

Studies on the Increment of the Efficacy of Insecticides (VI). On the Quantitative Analysis of Allethrin and Synergists in the House Fly *Musca domestica vicina* Macqu., Akifumi HAYASHI and Masayoshi HATSUKADE (Laboratory of Applied Entomology, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Toshimaku, Tokyo) Received December 13, 1966. *Botyu-Kagaku*, 32, 1, 1967 (with English Summary, 5)

1. 殺虫剤の効力増進に関する基礎的研究 (第6報) イエバエの体内に浸透したアレスリンおよび協力剤の定量. 林 晃史, 廿日出正美 (大正製薬KK研究部 防虫科学研究室) 41. 12. 13 受理

E. C. D. ガスクロマトグラフ (充填剤: 2% Polyethyleneglycol adipate/Chromosob W, カラム温度: 170°C) によって, イエバエ胸部背板に局所施用 (0.456 μg/fly) したアレスリンの体内浸透量と表皮残留量を定量する方法を検討した. また, 協力剤 (S-421, piperonyl butoxide, MGK-264, *n*-propyl isom および safroxxane) のアレスリン体内浸透量に対する影響を調べた.

協力剤の作用機構の一つとして, 昆虫の体表面における殺虫剤の侵入を助長することが考えられていた. しかし, Winteringham *et al.*<sup>1)</sup>, Hopkins *et al.*<sup>2)</sup> および Chang *et al.*<sup>3)</sup> 等の放射性 pyrethroid を用いた実験で協力剤の添加は pyrethroid の摂取がむしろ減少することが明らかになった. 本実験では, このような現象が協力剤のもつ一般的性質であるか否かを明らかにすることと, 虫体に処理した微量の allethrin を容易に定量する方法を知ることとを目的として実験を行なった. その手段として電子捕獲ガスクロマトグラフを用いた結果, 2, 3 の知見を得たので報告する.

本文に入るに際し, 日頃よりご指導を賜わっている名古屋大学農学部弥富喜三教授並びに斎藤哲夫助教また, ガスクロマトグラフの実際についてのご指導と機器の使用の便宜を与えていただいた農林省農業技術研究所金沢純技官に厚く御礼申し上げる. なお, 発表を御快諾くださった上原昭二副社長並びに研究部長田中一郎博士に謝意を表す.

実験材料および方法

1) 供試材料

実験に用いたイエバエ *Musca domestica vicina* Macqu. は高槻系で, 当研究室で累代飼育中の感受性の均一な個体群である. また, 実験に用いた協力剤は S-421, piperonyl butoxide, MGK-264, *n*-propyl isom および safroxxane の5種類で, いずれもテクニカルグレードのものである.

2) 実験方法

allethrin と協力剤の混用割合は 1:10 で, 溶媒としてアセトンを用いた. 薬剤はマイクロシリンジで LD<sub>50</sub> の葉尿すなわち, イエバエ(♀) 1頭当り 0.456 μg を胸部背板に処理し, 25°C に保ち処理後1時間, 3時

間, 5時間および24時間経過した後10頭ずつ取り出し, 体表面を *n*-hexane で洗滌し, この洗滌液中の allethrin を表皮残留量とした. また, 洗滌後の昆虫体は内径 14 mm × 長さ 100 mm のガラス製ホモゲナイザーに入れ, 蒸留水 2.0 ml と *n*-hexane 4.0 ml を加えて磨砕し, 毎分 2,000 回転で15分間遠心分離し, その上澄液を採取した. この操作は4回反復し, 回収された allethrin を体内浸透量とした. なお, 虫のようにして得られたおのおの *n*-hexane 溶媒は 40°C で減圧濃縮し, 精製した *n*-hexane で全尿 2.0 ml として測定に用いた.

3) ガスクロマトグラフの操作条件

(i) 実験装置; F & M社製402型で, 本装置は F. I. D. と電子捕獲検出器 (E. C. D.) をもつもので, 放射線源は H<sup>3</sup> 200 mc である. また, 記録計は Haneywell 製である.

(ii) カラム; 内径 3.0 mm, 長さ 4 フィートのガラス製 U 字型のものを用いた.

(iii) カラム充填剤; 2.0% Polyethyleneglycol adipate (P. E. G. A.)/Chromosob W (60~80メッシュ, 酸処理品) を用いた.

Table 1. Operating conditions.

