総合論文*

法科学試料への多変量解析法の適用

肥田 宗政^{®**}, 三井 利幸^{**}

Application of multivariate analysis to forensic science samples

Minemasa HIDA and Toshiyuki MITSUI^{**}

^{**}Criminal Investigation Laboratory, Aichi Prefecture Police H.Q., 2-1-1, Sannomaru, Naka-ku,
Nagoya 460-8502

(Received 13 March 1998, Accepted 15 April 1998)

In this study a multivariate analysis was applied to forensic science samples for both the evaluation of similarity and a quantitative analysis. As for the evaluation of similarity, a classification of counterfeit coins by a cluster analysis using the analytical results of a fluorescence X-ray analysis is described. The determination of carboxyhemoglobin in human blood samples by a principal component analysis using visible absorption photometry is described as an example of quantitative analysis.

Keywords : forensic science sample; multivariate analysis; counterfeit coins; carboxyhemoglobin; cluster analysis; principal component analysis.

1 緒 言

我が国の法科学の分野で取り扱う試料の中で最も数が多いのは、覚せい剤や大麻及びコカイン等の麻薬類（いわゆるドラッグ）である。これらのドラッグは、その量的な増加だけでなく、高校生や中学生などの低年齢層にまで広がってきており、昨今大きな社会問題の一つとなっている。又、従来は海外で流行しているドラッグの情報は、あくまでも情報であって、必ずしも日本においてそのドラッグが濫用されているとは限らなかった。しかし、ボーダーレス化が進展している社会情勢から、昨今新しいドラッグが瞬間に我が国に広がり、法科学の分析対象となる情勢にある。このように法科学では、国民の価値観の変化や社会情勢の変化に敏速に反応し、常に

対象となる分析対象物や、求められている分析内容が大きく変貌する。そして、これに対応できるように分析機器やその使用方法の進歩にも目覚ましいものがある。例えば、ガスクロマトグラフィーで使用する分離カラムは、バックドカラムからキャピラリーカラムへと置き換わり、検出器も質量分析計やフーリエ変換赤外分光光度計が導入されている。更に、コンピュータ技術の発展に伴いライブラリーが充実し、対照試料を持たなくても迅速かつ正確に同定ができるようになった。

本論文では、まず法科学の分析に求められている基本姿勢を示し、次いで著者らが測定結果の信頼性を上げるためにこれまでに行ってきた統計的手法である多変量解析法を機器分析に適用した例について述べる。

2 法科学の分析で求められるもの

法科学では試料を分析する際に要求される重要な3要素がある。第一は高い信頼性である。分析結果は司法

* 中部支部創立40周年記念

** 愛知県警察本部科学捜査研究所: 460-8502 愛知県名古屋市中区三の丸2-1-1

書類にまとめられ、裁判に利用されるので、分析結果はその分野の専門家にとっても十分納得できるものでなければならない。更に分析結果の判断は、客観的な立場から慎重に行われなければならない。第二は迅速性である。分析結果によっては、特定の人の自由を束縛することになるため、できる限り迅速に結果を出す必要がある。第三は非破壊性である。場合によっては再検査もあり得るため試料を破壊する分析法は極力避け、やむを得ず破壊する場合でもできる限り少量にとどめなければならない。これらのうちで最も重要なものは信頼性である。著者らは、分析結果の信頼性の向上のために統計的な処理を行う多変量解析法を導入し、更に迅速性も合わせて確保するためにコンピュータを用いて分析を行っている。このことは、法科学試料に限定されることなく、現在の分析化学に求められている課題とも共通している部分があるものと思われる。

3 多変量解析法の適用

3.1 多変量解析法の概説

多変量解析法^{1)~5)}は、多くの変数が関係している現象を統計的な処理をすることによって①分類する(クラスター分析)、②簡潔に要約する(主成分分析等)、③特徴を抽出する(因子分析等)、④予測する(重回帰分析等)手法であり、歴史的には経済学、心理学、生物学、農学などの分野で先駆的に研究された。著者らが多変量解析法を分析化学に適用してきた用途は、試料中の複数の測定値を用いて、

1) パターン認識として利用する類似性の評価

2) 従来の検量線作成に相当する測定値を計算する定量分析

の二つの方法である⁵⁾。

パターン認識を適用して類似性の評価を行う場合に二通りの方法がある。一つは比較する対照試料が得られる場合で、この場合は未知試料がどの対照試料に最も類似性が高いかを計算する。すなわち、測定で得られたスペクトルなどを比較して、最も適合したスペクトルなどを採り出す方法である。もう一つは対照試料がない場合で、この場合は類似性の評価というよりも試料の潜在的な特徴に基づいて分類を行い、その後に主成分分析などの結果から各グループの特徴を考察する方法である。

