

89農薬の有機溶媒中での安定性について

根本 了[#]・高附 巧・佐々木久美子・豊田 正武

Studies on the stability of 89 pesticides in organic solvent

Satoru Nemoto[#], Satoshi Takatsuki,
Kumiko Sasaki and Masatake Toyoda

The stability of 89 pesticides (17 organochlorine, 33 organophosphorus, 8 pyrethroid, 12 carbamate, and 19 other pesticides) in 6 kinds of organic solvents (methanol, ethanol, 2-propanol, ethyl acetate, n-hexane, and acetone) was investigated using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). All of the investigated pesticides were stable in all of the tested organic solvents during storage for 6 hours at room temperature in the dark except captafol, captan, phosmet, chinomethionat, and dicofol. However, the decreases of captafol, captan, phosmet, and chinomethionat were observed in methanol. The decreases of captafol, captan, and phosmet were also observed in ethanol. Moreover, the decrease of dicofol was observed in acetone. The decrease of captafol dissolved in methanol at a concentration of 2 µg/ml was faster than those of captan, phosmet, and chinomethionat; the residual captafol was 75% after 30 min of storage.

Dicofol dissolved in acetone also decreased during storage in a refrigerator. 4,4'-dichlorobenzophenone (DCBP) and chlorobutanol were detected in the acetone solution of dicofol after storage. Furthermore, it was found that dicofol was decomposed by acetone at an injection port, and DCBP and chlorobutanol were formed when it was injected into GC with acetone.

Keywords : pesticides, stability, degradation, dicofol, GC/MS

(Received May 30, 1997)

緒 言

近年、残留農薬の多成分分析の抽出法として超臨界流体抽出 (SFE: Supercritical Fluid Extraction) が注目されている。多くの場合 SFE の抽出効率を上げるためにメタノールなどの有機溶媒のモディファイヤーが試料に直接添加されたり、あるいは抽出流体に混合される¹⁻⁵⁾。しかし、セライトに農薬を添加し、更にメタノールをモディファイヤーとして直接添加して SFE を行い、農薬の回収率を比較検討したところ、カプタホル、キャプタン、ホスメット及びキノメチオネートでは経時的な回収率の減少が観察された⁶⁾。この回収率の減少は、抽出管内にメタノールを添加後、抽出開始までの放置時間が長いほど大きかった。また、このような回収率の減少は、水をモディファイヤーに用いた場合には見られなかったことから、保存中にこれらの農薬がメタノールにより分解されたためと推定された。そのため、モディファイヤーとして有機溶媒を用いる場合には、農薬の有機溶媒中での安定性について考慮する必要があると思われる。平原らは、農薬標準溶液の経時的安定

性について、アセトン、酢酸エチル及び n-ヘキサンを用いて検討している⁷⁾が、メタノールに関しての報告はない。そこで、SFE のモディファイヤーとして一般的に用いられるメタノールを含む各種有機溶媒中での農薬の安定性について検討した。検討には残留基準が設定されている農薬を中心に有機塩素系農薬17種類、有機リン系農薬33種類、ピレスロイド系農薬8種類、カーバメート系農薬12種類及びその他の農薬19種類の合計89種類の農薬を用い、ガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) で測定した。

実験方法

1. 試薬、試液

農薬標準品：各農薬標準品は林純薬工業または和光純薬工業製の残留農薬試験用試薬を用いた。Table 1 に検討に用いた農薬を示した。

農薬標準原液：各農薬標準品を n-ヘキサンで溶解して (溶解しにくい場合にはできるだけ少量のアセトンで溶解後 n-ヘキサンで希釈して) 1 mg/ml の濃度に調製し、冷凍庫 (-20℃) に保存した。

農薬標準混液：各農薬標準原液をとり、n-ヘキサンで 10 µg/ml (アセフェート、メタミドフォス及びプロパモカルブは 50 µg/ml) の濃度に調製し、冷凍庫 (-20℃) に保

