

ハウスキュウリ防除作業における 農業者のペルメトリン暴露と吸収

浅川富美雪・三木嘉代子*・崔 眞玉**・須那 滋**

武田 則昭**・實成 文彦**

倉敷芸術科学大学教養学部

*香川県立農業大学校

**香川医科大学

(1995年9月30日 受理)

緒 言

ペルメトリンは合成ピレスロイド系農薬の一種で、キャベツ、ハクサイ、キュウリ、ナス、ナシ、モモ、ミカン等の殺虫剤として広く使用されている。このペルメトリンの職業的暴露に関していくつか報告¹⁻⁴⁾がみられるが、わが国での農薬散布作業におけるペルメトリン暴露の状況やその吸収、排泄についてはほとんど調査がなされていない。農薬散布作業に伴う農業者の健康上の問題は少なくないため、今回、われわれは農業者の健康管理のための基礎資料を得る目的で、ハウスで栽培されているキュウリにペルメトリンを散布する農業者（散布者）とそれを補助する農業者（補助者）を対象に調査を実施することとした。

その手法としては、尿中代謝物を暴露指標とする生物学的モニタリング⁵⁾が有効と考えられる。そこで、ペルメトリンの尿中代謝物の一つである⁶⁾3 PBA (3-phenoxybenzoic acid) に着目し、Woollen ら⁷⁾の方法を参考に分析方法の検討を行い、前処理に固相抽出を用いる簡便、迅速な SPE-GCMS 法 (Solid phase extraction-gas chromatography mass spectrometric analysis) を開発した。そして、この SPE-GCMS 法を用いて作業者の尿中 3 PBA を測定するとともに、作業者の身体部位別のペルメトリン付着量と浸透量ならびに気中ペルメトリン濃度等を調査した結果、農薬散布作業に伴う暴露の実態を明らかにすることができ、農業者の健康管理を推進していく上での知見を得ることができたので報告する。

研究方法

Woollen ら⁶⁾は尿からの 3 PBA の抽出を、濃硫酸添加－加熱分解後、ジエチルエーテルによる液－液抽出を行い、遠沈後エーテル層を無水硫酸ソーダを含む遠沈管に分取し、混和後再度遠沈し、エーテル層を分取する。さらに残渣をエーテルで洗い、遠沈後エーテル

層を合するというようにしているが、この方法だと液-液抽出を行った後、遠沈操作を3回行わねばならないなど操作が煩雑である。そこで、我々は尿からの3 PBA の抽出に、カートリッジ型カラム (Sep-Pak C₁₈ Waters 製) を用いる固相抽出法⁸⁾を応用した。すなわち、尿 5 ml に濃硫酸 1 ml を加え、100℃で2時間加熱分解する。冷後、蒸留水10mlを加え、前もってクロロホルム 5 ml, メタノール 5 ml で洗い、蒸留水 5 ml を2回通して調整しておいた Sep-Pak に分解液を流す。蒸留水 5 ml で4回この Sep-Pak を洗った後、クロロホルム 5 ml で3 PBA を溶出させる。次にエステル化するため、これを N₂気流中で乾固させ、pentafluoropropionic anhydride 200 μ l, 1H, 1H-pentafluoropropanol 50 μ l を加え、密栓して90℃で30分加熱する。冷後、trifluoroacetic acid 100 μ l を加え、密栓して90℃で30分加熱する。冷後、N₂気流中で乾固させ、酢酸エチル150 μ l に溶かし、GCMS の分析試料とする。標準溶液の3 PBA も同様に処理して測定に供した。

3-phenoxybenzoic acid, pentafluoropropionic anhydride, 1H, 1H-pentafluoropropanol, trifluoroacetic acid は和光純薬工業製のものを、有機溶媒およびその他の試薬は市販の残留農薬分析用あるいは同等品を使用した。標準溶液はアセトンにて調製した。

GCMS は島津 GCMS-QP2000GF を使用し、測定条件は、column ; DB-5MS (J & W 製) 30m×0.32mm I.D., 0.25 μ m, carrier ; H₂ 10ml/min, oven ; 140℃ (2 min) to 200℃ at 8℃/min, injection ; splitless, 200℃, m/z ; 346, 197である。

