

第5回法医中毒研究会セミナー 「シアン化物、アジ化物、硫化物の分析」

目次

第5回法医中毒研究会セミナー開催にあたって	2
プログラム	3
セミナー1. シアン 瀬戸 康雄 先生（科学警察研究所法科学第三部）	5～16
セミナー2. アジ化物 工藤 恵子 先生（九州大学大学院医学研究院法医学分野）	17～34
セミナー3. 硫化物 山本 好男 先生（三重大学社会連携研究センター 伊賀研究拠点）	35～60

平成 28 年 3 月 18 日

法医中毒研究会会長 久保 真一

第 5 回法医中毒研究会セミナー開催にあたって

法医中毒研究会では、薬毒物分析マニュアルの項目について、会員の皆様に理解を深め、日常の分析実務に生かしていただくことを目的とし、セミナーを定期的を開催しております。

今回は、第 5 回となります。新津ひさえ先生（岩手医大）に世話人をお願いし、「シアン化物・アジ化物・硫化物」について取り上げます。

昨年、青酸が関係した事件が大きな話題となりました。どのような症例の時に、どのような方法で検査するのか、法医中毒研究会メーリングリスト上でも話題が出ましたが、検査法や結果の解釈などについても勉強できればと思います。また、アジ化物の事例は少ないのですが、いざという時のため知りたいところです。硫化物については自殺手段として流行したこともあり、事例を経験なさった方も多いので、それだけに聞きたい、確認したいことも多いのではないのでしょうか。この機会に無機化合物の分析についても理解を深めていければと思います。

第 5 回法医中毒研究会セミナーが、参加される皆様にとって有意義なものになることを期待しております。また、この機会に、会員相互の交流、情報交換もしていただければと思います。

第 5 回法医中毒研究会セミナープログラム

「シアン化物、アジ化物、硫化物の分析」

日 時： 平成 28 年 3 月 18 日（金）

13:00～17:00

会 場：アジレント・テクノロジー株式会社

東京芝浦オフィス 8 階ミーティングルーム

東京都港区芝浦 4-16-36 住友芝浦ビル

開会の挨拶 (13 : 00～13 : 10)

法医中毒研究会会長 久保 真一 先生（福岡大学）

セミナー

座長 奈女良 昭 先生（広島大学）

福家 千昭 先生（琉球大学）

1. シアン化物 (13 : 10～14:00)

瀬戸 康雄 先生（科学警察研究所）

質疑応答 (14:00～14 : 20)

2. アジ化物 (14 : 20～15 : 10)

「簡易検査法と GC-MS 分析を中心に」

工藤 恵子 先生（九州大学）

質疑応答 (15:10～15 : 30)

休憩 15 : 30-15 : 45

セミナー

3. 硫化物 (15 : 45~16 : 35)

「硫化物の分析」

山本 好男 先生 (三重大大学)

質疑応答 (16 : 35-16 : 55)

情報交換会 (18 : 00~)

シャンクレール 田町店 東京都港区芝浦 3-13-9 藤ビル 2F

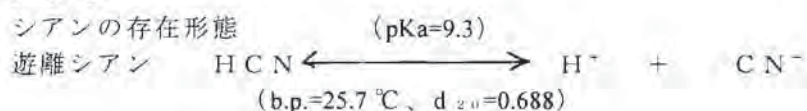
TEL 03-3454-6207

セミナー会場から徒歩 10 分程度、J R 田町駅から徒歩 3 分

揮発性毒物検査法

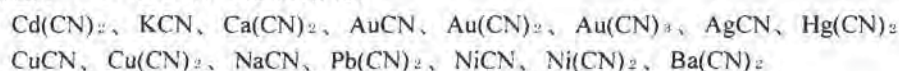
1. シアン

(1) シアンの存在形態



金属塩

無機シアン化合物（毒物指定）



シアノ錯体

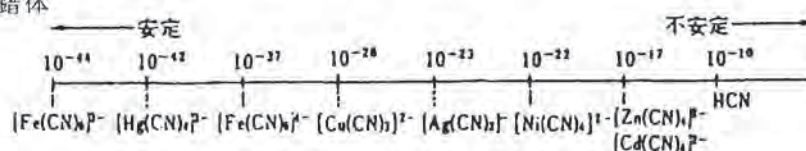
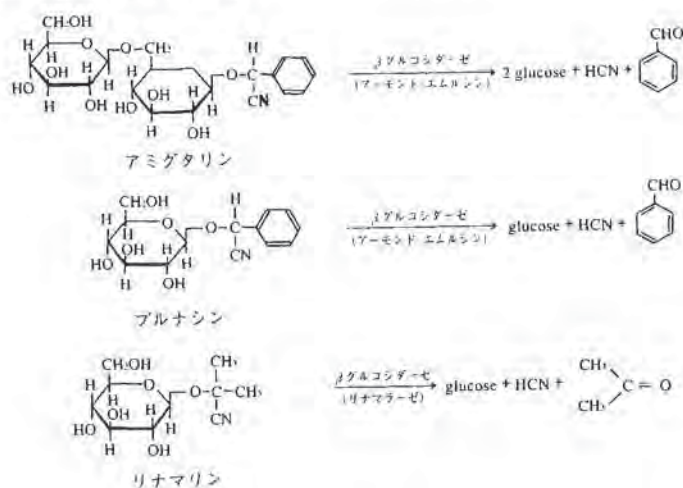


図 錯イオンのCN⁻の解離定数

シアン配糖体

加水分解によりシアン遊離



有機シアン化合物（劇物指定）

アジホ[®]ニトリル、アセトニトリル、イソフ[®]チロニトリル、エチレンシアンヒド[®]リソ、2,3-ジ[®]ブ[®]ロム[®]ロビ[®]オニトリル、
 3,5-ジ[®]ヨド[®]-4-オクタノイルオキソヘ[®]ンソ[®]ニトリル、
 2-(4-クロロ-6-エチルアミノ-S-トリアジ[®]ン-2-イソアミノ)-2-メチル-ブ[®]ロビ[®]オニトリル、

チオシアン酸 (SCN⁻)

酸化性物質によりシアン生成

(2) シアンの毒性

急性毒性 致死：激烈、短時間に発現、中枢神経麻痺－呼吸停止
 中毒：めまい、脱力、頭痛、耳鳴り、嘔吐
 慢性中毒 不確定

表 シアンの致死量

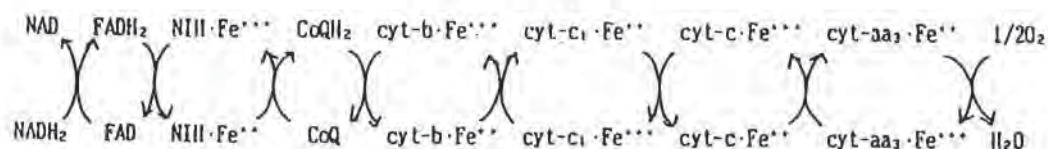
HCN	人	経口	LDL ₅₀	0.57 mg/kg
HCN	人	吸入	LCL ₀	180 ppm・10 min
KCN	ラット	経口	LD ₅₀	10 mg/kg
KCN	マウス	皮下	LD ₅₀	6 mg/kg
NaCN	ラット	経口	LD ₅₀	6.4 mg/kg
NaCN	マウス	皮下	LDL ₀	10 mg/kg
NCCN	ラット	吸入	LCL ₅₀	350 ppm・1 hr
NCCN	マウス	吸入	LCL ₀	740 mg/m ³

表 青酸ガスに対する生理的応答（ヒト）

応答	濃度	
	mg/L	ppm
即死	0.3	270
10分で死亡	0.2	181
30分で死亡	0.15	135
30分から1時間で死亡、それ以降きわめて危険	0.12-0.15	110-135
30分から1時間の吸入では、急（亜）毒性なし	0.05-0.06	45-54
数時間吸入も影響なし	0.02-0.04	18-36

毒性機構

図 呼吸鎖

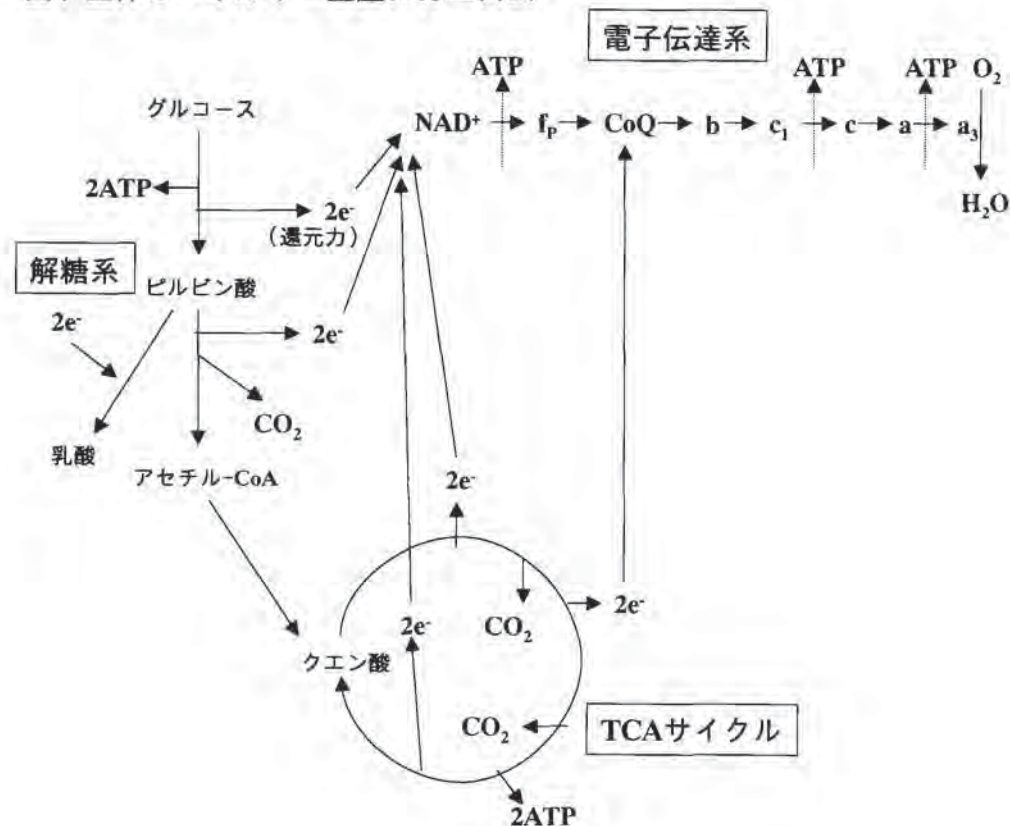


シトクロム a a₃の酸化型と強力に結合→シトクロームオキシダーゼ活性阻害
（組織中毒性酸素欠乏症）

酸素を必要とする組織で酸素が利用不可能

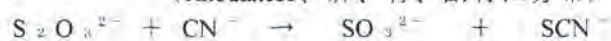
特に、大量酸素消費組織の脳（呼吸中枢）では致命傷

図、生体のエネルギー生産メカニズム



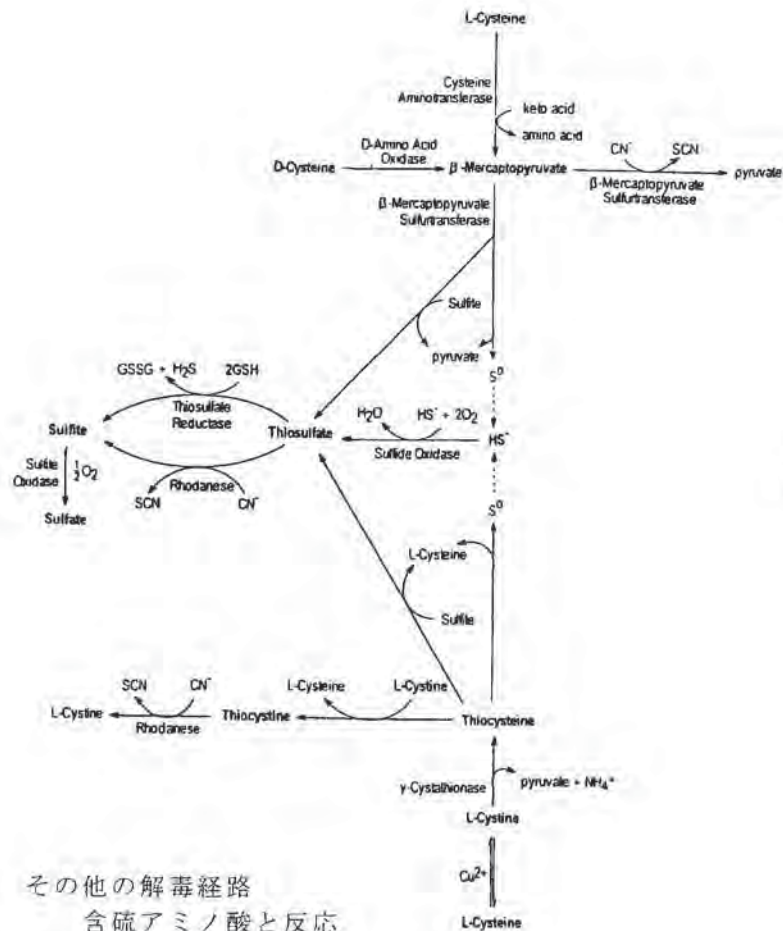
（3）シアンの体内解毒機構とシアン中毒の応急処置 主要解毒機構

（Rhodanese、肝、腎、副腎に分布）



システイン代謝で生成

尿中に排泄



その他の解毒経路

含硫アミノ酸と反応

(システインの場合、

2-imino-4-thiazolidine carboxylic acid 生成)

応急処置：適度のメトヘモグロビン生成（亜硝酸塩投与）

血液中でシアンを吸収

チオ硫酸ナトリウム静注併用

コバラミン投与

(4) チオシアン酸 (SCN^-)

シアンの生体内解毒代謝物

喫煙者の血漿、唾液中チオシアン酸濃度高い（喫煙の証明）

野菜からの摂取

ヨウ素と拮抗：甲状腺機能低下

強酸、不揮発

唾液中チオシアン酸；生体防御、抗細菌性活性酸素（OSCN⁻）

	全体	非喫煙者	喫煙者
人数	40	20	20
血液CN ⁻	0.22±0.08	0.17±0.04 0.11~0.25	0.27±0.07 0.14~0.41
血漿SCN ⁻	72.4±77.4	33.5±25.4 5.7~94.4	111.2±92.1 1.7~290.0
唾液CN ⁻	0.52±0.42	0.38±0.26 0.05~1.20	0.66±0.52 0.13~2.07
唾液SCN ⁻	1098±862	542±406 13~1630	1655±841 277~2940

