

Estimation of Allethrin in Mosquito Coils. Takenosuke TAKANO (Technical Division, Japan Insecticide Industrial Association). Received May 30, 1974. *Botyu-Kagaku*, 39, 96, 1974. (with English Summary 103)

21. 蚊取線香中のアレスリンの定量 高野武之助 (日本殺虫剤工業会技術部会, 京都府宇治市五ヶ庄) 49. 5. 30 受理

蚊取線香中のアレスリンをガスクロマトグラフ (GC) 法で定量する方法を確立するため, 先づアレスリン原体の GC 定量法を検討し, 次に線香のアレスリンを GC 定量する操作条件を決定して, この方法により線香からのアレスリンの抽出方法, 線香に含まれる基材, 糊剤, 協力剤の分析におよぼす影響を検討した。その結果, 抽出方法は線香粉をメタノールでソックスレー抽出を行なう方法が良く, GC 法は SE-30 を液相に, 内標準物質としてはステアリン酸メチルまたはエチルを用いる方法が線香に含まれる他剤の影響が少なく, 正確にアレスリンを定量することができること, またアレスリン原体の定量には DEGS を液相に, β -ナフトキノリンを内標準物質に用いてピーク面積比法によるのが良いことを確認した。

アレスリン (3-allyl-2-methylcyclopent-2-en-4-on-1-yl-di-cis, trans-chrysanthemate) は蚊取線香の殺虫成分として広く使われている代表的合成ピレスロイドである。

蚊取線香中のアレスリンの定量については種々の方法が報告され, 中でもガスクロマトグラフ (GC) 法¹⁻⁴⁾がいろいろの点から最も適していると考えられるが, まとまった報文もなく, また線香からの抽出条件や GC 法の操作条件によってその分析結果が異なる。

日本殺虫剤工業会技術部会は, 蚊取線香中のアレスリンの GC 法による分析法を確立するため分析専門委員会を設け種々検討した。すなわち GC 法の分析操作条件を決定して, 蚊取線香中のアレスリンの抽出方法, 線香基材抽出物およびピレスロイド協力剤の GC 法におよぼす影響などの検討を行ない, 線香中のアレスリンを正確に分析できる方法が得られたので, その結果について報告する。

試薬器具および装置

アレスリン標準品: アレスリン原体 100 g をベンゼン 100 ml に溶かし, あらかじめクロマトグラフ用活性炭アルミナ 50 g およびシリカゲル 150 g を混ぜてベンゼンに懸濁して充てんしたガラスろ過器 (17G-3) で吸引ろ過する。ベンゼン 200 ml で洗い, ろ液および洗液をあわせて 60° 以下で減圧下ベンゼンを留去する。得られた淡黄色の油状物質 (約 85 g) を *n*-ヘキサン 125 ml に溶かし約 -60° に冷却して静置し, 十分結晶が析出したのち, あらかじめ冷却したガラスろ過器ですみやかにろ過する。得られた結晶を 40° 以下の温度で結晶と同一重量の *n*-ヘキサンに溶かし, 約 -40° に冷却し, 析出した結晶をろ過し, ろ液と同量の約 -40° に冷却した *n*-ヘキサンで洗う。この再結晶の操作を数回くり返したのち, 最後に得た結晶はデシケーター

(減圧, シリカゲル) 中常温で恒量になるまで乾燥する。融点 50~53° (3% のシスを含有する⁵⁾)。本品は気密容器に入れ冷暗所に保存する。

アレスリン二次標準品: アレスリン原体を本報告に述べる GC 内標準法で分析し純度を求めたものを線香定量用標準品に使用した。(純度 84.6% cis : trans = 21.4 : 78.6)

内標準液: (i) β -ナフトキノリン (試薬特級) 約 750 mg を精密にはかりアセトンを加えて溶かし, 正確に 50 ml として原体定量用の内標準液とする。

(ii) ステアリン酸エチル (ES) またはメチル (MS) (いずれも試薬特級) 約 1 g を精密にはかり, メタノール : アセトン (1+1) 混液 (MA 液) を加えて溶かし正確に 50 ml として線香定量用の内標準液とする。

協力剤: IBTA (Isobornyl thiocyanacetate), S-421 (octachlorodipropylether), MGK-264 (N-(2-ethylhexyl)-bicyclo-[2, 2, 1]-5-heptene-2, 3-dicarboximide), サイネピリン 500 (N-(2-ethylhexyl)-1-isopropyl-4-methyl-bicyclo [2, 2, 2] octo-5-ene-2, 3-dicarboximide), ピペロニルブトキシサイド (3, 4-methylenedioxy-6-propylbenzylbutyldiethylene glycol ether)。

