

# 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\*

(1976 年 11 月 2 日受理)

既報におけるジチオリン酸系殺虫剤の定量法を一部改良し, 更に 2 種類に適用し, モノチオリン酸系への利用を検討した. 各殺虫剤は  $(0.35 \sim 3.5) \mu\text{g/ml}$  で直線関係にあり, 殺虫剤に対する見掛けのモル吸光係数は  $(6.9 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5) / \text{mol cm}$ , 分析精度は  $\text{c.v.} = (1.0 \sim 3.1)\%$  であった. 牛乳へ添加した  $(10 \sim 20) \text{ppm}$  のマラチオンの回収実験を行い, 実用面への道を開いた. 発色機構について検討しジチオリン酸系では殺虫剤-パラジウム-*p*-ニトロソ-*N,N*-ジエチルアニリンからなる混合錯体, モノチオリン酸系では  $\text{Pd}[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}]\text{Cl}_2$  の生成に基づくものと推定した.

## 1 緒 言

著者らは先に含硫黄有機リン系殺虫剤が塩化パラジウム ( $\text{PdCl}_2$ ) と反応し黄色錯体となり, これに *p*-ニトロソ-*N,N*-ジエチルアニリン (NDA) を加えると感度の高い赤色錯体を定量的に生ずることを見だし, ジチオリン酸系殺虫剤 (フェンカプトン, ジアリホール, ホサロン及びマラチオン) の定量法を報告した. 有機リン剤に共通して使用されているリンバドモリブデン酸法の感度はリンとして  $1 \mu\text{g/ml}$  で 0.34 (吸光度)<sup>1)</sup> であり, 本法の吸光度を同様に換算すれば, フェンカプトンで 1.54 に達し, 微量定量に適していた. ただ最高吸光度を得るための塩化パラジウム溶液の pH の許容範囲が狭いこと, 及び各殺虫剤の定量条件に若干の差異があることなど実用面に問題を残していたため, 本報では簡易な共通して使用できる条件を検討し, 又 NDA 溶液に塩酸酸性エタノールを用いて感度を上昇させ  $(0.35 \sim 3.5) \mu\text{g/ml}$  (最終比色溶液) の定量を可能にした. そこで, *O*-ジメチル *S*-(1-エトキシカルボニル 1-フェニルメチル)ホスホロチオエート (PAP) 及び *O*,*O*-ジエチル *S*-(*N*-エトキシカルボニル *N*-メチルカルバモイルメチル)ホスホロチオエート (メカルバム) についても定量条件を検討し, 併せて水及び牛乳よりの添加回収実験を行い定量法を確立した. この方法をモノチオリン酸系に利用した結果, *O*,*O*-ジエチル-*O*-(2,4-ジクロロフェニル)ホスホロチオエート (ECP), *O*,*O*-ジエチル-*O*-(3,

5,6-トリクロル-2-ピリジン)ホスホロチオエート (クロルピリホス) 及び *O*,*O*-ジエチル-*O*-(3-オキソ-2-フェニル-2*H*-ピリダジン-6-イル)ホスホロチオエート (ピリダフェンチオン) についても同様に定量可能であったが, 生ずる赤色錯体はジチオリン酸系が殺虫剤-Pd-NDA の混合錯体に対し, モノチオリン酸系は殺虫剤と NDA の配位子交換により  $\text{Pd}(\text{NDA})_2\text{Cl}_2$  を生ずるものと推定された.

## 2 試薬及び装置

### 2.1 試 薬

メカルバム, PAP, ECP, クロルピリホス及びピリダフェンチオンはいずれも原体より精製した. マラチオン, フェンカプトン, ジアリホール及びホサロンは既報のものを使用した.

塩化パラジウム溶液: 塩化パラジウム 75mg を 1*N* 塩酸 (モノチオリン酸系では 25mg を 0.5*N* 塩酸) 5 ml に溶解, エタノールで 50 ml とする (以後 0.15% 塩化パラジウム及び 0.05% 塩化パラジウム溶液と称す).

0.15%(w/v) NDA 溶液: NDA 75mg に 0.5*N* 塩酸 (モノチオリン酸系では 0.1*N* 塩酸) 2 ml とエタノールを加え全量を 50 ml とする (以後 NDA 溶液).

0.2%(w/v) 過ヨウ素酸カリウム溶液: 用時調製.

その他の試薬及び溶媒はいずれも特級使用.

