

# 多醯胺色層析法應用在法醫毒物鑑識上之研究

法醫學教授 葉昭渠

## 一、緒言

一般在法醫裁判化學領域之毒物分析上所要求的目標就是要簡便，迅速，有正確性。從來雖在法醫毒物分析上已有各種優秀的方法，但對節約毒物分析之時間、經費、勞力及試料等而言，都不能認為是很理想的方法。而且毒物證明之際，僅使用某一種方法即斷定有無毒物之存在，實有其危險性，必需要使用數種方法分析結果，綜合研判後而決定，始有正確性。最近 Chromatography 法導入於毒物分析領域內以來在犯罪搜查之迅速化，分析之簡便化皆有甚大的改善，且在毒物分析結果之正確性有甚多的貢獻。

Chromatography 法中之 Paper chromatography 法利用於法醫毒物分析以來，甚受斯界之歡迎，其後 Machata<sup>①</sup> 及 Bäumlner<sup>②</sup> 等立證 Thin layer chromatography 法在法醫中毒學之應用上有實用性以來該法甚受重視。因 Thin layer chromatography 法，不僅分析時間短少，且可選擇各種展層液，且毒物檢出之際可使用在 Paper chromatography 法不能使用之試藥，尤其是對有機性毒物特別有極優秀的分離能力，實為重要的方法。

Thin layer chromatography 法係由 Demole<sup>③</sup> 報告而由 Reitsema<sup>④</sup>，Fiori<sup>⑤</sup> 等改良後使用於各種藥物之分離確認之方法。其後 Machata, Cochin & Daly<sup>⑥</sup>，Sato<sup>⑦</sup> 等應用矽膠層色層分析法 (Silica-Gel thin layer chromatography) 分離鑑別數種毒物結果得到良好的成績。最近 Wang<sup>⑧</sup> 等創造多醯胺層色層分析法 (Polyamide thin-layer chromatography) 分離鑑別油類及數種藥物結果，證實為有用之方法。後經台北醫學院藥學系作一連串之各種藥物之分離研究，均得到良好之結果。因此余將該法導入於毒物分析領域內，已作了數種有機性毒物之分離鑑識之實驗，其結果如下，亦均得到良好的成績。

## 二、多醯胺層之製備

### I. 多醯胺層 (Polyamide layer) 之製備

依照 K.T. Wang 等之作成法而製備之。即得 20 gm 多醯胺 (Polyamide) 溶於 75% 100 ml 蟻酸，取此溶液 15ml 均勻塗佈於 15 × 10 cm 之平板玻璃片上，陰乾至蟻酸臭味消失為止，後在 90°C 烘乾。

### II. 緩衝液處理之薄層 (Buffer treated layer) 之製備。

已製備之 Polyamide layer 噴灑 pH. 10.6 之碳酸鈉硼酸鹽緩衝液而乾燥之。

## 三、分離鑑識巴比妥酸類之實驗

### I. 前言

隨文化生活之向上，安眠藥之使用益增加，致安眠藥中毒者有逐次增多之傾向。安眠藥中毒



因自殺所致者占大部份。但有因為強奪財物、強姦等之犯罪手段，將安眠藥投入酒類，治療藥品等而他殺者，有誤用過量而中毒者，亦有因其習慣作用，漸次增加使用量遂陷入慢性中毒者。因此安眠藥在法醫毒物學上為甚重要之藥物。

一般所謂安眠藥，種類甚多。由化學構造可分類為：(1)氯醛衍化物 (Chloral derivative)，(2)溴醛衍化物 (Bromal derivative)，(3)醛重合物 (Aldehydes)，(4)索佛拿衍化物 (Sulphonal derivative) (5)脂肪酸亞氯衍化物 (Fatty acid-Imide derivative)，(6)脂肪酸醯氯衍化物 (Fatty acid-Amide derivative)，(7)尿素衍化溴化物 (Urea derivatived bromide)，(8)尿素衍化物 (Urea derivative)，(9)環己烯衍化物 (Cyclohexan derivative)，(10) 哌啶衍化物 (Piperidine derivative)，(11)巴比妥酸衍化物 (Barbituric acid derivative) 等等。其中因巴比妥酸衍化物中毒者占大部份。據統計，在美國<sup>(9)</sup>於 1940~1945 年間巴比妥酸衍化物中毒者為全藥品中毒總數之  $\frac{1}{6}$ ，且安眠藥中毒者中，由巴比妥酸衍化物所致者占 73%<sup>(10)</sup>，在日本<sup>(11)</sup>自殺用藥物中，安眠藥占過半數，其中巴比妥酸衍化物中毒者占大部份，在台灣<sup>(12)</sup>由巴比妥酸衍化物中毒者占總藥物中毒之約 40%。

要明瞭巴比妥酸衍化物中毒之原因，需由裁判化學的檢出確認巴比妥酸衍化物之種類為主要。巴比妥酸衍化物之分離檢出方法，以前有呈色反應法<sup>(13)(14)(15)(16)</sup>，然該法不能確實鑑別巴比妥酸衍化物之種類，其後雖有螢光分析定性法<sup>(17)</sup>，紫外部吸收分光法<sup>(18)(19)</sup>，赤外部分光法<sup>(20)</sup>，極流測定法等方法<sup>(21)(22)</sup>，但此等方法亦非甚確實之方法，均不能勝過單離結晶法<sup>(23)</sup>。然單離結晶法需要煩雜操作。後雖有 X 光線同析法<sup>(24)</sup>，但因其設備高貴，操作煩雜，亦非一般人能實用者。因此最近案出的 Chromatography 法，一般認為是最適用之方法。