Column packing	2.0% P. E. G. A Chromosorb W
Column temperature	170°C, Flash heater 220°C
Detector temperature	190~200°C
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Flow rate	75 ml/min.
Cell voltage	135 V
Range	10 <sup>2</sup> × Attenuation 4
Chart speed	1 inch/4 min.

(=) 操作条件; 操作の条件は第1表に記載したとおりである。

(\*) 試料注入; Hamilton社製の全量10 $\mu$ lの107NW/G型のマイクロシリンジを用いた。実験にはそれぞれ5.0 $\mu$ lを注入した。

( $\wedge$ ) ピーク面積測定; 半値幅法(ピークの高さ $\times$ 半値幅)によった。

( $\square$ ) 検量線図; 方眼紙を用いて、縦軸にピーク面積(mm<sup>2</sup>)横軸に薬量(nanogram (ng.))をとり作図した。

( $\nabla$ ) 薬剤標品; allethrin(工業用)を蒸留精製したn-hexaneで100ppmの溶液を調製し、これを必要に応じて希釈し、1ppm溶液として用いた。

### 実験結果および考察

実験の結果は第2表、第3表、第1図、第2図、第3図および第4図に記載したとおりである。

allethrin および S-421 の検量線は第1図、第2図に示されるように、試料量とガスクロマトグラムのピーク面積は高い直線性をしめした。このことからピーク面積を基礎にして供試薬剤の定量が可能であることを知った。また、allethrin のガスクロマトグラムは第3図に記載するごとくで、相対保持時間は7.8分であった。なお、現在までに pyrethroid のガスクロマトグラフィーについては Donegan *et al.*,<sup>2)</sup> Godin *et al.*,<sup>3)</sup> Hopkins *et al.*<sup>5)</sup> および金沢ら<sup>7)</sup>等の報告をのぞいてあまりみあたらない。しかし、いずれも定量法

Table 2. The penetration of topically applied allethrin (0.456  $\mu$ g/fly) to cuticle of house flies *Musca domestica vicina* Macqu.

Materials	Hours after treatment	Allethrin recovered (ng/fly)		Recovery of allethrin	
		External	Internal	Internal	Total
Allethrin	1 hr.	7.2	0.8	7.7%	76.9%
	3	4.6	1.3	12.5	56.7
	5	3.1	1.3	12.5	42.3
	24	0.5	1.1	10.6	15.4
	Cont. (Glass)	—	10.4	—	100.0
Allethrin + S-421	1 hr.	8.7	1.4	13.1	94.3
	3	6.9	1.5	14.1	78.9
	5	4.2	1.2	11.2	50.5
	24	1.21	0.93	8.7	28.0
	Cont. (Glass)	—	10.7	—	100.0
Allethrin + MGK-264	1 hr.	8.9	0.40	3.9	89.9
	3	6.0	0.90	8.7	66.3
	5	6.0	1.20	11.5	69.2
	24	1.3	0.70	6.7	19.2
	Cont. (Glass)	—	10.4	—	100.0
Allethrin + P. butoxide	1 hr.	10.3	0.40	3.5	93.4
	3	5.6	0.50	4.4	53.3
	5	5.9	0.70	6.2	57.9
	24	3.33	0.48	4.2	33.4
	Cont. (Glass)	—	11.4	—	100.0
Allethrin + n-propyl isom	1 hr.	7.9	0.5	4.9	82.4
	3	7.0	0.9	8.8	77.5
	5	6.6	0.2	1.9	66.7
	24	3.80	0.15	1.5	38.7
	Cont. (Glass)	—	10.2	—	100.0
Allethrin + Safroxan	1 hr.	8.9	1.6	15.5	101.9
	3	7.4	1.1	10.6	82.5
	5	5.3	1.8	17.4	68.9
	24	2.2	2.6	25.2	46.6
	Cont. (Glass)	—	10.3	—	100.0

Table 3. The penetration of topically applied S-421 (0.293  $\mu\text{g}/\text{fly}$ ) to cuticle of house flies *Musca domestica vicina* Macqu.

