

(2) 水田農薬第 2 段階試験法関係

- ・ 水質汚濁試験法
- ・ 検討の参考データ

水質汚濁性試験法

平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農産園芸局通知「農薬の登録申請に係る試験成績」で規定（初出：平成 4 年 4 月 6 日付け 4 農蚕第 2230 号農蚕園芸局植物防疫課長通達）

1．目的

本試験は、水田に施用される農薬の水田水の水質における汚濁に関する科学的知見を得ることを目的とする。

2．試験区（試験水田）の設定

下記により、試験区として被験物質処理区及び無処理区を設定する。

（1）試験区（試験水田）の設置方法

原則として 1 m²（1 m × 1 m）以上のコンクリート製の容器等とし、浸透水量の調節ができるものとする。

充てん土壌は、灰色低地土、グライ土、多湿黒ボク土、褐色低地土等からなる水田土壌で、原則として風乾しない状態で碎き、小石及び粗大有機物等を選別除去してからよく混合した後、十分に脱気しながら土層の深さが 50 cm 程度となるように湿式充てんしたものとする。

ほ場における気象その他の環境条件が十分に反映されるように設置する。

降雨による水田水量の急激な上昇等を避けるため、屋根を設け雨水が入らないようにすることが望ましい。この場合には、大気の流れを妨げないよう留意するとともに、屋根の素材は光線透過率の良好なものを使用する。

（2）試験区（試験水田）の管理

試験期間を通じて 1 日当たりの降下浸透は 1 ～ 2 cm 程度とし、水深 5 cm 程度の湛水状態を保つ。落水や掛け流しは避けるものとする。

使用する水は、被験物質の分解、分析等に影響を及ぼすおそれのある物質を含まないものとする。

（3）試験区の栽培農作物

試験区で栽培する農作物は、登録申請に係る適用農作物とし、原則として慣行の方法により栽培する。

3．被験物質の取扱い及び施用

（1）被験物質は、調製後、速やかに施用する。

（2）被験物質は、適切な管理条件下で保管するものとし、開封後、長期間保管する場合には、保管中の安定性を確認する。

（3）被験物質は、登録申請に係る剤型、使用方法（時期、量等）等に基づき、通常用

いられる器具を用いて、適切に1回施用する。

ただし、試験水田において当該器具を使用することが困難な場合には、他の同等な方法で代替することができるものとする。

- (4) 雨天時又は被験物質の施用後に降雨が予想される場合には、施用は行わない。ただし、屋根を設置している等降雨の影響がない場合は、この限りでない。

4. 試料（水田水）の採取

(1) 採取方法

粗大有機物や土壌粒子が極力混入しないよう注射器等を用いて必要量をガラス瓶等に採取し、十分に混和する。

1回の採取において4か所以上（原則として、水深2～3cm）の異なる地点から採取する。

(2) 採取時期及び回数

原則として、被験物質の施用直前、直後（施用後1～3時間）、1日後、3日後、7日後及び14日後にそれぞれ1回行う。

施用後14日以降も水田水から分析対象物質が検出される可能性のある場合には、検出濃度がその最高値の10分の1以下になるまで採取を続ける。

被験物質の登録申請に係る使用方法に止水期間が設けられている場合には、止水期間終了日にも採取する。

5. 試料の取扱い

(1) 試料の輸送

試料の輸送に当たっては、試料が変質又は汚染しないよう十分留意するとともに、凍結しない程度の低温条件で速やかに輸送する。

輸送に当たっては、試料の取り違い等を防止するため、識別票を添付する等により適切に取り扱うものとする。

(2) 輸送試料の取扱い

試料は、受領後ただちに識別票等により現物の確認を行った後、他の試料との混同がないよう適切に取り扱い、速やかに分析に供するものとする。

6. 試料の分析

(1) 分析対象物質

被験物質に係る農薬の有効成分及び当該有効成分が生物的又は化学的に変化して生成した物質とする。ただし、水中における検出量がきわめて微量であること、その毒性がきわめて弱いこと等により有害でないと認められるものは除く。

