

報 文

カラムリーチング試験において農薬が浸透水中へ
溶出した場合の浸透距離の換算方法の検討

渡 辺 高 志*, 岩 船 敬**, 山 下 幸 夫***

独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部

(平成 21 年 3 月 26 日受付, 平成 21 年 11 月 6 日受理)

Estimation of leaching distance of pesticides in leachate on column leaching study

Takashi WATANABE*, Takashi IWAFUNE**, Yukio YAMASHITA***

*Food and Agricultural Materials Inspection Center, Agricultural Chemicals Inspection Station, 2-772, Suzuki, Kodaira, Tokyo 187-0011, Japan, * Present address: Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 1-2-1, Kasumigaseki, Chiyoda, Tokyo 100-8950, Japan**** National Institute for Agro-Environmental Sciences, 3-1-3, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan *** Cabinet Office, Food Safety Commission Secretariat, Akasaka Park Bld. 22F, 5-2-20, Akasaka, Minato, Tokyo 107-6122, Japan)*

The OECD test guideline 312 recommends to measure a leaching distance of a test substance in the column leaching experiment and to calculate the relative mobility factor (RMF) using a reference substance, in order to evaluate its potential for movement into groundwater. While the leaching distance is generally calculated based on the distribution of test substance in the segments in a soil column, the leaching distance cannot be measured when the substance is eluted in leachate. In this study, a method to estimate the leaching distance of the compounds that flow out of the soil column under the guideline-recommended conditions was proposed, in which the elution volume was converted into the distance, by assuming that a fraction of leachate water with a weight of the water content in the 5 cm soil layer in the column corresponds to the soil segment of the same length. © Pesticide Science Society of Japan

Keywords: column leaching, leaching distance, leachate, pesticide, water holding capacity, relative mobility factor.

緒 言

欧米では、地下水から農薬が検出されていること¹⁻³⁾、地下水を主な飲料水源としていることから、地下水の水質汚濁防止に係る規制が進んでいる^{4,5)}。日本の場合、火山灰土壌が多く、急峻な地形であること、降水量の多い気象条件であること、農業形態が欧米と違い灌漑水として主に河

川水を利用していること、環境省のサーベイランスで農薬は対象となっていないことから⁶⁾、表層水のみが水質汚濁に係る規制対象となっている。しかし、近年、井戸水からクロルピクリンが検出される事例もあり⁷⁾、農薬の評価に当たり地下浸透性についても考慮する必要があると考えられる。

経済協力開発機構 (OECD) は、化学物質の潜在的な地下浸透性を評価する試験方法として、カラムリーチング試験方法 (以下、「OECD 法」という。) を示した⁸⁾。この方法は、土壌を深さ 30 cm で充填したカラムに、被験物質を添加し、降水量 200 mm/2 日で塩化カルシウム水溶液を流した後の被験物質の土壌中と浸透水中の分布や浸透距離を求めるものである。OECD 法では、中央ヨーロッパでの年間降水量 800~1000 mm を基に、降水量相当で 200 mm の水を

* 現在の所属 農林水産省 〒100-8950 東京都千代田区霞が関 1-2-1

** 現在の所属 独立行政法人農業環境技術研究所 〒305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

*** 現在の所属 内閣府食品安全委員会事務局 〒107-6122 東京都港区赤坂 5-2-20 赤坂パークビル 22F

E-mail: takashi_watanabe@nm.maff.go.jp

© Pesticide Science Society of Japan

2日間でカラムに流すこととしている。しかし、日本の年間降水量の平均値は約2000mm⁹⁾であり、中央ヨーロッパの約2倍である。そこで、浸透水量の影響を検討するためOECD法の降水量相当200mmの2倍量および1/2量の試験を実施した。さらに、アトラジンまたはモニユロンを基準物質として用い、基準物質の浸透距離に対する被験物質の浸透距離の比、すなわち、相対的な移動性(Relative Mobility Factor: RMF)を求めることが推奨されている。OECD法では浸透距離は全体の0.5%以上が検出された最深の画分と定義されているが、例えば土壌の分画単位が5cmとすると、浸透距離も5cm単位でしか求められず、RMFを求めるに当たっても誤差を招くこととなる。そこで、本研究では土壌分画単位5cmの実験結果から、土壌及び浸透水中での被験物質等の分布を考慮して、補正した浸透距離を求める方法について検討し、土壌層の深さを変えた試験を実施して換算方法の妥当性を検証した。

さらに、土壌や被験物質の性質によっては、被験物質等が浸透水中に流出されることもあり、この場合、浸透距離を実測することはできず、RMFを求めることもできない。そのため、浸透水画分中での流出位置を浸透距離に推定する方法を検討し、土壌層の深さを変えた試験を実施して換算方法の妥当性を検証した。

実験方法

1. 農薬の標準品

カラムリーチング試験に供する農薬は、水溶解度およびRMF⁸⁾が異なるように、アトラジン(水溶解度=33mg/l, RMF⁸⁾=1.03)、シマジン(6.2mg/l, 1.04)、ジメトエート(23,300mg/l, -)、ダイアジノン(60mg/l, 0.28)、プロフェノホス(28mg/l, 0.18)、プロマシル(700mg/l, 1.91)、メトラキシル(8,400mg/l, -)、メトラクロール(488mg/l, 0.68)の8農薬を選定し、残留農薬分析用の標準品を使用した。水溶解度は20~25°Cでの測定値である¹⁰⁾。ここで、アトラジンはRMFを求めるための基準物質として用いた。

有機溶媒は残留農薬試験・PCB試験用、塩化カルシウム二水塩および塩化ナトリウムは試薬特級、海砂(石英砂, 425~850 μ m)は化学用、水は水道水をADVANTEC製PWE-500型純水製造装置で精製して用いた。

