

Development of Emergency Toxicology Screening for Volatile Drugs and Poisons Utilizing Pulse Heating Method

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/8456 |

パルスヒーティング法を応用した揮発性薬毒物分析法の 開発と緊急スクリーニング

金沢大学医学部法医学講座 (主任: 永野耐造教授)

中 谷 剛

エタノールを始めとする揮発性薬毒物の分析に際してはこれまで気化平衡法 (head space 法) が評価され一般に普及している。しかしながら同法はやや多量の試料や内部標準を必要とし、また、高沸点の物質の分析には難点がある。近年 Nagano らはキューリーポイント・パイロライザーを応用したパルスヒーティング (pulse heating, Py) 法を開発した。この方法の特徴は、試料量が極く微量 (1 μ l) で、前処理が不要、測定時間が比較的短時間、正確な測定値が得られる、などのすぐれた長所があげられている。本研究では、エタノールの測定法として開発された Py 法を従来の気化平衡法と比較検討しながら追跡検討した。同法の有用性を確認したのち、Py 法を揮発性物質のスクリーニング検査システムに導入することを目的とし実験対象をエチルエーテル、クロロホルム、トルエンなどに広げた。重水素標識の非放射性同位体エタノール-d6、ジエチルエーテル-d10、クロロホルム-d1 およびトルエン-d8 を投与した動物の血液・尿を Py 法を用い基礎的に検討した。その結果、血液および尿から15分でこれらの諸物質が分離・同定され、加熱による試料の熱分解物質は認めなかった。ボランティアによる飲酒実験で、本法と気化平衡法との測定値には $r=0.999$ という極めて良好な相関が認められた。ウサギにエタノール、エーテル、クロロホルムおよびトルエンを投与した場合、血中からこれら諸物質を明瞭に同時に分析することができた。Py 法を応用して救急患者280例の452試料について中毒学的スクリーニングを施行した。エタノール (>0.1mg/ml)、トルエンおよびアセトン (>10 μ g/ml) がそれぞれ28,8および11名の患者から検出された。剖検試料 (85例, 186試料) からはエタノールが20例 (60試料) から検出された。更に、トルエン、クロロホルム、およびアセトンがそれぞれ2,2および4例から検出された。以上本研究によって、Py 法は揮発性諸物質の同時分析に有用であり、救急医療および法医学解剖試料についての緊急薬毒物スクリーニングシステムおよび定量分析に有用なことが示された。

Key words forensic toxicology, emergency medical care, emergency screening, volatile drugs and poisons, pulse heating

エタノールを始めとする揮発性薬毒物の分析に際してはこれまで気化平衡法¹⁾²⁾が一般的に普及し、またすぐれた方法として評価されている。しかしながら気化平衡法は試料量をやや多く必要とすることや、内部標準が必要なことなどから、Nagano ら³⁾はキューリーポイント・パイロライザーを応用してパルスヒーティング (pulse heating, Py) 法を開発した。この方法の特徴は、試料量が極く微量 (1 μ l) で前処理を必要とせず比較的短時間で分析でき、そのうえ正確な測定値が得られる、などのすぐれた長所があげられている。

本研究ではエタノールの測定法として開発された Py 法を従来の気化平衡法と比較検討しながら追跡検討し、Py 法の長所を確認したのち、分析対象を重水素標識の非放射性同位体を用い、エチルエーテル、クロロホルム、トルエンなどに対象を広げて基礎的な検討を試みた。さらに Py 法の実用例への適用として、西日本各地から郵送されてきた救急患者や剖検試料などについて揮発性物質を上記の方法を用いてスクリーニング検査を施し、本法の実務上の有用性について検討した。

材料および方法

1. 材 料

1. 試薬

重水素標識化合物エタノール-d6、クロロホルム-d1、ジエチルエーテル-d10 は MSD Isotope 社 (Montreal, Canada) より、またトルエン-d8 は Merck 社 (Darmstadt, Deutschland) より入手した。

2. 動物

動物実験には白色ニホンウサギ (2kg 前後, 雄) およびウィスター系ラット (200-250g, 雄) を使用した。

3. 救急病院患者試料

北陸および近畿地区の計17の病院 (1次救急12, 高次救急5) から速達郵送された計239名, 538検体 (血液232名, 286検体, 尿129名, 187検体) 分のうち、揮発性薬毒物のスクリーニングに血液試料として230名分, 275検体および尿127名分, 177検体を試料とした。

平成5年3月22日受付, 平成5年6月23日受理

Abbreviations: EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid disodium; EI, electron impact; GC, gas chromatography; MS, mass spectrometry; Py, pulse heating

4. 剖検試料

金沢大学医学部法医学教室で剖検し、採取した血液85体分122検体および尿64検体を対象試料とした。

II. 実験試料の作成

1. エタノール-d6 のラットへの投与方法・試料採取

ラットにエタノール-d6 (25% (W/V) 4ml/kg 体重) を金属カテーテルを用いて経口投与後、15~90分後に心内血を採取し、ただちにエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (ethylenediaminetetraacetic acid disodium, EDTA) を加え、分析時まで4℃で保存した。

2. ラットへのトルエン-d8, エーテル-d10 およびクロロホルム-d1 の投与方法および試料採取

トルエン-d8, ジエチルエーテル-d10 およびクロロホルム-d1 の等量 (v/v) 混液の蒸気を直接吸収させた。5~15分後に採取し、ただちに EDTA を加え使用時まで4℃で保存した。

3. ウサギへのエタノール, トルエン, クロロホルムおよびエーテルの投与方法

ウサギにカテーテルを用いてエタノール (15% 水溶液, 13.3ml/kg 体重) を経口的に投与後、トルエン, ジエチルエーテルおよびクロロホルム (以上いずれも試薬特級) 等量 (v/v) 混液の蒸気を吸収させ、1時間後採血・採尿した。血液には EDTA を添加して4℃で保存した。

4. アルコール飲酒実験

健常成人ボランティアにビールを飲用させ、その抹消血を採取 (ヘパリン添加) および尿を採取し分析時まで4℃で保存した。

III. 分析装置・方法

1. 分析装置

試料の瞬間的および断続的加熱のため、日本分析工業 (東京) JHP-3 型 (以下、熱分解器) を、ガスクロマトグラフは日本電子 (東京) GCG-06 型を、およびガスクロマトグラフィー質量分析 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) の装置は日本電子 DX303 & DA5100 システムと島津 (京都) QP-1000 型を用いた。分光光度計は島津 UV-210A を用い分析した。

2. 分析方法

1) Py-GC(-MS) 法

揮発性薬毒物の分析は Nagano ら⁵⁾ の Py 法をそのまま適用した。すなわち、試料 (血液または尿) をマイクロシリンジで1μl 正確に分取し、強磁性体 (パイロfoil[®]) を円筒状に整形した内側壁に注入し、すばやく試料管にいった。それを熱分解器にセット後、パルス加熱 (160℃, 4 秒間) し揮発性物質を気化させた。ガス状の被検物質はキャリアーガスによりそのままガスクロマトグラフや質量分析器に導入して分析した。

2) 気化平衡法

気化平衡法は何川ら⁶⁾ の報告に準じ、試料 0.5ml に内部標準液 (0.2mg/ml tert-ブタノール) 0.5ml を容量 10ml のスクリーバイアル瓶に加え、55℃ で約20分間保温後、気相ガス約1~1.5ml GC に導入して分析した。

3) 馬尿酸の分析方法

馬尿酸の分析方法は日本法医学会分析マニュアル⁸⁾ に準じ、P-メチルアミノベンズアルデヒドを用いた比色法により分光光度計で分析した。

3. 分析条件

1) 熱分解器 (パイロライザー) による試料のパルス加熱
パイロライザー JHP-3 型の分析条件は出力 225W, 周波数 450kHz, オープン温度 160℃ (Py-GC 使用時) 又は 170℃ (Py-GC-MS 使用時) およびニードル温度 200℃ に設定し行った。

