

- 4) Nitta, S. : *Tokyo Jour. Med. Sci.* 55, 285 (1941)
- 5) Hagiwara, H., Numata, M., Konishi, K. and Oka, Y. : The 6th symposium on the Chemistry and Natural Products. Sapporo, July. 1962; Abstracts. p. 88 (1962)
- 6) Hagiwara, H., Numata, M., Konishi, K. and Oka, Y. : *Chem. Pharm. Bull.* 13, 253 (1965)
- 7) Lewis, S. E. and Smallman, B. N. : *J. Physiol.* 134, 241 (1956)
- 8) Fowler, K. S. and Lewis, S. E. : *ibid.* 142, 165 (1958)
- 9) Mehrotra, K. S. : *J. ins. Physiol.* 6, 180 (1961)
- 10) Colhoun, E. H. and Gielberg, J. : *Ann. Ent. Soc. Amer.* 54, 140 (1961)
- 11) Feldberg, W. : *J. Physiol.* 130, 367 (1945)
- 12) Colhoun, E. H. : *J. ins. Physiol.* 2, 108 (1958)
- 13) Colhoun, E. H. : *ibid.* 2, 117 (1958)
- 14) Mehrotra, K. N. : *ibid.* 5, 129 (1961)
- 15) Paton, W. D. M. and Zaimis, E. J. : *Brit. J. Pharm.* 4, 381 (1949)
- 16) Paton, W. D. M. : *Proc. Roy. Soc. B.* 154, 21 (1961)
- 17) Jewell, P. A. and Zaimis, E. J. : *J. Physiol.* 124, 417 (1954)
- 18) Zaimis, E. J. : *ibid.* 112, 176 (1951)
- 19) Zaimis, E. J. : *ibid.* 122, 238 (1953)
- 20) Burns, B. D. and Paton, W. D. M. : *ibid.* 115, 34 (1951)
- 21) Paton, W. D. M. and Zaimis, E. J. : *Pharmacol. Rev.* 4, 219 (1952)
- 22) Bovet, D. and Bovet-Nitti, F. : *Sci. Med. Ital.* 3, 484 (1955)
- 23) Colhoun, E. H. : *Advances in Insect Physiology*, Vol. 1, Academic Press Inc., London and New York. 1 (1963)
- 24) Wigglesworth, V. B. : *Quart. J. Micr. Sci.* 99, 441 (1958)
- 25) Colhoun, E. H. : *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 1127 (1959)
- 26) O'Conner, A. K., O'Brien, R. D. and Salpeter, M. M. : *J. ins. Physiol.* 11, 1351 (1965)
- 27) Yamasaki, T. and Narahashi, T. : *ibid.* 4, 7 (1960)

Determination of Malathion Residues on and in Rice Plant and Chinese Cabbage. Masao YAMAUCHI. (Agricultural Chemicals Inspection Station, Ministry of Agriculture and Forestry, Kodairashi, Tokyo) Received January 12, 1966. *Botyu-Kagaku* 31, 67. 1966. (with English Summary 77)

10. 稲および白菜におけるマラソン 残留量の定量 山内正雄 (農林省農薬検査所, 東京都 小平市)

M. V. Norris らの植物体におけるマラソン残留量の定量法に、アルカリ分解試薬として、前報において用いた水酸化カリウムエタノール溶液を適用し、操作簡便な定量法を作り、稲および白菜におけるマラソンの残留量を定量した。ただし抽出およびクリーナップの方法は、ほぼ H. W. Conroy の方法に従ったが、抽出溶媒にはメタノールを用い、抽出液中に定量妨害物質が含まれている場合には、A. N. Bates らの方法にならい塩酸処理アルミナによるカラムクロマトグラフィーを適用した。白菜については、圃場および孵卵器に保温した場合における全残留量を定量し、温度によるマラソンの消失速度の変化を調べ、稲については、全残留量と表面残留量を定量し、その差より吸収浸透量を求め、Gunther-Blinn の解析法 および同様な理論に基づく残留量の対数の対数と経過日数とより求めた回帰方程式により、稲および白菜におけるマラソンの消失機構を論議した。

1. 緒 言

農作物の害虫防除に殺虫剤を使用する場合、直接害虫に散布する場合と、浸透性殺虫剤の如く植物体に吸収浸透せしめて防除する場合とあるが、前者の場合にあっても作物体に付着した農薬と害虫とを接触せしめて殺虫効果をあげ、また付着、吸収した残留量により長期間にわたって防除効果を期待するものである。こ

のように、浸透性、非浸透性を問わず、いずれの場合においても作物体を介して防除を行なうものであるから、作物体に付着、吸収、浸透した農薬の動向をできるだけ明確に究明することは、より効果的、経済的防除法ならびに残留毒性に対する正しい知識を得る点から極めて重要なことである。このような観点から殺虫剤の植物体における残留量の定量法、消失機構などについての研究を試み、今回はマラソンの残留量の定量

法、稲、白菜における残留量およびこれら作物体における消失機構の概要について報告する。マラソンの植物体における残留量の分析法には、マラソンのベンゼン抽出液をアルカリ分解する方法¹⁾と四塩化炭素抽出液をアルカリ分解する Norris らの方法²⁻⁴⁾が知られているが、Norris らの方法がよく用いられている。筆者は前報⁵⁾に用いた水酸化カリウムエタノール溶液を Norris らの方法に適用することを試み、操作簡便な分析法を得、これに H. W. Conroy⁶⁾の抽出法、A. N. Bates⁷⁾の塩酸処理アルミナによるクロマトグラフィを適用してほぼ満足すべき残留分析法を得た。マラソンの農作物および農産物における残留量については多数の報告があり、多くの作物においては散布後約1週間でほぼ消失する場合が多い。しかし桃、オレンジなど⁸⁻⁹⁾では2週間、1カ月以上もマラソンが残留し、黒ずぐりの砂糖漬¹⁰⁾では6カ月以上、小麦、トウモロコシ、米糠など¹¹⁻¹²⁾に処理した場合には3カ月~1カ年も残留した例も報告されている。このように比較的消失速度が速く、しかも人体に対して他の有機燐殺虫剤に比べ毒性が少ないとされているマラソンにおいても農産物の種類によっては長期間残留し、その毒性についても考慮すべき場合があると考えられる。また植物体の不活発な時期に処理された場合には、マラソンは比較的長期間残留することが予想され、このような時期に散布されたマラソンの残留量とその動向を調べ、生活活性の旺盛な時期における場合と比較することにより、マラソンの消失機構および残留毒性をより明確に知ることができると考え、稲および白菜について実験し、ほぼ予想された結果が得られた。

2. 残留分析法

2.1 装置および器具

- (1) バックマン分光光度計DU型：10mm セルを用いる
- (2) ホモゲナイザー：HD型ホモゲナイザー（日本精機工業株式会社製）
- (3) クロマト管：BHC 分析用クロマト管（1.5×3.0×60cm）

