有機リン剤の農作物への残留量の定量について (第6報)

ダイシストン代謝物のガスクロマトグラフィーによる検出

(昭和41年11月10日受理)

奥井 誠一^{*1} 宮崎 浩^{*2} 川上 知子^{*1}

Determination of Organophosphorus Residues in Plants (VI)

Detection of Metabolites of Disyston by Electron Capture Gas Chromatography

Sei-ichi OKUI^{*1}, Hiroshi MIYAZAKI^{*2} and Tomoko KAWAKAMI^{*1}

(^{*1} Institute of Pharmacy, School of Medicine Tohoku University: Kita-4-bancho, Sendai; ^{*2} Nihon-kayaku Co., Ltd.: 3-31 Shimo, Kita-ku, Tokyo)

Possible metabolites of Disyston were studied by means of thin-layer chromatography, IR spectrum and electron capture gas chromatography.

Ten ng of Disyston, 1-2 ng of Disyston sulfoxide, 5 ng of Disyston sulfone, 500 ng of Systox, 5 ng of Systox sulfoxide and 100 ng of Systox sulfone were detectable on gas chromatograms, utilizing 2% Apiezon L and 1% 1,4-Butandiol succinate as the stationary phase. And actually as the metabolic residues, Disyston sulfoxide and Systox sulfoxide were detected at the very low level in extracts of strawberries and edible roots of lilies.

(Received November 10, 1966)

まえがき

農作物に散布された農薬はそのままの形で植物体に残留するのみならず、代謝をうけ、いぜんとして効力を失わず長い期間残留することが知られている。

著者らもさきにジメトエートおよびダイシストンの代謝物が農作物に認められることを報告¹⁾したがダイシストンについては Fig. 1 に示すごとくその予想される代謝物が多いのでこの点を電子捕獲型ガスクロマトグラフを用い薄層クロマトグラフィーによる精製および赤外線吸収スペクトル同定法に続き検討を行なった。

実験方法、器具および試薬

1. 有機リン化合物

日本特殊農薬製造株式会社によって製造されたものをさらに薄層クロマトグラフィーにより精製して用いた。

[I] Disyston (*O,O*-Diethyl-*S*-ethylthioethyl phosphorodithioate)

[II] Disyston sulfoxide (*O,O*-Diethyl-*S*-ethyl sulfinylethyl phosphorodithioate)

[III] Disyston sulfone (*O,O*-Diethyl-*S*-ethyl sulfonylethyl phosphorodithioate)

[IV] Systox (*O,O*-Diethyl-*S*-ethylthioethyl phosphorothioate)

[V] Systox sulfoxide (*O,O*-Diethyl-*S*-ethylsulfinylethyl phosphorothioate)

[VI] Systox sulfone (*O,O*-Diethyl-*S*-ethyl sulfonylethyl phosphorothioate)

2. 器具

2-1 薄層クロマトグラフ

Desaga 社製アブリケーターを用いシリカゲル G を水でといたものをガラス板の上に厚さ約 250 μ の薄層を作る。室温で10分間放置後110°で2時間活性化したのち乾燥中にたくわえて使用した。展開溶媒としては目的に応じ後記のごとく数種のものを使用でき、発色試薬としては 0.5% 塩化パラジウム (10% 塩酸中) を用いた。

2-2 ガスクロマトグラフ

島津製作所 GC-1 C 型電子捕獲型検出器のついたガスクロマトグラフを用いた。

2-3 赤外分光光度計

^{*1} 東北大学医学部薬学科：宮城県仙台市北四番丁85

^{*2} 日本化薬株式会社：東京都北区志茂 3の31

Fig. 1. Possible metabolites of Disyston

日立パーキンエルマー回折格子型赤外分光光度計 125 型を用い各化合物につき KBr 錠剤法で測定した。

3. 実験方法

3-1 農作物より農薬の抽出

試料50gを約2倍量のアセトンでホモジナイザーなどを用いてよく細切し吸引ろ過する。この操作を2~3回繰返し、ろ液のアセトンを減圧で留去する。残った水層をろ過し、クロロホルム 20ml を用いて3回抽出しクロロホルム層は合して芒硝を用いて脱水しクロロホルムを減圧でとばし残渣を一定量にしたのちその一部を用いて薄層クロマトグラフィーを行ない、さらにその抽出物のアセトン溶液につきガスクロマトグラフィーを行なった。

3-2 赤外線吸収スペクトル

薄層クロマトグラフ上のスポットをかきとり、ベンゼンで抽出し脱水したのち、窒素気流中で減圧濃縮し、濃縮液と KBr 粉末とを混合し真空デシケーター中で減圧下、溶媒を完全に除去し KBr 錠剤法で測定した。