Material	Hours after treatment	S-421 recovered (ng/fly)		Recovery of S-421	
		External	Internal	Internal	Total
S-421	1 hr.	2.9	8.3	19.9%	76.1%
	3	2.9	8.5	19.9	77.4
	5	1.6	7.2	11.0	59.3
	24	1.3	5.3	8.9	44.3
	Cont. (Glass)	—	14.6	—	100.0

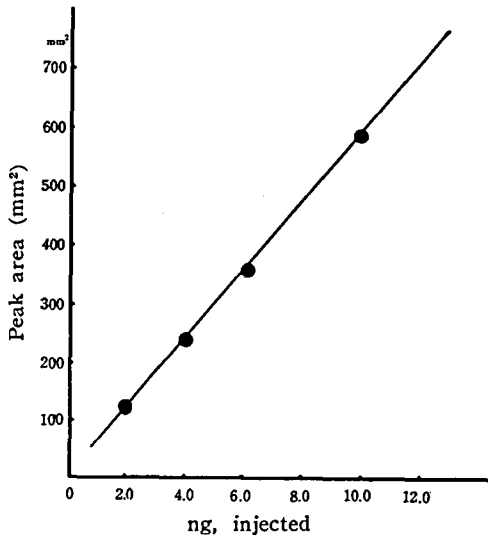


Fig. 1. Calibration curve of allethrin obtained by plotting sample size vs. response as measured by peak area of chromatograms in  $\text{mm}^2$ .

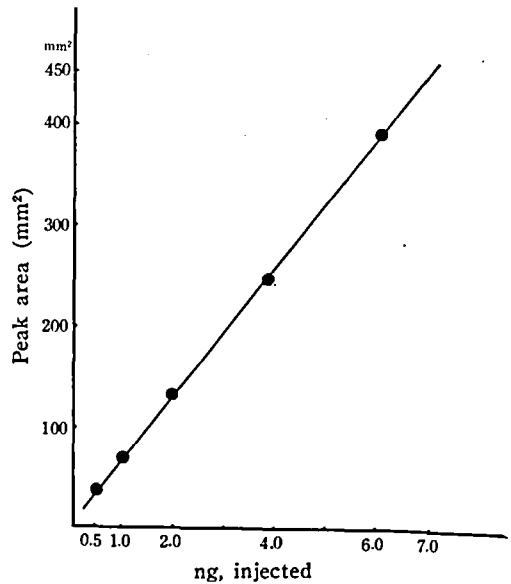


Fig. 2. Calibration curve of S-421 obtained by plotting sample size vs. response as measured by peak area of chromatograms in  $\text{mm}^2$ .

の紹介にとどまり、虫体よりの回収についてはいまだ報告をみない。また、協力剤 S-421 についても同様で、本実験の結果、容易に定量し得ることを知った。

イエバエ成虫に allethrin や allethrin に協力剤を混用したものを局所施用した場合の時間の経過に伴う allethrin の浸透量を測定した結果は第 2 表に示した。

allethrin のみを処理した場合でも、24 時間後に体内より約 10% の allethrin が回収され、体表よりの回収はその半量であった。しかし、全般的にみると協力剤を混用したものよりも回収率は低下する。また、allethrin に S-421 を混用した場合は体内に存在する allethrin の量は 1 時間後をのぞいて変化がない。しかし、やや体表面に多く残る傾向が観察された。allethrin に MGK-264, p. butoxide および *n*-propyl isom を混用した場合も全体からの回収率は高いが、体内浸透量はすくなく、体表面に多量の allethrin が

残ることを知った。

allethrin と Saffroxane の混用では体表面にもかなりの allethrin は残るが S-421 の場合と類似の傾向をしめす。なお、協力剤 S-421 の単独の傾向については第 3 表に記載するごとくである。これは allethrin と異なり、体表面よりも体内に多く、非常に浸透性に富むものといえる。しかし、これに allethrin を加えてもその浸透量の増加をみないことは興味ぶかいものである。殺虫力を考察する上で最も重要な処理後 1 時間後のイエバエ体内の allethrin の量が、S-421 を添加したものにおいて浸透量の低下にもかかわらず増大していることは解毒分解作用がある程度阻害されることによると考えられる。

