

リン化水素による輸出用二十世紀梨の消毒試験

3. 果実中のリン化水素残留量

相馬 幸博・後藤 睦郎・小川 昇・大島 健幸*・秋山 憲彦*・有明 輝*

横浜植物防疫所調査研究部・*リン化アルミニウム工業会

Disinfestation of Export Japanese Pears "Nijisseiki" by Phosphine Fumigation. 3. Phosphine Residue in Fumigated Fruit. Yukihiro SOMA, Mutsuro GOTO, Noboru OGAWA, Takeyuki OOSHIMA*, Norihiko AKIYAMA* and Akira ARIAKE* (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shin-Yamashita, Naka-ku, Yokohama 231-0801, Japan. * Japan Aluminum Phosphide Industry Association). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* **40**: 13-17 (2004).

Abstract: Phosphine residue was determined for the Japanese "Nijisseiki" pear fumigated with phosphine generated by a generator of aluminum phosphide. Pear fruits were fumigated at 1.5 g/m³ of phosphine for 24 hours at 15-25°C, that the fumigation schedule has been confirmed both a complete mortality of the Kanzawa spider mite *Tetranychus urticae* and no phytotoxicity of pear fruit. Fumigated fruit was stored at 5°C, and then phosphine in the fruit was determined by gas chromatography (FID), using a gas sample in the head space of a glass jar by new analytical method of phosphine. Each sample was put in methanol in a 20 ml glass jar. The samples were homogenized and then were allowed to equilibrate for 75 minutes at 90°C. The detection limit was 0.5 ppb. The phosphin residue level in fumigated fruit was less than 1 ppb of the detection limit at 1, 4, and 7 days after fumigation.

Key words: quarantine treatment, fumigation, phosphine, residues, Japanese pear "Nijisseiki"

はじめに

日本産梨生果実、カンザワハダニなど米国やカナダに未発生の害虫が寄生するため輸出が制限されているが、松岡ら（1999）、相馬ら（1999）は、リン化アルミニウム剤を用いて二十世紀梨に寄生したダニ類の殺虫処理方法を開発した。この方法は、リン化アルミニウム剤の専用庫外投薬機を用い、短時間でリン化水素を発生させてくん蒸する方法であるが、商業くん蒸に適用させるためには果実中のリン化水素残留量に問題のないことが必要である。

リン化水素残留量の分析法は、秋山ら（1977）により検討され、その後、穀類等に対し登録保留基準（1978、環境省）が設定され、基準値（100 ppb）と分析法（吸光光度法）が定められたが、果実に対しては設定されなかった。米国では梨果実に基準値はないものの、柑橘類、柿、バナナなどの果実には 10 ppb の基準値があり、穀類など（100 ppb）よりも低く設定されている（EPA, 1999）。これらの状況から、梨果実をリン化アルミニウム剤でくん蒸するためには、くん蒸後のリン化水素残留量が 10 ppb を下回ることが必要と考える。

分析方法については、分析操作の簡便化と分析試料

の少量化の検討が行われ、リン化アルミニウム工業会は穀類中のリン化水素残留分析にヘッドスペース法を導入した新たな分析法（大島ら、未発表）を開発した。この方法は精度も高く、試料の調整方法を改良することにより、果実の分析にも適用が可能であると考え

る。そこで、ダニ類を完全殺虫できるくん蒸条件で処理した二十世紀梨について、ヘッドスペース法を用い、くん蒸後の経過日数別に果実中のリン化水素残留量を調査したので報告する。

本試験に当たり、分析方法の検討についてご協力を頂いた残留農業研究所の小田中芳次室長及び富山成人主任研究員に厚くお礼申し上げる。

材料及び方法

1. 供試果実

平成 14 年 9 月上旬に鳥取県河原町で収穫された二十世紀梨（M サイズ）で、収穫後に産地の冷蔵庫（1°C）で約 4 カ月貯蔵した果実をカートンボックスに梱包（40 果入り、10 kg）した状態でくん蒸した。

