〈 研 究 〉

有機リン系防蟻剤の土壌残留性と残効性*

田中真樹**・飯島倫明**・檜垣宮都**

Persistence and residual activity of organophosphorous termiticides in the soil

Masaki Tanaka**, Tomoaki Iijima**, Miyato Higaki**

Summary

The persistence and the residual activity of four commercial organophosphorous termiticides in the soil were tested.

From all of the data obtained, the results and the discussion are summarized as follows:

- 1) The persistence and the residual activity of organophosphorous termiticides in the soil decreased with time.
- 2) The degradation rates of organophosphorous termiticides were lower values in unsterilized soil than those in sterilized soil. These termiticides were mostly degraded by microorganisms in the soil.
- 3) Organophosphorous termiticides were degraded by metal ions such as Cu^{2+} , Na^{+} and K^{+} in solution. This suggests two possible degradation pathways of organophosphorous termiticides in the soil.

要 旨

現在、土壌処理用防蟻剤として使用されている4種の有機リン系化合物を用いて、これら薬剤の土壌における挙動について検討した。その結果、以下の知見を得た。

- (1) 実験に使用した有機リン系防蟻剤は植壤土、砂土のいずれにおいても、薬剤残留量及び殺蟻効力が時間の経過とともに低下した。
- (2) 有機リン系防蟻剤の残留率は非殺菌土壌よりも殺菌土壌の方が高く、土壌中におけるこれら薬剤の分解には土壌微生物が関与していたと考えられる。
- (3) 有機リン系防蟻剤の分解には、金属イオンが著しく影響しており、 Cu^{2+} による場合と、 Na^{+} 及び K^{+} によ

る場合との2つの経路が推察された。

1. 緒 言

従来、防蟻剤として使用されてきた有機塩素系化合物のクロルデンが、1986年9月17日に特定化学物質に指定され事実上使用禁止となり、その主な代替剤として、有機リン系化合物が使用されている。

一般に、有機リン系化合物は有機塩素系化合物と比較して、自然界で比較的速やかに分解されると言われており、このことが木材保存剤、特に土壌処理用防蟻剤として使用する際に効力持続性の点で大きな障害となっている。

有機リン系化合物の土壌中における分解は、化学的に

* 本報告の一部は第38回日本木材学会大会（1988年7月，旭川），及び第39回大会（1989年4月，沖縄）において発表した。

** 東京農業大学農学部林学科 (Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, Setagaya, Tokyo 156)

は加水分解も受けるが、微生物が主な分解要因であると言われている¹⁾。また土壌有機物や粘度鉱物も分解に関与するといわれている。後者については、Pusino²⁾らにより、金属イオンを介在したキレート生成による加水分解と、その際の粘土鉱物の触媒作用が報告されている。

本研究は、現在防蟻剤として使用されている4種の有機リン系化合物を用いて、土壌中での薬剤の挙動について検討した。まず薬剤添加土壌を用いて殺蟻効力の経時変化を検討し、併せて、薬剤の残留率を測定した。その結果、殺蟻効力は残留率の変化に伴って低下することがわかった。そこで殺菌土壌を用いて、土壌微生物の影響を見ると同時に、殺菌剤の併用について検討した。さらに、非生物的要因として、金属イオンの影響についても検討した。

2. 実験方法

2.1 供試薬剤

実験に使用した有機リン系防蟻剤をTable 1に示す。各薬剤は1% (w/v) アセトン溶液になるように調製し

た。

2.2 処理土壌の調製

2.2.1 供試土壌

供試土壌には、鹿児島県大崎町東京農業大学シロアリ試験地の表土から腐植層をのぞいた砂土と、同大学構内より採取した関東ローム層表土の植壤土を用いた。供試土壌の理化学的性質をTable 2に示す。

2.2.2 調製法

28±2°C, R.H. 100%の暗所に静置した最大容水量の約50%を含む供試土壌100g (乾土換算) に薬液3 ml を添加した後、充分混合した。これを遮光状態で約12時間放置して溶媒を揮散させた後、処理土壌とした。

2.3 処理土壌の薬剤残効性

所定期間経過した処理土壌3gを、内径5.5cmのシャーレ上に均一に敷き、イエシロアリ (*Coptotermes formosanus SHIRAKI*) の職蟻20頭を投入した。これを28±2°C, R.H. 80%以上の暗所に静置して、0.5~48時間後の健康状態を観察して、正常、転倒・けいれん、死亡に分け計数した。本実験においては、薬剤処理を施さな

