

農薬検査所報告

第 5 号

農林省農薬検査所

(東京都北多摩郡小平町)

目 次

	頁
農薬検査所の概況	1
農薬公定分析法	4
ダイアジノン分析法の検討	8
玄米中のパラチオン残留量	13
DN 剤の分析法について	18
<i>p</i> -Chlorophenyl <i>p</i> -chlorobenzene sulfonate および <i>p</i> -Chlorophenyl <i>p</i> -chlorobenzene sulfonate と Bis (<i>p</i> -chlorophenoxy) methane 混合製品の分配クロマトグラフ法による分析法	24
デイルドリン、エンドリン、アルドリンの分配クロマトグラフ法による 分析について	28
BHC の残効について	32
ジチゾンによる有機水銀剤中の水銀の定量法	34
有機水銀化合物のペーパークロマトグラフィー	35
食品中のパラチオンの微量検出法	36
バイオオートグラフィーによる農薬ストレプトマイシンの簡易検定法	39
生物検定における直交多項式の応用について	42
殺虫剤の蒸気圧とガス毒効果との関係及び食毒、忌避作用	44
乳化剤の量的差異がパラチオン乳剤の殺虫力に及ぼす影響	49
殺虫剤の微量生物検定における植物油等夾雑物の影響について	52
蚊幼虫による玄米のパラチオン残留量検定	55
各種薬剤処理によるナミハダニ <i>Tetranychus telarius</i> (L.) 卵の発育停 止時期について	58
植物に対する溶剤の薬害について	62
薬害研究及び検定材料としてのクロレラについて (補遺)	65

農薬検査所の概況

(Outlines of the Agri. Chem. Inspection Station)

1. 所在地 東京都北多摩郡小平町鈴木新田 772番地
 電話 所長室, 化学課(小金井) 51番
 総務課, 生物課(〃) 704番

2. 機構

- 総務課
 - 庶務係—人事, 文書, 一般庶務
 - 会計係—経理, 給与, 国有財産及び物品管理
 - 調査係—登録事務, 取締, 調査, 企画
- 化学課
 - 第1係—有機リン製剤, 硫黄剤, 24-D 剤等の化学的, 物理的検査
 - 第2係—水銀剤, 銅剤等の化学的物理的検査
 - 第3係—BHC剤, ニコチン剤等の化学的, 物理的検査
- 生物課
 - 昆虫係—殺虫剤, 殺そ剤, 殺線虫剤等の効力・薬害検査
 - 病理係—殺菌剤, 除草剤等の効力・薬害検査

3. 定員及び予算

年 度	定 員	予 算
29	29	10,713千円
30	29	11,212
31	29	13,320
32	29	17,292
33	30	20,263

4. 沿革

昭和22年6月北区西ケ原の農業技術研究所構内に開設し, 試験圃場の関係上生物課は同年秋都下北多摩郡小平町鈴木新田に移転した。その後, 昭和30年11月化学検査室 57 坪を西ケ原から小平町に移築し, 31年1月に事務室 40 坪を新築し, 所長室, 総務課が移転した。
 なお 33 年度予算にて本館(150坪)の本建築に着手し, 34年8月頃までに完成する予定である。

業務状況

1. 農薬の登録状況

年 度	昭和29年度	昭和30年度	昭和31年度	昭和32年度	昭和33年度
登録の種類					
新 規	298件	438件	497件	513件	381件
再	331	224	271	367	463

2. 農薬の集取検査

(1) 昭和 29 年~昭和 31 年度

農薬の種類	昭和29年度			昭和30年度			昭和31年度		
	表示と一致のもの	表示と不一致のもの	備考	表示と一致のもの	表示と不一致のもの	備考	表示と一致のもの	表示と不一致のもの	備考
比 酸 鉛	1	—		—	—		—	—	
デ リ ス 粉	—	—		—	—		1	—	
硫 酸 ニコチン	—	—		2	1		1	1	
D D T 粉 剤	1	—		3	—		—	—	
D D T 水 和 剤	—	—		1	—		1	—	
D D T 乳 剤	4	—		2	—		2	—	
B H C 粉 剤	46	22		27	16*	*無登録 1を含む	20	12	
B H C 水 和 剤	2	1		6	—		—	—	
B H C 乳 剤	—	—		—	1		—	—	
B H C 液 剤	1	—		—	—		—	—	
ニコチンBHC粉剤	1	—		—	1		—	2	
パラチオン粉剤	30	2		3	2		12	8	
パラチオン乳剤	6	3*	*偽造品	2	—		1	—	

農薬の種類	昭和29年度			昭和30年度			昭和31年度		
	表示と一致のもの	表示と不一致のもの	備考	表示と一致のもの	表示と不一致のもの	備考	表示と一致のもの	表示と不一致のもの	備考
E P N 粉 剤	—	—		—	—		1	—	
マシン油乳剤	—	—		1	—		—	—	
有機水銀粉剤	50	10		15	2		1	2	
有機水銀乳剤	—	—		1	—		—	—	
液用有機水銀剤	5	1		2	—		—	—	
銅及び銅水銀剤	4	1		4	4		—	—	
石灰硫黄合剤	2	—		10	1		—	—	
ZINEB水和剤	1	—		8	—		—	—	
除草剤	—	—		1	—		—	—	
合 計	154	40		88	28		40	25	

(2) 昭和32年～昭和33年度

農薬の種類	昭和32年度				昭和33年度			
	検査件数	品質不良	表示不良	備考	検査件数	品質不良	表示不良	備考
比 酸 鉛	1	—	—		4	—	—	
デリス粉	4	—	4		1	—	—	
硫酸ニコチン	2	—	1		5	—	2	
DDT粉剤	1	—	—		3	—	—	
DDT水和剤	1	—	—		1	—	—	
DDT乳剤	12	1	9		5	—	—	
DDT除虫菊粉剤	1	—	1		1	—	—	
B H C 粉 剤	22	2*	18	*無登録1 を含む 無登録1 あり	25	1	1	
B H C 乳 剤	5	—	2		9	1	—	
ニコチンBHC粉剤	2	—	2		3	—	1	
デルドリン粉剤	1	—	1		—	—	—	
エンドリン乳剤	3	—	3		6	—	—	
パラチオン粉剤	11	—	8		18	1	—	
パラチオン乳剤	7	—	4		13	—	—	内容量 不足1
マラソン粉剤	4	—	3		5	1	—	
マラソン乳剤	1	—	1		5	—	—	
E P N 粉 剤	1	—	1		4	2	—	
E P N 乳 剤	1	—	1		2	—	—	
其他殺虫剤	3	—	3		42	—	1	
有機水銀粉剤	21	4	16		18	—	—	
有機水銀乳剤	4	—	3		1	—	—	
その他の水銀剤	3	2	1		14	—	—	
銅及び銅水銀剤	13	—	5		7	—	—	
石灰硫黄合剤	1	1*	—	*登録を偽 称無登録	7	—	—	
水和硫黄剤	1	—	—		8	4	—	
硫黄粉剤	—	—	—		1	1	—	
ZINEB水和剤	—	—	—		4	—	1	
P C P 剤	—	—	—		2	2	—	
T U Z 剤	—	—	—		3	—	—	

農薬検査所の概況

農薬の種類	昭和32年度				昭和33年度			
	検査件数	品質不良	表示不良	備考	検査件数	品質不良	表示不良	備考
その他殺菌剤	1	—	1	無登録あり 1無登録あり 1無登録あり 1無登録あり	23	—	—	無登録1
除草剤	2	1	—		7	—	2	
殺そ剤	2	—	1		4	—	1	
その他の	1	—	—		2	—	—	
合計	134	11	89		253	13	9	

3. 農薬の検定依頼

昭和29年度		昭和30年度		昭和31年度		昭和32年度		昭和33年度	
一般	官公庁	一般	官公庁	一般	官公庁	一般	官公庁	一般	官公庁
16件	61件	22件	81件	38件	118件	24件	33件	18件	76件

農 薬 公 定 分 析 法

マ ラ ソ ン 粉 剤

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 (マラソン)

検量線の作成

標準マラソン約 0.1 g を 100 cc のメスフラスコに正確にはかりとり、エタノール⁽¹⁾を用いて定容とする。この液 5 cc をホールピペットでとり 100 cc のメスフラスコにとり、エタノールで定容とし、この液をマラソンの標準溶液とする。(507/cc)

標準溶液 10cc をホールピペットで三角フラスコ (容量 300 cc) にとり、予め 5°C 以下に冷却した $\frac{N}{10}$ 塩酸溶液 30 cc をメスシリンダーを用い、 $\frac{N}{2}$ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 cc⁽²⁾、四塩化炭素⁽³⁾ 25 cc をそれぞれホールピペットを用いて順次加え、三角フラスコを氷水中につけて 5°C 以下に冷却する。これに硫酸銅溶液 (5%) 2 cc を加え、カラン付の栓⁽⁴⁾ をつけて 30 秒間激しくふりまぜて発色せしめ、四塩化炭素層をとり、硫酸銅溶液を加えてから 3 分ないし 6 分の間に波長 420 m μ における吸光度を測定する。別に標準溶液の代りにエタノール 10 cc をとり、同様の方法で空試験を行い、この値を差引き遊離ジチオ磷酸エステルによる吸光度を求め、

次に標準溶液 2.5 cc, 5 cc, 7.5 cc, 10 cc をそれぞれホールピペット又はメスピペットを用いて三角フラスコ (容量 300cc) にとり、エタノールを用いて全容を 10cc とする。これに $\frac{N}{2}$ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 cc を加えゆるやかにふりまぜ、20~25°C で 2 分間放置する。これに予め 5°C 以下に冷却した $\frac{N}{10}$ 塩酸溶液 30 cc、四塩化炭素 25 cc を順次加え、三角フラスコを氷水中につけて 5°C 以下に冷却する。これに硫酸銅溶液 (5%) 2 cc を加え、直ちに栓をつけて 30 秒間激しくふりまぜて発色せしめ、四塩化炭素層をとり、硫酸銅溶液を加えてから 3 分ないし 6 分の間に波長 420 m μ における吸光度を測定し⁽⁵⁾、上記空試験の値を差引いて全ジチオ磷酸エステルによる吸光度を求める。更に標準溶液 2.5 cc, 5 cc, 7.5 cc, 10 cc の全ジチオ磷酸エステルによる吸光度からそれぞれの量に対応する遊離ジチオ磷酸エステルによる吸光度を差引いて検量線を作成する。

分 析 操 作

マラソン約 3 mg を含む試料を 100 cc のメスフラスコに正確にはかりとり、エタノール約 50 cc を加えて、良くふりまぜ、エタノールを用いて定容とする。これを 30 分間放置し、試料溶液とする。試料溶液 10 cc をホールピペットで三角フラスコ (容量 300 cc) にとり、 $\frac{N}{2}$ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 cc を加えて、ゆるやかにふりまぜ、20~25°C で 2 分間放置する。以下検量線の作成の場合と同様に操作して吸光度を求める。別に試料溶液 10 cc をとり、 $\frac{N}{10}$ 塩酸溶液 30 cc、 $\frac{N}{2}$ エタノール性水酸化カリウム溶液 2 cc、四塩化炭素 25 cc を順次加え、三角フラスコを氷水中につけて 5°C 以下に冷却し、以下検量線作成の場合と同様の方法で得られた値を上記の吸光度から差引き、検量線よりマラソンの量を求め、つぎの式によってマラソンの百分率を算出する。

$$\text{マラソン (\%)} = \frac{\text{マラソン量 (g)} \times 10}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注

- (1) エタノールは生石灰で脱水し、蒸留して用いる。回収エタノールを使用する場合は脱水蒸留の操作を 2 回繰返す。
- (2) 水酸化カリウム 2.8 g を上記エタノール 100cc でとく。
- (3) 濃硫酸、希水酸化ナトリウム溶液 (1%) で順次洗い、塩化カルシウムで脱水し、蒸留して用いる。
- (4) 2 個のカランを通してあるガラス共栓 (又はコルク栓) を用い、取出口のカランの先端には脱脂綿をつめておく。この栓を三角フラスコにつけてさかさにした時、四塩化炭素層を取らせる様にする。
- (5) キュベットは厚さ 10 mm のものを使用する。

マ ラ ソ ン 乳 剤

検量線の作成

マラソン粉剤の検量線の作成に準ずる。

分 析 操 作

マラソン約 50 mg を含む試料を 100 cc のメスフラスコに正確にはかりとり、エタノールを用いて定容とする。この溶液 5 cc をホールピペットでとり 100 cc のメスフラスコに移し、エタノールを用いて定容とし、これを試料溶液とする。試料溶液 10 cc をホールピペットで三角フラスコ (容量 300 cc) にとり、マラソン粉剤の場合と同様に⁽¹⁾操作してマラソン量を求め、つぎの式によ

てマラソンの百分率を算出する。

$$\text{マラソン (\%)} = \frac{\text{マラソン量 (g)} \times 200}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注

- (1) 乳剤の場合は $\frac{N}{10}$ 塩酸は 2.5% の芒硝を溶かしたものをを用いと分離がよい。

ヘブタクロール乳剤

1, 4, 5, 6, 7-ヘンタクロール-3a, 4, 7, 7aテトラヒドロ-4, 7 (8.8-ジクロルメタン) インデン (ヘブタクロール)

ヘブタクロール約 1g を含む試料を三角フラスコ (容量 300 cc) に正確にはかりとり、 $\frac{N}{10}$ 硝酸銀酢酸溶液⁽¹⁾ 50 cc を加えて 45 分間ゆるやかに加熱還流したのち、冷却管を氷酢酸 20 cc、水 60 cc で順次洗う。反応液が室温に冷却したのち、かきまぜながら硝酸 (1:1) 10 cc を加える。生じた塩化銀の沈でんをガラスろ過器 (1-G4) でこしとり、約 40°C に加温した氷酢酸約 20 cc で 2 回、硝酸 (1:3) 約 20 cc で 2 回、最後にアセトン約 10 cc で洗ったのち、110°C で 1 時間 30 分乾燥する。デシケーターに入れ、冷後重さをはかり、つぎの式によってヘブタクロールの百分率を算出する。

$$\text{ヘブタクロール (\%)} = \frac{\text{沈でんの重量 (g)} \times 2.611}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注

- (1) $\frac{N}{10}$ 硝酸銀酢酸溶液：試薬 1 級硝酸銀 17g を水 100 cc に溶かし、硝酸 (1:1) 56 cc を加え、氷酢酸で 1 l にうすめる。

ヘブタクロール粉剤

ヘブタクロール約 1g を含む試料を正確にはかりとり、ソックスレー抽出器を用いてエーテルでヘブタクロールを抽出する。抽出液をエーテルを用いて三角フラスコ (容量 300 cc) に洗い移し、湯浴上でエーテルを留去する。残留物に $\frac{N}{10}$ 硝酸銀酢酸溶液 50 cc を加えて、以下ヘブタクロール乳剤の分析法に準じて操作する。

ケルセン乳剤

1, 1-ビスバラクロルフエニル-2, 2, 2-トリクロルエタノール (ケルセン)

ケルセン約 0.4g を含む試料を三角フラスコ (容量 300 cc) に正確にはかりとり、 $\frac{N}{2}$ エタノール性水酸化カリウム溶液 50 cc を加え、湯浴上で 1 時間還流させる。硝酸 (1:1) 10 cc を加えて室温に冷却し、 $\frac{N}{10}$ 硝酸銀溶液を正確に 50 cc 加える。つぎにニトロベンゼン 5cc および硫酸第二鉄アンモニウム溶液 (10%) 3 cc を加え、 $\frac{N}{10}$ チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し、溶液が

淡かっ色を呈したときを終点とする。消費された $\frac{N}{10}$ 硝酸銀溶液の量を A cc とし、別に同様の方法で空試験を行いこれに要した $\frac{N}{10}$ 硝酸銀溶液の量を B cc とする。つぎの式によってケルセンの百分率を算出する。

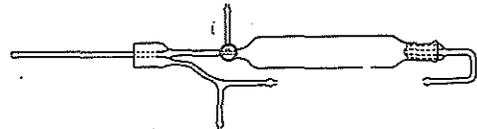
$$\text{ケルセン (\%)} = \frac{(A \text{ cc} - B \text{ cc}) \times 0.01235}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

ケルセン水和剤

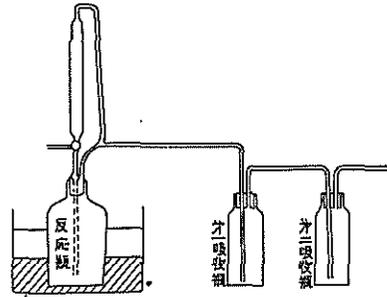
ケルセン約 0.4g を含む試料をソックスレー抽出器を用いてエーテルで抽出する。抽出液をエーテルを用いて三角フラスコ (容量 300 cc) に洗い移し、湯浴上でエーテルを留去する。つぎに $\frac{N}{2}$ エタノール性水酸化カリウム溶液 50 cc を加え、以下ケルセン乳剤の分析操作に準ずる。

リン化亜鉛

$\frac{N}{2}$ 過マンガン酸カリウム溶液をホールピペットを用いて正確に第一吸収ビンに 100 cc、第二吸収ビンに 50 cc 入れる。リン化亜鉛 0.5g を含む試料を正確にはかりとり、反応ビンに入れる。滴下漏斗 (第 1 図) に硫酸 (1:5) 100 cc を入れ、装置を第二図のように連結した後、窒素ガスを徐々に通ずる。約 5 分後硫酸 (1:5) を滴下



第 1 図



第 2 図

漏斗より滴下し、反応ビンを約 50°C に加温し、2.5 時間 ~ 3 時間 50 ± 5°C の温度に保つ。リン化水素が出なくなったのち 10 分間窒素ガスをはげしく通ずる。窒素ガスの流通を止め、吸収ビンをはずし、吸収ビン中の過マンガン酸カリウム溶液を 1 l のビーカーに移す。シユウ酸硫酸混液⁽¹⁾ 200 cc で吸収ビンをよく洗って沈でん及びガラス壁についている二酸化マンガンを完全に溶かし、これをビーカー中の過マンガン酸カリウム溶液に合す

る。 $\frac{N}{2}$ 過マンガン酸カリウム溶液で過剰のシユウ酸を滴定し、わずかに赤色を呈したときを終点とする。これに要した $\frac{N}{2}$ 過マンガン酸カリウム溶液の量を A cc とする。次の式によってリン化亜鉛の百分率を算出する。

$$\text{リン化亜鉛 (\%)} = \frac{[(A+150)-150] \times 0.8066}{\text{試 料 (g)}}$$

注

- (1) $\frac{N}{2}$ シユウ酸溶液 150 cc をホールビベットを用いて正確にとり、硫酸 (1:1) 50 cc を加える。

2 メチル 4 クロロフェノキシ酢酸エチルエステルを成分とする MCP 除草剤

2 メチル 4 クロロフェノキシ酢酸エチルエステル (MCP エチルエステル)

2,4-D エチルエステルの分析操作に準ずる。つぎの式によって MCP エチルエステルの百分率を算出する。

$$\text{MCP エチルエステル (\%)} = \frac{\frac{N}{10} \text{水酸化ナトリウム溶液使用量 (cc)} \times 0.02286}{\text{試 料 (g)}} \times 100$$

パラチオン乳剤

パラチオン 0.6~0.9 g を含む試料をあらかじめエーテル約 100 cc を入れた分液ロート (容量 250 cc) に正確にはかりとる。以下パラチオン粉剤の分析操作に準ずる。

メチルパラチオン乳剤

パラチオン乳剤に準ずる。

ストレプトマイシンを成分とする抗生物質剤 (ヒトマイシンなど)

1. 常用標準ストレプトマイシン稀釈液の調製

常用標準ストレプトマイシン⁽¹⁾の適当量を相対湿度約 10% の空气中で秤量し容器に毛紙管せんを施して真空乾燥器に入れ、水銀柱 5 mm 以下の圧のもとで 60°C で 3 時間乾燥した後乾燥器に硫酸中を通した乾燥空気で常圧にもどし更に五酸化燐を入れたデシケーター中に移して室温になるまで放冷し、相対湿度 50% 以下の大気中でその 4~5 mg を正確にはかり、無菌の 0.05 M 磷酸カリウム緩衝液 (pH 6.0) にとかして適当な濃度 (約 400 mcg (力価)/cc) の原液をつくる。原液は約 15°C に保存し 30 日間使用することができる。この原液から 0.10 M 磷酸カリウム緩衝液 (pH 7.8~8.0) で 8 mcg (力価)/cc 及び正確に更に 4 倍に稀釈した 2 mcg (力価)/cc の稀釈液をつくる。

2. 試料の調製

試験品を無菌の蒸留水で正確に稀釈溶解して 400 mcg (力価)/cc (推定値) の試験原液を作る。更にこれを 0.10 M 磷酸カリウム緩衝液 (pH 7.8~8.0) で正確に稀釈して 8 mcg (力価)/cc (推定値) 及び 2 mcg (力価)/cc (推定値) の試料稀釈液を作る。但しこの過程で沈澱の生じた場合は直ちに濾過した後操作を続ける。

3. 試験菌の孢子浮游液の調製

試験菌には枯草菌 P.C.I. 219 を用いる。試験菌は 2 号培地⁽²⁾に培養して保存する。これをルービン中の 2 号培地に 32~37°C で 1 週間培養して孢子をつくらせる。孢子を無菌の蒸留水に浮游させ 1 分間 3,000 回転で 30 分間遠心沈澱してその上清を捨てたものに無菌の蒸留水適当量を加えてふりまぜた後 24 時間間隔で 65°C に 30 分間 2 回加熱し、1 分間 1,000 回転で 5 分間遠心沈澱してその上層液を採取し、明瞭な阻止帯をあらわすために種層用寒天に加える孢子浮游液の適当量を予め定めておく。

4. 平板の調製

滅菌したペトリ皿⁽³⁾に 1 号培地⁽²⁾ 20 cc (内径 100 mm のペトリ皿の場合は 21 cc) を分注し水平に静置し凝固させて基層とする。

種層用寒天 (1 号培地) をとかし、55~60°C に冷却し上記の孢子浮游液を加えてよく混和させた後、その各 4 cc を基層平板上に注加し、これが一様に拡がるように平板を前後にかたむけ直ちに水平に静置して凝固させる。この平板は使用する直前まで少くとも 1 時間以上冷蔵する。

4 箇の円筒⁽⁴⁾を種層上に半径約 2.5 cm (内径 100 mm のペトリ皿の場合には約 2.8 cm) の円周上に約 90° の間隔で置く。この際にはそれを約 1.3 cm の高さから機械的に落す。

5. 試験法

各試験品について平板 5 枚を使用する。各平板の第 1 の円筒には、常用標準ストレプトマイシンの 8.0 mcg (力価)/cc 稀釈液、第 2 の円筒には、常用標準ストレプトマイシンの 2.0 mcg (力価)/cc 稀釈液、残りの 2 箇の円筒には 8.0 mcg (力価)/cc (推定値) 及び 2.0 mcg (力価)/cc (推定値) の試験品稀釈液をそれぞれ入れる。平板をふ卵器中に納め、32~37°C で 16~18 時間培養する。培養の後、各々の阻止円の直径を 0.5 mm まで正確に測る。

6. 力価計算

阻止円の測定値を下表の相当欄に記入する。但し常用

標準ストレプトマイシンの 8.0 mcg(力価)/ccと2.0mcg (力価)/cc の阻止円の直径がそれぞれ S_H, S_L に相対し、対応する試験品希釈液の阻止円の直径が U_H, U_L である。

	U_H	U_L	S_H	S_L
i	mm	mm	mm	mm
ii				
iii				
iv				
v				
計	ΣU_H	ΣU_L	ΣS_H	ΣS_L

円筒内の液体の力価 (P) と阻止円の直径 (d) との間には $d = \alpha \log P + \beta$ (α, β は常数) の関係式が成立するから常用標準ストレプトマイシンの力価 (P_s) に対する試験品の力価 (P_v) の比 $\theta (= \frac{P_v}{P_s})$ は次式を計算して求める

$$\log \theta = \frac{(\Sigma U_H + \Sigma U_L) - (\Sigma S_H + \Sigma S_L)}{(\Sigma U_H + \Sigma S_H) - (\Sigma U_L + \Sigma S_L)} \times \log 4$$

求めた力価の比が $1.5 > \theta > 0.5$ の範囲外に出る場合にはこの結果を考慮して、試験品の表示力価を適宜に修正して試験を繰返す。

注

(1) 常用標準ストレプトマイシン——常用標準ストレプトマイシンとはストレプトマイシン製剤の力価を定めるための標準として国立予防衛生研究所によって製造された特定製造番号の硫酸ストレプトマイシン又は塩酸ストレプトマイシン塩化カルシウムの結晶をいう。

常用標準ストレプトマイシンは密せんした小びんに入れて常温に保存する。その小びんは適当な乾燥剤を入れた大きな共せんびんに入れて保存する。

(2) 培地

培地は目的に応じて下表のものを用いる。

培地番号	1 号	2 号
使用目的	種層及び基層用	継代保存及び増殖用
ペプトン	5.0 g	10.0 g
肉エキス	3.0 g	5.0 g
食塩	—	2.5 g
寒天	15.0 g	15.0~20.0 g
蒸溜水	加えて 1,000cc	加えて 1,000cc
滅菌後の pH	7.8~8.0	6.5~6.6

(3) ベトリ皿

内径 90 mm 又は 100 mm, 高さ 20mm の硬質ガラス製で底面が平滑でこれに適合する蓋付のものであること。

(4) 円筒(カップ)

不銹鋼の円筒で外径 8 ± 0.1 mm, 内径 6 ± 0.1 mm, 高さ 10 ± 0.1 mm であること。

ストマイシン及びオキシテトラサイクリンを成分とする抗生物質剤(アグリマイシン)

I. ストレプトマイシン

試料の調製は次のように行い、ストレプトマイシンを含む抗生物質剤の検査法に準ずる。

試験品のストレプトマイシン 300 mg (力価) に対応する量(推定値)を正確に秤量し、0.10 M 磷酸カリウム緩衝液 (pH 7.8~8.0) 100 cc を加えてよくふりまぜた後濾過して試料原液を作る。更にこれを 0.10 M 磷酸カリウム緩衝液 (pH 7.8~8.0) で正確に希釈して 8 mcg (力価)/cc (推定値) 及び 2 mcg (力価)/cc (推定値) の試料希釈液を作る。

2. オキシテトラサイクリン

オキシテトラサイクリン約 30 mg を含む試料を 100 cc のメスフラスコに正確にはかりとり、 $\frac{N}{100}$ 塩酸溶液を加えて定容とし、よくふりまぜた後乾燥口紙でこす。ロ液 3 cc をメスピペットでとり、100 cc のメスフラスコに移してクラークラップス混合緩衝溶液 (pH 2.0) 100 cc で定容とする。この溶液の波長 353 m μ における吸光度を分光光度計で測定する。

別に同様の方法で行った空試験の吸光度を差引きオキシテトラサイクリンによる吸光度 (E 353) を求める。

つぎの式によってオキシテトラサイクリンの百分率を算出する。

オキシテトラサイクリン (%)

$$= \frac{\frac{E_{353}}{30.6} \times 100 \times \frac{100}{3}}{\text{試料 (mg)}} \times 100$$

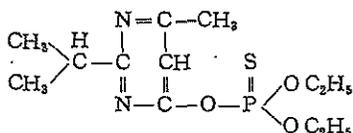
注

(1) $\frac{M}{5}$ 塩酸溶液 10.6cc に $\frac{M}{5}$ 塩化カリウム溶液 50 cc を加え、水で全量を 200 cc とする。

ダイアジノン分析法の検討

後藤 真康・伊東富士雄・佐藤 六郎

ダイアジノンは Geigy 社から発売された下記の構造をもつ物質で、比較的人畜毒性の少ない有機燐殺虫剤として、我が国でも主として乳剤が果樹等に使用されている。



本剤の分析法は Geigy 社から数種発表されているが⁽¹⁾、大別すると重量法と滴定法になる。重量法はダイアジノンを加水分解して生ずる、isopropyl-methyl-hydroxy-pyrimidyne をリンタングステン酸により沈澱せしめ、その重量をはかるものであり、滴定法はダイアジノンを弱塩基として非水溶媒中で過塩素酸により滴定するものであるが、前者は後者に比し、煩雑で精度も低い。我々は本剤の公定分析法を決定する目的で、主として滴定法について詳細に検討したのでその結果を報告する。

A. ダイアジノン原体の分析法

ダイアジノン原体の分析法には Geigy 社の Fol. 514 法があるが、乳剤分析法の Fol. 536 法も適用できる。

Fol. 514 法

ダイアジノン原体 1g を 300 cc 容分液ロートに正確に秤りとり、エーテル 100 cc にとかし、50 cc の水でエーテル層に酸がなくなるまで洗う。水層は合してメチルレッドを指示薬として、 $1/10$ N NaOH 液で中和する。エーテル層をフェノールフタレンを含む $1/100$ N NaOH 液でフェノールフタレンの色が消えなくなるまで洗い水層を合し、50 cc のエーテルで洗う。エーテル層を 300 cc 容の三角フラスコに集め、無水芒硝で脱水し濾過する。エーテルを留去し、残渣を 30cc の氷酢酸⁽¹⁾にとかし、 α -naphtholbenzein を指示薬とし、液が濃緑色となる点を終点として、 $1/10$ N 過塩素酸氷酢酸溶液⁽²⁾で滴定し次式によりダイアジノン含量を算出する。

ダイアジノン含量 (%)

$$= \frac{\text{滴定値 (cc)} \times \text{過塩素酸の力価} \times 3.0435}{\text{試料重量 (g)}}$$

註

- (1) 本報の分析に用いる氷酢酸はすべて蒸溜して沸点 115~118°C の留分をとり、混在する水を消費するのに充分な量の無水酢酸を加えたものを用いる。
- (2) $1/10$ N 過塩素酸氷酢酸溶液は、過塩素酸水溶液 (60%) 17g を氷酢酸及び混在する水を消費するのに充分な量の無水酢酸にとかしして 1/としたものを用いる。標定は 110°C で 2 時間乾燥した標準試薬の炭酸ナトリウム 0.1g を用いて使用の都度行う。

Fol. 536 法

ダイアジノン約 1g を含む試料を分液ロート (容量 350 cc) に正確にとり、エタノール (60 容量%) 100 cc にとかし、NaCl 飽和溶液 10 cc を加え、石油エーテル⁽³⁾ 100 cc で抽出する。エタノール層を第 2 の分液ロートに移し再び石油エーテル 100 cc で抽出する。エタノール層を第 3 の分液ロートに移し更に 100 cc の石油エーテルで抽出し、エタノール層をすてる。3 つの石油エーテル層をエタノール (60 容量%) 30 cc で順次 2 回洗いエタノール層をすてる。石油エーテル層を合し無水芒硝で脱水、濾過し、石油エーテルを留去する。残渣を氷酢酸 30cc にとかし、 α -naphtholbenzein を指示薬として $1/10$ N 過塩素酸氷酢酸溶液で滴定し、514 法と同様の式でダイアジノン含量を算出する。

註

- (3) 石油エーテルの代りに *n*-ヘキサンを用いてもよい。

数種の試料について両者の分析値を比較すれば第 1 表の通りである。即ち精度に大差はないが、514 法は 536 法に比し低い分析値を与え又、試料の量が大になるほど分析値が小になる傾向がみられる。この原因を知るため次の実験を行った。

(1) 514 法の検討

514 法でエーテル溶液としたダイアジノン中の遊離 pyrimidine 等の不純物を洗浄する際の条件⁴、及びその際のダイアジノンの損失の有無を知るために次の実験を行った。即ち technical diazinon 1g をエーテルにと

Table I. Analysis of technical diazinon.

sample	method 514			method 536		
	diazinon found av. (%)	n	s	diazinon found av. (%)	n	s
A	95.94	10	0.92	98.33	10	0.33
B	92.12	10	0.93	92.89	10	1.12
C	92.97	8	0.28	93.80	8	0.13
D	96.83	8	0.39	98.52	8	0.30

mean standard deviation 0.73 0.65

n: number of analysis

s: standard deviation

かし、下記の洗浄条件で洗浄し、洗液は合して微アルカリ性とし、50 cc のエーテルで2回抽出し、各エーテル層を別々に脱水、濾過し、溶媒を留去して残渣を滴定した。

洗浄条件

- 蒸留水 25 cc 1回
- 蒸留水 25 cc 1回 $\frac{1}{100}$ N NaOH 液 25 cc 1回
- 蒸留水 50 cc 1回 $\frac{1}{100}$ N NaOH 液 25 cc 1回
- 蒸留水 50 cc 2回 $\frac{1}{100}$ N NaOH 液 25 cc 1回
- 蒸留水 50 cc 3回 $\frac{1}{100}$ N NaOH 液 25 cc 1回

