

の目のふるいを通過させて得た土壌を十分混合する。

(3) 試料液の調製

試料(単位 g)と溶媒(純水に塩酸を加え、水素イオン濃度指数が 5.8 以上 6.3 以下となるようにしたもの)(単位 ml)とを重量体積比 10%の割合で混合し、かつ、その混合液が 500ml 以上となるようにする。

(4) 溶出

調製した試料液を常温(おおむね 20℃)常圧(おおむね 1 気圧)で振とう機(あらかじめ振とう回数を毎分約 200 回に、振とう幅を 4cm 以上 5cm 以下に調整したもの)を用いて、6 時間連続して振とうする。

(5) 検液の作成

(1)から(4)の操作を行って得られた試料液を 10 分から 30 分程度静置後、毎分約 3,000 回転で 20 分間遠心分離した後の上澄み液を孔径 0.45  $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過してろ液を取り、定量に必要な量を正確に計り取って、これを検液とする。

## 9.保証とアフターサービス

- 万一、品質に不都合な点がありましたら、弊社にお問い合わせ下さい。
- ガス測定、品質に関する質問をお気軽にお問い合わせ下さい。  
お問い合わせ先：株式会社 ガステック 営業本部  
〒252-1103 神奈川県 綾瀬市 深谷 6431  
TEL：0467(79)3911 FAX：0467(79)3979  
ホームページアドレス：<http://www.gastec.co.jp/>

## 参考文献

佐藤正光：還元気化-検知管法を用いた環境試料中の微量ひ素の簡易検出法，  
水処理技術，34 (9)，451-459，1993

Printed in Japan

## 迅速検査法による有機リン系農薬検査

－有機りん系農薬検出キットによる尿中有機リン系農薬の検出－

# 迅速検査法による有機リン系農薬検査

－有機りん系農薬検出キットによる尿中有機リン系農薬の検出－

## 1. 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、サリンなどの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、人に対しての毒性が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るが、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。

## 2. 原理

4-(4-ニトロベンジル)ピリジン (NBP) は、薄層クロマトグラフィーでの有機リン系農薬の呈色試薬として利用されている。本キットは、水溶液の状態では有機リン系農薬とNBPとが反応し、検査試料中に含まれている有機リン系農薬を検出できるように改良したものである。検査試料中に有機リン系農薬が含まれていると、ピンク色～赤紫色に変色する。一部の有機リン系農薬では、着色しないものもある。

## 3. 使用器具

- 有機りん系農薬検出キット
- アルミブロック恒温槽
- 試験管立て
- 駒込ピペット(1ml)
- マイクロピペット(1ml)
- 駒込ピペット用ゴムキャップ
- チップ(1ml用)

#### 4. 操作法

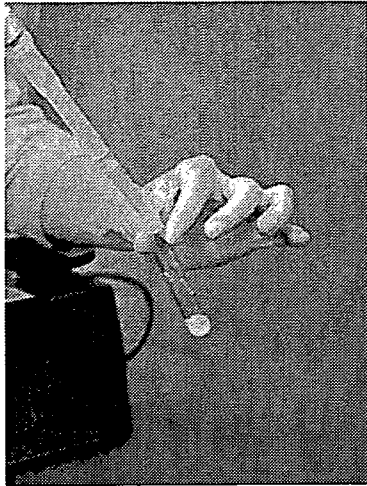
1. 尿1ml(1ml/マイクロピペット)をNBP試薬入り試験管に採り、攪拌する(図①)。
2. キャップを閉め、尿を入れた試験管を100℃で10分間加温する(アルミブロック恒温槽)(図②)。
3. 室温まで放冷し、TEP試薬を2滴加えて激しく攪拌する(図③)。
4. 抽出溶媒を1ml(1ml/駒込ピペット)加える(図④)。
5. 転倒攪拌後、静置して上層の色を観察する(図⑤)。
6. 陽性の場合、上層(抽出溶媒層)は薄ピンク色～赤紫色を呈する。