シアンの血液中致死濃度： $>100 \mu\text{M}$

(5) シアンのトキシコキネティクス

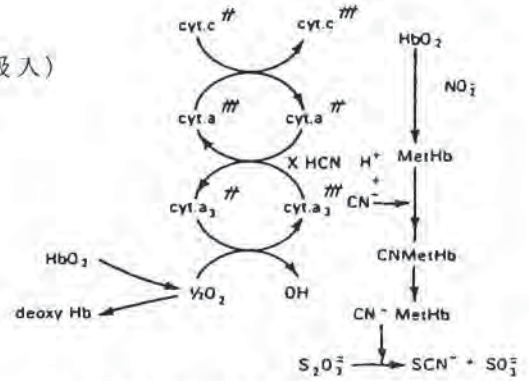
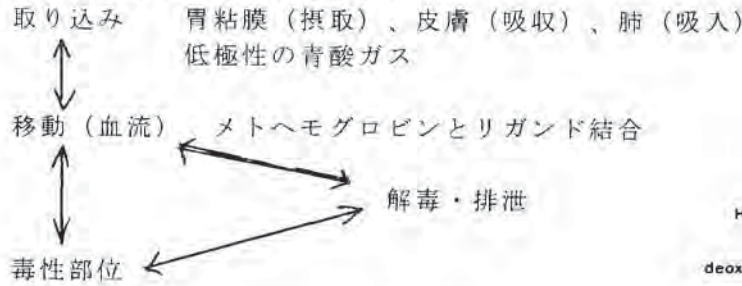


図 シアン化物中毒治療の原理。正確な化学反応の詳細は現在不明であるが、非解離型の HCN は、*in vitro* で単一ユニットとして単離されるチトクロム a₃ 複合体内の電子伝達を阻害するらしい。その結果酸素利用は低下し、酸化的代謝は、その要求に満たない点にまで速度が低下する。脳幹神経核のレベルでは、この効果は中枢性呼吸不全や死亡を惹起する。亜硝酸ナトリウムを注射すると、メトヘモグロビンが生成し、遊離のシアンイオンに対してメトヘモグロビンとチトクロム a₃ が効果的に結合する。シアンイオンがメトヘモグロビンと複合体を形成することに着目されたい。チオ硫酸塩を注射すると、シアン化物をチオ硫酸塩への変換を触媒する酵素ロダナーゼのための基質が与えられる。

(6) シアンの分析法概略



(7) 抽出・前処理

蒸留法	遊離シアン	pH5.5	酢酸亜鉛添加 (錯塩固定)
	全シアン	pH2 以下	解離定数の大きいシアノ錯体からはシアンが遊離
			EDTA 存在下りん酸酸性で加熱蒸留
通気法	遊離シアン	pH5.5	
微量拡散法		コンウェイ拡散器	
気化平衡法		ヘッドスペース分析	G C
誘導体化		CN ⁻ → CNX (X = Cl, Br)	G C
		CN ⁻ → PFB-CN (ペンタフルオロベンジル化)	G C
		CN ⁻ → SCN ⁻	I C
		naphthalene-2,3-dialdehyde → 1-cyano-benzoisoindole	
		taurine, CN ⁻	(蛍光性)

(8) 定量法

滴定法	銀イオンとの錯反応
	シアンが高濃度の場合
	(指示薬: p-dimethylaminobenzylidenetetrathionate)
イオン電極法	AgI + 2CN ⁻ → I ⁻ + Ag(CN) ₂ ⁻
	(活量測定)
イオンクロマトグラフィー法	陰イオン交換
	検出器: 電気伝導度、ECD、UV
分光光度法	ピリジン・ピラゾロン法
	4-ピリジニカルボン酸・ピラゾロン法
G C 法	直接法 検出器: FID、NPD
	誘導体化法 検出器: ECD、MS

(9) シアン標準溶液作製法

J I S K 0 1 0 2 p 119 ~ 121

薬毒物試験法と注解 2 0 0 6 p 56 ~ 57

定量試験 2-1 滴定法^{a)}

〔試薬〕 ① *p*-ジメチルアミノベンジリデンロダニン試液: *p*-ジメチルアミノベンジリデンロダニン 0.02 g にアセトンを加えて溶かし 100 ml とする。

② AgNO₃ 試液 (0.1 mol/l): 褐色の全量フラスコ 1000 ml 中に AgNO₃ 17 g を秤取し、蒸留水を標線まで加える。下記に従って標定を行う。

標定: NaCl (標準試薬) を 500~650 °C で 40~50 分間加熱し、デシケーター中で放冷した後、その 1.169 g を全量フラスコ 200 ml に入れ、蒸留水を標線まで加える。この 20 ml をとり、蒸留水を加えて液量を約 50 ml とし、デキストリン溶液 (2 %) 5 ml および指示薬としてフルオレセインナトリウム溶液 (0.2 %) 3~4 滴を加え、上記 AgNO₃ 試液で滴定し、黄緑の蛍光が消え、わずかに赤みを呈するときを終点とする。

要した AgNO₃ 試液の ml 数 (*x*) から、次式によってファクター (*f*) を算出し、正確な AgNO₃ 濃度を求める。

$$f = a \times \frac{b}{100} \times \frac{20}{200} \times \frac{1}{x \times 0.005844}$$

a: NaCl (標準試薬) の採取量 (g)

b: NaCl (標準試薬) の含量 (%)

0.005844: 0.1 mol/l AgNO₃ 溶液 1 ml の

NaCl 相当量 (g)

〔試験操作〕 試料溶液^{b)} に *p*-ジメチルアミノベンジリデンロダニン試液 0.5 ml を加え、0.1 mol/l AgNO₃ 試液で滴定する。滴定の終点は液が黄色から赤色に変わったときとする。

0.1 mol/l AgNO₃ 溶液 1 ml = 5.204 mg CN⁻

〔注解〕

a) 本試験法は、粉末試料または市販 KCN や NaCN 中の CN⁻ 含量を測定するために用いる。反応は次式に従って進行する。



過剰の AgNO₃ は *p*-ジメチルアミノベンジリデンロダニンと反応して、黄色から赤色に変化させる。この方法は CN⁻ 濃度 3 μg/ml 以上の場合に適用できる。

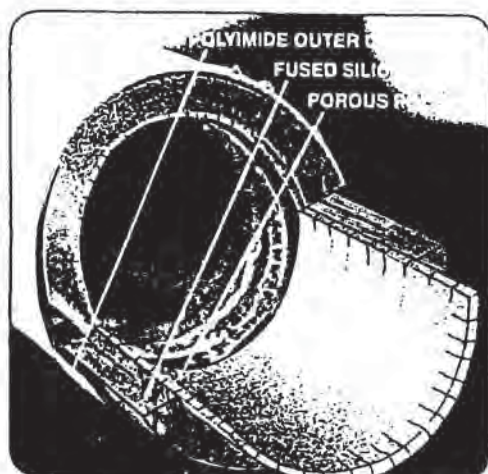
b) CN⁻ として 20~30 mg を含有する試料を蒸留水 100 ml に溶解したものを試料溶液とする。また、前処理法で得られた試料を用いることもできる。

(10) ヘッドスペース-GC 法

《GC 条件》

カラム	パケットド	キャピラリー
キャリアーガス	Porapak Q [≡] 50-80 メッシュ 3.2mm x 2.1m	GS-Q (J & W) 0.53mm x 30m
注入口	窒素 50ml/分	ヘリウム (注入口ヘッド圧 5psi)
温度	直接 230 °C	スプリット 200 °C
検出器	230 °C	250 °C
カラム	80 °C → 140 °C (4 °C/分) 空焼き必要	分析 120 °C 恒温
検出器	FID、NPD	FID、NPD

[≡] 充填剤はポーラスポリマー系が用いられ、他に Porapak Q、Chromosorb 102 が可能である。



無機ガスやガス状炭化水素などの分離に、固定相としてポーラスポリマーを使用した管型カラムが使用されています。J & W 社の卓越したコーティング技術は、このポーラスポリマーをヒューズド・シリカ・メガボアカラムの内面に再現性良くしかも均一にコーティングすることに成功しました。内径 0.53mm のヒューズド・シリカ・チューブに、Porapak QTM に相当するポーラスポリマーをコートした PLOT タイプのメガボアカラム; それが「GS-Q」カラムです。

ポーラスポリマーの持つユニークな選択性とキャピリカラムに近い高分解能とを兼ね備えた GS-Q は、無機ガス、ガス状炭化水素、水および低沸点有機化合物に素晴らしい分離能を発揮します。メガボアカラムによる気-固クロマトグラフィーを可能にした GS-Q カラムは、オープンチューブカラムの応用分野を無機ガスにまで広げました。この新しい構造型メガボアカラムは、分離、分析時間、ベースラインの安定性など、どの観点から見ても、従来のガス分析の概念を一新するものです。

定量試験 2・3 ヘッドスペース-ガスクロマトグラフィー^{a)}

〔装置〕 ガスクロマトグラフ： 窒素リン検出器 (NPD) 付き。

〔試薬〕 ① H_3PO_4 溶液： 濃 H_3PO_4 (85%) を蒸留水で 1.7 倍に希釈する (50%, 保存可能)。

② アスコルビン酸溶液： L-アスコルビン酸 1.76 g を蒸留水に溶かして 10 ml とする (1 mol/l, 冷蔵で保存可)。

③ CN^- 標準溶液： 定量試験 2・2 に同じ。

〔器具〕 ① 気化平衡用容器： スクリューキャップガラスバイアル (8 ml 容, 外径 17 mm, 高さ 6 cm)

② 注射針： 25 G × 1" 注射針 (テルモ, 0.50 × 25 mm) 付きのガラスツベルクリン注射筒

③ 恒温槽： アルミブロック

〔試験操作〕 ガラスバイアルに試験溶液 (血液)^{b)} 0.5 ml, アスコルビン酸溶液 0.03 ml, 蒸留水 0.27 ml を加え, タフボンドディスク (PTFE/シリコンセパタム)^{c)} で蓋をして密閉する。注射針付きのガラス注射筒で 50% H_3PO_4 溶液をとり, バイアルに注入し, 50℃ で 30 分間加温する (HCN の気化平衡)。恒温槽にバイアルをのせ, 上から脱脂綿で全体を覆い, 加温する^{d)}。注射針付きのガラス注射筒^{e)} でバイアル中の気相 (ヘッドスペース) を 0.5 ml 採取し, 速やかにガスクロマトグラフに注入する。

試料の代わりに CN^- 標準溶液の希釈溶液 (ゼロ点も含む) と対照血液 0.5 ml をバイアルに添加して同様の操作を行い, 検量線 (試料中 CN^- 濃度 対 HCN のピーク面積値)^{f)} を作成する。最終的な液相の容量は 1 ml である。対照血液中にはバックグラウンドとして CN^- が含有されるので, 検量線はそのバックグラウンド値を差し引いたものを用いる。試料を分析した場合のピーク面積値に対応するシアン濃度を求め, 試料中の HCN 濃度とする。

〔GC の条件〕

カラム^{g)}： ポラスポリマー型熔融シリカワイドボアキャピラリーカラム (0.53 mm i.d. × 30 m)
 注入口温度： 200℃, スプリット注入, スプリット比 5:1
 カラム温度： 130~150℃ (恒温分析)
 キャリヤーガスおよび流速： He , 5 ml/min

〔注 解〕

a) HCN の気化平衡定数 (50℃) は 76 で²²⁾, 目的とする定量範囲 (致死濃度, 中毒濃度) は 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ オーダーまたはそれ以下であり, 必然的に高感度の GC 検出器が要求される²³⁾。水素炎イオン化検出器を用いても中毒濃度程度の HCN は検出可能であるが, アセトアルデヒドの妨害を受ける²²⁾。NPD, 電子捕獲型検出器 (ハロゲン化後), 質量分析計がこの要求を満たす。

血液中 CN^- の HS-GC 分析は, Darr ら²⁴⁾ の報告が最初であり, ポラスポリマー系充填剤 Porapak Q を充填したカラムと FTD (フレイム熱イオン化型検出器, NPD と同じ) を用いて 50 ng/ml の検出感度で血液中の CN^- を定量した。バックドカラムを用いた GC 分析にあたっては, 試料由来揮発性成分による成分の分離分解能の低下が起こり, 分析ごとに空焼が必要となり, 安定した分析は望め

ない。同等材質のポラスポリマー系のキャピラリーカラムは劣化もなく連続分析が可能である。 HCN の HS-GC 法としては, クロロ化プレカラムと ECD 検出器を用いた分析法²⁵⁾ や固相マイクロ抽出法を用いた方法²⁶⁾ が開発されている。さらに高感度を達成した Cryogenic oven trapping 装置を用いた分析方法も考案されている²⁷⁾。

b) 本法は, 測定試料として血液以外に体液や臓器 (ホモジナイズしたもの) 中の CN^- 定量にも応用することが可能である。また, 生体試料以外に, 異物混入飲食物に対しても適用できる。この場合, 試料に NO_2^- が含有されていると, 酸性条件下試料中の有機化合物と反応して HCN が非特異的に生成されることもある。また, H_2O_2 などの酸化剤が混入している場合には, 飲食物中の HSCN が酸化されて HCN を生成する。酸処理の過程で添加するアスコルビン酸によっても, 大量の酸化剤による酸化反応を抑制することは不可能であり, HCN の偽陽性となる。酸化剤の影響が疑われる場合には, 微量拡散操作における HCN 遊離剤として H_2SO_4 の代わりに 1 mol/ml 酢酸ナトリウム溶液 (pH 5) を用いて同様に操作を行う。

c) HCN はガラス表面などへの吸着性が強くないので, 脂溶性の揮発性成分の吸着性をひき起こすブチルゴム製のセパタムを使用しても特に定量に問題はない。

d) 50℃ 加熱でヘッドスペース容器内の水分が蒸気となりセパタム面に凝集すると, その水凝集液に HCN が溶け込む。その水滴部分にシリンジが接触すると, HCN の汚染が起こる。気相よりも水相の HCN 濃度が高いので, この汚染は分析精度に大きく影響することになる。セパタム部分を保温すれば, 水分の凝集が抑えられ, HCN の汚染も起こらない。

e) ガラスシリンジを加温アルミブロックの上に載せてあらかじめ温めておけば, 吸入したヘッドスペース中の成分 (水分, HCN) のガラスシリンジへの吸着が抑えられる。

f) 検量線は, 検出限界から 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 程度までは直線性を示す。目的とする試料中の CN^- 濃度を含む濃度範囲で検量線を作成すればよいが, 一般的には血液試料の場合には 0~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度範囲の検量線を作成する。

g) ポラスポリマー系のキャピラリーカラムが HCN の分離・検出に適しており, GS-Q (J & W 社) や HP PLOT Q (膜厚 0.25 μm , アジレント社) が使用可能である。

HCN (2.1 分に溶出) 以外には, アセトニトリル (5.7 分に溶出) などの脂肪族ニトリル化合物が検出される。検出限

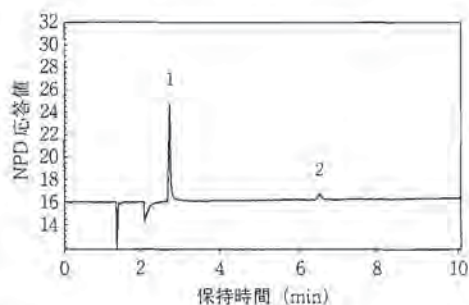
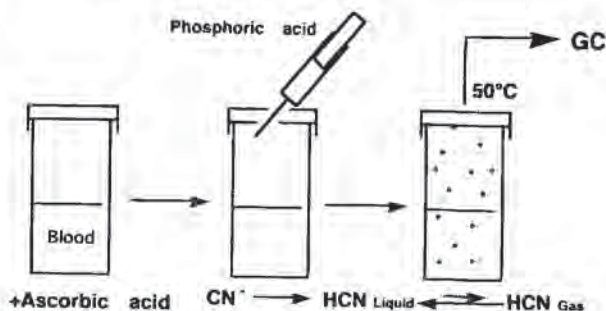


図 2・8 血液中シアン (200 ng CN^-/ml) のヘッドスペース-ガスクロマトグラフィー。1. HCN , 2. アセトニトリル

界は, スプリット比をしぼった条件下で約 1 ng/ml である。血液中のバックグラウンドレベルの HCN 濃度の定量が可能である。カラム GS-Q の分析例を図 2・8 に示す。



22) Seto, Y. et al., *Anal. Chim. Acta*, 276, 247 (1993).