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoru Nemoto; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158, Japan; Tel: 03-3700-1141ext. 334; Fax: 03-3707-6950; E-mail: nemoto@nihs.go.jp

Table 1. Pesticides included in the study and their monitor ions(m/z) for GC/MS (SIM) analysis

Pesticides	Monitor Ion (m/z)	Pesticides	Monitor Ion (m/z)
Organochlorine (17)		Organophosphate (33)	
Aldrin	264.8	Acephate	136.0
α-BHC	218.9	Azinphos-ethyl	160.0
β-BHC	218.9	Azinphos-methyl	160.0
γ-BHC	218.9	Bromophos-ethyl	358.8
δ-BHC	218.9	(E)-Chlorfenvinphos	268.9
Captafol	79.0	(Z)-Chlorfenvinphos	268.9
Captan	79.0	Chlorpyrifos	313.9
Chlorobenzilate	250.9	Chlorpyrifos-methyl	285.9
p,p'-DDD	235.0	Diazinon	179.1
p,p'-DDE	246.0	Dichlorvos	109.0
o,p'-DDT	235.0	Dimethoate	87.0
p,p'-DDT	235.0	Dioxabenzofos	215.9
Dicofol	251.0	Disulfoton	88.0
Dieldrin	262.8	Edifenphos	310.0
Endrin	262.8	EPN	157.0
Heptachlor	271.8	Ethoporphos	157.9
Heptachlor epoxide	352.8	Etrimfos	292.1
Pyrethroid (8)		Fenitrothion	277.0
Cyfluthrin	226.1	Fensulfthion	292.0
Cyhalothrin	181.0	Fenthion	278.0
Cypermethrin	163.0	Malathion	173.1
Deltamethrin	181.0	Methamidophos	94.0
Fenvalerate	167.0	Methidathion	145.0
Flucythrinate	199.1	Parathion	291.0
Fluvalinate	250.0	Parathion-methyl	262.9
Permethrin	183.0	Phenthoate	273.9
Other (19)		Phosalone	181.9
Amitraz	293.2	Phosmet	160.0
Benalaxyl	148.1	Pirimiphos-methyl	290.0
Bitertanol	170.1	Prothiofos	309.0
Chinomethionat	234.0	Quinalphos	146.0
Dichlofluanid	123.0	Terbufos	231.0
Dimethipin	118.0	Thiometon	88.0
Flutolanil	173.0	Carbamate (12)	
Lenacil	153.0	Bendiocarb	151.0
Mefenacet	192.0	Chlorpropham	126.9
Mepronil	269.1	Diethofencarb	124.0
Methoprene	73.1	Esprocarb	222.1
Metribuzin	198.1	Ethiofencarb	107.1
Myclobutanil	179.0	Fenobucarb	121.0
Pendimethalin	252.1	Isoprocarb	121.0
Pretilachlor	238.1	Methiocarb	168.0
Propiconazole	259.1	Pirimicarb	166.1
Pyridaben	147.1	Propamocarb	58.1
Triadimefon	208.0	Propoxur	110.0
Triadimenol	112.0	Thiobencarb	100.1

存した。

内部標準溶液：アセナフテン-d₁₀, フェナントレン-d₁₀, クリセン-d₁₂及びペリレン-d₁₂はスペルコ社製の内部標準用混液 (2,000 µg/ml) を使用し, これをアセトンで希釈して0.2 µg/ml の濃度に調製した。

有機溶媒：エタノール及び2-プロパノールは高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製) を使用した。メタノール, アセトン, 酢酸エチル及びn-ヘキサンは残留農薬試験用 (和光純薬工業製) を使用した。

