

水環境における農薬の分解挙動

佐々木 裕子 木瀬 晴美*
(* 非常勤研究員)

要 旨

農薬の水環境中での挙動や有害性を明らかにするため、都内河川を汚染している代表的な農薬ダイアジノン、ベンチオカーブの検討を行った。河川底質及び水中での両農薬の挙動をGC/MSで検討した結果、いずれも半減期が長く、分解には微生物と同時に物理化学的な要因も大きく関与していることが示唆された。分解物としては、オキソン体やスルホン体は認められず、ダイアジノンの分解物としてはイソプロピルメチルピリミジオールが、ベンチオカーブでは脱塩素体が検出された。また、環境水の分析や室内実験により、環境基準項目、要監視項目等の農薬は、大半が溶存態として水中に存在し、主たる分解の場は底質ではなく水中であることが示唆された。変異原性試験の結果では、これら農薬の中には、分解によって新たに変異原性を獲得したり、変異原活性が増すものが認められた。

キーワード：農薬分解物、ダイアジノン、ベンチオカーブ、生物分解、物理化学的分解、変異原性

Degradation of Pesticides in Aquatic Environment

Yuko Sasaki and Harumi Kise *

* Associate Researcher

Summary

Bio- and physico-chemical degradation of diazinon and benthocarb in sterilized and unsterilized sediments, and aqueous solutions have been studied using GC/MS SCAN method. According to the decomposition rates of diazinon and benthocarb, both roles of microorganism and physico-chemical factors were important. In spiked sediments, dechlorinated benthocarb and isopropylmethylpyrimidol were detected as the metabolites of diazinon and benthocarb, respectively. As the ratios of the adsorbed pesticides on suspended solids in water environment were very low, it was suggested that the main decomposition media of the pesticides, which were regulated on the Environmental Basic Law was not sediment but water. The mutagenicity of pesticides and their metabolites were evaluated using Ames Salmonella assay. Some pesticides converted the mutagen and/or increased the mutagenicity by degradation.

Keywords: metabolite, diazinon, benthocarb, biodegradation, physico-chemical degradation, mutagenicity

1 はじめに

現在、微量有害化学物質による環境汚染が大きな問題となっている。なかでも農薬は、広く各地で検出され、ヒトや生態系への影響が危惧されている。さらに近年、農薬本体だけでなく、浄水過程の塩素、オゾン処理によ

って生成する分解物にも関心が集まっている¹⁻³⁾。しかし、環境中では、農薬散布土壌での研究を除き、分解代謝物などについて十分な知見が得られていない状況である。

そこで、環境へ流出した後の農薬の分解に関し、都内

河川から特に頻度高く検出されている有機リン系殺虫剤のダイアジノン、除草剤のベンチオカーブについて、分解速度、微生物や光等の分解要因、分解物の同定及び有害性の指標のひとつである変異原性の検討を行った。

また、農薬の分解は、水中に存在するか、底質に分配されるかによって異なると推定される。そこで、環境へ流出後農薬が水中に溶存した状態で存在するか、懸濁物質に吸着して底質に分配されていくかを、懸濁物質への吸着率を指標として検討したので、併せて報告する。

2 実験方法

(1) 試薬

農薬及び農薬代謝分解物の標準品は、和光純薬（株）及びジーエルサイエンス（株）製を用いた。農薬の安定同位体標識標準品（以下、「D体」と言う。）は、林純薬工業（株）を用いた。溶媒、試薬は残留農薬試験用を、残留農薬用以外の試薬は、溶媒で洗浄して使用した。

(2) 農薬分解実験

ア 微生物学的分解

微生物学的分解性検討には、対象農薬の検出例が多く、分解菌が存在する可能性のある大場川（中川支川）の底質を採取して用いた。2 mmメッシュのふるいを通した底質10 kg（湿重量）のうち5 Kgを高圧滅菌した。滅菌及び未滅菌の各5 Kgの底質に、アセトンに溶解した40 mgのダイアジノン、ベンチオカーブを添加し、室温、遮光状態に置いた。底質は、50 gずつ添加前を含め12回、6ヶ月間に渡り採取し、n-ヘキサン/アセトン(1:1)及びn-ヘキサンで2回超音波抽出を行った。抽出液は硫黄、水分除去のための銅末、硫酸ナトリウム処理を行い、ろ過後、ロータリーエバポレーター、窒素パージによってメスアップし、分析試料とした。

