

農薬調査研究報告

第11号

令和元年

Research Report of Agricultural Chemicals

Vol. 11
2019



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
Food and Agricultural Materials Inspection Center
(Incorporated Administrative Agency)

Kodaira, Japan

はじめに

農林水産消費安全技術センター（FAMIC）は、農林水産省所管の独立行政法人であり、農薬取締法、肥料取締法、飼料安全法、JAS法等の法律に基づき、農業生産資材（農薬、肥料、飼料等）や食品を対象として科学的な検査・分析を行い、農業生産資材の安全の確保、食品等の品質・表示の適正化等に技術で貢献することを使命に掲げ、業務を行っています。

農薬は、登録制度等により厳しい規制が行われており、農林水産大臣の登録を受けなければ、製造、加工、輸入等を行うことができません。国は、農薬の安全性の一層の向上及びより効率的な農業への貢献を目的として、平成30年6月に農薬取締法の一部を改正いたしました。改正農薬取締法では、農薬の安全性に関する審査の充実が図られるとともに登録されたすべての農薬を対象に、最新の科学に基づき定期的（概ね15年ごと）に安全性の評価が行われることとなりました。FAMIC農薬検査部は、農薬管理の要である農薬登録審査の実施機関として、改正農薬取締法で拡充された審査業務を担っています。また、農林水産省との密接な連携のもと、登録された農薬の市場における品質の確保のため農薬製造場への立入検査を実施するとともに、全国の農業生産現場における農薬の使用状況及び生産者から収集した農産物中の農薬の残留状況についての分析調査を行っています。

今般、平成30年度の農薬検査部における調査研究成果を収録した農薬調査研究報告第11号を発行しました。農薬検査部の調査研究は、登録審査業務の遂行に必要な新たな知見や技術力の獲得、並びに残留農薬の調査に必要な分析技術の向上を目的としています。また、農林水産省との密接な連携のもと、農薬登録の国際調和を進める上で必要な技術情報等を収集し、分析した結果を提供するといった役割も担っています。こうした観点から、調査研究の対象については、実験を伴うもののみならず、文献等により収集した情報を分析・考察する調査や論考についても含めたものとしています。また、調査研究の成果は、関係学会等での発表を通じて公表に努めています。

本報告書が関係者の皆様の業務の参考になりますことを期待しています。また、農薬検査部では、今後も調査研究に積極的に取り組んでいくこととしています。調査研究の充実のためには、各方面の皆様からのご意見が不可欠ですので、ご指導のほどお願い申し上げます。

令和2年2月

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
理事長 木内 岳志

目 次

欧米における農薬のミツバチに対するリスク評価－蜜源及び花粉源となる作物のリスト－ 石原 悟, 市原直登・……………	1
米国における農薬使用者等に対するリスク評価手法の調査 高橋めぐみ, 勝山真多, 佐々木詩織・……………	7
水生双子葉植物カワヂシャを供試生物とした生長阻害試験法の開発 (環境毒性学会誌／第 21 巻第 1 号 (通巻 41 号)) 加藤貴央, 石原 悟・……………	14
平成30年度学会等での発表実績一覧・……………	21
【技術レポート】	
残留農薬分析業務における分析法の検討 (LC-MS/MSを用いた大豆中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価) 佐々木秀幸, 代市守, 鈴木徹也, 岸田繁二, 臼井裕一, 野村哲也・……………	23
【他誌掲載論文要旨】	
The influence of <i>Brassica rapa</i> var. <i>perviridis</i> growth conditions on the uptake and translocation of pesticides (<i>Journal of Pesticide Science</i> 43(4), 248-254 (2018)) Sayuri Namiki, Takashi Otani, Yutaka Motoki and Nobuyasu Seike・……………	32
Comparison of soil sorption parameters of pesticides measured by batch and centrifugation methods using an andosol (<i>Journal of Pesticide Science</i> 43(4), 277-282 (2018)) Yutaka Motoki, Takashi Iwafune, Nobuyasu Seike, Keiya Inao and Sayuri Namiki・……………	33

Studies on the behavior and ecotoxicity of pesticides and their transformation products in a river
(*Journal of Pesticide Science* 43(4), 297-304 (2018))

Takashi Iwafune ······ 3 4

Relationship between growth stage of *Brassica rapa* var. *perviridis* and the abilities for uptake
and translocation of pesticides in soil

(*Journal of Pesticide Science* 44(1), 1-8 (2019))

Sayuri Namiki, Nobuyasu Seike and Yutaka Motoki ······ 3 5

欧米における農薬のミツバチに対するリスク評価

－蜜源及び花粉源となる作物のリスト－

石原 悟**，市原直登*

*独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

**農林水産省 消費・安全局

欧州及び米国においては、ミツバチが好むか好まないかという視点で作物毎のリストを作成し、リスク評価、リスク管理に反映させている。欧州及び米国で使用している”作物に対するミツバチの訪花嗜好性リスト”について、リストの構成、掲載作物、訪花嗜好性の評価結果などを調査した。欧州及び米国における訪花嗜好性の評価について比較したところ、31 項目の作物で違いが認められた。同一作物に対する評価が欧米間で異なる要因として、ミツバチの訪花嗜好性が、花蜜・花粉の有無や質の良し悪しだけでなく、ミツバチの活動範囲における植物相が影響すると考えられた。このようなリストをミツバチに対するリスク評価、リスク管理に反映させるにあたっては、評価地域の植物相を考慮した訪花嗜好性について情報の整理が必要と考えられる。

Keywords : ハナバチ, ミツバチ, ポリネーター, リスク評価, 訪花嗜好性

結 言

ミツバチが農薬に暴露する経路は接触と経口の 2 つが考えられる。このうち経口経路では農薬を使用した作物の花粉と花蜜が主要な暴露源とされている。そのため、農薬のミツバチに対する欧米及び我が国で導入予定のリスク評価（以下、リスク評価という）では、ミツバチが摂取する花粉・花蜜の量（摂餌量）と花粉・花蜜中に残留する農薬濃度から経口経路の暴露量を推定している¹⁻³⁾。

農薬を使用した作物が栽培中に開花するか否か、さらには、開花した花をミツバチが好むかの情報は、栽培ほ場にミツバチが訪れる確率と関連することから、リスク評価に重要な知見となっている。例えば、こまつなのように栽培中に開花しない作物では、ミツバチが栽培ほ場で農薬に暴露しないと判断し、評価対象とはしていない。

農薬の種類と適用作物の組合せは極めて多様である。作物の種類や栽培方法、農薬的使用方法について情報を整理することが、効率的なリスク評価の運用に求められている。

我が国に先立ち、リスク評価を導入している欧米では、作物に対するミツバチの訪花嗜好性をリスト化（以下、作物の嗜好性リストという）し、リスク評価、リスク管理に活用している。

本稿では、欧米の経口経路のリスク評価に用いているミツバチの摂餌量と作物の嗜好性リストにつ

いて報告する。

1. 欧米の経口経路のリスク評価における花粉・花蜜の摂餌量

1.1. 欧州

欧州食品安全機関（EFSA : European Food Safety Authority）における経口経路のリスク評価¹⁾では、暴露量の推定にショートカット値（SV : Shortcut Values）を用い、暴露量の算出を簡易化している。SV は、花蜜の糖度、花粉・花蜜の摂餌量、花粉・花蜜への農薬残留量をパラメータとしてシナリオ毎に定めている。

このうち花粉・花蜜の摂餌量のパラメータは、ミツバチ（働き蜂）の成虫と幼虫について花蜜と花粉別にそれぞれ定めている。成虫はさらに外勤の採餌蜂（Forager Bee）と内勤の育児蜂（Nurse Bee）について日ごとの摂餌量が示されている。また、幼虫は日ごとではなく 5 日間合計の摂餌量を用いている。EFSA のリスク評価で使用している摂餌量を表 1 に示す。

表 1. EFSA のリスク評価で使用しているミツバチの摂餌量

世代/カースト		花蜜	花粉
成虫 (mg/bee/day)	採餌蜂	32-128	0
	育児蜂	34-50	6.5-12
幼虫 (mg/bee/5days)		59.4	1.5-2

1.2.米国

米国ではより詳細に摂餌量を定めリスク評価に用いている²⁾。EFSAと異なり米国では、成虫、幼虫ともに女王蜂、雄蜂、及び働き蜂という社会的階級（カースト）別に摂餌量を定めている。さらに、働き蜂は、仕事別（掃除蜂、育児蜂、造巢蜂など）、幼虫は日齢別に整理している。また、花粉・花蜜に加えローヤルゼリーの摂餌量についても示している。米国のリスク評価で使用している摂餌量を次頁に示す（表2）。

米国における経口経路のリスク評価は、初期評価（Tire1 評価）が、スクリーニングと精緻化の2段階に分かれている。スクリーニング段階の評価は、働き蜂のワースト値（成虫：292、幼虫：124 mg/bee/day）を用い、精緻化段階ではすべてのカーストについて暴露量を推定し、各種毒性指標値と比較することでミツバチ個体へのリスクを評価している。

2. 欧米のリスク評価における作物の嗜好性リスト

2.1.欧州

EFSA のリスク評価ガイダンス³⁾では、付録 D（Appendix D）に、作物の嗜好性リストが示されている。リストには 101 項目の作物が掲載されており、花粉と花蜜別にミツバチが訪れる可能性（訪花嗜好性）について、あり（+）、なし（N/R）及び該当せず（Not applicable）に分類している。また、訪れる可能性あり（+）と分類した作物のうち、ハチにとって魅力がないとの知見があるものや、さらなる知見収集が必要な項目等について補足説明が付され整理されている。EFSA のリストの掲載例を表 3-1 に示す。

2.2.米国

米国では、米国農務省（USDA : United States Department of Agriculture）が作物の嗜好性リストを提供している^{4),5)}。当該資料は 2015 年版と 2017 年版が認められるが、その違いの多くは花粉交配での利用に関する情報の更新など軽微な修正であり、項目数に差はなかった。訪花嗜好性の評価結果についてはソルガムの花蜜があり（+）からな

し（-）への訂正が認められた。また、オレンジの飼養ポリネーターの利用が、あり（Yes）からなし（No）に変更されていた。

作物の嗜好性リストは 2 項目に分かれており、1 つめは Table 1 として前述の EFSA のリストと同じ項目（101 項目）について掲載し、続いて追加の作物（229 項目：連邦行政規則集第 40 条（40 CFR）に掲載の作物）を Table2 として掲載している。

訪花嗜好性の評価は、EFSA と同様に、あり（+）、なし（-）で分類している。EFSA のリストとの違いとして、より魅力があると評価される作物（++）を区別していることが挙げられる。また、米国のリストでは訪花嗜好性の評価に加え、花粉交配へのポリネーターの活用の有無、米国における当該作物の栽培面積、収穫のタイミング、参考文献などといった評価担当者（Risk Assessors）が使用する際に有用な情報が整理されている。米国のリストの掲載例を表 3-2 に示す。

2.3.欧州と米国間の評価の違い

EFSA 及び米国（2017 年版）のリストにおける、訪花嗜好性の評価結果を比較したところ、101 項目のうち 31 項目の作物で違いが認められた（表 4）。

相違点の多くは、米国で“なし”，EFSA で“あり”との評価であったが、レタス、キウイフルーツ及びなつめやしの花蜜については、米国で“あり”，EFSA で“なし”と評価していた。

日本の主要作物である稲についても、EFSA と米国で判断が異なっており、米国で“なし”，EFSA で“あり”と評価されていた（表 3,4）。ただし、EFSA の評価には補足説明が付されており、稲については、訪花の可能性はあるものの魅力は低いことが示されていた（表 3）。

表 2. 米国のリスク評価で使用しているミツバチの摂餌量

世代	カースト		日 齢	摂餌量(mg/bee/day)			
				ローヤルゼリー	花蜜	花粉	計
成虫	働き蜂	掃除蜂	0-10	0	60	1.3-12	61-72
		育児蜂	6-17	0	113-167	1.3-12	114-179
		造巣蜂	11-18	0	60	1.7	62
		採餌蜂(花粉)	>18	0	35-52	0.041	35-52
		採餌蜂(花蜜)	>18	0	292	0.041	292
		越冬蜂	0-90	0	29	2	31
	雄蜂		>10	0	133-337	0.0002	133-337
	女王蜂 (産卵数:1,500/日)		全期間	525	0	0	525
幼虫	働き蜂		1	1.9	0	0	1.9
			2	9.4	0	0	9.4
			3	19	0	0	19
			4	0	60	1.8	62
			5	0	120	3.6	124
	雄蜂		6+	0	130	3.6	134
	女王蜂		1	1.9	0	0	1.9
			2	9.4	0	0	9.4
			3	23	0	0	23
			4+	141	0	0	141

表 3. 欧米の作物の嗜好性リストの比較 (3-1:EFSA, 3-2:米国)

3-1 EFSA における作物の嗜好性リスト (トマト, グレープフルーツ, ぶどう及び稲)

Crops	Definition	Honey bees		Bumble bees	Solitary bees	Extrafloral nectaries
		Pollen	Nectar			
Tomatoes	<i>Lycopersicon esculentum</i>	+ (1)	N/R	+ (3)	+ (3)	
Grapefruit (inc. pomelos)	<i>Citrus maxima</i> ; <i>C. grandis</i> ; <i>C. paradisi</i>	+	+	+	+	
Grapes	<i>Vitis vinifera</i> . Includes both table and wine grapes	+	+ (1)	+ (2)	+	
Rice, paddy	<i>Oryza</i> spp., mainly <i>Oryza sativa</i> . Rice grain after threshing and winnowing. Also known as rice in the husk and rough rice. Used mainly for human food	+ (1)	N/R	+ (3)	+ (3)	

(1) Generally this crop is considered low attractive to bees for pollen/nectar but their collection cannot be excluded at all due to controversial information found in literature. Data to exclude the pollen/nectar collection by bees need to be provided

(2) No information available. Data to exclude the pollen/nectar collection by bees need to be provided