2. 供試土壌

カラムリーチング試験に使用する土壌は、有機炭素含量、粘土含量およびpHが異なるように、すなわちOECD法で分類された土壌タイプが異なるように、神栖土壌、栃木土壌、鶴ヶ島土壌、木更津土壌の4土壌を選定した。採取地は、神栖土壌が茨城県神栖市(畑地)、栃木土壌が栃木県栃木市(水田)、鶴ヶ島土壌が埼玉県鶴ヶ島市(畑地)、木更津土壌が千葉県木更津市(畑地)である。このうち、

鶴ヶ島土壌のみが火山灰由来の土壌である。土壌は風乾させ、2mmの篩を通して、室温で保管した。しかし、栃木土壌は2mmの篩を通してカラムに充填した場合、カラムから水が流れ出なくなるため、土壌に水を加えた後に乾燥させて大きな塊とし、粉碎して粒径を大きくした後に2mm以下の粒子および5mm以上の粒子を除いて粒径を整えたものを使用した。2mmあるいは2-5mmの篩を通した風乾土壌の性質(パリノサーヴェイ株式会社による測定値)をTable 1に示した。

3. 分析

3.1. 水

水試料20mlに塩化ナトリウム2gを加え、溶解させた。これを、多孔性ケイソウ土カラム(Varian製ケムエルトCE1020)に移し、10分間放置した。酢酸エチル100mlを流し、浴温40°Cに設定したロータリーエバポレーターを用いて減圧下で濃縮し、残分は窒素ガスを吹き付けて乾固させた。アセトン2mlで定容し、NPD-GC(Agilent Technologies製6890N, GCケミステーション付属)で定量した。カラムはJ&W Scientific製DB-225ms GC Column(内径0.32mm×長さ30m, 膜厚0.25 μ m)を用い、注入口温度は240°C、検出器温度は240°Cとした。カラム恒温層温度は、初期温度が60°C、1.00分保持後20°C/分で昇温、200°Cに到達したら、3°C/分で昇温、240°Cで4.00分保持とした。パルス注入圧は150kPa、7683試料注入装置を用いてパルスドスプリットレス式で2 μ lを注入した。キャリアーガスはヘリウム、カラムヘッド圧は60.2kPa(初期)、流量は1.70ml/分(一定流量モード)に設定した。

3.2. 土壌

土壌試料20~25gに水10mlを加え(風乾土壌の場合のみ)、これにアセトン/酢酸エチル(1/1)50mlを加えて30分間激しく振とう抽出し、GFPろ紙(桐山ロート用, 60mm ϕ)を用いてろ過した。土壌残渣にアセトン/酢酸エチル(1/1)50ml, 水10mlを加え、再抽出を行った。ただし、木更津土壌と神栖土壌はアセトン50mlのみで抽出した。ろ液を減圧下で濃縮し、溶媒を留去させた。残存溶液に塩化ナトリウム2gを添加し、多孔性ケイソウ土カラムに保持させた後、10分間放置し、酢酸エチル100mlを流し、減圧下で濃縮し、残分は窒素ガスを吹き付けて乾固させ、アセトン5mlに溶かし、あらかじめアセトン5mlで洗浄したグラファイトカーボンミニカラム(SUPELCO製スペルクリンENVI-Carb, 250mg/3ml)に保持させた。アセトン20mlで溶出させ、濃縮し、残分は窒素ガスを吹き付けて乾固させた。アセトン2mlで定容し、NPD-GCで定量した。

Table 1 Properties of soils used^{a)}

	Kisarazu	Kamisu	Tochigi	Tsurugashima
Texture (FAO and USDA system)	loamy sand	sand	loam	loam
Water content (%)	1.4	0.5	6.2	9.9
pH (H ₂ O)	8.2	7.5	6.3	6.1
Organic carbon (%)	0.04	0.57	1.55	4.28
Cation exchange capacity (me/100 g)	1.06	4.0	14.9	22.3
Phosphate adsorption coefficient (mg/100 g)	620	210	890	2270
Water holding capacity (%)	37.2	23.7	57.2	108.9
Particle size distribution (%)				
Coarse sand (2.0–0.2 mm)	63.0	66.9	8.5	6.4
Fine sand (0.2–0.002 mm)	24.0	30.8	41.1	30.5
Silt (0.02–0.002 mm)	9.0	0.8	28.3	39.4
Clay (<0.002 mm)	4.0	1.5	22.1	23.7
Major clay minerals	halloysite, montmorillonite	chlomite, illite	halloysite, chlomite, illite	allophane
OECD Type	4	4	2	3

^{a)} The measured values are shown on an air-dried soils basis.

4. カラムリーチング試験

4.1. 試験方法

カラムリーチング用カラム（メテック製，アルミニウム製，内径 5 cm，全長 35 cm または 65 cm）に漏斗状に加工した底部（深さ 2 cm，出口にガラスウールを詰める）を取り付けて海砂を充填し，その上に，風乾した土壌を深さ 30 cm（神栖土壌，木更津土壌，鶴ヶ島土壌，栃木土壌）あるいは 60 cm（神栖土壌，鶴ヶ島土壌，栃木土壌）まで振動を加えながら充填した。土壌を充填した後，農薬をカラムに添加するための土壌 20 g を分取した。0.01 M 塩化カルシウム水溶液をカラム出口から吸わせ，水面が土壌表面よりも上になるようにして，1 日間以上浸けた。その後，カラムを水溶液から取り出し，その際，カラム内の水が排出しないようにカラム出口を一時的にふさぐ必要があるため，カラム出口にチューブを取り付けた。水深 0 cm を維持するようにチューブ出口の高さを調節しながら，HPLC 用ポンプ（島津製作所製 LC-10A）を用いて塩化カルシウム水溶液をカラム中央部に流速 0.136 ml/分（降水量 200 mm/2 日相当）で 1 日間流してカラム内を安定化させた。

