[農化 第 39 卷, 第 5 号, p.171~175, 1965]

Lauryl monofluoroacetate と monofluoroaceto-*p*-bromoanilide の植物残留性および浸透移行性*

中 村 利 家, 田 中 久 一 (三共株式会社野洲川工場)

昭和 39 年 12 月 10 日 受 理

ま え が き

先報⁽¹⁾で monofluoroaceto-*p*-bromoanilide (FBA) および monofluoroaceto-*p*-chloroanilide (FCA) の植物残留量を, アセトン抽出-金属ナトリウム分解法により定量し, 温州みかんにおける残留期間が約 3 週間であることを明らかにした。

Lauryl monofluoroacetate (LFA) は Pattieson ら⁽²⁾により合成され, 浸透殺虫性のみとめられている化合物であるが, 当研究室における検討でも有望な殺虫性が確認された。

本報では植物体微量フッ素の定量法を改良し, LFA の植物残留性を明らかにするとともに, さらに LFA と FBA について植物体における行動を知るため, まずその浸透移行性を検討した結果を報告する。

植物体微量フッ素の定量においては, 原則として前報ですぐれた結果を示したアセトン抽出-金属ナトリウム分解法を採用し, 本報ではそのほかに抽出法の簡便化とフッ素イオンの比色定量法の再検討をおこなった。抽出はホモジナイザー抽出法が簡便であるが回収率はソックスレー抽出よりやや低下する。比色定量法は Leonald ら⁽³⁾, Yamamura ら⁽⁴⁾の Cerium-Alizarin Complexone 法 (Ce-A・C 法) を応用し, 非常にすぐれた結果をえた。

LFA を桑葉および温州みかん葉に散布した場合, 3 週間以内に消失する結果をえた。しかし消失速度は FBA よりも速やかな傾向がみとめられた。

一方, 温州みかん, 桑, および甘藷による浸透移行性

試験で, LFA, FBA とともに植物体中に浸透し, 蒸散流により移行することが明らかとなった。その割合は LFA のほうが FBA より大きく, 薬剤残留性との関連が考えられる。

実 験 方 法

A. 定量方法の検討

原則として先報⁽¹⁾に準じ, 植物体アセトン抽出物を金属ナトリウム法で分解し, 灰化したのち過塩素酸中より $135 \pm 2^\circ$ で水蒸気蒸留し, 留出液中 F^- を比色定量する方法をとった。そのほかつぎに述べるように抽出方法および F^- 比色法の再検討をおこなった。

試料・試薬 : 化合物は精製品, LFA ; b. p. $145 \sim 149/5$ mm, 純度 F^- 値換算 99.0%, FBA ; m. p. $136.5 \sim 137^\circ$, 純度 F^- 値換算 99.2%, 植物体は温室植栽の甘藷葉を用いた。なお試薬類は特に断らぬ限り特級品を用いた。

抽出 : a) ソックスレー抽出 ; 前報⁽¹⁾のとおり。

b) ホモジナイザー抽出 ; ホモジナイザー (日本精機, 1/10 HP, 20,000 r. p. m.) の 200 ml 容器に葉細切物を 20 g とり, アセトン 40 ml, 30% NaOH 溶液 1 ml を加え約 3 分間攪拌する。抽出液をニッケルコルベン (200 ml) に傾斜分取し, 残渣に対し同操作を 3~4 回くりかえす。全抽出液をサッカー減圧下濃縮乾固させ, そのまま Na 分解にうつした。

金属ナトリウム分解, 灰化, 水蒸気蒸留 : 前報のとおり, ただ蒸留量は 400 ml とした。

比色定量 : a) Zirconium-Eriochrome cyanine R 法 (Zr-E・C 法) ; 前報のとおり。

b) Cerium-Alizarin complexone 法 (Ce-A・C 法) ;

[試薬] (1) Ce 保存液 $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ 0.363 g を蒸留水で 50 ml とする。(2) A・C 保存液 A・C (和光純

* On the Determination of Residue and the Translocation of Lauryl Monofluoroacetate and Monofluoroaceto-*p*-bromoanilide in Plants.

By Toshiie NAKAMURA and Kyuichi TANAKA
(Yasugawa Factory, Sankyo Co., Ltd.)

