

## A guanidine derivative from seeds of *Plantago asiatica*

Yukihiro Goda · Nobuo Kawahara · Fumiyuki Kiuchi ·  
Kazuhiro Hirakura · Yuichi Kikuchi · Hiroaki Nishimura ·  
Masaki Takao · Masahiko Marumoto · Hironori Kitazaki

Received: 8 April 2008 / Accepted: 5 June 2008 / Published online: 31 July 2008  
© The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer 2008

**Abstracts** A new guanidine derivative named plantago-guanidinic acid was isolated from the seeds of *Plantago asiatica*. The structure was elucidated by two-dimensional (2D) nuclear magnetic resonance (NMR) spectral and other spectral methods.

**Keywords** *Plantago asiatica* · Plantaginaceae · Guanidine derivative · NMR · Plantagoganidinic acid

### Introduction

The seeds of *Plantago asiatica* are used as a crude drug for diuretic, antitussive, expectorant, and antiphlogistic purposes. Fatty acids [1, 2], polysaccharides [3, 4], aucubin [5], geniposidic acid [6], and acteoside [6] were reported as the components of the seeds. In our study of the seeds, we detected a specific spot that was not identified as the above mentioned compounds by thin-layer chromatography (TLC) experiments. Therefore, we isolated the component corresponding to the spot from the seeds. This paper deals

with the structural elucidation of a new guanidine derivative named plantagoganidinic acid (1).

### Results and discussion

An aqueous extract of the seeds of *Plantago asiatica* was extracted with *n*-butanol (*n*-BuOH). The *n*-BuOH extract was washed with hexane to remove fat, then chromatographed on silica gel, Sephadex LH-20, and NH-silica gel, successively to give 1 (Fig. 1).

Compound 1 was obtained as a white amorphous powder and its molecular formula was determined to be C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> by high-resolution electrospray-ionization mass spectrometry (HRESI-MS). The infrared (IR) spectrum of 1 indicated the presence of a hydroxyl group (3,192 cm<sup>-1</sup>) and a carboxylic group (1,691 cm<sup>-1</sup>).

Compound 1 was positive to Dragendorff's reagent [7], sodium nitroprusside reagent [8], and pentacyanoaquoferrate reagent [9], but negative to Ninhydrin and Sakaguchi reagent [9]. The <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR spectra of 1 showed the presence of a prenyl group (C-4 to C-8), a guanidine carbon (C-2') [10], a carboxylic carbon (C-1), two methine carbons (C-2 and C-4'), and two methylene carbons (C-3 and C-5'). The connections of these carbons were clarified by double quantum filter (DQF), <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H, and heteronuclear multiple-bond connectivity (HMBC) spectra (Fig. 2). The DQF correlation spectroscopy (COSY) spectrum of 1 indicated <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H connections from H-5 to H-5' to establish the carbon skeleton. The HMBC correlations of H-2, H-3, and H-4' to C-1 showed that a carboxylic group was attached to C-2. H-4' and H-5' showed HMBC correlations to C-2' guanidine carbon, indicating that the guanidine group together with the C-4' and C-5' form an imidazoline ring. In the nuclear Overhauser effect

Y. Goda · N. Kawahara  
National Institute of Health Sciences (NIHS),  
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

F. Kiuchi  
Research Center for Medicinal Plant Resources National  
Institute of Biomedical Innovation, 1-2 Hachimandai,  
Tsukuba, Ibaraki 305-0843, Japan

K. Hirakura (✉) · Y. Kikuchi · H. Nishimura · M. Takao ·  
M. Marumoto · H. Kitazaki  
Tsumura & Co, 3586 Yoshiwara, Ami-Machi,  
Inashiki-gun, Ibaraki 300-1192, Japan  
e-mail: hirakura\_kazuhiro@mail.tsumura.co.jp

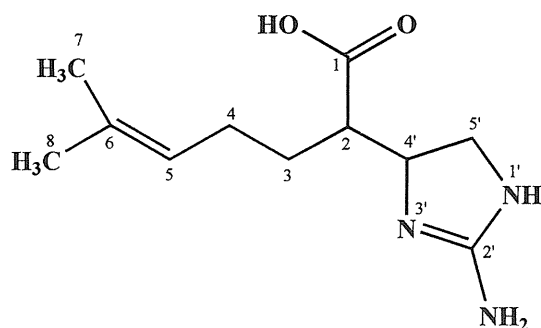


Fig. 1 Structure of compound 1

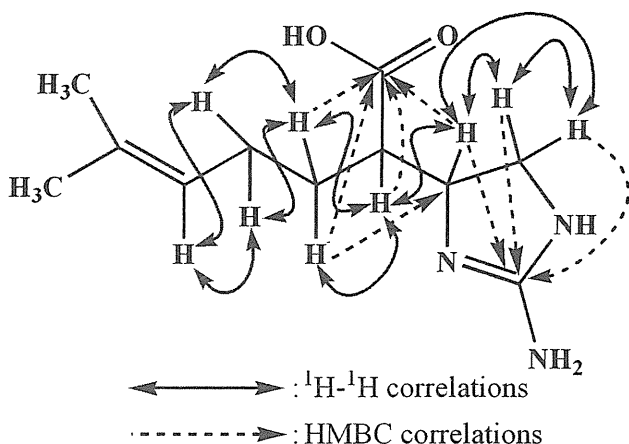


Fig. 2 Significant 2D NMR correlations of 1

spectroscopy (NOESY) spectrum of 1, H-4' showed correlations to both of H-5' protons, so the relative configuration of H-4' and H-5' could not be determined, and X-ray crystallographic analysis could not be performed because compound 1 gave an amorphous powder. Based on these results, the planar structure of compound 1 was identified as 2-(2-amino-4,5-dihydro-1*H*-imidazol-4-yl)-6-methylhept-5-enoic acid (Fig. 1). Although similar compounds that have an imidazole skeleton in the molecule have been isolated from some plants [11, 12], compound 1 has not been reported. Considering the plant source and the guanidinic group, we proposed the name of compound 1 as plantagouanidinic acid (1).

## Experiment

### General

IR spectrum was measured using a JASCO FT/IR-4200 Fourier-transform infrared spectrometer. Specific rotation was recorded on a JASCO DIP-1000 digital polarimeter. NMR spectra were recorded on a JEOL JNM AL-400 FT NMR spectrometer. ESI mass spectrum was obtained using

on a MICROMASS Q-ToF micromass spectrometer. For the NMR data, chemical shifts are expressed in  $\delta$  ppm from tetramethylsilane (TMS) as an internal standard and coupling constants ( $J$ ) are given in Hz. Silica gel 60 (70–230 mesh, Merck), Chromatorex NH DM1020 (NH-silica gel, 100–200 mesh, FUJI SILYSIA CHEMICAL Ltd.) and Sephadex LH-20 (Pharmacia) were used for column chromatography. Silica gel 60 F<sub>254</sub> (0.25 mm, Merck) was used for TLC.

### Extraction and isolation

Crushed seeds (1.7 kg) of *Plantago asiatica* (Jiangsu province, China) were extracted twice by stirring with water (5 L) at room temperature for 2 days. The aqueous solution was extracted three times with *n*-BuOH (3 L), and then concentrated under reduced pressure to give the *n*-BuOH extract (121.7 g). The *n*-BuOH extract was dissolved in 90% MeOH, and then partitioned with hexane (1 L) three times to give 90% MeOH extract (58.7 g). The 90% MeOH extract was chromatographed on silica gel (8.5 cm i.d.  $\times$  46 cm) eluted with CHCl<sub>3</sub>–MeOH–H<sub>2</sub>O (7:4:0.5) to give fraction A (2.6 g), which contained compound 1. Fraction A was rechromatographed on Sephadex LH-20 (7.0 cm i.d.  $\times$  70 cm) eluted with MeOH, and Chromatorex NH 20 (7.5 cm i.d.  $\times$  62 cm) eluted with EtOAc–MeOH–H<sub>2</sub>O (14:5:2), successively to give compound 1 (1.2 g).

### Plantagouanidinic acid (1)

White amorphous powder.  $[\alpha]_D^{20} +53.0^\circ$  ( $c$  1.1, MeOH), IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3,192(br), 2,968, 1,691, 1,585, 1,397. HR ESI-MS  $m/z$ : 226.1553 (Calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>:226.1556). <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 1.51 (1H, m, H-3), 1.60 (1H, m, H-3), 1.61(3H, brs, H-7), 1.67(3H, brs, H-8), 2.01 (1H, m, H-4), 2.11 (1H, m, H-4), 2.33 (1H, ddd,  $J = 4, 8, 10$ , H-2), 3.53 (1H, dd,  $J = 6, 9$ , H-5'), 3.74 (1H, t,  $J = 9$ , H-5'), 4.09 (1H, ddd,  $J = 6, 8, 9$ , H-4'), 5.11 (1H, brt,  $J = 7$ , H-5). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 17.9 (C-7), 25.9 (C-8), 27.1 (C-4), 30.6 (C-3), 48.4 (C-5'), 59.1 (C-4'), 59.4 (C-2), 125.3 (C-5), 132.8 (C-6), 161.2 (C-2'), 180.4 (C-1).

**Acknowledgements** We are grateful to Mr. K. Kano for mass spectrum measurement. This work was supported in part by a Health and Labour Sciences Research Grant.

### References

- Kashimoto T (1955) Studies of Vegetable Oils and Fats. III. Nippon Kagaku Zasshi 76:664–667
- Ogata A, Nishioji R (1924) Über die Samen von Japanischen Wegerich. Yakugaku Zasshi 44:1040–1049

3. Tomoda M, Uno M (1971) Plant mucilages. I. Isolation and property of a mucous polysaccharide, "plantasan", from *Plantago major* L. var. *asiatica* seeds. Chem Pharm Bull 19:1214–1217
4. Tomoda M, Yokoi M, Ishikawa K (1981) Plant mucilages. XXIX. Isolation and characterization of a mucous polysaccharide, "Plantago-mucilage A", from the seeds of *Plantago major* var. *asiatica*. Chem Pharm Bull 21:2877–2884
5. Syukuya S (1922) Yakugaku Zasshi 42:1163
6. Taguchi H, Aburada M (1983) Chemistry and pharmacological actions on Chuling, *Plantago* seed and *Gentiana*. Gendai Toyo Igaku 4:47–55
7. Wagner H, Bladt S, Zgainski EM (1984) Plant drug analysis. Springer-Verlag, Berlin
8. Hofmann ED, Wünsch A (1958) Verwendung von Nitro-prussidreagenz in der Papierchromatographie. Naturwiss 45:338
9. Smith I (1960) Chromatographic and electrophoretic techniques. Heinemann-Interscience, London
10. Charles JP, Jacquelyn B (1993) The Aldrich library of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  FT NMR spectra, vol. 1, 1st edn. Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA, pp 1280–1281, 1329
11. Fellows LE, Hider RC, Bell EA (1977) 3-[2-Amino-2-imidazolin-4(5)-yl]alanine (Enduracididine) and 2-[2-amino-2-imidazolin-4(5)-yl]acetic acid in seeds of *Lonchocarpus sericeus*. Phytochemistry 16:1957–1959
12. Evans SV, Fellows LE, Bell EA (1985) Distribution and systematic significance of basic non-protein amino acids and amines in the Tephrosieae. Biochem Syst Ecol 13:271–302

