

塩化パラジウムと *p*-ニトロソ *N,N*-ジエチルアニリンを利用した含硫黄有機リン系殺虫剤の比色定量

庄山 正敏, 宮地 雄三*, 榊原 仁作**

(1975 年 9 月 26 日受理)

含硫黄有機リン系殺虫剤を塩化パラジウムと反応させクロロホルムで抽出し, *p*-ニトロソ *N,N*-ジエチルアニリンを加えて比色定量する基礎的条件について検討し, *O,O*-ジエチル *S*-(2,5-ジクロロフェニルチオメチル)ジチオホスフェート, *O,O*-ジエチル *S*-(2-クロロ-1-フタルイミドエチル)ジチオホスフェート, *O,O*-ジエチル *S*-[(6-クロロ-2-エクソ-3-ベンゾキサゾリニール)メチル]ジチオホスフェート及び *O,O*-ジメチル *S*-(1,2-ジカルベトキシエチル)ジチオホスフェートの定量法を確立した. 分析精度は順に c. v. = 1.3%, 3.3%, 4.0%, 1.4% であった.

1 緒 言

含硫黄有機リン系殺虫剤の薄層クロマトグラフィー (TLC) の発色剤に塩化パラジウム (PdCl_2) の塩酸溶液が多用され, Jovanovic ら¹⁾ は, 食品や水中の数種の殺虫剤の比色定量に利用し, 中尾ら²⁾ は, エルサンの定量法を検討し黄色溶液が 1N 塩酸溶液中で安定であり, 強酸分解-リン比色法に比べてそん色ないことを報告しているが, 感度にやや欠ける点があり, 微量分析には問題が残る. 一方, この黄色化合物は有機溶媒で抽出することができ, その吸光度を測定すると, 例えば *O,O*-ジエチル *S*-(2,5-ジクロロフェニルチオメチル)ジチオホスフェート (フェンカプトン) では, 可視部より紫外部へ, ほぼ直線的に上昇する吸光曲線となり, 400nm における測定ではベールの法則に従うが, 経時変化が著しく実用にたえない. しかし, この抽出液にパラジウムの定性に利用されている *p*-ニトロソ *N,N*-ジエチルアニリン³⁾ (以下 NDA と略記) を加えると安定な赤色溶液となり, 微量定量に利用できることを見いだした. そこで, *O,O*-ジエチル *S*-(2-クロロ-1-フタルイミドエチル)ジチオホスフェート (ジアリホール), *O,O*-ジエチル *S*-[(6-クロロ-2-エクソ-3-ベンゾキサゾリニール)メチル]ジチオホスフェート (ホサロン) 及び *O,O*-ジメチル *S*-(1,2-ジカルベトキシエチル)ジチオホスフェート (マラ

チオン) についても定量条件を検討し, ほぼ満足すべき定量法を確立したので報告する.

2 試薬及び装置

2.1 試 薬

4 種類の殺虫剤は原体もしくは製剤から精製した.

フェンカプトン: シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベンゼンで流下)

ジアリホール: mp (67~68)°C (*n*-ヘキサン)

ホサロン: mp (44~46)°C (ベンゼン)

マラチオン: bp_{0.8} (159~162)°C

NDA のクロロホルム溶液は用時調製, 緩衝液は 0.1 N 塩酸と 0.1M グリシン及び 0.1M 塩化ナトリウムにより調製した. クロロホルムは 1 級又は特級を蒸留して使用した.

