

Residues of Trichlorfon and its Metabolites in Fresh Milk. Takeyosi NAKAHARA, IWAOKA TAKASE (Agricultural Chemicals Institute, Nihon Tokushu Noyaku Seizo Co., Ltd.), Ikuo KAWAGOE, Takuo KUBOTA (Ferm, Faculty of Agriculture, Nagoya University, Nagoya), and Tetsuo SAITO (Laboratory of Applied Entomology and Nematology, Faculty of Agriculture, Nagoya University). Received August 19, 1972. *Bolju-Kagaku*, 37, 149, 1972. (with English Summary 154).

22. ミルク中におけるトリクロロフォンとその代謝物の残留について 中原武良, 高瀬 巖 (日本特殊農薬製造(株)農薬研究所), 川越郁男, 窪田拓男, *斎藤哲夫 (名古屋大学農学部, 農場, *害虫学教室) 47. 8. 9 受理

牧草や飼料用トウモロコシの害虫防除に用いられている trichlorfon が乳牛のミルクに残留するかどうかを明らかにするために, trichlorfon を乳牛の体重 1kg あたり 3mg を胃内直接投与, 3mg/kg または 30mg/kg を経口投与, 1mg/kg/日を 5日間連続投与して, 投与 1 時間後より 7 日後まで乳牛より搾乳したミルク中の trichlorfon, dichlorvos, trichloroethanol, および dimethyl phosphate などをガスクロマトグラフ法により測定した。

3 mg/kg の trichlorfon を投与した牛のミルクでは経口投与で 3 時間後に約 0.03ppm, 24 時間後には痕跡量 (約 0.003ppm) の trichlorfon が見い出されたが, 3 日後では検出されず, 胃内投与では 1 日後 0.007ppm 検出されたが 3 日目以後は検出されなかった。30 mg/kg 投与では 1 時間後に最高 0.5ppm の trichlorfon が検出されたが, その後急激に減少し, 24 時間後には 0.007ppm が見い出されたに過ぎなかった。1mg/kg/日, 5日間連続投与では 1~3 時間後に約 0.03ppm の trichlorfon が検出され, 残留量の減少速度は 1 回の投与法に比較して, やや遅い傾向が見られた。

一方 trichlorfon の代謝物は 3mg/kg 投与では胃内, 経口いずれの投与法でも検出されなかったが, 30mg/kg の投与量では投与 1~3 時間後に trichlorfon の約 1/6 量 (約 0.04ppm) の dichlorvos と痕跡量の trichloro ethanol が検出されたが投与 6~9 時間後には検出されなかった。

緒 言

商品名ディブテックス®, ネグホン® などの名前で使用されている trichlorfon (*O, O*-dimethyl-2, 2, 2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate) はイネ, そ菜, 果樹, 牧草などの害虫防除に広く用いられている殺虫剤である。

飼料作物の害虫防除に散布された trichlorfon が, それを飼料として摂食した乳牛から搾乳されたミルクに, どの程度残留するかを明らかにすることは, きわめて重要な事である。

trichlorfon を乳牛に経口投与した後ミルク中への移行について, Behrenz (1961)¹⁾ はネッタイシマカを用いた生物学的測定を行ない, trichlorfon 80mg/kg 経口投与すると, 投与 2 時間後で, 明らかな殺虫有効成分がミルク中へ移行していることを見い出しており, Leahy (1964)²⁾ も 36mg/kg の投与で, 8 時間後に 0.1~0.2ppm 程度検出しているが, いずれも 24 時間経過すると, 検出限界以下であったと報告している。しかしながら二つの実験とも, 1 回の経口投与であり, 投与量も多く, 検出感度も 0.05ppm とやや低い。

そこで著者らは先に検討した trichlorfon とその代謝物の残留分析法^{3,4)}を用いて, 乳牛の胃内直接投与

法や経口投与法, 5 日間連続投与法により, trichlorfon を投与した時の, ミルク中への trichlorfon およびその代謝物と考えられる dichlorvos, trichloroethanol などの移行について, ガスクロマトグラフ法によって, 経時的に追跡し, trichlorfon の残留毒性の面で 2, 3 の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 薬剤投与法

a) 牛の胃内直接投与; 昭和 46 年 8 月, 名古屋大学農学部附属農場で飼育している第 1 胃 fistula 装備の体重 550kg のホルスタイン牛に trichlorfon 原薬を 10% 水溶液とし, trichlorfon 3mg/kg を牛の fistula より直接胃内に投与した。投与 1, 3, 5 および 7 日後に搾乳し, その 500ml を分析に供した。

