

穀類・香辛料のリン化水素残留分析における試料破碎機の利用

北村 寿・三角 隆・扇田哲男・浅野和也・鈴木則仁

横浜植物防疫所調査研究部

Utilization of a sample disruptor for Phosphine Residue analysis of Grains and Spices. Hisashi KITAMURA, Takashi MISUMI, Tetsuo OOGITA, Kazuya ASANO and Norihito SUZUKI (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10 Shin-Yamashita, Naka-ku, Yokohama 231-0801, Japan). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* **45**: 37-40 (2009).

Abstract: Phosphine Residue analysis by headspace gas chromatography using a sample disrupter was conducted for three fumigated commodities Soybean, Turmeric and Laurel provided dispersive residue data in previous study. Samples were fumigated with PH_3 3 g/m^3 at 10°C for 3-5 days. Fumigated samples were stored for 1-2 days after fumigation, and then phosphine residue levels were measured. For sample homogenization, a sample disruptor was used. Because phosphine is a volatile compound, it was necessary to disrupt samples at low temperature to prevent phosphine emission from the samples as much as possible. The amounts of sample per container for disruption were 11 g for Soybean and Turmeric, and 6 g for Laurel, respectively. After disruption, 2.0 g (Soybean and Turmeric) and 1.0 g (Laurel) of disrupted samples were weighed out and placed into 20 ml vials for analysis. From the results of these residue analyses, reproducible residue data were obtained from disrupted samples compared to whole (not disrupted) samples which provided data with great dispersion.

Analysis data of disrupted samples were not different from whole samples in residue amount of phosphine. It was decided that disruption, cooling and analysis conditions in this study were adequate for evaluating residue amounts of phosphine. This analysis method was considered to be applicable to various imported commodities.

Key words: residue analysis, phosphine fumigation, headspace gas chromatography, sample disruption with cooling

緒 言

検疫現場や農業現場における病害虫管理において、臭化メチルは有用なくん蒸剤として使用されてきた。しかしながら、臭化メチルはオゾン層破壊物質に指定されており、現在では検疫と不可欠用途以外での消費が禁止されている（楯谷、1993）。一方リン化水素は、臭化メチルに代わるくん蒸剤として貯穀害虫管理のため広く使用されている。

農薬を含む化学物質の食品中への残留については食品衛生法のもとで規制されており、基準値以上の量の農薬が残留する食品の流通が禁止されている。植物検疫くん蒸に使用されるリン化水素も同法により規制されており、その残留分析法については公定分析法（厚生労働省、2005及び環境庁、1973）として定められている。

ヘッドスペースガスクロマトグラフを用いたリン化水素の残留分析は、小麦及び小豆において公定分析法よりも迅速・簡便な方法であるとの報告があり、その分析精度は公定分析法と同等であるとしている（日本くん蒸技術協会、2003）。また、この方法は、穀類、スパイス及びハーブの数種においても高感度でリン化水素の分析が可能であるが、大豆など粒が大きな品目ではばらつきの大きなデータとなり、ウコン等においてはくん蒸前に破碎することが残留値に影響を与えることが報告されている（MISUMI *et al.*, 2007）。この原因として、リン化水素の残留は一粒一

粒の残留量がかなり異なることが考えられる。正確な残留量を評価するためには再現性のあるデータを得る必要があり、その方法の一つとして試料を破碎均一化することが考えられた。

また、リン化水素は常圧条件下では揮発性の化合物であり（沸点： -87.7°C ）、破碎により熱を発生し試料から揮散してしまう可能性がある（秋山ら、1977）。したがって破碎する際には揮散をできるだけ抑えるために低温条件下で実施する必要がある。

以上から、低温条件下で穀類、スパイス及びハーブ類を破碎してヘッドスペースリン化水素残留分析を実施し、再現性のある前処理及び分析方法を検討した。

材料及び方法

ヘッドスペースガスクロマトグラフを用いたリン化水素の残留分析で、粒の大きさ、硬さ等により残留値のばらつきが報告（MISUMI *et al.*, 2007）されている大豆 *Glycine max*（アメリカ産、種子）、ウコン *Curcuma longa*（インド産、乾燥根茎、重さ約1g、直径5-8mm、長さ約20mmの円筒形）、及びローレル *Laurus nobilis*（トルコ産、乾燥葉）の3品目を用いた。

これらの品目をリン化水素 3 g/m^3 、 10°C で3-5日間くん蒸し、くん蒸終了後1-2日間保管した後、リン化水素残留量の測定資料とした。試料を約11g（大豆及びウコン）、

