

キャピラリー電気泳動による食品に混入した パラコート及びジクワットの迅速分析について

井手光・阿部圭子

Rapid Analysis of Paraquat and Diquat in Food Products by Capillary electrophoresis

Hikaru IDE, Keiko ABE

要 旨

農薬の中でも人に対して致死性が高く解毒剤がなく、過去に自殺や誤飲による中毒死亡事故が多かったパラコート及びジクワットの簡易検査法の検討をキャピラリー電気泳動(CE)を用いて行った。食品 10g を共栓試験管に計り取り、精製水で 100mL とした。固形分の多い食品についてはホモジナイズした後遠心分離し、上澄み液をディスポーザブルディスクフィルターでろ過し試料液とした。pH3, 60mM のリン酸ナトリウム溶液を泳動液として、キャピラリー電気泳動により測定した。カレー等 7 種類の食品に、パラコート及びジクワットを 1mg 添加した時の回収率及び RSD はパラコートで 91 ~ 99%, 0.1 ~ 2.2%, ジクワットで 93 ~ 99%, 0.6 ~ 2.6%といずれも良好な回収が得られた。キャピラリー電気泳動により測定したエレクトログラムには、いずれもパラコート及びジクワットの測定を妨害するようなピークは見られなかった。

Key Words : キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis, CE, パラコート Paraquat ,
ジクワット Diquat

I はじめに

1998 年 7 月に発生したヒ素混入カレー事件を皮切りに、全国各地で数々の有毒物混入事件が発生したため、福岡県では健康危機管理連絡協議会を設置し、関係諸機関が相互に連携することにより、人命の救助及び被害の拡大の防止を図っているところである。当所においても、食品への毒物混入事件が発生した場合に、原因物質の特定を迅速に行うことを目的としてスクリーニング検査法の検討を行った¹⁾。ピピリジウム系除草剤パラコート及びジクワット²⁾(図1)は、農薬の中でも人に対して致死性が高く解毒剤がないことから、過去に自殺や誤飲による中毒死亡事故が多く発生している。1985年には死者が1000名を越し社会問題となり、1986年においても農薬による中毒事故の内の約4割を占めている³⁾。よってこれらの簡易検査法をキャピラリー電気泳動(CE)を用いて行ったので、その結果を報告する。

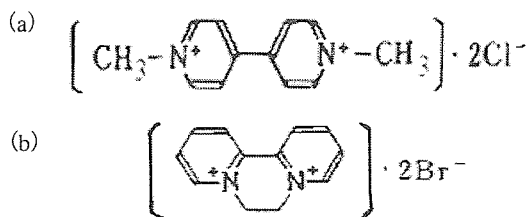


図1. パラコート及びジクワットの構造式
(a): Paraquat ; (b):Diquat

II 実験方法

現在パラコートはその毒性の強さから、単剤での製品ではなく、パラコートの半分程度の毒性を持つジクワットとの希釈混合剤として市販されている。したがって食品中に混入された場合、両者が同時に検出されることが予想される。パラコートの人に対する毒性はLD₅₀で43mg/kg 体重である。よって体重 50kg の成人が、一度に食品を 200g 摂食した場合には、約 10,000ppm で最低致死量に達する。そこで 100ppm から 10,000ppm 程度ま

1. 福岡市保健環境研究所 福岡市中央区地行浜 2-1-34

で混入した場合を想定し, 数種類の食品について検討を行った。

1 標準品 及び 試薬

パラコート, ジクワット: 和光純薬工業(株)
99.0 %以上.

リン酸: 和光純薬工業(株) 特級試薬を用いた.

pH2,2.5,3 リン酸ナトリウム緩衝液: リン酸ナトリウム溶液をリン酸
で各々の pH に調整.

pH4 リン酸ナトリウム緩衝液: リン酸ナトリウム溶液を 1N 水酸化
ナトリウムで pH4 に調整.

