Monofluoroaceto-*p*-haloanilides の植物残留性*

中 村 利 家, 伊集院忠正 (三共株式会社野洲川工場)

昭和 39 年 4 月 20 日 受 理

Monofluoroaceto anilides については近年 Bergmann ら⁽¹⁾がイエバエに対する殺虫性を報告したが, 実用には至らなかった. しかし最近当研究室で monofluoroaceto-*p*-bromoanilide (FBA) および *p*-chloroanilide (FCA) がダニ, カイガラムシ, アブラムシおよびウンカなどに効力が高く, 農業用殺虫剤として価値のあることを見出した. たとえばミカンハダニ (*Panonychus citri*) に対する 24 時間 LC_{50} 値は, FBA 16 p.p.m., FCA 24 p.p.m. であり, またとくに殺卵力が強く 3.7 p.p.m. での未ふ化卵率は 80~90% に達し⁽²⁾, 既存の殺ダニ剤に十分匹敵するかむしろ優っていた.

温血動物に対する毒性は monofluoroacetates 中では極めて弱く, マウスに対する急性経口毒性はすでに広く実用に供されているモノフルオール酢酸アミドよりずっと低いといわれる⁽³⁾. しかし植物に散布したときの残留毒性は食品衛生上重要な問題である. 本報では FBA および FCA の植物残留量の微量定量法について若干の基礎検討をおこない, また実際に温州みかん成木を用い薬剤の残留期間を明らかにした結果を報告する.

分析法としては, 堀内^(4,5)によるモノフルオール酢酸アミドについての知見にかんがみ, 植物抽出物を Salsbury ら⁽⁶⁾のヘキシルアルコール中金属ナトリウム分解法により分解して F^- を固定し, Willard-Winter 水蒸気蒸留⁽⁷⁾により妨害イオンを除き, 留出液中の F^- を Megregian⁽⁸⁾ の Zirconium-Eriochrome Cyanine R lake 比色法で定量する方法をとった. 植物からの抽出にはアセトンを用い好結果を得た. また別に果肉部の定量には AOAC 法⁽⁹⁾を準用した CaO 直接灰化法をこころみた.

実 験 方 法

A. 植物体微量フッ素の定量

試料: 化合物は精製品, FBA; m. p. 136.5~137.0°,

F^- 分析値 8.1%, 計算値 8.19%, FCA; m. p. 128~129°, F^- 分析値 10.1%, 計算値 10.16% のものを用いた.

植物体は当付属農場または温室内ポット植栽の温州みかん生葉, および市販の温州みかん果実を用いた.

抽出: みかん生葉 10 g を細切して円筒濾紙 (東洋濾紙 No. 84, 30×100 mm) に入れ, FBA または FCA の F^- として 100 γ /ml を含むアセトン溶液 2 ml を加え 1 夜放置後ソックスレー抽出をおこなった. 容器はニッケルコルベン (容量 200 cc) を用い, アセトン (一般品を精製) 100 ml, NaOH (特級品) 1 g を入れ, 3 時間抽出をくり返した後, コルベン中のアセトンと水分を留去し, 残渣はそのまま次の分解過程にうつした.

金属ナトリウム分解, 灰化: 前記抽出残渣, または FBA, FCA の F^- として 200 γ を加えたニッケルコルベン中にヘキシルアルコール (一般品) 30 ml, 金属 Na 1 g を加え, 還流冷却器をつけて電熱上で 2 時間加熱分解した. 分解液はちゅう鉄製蒸発皿 (内径 9 cm, 深さ 4.5 cm) にうつし, ホットコーンヒーター上で徐々に加熱しヘキシルアルコールをとばし, 電気炉で強熱して完全に灰化させた.

水蒸気蒸溜: 水蒸気蒸溜には Mavrodineanu⁽¹⁰⁾ の装置を用いた. 灰分をなるべく少量の蒸留水で蒸留器内にうつし, 60% $HClO_4$ (特級品) 70 ml, $AgClO_4$ 0.5 g, および小ガラス球数個を加え, $135 \pm 2^\circ$ で水蒸気蒸溜し, 留出液 500 ml を集めた.

