

東京農工大学大学院連合農学研究科

博士学位請求論文

作物への可給性を考慮した農薬の  
土壌環境における動態評価

Fate of Pesticides in Soil Considering Phytoavailability

2018.3

元 木 裕

## 著作権

・本論文の第2章および第4章を構成する図表の一部の著作権は、日本農薬学会が所有していますが、著作権所有者の許可を得て転載しています。

Tables 1, 3–9 および Figures 3–7, 9 については下記の論文より転載した。

**Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N., Otani, T. and Akiyama, Y. (2015) Relationship between plant uptake of pesticides and water-extractable residue in Japanese soils. *Journal of pesticide science*, 40(4), 175–183.**

Tables 15, 17, 19–20 および Figures 19–22 については下記の論文より転載した。

**Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N., Otani, T. and Asano, M. (2014) Effects of organic carbon quality on the sorption behavior of pesticides in Japanese soils. *Journal of pesticide science*, 39(2), 105–114.**

・本論文の第3章を構成する図表の一部の著作権は、American Chemical Society に帰属していますが、American Chemical Society の転載要件を満たしていることを確認の上転載しています。

Tables 10–14, Figures 12–14, 16–17 および付録表 A, B については下記の論文より転載した。

**Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N., Inao, K. and Otani, T. (2016) Effect of time-dependent sorption on the dissipation of water-extractable pesticides in soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(22), 4478–4486.**

Tables 10–14, Figures 12–14, 16–17 and supplementary tables A and B are reprinted (adapted) with permission from [Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N., Inao, K. and Otani, T. (2016) Effect of time-dependent sorption on the dissipation of water-extractable pesticides in soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(22), 4478–4486]. Copyright (2016) American Chemical Society.

# 目次

第 1 章 緒言-----	1
第 2 章 土壤に残留した作物が吸収可能な農薬（可給態農薬）の抽出・定量法の検討 -----	8
2.1 緒言-----	8
2.2 試験方法-----	10
2.2.1 供試土壤の概要-----	10
2.2.2 調査対象の化合物-----	11
2.2.3 農薬混和セライトの調製-----	11
2.2.4 農薬処理土壤におけるコマツナの栽培試験-----	14
2.2.5 作物試料の分析操作-----	14
2.2.6 土壤における農薬の消長-----	15
2.2.7 土壤の逐次抽出法-----	15
2.2.8 土壤抽出液の分析操作-----	16
2.2.9 添加回収試験-----	17
2.2.10 統計解析-----	17
2.3 試験結果および考察-----	18
2.3.1 土壤中の農薬濃度とコマツナ茎葉部の農薬濃度の関係-----	18
2.3.2 土壤の水抽出法の土壤診断技術への適用可能性-----	24
2.3.3 土壤エージング期間がコマツナ茎葉部の農薬濃度に及ぼす影響-----	27
第 3 章 時間依存的な土壤吸着係数を用いた可給態農薬の消長の推定法の検討 -----	33
3.1 緒言-----	33
3.2 試験方法-----	35
3.2.1 供試土壤の概要-----	35
3.2.2 調査対象の化合物-----	35
3.2.3 容器内における農薬の土壤残留試験-----	37
3.2.4 土壤の逐次抽出法-----	37
3.2.5 土壤抽出液の分析操作-----	37
3.2.6 野外における農薬の土壤残留試験-----	41

3.2.7 添加回収試験	41
3.3 試験結果および考察	42
3.3.1 土壌から水抽出される農薬の減衰特性	42
3.3.2 土壌吸着の経時変化	45
3.3.3 土壌から水抽出される農薬の減衰曲線の推定と圃場における検証	49
第4章 農薬や土壌の理化学性に基づいた土壌吸着係数の推定法についての検討	54
-----	-----
4.1 緒言	54
4.2 試験方法	57
4.2.1 供試土壌の概要	57
4.2.2 調査対象の化合物	57
4.2.3 土壌吸着試験	60
4.2.4 炭素物質に対する農薬の吸着試験	60
4.2.5 固体 <sup>13</sup> C NMR による土壌分析	61
4.2.6 分子モデリング	61
4.3 試験結果および考察	62
4.3.1 土壌の理化学性と土壌吸着係数 ( $K_d$ ) の関係	62
4.3.2 農薬の $\log P_{ow}$ と土壌吸着定数 ( $K_{oc}$ ) の関係	64
4.3.3 土壌有機炭素の化学組成の違いが土壌吸着の変動に及ぼす影響	65
4.3.4 農薬の分子構造の違いが土壌吸着の変動に及ぼす影響	70
第5章 総合考察	74
引用文献	80
謝辞	86
要約	87
SUMMARY	90
付録表	93
業績リスト	107

## 略語表

AC	Activated Carbon	活性炭
BC	Black Carbon	黒色炭素
BCF	Bioconcentration Factor	生物濃縮係数
CEC	Cation Exchange Capacity	陽イオン交換容量
CV	Coefficient of Variation	変動係数
DFOP	Double First-Order in Parallel (model)	二相性一次反応 (モデル)
DT <sub>50</sub>	50% disappearance time	半減期
EC	Electrical Conductivity	電気伝導度
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay	酵素免疫測定
GC	Gas Chromatograph	ガスクロマトグラフ
GP	Graphite	グラファイト
$K_c$	Soil Sorption Constant	土壌吸着定数
$K_d$	Soil Sorption Coefficient	土壌吸着係数
LC	Liquid Chromatograph	液体クロマトグラフ
LOQ	Limit of Quantitation	定量下限値
MS	Mass Spectrometer	質量分析計
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁気共鳴
NSE	Nash-Sutcliffe Model Efficiency	ナッシュ・サトクリフ効率係数
OC	Organic Carbon Content	有機炭素含量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbon	多環式芳香族炭化水素
PBI	Plant Back Interval	後作物作付け禁止期間
POPs	Persistent Organic Pollutants	残留性有機汚染物質
$P_{ow}$	Octanol-Water Partition Coefficient	オクタノール/水分配係数
RMSE	Root Mean Square Error	平均二乗誤差
SAP	Soil-Aging Period	土壌エージング期間
SFO	Single First-Order (model)	一次反応 (モデル)
TSCF	Transpiration Stream Concentration Factor	蒸散流濃度係数
2,4-D	ジクロロフェノキシ酢酸	
BHC	ベンゼンヘキサクロリド	
DDT	ジクロロジフェニルトリクロロエタン	
PCB	ポリ塩化ビフェニル	

## 第1章 緒言

自然生態系とは異なり，ある特定の植物種のみが栽培される農耕地では，当該植物種，つまり作物を摂食する昆虫（害虫）が優先的に発生する．Bey-Bienko (1963) は，キルギスステップの処女草原を開墾した場合の昆虫相の変化を追跡した．その結果，処女草原では340種の昆虫が生息していたが，これを麦畑にした翌年には142種に減少し，そのうちわずかに19種が全体の94%を占めた．種数が減少した一方で，1平方メートルあたりの個体数は処女草原の時よりも倍近くに増加した．これは昆虫の例ではあるが，微生物もまた作物に寄生する種（病原菌）が優先的に発生する．また，日あたりが良く肥料分も豊富な農耕地では，作物以外の植物，すなわち雑草が育ちやすくなる．このような特性を有する農耕地において，農薬を全く使用せずに作物を栽培した場合の減収率（平均値）は，水稻では約30%，野菜では約20–60%，桃やリンゴなどの果樹ではほぼ100%となり，果樹についてはほとんど収穫できなくなることが示されている（日本植物防疫協会 1993）．農薬が現代の農業生産において，極めて重要な農業資材の一つであることは容易に想像できる．

我が国の農薬による害虫防除の先駆けは，18世紀以前より行われていた注油駆除であり，鯨油を利用して稲を加害するウンカ類の防除を行ったのが始まりとされている（坂井ほか 2003）．その後，19世紀後半からは除虫菊粉，ボルドー液，青酸ガス，ヒ酸鉛，デリス根といった天然物および無機化合物が農薬として使用されるようになり，食糧増産が喫緊の課題であった第2次世界大戦後はDDT，BHC，パラチオン，2,4-Dといった合成有機化合物がその中心となる．一方で，戦後の物資不足から不良農薬が出回り農家に損害を与える事例が見られたことから，農薬の品質の保持と向上を図るため，1948年に農薬取締法が制定され，農薬の登録制度の運用が開始された．現在では，農薬の急性・慢性毒性，水産動植物への安全性，作物や土壌における残留性，河川水への流出性および飲料水の安全性等，多岐にわたる検査項目が設定され，各検査の結果，登録保留基準に該当しなければ登録が行われ，農薬の製造，販売および使用が可能となる．この登録制度は，農薬使用による漁業被害，食の安全・環境汚染（公害問題）に対する社会的関心，毒性学の進歩等，時代の要請に応じて度々改正が行われてきた（渡辺 2014）．例えば，第2次大戦直後の主要農薬であったDDT，BHC，ヘプタクロル，さらにアルドリン，ディルドリン，エンドリンとい

ったドリン剤等、難分解性の有機塩素系農薬は、作物や土壌における長期残留性、特に DDT、BHC については稲わらを介した牛乳の汚染が問題となり、1970 年代には登録が失効されている。現在、これらの化学物質は、2004 年に発効された「残留性有機汚染物質 (POPs) に関するストックホルム条約」において POPs に指定され、世界中で製造・使用の禁止、廃絶が求められている。

圃場で使用された農薬の多くは土壌に入り、畑地では散布量の約 90%、水田では 50–80% 程度が土壌に分布すると言われている (鍛塚ほか 1998)。このため、現在の農薬登録においては、農薬の土壌残留に関する検査が求められている。土壌の性質が異なる 2 つの圃場で土壌残留試験が実施され、その結果求められた土壌中半減期 ( $DT_{50}$ ) が登録保留基準よりも長い場合には原則登録が保留される。この登録保留基準は 2005 年に改定され、従来の 1 年からより厳しい 180 日に変更されている。また、土壌中での  $DT_{50}$  が 100 日以上の場合、土壌に残留した農薬がその後に栽培される作物 (後作物) を汚染するか否かの検査が行われる (農林水産省 2001)。後作物残留試験の結果、後作物における残留濃度が基準値以下でなければ登録は保留される。このように、農薬の土壌および後作物における残留性は登録時に検査され、問題のない農薬のみが登録されている。しかし、ポジティブリスト制度が導入された 2006 年以降、後作物から残留基準値を超えて現在登録のある農薬が検出され、汚染作物の流通・販売等の禁止措置が執られた事例が報告されている (谷川 2010)。2006 年度から生産実績のないピリダフェンチオンが当該年度以降もオオバから検出した事例や、ハウス内で水稻の育苗に使用したジクロシメットが後作物から検出された事例など、POPs に指定されていない農薬が後作物から検出されたことが指摘されている。従来のネガティブリスト制度では、食品衛生法における残留基準値が設定されている農薬に限って、当該残留基準値 (個別基準値) を超えるか否かの検査が行われていた。一方、新たに導入されたポジティブリスト制度では、残留基準値が未設定の農薬と作物の組み合わせに対して個別基準値よりも厳しい一律基準値 (0.01 ppm) が適用された。このため、従来は表面化していなかった農薬の後作物残留問題が顕在化したものと考えられた。2006 年より継続的に実施されている環境省の「農薬残留総合調査委託業務」(環境省 2006) においても、後作物として栽培された葉菜類や根菜類から複数種の農薬が一律基準値を超えて検出されたことが報告されている。これらの知見は、個別基準値が設定されていない、すなわち一律基準値が適用される農薬と後作物の組み合わせについては、実際の生産現場においても農薬の残

留基準値超えが起こりうることを示唆している。

農薬の後作物残留の評価法について日本と米国を比較すると、両者の評価スキームは大きく異なる (Fig. 1)。既述のとおり日本では、まず土壤中での  $DT_{50}$  をもとに評価が行われ、当該  $DT_{50}$  が 100 日以下の場合には後作物残留試験成績の提出が除外される。このため、現在日本で登録されている農薬の多くは後作物残留試験が実施されていない。一方、米国では、永年作物および半永年作物に適用される場合を除き、原則全ての農薬について放射性同位体を用いた後作物代謝試験が実施される (U.S. EPA 1996)。代謝試験の結果、放射性残留物の総濃度が 0.01 ppm を超えて作物中から検出される場合には残留物の同定を行い、最終的に圃場における後作物残留試験が実施される。米国では、これらの試験結果に基づいて、後作物の作付け禁止期間 (plant back interval, PBI) および後作物における農薬の残留基準値を設定し、後作物から農薬が残留基準値を超えて検出されるのを未然に防止している。以上のように、米国では後作物代謝試験により農薬の土壌から作物への吸収・移行、作物体内における代謝が検査され、高次試験 (圃場試験) を要求するか否かの判断に実際の作物における残留濃度が使用されている。

一方、日本では、第 1 段階として農薬の土壤中での  $DT_{50}$ 、すなわち土壤中での減衰速度に基づいて農薬の後作物残留性が評価されている。しかし、減衰が速くても農薬の土壌への投下量が多ければ、土壌中に残留する農薬量は当然増加する。また、土壌中の残留量と同じであっても、後作物における残留量は土壌や作物、農薬の種類によって異なることが報告されている (元木ほか 2009; 岩船ほか 2010)。このため、日本においても定量的な概念を導入した新しい評価法の開発が求められる。輪作体系が確立されている米国の大規模農業とは異なり、日本では小規模な農地において多品目の作物が栽培されるため、後作物の種類も多様である。また、世界有数の火山国である日本の土壌は、畑地の約 5 割を黒ボク土が占めており (土壌保全調査事業全国協議会 1991)、農耕地土壌の性質も米国とは全く異なる。従って、米国で要求している後作物代謝試験を、そのまま日本の登録検査へ導入することは現実的ではなく、作物種や土壌種といった試験条件の検討を要する。一方、農薬の土壌への投下量および土壌中での減衰速度から、土壌における農薬の残留濃度だけではなく、後作物における残留濃度を推定する手法が開発されれば、当該推定値に基づいた定量的な評価が可能となる。さらに、このような推定手法は、登録検査に限らず、実際の生産現場においても後作物の作付けの適否を判断する有用なツールとなり得る。

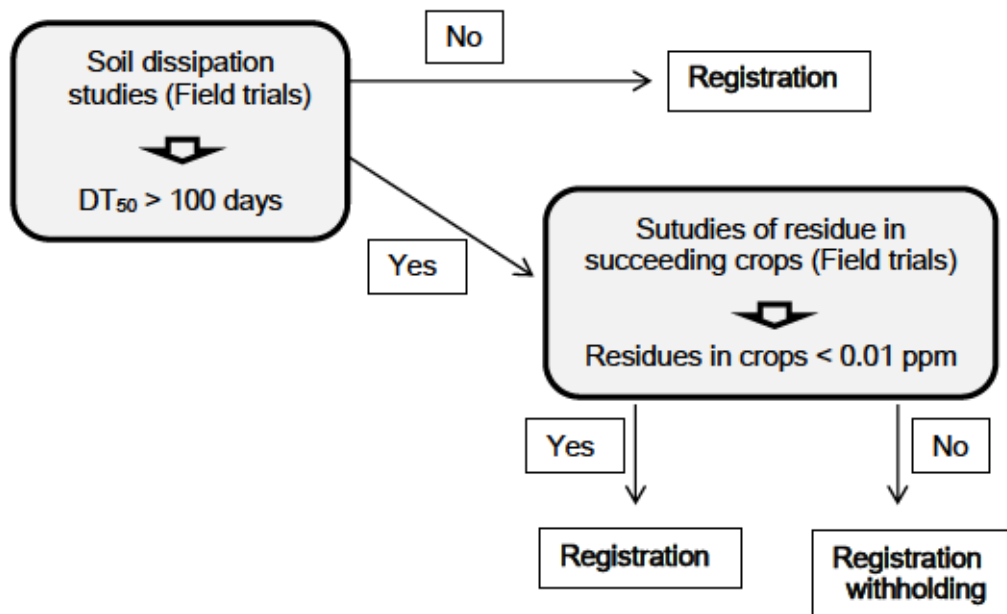


農薬の後作物における残留濃度を推定する上で、土壌中濃度に着目することは極めて重要であるが、土壌中の全ての農薬が作物へ吸収・移行されるわけではない。農薬を含む有機化学物質は土壌に散布された後、時間の経過とともに、土壌粒子の細孔や土壌有機物の内部へ拡散浸透するため、その溶出性は低下する (Fig. 2)。エージング過程をとおして土壌粒子へ強固に吸着した有機化学物質は、土壌微生物、ミミズなどの土壌動物および作物によって取り込まれにくいことが知られている (Alexander 2000)。通常、土壌中の有機化学物質は、アセトンやアセトニトリル、ジクロロメタンといった抽出力の強い有機溶媒で抽出され、土壌粒子に共有結合した **bound residue** を除き、その概ね全量が抽出される。すなわち土壌粒子へ強固に吸着した生物が利用しにくい物質についても抽出の対象となる。しかし、Reidら (2000) は、多環式芳香族炭化水素 (PAH) の土壌における残留量と微生物による無機化量との関係を調査しており、土壌中の PAH をジクロロメタンで抽出した場合よりも抽出力の弱いヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリンで抽出した方が、両者の相関は高かったことを報告している。また、Sakaiら (2009) は、国内の各種土壌から 50%メタノール・水 (v/v) で抽出されたディルドリン濃度が、アセトンで抽出された濃度よりもキュウリ果実中のディルドリン濃度をよく表現していることを示している。このように、土壌中の農薬濃度から後作物における残留濃度を推定する場合、作物への吸収・移行性、すなわち作物への可給性を考慮した上で、農薬の土壌中での動態評価を行う必要がある。しかし、現在登録のある農薬について、作物への可給性評価の観点から土壌中農薬の抽出法を検討した事例は非常に少ない。

本研究では、農薬の後作物における残留濃度を推定する手法の開発へ向けて、作物が吸収可能な土壌中農薬 (可給態農薬) の動態に関する研究を行った。第2章ではまず、現在登録のある農薬について、作物可給性を評価できる土壌抽出法を検討することとした。また、後作物への農薬の残留を未然に防止する技術として米国で導入されている PBI の有効性を検証するため、エージング期間 (農薬処理から播種までの期間) の長短が作物中の農薬濃度に及ぼす影響を検討した。第3章では、作物が吸収可能な画分である土壌から水抽出される農薬濃度 (水抽出濃度) に着目し、水抽出濃度の減衰特性を明らかにした。さらに、農薬の土壌吸着の経時変化を解析し、時間依存的な吸着パラメータを導入することで水抽出濃度の減衰を推定する手法の開発を試みた。土壌吸着の経時変化を予測するためには、OECD法 (OECD 2000) より求めた土壌吸着係数 ( $K_d$ ) が重要な役割を果たすため、第

4章では,  $K_d$ の変動要因を土壌や農薬の理化学性および化学構造の観点から解析を行った.

(A)



(B)

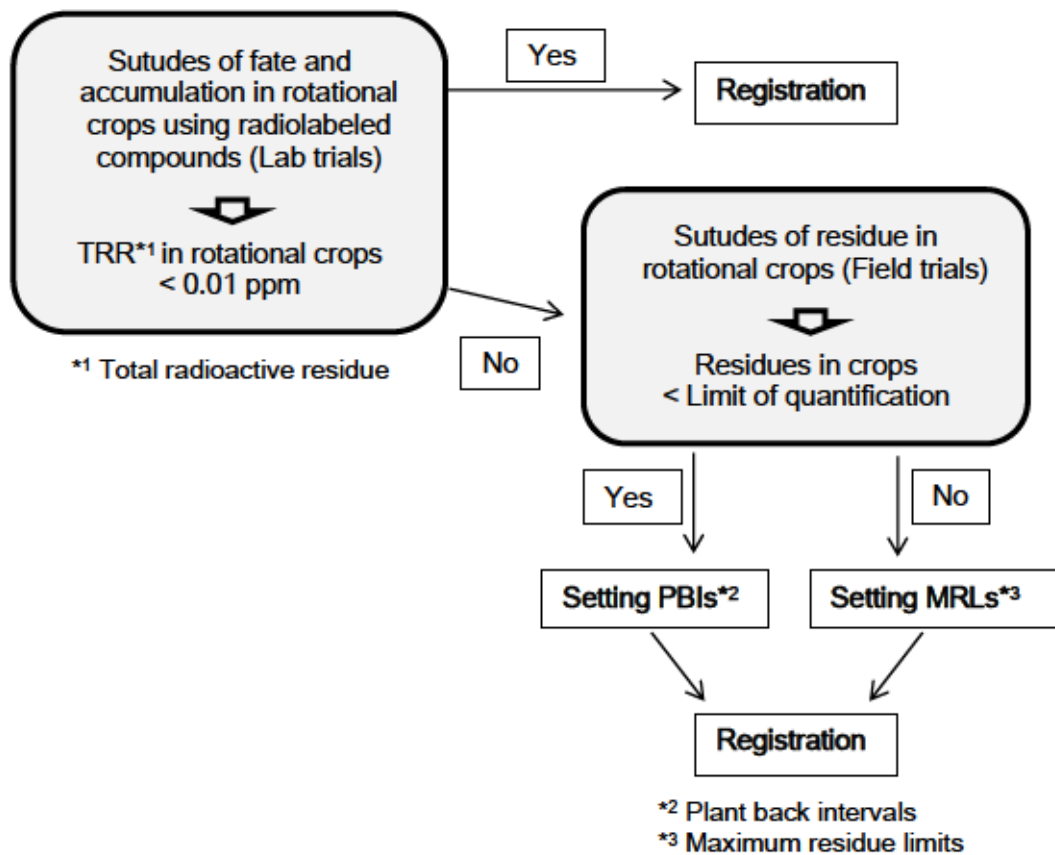


Fig. 1. Decision tree of inspection for registration regarding the pesticide residue in succeeding (rotational) crops. (A) Japan, (B) United States.

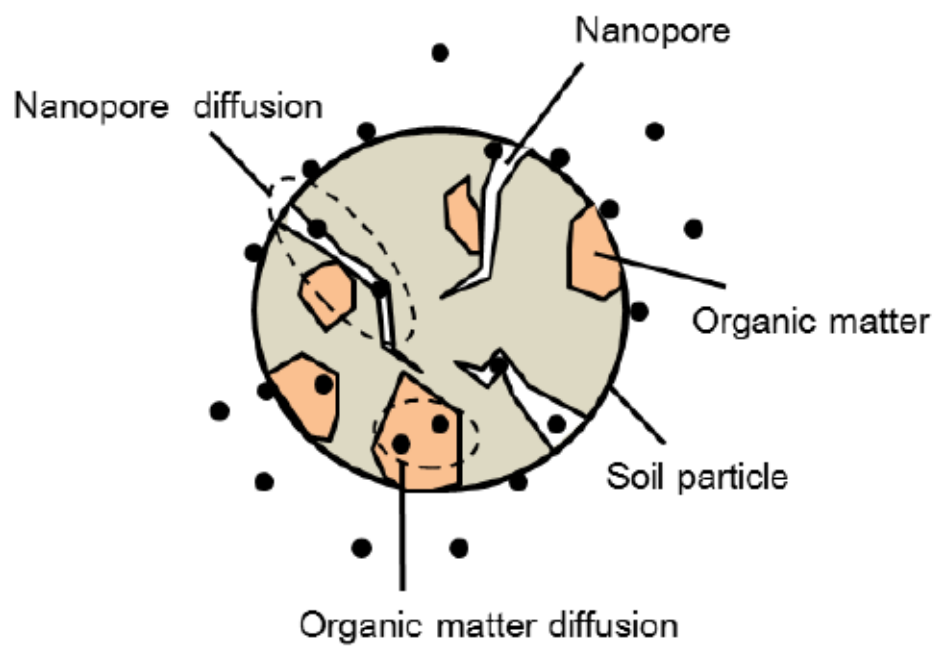


Fig. 2. Conceptual diagram of two models for intra-particle diffusion. Slow sorption of organic compounds resulting from entry into the solid phase of the organic matter or entry into nanopores.

## 第2章 土壌に残留した作物が吸収可能な農薬 (可給態農薬) の抽出・定量法の検討

### 2.1 緒言

農薬が土壌を経由して作物へ吸収・移行される後作物への残留過程において、土壌中農薬の定量は後作物における農薬の残留量を推定する上で不可欠である。土壌中農薬の抽出にあたっては抽出力の強い有機溶媒が用いられることが多く、農薬登録時に提出される土壌残留試験においてもアセトン等の有機溶媒が用いられ、そのほぼ全量が抽出されている(農林水産省 2001)。しかし、土壌に残留した農薬のうち、土壌中の水分、すなわち土壌溶液へ溶出した農薬のみが作物へ移行することが想定されるため、従来の有機溶媒抽出法では土壌へ強く吸着し、作物が吸収できない画分についても抽出してしまう恐れがある。従って、抽出力の強い有機溶媒で抽出・定量された農薬量では土壌から作物へ移行する農薬量を精緻に評価できない可能性がある。

杉山ら (1990) は、土壌中農薬の植物への可給性を除草剤の薬効の観点から調査しており、土壌に処理したペンディメタリンのイタリアンライグラスに対する活性が土壌から水によって抽出された農薬濃度との間で、高い相関関係を示したことを報告している。この研究ではイタリアンライグラス中の農薬濃度は定量されていないが、土壌中農薬の作物への移行量を評価するためには、土壌の水抽出画分に着目する必要性を示唆している。しかし、殺虫剤や殺菌剤について、作物可給性の観点から土壌中濃度を定量・評価した事例は非常に少なく、また、分子構造や物理化学性が異なる種々の農薬について土壌の水抽出法が適用できるかは不明である。作物への可給性を評価できる土壌中農薬の抽出方法が確立されれば、作物の栽培前の圃場から土壌を採取し、可給態農薬濃度を明らかにすることで、当該圃場で栽培される作物中の農薬濃度を推定することが可能となる。

土壌に残留した有機化学物質による作物への汚染対策として、土壌中での  $DT_{50}$  が数年以上のディルドリンやヘプタクロルについては、活性炭などの吸着資材の土壌への投入 (Hashimoto 2007; Murano et al. 2009; Saito et al. 2011) や低吸収台木品種の利用 (Hashimoto 2007; Otani and Seike 2007) により、作物における残留量を低減させた事例がある。一方、日本の農薬登録においては農薬の土壌中での  $DT_{50}$  の算定が必須となっており、 $DT_{50}$  が 100

日を超えるものについては、後作物残留試験の実施が求められる（農林水産省 2001）。従って、現在登録がある農薬については土壤中での  $DT_{50}$  が短く、100 日以下であることが多い。このように、農薬の多くが比較的容易に土壤中で減衰することから、適切な PBI を設けることで、農薬の土壤中での残留量、さらには後作物における残留量を低減させることが可能と考えられる。

第 2 章では、作物への可給性を評価できる土壤中農薬の抽出方法を検討するため、土壤中の農薬を水とアセトンを用いて逐次抽出を行った。水抽出濃度および全抽出濃度（水抽出濃度＋アセトン抽出濃度）を求め、各抽出濃度と作物中の農薬濃度の関係を調査した。また、PBI 設定のための基礎的な知見を得るため、土壤エイジング期間（soil-aging period, SAP）、すなわち農薬の処理から播種までの期間が農薬の土壤および作物中の残留濃度に及ぼす影響を検討した。

## 2.2 試験方法

### 2.2.1 供試土壌の概要

理化学性が異なる4種の日本土壌を使用した (Table 1). 採取した土壌試料は風乾後, 2 mmの篩を通した. 土壌pH (H<sub>2</sub>O) および電気伝導度は, マルチ水質計 (MM-60R; DKK-TOA, Tokyo, Japan) により, 固液比1:5の条件で測定した. 有機炭素含量は, CNコーダー (MT-700; Yanaco, Kyoto, Japan)により乾式燃焼法で定量した. 陽イオン交換容量は振とう浸出法 (村本ほか 1992) により抽出・溶出させた後, インドフェノール青吸光光度法によって測定した. 粒径組成は土壌ピペット分析器 (DIK-2020; Daiki Rika, Saitama, Japan) により, ピペット法 (土壌環境分析法編集委員会 1997) で測定した. 土壌群および土性は, 農耕地土壌分類 第3次改訂版 (農耕地土壌分類委員会 1995) および国際土壌学会法 (土壌環境分析法編集委員会 1997) に従ってそれぞれ区分した.

Table 1. Properties of test soils

Soil	Classification	Texture	OC <sup>a)</sup> (%)	CEC <sup>b)</sup> (cmol(+) kg <sup>-1</sup> )	Clay (%)	pH (H <sub>2</sub> O)	EC <sup>c)</sup> (mS cm <sup>-1</sup> )
PS1	Yellow soil	light clay	1.02	11.4	39.0	5.3	0.09
PS2	Gray lowland soil	silty clay	1.46	18.2	25.3	5.8	0.17
PS3	Andosol	loam	5.21	33.8	10.8	5.5	0.15
PS4	Andosol	silty loam	8.65	35.4	1.8	5.8	0.05

<sup>a)</sup> Organic carbon content. <sup>b)</sup> Cation exchange capacity. <sup>c)</sup> Electrical conductivity.

## 2.2.2 調査対象の化合物

オクタノール/水分配係数 ( $\log P_{ow}=0.570-3.56$ ) および分子構造が異なる4種の殺虫剤および4種の殺菌剤を供試した (Table 2). 標準品の純度は97.5%以上で, Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan), Kanto Chemicals (Tokyo, Japan) および Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) より購入した. 供試農薬は, 分析の前処理法, 測定に使用する装置の種類 [液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC-MS/MS) またはガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)] を考慮し, 2つのグループに分類した (Table 2).

Table 2. Hydrophobicity and analytical groups of test compounds

Compound	CAS no.	Pesticide type <sup>a)</sup>	Substance group	$\log P_{ow}$ <sup>b)</sup>	Analytical group <sup>c)</sup>
imidacloprid	138261-41-3	I	neonicotinoid	0.570	A
clothianidin	210880-92-5	I	neonicotinoid	0.905	A
thiacloprid	111988-49-9	I	neonicotinoid	1.26	A
fosthiazate	98886-44-3	I	organophosphate	1.68	A
metalaxyl	57837-19-1	F	phenylamide	1.75	A
flutolanil	66332-96-5	F	phenylbenzamide	3.17	B
procymidone	32809-16-8	F	dicarboximide	3.30	B
tetraconazole	112281-77-3	F	triazole	3.56	B

<sup>a)</sup> Abbreviations: (I) insecticides; (F) fungicides. <sup>b)</sup> Octanol-water partition coefficient were obtained from the Pesticide Properties Database of IUPAC (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>). <sup>c)</sup> The pesticides were divided into 2 analytical groups on the basis of the analytical methods.

## 2.2.3 農薬混和セライトの調製

土壌に農薬を均一に混和するため, 農薬混和セライトを調製した (Namiki et al. 2013). 各80 mgの農薬標準品を1.5 Lのアセトンで溶解し, ステンレス製バットに広げた400 gのセライト (No. 545; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) に加えた. スパチュラで攪拌後, ドラフトチャンバー内で5時間静置することでアセトンを蒸発・乾固させた. 調製したセライト中の農薬濃度は, アセトンで抽出後, LC-MS/MS (Table3 および4) および GC-MS (Table5 および6) で測定した. 8種農薬の定量値は84–137  $\mu\text{g/g}$ であった.



Table 3. LC-MS/MS conditions

LC-MS/MS conditions	
LC	ACQUITY UPLC (Waters)
Column	ACQUITY UPLC HSS T3 (Waters), 30 mm×2.1 mm, 1.8 $\mu$ m particle size
Guard column	ACQUITY UPLC VanGuard HSS T3 (Waters), 5 mm×2.1 mm, 1.8 $\mu$ m particle size
Flow rate	0.35 mL/min
Column temperature	40°C
Injection volume	5 $\mu$ L
Mobile phase	A: acetonitrile B: 10 mM ammonium formate Time (min) 0–1.5–7.5–9.5 A (%) 10–10–95–10
MS/MS	Quattro Micro API (Waters)
Ionization	Electrospray ionization (ESI+)
Ion source temperature	140°C
Desolvation gas temperature	400°C
Desolvation gas flow rate	900 L/h
Capillary voltage	1 kV

Table 4. LC-MS/MS quantitative parameters

Compound	Analytical group	RT <sup>a)</sup> (min)	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )
Clothianidin		2.67	250	169
Imidacloprid		2.82	256	175
Thiacloprid	A	3.44	253	126
Fosthiazate		4.27	284	104
Metalaxyl		4.38	280	220

<sup>a)</sup> Retention time.

Table 5. GC-MS conditions

GC-MS conditions	
GC	HP6890 (Agilent Technologies)
Column	EMV-8MS (Kanto Kagaku), 30 m×0.25 mm i.d. ×0.25 $\mu$ m film thickness
Oven temperature	50°C (1 min hold) →25°C/min →125°C →10°C/min →300°C (10 min hold)
Inlet temperature	250°
Carrier gas	Helium (1 mL/min)
Injection volume	1 $\mu$ L (splitless)
MS	5973N (Agilent Technologies)
Ionization	Electron impact ionization (EI)
Ion source temperature	230°C
Quad temperature	150°C

Table 6. GC-MS quantitative parameters

Compound	Analytical group	RT <sup>a)</sup> (min)	Monitor ion ( <i>m/z</i> )
Tetraconazole		16.02	336
Procymidone	B	17.78	283
Flutolanil		18.13	173

<sup>a)</sup> Retention time.