#### 5. 注意点

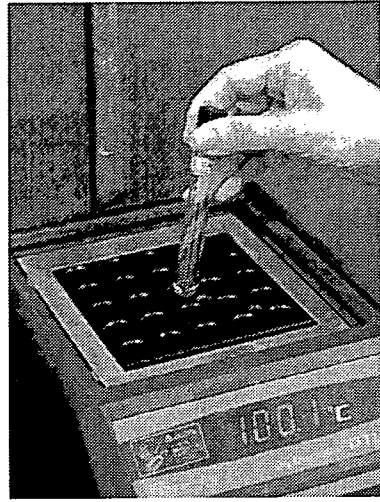
- 1) 検出下限はマラチオン10μg/ml、ブロムワレリル尿素10μg/mlである。詳細は取り扱い説明書を参照のこと。
- 2) アルミブロック恒温槽から試料を取り出すときは、突沸に注意する。
- 3) 検査試料や試薬の入った試験管を上から覗き込まないこと。
- 4) 定量しない場合には、必ずしもマイクロピペットで試料を採取しなくても良い。駒込ピペットで充分である。
- 5) 検査試料を入れても試験管の底にある試薬は完全に溶けないので、そのまま加熱する。
- 6) 電子レンジ(500W)で25秒間程度加熱することで代用することも可能である。また、ガス湯沸かし器の熱湯で加温しても良い。ただし、加熱ムラが出てくるので、事前にチェックしておく必要がある。
- 7) 試験管の放冷は、完全に室温になるまで待つ必要はなく、手で触れる程度まで温度が下がればよい。
- 8) 抽出溶媒は揮発性であるため、反応溶液が熱いと抽出溶媒が一気に気化して反応溶液が試験管より溢れて火傷する危険性があるので、試験管が冷えてから抽出溶媒を入れる。
- 9) 加熱が不十分の場合、抽出溶媒を入れた後の色の退色が早くなる。
- 10) 予め農薬の種類が判明していれば、分光光度計を使って検量線を作成し、定量することも可能である。しかし、複合剤の場合は種類によって吸光度が異なるので定量できない。

#### 6. 参考

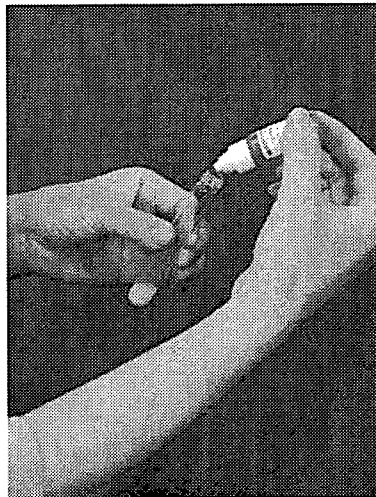
- A. Namera, Y. Utshumi, M. Yashiki, et al : Clin. Chim. Acta, 291, 9-18, 2000.
- 奈女良 昭、西田まなみ、屋敷幹雄、他著：中毒治療に役立つ迅速検査法。じほう, 2005.