いずれも市販品を使用した。なお MGK-264 については同一化合物で異性体比率の異なるサイネピリン-222, シネトリンが市販されているのでこれらについても検討した。

カラム担体: 60~80メッシュの酸洗い, シラン処理したガスクロマトグラフ用 Chromosorb W (Johns Manville Inc. Co. 製)

カラム充てん剤: (i) 原体定量には DEGS (Diethyleneglycol succinate polyester) をカラム担体に 5% 含浸する。

(ii) 線香定量用には Silicone gum SE-30 をカラ

ム担体に1.5%~5.0%含浸する。

カラム：長さ0.8m~1.5m, 内径3mm~4mmのガラス製またはステンレス製。

供試蚊取線香：実験に使用した共通サンプル線香の種類と組成は Table 1 の通りである。

Table 1. Composition of Sample Mosquito Coils.

| Composition | No. 1 | No. 2 | No. 3 |
|---|-------|-------|-------|
| Pyrethrum marc | 49.0 | 49.0 | 49.0 |
| Tabu powder | 25.0 | 30.0 | 23.0 |
| Starch | 5.0 | — | — |
| C. M. C. (Sodium carboxymethyl cellulose) | — | — | 7.0 |
| Wood flour | 20.2 | 20.2 | 20.2 |
| Technical allethrin (83.5% by GC) | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Malachite green | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| Total | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

それぞれの線香からアレスリン原体を除いた線香を作り、基材線香とした。

装置：ガスクロマトグラフ：島津製3B, 4B, 4BM, 5A型；日立製6D, K-53型；検出器はいずれも水素炎イオン化検出器 (FID)。

定 量 法

アレスリン原体の定量

1. GC操作条件

アレスリン原体定量のGC操作条件の一例を示すと Table 2 の通りである。

Table 2. Conditions of Gas-Liquid Chromatography for Technical Allethrin assay.

| |
|--|
| Apparatus : Shimadzu GC-4BPF, FID detector. |
| Column : Spiral glass tube (1.0m × 4mm φ) |
| Liquid phase : 5% DEGS. Supporter : AW, DMCS, 60~80 mesh Chromosorb W. |
| Column temperature : 180° |
| Injection temperature : 230° |
| Detector temperature : 210° |
| Carrier gas : N ₂ ; 50ml/min. |
| FID Gas Flow rate : H ₂ ; 40ml/min., Air; 0.8l/min. |
| Sensitivity : 0.08 × 10 |
| Chart speed : 10mm/min. |

2. 検量線の作成

アレスリン規準品約60, 80および100 mgを精密にはかり、それぞれにβ-ナフトキノリン内標準液5 mlを正確に加えて溶かす。これらの液の0.8 μlをそれ

ぞれ10 μlのシリンジ中に採取し、これらのものにつき上記1の条件でガスクロマトグラフ法によって試験を行ないアレスリン規準品およびβ-ナフトキノリンのピーク面積を測定し、アレスリン規準品のβ-ナフトキノリンに対する重量比を横軸にピーク面積比を縦軸にとって検量線を作成する。

3. 分析操作

アレスリン原体約100mgを精密にはかり、以下検量線の作成と同様に操作してアレスリンのβ-ナフトキノリンに対するピーク面積比を求め、それに対応する重量比Aを検量線から求め、次式によりアレスリンの量(%)を算出する。

アレスリンの量(%)

$$= A \times \frac{\beta\text{-ナフトキノリンの量(g)} \times \frac{5}{50}}{\text{試料の重量(g)}} \times 100$$

線香中のアレスリンの定量

1. GC操作条件

線香中のアレスリンの定量のGC操作条件の一例を示すと Table 3 の通りである。

Table 3. Conditions of Gas-Liquid Chromatography for Allethrin assay in Mosquito Coils.

| |
|---|
| Apparatus : Shimadzu GC-3BF, FID detector. |
| Column : Spiral glass tube (1.2m × 3mm φ) |
| Liquid phase : 5% SE-30, Supporter : AW, DMCS, 60~80 mesh Chromosorb W. |
| Column temperature : 190° |
| Injection temperature : 230° |
| Carrier gas : N ₂ ; 40ml/min. |
| FID Gas Flow rate : H ₂ ; 40ml/min., Air; 0.8l/min. |
| Sensitivity : 0.16 × 10 ² |
| Chart speed : 10mm/min. |

2. 検量線の作成

アレスリン二次規準品約250mgを精密にはかりMA液を加えて溶かし、正確に25 mlとする。この液1, 2および3 mlを正確にとり、それぞれにステアリン酸エチル (ES) またはメチル (MS) 内標準液1 mlを正確に加え、さらにMA液を加えて5 mlとする。これらの液の1 μlをそれぞれ10 μlのシリンジ中に採取し、これらのものにつき上記の条件でガスクロマトグラフ法によって試験を行ないアレスリン二次規準品およびESまたはMSのピーク高さを測定し、アレスリン二次規準品のESまたはMSに対する重量比を横軸にピーク高さの比を縦軸にとって検量線を作成する。