23) Seto, Y., *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 42, 319 (1996).

24) Darr, R. W. et al., *Anal. Chem.*, 52, 1379 (1980).

25) Masada, C. et al., *J. Chromatogr.*, 490, 319 (1989).

26) Takekawa, K. et al., *Chromatographia*, 47, 209 (1998).

27) Ishii, A. et al., *Anal. Chem.*, 70, 4873 (1998).

(11) GC-MS法(ペンタフルオロベンジル誘導体化)

定性試験 2-2 ガスクロマトグラフィー/質量分析

〔装置〕 ガスクロマトグラフ/質量分析計: 電子イオン化法, 負イオン化学イオン化法^{a)}

〔試薬〕 ① 100 mmol/l ペンタフルオロベンジルブロミド(PFB-Br)-ジクロロメタン溶液: PFB-Br 150

μl (260 mg) をジクロロメタンに溶解して 10 ml とする。

② 高分子相間移動触媒(TBMPB, 高分子担持トリブチルメチルホスホニウムブロミド): 0.9 mmol Cl⁻/g のポリスチレン-1% ジビニルベンゼン共重合体担持トリブチルメチルホスホニウムクロリド(200~400 メッシュ)より調製する¹³⁾。

③ 100 mmol/l リン酸緩衝液(pH 7.5): 100 mmol/l Na₂HPO₄ 水溶液および 100 mmol/l KH₂PO₄ 水溶液を 85:15 の割合で混合する。

④ 20 mmol/l PFB-Br 酢酸エチル溶液: PFB-Br 30 μl (52 mg) を酢酸エチルに溶解して 10 ml とする。

⑤ 5 mmol/l テトラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド(TDMBA): TDMBA を, 脱酸素処理した飽和 Na₂B₄O₇ 水溶液に溶かし, 濃度 5 mmol/l とする。

〔試験操作〕 試料を PFB 誘導体化後, ガスクロマトグラフ/質量分析計により分析する^{b)}。誘導体化の方法には以下に示すように, ① 高分子相間移動触媒を用いる方法¹⁴⁾, ② イオン対抽出試薬存在下, 水-有機層 2 相系で誘導体化する方法¹⁵⁾ などがある^{c)}。

〔誘導体化〕 ① 高分子相間移動触媒を用いる方法: 試料溶液を pH 7~8 に調整し, 0.1~1.0 ml を, 30 mg の TBMPB, 100 mmol/l リン酸緩衝液(pH 7.5) 0.1 ml, 100 mmol/l PFB-Br ジクロロメタン溶液 0.4 ml とともに 2 ml 容の蓋付きマイクロ試験管に入れ, 振とうしながら 38℃ で 30 分間加熱したのち, その有機層を分析に用いる。

② イオン対抽出試薬存在下, 水-有機層 2 相系で誘導体化する方法: 10 ml の試験管に 20 mmol/l PFB-Br 酢酸エチル溶液 0.5 ml, 5 mmol/l TDMBA 0.8 ml, 試料 0.4 ml をともに入れ, 1 分間振とうしたのち, 55℃ で 30 分加熱し, 遠心後, 有機層を分析に用いる。

〔GC/MS の条件〕

電子イオン化法

カラム: 無極性熔融シリカキャピラリーカラム

(0.53 mm i.d. × 30 m, 膜厚 1.5 μm)^{d)}

カラム温度: 70~250℃ (10℃/min, 昇温)

注入口およびインターフェース温度: 250℃

スプリット比: 5:1

キャリアーガスおよび流速: He, 22 ml/min

負イオン化学イオン化法

カラム: 微極性熔融シリカキャピラリーカラム (0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 μm)^{e)}

カラム温度: 50℃ (1 min), 50~250℃ (10℃/min, 昇温)

注入口温度: 250℃

インターフェース温度: 230℃

スプリット比: 30:1

キャリアーガスおよび流速: He, 1.9 ml/min

化学イオン化における反応ガス: イソブタン

〔注解〕

a) 負イオン化学イオン化法で分析することにより, さらに高感度な分析が可能である。標準溶液における検出限界は電子イオン化法が 500 ng/ml, 負イオン化学イオン化法が 25 ng/ml 程度である。

b) 本法により CN⁻および SCN⁻が同時に分析できる。PFB 誘導体の電子イオン化法による質量スペクトルを図 2・3 に, マスクロマトグラムを図 2・4 に示す。また, 負イオン化学イオン化法による質量スペクトルを図 2・5 に, マスクロマトグラムを図 2・6 に示す。なお, N₃⁻も同条件下で誘導体化され検出可能である。

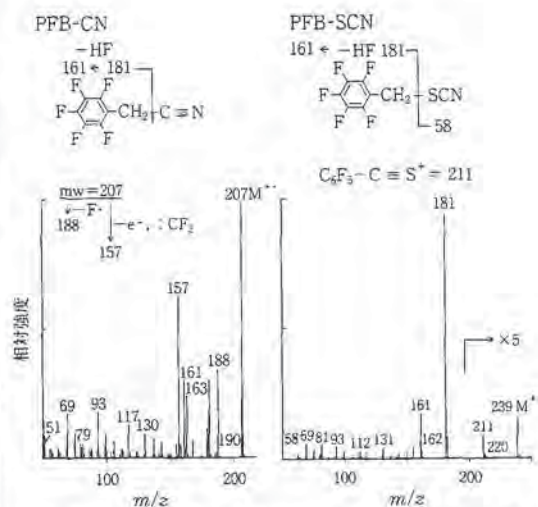


図 2・3 シアン化物およびチオシアン酸の PFB 誘導体の質量スペクトル (電子イオン化法)

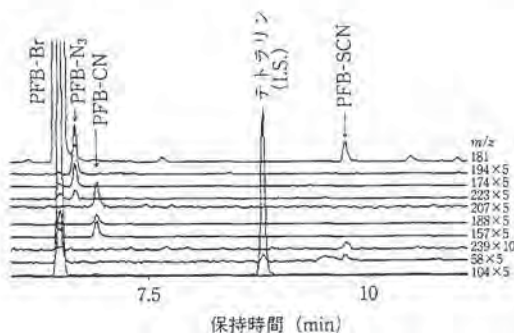


図 2・4 シアン化物, チオシアン酸およびアジ化物の PFB 誘導体のマスクロマトグラム (電子イオン化法)

c) 標準物質を用いて検量線を作成することにより, 定量分析も可能である。しかし, 飲食物, 血液などに混入された試料を直接分析する場合には, 十分な誘導体化収率が得られない場合があるので, 注意が必要である。

d) 本法では J & W 社 DB-1 を使用した。

e) 本法では J & W 社 DB-5 を使用した。

13) Miki, A. et al., Anal. Chim. Acta., 356, 165 (1997)

14) Miki, A. et al., J. Health Sci., 46, 81 (2000).

15) Kage, S. et al., J. Chromatogr. B, 675, 27 (2000).

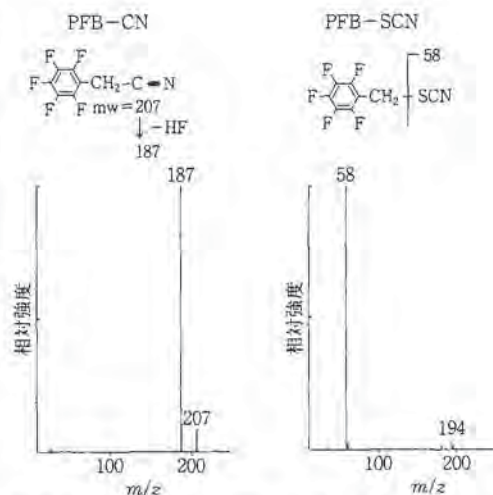


図2・5 シアン化物およびチオシアン酸のPFB誘導体の質量スペクトル（負イオン化学イオン化法）

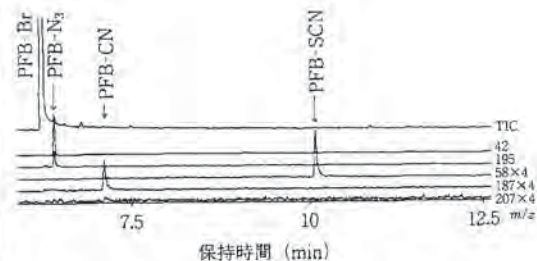


図2・6 シアン化物、チオシアン酸およびアジ化物のPFB誘導体のマスクロマトグラム（負イオン化学イオン化法）

(12) キャピラリー電気泳動法

定性・定量試験1・1 キャピラリー電気泳動法^{a)}

〔装置〕 キャピラリー電気泳動装置

〔試薬〕 ①シアン化物イオン(CN^-)標準原液(1 mg/ml): KCN 0.153 g を 0.1 mol/l NaOH に溶かし 100 ml とする。

②アジ化物イオン(N_3^-)標準原液(1 mg/ml): NaN_3 0.25 g を 0.1 mol/l NaOH に溶かし 100 ml とする。

〔試験操作〕 前処理法1・1の項で得られたガラス試験管内の抽出液を試料容器(装置専用バイアル)にとり、装置にセットして、以下の条件で電気泳動分析を行う。

試料の代わりに CN^- 標準原液の0.1 mol/l NaOH 希釈溶液(10~100 $\mu\text{g/ml}$)および N_3^- 標準原液の0.1 mol/l NaOH 希釈溶液(10~100 $\mu\text{g/ml}$)について(ゼロ点も含む)、同様の操作を行い、それぞれのピーク面積値による検量線を作成する。試料を分析した場合のピーク面積値に対応する CN^- または N_3^- 濃度を求め、試料中のシアン化物またはアジ化物濃度とする。

〔泳動条件〕

キャピラリー: 熔融シリカ(50 μm i. d. $\times$ 104 cm)

緩衝液: HP Basic Anion Buffer

注入: 圧力注入法, 50 mbar, 6 秒

極性: ネガティブ

荷電: 30 kV

検出温度: 30 $^{\circ}\text{C}$

検出方法: 吸収法, Sig: 350/20 nm, Ref: 275/10 nm

〔注解〕

a) 2,6-ピリジンジカルボン酸を用い、強塩基性条件下で電気浸透流を逆転させたネガティブ間接吸光分析系を採用した。アニオン性物質および単糖類の一斉分析が可能なキャピラリー電気泳動法であり²⁾、特にアニオン系毒物の分析に限定した緩衝液としてアジレント社が開発した方法である。検出下限は、 CN^- および N_3^- として10 ng/ml 程度である。図2・2に酸性揮発性毒物を含めたアニオン性毒物(各50 $\mu\text{g/ml}$)の一斉分析の結果を示す。

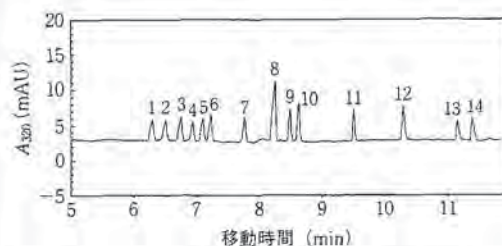


図2・2 アニオン性毒物のキャピラリー電気泳動。

1. CN^- , 2. 塩化物イオン(Cl^-), 3. 亜硝酸イオン(NO_2^-), 4. 硝酸イオン(NO_3^-), 5. 硫酸イオン(SO_4^{2-}), 6. N_3^- , 7. 炭酸イオン(CO_3^{2-}), 8. フッ化物イオン(F^-), 9. ヒ酸イオン(AsO_4^{3-}), 10. リン酸イオン(PO_4^{3-}), 11. グルタミン酸イオン, 12. 酢酸イオン, 13. 亜ヒ酸イオン(AsO_2^-), 14. 乳酸イオン。なお、イオン形は pH によって変化する。4, 7, 10 については、他の pH では異なったイオン形になる(データ: Agilent Technologies, Japan)

2) Soga, T., Tajima, I., Heiger, D. N., *Am. Lab.*, 32, 124 (2000).

