

土壤残留性評価及び後作物残留性評価のための
試験法（案）の策定及び情報収集等

土壤残留性評価及び後作物残留性評価のための試験法（案） の策定及び情報収集等

平成18年度から平成21年度において環境省が実施した農薬残留対策総合調査の土壤残留性及び後作物残留性に係る調査の結果を踏まえ、望ましい試験法の骨子を取りまとめた。また、農薬の物理化学性の観点から後作物残留性の恐れのない農薬の条件について検討した。これらの検討にあたり、欧米における土壤残留性評価及び後作物残留性評価を調査・整理した。

土壤残留試験法

1. 作物栽培の有無について

平成18年度の比較調査結果から、作物がある条件では土壤への落下量が作物によって大きく影響を受け、とりわけ立体作物において土壤表面での農薬分布が不均一となることが明らかとなった。また、平面作物では作物体からの滴り落ち等によって散布直後よりも数日後の方が濃度が高くなる場合も認められた。このような変動要因を排除するため、欧米の野外消失試験でも裸地条件を原則としている。以上から、試験の精度向上のためには、裸地条件を原則とすることが適当と考えられる。

なお、畑地の場合、裸地での実施によって土壤が乾燥しやすくなることから、降水が少ない場合は適宜灌水を行う（降水がない期間にあつては少なくとも1週間に1回程度）ことが望ましい。その目安として土壤水分計を用いるのも一法である。

作物栽培の有無による土壤表面落下率と土壤表層濃度のばらつき

	落下率		変動係数			
	A剤	B剤	A剤		B剤	
			直後	7日後	直後	7日後
裸地圃場	66%	68%	0.22	0.41	0.20	0.33
平面作物栽培圃場	29%	28%	0.11	0.52	0.24	1.00
立体作物栽培圃場	36%	20%	1.66	0.62	1.95	1.05

平成18年度調査結果。落下率は理論投下量に対する処理直後の土壤中農薬量の割合を示す。
変動係数は各区8カ所の土壤中濃度のばらつきを示す。いずれも表層10cmを調査。

2. 土壤の採取法について

(1) 畑地の場合

①採取カ所数

現行は4カ所以上から表層10cmを採取することとされているが、欧米の野外消失試験ではより多くの地点から採取を行い、その深度も表層に限定していない。平成18及び20年度の調査結果において8カ所の土壤表層濃度を調査し高濃度側に分布する4カ所の平均値と低濃度側に分布する4カ所の平均値とを比較した結果、液剤を高精度に散布した場合でも1.5倍前後、分布が不均一になりやすい粒剤においては2倍前後の乖離が認められた（調査結果の一例を下表に示す）。このため、試験の精度向上のためには、採取カ所数を増加させることが必要と考えられる。その際、多いほどよいのは当然であるが、試験圃場の均質性の確保や労力等も考慮すると、8カ所程度とするのが適当と考えられる。

採取本数による処理直後の表層土壤中濃度 (mg/kg)

	粒剤		液剤	
	A剤	B剤	A剤	B剤
全平均 (8本)	1.48	6.55	0.84	2.39
高濃度4本平均(①)	1.84	9.00	0.94	2.74
低濃度4本平均(②)	1.13	4.09	0.74	2.05
① / ②	1.63	2.20	1.27	1.34

平成20年度調査結果

②採取深度

表層以深への農薬の移動については、水溶性の高い農薬の場合に、とりわけ浸透しやすい土壌（吸着性が低い）において問題となるが、吸着性が高い黒ボク土を用いた調査（平成21年度）でも水溶性の高い農薬は10cm以深からも検出されている。この事例について、10cmまでの土壌中濃度で求めた推定半減期と30cm深度までの土壌中濃度で求めた推定半減期を比較すると、後者のほうが長くなった。このため、表層以深における土壌中濃度も調査する必要があると考えられる。

その際、欧米では地下水汚染リスク評価の観点から1m深まで調査が行われることがあるが、我が国の農耕地土壌は欧米と異なり吸着性が高い火山灰系土壌が中心であること、土壌残留性の評価の目的が農作物への残留と関連づけられていることを考慮すれば、いわゆる作土層の範囲での調査が適当であると考えられる。このため、表層30cm程度までを調査対象とし、10cmごとに深度別に土壌中濃度を調査する方法が適当と考えられる（注）。

