品（漂白剤，殺菌剤）への適用

FACを含有する各種製品へ本法の適用を試みた．まず定性分析を行った結果，いずれからも良好にFACを検出することができた．つぎに定量分析を行い，公定法であるヨウ素滴定法[8)]で求めた定量値と比較した．Table 2-4に示すように，両者の結果はほぼ一致し，本法がFACの定量分析法としても信頼できる分析法であることが示された．

Table 2-4　Quantification of FAC in commercial samples.

Commercial samples	Iodometric method[a)] ($\times 10^3$ μg/mL)	Proposed method[b)] ($\times 10^3$ μg/mL)
Bleach A	55.5	57.7 ± 1.2
Bleach B	19.7	19.8 ± 0.7
Disinfectant A	28.7	28.7 ± 1.2
Disinfectant B	26.9	27.0 ± 0.4
Disinfectant C	11.1	11.4 ± 0.2

[a)] Values determined by iodometric method according to Ref. 8).

[b)] Mean ± SD (n = 3).

2.3.6　模擬法科学試料の分析

液体（塩素系漂白剤）をアルコール飲料に混入させた．A：液体（塩素系漂白剤）添加アルコール飲料，B：液体（塩素系漂白剤）の2点を模擬法科学試料として，本法で分析した．その結果，いずれからも良好にFACが検出された．また，定量値はそれぞれ試料A：3.0×10^2 μg/mL，試料B：3.0×10^4 μg/mLであった．

2.4 結論

本章では， GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法を確立した．すなわち, FAC 特有のアルケンに対する求電子付加反応を利用して, 不安定な FAC を安定なスチレンクロロヒドリンへ誘導体化することで, GC/MS による水溶液中 FAC 分析が可能となった. また, 誘導体化条件および抽出条件を最適化することで, LOD が 0.1 μg/mL という水道水中の FAC 濃度レベル [43)]に相当する低濃度分析が可能となった.

本法は誘導体化が迅速で, なおかつ GC/MS による特異的分析法であるので, FAC が使用された犯罪・事故の早期対応・解決に役立つことが期待される.

参考文献

1) 福﨑智司，次亜塩素酸とは？，次亜塩素酸の科学－基礎と応用－．第 1 版，pp. 13–25，米田出版，千葉，2012.
2) Morris J. C., The acid ionization constant of HOCl from 5 to 35°. *J. Phys. Chem.*, **70**, 3798–3805, 1966.
3) Aoki T. and Munemori M., Continuous flow determination of free chlorine in water. *Anal. Chem.*, **55**, 209–212, 1983.
4) Nimkerdphol K. and Nakagawa M., Effect of sodium hypochlorite on zebrafish swimming behavior estimated by fractal dimension analysis. *J. Biosci. Bioeng.*, **105**, 486–492, 2008.
5) 冨士栄聡子，小西浩之，五十嵐剛，保坂三継，中江大，遊泳用プール水中の消毒副生成物等に関する調査結果（第 1 報）．東京都健康安全研究センター研究年報，**61**，325–332，2010.
6) Cherney D. P., Duirk S. E., Tarr J. C. and Collette T. W., Monitoring the speciation of aqueous free chlorine from pH 1 to 12 with raman spectroscopy to determine the identity of the potent low-pH oxidant. *Appl. Spectrosc.*, **60**, 764–772, 2006.
7) Singer P. C., Humic substances as precursors for potentially harmful disinfection by-products. *Water Sci. Technol.*, **40**, 25–30, 1999.
8) JIS K0102，工場排水試験方法，2013.
9) JIS K0400-33-10，水質–遊離塩素及び全塩素の定量–第 1 部 : *N,N'*–ジエチル–1,4–フェニレンジアミンを用いる滴定法，1999.
10) Sakamoto R., Horiguchi D., Ikegami T., Ishiyama M., Shiga M., Sakamoto K. and Katayama Y., A new water-soluble chromogenic indicator: An application to the determination of chlorine in aqueous solutions. *Anal. Sci.*, **19**, 1445–1447, 2003.
11) Narayama B., Mathew M., Vipin K., Sreekumar N. V. and Cherian T., An easy spectrophotometric method for the determination of hypochlorite using thionin. *J. Anal. Chem.*, **60**, 706–709, 2005.

12) Moberg L. and Karlberg B., An improved *N, N'*-diethyl-*p*-phenylenediamine (DPD) method for the determination of free chlorine based on multiple wavelength detection. *Anal. Chim. Acta*, **407**, 127–133, 2000.

13) Han J., Chu T., Han G., Browne J., Brown I. and Han P., Spectrophotometric assay for hypochlorite/hypochlorous acid using tris(2-carboxyethyl)phosphine. *Microchem. J.*, **58**, 218–224, 1998.

14) Bamnolker H., Lapid J., Givra Y., Sorek Y. and Gavra Z., Spectrophotometric determination of hypochlorite traces in basic solutions with the reagent 3,3'-dimethylnaphtidine. *Microchem. J.*, **40**, 246–250, 1989.

15) Claver J. B., Valencia-Mirón M. C. and Capitán-Vallvey L. F., Determination of hypochlorite in water using a chemiluminescent test strip. *Anal. Chim. Acta*, **522**, 267–273, 2004.

16) Marino D. F. and Ingle J. D., Jr., Determination of chlorine in water by luminol chemiluminescence. *Anal. Chem.*, **53**, 455–458, 1981.

17) Tian K. and Dasgupta P. K., Simultaneous flow-injection measurement of hydroxide, chloride, hypochlorite and chlorate in Chlor-alkali cell effluents. *Talanta*, **52**, 623–630, 2000.

18) Pobozy E., Pyrzynska K., Szostek B. and Trojanowicz M., Flow-injection spectrophotometric determination of free residual chlorine in waters with 3,3'-dimethylnaphtidine. *Microchem. J.*, **51**, 379–386, 1995.

19) 小寺史浩，梅田実，山田明文，アノーディックボルタンメトリーによる次亜塩素酸イオンの定量．分析化学（*Bunseki Kagaku*），**53**，905–910，2004.

20) Björkolm E., Hultman A. and Rudling J., Determination of chlorine and chlorine dioxide in workplace air by impinger collection and ion-chromatographic analysis. *J. Chromatogr.*, **457**, 409–414, 1988.

21) Chen P., Wei W. Z. and Yao S. Z., Different valency chlorine species analysis by non-suppressed ion-chromatography with double cell quartz crystal detector. *Talanta*, **49**, 571–576, 1999.

22) Watanabe T., Idehara T., Yoshimura Y. and Nakazawa H., Simultaneous determination of chlorine dioxide and hypochlorite in water by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, **796**, 397–400, 1998.

23) Jain A. and Verma K. K., HPLC determination of chlorine in air and water samples following precolumn derivatization to 4-bromoacetanilide. *Chromatographia*, **37**, 492–496, 1993.

24) 木村圭介，田端節子，岩崎由美子，飯田憲司，鎌田国広，広門雅子，キャピラリー電気泳動による異臭苦情飲料中の残留次亜塩素酸の分析．東京都健康安全研究センター研究年報，**57**，165–168，2006.

25) 瀬戸康雄，次亜塩素酸，鈴木修（編），屋敷幹雄（編）薬毒物分析実践ハンドブック–クロマトグラフィーを中心として–. pp. 339–342，じほう，東京，2002.

26) Wolinsky J. and Vogel M. K., A reinvestigation of the reaction of alpha.-pinene with hypochlorous acid. *J. Org. Chem.*, **42**, 249–253, 1977.

27) Shelton J. R. and Lee L. H., Addition of halogens and halogen compounds to allylic chlorides. II. Addition of hypochlorous acid to allylic chlorides. *J. Org. Chem.*, **24**, 1271–1274, 1959.

28) Domask W. G. and Kobe K. A., Synthesis of ethylene chlorohydrin. *Ind. Eng. Chem.*, **46**, 680–689, 1954.

29) Grummitt O. and Vance R. M., The reaction of 1-phenyl-1,3-butadiene with hypochlorous acid. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2669–2674, 1950.

30) Emerson W. S., Syntheses with styrene oxide. *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 516–518, 1945.

31) 大嶌幸一郎（訳），小田嶋和徳（訳），小松満男（訳），戸部義人（訳），古賀憲司（監訳），野依良治（監訳），村橋俊一（監訳），アルケンの反応，ボルハルトショアー現代有機化学（上）．第 4 版，pp. 527–592，化学同人，京都，2004.

32) 中西香爾（訳），黒野昌庸（訳），中平靖弘（訳），アルケン II．炭素–炭素二重結合の反応—求電子付加とラジカル付加—，モリソンボイド有機化学（上）．第 6 版，pp. 412–472，東京化学同人，東京，1994.

33) Kopperman H. L., Hallcher R. C., Sr., Riehl A., Carlson R. M. and Caple R., Aqueous

chlorination of α-terpineol. *Tetrahedron*, **32**, 1621–1626, 1976.

34) Machado R. M. and Chapman T. W., Kinetics and selectivity of aqueous propylene halohydrination. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **28**, 1789–1794, 1989.

35) Winterbourn C. C., Van den Berg J. J. M., Roitman E. and Kuypers F. A., Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, **296**, 547–555, 1992.

36) Deborde M. and Von Gunten U., Reaction of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment–Kinetics and mechanisms: A critical review. *Water Res.*, **42**, 13–51, 2008.

37) 特開 1994-25037，アルキレンクロルヒドリンの製造方法.

38) 特開 2012-1508，オレフィンクロロヒドリン系化合物の製造方法.

39) 得能祝，プロピレンオキシドの動向．油化学，**14**，454–462，1965.

40) Chesney J. A., Mahoney J. R., Jr. and Eaton J. W., A spectrophotometric assay for chlorine-containing compounds. *Anal. Biochem.*, **196**, 262–266, 1991.

41) Qiang Z. and Adams C. D., Determination of monochloramine formation rate constants with stopped-flow spectrophotometry. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 1435–1444, 2004.

42) 田中榮次，安達史恵，高木総吉，遊離残留塩素の自動分析．大阪府立公衆衛生研究所研究報告，**2009**，67–73.

43) 厚生労働省，水道法施工規則第 17 条.

第 3 章　CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^-の迅速かつ特異的同時分析法の開発

3.1　序論

国内において，FACは工業的にはClO^-水溶液として多く製造されている[1)]．これは，ClO^-がFACの3つの化学平衡成分の中で，最も安定性が高く，取り扱いが容易であるからである．しかしそれでもなお，ClO^-はFig. 3-1に示すように，溶液濃度，熱，光，pH，重金属イオンなどに大きく影響を受けて，自己分解する[2–4)]．

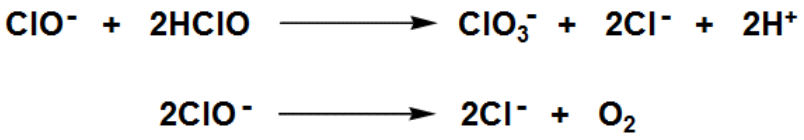


Fig. 3-1　Decomposition of ClO^-.

