短 報

微分スペクトル法による作物中のオキシシン銅の残留分析

小 野 成 男, 山 崎 悦 子

日本曹達株式会社ファインケミカル研究所
(昭和57年6月18日受理)

Residue Analysis of Copper 8-quinolinolate by Derivative Spectrophotometry

Shigeo ONO and Etsuko YAMAZAKI

*Fine Chemicals Research Laboratory, Nippon Soda Co., Ltd.,
Takada, Odawara 250-02, Japan*

Application of derivative spectrophotometry to residue analysis of copper 8-quinolinolate in crops was investigated. The result showed that the derivative spectrophotometry was more suitable than colorimetry, atomic absorption spectrometry and high performance liquid chromatography which were already published. Copper 8-quinolinolate was extracted with acidic methanol from crops. After addition of 1% sodium chloride solution to the methanol extract, the mixture was washed with *n*-hexane. After neutralizing, the aqueous methanol solution was extracted with dichloromethane. Finally, the pesticide in the dichloromethane solution was re-extracted with 1 N hydrochloric acid. Fourth derivative spectrum of the acidic solution was recorded by a Hitachi spectrophotometer type 330. The amount of copper 8-quinolinolate was proportional to the difference absorbance ($\Delta A = A_{252} - A_{261}$) within the range of 0-0.3 ppm. The detectable limit of copper 8-quinolinolate was 0.04 ppm when 50 g of sample was used. Average recovery was about 95%.

緒 言

作物中のオキシシン銅 (copper 8-quinolinolate) の残留分析法として、*p*-ニトロベンゼンジアゾニウム塩とカップリングさせて定量する比色法、銅を定量する原子吸光光度法およびケイ光検出器付高速液体クロマトグラフ法がすでに知られている^{1,2)}。オキシシン銅はきわめて強い吸収帯を紫外部に有するため、紫外吸光光度法はきわめて有効な手段であるが、極大吸収波長は 252 nm と比較的短波長領域にあるため、通常の吸光光度法では植物成分の妨害を受けやすく、残留分析における定量法として採用しにくかった。このため、微分スペクトル法を適用した結果、植物からの妨害成分の吸収帯が除去でき、水蒸気蒸留や濃縮操作など一切不要なきわめて迅速簡便な残留分析法を作成することができたので報告する。

分 析 法

1. 試薬および機器

一般の試薬類は特級品をそのまま使用した。

セライト: Johns-Manville 製 No. 545

液相分離濾紙: ワットマン 1 PS

オキシシン銅: 純度 96.4%

ホモジナイザー: ポリトロン (キネマチカ社製)

分光光度計: 日立分光光度計 330 形, 1 cm 角形石英セル使用

2. 微分スペクトルの測定条件

微分次数: 4 次

微分波長差: 8 nm

走査速度: 30 nm/min

吸光度範囲: -0.5 ~ +0.5

3. 検量線の作成

オキシシン銅の 1N 塩酸溶液 (10 ppm) 0.5, 1.0, 2.0 および 3.0 ml をそれぞれ 100 ml メスフラスコ中に採取し, 1N 塩酸で 100 ml とする. 溶液を 1 cm 角形石英セルに入れ, 上記した測定条件で 230~300 nm の領域で 4 次微分スペクトルを測定する. 252 nm の山と 261 nm の谷との吸光度差 ΔA を縦軸に, オキシシン銅の濃度を横軸にとり検量線を作成する.

4. 分析操作

細切りにした作物 50 g をステンレス容器内に秤り取り, メタノール 100 ml と 1N 塩酸 3 ml を加え, ポリトロンホモジナイザーで磨砕抽出する. セライトを 1~2 cm の厚さに敷き, 内容物を吸引濾過する. 残渣を 50 ml のメタノールで洗浄し, 吸引濾過する. 濾液を合わせ 1% 塩化ナトリウム溶液 100 ml を加えて, 100 ml の

n-ヘキサンで 2 回振とうし洗浄する. 洗浄液は捨てる. 水・メタノール液を中和 (pH 6.5~7) した後, 塩化メチレン 100 ml で 1 回, 50 ml で 1 回振とう抽出する. 塩化メチレン抽出液を合わせ軽く水洗した後, 液相分離濾紙を通して脱水する. 1N 塩酸 100 ml で振とう抽出し, 塩酸層を 1 cm 石英セルに入れる. 以下検量線の作成方法に従って操作し, オキシシン銅の残留量を求める. 操作法の概要を Fig. 1 に示す.

