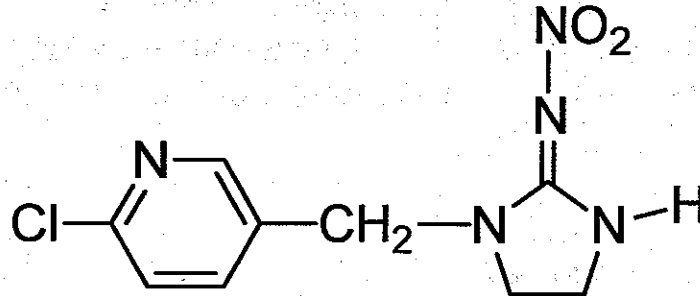


## 農薬登録保留基準公定分析法検討会資料(水質汚濁)

## イミダクロプリド(imidacloprid)

## 構造式



種類名	イミダクロプリド
商品名	アドマイヤー
用途	殺虫剤
分子式	$C_9H_{10}ClN_5O_2$
分子量	255.7
化学名(IUPAC)	1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine
外観	無色結晶
融点	143.8 °C
蒸気圧	$2 \times 10^{-9}$ hPa (20 °C)
溶解性	水 0.51 g/l (20 °C) ヘキサン <0.1、アセトン 20~50、トルエン 0.5~1、 2-プロパノール 1~2、ジメチルスルホキシド >200、 アセトニトリル 20~50、ジクロロメタン 50~100、メタノール 10 (以上 g/l, 20 °C)
1-オクタノール/水分配係数	$\log Pow = 0.57$ (21 °C)
安定性	熱に比較的安定、酸及びアルカリに安定

出典：バイエル クロップサイエンス株式会社資料

## 1. 概要

現行の告示試験法はイミダクロプリドを規制対象成分とし、試料からジクロロメタンで抽出後、HPLC-UVで定量するというものである。今回、基準値が2 mg/lから1 mg/lに下方修正されるのに伴い、試験法の見直しを行った。現行法での検出限界は0.001 mg/lと十分であったが、抽出溶媒にジクロロメタンを使用していることから、それを酢酸エチルに変更し、それにより低下した精製効果をケイ酸マグネシウムミニカラムの追加とHPLC溶離液の組成変更で補った。また、最近の告示試験法では溶媒抽出法と固相抽出法を併記しているが、現行法では溶媒抽出法のみであったので、固相抽出法を追加した試験法を提案する。

基準値案	1 mg/l
目標検出限界	0.001 mg/l

## 2. 提案法

### 2.1. 分析対象成分

イミダクロプリド

### 2.2. 装置

HPLC-UV

### 2.3. 分析操作

#### 2.3.1. 溶媒抽出法

##### 秤取

↓ 試料 100 ml

太字部分が現行法からの変更点

##### 酢酸エチル抽出

↓ 塩化ナトリウム 5 g  
酢酸エチル 50 ml + 50 ml  
脱水ろ過  
濃縮、乾固

##### ケイ酸マグネシウムミニカラム精製(充てん量 910 mg)

↓ ヘキサン-アセトン(17:3) 5 mlで予備洗浄  
ヘキサン-アセトン(17:3) 5 ml×2で負荷  
ヘキサン-アセトン(3:2) 10 mlで溶出  
濃縮、乾固

##### HPLC-UV

水-アセトニトリル(4:1) 2 ml定容、20 µl注入

#### 2.3.2. 固相抽出法

##### 秤取

↓ 試料 100 ml

##### 固相抽出

↓ C<sub>18</sub>ミニカラム(充てん量 1 g)

予備洗浄：アセトニトリル 5 ml、水 5 ml

溶液負荷

洗浄：水 5 ml

溶出：アセトニトリル 10 ml

濃縮、乾固

ケイ酸マグネシウムミニカラム精製

↓ 2.3.1.に同じ

HPLC-UV

2.3.1.に同じ

2.4. 高速液体クロマトグラフ操作条件

検出器 : UV

分離管 : シリカーODS、内径 2~6 mm×長さ 15~30 cm

分離管槽温度 : 40 °C

溶離液 : 水-アセトニトリル(4:1)

測定波長 : 270 nm

保持時間 : 8~12分

2.5. 検量線の作成

イミダクロプリドの0.05~1 mg/1水-アセトニトリル(4:1)溶液を調製。その溶液の20 µlを注入し、ピーク高又はピーク高とイミダクロプリド重量から検量線を作成。

