

## 2. 植物体内運命に関する試験

ぶどうにおける代謝試験

(資料No. 運命-2)

試験機関：RCC(スイス)

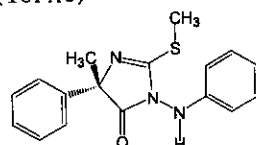
報告書作成年：1999年

### 供試化合物：

非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン  
(IUPAC)

構造式：



，純度： %

炭素同位体標識フェンアミドン：次の二種類を供試した。

|                                                                                                                                         |                                                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>構造式：</p> <p style="text-align: center;">標識フェンアミドン</p> <p>放射化学的純度： % (HPLC, 平均値)<br/>比放射能： MBq/mg (平均値)</p> <p>以下、CP標識フェンアミドンとする。</p> | <p>構造式：</p> <p style="text-align: center;">標識フェンアミドン</p> <p>純度： %</p> <p>以下、[13C]標識フェンアミドンとする。</p> |
| <p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>                                                                                                      |                                                                                                    |

### 供試植物：ぶどう(品種：Pinot Noir)

15～20年生樹の野外ぶどう畑に 4.8m<sup>2</sup> (ぶどう樹 2本) /区の試験区を計 2区設けた。1区を処理区とし、他を対照区とした。試験期間中、試験区には他の農薬を使用しなかった。

### 処理溶液の調製：

CP標識フェンアミドンを非標識フェンアミドン及び[13C]標識フェンアミドンと混合した。この混合物に製剤白試料を加え、水で所定濃度に希釈してフェンアミドン処理溶液とした。

### 作物への処理/栽培/収穫

処理区：フェンアミドン処理溶液を1回当たり400 g 有効成分/haの薬量で、試験圃場のぶどう樹に計4回散布処理した。本試験の累計施用量(有効成分:1600 g/ha)は、フェンアミドンの年間実用処理量に等しかった。

対照区：製剤白試料をぶどう樹1本に散布処理し、残りの1樹には何も処理しなかった。

本試験の処理日、収穫日及び採取試料を次表に示す。

| 処 理 日   |             | 実処理量<br>(g/ha) | 生育ステージ   | 採 取 日     |             | 採取試料    |
|---------|-------------|----------------|----------|-----------|-------------|---------|
| 第1回散布   | 1997年 6月10日 | 505            | 開花期      |           |             |         |
| 第2回散布   | 1997年 7月16日 | 485            | 開花期の終期   |           |             |         |
| 第3回散布   | 1997年 8月 7日 | 504            | 果房の垂れ下り期 |           |             |         |
| 最 終 散 布 | 1997年 9月30日 | 156            | 成熟期の初期   | 未成熟期収穫*   | 1997年 9月30日 | 果房 及び 葉 |
|         |             |                |          | 成 熟 期 収 穫 | 1997年10月24日 | 果房 及び 葉 |

\*：最終散布の直前に収穫した。

#### 試料からの抽出及び分析

分析試料の調製は次のとおり行った。

果房を水、メタノール/水(1:1, v/v)、ついでメタノールで洗浄した。洗浄後、果房を果柄と果実に分割し、果柄はアセトニトリルで洗浄した。

果実は果皮と果肉に分割し、果皮は圧搾して果汁を採取した。果柄洗浄液および果皮から圧搾した果汁は、果肉と一緒にした。果肉から種子を分け、種子をアセトニトリルで洗浄した。種子洗浄液は、果肉抽出液と一緒にした。

分析試料の分画、抽出手順を図 1に示す。

なお、分析及び代謝物の同定に用いた手法は次のとおりであった。

#### 放射能測定

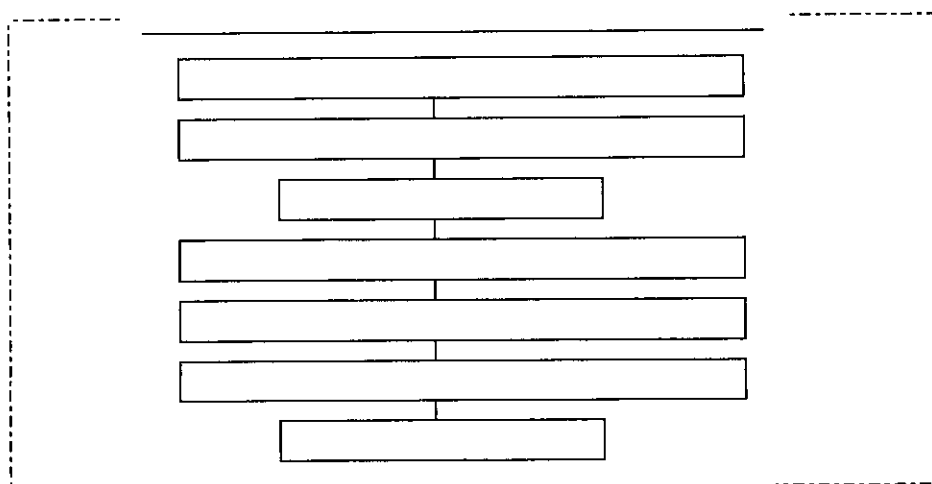
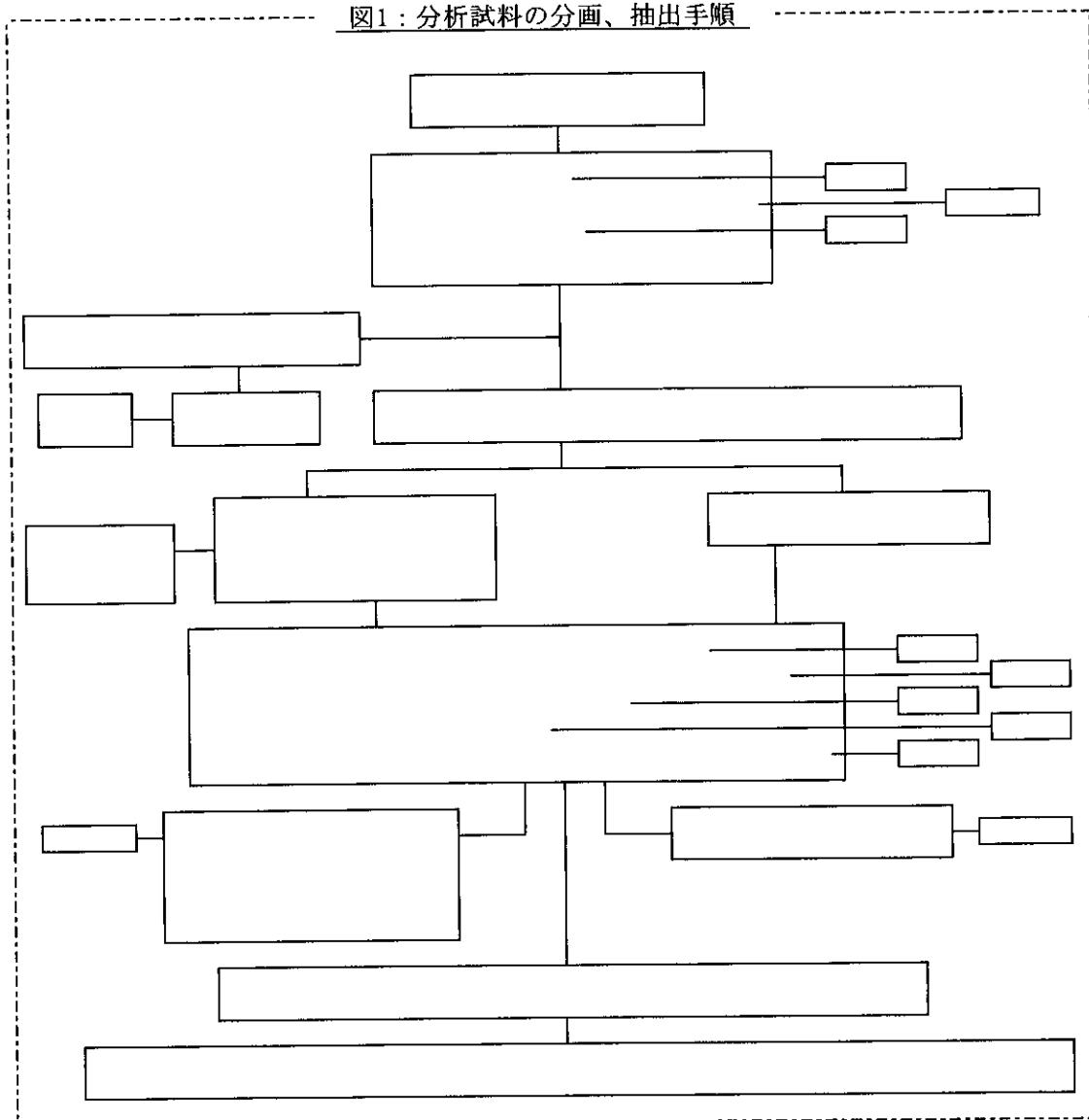
液体シンチレーションカウンター (LSC) :