調査はT町ハウスキュウリの農薬散布作業を対象として、1993年10月に行った。農薬散布作業は農薬散布者と補助者 (ホース持ち等) の2名で行い、アディオン (ペルメトリン 20%含有) の3000倍希釈液を動力噴霧器により、ビニールハウス (間口5.4m×長さ35m) 4棟のキュウリ (草丈約2m) に、噴口がリング状に5個付いた竿 (全長175cm) を上下に振りながら前進散布と後退散布を繰り返して順次散布した。合計220 ℓ 散布し、散布時間は延べ約50分であった。作業中 (14:40~15:40) のハウス内の気温、湿度、黒球温度、WBGT、風速は平均24.5℃, 61.9%, 28.2℃, 21.9℃, 0~0.1m/sec であった。作業時の服装は、散布者 (男) は長袖下着, 長袖シャツ, 作業服, ズボン下, 作業ズボン, ゴム長靴, 帽子を着用, 補助者 (女) は半袖下着, 長袖シャツ, ズボン, 長袖エプロン, ゴム長靴, ゴム手袋, 帽子を着用していた。また、散布者、補助者ともマスクは着用していなかった。

作業者の尿は作業前 (pm 2:00), 作業直後 (pm 4:30) および就寝前 (pm 9:00), 翌朝 (am 6:30), 作業後1日 (pm 4:00), 就寝前 (pm 8:00), 翌々朝 (am 6:30) の7回サンプリングした。なお、3 PBA 濃度をクレアチニン当たりで表示するため、尿中クレアチニンを Jaffe 法を原理とするオートアナライザー (日立7050型) により測定した。

作業時の気中ペルメトリン濃度は散布者、補助者の口元付近およびハウス内定点でチャコールシリカゲルチューブ (柴田科学製) を付けた吸引ポンプによりサンプリングし、アセトンで溶出後、GC で測定した。また、身体部位別ペルメトリンの付着量と浸透量につい

ては衣服の表と内側（皮膚の上）に濾紙（東洋濾紙 No.1034）を付け、作業終了後回収し、アセトンで溶出後、GC で測定した。GC は島津 GC-7 A を使用し、測定条件は、column ; DB-5（J & W 製）30m×0.53mm I.D., 1.5 μ m, carrier ; He 10ml/min, oven ; 200 $^{\circ}$ C（2 min） to 260 $^{\circ}$ C at 8 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C（8 min）, injection ; 260 $^{\circ}$ C, detection ; ECD である。

結果および考察

表 1 は 0.1ppm 3 PBA 標準溶液を Sep-Pak C₁₈ に 150 μ l 添加し、各溶媒ごとの回収率を見たものである。この結果、クロロホルム 5 ml で 3 PBA はほぼ完全に溶出されることがわかった。図 1 に、上述の前処理を行った 3 PBA の全イオンクロマトグラムとそのマスペクトルを示す。全イオンクロマトグラム上の t_R （リテンションタイム）7.90min のピークのマスペクトルをみると、 m/z （イオン質量数）346, 197 に強いピークが認められた。そこで、 m/z を 346, 197 に設定して、SIM（Selected Ion Monitoring）による 3 PBA の測定を行った。図 2 にそのクロマトグラムを示したが、ペルメトリン剤のアディオン散布作業者の尿サンプルにおいて、3 PBA 標準品と同様、 m/z 346, 197 の同じ t_R にピークが得られた。また、3 PBA の尿における添加回収率は 90% 以上であり、検出限界 (ND) は GCMS (SIM) 注入量 2 μ l のとき、尿中濃度で 0.7ppb であった。この結果、今回検討した前処理