## 生薬中の残留有機リン系農薬の分析（第3報\*）

佐藤 正幸\*\*，姉帯 正樹\*\*，鎌倉 浩之\*\*\*，合田 幸広\*\*\*

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス  
Vol. 41, No. 4 別刷（2010年）  
財団法人 日本公定書協会

## 生薬中の残留有機リン系農薬の分析 (第3報\*)

佐藤 正幸\*\*, 姉帯 正樹\*\*, 鎌倉 浩之\*\*\*, 合田 幸広\*\*\*

(受付:平成21年10月8日, 受理:平成22年2月3日)

## Analysis of Organophosphorus Pesticide Residues in Crude Drugs (Part 3\*)

Masayuki SATO\*\*, Masaki ANETAI\*\*,  
Hiroyuki KAMAKURA\*\*\* and Yukihiro GODA\*\*\*

## Summary

A method was developed for simultaneous determination of 28 organophosphorus pesticides in Angelica Dahurica Root (ANGELICAE DAHURICAE RADIX), Astragalus Root (ASTRAGALI RADIX), Cnidium Rhizome (CNIDIUM RHIZOMA), Gardenia Fruit (GARDENIAE FRUCTUS), Glehnia Root (GLEHNIAE RADIX CUM RHIZOMA), Magnolia Bark (MAGNOLIAE CORTEX), Pinellia Tuber (PINELLIAE TUBER), Poria Sclerotium (PORIA), Rehmannia Root (REHMANNIAE RADIX), Rhubarb (RHEI RHIZOMA) and Senega (SENEGAE RADIX).

The pesticides were extracted with aqueous acetonitrile. The extract was cleaned up on a C18 mini-column, and the pesticide-containing fraction of the eluate was concentrated. In the case of Rhubarb, a brown sticky insoluble material was separated from the water solution and dissolved in methanol. After addition of sodium chloride to the concentrated aqueous solution, the pesticides were re-extracted with *n*-hexane. In the case of Senega, a small quantity of methanol was added to the *n*-hexane to prevent emulsification. The extract was washed with water and dried over anhydrous sodium sulfate. The extracts of Magnolia Bark were further cleaned up on a Diol mini-column and a Silica gel mini-column. The extracts of Rhubarb were further cleaned up on an ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> mini-column. The extracts of the other crude drugs were further cleaned up on a Silica gel mini-column.

The determination was performed by gas chromatography with FPD detection. The recoveries of organophosphorus pesticides added at the concentration of 0.4 µg/g to the crude drugs, except for Angelica Dahurica Root, Cnidium Rhizome, Glehnia Root and Magnolia Bark were mostly in the range of 70~120% (peak area method). The recoveries of methidathion, phosmet, edifenphos and phosalone added to Angelica Dahurica Root, Cnidium Rhizome and Glehnia Root were greater than 120%. The recoveries of quinalphos and iprobenfos added to Magnolia Bark were 42% and 33%, respectively. These lower recoveries may be due to reactions with components of the crude drug during extraction procedures.

The established method was applied to 111 samples of 16 kinds of crude drugs. Seven kinds of organophosphorus pesticides were detected in 6 samples of 3 kinds of crude drugs produced in Japan and 12 samples of 4 kinds of crude drugs produced in the People's Republic of China in the range of trace to 0.54 ppm.

The Agricultural Chemicals Regulation Law was revised on March 10, 2003, and states that a person who uses agricultural chemicals shall not use them contrary to the regulations determined by ministerial ordinances (Article 12). Four kinds of organophosphorus pesticides regulated by this law were detected in 4 samples of 2 kinds of crude drugs.

## Key words

Angelica Dahurica Root, Astragalus Root, Cnidium Rhizome, Gardenia Fruit, Glehnia Root, Magnolia Bark, Pinellia Tuber, Poria Sclerotium, Rehmannia Root, Rhubarb, Senega, Organophosphorus pesticide, Pesticide residue, GC-FPD

\* 第2報: 医薬品研究, 39(4), 203-222 (2008)

\*\* 北海道立衛生研究所 札幌市北区北19条西12丁目 (〒060-0819)

Hokkaido Institute of Public Health, Kita-19, Nishi-12, Kita-ku, Sapporo 060-0819, Japan

\*\*\* 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀1-18-1 (〒158-8501)

National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

## 1. 緒言

生薬・漢方製剤の原料である生薬の約9割は海外からの輸入に依存している。しかし、主な生薬の輸出国である中国では自然保護などを理由に、カンゾウ及びマオウの輸出規制を行うなど、生薬原料の確保は、常に重要課題となっている。

生薬は天然物であり、野生品の場合には農薬が残留している可能性は低い。しかし、現在中国においても6割程度は栽培品となり、栽培時に様々な農薬が使用されている。また、既に禁止された土壌残留性農薬が作物に移行する可能性、収穫後に虫害等を防ぐ目的で農薬が使用される可能性もある。

国内では平成15年3月10日、農薬取締法が一部改正され<sup>1)</sup>、無登録農薬の使用禁止、農薬使用基準の遵守義務化、罰則の強化などの措置が講じられた。従来、薬用植物についてはマイナー作物であることから、農薬使用基準の対象作物には含まれていなかった。改正後は、農作物等との組み合わせで承認された農薬以外、使用禁止となることから、生産現場ではその対応に迫られた。

こうした中、厚生労働省の研究班において、生薬中の残留農薬について調査研究が実施され<sup>2-4)</sup>、その結果、11種の生薬から有機塩素系、8種からピレスロイド系、5種から有機リン系農薬が検出された。この研究班の結果を踏まえ、第十五改正日本薬局方（日局十五）では、有機塩素系農薬について、従来の5品目に加え15品目の残留限度値が追加された。また、日本漢方生薬製剤協

会（日漢協）では、従来ニンジン、センナを配合する漢方製剤及び生薬製剤を対象に有機塩素系農薬に関する自主基準を設定していたが、会員会社に対し残留農薬試験の実施状況を調査すると共に、残留農薬に関し、有機リン系、ピレスロイド系も含めた追加自主基準を設定した<sup>5,6)</sup>。

著者らは生薬中の有機リン系農薬残留実態を明らかにするため、これまでに生薬26品目について分析法を検討し、残留調査を実施してきた<sup>4,7)</sup>。今回、新たに11品目の生薬について28種の有機リン系農薬分析法を検討し、残留調査を実施した。更に、農薬取締法が一部改正されたことを踏まえ、国内及び国外における有機リン系農薬の使用実態について調査するため、生薬の生産地又は生産国、生薬問屋等への入荷年月日を調べ、既に分析法を確立した4品目の生薬（トウキ：北海当帰及び大和当帰、ウイキョウ及びシャクヤク）<sup>7)</sup>及び日本薬局方適用外の中国産川芎（RHIZOMA CHUANXIONG）についても残留調査を実施した。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料

平成13年10月～平成20年7月に生薬問屋及び札幌市内の薬局より購入あるいは生薬問屋より提供を受けた以下の16品目（薬用部位により根部、果実、樹皮及び菌類の4群に分類）111検体を使用した。各生薬の生産国及び内訳をTable 1に示した。また、各生薬のラテ

Table 1 Origin of Crude Drugs

Crude drug		Japan	China <sup>*1</sup>	North Korea <sup>*2</sup>	South Korea <sup>*3</sup>
Angelica Dahurica Root	ビャクシ	2			4
Astragalus Root	オウギ	3	5		
Cnidium Rhizome	センキュウ	11			
Fennel	ウイキョウ	2	9		
Gardenia Fruit	サンシシ		3		
Glehnia Root	ハマボウフウ	3	4		
Japanese Angelica Root (Hokkai) <sup>*4</sup>	トウキ	7	1		
Japanese Angelica Root (Yamato) <sup>*5</sup>	トウキ	3	3		
Magnolia Bark	コウボク	2	1		
Peony Root	シャクヤク	5	6		
Pinellia Tuber	ハンゲ		3		
Poria Sclerotium	ブクリョウ		2	1	
Rehmannia Root	ジオウ	1	11		
Rhubarb	ダイオウ	2	7		
Senega	セネガ	6			
Szechwan Lovage Rhizome	川芎		4		

<sup>\*1</sup> the People's Republic of China, <sup>\*2</sup> the Democratic People's Republic of Korea, <sup>\*3</sup> the Republic of Korea, <sup>\*4</sup> prepared from *Angelica acutiloba* var. *sugiyamae*, <sup>\*5</sup> prepared from *Angelica acutiloba*

ン名と使用部位を以下に示す。なお、センキュウの場合、日本薬局方での別名（漢字名）は川芎であるが、中国薬典で規定した川芎（ローマ字表記名 Chuanxiong, 英名 Szechwan Lovage Rhizome）とは、植物が異なる。本論文では、中国薬典で規定した川芎と日本薬局方で規定したセンキュウを区別するため、川芎と記載した場合には、中国薬典で規定したものを表すものとした。

根部：ビャクシ (ANGELICAE DAHURICAE RADIX, 根), トウキ (ANGELICAE RADIX, 北海道及び大和当帰を区別して使用, 根), オウギ (ASTRAGALI RADIX, 根), センキュウ (CNIDII RHIZOMA, 根茎), 川芎 (RHIZOMA CHUANXIONG, 根茎), ハマボウフウ (GLEHNIARADIX CUM RHIZOMA, 根及び根茎), シャクヤク (PAEONIAE RADIX, 根), ハンゲ (PINELLIAE TUBER, 塊茎), ジオウ (REHMANNIAE RADIX, 熟地黄及び乾地黄を区別して使用, 根), ダイオウ (RHEIRHIZOMA, 根茎), セネガ (SENEGAE RADIX, 根)。

果実：ウイキョウ (FOENICULI FRUCTUS) 及びサンシシ (GARDENIAE FRUCTUS)。

樹皮：コウボク (MAGNOLIAE CORTEX)。

菌類：ブクリョウ (PORIA, 菌核)。

## 2.2 試薬

Table 2 に示した 28 種の有機リン系農薬のうち、イソカルボホス及びフェンチオン (MPP) は Dr. Ehrenstorfer 社製、レプトホスは Accu Standard 社製、他の 25 農薬は和光純薬工業<sup>(株)</sup>製の標準品を用いた。アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル、トルエン及び *n*-ヘキサン（ヘキサン）は和光純薬工業<sup>(株)</sup>製残留農薬試験用を、メタノールは和光純薬工業<sup>(株)</sup>製高速液体クロマトグラフ用又は特級品を用いた。塩化ナトリウム（特級）、無水硫酸ナトリウム（特級又は残留農薬・PCB 試験用）は和光純薬工業<sup>(株)</sup>製を用いた。水は蒸留脱イオン水を用いた。Sep-Pak Vac tC<sub>18</sub> カートリッジ (5 g/20 cc, C18 ミニカラム), Sep-Pak Plus Silica カートリッジ (690 mg, シリカゲルミニカラム) 及び Sep-Pak Vac Diol カートリッジ (1 cc, ジオールミニカラム) は Waters 社製、ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> カートリッジ (500 mg/500 mg/6 mL, ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> ミニカラム) はスペルコ社製を用いた。