3. 分析操作

試料の線香一卷(約13g)をその80%以上が100メッシュを通過する微粉末とする。それらの3~5gを精密にはかり、円筒ろ紙に入れソックスレー抽出器を用いて湯浴の温度85°~90°にてメタノール100~120mlで4時間抽出する、抽出液にESまたはMS内標準液1mlを正確に加えロータリーエバポレーターを用いて減圧下で溶媒を留去したのち残留物にMA液5~15mlを加えて溶かす。この液1μlにつき上記の条件でガスクロマトグラムを測定し、アレスリンのESまたはMSに対するピーク高さの比を計算して検量線からそれに対応する重量比Aを求め次式によりアレスリン含量を算出する。

線香中のアレスリン含量(%)

$$= A \times \frac{\text{ESまたはMSの重量 (mg)} \times \frac{1}{50}}{\text{試料の重量 (mg)}} \times P$$

但しPは二次標準品の純度(%)とする。

実験結果

アレスリン原体の分析

1. GC操作条件の検討

アレスリン中には dl-trans 型と dl-cis 型の2つの幾何異性体が存在し、QF-1では両異性体は完全に分離⁹⁾、SE-30やXE-60などのシリコンゴム系液相では見かけ上両異性体の分離は認められないが、両異性体の保持時間がかなり異なるため、ピークの対称性がわるくピーク高さで定量すると cis 含量の多い試料ほど分析値は低値となり、また半値巾法などの面積法で定量してもバラツキが大きい。一方、ポリエステル系液相では、両異性体の保持時間があまり異ならないので両異性体の含量として定量する場合には、ポリエステル系液相が好ましいと報告⁹⁾されている。そこでこれらのポリエステル系液相のうち、使用限界温度が比較的高く安定なものとして DEGS を使用することとした。

しかし DEGS を使用してアレスリン原体を分析する場合、両異性体のピークはほとんど分離せず、見かけ上完全に重なっているようであるが両異性体の保持時間にわずかな差があるため、ピークの測定法の違いによる定量値への影響を検討した。その結果を Table 4 に示す。

この表よりA、B法では結果に差がないがC法では分析値の再現性が悪く、結果が若干不正確となった。D法では再現性はよいが低値を示した。これは dl-cis isomer が dl-trans isomer よりわずかに早く溶出するためピークの高さが含量に比して増加しないために低値となると考えられる。E法では2%程度高くまた再現性も悪い。それでアレスリン原体の純度定量で常

Table 4. Assay of Technical Allethrin by GC Method.

- Method A. Digital Integrator Shimadzu ITG-IA-type.
- B. Analog Integrator Shimadzu DISK-type.
- C. Product of peak height and width of the peak at half height. (Half-width method)
- D. Peak height.
- E. Cutting out and weighing the peaks.

| Sample | Method | | | | |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | A | B | C | D | E |
| I $\left\{ \begin{array}{l} \bar{x} (\%) \\ \hat{\sigma} \end{array} \right.$ | 84.3 0.74 | 84.7 0.81 | 83.2 1.50 | 82.8 0.75 | 86.6 3.89 |
| II $\left\{ \begin{array}{l} \bar{x} (\%) \\ \hat{\sigma} \end{array} \right.$ | 83.0 0.56 | 83.5 0.46 | 82.9 2.53 | 81.6 0.48 | 85.4 3.01 |

\bar{x} : mean value ($n=5\sim7$) $\hat{\sigma}$: standard deviation
(Operating conditions are shown in Table 2.)

に正確な値を得るには積算計による面積比法が好ましい。しかし半値巾法による面積測定法は再現性は少し悪いが積算計による値に近く、アレスリン原体の純度定量にはピーク面積比法が望ましい。

ガスクロマトグラムの一例をあげると Fig. 1 の通りである。

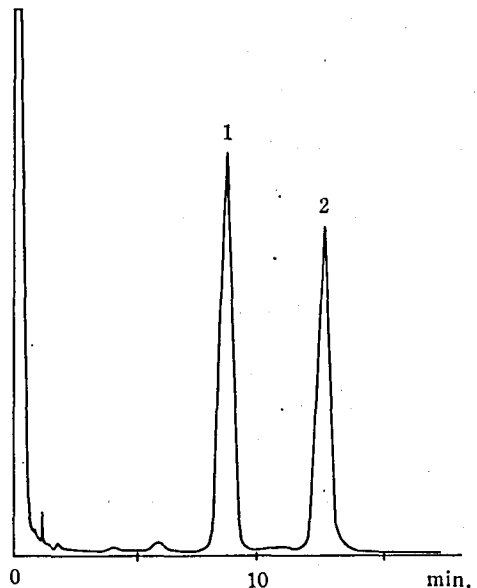


Fig. 1. Gas chromatogram of technical allethrin. GC operating conditions are shown in Table 2.

