食品中の残留農薬分析に関する研究 (第16報)

野菜中のジクロロボスおよびジスルホトンを含む

9 種有機リン農薬の残留分析法

(昭和 48 年 12 月 11 日受理)

井上 泰幸^{*1} 福原 克治^{*1} 武田 明治^{*2}

Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods (XVI)

Analytical Method of Residues of Nine Organophosphorus Pesticides
including Dichlorvos and Disulfoton in Vegetables

Yasuyuki INOUE^{*1}, Katsuharu FUKUHARA^{*1} and Mitsuharu TAKEDA^{*2}

(^{*1}The Japan Food and Drug Safety Research Center: 3-16 Jingu-mae 2-chome,
Shibuya-ku, Tokyo; ^{*2}National Institute of Hygienic Sciences: 18-1
Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

Nine kinds of organophosphorus pesticides including dichlorvos and disulfoton were investigated to establish a method of determination for these pesticides in agricultural products by gas chromatography.

On the bases of the recovery of disulfoton in concentration step by a Kuderna-Danish concentrator below 50°C, use of benzene or *n*-hexane as extracting solvents was desirable but dichloromethane ethyl ether and ethyl acetate were unsuitable for this purpose.

The recoveries of the pesticides in acetone—water mixture extracts by the extraction with benzene or *n*-hexane were fine except dichlorvos, but dichlorvos was extracted with only benzene.

The method of determination for 9 kinds of organophosphorus pesticides including dichlorvos and disulfoton designed on the base of the results of 8 kinds of agricultural products. It was shown that the recoveries of the organophosphorus pesticides added to the sample homogenates were between 62.0 and 96.3%.

(Received December 11, 1973)

有機塩素農薬の規制が強化されて以来、これに代わる農薬として有機リン農薬が特に注目されるに至った。これらの農薬は有機塩素農薬とは異なり、残留性があまり高くないことから、今後一段と重要性を増すと考えられる。

前報¹⁾において7種の有機リン農薬について種々の農作物に対する分析法につき報告したが、この場合、ジスルホトンが濃縮過程中に消失することを見いだした。

現在の農薬の使用実態を勘案するとき、ジスルホトンの分析法の確立が急務である。前報の結果を考慮すれ

ば、従来の残留有機リン農薬の分析法には種々の未解決の問題があることが推定される。

そこでジクロロボスおよびジスルホトンの残留分析法の確立と本分析法の他の有機リン農薬への応用性を検索する目的で、8種の生鮮農作物について分析法を検討した。

実験方法

1. 実験材料

本研究で使用したミカン、リンゴ、キャベツ、ハクサイ、ミツバ、サヤエンドウ、ダイコン、およびパレイン[®]は市販品を用いた。

2. 試薬

次に示したもの以外は前報¹⁾に従った。

^{*1} 食品薬品安全センター：東京都渋谷区神宮前 2-3-16

^{*2} 国立衛生試験所：東京都世田谷区上用賀 1-18-1

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第16報)

野菜中のジクロロボスおよびジスルホトンを含む

9 種有機リン農薬の残留分析法

(昭和 48 年 12 月 11 日受理)

井上 泰幸^{*1} 福原 克治^{*1} 武田 明治^{*2}

Studies on Analysis of Pesticide Residues in Foods (XVI)

Analytical Method of Residues of Nine Organophosphorus Pesticides
including Dichlorvos and Disulfoton in Vegetables

Yasuyuki INOUE^{*1}, Katsuharu FUKUHARA^{*1} and Mitsuharu TAKEDA^{*2}

(^{*1}The Japan Food and Drug Safety Research Center: 3-16 Jingu-mae 2-chome,
Shibuya-ku, Tokyo; ^{*2}National Institute of Hygienic Sciences: 18-1
Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

Nine kinds of organophosphorus pesticides including dichlorvos and disulfoton were investigated to establish a method of determination for these pesticides in agricultural products by gas chromatography.

On the bases of the recovery of disulfoton in concentration step by a Kuderna-Danish concentrator below 50°C, use of benzene or *n*-hexane as extracting solvents was desirable but dichloromethane ethyl ether and ethyl acetate were unsuitable for this purpose.

The recoveries of the pesticides in acetone—water mixture extracts by the extraction with benzene or *n*-hexane were fine except dichlorvos, but dichlorvos was extracted with only benzene.

The method of determination for 9 kinds of organophosphorus pesticides including dichlorvos and disulfoton designed on the base of the results of 8 kinds of agricultural products. It was shown that the recoveries of the organophosphorus pesticides added to the sample homogenates were between 62.0 and 96.3%.