#### 高速液体クロマトグラフィー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (LC-MS)  
液体クロマトグラフィー条件

図1：分析試料の分画、抽出手順



## 試験結果

全放射性残留量（TRR）：未成熟期及び成熟期のぶどう果房のTRRを表1に示す。

表 1：未成熟期及び成熟期のぶどう果房におけるTRR

|              |         | 未成熟期－ぶどう果房（3回処理） |        | 成熟期－ぶどう果房（4回処理） |        |
|--------------|---------|------------------|--------|-----------------|--------|
|              |         | ppm              | %      | ppm             | %      |
| 果 柄          | 抽出性放射能  | 0.210            | 12.09  | 0.166           | 13.98  |
|              | 残 渣     | 0.063            | 3.64   | 0.056           | 4.67   |
| 果 皮          | 抽出性放射能  | 0.219            | 12.60  | 0.204           | 17.19  |
|              | 残 渣     | 0.056            | 3.20   | 0.045           | 3.79   |
| 種 子          | 抽出性放射能  | 0.057            | 3.27   | 0.024           | 2.01   |
|              | 残 渣     | 0.052            | 3.00   | 0.024           | 2.05   |
| 果 肉          | 抽出性放射能  | 0.292            | 16.81  | 0.261           | 21.95  |
|              | 残 渣     | 0.003            | 0.17   | 0.005           | 0.39   |
| 表 面<br>洗 浄 液 | 水       | 0.042            | 2.41   | 0.042           | 3.49   |
|              | メタノール／水 | 0.062            | 3.57   | 0.037           | 3.08   |
|              | メタノール   | 0.682            | 39.22  | 0.326           | 27.39  |
|              | 計       | 0.786            | 45.20  | 0.404           | 33.97  |
| 果 房          | 抽出性放射能  | 1.565            | 89.98  | 1.060           | 89.10  |
|              | 残 渣     | 0.174            | 10.02  | 0.130           | 10.90  |
| 果房（合計）       |         | 1.739            | 100.00 | 1.190           | 100.00 |

ppm：親化合物換算、%：果房TRRに対する百分率

対照区のぶどう試料から、放射能は検出されなかった。

放射能の各部位への分布は、未成熟期ぶどう果房及び成熟期ぶどう果房とも、同様の結果であった。

合計4回の散布処理を行った成熟期ぶどう果房の全放射性残留濃度（親化合物換算、単位：ppm）が、未成熟期ぶどう果房（処理回数：3回）の全放射性残留濃度（親化合物換算、単位：ppm）を下回ったことは、成熟の最終段階でぶどう果実が肥大したためと考えられた。

未成熟期及び成熟期のぶどう果房において、それぞれのTRRの45.2%（未成熟期）及び34.0%（成熟期）が表面上に存在していた。

放射能残留の大部分は抽出性（表面洗浄液を含む）であり、未成熟期及び成熟期ぶどう果房のTRRのそれぞれ約90%が抽出された。

ぶどう果房における残渣は、未成熟期では果房TRRに対して10.02%（親化合物換算、0.174 ppm）、成熟期では果房TRRに対して10.9%（親化合物換算、0.130 ppm）であった。

ぶどう果房の残渣に関して、酵素処理、続いて酸及び塩基加水分解処理を行って特

徴付けた。表2に、未成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果を、表3に成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果を示す。

表2：未成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果

| 未成熟期ぶどう果房-残渣       |           | 果 柄   |      | 種 子   |      | 果 皮   |      | 果 肉   |      | 果 房*  |       |
|--------------------|-----------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|-------|
|                    |           | 対残渣%  | %TRR | 対残渣%  | %TRR | 対残渣%  | %TRR | 対残渣%  | %TRR | 対残渣%  | %TRR  |
|                    |           | 100.0 | 3.64 | 100.0 | 3.00 | 100.0 | 3.20 | 100.0 | 0.17 | 100.0 | 10.01 |
| 酵素処理：遊離放射能         |           | 13.65 | 0.50 | 1.8   | 0.05 | 4.34  | 0.14 | 25.41 | 0.04 | 7.29  | 0.73  |
| 苛酷抽出<br>：遊離放射能     | 0.1N HCl  | 4.77  | 0.17 | 0.24  | 0.01 | 1.5   | 0.05 | 5.09  | 0.01 | 2.40  | 0.24  |
|                    | 0.1N NaOH | 5.3   | 0.19 | 1.27  | 0.04 | 1.56  | 0.05 | 23.12 | 0.04 | 3.19  | 0.32  |
| 酸/塩基加水分解<br>：遊離放射能 | 6N NaOH   | 7.87  | 0.29 | 11.97 | 0.36 | 4.73  | 0.15 | 31.13 | 0.05 | 8.49  | 0.85  |
|                    | 6N HCl    | 9.08  | 0.33 | 27.41 | 0.82 | 8.91  | 0.29 | 8.11  | 0.01 | 14.49 | 1.45  |
| 遊離放射能（計）           |           | 40.67 | 1.48 | 42.69 | 1.28 | 21.04 | 0.67 | 92.86 | 0.16 | 35.86 | 3.59  |
| 非遊離性放射能            |           | 59.33 | 2.16 | 57.31 | 1.72 | 78.96 | 2.53 | 7.14  | 0.01 | 64.14 | 6.42  |

対残渣%：ぶどう各部位の残渣に対する百分率，%TRR：ぶどう果房TRRに対する百分率  
\*：申請者が計算

表3：成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果

| 成熟期ぶどう果房-残渣        |           | 果 柄   |      | 種 子   |       | 果 皮   |      | 果 肉   |      | 果 房*  |       |
|--------------------|-----------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|------|-------|-------|
|                    |           | 対残渣%  | %TRR | 対残渣%  | %     | 対残渣%  | %    | 対残渣%  | %    | 対残渣%  | %     |
|                    |           | 100.0 | 4.67 | 100.0 | 2.05  | 100.0 | 3.79 | 100.0 | 0.39 | 100.0 | 10.90 |
| 酵素処理：遊離放射能         |           | 14.63 | 0.68 | 1.83  | 0.04  | 7.89  | 0.30 | 16.49 | 0.06 | 9.91  | 1.08  |
| 苛酷抽出<br>：遊離放射能     | 0.1N HCl  | 4.49  | 0.21 | 0.22  | <0.01 | 2.04  | 0.08 | 5.15  | 0.02 | 2.84  | 0.31  |
|                    | 0.1N NaOH | 7.08  | 0.33 | 1.10  | 0.02  | 4.14  | 0.16 | 27.45 | 0.11 | 5.69  | 0.62  |
| 酸/塩基加水分解<br>：遊離放射能 | 6N NaOH   | 9.08  | 0.42 | 13.65 | 0.28  | 5.09  | 0.19 | 37.34 | 0.15 | 9.54  | 1.04  |
|                    | 6N HCl    | 8.83  | 0.41 | 26.84 | 0.55  | 11.17 | 0.42 | 6.84  | 0.03 | 12.94 | 1.41  |
| 遊離放射能（計）           |           | 44.11 | 2.06 | 43.64 | 0.89  | 30.33 | 1.15 | 93.27 | 0.36 | 40.92 | 4.46  |
| 非遊離性放射能            |           | 55.89 | 2.61 | 56.36 | 1.16  | 69.67 | 2.64 | 6.73  | 0.03 | 59.08 | 6.44  |