8 種類の農薬を混合した濃度 500 mg/l のアセトン溶液 2 ml（農薬 1000 μg ずつを添加）を，前述の分取した土壌 20 g に添加し，減圧下でアセトンを除去した後，土壌をカラムに移して，水深を 0 cm の湛水条件とし，室温 20±2°C に設定した実験室内で塩化カルシウム水溶液を流速 0.136 ml/min で流してカラムリーチング試験を実施した。

浸透水は，必要に応じて 1 時間ごとにフラクションコレクタ（東京理化学機製 DC-40）で分取し，各フラクション

の水重量も測定した。試験期間は 2 日間とした。試験終了後にカラムを 5 cm ごとに分割し，土壌を採取し，各層ごとの土壌重量と水分を測定した。浸透水は，8 時間ごとにまとめ，20 ml を秤り取り，水中の農薬を分析した。土壌は 20–25 g（湿重）を秤り取り，土壌中の農薬を分析し，各層ごとの濃度を求めた。土壌および浸透水は分析に供するまでの間は 5°C で保存した。土壌水分は 105°C における乾燥減量から測定した。試験は，原則として，2 連で行った。なお，代謝物は分析しなかった。

カラムへの給水量は，OECD 法では 200 mm/2 日間となっているが，この試験条件を変えた場合の試験結果への影響を把握するため，木更津土壌，鶴ヶ島土壌および栃木土壌を用いて，降水量相当で 2 倍量である 400 mm/2 日および 400 mm/4 日，降水量相当で 1/2 量である 100 mm/1 日および 100 mm/2 日とした試験を行い，RMF を求めた。なお，木更津土壌については 100 mm/1 日および 100 mm/2 日とした試験は行わなかった。

4.2. 浸透距離

4.2.1. 補正浸透距離

OECD 法では，土壌カラム中での被験物質の浸透距離を，全体の 0.5% 以上が検出された最深の土壌画分と定義しており，画分については「適切に分割する」のみの記載である。本試験では 5 cm 層に分割したため，浸透距離は 5 cm 単位で求められることとなり，正確な浸透距離を求めることができない。最深画分の 1 つ上の層では，通常，被験物質は層全体に分布するが，最深画分では，画分の底面まで浸透

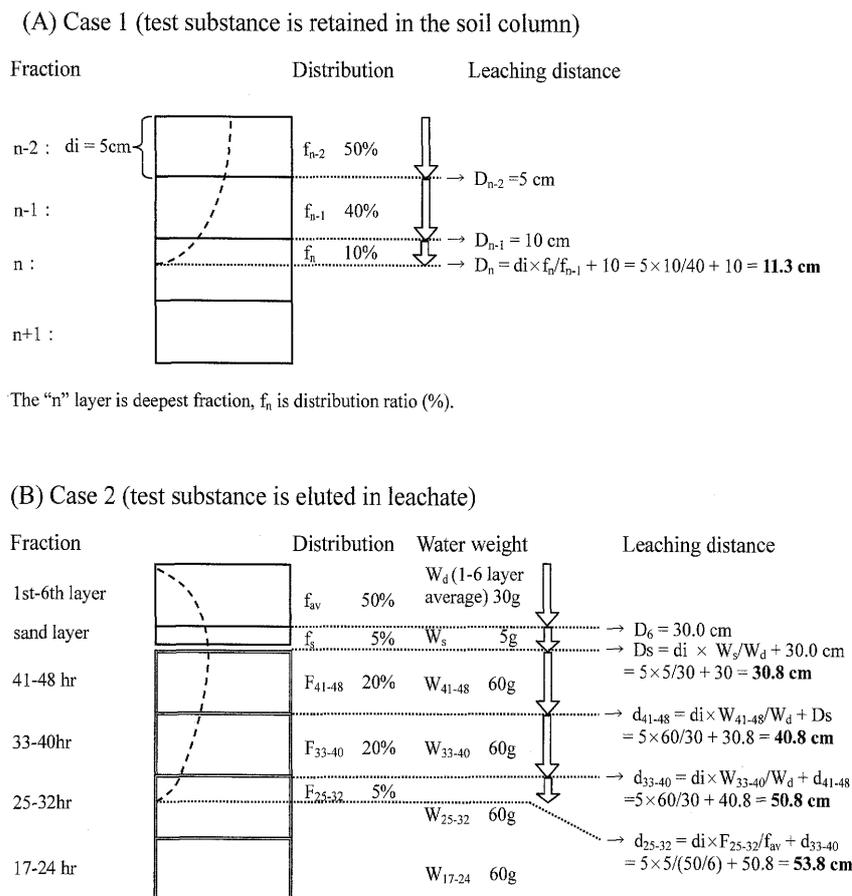


Fig. 1. Estimation of leaching distance of test substance in soil column or leachate.

していることはないを仮定し、土壌層内での分布を考慮して補正した浸透距離（補正浸透距離）を求める方法を検討した（Fig. 1）。被験物質が浸透した最深の土壌画分を n 層、その上の画分を $n-1$ 層、表層から各画分の底部までの距離を $n-1$ 層が d_{n-1} (cm), n 層が d_n (cm), 48 時間後における各画分中の分布率を $n-1$ 層が f_{n-1} (%), n 層が f_n (%), 土壌画分の深さを $d_i = 5\text{ cm}$ とする。土壌充填における不均一さや壁面効果などから土壌層内での被験物質の分布は均一ではないが、 $n-1$ 層では、層全体に分布しており、 n 層と $n-1$ 層内での分布率の比が n 層と $n-1$ 層内での浸透距離の比と同一であると簡便な解析のために仮定すると、 n 層内での補正浸透距離 D_n (cm) は次式で求められる ($f_{n-1} \geq f_n$ の場合のみ)。ただし、最深画分が第 1 層のとき ($n=1$) の浸透距離は 5.0 cm のままとした (Fig. 1)。

$$D_n = d_i f_n / f_{n-1} + d_{n-1} \quad (1)$$

4.2.2. 推定浸透距離

海砂は漏斗状に加工した底部に充填したので充填量がカラム画分とは異なること、また海砂には有機物を含まないため被験物質の吸着は無視できることから、土壌層 1 層（深さ 5 cm ）および海砂層中の水重量をそれぞれ W_d (g)

