

4. その他の内分泌かく乱物質の暴露に関する調査研究

② 食品中の有機塩素系農薬に関する調査研究

分担研究者 豊田正武 国立医薬品食品衛生研究所・食品部長

研究要旨

脂肪やタンパク質を多く含む畜水産食品中の有機塩素系農薬を主とする内分泌かく乱物質を迅速に測定するため、GC/MSを用いた一斉分析法を開発し、調査事例の少ない輸入食品の鶏卵、チーズ、バター、うなぎ中の濃度レベルを把握した。また、内分泌かく乱物質の一日摂取量を病院給食施設の食事を陰膳方式で収集し、延べ10日間、計30食について求めた。

協力研究者

辻 正彦 兵庫県立衛生研究所
秋山由美 //
吉岡直樹 //

Quintzene

Fthalide

Cypermethrin

Trifluralin

Alachlor

Malathion

Simazine

Metribuzin

Nonachlor(trans/cis)

Heptachlor epoxide

Endosulfan(α/β /sulfate)

Aldrin

Endrin

Methoxychlor

Hexachlorobenzene

Chlorobenzilate

Permethrin

Fenvalerate

Vinclozolin

Nitrofen

Parathion

Atrazine

Carbaryl

Triphenylphosphine sulfide(内部標準)

A. 研究目的

内分泌かく乱作用があると言われている有機塩素系農薬を主体とする30農薬について、脂肪やタンパク質を多く含む食品中の汚染実態を迅速に把握するため、GC/MSを用いた一斉分析法を開発し、輸入畜水産食品の汚染実態を調査するとともに、陰膳方式による一日摂取量を求める。

B. 研究方法

I. 対象化合物及び構造式

Chlordane(trans/cis)

Heptachlor

DDT(p,p'/o,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE)

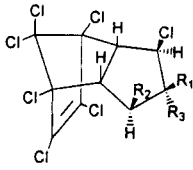
BHC($\alpha/\beta/\gamma/\delta$)

Dieldrin

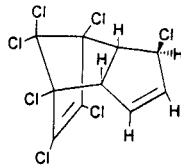
Dicofol

Mirex

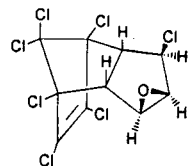
対象化合物の構造式



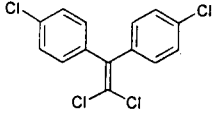
$R_1=H, R_2=H, R_3=Cl$ *trans*-Chlordane
 $R_1=Cl, R_2=H, R_3=H$ *cis*-Chlordane
 $R_1=H, R_2=Cl, R_3=Cl$ *trans*-Nonachlor
 $R_1=Cl, R_2=Cl, R_3=H$ *cis*-Nonachlor
 $R_1, R_2= -O-, R_3=Cl$ Oxychlordane



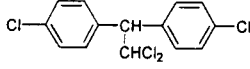
Heptachlor



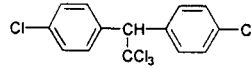
Heptachlorepoide



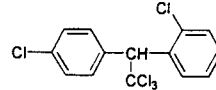
p,p'-DDE



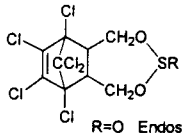
p,p'-DDD



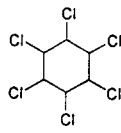
p,p'-DDT



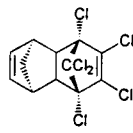
o,p'-DDT



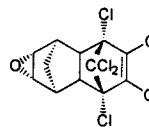
$R=O$ Endosulfan
 $R=O_2$ Endosulfan sulfate