## 2.3 農薬混合標準溶液

それぞれの農薬標準品を 500 µg/mL の濃度となるようにアセトンに溶解後、ガスクロマトグラム上で保持時間の近い農薬のピークが重ならないように、Table 2 に示した A~D の 4 グループに分け、アセトンで希釈し各

2 µg/mL の濃度に調製した。

## 2.4 試料調製

サンシシについてはオスターブレンダー (OSTER CORPORATION 社製) で粉碎し、ウイキョウについてはそのまま分析用試料とした。乾地黄については、押切で細切後、オスターブレンダーで粉碎し、熟地黄については、押切で細切後、3~5 日間自然乾燥し、オスターブレンダーで粉碎した。その他の生薬については超遠心粉碎機 (特) レッチェ ZM100, メッシュスクリーン 1.0 mm φ 使用) で粉碎した。

## 2.5 試験溶液の調製 (Scheme 1)

試料 5.0 g に水 20 mL を加え、1 時間放置後、アセトニトリル 80 mL を加え、5 分間ホモジナイズ (特) 日本精機製作所製 Ace HOMOGENIZER, 5,000 rpm) した。吸引ろ過後、ろ紙上の残留物にアセトニトリル/水 (4 : 1) 50 mL を加え、上記と同様に操作し、ろ液を合わせた。ろ液の 4 分の 1 量をあらかじめアセトン 30 mL, 水 20 mL で順次洗浄した C18 ミニカラム (再使用時には、アセトン 60 mL, 水 20 mL で順次洗浄。ただし、4 回以内) に注入し、更にアセトニトリル/水 (4 : 1) 50 mL を注入した。カラムから溶出した液を合わせ、40°C 以下で減圧濃縮しアセトニトリルを除去した。

ダイオウを除く生薬については、濃縮液を塩化ナトリウム 5 g を入れた分液漏斗に移した。ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とう後、ヘキサン層を分取した。セネガについては、ヘキサン転溶する際にエマルジョンが発生したため、メタノール 3 mL を添加し、2 層に分離した。水層にヘキサン 50 mL を加え、上記と同様の操作を繰り返した。ダイオウについては、濃縮液を塩化ナトリウム 5 g を入れた分液漏斗に移した。減圧濃縮器中の不溶物についてはメタノール 3 mL に溶解し、分液漏斗に移した。ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とう後、ヘキサン層を分取した。分液漏斗中の不溶物をメタノール 3 mL に溶解後、水層にヘキサン 50 mL を加え、上記と同様の操作を繰り返した。

ヘキサン層を合わせ、水 50 mL で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。これを約 2 mL に減圧濃縮後、窒素気流下で乾固した。抽出残渣をアセトン/ヘキサン (3 : 17) 5.0 mL に溶解したものを試料溶液 A (コウボク及びダイオウを除く生薬), ヘキサン 5.0 mL に溶解したものを試料溶液 B (コウボク), トルエン/酢酸エチル (1 : 4) 5.0 mL に溶解したものを試料溶液 C (ダイオウ) とした。

コウボク及びダイオウを除く生薬を分析する場合には、

Table 2 Recoveries of 28 Organophosphorus Pesticides from Crude Drugs with DB-1 Column

Pesticide	Recovery (%), Mean (CV*)					
	Angelica Dahurica Root		Astragalus Root		Cnidium Rhizome	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	101 (3.1)	111 (3.7)	97 (3.8)	103 (5.0)	108 (4.6)	112 (6.8)
(Z)-Chlorfenvinphos	106 (6.5)	103 (3.9)	96 (4.7)	99 (2.4)	103 (5.2)	108 (6.3)
Chlorpyrifos	94 (3.4)	97 (3.7)	83 (4.8)	86 (2.3)	98 (7.3)	98 (4.0)
Chlorpyrifos-methyl	96 (3.7)	101 (2.2)	86 (2.3)	90 (0.5)	102 (6.1)	108 (6.5)
Diazinon	90 (4.4)	90 (0.8)	91 (0.2)	92 (2.0)	97 (4.2)	104 (7.9)
Dichlorvos (DDVP)	94 (3.0)	95 (5.3)	61 (6.8)	62 (6.4)	95 (10.6)	108 (9.2)
Ethoprophos	92 (6.3)	102 (2.6)	95 (0.5)	94 (2.2)	102 (5.2)	86 (4.7)
Fenitrothion (MEP)	104 (4.9)	112 (2.0)	94 (1.7)	96 (3.2)	110 (5.2)	123 (7.6)
Malathion	104 (3.6)	107 (6.0)	89 (1.7)	96 (2.1)	111 (6.5)	117 (4.6)
Methidathion (DMTP)	122 (7.0)	141 (5.9)	95 (1.8)	93 (2.6)	138 (6.2)	154 (4.2)
Group B						
Ethion	94 (2.3)	94 (0.2)	89 (3.0)	87 (3.1)	97 (6.7)	99 (4.3)
Parathion	96 (0.6)	102 (3.7)	98 (5.3)	93 (2.0)	95 (6.5)	106 (4.3)
Parathion-methyl	102 (1.5)	123 (2.4)	96 (5.4)	99 (4.6)	112 (4.8)	138 (5.6)
Phosmet (PMP)	172 (4.0)	195 (1.9)	93 (9.9)	98 (9.6)	283 (6.4)	326 (9.0)
Pirimiphos-methyl	92 (2.9)	94 (0.9)	97 (6.5)	92 (3.7)	95 (5.2)	97 (6.2)
Quinalphos	100 (2.1)	104 (3.9)	97 (5.3)	101 (5.8)	102 (5.4)	103 (3.4)
Group C						
Edifenphos (EDDP)	152 (7.4)	156 (8.2)	116 (7.5)	109 (5.8)	150 (2.1)	182 (2.0)
EPN	95 (3.0)	91 (1.1)	105 (7.0)	100 (5.1)	98 (3.2)	115 (1.6)
Fenthion (MPP)	95 (3.8)	108 (2.7)	98 (4.2)	98 (0.6)	90 (4.0)	101 (1.5)
Phenthoate (PAP)	95 (5.2)	102 (4.1)	98 (1.3)	102 (2.1)	70 (6.9)	80 (2.1)
Phosalone	131 (4.7)	130 (6.1)	106 (4.4)	104 (3.3)	141 (2.0)	164 (0.5)
Tolclophos-methyl	93 (3.6)	106 (2.8)	91 (3.1)	95 (5.6)	92 (1.0)	103 (0.6)
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	103 (2.0)	95 (6.5)	99 (3.8)	103 (3.9)	98 (5.6)	118 (6.4)
Cyanophos (CYAP)	99 (2.0)	120 (4.3)	107 (1.7)	144 (2.6)	106 (6.0)	147 (4.9)
Iprobenfos (IBP)	104 (0.4)	117 (4.5)	102 (4.8)	120 (6.1)	106 (4.7)	112 (5.5)
Isocarbofos	103 (2.5)	109 (1.7)	101 (3.8)	111 (2.1)	111 (3.9)	125 (5.8)
Leptophos (MBCP)	91 (4.2)	97 (3.4)	90 (14.6)	89 (13.8)	105 (6.3)	117 (7.8)
Pyridaphenthion	119 (2.5)	125 (3.5)	103 (5.8)	107 (0.8)	131 (5.8)	166 (6.3)

Pesticide	Recovery (%), Mean (CV*)					
	Gardenia Fruit		Glehnia Root		Magnolia Bark	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	97 (4.0)	101 (5.4)	95 (5.0)	104 (5.0)	73 (3.9)	47 (3.3)
(Z)-Chlorfenvinphos	96 (4.6)	95 (5.7)	100 (4.2)	105 (4.6)	59 (3.5)	60 (3.0)
Chlorpyrifos	91 (4.2)	95 (7.5)	87 (7.6)	90 (2.1)	82 (6.3)	66 (1.3)
Chlorpyrifos-methyl	94 (5.4)	96 (6.6)	92 (1.6)	100 (1.0)	76 (8.5)	65 (3.0)
Diazinon	94 (6.7)	94 (5.1)	86 (4.4)	92 (1.7)	61 (2.5)	36 (6.4)
Dichlorvos (DDVP)	79 (7.8)	89 (7.7)	83 (8.8)	142 (2.9)	101 (6.0)	72 (10.6)
Ethoprophos	96 (5.0)	104 (6.3)	92 (1.2)	125 (0.5)	86 (6.4)	64 (5.4)
Fenitrothion (MEP)	101 (4.2)	105 (4.4)	102 (4.1)	113 (3.2)	80 (8.7)	73 (1.1)
Malathion	98 (7.4)	102 (6.6)	90 (8.8)	97 (2.5)	82 (5.7)	66 (3.9)
Methidathion (DMTP)	101 (5.7)	106 (6.4)	130 (6.5)	143 (2.0)	57 (3.1)	20 (8.5)
Group B						
Ethion	101 (4.3)	106 (5.7)	91 (8.4)	99 (7.0)	79 (14.1)	31 (2.5)
Parathion	100 (5.7)	117 (5.1)	95 (6.9)	102 (5.2)	72 (12.3)	69 (10.6)
Parathion-methyl	103 (3.7)	165 (6.8)	110 (5.3)	123 (8.4)	77 (4.2)	69 (7.3)
Phosmet (PMP)	118 (5.7)	171 (6.7)	170 (20.5)	184 (18.4)	85 (16.1)	91 (15.7)
Pirimiphos-methyl	100 (6.3)	98 (6.8)	86 (7.1)	92 (5.1)	78 (12.7)	64 (7.6)
Quinalphos	101 (5.0)	120 (4.8)	96 (6.1)	104 (6.8)	42 (10.0)	28 (5.5)
Group C						
Edifenphos (EDDP)	111 (4.3)	180 (0.8)	137 (12.9)	114 (11.9)	82 (3.4)	143 (8.3)
EPN	103 (3.4)	123 (0.8)	98 (6.2)	106 (6.9)	79 (7.1)	82 (8.7)
Fenthion (MPP)	101 (3.2)	121 (3.6)	88 (7.5)	93 (4.4)	73 (17.5)	58 (14.6)
Phenthoate (PAP)	99 (0.4)	99 (5.4)	78 (6.9)	83 (3.1)	72 (7.2)	62 (4.1)
Phosalone	106 (4.6)	156 (0.6)	130 (9.6)	150 (10.2)	84 (9.4)	82 (11.0)
Tolclophos-methyl	99 (3.0)	101 (5.2)	87 (3.9)	99 (2.4)	82 (6.1)	66 (7.8)
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	99 (2.3)	114 (3.6)	98 (4.1)	123 (2.6)	75 (1.5)	118 (4.2)
Cyanophos (CYAP)	114 (3.3)	225 (6.1)	105 (4.9)	118 (2.9)	86 (4.3)	76 (4.7)
Iprobenfos (IBP)	102 (3.4)	137 (2.0)	98 (7.3)	101 (4.5)	33 (18.4)	8 (5.9)
Isocarbofos	99 (2.0)	130 (2.4)	103 (2.9)	109 (4.3)	74 (5.0)	41 (2.7)
Leptophos (MBCP)	100 (5.9)	103 (5.4)	101 (6.3)	105 (5.0)	79 (3.1)	79 (1.1)
Pyridaphenthion	93 (0.7)	170 (7.0)	117 (7.3)	165 (6.5)	77 (14.6)	88 (10.8)