および W_s (g) とし、次式に基づいて海砂層の推定浸透距離 D_s (cm) を求めた ($W_d \geq W_s$ の場合のみ)。ここで、 30.0 cm は土壌層の深さ (Fig. 1)。

$$D_s = d_i W_s / W_d + 30.0 \quad (2)$$

被験物質が浸透水中に溶出した場合は、土壌カラム中での浸透距離として表せないで、浸透水画分における被験物質の存在比から浸透距離に換算する方法を検討した。降雨等により水が土壌に添加されていくと、飽和量を越えた水が土壌に供給されると下層への浸透が始まるので、簡便な解析のために土壌層 5 cm に含まれる水と同じ量の浸透水量が土壌層 5 cm に相当すると仮定した。

浸透水画分について、1-8 時間、9-16 時間、17-24 時間、25-32 時間、33-40 時間、41-48 時間の各画分における分布率 (%) と浸透水重量 (g) を、それぞれ、 F_{1-8} と W_{1-8} , F_{9-16} と W_{9-16} , F_{17-24} と W_{17-24} , F_{25-32} と W_{25-32} , F_{33-40} と W_{33-40} , F_{41-48} と W_{41-48} とすると、各フラクション末端の推定浸透距離 d_{1-8} (cm), d_{9-16} (cm), d_{17-24} (cm), d_{25-32} (cm), d_{33-40} (cm), d_{41-48} (cm) は次式から推定した (Fig. 1)。

$$d_{1-8}(\text{cm}) = d_i W_{1-8} / W_d + d_{9-16} \quad (3)$$

$$d_{9-16}(\text{cm}) = d_i W_{9-16} / W_d + d_{17-24} \quad (4)$$

$$d_{17-24}(\text{cm})=d_i W_{17-24}/Wd+d_{25-32} \quad (5)$$

$$d_{25-32}(\text{cm})=d_i W_{25-32}/Wd+d_{33-40} \quad (6)$$

$$d_{33-40}(\text{cm})=d_i W_{33-40}/Wd+d_{41-48} \quad (7)$$

$$d_{41-48}(\text{cm})=d_i W_{41-48}/Wd+D_s \quad (8)$$

さらに、浸透水画分での分布を考慮した補正浸透距離 D_{1-8} (cm), D_{9-16} (cm), D_{17-24} (cm), D_{25-32} (cm), D_{33-40} (cm), D_{41-48} (cm) は次式で求められる ($F_{1-8} \sim F_{41-48} \geq f_{av}$ の場合のみ)。ここで、 f_{av} (%) は、試験終了後の土壌各層中の分布率の平均である。

$$D_{1-8}=d_i F_{1-8}/f_{av}+d_{9-16} \quad (9)$$

$$D_{9-16}=d_i F_{9-16}/f_{av}+d_{17-24} \quad (10)$$

$$D_{17-24}=d_i F_{17-24}/f_{av}+d_{25-32} \quad (11)$$

$$D_{25-32}=d_i F_{25-32}/f_{av}+d_{33-40} \quad (12)$$

$$D_{33-40}=d_i F_{33-40}/f_{av}+d_{41-48} \quad (13)$$

$$D_{41-48}=d_i F_{41-48}/f_{av}+D_s \quad (14)$$

(2)-(8) 式中の土壌層 5 cm の土壌が最大に保持できる水重量 (Wd: g) は、土壌の最大容水量 (Water holding capacity) から計算した。

$$W_{\text{max}}=S_d/(1-W_{\text{DRY}}/100) \times (W_{\text{WHC}}/100) \quad (15)$$

ここで、 W_{WHC} は土壌の最大容水量 (%), W_{DRY} は風乾土での水分含有率 (%) である (Table 1)。なお、海砂の W_{WHC} と W_{DRY} は、砂土である神栖土壌の値を使用した。

30 cm あるいは 15 cm の長さのカラムを用いたときに浸透水中に溶出した成分について推定浸透距離を求め、60 cm あるいは 30 cm のカラムを用いて求めたときの補正浸透距離と比較した。

4.3. RMF

OECD 法では、RMF を求めるための基準物質としてモニュロンまたはアトラジンを使用することが推奨されている。今回は、ガスクロマトグラフで分析が可能なアトラジンを使用した。被験物質の浸透距離を d_1 、アトラジンの浸透距離を d_2 とすると、RMF は次式から求められる。なお、浸透距離は 4.2.1 に記載した補正浸透距離、4.2.2 に記載した推定浸透距離を用いた。

$$\text{RMF}=d_1/d_2 \quad (16)$$

5. 土壌および水中でのプロフェノホスの安定性

プロフェノホスを土壌 20 g に 1 mg/kg となるよう添加し、水深 5 mm となるまで水を加え、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ に設定した実験室内で 2 日間保存した後、土壌中のプロフェノホスを分析した。土壌には、木更津土壌、神栖土壌、鶴ヶ島土壌、栃木土壌を用いた。

水中のプロフェノホスは $10 \mu\text{g/L}$ の濃度で調製した水溶液を 5°C に設定した恒温槽内 (暗所) で 7 日間保存した後、残存量を分析した。