イ 物理化学的分解

光等の物理化学的分解性検討には、滅菌超純水1 lにアセトンに溶解した1mgのダイアジノン、ベンチオカーブを添加し、室温で遮光、非遮光状態に置いた。農薬水溶液は100mlずつ5回、最長140日まで採水し、Sep-pak PS-2で固相抽出を行った。PS-2はジクロロメタンで溶出し、溶出液は窒素パージによってメスアップして、分析試料とした。

(3) 農薬の存在形態の検討

ア 環境水中の溶存態と懸濁態農薬

河川水10検体、ゴルフ場等事業場排水18検体を各3 l採水し、1 µmのガラス繊維ろ紙でろ過した。ろ紙は窒素ガスで乾燥後、ジクロロメタンで3回超音波抽出し、窒素パージによってメスアップし、懸濁態試料とした。ろ液はSep-pak PS-2とAC-1で固相抽出し、ジクロロメタン及びアセトンで各々溶出し、溶出液をあわせて、窒素パージによってメスアップし、溶存態試料とした。

イ 懸濁物質への吸着実験

超純水各500mlに、底質（大場川採取、105℃ 2時間乾燥）、でんぷん、海砂各10mg添加及び無添加の4種の検体を各3組計12検体用意した。それぞれに、アセトンに溶解した下記規制、監視農薬11種の混合溶液1 ml（各農薬10mg/l）を加え、SS 20ppm、農薬20ppb溶液を調製した。24時間、遮光状態で振とうし、上記(3)アの方法で、懸濁態、溶存態試料に分けて抽出し、分析試料とした。

添加農薬（水溶解度：0.3~650,000mg/l）⁴⁾

ダイアジノン、ベンチオカーブ、アセフェート、MEP、モリネート、TPN、CAT、プロモブチド、トルクロホスメチル、メフェナセト、イソプロチオラン、

(4) ガスクロマトグラフ質量分析

GC/MS (GC: HP 5980, MS: オートマス50、日本電子製) SCAN法を用い、下記条件によって、ダイアジノン、ベンチオカーブ及び同代謝分解物の分析・同定を行った。また、他の農薬は、SCAN法もしくはSIM法によって、下記条件に準拠して分析した。

カラム: DB-1 (J&W製) 30m × 0.25mm × 0.25µm

昇温条件 50℃ (2) - 10℃/min - 250℃ (0)

注入口温度: 250℃ インターフェース温度: 250℃

注入法: スプリットレス イオン源温度: 210℃

(5) 変異原性試験

Amesらの *Salmonella typhimurium* TA100、TA98株及びその派生株でニトロ還元酵素高産生のYG1021、YG1026株、O-アセチル転移酵素高産生のYG1024、YG1029株を用いた。試験方法は薬物代謝酵素添加（フェノバルビタール+ナフトフラボン誘導ラット肝S9 mix）、無添加の両条件で20分間のプレインキュベーション法で行った。変異原性の有無は、復帰変異コロニー数が自然復帰変異コロニー数の2倍以上あり、量-反応関係がある場合を陽性とし、被検物質のµg当たりの誘

発変異コロニー数を算出した。

3 結果及び考察

図1に、ダイアジノンとベンチオカーブの滅菌、未滅菌底質中での6ヶ月間の残存率の推移を示した。その結果、未滅菌底質中のダイアジノン、ベンチオカーブの場合、半減期がそれぞれ2週間、2ヶ月程度なのに対し、滅菌底質ではダイアジノンが2ヶ月半、ベンチオカーブが5ヶ月近くと、分解速度にかなり違いが見られた。そのため、河川底質に存在した微生物が、両農薬の分解に

大きく関与したと考えられる。但し、滅菌底質中の両農薬の減衰状況からは、光以外の非微生物学的な分解も、相当起こっていることが示唆された。なお、この間の滅菌、未滅菌の底質はpHは6.5前後、ORPは-150~-250 mVと、どちらの底質も中性、還元的な状況で、物理化学的条件に大きな違いは見られなかった。

次に、図2に水溶液中のダイアジノン、ベンチオカーブの残存率を示した。残存率の推移から、両農薬とも遮光、非遮光状態での違いは小さく、物理化学的分解のうち光以外の要因の方が分解に寄与していると推定された。また、先の微生物分解と同様、ダイアジノンの方が物理

