

Studies on Synergist for Insecticides XVI. On the Colorimetric Determination of Egonol. Supplementation. Hiromichi MATSUBARA (Dept. of Agr. Chem., Faculty of Agr., Gifu University) Received April 28, 1954. *Botyu-Kagaku* 19, 58, 1954. (with English résumé, 61)

9. 農薬の共力剤に関する研究(第16報) エゴノール比色定量法, 補遺 松原弘道  
(岐阜大学 農学部 農芸化学教室) 29. 4. 28. 受理

分光々電光度計による egonol の比色定量法を研究し, 最適測定波長及び濃度を決定し, 干渉物質の影響をしらべた。

先に著者<sup>①</sup>は川合<sup>②</sup>の egonol 反応に基く egonol の一新比色定量法を創案したが, これ等は総て Duboscq の比色計を用いての研究であつた。其後比色定量に於ける分光々電光度計の適用が益々普遍化の状態にあり, 又其後塗附線香中の egonol を定量した際, 素地線香中に混在する線香の着色料である malachite green が egonol 抽出液中に混入し, 比色定量に障害を与へ易いのを観察したので, 分光々電光度計による egonol の比色定量法を検討するため, 検体量と呈色度との標準曲線を求め LAMBERT-BEER の法則の適合性並に最適測定濃度を決定し, 呈色物質である nor-egonolonidine の外不純物として混入の機会が多いエゴ油不鹸化物及び malachite green の吸収スペクトルを測定し, egonol の比色定量に適当な波長を決定し, 更に呈色の安定度, malachite green 及び egonol 以外のエゴ油不鹸化物の定量に及ぼす影響について研究したので此処に報告する。

## 実 験

### I. 供 試 薬 剤

- egonol エゴ油不鹸化物から分離した粗 egonol をメタノールから1回, エーテルから1回, 更にメタノールから2回再結して得た mp 118~119° の結晶
- nor-egonolonidine acetate 第3報<sup>①</sup>にて用いたものと同一結晶にて mp 182~183°
- エゴ油不鹸化物 昭和29年岐阜県長島町産エゴ油を酒精加里で鹸化し, エーテルにて抽出したもので, egonol の粗結晶を含む淡黄色の半流動体。収率は原油に対し 17.6%, egonol 含量は 35.6%
- malachite green 片山化学製顕微鏡用試薬。
- 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 市販の化学用純品。
- 精製醋酸 市販の醋酸に無水クロム酸を加へ煮沸後2回精溜を行つた bp 118° のもの。

### II. Nor-egonolonidine acetate, malachite green, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理 Malachite green 及び エゴ油不鹸化物の吸収スペクトルの測定

Nor-egonolonidine acetate は M/30000(0.0123

mg/cc), malachite green は 0.0232mg/cc(2C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>·3C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub> として M/40000), エゴ油不鹸化物は 150mg/cc の濃度の醋酸溶液とし, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理 malachite green は 4.63mg/cc(M/200) の濃度の malachite green の醋酸溶液に 15% 容量に相当する 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を加へ 80° 重蒸餾中で 15 分加熱後冷却したもので, 各溶液を日立製 EPB-A 型分光々電光度計で(液層 10mm) 其の可視部の吸収スペクトルを測定したところ, 第1図の如き結果を得た。

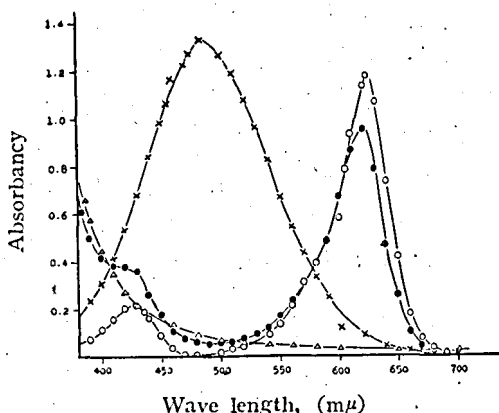


Fig. 1. Absorption spectrum of acetic acid solutions of nor-egonolonidine acetate, malachite green and unsaponifiables of ego seed oil, and of malachite green treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. —x— nor-egonolonidine acetate; 0.0123mg/cc, —○— malachite green; 0.0232mg/cc, —●— malachite green treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 4.63mg/cc, —△— unsaponifiables of ego seed oil; 150mg/cc: 10mm cell.