比色定量: 試薬・装置; (1) A 液; Eriochrome Cyanine R (Schmid & Co.) 1.5 g を蒸留水に溶解して 1 l とする. (2) B 液; $ZrOCl_2$ 0.185 g および 35% HCl (特級品) 583 ml を蒸留水に溶解し 1 l とする. (3) C 液; 35% HCl (特級品) 583 ml を蒸留水に溶解し 1 l とする. (4) 標準フッ素溶液; 再結 NaF 0.0221 g を蒸留水 1 l に溶解する. この溶液 1 ml 中には F^- として 10 γ を含有する. (5) 分光光度計; 日立 EPU-2 A 型.

* Residues of Monofluoroaceto-*p*-haloanilides in Plant.

By Toshiie NAKAMURA and Tadamasa IJUIN
(Yasugawa Factory, Sankyo Co. Ltd.)

操作：標準フッ素溶液の 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 ml にそれぞれ A 液 10 ml, B 液 10 ml を加え蒸留水で 100 ml とし, これを A 液 10 ml, C 液 10 ml を加え蒸留水で 100 ml とした液を標準にして, 1 cm のセルを用い分光光度計で $\lambda_{\max}$ 527.5 m μ における吸光度を測定し検量線を作成する。水蒸気蒸留液より 80 ml を正確にとり, A 液 10 ml, B 液 10 ml を加えたものについて同様にして吸光度を測定して F^- 量をだし, 全留出液中の F^- を計算した。

CaO 直接灰化法：試薬・器具：(1) CaO；市販品は多量の F^- を含有するので精製して用いる。CaO 100 g に水 40 ml を加え, つぎに 60% $HClO_4$ 400 ml を徐々に加えて完全に溶解させる。不溶物は濾別し, $135 \pm 2^\circ$ で水蒸気蒸留し F^- を留去する (溜出液 3~4 l)。残液を NaOH (特級品) 10% 溶液 2 l 中に加え, 生じた沈殿を蒸留水で数回洗滌後加熱乾燥し, F^- を含まぬことを確認する。(2) ステンレス蒸発皿；径 28 cm, 深さ 8 cm。

操作：ステンレス蒸発皿中に FBA または FCA を F^- として 200 r 処理したみかん果肉 10 g を細切して入れ, CaO 5 g または 10 g を蒸留水 10 ml に懸濁した液を加え, 電熱上で乾燥状態まで弱く加熱し, のち強熱して完全に灰化させる。なるべく少量の蒸留水を用いて蒸留器にうつし, 以下前記と同様にして水蒸気蒸留し比色定量をおこなった。

B. 温州みかん残留性試験

供試樹・薬剤：大阪府農林技術センター柑橘母樹園の約 23 年生温州みかんをかり, 9 月 2 日に FBA および FCA の 50% 水和剤それぞれ 500 倍液, 1,000 倍液を 1 樹あたり約 10 l 散布した。散布液は主剤としてそれぞれ 0.1%, 0.05% を含有する。

試料：当日散布後および以後 1 週間おきに葉, 果実および下草を採集し, ビニール袋に密封して冷蔵庫に保管した。下草はめひしばが主体をなした。

分析方法：葉, 下草および果皮部はアセトン抽出後金属 Na 分析法, 果肉部は CaO 直接灰化法で F^- 固定後, いずれも水蒸気蒸留し, Zirconium-Eriochrome Cyanine R lake 法で比色定量した。ただし試料量は葉, 下草では当初 10 g, 以後 20 g とし, 果皮と果肉部はそれぞれ果実 2~3 個分にあたる 40 g 前後と 80~100 g をとった。

実験結果

A. 植物体微量フッ素定量法の検討

(1) 比色液の安定性について：Zirconium-Eriochrome Cyanine R lake 比色定量法における検量線は第 1 図のごとく F^- 0~100 r/100 ml の範囲で完全に直線となったが, 実験中結果に変動を見る場合があり安定性に疑問がもたれた。はじめ吸光度が時間と共に減少する傾向をみとめたが, これは比色液の温度の低下によることがわかった。第 1 表の例のように $\pm 2^\circ$ の範囲ならば支障ない。本実験では測定のと度 3 点プロットにより検量線を修正することとした。