## 2.2.4 農薬処理土壌におけるコマツナの栽培試験

コマツナの栽培には 600 mL 容ポリポットを用いた。ポットの容量および土壌の乾燥密度を考慮して秤取した風乾土 (PS1: 630 g, PS2: 550 g, PS3 および PS4: 450 g) をプラスチックバッグ内に広げて、風乾土に対して 100 分の 1 の重量の農薬混和セライト, 2 g の化成肥料 (N: 0.16 g, P: 0.07 g, K: 0.14 g) および 2 g の苦土石灰を均一に添加し, 十分に混合した。風乾土における理論農薬濃度 ( $\mu\text{g/g}$ ) は, イミダクロプリド: 1.31, クロチアニジン: 1.33, チアクロプリド: 1.37, メタラキシル: 1.24, ホスチアゼート: 1.33, フルトラニル: 1.06, プロシミドン: 0.84 およびテトラコナゾール: 1.10 であった。調製した土壌試料をポリポットに詰め, さらに, 発芽率を高めるために土壌の表層に約 5 g のパーライトを加え, 軽く混合した。底面給水により最大容水量の 60%となるように土壌水分を調製し, 24 時間暗期・25 °C に設定した人工気象室内でインキュベーションを行った。全土壌区に共通してセライトの処理から 7 日間のインキュベーション後に, PS2 および PS3 については, さらに 35 日間および 63 日間のインキュベーション後 [土壌エージング期間 (soil-aging period, SAP) として 7 日, 35 日および 63 日を設定] にコマツナ (*Brassica rapa var. perviridis* ‘よかった菜’) を播種し, 発芽を促すために最大容水量の 90%となるように土壌水分を調節した。発芽後のコマツナは 13 時間明期・25 °C の条件で生育させ, 土壌水分は最大容水量の 50%から 70%に維持した。播種後 10 日目から収穫前日まで, 50 mL の液体肥料 (大塚ハウス A 処方の 2 倍濃縮液) を約 1 日おきに 10 回施した。全試験区とも播種から 28 日後にコマツナの茎葉部を収穫し, 収穫物は冷凍庫で凍結後, Grindomix GM200 (Retsch GmbH, Haan, Germany) により磨砕した。さらに, 磨砕物 10 g をコニカルピーカーに量り取り, 80 mL のアセトンを加えて 30 分間静置した後, Polytron® PT3100 (Kinematica AG, Lucerne, Switzerland) を用いて 5 分間ホモジェナイズ抽出を行った。抽出液は孔径が 0.8  $\mu\text{m}$  のガラス繊維濾紙を用いて吸引ろ過を行い, ろ液はアセトンで 100 mL にメスアップした。

## 2.2.5 作物試料の分析操作

「2.2.4 農薬処理土壌におけるコマツナの栽培試験」で調製した作物試料のアセトン抽出液は, 供試農薬のグループごとに異なる方法で精製した。グループ A については, 分取した 10 mL のアセトン抽出液に対して, 10 mL のアセトニトリルを加えて混和した後, ENVI-Carb II/PSA カラム (500 mg/500 mg, Supelco, Bellefonte, USA) へ流下した。5 mL のア

セトニトリルで溶出し、溶出液はロータリーエバポレーターで濃縮後、窒素気流下で乾固した。0.5 mLのアセトニトリル/水 (1 : 9, v/v) で乾固物を再溶解し、LC-MS/MS で測定した (Table 3 および 4)。グループ B については、50 mLのアセトン抽出液を分取し、内部標準物質 (ダイアジノン-d10) を添加後、ロータリーエバポレーターで 15 mL 以下になるまで濃縮した。濃縮液をケイソウ土カラム (InertSep K-solute 20 mL; GL Sciences, Tokyo, Japan) に流下し、10 分間静置後、120 mL のジクロロメタンで溶出した。転溶液はロータリーエバポレーターにより濃縮し、窒素気流下で乾固後、3 mL のヘキサン/アセトン (8 : 2, v/v) で乾固物を再溶解し、ENVI-Carb II/PSA カラムへ流下した。10 mL のヘキサン/アセトン (8 : 2, v/v) で溶出し、溶出液はロータリーエバポレーターおよび窒素気流により約 200  $\mu$ L まで濃縮し、濃縮液を GC-MS で測定した (Table 5 および 6)。LC-MS/MS および GC-MS による農薬の定量には、必要に応じて農薬標準溶液に無汚染試料の精製液を添加して調製したマトリックス標準溶液を用いた (Zrostlíková et al. 2002)。

#### 2.2.6 土壌における農薬の消長

土壌中農薬の消長は、作物無栽培区を別途設けて、「2.2.4 農薬処理土壌におけるコマツナの栽培試験」と同様の方法 (パーライトの混和および液体肥料の施肥を除く) で調査した。土壌 PS1 および PS4 については、農薬の処理から 7, 14, 21 および 35 日後に、土壌 PS2 および PS3 については、農薬の処理から 7, 14, 21, 35, 63 および 91 日後に約 20 g の土壌試料を分取した。分取した土壌試料のうち乾土 5 g 相当を逐次抽出へ供し、残りの土壌試料は 105°C で 24 時間乾燥することで含水率を測定した。

#### 2.2.7 土壌の逐次抽出法

分取した土壌試料は蒸留水とアセトンを用いて逐次抽出を行った。50 mL 容量のガラス製遠沈管へ量り取った乾土 5 g 相当の土壌試料へ 25 mL の蒸留水を加え (固液比=約 1 : 5, w/v), 25 $\pm$ 2 °C の暗所下で 24 時間の振とう抽出を行った。2,500 rpm で 30 分間の遠心分離を行った後、水相から 15 mL を分取したものを水抽出液とした。残りの土壌試料 (水相約 10 mL + 土壌 5 g) に、さらに 30 mL のアセトンを加えて、室温で 20 分間の振とう抽出を行った。2,500 rpm で 10 分間の遠心分離を行い、上澄み液を回収した。この操作をさらに 2 回繰り返して上澄み液を合わせた。抽出液はエバポレーターによって 15 mL 以下となるま

で濃縮した。

## 2.2.8 土壌抽出液の分析操作

土壌の水抽出液およびアセトン抽出後の濃縮液の精製は、農薬のグループごとに異なる方法で行った。グループ A の農薬については、15 mL の水抽出液またはアセトン抽出後の濃縮液をケイソウ土カラムに流下し、10 分間静置後、150 mL のジクロロメタンで溶出した。転溶液はロータリーエバポレーターにより濃縮し、窒素気流下で乾固後、2 mL のアセトニトリル/トルエン (3 : 1, v/v) で乾固物を再溶解し、PSA カラム (500 mg, Supelco) へ流下した。10 mL のアセトニトリル/トルエン (3 : 1, v/v) で溶出し、溶出液はロータリーエバポレーターにより濃縮後、窒素気流下で乾固した。5 mL のアセトニトリル/水 (1 : 9, v/v) で乾固物を再溶解し、LC-MS/MS で測定した (Table 3 および 4)。グループ B の農薬については、15 mL の水抽出液または 15 mL 以下まで濃縮したアセトン抽出液を使用して、「2.2.5 作物試料の分析操作」と同様の方法で行った。

水抽出濃度 [ $C_W$ ,  $\mu\text{g/g}$ -乾土重量 (DW)] および全抽出濃度 ( $C_T$ ,  $\mu\text{g/g}$ -DW) は、それぞれ下記の式-1 および式-2 により算出した。

$$C_W = C_{\text{aq}}(V_{\text{add}} + V_{\text{sw}})/M_{\text{soil}} \quad (1)$$

$$C_T = (C_{\text{aq}} \cdot V_{\text{aliqu}} + m_E)/M_{\text{soil}} \quad (2)$$

ここで、 $C_{\text{aq}}$  は水抽出液における農薬濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )、 $V_{\text{add}}$  は添加した蒸留水の量 (mL)、 $V_{\text{sw}}$  は土壌水分量 (mL)、 $M_{\text{soil}}$  は乾土重量 (g)、 $V_{\text{aliqu}}$  は分取した水抽出液の量 (mL)、 $m_E$  はアセトン抽出された農薬量 ( $\mu\text{g}$ ) である。

$C_W$  および  $C_T$  の減衰プロセスは、一次反応モデルである SFO モデル (single first-order; 式-3) を用いて表現した (FOCUS 2006)。

$$C(t) = C_0 e^{-kt} \quad (3)$$

ここで、 $C(t)$  は  $t$  日後の  $C_W$  もしくは  $C_T$ 、 $C_0$  は  $C_W$  もしくは  $C_T$  の理論初期濃度、 $k$  は一次反

応速度定数 (1/day) である。また、半減期 [DT<sub>50</sub>(day)] は下記の式-4 より算出した (FOCUS 2006)。

$$DT_{50} = \ln 2 / k. \quad (4)$$

### 2.2.9 添加回収試験

分析法の妥当性は添加回収試験により確認した。コマツナ茎葉部の磨砕物 (10 g) および蒸留水 (15 mL) に対して、それぞれ 3 ng/g および 1 ng/mL の濃度となるようにグループ A もしくは B の農薬標準溶液を添加した。各土壌 (5 g) に対しては、グループ A が 5 ng/g, グループ B が 3 ng/g となるように農薬標準溶液を添加した。前述の分析操作に従って 5 連で実施 (グループ A の水試料および土壌試料については 4 連で実施) した結果、回収率は 73.3–113.0%, 変動係数 (CV) は 14.4%以下であった。

分析法の定量下限値 (LOQs) は, JIS K 0312 (日本工業規格 1999) に従って添加回収試験より得られた標準偏差に基づいて算出した。コマツナ茎葉部, 蒸留水および各土壌から求めた LOQs は, それぞれ 0.94–2.09 ng/g, 0.16–1.29 ng/mL および 0.57–3.16 ng/g の範囲を示した。

### 2.2.10 統計解析

線形回帰分析および分散分析 (ANOVA) を含む統計解析は, Microsoft Excel 2010 および SPSS Statistics 19 (IBM Corporation, Armonk, USA) を用いて行った。

## 2.3 試験結果および考察

### 2.3.1 土壌中の農薬濃度とコマツナ茎葉部の農薬濃度の関係

コマツナの生育は4種の土壌において概ね良好であり、収穫したコマツナ茎葉部の重量は59.7–87.8 g/potであった。Fig. 3にSAP(農薬散布から播種までの期間)を7日間に設定した場合のコマツナ茎葉部の農薬濃度を示した。コマツナ茎葉部の農薬濃度(コマツナ中濃度)は土壌種に依存して異なる値を示し、土壌間のCVは17.6(メタラキシル)–123.5%(チアクロプリド)であった。コマツナ中濃度の変動を土壌中の農薬濃度に基づいて解析するため、両者の相関関係を確認した。土壌中濃度として、コマツナ栽培期間中の平均濃度(栽培期間における農薬濃度の積分値を栽培日数で除して算出)を用いて回帰分析を行った。土壌中濃度がゼロの場合は、理論上コマツナ中濃度もゼロとなることから、データポイントに原点を加えて回帰式を作成した。この結果、コマツナ中濃度は、全抽出濃度よりも水抽出濃度との間で高い相関を示した(Fig. 4および5)。イミダクロプリド、クロチアニジン、フルトラニルおよびテトラコナゾールの結果に着目すると、全抽出濃度は土壌種に関係なくほぼ一定の値を示したが(Fig. 4)、水抽出濃度では有機炭素含量が多く、土壌吸着の強い2つの黒ボク土PS3およびPS4で低い傾向を示し、これに伴いコマツナ中濃度も低下した(Fig. 5)。一方、メタラキシルおよびホスチアゼートにおいては全抽出濃度を用いた場合の決定係数が高い傾向にあった。これら2つの農薬についてはコマツナ中濃度の土壌間の変動が少ないことから(CV<30%)、回帰式が原点とその他のデータポイント群の実質2点間で引かれたため、決定係数が高くなったことが示唆された(Fig. 4)。以上を踏まえると、水抽出濃度は全抽出濃度よりもコマツナ中濃度のばらつきをよく表現しており、土壌中農薬の作物への可給性を評価する上で水抽出濃度に着目することが重要と考えられた。従って、後作物における農薬濃度の予測にあたって、土壌の水抽出法が従来の有機溶媒抽出法よりも優れた手法であることが明らかとなった。

コマツナ中濃度と水抽出濃度の関係について、全供試農薬のデータを同一の散布図上に一斉にプロットして確認した結果、両者の相関は低い傾向を示した(Fig. 6)。相関が低かった要因として、コマツナ茎葉部への移行性が農薬の種類によって異なっていることが推察されたため、コマツナ中濃度を水抽出濃度で除して算出した生物濃縮係数(BCF<sub>w</sub>)を用いて移行性の違いを検討した。各農薬について求めたBCF<sub>w</sub>の土壌間の平均値は、0.03(フル

トラニル)–2.14(テトラコナゾール) の範囲を示し、特にメタラキシル、ホスチアゼートおよびフルトラニルの3農薬の値が低かった (Fig. 7). 一般に、植物による有機化学物質の取り込みは、化学物質の疎水性によって影響を受けることが報告されている. Briggs ら (1982) は種々の化学修飾を施した *O*-メチルカルバモイルオキシムおよびフェニルウレア類を水耕条件下でオオムギ幼植物に吸収させたところ、水耕液から茎葉部への移行性を表す係数 TSCF (Transpiration Stream Concentration Factor; 蒸散流中の化学物質濃度を水耕液中の濃度で除して算出) は、化学物質の親水性・疎水性の指標である  $\log P_{ow}$  と相関を示し、縦軸に TSCF, 横軸に  $\log P_{ow}$  をとってグラフを描くと、 $\log P_{ow}$  が 1.8 付近を極大とする釣り鐘型の曲線に従うことを示している. また、近年 Dettenmier ら (2009) は大豆およびトマトを対象として、25 種類の非解離性有機化学物質の TSCF を調査しており、縦軸に TSCF, 横軸に  $\log P_{ow}$  をとって描いた曲線は、右肩下がりのシグモイド型であったことを報告している. 一方、本結果の  $BCF_w$  は  $\log P_{ow}$  が 1.8 付近のホスチアゼートおよびメタラキシルで小さい傾向を示し、供試農薬の中でも高い  $\log P_{ow}$  を有するテトラコナゾールの  $BCF_w$  が最も大きい値を示した (Table 2 および Fig. 7). 従って Briggs らおよび Dettenmier らのいずれの報告とも異なる結果であった.  $BCF_w$  は TSCF とは異なり、植物の蒸散流量による補正は行っていない. しかし、本試験ではコマツナの栽培を、全ての供試農薬を混和した土壌で行っている. すなわち、同一の植物体における農薬の移行量を比較・検討しているため、植物体間の蒸散流量の違いは実質上無視できる. そのため、縦軸に  $BCF_w$ , 横軸に  $\log P_{ow}$  をとって描いた曲線が、これまでに報告されている縦軸として TSCF を用いた場合の曲線と異なっている要因として、蒸散流量による補正の有無は関係ないものと考えられた. また、 $\log P_{ow}$  が同程度 ( $\log P_{ow}=3.17-3.56$ ) のフルトラニル、プロシミドンおよびテトラコナゾールの  $BCF_w$  に着目すると、フルトラニルの  $BCF_w$  は供試農薬の中で最も小さい値を示したが、プロシミドンとテトラコナゾールの  $BCF_w$  は相対的に大きい値を示していた (Fig. 7). 従って、 $BCF_w$  の農薬間の変動に関して、 $\log P_{ow}$  に依存した茎葉部への移行性の違いが直接的な要因ではないことが示唆された. 一方、植物体内に取り込まれた農薬は代謝により経時的に分解されるため、各農薬の代謝分解速度を考慮することは植物体中濃度の変動を解析する上で重要である. Fujisawa ら (2002) は非解離性農薬の植物への残留量予測モデルを開発しており、パラメータとして植物体内における農薬の分解速度定数を導入することで予測値に大きな改善が見られたことを報告している. 本試験ではコマツナにおける農薬の分



解速度定数を求めていないため、これ以上の議論はできない。農薬の作物残留量の変動を作物体内における代謝分解の観点から解析・検討することは今後の課題といえる。以上のことから、現段階では水抽出濃度とコマツナ中濃度の回帰式は、個別の農薬について作成する必要があると考えられた。

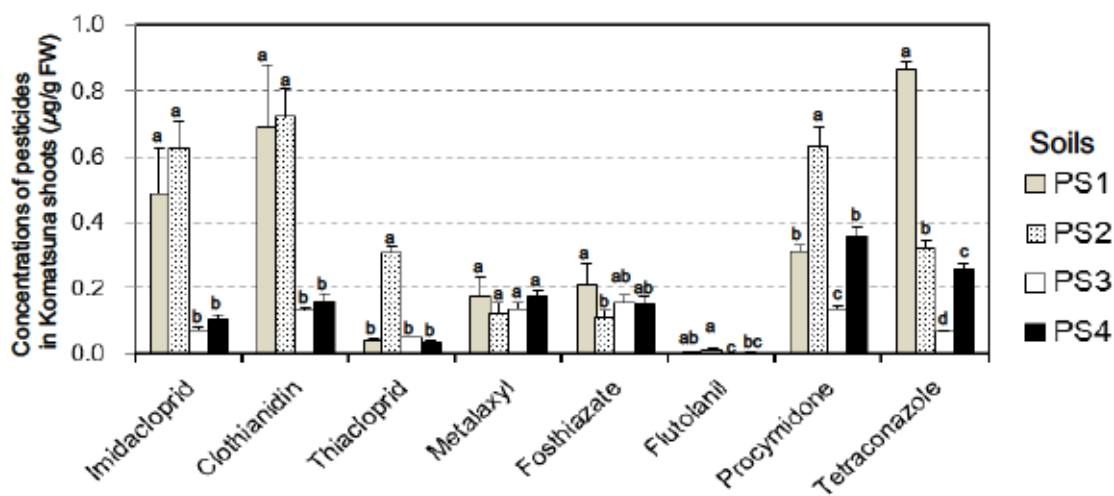


Fig. 3. Pesticide concentrations in Komatsuna shoots grown in soils with a 7-day soil-aging period. Columns with the same letter are not significantly different at  $p < 0.05$ , according to ANOVA-protected Tukey's multiple range testing. Error bars indicate standard deviations ( $n=4$ ).

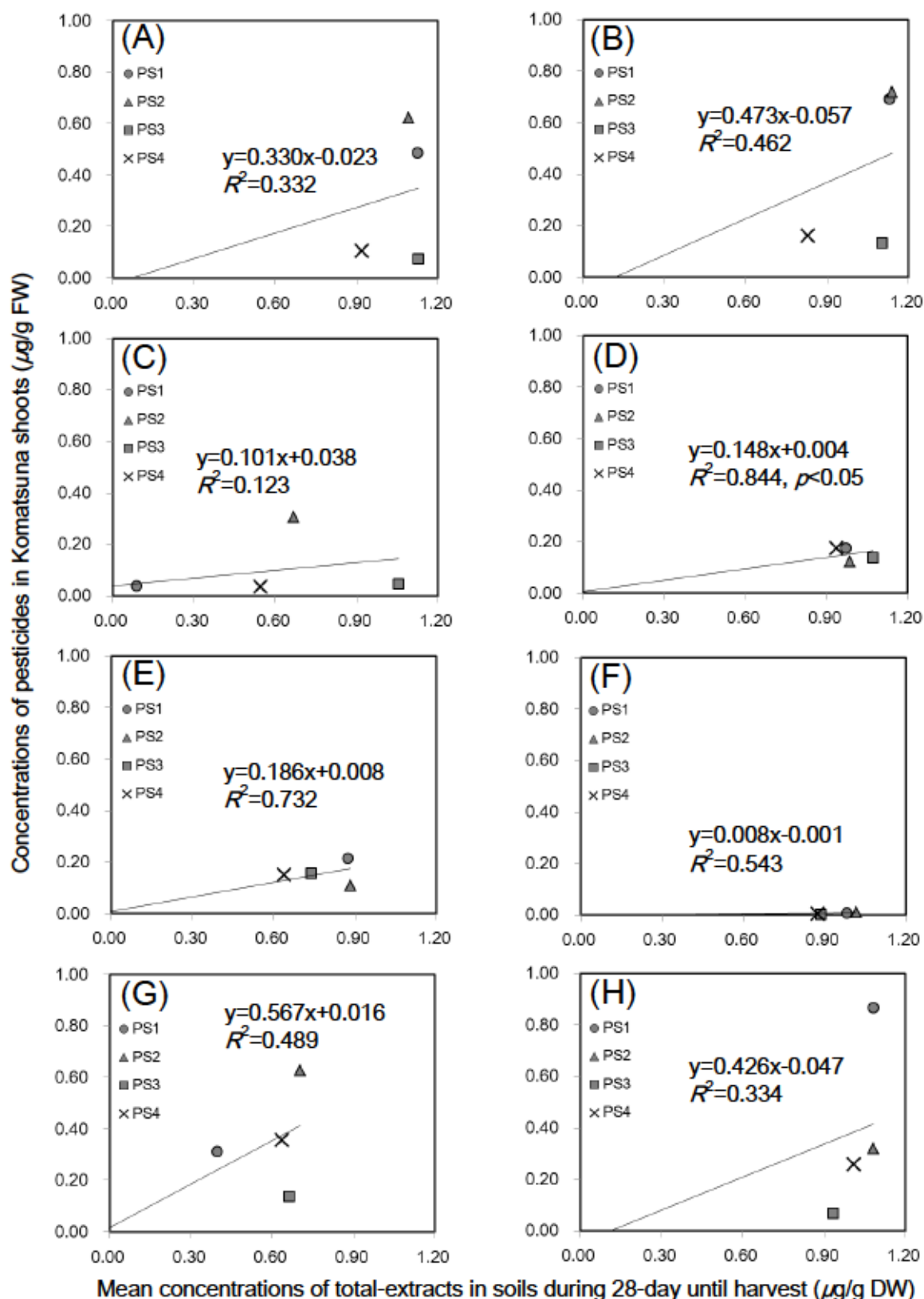


Fig. 4. Linear regression analysis between pesticide concentrations in Komatsuna shoots cultivated in four soils with a 7-day soil-aging period and mean concentrations of total-extracts in soils during a 28-day period until harvest, *i.e.*, the period between sowing and harvest, *i.e.*, the period between sowing and harvest. (A) imidacloprid, (B) clothianidin, (C) thiacloprid, (D) metalaxyl, (E) fosthiazate, (F) flutolanil, (G) procymidone, (H) tetraconazole. Regression line was calculated using data containing the point (0, 0), *i.e.*,  $n=5$ . FW, fresh weight; DW=dry weight.

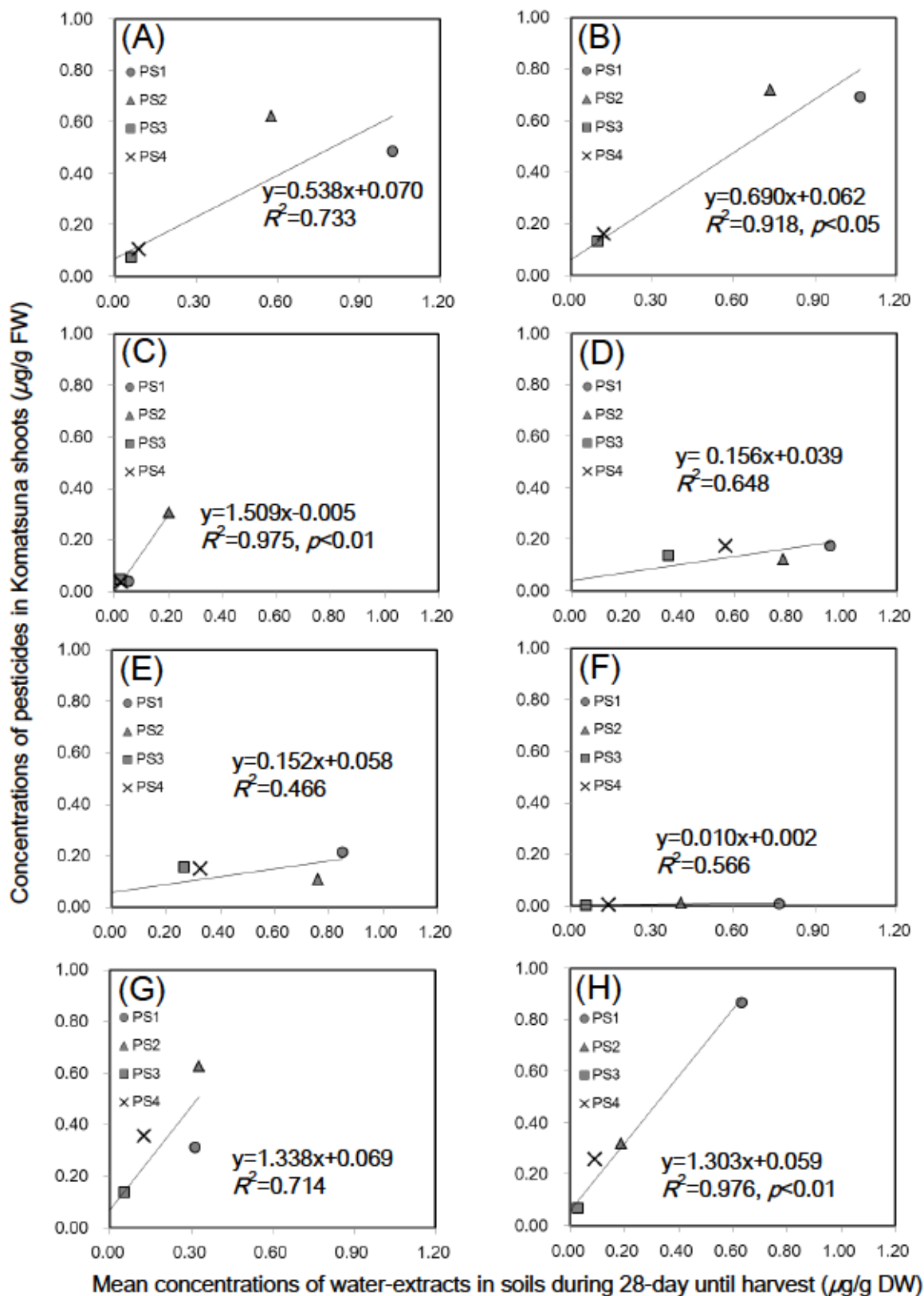


Fig. 5. Linear regression analysis between pesticide concentrations in Komatsuna shoots cultivated in four soils with a 7-day soil-aging period and mean concentrations of water-extracts in soils during a 28-day period until harvest, *i.e.*, the period between sowing and harvest. (A) imidacloprid, (B) clothianidin, (C) thiacloprid, (D) metalaxyl, (E) fosthiazate, (F) flutolanil, (G) procymidone, (H) tetraconazole. Regression line was calculated using data containing the point (0, 0), *i.e.*,  $n=5$ . FW, fresh weight; DW, dry weight.

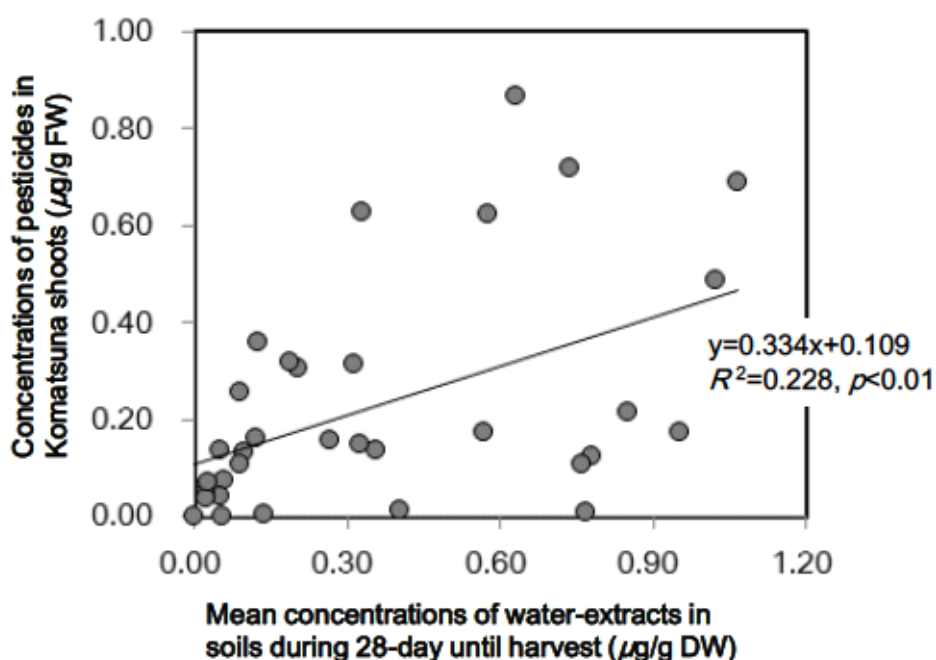


Fig. 6. Linear regression analysis between pesticide concentrations in Komatsuna shoots cultivated in four soils with a 7-day soil-aging period and the mean concentrations of water extracts in soils during a 28-day period until harvest, *i.e.*, the period between sowing and harvest. The regression line was calculated using data containing the point (0, 0), *i.e.*,  $n=33$ .

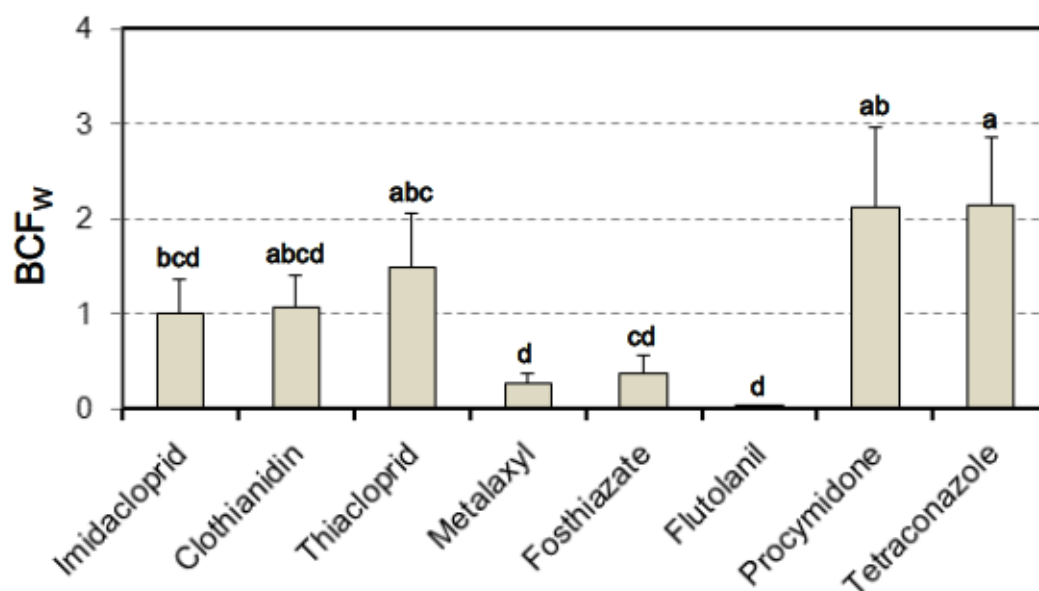


Fig. 7. Comparison of the bioconcentration factor ( $BCF_w$ ), which was calculated by dividing the concentrations in Komatsuna shoots by the mean concentrations of water extracts in soil during a 28-day period until harvest, *i.e.*, the period between sowing and harvest. Columns with the same letter are not significantly different at  $p<0.05$ , according to ANOVA-protected Tukey's multiple range testing. Error bars indicate standard deviations ( $n=4$ ).

### 2.3.2 土壌の水抽出法の土壌診断技術への適用可能性

土壌診断，すなわち土壌中の農薬残留量を測定することで，当該圃場における後作物の作付けの適否を事前に判断する場合，作付け前の土壌を用いて後作物中濃度を推定することが必要である．Table 7には，水抽出濃度としてコマツナ栽培期間中の平均値，さらに播種日および収穫日の測定値を用いた場合のコマツナ中濃度との相関関係を示した．チアクロプリドとプロシミドンを除く多くの供試農薬については，いずれの水抽出濃度を用いた場合でも  $R^2$  (決定係数) に差は見られなかった．従って，これらの農薬については，播種前の圃場から土壌を採取し，水抽出濃度を測定することで，後作物中の農薬濃度の推定および作付け適否の判断が可能であると考えられた．しかし，チアクロプリドとプロシミドンについては播種日の水抽出濃度を用いた場合の決定係数が低く，収穫日の測定値および栽培期間中の平均値を用いて算出した決定係数が高い傾向にあった．

プロシミドンの水抽出濃度に着目すると，コマツナの播種日（農薬の処理後7日目）の値は，PS1 > PS2 > PS4 > PS3 の順であったが，収穫日（農薬の処理後35日目）においてはPS2 > PS1 > PS4 > PS3 の順となった．PS1では他の土壌よりもプロシミドンの減衰が速く，収穫日における濃度がPS2の値を下回った．プロシミドンについてコマツナ中濃度と水抽出濃度の関係を散布図上にプロットすると，特にPS1の水抽出濃度が播種日 > 栽培期間中平均 > 収穫日の順で小さい値を示し，これに伴いコマツナ中濃度との相関が高くなる傾向が認められた (Fig. 8)．すなわち，水抽出濃度として収穫日の値を用いた場合に，コマツナ中濃度との相関が最も高くなることが明らかとなった．また，同様の傾向はチアクロプリドにおいても確認された．

以上より，農薬の減衰速度が調査対象の土壌間で顕著に異なる場合，水抽出濃度から後作物中の農薬濃度を推定するためには，各土壌における水抽出濃度の減衰速度を明らかにし，作物の収穫期における値を予測する必要があると考えられた．

Table 7. Linear regression analysis<sup>a)</sup> between pesticide concentrations in Komatsuna shoots cultivated on soils with a 7-day SAP<sup>b)</sup> and extractable concentrations in four soils

Compound	No. soils	$R^2$					
		Water-extracts			Total-extracts		
		Mean conc. <sup>c)</sup>	Conc. at sowing	Conc. at harvest	Mean conc. <sup>c)</sup>	Conc. at sowing	Conc. at harvest
Imidacloprid	4	0.733	0.740	0.662	0.332	0.330	0.412
Clothianidin	4	0.918*	0.936**	0.868*	0.462	0.499	0.490
Thiacloprid	4	0.975**	0.103	0.994**	0.123	0.170	0.062
Metalaxyl	4	0.648	0.787*	0.670	0.844*	0.961**	0.852
Fosthiazate	4	0.466	0.681	0.448	0.732	0.891*	0.750
Flutolanil	4	0.566	0.691	0.481	0.543	0.511	0.511
Procymidone	4	0.714	0.492	0.918*	0.489	0.551	0.359
Tetraconazole	4	0.976**	0.985**	0.967**	0.334	0.328	0.289

\* Significant at  $p < 0.05$ ; \*\* significant at  $p < 0.01$ .