b) 経口投与; 昭和 47 年 2 月, 搾乳後の体重約 500kg のホルスタイン牛 2 頭に, trichlorfon を吸着させた飼料を, 3mg/kg および 30mg/kg の割合で, 各々に経口投与した。投与 1, 3, 6, 9, 24, 72 および 120 時間後に搾乳し, 各々 500ml のミルクを分析に供した。9 時間後までの搾乳の際は, 乳房内の乳汁を完全に搾ることができるように, ホルモン剤 (オキシトシン) を使用した。

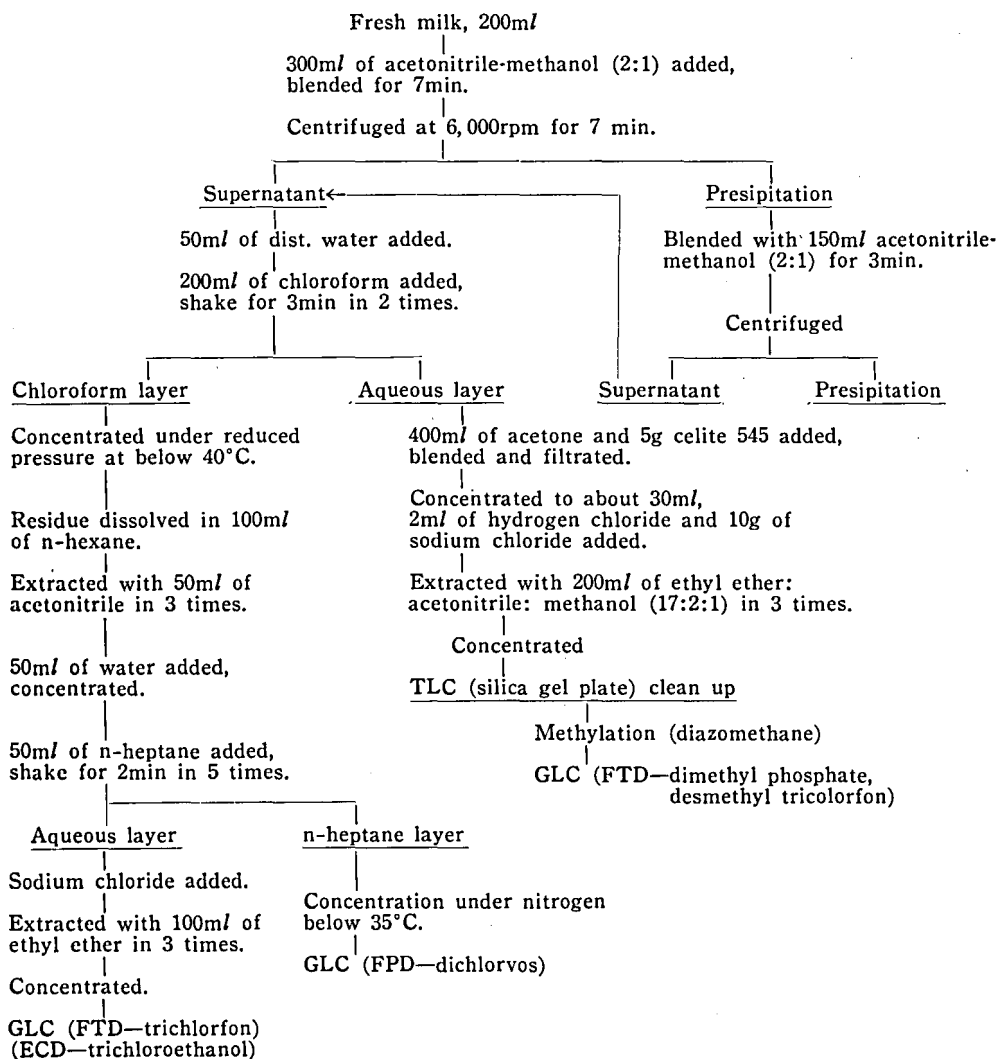


Fig. 1. Analytical method of trichlorfon and its metabolites in fresh milk.