### 2.2 装 置

分光光度計: HITACHI 624 型, スリット幅 0.25 nm, セルは石英, 1 cm.

薄層クロマトグラフィー: 担体, シリカゲル HF<sub>254</sub>, 0.5 mm, 展開溶媒, *n*-ヘキサン: アセトン = 4:1 (試

\* 愛知県警察本部犯罪科学研究所: 愛知県名古屋市中区三ノ丸 2-1-1

料が水の場合, 溶媒 1), クロロホルム:ベンゼン:1N 塩酸=60:40:飽和 (試料が牛乳の場合, 溶媒 2)。

### 3 実験及び結果

#### 3.1 定量法

ジチオリン酸系では 100 ml の分液漏斗に塩化パラジウム溶液 1 ml とエタノール検液 1 ml {約 (0.01~0.1) mg の殺虫剤を含む} を加えて混合し, PAP は 10 分後, 他は 3 分後にクロロホルム 5 ml を入れ, 次いで 5%(w/v) 硝酸アンモニウム溶液 20 ml を加えて 5 分以内に 3 回抽出する (以後第 1 次錯体), 抽出液はろ紙と無水硫酸ナトリウム又は脱脂綿の層を介して 25 ml の容量フラスコに入れ, NDA 溶液 5 ml を加え, クロロホルムで定容とし室温に 2 時間 (マラチオンは 3 時間) 放置後試薬ブランクを対照として 527nm でその吸光度を測定する (以後第 2 次錯体)。モノチオリン酸系では約 (0.01~0.1) mg の殺虫剤を含むエタノール溶液 1 ml に 0.05% 塩化パラジウム溶液 1 ml と 0.2% 過ヨウ素酸カリウム溶液 10 ml を加え, (10~20)°C で 1 分間混合し, 5 分以内にクロロホルムで 4 回抽出し, 以後同様に操作する。放置時間は 1 時間, 測定波長は 529nm で, あらかじめ作成した検量線より定量する。

#### 3.2 検量線の作成

各殺虫剤約 23mg を精ひょうし, エタノールで 100 ml とし, ホールピペットでその 1, 3, 5, 7 及び 10 ml をとり, エタノールで 25 ml に定容する。ホールピペットで各 1 ml をとり, 3.1 に従って発色, 測定する。結果はいずれも約 (0.35~3.5) µg/ml でベールの法則に従った。

#### 3.3 定量条件の検討

**3.3.1 測定波長** ジチオリン酸系 6 種類の殺虫剤を 3.1 に従って発色させその吸光度を測定した結果, その曲線は互いに類似し, 527nm に共通する極大値と (501~508) nm にやや低い極大値を示した (Fig. 1)。モノチオリン酸系も酷似する吸収曲線を示すが, 極大値は 529 nm にありこれはパラジウムと NDA より生成する錯体  $\text{Pd}(\text{NDA})_2\text{Cl}_2$  のそれに一致した。

**3.3.2 塩化パラジウム溶液の条件** PAP の 0.094 ml/mg 溶液につき 3.1 に示す方法のうち塩化パラジウムの濃度を変えて測定した結果, 0.1%(w/v) 以上 (モル比で約 20 倍以上) で一定となったので以後ジチオリン酸系では 0.15%(w/v) 溶液を用いることとした。モノチオリン酸系では 0.088 mg/ml の ECP について検討の結

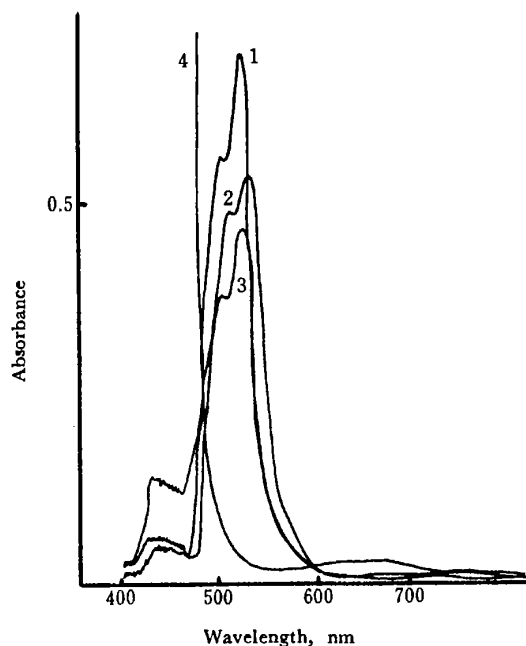


Fig. 1 Absorption spectra of colored solution of pesticides and  $\text{Pd}(\text{NAD})_2\text{Cl}_2$  in  $\text{CHCl}_3$ -ethanol-HCl