Chromatography 法中，Algi & Walk<sup>(25)</sup>及其他甚多人<sup>(26)(27)</sup>曾利用 Paper chromatography 而鑑別巴比妥酸衍化物，然此法需施行苛酷之處理，且其色彩圖 (Spot) 之確認有困難，其後雖有瓦斯色層分析法 (Gas chromatography)<sup>(28)(29)(30)(31)</sup>出現，但此法亦需要高貴的設備及煩雜的操作等尚未普遍實用。因此最近發明的薄層色層分析法 (Plate chromatography)，因其製法簡單，操作時間及消耗等均較 Paper chromatography 法為少之故，此法一般說來最受歡迎。Machata、Cochin、Satoh 等使用 Silica-Gel thin layer chromatography 分離鑑別巴比妥酸衍化物之種類而得到良好的結果，最近由 Wang 等發明之 Poly-amide thin layer chromatography 法，在分離鑑別油類及其他藥品，均有良好的結果，因此余利用此法來作分離鑑別巴比妥酸衍化物種類之實驗，結果竟能成功地分離鑑別出七種 5.5 取代的巴比妥酸衍化物安眠藥。

## II. 實驗方法

### A. 實驗藥品

1. 本實驗所使用之巴比妥酸衍化物為 Barbital、phenobarbital、Alloborbital、Cyclobarbital、Amobarbital、Pentobarbital、Secobarbital 等七種，即網羅巴比妥酸衍化物之種類，均為台灣市場最普遍販賣的，而且中毒機會最多之安眠藥。

2. Polyamide 為 Toyo-Rayon CM 1001，係 Dr K. Wang 所贈送者。

### B. 多醯胺層之製備

如上述 (二之 I. II.) 之方法製備 Polyamide layer 及 Buffer treated layer。

### C. 展層劑

余認為下列展層劑較為適用。



- No. 1. Chloroform : Ether : Acetic acid ( 8:2:0.05 )  
 No. 2. n-Hexane : Ether : Acetic acid ( 1:1:0.01 )  
 No. 3. Ether : n-Hexane : chloroform : Acetic acid ( 4:2:2:0.05 )  
 No. 4. Cyclohexane : Ether : Acetic acid ( 1:1:0.01 )  
 No. 5. n-Hexane : Butyl alcohol : Acetic acid ( 9:1:0.05 )  
 No. 6. n-Hexane : Butyl alcohol : Acetic acid ( 8:2:0.06 )  
 No. 7. Chloroform : Methyl ethylketon : Acetic acid ( 9:1:0.05 )  
 No. 8. Chloroform單味，此展層劑係展開緩衝液處理的薄層時使用之。

#### D. 展開

被檢物溶於 Methyl alcohol 作成 2% 溶液，取此溶液滴塗於距離多醯胺層底 2 cm 處之起綫上，以上昇法展開，經約 30 分鐘乃至 1 小時，展層劑到達原點之 10 cm 處時，即完成展開。

#### E. 檢視

以如下 4 種呈色液噴灑於已展開之薄層上時，巴比妥酸衍化物即可顯示色彩圖 ( Spot )。

- (1) Cupric sulfate-Pyridine reagent .....即 1 ml 20%  $\text{CuSO}_4$  及 1 ml Pyridine 加水成爲 100 ml。
- (2) Mercurous Nitrate reagent .....即 1%  $\text{HgNO}_3$  溶液。
- (3) Alkalined fluorescein reagent .....即 0.005% Fluorescein 溶於 0.5N NaOH 之溶液。
- (4) Cobalt Nitrate reagent .....即 1% Cobalt Nitrate 之 Methyl alcohol 溶液。

將第(1)種呈色液噴灑時即刻呈現紫色，如在此呈色液乾燥後再噴灑水時則呈色更深，更明顯。噴灑第(2)種呈色液時呈現白色，噴灑第(3)種呈色液時，即必需在短波紫外線下呈現紫色，噴灑第(4)種呈色液後以 Ammonia 氣薰時，即呈現紫色。

#### F. 血液及尿中之巴比妥酸衍化物之採取法。

服用 300 mg Barbitol, 100 mg Phenobarbital, 100 mg Amobarbital, 100 mg Secobarbital 等之人，於服用後 12 小時內之尿予以收集及採取其血液作爲檢體。則所收集之尿以磺酸使爲酸性後以 Ether 抽取巴比妥酸衍化物三次，此 Ether 溶液在通過無水硫酸鈉後蒸發至乾燥，殘渣溶於少量 Methanol 內作爲檢材。將此 Methanol 溶液滴塗於薄層上而展開，呈色。所抽取之血液以 Sodium tungstate 作成蛋白質沉澱後除去蛋白質，其後以處理尿同樣之方法處理，操作而呈色之。