表-1 有機リン系防蟻剤の理化学的性質
Table 1 Organophosphorous termiticides tested

Termiticide	Formula	Physical property		
		M. p. (°C)	B. p. (°C)	Vapor pressure (mm Hg)
Chlorpyrifos		42.7	—	1.87 × 10 ⁻⁶ (25°C)
Fenitrothion		0.3	140	6.00 × 10 ⁻⁶ (20°C)
Tetraclorvinphos		97	—	1.50 × 10 ⁻⁶ (20°C)
Pyridaphenthion		55	—	1.50 × 10 ⁻⁶ (65°C)

表-2 供試土壌の性質
Table 2 Properties of test soils

Soil texture	Particle size (mesh)	pH	Maximum water holding capacity (%)	Cu (ppm)
Sand	>20	4.6	39	4.1
Clay loam	>20	5.9	119	154

かった土壌を用いて対照区とした。

2. 4 処理土壌の薬剤残留性

2. 4. 1 抽出方法の検討及び添加回収

クロルピリホスで処理した砂土 2g を処理土壌として用い、以下に示す 4 方法について検討した。

ソックスレー抽出法：処理土壌にアセトン 120 ml を加え、6 時間抽出した。

攪拌法：処理土壌にアセトン 30 ml を加え、マグネチックスターラで 1 時間攪拌し、一昼夜放置した。

往復振とう法：処理土壌にアセトン 30 ml を加え、1 時間往復振とう処理し、一昼夜放置した。

超音波処理法：処理土壌にアセトン 30 ml を加え、1 時間の超音波処理を行った。超音波処理には、ブランソニック卓上型超音波洗浄器（ヤマト科学株式会社製、42 H）を用いた。

各方法とも、抽出液はロータリーエバポレーターを用いて濃縮し、20 ml に定容した。薬剤の定量には FPD 付きガスクロマトグラフィー（島津製作所製、GC-7AG）を用いた。

この結果、最も回収率が高かった抽出方法を用いて、他の薬剤における添加回収を行った。各薬剤の分析条件を Table 3 に示す。

2. 4. 2 土壌中における経時変化

処理土壌をマヨネーズびんに詰め密栓し、 $28 \pm 2^\circ\text{C}$ の暗所に静置した。所定期間経過した処理土壌は、2. 4. 1 の方法に従って分析した。

2. 5 土壌微生物の影響

2. 5. 1 微生物数の測定

希釈平板法で行った³⁾。培地は、糸状菌用の PDA 培地と細菌用の土壌浸出液寒天培地である。

2. 5. 2 殺菌土壌の調製

供試土壌は、以下の 2 種類の殺菌処理を施した。

オートクレーブ殺菌：供試土壌 100 g（乾土換算）をオートクレーブ（ 120°C 、30 分間）処理した後、無菌条件下で水分を最大容水量の約 50% に調整した。

殺菌剤添加：サンブラス（3-bromo-2, 3-diiodo-2-propenylethyl carbonate）を最大容水量約 50% の土壌に対して 3~300 ppm となるように添加した。

2. 6 金属イオンの影響

含水アセトン（アセトン：蒸留水 = 1 : 2）を用いて、薬剤濃度が 2,250 ppm となるように調製した。この薬液に、金属イオン濃度が 1~100 ppm になるように $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 NaOH 及び KCl をそれぞれ添加した。これらの液を共栓付き試験管（内径 21 mm、長さ 200 mm）に入れ、温度 $28 \pm 2^\circ\text{C}$ 、遮光の条件下で最大 30 日間振とう（毎分 70 往復）した。所定期間振とうした後、試験管に n-ヘキサン 10 ml を加えて強振し、静置後上層を採取して分析液とした。対照としては、陰イオンの影響を考えて、蒸留水と、 SO_4^{2-} 及び Cl^- の濃度が $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 NaCl の濃度と同様になるように調製した H_2SO_4 及び HCl 溶液を用いた。

3. 結果及び考察

3. 1 殺蟻効力の経時変化

結果を Fig. 1 に示す。この図においては、横軸に経過日数を、縦軸に観察時間を取り、供試虫の全個体が死亡した時間をプロットした。砂土、植壇土のどちらにおいても、対照区の供試虫は生存していたが、薬剤処理した土壌は供試虫が死亡し、またすべての供試虫が死亡した時間は、処理土壌の放置時間が長くなるにつれて遅くなった。処理直後の殺蟻効力は、クロルピリホス、フェニ

