

ネオニコチノイド系農薬の 環境変化体の探索とその生態影響の調査

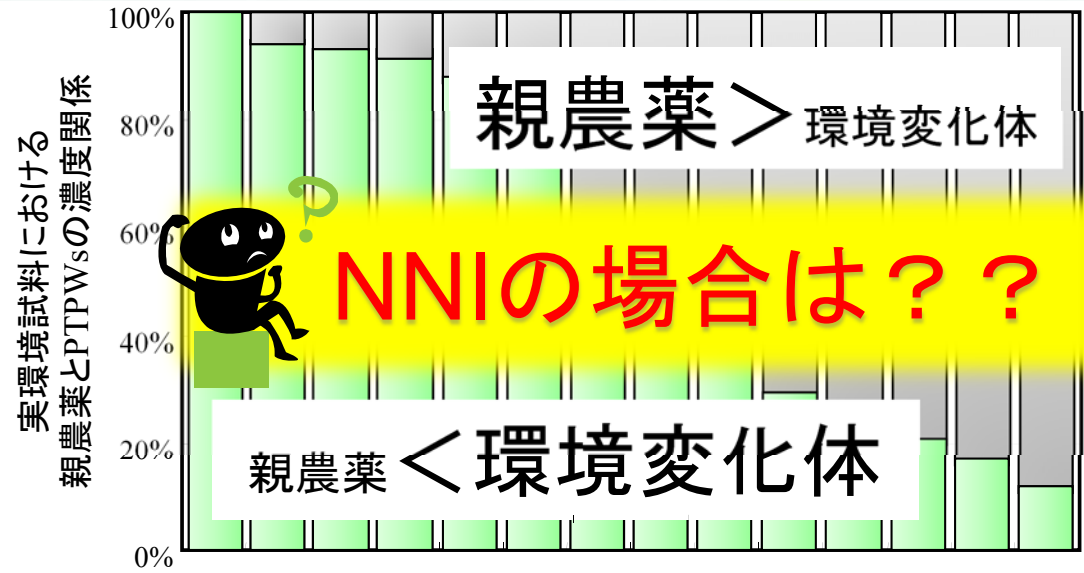
研究代表者:高梨啓和(鹿児島大学)

累積:162,655千円(平成26~28年度実施)

ネオニコチノイド系農薬 (NNI) の 環境運命と環境変化体の重要性

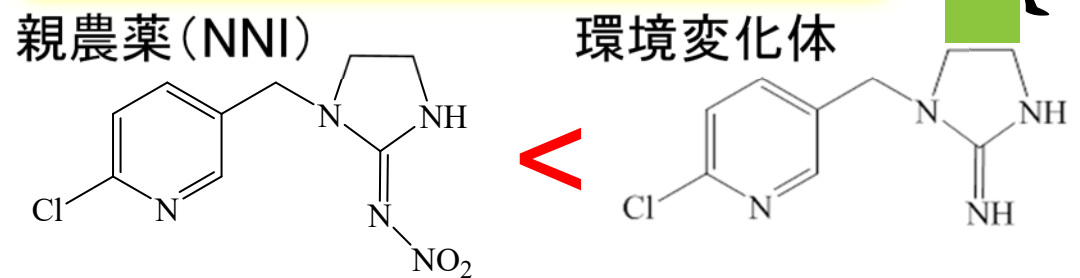
EUなど: ハチ保護の目的で、
一部のNNIの使用を制限中

陸生昆虫



チオファネートメチル
フェニトロチオン
ジスルホトン
マラチオン
アセフェート
クロロタニール
フエンストロール
ダイアジノン
フェンプロクサ
メフェナセト
チオベンカルブ
ペンシクロン
リプロキシフェン
メチダチオン

水生昆虫の場合は?



Lee et al., *Pesticide Biochemistry and Physiology* 58, 77-88 (1997)

環境変化体の 環境モニタリングにおける問題点

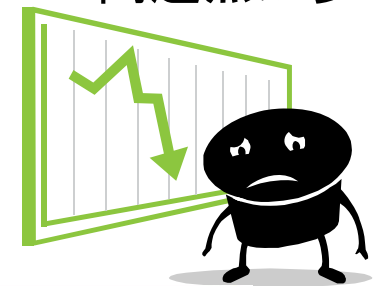
ネオニコチノイド系農薬の既知環境変化体数とその市販状況

CASRN	農薬名	既知 変化体数	2014年5月 時点の市販
135410-20-7	acetamiprid	0	0
210880-92-5	clothianidin	8	2
165252-70-0	dinotefuran	7	0
138261-41-3	imidacloprid	23	8
150824-47-8	nitenpyram	0	0
111988-49-9	thiacloprid	0	0
153719-23-4	thiamethoxam	11	1

どのような環境変化体
が生成するか、
情報に乏しい

環境変化体の多く
は標準試薬の
入手が困難

問題点が多い



環境変化体の探索と、標準試薬を用いずに
半定量環境モニタリングする技術が必要

研究の目的と体制・役割分担

目的

- ✓ **標準試薬を用いず**に半定量環境モニタリングする分析技術を開発すること
- ✓ ネオニコチノイド系農薬等の**環境変化体の生態リスク**を評価すること

体制・役割分担

サブテーマ1 (鹿児島大・高梨)

精密質量解析による環境変化体の**探索と半定量技術の開発**

何を合成すべきか

曝露情報

汎用分析技術

生態リスク評価

ハザード情報

合成品
(分析の標準試薬)

サブテーマ2 (鹿児島大・門川)
環境変化体の**合成と精製**

サブテーマ3 (いであ・宮本・石川)
環境変化体の**生態影響の調査**

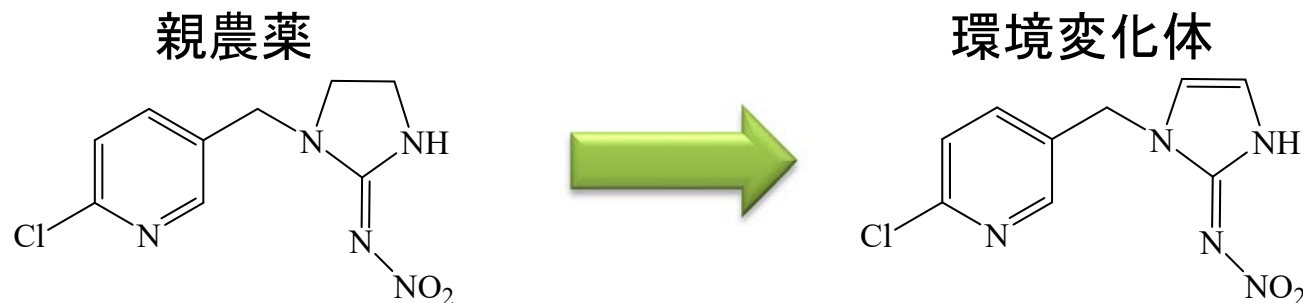
合成品(被検物質)