#### III. 實驗結果及討論

上記 7 種巴比妥酸衍化物使用上記 8 種展層劑在 Polyamide layer 展開而得到的 Rf 值如第 1 表。

由此表可見出，藥物作用持續時間較長的巴比妥酸衍化物<sup>(3)</sup>之 Rf 值較小，而藥物作用持續時間較短的巴比妥酸衍化物之 Rf 值較大。此結果與濾紙色層分析法之結果相似。

7 種巴比妥酸衍化物以 No. 1, No. 4, No. 8, 展層劑展開之結果如第 1 圖。

由第 1 表及第 1 圖之 1、2 可見出，使用此種方法可分離鑑別巴比妥酸衍化物之種類，但對於分離鑑別 Amobarbital、Pentobarbital、Secobarbital 等 3 種較爲困難，因爲此等藥物之化學構造極相似，且不能利用持有強烈的氫鍵性質之 Polyamide layer 之特性而分離所致者。然如利用 Buffer treated layer 而以 No. 1 展層劑展開時，即甚容易分離鑑別 Amobarbital、



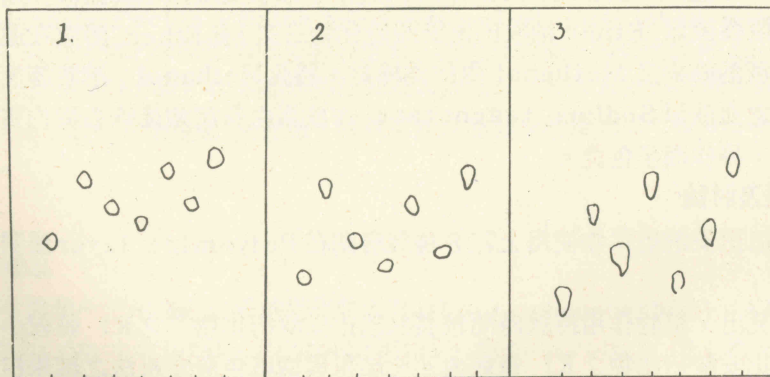
第 1 表

Barbiturate	Solvent Systems							
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8
Allobarbital	0.57	0.43	0.63	0.47	0.35	0.51	0.59	0.37
Amobarbital	0.67	0.56	0.75	0.64	0.54	0.72	0.70	0.56
Barbital	0.52	0.38	0.56	0.39	0.30	0.50	0.52	0.34
Cyclobarbital	0.56	0.39	0.58	0.44	0.35	0.58	0.62	0.45
Pentobarbital	0.68	0.55	0.72	0.61	0.48	0.72	0.67	0.64
Phenobarbital	0.46	0.29	0.47	0.34	0.21	0.39	0.47	0.23
Secobarbital	0.72	0.58	0.73	0.66	0.54	0.70	0.71	0.67

第 2 表

Reagent	Barbiturates						
	Allo-barbital	Amo-barbital	Barbital	Cyclo-barbital	Pento-barbital	Pheno-barbital	Seco-barbital
Cupric Sulfate Pyridine	10 r	20 r	10 r	10 r	20 r	10 r	20 r
Mercurous Nitrate	20 r	20 r	40 r	40 r	20 r	40 r	20 r
Alkalined Fluorescein	10 r	10 r	5 r	10 r	10 r	5 r	10 r

第 1 圖



a b c d e f g

a b c d e f g

a b c d e f g

a : Phenobarbital  
d : Barbital  
g : Secobarbital

b : Amobarbital  
e : Pentobarbital  
f : Cyclobarbital

c : Allobarbital



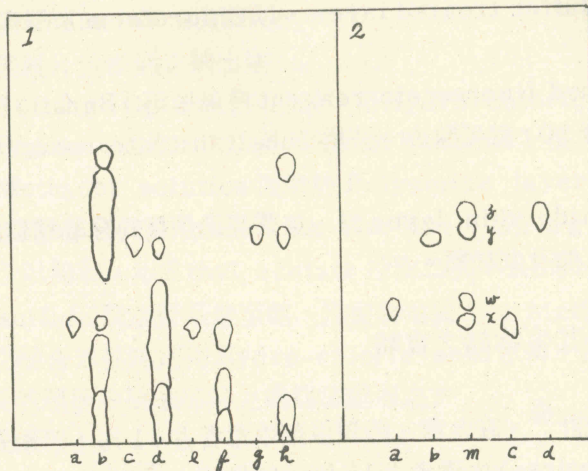
Pentobarbital、Secobarbital 等 3 種 (如第 1 圖之 3)。

鑑別巴比妥酸衍化物之最小需要量經實驗結果, 如第 2 表。

則使用 Cupric Sulfat pyridine reagent 時對巴比妥酸衍化物較為敏感, 且該紫色呈色較為特殊, 使用 Mercurous nitrate reagent 時較不敏感, 且比使用 Silica-Gel thin layer 時較差<sup>(3)</sup>, 使用 Alkalined fluorescein reagent 時為最敏感, 即 Barbital 及 Phenobarbital 有 5 $\gamma$ , 其他巴比妥酸衍化物有 10 $\gamma$  就可以驗出, 使用 Cobalt nitrate reagent 時為最不敏感, 即需要 0.1 mg (100  $\gamma$ ) 之巴比妥酸衍化物始能驗出。

