

土壌中動態試験における分解物の推定半減期算出方法に係る調査

竹村浩一*, 中村正宏*, 柴田 仁*, 岩船 敬**, 高野優美*

*: (独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

** : 内閣府食品安全委員会事務局

環境中動態試験のデータ解析において分解物の生成過程および分解過程を考慮して分解速度を推定できる3種のソフトウェアを用いて、既存の土壌中動態試験のデータを解析した。解析をとおして、各ソフトウェアの適用可能な速度論モデル、操作性などの実用性を比較した。多くの解析事例において、各ソフトウェアは、高い適合度で曲線近似を行ったうえでDT₅₀を算出できた。一部の事例においては、近似曲線と実測値との乖離が試験後半に向けて拡大し、DT₅₀が過小な値となるおそれが認められた。

Keywords : FOCUS, CAKE, KinGUII, Model Maker

緒 言

土壌中における農薬の主要な分解経路や生成する分解物の種類および量などに関する科学的知見を得るため、我が国では、農薬の登録申請の際、土壌中動態試験成績を必要としている。さらに、有効成分を用いた土壌中動態試験の結果、主要な分解物が生成し、その推定半減期(DT₅₀)が100日以上であると判断される場合には、当該分解物を用いた土壌中動態試験成績も必要としている。しかしながら、分解物のDT₅₀については、現在、我が国では標準的な算出方法は示されておらず、ケースバイケースの判断となっているところである。

一方、欧州のFOCUS (FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and their USE) グループは、環境中動態試験の結果から分解速度を推定する方法などに関するガイダンスドキュメント¹⁾(以下「FOCUS ガイダンスドキュメント」という。)を公表し、分解物の動態解析の考え方、DT₅₀を算出する速度論モデルの種類および適性評価の指標などを示している。

そこで、我が国における分解物のDT₅₀の標準的な算出方法を導入するための知見を得ることを目的として、分解物の精緻な挙動解析が可能とされている数種のソフトウェアについて、その実用性などを検証した。

調査方法

1. 検証に用いたソフトウェア

従来から行われている方法として、分解物が最高量に達した時点以降の推移からDT₅₀を算出する方法(以下「従来法」という。)がある。有効成分(親化合物)を用いた環境中動態試験では、有効成分などの分解により分解物が生成するが、従来法は分解物の生成による増加分を考慮していないため、従来法によるDT₅₀は真値より過大になるという欠点がある。

一方、FOCUS ガイダンスドキュメントでは、分解物の動態解析において、分解物の生成過程および分解過程の両方を考慮する必要性が示されている。

これを踏まえ、本調査では、分解物の生成過程および分解過程を考慮してDT₅₀を算出できる以下の3種ソフトウェア(表1)を検証した。また、比較のため、従来法(Microsoft Excelのソルバー機能を利用した方法)による解析も行った。

表 1. 検証したソフトウェア

ソフト ウェア名	親化合物の 動態解析に 適用できる 速度論モデル	分解物の 動態解析に 適用できる 速度論モデル
CAKE ver. 3.1	SFO ^{*1} , DFOP ^{*2} , HS ^{*3} , FOMC ^{*4}	SFO
KinGUII ver. 2.1	SFO, DFOP, HS, FOMC	SFO, DFOP
Model Maker 4	SFO, DFOP, HS, FOMC など (任意の数式を設定可能)	

*1 Single First Order *2 Double First Order in Parallel
*3 Hockey-Stick *4 First Order Multi Compartment

2. 検証に用いたデータ

農林水産省のホームページ²⁾で審査報告書が公表されている農薬の土壤中動態試験成績から、主要な分解物が認められた 11 例のデータを選択した (表 2)。

表 2. 検証に用いたデータ

No.	農薬名	動態試験の種類
1	アバメクチン	好氣的土壤
2	トブラメゾン	好氣的土壤
3	フルキサピロキサド	好氣的土壤
4	プロピリスルフロ	好氣的湛水土壌
5	スピロテトラマト	好氣的土壤
6	テブフロキン	好氣的土壤
7	テブフロキン	好氣的湛水土壌
8	ヘキサジノン	好氣的土壤
9	メタゾスルフロ	好氣的湛水土壌
10	イプフェンカルバゾン	好氣的土壤
11	イプフェンカルバゾン	好氣的湛水土壌