2.2 試薬

- (1) 四塩化炭素：濃硫酸、1%水酸化ナトリウム溶液で順次洗い、塩化カルシウムで脱水し、蒸留して用いる。
- (2) メタノール：蒸留して用いる。
- (3) エタノール：生石灰で脱水し、蒸留して用いる。
- (4) $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液：水酸化カリウム2.8gをエタノール100ml中にとかす。
- (5) 1N塩酸
- (6) 5%硫酸銅溶液：硫酸銅5gを蒸留水100ml中

にとかす。

- (7) 5%塩化第二鉄溶液：塩化第二鉄5gを1N塩酸100ml中にとかす。

- (8) 2%硫酸ソーダ溶液：無水硫酸ソーダ20gを蒸留水1l中にとかす。

- (9) 塩酸処理アルミナ：市販活性アルミナ（純正化学株式会社）200gを蒸留水400ml中に懸濁せしめ、濃塩酸5mlを加えときどき攪拌しながら2時間放置する。これをガラスフィルター（25G-2）で吸引濾過し、メチルオレンジ指示薬で酸性のなくなるまで蒸留水で洗滌し、最後にメタノール300mlで洗滌する。これを130°Cで4時間乾燥し、室温で約1時間放冷する。

- (10) 標準マラソン溶液：標準マラソン（純度95%、住友化学株式会社より入手）0.1g前後を正確に秤取し100mlのメスフラスコに入れ、メタノールを用いて定容とする。この溶液10mlを100mlのメスフラスコにとり、メタノールを用いて定容とする。さらにこの溶液25mlを250mlのメスフラスコにとり、メタノールを用いて定容とし、標準溶液とする。（約10 μ g/ml）

2.3 検量線

標準マラソン溶液0, 2.5, 5, 10, 15, 20および25mlをそれぞれ四塩化炭素100mlを入れた250mlの分液ロートにとり、メタノールを用いてメタノールの全量を25mlとする。これをはかるく振りまぜたのち、5°C以下に冷却した2%硫酸ソーダ溶液75mlを加えて1分間はげしく振とうする。静置後、四塩化炭素層をひだ付紙を用いて200mlの分液ロートに水層の入れぬように濾過する。これに $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液4mlを加え1分間はげしく振りまぜたのち、5°C以下に冷却した2%硫酸ソーダ溶液30mlを加え1分間はげしく振とうする。静置後四塩化炭素層を分液し、1N塩酸3mlを加えて静かに振りまぜたのち、四塩化炭素20mlを加えて30秒間振とうする。静置後四塩化炭素層を分液し、5%塩化第二鉄溶液1ml、四塩化炭素20mlを加えて30秒間振とうする。静置後四塩化炭素層をできるだけ完全に分液し、四塩化炭素5mlをホールピペットを用いて加え、氷室で5~10°Cに冷却する。これに5%硫酸銅溶液2mlを加えはげしく30秒間振りまぜ、分液ロートの脚にかかるく脱脂綿をつめ、四塩化炭素層をセルに移し、5分以内に四塩化炭素を対照として波長418m μ における吸光度を測定する。それぞれのマラソン μ gに対する吸光度を作図して検量線を作成する。

2.4 表面残留量の定量法

マラソンで処理された試料50~100gを長さ約3cmに切り500mlの三角フラスコに入れ、四塩化炭素200mlを加えて10分間浸漬する。四塩化炭素層に、にごりを生じたときには無水硫酸ソーダを入れて透明な液とす

る。四塩化炭素層をひだ付濾紙を用いて濾過し、一定量に希釈する。これよりマラソン 25~200 μ g を含む量を取り、四塩化炭素の量を 100ml に調節する。抽出液の濃縮は 80~90°C の湯せん上でゆるやかなエアージェットによるか、または 1 l のなす型フラスコに抽出液を入れ、蒸留水 200ml を加え、45~50°C の湯せん上で減圧蒸留して 100ml とし、室温に冷却後ひだ付濾紙を用いて 200ml の分液ロートに濾過する。以下検量線の場合と同様に操作して吸光度を測定する。ただし四塩化炭素による洗滌は、洗液中に波長 418m μ における植物体成分による吸光度がなくなるまで行なう。別に同様な操作により植物体によるブランクを求め、上記測定値より差引き、検量線よりマラソンの量を求め、次式より試料中のマラソンの ppm を算出する。

ppm マラソン =

$$\frac{\text{採取量中のマラソン}(\mu\text{g}) \times \frac{\text{全四塩化炭素抽出液}(\text{ml})}{\text{採取量}(\text{ml})}}{\text{試料}(\text{g})}$$

2.5 全残留量の定量法

定量法(I)

マラソンで処理された試料 50~100g をできるだけこまかく切り、2 倍量のメタノールおよび無水硫酸ソーダ 50g を加えてホモゲナイザーで 5 分間磨砕抽出する。これをグラスフィルター (25G-2) で吸引濾過し、メタノール 25ml でフィルター上の残渣を洗う。濾液に無水硫酸ソーダ 50g を加えて 5 分間放置する。これをグラスフィルター (25G-2) を用いて吸引濾過し、メタノール 25ml で残渣を洗う。濾液の容量をメスシリンダーで計り、マラソン 25~200 μ g を含む量を取り、クロマト管 (セラライト 545 をメタノールを用いて底部より 2cm の高さにつめ、その上に塩酸処理アルミナ 20g をメタノールを用いて流しこみ、メタノールをアルミナの上面 1cm の高さまで加圧流出させておく。) に注ぎ込み、1 分間 10ml の流速で加圧流出せしめる。メタノール抽出液がアルミナに没したら圧力を除き、メタノール 25ml を加えてマラソンを完全に加圧流出せしめる。流出液を分液ロートに移し、2 倍量の蒸留水を加えてよく振りまぜ、四塩化炭素 60 ml を加えて 1 分間はげしく振とうする。(四塩化炭素の分離が悪いときには硫酸ナトリウムを加えて分離を促進せしめる。) 四塩化炭素層をひだ付濾紙を用いて 200 ml の分液ロートに濾過し、さらに四塩化炭素 40 ml を加えてゆるやかに振りまぜ、四塩化炭素層を先きの分液ロートに濾過する。これに $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 4ml を加え 1 分間はげしく振りまぜ、以下 2.4 の方法と同様に操作して吸光度を測定する。クロマト管に注ぎ込むメタノール抽出液を 75 ml 以上用いた場合には、その増加量にほぼ比例した四塩化炭素で抽出し、2.4 の方法により 100ml に濃縮し、以下同様に操作して吸光度

を測定する。別に同様な操作により求めた植物体ブランクを差引いて検量線よりマラソンの量を求め、試料中のマラソンの ppm を算出する。

定量法(II)

