7) 検出操作

（Ａシステム）

① 6)－⑥で乾燥したトキシグラムＡをＡ－１瓶に入れ、フタを閉めホルマリンガスにさらします。（通常１０～１５分間）

② トキシグラムＡをＡ－１瓶より取り出しヒートプレート上に下２／３を１０秒間程度かざします。

③ Ａのワークシートを用意します。
以下の操作において、検体のスポットは全てワークシートに記録します。

④ **ＳＴＡＧＥ Ⅰ**
トキシグラムＡの上端をピンセットでつまみ、Ａ－２瓶の濃硫酸に１回だけ浸します。（約２秒間）
この時、いくつかの着色スポットが現れます。（第１回目の記録）
約２０秒放置し、検体のスポットに変化がある場合は第１回目の記録に付け加えます。

⑤ **ＳＴＡＧＥ Ⅱ**
トキシグラムＡを、$H_2$０瓶に１回浸します。（約１秒間）
数秒後、№３標準ディスクに含まれているImipramineの青色スポットが現れたら検体のスポットの状態を記録します。（第２回目の記録）
記録が終ったら数回洗浄を繰り返します。この時、スポットの色に変化があれば、第２回目の記録に付け加えます。

⑥ **ＳＴＡＧＥ Ⅲ**
水にぬれた状態のトキシグラムを軽くペーパータオルなどで水きりをした後、ＵＶランプに入れて観察します。
この時のスポット（蛍光、吸収、neg.）について第３回目の記録をします。

⑦ **ＳＴＡＧＥ Ⅳ**
トキシグラムをＡ－３瓶（ドラゲンドルフ試薬）に約１０秒間浸し、取り上げてスポットの状態を記録します。（第４回目の記録）
この時、№２標準ディスクに含まれているCaffine の灰色のスポット及び№４標準ディスクに含まれているMeprobamate の薄茶色のスポットがでていることを確認します。さらに、№２標準ディスクに含まれているDiazepamとAsetaminophenのスポットの間が約１．５㎝はなれている事と、№３標準ディスクに含まれているImipramineの位置が約４．５㎝である事も同時に確認します。

（Ｂシステム）

① 6)－⑥で乾燥したトキシグラムＢをＢ－１瓶（ＤＰＣ試薬）に１回だけ可能な限り素早く出し入れし、瓶の外側の枠に立てかけて自然乾燥させます。
（展開液中のジクロロメタンの痕跡が消えるまで乾燥を続ける。加熱してはならない。）

② ＳＴＡＧＥ Ｉ
Ｂ－２，Ｂ－３瓶のフタを予め開けておきます。
前①のトキシグラムＢをＢ－２瓶（硝酸銀溶液）に浸し、全体的に黄褐色になったらただちに（なるべく空気中にさらさない）Ｂ－３瓶（硝酸第２水銀溶液）に浸し、青紫色のスポットが現れるまで出し入れを繰り返します。
この時の、検体のスポットの状態を記録します。（第１回目の記録）
また同時にNo.１標準ディスクに含まれているSecobarbitalの位置が約６．５cm
No.４標準ディスクに含まれているButabarbitalの位置が約５．５cmにあり、両者の間が１cm以上分離している事を確認します。

③ ＳＴＡＧＥ II
ＵＶランプにトキシグラムを入れて観察し、スポットの状態（吸収、蛍光）を記録します。（第２回目の記録）

以上の記録を基に、コンペンジウムを用いて薬物の検索をします。

コンペンジウム（トキシ・ラボ　専用薬物要覧）について

Ⅰ　インデックス　（Ｉｎｄｅｘ）

① コンペンジウム中の薬物を調べる時は、一般名で調べる。

② 薬物名はアルファベット順に記載されている。

③ 薬物名の横にＲｆ値が記載されている。

Ⅱ　フォトグラム　(Photograms)・・・・・ 展開パターン写真集

① 薬物のフォトグラムは、0.00から1.00までＲｆ値の順に並べられている。

② フォトグラムの活用法について

a) 未知検体のスポットのＲｆ値を求める時、その未知検体のスポットに最も近い位置に出現した標準薬物のスポット（Ｒｆ値は既知）を参照する。

b) a)の標準薬物のＲｆ値を中心として±0.1 の範囲でワークシートに記録したものと同じパターンを探す。

Ⅲ　ドラッグ・インフォメーション (Drug Information)

① ドラッグ・インフォメーションの項には、コンペンジウムに収載されている全薬物についての情報カードがアルファベット順に並べられている。

② “TECHNICAL COMMENTS” には、特にトキシ・ラボが適用できるような薬物に関する下記の有用な情報が含まれている。

a) その薬物の検出限界について

b) その薬物専用の特殊な同定法がある場合、その方法について

c) その薬物と同じようなパターンを示す薬物がある場合、その鑑別方法について

Ⅳ　トキシ・チップス　(TOXI －TIPS)

