衛生化学
EISEI KAGAKU
32(4) 305-307 (1986)

ヒト血液中からの農薬カルタップの抽出

三井利幸,^a 藤村義和^b

愛知県警察本部科学捜査研究所,^a

中部大学工学部工業化学科^b

Extraction of Agricultural Chemical Cartap in Human Blood

TOSHIYUKI MITSUI^a and YOSHIKAZU FUJIMURA^b

Criminal Science Laboratory, Aichi Police H. Q.,^a Sannomaru, Naka-ku,

Nagoya 460, Japan and Department of Industrial Chemistry,

College of Engineering, Chubu University,^b

Matsumoto-cho, Kasugai 487, Japan

(Received January 7, 1986)

The selection of best solvent for extracting cartap from human blood was examined. The experimental procedures were as follows; One ml of blood sample was added to 0.5 ml of 8% sodium hydroxide solution in a 15 ml test tube. The sample was extracted with 5 ml of cyclohexane by shaking for 3 min, and centrifuged at 3000 rpm for 2 min. The cartap extracted with cyclohexane was derivatized by reacting with 3,4-dimethyl benzyl chloride. The 3,4-dimethyl benzyl derivative of cartap was spectrophotometrically measured by using tropaeoline OO as an ion-associating reagent. For the extraction of cartap from blood sample no interference could be observed with the compounds, such as Fe (III), Cu (II), glycine, L-phenylalanine, urea, glucose, lactose.

Keywords—agricultural chemical cartap; human blood; spectrophotometric determination

緒 言

殺虫剤カルタップ (*S,S'*-(Dimethylamino)trimethylene bis(thiocarbamate)) を誤用すると アセチルコリンによる神経の興奮伝達を阻止するために麻痺状態を起し呼吸筋の動きが止って呼吸麻ひにより死亡する。最近の農薬による誤用は多くがパラコートでありカルタップの誤用は少ないが皆無ではない。もし誤用された場合市販製品及び血液中からカルタップを確認、定量する必要がある。すでにカルタップの定量法としてはガスクロマトグラフィー,^{1,2)} 吸光光度法^{3,4)} 等についての報告がなされている。しかし、血液中のカルタップを抽出し定量する方法については検討されていない。そこで血液中から抽出効率よく迅速にカルタップを抽出する方法について検討した。抽出したカルタップはすでに報告した方法⁵⁾ により定量し抽出率を求めた。

実験方法

1. 試薬 カルタップ塩酸塩——武田薬品社製の供与品をそのまま使用した。その他の試薬は市販特級試薬

を使用した。

2. 装置 分光光度計——日立製 624 型デジタル分光光度計を用い、1 cm のガラスセルを使用した。

質量分析装置——日本電子製 JMS-DX300 をイオン化電圧 70 eV, イオン化電流 300 μ A の条件で、またデータ処理には JMA-DA5000 を使用した。

3. 抽出及び実験方法 約 15 ml の試験管に試料血液 1 ml, 8% 水酸化ナトリウム溶液 0.5 ml, シクロヘキサン 5 ml を加え 3 分間振とうしたのち、3000 rpm で 2 分間遠心分離する。ついで約 20 ml の三角フラスコにシクロヘキサン層の 3 ml をとり、4% 炭酸ナトリウム溶液 2.5 ml, 23.7 μ mol/ml の 3,4-ジメチルベンジルクロリドのアセトン溶液 5 ml を加えた後、すでに報告した方法⁵⁾ でカルタップの 3,4-ジメチルベンジル誘導体を形成させ、吸光光度法を用いて定量した。ここで血液中からの抽出率はカルタップ塩酸塩の水溶液から著者らがすでに報告した方法⁵⁾ で求めた抽出率を 100% とし求めた。なおカルタップはアルカリ性下では加水分解され

ジヒドロネライストキシンとなり、更に酸化されてネライストキシンになるため実際はネライストキシン量を定量していることになるが、この加水分解と酸化反応は迅速でありかつ定量的に進行することと、誤用農薬はカルタップであり誤用量をカルタップ量で示す必要があるため本実験ではすべてカルタップ量として表した。

実験結果及び考察

血液中からカルタップを抽出する場合の各種操作における最適条件の検討をすべてカルタップ塩酸塩（分子量 273.8）93.9 $\mu\text{g/ml}$ を含有する血液 1 ml を用いて行なった。

1. 添加水酸化ナトリウムの検討

カルタップを血液から抽出するために添加する水酸化ナトリウム濃度について 0.8—35% の間で検討したところ、Fig. 1 に示したように 3.8—17.5% の間で抽出率がほぼ 100% を示した。これ以上の濃度になるとシクロヘキサン層にエマルジョンが発生しシクロヘキサンを分取できず以後の実験が不可能であった。本実験では 8% 水酸化ナトリウム溶液 0.5 ml を添加することとした。