その他：クロルブタノールは和光純薬工業製特級試薬を使用した。

2. 試験法

以下に試験法を示したが, 農薬の安定性は, いずれも試験溶液を保存後の各農薬のピーク面積の変化で評価した。

2.1. 農薬の各種有機溶媒中での安定性

農薬標準混液20 µl をとり溶媒を窒素ガスで留去したのち, 検討に用いる有機溶媒 (メタノール, エタノール, 2-プロパノール, アセトン, 酢酸エチル及びn-ヘキサン)100 µl を添加して2 µg/ml (アセフェート, メタミドフォス及びプロパモカルブは10 µg/ml) の濃度に調製し試験溶液とした。試験溶液は調製直後及び室温で暗所に6時間保存後に20 µl をとり内部標準溶液180 µl を添加しGC/MSの選択イオン検出 (SIM: Selected ion monitoring) モードで測定した。

2.2. カプタホール, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートのメタノール溶液中での経時的安定性

農薬標準混液0.1 ml をとり溶媒を窒素ガスで留去したのち, メタノール0.5 ml を添加して2 µg/ml の濃度に調製し試験溶液とした。試験溶液は調製直後及び室温で暗所に保存し, 30, 60, 90, 120分後に20 µl をとり内部標準溶液180

μl を添加しGC/MSのSIMモードで測定した。

2.3. ジコホルのアセトン溶液中での経時的安定性

ジコホル及び α -BHCの農薬標準原液を混合して、アセトン及びn-ヘキサンでそれぞれ20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度に調製し試験溶液とした。試験溶液は調製直後及び冷蔵庫内(4°C)に保存し、3日及び10日後に α -BHCを内部標準としてGC/MSのスキャンモードで測定した。測定の際には、n-ヘキサン溶液では試験溶液をそのままGC/MSに注入した。一方、アセトン溶液では試験溶液を100 μl とり、窒素気流下でアセトンを留去後、n-ヘキサン100 μl を加えてよく攪拌してからGC/MSに注入した。

3. 測定方法

GC/MSのSIMモードで測定する場合には、アセナフテン- d_{10} (m/z 164.1)、フェナントレン- d_{10} (m/z 188.2)、クリセン- d_{12} (m/z 240.2)及びペリレン- d_{12} (m/z 264.2)を内部標準として測定した。各農薬の測定に使用したモニターイオンをTable 1に示した。

4. 装置

ガスクロマトグラフ/質量分析計: ヒューレットパッカード社製ガスクロマトグラフHP5890シリーズII型及び質量分析計HP5972型を用いた。

5. GC/MS測定条件

GCカラム: J&W Scientific社製のキャピラリーカラムDB-5 ms (内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 μm)

カラム温度: 50°C (1 min) -25°C/min-125°C-10°C/min-300°C (3.5 min)

注入口温度: 250°C

トランスファーライン温度: 310°C

イオン化電圧: EI (70eV)

SIMモード: モニターイオンはTable 1参照

SCANモード: スキャン範囲35~500 amu

キャリアーガス: He

キャリアーガス圧力プログラム: 7.5 psi-99 psi/min-40 psi (0.1 min)-99 psi/min-7.5 psi (定流量モード, 1 ml/min)

注入量: 2 μl (スプリットレス)

結果及び考察

1. 農薬の各種有機溶媒中での安定性

農薬の有機溶媒中での安定性をSFEのモディファイヤーとして一般的に使用されるメタノール, エタノール, 2-プロパノール, 酢酸エチル, n-ヘキサン及びアセトンの6種類の有機溶媒を用いて検討した。保存時間は, SFEの試料調製から抽出終了までの放置時間が最大でも6時間以内であったことから6時間とした。また, 残存率は, 保存前の試料について得られた各農薬のピーク面積に対する保存後の農薬のピーク面積の百分率で表した。

検討した89種類の農薬のうち, 有機塩素系農薬14種類,

有機リン系農薬32種類, ピレスロイド系農薬8種類, カバメート系農薬12種類及びその他の農薬18種類の合計84種類の農薬については, 室温で暗所に6時間保存後も農薬の減少は認められず, これらの農薬はこの保存条件下では検討に用いたすべての有機溶媒中でいずれも安定であった。平原らは46種類の農薬のアセトン, 酢酸エチル及びn-ヘキサン溶液中での安定性について調べ, 室温で遮光条件下で3週間安定であったと報告している⁷⁾。今回の検討では保存時間が6時間と短時間であったが, 同じ農薬と溶媒の組み合わせでは平原らの報告と同様な結果となった。

