

研究者（所属・氏名）：環境部・竹内 靖子

研究課題名 (継続)	高リスクが懸念される微量化学物質の実態解明に関する研究 (国立環境研究所Ⅱ型共同研究)			コードNo. ⅡC-3
共同研究者 (担当分野)	(所内) 西澤憲彰 (全般調整)、川村恭平 (リン酸エステル系難燃剤) (所外) 国立環境研究所、地方環境研究所			
研究期間	平成 28 年度から 30 年度まで (3 年間)			
研究予算 見込額 (千円)	全体	28 年度	29 年度	30 年度
	研究 : 1300	消耗品 : 500	消耗品 : 500	消耗品 : 300
研究目的 および 必要性	本研究は、先行の共同研究「国内における化審法関連物質の排出源および動態の解明 (H25-27)」で構築された国立環境研究所と地方環境研究所のネットワークを活用して、全国規模での分析法開発および環境実態解明を行うことを目的とする。 <概要> ストックホルム条約や化審法で規制が進められてきた化学物質の代替物質など、新たな環境汚染リスクが懸念される化学物質を対象に、汚染実態および環境動態の解明を進める。具体的には、臭素系難燃剤 HBCD の代替物質であるリン酸エステル系難燃剤や、近年、環境汚染の報告事例が増加しているネオニコチノイド系農薬を対象に全国規模での排出源解明を進める。 さらに、国内における未解明の汚染化学物質に関して、ノンターゲット分析を通じたスクリーニングを行い、毒性情報を加味した上で地域毎の優先順位を決定し、各自治体において詳細な環境実態調査とリスク評価を進める。 現在対象としているネオニコチノイド系農薬 (ジノテフラン、ニテンピラム、チアメトキサム、クロチアニジン、イミダクロプリド、アセタミプリド、チアクロプリド) は、1990 年代から使用されてきた神経毒性の殺虫剤である。特徴としては、浸透移行性、残留性が高く万能な農薬で、現在も広く使われているが、近年、ネオニコチノイド系農薬が、ミツバチが減少する原因物質として疑われてきており、EU 諸国など使用を規制する国もでてきた。 <当研究センターが参加する目的・必要性> 日本でもネオニコチノイド系農薬との関連が疑われるミツバチのへい死やトンボの減少が報告されており、生態系への影響が懸念されている中で水環境中からの検出事例が報告されはじめている。そこで、ネオニコチノイド系農薬と似た性質を持ち使用量も多いフェニルピラゾール系農薬のフィプロニルを加えた 8 化合物を対象として、福井県内における汚染実態を把握するため、分析法の確立および河川水の調査を行うこととした。 他研究機関と協業・情報交換することにより、POPs や未解明の汚染化学物質に関する分析技術のレベルアップに繋がるとともに、全国レベルでの汚染評価が可能となる。			