(3) This crop is not visited by bees for nectar but attractiveness for pollen cannot be excluded. Data to exclude pollen collection need to be provided

3-2 米国における作物の嗜好性リスト (トマト, グレープフルーツ, ぶどう及び稲)

Crop	Description	HB Poll.	HB Nec.	Bumble Bees	Solitary Bees	Requires Bee Pollination	Uses Managed Pollinators	Ref No.	U.S. Bearing Acreage	Seed Production	Harvest Prior to Bloom	Notes
Tomatoes	<i>Lycopersicon esculentum</i>	-	-	+	+	Yes	Yes	1	93,600 Fresh; 277,000 Processing			May be grown in glasshouses where bumble bees are needed for pollination
Grapefruit (inc. pomelos)	<i>Citrus maxima</i> ; <i>C. grandis</i> ; <i>C. paradisi</i>	++	++	+	N/AV	No	No	3,9	73,300 (no pomelos)		No	
Grapes	<i>Vitis vinifera</i>	+	-	-	-	No	No	5	35,328,000		Yes	Wind pollinated, source of pollen only when no other forage sources are available
Rice, paddy	<i>Oryza</i> spp., mainly <i>Oryza sativa</i> .	-	-	-	-	No	No	3	2,468,000			Wind pollinated

1 Delaplane and Mayer 2000. Crop pollination by bees.

3 McGregor 1976. Insect pollination of cultivated crop plants. USDA ARS.

5 Free, J. B. 1993. Insect Pollination of Crops. Academic Press, London

9 Sanford, M.T. Pollination of citrus by honey bees. <http://edis.ifas.ufl.edu/aa092>

表 4. 欧米間でミツバチの訪花の可能性に関する判断が異なる作物

科	英名	和名	訪花の可能性 あり(+), なし(-) 米国/EFSA	
			花粉	花蜜
アオイ科	Cotton	わた	-/+	+/+
アカネ科	Coffee, green	コーヒーノキ	+/+	-/+
アサ科	Hemp	麻	+/+	-/+
アマ科	Linseed	あま	-/+	-/+
イネ科	Barley	大麦	-/+	-/-
	Oat	えんぱく	-/+	-/-
	Rice, paddy	稲	-/+	-/-
	Rye	ライ麦	-/+	-/-
	Rye grass for forage and silage	イタリアンライグラス	-/+	-/-
	Sugar cane	さとうきび	-/+	-/-
	Triticale	ライ小麦	-/+	-/-
	Wheat	小麦	-/+	-/-
ウルシ科	Pistachios	ピスタチオ	-/+	-/-
キク科	Lettuce	レタス	+/+	+/-
クルミ科	Walnuts with shell	くるみ	+/+	-/+
スグリ科	Currants	くろすぐり	-/+	+/+
	Gooseberry	西洋すぐり	-/+	+/+
トウダイグサ科	Castor oil seed	とうごま	+/+	-/+
ナス科	Chillies and peppers	ピーマン及びとうがらし	+/+	-/+
	Eggplants	なす	-/+	-/-
	Potatoes	ばれいしょ	-/+	-/-
	Tomatoes	トマト	-/+	-/-
マタタビ科	Kiwi fruit	キウイフルーツ	+/+	+/-
マメ科	Cow peas	ささげ	-/+	+/+
	Lupins	ルピナス	+/+	-/+
バショウ科	Bananas	バナナ	-/+	+/+
ヒユ科	Spinach	ほうれんそう	-/+	-/+
	Sugar beet	てんさい	-/+	+/+
ブドウ科	Grapes	ぶどう	+/+	-/+
ヤシ科	Dates	ナツメヤシ	+/+	+/-
—	Grasses for forage; Sil	飼料用の草	+/+	-/+

■:米国で“なし”, EFSA で“あり”と評価

■:米国で“あり”, EFSA で“なし”と評価

おわりに

欧州及び米国における作物の嗜好性リストを比較した結果、同じ作物であってもミツバチの訪花嗜好性の評価結果に違いが認められた。その要因として、ミツバチの食性が広食性で、どんなタイプの花でも利用できる⁶⁾という特性と関連することが考えられた。すなわち、ミツバチの訪花嗜好性は、花蜜・花粉の有無や質の良し悪しだけでなく、活動範囲における植物相と開花の季節性の影響を受けるため⁷⁾、環境の異なる欧米で評価が違うと考えられた。このことは、日本でミツバチの訪花が認められないニレ、カバノキ、ハシバミなども英国では花粉源とされていることや⁶⁾、日本では訪花が認められる稲^{6),8)}について、欧米では訪花嗜好性がないまたは低いと評価されていることなどから伺える。

作物へのミツバチの訪花嗜好性は、リスク評価に用いることは可能であるが、評価地域によって状況が異なるため、欧米の知見をそのまま日本で利用することはできない。ミツバチの訪花嗜好性をリスク評価に反映させるためには、評価地域の植物相を考慮した作物に対するミツバチの訪花嗜好性の情報を整理した上で検討する必要があると考えられる。

引用文献

- 1)EFSA(2013): EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees).
- 2)U.S.EPA (2014): Guidance for Assessing Pesticide Risks to Bees.
- 3)農林水産省(2019): 平成 31 年 3 月 18 日 農業資材審議会農薬分科会 (第 19 回) 資料, 農薬の蜜蜂への影響評価法 (案)。
- 4)USDA(2015): Attractiveness of Agricultural Crops to Pollinating Bees for the Collection of Nectar and/or Pollen.
- 5)USDA(2017): Attractiveness of Agricultural Crops to Pollinating Bees for the Collection of Nectar and/or Pollen.
- 6)佐々木正巳: 蜂からみた花の世界, 海游舎, 2010.
- 7)新木康夫, 藤村佳樹: 開花フェノロジーとセイヨウミツバチの季節別花粉源植物の確認, 第 36 回農薬環境科学研究会講演要旨集,p76, (2018).
- 8)中村純: 農薬誌 40(2), 191-198(2015).

米国における農薬使用者等に対する リスク評価手法の調査

高橋めぐみ*, 勝山真多*, 佐々木詩織**

* 独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部
** 農林水産省消費・安全局

農薬使用者の安全性を確保するため、ハザードに基づいた規制のみでなく農薬使用時の暴露評価に基づいたリスク管理措置が求められている。欧米においては、農薬使用者の暴露評価がすでに導入・運用されており、国内においても同様の評価手法を導入するための検討が進められている。そこで、国内の農薬使用者暴露評価手法の策定に資するため、米国における農薬使用者に対するリスク評価及び管理手法を調査した。本調査においては、リスク評価の基本的考え方や要求試験成績等を調査し、欧州における評価手法との比較も行った。また、公表されている評価結果を調査し、影響評価手法についても分析したので併せて紹介する。

Keywords ; 暴露評価, 農薬使用者, 作業シナリオ, 毒性指標

緒 言

我が国における農薬使用者への農薬暴露に関するリスク評価及び管理の導入に向け、既に運用されている海外の手法を把握することが重要である。平成29年度及び平成30年度は、米国における農薬使用者への暴露に関するリスク評価及び管理手法を調査した。

本報告においては、まず第1項でリスク評価の枠組みについて概説し、次に第2項で農薬使用者暴露量の試算手法及びリスク管理措置について説明する。第3項では、現在米国にて登録されている製剤の評価内容の調査結果について紹介し、最後に第4項で米国と欧州の使用者暴露評価手法の差異について概要を述べる。

1. 米国における農薬使用者等に対するリスク評価手法

農薬使用者の農薬への暴露経路として、経皮及び吸入の2つの経路による暴露が想定される。米国においては、経皮及び吸入それぞれの経路について毒性指標を設定し、試算した暴露量と比較することにより、農薬使用者の安全性を担保する仕組みを導入している。

1.1. 毒性の評価

申請者から提出された試験成績を評価し、評価対象物質の毒性特性及び用量反応関係の同定、無毒性量（NOAEL）の導出等を行う。

米国では原則、暴露経路別（経皮吸入）に安全性を評価しており、毒性指標の根拠試験として重要な試験となり得る反復経皮/反復吸入試験を要求してい

る（CFR, Title 40, Part 158, K）（表1）¹⁾。反復経皮試験については、食用作物に適用がある場合は、21/28日間試験の提出が要求され、経皮暴露が主な暴露経路の場合等はさらに90日間試験の提出が要求される。食用作物に適用がない場合は、90日間の試験の提出が要求される。また、反復吸入試験は繰り返し吸入する可能性が高い場合（ガス、エアロゾル等）に要求される。

提出された試験成績の他、適切な公表文献がある場合は、それらも評価に利用することとしている。

表1. 毒性データ要求（Toxicology Data Requirements）

OPPTS No.	データ要求	利用パターン	
		食用	非食用
870.3200	21/28-day Dermal	○	×
870.3250	90-day Dermal	△	○
870.3465	90-day Inhalation - rat	△	△

被験物質は原体あるいは製剤。

○：要，×：不要，△：条件付要

1.2. 暴露経路に応じたエンドポイントの選択及び評価基準値の設定

提出された試験成績等に基づき、経皮及び吸入それぞれの暴露経路ごとに評価基準値（NOAEL 等）を設定する。

基準値は、製剤の使用頻度に依存して、以下の4種類のうち必要な項目について設定される。

①Short term (1-30 days)

- ②Intermediate Term (1-6 months)
- ③Long Term (greater than 6 months)
- ④Chronic

想定される使用回数が年間数回のみの製剤は③及び④の設定は不要とされる。

1.3. 安全係数の設定

評価基準値ごとに Level Of Concern (懸念レベル、以下「LOC」という)を設定する。LOCは基本的には100(種差:10, 個人差:10)であるが、製剤の特性、用いた毒性値の種類等により追加の係数(1, 3, 10等)が用いられ、100より大きな値を設定することもある。

2. 米国における農業使用者等に対するリスク管理手法

農業使用者のリスク管理措置のため、経皮及び吸入それぞれについて暴露量を推定し、安全性を評価する。必要に応じて、防護装備や製剤の剤型の限定などの措置をとる。

2.1. 使用者暴露量の推定

登録された使用方法で農薬を使用した際の暴露量を算出するため、「単位暴露量」を利用し、経皮及び吸入それぞれについて暴露量を推定する。

2.1.1. 使用者の定義

EPAは「使用者(Handler)」の定義として、以下の作業に関わる者を農薬暴露の可能性のある者としている。

- ・調製/充填(Mixer/Loaders): 農薬散布の準備をする者。(例: 液剤の希釈、飛行機タンクへの充填)
- ・散布(Applicators): 農薬散布中、機器を操作する者。
- ・調製/充填/散布(Mixer/Loader/Applicators): 調製から散布までの一連の作業を行う者。
- ・旗振り(Flaggers): 農薬散布(空中散布)の際に指示をする者。

2.1.2. 使用者暴露量の推定のための要求試験成績

使用により経皮もしくは吸入暴露の可能性があり、当該農薬が下記AあるいはBに該当する農薬の申請にあたっては、使用場面(以下、「シナリオ」という)毎の使用者の暴露量データの提出を要求する(表2)。(CFR(Title 40, Part 158, K))¹⁾

- A: 毒性試験結果から顕著な悪影響を及ぼす可能性が示唆される場合。
- B: 疫学研究や中毒事例から健康に悪影響を及ぼす可能性が示唆される場合。

表2. 使用者暴露データ要求 (applicator exposure data requirements)

OPPTS No.	データ要求
875.1100	Dermal outdoor exposure
875.1200	Dermal indoor exposure
875.1300	Inhalation outdoor exposure
875.1400	Inhalation indoor exposure
875.1500	Biological monitoring (尿検査による暴露量推定)
875.1600	Data reporting and calculations (報告書の様式)

被験物質は製剤。

評価対象シナリオの暴露試験結果から、農薬を散布した際にどの程度使用者が農薬に暴露するかを表す「単位暴露量」を設定する。単位暴露量は使用有効成分量に対する暴露量の割合(μg/lb)で表される。各シナリオには散布器具の種類、剤型、作業内容、防護装備レベル(Personal Protective Equipment; PPE)が含まれる。

評価対象シナリオそれぞれに単位暴露量を設定する必要があるが、表2に挙げる試験を実施し、信頼性の高いデータを得るのは難しい。試験結果は気象条件や個人差等に依存することから、ばらつきが生じやすいためである。また、作物・散布方法・製剤毎に暴露試験を実施するには莫大なコストがかかるという問題点もある。そこで、2.1.3で述べるデータベースに利用可能な「代替データ」があれば、そのデータを利用して申請することが可能である(OPPTS 875.1000)²⁾。

2.1.3. 使用者の作業シナリオ

評価にあたり、適用に該当する散布シナリオのデータが存在する場合、データベースの値を用いて評価が行われる³⁾。作業内容、剤型、散布/使用方法、経皮/吸入、防護装備毎にどのデータベースの値を用いるかが定められており、「Occupational Pesticide Handler Unit Exposure Surrogate Reference Table」にまとめられている⁴⁾。このTableには各シナリオにおける単位暴露量が記載されている。

データベースにはいくつかの種類があり、主に利用されるPHED(Pesticide Handlers Exposure Database)の他、農薬メーカーの結成したタスクフォースが構築

したデータベースも使用される。

以下、各データベースについて概説する³⁾。

○Pesticide Handler Exposure Database (PHED)

従来の農薬暴露評価の基礎として用いられてきた。EPA、カナダ保健省、カリフォルニア州農業規制局、米国作物保護協会の加盟会社による特別委員会により構築されたソフトウェアであり、実際の農場で農薬使用に関わる使用者暴露量測定値を1,700以上含んでいる。

PHEDに含まれる情報は「PHED Surrogate Exposure Guide」を通して利用可能である。EPAは「PHED Surrogate Guide」の値を多くの使用者暴露評価の基礎として用いているが、生産工程が年々変化すること及びPHEDのデータに限界があることから、最新の知見を評価に取り入れるべきと考えている。

