

資 料

## 淡水魚養魚場における農薬汚染調査

中村寿夫\*, 寺内正裕

### Survey of Residual Herbicides in a Cultured Freshwater Fish

KAZUO NAKAMURA\* AND MASAHIRO TERAUCHI

(Received Oct.30, 1998)

広島県内の淡水魚に対する農薬（除草剤）汚染の現状を把握するため、クロロニトロフェン（CNP）等の除草剤合計11種類について同時分析法を検討した。次に、この方法を用いて、県内の淡水魚養魚場における農薬の残留実態調査を行った。さらに、農薬による河川の汚染時期を詳細に把握するため、農薬散布時期から定期的にアユを採取し、残留農薬の経時変化を調査した。

キーワード；除草剤，クロロニトロフェン，CNP，淡水魚，アユ

#### 緒 言

農作物の害虫駆除や除草の目的で散布される農薬が、河川などの環境を汚染し、魚介類などを経て最後には人間に至ることはよく知られている [1, 2, 3]。

農薬の中でも使用量が最も多いのは除草剤であるが、平成6年3月、厚生省は、胆嚢ガンとの関連性が疑われている除草剤のクロロニトロフェン（CNP）[3]について、魚介類中の残留実態を調査するよう各都道府県に依頼した。これを受けて、当センターでも分析調査を行ったところ、淡水魚から微量のCNPが検出された。

広島県ではこれまでに、淡水魚中の農薬調査は行われていなかった。そこで、CNP及びCNPに化学構造が類似している農薬、並びに県内で販売量の多い除草剤合計11種類を対象に、これらを同時に分析できる方法を検討するとともに、この方法を用いて、県内の淡水魚養魚場の魚、水産用水、底土及び飼料等について、残留実態調査を行った。さらに、農薬による河川の汚染時期を詳細に把握するため、除草剤散布時期から経時的に採取したアユを指標とし、農薬汚染の経時変化を調査した。その結果若干の知見を得たので報告する。

#### 実験方法

##### 1. 試 料

平成7年6月、7月、8月、10月に江の川及び太田川、平

成8年6月、9月に芦田川及び沼田川の各淡水魚養魚場及び周辺河川で採取した淡水魚（アユ、ニジマス、ヤマメ及びコイ）、水産用水、底土及び飼料を使用した。また、平成9年に除草剤散布時期の6～7月の毎週1回（5週連続）と、その1ヶ月後に1回（計6回）沼田川及び養殖場内で採取したアユを使用した。

##### 2. 対象農薬

クロロニトロフェン（CNP）、クロメトキシニル（CLM）、ピフェノックス（BFX）、オキサジアゾン（OXD）、トリフルラリン（TFR）、ブタクロール（BUT）、ベンスルフロメチル（BSF）、チオベンカーブ（TBC）、MCPBエチル（MCPB）、エスプロカルブ（ESP）及びプレチラクロール（PTC）。

##### 3. 試薬及び装置

アセトン、n-ヘキサン、アセトニトリル、ジエチルエーテル及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬分析用（片山化学工業(株)製）を用いた。その他の試薬は全て特級品を用いた。

固相抽出カラムは、Sep-Pak PS2、Sep-Pak シリカゲル（Waters製）を用いた。

残留農薬の標準品はCNP、CLM、BFX、ESPは和光純薬工業(株)製を、MCPB、BSFは林純薬工業(株)製を、また、OXD、TFR、BUT、TBC及びPTCはRiedel-Haën(株)製を用いた。

超高速ホモジナイザー：Biotron（Biotron製）、高

\*広島県呉保健所：Hiroshima Prefectural Kure Community Health Center

速ホモジナイザー: Excel Auto Homogenizer (日本精機製), 遠心分離機: 8010型 (株久保田製作所製) 及びロータリーエバポレーター: N-1型 (東京理科学器機(株)製) を用いた。