30cm深度まで調査した場合の半減期等

農薬	半減期 (日)		90%減衰期 (日)	
	0～10cm		0～30cm	
	0～10cm	0～30cm	0～10cm	0～30cm
A	16	17	55	57
B	11	19	38	65
C	68	77	225	256
D	16	42	55	141

平成21年度調査結果

（注）直径の異なる複数の採土管を用いて層別に採取することにより、コンタミのない採取を行うことが可能である。なお、採取穴は埋め戻し、次回以降は50cm以上はなれた位置から採取するよう留意する。

(2) 水田の場合

①採取カ所数

畑地と同様の詳しい調査は実施されていないが、田面水によって水田土壌表層の水平分布が畑地よりも均一化されやすいと考えられる一方、処理直後の粒剤の分布は畑地同様の不均一性を示すと考えられることから、畑地同様の採取カ所数とするのが望ましいと考えられる。

②採取深度

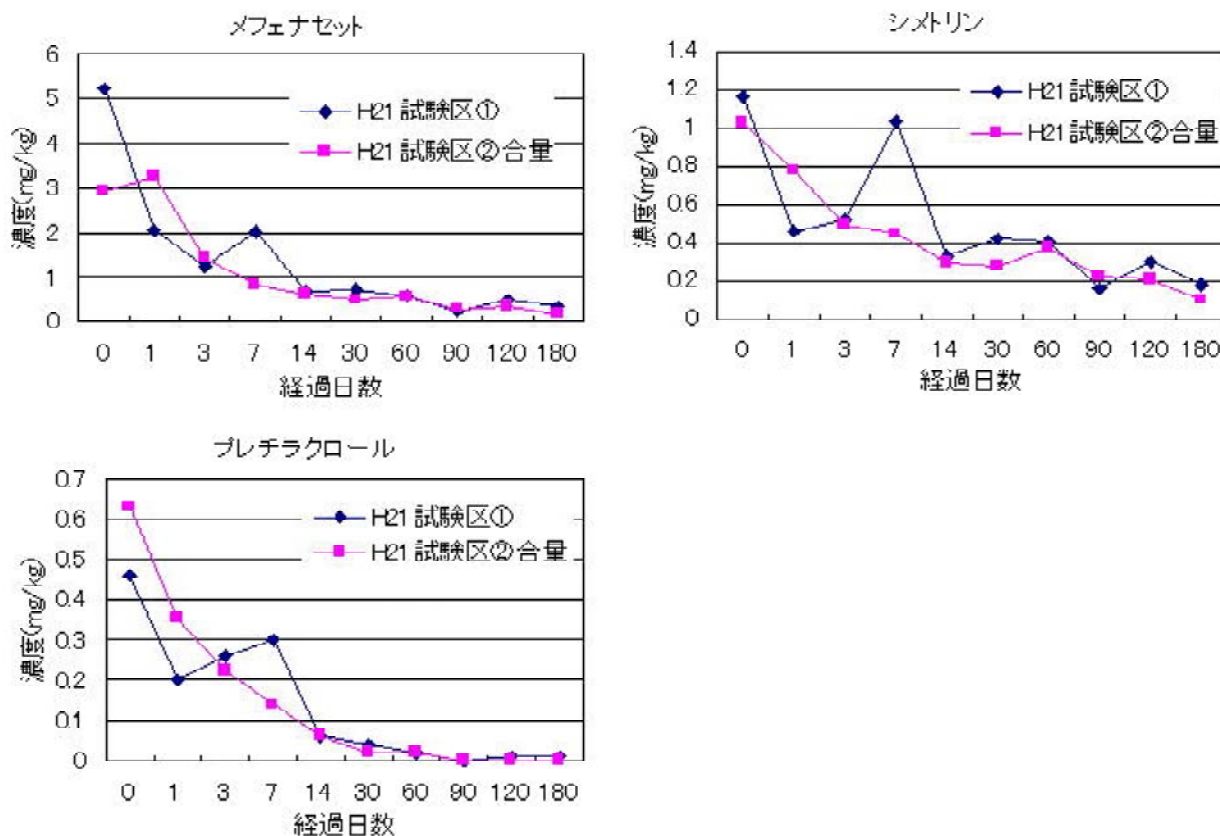
水田は水を透過しにくい硬盤が発達していることから、農薬は畑地に比べて表層以深に移動しにくいことが知られている。これまで実施された多くの調査結果でも、ほとんどの場合表層10cmに残留しているが、希に10～20cm層からも検出されている。しかし、次の理由から、水田においては現行どおり表層10cmの範囲で調査するのが適当と考えられる。