これらの分解反応は製造・貯蔵段階から起こるので，ClO^-水溶液は必ず分解生成物であるClO_3^-やCl^-を含有している[3)]．また，FACは他の多くの有機化合物や無機化合物と容易に反応して分解する[5)]が，この場合でもCl^-やClO_3^-が残存することが特徴的である．

第2章で，不安定なFACを安定なスチレンクロロヒドリンへ誘導体化し，GC/MSによる水溶液中FACの迅速かつ特異的分析法の開発について述べた．しかし，前述したように，FACが自己分解しやすく，なおかつ他の化学物質と容易に反応することから，時間経過した液体試料，液体をかけられ変色・脱色した乾燥試料などでは，FACそのものを検出できないことがある．このようにFACが完全に分解した試料に対しては，第2章で開発したGC/MS分析法をFAC使用の証明法として使用できない．法科学領域においては，FACが検出されない場合，その分解生成物を検出することで，FACが存在していたことを推定している[6)]．また，FACが検出される場合でも，その分解生成物を同時に検出することは，FACの存在をより強く証明することになる．FAC分解生成物の中でも，特に希少なClO_3^-がFAC使用の指標とされている．

ClO_3^-は赤血球の酸化障害などの健康被害を与えることが懸念されているために，世界保健機構の飲料水水質ガイドライン[7)]に基づき，各国でClO_3^-の水質基準値が定められている．このため，水溶液中ClO_3^-分析法として，IC[8–11)]，IC/MS[12–14)]，LC/MS[15,16)]，CE[17,18)]，FIA[19,20)]，吸光光度法[21)]など数多くの分析法が報告されている．しかし，質量分析によるFACおよびClO_3^-の同時分析法に関する報告はない．法科学領域において，FAC使用が疑われた場合，この物質、あるいは分解生成物の迅速かつ正確な同定が要求される．質量分析によるFACおよびClO_3^-同時分析法は，各々を分析する従来法に比べて，前処理などを含めたトータルの分析時間を短縮でき，なおかつ質量分析による特異性の高い分析法であるので，時間と正確性の観点からこの要求を満たす．第2章で開発したGC/MS分析法は，FACに対しては優れた分析法であるが，不揮発性であるClO_3^-には適用できない．

そこで本章では，イオン性物質の分析に適しているCE/TOF-MSを用いて，水溶液中FACおよびClO_3^-の迅速かつ特異的同時分析法の開発を行った．第2章で開発した誘導体化法を応用して，FACを安定な水溶性の*p*–スチレンスルホン酸クロロヒドリンへ選択的に誘導体化した（Fig. 3-2）．

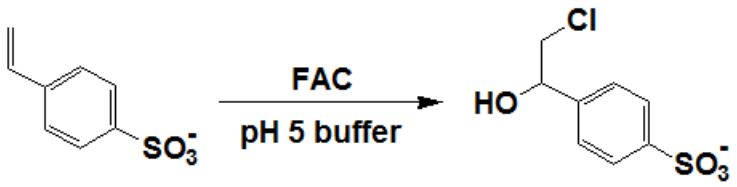


Fig. 3-2　Derivatization reaction of FAC with *p*-styrenesulfonate.

3.2　実験方法

3.2.1　試薬

次亜塩素酸ナトリウム水溶液（和光純薬工業製）を水で希釈し，有効塩素濃度として 10000 μg/mL の FAC 標準水溶液を調製した．有効塩素濃度は，ヨウ素滴定法により標定した[22]．塩素酸ナトリウム（和光純薬工業製）を水に溶解し，10000 μg/mL の標準水溶液を調製した．*p*-スチレンスルホン酸ナトリウム（和光純薬工業製）を 50 mM 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5）に溶解し，5 mM の誘導体化剤溶液を調製した． 1–プロパンスルホン酸ナトリウム（Sigma-Aldrich 製）を水に溶解し，1 mM の内部標準水溶液を調製した．水は Merck Millipore 製 Milli-Q Integral 5L で精製した超純水を用いた．

3.2.2　誘導体化

試料 100 μL に誘導体化剤溶液 50 μL，内部標準水溶液 5 μL を加え，ボルテックスミキサーを用いて 30 秒間撹拌した．メンブレンフィルター（Merck Millipore 製ウルトラフリー–MC フィルター ，孔径 0.22 μm）でろ過した後，ろ液を分析試料とした．

3.2.3　装置および分析条件

<u>CE 部</u>　装置：Beckman Coulter 製 P/ACE System MDQ，キャピラリー：ジーエルサイエンス製 FunCap-CE/Type A（長さ 90 cm，内径 50 μm，外径 375 μm），キャピラリー温度：20°C，泳動液（background electrolyte, BGE）：50 mM 酢酸アンモニウム（pH 5），試料注入：試料を注入（1 psi × 20 秒間）後，BGE を注入（1 psi × 5 秒間），印加電圧：–30 kV．試料注入前に毎回，1 M 酢酸（40 psi × 1 分間），BGE（40 psi × 3 分間）で通液した．

<u>MS 部</u>　装置 : Bruker Daltonics 製 micrOTOF II，スプレイヤー : Agilent Technologies 製 G1607，シース液：5 mM 酢酸アンモニウム/50% (v/v)メタノール水溶液，シース液流量：0.01 mL/min，イオン化法：ESI（ネガティブモード），測定範囲：*m/z* 50～500，end plate offset：–500 V，capillary voltage：+3200 V，capillary exit of transfer：

–90 V，hexapole radio frequency of transfer：50 Vpp，窒素ガス温度：200°C，窒素ガス流量：4.0 L/min，ネブライザーガス圧力：0.4 bar．質量校正には，5 mM ギ酸ナトリウム/50% (v/v)アセトニトリル水溶液を用いた．定量は，FAC 誘導体：*m/z* 234.984 ± 0.05，ClO_3^-：*m/z* 82.954 ± 0.05，内部標準：*m/z* 123.012 ± 0.05 を用いて行った．

3.3　結果および考察

3.3.1　カチオン性キャピラリーの選定

CE で汎用されているフューズドシリカキャピラリーを用いて，CE/MS 分析する場合，MS 側へ電気浸透流（electroosmotic flow, EOF）を発生させるために，試料注入側を正極，MS 側を負極にして電圧を印加する．この条件でアニオンを分析した場合，アニオンは電気泳動によって試料注入側へ引き寄せられるために，検出時間が長くなる傾向にある．さらに，アニオンの電気泳動による移動速度が EOF よりも大きい場合，アニオンは検出されない[23]．この問題を解決するために，フューズドシリカキャピラリーの内表面をカチオン性官能基で化学修飾された，あるいはカチオン性化合物でコーティングされた，いわゆるカチオン性キャピラリーを用いたアニオンの CE/MS 分析法がいくつか報告されている[24–27]．このカチオン性キャピラリーの場合，MS 側へ EOF を発生させるためには，フューズドシリカキャピラリーの場合とは逆に，試料注入側を負極，MS 側を正極にして電圧を印加する．この時，アニオンは電気泳動によっても MS 側へ移動するので，EOF との相乗効果により分析時間の短縮が達成される．

そこで本実験では，本法で誘導体化した試料をカチオン性キャピラリーとフューズドシリカキャピラリーを用いて，それぞれ分析し比較を行った．その結果，カチオン性キャピラリーを用いた場合，Fig. 3-3に示すように，FAC誘導体は7.0分，ClO_3^-は4.9分，内部標準は6.3分にそれぞれ鋭いピークとして観測され，良好に分離した．一方，フューズドシリカキャピラリーを用いた場合，Fig. 3-4に示すように，FAC誘導体は14.3分，内部標準は19.4分と検出時間は長く，この3成分の中で最も電荷密度の高いClO_3^-は検出されなかった．

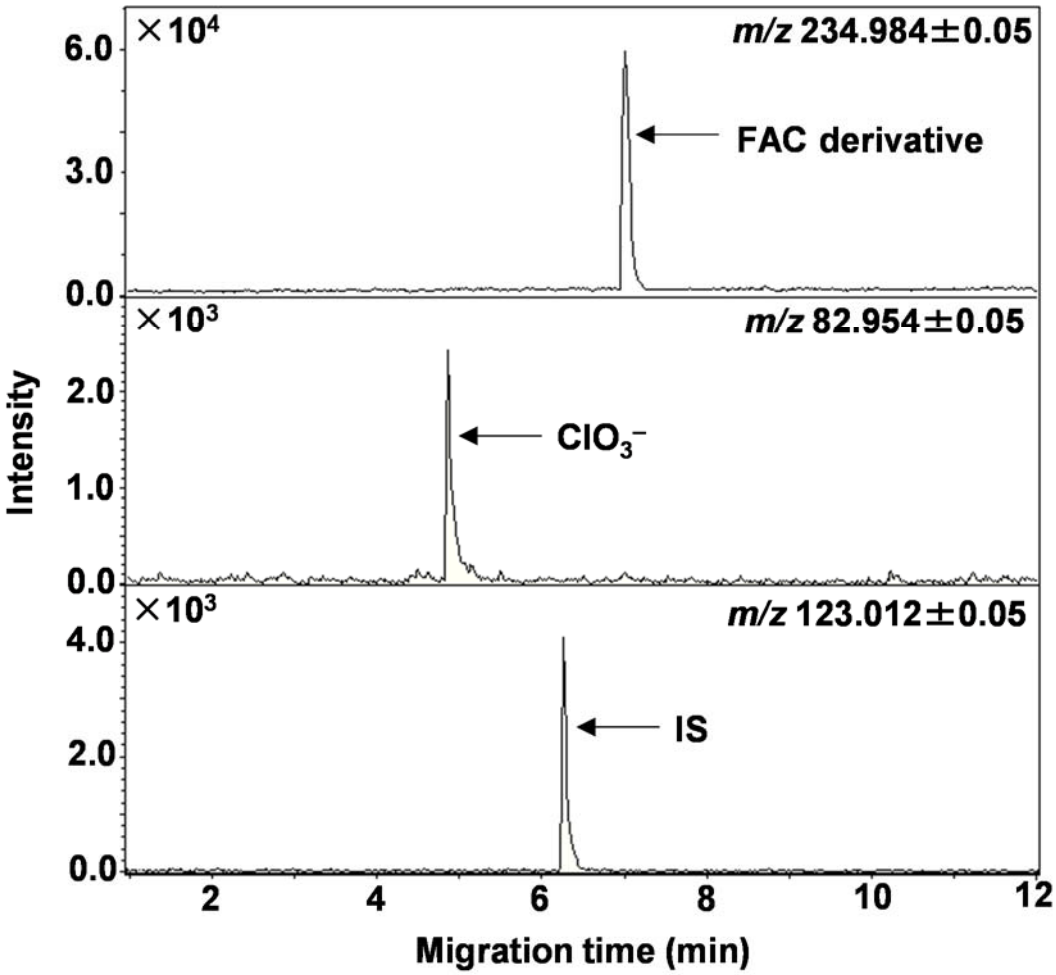


Fig. 3-3 Mass electropherograms of the derivatized product obtained from the water spiked with FAC at 100 μg/mL and ClO_3^- at 10 μg/mL. Capillary: FunCap-CE/Type A (50 μm i.d., 375 μm o.d., 90 cm of total length). BGE: 50 mM ammonium acetate (pH 5). Applied voltage: –30 kV. Sheath liquid: 5 mM ammonium acetate in water/methanol (1:1, v/v).

