報 文

タマネギ等の残留農薬分析における電子レンジの利用

(平成7年8月26日受理)

起橋 雅浩^{*1} 尾花 裕孝^{*1} 堀 伸二郎^{*1}
西宗 高弘^{*2} 佐々木 寧^{*1}

Determination of Pesticide Residues in Onion, Using a Microwave Oven

Masahiro OKIHASHI^{*1}, Hirotaka OBANA^{*1}, Shinjiro HORI^{*1},
Takahiro NISHIMUNE^{*2} and Yasushi SASAKI^{*1}(*¹Osaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69, Nakamichi,
Higashinari-ku, Osaka 537, Japan; *²Musashigaoka Junior
College: 111-1, Minami-yoshimi, Yoshimi-machi,
Hiki-gun, Saitama 355-01, Japan)

A rapid and efficient clean-up method was developed for determining 16 organochlorine pesticides, 8 pyrethroid pesticides and 24 organophosphorus pesticides in foodstuffs such as onion and garlic, which contain high levels of matrix compounds. First, the sample was treated in a microwave oven to inactivate enzymes which caused interfering peaks. Pesticides were extracted with acetone, re-extracted with dichloromethane and determined by ECD-GC and FPD-GC. Major interfering peaks were not found on ECD-GC and FPD-GC chromatograms. Recoveries of the pesticides were 49.8~132.5%.

(Received August 26, 1995)

Key words: タマネギ onion; 農薬 pesticides; 電子レンジ microwave oven; 電子レンジ処理 microwave treatment; ニンニク garlic; ガスクロマトグラフィー GC

緒 言

食品中の残留農薬分析における問題点の一つは、食品成分に由来する妨害ピークの出現である。特にタマネギなどの食品は妨害成分が多く、ECD-GC, FPD-GC による農薬測定が困難なことが多い。タマネギなどの妨害成分の多い食品中の農薬を測定するには、カラム処理を行って妨害成分を除去するか^{1), 2)}、農薬に対する特異性により高い検出器を用いる必要がある。StanらはAtomic Emission Detector (AED) 検出器によりタマネギに添加した有機塩素系、有機リン系農薬を選択的に検出している³⁾。また、ObanaらはネガティブCIモードGC/MSによりタマネギ抽出液に添加した有機塩素系、ピレスロイド系農薬を数十ppbレベルで良好に検

出している⁴⁾。しかし、これらの方法は高価な検出装置を必要とする。一方、長年の凍結リン酸処理法は妨害成分を生成する酵素反応を抑制することにより、FPD-GCで有機リン系農薬を検出している⁵⁾。しかし、この方法は前処理にかなり時間を要する。本報告では、急速加熱により酵素を失活させることを目的に、電子レンジによる前処理を検討したので報告する。

実験方法

1. 試料及び試薬

1.1 試料

市販のタマネギ、ニラ、ネギ、ニンニク、ニンニク芽、ダイコン、キャベツ、バナナ、オレンジ、レモン及びブドウを用いた。

1.2 試薬

BHC, DDT, DDE, DDD, ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド, ジコホル, アルドリノ, エンドリン, ディルドリン, クロルベンジレート (以上有機塩素系),

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所: 〒537 大阪市東成区中道 1-3-69

^{*2} 武蔵丘短期大学: 〒355-01 埼玉県比企郡吉見町大字南吉見 111-1

シハロトリン, ペルメトリン, シフルトリン, シペルメトリン, フルシトリネート, フェンバレレート, フルバリネート, デルタメトリン (以上ピレスロイド系), EPN, ジクロロボス, エトプロボス, ジオキサベンゾボス, チオメトン, ジメトエート, テルブボス, ダイアジノン, ジスルホトン, エトリムボス, イプロフェンボス, クロルピリボスメチル, フェニトロチオン, ピリミボスメチル, マラチオン, フェンチオン, クロルピリボス, クロルフェンビンボス, フェントエート, メチダチオン, プロチオボス, エチオン, エディフェンボス, ホサロン (以上有機リン系) の各農薬標準品は林純薬工業(株)製, あるいは和光純薬工業(株)製を用いた. フロリジル PR は和光純薬工業(株)製を用いた. 無水硫酸ナトリウム, アセトン, *n*-ヘキサン, ジクロロメタン, 酢酸エチルは残留農薬試験用を, 塩化ナトリウムは試薬特級を用いた. なお, ECD-GC 用農薬標準液として有機塩素系農薬 (16 農薬) とピレスロイド系農薬 (8 農薬) を, FPD-GC 用農薬標準液として有機リン系農薬 (24 農薬) を各々混合して *n*-ヘキサン溶液を調製した.

