土壌の裁判化学的研究 (第1報) 土壌の熱分解生成物を指標とする地域 特定について

中山陸男,^a 藤田義彦,^a 神原敬三,^a 中山信子,^b
三尾直樹,^b 松本 仁,^b 佐藤利夫^b
徳島県警鑑識課科学捜査研究室,^a 徳島文理大学薬学部^b

Forensic Chemical Study on Soil. (I) Discrimination of Area by Pyrolysis Products of Soil

MUTSUO NAKAYAMA,^a YOSHIHIKO FUJITA,^a KEIZO KANBARA,^a NOBUKO NAKAYAMA,^b
NAOKI MITSUO,^b HITOSHI MATSUMOTO^b and TOSHIO SATOH^b

*Scientific Investigation Research Laboratory, Tokushima Pref. Police H. Q.,^a 2-5-1 Bandai-cho,
Tokushima 770, Japan and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima
Bunri University,^b Yamashiro-cho, Tokushima 770, Japan*

(Received July 4, 1991)

Discrimination of soil samples in forensic science using organic components in the soil was investigated by Curie-point pyrolysis gas chromatography (PyGC). Pyrograms of soils under the conditions of pyrolysis temperature (590°C) and time (3 s), showed various patterns. In addition, fifteen constituents of phenolic aromatics in pyrolysis products were identified by GC-MS (PyGC-MS). The amounts of toluene and phenol, derived from lignin, and those of 2-methylfuran and furfural derived from polysaccharide in the soil showed quantitative differences.

Consequently, the comparison of these pyrolysis products may be useful for the structural analysis of organic matter in the soil, and is useful for the discrimination of soils in forensic science.

Keywords — soil; PyGC; pyrograms; PyGC-MS; soil discrimination; pyrolysis product; lignin; polysaccharide

はじめに

犯罪鑑識において、繊維や毛髪等の微細な資料が重要視される今日、事件現場に遺留された微量の土壌も犯罪捜査において重要な役割を果たすことがある。土壌の鑑定は、主として含有される鉱物類の同定や比較により地域推定、異同識別が行われてきた。¹⁾しかしながら、土壌中に含まれる有機物を指標としたものは非常に数少なく、わずかに腐植物質の形態分析による異同識別法が報告されているにすぎない。²⁾

土壌中に存在する有機物は、おもにその地域ごとの動物や植物の遺体を供給源とし、特に表土についてはこれら生物群の種族並びに絶対数の影響を受けているものと考えられる。³⁾そこでこれらの有機物

に着目し、その地域特異性を見いだす目的で客観的な指標を得るための研究を行った。

土壌中の有機物は、腐植物質に見られるように通常高分子の安定な化合物である。このような有機物の分析法は、一般的に繁雑な前処理や分離分析操作を必要とする。⁴⁾そこで今回、土壌中有機物の熱分解ガスクロマトグラフィー（以下 PyGC と略す）を行い、得られたガスクロマトグラム（以下パイログラムと略す）のパターンを比較した。

さらに、熱分解生成物は質量分析装置により分析（以下 PyGC-MS と略す）して同定を行い、これら同定された熱分解生成物による異同識別の可能性について検討したところ、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 実験材料 土壌の試料採取にあつては、人の生活圏内であり、農薬や道路舗装用タール等人為的影響の少ない場所を考慮し、徳島県下の主要幹線道路脇の地肌露出面 113 箇所から表土を採取した。採取時期は 7 月から 8 月にかけてのおよそ 2 ヶ月間にわたって行った。採取量はいずれも約 300 g であり、室温にて 1 週間風乾後、乳鉢で粉碎し、100 メッシュふるいを通したものを (<149 μ m) を土壌試料とした。

土壌試料は、採取場所により郡部ごとに A—N で区分し、その後に区域内での採取番号である数字 2 桁を付けて試料名とした。採取した場所を試料名で徳島県地図に示す (Fig. 1)。なお採取場所の密集した徳島市内の土壌試料 B 01—B 16 については、郡部名を表す B を省略し数字のみで表した。

2. 装置 ガスクロマトグラフ：島津製作所 GC-7 A (水素炎イオン化検出器付)。インテグレート：島津製作所クロマトバック C-R 4 A。ガスクロマトグラフ—質量分析計：島津製作所 GC-MS QP 1000 A。熱分解装置：日本分析工業社キューリポイントパイロライザー JHP-2 F。