由血液及尿抽出之檢材塗於 Polyamide layer, 以上記展層劑展開結果如第 2 圖。

第二圖



- I : a : Phenobarbital      c : Amobarbital      e : Barbital  
 g : Secobarbital      b : 服用 Phenobarbital 之血液尿抽出液  
 d : 服用 Amobarbital 之血液尿抽出液      f : 服用 Barbital 之血液尿抽出液  
 h : 服用 Secobarbital 之血液尿抽出液
- II : m : Phenobarbital (w), Barbital (x), Amobarbital (y), Secobarbital (z) 之混合液  
 a : 服用 Phenobarbital 之血液抽出液      b : 服用 Amobarbital 之血液抽出液  
 c : 服用 Barbital 之血液抽出液      d : 服用 Secobarbital 之血液抽出液

第 2 圖之 1 之 a 為 Phenobarbital, c 為 Amobarbital, e 為 Barbital, g 為 Secobarbital 等純藥物所展開之 Spot, b 為服用 Phenobarbital, d 為服用 Amobarbital, f 為服用 Barbital, h 為服用 Secobarbital 之人之血液及尿抽出之檢材所展開之 Spot。由此圖可見出, 由血液及尿所抽出之檢材所展開出之 Spot 與純藥物所展開出之 Spot 相一致。

Phenobarbital、Barbital、Amobarbital、Secobarbital 混合液為檢材而以 Polyamide layer 展開之結果如第 2 圖之 m, 其中 w 為 Phenobarbital, x 為 Barbital, y 為 Amobarbital, z 為 Secobarbital 所展開之 Spot, a 為服用 Phenobarbital, b 為服用 Amobarbital, c 為服用 Barbital, d 為服用 Secobarbital 之人之血液及尿所抽出之檢材所展開之 Spot。由此圖亦可見出, 服用巴比妥酸衍化物之人, 由其血液及尿所抽出之檢材所展開之 Spot 與純藥物所展開之 Spot 相一致。

即由血液及尿抽出之檢材以上記展層劑展開時, 其結果與純藥物實驗所得到之結果相同, 而且使用 Polyamide layer chromatography 法鑑別巴比妥酸衍化物時, 與其他方法不同, 無論藥物或血液, 尿中之巴比妥酸衍化物, 均無需經過煩雜的分離手續即能快速於兩小時內予以檢定及鑑別。



**Poly-amide layer chromatography** 法所使用之展層劑係以極性弱的溶劑 ( *n*-Hexane、Chloroform ) 與極性強的溶劑 ( Ether、Ketone ) 混合而構成，且為防止拖尾 ( Tailing ) 之目的，添加少量之醋酸，因此在 Buffer treated layer 展開時，不需要加添醋酸亦能成功。又在此實驗過程中發現，適合於 Paper chromatography 及 Thin layer chromatography 之展層劑為不適合於 Poly-amide layer chromatography。

#### IV. 小 結

(1) 使用 Polyamide thin layer chromatography 法檢驗時能檢定巴比妥酸衍化物，亦能分離鑑別其種類。但 Amobarbital、Pentobarbital、Secobarbital 等 3 種之分離鑑別較為困難，此際如使用 Buffer treated layer，以 Chloroform 展層劑展開時能完全分離鑑別此 3 種。

(2) 使用 Alkalined fluorescein reagent 時最敏感，Barbital 及 Phenobarbital 有  $5\gamma$  其他巴比妥酸衍化物有  $10\gamma$  就可驗出。使用 Cobalt nitrate reagent 時最不敏感，需要  $100\gamma$  以上始能驗出。

(3) 使用 Polyamide thin layer 時，無需經過煩雜的分離精製即能簡單，迅速檢定血液或尿中之巴比妥酸衍化物及其種類。

### 四、分離鑑識鴉片及其生物鹼之實驗

#### I. 前 言

根據最近之中毒統計<sup>(34)</sup>，在台灣，因殺虫劑中毒者占 41%，巴比妥酸衍化物中毒者占 30%，麻醉性藥物 ( Narcotics ) 中毒者占 15%，可見 Narcotics 之中毒者相當多。不僅如此，由於使用 Narcotics 時即致 Euphoria 狀態，使用者就不能忘棄，而且容易造成習慣性，故屢次使用後即陷於習慣性嗜癖致 Narcotics 慢性中毒者多<sup>(35)</sup>，又使用麻醉性藥物之機會較多，對社會之影響較大等等關係，鑑定麻醉性藥物在法醫毒物學上便甚重要。

要明瞭麻醉藥物中毒之原因，追求麻醉藥之來源時，需由裁判化學的檢出確認麻醉性藥物之種類為主要。麻醉性藥物之種類甚多，然事實上，常被使用者為鴉片 ( Opium )，嗎啡 ( Morphine )，海洛英 ( Heroin ) 及可待因 ( Codeins ) 等數種。鑑定 Narcotics 之方法，以前雖然有數種，但是簡單的，快速的，微量的方法仍很少<sup>(36)</sup>。近年使用 Chromatography 法以來被認為是最適用之方法。因此余利用 Poly-amide thin layer chromatography 法作分離鑑別麻醉性藥物之種類之實驗，結果成功地分離鑑別出鴉片及其生物鹼。

