

博士論文

液体クロマトグラフィー／リニアイオントラップ型質量分析法
を用いた有色ポリエステル単繊維中の染料種特定に関する研究

*Studies on Identification of Dyes in Colored Polyester Single Fibers
Using Liquid Chromatography / Linear Ion Trap Mass Spectrometry*

平成 28 年 9 月

加藤 貴雄

島根大学大学院総合理工学研究科

目 次

第 1 章 緒論	1
第 2 章 液体クロマトグラフィー／リニアイオントラップ型質量分析法を用いた分散染料の分析及びデータベースの構築	
2.1 緒言	12
2.2 実験	14
2.2.1 試薬	14
2.2.2 装置及び分析条件	18
2.2.3 標準分散染料の分析とデータベースの構築	18
2.3 結果及び考察	19
2.3.1 標準分散染料の分析	19
2.3.2 副生成物を指標にした染料識別	24
2.3.3 データベースの構築	26
2.4 小括	27
第 3 章 ポリエステル単繊維片に染色された染料の抽出と液体クロマトグラフィー／リニアイオントラップ型質量分析法を用いた抽出染料の分析	
3.1 緒言	31
3.2 実験	32
3.2.1 試薬	32
3.2.2 装置及び分析条件	33
3.2.3 ポリエステル糸からの抽出染料の分析	34
3.2.4 ポリエステル単繊維から抽出された分散染料の分析	36

3.3	結果及び考察	36
3.3.1	分散染料の検出限界	36
3.3.2	ポリエステル系からの抽出染料の分析	37
3.3.3	ポリエステル単繊維から抽出された分散染料の分析	39
3.4	小括	50
第4章 黒色ポリエステル繊維製品から抽出された分散染料の分析と異同識別		
4.1	緒言	54
4.2	実験	55
4.2.1	試料及び試薬	55
4.2.2	LC/LIT-MS ⁿ による識別	57
4.2.2.1	分散染料の抽出	57
4.2.2.2	装置及び分析条件	59
4.2.2.3	染色染料の特定と試料間異同識別の判断基準	59
4.2.3	MSPによる識別	60
4.2.3.1	装置及び分析条件	60
4.2.3.2	MSPによる異同識別の判断基準	60
4.3	結果と考察	61
4.3.1	分散染料の検出と染料種組み合わせによる識別	61
4.3.2	顕微分光分析及び分散染料の組み合わせによる異同識別	64
4.4	小括	72
第5章 総括		
本研究に関する発表論文		76
謝辞		77

略 号

ESI electrospray ionization

MSP microspectrophotometry

TLC thin-layer chromatography

HPLC high-performance liquid chromatography

LC/MS liquid chromatography mass spectrometry

DAD diode array detector

LC/LIT-MSⁿ liquid chromatography/linear ion trap tandem mass spectrometry

ϵ molar absorbance coefficient

SRM selected reaction monitoring

TIC total ion chromatogram

m/z mass to charge ratio

DMF dimethylformamide

LOD limit of detection

客観的証拠試料の重要性について

我が国における犯罪状況は、凶悪かつ巧妙化が進み、また、自白の強要などによる冤罪事件を教訓に、取り調べの可視化など自白偏重主義から脱却し、客観的証拠が重要視されてきている。そのため、科学捜査の果たす役割は大きく、様々な証拠物件を高度な分析技術をもって鑑定することが要求されてきている。

犯罪現場に遺留された証拠物は、主に対照試料との異同を識別する目的で分析をおこなう。特に犯人が無意識に遺留してしまう微細証拠物については、多くの法科学者がその重要性を提言しており、それに関する研究が数多く報告されてきた。近年、分析機器は著しく高度化が進み、高感度、高精度な分析手法を用いての分析が可能となることから、微細物と対照試料との識別能力は向上し、証拠価値を高いものになっている。

微細証拠物件の代表的なものとして、繊維が挙げられる。犯罪捜査において、衣類などから離脱した単繊維は、被疑者と被害者との接触により相手に遷移（付着）したり、脱落して犯罪現場に遺留されることが多いので、被疑者と被害者の接触を証明するため、あるいは、犯罪現場と被疑者、被害者との関連を立証するために、重要な証拠試料となる。検査法としては、光学顕微鏡下における形態観察、顕微赤外分光分析などによる成分分析、顕微分光分析などによる色調分析結果を総合的に判断して識別している。特に色調を有する繊維では、染料由来の情報が識別に大きく貢献するため、顕微分光光度法（MSP）による非破壊分析法のほか、抽出した染料成分の薄層クロマトグラフィー（TLC）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）および液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）の有効性について報告されている。MSP 又は TLC については、海外のガイドラインにおいて推奨された検査法であり¹⁾、実際の繊維鑑定においては、非破壊検査法である MSP が常用されている。

ポリエステル繊維と分散染料について

ポリエステル繊維は優れた強度、扱いやすさなどの理由から化学繊維の中で最も生産量が多く、年を追って増加傾向にあり (Fig. 1.1)、衣服やインテリア、産業資材など様々な用途に使用されている^{2,3)}。

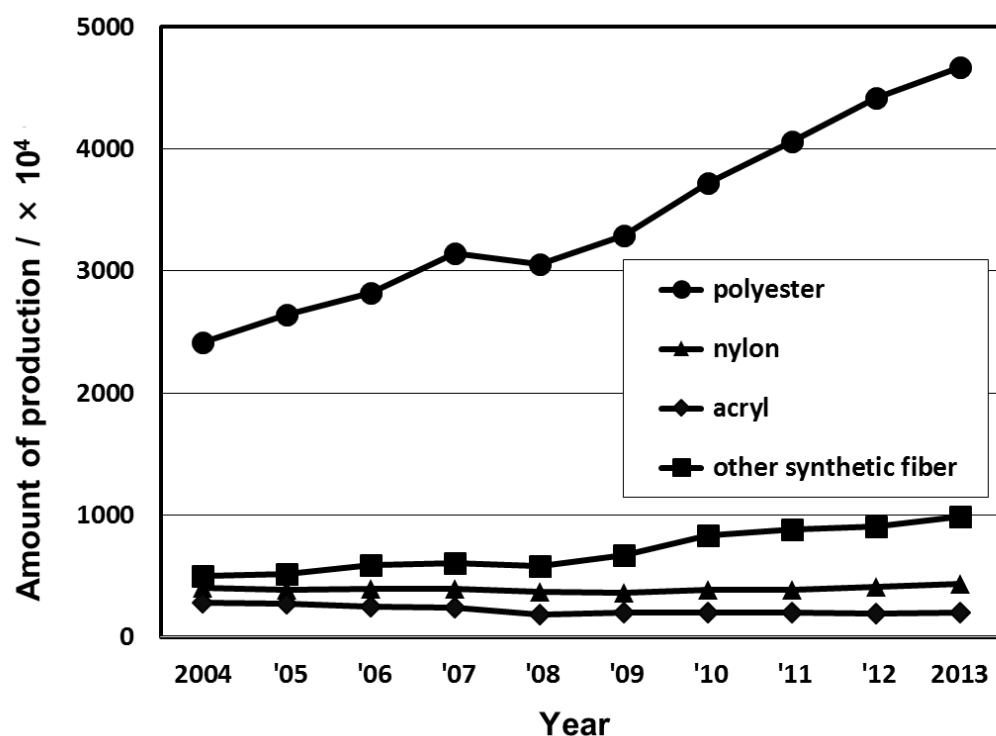


Fig. 1.1 Change in the amount of production of the synthetic fiber in the world

ポリエステル繊維は、繰り返し単位がエステル結合で結ばれる直鎖状合成高分子からなる繊維で、脂肪族ポリエステル繊維、芳香族ポリエステル繊維及び全芳香族ポリエステル繊維がある。一般的には、芳香族ポリエステル繊維であるポリエチレンテレフタレート (PET) 繊維を単にポリエステル繊維と称する場合が多い²⁾。

ポリエステルの染色に用いられる分散染料は染料の分子中にスルホン基 ($-\text{SO}_3$)、カ

ルボキシル基(-COO)のようなアニオン性イオン化基を持たず、-NH₂、-NHR、-CO₂、=CO、-SO₂、ハロゲンなど適度の極性基を持つ非イオン染料であり、化学構造的には、モノアゾ、ビスアゾ、及びアントラキノン染料が市販染料の 85%を占め、そのほかニトロ、スチリル、メチン染料などがある。わが国では生産量こそ直接染料、硫化染料に次いで 3 位であるが、金額および生産量の伸び率においては他種染料を大きく引き離して首位の座を占めている⁴⁾。

以上から、多種多様の構造を有する分散染料が存在し、これら染料で染色されたポリエステル繊維製品は日常生活において多数使用されていることが推定される。今後、さらに有色ポリエステル繊維を分析対象とする機会は増加するものと考えられる。

有色ポリエステル繊維の色調評価の問題点

単繊維と衣類などの対照資料の構成繊維との色調比較検査を行う場合、MSP により得られた紫外・可視域のスペクトルの形状を比較して異同を識別している。染料及び添加剤には、識別に有効な特徴的吸収を紫外域に持つものがあり、MSP における紫外・可視域 (240-780 nm) のスペクトル測定の有効性について報告されている^{5,7)}。更に、紫外・可視スペクトルの測定は海外のガイドラインにおいても推奨されるようになった¹⁾。しかし、ポリエステル繊維の場合、同繊維を構成するテレフタレート芳香環に由来する吸収 (240-310 nm) により識別に有効な紫外領域のスペクトル情報が欠如していることから、可視領域のみのスペクトル形状の比較検査に頼ることとなる。ここで染料の分子構造において基本骨格が同じ ($\lambda_{\max}$ が同じ) であるが、置換基が異なるもの同士の違いが可視吸収スペクトルに反映するのか疑問な点がある。また、一般的に黒色など濃色繊維の染色には、複数の基本色染料を混合して発色させている。濃色ゆえに透過率の悪いスペクトルが得られるが、染料混合物の中で少量含有する染料の有無を可視域のスペクトルの相違として判断できるのか疑問である。もし、ポリエステル繊維に染色の分散染料種の特定が可能となれば、染料を分子構造レベルで比較することにより精

度の高い色調比較検査が可能となり、上述の問題点は解消されるものと考えられる。そして、資料間の識別能力の向上にとどまらず、対照資料がなくとも微細な遺留繊維片に染色の染料種の特定により、本来の繊維製品、更には同製品の製造メーカーの推定など有益な情報が得られる可能性も期待される。

そこで本研究では、ポリエステル単繊維に染色された分散染料の抽出法及び染料種を特定する分析手法を開発することを目的とした。分散染料分析に用いた分析機器は、フォトダイオードアレイ検出器 (DAD) を装備した液体クロマトグラフイオントラップ型タンデム質量分析 (LC/LIT-MSⁿ) 分析システム (Fig. 1.2) を採用した。

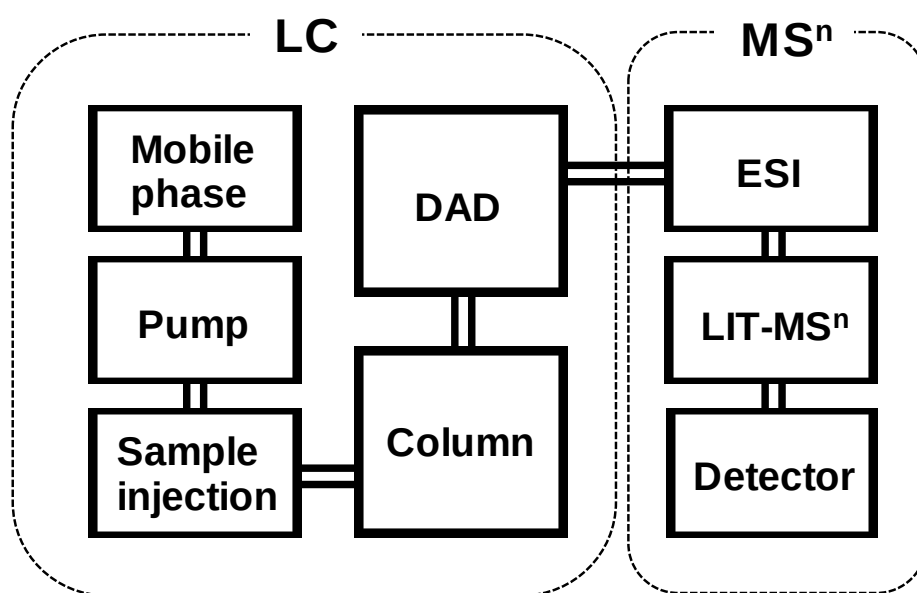


Fig. 1.2 LC/LIT-MSⁿ systems used in this study

フォトダイオードアレイ検出器 (DAD) の特徴

通常の吸光度検出器 (一波長型) は光源から発した光がグレーティングにあたり分光されてからフローセルを通過するが、フォトダイオードアレイ型は先にフローセルに光

があたり、その後グレーティングで分光される (Fig. 1.3)。各波長に分けられた光は、一列に並んだ受光素子 (フォトダイオードアレイ) にあたり、各素子がそれぞれ受け持った波長での光量変化を感じとる。従って、DAD では設定した波長領域すべてのクロマトグラムを同時に得ることができ、時間-吸光度という二次元の軸に加えて波長という第3の軸が加わるため、3次元検出器とも呼ばれる。なお、本研究に使用した装置のDADの光源は、紫外波長領域は重水素(D₂)ランプ(200-370 nm)を、可視波長領域はタングステン(W)ランプ(370-800 nm)を使用した。

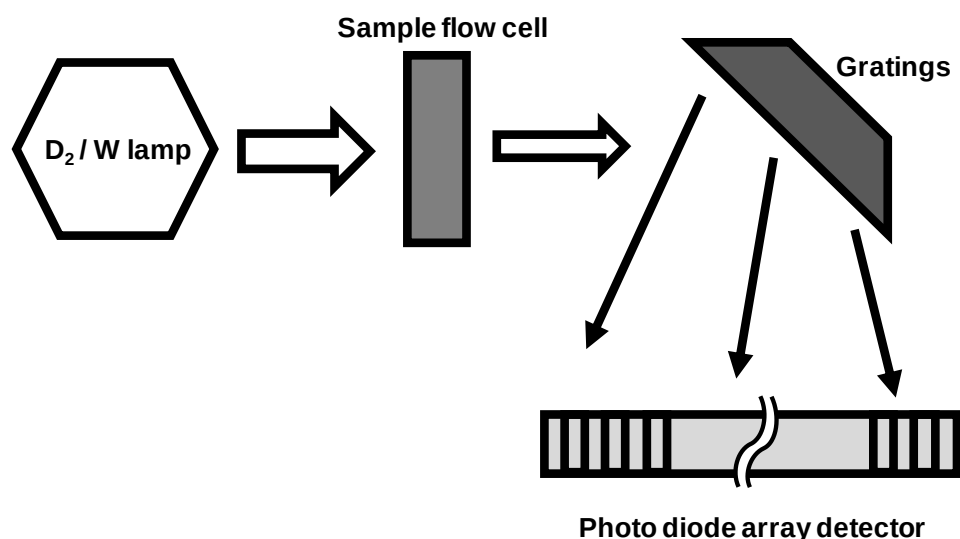


Fig. 1.3 DAD systems used in this study

DADの利点としては、標品のスペクトルとの形状比較によるピーク同定、ピーク形状変化からピーク純度判定、及び吸収極大の異なる複数成分の一斉分析が挙げられ、本研究目的である複数分散染料の個々の同定に重要な役割を果たすものと考えられた。

リニアイオントラップ型質量分析

リニア四重極分析部は双曲面または円柱形をした4本の棒状電極からなり、隣接する

電極と等間隔になるように固定されている。Fig. 1.4 で示すように、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) により生成したイオンが Z 軸方向に向かってこの四重極の領域に進入すると、四重極には、互いに対向する電極に同じ極性の電圧が、また隣接する電極に正負逆の電圧がかけられているから、x 方向と y 方向の引力と斥力が交互に作用する。それぞれの電極に直流電圧 U と高周波交流電圧 $V \cos \omega t$ (ω : 高周波の振動数、 t : 時間) をかけると、四重極の中には高速で位相の変化する電場が生じ、ある特定範囲の

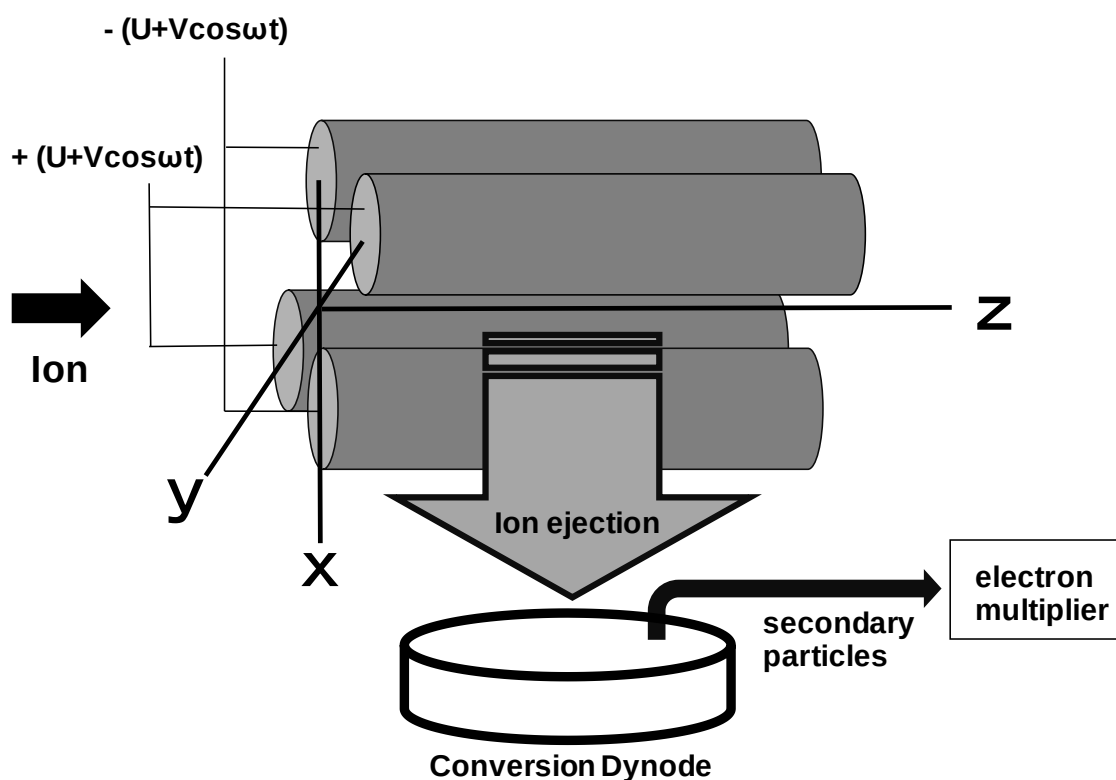


Fig. 1.4 Schematic drawing of linear ion trap mass spectrometer

質量電荷比 (m/z) のイオンは安定な振動状態になり、四重極を通り抜けて検出器に到達できる。四重極内でのイオンの振動は、Mathieu の方程式と呼ばれる次式に従うことが知られている。

$$\frac{m}{z} = K \frac{V}{r^2 \omega^2} \quad (K: \text{定数、} r: \text{電極の距離})$$

イオンが安定に振動する条件は、イオンの質量 m と振動数 ω が決まると、上記式の解について示した Fig. 1.5 の線で囲む領域として表される。質量 m_1 、 m_2 、 m_3 のイオンに対して、それぞれの安定領域は変わる。ここで m_1 、 m_2 、 m_3 の各安定領域を通るように直流電圧と高周波交流電圧の比を一定に保って電圧を変化させれば (scanning line 1)、 m_1 、 m_2 、 m_3 のイオンを順番に通過させることができる。このようにして低質量から高質量までのイオンのマススペクトルが得られる。

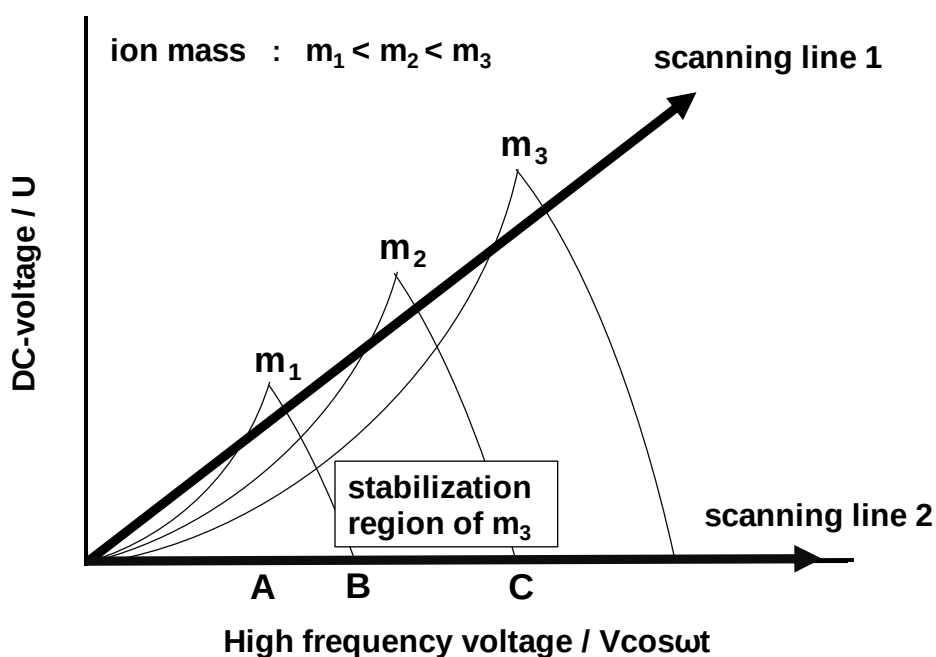


Fig. 1.5 Mathieu diagram

イオントラップ型 MS は四重極の原理を応用した装置で、通常、イオントラップでは電極に直流電圧 U をかけない条件で使用され、これは Fig. 1.5 の横軸 (scanning line 2) で使用していることを示す。

スペクトル測定では、まず電極に低い高周波電圧だけを加える。必要な m/z 範囲のイオンを導入し、これら全てを一旦電極内にトラップする。この状態は Fig. 1.5 の A 点で示され、ここでは m_1 、 m_2 、 m_3 のイオンは安定に振動することが分かる。次に $U=0$ のまま高周波電圧を徐々に高くしていくと、B 点を超えると m_1 が、C 点を超えると m_2 が不安定な振動となり、これらイオンは外に排出される。

このようにイオントラップ型 MS は、生成したイオンを一旦捕獲してから質量分離を行なうことから、トラップしたイオンをすべて検出するので、スキャン分析において四重極型と比べ感度良く測定できる。また、特定のイオンをトラップした後、そのイオンを開裂させ、生成したフラグメントイオンを検出するといった測定ができることから、定性分析に特化した質量分析計とされている。特に LIT は、 z 軸方向に長さをとることによりイオンの蓄積容量を大きくとることができ、イオンの検出感度増加が図られている^{8,9)}。