定量法 I のメタノール抽出液 75ml 中のマラソンの量が 25 μ g より少ない場合には、全メタノール抽出液に 2 倍量の蒸留水を加えてよく振りまぜ、四塩化炭素 200 ml を加えて 1 分間はげしく振とうする。静置後、四塩化炭素層をひだ付濾紙を用いて 1 l のなす型フラスコに濾過する。さらに四塩化炭素 100ml を加えて 1 分間ゆるやかに振りまぜ、静置後四塩化炭素層を先きのなす型フラスコに濾過し、濾液を 2.4 の方法により 100ml に濃縮する。四塩化炭素層をひだ付濾紙を用いて定量法 I のクロマト管に移し、1 分間 10ml の流速で加圧流出せしめる。四塩化炭素液がアルミナに没したら圧力を除き、メタノール 25 ml を加えて同じ流速で加圧流出せしめる。流出液を 500ml の分液ロートに移し、2% 硫酸ソーダ溶液 (5°C 以下) 75 ml を加えて振とうし、静置後四塩化炭素層をひだ付濾紙を用いて 200 ml の分液ロートに濾過する。これに $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 4ml を加えて 1 分間はげしく振りまぜ、以下定量法 I と同様に操作してマラソンを定量し、ppm を算出する。

3. 実験の部

3.1 残留分析法の検討

2 の残留分析法は下記の諸条件を検討して得られたもので、定量条件、抽出法およびクリーナップ法について実験した。

3.1.1 定量条件

通常のマラソン残留分析法においては四塩化炭素中のマラソンを水酸化ナトリウム水溶液で分解している。四塩化炭素と水酸化ナトリウム水溶液を混ぜ合わせるために多量のエタノールを加える必要がある。筆者は前報で用いた水酸化カリウムエタノール溶液を四塩化炭素中のマラソンのアルカリ分解に適用し、操作簡便な定量法を検討した。このため、まず Norris の方法とほぼ同様な条件において、水酸化カリウムエタノール溶液を用いた場合の最適アルカリ濃度およびエタノール濃度を求め、つぎに両条件において適用し得る四塩化炭素の限界量を求めた。検量線の作成には分析操作が簡便でしかも残留分析に適した四塩化炭素量を用いた。

(I) アルカリの濃度：マラソン約 50 μ g を含む四塩化炭素溶液 50ml に、1N, $\frac{N}{2}$ および $\frac{N}{4}$ 水酸化カリウムエタノール溶液をそれぞれ 0.5, 1, 2.5, 5, 10 および 15ml を加え、さらにエタノールを加えてエタノールの全量を 15ml とし、1 分間はげしく振りまぜて分解し、2%

硫酸ソーダ溶液 (5°C 以下) 30ml を加え、以下 2.3 の方法により操作して吸光度を測定した。結果は第1表に示す如く、1N, $\frac{N}{2}$ および $\frac{N}{4}$ 水酸化カリウムエタノール溶液をそれぞれ 1~10ml, 1~10ml および 2.5~5ml を用いた場合に最大の吸光度が得られた。これより四塩化炭素 50ml, エタノール 15ml の混液中のマラソンは

Table 1. The effect of alkalinity on alkaline decomposition of malathion in carbon tetrachloride-ethanol solution.

Amount of ethanolic KOH sol.	Absorbance		
	Concentration of ethanolic KOH solution		
ml	1N	0.5N	0.25N
0.5	0.233	0.240	0.150
1.0	0.299	0.293	0.282
2.5	0.299	0.295	0.290
5.0	0.292	0.293	0.290
10.0	0.299	0.290	0.282
15.0	0.258		0.272

Malathion : 100 μ g, CCl_4 : 50ml.

最低約 0.01N のアルカリ濃度で完全に分解されることがわかる。ゆえにこの濃度の約 2 倍の濃度 0.019N を最適濃度として用いることにした。この濃度は $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 2ml を用いることに相当し、Norris らの方法における場合の約 $\frac{1}{2}$ の濃度である。

(2) エタノールの濃度 : マラソン 約 50 μ g を含む四塩化炭素溶液 50ml に、エタノール 0, 5, 10, 15 および 20ml を加え、 $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 2, 2.2, 2.3, 2.5 および 2.7ml をそれぞれ上記エタノール量の順に加えて、それぞれのアルカリ濃度をほぼ 0.019N とし、1分間はげしく振り混ぜて分解し、以下 2.3 の方法と同様に操作して吸光度を測定した。結果は第2表に示す如く、四塩化炭素 50ml 中のマラソンはアルカリ濃度 0.019N において、エタノール 2ml で完全に分解され、エタノールの量を余り多くすると吸光度が減

Table 2. Effect of ethanol content in carbon tetrachloride-ethanol solution on alkaline decomposition of malathion.

EtOH added ml	N/2 ethanolic KOH solution ml	Total EtOH ml	Absorbance
0	2.0	2.0	0.292
5	2.2	7.2	0.292
10	2.3	12.3	0.292
15	2.5	17.5	0.292
20	2.7	22.7	0.261

Malathion : 100 μ g, CCl_4 : 50ml.

少し。ゆえにエタノールは最少量用いることとし、四塩化炭素 50ml に対して $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 2ml を用いればエタノールの量が満足されるので、以下エタノールは特別に加えずに $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液のみを用いて分解した。

(3) 四塩化炭素量とアルカリ分解 : 以上の実験により四塩化炭素 50ml 中のマラソンは $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 2ml のみを用いて完全にアルカリ分解されることがわかったので、この比率を保ちながら四塩化炭素量を増加して、ほぼ同一条件の操作によりアルカリ分解に用いることのできる四塩化炭素量の限界を求めた。マラソン 約 100 μ g を含む四塩化炭素 50, 100, 150, 200 および 300ml をメタノール 25ml, 2% 硫酸ソーダ溶液 (5°C 以下) 75ml の混液で洗い、ひだ付濾紙を用いて分液ロートに濾過下し、 $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 2, 4, 6, 8 および 12ml を上記四塩化炭素量の順に加えて 1分間はげしく振り混ぜて分解し、以下 2.3 の方法と同様に操作して吸光度を測定した。結果は第3表に示す如く、四塩化炭素 50~300ml を用いてもほぼ一定の値が得られた。ゆえに四塩化炭素 50ml に対して $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液 2ml の比率を用いて、四塩化炭素抽出液を 300ml までほぼ同一条件で分析できることがわかる。

Table 3. The effect of quantity of carbon tetrachloride prewashed with methanolic Na_2SO_4 solution on alkaline decomposition of malathion.

N/2 ethanolic KOH solution ml	CCl_4 prewashed ml	Absorbance
2.0	50	0.260
4.0	100	0.260
6.0	150	0.258
8.0	200	0.258
12.0	300	0.260

Malathion : 100 μ g.