その結果は第2表の通りである。又、ダイアジノンを加水分解して生じた遊離ピリミジンの粗結晶 0.1 g を同様に操作した結果は、c) の1層に 3.0 mg, 2層に 4.8 mg, d) の1層に 1.1 mg, 2層に 1.9 mg のダイアジノンに相当する量が検出された。以上の結果よりみて、遊離ピリミジンが多量に存在する時はその完全な除去は困難であるが、通常の試料では c) 又は d) の条件で充分と思われる。2, 3層にダイアジノンがほとんど存在しない事から見て、ダイアジノンはそのままでは洗浄によって損失しないと思われるが、洗浄中に分解して損失する可能性はある。

(2) 536 法の検討

536 法におけるダイアジノンの石油エーテル層とエタノール層との間の分配状態を知り、又不純物が完全に除けるか否かを検するため次の実験を行った。即ち約 1 g の3個の試料をそれぞれ 50, 60, 70 容量%のエタノール 100 cc にとかし、飽和食塩水 10 cc を加え、100 cc の *n*-ヘキサンで4回抽出し、*n*-ヘキサン層を同濃度のエタノール

Table II. Washing conditions in 514 method.

condition	wt. of sample	ether layer	diazinon found (g)	diazinon found (g)	diazinon found (%)
a	1.1624	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	1.0514	1.0536	90.64
			0.0022 0		
	0.5306	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	0.4904	0.4923	92.78
			0.0019 0		
b	1.0296	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	0.9434	0.9453	91.81
			0.0019 0		
	0.6125	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 3 \\ 3 \end{array} \right.$	0.5615	0.5560	92.88
			0.0018 0		
c	1.0749	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	0.9919	0.9956	92.65
			0.0037 0		
	0.5986	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	0.5534	0.5560	92.88
			0.0026 0		
d	1.1567	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	1.0524	1.0628	91.88
			0.0104 0		
	0.5074	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	0.4642	0.4663	92.00
			0.0026 0		
e	1.1760	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	1.0422	1.0554	89.74
			0.0132 0.0011		
	0.5259	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$	0.4863	0.4893	93.04
			0.0030 0		

ール 30 cc で順次2回洗い、*n*-ヘキサン層を別々に脱水、濾過し、溶媒を留去して残渣を滴定した。その結果は第3表の通りである。又遊離ピリミジン 0.3 g について 60 %エタノールを用いて同様に操作した結果は1・2・3層には検出されず、第4層にダイアジノン 3.7 mg 相当量が検出された。以上の結果よりみて、*n*-ヘキサン層は第3層迄とれば充分であり、不純物の除去も完全に行われる。エタノールは 60% が最適である。

(3) 溶媒除去の際のダイアジノンの損失の有無
溶媒を留去する際のダイアジノンの損失の有無を知るためダイアジノン原体約 1 g を 200 cc 容三角フラスコにとり、次の操作を加えたのち滴定した。

- 無処理
- エーテル 100 cc にとかし、湯浴上でエーテルを留去
- n*-ヘキサン 100 cc にとかし、湯浴上で *n*-ヘキサンを留去
- 沸とうする湯浴上で 30 分間加熱

Table III. Distribution of diazinon among the *n*-hexane layers in analysis of technical diazinon by 536 method.

conc. of ethanol (%)	wt. of sample (g)	<i>n</i> -hexane layer	diazinon found (g)	diazinon found (g)	diazinon found (%)	
60	1.0834	1	0.9045	1.0557	97.44	
		2	0.1364			
		3	0.0148			
		4	0.0011			
	1.0191	1	0.8413	0.9792	96.08	
		2	0.1234			
		3	0.0144			
		4	0.0018			
	50	1.0797	1	0.9873	1.0406	96.38
			2	0.0503		
			3	0.0030		
			4	0.0011		
1.0007		1	0.9171	0.9659	96.52	
		2	0.0470			
		3	0.0018			
		4	0			
70		1.1009	1	0.7570	1.0444	94.87
			2	0.2367		
			3	0.0507		
			4	0.0092		
	1.2630	1	0.8683	1.1963	94.72	
		2	0.2699			
		3	0.0581			
		4	0.0111			

Table IV. Loses of diazinon in distillation of solvents.

condition	diazinon found	av.
a	94.74 94.80	94.79
b	94.84 94.93	94.89
c	95.10 95.05	95.07
d	91.85 91.39	91.62

その結果は第4表に示す通り溶媒なしで加熱すれば若干損失するが、溶媒を留去する際には損失はない。

(4) 滴定溶媒と終点の検討

本分析法は最終的には弱塩基を非水溶媒中で滴定するものであるから、滴定溶媒には水を含んではならない。滴定溶媒としては無水酢酸により水を除去した氷酢酸が使用される。そこで滴定溶媒に過剰の水又は無水酢酸が存在した場合の影響を検討し、又 glass-caromel 電極を用いて電気滴定を行い、指示薬による終点と比較した。その結果は第5表及び第1図の通り α -naphtholbenzein による終点は電気滴定の終点とよく一致する。又水は2%程度存在しても分析値に影響はないが4%以上存在すると著しく終点が不明瞭となり、正の誤差の原因となる。

Table V. Effects of excess water or acetic anhydride on nonaqueous titration.

	substances added to 50 cc of glacial acetic acid.	results for titration	
		Na ₂ CO ₃ (%)	diazinon E. C. (1) (%)
of glacial acetic acid.	none	99.63	20.96
		100.37	20.88
	H ₂ O 0.5 cc	100.11	
		99.64	
	H ₂ O 1 cc	100.21	
		100.47	
	H ₂ O 2 cc	105.28	21.47
		102.12	21.75
	acetic anhydride 2 cc	100.49	20.98
		100.45	20.90
	H ₂ O 1 cc + acetic anhydride 5 cc	100.14	
		99.93	

(1) Diazinon emulsifiable concentrate was titrated directly without separation of surface active agents.

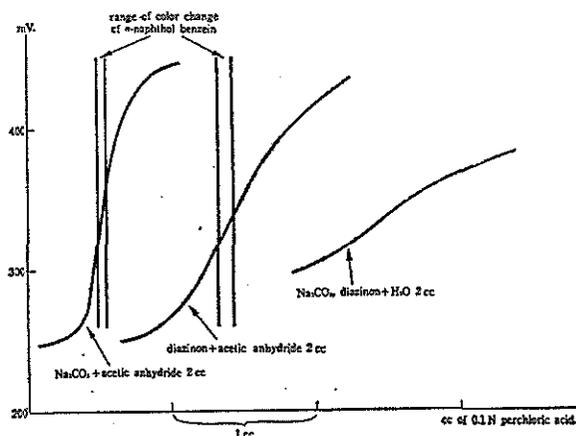


Fig. 1. Titration curve with 0.1 N perchloric acid in 50 cc of glacial acetic acid using glass-caromel electrodes.

無水酢酸は4%存在しても分析値に影響はない。

上記の検討の結果、514法は若干低い分析値を与え、又試料の量が大になるほど分析値が低くなる傾向がある。これは洗浄中にダイアジノンが分解して損失するためと思われる。

536法はダイアジノン原体に適用しても満足な結果がえられる事がわかった。

B. 乳剤の分析法

乳剤の分析法としては Geigy 社の Fol. 536 法と Fol. 518 法とがある。

Fol. 518 法

内径 11 mm, 長さ 30 cm のクロマトグラフ用ガラス円筒に混合溶媒 (エーテル 5% (v/v) を含む 石油エーテル) を半分程入れ, 活性アルミナ 10 g をそそいで吸着円筒とする。乳剤 5 g を容量 100 cc のビーカー中に正確に秤取し, 無水芒硝 25 g を加えてよくまぜ, 50 cc の混合溶媒を加えてよくかきまぜ, 上澄液を吸着円筒の上部から流す。更にビーカーの内容を各々 25cc の混合溶媒で 6 回洗い, 上澄液を吸着円筒に通す。流出液を容量 500 cc の分液ロートに集め 50 cc の水で 3 回洗う。洗液は合して 50cc のエーテルで洗う。混合溶媒層とエーテル層を合し, 溶媒を留去し, 残渣を 30cc の氷酢酸にとかして, $1/10$ N 過塩素酸氷酢酸溶液で滴定し, 514 法と同じ式でダイアジノン含量を算出する。

(1) 518 法の検討

Geigy 社の原法では活性アルミナとして, Woelm 社の aluminium oxide for chromatography, acid, 活性度 1, を指定しているが, 国産のクロマトグラフ用アルミナはいずれも弱塩基性である。そこで Woelm 社の酸性アルミナと国産のアルミナに水を添加してその活性度を変え, 各種のアルミナを用いて次の実験を行った。活性度の測定は Brockmann, Schodder⁽²⁾ の方法によった。アルミナ 10 g を用いて吸着円筒をつくり, 試料溶液を通し, 流出液を最初 50cc, 以後 25cc, づつ 8 個のフラクションにわけてとり, 各々を 10cc の水で 3 回洗い, 水層を合して 15cc のエーテルで抽出し, 溶媒層とエーテル層を合し, 溶媒を留去して残渣を別々に滴定し, ダイアジノンの流出状態をしらべた。各フラクションの測定値を合して分析値とした。その結果は第 6 表の通りである。分析値はどのアルミナを用いても差はない。液の流出速度は T-6, T-10 以外は自然流出で 25cc が 15~20 分で流出した。T-6, T-10 は上部より弱い圧をかけて他と同じ位の流出速度とした。乳化剤の分離はどのアルミナを用いても良好であるが, W-b, T-b, T-0 では最後のフラクションに僅かな乳化剤が流出した。ダイアジノンの流出状態はアルミナの種類により若干異なるが, 大体最初の 50 cc と次の 25 cc で全体の約 80%, 25cc 4 回迄で約 97%, 6 回迄で 99% 以上が流出する。

以上の結果よりみて, アルミナとしては何を用いてもよいが, 流出速度等よりみて, 水分 3%, 活性度 2 位のものが最もよいと思う。溶媒の使用量は原法通りで適当

Table VI. Analysis of diazinon emulsifiable concentrate by 518 method using various active aluminium oxides.

aluminium oxide	H ₂ O added (%)	degree of activation	results (%)		average (%)
W-b ⁽¹⁾	0	1	17.08	16.86	16.97
W-3 ⁽²⁾	3	2			
W-6 ⁽²⁾	6	3			
T-b ⁽³⁾	0	1	16.70	17.16	16.93
T-0 ⁽⁴⁾	0	1	16.86	16.65	16.76
T-1 ⁽⁵⁾	1	1	17.10	16.51	16.82
T-3 ⁽⁵⁾	3	1-2	17.18	16.67	16.93
T-6 ⁽⁵⁾	6	2-3	16.64	17.16	16.90
T-10 ⁽⁵⁾	10	3	16.77	17.15	16.96

(1) "Woelm" acidic alumina was used without heating or addition of water.

(2) Water was added to W-b.

(3) "Takeda" alumina was used without heating or addition of water.

(4) "Takeda" alumina was heated 2 hours at 300-400°C.

(5) Water was added to T-0.

Table VII. Distribution of diazinon among the *n*-hexane layers in analysis of emulsifiable concentrate by 536 method.

conc. of ethanol (%)	wt. of sample (g)	<i>n</i> -hexane layer	wt. of diazinon found	wt. of diazinon found	% of diazinon
60	5.2342	1	0.8997	1.0452	19.97
		2	0.1295		
		3	0.0160		
		4	0.0019		
	5.2080	1	0.9015	1.0451	20.0
		2	0.1291		
		3	0.0145		
		4	0.0022		
	4.9961	1	0.9501	1.0076	20.17
		2	0.0542		
		3	0.0033		
		4	0.0015		
5.3804	1	1.0135	1.0748	19.98	
	2	0.0563			
	3	0.0045			
	4	0.0007			
4.9543	1	0.7216	0.9746	19.67	
	2	0.1755			
	3	0.0775			
	4	0.0115			
70	5.3041	1	0.7446	1.0503	19.80
		2	0.2478		
		3	0.0579		
		4	0.0122		

である。

(2) 536 法の検討

濃度既知の乳剤を用い、A-(2)と同様の実験を行った結果を第7表に示す。即ちダイアジノンの分配状態はダイアジノン原体の場合と大差はない。エタノールは60%が最適で50%では乳剤の分離がやや困難となり、70%ではダイアジノンの損失がある。

(3) 両者の比較

種々の乳剤について両法の分析値を比較した結果は第8表に示した通り、通常の乳剤では両者の分析値はよく一致するが、不純物の多い乳剤では536法の方が低い値を与える。そこで536法に対する分解、不純物の影響を

Table VIII. Analysis of diazinon emulsifiable concentrats.

sam- ple	theoretical content of diazinon	results					
		method 518			method 536		
		av.	n.	s.	av.	n.	s.
1	18.65	18.60	4	0.126	18.57	6	0.107
2	19.39				19.33	6	0.132
3	18.52				18.59	5	0.220
4	37.14				37.32	5	0.220
5	commercial grade	17.19	4	0.126	17.285	4	0.104
6	// ⁽¹⁾	11.515	4	0.194	10.87	4	0.042
7	// ⁽¹⁾	12.41	4	0.175	11.61	4	0.204

(1) unusually decomposed commercial grade emulsifiable concentrate.

Mean recovery of method 518 was 99.73% and mean standard deviation was 0.158%.

Mean recovery of method 536 was 99.99% and mean standard deviation was 0.160%.

しらべるため、18%より7%に分解した試料にダイアジノン原体を添加して536法により分析した。その結果は第9表の通りで分解物による妨害は認められない。従って518法が高い分析値を与えるのは、不純物が多いと除去が不完全になるためと考えられる。以上の結果よりみて、乳剤の分析法としては536法が適当と考えられる。

C. 乳剤の経時変化

上記の実験に使用した市販乳剤中、30年度製品の中に著しく成分含量の低下しているものがみられた。そこで31年度の新製品を冷蔵庫及び30°Cの恒温槽中に保存し、3、6、12ヶ月後に成分含量を536法により測定し、経時変化の有無をしらべた。その結果は第10表の如く、30°C

Table IX. Effects of decomposed diazinon on analysis of emulsifiable concentrate.

diazinon added (g)			diazinon found	
from E. C. ⁽¹⁾	technical ⁽²⁾	total	(g)	%
0.3565	0.4994	0.8204	0.8214	100.12
0.3661	0.5905	0.9566	0.9538	100.23
0.5450	0.8226	1.3676	1.3608	99.51
0.5421	0.8974	1.4395	1.4217	98.76
0.4004	0.5774	0.9778	0.9788	100.10
0.4454	0.4283	0.8737	0.8781	100.50
0.3595	0.4604	0.8199	0.8253	100.66
0.3060	0.4501	0.7561	0.7528	99.56

Mean recovery was 99.94%

Standard deviation was 0.59%

- (1) Unusually decomposed emulsifiable concentrate, diazinon content of which decreased from 18.6% to 7.0% after 14 months storage.
- (2) The purity was 92.89%.

Table X. Decrease of diazinon content of emulsifiable concentrate after strage.

date. of analysis	diazinon content ⁽¹⁾ (%)	
	stored under 0°C	stored at 30°C
June 5. 1956	18.10 (initial)	
Sept. 28. 1956	18.16	18.04
Dec. 6. 1956	17.97	17.87
June 15. 1957	17.81	17.07

(1) Avarage of 4 estimations. s=0.09%

に1年間保存した場合に約1%の成分の減少がみられた。従って31年度以降の製品では、通常の保存条件下の経時変化は極めて僅かなものと思われる。

要 旨

ダイアジノンの公定分析法としては、Geigy Method Fol. 536をほとんど原法通り実施するのが適当であるとされる。本法の回収率は100%、精度は原液で0.65%、20%乳剤では0.16%である。

文 献

- (1) Method Folio. 514, 518, 536, Anal. Lab. J. R. Geigy.
- (2) Brockmann, H., Schodder, H. (1941), Ber. 79, 73

Summary

Determination of Diazinon

By Shinkō Gotō, Fujio Itō, Rokurō Satō

Analytical methods of diazinon were studied. The following method based on Geigy's method "Fol. 536" seemed to be most suitable for official analytical method of technical diazinon and emulsifiable concentrate.

Weigh accurately sample containing about 1g of pure diazinon into a 350 cc separatory funnel containing 100 cc of 60% (v/v) ethanol and 10 cc of saturated NaCl solution. Extract the solution 3 times with each 100 cc of petroleum ether or *n*-hexane.

Wash three *n*-hexane layers successively 2 times with each 30 cc of 60% (v/v) ethanol. Combine

all *n*-hexane layers and dry with anhydrous sodium sulfate, filtrate into a Erlenmeyer flask.

Distill off the solvent and dissolve the residue in 30 cc of glacial acetic acid, then titrate with 1/10 N perchloric acid (glacial acetic acid solution) using α -naphthol benzein as indicator.

Calculation;

Diazinon (%)

$$= \frac{\text{cc of 0.1 N perchloric acid} \times 3.0435}{\text{weight of sample (g)}}$$

The recovery was 100%. The standard deviation at the analysis of technical diazinone was 0.65%, and 0.16% at 17% emulsion.

玄米中のパラチオン残留量

後藤 真康・牟田 一郎・佐藤 六郎

パラチオンは我が国において水稻のめい虫防除をはじめ果樹、野菜等に最も多量に使用されている農薬であるが、その毒性がかなり強いので海外では早くから作物体中の残留量が問題とされ多くの定量結果が報ぜられている^(1,2)。我が国でも果実、茶、煙草等について既に若干の定量が行われているが^(3,4)、米については主として稲体上での残留、浸透移行についての研究が行われたのみで⁽⁵⁾、玄米については散布時期が大体出穂期以前である事、稲体上での分解消滅が速かである事等よりみて、玄米中にパラチオンが残留する危険はほとんどないと考えられ、定量も行われなかった。しかるに32年7月、石川県において同県産の玄米、糠等よりかなりの量のパラチオンが検出された事が新聞紙上に報道され、一般の強い関心を呼んだ。我々は直ちに同県において検出試験を行った試料の分与をうけ追試を行い⁽⁶⁾、分析法についての詳細な検討を行った。更に農林省植物防疫課、各地農業試験場等の協力により、パラチオン散布歴の明らかな昭和32年度産米を入手し、分析を行うと共に、玄米中でのパラチオンの経時変化についても若干の研究を行ったのでその

結果を報告する。

I. 分析法の検討

パラチオンの微量分析法には、Averell-Norris法⁽⁷⁾、 α -ニトロフェノール法⁽⁸⁾、紫外線吸収法⁽⁹⁾等があるが、検討の結果Averell-Norris法が最も簡便で精度が高いため、この方法を玄米の分析に適するように改変して実施した。

Averell-Norris法はパラチオンを還元し、ジアゾ化し、 α -ナフチルエチレンジアミン塩酸塩とカップリングせしめ、生ずる赤紫色を比色するものであるが、ニトロベンゼン、アニリン、*o*- α -ニトロトルエン、メチルアソラニレートなど多くの芳香族ニトロ、アミノ化合物がパラチオンと同様の発色を示す⁽¹⁰⁾。これらのパラチオンと誤認される恐れのある物質は天然物中に広範囲に含まれている。従ってAverell-Norris法の分析値はそれらのみでは単に、試料中にはその値以上のパラチオンが存在しない事を示すにとどまり、それだけの量のパラチオンが存在している事を示すわけではない。真のパラチ

オン含量を知るためには、同一品種、同一地方、同一鮮度のパラチオンを含まない事が明らかな試料によってブランクを測定するか、又はブランク物質を除去してパラチオンを単離する方法を講ずると共に、他の化学分析法、生物検定法を並用して結果を補正しなければならない。

分析法

試料を粉碎し、その 300 g を容量 1 l の共栓三角フラスコに入れ、*n*-ヘキサン 600 cc を加え、時々ふりまぜながら 1 夜放置し、乾いた口紙でこしわける。口液 200 cc を容量 300 cc の三角フラスコにとり、塩酸 (1:9) 10 cc、亜鉛末 0.5 g を加え、湯浴上で溶液を留去する。残液にエタノール 10 cc、パラフィン 1 g を加え、湯浴上で 5 分間還流煮沸する。放冷したのち少量の脱脂綿で容量 100 cc のメスフラスコ中へこしわけ、約 7 cc の水で 3 回洗い口液に合する。濃塩酸 1 cc、0.25% 亜硝酸ソーダ溶液 1 cc を加えてよくまぜる。10 分後 5% スルファミン酸アンモン溶液 1 cc を加えてよくまぜる。更に 10 分後 1% α -ナフチルエチレンジアミン塩酸塩溶液 2 cc を加えよくまぜ、10 分後エタノール 50 cc を加えて 100 cc にみたく。10~20 分後 555 m μ の吸光度を蒸留水に対して測定する。液が濁っている時は乾いた口紙でこしわけ口液を測定する。*n*-ヘキサン 200 cc を同様に処理して試薬ブランクを求め測定値より減ずる。*n*-ヘキサン 200 cc にパラチオン 10~200 γ を含む標準溶液を同様に処理して作製した検量線よりパラチオンの量を求める。

分析精度

玄米の抽出液にパラチオンを加え、本法により分析した結果は第 1 表の通りである。検量線は $Y=0.00148 X$, $s=4\gamma$ である。又この結果を Youden 法⁽¹¹⁾により検討した結果は、回帰式 $y=0.9916x-0.01$, $s=3.2\gamma$, $s_a=1.6\gamma$, $s_b=0.013$, 勾配の 95% 信頼限界 0.9916 \pm 0.0303 である。即ち本法は回収率 100%, 誤差 4 γ , 従って検出限界は 100 g の試料を用いて約 0.04 p.p.m である。

分析法の問題点

i) 抽出溶媒

抽出溶媒を選ぶため、市販の糠 10 g を 100 cc の溶液で 1 時間ふりまぜて抽出し、抽出液 50 cc 中の全抽出物と試料ブランクを測定した結果は第 2 表の通りである。即ち抽出能力はいずれも大差ないが、アセトン、エタノール等の極性溶液は試料ブランクを抽出しやすい。又試薬ブランクについては、ベンゼンは市販の製品によっては数 p.p.m. の値を示し、濃硫酸洗浄、蒸留により充分

Table I. Recovery of parathion from rice grains.

added (γ)	found (γ)	recovery (%)
5.1	4.5	80
10.3	9.2	90
"	9.9	97
51.3	51.7	101
"	49.0	95
102.6	102	99
"	106	102
153.9	150	97
"	160	104
205.2	199	97
"	203	99

Table II. Total extracts and blank values of rice bran with various solvents.

solvent	total extract %	blank value. p.p.m. as parathion
<i>n</i> -hexane	16	0.7
	14	0.9
benzene	16	1.0
	16	1.0
ethanol	20	4.7
	24	3.7
acetone	18	1.7
	14	1.4

精製してもこれを完全に除けないものがある。又冬には固結するなど取扱いが不便である。*n*-ヘキサンは試薬ブランクはほとんどなく、取扱いも容易である。これらの理由により溶媒には *n*-ヘキサンを用いた。

ii) 抽出液の前処理

Averell-Norris は抽出液中の色素を除くため、クレーのカラムを通し、Gunther はアミン類を除くため塩酸で洗っている。しかし玄米の *n*-ヘキサン抽出液は極性色素や芳香族アミンをほとんど含まないのでこれらの前処理は行わなかった。

iii) 油脂の除去

玄米中には約 2% の油が存在し、パラチオンの還元や発色を妨害する。油脂を除くためには Jones⁽¹³⁾ や Erwin⁽¹⁴⁾ の報告があるがいずれも煩雑で好ましくない。Wilson⁽¹⁵⁾ は還元の際パラフィンを添加したが、この方法によれば油脂に対するパラチオンの溶解度を減じて還

Table III. Parathion residue in rice grains yielded in Isikawa in 1956.

Sample	Variety	Date of Spray	Formulation	Result (p.p.m. as parathion)
1	Sirogane	not sprayed		0 0
2	Saitamauruti	"		0.08 0.04
3	Sirogane	31/7	M.P.E. 1/1000	0 0
4	"	13/8	E.P.E. 1/1000	0.01 0.05
5	"	31/7	E.P.E. 1/1000	0.05 0.04
6	Saitamauruti	13/8	E.P.E. 1/1500	0.05 0.04
7	"	31/7	E.P.E. 1/1500	0.07 0.04
8	Nōrin 1	3/8	P.B.D.	0.01 0.05
9	"	26/6 3/8	M.P.E. 1/1000 P.B.D.	0.01 0.02
10	"	9/6 3/8	M.P.E. 1/1500 P.B.D.	0.03 0.02
11	"	26/6 3/8	M.P.E. 1/1500 P.B.D.	0.03 0.01
12	"	26/8 3/8	E.P.E. 1/1000 P.B.D.	0.06 0.06
13	"	9/6 3/8	M.P.E. 1/1000 P.B.D.	0 0.03
14	"	9/6 3/8	E.P.E. 1/1000 P.B.D.	0 0

E.P.E. = Emulsion of ethyl parathion

M.P.E. = Emulsion of methyl parathion

P.B.D. = Dust of methyl parathion and BHC

元を助け、また固化する時パラフィンと油脂がまざりあって固化するので濾過により容易に油脂を分離できる。玄米の分析にはこの方法は簡便で効果的である。

iv) 発色の条件

口液は蛋白質や脂肪酸で濁っているが、エタノールを50 cc 加えれば透明となる。ただしエタノールはシアソ化の速度を低下させるので発色が完了した後に加える。スルファミン酸アンモンは原法の2.5%では過剰の亜硝酸ソーダを充分除去しきれない場合があるので5%液を用いるのがよい。パラチオンの発色は10~20分で最高となり、一昼夜以上安定であるが、ブランクが時間と共に大になるので、なるべく早く測色する。

II. 玄米の分析結果

石川県より分与された昭和31年度産米及び、パラチオン散布歴の明らかな昭和32年度産米を分析した結果は第3表、第4表の通りである。ただし石川県産米の分

析値は分析法の検討が不十分だったので誤差が0.05 p.p.m. とやや大きい。分析値はいずれも検出限界以下の値であり、パラチオン無散布の試料も同じ程度の値を示している。これらの試料について、アカイエカ幼虫を使用して生物検定を行ったがパラチオンは検出されなかった(註1)。従ってこの分析結果から試料中にパラチオンが含まれているとは認められない。

註 1. 当所の菅原・金子・大塚技官等によって実施された。

III. 玄米中でのパラチオンの経時変化

上記のように試料中にはパラチオンが検出されなかったが、これは収穫後分析までに約2ヵ月たっているのにその間にパラチオンが分解したためとも考えられる。そこで玄米中でのパラチオンの経時変化について若干検討を行った。パラチオンは玄米中に存在するとすれば主として糠中に多く集まっていると考えられるので、試料とし

Table IV. Parathion residue in rice grains.

Sample	Field	Variety	Formulation	Date of Spray	Amount of Spray	Result (p.p.m. as Parathion)
1	Hyōgo	Tōzan 36	Emulsion	5/8	1/2000 110 l/10 a	0.04 0.04
2				26/8	1/1000 180 l/10 a	0.01 0.02
3			26/8 30/8	1/1000 180 l/10 a	0.02 0.03	
4			Dust	5/8	3 kg/10 a	0.02 0.03
5				26/8	4 kg/10 a	0 0
6			Emulsion	26/8 30/8	4 kg/10 a	0.02 0.02
7				not sprayed		0.03 0.03
8	Kagawa	Nōrin 1	Emulsion	4/7	1/1000 110 l/10 a	0.04
9				16/7	1/1000 180 l/10 a	0.03
10	Mie	Tōkai 7	Emulsion	1/8	1/2000 72 l/10 a	0.03
11				22/8	1/1000 180 l/10 a	0.03
12			22/8	1/1000 180 l/10 a	0.02 0.02	
13			30/8	1/4000 180 l/10 a	0.02 0.02	
14			22/8 30/8	1/1000 144 l/10 a	0.04 0.04	
15			Dust	1/8	3 kg/10 a	0.02
16				22/8	4 kg/10 a	0.03
17			Emulsion	22/8	4 kg/10 a	0.02 0.02
18				30/8	4 kg/10 a	0.02 0.02
19			Hukuoka	Asakaze	Emulsion	3/9

ては市販の糠及び糠油を用いた。即ち新鮮な糠 10 g にパラチオン 100 γ を 5 cc の *n*-ヘキサン溶液として加え、よくまぜ、密栓して 30°C 及び 40°C に保存した。1, 3, 10 週後に *n*-ヘキサン 50 cc で 4 回抽出し、抽出液を分析した。又糠の酵素を破壊するため、80°C で 3 時間熱処理した糠についても同様の実験を行った。又粗製糠油の固体分を遠心分離して除き、パラチオン 75 p.p.m. を添加し、30°C, 40°C に保存し、3 日、1, 2, 4 週後にその 2 g をとって分析した。その結果は第 1 図の通りで、パラチオンの減少状態はどの試料でも大差はなく、最初の 1~2 週間で 70~80% に減少するが、以後の分

解は比較的ゆるやかで 10 週後にもなお 70% 以上残存する。従って一度玄米中に入ったパラチオンは比較的安定なものと考えられる。

要 旨

玄米中のパラチオン残量を Averell-Norris 法を改良して分析した。回収率 100%, 誤差 4 γ , 最低検出量はサンプル 100 g に対して 0.04 p.p.m. であった。

種々の回数、間隔にパラチオン散布又は散粉した 16 サンプルと無散布、無散粉の 3 サンプルを分析し、いずれもパラチオンを検出しなかった。

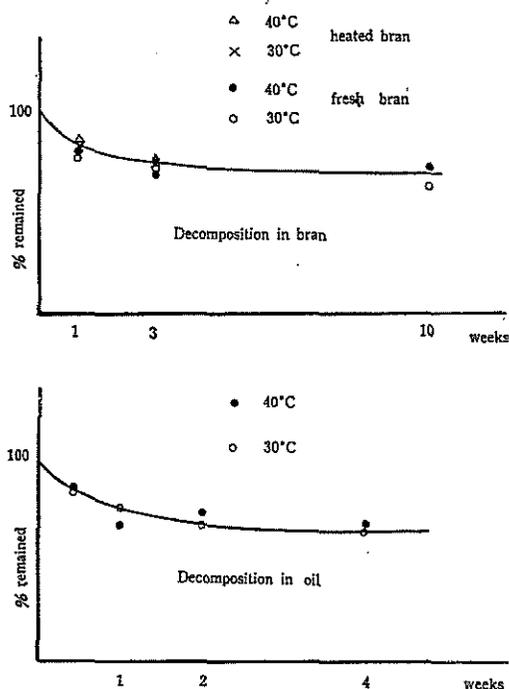


Fig. 1. Decomposition of parathion in rice bran and rice oil.

*米糠，糠油中のパラチオン分カイ率を検討し，30°C及40°Cに保存して初めの1~2週で20~30%のパラチオンが分解し，その後10週間たっても70%以上が

残存することが判った。

文 献

- (1) M. M. Barnes, et al (1950) *Advances in Chemistry. Series 1*, 112
- (2) R. E. Waites, et al (1955) *J. Econ. Entomol.* 48, 590
- (3) 田村 光章 (1956) *植物防疫*, 10 (9) 371
- (4) 後藤真康他 (1953) *農薬検査所報告*, 4, 5
- (5) 上島俊治他 (1954) *応用昆虫*, 9 (4) 157
- (6) 佐藤六郎他 (1957) *植物防疫*, 11 (9) 1
- (7) P. R. Averell, et al (1948) *Anal. Chem.* 20, 753
- (8) R. Buckley (1954) *Analyst* 79, 285
- (9) A. I. Biggs (1955) *Analyst* 80, 279
- (10) F. I. Edward (1949) *Anal. Chem.* 21, 1415
- (11) Youden (1947) *Anal. Chem.* 19, 946
- (12) F. Gunther, et al (1950) *Advances in Chemistry. Series 1*, 72
- (13) L. R. Jones (1952) *Anal. Chem.* 24, 569~71
- (14) W. R. Erwin (1955) *J. Agr. Food Chem.* 3, 676
- (15) C. W. Wilson, et al (1951) *Anal. Chem.* 23, 1487

Summary

Parathion Residue in Rice Grains

By Sinkō GOTŌ, Itirō MUTA, Rokurō SATŌ

The amounts of parathion residue in rice grains were determined by an improved Averell-Norris method. The recovery was 100% and the precision was 4%. The minimum limit of detection was 0.04 p.p.m. for 100 g of sample.