しかし, カプタホル, キャプタン, ホスメット, キノメチオネート及びジコホルでは農薬の減少が観察され, その結果をTable 2に示した。カプタホル, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートは, メタノール溶液中では大きな減少が認められ, 6時間後にはカプタホルのピークは消失し, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートの残存率はそれぞれ19, 37及び59%であった。カプタホルはエタノール溶液中でも大きな減少が見られ, 残存率は6時間後で55%であった。また, エタノール溶液中ではキャプタン及びホスメットでも若干減少が認められたが, キノメチオネートでは減少は見られなかった。以上のように, これらの農薬はメタノール次いでエタノール中で減少しやすかったが, それ以外の有機溶媒中では安定であった。なお, 測定に当たっては, GC注入時の溶媒の違いによる影響を避けるため, 試験溶液を内部標準溶液(アセトン溶液)で希釈して, アセトンを多量に加えた状態でGC注入を行った。これら4種類の農薬は, アセトン溶液中では安定であったことから, 試験溶液を内部標準溶液で希釈してからGCに注入するまでの間に分解したのではなく, 保存中に分解したものと思われた。

一方, ジコホルについては, メタノール, エタノール, 2-プロパノール, 酢酸エチル及びn-ヘキサン溶液中では安定であったが, アセトン中に保存した場合には大きな減少が見られ, 6時間後にはピークは完全に消失した。

2. カプタホル, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートのメタノール溶液中での経時的安定性

保存溶媒にメタノールを用いた場合, 6時間後にカプタホル, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートで大きな減少が見られたことから, これらの農薬のメタノール溶液中でのより短時間の安定性について, 保存時間を30, 60, 90及び120分として更に検討した。その結果, Fig. 1に示したようにいずれの農薬も室温暗所保存で経時的な減少が見られ, このことから農薬の保存中の分解が示された。また, 農薬の減少速度はカプタホル, キャプタン, ホスメット, キノメチオネートの順に速かった。この順番は6時間保存後の農薬の残存率の小さい順番と同じであった。特にカプタホルの減少は速く, 30分後の残存率は75%

Table 2. Losses of pesticides during storage for 6 hours in several organic solvents^a

Pesticides	Residual pesticides (%), n = 2					
	Methanol	Ethanol	2-Propanol	Ethyl acetate	n-Hexane	Acetone
Captafol	nd ^b	55	91	96	102	98
Captan	19	86	93	94	103	99
Phosmet	37	87	98	98	98	101
Chinomethionat	59	96	96	101	106	103
Dicofol	102	98	101	104	96	nd ^b

^a Pesticide solutions were kept at room temperature in the dark.

^b Not detected.

であり、120分後には約50%にまで減少した。また、メタノールをモディファイヤーに用いてSFEを行った場合も同様にカプタホール、キャプタン、ホスメット、キノメチオネートの順に回収率が低かった⁶⁾ことから、SFEで観察されたこれらの農薬の低回収率は、メタノールが原因であることが示唆された。なお、このようなカプタホール、キャプタン、ホスメット及びキノメチオネートのメタノール溶液中での減少は、各農薬単独の溶液でも同様に観察された。また、メタノール溶液中で減少が見られたカプタホール、キャプタン、ホスメット及びキノメチオネートの構造式をFig.2に示した。カプタホール、キャプタン及びホスメットは、いずれも共通してスクシンイミド構造部分を有していることから、この構造がこれらの農薬のメタノール溶液中での減少や、メタノールをモディファイヤーに用いてSFEを行ったときの低回収率に関与しているものと思われる。

