(Jpn. J. Hosp. Pharm.)
22(1) 13—19 (1996)

ポリアミノ酸による有機リン系殺虫剤および除草剤の吸着についての検討

三輪 明*^{†1}, 飯塚靖子^{‡2}, 細田和男^{‡2}, 若松 馨^{‡2}, 大屋正尚^{‡2}

日高病院薬剤部^{†1}

群馬大学工学部生物化学工学科^{‡2}

Adsorption of Organic Phosphorous Insecticides and Herbicides by Polyamino Acids

AKIRA MIWA*^{†1}, YASUKO IIZUKA^{‡2}, KAZUO HOSODA^{‡2}, KAORI WAKAMATSU^{‡2} and MASANAO OYA^{‡2}

Department of Pharmacy, Hidaka Hospital^{†1}

Department of Biological Science, Faculty of Engineering, Gunma University^{‡2}

(Received May 17, 1995
Accepted September 8, 1995)

Recently, it have been reported that many clinical cases have injected insecticides and herbicides either for the purpose of suicide or by mistake, and that these agricultural chemicals poison the soil, especially rivers or lakes. Removal of these compounds is thus needed. In this regard, we report herein the application of polyamino acids for the adsorption of these agricultural chemicals by using the quartz-crystal microbalance (QCM) method.

The homopolyamino acids exhibit a high affinity to malathion. Poly (Leu) adsorbed an equal mass of cyanophos and trifluralin. Accordingly, polyamino acids are expected to be useful as adsorbents for organic phosphorous insecticides and herbicides.

Key words — quartz-crystal microbalance, polyamino acid, adsorption, organic phosphorous insecticides, herbicides

緒 言

我々はポリアミノ酸が有機リン系殺虫剤をよく吸着することを既報¹⁾において報告した。また

ng 単位でリアルタイムに微量定量できる Quartz-Crystal Microbalance (QCM) の方法²⁻⁴⁾を用いて、農薬の吸着量を求めるとともに、吸着平衡に達するまでの時間も測定できることも明らかにした⁵⁾。

事故や自殺目的で農薬を服毒する症例は多く、その中でも有機リン系殺虫剤や除草剤を服毒する症例は多い⁶⁾。そこで有機リン系殺虫剤を用い、

^{†1} 群馬県高崎市中尾町886; 886, Nakao-machi, Takasaki-shi, Gunma, 370 Japan

^{‡2} 群馬県桐生市天神町1-5-1; 1-5-1, Tenjin-cho, Kiryu-shi, Gunma, 376 Japan

ポリアミノ酸に対する吸着量を検討することとした。有機リン系殺虫剤としては、中毒症例の多いフェニトロチオン（商品名 スミチオン乳剤；0,0-Dimethyl 0-4-nitro-m-toluyyl phosphorothioate），またフェニトロチオンと化学構造が類似しているイソキサチオン（商品名 カルホス乳剤；0,0-diethyl 0-(5-phenyl-3-isoxazolyl) phosphorothioate），シアノホス（商品名 サイアノックス乳剤；0-4-cyanophenyl 0,0-dimethyl phosphorothioate）を用いた。また除草剤としてはその化学構造にベンゼン環を有するジニトロアニリン系化合物のトリフルラルリン（商品名 トレファノサイド乳剤； α, α, α -trifluoro-2, 6-dinitro N,N-dipropyl-p-toluidine）を用いた。これらはいずれもその化学構造内にベンゼン環を有するため、今回我々は有機リン系殺虫剤でベンゼン環を有しないマラチオン（商品名 マラソン乳剤；0,0-dimethyl S-(1,2-dicarbethoxyethyl) dithiophosphate）を用い、吸着率を比較検討した。

マラチオンは紫外部に吸収光を持たず、分光光度計による定量はできなかったため、QCM 法に

より吸着率を測定した。

吸着剤として、フェニルアラニンとロイシン、フェニルアラニンとアラニン、ロイシンとアラニンの共重合体（以下それぞれ poly (Phe, Leu), poly (Phe, Ala), poly (Leu, Ala) と表記），またロイシンと化学構造が類似しているバリンとアラニンの共重合体（以下 poly (Val, Ala) と表記），疎水性の脂肪族アミノ酸であるアラニン、ロイシンのホモポリマーを使用し、ポリアミノ酸の質量に対する農薬の吸着量の割合を吸着率として求めた。