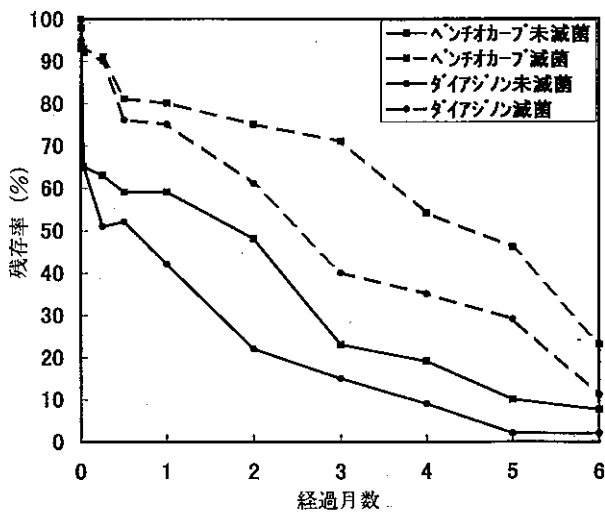


図1 底質中農薬の分解性

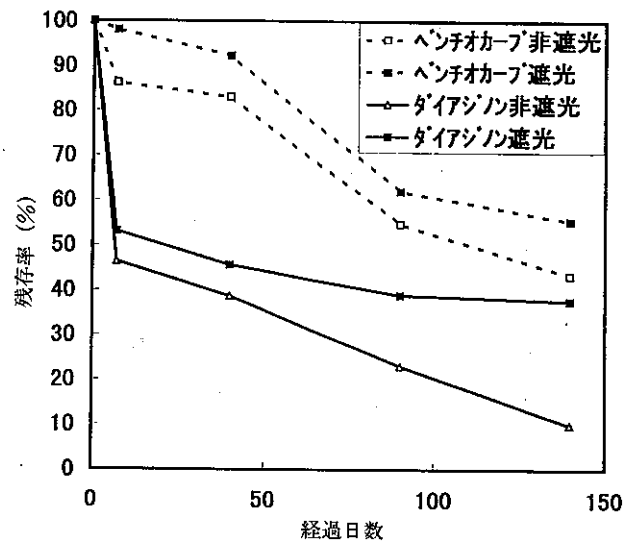


図2 水中農薬の分解性

表1 水環境中の農薬の存在形態
—農薬濃度に対する懸濁態吸着農薬濃度の割合—

濃度割合 ^{注3}	河川水 農薬検出数 ^{注1}			事業場排水 農薬検出数 ^{注2}		
	農薬 延検出数	内ダイアジノン 検出数	内ベンチオカーブ [*] 検出数	農薬 延検出数	内ダイアジノン 検出数	内ベンチオカーブ [*] 検出数
	5%<	1	0	0	0	0
1~5%	6	0	3	5	0	0
1%>	26	6	4	17	3	3

注1：河川水10検体、環境基準、要監視項目等11農薬分析結果。

注2：事業場排水18検体、環境基準、ゴルフ場農薬等10農薬分析結果。

注3：懸濁態吸着農薬濃度/総農薬濃度 %

化学的にも分解速度は速かった。

しかし、両農薬ともに、微生物学的にも物理化学的にも、分解に数週から数ヶ月近くの時間を要する農薬であった。昨年の水質監視課と行った調査⁵⁾でも、中川潮止橋の例では、8検体中ダイアジノン⁵⁾は5検体、ベンチオカーブは6検体検出されている。こうした高い検出頻度は、使用量などとともに、両農薬が難分解性とは言えないが、分解に時間を要する点も原因のひとつと考えられる。

表1に、河川水と事業場排水中の農薬濃度に占める懸濁態の農薬濃度の結果を示した。懸濁物質への吸着割合が1%以下であった農薬は、農薬が検出された延検体数の80%近かった。次に1~5%農薬が吸着した延検体数は20%で、5%以上はモリネートが6.9%吸着した検体が1例のみ見られた。個々の農薬の例では、ダイアジノンは河川、事業場を問わず、懸濁物質に吸着している割合はすべて1%以下であった。ベンチオカーブは検出10検体中1~5%が3例で、1%以下は7例見られた。