表 - 3 有機リン系防蟻剤の GC による分析条件

Table 3 Analytical conditions for organophosphorous termiticides in GC

Termiticide	Packing material	Column size	Inj. temp. ($^\circ\text{C}$)	Column temp. ($^\circ\text{C}$)
Chlorpyrifos	2 % Silicone DC-QF-1	3 m $\times$ 3 mm	200	180
Fenitrothion	2 % Silicone DC-QF-1	3 m $\times$ 3 mm	200	180
Tetraclorvinphos	2 % Silicone DC-200	1 m $\times$ 3 mm	240	200
Pyridaphenthion	2 % Silicone GE-SE-30	1 m $\times$ 3 mm	270	240

Detector: FPD Carrier gas: N_2 50 ml/min. Sample volume: 2 μl
 FPD flow: H_2 1.0 kg/cm²
 Air 1.0 kg/cm²

図-1 有機リン系防蟻剤の残効性の経時変化

Fig. 1 Changes in residual activities of termiticides in the soil with time

- : Chlorpyrifos
- ▲: Fenitrothion
- : Tetrachlorvinphos
- : Pyridaphenthion

図中の各ラインは全供試虫が死亡した時間を表す。

Each line shows the death time of all test termites.

トロチオン、テトラクロルピリホス、ピリダフェンチオンの順であった。30日目以後については、ピリダフェンチオンにおける全供試虫が死亡した時間はほぼ一定であったが、他の3薬剤は処理直後の順位のまま効力が低下した。

また、本実験で用いた2種類の土壌と比較した場合は、砂土よりも植壤土の方が低い傾向にあった。

表-4 クロルピリホスの各抽出方法による回収率

Table 4 Recovery rate of chlorpyrifos

Method of extraction*	Recovery** (%)
Soxley	92.6 ± 4.58
Stirring	84.2 ± 10.16
Shaking	89.2 ± 9.39
Ultrasonication	99.7 ± 1.28

($\bar{x} \pm \sigma_{n-1}$)

* 溶媒: アセトン Solvent: acetone

** 供試土壌: 砂土 Soil used: sand

表-5 有機リン系防蟻剤の超音波処理法による回収率

Table 5 Recovery rate of organophosphorous termiticides by ultrasonication

Termiticides	Recovery (%)	
	Sand	Clay loam
Chlorpyrifos	99.7 ± 1.28	96.8 ± 1.33
Fenitrothion	98.0 ± 1.38	96.5 ± 1.62
Tetrachlorvinphos	98.3 ± 1.40	98.7 ± 1.94
Pyridaphenthion	99.5 ± 1.43	96.5 ± 2.35

($\bar{x} \pm \sigma_{n-1}$)

3. 2 土壌中での薬剤残留率の経時変化

各抽出方法におけるクロルピリホスの回収率を Table 4 に示す。この結果では、超音波処理法が最も高かった。また、同法における各供試薬剤の回収率を Table 5 に示す。いずれの薬剤と土壌の組み合わせにおいても、96~99%の回収率が得られた。以下の実験では、土壌からの薬剤抽出には超音波処理法を採用することにした。

Fig. 2 には、供試薬剤の残留率（処理直後の回収率を100%として換算した値）の経時変化を示す。残留性は、クロルピリホス、フェニトロチオン、テトラクロルピリホスの順に高かった。また、ピリダフェンチオンの残留率は60日経過した後に急速に低下した。以上の順位は、前述の生物試験におけるそれと一致している。

土性の違いによる残留性は、生物試験と同様、砂土のほうが植壤土よりも高い傾向にあった。

以上の結果から、有機リン系防蟻剤は、土壌中において薬剤残留率が時間の経過とともに低下し、これに伴って殺蟻効力も著しく低下することが明らかとなった。

3. 3 土壌微生物の影響

供試土壌中の微生物数を Table 6 に示す。

土居ら⁴⁾によると、畑土壌中の土壌微生物数は砂地

図-2 有機リン系防蟻剤の残留量の経時変化
 Fig. 2 Changes in recovery rate of termiticides in the soil with time
 ● : Chlorpyrifos
 ▲ : Fenitrothion
 ■ : Tetridaphenthion
 ○ : Pyridaphenthion

表-6 供試土壌中の微生物数
 Table 6 Number of microorganisms in the test soil *

Micro-organism	Unsterilized		Autoclave-sterilized	
	Sand	Clay loam	Sand	Clay loam
Fungi	1.9×10^2	2.3×10^3	0	0
Bacteria	1.6×10^5	1.6×10^7	0	0

* 表中の各数値は土壌 1g 当たりのコロニー数を表す。
 The values in the table mean number of microorganisms colonies in the 1g-soil.

