

ノ ー ト

フッ素樹脂薄膜を用いたピンポイント濃縮/顕微赤外分光法
によるテトラヒドロカンナビノールの検出同定宮 沢 正^{®*}, 中島 邦生^{*}, 南 幸男^{*},
内 原 博^{**}, 池田 昌彦^{**}

(1994 年 9 月 19 日受付)

(1994 年 12 月 5 日審査終了)

1 緒 言

現在, 依存性禁制薬物の中でも, 大麻の密輸入が増加し, その乱用が大きな社会問題となっている。大麻の法科学的な確認は, 二つの方法で行われている。まず植物形態学的検査を行い, 次に大麻に含まれている幻覚成分であるテトラヒドロカンナビノール (THC) の検出を行うものである。この THC の日常分析法は, ヘキサン等で溶媒抽出した後, フロリジルカラムを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製し, 発色試験, TLC, GC 等による予備検査に続いて, GC/MS での確認同定が行われている。又, 精製 TLC を行って IR で確認する方法は, GC/MS に比較して感度が劣るため試料の濃縮操作が必要となる。この操作は, 検査試料が多数になると非常に煩雑で時間がかかる。最近, 乱用依存性禁制薬物の高感度, 高選択性かつ迅速簡易分析法としてマイクロ結晶化¹⁾やその IR で確認する方法²⁾が報告されている。一方 IR による新しい微量高感度測定法としてピンポイント濃縮/顕微 FTIR 法³⁾がある。このピンポイント濃縮法は, 鏡面研磨されたステンレス鋼板にフッ素樹脂薄膜を 100 nm の厚みにコーティングしたサンプルプレート (以下サンプルプレート) に 1~数 μ l の溶液を滴下し, 溶媒を蒸発除去する方法である。すなわち, フッ素樹脂薄膜表面と, 滴下した溶媒との間で形成される大きな接触角により, 溶媒の蒸発に伴い溶質が 1 点に局所集中凝固, つまりピンポイント状に乾固され, この凝固サンプルの赤外スペクトルを顕微/FTIR で測定する方法

である。IR で確認する方法では, 溶媒が共存した場合, そのスペクトルに大きな影響を及ぼすが, 本法では, サンプルサイズが小さいため, 迅速に溶媒が除去され, 数 ppm 濃度の溶液から溶媒を含まない微量溶質試料の赤外スペクトルが得られる。本法は又, HPLC の検出器として多用されている紫外吸収検出器に不検知な物質についても適用が可能であり, その実施例が報告されている⁴⁾。

今回, ピンポイント濃縮/FTIR の法科学分野での応用例の一つとして, 押収大麻試料中の THC の検出同定法について検討した。なお, 押収大麻試料からの THC の抽出及び分離精製法は, 日本薬学会協定“薬毒物化学試験法”に従って行った。

2 実 験

2.1 試 薬

大麻試料からの THC 抽出はヘキサンを用いた。カラムクロマトグラフィーには, あらかじめ 110~120°C で 1 時間加熱活性化したフロリジル (60~100 メッシュ) 10 g をガラスカラム (10 mm ϕ ×600 mm) にヘキサンを用いて充てんし, 過剰のヘキサンを除去したものを用いた。カラム溶離液は, ヘキサン-ジクロロメタン (6:4) を用いた。分取薄層クロマトグラフィーのプレート (以下, TLC プレートと記す) は, Merck 製シリカゲル 60F254 を使用し, 展開液には, ベンゼン-ジエチルアミン (20:1), THC 分画の溶出には, ベンゼンを用いた。更にサンプルプレートへの滴下用試料希釈溶媒には, クロロホルムを用いた。又, THC の発色試薬には, Merck 製のジ-オルト-アニシジンテトラゾリウム塩 (Fast Blue B) の 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液を用いた。以上用いた試薬は, すべて試薬特級あるいは残留農

* 大阪府警察本部科学捜査研究所: 541 大阪府大阪市中央区本町 1-3-18

** (株)堀場製作所分析センター: 601 京都府京都市南区吉祥院宮の東 2

薬用を使用した。

2・2 装置

顕微/FTIR は堀場製作所製 FT-520 及び Nicolet 製 20-SXC に Spectra Tech 製 IR-PLAN を装着したものを使用した。測定は反射法で 96 回積算した。超音波振り混ぜ機は Branson 製 3200 型、遠心分離機は国産遠心機製の Kokusan-H-900 型を使用した。滴下液滴の直径の測定はニコン製の遊動顕微鏡 Nikon Measure Scope を用いた。サンプルプレートは堀場製作所製であり、75 mm×50 mm の鏡面研磨したステンレス鋼板にフッ素樹脂を約 100 nm の厚みにコーティングしたものをを用いた。