ア) 表層以深に移動（拡散）があった場合でもその量は少なく、畑地の場合のように表層濃度と逆転するようなことはないと考えられること。

- イ) 表層以深の土壤試料の採取は、田面水を排水してもコンタミなく行うためには高度な技術を要すること。
- ウ) 水田によっては硬盤が浅く表層以深まで採取できない可能性があること。
- エ) 欧州では水田の場合は表層のみの調査を原則としていること、

③採取方法

現行法では、土壤は田面水とともに採取することとされている。平成 21～22 年度に行った検討によると、この方法では田面水深の変動によって土壤水分含有率が大きく変動するだけでなく、採取土壤深度を一定に保てないことが減衰曲線を歪める原因になっていると考えられた。この改善のため、透明なアクリル製採土管を水田に差し込み、ポンプを用いることで管内の田面水と土壤を正確に分離採取する方法を検討した結果、変動を飛躍的に改善できることが明らかとなった。このため、今後においては土壤と田面水とを分離して採取することが適当と考えられる。ただし、土壤と田面水の合量評価を前提とした場合、分離採取した土壤と田面水を再び混合して分析する方法なども考えられるため、それらの妥当性についても一定の確認が必要であろう。



現行法と改良法の比較 (H21年度調査)

試験区①は現行法、試験区②合量は改良法 (田面水中農薬量と土壤中農薬量を合算して乾土当たりの濃度として表示)

(3) 水田土壤残留試験のその他の課題

水田は畑地と異なり、田面水中の農薬量をどのように取り扱うかという課題がある。現行法はこれを土壤残留濃度を含めて評価しているが、土壤残留性評価の本来の目的に鑑み、土壤中残留に注目した評価の可能性について検討する必要がある。

土壤残留濃度のみで評価することとした場合、田面水を排水したのちに土壤だけを採取する考え方となるが、平成21～22年度に行った調査の結果、この方法ではとりわけ初期濃度が低くなりやすいた

めに減衰が緩慢になり、土壌中半減期が著しく長く見積もられるケースがみられた。このため、露出させた水田土壌表面に薬剤処理する方法も検討したが、処理後に入水すると、湛水処理した場合の消長パターンと大きく異なる場合があることが示唆された。従って、良好な減衰曲線と半減期を得るという改善目標においては、現行法同様に田面水中の農薬量を土壌残留濃度に含めて評価する方法以外には、技術的な選択肢は得られていない。

一方、このような技術的な限界のもとに得た情報が、土壌残留性評価の本来の目的にどの程度かなうものであるのかについては議論が必要と思われる。田面水中濃度については水中残留性試験が別途要求され、挙動が明らかにされている。また、今後の課題ではあるが、後作物に対する残留性評価の観点では、落水し収穫された後における土壌中残留量が重要となる。これら関係する試験を体系だてて整理した場合、水田土壌残留試験の位置付けを再考する余地があるものと考えられる。

3. 圃場条件について

現行では圃場選定について次のように規定されている。

- ①国内の土性、母材その他の土壌の特性の異なる2か所以上のほ場を選定する
- ②やむを得ない事情により土壌の特性の異なるほ場を選定できない場合にあっては、気象その他土壌の特性以外の条件の異なるほ場を選定する
- ③登録申請に係る作物の栽培形態が施設及び露地の場合は、使用時期、使用方法及び薬剤の特性を考慮して試験ほ場を選定する。

