

# 有機リン系農薬のSPME法による簡易抽出とキャピラリーガスクロマトグラフィー

メタデータ	言語: jpn 出版者: 日本法中毒学会 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 李, 暁鵬, 熊澤, 武志, 田口, 智子, 佐藤, 啓造, 鈴木, 修 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1697">http://hdl.handle.net/10271/1697</a>

# O-6 有機リン系農薬のSPME法による簡易抽出とキャピラリーガスクロマトグラフィー

昭和大・医 ○李 曉鵬, 熊沢 武志, 田口 智子, 佐藤 啓造  
 浜松医大 鈴木 修

## SIMPLE EXTRACTION OF ORGANOPHOSPHATE PESTICIDES USING SOLID-PHASE MICROEXTRACTION (SPME) BEFORE CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY

Xiao-Pen Lee<sup>a)</sup>, Takeshi Kumazawa<sup>a)</sup>, Tomoko Taguchi<sup>a)</sup>, Keizo Sato<sup>a)</sup> and Osamu Suzuki<sup>b)</sup>

<sup>a)</sup> Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

<sup>b)</sup> Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

### [はじめに]

有機リン系農薬は殺虫剤、殺菌剤あるいは除草剤として幅広く使われている。人体試料からの有機リン系農薬の抽出方法としては、液-液抽出法や固相抽出法が一般的に用いられているが、今回我々は solid-phase microextraction (SPME) 法を用いて、人体試料中から有機リン系農薬を抽出し、キャピラリーガスクロマトグラフィー(GC)により検出する方法を設定したので報告する。

### [材料と方法]

#### 1) 試薬

今回の実験では、Table 1. に示す9種類の有機リン系農薬を使用した。

#### 2) 試料の調整

人体試料として全血および尿を使用し、その0.5 ml を 7.5 ml 容量のバイアル瓶に入れ、9種類の有機リン系農薬を全血には各々200ng、尿には各々60 ng と(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>ならびにNaClを0.4 g ずつ添加した。さらに蒸留水を0.5ml加えた後、塩酸にてpHを約3に調整した。

#### 3) SPME法

スペルコ社製 SPME 装置はホルダーと polydimethylsiloxane をコーティングしたフューズドシリカファイバー(長さ1 cm, 膜厚100 μm) より成り、ファイバーはホルダー針に内蔵されている。調整した試料の入ったバイアル瓶をシリコン製の内蓋で密栓し100°Cで加温した。15分後ホルダー針をバイアル瓶内に挿入し、ホルダーのプランジャーを押してファイバーをヘッドスペースに露出させ、さらに加温した。20分

Table 1. Chemical structures of organophosphate pesticides used in the present study

Compound	Structure
IBP	
Methyl parathion	
Fenitrothion	
Malathion	
Fenthion	
Isoxathion	
Ethion	
EPN	
Phosalone	

後ファイバーをホルダー針内に格納しバイアル瓶から抜き取り直ちにGCの注入口に挿入して分析を行った。

#### 4)GC分析

分析にはHP5890 Series II ガスクロマトグラフを使用し、検出器には窒素・リン検出器(NPD)を用いた。使用したカラムはDB-1ミドルポアキャピラリーカラム(長さ30m, 内径0.32mm, 膜厚0.25 $\mu$ m)である。カラム温度は100~280°C(昇温は10°C/min), 注入口温度は180°C, キャリヤーガスはHeを4 ml/min 流量に設定した。スプリッターはSPMEファイバーの注入口挿入時にはスプリットレスモードで1分後にスプリットモードに切り替えた。

#### [結果及び考察]

9種類の有機リン系農薬はDB-1キャピラリーカラムを用いたGC-NPDにより17分以内に全てが分離良く検出された。ヘッドスペースSPMEによって、全血では酸性条件下(約 pH 3) phosalone 以外の8種類の農薬が、また、尿では酸性条件下(約 pH 3)でかつ(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>とNaClを添加することにより9種類すべての農薬が分離良く検出された。バックグラウンドノイズはほとんどなく、不純ピークと農薬ピークとの重複は全く問題にならなかった。

回収率は、全血の場合isoxathion, IBP, ethion 及び fenthionにおいて11~4.7%, malathion, methyl parathion, EPN 及び fenitrothionにおいて2.3~0.3%であった。尿の場合EPN, ethion, isoxathion, fenthion 及び IBPにおいて40~20%, methyl parathion, phosalone, malathion 及び fenitrothionにおいて11~3.8%であった。

人体試料に農薬を添加し検量線を作成したところ、全血の場合、IBP, fenthion 及び ethion において12.5~400 ng の範囲で、fenitrothion 及び isoxathion において25~400 ng の範囲で、methyl parathion 及び EPN において50~400 ng の範囲で、malathion においては100~400 ng の範囲で何れも良好な直線性が得られた。また、尿の場合、phosalone において15~120 ng の範囲で、他の8種類については7.5~120 ng の範囲で何れも良好な直線性が得られた。さらに、再現性は全血及び尿いずれにおいても良好であった(CV = 3.3~11%)。検出限界は、全血においてmalathionでは100 ng/0.5ml, その他の農薬では2.2~28 ng/0.5ml, また、尿においては0.8~12 ng/0.5mlであった。

SPME法は、polydimethylsiloxaneをコーティングしたファイバーに揮発性あるいは難揮発性物質をトラップさせ、そのファイバーを直接GCの注入口に挿入するだけで分析が可能となる新しい抽出法として1990年に開発されている。しかし、人体試料からの薬毒物抽出への応用については今般報告が少ない。今回人体試料中有機リン系農薬のヘッドスペースSPME法による簡易抽出とGC-NPDによる検出法を設定したが、この方法は法中毒領域において有用と考えられる。

#### [SUMMARY]

A simple method, for extraction of 9 organophosphate pesticides from human whole blood and urine, using the headspace solid-phase microextraction (SPME) method is presented. After heating a vial containing the samples and the pesticides (IBP, methyl parathion, fenitrothion, malathion, fenthion, isoxathion, ethion, EPN and phosalone) at 100 °C, a polydimethylsiloxane-coated SPME fiber was exposed to the headspace of the vial to allow adsorption of the pesticides before a capillary gas chromatography (GC) with nitrogen-phosphorus detection. The headspace SPME-GC for whole blood and urine gave peaks for each pesticides. Recoveries of the 8 pesticides were 11~0.3% for whole blood; those of the 9 pesticides were 40~3.8% for urine. The detection limits of each pesticide were 2.2~100 ng/0.5ml for whole blood and 0.8~12 ng/0.5ml for urine. Reproducibility for headspace SPME-GC data were excellent for both body fluids.