Table 2 Continued

n=3

Pesticide	Recovery (%), Mean (CV*)					
	Pinellia Tuber		Poria Sclerotium		Rehmannia Root	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	104 (1.0)	105 (1.3)	97 (6.3)	96 (6.8)	104 (2.9)	103 (1.5)
(Z)-Chlorfenvinphos	105 (8.0)	101 (2.4)	95 (3.6)	95 (4.0)	97 (2.3)	105 (2.6)
Chlorpyrifos	83 (7.5)	86 (9.2)	90 (4.4)	86 (5.5)	87(13.4)	76(16.2)
Chlorpyrifos-methyl	88 (4.0)	89 (3.2)	93 (1.1)	90 (4.3)	94 (2.0)	98 (4.4)
Diazinon	92 (3.7)	94 (1.7)	94 (4.1)	91 (2.4)	92 (2.4)	96 (5.7)
Dichlorvos (DDVP)	71 (4.3)	69 (1.1)	58 (5.4)	55 (4.3)	74 (6.4)	66 (3.1)
Ethoprophos	100 (2.2)	101 (1.6)	96 (3.3)	92 (4.2)	101 (3.6)	108 (1.9)
Fenitrothion (MEP)	102 (1.5)	100 (1.8)	97 (2.1)	97 (4.0)	106 (1.4)	109 (2.0)
Malathion	101 (2.7)	107 (2.1)	101 (5.0)	101 (1.5)	107 (6.8)	103 (3.7)
Methidathion (DMTP)	102 (1.4)	98 (1.5)	106 (8.8)	100 (4.9)	106 (2.9)	120 (0.5)
Group B						
Ethion	92 (8.6)	94 (8.5)	87 (4.7)	83 (4.3)	97 (4.9)	95 (8.2)
Parathion	102 (5.4)	102 (4.4)	89(14.9)	83(12.9)	106 (7.7)	115 (9.2)
Parathion-methyl	104 (6.5)	102 (5.5)	93 (7.2)	86 (8.1)	88 (9.1)	159 (8.4)
Phosmet (PMP)	100 (6.4)	103 (5.5)	100 (4.4)	96 (2.1)	150 (5.6)	228 (8.8)
Pirimiphos-methyl	101 (2.7)	101 (5.4)	97 (4.3)	89 (3.5)	103 (5.0)	108 (6.2)
Quinalphos	102 (6.1)	103 (5.7)	96 (1.6)	90 (5.5)	107 (8.6)	186 (7.1)
Group C						
Edifenphos (EDDP)	99 (3.6)	101 (4.2)	94 (0.7)	96 (4.0)	107 (6.8)	126 (7.4)
EPN	104 (5.9)	100 (2.8)	89 (3.3)	87 (5.1)	96 (6.1)	93(14.4)
Fenthion (MPP)	95 (5.1)	95 (4.4)	90 (1.3)	89 (2.6)	94 (6.7)	92 (8.9)
Phenthoate (PAP)	86 (3.5)	90 (1.4)	93 (2.4)	90 (1.8)	90 (3.7)	93 (7.5)
Phosalone	102 (4.0)	100 (4.0)	102 (0.7)	94 (3.1)	100 (2.8)	114 (7.8)
Tolclophos-methyl	91 (4.8)	92 (2.9)	93 (3.8)	84 (5.5)	87 (7.5)	86 (8.7)
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	105 (2.7)	110 (0.7)	99 (2.3)	92 (1.9)	101 (3.5)	124 (3.2)
Cyanophos (CYAP)	105 (2.1)	108 (2.8)	98 (2.9)	98 (1.2)	102 (3.2)	153 (4.4)
Iprobenfos (IBP)	110 (4.2)	105 (2.0)	100 (1.3)	97 (1.5)	101 (2.8)	108 (6.0)
Isocarbofos	103 (2.7)	99 (1.9)	94 (1.0)	92 (3.5)	102 (3.6)	123 (2.6)
Leptophos (MBCP)	100 (1.9)	102 (4.6)	90 (3.3)	82 (4.8)	67(14.8)	69(16.0)
Pyridaphenthion	103 (1.9)	105 (4.1)	94 (1.9)	89 (1.2)	133 (0.5)	168 (3.9)

Pesticide	Recovery (%), Mean (CV*)			
	Rhubarb		Senega	
	Area	Height	Area	Height
Group A				
(E)-Chlorfenvinphos	102 (8.1)	102 (3.7)	94 (5.3)	93 (3.9)
(Z)-Chlorfenvinphos	102 (3.4)	103 (5.2)	93 (6.8)	94 (4.8)
Chlorpyrifos	93 (4.6)	96 (1.5)	87 (2.7)	92 (5.0)
Chlorpyrifos-methyl	89 (3.4)	91 (5.2)	89 (1.3)	90 (4.1)
Diazinon	86 (5.3)	88 (5.0)	88 (1.8)	91 (4.7)
Dichlorvos (DDVP)	50(13.2)	50(17.1)	70 (7.6)	68 (5.9)
Ethoprophos	94 (2.9)	90 (5.9)	92 (0.6)	91 (1.9)
Fenitrothion (MEP)	98 (3.3)	103 (5.7)	93 (3.6)	99 (3.2)
Malathion	99 (4.3)	103 (6.6)	91 (4.5)	96 (6.7)
Methidathion (DMTP)	98 (8.6)	100 (8.6)	101 (6.0)	107 (5.0)
Group B				
Ethion	100 (4.7)	103 (5.6)	94 (9.3)	93(15.7)
Parathion	98 (3.2)	104 (6.7)	102 (9.0)	98(13.9)
Parathion-methyl	99 (2.2)	102 (3.6)	98 (9.8)	105(13.2)
Phosmet (PMP)	110 (7.9)	117(11.4)	104(14.9)	118(19.6)
Pirimiphos-methyl	96 (5.6)	95 (3.7)	96 (6.9)	94(13.2)
Quinalphos	103 (6.9)	107 (7.3)	99 (9.5)	102(12.2)
Group C				
Edifenphos (EDDP)	96 (1.8)	93 (1.0)	119 (3.2)	126 (5.3)
EPN	91 (4.7)	99 (3.3)	95 (5.8)	99 (3.3)
Fenthion (MPP)	41(12.8)	41(14.9)	81 (3.0)	83 (4.8)
Phenthoate (PAP)	89 (3.6)	90 (3.9)	86 (2.4)	89 (3.3)
Phosalone	90 (1.6)	88 (3.7)	114 (3.2)	123 (3.6)
Tolclophos-methyl	91 (9.3)	91 (8.3)	90 (2.0)	89 (5.4)
Group D				
Cyanofenphos (CYP)	84 (1.6)	84 (2.9)	104 (4.5)	124 (3.5)
Cyanophos (CYAP)	91 (2.0)	92 (1.0)	108 (4.9)	147 (2.2)
Iprobenfos (IBP)	95 (3.4)	97 (1.6)	111 (3.5)	118 (2.0)
Isocarbofos	85 (3.4)	91 (1.5)	106 (1.2)	121 (3.9)
Leptophos (MBCP)	80 (4.2)	87 (4.7)	103 (9.8)	103(14.4)
Pyridaphenthion	78 (7.2)	78 (7.5)	128 (4.1)	163 (6.4)

\* coefficient of variation



**Scheme 1** Schematic Diagram for Determination of Organophosphorus Pesticides in Angelica Dahurica Root, Astragalus Root, Cnidium Rhizome, Fennel, Gardenia Fruit, Glehnia Root, Japanese Angelica Root, Magnolia Bark, Peony Root, Pinellia Tuber, Poria Sclerotium, Rehmannia Root, Rhubarb, Senega and Szechwan Lovage Rhizome

あらかじめアセトン/ヘキサン (3 : 17) 10 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに、試料溶液 A 2.0 mL を注入した。アセトン/ヘキサン (3 : 17) 3 mL, 10 mL を順次注入し、カラムから溶出した液を合わせた。溶出液を 40

℃以下で約 2 mL に減圧濃縮後、窒素気流下で乾固し、アセトン 2.0 mL に溶解し、試験溶液 I とした。

コウボクを分析する場合には、シリカゲルミニカラムを後に連結したジオールミニカラム (ジオール-シリカ

ゲルミニカラム、あらかじめ各々ヘキサン10 mLで洗浄)に、試料溶液 B 1.0 mLを注入した。ヘキサン15 mLで洗浄後、ジオールミニカラムを取り外し、アセトン/ヘキサン(1:9)20 mLを注入した。カラムから溶出した液を40°C以下で約2 mLに減圧濃縮後、窒素気流下で乾固し、アセトン1.0 mLに溶解し、試験溶液Ⅱとした。

ダイオウを分析する場合には、あらかじめトルエン/酢酸エチル(1:4)10 mLで洗浄した ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub>ミニカラムに、試料溶液 C 1.0 mLを注入した。トルエン/酢酸エチル(1:4)25 mLを注入し、カラムから溶出した液を合わせた。溶出液を40°C以下で約2 mLに減圧濃縮後、窒素気流下で乾固し、アセトン1.0 mLに溶解し、試験溶液Ⅲとした。

## 2.6 装置及び GC 測定条件

前報<sup>7)</sup>に従い、炎光光度型検出器付ガスクロマトグラフ(GC-FPD)及びガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)による分析を行った。ただし、ダイオウについては、カラム1(定量用)にJ&W社製DB-1又はDB-1MS(0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚0.25 µm)を用いた。

モニターマスイオン(*m/z*): 323, 185, 169, 157 (EPN); 289, 230, 136 (イソカルボホス); 220, 187, 185, 109 (ジクロロボス); 304, 199, 179, 137 (ダイアジノン); 263, 125, 109 (パラチオンメチル); 277, 260, 125 (フェニトロチオン); 274, 246 (フェントエート)。

## 2.7 添加回収試験

分析用試料5.0 gにあらかじめ農薬混合標準溶液1.0 mLを添加し、30分後に抽出操作を開始した。試行数は無添加試料については1回、添加試料については3回とした。

## 3. 結果

### 3.1 添加回収試験

前報<sup>7)</sup>と同様に、DB-1及びCBP-10カラムを用いた場合のピーク面積及びピーク高による回収率を算出した(Table 2, 3)。

DB-1カラムを用いた場合、オウギ、サンシシ、ハンゲ及びブクリョウにおける回収率は、ジクロロボス以外、83~118% (面積)であった。

バックシ、センキュウ及びハマボウフウ中のメチダチオン、ホスメット、エディフェンホス及びホサロン、センキュウ、ジオウ及びセネガ中のピリダフェンチオン、ジオウ中のホスメットの回収率は122~283% (面積)で