F⁻ 値 (r/100 ml)

第 1 図 検 量 線

(2) アセトン抽出： 第 1 表 温度の吸光度に及ぼす影響

FBA の溶解度 (°C)	吸 光 度	
	F ⁻ 0 r/100 ml	F ⁻ 100 r/100 ml
15	1.155	0.428
18	1.155	0.441
20	1.155	0.444
22	1.157	0.446
40	1.161	0.499

あることから

植物体からの抽出溶剤には

アセトンを加えらんだ。それぞれ F^- とし約 100 r/ml

第 2 表 FBA の溶解度

溶 媒	溶解度 (g/100 ml)
アセトン	33.0 (23°)
エタノール	9.2 (25°)
メタノール	5.2 (23°)
水	0.042 (24°)

を含むアセトン溶液 2 ml を処理したみかん葉について, 2 回実験し第 3 表の結果をえた。ただし抽出時間は 3 時間, 分析は金属 Na 法によった。FBA, FCA とともにほとんど完全に抽出され, 全体としての回収率は平均 98.5%

第 3 表 みかん葉よりのアセトン抽出結果

化合物	実 測 値 ($F^- r$)			回収率 %	平 均
	投与量	処理葉	無処理葉		
FBA {	203	302	99	100	(σ=1.3)
	210	304	100	97	
FCA {	210	208	0	99	
	230	225	0	98	

第 4 表 金属ナトリウム分解法による F^- 回収率

化合物	添加 $F^- r$	実測値 ($F^- r$)			回収率 %	平均値 (回収) %
		1	2	Av.		
FBA	200	186	189	187.5	93.8	188(94)
FCA	200	191	185	188.5	94.0	(σ=2.8)

第 5 表 直接灰化法による化合物及び処理果肉からの F^- 回収率

化合物又は果肉	添加 F- r	実測値 (F- r)				回収率 %	
		1	2	3	Av.		
化合物 {	FBA	200	167	162	157	162	81
	FCA	200	182	199	180	187	94
果 肉 {	FBA	200	147	160	156	154	77
	FCA	200	175	165	177	172	86
無処理果肉	—	0	0	0	0	—	—

(σ=1.3) であった。

なお本実験でみかん葉中に天然に存在する無機 F^- は植栽場所により大きな差異があることを知った。FBA では付属農場, FCA は温室内ポット植栽のものをを用いた。

(3) 金属ナトリウム分解法: アセトン抽出における結果から化合物純品についての F^- 回収率のみを検討した。FBA, FCA の F^- として 200 r について 2 回ずつ分析の結果は第 4 表のとおりでよく一致した。全体として平均回収率 94% (σ=1.4) であり, 分解および蒸留時の損失は非常に少なく, $AgClO_4$ 添加による比色時妨害イオンの除去もほぼ完全なことを示した。

(4) CaO 直接灰化法: みかん果肉のように水分の多い試料の場合, アセトン抽出では同時に溶出する水分の蒸発に時間がかかるなど非効率であり, CaO 直接灰化法が便利である。本実験では AOAC 法に比し過剰の CaO を用い, 化合物純品のみの場合と, 果肉に処理した場合における F^- 回収率を検討し第 5 表の結果をえた。化合物の F^- 回収率は FBA 81%, FCA 94% であったが, 処理果肉ではそれぞれ 77% と 86% に低下した。しかし果肉 10 g に対し CaO を 10 g と 5 g 用いた場

第 6 表 みかん葉及び下草中における FBA の残留量 $F^- r$ (生葉 10 g 当り)