2. 抽出溶媒の検討

カルタップをアルカリ性下で血液から抽出する時の抽出溶媒について、各溶媒 5 ml を用いてくり返し 3 回操作を行いそれぞれの抽出率を検討したところ、Table I に示したような結果（平均値）が得られた。これら各溶媒について 3 回測定した結果の変動係数は 1.82—2.30% の間であった。ここで回収率が 100% をこえたジエチルエーテルやジクロロメタンについては、変動係数がそれぞれ 1.95%, 2.01% であり、またカルタップを含有しない血液からの抽出液でも吸光度を示すことからこれらの

2 種類の溶媒は共に抽出された血液成分が正の影響を与えたものと考えられた。今回は最も良い回収率を示したシクロヘキサン、ベンゼンのうちでシクロヘキサンを用いて行うこととした。

3. 添加シクロヘキサン量の検討

カルタップを血液中から抽出するために添加するシクロヘキサンの量について 2—25 ml の間で検討したところ、Fig. 2 に示したように 4—10 ml の間で最も高い抽出率を示した。そこで本実験ではすべて 5 ml を用いることとした。

4. 振とう時間及び静置時間の検討

カルタップをシクロヘキサンで血液中に抽出するときの操作であるシクロヘキサン添加後の振とう時間及び静置時間を検討したところ、いずれも検討した 0.5—15 分の間では吸光度に全く差は認められなかった。

5. ヒト血液中からの回収率

ヒト血液中にカルタップを添加し本方法により 3 回くり返し操作を行い回収率を測定した結果（平均値）を

TABLE I. Effect of Extractant

Solvent	Recovery (%)
CCl_4	79.5
CHCl_3	81.3
$n\text{-C}_6\text{H}_{14}$	91.4
$\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$	86.0
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$	108.8
C_6H_6	99.0
CH_2Cl_2	110.8
C_6H_{12}	99.4

Each data was obtained from triplicate experiments.

Fig. 1. Effect of Sodium Hydroxide Concentration on Extraction of Cartap in Human Blood

Fig. 2. Effect of Cyclohexane Volume on Extraction of Cartap in Human Blood

TABLE II. Recoveries of Cartap Added to Human Blood

Added (μg)	Recovery (%)
1.0	98
3.2	102
6.4	99
7.7	97
12.8	98
15.4	99
20.1	101

Table II に示した. この操作における各々の変動係数は 1.65—2.27% の間であった. またカルタップ 12.3 μg を含有するヒト血液を用いて10回操作を行いきり返しの回収率の再現性を求めたところ, 変動係数2.11%の結果が得られ, 本方法は血液中のカルタップの抽出法として十分応用できるものと考えられた. また3,4-ジメチルベンジル誘導体形成後吸光光度法による定量限界は, 本操作方法で血液 1ml 中 5 μg であるが, プローブ温度 100—250°C, 昇温比 8°C/min の条件で直接試料導入法により質量分析法を行えば, カルタップの 3,4-ジメチルベンジル誘導体から生ずる m/z 387 の親イオンと m/z 222, 119, 102, 71 の各フラグメントイオンから血液 1 ml に対し 8 ng の含有量まで定性的に確認可能であった.

6. 共存物質の影響

通常新鮮血では血液成分が大きく変動することはない. しかし試料によっては腐敗等による変動が考えられ

TABLE III. Diverse Metal Ions and Organic Compounds

Metal ions or organic compounds	Compounds/Cartap (mol/mol)	Recovery (%)
Fe (III)	99	97
Cu (II)	88	100
Glycine	63	98
L-Phenylalanine	12	99
Urea	100	102
Glucose	43	98
Lactose	48	99
Putrid blood	—	100
Ethanol	2.0 mg/ml ^{a)}	100
Carboxyhemoglobin	83 % ^{a)}	98
Ammonium chloride	11	99

Cartap added: 0.343 μmol .

^{a)} Content in blood.

Each data was obtained from triplicate experiments.

たので, いくつかの共存物質についてくり返し3回操作を行いカルタップの回収率に与える影響を検討したところ Table III に示す結果(平均値)が得られた. なお, 各々の共存物質についてくり返し3回操作を行った結果の変動係数は1.50—2.27%の間であった. この結果からも明かなように検討した共存物質は Fe (III), Cu (II) の金属イオン, グリシン, L-フェニルアラニンのアミノ酸, 尿素, グルコース, ラクトース, 飲酒者血液(アルコール濃度 2.0 mg/ml), 一酸化炭素含有血液(一酸化炭素ヘモグロビン濃度83%)等は回収率に全く影響を与えなかった.

引用文献

- 1) 後藤真康, 加藤誠哉, “農薬残留分析法,” ソフトサイエンス社, 東京, 1980, p.144.
- 2) 西 清司, 香坂 功, 丹 信行, 武田研究所報, **29**, 399 (1970).
- 3) 大杉利章, 増田京子, 武田研究所報, **27**, 47 (1968).
- 4) 大杉利章, 増田京子, 武田研究所報, **35**, 242 (1976).
- 5) 三井利幸, 藤村義和, 分析化学, **32**, 416 (1983).