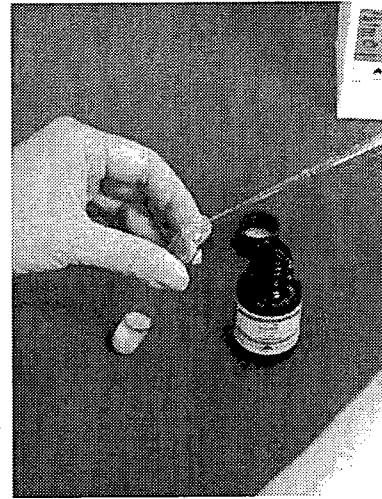
図① 尿 1ml を NBP 試薬入り試験管に採る



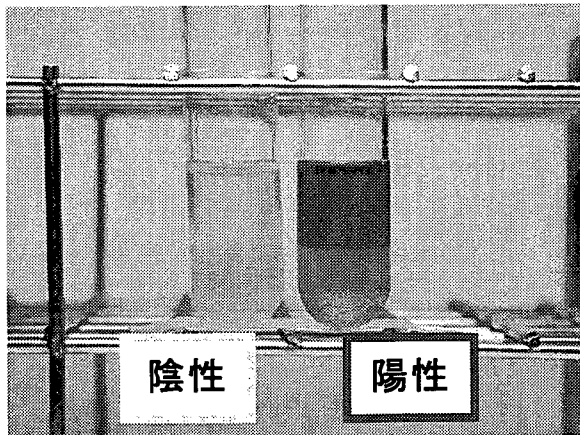
図② 試験管を 100℃で 10 分間加温する



図③ TEP 試薬を 2 滴加えて 攪拌する



図④ 抽出溶媒を 1ml 加え、 転倒攪拌する



## 迅速検査法によるコリンエステラーゼ阻害活性検査

－Agri-Screen AT-10 Ticket によるコリンエステラーゼ阻害剤の検出－

# 迅速検査法によるコリンエステラーゼ阻害活性検査

—Agri-Screen AT-10 Ticket によるコリンエステラーゼ阻害剤の検出—

## 1. はじめに

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。

有機リン系農薬中毒の診断には、コリンエステラーゼ活性試験、DTNB 法、Hestrin 法や機器分析法を用いるが、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推定している。

## 2. 原理

本キットで使用されている試薬などについての詳細は不明であるため、一般的なコリンエステラーゼ阻害活性測定法（DTNB 法）について述べる。

2,3-ジメトキシベンゾイルチオコリン（2,3-Dimethoxy benzoylthiocholine）がコリンエステラーゼと反応して、2,3-ジメトキシ安息香酸とチオコリンに分解される。生成したチオコリンは、5,5'-ジチオビス-2-ニトロ安息香酸（青色：5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid）と反応して 2-ニトロ-5-チオ安息香酸と 2-ニトロ安息香酸-5-メルカプトチオコリンになり、青色が消失する。

## 3. 使用器具

- キット（Agri-Screen AT-10 Ticket）
- パスツールピペット
- 試験管

## 4. 操作手順

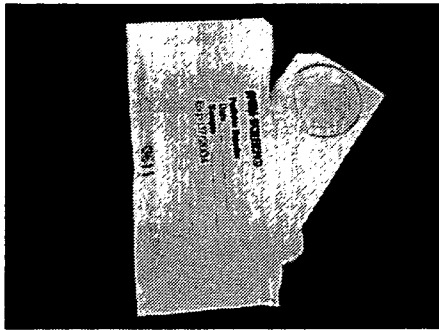
1. チケットが入っている小袋を開封し、チケットを取り出す（図①）。
2. チケットのカバーホイルを半分剥がし、酵素ディスク部（白色）を露出させる（図②）。
3. 尿3滴（パスツールピペット）を、酵素ディスク部（白色）に滴下する（図③）。
4. アクチベーターアンプルを目盛り付の試験管内で割り（図④）、水1ml（パスツールピペット）を加えて希釈する。
5. 4.の希釈液3滴（パスツールピペット）を酵素ディスク部（白色）に滴下し、3分間放置する（図⑤）。

6. チケットのカバーホイルの残り半分を完全に取り除き（図⑥）、酵素ディスク部（白色）と基質ディスク部（紫色）の露出部分がきちんと合わさるように折り曲げ、3分間しっかりと接触を保持する（図⑦）。
7. 3分後、酵素ディスク部（白色）が白色であれば、検出下限以上のコリンエステラーゼ阻害活性物質の存在が示唆される（図⑧）。

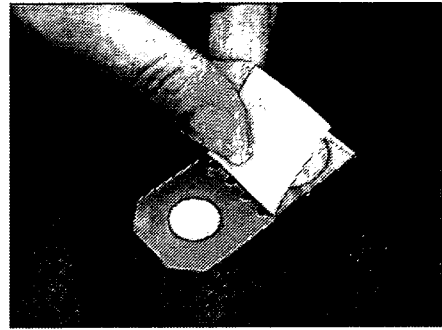
## 5. 注意点

- 1) 検出下限は数  $\mu\text{g/ml}$  である。
- 2) 対象となる化合物によって、感度は異なる。
- 3) カーバメート系農薬に限らず、コリンエステラーゼ阻害活性物質（例えば、有機リン系農薬など）の存在でも陽性となる。