以上より LC/LIT-MSⁿ システムは、微細ポリエステル単繊維に染色の分散染料の微量分析に最適な装置と考えられ、Fig. 1.6 で示す解析フローにより、分散染料を一度の分析で高感度、高定性に分析し、より多くの情報を取得できることが期待された。分析対象の染料が $[M+H]^+$ としてイオン化したと仮定すると、このイオンの選択イオンクロマトグラムと DAD により得られたピークとの保持時間の差 t は、対象染料成分が Fig. 1.2 で示す DAD を通過してから ESI によりイオン化され、イオントラップを経由し検出器に導入されるまでの時間を示しており、一定の値を示す。この t 値により検出イオンが染料由来のものであるか否か推測できる (Fig. 1.6 の 1, 2)。そして、DAD により得られたピークにより、紫外可視吸収スペクトルが得られる。このスペクトルは染料の色調情報を与えると同時に染料固有のスペクトルとして、対照試料との比較要素となる (Fig. 1.6 の 3)。たとえ DAD 情報が期待できない場合でも、 $[M+H]^+$ の選択イオンクロマトグラムから得られる MSⁿ は、染料の分子構造を反映したものであり、染料特定

の有力な情報源となる (Fig. 1.6 の 4-6)。

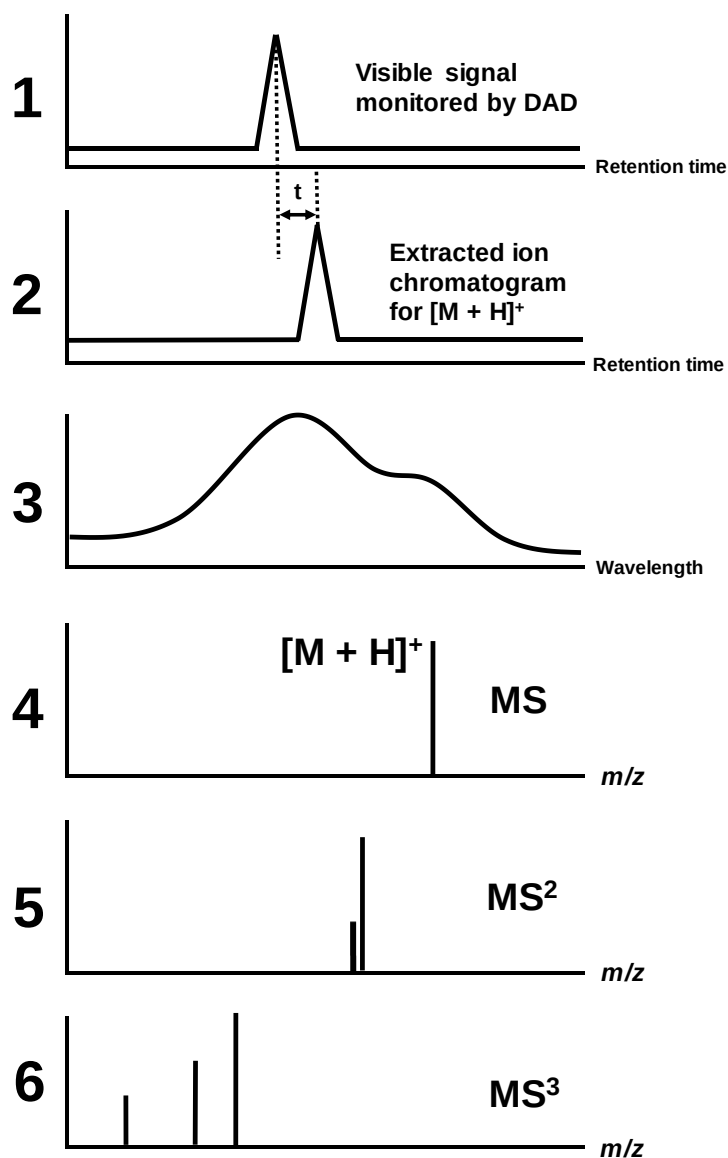


Fig. 1.6 Analysis procedure for Disperse dye

LC/LIT-MSⁿを用いて前述した本研究の目的を達成するために、まず、第1章において LC/LIT-MSⁿを用いた 53 種の分散染料の分析法を確立するとともに、染料データベースの構築を試みた。第2章では単繊維からの染料抽出法について検討を行い、得られた抽出物に対して第1章で検討した LC/LIT-MSⁿへの適用及び構築したデータベース

を用いて、微細ポリエステル繊維片からの染料種特定の可能性について検討した。第 3 章では、実際に販売されている黒色ポリエステル繊維製品（手袋）を 50 点収集して、第 1, 2 章で検討した抽出分散染料の特定法により、実際染色に使用されている分散染料種を調査した。また、検出染料種を識別指標として 50 点の黒色ポリエステル繊維間の異同識別を試みるとともに、MSP に対する本法の有効性についても検討を行った。

参考文献

- 1) “Ultraviolet-Visible Spectroscopy of Textile Fibers Chapter 2011 Update”, SWGMAT, available from <http://www.swgmat.org/#!/fiber/c14e3>, (accessed 2016-5-30)
- 2) 公益社団法人日本化学会編：“化学便覧 応用化学編”，第 7 版, p.1177 (2014), (丸善出版株式会社) .
- 3) 日本化学繊維協会編：“繊維ハンドブック 2015”, p.166 (2014), (日本化学繊維協会資料頒布会) .
- 4) 吉村壽次：“化学辞典第 2 版”, p. 1266 (2012), (森北出版株式会社) .
- 5) R. Palmer, W. Hutchinson, *Sci. & Justice*, **49**, 12 (2009).
- 6) S. Suzuki, Y. Suzuki, R. Sugita, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **15**, 159 (2010).
- 7) K. D. Wael, K. V. Dijck, F. Gason, *Sci. & Justice*, **55**, 422 (2015).
- 8) シュプリンガー・ジャパン株式会社編：マススペクトロメトリー，2014，(丸善出版株式会社).
- 9) 島津製作所，LC-MS のはなし その 6 「四重極型，イオントラップ型，飛行時間型各質量分析計の分離機構と特徴」，available from [\[http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/lctalk/61/61intro.htm\]](http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/lctalk/61/61intro.htm), accessed Oct 16, 2015.

第 2 章 液体クロマトグラフィー／リニアイオントラップ型質量分析法を用いた分散染料の分析及びデータベースの構築

2.1 緒言

繊維は被害者と被疑者の接触又は犯罪現場と被害者、被疑者の結びつきを立証する重要な微細証拠物件の一つである^{1, 2)}。単繊維の検査では、光学顕微鏡による形態観察、顕微赤外分光分析による成分分析、顕微分光分析による色調分析の結果を総合的に判断して繊維の特定や繊維間の異同識別を行う。特に有色繊維の異同識別には、染料の比較が有効とされており、分光学的手法やクロマトグラフィーを用いた多くの研究が報告されている。標準染料にこれらの分析手法を適用してデータベースを構築しておけば、検査に使用できる試料が犯行現場に遺留された被疑試料のみで比較する対照試料が存在しない場合でも、染料の種類を特定することで捜査への有用な情報提供が期待される。

染料分析に用いられる分光法学的な手法としては、(全反射) 顕微赤外分光分析、ラマン顕微分光分析及び顕微分光分析 (MSP) が挙げられる³⁻¹⁵⁾。顕微赤外分光分析、ラマン顕微分光分析の手法は、染料の構造情報を与えてくれるが、繊維に染色された染料成分が微量であり、検出感度的に十分でないという問題点がある。MSP に関しては、繊維中の染料の色調情報を得るのに有効であるが、色調の濃い染色繊維の透過スペクトルにより、他に含有するモル吸光係数 (ϵ) の小さい又は絶対量の少ない染料由来のスペクトルが主成分のスペクトルに埋もれてしまい明瞭とならないため、濃度の濃い染色繊維の測定には有効ではないといった問題点もある。

クロマトグラフィーを用いる手法としては、薄層クロマトグラフィー (TLC)¹⁶⁻²⁴⁾、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)²⁵⁻²⁹⁾ 及び液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS)³⁰⁻³⁴⁾ が染料の分析に応用されている。これらの手法のうち、TLC は染料の種別ごとに多種の展開溶媒を駆使しなければならない煩雑さと、色の薄い染料間の異同識別

の困難さが問題点として挙げられる。HPLC は、混合染料中の分析で得られる情報が各染料のピークの保持時間と UV-VIS スペクトルのみであり、定性能力に欠ける。DAD 付属の LC/MS は、LC 分離で得られたピークの保持時間、DAD による UV-VIS スペクトル、染料の ESI マススペクトルの 3つの要素を組み合わせることで異同識別を行う。このため、LC の保持時間と UV-VIS スペクトルで識別できない染料でも、マススペクトルで異同識別ができる分だけ HPLC よりも定性能力の高い手法と言える。しかし、LC/MS を染料データベースの構築に利用した場合、以下のような問題が残る。第 1 に、ESI 法がソフトなイオン化法でフラグメントイオンを得にくいため、保持時間及び色調が類似して分子量の等しい染料では、構造が異なるもの同士又は、官能基の位置が異なる異性体間の識別は困難となる。第 2 に、混合された染料を LC で分離できず、一つのピークに数種の染料が重なる場合、そのピークから得られるマススペクトル中のイオンが、染料由来なのか、染料由来のイオンのフラグメントなのか、それとも染料以外の化合物由来なのか判断に困る。第 3 に、モル吸光係数 ϵ の値が小さい染料で検査に使用できる繊維が微量の場合、明瞭な可視吸収スペクトルが得られないため、シングルマスで得られるベースピークイオンが、染料由来のものか否かを DAD によるピーク（可視領域の吸収）で判断することが困難になる。

これらの問題点を解決する装置として、DAD が付属した液体クロマトグラフィー／リニアイオントラップ型質量分析（LC/LIT-MSⁿ）が挙げられる。リニアイオントラップ質量分析計は、高感度なイオンの検出が可能であり、且つトラップしたイオンを選択的に衝突誘起解離（Collision Induced Dissociation；CID）を引き起こすことにより複数のマススペクトルを取得でき、保持時間、MSⁿなどの入力ファクターがより多いことから精度の高い染料データベースの構築が期待できる。

本章では、ポリエステル繊維に使用される分散染料を LC/LIT-MSⁿ で分析する方法について検討し、染料データベースの構築を試みた。

2.2 実験

2.2.1 試薬

メタノールは、和光純薬製の LC/MS 用を、ジメチルホルムアミドは和光純薬製の HPLC 用を、1M 酢酸アンモニウム水溶液は和光純薬製の HPLC 用を用いた。精製水は日本ミリポア工業社製 Millipore Q システムを用いて調製した。分散染料は日本化薬工業株式会社及び紀和化学株式会社より提供を受けた。提供を受けた 53 種の分散染料はメタノールと DMF の 1 : 1 (v/v) 混合溶液に溶解させ、50 μ l/ml の溶液に調整した。本研究に使用した分散染料の詳細なデータについては、Table 2.1 及び Fig. 2.1 に示すとおりである。

Table 2.1 Standard disperse dyes used in this study

No.	C.I.Generic name	Chemical dye class	Formula	Monoisotopic mass
1	Disperse Blue 60	Anthraquinone	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₅	379.1
2	Disperse Blue 72	Anthraquinone	C ₂₁ H ₁₅ NO ₃	329.1
3	Disperse Blue 73	Anthraquinone	C ₂₀ H ₁₄ N ₂ O ₅	362.1
4	Disperse Blue 77	Anthraquinone	C ₂₀ H ₁₂ N ₂ O ₆	376.1
5	Disperse Blue 79:1	Monoazo	C ₂₃ H ₂₅ BrN ₆ O ₁₀	624.1
6	Disperse Blue 148	Monoazo	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₄ S	413.1
7	Disperse Blue 149	Monoazo	C ₁₉ H ₂₀ N ₆ O ₅ S	444.1
8	Disperse Blue 165	Monoazo	C ₂₀ H ₁₉ N ₇ O ₃	405.2
9	Disperse Blue 214	Anthraquinone	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₅	390.1
10	Disperse Blue 257	Monoazo	C ₂₁ H ₂₃ BrN ₆ O ₅	518.1
11	Disperse Blue 266	Monoazo	C ₂₃ H ₂₇ ClN ₆ O ₅	502.2
12	Disperse Blue 281	Monoazo	C ₂₀ H ₂₀ BrN ₇ O ₆	533.1
13	Disperse Blue 291	Monoazo	C ₁₉ H ₂₁ BrN ₆ O ₆	508.1
14	Disperse Blue 301	Monoazo	C ₂₁ H ₂₅ BrN ₆ O ₈	568.1
15	Disperse Blue 354	Methine	C ₃₁ H ₃₇ N ₃ O ₂ S	515.3
16	Disperse Blue 359	Anthraquinone	C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₂	291.1
17	Disperse Blue 366	Monoazo	C ₁₉ H ₁₈ N ₆ O ₂	362.1
18	Disperse Blue 367	Monoazo	C ₂₁ H ₂₄ N ₆ O ₅ S	472.2
19	Disperse Brown 9	Monoazo	C ₂₀ H ₁₉ Cl ₂ N ₅ O ₄	463.1
20	Disperse Orange 25	Monoazo	C ₁₇ H ₁₇ N ₅ O ₂	323.1
21	Disperse Orange 29	Diazo	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₄	377.1
22	Disperse Orange 30	Monoazo	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₅ O ₄	449.1
23	Disperse Orange 61	Monoazo	C ₁₇ H ₁₅ Br ₂ N ₅ O ₂	479.0
24	Disperse Orange 62	Monoazo	C ₂₄ H ₁₉ Cl ₂ N ₅ O ₄	511.1
25	Disperse Orange 73	Monoazo	C ₂₄ H ₂₁ N ₅ O ₄	443.2
26	Disperse Red 50	Monoazo	C ₁₇ H ₁₆ ClN ₅ O ₂	357.1
27	Disperse Red 60	Anthraquinone	C ₂₀ H ₁₃ NO ₄	331.1
28	Disperse Red 73	Monoazo	C ₁₈ H ₁₆ N ₆ O ₂	348.1
29	Disperse Red 92	Anthraquinone	C ₂₅ H ₂₄ N ₂ O ₇ S	496.1
30	Disperse Red 143	Monoazo	C ₂₅ H ₂₂ ClN ₅ O ₄	491.1
31	Disperse Red 145	Monoazo	C ₁₈ H ₁₆ N ₆ O ₂ S	380.1
32	Disperse Red 146	Anthraquinone	C ₂₁ H ₁₅ NO ₅	361.1
33	Disperse Red 152	Monoazo	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₅ S	417.1
34	Disperse Red 153	Monoazo	C ₁₈ H ₁₅ Cl ₂ N ₅ S	403.0
35	Disperse Red 154	Monoazo	C ₂₁ H ₂₀ N ₆ O ₅ S	468.1
36	Disperse Red 167:1	Monoazo	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₅ O ₇	505.1
37	Disperse Red 179	Monoazo	C ₁₉ H ₁₈ N ₆ O ₂ S	394.1
38	Disperse Red 184	Monoazo	C ₂₄ H ₂₀ N ₆ O ₂	424.2
39	Disperse Red 258	Monoazo	C ₂₃ H ₂₇ ClN ₆ O ₅	502.2
40	Disperse Red 323	Monoazo	C ₂₃ H ₂₄ ClN ₅ O ₈	533.1
41	Disperse Red 343	Monoazo	C ₂₀ H ₂₂ N ₆ O ₂ S	410.2
42	Disperse Red 356	—	C ₂₅ H ₁₈ O ₅	398.1
43	Disperse Red 364	—	C ₁₆ H ₈ O ₂ S ₂	296.0
44	Disperse Violet 26	Anthraquinone	C ₂₆ H ₁₈ N ₂ O ₄	422.1
45	Disperse Violet 28	Anthraquinone	C ₁₄ H ₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	306.0
46	Disperse Violet 93:1	Monoazo	C ₁₈ H ₁₉ ClN ₆ O ₅	434.1
47	Disperse Yellow 42	Nitro	C ₁₈ H ₁₅ N ₃ O ₄ S	369.1
48	Disperse Yellow 54	Quinoline	C ₁₈ H ₁₁ NO ₃	289.1
49	Disperse Yellow 64	Quinoline	C ₁₈ H ₁₀ BrNO ₃	367.0
50	Disperse Yellow 71	—	C ₁₉ H ₁₂ N ₂ O ₂	300.1
51	Disperse Yellow 82	—	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂	333.1
52	Disperse Yellow 114	Monoazo	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ O ₅ S	424.1
53	Disperse Yellow 163	Monoazo	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₆ O ₂	416.1

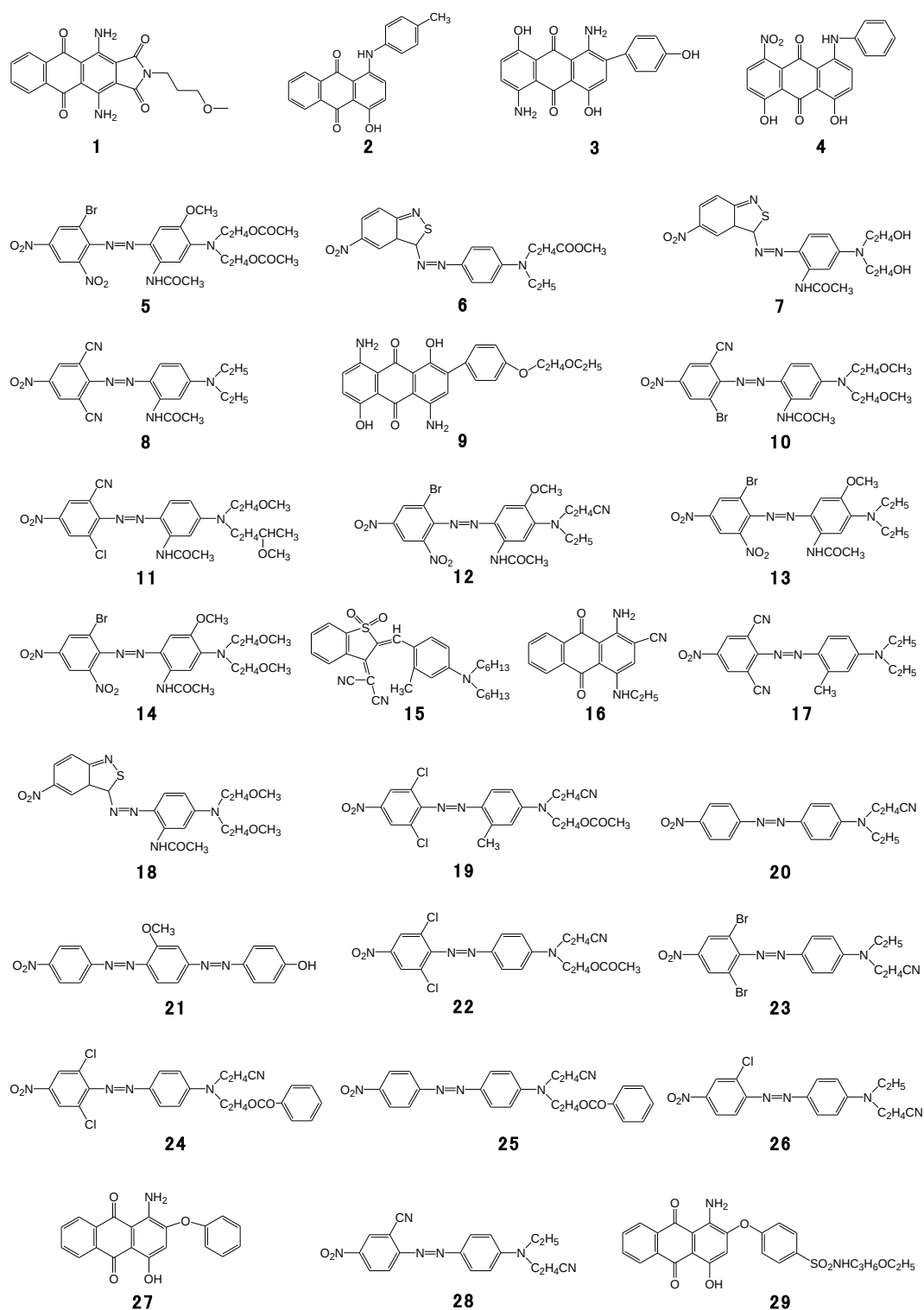


Fig. 2.1 Chemical structures of disperse dyes

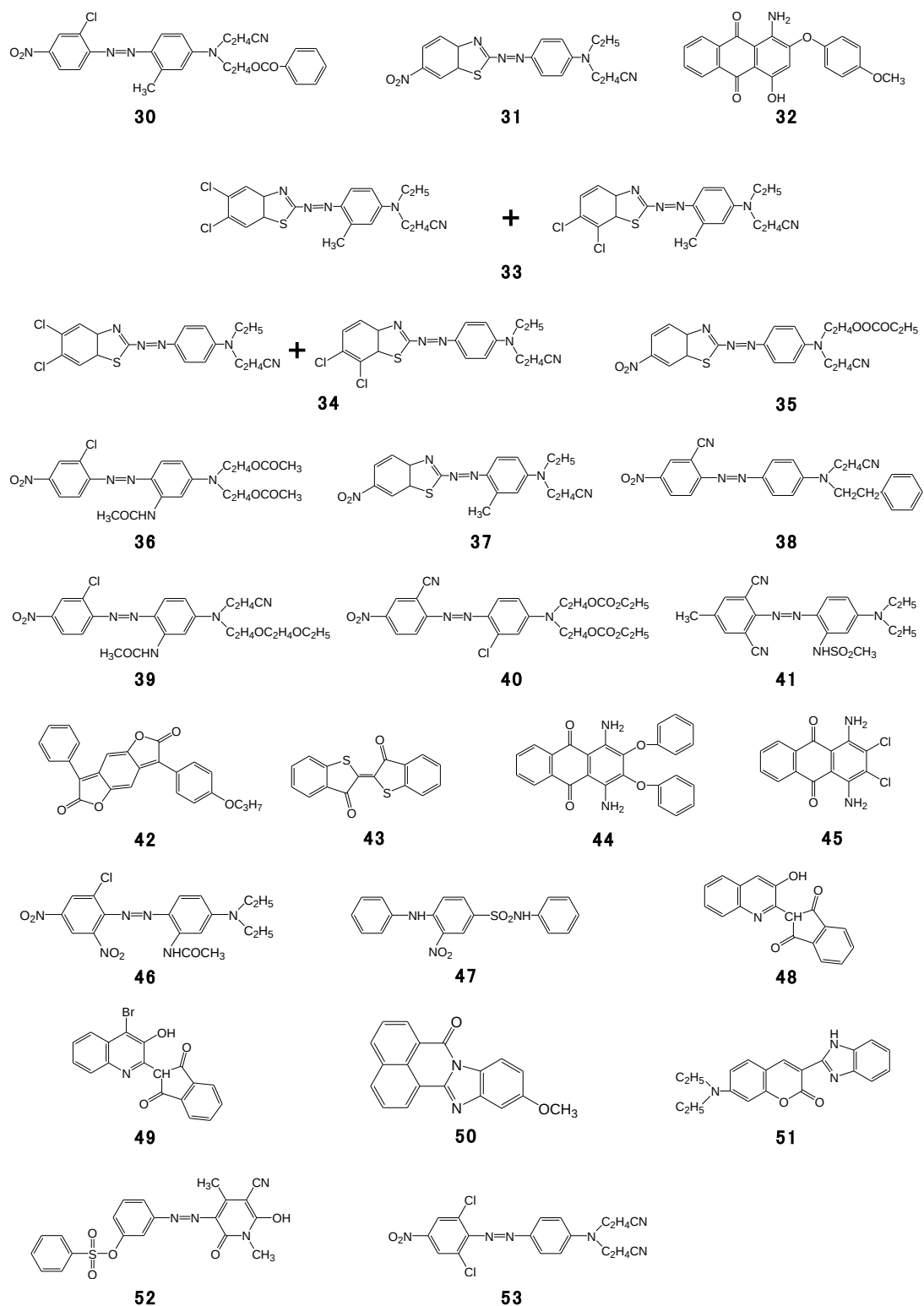


Fig. 2.1 Continued.