(13) イオンクロマトグラフィー法

原理は、アニオン交換分離後、電気化学検出

他に、分離後、ポストカラムkonig反応-可視吸光検出も有効

定量試験2・4 イオンクロマトグラフィー

〔装置〕 イオンクロマトグラフ

〔試験操作〕 粉末試料は水に溶かし水溶液とする^{a)}。コーヒーや果汁、尿や血液などの生体成分は前処理法2・1に準じてコンウェイ微量拡散器により分離精製し^{b)}、イオンクロマトグラフに導入する。

〔イオンクロマトグラフィーの条件^{c)}〕

カラム：アニオン交換(4 mm i.d.×250 mm)

検出器：電気化学検出器

〔注 解〕

a) 試料溶液はメンブランフィルターなどによりろ過したのち、分析するのが望ましい。

b) コンウェイ標準型拡散器による前処理は、拡散器の外室に10% H₂SO₄ 1.0 ml、内室に0.1 mol/l NaOH 1.0 mlを入れ、ついで尿試料など粘稠性の低いものはそのまま、血液試料は水で2倍に希釈し、それらの1.0 mlにアスコルビン酸溶液0.03 mlを加えたものを外室に注入したのち、ただちに蓋をし、外室の試料と10% H₂SO₄とを十分

に混和させる。拡散器を室温で1時間放置したのち、内室溶液をイオンクロマトグラフィーに用いる。本法による検出限界は標準液で0.5 ng/mlである。

c) 溶離液の条件は、使用するカラムに応じて設定する。分離カラムにダイオネクス社 IonPac AS15を用いた分析例を図2・9に示す。このときの溶離液は50 mmol/l NaOHで、流速は1.0 ml/minである。

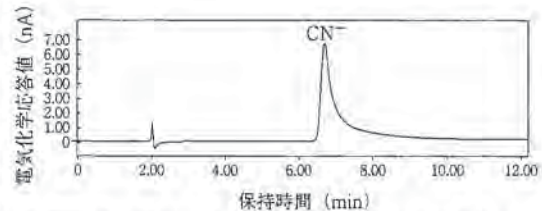


図2・9 シアン化物イオン標準液のイオンクロマトグラム

(14) 血液中シアンの定量(微量拡散-konig吸光光度法)

我が国鑑識科学、法科学の推奨法

薬毒物試験法と注解 2006 p51、57-58

☐ 前処理法

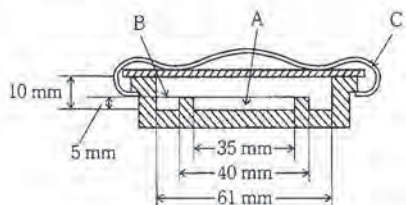
前処理法1・1 微量拡散-抽出法^{a)}

〔試薬〕 ① H₂SO₄ 溶液： H₂SO₄(濃硫酸)を蒸留水で10倍に希釈する(保存可能)。

② 0.1 mol/l NaOH 溶液： NaOH 4gを蒸留水に溶かして250 mlとする(密閉で保存可)。

〔器具〕 ① コンウェイ拡散器(標準型)： 外室；高さ10 mm、外周直径61 mm、内周直径40 mm、内室；高さ5 mm、内周直径35 mm(図2・1)。

〔試験操作〕 微量拡散器の外室の片側に試料1 mlを、内室に0.1 mol/l NaOH 溶液2 mlを入れる。ついで外室の試料を入れた反対側にH₂SO₄ 溶液0.5 mlを加え、ただちにグリセリンを塗布したガラス蓋で密閉する。ストッパーで止めたのち、外室の試料とH₂SO₄ 溶液を混和し、室温で2時間放置する(拡散)^{b)}。内室の吸収液2 mlのうち、1 mlをガラス試験管に移す。



A：内室 B：外室 C：ストッパー

図2・1 コンウェイ微量拡散器

〔注 解〕

a) シアン化物、アジ化物、硫化物などの酸性揮発性化合物が、本操作により抽出される。

b) 緊急の場合には37℃のインキュベーター内で拡散操作を行うと、15分間で定量的なシアンおよびアジ化物の抽出が達成される¹⁾。

1) Tsuge, K. et al., *J. Anal. Toxicol.*, 25, 228(2000).

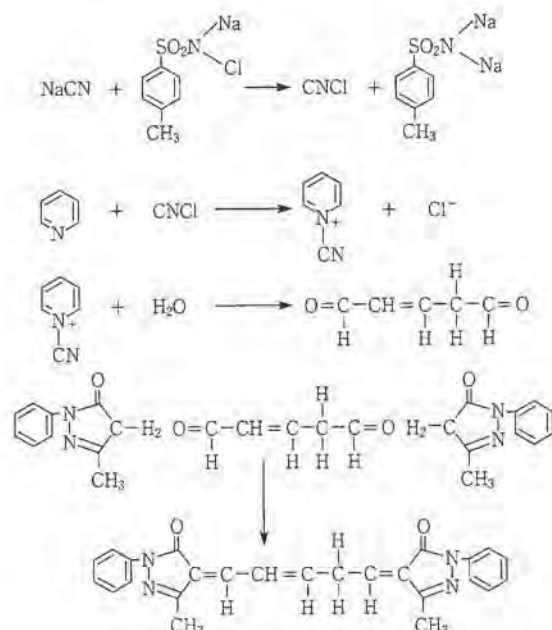


図2・7 ピリジン-ピラソロン発色反応

定量試験 2・2 比色法^{a)}

〔試薬〕 ①クロラミンT試液^{b)}: クロラミンT(N-クロロ-p-トルエンスルホンアミドナトリウム三水合物、冷蔵保存)20 mgを蒸留水に溶かして10 mlとする(0.2%, 用時調製)、このクロラミンT溶液5 mlと1 mol/lリン酸溶液($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15.6 gを蒸留水に溶かして100 mlとしたもの、冷蔵で保存可)15 mlを混和する(用時調製)。

②ピリジン-ピラゾロン試液^{c)}: 1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン0.1 gを蒸留水100 mlに溶かし、これにビス(1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン)20 mgをピリジン20 mlに溶かしたものを加える(用時調製、氷冷保存)。

③ CN^- 標準原液: KCN 2.51 gを水に溶かして1000 mlとし、つぎの標定を行う。

標定: 調製した CN^- 標準原液100 mlを正確にとり、p-ジメチルアミノベンジリデンロダニン試液0.5 mlを加え、0.1 mol/l AgNO_3 溶液で滴定する(定量試験2・1参照)。滴定に要した0.1 mol/l AgNO_3 溶液のml数から、次式により CN^- の濃度を算出する。

$$\text{CN}^- (\text{mg/ml}) = a \times f \times 5.204 \times \frac{1}{100}$$

a: 滴定に要した0.1 mol/l AgNO_3 の量 ml

f: 0.1 mol/l AgNO_3 溶液のファクター

(定量試験2・1参照)

5.204: 0.1 mol/l AgNO_3 溶液1 mlの

CN^- 相当量(mg)

④ CN^- 標準溶液: 先に調製した CN^- 標準原液を0.1 mol/l NaOH溶液で500倍に希釈して CN^- 標準溶液(2 $\mu\text{g/ml}$)を調製する(用時調製)。これを0.1 mol/l NaOH溶液で希釈し、0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の検量線用比色系列標準溶液を作製する。

〔試験溶液の調製〕 前処理法2・1で得られた抽出液(0.1 mol/l NaOH溶液)を用いる。定量の結果、検量線の濃度範囲を超える場合には、随時試験溶液を0.1 mol/l NaOH溶液で希釈して用いる。

〔試験操作〕 試験溶液1 mlを試験管にとり氷冷する。あらかじめ氷冷しておいたクロラミンT試液0.2 mlを添加混和し、2分間氷冷する(CNCl 生成)^{d)}。この混液に、ピリジン-ピラゾロン試液3 mlを加え混和し、室温で40分間放置する^{e)}。発色液の波長630 nmにおける吸光度を測定する。

同時に、 CN^- 標準溶液の希釈溶液(ゼロ点も含む、0.1 mol/l NaOH溶液で作製)に関して同様の発色操作を行い、検量線(吸収液中の CN^- 濃度対吸光度)を作成する。試料を分析した場合の吸光度に対応する CN^- 濃度を求め、試料中の CN^- 濃度とする^{f)}。

〔注解〕

a) CN^- の比色法については、ピクリン酸法などの数々の方法が考案されているが、本項では最も活用度の高いKönig反応に基づく比色法を用いた。本法の一種にピリジ

ン-ピラゾロン法があり、図2・7に示すように、まず CN^- がハロゲン化剤であるクロラミンTと反応して CNCl を生成し、生成した CNCl がピリジン環を開裂し、生成したアルデヒドとピラゾロン化合物とが縮合して青色の化合物を生成する。

発色の初期は、桃色を呈するがのち退色し、ひき続いて青色を呈し、時間とともに青色の強度が上がる。呈色は2~3時間安定であるが、その後退色する。本発色法においては、 CN^- 1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度範囲までは直線性を示すが、2 $\mu\text{g/ml}$ 程度から若干傾きが飽和傾向を示す。傾きの値($A_{630}/\mu\text{g/ml}$)は試薬の調製方法、温度などの分析条件で日間変動を示すが、その値はほぼ1~1.5の間の値を示す。検出感度は、10 ng/ml程度である。この血液中のバックグラウンドの CN^- 濃度は、本法の検出限界と同程度である。

Königの発色は CN^- に特異的であるが、顕著に発色を妨害する物質としてはHSCNがあげられる²⁰⁾。原理的にHSCNはハロゲン化剤との反応で CN^- と同程度のハロゲン化シアンを生成する。したがって、HSCNを含有する試料を直接ピリジン-ピラゾロン法で発色させると正の妨害を受ける。血液中のHSCNの存在については前処理法(p.54)において述べたとおりであり、健康人の血清や唾液試料に対して直接König反応を行うと、 CN^- の偽陽性反応を示すことになる²¹⁾。

b) ハロゲン化剤としてはクロラミンT以外に、 NaClO や Br_2 液が使用されている。

c) 発色におけるpHは5~8の範囲でほぼ一定であるが、緩衝液を用いることにより精度を高めることができる。

同仁化学から試薬シアノリンブルーが販売されており、その0.27 gをピリジン(20 ml)と蒸留水(100 ml)に溶解するだけで簡単に調製ができ、ピリジン-ピラゾロン試薬として使用できる。

異臭を放つピリジンを避けて用いる方法として、ピリジン-バルビツール酸、4-ピリジカルボン酸-ピラゾロン試薬などが発色試薬として開発され実用化されている。しかし、これらの発色pH領域は、ピリジン-ピラゾロン法(pHが5~8で安定)に比較して狭く、pHの調整が必要である。

d) クロラミンTによる CNCl の生成反応の完結には2~3分が必要であり、その後放置すると次第に分解して減少する。 CNCl の沸点は13℃であり、その揮発消散を防ぐために冷所で反応を行う。

e) ピリジン-ピラゾロン試液を加えたのち、ただちによく混和すると誤差が少ない。この操作ではまず薄い赤色の発色反応が速やかに完結し、これが徐々に濃い青色に変換するのに時間を要する。青色の呈色完結時間は温度によって異なり、低温では長時間を要する。呈色終了後は次第に吸光度が減少し、温度が高いほうが減少が速い。温度、時間については細心の注意が必要である。

緊急の場合には、発色操作を37℃のインキュベーター内で行う。15分間のインキュベーション操作で定量的な呈色が達成される¹⁾。

f) アルカリ吸収液2 mlのうち1 mlを発色操作に用いるので、アルカリ吸収液に対して測定された CN^- 濃度を2倍して試料中の CN^- 濃度とする。

20) Epstein, J., *Anal. Chem.*, 19, 272 (1947).

21) Seto, Y., *Anal. Chem.*, 74, 134A (2002).

Cyanoline Blue®(シアノリンブルー)

性質 ピリジン-ピラゾロン法は工業用水(JIS K 0101)、工場排水(JIS K 0102)、排ガス(JIS K 0109)、坑水・廃水(JIS M 0202)中の CN^- 定量法として広く利用されているが、これらの方法に従いモノピラゾロン、ビスピラゾロンを12.5:1(重量比)に混合した製剤で、その一定量をピリジンに溶解することによって直ちに試験溶液を作ることができる。

応用可能なイオン 比色試薬として CN^- (廃水、血液など)、 SCN^- 、 NH_3 、ビタミン B_{12}

比色条件 CN^- (620nm, 0.005~10ppm), SCN^- (620nm, 0~4ppm), OCN^- (四塩化炭素中、450nm, 0~5ppm), NH_3 (トリクロロエチレン中450nm, 0~0.6ppm), NO_3^- も NO_2^- に還元後定量可能。

比色試薬溶液調製法 0.27gをピリジン20mlに加温してとかし、水100mlを混合する。冷蔵庫に保存すれば一週間は安定。

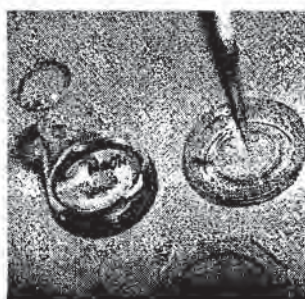
参考文献 1) 総説: 今村寿明, ドータイトニュースレター, 14, No. 3, 2 (1966).

