

日本農薬学会
農薬科学研究成果報告書
(令和 3 年度研究奨励金交付課題)

研究課題

結晶スポンジ法による農薬等分解代謝産物の迅速構造決定

筆頭研究者氏名 高木 和広

所属

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 農業環境研究部門
化学物質リスク研究領域

共同研究者名 (所属)

菊池貴 (株式会社リガク X線機器事業部 応用技術センター・単結晶解析グループ)

研究成果 (目的・方法・成果の順に概要を記載してください)

【目的】

イミダクロプリド (IMD) はネオニコチノイド系殺虫剤であり、その土壌中半減期 (好氣的) は土壌の種類により異なるが、163~213 日と比較的長い。我が国を含むアジアの水田では育苗箱処理剤として土壌処理されているが、水田土壌からの分解菌の報告例はない。本研究では、土壌・木炭還流法を用いて水田土壌中から集積・単離・同定した IMD 分解細菌による IMD 分解代謝物を、東大の藤田誠教授 (ノーベル化学賞候補) らが開発した単結晶 X 線構造解析法 (単結晶化しにくい有機化合物を細孔性の金属錯体 (結晶スポンジ) にソーキングし、次世代 X 線回折装置を用いて構造決定する手法、SCX) を応用して、迅速・安価に構造決定する手法を確立することを目的とする。

【方法】

- 1) IMD 分解試験培養液からの代謝物精製 (農環研担当) : 分解菌純化集積炭を用いた IMD (100mg/L) 分解試験終了後の培養液上清 20mL をコンビニ・エバポにて濃縮・乾固し、アセトニトリル (ACN) 2.5mL で溶解し、多孔質グラファイトカーボンカラム (Supel™ Carbon LC: 15cm x 2.1mm, 2.7µm) にて 1mL を分取・精製した (精製品純度: 95%、分取条件; 移動相溶媒: ACN100%, 流速: 0.3ml/分, カラムオープン: 40℃, 注入量: 30µL, 保持時間: 3.5 分)
- 2) 単結晶 X 線構造解析装置 (Synergy Custom) を用いた IMD 分解代謝物の化学構造決定 (リガク担当) : 分取・精製サンプル 0.3ml を 24 時間/4℃ で乾固し、数十~数百 µm の結晶塊を得た。結晶塊を分離し 32x64x10µm の結晶小片を用いて、SCX により測定・構造解析を行った。結晶は測定後、アセトニトリルに再溶解し HPLC (Discovery HS F5) による同一性試験を行い、ターゲットフラクションの主化合物ピークと一致する事を確認した。
- 3) LC-MS による分解代謝物のマススペクトルの取得 (農環研担当) : アセトニトリルに再溶解した結晶サンプルを UPLC-MS を用いて ESI (+) モードで測定し、分解代謝物のマススペクトルを取得した。

【結果および考察】

SCX より得られた化学構造は、イミダクロプリド (IMD) のクロロピコリン部が脱塩素分解され、イミダゾリジン環部が変化せず残った新規代謝物 *N*-(imidazolidin-2-ylidene) nitramide (C₃H₆N₄O₂, MW=130) を示した (図 1)。分解代謝物のマススペクトルには $m/z=131$ ([M+H]⁺) が最も強い強度で存在しており、SCX の結果と一致していた (図 2)。

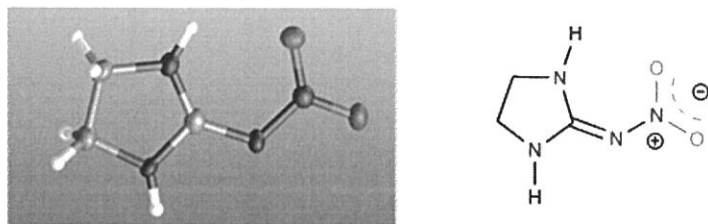


図1 単結晶 X 線構造解析による新規 IMD 代謝物の構造式

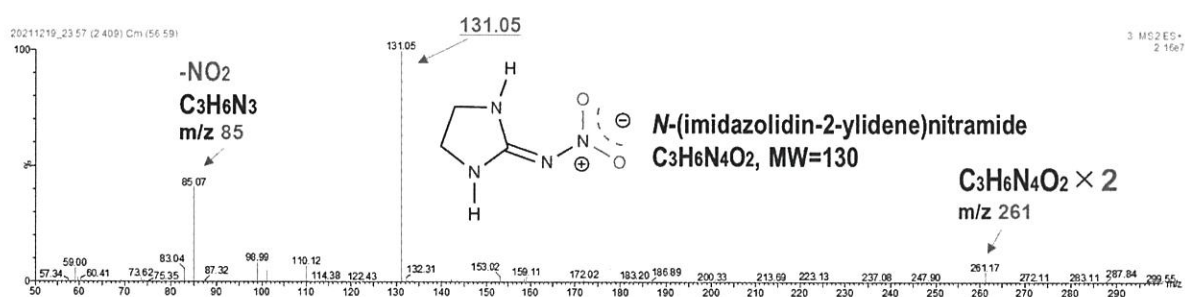


図2 LC-MSによる新規IMD分解代謝物のマススペクトル

以上の構造決定法を用いた植物内生菌によるペンタクロロフェノール (PCP) の新規分解代謝物 (PCP リン酸) に関する成果を国際誌 (*J. Agric. Food Chem.*, 70 (3), 770-776, 2022, IF=5. 279) に掲載した。今後、分解代謝物を含む農薬のリスク評価及び管理法の開発に寄与できる。