以上のことより、allethrin に協力剤を混用することによって浸透性を助長する現象は認められず、むしろ

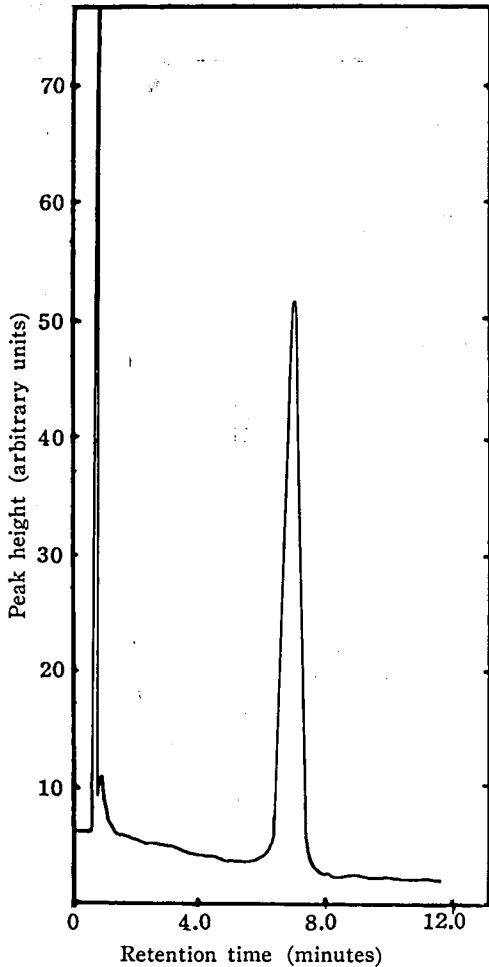


Fig. 3. Electron capture gas chromatogram of allethrin (6.0 ng).

る体表面に比較的多く残ることより、浸透性を阻害している傾向が認められる。なお、この傾向は allethrin に対し、協力効果のすくないものほど、顕著である。このことは放射性 pyrethroid を用いての実験で明らかにされた結果<sup>4,5)</sup>と同じであるといえる。また、林<sup>6)</sup>は薬剤の処理方法を変えて実験し、allethrin に p. butoxide を加えた場合は局所施用法よりも腹腔内注入法において効果の高いことから、浸透性がかなり協力剤の力価に影響するものと指摘したことをうらづけるものである。

なお、検討の必要があるが、投与した allethrin の回収率の点のみからみれば協力剤の添加は allethrin の解毒分解を防止するかに観察される。しかし、allethrin に MGK-264, p. butoxide および n-propyl isom を混用した場合、allethrin 単独よりも殺虫効

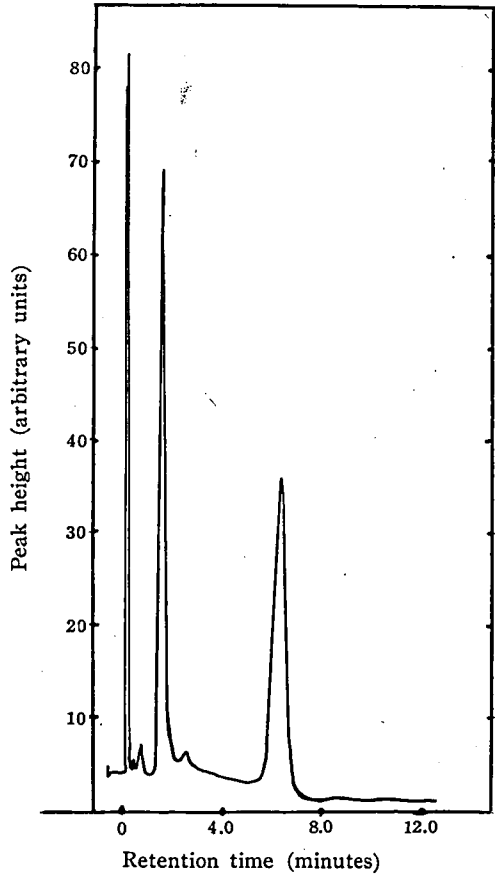


Fig. 4. Electron capture gas chromatogram of S-421 (4.0 ng).

果は高いにもかかわらず体内に存在する allethrin の量のすくないことは、きわめて興味ぶかい。この問題については、初期の中毒症状を呈したときの傾向を検討するとき、共に考える予定である。

摘 要

以上の実験結果から、イエバエに局所施用した allethrin は n-hexane で抽出し、電子捕獲ガスクロマトグラフィーによって定量が可能であることがわかった。また、allethrin に協力剤を混用することによって、allethrin のイエバエ体内への浸透性は減少する傾向にあることが認められた。特に allethrin に対し、協力作用の劣る協力剤ほど、この傾向が強くなり、体表面に残留する allethrin の量が多くなることが観察された。しかし、S-421 は p. butoxide, MGK-264 および n-propyl isom と比較して浸透性を減少する傾向はすくなく、作用機構の相違を暗示せしめる。特に、処理後1時間目の浸透量は allethrin 単独や allethrin に他の協力剤を加えた場合より浸透量の多いことは興味