定量分析の場合にも二通りの方法がある。一つは混合成分数の明らかな複数の化合物が混合している試料中から目的成分の混合割合を定量する方法である。この場合は試料中に含まれている1成分を内標準として用いる非破壊分析である。いま一つは、混合成分数が明らかで

ない試料中から目的成分を定量する場合である。この場合は従来法と同様に内標準物質を添加して行う。いずれの場合も、目的成分を定量するための計算には、①試料に対して複数の測定データを使う、②標準試料と未知試料の測定値を同時に使う点が従来法と大きく異なる。

実際の分析で著者らが行っている一連の過程を以下に示す。詳細については実用例のところで説明する。

3.2 類似性の評価法としての適用

3.2.1 偽造硬貨の分類⁶⁾ 最近の偽造硬貨を使用した犯罪は、多量の偽造硬貨を用いて自動販売機などから釣り銭をだまし取ることを目的としたものが多い。従って、一目で偽物と分かるものが使われている。しかし、ときには外見が本物の硬貨と類似した偽造硬貨が発見される場合がある。このような場合、試料の真がん(贋)の判定をし、偽物ならば試料間の同一性や製造法などを明らかにする分析法が求められる。このとき、もし本物である場合を考慮して非破壊分析を行う必要がある。そこで、試料中の元素分析を非破壊で行い、その構成成分及び成分比に基づいて分類を行い試料の潜在的な特徴を解明する方法を検討した。

Fig. 1 に偽造された500円及び本物の500円硬貨の蛍光X線スペクトルを示した。又、Table 1に5か所の金融機関等で発見された89枚の偽造硬貨の一部(No. 1~10)、本物の500円硬貨(No. 90)及び、後日新たに見つかった6枚の偽造硬貨(No. 91~96)についてファンダメンタルパラメーター法での定量値及びクラスター分析、soft independent modeling of class analogy (SIMCA) 及び K-nearest neighbor method (KNN) による分類結果を示した。いずれも銅とニッケルの合金で

Fig. 1 XRF patterns of real coin and counterfeit one.

a: real ¥500 coin, b: counterfeit coin.

Rh tube: voltage 30 kV, current 50 mA, area 30 mm ϕ

ある。本物の硬貨では微量のマンガン、鉄及びコバルトが検出されているのみであるが、偽造硬貨にはこのほかに更にクロム、亜鉛及び鉛も含まれている。特に鉄と亜鉛の含有量は本物の硬貨よりかなり多い。そこで、今回

は5か所の金融機関等で発見された89枚の偽造硬貨についての分類を、クロム、マンガン、鉄、ニッケル、銅及び亜鉛の含有量(重量%)から多変量解析法で行った。後日発見されたNo. 91の試料について、本物及び5か

Table 1 Quantitative and classification results of the counterfeit coins

No.	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Cluster	SIMCA	KNN
1	0.50	0.33	4.11	18.38	70.31	6.38	I	I	I
2	0.51	0.33	4.41	17.76	70.65	6.34	I	I	I
3	0.44	0.32	4.03	17.17	71.71	6.33	I	I	I
4	0.33	0.19	3.46	18.60	70.27	7.16	I	I	I
5	0.20	0.15	3.73	16.84	67.49	11.60	III	III	III
6	0.30	0.20	3.02	17.29	71.77	7.41	I	I	I
7	0.33	0.19	3.16	17.75	71.41	7.16	I	I	I
8	0.09	0.27	1.51	19.26	72.13	6.74	II	II	II
9	0.09	0.27	1.62	19.71	71.47	6.84	II	II	II
10	0.34	0.19	3.60	18.74	69.86	7.27	I	I	I
90	0.07	0.20	0.14	29.30	70.16	0.12	*	*	*
91	0.32	0.18	3.42	18.44	70.50	7.13	I	I	I
92	0.42	0.34	3.40	16.91	72.25	6.67	I	I	I
93	0.11	0.40	1.52	17.38	73.16	7.44	II	II	II
94	0.09	0.25	1.43	18.98	72.74	6.52	II	II	II
95	0.19	0.13	3.19	16.26	70.05	10.17	III	III	III
96	0.08	0.15	1.63	17.06	69.02	12.06	III	III	III

