

資料

輸入果実中の残留農薬分析

布施 淳一 信宗 正男

Determination of Pesticides Residues in Imported Fruits

JUNICHI FUSE, MASAO NOBUSO

(Received Sept. 30, 1994)

緒言

我国の食料輸入は近年ますます増加しており、輸入食品の安全性に消費者の関心が集まっている。輸入農産品の中には、日本との基準の違いや法的な取り扱いの違いから、収穫後も農薬が使用されている実態があり、輸入農産物は国産品に比べ、かなりの量の農薬が残留することが危惧されている。

そこで、我々は輸入食品に残留する農薬の実態を把握するため、これまでに輸入農産物中の有機塩素系農薬の実態調査[1]や輸入穀類製品中の有機リン系農薬[2]及び輸入穀類製品中のピレスロイド系農薬[3]の実態調査を行ってきた。

ベンダゾール、イマザリル、ピフェニル、オルトフェニルフェノール)を対象とし、簡便で迅速な分析法の検討を行い、県内に流通する輸入果実の残留農薬実態調査を行った。

方法

1. 試料

平成5月5月～平成6年7月に入手した、市販のバナナ及び柑橘類：バナナ（フィリピン、エクアドル、台湾）17検体、オレンジ（アメリカ）13検体、グレープフルーツ（アメリカ）6検体、レモン（アメリカ）5検体、計41検体

2. 試薬

農薬標準品：有機リン剤（EPN、クロルピリホス、ジメトエート、ダイアジノン、パラチオン、フェンチオン、フェントエート、ホサロン、マラチオン、エデイフェンホス、パラチオンメチル、フェンスルフォチオンは和光純薬工業(株)製残留農薬試験用、ジクロルボスはNANOGEN製残留農薬試験用、フェンチオンはガスクロ工業(株)製残留農薬試験用、エトプロホス、キナルホスはRiedel-de Haën製残留農薬試験用、エトリムホスは林純薬工業(株)製残留農薬試験用を使用した。）殺菌剤（カルベンダジムはRiedel-de Haën製残留農薬試験用を使用した。）防カビ剤（チアベンダゾール、イマザリル、ピフェニルはRiedel-de Haën製残留農薬試験用、オルトフェニルフェノールは東京化成工業(株)試薬特級を使用した。）

試薬：有機溶媒は残留農薬分析用を、高速液体クロマトグラフィ（HPLC）の溶離液はHPLC用を、その他の試薬は特級を使用した。

Table 1. Received amount of fruits at Hiroshima Central market (1992)

Fruits	Amount*(t)	Ratio (%)
banana	5634	57.1
orange	1303	13.2
grapefruit	1068	10.8
lemon	551	5.5
others	1328	13.4
Sum	9884	100.0

*: received amount of fruits

1992年の広島中央市場での輸入果実の入荷状況を調査したところ（Table 1. 参照）、県内に流通する果実の9割弱がバナナ及び柑橘類であることが分かった。そこで今回、バナナ及び柑橘類を対象に、これら果実に収穫後使用される可能性の高い、殺虫（有機リン剤EPN等18農薬）・殺菌（ベノミル）・防カビ剤（チア

3. 分析条件

1) ガスクロマトグラフの条件

有機リン：食品衛生法第7条1項の規定に基づく分析法（平成4年10月27日付け厚生省告示第239号及び平成5年3月4日付け厚生省告示第69号）に従った。

2) HPLCの条件

オルトフェニルフェノール，ピフェニル：カラム；YMC-120A-ODS (4.6mmi.d×250mm)，カラム温度；30℃，溶離液CH₃CN:0.01_M KH₂PO₄ (3:2)，流速：1.0ml/min，蛍光波長：Ex255nm，Em315nm。

イマザリル：カラム；YMC-120A-ODS (4.6mmi.d×250mm)，カラム温度；30℃，溶離液CH₃CN:0.01_M KH₂PO₄ (3:2)，流速：1.0ml/min，UV：202nm
ベノミル（カルベンダジム），チアベンダゾール：カラム；YMC-120A-ODS (4.6mmi.d×250mm)，カラム温度；30℃，溶離液CH₃CN:0.01_M KH₂PO₄ (3:17)，流速：1.5ml/min，蛍光波長：Ex285nm，Em315nm。