2.2.2 装置及び分析条件

LC/LIT-MSⁿは、島津社製高速液体クロマトグラフ(Prominence UFLC)を接続した、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製 LXQ を用いて行った。カラムは化学物質評価研究機構製 L-column 2 ODS (内径 1.5 mm×長さ 150 mm、粒子径 5 µm) を用いた。移動相には A : 5%メタノール溶液 (10 mM 酢酸アンモニウム含有) と B : 95%メタノール溶液 (10mM 酢酸アンモニウム含有) の A : B (40 : 60) から A : B (0 : 100) へ 15 分で直線的に変化させ 10 分間保持させるグラジエント分析を用いた。流速は 0.2 ml/min でカラム温度は 40℃に設定した。DAD による測定波長領域は、可視領域 (380-760nm) とした。試料は、0.45 µm のフィルターを通したもの 2 µl を注入した。質量分析のイオン化法はエレクトロスプレーイオン化 (ESI) のポジティブモードとして、エレクトロスプレー電圧は 5 kV、コリジョンガスはヘリウムを用いて、相対コリジョンエネルギーは 45%とした。キャピラリー温度は 275℃とし、シースガス流量は 25 units とした。MSⁿ 取得のアクティベーションタイムは 30 ms でその際のアイソレーションウィズスは 4 Da に設定した。質量分析は、以下の①～③に示す「data-dependent MS3 method」を用いて行った。

- ① m/z 100-1000 の範囲のイオンについてのフルスキャンスペクトルを取得する。
- ② 得られた MS から最も強度のあるイオンをプリカーサーイオンとして MS² を取得する。
- ③ 得られた MS² から最も強度のあるイオンをプリカーサーイオンとして MS³ を取得する。

2.2.3 標準分散染料の分析とデータベースの構築

染料製造会社から提供を受けた、一般的に頻度良く使用される 53 種の分散染料

(Table 2.1) について、その溶液 (50 $\mu\text{l/ml}$) をメタノールで 10 $\mu\text{l/ml}$ に希釈して前項条件下 LC/LIT-MSⁿ を行った。DAD により得られたピークとその僅かな時間 (LC 分離された試料が DAD からマス部に導入する時間) 後に得られたトータルイオンクロマトグラムから、各種染料の λ_{max} (紫外可視吸収スペクトルから得たもの)、染料由来のマススペクトルから得られたベースピークイオン、このイオンの選択イオンクロマトグラムから得られたピークの保持時間、このイオンをプリカーサーイオンとした時の MS²、MS³ の各スペクトルを確認した。得られたこれらデータをデータベースに登録した。また、この選択イオンクロマトグラムのピーク面積を DAD ピーク面積で除した値を算出して、ESI イオン化法による検出と DAD による検出間の相対感度を調べた。

2.3 結果及び考察

2.3.1 標準分散染料の分析

53 種の分散染料について LC/LIT-MSⁿ した結果、いずれの染料も $[\text{M} + \text{H}]^+$ としてイオン化され、MS²、MS³ 及び保持時間、 λ_{max} の値は、Table 2.2 に示すとおりであった。相対感度は染料種により 5~173 の値を示した。この値が高いことはイオンとしての検出より DAD による検出が困難であることを示しており、この場合 MSⁿ データが必要不可欠なものとなる。 $[\text{M} + \text{H}]^+$ が同じ値を示す染料間の識別は、MS²、MS³ データにより容易になった。今回の検討に用いた 53 種の分散染料のうち、 $[\text{M} + \text{H}]^+$ の値が同じものの組み合わせとして、Disperse blue 73 と Disperse blue 366 (m/z 363)、Disperse Yellow 114 と Disperse Red 184 (m/z 425)、Disperse Blue 266 と Disperse Red 258 (m/z 503)、Disperse Blue 281 と Disperse Red 323 (m/z 534) の 4 組が存在していた。DAD 検出が困難な場合を想定すると、これら相互の識別は保持時間の相違しか識別指標はない。更に、プリカーサーイオンと同じ m/z を有する染料以外の物質が混在す

る可能性を考慮すると、従来の LC/MS の場合、染料を定性する能力に欠けるところである。これに対して LC/LIT-MSⁿ では、染料の構造に起因した固有の MS^{2,3} が得られるため、53 の分散染料は、[M+H]⁺のほかに得られた MSⁿ データによりすべて識別可能であった (Table 2.2)。

Table 2.2 Analytical data for the standard dyes

No.	C.I.Generic name	[M+H] ⁺ (m/z)	Base peak ion in MS ² (m/z)	Base peak ion in MS ³ (m/z)	r.t./min ^a	$\lambda_{\max}$ /nm	Peak No. ^b	Relative sensitivity ^c
1	Disperse Blue 60	380	348	320	12.95 ± 0.01	665	14	53 ± 8
2	Disperse Blue 72	330	238	210	18.20 ± 0.01	570	25	29 ± 4
3	Disperse Blue 73	363	334	289	8.81 ± 0.02	625	6	25 ± 4
4	Disperse Blue 77	377	200	173	12.77 ± 0.02	590	14	54 ± 7
5	Disperse Blue 79:1	625	565	479	11.46 ± 0.01	565	11	39 ± 4
6	Disperse Blue 148	414	206	134	13.90 ± 0.02	590	17	39 ± 3
7	Disperse Blue 149	445	237	207	7.08 ± 0.03	625	3	17 ± 3
8	Disperse Blue 165	406	191	163	11.25 ± 0.01	610	11	21 ± 4
9	Disperse Blue 214	391	345	317	14.83 ± 0.01	630	20	38 ± 5
10	Disperse Blue 257	519	221	163	13.97 ± 0.03	565	17	68 ± 3
11	Disperse Blue 266	503	429	329	14.99 ± 0.01	570	20	144 ± 13
12	Disperse Blue 281	534	492	451	11.37 ± 0.02	565	11	28 ± 4
13	Disperse Blue 291	509	480	207	15.28 ± 0.01	605	21	49 ± 3
14	Disperse Blue 301	569	251	192	13.26 ± 0.02	590	15	156 ± 8
15	Disperse Blue 354	516	432	348	17.46 ± 0.01	610	24	136 ± 16
16	Disperse Blue 359	292	263	263	10.52 ± 0.01	655	9	33 ± 2
17	Disperse Blue 366	363	176	147	11.00 ± 0.01	605	10	35 ± 2
18	Disperse Blue 367	473	265	201	12.42 ± 0.02	610	13	65 ± 3
19	Disperse Brown 9	464	404	363	12.03 ± 0.02	425	13	51 ± 9
20	Disperse Orange 25	324	283	255	9.11 ± 0.04	470	7	15 ± 1
21	Disperse Orange 29	378	269	119	12.10 ± 0.02	415	13	18 ± 2
22	Disperse Orange 30	450	390	349	9.86 ± 0.01	415	8	56 ± 10
23	Disperse Orange 61	480	441	413	11.74 ± 0.03	425	12	34 ± 5
24	Disperse Orange 62	512	390	349	13.15 ± 0.02	415	15	44 ± 6
25	Disperse Orange 73	444	322	281	11.28 ± 0.01	455	11	49 ± 8
26	Disperse Red 50	358	317	289	11.46 ± 0.02	485	11	25 ± 5
27	Disperse Red 60	332	239	210	13.67 ± 0.03	515	16	65 ± 14
28	Disperse Red 73	349	308	280	7.48 ± 0.03	515	4	29 ± 7
29	Disperse Red 92	497	451	330	10.97 ± 0.02	520	10	48 ± 5
30	Disperse Red 143	492	370	329	14.37 ± 0.02	470	18	49 ± 8
31	Disperse Red 145	381	173	133	9.04 ± 0.02	540	7	14 ± 3
32	Disperse Red 146	362	254	226	13.77 ± 0.02	515	17	58 ± 15
33	Disperse Red 152	418	187	146	15.30 ± 0.01	530	21	19 ± 2
34	Disperse Red 153	418	187	146	15.60 ± 0.02	530	22	24 ± 4
		404	173	133	13.96 ± 0.02	515	17	23 ± 4
		404	173	133	14.62 ± 0.01	515	18	24 ± 3
35	Disperse Red 154	469	217	176	9.25 ± 0.03	520	7	39 ± 8
36	Disperse Red 167:1	506	446	360	12.06 ± 0.02	505	13	81 ± 12
37	Disperse Red 179	395	187	146	10.66 ± 0.02	550	9	16 ± 3
38	Disperse Red 184	425	384	208	11.27 ± 0.01	510	11	33 ± 7
39	Disperse Red 258	503	461	174	12.24 ± 0.00	505	13	75 ± 2
40	Disperse Red 323	534	444	354	12.12 ± 0.01	495	13	79 ± 8
41	Disperse Red 343	411	332	163	8.02 ± 0.01	525	5	99 ± 4
42	Disperse Red 356	399	357	301	16.17 ± 0.01	490	23	11 ± 1
43	Disperse Red 364	297	253	175	13.94 ± 0.03	545	17	36 ± 6
44	Disperse Violet 26	423	330	285	13.20 ± 0.04	545	15	97 ± 17
45	Disperse Violet 28	307	272	243	11.19 ± 0.02	560	10	9 ± 1
46	Disperse Violet 93:1	435	191	163	13.92 ± 0.03	560	17	5 ± 1
47	Disperse Yellow 42	370	277	213	6.93 ± 0.02	415	2	11 ± 1
48	Disperse Yellow 54	290	244	217	12.30 ± 0.01	435	13	22 ± 3
49	Disperse Yellow 64	368	289	245	16.11 ± 0.02	445	23	27 ± 6
50	Disperse Yellow 71	301	258	258	11.77 ± 0.10	410	12	130 ± 7
51	Disperse Yellow 82	334	290	290	8.74 ± 0.01	440	6	173 ± 9
52	Disperse Yellow 114	425	267	239	6.22 ± 0.02	425	1	19 ± 2
53	Disperse Yellow 163	417	376	323	8.11 ± 0.02	405	5	26 ± 4

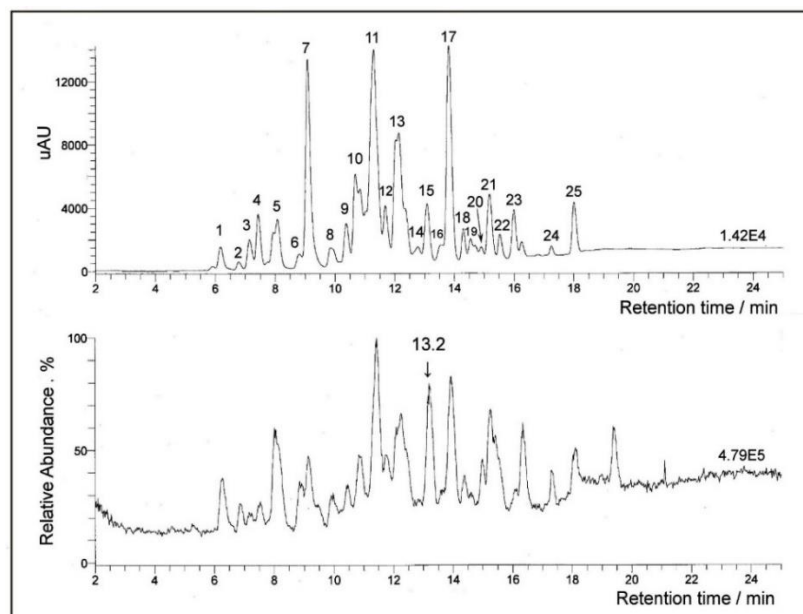
a. Retention times were calculated from peaks in selected ion chromatogram of [M+H]⁺, Mean±SD (n=3) .

b. Peak Nos. are shown in Fig. 2.2 (a) top.

c. Relative sensitivities were calculated from peak area ratios, where the area of peaks of the selected ion chromatogram was divided by corresponding peak area obtained by DAD, Mean±SD (n=3) .

Fig. 2.2 に 53 種の染料混合溶液の DAD によるクロマトグラム[(a) top]及び TIC[(a) bottom]を示す。53 種の染料は DAD によるクロマトグラムで 25 のピークに分離された。1 つのピークに重なる最大染料数は、ピーク No.11 に含まれる標準染料 8 種であり、ピークのマススペクトルには複数の染料に由来するイオンが観察された。黒色染料が単色染料の混合で作られていることや、「色合い」を作り出すために染料が混合されることを考慮すると、このように複数の染料がピーク分離されないケースは十分に考えられる。Fig. 2.2 (b) に、Fig. 2.2 (a) の DAD におけるピーク 15 の可視吸収スペクトル[(b)top]及び TIC で対応するピーク（保持時間 13.2 分）のマススペクトル[(b) bottom]を示す。DAD で 540-及び 600 nm 近辺に二つの極大吸収を持つスペクトルが得られたことから、このピークには青色系の染料が含まれると推定される。また、これに対応するマススペクトル及び同位体の特徴から、 m/z 569 を分子イオンとする Br を含有する青色染料が推定される。LC/MS を用いた場合、同じマススペクトルに認められる残り 2 つのイオン(m/z 423、512)が、① m/z 569 のフラグメントイオン、②LC で分離されない混合染料由来のイオン、③染料以外の物質由来のイオンのいずれなのか判断に困るところである。これに対して LC/LIT-MSⁿ を用いた場合には、3 つのイオン (m/z 569, 423, 512) に対する MS²、MS³ を解析することで、3 種のイオンの由来を Disperse Blue 301、Disperse Violet 26 及び Disperse Orange 62 の[M + H]⁺に起因するイオン種であることを高い確度で特定できる。このケースは LC 分離が十分でなく、Disperse Blue 301 より ϵ が小さい、もしくは微量である理由から Disperse Violet 26 及び Disperse Orange 62 の紫外可視吸収スペクトルが Disperse Blue 301 の紫外可視吸収スペクトルに隠れてしまったケースである。世の中に存在する分散染料種の多さを考慮すると、完全な LC によるピーク分離は限界があり、このような問題点は十分想定されるが、LC/LIT-MSⁿにより混合イオン種を正確に検出、同定することは、LC/MS にはない利点として特筆すべき事項である。

(a)



(b)

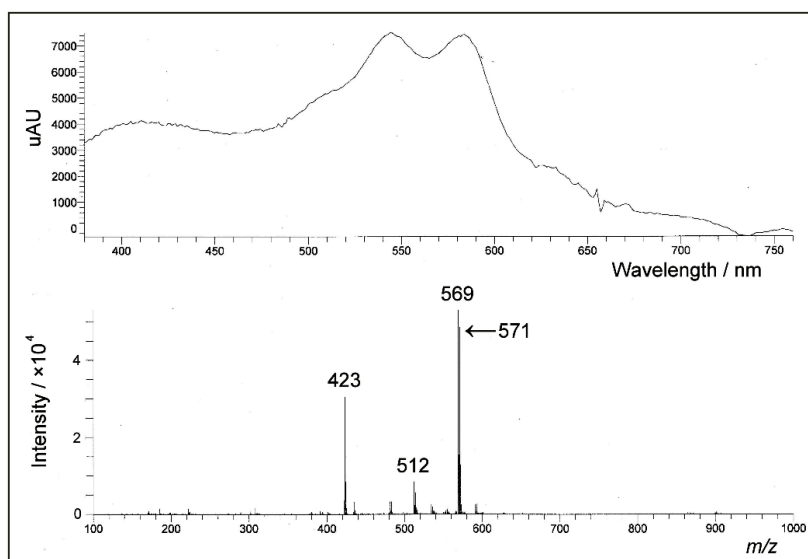


Fig. 2.2 LC/LIT-MSⁿ data for 53 disperse dyes dissolved in a methanol-DMF. UV-Visible signal monitored by diode array detector [(a) top], total ion chromatogram [(a) bottom]. Visible spectrophotometer corresponding to the peak No.15 [(b) top], ESI mass spectrum corresponding to the peak in the 13.2 min of total ion chromatogram [(b) bottom].

2.3.2 副生成物を指標にした染料識別

本研究の対象であるアゾ系分散染料は、芳香族アミンを亜硝酸でジアゾ化して他の芳香族化合物にカップリングさせて合成する。その際、色相、染色性、染色堅牢度を向上させるため、不飽和原子団である発色団（例-NO₂、CO、N=N）及び助色団（例、-OH、-OR、-NR₂）の結合が必要となる^{38,39}。従って、官能基の欠落や過剰付与などで生じた副産物が混在して、副産物の分析結果を比較することで主成分が同じ染料を識別できる可能性がある。Table 2.1 に示す分散染料 53 種を対象に副生成物含有の有無を確認したところ、Table 2.3 に示す 11 種に副生成物の含有が確認された。

これらの染料の TIC には主成分の染料以外に保持時間の異なる有色染料由来のピークが観察された。主成分の染料の分子構造とその分子イオンとの差などから、官能基を推定したところ、エトキシ基、メチル基のほかハロゲンなど多くの置換基の付加、脱離により生じた副生成物が推定され、置換基効果により極大吸収がシフトするものも存在していた。例えば、Disperse Brown 9 は、DAD で 425 nm に極大吸収を有する主要ピークのほか、極大吸収波長（470, 420, 440 nm）の異なる 3 つのピークが検出された。各ピーク由来のマスペクトルは、主要ピーク (m/z 464 [M + H]⁺) のほか、それぞれ m/z 430, 450, 422 をベースピークとするマスペクトルが得られた。主要イオンとの Da 差から構造を推定したところ、Fig. 2.3 に示す副生成物の構造が推定された。これらの構造は、MS² データ及び置換基効果による極大吸収波長の分光シフトを考慮しても矛盾がない結果であった。今回収集した標準染料のうち、No.1 の Disperse blue 60 では試料の提供を受けた 2 メーカーの間で分析結果の相違が確認された。一方には Disperse Blue 60 のみ含有されていたのに対し、他方には、Disperse Blue 60 と副生成物が、ほぼ等量含有されていた (Table 2.3 参照)。このように、主成分が同じ染料間でもメーカー間で副産物が異なる組合せが存在することから、メーカー推定の観点からも、公定染料に加えて副産物も分析及び比較の対象とすべきである。

Table 2.3 Disperse dyes containing by-products

No.	C.I.Generic name	[M+H] ⁺ (m/z)	MS ²	MS ³	r.t./min ^a	λ_{max} /nm	Difference in ion (Da)	Expected Functional group	Relative content rate (%) ^b
1	Disperse Blue 60	380	348	320	13.0	665			49
		424	348	320	12.2	665	(+44)	(+OC ₂ H ₅)	51
3	Disperse Blue 73	363	334	289	8.8	625			25
		377	345	317	13.5	625	(+14)	(+CH ₃)	29
		377	348	317	11.0	625	(+14)	(+CH ₃)	19
		391	345	317	14.8	625	(+28)	(+C ₂ H ₅)	27
5	Disperse Blue 79:1	625	565	479	11.5	565			83
		541	237	192	9.1	590	(-84)	(-COCH ₃)×2	14
		583	523	235	10.2	570	(-42)	(-COCH ₃)	3
11	Disperse Blue 266	503	429	329	15.0	570			43
		531	385	343	16.3	570	(+28)	(+C ₂ H ₅)	57
19	Disperse Brown 9	464	404	363	12.0	425			89
		430	370	329	11.6	470	(-34)	(-Cl)	3
		450	390	349	9.9	420	(-14)	(-CH ₃)	4
		422	381	308	10.6	435	(-42)	(-COCH ₃)	4
23	Disperse Orange 61	480	441	413	11.7	425			96
		358	317	289	11.5	490	(-122)	(-2Br) (+Cl)	4
30	Disperse Red 143	492	370	329	14.4	470			87
		388	347	303	10.0	485	(-104)	(-COC ₆ H ₅)	9
		395	187	146	10.8	545	(-97)	(-NO ₂) (-C ₂ H ₄ CN)	4
35	Disperse Red 154	469	217	176	9.3	520			91
		395	187	146	10.8	550	(-74)	(-OOCOC ₂ H ₅)(+CH ₃)	9
36	Disperse Red 167:1	506	446	360	12.1	505			84
		464	404	189	10.7	515	(-42)	(-COCH ₃)	6
		420	176	117	10.9	515	(-86)	(-C ₂ H ₄ OCOCH ₃)	6
		550	490	189	12.5	515	(+44)	(+OC ₂ H ₅)	4
39	Disperse Red 258	503	461	174	12.2	505			70
		387	345	304	9.9	500	(-116)	(-C ₂ H ₄ OC ₂ H ₄ OC ₂ H ₅)	10
		415	373	332	11.7	510	(-88)	(-OC ₂ H ₄ OC ₂ H ₅)	20
41	Disperse Red 343	411	332	163	8.0	525			80
		439	360	331	10.9	525	(+28)	(+C ₂ H ₅)	20

a. Retention times were calculated from peaks in selected ion chromatogram of [M+H]⁺.

b. Content rates were calculated from the peak area obtained by DAD.