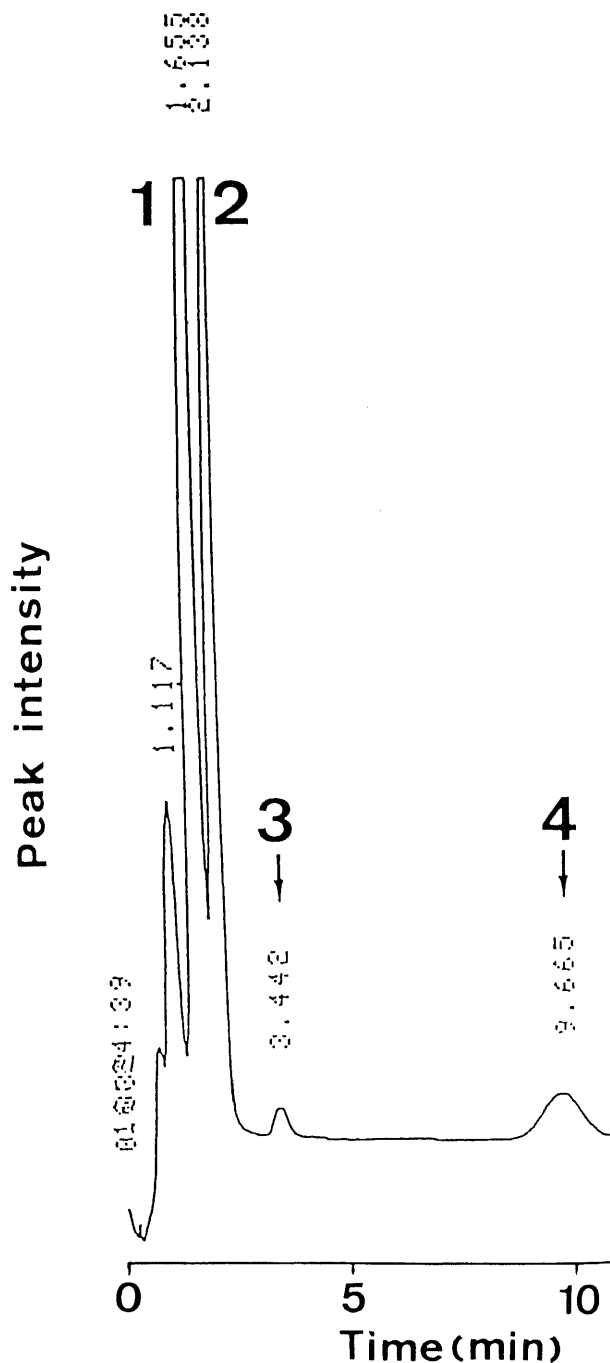


Fig. 1. A gas chromatogram of 4 different kinds of volatile substances by the pulse heating method. Standard volatile mixture (1 μl) was injected into a tubularly shaped ferromagnetic alloy (Pyrofoil[®]) and heated at 160℃ for 4 sec in a Curie-point pyrolyzer (Japan Analytical Industry, model JHP-3). The vapor evaporated was directly introduced to a gas chromatograph (JEOL, model GCG-06). These volatiles were clearly separated in about 10 min: 1, ethanol; 2, diethylether; 3, chloroform; 4, toluene.

2) GC分析

分析は GC カラム, ポラパック Q (80-100メッシュ), 2.6mm×1m, カラム温度 180℃, 注入口温度 180℃, 検出器温度 250℃ およびキャリアガス (N₂) 50ml/分の条件で行った. 計算機は島津クロマトパック C-R3A を使用した.

3) GC-MS

i. DX303 & DA5100 システム

GC カラムはポラパック Q (80-100メッシュ), 2.6mm×1m, カラム温度 180℃, 注入口温度 180℃, キャリアガス (He) 40ml/分の条件を用いた. 質量分析は電子衝撃 (electron impact, EI) モード, 陽イオン検出モード, 加速電圧 3KV, イオン化電圧 70eV, イオン化電流 0.3mA, コンバージョン・ダイノードー 10KV の条件で行った.

ii. QP-1000 型

GC カラムおよびカラム温度等は前記 2) と同様の条件で行った. 質量分析は EI および陽イオン検出モード, イオン化電圧 70eV, 並びにイオン化電流 60μA の条件を使用した.

4. エタノール, エーテル, クロロホルムおよびトルエンの

標準液

エタノール (-d6) (0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0mg/ml), ジエチルエーテル (-d10) (0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5mg/ml), トルエン (-d8) (5, 10, 20, 50, 100, 150μg/ml) は各々水溶液を作成した. クロロホルム (-d1) (0.01, 0.125, 0.5, 2.5mg/ml) は 10% ツィーン20溶液を作成した.

成 績

I. 揮発性物質の分離

GCカラムポラパック Qを用いた揮発性物質の分離分析を予備的に検討した. その典型的なガスクロマトグラフ (図 1) とマスプロトグラフ (図 2a) およびマススペクトル (図 2b-e) を示す. また表 1 には 25 種類の揮発性物質のポラパック Q の保持時間を示す. これらの物質は分離同定することが可能であった. また Py-GC-MS 法によりこれらの物質の熱分解が起こらないことが, 質量分析により確かめられた.