即ち夫々の最大吸収は nor-egonolonidine acetate は 486 mμ, malachite green は 428 及び 622 mμ, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理 malachite green 620.5 mμ, エゴ油不鹸化物は 380 mμ より短波長側に夫々存在する。egonol の比色定量の際の呈色物質である nor-egonolonidine acetate の吸収スペクトルについては既に川合等<sup>③</sup>の

研究があり、最大吸収点の波数は 2058(485.9 $\mu$ ) 及び 3446(290.2 $\mu$ ) と報告しているが、前者は本実験に於ける 486 $\mu$  とよく一致する。この 486 $\mu$  に於ける malachite green,  $\text{H}_2\text{O}_2$  処理 malachite green 及び エゴ油不純化物の吸収スペクトルを見ると、これ等三者の吸収は極めて少なく、又実際に egonol の比色定量の際の測定液中に於けるこれ等物質の存在量は本スペクトル測定の際の濃度より一般に遙かに小であり、これ等の吸収による影響は殆んど考慮を要しないので、egonol の比色定量の場合の波長は可視部では 486 $\mu$  を最も適当とするものと考へられる。

尚 malachite green の醋酸溶液を  $\text{H}_2\text{O}_2$  にて処理する時は著しい褪色を示し、其の呈色度は元の約 1/200 となり、622 $\mu$  の最大吸収は僅かに短波長側に移動し、又 428 $\mu$  の最大吸収は失はれ、これより短波長側に最大吸収が出現する。

### III. 標準曲線

第3報<sup>(1)</sup>にて報告した様に egonol の比色定量の際の最適発色条件は検体を含む醋酸溶液に其の 10% 容量に相当する 35%  $\text{H}_2\text{O}_2$  を添加し、重湯煎中で 80°, 15 分間加熱する事であつたが、現在  $\text{H}_2\text{O}_2$  は 30% 含量の市販品が多く、又 35% 品は放置により  $\text{H}_2\text{O}_2$  の含有量の低下のおそれが多いので、市販の 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  を用ふる事とし、第3報にて示された様に検液の 15 容量 % 添加して以後同様に処理する事とした。

egonol の濃度と吸光度の関係を示す標準曲線を求める為、1cc 中に夫々 2.00, 1.73, 1.50, 1.27, 1.00, 0.75, 0.64, 0.50, 0.33, 0.25, 0.20, 0.17, 0.13 及び 0.08mg の egonol を含有する醋酸溶液 3cc を小型試験管に採り、これに 0.45cc の 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  を加へ前記の方法にて呈色せしめ直ちに水冷後分光電光度計により波長 486 $\mu$ 、液層 10mm にて其の吸光度を求めたところ第2図の様な結果を得た。

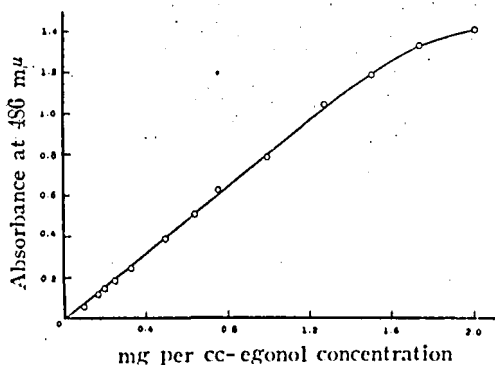


Fig. 2. Standard curve of relation of egonol concentration to absorbance.