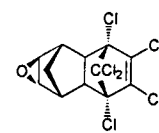
BHC



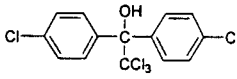
Aldrin



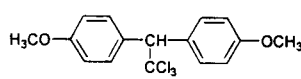
Dieldrin



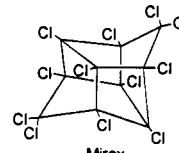
Endrin



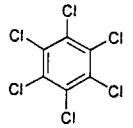
Dicofol



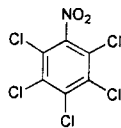
Methoxychlor



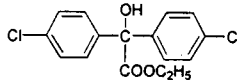
Mirex



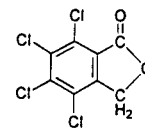
Hexachlorobenzene



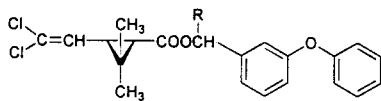
Quintozene



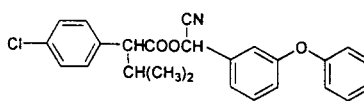
Chlorobenzilate



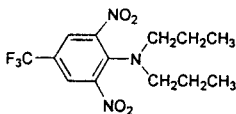
Fthaiide



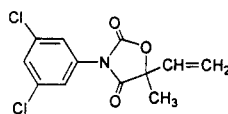
$R=H$ Permethrin
 $R=CN$ Cypermethrin



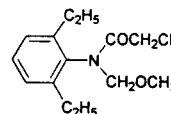
Fenvalerate



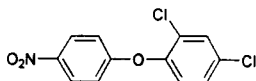
Trifluralin



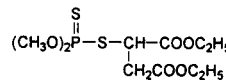
Vinclozolin



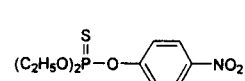
Alachlor



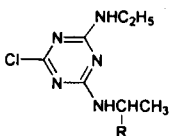
Nitrofen



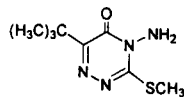
Malathion



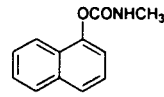
Parathion



$R=H$ Simazine
 $R=CH_3$ Atrazine



Metribuzin



Carbaryl

II. 対象食品

1) 輸入食品

液卵：輸入品が入手できず対照の国産品のみ5検体

バター：輸入品7検体と対照の国産品3検体

チーズ：輸入品10検体

うなぎ：輸入品の蒲焼き5検体

2) 陰膳

病院給食：妊産婦後期食（朝食、昼食、夕食各5食ずつ）

病院給食：職員用給食（朝食、昼食、夕食各5食ずつ）

III. 分析法

1) 試薬および試液

アセトニトリル、アセトンは和光純薬工業製残留農薬試験用、n-ヘキサンは和光純薬工業製残留農薬・PCB 試験用を用いた。塩化ナトリウムおよび無水硫酸ナトリウムは和光純薬工業製試薬特級を550℃で5時間加熱して用いた。その他の試薬は特級品を用いた。

水は蒸留水を Milli-Q (Millipore 社製) で精製して純水を用いた。

塩化ナトリウム飽和 2M リン酸緩衝液 (pH7.0) は、リン酸水素二カリウム 211g とリン酸二水素カリウム 121g を水約 500mL に溶解した後、塩化ナトリウム約 200g を添加し、pH を 7 に調整した後、水を加えて 1L とした。

SPE ミニカラム：ODS および PSA ミニカラムは IST 社製 ISOLUTE を、シリカゲ

ルミニカラムは Waters 社製 Sep-Pak Vac を用いた。

珪藻土は MERCK 社製 Extrelut を用いた。

検量線作成用の標準混合溶液は、アセトンで調製した 10 μ g/mL の標準溶液を n-ヘキサン/アセトン (4:1) で希釈し、0.004 μ g/mL、0.04 μ g/mL、0.4 μ g/mL の GC/MS 用の標準混合溶液を作成した。各々の標準溶液には内部標準物質を 0.04 μ g/mL の濃度になるように添加した。

2) 装置器具

試料調製には試料に接する箇所にゴム・プラスチック類を使用していない下記のステンレス又はガラス製の装置器具を用いた。

ミキサー：Waring 社製ブレンダー HGB-SS

ホモジナイザー：SMT 社製ハイフレックスホモジナイザー HF93

濃縮装置：Zymark 社製 Turbo Vap 500

ガスクロマトグラフ-質量分析計は Hewlett Packard 社製ガスクロマトグラフ HP5890 シリーズ II 型および質量分析計 HP5972 型を用いた。

3) 試料調製法

試料の組成が液卵、バター、チーズ、うなぎ及び混合物の陰膳と大きく異なるため、調査対象毎に試料調製法を検討した。調査に用いた試験法のフローチャートを図 1～図 3 に示した。

液卵・うなぎ蒲焼き試料 (10g)