c) 5日間連続投与;昭和47年2月,体重約450kgのホルスタイン牛に飼料に吸着させた trichlorfon を,1日当り1mg/kgの割合で,連続投与し,3日目投与後の1および3時間と5日目投与後の1,3,6,9,24および72時間に搾乳し,各々の500mlを分析に供した。

2. ミルクよりの分析法

分析法は先に報告したが,その概要を Fig.1 に示した。

牛からのミルクを分析した場合の trichlorfon とその代謝物のガスクロマトグラムを Fig.2 および Fig.3 に示した。

結果および考察

1. 胃内直接投与によるミルクへの残留

trichlorfon 原薬3mg/kgを乳牛の胃内に直接投与した時のミルク中の残留量を Table 1 に示した。投与1日後に trichlorfon として0.007ppmが検出されたが,3日目以降のミルクにはいずれも検出限界の0.001ppm以下であった。同時に行なった代謝物と考えられる dichlorvos, trichloroethanol, dimethyl phosphate はいずれも検出されなかった。このことは投与された trichlorfon がミルク中に移行残留するのはごく微量であり, trichlorfon は乳牛の体内で急速に分解されるものと推定される。

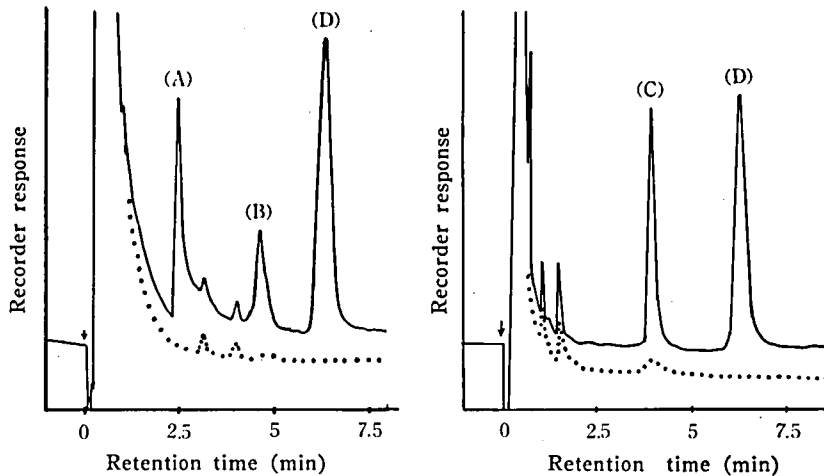


Fig. 2. Gas chromatogram of trichlorfon and its metabolites in the milk of cow of three hours after oral administration with 30mg/kg.

— after administration

..... before administration

(A) trichlorfon (B) trichloroethanol (C) dimethyl phosphate (methylation)
(D) triethyl phosphate (internal standard)

Apparatus; Shimadzu 4APF equipped with flame thermionic detector.

Column ; glass 1.0m×4mm i.d., packed with 25% Carbowax 20M/Gas Chrom Q.

Detector ; FTD (electron capture detector for trichloro ethanol) column,
detector and inlet temperature is 150, 250 and 250°C, respectively.

2. 経口投与によるミルクへの残留

乳牛に経口投与した時のミルク中への薬剤の残留量を調べた結果、Table 2に示したように、trichlorfon 3mg/kgの投与では投与1時間後は0.03ppm、3時間後には0.09ppmのtrichlorfonが検出された。しかしながら24時間後には0.003ppmとなり、3日後では検出限界以下となった。

一方、10倍量の30mg/kgを経口投与した場合、投与1時間後に最高の0.557ppmのtrichlorfonが検出され、以後減少して行くが、9時間後に0.16ppmの残留量が認められた。しかしながら24時間経過すると0.007ppmに減少し、3日後には検出限界の0.001ppm以下となった。同時に定量したtrichlorfonの代謝物dichlorvos (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate)は投与1時間後にtrichlorfonの約1/10に相当する最高値0.07ppmが検出されたが、時間の経過に伴ない急激に減少してゆき、9時間後で検出限界の0.001ppm以下となった。

trichloroethanolも1～3時間後に微量(0.003ppm)検出され、dimethyl phosphateは3時間後に最高約0.1ppmが検出されたが、いずれの代謝物も9時間後には検出限界以下となった。