実験方法

1. 試料

1) 農薬

フェニトロチオン（スミチオン乳剤，八州化学工業(株)），イソキサチオン（カルホス乳剤，三共(株)），シアノホス（サイアノックス乳剤，三共(株)），マラチオン（マラソン乳剤，(株)アグロス），トリフルラルリン（トレファノサイド乳剤，塩野義製薬(株)）を用いた（図1）。

図1. 農薬の化学構造式

2) 吸着剤

ポリアミノ酸共重合体として、N-カルボキシ- α -アミノ酸無水物 (NCA) を重合溶液中溶液重合させ合成し、ホモポリマーとして poly (Ala), poly (Leu), 共重合体としてロイシンとアラニンが 1 : 1 である poly (Leu, Ala), フェニルアラニンとロイシンが 1 : 2 である poly (Phe, Leu), バリンとロイシンが 1 : 1 である poly (Val, Leu) を用いた。分子量は poly (Ala) が約 5000, poly (Leu) が約 9000, poly (Phe, Leu) は 110000 であり、の共重合体は 60000~70000 であった。いずれの共重合体もそれぞれのアミノ酸がランダムにペプチド結合している。

2. 実験

1) 測定装置

水晶発振子は、AT-cut, 基本共鳴周波数 9 [MHz] (九州電通株) のものを用い、これを恒温槽で温度コントロールされた各測定環境においた。発振子は直流安定装置安定電源装置 (model GPR-1810, Good will instrument Co.) で直流電流 5 [V] で駆動した。発振子の共鳴周波数は、共振回路と同軸ケーブルで接続してある周波数測定装置 (model SC-7201, 岩通株) で測定し、GP-IB インターフェイスボード (model PC-9801-29m, NEC) で接続したパーソナルコンピューター (model PC-9801Vm, NEC) に取り込んだ。

2) 測定方法

ポリアミノ酸をトリフルオロ酢酸とクロロホルム (1 : 9) の混液に適当な濃度に溶かしておいた。

電極上に何も乗せていない水晶発振子の周波数 (F0) を測定し、次に溶かしたポリアミノ酸をシリンジで水晶発振子の電極上にのせ、溶媒を完全に飛ばした。このとき膜の重量が重すぎると農薬を吸着した際、電極からはがれやすくなり測定が不能となるので、周波数 (F1) を測定しながら調節した。

周波数の 1 [Hz] の変化が電極上の質量変化約 1 ng に対応しているため、(F0) から (F1) を引いたものが、ポリマーの膜量に対応する。

37℃恒温槽で温度コントロールされた容器 (容量 14ml) に蒸留水を約 13ml 入れておき、ポリアミノ酸の膜が付いた水晶発振子を容器内に入れた。周波数が平衡状態に達したことを確認し周波数 (F2) を測定した。

次に農薬を 1 μ M 加えてポリマーが農薬を吸着すると周波数は減少した。再び平衡状態に達したら、そこでの周波数 (F3) を測定した。(F2) と (F3) の差が農薬の吸着量に対応する。(F0) と (F1) の周波数の差に対する (F2) と (F3) の周波数の差の割合を吸着率 (%) として表した。また周波数は 1 秒ごとに測定できるので、農薬の吸着平衡に達するまでの時間を測定した。

結 果

表 1 にアミノ酸共重合体によるマラチオンの吸着率および吸着平衡にいたるまでの時間を示した。平均値を表に示し、誤差は $\pm 3.5\%$ だった。t-検定により吸着率に有意差 ($p < 0.05$) が認められた。

表 1. アミノ酸共重合体によるマラチオンの吸着率
および吸着平衡に至るまでの時間

	吸着率 (%)	時間 (min)
poly (Phe, Leu)	34.1	5
poly (Phe, Ala)	50.6	4
poly (Leu, Ala)	43.1	7