○Agricultural Handler Exposure Task Force (AHETF)

EPAからのデータ要求に対応するため2001年に設立された化学会社の共同企業体によって構築。AHETFのデータには最新の統計・分析手法が取り入れられている。また、現代の散布技術に対応しており、一般的に長袖のシャツ、長ズボン、靴下・靴、化学物質耐性グローブを着用した個人を想定。操縦席が覆われたトラクターの利用や暴露量を軽減できるパック剤といった工学的制御を反映している暴露モニタリングもある。

EPAはAHETFデータを重要視しており、今後農薬使用者暴露の各シナリオにおいてAHETFによる新たなデータが得られれば、既存のデータ（PHED等）に取って代わる可能性があるとしている。

○Outdoor Residential Exposure Task Force (ORETF)

EPAの経皮・経気道及び散布後暴露にかかるデータ要求に先行し、化学会社の共同企業体によって1994年に設立。

「手入れ業者（lawn care operators（LCO））による芝への散布」、「手押し式回転散布機の調製/充填/散布」及び「手持ち式散布機（液体、顆粒水和剤、水和剤）の調製/充填/散布」等のシナリオについては、既存のPHEDシナリオデータに代わり、評価に採用されている。

1990年代後期まではPHED由来のシナリオの利用が推奨されてきたが、近年ORETF及びAHETFがPHEDに代わる使用者暴露モニタリングデータとして評価に導入されている。最新の値は、PHEDより信頼できるデータと判断されれば「Occupational Pesticide Handler Unit Exposure Surrogate Reference

Table」に随時反映される。

2.1.4. 農薬使用者の暴露量の算出

推定暴露量（mg/kg/day）は、経皮及び吸入それぞれについて設定される。暴露量は、農薬使用シナリオごとの単位暴露量に単位面積当たり有効成分投下量、1日当たり処理面積及び経皮/吸入吸収率を乗じ、体重で除して推定する。

計算式は以下の通り。

$$\text{暴露量} = \frac{\text{Rate (lb ai/A)} \times \text{UE (mg/lb ai)} \times \text{AF (\%)} \times \text{AT (A/day)}}{\text{BW (kg)}} \quad \begin{matrix} \text{(経皮/吸入)} \end{matrix}$$

Rate (Application Rate): ラベルに従って農薬を使用した際の面積あたりの最大散布量（有効成分換算）

UE (Unit Exposure): 単位暴露量（データベース等より）

AF (Absorption Factor): 吸収率。経皮吸収率は経皮吸収試験成績等から決定される。吸入吸収率は通常100%

AT (Area Treated): 1日当たりの最大散布面積（デフォルト値）

BW (Body Weight): 一般（70/80 kg）、女性（60 kg）

繁殖・発達神経毒性試験等由来のNOAELを使用する際に女性の値を用いることがある。

2.2. リスク管理措置の決定

適用通りに使用した場合の推定暴露量が各経路の評価基準値に比べて十分に小さいかどうかを評価する。具体的には、暴露幅（Margin Of Exposure: 以下「MOE」という。）を用いて評価する。

MOEとは、評価基準値を推定暴露量で除した値であり、次式の通り計算する。

$$\text{MOE} = \frac{\text{評価基準値 (NOAEL等)}}{\text{推定暴露量 (経皮/吸入)}}$$

MOEは、経皮暴露、吸入暴露それぞれのNOAELを用い、それぞれのMOEを求める。

MOEが大きいほど、推定暴露量が評価基準値に対して小さいことを表している。

このとき推定暴露量が毒性上十分に小さいかどうかの指標として、1.3で定めたLOCを用いる。

MOE ≥ LOCであれば農薬使用者の安全性が担保されると判断され、MOE < LOCであればMOE ≥ LOCとなるように防護装備等を追加する。基本防護装備は長袖・長ズボン（single layer）、靴下・靴であり、そこに化学物質耐性グローブや防除衣（double layer）、マスク（PF5, PF10）を追加する。防護装備を追加してもLOCを下回る場合は、工学的制御（可溶性フィルムで包装する、キャビン付き散布装置の利用等）を検討する。

3. 米国における評価の実態

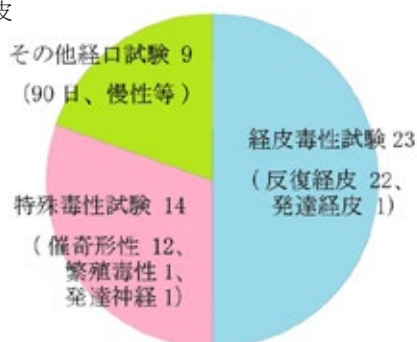
現在米国にて登録されている製剤の評価内容を調査し⁹⁾、毒性指標根拠試験の種類、用いられる動物種、エンドポイント等について次のようにまとめた。

3.1. 毒性指標根拠試験の種類

60 有効成分の農薬評価書を調査し、暴露期間 (①Short-term, ②Intermediate Term, ③Long Term, ④Chronic) ごとに、経皮経路/吸入経路の毒性指標根拠試験の種類を調べた。結果を以下に示す。

①Short-term (1-30 days)

経皮



吸入



②Intermediate Term (1-6 months)

経皮



吸入



③Long Term (greater than 6 months)

経皮：反復経皮毒性試験 2, 催奇形性試験 1, 繁殖毒性試験 1, 慢性毒性試験 2

吸入：反復吸入毒性試験 4, 催奇形性試験 2, 90 日経口試験 1, 慢性毒性試験 3

④Chronic

経皮：慢性毒性 2

吸入：慢性毒性 1

経皮経路では反復経皮毒性試験, 吸入経路では反復吸入毒性試験の割合が高い結果となった。これらの NOAEL は経口試験の NOAEL より総じて高い値を示していた。

このことから、暴露経路別 (経皮/吸入) に暴露評価を行う米国において、反復経皮/反復吸入毒性試験は毒性指標の根拠試験として重要な試験であることが推察される。

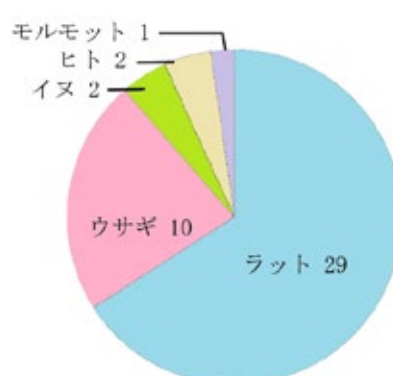
経口投与試験の中では、催奇形性試験が採用されていることが多い。これは投与期間が比較的短く (ラット: 2 週間程度, ウサギ: 20 日程度), 短期暴露の評価に用いやすいことに加え, EPA が暴露評価にあたり催奇形性を重視しているからと考えられる。複数の評価書において「反復経皮毒性試験の NOAEL が 1000 mg/kg/day 以上かつ発達時の影響 (developmental concern) がないためリスク評価が必要ない。」という旨の記載があることから催奇形性試験の重要性がうかがえる。

3.2. 毒性指標根拠試験に用いられる動物種

試験種と同様に、毒性指標根拠試験に用いられている動物種を調べた。結果を以下に示す。

①Short-term (1-30 days)

経皮



吸入

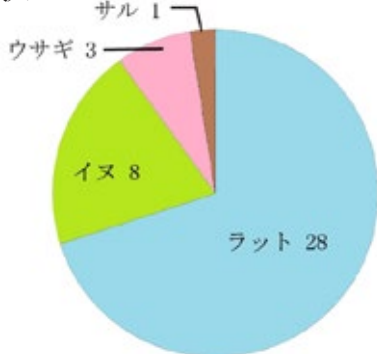


②Intermediate Term(1-6 months)

経皮



吸入



③Long Term (greater than 6 months)

経皮：ラット 4, ウサギ 1, イヌ 1

吸入：ラット 8, イヌ 1, サル 1

④Chronic

経皮：ラット 2

吸入：ラット 1

経皮経路では、反復経皮毒性試験及び催奇形性試験に用いられるラット、次いでウサギの割合が高かった。吸入経路では、反復吸入毒性試験、催奇形性試験及び反復経口試験（90 日、慢性）に用いられるラットの割合が一番高く、次に反復経口試験（90 日、慢性）に用いられるイヌの割合が高かった。

3.3. 毒性指標のエンドポイント

毒性指標が設定されている有効成分について、経路、試験種ごとに毒性指標のエンドポイントを調べたところ、評価期間の違いによる各毒性指標の根拠となるエンドポイントの採用に大きな違いはないことが明らかになった。主な結果を以下に示す。

ア. 経皮

反復経皮毒性試験：体重減少/体重増加量減少、臓器重量変化、臨床症状/外観変化、コリンエステラーゼ活性阻害、臓器病理組織学的変化等

催奇形性試験：体重減少/体重増加量減少、骨格変異/奇形、摂餌量減少、臨床症状等

イ. 吸入

催奇形性試験：体重減少/体重増加量減少、骨格変異/奇形、摂餌量減少、臨床症状等

反復吸入毒性試験：体重減少/体重増加量減少、鼻腔/鼻孔細胞肥厚・病理組織学的変化、コリンエステラーゼ活性阻害、臨床症状等

全体では体重減少/体重増加量減少や臨床症状（運動能減少、流涎等）が多数見られた。

試験種特有の毒性として、催奇形性試験では骨格変異/奇形、反復吸入毒性試験では鼻部の細胞における変化がエンドポイントとして設定されていた。また、数は少ないが、反復経皮毒性試験において皮膚刺激をエンドポイントとして採用している例も認められた。

催奇形性試験が採用されている場合においては、必ずしも催奇形性があるとは限らず、一般毒性のエンドポイントが選択されていることも多く認められた。

3.4. 安全係数

通常は種差（×10）及び個体差（×10）より 100 が設定されていた。NOAEL（無毒性量）がとれておらず、LOAEL（最小作用量）を毒性指標として採用している場合は、追加の係数（主に 3）を用いていた。Chronic の評価において、NOAEL がとれておらず、Chronic に相当するエンドポイントもない場合に LOC が 3000 に設定されているケースが認められた。

3.5. 経皮及び吸入吸収率

経口試験を経皮経路/吸入経路の指標に採用している場合の、吸収率による補正の有無を調べた。

経皮経路の場合は経口試験を採用している 24 有効成分のうち 13 有効成分で、経皮吸収試験等から導き出された経皮吸収率を暴露量計算に利用していた。値は 0.24～70%であった。残り 11 成分では利用できる経皮吸収率データが無いため、経皮吸収率を 100%とし

て計算していた。CFR (Title 40, Part 158, K) のデータ要求において、経皮吸収試験 (OPPTS 870.7600 : Dermal penetration) は必須の試験とはなっていないため、これらは経皮吸収率のデータが無いと考えられる。

吸入経路の場合は吸収率を 100%とし、暴露評価は指標の値そのものとの比較で行われていた。

3.6. リスク評価パターン

基本的には、経皮・吸入の各経路を個別に評価するとされているが、2つの経路の暴露量を合算して評価する例も確認された。

今回の調査では 60 有効成分中 24 有効成分で経皮・吸入経路の暴露について合算して評価されていた。合算して評価する場合として、以下の 2 パターンが確認された。

①経皮・吸入経路で同じ試験から毒性指標を設定している。

②経皮・吸入経路で異なる試験を毒性指標として採用しているが、エンドポイントは同じ (コリンエステラーゼ活性阻害等)

このことから、両経路において毒性影響が同じ場合

に合算して評価されていることが確認された。

4. 米国と欧州の評価方法の比較

米国と欧州では異なる使用者暴露評価手法を採用している。主な点について表 3 にまとめた。

欧州では経皮経路と吸入経路を合算して評価するため、経路特異的な影響が認められない場合は毒性指標根拠試験が経口投与試験に限られる。そのため、反復経口投与試験 (90 日, 1 年) に用いられるイヌ, ラットを根拠とするケースが多いという結果となった⁶⁾。催奇形性試験等、特殊毒性を見る試験を重視する点は共通していた。

エンドポイントについて、米国の評価書では体重減少/体重増加量減少が多数採用されていたが、欧州では肝臓への影響が約半数を占めていた。これは米国では反復経皮毒性試験や反復吸入毒性試験等、一般的に経口投与試験に比べ感度が低いとされる試験を根拠試験として採用しているためと考えられた。

安全係数の考え方や経皮吸収率の採用状況は米国と欧州で同様と考えられた。

表 3. 農薬使用者のリスク評価方法の米国と欧州の比較

	米国	欧州
毒性指標根拠試験の種類	経皮経路 反復経皮毒性試験、催奇形性試験 等 吸入経路 反復吸入毒性試験、催奇形性試験 等 ※慢性毒性を根拠試験としている例も有り。	<EU のガイダンス文書の規定> 以下の試験から選定 ①短期経口投与試験 (90 日間反復経口、イヌの 1 年間反復経口 等) ②繁殖毒性、発生毒性、神経毒性等のエンドポイントを検討する試験 ※慢性毒性、発がん性試験は原則対象としない。
毒性指標根拠試験に用いられる動物種	ラット>ウサギ>>イヌ	イヌ, ラット>>ウサギ
主要なエンドポイント	体重減少/体重増加量減少, 摂餌量減少, 臓器重量変化, 臓器病理組織学的変化, 臨床症状/外観変化, 骨格変異/奇形, コリンエステラーゼ活性阻害 等	肝臓への影響, 神経系/臨床症状, 腎臓への影響, 臨床化学, コリンエステラーゼ活性阻害 等
安全係数	種差 (×10), 個体差 (×10) =100 NOAEL が確認できず, LOAEL を根拠とした場合, 追加の不確実係数 (主に×3) を用いる。	米国と同様。
吸収率	経皮経路: 利用できる吸収率データがある場合採用。 経皮吸収試験は必須の試験ではない。 吸収経路: 通常, 吸収率 100%	米国と同様。
リスク評価パターン	経皮経路暴露・吸入経路暴露について, 別々に評価する場合と合算して評価する場合が混在。	全て合算して評価。

欧州における評価の特徴については、EFSA 評価書を調査した結果 (68 農薬成分) 及び HSE Scientific Report on derivation of reference values (2013)を参考とした⁶⁾。

5. まとめ

1. 米国 EPA では農薬の使用者 (Handler) として, 「調製/充填 (Mixer/Loaders)」, 「散布 (Applicators)」等と場合分けをしており, それぞれに対して推定被ばく量と毒性エンドポイントを比較することにより暴露評価を行っている.
2. EPA では, 評価の対象となる使用「シナリオ」毎の暴露試験結果から導かれた「単位暴露量」を用い, 農薬使用者暴露量を推定する. 単位暴露量は, 使用有効成分量に対する暴露量の割合で表される. 各シナリオには散布器具の種類, 剤型, 作業内容, 防護装備レベル (PPE) が含まれている.
3. 各シナリオの単位暴露量は主に PHED, AHETF 及び ORETf 等データベース由来の値が採用されており, 「Occupational Pesticide Handler Unit Exposure Surrogate Reference Table」にまとめられ, HP で公表されている.
4. 米国において, 毒性指標根拠試験は経路特有の試験 (反復経皮毒性試験, 反復吸入毒性試験) が重視されており, 次いで催奇形性試験が多く採用されていた. 用いられる動物についても, これらに使用されるラット及びウサギの割合が高かった.
5. 毒性指標のエンドポイントとして, 全体では体重減少/体重増加量減少や臨床症状 (運動能減少, 流涎 等) が多数見られた. 試験種特有の毒性として, 催奇形性試験では骨格変異/奇形, 反復吸入毒性試験では鼻部の細胞における変化がエンドポイントとして設定されていた. 数は少ないが, 皮膚刺激をエンドポイントとして採用している例も認められた.
6. 経皮・吸入経路を別々に評価することもできる米国と, 全て合算して評価する欧州において, 毒性根拠試験の選び方及びそれに基づく差異 (用いられる動物種, エンドポイント) が認められた. 暴露評価の考え方自体には大きな差異は認められなかった.

