Behavior of 11 Organonitrogen Pesticides during the Refinement of Edible Oils

Toru FUKAZAWA^{1*}, Yasuo SUZUKI², Shigeru TOKAIRIN², Kenji CHIMI¹,
Takenori MARUYAMA¹ and Teruyoshi YANAGITA³

¹Japan Institute of Oil & Fats, Other Foods Inspection, Foundation
(3-27-8, Nihonbashi-Hamacho, Chuo-ku, Tokyo 103-0007, JAPAN)

²Tsukishima Foods Industry Co., Ltd
(3-17-8, Higashi-Kasai, Edogawa-ku, Tokyo 134-8520, JAPAN)

³Department of Applied Biological Sciences, Saga University
(1 Honjo, Saga 840-8502, JAPAN)

Edited by Y. Takizawa, Tokyo Gakugei Univ., and accepted April 5, 2005 (received for review February 4, 2005)

Abstract: Eleven organonitrogen pesticides (EPTC, chlorpropham, alachlor, metolachlor, thiobencarb, diethofencarb, pendimethalin, flutolanil, lenacil, fenarimol and bitertanol) were added to crude soybean oil, which was refined through degumming, alkali refining, bleaching and deodorization. The amounts of residual pesticides in the treated oils were determined immediately after each process.

DEGUMMING : Bitertanol and fenarimol were significantly decreased by H₃PO₄ treatment, but the other pesticides were not. With hot water treatment, all the pesticides remained at a level of 85% or more.

ALKALI REFINING : About 50% of lenacil was removed by both the 125% NaOH and 200% NaOH treatments. Removal rates of the other pesticides ranged from 15 to 20% for 125% NaOH and from 20 to 30% for 200% NaOH treatments, respectively.

BLEACHING : More than 90% of bitertanol and fenarimol were efficiently removed by both the activated clay and activated clay containing activated charcoal. On the contrary, chlorpropham, thiobencarb and pendimethalin were decreased by less than 10%.

DEODORIZATION : About half of fenarimol and bitertanol, and more than 80% of lenacil and flutolanil remained after treatment at 260°C while the other pesticides decreased to below quantification limits.

We found that while each pesticide was decreased at a different rate, and each process decreased these pesticides differently, they could all ultimately be decreased through the 4 refining processes.

Key words: organonitrogen pesticide, refining process, edible oil, pesticide residue, GC/MS

1 緒 言

平成 13 年から 14 年にかけて、わが国で無登録農薬が違法に輸入、販売、使用され、また中国産冷凍ほうれん草から残留基準値を超える農薬が検出され、大問

題となった。日本国内の農作物への農薬の使用は、農薬取締法により厳しく管理されているが、世界には約 700 種類の農薬が存在するといわれている現状では、輸入相手国の農薬の使用実態を把握することは困難である。油糧種子の大部分は輸入に頼っており、農薬が油

*Correspondence to: Toru FUKAZAWA, Japan Institute of Oil & Fats, Other Foods Inspection, Foundation, 3-27-8, Nihonbashi-Hamacho, Chuo-ku, Tokyo 103-0007, JAPAN
E-mail: fukazawa@syken.or.jp

糧種子に残留した場合、搾油後の油脂に移行することが懸念される。さらに、食品産業では HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) システムによる衛生管理が導入され、食品の安全性を科学的及び体系的に保障する時代になった (1)。著者らはこれまで有機塩素系 (2)、有機リン系 (3) 及びピレスロイド系 (4) の主要な農薬について、食用油脂の精製工程における挙動を検討し、原油中の有機塩素系及び有機リン系農薬は、精製処理により除去されるが、ピレスロイド系農薬の大部分は、精製油に残存していることを報告した。しかしながら、ピレスロイド系農薬は、水素添加工程中に油脂から除去される (5)。今回は油糧作物に除草剤、殺菌剤として使用されている含窒素系農薬で残留基準のある 11 種類を取り上げ、食用油脂の精製工程における挙動を検討した。