ぶかい。また、SafroxaneはS-421と同様、今後さらに研究の余地のあるものと考えた。

## 文 献

- 1) Chang, S. C. *et al.* : *J. Econ. Entom.*, 57, 397~402 (1964).
- 2) Donegan, L. *et al.* : *Chem and Ind.*, 31, 1420 (1962).
- 3) Godin, P. I. *et al.* : *Chem and Ind.*, 9, 371~372 (1964).
- 4) Hopkins, T. L. *et al.* : *J. Econ. Entom.*, 50, 684~687 (1957).
- 5) Hopkins, L. O. *et al.* : *Pyrethrum Post.*, 7, 9~10 (1964).
- 6) 林 晃史 : 日本衛生動物学会第17回大会にて講演 (1965).
- 7) 金沢純, ら : 日農化誌, 40, 178~184 (1966).
- 8) Winteringham, F. P. W. *et al.* : *Biochem. J.*, 61, 359~367 (1955).

## Summary

The quantities of allethrin and its synergists penetrating through the cuticular layer of the house fly were determined by means of gas chromatography. The analyses were carried out on an F & M model 402 gas chromatograph equipped with an electron capture detector (cell voltage; 135 V) and Haneywell recorder under conditions shown in Table 1.

A typical gas chromatogram of allethrin is shown in Fig. 1. The retention time for allethrin under the above described conditions is 7.8 min. The calibration curve of allethrin is shown in Fig. 2. The amounts of allethrin detected externally and internally during the experimental period are summarized in Table 2. The Table shows that the more rapid penetration of allethrin is observed on addition of S-421, while the more allethrin residue on the cuticle is detected on the case of the lower potency synergists.

**Toxicity of Pesticide Ingredients to Some Fresh Water Organisms.** Yasuhiro NISHIUCHI and Yasushi HASHIMOTO (*Agricultural Chemical Inspection Station, Kodaira, Tokyo.*) Received January 10, 1967. *Botyu-Kagaku*, 32, 5, 1967 (with English Summary, 11)

## 2. 農薬の数種淡水産動物に対する毒性 西内康浩, 橋本 康(農林省農薬検査所, 小平市, 東京)

### 42. 1. 10 受理

農薬の大量散布により水産動物が被害を受けた、という報告が少なくないことと関連して、数種の淡水魚および淡水産ミジンコ類を用いることにより、農薬の水産動物に対する毒性の強弱を調べた。殺虫剤、殺菌剤、除草剤の原体76種につき実験を行なった結果、殺虫剤とともに殺菌剤にも毒性の強いものが多いことがわかった。除草剤の毒性は2, 3の例外を除いて一般に弱い。供試動物の薬剤感受性については、淡水魚とミジンコ類とはまったく異なる傾向を示すが、コイとキンギョ、ミジンコとタマミジンコの間にはかなり高い相関のあることが認められた。

農薬の水産動物に対する毒性についてはこれまでに多くの報告がなされている。しかし、その大部分のものではとりあつかっている農薬の種類が限られているうえ、供試動物や実験方法が一定していないので、これまでの実験結果を整理した資料<sup>1),2)</sup>を検討しても、毒性について大体の傾向を推量できるのみである。著者らは同一実験条件下で農薬原体76種を淡水魚および淡水産ミジンコ類に作用させ、農薬の種類による水産動物に対する毒性の特異性を調べるとともに、毒性試験の供試動物についても検討してみた。本文に入るにあたり、御校閲を賜った農薬検査所長鈴木照磨博士に深謝する。

## 実験材料および方法

(1) 供試動物 実験に用いた動物はコイ *Cyprinus carpio* Linné, キンギョ *Cyprinus auratus* Linné, ヒメダカ *Oryzias latipes* (Temminck et Schlegel), ミジンコ *Daphnia pulex* (de Geer), タマミジンコ *Moina macrocopa* Straus である。コイは神奈川県淡水魚養殖場から入手した平均全長4.5 cm, 平均体重1.10 gの当才魚, キンギョとヒメダカは市販品でそれぞれ平均全長4.01 cm, 2.54 cm, 平均体重1.04 g, 0.16 gの当才魚である。ミジンコおよびタマミジンコは当検査所構内のコンクリート水槽で飼育した雌成体