(1) Technical allethrin (2) β-Naphthoquinoline (inner standard)

2. アレスリン原体の分析結果.

アレスリン原体を上記のGC操作条件, 分析操作法で6社で定量した結果は Table 5 の通りである.

Table 5. Analysis of Allethrin in Technical Allethrin.

| Laboratories | Peak Height | Peak Area* |
|-----------------------------------|-------------|------------|
| A | 83.1% | 84.0 |
| B | 82.0 | 83.0 |
| C | 83.2 | 83.1 |
| E | 81.0 | 83.8 |
| F | 82.7 | 83.4 |
| H | 82.4 | 83.6** |
| mean \bar{x} | 82.4 | 83.5 |
| standard deviation $\hat{\sigma}$ | 0.75 | 0.36 |

Operating conditions are shown in Table 2.

* Peak area was calculated by half-width method.

** Calculated by digital integrator.

Table 5 の面積法のうちH社はインテグレーターによるものであるが, 他は半値巾法であり各社間の分析値の差は極めて少なく (標準偏差0.36) よく一致した. またピーク高さ法はさきに記述した理由により面積法に比べて約1%低値となり, 各社間の偏差も大きく, アレスリン原体の純度を正確に定量する場合はピークの測定法は面積比法がよいことを示している.

線香中のアレスリンの分析

1. GC操作条件の検討

蚊取線香中のアレスリンのGC分析には, 線香に使用される協力剤, 特にMGK-264との分離が最もよい¹⁾といわれているSE-30を使用した. しかし液相の濃度, カラムの長さ, および内径などは使用するガスクロマトグラフの機種により若干異なるので, 厳密に規定は行なわず, 5% SE-30, 長さ1m, 内径3mmのものを基準として実情に応じて定めた. また内標準物質はデイルドリン, ジシクロヘキシルフタレート, ステアリン酸エチル(ES)またはメチル(MS)などが使用されているが, 入手が容易で品質が一定しており保持時間がアレスリンのそれに近く, 協力剤やアレスリンのピークとの分離も良好で線香基材抽出物のピークとの分離のよいことなどの理由でESまたはMSを使用した.

ピークの測定は, 線香基材の影響でピーク面積を積算計などを用いて正確に求めることが困難であるので, ピーク高さにより定量することとした. その場合さきに記述したように trans と cis の両異性体の保持時間の差のためにアレスリン基準品を用いて定量すると

分析値は低値となるので, 両幾何異性体比のほぼ等しい原体を二次標準品として使用し分析値の正確さを期した. 本条件では, いずれの線香基材からの抽出物も定量を妨害しなかった.

2. 抽出条件の検討

蚊取線香の分析において, その有効成分を抽出する方法は従来酸法(日本公定法)では線香粉にその10倍量のベンゼンを加えて20°~30°で20時間浸漬抽出する除虫菊粉末のピレトリン定量法²⁾を準用している.

GC法ではアレスリン³⁾はアセトンを溶媒としてソックスレー抽出器で抽出され, プロバルトリン⁴⁾は1%フルフリルアルコールを含んだアセトン溶液を用いて抽出されている. 更にフラメトリン⁵⁾, レスメトリン⁶⁾は線香粉に活性炭を混合し, ソックスレー抽出器を用いてアセトン:n-ヘキサン(1+1)混合溶媒で抽出されており, アレスリンも同じ方法で高い回収率を得ている. またフラメトリンの場合若干回収率は低くなるがメタノールによる振とう抽出も実用上は有効な抽出法と報告されている. そこでNo.1線香を用い各種の抽出法を検討した結果はTable 6の通りである.

Table 6よりソックスレー抽出法ではアセトンを抽出溶媒に用いた場合, G社を除いてメタノールに比して抽出率が低く, 回収率は高々87%であり1gの活性炭を添加すると抽出率は若干向上したが, なお不十分であった. これに対してメタノールを抽出溶媒に用いた場合, 各社の回収率は93~101%で, その平均値は96.7%となり, ほとんど定量的に抽出できると考えられる. 1gのRadiolite(硅藻土)を添加すると, わずかに平均回収率は向上するが添加しない場合と比較して有意の差があるとは言えない. 一方溶媒にメタノールを用いて還流抽出する方法では回収率は91~93%で, この場合C, Dの2社で線香を粉砕せずに抽出して高い抽出率を得ているが, 全体としてみるとやはり粉砕した方が回収率はよかった. さらに振とう抽出法では振とう時間1時間で回収率94.5%となり, いずれもソックスレー抽出法に劣った. 以上の結果から線香をよく粉砕してその80%以上が100メッシュより細かい粒度としたのち, その3~5gをはかり, ソックスレー抽出器を用いてメタノール100~120mlで湯浴の温度85~90°で4時間抽出することとした. なおソックスレー抽出の時間については次のTable 7の結果より4時間で十分であり, それ以上の時間でも回収率は向上しなかった.

