

ネオニコチノイド系農薬の海水汚染に関する
アクト・ビヨンド・トラスト独自調査プロジェクト
結果報告書

2021 年 11 月

千葉工業大学 亀田研究室

1.使用試薬等

ネオニコチノイド系農薬が佐鳴湖の生態系に与える影響調査におけるネオニコチノイド系農薬およびフィプロニルとその代謝物分析業務には以下の機器・試薬等を使用した。

<試薬>

- ① 和光純薬 ネオニコチノイド系農薬混合標準物質(7種類混合)
- ② 林純薬 PL 農薬サロゲート混合標準物質Ⅶ(7種類混合)
- ③ 和光純薬 フィプロニル標準物質
- ④ 和光純薬 フィプロニル スルホン標準物質
- ⑤ Sigma Aldrich 社 フィプロニル デスルフィニル標準物質
- ⑥ 和光純薬 メタノール LC/MS 用
- ⑦ 和光純薬 ギ酸 試薬特級 液体高速クロマトグラム用
- ⑧ 和光純薬 酢酸アンモニウム 液体高速クロマトグラム用

<その他>

- ① GL Sciences 社 InertSep Farma FF 充填剤
- ② Sigma Aldrich 社 Agarose
- ③ Omnipre 社 0.2 μ m PTFE Membrane
- ④ アドバンテック東洋社 ガラスろ紙 GC-50
- ⑤ ザルトリウス社 ミニザルト RC0.45 μ m
- ⑥ GL Sciences 社 InertSep Farma 固相 60mg/3ml

1. サンプルと測定物質

一般法人 アクト・ビヨンド・トラスト からの依頼をうけ、次の 12 物質を測定した。

- ① ジノテフラン
- ② ニテンピラム
- ③ チアメトキサム
- ④ イミダクロプリド
- ⑤ クロチアニジン
- ⑥ アセタミプリド
- ⑦ チアクロプリド
- ⑧ フィプロニル
- ⑨ デスニトロイミダクロプリド
- ⑩ フィプロニルスルフィド
- ⑪ フィプロニルデスルフィニル
- ⑫ フィプロニルスルホン

2. パッシブサンプラー作成方法

- (1) アガロース 75mg を遠沈管に入れる。
- (2) アガロースを入れた遠沈管(半数本)に、純水と PharamaFF メタノール溶液をそれぞれ 2.5ml 加え加熱しながらよく溶かす。
- (3) アガロースを入れた遠沈管(残り半数本)に純水 5ml を加え加熱しながらよく溶かす。
- (4) ②、③をそれぞれガラスプレートに流し込み、ジェル上の薄い板になるように冷やし固める。
- (5) ②、③、メンブレンの順に DGT ケースではさみこむ。
- (6) 純水の中で保管する。

こちらを 1 地点 4 個ずつ測定者に送付した。なお、ボタン型 温度データロガー サーモクロンG(サンプラテック社製)を同時に設置してもらい設置期間の温度についても調査した。

3. 抽出方法

【パッシブサンプラー抽出方法】

- (1) パッシブサンプラーを解体し、PharamaFF 入りのゲルのみ遠沈管に入れる。サロゲート混合液 10 μ l をゲルに添加し 15 分間待つ。
- (2) (1)に 3mlのメタノールを添加し超音波抽出 10 分行い、液体のみ回収する。これを 3 回行う。
- (3) 回収された約 9mlの抽出液を窒素パーズでほぼ乾固させる。
- (4) メタノールを 400 μ l添加し、ガラスシリンジとミニザルトを用いてろ過する。

4. 測定条件

測定はネオノチノイド系農薬と、フィプロニルおよびその代謝物で LC 条件をかえて二回測定した。
測定条件については次に示す。

【LC/MS/MS 分析条件】

MS : Waters 社 (Micromass) Quattro Ultima

LC カラム : Shiseido 製 Capcell Pak Phenyl 5 μ m 150mm \times 4.6mm

MS部:

