含イオウ有機リン系殺虫剤のガスクロマトグラフィー におけるデータ処理

(昭和 51 年 9 月 1 日受理)

大和康博^{*1} 鈴木 学^{*1} 渡辺忠雄^{*2}

Data Processing of Sulfur Containing Organophosphorus Insecticides Using Gas Chromatograph

Yasuhiro YAMATO,^{*1} Manabu SUZUKI^{*1} and Tadao WATANABE^{*2}

(*¹The Kitakyushu Municipal Institute of Environmental Health Sciences:
2-1, Shin'ike 1-chome, Tobata-ku, Kitakyushu;

*²Department of Food Science and Technology, The University of Kyushu,
Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka)

Analysis of sulfur containing organophosphorus insecticides by gas chromatograph with a dual channel flame photometric detector (FPD-GLC) and data processings using a digital integrator were investigated.

With P mode, the calibration curves of all insecticides employed showed the linear range from zero to hundreds or thousands nanograms. With S mode, also, similar results were obtained, however, these indicated the linearity with only log-log scale. Moreover, with the dual channel FPD-GLC attached with digital integrator, simultaneous identifications of the insecticides contained sulfur and phosphorus in the molecule could be done.

The resolution of salithion, malathion, fenitrothion, ethion, methyl trithion, and EPN were obtained on Apolar 10C. Ronnel, fenitrothion, ethion, and EPN were separated on QF-1. From above results, Apolar 10C was useful for organophosphorus insecticides analysis.

Many interfering peaks were shown at the shorter retention time on the gas chromatograms of vegetable extracts in the S mode. But, few interfering peaks were shown in the P mode.

(Received September 1, 1976)

有機塩素系殺虫剤である DDT, BHC, シクロジエン化合物の農地での使用が禁止されて以来, 比較的残留性の低い有機リン系殺虫剤の使用が増大している。例えば, 昭和43農業年度では全生産量の41.3%が有機リン系殺虫剤であったのが, 昭和48農業年度では49.5%と約半分を占めるようになった。

*¹ 北九州市環境衛生研究所: 北九州市戸畑区新池
1-2-1

*² 九州大学農学部: 福岡市東区箱崎

有機リン系農薬の残留分析法として, Averell-Norris 法による比色分析¹⁾, 熱イオン化検出器 (flame thermionic detector) によるガスクロマト分析²⁾などがあるが, いずれも感度, 選択性などにおいて十分とはいえない。

これに対して, 近年開発された flame photometric detector (FPD)³⁾ はそれらの欠点を補う検出器として繁用されつつある。なかでも 1968 年初めて試作された S mode (394 nm), P mode (526 nm) の両干渉フィル

ターを有する dual channel FPD-GLC⁴⁾ は S を含む有機リン系農薬の同定、定量に有効であることが報告された。また農薬の残留分析においてはさまざまな複雑な操作を必要とするが、濃度未知の抽出液についてガスクロマトグラフによって分析する場合、しばしば濃縮、希釈を行わねばならず、その際蒸発、揮散などが起こりやすく、測定値に誤差を与える。特に比較的極性が高く、分解しやすい有機リン系農薬では、測定値に与える影響が大であると考えられる。これらの欠点を補うため、試料抽出液を直接ガスクロマトグラフに注入し、希釈または濃縮を行わなくても正確な測定値が得られる機器として、digital integrator が繁用されつつある。著者らは、2 台の digital integrator を dual channel FPD-GLC に連結し、dual channel (P mode および S mode) による含イオウ有機リン系殺虫剤の分析方法およびデータ処理について検討した。

実験方法

1. 試料、試薬

試料：キャベツ、ハクサイ、およびキュウリは市販品を購入し、ミキサーでホモジナイズした。

有機溶媒：一級試薬を蒸留して使用した。

活性炭：ダルコ G-60 (Atlas Powder 社製) を使用した。

粉末セルロース：微結晶セルロース (旭化成工業(株)製) を使用した。

農薬標準品：ronnel, ethion, malathion, methyl trithion, methyl parathion, parathion, phorate, disulfoton は Polyscience 社製、fenitrothion, EPN はガスクロ工業(株)製、dioxathion, dyfonate は Supelco 社製、diazinon は九州三共(株)製のものを使用した。salithion は九州大学農学部農薬化学教室から分与を受けた。いずれも純度95%以上で、精製せずそのまま供試した。