引用文献

- 1) CODE OF FEDERAL REGULATIONS, Title40, Chapter 1, PART 158-DATA REQUIREMENTS FOR PESTICIDES (2016 Office of the Federal Register)
https://www.govregs.com/regulations/expand/title40_chapter1_part158_subpartK_section158.1010
- 2) Occupational and Residential Exposure Test Guidelines OPPTS 875.1000 Background for Application Exposure Monitoring Test Guidelines (1996 EPA)
<https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPPT-2009-0157-0002>
- 3) Occupational Pesticide Handler Exposure Data
<https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/occupational-pesticide-handler-exposure-data>
- 4) Occupational Pesticide Handler Unit Exposure Surrogate Reference Table (2016 EPA)
<https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-11/documents/handler-exposure-table-2016.pdf>
- 5) EPA の評価書は下記ウェブサイトより入手可能
Pesticide Chemical Search
<https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=chemicalsearch:1>
- 6) HSE Scientific Report on derivation of reference values (2013)
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/sp.efsa.2013.EN-413>

(全 URL のリンクについての確認は, 2019 年 7 月 17 日に実施.)

[他誌掲載論文]

環境毒性学会誌 (*Jpn. J. Environ. Toxicol.*), 21 (1), 1 - 7, 2018 より
転載

水生双子葉植物カワヂシャを供試生物とした
生長阻害試験法の開発

**Development of a growth inhibition test using *Veronica undulata*,
a dicot aquatic plant**

Takahiro KATO and Satoru ISHIHARA

Agricultural Chemicals Inspection Station,
Food and Agricultural Materials Inspection Center.
/2-772 Suzuki, Kodaira, Tokyo 187-0011, Japan

- 本論文の著作権は、環境毒性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.

水生双子葉植物カワヂシャを供試生物とした 生長阻害試験法の開発

Development of a growth inhibition test using *Veronica undulata*,
a dicot aquatic plant

加藤 貴央, 石原 悟

独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部 / 〒187-0011 東京都小平市鈴木町 2-772

Takahiro KATO and Satoru ISHIHARA

Agricultural Chemicals Inspection Station, Food and Agricultural Materials Inspection Center.
/2-772 Suzuki, Kodaira, Tokyo 187-0011, Japan

ABSTRACT

We aimed to develop a growth inhibition test using *Veronica undulata*, a dicot aquatic plant. The examination was carried out using simetryn, 2,4-D, and 3,5-DCP as the test substances, to confirm the precision of the examination and sensitivity of *Veronica undulata* to herbicides. Directly post-germination, *Veronica undulata* was exposed to each test substance for seven days, and ErC_{50} was calculated based on the growth speed of the leaf area or the dry weight. The coefficient of variation of ErC_{50} for each test was less than 20%, and stable test results were obtained. In the growth inhibition test, the ErC_{50} ($\mu\text{g/L}$) values of 2,4-D and 3,5-DCP were 585 and 3,394, and the sensitivity was at the same level as that by using *Myriophyllum spicatum*. These results suggest the possibility of using this test as a screening method for assessing the toxicity of chemical substances to dicot aquatic plants.

Key Words: Aquatic plant, *Veronica undulata*, Ecotoxicity test, Herbicide, Simetryn, 2,4-D, 3,5-DCP

1. はじめに

水生植物に対する農薬の影響評価では、国際的な試験指針が定められている、藻類¹⁾ および水生単子葉植物のウキクサ (*Lemna* sp.)²⁾ の生長阻害試験の結果が主に活用されており、我が国では藻類 (単細胞緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata*) を用いた生長阻害試験³⁾ が環境省の定める水産動植物への毒性に係る登録保留基準値の設定に活用されている。室内での生長阻害試験においては被験物質を溶解させた培養液を用いて曝露させるため、実環境での曝露経路を再現できる水生植物が供試植物として適している。近年欧州を中心に、

水生双子葉植物のホザキノフサモ (*Myriophyllum spicatum*) を供試生物とした生長阻害試験法^{4, 5)} が開発されるなど、供試可能な水生植物種の拡大が進められているものの、水生植物に関する影響試験法は充実しているとは言えない。

農薬の生態系への影響に関するリスク評価法としては、曝露量と毒性値を比較し二者択一的にリスクの有無を評価する決定論的リスク評価が一般的であるが、より効率的な農薬のリスク管理を可能とする評価手法として、リスクを定量的な指標で表すことができる確率論的リスク評価が有効であると考えられている⁶⁾。確率論的リスク評

価では、多種生物の薬剤感受性を統計学的に示した種の感受性分布 (SSD: Species Sensitivity Distribution) が用いられる。SSD の推定には、最低でも 5 属以上の生物種が必要とされている⁷⁾ことから、既に試験指針が定まっている生物種に加え、更なる生物種を追加することは意義深い。

これまでに我々は、国内に生息する水生単子葉植物のウキクサ (*Lemna* sp.)、ミジンコウキクサ (*Wolffia globosa*)、水生シダ植物のサンショウモ (*Salvinia natans*) などを供試生物種とした生長阻害試験法の開発を進めてきた⁸⁻¹⁰⁾。水生双子葉植物を供試生物種とした試験には、ホザキノフサモ生長阻害試験 (OECD-TG238 および 239) があるが、常時供試生物の維持培養が必要であること、大型の容器を用いるため試験スペースが必要なこと、試験期間が 14 日間と比較的長期であることなどから、労力を要し難易度の高い試験である。そのため、他の水生双子葉植物を供試生物種とした簡易な試験手法を開発することは、SSD の推定に用いる生物種数を追加するとともに、毒性データ蓄積の効率改善に寄与できる。

カワヂシャ (*Veronica undulata*) は日本の在来種であり、本州以西の河川や水路、水田などの水湿地に自生するオオバコ科の双子葉被子植物である^{11, 12)}。カワヂシャの種子は発芽率が高く¹³⁾、長期保存が可能であることが知られている¹⁴⁾。また、幼体を用いることで省スペースでの試験が可能であることから、カワヂシャは水生双子葉植物の供試生物種としての適性が高いと考えられた。

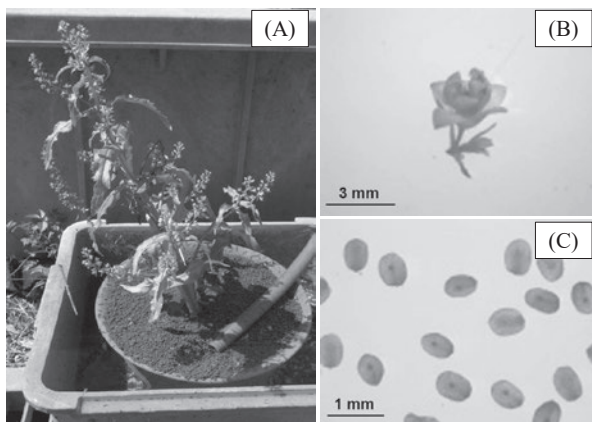


Fig.1. *Veronica undulata* (A)Whole body, (B) Fruit, (C)Seeds.

そこで、カワヂシャ生長阻害試験法の開発を目的として、除草活性を有する 3 種の被験物質を用いた生長阻害試験を実施し、本試験法の妥当性を検証した。カワヂシャ生長阻害試験の試験設計および妥当性の検証項目 (対照区の倍加期間が 2.5 日未満²⁾) は、OECD におけるウキクサ生長阻害試験のテストガイドライン (OECD-TG221) を参考にした。

2. 材料および方法

2.1 供試生物

カワヂシャは 2013 年 5 月に東京都東久留米市落合川より採取し室内で継代培養している系統を用いた (Fig. 1)。当該系統のカワヂシャは農地から離れた河川で採取した株であり、農地付近の河川に生息する系統と比べて除草剤抵抗性を獲得している可能性は低いと考えられる。既報の方法¹⁴⁾により種子を生産し、乾燥・低温 (4℃)・暗黒条件下で保存した種子を適宜各試験に供試した。

2.2 培養温度の検討

子葉が展開した状態のカワヂシャ幼体を異なる温度 (18, 20, 22 および 24℃) 条件下にて各温度区 3 連で培養し、生長阻害試験における培養温度を検討した。その他の環境条件および測定方法は後述の生長阻害試験方法に準じて行った。試験開始から 7 日間各日葉面積を測定し、試験開始時から 7 日後における生長速度を算出し、最適な培養温度を評価した。

2.3 観察項目の検討

カワヂシャの葉面積とバイオマス生産量の相関性を検証するため、子葉期から 4～5 葉期までの各段階における葉面積および乾燥重量を測定した。培養時の環境条件は後述の生長阻害試験方法に準じて行った。

葉面積は、高さを固定したデジタルカメラ (Nikon 製, D3300) を用いて、ライトパネル上 (CABIN 製, CL-5300N LED) に設置した試験容器を上方から撮影し、画像処理ソフト (Adobe, Photoshop Elements 8.0) を用いて葉面のピクセル数を算出し、得られたピクセル数から面積 (mm^2) に換算した。

乾燥重量は、ペーパータオルで植物体の余分な水分を取り除き、60℃に設定した恒温器で2日間乾燥させた後、電子天秤（Sartorius 製、R-200D）を用いて測定した。

2.4 生長阻害試験

2.4.1 環境条件

前培養期間および曝露期間における培養は照明（NEC 製、FL8N, 昼白色蛍光灯）付きインキュベーター（IKUTA 製、A4201D2L）内で、日長 16 時間、光量子束密度 $100 \pm 20 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ の条件で静置培養を行った。温度条件は前培養時が $17 \pm 2^\circ\text{C}$ 、曝露期間は $24 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。培地は SIS 培地²⁾（pH6.5、 $0.2 \mu\text{m}$ フィルター濾過）を用い、容器は前培養時が 96 ウェルマルチプレート（Thermo 製、ポリスチレン製、培地 $200 \mu\text{L}/\text{ウェル}$ ）、曝露時には 12 ウェルマルチプレート（Thermo 製、ポリスチレン製、培地 $3 \text{ mL}/\text{ウェル}$ ）を用いた。培地の蒸発を防ぐため、容器と蓋の隙間はパラフィルムで封じた。

カワデシヤ種子を SIS 培地に播種した日を開始日として約 11 日間、前培養を行った。前培養後、子葉が展開した状態の幼体を後述の方法で調製した試験溶液に移した。曝露期間は OECD-TG221 の条件と合わせ 7 日間とした。

2.4.2 試験設計

被験物質として作用機構の異なる除草活性を有する 3 種の成分、シメトリン（和光純薬工業、Traceable Reference Material）、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（2,4-D）（関東化学、農薬残留試験用）および 3,5-ジクロロフェノール（3,5-DCP）（和光純薬工業、一級）を用いた。各被験物質を助剤（0.1% tween20 含有アセトン）を用いて SIS 培地に溶解させ、段階的に希釈し設定濃度の試験溶液を調製した。試験区を公比 2 で 5 ～ 6 濃度区設定し、助剤対照区および試験区における繰返し数をそれぞれ 6 連とした。助剤対照区の助剤濃度は $0.1 \text{ mL}/\text{L}$ とした。

曝露開始時に葉面積、曝露終了時に葉面積および乾燥重量を 2.2 および 2.3 で検討した方法で測定した。被験物質の設定濃度および各測定項目に基づいた生長速度の阻害率から非線形回帰法によ

り半数影響濃度（ ErC_{50} ）を算出した。なお、試験開始時の乾燥重量は葉面積から推定した値を用いた。

試験の再現性を検討するため、各被験物質についてそれぞれ 3 反復で生長阻害試験を実施した。

3. 結果

3.1 培養温度

最適培養温度条件を葉面積に基づく生長速度を指標として検討したところ、いずれの温度区でも試験の妥当性基準（倍加期間が 2.5 日未満²⁾）を満たす生長が見られた（TABLE 1）。検討した温度条件のうち、 24°C 区の生長速度が最も高かったこと、および作業効率の観点から OECD-TG221 の条件と合わせるため、カワデシヤ生長阻害試験における培養温度は $24 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。

TABLE 1. Growth rate and doubling time for *Veronica undulata* of incubation under different temperatures

Incubation temperature ($^\circ\text{C}$)	Growth rate (/day)	Doubling time (day)
18	0.34	2.02
20	0.36	1.92
22	0.39	1.76
24	0.41	1.69

The values are the mean ($n=3$)

3.2 観察項目

カワデシヤの子葉期から 4 ～ 5 葉期までの各段階における葉面積および乾燥重量を測定したところ高い相関が認められた（Fig.2）。

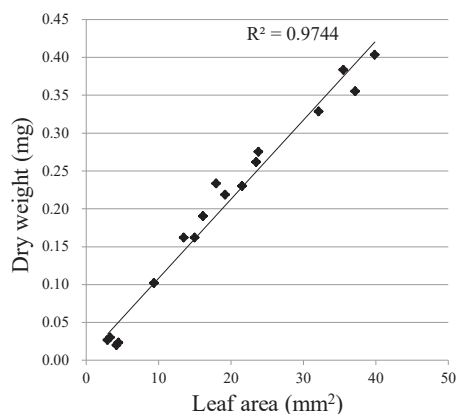


Fig.2. Correlation between dry weight and leaf area.