MRM Positive モード

Source Temperature 130°C

Desolvation Temperature 450°C

Cone gas flow 160L/hr

Desolvation gas flow 750L/hr

表1. 測定イオン設定

	M R M	プリカーサーイオン (m/z)	ドーターイオン (m/z)	Cone Voltage (v)	Collision Energy (v)
アセタミプリド	+	223	125.5	35	12
イミダクロプリド	+	255.9	208.7	35	18
クロチアニジン	+	250	168.6	35	15
ジノテフラン	+	203	128.5	35	16
チアクロプリド	+	252.9	126	35	37
チアトキサム	+	292.1	210.8	35	10
ニテンピラム	+	271.2	224.8	35	13
デスニトロイミダクロプリド	+	210.8	126	35	22
フィプロニル	-	434.9	329.9	35	15
フィプロニル デスルフィニル	-	418.9	382.9	35	11
フィプロニル スルフィド	-	420.7	385	35	20
フィプロニル スルホン	-	450.9	414.9	35	17
アセタミプリド-d3	+	226	125.3	35	22
イミダクロプリド-d4	+	260	212.3	35	25
クロチアニジン-d3	+	253	171.6	35	15
ジノテフラン-d3	+	206	131.5	35	9
チアクロプリド-d4	+	257	126	35	20
チアトキサム-d3	+	295	214	35	16
ニテンピラム-d3	+	274.2	227.6	35	10
フィプロニル ¹³ C ₂ ¹⁵ N ₂	-	438.7	334	35	18

・ネオニコチノイド系農薬測定条件

LC 部: agilnet 製 LC-1100

カラム温度: 33°C

流速: 0.4mL/min

グラジエント条件

移動相A 0.1%ギ酸水溶液

移動相B 0.1%ギ酸メタノール溶液

A:B= 94:6(初期) → 50:50(3分) → 20:80(4分) → 16:84(3分) →
15:85(2.5分) → 1:99(0.5分) → 5分ホールド → 94:6(0.2分)

サンプル量 : 5 μ l

・フィプロニル系農薬測定条件

LC 部: agilnet 製 LC-1100

カラム温度: 33°C

流速: 0.4mL/min

グラジエント条件

移動相A 0.04%酢酸アンモニウム水溶液

移動相B 0.04%酢酸アンモニウムメタノール溶液

A:B= 90:10(初期) → 70:30(2分) → 1:99(5分) → 14.5分ホールド
→ 90:10(0.2分)

サンプル量 : 5 μ l

5. 海水中農薬濃度算出方法

海水中ネオニコチノイド系農薬およびフィプロニル系農薬の算出方法は次のようになる。

$$CW=Cd/R/T \quad (\text{式1})$$

CW: 農薬濃度 (ppt)

Cd : パッシブサンプラー4枚の農薬吸着量 (ng/サンプラー)

R : サンプリングレート (mL/Day)

T : 設置を行った日数 (Day)

なお、サンプリングレートは Challs ら (2016, Analytical Chemistry) の報告値を参考とした。

6. 調査地点

今回、パッシブサンプラーを設置・回収できた地点は次の7地点となった。

表2. 調査地点位置

	パッシブサンプラー設置地点	周辺環境
1	北海道	自然林、流入河川周辺に牧場・牧草地
2	東京都江戸川区	住宅地、流入河川周辺に水田
3	東京都三宅島	自然林
4	静岡県浜松市	調査地点および流入河川周辺に果樹園
5	静岡県静岡市	調査地点および流入河川周辺に果樹園
6	静岡県静岡市	住宅地、工業用地
7	長崎県	調査地および流入河川周辺に畑地