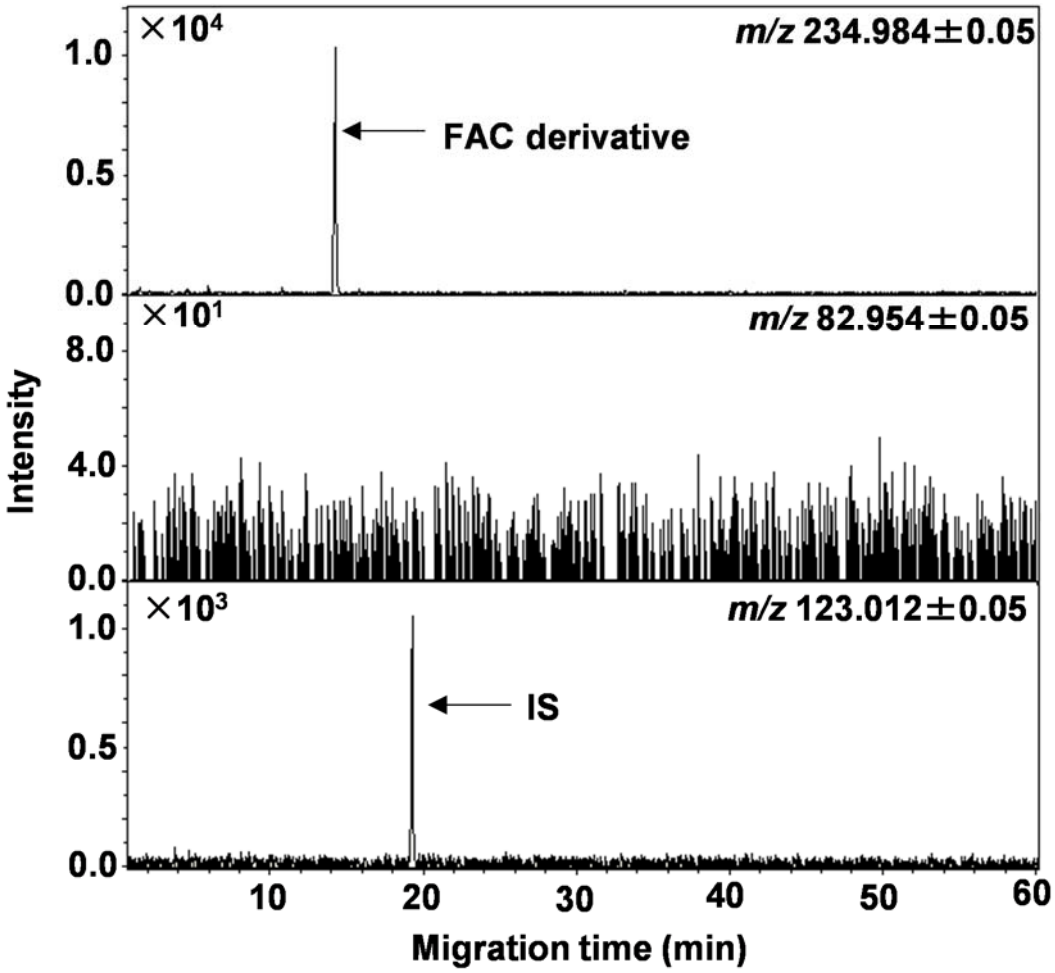


Fig. 3-4 Mass electropherograms of the derivatized product obtained from the water spiked with FAC at 100 μg/mL and ClO_3^- at 1000 μg/mL. Capillary: untreated fused silica (50 μm i.d., 375 μm o.d., 90 cm of total length). BGE: 50 mM ammonium acetate (pH 10). Applied voltage: +30 kV. Sheath liquid: 5 mM ammonium acetate in water/methanol (1:1, v/v).

3.3.2　誘導体化時間の検討

誘導体化時間を 0～180 秒の範囲で検討を行った．Fig. 3-5 に示すように，差はほとんど見られなかったので，均一な試料溶液を得るために 30 秒を用いることとした．アルケン，水，塩素によるクロロヒドリン合成においては，アルケンの水への溶解過程が反応律速であることが確認されている[28–31]．本実験で用いた *p*-スチレンスルホン酸ナトリウムは水溶性のアルケンであるので，反応が非常に速く瞬時に誘導体化が終了したと考えられる．

また，室温における水溶液中のFAC誘導体の安定性を評価するために，分析試料（FAC濃度：50 μg/mL）をオートサンプラーにセットし，調製直後から12時間，分析した．その結果，FAC誘導体の顕著な増減は認められず，水溶液中で安定に存在することが確認された．

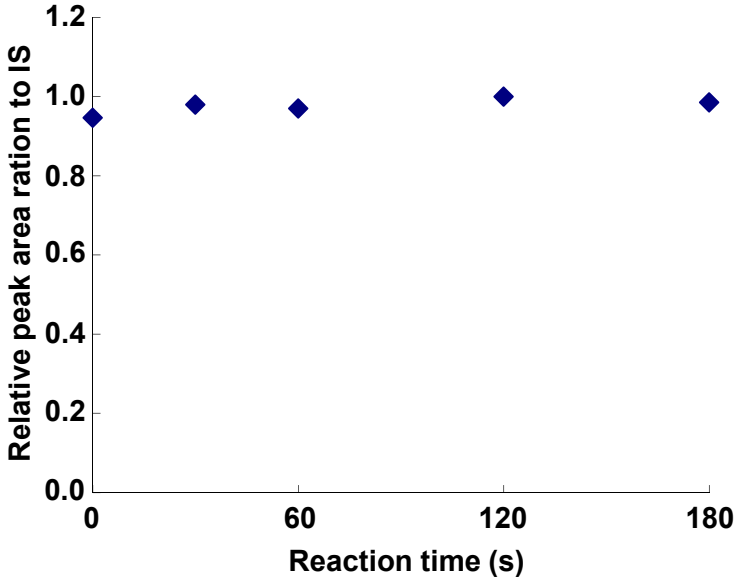


Fig. 3-5　Time course of the reaction of FAC with *p*-styrenesulfonate. FAC concentration: 50 μg/mL. Each value represents the mean of three measurements.

3.3.3　分析法バリデーション

FAC の検量線は 15～100 μg/mL，ClO_3^-の検量線は 1～100 μg/mL の範囲で良好な直線性を示し，相関係数はいずれも 0.998 であった（Fig. 3-6 および Fig. 3-7）．FAC，ClO_3^-の LOD（S/N > 3）はそれぞれ 10，0.5 μg/mL であり，LOQ（S/N > 10）はそれぞれ 15，1 μg/mL であった．

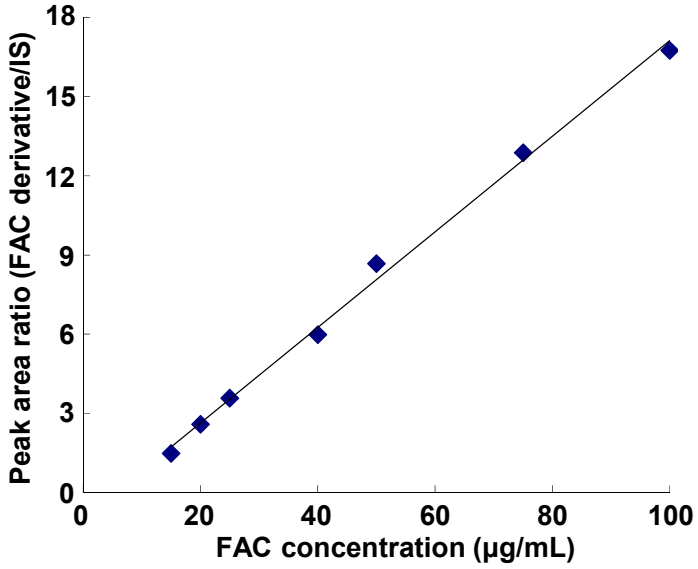


Fig. 3-6　Calibration curve of FAC in water.

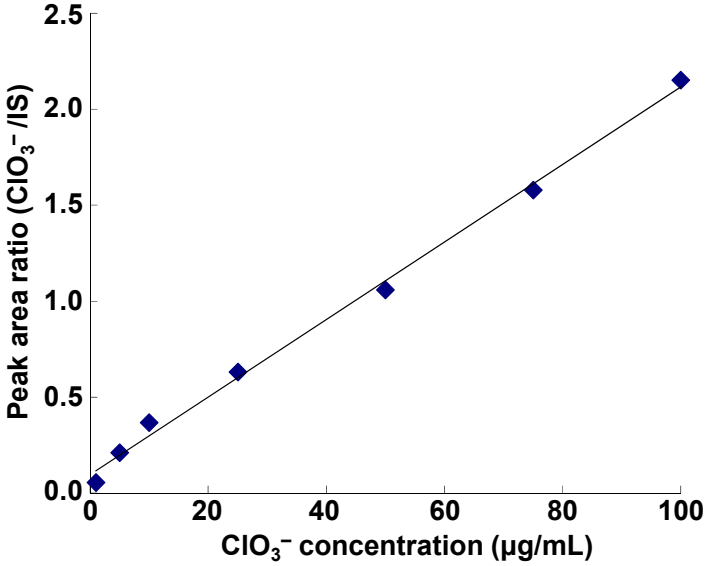


Fig. 3-7　Calibration curve of ClO_3^- in water.

FACおよびClO_3^-の3濃度における日内真度・精度（n = 5）の評価をそれぞれ行った．真度・精度は，第2章の2.3.3と同じ式で定義した．Table 3-1に示すように，いずれも確度の高い再現性のある良好な結果が得られた．

Table 3-1　Intraday (n = 5) precision and accuracy.

Nominal concentration (μg/mL)	FAC			ClO_3^-		
	Mean ± SD	Precision (%RSD)	Accuracy (%Bias)	Mean ± SD	Precision (%RSD)	Accuracy (%Bias)
25 (FAC), 10(ClO_3^-)	28.0 ± 2.1	7.5	12.2	10.7 ± 0.6	5.2	7.1
50	52.9 ± 1.9	3.6	5.8	54.9 ± 2.3	4.3	9.8
75	77.2 ± 3.0	3.8	2.9	77.7 ± 4.0	5.1	3.6

3.3.4　共存物質の影響

飲料中へのFAC混入事件を想定して，Table 3-2に示す食品添加物である各種共存物質（塩化ナトリウム，トレハロース，フマル酸，フェニルアラニン，硫酸アンモニウム）の各分析対象物質（FACおよびClO_3^-）検出に及ぼす影響について検討を行った．評価法としては，各種共存物質をFACに対して0.1 eq.添加した100 μg/mL FACおよび10 μg/mL ClO_3^-の混合液をそれぞれ調製し，各分析対象物質の回収率を求めた．回収率は共存物質を含まない各分析対象物質（FACおよびClO_3^-）のみの水溶液から得られた内部標準に対する各分析対象物質のレスポンスを100%として，それぞれ算出した．その結果，塩化ナトリウム，トレハロース，フマル酸はFAC検出を妨害しなかったが，フェニルアラニン，硫酸アンモニウムは妨害した．これは，第2章の2.3.4でも考察したように，FACと共存物質の反応によるFAC濃度の低下に起因すると考えられる．一方，ClO_3^-の検出については，いずれの共存物質も妨害しなかった．

Table 3-2　Effect of some potentially interfering substances on the determination of FAC and ClO_3^- [a].