3. ジコホルルのGC注入時のアセトンによる分解

先の検討では、アセトン溶液でジコホルルの減少が認められたが、ジコホルルはGC注入口で4,4'-ジクロロベンゾフェノン(DCBP)に分解されることが知られている⁸⁾ことから、ジコホルルの減少がGC注入時の分解によるものである可能性もあるので、GC注入時のジコホルルの分解

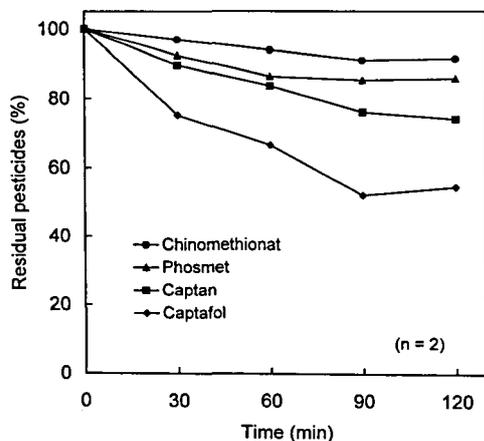


Fig. 1. Losses of captafol, captan, phosmet, and chinomethionat during storage in methanol

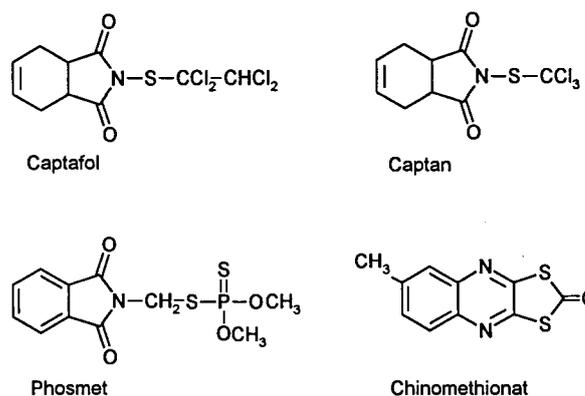


Fig. 2. Structures of captafol, captan, phosmet, and chinomethionat

性について、アセトンの影響も含めて検討した。

ジコホルルの農薬標準原液をn-ヘキサン及びアセトンで希釈してそれぞれ50 µg/mlの濃度の溶液を調製し、これらを直ちにGC/MSに注入してスキャンモードで測定した時のトータルイオンクロマトグラムをFig.3に示した。n-ヘキサン溶液を注入した場合には、大部分はジコホルルのままであり、わずかにDCBPのピークが観察された。一方、アセトン溶液を注入した場合には、ジコホルルのピーク面積は1/8以下になり、DCBPのピークの大幅な増大が観察された。また、アセトン溶液を注入した場合には新たにピーク1が観察され、このピークは標準品とマススペクトル及び保持時間が一致したことからクロルブタノールと推定された(Fig.4)。ジコホルルはアルカリ性溶液中で不安定で、DCBPとクロロホルムに分解することが知られている⁹⁾。クロルブタノールはアセトンとクロロホルムが縮合した構造をしていることから、GC注入時にジコホルルの分解によって生じたクロロホルムとアセトンが反応して生成したものと推定された。

アセトン溶液のGCへの注入は、溶液調製後直ちに行っていたが、ジコホルルの分解がGC注入までの短時間の間に起こったのか、あるいはGC注入後に起こったのかを調べるために、アセトン溶液の溶媒を窒素気流下で留去し、n-ヘキサンで置換した溶液をGCに注入して検討した。その