1g中：細菌 1×10^5 ，糸状菌 2.5×10^4 ，腐植土1g中：細菌 1.8×10^6 ，糸状菌 5×10^4 という値を得ている。実験方法が異なるため単純に比較することはできないが，本実験では，砂土中の糸状菌数が多少少ない傾向にあるが，これは使用した土壌が異なるためと考えられる。

供試薬剤のオートクレープ処理土壌における殺蟻効力及び薬剤残留率を，それぞれFig. 1及びFig. 2に示す。これらを見ると，非殺菌土壌に比べて殺菌土壌の方が殺蟻効力が高く，薬剤の種類に関係なく残留率はおよそ2

倍高い。しかし，オートクレープ処理を施しても薬剤残留率の低下を防ぐことはできなかった。このことは，土壌中における薬剤分解には土壌微生物だけではなく，非生物的要因も大きく関与することを示唆している。このような非生物的要因としては，加水分解の外に，小西ら⁵⁾やTur⁶⁾が報告しているような薬剤の土壌粒子への吸着が考えられる。一般に，農薬の土壌に対する吸着現象には，粘土鉱物への吸着と有機物への吸着とがあると言われており⁷⁾，特に前者の場合は，金属イオンの影

図-3 サンプラス添加土壌中におけるクロルピリホスの残留量の経時的変化

Fig. 3 Change in recovery rate of chlorpyrifos in the soil mixed sanplus with time

—●— : Unsterilized
 ○ : Added to Sanplus
 ---●--- : Autoclave-sterilized

表-7 クロルピリホスの残留性におよぼすサンプラスの影響

Table 7 Effect of addition of Sanplus on the persistence of chlorpyrifos in the soil

Soil *	Incubation time (days)		
	0	30	90
Unsterilized	100	32.1	17.7
Added to Sanplus: 300ppm	100	73.7	38.9
30 ppm	100	74.8	40.6
3 ppm	100	70.1	41.4
Autoclave-sterilized	100	75.6	50.2

(unit: %)

* 供試土壌：植壤土
 Soil used: clay soil

響と密接な関係があると考えられる。

また、殺菌土壌における薬剤間及び土壌間における残効性、残留性の順位は、非殺菌土壌と同じ傾向を示した。

3. 4 殺菌剤の併用

殺菌剤サンプルを土壌に対し300 ppm添加したクロロピリホス処理土壌における薬剤残留率をFig. 3に示す。この場合も砂土、植壤土ともにクロロピリホスの減少を防ぐことができず、オートクレーブ殺菌土壌中での減少に近い傾向を示した。またTable 7に示したように、サンプルの添加量が異なってもクロロピリホスの減少率に差は見られなかった。

以上の結果から、殺菌剤の働きにより土壌微生物が影響を受けて防蟻薬剤の分解が減少したと結論でき、有機リン系化合物を土壌処理用防蟻剤として使用するには、殺菌剤の併用を考慮する必要がある。

3. 5 金属イオンの影響

金属イオン溶液中での3種の有機リン系化合物の薬剤の残留率をFig. 4に示す。30日目の薬剤残留率は、 Cu^{2+} の影響を受け、クロロピリホスが54~60%、ピリダフェンチオンが約70%であったが、フェニトロチオンはほぼ

全量残留した。一方、 Na^+ と K^+ の影響を見ると、30日後でフェニトロチオンの残留率は約50%であったが、他の2薬剤では影響は少なかった。対照として実施した硫酸水と塩酸水では30日目の残留率がほぼ100%であり、また NaCl と NaOH とではほぼ一致した結果が得られたことから、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 OH^- は薬剤の残留性には影響を与えていないと思われる。