2 実験

2.1 試料

今回の実験で使用した含窒素系農薬は、EPTC、メトラクロール、チオベンカルブ、ジエトフェンカルブ、ペンディメタリン、フルトラニル、レナシル (以上和光純薬工業株式会社より購入)、アラクロール、ビテルタノール、フェナリモル (以上林純薬工業株式会社より購入)、クロルプロファム (GLサイエンス株式会社より購入) である。油脂は月島食品工業株式会社から提供された大豆原油を用いた。この大豆原油からはこれら 11 種類の含窒素系農薬は検出されなかった。

2.2 精製工程及び農薬の添加量

精製工程は Fig. 1 に示した。脱ガム、脱酸、脱色及び脱臭の処理条件は、前報 (3, 4) と同様に行った。各工程における農薬の挙動は、原油、脱ガム油、脱酸油及び脱色油ごとに農薬を添加して、原油、精製後の油脂 (脱ガム油、脱酸油及び脱臭油) 並びに副産物 (ガム質、アルカリフーズ、洗浄水、廃白土及び脱臭スカム) について農薬を分析した。農薬の添加量は、前報 (3, 4) と同様に 5 ppm とした。この添加量は、油脂含有率が 20 ~ 40% の油糧種子に含窒素系農薬の一般的な残留基準値である 1.0 ~ 2.0 ppm 含まれた場合に相当する。

2.3 分析方法

含窒素系農薬の分析は、抽出及び精製操作は衛生試験法 (6) に準じ、定量は質量分析で行った。油脂の場合は、試料 3 g をヘキサン 30 mL に溶解してヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で 3 回液分配した後、そのアセトニトリル抽出液を濃縮して、ヘキサンに再溶

解した。次いでフロリジルカラムで精製した。操作は次のように行った。クロマト管 (内径 15 mm) に活性化したフロリジル 5 g をヘキサンで湿式充てんし、さらに無水硫酸ナトリウム約 8 g を積層した。抽出液を負荷し、ヘキサン 50 mL で洗浄した後、20% アセトン含有ヘキサン 200 mL で溶出した。この溶出液を減圧下 (40℃以下) で濃縮乾固した。残留物にアセトンを加えて定容し、GC/MS 試験溶液とした。

2.4 GC/MS (SIM) 測定条件

ガスクロマトグラフ/質量分析計: GC 部 6890N, MSD 部 5973 Network (Agilent Technologies 社製)

カラム: DB-5MS (Agilent Technologies 社製), 内径 0.25 mm × 長さ 30 m × 膜厚 0.25 μ m, カラム温度: 50℃ (2 min) - 20℃/min - 160℃ - 2℃/min - 195℃ - 10℃/min - 290℃ (10 min) 定流量モード, 注入口温度: 250℃, トランスファーライン温度: 280℃, イオン化室温度: 230℃, 四重極温度: 150℃,

Fig. 1 Refining Conditions.

- 1) Degumming was done through use of H_3PO_4 (5 g/kg) at 50℃ or hot water (15 g/kg) at 70℃.
- 2) Alkali refining was done through use of 125% or 200% excess over requirements of 14% sodium hydroxide solution, which neutralizes free fatty acids in the degummed oil.
- 3) Bleaching was done through use of activated clay (20 g/kg) or activated clay containing 20% activated charcoal (20 g/kg).
- 4) Deodorization was done at 160, 230 or 260℃ for 1 h under a vacuum of 0.3 kPa with 3% steam.