土壌の特性が土壌残留性に及ぼす影響について平成19年度に同一場所で5種類の土壌を用いて比較調査した結果、土壌中半減期は、高温期にあっては大差なく、低温期にあっては差異が認められたものの土壌特性との関係は明瞭ではなかった。このため、土壌特性に着目するよりも、むしろ試験時期に着目するべきではないかと考えられる。すなわち、少なくとも一例は、当該農薬の一般的な使用期間の中で、比較的低温期に相当する時期に試験を開始するのがよいと考えられる。

一方、野菜などに使用する農薬では施設での使用も多くなる可能性がある。この点について平成20年度に露地の場合と施設の場合とを比較調査した結果、施設のほうが半減期が長くなった。これは施設のほうが紫外線量が少ないことや降水を受けないためであることが確認されている。このため、施設用途を含むものは、少なくとも一例は施設において実施するのがよい（高温最盛期は避ける）と考えられるが、このような環境条件は低温期の露地と同じであることから、低温期における試験と施設における試験は相互に代替できるものと考えられる。なお、施設で行う場合は試験期間中の灌水を適度に行うよう留意する必要がある（土壌水分計を設置し pf2.0 ~ 2.2 を目安に管理することが望ましい）。

土壌種別と試験時期による土壌中半減期（日）の比較

供試土壌	高温期試験		低温期試験		
	A剤	B剤	A剤	B剤	
黒ボク土	土壌1	4.9	5.3	37	13
	土壌2	7.2	4.2	41	17
灰色低地土	土壌1	3.4	3.0	30	40
	土壌2	6.7	8.5	37	74
砂丘未熟土		5.4	5.5	71	32
積算降水量	43mm		35mm		
平均気温	26.7℃		6.3℃		
平均地温	26.8℃		8.2℃		
平均紫外線量	37.4		7.0		

平成19年度調査結果

露地と施設での土壌中半減期（日）の比較		
	露地試験	施設内試験
C剤	13.0	17.5
D剤	25.3	141.0

平成 20 年度調査結果

後作残留試験法

平成 18 年 5 月に残留農薬基準のポジティブリスト制度が施行され、残留基準値が設定されない作物に対しては、一律基準（原則として 0.01ppm）が適用されることとなった。このため、農薬が使用された圃場で栽培される後作物にも一律基準が適用される場合が生じ、その適切な事前評価のあり方やリスク管理の考え方について整理を行う必要が生じている。その点、平成 18 年度から 21 年度までの成果を踏まえると、今後後作物残留に係る試験法を策定するためには、次のような課題について検討していく必要があると考えられる。

1. 現行では土壌中半減期が 100 日を超える場合に後作物残留性試験を実施することとなっているが、半減期が 100 日以下の場合に後作物への残留リスクがないと判断できるか。これが困難な場合、半減期以外に土壌残留性試験結果から後作物残留リスクを判断する合理的な方法があるか。
2. 後作物残留性試験は、現行では水田施用の場合は、麦、大豆又は根菜類の中から 2 種類以上選定を、畑地施用の場合は根菜類に属する農作物及びそれ以外の農作物を各 1 種類以上を選定することとされているが、この基準で選定された作物で実施した試験結果をもってより広範な後作物に対するリスクを判断できるか。これが困難な場合、どのような作物を用いるのが適当か。
3. 農薬の物理化学性や施用形態などにに基づき、後作物残留リスクがないと判断できる合理的な判断根拠が策定できないか。
4. 後作物残留性試験結果から、一部の後作物に対して残留リスクがあると判断された場合、どのようなリスク管理対策を講じることが適当なのか。

上記各課題について環境省に一定の提案を行った。

欧米の土壌残留及び後作物残留に関する試験法・評価法の概要

1. 土壌残留性関係

1-1. EU

(1) 文献等

土壌残留に関する規則は主に以下の文書に規定されている。

- Commission Directive 95/36/EC
31995L0036: Commission Directive 95/36/EC of 14 July 1995 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market