1 : Pyridaphenthion  $\lambda_{\text{max}}$ , 529 nm; 2 : Mecarbam  $\lambda_{\text{max}}$ , 527 nm; 3 :  $\text{Pd}(\text{NAD})_2\text{Cl}_2$   $\lambda_{\text{max}}$ , 529 nm; 4 : Reference

果, 反応 1 分後に抽出した場合は (0.03~0.1)%(w/v) 溶液で一定の吸光度を示したが, それ以上の濃度では低い値を示し経時的減少傾向が大きかった。これは第 1 次錯体がクロロホルムに抽出されないか, 又は抽出されても NDA と反応しない錯体への変化が推定されたため, 反応溶液条件を検討の結果 0.2% 過ヨウ素酸カリウム溶液中での反応が最も安定しており 5 分後に抽出を開始した場合の吸光度は 1 分後のそれに比べ約 5% の減少にとどまった (0.05% 塩化パラジウム溶液使用の場合, Fig. 2)。又, 反応溶液の温度の影響は, Table 1 に示すように 1 分後に抽出を開始する場合 (10~20)°C で一定の値を示した。45°C における共通した低い吸光度は高濃度の塩化パラジウム溶液を用いた場合又は反応時間を長くした場合と同様の変化を起こすものと推定される。このような第 1 次錯体の経時変化はジチオリン酸でも観察されたが, 反応 5 分以内では影響なく PAP では 30 分後でも変化を示さなかった (Fig. 3)。ただ抽出時に硝酸アンモニウム溶液を加えて放置しておくで錯体の変化を起こす (マラチオンで 5 分放置後抽出すれば吸光度で約 6% 減少する) ため, クロロホルムを入れ次いで硝酸アンモニウム溶液を入れて直ちに抽出する必要がある。

**3.3.3 NDA 溶液の条件** 3.3.2 と同じく NDA 濃度の吸光度に与える影響を検討した結果ジチオリン酸系

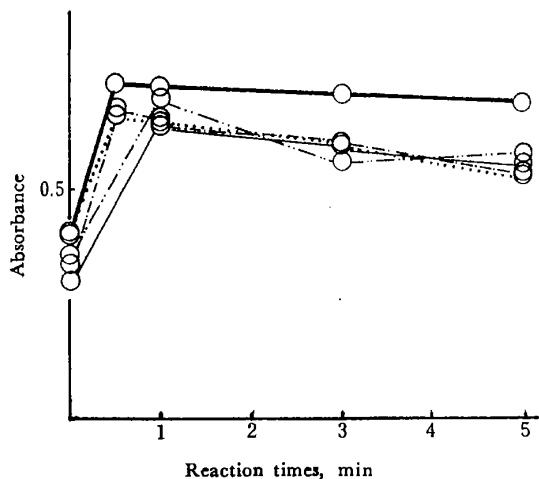


Fig. 2 Effects of palladium complex formation of monothiophosphates in various reaction solutions

Pesticide was used 0.088 mg/ml ECP. The reaction solution is a mixture of 1 ml each of sample and  $\text{PdCl}_2$ , and 10 ml of following solution. —○— 0.2%  $\text{KIO}_4$ ; —○—  $\text{H}_2\text{O}$  only; ...○... 0.2%  $\text{KClO}_4$ ; ---○--- 5%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; - - -○- - - Buffer soln. (pH 2.0)