3. ソフトウェアの検証

2. のデータを 1. の各ソフトウェアで解析し、親化合物および分解物の DT₅₀ を算出した。3 種のソフトウェアでは、各時点の分解物の量に加え、各時点の親化合物の量及び分解経路を入力した。ソフトウェアの仕様などを考慮して、速度論モデルは親化合物には SFO, DFOP および FOMC を、分解物には SFO を適用した。

また、解析をとおして、利用可能な速度論モデルの種類、操作性などの実用性を比較し、評価した。

調査結果

1. 親化合物の DT₅₀

KinGUII 及び従来法では、全てのデータについて DT₅₀ を算出できた。CAKE では DFOP モデルの 1 例、Model Maker では DFOP モデルの 5 例および FOMC モデルの 7 例において、エラーの発生により DT₅₀ を算出できなかった。

算出できた DT₅₀ については、各ソフトウェア間で差は小さかった。

2. 分解物の DT₅₀

3 種ソフトウェアにより算出された分解物の DT₅₀ は、多くの解析事例で従来法より短かった。また、従来法では DT₅₀ を算出できなかったが、表 1 のソフトウェアでは算出できた事例が認められた。

以下、具体的な事例を示す。

2.1. データ No.8 (ヘキサジノン)

ヘキサジノン (親化合物) に SFO モデル、分解物に SFO モデルを適用した場合 (以下「SFO-SFO」という。) におけるヘキサジノンおよび分解物の推移を図 1 および図 2 に示す。

分解物は試験開始 120 日後まで増加した後、緩やかに減少した。従来法 (実線) では、分解物が最高量に達した 120 日後以降のデータでの解析となる。一方、今回検証した 3 種ソフトウェアでは、全期間のデータから動態を解析することが可能であり、概ね実測値に沿った近似曲線を描くことができた。

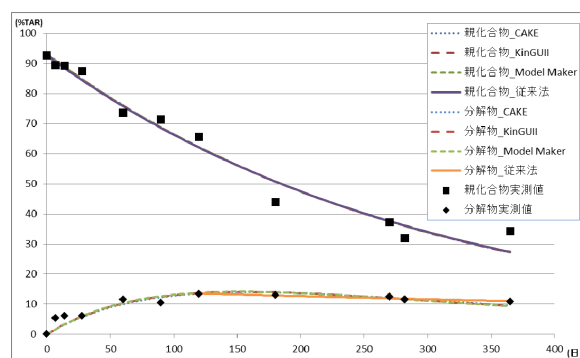


図 1. ヘキサジノンおよび分解物の推移

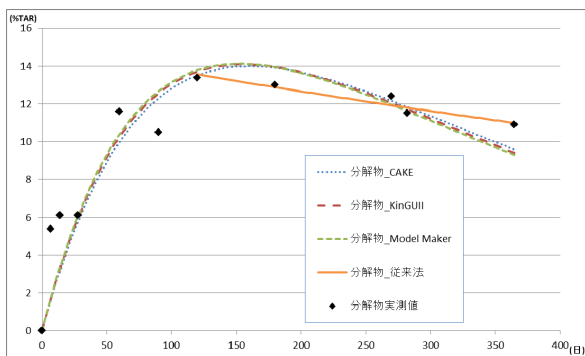


図 2. 分解物の推移 (図 1 の拡大図)

分解物の DT₅₀ および決定係数 (r²) を表 3 に示す. 3 種ソフトウェアにより算出された DT₅₀ は 61~67 日であり, 従来法 (891 日) より明らかに短かった. 分解物の生成過程も考慮することにより, 3 種ソフトウェアはより真値に近い DT₅₀ を算出できたものと考えられた.

表 3. 分解物の DT₅₀ および決定係数 (r²)

ソフトウェア名	DT ₅₀ (日)	r ²
CAKE	66.8	0.974
KinGUII	63.2	0.928
Model Maker	61.4	0.919
従来法	891	0.924

2.2. データ No.10 (イプフェンカルバゾン)

SFO-SFO におけるイプフェンカルバゾン (親化合物) および分解物の推移を図 3 に, 分解物の DT₅₀ および r² を表 4 に示す.

分解物は試験終了時まで緩やかに増加した. 試験期間中に分解物の減衰が認められなかったことから, 従来法では DT₅₀ を算出できなかった. 3 種ソフトウェアでは, いずれも高い適合度で実測値に沿った近似曲線を描け, DT₅₀ を算出できた.

