

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 24 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590751

研究課題名（和文） 新たな焼死体の生活反応のマーカの検討：血中高熱分解産物の GC-MS による分析

研究課題名（英文） The determination of vital reactions in charred bodies by GC-MS analysis of pyrolysis products in blood

研究代表者

原 健二 (HARA KENJI)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：00090738

研究成果の概要（和文）：火災で発生する熱分解物すなわち煙成分を焼死体の血液から証明する研究をした。方法としては、固相マイクロ抽出を使って揮発性成分を抽出し、低温濃縮ガスクロマトグラフィー質量分析法を使った。この方法により、熱分解産物であるフェニルアセチレン、スチレン、インデン、ナフタレンが熱傷を伴う焼死体の血液から検出されることがわかった。すなわち、この分析において、焼死体の血液から火災で発生した煙成分を証明することができる。煙成分の検出は火災発生時において焼死体が生存していた証拠になる。

研究成果の概要（英文）：We studied the analysis of pyrolysis products, or smoke components, from the blood of charred bodies. The analysis method included cryogenic-focusing gas chromatography-mass spectrometry following solid-phase micro-extraction of the volatile compounds from the headspace of a blood sample vial. Using this method, pyrolysis products such as phenylacetylene, styrene, indene, and naphthalene were detected from the blood of charred bodies that had accompanying heat wounds. The smoke components generated from a fire event being found in a charred body's blood could serve as evidence of the charred body having been alive at the start of the fire.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2009年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2010年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2011年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：焼死体、揮発性物質、高熱分解産物、ガスクロマトグラフィー、質量分析法、固相マイクロ抽出、生活反応

1. 研究開始当初の背景

火災現場で発見される焼死体が、火災発生時に生存していたかを判定することは、法医剖検で重要なことである。その判定には、高熱

を吸引するときに生じた喉頭、咽喉部などの熱傷、吸引された煤の観察に加え、煙中に存在する一酸化炭素吸入の証明が使われている。肉眼的観察が十分できないような遺体の

場合、一酸化炭素の証明は重要である。一酸化炭素の吸入の証明は、血中一酸化炭素ヘモグロビン飽和度で行われている。本研究開始当初には、一酸化炭素ヘモグロビン飽和度が低い値の時に、煙を吸入していなかったのかに疑問があった。その疑問を解決する試みとして、火災発生直前には生存していたと判断できるという考えに基づいて、助燃剤として使われるガソリン、灯油などの石油成分の分析が行われていた。しかし、火災に石油類が関与する例はわずかであり、この分析では、火災発生時に生存していたことを決定づけるものにはならない。一方、ほとんどの火災には、煙が発生する。煙は火災発生の瞬間から存在する。もし、火災発生時に焼死体が生存していたとすれば、煙を必ず吸引している筈である。そこで、その煙に含まれる成分を体内（血液）から検出すれば、焼死体が火災発生時には生存していたことを証明することができる。このような背景をもとに、焼死体の血液から、普遍的に含まれる煙成分を GC-MS 分析することで、火災発生時の生存を証明するマーカーを求めることを目的として、研究を始めた。

2. 研究の目的

火災時に燃焼産物（煙）が必ず発生する。通常の火災は、建材、衣服などが燃焼するので、そこに、燃焼の高熱で発生する化学物質が存在する。焼死体の血液から高熱で発生した化学物質（高熱分解物）をガスクロマトグラフィー・質量分析法(GC-MS)により分析する。

分析の対象となるのは、

- (1) 容易に気化する成分
- (2) 有機溶媒で抽出できる成分

これらの分析結果から、火災発生時に生存していたことを証明できるマーカーを見つける。実務に応用して、マーカーの検出が焼死体の生活反応の証明になるか、剖検の肉眼所見（熱傷、煤の吸引など）と照らし合わせて、評価する。