4. 試験溶液の調製

1) 有機リン：食品衛生法第7条1項の規定に基づく分析法（平成4年10月27日付け厚生省告示第239号及び平成5年3月4日付け厚生省告示第69号）に従った。

2) オルトフェニルフェノール，ピフェニル：果実を

粉碎機により粉碎し，その20gをブレンダーカップにとりアセトン100ml加え3分間（10,000rpm）攪拌し，この混合物を濾過し，残渣に同様の操作を行い，40℃以下で約30mlに減圧濃縮した。濃縮液をあらかじめ飽和食塩水50mlの入れてある分液漏斗に移し，酢酸エチル100mlずつで2回抽出し，酢酸エチル層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後40℃以下で減圧濃縮し，窒素で乾燥後アセトンで正確に5mlとした。その4mlを正確に量り，窒素で乾燥後アセトニトリルで正確に4mlとした。

3) ベノミル（カルベンダジム），チアベンダゾール，イマザリル：果実を粉碎機により粉碎し，その20gをブレンダーカップにとり5N NaOH 5mlを加え，酢酸エチル100mlを加えて3分間（10,000rpm）攪拌し，この混合物を濾過し，残渣に5N-NaOH 2mlを加え同様の操作を行い，40℃以下で約50mlに減圧濃縮した。濃縮液を分液漏斗に移し，0.1N H₂SO₄ 50mlで2回抽出し，水層を合わせ，5N NaOHでアルカリ性とした後，酢酸エチル100mlずつで2回抽出し，酢酸エチル層を合わせ，飽和食塩水50mlで洗浄後，無水硫酸ナトリウムで脱水し，40℃以下で減圧濃縮し，窒素で乾燥後アセトニトリルで正確に5mlとした。

Table 2. Outline of Analytical method for Pesticides

Pesticide	Extraction	Chromatograph	Detector									
Organophosphorus A EPN Chlorpyrifos α-CVP β-CVP DDVP Dimethoate Diazinon Parathion Fenitrothion Fenthion Phenthoate Phosalone Malathion	Method A (Regulatory Method)	GC	FPD									
Organophosphorus B EDDP Ethoprophos Etrimfos Quinalphos Parathion methyl Fensulfothion				Method B (Regulatory Method)								
Antiseptic A o-Phenylphenol Biphenyl							Method C	HPLC A	FL A			
Antiseptic B Imazalil Thiabendazole										Method D	HPLC B	UV FL B
Antiseptic C Benomyl(Carbendazim)												

結果及び考察

1. 分析法の検討

有機リン剤は、厚生省告示の分析法により行った。国産品には使用実態がなく残留農薬基準の設定されていない防カビ・殺菌剤の5農薬は、(イマザリルはこの分析法の検討中に基準が設定され平成6年4月1日より施行された。)公定法がなく個別検査となるため、簡便で迅速な分析法の検討を行った。

分析法は当初、有機リン剤同様GCによる同時分析法を考えたが、イマザリル、チアベンダゾール、ベノミルは沸点が高く、また極性も高いため、直接GCによる分析が困難で、誘導体化等を必要とし分析が煩雑となる。そこで、今回は、分析をできるだけ簡便に行うため高速液体クロマトグラフィーによる分析法を検討した。

1) 高速液体クロマトグラフィーの条件の検討

(1) 検出条件の検討

発蛍光性を有するベノミル、チアベンダゾール、オルトフェニルフェノール、ビフェニルは蛍光で、蛍光のないイマザリルは紫外吸収による分析法を検討した。これらはすでに報告[4,5]があるが、ベノミル、チアベンダゾールについては種々検討の結果、蛍光波長 Ex255nm, Em315nm の条件

を採用した。(ベノミルは酢酸エチル溶液を濃縮の際、カルベンダジムに変換するのでカルベンダジムで測定し係数1.52を乗じてベノミル量とした。)また、オルトフェニルフェノール、ビフェニルは、種々検討の結果、蛍光波長 Ex255nm, Em315nm の条件を採用した。