Species added	Recovery[b] (%)	
	FAC	ClO_3^-
Sodium chloride	94.0 ± 6.3	106.1 ± 10.3
Trehalose	100.1 ± 8.2	106.0 ± 5.6
Fumaric acid	99.6 ± 6.7	103.7 ± 1.4
Phenylalanine	45.9 ± 7.5	109.5 ± 6.1
Ammonium sulfate	11.6 ± 1.1	100.0 ± 3.6

[a] FAC concentration: 100 μg/mL. ClO_3^- concentration: 10 μg/mL. Additive amount: 0.1 mole equivalent to FAC.

[b] Mean ± SD (n = 3).

3.3.5　各種飲料試料への適用

FACおよびClO_3^-を添加した各種飲料試料（ミネラルウォーター，清涼飲料水，緑茶）へ本法の適用を試みた．添加濃度が1000 μg/mL FAC，100 μg/mL ClO_3^-となるように調製した．その結果，Fig. 3-8に示すように，ミネラルウォーター，清涼飲料水から，いずれもFACおよびClO_3^-が検出された．一方，緑茶からClO_3^-は検出されたが，FACは検出されなかった．これは，緑茶中に含まれる還元剤であるカテキン類と酸化剤であるFACが酸化還元反応を起こし[32]，FACが消失したためであると考えられる．このように，たとえFACが検出されなくてもClO_3^-が検出されるので，緑茶中にFACが混入していたと推定することができる．本法は，1回の分析でこのことを明らかにできるので，FACとClO_3^-をそれぞれ分析する従来法に比べて，前処理などを含めたトータルの分析時間を短縮できる点で優れている．

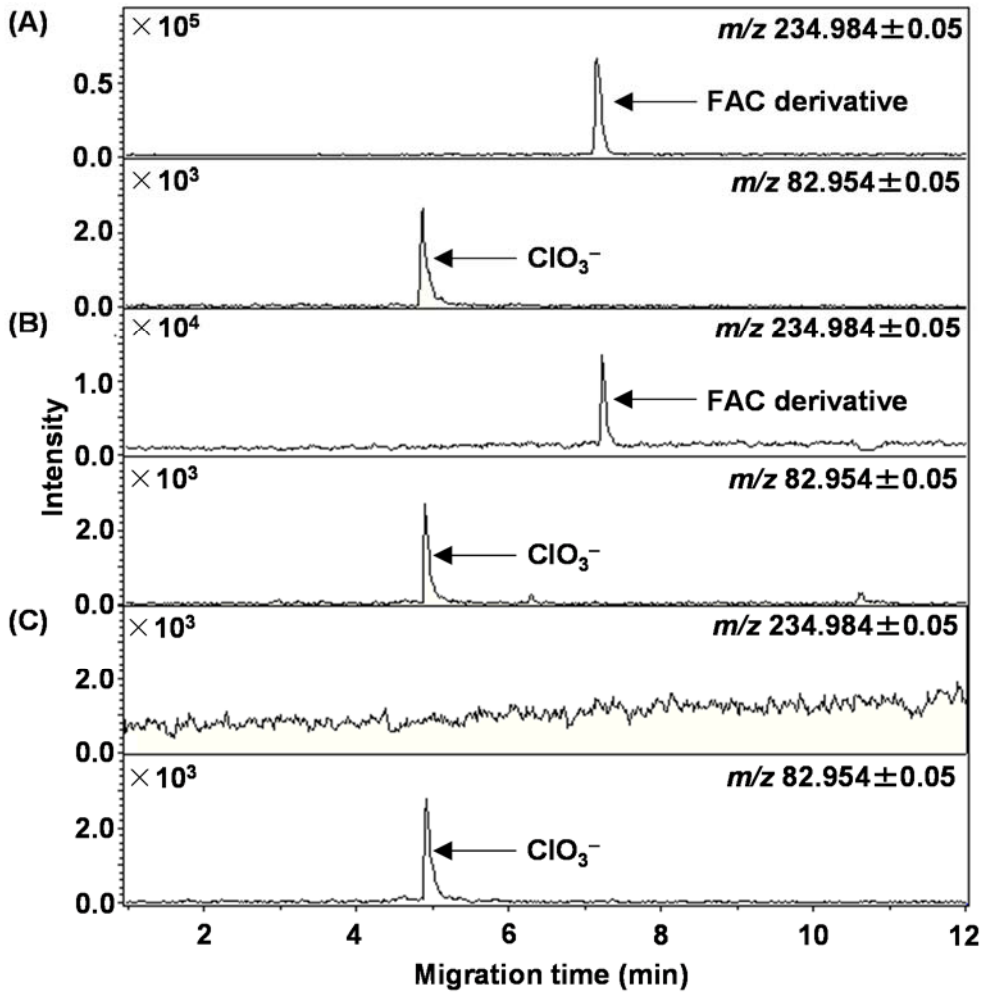


Fig. 3-8 Mass electropherograms of the derivatized products obtained from (A) mineral water, (B) soft drink, and (C) green tea spiked with FAC at 1000 μg/mL and ClO_3^- at 100 μg/mL, respectively.

つぎに，本法で求めたFACおよびClO_3^-回収率と第2章で確立したGC/MS分析法[33]で求めたFAC回収率，従来法であるIC分析法[6]で求めたClO_3^-回収率をそれぞれ比較した（Table 3-3）．その結果，両者の結果はほぼ一致し，本法が信頼性の高い分析法であることが示された．なお，清涼飲料水におけるFACの低回収率は，本実験で用いた清涼飲料水に含有される還元作用をもつカロテノイドがFAC濃度低下をもたらした結果であると考えられる．

Table 3-3　Recoveries from drink samples spiked with FAC and ClO_3^- [a].

Drink samples	Recovery (%)			
	Proposed method[b]		GC/MS method[c]	IC method[d]
	FAC	ClO_3^-	FAC	ClO_3^-
Mineral water	94.6 ± 2.4	100.9 ± 11.0	98.4	100.6
Soft drink	16.3 ± 2.2	94.3 ± 1.7	20.4	102.5
Green tea	not detected	95.0 ± 4.1	not detected	102.2

[a] FAC concentration: 1000 μg/mL. ClO_3^- concentration: 100 μg/mL.

[b] Mean ± SD (n = 3).

[c] Values determined by GC/MS method according to Ref. 33).

[d] Values determined by IC method according to Ref. 6).

3.3.6　模擬法科学試料の分析

液体（塩素系漂白剤）を衣服にかけ，変色させた．A：衣服の変色部分，B：液体（塩素系漂白剤）の2点を模擬法科学試料として，本法で分析した．その結果，試料Aの水抽出物からFACは検出されなかったが，ClO_3^-は検出された．また，試料Bからは，FACおよびClO_3^-が検出された．なお，試料Bの定量値は，FAC：4.3×10^4 μg/mL，ClO_3^-：9.9×10^3 μg/mLであった．

3.4　結論

本章では，CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^-の迅速かつ特異的同時分析法を確立した．すなわち，第 2 章で開発した誘導体化法を応用して，FAC を安定な水溶性の *p*-スチレンスルホン酸クロロヒドリンへ選択的に誘導体化することで，CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^-同時分析が可能となった．

本法は誘導体化が迅速で，なおかつCE/TOF-MSによる特異的分析法であるので，FACそのものが分解して検出されないFACが関与した犯罪・事故に対する迅速なFAC使用の証明法として極めて有効である．

参考文献

1) 日本ソーダ工業会統計資料，http://www.jsia.gr.jp/statistics.html (アクセス日：2013 年 8 月 14 日).

2) Garcia-Villanova R. J., Leite M. V. O. D., Hierro J. M. H., De Castro Alfageme S. and Hernández C. G., Occurrence of bromate, chlorite and chlorate in drinking waters disinfected with hypochlorite reagents. Tracing their origins. *Sci. Total Environ.*, **408**, 2616–2620, 2010.

3) Bolyard M. and Fair P. S., Occurrence of chlorate in hypochlorite solutions used for drinking water disinfection. *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1663–1665, 1992.

4) Su Y. S., Morrison III D. and Ogle R. A., Chemical kinetics of calcium hypochlorite decomposition in aqueous solutions. *J. Chem. Health Saf.*, **16**, 21–25, 2009.

5) Deborde M. and Von Gunten U., Reaction of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment–Kinetics and mechanisms: A critical review. *Water Res.*, **42**, 13–51, 2008.

6) 阿部積，風間守，工藤雅孝，衣類などに付着した塩素系漂白剤の挙動．日本法科学技術学会誌，**17**，75–81，2012.

7) World Health Organization, *Guidelines for Drinking-water Quality, 4th ed.*, Geneva, 2011.

8) Erdinger L., Kirsch F. and Sonntag H.-G., Chlorate as an inorganic disinfection by product in swimming pools. *Zbl. Hyg. Umweltmed.*, **202**, 61–75, 1999.

9) Schminke G. and Seubert A., Simultaneous determination of inorganic disinfection by-products and the seven standard anions by ion chromatography. *J. Chromatogr. A*, **890**, 295–301, 2000.

10) Zhu B., Zhong Z. and Yao J., Ion chromatographic determination of trace iodate, chlorite, chlorate, bromide, bromate and nitrite in drinking water using suppressed conductivity detection and visible detection. *J. Chromatogr. A*, **1118**, 106–110, 2006.

11) Nowack B. and Gunten U. V., Determination of chlorate at low μg/l levels by ion-

chromatography with postcolumn reaction. *J. Chromatogr. A*, **849**, 209–215, 1999.

12) 浅見真理，小坂浩司，松岡雪子，鴨志田公洋，IC/MS/MS 法を用いた環境水及び水道水中のハロゲン酸分析法と過塩素酸の検出．環境化学（*Journal of Environmental Chemistry*），**17**，363–375，2007.

13) Charles L. and Pépin D., Analysis of oxyhalides in water by ion chromatography-ionspray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **804**, 105–111, 1998.

14) Ahrer W. and Buchberger W., Analysis of low-molecular-mass inorganic and organic anions by ion chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **854**, 275–287, 1999.

15) Snyder S. A., Pleus R. C., Vanderford B. J. and Holady J. C., Perchlorate and chlorate in dietary supplements and flavor enhancing ingredients. *Anal. Chim. Acta*, **567**, 26–32, 2006.

16) Pisarenko A. N., Stanford B. D., Quiñones O., Pacey G. E., Gordon G. and Snyder S. A., Rapid analysis of perchlorate, chlorate and bromate ions in concentrated sodium hypochlorite solutions. *Anal. Chim. Acta*, **659**, 216–223, 2010.

17) Li X.-A., Zhou D.-M., Xu J.-J. and Chen H.-Y., Determination of chloride, chlorate and perchlorate by PDMS microchip electrophoresis with indirect amperometric detection. *Talanta*, **75**, 157–162, 2008.

18) Wang P., Li S. F. Y. and Lee H. K., Measurement of nitrate and chlorate in swimming pool water by capillary zone electrophoresis. *Talanta*, **45**, 657–661, 1998.

19) Themelis D. G., Wood D. W. and Gordon G., Determination of low concentrations of chlorite and chlorate ions by using a flow-injection system. *Anal. Chim. Acta*, **225**, 437–441, 1989.