3. 線香糊剤, 基材, 協力剤の定量におよぼす影響

線香中のアレスリンの定量には線香に使われた糊剤が大きく影響するとの報告¹⁰⁾が出ているので, この点を検討するため, でん粉, 糊粉, CMCを使ったTable 1の如き線香を製しこれらNo.1, 2, 3の線

Table 6. Effect of extraction methods on allethrin assay in the No.1 (0.5%) mosquito coil.

Sample : 3 ~ 5 g, Solvent : 100 ~ 200 ml.

| Laboratory | A | C | D | E | F | G | H | Mean | Recovery* (%) |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------|
| GC-Apparatus | H | S | S | S | S | S | S | | |
| H : Hitachi | | | | | | | | | |
| S : Shimadzu | K-53 | 4BPF | 4BMPF | 3BF | 5APF | 5APF | 4BPF | | |
| GC-Column condition | | | | | | | | | |
| Length × φ | 1×3 | 1×4 | 1×3 | 0.8×3 | 1×3 | 1×3 | 1×4 | | |
| % SE-30 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1.5 | 1.5 | 5 | | |
| Oven-temp. (°C) | 185 | 190 | 185 | 190 | 185 | 170 | 190 | | |
| Powder fineness (%) | | | | | | | | | |
| 50~100 mesh | 6 | 0 | 22 | 11 | 0 | 2 | 2 | | |
| 100~200 " | 40 | 100 | 39 | 77 | 0 | 40 | 77 | | |
| >200 " | 54 | 0 | 39 | 12 | 100 | 58 | 21 | | |
| Reflux (2hrs.) in methanol | | | | | | | | | |
| Powder | 0.409 | 0.386 | 0.391 | | 0.371 | 0.367 | 0.409 | 0.389 | 93.1 |
| Solid | 0.366 | 0.418 | 0.409 | | 0.351 | | 0.351 | 0.379 | 90.7 |
| Shaking (room temp.) in methanol | | | | | | | | | |
| ½ hrs. | 0.366 | 0.388 | 0.395 | 0.367 | 0.373 | 0.393 | 0.388 | 0.381 | 91.1 |
| 1 " | 0.379 | | 0.400 | 0.380 | 0.404 | 0.399 | 0.407 | 0.395 | 94.5 |
| Soxhlet extraction (4 hrs.) | | | | | | | | | |
| with acetone +charcoal (1g) | 0.388 | | 0.344 | | | 0.417 | 0.334 | 0.371 | 88.8 |
| acetone only | 0.361 | 0.391 | 0.332 | 0.359 | 0.376 | 0.408 | 0.316 | 0.363 | 86.8 |
| with methanol +radiolite (1g) | 0.409 | | 0.405 | | | 0.382 | 0.425 | 0.405 | 96.9 |
| methanol only | 0.403 | 0.417 | 0.408 | 0.389 | 0.399 | 0.389 | 0.422 | 0.404 | 96.7 |

100% Recovery*: 0.835 × 0.5 = 0.418

Table 7. Recovery of Allethrin from Mosquito Coil by a Soxhlet Extractor (%).

| Lab. | 2 hrs. | 4 hrs. | 6 hrs. |
|------|--------|--------|--------|
| A | | 97.6 | 97.4 |
| B | | 100.0 | 100.0 |
| D | 92.9 | 95.7 | 94.3 |
| H | 92.0 | 94.8 | 93.4 |
| mean | 92.5 | 97.0 | 96.3 |

Solvent : Methanol

香を試料として上記の抽出法で抽出し、GC分析を行った結果は Table 8 の通りである、

Table 8 より糊剤として 粉のみを使用した No.2

線香は回収率が最も高く (平均回収率96.9%) また各社間の定量値の偏差も少なかった (標準偏差0.005), しかしでん粉や CMC を混用した線香 (No.1, 3) でもほぼ95%の回収率を示し各社間の偏差も No.2 に比べて若干大きい, せいぜい3%以下であり糊剤の差異による定量値への影響はほとんどなかった。