対残渣%：ぶどう各部位の残渣に対する百分率，%TRR：ぶどう果房TRRに対する百分率  
\*：申請者が計算

酵素処理の後、酸及び塩基加水分解処理を行ったが、低レベルの非遊離性放射能が残渣に残存した。残渣中の放射能が最も多く遊離された部位は果肉であった。成熟期ぶどう果房の残渣中放射能のうち、合計で約40%が遊離された。

#### 抽出した放射性成分についての検討

二種類のグラジエント条件を用いた、表面洗浄液及び各抽出液のHPLC分析において、2種類の主要成分が認められ、これらはそれぞれ「フェンアミドン[代謝物記号A]の認証済み標準物質」及び「の認証済み標準物質」に対

応していた。

これらの2成分を含め、計13種類の放射性成分が認められた。

表4に未成熟期ぶどうにおける放射性成分の分布を、表5に成熟期ぶどうにおける放射性成分の分布を示す。

表4：未成熟期ぶどうにおける放射性成分及び分布

|        |                 | 果 柄 | 果 皮   | 種 子   | 果 肉   | 洗 浄 液 | 果房<br>(合計) |
|--------|-----------------|-----|-------|-------|-------|-------|------------|
| (      | フェンアミドン[代謝物記号A] | %   | 5.8   | 2.0   | 0.6   | 4.0   | 57.7       |
|        |                 | ppm | 0.102 | 0.035 | 0.010 | 0.070 | 1.003      |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
| 残<br>渣 |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |
|        |                 | %   |       |       |       |       |            |
|        |                 | ppm |       |       |       |       |            |

ppm：親化合物換算， %：ぶどう果房TRRに対する百分率， n.d.：検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表5：成熟期ぶどうにおける放射性成分及び分布

|                                |                  |     | 果 柄   | 果 皮   | 種 子   | 果 肉   | 洗 浄 液 | 果房(合計) |
|--------------------------------|------------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 放<br>射<br>性<br>成<br>分<br>( 抽 ) | フェンアミドン [代謝物記号A] | %   | 8.0   | 5.1   | 0.3   | 8.2   | 34.0  | 55.6   |
|                                |                  | ppm | 0.095 | 0.061 | 0.004 | 0.098 | 0.404 | 0.662  |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
| 残<br>渣                         |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | %   |       |       |       |       |       |        |
|                                |                  | ppm |       |       |       |       |       |        |

ppm：親化合物換算， %：ぶどう果房TRRに対する百分率， n.d.：検出されず

### 未成熟期ぶどう果房

未成熟期ぶどう果房における主要放射性成分は、未変化のフェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物 であつた。ぶどう果房におけるフェンアミドンは、果房TRRに対して57.7% (1.003ppm) を占めた。一方、ぶどう果房における は、果房TRRに対して (親化合物換算、ppm) を占めた。

合計 種類認められた少量放射性成分のうち、量的に最も多く生成したものは であり、果房TRRに対して % (親化合物換算、 ppm) を占めた。

### 成熟期ぶどう果房

成熟期ぶどうの主要放射性成分は、未成熟期ぶどうと同様に、未変化のフェンアミドン[代謝物記号A]及び であつた。ぶどう果房におけるフェンアミドンは、果房TRRに対して55.6% (0.662 ppm) を占めた。一方、ぶどう果房における は、果房TRRに対して % (親化合物換算、ppm) を占めた。

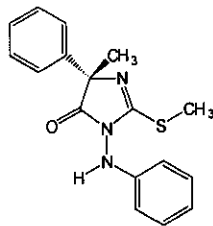
合計 種類認められた少量放射性成分のうち、量的に最も多く生成したものは であつた。放射性成分 は果房TRRに対して % (親化合物換算、ppm) を占めた。

なお、未成熟期ぶどうにおいて認められた代謝物 は、成熟期ぶどうでは認められなかった。

### 代謝物の構造に関する同定又は推定

主要放射性成分として、未変化の親化合物フェンアミドン及び が考えられた。また少量放射性成分のうち、代謝物 及び代謝物 の量が比較的多かった。

フェンアミドン及び の構造同定は、LC-MSにおける質量ピークの比較及びの質量数の比較から、確認できた。

| フェンアミドン[代謝物記号A]                                                                     |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
|  |  |

代謝物M1及びM2の構造は、LC-MSによる分析から、次のように推定された。

| 代謝物 (質量数) : | 代謝物 (質量数) : |
|-------------|-------------|
| [ ]         | [ ]         |
|             |             |
|             |             |

以上の結果から、フェンアミドンの野外栽培ぶどうにおける代謝について下記のとおり要約する。

1. ぶどう果房におけるTRRの大部分が抽出性（表面洗浄を含む）であり、未成熟期ぶどう及び成熟期ぶどうでは、それぞれ90.0%及び89.1%が抽出された。
2. ぶどう果房における残渣は、未成熟期では果房TRRに対して10.02%（親化合物換算、0.174 ppm）であり、成熟期では果房TRRに対して10.9%（親化合物換算、0.130 ppm）であった。  
未成熟期及び成熟期ぶどう果房の残渣について、酵素処理、その後の酸及び塩基加水分解を行った。その結果、未成熟期ぶどう果房では残渣の35.86%が、成熟期ぶどう果房では残渣の40.92%が遊離した。
3. 主要放射性成分は、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物であった。

成熟期ぶどう果房において、フェンアミドンは果房TRRに対して57.7%（0.662 ppm）を占め、  
は果房TRRに対して %（親化合物換算、  
ppm）を占めた。

フェンアミドン[代謝物記号A及び の構造は、LC-MSによって同定された。また代謝物 及び の化学構造は、 が「  
の （置換は ）」、 が「 の （置換は ）」と推定された。

4. 合計 種類の少量放射性成分のうち、最も多く認められたものは、未成熟ぶどう果房では代謝物 であり、成熟期ぶどう果房では代謝物 であった。

未成熟ぶどう果房における代謝物 は、果房TRRに対して %（親化合物換算、 ppm）を占めた。

成熟期ぶどう果房における代謝物 は、果房TRRに対して %（親化合物換算、 ppm）を占めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ぶどうにおけるフェンアミドンの代謝経路を示す。

ぶどうにおけるフェンアミドンの代謝経路

(資料No. 運命-3)

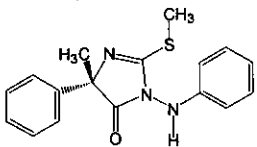
# トマトにおける代謝試験

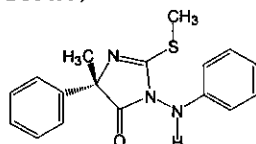
試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)  
報告書作成年：1999年

## 供試化合物：

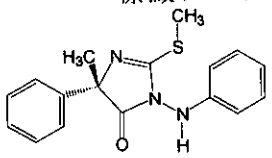
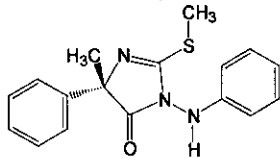
非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン  
(IUPAC)

構造式：  , 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の二種類を供試した。

|                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC)<br/>比放射能： Bq/μg</p> <p>以下、CP標識体とする。</p> | <p>構造式</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC)<br/>比放射能： Bq/μg</p> <p>以下、NP標識体とする。</p> |
| <p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                             |