(2) 分析方法

分析対象物質を正確に分析できる方法を採用する。

分析対象物質の残留量はmg / lで表す。

分析は、各試料ごとに少なくとも2回行い、これらの平均値を測定値とする。

分析法の精度は、分析対象物質の検出が見込まれる濃度範囲での変動係数により確

認する。

分析法の感度は、試料について分析の全操作を行った場合に十分な回収率が得られる最低濃度である定量限界で表すこととし、試験の目的に則した感度とする。

分析法の回収率は、定量限界及び分析対象物質の検出が見込まれる濃度範囲で、無処理区から採取した試料に既知量の分析対象物質を添加した試料を用いて確認する。

試料は、原則として、採取後速やかに分析に供することとするが、やむを得ず試料を一時保管しなければならない場合には、適切な管理条件下に保管し、保管期間中は、分析対象物質の安定性を確認するため保存安定性試験を実施する。

保存安定性試験は、無処理区から採取した試料に既知量の分析対象物質を添加し、分析試料と同一条件で同一期間以上保管した試料を分析する方法により行う。

7. 報告事項

- (1) 試験成績作成機関（ほ場試験実施場所及び分析実施場所）
- (2) 被験物質
- (3) 試験条件
- (4) 分析方法（概要及び詳細）
- (5) 分析対象毎の定量限界及び回収率
- (6) 試料調製に係る明細
- (7) 分析結果（各試料採取時点の分析値）

（参考）水質汚濁性試験の解説

平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農産園芸局通知農薬の登録申請に係る試験成績の別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針について」より

1. 試験水田について

(1) 試験水田の調製

試験水田を新たに調製する場合には、充填土層内が粗密になったり、割れ目等ができないよう十分注意する。また、調製後は、土壌が落ち着くまでの間（数か月程度）水を張り放置する。

(2) 試験水田の土壌

試験土壌は、できる限り土壌の特性の異なるものを選定する。

粒径組成及び土性分類（国際土壌学会等）、土壌 pH（水及び KCl 水溶液又は CaCl_2 水溶液）、有機炭素含量、CEC（陽イオン交換容量）、主粘土鉱物、その他試験結果の評価に有益な性質及び採取した場所の詳細情報（履歴情報を含む）が明らかな土壌を使用する。土壌群（土壌統群）又は成因の知見は、試験結果の評価に有益な情

報の1つとなる。

(3) 試験水田に使用する水

河川水等については被験物質の有効成分等を含まないものを、また、水道水については、一晚汲み置きをしたものを使用する等、被験物質の有効成分等の分析、分解等に影響を及ぼすおそれのある物質を含んだ水は使用しない。

2. 試験区(試験水田)の管理について

試験水田の水が不足した場合には、速やかに補充する。

なお、試験水田に屋根を設けてない場合には、雨水による溢水等に十分注意する。

3. 試験区の栽培作物について

(1) 試験水田で栽培する作物は、当該農薬の登録申請にあたりその申請書の記載に基づいて使用される範囲の作物とするが、特殊な作物で栽培が困難な場合には、作物を栽培しないで試験を行うことができる。