(4) 分解温度および時間 : 2.3 の方法におけるアルカリ分解におよぼす温度および時間について検討した。結果は第4表に示す如く、40°C 以上の温度では吸光度は減少し、分解時間は 0.5~2.5 分で最大吸光度が得られ、余り放置すると吸光度は減少しバラツキが多くなることがわかる。ゆえにアルカリ分解は室温で 1 分間が適当である。

(5) 検量線 : M. V. Norris らは畜産物中のマラソンの残留分析法³⁾において、アルカリ分解に四塩化炭素を 200ml 用いた場合についても報告しているが、分析操作上四塩化炭素量が少ないことが便利である。しかし濃縮の時間、操作などを考慮して、四塩化炭素 100ml

Table 4. Effects of temperature and time for alkaline decomposition of malathion in carbon tetrachloride-ethanol solution.

Temperature		Time	
Temp. (°C)	Absorbance	Time (min.)	Absorbance
0	0.140	0.5	0.316, 0.320
20	0.140	1.0	0.330, 0.340
40	0.120	2.5	0.315, 0.325
60	0.099	5.0	0.275, 0.292
Malathion : 50 μ g.		10.0	0.309, 0.237
Time : 1~2min.		Malathion : 111 μ g.	
		Temp : 10°C	

による検量線を使用することにした。2.3の方法により検量線を求めると、第1図および第5表の如くほぼ原点を通り、バラツキも6%以内である。

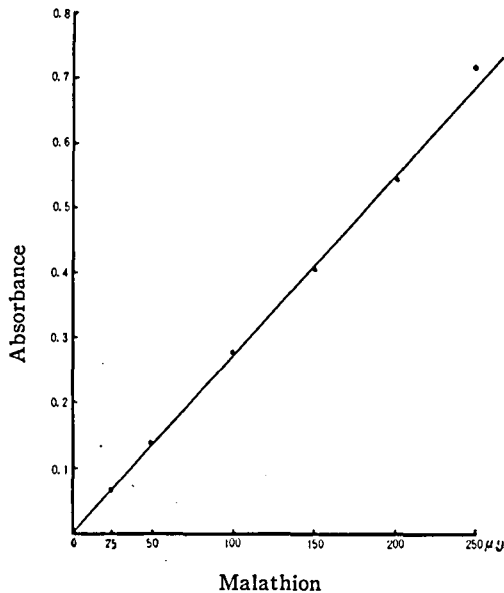


Fig. 1. Calibration curve

Table 5. Inspection of calibration curve.

Slope of regression line (b)	2.8369
Intersecting point of Y axis and regression line (a)	-0.0054
Standard deviation from regression line (s)	0.0156
Standard deviation of Intersecting point (s _a)	0.0150
$t_a = \frac{a}{s_a}$	0.36

$$n=6, t(n=5 : 0.05)=2.571$$

3.1.2 抽出法

表面残留量の抽出には H. W. Conroy⁶⁾の方法に順

じて行なったが、全残留量の抽出にはエタノールのかわりにメタノールを用いて検討した。いずれの場合においても、四塩化炭素を 100ml に濃縮してアルカリ分解するため、まず馬拉ソンの四塩化炭素液の濃縮方法について検討し、稲について表面および全残留量の回収試験を行なった。

(1) マラソン四塩化炭素液の濃縮方法：マラソン四塩化炭素液を 80~90°C の湯せん上で蒸留濃縮すると、回収率が50%以下となるので、次の方法について検討した。(a) マラソン約 50 μ g を含む四塩化炭素 100~200 ml を 45~50°C の湯せん上で 50ml に減圧濃縮する。(b) マラソン約 50 μ g を含む四塩化炭素 100~500ml を蒸留水または 0.5% ヒドロキシルアミン塩酸水溶液 200 ml でおおい、45~50°C の湯せん上で四塩化炭素を減圧蒸留して 50~100ml に濃縮する。(c) マラソン約 50 μ g を含む四塩化炭素 100~500ml を 20~30°C の湯せん中および 80~90°C の湯せん上でエアジェットにより 50~100ml に濃縮する。以上の方法を検討した結果は第6表に示す如く、(a)の方法では減圧しない場合と同様な低い回収率であったが、(b)、(c)の方法よりはそれぞれ 86~91%、87~98% のほぼ満足すべき回収率が得られた。

Table 6. Recovery of malathion from its carbon tetrachloride solution.

Procedure	Concentration ml	Recovery %
Distillation at reduced press.	100→50	65.0
	200→50	39.6
Distillation covered with water or 0.5% hydroxylamine hydrochloride sol. at reduced press.	100→50	91.0
	200→50	87.8
	500→50	85.7
Moderate air jet	100→50*	97.8
	200→50*	95.3
	300→100*	94.1
	300→100**	94.3
	300→100**	87.4

Malathion : 50 μ g, *: at 20~30C, **: at 80~90°C.

(2) 表面残留量の抽出法および回収率：稲体 50~100g を約 3 cm の長さになり四塩化炭素 200 ml 中にひたし、マラソン 25~50 μ g を加えて 10 分間放置する。これをひだ付濾紙を用いて濾過し、(b)の方法により 100ml に濃縮し、以下 2.4 の方法により回収率を求めた。結果は第7表に示す如く 87~94% の満足すべき回収率が得られた。

(3) 全残留量の抽出法および回収率：稲体約 50 g をできるだけ細かく切り、メタノール 100 ml、無水硫酸ソ

Table 7. Recovery of malathion from rice plant and chinese cabbage.

1. Rice plant

Extraction	Malathion μg		Recovery %
	Added	Found	
CCl_4 (Surface residue)	25.0	23.3	93.4
	50.0	47.8	93.8*
	50.0	43.4	86.8*
Methanol (Total residue)	25.0	21.2	84.7
	50.0	46.5	92.8
	100.0	102.0	102.0

Sample : 50~100 g.,

* Concentrated covered with water.

2. Chinese cabbage

Extract subjected to column	Eluting agent	Alumina g	Malathion μg		Recovery %
			Added	Found	
Methanol	Methanol	15	111.0	101.0	91.1*
		15	111.0	104.0	93.8*
		30	111.0	103.0	92.8*
		15	111.0	84.0	75.6
		30	111.0	99.0	89.2
		20	92.0	92.0	100.0*
		20	44.0	44.0	100.0
		20	111.0	88.0	79.2
		20	111.0	101.0	91.1
		20	111.0	107.0	96.4
CCl_4	Methanol	20	110.5	103.0	93.8**
		20	110.5	110.5	100.0**
		20	55.3	51.2	92.6**

Sample : 100g,

* Absorption test of acid-washed alumina.