ポリアラニンによる農薬の吸着率の経時変化を図 2 に、ポリロイシンによる農薬の吸着率の経時変化を図 3 に、poly (Val, Ala) による農薬の吸着率の経時変化について図 4 に、それぞれ示した。Poly (Ala) による農薬の吸着率の経時変化において、いずれの農薬においても最初の数分で吸着率が上昇しはじめ、その後なだらかに上昇した。シアノスの吸着率は高く、フェニトロチオンとイソキサチオンの吸着率はほぼ同程度だった。しかしトリフルラリンの吸着率が一番小さい値を示した。マラチオンの吸着率においてはいったん吸着

図2. Poly (Ala) による農薬の吸着率 (%)

図3. Poly (Leu) による農薬の吸着率 (%)

平衡に達した後再び吸着率が上昇し始め、その吸着曲線は多段階を示した。

Poly (Leu) による農薬の吸着率の経時変化において、いずれの農薬も吸着率は最初の2分くらいで高くなり、その後はなだらかに上がっていった。一方シアノホスとトリフルラリンにおいては吸着率は100%を越え、ポリアミノ酸の膜質量以

上吸着した。フェントロチオンとイソキサチオンの吸着率はほとんど同じであったが、フェントロチオンの方が吸着速度が速く、イソキサチオンの吸着率は遅かった。マラチオンはいったん吸着率が飽和に達した後再び上昇しはじめ、吸着曲線が二段階となった。

Poly (Val, Ala) による農薬の吸着率の経時変

図4. poly (Val, Ala) による農薬の吸着率

化において全体的に poly (Ala) や poly (Leu) よりも吸着率が低かった。フェニトロチオン、シアノホス、トリフルラリンの吸着率はほぼ同じくらいで、イソキサチオンの吸着率はそれらより若干低かった。マラチオンの吸着率は一番高く、その吸着曲線は二段階であった。表2に、ポリアミノ酸による農薬の吸着が飽和状態となったときの吸着率を示した。平均値を表を示し、誤差は±3.7%だった。2元配置法t-検定により、農薬差、ポリアミノ酸差の2要因とも有意差 ($P<0.05$) が認められた。poly (Ala), poly (Leu) によるシアノホス、マラチオンの吸着率は高く、poly (Leu), poly (Val, Ala) によるトリフルラリンの吸着率が高かった。また poly (Ala), poly (Leu)

によるシアノホス、マラチオンの吸着率が高く、poly (Leu) ではトリフルラリンの吸着率も高かった。poly (Val, Ala) ではマラチオン、トリフルラリンの吸着率が高かった。

考 察

今回検討した有機リン系殺虫剤は、ジチオリン酸部位の構造は類似しており、エステル結合している部位が、フェニトロチオン、シアノホス、イソキサチオンはベンゼン環を持つが、マラチオンはベンゼン環を持たない。また除草剤として用いたトリフルラリンはベンゼン環を持つ。吸着剤として使用したアミノ酸についても、poly (Phe, Leu), poly (Phe, Ala) のように芳香族アミノ酸

表2. ポリアミノ酸による有機リン系殺虫剤および除草剤の吸着率 (%)

	poly (Ala)	poly (Leu)	poly (Val, Ala)
フェニトロチオン	24.1	32.5	29.5
シアノホス	74.5	109.4	30.0
イソキサチオン	32.2	28.4	25.7
マラチオン	73.5	61.4	43.4
トリフルラリン	18.6	102.9	54.2