あった。

オウギ、ブクリョウ及びダイオウ中のジクロロボス、コウボク中の(Z)-クロルフェンビンホス、ダイアジノン、メチダチオン、キナルホス及びイプロベンホス、ジオウ中のレプトホス及びダイオウ中のフェンチオンの回収率は33~67% (面積)であった。

ハマボウフウ、コウボク及びセネガ中のホスメットのCVは高値(14.9~20.5%)を示した。

CBP-10カラムを用いた場合、オウギ、サンシシ、ハンゲ及びブクリョウにおける回収率は、ジクロロボス以外、84~120% (面積)であった。

なお、ホスメット、エディフェンホス、ホサロン、レプトホス及びピリダフェンチオンについては、GC感度低下のため、CBP-10カラムによる定量は困難であった。

ガスクロマトグラム上の保持時間において、標準溶液の場合と比較し0.1分以上の差が認められた農薬をTable 4に示した。バックシ中のホサロン、センキュウ中のダイアジノン、ハマボウフウ中のエディフェンホス、コウボク中の(E)-クロルフェンビンホス、(Z)-クロルフェンビンホス、エトプロホス、エチオン、ホスメット、エディフェンホス、EPN、ホサロン、シアノフェンホス、レプトホス及びピリダフェンチオンに0.102分~1.261分の遅れが認められた。ダイオウ中のジクロロボス(CBP-10)については0.134分早まった。

コウボク中のエチオンのピークは、CBP-10カラムを用いた場合、2本又は3本に分離した。

### 3.2 生薬中の残留農薬

生薬16品目111検体について28種類の有機リン系農薬の残留調査を行った結果、6品目18検体から7種類の有機リン系農薬が検出された(Table 5)。

国内産トウキ(北海当帰)7検体中1検体(平成16年入荷)からフェニトロチオンが痕跡量、国内産トウキ(大和当帰)3検体中2検体(平成14年及び平成17年入荷)からフェニトロチオンが最大0.39 ppm、1検体(平成17年入荷)からダイアジノンが0.11 ppm、1検体(平成14年入荷)からフェントエートが0.20 ppm検出された。中国産トウキ(大和当帰)3検体中2検体からフェニトロチオンが最大0.05 ppm検出された。

国内産センキュウ11検体中2検体(平成16年6月及び平成17年11月入荷)からEPNが最大0.54 ppm、2検体(いずれも平成17年11月入荷)からフェントエートが最大0.40 ppm検出された。

中国産川芎4検体中3検体からイソカルボホスが最大0.16 ppm、2検体からパラチオンメチルが最大0.18 ppm検出された。

**Table 3** Recoveries of 28 Organophosphorus Pesticides from Crude Drugs with CBP-10 Column

Pesticide	Recovery (%), Mean (CV <sup>*1</sup> )					
	Angelica Dahurica Root		Astragalus Root		Cnidium Rhizome	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
n=3						
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	108 (9.6)	113 (10.4)	92 (3.4)	98 (4.2)	114 (8.0)	108 (7.3)
(Z)-Chlorfenvinphos	112 (10.0)	116 (8.1)	90 (4.3)	96 (4.3)	112 (5.8)	111 (4.3)
Chlorpyrifos	92 (9.2)	101 (6.9)	85 (4.9)	79 (3.9)	90 (5.2)	96 (5.0)
Chlorpyrifos-methyl	93 (10.3)	107 (12.0)	84 (4.8)	87 (2.7)	95 (10.5)	108 (7.9)
Diazinon	96 (6.9)	95 (5.9)	89 (3.6)	86 (3.0)	86 (5.8)	70 (3.2)
Dichlorvos (DDVP)	82 (6.6)	81 (8.1)	64 (9.7)	66 (6.3)	80 (6.6)	75 (4.7)
Ethoprophos	94 (7.2)	99 (8.1)	87 (6.5)	92 (5.4)	98 (5.4)	101 (6.7)
Fenitrothion (MEP)	99 (14.5)	104 (8.5)	93 (3.8)	94 (6.3)	111 (0.9)	120 (2.5)
Malathion	100 (10.9)	120 (8.2)	95 (3.3)	93 (6.2)	106 (2.0)	104 (2.8)
Methidathion (DMTP)	129 (14.1)	126 (17.8)	94 (6.1)	99 (7.8)	126 (12.6)	127 (6.9)
Group B						
Ethion	96 (0.6)	101 (1.4)	87 (5.6)	89 (5.9)	99 (5.6)	102 (5.0)
Parathion	93 (2.3)	93 (0.9)	94 (3.8)	101 (6.4)	100 (7.1)	104 (5.8)
Parathion-methyl	96 (3.2)	108 (4.8)	96 (3.6)	104 (2.6)	126 (11.2)	124 (6.8)
Phosmet (PMP)	ND <sup>*2</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
Pirimiphos-methyl	90 (3.6)	94 (2.6)	94 (6.5)	91 (8.7)	93 (3.2)	96 (3.0)
Quinalphos	106 (0.6)	109 (1.1)	95 (6.3)	100 (2.9)	97 (7.0)	106 (6.4)
Group C						
Edifenphos (EDDP)	— <sup>*3</sup>	—	—	—	—	—
EPN	102 (5.5)	99 (1.5)	104 (7.4)	110 (4.1)	111 (4.5)	103 (3.9)
Fenthion (MPP)	99 (3.8)	100 (3.6)	99 (2.5)	103 (4.4)	94 (2.9)	94 (3.3)
Phenthoate (PAP)	95 (6.0)	99 (3.3)	105 (5.6)	105 (5.6)	93 (5.1)	92 (1.9)
Phosalone	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tolclophos-methyl	93 (1.6)	91 (1.5)	99 (0.5)	102 (4.4)	97 (2.0)	98 (1.1)
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	108 (5.9)	110 (6.4)	107 (3.9)	118 (3.6)	109 (4.6)	115 (7.2)
Cyanophos (CYAP)	100 (11.8)	110 (8.3)	102 (10.4)	154 (4.9)	124 (3.3)	146 (1.4)
Iprobenfos (IBP)	108 (10.8)	108 (6.1)	114 (5.4)	153 (3.4)	108 (5.7)	128 (5.4)
Isocarbofos	117 (9.1)	116 (8.4)	120 (5.1)	152 (4.8)	128 (4.2)	137 (2.1)
Leptophos (MBCP)	—	—	—	—	—	—
Pyridaphenthion	—	—	—	—	—	—
Pesticide	Recovery (%), Mean (CV <sup>*1</sup> )					
	Gardenia Fruit		Glehnia Root		Magnolia Bark	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	97 (0.3)	102 (6.4)	102 (3.5)	102 (2.0)	76 (3.4)	62 (7.6)
(Z)-Chlorfenvinphos	100 (3.3)	109 (6.2)	100 (0.3)	112 (2.7)	86 (2.0)	60 (0.6)
Chlorpyrifos	93 (6.1)	93 (4.6)	100 (2.4)	96 (6.0)	84 (5.0)	77 (1.3)
Chlorpyrifos-methyl	95 (10.7)	105 (3.1)	105 (7.2)	105 (2.5)	103 (5.3)	80 (3.9)
Diazinon	96 (2.3)	98 (4.9)	92 (4.7)	94 (2.4)	66 (2.4)	58 (3.2)
Dichlorvos (DDVP)	88 (13.8)	133 (3.6)	75 (6.5)	77 (5.4)	89 (1.8)	138 (0.9)
Ethoprophos	95 (2.5)	121 (3.0)	91 (3.7)	92 (3.8)	92 (3.5)	83 (2.1)
Fenitrothion (MEP)	101 (1.6)	114 (1.6)	117 (3.4)	113 (2.7)	93 (2.7)	93 (2.4)
Malathion	97 (1.3)	104 (5.5)	113 (3.3)	107 (4.8)	86 (2.6)	84 (4.4)
Methidathion (DMTP)	99 (3.2)	137 (4.7)	162 (4.8)	122 (3.0)	88 (6.0)	50 (3.9)
Group B						
Ethion	94 (5.6)	100 (5.0)	97 (8.8)	102 (6.3)	79 (0.7)	51 (8.8)
Parathion	91 (4.1)	103 (3.9)	102 (6.6)	105 (9.5)	94 (1.0)	92 (3.0)
Parathion-methyl	103 (7.2)	130 (3.5)	122 (12.6)	118 (5.0)	91 (3.0)	96 (4.3)
Phosmet (PMP)	ND <sup>*2</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
Pirimiphos-methyl	90 (3.2)	92 (6.5)	96 (7.7)	97 (4.0)	75 (6.0)	78 (2.7)
Quinalphos	98 (2.3)	113 (4.2)	104 (5.9)	103 (5.9)	46 (3.7)	42 (2.5)
Group C						
Edifenphos (EDDP)	— <sup>*3</sup>	—	—	—	—	—
EPN	101 (9.4)	110 (9.3)	98 (4.0)	96 (3.4)	96 (7.0)	102 (7.9)
Fenthion (MPP)	98 (2.6)	122 (3.2)	89 (3.8)	89 (3.1)	83 (14.0)	85 (16.8)
Phenthoate (PAP)	94 (6.2)	101 (6.9)	92 (7.5)	90 (1.0)	92 (1.9)	89 (7.4)
Phosalone	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tolclophos-methyl	96 (5.9)	107 (3.7)	90 (1.7)	91 (1.5)	85 (6.6)	85 (7.6)
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	105 (6.4)	118 (6.0)	106 (1.4)	113 (0.6)	90 (2.5)	198 (6.9)
Cyanophos (CYAP)	95 (8.9)	147 (9.8)	121 (2.8)	155 (1.2)	90 (8.7)	94 (5.5)
Iprobenfos (IBP)	103 (5.8)	126 (4.1)	105 (2.8)	134 (0.7)	40 (5.0)	23 (5.1)
Isocarbofos	107 (6.8)	127 (5.4)	121 (1.3)	140 (0.1)	82 (3.7)	71 (5.5)
Leptophos (MBCP)	—	—	—	—	—	—
Pyridaphenthion	—	—	—	—	—	—