主な成果

- 標準試薬を必要としない**半定量環境モニタリング技術**を構築した

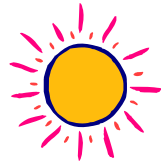
→汚染実態の概略を事前把握してから合成可能

- 同技術を用いて、実河川水から**イミダクロプリド-オレフィン体**を検出し、これを合成・環境モニタリング・毒性試験を実施し、**生態リスク**を評価した



精密質量解析による環境変化体の探索

模擬太陽
光照射



農薬



高分解能LC/MSを
用いた網羅的探索

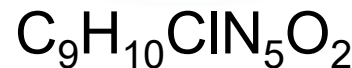
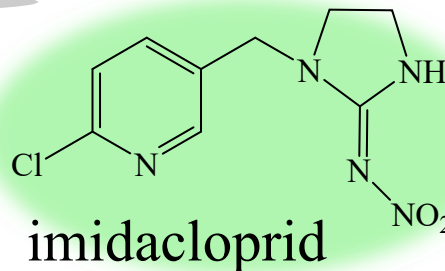
網羅的探索により発見された環境変化体

農薬	既知変化体	<i>m/z</i> が一致	報告例なし
imidacloprid	23	22*	6
dinotefuran	7	6*	21

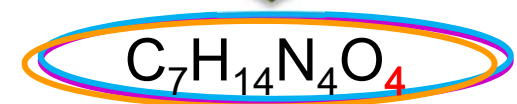
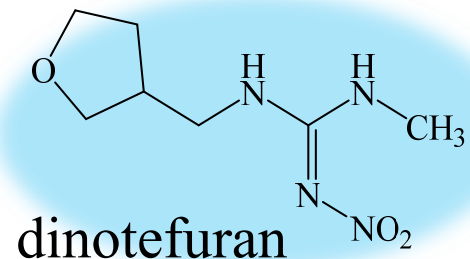
(*:1物質は測定対象外)



トキシコフォア(毒性を惹起する部分構造)が
保存されている可能性がある環境変化体を探索



発見されず



トキシコフォアを保存している環境変化体を中心に、
既知・新規変化体の実環境中からの検出実態を調査

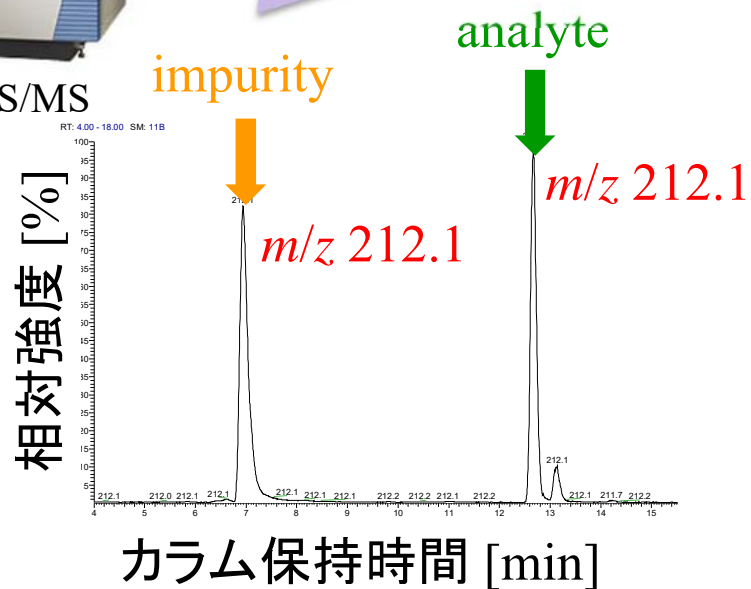
半定量技術の開発（着想）

定量分析機



LC-MS/MS

高感度だが、低質量
精度なため、不純物と
の見分けがつかない



高感度LC/MS/MSによる
precursor ion scan

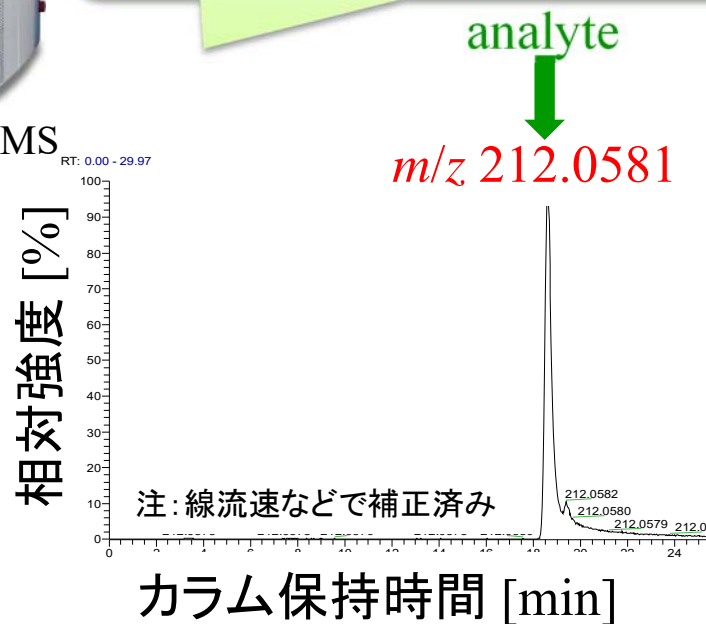
定性分析機



LC-HR/AM MS

* : イミダクロプリド-オレフィン体の場合

高分解能だが、1/10,000程度*
低感度なため、河川水
サンプルの測定は困難



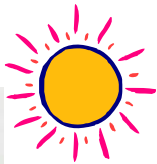
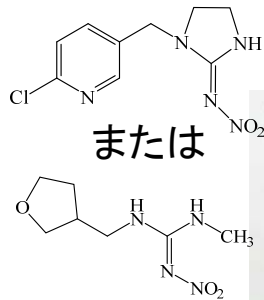
高分解能・高質量精度LC/MSによる
precursor ion analysis



高分解能・高質量精度LC/MSを用いて、予めカラム保持時間
などを測定しておけばよい(右図)。ただし、異性体は判別困難。

半定量技術の開発（結果）

光照射による変化体



標準試薬を入手できない環境変化体も...