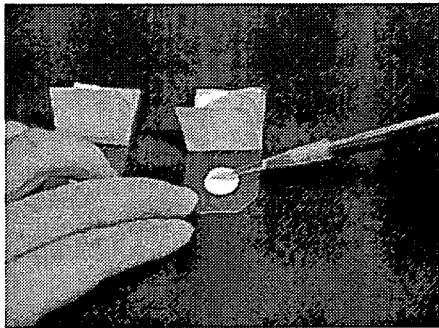




図① チケットを取り出す



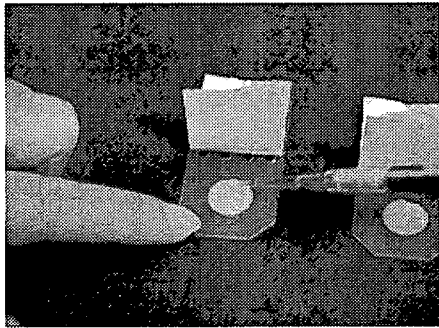
図② 酵素ディスク部（白色）を露出させる



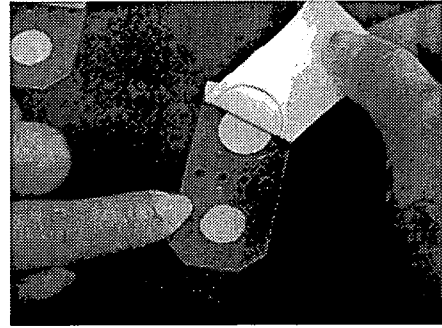
図③ 尿 3 滴を、酵素ディスク部（白色）に滴下する



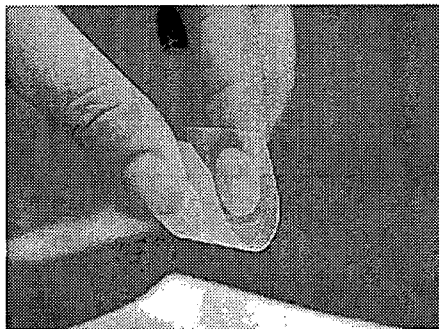
図④ アクチベーターアンプルを試験管内で割り、水 1ml で希釈する



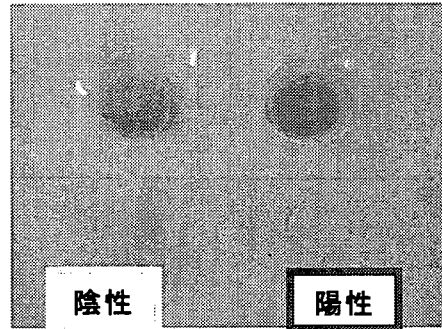
図⑤ 希釈液 3 滴を酵素ディスク部（白色）に滴下し、3 分間放置する



図⑥ カバーホイルの残り半分を完全に取り除く



図⑦ 折り曲げ、3 分間接触を保持する



## 迅速検査法によるパラコート検査

ー hidroサルファイト反応によるパラコートの検出ー

# 迅速検査法によるパラコート検査

－ヒドロサルファイト反応によるパラコートの検出－

## 1. はじめに

パラコート (Paraquat) はイギリスの ICI 社が開発した農薬であり、ジピリジニウム系非選択型除草剤に分類される。“パラコート”という名称は商標名であった(元々はメチルピオローゲン)が今日では一般名として使われる。葉だけを枯らして、木や根を枯らさないため、散布後すぐに作物を植えられることや、安価で経済的という点から、広く用いられてきた。

1986年まで市販されていたパラコート製剤(グラムキソン、パラゼット等)には、24%のパラコートジクロリドが添加されており、中毒事故への対処療法がなかった。1986年7月以降、誤飲や自殺等を防ぐため、パラコート濃度を下げ、類似物質のジクワットを混合し、着色、臭いをつける等、嘔吐剤や苦味剤を混合した。しかし解毒剤もないため、依然として中毒死者が多い毒物の一つである。