** Concentrated covered with water.

ーダ50 g およびマラソン 25~100 μg を加えてボモゲナイザーで磨砕抽出する。これをグラスフィルター (25 G-2) で吸引濾過し、2 倍量の蒸留水を加えてよく振り混ぜ、四塩化炭素 200 および 100ml で 2 回振とう抽出する。四塩化炭素層をひだ付濾紙を用いて濾過し、(c)の濃縮法により 100ml とし、以下 2.4 の方法により回収率を求めた。結果は第 7 表に示す如く 85~102 % の満足すべき結果が得られた。

3.1.3 クリーナップ法

稲におけるマラソンの残留量を定量するためには、以上の方法により満足すべき回収率が得られることが解かったが、白菜においてはメタノール抽出液中に多量の植物体成分が抽出され定量がしばしば妨害された。Bates ら⁷⁾は米糠および大麦中のマラソンの定量に塩酸処理アルミナによるクロマトグラフィーを行ない、良い回収率が得られることを報告している。この例にならない白菜のメタノール抽出液および四塩化炭素

抽出液に塩酸処理アルミナによるクロマトグラフィーを適用して回収率を求めた。

(1) メタノール抽出液にクロマトグラフィーを適用した場合の回収率：白菜約 100 g にメタノール 200ml, 無水硫酸ソーダ 50 g を加え、マラソン 111 μg を添加してホモゲナイザーで磨砕抽出する。これをグラスフィルター (25G-2) で吸引濾過し、無水硫酸ソーダ約 50g を加えて約 5 分間放置し、見掛け水分含量を抽出液の容量で秤り 20%以下にする。以下 2.5 (1)の方法と同様に操作して塩酸処理アルミナのクロマト管を通し回収率を求めた。結果は第 7 表に示す如く 76~94%のほぼ満足すべき回収率が得られた。

(2) 四塩化炭素抽出液にクロマトグラフィーを適用した場合：白菜約 100g にメタノール 200ml を加え、マラソン 44~111 μg を添加して、無水硫酸ソーダ 50 g を加えた場合と加えぬ場合とについて磨砕抽出した。これをグラスフィルター (25G-2) で濾過し 2 倍量の蒸留水を加えて、四塩化炭素 200 および 100ml で 2 回抽出し、以下 2.5 (2)の方法と同様に操作して塩酸処理アルミナのクロマト管を通し回収率を求めた。結果は第 7 表に示す如く 79~100 % の満足すべき回収率が得られた。

以上の検討実験により 2 の残留分析法はほぼ満足すべきものであることがわかったので、稲および白菜の残留量の定量に適用した。

3.2 稲および白菜における残留量の定量

稲 (豊林 1 号) は当所の圃場に設置されたコンクリート框 (0.6×0.6×0.6m) に植えられたものを用いた。各框には 9 株の稲が植えられ、実験の当初における平均の稲丈、分けつ数および重量はそれぞれ 45 cm, 10 および 10 g であった。実験は 8 月 23 日, 10 月 3 日および 10 月 10 日の 3 回行なった。使用したマラソン乳剤は 95 % 工業用マラソン原体 52.7%, Sorpol 2030 47.3% よりなるもので、この 2,000 倍液を框当たり 0.14 l 散布した。これは 10 アール当たり 312 l の使用量となる。白菜 (京都 3 号) は当所の圃場に植えられたものを用い、実験当時における平均草丈は約 30 cm であった。実験は 12 月 11 日より行ない、同マラソン乳剤の 1,000 倍液を、1 株当たり約 50ml 散布した。また温度の影響をみるために株当たり 2,000 倍液を同量散布し、素焼の植木鉢 (0.25×0.25m) に移植し、30°C の孵卵器中に保温した。各実験を通じ散布回数は実験当初に 1 回行ない、試料を無作意に取り、マラソンの残留量を定量した。定量は稲においては表面および全残留量について行ない、白菜については全残留量のみについて行なった。実験結果は第 8, 9 表および第 2, 3 図に示す如く、いずれの場合においても速やかなマラソンの消失が見られた。

Table 8. Malathion residues on and in rice plants treated on different seasons.

Time after application	August 23		October 3				October 10			
	Residue surface ppm	Disappearance %	Residue surface ppm	Total ppm	Absorbed or penetrated ppm	Disappearance %	Residue surface ppm	Total ppm	Absorbed or penetrated ppm	Disappearance %
0 hr.	(20.0)*			20.5		0		25.3		0
1	10.5	47.5	6.2	12.9	6.7	37.0	25.6	25.7	0	0
2	4.3	78.5								
4	2.9	85.5								
5							13.8	19.1	5.3	24.3
6	1.3	93.5								
1 day	0.6	97.0	3.8	5.5	1.7	73.2	8.1	9.9	1.8	61.0
2			1.5	1.4	-0.1	93.2	1.7	3.2	1.5	87.4
4			0.3	1.1	0.8	94.6	1.1	2.9	1.8	88.4
6							0.5	1.4	0.9	95.0

* Initial deposit presumed from other experimental results.

Table 9. Malathion residues on and in chinese cabbage treated in the field on December and in the incubator at 30°C.

Time after application	In the incubator		In the field	
	Total residues ppm	Disappearance %	Total residues ppm	Disappearance %
0 hr.	11.4	0	32.5	0
3	7.2	36.8	30.2	7.0
6	6.5	43.5	28.0	13.8
1 day	5.4	54.4	17.0	47.7
2	0.5	95.6	16.0	50.8
4			8.4	74.2
6			7.4	77.3

Field : 0.05%, Incubator : 0.025%

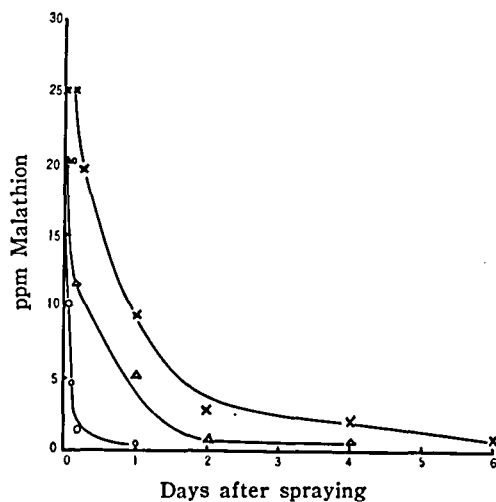


Fig. 2. Disappearance of malathion residues on and in rice plants sprayed with malathion emulsion on August 23, October 3, and October 10.

○: Surface residues sprayed on August 23, △: Total residues sprayed on October 3, ×: Total residues sprayed on October 10.

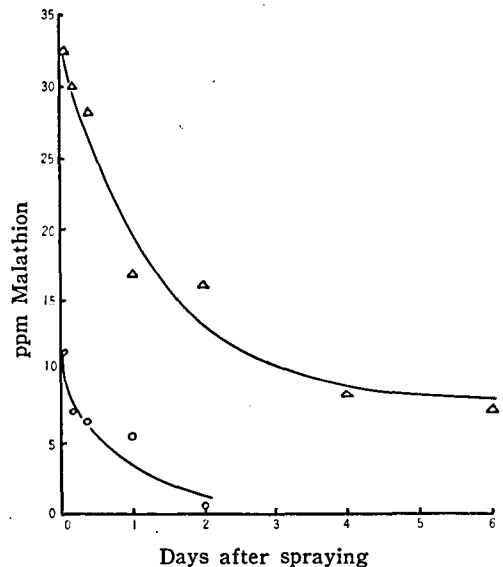


Fig. 3. Disappearance of malathion residues on and in chinese cabbages sprayed with malathion emulsion in the field on December and in the incubator at 30°C. ○: Total residues (incubator), △: Total residues (field).