① この項には、トキシ・ラボに関する一般的情報（トラブルシューティング、特定薬物専用同定法等）が含まれている。

② この項もアルファベット順に並べられ、かつ番号付されている。

〔TOXI －TIPSの引きかたの例〕

Normeperidine（メペリジン代謝物ノルメペリジン）を調べたいとき

a) 最初に TOXI-TIPS INDEXで Normeperidineを調べると、Table of Contents Numder に「３３」と数字が書いてある。

b) 次にTOXI-TIPS　TABLE OF CONTENTSの欄に戻って３３番を見る。
すると、その見出し語には、Sympathomimetic Amines (Amphetamines) ; Differentiationとなっている。

c) 見出し語の最初がSympathomimetic の「Ｓ」であるから、青い見出しの「Ｓ」の項に情報が入っている。

トキシ・ラボ A における代表的薬物の位置と色調（Rｆ順）

Rｆ	薬　物　名	ステージⅠ	ステージⅡ	ステージⅢ	ステージⅣ
.90	ジアゼハム 注1,2 a-e	neg.	neg.	pale green	brown
.90	グルテチミド	yellow→green	grey-green	faint	brown
.90	メタカロン 代謝物（1つ以上） 85, 40, 30, 20	neg. pale blue→fades	neg. neg.	neg. neg.	brown brown
.90	フエニトイン	neg.→yellow	neg.	neg.	weak
.89	フェノール フタレイン	orange,yellow halo	pink→fades	neg.	weak or neg.
.88	スピロノラクトン代謝物 他の代謝物 .35, .15	yellow-rust yellow-rust	straw straw	bright yellow-green	weak weak
.88	リドカイン 代謝物 .50	orange-pink orange-pink	fades→neg. neg.	faint or neg. neg.	strong brown strong brown
.85	ゴム等に含まれる可塑剤	neg.	neg.	neg.	gold-brown
.81	メプロバメート 代謝物 .64 注4	neg. neg.	neg. neg.	neg. neg.	gold-brown gold-brown
.78	トリミプラミン 代謝物 .35	neg. neg.	blue blue	blue-green blue-green	brown brown
.75	アセトアミノフェン	blanch	neg. or pale tan	bull red or neg.	brown
.75	カリソプロドール代謝物	neg.	neg.	neg.	brown
.70	カルバマゼピン 代謝物(滝状) .20- .95	heg. or pale tan neg. or yellow	neg. neg. or yellow	blue-green yellow-green	weak brown brown
.70	ヒドロコルチゾン 代謝物 .35	pal tan pal tan	pale grey pale grey	bright yellow-green	brown brown
.68	メトカルバモール 代謝物 .55	dark purple tan	purple-grey yellow-tan	absorbs absorbs	grey-brewn brown
.65	クロルジアゼポキシド 注1,2a,c 代謝物 .67	neg. neg.	neg. neg.	neg. or dull red dull red	brown brown
.64	カフェイン	neg.	neg.	neg.	grey
.64	フルラゼパム 注1,2ae,3 代謝物３つ .45-.25	neg. heg. or yellow	neg. neg.,tan or yellow	green green	brown brown
.64	プロカイン	neg.	neg. or faint blue→fades	neg. or faint	brown
.61	ペンタゾシン 代謝物 .45 .25	tan-grey tan-grey	pale tan pale tan	yellow-peach yellow-peach	brown brown
.60	グアイフェネシン 代謝物 .50 注4	burgundy tan	purple-grey yellow-tun	absorbs absorbs	grey-brown brown
.58	アミトリプチリン 代謝物 .43 .30 14	grey-brown grey-brown	grey-tan grey-tan	salmon-pink salmon-pink	brown brown
.55	ジメンヒドリナート ３つ以上の代謝物.4-.2	yellow yellow	fades fades	neg. or faint neg.	neg.or weak neg.or weak
.50	イミプラミン 代謝物デシプラミン.24 その他の代謝物.15,.10	neg. neg. pink, blue	blue blue neg.	green or neg. green or neg. bright green	brown brown brown
.50	エチルコハク酸エリスロマイシン 代謝物 .40,.25,.15	neg. or blanch neg. or blanch	rose-brown rose-brown	dull pink dull pink	strong brown strong brown
.40	ニ　コ　チ　ン 代謝物 .32	neg. neg.	neg. neg.	neg. neg.	rose-brown rose-brown

Rf	薬　物　名	ステージⅠ	ステージⅡ	ステージⅢ	ステージⅣ
.39	アモキサピン	pale lavender-grey	fades	neg. or faint	brown
	代謝物　.30	pale lavender-grey	fades	neg. or faint	brown
	代謝物　.28	tan flesh	tan	absorbs/halo	brown
.37	トリメトプリム	orange-brown	yellow-tan	yellowish or neg.	brown
	代謝物 注4	orange-brown	tan	yellowish or neg.	brown
.36	プロプラノロール	green	aqua→grey	orange-pink	brown
	代謝物 .74 注4	green	aqua→grey	orange-pink	brown
	代謝物 .25 注4	rust	pink	dull red	brown
.32	アンフェタミン	yellow→brown	pale olive	blue	brown
.31	トリアムチレン	yellow	bright yellow	bright blue	brown
.30	ノリトリプチレン	grey-brown	grey-tan	salmon-pink	brown
	代謝物 .14	grey-brown	grey-tan	salmon-pink	brown
.26	デキストメトロルファン	blue	grey-tan→fades	biuish or tan	brown
	代謝物 .19	tan	pale tan	yellow-peach	brown
.26	キ　ニ　ー　ネ	neg.	neg.	bright blue	brown
.25	エ　メ　チ　ン 注2a	neg.yellow,blanch	neg. or tan	bright blue	brown
.24	デシプラミン	neg.	blue	green	brown
	代謝物 .15, .10	pink, tan	neg.	bright green	brown
.24	コ　デ　イ　ン	blue	tan	absorbs	brown
	代謝物 .05	blue	tan	absorbs	brown
.24	塩酸プロパノールアミン	yellow→green	pale green	blue	brown
.22	メタアンフェタミン	yellow→green	pale olive	blue	brown
.22	シ　メ　チ　ジ　ン	blanch	neg.	neg.	strong brown
.21	クロルフェニラミン	neg.	neg.	neg.	rose-brown
.15	モ　ル　ヒ　ネ	purple	tan	absorbs	brown
.15	マプロチリン	burundy	grey-tan	absorbs	brown
	代謝物 .24	burundy	grey-tan	absorbs faint-halo	brown
	代謝物(鎖状) .1－.00	tan, green	fades	absorbs	brown
.14	エフェドリン	yellow→green	pale green	blue	brown
.12	ストリキニーネ	red purple	orange	absorbs	brown
.12	ジフルニサル	blue→fades	neg.	neg.	neg.
.01	ナドロール	red purple	tannish pink	faint blue	brown
.01	フェノプロフェン	red-rust	pale-tan	absorbs	brown
.00 -.20	ポリエチレングリコール	neg.	neg.	neg.	brown flane-shape
.00 -.45	フェノチアジン代謝物	green, rust-blue	pink or purple	absorbs	brown