## 供試植物：トマト(品種：Gardeners Delight)

12インチのポットにトマト苗1本を移植し、ガラス温室内で栽培した。

## 処理溶液の調製：

CP標識体処理溶液：CP標識体を非標識フェンアミドンと混合し、製剤白試料を加えて10%乳剤とし、水で所定濃度に希釈してCP標識体処理溶液とした。

NP標識体処理溶液：NP標識体を非標識フェンアミドンと混合し、CP標識体処理溶液と同様に調製した。

## 試験区及び植物への処理：

CP標識体処理区：8本のトマトに、CP標識体処理溶液及びNP標識体処理溶液をそれぞれ、一回当たり有効成分 約500 g/ha (有効成分 約3.53mg/ポット) の薬量で計3回の散布処理を行った。累積施用量は1500 g 有効成分/haで、これは本剤の年間圃場施用量に等しいものであった。また、処理トマトの間に無処理トマト4本を設置し、区内対照とした。また、処理区の周囲に無処理トマト4本を設置し、区外対照とした。

NP標識体処理区：CP標識体処理区と同様に処理した。また、CP標識体処理区と同様に、区内対照及び区外対照を設けた。

実処理量：CP標識体及びNP標識体処理区における実処理量を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

|     |                   | CP標識体処理区         |                | NP標識体処理区         |                |
|-----|-------------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| 処理  | 設定処理量<br>(mg/ポット) | 投下薬量<br>(mg/ポット) | 設定処理量<br>に対する% | 投下薬量<br>(mg/ポット) | 設定処理量<br>に対する% |
| 第1回 | 3.53              | 3.44             | 97.5           | 3.36             | 95.2           |
| 第2回 | 3.53              | 3.13             | 88.7           | 3.28             | 92.9           |
| 第3回 | 3.53              | 3.28             | 92.9           | 3.28             | 92.9           |
| 平 均 |                   | 3.28             | 93.0           | 3.31             | 93.7           |

#### 植物への処理日/植物の栽培及び収穫

植物への処理及び栽培は、ガラス温室において実施した。  
処理日及びトマト果実収穫日を以下に示す。

| 処 理 日     |              | 採 取 日         |              |
|-----------|--------------|---------------|--------------|
| 第 1 回 処 理 | 1996年 8月 1日  |               |              |
| 第 2 回 処 理 | 1996年 8月 21日 | 第 1 回 中 間 収 穫 | 1996年 8月 21日 |
| 最終(第3回)処理 | 1996年 9月 5日  | 第 2 回 中 間 収 穫 | 1996年 9月 5日  |
|           |              | 最終(第3回)収穫     | 1996年 9月 12日 |

1996年8月21日及び9月5日に関し、処理前に収穫を行った。  
なお、区内対照植物及び区外対照植物については、中間収穫時には採取しなかった。  
採取したトマト植物は、果実と茎に分割し、重量を測定してアセトニトリルで洗浄した。

#### 試料からの抽出及び抽出液の分析

本試験で用いられた抽出/分析過程を図 1に示す。

なお、抽出性放射能成分について、次の方法の組み合わせを用いて定量分析及び「同定及び特徴付け」を行った。

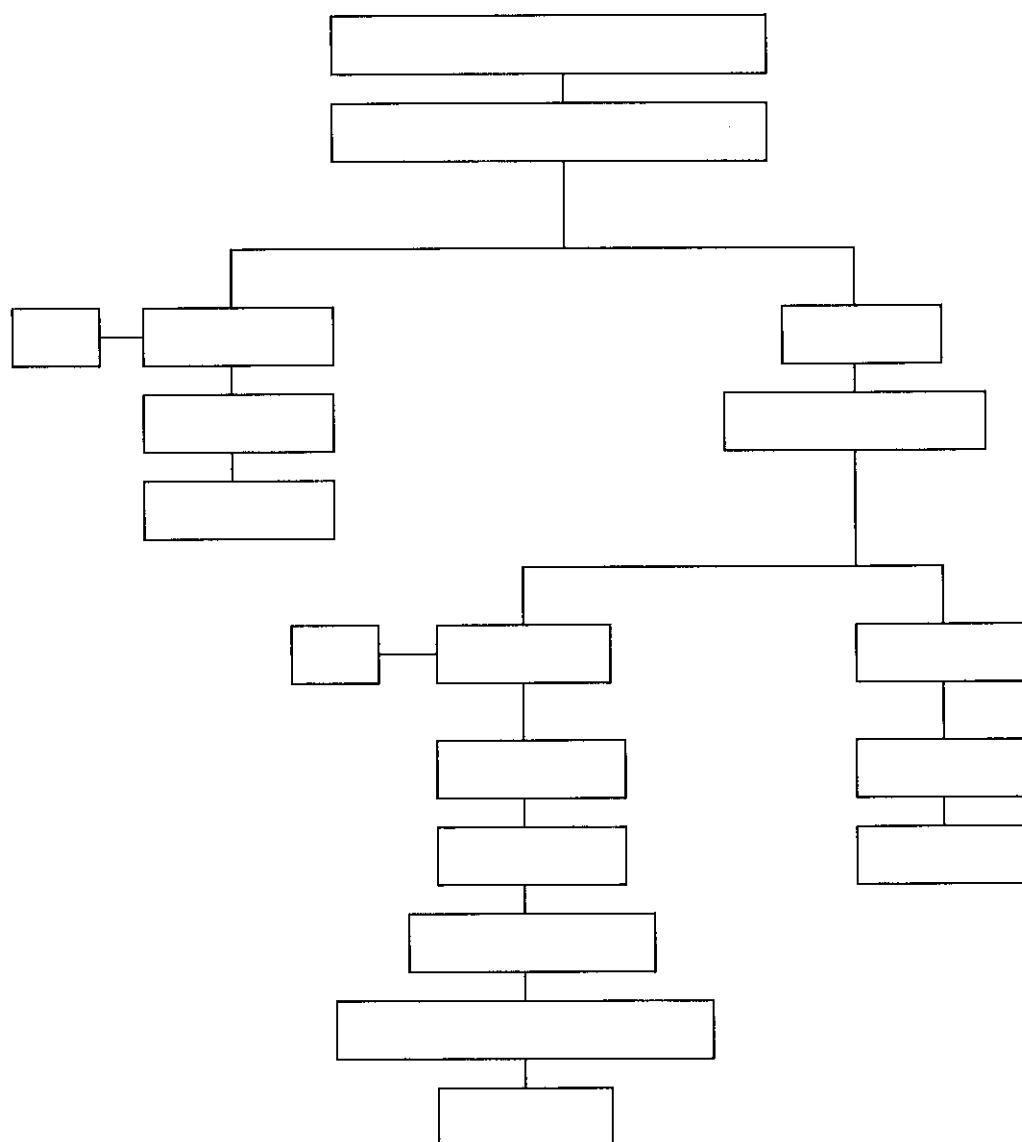
高速液体クロマトグラフィー (HPLC) :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (HPLC-MS)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 1 : 抽出/分析過程 フローチャート



## 試験結果；

### 全放射性残留量（TRR）の推移；

CP標識体及びNP標識体処理トマト果実、並びに各対照トマト果実におけるTRR（単位のmg/kgは、親化合物換算）を次に示す。

(n=2の平均値, 単位: mg/kg)

| 処理トマト果実 | 中間収穫  |       | 最終収穫  |
|---------|-------|-------|-------|
|         | 第1回   | 第2回   |       |
| CP標識体処理 | 0.012 | 0.181 | 0.186 |
| NP標識体処理 | 0.055 | 0.038 | 0.207 |

