母乳中有機リン系白蟻防除剤の分析

吉田精作,^a 森口好孝,^b 小西良昌,^a 田口修三,^a 薬師寺積^a
大阪府立公衆衛生研究所,^a 大阪薬科大学^b

Analysis of Organophosphorus Termiticides in Human Milk

SEISAKU YOSHIDA,^a YOSHITAKA MORIGUCHI,^b YOSIMASA KONISHI,^a
SYUZO TAGUCHI^a and TSUMORU YAKUSHIJI^a

Osaka Prefectural Institute of Public Health,^a 3-69, Nakamichi 1-chome, Higashinari-ku, Osaka
537, Japan and Osaka University of Pharmaceutical Science,^b 10-65, Kawai
2-chome, Matsubara 580, Japan

(Received July 9, 1991)

Chlorpyrifos and pyridaphention, organophosphorus insecticides, have been utilized for termite control as a substitute of chlordane from 1987 in Japan. In order to investigate the human exposure of these domestic pesticides, the analytical procedure for chlorpyrifos and pyridaphention in human milk sample, as an indicator of the domestic human exposure, was established, and the analyses of chlorpyrifos and pyridaphention levels in the breast milk of women living in the houses treated with termite control were carried out. Milk fat was extracted twice with diethylether-hexane from the milk sample. Defatting was performed by means of the Florisil dry column method; pesticides were eluted with CH₃CN-H₂O=70-30, and reextracted with 20% ether-hexane from acetonitrile layer. Chlorpyrifos and pyridaphention were analysed by gas chromatography (NPD-GC) equipped with a capillary column after clean-up on a silica gel column (chlorpyrifos was eluted with 4% ether-hexane, and pyridaphention with 75% ether-hexane). The minimum detectable residues of chlorpyrifos and pyridaphention were 0.025 ppm on fat basis in each by NPD-GC. Chlordane was detected in all 19 human milk samples (termiticide treated year, 1961-1988), however, chlorpyrifos and pyridaphention were both below the detection limit.

Keywords — termiticide; chlorpyrifos; pyridaphention; organophosphorus pesticide; human milk; gas chromatography (NPD-GC); contamination; human exposure

緒 言

環境汚染物質の中でも代表的なPCBやDDTなどの有機塩素系化合物については多くの研究が行われ、環境中での挙動やヒト汚染状況及びその経路が明らかにされ、人体影響評価が精度よくできまるようになった。¹⁾これに対し、家屋内用殺虫剤については、直接的経路により集中型ヒト汚染を引き起こすことが予想されるにもかかわらず、汚染状況及びその経路などに不明な部分が多い。白蟻防除剤のクロルデンはその代表例である。従来、そのヒト汚染経路は散布場所の床下から上昇してくるクロルデンの

エアロゾルを経気道的に摂取することが中心と考えられてきた。²⁾しかし、最近我々は、クロルデンの精白米への吸着という経路を明らかにし、このルートが居住者汚染に大きく関与していることをつきとめた。³⁾さらに、クロルデン散布家屋に居住している授乳婦の母乳を調査したところ、対象者に比べてクロルデン濃度が数倍高い⁴⁾ことがわかった。

クロルデンが1986年に使用禁止となるにともない、白蟻防除剤として有機リン系農薬のクロルピリホス、ピリダフェンチオンが使われるようになった。有機リン系農薬は有機塩素系農薬に比較して環境中で分解されやすいとされ、クロルピリホス、ピリダ

フェンチオンも同様と考えられるが、家屋内系に関するクロルピリホス、ピリダフェンチオンの人体汚染についての研究は未だ行われていない。また、人体汚染の指標となる母乳についてのクロルピリホス、ピリダフェンチオンの分析方法に関する報告もこれまでに例がない。

本研究は、クロルデンの代替品であるクロルピリホス、ピリダフェンチオンに焦点を絞り、それらの分析方法を確立し、防除家屋居住者の汚染状況について、母乳をヒト汚染指標として分析した。また同時に、母乳中のクロルデンの汚染状況についても検討した。

実験方法

1. 試料及び試薬 母乳試料は1989年11月に採取した。

エタノール、ジエチルエーテル、*n*-ヘキサン、アセトン、無水硫酸ナトリウムは和光純薬工業製残留農薬試験用を使用した。シュウ酸カリウム1水和物は和光純薬工業製特級を使用した。フロリジルは和光純薬工業製フロリジルPRを、シリカゲルはメルク社製のKieselgel 40 (Art. 10180, 70-230 mesh)を使用した。

2. ガスクロマトグラフィー 本体：HP 5711 A (NP-D)。分析カラム：DB-17 (J & W 社) 30 m × 0.32 mm i.d. (膜厚 0.25 μm)。温度：Det. 250°C；Inj. 200°C；Col. 200 → 280°C (4°C/min)。ガス：総流量 (He) 23.5 ml/min；キャリアー (He) 0.7 kg/cm² (2 ml/min)；メイクアップ (He) 48 ml/min；H₂ 4 ml/min；Air 80 ml/min。注入量：2 μl。