HR/AM LC/MS



MS/MS

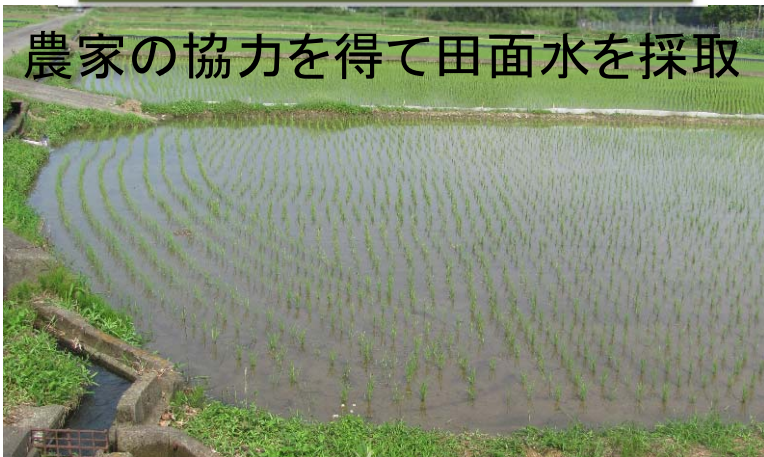
（一部抜粋）

構造式	分子式	precursor ion	target ion	qualifier ion
		<i>m/z</i>	<i>m/z</i>	<i>m/z</i>
付加イオン		RF lens [V]	CE [V]	CE [V]
<chem>Clc1ccc(cc1)C(=O)O</chem>	C ₆ H ₄ ClNO ₂	158	122	78
	[M+H] ⁺	28	19	23
<chem>Clc1ccc(cc1)CN2CCNC2=NN=O</chem>	C ₉ H ₁₁ ClN ₄	211	126	99
	[M+H] ⁺	60	26	40
<chem>Clc1ccc(cc1)C(=O)N</chem>	C ₆ H ₄ ClNO	142	78	106
	[M+H] ⁺	80	23	18
<chem>Clc1ccc(cc1)CN</chem>	C ₆ H ₇ ClN ₂	143	78	107
	[M+H] ⁺	50	28	22
<chem>Clc1ccc(cc1)CN2CCNC2=O</chem>	C ₉ H ₁₀ ClN ₃ O	212	128	99
	[M+H] ⁺	60	21	21
<chem>Clc1ccc(cc1)CN2CCNC2=NN=O</chem>	C ₉ H ₈ ClN ₃ O ₂	254	171	236
	[M+H] ⁺	40	18	10
<chem>COC1CCOC1CN2CCNC2=O</chem>	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂	159	67	57
	[M+H] ⁺	35	20	23
<chem>COC1CCOC1CN2CCNC2=O</chem>	C ₇ H ₁₃ N ₃ O	158	57	67
	[M+H] ⁺	38	24	22
<chem>Clc1ccc(cc1)CN2CCNC2=NN=O</chem>	C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₄	219	114	-
	[M+H] ⁺	28	15	-
<chem>Clc1ccc(cc1)CN2CCNC2=NN=O</chem>	C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₄	219	173	87
	[M+H] ⁺	26	10	12

農薬水溶液に模擬太陽光を照射

土壌生物等による変化体

農家の協力を得て田面水を採取



汎用機 (LC/MS/MS) で
環境変化体を測定可能

サンプルの採取地点

1年目: サンプルング地点の検討



2年目: サンプルング時期の検討



3年目: 合成物を用いたモニタリング

- ✓ 鹿児島県・宮崎県の7市9地区、102日間
- ✓ 田面水: 125サンプル(農家の協力を得た)
- ✓ 一般河川水・水路の水: 835サンプル
- ✓ 環境基準点、監視点における河川水: 232サンプル
- ✓ 総計: 1,192サンプル

- イミダクロプリド
- 環境基準点
- エトフェンプロックス
- 環境基準点
- ジノテフラン
- 環境基準点
- 監視点



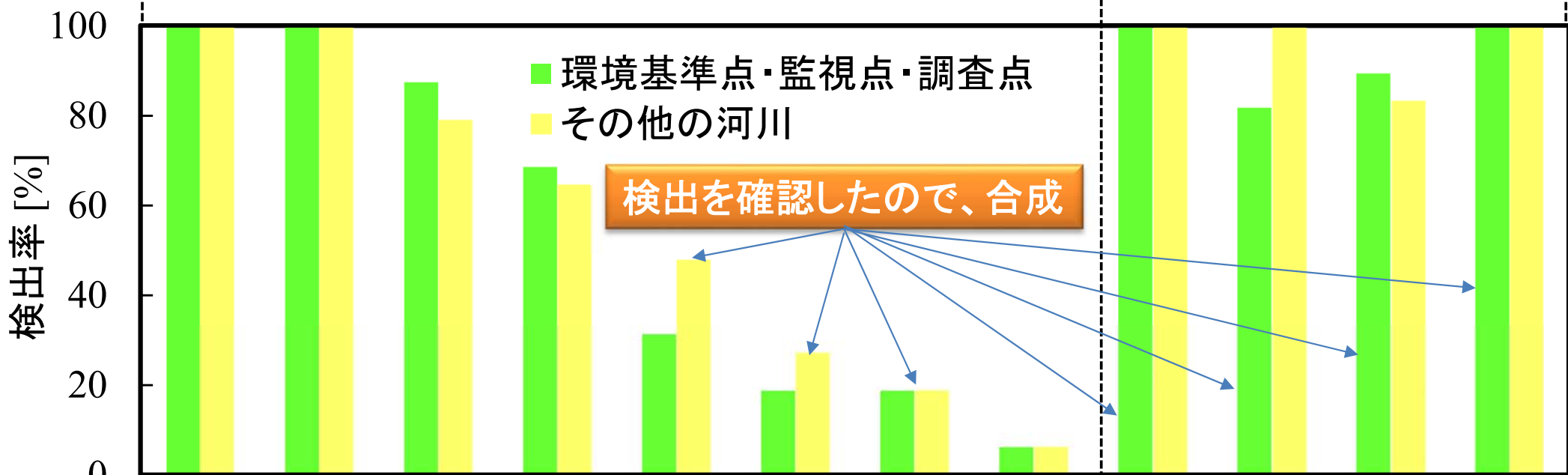
半定量環境モニタリングによる 環境変化体の検出状況

(田植え前後で採取)