注) 1. 親化合物は尿中に存在しない。

2. 親化合物が検出できるのは、
   - a. 胃内容物中　(TOXI－LAB　Aを使う)
   - b. 〃　(　〃　B　〃　)
   - c. 血　清　中　(　〃　A　〃　)
   - d. 〃　(　〃　B　〃　)
   - e. 錠剤又は細粒。尿中にはほとんど存在しない。

3. 代謝物のみ常用量で検出される可能性あり。

4. ごくまれに検出される。

5. 医薬品でない物質。

6.

→	：色が変化
－	：中間色

薬効分類別、最重要ステージについて

薬効分類及び薬剤名（商品名）		最重要ステージにおけるスポットの色と特長

1．抗うつ剤

アミトリプチリン（トリプタノール） ノリトリプチリン（ノリトレン） （アミトリプチリン代謝物）	ステージⅢ	それぞれの代謝物のスポットは、briht salmon-pink の蛍光発色
アモキサピン（アモキサン）	ステージⅠ	lavender-grey
トリミプラミン（スルモンチール） イミプラミン（トフラニール） デシプラミン（パートフラン） （イミプラミン代謝物）	ステージⅠ ステージⅡ ステージⅢ	発色なし それぞれの代謝物がblueの発色 それぞれの代謝物がgreen の蛍光発色
マプロチリン（ルジオミール）	ステージⅠ	burgundy

2．抗ヒスタミン剤

ジメンヒドリナート （ジメンヒドリナート）	ステージⅠ	yellow （他のステージは発色なし）

3．フェノチアジン系製剤

プロクロルペラジン（パソトミン） トリフロペラジン（トリフロペラジン） チオリダジン（メレリル） クロルプロマジン（コントミン）	ステージⅢ	代謝物のスポット（pink, purple blue）が、原点から積み重なるように出現する。 親化合物は尿中にほとんど存在しない。

4. ベンゾジアゼピン系製剤

フルラゼパム（ダルメート）
- ステージⅢ－アンフェタミンと近い位置に代謝物のスポット(green) が出現する。
- ステージⅣ－アンフェタミンと近い位置に３つのスポットがはっきり着色される。

ジアゼパム（セルシン）
クロルジアゼポキシド(コントール)
オキサゼパム（ハイロング）
プラゼパム（セダプランコーワ）
- ステージⅢ－ benzodiazepine hydrolysis procedure（ 方法はTOXI-TIPS の項に掲載）を使うとスポットがblueの蛍光発色で１～２出現する。

5. 催　眠　剤

メタカロン（ハイミナール）――― ステージⅠ－代謝物のかすかな blueのスポットが出現する。

6. 興奮剤・覚醒剤

アンフェタミン
メタンフェタミン
―― ステージⅠ－ yellow → gold

エフェドリン ――― ステージⅠ－ yellow → green

7. 代　謝　物

カルバマゼピン代謝物 ――― ステージⅢ－帯状のyellow → green蛍光発色

リドカイン代謝物 ――― ステージⅠ－ orange-pink

各過程におけるチェック　ポイント

（精度管理）

トキシ・ラボをより正確に使っていただくため、下記の点をチェックして下さい。

1. 抽　　出

　① 抽出溶媒が、トキシ・チューブの下端の矢印より上にあるか。

　② 検体の量がトキシ・チューブの上端の矢印まで入っているか。

　　（足りない時は、トキシ・チューブの緩衝作用を十分にするため、上端の矢印まで精製水か生理食塩水を加える。）

　③ 検体のトキシ・チューブ内での混和が十分か。（２分間以上転倒混和）

2. 濃　　縮

　① トキシ・ディスクに不純物（水を含む）がないか。

　　（トキシ・ディスクはディスク処理用ピンで扱うこと。）

　② トキシ・ディスクを加熱しすぎてはいないか。

　　（乾燥状態を目で確認したらすぐにオメガ12からトキシ・ディスクがはいったアルミカップを取り出す。）

3. 接　　種

　① トキシ・ディスクとトキシ・グラムの間や段差がないか。

　② トキシ・グラムの中心穴（トキシ・ディスク挿入部）に破損がないか。

4. 展開及び検出

　① トキシ・ラボＡにおけるスポットの位置の目安（標準薬物について）

　　　イミプラミン　４．５cm

　　　ジアゼパムとアセトアミノフェンがきれいに分離していること。

　※1. スポットが非常に高い位置に出現したり、スポットが長い楕円あるいは帯状になった時は、展開液の調合に使っている酢酸エチルへの不純物混入が疑われるので、展開液を調合する際には、再蒸留した酢酸エチル又はトキシ・ラボグレードの酢酸エチルを使用する。