(Received December 11, 1973)

有機塩素農薬の規制が強化されて以来、これに代わる農薬として有機リン農薬が特に注目されるに至った。これらの農薬は有機塩素農薬とは異なり、残留性があまり高くないことから、今後一段と重要性を増すと考えられる。

前報¹⁾において7種の有機リン農薬について種々の農作物に対する分析法につき報告したが、この場合、ジスルホトンが濃縮過程中に消失することを見いだした。

現在の農薬の使用実態を勘案するとき、ジスルホトンの分析法の確立が急務である。前報の結果を考慮すれ

ば、従来の残留有機リン農薬の分析法には種々の未解決の問題があることが推定される。

そこでジクロロボスおよびジスルホトンの残留分析法の確立と本分析法の他の有機リン農薬への応用性を検索する目的で、8種の生鮮農作物について分析法を検討した。

実験方法

1. 実験材料

本研究で使用したミカン、リンゴ、キャベツ、ハクサイ、ミツバ、サヤエンドウ、ダイコン、およびバレイショは市販品を用いた。

2. 試薬

次に示したもの以外は前報¹⁾に従った。

^{*1} 食品薬品安全センター：東京都渋谷区神宮前 2-3-16

^{*2} 国立衛生試験所：東京都世田谷区上用賀 1-18-1

Table 1. Recovery of Organophosphorus Pesticides in Reduced Concentration with Some Solvents

Each value is the average of three experiments.

The solvents were evaporated with a Kuderna-Danish concentrator below 50°C under reduced pressure.

Pesticides \ Solvents	Recovery (%)					
	Acetone	Ethyl ether	Dichloro-methane	Ethyl acetate	Benzene	<i>n</i> -Hexane
Dichlorvos	92.8	92.4	93.3	91.5	96.7	97.8
Diazinon	96.6	93.1	94.4	91.2	97.8	97.6
Disulfoton	0	0	24.3	0	98.5	95.4
Fenthion	99.2	94.1	93.8	95.5	98.7	97.9
CYAP	97.8	95.4	97.9	93.1	99.2	99.0
Malathion	98.9	97.1	98.5	97.7	100.4	100.7
Fenitrothion	99.2	98.6	98.6	98.1	98.9	99.2
Parathion	99.8	98.8	98.3	99.5	99.3	100.2
EDDP	98.7	97.2	99.4	98.1	99.7	99.7

Table 2. Recovery of Organophosphorus Pesticides from Acetone—Water Mixture

Each value is the average of three experiments.

Organophosphorus pesticides added to acetone—water mixture were extracted with benzene or *n*-hexane.

Pesticides	Recovery (%)	
	Benzene	<i>n</i> -Hexane
Dichlorvos	90.0	17.8
Diazinon	97.5	98.5
Disulfoton	93.2	91.2
Fenthion	97.5	95.8
CYAP	99.8	89.7
Malathion	97.7	94.3
Fenitrothion	95.8	96.5
Parathion	98.4	97.4
EDDP	99.8	99.5

有機リン農薬標準溶液 A: アセトン 1 ml 中にジクロロボス 3 µg, ダイアジノン 3 µg, ジスルホトン 3 µg, フェンチオン 8 µg, CYAP 8 µg, マラチオン 12 µg, パラチオン 12 µg, フェニトロチオン 10 µg, および EDDP 30 µg を含有する。

有機リン農薬標準溶液 B: 上記農薬の *n*-ヘキサン溶液

3. 装 置

振とう機: イワキ式振とう抽出機

ミキサー: 市販の営業用ミキサー

遠心沈殿機: 久保田製作所製遠心沈殿機 K-12A4 型
ガスクロマトグラフ: 島津製作所製 GC-4BM 型, 炎光光度型検出器 (FPD) 付きガスクロマトグラフ

4. アセトン溶液からの転溶

アセトン 200 ml を 1 L の分液漏斗に取り, 有機リン農薬標準溶液 A 1 ml を加え, 5 % 塩化ナトリウム溶液 400 ml で希釈後, ベンゼンまたは *n*-ヘキサン 100 ml ずつで 2 回激しく振とう抽出した。全抽出液を合わせ, 水 100 ml で 2 回洗浄した後, 無水硫酸ナトリウムで脱水後, クデルナ・ダニッシュ (KD) 型濃縮器で 5

Fig. 1. Typical elution patterns of organophosphorus pesticides in activated charcoal column-chromatography