試料採取日	散布後 日 数	み かん 葉		下 草
		0.1%	0.05%	
2 Sept.	0	242(180)	173(111)	144(80)
9 "	7	149 (87)	104 (42)	—
16 "	14	111 (49)	67 (5)	97(33)
23 "	21	67 (5)	62 (0)	62(0)
30 "	28	67 (5)	61 (0)	61(0)
7 Oct.	35	62 (0)	53 (0)	62(0)
21 "	49	63 (1)	62 (0)	61(0)
無 処 理		62(σ=7.2)		64(σ=5.6)

第 7 表 みかん葉及び下草中における FCA の残留量 $F^- r$ (生葉 10 g 当り)

試料採取日	散布後 日 数	み かん 葉		下 草
		0.1%	0.05%	
2 Sept.	0	128(—)	144(—)	256(192)
9 "	7	161(96)	164(99)	167(103)
16 "	14	95(30)	67(—)	112 (48)
23 "	21	72(7)	90(25)	62 (0)
30 "	28	64(0)	54(0)	60 (0)
7 Oct.	35	63(0)	60(0)	58 (0)
21 "	49	63(0)	65(0)	65 (0)
無 処 理		65(σ=8.1)		64(σ=5.6)

表中の数字はいずれも無散布区は 3~4 回, 他は 2~3 回分析した平均値で示した。() 内の数字は無散布区の F^- 量を減じたもので, 実際の化合物 F^- の残留量を示す。しかし, 負の値は残留量なしとみなす。

合の間には差異が見られず, CaO はもっと減じて良いと考えられた。

なお時期をかえて購入した温州みかん果肉のいずれにも天然からの無機 F^- は検出されなかった。

B. 温州みかんにおける薬剤の残留性

(1) みかん葉, 下草における残留性: FBA については第 6 表, FCA については第 7 表にしめす結果をえた。いずれも無散布区は 3~4 回, 他は 2~3 回分析し平均値でしめした。() 内の数字は無散布区の F^- 量を減じたもので実際の化合物 F^- の残留量をしめす(以下同じ)。

FBA ではいずれも 3 週間後にはほとんど残留を認めなかった。FCA では結果がすっきりせず, FBA に比し散布当日の F^- 量が過少であり, また 0.1% 区よりも 0.05% 区の方が残留が多いような傾向を示しているが, みかん葉 0.05% 区のみを例外とし他は 3 週間後にはほとんど薬剤残留を認めなかった。念のために 7 週間後まで分析をつづけたが以後の増減はなかった。

第8表 みかん果皮中における FBA, FCA の残留量
F⁻ r (生果皮 10 g 当り)

試料採取日	散布後 日数	FBA		FCA	
		0.1%	0.05%	0.1%	0.05%
2 Sept.	0	42(24)	40(22)	48(29)	43(24)
16 "	14	25(7)	22(4)	22(3)	23(4)
30 "	28	17(0)	20(2)	20(1)	21(2)
無処理		18($\sigma=1.7$)		19($\sigma=1.8$)	

表中の数字に関しては第6, 7表参照。

(2) みかん果皮における残留性：果皮の場合は2週間おきに分析し第8表の結果をえた。当初付着量の少ないのは単位重量あたり表面積が葉よりも小さく当然である。2週間後では極めてわずかの残留も考えられるが、4週間後には消失しているとしてよく、葉の場合と似た結果であった。FBA, FCA 間に差異はみとめられない。

(3) みかん果肉における残留性：散布当日および2週間後に採集した試料について分析したが、そのいずれにおいても全く F⁻ を検出できなかった。FBA, FCA ともに果肉中に浸透移行し得ないものと考ええる。無散布区果肉でも F⁻ は検出しなかった。

(4) 植物体への葉害：散布2週間後の調査で、FBA 散布区では植物体に全く異常を認めず、FCA 0.1% 液散布区のみ葉の軽い彎曲が少し認められたが、これは他の殺ダニ剤の散布時にもしばしば見られる程度であった。いずれにしても植物体の生理に影響はあたえなかったと考える。