(n=2の平均値, 単位: mg/kg)

| 対照トマト果実    | 中間収穫  |       | 最終収穫  |
|------------|-------|-------|-------|
|            | 第1回   | 第2回   |       |
| CP標識体 区内対照 | n. a. | n. a. | 0.000 |
| NP標識体 区内対照 | n. a. | n. a. | 0.000 |
| 区外対照       | n. a. | n. a. | 0.000 |

n. a. : 試料採取及び分析を実施せず

最終収穫時の対照トマト果実において、放射能が認められなかったことから、処理植物から顕著な揮発性物質は放出されず、また隣接植物に取り込まれないものと考えられた。

### 全放射性残留量（TRR）の抽出性

| CP標識体処理<br>トマト果実 |       | 中間収穫  |       | 最終収穫  |
|------------------|-------|-------|-------|-------|
|                  |       | 第1回   | 第2回   |       |
| アセトニトリル          | %TRR  | 8.3   | 32.0  | 30.6  |
| 表面洗浄液            | mg/kg | 0.001 | 0.058 | 0.057 |
| アセトニトリル          | %TRR  | 83.3  | 59.7  | 56.5  |
| 抽出液              | mg/kg | 0.010 | 0.108 | 0.105 |
| 抽出残渣             | %TRR  | 8.3   | 7.7   | 12.9  |
|                  | mg/kg | 0.001 | 0.014 | 0.024 |
| 各収穫時点に           | %TRR  | 99.9  | 99.4  | 100.0 |
| おける合計            | mg/kg | 0.012 | 0.180 | 0.186 |

| NP標識体処理<br>トマト果実 |       | 中間収穫  |       | 最終収穫  |
|------------------|-------|-------|-------|-------|
|                  |       | 第1回   | 第2回   |       |
| アセトニトリル          | %TRR  | 29.1  | 26.3  | 41.1  |
| 表面洗浄液            | mg/kg | 0.016 | 0.010 | 0.085 |
| アセトニトリル          | %TRR  | 52.7  | 63.1  | 50.7  |
| 抽出液              | mg/kg | 0.029 | 0.024 | 0.105 |
| 抽出残渣             | %TRR  | 18.2  | 10.5  | 8.2   |
|                  | mg/kg | 0.010 | 0.004 | 0.017 |
| 各収穫時点に           | %TRR  | 100.0 | 99.9  | 100.0 |
| おける合計            | mg/kg | 0.055 | 0.038 | 0.207 |

%TRR：全放射性残留量に占める割合（％），mg/kg：親化合物換算

最終収穫時のCP標識体処理及びNP標識体処理トマト果実とも、それぞれTRRの約90％が表面洗浄液及び抽出液から回収された。最終収穫時のトマト果実の抽出残渣は、CP標識体処理でTRRに対して12.9％（親化合物換算、0.024mg/kg）、NP標識体処理でTRRに対して8.2％（親化合物換算、0.017mg/kg）であった。両処理トマト果実とも、表面残留放射能が散布回数の増加につれて増加する傾向にあった。

### HPLCによる放射能成分の定量分析

表1に、各収穫時における放射性成分を示す。また、検出された放射性成分の構造は以下のとおりである。これらの放射性成分は、認証済み標準物質の保持時間と一致した。

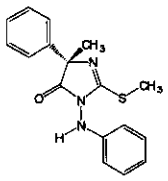
|                                                                                   |                          |                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 親化合物フェンアミドン<br>[代謝物記号 A]                                                          | [                      ] | [                      ] |
|  |                          |                          |

表1. 各収穫時点における放射性成分

| 放 射 能 成 分                        |       |                      |            | CP標識体処理トマト果実 |       |         | NP標識体処理トマト果実 |       |         |
|----------------------------------|-------|----------------------|------------|--------------|-------|---------|--------------|-------|---------|
|                                  |       |                      |            | 中 間 収 穫      |       | 最 終 収 穫 | 中 間 収 穫      |       | 最 終 収 穫 |
|                                  |       |                      |            | 第 1 回        | 第 2 回 |         | 第 1 回        | 第 2 回 |         |
| 放<br>射<br>性<br>成<br>分<br><br>( ) |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  | mg/kg |                      |            |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       | フェンアミドン<br>[代謝物記号 A] | RRT : 1.00 | % TRR        | 87.6  | 62.1    | 65.8         | 62.9  | 51.2    |
|                                  |       |                      | mg/kg      | 0.010        | 0.112 | 0.122   | 0.034        | 0.019 | 0.157   |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |
| 放射性成分 合計                         |       |                      | % TRR      |              |       |         |              |       |         |
|                                  |       |                      | mg/kg      |              |       |         |              |       |         |

RRT : 相対保持時間, % TRR : 全放射性残留量 (TRR) に占める割合 (%),  
n. d. : 検出されず。

代謝物の同定及び特徴付け：

最終収穫時のアセトニトリル表面洗浄液及びアセトニトリル抽出液について、HPLC-MS-MSによって分析した。認証済み標準物質との比較から、次の化合物が同定された。

CP標識体処理トマト果実：親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物

NP標識体処理トマト果実：親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物

また、 ～ については、逆相HPLCにおいてと考えられた。

以上の結果から、フェンアミドンのトマトにおける代謝について下記のとおり要約する。

1. CP標識体及びNP標識体フェンアミドンをそれぞれ別個にトマトに4回散布処理した結果、最終収穫時の全放射性残留（TRR）はCP標識体処理トマト果実で0.186mg/kg（親化合物換算）、NP標識体処理トマト果実で0.207mg/kg（親化合物換算）であった。
2. 最終収穫時のCP標識体及びNP標識体処理トマト果実において、それらの総放射能残留（TRR）の抽出性は高かった。CP標識体処理ではTRRの87.1%（0.162mg/kg：親化合物換算）、NP標識体処理ではTRRの91.8%（0.190mg/kg：親化合物換算）が、それぞれアセトニトリル表面洗浄液及びアセトニトリル抽出液から回収された。最終収穫時のトマト果実における抽出残渣は、CP標識体処理ではTRRに対して12.9%（0.024mg/kg：親化合物換算）、NP標識体処理ではTRRに対して8.2%（0.017mg/kg：親化合物換算）であった。
3. 最終収穫時のトマト果実における主要放射性残留成分は、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]であり、CP標識体処理トマト果実ではTRRに対して65.8%（0.122mg/kg：親化合物換算）、NP標識体処理トマト果実ではTRRに対して75.6%（0.157mg/kg：親化合物換算）であった。

最終収穫時のトマトにおけるフェンアミドンの主要代謝物は、

であり、CP標識体処理トマト果実ではTRRに対して %（ mg/kg：親化合物換算）、NP標識体処理トマト果実ではTRRに対して %（ mg/kg：親化合物換算）であった。

フェンアミドン及び主要代謝物 の構造は、HPLCによる認証済み標準品とのクロマトグラフィー及びHPLC-MS-MSによって同定された。

4. 主要代謝物 に次ぐ代謝物として、 がHPLCによるクロマトグラフィーによって暫定的に同定された。 はCP標識体処理トマト果実においてTRRに対して %（ mg/kg：親化合物換算）、NP標識体処理トマト果実においてTRRに対して %（ mg/kg：親化合物換算）であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

トマトにおけるフェンアミドンの代謝経路を次に示す。

(資料No. 運命-4)

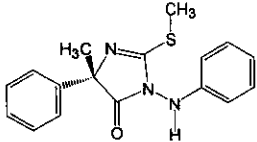
レタスにおける代謝試験

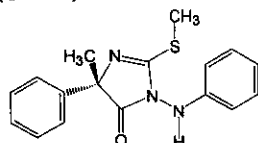
試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)  
報告書作成年：1999年

供試化合物：

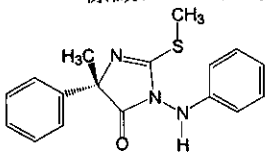
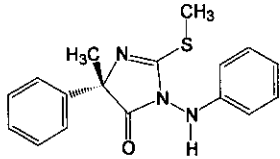
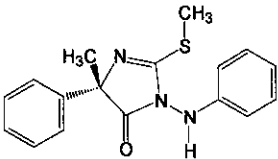
非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン  
(IUPAC)