Sixteen samples sprayed or dusted at various times and intervals and three samples non-sprayed

and dusted with parathion were analysed. In all samples, parathion was not detected.

The decomposition ratio of parathion in rice bran and rice oil were studied. In 1-2 weeks 20-30% of parathion in bran and oil was lost, then the rest of it, 70% or more remained after 10 weeks storage at 30°C and 40°C.

DN 剤の分析法について

上島俊治・渡辺 信・後藤真康・佐藤六郎

DN 剤 (Dinitro cyclohexylphenol) は殺ダニ剤として冬期に広く果樹を対象として使用されている。DN の工業用原末には有効成分である 2,4-dinitro-6-cyclohexylphenol (以後 2,4 DN と略す) とその異性体でその他の成分 2,6-dinitro-4-cyclohexylphenol (以後 2,6 DN と略す) の 2 成分があり、両者の分離定量、特に 2,4 DN の定量が必要である。DN の分析法としてはすでに次の分析法が発表されている。DN のアルコール溶液に青酸カリ液を加えて発色させる比色法、DN にヨード、ヨード酸カリ液を加え、遊離したヨードをチオ硫酸ナトリウム液で滴定する容量法、ポーラログラフ法で 2,4 DN と 2,6 DN を分離定量する方法がある。著者等は DN はアルカリで Na 塩にすると 2,4 DN, 2,6 DN 両者とも黄色を呈するが、両者の最大吸収波長に相違があることを確めたので、Knudsen 等の方法でこの両成分、特に 2,4 DN を定量する方法を検討し、DN 乳剤、DN アセテート乳剤、DN マシン油乳剤を充分の精度で定量分析することができたので報告する。

実験の部

1. 2,4 DN と 2,6 DN Na 塩の吸光曲線について

2,4 DN と 2,6 DN 各 50 mg に 0.1 N メタノール性 NaOH 溶液 25 cc を加え、これをメタノールで 100 cc とし、更に最終濃度が 10 γ/cc となるようにメタノールで希釈する。この液をベックマン分光光度計を用いて波長 300 mμ から 500 mμ までの間の吸光度を測定し、第 1 図の結果を得た。

それぞれ 2,4 DN と 2,6 DN の最大吸収波長は 370 mμ, 440 mμ であった。しかしながら 2,4 DN は 440 mμ において、2,6 DN は 370 mμ においてそれぞれ吸収波長を示すので、従来の 370 mμ および 440 mμ における吸光度の測定のみで直接 2,4 DN および 2,6 DN を別々に測定することはできない。しかし図に示すように最大吸収位置がはなれているので、Knudsen 等の方法を応用して両者の分離定量が可能である。

2. DN 乳剤の分析

方法: 純 2,4 DN および、2,6 DN 各 50 mg を 50 cc 三角フラスコにはかりとり、0.1 N メタノール性 Na

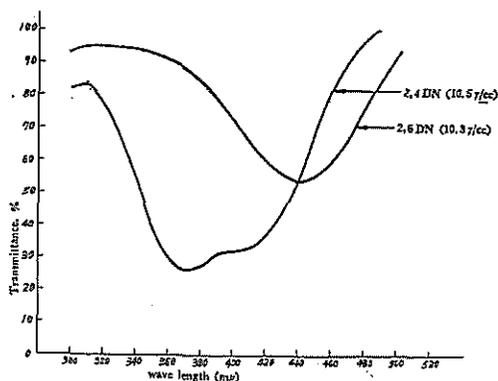


Fig. 1. Typical Transmittance-wave-Length curve.

OH 25 cc を加えてとかし、メタノールで 100 cc メスフラスコに移し 100 cc とする。この液 10 cc をメタノールで 100 cc とし、更にその 10 cc を 50 cc にメタノールで希釈する。この液 1 cc 中には DN をそれぞれ 10 γ 含有する。この液を標準液として 370 mμ および 440 mμ における吸光度をベックマン分光光度計で測定する。つぎに 2,4 DN または 2,4 DN アセテート約 50 mg を含む試料を 50 cc 三角フラスコにはかりとり、前記標準溶液作製と同様の方法で希釈し、370 mμ および 440 mμ にてその吸光度を求める。2,4 DN 標準溶液の 370 mμ および 440 mμ の吸光度を a, a' 、2,6 DN 標準溶液の 370 mμ および 440 mμ の吸光度を b, b' 、未知試料の 370 mμ および 440 mμ の吸光度を c, c' とし、試料の重量を S mg とする。

$$\left. \begin{aligned} ax + by &= c \\ a'x + b'y &= c' \end{aligned} \right\}$$

をとり、 x および y を求め、 a および b の単位量を乗ずれば 2,4 DN, 2,6 DN の量が算出されるので、これを X および Y とすると

$$2,4 \text{ DN } (\%) = \frac{X \times 50 \times 100}{S(\text{mg})} \times 100$$

$$2,6 \text{ DN } (\%) = \frac{Y \times 50 \times 100}{S(\text{mg})} \times 100$$

$$2,4 \text{ DN アセテート } (\%) = \frac{X \times 1,150 \times 50 \times 100}{S(\text{mg})} \times 100$$

Table I. Determination of DN.

No.	Sample (γ/cc)		C	C'	X	Y	Recov. %		Recov. %
	2,4 DN+2,6 DN						2,4 DN	2,6 DN	Total DN
1	10.02	2.41	0.591	0.330	9.88	2.53	98.60	104.98	99.8
2	10.02	1.93	0.590	0.321	9.92	2.16	99.00	111.92	101.1
3	10.02	1.45	0.591	0.311	9.89	1.75	98.70	120.68	101.4
4	10.02	0.96	0.589	0.294	10.01	1.10	99.90	114.58	101.2
5	10.02	0.72	0.589	0.279	10.18	0.49	101.60	68.06	99.3
6	10.02	0.48	0.588	0.275	9.99	0.34	99.70	70.83	98.6
7	9.45	1.03	0.559	0.285	9.48	1.18	100.30	113.50	101.9
8	8.40	2.06	0.509	0.284	8.52	2.19	101.4	105.30	102.4
9	7.35	3.09	0.459	0.288	7.55	3.29	102.7	105.5	103.8
10	6.30	4.12	0.400	0.288	6.42	4.39	101.9	105.5	103.7
11	5.25	5.15	0.349	0.288	5.25	5.34	103.8	102.7	101.8
12	4.20	6.18	0.291	0.285	4.35	6.34	103.6	101.6	103.0
13	3.15	7.21	0.237	0.289	3.33	7.31	104.8	100.4	102.7
1-8 Average							99.9		100.7
1-8 Standard Deviation							1.16		1.53

Table II. Determination of Technical DN.

Wt. of Sample (mg)	C	C'	X	Y	Found (%)		
					2,4 DN	2,6 DN	Total DN
49.8	0.489	0.245	8.30	0.96	83.33	9.68	93.01
49.9	0.489	0.247	8.29	1.04	83.07	10.42	93.49
49.8	0.500	0.251	8.49	1.00	85.24	10.04	95.24
48.2	0.490	0.245	8.27	1.13	85.73	10.52	96.25
49.0	0.495	0.248	8.39	1.17	85.61	10.39	96.00
49.0	0.500	0.250	8.49	0.97	85.76	9.80	95.56
49.4	0.498	0.247	8.47	0.87	85.73	8.80	94.53
Average					84.92	9.95	94.87

a. 純品の回収率

2,4 DN と 2,6 DN を種々の割合にまぜてその回収率を測定したが、第1表の結果を得た。尚供試 DN の融点は 2,4 DN が 106°C、2,6 DN が 84~85°C である。2,4 DN と 2,6 DN の混合比率が 8:2 前後では 2,4 DN は良い回収率を示すが、2,6 DN の比率が多くなると次第に 2,4 DN の回収率が悪くなる。2,6 DN の回収率は 2,4 DN に比較すると悪く、この定量法ではその混入量が少ない範囲に於ては正確に定量することは不可能である。DN 工業用原末中の 2,4 DN は 85% 前後であることがすでに知られているので、その混合比率に近い No.1~8 までの実験値の 2,4 DN 回収率の標準偏差

を求めると ±1.16% で、この精度で 2,4 DN を測定できる。同様の範囲で全 DN の回収率は ±1.53% であった。

b. 原末の分析結果

工業用原末について定量を行ったが、2,4 DN の含量は 84.92% であった。

c. DN 乳剤の定量

第2表の原末で乳剤を調製し、その理論値に対する回収率を求めた結果は第3表の通りであった。No. 1 の乳剤の乳化剤の組成はベンゼン 8: Triton 100 1 の比率である。No. 2 の乳化剤は市販品用のものである。No. 1 の乳化剤の空試験を行うと、370 mμ において僅かに吸

Table III. Determination of Emulsifiable Concentrate.

No. 1 (No. 1 2,4 DN 16.98%. Total DN 18.97%)
 (No. 2 2,4 DN 13.45%. Total DN 15.02%)

Wt. of Sample (g)	X	Y	Found (%)		Recov. (%)	
			2,4 DN	Total DN	2,4 DN	Total DN
0.2531	8.83	1.08	17.44	19.81	102.7	103.3
0.2547	8.98	1.11	17.63	19.81	103.7	104.3
0.2508	8.78	1.05	17.50	19.51	103.1	103.0
0.2470	8.66	0.98	17.49	19.47	103.0	102.7
0.2407	8.28	0.98	17.19	19.23	101.2	101.5
Average			17.45	19.52	102.7	103.0
Recovery } max.-min. 103.7—101.2%						
2,4 DN } Standard Deviation 0.9%						
No. 2						
0.2368	6.357	0.706	13.42	14.91	99.78	99.27
0.3342	8.896	1.001	13.31	14.81	98.96	98.60
0.2648	7.160	0.922	13.52	15.26	100.52	101.59
0.3114	8.408	0.978	13.50	15.07	100.37	100.33
Average			13.44	15.01	99.91	99.95

Table IV. Determination of DN-Derris
 Emulsifiable Concentrate.
 (Commercial Grade, 2,4 DN
 7% Rotenone 1.0%)

Wt. of Sample (g)	X	Y	Found (%)	
			2,4 DN	Total DN
0.7599	9.49	1.09	6.24	6.96
0.7089	8.80	1.02	6.21	6.93
0.7340	9.28	0.96	6.35	6.97
0.6835	8.62	0.91	6.31	6.98
0.8853	11.32	1.01	6.39	6.94
Average			6.30	6.96

光度を示すためにやや多い回収値が得られたが、No. 2の市販用乳化剤を用いたものは良好な回収率を得た。

d. 市販ロテノン DN 乳剤の定量

市販ロテノン DN 乳剤について分析を行った結果を第4表に示す。この乳剤の表示成分は 2,4 DN 7.0%、結晶ロテノン 1.0%、乳化剤、乳剤など 92% である。結果は 2,4 DN 6.30% で全 DN は 6.96% であった。この製品は DN として 7% 仕込んだものと推定される。

e. DN アセテート乳剤の定量

Table V. Determination of DN Acetate.

		Sample (γ /cc)	Found (γ /cc)	Recov. %
2,4 DN acetate	1.	9.96	9.92	99.6
	2.	4.98	4.96	99.6
2,6 DN acetate	1.	9.82	9.80	99.8
	2.	4.91	4.91	100.0

Table VI. Determination of Technical
DN Acetate.

Wt. of Sample (mg)	Found (γ /cc)		Found (%)	
	2,4 DN acetate	2,6 DN acetate	2,4 DN acetate	Total DN acetate
53.3	9.20	0.79	86.30	93.74
66.4	11.66	0.95	87.81	94.91
52.0	8.90	0.87	85.53	93.95
53.5	9.11	0.85	85.14	93.07
Average			86.21	93.92

DN 乳剤と同じ方法で定量することができるかどうか検討を行った。2,4 DN アセテートと 2,6 DN アセテートそれぞれを DN の標準曲線を用いてその回収率を測定

Table VII. Determination of DN Acetate Emulsifiable Concentrate
(2,4 DN acetate 8.59%, Total DN 9.35%)

Wt. of Sample (mg)	Found (γ /cc)		Found (%)		Recov. (%)	
	2,4 DN acetate	2,6 DN acetate	2,4 DN acetate	Total DN acetate	2,4 DN acetate	Total DN acetate
526.8	8.96	0.92	8.50	9.27	99.0	99.1
568.2	9.54	1.07	8.39	9.34	97.7	99.9
513.0	8.68	0.92	8.46	9.36	98.5	100.1
512.9	8.69	0.93	8.47	9.38	98.6	100.3
Average			8.45	9.34	98.5	99.9

Table VIII. Determination of DN Acetate Emulsifiable Concentrate.
(Commercial Grade 2,4 DN 10%)

Wt. of Sample (g)	Found (γ /cc)		Found (%)	
	2,4 DN acetate	2,6 DN acetate	2,4 DN acetate	Total DN acetate
0.5674	9.87	1.09	10.00	11.10
0.5743	10.01	1.11	10.02	11.13
0.5700	9.92	1.11	10.01	11.13
0.7139	12.43	1.45	10.01	11.18
Average			10.01	11.14

Table IX. Effect of Amount of 0.1 N NaOH Solution.

Added volume (cc)	2,4 DN (9.86 γ /cc) absorb. (370 $m\mu$)	2,6 DN (9.81 γ /cc) absorb. (440 $m\mu$)
10	0.573	0.264
20	0.578	0.264
30	0.578	—
40	0.578	0.264
50	0.578	—

Table X. Stability of Yellow Color.

No.	- 30 min.	20 hrs.
1	0.573	0.578
2	0.578	0.581
3	0.578	0.581
4	0.578	0.581
5	0.578	0.581

し、第5表の結果を得た。DNアセテートがDN標準曲線より測定できることは、NaOHでアルカリにすると酢

酸が切れて、DNと同じものになることを示している。

次に市販のDNアセテート原末を分析した結果は第6表のとおりであった。

第6表の原末を用いてDNアセテート乳剤(乳化剤は市販製品と同じもの)を調製し、分析を行った結果は第7表の通りであった。この乳剤の理論値は2,4 DNアセテート8.59%、全DNアセテート9.35%であった。2,4 DNアセテートは約 $\pm 2\%$ の精度で定量し得た。尚市販乳剤(2,4 DNアセテート10%)の分析結果を第8表に示す。

f. 発色におよぼす0.1 Nメタノール性NaOHの量の影響と発色の安定度

アルカリの添加量10~50 ccの範囲で吸光度を測定し第9表の結果を得た。この実験範囲ではアルカリ量の影響はみられなかった。次に発色した黄色の安定度について、2,4 DNを用いてアルカリ添加後30分と24時間後にその吸光度を測定した結果は第10表の通りで、時間の影響はみられなかった。

g. DN乳剤、DNアセテート乳剤の定量法

以上の諸結果よりDN乳剤、DNアセテート乳剤中の2,4 DNおよび2,4 DNAは次のようにして定量される。

純粋の2,4 DN約50 mgを三角フラスコ(容量50 cc)に正確にとり、0.1 Nメタノール性水酸化ナトリウム溶液25 ccを加えて溶解し、メタノールで100 ccのメスフラスコに移して全容を100 ccにする。この液からホールピペットで10 ccをとり、100 ccのメスフラスコに移してメタノールで定容にする。さらにその10 ccをホールピペットでとり、50 ccのメスフラスコに移してメタノールで定容にする。同様の方法で2,6 DNの溶液をつくり、これを2,6 DNの標準溶液とする。それぞれの標準溶液について波長370 $m\mu$ および440 $m\mu$ における吸光度を測定する。

つぎに 2,4 DN または 2,4 DNA 約 50 mg を含む試料を三角フラスコ (容量 50 cc) に正確にはかりとり、標準溶液と同様の方法で試料溶液を作り、波長 370 m μ および 440 m μ における吸光度を測定する。

2,4 DN 標準溶液の波長 370 m μ および 440 m μ における吸光度を a および a' 、2,6 DN の標準溶液の波長 370 m μ および 440 m μ における吸光度を b および b' 、試料溶液の波長 370 m μ および 440 m μ における吸光度を c および c' とする。

$$\left. \begin{aligned} ax+by=c \\ a'x+b'y=c' \end{aligned} \right\}$$

上式をとりて x を求め、 x に a の単位量⁽¹⁾を乗じて試料溶液 1 cc 当りの 2,4 DN 量を算出し、これを A mg とする。

つぎの式によって 2,4 DN または 2,4 DNA の百分率を算出する。

$$2,4 \text{ DN } (\%) = \frac{A(\text{mg}) \times 50 \times 100}{\text{試料}(\text{mg})} \times 100$$

$$2,4 \text{ DNA } (\%) = \frac{A(\text{mg}) \times 1,150 \times 50 \times 100}{\text{試料}(\text{mg})} \times 100$$

備考 (1) はかりとった純粋の 2,4 DN の重さ (mg) $\times \frac{1}{100} \times \frac{1}{50}$

3. DN マシン油乳剤の定量

DN マシン油乳剤中の 2,4 DN を定量するために前記の方法をそのまま用いるとマシン油乳剤の Blank の吸光度が多くなり定量することは不可能であるが、マシン油乳剤から DN を抽出することによりこれを定量することができた。

a. 分析方法

DN マシン油乳剤 0.2 g をあらかじめ 300 cc 容分液ロートに石油エーテル 100 cc を加えたものにはかりとる。つぎに 0.1 N エタノール性 (70%) NaOH 30 cc を加え、充分ふりまぜて下層のエタノール層を 100 cc のメスフラスコに移し入れる。さらに 30cc ずつ 2 回同様の操作を行い、前記メスフラスコに合し、0.1 N エタノール性 (70%) NaOH で定容とする。別に DN 乳剤分析法に準じて 2,4 DN, 2,6 DN の標準溶液を 0.1 N エタノール性 (70%) NaOH を用いて作製する。以上の調製液を波長 400 m μ および 440 m μ で吸光度を測定する。試料液の測定値より 400 m μ では 0.010, 440 m μ は 0.005 を差し引き、それぞれ c および c' とし、DN 乳剤定量法に準じて 2,4 DN の百分率を算出する。

b. DN マシン油乳剤中の DN 回収率

市販 95% マシン油乳剤に DN をまぜて DN マシン

Table XI. Determination of DN in Mineral Oil.
(2,4 DN No.1 2.427%, No.2 0.419%)

No. 1

Wt. of Sample (g)	Absorbance		2,4 DN	
	400 (m μ)	440 (m μ)	Found (%)	Recov. (%)
0.2195	0.433	0.374	0.421	98.60
0.1965	0.403	0.345	0.437	102.34
0.2058	0.417	0.363	0.430	100.70
0.2015	0.405	0.354	0.426	99.70
Average				100.35%

No. 2

Wt. of Sample (g)	Absorbance		2,4 DN	
	400 (m μ)	440 (m μ)	Found (%)	Recov. (%)
0.2265	0.436	0.377	0.410	97.85
0.2041	0.402	0.348	0.418	99.76
0.2137	0.420	0.360	0.419	100.00
0.2075	0.411	0.343	0.426	101.62
Average				99.81

油乳剤を調製し、これについて DN を定量し、その回収率を測定した。調製 DN マシン油乳剤中の 2,4 DN は No. 1, 0.427%, No. 2, 0.419% であった。定量結果は第 11 表に示す。マシン油乳剤中の DN を約 100% の回収率で定量することができた。

c. 市販 95% マシン油乳剤のこの定量法による盲検市販 5 種の 95% マシン油乳剤について波長 370 m μ , 400 m μ , 440 m μ で上記方法による盲検を行い、第 12 表の結果を得た。

Table XII. Absorbance for Blank Test of Commercial 95% Mineral Oil.

Sample	Absorbance		
	370 (m μ)	400 (m μ)	440 (m μ)
Sankyo	0.022	0.010	0.005
Tomono 1	0.024	0.010	0.005
Ihara	0.014	0.010	0.005
King	0.028	0.010	0.005
Tomono 2	0.024	0.010	0.005

400 m μ では 0.010, 440 m μ では 0.005 の吸光度であり、一定しているが、370 m μ では一定でなく盲検値も大きくなる。

d. DN 抽出エタノール濃度とマシン油抽出溶剤の種類と盲検値について

95% マシン油乳剤 0.2 g を分液ロートにとり、DN 抽

Table XIII. Relation between Absorbance for Blank Test of Mineral Oil and Extractive Solvent.

0.1 N NaOH	n-Hexane			Pet. ether		
	370*	400	440	370	440	440
EtOH 30%	Don't separate			Don't separate		
50	>1		0.064	0.256		0.008
70	>1		0.033	0.028		0.005
MeOH 70				Don't separate		
90				0.083	0.013	0.003

*Wave length (m μ)

出に用いるエタノールの濃度を 30, 50, 70% とし, マシン油抽出溶剤を n-ヘキサンと石油エーテルで実験を行ったが, DN 抽出条件は 70% エタノール, 石油エーテルを用いた場合に空試験値がもっとも少なかった。

要 旨

2,4 DN-Na 塩および 2,6 DN-Na 塩は波長 370 m μ および 440 m μ においてそれぞれ最大吸収を示す。このことにより, アルカリを加えて生ずる黄色を上記 2 波長点で測色し, Knudsen, 等の方法を応用し, 乳剤中の 2,4 DN および 2,6 DN アセテートとを十分の精度で 2,6 DN から分離定量することができた。

Summary

Determination of Dinitro cyclohexylphenol

By Toshiharu UJIMA, Shin WATANABE, Shinkō GOTŌ, Rokurō SATŌ

2,4-Dinitro-6-cyclohexylphenol (2,4 DN) and 2,4-dinitro-6-cyclohexylphenolacetate (2,4 DNA) in emulsion were determined with high accuracy by colorimetric method. Treating 2,4 DN and 2,6-dinitro-6-cyclohexylphenol (2,6 DN) with methanolic NaOH soln appear reasonably stable colors—yellow (λ_{\max} 370 m μ) for 2,4 DN and yellow (λ_{\max} 440 m μ) for 2,6 DN. Color mixt. is resolved by method of Knudsen, et al.

Procedure:

Weigh 50 mg. of pure 2,4 DN and transfer to 50 cc erlenmyer. Add 25 cc of 0.1 N methanolic NaOH soln and dissolve, then transfer into 100 cc vol. flask and dil. to vol. with MeOH. Transfer 10 cc of the soln with whole pipet into 100 cc vol. flask and dil. to vol. with MeOH.

Then transfer exactly 10 cc of the soln into 50 cc vol. flask and dil. to vol. with MeOH. 2,6 DN std. soln is prepared as same as std. soln of 2,

4 DN.

Det. absorbance of each std. soln at 370 m μ and 440 m μ , respectively. Weigh sample to provide 50 mg 2,4 DN or 2,4 DNA and transfer to 50 cc erlenmyer.

Sample soln is prepared as same as std. soln.

Then det. absorbance of sample soln at 370 m μ and 440 m μ and calc. % 2,4 DN or 2,4 DNA in original sample.

$$\left. \begin{aligned} ax+by=c \\ a'x+b'y=c' \end{aligned} \right\}$$

c = absorbance of sample soln at 370 m μ

c' = absorbance of sample soln at 440 m μ

$a \cdot a'$ = absorbance of 2,4 DN std. soln at 370 m μ and 440 m μ

$b \cdot b'$ = absorbance of 2,6 DN std. soln at 370 m μ and 440 m μ

x × mg/cc of 2,4 DN std. soln = A mg

$$2,4 \text{ DN } (\%) = \frac{A \text{ (mg)} \times 50 \times 100}{\text{sample (mg)}} \times 100$$

$$2,4 \text{ DNA } (\%) = \frac{A \text{ (mg)} \times 1.150 \times 50 \times 100}{\text{sample (mg)}} \times 100$$

Determination of 2,4 DN in mineral oil.

Weigh 0.2 g sample into 300 cc separatory funnel contg. 100 cc of petr. ether. Then add 30 cc of 0.1 N NaOH (70% EtOH) soln and shake vigorously 2 min. Drain low layer into 100 cc vol. flask. Extract it 2 times with 30 cc of 0.1 N NaOH (70% EtOH) soln, shaking vigorously 2 min. each time. Combine each extract into the 100 cc vol. flask

and dil. to vol. with 0.1 N NaOH (70% EtOH) soln.

Preparation of std. soln is carried as same as emulsion with 0.1 N NaOH (70% EtOH) soln.

Det. absorbance of each prepared soln at 400 $m\mu$ and 440 $m\mu$.

Calc. % of 2,4 DN in original sample as same as emulsion, but absorbance of sample soln at 400 $m\mu$ and 440 $m\mu$ should be subtracted each 0.010 and 0.005 as blank absorbance of mineral oil.

p-Chlorophenyl *p*-chlorobenzene sulfonate および *p*-Chlorophenyl *p*-chlorobenzene sulfonate と Bis (*p*-chlorophenoxy) methane 混合製品の分配クロマトグラフ法による分析法

上島俊治・渡辺 信・後藤真康・佐藤六郎

p-Chlorophenyl *p*-chlorobenzene sulfonate (以下 CPCBS と略す) と Bis (*p*-chlorophenoxy) methane (以下 DCPM と略す) はともに殺ダニ剤として市販されているサッピランまたはネオサッピランの有効成分である。すでに CPCBS の分析法は過剰のアルカリで分解し、残ったアルカリを酸で逆滴定する方法と、微量定置法として加水分解して生じた *p*-クロロフェノールを 4-amino antipyrine と赤血塩で発色せしめ比色する方法が発表されている。DCPM には有機体塩素を定量する方法と、臭化水素液で分解して生じた *p*-クロロフェノールを 4-amino antipyrine で発色せしめ比色する方法とがある。

著者等は CPCBS の単剤又は CPCBS と DCPM の混合剤について、BHC 分析に用いる分配クロマトグラフ法を応用し、両成分を分離定量することができたので報告する。

実 験 の 部

1. 純品の回収率

再結精製した純品の CPCBS (mp 87.5°C) 0.72 g と DCPM (mp 73°C) 0.26 g を三角フラスコに秤取し、モビルソルベントで混合溶解し、5に記載した分析法によって定量した結果は第1表に示したように、CPCBS

と DCPM は分離され、回収率はそれぞれ 99.3% および 100% であって、ここに得られた結晶の融点は純品のそれに比較すると 1.5~2°C 低い値を示した。

2. 工業用原末の分析

CPCBS および DCPM の工業用原末の単独または混合物について本法を実施した結果、第2表のように融点は僅かに低かったが、再成分の分離が可能であった。なお CPCBS 原末2例についてのアルカリ測定法による分析値は本法によるものと近似していた。

3. CPCBS・DCPM 混合乳剤の分析

第2表の No. 3, No. 4 の原末と市販の乳化剤および溶液を配合して調製した乳剤について本法を適用した結果は第3表に示したように、両成分ともに回収率は約 100%, 精度 $\pm 1\%$ ほどで乳剤を定量することができた。

4. CPCBS 水和剤, CPCBS・DCPM 混合水和剤の分析

第2表の原末にカオリン、珪藻土、界面活性剤を配合して市販品と同一組成の水和剤を調製して分析した。CPCBS の理論値は 48.05%, CPCBS・DCPM 混合乳剤の理論値は 34.25%、14.53% である。水和剤の分析は抽出物についてクロマトグラフ法を適用する。

CPCBS 水和剤では抽出に要する時間はソックスレー抽出装置を用いてエーテルで抽出を行うと6時間で充分

Table I. Determination of CPCBS and DCPM Mixture.

Wt. of Sample (mg)		CPCBS			DCPM		
		Found		Recovery	Found		Recovery
CPCBS	DCPM	mg	mp (°C)	(%)	mg	mp (°C)	(%)
720.7	268.9	710	86	98.5	268	72	99.7
"	"	711	87	98.6	270	71	100.4
721.0	281.1	720	86.5	99.9	282	71	100.3
"	"	722	87	100.1	281	71.5	99.9
Average				99.3	100.1		

Table II. Determination of Technical CPCBS and DCPM.

No.	Wt. of Sample (mg)		Found CPCBS			Found DCPM		
	CPCBS	DCPM	(%)	mp (°C)	Av. (%)	(%)	mp (°C)	Av. (%)
1	725.2		97.49	84.5	97.42			
	"		97.35	84				
2		275.0				100.00	71	99.82
		"				99.64	72	
3	724.8	275.7	96.16	86.5	96.62	99.74	72	99.50
	"	"	97.13	87		99.02	71.5	
	"	"	96.56	87		99.74	72	
4	719.3	281.9	96.07	85.5	96.49	99.68	70.5	99.40
	"	"	96.90	85		98.97	70.5	
	718.7	278.7	96.28	85		99.75	72	
	"	"	96.70	86		99.39	71.5	
5	719.1	283.5	97.07	87	97.00	99.12	70	99.12
	"	"	96.51	85		98.41	70	
	717.5	276.0	97.42	85		98.91	70	
	"	"	97.00	87		100.00	71	
6	719.5	272.0	95.48	85	95.13	97.43	71	98.47
	"	"	95.21	84		98.17	72	
	721.7	276.4	95.19	85		99.49	70	
	"	"	94.63	85.5		98.17	71	

Results of determination of technical CPCBS No. 5 and No. 6 with titration method were 96.09% and 96.10%.

である。

またクロマト供試液作製の場合、抽出溶剤としてエーテルを用いることなく、30°C 恒温とした展開に使用するモビルソルベント 50cc を用い、三角フラスコ中で常温で1時間振盪抽出し、30°C の恒温水槽中で20~30分放置し、その上澄液 5cc をとって展開した場合も同様に所期の結果が得られる(第4表)。なおモビルソルベ

ントを 30°C にするのは温度差による試料採取誤差をなくすために必要である。

5. 分析法

以上の結果から CPCBS 剤、CPCBS・DCPM 混合剤中の CPCBS および DCPM は次のようにして分析する。

Table III. Determination of Emulsifiable Concentrate.