即ち 0.3~1.3mg/cc の濃度範囲では濃度と吸光度との関係は直線的であるが、0.3mg/cc 以下及び 1.3mg/cc 以上の濃度では直線性が失はれる。従つて上の濃度範囲内では LAMBERT-BEER の法則が成立するから、egonol の定量に於ては醋酸中に於ける egonol は 0.3~1.3mg/cc の濃度範囲で行ふべきである。

### IV. 呈色の安定度

第3報<sup>(1)</sup>にて 35%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、10% 容量添加の場合の呈色の時間的变化を Duboscq 比色計にて観察した結果について報告したが、褪色の原因は過剰の  $\text{H}_2\text{O}_2$  による furane 核の開裂によるものであり、本実験と前実験とは  $\text{H}_2\text{O}_2$  の濃度が異なるので、30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、15% 容量添加、80°, 15分間加熱の条件下の呈色の安定度を分光電光度計(波長 486 $\mu$ 、液層 10mm、液温 18.5°)にて観察し第3回の如き結果を得た。

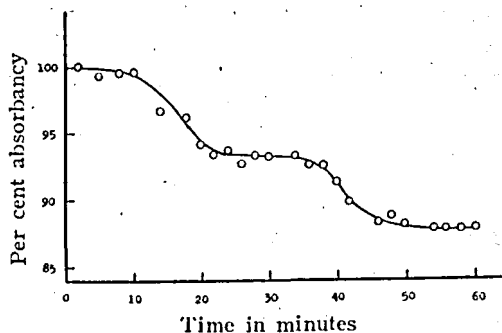


Fig. 3. Stability of color

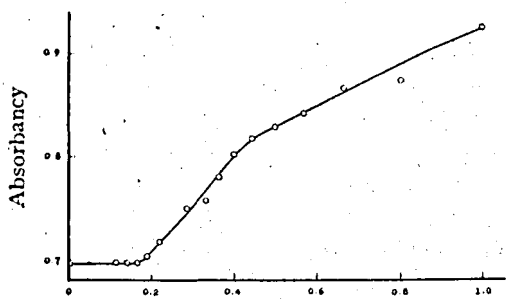
即ち前報と同様に発色後10分間は呈色度の変化が認められず、其後徐々に階段的に褪色し、1時間後には最大呈色度の 88% となる。従つて比色測定は発色後 10分以内に行ふのが望ましい。

### V. 干渉物質の影響

#### 1. 定量に及ぼす Malachite green の影響

Malachite green は蚊取線香の着色料として常用せられているものであるが、第6報<sup>(1)</sup>に於て egonol 塗附線香中の egonol を定量した際、測定液中に少量の malachite green が混入し比色定量に困難を来したので、本色素の定量に及ぼす影響について研究した。即ち 1cc 中に egonol を 0.85mg 含有する醋酸溶液に egonol の夫々 4, 2, 4/3, 1, 4/5, 2/3, 4/7, 1/2, 4/9, 2/5, 4/11, 1/3, 2/7, 2/5, 1/4, 2/9, 1/5, 1/6, 2/13, 1/7, 2/15, 1/8 及び 1/9 倍量の malachite green を加へ前述の様な条件で発色せしめ、波長 486 $\mu$ 、液層 10mm で其の吸光度を求め第4図の様な結果を得た。

即ち malachite green は egonol の量の 1/6(0.167 倍)迄共存しても定量に影響を及ぼさない事が示され



Marachite green, times for egonol (0.85mg/cc)

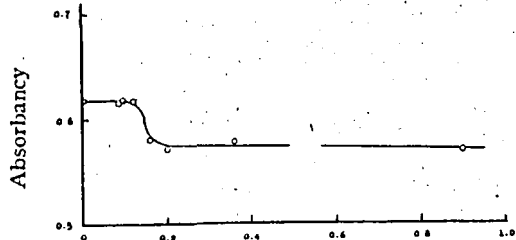
Fig. 4. Effect of varying amount of malachite green.

