

学位論文の要旨

氏名

橋本 扶美

学位論文題目

殺虫剤イミダクロプリドの環境変化体の生態リスク評価

本論文は、親農薬に加え、環境変化体の環境モニタリングを実施する必要性についてまとめた論文である。一般的な化学物質は、廃水処理や廃ガス処理などにより環境中への排出が抑制される。対照的に、農薬は、環境中に積極的に施用される化学物質であり、その環境安全性については厳重に管理されなければならない。また、近年開発された農薬は、水環境中での分解性が速く、多数の変化体を生成することが予想される。本論文では、ネオニコチノイド系殺虫剤イミダクロプリドを対象に、その環境変化体の流出特性および環境中濃度および毒性を調査して生態リスクを評価し、親農薬に加えて環境変化体も環境モニタリングすることの必要性を述べた。また、環境変化体の標準物質は、親農薬に比べて入手困難なことを考慮し、標準物質を用いない高感度分析方法を開発し、河川水中の濃度測定に適用した。

第1章では、農薬に関する法律を整理し、日本において農薬の登録を規制している農薬取締法の問題点について述べた。また、環境変化体の調査研究について整理し、環境変化体の生態リスク評価の必要性について述べ、リスク評価を行う際の問題点を明確にした。日本では、農薬取締法によって農薬の製造、輸入から販売、使用に至るすべての過程を規制し、安全性を確保しており、農薬の製造者、または輸入者は、農薬について農林水産省大臣の登録を受けなければ、製造もしくは加工、または輸入してはならないことが定められている。登録申請者は、農薬の薬効、薬害、安全性に関するさまざまな試験成績を提出しなければならず、農薬の安全性については、高い信頼性で保障されている。しかし、これらの試験では、農薬が環境中に放出された場合のことを十分に考慮しているとは言い難く、低い残留性のために環境中に多数に生成すると予想される変化体について、安全性評価は不十分な可能性が示唆された。また、水稻農薬の環境変化体の文献研究を通して、環境変化体の多くは、標準物質が入手困難である場合が多く、高感度分析機器による環境モニタリングや、生態毒性試を行うことが困難であることが明らかとなった。

第2章では、標準物質を入手できない環境変化体を高感度分析する技術を開発した。第1章でも述べたように、環境変化体の標準物質の多くが市販されていないことが、環境変化

体の環境モニタリングの大きな妨げになっている。そこで、高分解能LC/MSと高感度LC/MS/MSとを組み合わせることにより、高感度LC/MS/MSの測定条件を定める際に必要な試薬の代わりに、環境サンプルを利用する技術を開発した。開発した方法は、イミダクロプリドと同じ毒性を惹起する部分構造を保有する、イミダクロプリド-ニトログアニジン体に適用した。イミダクロプリド-ニトログアニジン体は土壌分解生成物であり、河川からの検出例は未だ発見することができない。親農薬であるイミダクロプリドは、田植えに伴ってほ場や隣接する河川に流出する物質であるが、イミダクロプリド-ニトログアニジン体は、田植え前から河川水などで定常的に検出された。また、検出された時期から、土壌分解により生成する環境変化体は、田植え前から環境モニタリングすべきであることを提案した。

第3章では、イミダクロプリドおよびその環境変化体のオオミジンコおよび水生昆虫に対する急性毒性試験を行った。種差によりイミダクロプリドの毒性強度に大きな差が生じることが明らかとなった。また、試験した7物質の環境変化体のうち、1物質が、水生昆虫に対して、親農薬と同程度の毒性を示すことが明らかとなった。他にも、ある環境変化体がオオミジンコに対して、親農薬とは異なるエンドポイントの毒性を発現することを示した。その他の5物質の環境変化体については、親農薬に比べて毒性が無い、または、同程度の低い毒性を示すことが明らかとなった。農薬の環境変化体を対象として水生昆虫に対する毒性を評価している研究例は少なく、本成果と同様の研究例は発見できなかった。以上のように、親農薬に加えて環境変化体も毒性評価する必要があることを述べた。

第4章では、親農薬と同程度の毒性を示した環境変化体を対象に、第2章で開発した分析方法を用いて河川水中濃度を測定し、生態リスクを評価した。その結果、河川水中の環境変化体の最大濃度は、欧州食品安全機関における管理目標濃度の6分の1程度でありリスクは認められなかったが、管理目標濃度の10%を超えたため、継続的な監視が必要であった。さらに、第2章で検討したイミダクロプリド-ニトログアニジン体と同様に、田植え前から河川水中で検出されることを明らかにした。以上のように、環境変化体のリスク評価の必要性を述べた。