葉ドータイト試薬) 0.322 g を水 25 ml に懸濁させ、濃アンモニア水 0.13 ml を加え溶かし、氷酢酸 0.13 ml を加えたのち 50 ml とする。2週間保存とする。(3) 酢酸緩衝液 (pH 4) $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 30 g を水 250 ml とかし氷酢酸 57 ml を加えたのち 500 ml とする。

〔発色液〕 アセトン 330 ml, 緩衝液 68 ml, A・C 保存液 10 ml および Ce 保存液 10 ml を加え、室温になってから 500 ml とする。ポリエチ瓶, 6日保存とする。

〔操作〕 F^- 25 γ 以下の試料液 35 ml 以下を 50 ml メスフラスコにとり, 1N-NaOH または 1N-HCl を用いてフェノールフタレン中性としたのち発色液 15 ml を加える。標線までみたし 30 分以上たってから 625 m μ における吸光度を測定する。同様にしてえた検量線より F^- 値を求めた。対照液は発色液 15 ml を蒸留水で 50 ml としたものとする。

B. 植物残留性試験

温州みかん：6月23日, 大阪府農林技術センター柑橘母樹園の温州みかん(石川普通)成木をかり, LFA 40% 乳剤の 500 倍液 (LFA とし 0.08% 含有) を散布し, 当日および以後1週間ごとに葉を採取した。生葉 20 g 中の F^- 量を処理葉と無処理についてそれぞれ 2~3 回分析し, 残留量を決定した。

桑：6月12日, 滋賀県蚕業試験場の桑成木(改良ねずみ返し)をかり, LFA 40% 乳剤および FBA 40% 水和剤のそれぞれ 1,000 倍液 (主剤とし 0.04% 含有) を散布し, 同様にして残留量を決定した。

C. 植物浸透移行性試験

供試剤：a) LFA 塗布剤; LFA 約 20%, 高級脂肪酸モノグリセライド 15%, 非イオン表面活性剤 10%, 流動パラフィン 25% および水でクリーム状に安定させた。

b) FBA 塗布剤; FBA 約 20%, グリセリン 25%, 非イオン表面活性剤 2%, リグニンスルホン酸カルシウム 5%, ペントナイト 22% および水でペースト状に安定させた。

方法：a) 葉面浸透性試験; 温州みかん(宮川早生)小枝を蒸留水を入れた三角コルペンにさし, その葉 4~5 枚に LFA および FBA 塗布剤を蒸留水で 100 倍に稀釈した液をそれぞれ 1 ml 塗布し風乾させた。1~2 日放置してから処理葉をアセトン合計 50 ml, および蒸留水合計 50 ml で 3~4 回にわけ十分洗った。洗液はニッケルコルペンにとり NaOH 1g を加え, 減圧濃縮乾固し, 以下常法により F^- を定量し無処理と対比, 葉面残留 F^-

を決定した。一方洗じょう後の処理葉中の F^- を常法により定量し無処理と対比, 葉中浸透 F^- を決定した。

b) 茎幹処理による浸透移行性試験; i) 桑茎幹塗布試験 平均樹高約 2m の桑 (国桑 21 号および改良桑) の基幹部に, 6月12日 LFA および FBA 塗布剤を, 全幹周面に対しほぼ直径長塗布 (少量塗布区) とその倍量塗布 (多量塗布区) し, 2 および 3 週後に葉を採取し常法により F^- を定量し無処理と対比した。ii) 甘藷茎部処理 平均長 35cm の甘藷 (関東 14 号) 苗を蒸留水に水耕し, 茎下部に FBA および LFA 塗布剤 0.1 g を塗った小濾紙片 (1.5×2.0cm) をバンディングし, 数回蒸留水でしめらせた。30, 50 および 77 時間後それぞれ 2 本あての葉をとり, さらに新葉側と古葉側に 2 分し F^- を定量した。最後に茎および水耕液中の F^- を定量した。いずれも無処理と対比し浸透移行 F^- を決定した。

実験結果

A. 定量方法の検討

植物体微量フッ素定量法は前報の結果に基づきアセトン抽出, 金属ナトリウム分解, 灰化, 水蒸気蒸留後比色する方法⁽¹⁾を用いたが, さらに分析精度の向上と分析時間の短縮を目的として, 抽出, 水蒸気蒸留および比色法に再検討を加えた。

(1) 抽出法について：LFA, FBA および FCA ともにソックスレー抽出3時間ではほぼ完全に抽出される。簡便法としておこなったホモジナイザー抽出法では第1表のごとく, 3分間4回抽出で平均回収率 87% であり, ソックスレー抽出2時間の結果にちかかった。簡便法として十分用いるものと考えるが, 本報では採用しな