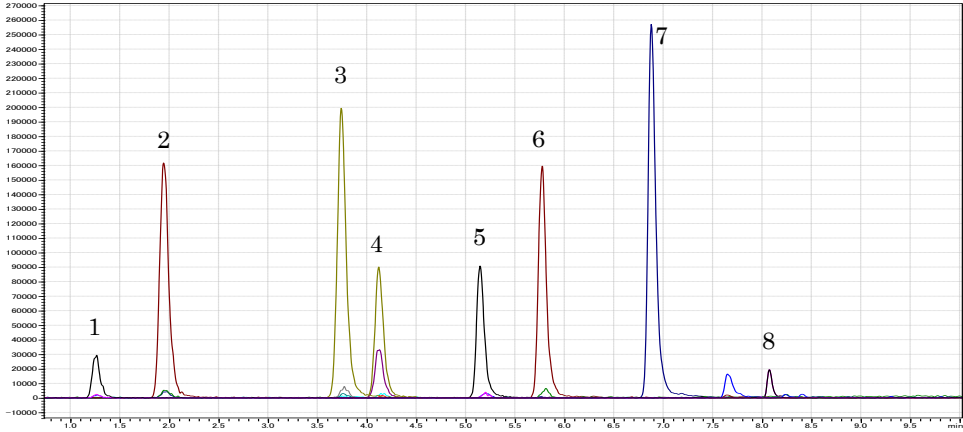
進捗状況	ネオニコチノイド系農薬について ○平成 28 年度 ・一斉分析法の確立 ・情報収集 ○平成 29 年度 ・一斉分析法の前処理法を一部改良 ・河川水実態調査を実施 ○平成 30 年度計画 ・河川水詳細調査								
研究内容およびこれまでの成果	1 一斉分析法の確立（平成 28 年度～29 年度） ネオニコチノイド系農薬 8 種の一斉分析法の検討に当たり、「平井他：QuEChERS 法を用いた蜂蜜および玄米中ネオニコチノイド系農薬等の一斉分析法の検討，平成 27 年度福井県衛生環境研究センター年報」を参考とした。 ① LC-MS/MS 測定条件について ネオニコチノイド系農薬 8 種類を分析対象化合物とし、液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を用いた一斉分析を検討した。 LC 条件は、先行事例や文献を参考にカラム、グラジエーション条件等を選定し、MS/MS 条件は、Shimadzu 社製 LCMS-8050 の最適化プログラムを用いて各化合物の MRM を選定した。なお LC 条件の移動相については、「平井他：QuEChERS 法を用いた蜂蜜および玄米中ネオニコチノイド系農薬等の一斉分析法の検討，平成 27 年度福井県衛生環境研究センター年報」と同条件の 0.1% ぎ酸 - H₂O および 0.1% ぎ酸 - MeOH を選定した。選定した条件で混合標準溶液を測定した結果、いずれのピークも感度、ピーク形状ともに良好なクロマトグラムが得られた（図 1-1）。 分析対象化合物：ジノテフラン、ニテンピラム、チアメトキサム、イミダクロプリド、クロチアニジン、アセタミプリド、チアクロプリド、フィプロニル（サロゲート：ジノテフラン-d₃、ニテンピラム-d₃、チアメトキサム-d₃、イミダクロプリド-d₄、クロチアニジン-d₃、アセタミプリド-d₃、チアクロプリド-d₄、） 試料：河川水 <table> <tbody> <tr> <td>1 Dinotefuran／Dinotefuran-d₃</td> <td>5 Clothianidin／Clothianidin-d₃</td> </tr> <tr> <td>2 Nitenpyram／Nitenpyram-d₃</td> <td>6 Acetamiprid／Acetamiprid-d₃</td> </tr> <tr> <td>3 Thiamethoxam／Thiamethoxam-d₃</td> <td>7 Thiapropid／Thiapropid-d₄</td> </tr> <tr> <td>4 Imidacloprid／Imidacloprid-d₄</td> <td>8 Fipronil</td> </tr> </tbody> </table>  図 1-1 混合標準 0.1ppb のクロマトグラム	1 Dinotefuran／Dinotefuran-d ₃	5 Clothianidin／Clothianidin-d ₃	2 Nitenpyram／Nitenpyram-d ₃	6 Acetamiprid／Acetamiprid-d ₃	3 Thiamethoxam／Thiamethoxam-d ₃	7 Thiapropid／Thiapropid-d ₄	4 Imidacloprid／Imidacloprid-d ₄	8 Fipronil
1 Dinotefuran／Dinotefuran-d ₃	5 Clothianidin／Clothianidin-d ₃								
2 Nitenpyram／Nitenpyram-d ₃	6 Acetamiprid／Acetamiprid-d ₃								
3 Thiamethoxam／Thiamethoxam-d ₃	7 Thiapropid／Thiapropid-d ₄								
4 Imidacloprid／Imidacloprid-d ₄	8 Fipronil								

