

# EIA キットによる食用花（エディブルフラワー）の 残留農薬測定について

——ガスクロマトグラフ分析等による確認実験の結果——

岡崎 英規 齋藤 勝\*<sup>1</sup> 今井田雅示\*<sup>2</sup>  
堀 伸二郎\*<sup>2</sup> 西宗 高弘

## A study on pesticide residues in edible flowers by EIA-kit

——Results of gas chromatography, GC/MS, and LC analysis——

Hideki OKAZAKI, Masaru SAITO\*<sup>1</sup>, Masashi IMAIDA\*<sup>2</sup>,  
Shinjiro HORI\*<sup>2</sup> and Takahiro NISHIMUNE

### Abstract

Edible flowers, which showed relatively high density of pesticide residues by EIA-kit, were checked by GC, GC/MS and LC. Problems of the result by EIA-kit were uncovered, and the countermeasure to cope with it was investigated.

In a few samples(6%), pesticides of high density were also detected by GC and so on. But in several other samples(3%), about one tenth pesticide was detected by GC etc. as that of EIA-kit. And in the remaining samples(91%), pesticides detected by EIA-kit weren't detected by GC and other analytical methods.

It became clear that cross reaction with similar pesticides and with competing substance in EIA-kit analysis were suggested by our experiments.

From these results, we indicate the necessity of investigating purification method of the extract.

Key words: Edible flower, Pesticide residue, EIA analysis

キーワード：食用花，残留農薬，EIA分析

### 目 的

食用花は、近年種類も豊富になり、小売店などでよく見かけるようになってきた食品である。しかしながら、農薬残留量についての法律的な規制

はない。栽培の実態を考えると無農薬栽培は困難と思われたので我々は前報<sup>1)</sup>において、迅速に検査可能なEIAキットを用いて、食用花の農薬残留実態を明らかにすることを試みた結果、全ての検体から何らかの農薬が検出され、中には非常に高濃度の農薬が検出されたものもあった。

そこで今回我々は、前回EIAキットにより高濃

\*<sup>1</sup>武蔵野栄養専門学校、\*<sup>2</sup>大阪府立衛生研究所

度の農薬が検出された食用花の一部について、GC, GC/MS, LC を用いて追試確認を行い、EIA キットによる食用花の残留農薬測定法とその結果について、問題点の有無を明らかにしようとした。

## 方 法

### 分析試料

試料は、前報において使用した抽出液（平成7年6月中旬から10月中旬にかけて、東京都心のスーパーマーケットや百貨店の食品売場から無作為に購入したものをを用い、まるごとの食用花1gを計り取り、これを50%メタノール溶液 10ml 中に10~15℃で一晩浸した上澄み液）と同一のものをを用いた。

豊橋産食用花（ベルローズ2検体、きんぎょそう1検体、ポットマリーゴールド1検体、コスモス1検体、トレニア1検体）、山形産食用菊3検体、三河産食用菊1検体の合計7種10検体の抽出液を試料とした。

### GC, GC-MS, LC による分析方法

ガスクロ分析の試料調製には、酢酸エチル／ヘキサン（4：1）溶液 100ml とアラソープ 0.5g をとり、マグネティックスターラー上で攪拌しつつ食用花の50%メタノール抽出液 2.5~4ml を加え、15分間攪拌を続ける。

ろ紙（No. 5A）でアラソープをろ別し、酢酸エチル 10ml で2回洗浄後、エバポレーターで濃縮し、10%アセトン／ヘキサンで 2ml にする。

これを内径 10cm のシリカゲルカラム（Merk Art.7754, 130℃ 一夜乾燥）に加える。10%アセトン／ヘキサン試料液 2ml をカラムに注入し、その後カラムを10%アセトン／ヘキサン 2ml で2回すすぐ。15%アセトン／ヘキサン 12ml を流して、プロチオホス溶出区分とする。

さらに、15%アセトン／ヘキサン 45ml を流して、濃縮後10%アセトン／ヘキサンで 0.5ml とし、キャプタン、カルバリル、クロルピリホス、クロロタロニル、カルボフラン、マラチオン、プロシミドン、テブフェンピラド溶出区分とする。

続けて、酢酸エチル／ヘキサン（1：1）溶液 110ml を流して、ビテルタノール溶出区分とするか、あるいは、濃縮後メタノールで 0.5ml とし、カ

ルベンダジム溶出区分とする。

カルベンダジムの測定は、島津 LC-10AD/R-E-550/Diasil5C18 で分析した。その他の溶出区分の測定は、島津 GC14-B/FTD or FPD or ECD-DB-1701 or DB-5MS, HP5809 II/HP5791/EI で分析した。