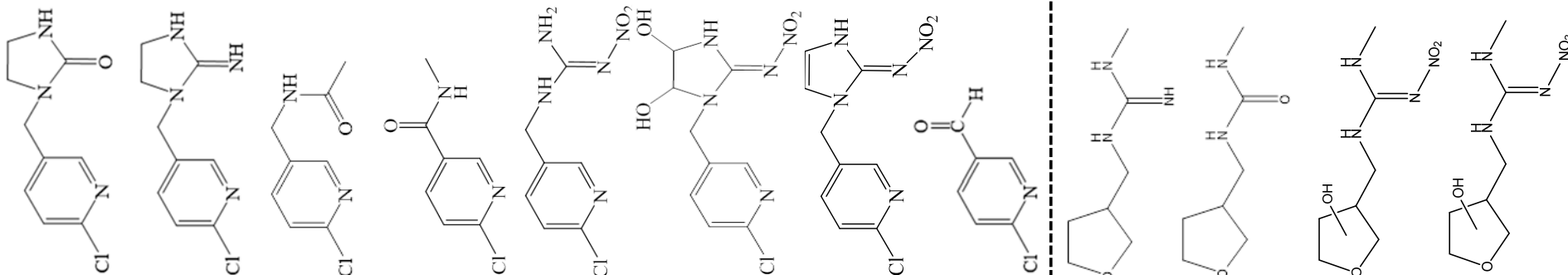
(航空防除前後で採取)

← imidaclopridの環境変化体 →

← dinotefuranの变化体 →



検出を確認したので、合成



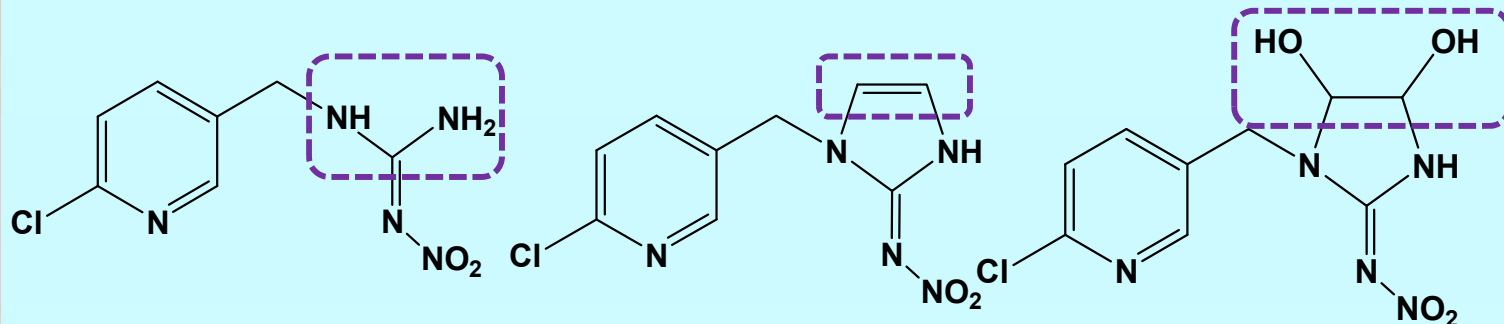
市販あり

市販なし(2014年時点)