20) Miller K. G., Pacey G. E. and Gordon G., Automated iodometric method for determination of trace chlorate ion using flow injection analysis. *Anal. Chem.*, **57**, 734–737, 1985.

21) Hosseini S. G., Pourmortazavi S. M. and Gholivand Kh., Spectrophotometric determination of chlorate ions in drinking water. *Desalination*, **245**, 298–305, 2009.

22) JIS K0102，工場排水試験方法，2013.

23) Johnson S. K., Houk L. L., Johnson D. C. and Houk R.S., Determination of small carboxylic acids by capillary electrophoresis with electrospray-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **389**, 1–8, 1999.

24) Soga T., Ueno Y., Naraoka H., Ohashi Y., Tomita M. and Nishioka T., Simultaneous determination of anionic intermediates for *Bacillus subtilis* metabolic pathways by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **74**, 2233–2239, 2002.

25) Soga T., Baran R., Suematsu M., Ueno Y., Ikeda S., Sakurakawa T., Kakazu Y., Ishikawa T., Robert M., Nishioka T. and Tomita M., Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption. *J. Biol. Chem.*, **281**, 16768–16776, 2006.

26) Soga T., Ohashi Y., Ueno Y., Naraoka H., Tomita M. and Nishioka T., Quantative metabolome analysis using capillary electrophoresis mass spectrometry. *J. Proteome Res.*, **2**, 488–494, 2003.

27) Iwamuro Y., Iio-Ishimaru R., Chinaka S., Takayama N., Kodama S. and Hayakawa K., Analysis of phosphorous-containing amino acid-type herbicides by capillary electrophoresis/mass spectrometry using a chemically modified capillary having amino groups. *J. Health Sci.*, **56**, 606–612, 2010.

28) 得能祝，山本協明，曽我光雄，原田英生，低級オレフィンのオキシド，グリコールおよびポリグリコールの製造に関する研究（第 2 報）プロピレンオキシドの製造．油化学，**10**，600–606，1961.

29) 得能祝，山本博明，高月昭，低級オレフィンのオキシド，グリコールおよびポリグリコールの製造に関する研究（第 4 報）ブチレングリコールの製造．油化学，**11**，286–290，1962.

30) 得能祝，山本博明，低級オレフィンのオキシド，グリコールおよびポリグリコールの製造に関する研究（第 5 報）オレフィン（エチレン，プロピレン，ブチレン）の比較．油化学，**12**，23–26，1963.

31) 得能祝，プロピレンオキシドの動向．油化学，**14**，454–462，1965．

32) Lambert J. D. and Elias R. J., The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention. *Arch. Biochem. Biophys.*, **501**, 65–72, 2010.

33) Wakigawa K., Gohda A., Fukushima S., Mori T., Niidome T. and Katayama Y., Rapid and selective determination of free chlorine in aqueous solution using electrophilic addition to styrene by gas chromatography/mass spectrometry. *Talanta*, **103**, 81–85, 2013.

第 4 章　CE/TOF-MS による全血中 Li^+ の迅速かつ特異的分析法の開発

4.1　序論

法科学領域においては，自殺，中毒死，変死事案などにおける死因究明の一環として，死者の生体試料中の薬毒物分析が行われる．また，殺人事件，傷害事件，交通事故などの犯罪・事故に関与した生存者の生体試料中の薬毒物分析を行い，薬毒物の影響下にある犯罪・事故であったかどうかを推定する．いずれも人権が関与する真実究明であるので，確実な原因物質の同定を行わなければならない．

Li^+ 製剤は躁病，双極性障害の代表的な治療薬であり，前述した犯罪・事故において，しばしば法科学的に分析対象となる薬毒物の一つである．血清中の治療濃度域は 0.3～1.2 mM であり，1.5 mM を超えると中毒濃度域とされている [1]．このように治療濃度域と中毒濃度域の境界域が極めて狭いので，有効性および安全性の観点から，患者の血清中 Li^+ 濃度を定期的にモニタリングすることが必要不可欠であり，医療領域においては，イオン選択性電極法（ion-selective electrode, ISE）[2–5]，原子吸光法（atomic absorption spectrometry, AAS）[6–9] などで血清中 Li^+ 濃度測定が行われている．したがって，これまでの Li^+ 分析法の開発は濃度測定を目的とした定量分析が主流で，なおかつ新鮮な血清が対象であった．

一方，法科学試料は医療領域における新鮮な血清とは異なり，全血しかも腐敗したものが少なくない．また，試料量が微量で限りがある．これらの試料は新鮮な血清に比べ，分析に及ぼすマトリックスの影響が著しい．このような複雑なマトリックス中の薬毒物分析法の一つとして，CE が利用されてきた [10]．CE の特徴として，(1)キャピラリー内に生じる電気浸透流による平面的な流れのために，高い理論段数が実現され高分離能である，(2)電場中での溶質の移動度の差に基づいて分離するので，電荷を持つイオン性物質の分離分析に優れている，(3)分離部として内径が非常に小さいキャピラリーを用いるので，試料注入量が nL オーダーと極めて微量であるなどが挙げられる．これらの特徴を活かして，タンパク質，脂質，糖質，無機イオンなどから構成される複雑なマトリックスである全血中のイオン性物質（アルキルジピリジリウム塩系農薬であるパラコートおよびジクワット）[11]，多種類の電解

質から構成される尿中のイオン性物質（大麻成分であるテトラヒドロカンナビノールの代謝物）[12]を，希釈とろ過の簡単な前処理だけで，CE 分析できることが報告されている（Fig. 4-1）．

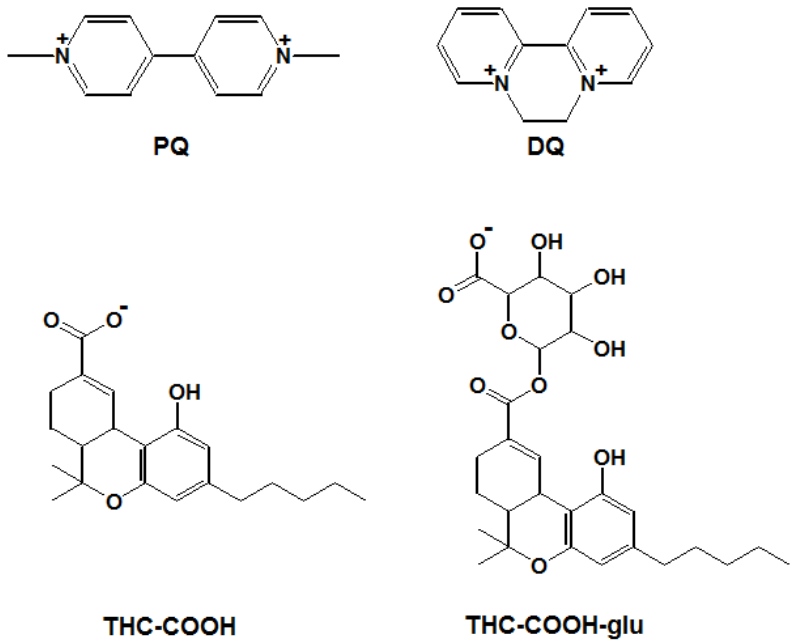


Fig. 4-1　Structures of the ionic compounds in biological fluids analyzed by CE. PQ: paraquat, DQ: diquat, THC-COOH: 11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid, THC-COOH-glu: 11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid glucuronide.

一方，TOF-MS は精密質量分析可能で高分解能であることから，複雑なマトリックス中の薬毒物分析に適している．したがって，高分離能を有する CE と高分解能を有する TOF-MS を組み合わせた CE/TOF-MS は，複雑なマトリックス中の薬毒物分析に極めて有効である．さらに，医療領域で汎用されている ISE，AAS は金属イオン分析に限定されるが，CE/TOF-MS は金属イオン以外の様々な薬毒物も分析できるので有用な分析法である．

ホストーゲスト化学という学問分野の発端となったクラウンエーテルは，Fig. 4-2 に示すような大環状ポリエーテルの総称であり，静電相互作用に基づいて，空孔内にゲストである金属イオンを取り込んで安定な錯体を形成する．錯体形成のしやすさは，ホストであるクラウンエーテルの環サイズ，ゲストである金属イオンの電

荷や大きさ，そして周囲の環境，すなわち溶媒やカウンターアニオンの種類に依存する[13]．また，クラウンエーテルを化学修飾することによって，金属イオン認識能が変化し，選択性が発現する[14]．この性質を利用して，有機合成における相間移動触媒，ISE 用ニュートラルキャリアー，比色定量用クロモイオノフォア，イオン交換クロマトグラフィー用担体などに応用され，これまでに数多くの機能性クラウンエーテルが合成されている[15]．

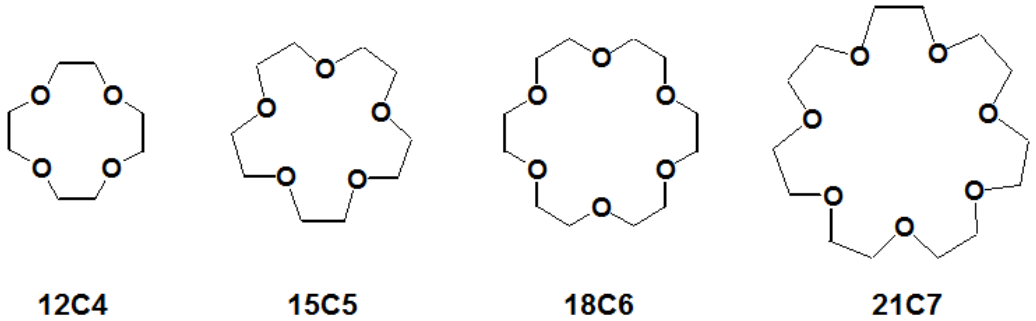


Fig. 4-2　Structures of the various crown ethers with different ring sizes. 12C4: 12-crown-4-ether, 15C5: 15-crown-5-ether, 18C6: 18-crown-6-ether, 21C7: 21-crown-7-ether.