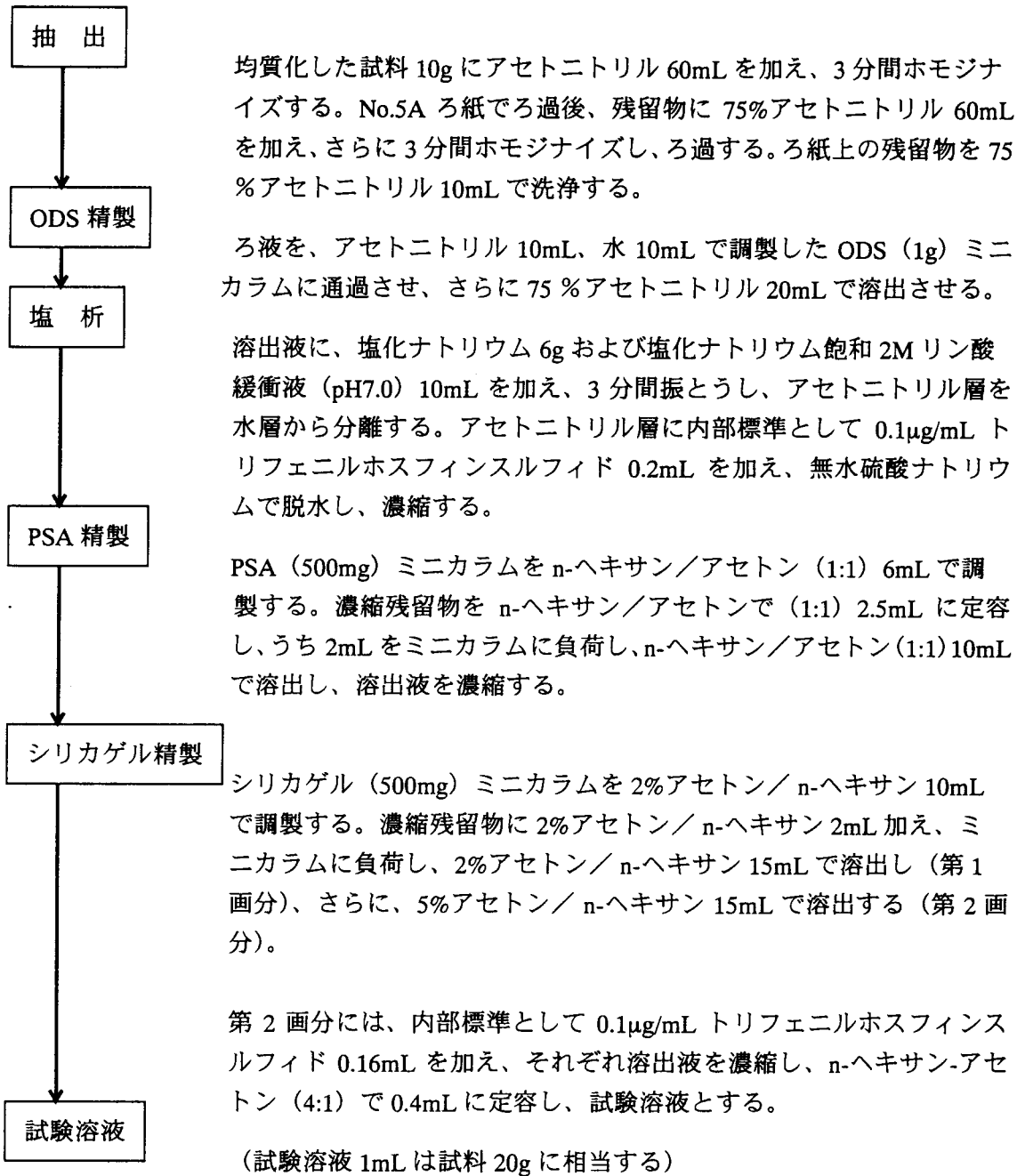


図 1 液卵・うなぎ試料調製法フローチャート

バター・チーズ試料 (5g)

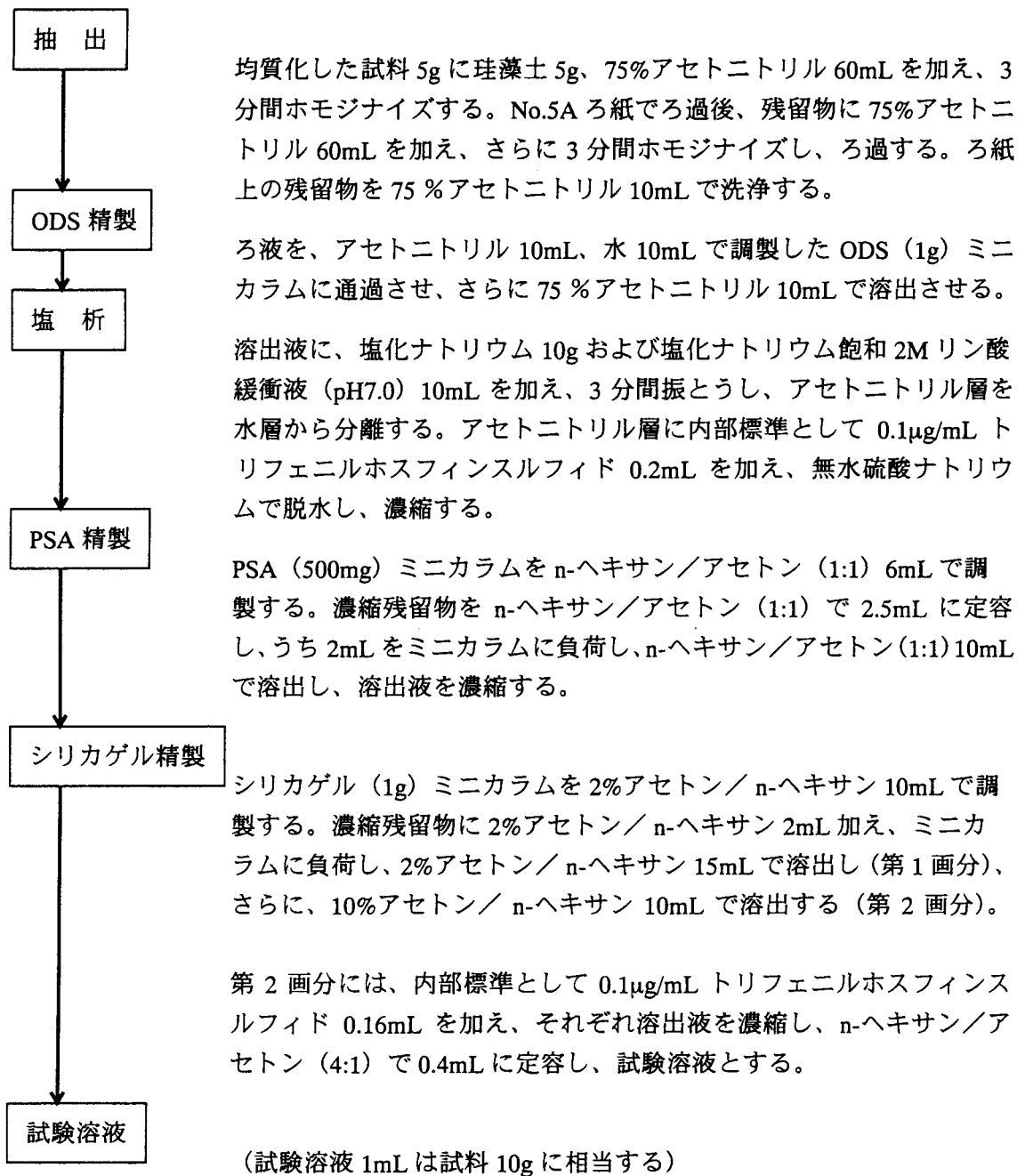


図2 バター・チーズ試料調製法フローチャート

陰膳試料 (15g)