ている。

尙前述の如く egonol の比色に用ふる波長  $486m\mu$  では malachite green 及び  $H_2O_2$  にて処理した malachite green の吸光度は極めて少なく、又 malachite green 着色の蚊取線香中から測定液中に混入する malachite green の量は実際に少量であるので、分光々電光度計による egonol の定量では malachite green の影響は殆んど無視出来るものと考へられる。

## 2. 定量に及ぼす Egonol 以外のエゴ油不鹸化物の影響

Egonol を実際 pyrethroid の共力剤として使用する場合、純 egonol の結晶として使用する事は稀で不鹸化物との混合物として用ひられる機会が多いと考へられるので、egonol の定量に及ぼすエゴ油中の egonol 以外の不鹸化物の影響を研究する為、35.6% の egonol を含有するエゴ油不鹸化物の醋酸溶液中に所含 egonol の 1~20 倍に相当する egonol を溶解せしめ、測定液中に於ける egonol の濃度を全部  $0.75mg/cc$  とし、前記条件にて発色せしめ、其の吸光度を測定したところ第5図の様な結果を得た。



Unsaponifiables of ego seed oil except egonol, times for egonol (0.75mg/cc)

Fig. 5. Effect of varying amount of unsaponifiables of ego seed oil except egonol

此の際原エゴ油不鹸化物中の純 egonol 以外の不鹸化物の含有量は所含 egonol の 1.81 倍に相当し、これに egonol の含有量の 1~20 倍の egonol を添加

すれば、検液中の egonol 以外の不鹸化物の含有量は egonol の 0.905~0.086 倍に相当する事となる

第5表の結果から egonol 以外の不鹸化物が egonol の 0.12 倍以上存在する時は測定値を僅か過少ならしめる。故に egonol の定量の際は検液中に egonol 以外の不鹸化物が egonol の 0.12 倍以下含有せられてゐる事が必要となり、egonol 以外の不鹸化物の含量が多いものの比色定量の際は、検液中に純 egonol を添加し、egonol 以外の不鹸化物の含有量を egonol の 0.12 倍以下に減じて行ふのが望ましい事となる。

尙第3報<sup>9)</sup>に於て egonol の呈色には phytosterol は egonol の 4 倍まで、*n*-octodecyl alcohol はその 9 倍まで共存しても定量結果には影響が無い事を観察したが、本実験に於ては egonol 以外のエゴ油不鹸化物が比較的少量混入しても少しく定量結果に影響される事から、不鹸化物中には phytosterol 以外に egonol の呈色に影響を及ぼす物質が混含有されている事が想像される。

## 総 括

Egonol 反応によつて生成される呈色物質 nor-egonolonidine acetate の可視部に於ける最大吸収波長  $486m\mu$  に於ては、醋酸溶液中で  $H_2O_2$  によつて処理された malachite green (最大吸収波長  $620.5m\mu$ ) 及びエゴ油不鹸化物の黄色々素 (最大吸収  $380m\mu$  より短波長側) の吸収は極めて少なく、分光々電光度計による egonol の定量には可視部では  $486m\mu$  を用ふるのが適當である。

$486m\mu$  の波長を用ひた場合、醋酸溶液中に於ける egonol の濃度が  $0.3\sim 1.3mg/cc$  の範囲内では LAMBERT-BEER の法則が成立するから比色定量は此の濃度範囲で実施すべきである。

所定条件下で発色せしめた場合の呈色は10分間以内は安定である。

醋酸溶液中に malachite green が egonol の 0.17 倍、又 egonol 以外のエゴ油不鹸化物がその 0.12 倍以上存在する時は夫々測定誤差を与へる。

本研究に当り終始御鞭撻を賜つた高橋梯藏教授、種々御教示を賜つた小宮貞良助教授及び本実験の一部を卒業論文として実施せられた松野久生君に夫々厚く感謝する。

## 文 献

- (1) 著者：本誌，16，99(1951)
- (2) 川合真一，須賀正市：日化，58，83(1937)；Ber.，71，2071(1938)
- (3) 川合真一，杉山 登：日化，59，719(1938)；Ber.，71，2421(1938)
- (4) 著者：本誌，17，37(1952)

## Résumé

Malachite green (pick 620.5 m $\mu$ ) which is generally used as dyestuff for mosquitocide incense, and unsaponifiables of ego seed oil (pick existing on shorter side than 380 m $\mu$ ) are both observed to exhibit a rather low degree of absorption at the point of absorption maxima of nor-egonolonidine acetate (486 m $\mu$ ), coloring substance developed by egonol reaction, the author conclude that 486 m $\mu$  is, in the visible range, the optimum wave length for the spectrophotometric determination of egonol.