第5章では、イミダクロプリドのニトログアニジン体および第4章で研究対象とした環境変化体を含めた10物質の環境変化体について、河川水中濃度を測定し、まとめた。その結果、上記で研究対象とした環境変化体のほかに、6物質の環境変化体が河川水中から検出された。また、検出された6物質の環境変化体の水生昆虫に対する生態リスクを評価した結果、これらの環境変化体の生態リスクは認められなかった。以上の結果から、1物質の親農薬から生成する多数の環境変化体を実環境中に存在することを明らかにし、親農薬のみならず、多数の環境変化体の環境モニタリングが必要であることを示した。

第6章では、本研究で得られた結果を総括した。

Summary of Doctoral Dissertation

Title of Doctoral Dissertation:

Ecological Risk Assessment of Transformation Products of Imidacloprid

Name: Fumi Hashimoto

Pesticides may undergo various reactions such as hydrolysis, photolysis and biodegradation in water environments after being used, resulting in the production of various kinds of transformation products (TPs). There are some reports that pharmacological activities of TPs are comparable to those of intact pesticides. Thus, the objective of this study was to discuss the need of ecological risk assessments of TPs as well as their intact pesticides considering their possible ecological risks.

Chapter 1 marshaled previous studies on TPs. Several studies using ^{14}C -labeled pesticides implied that a number of unknown TPs were produced from a pesticide. Environmental monitoring studies and ecotoxicological studies on TPs have been also published but with limited results, which may be attributed to the scarce availability of TPs in the market. Thus, the objective of this study was to assess the ecological risks of TPs produced from imidacloprid, a neonicotinoid pesticide. Inspection into the following four subjects were performed to achieve this: 1) to develop a LC/MS/MS technique to detect trace TPs in water samples without their chemical reagents, 2) to evaluate the ecotoxicity of imidacloprid's TPs, 3) to assess the ecological risk of TP-O, and 4) to investigate the occurrence of eight TPs produced from imidacloprid.

Chapter 2 discussed the development of a LC/MS/MS technique to detect trace TPs. LC/MS/MS requires reference standard reagents to develop selected reaction monitoring (SRM) conditions, but emerging contaminants like TPs are often commercially unavailable in the market. Thus, high resolution mass spectrometry was coupled with sensitive MS/MS to develop SRM conditions by using environmental samples instead of reference standard reagents. The SRM conditions for imidacloprid-nitroguanidine, a TP of imidacloprid, were successfully developed by using a concentrated paddy water sample. Prior to its synthesis, imidacloprid-nitroguanidine was verified to be present in actual river water samples. Without such verification, the synthesis of imidacloprid-nitroguanidine could be meaningless if its concentrations in samples were below detection limit. After that, it was eventually synthesized to acquire its calibration curve. At the sampling site shown above, imidacloprid was applied to the nursery boxes of rice seedling. Rice seedlings raised in the nursery boxes were transplanted to paddy fields along with the soil in the boxes. Imidacloprid-nitroguanidine was detected in the soil and its penetration into river water may cause water pollution. Because of irrigating and soil puddling in paddy fields, obvious pollution was observed before the rice plantation began, which indicates that monitoring of TPs in soil must be started before rice plantation begins.

Chapter 3 evaluated the ecotoxicity of imidacloprid and its TPs. The acute immobilization tests of TPs were carried out with *Daphnia magna* and *Chironomus yoshimatsui* following the OECD test guidelines 202 and 235, respectively. All TPs except for TP-O were almost non-toxic. The median effect concentration (48 hr-EC₅₀) of TP-O for *Chironomus yoshimatsui* larva was determined to be 18 $\mu\text{g/L}$, which was comparable to that of intact imidacloprid (21 $\mu\text{g/L}$). To the best of our knowledge, the ecotoxicity of TP-O has not yet been reported. The lethal toxicity of TP-al against *Daphnia magna* was observed and 48-hr LC₅₀ was determined to be 38 mg/L. This endpoint was not observed in intact imidacloprid. These findings pointed out that ecotoxicity evaluation of TPs is needed as well as intact pesticides.

Chapter 4 assessed the ecological risk of TP-O that had been evaluated as toxic as intact imidacloprid against *Chironomus yoshimatsui*. The regulatory acceptable concentration (RAC) was calculated to be 0.18 ug/L on the basis of the 48 hr-EC₅₀ for *Chironomus yoshimatsui* larva obtained in Chapter 3. The obtained RAC value was compared with the maximum concentration of TP-O in river water samples determined by using the technique developed in Chapter 2. The maximum concentration was one-sixth of the RAC value, indicating that further investigations are needed. In Chapter 4, the occurrence of TP-O was investigated and a penetration behavior similar to imidacloprid-nitroguanidine was observed. This indicates that the monitoring of TP-O must be started before rice plantation begins.

Chapter 5 assessed the ecological risks of other eight TPs of imidacloprid. These TPs were detected in river water samples except for two TPs, and their detection frequency ranged from 5.5 to 93.9%. Their RAC values were calculated by using their ecotoxicity obtained in Chapter 3. The comparison between their maximum concentrations with their RAC values indicated that no ecological risks were observed.

Chapter 6 summarized the remarkable points in this study.