2.2 装 置

分光光度計: HITACHI-624 型, スリット 0.25nm, レンジ 10mV, セルは 1cm 石英

pH メーター: 日立-堀場 F-7 型

3 実験及び結果

3.1 定量法

100 ml の分液漏斗に各緩衝液を溶解した塩化パラジウム溶液 (以下 Table 1 に条件を示す) 10 ml と 20% (w/v) 硝酸アンモニウム溶液 1 ml を入れ, アセトン検液 {フェンカプトン, ジアリホール, ホサロンは (0.018~0.18) mg, マラチオンは (0.033~0.33) mg を含む} 1 ml を加えて混合し, 一定時間放置 (一次反応と称す) 後, クロロホルム約 5 ml で 3 回抽出する. 抽出液は,

* 愛知県警察本部犯罪科学研究所: 愛知県名古屋市市中区三ノ丸 2-1-1

** 名古屋市立大学薬学部: 愛知県名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

いずれも少量の無水硫酸ナトリウムを入れたろ紙を介して、あらかじめ NDA クロロホルム溶液 5 ml を入れた 25 ml メスフラスコに加え、クロロホルムで定容する。室温に 40 分放置した後（二次反応と称す）、フェンカプトン、ジアリホール、ホサロンは 521nm, マラチオンは 516nm で試薬ブランクを対照としてその吸光度を測定し、あらかじめ作成した検量線より定量する。

Table 1 Reaction condition

Pesticides	Buffer soln. (pH)	PdCl ₂ (w/v%)	Standing time (min)	NDA (w/v%)
Phenkaptone	1.10	0.04	20	0.07
Dialifor	1.60	0.025	5	0.14
Phosalone	1.90	0.025	15	0.14
Malathion	2.80	0.06	15	0.14

3.2 検量線

フェンカプトン、ジアリホール、ホサロンは約 45mg, マラチオンは約 80mg を精ひょうし、アセトンで 100 ml とする。この 1, 3, 5, 7, 10 ml をとり、アセトンで 25 ml に定容し、それぞれ 1 ml をとり、3.1 に従って発色させ吸光度を測定したところ、いずれも原点を通る直線となった。

3.3 定量条件の検討

3.3.1 測定波長 4 種類の殺虫剤を 3.1 に従って発色させ、試薬ブランクを対照として吸光度を測定したところ、フェンカプトン、ジアリホール、ホサロンは 521nm, マラチオンは 516nm に極大吸収値を有し、NDA 自身の極大波長とも十分離れていたため、これを測定波長とした (Fig. 1)。

3.3.2 一次反応の pH フェンカプトン、ジアリホール、ホサロンは 0.18mg/ml 溶液、マラチオンは 0.33 mg/ml 溶液を用い（以下同じ）、3.1 に示す方法で、塩化パラジウムを溶解させる緩衝液の pH を変化させて測定したところ、最高の吸光度を与える pH 範囲はいずれも狭く、反応の重要な要素であることが判明した (Fig. 2)。この場合塩化パラジウム溶液としての pH は各緩衝液より多少酸性側になるが、pH 1.90 以下では 20% (w/v) 硝酸アンモニウム溶液の添加により、その変動はほぼ解消された。

3.3.3 塩化パラジウムの濃度 塩化パラジウムの適正濃度を定めるため、モル比を変化させたところ、大過剰において一定値となった (Fig. 3) ので、以後 Table 1 の濃度とした。