注入方式：スプリットレス，注入量：1 μL ，測定モード：SIM

3 結果および考察

3.1 添加回収実験

大豆原油に各 2 ppm，精製油に各 0.1 ppm 添加し，回収率及び定量限界を求めた。回収率はいずれも 90%以上であった。精製油を分析した場合の定量限界は，EPTC 及びクロロプロファムが 0.005 ppm，ジエトフェンカルブ及びペンディメタリンが 0.02 ppm，その他は 0.01 ppm であった。

3.2 脱ガム

各工程における油脂及び副産物中の農薬は，分析結果から油脂中の農薬残存率及び副産物への移行率を算出して **Table 1** に示した。農薬の残存率及び移行率は添加量に対する割合 (%) で示した。

検討した 11 種類の農薬の残存率は，温水処理 (70°C) では 88.8 ~ 93.9% でほとんど除去されなかった。一方，リン酸処理 (50°C) では，ビテルタノール，フェナリモール，レナシルの順で除去されやすく，残存率はそれぞれ 3.7，26.1 及び 71.4% であった。ビテルタノール，フェナリモール，レナシルの 3 農薬は，酸性下では水溶性を示すため，リン酸による脱ガム操作中にこれらの一部が，ガム質に移行したものと考えられた。そこで，ガム質を分析したところ，レナシルの移行率は 25.2% で油脂から除去された相当量が検出された。フェナリモールとビテルタノールの移行率はそれぞれ 7.0 及び 80.7% で一部消失していることが観察された。

そこで，リン酸に対する農薬の安定性を調べた。各農薬 10 μg をネジロガラス試験管に採り，85% リン酸 5 mL を加えて密栓し，実際の処理温度の 50°C で保持した。次いで 10，30 及び 60 分後の農薬の残存率を調べ，結果を **Fig. 2** に示した。アラクロール，ビテルタノール及びフェナリモールは処理時間が経過するにつれ残存

Table 1 Residual and Transfer rates of Organonitrogen Pesticides in Treated oils and the Residues during the Refining Process.

Process (Added amount of pesticides)	Process ¹⁾ condition	Residual and transfer rate (%)											
		Treated oil and residue	EPTC	Chlorpro- pham	Alachlor	Metola- chlor	Thiobe- ncarb	Diethofen- carb	Pendimet- halin	Flutolanil	Lenacil	Fenarimol	Bitteranol
Degumming (5 mg/kg)	Use of 85 % H_3PO_4 (5 g/kg)	Degummed oil ⁴⁾	92.6	93.3	94.8	94.8	93.8	94.4	97.7	89.8	71.4	26.1	3.7
		Gum ⁵⁾	0.9	0.9	1.0	3.1	1.4	0.9	1.2	1.1	25.2	7.0	80.7
	Use of hot water (15 g/kg)	Degummed oil ⁴⁾	89.0	91.4	92.8	90.7	92.0	93.9	93.6	88.8	86.9	93.3	90.4
		Gum ⁵⁾	4.5	5.2	5.5	4.3	5.4	5.4	6.4	4.9	4.7	5.5	6.2
Alkali refining (5 mg/kg)	125% of ²⁾ theoretical requirement	Alkali refined oil ⁴⁾	83.8	85.5	84.4	85.5	79.9	80.2	83.3	75.0	52.9	81.4	76.1
		Soapstock ⁵⁾	3.8	8.7	9.7	7.2	7.4	8.1	9.5	7.3	24.6	13.3	12.2
		Water waste ⁵⁾	3.1	3.9	4.2	2.8	3.3	3.7	4.5	3.5	10.7	5.0	5.5
	200% of ²⁾ theoretical requirement	Alkali refined oil ⁴⁾	81.0	82.3	80.6	79.9	75.7	74.3	76.8	73.7	47.3	72.4	70.4
		Soapstock ⁵⁾	9.6	11.7	13.2	10.4	10.1	11.1	9.4	10.3	27.7	19.4	14.9
		Water waste ⁵⁾	4.7	5.5	5.8	3.9	4.8	4.9	6.5	4.9	12.0	6.9	8.0
Bleaching (5 mg/kg)	Activated clay	Bleached oil ⁴⁾	90.2	95.4	23.8	65.3	94.8	70.4	94.8	83.7	41.6	4.5	0.5
		Clay waste ⁵⁾	4.7	4.6	2.5	16.6	5.2	21.9	5.1	10.3	57.9	36.6	31.0
	Activated clay + Activated charcoal	Bleached oil ⁴⁾	94.7	89.9	43.1	78.9	93.0	81.4	93.2	86.0	56.8	8.0	1.3
		Clay waste ⁵⁾	3.7	7.5	3.6	12.9	6.9	12.0	6.6	11.2	43.1	33.7	39.8
Deodorization (5 mg/kg)	160°C ³⁾	Deodorized oil ⁴⁾	0.0	51.1	77.3	84.3	86.1	90.8	87.5	97.3	95.8	99.1	99.1
		Scum ⁵⁾	15.5	40.8	18.1	14.7	12.7	8.5	10.7	2.6	0.8	0.2	0.2
	230°C ³⁾	Deodorized oil ⁴⁾	0.0	0.0	10.5	25.9	33.0	22.3	20.7	79.8	95.7	98.8	95.9
		Scum ⁵⁾	0.7	79.6	73.6	62.3	51.6	61.8	70.0	10.5	2.4	0.9	0.8
	260°C ³⁾	Deodorized oil ⁴⁾	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	17.2	51.3	50.3
		Scum ⁵⁾	1.2	71.7	78.5	76.1	72.5	77.8	90.0	69.4	64.9	46.0	45.0