The pesticides were eluted from the column with acetone and each 100 ml of the eluate was collected: □, 1st fraction (0~100 ml); ■, 2nd fraction (100~200 ml); ▨, 3rd fraction (200~300 ml).

ml まで減圧下50°以下で濃縮した。

5. 活性炭カラムクロマトグラフィー

内径 1.5 cm, 長さ約 30 cm のクロマト管の下端に無水硫酸ナトリウム約 5 g をつめた後, 活性炭・微結晶セルロース (1:10) 混合物 5 g をアセトンを用いた湿式法で充てんし, さらに無水硫酸ナトリウム約 3 g を層積して活性炭カラムを調製した。このカラムに前項の濃縮液を注入後, アセトン 300 ml で溶出し, 溶出液をあらかじめ 5 % 塩化ナトリウム溶液 500 ml の入れている 1 L の分液漏斗に移し, 混和後, ベンゼン 100 ml ずつで 2 回振とう抽出した。ベンゼン抽出液を合わせ, 5 % 塩化ナトリウム溶液 100 ml ずつで 2 回洗浄した後, 無水硫酸ナトリウムで脱水し, KD 型濃縮器で減圧下 50° 以下で 5 ml まで濃縮した。

6. 試験溶液の調製およびガスクロマトグラフィー

ミキサーで均一化した試料 100 g を 500 ml の分液漏斗に取り, アセトン・ベンゼン (1:1) 混液 200 ml を加え, 10 分間激しく振とう抽出した後, ベンゼン層を遠心分離により分取した。水層はベンゼン 100 ml で同様に処理した。全抽出液を合わせ, 5 % 塩化ナトリウム溶液 100 ml ずつで 2 回洗浄した後, 無水硫酸ナトリウムで脱水, 次いで KD 型濃縮器を用いて減圧下 50° 以下で 5 ml まで濃縮した。濃縮液は活性炭カラムクロマトグラフィーにより精製後, ガスクロマトグラフィー用検液とした。

ガスクロマトグラフ操作条件

カラム管: 内径 3 mm, 長さ 1.5 または 2 m のガラス製

カラム充てん剤: シリコン DC QF-1 (5 %), シリコ

ン DC-200 (5 %) + エポキシ樹脂 1009 (0.5%) をガスクロム Q (60~80 mesh) にコーティングしたもの

カラム温度: 210°

注入口, 検出器温度: 230°

ガス流量: 窒素ガス 1.0 kg/cm², 水素ガス 150 ml/min, 空気 50 ml/min

実験結果

1. 濃縮溶媒の検討

ジスルホトンの濃縮溶媒を検索する目的で, 各種溶媒 200 ml を KD 型濃縮器に取り, 有機リン農薬標準溶液

Table 3. Recovery of Organophosphorus Pesticides from Activated Charcoal Column

Each value is the average of five experiments.

The columns were eluted with 300 ml of acetone and the eluates were extracted with benzene.

Pesticides	Recovery (%)
Dichlorvos	85.0
Diazinon	92.5
Disulfoton	88.3
Fenthion	92.5
CYAP	96.8
Malathion	95.7
Fenitrothion	91.8
Parathion	94.4
EDDP	96.8

Table 4. Recovery of Organophosphorus Pesticides from Vegetables and Fruits

Each value is the average of three experiments.

To homogenated agricultural products, 2 ml of acetone solution of pesticides (each 6 µg of dichlorvos, diazinon and disulfoton, each 16 µg of fenthion and CYAP, 20 µg of fenitrothion, each 24 µg of malathion and parathion and 60 µg of EDDP) were added.

Pesticides	Recovery (%)								
	Mandarin orange		Apple	Cabbage	Chinese cabbage	Trefoil	Field pea	Chinese radish	Potato
	Substance	Peel							
Dichlorvos	83.3	69.3	72.5	88.0	82.0	84.3	79.0	76.5	71.5
Diazinon	89.0	76.3	79.3	89.3	81.5	88.5	83.5	86.5	78.3
Disulfoton	78.6	63.5	74.0	83.5	79.3	78.3	82.5	62.0	54.5
Fenthion	88.5	77.0	81.0	87.0	84.0	86.5	89.5	79.3	66.3
CYAP	86.0	74.5	79.5	92.3	87.3	88.0	91.3	81.0	79.5
Malathion	92.5	78.5	84.0	94.5	82.3	89.3	94.3	85.3	72.3
Fenitrothion	91.3	76.3	82.3	93.0	87.5	90.0	93.5	87.0	74.5
Parathion	90.0	75.0	83.2	95.3	83.0	92.3	96.3	88.3	70.3
EDDP	87.3	73.3	82.5	92.0	86.0	89.5	92.5	85.3	71.5

Fig. 2. Typical gas chromatogram of organophosphorus pesticides

1, dichlorvos; 2, diazinon; 3, disulfoton; 4, fenthion; 5, CYAP; 6, malathion; 7, fenitrothion; 8, parathion; 9, EDDP.