　※2. 他のスポットについて異常を感じたら、「トラブルシューティング」を参照のこと。

　② トキシ・ラボＢにおけるスポットの位置の目安（標準薬物について）

　　　セコバルビタール　６．５cm
　　　ブタバルビタール　５．５cm

　　　セコバルビタールとブタバルビタールの間は１cm以上離れていること。

　※1. 各スポットの位置に異常を感じたら、「トラブルシューティング」の項を参照のこと。

トラブルシューティング

1．トキシラボ　ＡＢ　全般について

現　　象	考えられる原因	解　決　法
スポットの位置が低い （トキシラボA） スポットの位置が高い （トキシラボB）	アンモニアの濃度が低い アンモニアの量が少ない	○アンモニア水は必ず28% のものを使う ○アンモニア水の量は、必ずトキシグラムのビンに表示されている量を入れる ○アンモニア水の量はマイクロピペットを使って正確にとる ○アンモニア水は、必ず展開の前に入れておくこと
	展開液が違う	○トキシグラムＡには展開液Ａを、トキシグラムＢには展開液Ｂを入れる
スポットの位置が高い （トキシラボA） スポットの位置が低い （トキシラボB）	アンモニアの量が多い	○アンモニア水の量は、必ずトキシグラムのビンに表示されている量を入れる ○アンモニア水の量はマイクロピペットを使って正確にとる
スポットの位置がトキシラボＡＢともに高い	室温が27℃以上	○展開液をあらかじめ冷やしておく ○熱源（直射日光も含む）を避ける
	高湿度	○展開前にトキシグラムを約3 分間ヒートプレート上で加熱・乾燥させる
	展開し過ぎ	○ピンクのマーカーがトキシグラム上の目盛9,5 の位置に達したら、トキシグラムを展開ビンから取り出す
スポットにムラが出る （トキシラボA及びB）	高湿度	○トキシグラム保存用ビンの中のシリカが必ず青色であることを確認する
	トキシディスクの接種が不適当	○トキシディスクをトキシグラムに接種した後、トキシグラムとトキシディスクの間にすきまがないか確認する

現　　　象	考えられる原因	解　決　法
テーリング現象 （トキシラボA及びB）	検体中の薬物濃度が高すぎる	○検体を希釈して使う
アンフェタミン等の展開にムラが出る （トキシラボA）	酢酸エチルに不純物の混入	○再蒸留した酢酸エチルかトキシラボグレードの酢酸エチルを使う
展開が歪んでいる （トキシラボA及びB）	トキシグラムの端が展開ビンの器壁に触れている	○トキシグラムを展開ビンに入れる際、端が器壁に触れないようにする
	展開ビンの近くに熱源（直射日光も含む）がある	○展開ビンを熱源（直射日光も含む）から遠ざける
不純物の混入 （トキシラボA及びB）	トキシディスク接種時における不純物の混入	○トキシディスクをトキシグラムに接種する時あてがう紙は、毎回新しい物に取替える
	トキシグラムを直接手で触ってしまった	○トキシグラムは必ずピンセットで扱う
未知検体のスポットがはっきり出現しない	トキシディスクへの不純物の混入	○濃縮時に、トキシチューブの下層（水槽）部を混入させない
	濃縮時又は展開終了後に加熱しすぎた	○濃縮時、抽出液の蒸発を目で確認したら、直ぐにオメガ12からアルミカップを外す ○展開終了後、トキシグラムを加熱・乾燥させ、目で確認して、ヒートプレート上から取り出す
	脂質によるマスキング （特にトキシラボAにおけるＲｆ値の高い薬物が検出されない）	○特に血清中の脂質はきれいに処理する （コンペンジウム中の「TOXI-TIPS 」のSerum Lipid;Cleen-Up Procedureを参照）
	各操作時間の間隔をあけすぎた	○できるだけ短時間で操作を終える
	トキシチューブの溶媒が少ない	○トキシチューブを使用する前に、溶媒の量がトキシチューブの下端の矢印より多くあることを確認する

現　　象	考えられる原因	解　決　法
未知検体のスポットがはっきり出現しない	トキシチューブの混和が不十分	○検体採取後、少なくとも２分間以上トキシチューブを転倒混和する
	検体量（濃度）の不足	○検体は十分とっておく（少なくとも10ml）
標準物質のスポットがはっきり出現しない（トキシラボA及びB）	試薬の不足または劣化	○常に新しい試薬を十分用意しておく

2．トキシラボ　A　について

現　　象	考えられる原因	解　決　法
エフェドリン等の発色が異る（ステージⅠ）	ホルマリン気浴の処理が不適当	○ホルマリン気浴は通常10～15分間、最大30分間までにする
フェノチアジン系のスポットがあせたピンク色（ステージⅠ）	硫酸への不純物の混入	○新しい濃硫酸を使う ○ホルマリン気浴後、トキシグラムの下から2/3 を加温して余分なホルマリンをとばす
フェノチアジン系或いはイミプラミンのスポットの出現が遅い（ステージⅡ）	水が酸性化している	○精製水を使用し、５～10回で新しいものに取替える
イミプラミンのスポットが出現しない（ステージⅡ）	ゴム・プラスチック等に含まれる可塑剤の展開液への混入	○新しい展開液を使う ○トキシラボに附属の容器、キャップを使用する