## 2. 原理

パラコートは、アルカリ性水溶液中でヒドロサルファイトなどの還元剤によって還元を受けると青色に変化する。この反応を利用し、尿などの検査試料にヒドロサルファイト含有の水酸化ナトリウム水溶液を加えると、尿中に存在するパラコートが確認できる。尿中パラコート濃度に比例して色が濃くなるので、吸光度を測ることによって、定量も可能である。また、パラコートと類似の化合物であるジクワットも確認可能であるが、パラコートとは異なって緑色に変化する。

## 3. 使用器具

- マイクロピペット (1ml)
- 水酸化ナトリウム水溶液 (1M、ヒドロサルファイトナトリウム0.1%含有)
- 駒込ピペット (1ml)

## 4. 操作手順

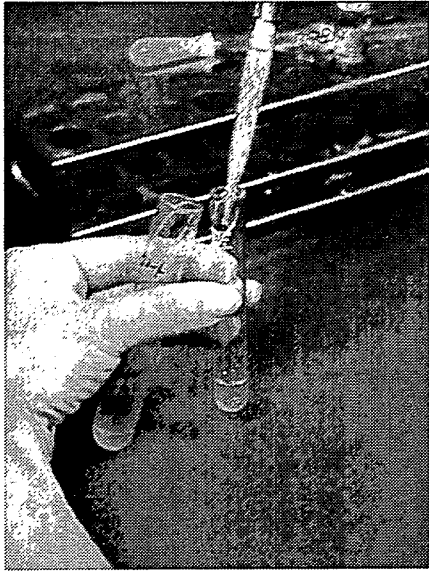
1. 尿1ml (1ml/マイクロピペット) を試験管に採る (図①)。
2. 水酸化ナトリウム水溶液 (1M、ヒドロサルファイトナトリウム0.1%含有) 1ml (1ml/駒込ピペット) を加えて攪拌する (図②、③)。
3. 色を観察する。陽性の場合、青色を呈する。

## 5. 注意点

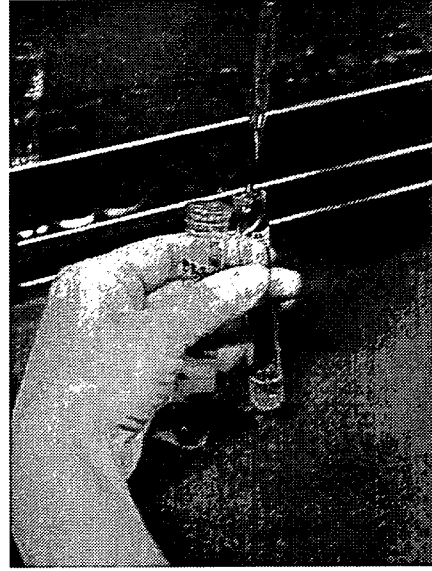
- 1) 検出下限は  $20 \mu\text{g/ml}$  である。
- 2) ハイドロサルファイトは保存中に失活することが多く、ハイドロサルファイトの活性度を確認するために陽性コントロールを同時に検査することが勧められる。

## 6. 参考

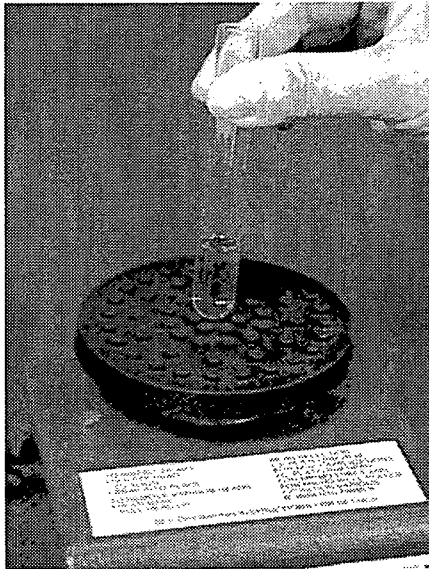
- 屋敷幹雄 監修：中毒治療に役立つ迅速検査法、(株)じほう、2005.
- 日本薬学会 編：薬毒物試験法と注解 2006、東京化学同人、2006.



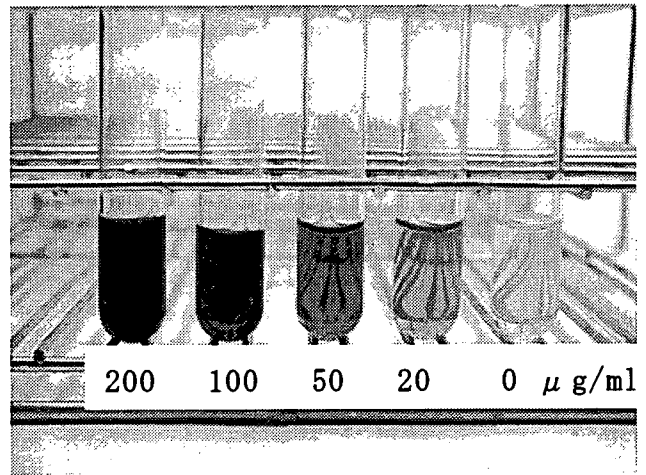
図① 尿 1ml を試験管に採る



図② 水酸化ナトリウム水溶液 1ml を加える



図③ 攪拌する



## 迅速検査法によるパラコート検査

—北川式ガス検知管によるパラコートの検出—

# 迅速検査法によるパラコート検査

—北川式ガス検知管によるパラコートの検出—

## 1. はじめに

パラコートは、アルカリ性水溶液中でヒドロサルファイトなどの還元剤によって青色に変化することが知られているが、ヒドロサルファイトが保存中に失活することが多々ある。

## 2. 原理

パラコートは、アルカリ性水溶液中でヒドロサルファイトなどの還元剤によって還元を受けると青色に変化する。この反応を利用し、尿などの検査試料にヒドロサルファイト含有の水酸化ナトリウム水溶液を加えると、尿中に存在するパラコートが確認できる。尿中パラコート濃度に比例して色が濃くなるので、吸光度を測ることによって、定量も可能である。また、パラコートと類似の化合物であるジクワットも確認可能であるが、パラコートは異なって緑色に変化する。

## 3. 使用器具

- 北川式検知管（光明理化学工業株式会社）
- ツベルクリン用注射器(2ml)

## 4. 操作法

1. 検知管の両端をカットする（図①）。
2. ツベルクリン用注射器(2ml)で試料 2.0ml を採る（図②）。
3. 矢印の方向に注意し、検知管と試料を採ったツベルクリン用注射器を付属のゴム管で接続する（図③、④）。
4. 注射器のプランジャーを押して試料を注入する（図⑤）。
5. 試料注入後、検知剤の色の変化（青色に変化する）でパラコートの有無を推定する。

## 5. 注意点

- 1) 検出下限は 0.5 $\mu$ g/ml である。
- 2) 検知管および分離管の両端をカットする場合、ガラスの先端や破片などで怪我をしないように注意する。
- 3) 接続したゴム管から試料が漏れることがあるので、ゴム管部分を手で押さえてから注入する。

- 4) 試料が試薬部分を通過するときには抵抗がかかるので、ゴム管が外れたり試料が漏れないように注意する。

## 6. 参考

- F. Ishizawa, S. Misawa, Jpn. 中毒研究, 2, 401-406, 1989.
- 屋敷幹雄 監修：中毒治療に役立つ迅速検査法、(株)じほう、2005.





北川式ガス検知管使用説明書  
血中定性パラコート  
(PQ型)

290PQ

この使用説明書を良く読んでからご使用ください。

■安全上の注意事項

- 1) 割れても怪我の無いよう保護手袋、保護眼鏡をご使用ください。
- 2) 検知剤には微量の化学薬品が含まれています。  
手に触れた場合は水で良く洗い流してください。
- 3) 子どもの手の届く所に置かないでください。
- 4) 試料を注入時に検知管がはずれて、液が飛散する事がありますので  
ご使用になられるときはご注意下さい。

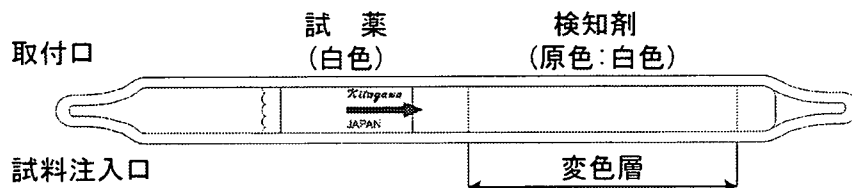
■使用上の注意事項

- 1) 冷暗所(0～25℃)で保存し、箱上面記載の有効期限内にご使用ください。
- 2) 測定後は、直ちに変色を確認してください。

●用途

この検知管は、血液中のパラコート及び尿中のパラコートを定性するのにご使用ください。

●仕様

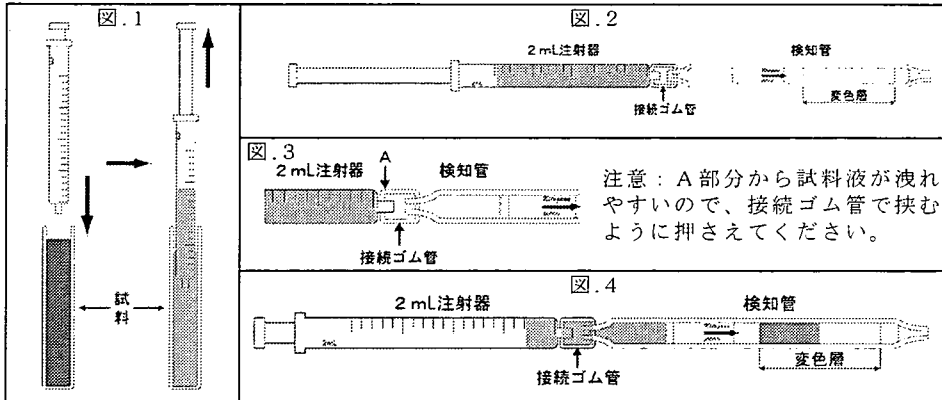


試料採取量	2 mL
測定時間	30 秒間
検知剤の変色	白色 → 青色
検知限度	0.5 µg/mL
使用温度範囲	15～25℃
反応原理	ハイドロサルファイトナトリウムにより還元される。

IMI2908/1

●測定操作

試験管に血液(※注1)を5 mL取り、3000rpmで3分間、遠心分離を行ってください。  
この血漿部を試料とします。  
※尿試料の場合は、そのまま測定操作に従って行ってください。



- ① 検知管の両端をカットします。
- ② 注射器に試料液を2 mL採取します。 : 図.1 参照
- ③ 検知管と試料液の入った注射器を接続ゴム管で接続します。 : 図.2 参照  
接続ゴム管は深く差し込むようにしてください。
- ④ 試料液を30秒間等速度で注入してください。(※注2) : 図.3,4 参照
- ⑤ 検知管を取り外し、変色を確認します。

※注1：血液は新鮮な血液を使用してください。

※注2：接続ゴム管部分から試料液が漏れることがありますので、保護手袋等をして接続ゴム管部分を手で押さえてから注入してください。  
特に試薬部分は抵抗が掛かりますので気を付けて注入してください。