<sup>a)</sup> Regression lines were calculated using data containing the point (0, 0), *i.e.*,  $n=5$ .

<sup>b)</sup> Soil-aging period (SAP) between application of pesticides and sowing.

<sup>c)</sup> Mean values during the period between sowing and harvest.

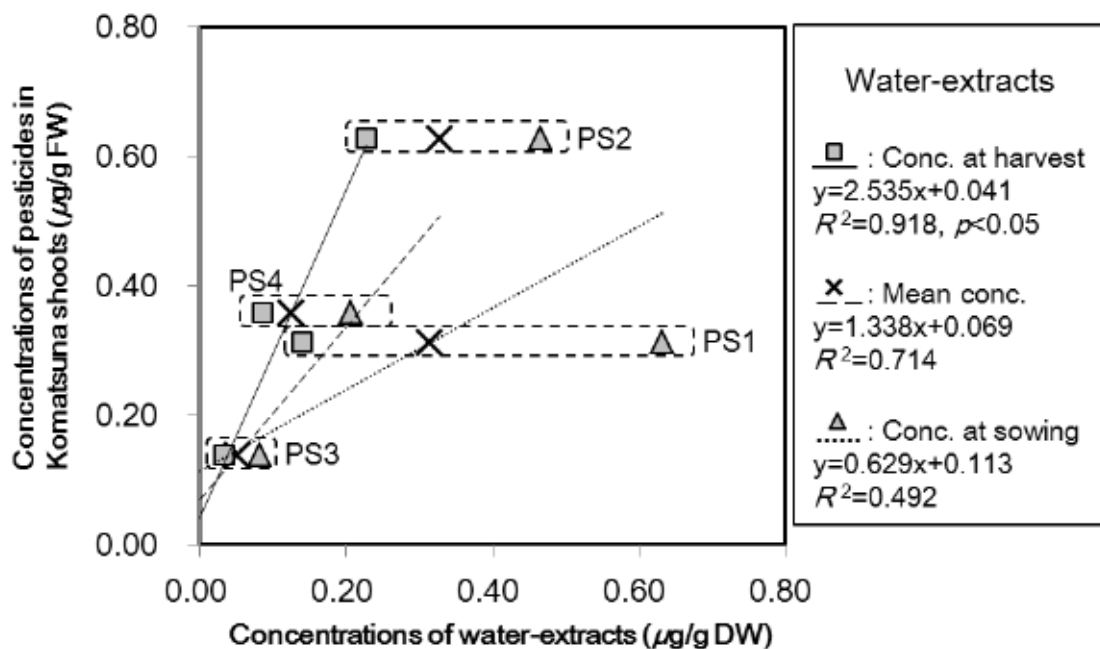


Fig. 8. Linear regression analysis between the concentrations of procymidone in Komatsuna shoots cultivated on soils with a 7-day soil aging period and water-extractable concentrations in four soils. Mean conc. means "Mean values during the period between sowing and harvest." The regression line was calculated using data containing the point (0, 0), i.e.,  $n=5$ .

### 2.3.3 土壌エイジング期間がコマツナ茎葉部の農薬濃度に及ぼす影響

土壌 PS2 および PS3 について、SAP (農薬の処理から播種までの期間) として 7 日間、35 日間および 63 日間を設定した場合のコマツナ中濃度の変動を調査した (Fig. 9). コマツナ中濃度は SAP が長くなるほど低い値を示し、SAP が 7 日間のコマツナ中濃度に対する 63 日間のコマツナ中濃度の比率は、PS2 で 29–90% (平均値で 50%), PS3 で 12–69% (平均値で 51%) であった。Hashimoto ら (2007) は、土壌に活性炭フロアブルを施用した場合のキュウリにおけるディルドリン濃度の低減効果を調査しており、処理区におけるキュウリ果実中のディルドリン濃度は、無処理区に対して 42–64% であったことを報告している。本調査結果と比較すると作物における低減効果は同程度であることから、現在登録があり、土壌中での分解が比較的速やかな農薬については、コストをかけて活性炭等の吸着資材を導入しなくても、適切な PBI を設けることで農薬の後作物残留を回避することが可能と考えられた。また、本試験ではポリポットを使用し、土壌の湿潤は底面給水により行ったことから、農薬の減衰に下方移行による溶脱は寄与していない。しかし、実圃場では降雨や灌水によって農薬の地下浸透および地表面流出等が起こることから、農薬の減衰速度は本試験よりも速くなることが推察される (Müller et al. 2007)。従って、SAP 設定による作物中濃度の低減効果は実圃場においてはさらに大きくなることが期待される。

土壌 PS2 および PS3 について土壌中の農薬濃度を Table 8 に示す。コマツナ中濃度と同様に、土壌中の農薬濃度について農薬の処理後 7 日目の濃度に対する 63 日目の濃度の比率を求めるところ、水抽出濃度から算出した比率は、PS2 で 12–84% (平均値で 52%), PS3 で 17–69% (平均値で 43%) であり、各土壌の平均値はコマツナ中濃度の比率と同等の値を示した。しかし、全抽出濃度から算出した比率は、PS2 で 27–108% (平均値で 80%), PS3 で 37–119% (平均値で 90%) を示し、コマツナ中濃度および水抽出濃度と比較してその比率が高く、土壌エイジングによる低減効果が小さいことが明らかとなった。農薬の処理後 7 日目から 91 日目までのデータを用いて算出した  $DT_{50}$  について水抽出濃度と全抽出濃度を比較すると、両土壌とも全体的に水抽出濃度の値が小さいことが確認された (Fig. 10)。水抽出濃度の減衰が速かった要因として、アセトン抽出画分 (土壌粒子へ強固に吸着した画分) よりも水抽出画分の方が微生物分解されやすい、すなわちバイオアベイラビリティが高いことが推察された。しかし、PS2 におけるイミダクロプリドの結果に着目すると、水抽出濃度の減衰は確認されたが、全抽出濃度の減衰がほとんど見られず、試験期間中の物質収支はほ



ば一定であった。このため、微生物分解の寄与は小さいと考えられた。一方、土壌吸着した農薬量を表すアセトン抽出画分は、農薬の処理後 35 日目まで経時的に増加していることが確認された (Fig. 11)。土壌吸着の経時変化については、イミダクロプリド (Cox et al. 1998; Oi 1999)、ニコスルフロン (Regitano and Koskinen 2008) およびシマジン (Regitano et al. 2006) といった様々な農薬で報告があり、 $K_d$  が経時的に増加することが確認されている。このため、水抽出濃度の減衰要因の一つとして、土壌吸着の経時変化が寄与していることが示唆された。

SAP として 7 日間、35 日間および 63 日間を設定することにより減衰した土壌中濃度とコマツナ中濃度の相関関係を確認したところ、「2.3.1 土壌中の農薬濃度とコマツナ茎葉部の農薬濃度の関係」で得られた結果と同様に全抽出濃度よりも水抽出濃度を用いた場合の  $R^2$  が高かった (Table 9)。

以上より、調査対象の圃場において水抽出濃度の減衰速度を明らかにし、収穫期の水抽出濃度を推定することで、当該推定値に基づく適切な PBI の設定、延いては農薬が残留基準値を超えて後作物から検出されるのを未然に防止できる可能性が示された。

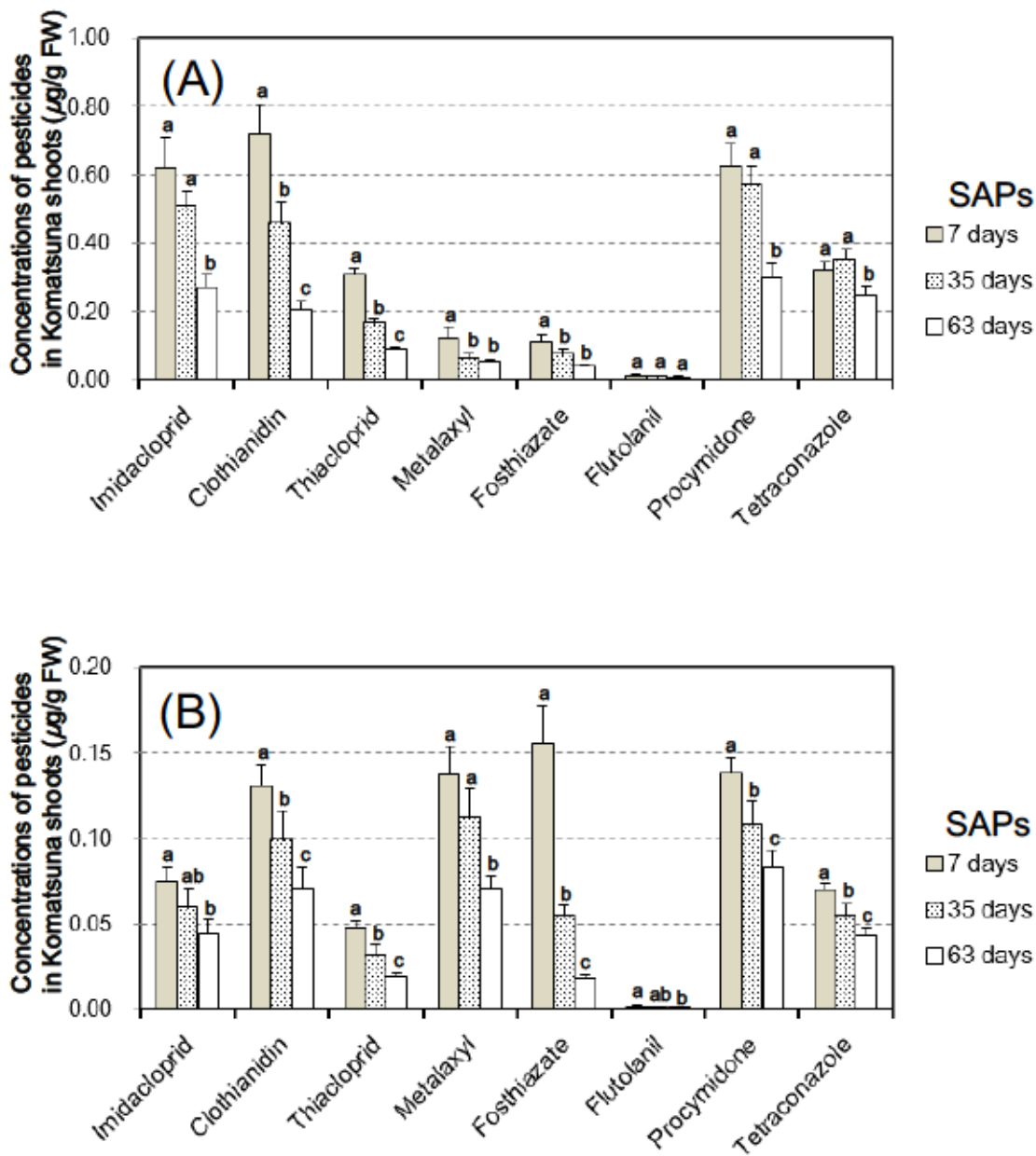


Fig. 9. Effect of soil-aging periods (SAPs) on residue concentrations of pesticides in Komatsuna shoots cultivated in soils PS2 (A) and PS3 (B). Columns with the same letter are not significantly different at  $p < 0.05$ , according to ANOVA-protected Tukey's multiple range testing. Error bars indicate standard deviations ( $n=4$ ).

Table 8. Concentrations of extractable pesticides in soils PS2 and PS3

Soil	Compound	Concentration ( $\mu\text{g/g DW}$ ) <sup>a)</sup>					
		7 <sup>b)</sup>	14 <sup>b)</sup>	21 <sup>b)</sup>	35 <sup>b)</sup>	63 <sup>b)</sup>	91 <sup>b)</sup>
PS2	Water-extracts						
	Imidacloprid	0.647	0.638	0.541	0.507	0.451	0.434
	Clothianidin	0.834	0.833	0.634	0.652	0.636	0.565
	Thiacloprid	0.400	0.284	0.174	0.097	0.048	0.019
	Metalaxyl	0.957	1.017	0.666	0.474	0.800	0.594
	Fosthiazate	0.952	0.985	0.715	0.477	0.486	0.244
	Flutolanil	0.591	0.460	0.353	0.274	0.261	0.224
	Procymidone	0.465	0.379	0.297	0.227	0.181	0.144
	Tetraconazole	0.281	0.211	0.159	0.126	0.117	0.102
	Total-extracts						
	Imidacloprid	1.036	1.074	1.132	1.194	1.021	1.009
	Clothianidin	1.061	1.170	1.118	1.239	1.143	0.973
	Thiacloprid	0.932	0.734	0.683	0.507	0.256	0.134
	Metalaxyl	1.005	1.210	0.941	0.736	1.053	0.809
	Fosthiazate	0.944	1.081	0.890	0.689	0.603	0.330
	Flutolanil	1.107	1.035	0.959	0.984	0.906	0.919
Procymidone	0.797	0.740	0.657	0.655	0.531	0.505	
Tetraconazole	1.149	1.073	1.040	1.099	0.981	1.056	
PS3	Water-extracts						
	Imidacloprid	0.073	0.064	0.055	0.051	0.045	0.033
	Clothianidin	0.112	0.107	0.087	0.083	0.077	0.067
	Thiacloprid	0.029	0.026	0.021	0.017	0.011	0.006
	Metalaxyl	0.500	0.410	0.284	0.267	0.251	0.188
	Fosthiazate	0.481	0.359	0.223	0.139	0.082	0.039
	Flutolanil	0.094	0.064	0.042	0.033	0.029	0.024
	Procymidone	0.081	0.058	0.043	0.033	0.029	0.024
	Tetraconazole	0.045	0.035	0.017	0.017	0.017	0.013
	Total-extracts						
	Imidacloprid	1.073	1.178	1.128	1.148	1.093	0.928
	Clothianidin	1.002	1.158	1.077	1.171	1.187	0.905
	Thiacloprid	1.057	1.120	1.068	1.027	0.826	0.549
	Metalaxyl	1.009	1.141	1.045	1.109	1.058	0.903
	Fosthiazate	0.907	0.899	0.705	0.599	0.335	0.197
	Flutolanil	0.983	0.889	0.768	0.892	0.902	0.881
Procymidone	0.716	0.675	0.584	0.661	0.675	0.647	
Tetraconazole	1.006	0.938	0.847	0.937	0.938	0.905	

<sup>a)</sup> Mean values ( $n=3$ ). <sup>b)</sup> Days after application of pesticide to soil.

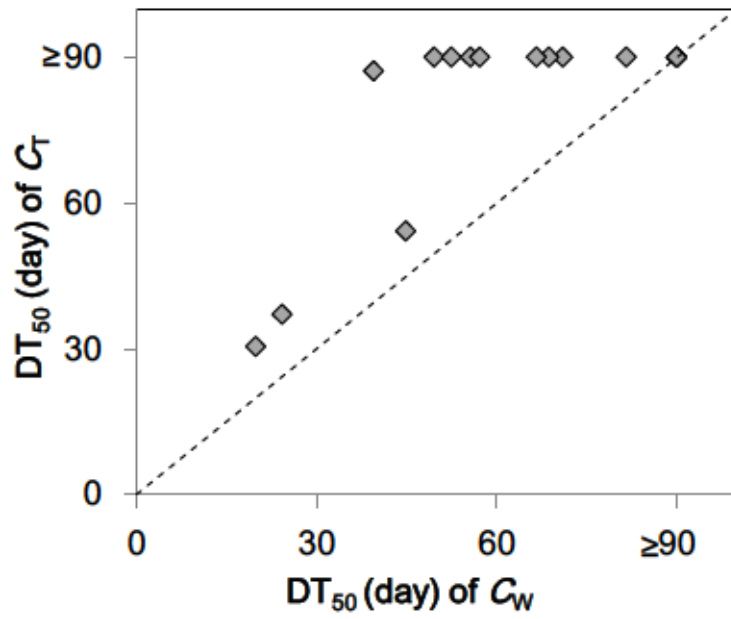


Fig. 10. Comparison of  $DT_{50}$  values between water extracts ( $C_w$ ) and total extracts ( $C_t$ ) from soils PS2 and PS3. The dashed line shows the 1:1 line.

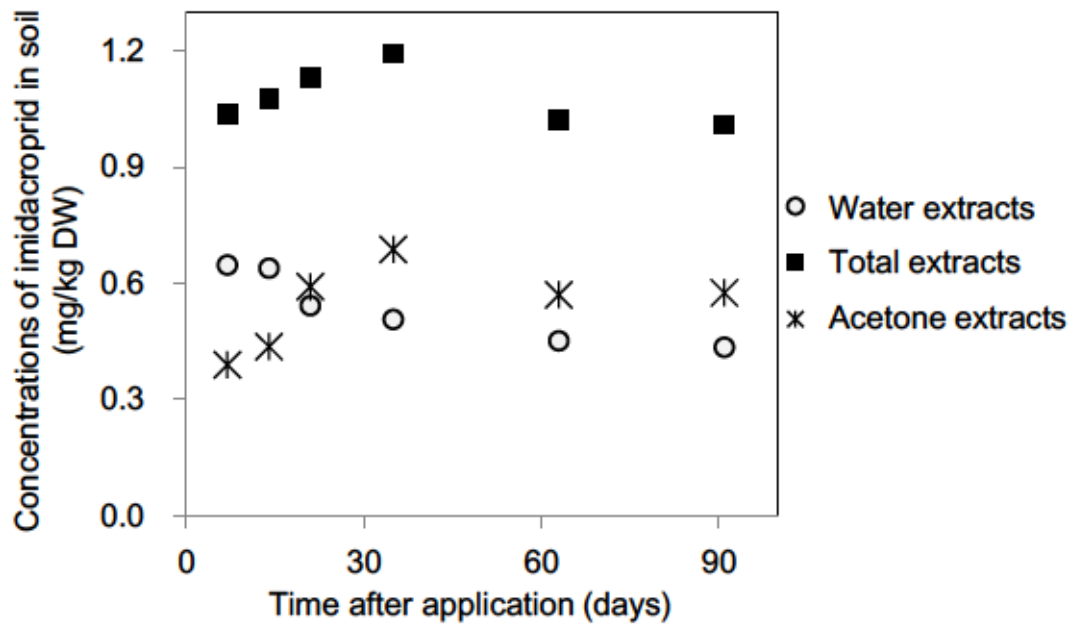


Fig. 11. Time dependent changes of the concentrations of imidacloprid in soil PS2.

Table 9. Linear regression analysis<sup>a)</sup> between pesticide concentrations in Komatsuna shoots cultivated in soils with three different SAPs<sup>b)</sup> and extractable concentrations in soils PS2 and PS3

Compound	No. soils	$R^2$					
		Water-extracts			Total-extracts		
		Mean conc. <sup>c)</sup>	Conc. at sowing	Conc. at harvest	Mean conc. <sup>c)</sup>	Conc. at sowing	Conc. at harvest
Imidacloprid	2	0.922**	0.938**	0.882**	0.172	0.151	0.212
Clothianidin	2	0.781**	0.802**	0.736*	0.227	0.150	0.285
Thiacloprid	2	0.963**	0.908**	0.988**	0.003	0.045	0.004
Metalaxyl	2	0.149	0.239	0.022	0.686*	0.585*	0.545
Fosthiazate	2	0.339	0.476	0.204	0.787**	0.799**	0.756*
Flutolanil	2	0.936**	0.807**	0.988**	0.306	0.293	0.260
Procymidone	2	0.964**	0.868**	0.956**	0.207	0.270	0.120
Tetraconazole	2	0.931**	0.726*	0.977**	0.379	0.371	0.343

\* Significant at  $p < 0.05$ ; \*\* significant at  $p < 0.01$ .

<sup>a)</sup> Regression lines were calculated using data containing the point (0, 0), *i.e.*,  $n=7$ .

<sup>b)</sup> Soil-aging period (SAP) between application of pesticides and sowing. SAPs were set to 7 days, 35 days, and 63 days.

<sup>c)</sup> Mean values during the period between sowing and harvest.

## 第3章 時間依存的な土壌吸着係数を用いた可給態農薬の消長の推定法の検討

### 3.1 緒言

第2章で述べたように、土壌を経由して作物中に吸収・移行された農薬の濃度は、土壌から有機溶媒で抽出された農薬の濃度よりも水で抽出された農薬の濃度（水抽出濃度）との間で高い正の相関を示す傾向にあった。このため、水抽出濃度は土壌中の可給態農薬の濃度を良く表現していることが示された。また、農薬の種類によっては作物中濃度と水抽出濃度の相関は、作物の播種時よりも収穫時の水抽出濃度を用いた場合の方が高い傾向にあり、土壌中濃度を指標として後作物における残留濃度を予測するためには、作物収穫期における水抽出濃度を推定することが重要と考えられた。さらに、農薬の処理から播種までの期間が長いほど水中抽出濃度が低下し、それに応じて作物中の農薬濃度も低下する傾向が認められた。従って、適切なPBIを設定する上でも水抽出濃度の減衰特性を解析し、その減衰速度を推定することが求められる。土壌における農薬の減衰特性についてはこれまでに多くの知見が集積されており、微生物分解、加水分解、土壌表面における光分解、土壌吸着、揮発、さらに降雨や灌水による下方への浸透移行、地表面流出など様々な要因が関係することが報告されている (Müller et al. 2007)。しかし、これらの研究の多くは土壌から有機溶媒抽出された農薬について調査されたものであり、水抽出濃度の消失特性を解析した事例は極めて少ない。

一方、土壌から水によって抽出される農薬の割合は、土壌相と水相間における農薬の分配比に応じて変化する。そのため、水抽出濃度は、有機溶媒抽出された土壌中の農薬濃度を土壌相と水相間の分配を示す $K_d$ で補正することにより、推定値を算出することが可能である。従って、農薬の登録申請時には土壌残留試験および土壌吸着試験の実施が求められているが、それぞれの試験より求められた有機溶媒抽出濃度の減衰曲線および $K_d$ は、水抽出濃度の減衰を推測する上で重要な知見となりえる。土壌吸着試験は、通常、経済開発協力機構 (OECD) のテストガイドラインに準拠して実施されており、試験結果の $K_d$ は、農薬を添加してから概ね24時間後の水相と土壌相の間の分配を示している (OECD 2000)。しかし、 $K_d$ の経時変化を日単位あるいは月単位で見ると、時間の経過とともに高くなること

が多くの論文で報告されている (Walker 1987; Beigel et al. 1997; Cox et al. 1998; Oi 1999; Roy et al. 2000; Koskinen et al. 2001; Laabs and Amelung 2005; Regitano et al. 2006; Louchart and Voltz 2007; Regitano and Koskinen 2008). 従って,  $K_d$  の経時変化を考慮しない場合には, 水抽出濃度, すなわち可給態農薬濃度を過大に推算してしまう可能性がある.

第2章の結果は, 水抽出濃度が有機溶媒抽出濃度よりも減衰が速く, その  $DT_{50}$  が短いことを示していた. しかし, 当該試験では, 農薬の処理直後の土壌試料は採取しておらず, 農薬の処理後7日目以降のデータを用いて  $DT_{50}$  を算定している. さらに, 試験区によっては試験期間が短く (28日間), 経時的なサンプリング回数も少ない. このため, 当該試験結果から水抽出濃度の減衰曲線を求め, その特性を精緻に解析することは困難であった. 本章では新たに容器内における土壌残留試験を実施し, (1) 物理化学性と分子構造が異なる27種の農薬 (殺虫剤: 15種, 殺菌剤: 12種) について5種の日本土壌における減衰特性を検討するとともに, (2) 水抽出濃度の減衰に影響を及ぼす  $K_d$  の経時変化について解析を行った. さらに, (1)および(2)で得られた知見に基づいて水抽出濃度を推定する手法を開発し, その有効性を圃場試験によって検証した.

## 3.2 試験方法

### 3.2.1 供試土壌の概要

室内試験では「2.2.1 供試土壌の概要」に記載した4種の土壌に加えて、さらに1種の日本土壌 (LS1: 砂丘未熟土) を使用した (Table 10). 理化学性の分析および土壌群の分類等は2.2.1の方法に従った. 野外試験は、農業環境技術研究所 (現 農業・食品産業技術総合研究機構農業環境変動研究センター, 茨城県つくば市) 敷地内の圃場 (FS: 黒ボク土) で行った.

Table 10. Properties of test soils

Soil	Classification	Texture	OC <sup>a)</sup> (%)	CEC <sup>b)</sup> (cmol(+) kg <sup>-1</sup> )	Clay (%)	pH (H <sub>2</sub> O)	EC <sup>c)</sup> (mS cm <sup>-1</sup> )
LS1	Sand-dune Regosol	sand	0.06	3.4	2.4	7.5	0.04
LS2 <sup>d)</sup>	Yellow soil	light clay	1.02	11.4	39.0	5.3	0.09
LS3 <sup>d)</sup>	Gray lowland soil	silty clay	1.46	18.2	25.3	5.8	0.17
LS4 <sup>d)</sup>	Andosol	loam	5.21	33.8	10.8	5.5	0.15
LS5 <sup>d)</sup>	Andosol	silty loam	8.65	35.4	1.8	5.8	0.05
FS	Andosol	silty loam	4.93	26.0	7.3	6.3	0.31

<sup>a)</sup> Organic carbon content. <sup>b)</sup> Cation exchange capacity. <sup>c)</sup> Electrical conductivity. <sup>d)</sup> Soils LS2, LS3, LS4, and LS5 correspond to Soils PS1, PS2, PS3 and PS4 in Table 1, respectively.

### 3.2.2 調査対象の化合物

疎水性 ( $\log P_{ow} = -0.549 - 4.84$ ) および分子構造が異なる15種の殺虫剤および12種の殺菌剤を調査対象とした (Table 11). 標準品の純度は97%以上で、Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Kanto Chemicals および Dr. Ehrenstorfer GmbH より購入した. 供試農薬は、分析の前処理法、測定に使用する装置の種類 (LC-MS/MS または GC-MS) を考慮し、3つのグループに分類し (Table 11), グループごとにアセトン標準溶液 (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  each) を調製した.



Table 11. Hydrophobicity and analytical groups of test compounds

Compound	CAS no.	Pesticide type <sup>a)</sup>	Substance group	log $P_{ow}$ <sup>b)</sup>	Analytical group <sup>c)</sup>	
					Lab test	Field test
dinotefuran	165252-70-0	I	neonicotinoid	-0.549	A	A
imidacloprid	138261-41-3	I	neonicotinoid	0.570	A	A
dimethoate	60-51-5	I	organophosphate	0.704	A	
clothianidin	210880-92-5	I	neonicotinoid	0.905	A	A
thiacloprid	111988-49-9	I	neonicotinoid	1.26	A	A
fosthiazate	98886-44-3	I	organophosphate	1.68	A	A
metalaxyl	57837-19-1	F	phenylamide	1.75	A	A
ethiprole	181587-01-9	I	phenylpyrazole	1.99	A	
azoxystrobin	131860-33-8	F	methoxyacrylate	2.50	C	
methidathion	950-37-8	I	organophosphate	2.57	A	
fenobucarb	3766-81-2	I	carbamate	2.78	B	C
boscalid	188425-85-6	F	pyridinecarboxamid	2.96	B	
flutolanil	66332-96-5	F	phenylbenzamide	3.17	B	C
procymidone	32809-16-8	F	dicarboximide	3.30	B	C
fenitrothion	122-14-5	I	organophosphate	3.32	C	
kresoxim-methyl	143390-89-0	F	oximinoacetate	3.40	B	
tetraconazole	112281-77-3	F	triazole	3.56	C	
chloroneb	2675-77-6	F	chlorophenyl	3.58	B	
diazinon	333-41-5	I	organophosphate	3.69	C	
propiconazole	60207-90-1	F	triazole	3.72	C	
fipronil	120068-37-3	I	phenylpyrazole	3.75	C	
cadusafos	95465-99-9	I	organophosphate	3.85	B	
diclocymet	139920-32-4	F	carboxamide	3.97	C	
trifloxystrobin	141517-21-7	F	oximinoacetate	4.50	B	
tolclofos-methyl	57018-04-9	F	organophosphate	4.56	C	C
tetradifon	116-29-0	I	bridged diphenyl	4.61	C	
fenthion	55-38-9	I	organophosphate	4.84	B	

<sup>a)</sup> Abbreviations: (I) insecticides; (F) fungicides. <sup>b)</sup> Octanol-water partition coefficient were obtained from the Pesticide Properties Database of IUPAC (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>) except for  $P_{ow}$  of diclocymet, which were obtained from The pesticide handbook (Pesticide Handbook Editorial Committee. 2011). <sup>c)</sup> The pesticides were divided into 3 analytical groups on the basis of the analytical methods.

### 3.2.3 容器内における農薬の土壌残留試験

乾土 8 g 相当の風乾土を 50 mL ガラス製遠沈管へ秤取し、最大容水量の 60%となるように土壌水分含量を調節した。25±2 °C の恒温槽 (暗所) で 10 日間のプレインキュベーションを行った。乾土あたり 1 µg/g となるようにグループごとに調製したアセトン標準溶液を 80 µL 添加し、スパチュラでよく混和した。遠沈管の口をアルミホイルで覆い、再び 25±2 °C の恒温槽でインキュベーションを行った。土壌水分の調節は、約 10 日おきに実施した。農薬の処理後 0, 2, 7, 14, 30, 60 および 120 日目にサンプルを回収し、逐次抽出に供した。

### 3.2.4 土壌の逐次抽出法

「2.2.7 土壌の逐次抽出法」と同様の方法で行った。ただし、水抽出時の固液比を 1:5 とするために、乾土 8 g 相当の土壌に対して 40 mL の蒸留水を用いて抽出した。また、水相が多いため、遠心分離後の試料から定量用の 15 mL の水相を分取後、さらに 20 mL の水相を分取・廃棄し、残りの試料 (水相約 5 mL+ 土壌 8 g) をアセトン抽出へ供した。

### 3.2.5 土壌抽出液の分析操作

土壌の水抽出液およびアセトン抽出後の濃縮液の精製は、農薬のグループごとに異なる 3 つの方法で行った。グループ A の農薬については、15 mL の水抽出液または 15 mL 以下まで濃縮したアセトン抽出液を用いて、「2.2.8 土壌抽出液の分析操作」と同様の方法で行った。

グループ B の農薬については、15 mL の水抽出液またはアセトン抽出後の濃縮液に対して内部標準物質 (フェンチオン-d6) を添加後、ケイソウ土カラム (InertSep K-solute 20 mL) に流下した。10 分間静置後、120 mL の n-ヘキサンで溶出した。転溶液はロータリーエバポレーターを用いて約 2 mL まで濃縮し、濃縮液を Accell CM カラム (500 mg; Waters, Milford, USA) へ流下した。10 mL のヘキサン/アセトン (9:1, v/v) で溶出し、溶出液はロータリーエバポレーターおよび窒素気流により約 200 µL まで濃縮し、濃縮液を GC-MS で測定した。

グループ C の農薬については、15 mL の水抽出液または 15 mL 以下まで濃縮したアセトン抽出液に対して内部標準物質 (ダイアジノン-d10) を添加後、ケイソウ土カラム (InertSep K-solute 20 mL) に流下した。10 分間静置後、120 mL のジクロロメタンで溶出し

た。転溶液はロータリーエバポレーターにより濃縮し、窒素気流下で乾固させた後、3 mL のヘキサン/アセトン (8 : 2, v/v) で乾固物を再溶解し、ENVI-Carb II/PSA カラムへ流下した。10 mL のヘキサン/アセトン (8 : 2, v/v) で溶出し、溶出液はロータリーエバポレーターおよび窒素気流により約 200  $\mu$ L まで濃縮し、濃縮液を GC-MS で測定した。

LC-MS/MS および GC-MS の測定は、それぞれ既述の Table 3 および Table 5 の条件で行った。また、LC-MS/MS および GC-MS の測定で用いた各農薬の定量イオンを、それぞれ Table 12 および 13 に示した。GC-MS による農薬の定量は、必要に応じて農薬標準溶液に無汚染試料の精製液を添加して作成したマトリックス検量線を用いて行った (Zrostliková et al. 2002)。

水抽出濃度 ( $C_w$ ,  $\mu$ g/g-DW) は式-1 に従って算出した。また、全抽出濃度 ( $C_T$ ,  $\mu$ g/g-DW) は式-2 の一部を改変した式-5 により算出した。

$$C_T = (C_{aq}(V_{aliqu} + V_{disc}) + m_E) / M_{soil} \quad (5)$$

ここで、 $V_{disc}$  は廃棄した水抽出液の量 (mL) である。

水抽出濃度および全抽出濃度の減衰プロセスは、式-3 の SFO モデルおよび下記の式-6 で表される二相性の DFOP モデル (double first-order in parallel) を用いて算出した。

$$C(t) = C_0 [fe^{-k_1t} + (1 - f)e^{-k_2t}] \quad (6)$$

ここで、 $f$  は第 1 相に分布する農薬の割合 (dimensionless),  $k_1$  は第 1 相における減衰速度定数 (1/day),  $k_2$  は第 2 相における減衰速度定数 (1/day) である。

$DT_{50}$  の算定は、SFO モデルでは式-4, DFOP モデルでは Microsoft Excel のゴールシーク機能により行った。

全抽出濃度と水抽出濃度の差分 (水抽出後の土壌からアセトンによって抽出された農薬濃度) を土壌へ吸着した農薬濃度と見なして算出した見かけの土壌吸着係数 ( $K_{d,app}$ , mL/g) は、下記の式-7 により算出した (Regitano et al. 2006)。

$$K_{d,app} = C_{sorb} / C_{aq} = (C_T - C_w) / C_{aq} \quad (7)$$

ここで、 $C_{\text{sorb}}$  は土壌粒子に吸着した農薬濃度 ( $\mu\text{g/g DW}$ ) である。

Table 12. LC-MS/MS quantitative parameters

Compound	RT <sup>a)</sup> (min)	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Analytical group	
				Lab test	Field test
dinotefuran	0.81	203	114	A	A
clothianidin	2.67	250	250	A	A
imidacloprid	2.82	256	175	A	A
dimethoate	2.91	230	125	A	
thiacloprid	3.44	253	126	A	A
fosthiazate	4.27	284	104	A	A
metalaxyl	4.38	280	220	A	A
methidathion	4.93	303	145	A	
ethiprole	4.94	397	255	A	

<sup>a)</sup> Retention time.

