

土壤中カルタップ塩酸塩の微量分析法

誌名	日本農薬学会誌
ISSN	03851559
著者	西, 清司 富名腰, 健一 丹, 信行 服部, 正敏
巻/号	4巻1号
掲載ページ	p. 29-35
発行年月	1979年2月

報 文

土壤中カルタップ塩酸塩の微量分析法

西 清 司, 富名腰健一, 丹 信 行*, 服部正敏

武田薬品工業株式会社中央研究所化学研究所

*武田薬品工業株式会社農薬研究所

(昭和53年8月14日受理)

Microdetermination of an Insecticide, Cartap Hydrochloride 2-Dimethylaminotrimethylene S,S'-bis(thiocarbamate)hydrochloride in Soil

Kiyoshi NISHI, Kenichi FUNAKOSHI, Nobutsura TAN* and Masatoshi HATTORI

*Chemical Research Laboratories, Central Research Division,
Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka 532, Japan***Research Laboratories, Agricultural Chemicals Division,
Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka 532, Japan*

Microdetermination of cartap hydrochloride 2-dimethylaminotrimethylene S,S'-bis(thiocarbamate)hydrochloride in soil was described. Cartap hydrochloride was adsorbed to soil with the effect of functional groups in the structure. In proposed paper, cartap hydrochloride was extracted from soil at 65°C with 0.1 N HCl containing 1.5% L-cysteine hydrochloride. The extract was hydrolyzed with 1.5% NH₄OH and oxidized with air to give nereistoxin(4-dimethylamino-1,2-dithiolane). EPD-gas chromatography using sulfur mode was used to determine cartap hydrochloride without any interference. The minimum detection limit of nereistoxin by this method was 1 ng corresponding to 0.005 ppm in 20 g of soil. The overall average recoveris from alluvial soil and volcanic ash soil were 96.8% and 98.0%, respectively. This conventional method will be useful for the residue analysis of cartap hydrochloride in soil.

緒 言

著者らは従来からカルタップ塩酸塩 (2-dimethylaminotrimethylene S,S'-bis(thiocarbamate)hydrochloride) の分析法研究を行ない、これまでにいくつかの分析法を確立した。すなわち、バルクおよび製剤分析法として異性体との分離定量が可能なポーラログラフ法^{1,2)} およびアルカリ加水分解後生成するジヒドロネライストキシン (dihydroneireistoxin, 2-dimethylamino-1,3-propanedithiol) を SH 試薬と反応させる比色分析法³⁾ を開発し、また微量分析法としてジヒドロネライストキシンをさらに酸化してネライストキシン (nereistoxin, 4-dimethylamino-1,2-dithiolane) としたのち、そのガスクロマトグラフィー (GC)⁴⁾ またはポーラログラフィー¹⁾ を確立した。この

微量分析法は主としてカルタップ塩酸塩製剤散布後の作物中への吸収移行ならびに残留などをしらべるために研究したもので、これを用いて各種作物についてその実態を明らかにしえた。今回は散布後の土壤中のカルタップ塩酸塩の挙動をしらべる目的で GC の適用について検討した。土壌の場合は作物と異なり、カルタップ塩酸塩やネライストキシンは土壌に強く吸着されるので種々検討の結果、システインを含む塩酸水溶液で土壌を処理し、システインを交換吸着させてカルタップ塩酸塩やネライストキシンを脱着する方法で高回収率が得られることを見いだした。本処理法で得た抽出液は分配によるクリーンアップ後 GC で容易に分析しうる。本法では、試料中のカルタップ塩酸塩はネライストキシンに変えたのち測定されるため、共存するネライストキシンとの合計量が

定量されるが、カルタップ塩酸塩の殺虫作用の発現がネライストキシンによる⁵⁾ことを勘案すれば自然環境におけるカルタップ塩酸塩分析法として有用と考えられる。以下分析法の検討結果ならびにカルタップ塩酸塩の土壌中における測定例について報告する。

実 験

1. 試料, 試薬および装置

土壌: 武田薬品工業株式会社京都試験農園および静岡県農業試験場から入手した沖積土壌および東京農工大学および茨城県農業試験場から入手した火山灰土壌を用いた。

カルタップ塩酸塩: mp(d) 183°C 99.8% (ポーラログラフ^{1,2)})

³⁵S-カルタップ塩酸塩³⁾: 63 μCi/mg, 99.7% (ポーラログラフ^{1,2)})