次に、環境水の検討を補完するために、有機炭素含量の異なる底質及び海砂、でんぷんを懸濁物質として検討した。吸着した農薬の割合は、懸濁物質の性状や農薬の水溶解度などの物性にかかわらず、11農薬、3種の懸濁物質いずれも1%以下であった。そのため、検討した農薬類は、室内実験からも大半は水中で溶存態として存在することが追認された。なおこの結果は、都内の水環境モニタリング⁶⁾で、水質から頻繁に検出された農薬類が、底質からはほとんど検出されていない事実と一致した。

以上、これら農薬の水/底質分配では、沈降する懸濁物質への農薬の吸着や底質そのものへの吸着は少なく、農薬の主たる分解の場は水中と推定された。

農地等農薬散布土壌は、微生物が分解に大きく寄与すると言われている⁷⁾。一方今回の結果からは、水中での微生物分解性の課題は残るが、微生物数などから推測すると、微生物分解の割合は水環境中では下がると考えられた。

また同時に、この結果は環境基準項目、要監視項目等の農薬類を分析する場合、水中の溶存態を評価すれば、農薬の水質濃度をほぼ把握できることを示唆している。

図3には底質中から得られたダイアジノンの分解物のイソプロピルメチルピリミジオールと、ベンチオカーブの脱塩素体のマススペクトルを示した。このうちベンチ

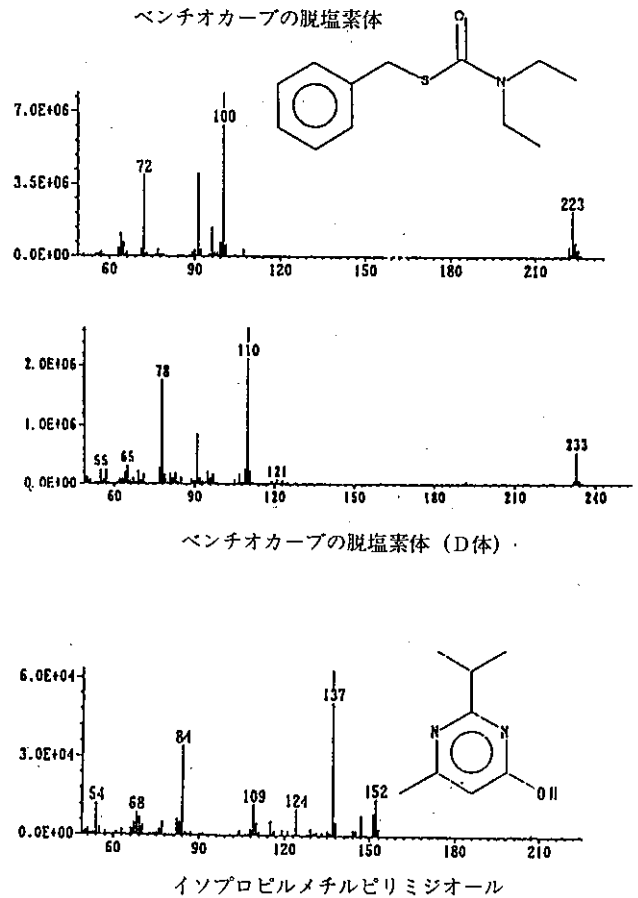


図3 底質中の農薬分解代謝物のマススペクトル

オカーブの脱塩素体は、標準品が入手出来なかったため、ベンチオカーブのD体の底質への添加実験を試み、D体の脱塩素体の存在の確認によって、脱塩素体生成と判断した。また、この脱塩素体は大半未滅菌底質から検出されたことから、農用地でその存在が知られている脱塩素菌⁸⁾が底質中にも存在し、ベンチオカーブの分解に働いていることを示唆している。

その他の分解代謝物としては、ダイアジノンオキソンやベンチオカーブスルホンなどを検索したが、底質中には認められなかった。これら物質は、酸化的な条件下である塩素滅菌などで生成が知られているが、還元的な状態である底質中では代謝経路、分解代謝物が異なると考えられる。

次に、表2に入手できた農薬および農薬分解物のAmes試験の結果を、昨年報告分⁵⁾も含めまとめた。ダイアジノンとその分解物は、変異原性を示さなかった。ベンチオカーブとベンチオカーブスルホンはS9mixによる代謝によって、弱い変異原性の上昇が見られた。はっ