(No. 1 CPCBS 17.45% DCPM 6.97%)
(No. 2 CPCBS 17.40% DCPM 6.96%)

No. 1

Wt. of Sample (g)	CPCBS			DCPM		
	Found (%)	mp (°C)	Recovery (%)	Found (%)	mp (°C)	Recovery (%)
5.1790	17.38	85	99.6	7.01	70.5	100.6
"	17.25	85	98.9	7.01	70	100.6
5.3823	17.43	86	99.9	7.02	70	100.7
"	17.46	86.5	100.1	7.00	70	100.4
4.6000	17.30	85	99.1	7.04	70	101.0
"	17.26	85	98.9	7.07	70	101.4
4.6040	17.29	85.5	99.1	7.02	70	100.7
"	17.33	85	99.3	7.04	70.5	101.0
Recovery (CPCBS) (%)			Recovery (DCPM) (%)			
Max.-Min. 98.9—100.1			Max.-Min. 100.4—101.4			
Average 99.4			Average 100.8			
Standard Deviation 0.82			Standard Deviation 0.91			

No. 2

4.1275	17.06	86.5	98.0	6.90	70.5	99.1
"	17.44	85	100.2	6.93	70.5	9.79
4.0072	17.29	87	99.4	7.01	71	100.7
"	17.34	87	99.7	7.04	71	101.1
Recovery (CPCBS) (%)			Recovery (DCPM) (%)			
Average 99.3			Average 100.2			

Table IV. Determination of Wettable Powder. (CPCBS Wettable; CPCBS 48.05%.
Mixed Wettable; CPCBS 34.25%, DCPM 14.53%)

Sample	Wt. of Sample (g)	CPCBS		DCPM	
		Found (%)	Recovery (%)	Found (%)	Recovery (%)
CPCBS wetable	0.9812	47.90	99.69		
	"	47.70	99.27		
	1.0087	47.69	99.25		
	"	47.78	99.44		
	Average	47.77	99.41		
mixed wetable	2.0663	33.93	99.07	14.86	102.27
	"	34.12	99.62	14.91	102.41
	2.0022	34.21	99.88	14.88	102.41
	"	33.96	99.15	14.73	101.37
	Average	34.06	99.43	14.84	102.17

乳剤分析法
CPCBS として 0.7~0.9g 又は CPCBS として 0.7~0.9g DCPM 0.3~0.4g とを含む試料を三角プラス

コ (容量 50 cc) に正確にとり、モビルソルベント⁽¹⁾ 25 cc を加え温浴上で溶解する。放冷後 50 cc のメスフラスコにモビルソルベントを用いて移し入れ、指示色素溶

液⁽²⁾ 1 cc を加えて全容を 50 cc にする。この液 5 cc をホールピペットでとり、モビルソルベント 230 cc を用いてクロマトグラフ法⁽³⁾により展開する。流出液に赤い色素が出始めてから最後まで流出液を 3~5 cc づつ三角フラスコ (容量 50 cc) に集め、モビルソルベントを蒸発させて結晶を析出させる。赤い色素の終りから紫の色素の中頃までの流出液からは DCPM の結晶が得られ、紫の色素の 20~30 cc あとから最後まで流出液から CPCBS の結晶が得られる。CPCBS と DCPM の結晶はできるだけ少量の *n*-ヘキサンにとりまして別々の秤量皿に移し集め、大部分の *n*-ヘキサンを湯浴上で除いて蒸発させた後、パラフィンを入れたデンケーター中で真空乾燥し、結晶の重さをはかる。ただし CPCBS の結晶の融点は 85~87°C, DCPM の結晶の融点は 70~72°C でなければならない。次の式によって CPCBS および DCPM の百分率を算出する。

$$\text{CPCBS (\%)} = \frac{\text{CPCBS の重量 (g)} \times 10}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

$$\text{DCPM (\%)} = \frac{\text{DCPM 重量 (g)} \times 10}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注

- (1) 分液ロート (容量 1 l) に *n*-ヘキサン 800 cc, ニトロメタン 40 cc を加え、5 分間激しくふりまぜた後静置する。この *n*-ヘキサン層を使用する。

(2) D アンド C バイオレット No. 2, 25 mg 及び D アンド C レッド No. 18, 25 mg をモビルソルベント 50 cc に溶かす。

(3) BHC 乳剤検査法 (昭和 29 年 6 月 1 日付, 農林省告示 377 号) に定められたクロマトグラフ円筒の作製及び展開操作に準ずる。

水和剤分析法

試料の秤取は乳剤の場合と同様にして三角フラスコ (容量 100 cc) にはかりとり、これにあらかじめ 30°C の恒温水槽中で恒温に保ったモビルソルベント 50 cc (指示色素 1 cc を含む) を加え、密栓して振盪機で 1 時間ふりまぜる。次に三角フラスコを 30°C 恒温水槽中に 20~30 分間放置してからその上澄液 5 cc をホールピペットで正確にとりクロマトグラフ展開を行う。以後の操作は乳剤に準じて行なう。

又はソックスレー抽出器を用いてエーテルで 6 時間抽出してその抽出物をモビルソルベントで 50 cc として乳剤と同様に分析する。

要 旨

BHC 乳剤分析のクロマトグラフ法を CPCBS 剤の分析法に応用し、原末、乳剤、水和剤について満足な結果を得た。

Summary

Determination of *p*-Chlorophenyl *p*-chlorobenzene sulfonate and Mixture of *p*-Chlorophenyl *p*-chlorobenzene sulfonate and Bis (*p*-chlorophenoxy) methane by Partition Chromatography

By Toshiharu UEJIMA, Shin WATANABE, Shinkō GOTŌ, Rokurō SATŌ

p-Chlorophenyl *p*-chlorobenzene sulfonate (CPCBS) and Bis (*p*-chlorophenoxy) methane (DCPM) in the emulsion and the wetttable powder were determined with high accuracy by partition chromatography.

Procedure: (A) Emulsion

Weigh sample containing 0.7-0.9 g CPCBS in case of simple CPCBS or 0.7-0.9 g CPCBS; 0.3-0.4 g DCPM in case of mixture. Transfer to 50 cc erlenmyer. Add 25 cc of the mobile solvent⁽¹⁾, dissolve by heating on the steam bath, and cool to room temp. Then transfer into 50 cc vol.

flask contg. 1 cc of mixed dye soln.⁽²⁾ Dil. to vol. with the mobile solvent.

Preparation of column is carried as same as partition chromatography of BHC emulsion.

Allow 5 cc of the prepared sample soln to flow from pipet down along the inside of column without disturbing surface of the silicic acid, and elute with 230 cc of the mobile solvent.

Collect successively 3-5 cc of the fractions to 50 cc erlenmyer from the first trace of red band to the last of the eluting mobile solvent, and evap. to dryness.

The fractions from 20—30 cc past violet band to the last elution have contained CPCBS crystals. Dissolve residue in each flask with *n*-hexane and transfer to tared weighting bottle. Evap. solvent on the steam bath. Evacuate bottle at room temp. in vacuum desiccator contg. paraffin.

Weigh, and calc. the percentages of DCPM and CPCBS in original sample. Melting point of crystal DCPM and CPCBS should be 70–72°C and 85–87°C, respectively.

$$\text{DCPM (\%)} = \frac{\text{weight of DCPM (g)} \times 10}{\text{sample (g)}} \times 100$$

$$\text{CPCBS (\%)} = \frac{\text{weight of CPCBS (g)} \times 10}{\text{sample (g)}} \times 100$$

(B) Wettable powder

Preparation of aliquot in case of wettable powder.

Weigh sample as same as emulsion and transfer to 100 cc erlenmeyer with glass stopper. Add exactly

50 cc of the mobile solvent contg. 1 cc of mixed dye soln, keep at 30±0.1°C in the water bath, stopper with cork and shake by shaker at least 1 hour at room temp. Then stand the flask in the water bath 30±0.1°C for 20—30. mins.

Extract the sample in Soxhlet with ether 6 hrs or overnight. Evaporate the solvent until the odor of ether cannot be detected. Add 25 cc the mobil solvent, dissolve by heating on the steam bath. Then transfer into 50 cc vol. flask contg. 1 cc of mixed dye soln. Dil. to vol. with the mobil solvent.

Use chromatography and calcns. given under (A).

(1) Mobil solvent.—Satd. soln. nitromethane in *n*-hexane.

(2) Mixed dye soln.—Dissolve 25 mg each D & C violet No. 2 and D & C Red No. 18 in 50 cc mobil solvent.

ディルドリン、エンドリン、アルドリンの分配 クロマトグラフ法による分析について

上島俊治・渡辺 信・後藤真康・佐藤六郎

ディルドリンには SnCl₄ 法, HBr 法, フェニルアチド法, 赤外法, 分配クロマトグラフ法が, エンドリンには赤外法, フェニルアチド法, アルドリンにはフェニルアチド法, 赤外法, 分配クロマトグラフ法などの分析法が既に知られている。

著者等は分配クロマトグラフ法により, ディルドリンの有効成分 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloro-6, 7, epoxy-1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-octahydro-1, 4-endo, exo-5, 8-dimethanonaphthalene (HEOD), エンドリンの有効成分 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloro-6, 7-epoxy-1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-octa hydro-1, 4-endo, endo-5, 8-dimethanonaphthalene (endrin), アルドリンの有効成分 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloro-1, 4, 4a, 5 8, 8a-hexahydro-1, 4-endo, exo-5, 8-dimethanonaphthalene (HHDN) をそれぞれ定量することを検討した。HEOD とエンドリンは定量することができたが, HHDN は分配クロマトで分離定量することができなかった。HHDN はその

relative compound と同一の流出部にでてくるようである。

実験の部

1. クロマト円筒の作製と展開操作

クロマト円筒は BHC 乳剤公定分析法とまったく同じ方法で作成する。但し指示色素として D & C violet の他に D & C red (DDT 分作用) を用いる。試料はディルドリン, エンドリン, アルドリンともに各主成分が 0.5 g を含むように 50 cc メスフラスコにとり, 指示色素液各 1 cc を加え, 展開溶媒で 50 cc にする。その 5 cc をとって展開し, 赤い色素がでてくる直前から各主成分が出終るまで, 3~5 cc ずつ 50 cc 三角フラスコに集め, 溶媒を蒸発させる。展開操作も BHC 乳剤分析法に準ずる。実験の結果主成分の流出位置は次の通りであった。HEOD—赤い色素の終り頃から紫の色素の少し前迄。エンドリン—赤い色素の中程から赤い色素のあ

Table I. Determination of HEOD, Endrin and HHDN

Sample	Wt. of Sample (mg)	Number of Estimation	Found Av. (mg)	Recovery (%)		Total Av. (%)
				Range	Av.	
HEOD (mp 176°C)	20.2	4	20.4	101.5—100.1	101.0	99.9
	30.1	4	29.8	99.8—98.2	99.0	
	40.1	4	40.0	99.7—99.5	99.8	
	50.0	4	49.9	100.3—98.7	99.8	
Endrin (mp 200°C)	20.7	4	21.0	101.4—100.4	101.4	100.0
	29.3	4	29.3	100.3—99.6	100.0	
	41.1	4	40.6	99.8—98.5	98.8	
	50.5	4	50.4	100.7—98.6	99.8	
HHDN (mp 104—5°C)	20.8	4	20.8	100.9—99.0	100.0	100.2
	30.4	4	30.4	100.7—98.8	100.0	
	39.6	4	39.9	101.2—99.7	100.8	
	50.3	4	50.3	100.2—99.6	100.0	

Table II. Determination of technical Dieldrin, Endrin and Aldrin
(Dieldrin: HEOD 85%, Endrin: Endrin 90%, Aldrin: HHDN 84.5% Aldrin 89%)

Sample	Wt. of Sample (mg)	Number of Estimation	Av. (mg)	Found (%)		mp (°C)	Total Av. (%)
				Range	Av.		
Dieldrin	41.6	3	35.8	86.3—85.8	86.1	174—175	86.1
	50.0	3	43.0	86.2—86.0	86.0		
	59.9	3	51.6	86.3—86.0	86.1		
Endrin	40.9	3	38.6	94.6—94.1	94.4	200	94.7
	49.0	3	46.4	94.9—94.5	94.9		
	59.0	3	56.7	95.0—94.7	94.8		
	47.4	3	44.9	94.9—94.5	94.7		
Aldrin	39.9	3	36.6	91.9—91.4	91.7	68—80	91.6
	50.6	3	46.5	92.1—91.9	91.9		
	60.1	2	55.2	91.9—91.7	91.9		
	54.1	2	49.4	91.5—91.0	91.3		
	51.0	3	47.8	91.6—90.7	91.2		

と 15cc 位まで。HHDN—赤色素の直前から赤い色素の中程まで。

得られた各結晶は常法通り集めてその重量を測定する。各主成分の流出位置に乳剤中の溶剤がでてくる製品については、クロマトで分離したものを更に金属ナトリウムを用いて分解し、その塩素量を測定し、主成分を算出した。

2. HEOD, エンドリン, HHDN の回収率

実験室で再結精製した HEOD (mp 176°C), エンドリン (mp 200°C 以上), HHDN (mp 104~105°C) を用いてこの方法による回収率を測定した結果第 1 表のようにそれぞれ約 100% で回収された。

3. ディルドリン, エンドリン, アルドリン原末の分析

ディルドリン原末 (表示成分, ディルドリン 100%,

HEOD 85%), エンドリン原末 (エンドリン 90%), アルドリン原末 (アルドリン 89%, HHDN 84.5%) をそれぞれ分析した結果を第 2 表に示す。HEOD およびエンドリンは得られた結晶の融点が殆んど純品と同様であったが、HHDN は融点が低く、HHDN のみの結晶とは考えられない。HHDN の relative compound を含んだいわゆるアルドリン量が定量されるものと推定される。得られた HEOD, エンドリン定量値は表示成分より少しずつ多かった。

4. 乳剤の分析

3. で分析した原末を用いてそれぞれの乳剤を調製し、その回収率を求めた。得た結果は第 3 表, 第 4 表に示す。乳化剤および溶剤はこれら市販用のもを製造会社から入手したもので、エンドリン乳剤については特に 3 社の乳化剤および溶剤について調製し実験を行った。ディル

Table III. Determination of Dieldrin and Endrin Emulsifiable Concentrate. (Dieldrin E. C.: HEOD 18.33%, Endrin E. C. No. 1: Endrin 19.74%)

Sample	Wt. of Sample (mg)	Number of Estimation	Found (%)	Recovery (%)	Total Av. (%)
Dieldrin	201.9	2	18.33	100.0	99.4
	211.7	2	18.02	98.3	
	221.6	2	18.37	100.2	
	217.0	2	18.18	99.2	
Endrin No. 1	202.6	2	19.61	99.3	99.5
	211.1	2	19.83	100.4	
	203.9	2	19.49	98.7	
	204.4	2	19.66	99.6	

Table IV. Determination of Endrin Emulsifiable Concentrate.

(No.2 Endrin 19.85%, No.3 Endrin 18.92%)

Sample	Wt. of Sample (mg)	Number of Estimation	By Chromatography		By Total Cl	
			Found (%)	Recovery (%)	Found (%)	Recovery (%)
No.2	201.4	2	19.83	90.9	19.72	99.3
	204.5	2	19.82	99.8	19.64	98.9
	213.3	2	19.85	100.0	19.75	99.5
	Average			99.9		99.2
No.3	200.9	3	Don't determined		18.88	99.8
	202.2	3			18.86	99.7
	201.2	3			18.74	99.0
	Average					99.5

ドリリン乳剤の結晶部位には溶剤の流出は認められなかったが、エンドリン乳剤中にはエンドリン流出部位に溶剤の流出を認めるものと、認めないものがあるためである。結晶部位にでてくる溶媒はジメチルナフタレン系溶剤と推定される。ディルドリン乳剤中の HEOD, エンドリン乳剤中のエンドリンはいずれも 100% 近くの回収率が得られた。エンドリン乳剤 No.3 は溶剤が結晶部位に流出するためクロマトグラフ法によっては測定できなかった。そのため第4表ではクロマトグラフ法で分離した流出部を更に全塩素測定法で測定を行った。

5. エンドリンの全塩素測定法

エンドリン (mp 200°C 以上) を用いて全塩素測定法の回収率を測定した結果を第5表に示す。エンドリンは 100.6±1.2% の回収率で測定できた。

6. ディルドリン, エンドリン乳剤の定量法

以上の結果からディルドリン乳剤中の HEOD, エンドリン乳剤中のエンドリンは次のようにして定量される。

Table V. Determination of Endrin by Total Cl Method.

Wt. of Sample (mg)	Found (mg)	Recovery (%)
52.5	52.6	102.2
68.0	68.0	100.0
62.0	61.7	99.5
56.5	56.7	100.4
58.5	59.0	100.9

Recovery Average 100.6%

Standard Deviation 1.2%

ディルドリン乳剤

HEOD 約 0.5 g を含む試料を三角フラスコ (容量 50 cc) に正確にとり, モビルソルベント⁽¹⁾ 25cc を加え湯浴上で溶解する。放冷後 50cc のメスフラスコにモビルソルベントを用いて移し入れ, 指示色素溶液⁽²⁾ 1cc を加え全容を 50 cc にする。この液 5cc をホールピペットでとり, クロマトグラフ法⁽³⁾により展開する。

流出液に赤い色素がはじめてから紫の色素がはじめるまで流出液を 3~5cc ずつ三角フラスコ (容量 50 cc) に集め, モビルソルベントを蒸発させる。残留物に HEOD の結晶が析出し, 溶剤の混在が認められない場合は残留物をできるだけ少量の *n*-ヘキサンにとりかして秤量瓶に移し集める。大部分の *n*-ヘキサンを湯浴上で蒸発させた後, パラフィンを入れたデシケーター中で真空乾燥し, HEOD の結晶の重さをはかる。ただしこの結晶の融点は 174~176°C でなければならない。つぎの式によって HEOD の百分率を算出する。

$$\text{HEOD (\%)} = \frac{\text{HEOD の重量 (g)} \times 10}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

蒸発残留物に溶剤の混在が認められる場合は, 残留物を少量のエーテルで三角フラスコ (容量 300 cc) に集め, エーテルを湯浴上で完全に蒸発させる。これに脱水精製したイソプロパノール 30 cc および金属ナトリウムの細片 3g を加え, 還流冷却器を附して弱火上で静かに 2 時間煮沸する。反応終了後イソプロパノール (50 容量%) を少量滴下し, 金属ナトリウムが完全に消費されたのち, 水 50cc を加えて放冷する。これに硝酸 (1:1) を加えて弱酸性にし, 正確に 0.05N 硝酸銀溶液 20cc をホールピペットで加え, 更にニトロベンゼン 5cc および硫酸第二鉄アンモニウム溶液 (10%) 3cc を加える。充分ふりまぜた後 0.05N チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し, 溶液が淡褐色を呈したときを終点とする。滴定に要した 0.05N チオシアン酸アンモニウム溶液の量を *A* cc とし, 別に同様の方法で空試験を行い, この滴定に要した 0.05N チオシアン酸アンモニウム溶液の

量を B cc とし，つぎの式によって HEOD の百分率を算出する。

$$\text{HEOD (\%)} = \frac{(B-A) \times 0.03175 \times 10}{\text{試料 (g)}} \times 100$$

注

- (1) 分液ロート (容量 1 l) に n -ヘキサン 800 cc, ニトロメタン 40 cc を加え, 5 分間激しくふりまぜた後静置する。この n -ヘキサン層を使用する。
- (2) D アンド C バイオレット No. 2 25 mg 及び D アンド C レッド No. 18 25 mg をモビルソルベント 50 cc にとかす。
- (3) BHC 乳剤検査法 (昭和 29 年 6 月 1 日付, 農林省告示 377 号) に定められたクロマトグラフ円筒の

作製及び展開操作に準ずる。

endrin 乳剤

分析操作および計算式は dieldrin 乳剤に準じて行う。ただしモビルソルベントを蒸発させて得たエンドリンの結晶の分解点は 200°C 以上でなければならない。

要 旨

分配クロマトグラフ法によりディルドリン, エンドリン, アルドリン中の有効成分 HEOD, エンドリン, HHDN の定量を行い, HEOD, エンドリンは原末, 乳剤とも十分な精度で測定しえた。HHDN はこの方法では測定しえなかった。

Summary

Determination of Dieldrin, Endrin and Aldrin by Partition Chromatography

By Toshiharu UEJIMA, Shin WATANABE, Shinkō GOTŌ, Rohurō SATŌ

1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloro-6, 7-epoxy-1, 4, 4 α , 5, 6, 7, 8, 8 α -octahydro-1, 4-endo, exo-5, 8-dimethanonaphthalene (HEOD) in dieldrin emulsion and 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloro-6, 7-epoxy-1, 4, 4 α , 5, 6, 7, 8, 8 α -octahydro-1, 4-endo, endo-5, 8-dimethanonaphthalene (endrin) in endrin emulsion were determined with high accuracy by partition chromatography.

Procedure :

Weigh sample to provide 0.5 g HEOD or endrin and transfer to 50 cc erlenmyer. Add 25 cc of the mobile solvent^{a)}, dissolve by heating on the steambath, and cool to room temp. Then transfer into 50 cc vol. flask contg. 1 cc of mixed dye soln^{b)}. Dil. to vol. with the mobile solvent and mix.

Allow 5 cc of the prepared sample soln to flow slowly from pipet down inside of column without disturbing surface of the silicic acid.

Preparation of column is carried as same as partition chromatography of BHC emulsion and elute with the mobile solvent. Collect 3—5 cc of the fractions successively from the first trace of red band to the first trace of violet band.

Transfer each fraction to 50 cc erlenmyer and evap. to dryness.

In case HEOD or endrin fraction containing no solvent, dissolve residue in each flask with n -hexane and transfer to tared weighing bottle. Evap. solvent on the steam bath. Evacuate bottle at room temp. in vacuum desiccator contg. paraffin. Weigh, and calc. % HEOD or endrin in original sample. Melting point of HEOD and endrin should be 174 — 176°C and 200°C up, respectively.

HEOD or endrin (%)

$$= \frac{\text{weight of HEOD or endrin (g)} \times 10}{\text{sample (g)}} \times 100$$

In case HEOD or endrin fraction containing solvent, dissolve residue in each flask with ether and transfer to 300 cc erlenmyer. Evap. ether on the steam bath. Add 30 cc of 99% isopropanol and 3 g of cutting metal Na, then shake flask. Connect flask to reflux condenser and boil gently at least 2 hours, shaking flask occasionally. Eliminate excess Na by cautiously adding 10 cc of 50% isopropanol thru condenser at rate of 1—2 drops/sec.

Disconnect condenser, add 50 cc H_2O , boil soln and cool to room temp.

Add 2 or 3 drops 1% alc. phenolphthalein soln,

and neutralize by adding HNO_3 (1+1) drop wise, then 3 cc in excess. Cool to room temp., add 3 cc of 10% ferric alum soln and swirl flask to coagulate ppt.

Back-titr. excess AgNO_3 with 0.05 N NH_4SCN to faint pink.

1 cc 0.05 N $\text{AgNO}_3 = 0.003175$ g HEOD or endrin

a) Mobile solvent—Satd. soln nitromethane in *n*-hexane.

b) Mixed dye soln—Dissolve 25 mg each D &

C violet No.2 and D & C Red No.18 in 50 cc mobile solvent.

1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloro-1, 4, 4a, 5, 8, 8a-hexahydro-1, 4-endo, exo-5, 8-dimethanonaphthalene (H HDN) in technical aldrin was not able to be determined by partition chromatography. HHDN containing relative compounds (aldrin) was determined by partition chromatography.

BHC の 残 効 に つ い て*

上 島 俊 治 ・ 伊 東 富 士 雄 ・ 佐 藤 六 郎

BHC が二化メチユウに効くことはその出現初期より知られているが、その効力の機構についての検討は殆んど行われていなかった。最近山科等は BHC の水稲への附着量と二化メチユウの効力について生物検定法を用いて検討を進め報告している。更に一般にも毒性の少ない薬剤で二化メチユウを防除することが望ましいと云う観点から BHC の再検討が行われ、残効性を高め、浸透力を高める研究が進み、これらの点を改良した製品が出現するに到った。しかし浸透性を高めた、或は残効性を延長すると云っても生物検定による研究であって化学的な裏付けがなかった。

著者等は BHC 特殊薬剤の効力を化学的に解明する一環として、Schechter-Hornstein の微量定量法を用いて、BHC の残効性について検討を行ったので簡単に報告する。尚本実験を行うに当り色々御指導をいただいた九州農試山科技官に深く感謝の意を表す。

実 験 の 部

1. スライド板上に処理した BHC の屋外における残留量

供試薬剤に乳剤は市販リンデン 10% 乳剤および深達性リンデン 10% 乳剤を 200 倍に希釈したもの。粉剤は実験室でタルクを用いて調製したリンデン 3% 粉剤、市販 3% 粉剤を使用した。尚対象としてリンデンを *n*-ヘキサンにとかしたものをを使用した。

* 1957年 4 月応昆大会にて発表。

実験方法：粉剤はベルジョアダスターを用いてスライド板上に均一になるように撒粉し、乳剤は一定量をメスピベットを用いて小時計皿にとり、屋外に放置して経過日数と残留量の関係を調べた。BHC の定量は四塩化炭素でそれぞれの BHC を抽出し、Schechter-Hornstein 法で測定した。実験は 1956年 7 月中旬にリンデン *n*-ヘキサン液、市販 BHC 粉剤、10月下旬にリンデン粉剤と粉剤の実験を行った。

実験結果および考察：経過日数と残留量の関係を示すと第 1 図の通りであった。この結果のように 10 月の試験において粉剤、乳剤の残留量を比較すると粉剤の方が

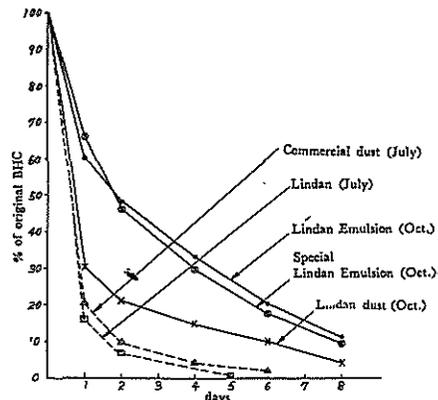


Fig. 1. Residue of BHC on the slide glass. (1956)

消失がはやい。又深達性乳剤と普通の乳剤で残留量の差はみられなかった。時期別の消失速度をみると7月の消失速度は10月に比較するとはるかに速い。これは気温および日照量の差によるものと考えられる。

2. 水稲に散布した BHC 粉剤, 乳剤の残留量と二化メイチウ食入防止効力

供試薬剤: 前記リンデン乳剤 200 倍液と BHC 3% 粉剤を使用した。

実験方法: ポット植水稲 (移植後 10 日) に上記乳剤 1 ポット当り 10 cc スプレーで散布し, 粉剤は小型ダスターでなるべく均一になように散粉した。1 区 2 ポット制とし一定日数経過後に切りとり, 四塩化炭素で抽出し BHC を定量すると同時にフ化直後の二化メイチウ 20 匹を (ポット当り) 添付し, 24 時間後にその食入防止効力を調べた。試験は 1956 年 7 月下旬行った。

実験結果および考察: 得られた BHC の定量値と食入

するに全は BHC として 200 ppm 前後, γ -BHC として 25 ppm 前後の附着量が必要と推定される。

3. リンデン乳剤の水稲附着量と二化メイチウ食入防止効力

供試薬剤: 前記リンデン 10% 乳剤を 100, 200, 400, 800, 1600 倍に希釈して散布した。

実験方法: 移植後 15 日のポット植水稲に各希釈液を 10 cc 当てスプレーで散布し, 薬剤が乾燥したのち 1 部を BHC 定量用に用い, 残部について 2 と同じ方法で二化メイチウを添付して 24 時間後にその生死虫数を調べた。各区 2 ポット別で実験は 1956 年 7 月下旬に行った。

実験結果および考察: 実験結果は第 3 図に示す。この結果から 90% 程度の食入防止効力を期待する附着量 (残留量) を推定すると γ -BHC として約 10 ppm で, 2 の実験結果とも大体一致する。

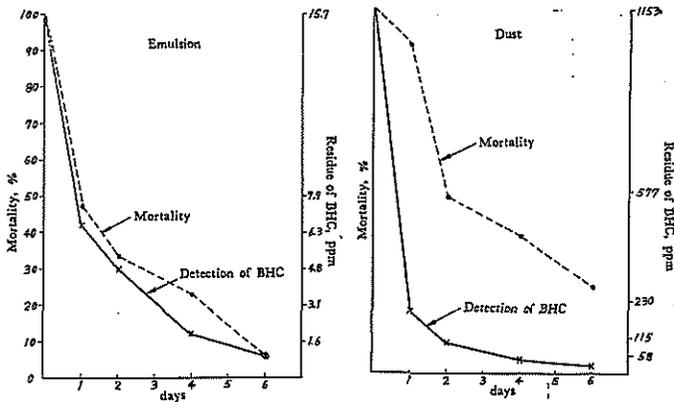


Fig. II. Residue of BHC in Lindan emulsion and BHC dust on the rice plant and the protecting effect on rice stem borer.

防止効力 (死亡率で表わし, 行方不明虫は除く) の関係を図示すると第 2 図の通りであった。乳剤の場合約 16 ppm の附着量のときは 100% 近くの効力であったが, 1 日後に BHC は約 6.5 ppm に低下し, 防止効力も 60% になり, 2 日以後では 50% 以下の効力しかない。90% 以上の防止効力をもつためには 10 ppm 以上の残留量が必要であろう。粉剤については当初 1100 ppm (γ -BHC としての推定 140 ppm) の附着量が 1 日後に約 18% に減少している。尚散布数時間後に雷雨があり, これもその減少に関係しているものと考えられる。しかし食入防止効力は 1 日後でも 90% あり, 2 日後に全 BHC 量が約 100 ppm となると効力は 50% におちる。これらのことから BHC 粉剤で 90% 前後の防止効力を期待

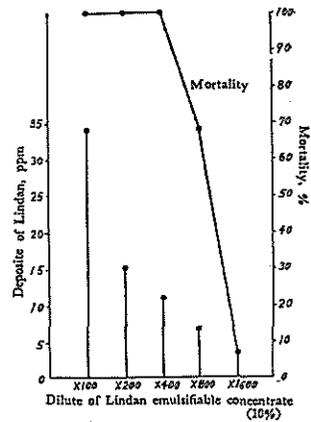


Fig. III. Relation between deposit of Lindan emulsion to rice plant and protecting effect on rice stem borer.

4. BHC 粉剤による BHC の水稲体内への浸透移行 供試薬剤: リンデン 3% 粉剤

実験方法: 移植後 15 日のポット植水稲に 1 ポット当り 2 g, ガーゼで散粉し, 散粉後室内に放置した。散布直後および 1, 2, 3 日後にポットの水稲を切りとり, 1 部はそのまま四塩化炭素で抽出して全 BHC を測定し, 1 部について水洗により外部附着物を洗い落とし, 水を良く切ったあと四塩化炭素で抽出し, 内部移行量を測定した。

実験結果および考察: 結果は第 4 図に示す通りであった。散布直後に γ -BHC の附着量約 50 ppm で, 水洗しても当初とれないものは 2.5 ppm であった。1 日後

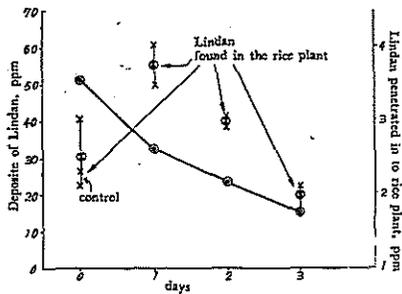


Fig. IV. Penetrate of BHC in Lindan dust into rice plant.

の内部透過量測定結果は 3,7 ppm, 2 回目は 3 ppm, 3 日目は 2.5 ppm でこれらの平均値でみれば, 1 日後に 1 ppm の BHC が浸透したことになるが, 各処理区間にパラツキがありはっきり断言できないが, 少量の γ -BHC は水稻体内へ浸透するものと云えよう。BHC が水稻に浸透すると考えれば, BHC の残効について検討する場合, 内部透過量と外部附着量にわけて考えなければならぬ。又その内部への移行量は附着の質, 量に当然

関係し, 粉剤の残効については BHC の絶体量だけでなく, その質によっても左右されることが考えられる。この点を考えると本報告に述べた BHC 粉剤の附着量と二化メチユウ防止効力の関係は, 必ずしも他の実験結果と一致するとはかぎらないであろう。しかし乳剤の場合は水稻表面への附着の質に大差がないと考えられるので(深達性の点は除き)前記の関係は成立するものと考えている。

要 旨

BHC 残量を Schechter-Hornstech 法と二化メチユウの生物試験で定量した。

スライドガラス及稲体上の残量は粉剤散粉のときは乳剤散布のときの約半分であった。

一化期の二化メチユウ食入防止に必要な薬量は, γ -BHC として, 粉剤では 25 ppm, 乳剤では 10~14 ppm であった。通常の散粉散布では BHC の防除効果は約 2 日保たれた。

散粉すれば, BHC の微量が稲体中に浸透する。

Summary

Residual Effect of Benzene Hexachloride

Toshiharu UJIMA, Fujio ITō, Rokurō SATō

Residue of BHC was determined by Schechter-Hornstein method and by bioassay with rice stem borer.

Residue of BHC dust is about half the residue of emulsion on the slide glass and rice plant.

To control the first generation rice stem borer, the residue of dust from BHC needs the dosage

of 25 ppm and emulsion 10—14 ppm as γ -BHC.

The protecting effect of BHC against rice stem borer, at usual dusting or spraying, maintained about 2 days.

We discovered that trace of BHC penetrated into rice plant by dusting.