5.結果

調査地点 7 箇所のうち 5 地点でパッシブサンプラーに吸着したネオニコチノイド系農薬またはフィプロニル系農薬が検出された。

2 地点の N.D.の箇所から、一番濃度の高い地点 71.7pptまでの幅があった。

図1. 地点別海水ネオニコチノイド・フィプロニル濃度結果

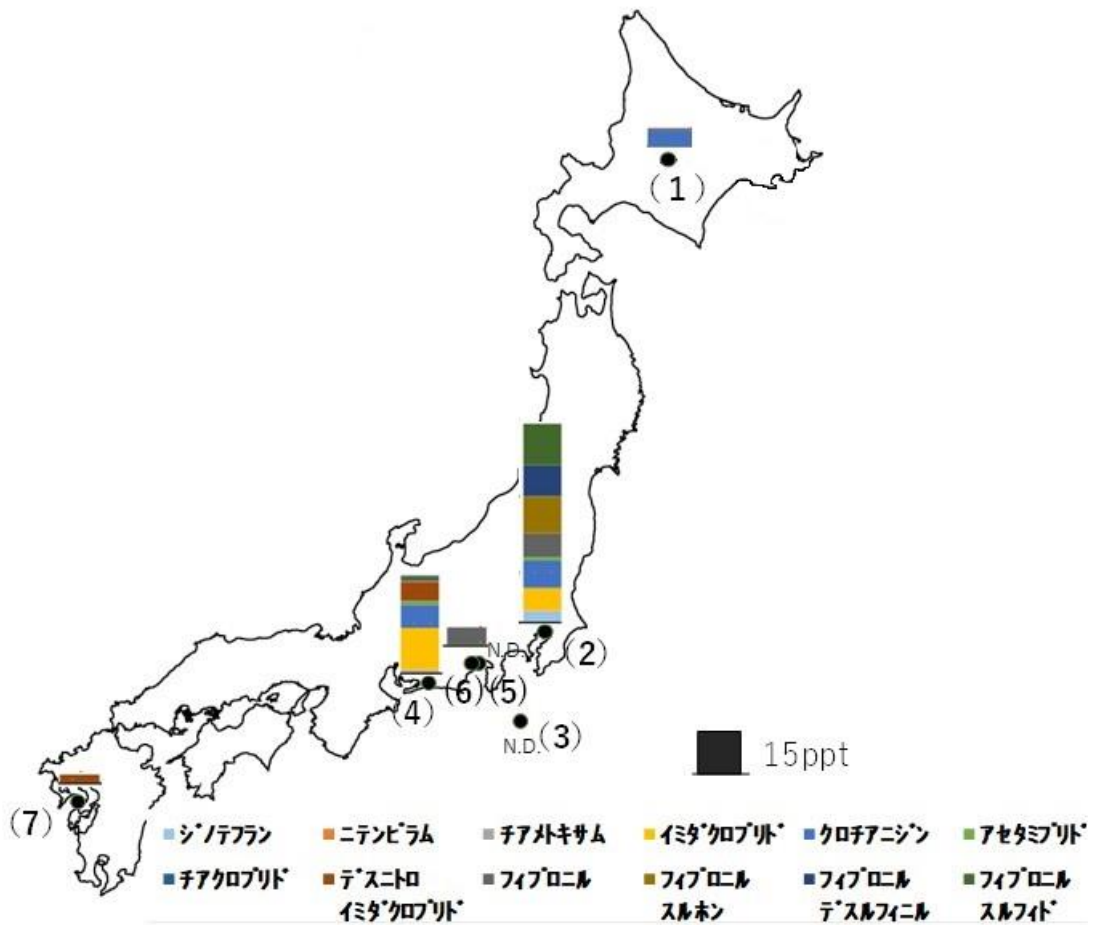


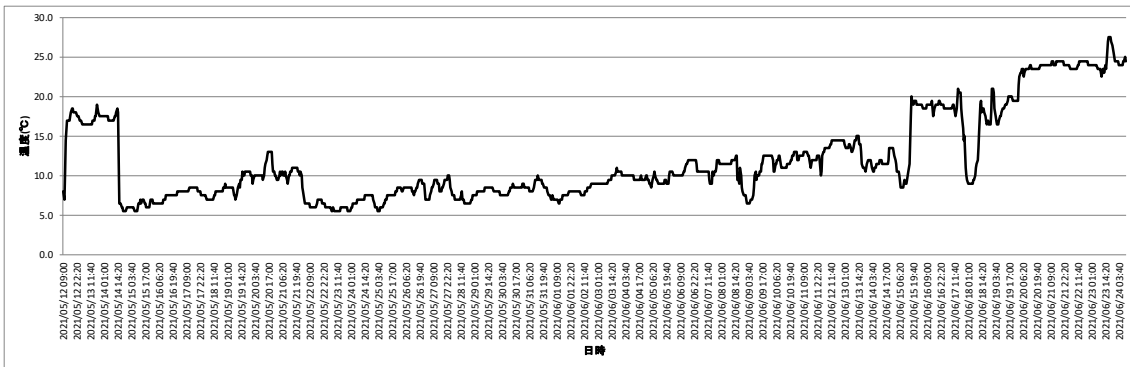
表3. ネオニコチノイド系農薬およびフィプロニル系濃度結果

	濃度 (ppt)											
	ジノテフラン	ニテンピラム	チアトキサム	イミダクロプリド	クロチアジン	アセタミプリド	チアクロプリド	デスニロイミダクロプリド	フィプロニル	フィプロニルスルホン	フィプロニルデスルフィニル	フィプロニルスルフィド
(1)	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0
(2)	4.3	0.0	0.0	8.2	9.6	1.6	0.0	0.0	8.4	13.5	11.2	15.0
(3)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(4)	0.0	0.0	1.3	14.8	8.3	1.4	0.0	6.9	0.0	0.5	0.9	0.9
(5)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(6)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	5.9	0.0	0.0	0.0
(7)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0
検出下限値	0.9	1.0	0.8	0.6	0.7	0.4	0.6	0.5	0.1	0.1	0.1	0.2