- Sanco/1090/2000 – rev.1 June 2003
Guidance Document for Environmental Risk Assessments of Active Substances Used on Rice in the EU for Annex I Inclusion
- European Commission 9188/VI97 rev.8 12.07.2000
Working Document Guidance Document on Persistence in Soil
- Sanco/10058/2005, version 2.0, June 2006
Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration
- EFSA Journal 2010;8(12):1936、Guidance for evaluating laboratory and field dissipation studies to obtain DegT50 values of plant protection products in soil
- SETAC-Europe 1995
Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides

(2) 評価スキーム

EU における土壌残留性評価は、生態影響を含む環境影響評価の一環として位置付けられている。PEC の算出のためのパラメータとして DT₅₀ があるが、これは低次のラボ試験の値から高次の実ほ場での値を用いる段階制となっている。ほ場消失試験の位置付けは、PEC をより現実的な値に近づけるために実ほ場で DT₅₀ と DT₉₀ を求めるための試験である。したがって、ほ場試験の結果(DT₅₀)は、直接登録審査の対象となるわけではなく、環境暴露を評価するための重要なパラメータとして扱われる。但し、ほ場試験で得られた DT₅₀ や DT₉₀ は関連する他の試験を実施する上でのトリガーとされる。なお、現状ではほ場試験の実施まですすむケースは比較的少ないと聞く。

トリガー	要求される試験
DT _{50lab} > 60 日(20℃)または DT _{50lab} > 90 日(10℃)	ほ場消失試験
DT _{50lab} > 処理から収穫までの期間の 1/3	土壌残留試験
DT _{50field} > 3 ヶ月で、DT _{90field} > 365 日	土壌蓄積試験、モデリングまたはその他の適切な方法を用いて平衡濃度を算出
ラボ試験で、非抽出残留率 > 70%、無機化率 < 5%	
DT _{90field} > 1年	土壌蓄積試験
土壌中での DT ₉₀ > 100 日	ミミズ亜致死影響試験
DT _{90field} > 365 日	有機物分解への影響試験
DT _{90field} > 100 日	土壌微生物影響試験
水または底質での DT ₉₀ > 100 日	fish full life (FFL) 試験
DT _{90sys} ≥ 10 日	魚での生物濃縮試験
水中での DT ₅₀ ≥ 2 日	ミジンコ慢性試験

① 畑地ほ場における土壌消失試験

EU では実験室内試験結果が DT_{50lab} > 60 日(20℃、土壌水分 pF2-2.5)または DT_{50lab} > 90 日(10℃) (寒冷条件で使用する場合) の場合のとき、畑地ほ場における土壌消失試験を実施することが求められる。

本試験の目的は、ほ場中の親化合物と主要な代謝物の DT₅₀ 及び DT₉₀ を求めることで、試験には SETAC のガイドラインが用いられる。

ほ場消失試験 (Field dissipation studies) は通常異なる 4 種類の土壌のほ場 (4 カ所の試験地) で実施する。校正された散布機を用いて代表的な製剤を作物または裸地に処理する。試験区あたり毎回 20 本の土壌コア (残留していない土層までの深度) を採取する。コアは適当な深さの層に切り分ける。本試験において DT₅₀ を算出するため、試料採取回数は処理直後を含めて少なくとも 5 回以上必要である。DT₅₀ の算出にあたっての 1 次速度動態 First-order kinetics (消失速度) の相関係数は、 $r^2=0.85$ から 1.0 であるべきとされるが $r^2 \geq 0.7$ で許容される。 $r^2 < 0.7$ の場合は、他の方法で検討する。

本試験で $DT_{50field} > 3$ ヶ月かつ $DT_{90field} > 365$ 日のとき、または非抽出残留率 $> 70\%$ で、無機化率 $< 5\%$ のときは認可されないが、土壌蓄積試験、モデリングまたはその他の適正な評価法を用いて平衡濃度 (Plateau concentration) を決定し、この濃度と次の 3 種を比較する。