2. 装置及び測定条件

2.1 ガスクロマトグラフ

ガスクロマトグラフ (ECD): Hewlett Packard 社製 5890; ガスクロマトグラフ (FPD): (株)島津製作所製 GC-17A; CR-7A

2.2 電子レンジ

シャープ(株)製 RE-M15 定格高周波出力 500 W 発振周波数 2450 MHz

2.3 温度計

テストターム(株)製 ラボ用温度計 GT-720 液体・固体内部用温度センサー

2.4 測定条件

カラム (ECD-GC, EPD-GC 共通): J & W 製 DB-5, 30 m×0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m

カラム温度 (ECD-GC): 60° (1 min)–40°/min–160°–4°/min–280° (5 min); 注入口温度: 250°; 検出器温度: 300°

カラム温度 (FPD-GC): 80° (2 min)–40°/min–120°–4°/min–280° (4 min); 注入口温度: 250°; 検出器温度: 280°; 水素圧: 120 kPa; 空気圧: 80 kPa

3. 試験溶液の調製

3.1 抽出

細切した試料 40 g を 500 ml のステンレス製遠心管に入れ, 水 20 ml 及びアセトン 100 ml を加えた. これを 2 分間ホモジナイズし, 10° 6,000 rpm で 15 分遠心分離し, 上澄液を減圧濃縮器に移した. 沈殿物にアセトンを 50 ml 加え再度ホモジナイズした後, 再び遠心分離して上澄液を減圧濃縮器に合わせた. これを 40° 以下で約 50 ml に濃縮し, ジクロロメタン 50 ml で 2 回, 次いで *n*-ヘキサン 20 ml で 1 回抽出した. そして得ら

Fig. 1. FPD-GC chromatograms of garlic treated with and without microwave oven

Fig. 2. ECD-GC chromatograms of garlic treated with and without microwave oven

Fig. 3. FPD-GC chromatograms of Japanese radish treated with and without microwave oven

Fig. 4. ECD-GC chromatograms of Japanese radish treated with and without microwave oven

れた有機層を飽和食塩水 100 ml で洗浄し, 無水硫酸ナトリウムで脱水した. これを減圧濃縮器にてほぼ乾固し, *n*-ヘキサン 10 ml で溶解して FPD-GC 用試験溶液とした.

Table 1. Stability of 46 Pesticides Treated with Microwave Oven in Vial^{a)}(%) $n=3$

Pesticides		Pesticides	
Dichlorvos	—	α -BHC	65.9
Ethoprophos	115.1	β -BHC	77.7
Dioxabenzofos	103.0	γ -BHC	64.9
Thiometon	111.2	δ -BHC	43.1
Dimethoate	—	Heptachlor	61.4
Terbufos	—	Aldrin	77.9
Diazinon	107.3	Heptachlor epoxide	81.7
Disulfoton	110.6	Dieldrin	77.4
Etrimfos	104.1	DDE	85.4
Iprofenphos	107.2	Endrin	79.1
Chlorpyrifos-methyl	97.8	Chlorobenzilate	70.4
Fenitrothion	105.9	DDD	81.0
Pirimiphos-methyl	104.2	DDT	67.2
Malathion	78.6	Dicofol	127.5
Fenthion	105.9	Cyhalothrin	74.6
Chlorpyrifos	101.9	Permethrin	75.9
Chlorfenvinphos	107.5	Cyfluthrin	73.8
Phenthoate	105.1	Cypermethrin	73.0
Methidathion	73.4	Flucythrinate	74.0
Prothiofos	87.3	Fenvalerate	71.9
Ethion	101.3	Fluvalinate	76.3
Edifenphos	75.5	Deltamethrin	64.1
EPN	108.0		
Phosalone	102.4		

^{a)} Values represent percentages of residual amounts of pesticides to initial amounts of pesticides.
Values are the average of three experiments.