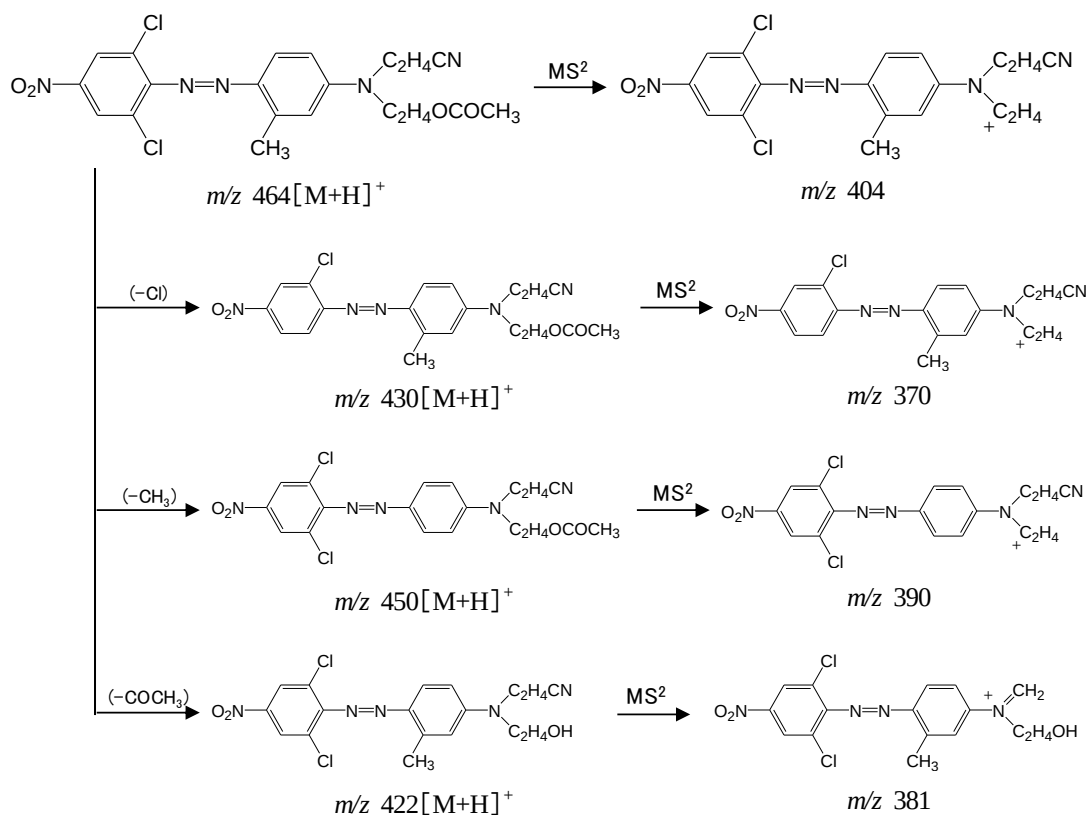


Fig. 2.3 By-products for Disperse Brown 9.

2.3.3 データベースの構築

Table 2.1 に示す染料 53 種について、質量分析装置に付属のデータベースソフトに、標準染料の保持時間、マスデータ、極大吸収波長を登録した。53 種の染料混合溶液 (10 $\mu\text{g/ml}$) の分析結果 (TIC) を、付属の検索ソフト (ToxID) を用いてデータベース検索した結果、LC で十分に分離されていなかったにも関わらず、53 種のうち 50 種 (94%) が正しく同定された。なお、同定されなかった染料は、Disperse Red 184、Disperse Red 323 及び Disperse Red 364 であった。いずれも 6 種以上の染料が分離できず混在しているピーク No.11、13、17 中のものであった。これは、各プリカーサーイオンの強度が相対的に低かったため、 $MS^{2,3}$ 取得のための CID を引き起こせなかったことに起

因するものと考えられた。

ポリエステル染色では、複雑な色合いを表現するために複数の染料を組み合わせ使用することが多い。よって、使用されている複数の染料を混合された状態でも自動同定が期待できる本手法は、犯行現場で採取された未知の繊維と対照の繊維を比較する場合、それぞれに使用されている複数の染料を比較することで、より正確な異同識別を可能にするものと考えられた。

2.4 小括

ポリエステル繊維に使用されている分散染料の特定法及び新たな異同識別法を確立するために、LC/LIT-MSⁿを用いた分散染料分析と染料データベースの構築について検討した。LC/LIT-MSⁿにより得られた安定した MSⁿ、ピーク保持時間及び DAD 情報の取得により、有用な染料データベースは構築された。DAD 情報が期待できない染料についても高感度、高定性で染料種を特定できることから、本章での研究成果により、微細単繊維(ポリエステル繊維)に染色された染料の特定が可能になるものと考えられた。また、特定した染料種の比較をすることによる新たな繊維の異同識別法が期待された。

参考文献

- 1) M. C. Grieve, *J. Forensic Sci.*, **1983**, 28, 877.
- 2) R. R. Bresee, *J. Forensic Sci.*, **1987**, 32, 510.
- 3) M. C. Grieve, R. M. E. Griffin, and R. Malone, *Sci. & Justice*, **1998**, 38, 27.
- 4) I. P. Keen, G. W. White, and P. M. Fredericks, *J. Forensic Sci.*, **1998**, 43, 82.
- 5) G. Jochem, and R. J. Lehnert, *Sci. & Justice*, **2002**, 42, 215.
- 6) J. Thomas, P. Buzzini, G. Massonnet, B. Reedy, and C. Roux, *Forensic Sci. Int.*, **2005**, 152, 189.
- 7) M. C. Grieve, J. Dunlop, and P. Haddock, *J. Forensic Sci.*, **1988**, 33, 1332.
- 8) M. C. Grieve, J. Dunlop, and P. Haddock, *J. Forensic Sci.*, **1990**, 35, 301.
- 9) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1993**, 46, 177.
- 10) S. Suzuki, Y. Marumo, and F. P. Adolf, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1994**, 47, 39.
- 11) S. Suzuki, Y. Suzuki, H. Ohta, R. Sugita, and Y. Marumo, *Sci. & Justice*, **2001**, 41, 107.
- 12) M. C. Grieve, T. W. Biermann, and K. Schaub, *Sci. & Justice*, **2006**, 45, 15.
- 13) M. C. Grieve, T. W. Biermann, and M. Davignon, *Sci. & Justice*, **2001**, 41, 245.
- 14) M. C. Grieve, T. W. Biermann, and M. Davignon, *Sci. & Justice*, **2003**, 43, 5.
- 15) T. W. Biermann, *Sci. & Justice*, **2007**, 47, 68.
- 16) S. Suzuki, Y. Higashikawa, T. Kishi, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1991**, 44, 50.

- 17) K. G. Wiggins, S. R. Crabtree, and B. M. March, *J. Forensic Sci.*, **1996**, 41, 1042.
- 18) K. G. Wiggins, J. A. Holness, and B. M. March, *J. Forensic Sci.*, **2005**, 50, 364.
- 19) S. Suzuki, Y. Suzuki, and R. Sugita, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **2010**, 15, 159.
- 20) K. G. Wiggins, and J. A. Holness, *Sci. & Justice*, **2005**, 45, 93.
- 21) G. M. Golding, and S. Kokot, *J. Forensic Sci.*, **1989**, 34, 1156.
- 22) R. Resua, *J. Forensic Sci.*, **1980**, 25, 168.
- 23) K. G. Wiggins, R. Cook, and Y. J. Turner, *J. Forensic Sci.*, **1988**, 33, 998.
- 24) R. Resua, P. R. Deforest, and H. Harris, *J. Forensic Sci.*, **1981**, 26, 515.
- 25) J. C. West, *J. Chromatogr.*, **1981**, 208, 47.
- 26) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1992**, 45, 36.
- 27) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1993**, 46, 78.
- 28) R. M. E. Griffin, S. J. Speers, L. Elliott, N. Todd, W. Sogomo, and T. G. Kee, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 674, 271.
- 29) S. J. Speers, B. H. Little, and M. Roy, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 674, 263.
- 30) J. Yinon, and J. Saar, *J. Chromatogr.*, **1991**, 586, 73.
- 31) A. A. Tuinman, L. A. Lewis, and S. A. Lewis, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 2753.
- 32) M. Huang, J. Yinon, and M. E. Sigman, *J. Forensic Sci.*, **2004**, 49, 238.
- 33) M. Huang, R. Russo, B. G. Fookes, and M. E. Sigman, *J. Forensic Sci.*, **2005**, 50, 526.
- 34) L. M. Petrick, T. A. Wilson, and W. R. Fawcett, *J. Forensic Sci.*, **2006**, 51, 771.

35) H. Horiguti, “*Sousetu Gouseisenryou*”, **1969**, Sankyousyuppan, 110.

36) S. Abeta, and K. Imada, “*Kaisetu Senryoukagaku*”, **1988**, Shikisensya, 276.

第3章 ポリエステル単繊維片に染色された染料の抽出と液体クロマトグラフィー／ リニアイオントラップ型質量分析法を用いた抽出染料の分析

3.1 緒言

単繊維は、犯罪現場に遺留されることの多い法科学上きわめて重要な微細物件の一つであり、対照資料である衣類の構成繊維との比較分析により容疑者と被害者の接触の証明に利用される^{1,2)}。

色調を有する繊維では、染料由来の情報が識別に大きく貢献するため、顕微分光光度法 (MSP) による非破壊分析法³⁻¹⁰⁾のほか、抽出した染料成分の薄層クロマトグラフィー (TLC)¹¹⁻¹⁹⁾、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)²⁰⁻²⁵⁾および液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS)²⁶⁻³⁰⁾の有効性について多くの報告がなされている。

ポリエステル繊維 (ポリエチレンテレフタレート) は、衣料品、カーペット、ソファなど合成繊維の中でも最も多く使用されており³¹⁾、分析対象となる機会も多いことが推測される。また、ポリエステル繊維は、分子の結晶性が高く構造が緻密であるため染色しにくい繊維でもある。よって、この繊維の染色については、ポリエステル繊維のガラス転移点以上に温度を上げ、ミクロブラウン運動を活発化して高分子鎖の隙間を開くことにより、染料分子を入り込ませる必要があることから、通常 130℃ の高温高压下で染色は行われる³²⁾。従って、ポリエステルに染色された分散染料の抽出方法については、有機溶媒を用いた加熱による抽出法が過去に検討されている。Golding らは、ガラス管中に繊維とクロロベンゼンとともに封じて加温することにより染料の抽出を行い、TLC を実現している¹⁴⁾。しかし、鈴木らは、クロロベンゼンよりも抽出効率のよいジメチルホルムアミド (DMF) を用いて TLC を行い、良好な結果を得ている¹⁵⁾。LC/MS を用いた染料分析の報告において、Huang らは、ガラス管中にメタノールと純水混合液 (1 : 1、v/v) と糸 (長さ : 5 mm) をガラス管に封入し加熱することにより染料抽出

を行っている^{28, 29)}。また、Petrick らは、SWGMAIT ガイドライン³⁴⁾において推奨する抽出溶媒であるピリジンと水の混合溶液 (4 : 3、v/v) の代わりに、同じ pH を有するアセトニトリルと純水混合液 (4 : 3、v/v) と単繊維 (長さ : 5 mm) をガラスバイアル中で加熱することにより染料抽出を行っており、LC/MS による染料の微量分析を達成している³⁰⁾。前述の染料抽出法は、大まかに以下の 2 法にまとめられる。一つは、バイアル瓶の中に繊維と抽出溶媒を入れ加熱した後、繊維をバイアル瓶の中から取り出し、残った抽出溶媒を分析する方法である。もう一つは、繊維と抽出溶媒をガラス製細管の中に封入し加熱した後、抽出溶媒を取り出し分析する方法である。一方で、本論文執筆者を含む研究グループは、以前ガラス製細管中に綿糸とメタノール溶液を入れ、加熱することにより綿糸に残留する界面活性剤を抽出した後、遠心濾過により容易に繊維と抽出液を分離して LC/MS の試料を得る手法について報告している³⁵⁾。

本章では、ポリエステル繊維からの分散染料の抽出法 (遠心濾過法) 及び LC/LIT-MSⁿ を用いた抽出分散染料の分析について検討を行った。

3.2 実験

3.2.1 試薬

メタノールは、和光純薬製の LC/MS 用を、ジメチルホルムアミドは和光純薬製の HPLC 用を、1M 酢酸アンモニウム水溶液は和光純薬製の HPLC 用を用いた。精製水は日本ミリポア工業社製 Millipore Q システムを用いて調製した。分散染料 9 種及びこれらで染色されたポリエステル繊維布地は日本化薬工業株式会社より提供を受けた。提供を受けた 9 種の分散染料はメタノールと DMF の 1 : 1 (v/v) 混合溶液に溶解させ、50 µl/ml の溶液に調製し、メタノールで適宜希釈して分析に用いた。本研究に使用した分散染料の詳細なデータについては、Table 3.1 に示すとおりである。

Table 3.1 Standard colored textiles and disperse dyes used in this study

Fibers (100%)	Dyeing depth (% o.w.f.) ¹	Disperse dyes			
		Commercial name of dye	C.I.Generic name	Formura	Mono isotopic mass
Blue polyester	1.0	Turquoise Blue GL-S 200	Disperse Blue 60	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₅	379
Blue polyester	1.0	Blue E-5G	Disperse Blue 291 ²	C ₁₉ H ₂₁ BrN ₆ O ₆	508
Blue polyester	1.0	Blue CR-E 200	Disperse Blue 366	C ₁₉ H ₁₈ N ₆ O ₂	362
Red polyester	1.0	Rubine GL-SE 200	Disperse Red 73	C ₁₈ H ₁₆ N ₆ O ₂	348
Red polyester	1.0	Red 3BL-S 200	Disperse Red 145	C ₁₈ H ₁₆ N ₆ O ₂ S	380
Red polyester	2.0	Red TL-SF	Disperse Red 323	C ₂₃ H ₂₄ ClN ₅ O ₈	533
Orange polyester	2.0	Yellow Brown 2RL-S	Disperse Orange 30	C ₁₉ H ₁₇ C ₁₂ N ₅ O ₄	449
Yellow polyester	1.0	Brill.Flavine FG-S	Disperse Yellow 82	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂	333
Yellow polyester	1.0	Yellow E-BRL conc	Disperse Yellow 163 ³	C ₁₈ H ₁₄ C ₁₂ N ₆ O ₂	416

¹ o.w.f (on the weight of fiber) meaning the weight percentage of dye relative to cloth.

² C.I.number : 113395. ³ C.I.number : 111235.

3.2.2 装置及び分析条件

LC/LIT-MSⁿ は、島津社製高速液体クロマトグラフ(Prominence UFLC)を接続した、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製 LXQ を用いて行った。カラムは化学物質評価研究機構製 L-column 2 ODS (内径 1.5 mm×長さ 150 mm、粒子径 5 μm) を用いた。移動相には A : 5%メタノール溶液 (10 mM 酢酸アンモニウム含有) と B : 95%メタノール溶液 (10mM 酢酸アンモニウム含有) の A : B (40 : 60) から A : B (0 : 100) へ 15 分で直線的に変化させ 10 分間保持させるグラジエント分析を用いた。流速は 0.2 ml/min でカラム温度は 40℃に設定した。DAD による測定波長領域は、紫外可視領域 (380-760 nm) とした。試料は、0.45 μm のフィルターを通したもの 2 μl を注入した。質量分析のイオン化法はエレクトロスプレーイオン化 (ESI) のポジティブモ

ードとして、エレクトロスプレー電圧は 5 kV、コリジョンガスはヘリウムを用いて、相対コリジョンエネルギーは 45%とした。キャピラリー温度は 275℃とし、シースガス流量は 25 units とした。MSⁿ 取得のアクティベーションタイムは 30 ms でその際のアイソレーションウィズスは 4 Da に設定した。質量分析は data-dependent MS3 method³³⁾を用いて行った。

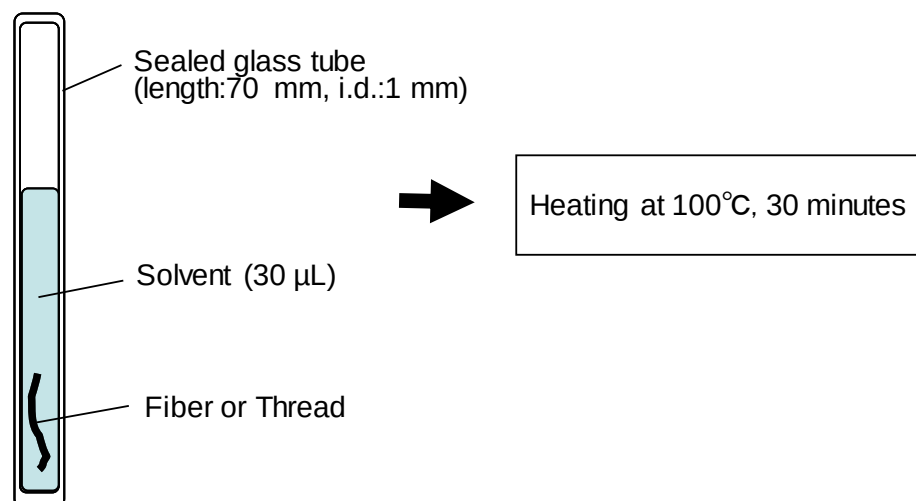
本研究に用いた Table 3.1 で示す分散染料 9 種について、染料検出に必要な染料濃度を見積もるために、DAD により得られたクロマトグラム及び各染料のプリカーサーイオン ($[M+H]^+$) 及びプロダクトイオンの選択反応検出法 (SRM) により得られたピーク高さに基づく検出限界を調べた。ピーク高さに基づく検出限界は、シグナル・ノイズ比が 3 以上となる最小の染料濃度と定義した。

3.2.3 ポリエステル系からの抽出染料の分析

Table 3.1 で示す染料メーカーから提供を受けた染色ポリエステル織物から糸（長さ 7 mm）を引き抜き染料抽出に用いた。検討に使用した抽出溶媒は、既報で示されたアセトニトリルと純水の混合溶液 (4/3, v/v)、メタノールと純水の混合溶液 (1/1, v/v)、ジメチルホルムアミドである。抽出法は、Fig. 3.1(a)で示すように一端を封じたガラス管[100 microliters 用マイクロキャップス（長さ：約 70 mm, 内径約 1 mm）、ドラモンド社製]に糸を挿入した。このガラス管に抽出溶媒 30 μ l を注入して、ガラス管のもう一端を加熱溶融により封管した後、ヒートブロック中 100℃で 30 分間加熱することにより染料抽出を行った。抽出後 Fig. 3.1(b)で示すように、一端を開封したガラス管、除粒子用シリンジフィルターユニット GL クロマトディスク(4P、孔径：0.45 μ m、KURABO INDUSTRIES LTD.)、少量ガラスインサート付き広口バイアル瓶（Snap vial, fixed insert, Agilent Technologies）を試験管（長さ：約 85 mm, 内径約 13 mm）内で連結させ、この試験管を遠心分離することにより抽出液をガラスインサートにろ取して、

LC/LIT-MSⁿ用の分析試料を得た。

(a) Extraction in a sealed tube



(b) Filtration of sample solution

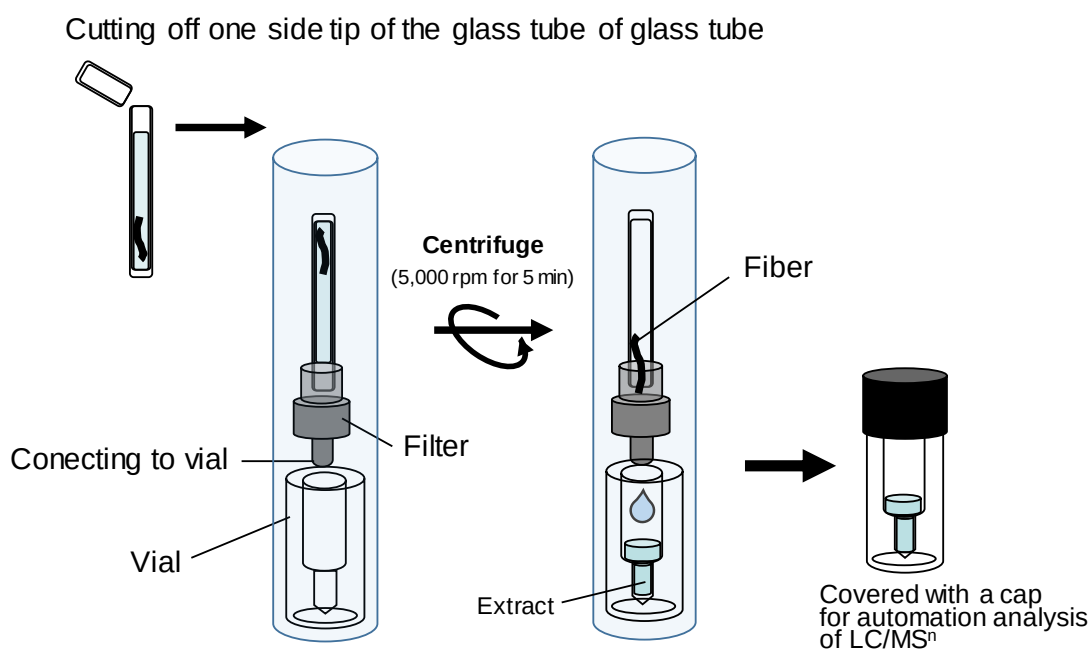


Fig. 3.1 (a) Extraction procedure of dyes from a colored polyester fiber.
(b) Sample preparation for LC/LIT-MSⁿ.

