[Jpn. J. Toxicol. Environ. Health]
衛生化学 (1993)
39 (3) 213-218

多変量解析法を用いた赤外分光分析による混合した有機化合物の定量

奥山修司,^a 三井利幸,^a 藤村義和^b

愛知県警察本部科学捜査研究所,^a 中部大学工学部工業化学科^b

Determination of Mixed Organic Compound by Fourier Transform Infrared Spectroscopy Using Multivariate Analysis

SYUJI OKUYAMA,^a TOSHIYUKI MITSUI^a and YOSHIKAZU FUJIMURA^b

Criminal Science Laboratory Aichi Police H.Q.,^a 2-1-1, Sannomaru, Naka-ku, Nagoya-shi, Japan and Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, University of Chubu,^b 1200, Matsumoto-cho, Kasugai-shi, Aichi, Japan

(Received September 3, 1992)

Multivariate analysis was applied to the determination of a mixed organic compound by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and each component was measured accurately without pretreatment such as separation procedure or addition of internal standard substance. For example, the mixture of tetracaine hydrochloride and glucose or methamphetamine hydrochloride and ephedrine hydrochloride (known blend composition) was measured by FT-IR. The obtained spectra were expressed by relative values to provide a data base. A mixture with unknown blend composition ratio (unknown sample) was dealt with in a similar manner. The obtained data were used for the multivariate analysis such as quantification IV, cluster analysis, cluster analysis from deviation and principal component analysis. The rough blend composition ratio of unknown sample was estimated and the data base for calibration curve was selected. Furthermore, the blend composition ratio was determined more accurately by the principal component scores.

Keywords — multivariate analysis; FT-IR; glucose; tetracaine hydrochloride; methamphetamine hydrochloride; ephedrine hydrochloride

緒 言

裁判化学でしばしば問題となる医薬品の一つに塩酸メタンフェタミンがあるが、実際に検査に持ち込まれる試料中には、その原料成分である塩酸エフェドリンが混入している場合がある。また、局所麻酔剤の一種である塩酸テトラカインは、ブドウ糖と併用して医療に用いられ、それぞれに試料中の目的成分の含有量が問題となり、早急な対応を必要とする場合がある。そこで今回、その定量法の一つとして、すでに著者らが報告¹⁻³⁾してきた多変量解析法⁴⁻⁶⁾の、フーリエ変換赤外分光分析法 (FT-IR) で測定した結果への応用を検討した。一般的に、FT-IR による固体試料の定量では内部標準法が用いられるが、

内部標準物質の選択や試料と内部標準物質との混合等面倒な前処理を必要とする。これに対し本法では、定量される試料のピークの内の1個を内部標準としてその他のピークの補正に用いるため、新たに内部標準物質を加える必要がない。さらに、従来行われている1個のピークのみで定量するのではなく、複数のピーク、言い換えれば複数の検量線を合わせて定量を行うため、測定値に多少の誤差が生じて検量線相互間で誤差を相殺し、結果として正確かつ精度の高い結果が得られる。測定方法は、塩酸テトラカインとブドウ糖及び塩酸メタンフェタミンと塩酸エフェドリンのそれぞれの混合物を FT-IR で測定し、得られたスペクトルを一定の規則に従って数値化した後、クラスター分析、偏差値からのクラスター

分析, 主成分分析を行い, 未知試料中の各成分の混合比の推定を行った。さらに, 主成分分析から得られた主成分得点を用いて, 目的成分の含有率を更に細かく定量した。なお, 1 試料から複数の透過率を用いる本方法は, 原理的に通常の赤外分光分析法でも定量可能であり, さらに今回検討した試料以外の有機化合物についてもピークが完全に重ならないかぎり当然応用可能である。