ネライストキシンシュウ酸塩: mp(d) 168~170°C, 薄層クロマトグラフィーで1スポットのもの (acetone/acetic acid=99/1)

L-システイン溶液: 1.5% L-システイン塩酸塩を含む0.1N HCl 溶液

その他の試薬: いずれも試薬特級品

ガスクロマトグラフ: Micro-Tek 社製 MT-220 型および島津 GC-4BM, いずれも蛍光光度検出器 (EPD) 硫酸用フィルター付

2. 分析法

1) ガスクロマトグラフィーの条件

分離管: 5% PEG-20M on Chromosorb W (60~80 mesh), 3mm×1.5m, ガラス製

分離管温度: 160°C, 試料導入部温度: 190°C, 検出器温度: 190°C

キャリアーガス: N₂ 40 ml/min, 燃焼ガス: H₂ 150 ml, 空気 80 ml/min, O₂ 20 ml/min (O₂ は Micro-Tek 社製 MT-220 型に使用)

2) 定量操作法

i) 抽出および精製

土壌 20g を三角フラスコにとり L-システイン溶液 80ml を加えて, 65°C でときどき振り混ぜながら 30分間抽出する。試料液を遠心分離管に移し, 遠心分離 (3,000 rpm) して上清を 500ml の分液ロートに移す。残留物はさらに2回同様に抽出し, 上清をあわせる。次に分液ロートに濃アンモニア水 10ml を加えて 30分間振り混ぜたのち, さらにエーテル 200ml を加えて 5分間振り混ぜる。エーテル層を分離し水層はさらにエーテル各 200ml を用いて 2回抽出操作をくり返す。エーテル層を合

わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後, Kuderna-Danish 濃縮装置で濃縮乾固する。乾固物中に残留する少量のエーテルを室温下 N₂ ガスを通気して除去したのち, メタノール 0.5ml を加えて溶かし試料溶液とする。Fig. 1 に操作法の概要を示した。

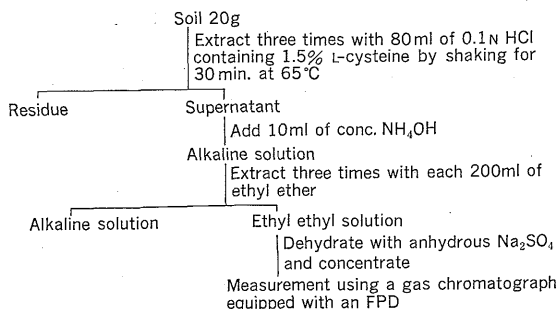


Fig. 1 Analytical method of cartap hydrochloride and/or nereistoxin.

ii) 測定法

試料溶液 5 μl を先の条件に設定したガスクロマトグラフに注入してピーク高さを求め別に作成した検量線からネライストキシンの含量を算出する。カルタップ塩酸塩量は分子量換算により算出する。

3) 検量線

ネライストキシンシュウ酸塩 5, 10, 20, 40, 80 および 160 μg を L-システイン溶液 200ml に溶かし, 土壌の前処理と同様に操作したのち, それぞれガスクロマトグラムを求め, 両対数グラフ用紙に濃度とピーク高さをプロットし検量線を作成する³⁾。

実験結果および考察

1. 測定法の検討

すでにネライストキシンの微量分析法としてオッシロポーラログラフ²⁾ および FPD-GC⁴⁾ による方法を, またネライストキシンとネライストキシンモノオキシド (nereistoxin monooxide, 4-dimethylamino-1,2-dithiolane 1-oxide) との分別定量法としてポーラログラフ¹⁾ および FPD-GC による方法を報告し³⁾, GC において PEG-20M のカラムを用いた場合, ネライストキシンは対象性のよいピークを示すことを知った。

土壌中のカルタップ塩酸塩およびネライストキシンの残留分析法には, 後述するように抽出率を向上させるためシステインを抽出助剤に用いた。このシステインはクリーンアップ操作にもかかわらず, 測定試料中にきわめて少量ではあるが混入し, また金属とのキレートが抽出

されるためポーラログラフィーは使用できない。そこで GC を採用し、ネライストキシンを精度よく定量するためにカラム温度を 160°C と定めた。硫黄成分に高感度検出器を使用した本法によると、土壌中成分の妨害もきわめて少なくネライストキシンの定量に影響を与えなかった。