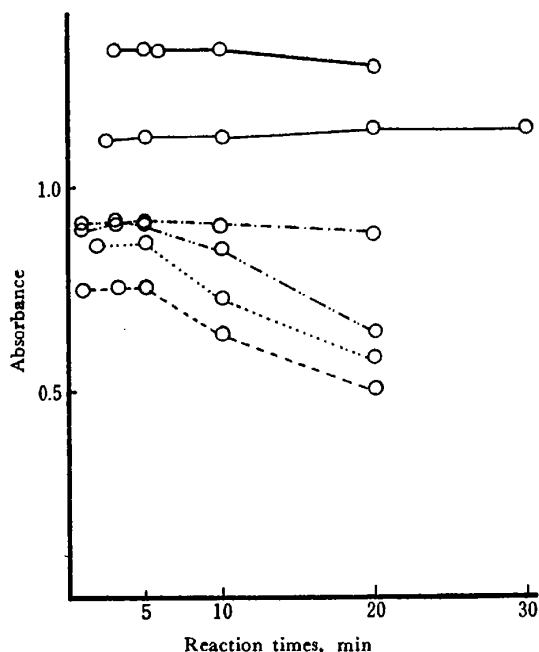


Fig. 3 Effect of reaction time for palladium complex formation

—○— Mecarbam; —○— PAP; ---○--- Phen-kaptone; ---○--- Malathion; ...○... Dialifor; - - -○- - - Phosalone

及びモノチオリン酸系とも 0.15% 溶液 5 ml の使用が必要十分条件となった (モル比で約 150 倍). NDA の溶剤として塩酸酸性エタノールを用いることにより既報に比べ吸光度は大幅に上昇 (馬拉チオンでは  $1\mu\text{g/ml}$  の

Table 1 Effect of reaction temperature and time for formation of palladium complex (absorbance)

Reaction time (min)	Reaction temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )					
	5	10	15	20	25	45
1	0.654	0.725	0.730	0.733	0.715	0.590
3	0.732	0.733	0.710	0.720	0.678	0.478
5	0.699	0.721	0.699	0.699	0.650	0.484

Pesticide was used 0.08 mg/ml ECP.

吸光度が 0.132 から 0.176 へ) し, ジチオリン酸では 0.5N, モノチオリン酸では 0.1N 塩酸を容量比 1/25 添加するとき最高吸光度が得られた. 比色液の吸光度は馬拉チオンで 3 時間後, 他は 2 時間後一定となり以後 5 時間の測定でも変化なく, 又モノチオリン酸ではいずれも 30 分で最高値に達し 90 分後の測定で変化はみられなかった.

### 3.4 分析精度及びモル吸光係数

各殺虫剤の一定量を取り, 分析精度を調べた結果, c. v. = (1.0~3.1)% であった. その平均吸光度から計算した各殺虫剤に対する見掛けのモル吸光係数は  $(0.69 \sim 1.0) \times 10^4 / \text{mol cm}$  となった (Table 2).

Table 2 Reproducibility and molar absorptivity

Pesticide	g/ml $\times 10^{-6}$	n	$\bar{x}$	R	c. v. (%)	$\epsilon (\times 10^5)$
PAP	3.74	6	1.075	0.089	3.1	0.92
Mecarbam	3.81	6	1.187	0.052	1.7	1.0
Phen-kaptone	3.57	7	0.893	0.048	1.7	0.94
Dialifor	3.52	6	0.847	0.060	2.9	0.95
Phosalone	3.39	7	0.683	0.038	1.9	0.74
Malathion	3.79	6	0.792	0.019	1.0	0.69
ECP	3.46	8	0.781	0.046	1.9	0.70
Chlorpyrifos	3.68	7	0.788	0.039	1.4	0.73
Pyridaphenthion	3.81	9	0.905	0.054	1.9	0.73

### 3.5 水及び牛乳の分析

本分析法の実用化のため, 水及び牛乳に添加した (10~20) ppm の馬拉チオンの回収実験を行った. すなわち, 水では (0.5~1) mg を含む 50 g の試料を取り, 酢酸エチル 20 ml で 2 回抽出し, 少量の無水硫酸ナトリウムで脱水後, ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し, 残さの全量をシリカゲル薄層板上に線に塗布し, 両端に標品を塗布して溶媒 1 により約 13 cm 展開する. 風乾後 0.1% (w/v) 塩化パラジウム溶液で両端の標品を発色させ, 紫外線下に試料の相当部位のシリカゲルを取りエタノールで温浸抽出し, 抽出液の全量を正確に 10 ml とし, この 1 ml をとって 3.1 により定量する.

牛乳は (0.5~1) mg を含む試料 50 g をビーカーにとり無水硫酸ナトリウム 20 g を入れてかくはん後 (60~70) °C の温湯に約 10 分放置する. 常温に冷却後酢酸エチル 40 ml を加えかくはん抽出する (3 回). 全量を合し, ロータリーエバポレーターで約 5 ml になるまで濃縮し, アセトニトリルと *n*-ヘキサン各 30 ml を加えて振とうしピペットで下層を採取する (2 回). アセトニトリル層を合して濃縮し, その残さの全量を水の場合に準じ溶媒 2 で展開し, 同様に操作して測定する. この場合, 展開溶媒を塩酸で飽和しないと回収率は 100% を大幅に越える. これは牛乳中の塩基性化合物が殺虫剤と分離せず, 本法と同様の反応をするためと考えられる. 得られた回収率を Table 3 に示す.