現　　象	考えられる原因	解　決　法
標準薬物として入っているフェノチアジンのスポットが小さい （ステージⅡ）	トキシグラムの洗浄が不適当	○トキシグラムを１回水の中へ出し入れして、フェノチアジンのピンク色のスポットが出るまで待ち、その後数回水洗を繰り返す
蛍光発光が弱い （ステージⅢ）	ホルマリンの作用が弱い	○ホルマリンは37%のものを使用する
	ＵＶランプの波長が違う	○ＵＶランプは波長366nm のもの（標準セット品）を使う
	ＵＶランプの反射光を使っている	○蛍光検出には、ＵＶランプの透過光を使う
メプロバメートが発色しない （ステージⅢ）	ホルマリンの作用が弱い	○ホルマリンは37%のものを使用する ○ホルマリン気浴は、通常10～15分間、最大30分間までにする
ジアゼパム、アセトアミノフェンの分離が悪い （ステージⅢ）	アンモニア濃度が低い	○アンモニア水は、必ず28%のものを使う
色が弱い （ステージⅢ）	ドラゲンドルフ試薬の劣化	○新しいものと取替える

3．トキシラボ　B　について

現　　象	考えられる原因	解　決　法
トキシグラムが全体に青い（ステージⅠ）	トキシグラムが湿気を帯びている	○トキシグラム保存用ビンの中のシリカゲルが必ず青色であることを確認する ○トキシディスク接種後、トキシグラムをヒートプレート上で3分間加熱・乾燥する ○ＤＰＣ試薬（Ｂ－１）に浸した後は、熱を使わず自然乾燥する
スポットサイズが小さい	ＤＰＣ試薬（Ｂ－１）に浸すのに時間をかけ過ぎた	○ＤＰＣ試薬（Ｂ－１）には、１回だけすばやく出し入れする
	硝酸銀溶液（Ｂ－２）に浸した後、硝酸第２水銀（Ｂ－３）に浸すのに時間をかけすぎた	○Ｂ－２とＢ－３の試薬ビンのフタはあらかじめあけておき、トキシグラムをすばやく移動させる
スポットがはっきりしない	試薬類の劣化	○試薬類を新しいものと取替える

3）有機リン系農薬の簡易検査
（関東化学）

試料：尿

広島大学医学部法医学教室

内海　兆郎

有機リン系農薬の簡易検査法

はじめに

有機リン系農薬は、ドイツのバイエル社によって1940年前後に開発された。元来、神経ガスの研究から発展したものであって、パラチオンなどの初期の製品は、殺虫力が強力であるのと同時に、人に対しての毒性も極めて高いものであった。その後、各国で低毒性化の研究開発が行われ、選択性の高い、低毒性の化合物が登場した。

有機リン系農薬は、典型的な酵素毒であり、体内のコリンエステラーゼとの間に共有結合を作り、その活性を特異的かつ不可逆的に阻害し、体内にアセチルコリンの蓄積をもたらす。その結果として、コリン作動性の症状が現れる。

有機リンの定性分析には、コリンエステラーゼ活性試験、DTNB法、Hestrin法があり、さらには薄層クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを用いていた。クロマトグラフィーを行うには、検査試料から有機リンを精製する必要があり、救急医療の現場で行うには手間を要するため、現状では、患者の症状とコリンエステラーゼ活性値から有機リン中毒を十分に推定できている。しかし、有機リン系農薬と同様にコリンエステラーゼの活性を阻害するものにカーバメート系農薬がある。カーバメート系農薬の治療には、有機リン系農薬の拮抗薬であるPAMは効果的でないため、いずれの農薬による中毒であるかが判明すれば、PAMの使用に参考データが提示できる。

ニトロベンジルピリジン法

4-(4-ニトロベンジル)ピリジンは、ヨウ化メチルなどのアルキル化剤の呈色試薬として用いられていたもので、その後、薄層クロマトグラフでの有機リン系農薬の呈色試薬として利用されるようになった。本方法は、有機リン系農薬と4-(4-ニトロベンジル)ピリジンとが特異的に反応することを利用したものである。

【用意する試薬】

1）NBP溶液：4-(4-ニトロベンジル)ピリジン0.45gをアセトンに溶かして1mlとする。
2）TEP：テトラエチレンペンタミン
3）ジエチルエーテル：市販の特級試薬

【方法】

1）尿試料 1ml を試験管に取る。
2）45%4-(4-ニトロベンジル)ピリジンのアセトン溶液 0.1ml を加え、撹拌する。
3）100℃で 20 分間加熱する。
4）放冷後、テトラエチレンペンタミン 0.1ml を加え、撹拌する。
5）ジエチルエーテル 1ml を加え、撹拌した後、ジエチルエーテル層の吸光度を測定する。

【結果】

1）検査試料の着色具合に関わらず、有機リンが存在するとエーテル層は、紫色に変化した。
2）4-(4-ニトロベンジル)ピリジンおよびテトラエチレンペンタミンの添加量、反応条件を詳細に検討した結果、手順に示した条件で最適な結果が得られた。
2）検出下限は、概ね 0.3～3μg/ml であった。ただし、アセフェート、イソフェンフォス、バミドチオンは、発色が困難で、検出下限は 10μg/ml であった。
3）血液（全血）や血清は、アセトニトリルで除蛋白することにより、呈色可能であった。
4）カーバメート系農薬や他の医薬品で妨害する化合物は無く、有機リン系農薬に特異的な反応であった。
6）有機リン系農薬の代謝物や無機のリン酸化合物には反応しなかった。