構造式：  , 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の三種類を供試した。

|                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>構造式： </p> <p>放射化学的純度： % (HPLC)<br/>比放射能： Bq/μg<br/>以下、CP標識体とする。</p> | <p>構造式： </p> <p>放射化学的純度： % (HPLC)<br/>比放射能： Bq/μg<br/>以下、NP標識体とする。</p> |
| <p>[13C]標識フェンアミドン</p> <p>構造式：  純度： %</p>                              |                                                                                                                                                            |
| <p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>                                                                                                                       |                                                                                                                                                            |

供試植物：レタス(品種：アイスバーグレタス)

処理溶液の調製：

CP標識体処理溶液：CP標識体を非標識フェンアミドンと混合し、製剤白試料を加えて10%乳剤とし、水で所定濃度に希釈してCP標識体処理溶液とした。

NP標識体処理溶液：[N-フェニル]標識フェンアミドンを非標識フェンアミドンと混合し、[C-フェニル]処理溶液と同様に調製した。

CP標識体：[13C]処理溶液：CP標識体を[13C]標識フェンアミドンで希釈し、その後はCP標識体処理溶液と同様に調製した。

# 試験方法：

## 試験区及び植物への処理

CP標識体処理区：CP標識体処理溶液を一回当たり有効成分20.11mg/容器の設定薬量で、レタスに計4回の散布処理を行った。なお、散布処理日は次のとおりであった。

第1回処理：1996年8月30日、第2回処理：1996年9月12日、

第3回処理：1996年9月24～25日、第4回処理：1996年10月4日

NP標識体処理区：NP標識体処理溶液を一回当たり有効成分20.11mg/容器の設定薬量で、レタスに計4回の散布処理を行った（散布処理日はCP標識体処理区と同一である）。

CP標識体：[13C]処理区：「CP標識体：[13C]処理溶液」を400 g 有効成分/haの薬量で、レタスに1回の散布処理（散布処理日：1996年8月30日）を行った。

また別途、無処理の対照レタス区を設けた。

実処理量：植物に処理したCP標識体及びNP標識体の実際量を、下表に示す。CP標識体の累積施用量は有効成分1438 g /ha、NP標識体の累積施用量は有効成分1426 g /haであり、これは本剤の年間圃場施用量（有効成分1600 g /ha）に等しいものであった。

| 処理   | 設定処理量<br>(mg/容器) | 容器への処理量 |           |       |           |
|------|------------------|---------|-----------|-------|-----------|
|      |                  | CP標識体   |           | NP標識体 |           |
|      |                  | mg/容器   | 対設定処理量(%) | mg/容器 | 対設定処理量(%) |
| 第1回  | 20.11            | 16.06   | 79.9      | 15.90 | 79.1      |
| 第2回  | 20.11            | 11.65   | 57.9      | 9.21  | 45.8      |
| 第3回* | 31.00            | 26.98   | 87.0      | 28.99 | 93.5      |
| 第4回  | 20.11            | 17.61   | 87.6      | 17.61 | 87.6      |
| 総処理量 |                  | 72.31   | 89.9      | 71.71 | 89.1      |

\*：第2回処理において想定処理量に対する達成率が低かったため、第3回処理量を増加して補正した。

## 植物への処理日/植物の栽培及び採取：

植物への処理及び栽培は、屋外にて実施した。

以下の採取日に、CP標識体処理レタス、NP標識体処理レタス。CP標識体：[13C]処理レタス及び対照レタスを採取した。

| 採取時期        |                            | 採取処理区                                      | 採取レタスの分割                |
|-------------|----------------------------|--------------------------------------------|-------------------------|
| 第1回<br>中間収穫 | 1996年9月12日<br>(第2回処理の前に実施) | CP標識体処理区<br>及び<br>NP標識体処理区                 | レタスが成長過程であったため、分割しなかった。 |
| 第2回<br>中間収穫 | 1996年10月4日<br>(第4回処理の前に実施) | CP標識体処理区<br>及び<br>NP標識体処理区                 | 「外葉」及び「結球」に分割した。        |
| 最終収穫        | 1996年10月11日                | CP標識体処理区、<br>NP標識体処理区 及び<br>CP標識体：[13C]処理区 | 「外葉」及び「結球」に分割した。        |

また分割したレタス各部位は、重量を測定し、アセトニトリルで洗浄した。分割試料を風乾後、-20℃でホモジネートした。

#### 試料からの抽出及び抽出液の分析

本試験で用いられた抽出工程及び全放射性残留量の分析過程を、図 1 にフローチャートで示す。

対照レタスについては、抽出等の処理を行わず、そのまま燃焼させて放射能を測定した。

CP 標識体処理レタス及び NP 標識体処理レタスの放射能成分の検討には、表面洗浄及び抽出工程で得られた洗浄液及び濃縮抽出液（各抽出液を濃縮したもの）を、次の分析法を用いて検討した。なお各分析では、認証済み標準物質との比較を行った。

