

臭化メチルでくん蒸した植物中の残留臭素定量法の検討

川本 登・秋山 博志

横浜植物防疫所調査課

FAO/WHO は、臭化メチルくん蒸を行なった穀類中に残留する全臭素の許容量について、各国に対して勧告を行なった (CCPR, 1969)。この、勧告に先立って、農薬の残留分析法について推奨すべき方法を発表している (CCPR, 1968) (以下 FAO 法と略す)。われわれは、この FAO 法に従って普通試薬を使用して分析を行なったところ、分析を行なうたびに分析値間に大きな変動があった。これは空試験、回収率試験においても同様で、また、分析法自身についても、細目については疑問点があり、本法の元となったと思われる Mapes 氏法についても不明の点があった。そこで、FAO 法を詳細に検討した結果つぎの点に原因があるものと思われた。すなわち、1) 試料を灰化するための段階的加熱の方法、2) 設定温度における炉内温度の不均一性、3) 試薬の不純性、4) 試薬の不適當性などである。

これらの点について、後述するように段階的加熱方法の規格化、大型電気炉の使用による炉内温度の均一化、特級品試薬の使用、次亜塩素酸ナトリウムの自作、などの対策によって分析に安定性を増すことができた。これらの結果は、46 年秋から当所と協同してコムギその他の残留分析を実施したメチルブロマイド工業会々員各社間の分析値の比較からも明らかである (第 1 表)。しかし、分析法改良後の各社の分析値からみても、未だ満足すべき結果ではなかったので、その後各種の試料について分

析を行なうとともに (川本ら, 1974)、検討を重ねた結果、ほぼ満足すべき方法を確立することができた。

食品衛生法に基づく食品・添加物の分析法 (厚生省告示第 154 号 1973, 6, 4, 以下、告示法と略) に示された方法は、この結果に基づくものであるので、こゝにその検討の一部とともに分析法を解説する。

なお、本分析法については、農薬検査所柏司化学課長、百弘技官、メチルブロマイド工業会々員、当所東京支所長森武雄技官のご助言、ご協力を得たことを記して謝辞とする。

臭化メチルくん蒸物の残留分析法

(改良を加えた項目を下線で示す)

装置 試料を灰化するための電気炉は、900°C 以上の加熱性能があり、なるべく大型が良い。試料および空試験用として最低 6 個のつぼを同時に入れる必要がある。炉が小容量の場合は、炉壁側と内側では温度差が大きく、位置によっては発火し易い。これらのため、分析値の変動がきわめて大きくなる。告示法の 20 cm は、最低限度の容積であって、これ以上大きいことが望ましい。

恒温水槽は、85±1°C の性能を必要とする。

熱板 (ホットプレート) は、200°C 以上の加熱性能と突沸防止のため、温度の制御ができることが望ましい。

その他の装置については、通常の実験器機を使用する。

試薬および試薬の調製

試薬の純度によって、分析値の変動が大きいことは、前述したとおりである。したがって、試薬は可能な限り特級品または、1 級品を蒸留精製して使用する必要がある。

試薬の種類

モノエタノールアミン	$\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CH}_2\text{NH}_2$
エタノール	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
メタノール	CH_3OH
水酸化ナトリウム (粒状)	NaOH
メチルレッド	$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}_3$
チオ硫酸ナトリウム	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

第 1 表 分析法の改良と分析値の均一性

分析者	種類	改良前期	改良後期
当 所	空 試 験	1.34 ml	0.22 ml
"	くん蒸前	7.6±2.75 ppm	7.9±0.14 ppm
"	くん蒸後	31.4±1.99	33.1±1.28
A	社	32.1	29.6±3.25
B	社	45.9±3.32	46.3±2.97
C	社	29.3±3.27	37.5±1.78
D	社	37.7±1.53	22.2±2.97
E	社	51.3±10.60	27.3±1.82
F	社	—	30.6±3.96
平 均 値		32.2	33.1
薬量-穀温		18g/m ³ -27°C	29g/m ³ -8°C

注：コムギの 48 時間サイロくん蒸

過マンガン酸カリウム	KMnO_4
ヨウ化カリウム	KI
過酸化ナトリウム	Na_2O_2
硫酸	H_2SO_4
モリブデン酸ナトリウム	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
塩酸	HCl
ギ酸ナトリウム	HCOONa
フッ化カリウム	KF
リン酸一ナトリウム	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
デン粉	