II. 検量線

Py-GC-MS 法により, エタノール-d6 (図 3a), ジエチルエーテ

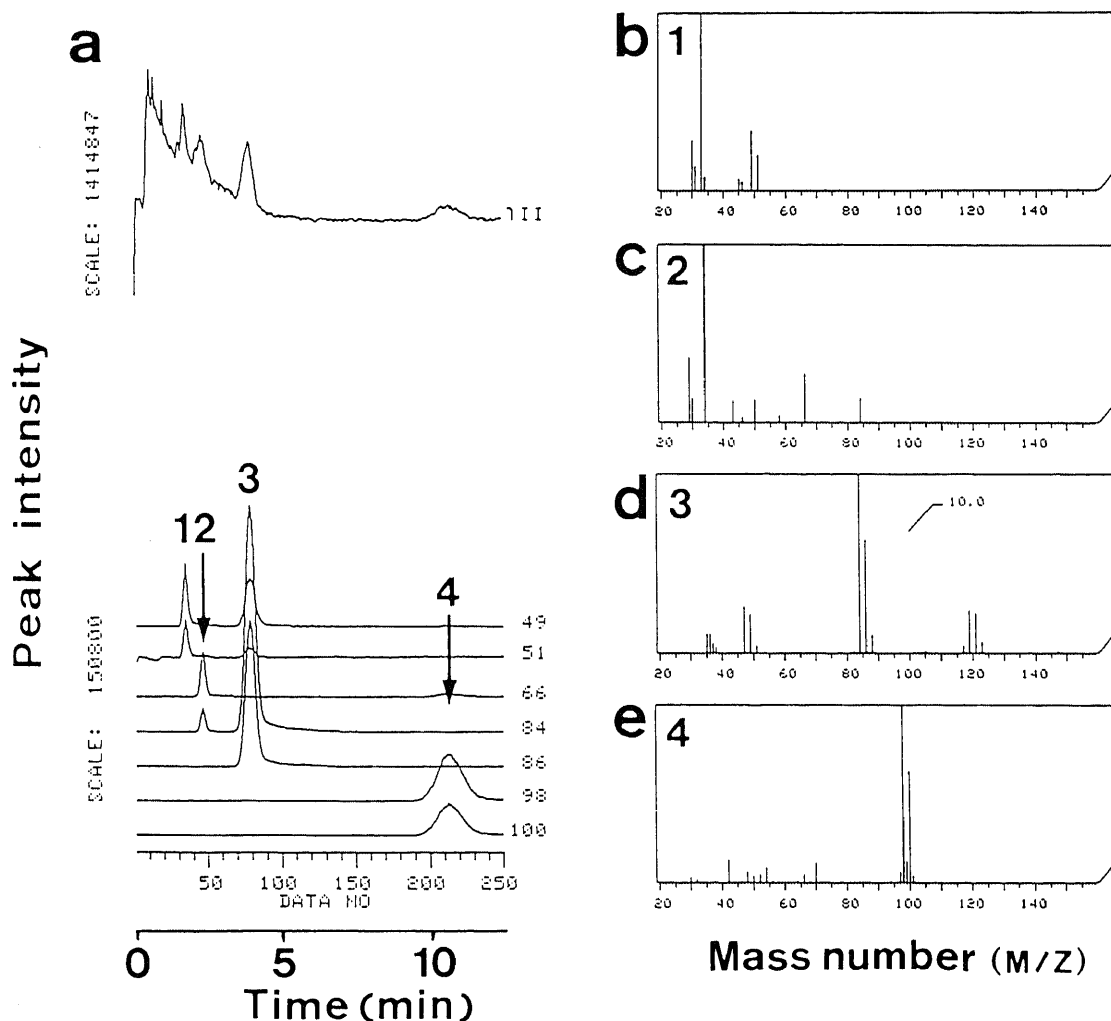


Fig. 2. Total ion chromatogram, mass chromatogram and mass spectra of 4 different kinds of deuterium-labelled volatiles by the pulse heating GC-MS method. **a** shows total ion chromatogram (upper portion) and mass chromatogram (lower portion) of the volatiles. **b**, **c**, **d** and **e** indicate mass spectra of ethanol-d6 (d5) (1), diethylether-d10 (2), chloroform-d1 (3) and toluene-d8 (4), respectively. The analytical conditions of pyrolysis and gas chromatography were the same as those of Fig. 1 except for the detector. A mass spectrometer, Shimadzu QP-1000 was used for analysis of the volatiles using electron impact (EI) and positive mode.

ル-d10 (図3b), クロロホルム-d1 (図3c) およびトルエン-d8 (図3d) の検量線は原点を通る直線性を示した。気化平衡法¹¹⁻¹⁴⁾と同様エタノール以外のエーテル, クロロホルムやトルエンも Py-GC(-MS) 法で定性・定量分析ができることが示された。

Ⅲ. ラット心内血からのエタノール-d6, ジエチルエーテル-d10, クロロホルム-d1 および, トルエン-d8 の分析

エタノール-d6, エーテル-d10, クロロホルム-d1 および, トルエン-d8 について Py-GC-MS 法と同時に気化平衡法で測定した結果を表 2 に示す。このように, 両方ではほぼ同じ測定値が得られた。また実験動物試料からの 4 種の重水素標識化合物の Py-GC-MS による分析で, それらの熱分解したと考えられるピークは検出されなかった。

Table 1. Separation of 25 volatile substances using a column, Porapak Q by pulse heating method

| Substance | Relative retention time | Substance | Relative retention time |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| tert-Butanol* | 1.00 | Methylethylketone | 1.27 |
| Methanol | 0.25 | Chloroform | 1.36 |
| Acetaldehyde | 0.31 | sec-Butanol | 1.38 |
| Ethanol | 0.42 | Ethylacetate | 1.39 |
| Acetonitril | 0.53 | iso-Butanol | 1.57 |
| Acetone | 0.62 | 1, 1, 1-Trichloroethane | 1.69 |
| Propionaldehyde | 0.62 | n-Butanol | 1.85 |
| iso-Propanol | 0.66 | Trichloroethylene | 1.89 |
| Dichloromethane | 0.71 | Benzene | 2.05 |
| Diethylether | 0.80 | Pyridine | 3.43 |
| n-Propanol | 0.85 | iso-Amylalcohol | 3.59 |
| iso-Butylaldehyde | 1.07 | Toluene | 4.19 |
| n-Butylaldehyde | 1.25 | | |

* Retention time of tert-butanol, 3.2 min.

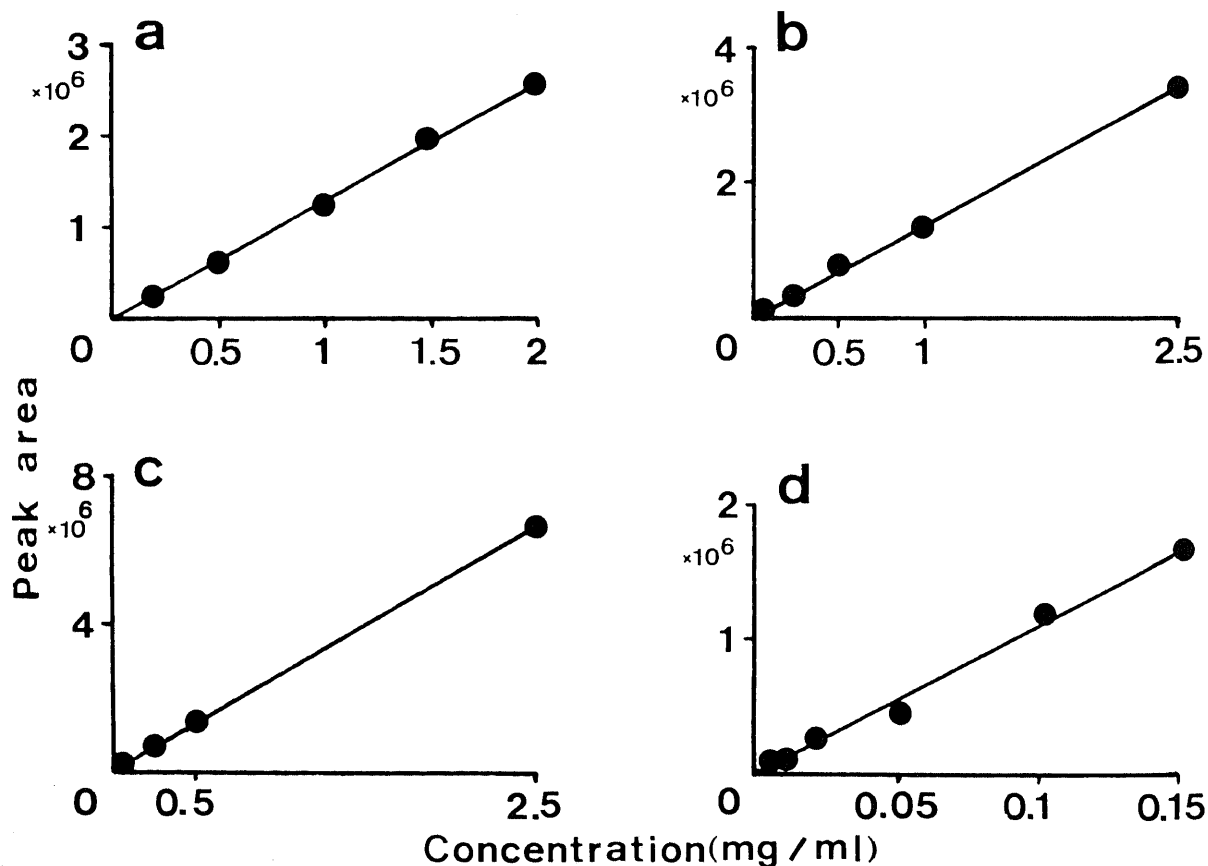


Fig. 3. Calibration curves for the 4 kinds of volatiles. These volatiles were analyzed by pulse heating (Py) GC-MS method using a selected ion monitoring (SIM) mode: m/z 33 for ethanol-d6 (d5) (a), m/z 66 for diethylether-d10 (b), m/z 84 for chloroform-d1 (c) and m/z 100 for toluene-d8 (d). The analytical conditions of Py-GC-MS were the same as those of Fig. 2.