規格 1) 性状: 白色~淡黄色粉末 2) ピリジン溶状: 限度内 3) 鋭敏度: 合格

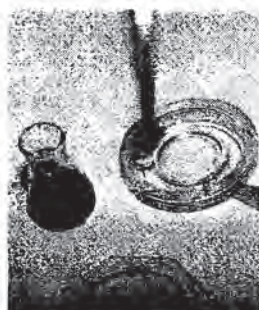
5g ¥1,350 341-00843



器具と試薬



①吸収液（内室）



②試料（外室）



③遊離剤（外室）



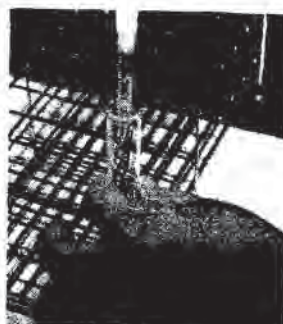
④密閉（蓋）



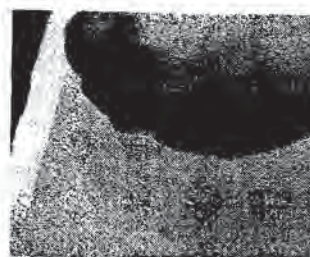
⑤外室混和（拡散）



⑥試料（吸収後）



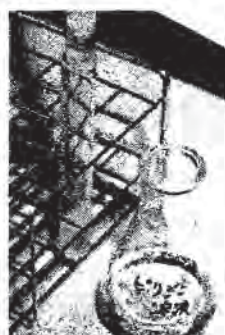
⑦採取



⑧氷冷



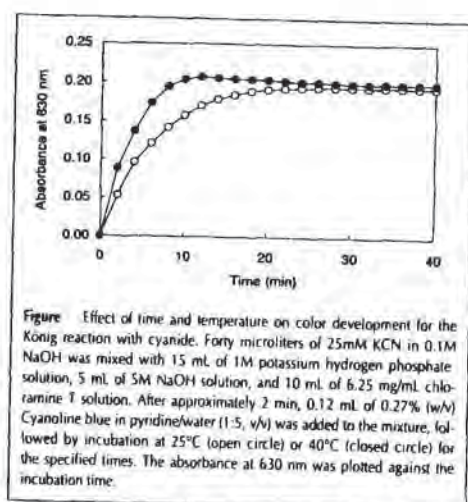
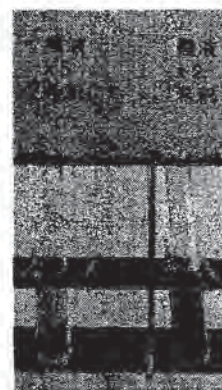
⑨クロル化

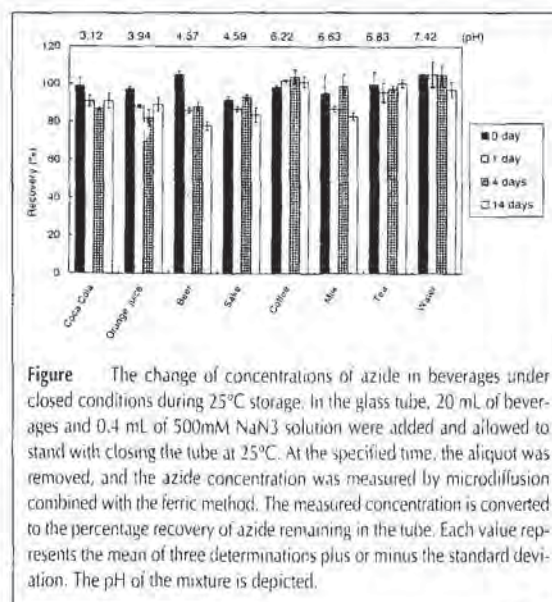
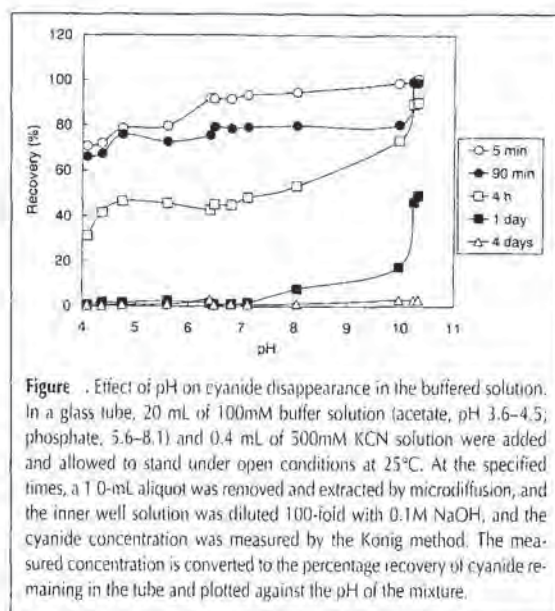


⑩ピリジン
試薬

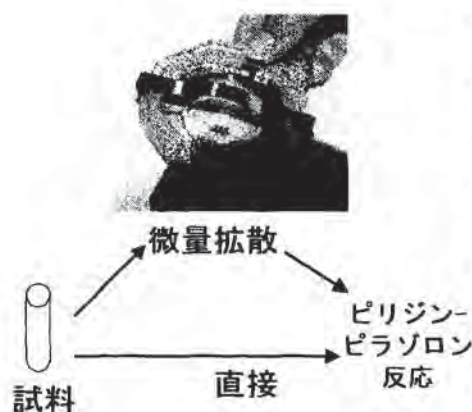


⑪発色（初期→安定）



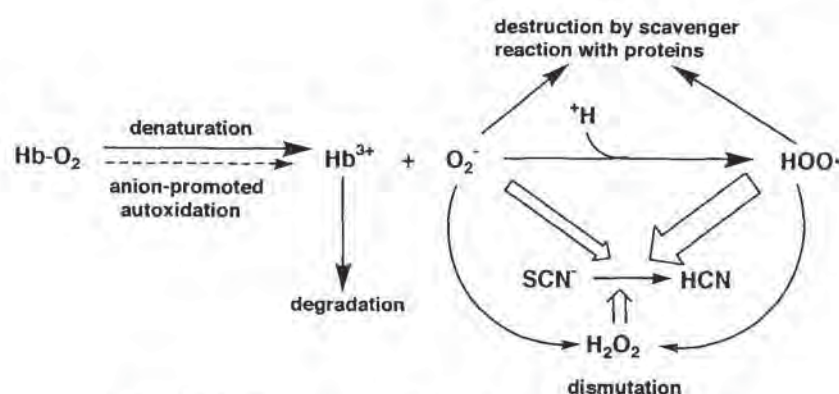


血漿・唾液のピリジン・ピラゾロン反応



	直接	拡散
ブランク	0.004	0.004
唾液 × 5	0.714	0.009
唾液 × 10	0.489	ND
血漿 × 5	0.065	0.004
血漿 × 10	0.092	ND
血漿 × 10	0.092	ND
CN ⁻ 1 μg/ml	1.070	ND
SCN ⁻ 1 μg/ml	0.280	ND

ND: not determined



SCHEME 1. Thiocyanate oxidation during Hb-O₂ denaturation.

11) Seto, Y., *Arch. Biochem. Biophys.*, 321, 245 (1995).

アジ化物

簡易検査法とGC-MS分析を中心に

九州大学大学院医学研究院法医学分野
工藤 恵子

2016年3月18日 第5回法医中毒研究会セミナー



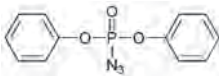
本日の講演内容

- 1) アジ化物の性状と過去の中毒事例
- 2) アジ化物の簡易検査法
- 3) アジ化物の機器分析
- 4) アジ化物の体内分布と安定性

本日の講演内容

- 1) アジ化物の性状と過去の中毒事例
- 2) アジ化物の簡易検査法
- 3) アジ化物の機器分析
- 4) アジ化物の体内分布と安定性

1-1. アジ化物 (Azide)とは?

- $-N_3$ 原子団を持つ化合物の総称
アジ化物イオン (N_3^-) の塩も、置換基であるアジ基 ($-N_3$) が共有結合した化合物もアジド (azide) と呼ばれる。
- アジ化物イオンは最も毒性の高い無機イオンの一つである。
- 主なアジ化物:
 - アジ化ナトリウム (sodium azide NaN_3)
 - アジ化水素 (hydrogen azide HN_3)
 - アジ化鉛 (lead(II) azide $Pb(N_3)_2$)
 - ジフェニルリン酸アジド
(diphenylphosphoryl azide )

1-2. アジ化ナトリウム (sodium azide NaN_3)

- アジ化物イオン (N_3^-)のナトリウム塩
- 無色の結晶で水によく溶け、**弱塩基性**を示す。
- 数種の金属と接触すると爆発を起こす(起爆剤)。
- 酸性条件下で急速に有毒ガスである**アジ化水素 (HN_3)**に変換される。
- 殺虫剤、除草剤、土壌燻蒸剤および木材防腐剤として用いられると共に**防腐剤**として実験室で使用される。

1-3. アジ化水素 (hydrogen azide HN_3)

- 無機酸の一種でアジ化水素酸とも呼ばれる。
- 刺激臭を有する無色透明の液体 (沸点 37°C)で爆発性を有する。
- 弱酸性 (pK_a 4.6–4.7)で水に溶けやすく、水溶液は多くの金属 (亜鉛、鉄など)を溶かし、金属のアジ化物を生成する。
- **シアン化水素 (青酸)並みの猛毒**である。

1-4. アジ化物の毒性と中毒症状および代謝

- シトクロームオキシダーゼを阻害することで細胞呼吸を阻害。
- 中毒症状: 動悸・息切れ・めまい・倦怠感・吐き気・嘔吐・頭痛など。
大量摂取では、痙攣・血圧降下・意識不明・呼吸不全などを引き起こし死に至る。
- ヒトの最大耐量: 150 mg
ヒトの最小致死量: 700 mg (13.5 mg/kg)
- アジ化物の代謝: 詳細は不明
赤血球で一酸化窒素 (NO) に酸化される。シアンも代謝物の可能性あり (in vitroの実験)。

1-5. 過去のアジ化物中毒事例

- 電気ポットの湯に混入されたアジ化ナトリウムによる中毒事件
1988年夏から秋にかけて新潟・三重・愛知・京都で発生。
1999年に毒物及び劇物取締法により、アジ化ナトリウムは毒物に指定

生存例の血液および尿中アジ化物濃度 (ng/ml)

	血液	尿	
	服用後1時間	服用後1時間	服用後2.5時間
1	n.q.*	n.q.	107
2	35	n.q.	206
3	636	n.q.	52
4	3734	575	265
5	n.q.	n.q.	52
6	n.q.	n.q.	107
7	n.q.	n.q.	81
8	n.q.	n.q.	
9	490	4	
10	1133	3	

ポットの湯中の
アジ化物濃度:
7 mg/ml

*Not quantified (LOD whole blood; 10 ng/ml, urine; 1 ng/ml)

Kikuchi M et al.: J Chromatogr B 752 (2001) 149-157.

死亡例の体組織中アジ化物濃度 (µg/ml or g)

文献	胃内容	血液	胆汁	肝	腎	脳	肺
Klug et al. ¹⁾ (1987)	58900	85		6.1			
Peclet et al. ²⁾ (1991)	8.8 g total	40		N.D.			
Lambert et al. ³⁾ (1995)	754	262	1283	14	205		
Marquet et al. ⁴⁾ (1996)	1036	7.4, 8.3	21.4	N.D. (<0.4)	N.D. (<0.4)	2.7	17.6

N.D.: not detected

- 1) Klug E et al.: Z Rechtsmed 98 (1987) 129-132.
- 2) Peclet C et al.: Int. Assoc. Forensic Toxicol. 21 (1991) 28-29.
- 3) Lambert WE et al. J Anal Toxicol 19 (1995) 261-264.
- 4) Marquet et al. J Anal Toxicol 20 (1996) 134-138.

本日の講演内容

- 1) アジ化物の性状と過去の中毒事例
- 2) アジ化物の簡易検査法
- 3) アジ化物の機器分析
- 4) アジ化物の体内分布と安定性

2. アジ化物の簡易検査法

1. アジ化ナトリウム簡易検出キット

服藤恵三 他:特許公開 2002-55096

<http://www.j-tokkyo.com/2002/G01N/JP2002-055096.shtml>



関東化学より販売

2. ヘッドスペース/塩化第二鉄法

土橋 均、西川眞弓: 生物試料分析 23 (2000) 149-158.

広島大学医学部法医学講座編: 薬毒物の簡易検査法.
じほう, 東京, 2001 p 31-32.

2-1-1. アジ化ナトリウム簡易検出キット

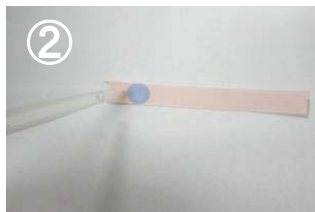
硫黄含有化合物の存在下でヨウ素溶液と反応して**窒素ガス**を発生



2-1-2. 簡易検出キット操作手順



① 試料1 mlにアルカリ溶液を2-3滴滴下



② リトマス試験紙でアルカリ性であることを確認

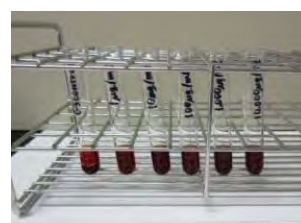


③ 試薬A (ヨウ素-ヨウ化カリウム溶液)を5滴加えて混和



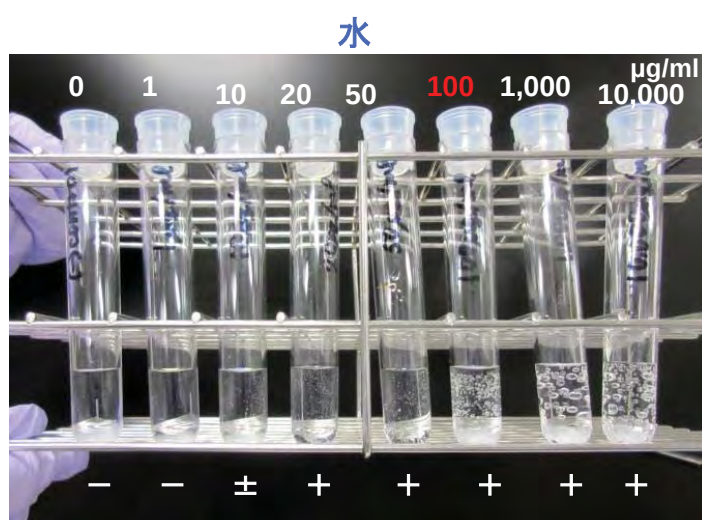
④ 試薬B (チオ硫酸ナトリウム)を1粒加えて振とう

⑤ 検査結果の判定
(発泡あり:アジ化ナトリウム含有)



血液試料も同様に行う

2-1-3. 判定結果

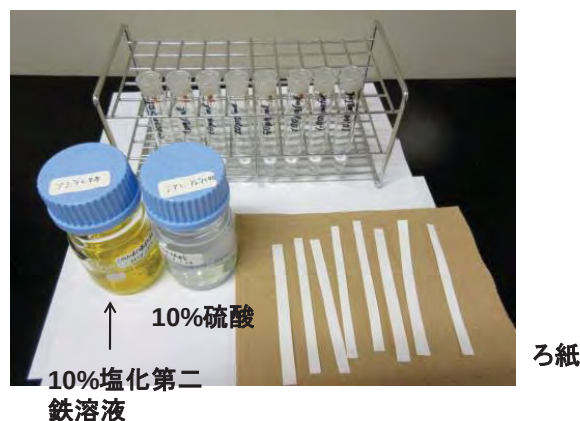


血液および着色した胃内容では判定が困難

2-2-1. ヘッドスペース/塩化第二鉄法

酸性溶液中でアジ化水素とし、**気化したアジ化水素と塩化第二鉄**が反応して形成した錯イオン $[\text{Fe}(\text{N}_3)]^{2+}$ の**赤色**を確認する方法