3. 分析方法 母乳中クロルピリホス、ピリダフェンチオンについての抽出・脱脂・精製過程をChart 1に示した。

母乳脂肪の抽出方法は既報⁵⁾に準じた。ただし、抽出は2回とし、2回目の抽出溶媒は20%エーテル-ヘキサンとした。フロリジルドライカラムによる脱脂操作も既報⁶⁾に準じたが、アセトニトリル層からの転溶溶媒には20%エーテル-ヘキサンを用いた。

脱脂後のクリーンアップはパスツールピペットを利用したシリカゲルミニカラム法⁷⁾で行い、クロルピリホスを4%エーテル-ヘキサンで、ピリダフェンチオンを75%エーテル-ヘキサンで溶出した。

母乳中のクロルデンの分析方法は前車^{4a)}のとおりである。

結果及び考察

1. 分析方法の検討

シリカゲルミニカラムにおける溶出試験において、クロルピリホスは4%エーテル-ヘキサン 10 ml で溶出が良好であり、ピリダフェンチオンは75%エーテル-ヘキサン 10 ml で溶出した。

フロリジルドライカラムによる脱脂は有機塩素系農薬の分析及び有機リン系農薬のフェニトロチオン、マラチオンの分析⁷⁾において有効であることを報告したが、今回、有機リン系農薬のクロルピリホス、ピリダフェンチオンについても有効かどうか検討した。ピリダフェンチオンはエーテル可溶であるがヘキサンには僅かしか溶けず、そのためにアセトニトリルからヘキサンへの転溶が難しいと考えられた。そこでドライカラムに標準液を供し、30%含水アセトニトリル 150 ml で溶出後、10%エーテル-ヘキサン 100 ml で転溶 (1回) を行ったところピリダフェンチオンの回収率が約60%であったので、エーテル濃度を増加し、20%エーテル-ヘキサンで転溶したところ良好な回収率 (2回平均でクロルピリホス 88.2%、ピリダフェンチオン 93.2%) が認められた。

牛乳にクロルピリホス、ピリダフェンチオンを添加し脂肪の抽出工程から精製までの回収率を検討した結果をTable Iに示す。結果は満足すべき回収率であり、クロルピリホス、ピリダフェンチオンの両方に関して適切な方法と考えられた。牛乳に低濃度添加したクロルピリホス (0.002 ppm)、ピリダフェンチオン (0.004 ppm) のクロマトグラムをFig. 1に示す。4%エーテル-ヘキサンで溶出したクロルピリホス画分は夾雑ピークがほとんどなく、75%エー

TABLE I. Overall Recovery of Chlorpyrifos and Pyridaphention form Fortified Cow's Milk

Pesticide	Milk (ml)	Fortified level (ppm)	Recovery (%)			
			1	2	3	Mean ± S.D.
Chlorpyrifos	50	0.02	98.8	87.0	74.0	86.6 ± 12.4
Chlorpyrifos	50	0.002	94.9	98.2	98.0	97.0 ± 1.85
Pyridaphention	50	0.02	104.8	71.8	69.1	81.9 ± 19.9
Pyridaphention	50	0.004	92.1	95.6	107.6	98.4 ± 8.13

テル-ヘキサンで溶出したピリダフェンチオン画分でもクロマトグラム上に夾雑ピークはあるものの定量に妨害は認められなかった。

検出限界値については、脂肪 1 g を分析し最終液量を 1 ml とした場合、GC への注入量 $2\mu\text{l}$ でクロマ

トグラム上 0.05 ng (fat basis : 0.025 ppm) を検出限界量とした。Fig.1 のクロマトグラムを見てもこの値は十分検出可能であった。whole basis での検出限界値は脂肪含有量 4 % で 0.001 ppm となる。

2. 母乳中クロルピリホス、ピリダフェンチオン

Chart 1. Analytical Procedure for Chlorpyrifos and Pyridaphention in Milk Samples

Fig. 1. Gas Chromatograms of Chlorpyrifos and Pyridaphention Standards Fortified into Cow's Milk

A: standards; Cp (chlorpyrifos, 0.05 ng); Py (pyridaphention, 0.1 ng), B: chlorpyrifos fraction (fortified level: 0.002 ppm on whole basis, recovery: 98.2%), C: pyridaphention fraction (fortified level: 0.004 ppm on whole basis, recovery: 92.1%).

の分析

白蟻防除剤を散布した家屋に居住する（居住していた）対象者 19 例の母乳脂肪について分析した結果、クロルピリホス、ピリダフェンチオンともいずれの対象者からも検出されなかった（Table II）。母

F1-2

Fig. 2. Gas Chromatograms of Chlorpyrifos and Pyridaphention Fraction from Human Milk (sample No. 19)

A: standards; Cp (chlorpyrifos, 0.05 ng); Py (pyridaphention, 0.1 ng), B: chlorpyrifos fraction, C: pyridaphention fraction.