以上の結果より、経口投与では3mg/kgおよび30

mg/kgの薬量の相違による差はなく、投与したtrichlorfonは投与1～3時間後に残留量の最大値を示し、以後急激に減少して、24時間後ではその残留はごく微量しか認められなかった。そしてtrichlorfonの代謝物dichlorvos, dimethyl phosphateなども投与後短時間には検出されたが、代謝物もtrichlorfonと同様に急激に減少することより、投与されたtrichlorfonは乳牛の体内で分解され、3時間以内にその一部がミルクへと移行して行ったと推察されるが、ミルクへの蓄積はほとんどないものと考えられる。

3. 連続投与によるミルクへの残留

Table 3に示したようにtrichlorfon 1日当り1mg/kgを5日間連続投与した場合、最終投与1～3時間後のミルクより、trichlorfonとして約0.03ppm検出され、9時間後でも0.02ppm残留しており、時間の経過に伴ない、1回投与の場合と同様に減少して行き、24時間後0.009ppm、3日目以後は検出限界以下となった。

trichlorfon 1mg/kg/dayの5日間連続投与の場合、3日目投与後と5日目投与後のミルク中の残留量を比較すると、投与1時間のtrichlorfonの残留量は5日間連続投与後の方が約2倍量検出されており、全体にやや残留量も多い。

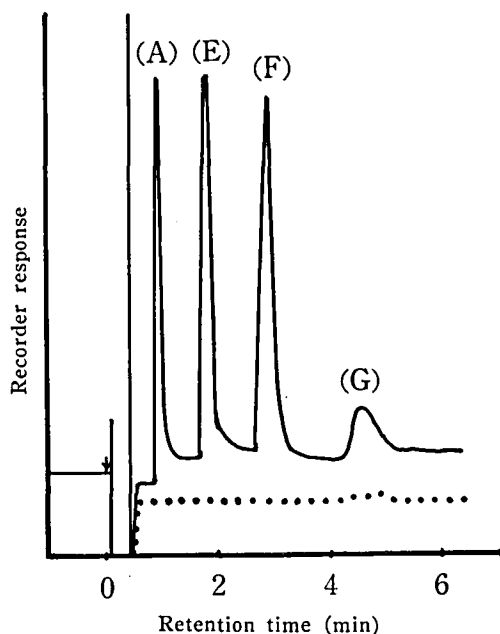


Fig. 3. FPD-Gaschromatogram of trichlorfon and its metabolites in milk of cow of one hour after oral administration with 30mg/kg.

— after administration

..... befor administration

(A) trichlorfon (E) dichlorvos (F) tri-n-buthyl phosphite (internal standard) (G) desmethyl trichlorfon (methylation)

Apparatus; Micro-Tek 160 equipped with flame photometric detector.

Column ; glass 120cm×4mm i.d., packed with 10% Silicon DC 200/Gas Chrom Q.

Detector ; FPD. column, detector and inlet temperature is 125, 205 and 230°C, respectively.

一方、連続投与と 3 mg/kg の一回投与での残留の傾向を比較すると、薬剤投与量が異なり、その投与法も相違するため、厳密には比較でき難いが、残留量は大きな差異はないが、ミルク中へ移行した薬剤の残留

減少速度が、やや遅くなる傾向が見られる。

5 日間連続投与後の短時間のミルクには、trichlorfon の代謝物 dichlorvos が痕跡程度検出されたが、その他の代謝物はいずれも検出されなかった。

4. 投与法、投薬量の相違によるミルク中への移行量

trichlorfon 3mg/kg を 10% 水溶液とし、乳牛の胃に直接投与した場合と、同薬量を飼料に吸着させ、経口投与した場合とのミルク中への移行、残留性を比較すると、投与後短時間での残留量の比較はできないが、24 時間後と比較して見ると、ほとんど相違のない残留量であり、しかも供試した乳牛は 1 頭ではあるが、投与法による相違はあまりないと考えられる。

投薬量 3mg/kg と 30mg/kg とを経口投与した時の乳牛のミルク中への移行量を乳牛が 1 日当り 20l の生乳を産すると仮定して計算すると、24 時間までのミルク中への移行率はそれぞれ 0.037% と 0.014% となり、24 時間から 5 日目までは、それぞれ 0.0025% と 0.0004% であり、ミルク中への移行量の 99% 以上は投与 24 時間以内にミルクへと移行していた。

投薬量の相違によるミルクへの移行率は 1 回の経口投与の場合、trichlorfon 3mg/kg 投与で 0.0395% であり、30mg/kg では 0.0144% となり、経口投与された trichlorfon が牛体内を経て、ミルク中へ移行分泌される率は投薬量の少ない 3mg/kg の方が約 2.7 倍程度、高かった。