表 1-2 LC 条件

装置	Shimadzu LC-20 series	
分析カラム	ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl Rapid Resoutionφ2.1×50 mm,1.8 μm	
移動相	A : 0.1% ぎ酸 - H ₂ O B : 0.1% ぎ酸 - MeOH	
移動相条件		
初期条件	A : 80 %	B : 20 %
0→2 min	A : 80 %	B : 20 %
2→6 min	A : 55 %	B : 45 %
6→7.5 min	A : 0 %	B : 100 %
7.5→12 min	A : 0 %	B : 100 %
Stop : 12→12.1 min	A : 80 %	B : 20 %
平衡化 : 12.1→14.5 min	A : 80 %	B : 20 %
移動相流量／注入量	0.3 ml/min / 3.0 μL	
カラム温度	40 °C	

表 1-3 MS/MS 条件

装置	Shimadzu 社製 LCMS-8050		
イオン化モード／プローブ電圧	ESI (+/-) / + 4.00 kv / - 3.00 kv		
ネブライズガス流量	3 L/min		
ドラインガス流量	10 L/min		
DL 温度／ヒートブロック温度	250 °C / 400 °C		
m/z ネイティブ体／サロゲート	定量用	確認用	サロゲート
	(プリカーサーイオン > プロダクトイオン)		
Dinotefuran／Dinotefuran-d3	203.10 > 100.15	203.10 > 129.05	206.10 > 132.05
Nitenpyram／Nitenpyram-d3	271.10 > 56.15	271.10 > 224.90	274.10 > 228.15
Thiamethoxam／Thiamethoxam-d3	292.00 > 211.10	292.00 > 180.95	295.00 > 213.95
Imidacloprid／Imidacloprid-d4	256.05 > 208.95	256.05 > 175.00	260.05 > 179.25
Clothianidin／Clothianidin-d3	250.00 > 132.00	250.00 > 168.95	253.00 > 171.95
Acetamiprid／Acetamiprid-d3	223.05 > 126.05	—	226.05 > 126.00
Thiacroprid／Thiacroprid-d4	253.00 > 126.10	—	257.00 > 126.10
Fipronil／Thiamethoxam-d3	434.90 > 330.10	—	295.00 > 213.95

② 定量法（検量線の作成）

定量法は、各分析対象化合物の d 体を用いて内部標準法を採用した（フィプロニルはチアメトキシサム・d3 で代用した）。検量線は、0.5 ppb から 40 ppb の範囲で作成し、最低濃度から各化合物の下限值等を算出した（表 1-3）。現在、報告されている河川水中のネオニコチノイド系農薬の濃度範囲はおおよそ 30～400 ng/L であり、本条件で定量できることを確認した。なお、試料水は前処理において 100 倍から 200 倍濃縮して測定する方法を採用した（次項③で説明）。

（使用した標準品）

ネイティブ：林純薬製 PL 農薬混合(8 種)標準液 20 μg/ml

サロゲート：林純薬製 PL 農薬サロゲート混合(7 種)標準溶液 10 μg/ml

③ 試料前処理法

1 ①で決定した LC-MS/MS 条件を用いて、200 mL 超純水に混合標準 20 ng 相当を添加し回収率を算出し、100 %近いことを確認できた（表 1-3）。