#### 4. 標準溶液の調製

対象農薬11種類各10mgを精密に量り, それぞれアセトンで溶解し正確に100mlとする。

これをn-ヘキサンで適宜希釈して用いた。

#### 5. 試験溶液の調製

##### 1) 淡水魚

試料10gにアセトニトリルを50ml加え, 超高速ホモジナイザーで3分間粉碎した後, 2500rpmで10分間遠心分離した。残留物にアセトニトリル50mlを加え, 同様に処理した後, 上澄み液を合わせて, 溶媒を40℃の水浴上で減圧濃縮し約20mlとした。この濃縮液に10%塩化ナトリウム溶液を100ml加え, n-ヘキサン50mlで2回抽出した。この抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後, Sep-Pakシリカゲルに負荷し, n-ヘキサン10mlで洗浄後, エーテル-n-ヘキサン(1:9)混液10mlで農薬を溶出した。溶出液を40℃の水浴上で減圧濃縮し, n-ヘキサンで2mlとし, ガスクロマトグラフィー(検出器:ECD, MS)で分析した。

##### 2) 用水及び河川水

試料3lをSep-Pak PS2カートリッジに吸引しながら通し, このカートリッジを10分間乾燥した後, アセトン3mlづつで2回農薬を溶出した。

この溶出液を合わせ, 40℃の水浴上で減圧濃縮し, n-ヘキサンで1mlとし, ガスクロマトグラフィー(検出器:ECD, MS)で分析した。

##### 3) 底土(土壌)

ふるい(日本薬局方第1号)を通した土壌100gを採取し, アセトニトリルを50ml加え, 高速ホモジナイザーで3分間粉碎した後, 2500rpmで10分間遠心分離した。以下, 1)と同様に操作し, ガスクロマトグラフィー(検出器:ECD, MS)で分析した。

##### 4) 飼料

固形飼料100gを採取し以下1)と同様に操作し, ガスクロマトグラフィー(検出器:ECD, MS)で分析した。

#### 6. ガスクロマトグラフィーの分析条件

##### 1) 対象農薬: CNP, CLM, BFX, OXD, TFR及びBUT.

ECD (Hewlett-Packard製HP5890)

カラム: J&W Scientific製 DB-1 (0.25mm  $\phi$  ×

30m 膜厚0.25  $\mu$ m), カラム温度: 150℃ (1分) ~ 250℃ (10分) 25℃/min 昇温, 注入口温度: 260℃, 検出器温度: 270℃, キャリアーガス: ヘリウム2.5ml/minスプリットレス1  $\mu$ l注入。

##### 2) 対象農薬: ESP, MCPB, BSF, TBC及びPTC.

GC-MS (GC:Hewlett-Packard製 HP5890, MS:Hewlett-Packard製 HP5971A)

カラム: J&W Scientific製 DB-17 (0.25mm  $\phi$  × 30m 膜厚0.25  $\mu$ m), カラム温度: 100℃ (3分) ~ 260℃ (8分) 25℃/min 昇温, 注入口温度: 250℃, インターフェース温度: 280℃, イオン化電圧: 70eV, キャリアーガス: ヘリウム1.0ml/minスプリットレス1  $\mu$ l注入。

## 結果及び考察

### 1. 分析法の検討

#### 1) 抽出溶媒の検討

厚生省通知の魚介類中のCNP分析法は, 抽出溶媒にアセトンが用いられている。しかし, アセトンを用いた場合, CNP分析の妨害物となる脂肪が多く抽出され, 後に脂肪除去の操作が必要となるため, 分析操作が煩雑になる。そこで, 分析操作をより簡便にするため, 抽出溶媒について検討した。

その結果, 回収率が比較的良好であり, 妨害物質の移行の少ないアセトニトリルを用いることにした。

#### 2) 精製操作の検討

厚生省通知の方法では, n-ヘキサンとアセトニトリルによる分配及びフロリジルカラムクロマトグラフィーによる精製操作が用いられている。しかし, この方法は, エマルジョンが形成されるなど, 操作性が良くない。そこで, 最近汎用されるようになったミニカートリッジカラムによるクリーンアップ法を検討した。

その結果, 分析対象農薬の回収率が比較的良好であり, 精製効果に優れたシリカゲルミニカートリッジカラム (Sep-Pakシリカゲル) を用いることにした。

さらに, ミニカートリッジカラムの洗浄溶媒及びカラムからの分析対象農薬の溶出溶媒について検討した。

その結果, n-ヘキサン10mlで洗浄し, エーテル-n-ヘキサン(1:9)混液10mlで溶出した場合, Fig. 1に示す通り, 最も妨害物質が除去され, 分析対象農薬の回収率も良好であった。