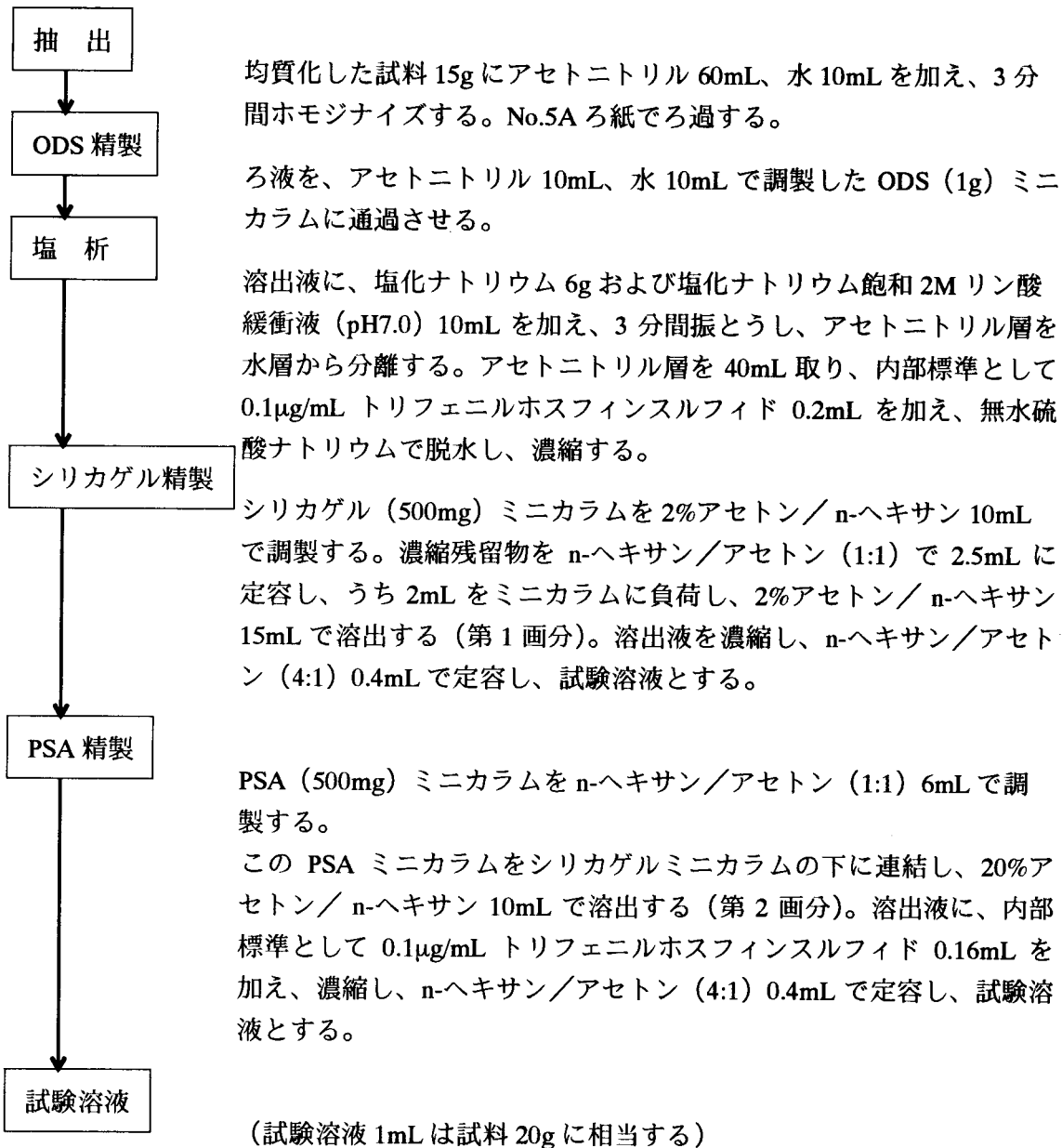


図 3 陰膳試料調製法フローチャート

4) GC/MS 分析

測定対象の農薬の一斉分析は下記の条件で実施した。図 4 に各農薬 0.04ppm の混合標準溶液の SIM モードでのトータルイオンクロマトグラムを、表 1 には GC/MS-SIM 分析のモニターイオンを示した。

分離カラム : J&W 社製キャピラリーカラム DB-5ms(30m × 0.25mm、膜厚 0.10 μ m)
カラム温度 : 80 °C(3min) → 30 °C/min → 170 °C(4min) → 10 °C/min → 270 °C(15min)
注入口温度 : 250 °C

インターフェイス温度：280℃
 イオン化電圧：70eV
 キャリアーガス圧プログラム：30psi
 (1min)→80psi/min→8psi(0.2min)
 (初期流量4ml/minで1分間保持の後、急速に低下させ、1.5分後より0.9ml/minの定流量とした。)
 注入量：4μl (スプリットレス注入法)
 パージオフ時間：1min

農薬の検出と定量は GC/MS 分析において、各農薬の保持時間近辺において2種類のイオンクロマトグラムをとり、標準溶液と比較することによりピークの検出を行い、内部標準物質 (Triphenylphosphine sulfide) のピークとの面積比から濃度計算を行った。図5に標準混合溶液(0.004ppm)、図6にうなぎ蒲焼からの検出例を示した。