約6g(ローレル)それぞれ秤量し、破碎用のステンレス製チューブ(内径40mm、外径45mm、高さ102mm、内容量100ml、Oリング及びステンレス製キャップ付き、以下破碎用チューブ)に封入した。ステンレス製デュワー瓶(内容量3l)にエタノール1000ml及びドライアイス約125gを入れ、ドライアイス-エタノール混合液を作成し、温度が -60°C 以下であることを確認し、試料の入った破碎用チューブを浸して15分間冷却した。その後、試料破碎機(マルチビーズショッカー[®]、安井機械)を用いて粉末状に破碎し、さらに10分間冷却した。粉末状の試料2g(大豆及びウコン)、1g(ローレル)をそれぞれ精秤し、ガラス製バイアル瓶(内容量20ml)に入れ、蒸留水10mlを入れて封入した。1本の破碎用チューブから最大5本の分析用試料を作成することができた。ヘッドスペース

ガスクロマトグラフを用いてこれら試料中のリン化水素の残留量を測定した。このデータを破碎しないで分析した試料(以下ホール分析)と比較して残留量に差があるか、再現性のある分析結果が得られるか評価した。なお、ヘッドスペースガスクロマトグラフの分析条件はMISUMI *et al.* (2007)の方法に従った。サンプル前処理の手順をFig. 1に、破碎の条件をTable 1に示した。

結果及び考察

大豆、ウコン及びローレルの結果をそれぞれ、Table 2、Table 3及びTable 4に示した。大豆では、ホール分析試料と破碎分析試料とで分析値(ヘッドスペースガスクロマトグラフのピーク面積)に有意な差はみられなかった(Mann-Whitney *U*-test; $n_1=10$, $n_2=4$, $U_{\text{cal}}=17$, $P>0.10$)。反復間のばらつきについては、ホール分析の%RSDが72%であったのに対し、破碎分析では15%と低くなり、より再現性のあるデータが得られた。ウコンにおいてもホール分析試料と破碎分析試料とでは分析値に有意な差はなかった(Mann-Whitney *U*-test; $n_1=5$, $n_2=5$, $U_{\text{cal}}=11$, $P>0.10$)。ホール分析の%RSDは56%であったのに対し、破碎分析の%RSDは7.5%であった。ローレルではホール分析の分析値が若干高かったものの、有意な差はなかった(Mann-Whitney *U*-test; $n_1=4$, $n_2=5$, $U_{\text{cal}}=10$, $P>0.10$)。%RSDはホール分析で32%、破碎分析では6.1%であった。いずれも破碎することによりデータの再現性が向上し、リン化水素の残留量を評価できる分析法であると判断された。

くん蒸終了後の試料を通気や破碎及び加工を行うとリン化水素の残留量が著しく低下することが知られている(BRUCE *et al.*, 1962; 秋山ら, 1977)。今回の試験において冷却しないで破碎した場合、リン化水素の残留量はウコンでは約3分の1(27.8%)、ローレルでは約3分の2(66.0%)となり、冷却した場合と比べて明らかに低くなることが確認された(Table 5)。

しかしながら、冷却した場合には、上述のとおり、ホール分析と破碎分析とで分析値に差がなかったことから、低温条件下で破碎することで分析値に影響を与えるリン化水素の揮散はなかったと考えられる。

一方、大豆において%RSDは他の2品目と比べて大きくなる傾向があった。大豆のようなタンパク質含量の高い品目や、ミネラルを多く含む品目においてはリン化水素の取

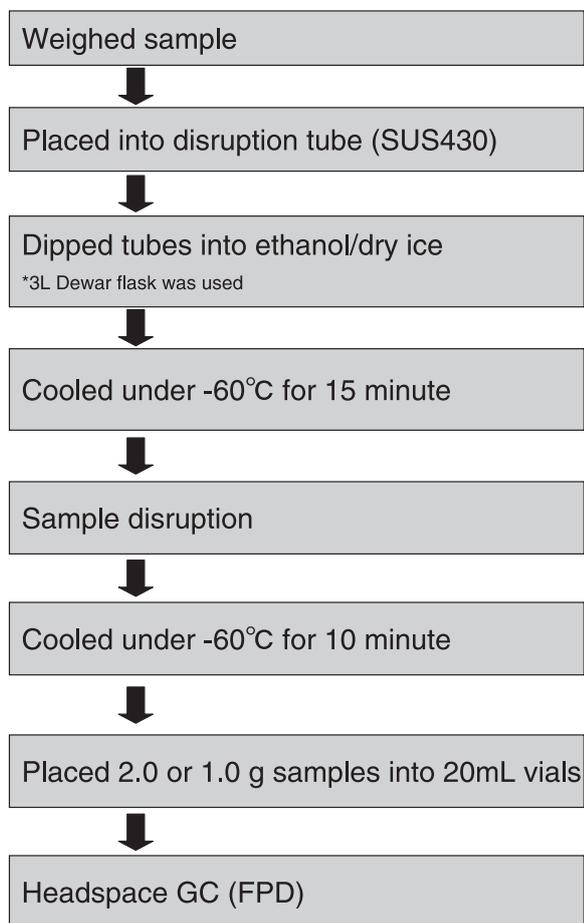


Fig. 1. Sample preparation procedure

Table 1. Conditions of sample preparation

Commodity	Sample weight for disruption (g)	Rotation (rpm)	Duration (sec)	Sample weight for vials (g)	Part of plant analysed	Place of origin
Soybean (<i>Glycine max</i>)	11	2200	30	2.0	seed	USA
Turmeric (<i>Curcuma longa</i>)	11	2200	11	2.0	root	India
Laurel (<i>Laurus nobilis</i>)	6	2000	7	1.0	leaf	Turkey