2 装置

装置: ヒューレットパッカード社製 HP⁹⁰-G1600
キャピラリー電気泳動システム

検出器: 装置内蔵の紫外吸光検出器によるオン
カラム検出法(フォトダイオード検出器)

3 測定条件

キャピラリー: G1600-61311 フュージドシリカ, 75 μm
i.d×64.5cm

泳動液: リン酸ナトリウム緩衝液 ; 電圧: 30KV

キャピラリー温度: 20 °C ; 注入量(加圧量):

200mbar·s ; 分離モード: キャピラリー電気泳動

検出波長: パラコート 256nm, ジクワット 313nm

4 方法

食品 10g を共栓試験管に計り取り, コーヒーやウーロン茶等液体状のものについては精製水で 100mL に定容した後φ0.45μm のディスパーザブルディスクフィルターでろ過し試料液とした. カレー等固形分の多いものについては精製水で 100mL に定容し, ホモジナイズした後遠心分離し, 上澄み液をφ0.45μm のディスパーザブルディスクフィルターでろ過し, さらにφ0.20μm のフィルターでろ過したものを試料液とした.

5 対象食品

コーヒー, コーラ, ウーロン茶, 乳酸菌飲料,
トマトジュース, みそ汁, カレー

III 結果と考察

1 CE条件の検討

1) 泳動バッファの pH の検討

パラコート及びジクワットは水溶液中で 2 価の陽イオンとなる. よって泳動液の pH を 2 ~ 4 に調整し, 両者の検出感度及び移動時間との関係を求めた. 結果を図 2, 3 に示す. pH3 でピーク高さは最も高かった. 移動時間は各 pH とも 3 ~ 5 分と大差なかったが, 両物質の分離は pH3 で最大となったので泳動バッファの pH は 3 とした.

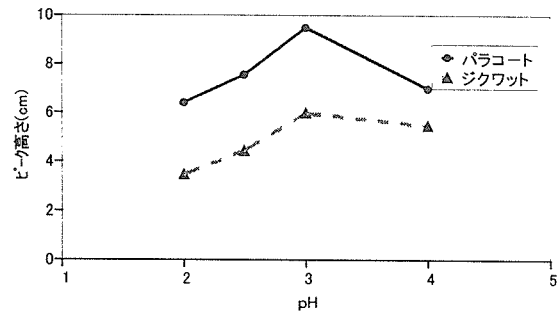


図 2. pH とピーク高さとの関係

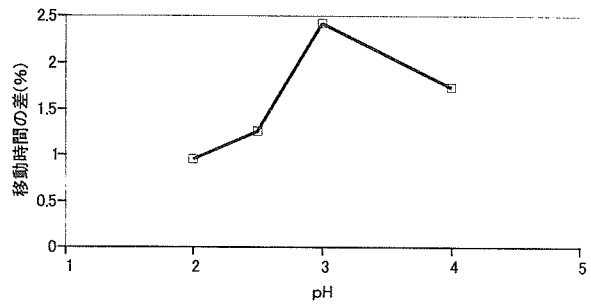


図 3. pH と移動時間の差との関係

2) 泳動バッファのモル濃度の検討

pH3 ではパラコートは 256nm, ジクワットは 313nm で吸収ピークが最大となる. 図 4 のとおり, ジクワットが最大吸収を示す 313nm にはパラコートの吸収はまったくないが, パラコートの最大吸収 256nm には多少ジクワットの吸収があるため, 256nm でパラコートを測定する場合, ジクワットの影響を受ける. したがって両者のピークを分離させるために, リン酸ナトリウム緩衝液のモル濃度を 50mM ~ 100mM に変化させて測定した. 結果を図 5, 6 に示す.