2・3 操作

大麻葉片約 500 mg、大麻樹脂の場合は約 200 mg についてヘキサン 50 ml を加え、超音波振り混ぜ抽出を約 10 分間行った。次に遠心分離機で 2500 rpm、3 分間遠心後、ヘキサン相を分取した。無水硫酸ナトリウムで脱水、汙過した後、減圧下で約 20 ml に濃縮し、前もって調製したクロマトグラフィー用カラムに注加し、前記溶出液を用いて溶出した。溶出分画の一部を汙紙にスポットし溶媒蒸発後、前記発色試薬を噴霧し、赤紫色に発色した分画を約 10 ml 捕集し、減圧下で溶媒を留去乾固した。次いで、乾固試料をメタノールに溶解後、TLC プレートに転着し、常法に従い展開したものについて、紫外線照射下での観察に続いて、前記発色試薬を噴霧し発色させ、 R_f 値あるいは同時に展開した標準物質と比較した。TLC の THC 分画の溶出にはベンゼンを用いた。溶出液の溶媒を留去し、THC を回収したものをひょう量したところ 18 mg を得た。これをクロロホルムで 100 ml に定容とした後、更に 10~100 倍希釈して IR 測定用試料とした。

3 結果と考察

3・1 分取薄層クロマトグラフィーにおける THC 分画の最適溶出溶媒の検討

溶媒として特級メタノール、特級クロロホルム、残留農薬用クロロホルム及び特級ベンゼンについて、5 μ l をサンプルプレート上でピンポイント濃縮して、残留物の赤外吸収スペクトルを測定した結果、いずれも赤外吸収ピークは認めなかった。次に分取薄層クロマトグラフィー用の TLC プレート(10 mm×50 mm)のシリカゲルを主とした塗布剤をすべてかき集めたところ 40 mg となり、これに上記の溶媒を各々 0.5 ml ずつ加えて、5

分間超音波振り混ぜ抽出を行った。次いで、遠心分離(2500 rpm)を 5 分行い、上澄み液 5 μ l をサンプルプレート上で濃縮し、その残留物を顕微/FTIR で測定したところ、塗布剤から溶出した物質に起因したと考えられる赤外スペクトルへの影響は、ベンゼンを用いた場合が最も少なかった。従って、分取薄層クロマトグラフィーにおける THC 分画からの THC の溶出溶媒には特級ベンゼンを用いることとした。更に、溶出溶媒である特級ベンゼンを留去後の THC 溶解希釈溶媒には、溶媒中の含有成分量が少ない残留農薬用クロロホルムを用いた。又、THC を含むクロロホルム溶液 (1.8 μ g/ml) 5 μ l を室温下でサンプルプレート上に滴下した際のピンポイント濃縮所要時間は 3 回平均約 51 秒であり、サンプルプレート上測定対象残留物の直径は約 6 μ m であった。

3・2 分取薄層クロマトグラフィーの最小スポット量の検討

THC を含むクロロホルム溶液を TLC プレートに線状にスポット (THC として 0, 10, 50, 100, 300 及び 500 μ g/cm) した。2・3 に準じた方法で展開、風乾の後、THC 分画をかき採り、かき採り面積 1 cm² 当たり 1 ml のベンゼンで溶出し、その上澄み液を採取した。まず、THC を含まないベンゼン溶出液を直接サンプルプレート上でピンポイント濃縮したものと、同溶出液をクロロホルムで 10 倍及び 100 倍に希釈した溶液 2.5 μ l をサンプルプレート上でピンポイント濃縮したものについてそれぞれ顕微/FTIR で測定した。その結果、ベンゼン溶出液をクロロホルムで 10 倍希釈することにより 3・1 で示されたスペクトルへの影響は除去された。次に前述の THC をスポットした TLC 板からのベンゼン溶出液をクロロホルムで 10 倍希釈してスペクトルの強度をみた。その結果、THC のスポット量は、50 μ g/cm 以上で THC 標品に一致した赤外スペクトルを得ることができた。なお、用いる TLC 板のロットにより妨害成分に 10 倍程度のばらつきがあるため、希釈は 100 倍必要なことがあり、そのときの最小スポット量は 300 μ g/cm となった。