乳の分析クロマトグラム（Fig. 2）は牛乳のものに比べて夾雑ピークも多かったが、クロルピリホス、ピリダフェンチオンの定量を妨害するピークは認められなかった。

Table II には母乳中のクロルデン濃度も示した。

TABLE II. Concentrations of Chlordane, Chlorpyrifos and Pyridaphention in Breast Milk of Mothers Living Termiticide Treated House (fat basis, ppm)

No.	Termiticide treated year	Living periods (y)	Chlordane	Chlorpyrifos	Pyridaphention
1	—	15	0.171	N.D.	N.D.
2	1961	22	0.063	N.D.	N.D.
3	1970	3	0.064	N.D.	N.D.
4	1970	0.3	0.051	N.D.	N.D.
5	1974	14	0.061	N.D.	N.D.
6	1975	13	0.108	N.D.	N.D.
7	1977	10	0.060	N.D.	N.D.
8	1978	11	0.216	N.D.	N.D.
9	1979	4	0.163	N.D.	N.D.
10	1980	8	0.215	N.D.	N.D.
11	1981	2	0.112	N.D.	N.D.
12	1981	7	0.173	N.D.	N.D.
13	1982	6	0.197	N.D.	N.D.
14	1983	2	0.067	N.D.	N.D.
15	1983	5	0.094	N.D.	N.D.
16	1984	1	0.167	N.D.	N.D.
17	1984	6	0.061	N.D.	N.D.
18	1987	0.1	0.100	N.D.	N.D.
19	1988	1.5	0.028	N.D.	N.D.

N.D. < 0.025 ppm.

クロルデンの使用禁止年(1986年9月)以降に白蟻防除剤を散布した家屋の居住者(No. 18とNo. 19)はクロルピリホス,あるいはピリダフェンチオンの暴露を受けた(受けている)と考えられた。非散布家屋居住者の母乳中クロルデン濃度は平均約0.10 ppm(脂肪中)であり,^{4b)}摂取源はおもに魚介類である。⁸⁾No. 18の対象者の母乳中クロルデン濃度は低く,居住家屋にクロルデンの散布はなく,クロルピリホスあるいはピリダフェンチオンが散布されたと思われた。しかし,それらの母乳中濃度は検出限界値以下であり,生体内蓄積性は極めて低いものと考えられたが,暴露後体内ではクロルピリホス,ピリダフェンチオンとも代謝を受けると考えられるので,母物質がそのままの形で残っているかどうかは暴露量との関係もありさらに研究が必要である。なお,クロルピリホスについては,散布作業者のような高濃度暴露の例では,血液中クロルピリホスが散

布作業の翌朝にも代謝物と共に検出される事が報告されている。⁹⁾

クロルデンは,散布家屋では空気中や精白米中でも検出されており。^{3,10)}クロルピリホス,ピリダフェンチオンについても,同様のことが考えられる。今後増え続ける家屋内クロルピリホス・ピリダフェンチオン汚染に関しては,ヒト汚染経路の解明や暴露後の人体影響評価について,母乳の分析例を増やすとともに,空気,¹²⁾保存食品等の分析や,尿中代謝物の検索も行い,詳細な調査を進めることが重要と考える。

謝辞 本研究の遂行にご協力下さいました大阪薬科大学 仙田恭子さんに感謝します。

本研究の一部は,文部省科学研究費(重点領域研究「人間環境系」)の援助を受けて行ったものであり,関係各位に深謝します。

引用文献

- 1) 薬師寺積, 環境技術, **16**, 282 (1987).
- 2) 薬師寺積, 田口修三, 西宗高弘, 日本食品衛生学会 第54回学術講演会要旨集, 神戸, 1987年10月, P.50.
- 3) 薬師寺積, 小西良昌, 田口修三, 西宗高弘, 田中凉一, 食衛誌, **32**, 78 (1991).
- 4) a) S. Taguchi, T. Yakushiji, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **17**, 65 (1988); b) 小西良昌, 薬師寺積, 西宗高弘, 國田信治, 大阪府公衛研所報, 食品衛生編, **20**, 35 (1989).
- 5) T. Yakushiji, I. Watanabe, K. Kuwabara, S. Yoshida, *J. Chromatogr.*, **154**, 203 (1978).
- 6) T. Yakushiji, I. Watanabe, K. Kuwabara, S. Yoshida, S. Hori, S. Fukushima, T. Kashimoto, K. Koyama, N. Kunita, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **8**, 59 (1979).
- 7) 小西良昌, 吉田精作, 栄食誌, **40**, 375 (1987).
- 8) 田口修三, 小西良昌, 薬師寺積, 西宗高弘, 田中凉一, 食衛誌, **30**, 526 (1989).
- 9) 須永匡彦, 吉田宗弘, 上田照子, 高坂祐夫, 原 一郎, 産業医学, **31**, 142 (1989).
- 10) 實成文彦, 浅川富美雪, 真鍋芳樹, 後藤 敦, 中嶋泰知, 日本公衛誌, **34**, 302 (1987).
- 11) 永美大志, 宇野正清, 陰地義樹, 田中 健, 山添 胖, 奈良県衛生研究所年報, **22**, 93 (1987).