第1表 ホモジナイザー抽出法の回収率 (FBA)

抽出方法	添加量 F ⁻ γ	実測値 F ⁻ γ		回収率 %	
		処理葉	無処理葉		
ホモジナイ ザー抽出	3 回	200	179	10	84.5
	4 回	200	183	10	86.5
	4 回	200	185	12	87.5
ソックスレー	2 hrs.	200	223	45	89.0

第2表 水蒸気蒸留量と回収率

留出液区分	実測値 F^- (%)	
	NaF	植物試料
はじめの 200 ml	302 (95.7%)	77 (84.8%)
200~300 ml	9 (2.8%)	10 (10.9%)
300~400 ml	4 (1.2%)	4 (4.3%)
400~500 ml	1 (0.3%)	1 (1.1%)

った。

(2) 水蒸気蒸留について：従来 500 ml 蒸留していたが、分析操作上最少量とすることがのぞましい。第 2 表のごとく 300~400 ml の蒸留で十分であり、本報ではいずれの場合も 400 ml とした。

(3) 微量フッ素の比色定量法：前法で用いた Zr-E・C 法における分析値変動を再検討したが、たとえば第 3 表のごとく F^- 10 γ 以下における変動係数が非常に大きかった。本法の呈色はやや不安定であり、精度をあげるにはかなりの熟練とくり返しが必要である。

Ce-A・C 法は極性溶媒中での呈色が安定であり、アセトニトリル-水溶媒における定量条件がよく検討されている。この場合発色液が保存中に分離することがあったので、アセトン-水溶媒をえらび定量条件を検討した。20% v/v アセトン-水中での Ce-A・C complex に対する Ce-A・C-F double complex の吸光度曲線は第 1 図

第 2 図 Ce-A・C 法および Zr-E・C 法の検量線

第 3 表 Zr-E・C 法における分析値変動 (F^- γ)

F^- 添加量	1	2	3	4	Av.	σ	変動係数
6 γ	8.0	5.0	8.5	4.5	6.5	2.02	0.311
15	16.0	13.0	16.0	12.0	14.0	2.04	0.128
25	24.5	23.0	26.0	22.5	24.0	1.58	0.065

第 1 図 Ce-A・C-F double complex の吸光度曲線

第 4 表 Ce-A・C 法の呈色速度と安定性

F^- γ /50 ml	20 min.	40 min.	1 hr.	2 hrs.	5 hrs.
5	0.0506	0.0595	0.0595	0.0595	0.0545
10	0.1180	0.1238	0.1238	0.1238	0.1148
15	0.1675	0.1675	0.1739	0.1739	0.1636

のとおりで、625 $m\mu$ に最大吸収を示した。その呈色は第 4 表のごとく 40 分後には最高に達し 2 時間後でも変化しないが、5 時間後には若干減少をみとめた。検量線はたとえば第 2 図に示したように原点をとる直線となり、 F^- 0~25 γ /50 ml の範囲で Beer の法則にしたがう。検量線は非常に安定しており、発色液調製の都度チェックすれば十分であった。

Ce-A・C 法における分析値変動は第 5 表のとおりで、変動係数は各濃度とも非常に小さかった。

(4) 植物体中 LFA, FBA の定量：LFA 純品に対する F^- 分析結果は第 6 表のとおりで、 F^- 200 γ 量の場合の平均回収率は 95.5% ($\sigma=1.95$) であった。

温州みかん葉 10 g に対し、LFA を F^- 100 γ および

第 5 表 Ce-A・C 法における分析値変動 (吸光度)

F^- γ /50 ml	1	2	3	4	Av.	σ	変動係数
10	0.1244	0.1238	0.1244	0.1244	0.1235	0.0008	0.0065
20	0.2434	0.2457	0.2411	0.2411	0.2428	0.0022	0.0091
30	0.3161	0.3206	0.3188	0.3208	0.3213	0.0056	0.0174

第 6 表 LFA の金属 Na 分解法による F^- 回収率およびアセトン抽出結果

区 分	添加量 F^- γ	実測回収率 (%)				Av.	(σ)
		1	2	3	4		
化合物中 F^-	200	95	93	97.5	96.5	95.5	(1.95)
みかん葉	100	92	98	105	88	95.5	(5.48)
アセトン抽出	200	97	95	99	90		