そこで本章では，このホスト–ゲスト化学の概念に基づいた CE/TOF-MS による全血中 Li^+の迅速かつ特異的分析法の開発を行った．Li^+はそのままでは TOF-MS 分析ができないので，適度な *m/z* を付与し質量分析可能な物質へ変換するために，ホスト–ゲスト化学に基づく非共有結合型の誘導体化を行った．

4.2　実験方法

4.2.1　試薬

塩化リチウム（和光純薬工業製），塩化ナトリウム（和光純薬工業製），塩化カリウム（和光純薬工業製）を水に溶解し，それぞれ 100 mM の標準水溶液を調製した．誘導体化剤として，12–クラウン–4–エーテル（12C4，東京化成工業製），1–アザ–12–クラウン–4–エーテル（AZA12C4，東京化成工業製），ジベンジル–14–クラウン–4（DB14C4，和光純薬工業製），2,9–ジ–*n*–ブチル–1,10–フェナントロリン（DBPT，東京化成工業製），15–クラウン–4[4–（2,4–ジニトロフェニルアゾ）フェノール]（AZO15C4，東京化成工業製）を用いた．水は Merck Millipore 製 Milli-Q Integral 5L で精製した超純水を用いた．

4.2.2　試料調製

全血試料 50 μL に 1 M ギ酸 200 μL を加え，撹拌した後，遠心分離を行った．上清 200 μL を限外ろ過（Merck Millipore 製アミコンウルトラ-0.5，分画分子量 3000，14000 × *g* で 10 分間）した後，ろ液を分析試料とした．

4.2.3　装置および分析条件

<u>CE 部</u>　装置：Beckman Coulter 製 P/ACE System MDQ，キャピラリー：Beckman Coulter 製フューズドシリカキャピラリー（長さ 90 cm，内径 50 μm，外径 375 μm），キャピラリー温度：20°C，　BGE：1 M ギ酸，試料注入：試料を注入（1 psi × 10 秒間）後，BGE を注入（1 psi × 5 秒間），印加電圧：+30 kV．試料注入前に毎回，BGE（40 psi × 3 分間）で通液した．

<u>MS 部</u>　装置 : Bruker Daltonics 製 micrOTOF II，スプレイヤー : Agilent Technologies 製 G1607，シース液：100 μM DB14C4/90% (v/v)メタノール水溶液，シース液流量：0.01 mL/min，イオン化法：ESI（ポジティブモード），測定範囲：*m/z* 50～500，end plate offset : –500 V，capillary voltage : –4500 V，capillary exit of transfer : 70 V，hexapole radio frequency of transfer : 20 Vpp，窒素ガス温度 : 200°C，窒素ガス流量 : 4.0 L/min，ネブライザーガス圧力：0.4 bar．質量校正には，5 mM ギ酸ナトリウム/50% (v/v)ア

セトニトリル水溶液を用いた．

4.3　結果および考察

4.3.1　分析条件の最適化

誘導体化剤の種類，誘導体化剤の濃度および分離条件について，検討を行った．

(1)　誘導体化剤の検討

Fig. 4-3 に示す 5 種類の誘導体化剤（12C4, AZA12C4, DB14C4, DBPT, AZO15C4）について，検討を行った．

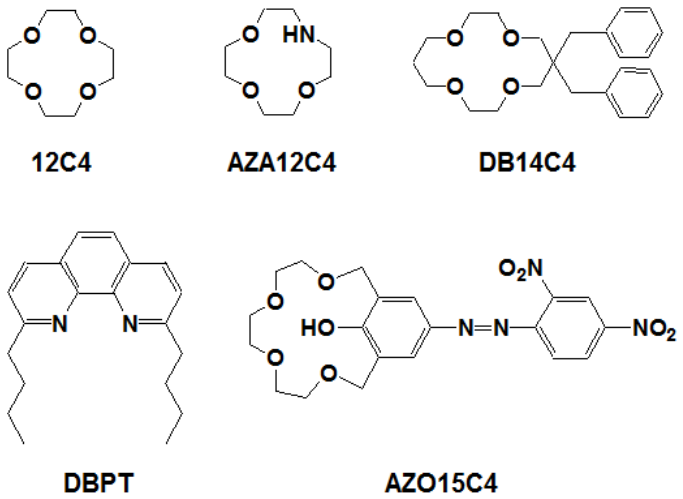


Fig. 4-3 Structures of the derivatization reagents studied.

12C4，AZA12C4のクラウンエーテル環サイズは，Li^+サイズにフィットする[13,15–17]．DB14C4, DBPTはLi^+選択性電極用ニュートラルキャリアーとして合成された試薬であり[18–21]，AZO15C4はLi^+用クロモイオノフォアとして合成された試薬である[22,23]．評価法としては，Li^+と各誘導体化剤の混合溶液を，それぞれシリンジポンプでTOF-MS装置へ導入し，各Li^+誘導体の分子イオンの強度で比較を行った．DBPTはLi^+:DBPT = 1:2錯体を安定に形成することが確認されている[19]ので，確認は1:2錯体に相当する分子イオンで行い，これ以外の各Li^+誘導体の確認は1:1錯体に相当する分子イオンで行った．その結果，Fig. 4-4に示すように，Li^+–DB14C4が最も高感度で

あった．DB14C4以外の誘導体化剤はプロトン付加体の生成比率が圧倒的に高く，Li^+錯体形成を抑制した．また，12C4はプロトン付加体以外にもナトリウムイオン（Na^+）:12C4 = 1:1錯体，そして1:2のいわゆるサンドウィッチ型錯体の生成比率も高かった．DB14C4は，このようなNa^+の取り込みを抑制するために，嵩高いジベンジル基を導入し，Li^+選択性が向上するよう分子設計されたものであり，本実験においてもNa^+錯体形成は抑制された．

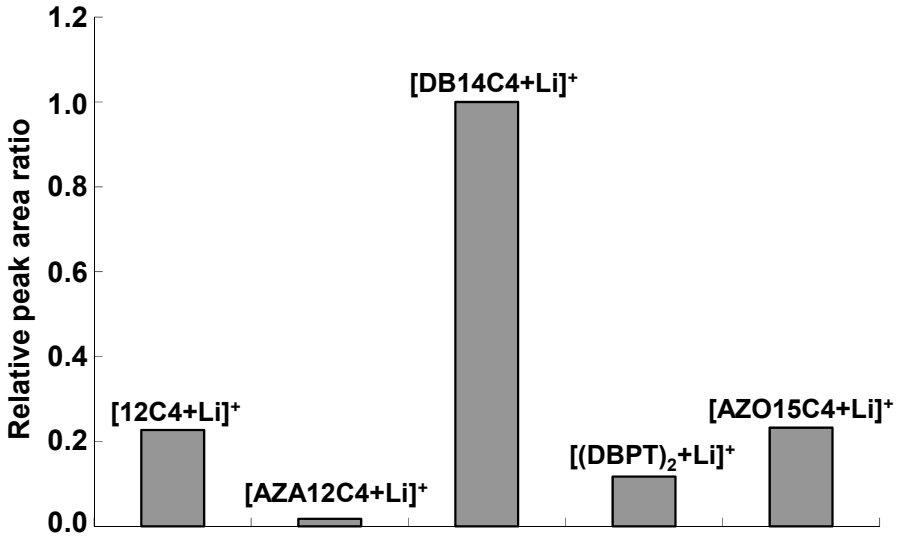


Fig. 4-4　Comparison of each signal of Li^+-complex. Injection samples: each mixed solution of 0.1 mM Li^+ in water and 0.1 mM derivatization reagent in methanol at a ratio of 1:1(v/v). Sheath liquid: methanol. Each value represents the mean of three measurements.

(2)　分離条件の検討

全血は，タンパク質，脂質，糖質，無機イオンなどの複雑なマトリックスで構成されている．中でも，全血中 Na^+濃度は 79.0～105.0 mM [24]，全血中カリウムイオン（K^+）濃度は 45.0～51.5 mM [24]であり，通常測定する Li^+濃度に比べて圧倒的に高い．

そこで，まずLi^+，Na^+，K^+の混合溶液を用いて，CE分離条件の検討を行った．検討条件としては，以下の3条件で行った．すなわち，プレキャピラリー誘導体化法を用いた条件AおよびB，ポストキャピラリー誘導体化法を用いた条件Cで行った．な

お，ポストキャピラリー誘導体化法は，まずフリーの金属イオンの形でキャピラリーに導入し、分離後にシース液中にあらかじめ添加したDB14C4と錯形成させる方法で行った．ポストキャピラリー誘導体化法におけるスプレイヤー先端の模式図をFig. 4-5に示す．

条件A　プレキャピラリー誘導体化法

試料：0.1 mM Li^+，1.0 mM Na^+，1.0 mM K^+，10 mM DB14C4の混合溶液

BGE：1 M ギ酸

シース液：90% (v/v)メタノール水溶液

条件B　プレキャピラリー誘導体化法

試料：0.1 mM Li^+，1.0 mM Na^+，1.0 mM K^+，10 mM DB14C4の混合溶液

BGE：メタノール

シース液：90% (v/v)メタノール水溶液

条件C　ポストキャピラリー誘導体化法

試料：0.1 mM Li^+，1.0 mM Na^+，1.0 mM K^+の混合溶液

BGE：1 M ギ酸

シース液：100 μM DB14C4/90% (v/v)メタノール水溶液

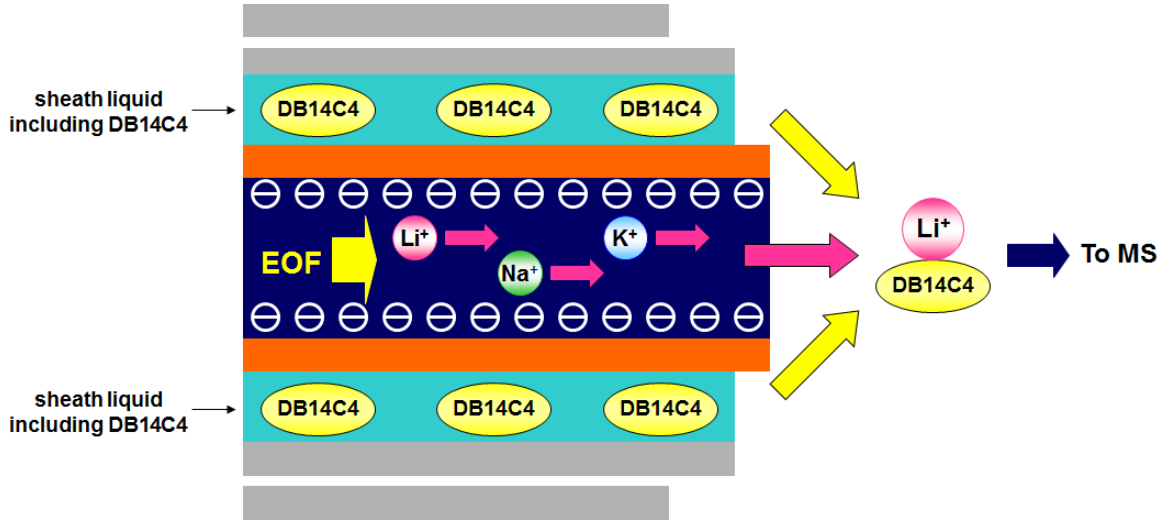


Fig. 4-5　Schematic diagram of the tip of a sprayer in post-capillary derivatization.