- ・許容できない後作物への残留
- ・許容できない後作物への薬害
- ・許容できない環境への影響

なお、ほ場消失試験の表層 30 cm までの土壌中 DT₅₀ はモデルの入力パラメータとして重要になる。

② 水田ほ場における土壌消失試験

南ヨーロッパの 5 か国 (フランス、ギリシャ、イタリア、ポルトガル、スペイン) の水稻について栽培上の類似点や相違点等が比較調査した結果、2つのヨーロッパ基本シナリオがまとめられている。リスク評価は 3 段階のステップとなっており、ステップ 1 ではシナリオを基に PEC を算出して評価、ステップ 2 ではモデリングで評価、ステップ 3 では小規模ほ場試験や実水田における試験などを行って評価する。

水田ほ場における土壌消失試験の目的は、ほ場中の親化合物と主要な代謝物の DT₅₀ 及び DT₉₀ を求めることにある (水層と土層それぞれについて算出する)。室内試験で $DT_{50sys} > 60$ 日の場合は屋外小規模試験を実施する。この試験から水層濃度の生態影響評価を行って問題がなければそれ以上の試験は必要ない。許容できなければ 2 カ所の実水田で消失試験を実施する。

③ 土壌残留試験 (Soil residue studies)

EU では、ほ場消失試験のほかに土壌残留試験が規定されているが、実際にはほ場消失試験で代用されている模様であり、その位置付けは曖昧である。

本試験は収穫時や後作物の作付け時の土壌残留レベルの推定のために実施するものとされている。本試験は、室内試験の DT₅₀ が処理～収穫までの期間の 1/3 以上の場合、又は後作物による吸収が生ずる場合に実施することとされているが、土壌消失試験結果からそれらが説明できる場合には不要とされている。水田試験も記述されているが、水田の場合、その年に後作物が栽培されなければ要求されないこととなっている。

ガイドラインは SETAC によるとされるが、この文書中には土壌残留試験の詳しい試験法は記述されていない (通常は 10 カ所で試験、土壌試料採取時期は収穫の最も早い時期と最も遅い時期及び後作物作付けの最も早い時期と最も遅い時期を考慮して行うこととされている。)

1-2. NAFTA (米国、カナダ、メキシコ)

(1) 文献等

土壌残留に関する規則は主に以下の文書に規定されている。

- ・NAFTA Guidance Document for Conducting Terrestrial Field Dissipation Studies (March 31, 2006)
- ・NAFTA Technical Working Group on Pesticides (Terrestrial Field Dissipation Studies Guideline harmonization and Ecoregion Crosswalk, update August 2008)

・ EPA Fate, Transport and Transformation Test Guidelines OPPTS 835.6200 Aquatic (Sediment) Field Dissipation

(2) 評価スキーム

米国において使用された農薬の土壌中濃度の推移を調査するものとして、土壌消失試験が実施されている。米国の試験法としては EPA subdivision N の 164-1(陸域での試験)と 164-2(水域での試験)があり、これをより詳細にしたものとして EPA 試験ガイドライン OPPT 853. 6100 Terrestrial Field Dissipation (TFD: 陸域ほ場における消失試験)と、OPPT 853. 6200 Aquatic (Sediment) Field Dissipation (水域(底質)におけるほ場消失試験)が準備されている。

畑土壌中の農薬の消失試験については、北米(米国とカナダ)における試験法は共通化がはかられており、北米とヨーロッパのハーモナイゼーションが検討中である。

ほ場消失試験の結果はモデルにより推定された値と比較され、リスク評価に用いられる。また、試験結果はモデルの検証にも利用される。

① 畑地ほ場における土壌消失試験

米国とカナダのほ場における土壌消失試験のガイドラインは、改訂作業中である。本試験の目的は、ほ場中の親化合物と主要な代謝物の DT50 及び DT75 を推定することである。通常 1 試験区で実施される。米国内で 4 ヶ所、カナダで 2-4 ヶ所を付け加える。

試験区は小規模試験では 2m×2 ~ 6m または 4 ~ 12m²、大規模試験では通常 4m×10m ~ 10m×40m あるいは数 hr 規模になることもある。裸地での実施が原則(必ず灌水を行う)であるが、特別な場合(浸透移行性の農薬、茎葉散布用農薬等)は作物栽培条件下で実施することもある。最大投下量を処理し、土壌試料は 1m 深度まで 15 本(小規模の場合)~ 20 本採取し、深度別に 6 層(例えば 15 cm, 15 cm, 15 cm, 15 cm, 20 cm, 20 cm)のように分割して分析する。複数回処理の場合は処理毎に直前、直後を採取することとされている。試験期間は DT75 が決定できるまでであるが、最長 2 年間である。

