

(報告書別紙)

## 1. はじめに

オニコチノイド系農薬は、昆虫に対する選択毒性が高いことから、1990年代以降に世界中で使用が拡大してきた。しかしながら、人の曝露と影響に関する情報は依然として限定的であり、バイオモニタリングの実施が求められる。大規模なバイオモニタリングの実施には、高感度かつ簡便、ハイスループットな生体試料分析法の確立と、広範囲で代表性の高い生体試料採取が重要である。本研究課題では、ネオニコチノイド系農薬の迅速分析法を開発し、アジア地域で採取され es-BANK に保存されている尿試料に適用することにより、アジア-太平洋地域の新興国における曝露実態の解明を目的としている。これまでの共同研究では、尿試料中のネオニコチノイド系農薬を簡便な前処理で迅速に分析する手法を確立して実試料への適用を進めてきた。今年度は、近年の人口急増とそれに伴う環境汚染が深刻化しているインドに着目し、尿試料を測定して曝露実態の解明を試みた。

## 2. 試料と方法

### 2-1. 試料

今年度は、2013年から2015年にインドバンガロールで採取され、es-BANK に保存されていた尿試料を用いた。es-BANK 登録情報に基づいて、保存されていた全ての尿試料 101 検体について 1 ml ずつ分注し、国立環境研究所に持ち帰って化学分析に供した。

### 2-2. 化学分析

分析対象物質は、アセタミプリド、チアクロプリド、チアメソキサム、ジノテフラン、クロチアニジン、イミダクロプリド、ニテンピラムの7種のネオニコチノイド系農薬親化合物とし、それぞれ重水素ラベルされた内部標準を用いて補正した。尿試料は分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結保存し、測定前日に $4^{\circ}\text{C}$ 設定の冷蔵庫に移して溶解させた。室温に戻した尿を遠心分離 ( $1500\times\text{g}$ , 2 min) し、上澄み 100  $\mu\text{l}$  をマイクロピペットで分取して内部標準溶液 10  $\mu\text{l}$  および 10 mM 酢酸アンモニウム溶液 0.4 mL を添加して軽く混合したものを試料溶液とした。操作ブランク試料については、尿試料の代わりにミリ Q 水を用いて同様の操作を行った。全自動固相抽出装置 Extrahera (バイオタージ) を使用して、Oasis HLB PRiME で固相抽出し

た。固相カートリッジから溶出したネオニコチノイド系農薬は、蒸発乾固し、0.1%ギ酸含有 10mM 酢酸アンモニウム水溶液/メタノール (95:5, v/v) 0.2ml で再溶解して、そのうち 10 µl を高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置 (LC-MS/MS) に導入して分析した。LC-MS/MS は LCMS-8060 (島津製作所)、分析カラムには ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1 mm I.D.×100 mm, 1.8 µm, ウォーターズ) を用いた。

### 3. 結果と考察

インドバンガロールで採取された一般人の尿試料 101 検体を分析した結果、大半の検体からいずれかのネオニコチノイド系農薬が検出された。結果概要を表 1 に示す。検出率は、チアメトキサムが最も高く (101 検体中 88 検体から検出)、次いでイミダクロプリド (84 検体)、クロチアニジン (56 検体) の順であった。一方で、他の 4 種 (アセタミプリド、チアクロプリド、ジノテフラン、ニテンピラム) はほとんど検出されなかった。なお、測定を実施した期間を通じて、内部標準の回収率 (50-150%)、二重測定 (±30%以内)、定量イオン/確認イオン比 (±30%以内) などの精度管理パラメータは安定しており、本分析法が実試料測定に適用可能であることを確認した。今後、前処理の自動化や検体トレーサビリティの向上により、大規模バイオモニタリングへの適用を目指す。

表 1. インドの尿試料から検出されたネオニコチノイド系農薬 (ng/mL)

n = 101	MDL	MQL	検出数	検出率 (%)	Median	P95	Max
Acetamiprid	0.016	0.048	3	3.0	0.30	0.31	0.31
Thiacloprid	0.010	0.031	1	1.0	0.042	0.042	0.042
Thiamethoxam	0.008	0.026	88	87.1	0.099	0.39	1.2
Dinotefuran	0.022	0.067	5	5.0	0.13	0.34	0.38
Clothianidin	0.052	0.156	56	55.4	0.29	0.80	1.6
Imidacloprid	0.030	0.089	84	83.2	0.29	2.0	8.2
Nitenpyram	0.035	0.106	0	0.0	-	-	-

インドの尿試料におけるネオニコチノイド系農薬の検出状況は、先行研究(1,2)で報告されている日本人の尿における検出状況とは異なっていた(表2)。先行研究では、今回ほとんど検出されなかったアセタミプリド、チアクロプリド、ジノテフラン、ニテンピラムについても一定の割合の検体から検出されることが報告されている。この原因として、国や地域によるネオニコチノイド系農薬の使用状況の違いが曝露実態に反映されたものと推察された。今後、試料採取年や性別等による影響や曝露の地理的分布等について解析が必要と考えられるため、次年度以降は他の国で採取された尿試料を分析し、アジア-太平洋地域の曝露実態の地理的分布を明らかにする予定である。

表2. 日本人を対象とした先行研究との検出率の比較

検出率 (%)	本研究 n=101	Ueyama et al. (1) n=52	Marfo et al. (2) n=85
Acetamiprid	3.0	56	0.0
Thiacloprid	1.0	67	1.2
Thiamethoxam	87.1	100	8.2
Dinotefuran	5.0	100	-
Clothianidin	55.4	96	1.2
Imidacloprid	83.2	96	0.0
Nitenpyram	0.0	29	4.7

【引用文献】

- (1) Ueyama, J et al., (2014) J Occup Health 56 461–468.  
(2) Marfo, JT et al., (2015) PLoS One 10(11) e0142172.

## 愛媛大学化学汚染・沿岸環境研究拠点 共同研究報告書作成要領

1 報告書の 3 研究内容（別紙）は、「共同研究報告書」として印刷する予定ですので、作成にあたっては次の事項に留意してください。

- (1) 用紙サイズは A4 判として、37 字×30 行（12 ポイント）。
- (2) 提出枚数は、図、表等を含めて 5 枚以内にしてください。
- (3) 研究課題名、共同研究者名（所属を含む）、研究目的、研究内容、研究成果、成果発表、今後の問題点の順で簡潔かつ具体的に書いてください。  
共同研究に関する資料（プログラム、要旨集など）がありましたら添付してください。

2 報告書提出先および連絡先

報告書提出先: [lamer@stu.ehime-u.ac.jp](mailto:lamer@stu.ehime-u.ac.jp)

連絡先: 〒790-8577 愛媛県松山市文京町 2-5

化学汚染・沿岸環境研究拠点事務室

Tel: 089-927-8187