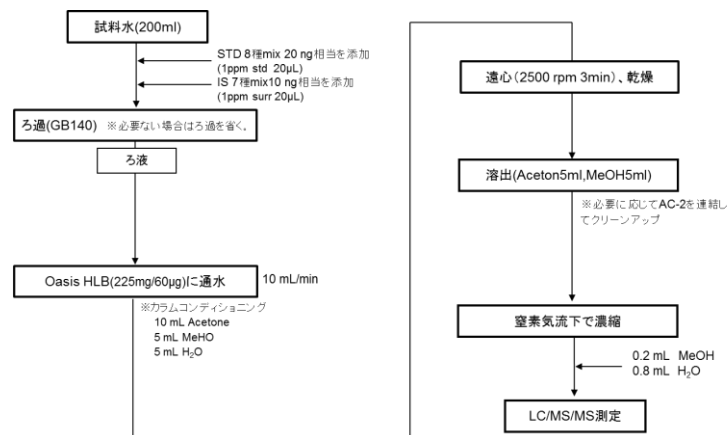


図 1-2 前処理フロー

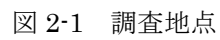
表 1-4 各化合物の下限值および添加回収試験結果

化合物名		Dinotefuran	Nitenpyram	Thiamethoxam	Clothianidin
検量線 最低濃度	μg/L	0.5	0.5	0.5	0.5
決定計数 R^2	-	0.9997	0.9986	0.9996	0.9993
検出下限値	μg/L	0.31	0.11	0.16	0.15
定量下限値	μg/L	0.80	0.27	0.42	0.39
試料換算 検出下限値	ng/L	1.5	0.53	0.82	0.76
試料換算 定量下限値	ng/L	4.0	1.4	2.1	1.9
添加回収	%	112 (50)	111(86)	118 (100)	98 (90)

化合物名		Imidacloprid	Acetamiprid	Thiacroprid	Fipronil
検量線 最低濃度	μg/L	0.5	0.5	0.5	0.5
決定計数 R^2	-	0.9972	0.9980	0.9995	0.9990
検出下限値	μg/L	0.14	0.078	0.044	0.058
定量下限値	μg/L	0.35	0.20	0.11	0.15
試料換算 検出下限値	ng/L	0.68	0.39	0.22	0.29
試料換算 定量下限値	ng/L	1.8	1.0	0.57	0.74
添加回収	%	111 (72)	110 (92)	114 (90)	95 (87)

()内は、サロゲート補正なしの回収率

① 調査地点

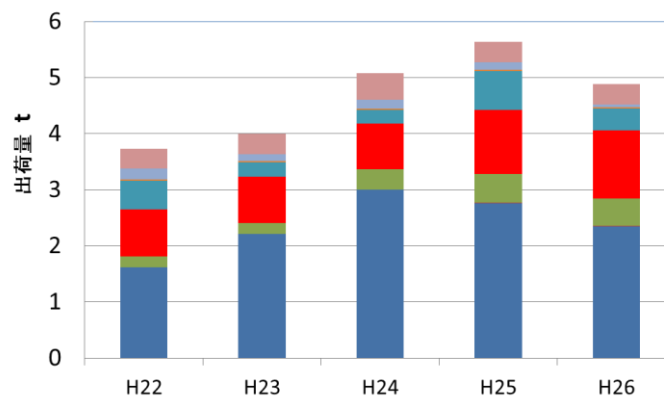


③ 河川水調査結果

表 2-1 ネオニコチノイド系農薬の検出頻度

化合物	検出数／総検体数
ジノテフラン	16 / 16
ニテンピラム	0 / 16
チアメトキサム	10 / 16
イミダクロプリド	9 / 16
クロチアニジン	16 / 16
アセタミプリド	1 / 16
チアクロプリド	0 / 16
フィプロニル	6 / 16

■ ジノテフラン ■ ニテンピラム ■ チアメトキサム ■ クロチアニジン
■ イミダクロプリド ■ アセタミプリド ■ チアクロプリド ■ フィプロニル



出典: 国立環境研究所環境リスク研究センター「化学物質データベース WebKis-Plus (農薬データベース)」

表 2-2 各採取地点の濃度

(ng/L)