Table 3 Continued

n=3

Pesticide	Recovery (%), Mean (CV <sup>*1</sup> )					
	Pinellia Tuber		Poria Sclerotium		Rehmannia Root	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	110 (3.1)	113 (0.4)	111 (8.3)	106 (7.3)	107 (1.4)	118 (2.9)
(Z)-Chlorfenvinphos	108 (2.3)	113 (3.3)	103 (7.2)	104 (8.0)	112 (3.5)	117 (3.8)
Chlorpyrifos	87 (6.0)	93 (7.9)	91 (13.6)	91 (9.9)	82 (15.9)	81 (17.7)
Chlorpyrifos-methyl	96 (5.0)	96 (4.6)	97 (14.4)	100 (16.1)	94 (0.2)	99 (4.2)
Diazinon	97 (1.6)	98 (5.4)	98 (10.0)	105 (13.2)	98 (0.7)	96 (3.2)
Dichlorvos (DDVP)	71 (5.9)	72 (1.7)	71 (16.2)	71 (15.0)	74 (15.2)	79 (8.1)
Ethoprophos	103 (4.0)	102 (2.5)	104 (11.4)	107 (13.0)	105 (3.9)	111 (5.1)
Fenitrothion (MEP)	111 (3.3)	107 (2.4)	107 (11.1)	111 (14.2)	110 (4.1)	121 (0.6)
Malathion	108 (0.7)	105 (2.1)	111 (9.9)	113 (12.2)	109 (5.6)	112 (3.3)
Methidathion (DMTP)	109 (3.5)	106 (1.2)	115 (12.6)	112 (9.4)	111 (12.6)	147 (5.9)
Group B						
Ethion	93 (6.7)	87 (8.0)	88 (8.0)	88 (6.5)	92 (10.4)	91 (14.7)
Parathion	98 (2.5)	102 (2.3)	85 (10.4)	85 (13.4)	100 (4.7)	102 (2.9)
Parathion-methyl	102 (5.2)	108 (2.6)	89 (0.4)	93 (4.6)	94 (3.4)	115 (2.2)
Phosmet (PMP)	ND <sup>*2</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
Pirimiphos-methyl	95 (5.8)	98 (2.3)	89 (2.0)	92 (3.0)	99 (2.1)	100 (5.0)
Quinalphos	100 (2.6)	103 (1.8)	92 (1.4)	96 (1.4)	101 (2.2)	108 (2.0)
Group C						
Edifenphos (EDDP)	— <sup>*3</sup>	—	—	—	—	—
EPN	101 (13.8)	103 (13.7)	97 (3.7)	95 (4.5)	94 (10.2)	96 (8.7)
Fenthion (MPP)	102 (8.5)	105 (7.6)	98 (6.8)	101 (5.5)	89 (5.8)	102 (6.4)
Phenthoate (PAP)	102 (10.5)	101 (8.7)	101 (8.4)	106 (6.2)	100 (5.3)	99 (6.8)
Phosalone	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tolclophos-methyl	96 (8.2)	99 (7.4)	89 (8.8)	90 (10.3)	91 (7.8)	87 (7.5)
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	99 (2.7)	104 (2.2)	100 (2.7)	104 (3.6)	107 (2.2)	126 (3.8)
Cyanophos (CYAP)	111 (2.0)	108 (5.2)	103 (5.6)	106 (2.8)	160 (4.0)	192 (4.5)
Iprobenfos (IBP)	105 (5.4)	106 (5.0)	107 (4.3)	114 (2.5)	118 (4.1)	160 (2.5)
Isocarbofos	109 (1.5)	108 (3.9)	96 (4.8)	100 (4.4)	138 (7.3)	173 (4.7)
Leptophos (MBCP)	—	—	—	—	—	—
Pyridaphenthion	—	—	—	—	—	—
Pesticide	Recovery (%), Mean (CV <sup>*1</sup> )					
	Rhubarb		Senega			
	Area	Height	Area	Height		
Group A						
(E)-Chlorfenvinphos	98 (1.3)	114 (5.7)	97 (5.7)	95 (2.5)		
(Z)-Chlorfenvinphos	87 (4.5)	110 (7.9)	97 (6.5)	100 (7.4)		
Chlorpyrifos	90 (5.3)	103 (4.7)	92 (5.2)	94 (4.3)		
Chlorpyrifos-methyl	103 (0.9)	150 (3.1)	96 (4.8)	99 (6.2)		
Diazinon	91 (6.2)	104 (8.6)	91 (4.8)	96 (7.1)		
Dichlorvos (DDVP)	52 (25.3)	81 (20.3)	71 (3.6)	73 (7.6)		
Ethoprophos	102 (6.7)	148 (6.2)	90 (5.3)	93 (7.9)		
Fenitrothion (MEP)	96 (9.0)	125 (6.2)	90 (4.7)	100 (7.7)		
Malathion	95 (5.1)	109 (3.8)	93 (6.1)	95 (5.6)		
Methidathion (DMTP)	102 (9.3)	138 (5.9)	103 (7.5)	115 (8.1)		
Group B						
Ethion	95 (2.7)	101 (5.2)	91 (2.8)	91 (4.6)		
Parathion	94 (2.2)	118 (3.2)	93 (0.9)	91 (2.1)		
Parathion-methyl	112 (2.9)	142 (2.1)	99 (2.6)	103 (1.9)		
Phosmet (PMP)	ND <sup>*2</sup>	ND	ND	ND		
Pirimiphos-methyl	101 (4.3)	115 (4.7)	96 (2.3)	92 (0.8)		
Quinalphos	90 (1.8)	120 (1.2)	95 (1.3)	94 (1.9)		
Group C						
Edifenphos (EDDP)	— <sup>*3</sup>	—	—	—		
EPN	108 (11.0)	116 (10.1)	94 (5.4)	98 (7.2)		
Fenthion (MPP)	63 (2.4)	81 (5.4)	83 (7.1)	88 (5.5)		
Phenthoate (PAP)	96 (2.3)	121 (4.9)	94 (7.1)	95 (10.7)		
Phosalone	ND	ND	ND	ND		
Tolclophos-methyl	99 (2.1)	119 (2.2)	100 (3.0)	93 (3.0)		
Group D						
Cyanofenphos (CYP)	85 (3.4)	138 (3.1)	122 (3.0)	138 (3.4)		
Cyanophos (CYAP)	105 (1.5)	137 (0.3)	139 (0.6)	185 (4.6)		
Iprobenfos (IBP)	91 (4.5)	120 (5.6)	121 (3.7)	155 (2.4)		
Isocarbofos	95 (7.4)	124 (4.0)	137 (4.0)	165 (2.6)		
Leptophos (MBCP)	—	—	—	—		
Pyridaphenthion	—	—	—	—		

\*1 coefficient of variation, \*2 not detected, \*3 below quantitation limit

Table 4 Retention Time Lag of Organophosphorus Pesticides

n=3

Pesticide	Retention time lag (min) <sup>*1</sup>		
	Angelica Dahurica Root	Cnidium Rhizome	Glehnia Root
	DB-1 column	CBP-10 column	DB-1 column
Group A			
Diazinon	— <sup>*2</sup>	0.166	—
Group C			
Edifenphos (EDDP)	—	—	0.102
Phosalone	0.129	—	—
Pesticide	Retention time lag (min)		
	Magnolia Bark		Rhubarb
	DB-1 column	CBP-10 column	CBP-10 column
Group A			
(E)-Chlorfenvinphos	1.066	0.619	—
(Z)-Chlorfenvinphos	1.261	0.761	—
Dichlorvos (DDVP)	—	—	-0.134
Ethoprophos	0.193	—	—
Group B			
Ethion	0.194	0.147, (0.286), 0.409	—
Phosmet (PMP)	0.237	—	—
Group C			
Edifenphos (EDDP)	0.469	1.107	—
EPN	0.207	0.234	—
Phosalone	0.170	—	—
Group D			
Cyanofenphos (CYP)	0.462	0.646	—
Leptophos (MBCP)	0.144	0.237	—
Pyridaphenthion	0.184	0.172	—

<sup>\*1</sup> t<sub>R</sub> (Test solution) - t<sub>R</sub> (Standard solution), <sup>\*2</sup> within 0.1 minutes

Table 5 Pesticide Residues in Crude Drugs

Crude drug	Country	Pesticide	D/T <sup>*1</sup>	Residue (ppm)
Japanese Angelica Root (Hokkai) <sup>*2</sup>	Japan	Fenitrothion (MEP)	1/ 7	trace <sup>*5</sup>
Japanese Angelica Root (Yamato) <sup>*3</sup>	Japan	Fenitrothion (MEP)	2/ 3	0.09, 0.39
		Diazinon	1/ 3	0.11
		Phenthoate (PAP)	1/ 3	0.20
Cnidium Rhizome	China <sup>*4</sup>	Fenitrothion (MEP)	2/ 3	0.01, 0.05
		Japan	EPN	2/11
Szechwan Lovage Rhizome	China	Phenthoate (PAP)	2/11	trace, 0.40
		Isocarbofos	3/ 4	trace, 0.07, 0.16
Fennel	China	Parathion-methyl	2/ 4	0.04, 0.18
		Isocarbofos	4/ 9	trace, trace, trace, trace
Poria Sclerotium	China	Parathion-methyl	5/ 9	trace, 0.09, 0.16, 0.20, 0.20
		Dichlorvos (DDVP)	1/ 2	trace

<sup>\*1</sup> Number of detections per that of analysed samples, <sup>\*2</sup> prepared from *Angelica acutiloba* var. *sugiyamae*, <sup>\*3</sup> prepared from *Angelica acutiloba*, <sup>\*4</sup> the People's Republic of China, <sup>\*5</sup> below quantitation limit

中国産ウイキョウ9検体中4検体からイソカルボホスが痕跡量, 5検体からパラチオンメチルが最大0.20 ppm 検出された。

中国産ブクリョウ2検体中1検体からジクロロボスが痕跡量検出された。

## 4. 考察

### 4.1 分析方法の検討

前報<sup>7)</sup>と同様に, 11品目の生薬について有機リン系農薬28種の添加回収試験を行った。すなわち, 添加試料に水を加え1時間膨潤, アセトニトリルを加えホモジナ

イズ抽出，C18 ミニカラム処理，ヘキサン転溶，水洗，脱水，シリカゲル又はジオールーシリカゲルミニカラム処理し，試験溶液とした。

GC-FPD 分析する際には，感度を安定化させるため，あらかじめ試験溶液を3～5 回起爆注入<sup>8)</sup>した。定量は絶対検量線法により行い，農薬が検出された場合には，極性の異なるカラムで再定量し，GC-MS (SIM) により確認した。各農薬の定量限界及び検出限界は既報<sup>4,7)</sup>のとおりである。

コウボクについては，ソウジュツにも含まれる  $\beta$ -eudesmol を主成分とする精油を約1%，magnolol 及び honokiol を数%含む<sup>9)</sup>ことが報告されている。ソウジュツにおいては，試験溶液 I を GC に注入した場合，妨害ピークの出現，試験溶液注入後，標準溶液のピーク感度の低下が認められたが，ジオールーシリカゲルミニカラムにより精製した試験溶液 II では，妨害ピークは消失し，ピーク感度についても良好な結果が得られている<sup>7)</sup>。コウボクにおいても，ソウジュツの場合と同様に夾雑物による影響を強く受けることが考えられたことから，ジオールーシリカゲルミニカラムによる精製を行うことにした。

ダイオウにおいては，シリカゲルミニカラムによる精製では黄褐色の色素を除去することは困難であったため，他のミニカラムによる精製法を検討した。ソウジュツ抽出液の精製に有効なジオールーシリカゲルミニカラムでは良好な結果は得られなかったが，ケイヒ及びオンジ抽出液の精製に有効な ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> ミニカラム<sup>4)</sup>では，色素の大部分を除去することが可能であった。そこで，ダイオウについては試験溶液 III を用いることにした。