#### 逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）

〔原報告書では、分析法 A として記載されている〕

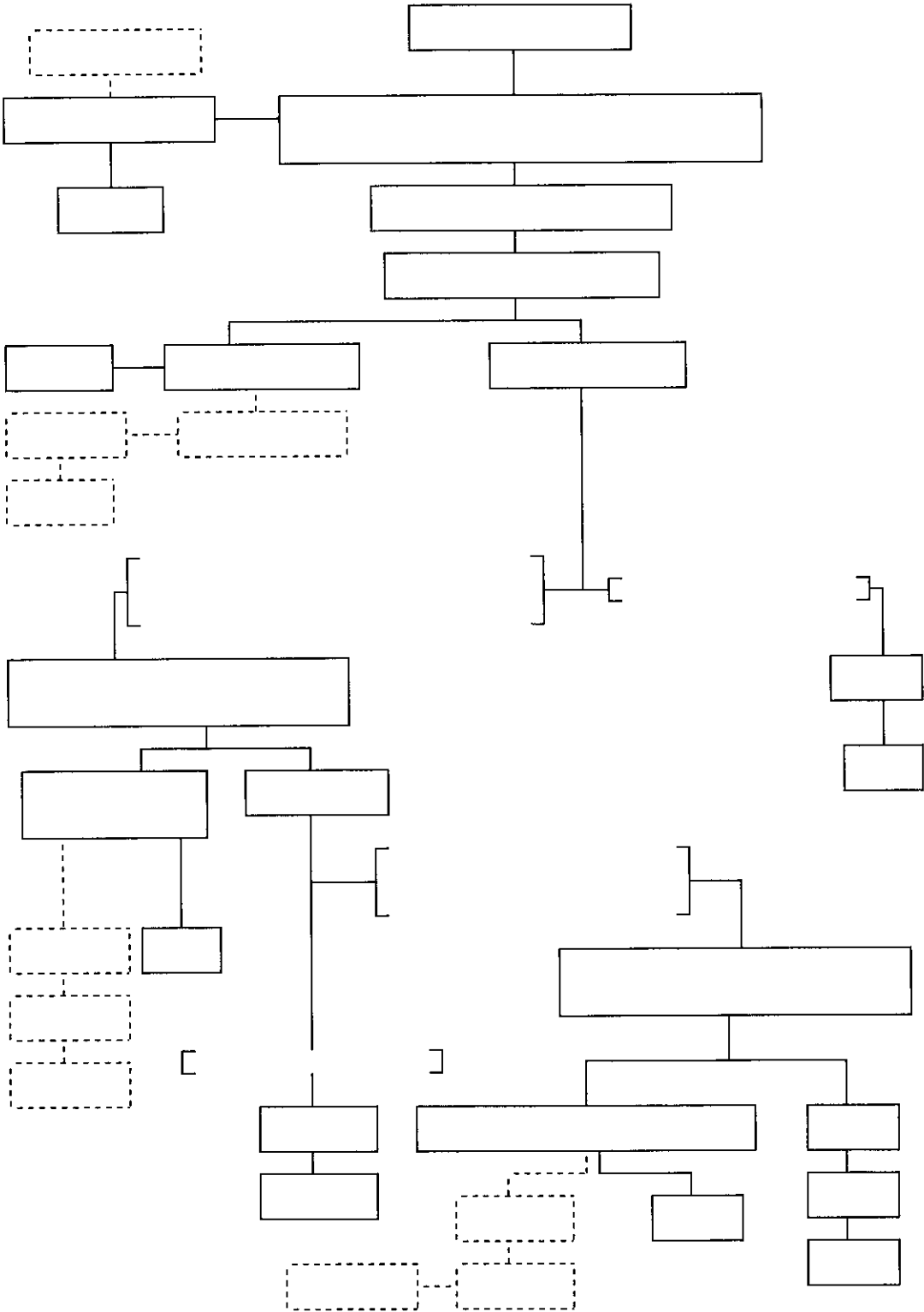
なお、確認として次の薄層クロマトグラフィー（順相 TLC）を用いた。

#### 代謝物の同定

第 2 回中間収穫レタスの外葉抽出液を、固相抽出して精製し、液体クロマトグラフィー/マスペクトロメトリー（LC-MS）で代謝物の同定を試みた。また、抱合体である代謝物については、[C-フェニル]：[13C] 処理レタスの外葉抽出液を固相抽出して精製し、LC-MS で分析した。なお、固相抽出の手順を図 2 にフローチャートで示した。

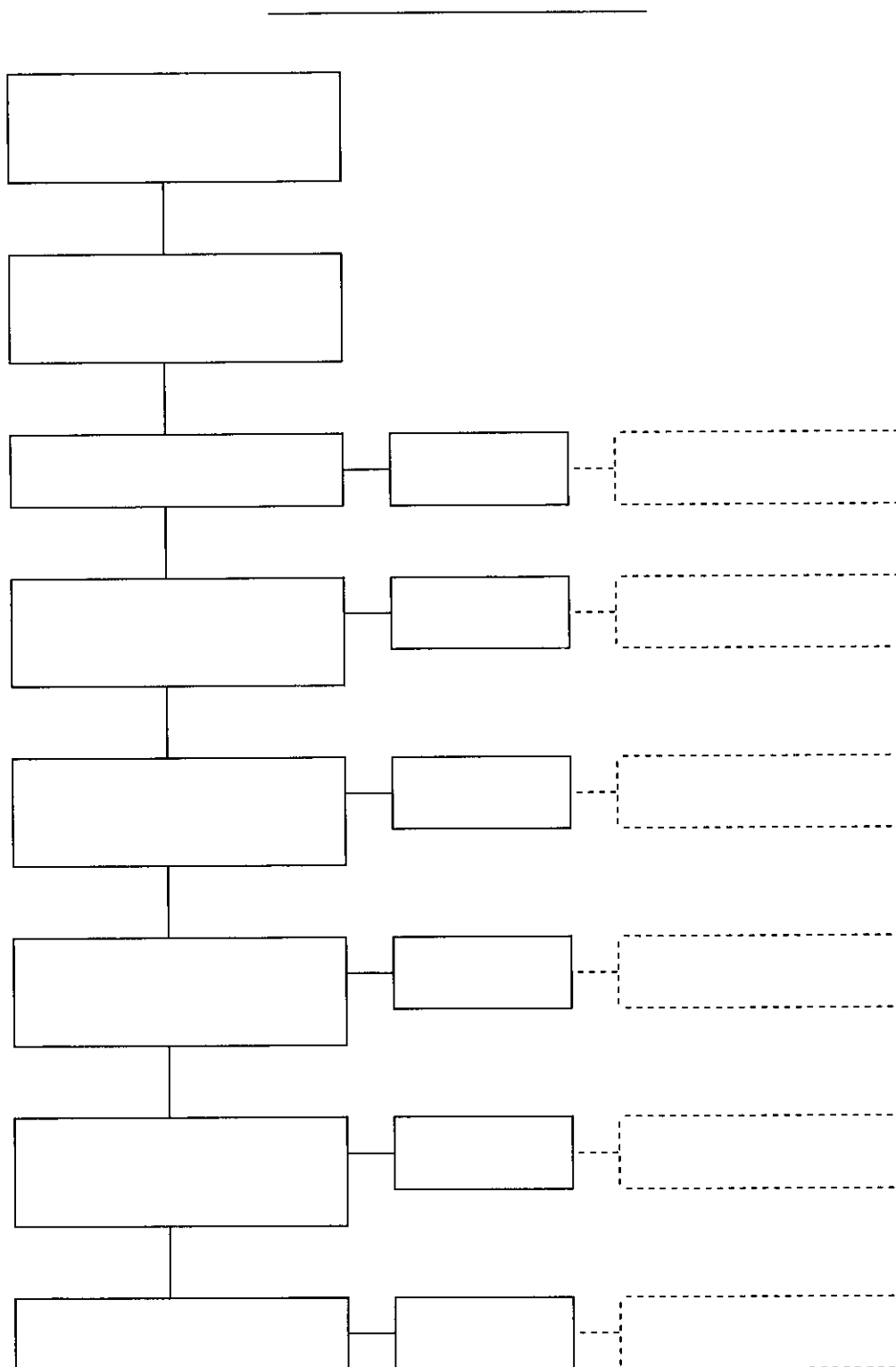
代謝物同定に用いた LC-MS の概要は、以下のとおりであった。

図1：本試験で用いられた抽出工程及び全放射性残留量の分析



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図2：第2回中間収穫レタス外葉及び「CP標識体：[13C]処理レタス外葉」



## 結 果

全放射性残留量 (TRR) の濃度に関する経時的推移：

各収穫時点における全放射性残留量 (各部位及びレタス全体) の推移は、次のとおりであった。

(mg/kg：親化合物換算， n=2)

| 収 穫 時 期                  | CP 標 識 体 処 理 レ タ ス      |                    |          |                    |          | NP 標 識 体 処 理 レ タ ス      |                    |          |                    |          |
|--------------------------|-------------------------|--------------------|----------|--------------------|----------|-------------------------|--------------------|----------|--------------------|----------|
|                          | 第1回中間<br>収穫 (処理<br>：1回) | 第2回中間収穫<br>(処理：3回) |          | 最 終 収 穫<br>(処理：4回) |          | 第1回中間<br>収穫 (処理<br>：1回) | 第2回中間収穫<br>(処理：3回) |          | 最 終 収 穫<br>(処理：4回) |          |
| レタス部位                    | レタス全体                   | 結 球                | 外 葉      | 結球                 | 外葉       | レタス全体                   | 結 球                | 外 葉      | 結 球                | 外 葉      |
| CH <sub>3</sub> CN 洗浄液   | 0.313                   | n. a.              | 0.707    | n. a.              | 1.142    | 0.311                   | n. a.              | 0.574    | n. a.              | 1.487    |
| CH <sub>3</sub> CN 抽出液   | 1.607                   | 0.117              | 5.194    | 0.239              | 10.100   | 1.244                   | 0.085              | 4.204    | 0.186              | 8.833    |
| CH <sub>3</sub> OH/水 抽出液 | 0.164*                  | 0.021              | 0.432    | 0.023              | 0.463    | 0.108*                  | 0.014              | 0.139    | 0.010              | 0.414    |
| CH <sub>3</sub> CN/水 抽出液 | n. a.                   | 0.003#             | 0.083#   | 0.009              | 0.182    | n. a.                   | 0.002#             | 0.061#   | 0.004              | 0.165    |
| 抽出残渣                     | 0.357*                  | 0.017#             | 0.631#   | 0.019              | 0.559    | 0.290*                  | 0.015#             | 0.618#   | 0.014              | 0.690    |
| 部位合計                     | 2.441                   | 0.158              | 7.048    | 0.291              | 12.446   | 1.952                   | 0.116              | 5.597    | 0.214              | 11.589   |
|                          |                         | [0.46%]            | [99.54%] | [0.80%]            | [99.20%] |                         | [0.44%]            | [99.46%] | [0.54%]            | [99.46%] |
| レタス全体                    |                         | 5.872              | [100.0%] | 9.338              | [100.0%] |                         | 4.641              | [100.0%] | 9.023              | [100.0%] |