1) Process condition is shown as **Fig. 1**

2) Amount of 14% NaOH solution

3) Deodorization temperature

4) Residual rate

5) Transfer rate

率は低くなったが、その他の8農薬の減少は緩やかで60分後でも85%以上の残存率を示した。30分後の残存率を比較すると、最も残存率の低かった農薬はアラクロールで0%、次いでビテルタノール44.3%、フェナリモール53.4%で、他の農薬は85%以上であった。この実験結果より農薬及びリン酸の2成分相では、アラクロール、ビテルタノール、フェナリモール、他の農薬の順で分解されやすいことがわかった。したがって、脱ガム工程のフェナリモールとビテルタノールの消失はリン酸による分解であることが示唆された。しかしながらFig. 2に見られるように、アラクロールはリン酸との2成分相においては最も分解されたが、リン酸脱ガム工程では残存率が約95%とほとんど油脂から除去されなかった。リン酸酸性下では、フェナリモールとビテルタノールは水溶性であるが、アラクロールは油溶性である。このためアラクロール及びリン酸の2成分相の場合よりも、さらに油が加わった3成分相の場合の方がアラクロールに対するリン酸の影響が小さかったものと考えられる。

3.3 脱酸

まず使用する脱ガム油の酸価を測定し、その脱ガム油中の遊離脂肪酸を中和するのに要する14%水酸化ナトリウム溶液の必要量(中和必要量)を求めた。脱酸はその中和必要量の1.25倍量または2倍量で処理した。

本工程では、レナシルの残存率が最も低く、中和必要量の1.25及び2倍量添加では、それぞれ52.9及び47.3%であった。減少量に相当するレナシルはアルカリフーツ(24.6及び27.7%)並びに洗浄水(10.7及び12.0%)に移行していた。レナシルはアルカリ性では容

Fig. 2 Stability of Pesticides in Phosphoric Acid.

A portion of 2 mL phosphoric acid was added to 10 µg of 11 each pesticide in a test tube, and the tube was kept at 50°C.