2. くん蒸及び保管

帝人化成株式会社三原工場（広島県三原市）内の鉄

製くん蒸箱（内容積 0.96 m³、温度調節機及び攪拌装置付き）を用い、リン化水素 1.5 g/m³、15～25℃、24 時間、収容比 0.05 t/m³ の条件でくん蒸した。二十世紀梨は、カートンボックスに収容、梱包された状態で庫内中央部に配置し、リン化アルミニウム剤はリン化アルミニウム工業会製の庫外投薬機を用いて投薬した。

くん蒸中のガス濃度は、あらかじめくん蒸庫内（カートンボックス内及び空間部）に配管したテフロンパイプからガスを注射器で採集し、リン化水素及び炭酸ガスはガスクロマトグラフ（TCD GC-18A、島津）で、アンモニアガスは専用検知管で測定した。くん蒸中の温度は、熱伝対型自動温度記録計で定期的に測定した。くん蒸後は、排気装置を用いて 1 時間排気し、くん蒸果実 1 カートンと対照（無処理）区 1 カートンを残留分析用として分析場所に送付（5℃）した。残ったくん蒸果実は 5℃の冷蔵庫に保管し、3 日後及び 6 日後に同様の方法で送付した。到着した果実は、それぞれ、くん蒸 1 日後、4 日後及び 7 日後の果実として、直ちに残留分析を行った。試験は 3 回反復した。

3. 分析方法

果実中のリン化水素残留量は、次の方法により財団法人残留農薬研究所（千葉県水海道市）で分析した。

(1) リン化水素標準溶液（原液）の標定

リン化水素原液（帝人化成製）の入った容器をドライアイス塊に埋め込み、よく混合し冷却しておく。100 ml のバイアルビンに飽和臭素水 10 ml を採取し、シリコンゴム栓とアルミキャップで密栓し、氷冷する。500 μ l のマイクロシリンジをドライアイス/メタノール冷媒（ドライアイスは液面近くまで加える）中で直接冷却（マイクロシリンジから気泡がなくなるまで冷却）し、そのマイクロシリンジでリン化水素原液を素早く 300 μ l 採取し、バイアルビンのシリコンゴム栓から注入する。

リン化水素原液を加えたバイアルビンを 2 分間振とうし、10 分間静置後、密栓を取り外し、100 ml のビーカーに移す。バイアルビンは精製水で黄色がなくなるまで水洗し、洗浄液をビーカーに合わせる。次にホットプレート上で約 10 ml まで濃縮する。このとき、臭素の黄色が残っている場合は精製水を加え、再度濃縮する。冷却後 50 ml のメスフラスコに精製水で移す。このときの液量は約 30 ml とする。次に 5 mol/l 硫酸 5 ml、5%モリブデン酸アンモニウム 5 ml 及び 0.15%硫酸ヒドラジン 2 ml を加え、精製水で 50 ml 定容混合する。これを沸騰水中に 10 分間静置した後、室温まで冷却して 820 nm の吸光度を測定する。

標定の基準物質はリン酸二水素カリウム（P として 1,000 mg/l）水溶液を適宜希釈して用いる。標定の結果、リン化水素標準溶液（原液）の濃度は、5.4 mg/l であった。

(2) 添加用標準溶液の作成

ドライアイスで冷却したリン化水素標準溶液をドライアイスで冷却したメタノールを用いて希釈し、0.0675、0.135、0.675、1.35 及び 2.7 mg/l の 5 濃度の添加用標準溶液を調製し、ドライアイスで冷却した（操作に使用したバイアルビン、メスシリンダー、ルーアロックシリンジは、ドライアイス/メタノールで冷却して使用した）。