3) 検量線の作成

ECD: ピーク面積による絶対検量線法により検量線を作成した。TFR及びOXDは、0.005~0.5ng, BUT, CNP, CLM及びBFXは0.01~1 ngの範囲で

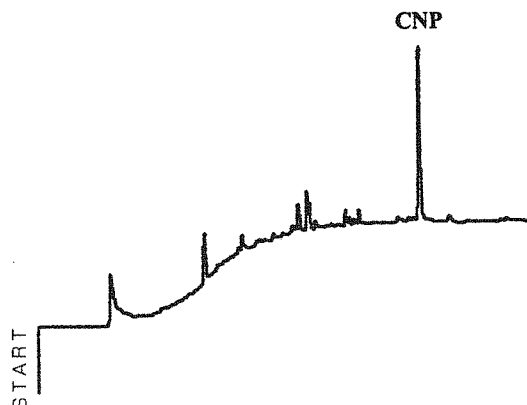


Fig. 1. Capillary Gas Chromatograms of CNP in the Extract from Ayu

column:DB-1 (0.25mm φ×30m;0.25 μm), column temperature:150°C (1 min);150~250°C (25°C/min);250°C (10 min), injection temperature:260°C, detector temperature:270°C, carrier gas:He (2.5ml/min), injection volume:splitless 1 μl, detector:ECD.

良好な直線性が得られた。

GC-MS: ピーク面積による絶対検量線法により検量線を作成した。TBC及びESPは0.005~0.5ng, MCP, BSF及びPTCは0.01~1 ngの範囲で良好な直線性が得られた。

4) 添加回収実験

各対象農薬を、アユ、土壌、飼料及び河川水にそれぞれ10ng/g, 1 ng/g, 1 ng/g, 50ng/lになるよう添加し、回収率を求めた。

その結果、各対象農薬の回収率は、平均で72.5~91.2%であった。また、相対標準偏差は、いずれも10%以下であり、多成分同時分析方法としてはほぼ満足できる結果であった。

なお、本法における検出限界は、魚、土壌及び飼料のOXD, TFR, TBC及びESPは1 ng, その他の農薬は2 ng, であった。また、水のOXD, TFR, TBC及びESPは0.005ng, その他の農薬は0.01ng, であった。

2. 広島県内の淡水魚養魚場における農薬汚染

平成7~8年にかけて広島県内の4ヶ所の淡水魚養魚場において農薬の残留実態調査を行った。その結果をTABLE 1に示す。太田川の養魚場ではいずれの農薬も検出されなかった。江の川の養魚場ではアユからCNP及びTFRが微量検出され、用水(河川水)から

TABLE I Contents of Residual Herbicides (ppb)