実 験

1. 測定溶媒の選定

オキシシン銅の吸収スペクトル測定用の溶媒について検討した. オキシシン銅の極大吸収波長は 250 nm 付近にあるため, 塩素系溶媒の使用は困難であった. *n*-ヘキサンには難溶であったため, メタノールと希塩酸について紫

Fig. 1 Flow diagram of analytical method for copper 8-quinolinolate in crops.

* Operating conditions: order of differentiation 4th, derivative wave length difference ($\Delta\lambda$) 8 nm, absorbance range ± 0.5 , scanning speed 30 nm/min.

外部吸収スペクトルを測定した結果、希塩酸溶液の場合スペクトルの形状も良好で、吸収も強く、分子吸光係数は約 7.3×10^4 であった。メタノール溶液では吸収は少し弱かった (約 6.2×10^4)。このためスペクトル測定用の溶媒として 1N 塩酸を使用することにした。

2. 微分スペクトルの測定条件

1N 塩酸溶液中でオキシキノリン銅の吸収スペクトルおよびその微分スペクトルを測定した結果は Fig. 2 のとおりである。この結果、微量のオキシキノリン銅の定量には 4 次微分スペクトルが適していることがわかった。4 次微分の場合、スペクトルの山は 252 nm に、谷は 261 nm に現われたので、この 2 波長を定量波長に選んだ。この波長において吸光度差 ΔA ($A_{252} - A_{261}$) とオキシキノリン銅の濃度との間の関係線を求めた結果、直線が得られたのでこれを検量線とした。微分波長差 $\Delta\lambda$ を大きく選ぶほど、 ΔA は増強されたが、上記分析法で処理して得られた塩酸溶液中の植物成分と共存している 8-ヒドロキシキノリンの吸収スペクトルのみを選択的にとり出す、いわゆる抽出効果は $\Delta\lambda$ を 8 nm にした場合が最も効果的であった。

3. クリーアップの検討

すでに報告されている各種のオキシキノリン銅の残留分析法^{1,2)}では、分析操作として数回の抽出溶媒の濃縮が必要であり、さらに環境庁告示の方法では水蒸気蒸留も必

要とするなど、分析にやや長時間を必要とした。本報では、液液分配以外のクリーンアップ操作を一切行わない簡便な方法を検討した。オキシキノリン銅は塩酸酸性溶液中に可溶であったので、最初の抽出溶媒として塩酸添加のメタノールを選んだ。抽出後水を加えて酸性の水メタノール溶液とし、等量の *n*-ヘキサンを加えて振とうした場合、ヒドロキシキノリンは *n*-ヘキサン層に分配されず、ヘキサン洗浄が可能であった。*n*-ヘキサンの代りに塩化メチレンを使用した場合、一部は塩化メチレン層に分配されたため、塩化メチレン層を新しい希塩酸で振とうして逆抽出する必要があった。中和した水・メタノールと塩化メチレンの分配ではヒドロキシキノリンは定量的に塩化メチレン層に存在した。また塩化メチレン中のヒドロキシキノリンは 1N 塩酸で定量的に抽出された。これらの液液分配を組み合わせた結果、上記分析法に示したように、きわめて簡単な操作で十分定量が可能であった。オキシキノリン銅の希塩酸溶液中での 4 次微分スペクトルの ΔA は大きいので、最終液量が多くても定量に支障がないため溶媒の濃縮操作は一切不要であった。最終溶液中にはなおかなりの植物成分が混在しているため、通常の吸光度法では定量が困難であった。