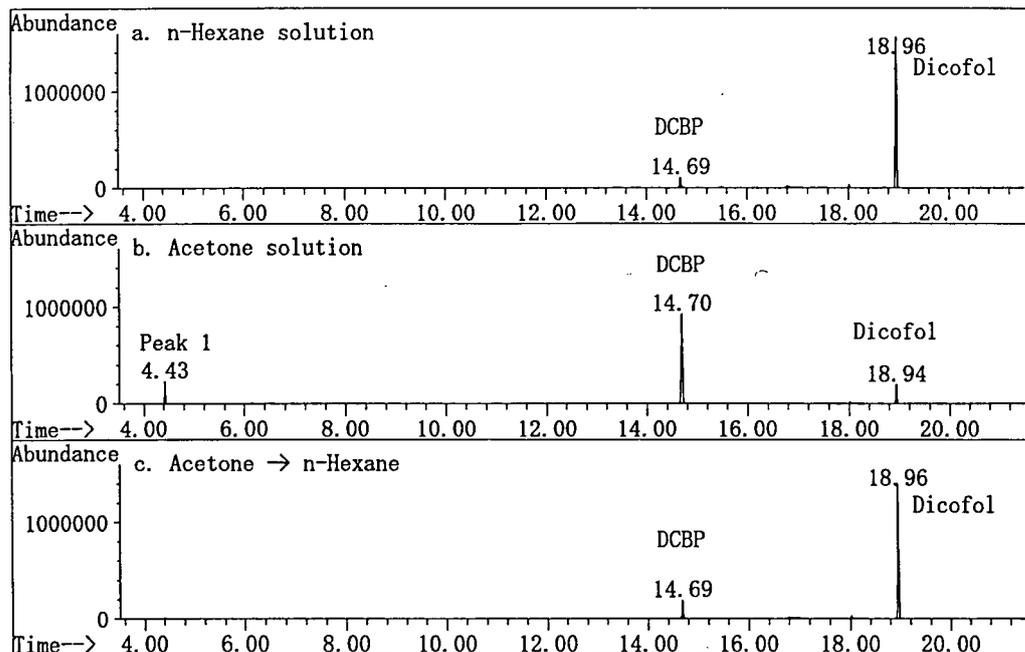


Fig. 3. Total ion chromatograms of dicofol solutions by GC/MS (SCAN)

a. n-Hexane solution : 50 $\mu\text{g/ml}$ of dicofol in n-hexane

b. Acetone solution : 50 $\mu\text{g/ml}$ of dicofol in acetone

c. Acetone \rightarrow n-Hexane: the acetone of the acetone solution was replaced with n-hexane after evaporation under nitrogen gas flow.

結果, Fig. 3のcに示したように, クロルブタノールのピークは消失し, ジコホール及びDCBPのクロマトグラムはn-ヘキサン溶液の場合とほぼ同じになった. このように, アセトン溶液の溶媒をn-ヘキサンの場合と置き換えたことにより分解が抑えられたことから, GC注入後にジコホールがアセトンにより分解されてDCBPとクロルブタノールが生成されたものと思われる.

前述のようにジコホールはアセトン溶液で室温暗所に保存した場合, 6時間後にはピークが消失したが, これはGCへの注入をアセトン溶液で行ったため, 注入口でアセトンによりジコホールが分解されたことが原因である可能性がある. そのため, ジコホールのアセトン溶液中での経時的安定性を検討するためには, GC注入の際に溶媒をn-ヘキサンなどのアセトン以外の有機溶媒に置換する必要があると思われる.

4. ジコホールのアセトン中での経時的安定性

ジコホールはアセトン溶液でGC注入した場合, アセトンにより分解されることがわかったため, 改めてジコホールをアセトン溶液とした場合の保存中の安定性について検討した. すなわち, ジコホールのn-ヘキサン溶液及びアセトン溶液を冷蔵庫内に保存し, 3日及び10日後にGC/MSのスクリーンモードで測定し, 分解物も同時に検索して検討した. アセトン溶液を測定する場合には, GC注入時のアセトンによるジコホールの分解を避けるために, 溶媒を窒素ガスで留去後, n-ヘキサンで置換してから行った. そ

の結果, Table 3に示したようにジコホールはn-ヘキサン溶液中では10日間安定であったのに対して, アセトン溶液中では, 3日後には63%に, 10日後には33%に減少した. このときアセトン溶液中には, いずれもDCBP及びクロルブタノールが検出された. 以上の結果から, ジコホールはGC注入時にアセトンにより分解されるほか, 冷蔵保存でもアセトン溶液中で分解することがわかった.