実験結果

ダイシストンが植物体内で代謝を受ける場合その考えられる代謝経路を Fig. 1 に示した。

原体 [I] および各化合物 [II], [III], [IV], [V], [VI] はいずれも毒性および強力なコリンエステラーゼ阻害作用を有する²⁾ので、これらの化合物が実際に農作物の収穫されたサンプル中に存在するか否かを試験するまえに、その基礎実験を行なった。

1. ダイシストン関連化合物の薄層クロマトグラフィー

[I]~[VI] の各精製標準品について薄層クロマトグラフィーを行なった結果を Fig. 2 に示した。種々試みた実験の結果、6種の物質を分離するための最も適当と思われた展開溶媒はベンゼン・酢酸エチル・アセトン (3:3:1) でこの場合の Rf 値は原体 [I] = 0.77, [II] = 0.30, [III] = 0.65, [IV] = 0.58, [V] = 0.06, [VI] = 0.40 である (Fig. 2 参照)。

その他、後記のように実際定量にあたってこれらの化合物の一部について確認しあるいは分離抽出する場合は展開溶媒を適当にかえることが可能である。

Fig. 2. Thin-layer chromatogram of possible metabolites of Disyston

つぎに展開溶媒をかえた場合の各 Rf 値を Table 1 に示す。

Table 1. Rf Values of Possible Metabolites of Disyston

	Solvent			
	A	B	C	D
[I]	0.66	0.79	0.78	0.80
[II]	0.11	0.37	0.14	0.13
[III]	0.27	0.60	0.45	0.52
[IV]	0.40	0.60	0.43	0.35
[V]	0	0.09	0.04	0.02
[VI]	0.08	0.07	0.11	0.09

A: Hexane・Acetone (4:1)

B: Hexane・Acetone (1:1)

C: Toluene・Chloroform・Ethylacetate
(4:5:1)

D: Chloroform・Methanol (9:1)

2. ダイシストン、シストックスおよびその誘導体の赤外線吸収スペクトル

上記 [I]~[VI] までの各化合物の合成品をさらに薄

Fig. 3. IR spectra of possible metabolites of Disyston

層クロマトグラフィーを用いて精製し、これらについて赤外線吸収スペクトルを測定した結果を Fig. 3 に示す。

上の Fig. 3 よりつぎのことが明らかにされた。

- (i) [I] [II] [III] [IV] [V] および [VI] はいずれも $1400\sim1500\text{ cm}^{-1}$ に幅ある吸収を有し -S- の活性メチレン ($\text{-CH}_2\text{-}$) の存在を示している。
- (ii) [I] [II] [III] [IV] [V] および [VI] はいずれも 1000 cm^{-1} 付近に C-O-P 吸収が強く出ている。
- (iii) [I] [II] [III] [IV] [V] および [VI] は 1160 cm^{-1} に Et-O-P の弱い吸収を示している。

- (iv) [I] [II] および [III] は 650 cm^{-1} に $\begin{array}{c} \text{S} \\ \uparrow \\ \text{-P-S-} \end{array}$ の強い吸収を示している。

- (v) [IV] [V] および [VI] は 1250 cm^{-1} に $\begin{array}{c} \text{O} \\ \uparrow \\ \text{-P-} \end{array}$ の強い吸収を示している。

- (vi) [III] のチャートでは $1320, 1290, 1270, 1135, 1120\text{ cm}^{-1}$ に吸収を有し $\text{-SO}_2\text{-}$ の存在を示している。

- (vii) [VI] のチャートでは $1320, 1295, 1130, 1110\text{ cm}^{-1}$ の吸収は同じく $\text{-SO}_2\text{-}$ の吸収である。

- (viii) [I] および [IV] は 690 cm^{-1} に C-S-C の弱い吸収を示している。

以上の結果は合成精製された各化合物が赤外線吸収スペクトルの上でも矛盾のないそれぞれの値を示している。またこれらのものが植物体から抽出された場合、定性的に赤外線吸収スペクトルを用いて同定することの可

能性を示す。

3. ダイシストン、シストックスおよびその誘導体のガスクロマトグラフィー

赤外線吸収スペクトルによって同定したものにつきさらに電子捕獲型ガスクロマトグラフィーを行なった。カラムはシラン処理した Celite 545 (60~80 mesh) に Apiezon L 2% と 1,4-Butandiolsuccinate 1% とを同時に coating し充填させた。カラム温度 180° 、試料注入部には先端に glass wool を充填した Quartz insert tube を挿入して温度は 300° 、検出器温度 190° 、感度 3.2×10^3 、 N_2 ガス流速 40 ml/min の条件で行なったものを Fig. 4 に示す。