OECD-TG221 と同様、カワヂシャの生長阻害試験においても、葉面積を測定項目として利用できると考えられた。

3.3 生長阻害試験

対照区の試験期間（7 日間）における生長速度（倍加期間）は葉面積および乾燥重量でそれぞれ 2.5 日未満であり、OECD-TG221 の試験の妥当性基準²⁾を満たしていた。助剤対照区において助剤の影響は認められなかった。

いずれの被験物質を用いた試験区においても容

量反応的影響が認められた (Fig.3, 4)。各生長阻害試験結果から算出された ErC_{50} を TABLE 2 に示す。各除草剤の 3 反復試験における ErC_{50} (0-7 日間生長速度) の変動率は、葉面積・乾燥重量いずれの測定項目に基づいた場合でも 20% 以下であった。

4. 考察

生長阻害試験の結果より、本試験手法は ErC_{50} (0-7 日間生長速度) を評価指標とした場合、試験結果は十分な精度を有すると考えられ、双子葉

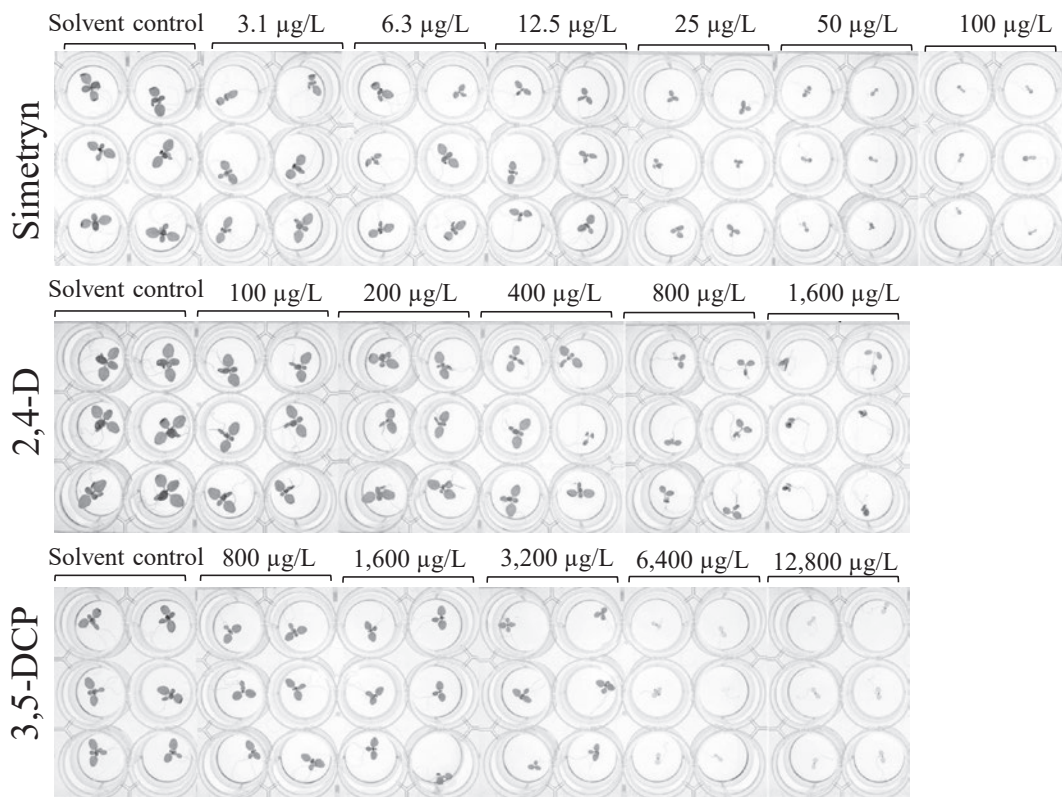


Fig.3. Influence of Simetryn, 2,4-D and 3,5-DCP on *Veronica undulata* after 7 days.

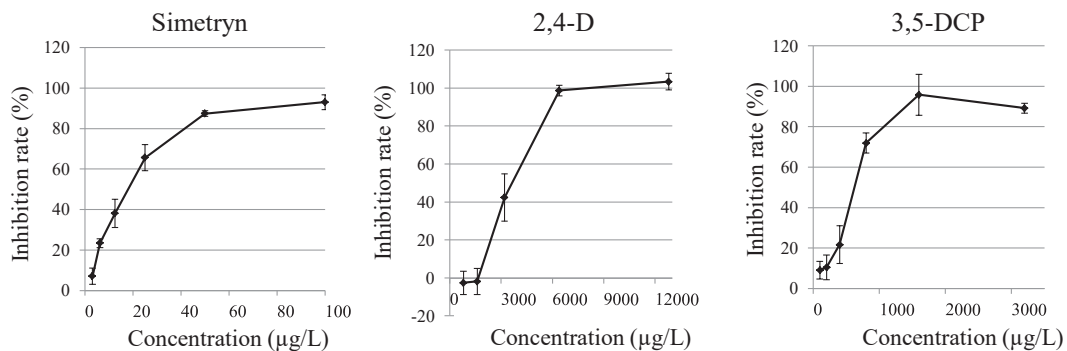


Fig.4. Concentration-growth inhibition rate relationship for test items.

TABLE 2. ErC₅₀ (μg/L) values for *Veronica undulata* based on leaf area and dry weight

Substance	Test NO.	ErC ₅₀	
		Leaf area	Dry weight
Simetryn	1	22.5	10.8
	2	17.3	16.3
	3	17.5	14.2
	Ave.	19.1	13.8
	C.V.	15.4%	19.8%
2,4-D	1	546	1135
	2	631	939
	3	577	958
	Ave.	585	1011
	C.V.	7.3%	10.7%
3,5-DCP	1	3341	3263
	2	3169	3215
	3	3671	3301
	Ave.	3394	3259
	C.V.	7.5%	1.3%

の水生植物に対する農薬の影響評価が可能であることが示唆された。本研究の結果から定めたカワヂシャ生長阻害試験の試験条件を TABLE 3 に示す。本試験法は試験容器をマルチプレート、測定項目を葉面積としており、他試験法と比べて必要とする試験スペース及び培地等が少なく、植物の計測に特別な装置や技術を必要としないため、簡便な試験法と言える。カワヂシャ生長阻害試験は日長および容器を除き、OECD-TG221 に概ね準拠した培養条件で実施可能であり (TABLE 3)、汎用性の高い試験と考えられた。カワヂシャの種子は長期間保存可能で発芽率も高く¹⁴⁾、前培養を行うのみで試験に供試可能であるため、本試験における試験生物の維持および準備は容易であった。

カワヂシャのシメトリン、2,4-D および 3,5-DCP に対する感受性を他水生植物種と比較したところ (TABLE 4)、双子葉植物に対して特異的に活性が高い 2,4-D については、緑藻および単子葉植物であるウキクサと比べて 100 倍以上高い感受性を示した。また、同じ双子葉植物であるホザキノフサモとは 2,4-D および 3,5-DCP について同程度の感受性を示した。難易度の高いホザキノフサモ生長阻害試験と比べ、カワヂシャ生長阻害

試験は双子葉の水生植物への化学物質の影響をより簡易に評価できる試験法であると言える。EU 等の海外で試験を実施する場合は、カワヂシャの近縁種であり、ヨーロッパからアジア原産のオオカワヂシャで代替することで本試験が実施可能と考えられる。

今回の試験に用いたカワヂシャは東京都で採取した 1 系統のみであるため、試験生物の系統確立には、今後、薬剤感受性の地域間差の調査を行う必要がある。

5. 結論 (まとめ)

カワヂシャを供試植物とした生長阻害試験法を開発した。シメトリン、2,4-D および 3,5-DCP を被験物質として試験を実施し、良好な結果が得られた。本試験法は SSD の推定における生物種を拡充し、確立論的リスク評価に資することが期待される。当該試験は汎用性が高く、簡易な試験方法であることから、双子葉の水生植物に対する化学物質の影響評価において、ホザキノフサモ生長阻害試験 (OECD-TG238 および 239) の代替法としての利用も可能と考えられる。

TABLE 3. Method of growth inhibition test using *Veronica undulata*, and comparison with OECD test guidelines which using other organism

	Growth inhibition test using <i>Veronica undulata</i>	OECD TG-221	OECD TG-238	OECD TG-239	OECD TG-201
Organism	<i>Veronica undulata</i> (Dicotyledon)	<i>Lemna minor</i> , <i>Lemna gibba</i> (Monocotyledon)	<i>Myriophyllum Spicatum</i> (Dicotyledon)		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (Alga)
Medium	Modified Swedish standard (SIS)	Modified Swedish standard (SIS) (<i>Lemna minor</i>), 20X-AAP (<i>Lemna gibba</i>)	Modified Andrews' medium (Containing sucrose)	Smart and Barko (With sediment)	OECD medium, AAP medium
Vessel	12 well multi plate (φ22.1 mm, 3 mL/well)	Glass beakers (100 mL)	Glass tubes (φ20 mm, Length 250 mm)	Glass beakers (2 L)	Glass flasks
Pre culture (day)	11	7 - 10	14 - 21	≥ 21*	2 - 4
Test duration (day)	7	7		14	3
Dilution ratio	2	≤ 3.2		≤ 3.2	≤ 3.2
Concentrations	5 - 6	≥ 5	5 - 7	≥ 5	5
Replicates	6	≥ 3	≥ 5	≥ 4	3
Temperature (°C)	24±2	24±2	23±2	20±2	21 - 24
Light-Dark cycle (h)	16:8	24:0		16:8	24:0
Lighting intensity	100 ± 20 μE/m ² /s	85 - 135 μE/m ² /s	100 - 150 μE/m ² /s	140 ± 20 μE/m ² /s	60 - 120 μE/m ² /s
Endpoint	Total leaf area	Number of fronds	Shoot length		Dry weight, Cell counts
Type of ECx	ErC	ErC, EyC	ErC, EyC		ErC, EyC

*Last seven days are culture with sediment.

TABLE 4. Comparison of the sensitivity for simetryn, 2,4-D and 3,5-DCP of aquatic plants

Species	ErC ₅₀ (μg/L)		
	Simetryn	2,4-D	3,5-DCP
<i>Veronica undulata</i> (Dicotyledon)	19	585	3,394
<i>Myriophyllum Spicatum</i> (Dicotyledon)	-	1,300 ¹⁵⁾	8,300 ¹⁵⁾
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (Alga)	6.4 ¹⁶⁾	58,000 ¹⁶⁾	2,400 ¹⁷⁾
<i>Lemna</i> sp. (Monocotyledon)	38 ¹⁸⁾	>100,000 ¹⁹⁾	3,600 ²⁰⁾

参考文献

- 1) J.F. Fairchild (1996) Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **32**(4), 353-357.
- 2) OECD (1995) Guidance document for aquatic effects assessment. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris.
- 3) OECD (2006a) Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, OECD guidelines for the testing of chemicals 201.
- 4) OECD (2006b) *Lemna* sp. Growth Inhibition Test, OECD guidelines for the testing of chemicals 221.
- 5) OECD (2014) *Myriophyllum spicatum* Toxicity Test: Results of an inter-laboratory ring test using a sediment-free test system, OECD Environment, Health and Safety Publications (EHS) Series Testing and Assessment, No.205.
- 6) OECD (2014a) Sediment-Free *Myriophyllum Spicatum* Toxicity Test, OECD guidelines for the testing of chemicals 238.
- 7) OECD (2014b) Water-Sediment *Myriophyllum Spicatum* Toxicity Test, OECD guidelines for the testing of chemicals 239.
- 8) 石原 悟, 佃美和 (2010) *Lemna* 属ウキクサを用いた生長阻害試験の試験条件の検討, 雑草研究, NO.55, 152.
- 9) 石原 悟, 佃美和, 清野義人 (2010) アオウキクサ類を供試生物としたウキクサ生長阻害試験の試験条件, 環境毒性学会誌, **13**(2), 131-139.
- 10) 石原 悟 (2011) ミジンコウキクサを供試生物とした生長阻害試験法の検討, 農林水産消費安全技術センター 平成 23 年度調査研究報告.
- 11) 石原 悟 (2012) 水生シダサンショウモ (栄養繁殖個体) を供試生物とした生長阻害試験法の検討, 農林水産消費安全技術センター 平成 24 年度調査研究報告.
- 12) 石原 悟 (2012) 日本雑草学会第 57 回講演会
- 13) 加藤 貴央, 石原 悟 (2015) 室内培養によるカワヂシャ (*Veronica undulata*) の種子生産および種子発芽率について, 水草研究会誌, 102 号, 19-23.
- 14) 角野康郎 (2014) 日本の水草, 文一総合出版, 283pp.
- 15) 佐々木英代 (2004) カワヂシャ、オオカワヂシャの発芽特性について—家庭用電気冷蔵庫を利用した発芽試験—, 水草研究会誌, NO.80, 6-10.
- 16) 永井孝志, 稲生圭哉, 横山淳史, 岩船敬, 堀尾剛 (2009) 水稲用除草剤の確率論的生態リスク評価, 日本リスク研究学会第 21 回年次大会講演論文集, **22**, 397-402.
- 17) 日本植物防疫協会 (2005) 農薬ハンドブック.
- 18) 農業環境技術研究所 (2014) 河川付着藻類を用いた農薬の毒性試験マニュアル.
- 19) 農林水産省 (2000) 農薬の登録申請に係る試験成績について, 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知
- 20) 山崎敬 (1981) “ゴマノハグサ科”, 佐竹義輔・大井次三郎・北村四郎・亘理俊次・富成忠夫, 日本の野生植物 草本Ⅲ 合弁花類, 平凡社, 97-128pp.