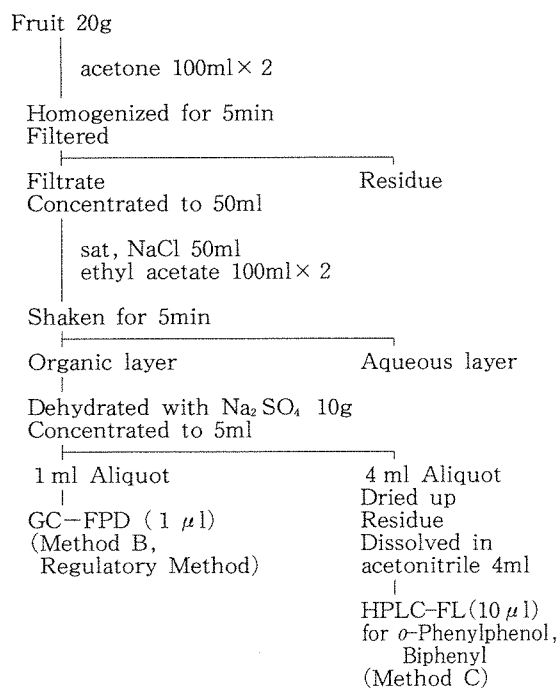
イマザリルについては、202nmと230nmを使った報告[4]が見られるが種々検討の結果、感度の良い202nmを採用した。

(2) 溶離液の検討

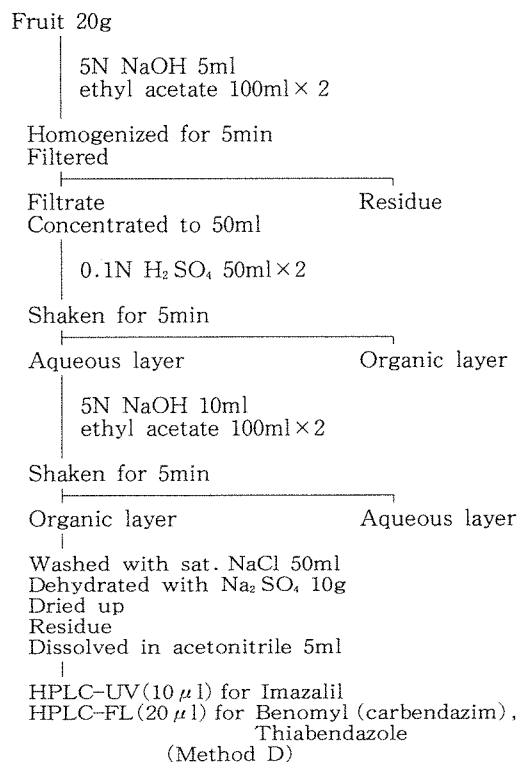
溶離液は一般にメタノール-リン酸系、メタノール-酢酸系、アセトニトリル-リン酸系、アセトニトリル-酢酸系等が使用されているが、今回はアセトニトリル-リン酸系で検討を行い、オルトフェニルフェノール、ビフェニル、イマザリルは CH₃CN:0.01M KH₂PO₄(3:2)、ベノミル、チアベンダゾールは CH₃CN:0.01M KH₂PO₄(3:17) の条件を採用した。

2) 試験溶液の調製法の検討

抽出法は、できるだけ簡便にするため、有機リン剤の試験液を使用し検討したところ (Scheme 1. 参照)、オルトフェニルフェノール、ビフェニルについては Fig 1-1 に示したとおり、どの果実でも良好なクロマトグラムが得られた。



Scheme 1. Analytical method for Organophosphorus, for *o*-Phenylphenol and Biphenyl



Scheme 2. Analytical Method for Imazalil, Benomyl (carbendazim) and Thiabendazole