を含む共重合体と、脂肪族アミノ酸のロイシン、アラニンのホモポリマーおよび poly (Val, Ala) において、QCM 法で吸着率を比較した。

Poly (Ala) による農薬の吸着において、シアノホス、マラチオンの吸着率は高く、ほぼ同じ値であった。しかし吸着率の経時変化を比べると、両者の吸着機構は異なっていると考えられる。すなわちシアノホスは時間経過とともに吸着していき、やがて吸着率は一定となる。これはポリアミノ酸に吸着の座席 (サイト) があるとすると、シアノホスによりこの吸着の座席 (サイト) が吸着飽和に達し、それ以上吸着することができなくなったためである。一方マラチオンは、いったん吸着が平衡に達した後、更に吸着率が増えている。これはポリアミノ酸にマラチオンが吸着飽和になった後、吸着した第1層目のマラチオンの上に第2層目、第3層目のマラチオンが吸着していくという、多分子層吸着をしていることを示している。その他の農薬の吸着率は低く、経時的な吸着率の曲線はシアノホスと類似しており、単分子層吸着であることを示している。

Poly (Leu) によるシアノホス、トリフルラリンの吸着率は高く、ポリアミノ酸自身の質量以上吸着した。シアノホスもトリフルラリンも最初の2分くらいまでは急に吸着率が増え、その後はゆるやかに増えている。この2分以降の吸着については、多分子層吸着をしていると考えられる。またマラチオンの吸着率は、約30%でいったん吸着飽和となり2段階目は約60%で吸着飽和となっていることから、2分子層吸着をしていることを示している。

Poly (Val, Ala) による農薬の吸着率は poly (Ala) や poly (Leu) のような、農薬の種類による吸着率の差はあまり見られなかった。またマラチオンは poly (Leu) と同じように2分子層吸着をしていることを示している。

Poly (Phe, Leu), poly (Phe, Ala), poly (Leu, Ala) によるマラチオンの吸着率では、poly (Phe, Ala) が他よりも若干高く、poly (Phe, Leu) が

低かった。poly (Val, Ala) と poly (Leu, Ala) とは化学構造が類似しているため、吸着量もほぼ同じであった。しかし poly (Ala) や poly (Leu) などのホモポリアミノ酸も化学構造は類似しているものと考えられるので、マラチオンの吸着率も同じような値を示すものと予想された。しかし、ホモポリアミノ酸の方が、共重合体よりも高かった。共重合体は異なるアミノ酸がランダムにペプチド結合しているため、側鎖に統一性がない。アミノ酸共重合体によるマラチオンの吸着率がホモポリアミノ酸より低いのは、このポリアミノ酸の立体構造も関係していると考えられる。

フェニトロチオンとシアノホスの化学構造上の相違点は、フェニル基に結合している置換基が異なっているのみである。poly (Ala) や poly (Leu) では、フェニトロチオンとシアノホスの吸着率において、著しい差が生じたことは、ポリアミノ酸による農薬の吸着には、ポリアミノ酸の化学構造や農薬の化学構造により影響されていることを示している。

固-液界面における吸着は主として、van der Waals 力、疎水基同志の総合作用力、親水基同志の相互作用力、静電引力、水素結合、共有結合のような種々の力が多用に作用し合っている⁷⁾。ポリアミノ酸による農薬の吸着は、その吸着に選択性があることから疎水基や親水基同志の相互作用力が主に関与していると考えられる。

ポリアミノ酸を吸着剤として応用する場合、アミノ酸の組合せ、あるいは他のポリマーと共重合させるなどの方法により、農薬の吸着に選択性を持たせることも可能である。そしてその応用範囲はフィルムにするなど成型も容易であり広い。

謝辞 本研究において御教示頂いた東京工業大学の岡畑恵雄教授に感謝いたします。

引用文献

- 1) 三輪 明, 飯塚靖子, 若松 馨, 大屋正尚, 日農化, 66, 1467-1473 (1992).
- 2) Yoshio Okahata and Katsuhiko Ariga, *J. Chem.*

-
- Soc., Chem. Commun.*, 1535-1537 (1987).

3) Yoshio Okahata, Kazuiko Kimura and Katsuhiko Ariga, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 9190-9194 (1989).

4) Daniel A. Buttry and Michael D. Ward, *Chem. Rev.*, 92, 1355-1379 (1992).
 - 5) 病院薬学投稿中

6) 財団法人日本中毒情報センター, 中毒研究, 6, 415-418 (1993).

7) 岡部平八郎, “界面工学”, 共立出版, 東京, 1986, pp. 62-63.