Table 2. Measured values of ethanol-d6, diethylether-d10, chloroform-d1 and toluene-d8 in the rat heart blood

| Substance | Sample number | Value ($\mu\text{g/ml}$) measured by | |
|------------------|---------------|--|-------------------|
| | | Pulse heating method | Head space method |
| Ethanol-d6 | 1 | 967 | 980 |
| | 2 | 523 | 512 |
| | 3 | 692 | 684 |
| Diethylether-d10 | 1 | 363 | 343 |
| | 2 | 209 | 195 |
| | 3 | 451 | 695 |
| Chloroform-d1 | 1 | 193 | 179 |
| | 2 | 215 | 189 |
| | 3 | 386 | 369 |
| Toluene-d8 | 1 | 86.9 | 87.2 |
| | 2 | 74.3 | 74.6 |
| | 3 | 75.2 | 83.2 |

Table 3. Measured values of ethanol in the rabbit blood and urine

| Sample number | Specimen | Value (mg/ml) measured by | |
|---------------|----------|---------------------------|-------------------|
| | | Pulse heating method | Head space method |
| 1 | Blood | 2.40 | 2.05 |
| 2 | Blood | 2.35 | 2.00 |
| 3 | Blood | 1.97 | 1.86 |
| 4 | Blood | 1.95 | 2.17 |
| 5 | Blood | 1.07 | 0.87 |
| 6 | Blood | 1.13 | 1.23 |
| 7 | Blood | 1.36 | 1.49 |
| 8 | Blood | 1.11 | 1.18 |
| 9 | Urine | 0.194 | 0.166 |
| 10 | Urine | 0.141 | 0.209 |
| 11 | Urine | 0.095 | 0.135 |
| 12 | Urine | 0.128 | 0.071 |
| 13 | Urine | 0.130 | 0.120 |
| 14 | Urine | 0.304 | 0.262 |

Table 5. Measured values of chloroform in the rabbit blood

| Sample number | Value ($\mu\text{g/ml}$) measured by | |
|---------------|--|-------------------|
| | Pulse heating method | Head space method |
| 1 | 119 | 106 |
| 2 | 111 | 108 |
| 3 | 168 | 183 |
| 4 | 88.6 | 74.6 |
| 5 | 56.4 | 53.1 |
| 6 | 73.1 | 66.7 |
| 7 | 43.7 | 44.9 |
| 8 | 82.9 | 74.9 |

Table 4. Measured values of diethylether in the rabbit blood and urine

| Sample number | Specimen | Value ($\mu\text{g/ml}$) measured by | |
|---------------|----------|--|-------------------|
| | | Pulse heating method | Head space method |
| 1 | Blood | 60.4 | 75.0 |
| 2 | Blood | 68.8 | 57.8 |
| 3 | Blood | 93.5 | 104 |
| 4 | Blood | 53.1 | 66.8 |
| 5 | Blood | 43.3 | 46.3 |
| 6 | Blood | 36.7 | 38.7 |
| 7 | Blood | 42.8 | 44.7 |
| 8 | Blood | 34.5 | 27.5 |
| 9 | Urine | 18.6 | 15.7 |
| 10 | Urine | 20.9 | 18.4 |

Table 6. Measured values of toluene in the rabbit blood

| Sample number | Value ($\mu\text{g/ml}$) measured by | |
|---------------|--|-------------------|
| | Pulse heating method | Head space method |
| 1 | 20.8 | 16.5 |
| 2 | 17.0 | 15.8 |
| 3 | 26.8 | 25.5 |
| 4 | 17.0 | 17.9 |
| 5 | 11.0 | 12.6 |
| 6 | 10.6 | 10.2 |
| 7 | 5.4 | 4.2 |
| 8 | 8.2 | 8.9 |

IV. ウサギの血液および尿からのエタノール、エーテル、クロロホルムおよびトルエンの分析

ウサギにエタノール、エーテル、クロロホルムおよびトルエンを投与し、採血・採尿した試料を Py-GC 法および気化平衡法で測定した結果を表 3～6 に示す。エタノール測定値の回帰直線を求めると $Y=1.05X-0.009$, $r=0.982$ (Y, Py-GC 法による値; X, 気化平衡法による値; r , 相関係数); エーテル測定値の回帰直線, $Y=0.795X+7.91$, $r=0.958$; クロロホルム測定値の回帰直線, $Y=0.879X+14.7$, $r=0.982$; トルエン測定値の回帰直線, $Y=1.06X-0.141$, $r=0.968$ であった。いずれも相関係数は 0.958 から 0.982 の範囲であり、よい相関が示された。

V. アルコール飲酒実験による人血液からの分析

ビールを飲用した健常成人 7 名から採取した血液および尿 14 検体について、Py 法および気化平衡法の両方で測定した (表 7)。その結果を上記と同様 Py 法と気化平衡法で比較したところ、回帰直線 $Y=0.022+0.967X$, $r=0.999$ となり、非常に良好な相関が示された (図 4)。

VI. 救急患者試料を用いた揮発性薬毒物スクリーニング

救急患者血液 (血漿または血清を含む) 230 名および尿 127 名からエタノール、トルエンおよびアセトンが検出された (表 8)。エタノール (0.1mg/ml 以上) が検出されたのは 28 名 (12%) からであった。

エタノールが検出された例の中にいわゆる“犯法的”な意味をもつアルコール飲用に基づく、道路交通法違反、が 3 例 (全検査例の 1.3%) あった。いずれも男性で年齢は 26, 29 および 30 歳であった。その血中アルコール濃度はそれぞれ 0.56, 2.19 および 1.40mg/ml であった。その他のエタノールが検出された例では急性アルコール中毒 4 例、アルコールと睡眠薬の服用 4 例、飲酒後階段から転落 2 例などがあった。トルエンが検出されたのは 3 名からであった。そしてその代謝物である馬尿酸の検出されたのは 4 名からであった (表 9)。表 9 の事例について概略を述べる。

例 1. 男性 28 歳, ペンキ塗装業者が軽自動車 (ワンボックス車) を運転中普通自動車と衝突したもの。来院時昏睡, 散瞳 (5mm×5mm), 血圧 (130/72mmHg), 呼吸および脈拍は正常, 体温 36.1℃。

例 2. 女性 17 歳, はきけを主訴して来院, シンナー常習者。来院時意識清明, 瞳孔, 呼吸および脈拍は正常。血圧 (108/

60mmHg), 体温 35.7℃ であった。

例 3. 男性 18 歳, シンナーを吸い自動車を運転しブロック壁に衝突, 受傷した。車内にシンナーのビニール袋あり。来院時昏睡, 痙攣 (+), 瞳孔は散瞳から縮瞳, 呼吸停止, 脈拍停止から回復したが, 危篤状態。

例 4. 男性 17 歳, 全身倦怠感と, はきけを主訴として来院。この時応答が鈍く, 呂律が回りにくかった。本人はシンナーを吸ったと供述。15 歳からシンナー常習で保護監察を受けていた。来院時, 意識傾眠, 瞳孔, 呼吸および脈拍正常, 血圧 110/70mmHg で軽症であった。