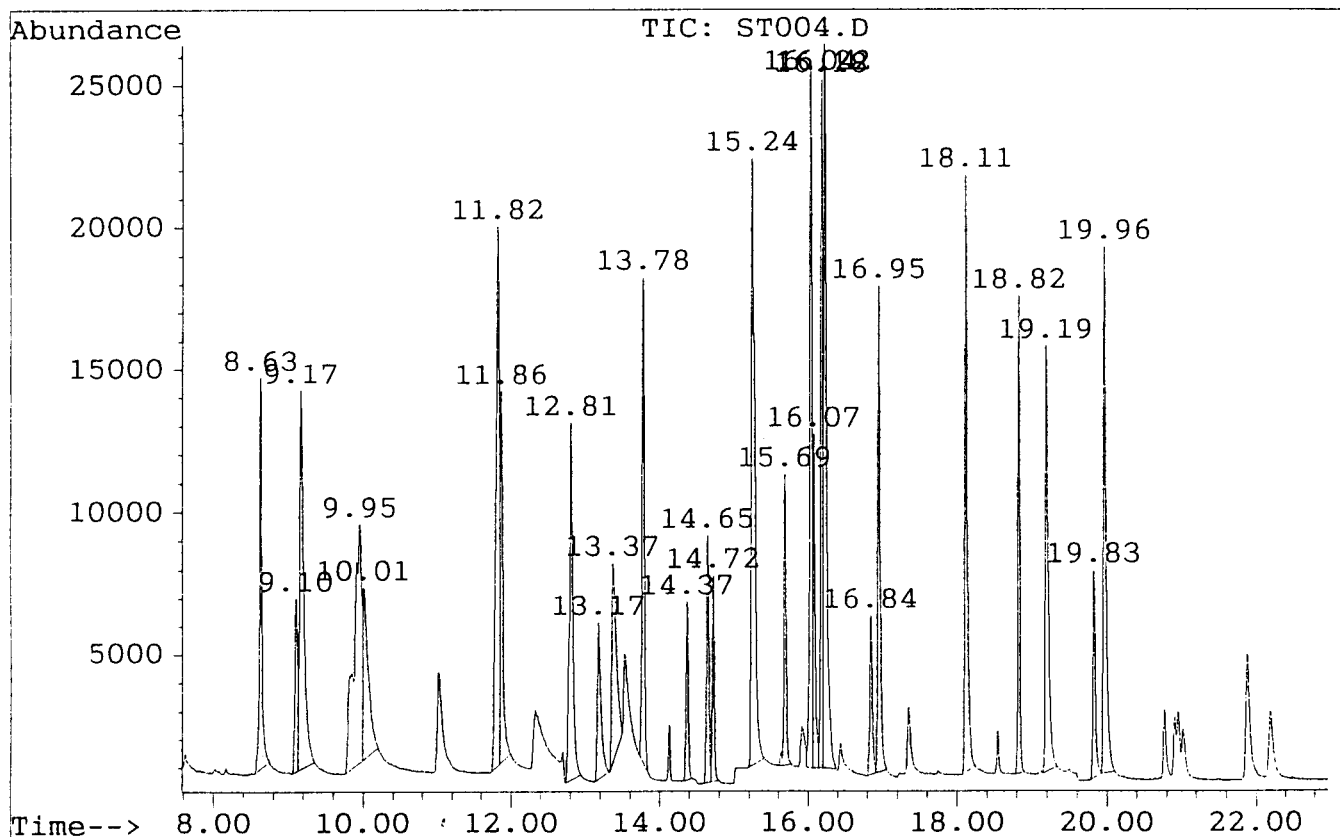


図4 標準混合溶液、各農薬0.04ppmのTIC(SIMモード)

表1 各種農薬の保持時間とGC/MS モニターイオン

農薬名	保持時間 (min)	モニターイオン	
		Target	Qualy
Trifluralin	8.68	306.00	264.00
α -BHC	9.10	216.85	180.90
Hexachlorobenzene	9.15	283.80	285.80
Quintozene	9.79	236.85	141.90
Simazine	9.71	201.00	186.00
Atrazine	9.82	215.00	200.00
γ -BHC	9.82	216.85	180.90
β -BHC	9.95	216.85	180.90
δ -BHC	10.88	216.85	180.90
Metribuzin	11.72	198.00	144.00
Vinclozolin	11.80	285.00	211.95
Alachlor	11.88	188.00	160.05
Heptachlor	11.94	271.75	273.75
Carbaryl	12.03	144.00	115.00
Malathion	12.86	173.00	125.00
Aldrin	12.85	262.80	292.85
Parathion	13.17	291.00	109.00
Fthalide	13.31	242.90	271.85
Dicofol d	13.30	249.90	138.95
Oxychlorane	13.84	386.80	114.95
Heptachlorepoxyde	13.86	352.85	354.85
trans-Chlordane	14.42	372.75	374.75
α -Endosulfan	14.69	194.95	236.85
cis-Chlordane	14.71	372.75	374.75
trans-Nonachlor	14.78	406.70	408.70
Dieldrin	15.30	262.80	79.05
p,p'-DDE	15.31	317.85	246.00
Endrin	15.75	262.80	81.10
Nitrofen	15.83	282.95	201.90
β -Endosulfan	16.02	194.95	236.85
Chlorobenzilate	16.07	250.90	138.95
cis-Chlordane	16.12	406.70	408.70
o,p'-DDT	16.23	234.95	165.00
p,p'-DDD	16.27	234.95	165.00
Endosulfan sulfate	16.84	271.75	228.90
p,p'-DDT	16.98	234.95	165.00
Methoxychlor	18.15	227.10	113.55
Mirex	18.90	271.80	236.80
Triphenylphosphine sulfide	19.25	294.10	183.05
Permethrin1	19.86	183.10	163.00
Permethrin2	20.00	183.10	163.00
Cypermethrin1	20.79	181.10	163.00
Cypermethrin2	20.94	181.10	163.00
Cypermethrin3	20.98	181.10	163.00
Cypermethrin4	21.05	181.10	163.00
Fenvalerate1	21.91	125.00	167.00
Fenvalerate2	22.22	125.00	167.00