考 察

Monofluoroacetates の微量を直接定量する方法は未だない。残留毒性を知るためには有機フッ素の分別定量法、たとえば全フッ素と共に無機フッ素の定量も同時におこない、有機フッ素を算出する方法⁽⁵⁾などをとるのが妥当と思う。しかし monofluoroacetates における C-F 結合は化学的に非常に強固であり、熱濃硫酸にも抵抗でき、濃 KOH 中 20 時間煮沸しても約 50% 分解されるに過ぎない⁽¹¹⁾。また高等植物体中にこの結合を切る酵素は知られていず、堀内⁽⁵⁾もみかんおよび茶の生体内に C-F 切断酵素を見出さなかった。さらに、植物体中の無機フッ素が日時の経過で増減しないことが、みかんと茶において実証されている⁽⁶⁾。以上のことから、散布薬剤さえ注意すれば分別定量をせずとも全フッ素定量のみで、無散布区との対比により化合物残留量を知りうると思われる。

有機化合物の F⁻ の定量は通常、分解・固定、分離、定量の3段階にわかれ、それぞれ多くの方法が発表されているが、ここでは文献上実際のですぐれていると考えられる Salsbury ら⁽⁶⁾の高級アルコール中金属 Na 分解法、Willard-Winter 水蒸気蒸留⁽⁷⁾、Megregian⁽⁸⁾ の Zirconium-Eriochrome Cyanine R lake 比色定量法をえらび好結果を得た。

比色定量法では、F⁻ 5 p.p.m. 以下の定量には Tholizarin red S 法が適当⁽¹³⁾といわれるが、堀内⁽¹²⁾の検討と同様に Zr-Eriochrome Cyanine R 法の方が感度が高く、比色液の安定性がすぐれている。しかし温度の影響があり測定時液温を規制するか、その都度検量線の修正が必要である。

水蒸気蒸留では McClure⁽¹²⁾の推奨する可溶性銀塩を加えて F⁻ 以外のハロゲンを不溶物として除く方法をとったが好結果であった。

植物体からの抽出にはアセトンを用い3時間ソックスレー抽出をおこなったが、FBA, FCA ともにほとんど完全に抽出されてくることを確かめた。

金属 Na 分解法による F⁻ の分解・固定は FBA, FCA の差異なく平均 94% を示し変動も少なく ($\sigma=1.4$)、微量定量法としては十分の精度をしめした。この結果はモノフルオール酢酸アミドの場合⁽⁴⁾ともよく一致しており、広く monofluoroacetates に適用できるすぐれた方法であると考ええる。

みかん果肉に適用した CaO 灰化法は知名な AOAC 法⁽⁹⁾を準用したものであるが、本法につき Remmert⁽¹⁴⁾が植物体中無機 F⁻ の定量で SiO₂ の存在により回収率が著減することを指摘し、蒸留前に NaOH 溶解をおこなうことを推奨した。しかし本実験ではむしろ化合物の揮散をおそれ過剰の CaO を使用したので、アルカリ溶解はおこなわなかった。AOAC 法では CaO 36 g/2 l の懸濁液を植物体試料 50~100 g に 25 ml 加えるにすぎない。化合物純品 F⁻ として 200 r 量に対する平均回収率は FBA 81% に対し FCA 94% であったが、果肉に処理した場合における結果はそれぞれ 77%, 86% に低下した。また金属 Na 分解法に比し分析値の変動も大きかった。本実験で FBA の回収率が常に低かった点についてはなお検討を要する。CaO 量は 10 g を 5 g にしても結果は差がなく、もっと減じても良いと思われる。本法については未だ改善の余地があるが、一応簡便法として用いるものと考えた。

第 2 図 みかん葉及び下草中における
FBA, FCA 残留量の日数による変化
○: FBA △: FCA

温州みかん成木を用いての残留性試験において、みかん葉の FCA 区においてはすっきりした結果が得られていない。実際圃場での試験の場合に、薬剤付着量そのものの不均一性はさけられず、散布当初ほど付着むらは大きいと考えられる。したがって例外的なデータを云々するよりも全体的に残留性傾向を把握することにした。