◎利点

1）簡便な操作で検出できる。
2）有機リン系農薬に特異的に反応する。

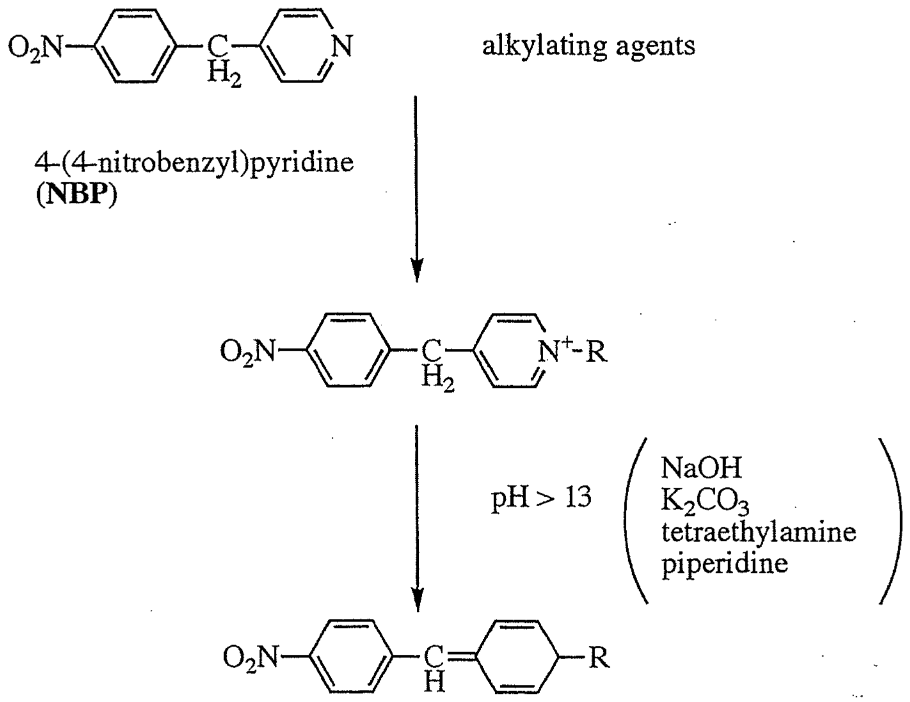
◎欠点

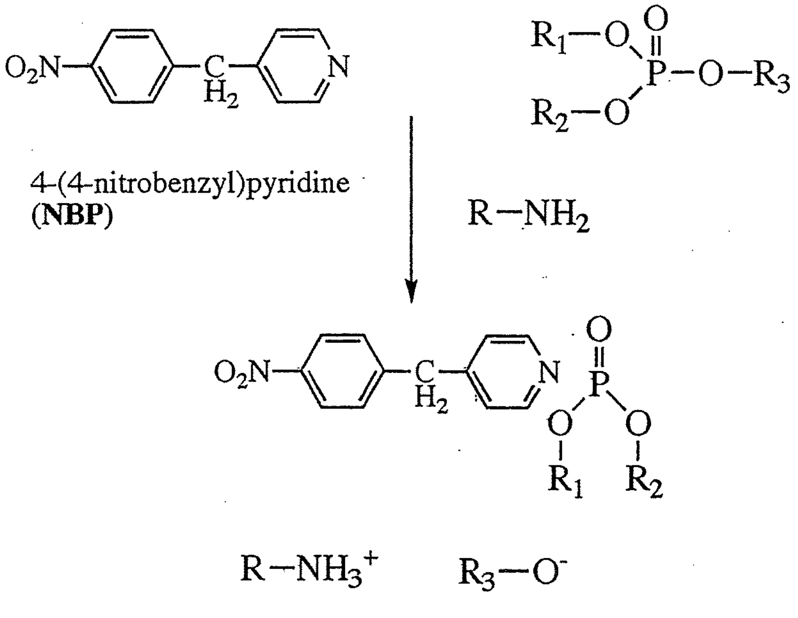
1）100℃で加温できる装置が必要である。
2）目視的に判断するために、エーテルを使用している。
3）プロパホスなど、微量では発色しないものがある。