### EIA キットによる測定

今回使用している EIA キットによる結果は、前報<sup>1)</sup> で得られたデータをそのまま使用した。

## 結果および考察

GC 等による追試の結果を表 1 に示した。キャプタン、クロルピリホスおよびプロシミドンで全て不検出であった。プロチオホス、マラチオン、テブフェンピラドおよびビテルタノールについては、今回用いた EIA キットには無い農薬であるが、いくつかの検体で検出された。中でも、山形産食用菊から 0.44~2.55 ppm のテブフェンピラドが検出され、三河産食用菊からは、1.39 ppm のプロチオホス、10.65 ppm ものビテルタノールが検出されており、これらの検体から、高濃度の残留農薬が検出されていることから、GC 等で検討していない他の食用花でも農薬汚染の調査が必要と考えられる。

次に表 2 の上段の数値は、GC 等による測定値を示しており、下段のカッコ内の数値は、EIA による測定値を示した。

カルベンダジムは、EIA のベノミルキットで交叉反応のある農薬で、EIA で高い検出値の検体は、LC で汚染が確認された。

その他、ポットマリーゴールドのカルボフランでも、GC 等の結果に比べ、EIA キットの結果でも相当量の残留農薬を検出した。

また、ポットマリーゴールドのカルバリルおよびベルローズ 2 のクロロタロニルにおいては、EIA キットの結果に比べ、GC 等の結果では 1 ケタ少なく検出された。これは、EIA キットでは、キット名の農薬の他に交叉反応のある農薬を一緒に測定したために値が高く出た可能性を示している。

表1 GC, GC/MS, LCによる残留農薬

(単位: ppm)

	キアブタン	カハ・リル	クハ・リス	クハ・ラニ	クハ・フラン	カハ・ンダジム
ベルローズ2	N.D.	N.D.	N.D.	0.09	N.D.	N.D.
ベルローズ4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
きんぎょそう5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ホットマリゴ-1株	N.D.	0.08	N.D.	N.D.	0.04	N.D.
コスモス2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
トレニア9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.92
山形菊1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.25
山形菊2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.62
山形菊4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
三河菊5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
検出限界	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.10

	プロミドン	プロチオス	マラチオン	デブフェニラト	ピテルタノール
ベルローズ2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ベルローズ4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
きんぎょそう5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ホットマリゴ-1株	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
コスモス2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
トレニア9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
山形菊1	N.D.	N.D.	0.10	2.55	N.D.
山形菊2	N.D.	N.D.	0.08	1.14	N.D.
山形菊4	N.D.	N.D.	N.D.	0.44	N.D.
三河菊5	N.D.	1.39	N.D.	N.D.	10.65
検出限界	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

表2 GC, GC/MS, LC による結果と EIA キットによる結果の対応表

(単位 : ppm)

	キアタン	加パ <sup>1</sup> リル	クロヒ <sup>2</sup> リホス	クロタコニル	加ホ <sup>3</sup> フラン	加パ <sup>4</sup> ンダジム (パ <sup>5</sup> ノミル)	プロミド <sup>6</sup> ン
ベルローズ2	N.D. (12.0)	N.D. (0.1)	N.D. (0.1)	0.09 (0.7)	N.D. (0.04)	N.D. (0.17)	N.D. (N.D.)
ベルローズ4	N.D. (74.3)	N.D. (0.3)	N.D. (0.1)	N.D. (0.2)	N.D. (0.09)	N.D. (0.30)	N.D. (N.D.)
きんぎょそう5	N.D. (N.D.)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.4)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.02)	N.D. (0.10)	N.D. (N.D.)
ホットマリゴ <sup>7</sup> ールド	N.D. (5.0)	0.08 (0.3)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	0.04 (0.01)	N.D. (0.02)	N.D. (N.D.)
コスモス2	N.D. (1.5)	N.D. (1.2)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.04)	N.D. (0.02)	N.D. (N.D.)
トレニア9	N.D. (N.D.)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	N.D. (N.D.)	2.92 (2.24)	N.D. (N.D.)
山形菊1	N.D. (40.3)	N.D. (0.1)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.02)	2.25 (1.51)	N.D. (0.1)
山形菊2	N.D. (43.7)	N.D. (0.2)	N.D. (0.1)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.01)	1.62 (1.10)	N.D. (0.2)
山形菊4	N.D. (36.4)	N.D. (0.1)	N.D. (0.1)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.02)	N.D. (0.23)	N.D. (0.1)
三河菊5	N.D. (53.4)	N.D. (0.1)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.1>)	N.D. (0.06)	N.D. (0.2)
今回の検出限界	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.1	0.05

※上段 : GC,GC/MS,LCによる結果、(下段) : EIAキットによる結果

その他においては、EIA キットで検出された農薬が GC 等では検出されなかった。これは、キット名の農薬や交叉反応のある農薬以外の酵素反応に拮抗する物質を測定したために、EIA のみで結果が陽性に出たことを意味していると考えられる。