Table 3 Recovery of (10~20) ppm malathion from water and milk (%)

Sample	Added amount	
	10 ppm	20 ppm
Water	92.3, 87.4, av. 89.9	93.3, 93.8, av. 93.5
Milk	77.0, 79.3, av. 78.2	76.2, 79.8, av. 78.0

### 3.6 錯体の組成

ジチオリン酸系 6 種類について連続変化法による反応モル比を測定した結果, いずれも殺虫剤: パラジウム (II) は 1:1 であり, これは中尾ら<sup>2)</sup>, 山岡ら<sup>3)</sup>の結果と一致した. この錯形成反応が完全に進行すると仮定すれば NDA との第 2 次錯体の反応モル比は同様の実験より 1:2 となった (Fig. 4).

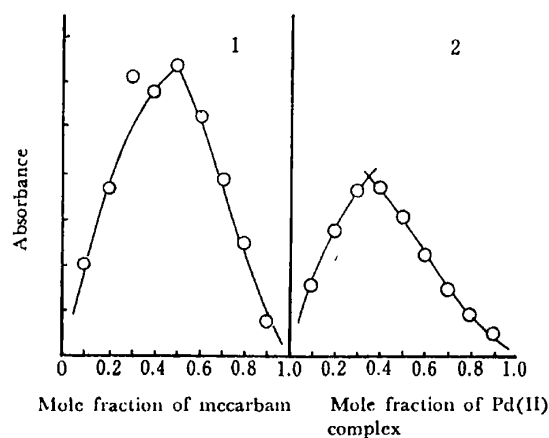


Fig. 4 Continuous variation plots for palladium complex of mecarbam

1: Pd(II) : mecarbam = 1 : 1; 2: Above Pd(II) complex : NDA = 1 : 2

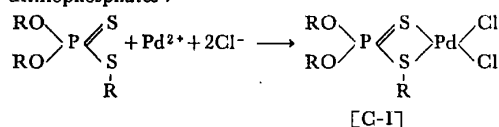
## 4 考 察

ジチオリン酸系殺虫剤のパラジウム (II) との反応モル比は 1:1 であり, パラジウム (II) は平面 4 配位であること, 硫黄を含まないもの, 例えば DDVP は反応しないことから配位基は 2 個の硫黄と考えられる. 一方, PAP を塩化パラジウム溶液に加え, 更に多量の水を加えると黄色沈殿を生ずる. これを汚集後のクロロホルムに溶解し, 過剰の *n*-ヘキサンを加えて再沈殿させ汚集, 乾燥したものは mp 145°C (分解) で元素分析値は  $[C_{12}H_{17}O_4PS_2]PdCl_2$  に一致した (calcd for: C, 28.96, H, 3.44, found: C, 29.24, H, 3.70). 又, この赤外吸収スペクトルは PAP のエステル  $\nu C=O$  (1740  $cm^{-1}$ ), 及び  $\nu C-O-P$  (1020  $cm^{-1}$ ) を有し  $\nu P=S$  に帰属される 830, 660  $cm^{-1}$  の吸収<sup>4)</sup> に変化がみられることから第 1 次錯体は [C-I] の構造を持つと推定される. ただマラチオンから同様に単離した錯体は多核錯体としての分子式  $[C_{10}H_{16}O_6PS_2]_2Pd_2Cl_2$  に一致し (calcd for: C, 25.43, H, 4.05, found: C, 25.59, H, 4.10), 又この単離した錯体の NDA 反応溶液は 518 nm に一つの極大値を持ち Fig. 1 とは異なることからクロロホルムに抽出され定量に供される錯体との間にはなんらかの差異が予測される.