易に水溶性になるため、水層に移行しやすくなったものと考えられる。レナシル以外は農薬の残存率は中和必要量の1.25倍量添加では75.0～85.5%、2倍量添加では70.4～82.3%で、アルカリ量の多い方が若干除去されやすい傾向がみられた。アルカリフーツ、洗浄水中の農薬を分析したところ、レナシルの場合と同様におおむね油脂から除去された量に相当する量が検出された。従って、除去された農薬は、分解されずにアルカリフーツ、洗浄水に移行したことがわかった。

3.4 脱色

ビテルタノール及びフェナリモルの残存率は、活性白土処理及び活性炭含有活性白土処理のいずれの脱色処理でも10%未満で、効果的に油脂から除去された。一方、ほとんど減少しなかった農薬は、クロルプロファミン、チオベンカルブ、ペンディメタリンで、これらの残存率は、いずれの処理方法でも90%以上であった。他の農薬は23.8～83.7%の広範囲の残存率を示し、活性炭の有無による際だった傾向を示さなかった。脱色工程において有機塩素系(2)及びピレスロイド系(4)は、顕著な減少は示さなかったが、今回検討した含窒素系農薬は、有機リン系(3)に類似して、農薬ごとにその残存率は大きく異なっていた。

3.5 脱臭

EPTCは160、230、260°Cのいずれの温度でも油脂中には残存しなかった。他の農薬については、脱臭温度160°Cでは、クロルプロファミンは51.1%、他の農薬は77.3～99.1%残存した。230°Cではクロルプロファミンは油脂中に残存せず、アラクロール、ペンディメタリン、ジエトフェンカルブ、メトラクロール及びチオベンカルブは10.5～33.0%、フルトラニル、レナシル、ビテルタノール及びフェナリモールは79.8%以上残存した。260°Cでは、アラクロール、メトラクロール、チオベンカルブ、ジエトフェンカルブ、ペンディメタリンは残存せず、フルトラニルは1.7%、レナシルは17.2%、ビテルタノール及びフェナリモールはそれぞれ50.3及び51.3%残存した。このように農薬は脱臭温度が高いほど除去されやすくなる傾向を示した。また、脱臭スカム中の農薬を分析したところ、油脂から除去された農薬の大部分は脱臭スカムに移行していることがわかった。しかし、EPTCは脱臭スカムからほとんど検出されなかったため、EPTCが水蒸気蒸留中に熱分解や加水分解したものと考えられる。そこでEPTCが100°Cの水との共存下で分解されるのかどうかを検討するため、次のような実験を行った。EPTCの1 µgをネジ口ガラス試験管に採り、水2 mLを加えて密栓し15時間加熱した。加熱温度は試験管の内圧の上昇による破損を防ぐため

に100℃とした。次いで氷水中で冷却後、直ちに酢酸エチルで試験管内の農薬を抽出し、その残存量を求めところ、EPTCは添加した農薬の100%が検出された。従ってEPTCは100℃の水との共存下では分解しないことが判明した。さらに、EPTCの蒸気圧は他の含窒素系農薬よりも1000倍程度高く(7)、非常に揮発しやすい農薬である。これらのことから、EPTCは脱臭中に分解したのではなく、揮散したEPTCが通常の脱臭スカムトラップにおいては捕集されなかったものと推測した。

3・6 総括

以上のように、今回検討した農薬はそれぞれの精製工程で、異なる挙動を示すことがわかった。工程別に農薬の挙動を概観すると、9種類の農薬(EPTC、クロルプロファム、アラクロール、メトラクロール、チオベンカルブ、ジエトフェンカルブ、ペンディメタリン及びフルトラニル)は一般に用いられる条件である260℃の脱臭処理(8)で100%あるいはほぼ100%除去された。他の3種類の農薬(レナシル、フェナリモール及びピテルタノール)は260℃の脱臭処理でいずれも一部残存するが、他の3工程でも除去されるので4工程を通して精製した場合は、いずれの農薬も大部分油脂から除去された。そこで、農薬が原油に5 ppm残留した場合に、最終製品である食用油脂に残存する農薬量を各工程の残存率をもとに算出した。精製条件は一般的な条件のものを採用した。すなわち脱ガムは85%リン酸、脱酸は中和必要量の1.25倍量の水酸化ナトリウム、脱色は活性白土、脱臭は260℃の条件を用いた。その結果、脱臭後の残存量は、フェナリモールは0.03 ppm、フルトラニルは0.05 ppm、レナシルは0.14 ppmとなり、油糧作物の残留基準値(フェナリモール: 0.3 ppm、フルトラニル: 最低基準値は落花生の0.5 ppm、レナシル: 0.3 ppm)を下回った。現在、食用油脂についての残留基準値は設定されていないが、今回検討した含窒素系農薬は、原油にたとえ5 ppm程度残留した場合でも、有機塩素系(2)及び有機リン系農薬(3)と同様に、大部分は検出限界未満に減少することがわかった。従って、油糧作物に残留する含窒素系農薬が食品衛生法の残留基準以下であれば、今回検討した農薬は精製油脂中にはほとんど残存しないと推察される。