しかし、ペノミル、チアベンダゾール、イマザリルは夾雑物により分析が困難であったため、精製を種々検討した結果、これらの物質がアルカリ性であることを利用し、酸・アルカリ分配を行ったところ Fig 1-2, Fig 1-3 のとおり、容易に夾雑物を取り除けることが判明した。また、Scheme 1 の抽出液を使用して、精製操作を行った場合、イマザリルの回収率が

悪かったため、種々検討を行ったところ、試料にアルカリを添加し、酢酸エチルで抽出する方法で、これら3種の農薬の回収率が良好であった。

これらのことから、ペノミル、チアベンダゾール及びイマザリルについては、Scheme 2 の方法で分析することとした。

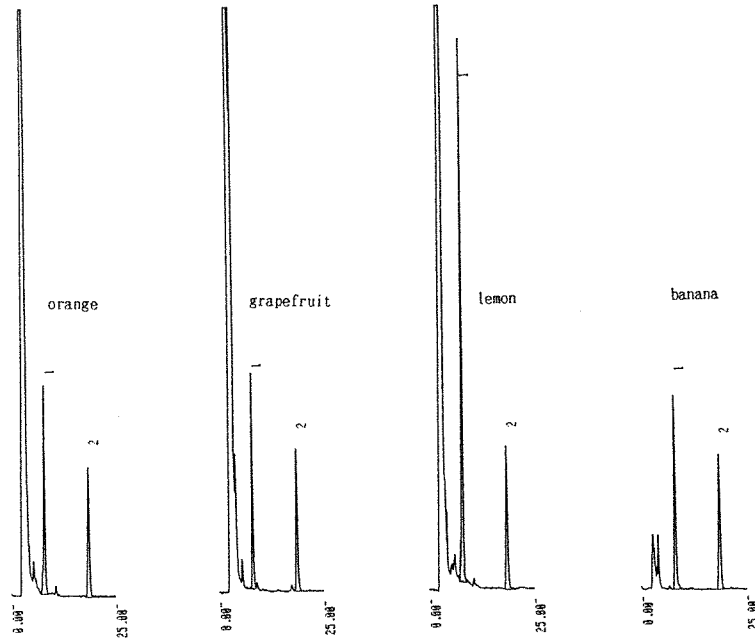


Fig 1-1. HPLC chromatogram of *o*-Phenylphenol and Biphenyl column; YMC-120A-ODS (4.6 × 250mm), column temperature; 30°C mobile phase; CH₃CN: 0.01M·KH₂PO₄ (3:2), flow rate; 1.0ml/min detector; FL Ex255nm, Em315nm 1 *o*-Phenylphenol, 2 Biphenyl

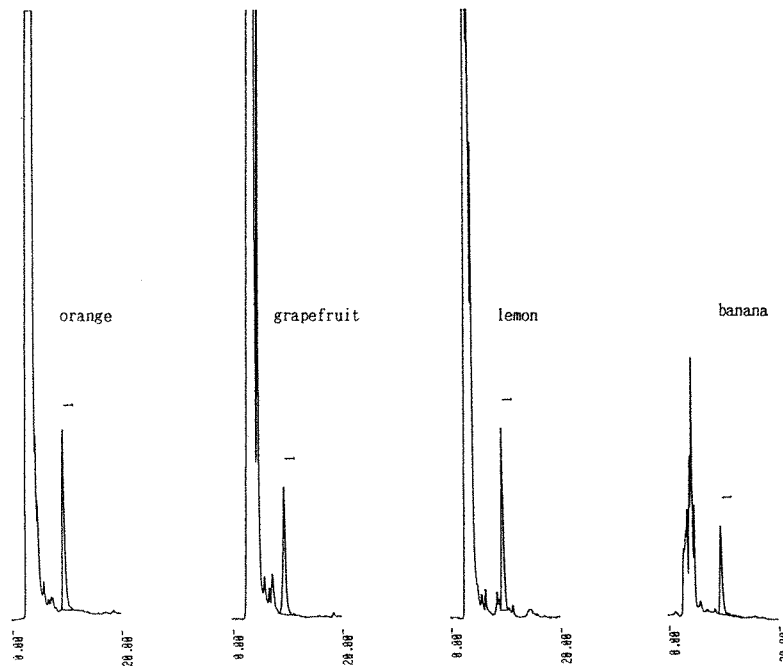


Fig 1-2. HPLC chromatogram of Imazalil column; YMC-120A-ODS (4.6 × 250mm), column temperature; 30°C mobile phase; CH₃CN: 0.01M·KH₂PO₄ (3:2), flow rate; 1.0ml/min detector; UV 202nm 1 Imazalil