Condition: Column packing, 5% QF-1/Gas Chrom Q (60~80 mesh); glass column, 3 mm×2 m; temp., column oven 190°C, inlet and detector 210°C; gas flow rate, carrier gass, nitrogen (1 kg/cm²), hydrogen (150 ml/min), air (50 ml/min).

B 2 ml を加え、減圧下50°以下で5 ml まで濃縮し、各種農薬の回収率をガスクロマトグラフィーにより検討した。その結果を Table 1 に示した。

ジスルホトンを除く他の有機リン農薬は今回検討されたいずれの溶媒においても90%以上の回収率を示したが、ジスルホトンの回収率はジクロルメタンで24.3%、ベンゼンで98.5%、*n*-ヘキサンで95.4%であったが、その他の溶媒では全く回収されなかった。

2. アセトン溶液からの転溶

各種有機リン農薬のアセトン水溶液からのベンゼンあるいは *n*-ヘキサンへの転溶を検討した結果を Table 2 に示した。

ベンゼンで抽出した場合、ジクロルボスおよびジスルホトンを含む有機リン農薬の回収率は、ほとんど90%以上を示したが、*n*-ヘキサンの場合、ジクロルボスは約18%ときわめて低い回収率であった。

3. 活性炭クロマトグラフィー

活性炭クロマトグラフィーによるクリーンアップを検討する目的で、活性炭カラムに有機リン農薬標準溶液 A 2 ml を加え、アセトンで溶出した。

溶出液を 100 ml ずつ分取した場合の各有機リン農薬の溶出パターンの一例を Fig. 1 に示した。EDDP を除く8種の有機リン農薬は溶出液 200 ml 中にほぼ完全に回収されたが、EDDP の場合、溶出液 300 ml を必要とした。

なお溶出液 300 ml による活性炭カラムからのこれら農薬の回収率は、Table 3 に示すとおりである。

この場合、ジクロルボスおよびジスルホトンを除く他

の有機リン農薬の回収率は90%以上と良好であったのに対して、前2者の回収率はやや低く、それぞれ85.0および88.3%であった。

4. 添加回収率

細切後、ホモジナイズした試料 100 g (ミカンの皮の場合は同量の水を加えてホモジナイズ後、50 g 相当量) を 500 ml の分液漏斗に取り、有機リン農薬標準溶液 A 2 ml を添加し、ときどき振り混ぜながら1時間放置した後、今回考案した分析法に従って操作し、各農薬の回収率を求めた。その結果は Table 4 に示すとおりである。

各有機リン農薬は、バレイショにおけるジスルホトンの54.5%からサヤエンドウにおけるパラチオンの96.3%までの広範囲の回収率を示した。

農薬別に見るならば、揮発性の高いジクロルボスおよびジスルホトンの回収率がそれぞれ69.3から88.0%および54.5から83.5%の範囲内にあり、他の農薬と比較して明らかに低く、かつ広い分布を示した。一方、食品別では、ミカンの果皮 (63.5~78.5%) およびデンプン質の多いバレイショ (54.5~79.5%) において回収率が低い傾向が認められた。

なお、今回検討した有機リン農薬のガスクロマトグラムの一例を Fig. 2 に示した。

無添加試料からは今回検討された農薬およびこれらに対する妨害ピークは全く認められなかった。

考 察

前報¹⁾において有機リン農薬のアセトン抽出液からの転溶溶媒を検索中、アセトン、ジクロルメタン、エーテ

ル、および酢酸エチルなどをKD型濃縮器を用いて減圧濃縮すると、ジスルホトンの回収率が著しく低下することを見いだした。

ジスルホトンを含む有機リン農薬のいっせい分析法の確立を目的とする場合、ジスルホトンの濃縮溶媒の検索は必須である。今回研究室などで広く使用されている6種の溶媒につき本農薬の減圧濃縮時の回収率を検討した。Table 1に示すように今回検討した各農薬はベンゼンおよび *n*-ヘキサンでは定量的に回収されたが、他の溶媒ではジスルホトンの回収率のみが極度に低かった。これが何に起因するかは本研究からは明らかではないが、ジスルホトン进行分析の対象とする場合には、濃縮溶媒としてベンゼンあるいは *n*-ヘキサンをを用いて50°以下で減圧濃縮する必要を認めた。