3.2 クリーンアップ

パスツールピペットにあらかじめ 130°で 1 夜活性化したフロリジルを 1 g 充てんしてミニカラムを作成した⁶⁾。そこへ抽出液 2 ml を負荷し、20% 酢酸エチル-*n*-ヘキサン溶液 10 ml で農薬を溶出させた。この抽出液を 1 ml に濃縮して ECD-GC 用試験溶液とした。

4. 電子レンジ処理

細切する前の試料 40 g をビーカーに入れ、水分を失わないようにラップをして 60 秒間「あたため」で処理した。その後 3.1 に従って抽出を行った。

5. 農薬の電子レンジ処理に対する安定性

電子レンジ処理に対する農薬の安定性を調べるために、農薬標準液 0.5 ml を耐圧バイアル瓶 (1 ml 容量) に入れ、窒素気流下で溶媒を揮散させて水 0.5 ml を加えて密栓した。これを電子レンジで 60 秒間処理した後、アセトン-*n*-ヘキサン混液 (1:1) 1 ml により農薬を抽出した。電子レンジ処理を行っていないものを対照として同様の操作を行った。

結果及び考察

1. 電子レンジ処理時間の検討

電子レンジ処理によって試料の内部温度がどのように

変化するかを固体内部測定用温度計を用いて測定した。タマネギの表皮と根を除去して縦に切断して約 40 g を量り、電子レンジで各々 0, 30, 60 及び 90 秒間処理した。その結果 30 秒以上で内部温度が 90°以上になった。なおこれらの試料の FPD-GC, ECD-GC でのクロマトグラムは、60 秒以上で最も妨害ピークが減少した。また水分の少ない試料では、長時間の電子レンジ処理では焦げてしまい、妨害ピークが少し増加する例が認められた。上記の結果、60 秒の電子レンジ処理により、試料内部温度は酵素を失活させるのに十分上昇したと考えられるので、電子レンジ処理時間は 60 秒間とした。

2. 電子レンジ処理の効果

タマネギの表皮と根を除去し、縦に切断して約 40 g を量り、素早く電子レンジ処理を行った。この処理タマネギ及び、未処理タマネギについてそれぞれ抽出操作を行い、FPD-GC 及び ECD-GC で測定した。電子レンジ処理を行ったものは妨害ピークが少なく、未処理タマネギは妨害ピークが非常に多かった (Fig. 1, 2)。ニンニク、ニンニク芽、ネギ、ニラを用いた実験でも同様に妨害成分が大幅に減少した。また、細切後の試料を電子レンジ処理しても、妨害ピークは減少しなかった。これら

Table 2. Recoveries of 46 Pesticides from Onion Treated with Microwave OvenRecovery (%) $n=3^a$

Pesticides		Pesticides	
Dichlorvos	49.8	α -BHC	54.6
Ethoprophos	66.6	β -BHC	78.8
Dioxabenzofos	60.0	γ -BHC	66.5
Thiometon	55.8	δ -BHC	132.5
Dimethoate	81.4	Heptachlor	51.6
Terbufos	61.0	Aldrin	70.9
Diazinon	56.8	Heptachlor epoxide	82.5
Disulfoton	55.3	Dieldrin	86.0
Etrimfos	55.2	DDE	79.3
Iprofenphos	78.7	Endrin	93.0
Chlorpyrifos-methyl	53.4	Chlorobenzilate	105.0
Fenitrothion	67.3	DDD	102.9
Pirimiphos-methyl	64.4	DDT	72.6
Malathion	51.9	Dicofol	76.2
Fenthion	68.9	Cyhalothrin	103.5
Chlorpyrifos	66.0	Permethrin	102.5
Chlorfenvinphos	89.6	Cyfluthrin	104.1
Phenthoate	66.4	Cypermethrin	104.7
Methidathion	75.3	Flucythrinate	104.1
Prothiofos	76.8	Fenvalerate	103.1
Ethion	82.1	Fluvalinate	103.0
Edifenphos	81.7	Deltamethrin	101.6
EPN	103.0		
Phosalone	97.7		

^{a)} Values are the average of three experiments.