ジチゾンによる有機水銀剤中の水銀の定量法

金 沢 純・佐藤 六 郎

〔分析化学, 投稿中〕

ジチゾンによる有機水銀剤の分析法を確立するため基礎的条件から検討を進めた。水銀剤には多くの有機水銀化合物が使用されているが, これらの中から試料として酢酸フェニル水銀, 隣酸エチル水銀, 塩化メトキシエチ

ル水銀をえらび, 基準物質には硝酸第二水銀, 塩化第二水銀を用いた。有機水銀化合物の分解は硝酸と過酸化水素で行った。

滴定法として無機水銀には硝酸酸性 pH 1~2 で, 有

機水銀には酢酸塩緩衝液で pH を 3~5 に調節し、これに適量のロダンアンモンを加え、終末点を無機水銀塩で置換し、よい結果をえた。

比色法として無機、有機水銀ともに pH 4.5 の酢酸塩緩衝液を加え、ジチゾン・クロロホルム液で抽出し、490 m μ における吸光度をクロロホルムを対象として測定した。濃度吸光度曲線は 490 m μ の方が 620 m μ のそれよりも直線性が高かった。

さらに Miller などによる無機水銀共存下の有機水銀

の分離定量法を試み、酢酸フェニル水銀では満足な結果をえたが、磷酸エチル水銀ではやや低い値を示した。

また EDTA により水銀に対し 200 倍量の銅の影響を隠蔽できた。

これらの結果より水銀剤、銅水銀剤中の全水銀の定量法および有機水銀の定量法（原体に酢酸フェニル水銀を使用のものに限る）を設定した。その結果、ジチゾン法の精度は $\pm 2.5\%$ であった。

Summary

Determination of Mercury in Organic Mercury Fungicides

by Dithizone Method

By Jun KANAZAWA and Rokurō SATŌ

The determination of $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, HgCl_2 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{HgOCOCH}_3$, $(\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg})_2\text{HPO}_4$ and $\text{CH}_3\text{O}\cdot\text{C}_2\text{H}_4\text{HgCl}$ by dithizone has been studied.

The titration of inorganic mercury compounds at pH 1~2 was carried out. In the case of organic mercury compounds it was done as follows; adjusted pH 3~5 with acetate buffer, added NH_4SCN , changed the end point by inorganic mercury salts.

In the colorimetric method both inorganic and organic mercury compounds were extracted at pH 3~5 with acetate buffer by dithizone-chloroform solution, then extinction was measured at 490 m μ against CHCl_3 by use of 10 mm cell.

The determination of organic mercury compounds in the presence of inorganic mercury compou-

nds has been investigated by Miller method. In the case of $\text{C}_6\text{H}_5\text{HgOCOCH}_3$ were obtained satisfactory results. However, $(\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg})_2\text{HPO}_4$ was low recovery.

HNO_3 and H_2O_2 were used for the decomposition of organic mercury compounds.

The determination of mercury was carried out after masking the interference of copper by use of EDTA.

From the above result determination of total mercury in organic mercury fungicides, and copper-organic mercury fungicides, and that determination of organic mercury in phenyl mercury fungicides were established.

The error in accuracy did not exceed 2.5%.

有機水銀化合物のペーパークロマトグラフィー

金沢 純・古山 清・綾 正弘・佐藤六郎

〔農化, 31, 872 (1957)〕

〔分化, 投稿中〕

水銀剤に使用されている数種の $\text{R}\cdot\text{Hg}\cdot\text{X}$ 系有機水銀化合物の分離検出法としてペーパークロマトグラフィーを試みた。

各化合物の 2000 γ /ml 溶液の 0.002~0.005 ml をミクロピペットを用い東洋濾紙 No. 51, 20 \times 20 cm の一端より 2 cm の原線上に塗布し、これを同筒状に巻き一

次元上昇展開した。

検出には化学的方法として1%ジフェニルカルバゾンのエタノール溶液の噴霧、生物的方法としてH菌による寒天拡散法を実施した。最少検出量は各化合物により多少の差が認められるがジフェニルカルバゾンで0.01~0.05 γ 、H菌で0.001~0.005 γ であり、しかし明瞭なスポットをうるために濾紙に塗布すべき適量はそれぞれ5, 0.5 γ であった。

展開溶媒は1Nアンモニア水飽和n-ブタノールおよびn-ブタノール：ピリジン：1Nアンモニア水（容量

比、35：34：31）が最も良く、有機水銀化合物は有機基の炭素数の大なるもの程高いRf値を示し、相互に分離され、一価、二価の無機水銀は原点に止り、これと完全に分離された。

Rf値は他の物質と同様に展開温度による影響があり、1Nアンモニア水飽和n-ブタノールによる結果を示した。また円形濾紙による展開でもよい結果をえた。

本法により市販有機水銀剤中の有効成分の検出を行った。

Summary

Paper Chromatography of Organic Mercury Compounds

By Jun KANAZAWA, Kiyoshi KOYAMA, Masahiro AYA and Rokurō SATŌ

[Nippon Nōgei-Kagaku Kaishi 31, 872 (1957).]

Separation and identification of organic mercury compounds by paper chromatography were studied.

Several compounds were developed on a sheet of filter paper Tōyō No. 51, 20×20 cm, by using n-BuOH saturated with 1N NH₄OH, n-BuOH:pyridine: 1N NH₄OH (Vol. %=35:34:31), etc. The spots were detected either by chemical method with a 1% ethanol solution of diphenylcarbazone or by bioautography.

The R_f values of organic mercury compounds were influenced under developed temperature as follows;

This method was applied to detection of avail-

R_f values of organic mercury compounds by n-BuOH saturated with 1N NH₄OH.

Compounds	Developed temperature			
	5°~7°		27°~28°	
	Range	Av.	Range	Av.
C ₆ H ₅ HgOCOCH ₃	0.33~0.38	0.25	0.36~0.42	0.39
C ₆ H ₅ HgCl	0.34~0.38	0.35	0.36~0.42	0.40
C ₂ H ₅ HgCl	0.21~0.24	0.23	0.24~0.29	0.27
(C ₂ H ₅ Hg) ₂ HPO ₄	0.20~0.24	0.22	0.24~0.28	0.27
CH ₃ OC ₂ H ₅ HgCl	0.13~0.18	0.15	0.17~0.20	0.18
CH ₃ HgCl	0.12~0.15	0.14	0.16~0.19	0.17
HgCl ₂		0.00		0.00

able components in organic mercury fungicides.

食 品 中 の パ ラ チ オ ン の 微 量 検 出 法

後藤 真康・牟田 一郎・佐藤 六郎

作物、食品、河海水等の中の微量のパラチオンを定量する事は農業の使用法、生理作用の研究のためにも、又公衆衛生上からも必要であり、多くの研究が行われ、いくつかの分析法が行われ、いくつかの分析法が報告されている。

AVERELL-NORRIS法⁽¹⁾は最も簡便で精度が高いが、多くの芳香族ニトロ、アミノ化合物がパラチオンと同様の

発色反応を示し、これらの物質は天然物中に広く存在する。BUCKLEY⁽²⁾はパラチオンを分解して生ずるカニトロフェノールを比色し、BIGGS⁽³⁾はパラチオンの紫外部吸収により定量している。しかし、これらの方法もパラチオンと同様の反応を示す物質が試料中に存在する事が多い。従ってこれらの方法はパラチオンを含まない事が明かな試料についてブランクを測定するとともに、数種

の分析法や生物検定を並用して結果を補正する必要がある。クロマトグラフ法によりパラチオンを単離する方法も研究されているが、煩雑であり、油脂の多い試料では実施が困難な場合がある。赤外線吸収による方法⁽⁴⁾は多量の試料を必要とし、特殊な設備を要する。

我々はなるべく特殊な設備や試薬を用いず、0.1 ppm 程度のパラチオンを半定量的に検出確認する事を目的とし、次の分析法を考案して、略満足すべき結果をえたので報告する。

実験の部

本分析法の原理は、パラチオンを加水分解し、生ずる *p*-ニトロフェノールを油脂等より分離し、ペーパークロマトグラフにより検出確認するものである。

クロマトグラフ供試液の調製

試料を *n*-ヘキサンで抽出し、抽出液中の *p*-ニトロフェノール及び極性色素の一部を除くため、60% エタノール性 1/100N NaOH 液で数回洗う。60% エタノール液を用いれば油脂の多い試料でも分離は良好であるが、もし乳化して分離が困難な時は飽和食塩水若干を加えて乳化を破壊する。抽出液 200 cc を NaOH 液 25 cc で 3 回洗えば 100 γ の *p*-ニトロフェノールがあっても完全に除かれ、パラチオンの損失はない。洗液は合し *n*-ヘキサン 50 cc で洗い *n*-ヘキサン層は抽出液と合し、湯浴上で溶媒を留去する。溶媒が殆どなくなった時 2N KOH 液 10 cc、パラフィン 1 g を加え溶媒を完全に留去する。残留物にエタノール 10 cc を加え、還流冷却器をつけて 30 分間煮沸しパラチオンを分解する。その間 30% H₂O₂ 10 cc を冷却器の先端より滴加して植物性色素を破壊する。分解がおおったら濃塩酸 1 cc、水 10 cc を加え放冷する。油脂、油溶性の色素及び脂肪酸の大部分はパラフィンと共に固化するからこれを濾過して除き、少量の水でよく洗い濾液に合する。濾液中の *p*-ニトロフェノールをエーテル 30 cc で 2 回抽出する。エーテルを留去し、残留物に 0.1~0.5 g の無水硫酸ソーダを加え、2 cc のエーテルで 5 回以上洗い洗剤を小試験管中に集める。エーテルを室温で蒸発せしめ、残留物をアセトン 0.5 cc にとかし、これをクロマトグラフ供試液とする。

ペーパークロマトグラフ

ニトロフェノール類のペーパークロマトグラフとしては LEDEKER⁽⁵⁾、EVANS⁽⁶⁾ 等の方法があるが、検討の結果本分析の目的には不適當であった。METCALF⁽⁷⁾ の逆相クロマトグラフは分離は良好であるが夾雑物により Rf が著しく変化する。そこで次のような方法を用いて

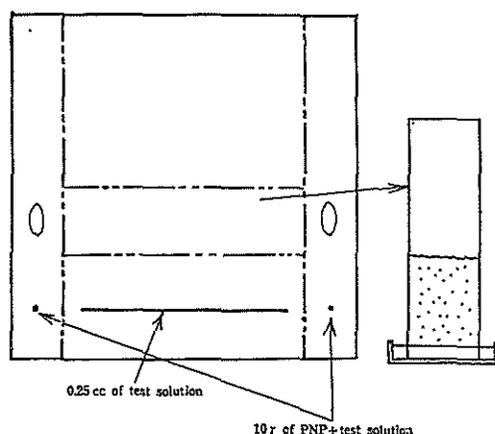


Fig. 1. Paper chromatography of *p*-nitrophenol.

よい結果をえた。

東洋濾紙 No. 51 の 20 cm × 20 cm を使い、第 1 図の如くその下端より約 3 cm 上、両端より約 3 cm を除く中央部に、供試液 0.25 cc をマイクロピペット又はマイクロシリンジを用いて直線状に附着させる。両端に純 *p*-ニトロフェノール 5~10 γ 及び供試液 1 滴をつける。*n*-ヘキサン 40、エタノール 10、水 1 の混液の上層を展開溶媒とし、常法により密閉した容器中で展開を行う。15~20 分で完了する。展開をおわった濾紙を風乾し、その両端を各々 3 cm の幅で切りとり、5% KOH エタノール溶液を噴霧する。*p*-ニトロフェノールは黄色のスポットとして現われるからその Rf を測定する。のこりの濾紙の中央部分の *p*-ニトロフェノールの Rf に相当する部分を幅 4 cm に切りとる。その一端をエーテル中につけ、エーテルの先端が濾紙の中央部まで昇った時さかさまにして他端をエーテルにつける。再びエーテルが中央部迄昇った時とりだして風乾する。5% KOH エタノール溶液を噴霧して風乾し、更に 30% H₂O₂ 1、エタノール 3 の混液を噴霧して風乾する。最初の試料にパラチオンが 10 γ 以上存在すれば濾紙の中央に *p*-ニトロフェノールの鮮やかな黄色の線が認められる。パラチオン 10~100 γ を含む標準溶液を試料抽出液と同様に処理したもの、又は簡易的には、それに相当する量の *p*-ニトロフェノールのアセトン溶液を同様の方法でペーパークロマトグラフを行ったものと発色の濃さを比較すれば半定量が可能である。

Rf

本法は展開溶媒の組成が変りやすいので Rf の変動が若干多いが、標準的な Rf を示せば次の通りである。

p-ニトロフェノール 0.3, *p*-ニトロアニリン 0.1, ジニトロクロゼノール 0.8, *o*-ニトロフェノール 1.0, 2,4-ジニトロ-6-シクロヘキシルフェノール 1.0

食品に対する応用

アズキ, 玄米, ホーレン草各 100g, リンゴ, ミカン 100g から皮の部分を取り, これを *n*-ヘキサンで抽出し, 抽出液にパラチオン 0.1, 0.5, 1.0 ppm 相当量を添加し, 本法を実施した結果は, 無添加試料ではいずれもブランクは認められず, 添加試料では各々添加量に相当する発色が認められた。緑茶の場合は多量の葉緑素が抽出されるため, 検出が不可能であった。しかし適当前処理により抽出液を脱色すれば適用が可能である。

要 旨

植物及食品中の微量パラチオンのペーパークロマトグラフ法による検出を試みた。

パラチオンを *n*-ヘキサンで抽出し, 同時に抽出されてくるパラニトロフェノール, 植物色素を 1/100 N-NaOH (60% エタノリック) で洗い去る。溶媒を飛ばし,

残渣中の色素は H_2O_2 で酸化し, パラチオンを加水分解し, パラニトロフェノールにする。油分はパラフィンを加えて固定し, 濾過する。パラニトロフェノールをエーテルで抽出し, ペーパークロマトで同定する。*n*-ヘキサン: エタノール: 水 (40:10:1 v/v) 混液の上層を移動相に用う。Rf 約 0.3, 0.1 ppm 以上あれば, リンゴ, オレンジ, 小豆, ホウレン草中のパラチオンを検出できる。之等のサンプルのブランクは 0 であった。

文 献

- (1) AVERELL P. R., NORRIS M. V. (1948), Anal. Chem. 20: 753
- (2) BUCKLEY R. (1954), Analyst. 79: 285
- (3) BRIGGS A. I. (1955), Analyst. 80: 279
- (4) SUMIKI U. et al. (1957) Bull. Agr. Chem. Soc. 21: 329
- (5) LEDERER M. (1949), Australian J. Sci. 11: 208
- (6) EVANS R. A. (1949), Nature 164: 674
- (7) METCALF R. L. (1953), Science 117: 528

Summary

Micro Detection of Parathion in Plant or Food Materials

By Sinkō Gorō, Itirō MUTA, Rokurō SATō

Micro-detection of parathion in plant or food materials by paperchromatography was studied.

Extract parathion with *n*-hexane. Hydrolyse parathion to *p*-nitrophenol and oxidize the plant pigments by boiling 30 min. with 2N KOH, paraffin and H_2O_2 .

Remove paraffine wrapping the oily substances by filtration after the solution is cooled. Extract *p*-nitrophenol with ether and identify by paper-

chromatography. The upper layer of the mixture of *n*-hexane: ethanol: water (40:10:1 v/v) was used as mobile solvent.

The Rf value of *p*-nitrophenol was about 0.3.

More than 0.1 ppm of parathion were able to be detected by this method, in rice, apples, oranges, red beans or spinach.

Blank values were zero in these samples.

バイオオートグラフィーによる農薬ストレプトマイシンの簡易検定法

中村 広明・綾 正弘

ストレプトマイシンは或種の植物細菌病に有効な抗生物質として本邦でもその製剤が市販されるに至ったが、そのために農薬として製剤化されたストレプトマイシンの定性的、定量的検定の方法を早急に案出する必要に迫られ、我々は医薬としての抗生物質に関する諸研究^(1,2)を参考として寒天拡散法(カップ法)に基く生物学的定量法を先ず決定した。しかしこれでは供試細菌に活性をもつ他の物質が製剤中に含まれている場合にはその影響を区別し得ない。PETERSON ら⁽³⁾は水飽和ブタノールに2%の α -トルエンсульホン酸を加えたものを展開溶媒とし、斑点検出には枯草菌に対する抗菌性を利用してストレプトマイシンのペーパークロマトグラフィーを考えた。又、宮木ら⁽⁴⁾は各種化合物の定量的ペーパークロマトグラフィーを検討した結果斑点の面積と化合物の量との間に成立する関係式を提案した。彼等はその中でストレプトマイシンについては展開溶媒に3%の食塩水、検出には坂口反応又は大腸菌によるバイオオートグラフィーを用いた。そこで我々は特にこの二つの研究を手がかりとしてバイオオートグラフィーを応用し、農薬中のストレプトマイシンを簡易に同定し且定量し得る方法の一つを考案して若干の検討を加えたのでここに報告する。

実験方法

試料の調製法：常用標準ストレプトマイシン(国立予防衛生研究所製、力価 750mcg/mg)を pH6 のリン酸塩緩衝液に溶かして 400mcg(力価)1cc の標準原液を作り、稀釈には pH8 のリン酸塩緩衝液を使用し、基礎実験及び製品検定の際の標準に用いた。又、ストレプトマイシン製剤としてはヒトマイシン(日本農薬株式会社試製品、力価 20mg/cc、他に界面活性剤、安定剤及び水を含む液剤)及び Agrimycin-100(米国 Charles Pfizer 社製、ストレプトマイシン 15%、オキシテトラサイクリン 1.5%、他に界面活性剤、安定剤及び無機硫酸塩を含む水和剤=供試品)を用いた。これらを蒸留水で稀釈又は懸濁させて 400mcg(力価)1cc の被検原液を作り、稀釈には pH8 のリン酸塩緩衝液を用いた。

試験法：東洋濾紙 No.50 を巾 10mm、長さ 15cm の長方形に切って一端から 15mm と 25mm のところに線を

引き、その 10×10mm の正方形の範囲内に上記の試料液 0.02cc を下から微加温しながら一線につけ、これらの濾紙を 3% 塩化アンモン溶液で上昇法により定温(26°C)で展開した。17.5×14.5×3cm のホウロウ引鉄製平皿 2%にの素寒天 150cc を張って作った平面にキャピネ判のガラス板を載せ、その上にピオン寒天斜面に 1 週間培養した枯草菌 *Bacillus subtilis* P.C.I.219 の胞子を滅菌水中に浮遊させて 65°C で 30 分加熱し発育型細胞を破壊した後、この 10cc を加熱溶解後固化寸前のピオン寒天培養基 50cc に加えて均等に流し込んだ。展開風乾をすませた濾紙を固化した寒天面に 4~8 枚並べて密着させ 10 分間置いてから除去し、37°C の定温に約 20 時間保った。ストレプトマイシンの抗菌力によって生じた発育阻止斑の前後 2 端及び展開前縁の位置を滴下部前縁(濾紙の一端から 25mm のところ)から測定し、Rf を計算した。

基礎実験

数回の予備実験からストレプトマイシンの量と阻止斑の長さとの間には何らかの関係がありそうに思われた。もし適当な濃度範囲で(1)薬量と阻止斑長の間に直線関係が成立し(2)阻止斑長の測定値のバラツキが薬量が変わっても均一性を保つならば上記の方法によってストレプトマイシンの定量ができる筈である。常用標準ストレプトマイシンの 400, 200, 100, 50mcg(力価)/1cc の各溶液についての代表的な資料が表 1 である。これを上述の 2 点から検討した。

(1) 阻止斑長の直線性

表 1 において薬量(濃度) d を $x = \log \sqrt{2} \left(\frac{d}{\sqrt{2}} \right)$ で置換えると 50~400 mcg/cc の範囲については阻止斑長さ y との間に回帰方程式

$$y = 47.34x + 269.7$$

が成立し、薬量の対数は阻止斑長に対して直線関係にあるといえる。又これは分散分析(表 2)の結果妥当なものと判断した。

(2) 測定値のバラツキの均一性

一般に抗菌力による阻止斑は薬量の低下に伴って僅か

Table 1. Measurements and Rf values of the standard streptomycin for ordinary use obtained by bioautography. unit: in mm

Reprication	Concentration	Distance of development	Front boundary of spot		Tail boundary of spot		Length of spot		Center of spot	
			(Rf)	(Rf)	(Rf)	(Rf)	(Rf)	(Rf)		
I	400	1160	1179	1.01	762	.66	417	.36	971	.83
	200	1160	1145	.99	841	.73	304	.26	993	.86
	100	1130	1130	1.00	905	.80	225	.20	1018	.90
	50	1080	1032	.96	875	.81	157	.15	954	.88
II	400	1110	1155	1.04	750	.68	405	.36	953	.86
	200	1100	1116	1.01	807	.73	309	.28	962	.87
	100	1090	1152	1.06	826	.76	226	.21	939	.86
	50	1090	1032	.95	901	.83	131	.12	967	.89
III	400	1110	1180	1.06	758	.68	422	.38	969	.87
	200	1110	1151	1.04	842	.76	309	.28	997	.90
	100	1130	1130	1.00	903	.80	227	.20	1017	.90
	50	1110	1022	.92	915	.82	107	.10	969	.87
IV	400	1170	1202	1.03	786	.67	416	.36	994	.85
	200	1090	1078	.99	753	.69	325	.30	916	.84
	100	1090	1063	.98	825	.76	238	.22	944	.87
	50	1100	1006	.91	886	.81	120	.11	946	.86
V	400	1170	1193	1.02	773	.66	420	.36	983	.84
	200	1150	1156	1.01	854	.74	302	.26	1005	.87
	100	1100	1057	.96	853	.78	204	.19	955	.87
	50	1110	1035	.93	905	.82	130	.13	970	.87

Table 2. Analysis of variance for the length of spot in the data of Table 1.

Component	d.f.	Sum of squares	Mean square
Regression	1	224107.56	
Deviation from regression	2	3375.84	187.92
Between concentrations	3	224483.4	
Replication	4	441.20	110.30
Error	12	2023.60	168.63
Total	19	226948.20	

ではあるが周辺部分がボケること、又高くなると阻止斑が尾を引くことがある。もしこれらが測定値に影響をもつとすれば、測定値のバラツキが一様でなくなる筈である。表1の実験について分散の均一性の検定を行った結果は $\chi^2=4.103$ で、測定値のバラツキは薬量によらず均一であるとみなされた。

製品検定例

(1) ヒトマイシン

ヒトマイシンを希釈してストレプトマイシンの濃度が400, 100mcg(力価)/cc(推定値)の検液を作り、これら

Table 3. Data from the actual preparation "HI-TOMAISHIN" indicating length of spot in mm.

Reprication	Concentration	S_L	S_H	U_L	U_H
	100	400	100	400	
1	269	448	231	411	
2	243	399	187	387	
3	286	427	201	378	
4	271	405	230	416	
5	263	435	181	377	
X	1337	2114	1032	1969	

S_L : Values obtained from the solution of lower concentration with standard streptomycin preparation.

S_H : Values obtained from the solution of higher concentration with standard streptomycin preparation.

U_L : Values obtained from the solution of lower concentration with unknown preparation.

U_H : Values obtained from the solution of higher concentration with unknown preparation.

$$\log \theta = \frac{(U_H + U_L) - (S_H + S_L)}{(U_H + S_H) - (U_L + S_L)} \times \log 4 \quad \theta = \frac{P_U}{P_S}$$

を常用標準ストレプトマイシンの 400, 1000mcg (力価) /cc の各標準希釈液で本法によって定量した結果は3表の通りで、力価の比 θ は 0.70 であった。同時に行った寒天拡散法⁽²⁾による検定の結果は $\theta=0.74$ であった。

(2) Agrimycin-100

サンプルとして入手した Agrimycin-100 中に含まれるストレプトマイシンについてヒトマイシンと同様な検定を行ったところ、力価の比 θ は本法では 0.57, 寒天拡散法では 0.66 であった。

考 察

我々は農業用ストレプトマイシン製剤の同定法としてペーパークロマトグラフィーに着目した。抗生物質は一般に抗菌力を応用すれば適当な溶媒で展開した濾紙上の斑点を比較的容易に検出できる^(3,5)。検出菌には孢子懸濁液の調製や無菌操作が容易で、明瞭な阻止斑点を示すので枯草菌を選んだ。展開溶媒としては *n*-ブタノール飽和 2% カトレンスルホン酸⁽³⁾をはじめ、*n*-ブタノール飽和 3% 塩化アンモン、3% 塩化アンモン：エタノール=1:2 (V/V)⁽⁵⁾、3% 塩化アンモン、水飽和 *n*-ブタノール⁽⁶⁾について検討した末、展開中の温度を一定にすれば最も適当な斑点が得られたので 3% 塩化アンモンを選んだ。宮木ら⁽⁴⁾は濾紙の大きさを 7mm×40cm としているが、枯草菌の培養平面をキャピネ判にするために我々は 10mm×15cm と決め、従って展開距離は 10cm 前後に限定された。これらの事情から定量的ペーパークロマトグラフィーとしては不満足な点が多々あることを認めなければならない。

溶液及び濾紙の水素イオン濃度は斑点の大きさに影響し、ストレプトマイシンは pH の上昇に従って大きくなる傾向がある。又 Agrimycin-100 の中に含まれているオキシテトラサイクリンは反対に pH の下降によって斑点が大きくなるがこの実験の条件では殆んど影響はなかった。しかしストレプトマイシンをより正確に検定するためには予め溶液と同じ pH 8 の緩衝液に浸して乾した濾紙を使うべきと考える。

斑点の位置は薬量の低下によって前端はあまり変らなかったが後端は高くなる傾きがあった。又展開距離の短いために中心の Rf の変動が大きく表 1 の例でも 0.83~0.90 であり、厳密には類似物質の区別ができない。

クロマトグラフィーによる定量法の根拠として宮木ら⁽⁴⁾は多くの化合物の場合に関係式

$$\log y = k_1 \log x + k_2$$

(x : 化合物の量, y : 斑点の伸び, k_1 : 成分の定数,

k_2 : 溶媒の定数)

が成立すると述べている。我々は基礎実験でストレプトマイシン量の対数と阻止斑長の間直線的関係を認め、 $y=47.34 \log \sqrt{2} \left(\frac{d}{\sqrt{2}} \right) + 269.7$ を得た。分散分析

(表 2) から我々の場合阻止斑長の対数をとる必要は認められなかったのでこの点が前者とは異なる。

製品検定に本法を応用した場合、定量的には寒天拡散法に比べると何れも低い値を示し、又精度も劣っているが、一方同時に Rf も求めることができるので定性的検定も可能な利点がある。

従ってこの方法は未だ基だ不完全なものであり、十分検討の余地が残されているが、農業として作られた抗生物質製剤について一応の定性的、定量的な目安をつけるための検定法として今後開拓すべき方向を示唆するものと考えてもよいのではなからうか。

引用文献

- (1) 梅沢純夫 (1954) 抗菌性物質 320 p. 培風館
- (2) 抗菌性物質製剤基準 日本抗生物質学術協会会議
- (3) PETERSON, D. H. and REINKE, L. M. (1950) J. Amer. Chem. Soc. 72: 3598~3603.
- (4) MIYAKI, K., SATAKE, K. and HAYASHI M. (1941) 薬学雑誌 71 (4): 249~256
- (5) 佐竹一夫 (1955). クロマトグラフィー 244 共立出版
- (6) STIFFEX, A. V. and WILLIAMS, W. L. (1955) J. Asso. Off. Agr. Chem. 38 (4): 870~874.

摘 要

我々はバイオオートグラフィーを応用し、農業中のストレプトマイシンの同定と定量を簡易に実施できる方法を考案しようと試みた。

各濃度の試料液を短冊形濾紙の一端に一定量滴下し、3%の塩化アムモニウム水溶液で展開した後ストレプトマイシンの *Bacillus subtilis* P. C. I. 219 に対する抗菌力によって生ずる発育阻止斑を検出した。

常用標準ストレプトマイシンによる基礎実験で薬量と斑点の長さとの間に直線関係が得られ、又測定値は或濃度範囲では常に均一であった。

実例としてヒトマイシンとアグリマイシン 100 をこの方法で検定し、抗生物質の一般的定量検定法であるカップ法による結果と比較検討を加えた。

Summary

A Brief Assay of Streptomycin Formulated as Agricultural Chemicals by the Bioautography

By Hiroaki NAKAMURA and Ma sahiro AYA

We attempted to search a method which is able to identify and estimate the content of streptomycin in the formulations as agricultural chemicals with modified bioautography, and applied it to actual samples. 3% solution of ammonium chloride was used as the solvent of chromatographic development. For the detection of spot *Bacillus subtilis* (P. C. I. 219) was used as the assay organism. In the fundamental experiments with the use of

standard streptomycin preparations linear relationship was obtained between dose and length of spot, and measurements were always homogeneous in certain range of concentrations, and an equation was found. For example "Hitomaishin" and "Agrimycin-100" were tested by this method and compared the results with the cup method (routine method for quantitative assay of antibiotics).

生物検定における直交多項式の応用について

綾 正 弘

生物検定では、標準製品と検定製品共同数の薬量がある4点、6点、…、 $2n$ 点の検定法が採用される場合が多い。このような対称な検定の結果は直交多項係数により薬量間自由度の分割、曲線のあてはめが、簡単に計算できる。直交多項係数を利用した計算法は BLISS と MARKS (1), FINNEY (4) によりすすめられたものであるがこの係数の求め方については邦書にも具体的な説明がないので参考に供したい。

標準製品と検定製品の2組の薬量と反応の測定値がある $2n$ 点検定について考えるまえに、まず1つの製品について簡単に述べておく。

I) 測定値が1組の場合 (北川, 増山, 統計数値表 河出書房を参照)

間隔1の等間隔で指示した x (薬量)の値を小さい順に

$x_1, x_2, \dots, x_n (x_i = x_1 + (i-1), i=1, 2, \dots, n)$ (1) とする。各 x について測定された値を y とする。いまこれらの n 個の点にあてはめた $n-1$ 次の曲線の方程式を

$$Y = A_0\xi_0 + A_1\xi_1 + \dots + A_{n-1}\xi_{n-1} \quad (2)$$

とする。 ξ_i は i 次の直交多項式で(最高次の係数を1

とし、また $\xi_0=1$)、係数 A_i は

$$S(y\xi_i) = A_i S(\xi_i^2) \quad (3)$$

によって決められる。この A_i によれば、平方和 $S(y^2)$ はつぎのように分解される(A_0 はいつも \bar{y} に等しくなる)

$$S(y^2) = nA_0^2 + S(\xi_1^2)A_1^2 + \dots + S(\xi_{n-1}^2)A_{n-1}^2 \quad (4)$$

右辺の各項は理論上の残差の分散であると自由度1の χ^2 分布に従う。

直交多項式 ξ_i は(1)のように指定された x に対しては

$$\begin{aligned} \xi_0 &= 1 & \xi_1 &= x - \bar{x} \\ \xi_2 &= \xi_1^2 - 112(n^2-1) & \xi_3 &= \xi_1^3 - \frac{1}{20}(3n^2-7)\xi_1 \\ \xi_4 &= \xi_1^4 - \frac{1}{14}(3n^2-13)\xi_1^2 + \frac{3}{560}(n^2-1)(n^2-9) \\ & \dots & \dots & \dots \end{aligned}$$

となる。ここで原点を x に調整するものとすれば

$$\begin{aligned} \xi_0 &= 1 & \xi_1 &= x \\ \xi_2 &= x^2 - \frac{1}{12}(n^2-1) & \xi_3 &= x^3 - \frac{1}{20}(3n^2-7)x \\ \xi_4 &= x^4 - \frac{1}{14}(3n^2-13)x^2 + \frac{3}{560}(n^2-1)(n^2-9) \\ & \dots & \dots & \dots \end{aligned} \quad (5)$$

となる。

特定の 場合

1) $n=2$ の場合 (5) の条件によれば、(1) の x は

$$x_1 = \frac{1}{2}, \quad x_2 = \frac{1}{2},$$

したがって

$$\xi_0 = 1 \quad A_0 = \bar{y} = \frac{1}{2}(y_1 + y_2)$$

$$\xi_1 = x \quad S(\xi_1^2) = \frac{1}{2} \quad S(y\xi_1) = \frac{1}{2}(y_2 - y_1)$$

$$A_1 = (y_2 - y_1)$$

2) $n=3$ の場合

$$x_1 = -1, \quad x_2 = 0, \quad x_3 = 1,$$

$$\xi_0 = 1 \quad A_0 = \bar{y} = \frac{1}{3}(y_1 + y_2 + y_3)$$

$$\xi_1 = x \quad S(\xi_1^2) = 2 \quad S(y\xi_1) = -y_1 + y_3$$

$$A_1 = \frac{1}{2}(y_3 - y_1)$$

$$\xi_2 = x^2 - \frac{2}{3} \quad S(\xi_2^2) = \frac{2}{3} \quad S(y\xi_2) = \frac{1}{3}(y_1 - 2y_2 + y_3)$$

$$A_2 = \frac{1}{2}(y_3 - 2y_2 + y_1) = \frac{1}{2}\{(y_3 - y_2) - (y_2 - y_1)\}$$

3) $n=4$ の場合

$$x_1 = -\frac{3}{2}, \quad x_2 = -\frac{1}{2}, \quad x_3 = \frac{1}{2}, \quad x_4 = \frac{3}{2}$$

$$\xi_0 = 1 \quad A_0 = \bar{y} = \frac{1}{4}(y_1 + y_2 + y_3 + y_4)$$

$$\xi_1 = x \quad S(\xi_1^2) = 5 \quad S(y\xi_1) = \frac{1}{2}(3y_4 + y_3 - y_2 - 3y_1)$$

$$A_1 = \frac{1}{10}(3y_4 + y_3 - y_2 - 3y_1)$$

$$= \frac{3}{10}\{(y_4 - y_1) + \frac{1}{3}(y_3 - y_2)\}$$

$$\xi_2 = x^2 - \frac{5}{4} \quad S(\xi_2^2) = 4 \quad S(y\xi_2) = (y_4 - y_3 - y_2 + y_1)$$

$$A_2 = \frac{1}{4}(y_4 - y_3 - y_2 + y_1) = \frac{1}{4}\{(y_4 - y_3) - (y_2 - y_1)\}$$

$$\xi_3 = x^3 - \frac{41}{20}x \quad S(\xi_3^2) = \frac{9}{5}$$

$$S(y\xi_3) = \frac{3}{10}(y_4 - 3y_3 + 3y_2 - y_1)$$

$$A_3 = \frac{1}{6}(y_4 - 3y_3 + 3y_2 - y_1)$$

$$= \frac{1}{6}\{(y_4 - 2y_3 - y_2) - (y_3 - 2y_2 + y_1)\}$$

.....