みかん葉、下草など葉部における薬剤残留は、みかん葉 FCA 0.05% 液区を例外として、他のすべての区において散布後 3 週間ではほとんど完全に消失する結果を得た。第 6 表および第 7 表の FBA と FCA の残留量分析結果をまとめると第 2 図のとおりになる。すなわち葉部において当初 20 p.p.m. および 10 p.p.m. 程度 (F⁻ として) 付着した場合の薬剤消失曲線が得られる。FBA と FCA に実質的な残留性差は考えられず、FCA 0.05% 区 3 週間後の結果は試料葉中に例外的に多量の薬剤が付着していたものと思われる。

果皮では 2 週間おきの分析だが、2 週間後すでに 0.5 p.p.m. 前後の残留が考えられる程度であった。

果肉では散布直後および 2 週間後の試料いずれからも F⁻ は検出されなかった。

以上の結果から FBA および FCA の 0.1~0.05% 液を温州みかんに散布した場合の薬剤残留期間は葉、下草、果皮など薬液が直接付着した部分ではほぼ 3 週間であり、果肉には全く浸透移行しないものと考えられる。

薬剤消失機構については、浸透性殺虫剤であるモノフ

ルオール酢酸アミドの場合、速やかに植物体中に吸収され一部は根に移行し排泄され他は脱炭酸酵素などで無毒の揮発性 fluoromethane などに変化消失すると推定⁽⁶⁾されている。FBA, FCA の場合、植物体浸透移行性については未だ結論の段階に至っていないが、生物試験の結果では少ない⁽²⁾。本実験の結果では明言できないが、植物体中をとおっての排泄よりも、雨露、日光などの自然条件による流失、揮散あるいは酵素作用による揮発性化合物への変化を考える方が自然であろう。

要 約

Monofluoroaceto-*p*-bromoanilide (FBA) および *p*-Chloroanilide (FCA) の植物残留量の微量定量法、および実際に温州みかん成木に散布したときの残留性を検討した。分析法としては植物のアセトン抽出物に対し金属 Na 分解法、および果肉の場合には CaO 直接灰化法を適用し、いずれも Willard-Winter 水蒸気蒸留後、Zr-Friochrome Cyanine R lake 比色定量法をとり次の結果を得た。

- (1) FBA, FCA の植物体からの抽出は、アセトン-ソックスレー抽出によりほとんど完全におこなわれる。
- (2) ヘキシルアルコール中金属ナトリウム分解法における FBA, FCA 中の F⁻ の回収率は、いずれも 94% であった。
- (3) CaO 直接灰化法の場合、化合物からの F⁻ の回収率は FBA 81%, FCA 94% であったが、果肉に処理したときはそれぞれ 77% と 86% に低下した。
- (4) FBA, FCA のそれぞれ 0.1% および 0.05% 液を 9 月 2 日に温州みかん成木に散布した場合、みかん葉、果皮および下草における薬剤残留期間はほぼ 3 週間であり、果肉には全く浸透移行しないという結果を得た。

- (1) E. D. Bergmann et al. : *J. Sci. Food Agric.*, **8**, 400 (1957).
- (2) 山本 : 未発表.
- (3) 上田 : 未発表.
- (4) 堀内 : 高峰研究所年報, **7**, 209 (1955).
- (5) 堀内 : 同上, **11**, 215 (1959).
- (6) J. M. Salsbury et al. : *Anal. Chem.*, **23**, 603 (1951).
- (7) H. H. Willard, O. B. Winter : *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **5**, 7 (1933).
- (8) S. Megregian : *Anal. Chem.*, **26**, 1161 (1954).
- (9) "Official Methods of Analysis of the A.O. A.C." Ed., **8**, 418 (1955).
- (10) R. Mavrodineanu et al. : *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, **18**, 173 (1955).

- (11) B. C. Saunders, G. J. Stacey : *J. Chem. Soc.*, **1948**, 1773. *Ed.*, **11**, 171 (1939).
(13) 舟阪ら : 分析化学, **4**, 607 (1955).
(12) F. J. McClure : *Ind. Eng. Chem., Anal.* (14) F. L. Remmert : *Anal. Chem.*, **25**, 450 (1953).
-