4. 実験結果および考察

4.1 定量方法について：前報⁹⁾においてマラソンはエタノールおよびメタノール中でそれぞれ $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液および同規定のメタノール溶液により定量的にアルカリ分解されることを示したが、今回は四塩化炭素中においても、マラソンは $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液を用いて容易にアルカリ分解され、さらに同試薬を四塩化炭素量に比例して用いることにより、マラソンを含む四塩化炭素を300mlまでアルカリ分解に用いて定量することができることを示

した。これはさらにアルカリ分解条件を検討すれば、300ml以上の四塩化炭素抽出液を濃縮せずにマラソンを定量することが可能であることを示すものである。通常ジメチルジチオ磷酸の水溶液は不安定であるとされているので、発色直前の四塩化炭素を含むジメチルジチオ磷酸水溶液について、温度および放置時間による影響を検討したが、10~25°Cで1時間、0~5°Cで6時間放置してもほとんど影響はみられなかった。しかし温度が高くなるに従って多少吸光度が減少するので、温度による影響を少なくするためと操作上の便宜のために、発色直前にほぼ一定の低温(5~10°C)に保つことにした。Norrisら²⁾は植物体中のマラソンの全残留量を蒸留水のみを加えて磨砕抽出しているが、この方法によると酵素によるマラソンの分解、抽出操作の煩しなどが考えられるので、Conroyの方法にならいメタノールを用いて磨砕抽出した。しかし稲体は強靱であるため無水硫酸ソーダを加えて磨砕した。表面残留量を四塩化炭素により抽出する場合、抽出時間を永くするに従って表皮中に吸収されたマラソンが抽出されることが考えられるが、これについては検討せずConroy⁶⁾の方法に従った。本実験に用いた塩酸処理アルミナはKolbezen and Reynolds¹³⁾の例にならって塩酸処理し、130°Cで3~4時間乾燥し、室内に1~2時間放置したものである。このアルミナの活性度は大体Brockmann scaleの1~2に相当した。この塩酸処理アルミナによるクロマトグラフィーにより白菜の定量妨害物質は完全に除かれ、白菜100gよりのブランクはマラソン約2 μ g相当であった。稲のメタノール抽出液においても、クロマトグラフィーを行わずに分析すると、植物体ブランクの洗滌に四塩化炭素を約200ml(約5~6回の洗滌)を必要とするので、塩酸処理アルミナによるクロマトグラフィーを適用すると洗滌による煩わしさを軽減することができる。メタノール抽出液をクロマト管に通す場合、アルミナが流出液中に漏れるのを防ぐためにCelite 545を用いたが、抽出液中の水分含量が余り多いと、水合を吸収して抽出液の流下速度を遅くするので、脱水する必要がある。2.5.1の脱水操作により、メタノール抽出液中的見掛け水分含量は約19%となるが、Laws and Webley¹⁴⁾が15%の水分を含ませたアルミナをマラソンに適用している例からみて、この程度の水分含量はほぼ適当なものと考えられる。

4.2 稲および白菜における残留量について：白菜についてのマラソンの許容量はアメリカのFDA許容量にも記載がなく、また残留量についての報文もみられない。KaleとCollardsに対するマラソンのFDA許容量は8ppmとされており、Waitesら¹⁵⁾はCollardsに10アール当りマラソンとして114gを2回散布した場

合、最後の散布より3日後におけるマラソンの残留量は3.9ppm以上より大きくないことを報告している。白菜においては、10アール当り50%マラソン乳剤の1,000倍液および2,000倍液をそれぞれ108/散布した場合のマラソンの付着量は、32.5および11.4ppmで、12月の圃場において1,000倍液を散布した白菜中のマラソン残留量の変化は、第9表および第3図に示す如く、2日で $\frac{1}{2}$ 量になり、6日後には7.4ppmで約23%が残っていた。一方30°Cの解卵器中の2,000倍液を散布した白菜における残留量の変化は、1日で約 $\frac{1}{2}$ 量となり、2日後には0.5ppmに減少し90%以上が消失した。

米についてのマラソンのFDA許容量は、他の作物における場合と同様に8ppm以下とされている。富沢ら¹⁶⁾は³²Pラベル付マラソンを用いて稲体に処理されたマラソンの動行を調べた結果、マラソンはすみやかに植物体内に浸透し、分解して、3日後にはマラソンは検出されないことを示した。このたびの実験においても、第8表、第2図に示す如く、富沢らとほぼ同様な結果が得られ、50%マラソン乳剤の2,000倍液を10アール当り312/散布した場合の付着量は大体20~25ppmで、その消失速度は非常に速やかであった。表面残留量は夏期において、1日で90%以上消失し、秋においては4~6日後に90%以上の消失がみられた。一方全残留量は秋期において約半日で $\frac{1}{2}$ 量となり、4~6日後には90%以上消失した。全残留量より表面残留量を引いて吸収浸透量とし、その消長をみると、秋期において散布直後数時間内に最大量に達し、2~5時間後に21~33%、5.3~6.7ppmのマラソンが検出され、1日後には7~8%に減少した。その後吸収浸透量は徐々に減少し4~6日後には約4%になった。ただし表面残留量は四塩化炭素で10分間に抽出されるもので、表皮中に吸収されたマラソンの一部を含むものと思われる。一方植物体によらない消失量をみるため、時計皿に50%マラソン乳剤の2,000倍液を0.1ml入れ、9月における日射の影響を同時期における稲体上での消失量と比較してみた。結果は第4図の如く時計皿上では6時間後に約5%前後の消失量で稲体上における場合の約 $\frac{1}{4}$ の消失速度であった。したがって作物体に散布されたマラソンはほとんど植物体に吸収されて酵素的に分解されるものと考えられる。これらの消失機構をGunther-Blinn¹⁷⁾の方法に従って解析すると第4~6図の如くなる。第5図は稲体におけるマラソンの分布および消失の様子を示すもので、内部吸収浸透量は短時間後に最大量に達するが、植物体酵素により最も急な消失勾配により急激に減少した後勾配の小さな安定相に移る。表面残留量は初期のすみやかな吸収浸透による消失の後、内部吸収浸透量の安定相の勾配より大きな勾配により消失してゆく。全残留量の消失曲線は

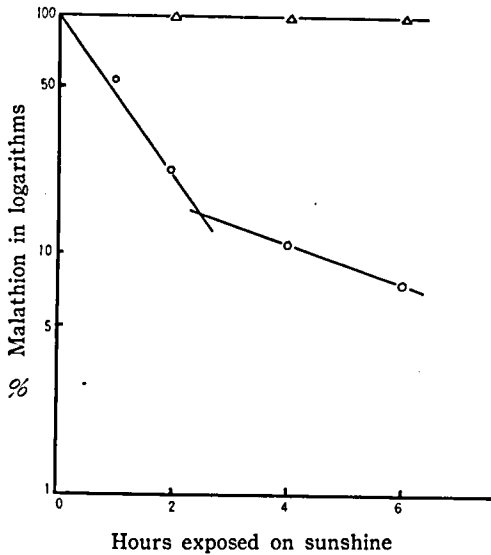


Fig. 4. Effect of sunshine on disappearance of malathion deposited on watch glasses and rice plants. Δ : watch glasses, $\circ$: rice plants.