表 1 各種溶媒による Sep-PakC₁₈からの 3 PBA 回収率

有機溶媒		回収率
メタノール	5 ml	—a
n-ヘキサン	5 ml	trace
ジエチルエーテル	5 ml	49.2%
クロロホルム	5 ml	91.4%

注) a : 沈澱を生じ、測定不能

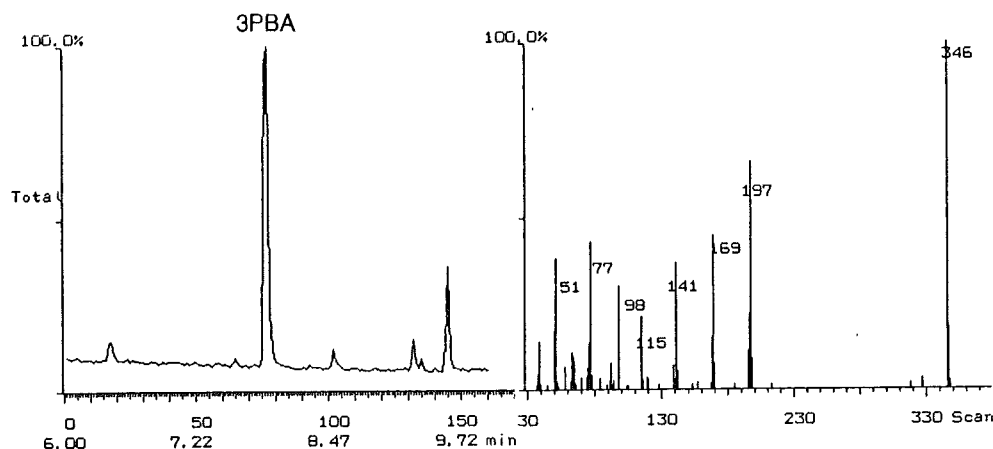


図 1 エステル化 3 PBA の全イオンクロマトグラムとマスペクトル

に固相抽出を用いる SPE-GCMS 法によって、尿中の 3 PBA の測定が十分可能であることがわかった。

そこで、本法により作業者の尿中 3 PBA を測定し、結果を図 3 に示した。散布者はペルメトリン散布前では 0.65ng/mg クレアチニン、直後では 0.97ng/mg クレアチニンであったが、当日の就寝前には 2.13ng/mg クレアチニン、翌朝には 2.37ng/mg クレアチニンの 3 PBA が検出された。しかし、翌々朝には 0.91ng/mg クレアチニンと散布前のレベルに戻った。一方、補助者からもわずかではあるが検出され、同様の傾向を示した。