実 験

1. 試薬及び装置 塩酸テトラカインは SIGMA Chemical Co. 製を, ブドウ糖は和光純薬工業製の試薬特級をそのまま用いた。また, 塩酸メタンフェタミン及び塩酸エフェドリンは, 大日本製薬製の試薬を用いた。装置は Nicolet 5 SCX フーリエ変換赤外分光光度計を使用し, 測定条件は走査回数 32 回, 走査時間 1.0 s/1 scan, 分解能 4 cm^{-1} , 測定は KBr 錠剤法により行った。

2. 数値化 データベースを作成するために, 塩酸テトラカインとブドウ糖の混合比が 0 : 100, 5 : 95, 10 : 90, 20 : 80, 30 : 70, 40 : 60, 50 : 50, 60 : 40 となるように調製した試料を FT-IR で測定し, すべてのピークを対象として数値化を行った。方法は, まず, 得られたスペクトルを $4000, 2000, 400\text{ cm}^{-1}$ でバックグランド補正を行い, スペクトル上のピークの透過率 (%) を測定し, ベースライン (透過率 100%) との差を各ピークの数値とした。ここでは透過率を用いたが, 吸光度でも可能である。次に, 内部標準として用いるピーク (基本ピーク) と定量に用いるピークの選択を数量化理論第 IV 類⁹⁾により行った。まず, スペクトル上のすべてのピークを内部標準と仮定して, 各々のピークごとにその数値で他のピークの数値を除し, 得られた値を用いて数量化理論第 IV 類によりピーク間の相関係数が最も良くなる基本ピークを選択した。すなわち, スペクトル上のピークが n 個あれば, n 個の内部標準で補正した $n-1$ 個のピークの組合せが n 組できたことになる。この n 個の組合せの各々を数量化理論第 IV 類で計算し, 各組の $n-1$ 個のピーク間の相関係数を求め, どのピークでその他のピークを除せば多変量解析の計算に最もよい結果が得られるかを検討した。ついで, この最もよい結果が得られた基本ピークにより補正された数値から, 各ピークの相関係数を計算し, 他のピークとの関連性の弱いピークの排除を数量化理論第 IV 類で行った。その結果, Fig. 1 に示す 1 個の基本ピークを含む 16 個の

ピークを選択した。このようにして, 前述した混合比のわかっている 8 種類の試料を数値化しデータベースを作成した。混合比の明らかでない試料 (未知試料) についても, 同様の方法でスペクトルを数値化し, データベースに未知試料を加えた行列 (Table I) を用いて以下の解析を行った。また, 塩酸メタンフェタミンと塩酸エフェドリンの混合物については, そのデータベースの混合比は 100 : 0, 90 : 10, 80 : 20, 70 : 30, 60 : 40, 50 : 50, 40 : 60, 30 : 70, 20 : 80, 10 : 90 となる 10 種類の試料を作成した。各試料について FT-IR で測定し, 前記と同様な方法で数値化とデータベースの作成のためのピークを選択した。その結果, Fig. 2 に示す 1 個の基本ピークと 16 個の定量に用いるピークを選択した。4 種類の未知試料についても同様に数値化し, データベースに未知試料を各々加えた行列 (11×16, Table II) を用いて塩酸メタンフェタミンの定量を行った。

3. 多変量解析法 上述のようにして得られた行列を用いて, クラスター分析, 偏差値からのクラスター分析及び主成分分析を行い数量化理論第 IV 類で検討した測定値の数値化の適正化の再確認と, 未知試料のおおよその混合比を推定した後混合比の定量を行った。

結 果 及 び 考 察

1. 塩酸テトラカイン-ブドウ糖混合物

1.1 クラスター分析 8 種類のデータベースに 1 種類の未知試料を加えた 9×15 行列を用いて, クラスター分析⁹⁾を行い, デンドログラムを作成した。得られたデンドログラムを Fig. 3 に示す。この図では, 試料間の類似性が強いほど上部で結合するため, 未知試料を示す No. 9 はデータベースの試料

Fig. 1. Selected Peaks from Infrared Spectrum (Tetracaine HCl : Glucose = 20 : 80)

0 : Basic peak.