4. 検出限界および添加回収率

50 g の無処理区試料を前記した分析操作に従って処理して得られた塩酸溶液の ΔA は 0.015 であったのでこの値の約 3 倍の 0.05 (高さ約 12 mm) を最小検出吸光度差とした。これはオキシキノリン銅の濃度 0.02 ppm に相当する。最終液量が 100 ml、試料秤取量が 50 g であるので、検出限界は $(0.02 \times 100) \div 50 = 0.04$ ppm となる。環境庁告示法によるオキシキノリン銅の残留分析法の検出限界は約 0.04 ppm であるので、本報の検出限界は十分に実用性のあるものと考えられた。Fig. 3 に無処理区試料およびオキシキノリン銅が存在する場合の微分スペクトルを示

Fig. 2 Absorption and derivative spectra of copper 8-quinolinolate in 1N HCl.

Original spectrum: (E) concentration 0.2 ppm.
Derivative spectra: (A) 1st, (B) 2nd, (C) 3rd, (D) 4th, $\Delta\lambda = 8$ nm.

Fig. 3 Examples of 4th derivative spectra.

A: Unfortified onion sample, B: Fortified onion sample (10 μ g).

Table 1 Recoveries of copper 8-quinolinolate.

Sample	Recovery (%)						C.V. (%)
	(X)			$(\bar{X})$			
Onion	98.2,	96.2,	96.0,	94.2,	98.0	96.5	1.7
Apple	96.2,	94.6,	94.0,	95.4,	92.0	94.4	1.7
Pear	96.0,	92.0,	94.0,	94.6,	90.8	93.5	2.2

Sample weight 50 g, fortified amount 10 μ g.

す。オキシ銅を添加し、前記した方法に従って全操作を行ない回収率を測定した結果を Table 1 に示す。

考 察

著者はすでに微分スペクトル法の農薬残留分析への応用として、作物および土壤中のチオファネートメチルの残留分析に適用し³⁾、良好な結果を得ている。オキシ銅は希塩酸溶液中で極大吸収波長が 252 nm と比較的短波長側ではあるが、きわめて強い吸収帯（分子吸光係数 $\epsilon=7.3 \times 10^4$ ）を有し、しかも吸収スペクトルが鋭い形状を示している点に着目して微分スペクトル法を適用した。この結果、微分スペクトル法で作物中のオキシ銅を定量する場合、簡単な液液分配のみで定量可能であり、濃縮操作や水蒸気蒸留操作など一切必要とせず、水蒸気蒸留後高速液体クロマトグラフで定量する方法と比較して分析所要時間は約半分であり、さらに高速液体クロマトグラフ法の測定前の準備に要する時間を考慮すると微分スペクトル法はきわめて迅速な分析法といえることができる。オキシ銅をチオファネートメチルとの混合剤で作物に散布する場合、チオファネートメチルの一部

は 2-メチルベンズイミダゾリルカーバメート（以下 MBC と略す）として残留することが予想され⁴⁾、前記したオキシ銅の分析法で処理した場合、オキシ銅と MBC は同じ挙動を示し、最終液である 1N 塩酸溶液中には両者が存在する。しかも MBC は紫外部に強い吸収（ $\epsilon: 1.6 \times 10^4$ ）を示すため、通常の紫外吸光度法ではオキシ銅の定量を妨害する。しかし、微分スペクトル法を採用する場合、希塩酸溶液中での MBC の 4 次微分スペクトル³⁾は 270~290 nm の波長領域にきわめて強い吸収帯を示すが、240~265 nm の領域には殆ど吸収帯を示さないためオキシ銅の定量を妨害しないことが明らかであり、微分スペクトル法のすぐれた点といえることができる。

引 用 文 献

- 1) 後藤真康・加藤誠哉：残留農薬分析法，ソフトサイエンス社，p. 198, 1980
- 2) M. Maeda & A. Tsuji: *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 797 (1979)
- 3) 小野成男：農薬誌 **7**, 481 (1982)
- 4) 小野成男・遠山典宏：農薬誌 **7**, 363 (1982)