2. 土壌からの抽出法

作物残留分析法²⁾にしたがって沖積土壌(京都)および火山灰土壌(農工大) 20 g に ³⁵S-カルタップ塩酸塩 40 μg/1 ml 水溶液を添加し、10 ml の水を加えてよくかき混ぜ、一定時間放置したのち 0.1 N HCl で抽出して液体シンチレーションカウンターで回収率を求め、また非ラベルカルタップ塩酸塩を同様に土壌に添加し 0.1 N HCl で抽出後クリーンアップ操作のち FPD-GC で測定し回収率を求めた。

Fig. 2 に示すようにカルタップ塩酸塩の ³⁵S の回収率

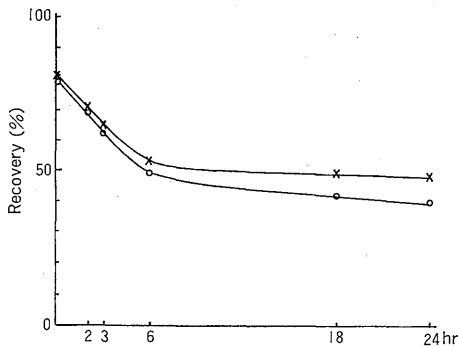


Fig. 2 Recoveries of ³⁵S (x) and cartap hydrochloride (O) from alluvial soil (Kyoto).

と FPD-GC による回収率とはほぼ同じで、添加 6 時間後以降の抽出では回収率は約 50% となり、残りの ³⁵S は土壌から抽出しえないことから土壌へのカルタップ塩酸塩およびそれから分解生成したジヒドロネライストキシン、ネライストキシンの吸着が考えられた。カルタップ塩酸塩、ジヒドロネライストキシンおよびネライストキシンの土壌吸着については、ジメチルアミノ基およびチオールまたはジスルフィドの官能基が関与するものと推定できる。そこでまずアミノ基の土壌に対する親和性を検討するために基礎実験としてメチル基数の異なる 4 種の代表的なアミンの塩酸塩を用いて土壌に対する吸着容量をアンモニア吸収力実験法にしたがって調べた⁹⁾。

Table 1 に示すようにアミンのメチル置換数が多いほど、モル換算での吸着量は少なくなる傾向がみられたがその容量は重量換算で 700~1,000 ppm であった。一例としてトリメチルアミンを選び 5 g の土壌を 50 ml の 0.1 N HCl で抽出したところ回収率は約 80% であった。一方 1.5% NH₄OH (約 0.3 N) 50 ml で抽出した場合は約 94% と高い回収率を示し、トリメチルアミンが NH₄OH と交換吸着されることによって抽出率が向上したと考察される。つぎに土壌にカルタップ塩酸塩およびネライストキシンを添加し、直後に 0.1 N HCl と 1.5% NH₄OH による抽出率を比較した。

Table 2 に示すようにいずれの場合も基礎実験と同様、1.5% NH₄OH による抽出率のほうが高かった。なおネライストキシンは沖積土壌からの抽出率が低かった。また 1.5% NH₄OH によっても土壌に添加後時間経過にしたがってカルタップ塩酸塩およびネライストキシンの抽出率が低下し、とくにカルタップ塩酸塩の場合、

Table 1 Adsorption amounts of amine derivatives on soil.

Soil	NH ₃	CH ₃ NH ₂	(CH ₃) ₂ NH	(CH ₃) ₃ N
Alluvial (Kyoto)	0.045 mM/g	0.038 mM/g	0.034 mM/g	0.018 mM/g
Volcanic ash (Tokyo)	0.068	0.052	0.041	0.022

Table 2 Recovery of extraction immediately after addition of 1-2 ppm of cartap hydrochloride or nereistoxin to the soil.

Added amount (ppm)	Soil	Extraction method	Recovery (%)	
			Cartap hydrochloride	Nereistoxin
2.0	Alluvial (Kyoto)	0.1 N HCl	78.7	35.1
2.0	Alluvial (Kyoto)	1.5% NH ₄ OH	86.6	79.8
1.0	Alluvial (Kyoto)	1.5% NH ₄ OH	75.7	62.3
2.0	Volcanic ash (Tokyo)	0.1 N HCl	82.2	64.3
2.0	Volcanic ash (Tokyo)	1.5% NH ₄ OH	93.3	96.7
1.0	Volcanic ash (Tokyo)	1.5% NH ₄ OH	91.0	85.2

Table 3 Effect of metal ion on the recovery of cartap hydrochloride or nereistoxin from alluvial soil (Kyoto).