使用 Narcotics 後，鴉片成份之罌粟酸 ( Meconic acid ) 均由尿中排出之故，檢定尿中之 Meconic acid 可決定使用鴉片劑之證據，因此在本實驗中更有作由尿中鑑定 Meconic acid 之實驗。又從尿中有無嗎啡之鑑定可判定成癮之人，或未成癮之人，故在本實驗中亦有作一種嗎啡之準確定量分析之實驗研究，一併記述之。

#### II. 實驗方法

##### A. 實驗藥品

Opium、Morphine、Heroin 及 Codeine 均由中國內政部麻醉藥品管理處配給者，Meconic acid 由美國紐約州 Long Island 之 K & K laboratories Inc 購買者。

##### B. 多醯胺層之製備

如上述二之 I 之方法製備 Polyamid layer。

##### C. 展層劑



No. 1. Cyclohexane : Ethyl acetate : n - Propanol : Dimethylamine  
( 30 : 4 : 1 : 0.1 )

No. 2. Water : Absolute ethanol : Dimethylamine ( 88 : 12 : 0.1 )

#### D. 展 開

如上記三之 II 之 D 之方法展開之。展開時間為 1 小時至 1 小時半。

#### E. 檢 視

使用 Iodoplatinate 及 Dragendorff reagent<sup>37</sup> 顯示生物鹼 ( Alkaloids )，Meconic acid 之顯示則將 Chromatogram 先噴灑 Acid ferric chloride solution ( 5 gm Ferric chloride 溶解於 1 N Sulfuric acid 100cc. 中 )，次噴灑 3.7 N Hydrochloric acid solution 及 1 N Mercuric chloride solution。

#### F. 尿中之罌粟酸及鴉片生物鹼之抽出法

(1) 收集吸食 100 mg Opium 之人之尿，用 Hydro-chloric acid 加以氧化後濃縮成爲  $\frac{1}{10}$  量，以同量之 Benzene 抽取，次以蒸發法除去 Benzene，其次用 1 cc. 之 Methanol 溶解殘留物，後以酌量之 Methanol solution 滴塗於 Polyamide layer。

(2) 收集吸食 12 mg Morphine，5 mg Heroine，20 mg Codeine 之人之尿用 Sodium carbonate 予以飽和，以 Ethyl acetate 抽取二次，Ethyl acetate 抽取液以 Anhydrous sodium sulfate 脫水後蒸發至乾，殘留物溶於 1 cc. Methanol，滴塗於 Polyamide layer。尿中之結合形嗎啡則用 Hydro-chloric acid 水解，放於蒸鍋中，在 15 磅壓力下 30 分鐘加溫，以後依照尿中游離嗎啡之處理法處理之。

#### G. 嗎啡之準定量分析

採用對比色彩圖之大小之方法<sup>38</sup>。則為證實 Spot size 與濃度之關係，以許多不同濃度的嗎啡滴塗，顯出 Spot 而比較其 Size。

### III. 結果及討論

第 3 表

	Rf Values		Color of Spot			
	No. 1	No. 2	Dragen - dorff	Iodopla - tinate	Ferric chloride	Mercuric chloride
Meconic Acid	0.00	0.75	--	--	red	red
Morphine	0.13	0.63	Orange	Yellow	blue	blue
Codeine	0.48	0.55	Orange	Violet	yellow	yellow
Heroine	0.75	0.61	Orange	Violet	blue	blue

Time required 2 hrs. in solvent No. 1 and 1.5 hrs. in solvent No. 2

第 3 表為在二種展層劑中，四種麻醉藥物很清楚分離而得到的 Rf 值。此種分離法較 Paper chromatography 法<sup>39</sup>為佳，雖與 Silica thin layer chromatography 法相同，但因 Polyamid 黏於玻璃板較為堅固之故，Polyamide thin layer chromatography 較 Silica thin layer chromatography<sup>40</sup> 容易操作。

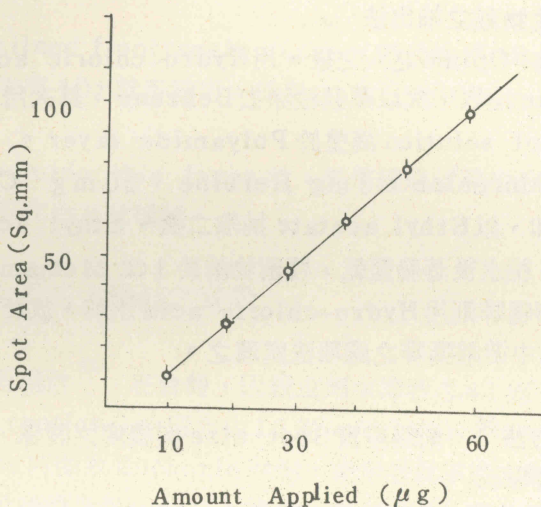
使用 No. 2 展層劑時，特別要注意，除在水盆及密閉之容器內該展層劑之飽和點是十足的以外，在



chromatogram之展開前方常有不規則之展開。使用展層劑No. 2 展開之 Spot size 之大小較使用展層劑No. 1 展開時為大。如滴下樣品之量較大時，Heroin 及 Morphine Spot 之一部份有時可呈重疊現象。又使用展層劑No. 1 展開之時間較使用展層劑 No. 2 展開時之時間為長。