(受付:2018 年 4 月 19 日;受理 2018 年 6 月 27 日)

平成 30 年度学会等での発表実績一覧

1. 誌面発表

	誌名	題目	発表者名
1	環境毒性学会誌 21(1), 1-7.	水生双子葉植物カワデシヤを供試生物とした生長阻害試験法の開発	<u>加藤貴央</u> 、 <u>石原悟</u>
2	<i>Journal of Pesticide Science</i> , 43(4), 248-254.	The influence of <i>Brassica rapa</i> var. <i>perviridis</i> growth conditions on the uptake and translocation of pesticides	Sayuri Namiki, Takashi Otani, <u>Yutaka Motoki</u> , Nobuyasu Seike.
3	<i>Journal of Pesticide Science</i> , 43(4), 277-282.	Comparison of soil sorption parameters of pesticides measured by batch and centrifugation methods using an andosol	<u>Yutaka Motoki</u> , <u>Takashi Iwafune</u> , Nobuyasu Seike, Keiya Inao, Sayuri Namiki.
4	<i>Journal of Pesticide Science</i> , 43(4), 297-304.	Studies on the behavior and ecotoxicity of pesticides and their transformation products in a river	<u>Takashi Iwafune</u>
5	<i>Journal of Pesticide Science</i> , 44(1), 1-8.	Relationship between growth stage of <i>Brassica rapa</i> var. <i>perviridis</i> and the abilities for uptake and translocation of pesticides in soil	Sayuri Namiki, Nobuyasu Seike, <u>Yutaka Motoki</u> .

2. 口頭・ポスター発表

	学会名	題目	発表者名
1	日本農薬学会第 43 回大会 (2018.5.25～27)	農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第 15 報 ほ場試験によるコマツナの土壌中農薬の吸収性評価 その 2 (口頭)	清家伸康、 <u>元木裕</u> 、渡邊栄喜、並木小百合、稲生圭哉
2	日本農薬学会第 43 回大会 (2018.5.25～27)	農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第 19 報 葉菜類を対象とした農薬の後作物残留濃度予測モデルの開発	稲生圭哉、清家伸康、 <u>元木裕</u> 、渡邊栄喜、並木小百合

		(口頭)	
3	第 24 回日本環境毒性 学会研究発表会 (2018.9.11～12)	ユスリカ 1 齢幼虫のふ化後 経過時間による薬剤感受性 の比較 (口頭)	<u>木村穰</u> 、 <u>石原悟</u> 、久 樂喬、関雅範
4	第 38 回農薬製剤・施用 法シンポジウム (2018.10.18～19)	2018 年 CIPAC 会議の概要 (口頭)	<u>渡辺高志</u> 、 <u>倉浪佑実</u> <u>子</u>
5	日本農薬学会第 44 回 大会 (2019.3.11～13)	土壌の比重分画法を用いた 農薬の黒ボク土に対する吸 着特性の解析 (口頭)	<u>元木裕</u> 、和穎朗太、 清家伸康
6	日本農薬学会第 44 回 大会 (2019.3.11～13)	固体製剤の回収率測定にお ける有効成分の添加方法の 検討 (口頭)	<u>渡辺高志</u> 、 <u>倉浪佑実</u> <u>子</u> 、塚田勇輝、 <u>木村</u> <u>穰</u>

アンダーラインが引かれた者が、FAMIC 農薬検査部職員
二重線のアンダーラインの職員は、発表時に食品安全委員会事務局へ出向中

【技術レポート】

残留農薬分析業務における分析法の検討

(LC-MS/MS を用いた大豆中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価) 2 3

残留農薬分析業務における分析法の検討

LC/MS/MS を用いた大豆中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価

佐々木秀幸*¹, 代市守*², 鈴木徹也*³, 岸田繁二*³, 臼井裕一*⁴, 野村哲也*⁴

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を用いた大豆中の残留農薬一斉試験法について、33 農薬を対象とし、厚生労働省通知の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、3 試験室において妥当性評価を行った。その結果、全ての試験室において、妥当性評価の性能パラメータがガイドラインに示された目標値等に適合していた。

Keywords：残留農薬，大豆，妥当性評価，液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

結 言

独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬実態調査課（以下、センター）では、農林水産省の指示に基づき、国内産農産物における農薬の使用状況及び残留状況について調査を行っている。農産物に使用される農薬は、作物や栽培地域によって異なることから、調査においては、農薬を効率よく分析することが重要である。

大豆の調査は、最近では平成 24 年度に実施しており、当時は、厚生労働省通知¹⁾の一斉試験法を基にした「GC/MS・LC/MS による農薬等の一斉試験法（米穀・麦類・大豆）」（以下、従来法）及び厚生労働省通知による個別試験法で分析していた。今回、平成 30 年度の調査対象品目に大豆が再び選定されたことから、調査対象農薬の拡大と分析の効率化を図るため、LC/MS/MS で分析可能な農薬について検討を行った。

調査対象農薬の拡大を図る観点から、センターの分析対象としていない農薬（18 農薬）について、また、分析の効率化を図る観点から、従来法の LC/MS により分析を行っていた農薬（14 農薬）及び個別試験法で分析を行っていた農薬（1 農薬）についても、検討を行った。

試験法については、抽出及び精製は従来法に準

じ、測定は LC/MS/MS に変更した。

妥当性は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」^{2, 3)}（以下、ガイドライン）に基づき、試験室毎に評価した。

材料および方法

1. 試験室

以下の 3 試験室で実施した。

- ・農薬検査部農薬実態調査課（以下、小平）
- ・横浜事務所農薬実態調査課（以下、横浜）
- ・神戸センター農薬実態調査課（以下、神戸）

2. 対象農薬

2.1. 一斉試験法のうち、センターの分析対象としていない農薬

DCMU（ジウロン）、アセタミプリド、イソキサチオン、イミシアホス、エチプロール、オキサミル、クロラントラニプロール、ジフェノコナゾール、ジメトモルフ（E 体及び Z 体）、ファモキサドン、フェンピロキシメート（E 体及び Z 体）、フェンブコナゾール、フルフェノクスロン、フルベンジアミド、ベンチアパリカルブイソプロピル、ボスカリド、マンジプロパミド及びルフェヌロンの 18 農薬。

*¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部，現 さいたま本部

*² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部

*³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター横浜事務所

*⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

2.2. 個別試験法で分析を行っていた農薬

ペンディメタリン

2.3. LC/MS（従来法）で分析を行っていた農薬

アゾキシストロビン、イミダクロプリド、インドキサカルブ、クロチアニジン、クロマフェノジド、シアゾファミド、シメコナゾール、シモキサニル、チアメトキサム、テブフェノジド、テフルベンズロン、ヘキシチアゾクス、メトキシフェノジド及びリニュロンの14農薬。

3. 試料および添加濃度

3.1. 試料

試験対象の農薬が検出されていない国産大豆を小平にて粉碎し、3試験室で用いた。

3.2. 添加濃度

一律基準である0.01 mg/kg（以下、低濃度）およびその10倍にあたる0.1 mg/kg（以下、高濃度）の2濃度とした。

4. 試薬および器具

4.1. 標準品

農薬標準品：農薬混合標準溶液（特注品：林純薬工業株式会社、各20 µg/mL、5 mLアンプル瓶、溶媒（アセトニトリル））を使用した。農薬混合標準溶液に含まれないペンディメタリンは、林純薬工業製の標準溶液（1,000 µg/mL、1 mLアンプル瓶、溶媒（ヘキサン））を使用した。

混合標準液：50 µg/mLとなるようヘキサンで希釈したペンディメタリン標準溶液をアセトニトリルに溶媒置換し、これに農薬混合標準溶液を混合し、10 µg/mLとなるようアセトニトリルで希釈した。

添加回収試験用標準液及び検量線用標準液：混合標準液をアセトニトリルで適宜希釈して調製した。

4.2. 試薬

アセトニトリル（残留農薬試験用及び液体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS）用）、アセトン（残留農薬試験用）、トルエン（残留農薬試験用）、n-ヘキサン（残留農薬試験用）、メタノール（液

体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS）用）、塩化ナトリウム（残留農薬試験用）、リン酸トリフェニル（1級）、リン酸水素二カリウム（特級）、リン酸二水素カリウム（特級）、無水硫酸ナトリウム（残留農薬試験用）、酢酸アンモニウム溶液（高速液体クロマトグラフィー（HPLC）用）及びケイソウ土（セライト545）を使用した。水は超純水製造装置（Merck Millipore製）で製造した超純水又は超純水（LC/MS用）を使用した。

4.3. 調製試薬

0.5 mol/L リン酸緩衝液（pH 7.0）：リン酸水素二カリウム 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム又は1 mol/L 塩酸を用いて pH 7.0 に調整した後、水を加えて 1 L とした。

4.4. ろ紙

桐山ロート用ろ紙 No.5A-60

4.5. 固相抽出ミニカラム

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（以下、C18 ミニカラム）は、Waters 製 Sep-Pak Vac C18（1000 mg）を、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（以下、グラファイトカーボンミニカラム）は、Sigma-Aldrich 製 ENVI-Carb/LC-NH2（500 mg/500 mg）を使用した。C18 ミニカラムはアセトニトリル 10 mL で、グラファイトカーボンミニカラムはアセトニトリル・トルエン（3:1）10 mL でそれぞれコンディショニングしたものを用いた。

5. 装置

5.1. ホモジナイザー

日本精機製作所製 エースホモジナイザー

5.2. 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

LC 部：Waters 製 ACQUITY UPLC System（小平、神戸、横浜）

MS 部：Waters 製 Premier XE（小平、神戸）
：Waters 製 ACQUITY TQD（横浜）

6. 前処理方法

6.1. 抽出

図1の分析法フローチャートに従い、水を加えて膨潤させた試料から農薬をアセトニトリルで抽出し、抽出液に塩化ナトリウム及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) を加えて振とうしたのち、水層を分離除去した。

添加回収試験は、ホモジナイザー用容器に採取した試料に添加回収試験用標準液を添加し 30 分放置した後に抽出を開始した。

6.2. 精製

C18 ミニカラムで油分を除去し、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水したアセトニトリル層をグラファイトカーボンミニカラムで精製し、リン酸トリフェニル 1 µg/mL を含むアセトン・n-ヘキサン (1:1) 混液に溶解したものを試験溶液とした。