添加回収試験を行った結果，ダイオウにおいて EPN，エチオン，クロルピリホス，シアノフェンホス，ジクロロルボス，トルクロホスメチル，フェンチオン，ホサロン及びレプトホスの回収率は28～68% (DB-1 MS，面積)と70%を下回った。回収率低下の原因として，C18 ミニカラム処理後，カンゾウの場合<sup>4)</sup>と同様に，濃縮液中に析出する褐色の粘性不溶物に農薬が吸着していると考え，これをメタノールに溶解後，ヘキサン抽出することにした。その結果，ジクロロルボス及びフェンチオンを除く26種の農薬において78～110% (DB-1，面積)と良好な結果が得られた。

なお，日本薬局方適用外の中国産川芎を分析する際には，今回検討したセンキュウ分析法を用いることにした。

#### 4.2 添加回収試験

前報<sup>7)</sup>と同様に，食品中の残留農薬迅速分析法<sup>10)</sup>におけるガイドライン（回収率は70～120%，変動係数は20%以内）に従って本法の結果を考察した。

オウギ，サンシシ，ハンゲ及びブクリョウにおける回収率は，DB-1 及び CBP-10 カラムにおいて，ジクロロルボス以外，83～120%（面積）と概ね良好な結果が得られた。

オウギ，ブクリョウ及びダイオウ中のジクロロルボスについては50～61% (DB-1，面積)と70%を下回った。ジクロロルボスは揮発性が高い農薬であることから，濃縮時における損失によるものと考えられた。

コウボク中のイプロベンホス及びキナルホスの回収率は33～42% (DB-1，面積)と70%を大きく下回った。イプロベンホスは酸性～中性で比較的安定であること<sup>11)</sup>，キナルホスの半減期 (25°C，17 ppm 及び 2.5 ppm) は39日 (pH 6) であること<sup>11)</sup>，コウボク以外の生薬については回収率95～111% (DB-1，面積)と良好な値を示していることから，回収率低下の原因は抽出時における生薬成分との反応によるものと考えられた。

ジャクシ，センキュウ及びハマボウフウ中のメチダチオン，ホスメット，エディフェンホス及びホサロン，センキュウ，ジオウ及びセネガ中のピリダフェンチオン，ジオウ中のホスメットの回収率は120%を上回り，マトリックスによる影響と考えられた。

回収率が面積計算値と高さ計算値で大きく異なる農薬があった。DB-1 カラムにおけるサンシシ中のパラチオンメチル，エディフェンホス，シアノホス及びピリダフェンチオン，ハマボウフウ中のジクロロルボス，コウボク中のエディフェンホス及びシアノフェンホス，ジオウ中のパラチオンメチル及びキナルホスの高さ計算値は面積計算値の1.6～2.0倍と高値を示し，コウボク中のダイアジノン，メチダチオン，エチオン，イプロベンホス及びイソカルボホスの高さ計算値は面積計算値の0.24～0.59倍と低値を示した。高さ計算値はガイドラインを外れていても，面積計算値は範囲内となる農薬が多数認められたことから，定量する際にはピーク面積法が有効と考えられた。

有機リン系農薬のGC分析において，マトリックスの影響により試験溶液のピーク形状が変化し，面積計算値と高さ計算値が異なる場合がある<sup>12,13)</sup>。ピーク半値幅が狭くなる場合，高さ計算値が高くなり，ピーク半値幅が広がる場合，高さ計算値が低くなる<sup>13)</sup>ため，これらのピーク形状の違いが回収率に影響したものと考えられた。

生薬との組み合わせにより，ガスクロマトグラム上の保持時間に0.1分以上の遅れ又は早まりが認められる農薬があった。中でもコウボクについては，DB-1 カラムを用いた場合，28農薬中11農薬で0.144～1.261分の遅れが認められ，(E)-クロルフェンビンホス及び(Z)-クロルフェンビンホスとメチダチオンの溶出順が逆転した

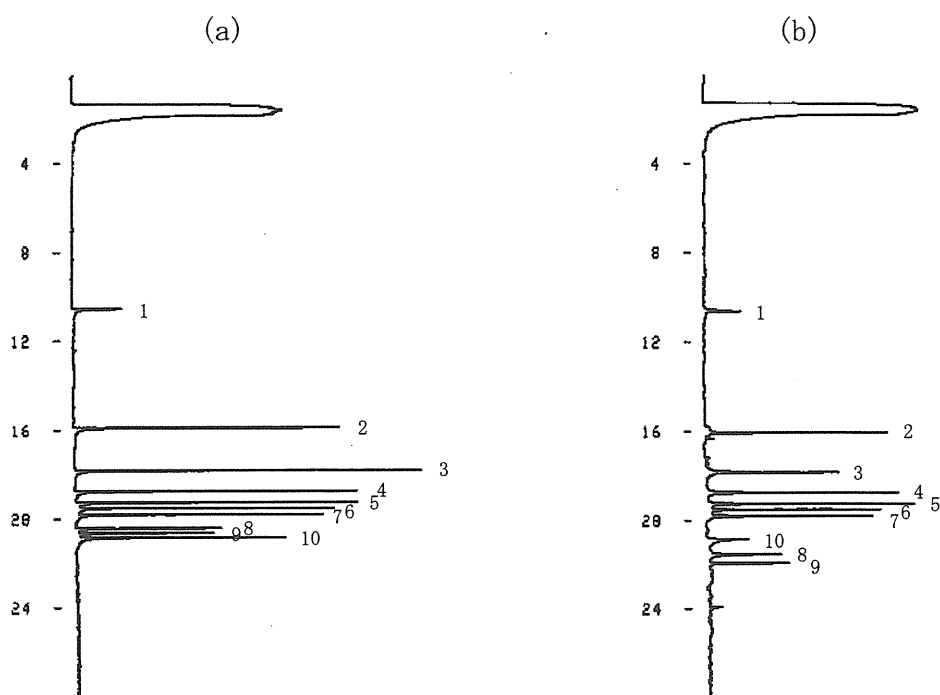


Fig. 1 Gas Chromatograms of Standard Mixture A\*<sup>1</sup> and Magnolia Bark by GC-FPD with DB-1 Column

(a): Standard Mixture A; (b): Magnolia Bark; 1: Dichlorvos (DDVP); 2: Ethoprophos; 3: Diazinon; 4: Chlorpyrifos-methyl; 5: Fenitrothion (MEP); 6: Malathion; 7: Chlorpyrifos; 8: (*E*)-Chlorfenvinphos ( $\alpha$ -CVP); 9: (*Z*)-Chlorfenvinphos ( $\beta$ -CVP); 10: Methidathion (DMTP); \*<sup>1</sup>: 0.1  $\mu$ g/mL of each pesticide

(Fig. 1).

コウボク中のエチオンのピークは、DB-1 カラムを用いた場合、シングルピークであったが、CBP-10 カラムを用いた場合、2本又は3本に分離した。有機リン系農薬のピークはマトリックスの影響により分離する場合がある<sup>7,12-14</sup>。ビャクジュツ中のエトプロホスについては、ジオールシリカゲルミニカラム処理を行うことにより、分離ピークがシングルピークとなった<sup>7</sup>が、コウボクの場合、同様のカラム処理を行っても分離ピークが認められ、精製不十分であると考えられた。

回収率がガイドラインを外れる農薬、面積計算値と高さ計算値が大きく異なる農薬、標準溶液と比較しガスクロマトグラム上の保持時間に0.1分以上の差が認められる農薬、ピーク形状が標準溶液と大きく異なる農薬については、マトリックスの影響によるものと考えられるので、更に精製が必要と思われた。

なお、保持時間のズレが認められた農薬及びピークが分離した農薬については、ピーク面積法により定量を行った。

#### 4.3 生薬中の残留農薬

生薬16品目111検体（国内産47、中国産59、北朝鮮1、韓国4）について28種類の有機リン系農薬の残留調

査を行った結果、国内産3品目6検体及び中国産4品目12検体から7種類の有機リン系農薬が検出された。

国内産からはフェニトロチオン、ダイアジノン、フェントエート及びEPNが痕跡量 $\sim$ 0.54 ppm、中国産からはフェニトロチオン、イソカルボホス、パラチオンメチル及びジクロルボスが痕跡量 $\sim$ 0.20 ppm 検出された。これらはどれも殺虫剤であった。

国内産大和当帰2検体、国内産センキュウ1検体、中国産川芎1検体及び中国産ウイキョウ4検体については、同一検体から2種類の有機リン系農薬が検出された。

農薬の検出率を産地別に見ると、中国産川芎（4検体すべて）、中国産及び国内産大和当帰（共に3検体中2検体）、中国産ウイキョウ（9検体中5検体）、中国産ブクリョウ（2検体中1検体）、国内産センキュウ（11検体中3検体）、国内産北海当帰（7検体中1検体）の順に高値を示した。ウイキョウについては、前回の調査<sup>7</sup>においても5検体中2検体から、有機リン系農薬が検出されている。

パラチオンメチルは、国内では毒性が強いため特定毒物に指定されており、農作物への使用は認められていない。イソカルボホスについても、現在国内では登録されていない。パラチオンメチルについては、ソヨウ<sup>4</sup>、チンピ<sup>4,15</sup>及び中国産農産物（レイシ<sup>16</sup>）及びさやいんげ



ん<sup>17)</sup>から検出されている。イソカルボホスについても、中国産チンピ<sup>15)</sup>及び中国産農産物（レイシ、えだまめ、さやいんげん及び茶<sup>17)</sup>から検出されている。したがって、中国ではパラチオンメチル及びイソカルボホスが、栽培時に使用されていると推察された。

今回分析対象とした生薬を薬用部位により分類すると、根部12種91検体（ビャクシ、トウキ（北海当帰）、トウキ（大和当帰）、オウギ、センキュウ、川芎、ハマボウフウ、シャクヤク、ハンゲ、ジオウ、ダイオウ、セネガ）、果実2種14検体（ウイキョウ、サンシシ）、樹皮1種3検体（コウボク）、菌類1種3検体（ブクリョウ）であった。農薬の検出率を部位別に見ると、果実（36%）、菌類（33%）、根部（13%）、樹皮（0%）の順に高く、既報<sup>4,7)</sup>と同様に、主に栽培時に殺虫剤として使用されていた農薬が検出されたと推察された。なお、基原植物であるホッカイトウキ (*Angelica acutiloba* var. *sugiyamae*) 及びトウキ (*Angelica acutiloba*) にはシンクイムシ、アブラムシ、ヨトウムシ及びキアゲハの幼虫、センキュウ (*Cnidium officinale*) にはタネバエ、ウリハムシモドキ、キアゲハ、アゲハの幼虫及びヨトウムシ、ウイキョウ (*Foeniculum vulgare*) にはアカスジカメムシによる虫害が知られている<sup>18)</sup>。