Cu (表-2参照)、 Na 、 K は土壌中には必ず存在するので、実験結果より、これらの金属イオンが有機リン系化合物の土壌中での残留性に与える影響を無視することはできないものと考えられる。

Pusinoら^{2,8-12)}はキナルホス(O, O-diethyl-O-quinoxalin-2-yl phosphorothioate)を用いた研究で、

A) Na^+ 、 K^+ によるエチル基の加水分解

B) Cu^{2+} による環状部位の加水分解

という2つの経路を仮定した。Bの場合、銅イオンによりキナルホス中の >P=S と N との間にキレート構造が生じるという仮説をたてている。ここで仮定された分解経路をFig. 5に示す。

Fig. 6には、Pusionらの仮説を基にして、本実験で

図-4 金属イオンによる有機リン系防蟻剤の分解
Fig. 4 Effect of various metal ions on the decomposition of termiticides

● : Copper ion
○ : Sodium ion
△ : Potassium ion

図-5 キナルホスの加水分解経路

Fig. 5 Mechanisms for hydrolysis of quinalphos proposed by Pusino et al.²⁾

図-6 有機リン系防蟻剤の加水分解機構

Fig. 6 Proposed mechanisms for hydrolysis of organophosphorous termiticides

使用した薬剤に適用した分解経路を示す。

Na⁺, K⁺の場合は、キナルホスと同様に、各薬剤のエチル基（フェニトロチオンの場合はメチル基）側鎖のエステル部位が加水分解されたと推定される。

一方、Cu²⁺の場合は、各薬剤の化学構造の違いが明確に現れたと思われる。クロルピリホスは、キナルホスと同様、>P=SとNとの間に、Cu²⁺を中心にキレート構造

を作り、環状構造部位とPとのエステル結合を加水分解したと考えられる。しかし、フェニトロチオンは環状構造部位にNがなく、キレート構造は生成しない。Fig. 4に示したように、フェニトロチオンはCu²⁺の影響をほとんど受けていないことから、この仮説を想定することができる。また、ピリダフェンチオンにはキレート構造を作るNが環状部位に存在するが、4位のN

にベンゼン環が結合しており、この立体構造がキレート構造の生成を妨げ、加水分解が起こりにくくなり、クロルピリホスと比べて Cu^{2+} の影響が少なかったと推察される。

4. 結 論

土性の異なる2種類の土壌における有機リン系防蟻剤の薬剤残留量及び残効性について検討した。その結果、薬剤残留性は砂土よりも植壌土の方が低く、薬剤残留量の低下に伴い殺蟻効力も低下した。また、いずれの土壌においても殺菌すると薬剤残留率の低下が半分程度であったことから、土壌微生物による分解が要因の一つとして考えられる。しかし、殺菌土壌でも薬剤残留量が低下したので、非生物的要因として、金属イオンが関与していると考えられる。この分解においては、薬剤の化学構造の違いにより異なった分解経路が示唆された。

以上のことから、今後有機リン系防蟻剤を土壌処理剤として使用するには、殺菌剤の併用、金属イオンの影響を除去あるいは軽減できる製剤方法等を考えなければならない。

参 考 文 献

- 1) 山本 出, 深見順一 編: “農薬—デザインと開発指針”, ソフトサイエンス社(1979)
- 2) Pusino, A., et al.: *Pestic. Sci.*, **24**, p.1~8 (1988)
- 3) 土壌微生物研究会 編: “土壌微生物実験法”, 養賢堂, p.21 (1975)
- 4) 土居修一他: 木材学会誌, **25**, p.808~812 (1979)
- 5) 小西清司他: 木材保存, **14**, p.55~63 (1988)
- 6) Tu C.U. and Miles J.R.W.: *Residue., Rev.*, **64**, p.17 (1976)
- 7) 日本土壌肥料学会 編: “土壌の吸着現象, 基礎と応用”, 博文社(1981)
- 8) Rosenfield, C., et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **13**, p.68~72 (1965)
- 9) Mingelrin, U., et al.: *Soil Sci. Am. Proc.*, **39**, p.519~523 (1975)
- 10) Mingelgrin, U., et al.: *ibid.* **41**, p.519~523 (1977)
- 11) Mortland, M.M., et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **15**, p.163~167 (1967)
- 12) Sanchez Camazano, M., et al.: *J. Soil Sci.*, **136**, p.89~93 (1983)

(1989. 4. 10 受理)