2.6. 検出限界

検出限界 : 0.001 mg/l

最小検出量 1 ng、最終液量 2 ml、注入量 20 µl、試料 100 ml

3. 提案法の根拠

現行の水質汚濁告示試験法及び基礎データから提案法を作成した。

3.1. 水質汚濁告示試験法(現行法)

ジクロロメタン抽出

HPLC-UV

#### 4. 検討事項

##### 4.1. 溶媒抽出について

イミダクロプリドの酢酸エチルへの抽出率を以下に示した。イミダクロプリドは水層から酢酸エチルに2回の抽出操作で100 %移行した。

酢酸エチルへの抽出率

水層 水 100 ml + NaCl 5 g	酢酸エチル 50 ml		合計
	1回目	2回目	
抽出率 (%)	72	28	100

供試量：2 µg

##### 4.2. 固相抽出について

イミダクロプリドのC<sub>18</sub>ミニカラム及びポリスチレンミニカラムからの溶出状況を以下に示した。イミダクロプリドはいずれの条件でも良好に保持、溶出された。本提案法では固相抽出カラムにC<sub>18</sub>ミニカラム、抽出溶媒にアセトニトリルを選択した。

C<sub>18</sub>ミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	アセトニトリル				合計
	水 100 ml	0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
溶出率 (%)	—	100	1	0	101

Mega Bond Elute C<sub>18</sub>(1 g)使用、Lot. 0728306、供試量：2 µg

C<sub>18</sub>ミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	メタノール				合計
	水 100 ml	0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
溶出率 (%)	—	101	0	0	101

Mega Bond Elute C<sub>18</sub>(1 g)使用、Lot. 0719406、供試量：2 µg

ポリスチレンミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	アセトニトリル				合計
	水 100 ml	0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
溶出率 (%)	—	100	0	0	100

Envi chrom-P(250 mg)使用、Lot. SP01898L、供試量：2 µg

ポリスチレンミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	メタノール				合計
	水 100 ml	0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
溶出率 (%)	—	100	0	0	100

Envi chrom-P(250 mg)使用、Lot. SP01898L、供試量：2 µg

#### 4.3. 精製について

イミダクロプリドのケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出状況を以下に示した。この結果から、ヘキサン-アセトン(17:3) 5 ml×2で負荷洗浄後、ヘキサン-アセトン(3:2) 10 mlで溶出を行うこととした。

##### ケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	ヘキサン-アセトン				合計
	(17:3)	(3:2)			
	5 ml×2	0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
溶出率(%)	0	64	37	Tr	101

Sep-Pak Plusフロリジル使用、Lot. 195637011D、供試量：2 µg

#### 4.4. 定量法について

現行の水質汚濁告示試験法により、HPLC-UVを用いてイミダクロプリドを定量した。ただし、溶離液を水-アセトニトリル(3:1)から、夾雑ピークとの分離が良好であった水-アセトニトリル(4:1)に変更した。

#### 5. 基礎データ

##### 5.1. 高速液体クロマトグラフ測定条件例

分離管 : Mightysil RP-18PA(関東化学製)  
内径 4.6 mm×長さ 25 cm、粒径 5 µm  
溶離液 : 水-アセトニトリル(4:1)  
流速 : 1.0 ml/分  
分離管温度 : 40 °C  
測定波長 : 270 nm  
保持時間 : 約11.3分

この条件でのクロマトグラム例を7~8頁に示した。供試試料には多摩川中流の稲城大橋付近で採水した水を用いた。

##### 5.2. 液体クロマトグラフ・質量分析計測定条件例(参考)

###### ・液体クロマトグラフ部

分離管 : Mightysil RP-18 GP(関東化学製)  
内径 2.0 mm×長さ 15 cm、粒径 5 µm  
溶離液 : 2 mmol/l酢酸アンモニウム-アセトニトリル(4:1 V/V)  
流速 : 0.2 ml/分  
分離管温度 : 40 °C  
保持時間 : 約6.8分

###### ・質量分析計部

イオン化法 : ESI(正イオンモード)  
ドラインガス : 窒素(10 l/分、350 °C)

