

人體尿液中有機磷劑代謝產物之分析

李宏萍 翁愷慎 李國欽

台灣省農業藥物毒物試驗所

(接受日期：民國 80 年 3 月 14 日)

摘 要

李宏萍、翁愷慎、李國欽 1991 人體尿液中有機磷劑代謝產物之分析 植保會刊 33: 188~196

經 pentafluorobenzyl bromide (PFB-Br) 反應，然後利用氣液層析儀附火焰式光量檢出器 (GLC-FPD) 可成功的檢測人尿中有機磷農藥的六種代謝產物，Dimethyl phosphate (DMP), Diethyl Phosphate (DEP), Dimethyl thiophosphate (DMTP), Diethyl thiophosphate (DETP), Dimethyl dithiophosphate (DMDTP), Diethyl dithiophosphate (DEDTP) 之含量；其最低偵測界限分別為 0.064ppm, 0.008ppm, 0.014ppm, 0.025ppm, 0.019ppm, 0.025ppm。利用上述方法分析 57 件辦公室工作人員樣品，其中有 11 件樣品 (佔 19.3%) 中測得有機磷代謝物，其出現率為 DMTP > DETP > DEP > DMP = DEDTP, DMDTP 則未在尿液樣品中發現。在 63 件農民尿液樣品中，有 31 件樣品 (佔 49.2%) 含有機磷代謝產物，其出現率為 DMTP > DMP > DMDTP > DEP > DETP > DEDTP。229 件農藥工廠工作人員尿液中發現有 170 件樣品 (佔 74.2%) 含有機磷代謝物，其出現率為 DMTP > DMP > DEP > DETP > DMDTP > DEDTP。

(關鍵字：有機磷劑、尿液分析、農藥代謝產物)

緒 言

農藥使用後之殘留問題一直為大家所重視，環境中之殘留可能影響生態之平衡，而農產品中之殘留則會影響人體之健康。農作物上之殘留農藥除經由環境因子由植物本身代謝及食前處理等方式使之消失外，人體之代謝也能減少殘留農藥累積於人體，因此研究農藥在人體中之代謝途徑、速率及代謝物之含量與攝入量之關係，為探討農藥殘留對人體影響最直接之方法。

本省殺蟲劑的製造與使用仍以有機磷劑為大宗。由前人研究結果來自有機磷劑之代謝物及衍生物有廿四種之多⁽⁵⁾ (表一)。本所研究選擇其中六種 Dimethyl phosphate (DMP), Diethyl phosphate (DEP), Dimethyl thiophosphate (DMTP), Diethyl thiophosphate (DETP), Dimethyl dithiophosphate (DMDTP), Diethyl dithiophosphate (DEDTP) 研究其分析方法，此六種為台灣常用之 47 種有機磷劑之主要代謝產物 (表二)。並利用發展出之分析方法分析有機磷劑生產工廠之工作人員，裁

表一、有機磷劑代謝產物及衍生物種類一覽表

Table 1. A list of organo phosphate metabolites & Derivatives

簡稱 Abbrev	化學名稱 Chemical name
DMP	O,O-Dimethyl phosphate
DEP	O,O-Diethyl phosphate
DMTP	O,O-Dimethyl phosphorothionate
DEDTP	O,O-Diethyl phosphorothionate
DMDTP	O,O-Dimethyl phosphorodithionate
TMP	O,O,O-Trimethyl phosphate
DEMP	O,O-Diethyl O-methyl phosphate
DEMTTP	O,O-Diethyl O-methyl phosphorothionate
DEMPHTH	O,O-Diethyl S-methyl phosphorothionate
DEMDTP	O,O-Diethyl O-methyl phosphorodithionate
TMDTP	O,O,O-Trimethyl phosphorodithionate
DMEP	O,O-Diethyl O-methyl phosphate
DMETTP	O,O-Dimethyl -O-ethyl phosphorothionate
DMEPHTH	O,O-Dimethyl S-ethyl phosphorothionate
TEP	O,O,O-Trimethyl phosphate
DMAP	O,O-Dimethyl-O-amyl phosphate
DEAP	O,O-Diethyl O-amyl phosphate
DMATTP	O,O-Dimethyl O-amyl phosphorothionate
DEATTP	O,O-Diethyl O-amyl phosphorothionate
DMAPHTH	O,O-Dimethyl S-amyl phosphorothionate
DEAPHTH	O,O-Diethyl S-amyl phosphorodithionate
DMADTP	O,O-Dimethyl S-amyl phosphorodithionate
DEADTP	O,O-Diethyl S-amyl phosphorodithionate
TAP	O,O,O-Triamyl phosphate