*: real ¥500 coin

所の金融機関から発見された偽造硬貨のどれに類似するかをクラスター分析で行った。その結果、Fig. 2に示したようなデンドログラム結果が得られた。Fig. 2から明らかのように試料 No.91 は、グループ I に分類されている（矢印）。Fig. 2 及び Table 1 に示したように、89 枚の偽造硬貨は三つのグループに分類され、この結果は、SIMCA 及び KNN による分類ともよく一致した。なお、SIMCA 及び KNN の計算に使用したデータは、それぞれのカテゴリー（各元素の含有量）について数値の最大値を 1 にし、最小値を 0 に設定したものを使用した。

又、主成分分析からは、第 1 主成分から第 3 主成分までの固有値が 1.000 以上となり、主成分負荷量から第 1 主成分は鉄の含有量に、第 2 主成分は亜鉛の含有量に、そして第 3 主成分はニッケルの含有量に、それぞれ関連していることが明らかとなった。そこで、それぞれのグループごとの特徴を詳細に検討した。その結果、Fig. 2 のグループ I に属する 35 個の試料は、他のグループに属する試料と比較して鉄及びクロムを多く含んでおり、第 1 主成分の寄与が大きな試料と言える。次に、Fig. 2 のグループ II に属する 46 個の試料は、他のグループに属する試料と比較して銅及びニッケル以外の不純物の含有量が少なく、第 1 主成分得点から第 3 主成分得点まで、比較的小さな値を示した。最後に、Fig. 2 のグループ III に属する 9 個の試料は、他のグループに属

する試料と比較して亜鉛を多く含んでおり、第 2 主成分得点が極端に小さな値を示した。このように、各試料中の元素の含有量によってグループ分けがなされたことから、これらの偽造硬貨を製造するために、少なくとも 3 種類の原料が存在したかあるいは間隔のあいた 3 回の製造過程によって製造されたものと推定された。

このように構成成分が類似している試料間の分類を目的とした利用には、熱分解ガスクロマトグラフィー (Py-GC) による大麻樹脂の分類⁷⁾、ガスクロマトグラフ (GC) 及びガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) による大麻草の分類⁸⁾、X 線回折法 (XRD) によるストリートドラッグの分類⁹⁾等がある。通常構成成分が類似した試料間の分類を法科学試料へ適用する場合、分析法の感度や精度をはじめ、試料の形態や履歴及びサンプリング等の影響が予想される。従って解決されなければならない課題もまだ残されている。その他、対照試料を用いた同定法としては、Py-GC による合成樹脂の推定¹⁰⁾、繊維の推定¹¹⁾及び医薬品¹²⁾の推定が行われている。

3・3 定量分析法としての適用

3・3・1 一酸化炭素ヘモグロビンの定量¹³⁾ 思いもかけずに発生した火災で死亡する人がいる一方で、殺人の犯行を隠すために放火する事件も起きている。こうした火災現場から発見された遺体の死因が、火災による焼

Fig. 2 Dendrogram of sample No. 91

死かどうかの重要な判断材料になるのが、血液中の一酸化炭素ヘモグロビン (CO-Hb) 飽和度である。遺体から採血した血液中の CO-Hb 飽和度が高ければ、火災発生時にはまだ呼吸をしていたことになり、焼死したことが証明される。一方、CO-Hb 飽和度が低い場合には、死因として焼死以外に病死あるいは窒息死等の犯罪に起因することが考えられることから、CO-Hb の定量には迅速かつ正確な方法が強く望まれている。

今日行われている方法には、1) 拡散法、2) GC、3) 吸光光度法がある¹¹⁾。これらの方法の特徴は以下のとおりである。まず、拡散法については時間がかかり、更に精度も悪い。次に、GC は精度は良いが時間がかかり過ぎる欠点がある。最後の吸光光度法は迅速かつ簡便であ

Fig. 3 Spectra of the samples containing different degree of carboxy hemoglobin

るが精度が悪い。そこで、吸光光度法の精度の悪さを多変量解析法の適用によって改善する方法を検討した。

血液中のヘモグロビンの存在形態は、酸素ヘモグロビン (O_2 -Hb)、メトヘモグロビン (Met-Hb)、還元ヘモグロビン (Deoxy-Hb)、及び CO-Hb の 4 種類が主たるものであることが知られている。

