HPLC/MS/MSによるパラコートおよびジクワットの分析

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, 近藤, 圭, 佐藤, 啓造, 石井, 晃, 妹尾, 洋, 鈴木, 修 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1730

G-27 HPLC/MS/MS によるパラコートおよびジクワットの分析

昭和大・医　○李　暁鵬、熊澤武志、近藤　圭、佐藤啓造
名　大・医　石井　晃
愛知医大　妹尾　洋
浜松医大　鈴木　修

Determination of paraquat and diquat by HPLC/MS/MS

Xiao-Pen Lee[1], Takeshi Kumazawa[1], Kei Kondo[1], Akira Ishii[2], Hiroshi Seno[3], Osamu Suzuki[4], Keizo Sato[1]

[1] Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

[2] Department of Legal Medicine Bioethics, Nagoya University Post Graduate School of Medicine

[3] Department of Legal Medicine, Aichi Medical University

[4] Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

【はじめに】

アルキルジピリジリウム塩系農薬の代表的なものであるパラコートおよびジクワットは混合製剤の形で除草剤として市販されている。この農薬は毒性が極めて強いにもかかわらず入手が比較的容易であることから、誤用、誤飲、自殺などによる中毒例がしばしば報告されている。人体試料からのパラコートおよびジクワットの分析法としては、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法、HPLC/質量分析（MS）法、ガスクロマトグラフィー（GC）法などがこれまでに報告されているが、今回我々はHPLC/タンデム質量分析（MS/MS）法を用いた分析法を設定したので報告する。

【実験方法】

1) 装置と分析条件

測定ではMSにPE SCIEX製 API 2000を、HPLCにAgilent 1100シリーズを用いた。インターフェースにはエレクトロスプレーイオン化（ESI）法を用い、イオン源温度は400 °C、コリジョンガスはN_2を使用し、コリジョンエネルギーは32Vに設定した。移動相は20 mM酢酸アンモニウム溶液に15 mMヘプタフルオロ酪酸を添加し、最後にギ酸でpHを3.3に調整したものをベースにしたアセトニトリルのリニアグラジエントとした。分析用カラムはSUPELCO製 Suplex pKb-100 (長さ250 mm、内径2.1 mm、粒径5 μm)を使用した。

2) 試料の調整

健常人より採取した全血或いは尿1 mlにパラコート、ジクワットおよび内部標準物質（IS）のエチルパラコートを添加した後、全血には蒸留水1 mlと0.5 N NaOH 0.3 mlを、尿には0.5 N NaOH 1 mlをそれぞれ加えた。この調整試料をメタノール、0.1 N 塩酸、蒸留水の順でコンディショニングを施した Sep-Pak C_{18}

カートリッジにゆっくり注入した後、カートリッジを蒸留水、メタノール、蒸留水の順で洗浄し、最後に 4 ml の 0.2 N 塩酸/メタノール (1:1、v/v) 溶液による溶出を行った。溶出液は凍結乾固を行い、残渣を 500 μl の初期移動相の溶液にて溶解後、その 5 μl を HPLC/MS/MS 分析に供した。

【結果および考察】

今回設定した HPLC 条件により、パラコート、ジクワットおよび IS が 20 分以内に分離良く検出された。これらを ESI/MS による正イオンモードで測定したところ、パラコート、ジクワットおよび IS では m/z 185、m/z 183 および m/z 213 の $[M-H]^+$ 擬分子イオンがそれぞれベースピークとして検出された。これらの擬分子イオンをプリカーサーイオンとしたプロダクトイオンスキャンでは、パラコートが m/z 169、ジクワットが m/z 157、IS が m/z 185 をベースピークとしたスペクトルが出現した。SIM 測定と SRM 測定の比較では全血および尿いずれにおいても SRM 測定の方が高感度を得られることから、定量分析にはベースピークとなったプロダクトイオンを選択した SRM 測定を行った。回収率は全血においてパラコートが 79%、ジクワットが 57%、尿においてパラコートが 91%、ジクワットが 94%であった。また、検量線を作成したところ、全血および尿共に注入量で 0.5～10 ng の範囲でいずれの成分も良好な直線性が得られ、検出限界は注入量でパラコートが約 0.25 ng、ジクワットが約 0.1 ng であった。

本法は従来の報告に比べ、検出感度が約 60 倍以上に向上しているほか、定量性にも優れ、人体試料中パラコート、ジクワットを高感度に分析できる方法として有用であると考える。

【SUMMARY】

Paraquat and diquat contained in human whole blood and urine samples have been analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC)/tandem mass spectrometry (MS/MS) with positive ion electrospray ionization. Paraquat, diquat and ethyl paraquat as internal standard (IS) formed base peaks due to $[M-H]^+$ ions by HPLC/MS. By use of HPLC/MS/MS, the product ions produced from each quasi-molecular ion showed the base peaks at m/z 169 for paraquat, m/z 157 for diquat and m/z 185 for IS. Selected reaction monitoring (SRM) and selected ion monitoring (SIM) were compared for the detection of the compounds from whole blood and urine. SRM showed much higher sensitivity than SIM for both types of sample. Therefore, recovery rates, regression equations and detection limits were studied for paraquat and diquat by SRM with HPLC/MS/MS. The recoveries of paraquat and diquat extracted from whole blood were 57-79 %; those from urine were 91-94 %. The regression equations for paraquat and diquat showed excellent linearity in the range of 0.5-10 ng on column with the detection limits of 0.25 ng on column for whole blood and 0.1 ng on column for urine.