TABLE I. Filed Data

Sample		Peak number ^{d)}														
No.	T ^{a)} :G ^{b)}	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0 : 100	864	806	671	824	443	664	2 848	1 887	1 667	629	571	509	1 340	1 007	1 091
2	5 : 95	184	167	134	196	99	118	771	499	387	121	188	126	296	203	223
3	10 : 90	122	111	91	133	79	80	327	253	207	79	140	91	173	129	148
4	20 : 80	70	59	48	78	44	44	201	159	118	44	120	61	98	75	92
5	30 : 70	38	30	0	46	0	20	128	117	0	22	105	45	63	48	46
6	40 : 60	31	23	0	41	0	17	92	102	0	18	104	43	52	41	0
7	50 : 50	26	18	0	36	0	15	0	93	0	15	102	43	47	38	0
8	60 : 40	20	0	0	30	0	11	0	84	0	0	101	40	39	33	0
9 ^{c)}	unknown	126	109	79	129	60	70	441	297	228	68	148	80	177	125	117

a) Tetracaine hydrochloride.

b) Glucose

c) Unknown sample (This sample corresponds to sample No. 1 in Table III).

d) This number corresponds to the number in Fig. 1.

Fig. 2. Selected Peaks from Infrared Spectrum (Methamphetamine HCl : Ephedrine HCl = 50 : 50)

0 : Basic peak.

番号 3 に極めて類似していることがわかる. 同様に, この未知試料を含めた 5 種類の未知試料についてクラスター分析を行った. この結果を以下の分析結果とあわせて Table III に示す. なお説明に用いた未知試料は, Table III では未知試料番号 1 に相当する.

1.2 偏差値からのクラスター分析 前述した方法でスペクトルを数値化した値をそのまま用いて分析を行った場合, 各ピークごとに異なる重みがかかり, 大きな重みのかかったピークのみでクラスター分析を行ってしまう恐れがある. そこで, Table I のデータを各ピークごとに平均を 50 とする偏差値になおし, 各ピークの重みを均等にし, クラスター分析を行った. その結果を Table III に示す. 未知試

TABLE II. Filed Data

Sample		Peak number ^{d)}															
No.	M ^{a)} :E ^{b)}	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	100 : 0	0	124	0	935	0	47	0	0	0	0	0	337	562	657	1 006	0
2	90 : 10	145	121	73	970	0	61	194	0	0	0	61	352	600	673	1 182	103
3	80 : 20	174	140	140	1 012	52	93	407	0	0	0	151	419	640	733	1 093	250
4	70 : 30	189	143	189	1 057	69	114	571	566	229	0	217	423	640	777	1 211	383
5	60 : 40	232	155	250	1 107	107	149	726	673	268	0	286	440	655	810	1 250	500
6	50 : 50	280	171	329	1 159	134	171	902	793	317	256	384	488	689	890	1 268	634
7	40 : 60	299	181	375	1 236	153	188	1 042	889	354	292	444	521	681	938	1 382	729
8	30 : 70	354	203	456	1 241	190	234	1 177	1 025	437	354	538	582	747	1 006	1 354	848
9	20 : 80	400	214	493	1 267	200	253	1 267	1 080	440	373	573	573	760	1 040	1 420	933
10	10 : 90	397	222	525	1 285	228	263	1 278	1 114	506	405	608	601	753	1 081	1 429	975
11 ^{c)}	unknown	263	163	281	1 138	113	163	819	731	288	213	331	463	669	850	1 258	575

a) Methamphetamine hydrochloride.

b) Ephedrine hydrochloride.

c) Unknown sample (This sample corresponds to sample No. 3 in Table V).

d) This number corresponds to the number in Fig. 2.

Fig. 3. Dendrogram of Cluster Analysis

No. 9: Unknown sample (This sample corresponds to sample No. 1 in Table II).