表3には、EIA キットの一部において交叉反応のある農薬の一覧とそれぞれの検出限界を示した。

ベノミルキットの欄をみると、先程のトレニア9、山形産食用菊1、2のようにベノミルの他にカルベンダジムが交叉反応で測定されることがわかる。今回、確認できなかった検体や、他のキットでも同様の可能性があると考えられる。

EIA キットで陽性の結果が得られたにも関わらず、GC 等で農薬が検出されない理由を次に検討

表3 EIA キットの交叉農薬および検出限界

ベノミルキット(ppb)		クロルピリホスキット(ppb)	
Carbendazim	0.10	Chlorpyrifos	0.10
Benomyl	0.38	Diazinon	0.12
2-Benzimidazolylurea	0.62	Chlorpyrifos-methyl	0.14
Thiabendazole	6.3	Pirimiphos-ethyl	0.32
Thiophanat-methyl	19	Terbufos	10.3
2-Aminobenzimidazole	120	Lindane	10.6
Benzimidazole	681	Pirimiphos-methyl	19.8
キャプタンキット(ppm)		Disulfoton	
Captan	0.01	Fenitrothion	159
Captafol	1.00	3,5,6-Trichloro-2-pyridinol	>10,000
Metolachlor	2.00	プロシミドンキット(ppb)	
Propachlor	5.00	Procymidone	0.80
Carbaryl	5.00	Vinclozolin	170
Folpet	8.60	アルディカルブキット(ppb)	
THPI	10.0	Aldicarb	0.25
Alachlor	10.0	Aldicarb sulfone	0.27
		Aldicarb sulfoxide	1.80
		Methomyl	10.0

表4 EIA キットの段階希釈実験結果

アルディカルブ			クロロタロニル		
サンプル名	総希釈倍率	残留農薬 (ppm)	サンプル名	総希釈倍率	残留農薬 (ppm)
ベルローズ3	99.0	1.03	ベルローズ1	105.2	0.4
	247.5	1.09		263.0	0.2
	495.0	1.31		526.0	0.2
三河菊2	100.0	0.73	ベルローズ2	100.0	0.9
	250.0	0.83		250.0	0.7
	500.0	0.68		500.0	0.3
三河菊3	99.0	0.92	ベルローズ5	99.0	0.6
	247.5	0.84		247.5	0.3
	495.0	0.72		495.0	0.2

した。

食用花由来の酵素反応拮抗物が試料溶液中に混在する場合、検体を段階希釈後に測定したときの検出値が、方向性の定まらないバラツキを示すといわれているので、酵素反応拮抗物の有無を明らかにするための実験として、一部の検体で段階希釈後測定を実施した。

結果を表4に示した。希釈倍数の変化にもかかわらず、残留農薬測定値としては、ほぼ一定値を示したアルディカルブの場合は、農薬（交叉反応農薬を含む）を検出しているものと考えられた（GC測定はできなかった）。しかし、希釈倍率を高めると検出値が減少してしまうクロロタロニルの場合は、GCでの検出値が約1/10であることから考えても、交叉反応農薬の抗体との親和性がクロロタロニルに比べ著しく低いと考えられる。

更に、EIA キットによる測定結果の一部については、妨害反応存在による擬陽性の可能性があり、妨害物質としては、タンニン、レクチン、フラボノイド、フェノールなどが知られているが、今回は検討するにいたらなかった。

今後の課題として、これらの拮抗物の確認を行うことが必要である。今回用いたサンプル処理は、50%メタノールによる抽出のみであるが、現在SEP-PAKカラムによる抽出法について検討中である。必要があれば、アセトンによる抽出法やフードプレップキットによる抽出法についても検討を進め、GC、GC/MSの無い場合のある程度信

頼できる測定法を完成させたいと考えている。

## 要 約

EIA キットにより高濃度の農薬が検出された食用花の一部について、GC、GC/MS、LCを用いて追試を行った結果、EIA キットによる食用花の残留農薬測定法の結果に問題点があることが明らかとなったので、その対策について検討をおこなった。

GC等による追試では、EIA キットで高い検出値の検体について相当量の残留農薬を検出したものが数検体あった。しかし、EIA キットの結果に比べ、1桁少なく検出されたものが数検体あり、また、多くの検体については、EIA キットで検出された農薬がGC等では検出されなかった。

すなわち、EIA キットでは、キット名の農薬の他に交叉反応のある農薬等を一緒に測定していることが明らかとなり、またキット名の農薬や交叉反応のある農薬以外の酵素反応に拮抗する物質を測定している場合が多いことがGC測定から推定された。従って、今後抽出液の精製法の検討が必要であると考えられた。

## 参考文献

- 1) 岡崎英規, 斎藤勝, 西宗高弘: 食用花（エディブルフラワー）の食品衛生学的研究, 武蔵丘短期大学紀要 第4巻, p.29-42 (1996)