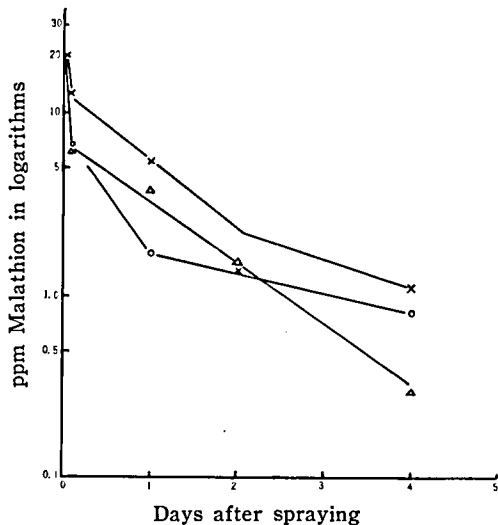


Fig. 5. Residual behavior of malathion on and in rice plants sprayed with malathion emulsion on October 3. $\times$: Total residues, Δ : Surface residues, $\circ$: Residues absorbed or penetrated.

これらの合成されたものになっている。第6図は夏期と秋期における表面残留量の消失を比較したもので、初期の吸収浸透は温度により促進されることがわかる。以上の結果を総合して消失機構を考えると次の如くなる。作物体に散布されたマラソンは気温に比例して表皮内に速やかに吸収浸透し、表皮の吸収能力をこえて浸透したものは速やかに酵素により分解される。表

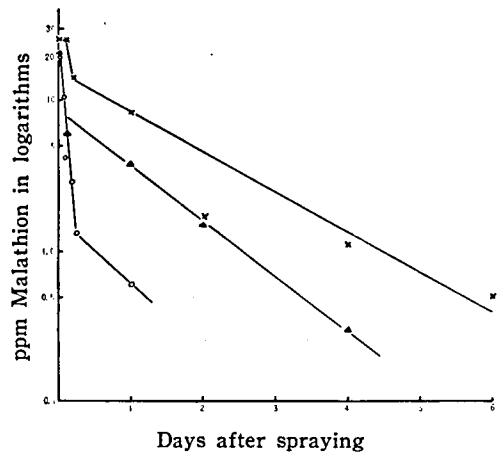


Fig. 6. Comparison of behaviors of surface residues on rice plants sprayed with malathion emulsion on August 23 ($\circ$), October 3 (Δ), and October 10 ($\times$).

皮に吸収されたものは、その濃度に比例して蒸散と表皮下層における酵素作用により徐々に消失される。以上の結果をより簡明に表現するため、残留量の対数の対数を経過日数に対して片対数グラフ上に作図することを試みた。結果は第7図に示す如くほぼ直線性があると思えたので回帰方程式を求めると第10表の如くな

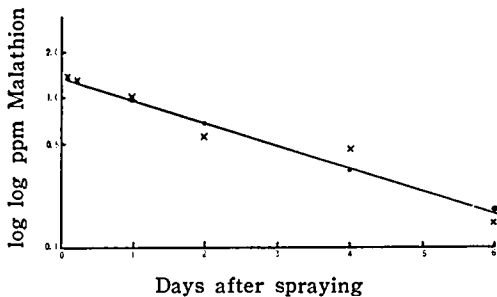


Fig. 7. Regression line between log log ppm malathion total residues and days elapsed after spraying with malathion emulsion on rice plants on October 10.

$\times$: determined, $\bullet$: calculated.

る。第1項は Gunther-Blinn の有効付着量に相当するものであるが、吸収相、分解相および安定相の3相をほぼ満足する如く算出されてあるため、実際の付着量よりは多くの場合小さい値であるが、Gunther-Blinn の有効付着量よりは大きい値になると考えられる。第2項の係数は勾配で、一次反応の速度恒数に相当し、温度に比例して大となり、また表面残留量の勾配は全残留量の勾配より大きな値をとる。これはマラソンの消失が気温により促進され、表面残留量の消失

Table 10. Regression equation of $\log \log 10 \times \text{ppm}$ residue-time, half-life value, and persisting days to 0.5ppm of malathion on and in rice plant and chinese cabbage.

Date	Regression equation	Half-life value		Persisting days to 0.5 ppm.
		Equation day	Method of Gunther-Blinn day	
Aug. 23	$\log \log Y=0.269-0.414 T$ (surface)	0.2	...	1.0
Rice plant	Oct. 3 $\log \log Y=0.328-0.089 T$ (Total)	0.8	1	5.4
	$\log \log Y=0.337-0.158 T$ (surface)	0.5	...	3.1
	Oct. 10 $\log \log Y=0.356-0.053 T$ (Total)	1.2	1	7.7
	$\log \log Y=0.362-0.089 T$ (surface)	0.7	...	5.8
Dec. 11				
Chinese (30°C)	$\log \log Y=0.362-0.262 T$ (Total)	0.2	...	2.0
cabbage (field)	$\log \log Y=0.393-0.0236 T$ (Total)	2.4	4	23.2

Y: 10×ppm malathion, T: Days elapsed.