(2) 使用される作物が複数ある場合には、原則として、有効成分投下量が最も多くなる作物とする。

(3) 被験物質の処理の時期は、登録申請の農作物の使用時期とする。

(4) 登録申請の農作物及び使用方法が複数ある場合には、原則として、有効成分等の水田水中の濃度が他の方法に比べ最も高くなると考えられる農作物の使用方法とする。

4. 被験物質の取扱い及び施用について

(1) 被験物質は、1回の処理量が有効成分換算で最大となる使用方法で施用する。

乳剤等の希釈液を施用する場合は、10a当たりの散布液量を150 Lとして計算により求める。

育苗箱処理の場合には、10a当たり20箱使用するものとして、計算により求める。

(2) 被験物質は、密栓、密封等により適切に保管すること。開封後長期間保管する場合であっても1年間を限度とする。

(3) 被験物質の調製後、速やかに施用できない場合は、再度調製の上施用する。

(4) 被験物質の施用時に天候、雨量、風向、風速等の気象条件を記録する。

5. 試料の採取について

(1) 採取は、乱数表による無作為法、又はS字若しくはX字型等の系統的な方法とし、試験区の端からは採取しない。

(2) 採取に使用する用具等は清浄であることを確認して使用する。

(3) 採取及び包装は無処理区から行い、被験物質の接触したと思われる手、用具又は衣服から試料が汚染されることを避ける。

(4) 採取した試料は試験区毎にそれぞれ包装し、輸送中に破損しないようにする。

(5) 浸透水についても、水田水を採取するための試験期間内で、適切な時期(通常1週間間隔)に採取し、分析を行う。

6．試料の取り扱いについて

- (1) 試料を保管する場合は、5 以下で保管する。
- (2) 保管する場合は、保存安定性試験を実施する。
- (3) 試験水中に浮遊物質（藻、ミジンコ、腐植等）が明らかに存在した場合、濾過等適切な手段をもって除去する。

7．試料の分析について

(1) 分析対象物質

分析対象物質は、当該農薬の有効成分のほか、土壌中運命試験において生成した代謝分解物及び水中運命試験において生成した代謝分解物等のうち主要なもの（通常、10%以上生成したものとし、CO₂を除く。）とする。ただし、これらの代謝分解物の内、毒性上問題ないことが知られている場合、毒性試験の結果（通常は急性毒性及び突然変異原性）等から毒性上の懸念がないことが示される場合又はそれら代謝分解物が残留するおそれがないと判断される場合には、除く。

分析対象物質の標準品の純度は、おおむね 95%以上を目安とする。

(2) 分析方法

分析方法は必要な精度、定量限界及び回収率を有するものとする。

同一試料について 2 回以上繰り返して分析を行ない分析値を平均して測定値とする。

原則として、標準偏差パーセント（変動係数 = 標準偏差 ÷ 平均値 × 100）が 10%（ただし、定量限界付近においては 20 %）以内の精度、1 µg / L 以下の定量限界を有するものであること。

定量限界は、試料について全操作を行った場合に十分な回収率が得られる最低濃度とし、無処理区の試料に検出限界量のおおむね 1 ~ 10 倍になるよう分析対象物質を添加して、分析の全操作を行った場合の添加量に対する回収率が、70 ~ 120% の回収率が得られる濃度を定量限界とする。分析は 3 回以上行う。有効数字は、2 桁以内とする。

回収率は、無処理区の水田水に被験物質の有効成分を添加し、定量限界濃度において、3 回以上繰り返し測定する。被験物質の施用量から求められる理論濃度及び定量限界との中間付近の濃度においても添加回収試験を実施する。有効数字は、原則として小数点第一位を四捨五入し整数で表記する。

検出限界は、試料について分析の全操作を行ったと仮定した場合、分析対象物質の有無が明らかに判断できる最低濃度とする。有無が明らかに判断できるとは、例えばクロマトグラム上で当該物質の保持時間に明確なピークが認められ、試料由来の妨害ピークが重ならない等、その分析方法において当該物質の有無が明らかに判断できることをいう。有効数字は、2 桁以内とする。

(3) 保存安定性試験

保管する場合は、原則として、別に採取した水に、既知量の分析対象物質を添加した試料を同時に冷蔵保管することにより、保管中の分析対象物質の減少を把握し、

減少のないことを確認する。試料の保管後の回収率は、70%以上得られることを目安とする。(回収率の試験による補正によらない。)