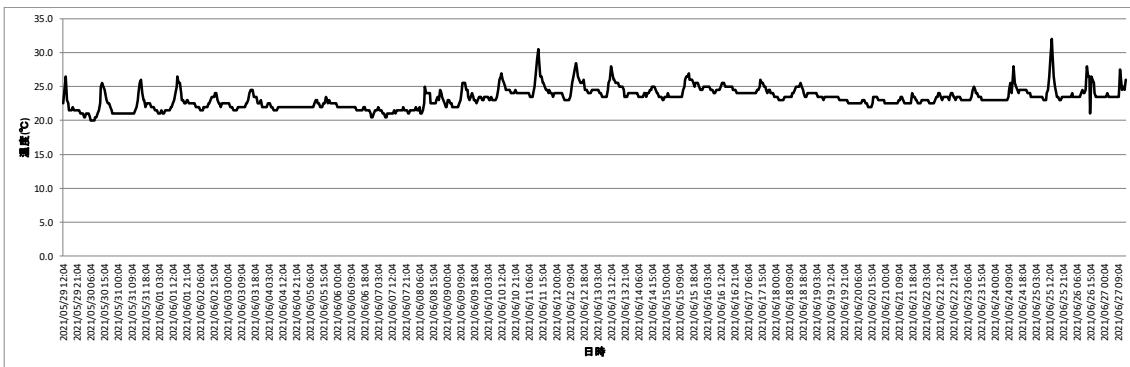
6.地点別水温データ

調査地点(1)から(7)の水温データは次のとおりである。

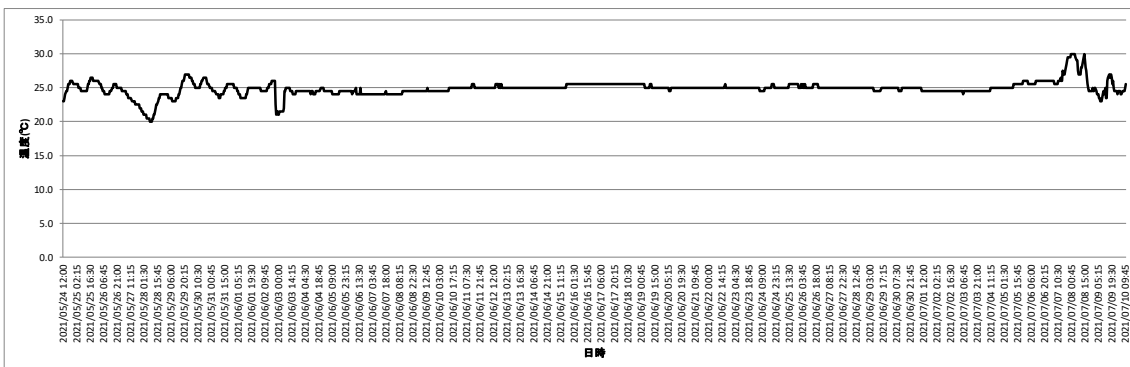
(1)北海道



(2)東京都江戸川区



(3)東京都三宅島



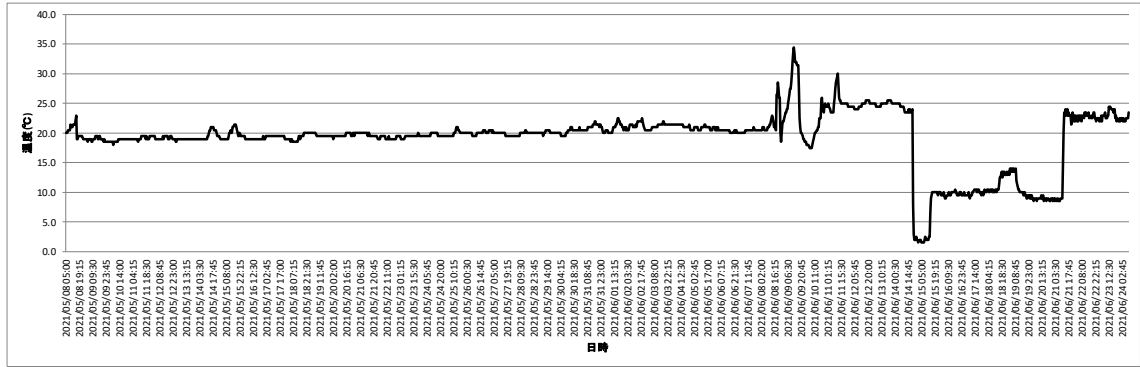
(4)静岡県浜松市

5/25 24.3°C

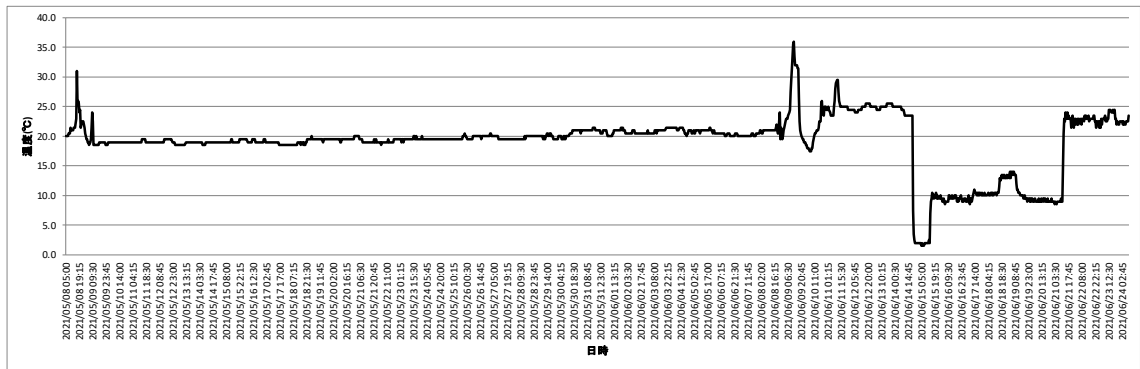
6/12 27.2°C

水温計ロガーの設置忘れ

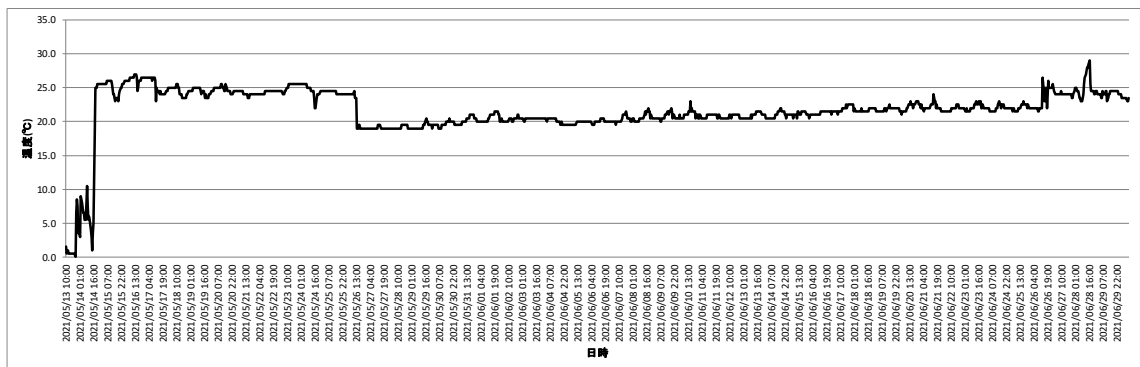
(5) 静岡県静岡市1



(6) 静岡県静岡市2



(7) 長崎県



7. 考察

今回の調査 7 地点では、代謝物を含むネオニコチノイド系農薬とフィプロニル系農薬 N.D. から 71.7ppt の海水濃度であった。特に濃度の高かった 2 地点は海といっても川の河口近くであり、また、その川沿い付近では果樹畑や畑地があり、農薬の影響が高かったことが想定される。それ以外の地点では一桁 ppt の濃度であった。

この結果は Hano ら (2019, Environmental Pollution) の瀬戸内海調査の 5 月の結果と似ている結果となった。

パッシブサンプラーを設置しての海水調査は有効である。また、農薬の使用時期春から秋までと長期間使用されることを鑑み、継続して調査する必要性も感じられる。

また、パッシブサンプラーの設置にあたっては、外洋に面している地点では流出 (一部は人の手による撤去も含まれるが) が多かった。一方で、港の船舶がある地点においては現在の設置方法で十分、回収が可能であることが判明した。外洋に面している地点では長崎県で設置した方法や丈夫な鎖などを用いることが肝要である。