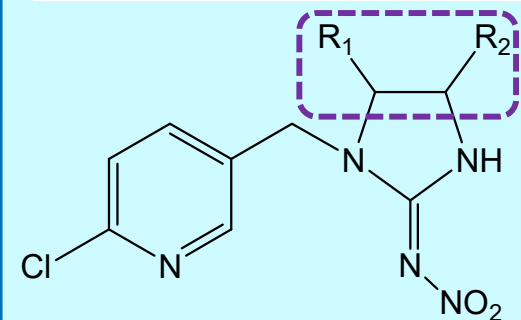
市販なし

合成した環境変化体（継続中を含む）

合成・精製が完了したイミダクロプリド変化体

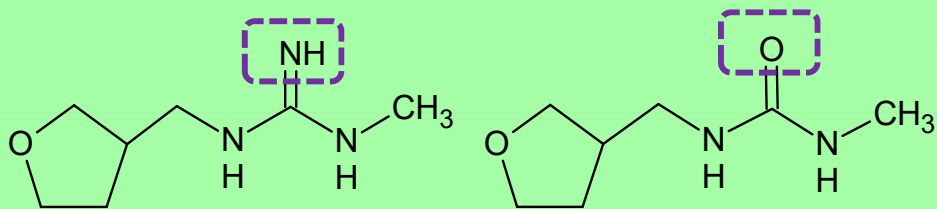


合成が推定されたイミダクロプリド変化体

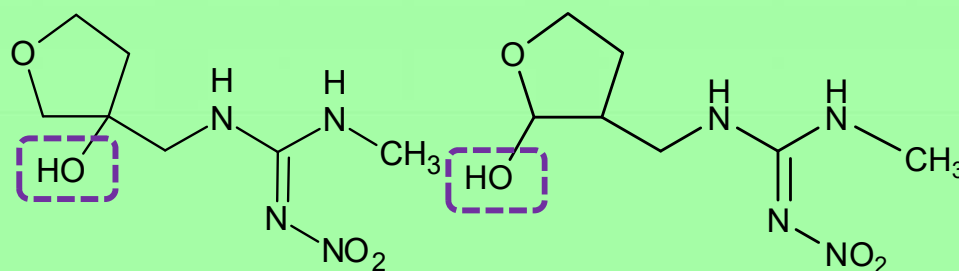


$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$ } 2物質

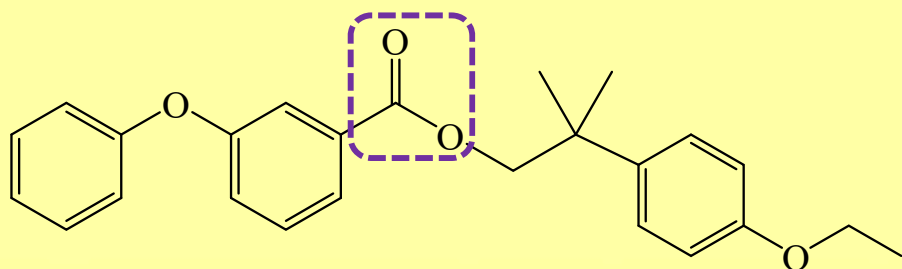
合成・精製が完了したジノテフラン変化体




合成継続中のジノテフラン変化体



合成・精製が完了したエトフェンプロックス変化体



 : 親農薬と構造が異なる部分

当初計画 : 8物質

実績(大量合成) : 6物質(2017年3月現在)

実績(少量合成) : 8物質

合成継続中 : 2物質(2017年3月現在)

環境変化体の 急性毒性 (48h-EC₅₀, LC₅₀) 試験結果

ネオニコチノイド系農薬	セスジユスリカ	オオミジンコ	
	遊泳阻害 48h-EC50 (μg/L)	遊泳阻害 48h-EC50 (μg/L)	致死 48h-LC50 (μg/L)
Imidacloprid (親農薬)	21	25,000	>86,000
Imidacloprid-olefin	18	>36,000	>36,000
Imidacloprid-guanidine	3,300	>55,000	>55,000
Imidacloprid-diol	13,000	>97,000	>97,000
Imidacloprid-denitro	33,000	20,000	>52,000
5-(aminomethyl)-2-chloropyridine	53,000	>200,000	>200,000
6-chloronicotinaldehyde	5,000	34,000	38,000
6-chloronicotinic acid	>180,000	>180,000	>180,000
Dinotefuran (親農薬)	41	>200,000	>200,000
対照農薬	セスジユスリカ	オオミジンコ	
	遊泳阻害 48h-EC50 (μg/L)	遊泳阻害 48h-EC50 (μg/L)	致死 48h-LC50 (μg/L)
Etofenprox (親農薬)	0.21	0.43	0.43
Etofenprox-ester	>22	>12	>12
2-(4-ethoxyphenyl)-2-methylpropan-1-ol	17,000	>109,000	>109,000
3-Phenoxybenzoic acid	>47,000	30,000	30,000