キャップ付き試験管に
試料1 mlを入れる。



2-2-2. ヘッドスペース/塩化第二鉄法 操作手順



① 10%塩化第二鉄溶液で
ろ紙の先端を湿らせる。



② 10%硫酸を試験管に入
れる。



③ すばやくろ紙を気相中
(ヘッドスペース)にさらし、
しっかり蓋をする。

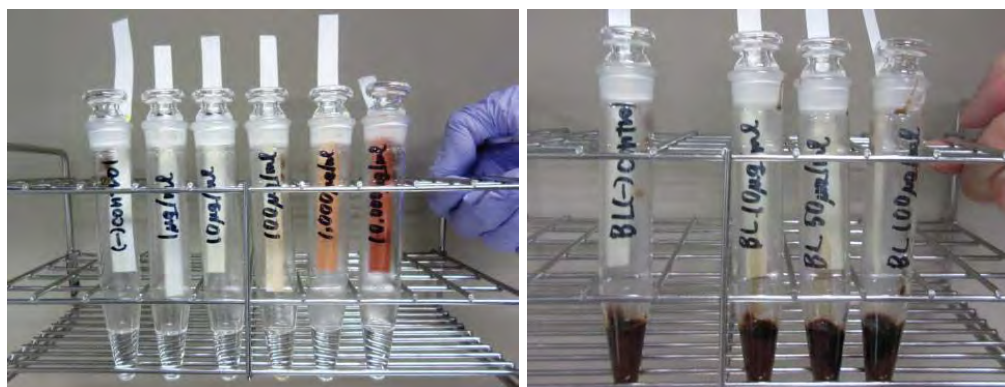


④ 70℃15分間加温 (水浴
があればドラフト内で)

⑤ 検査結果の判定
ろ紙が**赤変したら陽性**

操作はドラフト内で！

2-2-3. 判定結果



検査試料の色や形態にかかわらず検査可能
低濃度の判断が困難、胃内容が試料として適当

2-2-4. 鑑定例



鑑定時は必ず陽性コントロールと陰性コントロール
を同時に分析する。

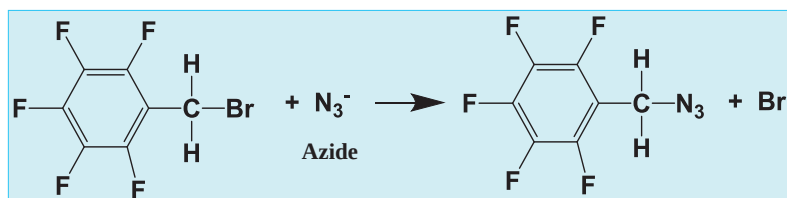
2-3. 簡易検査法のまとめ

- 解剖事例のアジ化物の検査は、**胃内容**を用いて、**ヘッドスペース/塩化第二鉄法**で行う。
- 比較的着色が薄い飲み残しなどの試料では簡易キットを用いることもできる。
- 検査は必ず**陽性コントロール**と**陰性コントロール**を用いて行う。
- 操作は**ドラフト内**で！(アジ化ナトリウムは酸性条件下で猛毒のアジ化水素を発生します。)

本日の講演内容

- 1) アジ化物の性状と過去の中毒事例
- 2) アジ化物の簡易検査法
- 3) アジ化物の機器分析
- 4) アジ化物の体内分布と安定性

3-1. 誘導体化GC-MSによるアジ化物の分析



Pentafluorobenzyl bromide (PFBBR)

(催涙性あり、扱いはドラフトで)

Pentafluorobenzyl azide

↓
GC-MS

シアン化物、硫化物も同様の
誘導体化で分析可能

3-1. 誘導体化GC-MSによるアジ化物の分析

1) アセトン-水混合溶媒中で一相系で誘導体化する方法

Kikuchi M et al.: J Chromatogr B 752 (2001) 149-157.

Ohmori T et al. Forensic Toxicol 32 (2014) 251-257.

2) 相間移動触媒の存在下、二相系で誘導体化する方法

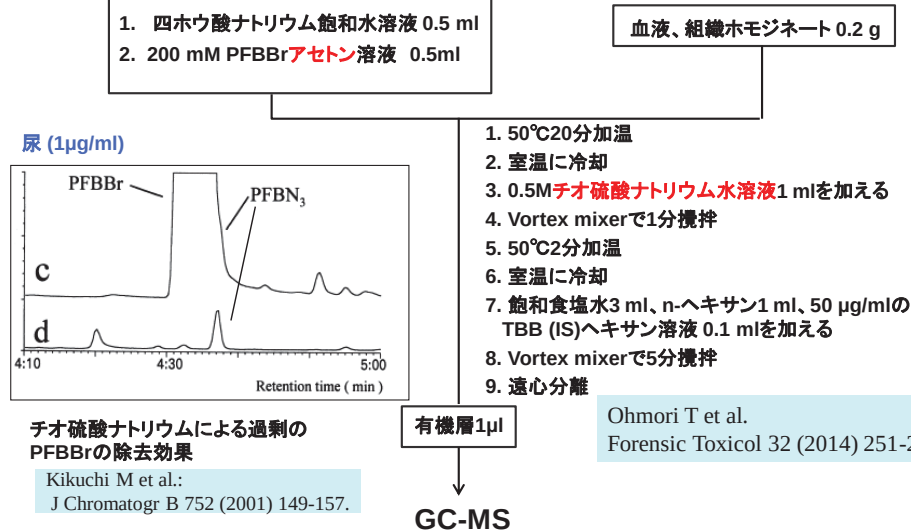
Kage S et al.: J Anal Toxicol 24 (2000) 429-432.

3) 高分子相間移動触媒を用い、三相系で誘導体化する方法

Miki A et al.: J Health Sci 46 (2000) 81-88.

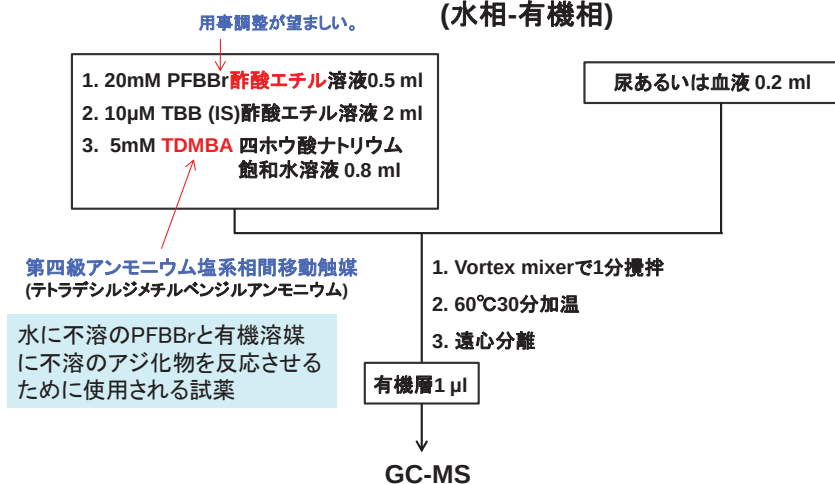
土橋均、三木昭宏: 薬毒物分析実践ハンドブック. じほう, 東京, 2002, p 549-556.

3-1-1. アセトン-水混合溶媒中で1相系で誘導体化する方法



- ・操作がやや煩雑である
- ・アジ化物のみを対象とする場合には有用な高感度分析法

3-1-2. 相間移動触媒の存在下、二相系で誘導体化する方法 (水相-有機相)



- ・誘導体化と抽出が同時に行える簡便な方法
- ・シアンとチオシアンも合わせて検出できる
- ・PFBBBrの妨害ピーク有り

GC-MSの条件

装置 : Agilent社製 6890GC-5973MS DB-225

カラム : Agilent社製 HP-5MS (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm)

温度 : カラム 60 °C (2 min)-20 °C/min-300 °C (10 min)

注入口 250 °C インターフェース 280 °C

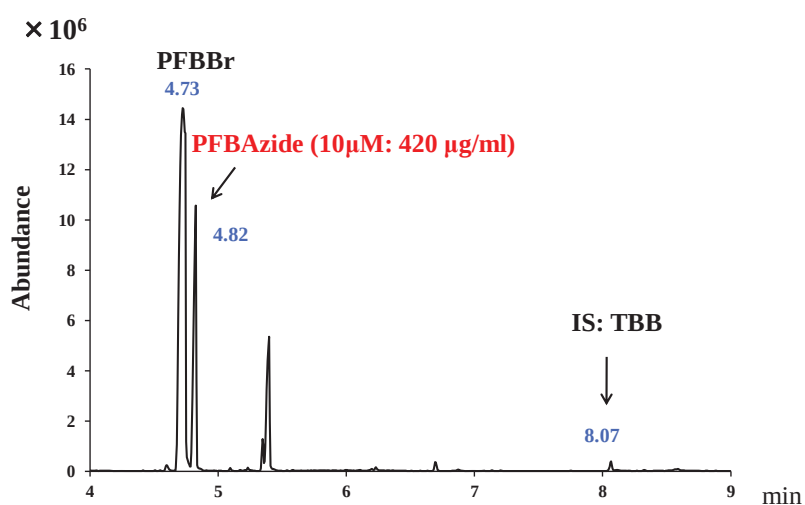
キャリアガス : ヘリウム

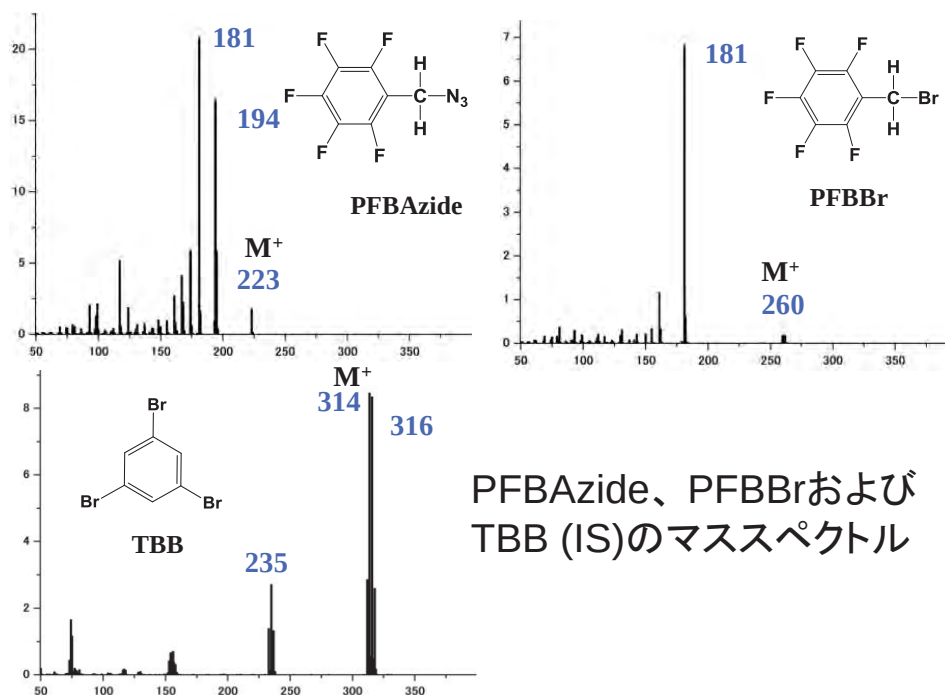
イオン化 : EI

測定モード : フルスキャン, 定圧モード

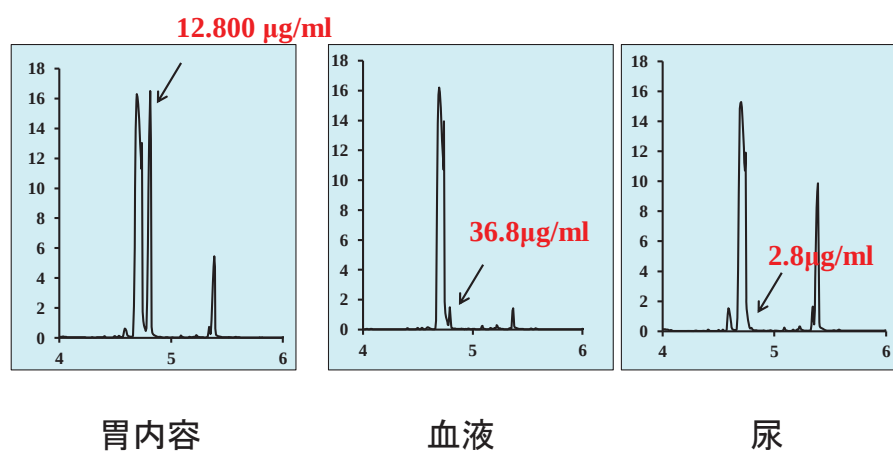
(Retention Time Locking化合物IS, RT = 13.2 min)

アジ化物添加水溶液のTICクロマトグラム



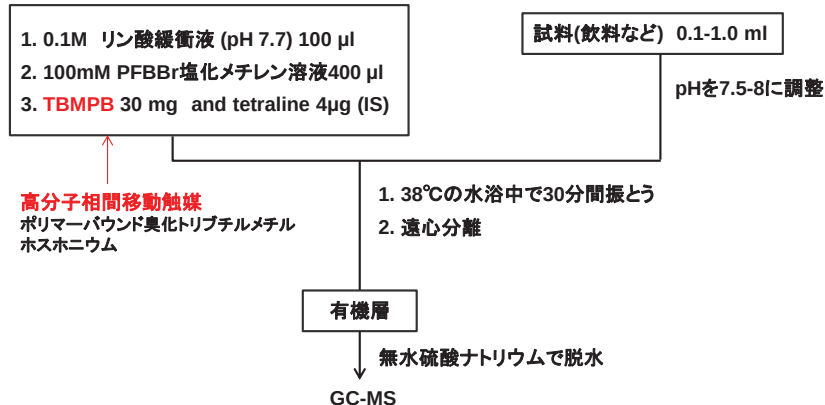


鑑定例のTICクロマトグラム



3-1-3. 高分子相間移動触媒を用い、三相系で誘導体化する方法

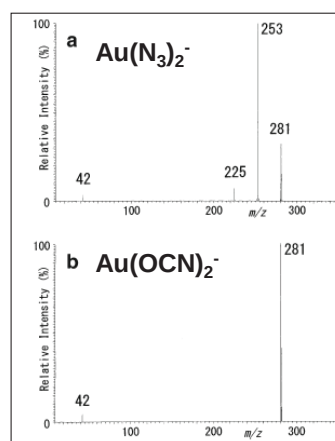
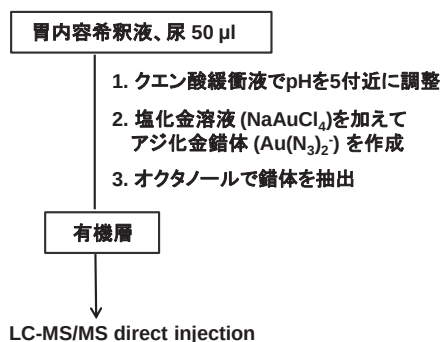
(水相-有機相-固相)



- ・誘導体化と抽出が同時に行える簡便な方法
- ・シアンとチオシアンも合わせて検出できる
- ・高分子相間移動触媒を調整する必要あり

3-2. LC-MSによるアジ化物の分析

アジ化金錯体を作成して、ダイレクトインジェクションで分析する方法



- ・アジ化物の他にシアン化物、ヨウ素、チオシアン酸塩、シアン酸塩の分析が可能
- ・血液試料での定量性は不明

アジ化物錯体とシアン酸塩錯体のプロダクトイオンスペクトル

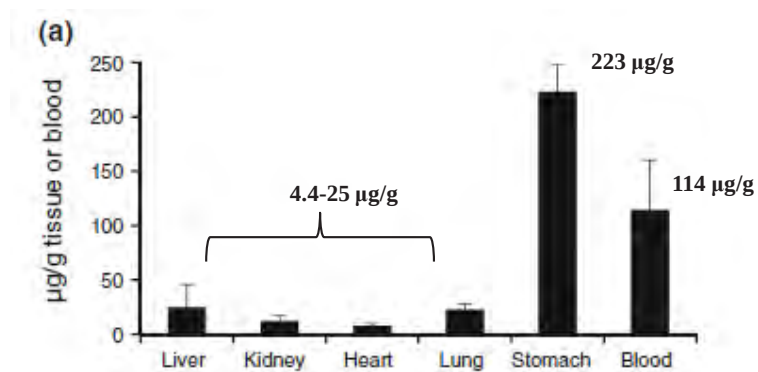
Minakata K et al.: Anal Bioanal Chem 403 (2012) 1793-1799.

