

牛乳及びチーズ中の残留有機塩素系農薬の実態調査

橋本 常生^{*}, 八巻 ゆみこ^{*}, 笹本 剛生^{*}, 堀井 昭三^{*},
牛尾 房雄^{*}, 平 公崇^{**}, 館山 優乃^{***}, 鎌田 国広^{*}

Survey of Organochlorine Pesticide Residues in Milk and Cheese

Tsuneo HASHIMOTO^{*}, Yumiko YAMAKI^{*}, Takeo SASAMOTO^{*}, Shozo HORII^{*},
Fusao USHIO^{*}, Kimitaka TAIRA^{**}, Uno TATEYAMA^{***} and Kunihiro KAMATA^{*}

Keywords : 有機塩素系農薬 organochlorine pesticides , 残留 residues , 牛乳 milk , チーズ cheese , 内分泌かく乱化学物質 endocrine disrupting chemicals , ゲル浸透クロマトグラフ GPC , ガスクロマトグラフ / 質量分析計 GC/MS , 選択イオン検出 selected ion monitoring(SIM)

緒 言

著者らはこれまでに輸入の食肉, 魚介類及びウナギ加工品などの食品や東京湾内で採取したアサリ等を対象に DDT, ディルドリン等の有機塩素系農薬の残留実態調査を行ってきた¹⁻³⁾. これらの有機塩素系農薬は, 近年内分泌かく乱作用が疑われる化学物質としてリストアップされ, 低濃度の暴露でも人体への影響が問題とされている. そのため平成 12 年度から畜産食品を対象に, ガスクロマトグラフ/質量分析計を用い低濃度レベルで分析を実施し残留実態を報告してきた^{4,5)}. 今回は牛乳及びチーズをの有機塩素系農薬の残留実態を調査したので報告する.

実験方法

1. 試料

平成 15 年 8 月に東京都内のスーパーマーケット等で購入した牛乳(国産)15 検体及びチーズ(国産 13 検体, 輸入 2 検体)15 検体について調査した.

2. 調査対象農薬

有機塩素系農薬類として BHC 類 (γ -BHC , δ -BHC , ϵ -BHC), DDT 類 (p,p' -DDT , p,p' -DDD , p,p' -DDE), ディルドリン, アルドリン, エンドリン, ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシサイドの 12 化合物を対象とした.

3. 試薬及び標準品

(1)アセトン, 石油エーテル, n -ヘキサン, アセトニトリル, エタノール, ジエチルエーテル, 酢酸エチル及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬分析用, シュウ酸カリウムは試

薬特級, イソオクタンは HPLC 用を使用した. なお精製水は n -ヘキサンで洗浄したものをを用いた.

(2)フロリジルカラムは内径 20 mm のガラスフィルター付ガラスカラムにフロリジル[®]PR(和光純薬工業(株)製)5 g をそのまま乾式充填したもの.

(3)標準品は和光純薬工業(株)製 または Riedel-de Haën 社製を使用した.

4. 装置及び測定条件

(1)GPC: abc Laboratories 社製 Auto-vap AS-2000 , GPC カラム: Bio-beads S-X3(200-400 mesh)300×15 mm , 移動相: 酢酸エチル/ n -ヘキサン(1:1) , 流速 2 mL/min , Dump Time : 18 min , Collect Time 18 min(農薬分画) , 注入量: 2 mL

(2)ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS) : Hewlett-Packard 社製 HP6890/HP5973MSD , GC カラム: HP-5MS(内径 0.25 mm , 長さ 30 m , 膜厚 0.25 μ m) Hewlett-Packard 社製 , カラム温度: 120 (1.5 min) - 30 /min - 150 (0 min) - 5 /min - 180 (1 min) - 3 /min - 250 (5 min) , 注入口温度: 260 , 注入法: パルスドスプリットレス , 注入量: 4 μ L , 測定モード: EI(SIM) , イオン化電圧: 70 eV , モニターイオン: 前報⁵⁾と同じイオンを使用した.

5. 試験溶液の調製法

(1)牛乳

(1-1)脂肪抽出 牛乳 20.0 g を分液ロートに量り取り , 20 %シュウ酸カリウム溶液 2 mL , エタノール 30 mL , ジエチルエーテル 10 mL を加えよく混和した後 , さらに n -

* 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター多摩支所広域監視課

*** 東京都福祉保健局健康安全室食品監視課

ヘキサン 50 mL を加え 5 分間振とうした。静置後、*n*-ヘキサン層を採り、再度 *n*-ヘキサン 50 mL で抽出し、*n*-ヘキサン層を合わせた 5%硫酸ナトリウム溶液 20 mL 及び水 20 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後減圧濃縮した。この濃縮残留物の重量を測定し粗脂肪量とした。