【コメント】

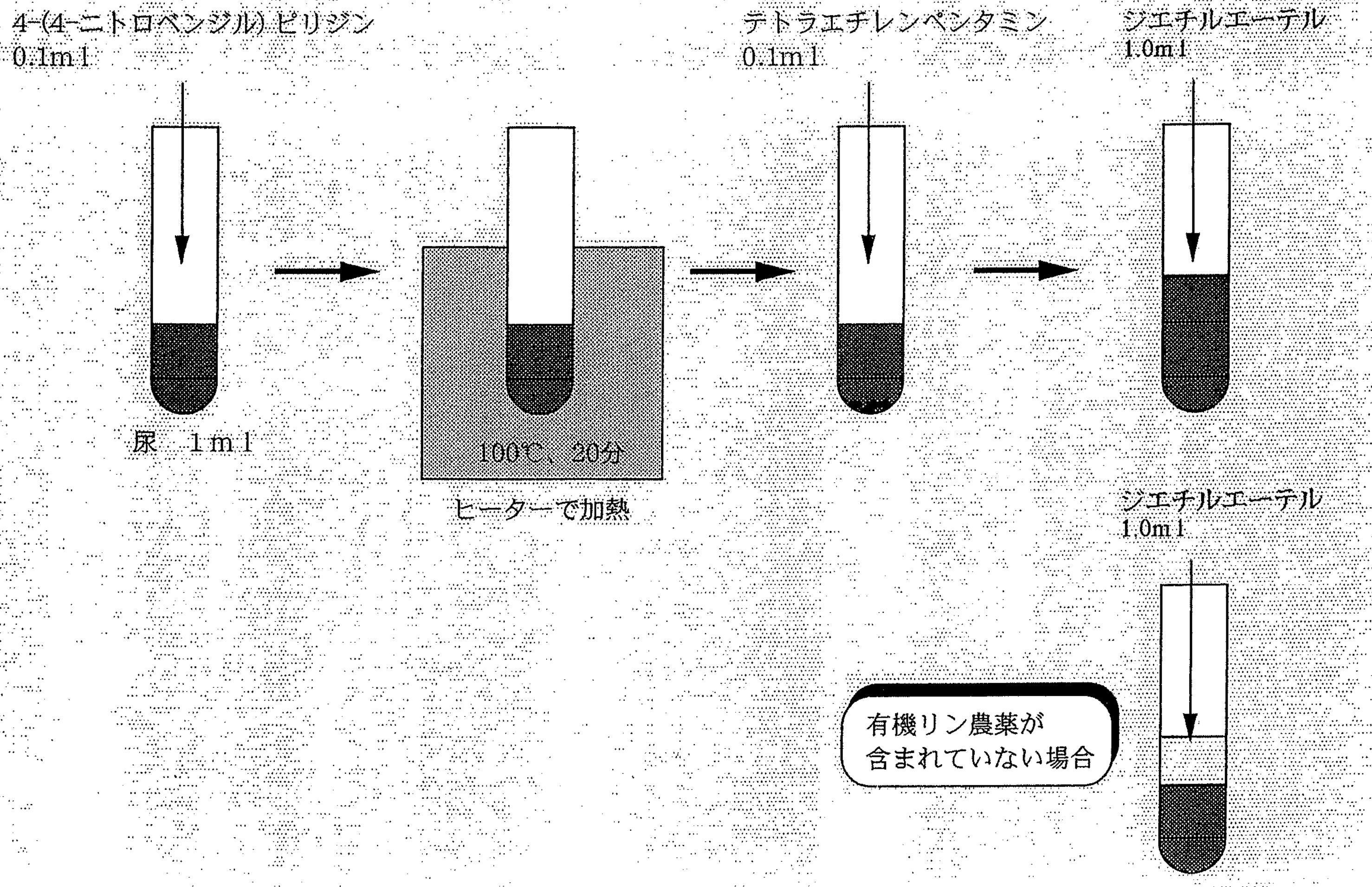
着色成分によって妨害の恐れのある場合は、固相抽出(Sep-Pak や Empore filter など ）した溶液について検査することも可能である。

Formation of colored material by NBP





操　作　手　順


4-(4-ニトロベンジル) ピリジン
0.1ml
尿　1ml
100℃、20分
ヒーターで加熱
テトラエチレンペンタミン
0.1ml
ジエチルエーテル
1.0ml
ジエチルエーテル
1.0ml
有機リン農薬が
含まれていない場合