3. PyGC, PyGC-MS 分析条件 1) PyGC

—— 試料量：5 mg。熱分解温度：590°C。熱分解時間：3 s。カラム：3 mm i.d. $\times$ 3.2 m 10%PEG 20 M (担体 Chromosorb WAW-DMCS, 60—80 メッシュ)。カラム温度：60°C (4 min) から 220°C (10 min) まで 10°C/min で昇温。注入口・検出器温度：230°C。キャリアガス：窒素、50 ml/min。

2) PyGC-MS —— キャリヤガス：ヘリウム、50 ml/min。イオン源温度：250°C。イオン化電圧：70 eV。

他の条件は 1) と同様である。

結果及び考察

1. 熱分解温度の検討

有機物含有量の異なる 3 種類の土壌試料 C 05, D 10, K 08 の各 5 mg を試料として、それぞれ 358°C, 445°C, 500°C, 590°C, 670°C 用の各フェロマグネチックホイールを使用し、熱分解時間を 3 秒間に設定して分析を行った。

熱分解温度の違いによるパイログラムの変化を、試料 D 10 を例として Fig. 2 に示す。このように熱分解温度の上昇とともにパイログラムのトータル面積は増加するが、670°C ではパイログラムの再現性が他の温度よりやや低下する傾向が見られた。したがって、以後の実験では熱分解温度を 590°C に設定

Fig. 1. Sampling Point of Soils in Tokushima Pref.

Fig. 2. Changes of Pyrograms of Soils by Pyrolysis Temperature (Sample D10)

して、分析を行った。

2. 再現性の検討

同一土壌 (C 05 地点) 5 mg を使用して、それぞれ 5 回ずつ 590°C、3 秒間の熱分解を行い、得られたパイログラムのトータル面積について繰り返し精度を調べた結果は 2024 ± 33 mV (mean $\pm$ S.E.) であり、良好な再現性が得られた。

3. 土壌のパイログラムパターン

土壌試料のうち、特徴あるパターンを示すものを Fig. 3 に示す。試料 B 02, B 04, B 14 はいずれも徳島市内から採取したものであるが、同一市内でも場所が異なれば、Fig. 3 に示すようにパイログラムのパターンに差異が認められた。また他の試料 D 08, E 05, N 01 についてもそれぞれ特徴的な再現性のあるパターンを示し、容易に識別可能であった。

4. 同一場所でのパイログラムのパターン比較

同一場所での、パイログラムパターンを比較するため、B 12 地点において土壌試料 5 mg をもちいて、

5 回パイログラムを測定したところ、ほぼ同じパターンが得られた。

また、同一場所での季節によるパイログラムの変化については検討中である。

なお、同地点から採取した土壌試料 B 12 について、0.5 g をガラスフィルター上に載せ、毎分 20 ml の流水で 48 時間洗浄後、乾燥し、パイログラムのパターンを比較したが、変化は認められなかった。したがって、降雨による土壌パイログラムへの化学的な影響はほとんどないものと考えられる。

5. PyGC-MS による熱分解生成物の同定

腐植土の典型的パターンを示す試料 C 01 について PyGC-MS を行い、パイログラム上各ピークのマススペクトルより熱分解生成物の同定を行ったところ、保持時間及び質量スペクトルから 2-メチルフラン、ベンゼン、ジアセチル、トルエン、エチルベンゼン、ピリジン、リモネン、スチレン、ヒドロキシアセトン、酢酸、フルフラール、ベンズニトリル、2-メトキシフェノール、フェノール、4-メトキシアセトフェノンが確認できた (Fig. 4)。

なお有機物含有量の異なった他の場所 10 箇所についても、熱分解生成物の同定を行ったところ、これら成分が確認された。

6. 土壌パイログラムのトータル面積について

土壌パイログラムにおいて、有機物含有量の指標となりうるトータル面積のヒストグラムを Fig. 5 に示す。パイログラムのトータル面積は、土壌の採取場所が異なれば、Fig. 5 に示すように大きく変化するため、土壌の識別において重要であり、また有機物含有量を簡易に判別する方法として有効であることが示唆された。

なお、ここでトータル面積は、土壌試料の熱分解において、炭酸塩由来の二酸化炭素ガスの影響を除くため、パイログラム最初の立ち上がりピークを除去して算出したものである。以下、本実験ではトータル面積を、すべて同様に処理した。

7. トルエン、フェノール、2-メチルフラン、フルフラールの生成量について

同定した熱分解生成物のなかで、フェノール類等芳香環を有する化合物は腐植物質質中の高分子化合物であるリグニン構造に由来する可能性が強いものと考えられる。そこで、トルエンやフェノールのピークがかなりの試料に共通して生成されることに着目し、これら 2 成分とパイログラムのトータル面積との関係について検討した。

すなわち、土壌試料の各パイログラム上、インテ

Fig. 3. Pyrograms of Soils

●: peak that appeared strongly than other places.