3. 研究の方法

試料調製、分析法を設定し、実務試料*の分析を行い、焼死体に最も共通に検出される高熱分解物を選択する。そして、その分析法の実用化を検討する。

- (1) 容易に気化する成分の分析

- ① 気化平衡、固相マイクロ抽出、低温オープン濃縮 GC-MS による測定を検討
- ② ①で開発した測定法を使って、分析確立した方法の手順（概要は図1）
 - 血液 0.1 g をあらかじめ新鮮な蒸留水 1 ml が入った気化平衡法用のバイアルにはかり取る。素早くアルミニウム膜でコ

- ーティングしたゴムで栓をする。
- 内部標準溶液 1 μ l を栓を通して、注入する。
- アルミブロックヒータ 60°C で 10 分間加熱後、室温下 2 分間放置する。
- 固相マイクロ抽出用ファイバー（100 μ m-PDMS）をバイアルに差し込み、バイアルを 0°C のアルミブロック低温槽に 15 分間放置し、揮発性成分を抽出する。
- ファイバーを GC-MS に導入し、測定を行う。

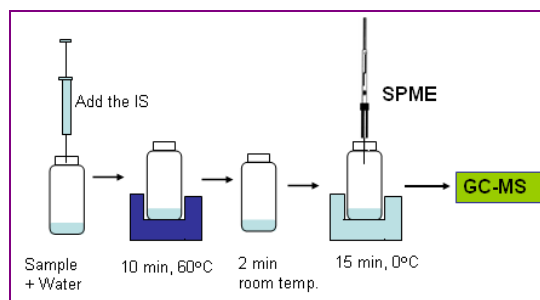


図1 試料処理（左からの時間経過）

(2) 有機溶媒で抽出できる成分の分析
血液 1 g をアセトニトリルと混合し、固形物を除去した後、ヘキサンで極性の弱い脂質を除去し、試料を濃縮して、GC-MS で分析した。この方法は、薬物分析（スクリーニング）にも応用している。

(1) (2) のいずれも、GC の条件に特徴がある。カラムを 2 段式にして、1 段目には許容量の大きいもの、2 段目には分離能を高める内径の小さいものを選んだ。分析時間を短縮するため、カラムの長さはいずれも短いものを使った。

*本研究においては、剖検で、肉眼的に熱傷等で火災による死亡が確認された例の血液を分析する。すなわち、剖検所見を参考に、化学成分の分析結果を評価する。

(3) 熱分解産物の確認

血液試料の分析の他、素材で熱分解物が生じるかを調べる検討をした。

市販されている熱分解装置は、極めて高価なので、本研究の予算では購入できなかった。500°C ぐらいの温度が得られるホットプレート、セラミックのトレー、気化平衡 GC 用サンプル瓶などで、装置を組み立て、固相マイクロ抽出で試料採取、分析を試みた。

4. 研究成果

(1) 容易に気化する成分

この分析法の開発は、10 年くらい前から取り組んできており、本研究室においては、開発途上の段階ではあったが、血液中石油成分

の分析にはほぼ実務で使用してきた。

当初、内部標準物質にトルエン-d8 のみを使用していたが、揮発性、脂溶性などが大きく異なる多種成分の定量値（概算値）を求めるには、かなり無理があった。トルエン-d8 に加え、ベンゼン-d6、エチルベンゼン-d10、1,3,5-トリメチルベンゼン-d12、n-オクタン-d18、n-ドデカン-d26、ナフタレン-d8 を使用することで、0°Cという低温下における気化成分の定量性が高まった。（これらの重水素標識化合物は比較的low価格であるので、他機関でも使用することは可能である。）これにより、石油成分分析を兼ねた実務的な方法を作製することができた。また、カラムを2段式にすることで、低沸点側化合物が濃縮されて、低い抽出効率を補うことができた。実際の試料から得られたクロマトグラムを図2に例示する。クロマトグラムは、複雑なので、石油成分の検索（上2つ）と熱分解物の検索（下）に分けて表示する。