線香基材の定量におよぼす影響を検討するため No.1~3の線香に対してアレスリン原体を含まない基材のみの線香を作製してそれぞれ No.1~3の基材線香とし, これらを抽出して既知量 (約15mg) のアレスリンを正確に加えGC分析を行なって基材抽出物のピークがアレスリンならびに内標準物質のピークにおよぼす影響を調べた。その結果は Table 9 の通りで

Table 8. Allethrin Assay in the Mosquito Coils.
(Nos. 1 ~ 3)

| Lab. | Sample | | |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 |
| A | 0.408% | 0.405% | 0.392% |
| B | 0.417 | 0.401 | 0.398 |
| C | 0.399 | 0.407 | 0.401 |
| D | 0.385 | 0.400 | 0.398 |
| E | 0.405 | 0.403 | 0.383 |
| F | 0.404 | 0.401 | 0.408 |
| G | 0.377 | 0.417 | 0.393 |
| H | 0.390 | 0.402 | 0.394 |
| Mean \bar{x} | 0.398 | 0.405 | 0.396 |
| Standard Deviation $\hat{\sigma}$ | 0.012 | 0.005 | 0.007 |
| Recovery % | 95.2 | 96.9 | 94.7 |

Table 9. Recoveries of Allethrin from Base Coils.
(Nos. 1 ~ 3)

| Lab. | No. 1 Base | No. 2 Base | No. 3 Base |
|----------------|------------|------------|------------|
| A | 101.1 | 101.5 | 101.7 |
| D | 99.2 | 99.0 | 99.7 |
| F | 99.9 | 99.0 | 99.1 |
| G | 103.3 | 101.6 | 99.9 |
| H | 100.5 | 100.4 | 100.9 |
| Mean \bar{x} | 100.4 | 100.3 | 100.3 |

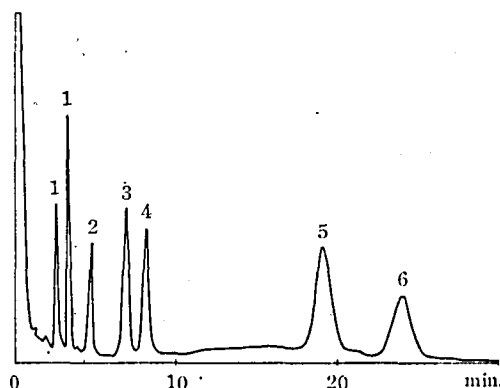


Fig. 2. Gas chromatogram of synergists and allethrin. GC operating conditions are shown in Table 3.

(1) IBTA (2) S-421 (3) MGK-264 (Synepirin 222, Synethrin) (4) Allethrin (5) Synepirin-500 (6) Piperonyl butoxide.

ある。

Table 9 より明らかなように 3 種の基材線香抽出物は、アレスリンならびに内標準物質のピークにほとんど影響をあたえなかった。

アレスリン協力剤のガスクロマトグラムは Fig. 2 の通りである。

Fig. 2 より明らかなように、MGK-264 系統の協力剤 (MGK-264, サイネピリン-222, シネトリン) 以外はアレスリンの分析にほとんど影響はない。ただ MGK-264 系の協力剤のピークはアレスリンのピークと近接し、この協力剤の分析におよぼす影響^{*)}は検討を要する。

現在使用されている MGK-264 系統の協力剤の中で広く使用されている MGK-264, サイネピリン-222 とシネトリンを用い、添加量はアレスリン原体の 3 倍量 (0.5%アレスリン原体に対して 1.5%の協力剤) として次のような実験を行ない、その影響を検討した。即ち試験線香として No. 2 基材線香を使用し、抽出後に既知量のアレスリン原体 (約 15 g) と内標準液 1 ml を加え GC 分析を行なってアレスリン値を定量する。次にこの試料にアレスリン原体の 3 倍量 (約 45 mg) の協力剤を添加して GC 分析を行ない、ここで得たアレスリン値と協力剤添加前のアレスリン値とを比較して、アレスリンの回収率を計算する。その結果は Table 10 の通りである。

Table 10 より MGK-264 およびサイネピリン-222 については平均値でみるかぎり 1~2% 高値となるが、アレスリンの定量分析におよぼす影響は実用上ほとんど無視して差支えない。しかし、個々の分析値でみると MGK-264 では C 社、サイネピリン-222 では I 社が

Table 10. Influence of MGK-264 on Allethrin Assay in Mosquito Coil.

| Synergists | Relative values of Allethrin* | | | |
|----------------|-------------------------------|---------------|-----------|--------|
| | MGK-264 | Synepirin 222 | Synethrin | |
| Lab. | A | 103.6% | 101.5% | 105.5% |
| | B | 98.9 | 98.3 | — |
| | C | 106.2 | 101.8 | 105.3 |
| | D | 101.6 | 103.4 | 103.4 |
| | F | 100.2 | — | — |
| | H | 93.4 | 96.0 | 105.6 |
| I | 103.7 | 109.5 | 105.4 | |
| Mean \bar{x} | 101.1 | 101.8 | 105.0 | |

* Relative value

= Allethrin value when Synergist is added.