注) 点線はSIMの測定グループ切替箇所を示す。

Triphenylphosphine sulfide は内部標準物質

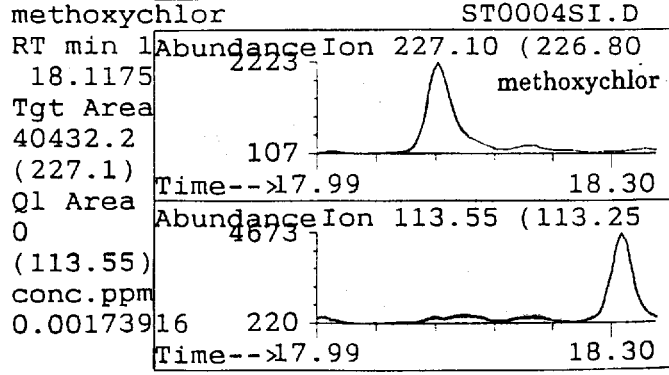
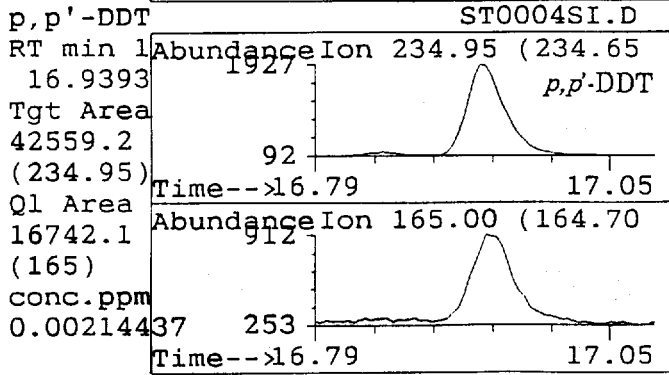
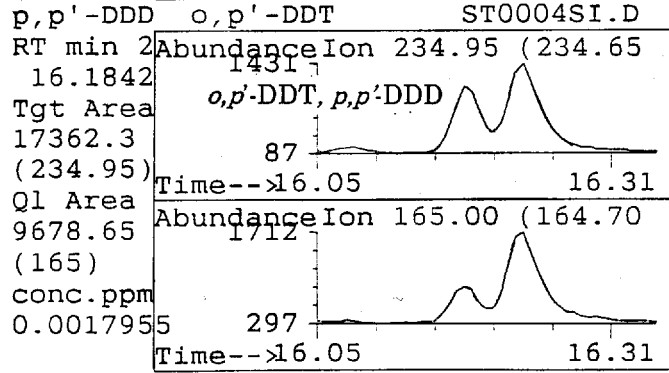
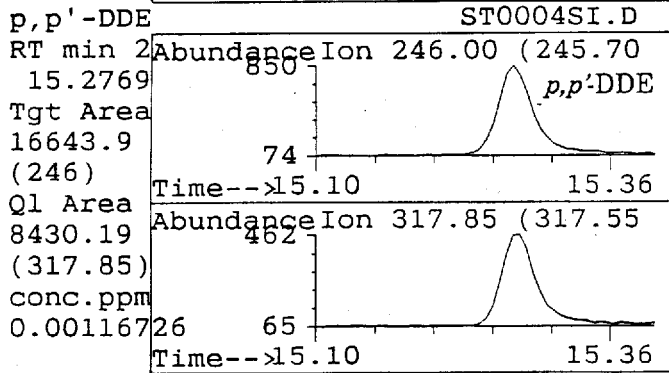
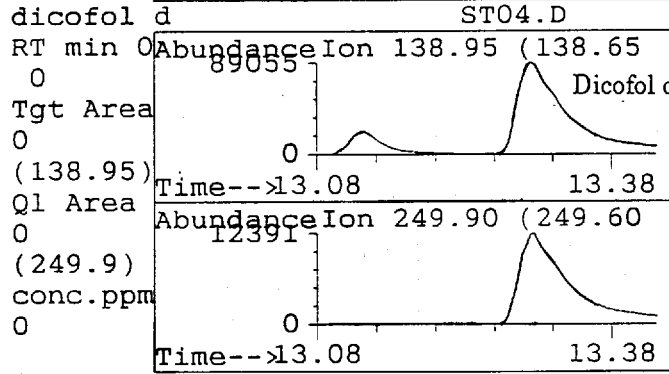
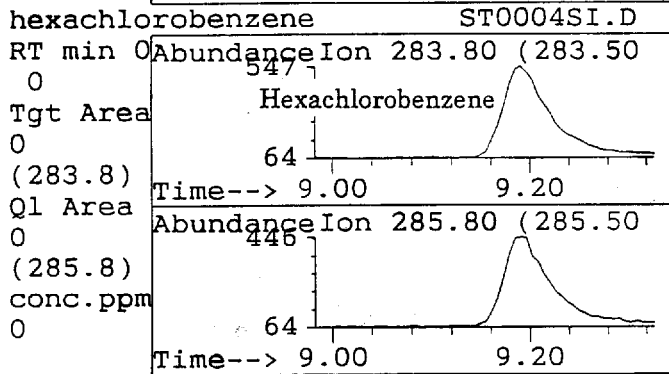
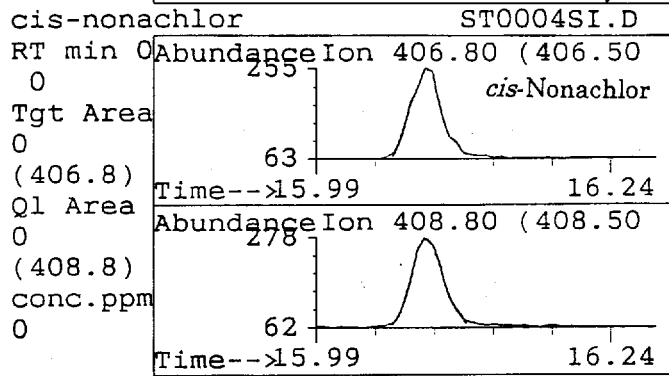
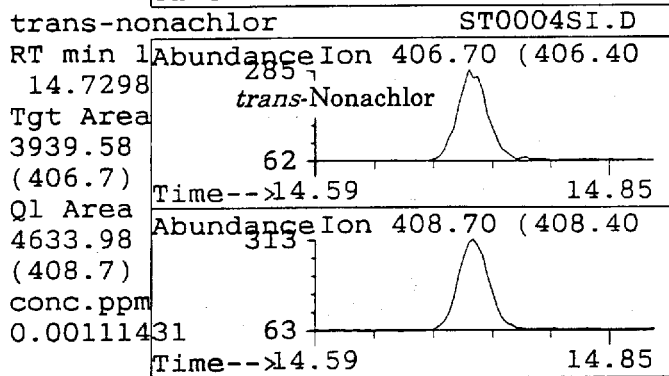
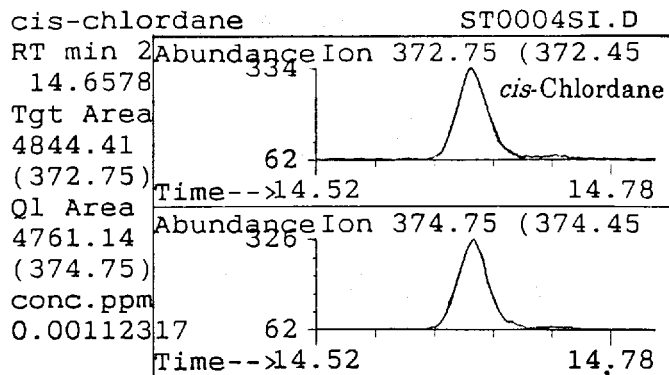
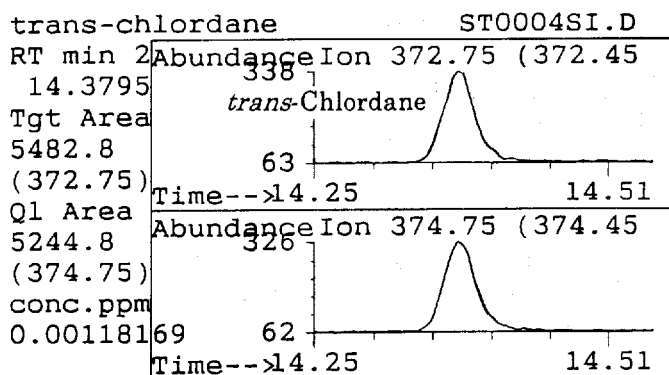