検討した結果，条件Aでは，いずれの金属イオン錯体も観測されなかった（Fig. 4-6A）.また, 条件Bでは, 全ての金属イオン錯体が観測されたが, 分離しなかった（Fig. 4-6B）．クラウンエーテルのコンフォメーションは，溶媒の極性に著しく影響を受ける[15]．すなわち，極性の高い溶媒中であれば，クラウンエーテルの酸素原子の非共有電子対は溶媒の方向を向き，クラウンエーテルの内部はアルキレン骨格により疎水的な空洞を形成する．逆に極性の低い溶媒中では，コンフォメーションは反転し, 酸素原子の非共有電子対は空洞内を向く. このように, 極性の低い溶媒中では, 金属イオンとの結合サイトである酸素原子は，中心に位置して事前組織化されており，金属イオンとクラウンエーテルが多点相互作用するので，その錯形成定数は大きい[16]．例えば，メタノール中におけるK^+と18C6の錯形成定数は，水中における錯形成定数の約10000倍である[25]．したがって，BGEとして極性の高い水系を用いた条件Aでは，安定な錯体が形成されず，ピークが観測されなかったと考えられる．また，BGEとして水よりも極性の低いメタノールを用いた条件Bでは，安定な錯体は形成されたが，分離しなかった．これは，3種類の金属イオン錯体の電荷密度がほぼ同じであり，移動度に差が生じなかったためと考えられる．一方，条件CではFig. 4-6C に示すように，3種類の金属イオンの電荷密度の差に基づいて良好に分離した．Li^+，Na^+，K^+のイオン半径の大きさの序列は$K^+ > Na^+ > Li^+$であるが，水溶液中では水和されており，その水和イオン半径の大きさの序列は逆転し，$Li^+ > Na^+ > K^+$である[26]．このため，水和イオン半径が最も大きいLi^+が最も遅く検出された．

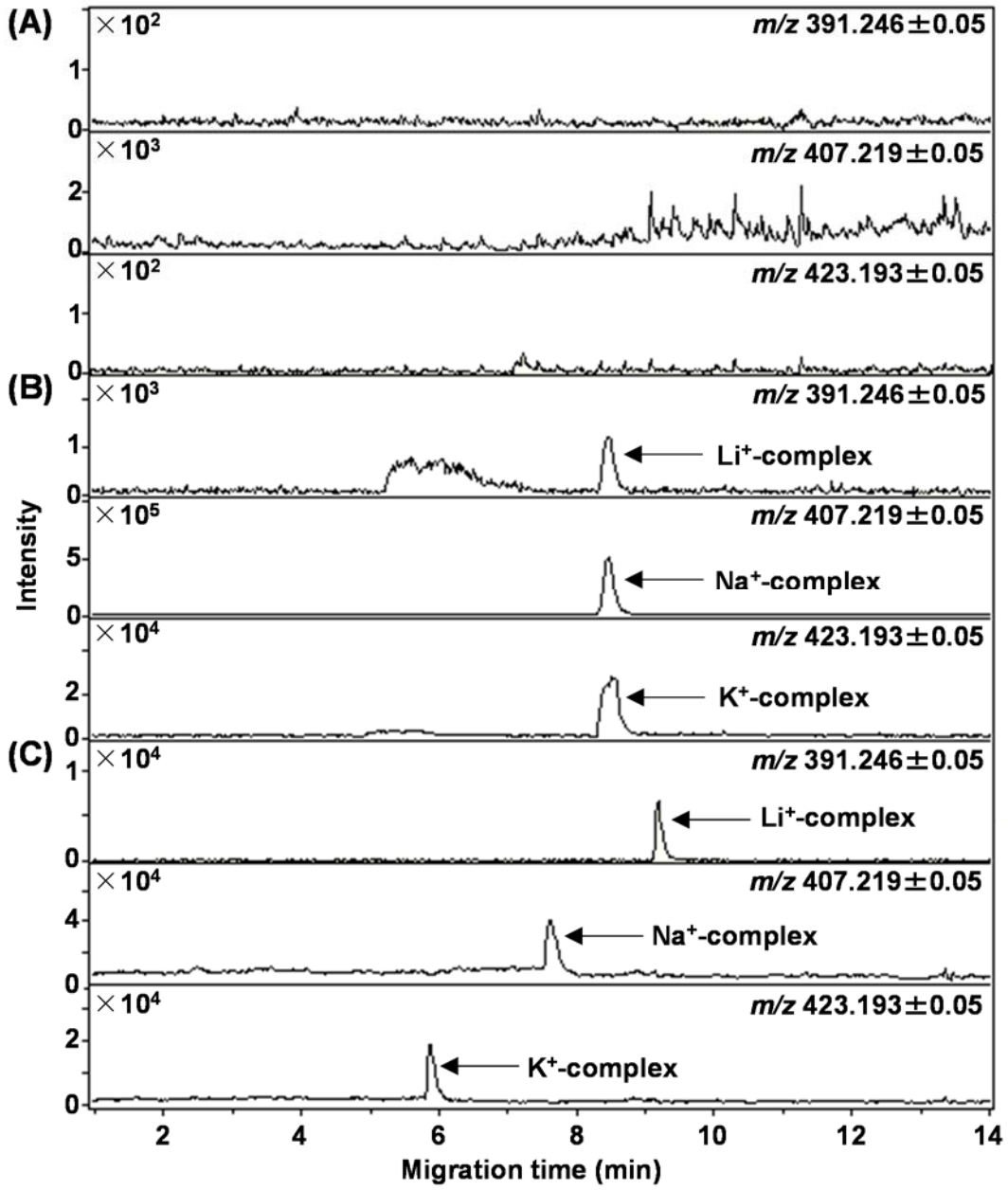


Fig. 4-6 Mass electropherograms of the derivatized products obtained from the samples spiked with Li^+, Na^+, and K^+. (A) Pre-capillary derivatization. Injection sample: a mixed solution of 0.1 mM Li^+, 1.0 mM Na^+, 1.0 mM K^+, and 10 mM DB14C4 in methanol/water (9:1, v/v). BGE: 1 M formic acid. Sheath liquid: methanol/water (9:1, v/v). (B) Pre-capillary derivatization. Injection sample: a mixed solution of 0.1 mM Li^+, 1.0 mM Na^+, 1.0 mM K^+, and 10 mM DB14C4 in methanol/water (9:1, v/v). BGE: methanol. Sheath liquid: methanol/water (9:1, v/v). (C) Post-capillary derivatization. Injection sample: a mixed solution of 0.1 mM Li^+, 1.0 mM Na^+, and 1.0 mM K^+ in water. BGE: 1 M formic acid. Sheath liquid: 100 μM DB14C4 in methanol/water (9:1, v/v).

(3)　シース液中 DB14C4 濃度の検討

0.1 mM Li^+水溶液を用いて，シース液中 DB14C4 の種々の濃度（1，10，100，1000 μM）で検討を行った．その結果，100 μM で Li^+誘導体は最も高い強度を示した．1000 μM では，スプレイヤー先端に DB14C4 が析出し，安定にスプレーされなかった．

4.3.2　模擬法科学試料の分析

Li^+を添加した溶血した全血試料（Li^+濃度：0.5 mM）を模擬法科学試料として，本法で分析した．その結果，Li^+は圧倒的に濃度の高い Na^+および K^+，そして他の血液常成分から妨害を受けずに，鋭いピークとして観測された（Fig. 4-7）．なお，全血中 Li^+の LOD は 0.05 mM（S/N > 3）であった．

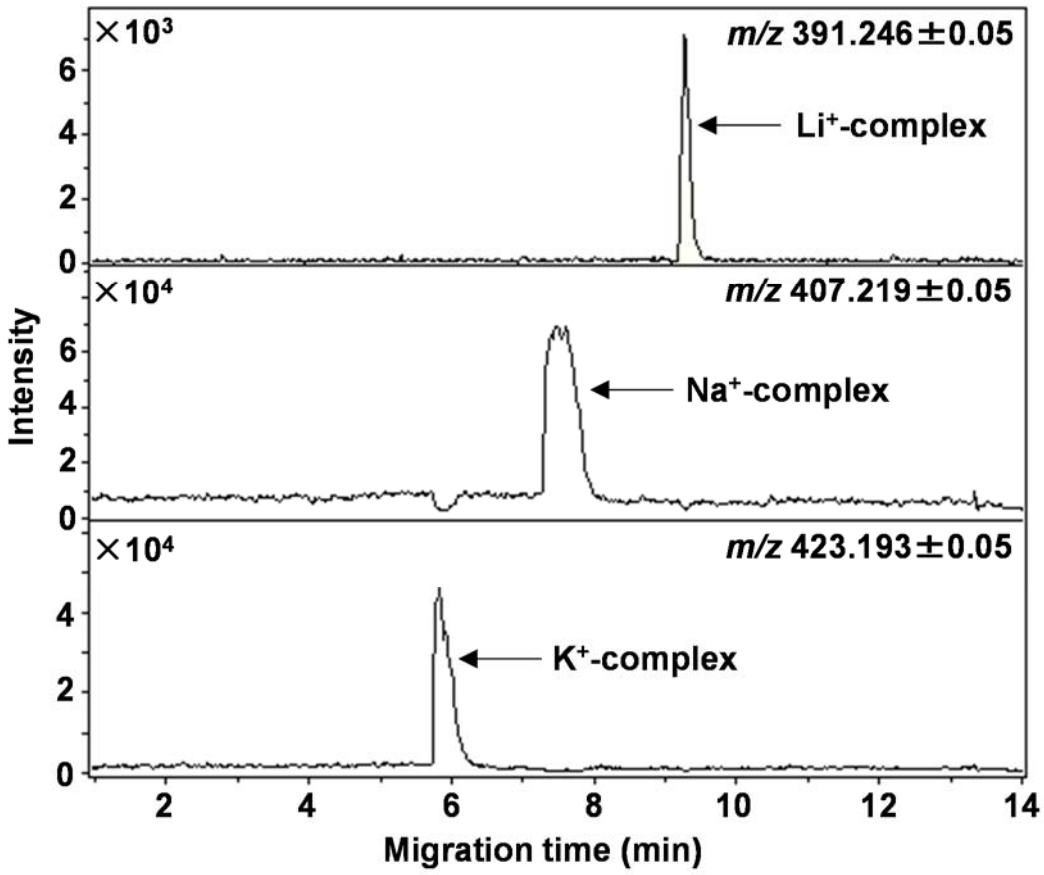


Fig. 4-7　Mass electropherograms of the derivatized product obtained from the whole blood spiked with Li^+ at 0.5 mM.

4.4　結論

本章では，CE/TOF-MS による全血中 Li^+の迅速かつ特異的分析法を確立した．すなわち，まずフリーの金属イオンの形でキャピラリーに導入し、分離後にシース液中にあらかじめ添加した Li^+選択性の高いクラウンエーテルである DB14C4 と錯形成させる，いわゆるポストキャピラリー誘導体化法により選択的に誘導体化を行うことで，CE/TOF-MS による全血中 Li^+分析が可能となった．

本法は前処理が簡便で，なおかつ試料量が極少量で行えるCE/TOF-MSによる特異的分析法であるので，法科学試料のような試料量に制限がある場合に，特に優れた分析法である．

参考文献

1) リーマス®錠 100 リーマス®錠 200 インタビューフォーム，大正富山医薬品株式会社，2012 年 9 月（第 5 版）.
2) Linko S., Automated ion-selective measurement of lithium in serum. A practical approach to result-level verification in a two-way method validation. *Accred. Qual. Assur.*, **6**, 31–36, 2001.
3) Okorodudu A. O., Burnett R. W., McComb R. B. and Bowers Jr. G. N., Evaluation of three first-generation ion-selective electrode analyzers for lithium: Systematic errors, frequency of random interferences, and recommendations based on comparison with flame atomic emission spectrometry. *Clin. Chem.*, **36**, 104–110, 1990.
4) Sampson M., Ruddel M. and Elin R. J., Lithium determinations evaluated in eight analyzers. *Clin. Chem.*, **40**, 869–872, 1994.
5) 森信繁，十束支朗，大久保和弘，電極法を用いた簡便迅速型血清リチウム濃度測定法の有用性．臨床精神医学，**21**，1331–1335，1992.
6) 玉利祐三, 健常者のリチウム摂取量と血清リチウム濃度－血液分析に及ぼす試薬中の不純物リチウム．*Biomed. Res. Trace Elements*，**16**，250–257，2005.
7) 田村善蔵，堀岡正義，中枢神経系用薬 リチウム（Lithium），－薬物治療適正化のための－薬物血中濃度測定の実際. pp. 205–218, 薬業時報社, 東京, 1980.
8) 高橋修，リチウム．臨床検査，**34**，1468–1472，1990.
9) Miller N. L., Durr J. A. and Alfrey A. C., Measurement of endogenous lithium levels in serum and urine by electrothermal atomic absorption spectrometry: A method with potential clinical application. *Anal. Biochem.*, **182**, 245–249, 1989 .
10) Anastos N., Barnett N. W. and Lewis S. W., Capillary electrophoresis for forensic drug analysis: A review. *Talanta*, **67**, 269–279, 2005.
11) 成田有史，富岡なおこ，飯田英己，柳幸男，皆川節，キャピラリー電気泳動による血液中のパラコートおよびジクワットの分析. 日本法科学技術学会誌, **10**, 171–178，2005.