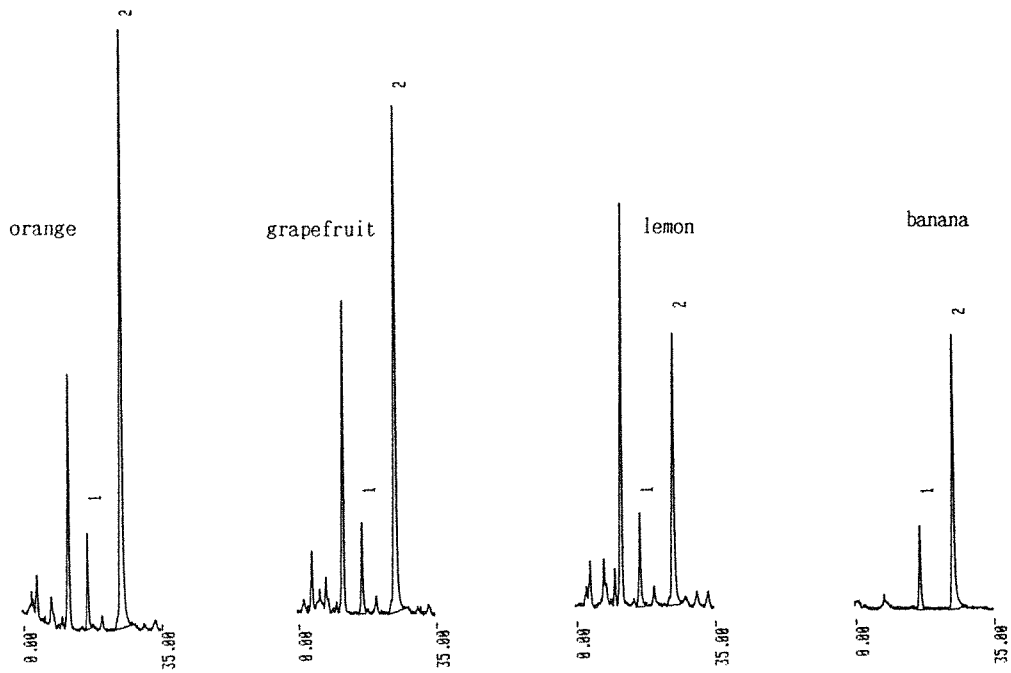


Fig 1-3. HPLC chromatogram of Benomyl (carbendazim) and Thiabendazole column; YMC-120A-ODS (4.6×250mm), column temperature; 30℃ mobile phase; CH₃CN: 0.01M•KH₂PO₄(3:2), flow rate; 1.0ml/min detector; FL Ex285nm, Em315nm 1 Benomyl (carbendazim), 2 Thiabendazole

Table 3. Recoveries of Pesticides in fruits fortified at 1.0 ppm

Sample	Recovery±SD (%) (n=5)				
	Benomyl	Thiabendazole	<i>o</i> -Phenylphenol	Imazalil	Biphenyl
banana	95.1±6.3	93.0±1.3	96.2±1.7	89.0±2.0	88.2±1.9
orange	99.0±5.4	93.6±3.9	95.0±2.2	92.6±2.9	84.8±2.2
grapefruit	98.2±7.1	87.4±2.5	98.6±1.9	92.9±7.5	88.9±2.3
lemon	89.9±1.9	87.2±7.1	98.7±1.9	95.4±3.1	95.4±3.3

3) 添加回収実験及び検量線

各試料に 1 ppm になるよう各農薬を添加し、これらの分析法 (Scheme 1 Method C, Scheme 2 Method D) による回収実験を行ったところ、Table 3 に示したとおり、いずれも良好な回収率を示した。