次いで、市販の食用精製油中の含窒素系農薬を調査した。試料は国産品11銘柄(ゴマ油3銘柄、サフラワー油2銘柄、とうもろこし、カノーラ、米ぬか油、

ひまわり油及びアーモンド油各1銘柄)、輸入品10銘柄(グレープ種子油、落花生油及びオリーブ油各2銘柄、ひまわり油、アーモンド油、くるみ油、綿実油各1銘柄)である。今回検討した11種類の含窒素系農薬を分析したところいずれの銘柄からも検出されなかった。本研究の要旨は第43回日本油化学年会(平成16年11月、大阪府吹田市)にて発表した。

謝 辞

本研究にあたりご指導頂いた財団法人日本食品油脂検査協会 青山 稔博士、岡本隆久博士並びに村上千秋博士に深謝します。

References

1. K. ROPKINS and A.J. BECK, Application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) to Organic Chemical Contaminants in Food, *Critical Review in Food Science and Nutrition*, Vol. **42**, 123-149 (2002).
2. H. KANEMATSU, T. MARUYAMA, I. NIIYA, M. IMAMURA, H. MIZUTANI, Z. MORITA and T. MATSUMOTO, Studies on the Behavior of Trace Components in Oils and Fats during Processing for Edible Use. I. (Removal of Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls from Oils and Fats by Processing for Edible Use), *Yukagaku*, Vol. **25**, 38-41 (1976).
3. T. FUKAZAWA, T. TSUTSUMI, S. TOKAIRIN, H. EHARA, T. MARUYAMA and I. NIIYA, Behavior of Organophosphorus Pesticides Obtained from Oils by Refining Treatment, *J. Jpn Oil Chem. Soc.*, Vol. **48**, 247-251 (1999).
4. T. FUKAZAWA, M. AOYAMA, T. TSUTSUMI, S. TOKAIRIN, H. EHARA, T. MARUYAMA and I. NIIYA, Behavior of Pyrethroid Pesticides toward Oils during Refining, *J. Jpn Oil Chem. Soc.*, Vol. **48**, 885-889 (1999).
5. T. FUKAZAWA, M. AOYAMA, N. SAKURAI, T. TSUTSUMI, S. TOKAIRIN, H. EHARA, T. MARUYAMA and I. NIIYA, Behaviors of Pyrethroid and Organophosphorus Pesticides in Edible Oils during Hydrogenation, *J. Oleo Sci.*, Vol. **51**, 29-34 (2002).
6. The Pharmaceutical Society of Japan, *Methods of Analysis in Health Science*, Kinbara syuppan, pp. 435-441 (2000).
7. Y. UESUGI, M. UEJI and M. KOSHIOKA, *Pesticide Data Book*, 3rd edn., Soft Science Publications, pp.7, 44, 81, 131, 161, 175, 195, 244, 271, 313, 397 (1997).
8. K. YASUDA, *Syokuyou to Sonoseisan*, Saiwaishobou, pp.126-142 (1992).