VII. 剖検試料からの揮発性薬毒物の分析

剖検試料 85 名 (血液 122 検体, 尿 64 検体) から揮発性薬毒物ス

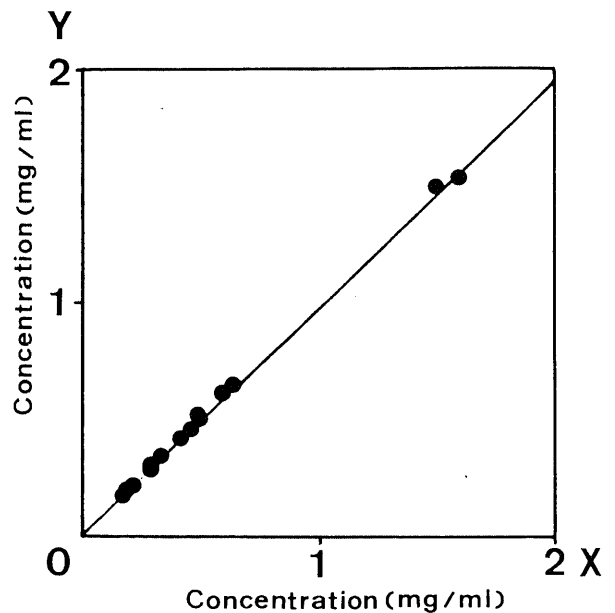


Fig. 4. Comparison of ethanol concentration in the volunteers' blood and urine. Ethanol concentration was simultaneously measured both by the head space GC method (X axis) and by the pulse heating (Py)-GC method (Y axis). The analytical conditions of Py-GC was the same as those of Fig. 1. The conditions of the head space method are described in the text. The regression line, $Y=0.022+0.967X$; correlation coefficient (r), 0.999; number of sample (n), 14.

Table 7. Measured values of ethanol concentration in the volunteers' blood and urine by head space method and by pulse heating method

| Case number | Blood | | Urine | |
|-------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| | Value (mg/ml) measured by | | Value (mg/ml) measured by | |
| | Pulse heating method | Head space method | Pulse heating method | Head space method |
| 1 | 0.165 | 0.173 | 0.195 | 0.179 |
| 2 | 0.212 | 0.207 | 0.349 | 0.330 |
| 3 | 0.298 | 0.297 | 0.296 | 0.290 |
| 4 | 0.492 | 0.491 | 0.616 | 0.595 |
| 5 | 0.449 | 0.456 | 0.523 | 0.481 |
| 6 | 0.652 | 0.629 | 0.481 | 0.405 |
| 7 | 1.49 | 1.48 | 1.52 | 1.60 |

Table 8. Screening of volatile substances in the blood and urine in emergency medical cases

| Detected substance | Concentration (mg/ml) | Number of cases (samples) | |
|--------------------|-----------------------|---------------------------|-----------|
| | | Blood* | Urine |
| Ethanol | <0.1 | 202 (247) | 114 (164) |
| | 0.1~0.49 | 7 (7) | 4 (4) |
| | 0.5~0.99 | 7 (7) | 3 (3) |
| | 1.0~1.49 | 4 (4) | 1 (1) |
| | 1.5~2.49 | 7 (7) | 3 (3) |
| | 2.5~3.49 | 2 (2) | 1 (1) |
| | 3.5~4.49 | 1 (1) | 0 (0) |
| | 4.5< | 0 (0) | 1 (1) |
| Toluene | | 3 (3) | 2 (2) |
| Acetone | >0.01 | 3 (3) | 8 (8) |

* Containing serum or plasma.

Table 9. Determination of toluene and hippuric acid in the blood and urine in emergency medical cases

| Case number | Sex | Age | Specimen | Toluene ($\mu\text{g/ml}$) | Hippuric acid (mg/ml) |
|-------------|--------|-----|----------|------------------------------|-----------------------|
| 1 | Male | 28 | Blood | 10.1 | |
| | | | Urine | 0 | 37.0 |
| 2 | Female | 17 | Blood | 1.72 | |
| | | | Urine | 0.729 | 19.2 |
| 3 | Male | 18 | Blood | 0.800 | |
| | | | Urine | 0.043 | 7.8 |
| 4 | Male | 17 | Blood | 0 | |
| | | | Urine | 0 | 29.4 |

Toluene was analyzed by pulse heating method, and hippuric acid by spectroscopic method. (See text).

Table 10. Screening of volatile substances in the blood and urine in autopsy cases

| Detected substance | Concentration (mg/ml) | Number of cases (samples) | |
|--------------------|-----------------------|---------------------------|---------|
| | | Blood | Urine |
| Ethanol | <0.1 | 65 (79) | 45 (45) |
| | 0.1~0.49 | 4 (8) | 5 (5) |
| | 0.5~0.99 | 3 (8) | 1 (1) |
| | 1.0~1.49 | 1 (3) | 0 |
| | 1.5~2.49 | 9 (20) | 6 (6) |
| | 2.5~3.49 | 2 (2) | 5 (5) |
| | 3.5~4.49 | 1 (2) | 2 (2) |
| | 4.5< | 0 | 0 |
| Toluene | | 2 (2) | 2 (2) |
| Chloroform | | 2 (3) | 1 (1) |
| Acetone | >0.01 | 1 (1) | 4 (4) |
| n-Propanol | | 4 (5) | 2 (2) |

クリーニングを行った。その結果を表10に示してある。エタノール (0.1mg/ml 以上) は血中20体 (43 検体) (24%) から検出された。またその他血中または尿中からトルエンが2体 (4 検体) から、クロロホルムが2体 (4 検体) からおよびアセトン (10 μ g/ml 以上) が4体 (5 検体) から検出された。一方やや腐敗が進行した死体からは n-プロパノールが4体 (7 検体) から検出された。

VII. 救急患者試料および剖検試料を用いた Py 法と気化平衡法による測定値の比較

1. エタノールの測定値

救急患者試料からのエタノール (0.1mg/ml以上) が検出された27例のうち16例 (20検体) および剖検試料から同様検出された21例 (60検体) の血液, 尿の測定値を比較すると図5に示すようになる。その回帰直線は $Y=1.018X+0.0002$, $r=0.988$

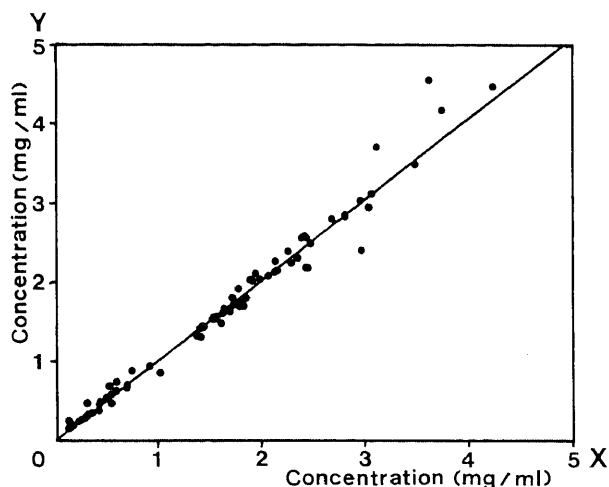


Fig. 5. Comparison of ethanol concentrations in the blood and urine in emergency patients and autopsy cadavers. Ethanol concentration was simultaneously measured both by the head space GC method (X axis) and the pulse heating (Py)-GC method (Y axis). The analytical conditions of both methods were the same as those of Figs. 1 and 4. The regression line, $Y=0.002+1.02X$; correlation coefficient (r), 0.988; number of sample (n), 80.