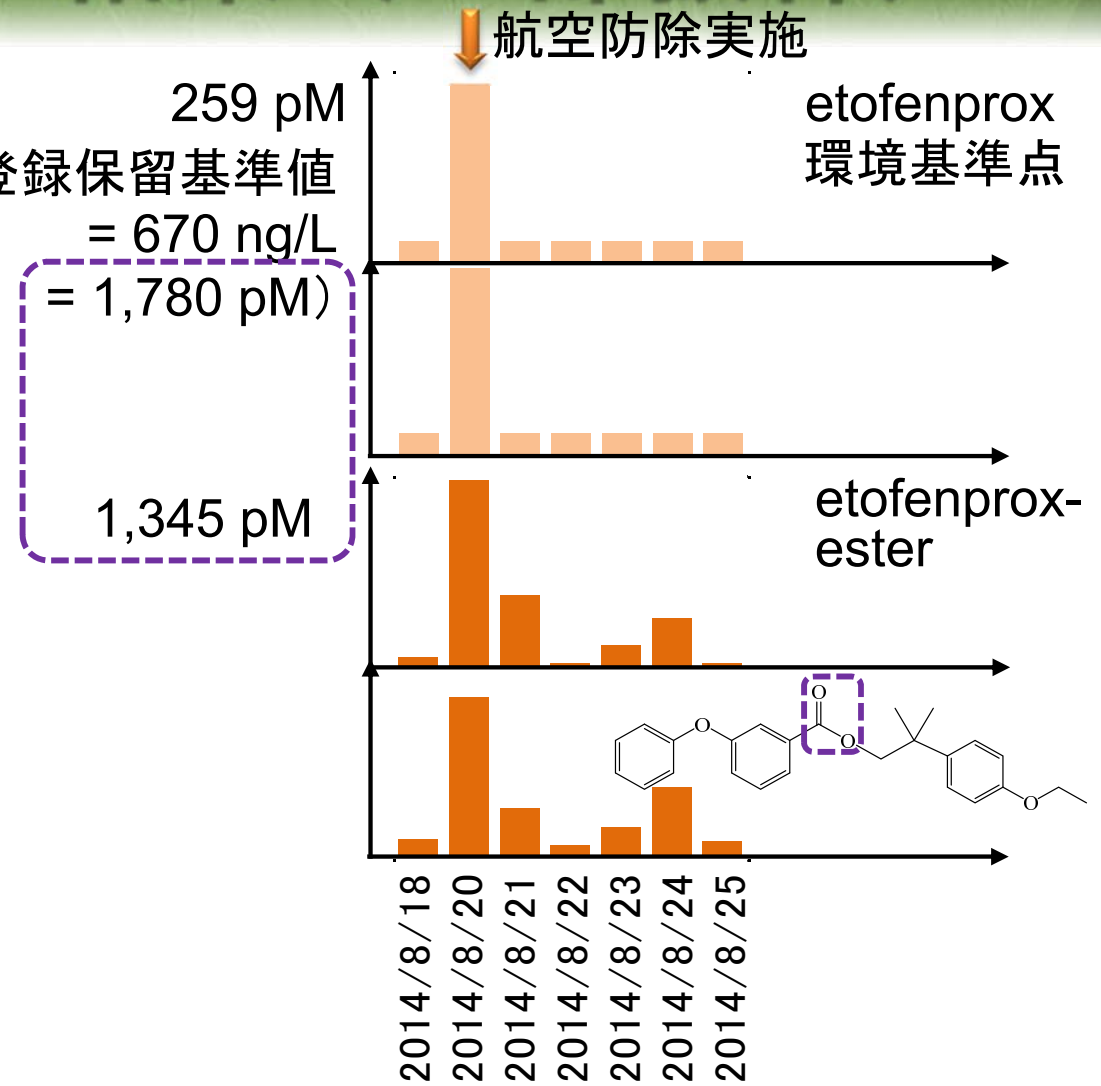
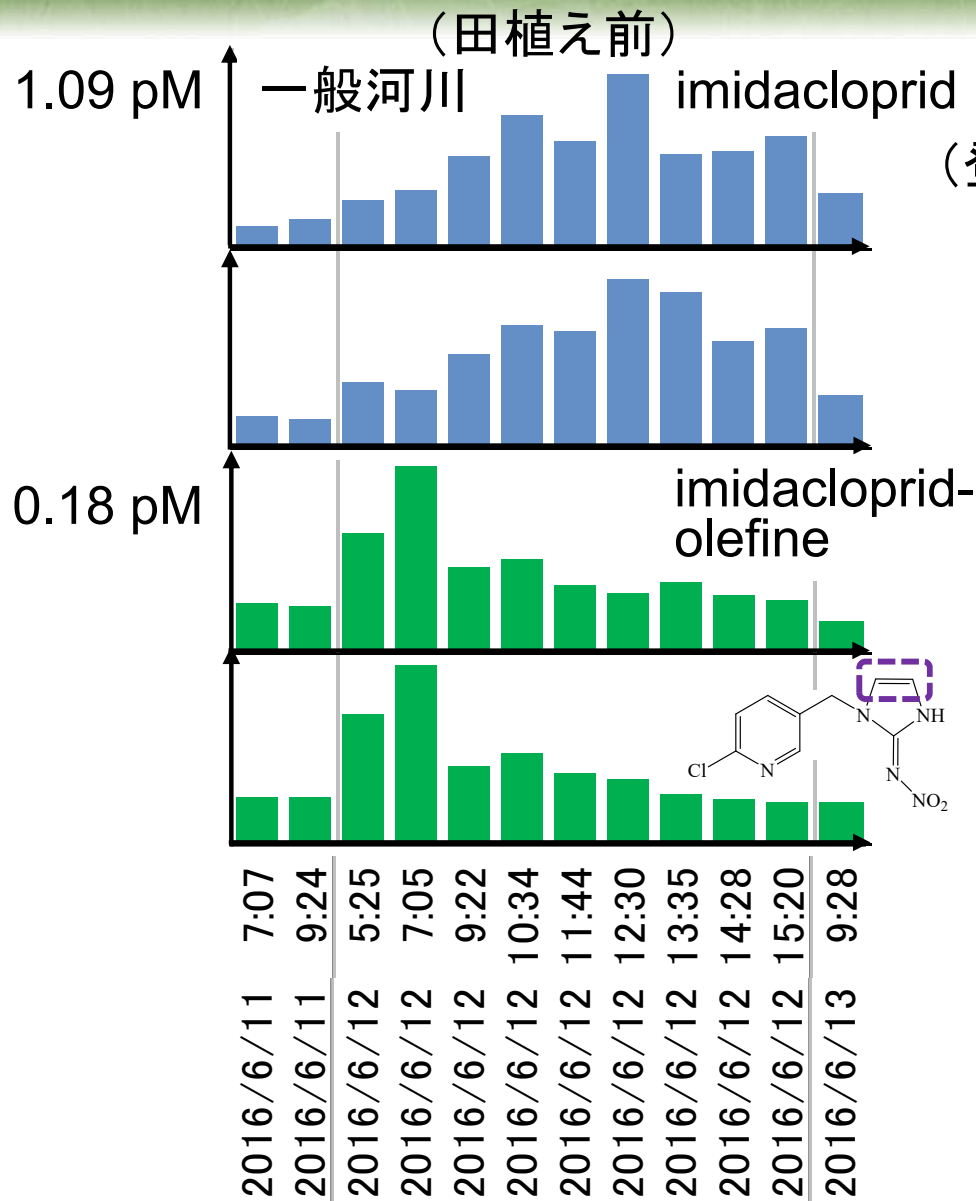
親農薬と同程度の遊泳阻害

親農薬にはない致死毒性



- ✓ 13物質の甲殻類等に対する急性毒性を確認(当初計画:5物質)
- ✓ 親と同程度の遊泳阻害、親にない致死毒性を有する環境変化体を発見

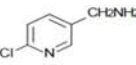
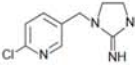
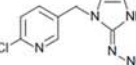
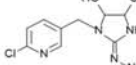
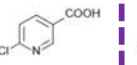
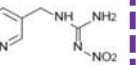
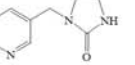
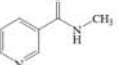
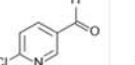
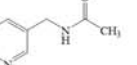
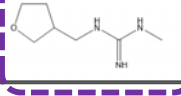
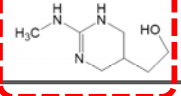
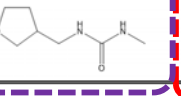
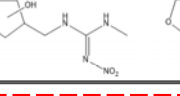
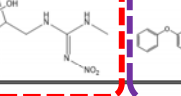
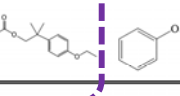
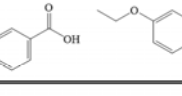
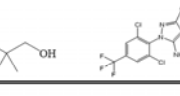