2. 装 置

ガスクロマトグラフ：(株)島津製作所製 GC-5AP₃FFpd (FPD, 波長 394 nm および 526 nm の干渉フィルター付)

Digital integrator：(株)島津製作所製 ITG-4A

3. ガスクロマトグラフィーの条件

カラム管：内径 3 mm, 長さ 2 m の U 字型ガラスカラム

カラム充てん剤：2% QF-1/Chromosorb G, 60~80 メッシュおよび 2% Apolar 10C/Gas Chrom Q, 60~80 メッシュ

2% QF-1 カラムは、温度：試料注入口 220°; カラム恒温槽 180°; 検出器 240°; ガス流量、窒素 37 ml/min; 水素 40 ml/min; 空気 40 ml/min; 2% Apolar 10C カラムは、温度：試料注入口 200°; カラム恒温槽 180°; 検出器 250°; ガス流量、窒素 45 ml/min; 水素 40 ml/min;

空気 40 ml/min の条件で操作した。

4. Digital integrator の条件

Noise filter; 4, minimum peak count; 1000, peak detect; 30 μ V/min, threshold; ∞ V, delay; 0 sec

5. Linear range の測定

供試殺虫剤は酢酸エチルに溶解し、各段階の標準液を調製した。各殺虫剤を分析する前後に parathion を標準物質として注入し、digital integrator の経時誤差を補正した。試料は各 3 回ずつ測定し平均値を求めた。

6. 野菜試料の抽出およびクリーンアップ

試料の抽出は AOAC 法⁵⁾ に準拠して行った。クリーンアップは内径 15 mm のクロマト管に活性炭および微結晶セルロース (1:10) の混合物 5 g を積層し、次いで無水硫酸ナトリウム約 5 g をアセトンを用いた湿式法で充てんした。このカラムに野菜抽出液を吸着させ、アセトン 200 ml で溶出した。その溶出液を Kuderna Danish 濃縮器により 1 ml に濃縮し、ガスクロマトグラフ分析試料とした。

実験結果および考察

1. Linear range の測定

QF-1 あるいは Apolar 10C カラムによる供試殺虫剤の P および S mode における linear range を Table 1 に、典型的なガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。

P mode において、parathion (11.658 ng) に対する供試殺虫剤の相対重量比および相対面積比より検量線を作成すると、QF-1 および Apolar 10C カラムではいずれも $y=ax$ の直線を示した (Fig. 2)。ただし y は parathion に対する相対面積比、 a は定数、 x は parathion に対する相対重量比を示す。供試した各殺虫剤の peak count は digital integrator の最高入力電圧 1 V を超えるまで直線を示した。その範囲は 0 から数百ないし数千 ng と供試含イオウ有機リン系殺虫剤において大きく異なった。なかでも P を 2 個含む dioxathion は QF-1 カラムで 0~5118 ng, Apolar 10C カラムで 0~4623 ng と供試殺虫剤中で最大の Linear range を示した。しかし、dioxathion と同数の P を含む ethion の linear range は QF-1 カラムで 0~729 ng, Apolar 10C カラムで 0~577 ng と dioxathion の 1/7~1/8 であった。その原因としては、有機リン化合物が FPD 中で燃焼する際、生成するイオンや HPO の影響などが考えられ、有機リン化合物中の P の数によりレスポンスが増大しないことが分かった。

S mode における各含イオウ有機リン系殺虫剤のレスポンスは、 $\log y=a \log x+b$ の直線を示した。 (Fig. 3) ただし y は parathion に対する相対面積比、 a および b は定数、 x は parathion に対する相対重量比を示す。

この際、P mode と同様に dioxathion が最大の linear range を示し、次いで EPN, methyl parathion であ

Table 1. Linear Range of Insecticides Tested (ng)