本研究に用いた Table 3.1 で示す分散染料 9 種で染色した標準布地（日本化薬工業株式会社より提供）から得た糸（長さ：7 mm）を用いて染料抽出を行い、得られた抽出液に内部標準物質 [Disperse red 146 の 50 µg/ml の DMF メタノール混合溶液（1:1、v/v）] 30 µl を添加、攪拌したものを LC/LIT-MSⁿ の分析試料とした。抽出された染料由来の DAD により得られたピーク面積を I.S の DAD により得られたピーク面積で除した比を算出することにより、抽出溶媒による染料の抽出効率の比較を行った（繰り返し操作 n=3）。

3.2.4 ポリエステル単繊維から抽出された分散染料の分析

標準布地から得られた 9 種染料で染色されたポリエステル単繊維（長さ 5 mm）を用いて、本論文で考案した染料抽出法により得られた染料抽出液について LC/LIT-MSⁿ を行った。微細単繊維からの抽出された分析結果から、既報で示した染料データベースを利用した自動検出ソフト（ToxID）³⁶⁾への適用性について検討を行った。

3.3 結果及び考察

3.3.1 分散染料の検出限界

HPLC を用いた分析において、長さ 2-10 mm の単繊維に染色されている染料の量は、2-200 ng であり、分散染料の LOD は、5 µl インジェクションで 80-1280 pg であったという過去の報告^{24,26)}をもとに、Petrick らは、LC/MS を用いた単繊維（長さ 5 mm）からの染料分析について報告している³⁰⁾。

Table 3.2 で示すように、今回使用した分散染料 9 種のピーク高さに基づく DAD による LOD は、5 µl インジェクションで 500~1750 pg であったが、SRM クロマトグラムによる LOD は、1~15 g であった。以上の結果から、LC/LIT-MSⁿ は、微細試料であ

る単繊維（長さ 5 mm）に染色された染料分析に十分な感度を有していることが示された。

Table 3.2 Limit of detection (LOD) of disperse dyes

C.I.Generic name	Monitor ions (<i>m/z</i>)	LOD /pg	
		SRM	DAD
Disperse Blue 60	380>348	10	1750
Disperse Blue 291	509>480	5	750
Disperse Blue 366	363>176	5	750
Disperse Red 73	349>308	1	750
Disperse Red 145	381>173	5	500
Disperse Red 323	534>444	5	1000
Disperse Orange 30	450>390	15	1750
Disperse Yellow 82	334>290	10	1750
Disperse Yellow 163	417>376	5	1000

3.3.2 ポリエステル系からの抽出染料の分析

繊維からの染料抽出に用いる溶媒について検討を行ったところ、Fig. 3.2 で示すように、DMF が染料抽出に有効な溶媒であることが判った。抽出後の繊維を観察すると、DMF を用いた場合、他の有機溶媒とは異なり殆ど肉眼で染料の残留が確認されず、検討に用いた全ての染色ポリエステル繊維系は、良好に染料抽出がなされていた。DMF は、極性が高い非プロトン性溶媒として汎用され、有機化合物に対する溶解性の高い溶媒であり、ポリエステル繊維の基質と会合している分散染料を分離するのに適した溶媒と考えられた。よって、本研究の染料抽出溶媒は、DMF を用いることにした。

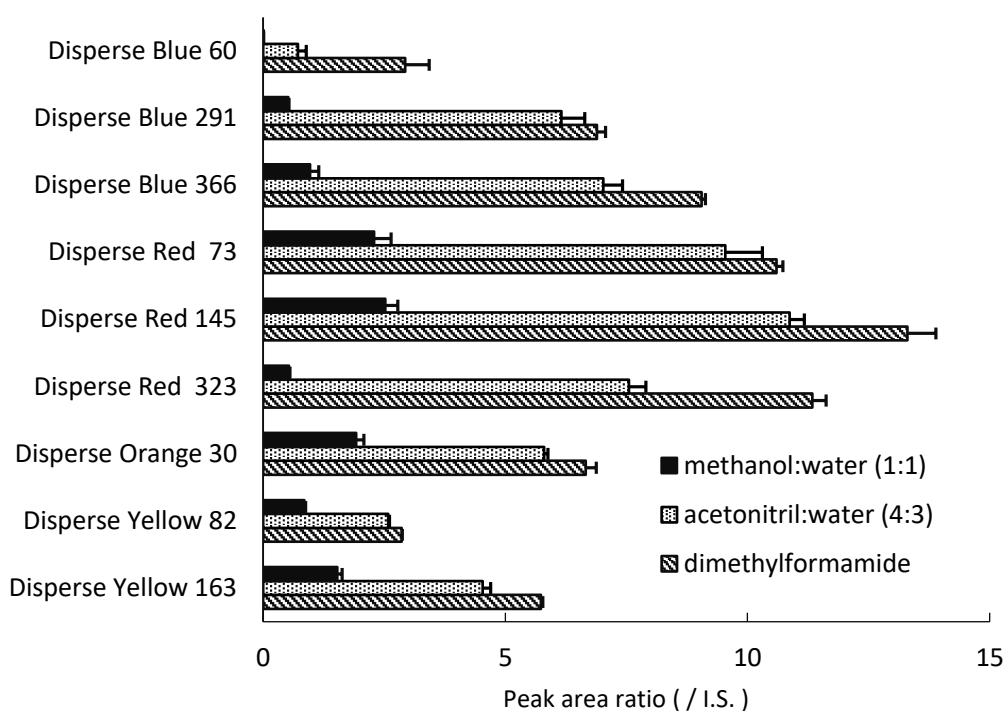


Fig. 3.2 Comparison of solvents in the extraction efficiency of disperse dyes from a polyester thread. Each value is the mean $\pm$ SD of peak area ratio obtained from DAD (n=3). Disperse Red 146 was used for internal standard (I.S.).

本抽出法により得られた標準ポリエステル糸からの染色染料抽出物を LC/LIT-MSⁿを用いて分析を行った結果、9種の染料抽出物はいずれもポリエステルの染色に用いた分散染料の[M + H]⁺イオンとして検出され、各抽出イオンクロマトグラム及びDADによるクロマトグラムからは、標準染料と同様のデータ（保持時間、MS²、MS³、DADによるVISクロマトグラム）が得られた。この結果から、ポリエステル繊維から抽出した分散染料は標準染料と同じイオン形態で検出されることが明らかとなり、本章で考案した染料抽出法は、既報の手法であるLC/LIT-MSⁿを用いた分散染料の分析と構築した分散染料のデータベース³³⁾に適用可能であることが示された。

今回検討した繊維からの染料抽出法は、ガラス製キャピラリーチューブ内において少ない溶媒で繊維から染色染料を加熱抽出した後、遠心分離により簡便且つ効率よく繊維

と染料を分離し分析試料を得る抽出方法であった。この抽出方法は、抽出操作が簡便かつ可能な限り汚染を排除した方法でもあり、容易に回収できた染料抽出後の単繊維（糸）は、顕微鏡を用いた染料抽出後の繊維の形態観察など各種検査に利用可能であった。

3.3.3 ポリエステル単繊維から抽出された分散染料の分析

実際の鑑定、検査で取り扱う微細単繊維（5 mm）からの染料抽出を本手法で行い、LC/LIT-MSⁿを行ったところ、いずれの試料とも、検索ソフト（ToxID）により、MS、MS²、MS³の各データ一致に基づく検出が可能であった。

Disperse Red 145 について、本方法で染料抽出し分析した結果を Fig. 3.3 に示す。イオンピークとともに DAD によるピーク検出が期待されるこの染料は、極大吸収約 540 nm の分光曲線が得られ、更に DAD によるピーク(保持時間 9.07 分)と[M + H]⁺の抽出イオンクロマトグラムによるピーク(保持時間 9.13 分)の保持時間の関係（DAD 検出器からマス検出器に導入するまでにかかる時間）から、このイオンピークが、染料由来であることを確認できた[Fig. 3.3 (a)]。このピークに呼応するのマススペクトル、更に MS²、MS³ から Disperse Red 145 の含有を確実なものにしている。

Disperse Red 145 とは対照的に、DAD によるピーク検出感度の劣る Disperse Blue 60 について、本方法で染料抽出し分析した結果を Fig. 3.4 に示す。Disperse Blue 60 の紫外・可視吸収スペクトルは、Fig. 3.4 (b)で示すように良好なものが得られず、極大吸収が判然としない。さらに LC/MS の場合、事前に染料由来の[M + H]⁺の情報（ m/z 334）があったとしても m/z 334 の抽出クロマトグラムで得られる保持時間 12.89 分のピーク及びマススペクトルが Disperse Blue 60 の含有を裏付ける唯一のデータであり、定性能力に問題がある。このように染料特定のための重要な情報源である DAD 情報が得られないケースが多いことが予想されるので、DAD 情報を補完するものとして明瞭に検出される MSⁿ の情報 [Fig. 3.4 (c)] は、微細単繊維片に染色された染料を特定す

る上で重要である。

その他の染色単繊維からの染料分析についても、**Fig. 3.5** ～**Fig. 3.11** で示すように、**DAD** 情報の有無にかかわらず、イオンとしてデータベース登録した **MSⁿ** 情報を取得できた。このように、微細ポリエステル繊維片に染色された染料の高感度分析、そして定性能力の飛躍的な向上が達成され、**LC/LIT-MSⁿ** の有効性は示された。

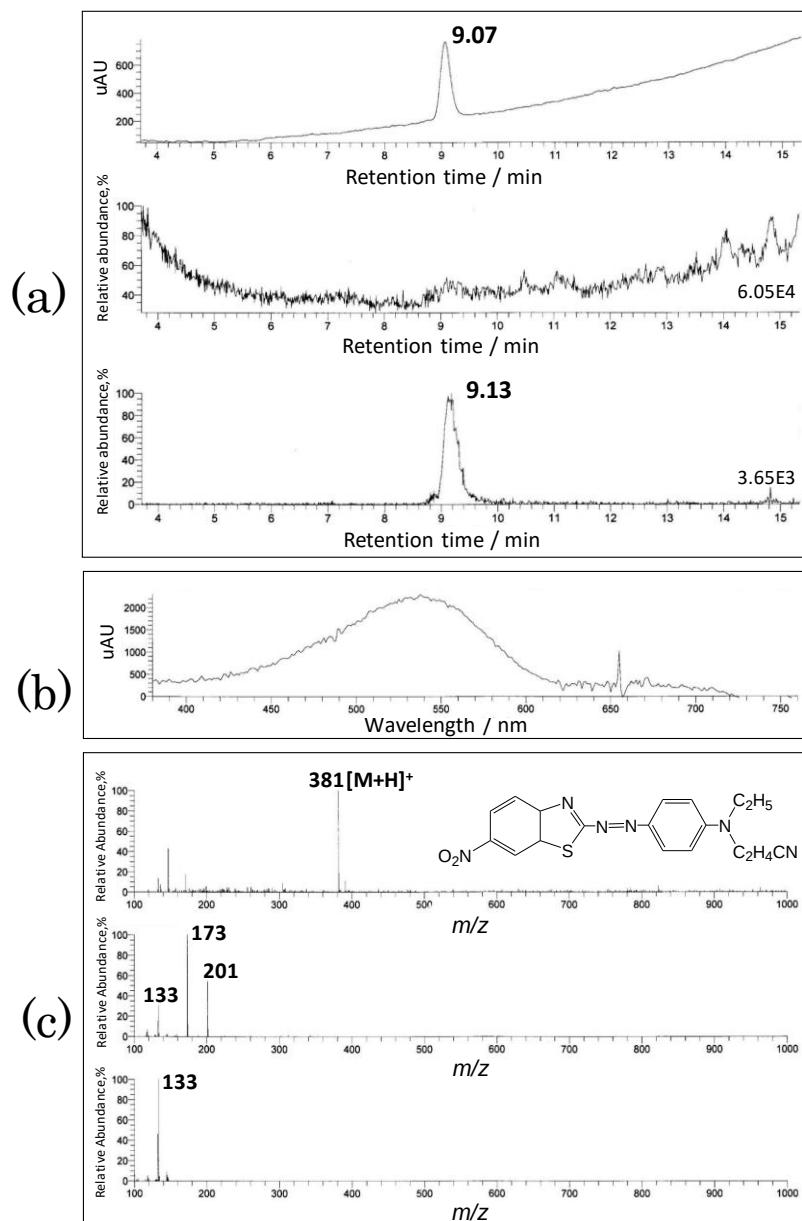


Fig. 3.3 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Red 145 extracted from a polyester fiber (5mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 381 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 9.07 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 381 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at m/z 381 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at m/z 173 [(c) bottom].

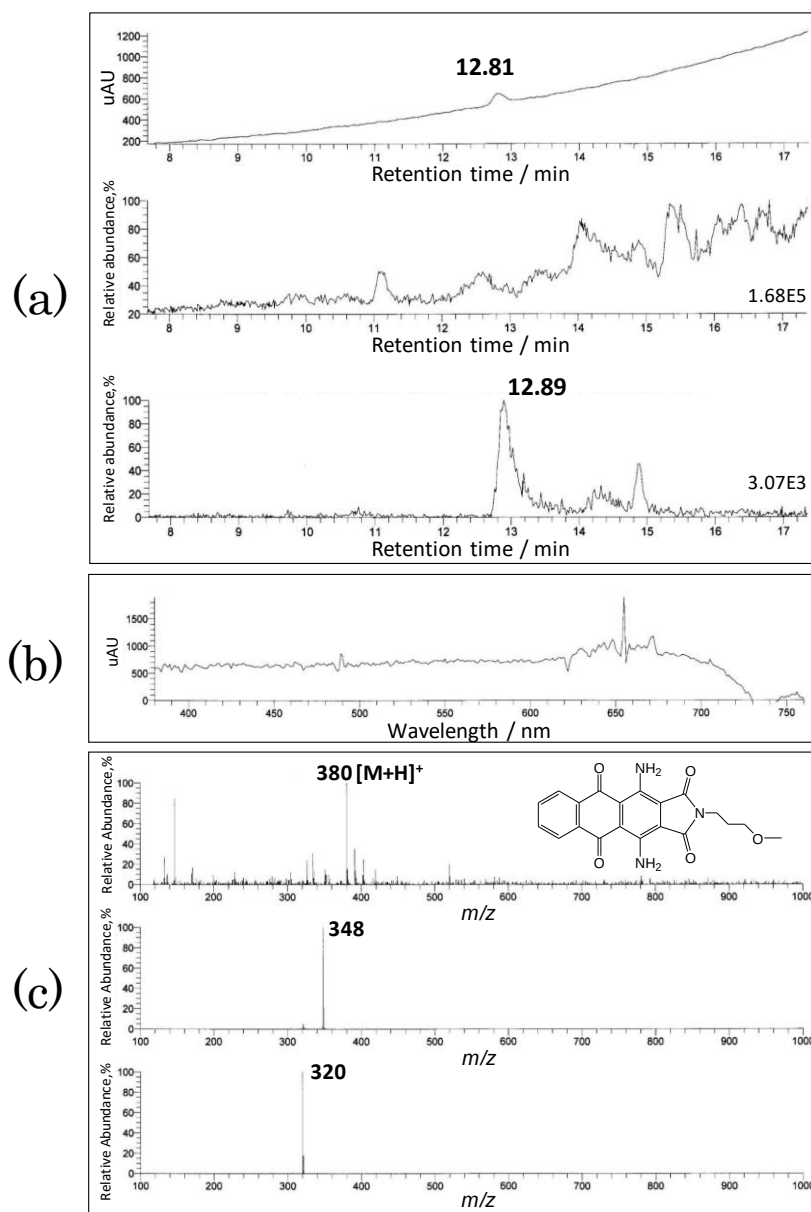


Fig. 3.4 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Blue 60 extracted from a polyester fiber (5mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 380 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 12.81 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 380 [(c) top], MS^2 spectrum obtained from precursor ion at m/z 380 [(c) middle], and MS^3 spectrum obtained from precursor ion at m/z 348 [(c) bottom].

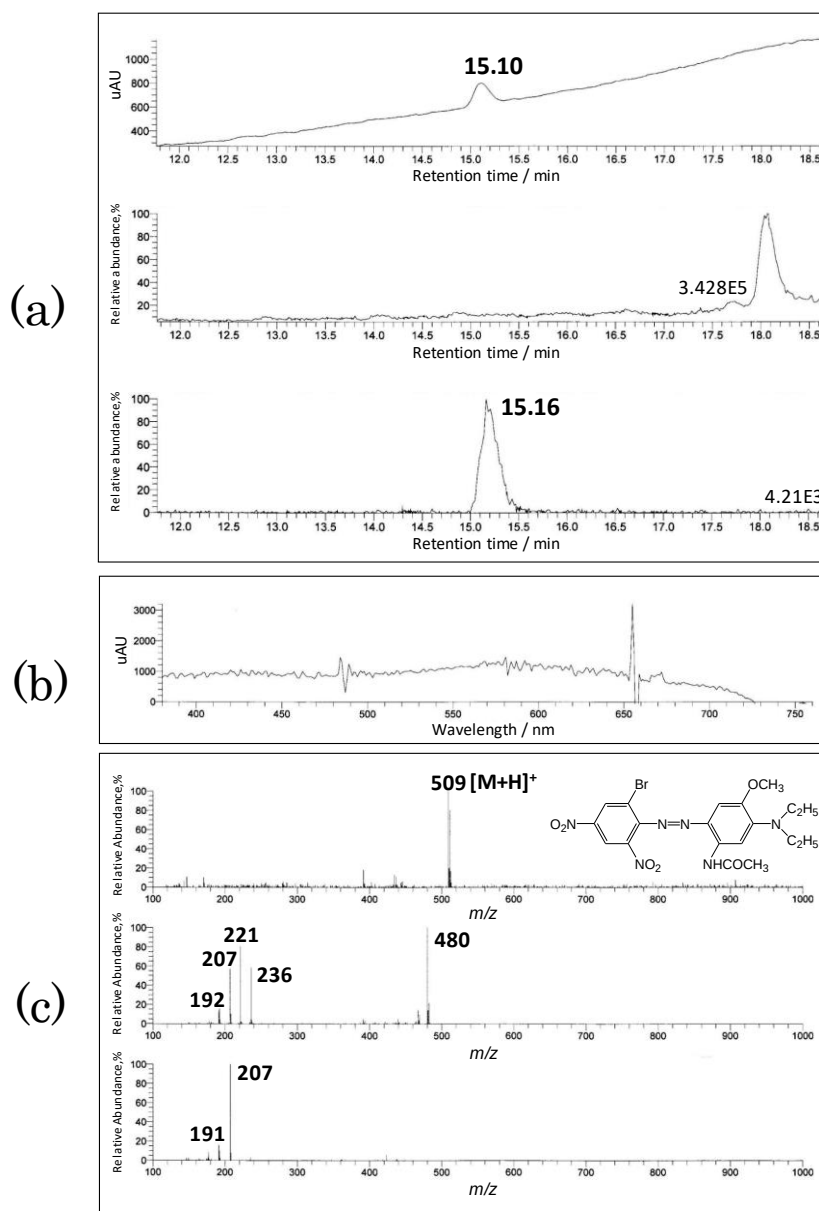


Fig. 3.5 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Blue 291 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 509 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 15.10 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 509 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at m/z 509 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at m/z 480 [(c) bottom].

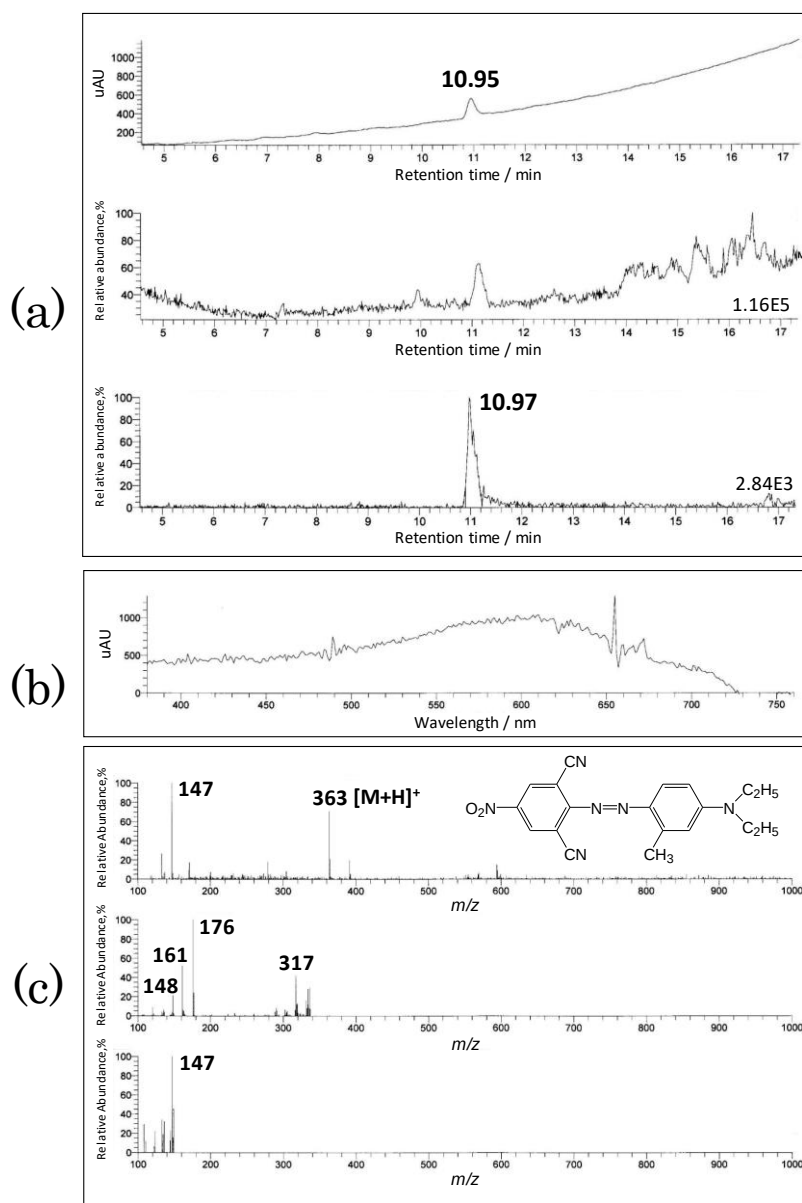


Fig. 3.6 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Blue 366 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for [M + H]⁺ at *m/z* 363 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 10.95 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for [M + H]⁺ at *m/z* 363 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at *m/z* 363 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at *m/z* 176 [(c) bottom].

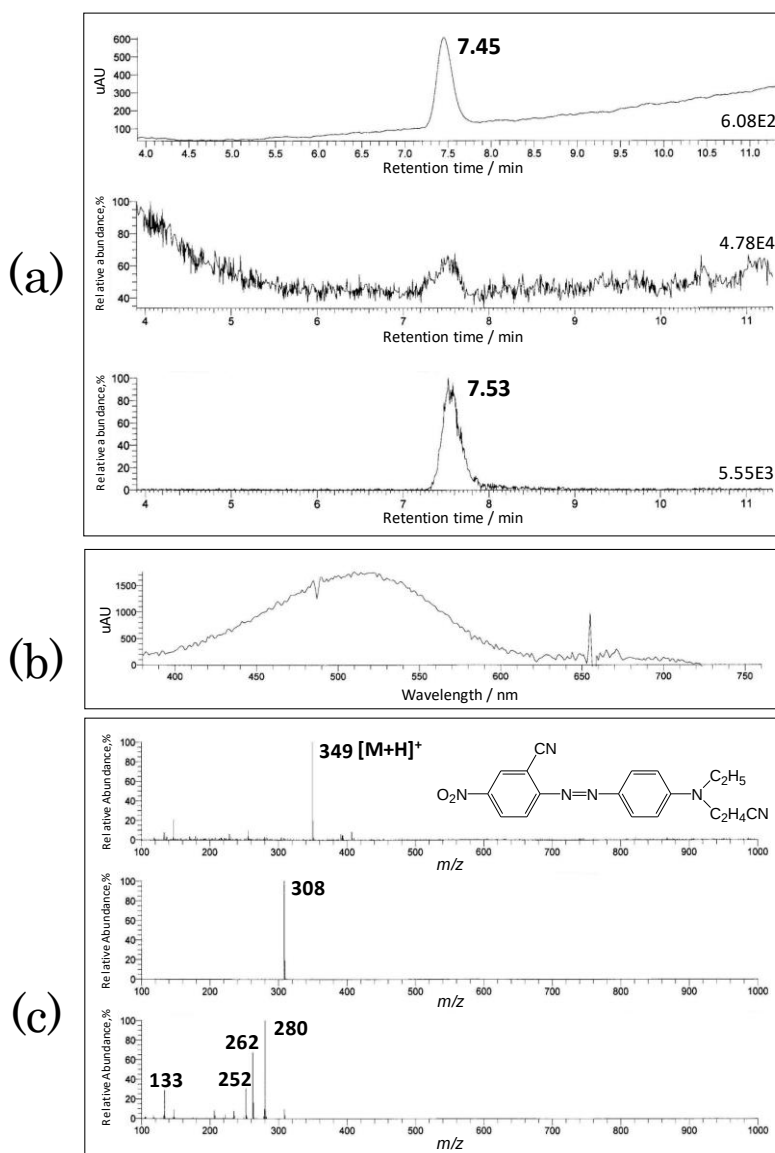


Fig. 3.7 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Red 73 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 349 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 7.45 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 349 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at m/z 349 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at m/z 308 [(c) bottom].