塩素ガス：第1図の装置を用い、3口反応フラスコに粉末過マンガン酸カリウム 32g を入れ、減圧下において、上部より塩酸 200ml を滴下する斗により徐々に滴下する。発生する塩素ガスを過マンガン酸カリ溶液 (1→50) で洗い、さらに少量の水を通して塩酸その他の不純物を除く。

1N 次亜塩素酸ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム 44g を水 400ml に溶かし、溶液をかく拌しながら前記の塩素ガス 35.5g を注入し吸収させる。吸収後、水を加えて 1000ml とする。

エタノール・メタノール・モノエタノールアミン・水酸化ナトリウム溶液：エタノールとメタノールを容積比 10:1 の割合で混合した溶液 3800ml 中に 150ml のモノエタノールアミンおよび 30g の水酸化ナトリウムを加えて溶かす。

6N 塩酸：塩酸 250ml に蒸留水を加えて 500ml とし、蒸留する。最初の留出液と最後の残液各 50ml を除き、中間の 400ml を使用する。

6N 硫酸：硫酸 6ml をとり、蒸留水を加えて 36ml とする。

0.1N チオ硫酸ナトリウム：チオ硫酸ナトリウム 26

g、無水炭酸ナトリウム 0.2g に、新たに煮沸し、冷却した水を加えて溶かし、1000ml とし、24時間放置したのち使用する。

メチルレッド・水酸化ナトリウム試液：メチルレッド 0.1g を 0.1N 水酸化ナトリウム溶液 4ml に溶かし、水を加えて 100ml とする。

1N 次亜塩素酸ナトリウム溶液の標定：試液 1ml をとり、水 50ml、ヨウ化カリウム 2g および酢酸 (9→25) 10ml を加え、0.1N チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。なお、指示薬としてデン粉試薬 0.3ml を滴下する。

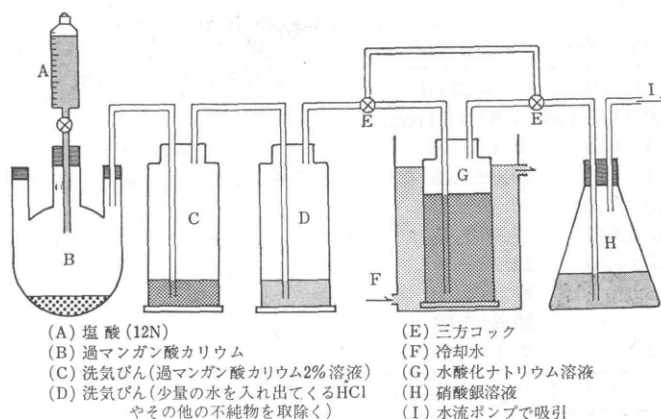
力価 = $0.1 \times 0.1 \text{ N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ の力価 $\times 0.1 \text{ N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ の消費量 (ml)

0.1N チオ硫酸ナトリウム溶液の標定：常法 (ヨウ素酸カリウム法) によって標定する。

その他、試薬、分析用溶液、器具などについては、「食品・添加物等の規格基準」の項に示されたものを準用する。

試験溶液の調製

(1) **試料コムギ 50g** を取り、420 μ の標準フルイを通して粉砕する。コムギの食品としての使用法は、いうまでもなく小麦粉であり、小麦粉からパン、うどんなど種々の食品に加工され食用に供される。製粉する場合は、コムギを洗浄し、加湿操作を行なって含水率が約 16% となるようにしてから製粉過程に入る。製粉では、ロールミルを主体として、外皮やふすまを除去しながら粉砕されていく。したがって、臭素の定量は本来、原料コムギそのものでなく、また、粒や全粒粉でもなく、市販される粉の状態での分析するのが妥当であると考えられる。しかしながら、告示法では、コムギ粒をそのまま全粒粉