	QF-1		Apolar 10C	
	P	S	P	S
Methyl parathion	0-1094	0-829	0-1670	0-601
Diazinon	0-472	0-392	0-480	0-95
Fenitrothion	0-1170	0-237	0-254	0-50
Malathion	0-750	0-226	0-1843	0-238
EPN	0-2640	0-2360	0-3480	0-820
Ronnel	0-897	0-448	0-1102	0-262
Disulfoton	0-617	0-116	0-566	0-75
Phorate	0-235	0-98	0-231	0-25
Ethion	0-729	0-224	0-577	0-95
Salithion	0-432	0-215	0-894	0-139
Dyfonate	0-421	0-84	0-394	0-337
Dioxathion	0-5118	0-3431	0-4623	0-1686
Methyl trithion	0-1077	0-215	0-694	0-347

Table 2. Relative Retention Times to Parathion

	QF-1 ^{a)}	Apolar 10C ^{b)}
Methyl parathion	0.77	1.12
Diazinon	0.21	0.11
Fenitrothion	0.85	1.09
Malathion	0.75	0.71
EPN	3.21	4.91
Ronnel	0.36	0.30
Disulfoton	0.24	0.22
Phorate	0.17	0.15
Ethion	1.27	1.82
Salithion	0.27	0.47
Dyfonate	0.25	0.22
Dioxathion	0.28	0.35
Methyl trithion	0.99	1.97

^{a)} Rt of parathion, 8.52 min.

^{b)} Rt of parathion, 7.03 min.

った。Sを2個含む Dyfonate は Sを4個含む dioxathion や1個含む EPN, methyl parathion より linear range が狭いことから、含イオウ化合物分子中の Sの数と linear range とは相関がないことが分かった。

Bowman と Beroza⁴⁾ は dual channel FPD-GLC を用いて21種の含イオウ有機リン系農薬のレスポンス (R) をピーク高より測定し、 $R(P)/\sqrt{R(S)}$ 比を含イオウ有機リン化合物についてある一定の数値を示すことを見いだした。ただしここにおける $R(P)$ および $R(S)$ は P mode, S mode でのピーク高である。すなわち、その比

Fig. 1. Dual channel GLC chromatogram of methyl parathion (122 ng)
—, P mode; --, S mode

Fig. 2. GLC-SPD linear responses of ethion, salithion, and malathion (P mode)

Fig. 3. Log-log linear responses of ethion, salithion, and malathion (S mode)

はPおよびSを1個含む化合物で5.2~6.0, Pを1個, Sを2個含む化合物で2.8~3.3, Pを1個, Sを3個含む化合物で1.7~2.3であった。このことより、未知の含イオウ有機リン化合物のP, S modeでのレスポンスを測定し、その $R(P)/\sqrt{R(S)}$ 比を計算すると、化合物中のP, Sの数を予知することが可能であった。

本報告においても、QF-1あるいはApolar 10Cのカラムにおいて、ピーク高よりレスポンス比を求めたとき同様な結果が得られた。しかし、digital integratorでデータ処理すると、P, Sを同数含む殺虫剤間で一定の値を示さなかった。また、P, Sの含有数が同じ殺虫剤で、そのレスポンス比は保持時間(Rt)の短い化合物で小さく、長い化合物では大きかった。このことよりピー

Fig. 4. Typical gas chromatograms of vegetable extracts and standard insecticides with the Apolar 10C column in the P mode

A, cucumber; B, cabbage; C, chinese cabbage; D, standard insecticides (1. diazinon; 2, salithion; 3, malathion; 4. fenitrothion; 5, EPN).

ク面積から求めたP, Sの比はRtにより影響を受けるものと思われる。

2. 殺虫剤の分離

QF-1 と Apolar 10C カラムにおける各殺虫剤の parathion に対する相対保持時間 (RRt) を Table 2 に示した。

QF-1 カラムでは供試 14 種の殺虫剤中で, ronnel, fenitrothion, ethion, EPN はピークが重ならず, 分離が良好であった。また, Apolar 10C カラムでは, salithion, malathion, fenitrothion, ethion, methyl trithion, EPN が良好な分離を示した。しかし, EPN は QF-1, Apolar 10C のいずれのカラムでも分離されたが, Rt が非常に大きいので, さらに分析条件の検討が必要と思われる。