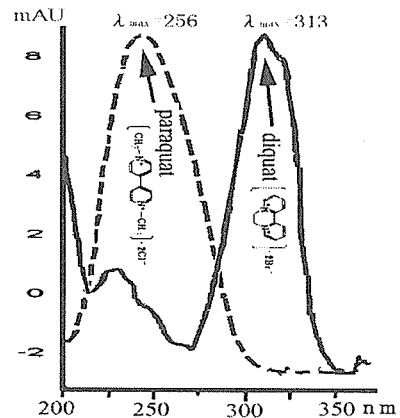


図 4. パラコート及びジクワットの吸収スペクトル

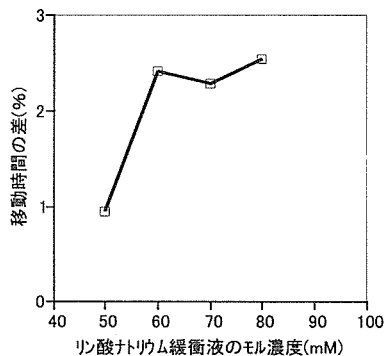


図5. モル濃度と移動時間との差の関係

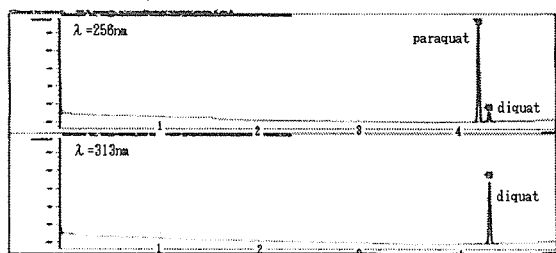


図6. 60mM のリン酸バッファーにおける標準溶液(10ppm)のエレクトログラム

50mM では両者のピークは分離が不十分であるが、60mM 以上では両者のピークは完全に分離した。しかし70mM より濃くなるとベースが不安定となり、再現性も悪くなったため、泳動バッファーのモル濃度は60mM とした。

2 標準液の直線性

パラコート及びジクワットの標準液 10 ~ 1000ppm の濃度とピーク面積の関係を図7に示す。両者とも良好な直線性を示した。

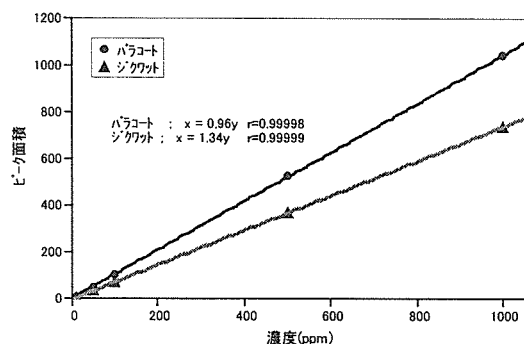


図7. パラコート及びジクワットの濃度とピーク面積の関係

3 添加回収

7種類の食品 10g にパラコート及びジクワットを 1mg 添加し 100mL にして測定した時の、エレクトログラムを図8 ~ 14に、また回収率及び RSD (%) を表1に示す。何れも良好な結果が得られた。