Table 13. GC-MS quantitative parameters

Compound	RT <sup>a)</sup> (min)	Monitor ion ( <i>m/z</i> )	Analytical group	
			Lab test	Field test
chloroneb	10.70	193	B	
fenobucarb	11.88	121	B	C
cadusafos	12.67	270	B	
fenthion	16.11	278	B	
kresoxim-methyl	17.69	116	B	
procymidone	17.78	283	B	C
flutolanil	18.13	173	B	C
trifloxystrobin	18.76	131	B	
boscalid	24.50	344	B	
diazinon	13.27	304	C	
tolclofos-methyl	15.02	265	C	C
fenitrothion	15.73	277	C	
diclocymet (isomer 1)	17.04	277	C	
diclocymet (isomer 2)	17.42	277	C	
fipronil	17.16	367	C	
tetraconazole	16.02	336	C	
propiconazole (isomer 1)	19.30	259	C	
propiconazole (isomer 2)	19.50	259	C	
tetradifon	21.45	356	C	
azoxystrobin	26.72	344	C	

<sup>a)</sup> Retention time.

### 3.2.6 野外における農薬の土壌残留試験

農業環境技術研究所敷地内の圃場 (Table 10) を使用し、土壌残留試験を実施した (2015年5月12日開始)。試験期間における日平均気温は16–30 °C (平均で23 °C) であった。極性が異なる10種の農薬 (水和剤もしくは乳剤,  $\log P_{ow} = -0.549 - 4.56$ ; Table 11) を各試験区 (1 m<sup>2</sup>/区画, 3連) にジョーロで散布し、ロータリ耕うん機により約20 cmの深さまでを耕起した。仮比重 (0.45 g/cm<sup>3</sup>)より計算した深さ20 cmにおける理論土壌中濃度は、2.2 µg/g-DWであった。農薬散布から0 (農薬散布日), 2日後, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12週間後に円柱缶 (内径8 cm×高さ10 cm) を用いて表層10 cmの土壌を採取し (4点/区画), 区画毎によく混合した。土壌試料は「3.2.4 土壌の逐次抽出法」および「3.2.5 土壌抽出液の分析操作」と同様の方法で抽出および分析を行い、水抽出濃度、全抽出濃度および  $K_{d,app}$  を算出した。

### 3.2.7 添加回収試験

分析法の妥当性は「2.2.9 添加回収試験」と同様に添加回収試験により検証した。蒸留水 (15 mL) に対しては、全てのグループで1 ng/mLとなるように農薬標準溶液を添加した。また、各土壌 (5 g) に対しては、グループ A が5 ng/g, グループ B および C が3 ng/g となるように農薬標準溶液を添加した。3.2.5 の分析操作に従ってグループ A は4連で、グループ B および C は5連で実施した。得られた回収率は73.2–117.0%, CVは19.0%以下であった。

2.2.9 と同様に蒸留水および各土壌から求めた LOQs は、それぞれ0.14–1.29 ng/mL および0.23–5.93 ng/g の範囲を示した。

### 3.3 試験結果および考察

#### 3.3.1 土壌から水抽出される農薬の減衰特性

蒸留水とアセトンを用いた逐次抽出法の妥当性を確認するため、農薬処理日の全抽出濃度を初期理論濃度で除することで物質収支を算出した。この結果、多くの試験区の物質収支は80%以上の値を示しており、24時間の水抽出中に農薬の分解等がなかったことが確認された(付録表A)。しかし、土壌LS5の一部の農薬については70%を下回る値が認められた。「3.2.7 添加回収試験」で示したように、蒸留水および供試土壌を用いて実施した添加回収試験の回収率は73.2–117.0%であったことから、物質収支が当該回収率を下回る場合は24時間の水抽出の間に微生物分解や加水分解によって農薬が消失したことが推察された。従って、物質収支が70%を下回る試験区の結果については以降の解析から除外した。

横軸に水抽出濃度の $DT_{50}$ 、縦軸に全抽出濃度の $DT_{50}$ をとって両者を比較したところ、LS1を除く4土壌においては、全抽出濃度よりも水抽出濃度の $DT_{50}$ が小さい値を示した(Fig. 12)。 $DT_{50}$ の算定はSFOおよびDFOPの2つのモデルを用いて行い、モデルへの適合度の指標であるカイ二乗値から算出したエラーレベル(%)が低いモデルの値を採用した(FOCUS 2006)。両モデルのエラーレベルを比較すると、全抽出濃度は両者で概ね同じ値を示していたが、水抽出濃度についてはSFOモデルよりもDFOPモデルのエラーレベルが低い値を示し、水抽出画分における農薬の減衰が二相性を示すことが明らかとなった(付録表A)。Carterら(2014)は、農薬と同じ有機化学物質である医薬品の土壌中での減衰を調査しており、特に土壌溶液における減衰曲線が、SFOモデルよりもDFOPやFOMC(first-order multicompartment)といった2相性モデルへ良く適合したことを報告している。これらの結果は、土壌の水抽出画分あるいは水溶出画分における有機化学物質の減衰が2相性モデルに従うことを示唆している。

全抽出濃度の $DT_{50}$ に着目すると(Fig. 12の縦軸)、供試化合物の中でも殺菌剤の値が比較的高く、特にメタラキシル、ボスカリド、プロシミドン、テトラコナゾールおよびジクロシメットの値は全ての土壌区で120日以上の値を示した。日本の登録データは、容器内土壌残留試験で得られたボスカリドおよびジクロシメットの $DT_{50}$ が100日以上であることを示しており、本結果を支持している(農林水産消費安全技術センター 2017)。殺菌剤の結果とは対照的に、ジメトエート、ホスチアゼート、メチダチオン、フェニトロチオン、

ダイアジノン, トルクロホスメチルおよびフェンチオンといった多くの有機リン系農薬の  $DT_{50}$  は, 比較的小さい値を示した (Fig. 12). ダイアジノン, ジメトエートおよびフェニトロチオンについては土壤中で容易に分解され, その  $DT_{50}$  が 41 日以下であることが報告されている (Singh and Walker 2006).  $DT_{50}$  の違いを土壤区間で比較すると, 特に LS5 の値が小さく, 分解の速い有機リン系農薬に限らず他の様々な農薬で短い傾向を示した. 農薬の土壤中での消失は, 土壤表面における光分解, pH に依存的な加水分解および微生物分解等により影響を受けることが示唆されているが, 本試験が暗所下で実施され, LS5 の pH が LS3 および LS4 と概ね同じ値であること踏まえると, LS5 は他の土壤よりも微生物による農薬の分解活性が高いことが推察された.

一方, 水抽出濃度の  $DT_{50}$  に着目すると (Fig. 12 の横軸), 多くの農薬の  $DT_{50}$  は  $LS1 \geq LS2 \geq LS3 \geq LS5 \geq LS4$  の順で小さい値を示した. 有機炭素含量が極めて少ない LS1 の  $DT_{50}$  は土壤区の中でも最も値が大きく, 全抽出濃度と概ね同じ値を示したのに対し, 有機炭素含量が多い2つの黒ボク土 (LS4 および LS5) の  $DT_{50}$  は他の土壤よりも小さい値を示した. 有機炭素含量は土壤中の微生物活性と正の相関を示し, 土壤吸着が弱くバイオアベイラビリティが高い農薬の減衰は, 有機炭素含量が多い土壤ほど速くなることが報告されている (Ghafoor et al. 2011). 水抽出濃度の  $DT_{50}$  が有機炭素含量の多い土壤ほど短い傾向を示した要因の一つとして, バイオアベイラビリティが高い水抽出画分の農薬が有機炭素含量に依存的な微生物分解の影響を受けたことが考えられた. しかし, LS4 と LS5 の結果に着目すると, 有機炭素含量が最も多い LS5 よりも LS4 における水抽出濃度の減衰が速い傾向にあった. 上述したように全抽出濃度の減衰は LS5 で最も速く, その要因として LS5 の微生物活性が高いことが推察される. このため, 土壤の微生物活性のみから, 水抽出濃度の減衰特性を解析することは困難であるように考えられた. 一方, 土壤の有機炭素含量は農薬の土壤吸着との間にも強い正の相関を示すことから (Wauchope et al. 2002), 水抽出濃度の減衰速度の違いに土壤吸着が影響した可能性も排除できない. そこで, 農薬の土壤への吸着特性, 特に土壤吸着の経時変化の観点から, 水抽出濃度の減衰を解析することとした.



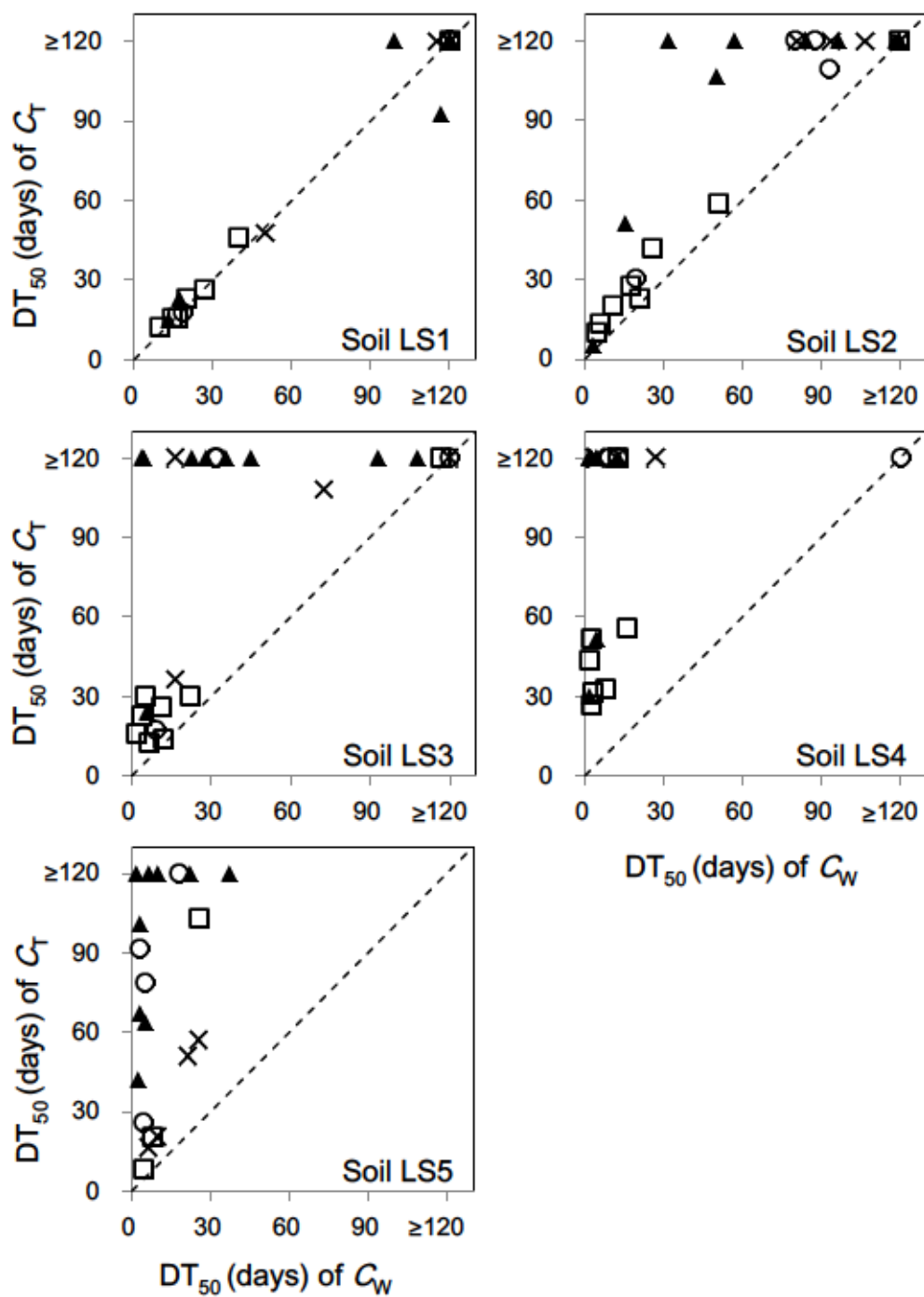


Fig. 12. Comparison of DT<sub>50</sub> values between water extracts (C<sub>W</sub>) and total extracts (C<sub>T</sub>) from soil. (○) neonicotinoids; (□) organophosphates; (▲) fungicides; (×) others. The dashed line shows the 1:1 line.

### 3.3.2 土壌吸着の経時変化

$K_{d,app}$  の経時変化に着目すると、多くの農薬で時間の経過とともに増加する傾向が認められた。 $K_d$  の経時的な増加は過去の知見でも報告されており、経過日数の平方根に対して直線的に増加することが示されている。従って、次式-8 により表される (Walker 1987; Beigel et al. 1997)。

$$K_{d,app} = a + bt^{0.5} \quad (8)$$

ここで、 $a$  および  $b$  は経験的なパラメータであり、それぞれ 0 時点での理論上の  $K_{d,app}$  値および  $K_{d,app}$  の増加速度を表す。 $t$  は経過日数である。式-8 についてテトラコナゾールの例を示す (Fig. 13)。パラメータ  $a$  および  $b$ 、さらに  $R^2$  は土壌の種類によって異なる値を示したが、 $K_{d,app}$  の経時変化は概ね式-8 に従った。農薬の土壌吸着の経時的な増加要因の一つとして、農薬の脱着が起りやすい土壌粒子表層から、脱着が起りにくい土壌粒子内部 (細孔や土壌有機物内部) への拡散が指摘されている (Alexander 2000)。一般に粒子内拡散に起因する化学物質の吸着量の増加は、時間の平方根と正の比例関係にあることが理論的に導かれている (Kookana et al. 1992)。土壌への吸着量ではなく  $K_{d,app}$  の経時変化を示した式-8 は物理化学的な意味を持った理論式ではないが、 $K_{d,app}$  もまた時間の平方根に比例して直線的に増加することを示しており、農薬の吸着過程へ粒子内拡散が関与したことを示唆している。

全試験区の結果 (付録表 B) を概観すると、全体的に LS1 を除く 4 つの土壌については、 $K_{d,app}$  と経過日数の平方根の間に有意な ( $p < 0.05$ ) 正の相関関係が確認された。しかし、有機炭素含量が少ない LS1 の場合、 $K_{d,app}$  の経時変化が小さく、 $R^2$  も小さい傾向にあった。式-8 の  $a$  および  $b$  は、 $K_{d,app}$  の経時変化を予測する上で重要なパラメータであるが、式-8 へのフィッティングが良い場合、 $a$  および  $b$  の値は土壌の有機炭素含量が多く農薬の  $\log P_{ow}$  が高い条件、すなわち非イオン性農薬の土壌吸着が強くなる条件で大きい傾向にあった (付録表 B)。また、 $a$  および  $b$  の値と農薬添加 0 日目の試料より求めた  $K_{d,app}$  の実測値 [ $K_{d,app}(t_0)$ ] との関係解析すると、 $a$  は  $K_{d,app}(t_0)$  と概ね同じ値を示し、 $b$  と  $K_{d,app}(t_0)$  の間には高い正の相関関係 ( $R^2 = 0.838, p < 0.001, n = 116$ ) が成立した (Fig. 14)。従って、 $b$  値の変動は次式-9 により表された。

$$\log b = -0.532 + 1.005 \cdot \log K_{d,app}(t_0) \quad (9)$$

式-9は $K_{d,app}(t_0)$ を指標とすることでパラメータ $b$ の予測が可能であることを示唆している。Liら(1996)はマイクロフィルトレーション高速液体クロマトグラフ法とバッチ平衡法を組み合わせることでアトラジンの土壤吸着を解析し、アトラジンの土壤粒子内への拡散速度と土壤表面への吸着量(被覆率)との間に正の比例関係が成立することを報告している。本試験において農薬の粒子内拡散は、土壤のインキュベーション期間に限らず、24時間の水抽出中にもある程度進行することが考えられるため、厳密には $K_{d,app}(t_0)$ は土壤粒子表面のみへの吸着を表すものではない。しかし、初期吸着の程度を表す $K_{d,app}(t_0)$ と $K_{d,app}$ の増加速度を表す $b$ 値の相関関係は、 $K_{d,app}$ の経時的な増加が粒子内拡散に起因することを示唆している。

一方、全抽出濃度の $DT_{50}$ が特に短かったメチダチオン、フェニトロチオン、クレソキシムメチルおよびフェンチオンの結果に着目すると、 $K_{d,app}(t_0)$ が同程度の他の農薬よりも高い $b$ 値を示しており、分解が速い農薬は $K_{d,app}$ の増加速度が大きいことが示唆された(付録表B)。土壤中の農薬は土壤粒子に吸着した状態では分解されにくく、主に土壤粒子から土壤溶液中へ溶出した農薬が分解される。従って、農薬の分解が速く、土壤溶液中における分解速度が土壤粒子からの脱着速度を上回る場合には、土壤溶液中の農薬の分解・減衰に依存して $K_{d,app}$ は変動し、減衰が速いほど $K_{d,app}$ の増加速度が大きくなると考えられている(Cox et al. 1998; Koskinen et al. 2001)。このように、 $K_{d,app}$ の経時的な増加要因として、農薬の粒子内拡散に加えて、土壤溶液中における分解が影響したことが推察された。

以上の結果を踏まえて $K_{d,app}(t_0)$ と式-8のパラメータ $a$ および $b$ 値の関係を整理すると、式-8は次式-10に変換される。

$$K_{d,app} = K_{d,app}(t_0) + 0.294K_{d,app}(t_0)^{1.005}t^{0.5} \quad (10)$$

このように、 $K_{d,app}$ の経時変化は $K_{d,app}(t_0)$ に基づいて推定できる可能性が示された。

前項で述べたように、水抽出濃度の減衰は、土壤の有機炭素含量が多く土壤吸着が強い

黒ボク土で速い傾向にあった。また、本項では  $K_{d,app}$  が経時的に増加し、その増加速度は初期吸着を表す  $K_{d,app}(t_0)$  値が高い場合に大きくなることが明らかとなった。これらの結果を踏まえると、土壌吸着が強い黒ボク土では  $K_{d,app}(t_0)$  の値が高く、 $K_{d,app}$  の増加速度も大きいいため、結果として水抽出濃度の減衰が速くなったと推察された。従って、作物が吸収可能な水抽出農薬の減衰を予測するためには、 $K_{d,app}$  の経時変化を考慮する必要があると考えられた。

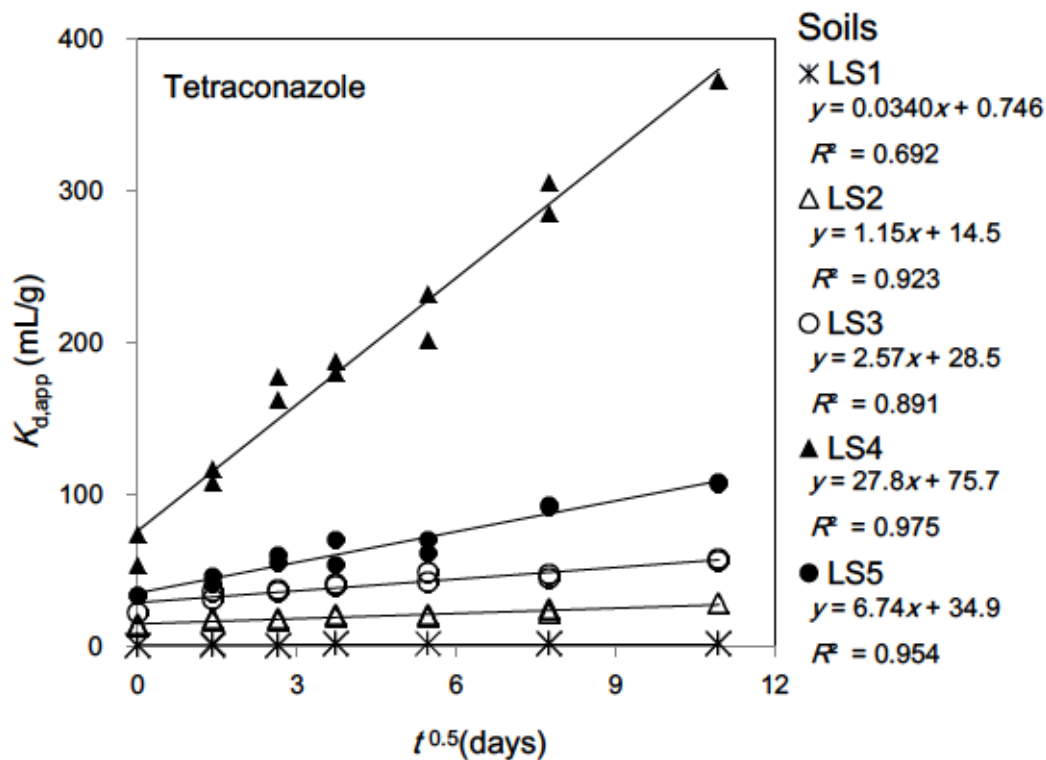


Fig. 13. Time-dependent changes in apparent sorption coefficient ( $K_{d,app}$ ) of tetraconazole in laboratory study.

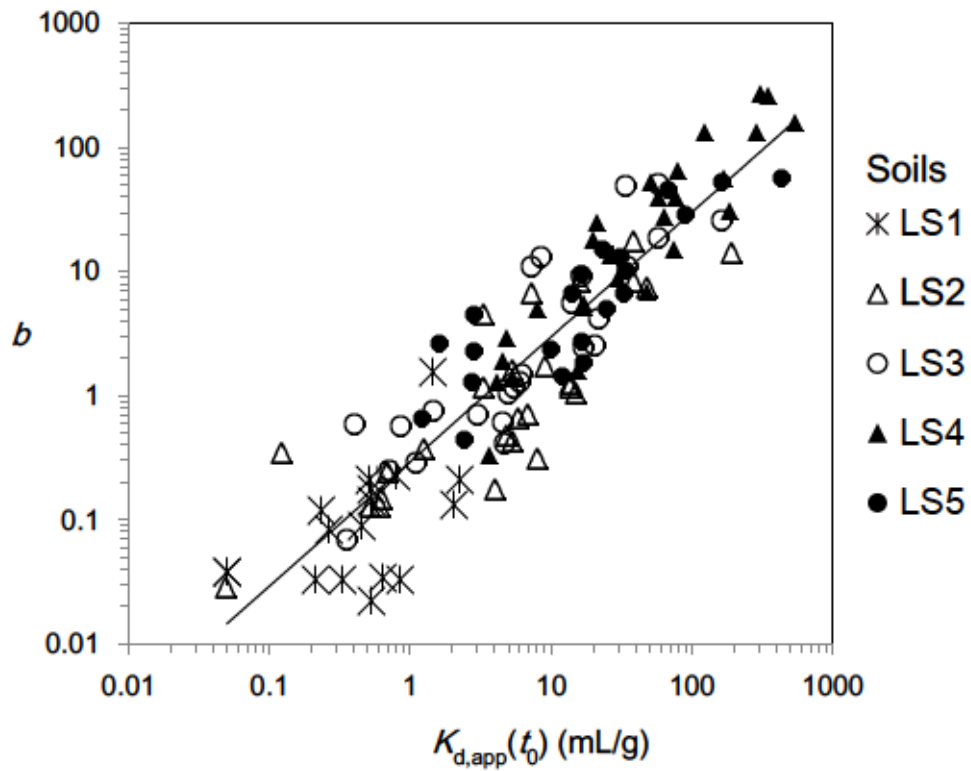


Fig. 14. Fitted parameter  $b$  for equation (8) plotted as function of apparent sorption coefficient at 0-day incubation [ $K_{d,app}(t_0)$ ].

### 3.3.3 土壌から水抽出される農薬の減衰曲線の推定と圃場における検証

容器内試験の結果を検証するため圃場試験を実施した。圃場試験より求めた  $K_{d,app}$  は、容器内試験と同様に式-8に従って経時的に増加した。Fig. 15 にクロチアニジンの例を示した。式-8のパラメータ  $b$  について、実測値と式-9から求めた推定値を比較するとフェノブカルブおよびプロシミドンを除く 8 種の農薬については概ね同じ値を示した (Fig. 16)。従って、式-9の有効性が実圃場において検証された。しかし、フェノブカルブおよびプロシミドンの実測値は、推定値よりも 10 倍以上大きな値を示した。フェノブカルブおよびプロシミドンについては、それぞれ 14 日以降および 49 日以降の  $K_{d,app}$  が極端に高い値を示しており、この理由として水抽出後の水相における農薬濃度 (式-7の  $C_{aq}$ ) が定量下限値付近まで減衰したことが考えられた。

「3.3.1 土壌から水抽出される農薬の減衰特性」で述べたように、全抽出濃度と水抽出濃度の減衰特性は異なっており、全抽出濃度の減衰曲線は SFO モデルに適合するが、水抽出濃度については SFO モデルよりも二相性を表現する DFOP モデルへ良く適合した。この理由については、「3.3.2 土壌吸着の経時変化」の結果から水抽出濃度の減衰に土壌吸着の経時変化が影響していることが推察された。従って、全抽出濃度の減衰曲線を時間依存的に変化する  $K_{d,app}$  で補正することにより、水抽出濃度の減衰曲線の推定を試みた (式-11)。

$$C_W = C_T \frac{r}{(r + K_{d,app})} \quad (11)$$

ここで、 $r$  は水抽出時の固液比 (mL/g) である。計算にあたって、 $C_T$  は SFO モデル (式-3) より算出した推定値、 $r$  は圃場試験における試験期間中の平均値 (5.6 mL/g)、 $K_{d,app}$  については、経時変化を考慮する場合は式-10より算出した推定値、考慮しない場合は  $K_{d,app}(t_0)$  値を用いた。式-11から求めた予測値の実測値への適合性は、次式-12および 13により表される RMSE (root mean square error) および NSE (Nash–Sutcliffe model efficiency) により評価した (Nash and Sutcliffe 1970; Karpouzias et al. 2006; Andersen et al. 2006)。

$$RMSE = \frac{100}{O} \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2} \quad (12)$$

$$\text{NSE} = \left[ \sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})^2 - \sum_{i=1}^n (O_i - P_i)^2 \right] / \sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})^2 \quad (13)$$

ここで、 $P_i$ 、 $O_i$ 、 $\bar{O}$ および $n$ は、それぞれ、予測値、観測値、観測平均値および観測データ数である。

式-11より水抽出濃度の予測値を算出し、実測値と比較した結果を Fig. 17 に示す。 $K_{d,app}(t_0)$ が 1 mL/g 未満であるジノテフラン、メタラキシルおよびホスチアゼートについては、 $K_{d,app}$ の経時変化の考慮あり、考慮なしで算出した予測値に大きな差は認められず、各予測値と実測値の減衰曲線は概ね一致した。一方、 $K_{d,app}(t_0)$ が 6 mL/g よりも大きい農薬の場合、 $K_{d,app}(t_0)$ より算出した水抽出濃度の予測値は実測値を過大評価する傾向にあり、特にクロチアニジン、イミダクロプリドおよびフルトラニルの予測値は実測値を大きく上回っていた。しかし、式-10を用いることにより、 $K_{d,app}$ の経時変化を考慮して算出した水抽出濃度の予測値は、実測値と良く適合した。Table 14 に RMSE および NSE の算出結果を示す。全体的に  $K_{d,app}$ の経時変化を考慮した場合の RMSE が小さく、NSE は 1 に近づく結果となった。特にクロチアニジン、イミダクロプリドおよびフルトラニルの NSE は大幅に改善されており、水抽出濃度の 2 相性の減衰曲線を再現できることが実証された。これら 3 種の農薬について全抽出濃度の  $DT_{50}$ を確認すると、いずれの農薬も 70 日以上を示しており、供試農薬の中でも長い傾向にあった (Fig. 17)。従って、 $K_{d,app}(t_0)$ の値が 1 mL/g よりも大きく、全抽出濃度の減衰が遅い場合には、水抽出濃度の予測にあたって  $K_{d,app}$ の経時変化を考慮することが重要と考えられた。

以上の結果より、全抽出濃度、すなわち土壌から有機溶媒抽出により定量された農薬濃度の減衰が明らかとなっている場合、式-10より  $K_{d,app}$ の経時変化を推定し、当該推定値を使って全抽出濃度の減衰曲線を補正することで、水抽出濃度の減衰を予測できる可能性が示された。

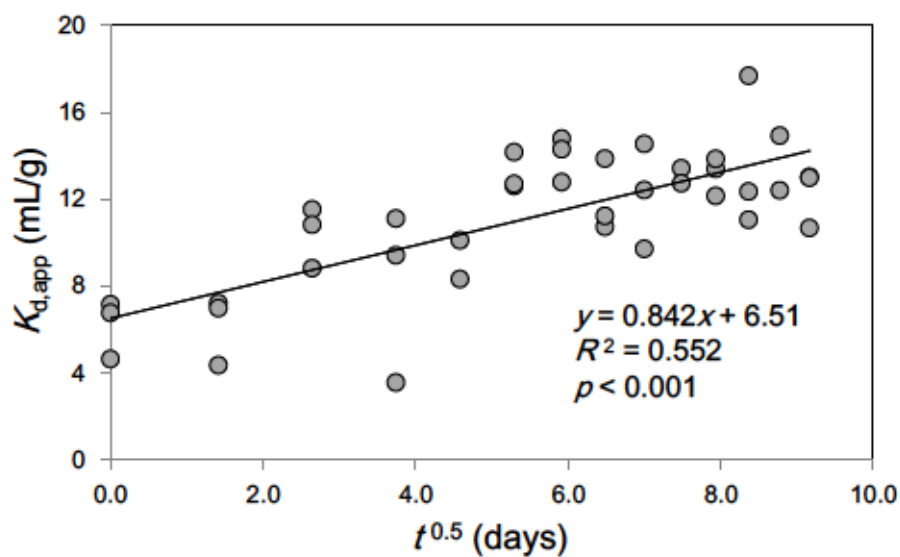


Fig. 15. Time-dependent changes in apparent sorption coefficient ( $K_{d,app}$ ) of clothianidin in field study.

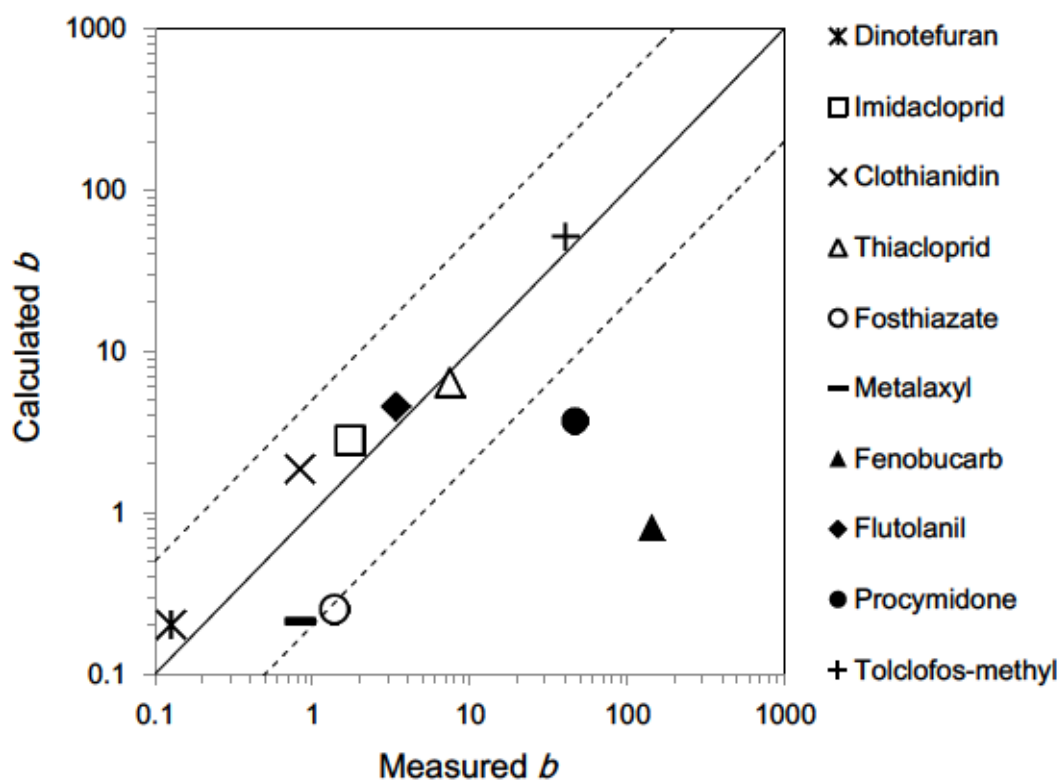


Fig. 16. Comparison between measured and calculated  $b$  values for equation (9). The solid line shows the 1:1 line and the dashed lines show the 1:5 and 5:1 lines.