料 4 以外は数値化した値をそのまま用いて分析した場合と同じ結果が得られたため、今回の数値化の方法では、ピーク間の重みの差はほとんどないものと考えられた。

1.3 主成分分析 偏差値に直した行列から求めた相関係数を用いて主成分分析⁴⁻⁶⁾を行い、主成分得点を計算した。次いで主成分得点を固有値で補正後クラスター分析を行った。Table III に示したように、クラスター分析と一致した結果を与えた。

1.4 主成分得点からの塩酸テトラカインの含有率の定量 クラスター分析、偏差値からのクラスター分析及び主成分分析から塩酸テトラカイン及びブドウ糖の大まかな混合比の推定ができたが、次に、更に細かく目的成分である塩酸テトラカインの含有

率を求める方法について検討した。既に述べたように、本法は従来法である、あらかじめ濃度既知の試料から一本の検量線を作成した後未知試料の含有率を定量する方法とは異なり、1 個の試料の複数のピークを同時に用いて検量線の y 軸の値に相当する主成分得点を求めて定量を行う方法である。さらに、従来法では検量線作成後に未知試料のデータを用いて定量を行うため、検量線と未知試料は独立しており、未知試料のデータの誤差がそのまま定量結果に影響する。これに対し本法は、未知試料のデータと検量線のデータを合わせて主成分分析を行い、未知試料も含めたデータ間の相関関係から従来法の検量線の y 軸に相当する数値として主成分得点を算出している。つまり、検量線の縦軸に相当する値は、内部標準で補正した値そのものではなく、未知試料のデータも考慮した主成分得点の形で表現される。この主成分得点は、未知試料ごとにデータベースに未知試料を加えた $9 \times 15 = 135$ 個の数値から、その濃度に関係なく検量線に相当する試料と未知試料を加えた 9 試料間の 15 個の数値が互いに最も相関が良くなるように求められるため、常に同一数値にはならない。このため、未知試料の測定値に多少のばらつきがあっても、各々の未知試料ごとに検量線に相当する試料を含めて主成分得点を決定しているため、結果として未知試料の定量値の誤差は小さくなる。定量方法¹⁻³⁾を以下に示す。未知試料番号 1 から得られた主成分得点を Table IV に示す。今回、未知試料番号 1 の第一主成分の固有値は 14.973 (寄与率約 99.8%) 第二主成分の固有値は 0.011 (寄与率約 0.07%) であったため第一主成分得点のみを使用した。計算は以下の式を用いた。

$$\log W_{m-1} = a \cdot C_{m-1} + b \quad (1)$$

$$\log W_m = a \cdot C_m + b \quad (2)$$

$$\log W_s = a \cdot x + b \quad (3)$$

TABLE III. Analytical Results (Tetracaine HCl and Glucose)

Unknown sample No.	Cluster (A)	Cluster from deviation (A)	Principal component (A)	Principal component score (B)	(C)
1	3	3	3	10.4	10.0
2	4	4	4	18.9	17.4
3	4	4	4	22.7	19.9
4	5	4	4	25.9	25.7
5	8	8	8	59.5	60.2

A : Nearest sample number. 3 : Content of tetracaine HCl=10.0%

4 : 19.9% 5 : 30.2% 8 : 60.2%

B : Calculated value of tetracaine HCl (% , v/v).

C : Theoretical content of tetracaine HCl (% , v/v).

TABLE IV. Result of Principal Component Analysis

Sample No.	Principal component score
	first
1	78.12
2	51.61
3	48.79
4	46.87
5	45.44
6	45.18
7	45.01
8	44.81
9 ^{a)}	48.67

a) Unknown sample.

Calculation of tetracaine HCl content.

$$\log 48.79 = 9.96^+ \times a + b,$$

$$\log 46.87 = 19.93^+ \times a + b,$$

$$a = -1.705 \times 10^{-3}, b = 1.705,$$

$$\log 48.67 = (-1.705 \times 10^{-3}) \times X + 1.705,$$

$$X = 10.40,$$

+ : Tetracaine HCl content.