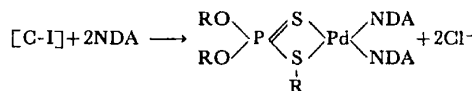
推定式 [C-I] と NDA はモル比 1:2 で反応することから第 2 次錯体は 2 個の塩素又は殺虫剤との交換反応のいずれかが考えられる. 後者の場合はパラジウム (II) と NDA より生ずる  $Pd(NDA)_2Cl_2[C-II]$ <sup>5)</sup> であるが, この極大値は本法の溶媒系では 529 nm にあり, ベンゼン, クロロホルム, アセトン, 酢酸エチル及び氷酢酸などの溶媒中においていずれも殺虫剤を出発とした錯体の極大値よりも (2~8) nm 長波長側にある. 又, [C-II] を単離<sup>5)</sup> したものはほとんどの有機溶媒に不溶だが, 第 2 次錯体溶液を同時に操作して得られる沈殿はほとんどの有機溶媒に可溶であり単離は困難である. 一方モノチオリン酸系の場合, 第 1 次錯体は S と O に配位し [C-I] と同種の錯体を形成すると推定されるが, この第 2 次錯体溶液からは同様の操作により赤紫色沈殿を単離でき, これは [C-II] と融点 (224°C) 及び赤外吸収スペクトルが一致し, ジチオリン酸系の場合と明らかに異なる. 又, 殺虫剤と NDA の交換反応により遊離する配位子としての殺虫剤は赤色沈殿を分離した残液よりモノチオリン酸系では検出 (ガスクロマトグラフィー) され, ジチオリン酸系では検出されなかった. 以上の結果より NDA との配位子交換はジチオリン酸系では塩素と, モノチオリン酸系では殺虫剤との間に起こると推定され, こ

## Reaction scheme 1

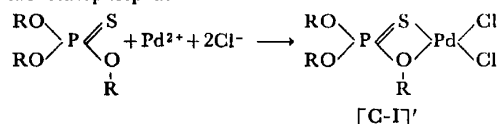
for dithiophosphates:



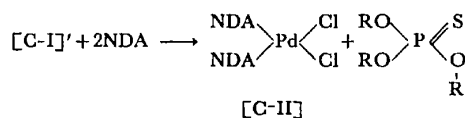
[C-I]



for monothiophosphates



[C-I']



[C-II]

の全反応式を式 1 に示す。

第 2 次錯体溶液は二つの極大値を持つことから少なくとも 2 成分の存在が考えられるが、この溶液の酸性度を高めると二つの極大値の強度が近づき、濃塩酸の添加又は全酢酸溶液中では強度が逆転する。一方、NDA はニトロソ基の N, O へのプロトン化があり<sup>6)</sup>、極大値は 421 nm から 384 nm へ移動するが、(0.3~1) N 塩酸の添加では両者の共存を示すことから、この状態が錯体のスペクトルに対応していることも考えられる (Fig. 5)。

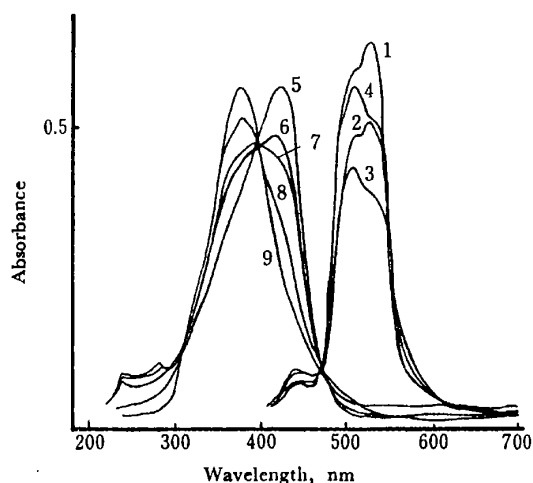


Fig. 5 Absorption spectra of reddish mixed ligand complex and NDA in various acidified solution

The solution is composed with a mixture of 5 ml ethanol, added 0.2 ml of following solution, and  $\text{CHCl}_3$  (total vol. 25 ml), only except of No. 4. 1~4: Complex solution of malathion; 5~6: NDA solution; 1: 0.5 N HCl; 2: 2 N HCl; 3: conc. HCl; 4: Measured in only gra-acetic acid; 5: 0.2 N HCl; 6: 0.3 N HCl; 7: 0.5 N HCl; 8: 1 N HCl; 9: 2 N HCl

NDA の配位基はニトロソ基の N 又は O のいずれかとされ<sup>6)</sup>、パラジウム (II) については確定的な報告がないが、NDA は本溶媒系ではキノイド構造の寄与が大きいと考えられ<sup>6)</sup>、パラジウム (II) との結合にイオン性が高いとすれば O が優位と推定される。