($n=80$), Y : Py 法による測定値, X : 気化平衡法による測定値, r : 相関係数, n : 試料数 (サンプル数), であり比較的良い相関が示された。

2. トルエンおよびクロロホルムの測定値

救急患者および剖検例からトルエンが各々3および2例, 計5例から, およびクロロホルムが剖検例から2例検出されたが, そのうちトルエン2例, クロロホルム1例について Py-GC-MS 法および気化平衡法両者で測定した (表11)。両方法いずれの測定値ともほぼ同値を示した。

考 察

血液や尿からのエタノール分析は, 1950年代は Widmark 法⁷⁾が一般的であったが, エタノールの-OH基に基づく化学的反応を利用していたため, その特異性は低かった。その後アルコール脱水素酵素 (ADH) を用いた方法⁸⁾が利用され, 今でも一部で利用されているが, これもエタノールに類似の n-プロパノール等と交差反応を示すことから, 完全に特異的ではないことが判明してきた。1962年, Curry ら¹⁾, Bassette ら²⁾ および 1964年 Machata³⁾によって GC を用いた気化平衡法が開発され, エタノールを始めとする低級アルコール類の分析はいずれもこの気化平衡法で行われている。

この GC を用いた気化平衡法¹⁰⁻¹¹⁾は特異性, 再現性の点で優れており, 広く普及している。この方法は試料の液相が一定容積中で加熱されたとき, 同一温度で一定の分圧を生ずるという原理であるが, 気相を正確に採取することが難しいため, 加熱前に内部標準を加える必要がある。しかしこの内部標準物質と分析対象とする物質が化学的にも物理的にも類似でなくてはならない。そのためエタノールの分析には n-プロパノールが良く使用されるが, 実務上, 腐敗試料では n-プロパノールは死後産出されるため¹⁰⁾, これは実際上使用できない。そのため tert-ブタノールが内部標準としてよく使用されている。一方気化平衡法の原理から, 分析対象とする物質および内部標準物質の分圧に影響するような, 他の物質の多量の混入や, 正確な温度設定, 各種のイオン類の濃度や pH など多くの不安定要因が考えられる。

Parker ら¹¹⁾は GC を使用し直接試料を注入口に入れる方法で

Table 11. Measured values of toluene and chloroform in the blood and urine both by pulse heating method and by head space method

| Detected substance | Case number | Sample | Value (μ g/ml) measured by | |
|--------------------|-------------|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | | Pulse heating method | Head space method |
| Toluene | 1 | Blood in the abdominal cavity | 41.3 | 43.0 |
| | | Pericardium fluids containing blood | 14.1 | 14.0 |
| | | Urine | 9.64 | 8.20 |
| | 2 | Blood | 0.80 | 0.81 |
| | | Urine | 0.043 | 0.031 |
| Chloroform | 1 | Left heart blood | 134 | 90.7 |
| | | Right heart blood | 130 | 112 |
| | | Urine | 8.77 | 6.42 |

行った。この方法は注入口やカラムの汚染がひどく、余り普及していない。これを改良するために、Okuda ら¹²⁾ および Ueda と Fukui¹³⁾ はガラスの試料管やポリエチレン製の試料管に試料を封入後、特殊な注入口にいれ分析する方法を考案しているが、特殊な装置等が必要とされる点や分析時にポリエチレン由来と考えられるピークの出現等の問題があった。Ishizawa¹⁴⁾ は電気炉型の熱分解器をもちいてエタノールを気化して分析することに着目し検討している、しかしこの方法は試料を加熱する時間がかかる点や、正確に再現性のある一定温度で加熱できないなどの点で問題があり利用されていない。

以上のような問題点を考慮し、Nagano ら⁹⁾ は被検物質を気化させ気体として直接分析器に試料を導入する方法が理想的と考え、Py-GC-(MS) 法を開発した。この方法は試料をあらかじめ処理することなく、試料をそのまま正確に一定温度 (160℃) で加熱し、しかも、短時間間隔で何回でも繰り返し加熱する (pulse heating) ことができるため極めて再現性のよい分析が可能となった。また、通常の血液や尿中の各種成分や pH 等により影響は受けず加熱による試料の分解産物も認められなかった。

本実験ではエタノール分析用としての Py-GC-(MS) 法を更に揮発性物質に範囲を拡大することを企画した。そこで、まずそれぞれに重水素標識化合物を用いて、熱分解器に適用したときの変化がないかどうかを検討したが、160℃ または 235℃ の4秒間の加熱では熱分解しないことが Py-GC-MS 分析で明らかになった。これは Nagano ら⁹⁾ が以前にエタノールで報告したのと同様であった。

次に、ガスクロマトグラフィーによる分離の予備的検討を行い、カラムポラパック Q により25種の内23種は分離できることが明らかになった。ポラパック Q カラムは Swallow と Hentschel¹⁵⁾ によってエタノールの分析に利用され、他の研究室でも使用されている¹⁶⁾。

ジエチルエーテルの近代的分析法には1950年代に質量分析法による Jones ら¹⁷⁾ による気体試料の直接導入による分析がある。1961年には Noehre と Cudmore¹⁸⁾ はガスサンプラー付 GC により分析した。1977年には Ulrich ら¹⁹⁾ により気化平衡法—ガスサンプルシステムを用いて質量分析法で各種麻酔薬、エーテル、N₂O、ハロタンを分析した。的場ら²⁰⁾ は剖検試料からエーテルを気化平衡法-GC 分析 (カラム、PEG-1000 (15%)) で定量している。

クロロホルムの分析について、1972年 Fry ら²¹⁾ により溶剤抽出後 GC で分析された。1975年 Dubowski²²⁾ は気化平衡法-GC 分析を記載している。1981年 Giusi と Chiarotti²³⁾ は剖検試料からカラムポラパック Q を用いて、気化平衡法-GC 分析を報告している。

トルエンの生体試料からの分析は1970年 Collom と Winek²⁴⁾ により気化平衡法-GC 分析で行われた。

エタノールを含めエーテル、クロロホルムおよびトルエンいずれも現在では気化平衡法を用いた GC または GC-MS がもっとも使用されている。そこで本報では前述のごとく Py-GC-MS 法を用いて揮発性物質の定量分析について動物を用いて実験を行った。その測定値と気化平衡法による値について比較した結果エタノール、14検体でその相関係数 (r) は0.982、ジエチルエーテル、10検体で r は0.958、クロロホルム、8検体で r は0.982、トルエン、10検体で r は0.968であった。この値は [エ

タノール]=[クロロホルム]>[トルエン]>[ジエチルエーテル] の順であった。被検体数は少ないがその r 値はいずれも0.95を越えており比較的よい相関を示した。

実際例の測定において、アルコールを飲用した健康成人から採取した試料について、Py-GC 法と気化平衡法でエタノールの濃度を比較してみると、相関係数0.999となり非常に良く一致していた。

救急患者例230名分の血液および尿452検体、並びに剖検試料186検体を揮発性薬毒物についてスクリーニングと定量をおこなった。そのうち28救急患者例の41検体からエタノール (0.1mg/ml 以上) が検出され、また剖検試料62検体からも同様検出された。これらのうち、気化平衡法も同時に測定した計80検体についてその値を比較すると $Y=1.08X+0.0002$ ($r=0.988$, $n=80$) であった。(但しこれはいずれの方法でも検出できなかった例は入っていない)。

この相関係数 $r=0.988$ は、前記の健康成人の試料での比較0.999 (図4) よりは少し劣るが、Nagano ら⁹⁾ の実験的試料 (ラットの血液) の r 値0.965及びヒト (健康成人) 試料からの $r=0.998$ とほぼ同様の値を示し、両方の値がほぼ一致していることから本法の正確性を示していると考えられる。

その他クロロホルム1例とトルエン2例について気化平衡法と Py-GC-MS 法で比較してみるとほぼ一致した値が得られ、エタノール以外の物質にも十分実用として測定できることが明らかになった。

以上のように実際に測定した中で、救急患者について血中エタノール (0.1mg/ml 以上) が検出されたものは28例、測定例中の12%に達していた。林田²⁵⁾ は127例の急性中毒の中で飲酒が関与したのは21例 (16.5%) であったと報告している。本検査例の中で、何らかの薬剤を服用した疑いのある意識喪失の救急患者から、エタノールが血清値 5.09mg/ml (全血に補正すると4.49mg/ml 相当) および尿 5.46mg/ml と測定され、その他の薬毒物は陰性であった。この成績は試料の到着後約2時間でエタノール中毒という結果を速報し、治療の指針をあたえることができ救命された。これは本揮発性薬毒物の迅速分析システムが救急医療上有用であることが明らかに示された例であった。