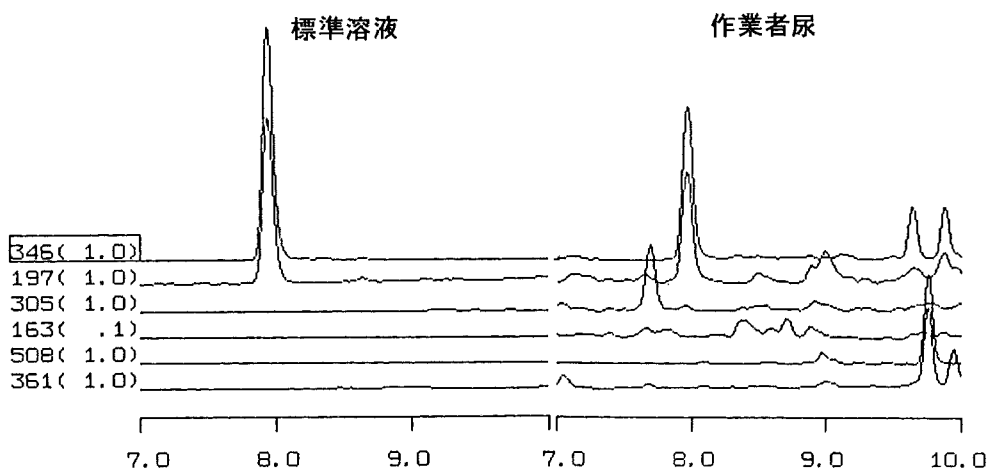


図2 エステル化 3 PBA の SIM クロマトグラム

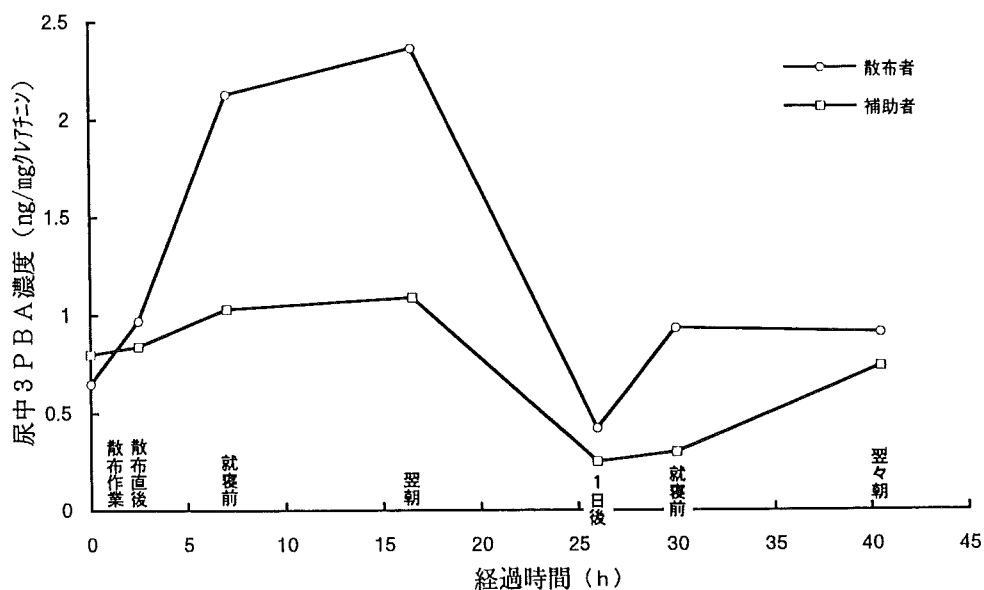


図3 尿中 3 PBA 濃度の推移

表2 気中ペルメトリン濃度

散布者口元付近	補助者口元付近	ハウス内定点
12.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	7.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	8.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

表2に気中ペルメトリン濃度測定結果を示した。散布者の口元付近で12.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、補助者の口元付近で7.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ハウス内定点では8.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。図4に身体部位別に衣服の表に付けた濾紙のペルメトリン濃度(付着量)と内側に付けた濾紙のペルメトリン濃度(浸透量)を示した。散布者では付着量はND(<0.001 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)~0.102 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (右下肢前面部)を示し、全体に下肢前面部、上肢内側部が多い傾向にあった。その他腹部や頭部にも少なからず認められた。一方、補助者は散布者に比べて全体に付着量は少なかった。ただ、右上肢外側部だけは多かった。その他左上肢内側部や頭部にも少なからず認められた。しかし、散布者、補助者のいずれも衣服の内側に付けた濾紙からはペルメトリンは検出されなかった。

調査の結果、散布者では散布後の尿からペルメトリンの尿中代謝物の1つである3PBAが散布前よりも高濃度に検出され、そのレベルは翌朝に高くなった後、翌々朝には散布前のレベルに戻ることが認められた。これはハウスキュウリの農薬散布作業において、明らかにペルメトリンの暴露-吸収があったことを示している。そこで、暴露-吸収の経路を考察してみると、農薬の衣服への付着はある程度認められたが、皮膚面までの浸透は認められなかったことから、経皮吸収は露出していた顔面や手などから一部考えられるものの、それほど多くはなかったと思われる。これに対し、口元付近の気中濃度は定点に比べて高かった上、マスクを着用していなかった点より、経気道的な暴露-吸収が大部分であったと推定される。また、補助者でもわずかではあるが、同様な経気道的暴露が示唆される。

農業者に対しては、農薬散布作業時には適正なマスクを着用するよう日頃より啓発がなされているが、着用状況は十分とはいえないようである。しかし、マスクを着用せずに農薬散布作業にあたった作業者に、農薬の経気道的な暴露-吸収の生じることが今回の調査より確認された。したがって、この事実を踏まえ、農薬散布作業時には適正なマスクを着用するよう農業者に対して今後一層の啓発活動を推進し、マスク着用を習慣づけることが必要といえる。また、今回は散布者、補助者とも比較的厚着だったため衣服に付着した農薬の皮膚面までの浸透は認められなかったが、防除衣素材の防護性に関するわれわれの実験⁹⁾から、とくに防水性でない布地の場合は農薬防護性はほとんどないことがわかっている。このため、農薬散布作業時には適切な防除衣を着用することも重要である。さらに、キュウリのように散布部位が高い場合は顔面の防護も必要と思われる。