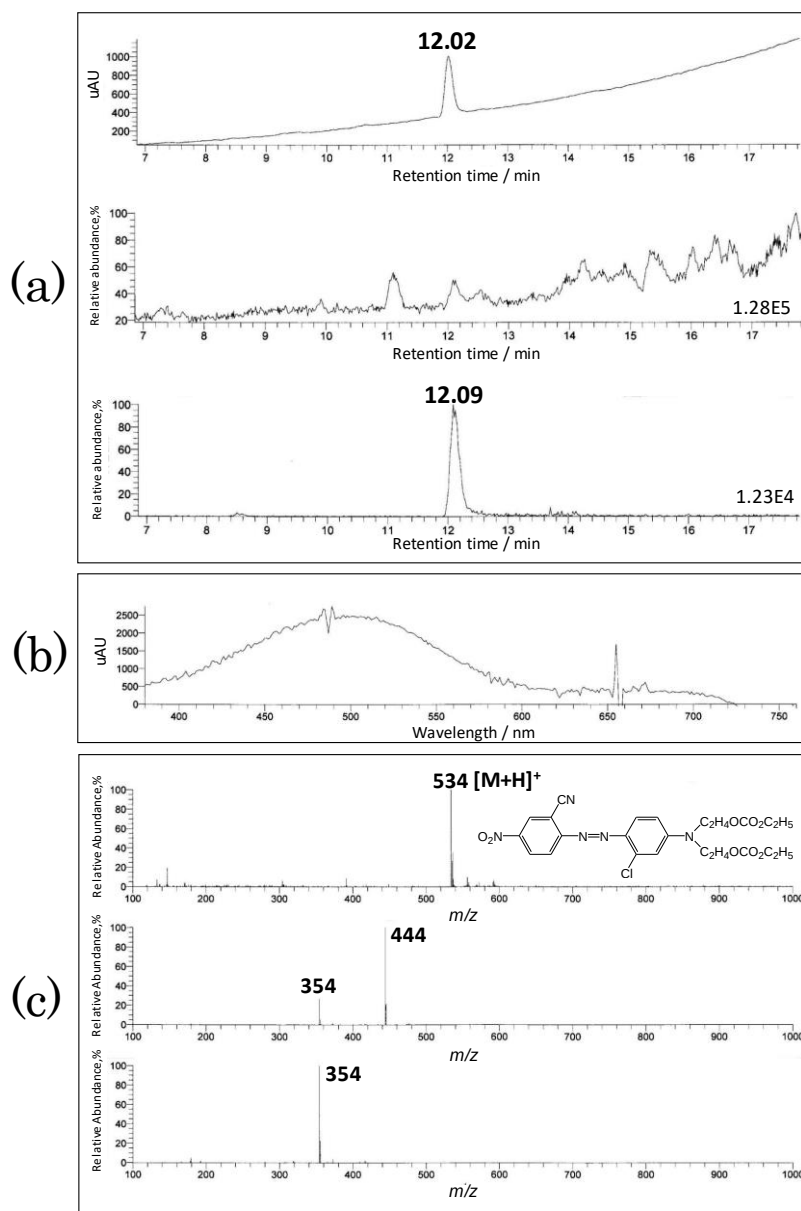


Fig. 3.8 LC/LIT- MS^n data for Disperse Red 323 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M+H]^+$ at m/z 534 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 12.02 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M+H]^+$ at m/z 534 [(c) top], MS^2 spectrum obtained from precursor ion at m/z 534 [(c) middle], and MS^3 spectrum obtained from precursor ion at m/z 444 [(c) bottom].

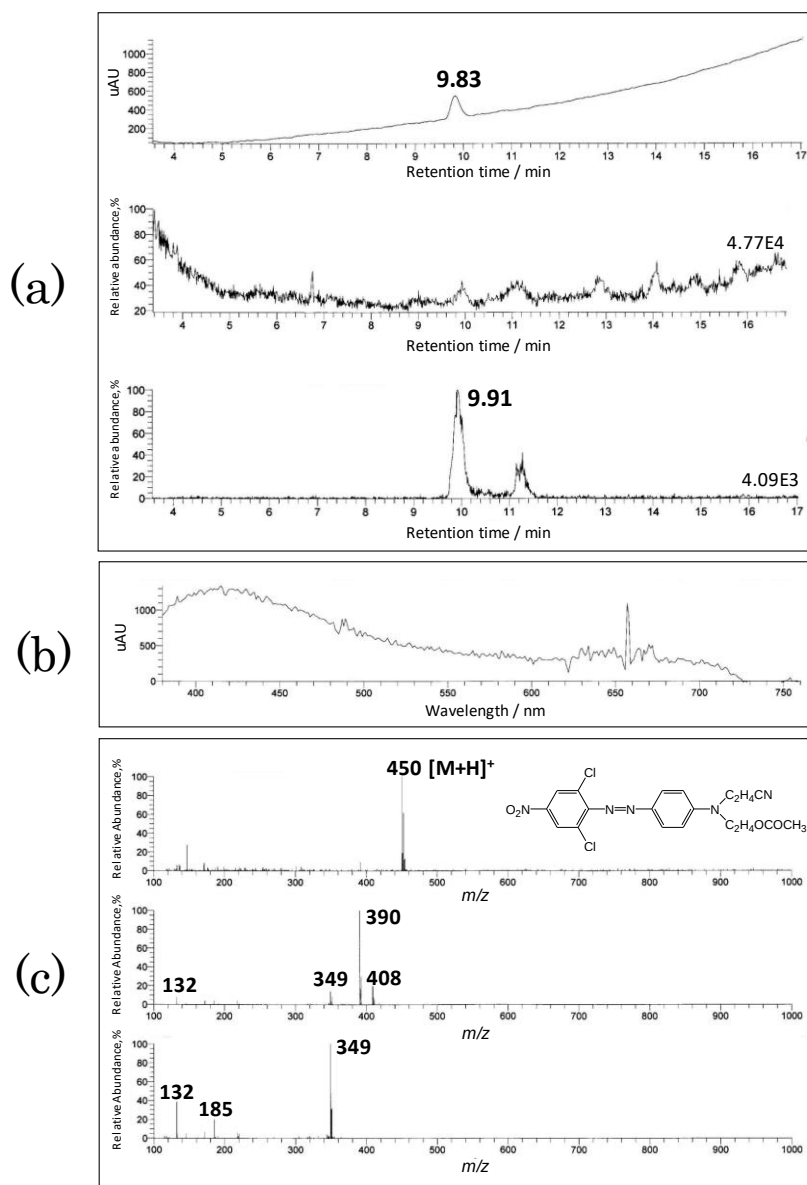


Fig. 3.9 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Orange 30 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 450 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 9.83 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 450 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at m/z 450 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at m/z 390 [(c) bottom].

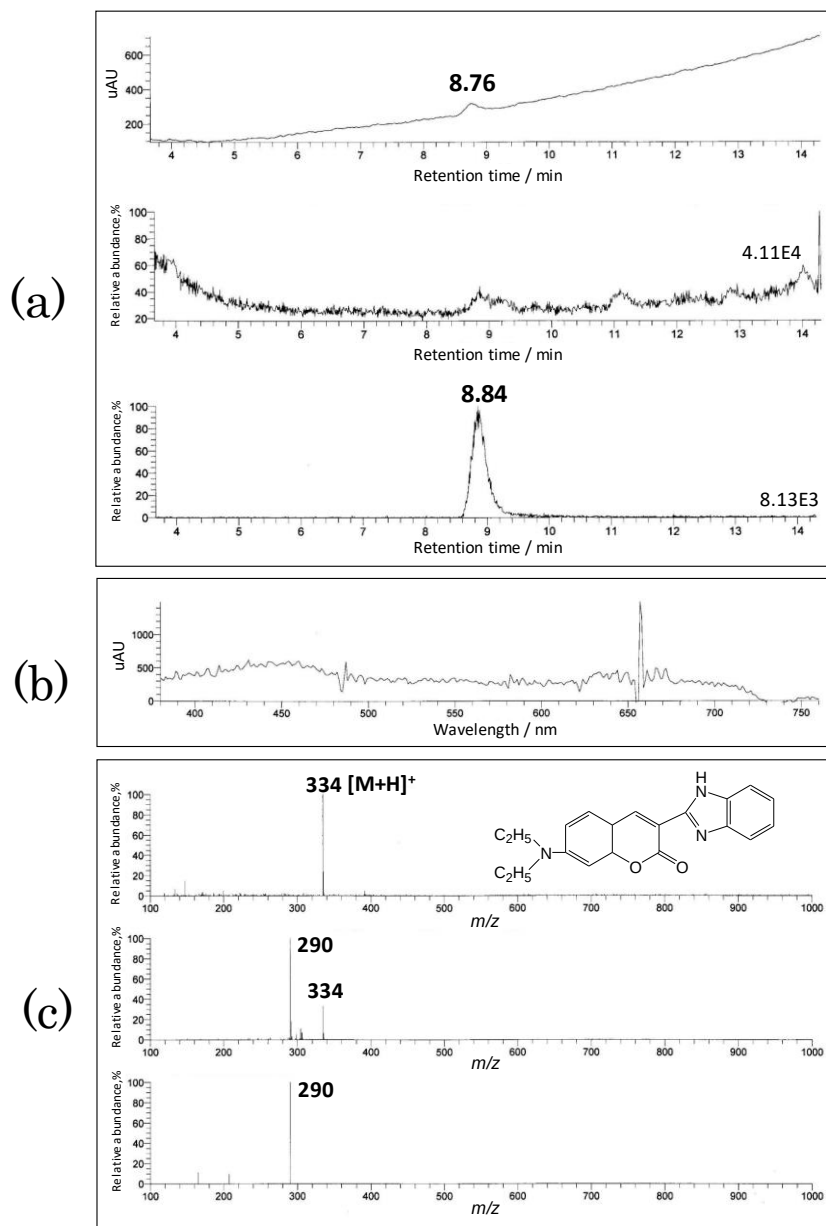


Fig. 3.10 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Yellow 82 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for [M + H]⁺ at *m/z* 334 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 8.76 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for [M + H]⁺ at *m/z* 334 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at *m/z* 334 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at *m/z* 290 [(c) bottom].

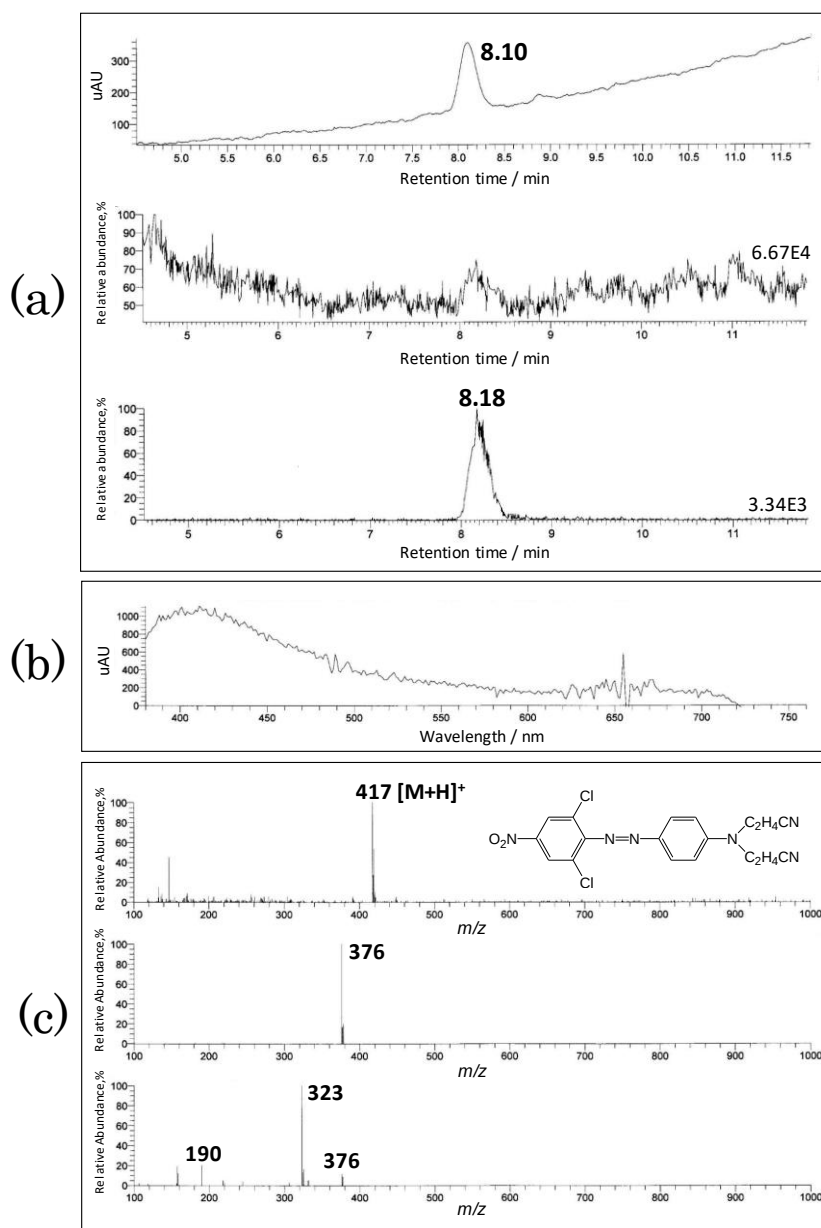


Fig. 3.11 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Yellow 163 extracted from a polyester fiber (5 mm in length). DAD-monitored signal [(a) top], total ion chromatogram [(a) middle], and extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 417 [(a) bottom]. Visible spectrum obtained from the peak by DAD (retention time = 8.10 min) (b). Mass spectrum obtained from the peak observed in the extracted ion chromatogram for $[M + H]^+$ at m/z 417 [(c) top], MS² spectrum obtained from precursor ion at m/z 417 [(c) middle], and MS³ spectrum obtained from precursor ion at m/z 376 [(c) bottom].

2.4 小括

ポリエステル繊維からの分散染料抽出溶媒は、今回検討した溶媒の中で DMF が最良の溶媒であった。本抽出法により得られた標準ポリエステル繊維からの染色染料抽出物を LC/LIT-MSⁿ を用いて分析を行った結果、9 種の染料抽出物はいずれもポリエステルの染色に用いた分散染料の $[M + H]^+$ イオンとして検出され、標準染料と同様のデータが得られた。この結果から、ポリエステル繊維から抽出した分散染料は標準染料と同じイオン形態で検出されることが明らかとなり、本章で考案した染料抽出法は、LC/LIT-MSⁿ を用いた分散染料の分析と構築した分散染料のデータベースに適用可能であることが示された。

また、微細単繊維（長さ 5mm）から抽出した染料について、LC/LIT-MSⁿ に適用したところ、DAD 検出が困難な染料であっても、MS²、MS³ により 9 つの分散染料をすべて特定できた。

参考文献

- 1) M. C. Grieve, *J. Forensic Sci.*, **1983**, 28, 877.
- 2) R. R. Bresee, *J. Forensic Sci.*, **1987**, 32, 510.
- 3) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1993**, 46, 177.
- 4) S. Suzuki, Y. Marumo, and F. P. Adolf, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1994**, 47, 39.
- 5) S. Suzuki, Y. Suzuki, H. Ohta, R. Sugita, and Y. Marumo, *Sci. & Justice*, **2001**, 41, 107.
- 6) M. C. Grieve, T. W. Biermann, and M. Davignon, *Sci. & Justice*, **2001**, 41, 245.
- 7) M. C. Grieve, T. W. Biermann, and M. Davignon, *Sci. & Justice*, **2003**, 43, 5.
- 8) T. W. Biermann, *Sci. & Justice*, **2007**, 47, 68.
- 9) R. Palmer, W. Hutchinson, and V. Fryer, *Sci. & Justice*, **2009**, 49, 12.
- 10) K. De Wael, K. Van Dijck, and F. Gason, *Sci. & Justice*, **2015**, 55, 422.
- 11) R. Resua, *J. Forensic Sci.*, **1980**, 25, 168.
- 12) R. Resua, P. R. Deforest, and H. Harris, *J. Forensic Sci.*, **1981**, 26, 515.
- 13) K. G. Wiggins, R. Cook, and Y. J. Turner, *J. Forensic Sci.*, **1988**, 33, 998.
- 14) G. M. Golding, and S. Kokot, *J. Forensic Sci.*, **1989**, 34, 1156.
- 15) S. Suzuki, Y. Higashikawa, T. Kishi, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1991**, 44, 50.
- 16) K. G. Wiggins, S. R. Crabtree, and B. M. March, *J. Forensic Sci.*, **1996**, 41, 1042.
- 17) K. G. Wiggins, and J. A. Holness, *Sci. & Justice*, **2005**, 45, 93.

- 18) K. G. Wiggins, J. A. Holness, and B. M. March, *J. Forensic Sci.*, **2005**, *50*, 364.
- 19) S. Suzuki, Y. Suzuki, and R. Sugita, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **2010**, *15*, 159.
- 20) J. C. West, *J. Chromatogr.*, **1981**, *208*, 47.
- 21) D. K. Laing, R. Gill, C. Blacklaws, and H. M. Bickley, *J. Chromatogr. A*, **1988**, *442*, 187.
- 22) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1992**, *45*, 36.
- 23) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, and Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **1993**, *46*, 78.
- 24) S. J. Speers, B. H. Little, and M. Roy, *J. Chromatogr. A*, **1994**, *674*, 263.
- 25) R. M. E. Griffin, S. J. Speers, L. Elliott, N. Todd, W. Sogomo, and T. G. Kee, *J. Chromatogr. A*, **1994**, *674*, 271.
- 26) J. Yinon, and J. Saar, *J. Chromatogr.*, **1991**, *586*, 73.
- 27) A. A. Tuinman, L. A. Lewis, and S. A. Lewis, *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, 2753.
- 28) M. Huang, J. Yinon, and M. E. Sigman, *J. Forensic Sci.*, **2004**, *49*, 238.
- 29) M. Huang, R. Russo, B. G. Fookes, and M. E. Sigman, *J. Forensic Sci.*, **2005**, *50*, 526.
- 30) L. M. Petrick, T. A. Wilson, and W. R. Fawcett, *J. Forensic Sci.*, **2006**, *51*, 771.
- 31) “Kagakubinran Ouyoukagakuhen”, ed. The Chemical Society of Japan, 2014, Maruzen, Tokyo, II -1176.
- 32) “YOKUWAKARUKAGAKUSENI KASEN TOPICS Vol.14”, Japan Chemical Fibers Association, available from [<http://www.jcfa.gr.jp/fiber/topics/vol14.html>], accessed May 7, **2016**.

- 33) T. Kato, T. Ikeue, Y. Suzuki, and M. Handa, *Anal. Sci.*, **2016**, 32, 147.
- 34) “*Thin-Layer Chromatography of Nonreactive Dyes in Textile Fibers*”, **1999**, SWGMAT, available from [<https://www.fbi.gov/about-us/lab/forensic-science-communications/fsc/april1999/houcktoc.htm/houckch4.htm>], accessed May 7, **2016**.
- 35) T. Kato, M. Hasegawa, and M. Kagawa, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **2011**, 16, 29.
- 36) ToxID User Guide, Compilation prepared by Thermo Fisher Scientific Inc., available from [<http://www.thermoscientific.com/content/dam/tfs/ATG/CMD/cmd-documents/oper/oper/ms/lc-ms/soft/Man-XCALI-97245-ToxID-212-User-ManXCALI97245-B-EN.pdf>.], accessed April 6, **2016**.