第7表 温州みかんおよび桑葉における LFA および FBA の残留性

供試植物	化合物	実測値 散布 当日	F ⁻ γ/生葉 10 g		
			7 日後	14 日後	21 日後
みかん (葉)	無処理区	58	58	—	—
	LFA { 処理区 (残留量)	100 (42)	74 (16)	64 (6)	50 (0)
桑(葉)	無処理区	21	—	22	—
	LFA { 処理区 (残留量)	52 (31)	—	26 (4)	21 (0)
	FBA { 処理区 (残留量)	89 (68)	—	41 (19)	20 (0)

表中の数字は無処理区は 3~4 回, 他は 2~3 回分析の平均値を示した。
( ) 内は無散布区の F⁻ 量を減じたもので化合物の残留量を示す。しかし負の値は残留量なしとみなした。

200 γ 量処理したときのアセトン-ソックスレー抽出 3 時間の結果は同じく平均回収率 95.5% で, 抽出が完全におこなわれたことを示した。

FBA については報告済み⁽¹⁾であり検討を省略した。

B. LFA の植物残留性

温州みかん葉および桑葉における LFA の経時残留量を第7表に示した。いずれの場合にも 3 週間以内に消失することを示している。消失の割合は先報における FBA および FCA の場合より速やかと考えられる結果であり, 桑葉における LFA と FBA の比較試験でもその傾向がうかがわれた。

C. LFA および FBA の植物浸透移行性

実際の害虫防除の場合に準じ, 散布時における葉面浸透性および茎幹処理における浸透移行性について検討をおこなった。

(1) 葉面浸透性: 温州みかん葉表面に薬液を塗布したときの LFA および FBA の浸透性試験結果は第8表のとおりである。LFA では処理 1 日後の葉面残留 F⁻ と葉中浸透 F⁻ の比が 1.7/1 であるのが 2 日後には 1/3 に逆転しており, 明らかに浸透性を示した。FBA でも 1 日後 4/1 が 2 日後 1.7/1 となっており, 程度の差はあ

第8表 葉面浸透性 (温州みかん)

化合物	処理量 F ⁻ γ	区 分	1 日後			2 日後
			1	2	Av.	
LFA	Ca. 120	葉面* F ⁻ γ	46	32	39	13
		浸透**F ⁻ γ	24	22	23	40
FBA	Ca. 150	葉面* F ⁻ γ	65	43	54	35
		浸透**F ⁻ γ	19	11	15	20

* は洗液中 F⁻ 量, ** は洗浄後の処理葉中 F⁻ 量から無処理葉 F⁻ 量を減じた値を示す。

第9表 桑基幹塗布による浸透移行性 (F⁻ γ/生葉 20 g)

区 分	化合物	14 日後		21 日後	
		国桑	ろ桑	国桑	ろ桑
少量塗布区 {	LFA	56	—	45	51
	FBA	53	—	52	48
多量塗布区 {	LFA	74	77	81	51
	FBA	118	90	60	69
無 処 理 区		52	52	—	—

無処理は 3~4 回, 他は 2~3 回分析の平均値で示す。

第10表 甘藷苗茎処理による浸透移行性 (FBA)

経過時間 hrs.	新葉 (14g)	古葉 (14g)	茎 (11g)	水耕液 (40 ml)
30	8.1 γ	4.1 γ	—	—
53	37.0	5.3	—	—
77	20.1	8.1	6.4	4.6

( ) 内は平均生体重を, 表中の数字は処理区 F⁻ 値より無処理区 F⁻ 値を減じた値を示す。

れやはり浸透性がみとめられた。ただしいずれにおいても処理 F⁻ に対する回収 F⁻ は約 50% であり, その理由の一つとして移行性が考えられる。

(2) 茎幹処理による浸透移行性: まず桑基幹部に LFA および FBA 塗布剤を塗布したときの葉部への浸透移行性を検討し第9表の結果をえた。処理部は木栓層となっており, また樹高約 2m であったので 2 および 3 週間後の分析としたが, 処理後日が経過しすぎており, 多量塗布区の場合のみに浸透移行性のみとめられる結果をえた。1 週間以内に分析をおこなえばより明らかな結果を示したと考えられる。

さらに室内的に甘藷苗を用いパンディング法による浸透移行性を追試した。FBA について第10表の結果をえたが, LFA では薬害を生じたので分析しなかった。

FBA は浸透後上昇移行をおこない, その割合は古葉部より新葉部のほうが大きかった。蒸散流による移行であることを示すと考えられる。また水耕液中にもわずかながら F⁻ を検出した。