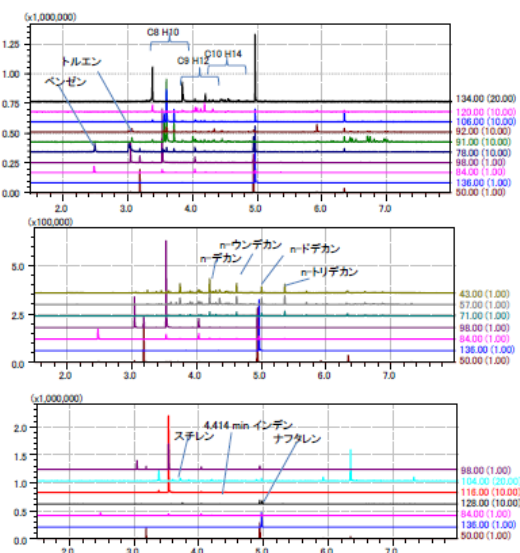


図2 焼死体血液中の熱分解産物（揮発性炭化水素の分析例）

この焼死体の血中の一酸化炭素ヘモグロビン飽和度は9%で、肉眼的観察ができないものであれば、生存中に火災に巻き込まれたと判断することができない例である。検出された成分は極めて低濃度であるが、環境の石油成分とスチレン、インデン、ナフタレンが検出されている。本事例では、熱傷と煤の吸引、本分析によって、生存中の火災と判断できた。

この方法を使って、焼死体血液中の炭化水素の測定を行い、石油系製品（カーペット、建材など）から高熱で発生するフェニルアセチレンスチレン、インデン、ナフタレン[文献1]、あるいはポリプロピレンなどの熱分解

成分鎖状炭化水素[文献2]を同時にスクリーニングすることができた。

開発した試料調製、GC-MSの条件について
○低温での気化平衡法

気化平衡法に試料調製は、通常、高い温度40~80°Cぐらいで行われる。しかし、このSPME法では、炭化水素の抽出が悪かった。低温にすることで、水分の含有量が下がるし、水溶性の揮発性物質も減少する。その結果、沸点が高い非水溶性の炭化水素の検出が鮮明になり、検出感度が高くなる。

○GC-MSの条件

カラムには、2つのカラムを連結したものを採用した。試料導入側のカラムは膜厚が厚く、低沸点化合物のピークの濃縮になる。検出側のカラムは内径が小さいので分離能が高く、多数存在する炭化水素の分析に有効である。

文献

- 1) Howard, J., McKague, A. B. (1984) A fire investigation involving combustion of carpet material. J Forensic Sci, 29, 919-922.
- 2) Tsuchiya, Y., Sumi, K. (1969) Thermal decomposition products of polypropylene. J Polymer Sci, 7, 1599-1607.

(2) 有機溶媒で抽出できる成分

この方法で、熱分解物が吸引されたと判断できたのは20例以上の経験から、ほんの1例のみであった。検出された成分はメチルグルタノニトリルなどのニトリル誘導体であった。これらニトリル誘導体はポリアクリロニトリルの熱分解産物[文献3]であるが、このように検出頻度が極めて低く、焼死体血液からニトリル誘導体を分析することは実用的ではない。この方法により、得られたクロマトグラムを図3に例示する。ニトリルを検出した例においても、極めて微量であったが、スチレン、インデンが検出されている。

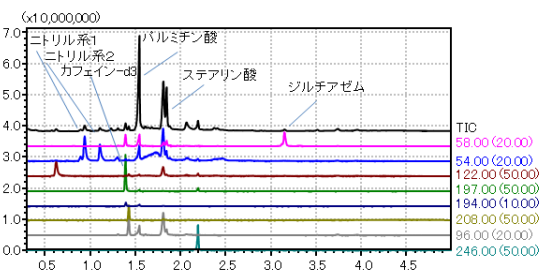


図3 焼死体血液中の熱分解産物の分析例

この焼死体の血中の一酸化炭素ヘモグロビン飽和度は10%以下で、図2同様の基準である。m/z 54がニトリル系特有のイオンで、死者の生前の環境にアクリルニトリル系製品があったことを示している。本例においても、スチレン、インデンなどの石油系の熱分解物が血中に検出されている。(この試料調製法により、薬物も同時に検出される。)

文献

3) Tsuchiya, Y., Sumi, K. (1977) Thermal decomposition products of polyacrylonitrile. *J Appl Polymer Sci*, 21, 975-980.