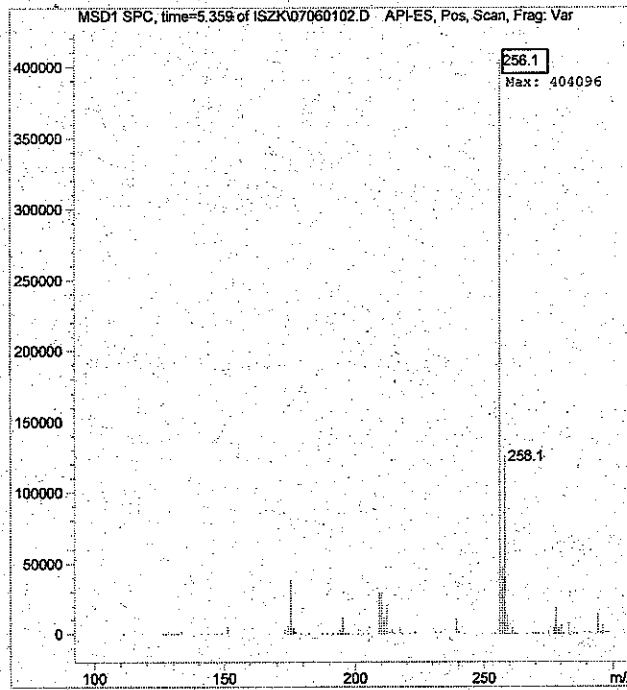
ネブライザー：窒素 (35 psig)

フラグメンター電圧：140 V

キャピラリー電圧：3500 V

設定質量数：m/z=256.1

### イミダクロプリドのMSスペクトル



### 5.3. 保存中の安定性試験

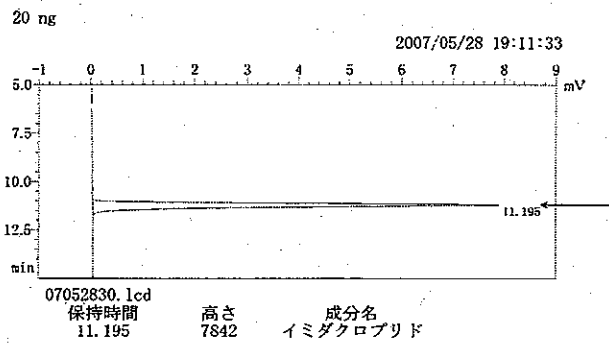
イミダクロプリドの河川水中での4℃保存安定性を調査した。

河川水100 mlを三角フラスコにはかりとり、イミダクロプリドの500 mg/lアセトニトリル溶液200 μlを添加し、4℃に保存した。これを2.3.1.の分析法で操作し、次の結果を得た。その結果、イミダクロプリドは4℃の河川水中で8日間安定であった。

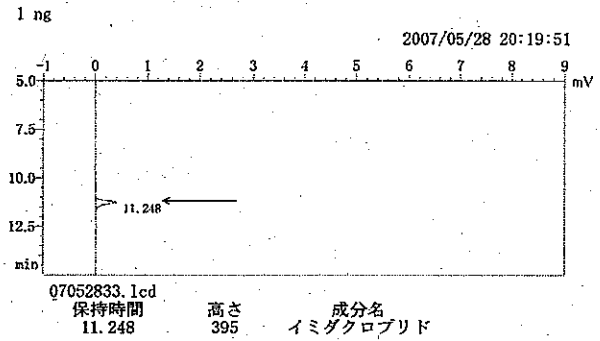
試料	添加濃度	保存期間	回収率	平均回収率
100 ml	1 ppm	8日 ('07/ 5/23~ 5/31)	106 %、98 %	102 %

クロマトグラム例(溶媒抽出法)

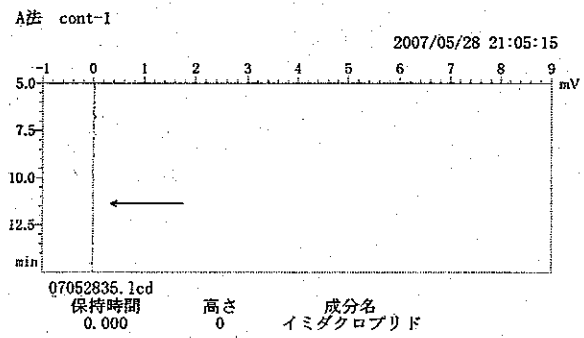
標準溶液20 ng



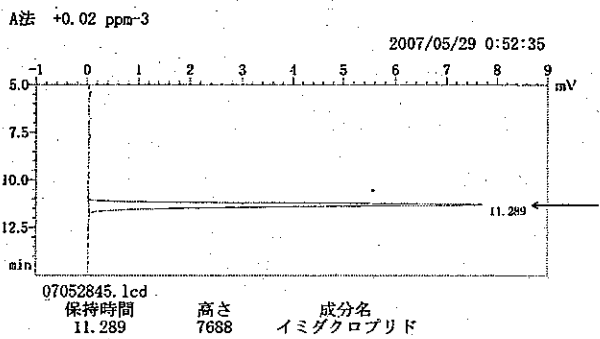
標準溶液1 ng



無添加(河川水)