8. 参考

パッシブサンプラー4個分の農薬吸着量は次のとおりである。

なお、本調査は濃度が低いことが予想されたため4個をまとめて溶出し、測定した。

表 4. パッシブサンプラーへの農薬吸着量(各地点4個分合計)

	設置期間		日数	Dinotefran	Nitensipirum	Thiametoxam	imidacloprid	Clothianidin	Acetamiprid	Thiacloprid	テスニロイミダ	フィプロニル	スルホニル	テスルフィニル	スルフト
	設置期間 (from to)			ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial	ng/bial
(1)	5月14日	6月15日	33					8.20				1.90			
(2)	6月4日	6月8日	5	1.12			2.65	2.45	0.41			2.19	3.50	2.90	3.89
(3)	6月8日	7月7日	30												
(4)	5月15日	6月12日	29			1.55	27.70	12.23	2.16		10.48		0.70	1.43	1.29
(5)	5月8日	6月8日	32												
(6)	5月9日	6月9日	32						0.75			9.88			
(7)	5月26日	6月26日	32								5.17				
	検出下限値		31	1.4	1.6	1	1.2	1.16	0.72	1	0.8	0.24	0.24	0.16	0.32
	Sampling rate(ml/day)			13	13	10.2	16.1	12.7	13	13	13	13	13	13	13