の野菜は試料を細切する際に、酵素反応によって妨害成分が生成されるので、細切する前に電子レンジ処理を行うことによって酵素が失活し、妨害成分の生成が抑制されたと考えられる。このことから、乾燥粉末などの加工食品については、電子レンジ処理の効果は得られないと考えられる。なお、ダイコン、キャベツ、ジャガイモ、ブドウ、バナナについても同じ実験を行った。しかし、これらの試料では電子レンジ処理を行ったものと、未処理のものとの大きな差は認められなかった (Fig. 3, 4)。

3. 農薬の電子レンジ処理に対する安定性

電子レンジ処理に対する農薬の安定性を調べた (Table 1)。その結果、有機リン系は対照で検出されなかったジクロロボス、ジメトエートなどを除いては電子レンジ処理に対する安定性は良好であった。検出されなかった農薬は比較的水溶性が高く、この抽出条件では水層にあるためと考えられる。有機塩素系、ピレスロイド系は有機リン系に比べてやや安定性が悪いが、温度及び電子レンジ処理による農薬の分解はあまり起こっていないと考えられる。

4. 添加回収実験

表皮と根を除去し、縦に切断して約 40 g を量ったタマネギの表面に各農薬標準液を滴下し、溶媒を風乾させ

てから電子レンジ処理した。対照実験では、あらかじめ電子レンジ処理したタマネギに農薬標準液を添加したものを用いた。それぞれの試料について回収実験を行い、対照実験での回収率を 100% とした回収率を示した (Table. 2)。有機塩素系、ピレスロイド系は良好であったが、有機リン系は 50~60% 台の回収率を示すものが多かった。有機リン系は回収率が低い、先述のバイアル瓶中で安定性が良かったことから、電子レンジ処理により分解することは考えにくく、むしろ実験操作上の問題点が考えられる。すなわち、添加した農薬が試料の表面に付着しているので、水分の蒸発と共に揮散して喪失されていることが考えられる。実際の検体では農薬は組織中に浸透していると考えられるので、水分の蒸発に伴う農薬の揮散は起こりにくいと思われる。

5. 試料への適用

電子レンジ処理に対する農薬の安定性、揮散の可能性について、農薬が残留する実試料を用いて検討した。

農薬の検出されたニラ、オレンジ、バナナ、レモン、ブドウをそれぞれ電子レンジで処理した後、抽出を行い、電子レンジ処理を行わなかった場合とで検出される農薬濃度を比較した (Table. 3)。なお、ブドウはあらかじめホモジナイズしてから 2 つに分けて抽出を行った。

Table 3. Effect of Microwave Treatment on Pesticide Residues

Sample	Pesticide	Residue (ppm)	
		Microwave	
		Treated	None
Banana	Chlorpyrifos	0.051	0.057
Orange	Chlorpyrifos	0.054	0.042
Lemon	Chlorpyrifos	0.027	0.023
Grape	Dicofol	0.094	0.079
Chinese chive	Phenthoate	0.111	0.116

オレンジ、バナナ、レモンについては同一個体を、またニラは同一束を2分割し、電子レンジ前処理又は無処理の2群として農薬の抽出を行った。この結果フェントエート、クロルピリホス、ジコホールの電子レンジ処理の有無による検出値の差はわずかで、電子レンジ処理によりこれらの農薬が喪失しないことが判明した。

電子レンジ前処理時間は60秒間で十分であり、加熱による農薬の安定性についても支障は認められなかった。

本方法は装置が比較的安価であり、処理法が簡便であることから、日常的な農薬検査業務などにおいて適応性が高いと考えられる。

ま と め

電子レンジで処理することにより ECD-GC, FPD-GC のクロマトグラム上での夾雑なピークを大幅に減少させることができた。また、電子レンジ処理による残留農薬の喪失は問題とならなかった。これによって、従来困難であったタマネギなどの農薬分析を簡易化することができた。

文 献

- 1) Sasaki, K., Suzuki, T., Saito, Y.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **70**, 460~464 (1987).
- 2) 外海泰秀, 中村優美子, 長谷川ゆかり, 藤原 守, 伊藤 誉志男: 衛生化学 **36**, 349~357 (1990).
- 3) Stan, H.-J., Linkerhagner, M.: HRC **16**, 539~548 (1993).
- 4) Obana, H., Hori, S., Okihashi, M., Nishimune, T.: Jpn. J. Food Chem. **1**, 2~7 (1994).
- 5) 長南隆夫: 食衛誌. **33**, 543~547 (1992).
- 6) 起橋雅浩, 尾花裕孝, 堀 伸二郎, 西宗高弘: 同上 **35**, 258~261 (1994).