培不同作物之農民，及未直接接觸農藥之辦公室之工作人員尿液，配合調查表中農藥生產種類，農民用藥情形及辦公室工作人員取食農作物之種類，期能找出三者之差異與其原因，作為農藥生產，使用及食用安全之指標之一。

材料與方法

試驗用試劑

有機磷代謝物標準劑

1. Dimethyl phosphate (DMP), Diethyl phosphate (DEP), Dimethyl Thiophosphate (DMTP), Diethyl Thiophosphate (DETP), Dimethyl Dithiophosphate (DMDTP), Di-

ethyl Dithiophosphate (DEDTP) 由高雄醫學院吳信隆教授提供。

2. Pentafluorobenzyl bromide (PFB-Br) 試劑 - Pierce Chemical Co., 或 Aldrich Chemical Co.

3. 氯化鈉 (Sodium Chloride)-Merck, 鹽酸 (Hydrogen Chloride)-Merck, 乙酸乙酯 (Ethyl Acetate)-J. T. Baker, 氰化甲烷 (Acetonitrile)-Wako, 碳酸鉀 (Potassium Carbonate, anhydrous)-Merck.

有機磷代謝物之衍生物反應

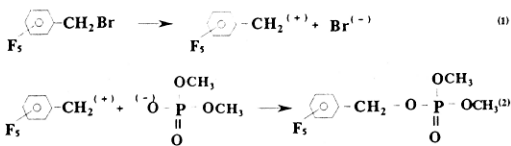
代謝產物必須先製成衍生物以提高其對儀器之敏感度，其衍生物之製作反應乃分別將此

表二、六種有機磷劑代謝物之可能有機磷劑來源

Table 2. Possible source of six organic phosphate metabolites examined

代謝產物 Metabolite	代謝產物結構 Formula	有機磷劑 Organophosphates
DMP	O	cyanophos, dichlorvos, dicrotophos, heptenophos, mevinphos, phosphamidon, naled, tetrachlorvinphos, trichlorfon.
DMTP	(CH ₃ O ₂)P-OH	demeton-S-methyl, etrimfos, fenthion, Fenchlorphos, Iodofenphos, methyl parathion, monocrotophos, oxydemeton-methyl, pirimiphos-methyl, temephos, fenitrothion.
DMDTP	(CH ₃ O) ₂ P-OH	azinphos-methyl, carbophenothion, dimethoate, formothion, malathion, methidathion, phosalone, phenthoate, menazon, phosmet, terbufos, thiometon.
DEP	(C ₂ H ₅ O) ₂ P-OH	chlorfenvinphos.
DETP	(C ₂ H ₅ O) ₂ P-OH	baythion, chlorpyrifos, diazinon, fensulfothion, karphos, ofunack, parathion, pirimiphos-ethyl.
DEDTP	(C ₂ H ₅ O) ₂ P-SH	dialifos, disulfoton, fonofos, mecarbam, phosphate, phosalone.

六種有機磷劑之代謝物標準劑以丙酮溶劑配製成不同濃度，即 DMP 1000 ppm, DEP 1000 ppm, DMTP 500 ppm, DETP 480 ppm, DMDTP 1000 ppm, DEDTP 500 ppm。再各取 1ml 分別放入 15ml 有蓋離心管中，以氰化甲烷定量至 5ml，加入 20 μl PFB-Br 及 20mg 碳酸鉀，蓋緊蓋子，振盪後放入 80°C 水浴上煮二小時，冷卻後以氮氣吹乾，再以丙酮定量至 1ml，以氣液層析儀附質譜儀 (GLC-MSD) 定性及氣液層析儀附火焰光量檢出器 (GLC-FPD) 定量之，見圖 1，2。