	荒鹿橋 九頭竜川		清間橋 竹田川		栄橋 竹田川		新野中橋 兵庫川	
	8 月	10 月	8 月	10 月	8 月	10 月	8 月	10 月
ジノテフラン	32	15	340	61	480	120	700	210
ニテンピラム	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
チアメトキサム	ND	ND	2.9	2.0	12	4.4	3.4	8.9
イミダクロプリド	ND	ND	2.9	ND	6.7	5.1	8.6	7.5
クロチアニジン	46	1.9	170	15	130	33	170	44
アセタミプリド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1
チアクロプリド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フィプロニル	ND	ND	1.9	ND	4.7	3.0	3.9	5.4
	土布川橋 真名川		安沢橋 磯部川		新在家橋 清滝川		東大月橋 赤根川	
	8 月	10 月	8 月	10 月	8 月	10 月	8 月	10 月
ジノテフラン	72	20	720	68	130	11	64	31
ニテンピラム	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
チアメトキサム	1.6	ND	4.9	ND	7.2	ND	2.8	ND
イミダクロプリド	0.95	ND	5.4	ND	8.4	ND	1.9	ND
クロチアニジン	89	2.2	140	9.8	56	0.77	150	11
アセタミプリド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
チアクロプリド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フィプロニル	ND	ND	1.15	ND	ND	ND	ND	ND

表 2-3 Morrissey らの提案する水生無脊椎動物群に対する影響を回避するための閾値※との比較

	短期閾値 200 ng/L	長期閾値 35 ng/L
	超過数／総検体数	超過数／総検体数
ジノテフラン	5 / 16	11 / 16
クロチアニジン	0 / 16	9 / 16
その他の化合物	閾値内	

※Christy A. Morrissey et al:Environmental International,74,291-303(2015)

表 2-4 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準値との比較

	農薬登録保留基準値 (μg/L)	超過数 / 総検体数
ジノテフラン	12	0 / 16
ニテンピラム	11	0 / 16
チアメトキサム	3.5	0 / 16
イミダクロプリド	1.9	0 / 16
クロチアニジン	2.8	0 / 16
アセタミプリド	5.7	0 / 16
チアクロプリド	3.6	0 / 16
フィプロニル	0.024	0 / 16

	④まとめ ・ 全ての地点でジノテフラン、クロチアニジンの検出割合が高く、一方でニテンピラム、チアクロプリドは全ての地点で検出下限値以下であった。 ・ 検出状況と福井県内の農薬出荷量との関連性が示唆された。 ・ 奥越平野より坂井平野の濃度が高く、１０月より８月の濃度が高かった。 ・ これらの濃度を、Morrissey らの提案する水生無脊椎動物群に対する影響を回避するための閾値と比較したところ、短期基準で５検体、長期基準で２０検体超過していた。 ・ なお、これらの濃度は全て水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準値は下回っていた。												
本年度の計画	○ 高濃度河川域において、毎月一回測定し、年間の濃度変動を把握し、農薬出荷量等との関連性を調査する。 調査地点：坂井地区５地点 （新野中橋_兵庫川、栄橋_竹田川、三国大橋_九頭竜川、新保橋_九頭竜川、長屋橋_田島川） 調査頻度：毎月１回												
研究の特色	[独創性や新規性等] 各々の分析機関が得意とする分析技術やフィールドを活用しながら連携することで、様々な物質について地域別の実態解明を効率的に実施することが可能である。												
期待される成果	１．県民生活や産業社会への波及効果 成果の情報発信により環境負荷の大きい物質について事業者の代替を促進し、環境濃度の低減化を図ることによって、県民の安全・安心につながる。												
期待される成果 外部(県民等)への効果的な 発信への考え (予定)	２．業務遂行のレベルアップへの寄与等 高精度な分析法を共有することができる。また、相互に情報を交換することによって研究員のレベルアップを図る。 学会発表、所報等への掲載を予定												
本年度の 所要経費 (概算)	<table><tr><td>１．報償費</td><td>千円</td><td>４．使用料および賃借料</td><td>千円</td></tr><tr><td>２．旅 費</td><td>千円</td><td>５．備品購入費</td><td>千円</td></tr><tr><td>３．需用費</td><td>500 千円</td><td>６．その他</td><td>千円</td></tr></table>	１．報償費	千円	４．使用料および賃借料	千円	２．旅 費	千円	５．備品購入費	千円	３．需用費	500 千円	６．その他	千円
１．報償費	千円	４．使用料および賃借料	千円										
２．旅 費	千円	５．備品購入費	千円										
３．需用費	500 千円	６．その他	千円										
備 考													