従来, 有機塩素系農薬はn-ヘキサンで溶解されていたため, ジコホールの保存中の分解は問題とならなかった. しかし, 多成分分析のために農薬の標準混合溶液を調製する場合には, n-ヘキサンに溶解しにくい農薬をアセトンで溶解して混合する場合もあり得る. その場合には, アセトンによりジコホールが分解する可能性があり, 注意する必要があると思われる.

結 語

1. 農薬の有機溶媒中での安定性を室温暗所に6時間保存する条件で, メタノール, エタノール, 2-プロパノール, 酢酸エチル, n-ヘキサン及びアセトンの6種類の有機溶媒を用いて検討したところ, 検討した89種類の農薬のうち, 84種類の農薬については, 検討に用いたすべての有機溶媒中でいずれも安定であった. しかし, カプタホール, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートはメタノール溶液中で減少が観察された. このうちカプタホール, キャプタン及びホスメットはエタノール溶液中でも減少が認

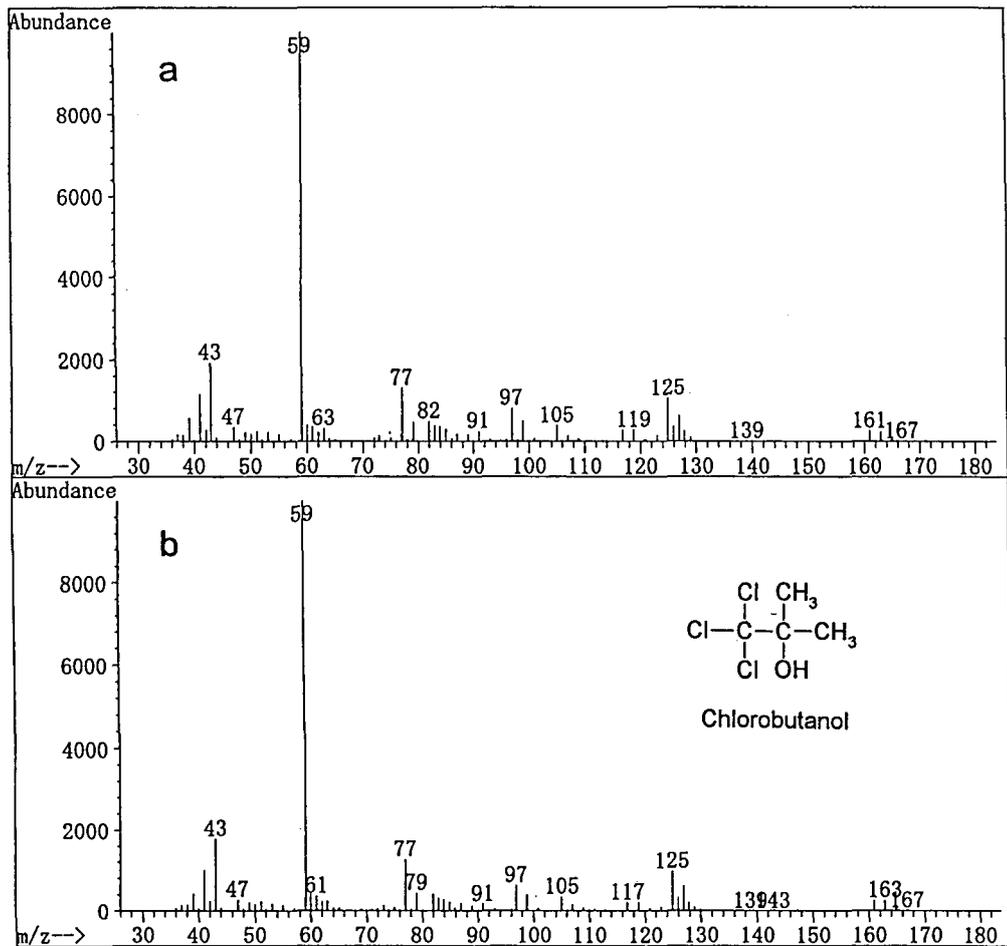


Fig. 4. Mass spectra of peak 1 in Fig. 3 and chlorobutanol by GC/MS (SCAN)
 a. mass spectrum of peak 1 in Fig. 3
 b. mass spectrum of chlorobutanol (RT=4.41 min)