Allethrin value when Synergist is not added.

かなり高値となり、また逆にH社では低値となっているが、これは実験に使用した協力剤の品質が一定でなく、協力剤中に含まれている不純物がアレスリンまたはISピークに影響をおよぼしているためである。またシネトリンについては不純物がアレスリンのピークに影響するため約5%高値となった。

Fig. 3に協力剤を添加した線香のガスクロマトグラムとそのピーク高測定の作図の一例を示す。

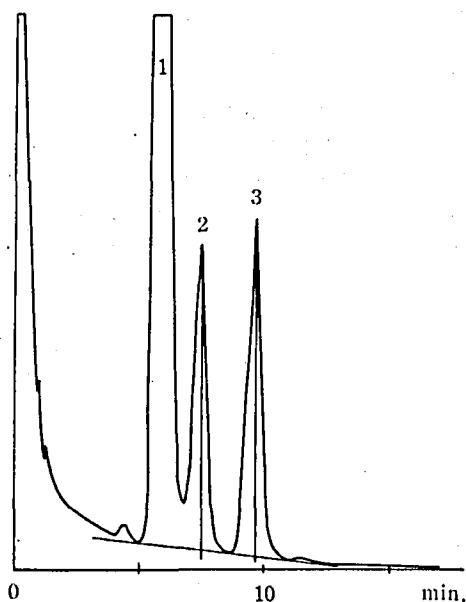


Fig. 3. Gas chromatogram of Mosquito coil (No.2 base coil + technical allethrin 0.5%+MGK-264 1.5%). GC operating conditions are shown in Table 3.
(1) MGK-264 (2) Allethrin
(3) Methyl stearate (inner standard).

結 論

(1) 蚊取線香中のアレスリンをガスクロマトグラフ法で定量する方法を確立するため、先づアレスリン原体の純度をGC法で測定するGC操作条件を検討してこれを統一した。この場合、原体に存在する幾何異性体の保持時間が若干異なるため正確な定量値を得るために、ピークの測定を面積比法で行なった。この方法でアレスリン原体共通試料を各社で定量した結果、その定量値は良く一致した。

(2) このアレスリン原体を使用して0.5%原体含有の線香を共通試料として作り、線香中のアレスリンのGC定量法を検討した。カラム充てん剤としては協力剤との分離のよいSE-30を、内標準物質としてはス

テアリン酸エチルまたはメチルを使用し、純度既知のアレスリン原体を二次基準品としてピーク高比で測定することとした。

(3) この方法で線香からのアレスリンの抽出条件を検討したところ、抽出溶媒としてはメタノールが最も抽出率が高く、特にソックスレー抽出法ではほとんど定量的に抽出できた。

一方アセトンでは抽出が不十分であり、またソックスレー法以外に加熱還流抽出法や振とう抽出法を検討したが、いずれもソックスレー抽出法に劣った。それで抽出操作法としては線香をよく粉碎してその80%以上が100メッシュより細かい粒度としたのち、その3~5gをはかりソックスレー抽出器を用いてメタノール100~120mlで湯浴の温度85~90°で4時間抽出する方法に決定した。

(4) 線香糊剤のアレスリンの抽出におよぼす影響を調べるため糊粉のみの線香、でん粉を混用したものならびにCMCを混用した線香の3種類について検討した。その結果メタノールで抽出する場合糊粉、でん粉、CMCいずれもアレスリンの抽出に影響せず、それらの抽出液もGC定量にほとんど影響をおよぼさなかった。

(5) 蚊取線香は大部分のものが殺虫成分のほかにその効力を増強させるために協力剤を添加している。これらの協力剤のうち特にMGK-264がアレスリンのピークと接近しており、分離も必ずしも完全ではないので、MGK-264のアレスリンの定量値におよぼす影響を調べた。その結果アレスリンの3倍量のMGK-264を添加したところ、使用する協力剤の品質によりその不純物の影響でアレスリンの分析値が5~10%高値となったが、多くの場合実質上差はなく、本法によりMGK-264の共存下でアレスリンを正確に定量することができた。

本研究に因ってご協力をいただいた日本殺虫剤工業会技術部会の分析専門委員の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 村山 普, 京極和旭, 井口辰興: 農化, 42, 676 (1968).
- 2) Naomichi Baba, Akiko Nagayasu, Minoru Ohno: *Agr. Biol. Chem.*, 34, 343 (1970).
- 3) 堀場正雄, 幸 房夫, 北原 一, 山林 章, 村野 敦: 分析化学, 21, 1333 (1972).
- 4) 村野 敦, 藤原 聖, 小坂憲範: 分析化学, 21, 890 (1972).
- 5) 村野 敦, 堀場正雄: 分析化学, 20, 789 (1971).