Salt	Extraction method	Recovery (%)	
		Cartap hydrochloride	Nereistoxin
5% Fe ₂ (SO ₄) ₃	0.1 N HCl	33.9	26.2
5% Fe ₂ (SO ₄) ₃	1.5% NH ₄ OH	70.2	80.2
10% ZnCl ₂	0.1 N HCl	20.1	16.2
10% ZnCl ₂	1.5% NH ₄ OH	11.5	0.2

Cartap hydrochloride and nereistoxin were added to the soil to 2 ppm.

添加直後に約80%を示した抽出率は6時間経過後にはネライストキシンとはほぼ同じ値の60%に低下した。これはカルタップ塩酸塩が土壌中で分解し、ジヒドロネライストキシンまたはネライストキシンに変化して生成したチオールおよびジスルフィドが土壌中の無機化合物と親和性をもつためと考えられる。このことはFe₂(SO₄)₃, ZnCl₂を土壌20gに対してそれぞれ5%および10%相当量を添加し、0.1 N HCl または 1.5% NH₄OH で抽出した結果、回収率が著しく低下することからも支持さ

Table 4 Recovery of CTH and NTX from alluvial soil (Kyoto) by extraction with 5% L-cysteine solution.*

Extraction method	Recovery (%)	
	Cartap hydrochloride	Nereistoxin
0.1 N HCl	100.8	99.5
1.5% NH ₄ OH	88.8	85.9

* Cartap hydrochloride and nereistoxin were added to the soil to 2 ppm.

Table 5 Extraction of nereistoxin (2 ppm) with 0.1 N HCl containing 5% L-cysteine from soil.

Soil	Extraction method	Time after addition of nereistoxin to soil (hr)	Recovery (%)
Alluvial (Kyoto)	Room temp. Shaking 30 min	Immediately	99.5
Alluvial (Kyoto)	Room temp. Shaking 30 min	6	78.8
Alluvial (Kyoto)	65°C 30 min	Immediately	99.1
Alluvial (Kyoto)	65°C 30 min	6	98.3
Volcanic ash (Tokyo)	65°C 30 min	6	97.6

Table 6 Relation between recovery of cartap hydrochloride (2 ppm) and nereistoxin (2 ppm) and the amount of L-cysteine added. Extraction was performed at 65°C, 6 hours after the addition of cartap hydrochloride or nereistoxin to the soil.

Soil	L-cysteine added (%)	Recovery (%)	
		Cartap hydrochloride	Nereistoxin
Alluvial (Kyoto)	—	52.5	35.0
	0.1	56.0	56.2
	0.5	68.0	75.0
	1.0	82.5	76.8
	1.5	98.4	98.0
	3.0	98.1	97.9
Alluvial (Shizuoka)	—	48.9	43.1
	1.5	99.1	97.8
	3.0	99.9	100.5
Volcanic ash (Tokyo)	—	55.6	50.8
	0.5	75.9	76.2
	1.0	90.1	88.3
	1.5	100.2	97.5
	3.0	99.9	100.5
Volcanic ash (Ibaragi)	—	60.1	58.9
	1.5	98.9	99.2

れた (Table 3). これらの実験からカルタップ塩酸塩、ジヒドロネライストキシンおよびネライストキシンの土壌吸着にはアミノ基とチオールまたはジスルフィドの両官能基が関与しているものと判断できる。

これらの実験結果にもとづいて、アミノ基とチオールまたはジスルフィドの官能基による土壌吸着を妨ぐ脱着法を検討した。システイン、チオグリコール酸-NH₄OH、チオフェノール-NH₄OH などによる抽出をしらべた結果、チオグリコール酸、チオフェノールを用いた場合は精製操作を行なっても先に設定した分析法において妨害ピークを与えた。システインを添加し 0.1N HCl または 1.5% NH₄OH で抽出した場合いずれも回収率は向上した (Table 4) が、1.5% NH₄OH を用いたとき、妨害ピークを認める場合があり、再現性に欠けるためシステイン-0.1N HCl 抽出法を採用した。