(1)、(2)の結果から、スチレン、インデンを対象に熱分解物を焼死体血液から検出することが、実務的で有用であることがわかった。そこで、焼死体の血液から、スチレン、インデンを分析することを実務分析に採用することにした。この検査は、現在、実際に行っており、その有用性を確認中である。

(3) 熱分解産物の確認

熱分解物の発生の確認について、前項の方法で実験を行ったが、実際に得られた最高温度が200°Cを超すところまでであったので、熱分解物の確認まではできなかった。分析対象にする熱分解物は、実際の試料から検出された化合物を文献検索で得られたもので確認した。

しかし、この装置で、材料に付着した薬物などが、気化して、固相マイクロ抽出できることがわかった。

目的は異なるが、この加熱装置を利用し、尿中、血中の迅速抽出ができる可能性がある所見が得られ、次の新しい研究課題になると思っている。

○現時点での問題点

福岡大学では、本研究から得られた測定法を実務に応用できるが、冷却設備のないGC-MS装置では利用できない。

○本研究の成果を普及させるため

本研究の成果を普及させるためには、他機関でも、福岡大学と同じ設備にすることが望まれる。GC-MSにオープン冷却のための電磁弁を設置するには、若干費用はかかるが、15万円程度なので、GC-MSを所有している機関では、そんなに大きな負担ではない。固相マイクロ抽出に関する技術は講習を受けると簡単にできる。以上のことから、費用、技術の面で問題はないと思う。ただ、福岡大学で

は、冷却のため液化炭酸ガスを使用しているため環境の面で問題はあるかも知れない。この技術的な問題を解決すれば、焼死体血液からの熱分解産物の検出は、焼死体が火災発生時に生存していたことを証明することができることで大きな意義があり、本研究の成果を普及させることができると考える。

○まとめ

焼死体が生存中に火災に遭ったかをしるため、焼死体血液の煙成分(熱分解産物)の分析という実務を通して本研究を行った。容易に気化する成分(水に溶けにくい成分)と有機溶媒に抽出される成分の2種の分析を行った。常時検出されるスチレン、インデンなどをマーカーにすることで、研究目的に達成することがわかった。実務分析でデータを収集し、まとめることで、本研究の普及ができる。

○研究まとめの発表について

研究期間内に、論文作成までは到達しなかったが、研究のまとめを2012年6月、浜松で開催されるTIAFT(国際法中毒学会)、2012年7月、Bostonで開催されるSOFT(北アメリカ大陸の法中毒学会)で報告する。これらの内容の論文を作成する計画をしている。(この実務研究には、福岡大学医学部助教のBrian Watersと共同研究になっている。)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計2件)

- ① Demonstration of pyrolysis products in blood from charred cadaver by cryogenic gas chromatography-mass spectrometry following low-temperature headspace solid-phase microextraction. Hara, K., Kubo, S., Kashiwagi, M., Matsusue, A., Kageura, M. 47th TIAFT, Geneva, Switzerland, August 23-27 (2009)
- ② Faster gas chromatography-mass spectrometry analysis using tandem columns. Hara, K., Kashiwagi, M., Waters, B., Matsusue, A., Sugimura, T., Hamasato, S., Kubo, S. 8th International Symposium Advances in Legal Medicine (ISALM), Rechtsmedizin 2011; 21 (4): 401. Frankfurt am Main, Germany.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 健二 (HARA KENJI)

福岡大学・医学部・講師
研究者番号：00090738

(2)研究分担者

久保 真一 (KUBO SHINICHI)
福岡大学・医学部・教授
研究者番号：10205122

柏木 正之 (KASHIWAGI MASAYUKI)
福岡大学・医学部・助教
研究者番号：70301687