第1図 少量の次亜塩素酸ナトリウム製造装置

砕することとなった。なお、粒のままでは、モノエタノールアミン・水酸化ナトリウム溶液による吸収分解が不十分で、分析値の変動が大きくなる。(2) 粉碎された粉 5g を精秤し、ニッケルるつぼにとる。(3) エタノール・メタノール・モノエタノールアミン・水酸化ナトリウム溶液 25ml を加え、約 16 時間放置する。この時間の設定は、最小時間として 16 時間をもっとも安定し、高い分析値を示したことによるものである。(4) るつぼを 85°C の恒温水槽上で加熱し、エタノール、メタノールを除去する。所定温度より高くなれば沸騰し、液が飛散するので注意を要する。(5) 10g の水酸化ナトリウムをるつぼ内の残渣に加える。(6) 熱板上で揮発性物質を除くため、発煙・発泡がなくなるまで 1~1.5 時間加熱する。(7) るつぼを 400°C の電気炉に入れ、約 30 分で 600°C になるように加熱し、600°C になってから 1 時間加熱する。るつぼを炉外に取り出し、やみ放冷してから過酸化ナトリウム 5~6mg を加え、直ちに 600°C の電気炉に戻し 1 時間加熱する。

FAO 法に示された 600°C の電気炉内に直ちにるつぼを入れる方法では、発火、突沸することが多い。また、加熱温度の 600°C では、臭化物の溶解・灰化が不十分であるという意見があった。このため、つぎの各種の試験を行なった結果、臭化ナトリウムの融点 755°C を考慮して、前記の段階的加熱方法が決定された。検討を加えた項目は、①炉内温度の段階的昇温方法、②水酸化ナトリウム添加量の増加、③過酸化ナトリウムの添加時期の温度は、300°C か 600°C 付近の低温、高温のいずれか、④過酸化ナトリウムの添加時期は、るつぼの炉内挿入後 30 分または 60 分後のいずれか、⑤過酸化ナトリウムの添加量は、数 mg, 100mg, 500mg のいずれが適当であるか、などである。

(8) るつぼ内の溶融物が固化する前に水約 75ml を加え、ガラス棒でかき混ぜながら熱板上で加熱して溶かす。(9) 溶液を 500ml のビーカーに移し、るつぼ内を少量の水とガラス棒を使用して洗浄する。この操作を 2 回繰り返し、両洗液をビーカーに合わせる。(10) 6N 塩酸約 40ml を加えほぼ中和し、酸性の場合は、20% 水酸化ナトリウムを加えて微アルカリ性とする。この確認は pH 試験紙で行なう。

FAO 法による「部分的中和」の意味について検討し、塩酸添加量を 32, 40, 45, 50ml にわけ、pH メーターおよび pH 試験紙を用いて調整したところ、FAO 法 50ml に対し、40ml がもっとも適当であった。(11) ビーカーを時計皿でおおい、液を 100~120ml になるまで煮沸する。過酸化物を破壊するためには、沸騰時間を長くする必要がありと考え、沸騰してから時間を 5, 10,

20, 30 分について試験した結果、液の濃縮所要時間を含めて約 20 分間がもっとも適当であった。

(12) 放冷後 500ml の三角フラスコ中に東洋ろ紙 2 号を使用してろ過し、さらにビーカーを少量の水で洗浄し、その洗液でろ紙上の残留物を洗うようにしながら流す。この操作を 2 回反復する。(13) リトマス試験紙がわずかに酸性を呈するまで 6N 塩酸を加える。ついで、メチルレッド・水酸化ナトリウム試液を指示薬として 20% 水酸化ナトリウム溶液を徐々に滴下し、正確に中和する。なお、指示薬はなるべく微量を使用する。(14) リン酸ナトリウム溶液 5ml, 1N 次亜塩素酸ナトリウム溶液 5ml, および突沸防止のためガラス玉 (径 3mm 以下) 数個を加え、沸騰させる。(15) 沸騰 1~2 分後に、ギ酸ナトリウム溶液 5ml を加え、さらに 2 分間沸騰させた後、冷水中で放冷し、試験溶液とする。沸騰時間については、1, 2, 5 分間について試験を行なった結果、2 分間が高い分析値を示し、1 分、および 5 分と 2 分では $p=0.05$ (t 検定) で差が認められた。

定量法

前記の試験溶液にモリブデン酸ナトリウム溶液約 0.3ml, フッ化カリウム溶液 1ml, ヨウ化カリウム溶液 1ml, 6N 硫酸 25ml を加え、よく混和し、ただちに 0.01N チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。反応の終点直前にデン粉指示薬 0.3ml を加える。