3.3.4 一次反応時間 3.1 に示す方法で一次反応の

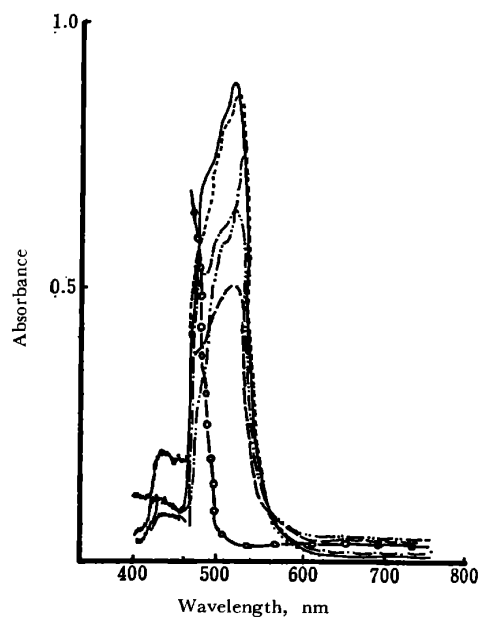
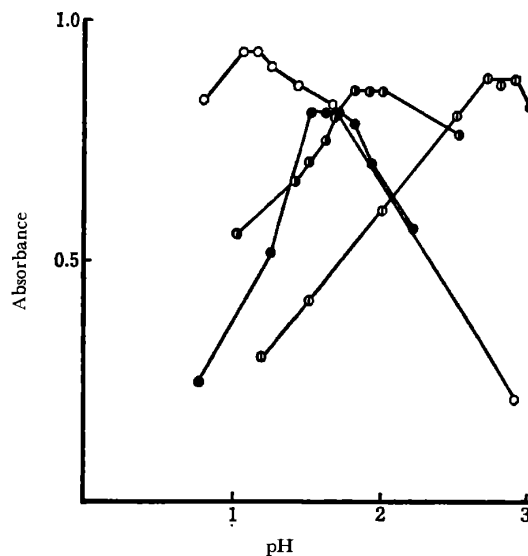


Fig. 1 Absorption spectra of reaction mixture

— Malathion; ---- Phenkaptone; - · - · - Phosalone; - - - - Dialifor; - - - - NDA-PdCl₂; —○— Reagent blank

Fig. 2 Effect of pH of buffer solution dissolved PdCl₂

—○— Phenkaptone; —●— Dialifor; —○— Phosalone; —○— Malathion; The symbols applied correspondingly in Fig. 3~5 as well

時間を変化させたところ、フェンカプトン、ホサロン、マラチオンで (10~40) 分、ジアリホールで (2~10) 分の間で一定の吸光度が得られた (Fig. 4)。しかしジアリホールは顕著な経時的減少があり、他もややその傾向を示した。これは反応生成物の変化による抽出率の減少、

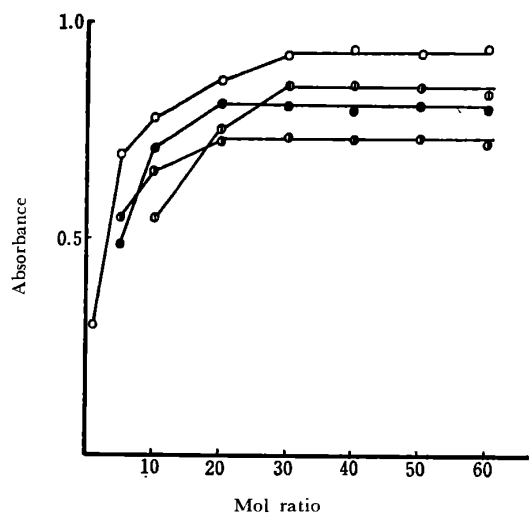
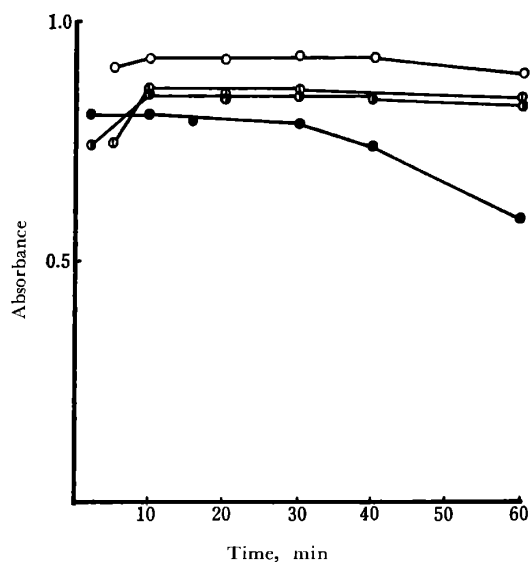
Fig. 3 Effect of concentration of PdCl_2 