現在まで有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる分離が種々試みられているが^{4), 6)~8)}, OV-101, OV-17, OV-210, OV-225⁷⁾ など, いわゆる silicone 系の高温で安定なカラムを使って, 138 種の S または P を含む農薬とその代謝物の分離を検討し, 良好な結果を得ている。また彼らは polycarboran siloxane である Dexsil 300 カラムを使用して同様な分離も行った⁹⁾。

このように有機リン系農薬の分析には高温で安定なカラムが必要と思われる。本実験に使用した Apolar 10C はかなり極性も高く, 高温に安定であることから, 無極性カラムで分離できない化合物の分析に有用と考えられる。

3. 妨害物質の影響

キャベツ, ハクサイ, キュウリの抽出液および diazinon, EPN, fenitrothion, malathion, salithion の混合液の Apolar 10C カラムによる P mode のクロマトグラムを Fig. 4 に示した。

S mode においては, Rt の短い部分に含イオウ化合物に由来する多くの妨害ピークがみられた。また活性炭カラムによるクリーンアップを行っても, それらのピークを除去することはできなかった。これに対して P mode においては, 妨害ピークがほとんど出現せず, わずかに Apolar 10C カラムで diazinon が野菜抽出液中に含まれる妨害ピークと重なった。しかし, QF-1 カラムで分析すると, diazinon と妨害ピークは全く重ならなかった。これらの結果より, 野菜抽出液を 1/100 に濃縮しても, P mode によるガスクロマトグラム上では妨害ピークによる影響はほとんど見られず, またクリーンアップを行わなくても 1~2 のカラムを組み合わせることにより, 野菜抽出液中に混在する妨害物質と, 目的とする殺虫剤の分離が可能であると推定された。これらのことより, 農作物中に数 ppm から 0.005 ppm 前後の濃度範囲で残留している殺虫剤を, 希釈などの操作を行うことなく, 迅速に分析でき, digital integrator にガ

スクロマトグラフのデータ処理を行わせると, 今後残留農薬の分析のみならず製剤分析においても有用であると思われる。

結 論

2 台の digital integrator を dual channel FPD-GLC に連結し, dual channel による含イオウ有機リン系殺虫剤の分析方法およびデータ処理について検討した。

P mode において, 供試殺虫剤の検量線は 0 から数百ないし数千 ng の範囲で直線を示した。S mode においても, 同様な結果を示したが, この場合は対数グラフによる直線を示した。さらに, このシステムでは分子中に S および P を含む殺虫剤の同時同定が可能であった。salithion, malathion, fenitrothion, ethion, methyl trithion, EPN の分離が Apolar 10C により得られた。しかし, QF-1 では ronnel, fenitrothion, ethion, EPN が分離されたのみであった。このように, Apolar 10C カラムは有機リン系殺虫剤の分析に有用と思われる。

3 種の農作物由来の妨害物質が S mode で Rt の短い部分に多くみられた。しかし, P mode においては, ほとんどみられなかった。

最後に, 本実験に当たり終始有益な御助言をいただいた北九州市環境衛生研究所所長, 秋山 高博士に深謝いたします。

なお, 本報告の要旨は日本食品衛生学会第31回学術講演会 (昭和51年5月, 東京) で発表した。

文 献

- 1) JIS K 0102-1971, 23.
- 2) Official Methods of Analysis of the AOAC, 11th ed. 29.008, p. 477, 1970, Washington, D. C.
- 3) Brody, S. S., Chaney, J. E.: J. Gas Chromatogr., 4, 42 (1966).
- 4) Bowman, M. C., Beroza, M.: Anal. Chem. 40, 1448 (1968).
- 5) Official Methods of Analysis of the AOAC, 12th ed. 29.011, p. 522, 1975, Washington, D. C.
- 6) Watts, R. R., Storherr, R. W.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 52 513 (1969).
- 7) Bowman, M. C., Beroza, M.: *ibid.*, 53, 499 (1970).
- 8) 福原克治, 武田明治, 田辺弘也: 食衛誌. 14, 524 (1973).
- 9) Bowman, M. C., Beroza, M.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 54, 1086 (1971).