6.3. LC/MS/MS 測定用試験溶液

試験溶液から溶媒を除去し、残留物をアセトニトリルで 1 mL としたものを LC/MS/MS 測定用試験溶液とした。

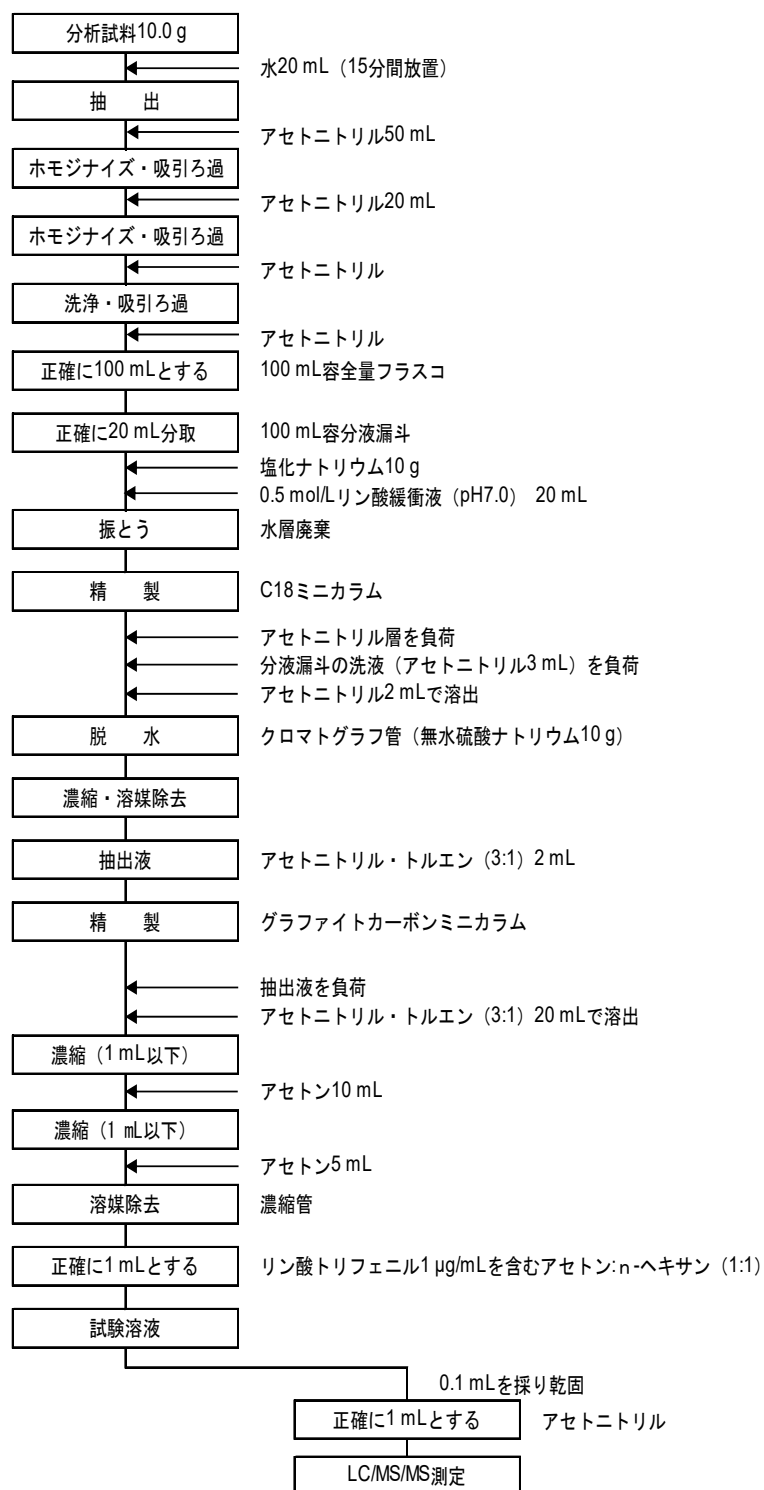


図1. LC/MS/MSによる一斉試験法 (大豆) フローチャート

7. 測定条件

LC/MS/MS による測定イオン及び測定条件は、表 1 から表 3 のとおりとした。

表 1. LC/MS/MS 測定イオン

農薬名	測定 モード	モニターイオン (定量) m/z	モニターイオン (定性) m/z
DCMU (ジクロロ)	+	233 > 72	233 > 160
アセタミド	+	223 > 126	223 > 90
アジキスロピリン	+	404 > 372	404 > 344
イキサチオン	+	314 > 105	314 > 97
イミダホス	+	305 > 201	305 > 235
イミダクロピリド	+	256 > 209	256 > 175
イントキサカルブ	+	528 > 203	528 > 293
エチロー	+	397 > 351	397 > 255
オキサミル	+	237 > 72	237 > 90
クロチアジソン	+	250 > 169	250 > 132
クロマフェノジド	+	395 > 175	395 > 339
クロラントラニリブロー	+	484 > 286	484 > 453
シアゾファミド	+	325 > 108	325 > 261
ジフェノコナゾール	+	406 > 251	406 > 337
シメコナゾール	+	294 > 70	294 > 73
ジメトモルフ (E 体及び Z 体)	+	388 > 301	388 > 165
シモキサニル	+	199 > 128	199 > 111
チアトキサム	+	292 > 211	292 > 181
テブフェノジド	+	353 > 297	353 > 105
テフルベンスロン	-	379 > 339	379 > 196
ファミキサト	+	392 > 331	392 > 238
フェンピロキシメート (E)	+	422 > 366	422 > 214
フェンピロキシメート (Z)	+	422 > 366	422 > 214
フェンコナゾール	+	337 > 70	337 > 125
フルフェノクスロン	+	489 > 158	489 > 141
フルベンスファミド	-	681 > 254	681 > 274
ヘキサチアゾクス	+	353 > 228	353 > 168
ベンチアバリカルブイソプロピル	+	382 > 116	382 > 180
ベンディメタリン	+	282 > 212	282 > 194
ホスカリド	+	343 > 307	343 > 140
マンジプロバミド	+	412 > 328	412 > 356
メトキシフェノジド	-	367 > 149	367 > 105
リニエロン	+	249 > 160	249 > 182
ルフェエロン	-	509 > 326	509 > 175

表 2. LC/MS/MS 測定条件

LC部	:	Waters製 ACQUITY UPLC System
MS部	:	Waters製 Premier XE (小平、神戸)、ACQUITY TQD (横浜)
カラム	:	Wako製 Wakopak Ultra C18-2 内径 2.1 mm、長さ100 mm、2 μm
流量	:	0.353 mL/min
カラム温度	:	40 °C
注入量	:	2 μL
移動相	A液	5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
	B液	5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液 (グラジエント条件: 表3)
イオン化法	:	エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+, ESI-)
測定法	:	多重反応モニタリング法 (MRM)
イオン源温度	:	120 °C
脱溶媒ガス温度	:	400 °C
脱溶媒ガス流量	:	800 L/hr

表 3. グラジエント条件

時間 (min)	A 液:B 液 (比)		A 液:B 液 (比)
0 ~ 0.29	85:15	→	60:40
~ 1.23			60:40
~ 2.18	60:40	→	50:50
~ 2.93	50:50	→	45:55
~ 6.52	45:55	→	5:95
~ 10			5:95

8. 妥当性評価

8.1. 枝分かれ試験

ガイドラインに示された実験例に基づき、各試験室において低濃度及び高濃度の添加回収試験をそれぞれ 2 併行で、異なる実施日又は実施者で 5 回繰り返した。

8.2. 選択性の確認

検討対象農薬を含まない試料 (以下、ブランク試料) の試験溶液を 6. 前処理方法に従い調製し、LC/MS/MS で測定して定量を妨害するピークの有無を確認した。

8.3. 検量線の直線性の確認

測定対象農薬を混合した検量線用標準溶液（0.0005, 0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 および 0.1 µg/mL）を LC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を作成した。各農薬の検量線について、相関係数 (r) が 0.995 以上であることをもって、検量線の直線性を確認した。

8.4. 検出限界及び定量限界の確認

定量限界の目標値を 0.01 mg/kg, 検出限界の目標値を 0.005 mg/kg とした。

ブランク試料溶液に 0.001 µg/mL となるように標準液を添加したものを 10 回、ブランク試料溶液をランダムに 5 回測定し、正味の測定値（ブランク試料の測定値を差し引いた測定値）から試料中濃度に換算した値の標準偏差 σ を求めた。標準偏差 σ に 3.67⁴⁾ を乗じた値を検出限界とし、定量限界は標準偏差 σ に係数 10 を乗じたものとした。

8.5. 真度及び精度の確認

ガイドラインに従い、低濃度は真度（回収率）が 70～120 %, 併行精度が 25 %未満, 室内精度が 30 %未満, 高濃度は真度が 70～120 %, 併行精度が 15 %未満, 室内精度が 20 %未満を目標値（表 4 参照）とした。

表 4. ガイドラインに示された真度及び精度の目標値

濃 度 (ppm)	真 度 (%)	併行精度 (RSD %)	室内精度 (RSD %)
≤0.001	70～120	30 >	35 >
0.001 < ~ ≤0.01	70～120	25 >	30 >
0.01 < ~ ≤0.1	70～120	15 >	20 >
0.1 <	70～120	10 >	15 >

結果及び考察

9. 妥当性評価結果

一斉試験法のうち、センターの分析対象としていない農薬及び個別試験法で分析を行っていた農薬（以下、新規対象農薬）は、ガイドラインに定められた選択性、真度、精度、定量限界に加え、検出限界及び検量線の直線性の評価を行った。

LC/MS により分析を行っていた農薬について、測定方法を LC/MS/MS に変更することは、ガイド

ラインに示された「試験法の一部を変更する場合」に該当する。このため、ガイドラインに基づき、選択性及び真度の評価を行った。

9.1. 選択性

ブランク試料の分析を行ったところ、いずれの農薬においても定量の妨害となるピークは認められず、選択性に問題がないことを確認した。

9.2. 検量線の直線性

各試験室で作成した検量線の相関係数 (r) は表 5 に示すとおりであり、全ての農薬について、0.0005～0.1 µg/mL の範囲で直線性（相関係数 (r) が 0.995 以上）が確認された。

9.3. 検出限界および定量限界

各試験室の検出限界及び定量限界の結果は表 6 に示すとおりであり、いずれも目標値を満たしていた。

9.4. 真度および精度

新規対象農薬について、各試験室の真度（回収率）の平均値及び精度（併行精度及び室内精度）の結果を表 7 に示した。また、LC/MS で分析を行っていた農薬の LC/MS/MS による結果について、試験室の真度（回収率）の平均値を表 8 に示した。

この結果、新規対象農薬については、真度及び精度は全ての農薬で目標値を満たした。

また、LC/MS 測定で分析を行っていた農薬の LC/MS/MS 測定による結果について、全ての農薬で目標値を満たした。

9.5. 室間再現性（参考）

新規対象農薬について、全ての結果（3 試験室それぞれにおいて 1 回当たり 2 併行、異なる実施日又は異なる実施者で 5 回繰り返しの枝分かれ試験）から求めた真度（回収率）及び精度（併行精度及び室間精度）を表 9 に示した。この結果についても全ての農薬でガイドラインの目標値を満たした。

表 5. 直線性の範囲と相関係数

農薬名	直線性の範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	相関係数 (r)		
		小平	横浜	神戸
DCMU (ジウロン)	0.0005 - 0.1	0.9995	0.9995	0.9996
アセタミプリド	0.0005 - 0.1	0.9998	0.9996	0.9999
イソキサチオン	0.0005 - 0.1	1.0000	0.9998	0.9998
イミシアホス	0.0005 - 0.1	0.9999	0.9999	0.9998
エチプロール	0.0005 - 0.1	0.9996	0.9992	0.9996
オキサミル	0.0005 - 0.1	1.0000	0.9996	0.9994
クロラントラニリプロール	0.0005 - 0.1	0.9995	0.9993	0.9996
ジフェノコナゾール	0.0005 - 0.1	0.9998	0.9997	0.9998
ジメトモルフ (E体及びZ体)	0.0005 - 0.1	0.9999	1.0000	0.9998
ファモキサドン	0.0005 - 0.1	1.0000	0.9998	0.9998
フェンピロキシメート (E)	0.0005 - 0.1	0.9998	0.9999	0.9998
フェンピロキシメート (Z)	0.0005 - 0.1	0.9997	0.9995	0.9998
フェンブコナゾール	0.0005 - 0.1	0.9989	0.9994	0.9997
フルフェノクスロン	0.0005 - 0.1	0.9998	1.0000	1.0000
フルベンジアミド	0.0005 - 0.1	0.9993	0.9992	0.9983
ベンチアバリカルブイソプロピル	0.0005 - 0.1	0.9997	0.9993	0.9987
ペンディメタリン	0.0005 - 0.1	0.9998	0.9999	1.0000
ボスカリド	0.0005 - 0.1	0.9996	0.9992	0.9998
マンジプロパミド	0.0005 - 0.1	0.9993	0.9993	0.9996
ルフェヌロン	0.0005 - 0.1	0.9999	0.9969	0.9989

表 6. 検出限界および定量限界

農薬名	検出限界 (mg/kg)			定量限界 (mg/kg)		
	小平	横浜	神戸	小平	横浜	神戸
DCMU (ジウロン)	0.0004	0.0024	0.0033	0.0012	0.0064	0.0091
アセタミプリド	0.0009	0.0011	0.0009	0.0024	0.0031	0.0024
イソキサチオン	0.0012	0.0014	0.0013	0.0033	0.0038	0.0034
イミシアホス	0.0003	0.0008	0.0004	0.0009	0.0022	0.0011
エチプロール	0.0014	0.0021	0.0018	0.0037	0.0058	0.0050
オキサミル	0.0006	0.0025	0.0025	0.0015	0.0068	0.0068
クロラントラニリプロール	0.0012	0.0014	0.0015	0.0033	0.0037	0.0042
ジフェノコナゾール	0.0007	0.0009	0.0011	0.0019	0.0023	0.0030
ジメトモルフ (E体及びZ体)	0.0020	0.0015	0.0012	0.0054	0.0040	0.0033
ファモキサドン	0.0010	0.0022	0.0022	0.0027	0.0060	0.0059
フェンピロキシメート (E)	0.0008	0.0008	0.0008	0.0022	0.0022	0.0021
フェンピロキシメート (Z)	0.0010	0.0007	0.0009	0.0028	0.0019	0.0025
フェンブコナゾール	0.0028	0.0020	0.0025	0.0077	0.0054	0.0067
フルフェノクスロン	0.0008	0.0025	0.0015	0.0022	0.0067	0.0040
フルベンジアミド	0.0010	0.0011	0.0032	0.0028	0.0030	0.0088
ベンチアバリカルブイソプロピル	0.0011	0.0012	0.0015	0.0031	0.0032	0.0041
ペンディメタリン	0.0015	0.0010	0.0016	0.0040	0.0028	0.0043
ボスカリド	0.0016	0.0023	0.0020	0.0044	0.0062	0.0054
マンジプロパミド	0.0025	0.0020	0.0018	0.0068	0.0054	0.0048
ルフェヌロン	0.0018	0.0025	0.0025	0.0050	0.0068	0.0067