合成した環境変化体などを用いた 環境モニタリング結果（一部抜粋）



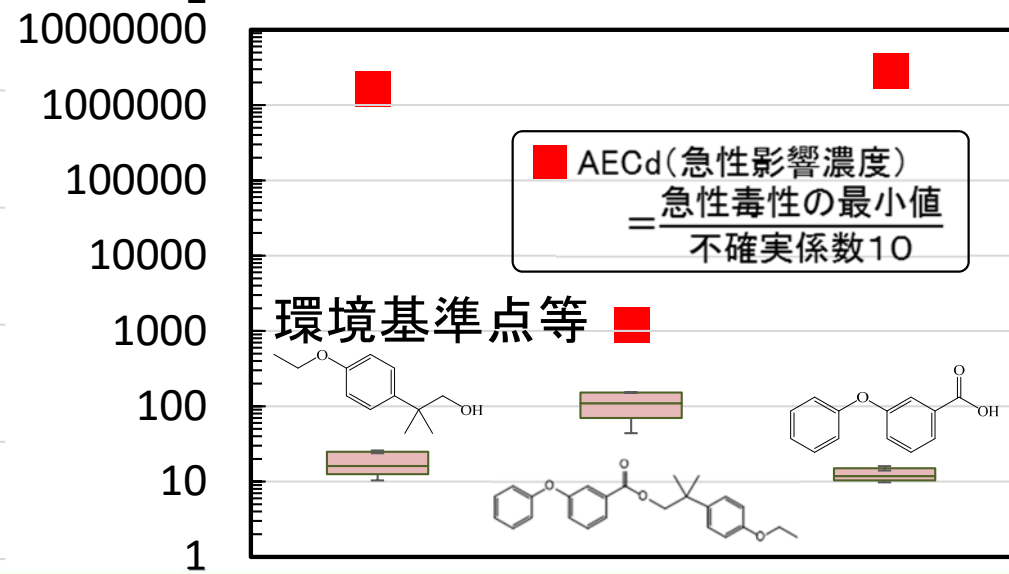
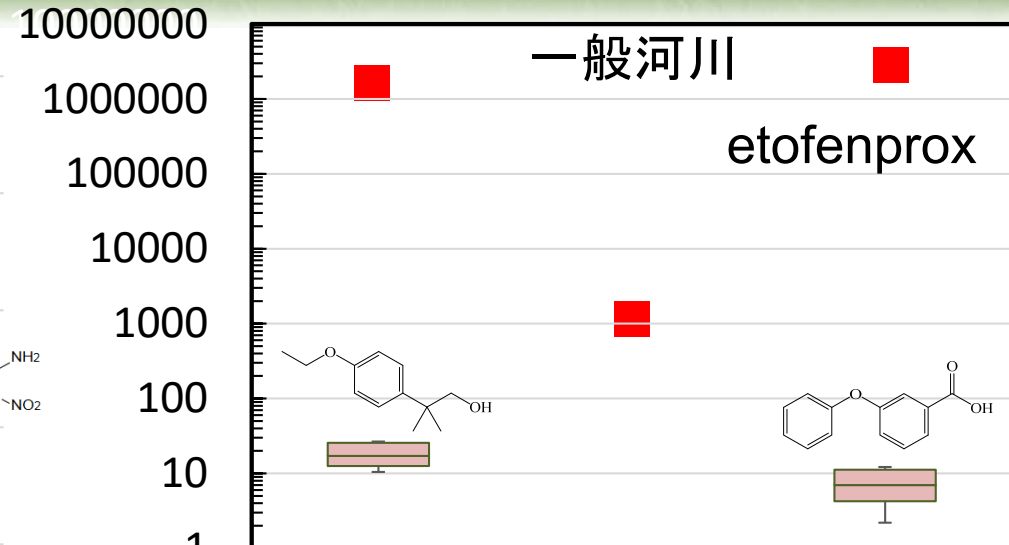
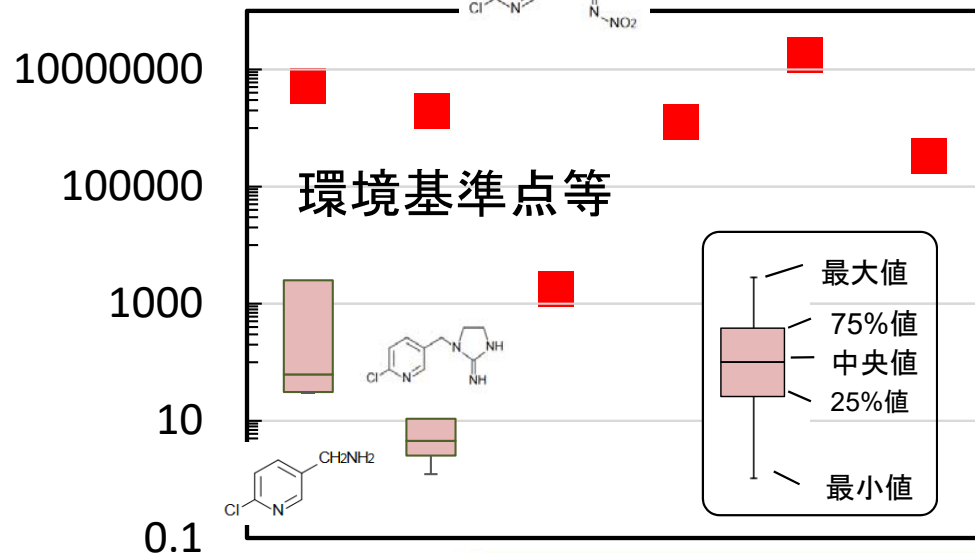
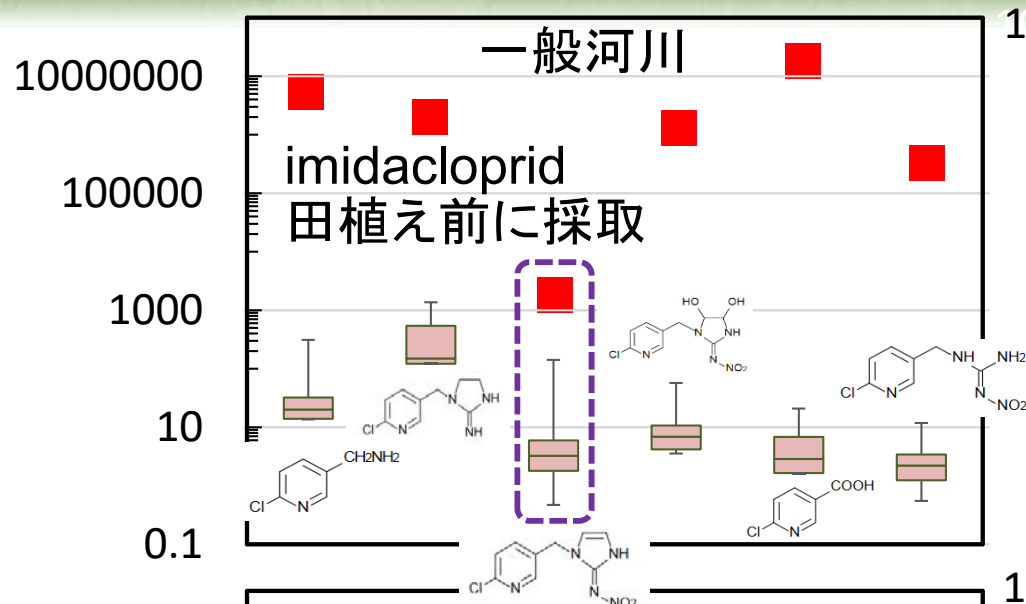
- ✓ 環境変化体が継続的に検出された
- ✓ 高濃度な環境変化体があった