Ferric chloride solution 能使 Meconic acid、Acetic 及 Thiocyanic Ions 變為紅色，但如噴灑 3.7 N Hydro-chloric acid 及 Mercuric chloride solution 後，只有 Meconic acid 不能褪色。Iodoplatinate 及 Dragendorff 反應劑不能使 Meconic acid 呈現色彩。

第3圖



第3圖表示 Spot size 相當於 Morphine 用量  $10 \mu\text{g}$  至  $60 \mu\text{g}$  之範圍之關係綫。因為要得到確實而準確之結果起見，需加以考慮許多實驗之因素。則 Morphine 噴灑第一次 Iodoplatinate 反應劑所呈顯之黃色，很快即消失，因此應噴三次以使得較清楚、較穩定之色彩。樣品應滴塗均一，因 Spot size 在展開時，可變大（25%—150%），因此滴塗時應盡量小而均一為要，最理想的滴塗之大小為約 2—3 mm。滴塗之厚度亦可影響 Spot size，因此在厚度方面應儘可能求其均勻及一致為要。

此方法對尿中之 Morphine、Heroin、Codeine 之試驗敏感度為 50 cc 尿中有  $30 \mu\text{g}$  就可驗出，雖較 Huang's method<sup>(4)</sup> 不敏感，但此方法可以不使用 Frohde's reagent 而可分離 Morphine、Heroin 及 Codeine 之便宜。因 Frohde's reagent 可使 Morphine、Heroin、Codeine 呈現同樣之色彩之故，而難鑑別 Morphine、Heroin 或是 Codeine。

Codeine 在體內有一部份可以轉化成為 Morphine 而由尿排出之故，常難予以鑑別究竟服用 Codeine 或 Morphine，然如使用 Poly-amide layer chromatography 法時，可由不同之 Rf 值及色彩而容易鑑別。

本法至少需要使用  $1 \mu\text{g}$  之 Meconic acid 而鑑別之方法，因此在 50 cc 尿中至少要有  $50 \mu\text{g}$  之 Meconic acid 始能顯出。



## IV 小 結

(1) 應用 Polyamide thin layer chromatography 法之際，使用 No. 1 及 No. 2 之展層劑，而使用 Iodoplatinate, Dragendorff 及 Ferric chloride solution 等反應劑時可分離鑑別 Opium, Morphine, Heroine, Codeine 等四種物質。

(2) 敏感度，50 cc 尿中有 30  $\mu\text{g}$  之 Morphine, Heroine, Codeine, 50 cc 尿中有 50  $\mu\text{g}$  之 Meconic acid 則可驗出。

(3) 利用呈點之大小與所含濃度之多少可以作 Morphine 之定量

## 五、分離鑑識有機磷系農藥之實驗

### I 前 言

一般所謂農藥殺虫劑可分有機氯系農藥，有機汞系農藥，有機磷系農藥，吡啶衍化物，硫氰衍化物等等種類，此等農藥對殺虫方面有甚優秀的效果，但另一方面，對人體亦有強烈的毒性，因此利用此等藥物自殺者甚多，屢被使用為他殺者，亦有不少例因不注意所致中毒者。由上記中毒統計可見，現在在臺灣之藥物中毒者中因農藥殺虫劑所致中毒者占第 1 位。尤其是有機磷系農藥自進口當初即被證實對殺虫方面之效果甚為優異以來，不僅在農業方面，而在一般家庭亦普遍被使用，致有機磷系農藥殺虫劑之生產急激增加，現在市販品有 20 數種之多，隨之有機磷系農藥中毒者益見增加，是故農藥殺虫劑中毒者中，因有機磷系農藥所致中毒者占大部份。因此在法醫學，鑑識化學之分野，有機磷系農藥之證明法甚為重要。

有機磷系農藥之證明法，以前有呈色反應法，分光分析法，酵素化學的方法等方法<sup>(42)(43)</sup>，但因各種有機磷殺虫劑之化學構造甚類似之故，均非為特異性，而各種藥物之識別甚為困難。近年來有紫外線<sup>(44)</sup>或紅外線吸收分光分析法<sup>(45)</sup>，Paper chromatography 法<sup>(46)(47)</sup>，Thin layer chromatography 法<sup>(48)</sup>，Gas chromatography 法<sup>(49)</sup>等方法被試用。在以 Paper chromatography 或 Thin layer chromatography 來決定並鑑別有機磷殺虫劑方面已有 Zweig<sup>(50)</sup>、土井、神田<sup>(51)</sup>等多數學者作過甚多研究與觀察，最近亦有幾位學者以 Formamide impregnated paper<sup>(52)</sup>及 Thin layer chromatography<sup>(53)</sup>來分離有機磷殺虫劑，均認為 Thin layer chromatography 法有特別優秀的分離能力。如上述報告，余等使用 Polyamide thin layer chromatography 法來分離 Opium alkaloids<sup>(54)</sup>，及 Barbituric acid derivative<sup>(55)</sup>等藥物已獲得較良佳之結果，因此余利用這種方法來作分離鑑別有機磷殺虫劑之種類之實驗，結果亦能成功分離鑑別有機磷農藥殺虫劑之種類。