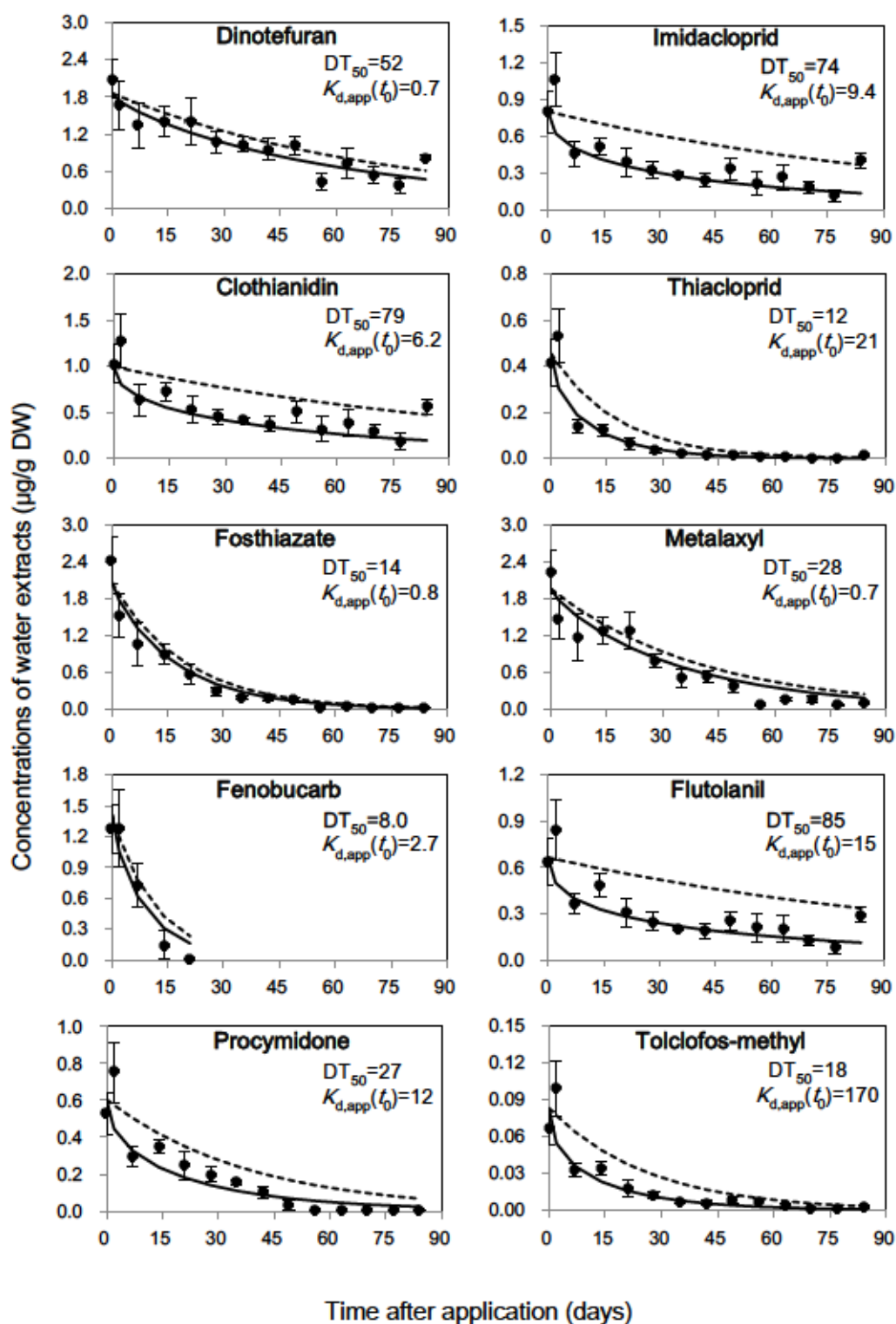


Fig. 17. Comparisons between calculated and measured concentrations of water extracts from soil. (●) measured values, (—) values predicted using apparent sorption coefficients calculated by equation (10) and (---) values predicted using apparent sorption coefficient at 0-day incubation ( $K_{d,app}(t_0)$  (mL/g)).  $DT_{50}$  (days) indicates the values of total extracts from soil calculated by equation (4). Error bars indicate the standard error. The measured values of fenobucarb were less than LOQ on and after 28 days.

Table 14. Statistical analysis of the measured and predicted concentrations of water extracts from soil.

Soil	Compound	Uniform sorption <sup>a)</sup>		Time-dependent sorption <sup>b)</sup>	
		RMSE <sup>c)</sup>	NSE <sup>d)</sup>	RMSE <sup>c)</sup>	NSE <sup>d)</sup>
FS	dinotefuran	58.8	0.78	53.1	0.97
	imidacloprid	80.7	0.05	52.5	0.88
	clothianidin	71.1	0.20	51.0	0.90
	thiacloprid	70.4	0.82	64.4	0.87
	fosthiazate	44.8	0.92	36.0	0.97
	metalaxyl	60.0	0.82	51.3	0.95
	fenobucarb	15.7	0.97	14.5	0.95
	flutolanil	87.9	-0.21	51.2	0.88
	procymidone	82.6	0.71	62.9	0.87
	tolclofos-methyl	74.7	0.73	63.9	0.84

<sup>a)</sup> Prediction using apparent sorption coefficient of 0-day incubation.

<sup>b)</sup> Prediction using apparent sorption coefficients calculated by equation (10).

<sup>c)</sup> Root mean square error (%).

<sup>d)</sup> Nash–Sutcliffe model efficiency.

## 第4章 農薬や土壌の理化学性に基づいた土壌吸着係数の推定法についての検討

### 4.1 緒言

土壌中の農薬濃度に基づいて後作物における残留濃度を推定するするためには、土壌中の可給態農薬濃度、すなわち土壌の水抽出濃度の減衰を明らかにする必要がある。第3章で述べたように、全抽出濃度の減衰および  $K_{d,app}$  の経時変化が明らかな場合、水抽出濃度の減衰を予測することが可能である。一方、 $K_{d,app}$  の経時変化を推定するためには農薬の初期吸着を表す  $K_{d,app}(t_0)$  を測定する必要があるが、 $K_{d,app}(t_0)$  と OECD のテストガイドライン 106 (OECD 2000) に準じて求めた  $K_d$  の関係を確認すると、両者は概ね同じ値を示した (Fig. 18)。従って、OECD 法で測定された  $K_d$  は、水抽出濃度の減衰を予測する際に  $K_{d,app}(t_0)$  の代替として利用することが期待される。

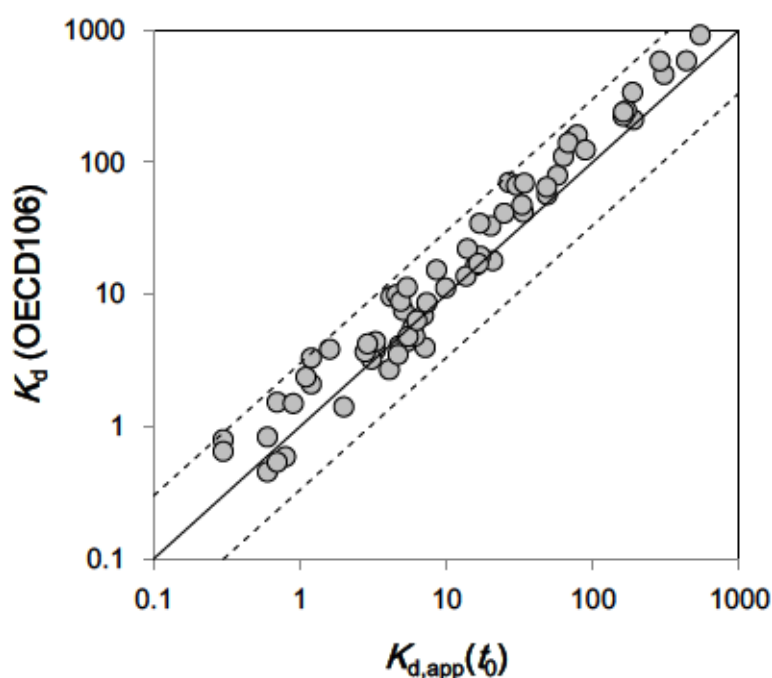


Fig. 18. Comparison between the apparent sorption coefficient of a 0 day incubation [ $K_{d,app}(t_0)$ ] and the soil sorption coefficient ( $K_d$ ) measured by OECD test guideline 106. Both  $K_{d,app}(t_0)$  and  $K_d$  were measured at soil/water ratio of 1/5. If the amounts of pesticides sorbed to soils are zero, the nominal concentrations of pesticides in liquid phase are 0.2  $\mu\text{g/mL}$  for  $K_{d,app}(t_0)$  and 0.1  $\mu\text{g/mL}$  for  $K_d$ , respectively. The solid line shows the 1:1 line and the dashed lines show the 1:3 and 3:1 lines.

OECD 法に準拠して実施された土壌吸着試験はこれまでに数多くの報告があり、当該試験より求められた  $K_d$  の変動については土壌および農薬の理化学性の観点から解析が行われている。これらの知見は、特に非イオン性農薬の吸着の変動に関して土壌の有機炭素含量および農薬の  $\log P_{ow}$  が重要であることを示している (Wauchope et al. 2002)。このため  $K_d$  を有機炭素含量で除して補正した土壌吸着定数 ( $K_{oc}$ ) は、 $K_d$  よりも土壌間の変動が小さく、農薬固有の係数として利用されることが多い。また、 $K_{oc}$  は農薬の  $\log P_{ow}$  に依存して変化することから、 $\log P_{ow}$  を指標とした  $K_{oc}$  の推定式も提案されている (Chiou et al. 1983; Gerstl and Mingelgrin 1984)。従って、土壌の有機炭素含量および農薬の  $\log P_{ow}$  より  $K_d$  の推定値を算出し、さらに当該推定値に基づいて水抽出濃度を予測することが理論上は可能である。しかし、農薬の土壌吸着に関する知見は、1970–80 年代を中心に海外で集積されたものであり、 $\log P_{ow}$  を用いた  $K_{oc}$  の推定式も当時普及していた農薬の試験結果に基づいて構築されたものである。我が国では毎年 10 から 20 種の新規化合物が開発・登録されており、従来の農薬とは分子構造も物理化学性も異なるため、過去の知見をそのまま適用できるかは不明である。さらに、世界有数の火山国である我が国の土壌は、主に火山灰を母材とする黒ボク土が畑地の約 5 割を占めている (土壌保全調査事業全国協議会 1991)。黒ボク土は有機炭素含量が多いため、日本土壌は多くの海外土壌に比べて有機炭素含量の分布幅が広い (小原 2000)。従って、日本土壌における農薬の吸着特性は海外土壌とは異なる可能性があり、 $K_{oc}$  の変動および  $\log P_{ow}$  を用いた  $K_{oc}$  の推定手法については日本土壌を用いて新たに検証する必要がある。

一方、海外土壌においては、異なる土壌で測定された同一農薬の  $K_{oc}$  が、CV で 40–60% 程度のばらつきを示すことが報告されている (Wauchope et al. 2002)。この  $K_{oc}$  の変動について、近年、土壌有機炭素の‘質’に着目した解析が行われており、固体  $^{13}\text{C}$  核磁気共鳴 (NMR) 法により求められた土壌有機炭素の化学組成と農薬の  $K_{oc}$  の間に有意な相関関係が成立することが示されている (Ahmad et al. 2001; Ahangar et al. 2008; Mitchell and Simpson 2013)。しかし、日本土壌における農薬の吸着について、有機炭素の化学組成の観点から検討した事例はない。また、土壌有機物の中には炭や煤といった黒色炭素 (Black carbon, BC) が含まれていることが明らかにされている (日本土壌肥料学会 2013)。一般に BC は、農薬を含む有機化学物質の吸着性が極めて高いことが知られているが、土壌中に既存の BC が農薬の

土壌吸着に及ぼす影響についてはこれまで調査されていない。このように、農薬の土壌吸着をこれまで着目されてこなかった土壌有機炭素の‘質’の観点より解析することで、新しい  $K_d$  の推定手法の開発が可能となるかもしれない。

本章では、水抽出濃度の減衰予測に必要な  $K_d$  を農薬や土壌の理化学性に基づいて推定するため、17 種の農薬および 8 種の日本土壌を用いて  $K_d$  および  $K_{oc}$  を OECD 法で測定し、その変動要因を解析した。日本土壌における  $K_{oc}$  のばらつきを明らかにするとともに、農薬の  $\log P_{ow}$  を指標とした  $K_{oc}$  の推定手法について、その妥当性を検証した。また、供試土壌の炭素組成を固体  $^{13}\text{C}$  NMR により測定し、土壌吸着の変動要因を有機炭素の化学組成の観点より検討を行った。さらに、BC のモデル物質として活性炭およびグラファイトを用いて農薬の吸着試験を行い、BC と土壌の吸着特性を比較することで BC が土壌吸着へ及ぼす影響を解析した。

## 4.2 試験方法

### 4.2.1 供試土壌の概要

「3.2.1 供試土壌の概要」に記載した5種の土壌に加えて、さらに3種の日本土壌を使用した (Table 15). 理化学性の分析および土壌群の分類等は「2.2.1 供試土壌の概要」の方法に従った.

Table 15. Properties of test soils

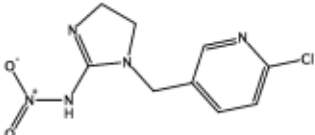
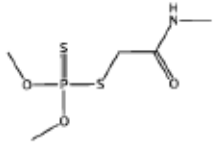
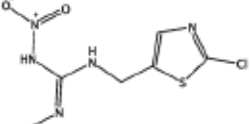
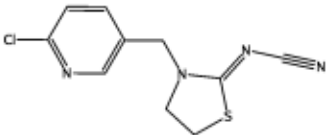
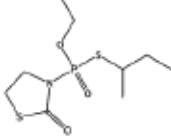
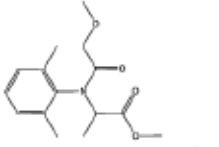
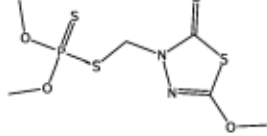
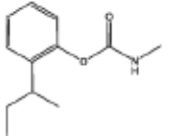
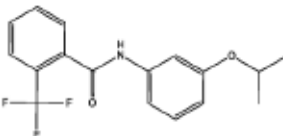
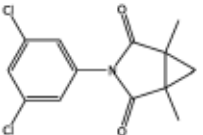
Soil	Classification	Texture	OC <sup>a)</sup> (%)	CEC <sup>b)</sup> (cmol(+) kg <sup>-1</sup> )	Clay (%)	pH (H <sub>2</sub> O)	EC <sup>c)</sup> (mS cm <sup>-1</sup> )
S1 <sup>d)</sup>	Sand-dune Regosol	sand	0.06	3.4	2.4	7.5	0.04
S2	Gray lowland soil	sandy loam	0.85	12.2	14.6	4.8	0.26
S3 <sup>d)</sup>	Yellow soil	light clay	1.02	11.4	39.0	5.3	0.09
S4	Brown forest soil	light clay	1.15	17.2	35.5	4.7	0.09
S5 <sup>d)</sup>	Gray lowland soil	silty clay	1.46	18.2	25.3	5.8	0.17
S6	Andosol	loam	4.32	26.3	11.3	6.4	0.28
S7 <sup>d)</sup>	Andosol	loam	5.21	33.8	10.8	5.5	0.15
S8 <sup>d)</sup>	Andosol	silty loam	8.65	35.4	1.8	5.8	0.05

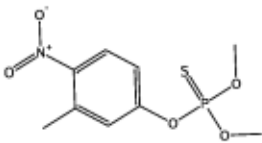
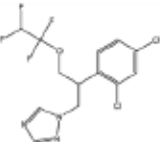
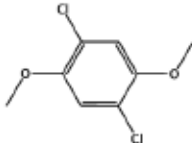
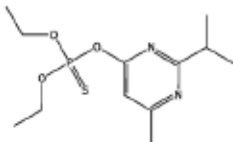
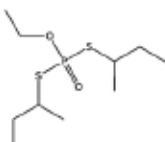
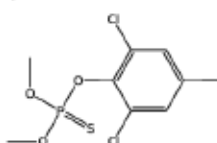
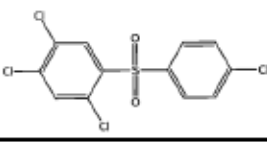
<sup>a)</sup> Organic carbon content. <sup>b)</sup> Cation exchange capacity. <sup>c)</sup> Electrical conductivity. <sup>d)</sup> Soils S1, S3, S5, S7 and S8 correspond to Soils LS1, LS2, LS3, LS4 and LS5 in Table 10, respectively.

### 4.2.2 調査対象の化合物

疎水性 ( $\log P_{ow} = 0.570 - 4.61$ ) および分子構造が異なる11種の殺虫剤および6種の殺菌剤を調査対象とした (Table 16). 標準品の純度は97%以上で, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Kanto Chemicals および Dr. Ehrenstorfer GmbH より購入した. 供試農薬は, 分析の前処理法, 測定に使用する装置の種類 (LC-MS/MS または GC-MS) を考慮し, 3つのグループに分類した (Table 16). グループごとにアセトン標準溶液 (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  each) を調製した.

Table 16. Hydrophobicity, chemical structures and analytical groups of test compounds

Compound	Chemical structure	Pesticide type <sup>a)</sup>	Substance group	log $P_{ow}$ <sup>b)</sup>	Analytical group <sup>c)</sup>
imidacloprid		I	neonicotinoid	0.570	A
dimethoate		I	organophosphate	0.704	A
clothianidin		I	neonicotinoid	0.905	A
thiacloprid		I	neonicotinoid	1.26	A
fosthiazate		I	organophosphate	1.68	A
metalaxyl		F	phenylamide	1.75	A
methidathion		I	organophosphate	2.57	A
fenobucarb		I	carbamate	2.78	B
flutolanil		F	phenylbenzamide	3.17	B
procymidone		F	dicarboximide	3.30	B

Compound	Chemical structure	Pesticide type <sup>a)</sup>	Substance group	log $P_{ow}$ <sup>b)</sup>	Analytical group <sup>c)</sup>
fenitrothion		I	organophosphate	3.32	C
tetraconazole		F	triazole	3.56	C
chloroneb		F	chlorophenyl	3.58	B
diazinon		I	organophosphate	3.69	C
cadusafos		I	organophosphate	3.85	B
tolclofos-methyl		F	organophosphate	4.56	C
tetradifon		I	bridged diphenyl	4.61	C

<sup>a)</sup> Abbreviations: (I) insecticides; (F) fungicides. <sup>b)</sup> Octanol-water partition coefficient were obtained from the Pesticide Properties Database of IUPAC (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>). <sup>c)</sup> The pesticides were divided into 3 analytical groups on the basis of the analytical methods.



#### 4.2.3 土壌吸着試験

土壌吸着試験は、OECD のテストガイドライン 106 に準拠して 2 連で行った。50 mL のガラス製遠沈管に乾土 5 g 相当の風乾土を量りとり、0.01 M の塩化カルシウム水溶液を 25 mL 加えた (固液比=1: 5, w/v)。25±2°C で 16 時間振とうした後、水相の農薬濃度が 0.1 µg/mL となるように各グループのアセトン標準溶液 (100 µg/mL) を 25 µL 添加した。再び 25±2°C で 24 時間振とうした後、2,500 rpm で 30 分間の遠心分離を行った。遠心分離後、15 mL の水相を分取し、水相の農薬濃度を「3.2.5 土壌抽出液の分析操作」に従って定量した。次式-14 および 15 により  $K_d$  (mL/g) を算出した。

$$C_{\text{sorb}} = (C_i - C_e) \cdot V / M_{\text{soil}} \quad (14)$$

$$K_d = C_{\text{sorb}} / C_e \quad (15)$$

ここで、 $C_i$  は理論上の初期水相濃度 (µg/mL)、 $C_e$  は吸着平衡後の水相濃度 (µg/mL)、 $V$  は添加した塩化カルシウム水溶液の量 (mL) である。また、 $K_{oc}$  (mL/g) は、 $K_d$  を有機炭素含量 (%OC) で除して算出した (式-16)。

$$K_{oc} = K_d \cdot (100 / \%OC) \quad (16)$$

#### 4.2.4 炭素物質に対する農薬の吸着試験

ブラックカーボン (BC) に対する農薬の吸着特性を検討するため、BC のモデル物質として活性炭 (AC) およびグラファイト (GP) を用いて農薬の吸着試験を実施した。10 mL のガラス製遠沈管に 50 mg の AC (SS1; Ajinomoto Fine-Techno Company, Kanagawa, Japan) および 500mg の GP (ENVI-Carb; Supelco) を量りとり、そこへ分子構造が異なる 3 種の農薬 (カズサホス、クロロネブおよびプロシミドン) を含むアセトン溶液 (1 µg/mL each) を 5 mL 加えた。25±2°C で 24 時間振とうした後、2,500 rpm で 30 分間の遠心分離を行った。500 µL の上澄みを分取し、そこへ内部標準物質 (フェンチオン-d6) を添加後、孔径 0.45 µm の PTFE フィルターでろ過した。ろ液中の農薬濃度を GC-MS (Table 5 および 13) で測定し、 $K_d$  と同様に式-14 および 15 より、AC-アセトン分配係数 ( $K_{AC}$ , mL/g) および GP-アセトン分配係数

( $K_{GP}$ , mL/g) を算出した。

#### 4.2.5 固体 $^{13}\text{C}$ NMR による土壌分析

有機炭素含量が極端に少ない S1 を除く 7 種の土壌について、固体  $^{13}\text{C}$  NMR による分析を行った。分析の妨害となる磁性鉱物を除去し、有機炭素の濃縮を行うため、土壌をフッ化水素酸で処理した。Rumbel ら (2006) は、土壌を 10% のフッ化水素酸で処理した場合においても、有機炭素の化学組成に変化が見られなかったことを報告している。0.2 mm の篩を通した風乾土 10 g に対して、8% (w/w) のフッ化水素酸を 30 mL 加えて 2 時間振とうした。4,500 rpm で 15 分間の遠心分離を行い、上澄みを廃棄した。この操作を、振とう時間を一部変更してさらに 7 回繰り返した (2 時間×5 回および 16 時間×2 回)。フッ化水素酸処理後の土壌に、30 mL の蒸留水を加えて 30 分間振とうし、4,500 rpm で 15 分間の遠心分離後、上澄みを廃棄した。この操作をさらに 7 回繰り返し、蒸留水洗浄後の土壌試料は 50°C で 2 日間乾燥させ、すり鉢を用いて粉末状にした。土壌の微粉碎試料は、Hiradate ら (2006) の条件に従い、FT NMR (Alpha 300; JEOL, Tokyo, Japan) を用いて交叉分極・マジック角回転 (CP/MS) 法で測定した。得られた  $^{13}\text{C}$  のスペクトルは、4 つの領域、すなわち 0–45 ppm (アルキル C)、45–110 ppm (O-アルキル C)、110–160 ppm (芳香族 C) および 160–190 pm (カルボキシル C) に分け、各領域のスペクトルの積分値を全領域 (0–190 pm) の積分値で除することにより、炭素組成を算出した。

#### 4.2.6 分子モデリング

農薬の分子構造の最適化は MOPAC 2012 package (MOPAC 2016) を使用し、PM7 ハミルトニアンを用いた半経験的分子軌道法 (keywords: EF, PRECISE, GNORM=0.05, GRAPHF, MMOK) により行った。

## 4.3 試験結果および考察

### 4.3.1 土壌の理化学性と土壌吸着係数 ( $K_d$ ) の関係

$K_d$ と土壌の各理化学性との間で線形回帰分析を行ったところ、土壌の粘土含量、pH、電気伝導度との相関は低かったが、有機炭素含量およびCECとの相関は比較的高い傾向にあり、数種の農薬については統計的に有意 ( $p<0.05$ ) な相関も認められた (Table 17)。農薬の多くは、供試土壌のpH 4.5–7.5の範囲では非イオン型として存在しているため、土壌中の有機炭素に対して疎水性相互作用により吸着したことが示唆された。一方、CECはイオン性農薬の土壌吸着に影響を及ぼすことは知られているが、非イオン性農薬の土壌吸着との関係については報告例が少ない。CECの強弱は土壌の有機炭素含量および粘土鉱物の種類とその含量によって変化し、特に有機炭素含量の寄与が大きいことが報告されている (Syers et al. 1970)。供試土壌についてCECと有機炭素含量の関係を確認すると、両者の間には高い正の相関関係 ( $r=0.93$ ,  $p<0.01$ ) が成立した。このため、CECと $K_d$ の間にも間接的に高い相関関係が成立したものと推察された。

非イオン性農薬の $K_d$ と有機炭素含量の相関は、土壌の他の理化学性と比べれば高い傾向にあり、有機炭素が農薬の土壌吸着において重要な役割を果たしていることが日本土壌でも確認された。しかし、供試した17種の農薬のうち11種で相関係数が0.7を下回っており、有機炭素含量から $K_d$ を推定することは困難と考えられた。さらに、 $K_d$ を有機炭素含量で除することで $K_{oc}$ を算出し、その変動を確認したところ、 $K_{oc}$ は土壌間で大きなばらつきを示した (各農薬のCV=36.6–173%, Fig. 19)。有機炭素含量が極めて低い土壌 (0.5%未満) の場合、 $K_{oc}$ が特異的に高い値を示したとの報告がある (Gerstl and Mingelgrin 1984; Gerstl 1990)。しかし、供試土壌のうち有機炭素含量が0.5%未満のS1の値を除いた場合においても、 $K_{oc}$ のCVは29.5–125%の範囲 (11農薬が60%以上) にあり、海外の文献値 (CV=40–60%; Wauchope et al. 2002) と比較しても日本土壌の $K_{oc}$ の変動は大きいことが明らかとなった。

以上を踏まえると、日本土壌における吸着の変動要因を、有機炭素の‘量’のみから説明することは困難であり、有機炭素の‘質’、すなわち化学構造に着目する必要があると考えられた。

Table 17. Correlation coefficients ( $r$ ) between the  $K_d$  values of pesticides and soil properties

Compound	No. soils	$r$				
		OC	CEC	Clay	pH	EC
Imidacloprid	8	0.69	0.77*	-0.39	-0.06	-0.10
Dimethoate	4	0.39	0.70	-0.46	0.11	-0.05
Clothianidin	7	0.77*	0.87*	-0.63	0.27	-0.29
Thiacloprid	7	0.73	0.85*	-0.61	0.26	-0.26
Metalaxyl	7	0.53	0.68	-0.20	-0.08	-0.08
Fosthiazate	6	0.59	0.80	-0.46	0.26	-0.26
Methidathion	8	0.92**	0.87**	-0.52	-0.02	-0.24
Fenobucarb	5	0.52	0.75	-0.57	-0.14	-0.05
Flutolanil	7	0.56	0.74	-0.52	0.27	-0.04
Procymidone	7	0.52	0.72	-0.47	0.25	-0.05
Fenitrothion	8	0.73*	0.82*	-0.41	-0.06	-0.01
Tetraconazole	8	0.69	0.83*	-0.32	-0.05	0.07
Chloroneb	7	0.60	0.77*	-0.52	0.21	-0.17
Diazinon	7	0.72	0.88*	-0.70	0.38	0.02
Cadusafos	7	0.57	0.76*	-0.52	0.31	-0.03
Tolclofos-methyl	8	0.68	0.81*	-0.35	-0.07	0.11
Tetradifon	8	0.81*	0.91**	-0.36	-0.06	0.23

\* Significant at  $p < 0.05$ ; \*\* significant at  $p < 0.01$ .

### 4.3.2 農薬の $\log P_{ow}$ と土壤吸着定数 ( $K_{oc}$ ) の関係

土壤吸着の農薬間の変動を解析するため、農薬の  $\log P_{ow}$  と  $K_{oc}$  の関係を調査した (Fig. 19).  $K_{oc}$  は農薬の  $\log P_{ow}$  (Table 16) が高くなるほど大きい値を示す傾向にあり、疎水性が高いトルクロホスメチル ( $\log P_{ow}=4.56$ ) およびテトラジホン ( $\log P_{ow}=4.61$ ) の  $K_{oc}$  は他の農薬よりも大きい値を示した。しかし、カズサホス、ホスチアゼートおよびジメトエートのように、分子構造に芳香環を持たない物質の  $K_{oc}$  は、 $\log P_{ow}$  が同程度の他の農薬よりも小さい傾向にあった。データ数が少ない S1 土壤を除いて  $\log K_{oc}$  と  $\log P_{ow}$  の相関を土壤別に解析すると、7種の土壤のうち相関係数が 0.7 を超えたものは S2 および S4 の2種のみであった (Table 18). 黒ボク土である S7 および S8 については、相関係数が 0.5 未満であり、有意な相関は得られなかった。海外土壤については  $\log P_{ow}$  を指標とした  $K_{oc}$  の推定手法が構築されているが (Chiou et al. 1983; Gerstl and Mingelgrin 1984), 日本の主要な畑地土壤である黒ボク土についてこれを適用することは困難と考えられた。以上の結果より、 $K_{oc}$  は  $\log P_{ow}$  に依存して変動する傾向にあったが、2つの黒ボク土では両者の相関は低く、その要因として農薬の分子構造が土壤吸着に影響していることが示唆された。

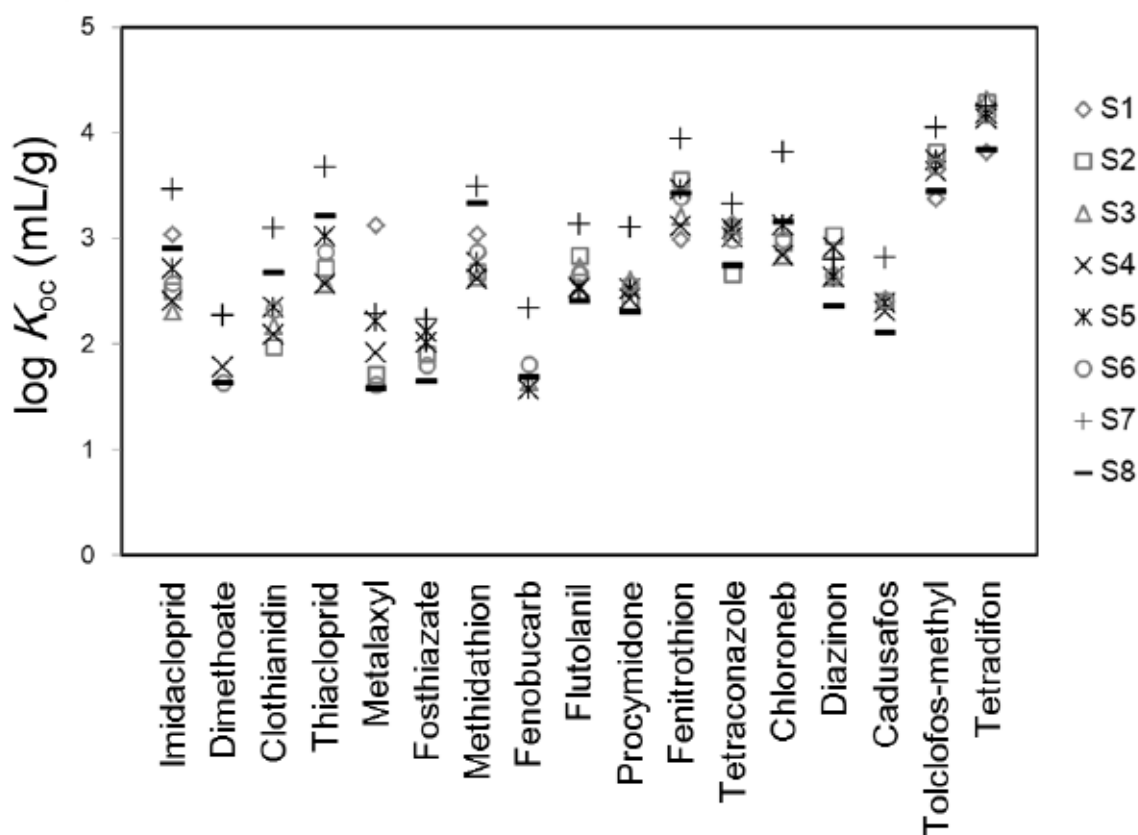


Fig. 19. Variability of the  $\log K_{oc}$  values of test soils

Table 18. Correlation coefficients ( $r$ ) between the log  $K_{oc}$  values and the log  $P_{ow}$  values of pesticides

Soil	$r$
S2	0.71**
S3	0.64*
S4	0.78**
S5	0.52*
S6	0.66**
S7	0.47
S8	0.40

\* Significant at  $p < 0.05$ ; \*\* significant at  $p < 0.01$ .