8. 報告書について

(1) 分析値

分析値は、無処理区の値を差し引くことなく、そのまま記載し、また、回収率による補正も行わない。

分析値は、定量限界の位にまとめる。ただし、有効数字は3桁以内とする。数字のまるめ方は JIS Z8401-1999 の規定による。

分析値が定量限界 ($a \mu\text{g} / \text{L}$) 未満のときは「 $< a \mu\text{g} / \text{L}$ 」と記載する。

分析値に定量限界未満の値が含まれている場合は、平均しない。

代謝分解物の分析値は、被験物質の有効成分に換算する。

測定値の記載方法は分析値の場合に準じる。

(2) 報告書は、「水質汚濁に係る分析結果報告書」(別記様式1)及び「水質汚濁に係る分析試料調整明細書」(別記様式2)により記載し、別紙の資料を添付する。

【検討の参考データ】

水田ライシメータを用いた試験は、実水田における挙動をよく反映していると考えられている。これまで数多くの試験が行われているが、登録用試験がほとんどである。一方、平成15年度環境省農薬残留対策総合調査結果のなかで本試験法（案）に準じた試験を実施しているので、その中間報告をお願いし、ここに掲げた。

- ・実施機関：埼玉県農林総合研究センター
- ・10連のライシメータ（屋根つき、1×1m、水稻(25株)栽培）を用い、2農薬成分のべ5剤型について、より細かな調査間隔により水質汚濁性試験を実施。
- ・農薬A＝水田除草剤（乳剤、粒剤、フロアブル剤ともに移植7日後処理） 農薬B＝水田殺菌剤（箱粒剤は移植直前に育苗箱に処理、粉剤DLは移植2.5か月後に処理）
- ・A乳剤については土壌の違いと区間のふれも調査、B粉剤DLについては処理法の違いと土壌の違いも調査した。
- ・事務局において、日別測定値を直線的に結んで欠測日における濃度を推定し「補正值」として表示した。補正值1は各測定日から推定、補正值2は水質汚濁性試験法に準じ0, 1, 3, 7, 14日の測定値から推定した（推定値は斜字）。また、それらの比較のために、積算濃度（Σ）を算出した。なお、0日については水質汚濁性試験に準じ3時間後の測定値を採用した。また、検出限界以下の測定値を含む場合の取り扱い、検出限界値を用いて計算した。（表中単位は全てppb）

表 1-1. A乳剤

36g ai/10a

Date	灰色低地土			黒ボク土(1)			黒ボク土(2)		
	測定値	補正值1	補正值2	測定値	補正值1	補正值2	測定値	補正值1	補正值2
0d(3hr)	695	695	695	748	748	748	726	726	726
0d(6hr)	582			547			596		
1d	254	254	254	168	168	168	338	338	338
2d	120	120	152	57	57	91	190	190	201
3d	49	49	49	14	14	14	63	63	63
4d		29	38		9	11		36	48
5d	8	8	27	3	3	8	8	8	33
6d		6	15		2	4		5	17
7d	4	4	4	1	1	1	2	2	2
8d		3	4		1	1		2	2
9d		3	3		1	1		1	2
10d	2	2	3	<1	<1	1	1	1	2
11d		2	2		<1	1		1	1
12d		1	2		<1	1		1	1
13d		1	1		<1	1		1	1
14d	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Σ 0～14d		1178	1250		1009	1052		1376	1438

表 1-2. A粒剤 40g ai/10a

Date	灰色低地土		
	測定値	補正值1	補正值2
0d(3hr)	343	343	343

表 1-3. Aフロアブル 38g ai/10a

Date	灰色低地土		
	測定値	補正值1	補正值2
0d(3hr)	906	906	906

0d(6hr)	386		
1d	267	267	267
2d	96	96	149
3d	30	30	30
4d		18	23
5d	6	6	16
6d		4	9
7d	2	2	2
8d		2	2
9d		1	2
10d	1	1	2
11d		1	1
12d		1	1
13d		1	1
14d	1	1	1
Σ 0 ~ 14d		774	849