### II. 實驗方法

#### A 實驗藥品

1. 本實驗所使用之有機磷殺虫劑為 2 - Iso-Propoxyphenyl - N - methylcarbamate, Isopropylmethylpyrimidil diethylthiophosphate, O,O-Diethyl-S-2(ethylthio) ethylphosphorodithioate, O-Ethyl-p-nitrophenyl-thiobenzene phosphate, O,O-Dimethyl-S-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-(4H)-ylmethylphosphorodithioate, Phthalimido-methyl-O,O-dimethyl phosphorodithioate, Dimethyl-Para nitro phenylthio phosphate, S-1,2-Bis-(ethoxycarbonyl)-ethyl-O,O-dimethylphosphorodithioate, O,O-Dimethyl-(O-2,4,5-trichlorophenyl) phosphorothioate, S-(p-Chloro phenylthiomethyl)-O,O-diethyl phosphorodithioate, Diethyl-paranitrophenylthiophosphate 等 11 種，均為 FDA



標準的。

2. Polyamide 與前述同。

B. 多醯胺層之製備

如上述二之 I 之方法製成 15×15 cm 之 Polyamide layer。

C. 展層劑

- No. 1. Isopropanol : Water : Formic acid ( 2 : 3 : 1 )
- No. 2. Formaldehyde : Formic acid ( 10 : 1 )
- No. 3. Water : Methanol : Ammonia ( 4 : 5 : 2 )
- No. 4. Acetone : Water : Formamide ( 1 : 2 : 1 )

D. 展開

被檢物 1.0 mcg 溶於 0.01 ml Methanol，如上述以上昇法展開。

E. 檢視

使用 4 種方法顯示之。

- (1) Iodine 蒸氣薰而顯示 ( 碘薰法 )。
- (2) 以 5% Alcoholic potassium hydroxide solution 噴灑而顯示。
- (3) 以 Iodoplatinate reagent<sup>56</sup> 噴灑而顯示。
- (4) 首先以 5% Alcoholic potassium hydroxide solution 噴灑於板上，待乾後以 Iodine 蒸氣薰其板 5 分鐘，再以 Ammonia 蒸氣薰之。

III. 結果及討論

第 4 表

Pesticides	Rf Value Solvent Systems				Color of Spot Vinalization			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	1	2	3	4
2-Iso-Propoxyphenyl-N-Methylcarbamate	0.80	0.77	0.70	0.82	+	Y	-	W
Isopropylmethyl pyrimidil diethylthiophosphate	0.87	0.75	0.45	0.59	+	Y	-	-
O,O-Diethyl-S-2(ethylthio)ethylphosphorodithioate	0.62	0.25	0.30	0.36	+	Y	-	-
O-Ethyl-p-nitrophenyl-thiobenzen phosphate	0.40	0.12	0.10	0.20	+	-	Y	B
O,O-Diethyl-S-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-(4H)-ylmethylphosphorodithioate	0.65	0.48	0.35	0.54	+	Y	-	B
Phthalimido-methyl-O,O-dimethyl phosphorodithioate	0.65	0.45	0.85	0.54	+	Y	-	W
Dimethyl-paranitrophenyl thiophosphate	0.58	0.38	0.25	0.50	+	-	Y	Y
S-1,2-Bis-(ethoxycarbonyl)-ethyl-O,O-dimethylphosphorodithioate	0.77	0.57	0.73	0.68	+	-	-	W
O,O-Dimethyl-(O,-2,4,5-trichlorophenyl)phosphorothioate	0.48	0.14	0.11	0.03	+	-	-	-
S-(P-Chlorophenylthiomethyl)-O,O-diethylphosphorodithioate	0.35	0.09 <sup>t</sup>	0.10 <sup>t</sup>	0.11 <sup>t</sup>	+	Y	-	-
Diethyl-Paranitrophenyl thiophosphate	0.55	0.28	0.16	0.37	+	-	Y	B

+ : positive action to detection reagent      Y : yellow      B : brown spot on yellowish background  
- : negative action detection reagent      W : white      t : Tailing



第4表為在4種層劑中，11種有機磷殺虫劑分離而得到時Rf值及顯示之Spot之色彩。以碘薰法而言，每一種化合物所顯現時界限，大約為0.1 mcg。由此表可見出，利用各種顯示劑之不同時反應亦能分離各種化合物，例如，使用2-iso-propoxyphenyl-N-methyl carbamate，以Alcoholic potassium hydroxide solution噴灑時無法顯出Color spot，但噴灑Iodoplatinate reagent時則呈現黃色Spot，又2-iso-propoxyphenyl-N-methyl-carbamate使用上述顯色法中之(4)法，才能顯現，則該呈現色彩之特徵為在橙黃色的背面上呈現出一白色Spot。

本實驗指出，此法對有機磷殺虫劑之鑑別是甚有用。在處理Chromatogram方面甚是方便，而同時具有甚高的再生性，可塑性。

這種Polyamid layer chromatogram之另一重要特徵，乃是可以直接整理彙集成檔案。

#### IV. 小 結

使用Polyamide thin layer chromatography法之際，利用各種顯示劑之不同的反應，能分離鑑別各種有機磷系殺虫劑。

#### 六、結 論

1. 使用Polyamide layer chromatography而利用各種不同的展層劑及各種不同的顯示劑之反應，可以分離鑑別，巴比妥酸衍化物，鴉片生物鹼，有機磷系殺虫劑等有機性毒物。