Fig. 4. Identification of Pyrolysis Products by GC-MS

Fig. 5. Histograms of Total Area on Pyrograms of the Soils (113 Samples)

Fig. 6. Relation of Total Area and Toluene+Phenol (%) on Pyrograms of the Soils (113 Samples)

グレータにより算出されたピーク面積をもとに、トルエンとフェノールの和がトータル面積に占める割合を縦軸にとり、有機物含有量の指標としてトータル面積を横軸にとった (Fig. 6).

その結果、トルエンとフェノールの和がトータル面積に占める割合は、およそ1%から30%の間で変化し、トータル面積が小さい、すなわち有機物含有量が少ないにもかかわらず、トルエン、フェノールの生成量が非常に多いものがあることが判明した。

2-メチルフランやフルフラールは糖類の熱分解によっても生成されることが知られているが、⁶⁾ 本研究においては、これら成分は土壌中の多糖類に由来する可能性が強いものと考え、これら2成分のトータル面積との関係について検討した。

Fig. 7. Relation of Total Area and 2-Methylfuran+Furfural (%) on Pyrograms of the Soils (113 Samples)

Fig. 8. Relation of Toluene+Phenol (%) and 2-Methylfuran+Furfural (%) on Pyrograms of the Soils (113 Samples)

すなわち、前記同様、インテグレータにより算出されたピーク面積をもとに、2-メチルフランとフルフラールの和がトータル面積中に占める割合を縦軸にとり、トータル面積を横軸にとったグラフを Fig. 7 に示す。

Fig. 7 のとおり、2-メチルフランとフルフラールの和がトータル面積に占める割合は、およそ0%から17%の間で変化し、そのうちほとんどの試料は、およそ2%から8%の間に集中していた。さらに、縦軸に2-メチルフラン+フルフラールのトータル面積に占める割合、横軸にトルエン+フェノールの

TABLE I. Area Identification by Quantity of Organic Matter in Soil

Control Group	L05	Total Area (mV) mean $\pm$ S.E.
		1 131 $\pm$ 25
Test Group	A05	615 $\pm$ 55 ^{a)}
	C05	1 800 $\pm$ 55 ^{b)}
	D09	1 847 $\pm$ 107 ^{b)}
	H02	671 $\pm$ 28 ^{b)}
	I 03	1 519 $\pm$ 61 ^{b)}
	I 04	336 $\pm$ 14 ^{b)}
	K11	1 074 $\pm$ 56
	M01	717 $\pm$ 34 ^{b)}
	N09	1 133 $\pm$ 63

a) significantly different from control, $p < 0.01$.

N=5.

TABLE II. Percentage Ratio of Toluene + Phenol vs. Total Area on Pyrograms of Soils

Control Group	L05	Toluene + Phenol (%) mean $\pm$ S.E.
		21.15 $\pm$ 0.30
Test Group	A05	15.22 $\pm$ 0.39 ^{a)}
	C05	17.62 $\pm$ 0.78 ^{a)}
	D09	10.13 $\pm$ 0.55 ^{a)}
	H02	14.08 $\pm$ 1.09 ^{a)}
	I 03	11.47 $\pm$ 0.14 ^{a)}
	I 04	21.60 $\pm$ 1.54
	K11	17.09 $\pm$ 0.57 ^{a)}
	M01	18.77 $\pm$ 0.13 ^{a)}
	N09	12.58 $\pm$ 0.80 ^{a)}

a) significantly different from control, $p < 0.01$.

N=5.

トータル面積に占める割合をとったところ、トルエン+フェノールの生成量が2-メチルフラン+フルフラールの2倍以上ある群がかなり出現している (Fig. 8).

このように、土壌試料のパイログラム上、有機物含有量の指標となりうるトータル面積、トルエン+フェノール、2-メチルフラン+フルフラールの生成量を比較すれば各土壌試料の特徴を捉えることができることが示唆された。

8. 熱分解生成物による土壌の異同識別

土壌試料 113 点の中から、無作意に抽出した A 05, C 05, D 09, H 02, I 03, I 04, K 11, L 05, M 01, N 09 について、有機物含有量の指標である

TABLE III. Percentage Ratio of 2-Methylfuran + Furfural vs. Total Area on Pyrograms of Soils

Control Group	L05	2-Methylfuran + Furfural (%) mean $\pm$ S.E.
		5.19 $\pm$ 0.11
Test Group	A05	6.44 $\pm$ 0.32 ^{a)}
	C05	9.14 $\pm$ 0.29 ^{a)}
	D09	6.66 $\pm$ 0.07 ^{a)}
	H02	7.84 $\pm$ 0.28 ^{a)}
	I 03	4.31 $\pm$ 0.08 ^{b)}
	I 04	0.95 $\pm$ 0.04 ^{b)}
	K11	5.25 $\pm$ 0.08
	M01	6.03 $\pm$ 0.13 ^{b)}
	N09	4.19 $\pm$ 0.17 ^{b)}

a) significantly different from control, $p < 0.01$.b) significantly different from control, $p < 0.05$.