結果および考察

1. 添加回収率

1.1. 水

8 農薬を水に添加した場合の回収率を測定した。測定は 2 回繰り返して行った。0.05 mg/l 水溶液の場合、8 農薬の回収率は 98.1~109.1% の範囲にあり、平均が 105.1%、農薬間の変動係数が 4.4%、0.1 mg/l 水溶液の場合の回収率は 97.8~112.5% の範囲にあり、平均が 107.3%、変動係数が 4.3%、1 mg/l 水溶液の場合の回収率は 93.1~104.1% の範囲にあり、平均が 96.6%、変動係数が 2.8% であり、いずれの濃度においても良好な結果が得られたことから、定量限界は 0.05 mg/l となった。ここで、回収率および変動係数の判断基準は、それぞれ 70~120%、20% 以内を目安とした¹¹⁾。この定量限界では、今回の水試料の分析方法における最小検出量は $1 \mu\text{g}$ となり、農薬添加量が $1000 \mu\text{g}$ のとき、これは添加量の 0.1% に相当するので、OECD 法で要求されている分析方法の基準 (検出限界として 0.01 mg/kg か、添加量の 0.5% を検出のどちらか小さい方) を満たしていた。

1.2. 土壌

8 農薬を土壌に添加した場合の回収率を測定した。0.1 mg/kg 土壌 (神栖土壌、栃木土壌、鶴ヶ島土壌) における回収率は 85.8~116.3% の範囲にあり、平均 99.7%、変動係数は 7.1% ($n=4$)、1 mg/kg 土壌 (神栖土壌、栃木土壌、鶴ヶ島土壌、木更津土壌) における回収率は 80.4~112.4% の範囲にあり、平均 98.4%、変動係数は 4.9% ($n=2\sim 7$)、100 mg/kg 土壌 (神栖土壌、栃木土壌、鶴ヶ島土壌) における回収率は 72.8~107.2% の範囲にあり、平均 99.8%、変動係数は 8.0% ($n=1\sim 2$) であり、いずれの濃度においても良好な結果が得られたことから、定量限界は 0.1 mg/kg となった (回収率と変動係数の判断基準は水と同じ)。この定量限界では、今回の土壌試料の分析方法における最小検出量は $2 \mu\text{g}$ となり、農薬添加量が $1000 \mu\text{g}$ のとき、これは添加量の 0.2% に相当するので、OECD 法で要求されている分析方法の基準 (水と同じ) を満たしていた。

2. カラムリーチング試験結果の概要

カラムリーチング試験方法について、OECD 法では、湛水と非湛水条件についての明確な記述はないが、ガイドライン文面からみて非湛水条件を想定していると考えられた。そこで、土壌層表面にガラスフィルター ($4\sim 5 \text{ mm}\phi$) を置いて非湛水条件で試験を行ったところ、カラムに供給した水はカラム外縁部まで広がらないことが確認された。これに対し、水深を 0 cm とした湛水条件で行うと水がカラム外縁部まで広がることを確かめられたので、今回はこの条件で試験を行った。この条件は、OECD 法で示された条件 (不飽

和)と異なるが、エンドポイントとしてのRMFは、湛水条件と非湛水条件で結果に違いのないことを確認している¹²⁾。

4種類の土壌に、水溶解度等の異なる8農薬を添加したカラムリーチング試験を実施したところ、土壌中の有機炭素含量の少ない土壌ほど農薬が浸透しやすく、水溶解度の大きい農薬ほど浸透しやすい傾向が認められた。浸透水量を100mm、200mmまたは400mmに変えた試験では、補正・推定浸透距離は浸透水量に比例した。栃木土壌については、OECD法に準拠して2mmの篩を通した試料をカラムに充填したところ、透水性がきわめて低く、リーチング試験において浸透水が流出しなくなった。このような土壌を供試土壌として用いることは不相当であると考えられるが、本研究では、供試土壌タイプに多様性をもたせるため、あえて水田から採取した本土壌も試料として用いた。試験では粒径を大きくして(2mm以下の土壌粒子の集合体)使用したが、供試農薬のRMFに関して、栃木土壌と他の土壌の間に顕著な違いはみられなかった。ただし、浸透距離自体には影響を及ぼした可能性があると考えられる。

試験系全体における農薬の物質収支については、神栖土壌、木更津土壌、栃木土壌、鶴ヶ島土壌を用い、30cmカラムを用いてカラムリーチング試験を実施した場合、プロフェノホスを除いたアトラジン、シマジン、ジメトエート、ダイアジノン、プロマシル、メタラキシルおよびメトラクロールの物質収支は76.4~98.7%であり、良好な結果が得られた(回収率の判断基準は水の分析と同じ)。また、60cmカラムを用いた場合の物質収支は74.5~99.6%であり、30cmカラムと同様な傾向が認められた。試験実施に当たって、OECD法では暗所で実施することとなっているが、試験系全体及びフラクションコレクタを暗所に置くことができなかったため、通常の実験室条件下で実施した。光条件はOECD法から逸脱していたが、プロフェノホスを除いた物質収支が良好であったことから試験には影響していないと考えられる。

しかし、プロフェノホスについては、試験期間が2日間の場合(浸透水量200mmのとき)、木更津土壌で61.3%、栃木土壌で68.3%、神栖土壌で69.0%、鶴ヶ島土壌で70.4%と低かったが、試験期間が1日間の場合(浸透水量100mmのとき)、木更津土壌で93.4%、神栖土壌で90.8%であり、試験期間が長くなるほど物質収支は低下したので、試験中での分解が考えられた。プロフェノホスを湛水土壤中で2日間保存した場合の回収率は、木更津土壌で53.7%(n=1)、神栖土壌で57.8%(n=1)、鶴ヶ島土壌で59.8%(n=2)、栃木土壌で72.0%(n=2)であった。また、プロフェノホスを水中で7日間保存した後の回収率は100.9%(n=1)であった。以上のことから、カラムリーチング試験において、プロフェノホスの物質収支が低くなったのは土壌中での分解が主要因であると考えられた。

3. 浸透距離の算出方法の検証

3.1. 浸透距離の補正方法の検証

土壌5cm層内の被験物質の分布を正確に測定し、浸透距離の補正方法を検証することは困難である。そのため、浸透水量を変えたカラムリーチング試験を行うことにより、被験物質の土壌中や浸透水中での分布を変えて補正浸透距離を求めたところ、浸透距離は浸透水量に比例した。次に、RMFを比較したところ、試験条件を変えてもRMFはほぼ同じであることが確認された。よって、浸透距離の補正方法は間接的に検証されたと考えられる。