平成2年度犯罪白書²⁶⁾ によると道路交通法違反事件は850万2725件であり、そのうち反則事件として告知されたものは743万8908件でこの中に酒気帯び32万9155 (4.4%) であったと報告されている。本例の救急患者230名中3名 (1.3%) の飲酒運転者が見いだされた。この数については少数なので議論はできないが、今もって飲酒運転による受傷者がいることについて、社会に対して改めて注意を喚起する必要がある。

昭和47年に毒物および劇物取扱取締法が改正され、シンナー等の乱用行為などの違反による送致人数は平成元年、総数27,790人のうち少年 (14歳以上20歳未満) は23,279人にのぼっている²⁶⁾。これらの対象人口を1,100万とすると約0.2%に相当している。本研究では4例からトルエンおよびその代謝物である馬尿酸が尿から検出された。そのうち3名 (1.3%) は17~18の青少年であった。本法ではエタノールもトルエンも同時に且つ自動的に分離分析できるため、このような複合中毒状態の証明にあたっても有力な武器となろう。

剖検例において、伊藤ら²⁷⁾ は剖検850体中446体の血中にアルコール (0.1mg/ml 以上) を検出したと報告している (検出率52.5%)。本研究においては、剖検85体中エタノール (0.1mg/

ml以上)が検出された例は20体(23.5%)であった。

トルエンについて Miyazaki ら²⁹⁾は血中トルエン濃度と症状を乱用者51名(男34名,女17名)について研究し,トルエン血中濃度10~23 $\mu\text{g/g}$ でもうろう状態(3名),同4~21 $\mu\text{g/g}$ で不明瞭な会話(3名),同5~12 $\mu\text{g/g}$ でよろめき(2名),同0.8~5 $\mu\text{g/g}$ で幻覚(5名)が見られたと報告している。また同氏らは²⁸⁾トルエンの致死的血中レベルは30 $\mu\text{g/g}$ 又はmlであろうと推定している。Winek²⁹⁾はトルエンの致死的血中レベルは10 $\mu\text{g/ml}$ と記載している。

本研究のうち,救急患者ではいずれも30 $\mu\text{g/ml}$ 以下であった。剖検2例のうち1例(男,26歳)は腹腔内血液が41.3 $\mu\text{g/ml}$ と高値を示したが,捜査状況からトルエン吸入後,近くのビルから転落死したと考えられ,致死的血中濃度は個人差が大きいことが推察された。他1例(男,17歳)はバイクで暴走行為中に転倒,後続車に轢過された例で,血中トルエン濃度2.37 $\mu\text{g/ml}$,同尿中濃度0.34 $\mu\text{g/ml}$ であった。これはトルエン(シンナー)の濫用と非行が結びついた現況を示していると考えられる。

クロロホルム自殺2例から,血中濃度30および40ppm($\mu\text{g/g}$)という報告がある³⁰⁾。また死亡例における血中クロロホルム濃度は33mg/l又はmg/kg(範囲10-48)という記載もある³⁰⁾。本報(男71歳)は心内血0.3 $\mu\text{g/ml}$ という微量のもので,直接死因は胸腹部刺切創による出血死と判断された。クロロホルムの出所は自殺企図で飲用したと推定されるトイレルックという家庭用洗剤と考えられた。他の1例(女,18歳)は自室内で死亡発見された例で,左心血134 $\mu\text{g/ml}$,右心血130 $\mu\text{g/ml}$,尿8.77 $\mu\text{g/ml}$ のクロロホルムが検出された。福井ら³¹⁾によると,静脈血クロロホルム濃度が7mg%(70 $\mu\text{g/g}$ 又はml)で臨床的に軽度,10mg%で中等度,12mg%で高度麻酔状態で,15~25mg%で危険となると記載されている。これによると上記の例は少なくとも高度麻酔状態であったと考えられる。この例は剖検時死因不詳で,揮発性薬毒物スクリーニングにより,当初全く予想しなかったクロロホルムが剖検進行と同時に検出され,初期捜査活動の有力な情報として提供でき,Py-GC(-MS)法の迅速且つ有用性を明らかにできた例でもあった。

結 論

1. Py-GC-MS法によってエタノール-d6の他ジエチルエーテル-d10,クロロホルム-d1およびトルエン-d8について動物実験試料を用いて分析したところ約15分以内にすべて分離分析され,熱分解物質は検出されなかった。

2. アルコール飲酒実験による健康ヒトボランティア試料についてPy-GC法と気化平衡法によるエタノールの測定値の相関係数 r は0.999であった。

3. ウサギの血液および尿を用いてPy-GC法および気化平衡法により,エタノール,ジエチルエーテル,クロロホルムおよびトルエンを測定し,その値をお互いに比較するとその相関係数は0.982~0.958の間で比較的良好な相関を示した。

4. 救急患者試料230名分452検体についてPy-GC-MS法を適用し揮発性薬毒物スクリーニングを行い,エタノール(0.1mg/ml以上)が28名(41検体),トルエンが3名(5検体),アセトン(10 $\mu\text{g/ml}$ 以上)が8名(11検体)から検出された。

5. 剖検試料85体(186検体)について同様に揮発性薬毒物スクリーニングを行い,エタノールが20体(60検体)から検出され

た。その他トルエンが2体(4検体)から,クロロホルムが2体(4検体)から,アセトン(10 $\mu\text{g/ml}$ 以上)が4体(5検体)からおよびn-プロパノールが4体(7検体)から検出された。

6. 救急患者試料および剖検試料計80検体をPy-GC-MS法および気化平衡法で測定したところその相関係数が0.988と良好な相関が得られた。またトルエン5検体およびクロロホルム3検体について同様両方法で測定したところほぼ一致した値が得られた。

以上Py-GC-MS法は揮発性薬毒物同時分析法として極めて有用であり,救急医療および法医学解剖などの実務試料についての迅速スクリーニング並びに定量分析法として活用できることを明らかにした。

謝 辞

稿を終るに臨み,御指導と後援を賜りました恩師永野耐造教授に深甚なる謝意を表します。資料の収集に多大な御協力を戴きました本学名誉教授松原藤継博士に感謝します。また,本研究の遂行にあたり,御指導と御助言を戴きました元教室助教授前田均博士(現・大阪市立大学法医学講座主任教授),当教室助教授大島徹博士,高安達典博士並びに本教室の教室員の各位に厚く御礼申し上げます。

なお,本研究の一部は文部省科学研究費補助金試験研究(B)(1)(No02557032)(研究代表者永野耐造教授)の助成を受けた。

文 献

- 1) Curry, A. S., Hurst, G., Kent, N. R. & Powell, H.: Rapid screening of blood samples for volatile poisons by gas chromatography. *Nature*, 195, 603-604 (1962).
- 2) Bassette, R., Özeris, S. & Whitnah, C. H.: Gas chromatographic analysis of head space gas of dilute aqueous solutions. *Anal. Chem.*, 34, 1540-1543 (1962).
- 3) Machata, G.: Über die gaschromatographische Blutalkohol Bestimmung. *Analyse der Dampfphase. Mikrochim. Acta*, 6, 262-271 (1964).
- 4) 何川 涼, 古徳 迪: Gas Chromatographyによる生物試料中 Alcoholの迅速定量法。アルコール研究, 4, 27-33 (1969).
- 5) Nagano, T., Takayasu, T. & Maeda, H.: A new method for the determination of ethanol in the blood and urine by pulse heating. *Jpn. J. Legal Med.*, 43, 315-321 (1989).
- 6) 日本法医学会編: 薬毒物検査マニュアル 1989年。23頁, 日本法医学会, 東京, 1989。
- 7) Widmark, E. W. P.: Eine Mikromethode zur Bestimmung von Äthylalkohol im Blut. *Biochem. Z.*, 131, 473-484 (1922).
- 8) Bücher, T. & Redetzki, H.: Eine spezifische photometrische Bestimmung von Äthylalkohol auf fermentativem Wege. *Klin. Wschr.*, 29, 615-616 (1951).
- 9) Nanikawa, R. & Kotoku, S.: Medicolegal evaluation of the ethanol levels in cadaveric blood and urine. *Yonago Acta Medica*, 15, 61-69 (1971).
- 10) 福井宏有: エタノール-d6の死体内での分解・拡散とエタノールの死後産生。十全医会誌, 98, 1198-1211 (1989).
- 11) Parker, K. D., Fontan, C. R., Yee, J. L. & Kirk, P. L.: Gas chromatographic determination of ethyl alcohol in blood for medicolegal purposes. Separation of other volatiles