図5 標準混合溶液のSIMクロマトグラム

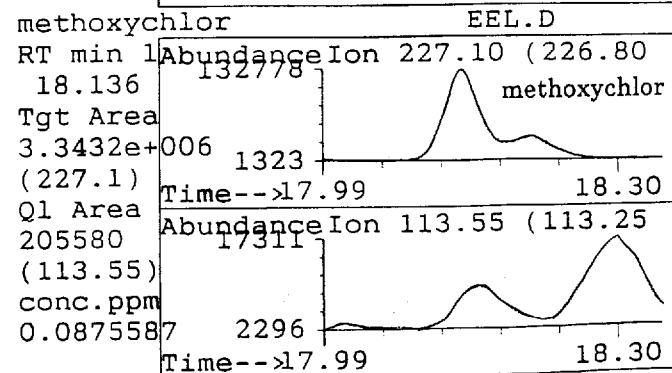
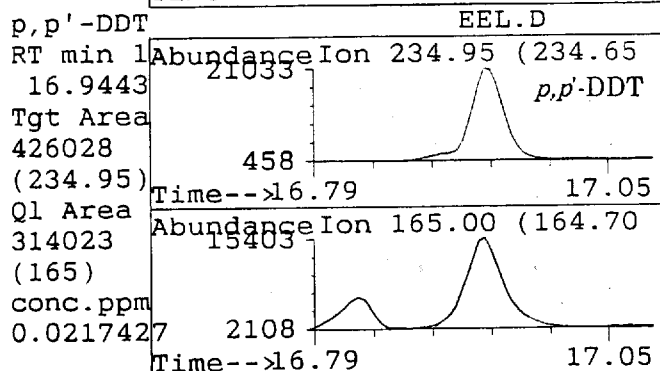
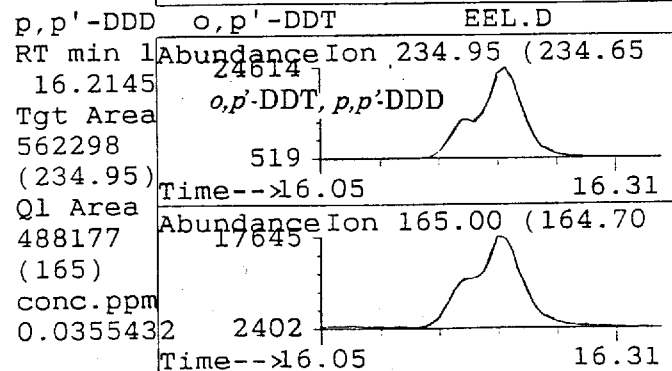
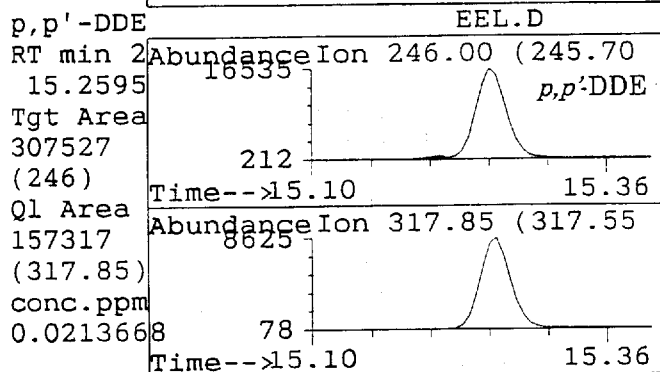
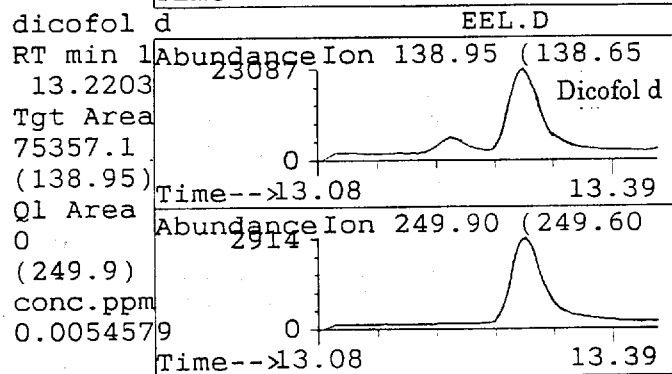