3.2. 浸透距離の推定方法の検討

長さ30cmのカラムを用いて浸透水中に農薬が溶出したときに推定浸透距離を求め、また、長さ60cmのカラムを用いて補正浸透距離を求め、両者を比較した(Table 2)。なお、比較は浸透距離が30cm以上(推定浸透距離として求めた部分)について行った。

30cmの深さに充填したカラムを用いた場合の推定浸透距離と60cmの深さに充填したカラムを用いた場合の実測浸透距離の間には、木更津土壌での結果を除くと、傾きは0.999、相関係数(r^2)が0.81**の危険率1%で有意な相関が得られ、両者は一致した(Fig. 2)。さらに、木更津土壌を除き、土壌の違いによる相関性の違いもみられなかった。

一方、木更津土壌を用いた場合、30cmの深さに充填したカラムを用いたときの推定浸透距離と60cmの深さに充填したカラムで試験したときの補正浸透距離を比較したところ、浸透距離が40cmまでは両者は一致したが、それ以上では推定浸透距離の方が小さくなった(Fig. 2)。

土壌層にしみ込んだ水は土壌層内に保持されているが、供給された水が増えてきて土壌の最大容水量を越えると、土壌が水を保持できなくなり、水が下方へ浸透していくと考えられるので、簡便な解析のために、土壌層5cmが保持できる最大の水重量が浸透水としての浸透距離5cmに相当すると仮定して浸透距離を推定する方法は妥当であったと結論できる。しかし、木更津土壌のように、推定浸透距離が補正浸透距離と一致しない土壌も認められた。木更津土壌は、今回の供試土壌の中では有機炭素含量が低いこと、粘土鉱物の種類が異なることや陽イオン交換容量が小さいこと等から(Table 1)、化学物質の地下浸透には、これらを含め様々な要因が影響している可能性が考えられた。

4. カラムへの水の添加条件の検討

4.1. 流速の影響

OECD法の200mm/2日(流速100mm/日)に対して、流速を1/2倍(100mm/2日)と2倍(400mm/2日)に変えた試験を行った(Fig. 3)。なお、土壌層の深さは30cmとした。ここで、RMFは、補正距離・推定浸透距離から計算し

Table 2 Leaching distance of pesticides in four soil column with different lengths of 30 cm and 60 cm^{a)}

Pesticides	Soils							
	Kamisu		Tochigi		Tsurugashima		Kisarazu	
	30 cm	60 cm	30 cm	60 cm	30 cm	60 cm	30 cm	60 cm
Atrazine	49.4	41.0	32.3	28.8	17.8	19.0	46.3	62.9
Bromacil	51.0	51.1	40.9	44.1	28.5	31.0	49.5	66.5
Diazinon	15.8	15.5	19.3	13.8	8.3	6.6	30.3	30.6
Dimethoate	56.2	61.2	45.5	51.8	34.0	35.8	50.0	68.8
Metaraxyl	52.3	53.8	40.3	44.4	31.8	33.7	38.0	36.0
Metolachlor	31.8	30.9	31.9	28.7	17.8	18.7	39.4	51.3
Profenofos	5.0	5.0	5.2	5.2	5.1	5.0	12.1	15.9
Simazine	45.7	39.0	31.6	26.4	15.9	19.1	43.1	47.0

^{a)} Leaching distance (LD) is calculated value at flow rate of 200 mm/day. LD values were estimated when pesticides were eluted in leachate from the column; the values are longer than 30 cm in 30 cm column and 60 cm in 60 cm column, respectively. The estimating method is described in the text. When pesticides were not eluted, LD values were obtained as the corrected LD values based on the distribution of test substance in soil segment, in the column. Calculation for the corrected LD values is explained in the text.

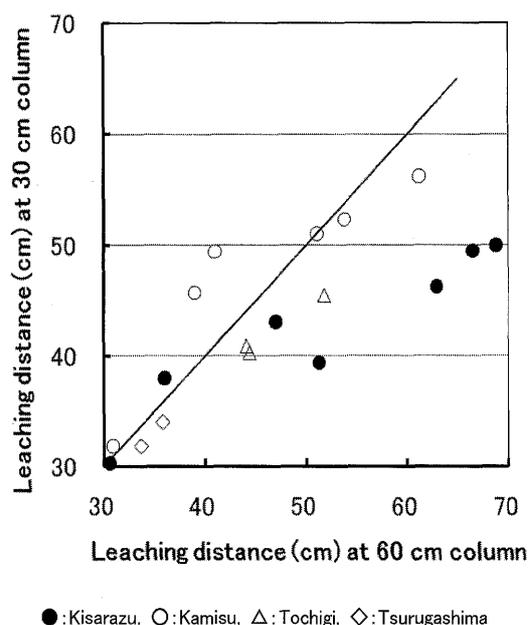


Fig. 2. Relationship between leaching distance (cm) using 30 cm layer soil column and leaching distance (cm) using 60 cm layer soil column. a) Leaching distance (LD) was corrected when a substance was retained in soil column and LD was estimated when a substance was eluted in leachate. Results of correlation are as follows: LD at 60 cm column except for Kisarazu = 0.999 (LD at 30 cm column) + 1.0 , $r^2 = 0.81^{**}$. The symbol ****** denotes the statistical probability is less than 0.01.

