

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	http://hdl.handle.net/10271/1697

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 〇李 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^{a)}, Takeshi Kumazawa^{a)}, Tomoko Taguchi^{a)}, Keizo Sato^{a)} and Osamu Suzuki^{b)}

^{a)} Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

^{b)} 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(NH₄)₂SO₄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 μ 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(NH₄)₂SO₄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.