2. 本法以利用呈點之大小與濃度，可以作為定量分析。

3. 使用本法時，不需要經過煩雜的分離精製，能簡單檢定毒物，且能迅速，在兩小時內，分離鑑別毒物。

4. 適合於Paper chromatography及Thin layer chromatography之展層劑殆不適合於Polyamide layer chromatography，即使用本法時，需要另撰展層劑。

5. 本法較Paper chromatography為佳，與Silica layer chromatography類同，然Polyamide黏於玻璃板較為堅固之故，Polyamide layer chromatogram之處理比Silica layer chromatogram較方便，其Chromatography之操作亦較容易，同時該chromatogram具有高度的再生性，可塑性。

6. 該Chromatogram有可以直接整理彙集成檔案之便宜。

謝詞：本實驗係蒙台北醫學院藥學系主任徐型堅先生，助教黃建造先生及藥學系教職員各位先生之協力或助言而完成者，在此表示深深的謝意。



## 參考文獻

1. Machata : Biological Abstract. 38,9969,1962
2. Bäumlér : Pharm. Acta Helv. 36,382,1961
3. Demole : J. chromatog. 1,24,1958
4. Reitsema : Anal. chem. 26,960,1954
5. Fiori : Nature. 182,943,1958
6. Cochin & Daly : J. pharmacol therap. 139,154,1963
7. Satoh : 日本法醫學雜誌, 18,(5-6),1964
8. Wang : J. chinese chemical society. 8,24,1961
9. Colbstein : J. Am. pharm. Assoc. 36,6,1947
10. Moor : Am. profess. pharmacist 16,624,1950
11. 城哲男 : 臨床與研究. 28(12),1951
12. 葉昭渠 : 警察學術季刊. 7,(4),1964
13. Zwikksr : 由日本法醫學雜誌. 9,(2),1955引用
14. Turfitt : Quant J. and Yearbook pharm. 21,1,1948
15. Erdmann 等 : 由日本法醫學雜誌 9,(2)1955引用
16. Deschusses 等 : 同上
17. 平岡覺 : 醫學研究. 20(8),1950
18. Lous : Acta pharmacol. toxicol. 6,227,1950
19. Goldbaum : Anal. chem. 24,1604,1952
20. Unberger : Anal. chem. 24,1309,1952
21. Koryta : Chem. Lysty. 46,389,1952
22. Kalvod 等 : Sbornik Mezina rod polarog. 1951
23. 山村醇一 : 科學警察研究所報告, 12(3)1959
24. Tso-Yuch Huaug B. Jersler : Acta pharm. toxicol. 7,227,1951
25. Algi & Walk : Amer. J. clin. path. 22,37,1952
26. Klöcking : Ibid. 19,79,1961
27. Vidic & Goebel : Ibid. 19,85,1961
28. Porker 等 : Analyt. chem. 33,1378,1961
29. Brochmaum-Haussen 等 : J. pharm. Sci. 51,318,1962
30. Nelson 等 : Analyt. chem. 34,899,1962
31. 古德迪等 : 日本法醫學雜誌 19,(4)1965
32. 山村醇一 : 科學與搜查 7,(1),1954
33. 筒井等 : 日本藥局 No. 2 1965
34. 楊日松 : Taiwan clinical medicine. 2,358,1966
35. 葉昭渠 : 法醫學 608,1966
36. L.R. Goldbaum and L. Kazyak : T. pharmacol. Exptl. Therap. 106,388,1952



37. K. Ramderath : T. l. chromat. Academic press Inc. New York. N. Y: pp74, 1963
38. K. Randerath : Ibid PP61. 1963
39. Z. Margazinoki : Acta polon pharm. 12:65, 1955, C. A. 49. 16349f, 1955
40. J. Cochin & J. W. Daly : Experientia. 18:294, 1962
41. C. L. Huang : J. Formosam Medical Assoc. 54, 285, 1955
42. 葉昭渠 : 法醫學 674, 1966
43. 上野正吉 : 新法醫學 330, 1963
44. 磯島文雄 : 科學與搜查 10, (5), 1957
45. 山本亮 : 新農藥研究法, 南江堂 1958
46. Metcalf : March. R. B. Science. 117, 527, 1953
47. 西山誠二郎等 : 科學與搜查 10, (3), 1957
48. 土井彬堂 : 日本法醫學雜誌 21, (6), 1967
49. 三上晃 : 日本法醫學雜誌 2D, (2), 1960
50. Zweig : Chromatog. Rev. 6, 110, 1964
51. 神田瑞穗等 : 日本法醫學雜誌 8(3), 1954
52. Bates : Analyst. 90, 453, 1965
53. Smart & Hill : S. chromatog. 30, 621, 1967
54. 葉昭渠等 : 台灣科學 19, (3), 1965
55. 葉昭渠等 : 台灣醫學雜誌 66, 343, 1967
56. Randerath : Academic press New York. N. Y. 1963