本法の利用の限界を知るため、モノチオリン酸系の数種について検討した結果、パラチオン系では脱離基 (*p*-ニトロフェノールなど) を離脱し、リン酸部位とのパラジウム錯体を形成してクロロホルム抽出されず本法は利用できないことが判明した、

本研究の御指導をいただいた名古屋市立大学薬学部教授川添 豊氏、助教授榊原仁作氏に深謝致します、実験に協力いただいた同研究室白井直洋助手、及び元素分析を担当された同大学機器分析センター石黒雅江技官に感謝致します。

## 文 献

- 1) 無機応用比色分析編集委員会編: “無機応用比色分析”, 4 巻, p. 130 (1975), (共立出版)。
- 2) 中尾正三, 佐藤章子: 農薬生産技術, **15**, 21 (1966)。
- 3) 山岡 剛, 小竹森正人, 岡田清治: 本誌, **15**, 67 (1966)。
- 4) 有機合成化学協会編: “有機リン化合物”, p. 271 (1971), (技報堂)。
- 5) I. Batten, K. E. Johnson: *Can. J. Chem.*, **47**, 3075 (1969)。
- 6) G. Matsubayashi, Y. Takaya, T. Tanaka: *Spectrochimica Acta*, Vol. 26A, p. 1851 (1970)。

☆

**Colorimetric determination of organothiophosphorous pesticides with palladium chloride and *p*-nitroso-*N,N*-diethylaniline.** Masatoshi SYOYAMA and Yuzo MIYACHI (Criminology Laboratory, Aichi Prefectural Police H. Q., 2-1-1, Sanno-maru, Nakaku, Nagoya-shi, Aichi)

Palladium complexes of organothiophosphorous pesticides react quantitatively with *p*-nitroso *N,N*-diethylaniline (NDA) to yield reddish mixed ligand complexes. By using this reaction, the colorimetric method for various organothiophosphorous pesticides was established. The procedure is as follows: One ml of the sample solution {(0.01~0.1)mg of pesticide in ethanol} is added to 1 ml of  $\text{PdCl}_2$  solution and for monothiophosphates, 10 ml of 0.2%  $\text{KIO}_4$  solution is further added.  $\text{PdCl}_2$  solution is prepared by dissolving  $\text{PdCl}_2$  in 1 ml of 1 N HCl (0.5 N for monothiophosphates) and diluting to 10 ml with ethanol, and the concentration is 0.15% (w/v) for dithiophosphates, 0.05% for monothiophosphates. After 3 minutes (one minute for monothiophosphates), the complex is extracted by  $\text{CHCl}_3$  (three to four times), the extract is transferred into a 25 ml volumetric flask, and mixed with 5 ml of 0.15% (w/v) NDA solution {prepared by dissolving NDA in 0.2 ml of 0.5 N HCl (0.1 N for monothiophosphates) and diluting to 5 ml

with ethanol} and diluted to 25 ml with  $\text{CHCl}_3$ . After standing it for 2 hours (one hour for monothio phosphates), the absorbance of the solution is measured at 527 nm (529 nm for monothio phosphates) against the reagent blank. The apparent molar absorptivities of pesticides were  $6.9 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5$ . In the case of dithio phosphates, the molar ratio of pesticide and palladium in complex was found to be 1 : 1 by the continuous variation method, and one mole of this complex reacted with 2 moles of NDA to form the reddish mixed ligand complex. The composition of the complex was 1 : 1 : 2 for pesticides : Pd(II) : NDA. But monothio phosphates in the palladium complex exchanged with NDA to produce  $\text{Pd}(\text{NDA})_2\text{Cl}_2$  finally, so the amount of pesticide was determined indirectly by the absorbance of  $\text{Pd}(\text{NDA})_2\text{-}$

$\text{Cl}_2$ . Malathion added to water and milk was extracted with ethyl acetate and determined by the above procedure. In the case of milk, interfering substances were separated by *n*-hexane-acetonitrile distribution and TLC (solvent;  $\text{CHCl}_3$  : benzene : 1 N HCl = 60 : 40 : saturated). Recoveries were (87.4~93.8)% from water and (76.2~79.8)% from milk.

(Received Nov. 2, 1976)

### Keywords

Colorimetric determination

*p*-Nitroso *N,N*-diethylaniline

Organothiophosphorous pesticides

Palladium chloride

☆

☆

☆

☆