平成15年3月10日、農薬取締法が一部改正され、無登録農薬の使用が禁止された<sup>1)</sup>。マイナー作物については農薬の使用が著しく制限されたが、一部の農薬と農作物の組み合わせに限り、経過措置で承認された。今回、国内産北海当帰からフェニトロチオン、国内産大和当帰からフェニトロチオン、ダイアジノン及びフェントエート、国内産センキュウからEPN及びフェントエートが検出された。北海当帰から検出されたフェニトロチオン<sup>19)</sup>及びセンキュウから検出されたフェントエート<sup>20)</sup>については、平成17年3月末日まで経過措置として使用が認められていた（北海道産）。しかし、国内産生薬から検出された他の農薬については既に作物への使用が禁止されていた。フェニトロチオン及びフェントエートが検出された大和当帰は農薬取締法が一部改正される前の平成14年、フェニトロチオンが検出された北海当帰はフェニトロチオンの使用が禁止される前の平成16年に生薬問屋に入荷したものであった。しかし、EPNが検出されたセンキュウは平成16年6月及び平成17年11月、フェントエートが検出されたセンキュウは平成17年11月、ダイアジノン及びフェニトロチオンが検出された大和当帰は平成17年に生薬問屋に入荷したものであり、いずれも作物への農薬の使用が禁止された後の入荷であった。これらは農薬の使用が禁止される以前に作物が収穫され、調製加工後、問屋に出荷されるまで長期

間保管されていた可能性があるが、農薬取締法の一部改正が十分に周知されず農薬が使用された可能性も考えられる。

生薬の85~90%は漢方処方エキスの形で流通している。日局十五では新たに漢方処方エキス6品目が収載された<sup>21)</sup>。通例、漢方処方は水のみを加え煎じて利用され、エキス製剤においても抽出溶媒に水が用いられる。農薬の多くは脂溶性であることから、水への移行率は低いと考えられる。著者らはチンピ及びソヨウを単独で煎じた場合、チンピ中のキナルホス及びクロルピリホス、ソヨウ中のパラチオン及びパラチオンメチルは、大部分が煎出残渣中に残存し、煎液にはほとんど移行しないことを報告している<sup>22)</sup>。漢方処方煎液においても同様に農薬の移行率は低いものと推察されるが、詳細については明らかではない。今後、有機リン系農薬が検出された生薬を用い、エキスが日局十五に収載されている加味逍遙散、補中益気湯及び日局十五第一追補に収載されている半夏厚朴湯<sup>23)</sup>を調製し、煎液への農薬の移行について検討する予定である。

## 5. 結論

1. 生薬11品目について28種類の有機リン系農薬分析法を検討した。
2. コウボクについては、妨害物質を除去するため、シリカゲルミニカラムを後に連結したジオールミニカラムによる精製を行った。
3. ダイオウについては、黄褐色色素を除去するため、ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub>ミニカラムによる精製を行った。また、濃縮液をヘキサン分配する際に析出する褐色の粘稠性不溶物をメタノールに溶解後、ヘキサン抽出することにより、良好な回収率が得られた。
4. オウギ、サンシシ、ハンゲ及びブクリョウにおける回収率は、ジクロロボス以外、83~120%と概ね良好な結果が得られた。
5. 回収率がガイドライン（回収率は70~120%、変動係数は20%以内）を外れる農薬、面積計算値と高さ計算値が大きく異なる農薬、標準溶液と比較しガスクロマトグラム上の保持時間に0.1分以上の差が認められる農薬、ピーク形状が標準溶液と大きく異なる農薬については、マトリックスの影響によるものと考えられるので、更に精製が必要と思われた。
6. 生薬16品目111検体について28種類の有機リン系農薬の残留調査を行った結果、国内産3品目6検体及び中国産4品目12検体から7種類の有機リン系農薬が検出された。

7. 農薬の検出率を部位別に見ると、果実（36%）、菌類（33%）、根部（13%）、樹皮（0%）の順に高く、主に栽培時に殺虫剤として使用されていた農薬が検出されたと推察された。

## 6. 謝 辞

分析試料の入手にご協力頂いた国産生薬株式会社、小太郎漢方製薬株式会社、株式会社栃本天海堂、日野薬品株式会社、福田龍株式会社、三国株式会社及び三星製薬株式会社及び有益な御助言をいただいた北海道立衛生研究所長南隆夫食品薬品部長、青柳光敏研究職員に深謝いたします。

本研究は平成16～18年度道立試験研究機関試験研究費（一般試験研究）による「北海道産生薬の残留農薬実態調査及び調製加工中における成分変動に関する研究」として行われ、ハンゲ、ブクリョウ、サンシシ及びコウボクに関しては平成19年度厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）による「生薬及び漢方処方薬の有用性評価手法・安全性確保と国際調和に関する研究」の成果の一部であることを付記し、合わせて関係各位に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 農薬取締法の一部を改正する法律（平成14年法律第141号）、官報号外第266号、平成14年12月11日。
- 2) 厚生労働科学特別研究事業「生薬中の農薬分析に関する研究」平成15年度 総括・分担研究報告書（H15-特別-041）（主任研究者 合田幸広）。
- 3) 中嶋順一、浜野朋子、塩田寛子、安田一郎、鎌倉浩之、合田幸広：東京健安研七年报，55，49-53（2004）。
- 4) 佐藤正幸、姉帯正樹、合田幸広：医薬品研究，36(2)，83-97（2005）。
- 5) 田村 真，遠藤雄一，磯崎隆史，杉本智潮，丸田純平，大橋眞一，吉川眞一，小此木明，清水袈裟光，佐々木博：医薬品研究，39(2)，63-75（2008）。
- 6) 杉本智潮，遠藤雄一，磯崎隆史，田村 真，丸田純平，大橋眞一，吉川眞一，小此木明，清水袈裟光，佐々木博：医薬品研究，39(2)，76-82（2008）。
- 7) 佐藤正幸，姉帯正樹，鎌倉浩之，合田幸広：医薬品研究，39(4)，203-222（2008）。
- 8) 根本 了，佐々木久美子，豊田正武：第35回全国衛生化学技術協議会年会講演集，56-57（1998）。
- 9) 日本薬局方解説書編集委員会編：第十五改正日本薬局方解説書，東京，廣川書店，2006，D-237-D-241。
- 10) 厚生省生活衛生局長：残留農薬迅速分析法の利用について（通知），衛化第43号，平成9年4月8日。
- 11) Tomlin, C. D. S., ed.: The Pesticide Manual 12th Ed., Surrey, British Crop Protection Council, 2000, p. 551-552, 814-815.
- 12) 藤原 修，佐藤正幸，新山和人：道衛研所報，49，123-126（1999）。
- 13) 佐藤正幸，内山康裕，宇野豊子，新山和人：道衛研所報，52，1-11（2002）。
- 14) 佐藤正幸，藤原 修，武内伸治，内山康裕，新山和人：道衛研所報，50，32-40（2000）。
- 15) 塩田寛子，浜野朋子，中嶋順一，下村壽一，末次大作，安田一郎：東京健安研七年报，55，43-47（2004）。
- 16) 富澤早苗，永山敏廣，高野伊知郎，小林麻紀，田村康宏，立石恭也，木村奈穂子，北山恭子，齊藤和夫：東京衛研年報，53，119-124（2002）。
- 17) 田村康宏，高野伊知郎，小林麻紀，富澤早苗，立石恭也，木村奈穂子，北山恭子，永山敏廣，鎌田国広：東京健安研七年报，54，183-188（2003）。
- 18) 財団法人日本公定書協会編：新しい薬用植物栽培法，東京，廣川書店，1972，p. 44，228，259。
- 19) 農林水産省指令15消安第548号（平成15年7月29日）。
- 20) 農林水産省指令15生産第828号（平成15年4月28日）。
- 21) 厚生労働省：第十五改正日本薬局方，2006，p. 1191-1193，1193-1196，1215-1217，1238-1239，1266-1269，1276-1277。
- 22) 佐藤正幸，姉帯正樹，合田幸広：医薬品研究，37(4)，245-250（2006）。
- 23) 厚生労働省：第十五改正日本薬局方第一追補，2007，p. 150-151。

## 生薬中に含まれる有機リン系農薬の漢方処方煎液への移行

佐藤 正幸\*, 姉帯 正樹\*, 鎌倉 浩之\*\*, 合田 幸広\*\*

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス  
Vol. 41, No. 6 別刷 (2010年)  
財団法人 日本公定書協会

## 生薬中に含まれる有機リン系農薬の漢方処方煎液への移行

佐藤 正幸\*, 姉帯 正樹\*, 鎌倉 浩之\*\*, 合田 幸広\*\*

(受付:平成22年1月26日, 受理:平成22年4月26日)

Migration of Organophosphorus Pesticides to Decoctions  
of Kampo Formula from Crude DrugsMasayuki SATO\*, Masaki ANETAI\*,  
Hiroyuki KAMAKURA\*\* and Yukihiro GODA\*\*

## Summary

During our studies on quality evaluation of crude drugs in Japan, we have detected organophosphorus pesticides in several crude drugs. In Japan, about 90% of crude drugs are used as raw materials for Kampo products after industrial decoction followed by a spray-drying process. To assess human exposure, it is important to determine the fate of the pesticides during the extraction step. In this study, we prepared 3 Kampo decoctions from crude drugs contaminated with organophosphorus pesticides and quantitatively determined residual pesticide concentrations in the decoctions and the crude drug residues.

The maximum migration rate to the decoctions was 31% in the case of malathion in Citrus Unshiu Peel in Hochuekkito. The migration rates of the other pesticides, except malathion, parathion and parathion-methyl, were less than 20%. It is concluded that considerable amounts of these pesticides may remain in the crude drug residues or be lost by decomposition or vaporization during the decoction process. The amounts of organophosphorus pesticides, except tolclphos-methyl, in crude drug residues of Hochuekkito were related to log Kow, not to water solubility.

## Key words

Decoction, Kamishoyosan, Hochuekkito, Hangekobokuto, Organophosphorus pesticide, Fenitrothion, Malathion, Methidathion, Parathion, Parathion-methyl, Phenthoate, Quinalphos, GC-FPD

## 緒言

我々は生薬中の不純物の一つである残留農薬について実証的検討を行っており、これまで生薬37品目283検体について有機リン系農薬の残留調査をした結果、14品目57検体から13種類の有機リン系農薬を検出した<sup>1-3)</sup>。

生薬の85~90%は漢方処方エキス<sup>4)</sup>の形で流通している。第十五改正日本薬局方(日局十五)では6品目の漢方処方エキス(葛根湯エキス、加味逍遙散エキス、柴苓湯エキス、大黃甘草湯エキス、補中益氣湯エキス及び苓

桂朮甘湯エキス)<sup>4)</sup>が新たに収載され、更に日局十五第一追補では2品目(桂枝茯苓丸エキス及び半夏厚朴湯エキス)<sup>5)</sup>、日局十五第二追補では3品目(牛車腎気丸エキス、真武湯エキス及び八味地黄丸エキス)<sup>6)</sup>の漢方処方エキスが収載された。漢方処方原案作成ワーキンググループでは、規格について検討を行っており、日局十六では約20品目の漢方処方エキスが収載される予定である<sup>7)</sup>。

通例、漢方処方<sup>8)</sup>は水のみを加え煎じて利用され、エキス製剤においても抽出溶媒に水が用いられる。農薬の多くは脂溶性であり、水への移行率は低いと考えられるが、

\* 北海道立衛生研究所 札幌市北区北19条西12丁目(〒060-0819)

Hokkaido Institute of Public Health, Kita-19, Nishi-12, Kita-ku, Sapporo 060-0819, Japan

\*\* 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀1-18-1(〒158-8501)

National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan