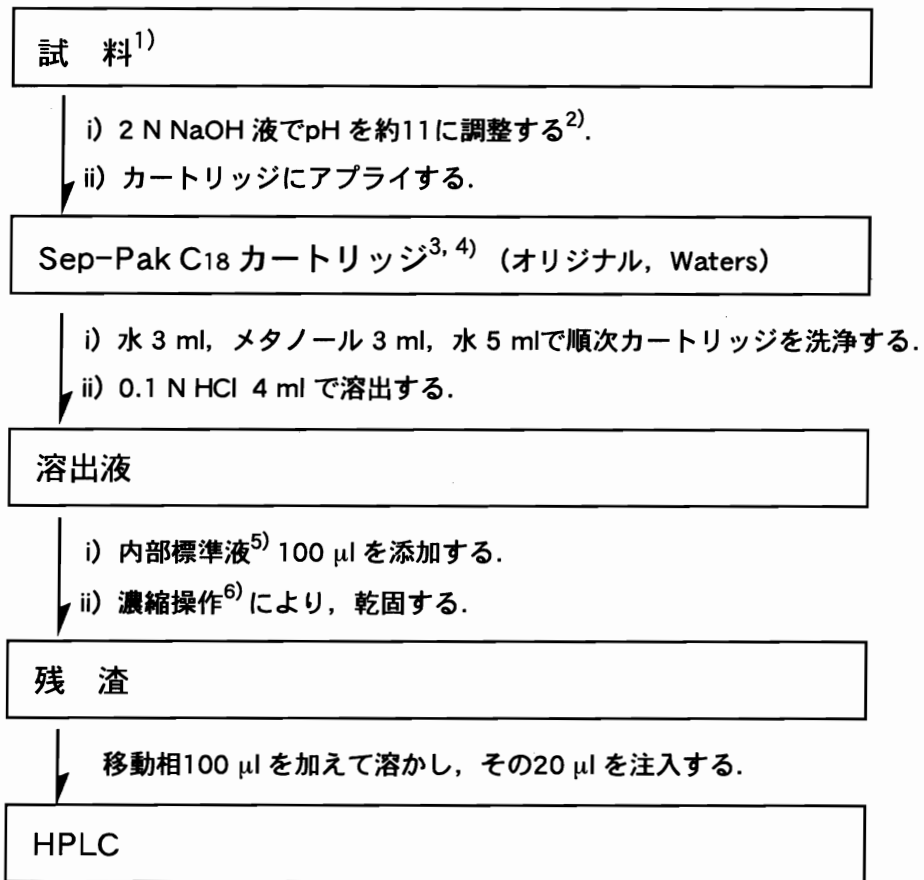


(2) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

i) 前処理



【注 解】

- 1) 試料は体液, 体組織. 体液 (1 ml または g) は Vortex ミキサーで攪拌しながら 10%トリクロロ酢酸液 1 ml を加え除蛋白する. 臓器・組織 (1 g) は 10%トリクロロ酢酸液 5 ml を加えてホモジナイズする. 除蛋白液を 3,000 rpm, 10 分間遠心分離後, 上清を分取する. 沈殿部分は 10%トリクロロ酢酸液 各 1 ml で 2 回洗浄する (攪拌・遠心・分取). 上清液と洗浄液を合わす.
- 2) アルカリ性にした後, 直ちに Sep-Pak C18 カートリッジに注入する. パラコート, ジクワットはアルカリ性で分解する. 特にジクワットは著しい.
- 3) Sep-Pak C18 カートリッジに流すときの流速は 5 ml/min 以下で行い, カートリッジに空気が入らないように注意する. 空気が入ると回収率が低下する.
- 4) Sep-Pak C18 カートリッジは各 5 ml の水, メタノール, 0.1 N HCl, 水を順次流し充填剤を予め活性化しておく.
- 5) 内部標準液はバニリン酸をメタノールに溶かし, 10 μg/ml の溶液とする.
- 6) 減圧濃縮乾固, 窒素気流下濃縮乾固, 凍結乾燥などにより行う.

ii) HPLC の条件

装置	: 高速液体クロマトグラフ
検出器	: 紫外可視検出器
カラム	: Zorbax C8 ¹⁾ , 25 cm x 4.6 mm i.d., 粒径 5 μm
カラム温度	: 40 °C
移動相	: アセトニトリル/7.5 mM 1-オクタンスルホン酸ナトリウム, 0.1 M ジエチルアミンおよび 0.2 M リン酸を含む溶液 ^{2,3)} (1 : 19, v/v)
流速	: 1.0 ml/min
測定	: 波長 290 nm ; 時間 14 min

【注 解】

- 1) カラムは ODS (オクタデシルシラン系シリカゲル) カラム (μBondapak C18, Inertsil ODS-2 など) を使用することもできるが, 保持時間やピークの形状などが異なる.
- 2) 1-オクタンスルホン酸ナトリウム 1.66 g, ジエチルアミン 10.4 ml およびリン酸 12.6 ml に水を加えて 1,000 ml にしたものをろ過 (例えば 0.5 μm フィルターを使用) する.
- 3) 移動相に加えるイオン対試薬として, オクタンスルホン酸ナトリウムの他に臭化カリウムやトリフルオロ酢酸・パーフルオロ酢酸などを用いた報告がある.

表 1. パラコート、ジクワットおよび内部標準物質
の保持時間および定量範囲 (標準溶液)

化合物	保持時間 (分)	定量範囲 (μg/ml)
Paraquat	9.0	0.1 - 10.0
Diquat	6.8	0.1 - 10.0
Vanillic acid	4.3	

【文 献】

1. 福家千昭 他. 中毒研究 1992 ; 5 : 387-393.
2. Ito S et al. J Chromatogr 1993 ; 617 : 119-123.
3. Kage S et al. Jpn J Forensic Toxicol 1998 ; 16 : 34-41.