また、5 農薬の検量線については、いずれの農薬も 2~100ng の間で良好な直線性を示した。

2. 果実の分析結果

この分析法により県内に流通する、バナナ及び果実の分析を行いその結果を Table 4 に示した。

その結果、バナナからはフィリピン産の 3 検体からクロルピリフォスが、台湾産 1 検体から、ベノミルが検出されただけであった。

しかし、柑橘類からは、オレンジから、13 検体中すべての検体からチアベンダゾールとイマザリルが、8 検体からオルトフェニルフェノールが、1 検体からビフェニルが、5 検体からクロルピリフォスが検出され、グレープフルーツからは、6 検体中すべての検体からチアベンダゾールが、3 検体からイマザリルが、2 検体からオルトフェニルフェノールが、1 検体からクロルピリフォスが検出され、レモンからは、5 検体中すべての検体から、オルトフェニルフェノールとイマザリルが、2 検体からチアベンダゾールが検出された。

これらの結果から、バナナには一般にポストハーベスト農薬の使用の疑いがもたれているため、当初農薬の残留を予想していたが、予想に反し、残留する農薬は少なかった。

Table 4. Contents of Pesticides in fruits

($\mu\text{g/g}$)

Pesticide	banana			orange	grapefruit	lemon
	Philippines n=11	Ecuador n=4	Taiwan n=2	America n=13	America n=6	America n=5
EPN	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Chlorpyrifos	ND~0.07(3)	ND	ND	ND~0.20(5)	ND~0.02(1)	ND
CVP	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DDVP	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dimethoate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Diazinon	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Parathion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenitrothion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenthion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phenthoate	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phosalone	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Malathion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
EDDP	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethoprophos	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Etrimfos	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quinalphos	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Parathion methyl	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fensulfothion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
o-Phenylphenol	ND	ND	ND	ND~1.13(8)	ND~0.27(2)	0.27~2.40(5)
Biphenyl	ND	ND	ND	ND~0.08(1)	ND	ND
Imazalil	ND	ND	ND	0.32~1.61(13)	ND~1.36(3)	0.36~2.44(5)
Thiabendazole	ND	ND	ND	0.09~3.85(13)	0.73~2.23(6)	ND~2.10(2)
Benomyl	ND	ND	ND~0.08(1)	ND	ND	ND

ND: <0.01 $\mu\text{g/g}$ for Organophosphorus, <0.05 $\mu\text{g/g}$ for Antiseptic, (): Detected number

しかし、それに反し柑橘類の方は、全ての検体から防カビ剤が検出され、殺虫剤である有機リン剤もかなり高い値を示す検体があった。

今回の残留量では、有機リン剤では残留農薬基準、防カビ剤は食品添加物の使用基準、殺菌剤は国内法では基準がないため ADI と比較したところ、健康被害の起こりそうなものはなかった。しかし、一部には基準値に近い値を示すものがあった。この残留量から見て、収穫後使用されたものであると推測される。

また、この測定は全果実で行ったものであり、特に柑橘類は家庭で皮をママレードに使用したりすることも考えられ、皮に残留する量は今回結果は示していないが、この測定結果の約 3~5 倍の値を示した。このことについては、後の研究課題とするとともに、今後これら果実を原料とする製品への残留性についての調査を行いたいと考えている。

本論文の要旨は第33回日本薬学会中国・四国支部大会(1994年10月米子市)で報告した。

文 献

- [1] 中富美津江：広島県衛生研究所研究報告，**34**, 41 (1987)。
- [2] 仲本典正，坂本征則：広島県衛生研究所研究報告，**39**, 31 (1992)。
- [3] 仲本典正，信宗正男：広島県保健環境センター研究報告，**1**, 61 (1993)
- [4] 外海泰秀，津村ゆかり，中村優美子，伊藤誉志男：食品衛生学雑誌，**33**, 23~30 (1992)
- [5] 原崎孝子，大塚加代子，光武隆久，池田嘉宏：第30回全国衛生化学協議会年会講演要旨集，P.38~39 (1993)