なお、それぞれの用いた量は [I] Disyston 150 ng, [II] Disyston sulfoxide 75 ng, [III] Disyston sulfone 300 ng, [IV] Systox 3 μg , [V] Systox sulfoxide 75 ng, [VI] Systox sulfone 3 μg である。各保持時間は [I]

Fig. 4. Electron capture gas chromatogram of possible metabolites of Disyston

= 8.95 分, [II] = 1.2 分, [III] = 52.5 分, [IV] = 6.75 分, [V] = 1.05 分, [VI] = 9.7 分でそれぞれの検出感度としては [I] = 10 ng, [II] = 1~2 ng, [III] = 5 ng, [IV] = 500 ng, [V] = 5 ng, [VI] = 100 ng である。

4. 実際の農作物よりの残留量測定例

ユリに土壤施用した場合, 同じようにイチゴに土壤施用した場合, その成熟した根および果実について行なった実験例を示す。前記抽出法によって得られた抽出液を薄層クロマトグラフィーによりクリーンアップおよび同定を行ない, さらにガスクロマトグラフィーによって定量を行なった。

例 I

※ 試験地

北海道立農業試験場

※ 供試材料

ユリの根 (昭和39年10月15日植込)

※ 供試薬剤

ダイシストン 5% 粒剤 7 kg/10 a

※ 薬剤施用期日

試料 No. 1 昭和39年10月15日 植込時土壤
処理

試料 No. 2 昭和40年6月9日 追肥時土壤
処理

※ 収穫期日

昭和40年11月1日

※ 分析期日

昭和40年11月8日

※ 試験方法

試料おのおの 50 g につき 常法どおりクリーンアップを行ない薄層クロマトグラフィーによって精製したものに付きガスクロマトグラフィーによる分析を行なった。

※ 定量結果

Fig. 5. Electron capture gas chromatogram of the extracts No. 2

試料 No. 1 については原体および代謝物とも検出しなかった。試料 No. 2 については原体はなく代謝物の Disyston sulfoxide [II] 0.05 ppm と Systox sulfoxide [V] 0.20 ppm をそれぞれ検出した。なお, 試料 No. 2 のガスクロマトグラムを Fig. 5 に示した。

例 II

※ 試験地

鹿児島県農業試験場

※ 供試材料

イチゴ, 八千代, 昭和40年10月14日定植

※ 供試薬剤

ダイシストン粒剤, 株当たり 1 g, 2 g, 4 g それ
ぞれ土壤施用

※ 薬剤施用期日

昭和40年10月25日定植時} いずれも株間処理
昭和41年1月6日追肥時}
(溝を浅くきり処理後覆土)

※ 収穫期日

昭和41年4月1日

※ 分析期日

昭和41年4月6日

※ 定量結果

ダイシストン粒剤株当たり 1 g, 2 g を土壤施用した場合ダイシストン原体およびその代謝物をイチゴ果実中から検出しえなかった。ダイシストン粒剤を株当たり 4 g 処理した場合は代謝物として Disyston sulfoxide [II] 約 0.01 ppm, Systox sulfoxide [V] 0.017 ppm を認めたがいずれもきわめて微量である。

むすび

植物体内で考えられるダイシストンの代謝物についてその基礎実験として薄層クロマトグラフィー, 赤外線吸収スペクトル, ガスクロマトグラフィーによる分析試験を行なった。さらにこれらの結果をもとにダイシストンを土壤施用した場合のユリの根, イチゴの果実についてその残留量を測定した結果, ダイシストン原体は認められずその代謝物である, Disyston sulfoxide, Systox sulfoxide の両者を検出することができた。しかし両者ともきわめて微量でいずれも有害と認められる量以下と考えられる。しかも収穫期以前の段階においても土壤処理の場合は農作物中に高度に含量の上ることはないので, むしろ散布後日浅く摂取される場合より危険度ははるかに低いと考えられる。

最後にダイシストンの代謝物を製造していただいた日本特殊農薬製造株式会社, 実際の農作物の分析試料をいただいた北海道農業試験場, 鹿児島県農業試験場, さらに種々実験の手伝いをされた植木登喜子氏に感謝の意を表する。

なお本実験の一部は文部省科学研究費の一部を使用した
ので併せて感謝の意を表する。

この報文の要旨は第22回日本薬学大会（昭和41年4月
7日，富山）において発表。

文 献

- 1) 奥井誠一，秋山知子：食衛誌. **6** (4), 364 (1965).
- 2) R. L. Metcalf, H. T. Reynold et al.: J. Econ.
Entomol. **52**, 435 (1959).