められた。また、ジコホールはアセトン溶液中で減少が観察された。

2. カプタホール、キャプタン、ホスメット及びキノメチオネートは、メタノール溶液とした場合、室温暗所保存で経時的な減少が見られた。この減少は比較的短時間で起こり、これら4農薬のうち最も減少の速かったカプタホールの残存率は、保存30分後で75%であった。

3. ジコホールのアセトン溶液をGCに注入した場合、ジコホールがアセトンにより分解されDCBPとクロルブタノールが生成されることがわかった。また、ジコホールは、アセトン溶液中では冷蔵保存でも分解し、DCBPとクロルブタノールを生成した。

4. 以上の結果から、農薬と有機溶媒の組み合わせによっては短時間で農薬が減少することがわかった。有機溶媒をSFEのモディファイヤーとして使用したり、あるいは農薬の標準混合溶液を調製する場合には、農薬の有機溶媒中での安定性に注意する必要があると思われた。特に、SFEのモディファイヤーとして使用する場合、カプタホール、キャプタン、ホスメット及びキノメチオネートの分析に

は、メタノールの使用は避けたほうがよく、また、ジコホールの分析にはアセトンの使用は避けたほうがよいことがわかった。

文 献

- 1) Locke, M.A.: Supercritical CO₂ fluid extraction of fluometuron herbicides from soil. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1081~1084 (1993)
- 2) Wuchner, K., Ghijsen, R. T., Brinkman, U. A. T., Grob, R., and Mathieu, J.: Extraction of organophosphorus pesticides from soil by off-line supercritical fluid extraction. *Analyst.*, **118**, 11~16 (1993)
- 3) Fahmy, T. M., Paulaitis, M. E., Johnson, D. M., and McNally, M. E. P.: Modifier effects in the supercritical fluid extraction of solutes from clay, soil, and plant materials. *Anal. Chem.*, **65**, 1462~1469 (1993)
- 4) Aharonson, N., Lehotay, S. J., and Ibrahim, M. A.: Supercritical fluid extraction and HPLC analysis of benzimidazole fungicides in potato, apple, and banana. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2817~2823 (1994)
- 5) Alzaga, R., Bayona, J. M., and Barcelo, D.: Use of supercritical fluid extraction for pirimicarb determination in soil. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 395~400 (1995)
- 6) Nemoto, S., Sasaki, K., Toyoda, M., and Saito, Y.: Effect of

Table 3. Loss of dicofol during storage in n-hexane and acetone^a

	Residual dicofol (%)		
	Time (day)		
	0	3	10
n-Hexane solution	100	100	107
Acetone solution	100	63	33

^a Each solution was kept in a refrigerator.

extraction conditions and modifiers on the supercritical fluid extraction of 88 pesticides. *J. Chromatogr. Sci.*, **35**, 467~477 (1997)

- 7) 平原嘉親, 成田美加子, 岡本浩一郎, 三好智子, 宮田昌弘, 鯉口聡, 長谷川眞住, 鎌倉和政, 山名孝善, 外海泰秀: 農薬標準溶液の経時的安定性について. *衛生化学*, **40**, 393~398 (1994)

- 8) Zweig, G. and Sherma, J.: "Pesticides and plant growth regulators - Volume VI Gas chromatographic analysis", ed, Zweig, G., Academic Press, New York and London (1972), pp. 415~416

- 9) 武田明治他: "最新 農薬の残留分析法" 農薬残留分析研究班編集, 中央法規出版, 東京 (1995)