一方 1 日当り trichlorfon 1 mg/kg の 5 日間連続投与の結果、1 回の投薬量が少ないにもかかわらず、24 時間までの投与終了後の移行率は 5 日間の全薬量 5mg/kg として算出すると 0.021% となり、1 日当りの 1mg/kg より計算すると 5 倍の 0.105% となり、非常に高い移行性を示す結果となった。

以上の実験に供した乳牛は各々 1 頭ずつであるため当然乳牛間の個体差が考えられるが、それ以上に投薬量の相違、1 回投与と連続投与との相違によるミルク中への移行率の差が著しく、これらの事実は trichlorfon 原薬が一般に使用されている有機燐剤や有機塩素剤と異なり約 16% (25°C) 水に溶解する性状を有

Table 1. Residues of trichlorfon and its metabolites in the milk of the cow following stomach administration.*1

Days after administration	Analyzed as individual compounds (ppm)			
	trichlorfon	dichlorvos	trichloro ethanol	dimethyl phosphate
1	0.007	<0.001	<0.002	<0.01
3	<0.001	<0.001	<0.002	<0.01
5	<0.001	<0.001	<0.002	<0.01
7	<0.001	<0.001	<0.002	<0.01

*1 Trichlorfon administrated directly to stomach with three milligram per killogram.

Table 2. Residues of trichlorfon and its metabolites in milk of cow after administration.

hours after administration	dose compound	Analyzed as individual compound (ppm)					
		30mg/kg				3mg/kg	
		trichlorfon	dichlorvos	trichloroethanol	dimethyl phosphate	trichlorfon	dichlorvos
1		0.557	0.070	0.003	0.082	0.033	0.002
3		0.332	0.034	0.003	0.104	0.091	0.001
6		0.247	0.010	0.002	—	0.080	<0.001
9		0.159	0.001	0.001	0.005	0.052	<0.001
24		0.007	<0.001	<0.001	<0.005	0.003	—
72		0.001	<0.001	<0.001	<0.005	<0.001	—
120		<0.001	—	—	—	<0.001	—

Detectable levels; trichlorfon 0.001ppm, dichlorvos 0.001ppm, trichloroethanol 0.001ppm, dimethyl phosphate 0.005ppm.

Table 3. Residues of trichlorfon and its metabolites in milk of cow following continuous oral administration*¹ for five days.

hours after administration	Analysed as individual compounds (ppm)			
	trichlorfon	dichlorvos	trichloroethanol	trichlorfon* ²
1	0.034	0.002	<0.002	0.017
3	0.029	<0.001	<0.002	0.023
9	0.021	<0.001	—	0.015
24	0.009	<0.001	—	0.005
72	<0.001	—	—	—

*¹ Oral administrated with one milligram per killogram per day for five days.

*² The third day after administration of one milligram per kilogram per days.

することにより脂質，ミルク中での吸着，排泄，分解などに関連していることと推察される。

5. trichlorfon のミルク中での残留量

trichlorfon の胃内直接投与や経口投与した場合のミルク中への移行量を測定した結果，trichlorfon はミルク中に投与後の短時間内にしかも微量しか検出されなかったが，投与量の多い 30mg/kg の経口投与後，短時間に搾乳した時のみ，最大値約 0.5ppm の trichlorfon がミルク内より見い出された。

西ドイツバイエル社において実験したラットを使用した trichlorfon の 2 年間の慢性毒性試験の結果，trichlorfon の none effect level は 500ppm であり，この無影響量より 1 日当り食餌摂取量を考慮した場合，動物に対する無影響量は 50mg/kg/day となる。一方，trichlorfon 30mg/kg 経口投与した乳牛のミルク中の最大残留量は投与 1 時間後，約 0.5ppm であり，体重 50kg の人間が，50mg/kg/day の trichlorfon を摂取するには，計算上 0.5ppm の trichlorfon 含有のミルクを 1 日に 5,000l 飲まねばならない。FDA において