本日の講演内容

- 1) アジ化物の性状と過去の中毒事例
- 2) アジ化物の簡易検査法
- 3) アジ化物の機器分析
- 4) アジ化物の体内分布と安定性

4-1. アジ化物の体内分布

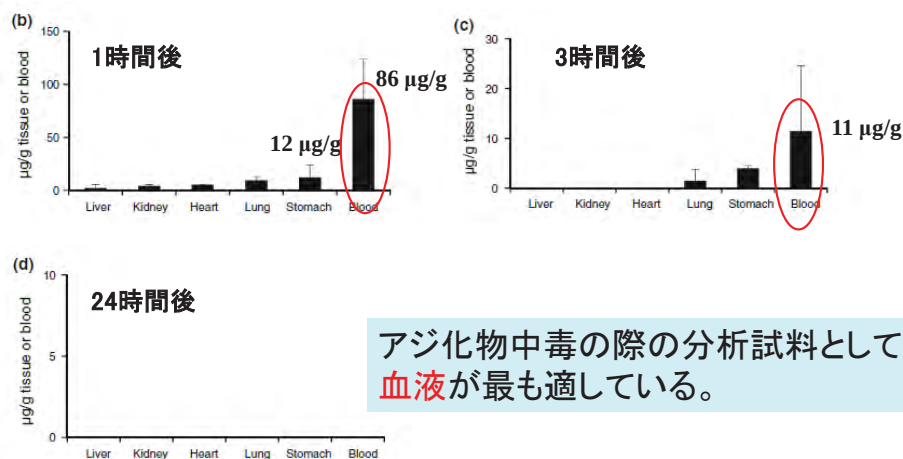
致死量(100 mg/kg)のアジ化ナトリウムをラットに投与



Ohmori T et al. Forensic Toxicol (2014) 32: 251-257.

4-1. アジ化物の体内分布

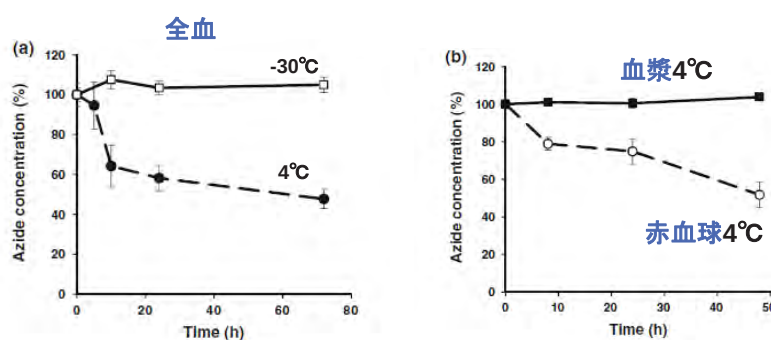
中毒量(25 mg/kg)のアジ化ナトリウムを投与



Ohmori T et al. Forensic Toxicol (2014) 32: 251-257.

4-2. 血液中アジ化物の安定性

全血および赤血球、血漿分画に5 µg/mlのアジ化ナトリウムを添加



血液は冷凍保存、速やかに分析することが望ましい。

Ohmori T et al. Forensic Toxicol (2014) 32: 251-257.

終わりに: 陰イオン性毒物による中毒を疑ったら

- 解剖時: 必ず胃内容を採取、pHを測定する(2次災害に注意)。
- 血液、尿、胃内容などの試料は直ちに冷凍保存する。
- 簡易検査には必ず胃内容を加える。
陽性コントロールと陰性コントロールを用いて行う。
- 毒物の扱いは慎重にドラフト内で行う。
- 確認・定量検査はペンタフルオロベンジル誘導体化によりGC-MSで可能。

その他参考文献

中毒起因物質の事例・病態・治療

内藤裕史: 中毒百科. 南江堂, 東京, 2002

中毒起因物質の血液中濃度・代謝と排泄・毒性・分析法

Baselt RC: Disposition of toxic drugs and chemicals in man. Tenth Edition. Biomedical Publications, Seal Beach California, 2014

陰イオン性毒物の分析法と事例

鹿毛茂利 他: 陰イオン性毒物による中毒の証明法とその中毒事例.
中毒研究 25 (2012) 27-34.

鹿毛茂利 他: 誘導体化ガスクロマトグラフィー質量分析による生体
試料中陰イオン性毒物などの分析. 法科学技術 17 (2012) 63-74.

硫化物の分析

三重大学社会連携研究センター
伊賀研究拠点 教授 山本 好男

はじめに

法医実務として、事件・事故などとの関わりを有する事例から得られた試料の分析を行ってきた。

スクリーニング・定性、定量の順序
分析対象として、

アルコールを含むもの
青酸塩を含むもの
硫化水素中毒が疑われるもの
一酸化炭素中毒が疑われるもの
薬物または農薬中毒が疑われるもの
重金属を含むと思われるもの
・ ・ ・ ・ ・ 多岐にわたる。

本日は、硫化物（硫化水素）の分析について
解説する

鑑定嘱託書

依頼者 西 京 府 警 署
鑑定人 山本 好男
司法警察官 山本 好男

依頼者 本署 に対する 殺人
被疑事件につき、下記事項の鑑定を嘱託します。

鑑 定 事 項

(1) 遺体の有無、あれば、部位、程度及び回数、成層の層数と回数
(2) 自他殺の区別
(3) 疾病の有無、あればその病名及び程度
(4) 死因
すなわち、内因死の別
(5) 死後の経過時間及び死亡日時
(6) 死体の腐敗状態
(7) 血中のアルコール及び薬物の有無、あれば、その濃度及び種類
(8) 胃内容物と食後経過時間 **←胃内容**
(9) 急死程度
(10) 先天性の疾病の有無、あればその病名及び程度
(11) その他参考事項

急性中毒原因物質の分析

犯罪捜査

- ・ 原因物質は何か
有用な情報
どのような毒物か
正確な物質の同定
- ・ 捜査に寄与 捜査段階での情報
- ・ 証拠資料(裁判)
- ・ 迅速性<正確性
- ・ 解剖と分析 同時進行(滋賀医大)

分析対象と分析用機器

(滋賀医科大学)

- ・ 一酸化炭素、二酸化炭素、**硫化水素**、メタン、エタン、プロパン、ブタン、天然ガス、都市ガス、プロパンガス
GC: 水素炎イオン化検出器、**炎光光度検出器**、熱伝導度検出器
- ・ メタノール、エタノール、ブタノール、酢酸エチル、ベンゼン、トルエン、キシレン、石油成分など有機溶媒系/炭化水素類
GC: 水素炎イオン化検出器、GC/MS
- ・ 眠剤、向精神薬、ベンゾジアゼピン系薬物、覚せい剤など医薬品
GC: 水素炎イオン化検出器、フレイムサーミオニック検出器、エレクトロンキャプチャ検出器、GC/MS、HPLC: UV検出器、フォトダイオードアレイ検出器
- ・ 有機リン剤、カルバメート剤、グリホサート、パラコート/ダイコートなど
GC: 水素炎イオン化検出器、フレイムサーミオニック検出器、エレクトロンキャプチャ検出器、炎光光度検出器、HPLC: UV検出器
- ・ 陽イオン、陰イオン **現有機器** ガスクロ 7台 原子吸光 1台
イオンクロマトグラフ 液クロ 2台 分光光度計 2台
- ・ 砒素、アンチモンなど金属元素 GC/MS 2台 EDX 1台
EDX、原子吸光分光光度計 イオンクロマト 2台
- ・ 粉末試料等 FT-IR 1台
FT-IR 分析担当者 1名 (**実質 0.5名**)



HPLC/UV,PDA



GC/MS



GC-FID+FTD,GC-FID, Ion-C

現有機器（三重大学伊賀研究拠点）

ガスクロマトグラフ	3 台
液体クロマトグラフ	3 台
GC/MS	1 台
紫外可視分光光度計	1 台
蛍光分光光度計	1 台
イオンクロマトグラフ	1 台
ICP	1 台
EDX	1 台
TOC	1 台



水質検査、食品分析、
土壌分析、栄養検査、
機能性物質検索、
植物含有薬効成分分析、
BDF分析、
その他

硫化水素

硫化水素は**特有の臭気**を有するきわめて有毒の気体である。

有機物の腐敗により自然発生し、多くの工業過程の副産物でもある。

石油精製所、なめし革工場、鉱山、パルプ製造工場、火山ガス、硫黄温泉、二硫化炭素製造、高温のアスファルト蒸気、下水汚物処理場や衛生プラントなどでは危険な濃度で検出される。

硫化水素の性質

- ・ 組成式 ; H_2S (34.08g/mol)
- ・ 無色透明の気体
- ・ 水に溶けやすい
- ・ (40°Cで0.25 g /100ml)
- ・ 腐卵臭
- ・ 沸点 (-85.5°C)、融点 (-60.7°C)

薬理作用

- ・ チトクロムオキシダーゼ阻害作用
細胞レベルでの呼吸障害
病態の本質を酸素化で評価
- ・ 皮膚粘膜刺激作用
- ・ 中枢抑制・呼吸抑制作用
- ・ 頸動脈洞・呼吸中枢刺激作用

硫化水素の毒性

硫化水素は、チトクローム酸化酵素系の阻害により細胞の窒息を起こす。

吸入により急速に吸収されるため、症状はほとんど暴露直後に生じる。

生命、健康の即時危険値は300ppm、300～500ppm では肺水腫、600～800ppm では致死的状态に陥るとされている。

濃度対危険度

濃度(単位: ppm)	作用
1,000 - 2,000 (0.1 - 0.2%)	ほぼ即死
600	約1時間で致命的中毒
200 - 300	約1時間で急性中毒
100 - 200	症状: 嗅覚麻痺
50 - 100	症状: 気道刺激、結膜炎
10	労働安全衛生法 規制値(許容限界濃度)
0.41	不快臭
0.02 - 0.2	悪臭防止法 に基づく大気濃度規制値
0.00041	臭いの閾値

中毒症状①

- ・ 皮膚粘膜刺激症状
- ・ 目(結膜炎、眼痛、複視)
- ・ 気道→24～72時間で肺水腫
- ・ 皮膚(疼痛、痒疹、紅斑)

中毒症状②

- ・ 循環器
→ 血圧上昇・低下、不整脈
- ・ 呼吸器
→ 気道刺激、呼吸抑制・停止
- ・ 24～72時間後に肺水腫
- ・ 消化器系
→ 流涎、悪心・嘔吐、下痢

亜硝酸アミル

- ・ 亜硝酸塩の作用機序
- ・ $\text{NaNO}_2 + \text{Hb} \rightarrow [\text{Met Hb}]$
- ・ $\text{Cyt (Fe}^{3+})\text{-SH}$
- ・ $[\text{Met}]\text{Hb-SH}$

試験問題：皮膚紅潮をきたすのはどれか。

- a 二硫化炭素中毒（皮膚に触れると火傷を起こす）
- b 硫化水素中毒（硫化ヘモグロビン形成により緑色調になる）
- c 酸素欠乏症（チアノーゼで暗紫色調になる）
- d シアン化水素中毒（鮮紅色のシアンメトヘモグロビン形成による）
- e 塩化水素中毒（皮膚、粘膜を強く腐食する）

症 例

- ・ 50歳代、男性
- ・ 重症熱傷にて入院加療中に、自殺目的で610ハップを200ml飲んだという。
- ・ 意識障害が出現しているところを発見され、低血圧、ショック、乏尿が認められた。胃洗浄、活性炭投与、強制利尿、亜硝酸アミル吸入、人工呼吸を行ったが、第1病日にさらに肺水腫も出現し、第2病日に死亡した。

症例検討

- ・ 自殺企図
- ・ 服毒
- ・ 飲用したものは何か
入浴剤610ハップ
- ・ どのくらい飲用したか
200ml

610ハップ

成分

- ・ イオウ
- ・ 生石灰
- ・ カゼイン
- ・ 硫化カリ
- ・ 水

死因：入浴剤服用による硫化水素中毒
(イオウと胃酸が反応して硫化水素発生)

農 薬

- ◆ 石灰硫黄合剤
- ◆ 多硫化石灰
- ◆ CaSx 27.5%



症例①：50歳代、女性。某日、15時30分頃、石灰硫黄合剤を服用。17時頃、近医を受診。患者の傍らに石灰硫黄合剤のビンとコップが転がっていたため、これを服用したものと推定。ショック状態が続き、約11時間後に死亡が確認されたという。

症例②：60歳代、男性。某日、19時40分頃、石灰硫黄合剤を服用（家族が服用する現場を確認）。20時30分頃、近医を受診これを服用したという。

症例③：70歳代、男性。某日6時ころ、石灰硫黄合剤を服用。8時頃、近医を受診。患者の傍らに硫化カリウムのビンが転がっていたため、これを服用したものと推定したという。

分析依頼 1. 25

610ハップとサンポール



硫化物（硫化水素）の分析法

- | | |
|-------------|-----------|
| 1) 硝酸銀滴定法 | 4) GC法 |
| 2) メチレンブルー法 | 5) GC/MS法 |
| 3) 検知管法 | |

その他

よう素滴定法

酢酸鉛試験紙

検知管法



検知管法



メチレンブルー法(変法)