#### 4.3.3 土壤有機炭素の化学組成の違いが土壤吸着の変動に及ぼす影響

供試土壤の固体  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルおよびスペクトルの積分値より算出した炭素組成をそれぞれ Fig. 20 および Table 19 に示す。炭素組成は土壤の種類によって異なる値を示したが、最も大きな割合を占めていたのが *O*-アルキル C であり、セルロースやヘミセルロースといった高極性物質が多く含まれていることが推察された。一方、土壤間で最も大きなばらつきを示した炭素成分が芳香族 C であり、その割合は 12.6–41.3% の範囲であった。特に 2 種の黒ボク土で芳香族 C の割合が高く (S7: 41.3% および S8: 33.9%)、文献で報告されている熱帯雨林やツンドラを含む世界の幅広い地域から集められた 311 土壤の値 (6.8–44.5%, 平均値で 20.0%) と比較しても高い傾向にあった (Mahieu et al. 1999)。一般に土壤中の有機物は、微生物分解や加水分解の影響を受け、分解過程が進むほど、易分解性の *O*-アルキル C の割合が減少し、難分解性のリグニンやタンニンに由来する芳香族 C の割合が増加することが報告されている (Inbar et al. 1989)。一方、芳香族 C の割合は農耕地の火入れの影響も受け、定期的な火入れにより長年維持・管理されてきた草地の土壤は、火入れをせずに森林へ遷移した元草地の土壤よりも芳香族 C の割合が高いことが示されている (Golchin et al. 1997)。土壤中には炭や煤といった BC が存在することが明らかにされており、日本の黒ボク土からも比重分画法により分離された植物炭化物が、土壤中の全有機炭素に対して 3.4–33% の割合を占めていたとの報告がある (Shindo et al. 2004)。さらに、同方法で黒ボク土より分離された植物炭化物を固体  $^{13}\text{C}$  NMR で測定したところ、炭素組成の 61–74% が芳香族 C であったことが示されている (Sultana et al. 2010)。本供試土壤に関して火入れの記

録は残されていない。しかし、黒ボク土の生成過程には、古来より人為的な火入れによって管理されてきたススキ草原の関与が指摘されている (山根 1973)。これらの知見は、2種の黒ボク土で芳香族 C の割合が高かった理由の一つとして、火入れにより生じた BC が寄与した可能性を支持している。

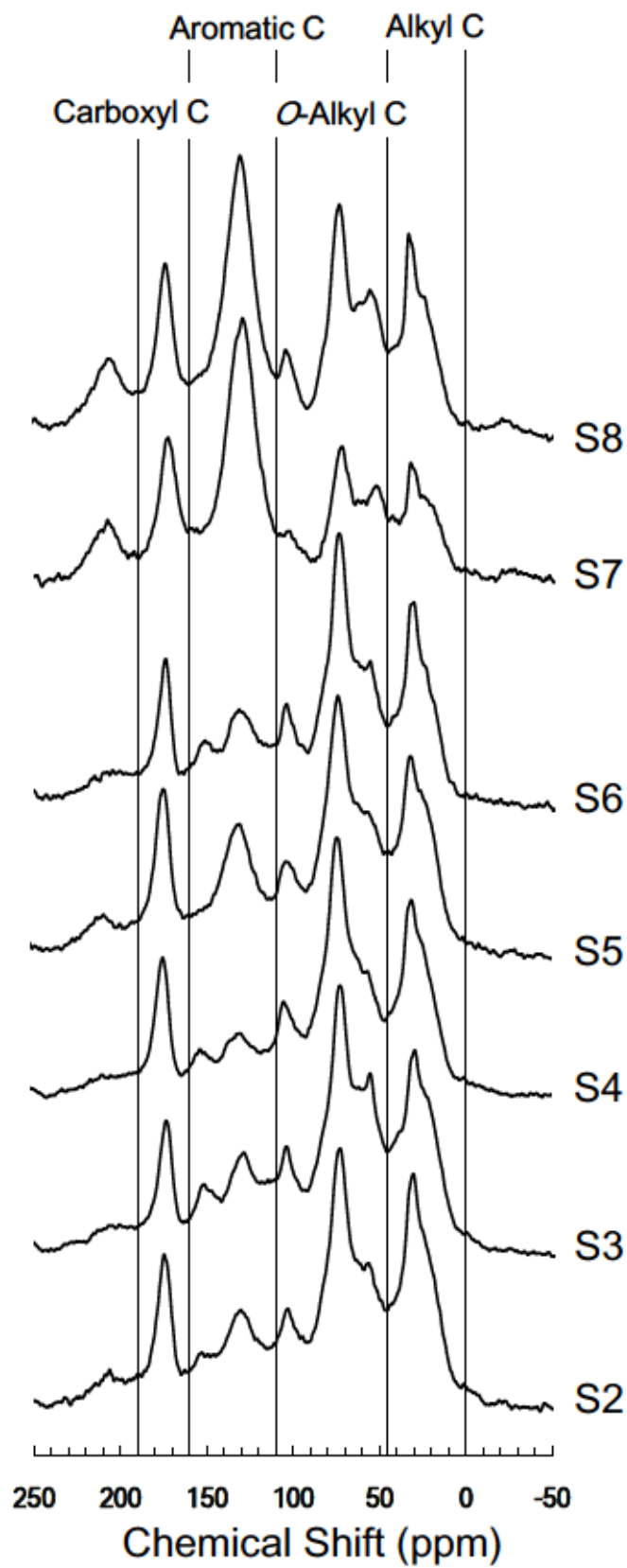


Fig. 20. Solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of the soils



Table 19. Proportions of each carbon region in NMR spectra (%)

Soil	Alkyl (0–45 ppm)	O-Alkyl (45–110 ppm)	Aromatic (110–160 ppm)	Carboxyl (160–190 ppm)
S2	28.7	46.0	15.2	10.1
S3	26.0	48.0	17.3	8.7
S4	27.4	49.8	12.6	10.2
S5	24.8	44.7	18.6	11.8
S6	23.8	47.4	18.2	10.5
S7	16.9	27.3	41.3	14.5
S8	19.7	33.7	33.9	12.7

$K_{oc}$  と土壌の各炭素成分の割合について相関関係を確認した結果、 $K_{oc}$  は土壌の *O*-アルキル C との間で負の相関を示し、芳香族 C との間では正の相関を示した (Table 20). 相関係数の絶対値は  $K_{oc}$  の CV が大きい農薬で高い傾向にあり、 $K_{oc}$  の変動に土壌間の炭素組成の違いが影響したものと推察された。これまでに、 $K_{oc}$  と *O*-アルキル C の負の相関は、アトラジン、カルバリル、ジウロンおよびホサロンといった農薬で報告されている (Ahmad et al. 2001; Ahangar et al. 2008; Mitchell and Simpson 2013). さらに Mitchell ら (2013) は、土壌中の *O*-アルキル C を酸加水分解により除去した結果、アトラジンおよびジウロンの  $K_{oc}$  が有意に高くなったことを示している。以上より、高極性物質に由来する *O*-アルキル C が多い土壌では、農薬の吸着が弱くなることが示唆された。一方、*O*-アルキル C とは対照的に、 $K_{oc}$  と芳香族 C の正の相関もまたこれらの農薬で確認されている (Ahmad et al. 2001; Ahangar et al. 2008; Mitchell and Simpson 2013). 前述のように、供試土壌間のばらつきが最も大きかった炭素成分が芳香族 C であり、その変動要因の一つに BC の影響が考えられる。一般に BC は、農薬を含む有機化学物質の吸着性が極めて高いことが知られている。Loganathan ら (2009) は小麦わらの焼却灰の土壌への投入が、ジウロンの土壌への吸着特性に及ぼす影響を調査しており、土壌における焼却灰の含量が 0.05% を上回る場合、ジウロンの土壌吸着量が焼却灰の含量に依存して変化したことを示している。このため、本試験の  $K_{oc}$  の変動についても BC が影響した可能性が高いと推察された。

Table 20. Coefficients of variation (CV) of  $K_{oc}$  values and correlation coefficients ( $r$ ) between the log  $K_{oc}$  values of pesticides and proportions of each carbon type

Compound	No. soils	CV (%) of $K_{oc}$ values	$r$			
			alkyl	<i>O</i> -alkyl	aromatic	carboxyl
Imidacloprid	7	124.9	-0.91**	-0.95**	0.93**	0.97**
Dimethoate	4	82.4	-0.57	-0.63	0.60	0.73
Clothianidin	7	113.8	-0.99**	-0.94**	0.97**	0.91**
Thiacloprid	7	115.4	-0.92**	-0.95**	0.94**	0.97**
Metalaxyl	6	70.2	-0.28	-0.32	0.28	0.54
Fosthiazate	6	46.9	-0.05	-0.12	0.07	0.27
Methidathion	7	93.8	-0.97**	-0.97**	0.98**	0.91**
Fenobucarb	5	92.2	-0.80	-0.73	0.76	0.67
Flutolanil	7	65.9	-0.30	-0.41	0.39	0.29
Procymidone	7	84.9	-0.58	-0.55	0.57	0.52
Fenitrothion	7	76.3	-0.66	-0.80*	0.75	0.78*
Tetraconazole	7	50.2	-0.42	-0.25	0.30	0.30
Chloroneb	7	117.0	-0.86*	-0.91**	0.89**	0.92**
Diazinon	7	48.7	0.51	0.31	-0.40	-0.23
Cadusafos	7	59.9	-0.38	-0.41	0.40	0.40
Tolclofos-methyl	7	45.8	-0.19	-0.30	0.26	0.28
Tetradifon	7	29.5	0.40	0.34	-0.36	-0.37

\* Significant at  $p < 0.05$ ; \*\* significant at  $p < 0.01$ .

#### 4.3.4 農薬の分子構造の違いが土壤吸着の変動に及ぼす影響

前項で述べたように、農薬の  $K_{oc}$  の変動要因の一つとして土壤中の BC が関与したことが推察された。一方、BC への有機化学物質の吸着には、物質の疎水性の他、分子構造の違い、すなわち芳香環の有無や分子の平面性も影響することが指摘されている (Bucheli and Gustafsson 2003; 川嶋ほか 2009; Sobek et al. 2009)。すなわち、 $\log P_{ow}$  が同程度の場合、鎖状物質よりも芳香環を有する物質の吸着が強い。また、芳香環を有する物質同士を比較すると、平面構造をとりうる物質の吸着が強い。ポリ塩化ビフェニル (PCB) の活性炭および煤に対する吸着は、平面構造をとりにくい *ortho* 体よりも平面構造をとりやすい *non-ortho* 体の方が強いことが報告されている (Bucheli and Gustafsson 2003; 川嶋ほか 2009)。BC に対する農薬の吸着特性を解析するため、BC のモデル物質として活性炭およびグラファイトカーボンを用いて農薬の吸着試験を実施した。疎水性が同程度で分子構造が異なる 3 種の農薬、カズサホス ( $\log P_{ow}=3.85$ )、クロロネブ ( $\log P_{ow}=3.58$ ) およびプロシミドン ( $\log P_{ow}=3.30$ ) を供試したところ、両炭素物質に対する吸着性は、鎖状物質であるカズサホス、芳香族物質であるが非平面性のプロシミドン、芳香族物質であり、かつ平面構造を有するクロロネブの順に高い傾向にあった (Fig. 21 および 22)。活性炭とグラファイトカーボンは、比表面積、孔隙率および酸性官能基の有無などの点で異なる性質を示すが、両者の共通構造としてグラフェン層を有している。このため、3 農薬の吸着性の違いは、両炭素物質の基本構造であるグラフェン層と農薬の芳香環との間で生じる  $\pi$ - $\pi$  相互作用の強弱の違いによるものと推察された (Ortmann et al. 2005; Grimme 2008)。これらの結果と、供試土壤の中で最も芳香族 C の割合が高かった黒ボク土 S7 の吸着試験の結果を比較すると、3 農薬の吸着の強弱は両炭素物質と同様の傾向を示していた (Fig. 22)。従って、芳香族 C の割合が高く、 $\log K_{oc}$  と  $\log P_{ow}$  の間で有意な相関が得られなかった黒ボク土 S7 (Table 18) においては、 $K_{oc}$  の変動に土壤中の BC に対する農薬の吸着特性が寄与した可能性があり、 $K_{oc}$  の予測にあたって  $\log P_{ow}$  以外の要因、すなわち芳香環の有無、平面性といった農薬の分子構造を考慮する必要があると考えられた。

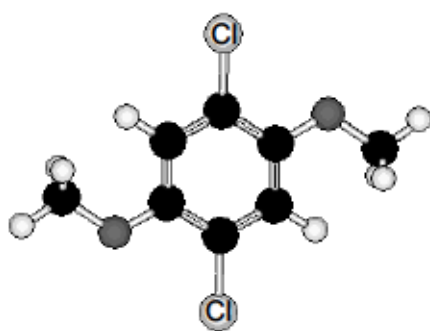
以上のように、日本土壤における農薬の吸着は、土壤の有機炭素含量および農薬の  $\log P_{ow}$  に依存して変動する傾向は見られたものの、両者の値に基づいて  $K_d$  あるいは  $K_{oc}$  を精緻に予測することは困難と考えられた。本研究では、有機炭素の化学組成および農薬の分子構造に着目することで、土壤中の芳香族 C、特に BC が土壤吸着の変動に寄与している可能

性を示した。Gustafsson ら (1996) は、土壌ではないが、港湾の底質に含まれる煤の含量を定量し、さらに煤に対する PAH の吸着定数を求めることで、下記の式-17 により底質における PAH の吸着係数を精度よく予測することに成功している。

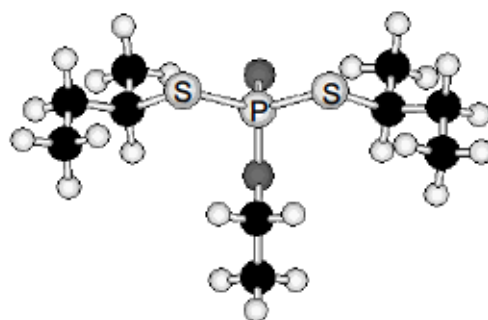
$$K_d = f_{oc} \cdot K_{oc} + f_{sc} \cdot K_{sc} \quad (17)$$

ここで、 $f_{oc}$  は土壌に含まれる有機炭素の割合 (g/g)、 $f_{sc}$  は土壌に含まれる煤の割合 (g/g)、 $K_{sc}$  は煤吸着定数 (mL/g) である。

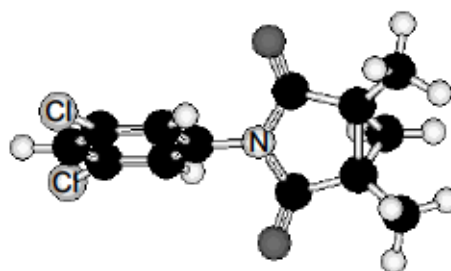
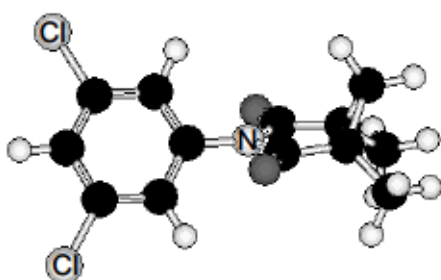
現時点では、土壌中の BC を定量するための標準法は確立されておらず (日本土壌肥料学会 2013)、底質中の煤の定量法が土壌中の BC へそのまま適用できるわけではない。また、農薬の BC への吸着しやすさについては、BC のモデル物質を用いて実測するか、最適化された農薬の分子構造をもとに視覚的に判断するしかない。今後、土壌に含まれる BC の割合 ( $f_{BC}$ ) を定量する手法が確立され、さらに分子記述子を用いた定量的構造活性相関やドッキングシミュレーション等の手法を応用することで、農薬の分子構造から BC 吸着定数 ( $K_{BC}$ ) を予測することができれば、それらの情報に基づいて日本土壌における  $K_d$  を精緻に推定することが可能となるかもしれない。



Chloroneb



Cadusafos



Procymidone

Fig. 21. Molecular structures of pesticides optimized according to the PM7 semi-empirical Hamiltonian method

- |                 |                   |
|-----------------|-------------------|
| ○—hydrogen atom | ●—oxygen atom     |
| ●—carbon atom   | Ⓟ—phosphorus atom |
| Ⓒ—chlorine atom | Ⓝ—nitrogen atom   |
| Ⓢ—sulfur atom   |                   |

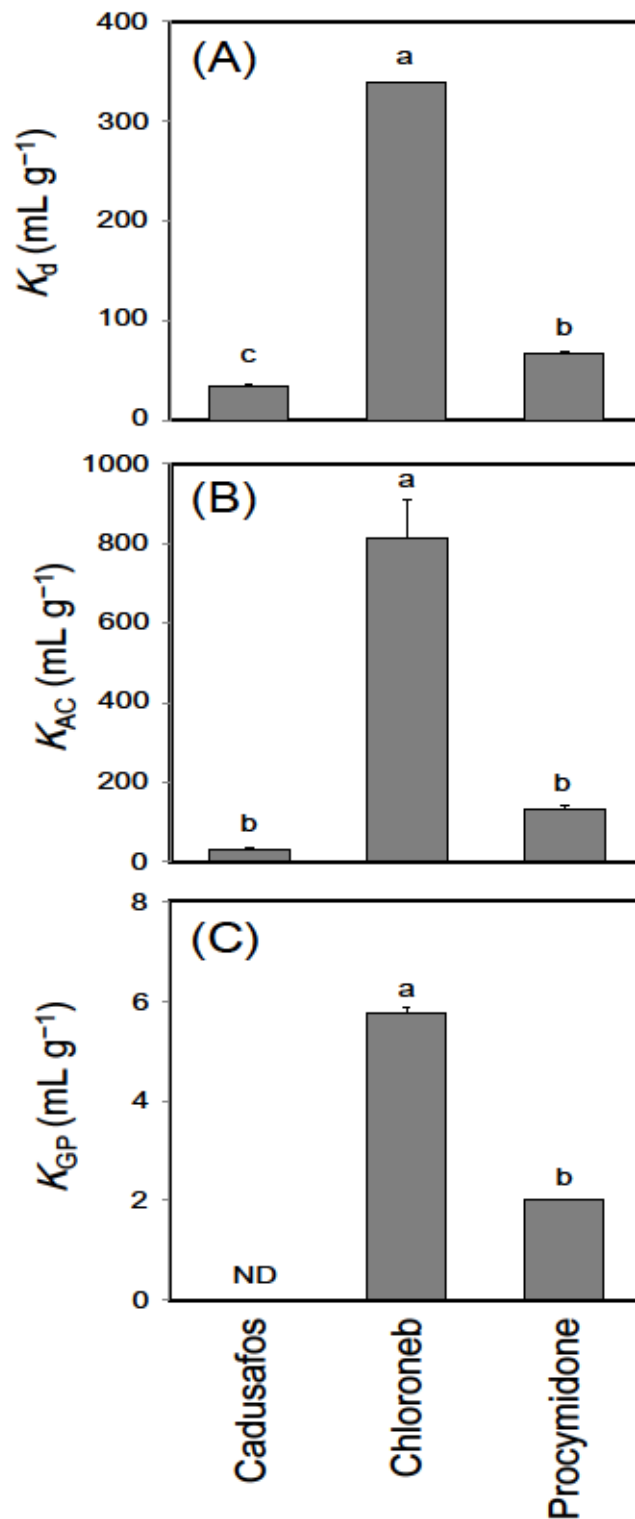


Fig. 22. (A) Soil–water distribution coefficients ( $K_d$ ) for soil S7, (B) activated carbon (AC)–acetone distribution coefficients ( $K_{AC}$ ), (C) graphite (GP)–acetone distribution coefficients ( $K_{GP}$ ). Columns with the same letter are not significantly different at  $p < 0.05$  by ANOVA with Tukey’s multiple range test for (A) and (B) and unpaired 2-sided  $t$ -tests for (C). Error bars indicate standard deviations ( $n = 3$ ). ND: not detectable.

## 第5章 総合考察

本研究では、後作物における農薬の残留を未然に防止するため、土壌中の農薬濃度から後作物における残留濃度を推定する手法の開発を試みた。土壌に残留した農薬は、土壌中の水分である土壌溶液を介して作物体へ取り込まれることが想定される。このため、第2章では土壌から水によって抽出される農薬量（水抽出濃度）に着目し、土壌から作物に吸収・移行された農薬量との関係を調査した。極性が異なる8種の殺虫剤・殺菌剤を用いて検討したところ、多くの農薬の作物中濃度は、水抽出濃度との間で高い正の相関を示した。従って、後作物の栽培が予定される圃場から土壌を採取し、水抽出濃度を測定することで、後作物における残留濃度を推定できる可能性が示された。しかし、作物中濃度と水抽出濃度の関係について、8種全ての農薬のデータを使って線形回帰分析を行ったところ、両者の相関は低い傾向にあった。この理由については、作物体内における代謝分解速度が農薬間で異なることが影響しているものと推察された。このため、各農薬の代謝分解速度を用いて水抽出濃度を補正することで、作物中の農薬濃度の推定が可能となると考えられた。しかし、農薬の後作物代謝試験については、米国では農薬の登録申請時に試験成績の提出が要求されているものの（U.S. EPA 1996）、日本では求められておらず、研究論文を含めて日本国内で利用できる知見は非常に限られている。現段階では、検量線、すなわち作物中濃度と水抽出濃度の回帰式は個別の農薬について作成・確認する必要があるとあり、複数農薬の作物中濃度を1つの検量線で予測することは困難と考えられた。また、個別の農薬について回帰式を作成した場合においても、水抽出濃度として播種時の値を用いると、作物中濃度との相関が低くなる農薬が認められた。これらの農薬については、収穫時の水抽出濃度を用いることで回帰式の $R^2$ が改善されたことから、水抽出濃度の減衰を予測し、収穫期における水抽出濃度を推定する必要があると考えられた。

さらに第2章では、SAPの違いが農薬の土壌中濃度および作物中濃度に及ぼす影響を検討した。SAPが長くなるほど水抽出濃度が低下し、これに応じて作物中濃度も低下することが確認された。約2ヶ月間のSAPを設定することで作物中の農薬濃度および水抽出濃度が平均で約50%低下することが明らかとなった。本試験は室内で実施しているため、室内よりも土壌中農薬の消失が速い実圃場における低減効果はさらに大きくなることが推察された。SAP（実際の生産現場においてはPBI）の設定による作物中濃度の低減効果を推定す

るためにも、対象圃場における水抽出濃度の減衰を予測する必要があると考えられた。

第2章の結果を受けて、第3章では水抽出濃度の減衰特性について検討を行い、水抽出濃度の減衰曲線を推定する手法の開発を試みた。まず、水抽出濃度の減衰特性を解析するため、第2章よりも多くの農薬（殺虫剤: 15種、殺菌剤: 12種）を対象とした容器内土壌残留試験を実施した。水抽出濃度の  $DT_{50}$  と全抽出濃度（有機溶媒抽出された農薬濃度に相当）の  $DT_{50}$  を比較すると、全体的に水抽出濃度の  $DT_{50}$  が小さい値を示した。また、全抽出濃度の減衰曲線は一般的な SFO モデルへ適合したが、水抽出濃度の減衰曲線は SFO モデルよりも二相性を表現する DFOP モデルへ良く適合した。さらに、水抽出濃度の  $DT_{50}$  を土壌別に確認すると有機炭素含量が多い土壌ほど小さい傾向を示したが、全抽出濃度の  $DT_{50}$  においてこの傾向は見られなかった。全抽出濃度、つまり有機溶媒によって抽出・定量された農薬濃度の減衰速度およびその  $DT_{50}$  については、農薬登録のデータを含めて過去に多くの知見が報告されている。しかし、水抽出濃度と全抽出濃度の減衰特性は大きく異なることから、全抽出濃度の知見をそのまま活用して水抽出濃度の減衰曲線を推定することは困難と考えられた。一方、非イオン性農薬の土壌吸着には、土壌中の有機炭素が重要な役割を担っている。このため、土壌の有機炭素含量に応じて変化した水抽出濃度の減衰速度に、土壌への吸着特性が影響したことが示唆された。容器内土壌残留試験の結果をもとに土壌吸着の経時変化を解析したところ、 $K_{d,app}$  は経過日数の平方根に比例して直線的に増加することが確認された。また、 $K_{d,app}$  の増加速度は、土壌の有機炭素含量が多く、農薬の  $\log P_{ow}$  が高い条件、すなわち非イオン性農薬の吸着が強くなる条件で大きくなる傾向が認められた。従って、有機炭素含量の多い土壌において水抽出濃度の  $DT_{50}$  が小さくなった要因については、当該土壌では  $K_{d,app}$  の増加速度が大きく、そのため水抽出濃度が速やかに減衰したものと考えられた。一方、 $K_{d,app}$  の増加速度と農薬の初期吸着の程度を示す  $K_{d,app}(t_0)$  の関係を解析すると、両者の間には高い正の相関が確認された。このため、 $K_{d,app}(t_0)$  を指標とすることで  $K_{d,app}$  の経時変化を推定できる可能性が示された。

全抽出濃度の減衰曲線を  $K_{d,app}$  で補正することにより、実圃場（黒ボク土）における水抽出濃度の減衰曲線の推定を試みた。水抽出濃度について、 $K_{d,app}$  の経時変化を考慮した場合と考慮しなかった場合のそれぞれで推定値を算出し、実測値と比較した。その結果、 $K_{d,app}(t_0)$  が 6 mL/g よりも大きく、全抽出濃度の減衰が遅い ( $DT_{50} > 70$  日) 農薬については、 $K_{d,app}$  の経時変化を考慮せずに算出した推定値は実測値を大きく上回る結果となった。しかし、



$K_{d,app}(t_0)$ に基づいて  $K_{d,app}$  の経時変化を予測し、この予測値を用いて水抽出濃度を推定したところ、推定値は実測値と良く適合した。本推定手法は、今後黒ボク土以外の圃場で検証する必要はあるものの、 $K_{d,app}(t_0)$ と有機溶媒抽出された農薬濃度の減衰速度が明らかな場合、当該手法により水抽出濃度の減衰曲線、延いては後作物における残留濃度を推定できる可能性が示された (Fig. 23)。

$K_{d,app}(t_0)$ と一般的な OECD 法で求めた  $K_d$ を比較すると、両者は概ね同じ値を示した。このため、 $K_{d,app}(t_0)$ の代わりに OECD の  $K_d$ を用いることで水抽出濃度の減衰が推定できると考えられた。第4章では、OECD の  $K_d$ の変動要因について土壌および農薬の理化学性の観点から解析を行った。17種の農薬 (殺虫剤: 11種, 殺菌剤: 6種) および8種の日本土壌について求めた  $K_d$ は、土壌の粘土含量、pH および電気伝導度との相関は低かった。一方、 $K_d$ と有機炭素含量の相関は比較的高い傾向にあり、 $K_d$ の変動に有機炭素が寄与していることが示唆された。しかし、相関係数が0.7を超えたのは17種の農薬のうち6種にとどまり、有機炭素含量に基づいて  $K_d$ を精緻に推定することは困難と考えられた。また、 $K_d$ を有機炭素含量で除して補正した  $K_{oc}$ の変動を土壌間で確認すると、CVの値 (CV=36.6–173%) は海外の文献値 (CV=40–60%; Wauchope et al. 2002) よりも大きかった。このため、日本土壌における  $K_{oc}$ のばらつきを解析するためには、有機炭素の‘量’だけでなく‘質’、すなわち化学構造に着目する必要があると考えられた。一方、 $K_{oc}$ の変動を農薬間で確認すると、 $\log P_{ow}$ が高い農薬の  $K_{oc}$ が大きい傾向にあった。しかし、実際に両者の相関係数を算出すると、相関係数が0.7を上回ったのは7種の土壌のうち2種のみであり、特に2つの黒ボク土では0.5を下回る値を示した。 $K_{oc}$ と  $\log P_{ow}$ の正の相関については過去には多くの報告があり、 $\log P_{ow}$ を用いた  $K_{oc}$ の推定式も提案されている (Chiou et al. 1983; Gerstl and Mingelgrin 1984)。しかし、日本土壌、特に黒ボク土においては両者の相関は低い傾向にあり、 $\log P_{ow}$ に基づいて  $K_{oc}$ を推定する場合には注意を要すると考えられた。 $\log P_{ow}$ が同程度で分子構造が異なる農薬の  $K_{oc}$ に着目すると、芳香環を持たない鎖状物質が芳香族化合物よりも低い  $K_{oc}$ を示したため、農薬の分子構造の違いが  $K_{oc}$ の変動に寄与したものと推察された。

$K_{oc}$ の変動を土壌有機炭素の化学構造の観点より解析を行った。各土壌の炭素組成を固体  $^{13}\text{C}$  NMR 法により測定したところ、土壌間でもっとも大きな変動を示したのが芳香族 C であり (CV=48.0%)、芳香族 C の割合と  $K_{oc}$ の間には正の相関が認められた。相関係数は農薬の種類によって異なる値を示したが、 $K_{oc}$ のばらつきが大きい農薬ほど相関係数は高くなる

傾向が認められたため、 $K_{oc}$  のばらつきに芳香族 C の割合が影響したことが示唆された。芳香族 C にはリグニンやタンニンなどの成分のほか、農耕地の火入れ等によって生じた BC が含まれることが指摘されている (Shindo et al. 2004; Sultana et al. 2010)。BC は一般に農薬を含む有機化学物質の吸着が強く、土壤中での存在量が少なくても、土壤全体の吸着量に影響を及ぼす可能性がある (Loganathan et al. 2009)。そのため、BC のモデル物質として活性炭およびグラファイトを使用して、農薬の BC への吸着特性を調査した。 $\log P_{ow}$  が同程度で分子構造が異なる 3 種の農薬を供試したところ、両炭素物質に対する吸着は、芳香環を持たない鎖状物質、非平面性の芳香族化合物、平面構造を有する芳香族化合物の順で高い傾向にあった。両炭素物質の共通構造であるグラフェン層に対する  $\pi$ - $\pi$  相互作用の強弱が吸着に影響したことが示唆された。供試土壤の中で最も芳香族 C の割合が高かった黒ボク土の結果と比較すると、3 農薬の吸着の強弱は両炭素物質と同様の傾向を示していた。従って、芳香族 C が多い土壤では、農薬の土壤吸着のばらつきに BC に対する吸着特性が寄与したことが示唆された。上述したように芳香族 C が多い黒ボク土では、 $K_{oc}$  と  $\log P_{ow}$  の相関が低く、 $\log P_{ow}$  を指標とした  $K_{oc}$  の予測は困難であった。しかし、本研究成果は、土壤における BC の含有量および BC に対する農薬の吸着量を明らかにすることで、 $K_{oc}$  のより正確な予測が可能になることを示している。BC は土壤中で長期間安定であり、炭素としての滞留時間が長い。そのため、地球温暖化対策の観点からも、BC の動態と定量法に関する研究は、世界的に大きな注目を集めている (日本土壤肥料学会 2013)。今後、土壤中の BC を単離・定量する手法が確立されれば、土壤の有機炭素含量に加えて、BC 含量を指標とすることで、農薬の土壤吸着を予測することが可能になると考えられる (Fig. 23)。

現在、日本の農薬登録においては、土壤中の  $DT_{50}$ 、すなわち減衰速度に基づいて後作物における残留性が評価されており、土壤中の残留量や土壤から作物への移行量に基づいた定量的な評価は行われていない。本研究は、OECD 法により求められた  $K_d$  および有機溶媒により抽出・定量された土壤中農薬の  $DT_{50}$  が明らかな場合、これらのデータを利用して作物が吸収可能な水抽出農薬の消長の推定を可能とした (Fig. 23)。我が国の新規農薬の登録申請時には、4 種の土壤を用いた土壤吸着試験および 2 つの圃場における土壤残留試験の実施が義務づけられている。従って、それぞれの試験結果である  $K_d$  および  $DT_{50}$  を用いて求めた水抽出濃度の推定値に基づいて後作物における最大残留濃度 (ワーストケース) を予測し、これを残留基準値と比較することで、定量的な概念を導入した新しい後作物残留

の評価が可能になると考えられる。また、農業生産現場においても、水抽出濃度の推定値に基づいて適切な PBI を設定することで、農薬の後作物残留を未然に防止することが可能となる。しかし、実際の生産現場では、作物を作付けできない期間が長ければ長いほど、経済的な損失も大きくなる。従って、生産現場における後作物残留濃度の推定は、ワーストケースを想定したものではなく、圃場の土壌特性を考慮してより精緻に行われる必要がある。第 4 章でも述べたように日本土壌における  $K_d$  のばらつきは大きく、BC が  $K_d$  のばらつきへ寄与している可能性は示されたものの、現時点で  $K_d$  を予測するための有効な手法は確立されていない。このため、水抽出濃度をより正確に予測するためには対象圃場の  $K_d$  を実測する必要がある。Watanabe ら (2016) は、 $K_d$  の測定にあたって酵素免疫測定 (ELISA) 法を導入し、簡易かつ迅速に  $K_d$  を求めることに成功している。ELISA 法で測定された  $K_d$  は、機器分析で測定された  $K_d$  とほぼ同等の値を示しており、水抽出濃度の推定にあたって有効活用されることが期待される。また、土壌中の  $DT_{50}$  には土壌微生物の活性が大きな影響を及ぼすことから (Ghafoor et al. 2011)、同じ土壌であっても降雨・灌水量、堆肥の投入量、季節 (温度) などの条件によって微生物活性が変化し、 $DT_{50}$  も異なる値を示すことが推察される。土壌微生物活性についても、その簡易測定法が提案されている (青山ほか 2005)。このため、対象圃場で実測された微生物活性に基づいて  $DT_{50}$  を補正することが出来れば、水抽出濃度の推定精度の向上につながるものと考えられる。最後になるが、本研究では主に土壌環境における可給態農薬の動態解析を行い、その消長を推定する手法の開発を行った。しかし、農薬の土壌溶液から作物への取り込まれやすさ、作物体内における代謝分解は農薬の種類によって異なる。これらの評価に主眼を置いた作物における農薬の動態解析が今後の重要な課題と言えよう。

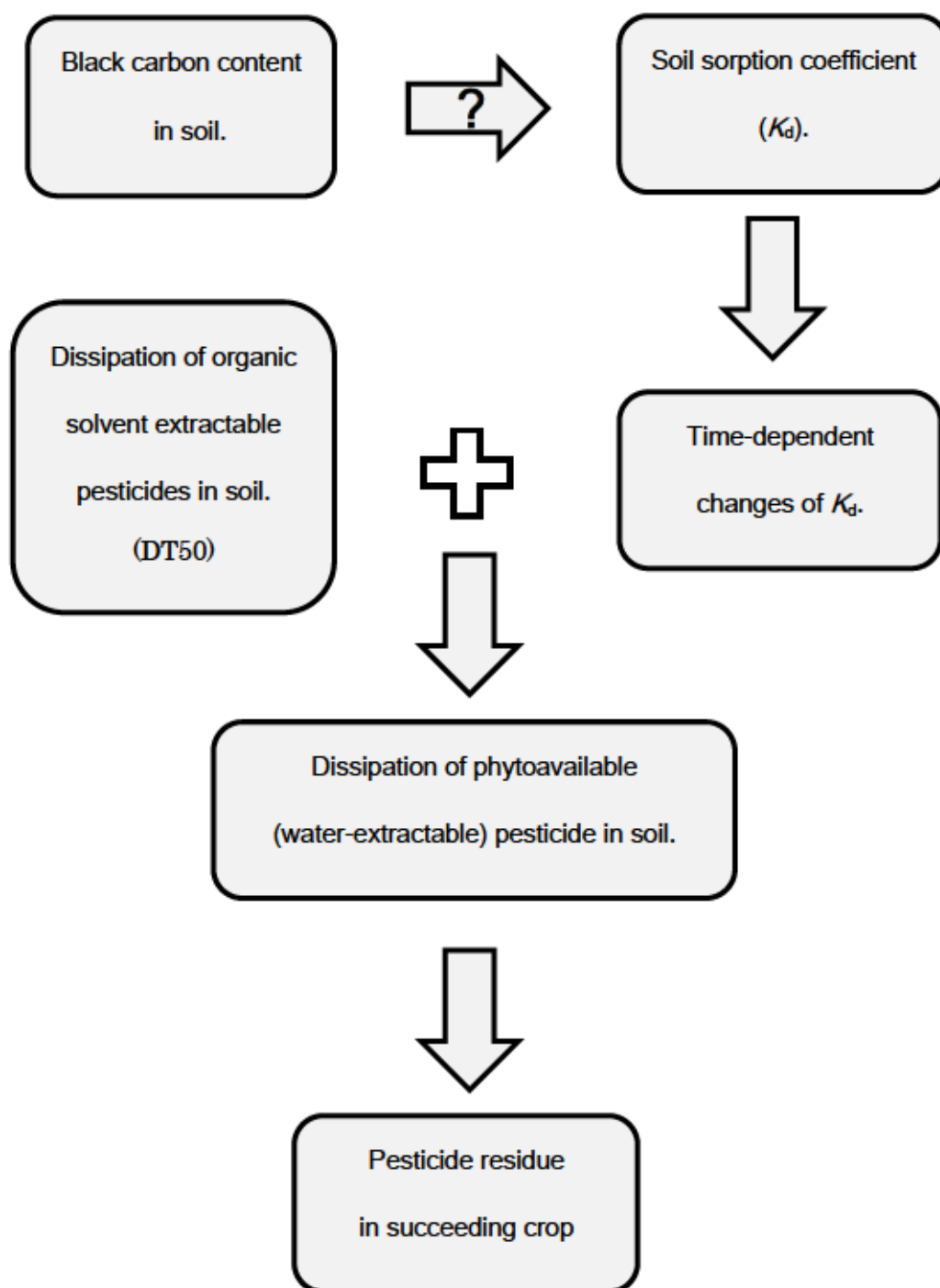


Fig. 23. Estimation scheme for pesticide residue in succeeding crop. Arrows indicate “Estimation.”