なお、毎回の分析ごとに同様の方法で空試験を行なう。

臭素量の計算

$$\text{臭素量 (ppm)} = \frac{0.1332 \times 0.01N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ の消費量 (ml)} \times 1,000 \times 0.01N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ の規定度係数}}{\text{検体の採取量 (g)}}$$

注意事項

本分析法は、前述のように FAO 法に改良を加えたものであるが、分析値が変動しやすい。このため、分析に際しては、つぎの点に留意しなければならない。

(1) 1 試料について、3 点以上の分析と、3 点以上の空試験を並行して実施すること。(2) 空試験における 0.01N チオ硫酸ナトリウム溶液の消費量は、0.4ml 以下でなければならない。0.4ml 以上を消費する場合は、その分析法が不安定なものと考えられる。(3) 臭素 50ppm 相当の臭化ナトリウム溶液 (臭素として 250μg) を試料 5g に加えて回収試験を行なう。その結果、回収率が $100 \pm 10\%$ (測定値として 45~55ppm) 以内とならなければならない。この数値以外の場合は、その分析法が不安定なものと考えられる。(4) 次亜塩素酸ナトリ

ウムは、所定の方法で製造し、一般の市販品を使用しない。

要 約

FAO/WHO から推奨された穀類中の残留臭素量の分析法について検討を行ない、分析法の細目を定め、さらに一部の改良を行なった。食品衛生法の食品・添加物等の分析法の参考資料として示された分析法は、これらの検討に基づくものである。なお、この残留臭素分析法は、FAO 法を基本としているため、一部改良したとはいえ、分析に際してはつぎの諸点に留意して行なう必要がある。

(1) 試薬は、特級品または、特級品に準じた試薬を使用する。(2) 次亜塩素酸ナトリウムは、所定の方法で製造し、使用する。(3) 1 試料について、3 点以上の分析と空試験として 3 点以上を並行して実施すること。(4) 空試験における 0.01 N チオ硫酸ナトリウム溶液の消費量は、0.4ml 以下でなければならない。(5) 回収率は、100±10% 以内でなければならない。

引 用 文 献

川本 登・榎谷昭夫・星野貴博・荘司宏明・堺 武志・

木村 茂 (1973) 臭化メチルくん蒸による 3 種穀類の残留臭素量, 植防研報, 11: 20~25.

秋山博志・川本 登・榎谷昭夫・佐伯 聰・村川 昇・相馬幸博・佃 由美子・中島修 (1974) 臭化メチル, 臭化エチレンでくん蒸した数種植物の残留臭素量, 植防研報, 12: 42~45.

Codex Committee on Pesticide Residues Third Session (1968) Methods of Analysis of Pesticide Residues Recommended by the Joint Meeting on Pesticide Residues.

Recommended International Tolerances For Pesticide Residues (1969), Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission.

Food and Agriculture Organization of the United Nation (1969) Pesticide Residues in Food, Report of the 1968 Joint FAO/WHO Meeting FAO Agricultural Studies No. 78

MAPES D.A. and SHRADER S.A. (1957) Determination of Total and Inorganic Bromide Residues in Fumigated Products. J. Ass. Off. Agr. Chem. 40: 189-96

Summary

Analytical Method for Determinations of Total Bromide Residues in Cereals Fumigated with Methyl Bromide

Noboru KAWAMOTO and Hiroshi AKIYAMA

Research Division, Yokohama Plant Protection Station

Method of analysis for total bromide residues derived from methyl bromide in cereals was recommended by Joint FAO/WHO Meeting on pesticide residues in 1968. 50 ppm was recommended as tolerance of total bromide in raw cereals in 1969. Aresults of the analysis with the recommended method were not satisfactory at first, some procedures in the recommended method were modified, and satisfactory data were obtained. In Japan, on the basis of our modified method Ministry of Public Welfare noticed the official analyzation method for total bromide residue in wheat in Food Sanitation Law.

Following points are very important for this analysis.

- 1) More than three replications in one sample and blank test with all reagents through all procedures should be done.
- 2) Titration volume of 0.01 N sodium thiosulfate solution at blank test should be

less than 0.4 ml.

3) The recovery percent of the added 50ppm bromide to one sample should be $100 \pm 10\%$.

4) Sodium hypochlorite in 0.1 N NaOH should be prepared by introducing chlorine gas into sodium hydroxide solution.