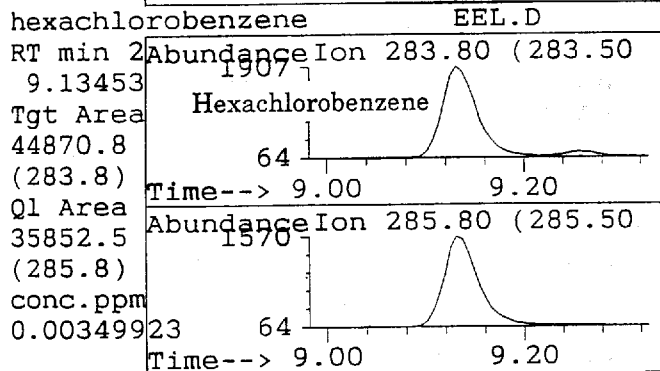
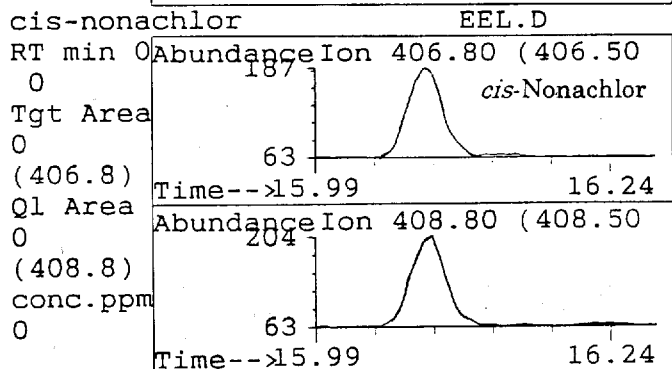
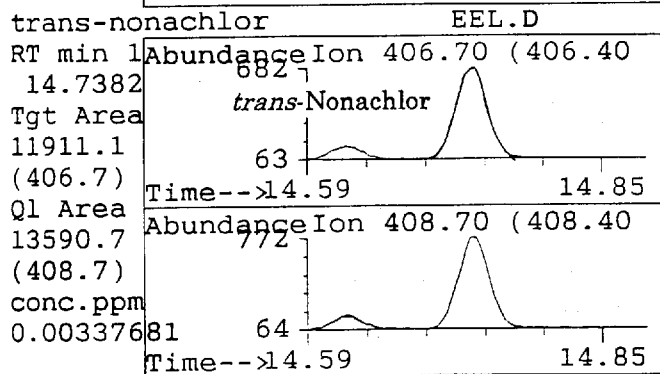
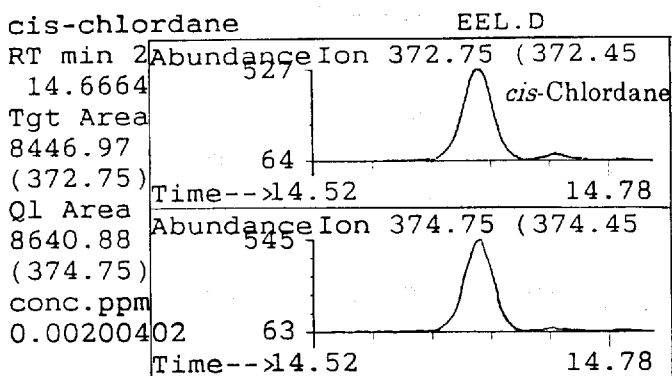
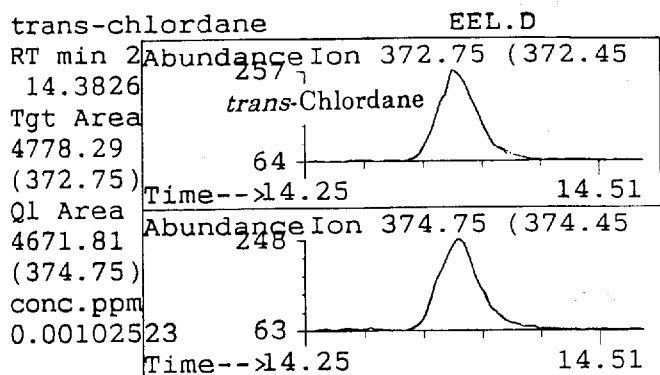


図6 うなぎ蒲焼きからの検出例のSIMクロマトグラム