Fig. 4 Effect of standing time

もしくは NDA と反応性のない物質への移行と推定される。

3.3.5 抽出 黄色反応物は多くの有機溶媒で抽出できるが、ベンゼンでは不十分であり、酢酸エチル、メチルイソブチルケトンでは抽出率は高いが、未反応の塩化パラジウムの混入が避けられない。しかし、クロロホルムではこの恐れはなく、又反復抽出に便利であり、抽出率も良いのでこれを抽出溶媒と定めた。ただし、塩化パラジウム水溶液が分液中、溶媒とともに混入する恐れがあるため、ろ紙に無水硫酸ナトリウムを入れ、この層を通過させて防止した。抽出回数はいずれも 3 回としたが、硝酸アンモニウム溶液を加えない場合、ジエタノール及びホサロンにおいて抽出率が悪く、ばらつきが大き

かった。

3.3.6 NDA の量と反応時間 一定吸光度となる NDA 濃度を検討したところ、塩化パラジウムと同様大過剰を必要とした (Fig. 5) ので以後 Table 1 の濃度とした。又、NDA のクロロホルム溶液は冷暗所 3 時間まで安定であるが、それ以後は発色液の吸光度の低下がみられたため、用時調製とした。

反応時間はいずれも 30 分で最高に達し、以後 2 時間の測定でも変化なく十分安定であることが判明したので測定は 40 分後とした。

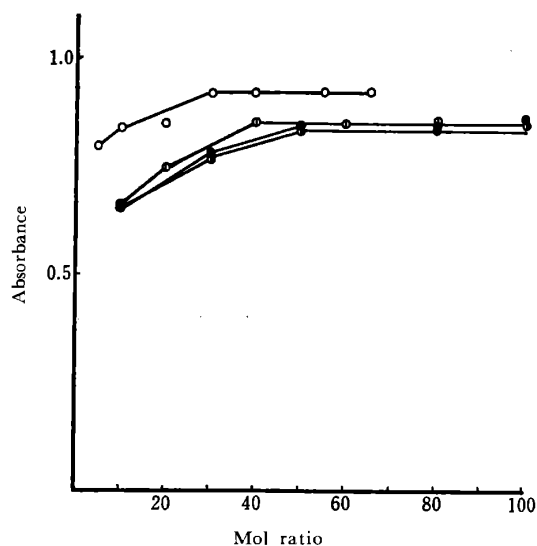


Fig. 5 Effect of concentration of NDA

3.3.7 分析精度 4 種類の殺虫剤の一定量を取り (6~7) 回の測定を行い、その分析精度を調べたところ、Table 2 の結果を得た (数値は吸光度)。

Table 2 Reproducibility

Pesticides	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>R</i>	c. v. (%)
Phenkapton	6	0.808	0.025	1.3
Dialifor	7	0.594	0.039	3.3
Phosalone	6	0.754	0.069	4.0
Malathion	7	0.838	0.030	1.4

4 考察及び結語

中尾らは塩化パラジウムとジチオホスフェートの反応様式について検討し、1:1 又は 2:1 のモル比をもつ錯体の可能性を示した。この生成体と NDA との反応は現在不明だが、塩化パラジウム-NDA 錯体 ($\text{Pd}[\text{NOC}_6\text{H}_4\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2]_2\text{Cl}_2$ と考えられる.⁴⁾ がクロロホルム中

527nm に極大値を有するのに対し、各殺虫剤反応物は 521nm (マラチオンは 516nm) に極大値を有し、又双方の赤色溶液のシリカゲル TLC (展開液、酢酸エチル：アセトン：ギ酸=60：10：3) において、各殺虫剤反応物は $R_f=0.18\sim0.41$ に複数のスポット (テーリング) がみられるが、塩化パラジウム-NDA は $R_f=0.25$ に単一のスポットを示すことなどから、硫黄に配位したパラジウムが NDA へ転移、発色するのではなく、殺虫剤、パラジウム、NDA の三元錯体の形成が推定される。