II) 測定値が 2 組の場合

同一の x に対する測定値の 2 組を

$$y_1, y_2, \dots, y_n$$

$$x_1, x_2, \dots, x_n$$

とし、あてはめた曲線の方程式を

$$Y = A_0 + A_1\xi_1 + \dots + A_{n-1}\xi_{n-1}$$

$$Y' = A_0' + A_1'\xi_1 + \dots + A_{n-1}'\xi_{n-1}$$

とする。各平方和は

$$S(y^2) = nA_0^2 + S(\xi_1^2)A_1^2 + \dots + S(\xi_{n-1}^2)A_{n-1}^2$$

$$S(y'^2) = nA_0'^2 + S(\xi_1^2)A_1'^2 + \dots + S(\xi_{n-1}^2)A_{n-1}'^2$$

と分解される。後辺の対応する各項を加えると

$$\begin{aligned} & S(\xi_i^2)A_i^2 + S(\xi_i^2)A_i'^2 \\ &= \frac{1}{2}S(\xi_i^2)(A_i + A_i')^2 + \frac{1}{2}S(\xi_i^2)(A_i - A_i')^2 \end{aligned}$$

と分解され、右辺の各項は自由度 1 の成分である。ここで $i=0$ のところからの

$$\frac{n}{2}(A_0 + A_0')^2 = 2n\left(\frac{\bar{y} + \bar{y}'}{2}\right)^2 \quad (6)$$

は 2 組を全体としてみたときの平均に対応する。これを $S(y^2) + S(y'^2)$ から除くと全体の平均からの偏差の平方和、薬量間平方和に対応するものとして

$$S\left(y - \frac{y + y'}{2}\right)^2 + S\left(-\frac{y + y'}{2}\right)^2$$

となる (自由度が $2n-1$)。この平方和の構成成分として (6) からつぎの自由度 1 の成分がでてくる。

- i) $\frac{n}{2}(A_0 - A_0')^2 = \frac{n}{2}(y - y')^2$ 製品間の効果
- ii) $\frac{1}{2}S(\xi_1^2)(A_1 + A_1')^2$ 直線性
- iii) $\frac{1}{2}S(\xi_1^2)(A_1 - A_1')^2$ 2つの組の直線性
- iv) $\frac{1}{2}S(\xi_2^2)(A_2 + A_2')^2$ 曲線性
- v) $\frac{1}{2}S(\xi_2^2)(A_2 - A_2')^2$ 曲線性の差
- vi) $\frac{1}{2}S(\xi_3^2)(A_3 + A_3')^2$
- vii) $\frac{1}{2}S(\xi_3^2)(A_3 - A_3')^2$

ここで (5) の条件で求めた $S(\xi_i^2)$, A の値をつかって i), ii), ... を表すと、但し $a_1y_1 + a_2y_2 + \dots + b_1y_1' + b_2y_2' + \dots$ の如き y の一次式を $(a_1, a_2, \dots; b_1, b_2, \dots)$ とかく

1) $n=2$ の場合、4 点検定法に対応

$$i) \frac{n}{2}(A_0 - A_0')^2 = (y - y')^2 = \frac{1}{4}(1, 1; -1, -1)^2$$

$$ii) \frac{1}{2}S(\xi_1^2)(A_1 + A_1')^2 = \frac{1}{4}(-1, 1; -1, 1)^2$$

$$iii) \frac{1}{2}S(\xi_1^2)(A_1 - A_1')^2 = \frac{1}{4}(-1, 1; 1, -1)^2$$

2) $n=3$ の場合、6 点検定法に対応

$$i) \frac{n}{2}(A_0 - A_0')^2 = \frac{1}{6}(1, 1, 1; -1, -1, -1)^2$$

$$ii) \frac{1}{2}S(\xi_1^2)(A_1 + A_1')^2 = \frac{1}{4}(1, 0, 1; -1, 0, -1)^2$$

$$\text{iii) } \frac{1}{2} S(\xi_1^2)(A_1 - A_1')^2 = \frac{1}{4}(-1, 0, 1; 1, 0, -1)^2$$

$$\text{iv) } \frac{1}{2} S(\xi_2^2)(A_2 + A_2')^2 = \frac{1}{12}(1, -2, 1; 1, -2, 1)^2$$

$$\text{v) } \frac{1}{2} S(\xi_2^2)(A_2 + A_2')^2 = \frac{1}{12}(2, -2, 1; -1, 2, -1)^2$$

3) $n=4$ の場合 8点検定法に対応

$$\text{i) } \frac{n}{2} (A_0 - A_0')^2 = \frac{1}{8}(1, 1, 1, 1; -1, -1, -1, -1)^2$$

$$\text{ii) } = \frac{1}{40}(-3, -1, 1, 3; -3, -1, 1, 3)^2$$

$$\text{iii) } = \frac{1}{40}(-3, -1, 1, 3; -3, -1, 1, 3)^2$$

$$\text{iv) } = \frac{1}{8}(1, -1, -1, 1; 1, -1, -1, 1)^2$$

$$\text{v) } = \frac{1}{8}(1, -1, -1, 1; -1, 1, 1, -1)^2$$

$$\text{vi) } \frac{1}{2} S(\xi_3^2)(A_3 + A_3')^2 = \frac{1}{40}(-1, 3, -3, 1; -1, 3, -3, 1)^2$$

$$\text{vii) } S(\xi_3^2)(A_3 - A_3')^2$$

$$= \frac{1}{40}(-1, 3, -3, 1; 1, -3, 3, -1)^2$$

以下同様にして求められる。これらの結果より () 内係数と各薬量での測定値 (あるいは合計) の積の平方和を除数 (除数と反覆数の積) でわることにより薬量間の自由度の分割ができる。また () 内係数と測定値の積和より回線の方程式を求めることもできる。

参 考 文 献

- (1) BLISS, C. I. et al.; Quart. J. Pharm & Pharmacol, 12, 92, 1939.
- (2) FISHER, R. A.; Statistical Methods for Research Workers, Oliver and Boyd., 1950.
- (3) 北川, 増山; 統計数値表 河出書房 1952.

Summary

On the Application of Orthogonal Polynomial Coefficient in the Biological Assay

By Masahiro AYA

Although the utility of sets of orthogonal polynomial coefficients in the biological assay have been shown by BLISS and MARKS, detailed explanation

has not been given on the basis. This paper is an explanation on the coefficients in $2n$ -point assay.

殺虫剤の蒸気圧とガス毒効果との関係及び食毒, 忌避作用

金 子 武

緒 言

殺虫剤が害虫に対して効果を発現する機構には、4要因が挙げられる。即ち、忌避効果、ガス毒効果、食毒効果、接触毒効果である。接触毒効果の中には、薬液の皮膚滲透効果以外に、多分に、ガス毒効果が含まれる。上記要因の中で、圃場で特に重要な因子として考えられるのが、ガス毒効果、忌避効果であるが、ガス毒効果の中でも、殺虫剤を散布した植物体の表面至近距離に於ける

ガス拡散作用による殺虫効果が重要であると考え。即ち、殺虫剤の植物体表面に於ける、ガス拡散速度と害虫が吸着するガス吸着速度とのバランスによって、その殺虫効果が大きく支配されるものと思う。害虫のガス吸着度が高い殺虫剤は効果的である。

実験材料及び方法

ガス毒効果試験では、ガスの吸着現象による loss を最少限度迄除外することが絶対必要である。従って、実

験中に、ガスの吸着され易い物質（例えば、口紙、あるいは水分等の因子）は出来得る限り除外して実験した。供試昆虫は、累代飼育のコクゾウ、コナマダラメイガ老熟幼虫を使用し、真鍮製の直径 10cm, 厚さ 7mm と直径 7cm, 厚さ 7mm の 2 種の両面金網を張った真鍮製の小さな籠を作り、中に供試昆虫 20 頭づつ収容し、殺虫剤のくんじょう効果をさけると同時にガス吸着を出来るだけ除くようにしてガスに接触せしめた。（金網によるガス吸着も可成りあるが）又、ガラス容器は直径 12 cm ジャーレと高さ 25cm, 径 12cm のガラス円筒を使用し、薬液の一定量を底部のガラス面におき、薬液面至近距離と高さ 1 cm, 次に 5 cm 間隔に 6 cm, 11cm, 21cm 等の夫々の高さに於ける殺虫効果を検討した。

実験結果

第 1 表は、蒸気圧の高い殺虫剤から低い殺虫剤へと、塩素剤、磷剤、浸透殺虫剤別に配列したものである。

第 1 表 殺虫剤の蒸気圧と分子量

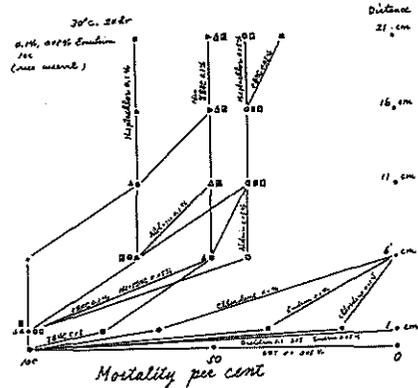
Table I. Vapor pressures and molecular weights of insecticides.

Chlorinated insecticides		
Insecticides	Molecular weight	Vapor pressure mmHg/25°C
Heptachlor	373.6	3×10^{-4}
Lindane	290.9	1×10^{-5}
Chlordane	409.8	1×10^{-5}
Aldrin	365.2	6×10^{-6}
Isodrin	365.2	—
D D T	354.5	3×10^{-7}
Dieldrin	381.1	1.8×10^{-7}
Endrin	381.1	—
Phosphorous insecticides		
Insecticides	Molecular weight	Vapor pressure mmHg/30°C
D D V P	221.0	2×10^{-3}
Diazinon	304.4	1.4×10^{-4} 20°C
T E P P	290.2	2.5×10^{-4}
Chlorthion	297.7	7×10^{-5}
E. Parathion	291.3	6×10^{-5}
Dipterex	257.5	4×10^{-5}
Malathion	330.3	4×10^{-5}
M. Parathion	263.2	3×10^{-5}
Gusathion	317.3	—
E P N	323.2	0.03 100°C

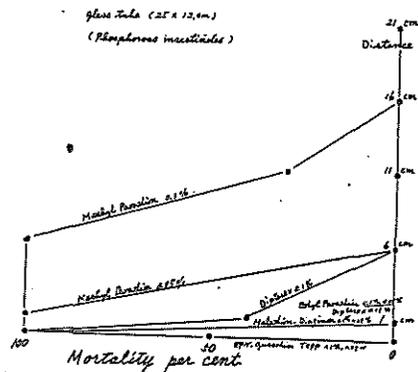
Systemic insecticides

Insecticides	Molecular weight	Vapor pressure mmHg/20°C
Phosdrin	224	2.9×10^{-3}
Meta Systox	230.3	1.9×10^{-3}
Schradan	286.3	1×10^{-3}
Systox	258.2	5×10^{-4}
Disyston	274	1.8×10^{-4}
Thimet	260.4	—
Tetram	359.4	—

次に無蓋のガラス円筒を使い、底部に 0.1%, 0.05% の薬液一定量 (1 cc) を夫々滴下し、夫々のガス拡散速度の状態をコクゾウを供試して、種々の高さに於ける殺虫率をもって比較検討したものが、第 1 図、第 2 図である。



第 1 図 塩素剤のガス毒と距離との関係
Fig. I. Connection between the distance from active ingredients and vapor action. (Chlorinated insecticides)



第 2 図 磷剤のガス毒と距離との関係
Fig. II. Connection between the distance from active ingredients and vapor action.

第3図 ガラス面と葉面との接触面に於けるガス効果の差異 30°C, 24時間

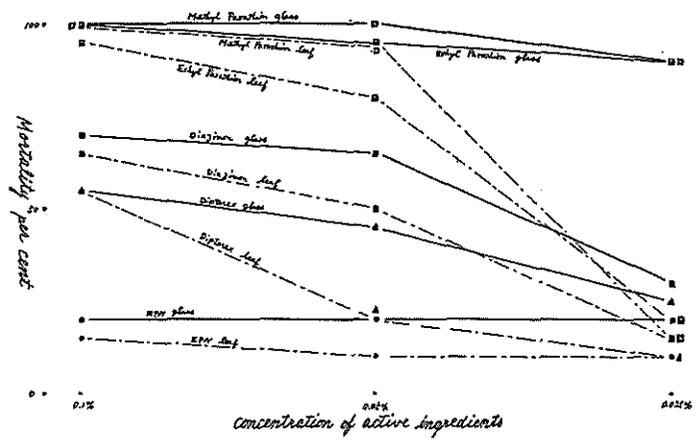
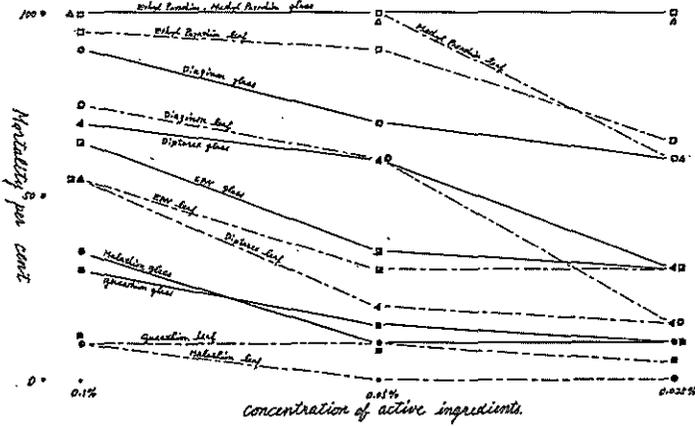


Fig. III. Difference of vapor action at the surface of glass and leaves. 30°C 24hr. (*Ephesia cautella*)



第4図 ガラス面と葉面との接触面に於けるガス効果 30°C, 48時間

Fig. IV. Difference of vapor action at the surface of glass and leaves. 30°C 48hr. (*Ephesia cautella*)

第5図 カラシナ葉面に於けるガス効果 (塩素剤) 30°C, 24時間

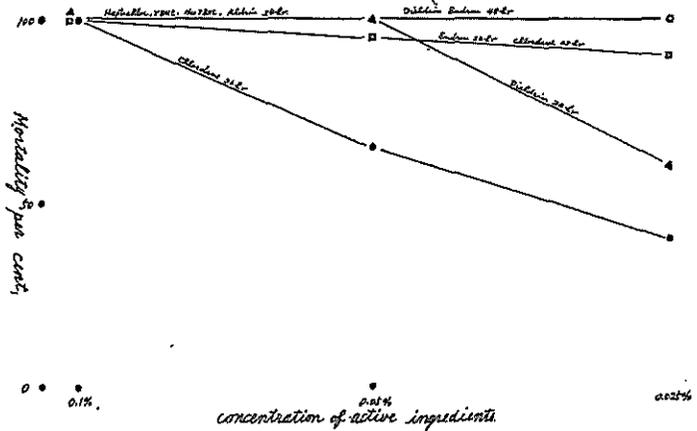
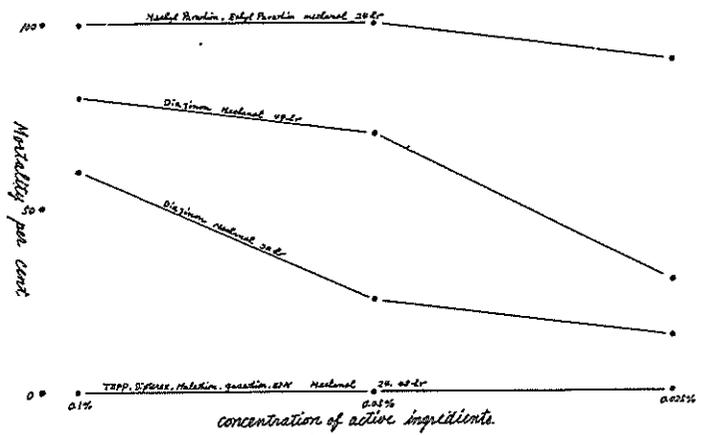


Fig. V. Vapor action at the surface of mustard leaves. (chlorinated insecticides) 30°C, 24hr. (rice weevil)

次に、第3図、第4図、第5図は、ガラス面と、カラシナ葉面の薬液接触面に於けるガス効果をコナマダラメイガ、コクゾウの殺虫率から判定した結果である。これを見ると、グサチオン、EPN等の殺虫剤は、他の磷剤と比較して、ガラス面と葉面とのガス効果の間に差が少いようである。

次に、第6図は、磷剤のメタノール希釈液によるガス効果をガラス面で比較した結果である。

次に、第2表、第3表は、ワモンゴキブリを供試して、その食毒効果、径口忌避効果を比較検討した結果である。ディブテレックス、グサチオン、EPN等の磷剤は食毒効果が顕著であるが、塩素剤は忌避効果が大である。



第6図 磷剤のメタノール希釈液によるガラス接触面に於けるガス効果 30°C, 24時間, 48時間
 Fig. VI. Vapor action at the surface of glass in insecticide methanol solution. (diphosphorous insecticides) 30°C, 24 hr., 48 hr. (*Ephestia cautella*)

第2表 ワモンゴキブリに対する食毒, 忌避毒, ガス毒効果

Table II. The stomach poison, oral repellency and vapor poisoning by active ingredients. (American Cockroach)

	Stomach poison	Pure oral poisoning			Poisoning through skin	Gaseous contact poisoning			Judged from total factors
	Value as stomach poison judged from next row	When poisoning water gived	When mouth part only contact	When tarsar joint only contact		When dipped abdominal part only	When the thignparts lag roots only contact	When tarsar joint only contact	All part of body dipped
Heptachlor	0	40	80	100	100	60	100	100	100
Lindane	0	0	0	40	80	80	60	40	100
Aldrin	20	20	0	0	40	0	40	0	100
D D T	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dieldrin	40	40	20	0	60	40	60	0	80
Endrin	0	0	0	0	80	80	40	0	80
Diazinon	0	0	0	0	40	40	20	0	40
T E P P	100	100	20	0	60	40	60	0	60
Ethyl Parathion	0	100	80	100	100	100	100	100	100
Dipterex	80	80	0	0	60	60	40	0	80
Malathion	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Methyl Parathion	0	100	20	100	100	100	100	100	100
Gusathion	60	60	0	20	100	100	100	20	100
E P N	80	80	80	0	100	100	80	0	100

[0.05% Emulsion, 25°C, 24 hr. American cockroach]

Mortality per cent

第3表 フモンゴキブリに対する殺虫剤の食毒，ガス毒，忌避作用の分類

Table III.

Insecticides	The type of poisoning	Repellency
Heptachlor	Vapor poison	○
Lindane	"	○
Chlordane	"	○
Aldrin	"	○
Isodrin	"	○
D D T	"	○
Dieldrin	" + Stomach	
Endrin	"	○
D D V P	Vapor poison	
Diazinon	"	○
T E P P	" + Stomach	
Chlorthion	"	
E. Parathion	"	○
Dipterex	" + Stomach	
Malathion	"	
M. Parathion	"	○
Gusathion	" + Stomach	
E P N	" + Stomach	

摘 要

1. 塩素剤と燐剤について，蒸気圧の順に配列分類した。
2. 第1図，第2図に示す如く，蒸気圧により，ガス拡散速度が明瞭に分かれる。
3. 径口忌避効果は塩素剤では高く，燐剤では低い。

Summary

The Relation between the Vapor Pressures and
Vapor Poisoning of Insecticides

By Takeshi KANEKO

1. Chlorinated hydrocarbon insecticides and organophosphorus insecticides were grouped and put in order according to their vapor pressure, (at room temperature).
2. Diffusion velocity is greatly depend upon the intensity of vapor pressure, and this relation is showed in Table I and II.
3. Chlorinated hydrocarbon insecticides have olfactory repellency, while organophosphorus insecticides have contact repellency (to American cockroach).

乳化剤の量的差異がパラチオン乳剤の殺虫力に及ぼす影響

第 1 報 殺虫剤の生物学的分析法に関する研究

菅原 寛夫・金子 武・大塚 清次

パラチオン乳剤の乳化剤として用いられているソルポール (R—P—O(CH₂CH₂O)nH) の量的差異が主剤の効力発現にどのような影響をもっているかを検討した。

実験材料及び方法

エチルパラチオンの原体 (96.8%) にソルポールの配合割合を変えて有効成分量が夫々 12, 24, 48, 80% になるような 4 種の乳剤を調製して実験を行った。なお微量生物検定 *microbioassay* ではパラチオンの原体 (水可溶 24 ppm) の殺虫力も同時に比較した。供試昆虫はクリオオブラ *Lachnus tropicalis* VANDER GOOT 及びアカイエカ *Culex pipiens pallens* COQUILLETT の幼虫で前者は高濃度の場合に供試し、処理方法は 6 cm 腰高ベトリ皿の底面の濾紙上に薬液 1 cc を均一に滴下し、供試虫をこの濾紙上にはわせた。アカイエカの幼虫は室内で人工的に累代飼育した 3~4 令虫を用い、低濃度の場合に供試し方法は所定濃度に希釈した薬液を時計皿に 30cc 宛注入し、これに幼虫を放し致死状態を観察した。表面張力は DuNOUY のテンションメーターを用い Ring method によって測定した。

実験結果及び考察

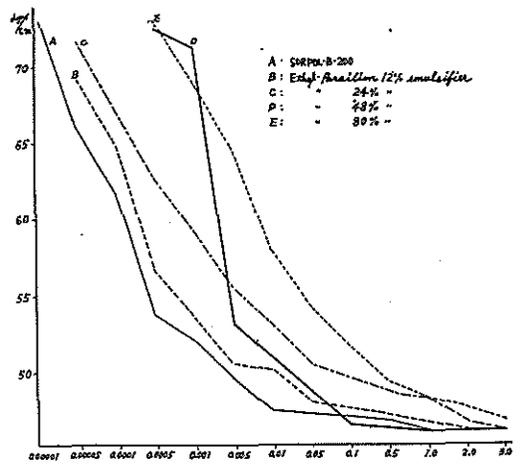
(i) ソルポール B 200 及びパラチオン乳剤の表面張力

第 I 表 4 種パラチオン乳剤の殺虫効力の比較
Table I. Comparison of insecticidal activity of four kinds of ethyl-parathion emulsion.

Concentration Insecticides	0.1%	0.05%	0.025%	0.0125%
Ethyl-parathion 12% emulsifier	37.5	32.5	27.5	17.5
" 24% "	51.0	43.5	35.0	25.0
" 48% "	75.0	60.0	47.5	35.0
" 80% "	87.5	67.5	55.0	42.5

Explanatory note: The insect tested: *Lachnus tropicalis* VANDER GOOT

第 1 図に示されているように乳剤により相当に低濃度迄表面張力の低下が認められる。後述の *Microbioassay* の実験結果と対比して低濃度でも殺虫性に何等かの関係があることがうかがえる。



第 I 図 SORPOL B-200 及び 4 種パラチオン乳剤の表面張力曲線

Fig. I. Surface tension curve of SORPOL B-200 and emulsifier of ethyl-parathion.

(ii) 適用濃度における乳化剤量の異なるパラチオン乳剤の殺虫力の比較

第 1 表にみられるように 4 種乳剤において、製剤中のパラチオン含量が高く、界面活性剤添加量の少ないものが殺虫効力がすぐれている。これについて BLISS のプロビット法により各乳剤の回帰方程式及び MLC を求めると次の通りである。

パラチオン 12% 乳剤 $Y = 4.2492 + 0.5122x - 0.1400\%$
 " 24 " $Y = 4.4367 + 0.4559x - 0.1330\%$
 " 48 " $Y = 4.9460 + 0.3173x - 0.0148\%$
 " 80 " $Y = 5.1687 + 0.3947x - 0.0114\%$

以上の結果では、虫体に接触させた場合の 4 種乳剤の効力差は明らかに認められる。これは山本 (1953) が親水性の高い非イオン系界面活性剤をパラチオン乳剤の乳化剤として配合した場合その乳化剤の量の多い程マウス

の径皮毒性が軽くなることを報告しているがその現象によく似ている。

(iii) 高濃度における乳化剤量の異なるパラチオン乳剤の殺虫性の差異

第II表 高濃度における4種のパラチオン乳剤の殺虫力の比較

Table II. Comparison of insecticidal activity of four kinds of ethyl-parathion emulsion in the high concentrations.

Concentration (%)	3.0	2.0	1.0	0.5	0.1	0.05
Ethyl-parathion 12% emulsifier		20.0	40.0	15.0	10.0	25
" 24% "		47.5	65.0	42.5	32.5	27.5
" 48% "		70.0	77.5	65.0	57.5	37.5
" 80% "	87.5	95.0	87.5	70.0	65.0	42.5

Explanatory note: *Lachnus tropicalis* VANDER GOOD

これら4種乳剤の殺虫性については供試昆虫の差異も勿論あるが、各乳剤の殺虫力は高濃度になると高くなるがある限界に達すると却って低下する傾向がみられる。即ち、80%乳剤では濃度2%、その他のものでは1%の辺で最高の殺虫率を示す。パラチオン分散粒子のミセルサイズの大小の問題、乳化剤の効力に及ぼす抑制作用、HLBの問題等について薬効の特異性を認めた。

(iv) パラチオン乳剤の殺虫力に及ぼすソルポール液の影響

パラチオン乳剤各種濃度の薬液を調製する際、水で希釈した場合と0.1%ソルポール液で希釈した場合との殺虫力比較を行った。第3表によれば(B)は(A)より著しくその効力は低下している。即ち、各濃度区を通じて7~20%の殺虫力の抑制が認められる。たとえば80%乳剤のソルポール液で調製したものは48%乳剤の水希釈液区と同程度に殺虫力がおちている。他の乳剤でも同様の傾向がうかがえる。

(v) 乳化剤量の異なるパラチオン乳剤の微量生物検定における殺虫性の差異

被検薬剤の成分量を推定する場合、感受性の高い供試虫として蚊の幼虫が用いられている。このばあいパラチオンでは水に対する溶解度(24 p.p.m.)以下の濃度で検定が行われているが、これらの濃度範囲でもやはり乳化剤が主剤に対して抑制的に作用するかどうかを検討してみた。その結果は原体を水で溶かしたものの殺虫力は、ソルポールを加えて調製した各乳剤より明らかに高

第III表 SORPOL Emulsion を希釈液とした場合のパラチオン乳剤の殺虫効力

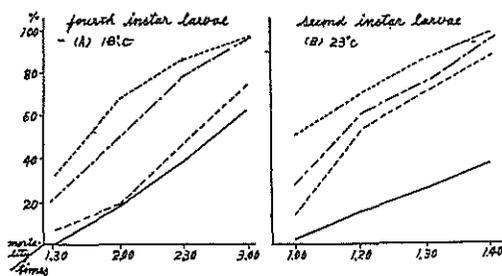
Table III. Insecticidal activity of ethyl-parathion emulsion when of 0.1% SORPOL emulsion were used as diluter.

Concentration (%)	0.1	0.05	0.025	0.0125	LC-50
Ethyl-parathion 12% emulsifier					
A	50.0	30.0	20.0	10.0	0.1052
B	30.0	23.0	10.0	3.3	0.1480
" 48% "					
A	90.0	66.7	36.7	13.3	0.0327
B	83.3	56.7	26.7	6.7	0.0434
" 80% "					
A	96.7	83.3	53.3	20.0	0.0214
B	90.0	66.7	35.0	16.7	0.0324

Explanatory note:

A: diluted by distilled water

B: diluted by 0.1% SORPOL solution



第II図 Microbioassayにおいてパラチオン乳剤に対する界面活性剤の影響

Fig. II. Effect of the surface active agents in ethyl-parathion emulsion at the microbioassay.

く、また製剤間においても乳化剤の少ないものほど殺虫力がすぐれている。この傾向は高濃度の場合と類似しているが、溶液の状態は全く異なるものである。すなわち第2図の(A)及び(B)は、パラチオン0.1 p.p.m.での結果であるが、このときの界面活性剤の濃度は(図で上

第IV表 低濃度におけるパラチオン乳剤の効力に及ぼすSORPOL-Emulsionの影響

Table IV. Effect of SORPOL emulsion on the efficiency of ethyl-parathion emulsion at the low concentration.

SORPOL concentration (p.p.m.)	10	1.0	0.1	0
LT-50 (Minutes)	183	172	145	130

Explanatory note: Fourth instar larvae of *Culex pipiens pallens* COQUILLETT
20°C Ethyl-parathion 0.1 p.p.m.

より) 0, 0.025, 0.108, 0.733 p. p. m. となる。次にパラチオン 0.1 p. p. m. でこれも第4表のような濃度のソルポール液を希釈液として用いた場合界面活性剤の濃度増加に伴い抑制的作用が強くなる。

青木等 (1956) が Tween 20 の濃度増加にともない抗カビカ-Hydroxybenzoic acid esters の効力が低下すること認め、この理由として Tween 20 により可溶化された抗カビ剤がミセル中に吸蔵される結果で効果に関係するのはミセル外に溶存する抗カビ剤であることを予測している。また RIEGERMAN et al. (1953) は HAMPIL et al. のフェノール性殺虫剤に石鹼などのアニオン性界面活性剤を加えた場合の資料を解析して同様の結果を報告している。さらに、HARTZELL, A. et al. (1954) は界面活性剤ボタゾール T 及びトライトン X100 の 10 p. p. m. 乳化液でヘブタクロール 0.1 p. p. m. を調製した場合ネツタイシマカを用い、その効力抑制を認めている。低濃度でのソルポールの抑制作用は乳剤形態のものを希釈したものは、界面活性剤がパラチオンとのミセル形成によって溶解を阻害しているものか、あるいは溶液中に溶存するソルポールが効力を抑制するのか明らかでないが、このような稀薄濃度においても抑制作用が認められることは、微量生物検定を行う上において重要な事である。

る。

摘 要

パラチオン乳剤の効力検定及び成分量を推定する場合の微量生物検定において界面活性剤ソルポールが主剤であるパラチオンの薬効に対してどのような影響を及ぼすかを検討した。親水性界面活性剤は殺虫力に対して抑制的に作用することが認められているが本実験でも高濃度における各乳剤間の殺虫力は、乳化剤量の増加にともない低下する。また濃度増加により殺虫効力は上昇するが、ある限界をこえると逆に減退することを認めた。

更に、低濃度においても同様の影響が認められた。

文 献

- (1) METCALF, R. L. (1955) Organic Insecticides.
- (2) 山本隆司 (1956) 農林省農業検査所報告 4: 45~49
- (3) 青木大・鎌田破・吉岡一成・松崎藤一郎 (1956) 薬学雑誌 76 (8): 939~943
- (4) HARTZELL, A., E. E. STORRS & H. P. BURGFIELD (1954) Contrib. Boys. Toms. Inst. 17 (7): 383~396

Summary

The Effects of Quantitative Difference in Emulsifier on the Toxicity of Parathion Emulsion

1. Study on the Bioassay of Insecticides

By Hiroo SUGAWARA, Takeshi KANEKO and Seiji OTSUKA

The microbioassay method was applied to testing the insecticidal effect of parathion emulsion and it was showed that surface active agents check the effect. This fact is in keeping with the results of other experiments. It was also showed that the increase of the insecticidal effect with the concentration has a limit. Farthermore, when a certain

quantity of ethyl-parathion was mixed with a surface active agent, varying their ratio, the insecticidal effect was found to decrease with the increase of the agents ratio. It was moreover showed that influenceing of the emulsifier at the low concentration.