有機リン農薬の分析におけるクリーンアップ法としては、活性炭カラムクロマトグラフィーが広く採用されており、溶出溶媒としてアセトンが主に用いられている^{2)~4)}。しかし、ジスルホトン进行分析の対象とする場合、Table 1からも明らかなように、アセトン溶出液をそのまま濃縮することは出来ないで、いったんベンゼンあるいは *n*-ヘキサンに転溶する必要がある。そこでアセトン溶出液からの転溶溶媒を検索する目的で、有機リン農薬のアセトンからの転溶を上記溶媒を用いて検討した。全般的にはベンゼンを用いたときの回収率が *n*-ヘキサンを用いた場合よりも良好であったが、ジクロロボスの場合には *n*-ヘキサンでの回収率が著しく低いことが注目された (Table 2)。これらの結果より、ジクロロボスおよびジスルホトン进行分析の対象とする場合には、アセトンからの転溶溶媒としてベンゼンを用いるのが適当であることが分かった。

次いでジクロロボスおよびジスルホトンなどの活性炭カラムクロマトグラフィーを検討したところ、Fig. 1に示すようにパラチオンおよびフェントロチオンは200 ml, EDDPは300 mlまでに溶出されるが、他の農薬は最初の100 ml中に溶出された。そこで活性炭カラムを用いてアセトン300 mlで溶出した場合の各農薬の回収率はTable 3に示したように、ジクロロボスの85.0%からEDDPの96.8%の範囲内にあり、今回検討した9種農薬を溶出するにはアセトン300 mlで十分であることが分かった。

以上の結果を勘案してジクロロボスおよびジスルホトンの分析法を考案し、両農薬への分析法の妥当性、さらに本分析法の他の有機リン農薬への応用性をも併せ検討する目的で、8種の試料にジクロロボスおよびジスルホトンを含む9種の有機リン農薬を添加し、それらの回収実験を検討した。その結果はTable 4に示すように、全般的には揮発性の高いジクロロボスやジスルホトンの回収率が低く、一方、試料別では、ミカンの果皮、リン

ゴ、およびバレイショにおける回収率が低いことが見いだされた。

両農薬の回収率が他の農薬と比べて低いのは、両農薬の蒸気圧が比較的高い⁵⁾ことに起因すると想定される。またバレイショにおける回収率が一般に低いのは、それに多量に含有されるデンプンによる吸着、あるいは抽出時の溶媒の回収が他のものと比較してよくないことによるのかもしれない。リンゴにおいて回収率が低いのは、最終試験溶液を分析に当たってこれを除去したため、一部の農薬がこれに吸着などにより若干損失を招いたためかもしれない。

しかしながら本分析法における回収率はバレイショのジスルホトンの54.5%からサヤエンドウのパラチオンの96.3%の範囲内にあり、若干低い回収率を示すものも認められるが、本法は野菜および果実類に対するジクロロボスおよびジスルホトンの残留分析法としてのみならず、他の有機リン農薬の一般的な残留農薬分析法としても十分に実用に供し得るものと考えられる。

結 論

有機リン農薬の系統的試験法の一環として、揮発性の高いジクロロボスおよびジスルホトンを含む有機リン農薬の試験法につき検討した。

1) ジスルホトンを対象とする場合、濃縮溶媒としてベンゼンあるいは *n*-ヘキサンを用いる必要がある。

2) アセトン水溶液からの転溶溶媒として、ジクロロボスを対象とする場合にはベンゼンを用いる必要がある。

3) 活性炭カラムより農薬の回収は、EDDPに対しては300 mlで溶出する必要があるが、各農薬の回収率は概して良好であった。

4) 今回考案された試験法を用いて数種の農作物に対する添加回収を行った。バレイショのジスルホトンの54.5%からサヤエンドウのパラチオンの96.3%の範囲の回収率が得られた。

終わりに臨み各農薬の分与に御配慮下された農薬工業会および農薬製造会社に深謝致します。

文 献

- 1) 福原克治、武田明治、田辺弘也：食衛誌，14，524 (1973)。
- 2) 厚生省告示，第2号，第3号 (昭和48年1月10日)。
- 3) MacRae, H. F., Mackinley, W. P.: J. Agr. Food Chem., 11, 174 (1963)。
- 4) Morley, H. V.: Residue Rev., 16, 1 (1966), Springer-Verlag, New York。
- 5) 武藤聡雄：“農薬概説” p. 680 (昭和45年) 技報堂。