Samples	Herbicides											
	CNP	CLM	BFX	OXD	TFR	BUT	BSF	TBC	MCPB	ESP	PTC	
<b>Water*</b>												
Ota River	<0.01	<0.01	<0.01	<0.005	<0.005	<0.01	<0.01	<0.005	<0.01	<0.005	<0.01	
Gono River	<0.01	<b>0.01</b>	<0.01	<b>0.020</b>	<b>0.050</b>	<0.01	<0.01	<0.005	<0.01	<0.005	<0.01	
: underground water	<0.01	<0.01	<0.01	<0.005	<0.005	<0.01	<0.01	<0.005	<0.01	<0.005	<0.01	
Ashida River	<0.01	<0.01	<0.01	<b>0.006-0.026</b>	<0.005	<0.01	<0.01	<b>0.04-0.22</b>	<0.01	<b>0.012-0.037</b>	<0.01	
Nuta River	<0.01	<0.01	<0.01	<b>0.005-0.015</b>	<0.005	<0.01	<0.01	<b>0.005-0.30</b>	<0.01	<b>0.016-0.048</b>	<0.01	
<b>Soil**</b>												
Ota River	<0.20	<0.20	<0.20	<0.10	<0.10	<0.20	<0.20	<0.10	<0.20	<0.10	<0.20	
Gono River	<0.20	<0.20	<0.20	<0.10	<0.10	<0.20	<0.20	<0.10	<0.20	<0.10	<0.20	
Ashida River	<0.20	<0.20	<0.20	<b>0.50</b>	<0.10	<b>0.30</b>	<0.20	0.30	<0.20	<b>0.10-0.20</b>	<0.20	
Nuta River	<0.20	<0.20	<0.20	<0.10	<0.10	<0.20	<0.20	<0.10	<0.20	0.30	<0.20	
<b>Farmed fishes</b>												
Ayu (Ota River)	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	
Rainbow trout ( )	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	
Yamame ( )	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	
Ayu (Gono River)	<b>2.0-4.0</b>	<2.0	<2.0	<1.0	<b>3.0</b>	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	
Carp (Ashida River)	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<b>6.0</b>	<2.0	
Ayu (Nuta River)	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	
Ayu: in river ( )	<b>30</b>	<2.0	<2.0	<1.0	<b>2.0</b>	<2.0	<2.0	<1.0	<b>5.0</b>	<b>22</b>	<2.0	
<b>Foods*</b>												
Gono River	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	
Ashida River	<2.0	<2.0	<2.0	<1.0	<1.0	<2.0	<2.0	<1.0	<2.0	<1.0	<2.0	

\*: Water and foods, they are used for culture

\*\* : soil of the bottom of river

はCLM, OXD, TFRが微量検出された。沼田川の養殖場近くの河川で採取したアユから微量のCNP, TFR, MCPB, 及びESPが検出され、用水からは、OXD, TBC及びESPが、底土からは、ESPが微量検出された。芦田川の養魚場ではコイからESPが微量検出され、用水からはOXD, TBC及びESPが、底土からは、OXD, BUT, TBC及びESPが微量検出された。

また、江の川の養魚場では用水に河川水と伏流水(河床地下1m)の両方を使用しており、河川水からはTFRなどが検出されたが、伏流水からは検出されていないことから、除草剤散布時期には伏流水の使用が適当である。

さらに、CNPに関しては魚体への濃縮率の高いことが知られているが[2, 4], 今回の調査で、CNPが水からは検出されていないにもかかわらずアユから検出されたのは、このためだと推測される。

### 3. 農薬による河川の汚染時期

先の調査において、沼田川の養殖場近くの河川で採取したアユから微量ではあるもののCNPが検出されている。そこで、除草剤散布時期の平成9年6月15日～7月15日の毎週1回(5週連続)と、以後8月に1回、沼田川及び養殖場内のアユ延べ12検体を採取し、このアユを指標とし、除草剤散布時期と河川の汚染時

期の関係を調査した。しかし、今回の調査では、いずれの時期に採取したアユからも対象農薬は検出されず、農薬汚染時期を詳細に把握することはできなかった。本調査を実施する前の除草剤散布時期に長期間雨が降り、沼田川が増水したことが影響しているとも考えられる。

おわりに、快く試料の採取にご協力くださいました各漁協の組合長、養魚場の職員各位、ならびに本調査にご協力いただきました福祉保健部環境衛生課、関係保健所環境衛生課担当各位に深謝いたします。

### 引用文献

- [1] 鈴木 滋, 佐藤信俊, 高槻圭吾, 菊池秀明, 牛沢勇: 食衛誌, **26**, 137-143, (1985).
- [2] 畠山成久: 国立公害研究所研究報告, **99**, 191-203, (1986).
- [3] 山本正治: 医学のあゆみ, **166**, 839-840, (1993). 貫山道子, 谷 孝之, 渡辺貞夫, 井上 茂, 藤巻照久, 渡邊裕子, 中村久美子, 中岡正吉: 神奈川衛研報告, **26**, 59-60, (1996).
- [4] 戸田よし子, 塚林 裕, 玉井 徹: 石川衛公研年報, **25**, 397-404, (1988). 瀬戸英子, 塚林 裕, 玉井 徹, 戸田よし子: 石川衛公研年報, **27**, 392-398, (1990).