は，通常人の 1 日当りのミルク摂取量は 0.9l として計算されているので，この摂取量は約 5,000 倍である。なお本研究では乳牛に投与した trichlorfon のミルク中への残留量は投与 1～3 時間後の短時間で，投与方法，投与量の相違にかかわらず，残留の最大値を示しており，24 時間経過すれば，trichlorfon 30mg/kg 投与でもミルク中には約 0.01ppm 以下の残留量となり，同時に定量した trichlorfon の代謝物 dichlorvos は trichlorfon の約 1/6 量，trichloroethanol は痕跡程度の残留最高値であり，いずれも時間の経過に伴ない，急激に減少して行くことを考え合わせると，この倍数は更に大きくなってくる。

一方前報⁴⁾の飼料用の青刈りトウモロコシに trichlorfon 5% 粒剤を 6kg/10a 施用した場合，trichlorfon のトウモロコシ中の残留量は最高約 0.2ppm であり，このトウモロコシを乳牛が 1 日当り 40kg 食べたと仮定した場合，乳牛の 1 日当りの trichlorfon の摂取量は計算上，0.016mg/kg となり，本実験の投与薬量の約 1/200 ないし 1/2,000 となる。

摘 要

(1) trichlorfon 3mg/kg を胃内に直接投与したとき、ミルク中への残留量は投与1日後で0.007ppmのtrichlorfonが検出されたが、投与3日目以後は検出限界0.001 ppm 以下となった。

(2) trichlorfon 3mg/kg および 30mg/kg を飼料に混ぜ経口投与した場合、3mg/kg では最高残留量は投与3時間後に0.091ppmのtrichlorfonが見い出されたが、時間の経過に伴ない減少して、24時間後には0.003ppmとなり、3日目には検出限界以下となった。30mg/kg 投与では投与後9時間までは約0.2ppm(最高値0.55ppm)のtrichlorfonが検出されたが、24時間後には0.007ppmと急激に減少していた。しかしながら投与量に対するミルク中へのtrichlorfonの移行率は0.0144%であった。

(3) trichlorfonの代謝物 dichlorvos, trichloro ethanol, dimethyl phosphateなどは、3mg/kgの胃内投与、経口投与でもいずれの代謝物も検出されなかったが、30mg/kgの投与では短時間に搾乳したミルクより、trichlorfonの希量のdichlorvos(最高値は0.07ppm)、微量のtrichloro ethanol, dimethyl phosphateが検出されたが、いずれの代謝物もその消失はtrichlorfonより早くて、9時間後にはいずれも検出限界以下となった。

(4) trichlorfon 1mg/kg/dayで5日間連続に乳牛に経口投与した場合、5回目投与後の短時間内では約0.03ppmのtrichlorfonがミルク中より検出され、24時間後には0.009ppmの残留量が見い出された。連続投与の場合、1回の投与に比較してtrichlorfonのミルク中の残留量の減少速度はやや遅い傾向が見られた。

文 献

- 1) Behrenz, W.: *Vet.-Med. Nachr.*, No. 3, 3 (1961).
- 2) Leahy, J. S.: *Vet.-Med. Nachr.*, No. 2, 37 (1964).
- 3) 高瀬 巖・吉本佳文・津田秀子・中原武良：農薬生産技術 25(補), 22 (1971).

- 4) 高瀬 巖・中原武良・吉本佳文・中村秀子：防虫科学 37, 142 (1972).

Summary

Determination of residues of trichlorfon (*O, O*-dimethyl 2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate) and its metabolites were conducted in fresh milk secreted by cows which had been administered trichlorfon. The residues of trichlorfon and its metabolites have been studied by gas chromatographic analysis with flame thermionic detector and electron capture detector.

The results indicated that trichlorfon given at the rate of 3mg/kg with oral administration resulted in secretion of 0.09ppm of trichlorfon in milk as the maximum after 3 hours and 0.003ppm of trichlorfon after 24 hours. On the other hand, administration of trichlorfon at the rate of 30mg/kg resulted in secretion of 0.55 ppm of trichlorfon in milk as the maximum after one hour.

But trichlorfon residue in milk decreased rapidly in 9 hours after administration and found 0.007ppm after 24 hours. The maximum level in milk occurred shortly after the treatment, and the residues of trichlorfon persisted only for three days or less. (Limit of detection; 0.001 ppm)

Dichlorvos, trichloroethanol and dimethyl phosphate, possible metabolites of trichlorfon, were detected a slight amount in milk 3 hours after the treatment of cow with trichlorfon at the rate of 30mg/kg/day.

But metabolites of trichlorfon were disappeared at 9 hours after the treatment. Therefore, the results indicated that a large portion of trichlorfon were hydrolyzed rapidly after administration.