DMP-PFB 反應成衍生物之 SN1 反應機構

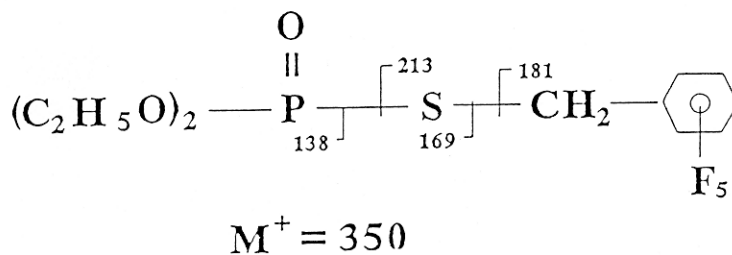
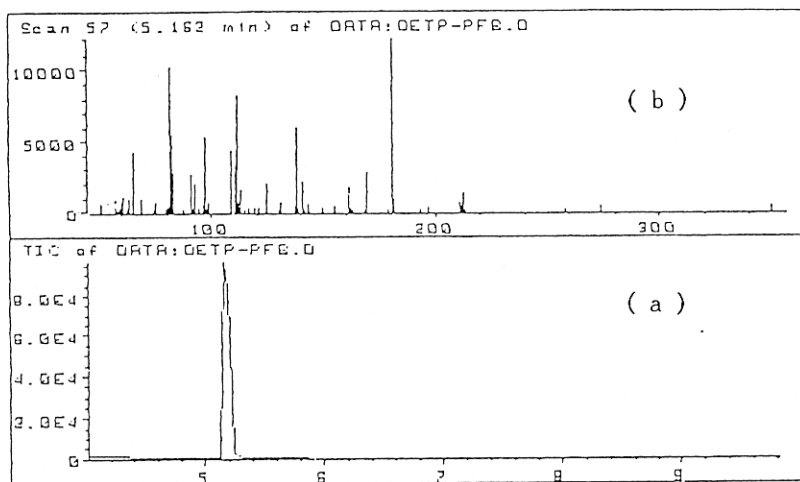
使用儀器及設備

氣液層析儀附質譜儀檢出器 (GLC-MSD)

使用之氣液層析儀附質譜儀檢出器為—HP 5890A—5970B MSD (Mass Select Detector) 及 HP—9816 Data System。使用之分離管為長 10m 內徑 0.2mm 之毛細管，靜相為 5% phenyl methyl silicon。注入器之溫度為 200°C，分離管溫度採漸次升溫處理，起始溫度為 60°C 持續三分鐘後以每分鐘 30°C 之速度升溫至 250°C 後持續 10 分鐘。攜帶氣體為氮氣，流速為 1ml/min，質譜掃描範圍由 40 至 400amu。

氣液層析儀附火焰光量檢出器 (GLC-FPD)

本分析定量使用之儀器為 varian 3700 氣液層析儀附火焰光量檢出器 (Flame Phototube Detector) (FPD)，使用 526nm 磷濾光片，分離管為長 1.2m，內徑 2mm 內裝 3%



圖一、DETP-PFB 衍生物之 (a) 全離子圖譜及 (b) 質譜圖。

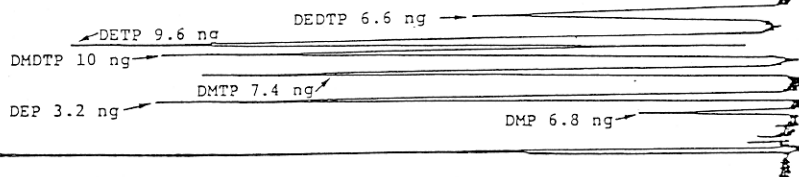
Fig 1. (a) Total Ion Chromatography (TIC). (b) Mass Spectrum (MS) of PFB ester of DETP.

CONDITION: Varian 3700 FPD-P

Column : 3% OV-17 1.2 m X 2 mm

Temp. : Injector : 230°C, Column : 160°C

Dector : 250°C



圖二、有機磷劑代謝產物 DMP, DEP, DMTP, DETP, DMDTP, DEDTP 與 pentafluorobenzyl bromide 反應成衍生物之氣液層析圖。

Fig 2. Chromatogram of pentafluorobenzyl bromide derivatives of six organophosphate metabolites DMP, DEP, DMTP, DETP, DMDTP, DEDTP.

OV-17之玻璃管；載體為 Gas-Chrom WHP, 80/100 mesh，注入器溫度為 230°C；分離管溫度為 160°C；檢出器溫度為 250°C；使用之氣體流速為攜帶氣體（氮氣）為 30ml/min；氫氣為 140ml/min；空氣為 250ml/min。

尿液中有機磷代謝物之分析方法

分析步驟

以吸管吸取 5ml 尿液樣品置入事先裝有 10ml 純水及 20ml 6NHCl 溶液之 125ml 分液漏斗中，加入 2g 氯化鈉（先以乙酸乙酯潤濕處理），搖盪使之溶解，再以 50ml 乙酸乙酯溶劑將有機磷代謝物萃取出，重覆萃取二次，乙酸乙酯層收集合併後，以 10g 無水硫酸鈉脫水，利用真空濃縮機濃縮至乾（水溫 40°C），以 5ml 氰化甲烷將有機磷代謝物溶出至 15ml 離心管中，加入 20mg 無水碳酸鉀，再加入 20 μ l PFB-Br 試劑，蓋緊蓋子，搖盪後放入 80°C 水浴上兩小時，冷卻後，以氮氣吹乾，最後以丙酮定容至 1ml。取 2 μ l 注入 GLC-FPD 中測定之。

回收率之試驗

將標準劑之丙酮稀釋液加入 5ml 尿液中，其最終濃度為 DMP 0.7 ppm, DEP 0.4 ppm, DMTP 0.7 ppm, DETP 0.9 ppm, DMDTP 1.0

ppm, DEDTP 0.7 ppm。然後經上述整個步驟，以測試其回收率。

樣品之採集與保存

樣品來自三種職業人員：未直接接觸農藥之 57 件辦公室工作人員之尿液，63 件樣品來自使用農藥之農民，229 件樣品來自農藥工廠之生產線作業工人，採樣時同時問卷調查，記錄其接觸農藥之情形，及最近取食農作物之種類等。樣品採集後裝於褐色瓶內。

結果與討論

分析方法討論

關於人體尿液中有機磷劑代謝物之分析方法有很多報告⁽²⁻⁶⁾。本研究擬找一快速、穩定及敏感度高之分析方法，以適合大量樣品之分析需要。本報告所使用之方法乃模擬 Shafik 等人⁽⁵⁾萃取方法，及 Reid 及 Watts 等人⁽⁴⁾依 SN1 反應機制利用 PFB-Br 反應形成非常穩定之醚類衍生物，不僅敏感度高且儀器偵測之選擇性大。表三為整個步驟之回收率及六種代謝物之最低偵測界限，除 DMP 及 DETP 外，其他四種代謝物回收率都在 90% 以上。以氣液層析儀附質譜儀檢出器（GLC-MSD）分別就 DMP-PFB（ $M^+ = 306$ ），DEP-PFB（ $M^+ =$

表三、尿液中有機磷劑代謝產物回收及偵測界限

Table 3. Recoveries and detection limits of six dialkyl phosphate metabolites from urine

代謝產物 Metabolite	加入量 Fortified concentration (μ g/5ml sample)	回收率 ¹⁾ Recovery (%)	最低偵測界限 Detection limit(ppm)
DMP	3.4	70.0	0.064
DEP	2.0	89.0	0.008
DMTP	3.7	100.0	0.014
DETP	4.8	61.0	0.025
DMDTP	5.0	100.0	0.019
DEDTP	3.3	93.8	0.025

1) Data were obtained by 3 separated trials.

334)，DMTP-PFB ($M^+ = 366$) 可以確定合成之衍生物之種類。再利用合成之衍生物為標準劑使用氣液層析儀附火焰光量檢出器 (GLC-FPD) 定量之，本分析主要使用之層析管為 3% OV-17 4' (1.2m) × 2mm 玻璃層析管分析此六種代謝物，也可利用 4% SE-30 + 6% OV-210，5% OV-210 及 1.5% OV-17 + 1.95% OV-210 層析管⁽⁴⁾加以確定其代謝物。

樣品分析結果

利用此方法分析 349 件尿液樣品中有機磷劑六種代謝物之含量，分析結果見表四，比較三種職業尿液樣品分析結果顯示，農藥工廠工人尿液中含有機磷代謝產物之出現率為最高，佔分析樣品之 74.2%，其次為農民出現率為 49.2%，一般未接觸農藥之辦公室工作人員出現率為 19.3%。代謝物中以 DMP 含量最高，DMTP 出現率最多。

表四、不同職業之人尿液中有機磷劑代謝物之含量分析

Table 4. Residue levels of six organic phosphate metabolites found in the urine samples collected from people of different occupations

職業 Occupation	樣品數 No. of samples	含藥樣品數 positive samples	含藥百分率 %of positive samples	最高含量 Maxium residue(ppm)					
				DMP	DEP	DMTP	DETP	DMDTP	DEDTP
Worker 工人	229	170	74.2	196.9	6.1	9.4	0.8	0.5	0.4
Farmer 農人	63	31	49.2	0.3	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1
Officer 公務員	57	11	19.3	0.1	0.2	0.1	0.1	ND ¹⁾	0.1

1) ND: non-detectable.

分別就 DMP, DEP, DMTP, DETP, DMDTP, DEDTP 六種代謝物在不同職業人尿液中之含量來比較，結果見表五。57 件辦公室工作人員尿液樣品中有機磷劑代謝物出現之情形為 DMTP (15.8%) > DETP (12.3%) > DEP (8.85%) > DMP (7.0%) = DEDTP (7.0%) > DMDTP (0%)；63 件農民尿液樣品中有機磷劑代謝物出現之情形為 DMTP (30.2%) > DMP (20.6%) > DMDTP (14.3%) > DEP (9.5%) > DETP (7.9%) > DEDTP (4.3%)，而 229 件農藥工廠工人尿液樣品中有機磷劑代謝物出現之情形則為 DMTP (53.3%) > DMP (44.5%) > DEP (34.9%) > DETP (25.3%) > DMDTP (11.8%) > DEDTP (10.5%)。

比較辦公室工作人員以及農民尿液中測得之有機磷劑代謝物含量發現辦公室工作人員尿液樣品中 DETP, DEDTP 之出現率比農民尿液樣品中之出現率為偏高，以平均含量而言 DEP, DEDTP 亦比農民尿液中含量為偏高，其他四種代謝產物之出現率及含量都以農民尿液為較高，顯然尿液中有機磷代謝產物之含量除與農藥接觸有關外，尚有其他因子存在，若欲利用此等代謝產物之含量推測接觸農藥之量尚須在採樣的時間上以及是否有其他因子再深一層之研究。

以有機磷劑代謝物之總含量來看，結果見圖 3，農藥工廠工人平均為 1.416ppm，農民平均為 0.073ppm，辦公室工作人員平均為 0.027ppm，很明顯地農藥工廠工人因長時間接觸農藥，由尿液中代謝出的有機磷劑代謝物

含量亦偏高。此結果可提供農藥工廠一般安全（包括空調、水質排放）之參考，亦可做為工廠員工健康檢查之一項基本資料，可以

明確地了解暴露於農藥之情形，而可預先做好防範之措施。進一步的工作在探討尿液中含量與暴露量之相關關係正進行中。

表五、不同職業人尿液中有機磷劑代謝產物含量之結果

Table 5. Residue levels of organic phosphate metabolites found in the urine samples from different occupations

代謝物 Metabolite	職業 Occupation ¹⁾	樣品數 No. of samples	含藥樣品數 Positive samples	含藥樣品百分率 % of positive samples	平均值 Average (ppb)	含量範圍 range (ppm)
DMP	W	229	102	44.5	1220	196.9 ~ ND ²⁾
	F	63	13	20.6	20	0.3 ~ ND
	O	57	4	7.0	0	0.1 ~ ND
DEP	W	229	80	34.9	60	6.1 ~ ND
	F	63	6	9.5	2	0.1 ~ ND
	O	57	5	8.8	8	0.2 ~ ND
DMTP	W	229	122	53.3	95	9.4 ~ ND
	F	63	19	30.2	21	0.2 ~ ND
	O	57	9	15.8	6	0.1 ~ ND
DETP	W	229	58	25.3	21	0.8 ~ ND
	F	63	5	7.9	13	0.2 ~ ND
	O	57	7	12.3	6	0.1 ~ ND
DMDTP	W	229	27	11.8	11	0.5 ~ ND
	F	63	9	14.3	12	0.2 ~ ND
	O	57	0	0.0	0	ND
DEDTP	W	229	24	10.5	13	0.4 ~ ND
	F	63	2	3.2	1	0.1 ~ ND
	O	57	4	7.0	3	0.1 ~ ND