は全残留量よりも速やかなことを示すものである。これらの回帰方程式より半減期を求めると第10表の如く Gunther-Blinn の有効付着量より求めたものよりもやや小さい値が得られた。また実際に害虫に対して有効な残留量を 0.5ppm と仮定して、残効期間を式より計算すると第10表の如く、表面残留量は全残留量より、また高温の季節は低温の時期よりも残効期間が短かいことがわかる。なお半減期は、

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\log \log 10 \times a - \log \log \frac{10 \times a}{2}}{K} \quad (a = \text{理論付着量}, K = \text{式の時間系数})$$

より求めた。以上求めた回帰方程式は一の式で半減期、有効残効期間および消失機構の概要を知ることができるので便利なものと考えられる。

5. 摘 要

- (1) M. V. Norris のマラソン残留分析法における定量法に、 $\frac{N}{2}$ 水酸化カリウムエタノール溶液を適用し、定量操作を簡便にした残留分析法により、稲および白菜におけるマラソンの残留量を定量した。
- (2) 抽出、クリーナップには H. W. Conroy の方法を用いた。ただし抽出溶媒にはメタノールを使用し、定量妨害物質が含まれる白菜抽出液には塩酸処理アルミナのクロトマグラフィーを適用した。この方法による稲および白菜よりの回収率は、それぞれ 85~102% および 76~100% であった。
- (3) 稲に 50% マラソン乳剤の 2,000 倍液を散布し、表面および全残留量を定量した。付着量は約 20~25ppm で、秋における全残留量の半減期は約 1 日で、4~6 日後には約 1 ppm となり 90% 以上が消失した。表面残留量は、夏では 1 日で 90% 以上が消失したが、秋には 4~6 日後に 90% 以上の消失がみられた。吸収あるいは浸透量は散布直後数時間で最大量に達し、1 日で 7~8%、4~6 日後には約 4% に減少した。
- (4) 冬期、圃場の白菜に 50% マラソン乳剤の 1,000 倍

液および 2,000 倍液を散布し、2,000 倍液を散布したものは 30°C に保温し、全残留量を定量した。30°C における半減期は約 1 日で、2 日後には 0.5 ppm となり 90% 以上消失した。圃場における半減期は約 2 日で、6 日後には 7.4 ppm となり約 80% が消失した。

- (5) 残留量の対数の対数と経過日数とより回帰方程式を求め、消失機構についての簡明な表現法を試みた。式の勾配より消失は温度により促進されることがみられた。式より求められた半減期は Gunther-Blinn の有効付着量より求めたものよりもやや小さく、0.5ppm の残留量に低下する期間は表面残留量は全残留量よりも、高温時は低温の時期よりも短かい値が得られた。

文 献

- 1) Koivistoinen, P.: *Ann. Acad. Sci. Fennicae Ser. A IV, Biol.* 51 (1961)
- 2) Norris, M. V., Vail, W. A., and Averell, P. R.: *J. Agr. Food Chem.*, 2, 570 (1954)
- 3) Norris, M. V., Easter, E. W., Fuller, L. T., and Kochar, E. J.: *J. Agr. Food Chem.*, 6, 111 (1958).
- 4) Norris, M. V., and Kuchar, E. J.: *J. Agr. Food Chem.*, 7, 488 (1959)
- 5) 山内正雄, 田中文隆: 防虫科学 30, 18 (1964)
- 6) Conroy, H. W.: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 40, 230 (1956)
- 7) Bates, A. N., Rowlands, D. G., and Harris, A. H.: *Analyst*, 87, 643 (1962)
- 8) Westlake, W. E., and Butler, L. I.: *J. Econ. Entomol.*, 46, 850 (1953)
- 9) Blinn, R. C., and Carman, G. E., Ewart, W. H., and Gunther, F. A.: *J. Econ. Entomol.*, 52, 42 (1959)
- 10) Koivistoinen, P., and Roine, P.: *Maataloustie-*

- teellinin Aikakauskirja, 31, 294 (1959)
- 11) Rowlands, D. G. : *J. Sci. Fd Agric.*, 15, 824 (1964)
 - 12) Rowlands, D. G. : *J. Stored Prod. Res.*, 1, 101 (1965)
 - 13) Kolbezen, M. J., and Reynolds, H. T. : *J. Agr. Food Chem.*, 4, 522 (1956)
 - 14) Laws, E. Q., and Webley, D. J. : *Analyst*, 86, 249 (1961)
 - 15) Waites, R. E., and Van Middelem, C. H. : *J. Econ. Entomol.*, 51, 306 (1958)
 - 16) Tomizawa, C., Sato, T., Yamashina, H., and Kubo, H. : *Botyu-Kagaku*, 25, 99 (1960)
 - 17) Gunther, F. A., and Blinn, R. C. : *Analysis of insecticides and acaricides*, Interscience Publishers, New York-London (1955)

Summary

In order to simplify the analysis of malathion, ethanolic potassium hydroxide solution was adopted for hydrolysis of malathion in carbon tetrachloride solution. This improved method was applied in determining malathion residues in the rice plant and the chinese cabbage.

For the extraction of the residues, methanol

was used as a solvent. In the residue determination of the chinese cabbage extracts, clean-up by chromatography on acid-washed alumina was efficient to isolate malathion. The proposed analytical method is able to determine as small as about 0.25 ppm of malathion contained in plant materials.

Some field tests were undertaken to determine malathion residues sprayed on rice plants and chinese cabbages. When 0.025% malathion emulsion was applied to rice plants in autumn, 1.4 ppm of malathion was remained in the rice plants after 6 days. It shows that more than 90% of malathion deposited was disappeared within 6 days. When 0.05% malathion was applied to chinese cabbages in winter, 7.4 ppm was remained after 6 days. More than 75% was disappeared.

To estimate half-life value and effective period to insects, regression equations were calculated by $\log \log 10 \times \text{ppm malathion residues and days elapsed after applications}$. The half-life values calculated were smaller than those by Gunther-Blinn's method. From the slope of the equations, the disappearance of malathion on and in plants is faster under higher temperature.

Systemic Insecticidal Properties of Certain Organic Phosphorus Compounds to the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* Sulzer, and the Tobacco Cutworm, *Prodenia litura* Fab. Tetsuo SAITO and Hachiro HONDA (Laboratory of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, Nagoya University, Anjo, Aichi, Japan.) Received February 11, 1966. *Botyu-Kagaku* 31, 77. 1966

11. モモアカアブラムシおよびハスモンヨトウに対する有機燐化合物の浸透殺虫力について 斎藤哲夫・本多八郎 (名古屋大学農学部害虫学教室 愛知県安城市) 41. 2. 11 受理

現存の浸透殺虫剤は吸収性口器を有する害虫には有効であるが、咀嚼やく性口器を有する害虫には効果が低い。咀嚼やく性口器を有する害虫に有効な浸透殺虫剤を探索するためにモモアカアブラムシおよびハスモンヨトウをもちいて各種有機燐化合物のカンラン苗における浸透殺虫力をしらべた。

現存の浸透殺虫剤および大部分の供試化合物はハスモンヨトウよりもアブラムシに有効であったが、Comp. No. 2662, O, O-dimethyl dichlorohydroxyethyl phosphonate, その acetyl 化合物, dipterex およびその ethyl methyl 体はアブラムシよりもハスモンヨトウに強い浸透殺虫力を示した。

Introduction

Systemic action has long been recognized as a desirable character in insecticides, and many efforts have been done to find such insecticides. The first practically useful toxicants of this general class have been certain compounds of

selenium (Hurd-Karrer and Poos 1936). The high toxicity of selenium compounds to mammals prevented their use for food crops. They were used against only insects on florist crops in a greenhouse. The next major development in this field was discovery of two systemic organophosphates,