これまでの吸光光度法では、まずはじめにヒドロスルフィトナトリウムを血液中に添加することによって、 O_2 -Hb 及び Met-Hb を Deoxy-Hb に変換し、血液中のヘモグロビンの存在形態を、Deoxy-Hb 及び CO-Hb の 2 種類にする。次いで、これら 2 種類のヘモグロビンの吸収極大波長 555 と 538 nm における吸光度の比を利用して CO-Hb を定量している¹¹⁾。Fig. 3 にいろいろな飽和度の CO-Hb と Deoxy-Hb 混合物の吸収スペクトルを示した。CO-Hb 増加に伴って 538 nm の吸光度が増加し、二つのピークを持った吸収曲線に変化していることが分かる。法科学で問題となるのは吸収曲線が 555 と 538 nm の二つのピークを持たない CO-Hb の量が少ない場合で、二波長を用いる CO-Hb の定量に測定誤差の生じやすい定量範囲である。この問題を解決するために、多変量解析法の適用を検討した。まず、GC 法で CO-Hb 濃度を測定し、五つの標準試料とした。この 5 試料について波長 555 と 538 nm 及び波長 580 から 530

nm までの間を 10 nm 間隔でそれぞれ吸光度を測定した。次いで、規格化数値である波長 555 と 538 nm の吸光度で他の波長の吸光度を除いて得られた数値（規格化数値）をまず使用した。数量化理論第 IV 類の結果、1 試料について 12 の規格化数値が定量のために使用できることが示された。未知試料についても同様の方法で規格化を行った後、五つの標準試料と合わせて主成分分析を行った。得られた主成分得点（principal component score, PCS）と CO-Hb 濃度との関係を Fig. 4 に示した。

Fig. 4 Relationship between CO-Hb and PCS

標準試料の PCS のうち、未知試料の PCS に最も近くて未知試料よりも大きい標準試料と小さい標準試料をそれぞれ一つずつ選び出す。この二つの標準試料の CO-Hb 濃度と PCS の間には、直線関係が成り立つものとして相関式を計算する。Fig. 4 に示した例では、CO-Hb 濃度が 31.0% と 58.5% の標準試料について PCS はそれぞれ 47.02 と 58.61 であり、未知試料の PCS は 51.58 であったので、

$$\log 47.02 = 31.0 \times a + b \quad (1)$$

$$\log 58.61 = 58.5 \times a + b \quad (2)$$

式 (1) 及び (2) から $a = 3.4796 \times 10^{-3}$, $b = 1.56441$ が得られ、未知試料の CO-Hb 濃度を X とすると、

$$\log 51.58 = X \times 3.4796 \times 10^{-3} + 1.56441 \quad (3)$$

から $X = 42.6\%$ が得られる。

本法では、個別に測定された未知試料に対応する式 (3) を未知試料ごとに計算して定量を行っている。ところが、標準試料については既に測定して規格化数値となっているので、2 回目以降は測定しなくても良いという利点を持っている。従って、本法は未知試料ごとに標準試料も測定を必要とする GC 法と比較して、同様な精度で GC 法よりも迅速に定量できる。

このようにして、未知試料中の CO-Hb の定量を行った結果と、波長 555 と 538 nm の比による従来法の結果

Table 2 Comparison of CO-Hb values (%) for conventional method and presented method

No.	Conventional method (A)	Presented method (B)	GC method (C)	Error	
				A - C	B - C
1	4.6	2.4	1.6	3.0	0.8
2	6.7	3.2	2.9	3.8	0.3
3	13.8	3.7	3.5	10.3	0.2
4	8.9	5.3	4.8	4.1	0.5
5	8.6	7.0	6.7	1.9	0.3
6	11.0	10.0	14.2	-3.2	-4.2
7	16.2	14.0	13.8	2.4	0.2
8	19.4	18.7	20.2	-0.8	-1.5
9	21.8	21.4	22.3	-0.5	-0.9
10	26.7	25.9	23.1	3.6	2.8
11	40.8	42.6	38.7	2.1	3.9
12	54.6	55.6	57.8	-3.2	-2.2
13	66.9	67.6	69.0	-2.1	-1.4
14	74.7	74.5	73.2	1.5	1.3
15	78.6	79.2	77.5	1.1	1.7

及び GC 法による結果を Table 2 に示した。従来法では、特に低濃度側で誤差が大きいことが示され、PCS を用いた本法の有効性が明らかとなった。更に、principal component regression (PCR) 及び partial least squares (PLS) による定量結果を本法と比較したところ、本法は PCR 及び PLS よりも定量値が 1 から 3 % 程度大きくなる傾向が見られたものの、3 法の定量結果はほぼ一致した。このように混合比を求める手法は、Py-GC による界面活性剤の定量¹⁵⁾¹⁶⁾、GC によるガソリンと灯油の混合比の定量¹⁷⁾、XRD による塩酸メタンフェタミンと塩酸エフェドリン混合物中の塩酸メタンフェタミンの定量¹⁸⁾等がある。又、目的成分の定量に利用した例は、清涼飲料水中のリン酸イオンの定量¹⁹⁾、軽油及び A 重油中のクマリンの定量²⁰⁾などがある。