Table 2. Whole *vs.* disrupted analysis for Soybean

Sample type	n	Mean ¹⁾ ($\times 10^3$)	\pm S.D. ($\times 10^3$)	%RSD ²⁾	95% confidence interval ($\times 10^3$)
Whole analysis	10	1920	1386	72	929–2911
Disruption with cooling	4	1950	294	15	1482–2418

¹⁾ GC response (area).

²⁾ %RSD: relative standard deviation.

No significant difference was observed. (Mann-Whitney *U*-test; $n_1 = 10$, $n_2 = 4$, $U_{cal} = 17$, $\alpha = 0.10$ both sides).

Table 3. Whole *vs.* disrupted analysis for Turmeric

Sample type	n	Mean ¹⁾ ($\times 10^3$)	\pm S.D. ($\times 10^3$)	%RSD ²⁾	95% confidence interval ($\times 10^3$)
Whole analysis	5	110	62	56	34–187
Disruption with cooling	5	104	8	8	95–114

¹⁾ GC response (area).

²⁾ %RSD: relative standard deviation.

No significant difference was observed. (Mann-Whitney *U*-test; $n_1 = 5$, $n_2 = 5$, $U_{cal} = 11$, $\alpha = 0.10$ both sides).

Table 4. Whole *vs.* disrupted analysis for Laurel

Sample type	n	Mean ¹⁾ ($\times 10^3$)	\pm S.D. ($\times 10^3$)	%RSD ²⁾	95% confidence interval ($\times 10^3$)
Whole analysis	4	129	41	32	64–195
Disruption with cooling	5	113	7	6	104–121

¹⁾ GC response (area).

²⁾ %RSD: relative standard deviation.

No significant difference was observed. (Mann-Whitney *U*-test; $n_1 = 4$, $n_2 = 5$, $U_{cal} = 10$, $\alpha = 0.10$ both sides).

Table 5. Disrupted analysis with and without cooling

Conditions	Commodity	n	Mean ¹⁾ ($\times 10^3$)	\pm S.D. ($\times 10^3$)	%RSD ²⁾	95% confidence interval ($\times 10^3$)
Without cooling	Turmeric	5	29	3	11	25–33
	Laurel	5	75	11	14	61–88
With cooling	Turmeric ³⁾	5	104	8	8	95–114
	Laurel ⁴⁾	5	113	7	6	104–121

¹⁾ GC response (area).

²⁾ %RSD: relative standard deviation.

³⁾ Data is identical to Table 3.

⁴⁾ Data is identical to Table 4.

着が多くなるといわれている (BERCK, B., 1968)。本試験の大豆におけるリン化水素の残留量はこのような大豆の特性に影響を受け、ややばらついた結果になったものと思われる。破碎均一化する試料の量を加減することにより改善可能であると考えられる。

公定分析法で分析する場合は、500g (環境庁、1973) または200g (厚生労働省、2005) の試料を必要とし、吸収液・硫酸等の試薬、分解吸収装置を使用するのに対し、本法では試料11gを低温下で破碎することで分析できることから、多様化する輸入農産物に対して迅速・簡便な分析法として有効な手段であると考えられる。

引用文献

- 秋山博志・川本 登・佃由美子 (1977) 植物検疫くん蒸された輸入農産物中の残留くん蒸剤。
 BERCK, B. (1968) Sorption of Phosphine by Cereal Products. *J. Agric. Food Chem.* **16**(3): 419–425.
 BRUCE, R. B., A. J. ROBBINS and T. O. TUFT (1962) Phosphine residues from Phostoxin-treated grain. *J. Agric. Food Chem.* **10**: 18–21.
 環境省 (1973) 作物残留に係る登録保留基準試験法 (環境省告示第46号)。
 厚生労働省 (2005) 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用

医薬品の成分である物質の試験法について（食安発第0124001号 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）。

MISUMI, T., H. KITAMURA, and T. OOGITA (2007) Simple analysis method to measure phosphine residue in grains, herbs, and spices using headspace gas chromatography. *Res.*

Bull. Pl. Prot. Japan **44**: 13-20.

日本くん蒸技術協会（2003）臭化メチル代替技術緊急確立事業実施報告書, 51 pp.

楯谷昭夫（1993）くん蒸剤としての臭化メチルの使用及びオゾン層の保護. *植物防疫* **47**: 193-195.