ここで, W_{m-1} : 未知試料より小さくてかつ未知試料に最も近いデータベースの主成分得点, W_m : 未知試料より大きくてかつ未知試料に最も近いデータベースの主成分得点, C_{m-1} : W_{m-1} に対応するデータベースの塩酸テトラカインの含有率, C_m : W_m に対応するデータベースの塩酸テトラカインの含有率, W_s : 未知試料の主成分得点, x : 未知試料の塩酸テトラカインの含有率である。(1), (2)式から定数 a , b を求め, (3)式に代入して未知試料の塩酸テトラカインの含有率 x を求める。他の未知試料についてもほぼ同様な固有値及び寄与率を示したため, すべて第一主成分得点のみで含有率を計算した。定量結果を Table III に示す。どの場合も理論値とよく一致した結果を得た。なお, 本方法の再現性を未

知試料 No. 1 を用いて調べたところ, 相対標準偏差は 1.62% ($n=5$) であった。

2. 塩酸メタンフェタミン-塩酸エフェドリン混合物

2.1 クラスター分析, 偏差値からのクラスター分析及び主成分分析 未知試料を加えた 11×16 行列 (Table II) を用いてクラスター分析, 偏差値からのクラスター分析及び主成分分析を前述とまったく同じ方法で行った。結果を Table V に示す。

2.2 主成分得点からの塩酸メタンフェタミンの含有率の定量 主成分分析から得られた主成分得点を用いて塩酸メタンフェタミンの含有率の定量を行った。どの未知試料とも第一主成分得点の寄与率が約 95%以上となったため, すべて第一主成分得点のみを使用した。定量結果は Table V に示したように理論値とよく一致した。さらに, 未知試料 No. 3 を用いて本法の再現性を調べたところ, 相対標準偏差は 1.22% ($n=5$) であった。

結 論

混合比の明らかでない二成分系の未知試料を FT-IR で測定し, 得られたスペクトルを本方法により数値化後, あらかじめ作成してあるデータベースとともにクラスター分析, 偏差値からのクラスター分析, 主成分分析を行い, 未知試料中の成分の混合比を推定した。さらに, 主成分分析により得られた主成分得点を用いて計算を加えることにより, 目的成分の含有率の定量を行うことができた。本方法は, 今回取り上げた 2 種類の有機化合物に限らず他の有機物にも応用可能であり, 赤外分光分析を用いて内部標準物質を加えることなく未知試料中の成分の含有率を正確に求めるには有効な方法であると考えられる。

TABLE V. Analytical Results (Methamphetamine and Ephedrine)

Unknown sample No.	Cluster	Cluster from deviation	Principal component	Principal component score	(C)
	(A)	(A)	(A)	(B)	
1	2	2	2	90.4	91.7
2	4	4	4	70.1	69.1
3	6	6	6	54.4	54.3
4	10	10	10	8.9	10.0

A : Nearest sample number. 2 : Content of methamphetamine = 90.1%

4 : 69.1%, 6 : 50.0%, 10 : 10.0%

B : Calculated value of methamphetamine (% v/v).

C : Theoretical content of methamphetamine (% v/v).

引用文献

- 1) 三井利幸, 奥山修司, 藤村義和, 日化, **7**, 979 (1991).
- 2) 三井利幸, 奥山修司, 藤村義和, 分析化学, **40**, 389 (1991).
- 3) 奥山修司, 三井利幸, 藤村義和, 衛生化学, **38**, 176 (1992).
- 4) 奥野忠一, 久米 均, 芳賀敏郎, 吉沢 正, “多変量解析法,” 日科技連, 東京, 1971.
- 5) 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, “続多変量解析法,” 日科技連, 東京, 1976.
- 6) 田中 豊, 脇本和昌, “多変量解析法,” 現代数学社, 東京, 1983.