

電子スピン共鳴を用いたアザイドの迅速定量法

著者	南方 かよ子, 野澤 秀樹, 渡部 加奈子, 鈴木 修
雑誌名	法中毒 = Japanese journal of forensic toxicology
巻	22
号	2
ページ	134-135
発行年	2004-04-01
URL	http://hdl.handle.net/10271/1747

P-2

電子スピン共鳴を用いたアザイドの迅速定量法

浜松医大・法医 ○南方かよ子、野澤秀樹、渡部加奈子、鈴木修

Determination of azide by use of ESR method

Kayoko Minakata, Hideki Nozawa, Kanako Watanabe and Osamu Suzuki

Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】

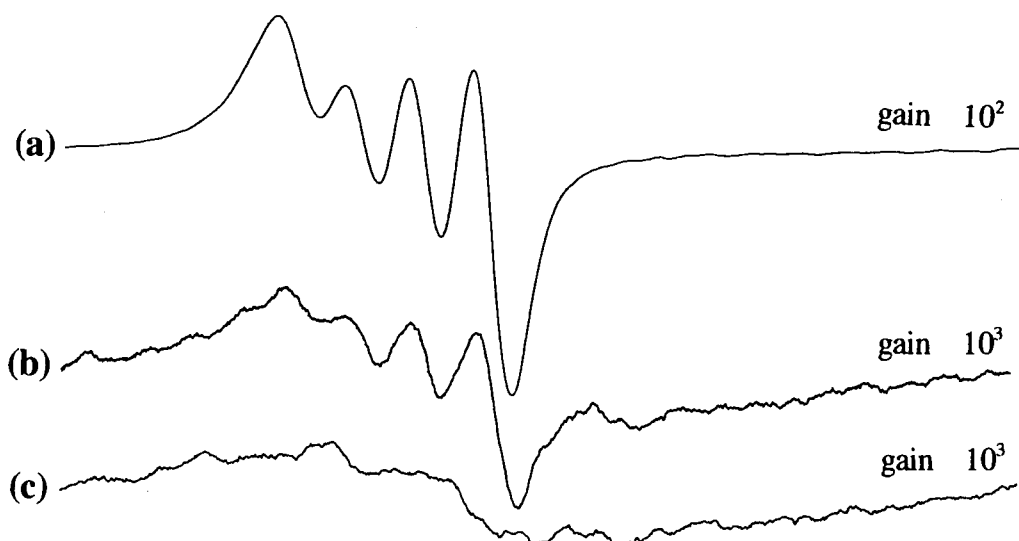
近年、飲物にアジ化ナトリウム(NaN_3)が混入される事件が報じられた。 NaN_3 は防腐剤として添加されたり、エアバッグに起爆剤として使用されたりする身近な毒物の1つである。 N_3^- は種々の遷移金属と錯体を形成し、その吸収スペクトルが定量に利用されているが、吸光法は試料の着色、混濁による妨害を受けやすい。このため、 HN_3 として気化させ、分離抽出後、定量する方法も提案されているが、気化には15分程度は必要とされる。金属- N_3 錯体の中で一部の金属錯体ではピリジン(Py)添加により、有機溶媒に抽出可能となり、着色、混濁による妨害が減少するという報告がなされている。我々は、さらに感度と特異性を向上させるために、金属に常磁性の銅(Cu)を使用し、 $\text{Cu}(\text{N}_3)_2(\text{Py})_x$ 錯体を作成し、クロロホルムで抽出し、電子スピン共鳴法で定量することにより、 N_3^- を定量することとした。

【方法】

尿、牛乳、飲料等の各々20 μL または1/2に希釈した血漿40 μL に1Mの CuSO_4 を0.5 μL 、ピリジン4 μL 、クロロホルム20 μL を加へ、混合、遠心する。クロロホルム層20 μL をQバンド用のESRキャピラリーにいれ、ESR装置にて $\text{Cu}(\text{N}_3)_2(\text{Py})_x$ 錯体を定量する。1試料5分で測定は終了する。

【結果及び考察】

図にクロロホルム中の $\text{Cu}(\text{N}_3)_2(\text{Py})_x$ 錯体の室温におけるESRスペクトルを示す。modulation 巾2 mT・microwave power 65 mWが定量に適したESR設定である。4本の吸収線からなり、それらの線の間隔(超微細分裂)は5.24mTであり、中心のg値は2.109である。図の(a)は1mM N_3^- , 20 μL (c)は N_3^- を含まない血漿20 μL から抽出(b)は検出限界の50 μM N_3^- , 20 μL で40ngの N_3^- である。他の検出方法の検出限界は Fe^{3+} を用いた吸光度法では4 μg 、ベンゾイル化誘導体を用いたHPLC法では200 ngと報告されている。Cuは大気中で2+の酸化状態が安定であるため、このようにして抽出された $\text{Cu}(\text{N}_3)_2(\text{Py})_x$ 錯体は大変安定であるが、溶媒のクロロホルム、ピリジンの蒸発による濃度変化には注意せねばならない。



pH7-9において、PdはCuより強く $(N_3^-)_2(Py)_x$ と結合するが、生体内、飲み物中でのPdの濃度は低い。その他の金属はCuより弱くしか結合しないので、Cu終濃度が25 mMのような高濃度では妨害は観察されない。Fe³⁺は水溶液中ではN₃⁻と結合するが、pH6以上では沈殿が始まり、N₃⁻・Pyとの結合は観察されない。I⁻とSCN⁻はN₃⁻とは異なるg値のシグナルを示すが、N₃⁻はアルカリ性では酸化剤に対して大変安定なので、酸化剤を添加することにより、これらの妨害を除くことができる。終濃度25 mMのCuSO₄を用いた場合、25 mMまでのEDTA、シュウ酸、クエン酸、アスコルビン酸、酒石酸、ぎ酸、酢酸、炭酸、塩酸、硝酸、亜硝酸、硫酸、チオ硫酸、亜硫酸、ヒドロサルファイトの各陰イオンによる妨害は観察されない。上記の方法で、血漿、尿、牛乳、コーヒー、お茶へ添加したN₃⁻は標準水溶液の値の90%以上である。オレンジジュースでは50%程度であるが、CuSO₄の濃度を0.1Mとすれば90%となる。

【SUMMARY】

A simple and sensitive method for the determination of sodium azide has been developed. In the presence of pyridine (Py), Cu reacts with azide ion (N₃⁻) most preferentially among common metals found in biological fluids. The procedure is based on the formation of paramagnetic complex Cu(N₃)₂(Py)_x in chloroform and its detection by electron spin resonance (ESR) method. The complex shows a characteristic four-line hyperfine structure ($a_N = 5.24\text{mT}$) with g value of 2.109 at room temperature. Interference from coexisting large amount of cations, anions and reductants can be eliminated by adding either CuSO₄ or oxidants. By use of the present ESR method, N₃⁻ at the concentration from 50 μM to 10 mM in 20 μL solution is quantitated with the detection limit of 40 ng. One sample can be quantitated within 5 min.