(3) 検量線の作成

無処理区の梨果実全体から無作為に 5 果を採り、芯、果梗部及び花落部（果実上下のくぼみ）を除去し、各 1 果から約 20 g（対角部分を約 10 g ずつ 2 カ所）を切り取り（合計 100 g）、包丁で約 5mm 角に細断して混合し、そのうちの 50 g を三角フラスコに採り、水 70 cc を加え、氷冷下でホモジナイザーを用いて約 15 秒間磨砕し、均一化した試料溶液に調整した。包丁による切り取り及び細断作業は、ドライアイス/アセトン冷媒で冷却したバット上で行った。

試料溶液 12 g（試料 5 g 相当）を 20 ml 用のヘッドスペース（以下、HS）容器に量り取り、シリコンゴム栓とアルミキャップで密栓し、これを 5 個準備し冷却した。次に 100 μ l のマイクロシリンジをドライアイス/メタノール冷媒（ドライアイスは液面近くまで加える）中で直接冷却（マイクロシリンジから気泡がなくなるまで冷却）し、そのマイクロシリンジで「リン化水素の添加用標準溶液」をそれぞれ素早く 30 μ l 採取し、HS 容器のシリコンゴム栓から注入し、0.405、0.81、4.05、8.1 及び 16.2 ppb（試料中のリン化水素濃度として）の 5 濃度の検量線用 HS 容器を調製した。この検量線用 HS 容器を HS 付きガスクロマトグラフにセットして平衡化（90℃、75 分）後、気相の 1 ml を注入しデータ処理装置を用いてリン化水素のピーク面積を測定し、検量線を作成した。HS 容器内の気液相濃度平衡化条件については、穀類の分析条件（大島ら、1998）を参考に、90℃、15、30、60 及び 120 分の条件で検討した結果、60～120 分で一定となったため、平衡化温度を 90℃、平衡化時間を 75 分に設定した。

試薬・機器の種類、ガスクロマトグラフの分析条件及び添加用リン化水素標準溶液の作製方法は、次のとおりである。

試薬及び機器

メタノール：特級

硫酸：有害金属測定用

リン酸二水素カリウム：原子吸光用

その他の試薬：特級

リン化水素/メタノール標準溶液（原液）：使用時に
標定を行い、濃度を算出。帝人化成(株)製で密栓、
冷凍保管したものを使用した。

飽和臭素水：100 ml の平底フラスコに 40% 臭化カリウム溶液 250 ml を採取し、次に硫酸 50 ml を水冷しながら加える。ホットプレート加熱の蒸留装置にセットし、安全ロートを介して 6% 過臭素酸カリウム水溶液 250 ml を加える。加熱蒸留して水冷した三角フラスコ中に捕集する。この蒸留を 2 回行う。その後、さらに平底フラスコに 40% 臭化カリウム溶液 250 ml を採取し、蒸留した臭素を加えて再蒸留を行う。この蒸留臭素は密栓をして冷蔵庫に保管する。一部の蒸留臭素は精製水に過剰量溶解して飽和臭素水を調製する。

2.5% モリブデン酸アンモニウム：使用時に調製

0.15% 硫酸ヒドラジン：使用時に調製

リン標準溶液：リン (P) が 1,000 mg/l になるようにリン酸二水素カリウムを精製水で溶解。

ホモジナイザー：ポリトン（Kinematica 社製）

分光光度計（標定用）：自記分光光度計 U-3400 型（(株)日立製作所製）

HS 付きガスクロマトグラフ：GC 17 A (FPD-P)（(株)島津製作所製）

HS サンプラー：HP19395A（Hewlett Packard 社製）

データ処理機：C-R7A（(株)島津製作所製）

ガスクロマトグラフの分析条件

HS サンプラー条件

平衡化温度：90℃

平衡化時間：75 分

GC 注入量：1.0 ml (pressure: 10 s, vent: 4 s, inject: 10 s)