4 結 語

著者らがこれまで行ってきた多変量解析法の法科学試料への適用例を、類似性の評価と定量分析について実例を挙げて示した。類似性の評価を行う場合、たとえ比較対照試料がなくても、複数の試料間の特徴を抽出しながら分類を行うことが可能であり、その分類を利用して新たな試料の分類も行うことができる。上述した偽造硬貨の類似性の評価においては、本物の硬貨はどのグループにも当てはまらない結果となった。このことは、類似の試料グループがない場合にはグループ外であることを明確に示しており、大変興味深いことである。又、定量分析において示したように、従来の定量法は試料濃度対測定値の関数が 1 対 1 の相関関係に基づいて行われているが、本法は複数の測定値対 1 の相関関係から定量している。このため測定誤差は補正され、測定値間の試料濃度と相関関係を持たない部分が除外され、高い相関関係を持つ部分のみが抽出されるために、結果として精度が改善される。

無論、本法は目的成分を前処理等で分離した後に測定した結果にも応用できるが、分離を行わないで測定した試料に適用することが可能で、得られた分析結果も十分満足できるものである。従って、本法は分離が困難な試料中の各成分定量には極めて有効であると考えられる。

最後に、本論文で述べた研究を共に進めてきた中部大学

工学部藤村義和教授及び愛知県警察本部科学捜査研究所奥山修司博士、御理解と御協力をいただいた歴代の愛知県警察本部科学捜査研究所長はじめ、多数の方々に感謝の意を表したい。

文 献

- 1) 奥野忠一、久米 均、芳賀敏郎、吉澤 正編：“多変量解析法”、(1979)、(日科技連)。
- 2) 奥野忠一、芳賀敏郎、矢島敬二、奥野千恵子、橋本茂司、古河陽子編：“統多変量解析法”、(1986)、(日科技連)。
- 3) 田中 豊、脇本和昌編：“多変量統計解析法”、(1988)、(現代数学社)。
- 4) 相島鐵郎編：“ケモメトリックスー新しい分析化学”、(1992)、(丸善)。
- 5) 三井利幸編：“分析化学のための多変量解析法”、(1997)、(日本図書刊行会)。
- 6) M. Hida, T. Mitsui, Y. Minami: *Forensic Sci. International*, **89**, 21 (1997)。
- 7) M. Hida, T. Mitsui, Y. Minami, Y. Fujimura: *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **32**, 197 (1995)。
- 8) S. Okuyama, T. Mitsui: *J. Chem. Software*, **2**, 220 (1995)。
- 9) 南 幸男、宮沢 正、中島邦生、肥田宗政、三井利幸: X 線分析の進歩 第 27 集, 107 (1996)。
- 10) 肥田宗政、三井利幸、藤村義和: 日本化学会誌, **1989**, 972。
- 11) 三井利幸、肥田宗政、藤村義和: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **39**, 427 (1990)。
- 12) 三井利幸、肥田宗政、藤村義和: 衛生化学, **36**, 226 (1990)。
- 13) S. Okuyama, T. Mitsui: *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **41**, 287 (1995)。
- 14) 日本薬学会編：“薬毒物科学試験法注解”、p. 11111 (1995)、(南山堂)。
- 15) M. Hida, S. Okuyama, T. Mitsui, Y. Minami, Y. Fujimura: *Chromatographia*, **35**, 643 (1993)。
- 16) M. Hida, S. Okuyama, T. Mitsui, Y. Minami, Y. Fujimura: *Chromatographia*, **38**, 436 (1994)。
- 17) 三井利幸、奥山修司、藤村義和: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **40**, 389 (1991)。
- 18) 奥山修司、三井利幸、藤村義和: 衛生化学, **38**, 176 (1992)。
- 19) 奥山修司、三井利幸、藤村義和: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 957 (1995)。
- 20) 三井利幸、肥田宗政、奥山修司: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **47**, 55 (1998)。

要 旨

本研究では、法科学試料に多変量解析法を適用して、類似性の評価及び定量分析を行った。類似性の評価の例として蛍光 X 線による元素分析結果を用いてクラスター分析による偽造硬貨の分類について述べる。定量分析の例として血液の吸光度を測定した結果から主成分分析により血液中の一酸化炭素ヘモグロビン濃度の決定について述べる。