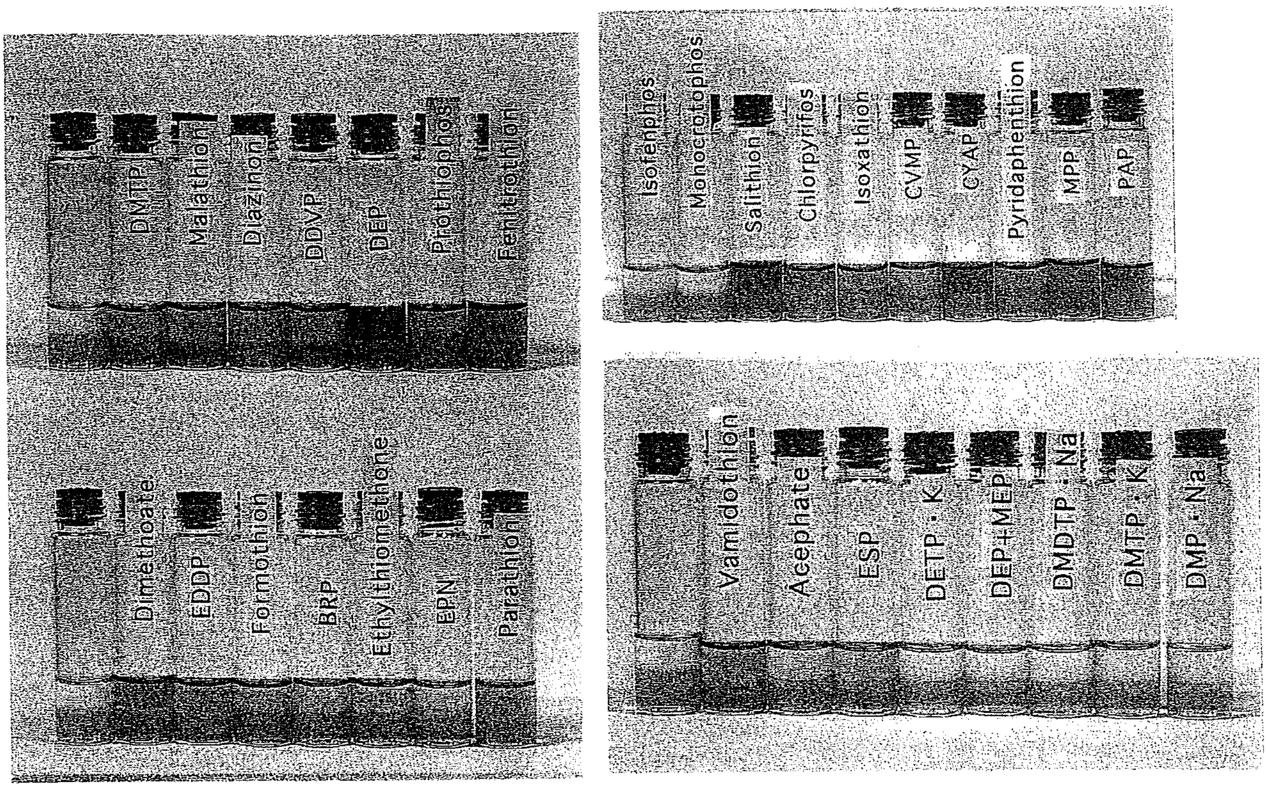
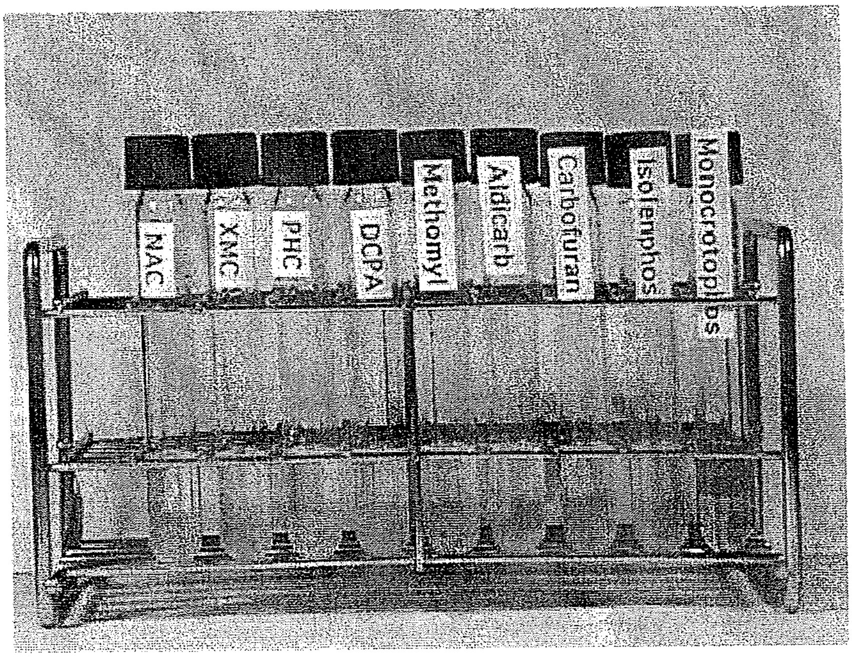
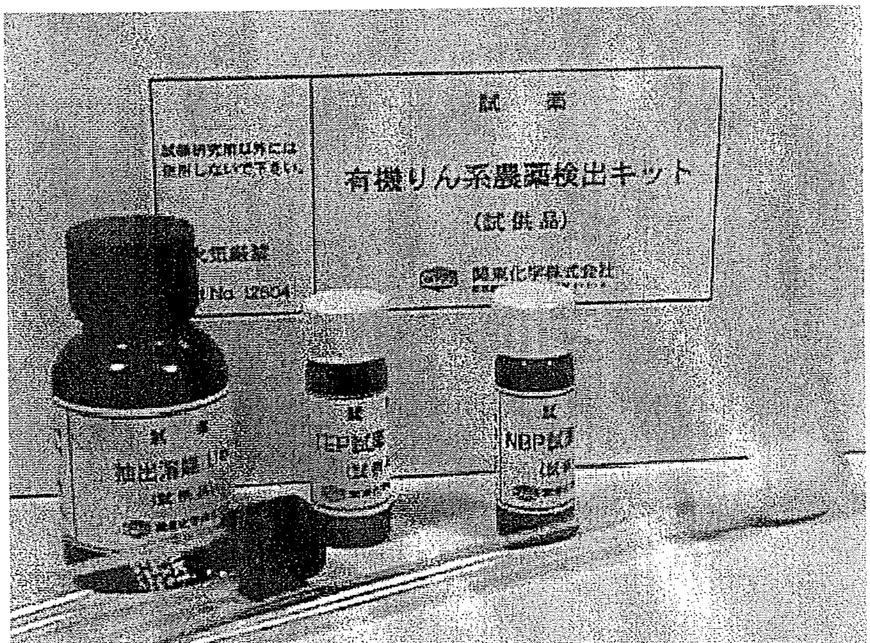


写真24　ニトロベンジルピリジン法による尿中有機リン系農薬および代謝物の検出例

写真25　ニトロベンジルピリジン法による尿中カーバメート系農薬およびその他の農薬の検出例（陰性例）


NAC
XMC
PHC
DCPA
Methomyl
Aldicarb
Carbofuran
Isofenphos
Monocrotophos


試　薬
有機りん系農薬検出キット
（試供品）