以上、今回、合成ピレスロイド系殺虫剤ペルメトリンによるハウスキュウリ防除作業を例に調査を行った結果、農薬散布作業における農業者の農薬暴露状況ならびに農薬散布時

の服装・装備の問題点を明らかにすることができた。この成果は今後の農業者の健康管理を推進していく上で、大いに役立つものと期待される。

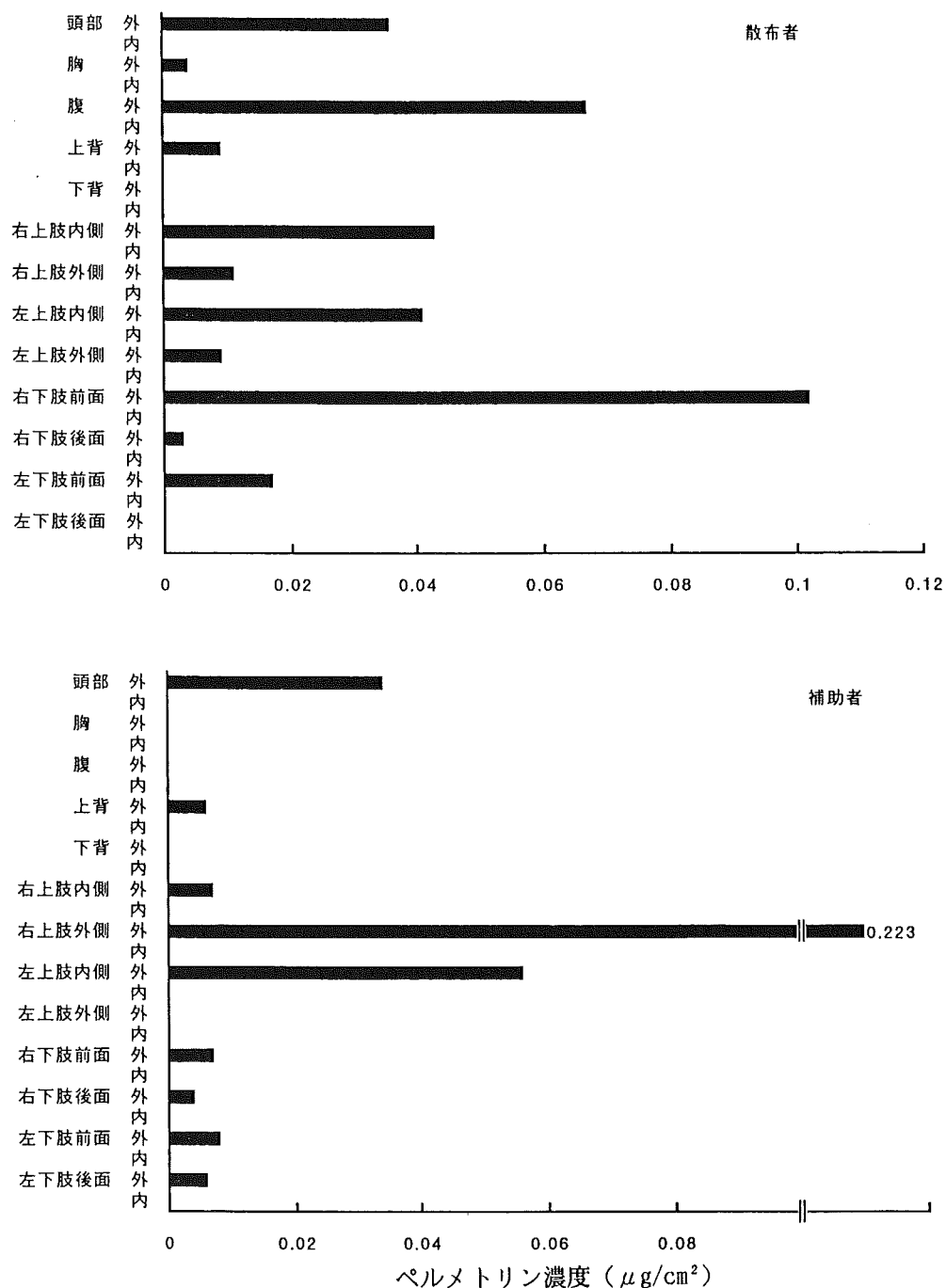


図4 身体部位別ペルメトリンの付着と浸透

要 約

農業者の健康管理のための基礎資料を得る目的で、ハウス栽培キュウリへの農薬（ペルメトリン剤）散布作業を例に、農業者の農薬暴露の実態を調査した。まず、ペルメトリンの尿中代謝物 3 PBA の分析法を検討し、前処理に固相抽出を用いる簡便、迅速な SPE-GCMS 法を確立した。そして、この SPE-GCMS 法を用いてペルメトリン剤散布作業後の作業員尿中から 3 PBA を高濃度に検出し、作業員のペルメトリン暴露－吸収を確認した。同時に作業員の身体部位別のペルメトリン付着量と浸透量ならびに気中ペルメトリン濃度等を測定した結果、農薬散布作業に伴う農業者の農薬暴露状況ならびにマスク着用の必要性等農薬散布時の装備・服装の問題点を明らかにすることができた。