ガスクロマトグラフ条件

カラム：ガラスカラム内径 2.6 mm, 長さ 3 m, Chromosorb-101 (Manville Products 社製)、60~80 mesh

温度：カラム 70℃, 注入口 230℃, 検出器 230℃

ガス流量：キャリアー (He) 20 ml/min, 水素 130 kPa, 空気 150 kPa

感度：レンジ 0

保持時間：1.7 min

(4) 分析操作

果実全体（約 2~4 kg）から無作為に 5 果を採り、芯、果梗部及び花落部（果実上下のくぼみ）を除去し、各 1 果から約 20 g（対角部分を約 10 g ずつ 2 カ所）を切り取り（合計 100 g）、包丁で約 5 mm 角に細断して混合し、そのうちの 50 g を三角フラスコに採り、水 70 cc を加え、氷冷下でホモジナイザーを用いて約 15 秒間磨砕し、均一化した試料溶液に調整した。包丁による切り取り及び細断作業は、ドライアイス/アセトン冷媒で冷却したバット上で行った。

試料溶液 12 g（試料 5 g 相当）を 20 ml の HS 容器に測り採り、シリコンゴム栓とアルミキャップで密栓し、これを 5 個準備し冷却した。次に 100 μ l のマイクロシリンジをドライアイス/メタノール冷媒（ドライアイスは液面近くまで加える）中で直接冷却（マイクロシリンジから気泡がなくなるまで冷却）し、そのマイクロシリンジでドライアイスで冷却したメタノールを素早く 30 μ l 採取し、HS 容器のシリコンゴム栓から注入し、測定用 HS 容器を調製する。この測定用 HS 容器を HS 付きガスクロマトグラフにセットして平衡化（90℃, 75 分）後、気相の 1 ml を注入しデータ処理装置を用いてリン化水素のピーク面積を測定し、検量線により試料中のリン化水素濃度を算出した。

また、無処理区の梨果実を用い、「リン化水素の添加用標準溶液」を 0.405 及び 0.81 ppb（試料中のリン化水素濃度として）の濃度を HS 容器のシリコンゴム栓

第 1 表 二十世紀梨をリン化水素 1.5 g/m³, 15~25℃, 24 時間の条件でリン化アルミニウムくん蒸（庫外投葉機利用）したときのガス濃度

反復	薬量* (g/m ³)	平均温度 (℃)	くん蒸時間 (h)	収容比 (t/m ³)	リン化水素ガス濃度 (mg/l)		
					1 時間後	6 時間後	24 時間後
1	1.64	15.8	24	0.05	1.74	1.67	1.50
2	1.64	22.4	24	0.05	1.61	1.60	1.34
3	1.62	15.6	24	0.05	1.54	1.50	1.50
平均	1.63	17.9	24	0.05	1.63	1.59	1.45

* リン化水素として実投薬量。

第 2 表 二十世紀梨をリン化水素 1.5 g/m³, 15～25℃, 24 時間の条件でリン化アルミニウムくん蒸（庫外投葉機利用）したときの梨果実中のリン化水素残留量

反復	投葉量 ¹⁾ (g/m ³)	平均 温度 (℃)	くん蒸 時間 (h)	くん蒸 回数 (回)	経過 ²⁾ 日数 (日)	分析 回数 (回)	リン化水素残留量	
							分析値 (ppb)	平均 (ppb)
1	1.64	15.8	24	1	1	2	<1, <1	<1
				1	4	2	<1, <1	<1
				1	7	2	<1, <1	<1
2	1.64	22.4	24	1	1	2	<1, <1	<1
				1	4	2	<1, <1	<1
3	1.62	15.6	24	1	1	2	<1, <1	<1
				1	4	2	<1, <1	<1
平均	1.63	17.9	24	1	—	2	—	<1
無処理	—	—	—	0	—	2	<1, <1	<1