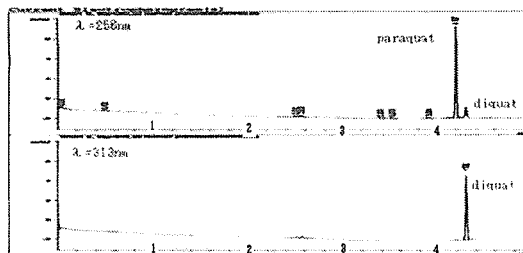


図8. コーヒーにパラコート及びジクワットを添加した場合のエレクトログラム

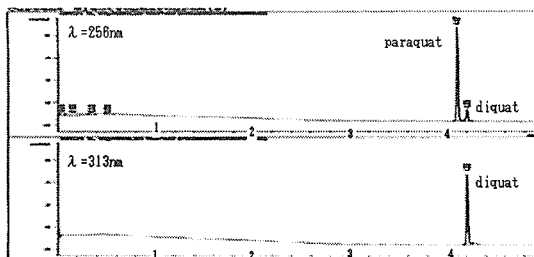


図9. コーヒーにパラコート及びジクワットを添加した場合のエレクトログラム

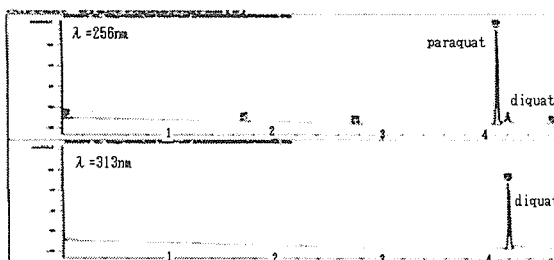


図10. グリーン茶にパラコート及びジクワットを添加した場合のエレクトログラム

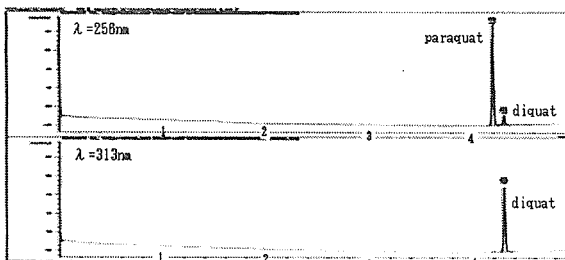


図11. 乳酸菌飲料にパラコート及びジクワットを添加した場合のエレクトログラム

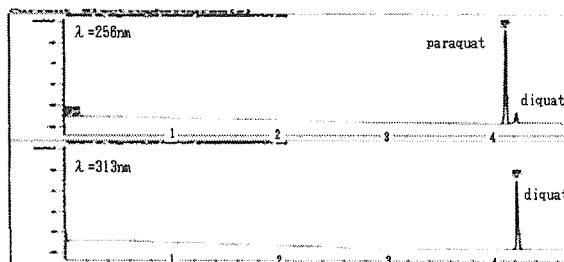


図12. トマトジュースにパラコート及びジクワットを添加した場合のエレクトログラム

IV ま と め

今回、毒物混入が疑われる場合について、その原因物質の特定を迅速に行うことを目的として、CEを用いパラコート及びジクワットの簡易検査法を検討した。その結果、前処理は試料を希釈するのみであるが、まったく試料成分に由来する妨害を受けず、泳動バッファのpHとモル濃度を最適条件にすることにより、簡易かつ迅速に測定することが可能であった。しかも100ppmから10,000ppmまでの広範囲にわたって定量が可能であるため、毒物の迅速分析法として大変有効であると考えられる。

文 献

- 1) 農薬残留分析法研究班：最新農薬の残留分析法，中央法規出版
- 2) 最新農薬データブック(1989)，ソフトサイエンス社
- 3) 植村振作，河村宏他：農薬毒性の事典，三省堂

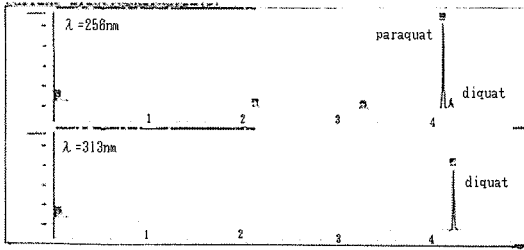


図13. みそ汁にパラコート及びジクワットを添加した場合のイクトグラム

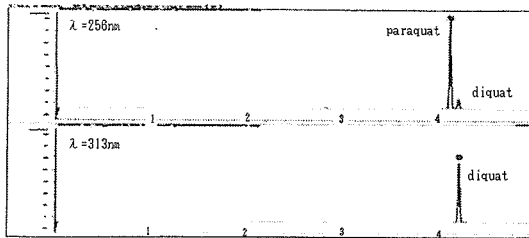


図14. カレーにパラコート及びジクワットを添加した場合のイクトグラム

表1 食品中にパラコート及びジクワットを添加した場合の回収率及びRSD(%) n=3

食品名	パラコート		ジクワット	
	回収率	RSD	回収率	RSD
コーヒー	98	0.8	98	1.3
コーラ	96	2.2	99	0.6
ウーロン茶	96	1.8	96	1.3
乳酸菌飲料	99	0.1	99	0.8
トマトジュース	95	1.5	95	2.2
みそ汁	91	1.1	93	2.6
カレー	94	1.1	95	2.6