しかし、システイン-0.1N HCl を用い室温で振り混ぜ抽出した場合、カルタップ塩酸塩、ネライストキシン添加後 6 時間土壌ではやや回収率が低下した (Table 5)。

そこでシステインの添加量と抽出温度についてしらべた。

まず 0.1N HCl 溶液に添加するシステイン量について検討した。土壌にカルタップ塩酸塩またはネライストキシンを添加し、6 時間経過後 65°C に加温して抽出した結果、システイン濃度が 1.5% 以上でよい回収率を示し

Table 7 Effect of temperature on recovery of cartap hydrochloride (2 ppm) or nereistoxin (2 ppm) from alluvial soil (Kyoto). The soil was extracted with 1.5% L-cysteine solution 6 hours after the addition of cartap hydrochloride or nereistoxin.

Extraction temperature (°C)	Recovery (%)	
	Cartap hydrochloride	Nereistoxin
30	89.1	78.8
50	92.3	88.1
65	98.4	98.0
80	99.1	98.4

た (Table 6). しかしシステイン量が多くなるとガスクロマトグラムに妨害ピークを与えるため 1.5% と定めた。

ついで抽出温度を 30, 50, 65 および 80°C とし、分析操作法にしたがって回収率をしらべた結果、温度の上昇とともに回収率も向上したが、80°C では添加したシステインの一部が分解し、ガスクロマトグラム上に妨害ピークを与えることがあるので 65°C とした (Table 7). また抽出回数を 3 回と定めた。

3. クリーンアップ

先に著者らは抽出後アンモニアアルカリ性でカルタップ塩酸塩を加水分解してジヒドロネライストキシンとし

Table 8 Recovery from 20 g of soil which was allowed to stand for 6 hours at room temperature after adding a known amount of cartap hydrochloride or nereistoxin.

Soil	Added amount (μg)	Sample No.	Recovery (%)	
			Cartap hydrochloride	Nereistoxin
Alluvial (Kyoto)	1.0	4	94.6	94.1
	4.0	4	96.1	95.7
	10.0	4	98.3	95.2
	20.0	4	97.3	96.1
	40.0	4	97.5	95.9
Alluvial (Shizuoka)	1.0	4	95.1	94.0
	4.0	4	100.2	97.8
	10.0	4	97.6	99.1
	20.0	4	97.2	98.4
	40.0	4	98.6	97.7
Volcanic ash (Tokyo)	1.1	5	97.2	96.0
	4.4	5	98.6	96.8
	11.0	5	95.2	96.0
	22.0	4	97.9	100.1
	44.0	4	99.1	94.9
Volcanic ash (Ibaragi)	1.1	3	95.9	97.8
	4.4	4	99.9	100.2
	11.0	4	101.6	97.7
	22.0	4	100.1	97.5
	44.0	3	98.9	99.0

空気酸化してネライストキシンに変え、エーテル抽出によって妨害物質を除去する精製法を考案し、作物中のカルタップ塩酸塩およびネライストキシンの残留分析法に適用した²⁾。抽出操作を簡略化するためエーテルよりネライストキシンの分配率がよいクロロホルムを用いて抽出法を検討したがシステインの分解物または金属とのキレートと推定される化合物が抽出されてネライストキシンの定量を妨害する場合が認められた。しかしエーテル抽出ではこれらの影響が小さくなるため抽出溶媒として適当であった。本法では定量に硫黄に特異的な検出法を用い、また分配による抽出法を採用したため土壌中成分およびカーバメート系殺虫剤、有機リン剤の影響をまったくうけなかった。

種々の量 (1-40 μg) のカルタップ塩酸塩またはネライストキシンシュウ酸塩を土壌 20g に添加し、本法による回収率を求めた。いずれも高い回収率を示し再現性もよかった (Table 8)。

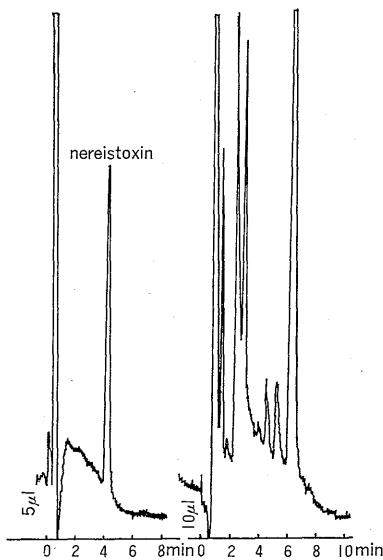


Fig. 3 Gas chromatograms of nereistoxin (1 ng, left) and extract (right) from alluvial soil (Kyoto). Sensitivity; $10^2 \times 64$ Amfs