た浸透距離を用いて求めた。

200 mm/2 日の条件での RMF と 100 mm/2 日での RMF の相関について原点を通る回帰式を求めたところ、傾きが 0.88, r^2 が 0.89^{**} の危険率 1% で有意な相関が得られた。

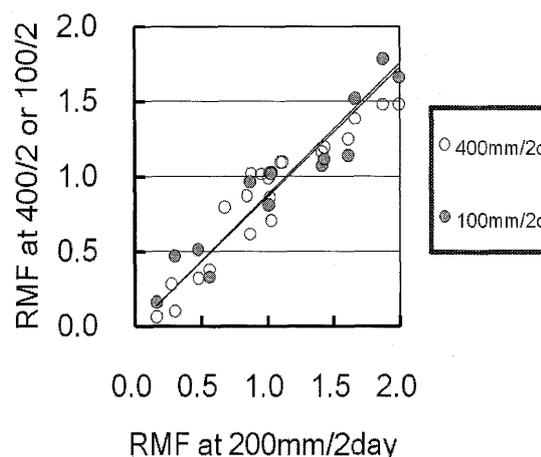


Fig. 3. Comparison of RMF values obtained in the experiments with different infiltration rates: 200 mm/2day (Control, OECD 312), 400 mm/2day and 100 mm/2day using 30 cm layer soil column. Results of correlation are as follows: RMF (400 mm/2d) = 0.863 RMF (200 mm/2d), $r^2 = 0.87^{**}$, RMF (100 mm/2d) = 0.878 RMF (200 mm/2d), $r^2 = 0.89^{**}$. The symbol ****** denotes the statistical probability is less than 0.01.

また、200 mm/2 日の条件での RMF と 400 mm/2 日での RMF の相関について原点を通る回帰式を求めたところ、傾きが 0.86, r^2 が 0.87^{**} の危険率 1% で有意な相関が得られた。さらに、土壌の違いによる相関性の違いもみられなかった (Table 3)。

200 mm/2 日と 100 mm/2 日あるいは 400 mm/2 日における相関の傾きに危険率 5% で有意差は認められず (Student 検定), 流速を変えても RMF に影響しないと考えられる。

4.2. 試験期間の影響

OECD法の200 mm/2日に対して、試験期間を1/2倍(100 mm/1日)と2倍(400 mm/4日)に変えた試験を行った(Fig. 4)。なお、土壌層の深さは30 cmとした。

200 mm/2日の条件でのRMFと100 mm/1日でのRMFの相関について原点を通る回帰式を求めたところ、傾きが0.81、 r^2 が0.87**の危険率1%で有意な相関が得られた。また、200 mm/2日の条件でのRMFと400 mm/4日でのRMFの相関について原点を通る回帰式を求めたところ、傾きが0.92、 r^2 が0.89**の危険率1%で有意な相関が得られた。さらに、土壌の違いによる相関性の違いもみられなかつ

た(Table 3)。

200 mm/2日と100 mm/1日あるいは400 mm/4日における相関の傾きに危険率5%で有意差は認められず(Student検定)、試験期間を変えてもRMFに影響しないと考えられる。

4.3. 試験条件による影響のまとめ

OECD法は、中央ヨーロッパでの年間降水量を基にカラムへの浸透水量を設定しているが、日本の年間平均降水量は中央ヨーロッパの約2倍あるため、カラムへ供給する水量を検討した。流速、流量および試験期間をOECD法の1/2倍から2倍の範囲内で変えてもRMFはほぼ同じで、流

Table 3 RMF^{a)} of pesticides in column leaching study with different in filtration rates and the experimental durations using three soils

Kisarazu			200 mm/2day	400 mm/2day ^{b)}	400 mm/4day ^{c)}
Atrazine			1.0	1.0	1.0
Bromacil			1.1	1.1	1.0
Diazinon			0.7	0.8	0.7
Dimethoate			1.1	1.1	1.0
Metaraxyl			0.8	0.9	1.0
Metolachlor			0.9	1.0	1.0
Profenofos			0.3	0.3	0.2
Simazine			1.0	1.0	1.0
Tochigi	100 mm/1day ^{d)}	100 mm/2day ^{e)}	200 mm/2day	400 mm/2day ^{f)}	400 mm/4day ^{g)}
Atrazine	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Bromacil	1.1	1.1	1.4	1.2	1.2
Diazinon	0.7	0.3	0.6	0.4	0.3
Dimethoate	1.1	1.1	1.6	1.3	1.3
Metaraxyl	1.1	1.1	1.4	1.2	1.2
Metolachlor	1.0	1.0	1.0	0.9	0.6
Profenofos	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Simazine	1.0	0.8	1.0	1.0	0.7
Tsurugashima	100 mm/1day ^{h)}	100 mm/2day ⁱ⁾	200 mm/2day	400 mm/2day ^{j)}	400 mm/4day ^{k)}
Atrazine	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Bromacil	1.4	1.5	1.7	1.4	1.8
Diazinon	0.4	0.5	0.5	0.3	0.3
Dimethoate	1.5	1.7	2.0	1.5	1.8
Metaraxyl	1.4	1.8	1.9	1.5	1.8
Metolachlor	0.7	1.0	1.0	0.7	0.7
Profenofos	0.3	0.5	0.3	0.1	0.1
Simazine	0.7	1.0	0.9	0.6	0.7

^{a)}RMF values denotes the ratios of leaching distance (LD) of test substances to that of atrazine. Column length used were 30 cm. For the RMF calculation, either the corrected LD values or the estimated LD values are used, depending on the conditions.; ^{b)}RMF (400 mm/2d)=1.045 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.94^{**}$; ^{c)}RMF (400 mm/4d)=1.023 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.90^{**}$; ^{d)}RMF (100 mm/1d)=0.833 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.74^{**}$; ^{e)}RMF (100 mm/2d)=0.804 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.88^{**}$; ^{f)}RMF (400 mm/2d)=0.848 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.94^{**}$; ^{g)}RMF (400 mm/4d)=0.800 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.89^{**}$; ^{h)}RMF (100 mm/1d)=0.789 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.94^{**}$; ⁱ⁾RMF (100 mm/2d)=0.934 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.93^{**}$; ^{j)}RMF (400 mm/2d)=0.786 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.95^{**}$; ^{k)}RMF (400 mm/4d)=0.946 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.94^{**}$. The symbol ** denotes the statistical probability is less than 0.01.