(1-2) 精製 この残留物を *n*-ヘキサンに溶解し 10 mL とし、その 5 mL をフロリジルカラムに負荷し、30%ジクロロメタン/*n*-ヘキサン(3:7)40 mL で溶出した。この溶出液を減圧濃縮し、残留物を酢酸エチル/*n*-ヘキサン(1:1)で溶解し 4 mL に定容後、その 2 mL を用い GPC により農薬の分画を得た。農薬分画液を減圧濃縮しイソオクタン 1.0 mL に溶解して試験溶液とした。

(2) チーズ

(2-1) 脂肪抽出 チーズを細切し、その 10 g を用い前報⁴⁾の牛肉と同様に抽出して粗脂肪量を測定した。

(2-2) 精製 粗脂肪 500 mg を正確に採り、少量の *n*-ヘキサンに溶解して、フロリジルカラムに負荷し、以下牛乳の(1-2)精製と同様に操作し試験溶液とした。

結果及び考察

1. 分析方法の検討

(1) 牛乳 抽出操作は衛生試験法⁶⁾を応用して実施した。精製には試料 10 g 相当量(粗脂肪として 0.4 g 前後)を用い、前報⁵⁾の鶏卵と同様に操作した。本分析法による標準品の添加回収実験では平均回収率が 88 ~ 95 %、相対標準偏差が 3 ~ 8 % と良好な結果が得られた(表 1)。検出限界は全乳中濃度として 0.0002 ppm であった。

(2) チーズ 試料のチーズには 20 ~ 30 % の脂肪を含んでいるため牛肉を対象とした操作法⁴⁾により脂肪抽出した。精製には抽出した粗脂肪 500 mg を用い、牛乳と同じ操作法で行った。本分析法により得られた脂肪で標準品添加回収実験を行ったところ平均回収率は 87 ~ 98 %、相対標準偏差は 3 ~ 6 % と良好な結果であった(表 1)。本分析法の検出限界は脂肪中濃度として β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC で 0.005 ppm、その他の化合物は 0.001 ppm であった。

表 1. 添加回収実験¹⁾

化合物名 ²⁾	牛乳		チーズ	
	回収率(%)	R.S.D. ³⁾	回収率(%)	R.S.D.
α -BHC	93.0	6.5	95.2	3.2
β -BHC	93.3	6.5	94.3	2.6
γ -BHC	90.1	5.1	87.3	2.7
δ -BHC	88.6	3.4	92.0	2.8
<i>p,p'</i> -DDE	94.9	3.5	94.8	3.1
<i>p,p'</i> -DDD	89.0	5.1	88.7	3.7
<i>p,p'</i> -DDT	93.3	2.6	90.0	4.7
ディルドリン	94.3	7.3	94.5	3.1
アルドリン	95.6	5.4	91.6	4.4
エンドリン	94.3	8.0	96.9	5.8
HPC	95.4	7.2	98.4	3.9
HPCepo	93.1	3.8	95.8	2.8

1) 添加濃度: 牛乳 0.001 ppm (全乳中),
チーズ 0.02 ppm (脂肪中)

2) HPC: ヘプタクロル,
HPCepo: ヘプタクロルエポキサイド

3) 相対標準偏差(n=3)

2. 農薬残留実態

(1) 牛乳 牛乳は 15 検体中 14 検体(93.3 %)から *p,p'*-DDE が検出され、その濃度は 0.0002 ~ 0.0005 ppm (全乳中) の範囲であった。検体の粗脂肪量は 3.4 ~ 4.4 % であり、これらのデータから脂肪中濃度に換算すると *p,p'*-DDE は 0.005 ~ 0.013 ppm の残留濃度を示した(表 2)。特に *p,p'*-DDE は今までに調査した牛肉などの食肉や鶏卵同様に高い頻度で残留が認められ、脂肪中の残留濃度もほぼ同じレベルを示した。藤沼ら⁷⁾の報告でも、生乳中の *p,p'*-DDE は BHC 類やディルドリン等の農薬に比べ長く残留が続いていることを示している。

今回調査した農薬については、牛乳に対し食品衛生法及び、CODEX の残留基準が設定されているが(表 3)、今回の結果でこれらの基準を超えたものはなかった。

表 2. 牛乳中の残留農薬検出状況

検体数	検出数	検出農薬	残留濃度(ppm)	
			全乳中	脂肪中換算
15	14	<i>p,p'</i> -DDE	0.0002-0.0005	0.005-0.013

表 3. 牛乳中の有機塩素系農薬の残留基準

農薬	食品衛生法 暫定許容基準 (ppm, 全乳中)	CODEX 最大残留基準 ¹⁾ (mg/kg, 全乳中)
β -BHC	0.2	—
リンデン (γ -BHC)	—	0.01
DDT ²⁾	0.05	0.02
ディルドリン ³⁾	0.005	0.006
ヘプタクロル ⁴⁾	—	0.006