0d(6hr)	677		
1d	178	178	178
2d	56	56	98
3d	18	18	18
4d		11	14
5d	4	4	10
6d		3	6
7d	2	2	2
8d		2	2
9d		1	2
10d	1	1	2
11d		1	1
12d		1	1
13d		1	1
14d	<1	<1	<1
Σ 0 ~ 14d		1186	1242

表 2-1. B 箱粒剤 40g ai/10a

Date	灰色低地土		
	測定値	補正值 1	補正值 2
0d(3hr)	12	12	12
0d(6hr)	16		
1d	21	21	21
2d	32	32	21
3d	20	20	20
4d		20	19
5d	20	20	18
6d		18	16
7d	15	15	15
8d		14	14
9d		12	12
10d	11	11	11
11d		10	10
12d		9	9
13d		7	7
14d	6	6	6
Σ 0 ~ 14d		226	210

試験は 35d まで調査しているが記載省略。

表 2-2. B 粉剤DL 40g ai/10a

Date	灰色低地土						黒ボク土					
	稲体上散布			田面水散布			稲体上散布			田面水散布		
	測定値	補正值 1	補正值 2	測定値	補正值 1	補正值 2	測定値	補正值 1	補正值 2	測定値	補正值 1	補正值 2
0d(3hr)	172	172	172	642	642	642	160	160	160	676	676	676
0d(6hr)	164			551			144			658		
1d	126	126	126	380	380	380	110	110	110	452	452	452
2d	56	56	79	196	196	254	46	46	68	251	251	296
3d	32	32	32	127	127	127	26	26	26	139	139	139
4d		30	26		79	101		22	22		91	110
5d	28	28	21	30	30	75	18	18	18	42	42	81
6d		19	15		26	48		14	14		32	51
7d	9	9	9	22	22	22	10	10	10	22	22	22
8d		8	8		19	20		9	9		17	20

9d		8	8		15	17		8	8		13	17
10d	7	7	7	12	12	15	7	7	7	8	8	15
11d		6	6		11	13		6	7		7	12
12d		6	5		9	11		6	6		7	10
13d		5	5		8	8		5	5		6	7
14d	4	4	4	6	6	6	4	4	4	5	5	5
Σ 0 ~ 14 d		515	523		1581	1738		451	474		1767	1912

■事務局コメント：

- ・本試験は、水質汚濁性試験よりも細かな間隔で濃度測定を行ったものであるが、10試験中9試験については補正值1 < 補正值2となっており、既往の水質汚濁性試験法からの濃度評価（欠測日推定）によっても過小評価にならないものと考えられる。
- ・本試験での土壌間差、区間差はさほど大きくないものと考えられる（表1 - 1、2 - 2）。
- ・生育後期散布剤について水面直接散布を行うと、稲体上部からの散布を行った場合よりも3～4倍高い濃度になるものと考えられる（表2 - 2）。
- ・同一有効成分について剤型別にみると、乳剤 フロアブル剤 > 粒剤（>）本田散布剤（粉剤）> 箱処理剤という傾向にあるものと考えられる（表1，2）。
- ・試験農薬成分が水深5cmの田面水に全て溶解した場合の理論最大濃度と本試験での実測最大濃度の関係は以下のとおり。

単位 ppb		
農 薬	理論最大濃度	実測最大濃度
A 乳剤	7 2 0	7 4 8
A 粒剤	8 0 0	3 8 6
A フロアブル	7 6 0	9 0 6
B 箱粒剤	8 0 0	3 2
B 粉剤 D L	8 0 0	6 7 6（水面施用） 1 6 4（稲体施用）

理論最大濃度と同等の事例もあるが、その場合でも、第1段階計算では濃度減衰を考慮しないのに対し、本試験からの評価では濃度減衰を考慮することになるため、評価濃度のレベルは第1段階計算よりも低下する。