② 水田ほ場における土壌消失試験

水田での試験は 2 ヶ所以上(異なる土壌特性、気象条件等とされている。土壌と水試料を採取するが、土壌深度は 15 cm まで、土壌は 12 ヶ月後まで、水試料は処理後 1 ヶ月後まで調査することとされている。また、水試料については pH、水温、溶存酸素濃度、流量、SS 量も報告が求められる。

1-3. その他(オーストラリア)

オーストラリアでの農薬の登録は、Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA)で行われている。

APVMA ではオーストラリア国内で実施された試験だけでなく、国際的に認められるプロトコルによって実施された試験データは審査対象とされる。このため、米国やカナダでの試験データや EU(ドイツ、フランス、イギリス等)で実施された試験データがまとめられて申請される。ほ場における消失試験(field dissipation study)についても同様である。

2. 後作物残留関係

欧米では後作物代謝試験及び後作物残留試験が求められる。それらの試験法は、現在 OECD テストガイドラインとして策定されている。

2-1. 後作物代謝試験 (OECD502)

本試験は、ラベル化合物を用いて土壌から植物体内への吸収移行と主要代謝経路を調べるものであり、EUではDT90が100日を超える場合に要求されるが、米国では実質的に必須とされている。

試験は葉菜類、根菜類、穀類の3種類を用い、年間最大施用量を処理し、場面に応じたエージング期間後にそれら作物を作付し、収穫期まで試験を実施する。葉菜類の場合は生育途中でも調査が求められる。

2-2. 後作物残留試験 (OECD504)

本試験は、後作物代謝試験から後作物に吸収移行し0.01ppm以上となる場合に要求される（休耕期間を考慮）。試験は2圃場で実施することとなっており Sandy Loam 土壌を含むこととされている（水田では Clay や Clay Loam）。試験区には無処理区も設定する。前作物の栽培の有無は問わないが、作期における最大施用量を処理する。作物は根菜類、葉菜類、穀類（麦）の3種類としその他代表作物を含める（飼料作物も考慮）。これらは必ずしも同一圃場でなくともよい。後作物の作付時期は3パターンの中から適宜設定することとされており、最短のパターンでは7～30日間（このケースは生育不良等により作付し直しとなる事態も想定したもの）、典型的なパターンでは60～270日間、隔年輪作を想定したパターンでは270～360日となっている。なお、土壌濃度調査は必須とはされていない。

要 約

平成 22 年度農薬残留対策総合調査は、都道府県試験研究機関等の協力のもとで、以下の課題について調査が実施された。

- 1) 水質農薬残留に係る調査：3 機関による水田農薬河川モニタリング調査、1 機関による水田農薬精密モニタリング調査
- 2) 農薬環境負荷解析調査：17 機関による後作物残留実態調査、3 機関によるドリフト調査、日本植物防疫協会による後作物残留実態調査及び土壌残留試験法確立のための検討
- 3) 大気中農薬残留に係る調査：1 機関による無人ヘリに関する調査
- 4) 天敵農薬に係る調査：1 機関によるチチュウカイツヤコバチの調査

Summary

The Japan Plant Protection Association conducted four categories of environmental studies on crop protection products under co-operation with agricultural research administrations in 2010.

- (i) Monitoring studies of pesticides in rivers : Three monitoring studies and one monitoring study focused on out flow pesticides from paddy fields were carried out.
- (ii) Environmental fate studies of pesticides in crop lands : Seventeen succeeding crop residue studies, three spray drift studies and two field dissipation studies were carried out.
- (iii) Environmental fate studies of pesticides in the air : One monitoring study in the area applied by an un-manned helicopter was carried out.
- (iv) Monitoring studies on the commercial natural enemy : One monitoring study to evaluate the spread of *Eretmocerus mundus* from applied greenhouse was carried out.