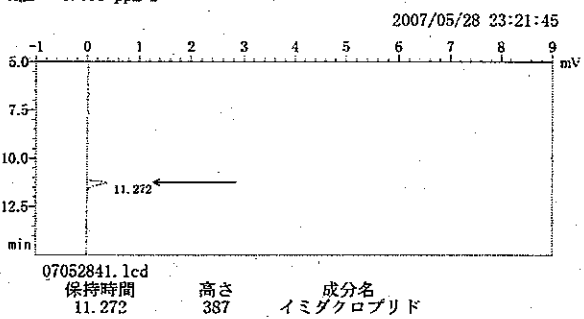


河川水0.02 mg/1添加



回収率 98 %

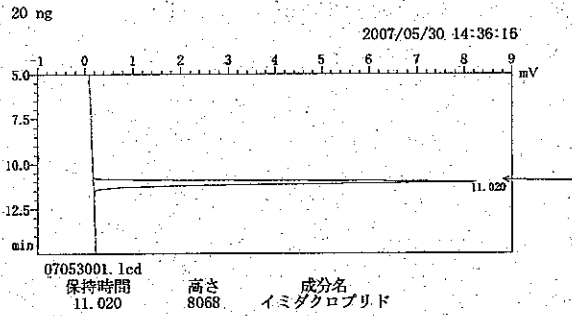
河川水0.001 mg/1添加



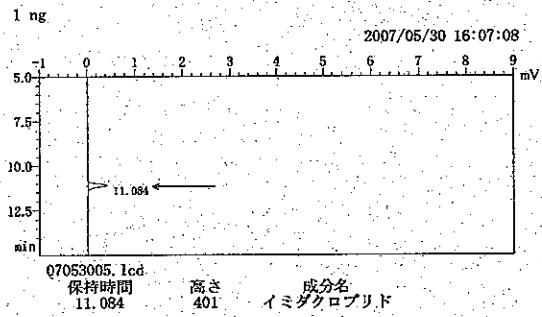
回収率 96 %

クロマトグラム例(固相抽出法)

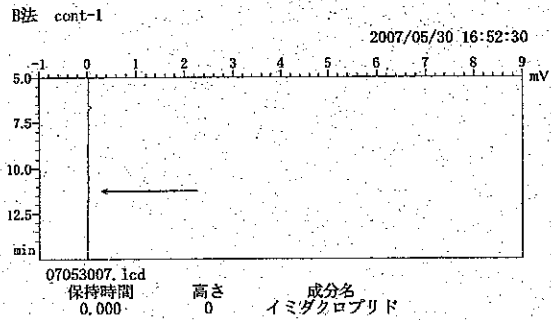
標準溶液20 ng



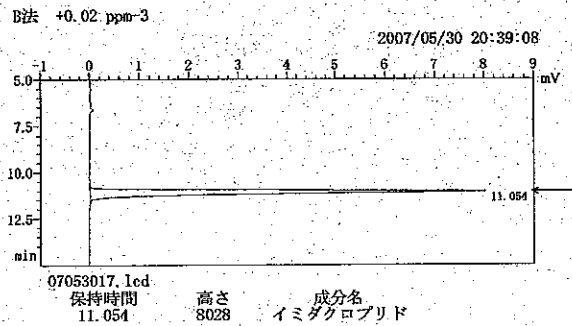
標準溶液1 ng



無添加(河川水)

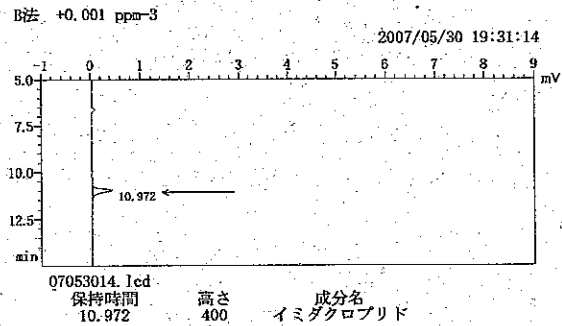


河川水0.02 mg/1添加



回収率 99 %

河川水0.001 mg/1添加



回収率 100 %