表2 農薬及び農薬分解物の変異原性

誘発変異コロニー数/μg

	TA98		YG1021		YG1024		TA100		YG1026		YG1029	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
ダイアジノン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ダイアジノンのオキソン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
イソプロピルピリミジオール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ベンチオカーブ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±
ベンチオカーブスルホン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±
クロロベンジルクロライド	-	-	-	-	-	-	3.3	±	3.9	0.79	1.2	±
ビスクロロベンジル	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-クロトールエン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
イプロシオン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
イプロシオン代謝物	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アロピフト	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アロピフト脱塩素体	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
フェントロチオン	-	-	-	-	-	-	0.14	0.46	0.17	0.34	0.45	0.61
フェントロチオンのオキソン	-	-	-	-	-	-	0.44	0.43	0.53	0.49	0.51	1.61
3-メチル-4-ニトロフェノール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : 不検出

きりとした量-反応関係は得られないことから、用いたS9量やプレインキュベーション条件では、変異原性を示す代謝物の生成がわずかであったと考えられる。また、分解物では今回の水や底質の検討では不検出であったが、塩素滅菌で生成が知られているクロロベンジルクロライドが、塩基置換型の直接変異原性を示した。

その他の農薬の中では、フェントロチオンがそれ自身変異原性を示すだけでなく、オキソン体になると変異原活性が上昇し、さらに分解して3-メチル-4-ニトロフェノールになると変異原性が消失することが認められた。すなわち、新たに変異原性を獲得したり、変異原活性が増したりする代謝物の存在が認められ、農薬等化学物質の汚染を考える上で分解物も視野に置く必要性が明らかとなった。

4 まとめ

都内河川を汚染している代表的農薬のダイアジノン、ベンチオカーブについて、分解性やその要因などの検討を行ったところ、下記の結果が得られた。

① 高頻度に検出されているダイアジノン、ベンチオカ

ーブは共に分解に時間を要した。そのため、使用量などの管理とともに、分解性を考慮した農薬の選択が、環境汚染対策上重要であることが改めて確認された。

② ダイアジノン、ベンチオカーブの底質中の分解には、微生物が大きく寄与していたが、物理化学的な分解もかなりあることが認められた。また、物理化学的分解のうち光の役割は余り大きくはなかった。

③ 現在汎用され、規制・監視されている農薬類は、その大半が水中では溶存態として存在していた。その結果、水/底質間では水の側にほとんど分配され、農薬は主として水中で分解が進むと推測された。

④ 環境基準、要監視項目などの農薬を分析する場合は、溶存態を分析すれば、ほぼ農薬の水質濃度が把握できることが分かった。

⑤ 還元的状態の底質中では、農薬はオキソン体、スルホン体などは生成せず、ダイアジノンはイソプロピルメチルピリミジオールが、ベンチオカーブは脱塩素体が分解生成することが認められた。

⑥ 変異原性試験の結果、分解代謝によって変異原物質になる農薬や変異原活性が高まる農薬が見いだされた。

5 謝辞

検体の採取にご協力くださった水質保全部水質規制課、多摩環境保全事務所水質保全課の各位に謝意を表します。

引用文献

- 1) Adams, C.D. *et al.* : Ozonation byproducts of Atrazine in synthetic and natural waters, *Environ. Sci. Technol.*, **6**, p.2218-2227(1992)
- 2) 大戸幹也 : 塩素処理水中のゴルフ場使用農薬の分解, *環境化学*, **3**, p.59-64(1993)
- 3) Ohashi, N. *et al.* : Ozonation products of organophosphorous pesticides in water, *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **40**, p.185-192(1994)
- 4) 金沢純 : 農薬の環境特性と毒性データ集、合同出版、(1996)
- 5) 佐々木裕子ら : 河川水の変異原性調査と原因物質の検索について、東京都環境科学研究所年報1996、p.80-87
- 6) 東京都環境科学研究所 : 化学物質による環境汚染、p.167-187, (1994)
- 7) 金沢純、農薬と環境科学、p.97-103、同人社、(1992)
- 8) Moon, Y.H. *et al.* : Characterization of microbes causing dechlorination of benthocarb (thiobencarb) in diluted soil suspension, *J. Pesticide Sci.*, **10**, p.541-547(1985)