## 引用文献

- Ahangar, A. G., Smernik, R. J., Kookana, R. S. and Chittleborough, D. J. (2008) Clear effects of soil organic matter chemistry, as determined by NMR spectroscopy, on the sorption of diuron. *Chemosphere*, 70(7), 1153–1160.
- Ahmad, R., Kookana, R. S., Alston, A. M. and Skjemstad, J. O. (2001) The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by <sup>13</sup>C CPMAS NMR spectroscopy. *Environmental science & technology*, 35(5), 878–884.
- Alexander, M. (2000) Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental science & technology*, 34(20), 4259–4265.
- Andersen, H. E., Kronvang, B., Larsen, S. E., Hoffmann, C. C., Jensen, T. S. and Rasmussen, E. K. (2006) Climate-change impacts on hydrology and nutrients in a Danish lowland river basin. *Science of the total environment*, 365(1), 223–237.
- 青山正和 (2005) 小型ルミノメーターを用いた ATP 測定による黒ボク土の微生物バイオマスの推定. *土と微生物*, 59(1), 41–44.
- Beigel, C., Barriuso, E. and Di Pietro, L. (1997) Time dependency of triticonazole fungicide sorption and consequences for diffusion in soil. *Journal of environmental quality*, 26(6), 1503–1510.
- Bey-Bienko, G. Y. (1963) *Rev. Entomol. URSS* 40, 763 [坂井道彦, 小池康雄編 (2003) ぜひ知っておきたい農薬と農産物. 幸書房, pp12–14.より引用].
- Briggs, G. G., Bromilow, R. H. and Evans, A. A. (1982) Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non - ionised chemicals by barley. *Pesticide science*, 13(5), 495–504.
- Bucheli, T. D. and Gustafsson, Ö. (2003) Soot sorption of non-ortho and ortho substituted PCBs. *Chemosphere*, 53(5), 515–522.
- Carter, L. J., Harris, E., Williams, M., Ryan, J. J., Kookana, R. S. and Boxall, A. B. (2014) Fate and uptake of pharmaceuticals in soil–plant systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(4), 816–825.
- Chiou, C. T., Porter, P. E. and Schmedding, D. W. (1983) Partition equilibriums of nonionic organic compounds between soil organic matter and water. *Environmental science & technology*, 17(4), 227–231.

- Cox, L., Koskinen, W. C. and Yen, P. Y. (1998) Changes in sorption of imidacloprid with incubation time. *Soil science society of america journal*, 62(2), 342–347.
- Dettenmaier, E. M., Doucette, W. J. and Bugbee, B. (2008) Chemical hydrophobicity and uptake by plant roots. *Environmental science & technology*, 43(2), 324–329.
- 土壤保全調査事業全国協議会 (1991) 新訂版日本の耕地土壌の実態と対策. 農林水産省農蚕園芸局農産課, 日本土壌肥料学会監修, 博友社
- 土壤環境分析法編集委員会編 (1997) 土壤環境分析法. 日本土壌肥料学会監修, 博友社.
- FOCUS (The forum for co-ordination of pesticide fate models and their use) (2006) Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration. European Union.
- Fujisawa, T., Ichise, K., Fukushima, M., Katagi, T. and Takimoto, Y. (2002) Improved uptake models of nonionized pesticides to foliage and seed of crops. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), 532–537.
- Gerstl, Z. and Mingelgrin, U. (1984) Sorption of organic substances by soils and sediments. *Journal of environmental science & health Part B*, 19(3), 297–312.
- Ghafoor, A., Moeys, J., Stenström, J., Tranter, G. and Jarvis, N. J. (2011) Modeling spatial variation in microbial degradation of pesticides in soil. *Environmental science & technology*, 45(15), 6411–6419.
- Golchin, A., Clarke, P., Baldock, J. A., Higashi, T., Skjemstad, J. O. and Oades, J. M. (1997) The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter in a volcanic ash soil as shown by <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. *Geoderma*, 76(3), 155–174.
- Grimme, S. (2008) Do special noncovalent  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions really exist? *Angewandte chemie international edition*, 47(18), 3430–3434.
- Gustafsson, Ö., Haghseta, F., Chan, C., MacFarlane, J. and Gschwend, P. M. (1996) Quantification of the dilute sedimentary soot phase: Implications for PAH speciation and bioavailability. *Environmental science & technology*, 31(1), 203–209.
- Hashimoto, Y. (2007) Reduction of dieldrin concentration in cucumber fruits using Cucurbita rootstocks and activated carbon. *Journal of pesticide science*, 32(3), 229–234.
- Hiradate, S., Yonezawa, T. and Takesako, H. (2006) Isolation and purification of hydrophilic fulvic acids by precipitation. *Geoderma*, 132(1), 196–205.
- Inbar, Y., Chen, Y. and Hadar, Y. (1989) Solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance and

infrared spectroscopy of composted organic matter. *Soil science society of america journal*, 53(6), 1695–1701.

岩船敬, 元木裕, 藤原愛仁, 平林太輔, 渡辺高志, 西岡暢彦 (2011) 土壌を經由した後作物への農薬残留に関する調査研究 (第三報), 農薬調査研究報告, 第3号, 1–7.

([http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2010\\_02.pdf](http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2010_02.pdf) 2017年9月11日閲覧).

環境省 (2006) 農薬残留対策総合調査関係.

<https://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/report2/index.html> 2017年9月5日閲覧

Karpouzas, D. G., Cervelli, S., Watanabe, H., Capri, E. and Ferrero, A. (2006) Pesticide exposure assessment in rice paddies in Europe: a comparative study of existing mathematical models. *Pest management science*, 62(7), 624–636.

川嶋文人, 片山美里, 本田克久 (2009) 農薬ならびに DL-PCBs の活性炭に対する吸着特性に関する研究. *環境化学*, 19(4), 519–525.

Kookana, R. S., Aylmore, L. A. G. and Gerritse, R. G. (1992) Time-dependent sorption of pesticides during transport in soils. *Soil science*, 154(3), 214–225.

Koskinen, W. C., Cox, L. and Yen, P. (2001) Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biology and fertility of soils*, 33(6), 546–550.

鎌塚昭三, 山本広基 (1998) 土と農薬. 日本植物防疫協会, p59.

Laabs, V. and Amelung, W. (2005) Sorption and aging of corn and soybean pesticides in tropical soils of Brazil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(18), 7184–7192.

Li, J., Langford, C. H., & Gamble, D. S. (1996) Atrazine sorption by a mineral soil: Processes of labile and nonlabile uptake. *Journal of agricultural and food chemistry*, 44(11), 3672–3679.

Loganathan, V. A., Feng, Y., Sheng, G. D. and Clement, T. P. (2009) Crop-residue-derived char influences sorption, desorption and bioavailability of atrazine in soils. *Soil science society of america journal*, 73(3), 967–974.

Louchart, X. and Voltz, M. (2007) Aging effects on the availability of herbicides to runoff transfer. *Environmental science & technology*, 41(4), 1137–1144.

Mahieu, N., Randall, E. W. and Powlson, D. S. (1999) Statistical analysis of published carbon-13 CPMAS NMR spectra of soil organic matter. *Soil science society of america journal*, 63(2), 307–319.

Mitchell, P. J. and Simpson, M. J. (2013) High affinity sorption domains in soil are blocked by

- polar soil organic matter components. *Environmental science & technology*, 47(1), 412–419.
- MOPAC (2016) MOPAC. <http://openmopac.net/> 2017年9月11日閲覧
- 元木裕, 岡美和, 平林太輔, 西岡暢彦, 北村恭朗 (2010) 土壌を経由した後作物への農薬残留に関する調査研究 (第二報), 農薬調査研究報告, 第2号, 1–12.  
([http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2009\\_02.pdf](http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2009_02.pdf) 2017年9月11日閲覧).
- Müller, K., Magesan, G. N. and Bolan, N. S. (2007) A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agriculture, ecosystems & environment*, 120(2), 93–116.
- 村本穰司, 後藤逸男, 蟻木翠. (1992) 振とう浸出法による土壌の交換性陽イオンおよび陽イオン交換容量の迅速分析. 日本土壌肥料学雑誌, 63(2), 210–215.
- Murano, H., Otani, T., Makino, T., Seike, N. and Sakai, M. (2009) Effects of the application of carbonaceous adsorbents on pumpkin (*Cucurbita maxima*) uptake of heptachlor epoxide in soil. *Soil science and plant nutrition*, 55(2), 325–332.
- Namiki, S., Otani, T. and Seike, N. (2013) Fate and plant uptake of persistent organic pollutants in soil. *Soil science and plant nutrition*, 59(4), 669–679.
- Nash, J.E and Sutcliffe, J.V. (1970) River flow forecasting through conceptual models part I — A discussion of principles. *Journal of Hydrology*, 10, 282–290.
- 日本工業規格 (1995) JIS K 0312 工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法.
- 日本植物防疫協会 (1993) 農薬を使わないで栽培した場合の病害虫等の被害に関する調査報告.
- 日本土壌肥料学会編 (2013) 土と炭化物—炭素の隔離と貯留—. 博友社.
- 農耕地土壌分類委員会編 (1995) 農耕地土壌分類 第3次改訂版. 農業環境技術研究所.
- 農林水産省 (20001) 「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. 平成13年10月10日付け13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知.
- 農林水産消費安全技術センター (2017) 農薬抄録及び評価書等.  
<http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/index.htm> 2017年9月11日閲覧
- 小原洋 (2000) 定点調査データの概要と農耕地土壌の全国的な傾向. ペドロジスト, 44(2), 134–142.
- OECD (2000) Adsorption-Desorption Using a Batch Equilibrium Method; Guideline for Testing of



Chemicals No. 106.

- Oi, M. (1999) Time-dependent sorption of imidacloprid in two different soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(1), 327–332.
- Ortmann, F., Schmidt, W. G. and Bechstedt, F. (2005) Attracted by long-range electron correlation: adenine on graphite. *Physical review letters*, 95(18), 186101.
- Otani, T. and Seike, N. (2007) Rootstock control of fruit dieldrin concentration in grafted cucumber (*Cucumis sativus*). *Journal of pesticide science*, 32(3), 235–242.
- Pesticide Handbook Editorial Committee (農薬ハンドブック 2011 年版編集委員会). (2011) 農薬ハンドブック 2011 年版. 日本植物防疫協会.
- Regitano, J. B., Koskinen, W. C. and Sadowsky, M. J. (2006) Influence of soil aging on sorption and bioavailability of simazine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(4), 1373–1379.
- Regitano, J. B. and Koskinen, W. C. (2008) Characterization of nicosulfuron availability in aged soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(14), 5801–5805.
- Reid, B. J., Stokes, J. D., Jones, K. C. and Semple, K. T. (2000) Nonexhaustive cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability. *Environmental science & technology*, 34(15), 3174–3179.
- Roy, C., Gaillardon, P. and Montfort, F. (2000) The effect of soil moisture content on the sorption of five sterol biosynthesis inhibiting fungicides as a function of their physicochemical properties. *Pest management science*, 56(9), 795–803.
- Rumpel, C., Rabia, N., Derenne, S., Quenea, K., Eusterhues, K., Kögel-Knabner, I. and Mariotti, A. (2006) Alteration of soil organic matter following treatment with hydrofluoric acid (HF). *Organic geochemistry*, 37(11), 1437–1451.
- Saito, T., Otani, T., Seike, N., Murano, H. and Okazaki, M. (2011) Suppressive effect of soil application of carbonaceous adsorbents on dieldrin uptake by cucumber fruits. *Soil science and plant nutrition*, 57(1), 157–166.
- 坂井道彦, 小池康雄編 (2003) ぜひ知っておきたい農薬と農産物. 幸書房, pp12–14.
- Sakai, M., Seike, N., Murano, H. and Otani, T. (2009) Relationship between dieldrin uptake in cucumber and solvent-extractable residue in soil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(23), 11261–11266.
- Shindo, H., Honna, T., Yamamoto, S. and Honma, H. (2004) Contribution of charred plant fragments to soil organic carbon in Japanese volcanic ash soils containing black humic acids. *Organic geochemistry*, 35(3), 235–241.

- Singh, B. K. and Walker, A. (2006) Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS microbiology reviews*, 30(3), 428–471.
- Sobek, A., Stamm, N. and Bucheli, T. D. (2009) Sorption of phenyl urea herbicides to black carbon. *Environmental science & technology*, 43(21), 8147–8152.
- 杉山浩, 駒宮一雄, 小林勝一郎. (1990) ペンディメタリンの土壤中濃度の経時的変動と植物の生育に及ぼす影響. 雑草研究, 35(2), 122–128.
- Sultana, N., Ikeya, K., Shindo, H., Nishimura, S. and Watanabe, A. (2010) Structural properties of plant charred materials in Andosols as revealed by X - ray diffraction profile analysis. *Soil science and plant nutrition*, 56(6), 793–799.
- 谷川元一. (2010) インターネット等で公表された情報からみた残留基準を超過した農薬の状況. 日本農薬学会誌, 35(4), 537–541.
- U.S. EPA (1996) Residue Chemistry Test Guidelines “OPPTS 860.1850 Confined Accumulation in Rotational Crops.”
- Walker, A. (1987) Evaluation of a simulation model for prediction of herbicide movement and persistence in soil. *Weed research*, 27(2), 143–152.
- Watanabe, E., Seike, N., Motoki, Y., Inao, K. and Otani, T. (2016) Potential application of immunoassays for simple, rapid and quantitative detections of phytoavailable neonicotinoid insecticides in cropland soils. *Ecotoxicology and environmental safety*, 132, 288–294.
- 渡辺高志. (2014) 農薬取締法. 日本農薬学会誌, 39(2), 187–194.
- Wauchope, R. D., Yeh, S., Linders, J. B., Kloskowski, R., Tanaka, K., Rubin, B., Katayama, A., Kördel, W., Gerstl, Z., Lane, M., Unsworth, J. B. (2002) Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest management science*, 58(5), 419–445.
- 山根一郎. (1973) 黒ボク土の生成におけるススキの意義. ペドロジスト, 17(2), 84–94.
- Zrostlíková, J., Hajšlová, J., Poustka, J. and Begany, P. (2002) Alternative calibration approaches to compensate the effect of co-extracted matrix components in liquid chromatography–electrospray ionisation tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues in plant materials. *Journal of chromatography A*, 973(1), 13–26.

## 謝辞

本論文の作成にあたり，多大なご指導，ご助言ならびにご高閲を賜りました東京農工大学大学院農学府国際環境農学専攻の渡邊裕純教授に心より感謝申し上げます。

本論文の作成にあたり，ご助言とご高閲を賜りました茨城大学農学部地域総合農学科の黒田久雄教授，東京農工大学大学院農学研究院生物制御科学部門の夏目雅裕教授，東京農工大学農学部地域生態システム学科の斎藤広隆教授，宇都宮大学農学部農業環境工学科の大澤和敏准教授に厚く感謝申し上げます。

本研究の推進と本論文の作成にあたって，研究の方向づけから論文執筆に至るまで熱心なご指導とご支援を賜り，これまで辛抱強く見守って下さいました独立行政法人農業環境技術研究所（現・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変動研究センター）の清家伸康博士，内閣府食品安全委員会事務局の岩船敬博士に心より御礼申し上げます。

本論文は独立行政法人農業環境技術研究所において得られた研究成果をとりまとめたものであります。本研究の推進にあたり，多大なご指導，ご助言ならびにご協力を賜りました独立行政法人農業環境技術研究所の大谷卓博士，稲生圭哉博士，並木小百合博士，浅野眞希博士（現所属・筑波大学生命環境系）に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたって，暖かいご協力とご支援を賜りました独立行政法人農林水産消費安全技術センターの石原悟博士，秋山嘉大氏に深く感謝いたします。

最後に，本研究を遂行するにあたって生活面から支えて下さった家族に対して心より感謝の意を表します。

本研究の一部は，環境省の環境研究総合推進費「適切な農薬の後作物残留リスク評価に基づく実効的な管理技術の開発（5-1302）」の一環として実施いたしました。ここに謝意を表します。

## 要約

作物の栽培に使用された農薬が収穫後も土壌へ残留し、その後に作付けされた作物（後作物）から残留基準値を超えて検出される事例が報告されている。後作物における農薬の残留を未然に防止するためには、後作物中の残留濃度を作付け前に推定し、その推定値に基づいて後作物の作付け禁止期間（plant-back interval, PBI）を設けるなどの適切な対策を講じる必要がある。そこで本研究では、土壌中の農薬濃度を指標として後作物における残留濃度を推定する手法の開発を試みた。すなわち、(1) 土壌に残留した作物が吸収可能な農薬（可給態農薬）の抽出・定量法、(2) 時間依存的な土壌吸着係数を用いた可給態農薬の消長の推定法、(3) 農薬や土壌の理化学性にに基づいた土壌吸着係数の推定法について検討を行った。

### (1) 土壌に残留した作物が吸収可能な農薬（可給態農薬）の抽出・定量法の検討

ここでは、主に土壌中農薬の作物への可給性を評価するため、逐次抽出法による検討を行った。8種の農薬および4種の日本の土壌を用いてコマツナの栽培試験を行った。農薬処理土壌で栽培したコマツナ中の農薬濃度（作物中濃度）は、土壌の種類に依存して変動し、有機炭素含量が多く土壌吸着が強い黒ボク土では低い値を示した。この作物中濃度の変動要因を土壌中濃度に基づいて解析するため、土壌中の農薬を水とアセトンで逐次的に抽出を行い、水抽出濃度および全抽出濃度（水抽出濃度＋アセトン抽出濃度）を算出した。各抽出濃度と作物中濃度との相関関係を確認した結果、作物中濃度は、全抽出濃度よりも水抽出濃度との間で高い正の相関を示すことが明らかとなった。このことから、土壌中農薬の水抽出濃度を指標として後作物中濃度を推定できる可能性が示された。また、農薬処理から播種までの期間（soil-aging period, SAP）の長短が土壌および作物中の農薬濃度に及ぼす影響を検討した結果、SAPが長ければ長いほど水抽出濃度が低下し、これに応じて作物中濃度も低下する傾向が認められた。このため、実際の生産現場においても、PBIを設けて土壌中の可給態農薬濃度を低減させることで土壌残留農薬による後作物の汚染を防止することが可能と考えられた。以上より、土壌中の農薬濃度から作物中の農薬濃度を予測し、適切なPBIを設定するためには、全抽出濃度ではなく水抽出濃度に着目し、その減衰特性を明らかにする必要があると考えられた。

### (2) 時間依存的な土壌吸着係数を用いた可給態農薬の消長の推定法の検討

ここでは、土壌吸着の経時変化が可給態農薬の減衰に及ぼす影響について調査した。可給態農薬の土壌中濃度（水抽出濃度）の減衰特性を解明するため、27種の農薬および5種の日本の土壌を用いて容器内土壌残留試験を実施した。水抽出濃度および全抽出濃度の $DT_{50}$ を求め、両者を比較した結果、全体的に全抽出濃度よりも水抽出濃度の減衰が速く $DT_{50}$ は小さい値を示した。また、水抽出濃度の $DT_{50}$ は、土壌の有機炭素含量に依存して変動し、有機炭素含量が多く農薬の土壌吸着が強い黒ボク土ほど小さい傾向にあった。しかし、全抽出濃度の $DT_{50}$ についてはこの傾向が見られなかった。一方、全抽出濃度と水抽出濃度の差分（水抽出後の土壌からアセトンによって抽出された農薬濃度）を土壌へ吸着した農薬濃度と見なして算出した見かけの土壌吸着係数（ $K_{d,app}$ ）の経時変化を解析したところ、 $K_{d,app}$ は経過日数の平方根に比例して直線的に増加した。 $K_{d,app}$ の増加速度は、有機炭素含量が多い黒ボク土で速くなる傾向が認められたため、水抽出濃度の減衰に土壌吸着の経時変化が影響していることが示唆された。また、 $K_{d,app}$ の増加速度は農薬の処理日における $K_{d,app}$  [ $K_{d,app}(t_0)$ ] と高い正の相関を示したため、 $K_{d,app}(t_0)$ を指標として $K_{d,app}$ の経時変化を推定することが可能となった。最後に、全抽出濃度の減衰曲線を $K_{d,app}$ で補正することにより、水抽出濃度の減衰曲線の推定を試みた。 $K_{d,app}$ の経時変化を考慮した場合と考慮しなかった場合で、それぞれ水抽出濃度の推定値を算出し、圃場試験で得られた実測値と比較した。その結果、 $K_{d,app}$ の経時変化を考慮した場合の推定値は実測値と良く適合した。従って、 $K_{d,app}(t_0)$ に基づいて $K_{d,app}$ の経時変化を予測し、この予測値を用いて全抽出濃度、すなわち有機溶媒抽出された農薬濃度を補正することで、水抽出濃度の減衰曲線を推定できる可能性が示された。

### (3) 農薬や土壌の理化学性に基づいた土壌吸着係数の推定法についての検討

ここでは、農薬の土壌吸着係数の推定法の開発に資するため、土壌吸着係数の変動とその要因解析を行った。 $K_{d,app}(t_0)$ とOECD法で求めた $K_d$ を比較すると、両者は概ね同じ値を示した。従って、OECD法の $K_d$ は、水抽出濃度の減衰を予測する際に $K_{d,app}(t_0)$ の代替として利用できることが示された。過去の海外土壌の知見において、OECD法で求められた $K_d$ の変動には土壌の有機炭素含量および農薬のオクタノール/水配係数（ $\log P_{ow}$ ）が寄与しており、 $K_d$ を有機炭素含量で除して補正した $K_{oc}$ は、 $\log P_{ow}$ を用いて予測可能なことが示されている。従って、土壌の有機炭素含量および農薬の $\log P_{ow}$ が明らかな場合、これらを

指標とすることで  $K_d$  の予測、延いては水抽出濃度の予測を行うことが理論上は可能である。これを検証するため、17種の農薬および8種の日本土壌を用いて OECD 法により  $K_d$  および  $K_{oc}$  を測定した。この結果、 $K_{oc}$  のばらつきは海外土壌よりも大きく、 $K_{oc}$  と  $\log P_{ow}$  の関係を確認すると、日本の畑地の主要な土壌である黒ボク土においては有意な相関関係が見られなかった。従って、日本土壌については農薬の  $\log P_{ow}$  に基づいて  $K_{oc}$  を予測することは困難と考えられた。一方、 $K_{oc}$  の変動について土壌有機物の炭素組成の観点より解析を行ったところ、 $K_{oc}$  は炭素組成の中で土壌間の変動が最も大きかった芳香族炭素と有意な正の相関を示した。また、芳香族炭素の割合が特に高い黒ボク土について、 $K_d$  の変動を農薬の分子構造の観点から解析すると、 $K_d$  は芳香環を持たない鎖状物質、非平面性の芳香族化合物、平面構造を有する芳香族化合物の順で高い傾向にあり、この傾向は農薬の活性炭やグラファイトといった黒色炭素 (black carbon, BC) に対する吸着特性と同様であった。このため、日本の黒ボク土圃場においては芳香族炭素、特に BC が農薬の土壌吸着の変動に寄与していることが示唆された。

以上のことから、土壌中の農薬濃度を指標として後作物における残留濃度を予測するためには、作物が吸収可能な水抽出濃度の減衰を推定することが重要であること、さらに水抽出濃度の減衰は  $K_d$  および有機溶媒で抽出・定量された土壌中農薬の  $DT_{50}$  に基づいて推定できることが示された。農薬の登録申請時には、これら2種のデータが提出されることから、農薬登録のデータから水抽出濃度を推定し、その推定値に基づいて後作物における農薬濃度を予測することが可能となった。これらの成果は、農薬登録における後作物残留の定量的な評価に大きく貢献するものと期待される。しかし、日本土壌、特に黒ボク土における  $K_d$  のばらつきは大きいため、生産現場で要求される後作物残留濃度のより精緻な予測にあたっては、当該圃場における  $K_d$  を実測する、もしくは当該圃場の土壌特性に基づいて  $K_d$  を予測する必要がある。現時点で日本土壌の  $K_d$  を農薬や土壌の理化学性を指標として予測することは困難である。しかし、本研究結果は、黒ボク土の  $K_d$  の変動に BC が重要な役割を果たしていることを示唆している。今後 BC を簡便に単離・定量する手法が確立されれば、BC 含量に基づいて  $K_d$ 、さらには後作物残留濃度を精度良く予測し、適切な PBI の設定によって生産現場における後作物残留を未然に防止することが可能になると考えられる。

## SUMMARY

In Japan, some agricultural chemicals were recently detected in crops that exceeded the uniform residue limit of 0.01 ppm set by the Japanese Positive List System. One reason for this is that succeeding crops take up pesticides residues from the soil, which is applied to previous crops. In order to prevent the production and distribution of pesticide-contaminated crops, we attempted to develop an estimation method that can predict the pesticide concentrations in succeeding crops using the residue levels in soils.

(1) Evaluation of phytoavailability of pesticides in Japanese soils using a sequential extraction method

The relationship between pesticide concentrations in Komatsuna (*Brassica rapa* var. *perviridis*) shoots and the residue concentrations in soils was investigated for 8 pesticides and in 4 soils. Pesticide concentrations in Komatsuna shoots of two andosols, which had relatively high organic carbon (OC) content and high sorptivity of pesticides, tended to be lower than those of non-andosols. The linear regression analysis between pesticide concentrations in Komatsuna shoots and the extractable concentrations in soils by a sequential soil-extraction method was conducted, and the concentrations of 5 out of 8 pesticides in Komatsuna shoots showed higher positive correlation with water-extractable than with total-extractable concentrations (water extracts and acetone extracts) in soils. We also examined the effects of the soil-aging period (SAP) between pesticide applications and sowing on pesticide concentrations in Komatsuna shoots and soils. Pesticide concentrations in Komatsuna shoots and soil-water extracts decreased with increasing SAP. These results imply that estimating the pesticide concentrations in crops based on water-extractable concentrations in soil and setting the plant-back interval (PBI) *i.e.*, plant restriction interval, prevent contamination of crops by pesticide residues in soil. Therefore, the estimation method that can predict the dissipation of the water-extractable pesticides in soil is required to set the appropriate PBI.

(2) Effect of time-dependent sorption on the dissipation of phytoavailable pesticides in soils

To elucidate the dissipation behavior of the water-extractable pesticides in soil, the laboratory experiments using five Japanese soils with different OC contents and 27 pesticides with different physicochemical properties were conducted. The  $DT_{50}$  values, which are the times taken for a 50% decrease from the initial concentration, of total extracts (water extracts and acetone extracts) were greater than those of water extracts. Unlike the dissipation behavior of total extracts, the dissipation

of water-extractable pesticides in two andisols having high OC content was faster than that of other soils. On the other hand, the apparent sorption coefficients ( $K_{d,app}$ ) values (difference of acetone extracts and water extracts) of many pesticides increased with an increase in incubation time and were proportional to the square root of time. The increased rate of  $K_{d,app}$  with time tended to increase with increasing OC content of soils. Hence, the  $DT_{50}$  values of water extracts were considered to vary depending on the increased rate of  $K_{d,app}$ . In addition, the increased rates of  $K_{d,app}$  were positively and significantly correlated with  $K_{d,app}$  values of a 0 day incubation [ $K_{d,app}(t_0)$ ]. This empirical relationship suggests that  $K_{d,app}(t_0)$  values can predict the time-dependent increase in  $K_{d,app}$ . The prediction of dissipation of water extracts was performed by compensating for the dissipation of total extracts using the time-dependent  $K_{d,app}$ . The predicted values of water extracts showed good agreement with the measured values in the field study. These results imply that the dissipation of water extracts can be estimated using the dissipation of total extracts, *i.e.*, pesticides extracted with organic solvents, and the time-dependent  $K_{d,app}$  calculated on the basis of  $K_{d,app}(t_0)$ .

(3) Investigation of prediction method for the soil sorption of pesticides based on physico-chemical characteristics of soils and pesticides

When  $K_{d,app}(t_0)$  was compared to the sorption coefficients ( $K_d$ ) measured by OECD test guideline, these values were approximately equal to each other. Many sorption studies using foreign soils suggest that  $K_d$  of nonionic pesticides is strongly influenced by OC content in soil and the octanol–water partition coefficients ( $\log P_{ow}$ ). The OC-normalized sorption coefficient ( $K_{oc}$ ), which was determined by dividing the  $K_d$  values by OC content in soil, can be predicted using  $\log P_{ow}$ . Hence, the  $K_d$  values, which plays an important role in the prediction of dissipation of water extracts, may be estimated using OC content and  $\log P_{ow}$ . In order to verify this approach, the  $K_d$  values of 17 pesticides in 8 typical Japanese soils were measured according to OECD method. Variability, *i.e.*, coefficients of variation, of  $K_{oc}$  in Japanese soils was higher than that of foreign soils, and the correlation between  $\log K_{oc}$  of andosol, which was the typical upland soil in Japan, and the corresponding correlation with  $\log P_{ow}$  was also poor. Therefore, the estimation of  $K_d$  using OC content and  $\log P_{ow}$  could not be applied to Japanese soils. On the other hand, solid-state  $^{13}C$  nuclear magnetic resonance was performed to elucidate the effect of OC quality on  $K_{oc}$  variability. The  $\log K_{oc}$  values for almost all pesticides were positively correlated with proportions of aromatic carbon, which was the carbon type exhibiting the greatest variability among test soils. In addition, the sorption pattern of pesticides to andosol containing abundant aromatic carbon was influenced by the differences in the molecular structures of pesticides, similar to that to black carbon (BC) such as



activated carbon and graphite. The results indicate the aromatic carbon in soils, particularly BC, is an important factor influencing the sorption of pesticides to Japanese soils.

When newly developed pesticides are registered in Japan, the soil dissipation studies for pesticides extracted with organic solvents and the soil sorption studies according to OECD method are required. The present study suggests that these registration data, *i.e.*,  $DT_{50}$  of organic solvent extractable pesticides and  $K_d$ , can be available for estimating the residual concentrations of water-extractable pesticides in soils and the uptake concentrations in succeeding crops. These findings would be helpful for quantitative evaluation of pesticide residue in succeeding crops for pesticide registration. However, the  $K_d$  of many pesticides exhibited high variability among Japanese soils. In order to accurately estimate the actual field values for the residual concentrations in succeeding crops,  $K_d$  is needed to be measured using the field soil or estimated on the basis of soil properties. The present study implies that the sorption of pesticides on soils can also be predicted if it is possible to quantify BC in soils and assess the sorption of isolated BC. Unfortunately, no methods for quantifying BC in soils have been established. Therefore, further studies are required to isolate and precisely quantify BC in soil contributing to the sorption behavior of pesticides.

## 付 録 表 A

Applicability of a sequential extraction method for pesticides in soils and the  
dissipation of water- and total-extractable pesticides.