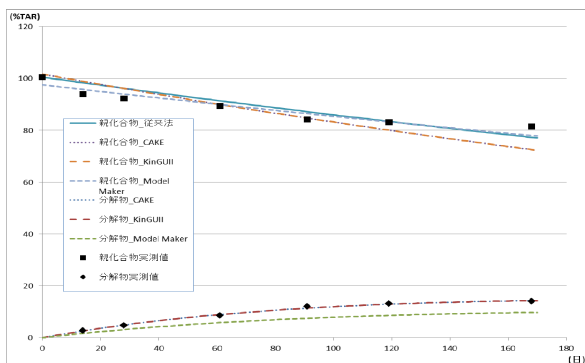


図 3. イプフェンカルバゾンおよび分解物の推移

表 4. 分解物の DT₅₀ および決定係数 (r²)

ソフトウェア名	DT ₅₀ (日)	r ²
CAKE	76.2	0.996
KinGUII	76.2	0.996
Model Maker	220	0.994
従来法	—	—

— : 算出不可

2.3. データ No.2 (トプラメゾン)

SFO-SFO におけるトプラメゾン (親化合物) および分解物の推移を図 4 および図 5 に, トプラメゾンに FOMC モデル, 分解物に SFO モデルを適用した場合 (以下「FOMC-SFO」という.) におけるトプラメゾンおよび分解物の推移を図 6 および図 7 にそれぞれ示す.

実測値と近似曲線による推定値との残差を比較すると, 試験開始 152 日後および 388 日後において, FOMC-SFO における残差は SFO-SFO に比べて小さかった (図 5 及び図 7 の丸囲み部を参照).

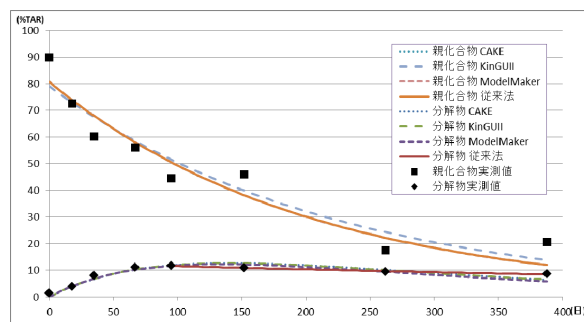


図 4. トプラメゾンおよび分解物の推移 (SFO-SFO)

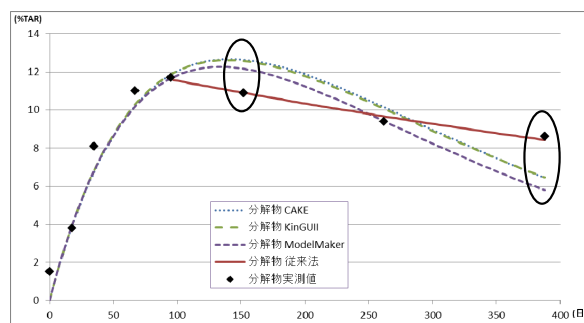


図 5. 分解物の推移 (図 4 の拡大図) (SFO-SFO)

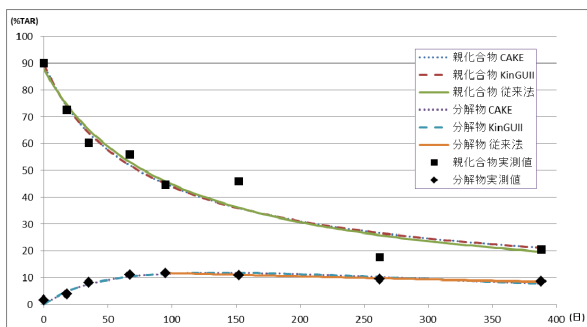


図 6. トプラメゾンおよび分解物の推移 (FOMC-SFO)

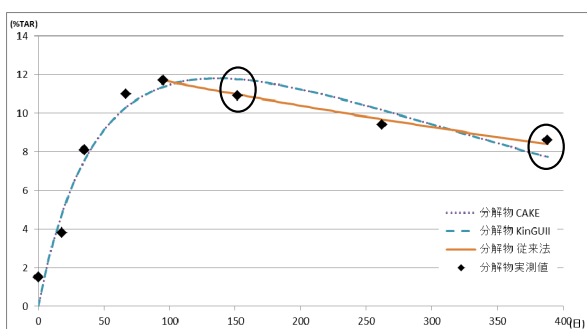


図 7. 分解物の推移(図 6 の拡大図) (FOMC-SFO)