- 6) 幸 房夫, 堀場正雄, 北原 一, 村野 敦: 分析化学, 21, 1051 (1972).
- 7) 若園 潔: 除虫菊の化学と応用, 朝倉書店, 1950, p. 48.
- 8) 村山 普, 京極和旭, 井口辰興: 農化, 42, 683 (1968).
- 9) 中西美智夫, 栗山経渡, 工藤 章: 防虫科学, 35, 96 (1970).
- 10) 和歌山県薬事指導所報告, 昭和44年7月9頁.
- 11) Vernon J. Meinen: *J. of the AOAC*, 55, 907 (1972).

Summary

A method for determination of allethrin (3-allyl-2-methylcyclopent-2-en-4-on-1-yl-dl-cis, trans-chrysanthemate) in mosquito coils was developed by gas chromatography. First, the determination of technical allethrin by gas chromatography was studied. The recommended operating conditions were as follows. To about 100mg of technical allethrin β -naphthoquinoline was added as an internal standard. The allethrin was determined under the operational conditions of Table 2.

Secondly, the extraction of allethrin from mosquito coils was investigated. Usually insecticidal pyrethroids have been extracted with acetone from mosquito coils, but allethrin was not extracted completely with this solvent. The highest recovery of allethrin was obtained with the use of methanol as the solvent. More than 95% of theoretical content of allethrin was extracted from coils by Soxhlet extractor. The recommended procedure was as follows. 3~5 grams of powdered coil (80% pass through 100 mesh) were extracted with 100~120ml of methanol for 4 hours in a water bath of 85~90°C by Soxhlet extractor. Ethyl or methyl stearate was added as an internal standard, the solvent was removed in vacuo and the residual matter was dissolved in methanol: acetone (1:1) mixture. The allethrin was determined by gas chromatography under the operational conditions of Table 3.

Under these conditions, the gas chromatograms of coil base extracts and synergists had no influence upon determination of allethrin.

抄 録

トキサフェン: 生分解性物質の混合物

Toxaphene Insecticide: A Complex Biodegradable Mixture. John E. Casida *et al.* *Science*, 183, 520 (1974).

工業的なトキサフェンはシリカゲルクロマトグラフィと GLC-MS 法とを組み合わせるにより, $C_{10}H_{11}Cl_{10}$, $C_{10}H_{13-n}Cl_n$ ($n=6, 7, 8, 9$) よりなる少なくとも 175 個のポリ塩素誘導体の混合物であることがわかった。β-メトキシプロピオニトリルとヘプタンを使用しての分配カラム, 及びシリカゲルヘキサン吸着カラムを順次反復し, さらに昇華及び再結晶により各成分の精製を試みた。

ハツカネズミの腹膜内急性毒性法により, $C_{10}H_{11}Cl_7$ と $C_{10}H_{10}Cl_8$ の結晶が毒性を呈することが明らかになった。これらはハツカネズミに対し工業製品の6倍及び14倍毒性が高く, イエバエ局所点滴法で2倍及び4倍毒性が高い。 $C_{10}H_{11}Cl_7$ は X 線結晶法, MS 法及び NMR より 2, 2, 5-endo, 6-exo, 8, 9, 10-heptachloroborane であると同定された。両者は TLC 及び GLC に

より工業製品中2~6%含まれていることが確認された。

哺乳動物における代謝を調べる為に ^{36}Cl 及び ^{14}C でラベルされたトキサフェンをネズミに 14 mg/kg 経口投与し, 脱塩素化と脱離反応を14日間調べた。トキサフェンはほとんど排泄前に代謝され, 尿及び糞便中に代謝されないものがそれぞれ0.7%, 3%, 部分的に脱塩素化された代謝産物が5%, 21~24%現われる。排泄された ^{36}Cl の44~57%は尿中に塩素イオンとして存在する。

代謝速度とその程度を調べる為にシリカゲルヘキサンカラムで7つの画分に分離したが, これらの成分の中毒ネズミとイエバエとの間の選択性には大差はなく, その毒性は工業製品の5倍から3倍の範囲であった。この結果多くのトキサフェン成分は, 哺乳動物において, 生体内脱塩素化を受けやすいグループを持ち, C-Cl 結合の約半数は代謝的に不安定である。工業的なトキサフェンの分離, 構造決定, 代謝及び環境残留について, 上述の方法でさらに詳しく決定されるだろう。

(山本敏彦)