4. 検出限界

本法による検出限界は土壌 20g 中カルタップ塩酸塩またはネライストキシンとして 0.1 μg で、FPD-GC に 5 μl の試料溶液を注入するとき 1 ng に相当し、0.005 ppm の検出が可能であるが、定量限界は再現性および信頼性を考えて 0.05 ppm とした。ネライストキシンの検出限界 1 ng および土壌抽出液 10 μl 注入時のガスクロマトグラムを Fig. 3 に示したが、ネライストキシンの定量にはほとんど妨害を示さない。

5. 土壌中カルタップ塩酸塩の測定例

容水量を 60% に調整し、畑地状態とした沖積および火山灰土壌、また湛水状態とした水田用の沖積および火山灰土壌にカルタップ塩酸塩を添加し、室温に保存し経日的に本法によって分析した結果、いずれも 3 日以内に半減した。火山灰土壌および沖積土壌とも水田のほうが

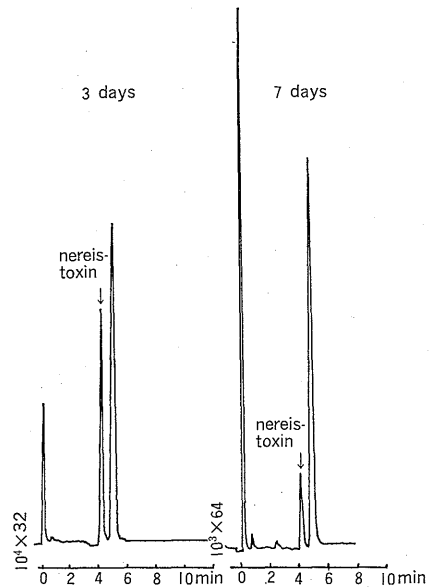


Fig. 4 Gas chromatograms of extract from alluvial soil (Kyoto) fortified with cartap hydrochloride for 3 days (left) and 7 days after addition.

Table 9 Analytical results of cartap hydrochloride in soil.

Sample	CTH (ppm)						
	Control	Initial	3	7	14	31	60 (days)
Alluvial (Kyoto)*	<0.05	6.46	0.64	0.16	0.06	<0.05	<0.05
Volcanic ash (Tokyo)*	<0.05	6.47	1.84	1.14	0.50	0.11	0.06
Alluvial (Shizuoka)**	<0.05	5.20	1.82	1.34	1.12	0.93	0.68
Volcanic ash (Ibaragi)**	<0.05	5.35	2.52	1.69	1.34	1.01	0.72

* Field, ** Paddy field

ゆるやかな消失曲線を与えた (Table 9). またガスクロマトグラム例を Fig. 4 に示した.

要 約

システインを抽出助剤とし温浸抽出法を利用して土壌中のカルタップ塩酸塩およびネライストキシンの残留分析法を作成した. カルタップ塩酸塩およびネライストキシンはその構造式中のアミンおよびチオールまたはジスルフィドの官能基によって土壌に吸着する性質があった. 本法における添加回収実験は平均 97% で定量限界は 0.05 ppm であった. 水田土壌および畑地土壌中のカルタップ塩酸塩の測定に応用した結果, いずれも 3 日以内に半減した.

引 用 文 献

- 1) 西 清司・大脇黎子・丹 信行: 武田研究所年報 **27**, 47 (1968)
- 2) K. Nishi, K. Konishi & N. Tan: *Anal. Methods Pestic. Plant Growth Regul.* **7**, 371 (1973)
- 3) 西 清司・香渡 功・丹 信行: 武田研究所報 **29**, 231 (1970)
- 4) 西 清司・香渡 功・丹 信行: *ibid.* **29**, 399 (1970)
- 5) M. Sakai: *Rev. Plant Protec. Rcs.* **2**, 17 (1969)
- 6) 梅 正: 未発表
- 7) 西 清司・芦田康子・丹 信行・杉田紀夫: 分析化学, **28**, (No. 3) 掲載予定
- 8) 東京大学農芸化学教室: 実験農芸化学, 上巻, p. 62, 朝倉書店, 1963