Figure 2. shows that the concentration is in the range 0.3 to 1.3 mg/cc in acetic acid solution of egonol Beer's law being followed, and that consequently the optimum concentration for determination of egonol is in this range.

Figure 3, 4 and 5 shows that the developed color by egonol reaction being stable for 10 minutes, and that both in the case of malachite green, if it presents more than 0.17 time of egonol, and in the case of unsaponifiables of ego seed oil except egonol, if it presents more than 0.12 time of egonol, it does interfere with the determination.

Studies on the Mechanisms of Synergistic Action in Insecticides. II. On the Inhibitory Action of Piperonyl Butoxide for the Detoxification of Pyrethroids by Housefly (*Musca domestica* L.) Hiromichi MATSUBARA (Dept. of Agr. Chem., Faculty of Agr., Gifu University) Received April 23, 1954. *Botyu-Kagaku* 19, 61, 1954. (with English résumé, 68)

10. 殺虫剤に於ける共力作用機構に関する研究(第2報) イエバエによるピレスロイドの解毒に対する Piperonyl Butoxide の阻害作用について 松原弘道(岐阜大学農学部 農芸化学教室) 29. 4. 28. 受理

イエバエ成虫の組織磨碎液による pyrethrins 及び allethrin の解毒に対する piperonyl butoxide の阻害作用をアカイエカ幼虫を用ひての bioassay により研究し, pyrethrins の解毒に對してはかなり阻害作用を示すが, allethrin に對しては殆んど示さない事を認めた。

前報<sup>(1)</sup>に於て著者はイエバエの雌雄による lipase activity 及び pyrethrins に対する解毒作用の差異について報告し, イエバエの lipase activity と pyrethrins に対する解毒作用並に pyrethrins に対する解毒作用と pyrethrins に対する抵抗性の間の相関性については疑問のある事を認め, 同時に雄イエバエ粉末による pyrethrins 解毒作用に対する piperonyl butoxide (pip. but.) の阻害作用を研究し, イエバエ粉末による乳剤の破壊のため其の阻害作用を観察する事が出来なかつた事を報告した。又別報<sup>(2)</sup>に於て allethrin に対する egonol の共力度が pyrethrins に対するそれより小である事を報告した。

著者は pyrethrins 及び allethrin に対する pip. but. の共力度の差をアカイエカ幼虫を用ふる殺虫試験により研究して, 前者が後者より大であることを観察し, 更に此の共力度の差を共力作用は pyrethroid に対する酵素的解毒作用との共力剤の阻害に基くとの仮説により証明を試みようとして, アカイエカ幼虫の組織磨碎液の pyrethrins, allethrins 及び pip. but.

に対する作用並にイエバエ成虫の組織磨碎液による pyrethrins 及び allethrin の解毒に対する pip. but. の阻害作用について研究し一新知見を得たので此処に報告する。

## 実 験

## I. 実験材料

## (1) 供試薬剤

- a. 除虫菊エキス pyrethrin I 6.20%, pyrethrin II 6.31%, total pyrethrins 12.51% (benzol法)
- b. allethrin S.B. Penick 社製 90% 含量の工業品
- c. pip. but. U.S. Industrial Chemicals 社製工業品
- d. Tween 80, 硫酸化油, キシレン (bp 137~140°) 市販品

## (2) 供試昆虫

- a. イエバエ成虫及び其の生体組織磨碎液 pyrethroid の解毒酵素試料として用ひたイエバエ成虫は前