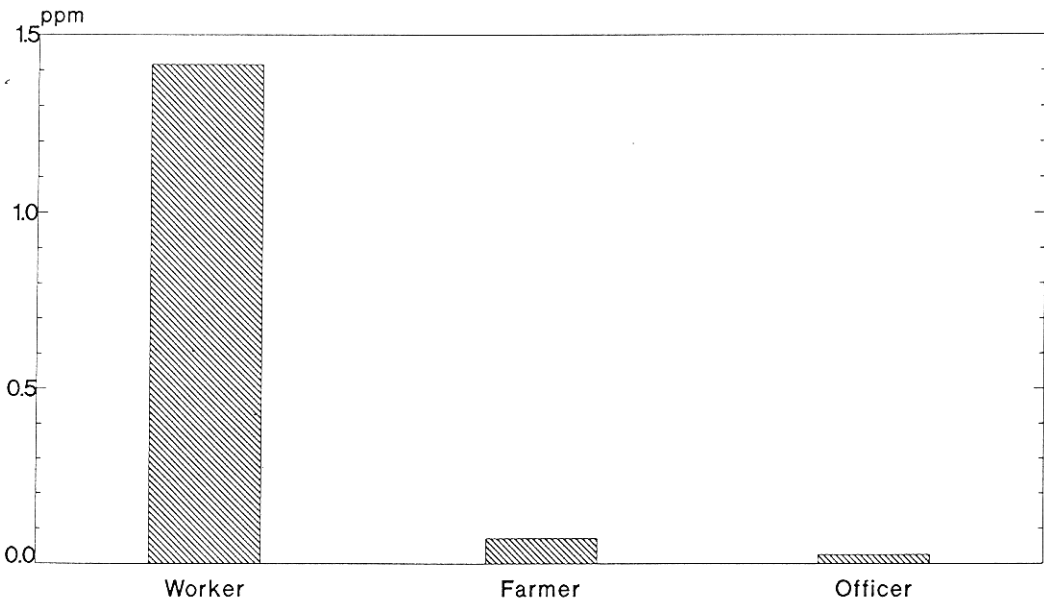
1) Occupation: W: Workers of pesticide manufactory, F: Farmers, O: Officers.

2) ND: non-detectable.

引用文獻

1. 李國欽、李宏萍 1984 尿液中農藥及其代謝物之偵測方法。科學農業 32(1-2):34-36。
2. Blair, D., and Roderick, H. R. 1976. An improved method for the determination of urinary dimethyl phosphate. J. Agric. Food Chem. 24(6):1221-1223.
3. Lores, E. M., and Bradway, D. E. 1977. Extraction and recovery of organophosphorus metabolites from urine using an anion exchange resin. J. Agric. Food Chem. 25(1):75-79.
4. Reid, S. J., and Watts, R. R. 1981. A method for the determination of dialkyl

- phosphate residues in urine. *J. of Analytical Toxicology* 5:126-132.
5. Shafik, T., Bradway, D. E., Enos, H. F., and Yobs, A. R. 1973. Human exposure to organophosphorus pesticides. A modified procedure for the gas-liquid chromatographic analysis of alkyl phosphate metabolites in urine. *J. Agric. Food Chem.* 21(4):625-629.
6. Takade, D. Y., Reynolds, J. M., and Nelson, J. H. 1979. 1-(4-Nitrobenzyl) -3-(4-tolyl) triazene as a derivatizing reagent for the analysis of urinary dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides by gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 27(4):746-753.



圖三、不同職業人尿液中有機磷劑代謝物之總含量之比較。

Fig 3. Total organic phosphate metabolites in urine samples collected from peoples of different occupations.

ABSTRACT

Li, H. P., Wong, S. S., and Li, G. C. 1991. **The analysis of organophosphate metabolites in human urine samples.** *Plant Prot. Bull.* 33:188-196. (Residue Control Department, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan, R.O.C.)

A Gas Liquid Chromatography (GLC) method was developed to analyze six different organophosphate metabolites in human urine samples. The metabolites of organophosphate extracted were reacted with pentafluorobenzyl bromide and analyzed by using GLC-FPD. The detection limits were Dimethyl Phosphate (DMP) 0.064 ppm, Diethyl Phosphate (DEP) 0.008 ppm, Dimethyl Thiophosphate (DMTP) 0.014ppm, Diethyl Thiophosphate (DETP) 0.025 ppm, Dimethyl Dithiophosphate (DMDTP) 0.019 ppm, and Diethyl Dithiophosphate (DEDTP) 0.025 ppm. The analysis of 229 urine samples collected from the workers of pesticide factories revealed that 74.2% of the samples contained organophosphate metabolites. Detection frequencies of these metabolites were in the following order DMTP > DMP > DEP > DETP > DMDTP > DEDTP. The analysis of 63 urine samples collected from farmers revealed that 49.2% of the samples contained organophosphate metabolites. Detection frequencies of these metabolites were in the following order DMTP > DMP > DMDTP > DEP > DETP > DEDTP. Fifty seven urine samples were collected from the office workers. The results of analysis showed that only 19.3% contained organophosphate metabolites. These found in the urine were in the following order DMTP > DETP > DEP > DMP > DEDTP. No residue of DMDTP was found.

(Key words: pesticide residues, organophosphate metabolites, human urine).