硫化物・硫化水素の測定

- ・ 鹿毛茂利、工藤恵子、池田典昭：硫化水素の化学的証明、法中毒116：179-188（1998）
- ・ 池淵淳、山本好男、西克治、他：臓器中硫化水素濃度の意義付け、日法医誌47：406-409（1993）
- ・ 栗崎恵美子：硫化水素ガス中毒、中毒研究11：227-232（1998）
- ・ 龍野嘉紹、足立順子、溝井泰彦、他：硫化水素中毒死の4事例-皮膚の緑色化および硫化ヘモグロビンについて-、日法医誌40：308-315（1986）

硫化水素分析用の試料

- ・ 死亡直後 揮散に注意を払う
- ・ 腐敗産生に注意を払う
- ・ 血液、臓器採取後ただちに測定
- ・ 凍結保存は -80°C
- ・ サランラップなどで包み密封容器内へ
- ・ 直ちに凍結（急速凍結が望ましい）
- ・ 融解は冷蔵庫内で行う

GC/MSによる分析

- ・ 鹿毛茂利、工藤恵子、池田典昭：硫化水素の化学的証明、法中毒116：179-188（1998）
- ・ 池淵淳、山本好男、西克治、他：臓器中硫化水素濃度の意義付け、日法医誌47：406-409（1993）
- ・ 栗崎恵美子：硫化水素ガス中毒、中毒研究11：227-232（1998）
- ・ 龍野嘉紹、足立順子、溝井泰彦、他：硫化水素中毒死の4事例-皮膚の緑色化および硫化ヘモグロビンについて-、日法医誌40：308-315（1986）

H₂S標準溶液

NaS・9H₂O約1 gを水に溶かして、100 mlとし、この10 mlを取り、0.05 mol/l I₂溶液25 ml及びHCl 1 mlを加え、密栓して10分間放置したのち、0.1 mol/l Na₂S₂O₃溶液で滴定する（指示薬：でんぷん）。このときの滴定量をa mlとし、別に水10 mlについて空試験を行い、その滴定量をb mlとする。Na₂S溶液（89.3/(b-a)F）ml（ただし、F=0.1 mol/l Na₂S₂O₃溶液のファクター）を取り、水を加えて100 mlとし標準溶液とした。

H₂S標準溶液 1 ml = 0.1 ml H₂S(0°C, 760 mmHg)=143 μg (Sとして)

試験溶液の調整

試料 0.2 mlをあらかじめ試験管に入れておいた5 mmol/lテトラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリドNa₂B₄O₇飽和水溶液0.8 ml、10 m/l 1,3,5-トリブロモベンゼン酢酸エチル溶液（内部標準）2.0 ml、20 mmol/lペンタフルオロベンジルブロミドトルエン溶液0.5 ml中に加える。

ボルテックスミキサーで1分間攪拌後、KH₂PO₄結晶約0.1 gを加え、さらに10秒間攪拌し、遠心分離後、上層を分取し試験溶液とする。

検量線の作成

H₂S標準溶液をNa₂B₄O₇飽和水で適度に希釈した硫化物水溶液を血液に添加して0.1から2.0 µg/ml溶液（Sとして）をつくり、試験溶液と同様方法で誘導体化し、試験溶液の1 µlをガスクロマトグラフ／質量分析計に注入、横軸に硫化物濃度（µg / ml）、縦軸にm/z 394（H₂Sの誘導体）とm/z 314（内標準物質）のピーク面積比の検量線を作成する。

定 量

- 試験溶液の1µlをガスクロマトグラフ／質量分析計に注入する。
- 上記の検量線より、試験溶液中の硫化物濃度（µg / ml）を求める。

GC/MS分析条件

分析装置：島津製作所製GC/MSQP2010plus型

カラム：5% Diphenyl-95%

Dimethylpolysiloxane DB-5 MS

(0.25mm×30m×0.25um)、

カラム温度：100℃（2分間保持）～
220℃/10℃/min昇温、

- ・ 注入方法・温度：スプリットレス・220℃
- ・ キャリアーガス及び流速：He 1 ml/min
- ・ イオン源（電圧・温度）：EI (70eV・
200℃)、温度：100℃、
- ・ 分析モード：スキャンモード

分析結果

本法による内部標準と硫化水素誘導体の保持時間はそれぞれ7.4分と10.0分であった。

これらの質量スペクトルの主なイオンは内部標準は分子イオン m/z 314 ($[M+2]^+$ 、ベースピーク)とフラグメントイオン m/z 235 $[(M+2)-Br]^+$ 、 H_2S の誘導体では分子イオン m/z 394 $[C_6F_5CH_2SCH_2C_6F_5]^+$ と m/z 181 $[C_6F_5CH_2]^+$ 、ベースピーク)である。

硫化水素濃度測定結果（例）

鑑定資料	硫化水素濃度
血液	1.11 μ g / ml
血清	0.84 μ g / ml

GC-FPD法

- 鹿毛茂利、工藤恵子、池田典昭：硫化水素の化学的証明、法中毒116:179-188(1998)
- 池淵淳、山本好男、西克治、他：臓器中硫化水素濃度の意義付け、日法医誌47:406-409(1993)
- 栗崎恵美子：硫化水素ガス中毒、中毒研究11:227-232(1998)
- 龍野嘉紹、足立順子、溝井泰彦、他：硫化水素中毒死の4事例－皮膚の緑色化および硫化ヘモグロビンについて－、日法医誌40:308-315(1986)

症例の概要

10歳代、女性。

北東北の国立公園に入山、

岩場で休憩中突然意識を失い、救急蘇生が行われるも回復せず、発生から約3時間後に死亡確認となったという。

試料および採取日時

血液	凍結
大脳	凍結
肝臓	凍結
腎臓	凍結
肺	凍結
筋肉（腸腰筋）	凍結
脂肪（大網）	凍結

分析方法

分析は、有機溶媒抽出の後、炎光光度型検出器付ガスクロマトグラフで行う。

前処理として20%ホモジネートを作成し、分析試料とする。

抽出・分析法

分析試料1.0mlに冷アセトン5ml、20%塩酸0.5mlを加え3分間振とう、4℃3,000rpmで5分間遠心分離を行う（除蛋白・抽出）。

上清を冷アセトンで10倍希釈し、炎光分光検出器付きガスクロマトグラフにより測定する。

定 量

検量線は衛生試験法に準じて、硫化ナトリウム溶液を滴定後、希釈して標準液を作製、試料と同様の抽出法により硫化水素を抽出、測定後、得られた硫化水素のピーク高指数計算法で作成。

各試料中硫化水素濃度は検量線から算出し、用いた試料量をもとに換算、算出した（処理装置内検量データ処理）。

ただし、本方法の信頼限界（測定下限値）は100ng/mlである。

GC - FPD法分析条件

装 置：島津GC-14A

検出器：炎光分光検出器（FPD-S）

カラム：PPE 5 rings, 3 mm（内径）×2 m（長）

カラム温度：80 °C

注入口温度：150 °C

検出器温度：150 °C

キャリアーガス：窒素N₂ 40 ml / min

検出感度：10² × Atten. 3

記録計：C - R8A（定量は指数法）

注入量：2 ml

測定結果

試 料	硫化水素濃度
血液	0.84 μg / ml
脳	0.85 μg / g
肝臓	0.92 μg / g
腎臓	1.11 μg / g
肺	0.60 μg / g
筋肉（腸腰筋）	0.75 μg / g
脂肪（大網）	0.50 μg / g

血液、肺、肝臓、腎臓などから硫化水素を検出。これにより硫化水素を含有した空気を吸引し、死に至った可能性が高いと考える。

- ・ 火山性ガスの吸引により硫化水素中毒を起こすことはよく知られているが、現場検証において硫化水素が検出されないケースまたは検出されても低濃度である場合がある。
- ・ ガスの比重の関係から低地に滞留、風により容易に移動することがあり、検出されないことも有る。
- ・ 火山性ガスの吸引では硫化水素だけでなく亜硫酸ガスや含有されている有毒性のガスの影響、炭酸ガス濃度や酸素濃度などが死因究明時に問題となる。

本分析法は誘導体ではなく直接硫化水素を証明する方法。

我々の経験例では、610ハップとサンポールの混合により発生した硫化水素を吸引した事例で血液(全血)0.42～0.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および石灰硫黄合剤や610ハップの服用例血液(全血)で0.35～1.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ などを測定している。

一般に、硫化水素暴露により死亡した事例の血液中の硫化物の濃度は、0.005～2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲であり、また、硫化水素暴露で倒れ、硫化物を含む汚水の吸引ならびに石灰硫黄合剤や硫黄浴用剤服用による自殺例では2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の硫化物が検出されている。

測定結果（148）

試 料	硫化水素濃度
血液 末梢血	0.98 $\mu\text{g} / \text{ml}$
血液 心内血	0.52 $\mu\text{g} / \text{ml}$
尿	<0.1 $\mu\text{g} / \text{ml}$
肺	0.57 $\mu\text{g} / \text{g}$
大脳 灰白質+白質	0.69 $\mu\text{g} / \text{g}$

測定結果（149）

試 料	硫化水素濃度
血液 末梢血	0.51 $\mu\text{g} / \text{ml}$
血液 心内血	0.58 $\mu\text{g} / \text{ml}$
尿	0.67 $\mu\text{g} / \text{ml}$
肺	0.53 $\mu\text{g} / \text{g}$
大脳 灰白質+白質	0.56 $\mu\text{g} / \text{g}$

測定結果(150)

試 料	硫化水素濃度
血液 心内血	0.67 $\mu\text{g} / \text{ml}$
肺	<0.1 $\mu\text{g} / \text{g}$
大脳 灰白質+白質	0.56 $\mu\text{g} / \text{g}$

結果の解釈

3人の硫化水素濃度は、血液0.51～0.73 $\mu\text{g} / \text{ml}$ 、大脳0.47～0.69 $\mu\text{g} / \text{g}$ 、肺<0.1～0.57 $\mu\text{g} / \text{g}$ であった。検体150では、肺の硫化水素濃度は痕跡程度（信頼限界以下）であった。148、149の結果からは硫化水素の吸入量が多く、150は前2者より少ないことが血液、肺の硫化水素濃度と大脳の硫化水素濃度から伺える。

呼吸量が少なく体内への硫化水素吸入量が少ないか短時間の吸入によって死亡したことが考えられる。

さらに、尿の硫化水素濃度は、硫化水素以外の代謝物および尿中のS化合物等により濃度は様々であり、必ずしも吸引された硫化水素に由来しているとは限らない（本方法の場合、尿中の硫化水素濃度はあまり参考にならない。

測定結果例

試 料	硫化水素濃度
血液 末梢血	0.03 $\mu\text{g} / \text{ml}$
血液 心内血	0.02 $\mu\text{g} / \text{ml}$
肺	0.02 $\mu\text{g} / \text{g}$
大脳 灰白質+白質	0.03 $\mu\text{g} / \text{g}$

測定結果の解釈

血液、肺、大脳から0.02～0.03 $\mu\text{g} / \text{g}$ or ml の硫化水素が検出されたがいずれも10倍希釈する前の原液で得られた分析値であり、これらは生体内でのS化合物が塩酸と反応した可能性が考えられる。

定法による分析では硫化水素は検出されなかった。

硫化水素吸入後の治療や死亡までの時間経過との関係が考えられる。

吸入から死亡までの時間が長いことから吸入された硫化水素は代謝、排泄され、吸入時の影響、とくに脳の障害が強く、死に至ったと推測される。

<次に続く>

課題：どれくらいの時間にわたって吸引したと考えられるか。

死亡事例の血液中の硫化物の濃度は、0.005～2 μ g/mlの範囲である。

本例の血液中濃度から考えると、低濃度の硫化水素を長時間吸入して、ついに分解が間に合わなくなって硫化水素中毒で死亡したあるいは非常に高濃度（%レベル）の硫化水素を一呼吸吸引、瞬時に頸動脈小体が刺激され呼吸停止で死亡したという考えは否定できる。

最後に

- 火山性ガスや自殺目的で発生させた硫化水素を吸引することにより硫化水素中毒を起こすことはよく知られている
- 現場検証において硫化水素が検出されないケース、検出されても低濃度である場合がある。
- 体内からの検出も同様である。
- 死亡までの経過、吸入、暴露、服用、死後の腐敗による産生、
- 分析法によるばらつき、硫化物を測定するか、直接解離状態に有る硫化水素を測定するか、あるいは代謝物を測定するか等の解決すべき課題が残されている。

参考資料

鑑定例概要（日本法医学会、2009 年-2014 年）からシアン化物、アジ化物、硫化物各中毒を検索した結果を示す。

I. シアン化物

① シアン中毒死（14 例）

	例数	シアン濃度（血液 $\mu\text{g/ml}$ ）
シアン中毒（推定も含む）	13（男 12、女 1）	0.5-1, 2.6, 2.7, 9.77, 22.4
一酸化炭素中毒・シアン中毒	1（男 1、女 0）	

シアン中毒死 14 例の概要

- 年齢は 20 歳代以下が 3 例、30 歳代が 2 例、40 歳代が 2 例、60 歳代が 3 例、70 歳代以上が 4 例であった。
- 事例の概要としては、毒物を服用するという連絡が事前にあったもの、紅色の死斑がみられたもの、心臓血が鮮紅色であったもの、粉末の入った瓶が側にあったもの、屋外・車内等で死亡しているのが見つかったもの等であった。

② 事件の詳細・剖検所見にシアン、青酸という語がある事例（30 例）

	例数	シアン濃度（血液 $\mu\text{g/ml}$ ）
火災の関係するもの	24（男 16、女 8）	不検出、0.4, 0.5, 0.8, 1.1, 2, 0.5-1, 1-2, 5 以下
その他	6（男 5、女 1）	不検出

Ⅱ. アジ化物

中毒例

	例数	アジ化物濃度
アジ化物中毒（推定も含む）	1（男 1、女 0）	胃内容・尿から検出

Ⅲ. 硫化物

硫化物中毒例

	例数
硫化物中毒死事例（推定も含む）	64（男 36、女 28）
自殺、心中など	56（男 28、女 28）
事故	8（男 8、女 0）
硫化物関連事例*（推定も含む）	7（男 7、女 0）

*死因が焼死、窒息など

中毒死 64 例について

- 複数名同時の例が 12 件（28 名）あり、その内訳として 2 名が 9 件（2 件は事故）、3 名が 2 件、4 名が 1 件であった。
- 発見場所は自殺、心中などでは車 27、自宅（居室、浴室、トイレ）17、その他 12 で、事故では家畜用汚物槽、浄化槽、工場、排水溝、分湯槽などであった。
- 年齢は自殺、心中などでは 20 歳代が 15 例、30 歳代が 12 例と多く、事故では 30 歳代、40 歳代が各 4 例であった。