- from blood or aqueous solution. *Anal. Chem.*, **34**, 1234-1237 (1962).
- 12) Okuda, Y., Takeshita, H., Imamoto, A., Murata, T. & Hattori, S.: Gas chromatographic analysis of ethyl alcohol in blood. *Jpn. J. Stud. Alcohol*, **1**, 22-23 (1966).
- 13) Ueda, M. & Fukui, A.: A new method for the determination of ethanol in blood by pyrolysis-gas chromatography. The use of polyethylene tubing as sample container. *Jpn. J. Stud. Alcohol*, **2**, 100-106 (1967).
- 14) Ishizawa, F.: A study on the gas chromatographic determination of ethanol in blood. *Jpn. J. Legal Med.*, **34**, 618-625 (1980).
- 15) Swallow, W. H. & Hentschel, P. R.: Limitations in the specificity of porapak Q columns in the gas chromatographic analysis of ethanol in body fluids. *J. chromatogr.*, **130**, 403-404 (1977).
- 16) Chikasue, F., Yashiki, M., Miyazaki, T., Okamoto, I. & Kojima, T.: Abnormally high alcohol concentration in the heart blood. *Forensic Sci. Int.*, **39**, 189-195 (1988).
- 17) Jones, C. S., Saari, J. M., Devioo, R. A., Faulconer, A. & Baldes, E. J.: Analysis of gases in blood with the mass spectrometer. II. A method for the determination of diethylether in blood. *Anesthesiology*, **14**, 490-497 (1953).
- 18) Noehreu, T. H. & Cudmore, J. W.: Ethyl ether content in blood as determined by gas chromatography. *Anesthesiology*, **22**, 519-524 (1961).
- 19) Urich, R. W., Bowerman, D. L., Wittenberg, P. H., Pierce, A. F., Schisler, D. K. & Levisky, J. A.: Head space mass spectrometric analysis for volatiles in biological specimens. *J. Anal. Toxicol.*, **1**, 195-199 (1977).
- 20) 的場梁次, 内間栄行, 若杉長英: エーテル中毒死の一例. *日法医誌*, **34**, 91-93 (1980).
- 21) Fry, B. J., Taylor, T. & Hathway, D. E.: Pulmonary elimination of chloroform and its metabolite in man. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **196**, 98-111 (1972).
- 22) Dubowski, K. M.: Organic volatile substances. *In* I. Sunshine (ed.), *CRC Methodology for Analytical Toxicology*, 1st ed., P407-411, CRC Press, Cleveland, 1975.
- 23) Giusi, G. V. & Chiarotti, M.: Double 'suicide' by chloroform in a pair of twins. *Med. Sci. Law.*, **21**, 2-3 (1981).
- 24) Collom, W. D. & Winek, C. L.: Detection of glue constituents in fatalities due to "glue sniffing". *Clin. Toxicol.*, **3**, 125-130 (1970).
- 25) 林田眞喜子: 最近7年間における日本医科大学救命救急センター収容の急性中毒患者の分析. *日法医誌*, **37**, 227-235 (1983).
- 26) 法務省法務総合研究所編: 平成2年版犯罪白書—少年非行と非行少年の処遇. 30~59頁, 大蔵省印刷局, 東京, 1990.
- 27) 伊藤敦子, 森 智代, 横田千恵子, 鈴木正恵, 川田文夫, 伊藤順通: 法医解剖例における血中アルコール濃度—死因及び年齢との関係—. *日法医誌*, **37**, 20-35 (1983).
- 28) Miyazaki, T., Kojima, T., Yashiki, M., Chikasue, F. & Tsukue, I.: Correlation between 'on admission' blood toluene concentrations and the presence or absence of signs and symptoms in solvent abusers. *Forensic Sci. Int.*, **44**, 169-177 (1990).
- 29) Winek, C. L.: *Drug & Chemical Blood-level Data 1985*, P1~7, Fisher Scientific, Litho (U.S.A.), 1985.
- 30) Baselt, R. C. & Cravey, R. H.: *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 3rd ed., P163~165, Year Book Medical Pub. Inc, Chicago·London·Boca Ratan·Littleton, 1989.
- 31) 福井巳芳, 熊岡 照, 伊藤半次郎, 谷口春雄, 岡田 文: 裁判化学, 第一版, 72頁. 廣川書店, 東京, 1971.

Development of Emergency Toxicology Screening for Volatile Drugs and Poisons Utilizing Pulse Heating Method
Tsuyoshi Nakaya, Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med Soc., 102, 469—480 (1993)

Key words forensic toxicology, emergency medical care, emergency screening, volatile drugs and poisons, pulse heating

Abstract

The head space method has commonly been employed as a reliable method for analysis of volatile drugs and poisons including ethanol. However, the method requires rather large amounts of samples and internal standards. Moreover, there is some difficulty in handling substances of a high boiling point. Recently, Nagano et al. have developed pulse heating method utilizing a curie point pyrolyzer for the analysis of ethanol. The method is characterized by the following advantages: 1) It requires a small amount of samples (1 μ l). 2) No pretreatment of samples is required. 3) The time for analysis is relatively short. 4) It gives exact values. In the present study, the pulse heating method was examined in comparison with the head space method which is now in widespread use. Having confirmed the advantages of the pulse heating method for ethanol, we carried out basic studies for diethylether, chloroform and toluene labeled with deuterium in order to introduce the method to a toxicology-screening system of volatiles. Ethanol-d₆, diethylether-d₁₀, chloroform-d₁ and toluene-d₈ were administered to animals and their blood samples were analyzed by the pulse heating method. It was possible to isolate and identify all the administered substances in the blood and urine within 15 minutes, and no heat decomposition substance derived from the samples was detected. When the values obtained by this method were compared with those by the head space method in alcohol intake test of normal human volunteers, a remarkably good correlation ($\gamma = 0.999$) was observed. When a mixture of ethanol, diethylether, chloroform and toluene was administered to rabbits, each substance of mixture could be clearly and simultaneously analysed using the blood samples of the animals. Employing the pulse heating method, toxicology screening of volatiles was carried out for 452 samples from 280 emergency patients. Ethanol (more than 0.1 mg/ml), toluene and acetone (more than 10 μ g/ml), were detected in 28, 8 and 11 patients, respectively. In cases of the autopsy screening (85 cadavers, 186 samples), ethanol was detected in 20 cadavers (60 samples). Moreover, toluene, chloroform and acetone were detected in 2, 2 and 4 cadavers, respectively. In conclusion, in the series of studies presented here, it was clearly demonstrated that the pulse heating method was useful for simultaneous analysis of volatiles and that it could be utilized as an emergency toxicology screening system and be used in quantitative analysis of clinical samples obtained in emergency medical care and forensic autopsies.