●判定

検知剤(変色層)の変色

白色から青色へ変色；パラコートを含んでいます。  
変色しない；パラコートを含んでいます。

●廃棄

この検知管は有害物質を含んでおりません。まとめて一般廃棄物もしくは産業廃棄物の「ガラス及び陶磁器くず」として廃棄してください。

※性能向上のために仕様や外観は予告なしに変更することがあります。

※製品についてご不明の点、ガス測定についての質問等がございましたら、お気軽にお問い合わせください。

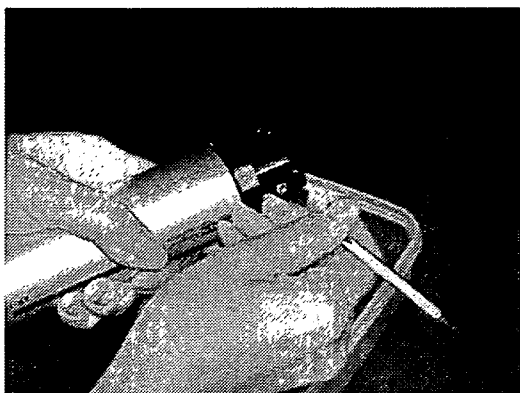
光明理化学工業株式会社

〒152-8503 東京都目黒区中央町1-8-24

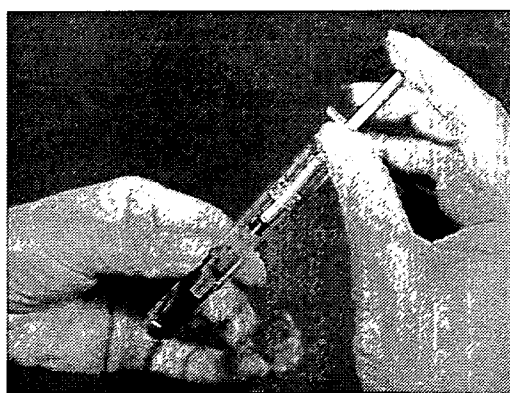
TEL (03) 5704-3511 代 FAX (03) 5704-3316

URL <http://www.komyokk.co.jp/>

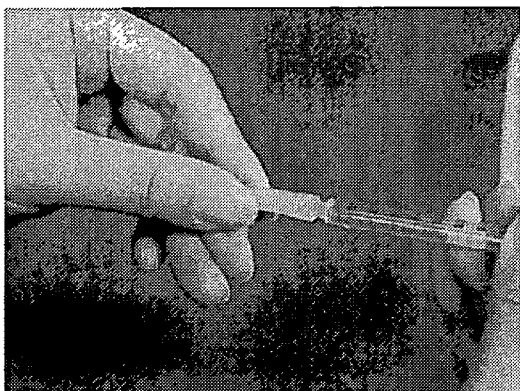
IMI2908/1



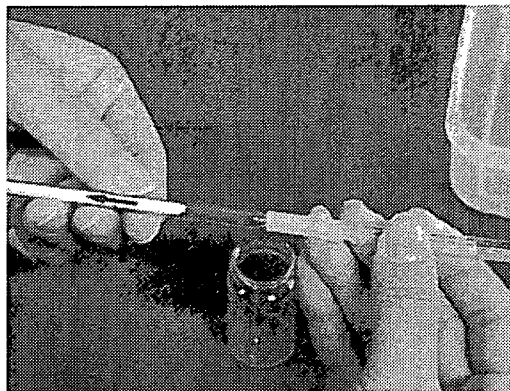
図① 検知管の両端をカットする



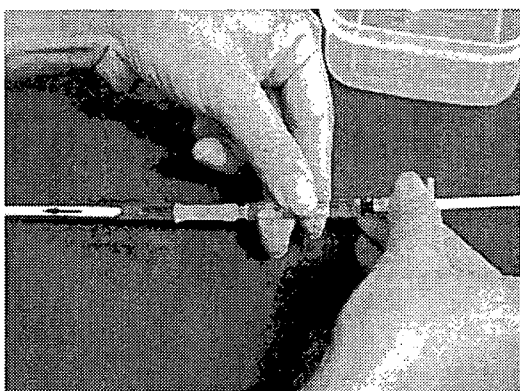
図② ツベルクリン用注射器で  
試料 2.0ml を採る



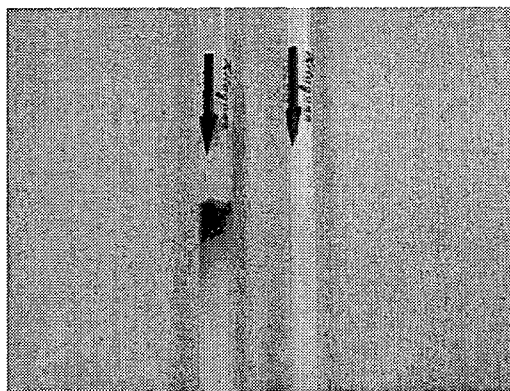
図③ ツベルクリン用注射器に付属の  
ゴム管を接続する



図④ 検知管を接続する



図⑤ 注射器のプランジャーを押して  
試料を注入する



資料6

## 生物剤検知技術の概要