又、パラジウムはある種のアミン、アミノフェノール類とも反応するとされ、18 種の化合物について 3・1 の方法を準用し NDA による発色の有無を調べたところ、アルキルアミン (5 種) 及び側鎖にアミノ基をもつ芳香族化合物 (2 種) は陰性、アミノフェノール (2 種) はわずかに発色、芳香族アミン (アニリン及びその近縁化合物、 α , β -ナフチルアミン類) は強く発色することが判明した。これは、本法の妨害物として注意を要する一方、この方面への利用も示唆するものと考えられる。又、今回はジチオリン酸系について報告したが、モノチオリン酸系のある種のもの (例えば *O*, *O*-ジエチル *O*-2, 4-ジクロロフェニルチオホスフェート) でも同様の反応が認められ、この方面への利用も考えられる。

本法は条件においてやや厳密さがあり、抽出操作が入るため、比色法としては若干精度に欠ける点があるが、感度が高いため、裁判化学における微量分析にも十分利用できるものと考えられる。

(1975年 8 月、第18回農薬研究会において一部発表)

文 献

- 1) D. A. Jovanovic, Z. Prosic : *Acta Pharm. Jugoslav.*, **22**, 91 (1972).
- 2) 中尾正三, 佐藤章子 : 農薬生産技術, **15**, 21 (1966).
- 3) F. ファイグル : “有機ハン点分析”, p. 160 (1958), (共立出版).
- 4) 無機応用比色分析編集委員会 : “無機応用比色分析”, 4, p. 294 (1975), (共立出版).

☆

Colorimetric determination of organothiophosphorous pesticides with palladium chloride and *p*-nitroso *N,N*-diethylaniline. Masatoshi SYOYAMA, Yuzo MIYACHI* and Jinsaku SAKAKIBARA** (*Criminology Laboratory, Aichi Prefectural Police H.Q., 2-1-1, Sanno-maru, Naka-ku, Nagoya-shi, Aichi; **Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1, Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya-shi, Aichi)

Colorimetric determination of organothiophosphorous pesticides, namely, *O*, *O*-diethyl *S*-(2,5-dichlorophenylthiomethyl) dithiophosphate (phenkapton), *O*, *O*-diethyl *S*-(2-chloro-1-phthalimidethyl) dithiophosphate (dialifor), *O*, *O*-diethyl *S*-[(6-chloro-2-exo-3-benzoxazolynyl)methyl] dithiophosphate (phosalone), and *O*, *O*-dimethyl *S*-(1,2-dicarbethoxyethyl) dithiophosphate (malathion) with PdCl_2 and *p*-nitroso *N,N*-diethylaniline was developed. One ml of acetone solution of the pesticide and 1 ml of 20% (w/v) NH_4NO_3 solution were added to 10 ml of 0.025% (dialifor, phosalone), or 0.04% (phenkapton), or 0.06% (malathion) PdCl_2 solution dissolved by Sørensen buffer, pH 1.10 (phenkapton), 1.60 (dialifor), 1.90 (phosalone) and 2.80 (malathion). After (5~20) minutes, yellowish reactants were extracted with 5 ml of chloroform (three times), and poured into 5 ml of 0.14% (dialifor, phosalone, malathion), or 0.07% (phenkapton) *p*-nitroso *N,N*-diethylaniline in chloroform, and allowed to stand for 40 minutes. Absorbance was determined at 521 nm (phenkapton, dialifor, phosalone) and 516 nm (malathion). The calibration curves showed conformity to Beer's law over the range (0.7~7) $\mu\text{g/ml}$ in phenkapton, dialifor, phosalone and (1.3~13) $\mu\text{g/ml}$ in malathion. Coefficient of variation was 1.3% in phenkapton, 3.3% in dialifor, 4.0% in phosalone and 1.4% in malathion. Aromatic amines, such as aniline and its derivatives and α - and β -naphthylamines interfered with this method, but alkyl amines did not.

(Received Sept. 26, 1975)

Keywords

Colorimetric determination

p-Nitroso *N,N*-diethylaniline

Organothiophosphorus pesticides

Palladium chloride