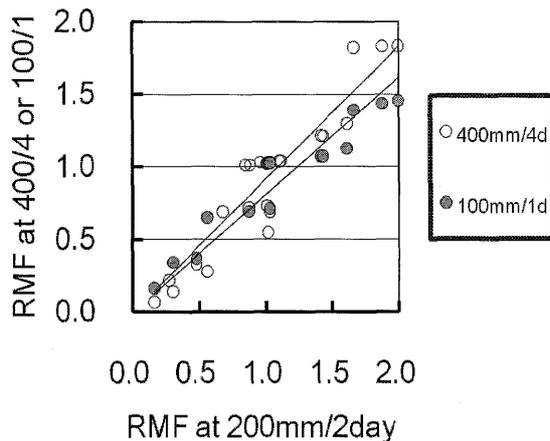


Fig. 4. Comparison of RMF values obtained in the experiments with different durations: 200 mm/2day (Control, OECD 312), 400 mm/4day and 100 mm/1day using 30 cm layer soil column. Results of correlation are as follows: RMF (400 mm/4d)=0.915 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.89^{**}$, RMF (100 mm/1d)=0.808 RMF (200 mm/2d), $r^2=0.87^{**}$. The symbol ** denotes the statistical probability is less than 0.01.

速, 流量および試験期間とも RMF に影響を与えないことが確認された。

従って, 試験条件は, エンドポイントを RMF とする限り, 流速 100 mm/日, 試験期間 2 日間, 流量 200 mm で問題ないと考えられる。

5. OECD 法の国内への導入について

OECD において RMF を化学物質の潜在的な地下浸透性を評価する指標としたテストガイドラインが策定された。そこで, 国内土壌を用い, 条件を変えて試験を実施したところ, 本ガイドラインは RMF を求めるための試験として利用可能であることがわかった。現在のところ国内での農薬登録に当たって地下浸透性は評価対象となっていないが, 欧米における農薬の地下浸透性の評価においては, 地下水中の予測濃度を定量的に求める方法が採られており, RMF は利用されていない。RMF は定性的な指標と考えられ, その活用は今後の検討課題と考えられる。

要 約

OECD は 2004 年に化学物質の地下移行性を評価するためのテストガイドラインとして「土壌カラム中のリーチング」を策定した。OECD 法は, 土壌を深さ 30 cm に充填し, 被験物質を土壌表層に添加した後, 降水量 200 mm 相当の塩化カルシウム水溶液を 2 日間かけて流し, 被験物質の浸透距離を測定するものである。OECD 法では, 浸透距離は被験物質が全体の 0.5% 以上検出された最深の画分と定義されているため, 浸透距離は土壌の分画単位で求められる。そこで, 土壌や浸透水中での分布を考慮した補正浸透距離

を求める方法を開発した。しかし, 被験物質が浸透水中に流出した場合は浸透距離を求めることはできないので, 土壌層に含まれる水分量と浸透水量の間に定量的な関係があると仮定し, 浸透水への流出位置から浸透距離に推定する方法を検討した。土壌層の深さを変えた試験を実施して推定方法の妥当性を検証した結果, 一部の土壌を除き推定浸透距離は補正浸透距離と一致した。

謝 辞

本研究の取りまとめに当たり, 終始有益なご指導ご助言を賜りました農薬検査所調査研究推進委員会委員の上野雅子氏 (農業環境技術研究所), 加藤保博氏 (残留農薬研究所), 行本峰子氏に深く感謝致します。

カラムリーチング試験に使用する土壌の提供にご協力頂いた埼玉県農林総合研究センターおよび栃木県農業試験場に厚く御礼申し上げます。また, カラムリーチング試験の実験に協力頂いた國安武氏に感謝致します。

引用文献

- 1) US. EPA, Office of Pesticide Programs (OPP), Environmental Fate and Effect Division: "Pesticides in Ground Water Database, A Compilation of Monitoring Studies 1971-1991, National Summary"; EPA 734-12-92-001 (1992. 9).
- 2) US. GS: "Pesticides in Ground Water", U.S. Geological Survey Fact Sheet FS-244-95; <http://water.usgs.gov/nawqa/pnsp/pubs/fs244-95/> (2009 年 8 月 10 日閲覧)。
- 3) European Environmental Agency: Indicator, Pesticides in Groundwater (2004); http://themes.eea.eu.int/Specific_media/water/indicators/WHS01a,2004.05/WHS1a_PesticidesGroundwater_110504.pdf (2009 年 8 月 10 日閲覧)。
- 4) US. EPA, OPP: Estimating the Drinking Water Component of a Dietary Exposure Assessment (1999. 11. 2); <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/1999/November/Day-10/6044.pdf> (2009 年 8 月 10 日閲覧)。
- 5) Council Directive 94/43/EC on 1994. 7. 27: Establishing Annex VI to Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market (1994).
- 6) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課: 「化学物質環境実態調査—化学物質と環境」; <http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/index.html> (2009 年 8 月 10 日閲覧)。
- 7) 朝日新聞: 平成 20 年 1 月 26 日; 毎日新聞: 平成 20 年 3 月 12 日。
- 8) OECD: "Guidelines for the Testing of Chemicals 312. Leaching in Soil Columns", 2004.
- 9) 国立天文台: 理科年表平成 10 年 (机上版), 丸善, 東京, 1997.
- 10) C. D. S. Tomlin: The Pesticide Manual, Fourteenth Edition, The British Crop Protection Council, 2006.
- 11) 農林水産省生産局生産資材課長: 農薬の登録申請に係る試験成績についての運用について (2001).
- 12) 渡辺高志, 岩船 敬: 日本農薬学会第 29 回大会講演要旨集, p. 103, 2004.