表 7. 新規対象農薬の回収率、併行精度及び室内精度

農薬名		回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD %)		室内精度 (RSD %)		
			低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
		目標値	70～120	70～120	< 25	< 15	< 30	< 20
DCMU（ジウロン）	小平	99.0	97.7	4.0	4.2	4.2	7.4	
	横浜	100.2	99.8	3.3	2.8	12.1	4.5	
	神戸	93.1	98.1	7.4	3.3	8.4	4.7	
アセタミプリド	小平	96.0	96.0	4.6	3.5	5.9	6.3	
	横浜	97.6	96.8	2.9	2.9	3.9	2.9	
	神戸	97.0	96.4	5.5	2.6	8.2	3.0	
イソキサチオン	小平	93.9	95.9	7.3	3.8	7.3	6.7	
	横浜	99.0	96.0	3.9	2.5	3.9	2.7	
	神戸	92.4	97.5	5.5	4.2	10.4	4.8	
イミシアホス	小平	100.2	98.0	3.8	3.3	4.9	6.2	
	横浜	98.6	98.5	2.5	2.9	3.4	2.9	
	神戸	98.3	99.6	2.6	0.8	3.6	2.5	
エチプロール	小平	102.2	97.3	12.1	4.7	12.1	5.3	
	横浜	95.1	97.6	4.4	3.9	4.4	3.9	
	神戸	97.2	99.7	6.6	2.9	11.6	3.0	
オキサミル	小平	90.6	89.1	4.5	3.0	6.2	6.2	
	横浜	92.4	92.3	2.2	5.5	5.6	5.5	
	神戸	84.6	91.6	4.8	2.4	8.4	4.8	
クロラントラニリプロール	小平	95.1	92.8	8.3	3.6	8.3	7.8	
	横浜	93.2	92.5	5.3	4.7	11.3	5.3	
	神戸	96.9	96.9	4.5	5.6	8.4	5.6	
ジフェノコナゾール	小平	92.6	92.9	4.0	2.6	6.6	6.1	
	横浜	95.7	92.9	3.9	2.2	4.4	3.5	
	神戸	91.6	91.6	3.9	2.9	6.9	4.9	
ジメトモルフ（E体及びZ体）	小平	99.4	99.2	5.9	2.6	6.0	8.0	
	横浜	101.6	97.8	4.3	3.4	4.3	3.4	
	神戸	95.4	98.9	7.9	2.1	8.1	5.9	
ファモキサドン	小平	99.1	94.7	4.3	3.5	5.4	5.9	
	横浜	98.7	92.9	9.9	2.3	10.7	2.9	
	神戸	95.0	94.3	10.8	2.9	10.8	4.7	
フェンピロキシメート（E）	小平	87.1	87.9	4.6	4.0	4.6	6.7	
	横浜	86.8	84.0	2.6	2.8	5.2	9.0	
	神戸	80.0	82.6	1.5	4.0	6.4	8.9	
フェンピロキシメート（Z）	小平	94.9	94.4	2.9	3.8	3.7	5.7	
	横浜	93.3	91.3	2.5	2.6	3.7	4.1	
	神戸	92.7	93.8	5.6	3.5	5.6	4.2	

フェンブコナゾール	小平	96.3	95.0	8.1	2.8	10.2	8.2
	横浜	92.8	97.1	4.8	3.1	4.8	3.1
	神戸	93.2	93.0	10.0	6.5	13.8	7.0
フルフェノクスロン	小平	93.8	96.7	4.8	6.3	8.2	10.5
	横浜	102.3	98.5	4.8	3.1	10.4	13.0
	神戸	83.9	91.4	6.9	2.5	13.9	7.2
フルベンジアミド	小平	100.9	99.2	7.4	4.4	7.4	4.6
	横浜	100.6	100.5	5.8	4.7	6.7	4.7
	神戸	92.6	100.1	7.8	3.7	7.9	5.7
ベンチアバリカルブイソプロ	小平	98.3	98.4	9.0	3.6	9.0	6.4
	横浜	96.7	99.4	6.3	2.8	6.3	2.8
	神戸	99.9	97.8	8.1	1.9	9.6	3.8
ベンディメタリン	小平	84.8	85.9	6.6	9.2	6.6	9.2
	横浜	91.2	86.7	5.2	2.9	6.4	5.6
	神戸	88.0	87.9	10.7	5.1	12.3	5.1
ボスカリド	小平	97.5	95.8	9.2	3.8	9.2	6.9
	横浜	96.9	94.8	7.6	3.8	8.3	4.4
	神戸	91.0	98.8	8.9	3.8	15.6	4.4
マンジプロパミド	小平	96.7	98.2	5.5	3.0	7.3	4.9
	横浜	100.3	97.2	7.7	2.7	7.7	3.6
	神戸	93.2	94.5	14.9	4.5	14.9	7.6
ルフェヌロン	小平	94.0	96.8	4.6	4.7	8.7	6.2
	横浜	96.6	96.6	9.5	4.4	10.0	5.3
	神戸	92.2	94.3	16.2	4.9	16.2	6.3

表 8. LC/MS 測定対象農薬の LC/MS/MS 測定による回収率 (%)

農薬名	低濃度 n=10			高濃度 n=10		
	小平	横浜	神戸	小平	横浜	神戸
アゾキシストロビン	99.5	100.4	98.0	97.6	99.3	97.8
イミダクロプリド	98.6	96.6	96.7	96.1	98.3	98.1
インドキサカルブ	97.4	96.5	98.8	96.3	97.7	93.8
クロチアニジン	97.3	97.2	92.7	92.9	95.8	94.0
クロマフェノジド	106.4	97.9	100.1	102.0	97.7	105.6
シアゾファミド	95.9	96.9	94.0	93.1	98.0	100.7
シメコナゾール	98.2	92.2	90.9	96.4	93.1	96.4
シモキサニル	85.3	94.6	90.9	85.4	97.7	87.0
チアメトキサム	91.0	92.7	90.8	91.8	90.6	87.9
テブフェノジド	100.5	97.0	94.9	97.9	98.4	107.1
テフルベンズロン	94.7	92.3	91.6	94.6	94.0	100.9
ヘキシチアゾクス	91.9	92.1	89.0	90.9	88.9	91.5
メトキシフェノジド	101.4	95.8	96.7	97.3	98.3	100.6
リニュロン	99.3	100.5	96.9	96.4	98.9	94.9

表 9. 3 試験室の回収率, 併行精度及び室間精度

農薬名	回収率 (%) n=30		併行精度 (RSD %)		室間精度 (RSD %)		
		低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
	目標値	70～120	70～120	< 25	< 15	< 30	< 20
DCMU（ジウロン）		97.4	98.5	5.1	3.5	9.0	5.4
アセタミプリド		96.9	96.4	4.4	3.1	6.0	4.1
イソキサチオン		95.1	96.5	5.7	3.6	7.6	4.8
イミシアホス		99.0	98.7	3.0	2.6	3.9	3.9
エチプロール		98.1	98.2	8.6	3.9	8.9	4.2
オキサミル		89.2	91.0	4.0	3.9	7.4	5.3
クロラントラニリプロール		95.1	94.1	6.2	4.7	8.6	6.2
ジフェノコナゾール		93.3	92.4	3.9	2.6	6.0	4.7
ジメトモルフ（E体及びZ体）		98.8	98.7	6.2	2.8	6.6	5.7
ファモキサドン		97.6	94.0	8.7	2.9	8.7	4.5
フェンピロキシメート（E）		84.6	84.8	3.2	3.7	6.5	8.1
フェンピロキシメート（Z）		93.6	93.2	3.9	3.4	4.3	4.7
フェンブコナゾール		94.1	95.1	7.9	4.4	9.9	6.3
フルフェノクスロン		93.3	95.5	5.5	4.3	13.2	10.4
フルベンジアミド		98.1	99.9	7.0	4.3	8.0	4.8
ベンチアバリカルバイソプロピル		98.3	98.5	7.9	2.8	7.9	4.4
ベンディメタリン		88.0	86.8	7.8	6.3	8.8	6.3
ボスカリド		95.1	96.5	8.6	3.8	10.8	5.4
マンジプロパミド		96.7	96.6	10.0	3.5	10.0	5.5
ルフェヌロン		94.2	95.9	11.0	4.7	11.0	5.7

10. まとめ

センターで分析対象としていない 18 農薬及び個別試験法対象の 1 農薬の計 19 農薬について、LC/MS/MS 測定による一斉試験法（大豆）の妥当性評価を行った。この結果、19 農薬については、全ての試験室で妥当性評価の性能パラメータがそれぞれの目標値等に適合していることを確認した。

また、LC/MS で測定を行っていた 14 農薬について、測定方法を LC/MS/MS に変更する妥当性評価を併せて行ったところ、全ての試験室で妥当性評価の性能パラメータがそれぞれの目標値等に適合していることを確認した。

以上の結果から、合計 33 農薬について、全ての試験室で LC/MS/MS による一斉試験法（大豆）の適用が可能であり、大豆における分析対象農薬の拡大と効率化が図られた。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について、平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号。
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について、平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号。
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインに関する質疑応答集 (Q&A) について、平成 23 年 12 月 8 日付け食安基発 1208 第 1 号。
- 4) JIS K 0136 : 2015, 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則。

【他誌掲載論文要旨】

J. Pestic. Sci. 43(4), 248–254 (2018)

DOI: 10.1584/jpestics.D18-041

Title: The influence of *Brassica rapa* var. *perviridis* growth conditions on the uptake and translocation of pesticides

Authors: Sayuri Namiki,^{1,*} Takashi Otani,^{1,#} Yutaka Motoki^{1,§} and Nobuyasu Seike¹

¹ Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO, 3–1–3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305–8604, Japan

Present address: Central Region Agricultural Research Center, NARO, 2–1–18 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305–8666, Japan

§ Present address: Food and Agricultural Materials Inspection Center, Agricultural Chemicals Inspection Station,
2–772 Suzuki-cho, Kodaira, Tokyo 187–0011, Japan

Summary: We cultivated *Brassica rapa* var. *perviridis* in soil mixed with four pesticides (fenobucarb, procymidone, flutolanil, and tolclofismethyl) at different temperatures, day lengths, and soil water contents. We compared plants' uptake and translocation abilities of the pesticides as affected by growth conditions. The root concentration factor (RCF) of pesticides tended to increase with rising temperature; however, but the influence of temperature on the transpiration stream concentration factor (TSCF) differed for each pesticide. The RCFs and TSCFs of pesticides were high for short days. The soil water content had little or no effect on the uptake and translocation of pesticides. These results showed that it is necessary to consider growth conditions, especially the temperature and day length in plant uptake models for these pesticides.

本論文の全文は、下記の URL からダウンロード可能です。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/43/4/43_D18-041/_article/

J. Pestic. Sci. 43(4), 277–282 (2018)

DOI: 10.1584/jpestics.D18-015

Title: Comparison of soil sorption parameters of pesticides measured by batch and centrifugation methods using an andosol

Authors: Yutaka Motoki,^{1,*} Takashi Iwafune,² Nobuyasu Seike,³ Keiya Inao³ and Sayuri Namiki³

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Agricultural Chemicals Inspection Station, 2–772 Suzuki-cho, Kodaira, Tokyo 187–0011, Japan

² Food Safety Commission Secretariat of Japan, Akasaka Park Bld. 22nd F. 5–2–20 Akasaka, Minato-ku, Tokyo 107–6122, Japan

³ Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO, 3–1–3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305–8604, Japan

Summary: We compared the soil sorption coefficient (K_d) measured by batch and centrifugation methods using a Japanese andosol and ten pesticides. Although the K_d values measured by both methods increased with time, those obtained *via* the batch method tended to be higher during the test period. The difference in K_d values between the two methods affected pesticide concentrations estimated in the soil solution, and the results estimated using K_d values obtained *via* the batch method underestimated.

本論文の全文は、下記の URL からダウンロード可能です。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/43/4/43_D18-015/_article

J. Pestic. Sci. 43(4), 297–304 (2018)

DOI: 10.1584/jpestics.J18-01

Title: Studies on the behavior and ecotoxicity of pesticides and their transformation products in a river

Authors: Takashi Iwafune

Food Safety Commission Secretariat of Japan,

Akasaka Park Bld. 22nd F. Akasaka 5–2–20, Minato-ku, Tokyo 107–6122, Japan

Summary: To clarify the properties of pesticide transformation products (TPs) for which the risk to aquatic organisms should be evaluated, I monitored the concentrations of paddy pesticides and their TPs in the Sakura River, Japan, during the rice-growing season in 2007–2010. I also conducted algal growth inhibition tests of herbicides and their TPs using a diatom and a green alga and acute toxicity tests of insecticides and their TPs using a caddisfly and a daphnid. Moreover, on the basis of the results of pesticide monitoring and toxicity tests, I attempted to evaluate the risk of these compounds to the riverine organisms as well as the risk of mixtures of insecticides and their TPs for caddisflies and cladocerans. The TPs were detected in the river water depending on the half-lives of the parent compounds and of the TPs in water and soil. The toxicities of the parent compound and its TPs may be related to their hydrophobicities and chemical structures. Some toxic and persistent TPs that formed rapidly in water and soil posed a risk to the organisms over a long period. The physicochemical properties and chemical structures of a parent compound and its TPs can be key factors in evaluating the pesticide TP risk to aquatic organisms in rivers.

本論文の全文は、下記の URL からダウンロード可能です。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/43/4/43_J18-01/_article

注：本論文の著者は、論文掲載時に FAMIC から食品安全委員会事務局へ出向中であった。

J. Pestic. Sci. 44(1), 1–8 (2019)

DOI: 10.1584/jpestics.D18-062

Title: Relationship between growth stage of *Brassica rapa* var. *perviridis* and the abilities for uptake and translocation of pesticides in soil

Authors: Sayuri Namiki,^{1,*} Nobuyasu Seike¹ and Yutaka Motoki^{1,#}

¹ Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO, 3–1–3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305–8604, Japan

[#] Present address: Food and Agricultural Materials Inspection Center, Agricultural Chemicals Inspection Station, 2–772 Suzuki-cho, Kodaira, Tokyo 187–0011, Japan

Summary: The relationships between plant growth stage and pesticide-uptake ability were investigated *via* cultivation of *Brassica rapa* L.var. *perviridis* in soil to which was added four pesticides of relatively high log K_{OW} : fenobucarb, procymidone, flutolanil, and tolclofos-methyl. The root concentrations of pesticides were low in very young seedlings with undeveloped root systems, highest in seedlings with developed root systems, and tended to decrease until the usual harvesting stage. Additionally, the shoot concentrations of tested pesticides showed the same trends as the roots. The pesticide-uptake abilities of roots were lowest in very young seedlings and then constant for seedlings until the harvesting stage. In contrast, the pesticide-translocation abilities from root to shoot were constant regardless of growth stage. The results indicated that changes in shoot concentrations with growth stage were affected by the development of the root system and pesticide-uptake ability of roots.

本論文の全文は、下記の URL からダウンロード可能です。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/44/1/44_D18-062/_article/

農林水産消費安全技術センター
農薬調査研究報告（第11号）

令和2年2月発行

発行： 独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
農薬検査部

〒187-0011 東京都小平市鈴木町 2-772

電話：050-3797-1865 FAX：042-385-3361

印刷： 株式会社アトミ