第4章 黒色ポリエステル繊維製品から抽出された分散染料の分析と異同識別

4.1 緒言

ポリエステル繊維はナイロン、アクリルの各繊維とともに三大合成繊維の一つであり、その生産量は世界における合成繊維全体の7割以上を占め最も多い。ポリエステル繊維のうち、ポリエチレンテレフタレート (PET) はテレフタル酸とエチレングリコールとの直接重合法で生産され、これを溶融紡糸して PET 繊維が製造される。この繊維は高い強度と初期弾性率を示し、洗濯後もしわになりにくく、すぐに着られるウォッシュアンドウェア性にも優れるため、衣料用途や産業資材に幅広く使用されており、PET 繊維を単にポリエステル繊維と称する場合が多い¹⁾。

ポリエステル繊維の生産量増加に伴い、これを鮮明且つ堅牢に染めるニーズに対して登場したのが分散染料である。分散染料は難溶性の染料を水に分散した浴からポリエステル繊維のような疎水性繊維を染めるのに用いられる²⁾。分散染料の構造は、モノアゾ、ビスアゾ、及びアントラキノン染料が市販染料の85%を占め、そのほかニトロ、スチリル、メチン染料などがある。わが国では生産量こそ直接染料や硫化染料について第3位であるが、金額および生産量の伸び率では他種染料を大きく引き離して首位の座を占めている³⁾。このような背景から、多種多様な分子構造を有する分散染料で染色された有色ポリエステル繊維製の衣料品が多数上市されていることが推測され、これら繊維間の異同識別を行うにあたり色調検査は有力な識別指標になりうると考えられる。

我々は、液体クロマトグラフィー／リニアイオントラップ型質量分析法 (LC/LIT-MSⁿ) を用いた分散染料の分析法を確立するとともに、分散染料のデータベースを構築した⁴⁾。更に、繊維からの染料抽出法も検討し、このデータベースを活用することにより単繊維 (長さ 5 mm) レベルでの染色染料の特定を可能とした⁵⁾。これにより、ポリエステル繊維を染色した染料種の新たな色調比較が可能となり、ポリエステル繊維間の異同識別

の精度向上が確認された。

一方、単繊維の非破壊分析が可能な顕微分光光度法（MSP）については、多くの報告がなされている⁶⁻¹⁵⁾。鈴木らは、MSP を用いた黒色単繊維の異同識別法を検討している⁷⁾。この中で、ポリエステル繊維を構成するテレフタレート芳香環に由来する吸収（240-310 nm）により、識別に有効な紫外領域の情報が欠如するものの、可視領域の吸収スペクトルの比較により 8 種類の黒色ポリエステル単繊維の異同識別が可能であったことを報告している。しかし、黒色が基準色を混合して表現されていることを考えると、クロマトグラフィーによる分析が有効であることも併せて述べている。

そこで本研究では、実際の市場に流通している黒色ポリエステル製品（黒色手袋）50 点を収集し、我々が報告した分析手法（LC/LIT-MSⁿ 法）を適用して各製品に使用されている染料種の特定を試みた。検出された染料種を指標にした 50 点の黒色ポリエステル繊維の異同識別を試みるとともに、MSP による識別法と比較し、LC/LIT-MSⁿ 法の有用性について検討したので報告する。

4.2 実験

4.2.1 試料及び試薬

国内で販売されている 50 種の黒色ポリエステル繊維製手袋を収集し、各構成繊維の一部を採取して検査に用いた。収集した手袋に関する情報を Table 4.1 に示す。

メタノールは、和光純薬製 LC/MS 用を、DMF（ジメチルホルムアミド）と 1M 酢酸アンモニウム水溶液は和光純薬製の HPLC 用を用いた。精製水は日本ミリポア工業社製 Millipore Q システムを用いて調製した。

Table 4.1 Black gloves used in this study

No.	Same Products	Manufacture	Country of manufactures	Type of polyesterfibers	Collection year
1		a	China	staple ¹⁾	2014
2		a	China	staple	2014
3		a	China	staple	2013
4		a	China	filament ²⁾	2014
5		a	China	staple	2013
6		a	China	filament	2014
7		a	China	staple	2014
8	A	a	China	staple	2014
9	A	a	China	staple	2014
10	B	a	China	filament	2010
11	B	a	China	filament	2013
12	C	a	China	staple	2014
13	C	a	China	staple	2014
14	D	a	China	staple	2014
15	D	a	China	staple	2014
16		b	Cambodia	filament	2014
17		b	China	filament	2013
18		b	China	staple	2005
19		b	China	filament	2013
20		b	China	staple	2013
21	E	b	China	staple	2010
22	E	b	China	staple	2014
23		c	China	filament	2010
24		c	China	filament	2010
25		c	China	filament	2010
26		c	China	filament	2010
27		c	China	filament	2010
28		d	China	staple	2005
29		d	China	staple	2005
30		d	China	staple	2005
31		d	China	staple	2013
32		e	Japan	staple	2005
33		e	Japan	staple	2005
34		e	Japan	staple	2005
35		e	Japan	staple	2005
36		f	China	filament	2014
37		f	China	staple	2010
38		f	China	staple	2010
39		g	China	filament	2014
40		g	China	filament	2014
41		h	China	staple	2005
42		h	China	staple	2005
43		j	China	staple	2013
44		k	China	staple	2014
45		l	China	filament	2013
46		m	China	staple	2014
47		n	China	staple	2014
48		o	China	staple	2014
49		p	China	staple	2014
50		q	China	filament	2013

1) Products composed of short fibers

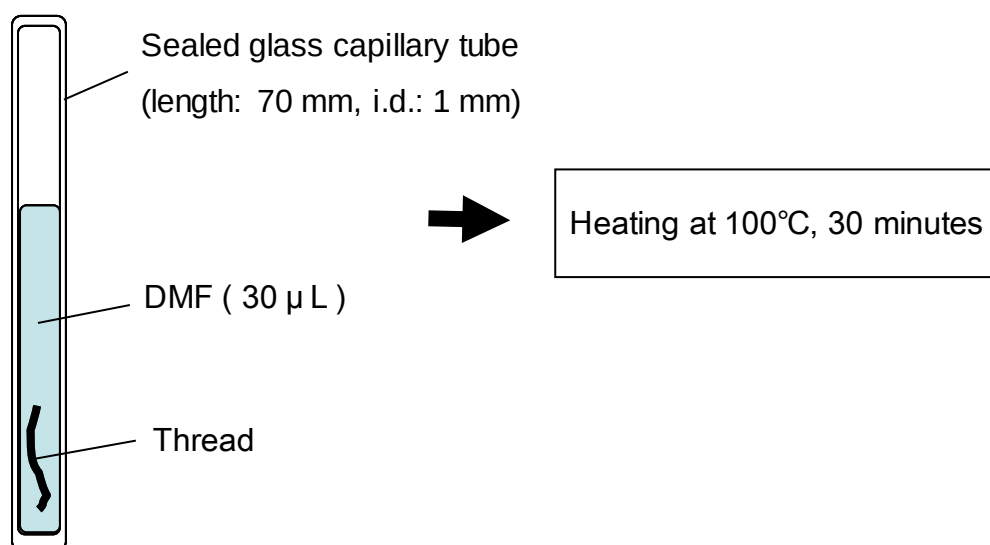
2) Products composed of long fibers

4.2.2 LC/LIT-MSⁿによる識別

4.2.2.1 分散染料の抽出

黒色ポリエステル繊維からの染料抽出には、糸（約 5mm、staple は単繊維長さ約 5 mm を数十本）を用いて既報の手法⁵⁾に従い行った。すなわち、一端を封じたガラス管 [100 microliters 用マイクロキャップス（長さ：約 70 mm、内径約 1 mm）、ドラモンド社製] に糸と DMF 30 μ L を封入して、ガラス管の另一端を加熱溶融により封管した後、ヒートブロック中 100°C で 30 分間加熱して染料を抽出した（Fig. 4.1(a)）。抽出後、一端を開封したガラス管、除粒子用シリンジフィルターユニット GL クロマトディスク (4P、孔径：0.45 μ m、KURABO INDUSTRIES LTD.)、少量ガラスインサート (Vial insert、250 μ L glass with polymer feet、Agilent Technologies) を装着した広口バイアル瓶 (SILANIZED CLR TARGET DP-ID VIAL、Thermo SCIENTIFIC) を試験管（長さ：約 85 mm、内径約 13 mm）内で連結させ、この試験管を遠心分離することにより抽出液をガラスインサートにろ取して、LC/LIT-MSⁿ 用の分析試料溶液を得た [Fig. 4.1(b)]。

(a)



(b)

Cutting off one side tip of the glass capillary tube

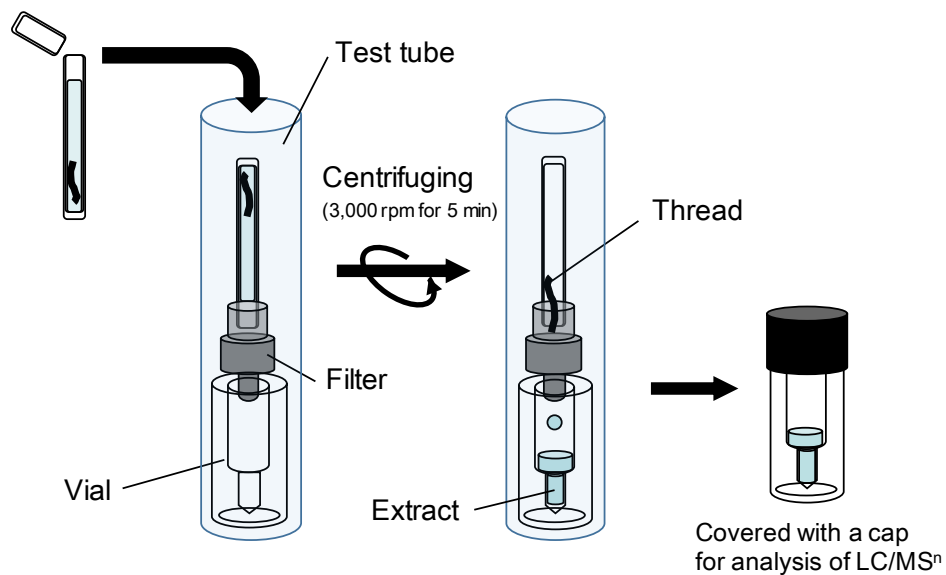


Fig. 4.1 (a) Extraction procedure of dyes from a colored polyester fiber.

(b) Sample preparation for LC/LIT-MSⁿ.

4.2.2.2 装置及び分析条件

LC/LIT-MSⁿ の装置は、島津製作所社製高速液体クロマトグラフ(Prominence UFLC)を接続した、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製 LXQ を用いた。カラムは化学物質評価研究機構製 L-column 2 ODS (内径 1.5 mm×長さ 150 mm、粒子径 5 µm) を装着した。移動相には A : 5%メタノール溶液 (10 mM 酢酸アンモニウム含有) と B : 95%メタノール溶液 (10mM 酢酸アンモニウム含有) の A : B=40 : 60 から A : B=0 : 100 へ 15 分で直線的に変化させ、10 分間保持させるグラジエント分析を採用した。流速は 0.2 ml/min.でカラム温度は 40℃に設定した。DAD による測定波長領域は、380-760 nm とした。試料溶液は、0.45 µm のフィルターを通したもの 5 µl を注入した。質量分析のイオン化法はエレクトロスプレーイオン化 (ESI) のポジティブモードとして、エレクトロスプレー電圧は 5 kV、コリジョンガスはヘリウムを用いて、相対コリジョンエネルギーは 45%とした。キャピラリー温度は 275℃とし、シースガス流量は 25 units とした。MSⁿ 取得のアクティベーションタイムは 30 ms でその際のアイソレーションウィズスは 4 Da に設定した。質量分析は、「data-dependent MS3 method」⁴⁾を用いて行った。

4.2.2.3 染色染料の特定と試料間異同識別の判断基準

黒色手袋の構成繊維である黒色ポリエステル繊維に使用されている染料を特定するために、糸から染料を抽出した。得られた抽出液を既報に従い LC/LIT-MSⁿ で分析し⁴⁾、構築した染料データベースを用いて染料種を特定した⁵⁾。なお、一試料から複数の染料が検出された場合、最大強度を示す染料のプロトン化分子 ($[M + H]^+$) の選択イオンクロマトグラムのピーク面積を基準として、相対的なピーク面積の強度比 10%以上のピークの染料を検出された染料と判断した。また、データベースに登録がない染料種については随時登録し、C.I.name 不明のものに関しては、“Unknown [Basepeak ion (m/z)、

$\lambda_{\max}(\text{nm})]$ ”として登録した。50 試料間の識別について、各試料から検出された染色分散染料を指標にした異同識別は、検出された分散染料種が同じであれば差異は認められないとし、染料種が異なれば差異が認められるとした。

4.2.3 MSP による識別

4.2.3.1 装置及び分析条件

MSP による紫外部・可視部吸収スペクトルの測定には、J&M 社製顕微分光システム（測定方法：透過法）を用いた。測定波長範囲は 320-780 nm、測定ステップ数は 1 nm、封入剤は Immersion Glycerin (Carl Zeiss Co. Ltd., Germany)とし、スライドガラスとカバーガラスはガラス製のものを使用した。なお、各試料から 5 点の単繊維を任意に採取して分析し、得られたスペクトルを基に変動範囲を決定した。得られたスペクトルは平滑化処理（20 ポイント、多項式次数 3）を行い、1 次微分曲線に変換（アルゴリズム：Savitzky Golay）して変曲点の確認に利用した。

4.2.3.2 MSP による異同識別の判断基準

2 つの試料（単繊維）間の異同識別は、以下のとおりとした。

(1) 差異が認められない。

試料間でスペクトル形状が類似〔極大、極小ピーク、変曲点位置の波長（5 回測定の平均値）の差が 5 nm 以内〕しており、かつスペクトルの変動範囲が重なる。

(2) 差異が認められる。

試料間でスペクトル形状が異なる。又は形状が酷似していてもスペクトルの変動範囲が相互に重ならない。

4.3 結果と考察

4.3.1 分散染料の検出と染料種組み合わせによる識別

Table 4.1 で示す 50 種の手袋のうち 33 種の手袋が短繊維ポリエステル素材 (staple type) であり、接触などにより脱落しやすいポリエステル生地であった。各試料 (繊維) から検出された分散染料を Table 4.2 に示す。収集した黒色ポリエステル製手袋の染色に 30 種類の分散染料が (9 種は C.I.name 不明) 使用されていた。単一分子の黒色染料は確認されず、各製品からは平均で約 5 種類の分散染料が検出され、少ないもので 2 種類、多いもので 8 種の分散染料が検出された。また、Disperse Violet 93:1、Disperse Orange 288、Disperse Blue 291:1 及び Unknown (basepeak ion (m/z) = 489、 $\lambda_{\max}$: 590 nm) (Disperse Blue 291:1 の Br を Cl に置換したものと推定) の 4 種の分散染料が高い頻度で使用されており、39~42 点の手袋に使用されていた。以上の結果から、今回収集した市販黒色ポリエステル繊維製品は、単色の分散染料を多種混合させることで黒色を発色させ、ポリエステル繊維に染着させていることが明らかとなった。

Table 4.2 に示すように、今回収集した手袋 50 点の中には、同種製品 (同一メーカーで同一商標の製品) の組み合わせが 5 組存在していた。このうち同じ染料種が使用されていたものは、2 組存在 (A と C) しており、いずれも収集時期が同じものであった。対照的に、使用染料が異なる組み合わせが 3 組 (B、D、E) 存在していたが、いずれも製造時期、製造ロットの違いによるものと考えられ、対照試料として収集する際には注意が必要である。また、上記に示すように高い頻度で使用されていた 4 種の分散染料は、国内製造の手袋 (No.32-35) には使用されない傾向にあり、検出染料種による製造メーカーの推定の可能性を示唆する結果が得られた。

手袋 50 試料から 2 種類を選んで比較する組み合わせの数は、 ${}_{50}C_2=1225$ 通り存在する。染料種の組み合わせを指標にして比較した場合、1195 組が識別可能であり、30 組が識別困難 (識別率: 97.6%) であった。

Table 4.2 Analytical results of Disperse dyes in black gloves by LC/LIT-MSⁿ

No.	Same products	Disperse Dyes / C.I.name ^{a)} , m/z ^{b)} , $\lambda_{\max}$ ^{c)}														
		–	Or 288 ^{a)}	V 93:1	B 291:1	R 167:1	Or 30	V 93	Or 76	–	R 145	R 73	Or 29	Or 61	B 291	Or 25
		489 ^{b)}	386	435	533	506	450	479	392	581	381	349	378	480	509	324
		590 ^{c)}	450	560	590	505	415	560	430	565	540	515	415	430	605	470
1		○	○		○	○	○									
2		○	○	○	○		○				○					
3		○	○	○	○					○						
4		○	○	○	○											
5		○	○	○	○					○		○				
6		○	○	○	○	○	○		○		○					
7		○	○		○	○	○	○								
8	A	○	○	○												
9	A	○	○	○												
10	B	○	○	○	○			○								
11	B	○		○	○			○	○			○				
12	C	○	○	○	○											
13	C	○	○	○	○											
14	D	○	○	○	○											
15	D	○	○	○	○											
16		○	○	○												
17		○	○	○	○			○								
18		○	○	○	○	○	○		○							
19					○	○	○	○					○			
20		○	○	○	○	○	○		○							
21	E	○	○	○	○	○	○	○								
22	E	○	○	○	○	○							○			
23		○		○	○		○		○							
24		○	○	○	○											
25		○	○	○	○											
26		○	○	○	○			○								
27		○	○	○	○							○				
28								○	○			○			○	
29		○	○	○	○							○	○			
30					○			○						○		○
31		○	○		○	○	○	○	○							
32								○	○						○	
33								○	○						○	
34																
35									○							
36		○	○	○	○	○	○									
37		○	○	○	○	○	○									
38		○	○	○	○	○		○								
39		○	○	○	○	○	○									
40		○	○	○	○	○	○									
41		○	○	○	○	○	○									
42		○	○	○	○	○	○	○								
43		○	○	○	○	○			○							
44		○	○	○	○						○					
45		○	○	○	○				○	○						
46		○	○	○	○									○		
47		○	○	○		○	○		○							
48		○	○	○							○					
49		○	○	○							○					○
50			○		○			○								
Total		42	41	39	39	18	17	15	8	6	5	4	4	4	3	2

a) Chemical index name、V : Violet、Or : Orange、B : Blue、R : Red、- : Unknown

b) Basepeak ion (m/z) corresponding to the peak for dyec) $\lambda_{\max}$ in the Visible signal monitored by DAD

Table 4.2 Continued

No.	Same products																total/ used dyes
		B 79:1	R 54	Or 73	Y 54	Y 126	R 343	Or 31	R 60	-	-	-	-	-	-	-	
		625	416	444	290	429	411	382	332	347	329	383	390	405	415	529	
		565	465	455	440	440	525	450	515	600	625	455	470	450	435	425	
1																	6
2																	6
3																	5
4								O									5
5																	6
6																	8
7																	6
8	A																3
9	A																3
10	B					O											6
11	B																6
12	C																4
13	C																4
14	D													O			5
15	D																4
16																	3
17		O															6
18																	7
19		O															6
20																	7
21	E																7
22	E																6
23															O		6
24																	4
25																	4
26																	5
27																	5
28			O														5
29																	6
30																	4
31																	7
32			O				O									O	5
33				O													5
34											O		O				2
35												O					2
36																	6
37																	6
38																	6
39																	6
40																	6
41																	6
42																	6
43					O												7
44																	5
45									O								7
46																	5
47										O							7
48																	4
49																	5
50																	3
Total		2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

4.3.2 顕微分光分析及び分散染料の組み合わせによる異同識別

本研究で収集した 50 種の手袋の構成繊維である黒色ポリエステル単繊維の吸収スペクトルを MSP で測定したところ、ほとんどが吸収極大を 2 つ有するタイプ (48 試料) であり、2 試料 (No. 34、47) が吸収極大を 3 つ有する吸収スペクトルのタイプであった。

2・4・2 項で示す基準をもとに、試料間の吸収スペクトルを比較したところ、Table 4.3 に示すように 1225 組 ($_{50}C_2$) の組み合わせのうち 1175 組がスペクトルに差異が認められたことから識別可能と判断され、50 組が識別困難 (識別率 : 95.9%) であった。

[illegible]

この MSP による識別に LC/LIT-MSⁿ による識別を組み合わせることにより識別困難な組み合わせの数は 50 組から 10 組へと減少し、識別率の向上 (99.2%) が認められた。これは、黒色染料のように各種色調の染料を混合させたものの場合、様々な $\lambda_{\max}$ を有する染料の混合比がスペクトルに反映される MSP を、混合された各分散染料種を個別に明らかにする LC/LIT-MSⁿ で補完することにより、識別能力の向上が達成されたものと考えられた。

MSP で同様の吸収スペクトルを示した試料が、LC/LIT-MSⁿ 法で識別可能となった 2 例を以下に示す。最初の例は、染料の分子構造における置換基の違いが LC/LIT-MSⁿ で明らかされたものである。サンプル No.1 と No.40 からは、ほぼ重なる吸収スペクトルが得られている [Fig. 4.2 (a)]。これらスペクトルを 1 次微分曲線に変換して変曲点などを確認しても相違は認められなかった [Fig. 4.2 (b)]。これら No.1 と No.40 の構成系から染料を抽出して LC/LIT-MSⁿ で分析した結果を Fig. 4.3 に示す。各試料とも 6 種の分散染料が使用されており、そのうちの 1 種のみが明らかに異なっていた。異なる染料は Violet 93 と Violet 93:1 であり、置換基 (塩素と臭素) の相違はあるものの染料分子の基本骨格は同じである。よって、極大吸収波長はともに同様な値 (560 nm) を示し、MSP に相違が現れなかったものと考えられた。また、Fig. 4.3 (a1、a2) の DAD クロマトグラムで示すように、Blue 291:1 と Unknown (m/z 489、 $\lambda_{\max}$: 590 nm) との強度比が No.1 と No.40 では明らかに逆転していたが、いずれも極大吸収波長は同じ 590 nm であることから MSP に反映されなかったものと考えられた。

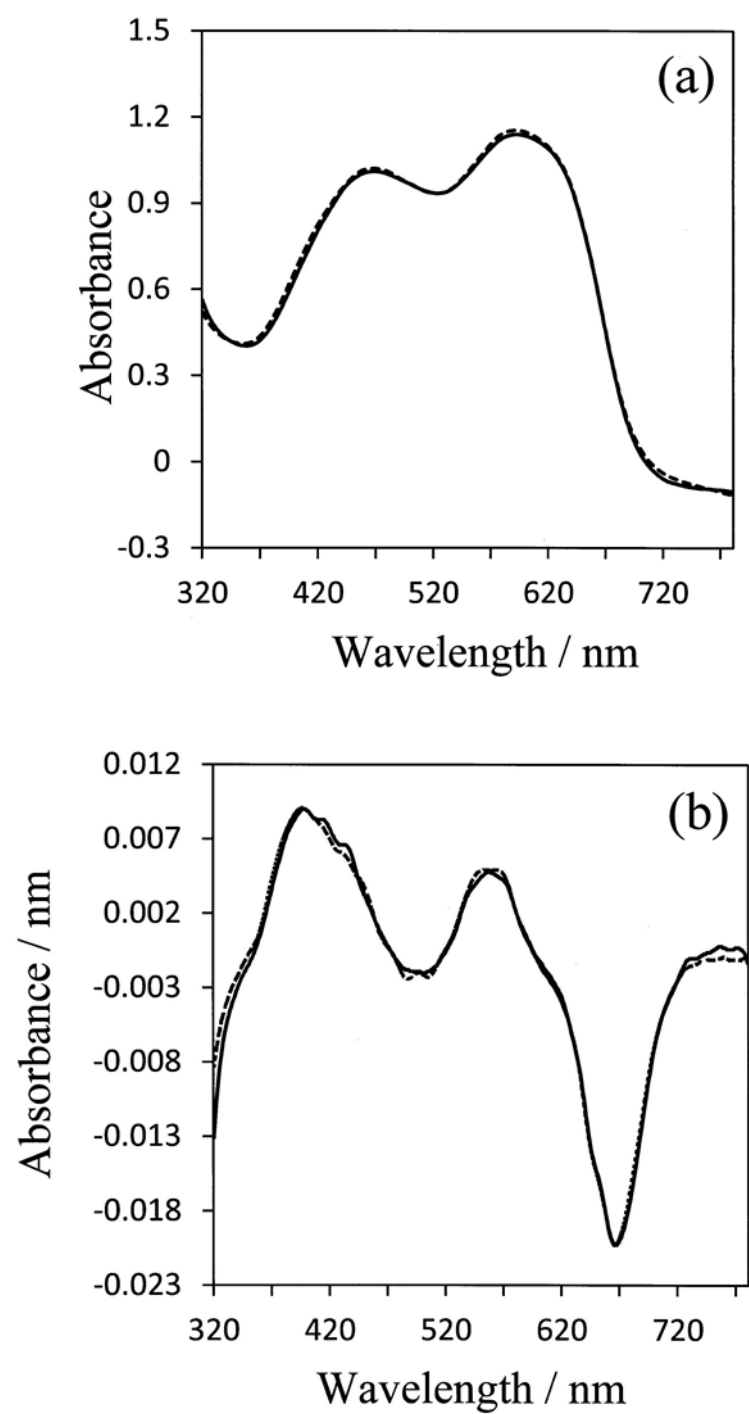


Fig. 4.2 (a) Absorbance spectra of black single polyester fibers measured on MSP, sample No.1 (Solid line) and No.40 (Dotted line). (b) First derivative spectra associated with (a).