殺虫剤の微量生物検定における植物油等夾雑物の影響について

殺虫剤の生物学的分析法に関する研究 第3報

大塚 清次・菅原 寛夫・金子 武

殺虫剤の残留毒を微量生物検定で定量するばあい、その夾雑物により検定値がかなり変動するばあいがある。殊に補助剤の影響やホストの抽出物中の夾雑物が大きく影響することが少ない。吾々は各種殺虫剤の微量生物検定における数種の補助剤及びホストに含まれる植物油の影響について実験を行ったのでその概要を報告する。

(L.) の3令幼虫を用い、試験方法は著者等(1958)の考案した photomigration method を用いた。薬液は各薬剤の原体及び植物油をアセトンに溶解させ所定濃度にするときアセトンが1%溶液になるように水で希釈した。これは親油性薬剤の粒子分散をよくするためである。

実験結果及び考察

実験材料及び方法

供試昆虫としては、ネッタイシマカ *Aedes aegypti*

各種薬剤の微量分析では薬剤の特性と比較して観察するため薬剤の物理化学的性質を第1表に示した。

第1表 各種薬剤の物理的・化学的性質
Table I. Physical and chemical character of several insecticides.

Compound	Molecular weight	Melting point (°C)	Solvability for water (p. p. m.)	Solvability for solvent				
				Aceton	Xylene	Benzene	Methyl-Alcohol	
DDT	354.5	103.5-109.0	10	58	57	78	2	
BHC	290.9	112.0		43.5	24.7	28.9	64	
Heptachlor	373.6	9.5-9.6		75	102.	106.	45	
Aldrin	365.2	102.7-102.8		66	92	83	5	
Endrin	281.1	20.0		17	18.3	13.8		
Isodrin	365.2	175-176	24	26	52	56	4	
Dieldrin	381.1			60.0	C.M.	C.M.	C.M.	C.M.
Ethyl-Parathion	291.3			34.4	50	//	//	//
Methyl-Parathion	263.2	36.0	Only slightly	//	//	//	//	
EPN	323.2	3.0	145	//	//	//	//	
Marathion	330.3	50.5-51.0	40	//	//	//	//	
Diazinon	304.4			//	//	//	//	
Allethrin	302.4			//	//	//	//	

Explanatory note: C.M. (Completely miscible).

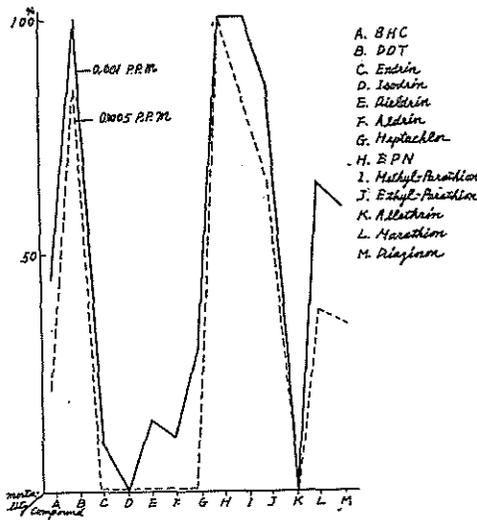
第2表 各種薬剤の稀薄濃度における殺虫性の比較 (I)

Table II. Comparison of insecticidal activity at low concentrations of several insecticides.

Compound/Concentration (p. p. m.)	BHC	DDT	En-drin	Iso-drin	Diel-drin	Aldrin	Hepta-chlor	Ethyl-Para-thion	Methyl-Para-thion	EPN	Mara-thion	Dia-zinon	Alle-thrin
10	7.1 10.2	15.6 23.5	34.0 42.2	50.0 58.0	42.2 59.0	43.5 58.2	23.2 36.1	14.6 18.8	14.4 18.0	12.4 15.0	24.9 32.0	29.9 37.4	1>
1	23.0 28.3	22.8 28.0	48.2 59.2	62.2 78.1	48.0 60.0	58.6 68.4	25.5 45.5	30.1 38.5	25.8 32.9	13.6 18.3	133.0 155.0	154.0 199.0	4.3 8.7
0.1	38.2 62.4	38.8 49.4	66.9 84.6	94.7 117.1	68.4 94.5	79.5 95.1	39.4 54.7	90.8 128.0	83.2 112.0	36.6 47.7	>200	>200	63.5 117.0
0.01	101.0 133.0	84.2 95.5	154.0 187.0	187.3 289.6	97.8 124.0	121.0 130.0	83.2 103.0	199.0 227.0	144.0 131.0	63.9 72.5	>300	>300	>300

Explanatory note: Upside LT-50, Lowpart LT-90 (Minutes)

第2表によると親水性の薬剤では、試験濃度範囲で濃度の低下に伴う不活性幼虫の出現が親油性薬剤に比較して少い。これは BURCHFIELD et al. (1955) も認めている。また 10 p.p.m. では、有機燐剤系統では塩素剤に比較して効果は大きい、0.1 及び 0.01 p.p.m. では EPN を除き概して逆の結果を示している。これはネッタイシマカ幼虫の薬物に対する感受性乃至は選択性、溶剤効果及び各薬液の物理的性状等によっても異なるものと思われる。然し、次図に示されるように 0.001 及び



第1図 各種薬剤の稀薄濃度における殺虫性の比較(II)
Fig. I. Comparison of insecticidal activity at low concentrations of several insecticides.
The insect tested: *Aedes aegypti* (L.)

0.0005 p.p.m. では、パラチオン、メチルパラチオン、EPN、マラソン、ダイアジノン、DDT、BHCを除き殺虫力は著しく低下する傾向がみられる。これはこの薬剤のネッタイシマカに対する殺虫力限界を示すものと思われる。

WHARTON (1952) によれば *Culex fatigans* の幼虫は *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* あるいは *Anopheles maculatus* よりも DDT に対して感受性が低くディルドリン及び BHC に対して高いことを報告している。

溶剤効果については数種薬剤により検討した結果を第3表に示した。パラチオン等の薬剤は溶液中のアセトン量が減少しても殺虫力の低下は少いが、ヘプタクロール DDT 等は著しく効力の低下が認められる。云いかえればアセトンは殺虫力に対して促進的な作用をしている。

第3表 溶液中のアセトン量と殺虫力との関係

Table III. Relation between the volume of acetone and insecticidal activity in the solutions.

Compound	Volume of acetone in solution(%)			
	1.6	0.8	0.4	0.1
Ethyl-Parathion	76.0 96.0	76.8 97.3	84.8 104.0	85.8 108.0
Methyl-Parathion		66.0 74.0	70.5 79.1	80.0 95.1
E P N	49.9 69.7	53.0 70.6	55.0 75.0	53.7 84.8
Heptachlor	110.0 237.0	206.0 299.0	227.0 368.0	282.0 435.0
Endrin	166.0 237.0	188.0 289.0	220.0 349.0	308.0 554.0
D D T	50.0 84.0	53.9 91.3	67.0 114.0	98.4 177.0

Explanatory note: Upside LT-50, low part LT-90 (minutes)

0.1 p.p.m. concentration

The insect tested: *Aedes aegypti* (L.)

HAWKINS (1956) も *Anopheles quadrimaculatus* の幼虫で DDT 懸濁液中のアルコールの量的効果を指摘している。このように液中の溶剤は殺虫力の補助的因子として重要な意義をもつものである。

次に供試生物に対して殺虫剤以外の溶剤抽出物が殺虫力低下の因をなすことも 2, 3 の研究者により発表されている。たとえば HOSKINS et al. (1950) が家蠅でパラチオンに対するキャベツ抽出物が、SUN et al. (1952) が同じく家蠅でディルドリンにトウモロコシ油、脂肪、蠟物質が、HARTZELL et al. (1954) がヘプタクロールに対しオリーブ油、コレステロール、セチルアルコール、ステアリン酸及び蚕豆、蕪、タマネギ抽出物が、著者等 (1957) が蚊幼虫でパラチオンに玄米抽出物中の糠油が夫々抑制作用を示すことを認めている。各抽出物あるいは薬剤によって、またその量的な差異でその影響は一様ではないが、本試験では、EPN, DDT, ヘプタクロール等の親油性のものには抑制的に作用し、マラソン、メチルパラチオン、パラチオン、BHC 等の親水性なものには各植物油共促進的に作用することを認めた。これは殺虫剤、アセトン及び植物油の濃度比などにも関連するものと思われるが、ここで興味あることは殺虫剤の水に溶解する系列と、そうでないものによって植物油の添加による殺虫力が全く対象的なことである。

第4表 各種植物油の殺虫力に及ぼす影響
Table IV. Effect of several plant oil on insecticidal activity.

Plant oil Compound		Rape seed oil	Soy-bean oil	Olive oil	Castor oil	Rice-bran oil	Peanut oil	Tea-seed oil
Marathion	467.0 100.0	202.0 43.4	217.0 46.5	205.0 43.9	209.0 44.8	287.0 61.2	206.0 44.1	342.0 74.3
Methyl-Parathion	55.0 100.0	35.3 64.6	48.3 88.4	41.2 74.9	37.0 67.3	40.6 73.5	45.0 81.8	52.3 95.1
Ethyl-Parathion	99.6 100.0	114.6 115.1	95.0 95.5	105.0 105.4	92.3 92.7	93.4 93.4	94.0 94.4	85.0 85.3
B H C	125.0 100.0	72.5 58.0	49.0 40.0	68.9 55.1	57.3 47.4	64.3 51.4	27.4 37.9	94.4 75.5
E P N	34.7 100.0	63.0 181.6	51.1 147.2	73.0 210.4	45.2 130.3	55.6 160.3	56.0 161.3	52.9 152.3
D D T	88.0 100.0	373.0 423.9	250.0 272.6	423.0 480.7	240.0 272.7	506.0 573.9	410.0 466.0	477.0 542.0
Heptachlor	72.5 100.0	135.0 186.1	413.0 564.7	468.0 645.5	437.0 602.8	538.0 741.5	445.0 613.8	489.0 674.5

Explanatory note: Upside: LT-50, low part: index Concentration of plant oil: 40 p.p.m.

摘 要

植物体の微量残留薬量を生物検定で定量する場合、溶剤あるいは溶剤抽出物の存在がその成績に及ぼす影響は大きい。そこで各種薬剤の殺虫性と溶剤及びこれと重要な関係をもつと思われる植物油について、ネッタイシマカの幼虫を用いて検討した。

10—0.01 p.p.m. の範囲では塩素系の親油性薬剤は、燐剤系の親水性なものに比較して濃度低下に伴う殺虫力低下は少い。これは溶剤効果も関係するものと思われる。また溶液中の acetone は親油性のものに影響が著しい。薬液 1 p.p.m. での植物油の存在 (40 p.p.m.) は親水性薬剤に促進的効果を示し、親油性のものに抑制的作用が認められる。

文 献

KRUSE, C. W., W. B. HAWKINS & G. H. LUDVIK (1952)
Jour. Econ. Ent. 45 (4): 598~601
大塚清次・菅原寛夫・金子武 (1958) 関東々山病害虫研

究会年報 5: 73~74

METCALF, R. F. (1955) Organic Insecticides. The chemistry and mode of action. (New York)
桑田 勉 (1956) 溶剤 (東京)
BURCHFIELD, H. P. & A. HARTZELL (1955) Jour. Econ. Ent. 48 (2): 210~214
WHARTON, R. H. (1957) Bull. Ent. Res. 46 (2): 301~309
HAWKINS, W. B. (1956) Jour. Econ. Ent. 49 (4): 433~435
METCALF, R. L. (1957) Advances in Pest Control Research I. 514 pp (New York)
SUN, Y. P. & J. Y. TUNG SUN (1952) Jour. Econ. Ent. 45 (1): 26~37
HARTZELL, A., E. E. STORRS & H. P. BURCHFIELD (1954) Contrib. Boys. Tomps. Inst. 17 (7): 383~396
佐藤六郎・菅原寛夫 (1957) 植物防疫 11 (9): 1~5

Summary

The Effect of Plant Oil or Other Impurities on the Microbioassay of Insecticides

III. Study on the bioassay of insecticides

By Seiji OTSUKA, Hiroo SUGAWARA and Takeshi KANEKO

When the microbioassay method is applied to evaluate the residual toxicity in plant body, solvent itself and the extracts by it have remarkable effect on the insecticidal effect, especially when insecticides are extremely diluted. So, experiments were carried out to see these effects, using the larvae of *Aedes aegypti* (L). Between 10 p. p. m. and 0.01, lipophilic chlorinated insecticides were not so much effected in low concentration as hydrophilic phosphorus insecticides. It seems that these facts

are due to solvents effect. Endrin, aldrin and dieldrin seems to have their border concentration between 0.001 p. p. m. and 0.0005 in the insecticidal effect on the mosquitoes larvae and fall promptly in the effect at these concentration.

Furthermore, acetone in these solution have remarkable effects on the lipophilic ones. And the existence of plant oil brings antagonical effect on lipophilic ones and synergical effect on hydrophilic.

蚊幼虫による玄米のパラチオン残留量検定

菅原 寛夫・金子 武・大塚 清次

昭和32年石川県産玄米にかなりのパラチオンが検出された旨が新聞紙上に報導され一般の強い関心を呼んだので、同県よりパラチオン散布歴の明白な32年度産玄米の送付を受け化学分析と併行して生物検定を行ってみた。その方法にはなお検討を要する点もあるが、一応結論をえたのでその概要を報告しておく。

(I) パラチオン定量を阻害する玄米抽出物についての基礎試験

動植物体中の殺虫剤を生物定量するばあい、ふつう試料を溶剤で抽出してから生物に処理されるが、応々抽出物中の夾雑物がその殺虫力に影響して成績を攪乱するこ

とがある^(1,2,3,4,5,6)。

玄米をエーテル抽出したばあいも、滲出された糠油分が殺虫剤の力価にかなり影響するので、まずその糠油の影響しない限界濃度を知るための基礎実験を行った。

実験 (1)

方法：供試虫アカイエカ幼虫 (4令)、ベトリ皿法、25°C にて一定時間毎の死虫率調査。

試験区はパラチオンに対する糠油、乳化剤の影響を分離して考察できるように (1) 水、(2) 水+乳化剤、(3) 水+糠油+乳化剤、(4) 水+パラチオン+乳化剤、(5) 水+糠油+パラチオン+乳化剤の区を設けた。なお、乳化剤は Sorpol pp 200 を糠油量と同量用いた。

第1表 パラチオン定量検定における糠油の影響

Table I. The effects of rice bran oil on quantitative analysis of parathion.

区 別		(1)水	(2) 水+乳化剤			(3) 水+糠油+乳化剤			(4) 水+パラチオン+乳化剤			(5) 水+糠油+パラチオン+乳化剤		
		1	2 a	2 b	2 c	3 a	3 b	3 c	4 a	4 b	4 c	5 a	5 b	5 c
混合物	パラチオン濃度	—	ppm			—	—	—	0.250	0.125	0.6250	0.250	0.125	0.0625
	糠油濃度	—	—	—	—	1650	825	412	—	—	—	1650	825	412
	乳化剤濃度	—	1650	825	412	1650	825	412	1650	825	412	1650	825	412
経過時間(死虫率)	60分	0%	0%	0%	0%	55%	20%	5%	75%	50%	5%	50%	15%	0%
	120	0	0	0	0	75	25	5	100	90	90	95	45	15
	180	0	0	0	0	80	50	5	100	100	100	100	80	40
	300	0	0	0	0	85	50	20	100	100	100	100	100	80
	640	0	0	0	0	90	80	35	100	100	100	100	100	100

結果：第1表の通りで、糠油のみでも供試濃度範囲 (412~1650 ppm) では殺虫力がある。また糠油がパラ

チオンと共存するばあいパラチオンの殺虫力を逆に低下せしめることが4区と5区と比較でわかる。

第2表 パラチオン定量検定における玄米抽出物の影響 (その1)

Table II. The effects of the extracts from uncleaned rice grain on quantitative analysis of parathion (No.1).

区 別	(1) 水	(2) 水+パラチオン+乳化剤			(3) 水+玄米抽出物+パラチオン+乳化剤			(4) 水+玄米抽出物+乳化剤			
	1	2 a	2 b	2 c	3 a	3 b	3 c	4 a	4 b	4 c	
混合物	パラチオン濃度 抽出物濃度	— —	ppm 0.05	0.025	0.0125	0.05 330	0.025 165	0.0125 82.5	— 330	— 165	— 82.5
経過時間 (死虫率)	60分	0%	5%	0%	0%	5%	0%	0%	0%	0%	0%
	90	0	40	15	0	50	20	0	0	0	0
	140	0	95	40	5	55	45	20	5	5	0
	200	0	100	90	45	60	60	45	5	5	0
	660	0	100	100	100	100	100	100	100	5	0

第3表 パラチオン定量検定における玄米抽出物の影響 (その2)

Table III. The effects of the extracts from uncleaned rice grain on quantitative analysis of parathion (No.2).

区 別	(1)水	(2) 水+パラチオン+乳化剤				(3) 水+玄米抽出物+パラチオン+乳化剤				(4) 水+玄米抽出物+乳化剤				
	1	2 a	2 b	2 c	2 d	3 a	3 b	3 c	3 d	4 a	4 b	4 c	4 d	
混合物	パラチオン濃度 抽出物濃度	— —	ppm 0.01	0.005	0.0025	0.00125	0.01 66	0.005 33	0.0025 16.5	0.00125 8.25	— 66	— 33	— 16.5	— 8.25
経過時間 (死虫率)	15時	0%	100%	60%	10%	0%	100%	55%	5%	0%	0%	0%	0%	0%
	16	0	100	95	60	5	100	85	50	0	0	0	0	0
	18	0	100	95	75	5	100	90	60	5	0	0	0	0
	20	0	100	100	80	10	100	95	65	5	0	0	0	0
	24	0	100	100	95	20	100	100	95	25	0	0	0	0

実験 (2)

方法：前試験に準ずるも糠油の代りに玄米のエーテル抽出物 (玄米 100g より約 2.2g 抽出される) を用いた。試験区のと리카たは前試験と同様であるが、乳化剤単用

区を除き、且つ供試濃度を更に低下せしめた。

結果：第2表及び第3表の通りで、玄米抽出物が 66 ppm 以下であれば、その殺虫力は認められず、パラチオンの殺虫力にも影響することがなくなる。

第4表 石川県産玄米試料

Table IV. Samples of the uncleaned rice grain from Ishikawa Pref.

試料 No.	品 種	薬 剤 散 布 量 及 び 散 布 日										
		一 化 期					二 化 期					
1	シ 口 ガ ネ	無 散 布					無 散 布					
2	シ 玉	"					"					
3	シ 口 ガ ネ	"					M・P	乳 剤	1,000倍液	7月31日		
4	シ 口 ガ ネ	"					E・P	乳 剤	1,000倍液	8月13日		
5	シ 口 ガ ネ	"					E・P	乳 剤	1,000倍液	7月31日		
6	シ 口 ガ ネ	"					E・P	乳 剤	1,500倍液	8月13日		
7	増 玉 糯	"					E・P	乳 剤	1,000倍液	7月31日		
8	農 林 1 号	"					P・B	粉 剤		8月3日		
9	農 林 1 号	M・P	乳 剤	1,000倍液	6月26日	P・B	粉 剤		8月3日			
10	農 林 1 号	M・P	乳 剤	1,500倍液	6月9日	P・B	粉 剤		8月3日			
11	農 林 1 号	M・P	乳 剤	1,500倍液	6月26日	P・B	粉 剤		8月3日			
12	農 林 1 号	E・P	乳 剤	1,000倍液	6月26日	P・B	粉 剤		8月3日			
13	農 林 1 号	M・P	乳 剤	1,000倍液	6月9日	P・B	粉 剤		8月3日			
14	農 林 1 号?	E・P	乳 剤	1,000倍液	6月9日	P・B	粉 剤		8月3日			

註 M・P 乳剤：メチルパラチオン乳剤
P・B 粉剤：パラチオンBHC粉剤

E・P 乳剤：エチルパラチオン乳剤

第5表 石川県産玄米抽出物のパラチオン検定(その1)

Table V. Bioassay of parathion in the uncleaned rice grain from Ishikawa Pref. (No.1)

区 別	(No.1) + パラチオン				(No.1)				(No.2)				No.7				No.9				No.11				No.12			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
時 分	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
15. 30	100	85	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18. 00	100	90	10	10	0	0	0	0	5	5	0	0	5	6	0	0	5	5	5	0	5	0	5	0	0	0	0	0
20. 00	100	95	15	10	10	0	0	0	5	5	0	0	10	5	0	0	10	5	5	0	10	0	5	0	5	5	0	0

註 (1) 抽出物濃度は各区共 a=66 ppm, b=33 ppm, c=16.5 ppm, d=8.25 ppm
 (2) パラチオン添加区のパラチオン濃度は a=0.01 ppm, b=0.005 ppm, c=0.0025 ppm, d=0.00125 ppm (3) () 区は無散布, 試料番号は第1表に同じ。

第6表 石川県産玄米抽出物のパラチオン検定(その2)

Table VI. Bioassay of parathion in the uncleaned rice grain from Ishikawa Pref. (No.2)

区 別	(No.2)+ パラチオン				(No.2)				No.8				No.6				No.14			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
18 時	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
21 時	100	89.5	73.6	47.4	31.6	5.2	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0	5.2	0	0
18 時	100	100	78.9	55.5	33.3	5.5	0	0	5.5	0	0	0	5.5	0	22.1	0	0	5.5	0	0

区 別	No.3				No.5				No.13				No.4				No.10			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
18 時	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
21 時	0	0	5.2	1.6	0	0	0	5.2	0	11.2	0	0	0	0	0	5.2	5.2	0	0	5.2
18 時	0	0	5.5	1.6	0	0	0	5.5	0	11.2	0	0	0	0	0	5.2	5.5	0	0	5.5

註 (1) 無処理(水)区に死虫数がでたので ABBOT (1925) の補正式で補正した。
 (2) 抽出物濃度, パラチオン濃度は前検定に準ずる。(3) () は無散布区, 試料は第1表に同じ。

(II) パラチオン散布玄米の生物検定

石川県より送付されたパラチオン散布玄米12点(第4表)を無散布のものと前法により比較検定してみた。供試虫がやや不揃いで多少成績にみだれがあったが、その傾向は明らかに認められる。

成績は第5表及び第6表であるが、散布玄米区(No.3~No.14)はパラチオン 0.00125~0.011 ppm 添加区に比べ致死率が明らかに低く、且つ無散布玄米区(No.1, No.2)との間に殆んど差は認められない。これは化学分析の結果と同様である(7)。

摘 要

蚊の幼虫(アカイエカ4令虫)を用い、パラチオン剤を散布した石川県産玄米(12点)のパラチオン残留量を検定した。

方法は玄米のエーテル抽出液(主として揮油)に乳化剤を加え水で希釈した液に蚊の幼虫を放し、その殺虫力

を無散布のものと比較したのであるが、両者の間には特に差はなく、パラチオンの残留は認められなかった。

文 献

- HARTZELL, A. & E. E. STORRS (1950) Contrib. Boyce Thompson Inst. 16, 47~53.
- HARTZELL, A. (1952) Jour. Econ. Entomol. 45 1102.
- HARTZELL, A et al. (1954) Contrib. Boyce Thompson Inst. 17, 383~396.
- SUN, Y. P. (1950) Jour. Econ. Entomol. 43, 45~53.
- SUN, Y. P. & J. Y. SUN (1952) Jour. Econ. Entomol. 45, 26~37.
- SUN, Y. P. & J. Y. SUN (1953) Jour. Econ. Entomol. 46, 927~930.
- 佐藤六郎・菅原寛夫 (1957) 植物防疫 11, 373~377.

Summary

Bioassay of Parathion Residues in the Uncleaned
Rice Grains by Using Mosquito Larvae

By Hiroo SUGAWARA, Takeshi KANEKO and Seiji OTSUKA

Experiments were carried out whether the uncleaned rice grains treated with parathion in I-shikawa prefecture keep the residues or not by using mosquito larvae (4th instar of *Culex pipiens pallens*).

That is, ether extracts from the rice grains were mixed with an emulsifier and diluted with water.

Then these solution were compared with those from untreated control by their toxicity on mosquito larvae, but no significant difference were found out between them.

So it was showed that no parathion residues were contained in these treated rice grains.

各種薬剤処理によるナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.)
卵の発育停止時期について

各種薬剤のハダニ類防除機構に関する研究 第1報

松谷茂伸・菅原寛夫

緒言

一般にハダニ類は非常に繁殖力が強いために適当な環境条件が与えられると急激に増殖する。したがって、ハダニ類を防除するには、殺成虫力のみでなく殺卵力をも有する薬剤を使用する事が必要となってくる。

近年ハダニ類の防除剤に関する研究は、非常な進歩をなしつつあるが、殺卵力について云々する場合、その基礎となるハダニ類の胚子発生、殺卵機構等については、僅かに2、3の研究をみるのみである。

本実験は、殺卵機構解明の基礎としてのナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) の胚子発生過程及び各種殺虫剤でナミハダニの卵を処理した場合の卵発育の停止時期について観察した。しかし現在までに行った実験は、その第一段階だけであり、今後も継続して実験を進める予定であるが、以下これまでの結果をまとめて、第1報として報告する。

材料及び方法

供試材料となるナミハダニの卵は次の方法によって採集した。即ち、インゲン豆を寄主として2寸ポットに植え、第4本葉が出た時に、ナミハダニの早成婢約20頭を接種し、25°C内外のガラス張り定温器内において24時間産卵させたものである。産卵させた寄主は早成婢を取除いて卵のみとする。こうして得られた卵は寄主につけたまま約23°Cのガラス張り定温器内におき、その約10卵づつを一群として、24時間毎に以下に述べる方法によって処理し、その発生経過を顕微鏡で観察した。23°C中におかれたナミハダニの卵は孵化までに約8日間を要した。なおナミハダニ成虫のとり扱いは、すべて小さい筆によって行つた。

又、薬剤処理を行う場合には早成婢は24時間産卵させて取除き、直ちに薬剤処理を行った。薬剤処理の方法は卵を寄主につけたまま、所定濃度に希釈した薬剤に15

秒浸漬し、自然乾燥をまっして、約 23°C のガラス張り定温器内に入れた。こうして薬剤処理した卵は、胚子発生の観察の場合と同様の方法によって、24時間毎に胚子の発育状態を観察し、発育停止がどの時期から起るかをみた。

現在までに実験に用いた薬剤は次の 10 種類である。なお供試した薬剤は、すべて市販の製品である。即ち、パラチオン (エチル) 乳剤、マラソン乳剤、トリチオン乳剤、EPN 乳剤、サッピラン水和剤、クロロベンチレート乳剤、テディオ水和剤、DDT 乳剤、リンデン乳剤、ドルマント乳剤 (DNBP 剤) の 10 種類である。これらの薬剤の処理濃度は各薬剤とも、有効成分濃度にして 0.02% 及び 0.1% の 2 段階である。

24時間毎に定温器から取り出された各卵群はクロム酢酸弱液 (クロム酸 0.3g, 氷醋酸 0.7cc 水 99cc) にて、数時間固定し、24時間水洗してからパラフィン法で 15μ の連続切片を作り、オレンジ G で染色してプレパラートを作製して、400~560 倍の倍率で検鏡した。(この場合染色はオレンジ G よりもハイデンハインの鉄明バンヘマトキシリン法によるのがよいのではないかと思われるが

時間的に非常に労力を要するのでオレンジ G を用いた。この点については後日検討するつもりである。)

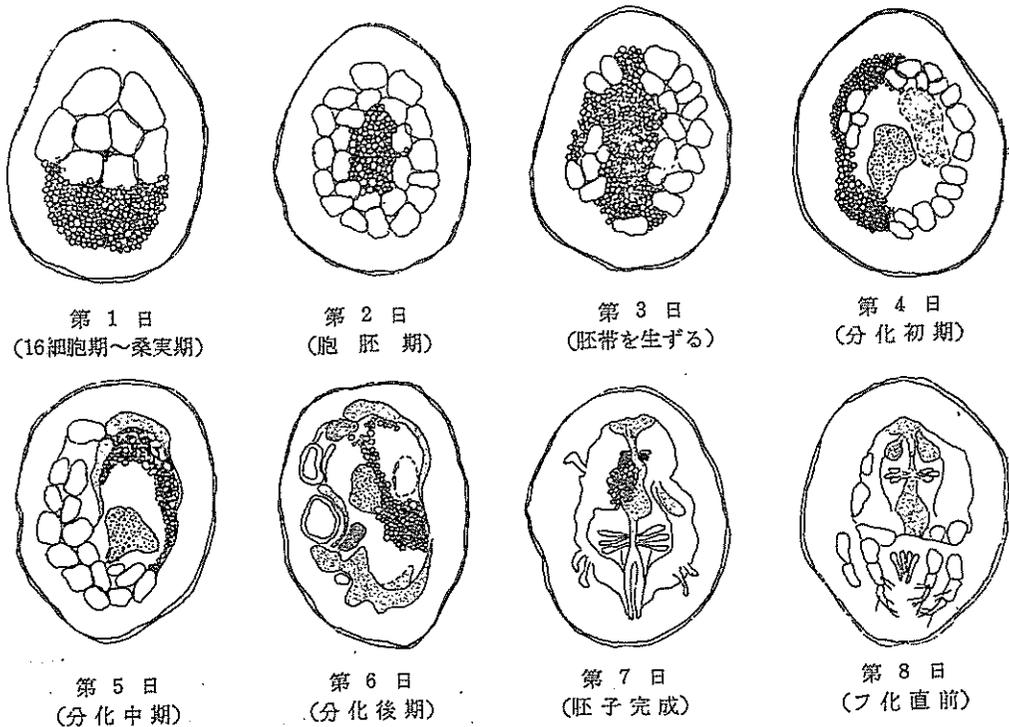
この実験と並行して各薬剤の殺卵力試験を行った。殺卵試験はインゲン豆を寄主として本葉 3 枚位の大きさのものを用い、これに早成蟬を接種して 24~48 時間産卵させた後早成蟬を除去して卵だけとし、小型のスプレーガンを用いて、所定濃度の薬液を 1 ポット当り 10cc づつ散布した。散布を終ったものは自然乾燥をまっして、23°C のガラス張り定温器中においた。これを無処理区の卵のフ化状況と比較しながらフ化率を調べた。

実験結果及び考察

a. ナミハダニ (*T. telarius* L.) の胚子発生について
 温度 23°C においては、ナミハダニの卵期は約 8 日間であるが、その胚子発生の経過は第 1 図に示す通りである。即ち、第 1 日目 (約 24 時間後) には卵は 16 細胞期~桑実期の状態にある。第 1 日目において、発育状態がこのようにずれるのは主として産卵時間が卵によって少しづつ異なるためである。なお各薬剤の処理はこの時期に行った。第 2 日目には卵は胞胚期の状態にある。第 3 日目

第 1 図 ナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) の胚子発生

Fig. I. Embryonic development of two-spotted spider mite, *Tetranychus telarius* (L.).