¹⁾ リン化水素としての実投葉量。

²⁾ 保管温度は 5℃。2 及び 3 反復日は経過日数 7 日を省略。

から注入して同様に分析し、定量限界、検出限界及び回収率を検討した。

結果及び考察

1. くん蒸中のガス濃度及び温度

くん蒸中のリン化水素濃度及び果実温度は、第 1 表のとおりである。

くん蒸は、リン化水素 1.5 g/m³, 15～25℃, 24 時間の条件で実施したが、実際の投葉量は各反復ともやや多く、1.62～1.64 g/m³ の範囲であった。くん蒸中のリン化水素濃度は、投葉後から開放時まで大きな変化がなく 1.5 mg/l 前後で推移した。また、くん蒸中の炭酸ガス濃度は平均 3.4% で、アンモニアガスは検出されなかった。

2. 定量限界、検出限界及び回収率

無処理区の梨果実を用い、「リン化水素の添加用標準溶液」を加えて HS 法により分析した結果、0.81 ppb の濃度が定量の限界値であったため定量限界濃度を 1 ppb に設定した。また、クロマトグラムから検出限界は 0.5 ppb（測定濃度 0.405 ppb）と考えられる。

回収試験は、0.81 ppb の添加濃度で分析した結果、104, 102 及び 97% の回収率であり、平均回収率は 101% であった。

3. リン化水素残留量

HS 法によるリン化アルミニウムくん蒸した梨果実

のリン化水素残留量は、第 2 表のとおりである。

果実中の残留量は、3 反復のすべてのくん蒸区で定量限界 (1 ppb) 以下であった。分析は、経時的（くん蒸 1 日後、4 日後及び 7 日後、ただし、反復 2 及び 3 では 7 日後を省略した）に実施したが、いずれの区も同様に定量限界以下であった。

リン化アルミニウムくん蒸による穀類中のリン化水素残留分析法は、環境省の農業登録保留基準によりリン化アルミニウム試験法（吸光光度法）が公定分析法として定められているが、特殊な器具器材が必要で操作が複雑であること、試料が多く必要であること、検出感度が低いことから、新たにヘッドスペース法を利用した穀類のリン化水素分析法（大島ら、未発表）を開発した。今回の分析法はこれを改良し、果実中の残留分析法として適用したものである。検量線及び添加回収試験から作成されたクロマトグラムから、必要とする果実の量は吸光光度法の 100 分の 1 程度で、定量限界濃度は 1 ppb, 検出限界は 0.5 ppb であり、高感度、迅速、簡便な果実の分析方法として適用が可能であると考えられる。

農業登録保留基準では、穀類に対する基準値がリン化水素で 0.1 ppm (100 ppb) であり、米国の果実類に対する基準値 10 ppb と比較しても、今回の残留量は極めて低い値であり、全く問題ないものと考えられる。

以上の結果から、二十世紀梨に寄生するカンザワハダニ等のハダニ類を完全殺虫可能なくん蒸条件であるリン化水素 1.5 g/m³, 15～25℃, 24 時間の基準（庫外

投薬機を使用したリン化アルミニウム剤くん蒸)は、輸出用二十世紀梨の検疫処理として適用が可能であると考ええる。

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. 植防研報 14: 38-46.
環境省(1978) 農薬取締法第3条第1項第4号から第7号までに掲げる場合に該当するかどうかの基準を定める等の件第1号イの環境大臣の定める基準(環境

庁告示 55 号, 昭和 53 年 9 月 22 日). リン化アルミニウム試験法.

相馬幸博・松岡郁子・内藤浩光・土屋芳夫・三角隆・川上房男(1999) リン化水素くん蒸による輸出用二十世紀梨の消毒試験 2. 投薬機を利用したリン化アルミニウム剤による実用化くん蒸試験. 植防研報 38: 9-12.

松岡郁子・相馬幸博・三角 隆・内藤浩光・川上房男(1999) リン化水素くん蒸による輸出用二十世紀梨の消毒試験 1. 二十世紀梨の薬害耐性とカンザワハダニの殺虫効果. 植防研報 38: 5-8.