1) 外因性最大残留基準

2) DDT, DDE, DDD の総和

3) アルドリンを含む

4) エポキサイド体を含む

(2) チーズ 国産品 13 検体と輸入品 2 検体の計 15 検体について調査したところ、すべての検体から農薬が検出された。その内訳は *p,p'*-DDE が国産品 13 検体から脂肪中濃度として 0.003 ~ 0.017 ppm、輸入品 1 検体(オーストラリア産)から 0.004 ppm 検出された。またヘプタクロルエポキサイドが輸入品 1 検体(フランス産)から脂肪中濃度として 0.001 ppm 検出された(表 4)。今回試料として使用したチーズの脂肪含量は 18 ~ 32 %、全量中濃度に換算すると *p,p'*-DDE で約 0.0005 ~ 0.005 ppm であり、牛乳の全乳中濃度に比べ高い。これはチーズの製造過程で水分が除かれ濃縮され *p,p'*-DDE は脂溶性が高く脂肪に蓄積しやすいためである。*p,p'*-DDE の脂肪中濃度は牛乳及びチーズでほぼ同じレベルを示し、牛乳への残留が製品であるチーズに反映していると考えられる。

ヘプタクロルエポキシサイドがフランス産のチーズから検出され、国内産の残留と異なる結果を示した。これは農薬が残留する環境や飼料から乳牛に取り込まれ、牛乳に移行されるため、原産地などで過去に使用された農薬の種類や使用量により残留パターンが異なると考えられる。

チーズに対する残留基準は食品衛生法及びCODEXでは設定されていないが、食肉(脂肪中)などの残留基準値と比較して、今回の結果は p,p' -DDE で約 1/300、ヘプタクロルエポキシサイドで 1/200 であった。

表 4. チーズ中の残留農薬検出状況

原産地	検体数	検出数	検出農薬	残留濃度 (ppm: 脂肪中)
日 本	13	13	p,p' -DDE	0.003-0.017
オーストラリア	1	1	p,p' -DDE	0.004
フランス	1	1	HCepo ¹⁾	0.001
計	15	15	p,p' -DDE HCepo	0.003-0.017 0.001

1)ヘプタクロルエポキシサイド

牛肉などの食肉や鶏卵の残留調査^{4,5)}でも DDT 類、特に p,p' -DDE が他の農薬よりも高頻度かつ高濃度で検出され、今回調査した牛乳、チーズでも同じ傾向を示した。また微量であるがヘプタクロルエポキシサイドも検出されたが、これは殺虫剤のヘプタクロル(工業用クロルデンにも含まれ、POPs: Persistent Organic Pollutants に指定)の代謝物であり p,p' -DDE 同様第一種特定化学物質に指定される比較的残留性の高い化合物である。主に DDT 類などの残留性の高い化合物は環境中にわずかではあるが広範な地点に残存しているため⁸⁾、今後も食品への残留が続くと思われる。これらの残留レベルは今までに調査した畜産食品では食品衛生上問題はないが、内分泌かく乱作用を有する疑いもあることから引き続き残留実態を調査する必要がある。

ま と め

牛乳 15 検体及びチーズ 15 検体について、有機塩素系農薬の残留実態調査を実施した。牛乳 14 検体(93.3 %)から p,p' -DDE が 0.0002 ~ 0.0005 ppm(全乳中)検出された。チーズではすべての検体より農薬が検出され 14 検体から p,p' -DDE が 0.003 ~ 0.017 ppm、1 検体からヘプタクロルエポキシサイドが 0.001 ppm 検出された(脂肪中濃度)。牛乳の残留濃度を脂肪中濃度に換算すると p,p' -DDE は 0.005 ~ 0.013 ppm となりチーズの残留濃度とほぼ同じレベルであった。今までに調査した牛肉などの食肉の結果と同様、 p,p' -DDE が他の農薬に比べ高頻度、高濃度で検出された。食品衛生法及びCODEXの基準を超えるものはなかったが、今後も残留が続くと考えられ、内分泌かく乱作用を有する疑いがあることから実態調査を継続する必要がある。

文 献

- 1) 橋本常生, 宮崎奉之, 丸山 努: 東京衛研年報, **42**, 118-123, 1991.
- 2) 笹本剛生, 橋本秀樹, 宮崎奉之, 他: 東京衛研年報, **51**, 140-143, 2000.
- 3) 橋本秀樹, 橋本常生, 笹本剛生, 他: 東京衛研年報, **51**, 144-149, 2000.
- 4) 橋本常生, 橋本秀樹, 宮崎奉之: 東京衛研年報, **52**, 97-99, 2001.
- 5) 橋本常生, 鷲 直樹, 笹本剛生, 他: 東京衛研年報, **54**, 171-173, 2003.
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 1990 付 追補(1995), 621-624, 1995.
- 7) 藤沼賢司, 竹葉和江, 坂本美穂, 他: 東京衛研年報, **54**, 165-170, 2003.
- 8) 平成 14 年度化学物質環境汚染実態調査結果(概要版) 平成 16 年 2 月: 環境省環境保健部環境安全課
URL
<http://www.env.go.jp/press/press.php3?serial=4690>