には胚帯を生じてくる。そして第4日頃から各器官の分化がおこってくるようであり、第5日、第6日と各器官の分化は顕著に進んでゆき、第6日の終り頃には大体各器官はその各々の形態を整えてくる。しかし卵黄はまだ腔内に相当量残っており、体液と思われるものがみられるようになる。第7日目には胚子は殆んど完成されて爪や体毛のような細部も顕著に分化しているのが観察できるが、多くの卵では卵黄はまだ若干残っている。しかし一部の卵はこの日にすでにフ化してしまう。第8日目には大部分の卵がフ化する。又、死卵を除き卵のまま葉上に残っているものも幼虫と全く変りなくフ化直前の状

態にある。

以上ごく簡単にナミハダニの胚子発生経過について記したが、まだその細部の分化過程については検討していない。なお温度は23°Cに調節したが定温器が不完全なため夜間の温度は、これよりも低くなっているものと思われるのでこの点についても考慮が必要と思われる。

b. 各薬剤の卵発育停止時期について

本実験の結果は第2図に示す通りである。

なお、殺卵試験の結果についてもまとめて第1表に示した。

第1表 各種薬剤による卵発育の停止時期及び殺卵率

Table I. The stage to kill the embryo and mortality of the egg with insecticides.

薬 剤 名	第1日	第2日	第3日	第4日	第5日	第6日	第7日	第8日	殺卵力 (未フ化 卵率%)	殺成虫力
Perathion (Ethyl)	0.1%				○	○	○	○	58.7	有
	0.02%					○	○	○	41.2	"
E P N	0.1%						○	○	87.6	"
	0.02%						○	○	66.2	"
Trithion	0.1%					○	○	○	90.3	"
	0.02%						○	○	80.9	"
Malathion	0.1%				○	○	○	○	/*	"
	0.02%				○	○	○	○	/*	"
Tedion	0.1%	薬 剤 処 理					○	○	81.8	
	0.02%						○	○	72.5	
Ovex	0.1%						○	○	87.2	
	0.02%						○	○	72.7	
Chlorobenzilate	0.1%							○	86.6	有
	0.02%							○	75.0	"
Lindane	0.1%							○	22.5	
	0.02%							○	13.8	
D D T	0.1%							○	11.5	
	0.02%							○	9.9	
DNBP	0.1%		○	○	○	○	○	83.9	有	
	0.02%			○	○	○	○	70.2	"	
無 処 理								9.7		

○：卵発育停止がおこる時期を示す。（*実験途中寄主が枯死したため不明）

一般的に云うと各薬剤とも卵発育の停止をおこさせるのは胚子発生の後期であるが、卵発育の停止時期からみると、実験に使用した薬剤を2群に大別できる。即ち、第1群は卵発育を停止させるのが第7~8日の薬剤であり、第2群に比して早期から発育を停止させるものである。

第1群に属する薬剤には DDT, リンデン, EPN, サッピラン, クロロベンチレート, テディオオンがあり; 又トリチオンもこの群に近いものと考えられる。この中、DDT, リンデンは殺卵力が殆んどないから、薬剤処理

をしても大部分の卵はフ化してしまう。殺卵試験において、無処理区においても、約10%は未フ化卵であるから、DDT, リンデンを処理した場合にフ化しなかったものも、その大部分は薬剤による以外の原因でフ化しなかったものと考えられる。EPN, サッピラン, クロロベンチレート, テディオオンは強い殺卵を有するが、発育停止がおこるのは大部分胚子発生の第7~8日目でありトリチオンもこの時期に発育が停止するものが多い。しかしトリチオンにおいては、これらの薬剤に比して発育

停止のおこる時期がやや早い傾向もみえ、濃度別の発育停止時期の差等をも考え合わせる時、第2群の薬剤に近いものと考えられ、この点更に追試が必要である。これらの薬剤においては、薬液濃度が0.1%の場合でも0.02%の場合でも胚子の発育停止時期は殆んど変りがない。即ちこれらの薬剤を処理した卵においては、どちらの濃度においても胚子は殆んど完成し、卵黄及び漿膜を嚥下してしまふ前後の状態にまで発育してから発育が停止する。もちろん一部の卵はフ化を完了する。

一方第2群に属する薬剤にはパラチオン(エチル)、マラソン、ドルマントがあり、これらの薬剤で処理した卵においては比較的早期から発育が停止するものが現れてくる。即ち、エチルパラチオンは他の薬剤に比して殺卵力はやや劣るにもかかわらず発育停止は第5~8日目にわたっておこる。マラソンも同様第5~8日にわたって発育停止がおこる。又ドルマントは本実験に用いた薬剤中で一番早期から即ち0.1%液で処理した場合には第3日目頃から(0.02%液では第4日目位から)発育の停止するものが現われ、しかも早期に発育を停止する卵の割合が他の薬剤よりも高く、この点特異的である。しかし各時期別の発育停止率については供試卵数が少いため検討を加えることは危険であり、この点は今後の実験によって明らかにしたい。更にドルマントで卵を処理した場合には、発育が後期まで進行する卵の中にも発育状態の異状になっていると思われるものもあるが、この点についても発育経過の細部の検討及び固定法等の検討をした上でなければはっきりした事は云えない。又これら第2群に属する薬剤においては0.1%で処理した場合と0.02%で処理した場合とでは卵発育の停止時期が0.1%の場合の方が1日位早くから始まりこの点も第1群の薬剤とは著しく対照的である。

ナミハダニの卵に対する薬剤処理試験の結果は以上の通りであるが、第1群の薬剤と第2群の薬剤では、作用点への到達経路、作用機構等に差異があるように思われるし、また同一群に属するものでも、更にいくつかの群に分けられるものかも知れない。こういう点は更に試験を重ねて考究してゆきたい。

摘 要

殺ダニ剤の殺卵機構解明の基礎として、ナミハダニの胚子発生及び各種薬剤で卵を処理した場合の胚子発生の停止時期について実験した。供試薬剤はデジオン、クロロベンチレート、サッピラン、DDT、リンデン、EPN、トリチオン、マラソン、パラチオン(エチル)及ドルマント(DNBP)の10種類である。

薬剤処理による殺卵試験において、供試した薬剤を卵に発育停止をおこさせる時期から2群に分ける事が出来る。即ち第1群は発育の後期、云換えすればフ化当日又は1日前に発育停止をおこさせるもので、これにはデジオン、クロロベンチレート、EPN、サッピランが入りトリチオンもこれに近い。(なおDDT、リンデンは殺卵力が殆んどなく、正常にフ化した)第2群は第1群よりも早期に発育を停止させるもので、パラチオン、マラソン及びドルマントがこれに入る。特にドルマントは、この傾向が強い。

参 考 文 献

- 1) R. B. MARSH: Ann. Rev. Ent. Vol. 3, pp. 355~376, 1958
- 2) R. L. METCALF: Organic insecticides 392 pp (New York) 1955
- 3) 福田仁郎・真梶徳純: 東海近畿農試園芸部報告, 第2号, pp. 160~171, 1954
- 4) C. POTTER, K. A. LOAD, J. KENTEN, E. H. SALKELD & D. V. HOLBROOK: Annals Appl. Bio. 45 (2) pp. 361~375, 1957
- 5) J. W. L. BEAMENT & R. LAL: Bull. Ent. Res. 48 (1), pp. 109~125, 1957
- 6) J. W. L. BEAMENT: Annals Appl. Bio. 38 (1) pp. 1~24, 1948
- 7) E. H. SALKELD & C. POTTER: Bull. Ent. Res. 44 (3) pp. 527~580, 1954
- 8) E. W. BAKER & G. W. WHARTON: An introduction to acarology, 465 pp. (New York) 1952

Summary

Studies on the Stage Killed by Treatment with Several Insecticides on the Egg of Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus telarius* (L.)

Studies on the Mechanism Controlling the Spider Mites by Chemicals—No. 1

By Shigenobu MATSUTANI & Hiroo SUGAWARA

As a fundamental of ovicidal mechanism, laboratory experiments were carried out with the embrionic development and the stage killed by treatment with insecticides of the egg of two-spotted spider mite, *Tetranychus telarius* (L.). Tedion, Chlorobenzilate, Ovex, DDT, Lindane, EPN, Trithion, Malathion, Parathion (ethyl) and DNBP were applied.

Studying the ovicidal action on the egg of two-

spotted spider mite, the insecticides are grouped in two categories by their ovicidal process. One group killed egg in early stage of their embrionic development and the other killed them shortly before hatching. The former group's insecticides are parathion (ethyl), Malathion and DNBP. The latter group's insecticides are Chlorobenzilate, Tedion, Ovex, Trithion and EPN. DDT and Lindane were ineffective to the egg of two-spotted spider mite.

植物に対する溶剤の薬害について

大塚 清次・菅原 寛夫・金子 武

緒 言

現在使用されている主な溶剤の植物に対する薬害の状態を観察し、併せて溶剤の種類を異にした各種 BHC 乳剤の薬害について実験を行ったのでその結果を報告する。

I 各種溶剤の植物に及ぼす薬害程度の比較

実験材料及び方法

主な溶剤とメチルナフタレン系の溶剤及びケトン系溶剤の薬害について検討した。

供試植物は大豆で第 1 本葉展開時のものを用いた。これはあらかじめ露地で育成した生育均整なものを 6 cm 鉢に 1 本植とし、活着後、薬液処理を行った。方法は 9 cm ベトリ皿の中の供試薬液に第 1 本葉のみを浸漬した。処理は室外で行ない (処理時気温 28°C) 1 処理 3 区制、調査は 5 日後に行った。濃度は薬害程度を明確にするため 1.0% の濃厚液を使用した。処理溶剤は乳化状態及び附着性を考え溶剤 90% に対し乳化剤としてトキシマルを 10% の割合で添加した。

薬害程度の表示は

- 肉眼で薬害が認められないもの
- + 非常に軽い薬害で小葉斑が僅かに認められるもの
- ++ 処理葉の小部分に薬害の認められるもの
- +++ 処理葉の 50% 位薬害が認められるもの
- ++++ 相当の被害を受けているが未だ健全な部分が僅かに認められるもの

++++ 甚だしい薬害を受けているもの、枯死状態を呈しているもの

実験結果

第 1 表において芳香族、不飽和炭化水素系の高沸点溶剤程薬害は大きい。次にハロゲン炭化水素系溶剤で、脂肪族、芳香族ケトン系及び脂肪族、芳香族 1 価アルコール系溶剤は一般に薬害の発現は少いようである。沸点が高いことは植物体よりの揮発が少く、したがって低沸点溶剤より葉面等に長く残留する結果と考えられる。四塩化炭素、ソルベントナフサ、トルエン、ベンゼン、キシレン、mono-chlorobenzene 等は比較的薬害は強く現われる。

II 環境要因の差による溶剤の薬害

薬害は植物の種類、栄養状態、生育段階、温湿度、風雨、日照その他多くの因子によって支配される。同一薬剤及び濃度においても環境条件の異なることにより薬害の様相は種々変化する。そこで数種溶剤について処理時及びその後の環境条件を変えた場合の薬害程度及び症状を観察した。

実験材料及び方法

供試溶剤はケロセン、ベルシコール 50G、ベルシコール AR-50、ベルシコール AR-60、メチルナフタレン、キシレン、ベンゼンの 7 種である。乳剤の調製法、供試植物、処理方法は実験 I と同様である。処理時の温度は室外 32°C、室内 28°C で処理区別は (A) 室内区、(B) 室外区、(C) 室内処理後葉から薬液の濡れが消えてか

第1表 各種溶剤の沸点と薬害程度

Table I. Relation between boiling point and phytotoxicity the grades of several solvents.

Solvent	Chemical formula	Boiling point	Degree of phytotoxicity
Acetone	CH ₃ COCH ₃	56.2	+
Cyclohexanone	C ₆ H ₁₀ O	155.6	+
Methyl-Ethyl-Ketone	CH ₃ COC ₂ H ₅	79.6	+
Di-ethyl-Ketone	C ₂ H ₅ COC ₂ H ₅	101.5	+
Methyl-Alcohol	CH ₃ OH	64.8	+
Ethyl-Alcohol	CH ₃ CH ₂ OH	78.4	+
Cyclohexanol	C ₆ H ₁₁ OH	100.1	+
Chloroform	CHCl ₃	61.2	+ ±
Carbontetrachloride	CCl ₄	76.9	+++
Benzene	C ₆ H ₆	80.1	+ ±
Solvent naphtha		120.0	+ ± ±
Toluene	C ₆ H ₅ CH ₃	110.6	+++
Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	139.2	+++
α-chloronaphthalene	C ₁₀ H ₇ Cl		+++++
p-chloronaphthalene	C ₁₀ H ₇ Cl	244—245	+++++
Mono-chlorobenzene	C ₆ H ₅ Cl	120.0	+++ ±
Di-methyl-phthalate	C ₆ H ₄ (COOCH ₃) ₂	270.0	+++++
Velsicol AR-50G		199—290	++++
Velsicol AR-50		199—299	++++
Velsicol AR-60		238—293	+++++
Methyl-naphthalene		245.0	++++
Kerosene (DDT用)		155—260	+++++
Kerosene (BHC用)			+++++

第2表 環境条件の差による数種溶剤の薬害

Table II. Phytotoxicity of several solvents by the difference of environmental factors.

Co-ndition	Concentration	Kerosene	Velsicol AR-50G	Velsicol AR-50	Velsicol AR-60	Methyl-naphthalene	Xylene	Benzene
Interior of a room laboratory condition	1.0	+++++	+++++	+ ± ±	+++++	++	++	+
	0.5	+ ± ±	+++++	+ ± ±	+++ ± ±	+ ±	+ ±	±
	0.25	+	+++ ± ±	+	+++++	+	+	—
	0.10	±	+ ± ±	—	+++	±	—	—
	0.05	—	—	—	+	—	—	—
	0.025	—	—	—	±	—	—	—
Outside a room outdoor condition	1.0	+++++	+++ ± ±	++	+++ ±	+++	+ ± ±	++
	0.5	+++++	+ ± ±	+ ±	+++	++	++	+
	0.25	+++ ± ±	+	+	+++	+ ±	+ ±	±
	0.10	+	—	—	+++ ±	+	—	—
	0.05	—	—	—	+	—	—	—
	0.025	—	—	—	—	—	—	—
Outdoor after laboratory condition	1.0	+++++	+++++	++	+++++	++	+ ± ±	+
	0.5	+ ± ±	+++++	+ ±	+++++	+ ±	+	—
	0.25	+	+++ ± ±	+	+++	+	—	—
	0.10	—	±	—	+++	±	—	—
	0.05	—	—	—	+	—	—	—
	0.025	—	—	—	—	—	—	—
Indoor after outdoor condition	1.0	+++++	+++	++	+++ ±	+ ±	+ ± ±	++
	0.5	+++ ± ±	++	+ ±	+++	+	++	+
	0.25	+ ±	+	+	+++ ±	+	+	—
	0.10	—	—	—	+	—	—	—
	0.05	—	—	—	±	—	—	—
	0.025	—	—	—	—	—	—	—

Explanatory note: Kerosene: DDT engagement.

ら室外に移す、(D) 室外処理後葉から薬液の濡れが消えてから室内に移した。

実験結果及び考察

各処理区の薬害程度は第 2 表に示す通りである。これら溶剤の薬害は浸漬あるいは散布した薬液が乾燥するまでの状態に支配される。杉山 (1947) は各種薬剤によってこれを行っている。CONNELL, E. A. (1950) は Dr. R. P. TUCKER の研究を紹介し、石油の植物に対する薬害は散布した石油自体の薬害ではなく、太陽光線その他によって酸化された反応成分がその原因であることを指摘している。

供試溶剤と各処理区の薬害は次の通りである。

a) ケロセンの植物に及ぼす影響は著しく、(B)、(D) 両区に影響が大きい。これは前述のような光線その他の作用による酸化反応の結果と思われる。ケロセン薬害の特色として (B)、(C) 処理は高濃度でクロロフィルは完全に阻害され葉は脱色し黄化することである。(A)、(D) 区では緑葉は部分的に脱色するが、萎黄現象は見られず不活性な灰緑色となる。薬害程度の軽いものは、黄化の傾向が見られるか、あるいは褐色の小斑点を生ずる。なお (B) 区 1.0 及び 0.5% 処理葉は枯死の状態を呈した。

b) ベルシコール 50G はケロセンと相反し、(A)、(C) 両区の薬害が著しい。メチルナフタレン系統の高沸点溶剤は、揮発性が低く葉面に長く残留するから室内、室外の薬害程度の差としてあらわれたものと思われる。また (A)、(C) 両区では葉脈に沿って黄化し、脈間はいくすんだ灰緑色となる。低濃度区では被害部分は退色し、周縁不明瞭な褐色の薬斑を生ずる。

c) ベルシコール AR-50 は処理区の差はあまり判然としませんが、ベルシコール 3 種中では沸点も低く薬害も軽い。被害葉は先端部が退色して壊死を呈した。

d) ベルシコール AR-60 の (A)、(C) 両区に薬害の大きいことは前二者と同様であるが薬害は最も激しい。高濃度では葉脈の部分は黄化し、他は灰緑色となる。(C) 区の 1% 処理葉は主脈の基部が緑色のほか、全葉枯死状態となった。

e) メチルナフタレン、キシレン、ベンゼンは前記各溶剤に比較して薬害は軽い。殊にベンゼンは葉の先端の薬液残留部に僅かな薬害を認める程度であり、キシレンも強い薬害は認められない。メチルナフタレンは本実験では比較的軽い薬害しか認められないが、実験 (I) においても明らかのように他系統の沸点の低い溶剤より

遙かにその危険性は大きい。

III 溶剤の差異による各種 BHC 乳剤の薬害

前記実験に用いた各種溶剤を BHC 乳剤に組合せた場合、単体としての薬害とどのような相異がみられるかを検討した。

実験材料及び方法

各種 BHC 乳剤の調製法は第 3 表の通りである。供試植物及び処理方法は前記実験と同じで室内処理後、室外に移した。気温は室内 29°C、室外 31°C であった。

第 3 表 2 種溶剤混用による γ -BHC 乳剤の調製法
Table III. Formulation of γ -BHC emulsions with two kinds of solvents.

Classification	Insecticide	Solvent A	Solvent B	Emulsifier
A	γ -BHC	Acetone	Velsicol AR-50 G	Toximul 500
B	"	"	AR-50	"
C	"	"	AR-60	"
D	"	"	Keosene (DDT用)	"
E	"	"	" (BHC用)	"
F	"	Methyl-Ketone	Velsicol AR-50 G	"
G	"	"	AR-50	"
H	"	"	AR-60	"
I	"	Cyclohexanone	AR-50 G	"
J	"	"	AR-50	"
K	"	"	AR-60	"
Ratio of making	20%	30%	45%	5%

実験結果及び考察

第 4、5 表に示される如く、 γ -BHC 乳剤の薬害を起す溶剤は、 γ -BHC 製剤と溶剤単用の場合を比較観察すると、濃度が同じであれば薬害の発現に大差はない。不飽和炭化水素系のベルシコールあるいは、ケロセンでは

第 4 表 2 種溶剤混用による γ -BHC 乳剤の薬害比較
Table IV. Grades of phytotoxicity caused by γ -BHC emulsion with the two kinds of solvent.

γ -BHC concentration	0.250 %	0.125 %	0.0625 %	0.0315 %
Solvent A	0.375	0.188	0.0938	0.0469
Solvent B	0.563	0.281	0.1406	0.0703
A	+++	+++	++	+
B	+++	++±	+	-
C	++±	++	++	+
F	++±	±	+	-
G	++	±	+	-
H	+++	++±	++	+
I	+++	+++	++	±
J	++±	++±	++	±
K	++±	+++	++±	+
D	+++	±	+	-
E	++++	++++	++	+

第5表 Formulation に用いた溶剤の薬害
Table V. Phytotoxicity caused by the solvents used in formulation of the emulsions.

Solvent	0.5%	0.25%	0.125%
Velsicol AR-50 G	+++	++	+
" AR-50	++±	±	+
" AR-60	++++	+++	++
Acetone	-	-	-
Methyl-Ethyl-Ketone	-	-	-
Cyclohexanone	±	-	-

0.07%でも薬害の危険性は認められる。濃厚液を使用すれば幼苗期の組織の柔軟なものや、蔬菜類は薬害の危険にさらされることになる。ベルシコール系溶剤にメチルエチルケトンを混用したものが、比較的薬害程度は軽いが、アセトンもほぼ同様の傾向を示す。シクロヘキサノールは前者に比しやや被害度は大きい。次にケロセンはBHC用のものが最も激しい薬害を起している。

Summary

On the Phytotoxicity Caused by Several Kinds of Solvents

By Seiji OTSUKA, Hiroo SUGAWARA and Takeshi KANEKO

Experiments were carried out to discuss on the phytotoxicity caused by the solvents ordinarily used in formulation of the emulsion such as BHC emulsion. (1) It was found that the solvent less saturated and with higher boiling point seem to be stronger in phytotoxic potentiality. (2) The degree of phytotoxic damage considerably depends upon the environmental factors after application. For

摘 要

BHC 乳剤を初め各種乳剤の製剤に用いられている主な溶剤の薬害について検討した。(1) 溶剤の植物に対する薬害程度は、不飽和度の高い高沸点溶剤に強い傾向がみられる。(2) 薬剤処理後の環境要因により薬害程度はかなり差が認められる。例えば、ケロセンは室外での薬害が大きい。(3) 2種混用による溶剤の薬害は、単体の場合とほぼ同様であるが、シクロヘキサノール系溶剤を加えた乳剤がやや薬害が大きくなり、このうちベルシコール AR-60 に多少薬害の軽減が認められる。

引用文献

- 杉山直俊 (1947) 作物の薬害 136 pp (河出書房)
CONNELL, E. A. (1950) Agric. Chemicals 5 (6) : 38
~40, 98~101

薬害研究及び検定材料としてのクロレラについて (補遺)

橋 本 康

著者は前報⁽¹⁾(1958)において単細胞緑藻類クロレラが高等植物の薬害研究及び検定に使用できる可能性について論じ、クロレラの各種溶剤による葉緑素破壊による死と緑豆及び大豆の葉緑素破壊或いは、その結果もたらされる個体の死との間にかかりの関連性のあることを認め

た。さらに著者は溶剤の種類を増加し、これをクロレラに作用させて、その化学的物理的諸性質と薬害作用との間にいくつかの相関のあることを認めたが、前報においてはほとんどこの点に関して論ずることができなかった。そこで本報においては前報の資料を基礎として溶剤の化

学構造とその薬害作用およびそれと本質的には同じである殺草作用との関係について少しく論じ、さらにその後得られた資料について検討を加えてみた。

薬害作用・殺草作用と溶剤・殺草剤の化学的物理的性質との関係を論じた文献は少くない。まず化合物の系統間の差については BELL & NOREM⁽⁵⁾(1950) が石油系炭化水素の中で最も薬害作用の強いのは芳香族炭化水素であり、ナフテン系、パラフィン系の順序に作用力は落ちることを指摘し、GOODHUE⁽⁷⁾(1953) もイソパラフィン系炭化水素は沸点がほぼ同じのケロセン及び他の炭化水素に比較して薬害作用の低いことを報じている。IVENS⁽¹¹⁾(1952) も他の系統のものより芳香族の薬害作用は大であるとし、MATTHEY & CLOWER⁽⁴⁾(1951) は芳香族の中でもキシレン系はメチルナフタレン系に比して安全であることを証明した。この各系列間の作用力の強弱の順序に関しては ALLEN & CARPENTER⁽¹⁾(1940), HAVIS⁽⁹⁾(1948) も同一意見であり、後者は最も作用力の強いのはナフタレン誘導体であると指摘している。以上の結果を総合すると炭化水素化合物各系列間の薬害作用・殺草作用の強さの順序は次のようになる。

ナフタレン系 > ベンゼン系 > ナフテン系 > パラフィン系

著者の前報の資料とは供試化合物の相違のため、全体的に比較することはできないが、比較できる範囲内においては上記の順序に反するものはない。

同一系列内における作用力の強さに関しては少くともある程度迄は導入基の数や長さが大になるにつれてそれが増加してゆくことを研究者の大部分が認めている。例えば、TATTERFIELD⁽¹⁰⁾(1927) はベンゼンやフェノールの毒性はニトロ基がオルソあるいはパラに位置すれば増加し、*m*-ジニトロベンゼンや 2,4-D となるとさらに増加するが、これ以上のニトロ基はかえって毒性を低下させることを報じ FERGUSON⁽⁶⁾(1939) は正アルコールのチフス菌に対する毒性はヘプテル迄は対数的に増加するがオクテルにいたってやや減少することを認めた。同様に CRAFT⁽⁵⁾(1945) は高等植物に対するフェノールの 2,4-ジニトロ化合物の毒性は *o*-メチル、*o*-エチル、*o*-イソプロピル、*o*-第二級ブチルの順に増加し、*o*-アミルになると減少することを、KAGY⁽¹²⁾(1941) は 2,4-ジニトロ、6-アルキルフェノール同族体の薬害作用はヘキシルからヘプテル迄増加するが、オクテルにいたってやや減少することを報じ、ROSS & RUDWIG⁽¹⁵⁾(1957) は *N*-*n*-alkylethylenethiourea 同族体ではアルキル基が大きくなるにつれて薬害作用は増大し、直接植物細胞に接する

時はオクテル化合物接しない時はアミル化合物を頂点としてそれ以後は減少することを見出した。また、ポリビニールアルコール類、ポリエチレングライコール類化合物に関する HODGSON et al.⁽¹⁰⁾(1949) の報告、シクロヘキサノンのアルキル置換化合物に関する LUDVIG et al.⁽¹³⁾(1957) の報告も導入基の増加は毒性の増加をとまなうことを認めている。一方、YOUNG⁽¹⁷⁾(1935) は以上のごとき傾向を認めながらも、例外の少くないことを指摘し、例えば、パラフィン系では *n*-デカンの毒性が高すぎるとし、BLACKMAN⁽⁴⁾(1950) は 2,4-D はメチル同族体よりも殺草作用が弱く、さられオクテル同族体にいたる迄毒性には大した差がないことを報じている。著者の前報の資料は同一系列内ではほとんど例外なく分子量の増加とともに薬害作用が強くなることを示している。結局同一系列内の化合物の薬害作用殺草作用など高等植物に対する毒性の強さはいくつかの例外があるにせよ、一般的には導入基の増大とともにある限界迄増加の傾向を示すといつてよいと思われる。なお、以上のことから判断して、クロレラによる薬害検定法は他の方法と大体平行的な結果を得ることができるといえよう。

次に有機溶剤によって生ずる薬害の中には精製不充分のために含まれる混入物によるものが少なくないと考えられる。特に比較的薬害の少ないといわれている系統の低沸点炭化水素を使用した場合に見られる薬害では、その可能性が高い。混入物にはいろいろあるが、差当り普通に用いられるメチルエチルケトン、ベンゼン、キシレンメチルナフタレン等に混入していることが多いといわれている数種の化合物の薬害作用を前報と同様の方法で調べてみた。

結果は第 I 表の通りであり、これらの化合物の不純物としての混入割合から判断しても特に薬害の原因となるようなものは見出せない。したがって、薬害の原因となる混入物は他の種類のものと判断される。また、石油化学の進歩にともない、従来の石炭からの製品にかわり石油からの溶剤が出まわり、石油系のものの方が薬害作用が強いともいわれている。しかし、雨宮・常谷・八田⁽²⁾(1958) は石油製品の方が石炭製品より純度が一般に高いはずであり、この原因が混入物によるとは考えられないとし、あるいはこの原因は石油製品を精製する時に使用するエチレングライコールによるものではないかと示唆されたが、実験の結果、エチレングライコール自体の薬害作用は弱く、そのような可能性は認められなかった。なお、両系統のキシレンを含む塩素系薬剤で著者が実験した結果では両者の間に有意の差は認められなかつ

第I表 溶剤精製において見出される各種化合物の薬害作用

化合物	化学式	分子量	沸点	比重	水に対する溶解度	クロレラの IP
Benzonitril	C_6H_5CN	103.12	191.3	1.0051	不	4.0
1,2,4-Trimethyl benzene	$C_6H_3Cl_3$	181.46	213	1.446	不	3.6
Anilin	$C_6H_5NH_2$	93.12	184	1.0217	3.6	3.0
Acetonitril	CH_3CN	41.05	81.6	0.783	∞	2.6
Phenol	C_6H_5OH	94.11	181.4	1.0545	∞	3.9
Collidin	$C_5H_2N(CH_3)_3$	121.18	172	0.917	微	3.6
Lutidin	$C_5H_3N(CH_3)_2$	107.15	157.1	0.942	20	3.3
Thiophen	C_4H_4S	84.13	84	1.070	不	3.0
Ethylenglycol	$C_2H_2OH \cdot CH_2OH$	62.07	197	1.1131	∞	2.0

IP=log [クロレラを変色させる限界稀釈倍数]

た。とはいえ、経済的見地から実際に農業に使用されている溶剤は両系統とも純度の低い混合物であるから、かかる溶剤についてはその成分により不測の薬害作用を示すことが危惧される。

要 約

溶剤の化学構造とその殺草作用・薬害作用との関係は著者の前報の資料と他の文献の資料とを基礎として論じてみた。炭化水素各系列間については、ナフタレン系のものの作用が最も強く、以下、ベンゼン系、ナフテン系と続き、パラフィン系が最も弱い。同一系列内にあるものは、例外も少くないが、ほとんどの場合、ある程度までは導入基の数や長さが大になるにつれて作用力が増加してゆくことが認められた。なお、いずれの場合でも著者の方法で得た結果は既存の方法で得たそれと略一致していた。また、普通の溶剤中に不純物として混入していると思われるいくつかの化合物の薬害作用を調べてみたが、直接薬害の原因となるようなものは見出せなかった。最近廻ってきた石油系溶剤と石炭系溶剤との比較については特に記すような結果は得られなかった。

引用文献

- ALLEN, T. C. & CARPENTER, T. L. (1940) J. Econ. Entomol. 33: 591~6
- 雨宮・常谷・八田 (1958) 私信
- BRELL, J. B. & NOREM, W. L. (1950) Agri. Ch-

em. 5 (4): 31~34 & (5): 47~49

- BLACKMAN, G. E. (1950) Sci. Progr. 152: 637~51
- CRAFT, A. S. (1945) Sci. 101: 417~8
- FERGUSON, J. (1939) Proc. Roy. Soc. [B] 127: 387
- GOODHUE, L. D. (1953) J. Econ. Entomol. 46 (6): 986~8
- 橋本 康 (1948) 応動昆 2 (3): 203~7
- HAVIS, J. R. (1948) Proc. Am. Soc. Hot. Sci. 51: 545~6
- Hodgson, R. (1949) Phytopath. 39 (1): 47~62
- IVENS, G. W. (1952) Ann. Appl. Biol. 39 (3): 418~22
- KAGY, J. F. (1941) J. Econ. Entomol. 34: 660~9
- LUDWIG, R. W. (1957) Canad. J. Bot. 35 (5): 605~13
- MATHYTH & CLOWER (1951) Proc. 27th Nat. Schade Tree Conf. 112~235
- ROSS, R. G. & RUDWIG, R. A. (1957) Canad. J. Bot. 35 (1): 65~95
- TATTERFIELD, F. (1927) J. Agr. Sci. 17: 181~208
- YOUNG, P. A. (1935) Am. J. Bot. 22: 627~34

Summary

Chlorella, as a Material for Studying and Testing Phytotoxicity
(Supplementary Report)

By Yasushi HASHIMOTO

Discussion was made on the relation between the chemical structure and the herbicidal or phytotoxic action of the ordinary solvents, referring to the data of the author's last report and the others'. Among the groups of hydrocarbonic solvents, the most toxic one is naphthalene group, then, come benzene group and naphthene and the least toxic one is paraffin group. At each group, though with some exceptions, toxicity increases with the number and length of its substituted gr-

oup up to the certain limit.

Generally speaking, the data obtained by the author's method were in keeping with those by others'. Furthermore it was showed that some chemicals which were said to contaminate the ordinary solvents have no possibility of causing phytotoxicity. As to the comparison between the solvents derived from petroleum and those from coal, nothing worth reporting has been found out.

昭和34年3月28日 印刷
昭和34年3月31日 発行

農 林 省 農 薬 検 査 所

東京都北多摩郡小平町鈴木新田 772

農藥検査所報告 第5号

所長	上遠章
総務課長	島崎嘉久
化学課長	佐藤六郎
生物課長	菅原寛夫

BULLETIN OF THE AGRICULTURAL CHEMICAL
INSPECTION STATION

No. 5

Director, **Akira Kamito**

Chief, Section of General Affairs

Yoshihisa Shimazaki

Chief, Section of Chemistry

Rokuro Sato

Chief, Section of Biology

Hiroo Sugawara