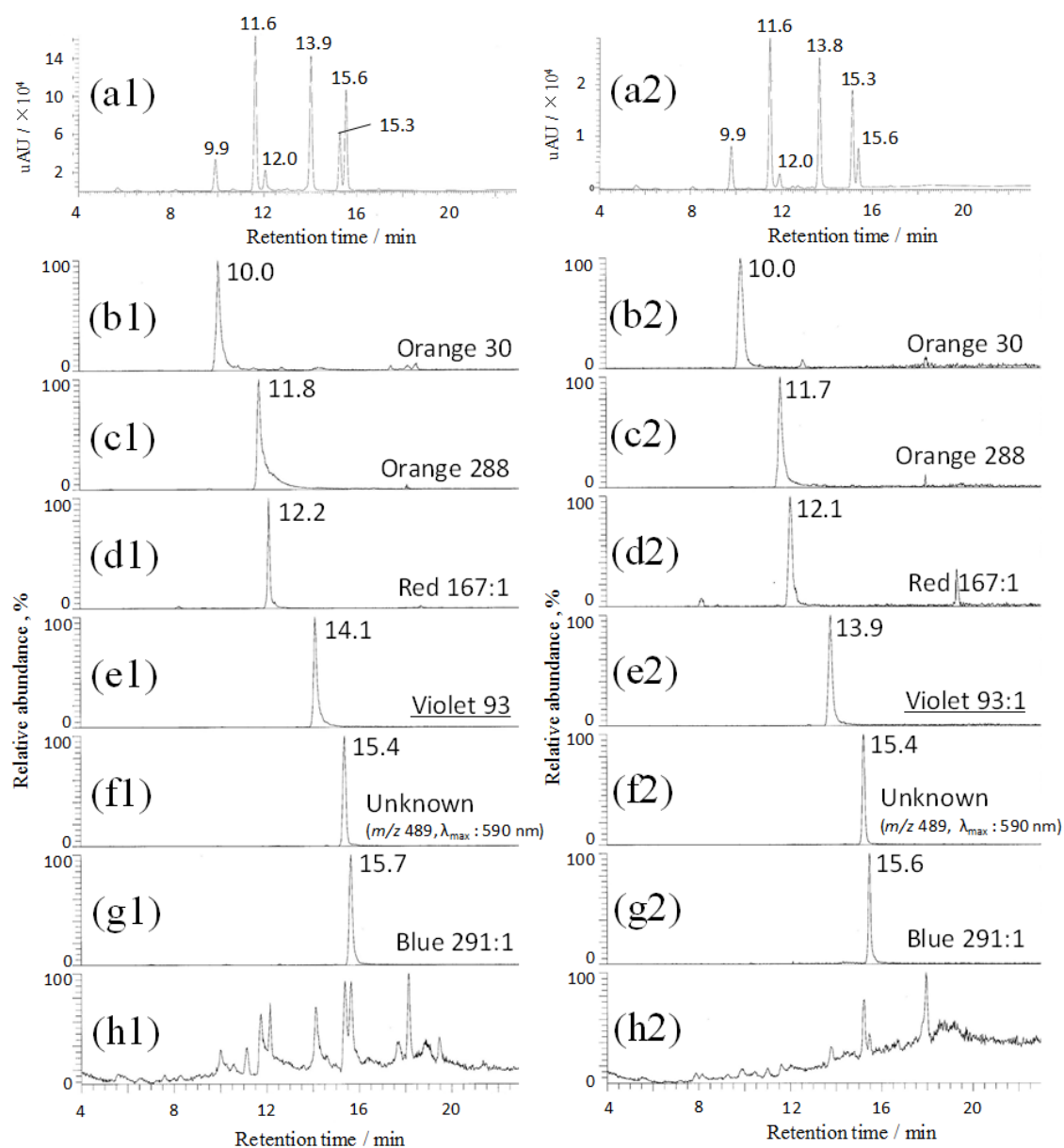


Fig. 4.3 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Dyes extracted from a polyester thread in the sample No.1 (a1~h1), in the sample No.40 (a2~h2). Visible signal monitored by DAD (a1, a2), total ion chromatogram (h1, h2), and extracted ion chromatogram for m/z 450 (b1, b2), m/z 386 (c1, c2), m/z 506 (d1, d2), m/z 479 (e1), m/z 435 (e2), m/z 489 (f1, f2), m/z 533 (g1, g2).

次の例は、MSP に反映されにくい少量含有される染料の相違が LC/LIT-MSⁿ で明らかされたものである。サンプル No.37 と No.46 からはほぼ重なる吸収スペクトルが得られている[Fig. 4.4 (a)]。これらスペクトルを 1 次微分曲線に変換して変曲点などを確認しても有意な差は認められなかった[Fig. 4.4 (b)]。各試料の構成糸からの染料抽出物を LC/LIT-MSⁿ で分析した結果を Fig. 4.5 に示す。各試料とも 4 種の分散染料[Orange 288、 Violet 93:1、 Blue 291:1、 Unknown (m/z 489、 $\lambda_{\max}$: 590 nm)]が共通する主成分染料として検出[Fig. 4.5 (b1~e1、 b2~e2)]されており、450、560、590 nm の極大吸収を有する染料で主成分をなしていることから MSP は同様なスペクトルを示すことが予想される。しかし、Fig. 4.5 (f1~h1、 f2~h2)に示すように、各試料に少量含有される成分として、No.37 が Orange 30 と Red 167:1 を、No.46 が Orange 61 をそれぞれ含有しており、これらの染料成分の相違により 2 つの試料が異なる黒色染色ポリエステル繊維であると明瞭に判断される。

紫外領域は染料などに由来する情報が現れるがゆえに識別に有効であり、その重要性について報告されている¹⁵⁾。また、近年海外のガイドラインにおいて MSP の紫外可視領域測定を明示している¹⁶⁾。しかし、黒色ポリエステル繊維では、上記で述べたとおり 240-310 nm に現れるテレフタルレートの芳香環に由来する吸収により識別に有効な紫外領域の情報が得られない上に、黒色が多種染料の混合物であること、更に黒色は透過率の悪い濃色であることが MSP による識別を困難にしている要因と考えられた。

また、黒色ポリエステル繊維間の識別を効果的かつ精度よく行うためにも、初めに MSP で識別を試み、同様のスペクトルが得られた場合には、LC/LIT-MSⁿ で検出された分散染料種を定性的に確認することにより黒色ポリエステル繊維間の識別能力は向上し、高度な異同識別が可能になるものと考えられた。

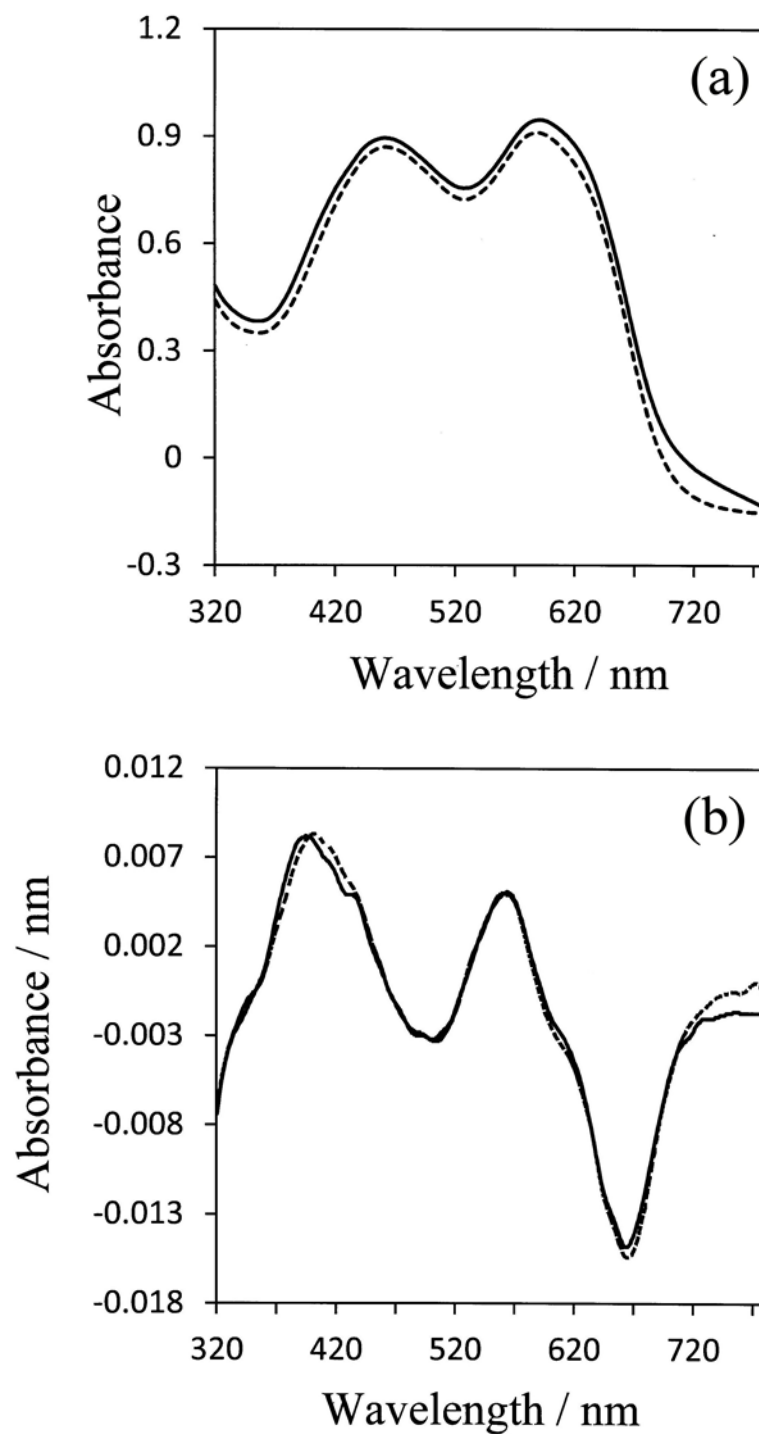


Fig. 4.4 (a) Absorbance spectra of black single polyester fibers measured on MSP, sample No.37 (Solid line) and No.46 (Dotted line). (b) First derivative spectra associated with (a).

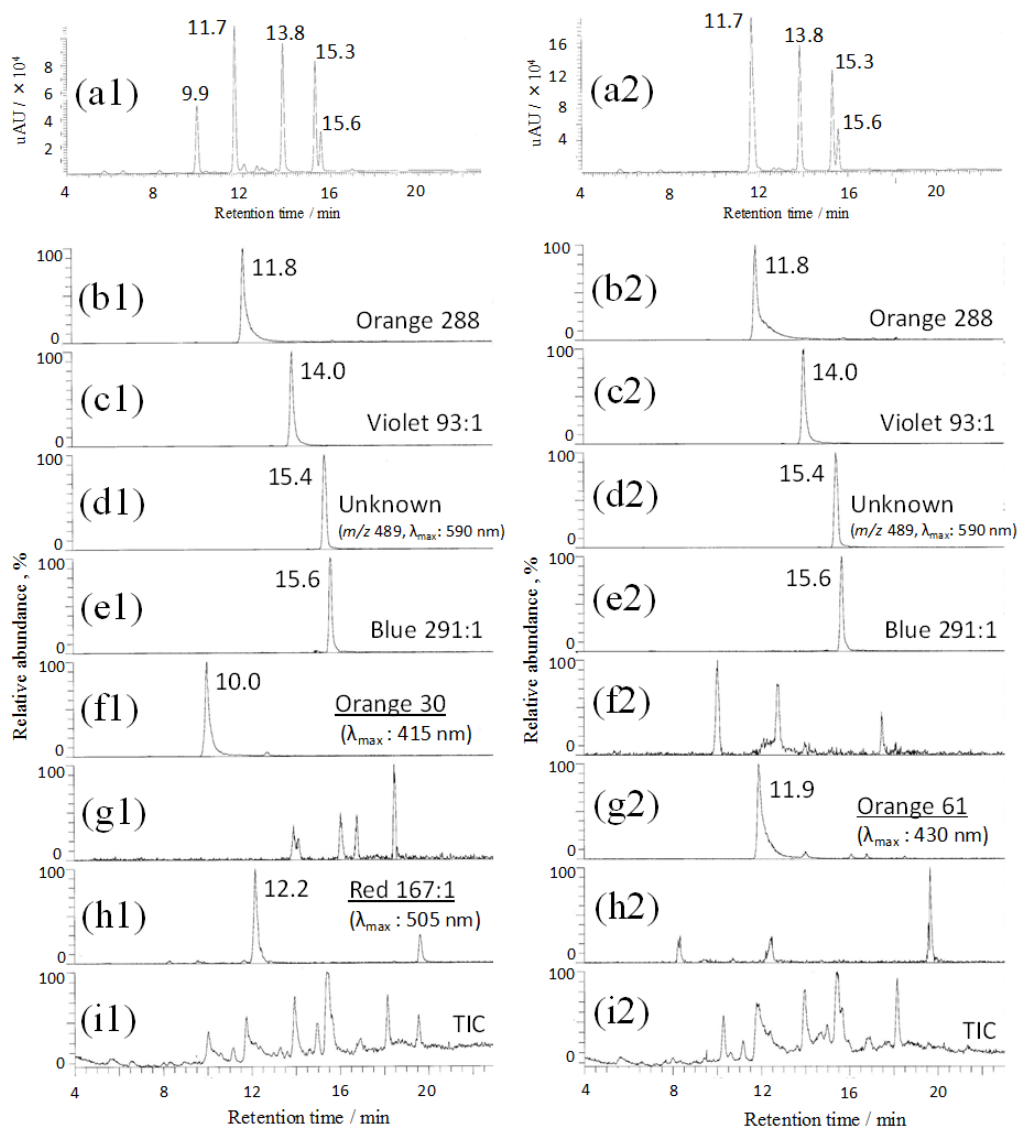


Fig. 4.5 LC/LIT-MSⁿ data for Disperse Dyes extracted from a polyester thread in the sample No.37 (a1~h1), in the sample No.46 (a2~h2). Visible signal monitored by DAD (a1, a2), total ion chromatogram (i1, i2), and extracted ion chromatogram for m/z 386 (b1, b2), m/z 435 (c1, c2), m/z 489 (d1, d2), m/z 533 (e1, e2), m/z 450 (f1, f2), m/z 480 (g1, g2), m/z 506 (h1, h2).

4.4 小括

市販の黒色ポリエステル繊維製の手袋 50 種を収集して、我々が報告した LC/LIT-MSⁿ による染料分析法を用いて、各黒色ポリエステル繊維に使用されている分散染料の種類を調査した。その結果、30 種の分散染料が検出され、一製品からは平均で約 5 種類の染料を組み合わせで黒色を発色させていた。

単繊維の色調評価法として非破壊検査法である MSP で比較した場合、50 種類の試料に対する 1225 通りの組み合わせのうち、1175 組が識別可能、50 組が識別困難（識別率：95.9%）であったが、更に LC/LIT-MSⁿ による染料特定法を組み合わせることにより、識別困難な組み合わせは 10 組に減少し識別精度の向上（識別率：99.2%）が認められた。従って、混合染料の組成を簡易に反映する MSP による検査の後、本手法（染料特定法）を組み合わせることが黒色ポリエステル繊維の識別法として有効であることが明らかとなった。

参考文献

- 1) 公益社団法人日本化学会編：“化学便覧 応用化学編”，第7版，p.1176(2014)，(丸善出版株式会社)。
- 2) 江崎正直：“色材の小百科 染料から機能性色素まで”，p. 70 (1998)，(工業調査会)。
- 3) 吉村壽次：“化学辞典”，第2版，p. 1266 (2012)，森北出版株式会社。
- 4) T. Kato, T. Ikeue, Y. Suzuki, M. Handa : *Anal. Sci.*, **32**, 147 (2016).
- 5) T. Kato, Y. Suzuki, M. Handa, *Anal. Sci.*, in press.
- 6) S. Suzuki, Y. Higashikawa, Y. Suzuki, Y. Marumo, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **46**, 177 (1993).
- 7) S. Suzuki, Y. Marumo, F. P. Adolf, *Ann. Rep. Nat. Res. Inst. Police Sci.*, **47**, 39 (1994).
- 8) S. Suzuki, Y. Suzuki, H. Ohta, R. Sugita, Y. Marumo, *Sci. & Justice*, **41**, 107 (2001).
- 9) M. C. Grieve, T. W. Biermann, M. Davignon, *Sci. & Justice*, **41**, 245 (2001).
- 10) M. C. Grieve, T. W. Biermann, M. Davignon, *Sci. & Justice*, **43**, 5 (2003).
- 11) K. Wiggins, R. Palmer, W. Hutchinson, P. Drummond, *Sci. & Justice*, **47**, 9 (2007).
- 12) T. W. Biermann, *Sci. & Justice*, **47**, 68 (2007).
- 13) R. Palmer, W. Hutchinson, *Sci. & Justice*, **49**, 12 (2009).
- 14) S. Suzuki, Y. Suzuki, R. Sugita, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, **15**, 159 (2010).
- 15) K. D. Wael, K. V. Dijk, F. Gason, *Sci. & Justice*, **55**, 422 (2015).
- 16) “Ultraviolet-Visible Spectroscopy of Textile Fibers Chapter 2011 Update”, SWGMAT, available from <http://www.swgmat.org/#!/fiber/c14e3> , (accessed 2016-5-7).

第5章 総括

繊維片は、科学捜査において重要な証拠物件の一つであり、なかでもポリエステル繊維は衣料品をはじめ多くの製品に使用されており、犯罪に関する微細証拠物件として鑑定対象となることが考えられる。ポリエステル繊維生産量の増加に伴い分散染料も多種の分子構造を有する染料が合成され、染色に用いられていることが推測された。

実際の鑑定において、繊維間の色調を比較する手段として顕微分光分析法が世界的に取り入れられており、分析により得られた紫外・可視吸収スペクトルの形状を比較して異同を判断する。しかし、ポリエステル繊維の場合、テレフタル酸部位に基づく強い吸収により、識別に有益とされる紫外領域の情報が期待できないという問題点がある。本研究はこのような分光法の問題点に対して、ポリエステル繊維から分散染料を抽出し、LC/LIT-MSⁿにより染料種を特定する手法を考案し、高度な識別法の開発を目的として研究を行い、以下の（１）～（３）の結果を得ることができた。

（１）第２章

53種の分散染料が移動相として酢酸アンモニウムのメタノール溶液と酢酸アンモニウムの水溶液のグラジエント分析によりいずれもプロトン付加イオン $[M + H]^+$ としてイオン化することが判明した。また、53種の分散染料は、完全なLC分離を達成できなかったが、装置の機能の一つである「Dependent scan」により50種のものがMSⁿを取得し、自動検出された。得られた保持時間、MSⁿ、DADデータの複数のファクターにより、信頼性の高い分散染料データベースが構築され、未知試料の自動特定が可能となった。

（２）第３章

ポリエステル繊維からの染色染料の抽出法を考案し、第２章で構築したデータベースによる検出を試みた。染料抽出は、DMFが今回検討したものの中で最良の溶媒であり、

ガラス製細管の中での加熱抽出により効率よく分散染料は抽出された。抽出された分散染料はいずれも $[M+H]^+$ として検出され、保持時間など標準染料のデータと酷似したものが得られた。よって、前章で構築のデータベースによる検出は可能となり、長さ 5 mm のポリエステル繊維片からでも染色染料は特定された。

(3) 第4章

第2、3章で検討したポリエステル繊維からの染料抽出法及び LC/LIT-MSⁿ を用いた分散染料分析、特定法により、市販の黒色ポリエステル繊維製品（黒色手袋）50 種に染色されている分散染料の種類を調査したところ、30 種類の分散染料が確認され、一製品からは少ないもので2種、多いもので8種の分散染料が混合物として検出された。検出された染料種の組み合わせを指標にして、50 試料間の異同識別を行ったところ 97.6% の組み合わせにおいて識別が可能であった。単繊維の色調評価法として非破壊検査法である顕微分光分析（MSP）により同様に 50 種の黒色ポリエステル繊維を識別したところ、その識別率は 95.9%であったが、更に LC/LIT-MSⁿ による染料分析法を組み合わせることにより、その識別率は 99.2%を示し識別精度は著しく向上した。

以上本研究により、濃色ポリエステル繊維の MSP に問題のあった識別力は、今回開発した染料特定法を併用することにより識別能力の向上が認められた。また、資料間の異同識別の精度向上だけでなく、対照資料がなくとも繊維片から染色染料を特定することにより、本来の繊維製品及び製品メーカーの推定など捜査支援が期待される。

本研究に関する発表論文

1. Analysis of Disperse Dyes Using Liquid Chromatography/Linear Ion Trap Mass Spectrometry (LC/LIT-MSⁿ) and Database Construction. T. Kato, T. Ikeue, Y. Suzuki, and M. Handa, *Anal. Sci.*, 2016, **32**, 147-152.
2. Extraction and Analysis of Disperse Dyes from Colored Polyester Single Fibers Using Liquid Chromatography/Linear Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. T. Kato, Y. Suzuki, and M. Handa, *Anal. Sci.*, 2016, **32**, 1019-1022.
3. Analysis and discrimination of disperse dyes extracted from black polyester fibers. T. Kato, Y. Suzuki, and M. Handa, *Bunseki Kagaku*, 2017, **66**, 39-48.
4. Discrimination of White Cotton Fiber by the Detection of Residual Surfactants in fibers. T. Kato, M. Hasegawa, and M. Kagawa, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, 2011, **16**, 29-42.

謝 辞

本論文作成に関して、終始御懇切なる御指導と御鞭撻を賜りました島根大学大学院総合理工学研究科 半田 真 教授に深く感謝の意を表します。また、研究内容、論文の構成など貴重な御助言をくださいました科学警察研究所化学第三研究室 鈴木康弘 室長に心より感謝申し上げます。

本研究を始めるにあたり助言を頂きました島根大学大学院総合理工学研究科 池上崇久 准教授に感謝申し上げます。

染料試料の提供とともに、染料に関する貴重な助言をいただきました紀和化学工業株式会社 染料事業部 技術開発部 部長 大浦 正氏に御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、種々の御協力をいただきました島根県警察本部刑事部科学捜査研究所 吉田弘行所長をはじめ、研究所の皆様にご心より御礼申し上げます。

本研究に取り掛かるきっかけを与えてくださいました元島根県警察本部刑事部科学捜査研究所長 香川昌人氏、適切な助言を頂きました島根県警察本部刑事部科学捜査研究所 長谷川正紀 科長、研究を遂行する上で様々な支援をいただきました吉田守 研究員、堀睦未 研究員に深謝いたします。

最後に、影ながら支えてくれた妻、協力をしてくれた子供達に感謝します。