Soil	Compound	Water extracts					Total extracts			
		MB <sup>c</sup> (%)	SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>		SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>	
			DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)
LS1	dinotefuran	118.8	>120	7.3	>120	7.9	>120	5.3	>120	5.7
	imidacloprid	91.1	>120	5.8	>120	5.6	>120	5.5	>120	5.5
	dimethoate	102.3	27	12.8	27	15.3	26	12.5	26	14.9
	clothianidin	99.8	>120	7.0	>120	6.7	>120	5.5	>120	5.4
	thiacloprid	97.9	18	16.2	18	23.0	18	18.4	18	23.2
	fosthiazate	90.1	17	16.0	16	18.4	16	16.4	15	19.0
	metalaxyl	88.9	>120	5.3	>120	5.0	>120	4.7	>120	5.5
	ethiprole	82.6	50	31.4	50	37.3	48	25.3	47	30.1
	azoxystrobin	84.2	>120	7.2	>120	7.5	>120	5.9	>120	6.8
	methidathion	95.8	10	27.7	8	37.8	12	22.9	12	28.8
	fenobucarb	103.2	115	6.6	116	7.1	120	5.0	>120	5.3
	boscalid	101.6	>120	5.6	>120	6.6	>120	4.6	>120	5.5
	flutolanil	107.5	>120	4.1	>120	4.9	>120	3.4	>120	4.1
	procymidone	34.5	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	fenitrothion	92.1	15	11.0	15	13.8	16	12.1	16	14.4
	kresoxim-methyl	80.6	14	3.7	13	3.7	16	3.3	15	3.1
	tetraconazole	104.3	>120	8.7	>120	7.3	>120	5.9	>120	5.1
	chloroneb	97.2	22	8.9	18	7.4	26	7.2	23	6.0
	diazinon	95.7	54	9.2	40	6.9	58	7.2	46	4.9
	propiconazole	92.7	97	10.2	99	9.1	110	8.4	>120	7.8
	fipronil	100.6	>120	9.2	>120	9.7	>120	7.4	>120	7.7
	cadusafos	100.5	>120	2.4	>120	2.9	>120	2.3	>120	2.7
	diclocymet	99.5	>120	10.2	>120	10.1	>120	7.8	>120	8.0
	trifloxystrobin	103.7	117	4.0	>120	4.5	94	3.2	92	3.1
	tolclofos-methyl	91.3	39	6.1	39	7.3	44	4.4	44	5.2
	tetradifon	91.7	>120	16.1	>120	19.2	>120	5.9	>120	7.1
	fenthion	98.1	20	6.6	20	7.9	23	7.7	23	9.2

Soil	Compound	Water extracts					Total extracts			
		MB <sup>c</sup> (%)	SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>		SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>	
			DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)
LS2	dinotefuran	126.0	95	8.9	93	8.6	109	8.2	120	9.0
	imidacloprid	94.9	88	7.4	80	3.0	>120	3.7	>120	3.2
	dimethoate	112.0	21	10.0	21	11.9	23	10.2	23	12.1
	clothianidin	102.4	92	8.8	88	6.4	>120	5.7	>120	5.9
	thiacloprid	106.4	19	6.9	19	8.6	30	10.4	30	12.4
	fosthiazate	97.1	51	3.6	51	4.3	59	3.3	59	3.9
	metalaxyl	93.8	>120	3.5	>120	3.8	>120	1.4	>120	1.6
	ethiprole	86.5	107	28.0	70	29.9	>120	19.5	>120	22.0
	azoxystrobin	102.3	50	13.3	31	5.2	>120	5.9	>120	4.3
	methidathion	90.8	11	25.0	7	27.7	20	11.5	20	13.7
	fenobucarb	111.7	>120	7.7	115	8.3	>120	5.2	>120	6.2
	boscalid	102.0	107	8.6	84	1.7	>120	4.8	>120	5.7
	flutolanil	101.3	>120	5.7	119	4.1	>120	2.9	>120	3.4
	procymidone	101.0	>120	6.2	>120	6.2	>120	3.4	>120	4.1
	fenitrothion	100.4	7	5.1	6	2.4	13	4.0	13	4.1
	kresoxim-methyl	74.6	4	11.6	3	1.4	8	14.9	5	3.1
	tetraconazole	97.6	112	6.8	97	1.6	>120	1.9	>120	1.2
	chloroneb	97.8	62	10.7	50	8.8	107	3.1	107	3.6
	diazinon	85.7	19	5.2	18	2.2	29	2.1	28	1.4
	propiconazole	107.1	83	11.5	57	2.7	>120	4.1	>120	3.1
	fipronil	103.0	100	3.7	94	1.8	>120	2.3	>120	2.7
	cadusafos	104.6	>120	6.1	>120	6.0	>120	4.0	>120	4.8
	diclocymet	101.1	>120	5.5	>120	2.4	>120	1.7	>120	1.2
	trifloxystrobin	93.0	24	12.7	16	5.6	57	4.5	51	4.5
	tolclofos-methyl	87.6	25	5.5	25	6.9	42	4.1	42	4.9
	tetradifon	97.0	99	7.5	81	6.1	>120	3.4	>120	2.8
	fenthion	91.4	6	5.7	5	0.2	12	7.3	10	2.2

Soil	Compound	Water extracts					Total extracts			
		MB <sup>c</sup> (%)	SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>		SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>	
			DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)
LS3	dinotefuran	123.6	>120	9.9	>120	7.4	>120	8.5	>120	7.9
	imidacloprid	92.4	61	12.7	31	6.1	>120	5.2	>120	5.1
	dimethoate	114.4	12	9.5	12	12.0	14	11.4	14	13.6
	clothianidin	100.2	67	15.0	32	10.4	>120	6.0	>120	5.6
	thiacloprid	92.9	9	9.1	9	12.9	17	12.1	17	14.4
	fosthiazate	97.6	22	11.7	22	13.9	30	11.9	29	14.0
	metalaxyl	92.6	103	8.9	108	8.2	>120	4.4	>120	4.2
	ethiprole	86.3	20	11.0	17	8.1	45	8.1	36	7.3
	azoxystrobin	86.7	13	26.1	4	2.4	>120	4.4	>120	4.1
	methidathion	84.1	6	9.0	6	12.8	13	4.9	12	5.1
	fenobucarb	114.6	73	13.5	73	16.0	108	10.0	108	11.9
	boscalid	96.1	19	22.4	5	7.4	>120	2.8	>120	3.3
	flutolanil	104.4	62	11.6	45	7.8	>120	2.5	>120	3.0
	procymidone	100.6	54	12.5	36	6.9	>120	2.8	>120	3.1
	fenitrothion	95.0	2	17.1	1	0.9	18	7.7	16	7.3
	kresoxim-methyl	64.5	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	tetraconazole	98.4	71	18.0	23	3.5	>120	3.6	>120	1.5
	chloroneb	93.4	59	16.4	28	7.0	>120	2.3	>120	2.7
	diazinon	82.6	16	11.1	11	1.7	30	4.3	26	2.5
	propiconazole	99.1	39	26.9	4	2.6	>120	4.1	>120	1.9
	fipronil	99.3	>120	8.4	>120	1.6	>120	3.1	>120	2.1
	cadusafos	110.1	>120	7.5	117	7.3	>120	4.4	>120	5.2
	diclocymet	98.0	111	10.5	93	2.6	>120	2.9	>120	1.1
	trifloxystrobin	95.8	10	12.4	6	2.1	27	5.2	24	3.2
	tolclofos-methyl	83.5	10	14.4	5	2.1	32	3.2	30	3.1
	tetradifon	93.6	51	15.3	16	2.0	>120	3.7	>120	2.0
	fenthion	92.2	6	12.8	4	2.6	24	4.6	22	3.1

Soil	Compound	Water extracts					Total extracts			
		MB <sup>c</sup> (%)	SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>		SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>	
			DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)
LS4	dinotefuran	98.8	>120	13.1	>120	9.1	>120	3.7	>120	2.9
	imidacloprid	86.5	40	19.1	12	7.8	>120	7.0	>120	6.2
	dimethoate	80.0	20	10.1	16	6.3	56	6.3	54	7.5
	clothianidin	95.4	51	21.2	9	9.0	>120	6.6	>120	4.5
	thiacloprid	85.7	17	19.5	8	8.4	>120	8.6	>120	6.4
	fosthiazate	88.2	12	13.0	8	7.0	42	7.6	33	4.9
	metalaxyl	84.6	42	19.7	13	10.7	>120	11.5	>120	9.5
	ethiprole	92.1	14	13.9	12	11.9	117	11.3	>120	9.1
	azoxystrobin	81.6	3	26.2	2	5.1	>120	14.1	>120	16.8
	methidathion	78.8	6	15.1	3	2.4	43	10.2	31	8.7
	fenobucarb	112.1	53	23.5	5	5.8	>120	3.5	>120	3.3
	boscalid	100.5	4	29.0	2	4.5	>120	4.4	>120	5.2
	flutolanil	102.2	8	32.5	2	4.4	>120	3.5	>120	4.1
	procymidone	99.7	22	31.9	2	5.5	>120	3.2	>120	3.8
	fenitrothion	109.0	3	18.8	2	NC <sup>e</sup>	37	6.6	31	4.9
	kresoxim-methyl	88.0	3	25.8	2	4.6	42	10.6	30	2.3
	tetraconazole	99.8	8	29.5	2	3.9	>120	4.7	>120	3.3
	chloroneb	95.1	50	23.7	5	7.4	>120	2.5	>120	3.0
	diazinon	89.3	5	20.3	3	2.1	34	7.1	27	2.8
	propiconazole	102.8	4	31.3	2	4.6	>120	7.3	>120	8.4
	fipronil	101.6	67	17.5	27	6.0	>120	5.2	>120	5.9
	cadusafos	109.5	42	18.6	12	4.2	>120	3.2	>120	3.9
	diclocymet	99.4	24	24.0	4	4.3	>120	4.2	>120	3.9
	trifloxystrobin	93.3	7	13.4	4	2.5	55	3.5	52	2.3
	tolclofos-methyl	89.5	6	19.9	2	1.7	63	6.3	52	2.1
	tetradifon	91.5	13	16.9	4	7.9	>120	8.4	>120	10.1
	fenthion	95.5	5	19.8	2	2.7	43	4.2	43	5.0

Soil	Compound	Water extracts					Total extracts			
		MB <sup>c</sup> (%)	SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>		SFO <sup>a</sup>		DFOP <sup>b</sup>	
			DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)	DT <sub>50</sub> <sup>d</sup> (day)	Err <sup>e</sup> (%)
LS5	dinotefuran	97.8	76	19.7	18	7.3	>120	4.1	>120	4.1
	imidacloprid	86.6	11	21.1	5	10.5	86	7.2	78	6.9
	dimethoate	80.7	5	3.2	5	4.1	8	5.2	8	6.2
	clothianidin	94.4	11	26.3	3	7.5	91	8.2	88	9.2
	thiacloprid	85.2	4	10.5	3	NC <sup>g</sup>	26	5.2	25	5.9
	fosthiazate	90.9	8	7.4	8	6.4	24	5.9	20	3.8
	metalaxyl	90.6	45	14.1	22	6.8	111	6.3	>120	5.4
	ethiprole	93.9	8	19.4	6	18.2	26	12.4	16	5.8
	azoxystrobin	96.9	4	25.6	2	3.5	50	9.3	42	7.5
	methidathion	68.6	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	fenobucarb	112.8	9	11.0	7	NC <sup>g</sup>	21	10.4	21	12.4
	boscalid	99.8	15	31.5	2	5.3	>120	4.9	>120	5.2
	flutolanil	102.3	19	24.3	3	5.3	101	3.6	102	3.6
	procymidone	97.7	45	23.7	6	8.0	>120	2.5	>120	1.5
	fenitrothion	61.7	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	kresoxim-methyl	11.7	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	tetraconazole	100.7	32	18.5	10	5.1	>120	5.3	>120	3.9
	chloroneb	89.7	9	23.9	3	6.7	67	5.6	67	6.6
	diazinon	52.3	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	propiconazole	105.8	15	20.8	5	8.8	76	5.8	64	4.1
	fipronil	109.5	36	11.6	25	5.7	65	4.9	57	4.1
	cadusafos	104.3	41	13.1	26	5.2	103	3.9	103	4.7
	diclocymet	105.9	60	13.6	37	5.5	>120	4.5	>120	3.9
	trifloxystrobin	51.5	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>	ND <sup>f</sup>
	tolclofos-methyl	90.3	5	4.8	4	NC <sup>g</sup>	10	4.8	9	0.9
	tetradifon	97.5	21	3.6	18	3.7	64	6.2	51	3.7
	fenthion	94.4	NC <sup>g</sup>	NC <sup>g</sup>	NC <sup>g</sup>	NC <sup>g</sup>	4	19.5	3	2.3

<sup>a</sup> Single first-order model. Duplicate samples were averaged prior to curve fitting.

<sup>b</sup> Double first-order in parallel model. Duplicate samples were averaged prior to curve fitting.

<sup>c</sup> Mass balance of the sample at 0-day incubation. Mean values of duplicate samples. When the MB was less than 70%, the sequential extraction method was judged inapplicable.

<sup>d</sup> Time taken for 50% disappearance of the initial concentration.

<sup>e</sup> Model error (Err, %) was calculated as follows:<sup>1</sup>

$$\text{Err} = 100 \cdot \sqrt{\frac{1}{\chi_{m,\alpha}^2} \sum \frac{(C - O)^2}{\bar{O}^2}}$$

where  $C$  is the calculated value,  $O$  is the observed value, and  $\bar{O}$  is the mean of all observed values.  $\chi_{m,\alpha}^2$  is the tabulated chi-square value where  $m$  is the degrees of freedom, *i.e.*, number of measurements (after averaging of duplicates) minus number of model parameters, and  $\alpha$  is probability (5%).

<sup>f</sup> No data (the sequential extraction method was judged inapplicable).

<sup>g</sup> Not calculated (the dissipation is too fast).

#### Reference

(1) FOCUS (The forum for co-ordination of pesticide fate models and their use) (2006) Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration. European Union.



## 付 録 表 B

Linear regression analysis<sup>a</sup> between the apparent sorption coefficient ( $K_{d,app}$ ) and the square root of time.

Soil	Compound	$K_{d,app}(t_0)^b$ (mL/g)	$K_{d,app} = a + bt^{0.5}$				
			N <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	P <sup>d</sup>	a	b
LS1	dinotefuran	<0.1	14	0.015	0.682	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	imidacloprid	<0.1	12	0.360	0.039	0.02	0.04
	dimethoate	<0.1	1	NC <sup>f</sup>	NC <sup>f</sup>	NC <sup>f</sup>	NC <sup>f</sup>
	clothianidin	<0.1	13	0.371	0.027	0.03	0.04
	thiacloprid	0.5	10	0.657	0.004	0.37	0.14
	fosthiazate	0.2	14	0.055	0.421	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	metalaxyl	0.3	13	0.417	0.017	0.30	0.08
	ethiprole	0.3	14	0.002	0.876	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	azoxystrobin	2.2	14	0.704	<0.001	2.59	0.21
	methidathion	0.3	9	0.141	0.319	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	fenobucarb	0.1	13	0.265	0.072	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	boscalid	0.2	12	0.818	<0.001	0.21	0.12
	flutolanil	0.3	13	0.676	0.001	0.28	0.03
	procymidone	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	fenitrothion	0.8	11	0.584	0.006	0.66	0.23
	kresoxim-methyl	0.5	13	0.737	<0.001	0.33	0.18
	tetraconazole	0.6	13	0.692	<0.001	0.75	0.03
	chloroneb	0.5	14	0.916	<0.001	0.28	0.21
	diazinon	0.5	13	0.332	0.039	0.56	0.02
	propiconazole	0.8	13	0.521	0.005	0.94	0.03
	fipronil	0.4	13	0.801	<0.001	0.31	0.09
	cadusafos	0.8	13	0.054	0.444	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	diclocymet	0.2	13	0.888	<0.001	0.24	0.03
	trifloxystrobin	6.2	13	0.730	<0.001	6.54	-0.18
	tolclofos-methyl	2.0	12	0.705	0.001	2.10	0.13
	tetradifon	7.2	13	0.017	0.675	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	fenthion	1.4	13	0.638	0.001	-1.55	1.54

Soil	Compound	$K_{d,app}(t_0)^b$ (mL/g)	$K_{d,app} = a + bt^{0.5}$				
			N <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	P <sup>d</sup>	a	b
LS2	dinotefuran	<0.1	13	0.399	0.021	0.10	0.03
	imidacloprid	1.2	13	0.922	<0.001	0.90	0.37
	dimethoate	0.1	12	0.525	0.008	-0.47	0.35
	clothianidin	0.7	13	0.882	<0.001	0.48	0.24
	thiacloprid	3.3	11	0.884	<0.001	1.92	1.16
	fosthiazate	0.6	14	0.869	<0.001	0.48	0.13
	metalaxyl	0.5	14	0.870	<0.001	0.34	0.13
	ethiprole	1.5	14	0.064	0.381	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	azoxystrobin	9.1	12	0.769	<0.001	9.95	1.72
	methidathion	3.3	11	0.601	0.005	-2.14	4.44
	fenobucarb	0.6	13	0.712	<0.001	0.84	0.15
	boscalid	13.9	13	0.828	<0.001	15.20	1.23
	flutolanil	5.9	13	0.866	<0.001	6.14	0.65
	procymidone	4.8	14	0.821	<0.001	5.00	0.48
	fenitrothion	15.9	9	0.836	0.001	11.11	8.29
	kresoxim-methyl	7.4	13	0.933	<0.001	-0.20	6.58
	tetraconazole	13.7	13	0.923	<0.001	14.50	1.15
	chloroneb	7.0	13	0.779	<0.001	7.64	0.70
	diazinon	5.4	13	0.800	<0.001	3.38	1.60
	propiconazole	15.1	12	0.562	0.005	18.44	1.04
	fipronil	7.9	12	0.644	0.002	8.55	0.31
	cadusafos	4.1	14	0.394	0.016	4.76	0.17
	diclocymet	5.3	13	0.940	<0.001	5.60	0.43
	trifloxystrobin	39.0	13	0.956	<0.001	32.78	8.32
	tolclofos-methyl	49.0	11	0.754	0.001	43.48	7.43
	tetradifon	190.9	13	0.758	<0.001	190.14	13.90
	fenthion	39.3	9	0.870	<0.001	26.66	17.68

Soil	Compound	$K_{d,app}(t_0)^b$ (mL/g)	$K_{d,app} = a + bt^{0.5}$				
			N <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	P <sup>d</sup>	a	b
LS3	dinotefuran	0.4	12	0.522	0.008	0.35	0.07
	imidacloprid	5.1	13	0.869	<0.001	4.26	1.04
	dimethoate	0.4	10	0.620	0.007	-0.32	0.59
	clothianidin	3.1	13	0.824	<0.001	2.43	0.70
	thiacloprid	8.6	9	0.546	0.023	-6.17	12.98
	fosthiazate	0.9	14	0.903	<0.001	0.18	0.58
	metalaxyl	1.1	13	0.744	<0.001	0.85	0.29
	ethiprole	1.5	12	0.910	<0.001	0.81	0.76
	azoxystrobin	14.3	13	0.928	<0.001	19.91	5.66
	methidathion	7.4	9	0.672	0.007	-3.53	10.96
	fenobucarb	0.7	12	0.519	0.008	1.12	0.25
	boscalid	16.7	13	0.975	<0.001	13.81	9.05
	flutolanil	6.1	14	0.866	<0.001	6.59	1.31
	procymidone	5.5	14	0.860	<0.001	6.07	1.17
	fenitrothion	33.7	9	0.880	<0.001	20.70	49.39
	kresoxim-methyl	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	tetraconazole	20.8	13	0.891	<0.001	28.46	2.57
	chloroneb	17.2	13	0.639	0.001	21.57	2.49
	diazinon	6.3	12	0.954	<0.001	6.49	1.48
	propiconazole	21.8	14	0.788	<0.001	33.14	4.14
	fipronil	6.3	13	0.092	0.314	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	cadusafos	4.7	14	0.626	0.001	5.51	0.41
	diclocymet	4.6	14	0.900	<0.001	5.80	0.60
	trifloxystrobin	34.9	10	0.930	<0.001	30.97	10.97
	tolclofos-methyl	57.7	10	0.992	<0.001	59.95	18.76
	tetradifon	162.1	12	0.950	<0.001	174.74	25.98
	fenthion	57.4	11	0.794	<0.001	7.45	50.89

Soil	Compound	$K_{d,app}(t_0)^b$ (mL/g)	$K_{d,app} = a + bt^{0.5}$				
			N <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	P <sup>d</sup>	a	b
LS4	dinotefuran	3.7	14	0.321	0.035	4.76	0.33
	imidacloprid	73.9	14	0.680	<0.001	79.42	14.93
	dimethoate	4.2	14	0.581	0.002	5.14	1.31
	clothianidin	48.6	14	0.616	0.001	55.35	6.80
	thiacloprid	170.9	13	0.810	<0.001	158.64	55.95
	fosthiazate	4.9	12	0.985	<0.001	4.01	2.95
	metalaxyl	4.6	12	0.761	<0.001	5.38	1.90
	ethiprole	8.0	13	0.749	<0.001	4.05	5.00
	azoxystrobin	51.5	13	0.952	<0.001	63.94	52.15
	methidathion	78.7	9	0.657	0.008	35.75	65.51
	fenobucarb	5.4	14	0.794	<0.001	8.85	1.41
	boscalid	122.5	13	0.919	<0.001	40.37	134.12
	flutolanil	26.8	13	0.972	<0.001	37.22	13.73
	procymidone	30.3	14	0.854	<0.001	46.50	9.00
	fenitrothion	308.1	5	0.988	0.001	238.94	273.12
	kresoxim-methyl	21.5	12	0.975	<0.001	8.65	24.51
	tetraconazole	63.4	13	0.975	<0.001	75.73	27.78
	chloroneb	188.2	13	0.890	<0.001	231.05	31.03
	diazinon	20.2	13	0.966	<0.001	8.27	17.75
	propiconazole	78.2	14	0.954	<0.001	111.67	40.30
	fipronil	15.6	13	0.791	<0.001	21.43	1.58
	cadusafos	17.0	13	0.982	<0.001	18.39	5.53
	diclocymet	16.9	13	0.944	<0.001	20.90	5.13
	trifloxystrobin	57.5	11	0.968	<0.001	33.79	39.22
	tolclofos-methyl	289.1	8	0.958	<0.001	299.33	134.19
	tetradifon	542.9	8	0.738	0.006	570.69	160.95
	fenthion	348.1	10	0.990	<0.001	290.56	260.71

Soil	Compound	$K_{d,app}(t_0)^b$ (mL/g)	$K_{d,app} = a + bt^{0.5}$				
			N <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	P <sup>d</sup>	a	b
LS5	dinotefuran	2.5	14	0.295	0.045	5.00	0.45
	imidacloprid	34.2	14	0.704	<0.001	48.92	10.12
	dimethoate	2.8	12	0.461	0.015	1.84	4.50
	clothianidin	25.0	14	0.529	0.003	39.82	5.04
	thiacloprid	68.1	7	0.948	<0.001	59.01	45.54
	fosthiazate	1.6	13	0.889	<0.001	0.95	2.66
	metalaxyl	1.2	14	0.763	<0.001	1.72	0.67
	ethiprole	2.8	13	0.687	<0.001	4.14	1.27
	azoxystrobin	16.3	14	0.911	<0.001	23.25	9.42
	methidathion	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	fenobucarb	2.9	6	0.984	<0.001	2.26	2.28
	boscalid	23.8	13	0.699	<0.001	15.52	15.35
	flutolanil	14.0	12	0.920	<0.001	12.82	6.55
	procymidone	16.6	14	0.563	0.002	22.95	2.74
	fenitrothion	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	kresoxim-methyl	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	tetraconazole	33.0	14	0.954	<0.001	34.93	6.74
	chloroneb	89.3	11	0.737	0.001	113.19	29.12
	diazinon	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	propiconazole	31.5	14	0.930	<0.001	25.10	12.87
	fipronil	17.1	14	0.889	<0.001	18.30	1.86
	cadusafos	9.9	13	0.957	<0.001	10.41	2.37
	diclocymet	12.1	14	0.915	<0.001	13.70	1.43
	trifloxystrobin	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>	ND <sup>e</sup>
	tolclofos-methyl	162.6	7	0.852	0.003	145.28	53.66
	tetradifon	439.2	10	0.760	0.001	404.81	55.97
	fenthion	208.8	2	NC <sup>f</sup>	NC <sup>f</sup>	NC <sup>f</sup>	NC <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Linear regression analysis and outlier detection were performed using SPSS Statistics 19 (IBM Corporation, Armonk, USA). The possible outliers were excluded when the standardized DFFIT values exceeded 1.<sup>1</sup> Duplicate samples were used individually in the analysis.

<sup>b</sup> Apparent sorption coefficients at 0-day incubation. Mean values of duplicate samples.

<sup>c</sup> Number of measurements after outlier test.

<sup>d</sup> Probability.

<sup>e</sup> No data (the sequential extraction method was judged inapplicable or the probability was greater than 5%).

<sup>f</sup> Not calculated (the number of measurements is too small).

## Reference

- (1) Cousineau, D. and Chartier, S. (2015) Outliers detection and treatment: a review. *International Journal of Psychological Research*, 3(1), 58–67.

## 業績リスト

### 1. 査読付論文 (太字は学位請求論文を構成している論文)

- (1) Watanabe, E., Seike, N., **Motoki, Y.**, Inao, K. and Otani, T. (2016) Potential application of immunoassays for simple, rapid and quantitative detections of phytoavailable neonicotinoid insecticides in cropland soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132, 288-294.
- (2) **Motoki, Y.**, Iwafune, T., Seike, N., Inao, K. and Otani, T. (2016) Effect of time-dependent sorption on the dissipation of water-extractable pesticides in soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(22), 4478-4486.
- (3) **Motoki, Y.**, Iwafune, T., Seike, N., Otani, T. and Akiyama, Y. (2015) Relationship between plant uptake of pesticides and water-extractable residue in Japanese soils. *Journal of pesticide science*, 40(4), 175-183.
- (4) **Motoki, Y.**, Iwafune, T., Seike, N., Otani, T. and Asano, M. (2014) Effects of organic carbon quality on the sorption behavior of pesticides in Japanese soils. *Journal of pesticide science*, 39(2), 105-114.
- (5) Ishikawa, H., Hoshino, Y., **Motoki, Y.**, Kawahara, T., Kitajima, M., Kitami, M., Watanabe, A., Bravo, A., Soberon, M., Honda, A., Yaoi, K. and Sato, R. (2007) A system for the directed evolution of the insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. *Molecular biotechnology*, 36(2), 90-101.

### 2. 著作物 (査読付論文以外)

- (1) 岩船敬, **元木裕**, 石原悟 (2016) 農薬の環境モニタリングおよび残留農薬分析法の検討に必要な情報—河川水試料および土壌試料を中心に—. *ぶんせき*, 7, 257-264.
- (2) **元木裕**, 岩船敬 (2016) 温度変化が農薬の土壌残留性に及ぼす影響, *植調*, 49(11), 7-13.
- (3) **元木裕**, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓, 浅野眞希 (2015) 平成 27 年度論文賞対象論文の概要とその研究背景. *日本農薬学会誌*, 40(2), 188-190.
- (4) 清家伸康, **元木裕**, 大谷卓 (2014) 土壌から POPs 抽出法改良による作物吸収量推定技術の開発. 生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 [化学物質 (第 1 編)] 研究成果 521, 139-144.



- (5) 清家伸康, 元木裕, 大谷卓, 上野達, 中本洋, 岡本真理, 山田哲平, 齋藤隆, 成田伊都美, 佐藤賢一, 山崎晴民, 遠藤昌伸, 橋本良子 (2014) 異なる土壌における土壌汚染推定技術の検証. 生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 [化学物質 (第1編)] 研究成果 521, 144-150.
- (6) 清家伸康, 元木裕, 大谷卓, 上野達, 中本洋, 岡本真理, 山田哲平, 齋藤隆, 成田伊都美, 佐藤賢一, 山崎晴民, 遠藤昌伸, 橋本良子 (2014) 活性炭の種類(性質)がPOPsの作物吸収に及ぼす影響の解明. 生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 [化学物質 (第1編)] 研究成果 521, 209-214.
- (7) 清家伸康, 元木裕, 大谷卓, 上野達, 中本洋, 岡本真理, 山田哲平, 齋藤隆, 成田伊都美, 佐藤賢一, 山崎晴民, 遠藤昌伸, 橋本良子 (2014) 異なる土壌における活性炭を利用したPOPs吸収抑制技術の検証. 生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 [化学物質 (第1編)] 研究成果 521, 214-217.
- (8) 清家伸康, 元木裕, 大谷卓, 上野達, 岡本真理, 齋藤隆, 山崎晴民, 遠藤昌伸 (2013) ウリ科作物のPOPs残留濃度を推定できる土壌診断法. 農林水産委託プロジェクト 生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 技術情報集, 8-9.
- (9) 清家伸康, 元木裕, 大谷卓, 上野達, 岡本真理, 齋藤隆, 山崎晴民, 遠藤昌伸, 松澤清二郎, 中野潔, 矢野英之, 平田武 (2013) 活性炭でPOPsの作物吸収を抑制. 農林水産委託プロジェクト 生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 技術情報集, 12-13.
- (10) 岩船敬, 元木裕, 藤原愛仁, 平林太輔, 渡辺高志, 西岡暢彦 (2011) 土壌を經由した後作物への農薬残留に関する調査研究 (第三報), 農薬調査研究報告, 第3号, 1-7.
- (11) 元木裕, 岡美和, 平林太輔, 西岡暢彦, 北村恭朗 (2010) 土壌を經由した後作物への農薬残留に関する調査研究 (第二報), 農薬調査研究報告, 第2号, 1-12.
- (12) 岡美和, 伊藤和男, 齋藤玲奈, 池長宙, 北村恭朗, 西岡暢彦, 山田邦彦, 元木裕 (2009) 土壌を經由した後作物への農薬残留に関する調査研究, 農薬調査研究報告, 第1号, 14-18.

### 3. 学会発表

- (1) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 稲生圭哉, 大谷卓 (2016) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第6報 土壌吸着係数 ( $K_d$ ) の経時変化, 日本農薬学会第41回大会
- (2) 渡邊栄喜, 清家伸康, 元木裕, 稲生圭哉 (2016) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第7報 ELISAによる土壌中の水抽出可能な農薬の簡易定量法および土壌診断への適用可能性, 日本農薬学会第41回大会
- (3) 並木小百合, 大谷卓, 元木裕, 清家伸康, 岩船敬 (2016) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第9報 土耕試験における農薬の各種作物による吸収・移行性の比較, 日本農薬学会第41回大会
- (4) 岩船敬, 元木裕, 清家伸康 (2016) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第10報 土壌から水抽出される農薬の消長—黒ボク土圃場における深度別評価—, 日本農薬学会第41回大会
- (5) 清家伸康, 元木裕, 並木小百合, 稲生圭哉, 岩船敬 (2016) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第11報 ほ場試験によるコマツナの土壌中農薬の吸収性評価, 日本農薬学会第41回大会
- (6) 並木小百合, 大谷卓, 元木裕, 清家伸康, 岩船敬 (2015) 農薬の物理化学性の違いが土壌溶液中濃度に及ぼす影響, 日本土壌肥料学会
- (7) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓, 秋山嘉大 (2015) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第5報 コマツナ中農薬濃度と水抽出された土壌中農薬濃度の関係, 日本農薬学会第40回記念大会
- (8) Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N. and Otani T. (2014) Effect of aging time on water-extractability of pesticide residues in Japanese soils, 13th IUPAC INTERNATIONAL CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY
- (9) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓 (2014) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第4報 温度変化が農薬の土壌残留性に及ぼす影響, 日本農薬学会第39回大会
- (10) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓 (2013) pH変化が農薬の土壌残留性に及ぼす影響, 第36回農薬残留分析研究会
- (11) 岩船敬, 元木裕 (2013) 後作物残留試験の課題 -農薬検査部における調査研究等を踏まえて-, 第21回農薬レギュラトリーサイエンス研究会

- (12) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓 (2013) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第3報 水抽出法による農薬の土壌残留性評価, 日本農薬学会第38回大会
- (13) 清家伸康, 元木裕, 稲生圭哉, 大谷卓 (2013) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第2報 アベイラビリティ評価に関する研究, 日本農薬学会第38回大会
- (14) 元木裕, 清家伸康, 大谷卓 (2012) 農薬の土壌吸着について  $\sim\pi\text{-}\pi$  相互作用の影響~, 第30回農薬環境科学研究会
- (15) Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N. and Otani T. (2012) Adsorption properties of pesticides on activated carbon, SETAC Asia Pacific 2012
- (16) 柏木宣久, 清家伸康, 元木裕, 稲生圭哉, 大谷卓 (2012) ウリ科野菜における POPs 汚染度診断法の開発 III. 圃場における POPs の土壌中濃度分布について, 第21回環境化学討論会
- (17) Motoki, Y., Iwafune, T., Seike, N. and Otani T. (2012) Effect of pH and electrolyte concentration on soil adsorption of pesticides, 6th SETAC World Congress/ SETAC Europe 22nd Annual Meeting
- (18) Iwafune, T., Motoki, Y. (2012) Relationships between soil adsorption of pesticides and pesticide/soil properties, ABSTRACT BOOK 6th SETAC World Congress/ SETAC Europe 22nd Annual Meeting, 348-349
- (19) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓 (2012) 農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第1報 塩濃度および pH が農薬の土壌吸着に及ぼす影響, 日本農薬学会第37回大会

#### 4. 受賞

- (1) 元木裕, 岩船敬, 清家伸康, 大谷卓, 浅野真希, 日本農薬学会論文賞, 平成27年3月18日