12) Iwamuro Y., I.-Ishimaru R., Chinaka S., Takayama N. and Hayakawa K., Analysis of 11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid and its glucuronide in urine by capillary electrophoresis/mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.*, **26**, 1452–1456, 2012.

13) 荒木孝二, 分子会合から分子認識へ, 妹尾学 (編), 荒木孝二 (編), 大月穣 (編) 超分子化学. 第 1 版, pp. 17–55, 東京化学同人, 東京, 1998.

14) 築部浩, クラウンエーテル化学の新展開ーイオン認識から超分子へ, 市村國宏（編), 青山安宏（編), 井上祥平（編), 上野昭彦（編), 小宮山真（編), 森井尚之（編）超分子をめざす化学. 第 1 版, pp. 15–24, 学会出版センター, 東京, 1997.

15) 小宮山真 (訳), 八代盛夫 (訳), 野口宏道 (訳), 小林正美 (訳), Vögtle F. （著), カチオンおよびアニオンのホストーゲスト化学, 超分子化学. 第 1 版, pp. 9–132, 丸善, 東京, 1995.

16) Yahmin, Pranowo H. D. and Armunanto R., AB initio investigation of 12-crown-4 and benzo-12-crown-4 complexes with Li^+, Na^+, K^+, Zn^+, Cd^+, and Hg^+. *Indo. J. Chem.*, **10**, 106–109, 2010.

17) Tsukube H., Armed crown ether complexes in supramolecular assembly. *Coord. Chem. Rev.*, **148**, 1–17, 1996.

18) Sugihara H., Okada T. and Hiratani K., Lithium ion-selective electrodes based on 1,10-phenanthroline derivatives. *Chem. Lett.*, **1987**, 2391–2392.

19) Sugihara H., Okada T. and Hiratani K., Lithium ion-selective electrodes based on 1,10-phenanthroline derivatives. *Anal. Sci.*, **9**, 593–597, 1993.

20) Kimura K., Oishi H., Miura T. and Shono T., Lithium ion selective electrodes based on crown ether for serum lithium assay. *Anal. Chem.*, **59**, 2331–2334, 1987.

21) Kimura K., Yano H., Kitazawa S. and Shono T., Synthesis and selective for lithium of lipophilic 14-crown-4 derivatives bearing bulky substituents or an additional binding site in the side arm, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1986**, 1945–1951.

22) Kaneda T., Sugihara K., Kamiya H. and Misumi S., Synthetic macrocyclic ligands. IV.

lithium ion-characteristic coloration of a “CROWNED” dinitrophenylazophenol. *Tetrahedron Lett.*, **22**, 4407–4408, 1981.

23) Nakashima K., Nakatsuji S., Akiyama S., Kaneda T. and Misumi S., The complexation of “Crowned” 4-(2,4-dinitrophenylazo)phenol with alkali and alkaline earth metal ions, and its application to the determination of Li(I) in a pharmaceutical preparation. *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 168–173, 1986.

24) Bugyi H. I., Magnier E., Joseph W. and Frank G., A method for measurement of sodium and potassium in erythrocytes and whole blood. *Clin. Chem.*, **15**, 712–719, 1969.

25) Izatt R. M., Pawlak K. and Bradshaw J. S., Thermodynamic and kinetic data for macrocycle interaction with cations and anions. *Chem. Rev.*, **91**, 1721–2085, 1991.

26) 渡辺昌祐，Lithium の血中濃度と臨床，精神神経科領域における薬剤の血中濃度と臨床．pp. 75–144，大日本製薬，大阪，1985.

第 5 章　結言

法科学領域において，質量分析は高感度で確実な化学物質同定法として汎用されている．分析結果（鑑定結果）は，公判で事実関係が審理されることを前提としているので，この証明力の高い質量分析による確実な物質同定が必要であり，公判でもその有効性が広く認められている．しかし，膨大な種類の全ての化学物質が質量分析により分析できるわけではなく，未だ質量分析計を用いた法科学領域における分析法が確立されていない化学物質もいくつかあり，その分析法の確立が強く望まれている．

そこで本研究では，質量分析計を用いた法科学領域における分析法が確立されていない，なおかつ全国的に数多く犯罪・事故で散見する化学物質の中から FAC と Li^+を選定し，誘導体化技術を駆使した質量分析による迅速かつ特異的分析法の開発を行った．

第 2 章では，GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法を確立した．FAC の主な用途は，水道水，プール，入浴施設，下水処理用の消毒剤であり，その消毒効果を持続させるために水溶液中の有効塩素濃度を正確に分析し，適正に濃度管理することが要求される．したがって，これまでの FAC 分析法の開発は濃度測定を目的とした定量分析法が主流であり，物質同定を目的とした特異性の高い定性分析法は見当たらなかった．そこで本章では，質量分析による FAC の特異的な定性分析法の開発に主眼をおいて検討を行った．FAC は非常に不安定な化学物質のため，このままでは質量分析による分析は不可能であった．しかし，見方を変えて，FAC が反応性の高い化学物質であるというところに着目した．この高い反応性のために，有機合成化学の分野では古くから FAC のアルケンへの求電子付加反応に関する研究が精力的に行われてきた．この有機合成化学の分野で培われた完成度の高い技術と質量分析技術を組み合わせることで，FAC を安定なスチレンクロロヒドリンへ選択的に誘導体化し，GC/MS による水溶液中 FAC の迅速かつ特異的分析法を確立することができた．

第 3 章では，CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^-の迅速かつ特異的同

時分析法を確立した．FAC は塩基性水溶液以外では分解しやすく，FAC そのものを検出することが困難な場合がある．したがって，法科学領域では FAC の分解生成物の一つである ClO_3^-を検出することで，間接的に FAC 使用の証明を行っている．第 2 章で開発した GC/MS 分析法は，FAC に対しては優れた分析法であるが，不揮発性である ClO_3^-には適用できない．そこで本章では，イオン性物質の分析に適している CE/TOF-MS を用いて，水溶液中 FAC および ClO_3^-の迅速かつ特異的同時分析法の開発を行った．第 2 章で開発した誘導体化法を応用して，FAC を安定な水溶性の *p*–スチレンスルホン酸クロロヒドリンへ選択的に誘導体化した．その結果，CE/TOF-MS による水溶液中 FAC および ClO_3^-の迅速かつ特異的同時分析法を確立することができた．

第 4 章では，CE/TOF-MS による全血中 Li^+の迅速かつ特異的分析法を確立した．Li^+製剤は，古くから躁病，双極性障害の治療薬として使用されている．本剤の治療濃度域と中毒濃度域の境界域は極めて狭いので，有効性および安全性の観点から，患者の血清中 Li^+濃度を定期的にモニタリングすることが必要不可欠である．したがって，これまでの Li^+分析法の開発は濃度測定を目的とした定量分析法が主流で，なおかつ新鮮な血清が対象であり，全血中 Li^+の物質同定を目的とした特異性の高い定性分析法は見当たらなかった．そこで本章では，血清よりも複雑なマトリックスである全血を対象とし，定性分析法に主眼をおいた質量分析による Li^+分析法の開発を行った．Li^+に適度な *m/z* を付与するために，ホストーゲスト化学の分野で古くから精力的に研究がなされてきた技術を応用した．このホストーゲスト化学の分野で培われた完成度の高い技術と質量分析技術を組み合わせることで, Li^+選択性の高いクラウンエーテルで誘導体化し，CE/TOF-MS による全血中 Li^+の迅速かつ特異的分析法を確立することができた．

本研究で選定した FAC（正に分極した塩素原子が活性種）と Li^+の共通点は, Lewis 酸としての性質を有するという点である．一方，これまでの法科学領域における誘導体化技術は，Lewis 塩基としての性質を有するヒドロキシル基，カルボキシ基，アミノ基，リン酸基，無機アニオンなどの求核置換反応を利用したものが主流であ

った．このように相反する性質であるので，これまでの誘導体化技術をそのまま適用することができなかった．

そこで本研究では，有機合成化学，ホストーゲスト化学の分野で培われた技術に着目し，Lewis 酸としての性質を有する FAC と Li^+に対して新しい概念に基づく誘導体化法を考案し，確度の高い質量分析で迅速かつ正確に物質同定することを可能にした．本研究で開発した分析法は誘導体化が迅速で，しかも質量分析による特異的分析法であるので，これらの化学物質が使用された犯罪・事故の早期対応・解決に役立つことが期待される．

今後，犯罪・事故が複雑・巧妙化し，なおかつ新たな化学物質の増加により，分析困難な多様な法科学試料の出現が予想される．本研究で示したように，他の分野で培われた完成度の高い技術と質量分析技術を組み合わせれば，より迅速に物質同定法の開発を行うことができ，不測の事態にも十分対応できると思われる．

また，法科学分析技術の高度化は，従来の分析法では検出が困難で見過ごされるかもしれない法科学試料を，真実究明および犯罪・事故立証のための価値ある物的証拠へと導くことができる．したがって，常に最新の分析技術を取り入れ，多様な状況を想定して新規分析法を開発し続けることは，法科学に携わる者の重要な責務である．

本研究で開発した分析法が，法科学領域における犯罪・事故の真実究明に限定されず，質量分析を確認分析法として用いる他の分野（臨床分析，食品分析，環境分析など）においても応用されることを期待する．

謝辞

本研究を行うにあたり，終始懇切丁寧なる御指導，御鞭撻を賜りました九州大学大学院工学研究院 片山佳樹 教授に心より感謝の意を表します.

学位論文審査において，有益な御教示，御助言を頂きました九州大学大学院工学研究院 澤田廉士 教授，今任稔彦 教授，岸村顕広 准教授に深く感謝致します.

本研究を遂行する上で，貴重な御助言を頂きました九州大学大学院工学研究院 森健 准教授に深く感謝致します.

本研究を進めるにあたり，洞察力に富むコメント，研究に専念しやすい環境作りなど，様々な面から御支援を頂いた福岡県警察本部科学捜査研究所 福島直 副所長，合田明永 研究員に心より御礼申し上げます.

また，研究遂行にあたり，御支援を頂いた福岡県警察本部科学捜査研究所の皆様に感謝致します.

最後に，社会人博士課程入学を快諾してくれた妻，そして陰ながら支援してくれた家族に感謝します.

2014 年 2 月　著者