N=5.

Fig. 9. Identification of Soils by Pyrolysis Products

* : significantly different from control, $p < 0.01$.** : significantly different from control, $p < 0.05$.

トータル面積及び、トルエン+フェノール、2-メチルフラン+フルフラールがトータル面積中に占める割合について有意差が認められるかどうかについて L 05 をコントロールとして検定を行った。

その結果、トータル面積では K 11, N 09 を除く 7 点 (Table I), トルエン+フェノールでは I 04 を除く 8 点 (Table II), 2-メチルフラン+フルフラールでは K 11 を除く 7 点 (Table III) にそれぞれ有意差が認められた。したがって、L 05 をコントロールと

した場合、これら3項目の検定により、9点すべての識別が可能である。

さらに、L 05 以外のどれをコントロールとして検定を行っても、相互に識別可能であった (Fig. 9)。

したがって本法により、パイログラムのトータル面積、2-メチルフラン+フルフラール、トルエン+フェノールの生成量を比較することは、土壤の異同識別において有効な手法であることが示唆された。

結 語

徳島県下 113 箇所から採取した土壤について、PyGC によりパイログラムのパターンを比較した。また熱分解生成物については PyGC-MS により同定を行い、そのうちの4成分を指標として異同識別法について検討した。土壤試料は 100 メッシュふるいを通過したフラクション (<149 μm) について、590°C、3 秒間で PyGC を行ったところ、含有有機物の定性・定量的差異を反映し、地域により異なったパターンを示すことが判明した。しかし、なかにはパイログラムの類似したものもあり、より正確な土壤の識別を行うためには、パターン比較に加え、熱

分解生成物の同定、さらには熱分解生成物の比較が必要であると考えられた。

そこで、熱分解生成物を PyGC-MS により同定したところ、フェノール系芳香族化合物をはじめ 15 成分を確認した。さらに、模擬鑑定例として 113 サンプル中、無作意に 10 サンプルを抽出し、各パイログラムから得られた情報よりトータル面積、トルエン+フェノールのピーク面積がトータル面積に占める割合(すなわちこれら物質の生成量)、同様に 2-メチルフラン+フルフラールのピーク面積がトータル面積に占める割合の3項目についてt検定を行ったところ、45 通りすべての組合せにおいて有意差が認められ、土壤間の識別が可能であった。

したがって、これまでの土壤検査法に加え本法を併用すれば、より客観性の高い土壤の異同識別が可能であることが示唆された。

謝辞 本実験を発表する機会並びに、ご協力下さいました徳島県北島警察署長山本健氏、徳島県警察本部鑑識課長三好長治氏、同鑑識課鑑識指導官兼次長松浦忠司氏に深く感謝申し上げます。

引 用 文 献

- 1) 丸茂義輝, 永塚鎮男, 大羽 裕, 科警研報告, **42**, 4 (1989); 星野正彦, 科警研報告, **22**, 89 (1969); 田久保豊, 科警研報告, **24**, 197 (1971).
- 2) 藤本宣國, 土橋 均, 辰野道昭, 福田公郎, 科警研報告, **39**, 120 (1986).
- 3) 高井泰雄, 三好 洋, “土壤通論,” 第1版, 朝倉書店, 東京, 1982, p.63.
- 4) 熊田恭一, “土壤有機物の化学,” 第2版, 学会出版センター, 東京, 1981, p.9.
- 5) 竹内次夫, 柘植 新, “高分子の熱分解ガスクロマトグラフィー,” 第1版, 化学同人, 京都, 1984; Konrad Haider, Hans-Rolf Schulten, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **8**, 317 (1985); William F. DeGroot, Wei-Ping Pan, M. Dalilur Rahman Geoffrey N. Richards, *ibid.*, **13**, 221 (1988).
- 6) Naoki Mitsuo, Nobuko Nakayama, Hitoshi Matsumoto, Toshio Satoh, *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 1624 (1989).