トプラメゾンおよび分解物の r^2 を表 5 に示す。

FOMC-SFO におけるトプラメゾンおよび分解物の決定係数は 0.949 および 0.948 であり、SFO-SFO (0.916~0.921 および 0.920~0.925) より良好な適合度を示した。分解物の DT_{50} は、FOMC-SFO では 186 日、SFO-SFO では 65 日と算出された。

親化合物に SFO より高い適合度を示す速度論モデルを選択することで、分解物についてより適合度の高い近似曲線で推定ができる可能性が示された。また、SFO-SFO による近似曲線は、試験後半において実測値に対して過小な方向への乖離が経時的に拡大していることから、SFO-SFO よりも FOMC-SFO による DT_{50} がより真値に近いものと考えられた。3 種ソフトウェアは、従来法による過大評価を回避できるものの、過小評価とならないかを確認することの重要性が示された。

表 5. トプラメゾンおよび分解物の決定係数 (r^2)

ソフトウェア名	トプラメゾン		分解物	
	SFO-SFO	FOMC-SFO	SFO-SFO	FOMC-SFO
CAKE	0.916	0.949	0.925	0.948
KinGUII	0.916	0.949	0.925	0.948
Model Maker	0.921	—	0.920	—

— : 算出不可

3. ソフトウェアの実用性

検証した 3 種ソフトウェアの特徴を表 6 に示す。

CAKE は、対応 OS が明確であること、操作性がよいこと、結果の出力が容易であることなどの理由から、常用できると考えられた。

一方、CAKE は分解物の速度論モデルとして SFO しか利用できない (表 1) ため、他の速度論モデルを用いるのが適当な場合には、KinGUII または Model Maker が有用であると考えられた。

表 6. ソフトウェアの特徴の比較

	CAKE	KinGUII	Model Maker
有償/無償	無償 ³⁾	無償 ⁴⁾	有償
対応 OS	Windows XP, 7, 8.1	不明 (Windows 7 で正常に作動)	Windows XP, 2000
操作性	易 ^{*1}	易 ^{*1}	難 ^{*2}

*1 分解経路のフローチャートおよび速度方程式がプリセットされており、データの入力容易である。

*2 分解経路のフローチャートを設定し、速度方程式を入力する必要がある。

4. まとめ

表 1 の 3 種ソフトウェアで 11 例のデータを解析した。

分解物の DT_{50} は、SFO-SFO において概ね算出可能であり、 r^2 は良好であった。親化合物に DFOP モデルまたは FOMC モデルを適用すると、エラーが生じる事例が比較的多かったが、親化合物の減衰傾向によっては SFO-SFO より適合度の高い推定ができる可能性が示された。

従来法と比較することにより、3 種ソフトウェ

アは生成過程および分解過程の両方を考慮して DT_{50} を算出できることを実際に確認できた。一方、3 種ソフトウェアの活用にあたっては、決定係数、近似曲線と実測値との乖離状況などから、算出された DT_{50} が過小な値でないかを確認することの重要性が示された。

分解物に SFO モデルを適用する場合には、Cake が常用できると考えられた。一方、分解物に他の速度論モデルを用いるのが適当な場合には、KinGUII または Model Maker が有用であると考えられた。

以上より、上述の留意点および各ソフトウェアの特徴を考慮のうえ、3 種ソフトウェアを活用することにより、より真値に近い DT_{50} の算出が可能になるものと考えられた。

引用（参照）文献および URL

- 1) FOCUS (2006) Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration
http://esdac.jrc.ec.europa.eu/public_path/projects_data/focus/dk/docs/finalreportFOCDegKinetics.pdf
(Accessed 27 Oct., 2016)
- 2) http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_sinsa/
(Accessed 27 Oct., 2016)
- 3) <https://showcase.tessella.com/products/cake/>
(Accessed 27 Oct., 2016)
- 4) <https://github.com/zhenglei-gao/KineticEval>
(Accessed 27 Oct., 2016)