環境変化体の検出率と最高濃度

新規環境変化体 合成物

環境変化体																		
LOQ [ppt]	370.0	0.1-0.2	0.2-0.3	2.9-3.4	0.6-0.8	0.3	0.2	0.4	132.0-174.0	0.1								
検出率 [%] (一般河川)	12	93.3	88.6	9.69	79.9	85.5	75.5	5.52	<LOQ	<LOQ								
最高濃度±SD[ppt] (一般河川)	821.9	21.7	135.1	3.1	46.4	1.0	14.0	1.8	8.4	0.9	6.2	1.2	4.3	0.7	0.7	0.2	<LOQ	<LOQ
サンプル数 (一般河川)	65	224	214	212	211	211	212	207	212	210								
検出率 [%] (環境基準点等)	2.7	97	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM								
最高濃度±SD[ppt] (環境基準点等)	2,535.0	62.0	30.6	1.2	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	
サンプル数 (環境基準点等)	37	37	推定構造	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
環境変化体																		
LOQ [ppt]	0.24	-	0.75	-	-	10	2	6	100									
検出率 [%] (一般河川)	0	100	100	100	100	0	100	46	53.06									
最高濃度±SD[ppt] (一般河川)	<LOQ	-	419.2	1.0	-	-	<LOQ	74.7	3.7	57.0	22.6	11.81	0.09					
サンプル数 (一般河川)	64	64	64	64	64	98	98	98	98.00									
検出率 [%] (環境基準点等)	0	100	82	100	100	38	100	48	28.57									
最高濃度±SD[ppt] (環境基準点等)	<LOQ	-	43.9	0.0	-	43.9	0.0	525.2	33.9	59.0	0.4	51.1	2.2	2.4	0.1			
サンプル数 (環境基準点等)	194	194	194	194	194	42	42	42	42									

環境変化体の 甲殻類等に対するリスク評価結果



・環境変化体の河川水中濃度は、甲殻類等のAECdよりも低かったが、イミダクロプリド-オレフィン体については継続的な監視が必要と考えられる。

結 論

- 標準試薬を必要としない**半定量環境モニタリング技術を構築**し、標準試薬の合成に先立ち、実環境からの検出(異性体の区別を除く)を可能とした
- 親農薬の登録保留基準値と**同程度の濃度**の環境変化体が検出された
- 親農薬と**同程度のセスジユスリカ遊泳阻害**を示す環境変化体が存在した

研究成果を用いた、日本国民との科学・科学技術対話の活動(研究開始～プレゼン前日まで)

①小・中・高等学校の理科授業での特別授業

実施日	学校名等	所在地	説明した「研究成果」、「実生活との関連」等
H26.6.23	福岡県立筑前高等学校	福岡県	・農薬の必要性和環境安全性という成果について説明。

③大学・研究機関の一般公開での研究成果の講演

実施日	主催者名	講座名	開催地	参加者数	講演した「研究成果」、「参加者との対話の結果」等
H26.8.2	鹿児島大学	工学部公開講座	鹿児島県	40名	・農薬の必要性和環境安全性という成果につき講演。 ・参加者から異性体の安全性について質問があった。
H27.8.1	鹿児島大学	工学部公開講座	鹿児島県	26名	・農薬の必要性和環境安全性という成果につき講演。 ・参加者から農薬測定方法について質問があった。
H28.8.6	鹿児島大学	工学部公開講座	鹿児島県	61名	・農薬の必要性和環境安全性という成果につき講演。 ・参加者から農薬の検出実態について質問があった。

⑥その他、顔の見える双方向コミュニケーション活動を推進する活動

実施日	実施内容、活用した「研究成果」等
H27.9.26	・環境中の農薬分析技術の原理を紹介し、測定結果を交えながら小中高の教員と顔の見える双方向コミュニケーション活動を実施した。技術進歩に関する感想などが寄せられた。

本課題の成果に係る「査読付」論文(国際誌・国内誌)の発表

執筆者名	発行年	論文タイトル	ジャーナル名等
特に記載すべき事項はない			

本課題の成果に係る「査読付論文に準ずる成果発表」論文の発表 又は 本の出版

執筆者名	発行年	タイトル	ジャーナル・出版社名等
特に記載すべき事項はない			

マスコミ発表(プレスリリース、新聞掲載、TV出演、報道機関への情報提供等)

種類	年月	概要	その他特記事項(あれば)
特に記載すべき事項はない			

国内外における口頭発表(学会等)

学会等名称	年月	発表タイトル	その他特記事項(あれば)
第51回日本水環境学会年会	2017.3	殺虫剤環境変化体の合成と環境モニタリング	
第51回日本水環境学会年会	2017.3	標準物質を入手できない農薬環境変化体の環境モニタリング	

他49件。 以上は全て「環境省」・「環境研究総合推進費」・「課題番号」を明示。

知的財産権

知的財産権の種類	概要(簡潔に)	その他特記事項(あれば)
特許権	標準物質を必要としない環境モニタリング技術を開発した	2015年2月26日出願

行政ニーズに即した 環境政策への貢献事例

概要(簡潔に)	その他特記事項(あれば)
特に記載すべき事項はない	

行政ニーズに即した 今後の環境政策への貢献「見込み」

概要(簡潔に)	その他特記事項(あれば)
成果の一つである標準物質を必要としない環境モニタリング技術は、今後、新たな環境汚染物質の調査に貢献できる可能性がある。	
成果の一つである農薬環境変化体のリスク評価は、農薬の環境管理行政に貢献できる可能性がある。	

ご静聴ありがとうございました。