文 献

- 1) Kolmodin-Hedman B, Swensson A, Akerblom M. : Occupational exposure to some synthetic pyrethroids (permethrin and fenvalerate). *Arch Toxicol*, 50 : 27-33 (1982).
- 2) Adamis Z, Antal A, Fuzesi I, Molnar J, Nagy L, Susan M. : Occupational exposure to organophosphorus insecticides and synthetic pyrethroid. *Int Arch Occup Environ Hlth*, 56 : 299-305 (1985).
- 3) Cloud R M, Zimpfer M L, Yanes J Jr, Boethel D J, Bucu P, Harmon C W. : Insecticide residues on clothing worn by crop consultants in soybean fields treated with non-conventional application technology. *Bull Environ Contam Toxicol*, 38 : 277-282 (1987).
- 4) Byers M E, Kamble S T, Witkowski J F, Echtenkamp G. : Exposure of a mixer-loader to insecticides applied to corn via a center-pivot irrigation system. *Bull Environ Contam Toxicol*, 49 : 58-65 (1992).
- 5) 緒方正名：生物学的モニタリング－理論と実際－. 東京，篠原出版，3-13 (1991).
- 6) WHO. Permethrin, *Environmental Health Criteria* 94. Geneva : WHO, 38-45 (1990).
- 7) Woollen B H, Marsh J R, Laird W J D, Lesser J E. : The metabolism of cypermethrin in man : differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration. *Xenobiotica*, 22 : 983-991 (1992).
- 8) 浅川富美雪，實成文彦，中嶋泰知：クロルピリホス曝露者尿中 3, 5, 6-トリクロロ-2-ピリジノールのワイドボアキャピラリーガスクロマトグラフィーによる定量. *産業医学*, 31 : 242-243 (1989).
- 9) 浅川富美雪，三木嘉代子，真鍋芳樹，武田則昭，實成文彦：農業者の健康管理(2)－防除衣素材およびマスクの農薬（ペルメトリン）防護性について－. *四国の農村医学*, 25 : 98-102 (1994).

Agricultural Worker Exposure to and Absorption of Permethrin Applied to Cucumber Being Cultivated in Vinyl House

Fumiyuki ASAKAWA, Kayoko MIKI* CHOI Jin-oku**, Shigeru SUNA**,
Noriaki TAKEDA** and Fumihiko JITSUNARI**

Faculty of College of Liberal Arts and Science,

Kurashiki University of Science and the Arts,

2640 Nishinoura, Tsurajima-cho, Kurashiki-shi, Okayama 712, Japan

**Agricultural School of Kagawa Prefecture,*

34-3 Enai, Kotohira-cho, Kagawa 766, Japan

***Kagawa Medical School,*

1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kagawa 761-07, Japan

(Received September 30, 1995)

The purpose of the present study was to obtain basic data on health protection measures for agricultural workers. We examined the state of exposure to pesticides of agricultural workers who apply permethrin using a power-driven sprayer to cucumbers being cultivated in vinyl houses.

We focused on 3-phenoxybenzoic acid (3PBA), which is a metabolite found in the urine after exposure to permethrin. We investigated a method of urinary 3PBA analysis, and developed a simple and rapid gas chromatography/mass spectrometric analysis employing solid phase extraction in a pre-treatment, SPE-GCMS method.

With this SPE-GCMS method, 3PBA was clearly detected in the urine of agricultural workers after the application of permethrin, and exposure and absorption was confirmed. At the same time, we examined the levels of permethrin that deposited on and permeated through clothing to skin on different parts of the body, as well as the concentration of airborne permethrin. We were able to clarify the conditions under which agricultural workers are exposed to pesticides in the course of application operations, as well as some problems related to apparel and equipments, masks etc., used in these operations.