3・3 赤外スペクトル測定

THC を 18 ng 含むクロロホルム溶液 1 μ l について、サンプルプレート上でピンポイント濃縮を行った。湿度が約 75% の環境下でピンポイント濃縮を行いそのまま測定した場合、スペクトルには水分の影響が大きく現れた。そこで自然蒸発濃縮後、ロータリーポンプを用いた

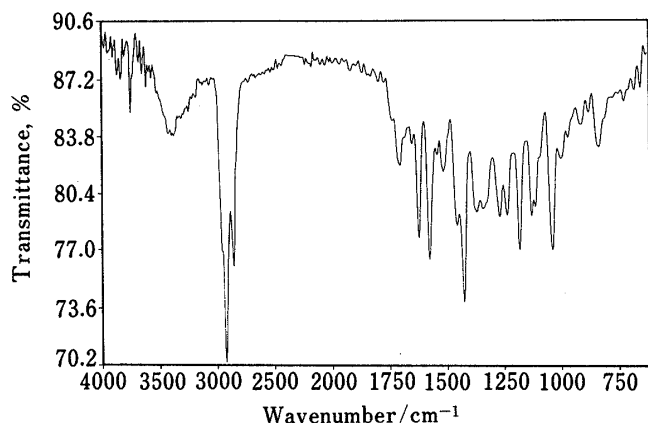


Fig. 1 Infrared Spectrum of 18 ng of THC

Resolution: 2 cm^{-1} , No. of Scans: 96; Mask size: $10 \times 10\text{ }\mu\text{m}$

減圧装置内で、 1.5 Pa まで減圧し、直ちに常圧にもどし測定したところ、Fig. 1 に示すスペクトルが得られた。このスペクトルは THC 標品の IR スペクトル⁵⁾によく

一致していた。なお、本法における THC の確認限界は 1.8 ng であった。

本法は従来から行われている GC/MS 法と比較すると、迅速測定が可能であるだけでなく、感度面においてもその検出限界 10 ng に匹敵しており、大麻中幻覚成分の一つである THC の法科学的確認分析に適用できることが判明した。

(1994 年 3 月、日本化学会第 67 春季年会において一部発表)

文 献

- 1) D. Wielbo, I. R. Tebbet: *J. Forens. Sci. Soc.*, **33**, 25 (1993).
- 2) C. C. Futon: "Modern Microcrystal Test For Drugs", (1969), (Wiley-Interscience, New York).
- 3) M. Ikeda, H. Uchiyama: *Appl. Spectrosc.*, **46**, 1431 (1992).
- 4) 磯 節子, 中村 忠, 内原 博, 池田昌彦: 環境化学, **3**, 231 (1993).
- 5) 日本薬学会編: "薬毒物化学試験法と注解", p. 258 (1992), (南山堂).



Pinpoint condensation technique using perfluorated polymer film for the identification of tetrahydrocannabinol by microscope/FTIR. Tadashi MIYAZAWA, Kunio NAKAJIMA, Yukio MINAMI*, Hiroshi UCHIYAMA and Masahiko IKEDA** (*Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police Headquarters, 1-3-18, Hommachi, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541; **Horiba Application Laboratory, 2, Miyano Higashi, Kisshoin, Minami-ku, Kyoto-shi, Kyoto 601)

The pinpoint condensation technique using perfluorated polymer film was applied to the identification of tetrahydrocannabinol (THC), the primary psychoactive constituent of marijuana. Rapid solvent elimination for condensation of THC into a small single residual at room temperature was performed by solvent evaporation on perfluorated polymer film, and the residual was measured by the microscope/FTIR technique. This sample condensation method provided high sensitivity for IR analysis. The detection limit was at the subnanogram level, and the sensitivity was nearly equal to that of gas chromatography using a mass spectrometer.

(Received September 19, 1994)

(Accepted December 5, 1994)

Keyword phrases

forensic science; pinpoint condensation technique; microscope/FTIR; tetrahydrocannabinol.