考 察

本報では植物体微量フッ素の定量法に 2~3 の改良を加え, LFA, FBA などの植物体における行動から残留性を解析せんと試みた。

植物体微量フッ素の定量は今日なお最も困難なものの一つである。monofluoroacetoanilides または esters の場合, 植物体よりのアセトン抽出および金属ナトリウム分解法による分析結果はかなり信頼できる。しかし水蒸

気蒸留法により妨害イオンの除去をおこなう以上, 留出液中の F^- 濃度は著しく稀釈される. 最終的に分析精度を支配するのは極微量フッ素の比色定量法となる. われわれは別にイオン交換樹脂法 (Dowex-1X-8) による F^- の選択的濃縮⁽⁵⁾も試みたが, ますます操作がめんどうになった.

Zr-E·C 法は F^- 25 γ /100 ml 以上ではかなり好結果をうることができるが, F^- 10 γ /100ml 以下では変動係数が非常に大きい.

Ce-A·C 法は Ce-A·C の complex (wine red) に, さらに F^- が反応して生じる double complex (lilac blue) を比色定量する直接比色法であり, 妨害イオンの影響も少ない^(4,6). 20% v/v アセトン-水溶媒における呈色は非常に安定しており, 極微量濃度においても変動係数は 0.01 以下であり極めてすぐれた結果を示した. 操作も簡便であり, 現在最もすぐれた比色法であろうと思われる.

LFA は温州みかんおよび桑葉において散布後 3 週間以内に消失する結果をえたが, 本報における各試験を通じ, 常に FBA よりも消失割合が速やかな傾向がみとめられた. 当然化合物の F^- 含有率: LFA 7.71%, FBA 8.19% の差 (約 5%) は考慮に入れるべきであり, また概して乳剤のほうが水和剤よりも雨露による流亡が大きいことも影響しているかも知れない. しかしより本質的に化合物の植物体浸透移行性を要因として見る必要が暗示されているように思われた.

■植物体浸透移行性の検討結果は, 明らかに LFA, FBA とともに植物体に浸透し移行することを示し, その度合は LFA のほうが FBA よりも大きかった.

化合物は植物表皮組織をとって植物体中に入り, さらに主として蒸散流による上昇移行をおこなうと考えられる. ただ本報では化合物の浸透移行性までは知りえたが, それ以後の体外移動機構, すなわち蒸散作用, 揮散,

流亡などによるものか, または下降移行, 根部排泄によるものかは明らかにできなかった. 甘藷苗を用いた茎処理試験で 3 日後に僅かながら水耕液中に F^- を検出したことは, 堀内⁽⁷⁾がモノフルオル酢酸アミドで推定したとき, 一部根部排泄の可能性も示す. しかしこれを云々するにはもう少し長期間の観察を要する.

消失機構についてはさらに検討が必要である.

要 約

(1) 植物体微量フッ素の定量に 2~3 の改良を加え, lauryl monofluoroacetate (LFA) および monofluoroaceto-*p*-bromoanilide (FBA) の植物残留性および浸透移行性を検討した.

(2) 極微量フッ素の比色定量法としては, アセトン-水溶媒中での Cerium-Alizarin complexone 法が非常にすぐれていた. Zirconium-Eriochrome cyanine R 法は低濃度での変動係数が大きい.

(3) LFA は植物体散布後 3 週間以内に消失するという結果をえた. 消失の割合は常に LFA のほうが FBA よりも大きい傾向を示した.

(4) LFA および FBA は程度の差はあるが, いずれも植物体中に浸透し, 蒸散流により移行することを明らかにした. その度合は LFA のほうが FBA よりも大きかった.

- (1) 中村利家, 伊集院忠正: 本誌, **38**, 401 (1964).
- (2) F. L. M. Pattieson ら: *Can. J. Technol.*, **34**, 21 (1956).
- (3) M. A. Leonard, T. S. West: *J. Chem. Soc.*, **1960**, 4477.
- (4) S. S. Yamamura ら: *Anal. Chem.*, **34**, 1308 (1962).
- (5) H. M. Nelsen: *ibid.*, **30**, 1009 (1958).
- (6) 舟阪 渡, 大桐弘士: 分析化学, **11**, 1223 (1962).
- (7) 堀内信生: 高峰研究所年報, **10**, 272 (1958).