\*：CH<sub>3</sub>OH/水による追加抽出での補正值， #：CH<sub>3</sub>CN/水による追加抽出での補正值

n. a. = 当該処理 (洗浄・抽出) を行わなかった。 [ ]：各部位への放射能分布率

CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスの両方において、フェンアミドンの処理量の増加に伴って各部位のTRR及びレタス全体のTRRが増加した。

また結球のTRRは外葉のTRRの約50分の1程度であった。これは、きつく巻いている結球と比較して、外葉は処理フェンアミドンに暴露する表面積が大きいためと考えられた。

対照レタスのTRRを下表に示す。

(mg/kg：親化合物換算)

|         | アセトニトリル<br>洗浄液 (mg/kg) | 燃 焼<br>(mg/kg) | TRR (mg/kg) |
|---------|------------------------|----------------|-------------|
| 第1回中間収穫 | 0.000                  | 0.000          | 0.000       |
| 第2回中間収穫 | 0.000                  | 0.000          | 0.000       |
| 最 終 収 穫 | 0.000                  | 0.002          | 0.002       |

この結果から、処理植物から顕著な揮発性物質は放出されず、また隣接植物に取り込まれないものと考えられた。

放射能の抽出効率：

CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスの各部位における抽出効率 (結球の表面洗浄液を含む) を、以下に示す。

CP標識体処理レタス

| レタス部位 | 第1回中間収穫    |              | 第2回中間収穫    |              | 最 終 収 穫    |              |
|-------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
|       | 抽出率<br>(%) | 非抽出<br>率 (%) | 抽出率<br>(%) | 非抽出<br>率 (%) | 抽出率<br>(%) | 非抽出<br>率 (%) |
| 外 葉   |            |              | 89.5       | 10.3         | 93.5       | 6.5          |
| 結 球   |            |              | 91.0       | 9.0          | 95.5       | 4.5          |
| レタス全体 | 85.4       | 14.6         | 91.0       | 9.0          | 95.5       | 4.5          |

NP標識体処理レタス

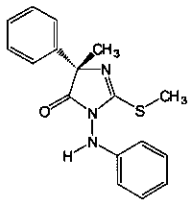
| レタス部位 | 第1回中間収穫    |              | 第2回中間収穫    |              | 最 終 収 穫    |              |
|-------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
|       | 抽出率<br>(%) | 非抽出<br>率 (%) | 抽出率<br>(%) | 非抽出<br>率 (%) | 抽出率<br>(%) | 非抽出<br>率 (%) |
| 外 葉   |            |              | 87.0       | 13.7         | 93.5       | 6.5          |
| 結 球   |            |              | 88.9       | 10.9         | 94.0       | 6.0          |
| レタス全体 | 85.1       | 14.7         | 89.0       | 11.0         | 94.0       | 6.0          |

(%)：各部位またはレタス全体のTRRに対する%

表面洗浄液及び抽出液中の放射性成分の同定及び特徴付け：

#### 逆相HPLC及び順相TLC

CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスの各抽出液について、認証済み標準物質をクロマトグラフィーした逆相HPLC分析及び確認のための順相TLC分析を行った結果、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物、及びが確認された。

| フェンアミドン<br>[代謝物記号A]                                                               | [ ] | [ ] | [ ] |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
|  |     |     |     |

#### LC-MS分析

最終収穫したレタス結球の洗浄液、そして第2回中間収穫レタスの固相抽出画分をLC-MSで分析した結果、上記の4化合物の構造が同定された。また、CP標識体処理レタスの基部洗浄液から、痕跡量の がLC-MSの分析により確認された。なお、 は HPLC及びTLC分析では検出されなかった。

[ ]：

また[C-フェニル]：[13C]処理レタス外葉抽出液の固相抽出画分を分析した結果、フェンアミドンと比較して中程度の極性を示す物質の構造が次のように推定された。

|      |            |
|------|------------|
| ( )  | (<br>[ ] ) |
| 分子量： | 分子量：       |

放射性成分の組成：各部位における放射性成分の推移を、表1(外葉)、表2(結球)及び表3(レタス全体)に示す。

表 1：レタス外葉における放射性成分の推移(数値はn=2の平均値)

| 放 射 性 成 分 |          |       | CP標識体処理レタス外葉  |        | NP標識体処理レタス外葉  |        |
|-----------|----------|-------|---------------|--------|---------------|--------|
|           |          |       | 第 2 回<br>中間収穫 | 最終収穫   | 第 2 回<br>中間収穫 | 最終収穫   |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
| フェンアミドン   | RRT:1.00 | %TRR  | 71.77         | 91.95  | 74.46         | 91.42  |
| [代謝物記号A]  |          | mg/kg | 5.058         | 11.444 | 4.167         | 10.595 |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |
|           |          |       |               |        |               |        |

RRT：逆相HPLCにおけるフェンアミドンに対する相対保持時間，  
mg/kg：レタス全体における放射性残留濃度（親化合物換算）  
%TRR：レタス全体のTRRに対する%， n.d.：検出されず， \*：申請者が計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2: レタス結球における放射性成分の推移(数値はn=2の平均値)

| 放 射 性 成 分            |          |       | CP標識体処理レタス結球  |       | NP標識体処理レタス結球  |       |
|----------------------|----------|-------|---------------|-------|---------------|-------|
|                      |          |       | 第 2 回<br>中間収穫 | 最終収穫  | 第 2 回<br>中間収穫 | 最終収穫  |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
| フェンアミドン<br>[代謝物記号 A] | RRT:1.00 | %TRR  | 35.20         | 70.44 | 42.38         | 73.40 |
|                      |          | mg/kg | 0.056         | 0.205 | 0.049         | 0.157 |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |
|                      |          |       |               |       |               |       |

RRT : 逆相HPLCにおけるフェンアミドンに対する相対保持時間,

mg/kg: レタス全体における放射性残留濃度 (親化合物換算)

%TRR：レタス全体のTRRに対する%， n.d.：検出されず， \*：申請者が計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3: レタス全体における放射性成分の推移(数値はn=2の平均値)

[illegible]

痕跡量の が、最終収穫時のCP標識体処理レタスの外葉洗浄液のみから確認された。

RRT : 逆相HPLCにおけるフェンアミドンに対する相対保持時間,

mg/kg : レタス全体における放射性残留濃度 (親化合物換算)

%TRR：レタス全体のTRRに対する%， n. d.：検出されず， \*：申請者が計算

#### CP標識体処理レタス全体

最も多くの種類の代謝物が認められたのは、第2回中間収穫試料であった。

CP標識体処理レタスの主要残留性分は未変化の親化合物フェンアミドン〔代謝物記号A〕であり、第2回中間収穫時にはTRRの71.62% (4.206mg/kg)、最終収穫時にはTRRの91.80% (8.572mg/kg) を占めた。

第2回中間収穫時及び最終収穫時を通じて、フェンアミドンの代謝物として複数の  
、  
及び  
が認められた。  
また  
は、第2回中間収穫時には認められたが、最終収穫時には認められなかった。

#### NP標識体処理レタス全体

NP標識体処理レタスの主要残留性分は、CP標識体処理レタスと同様に未変化の親化合物フェンアミドン〔代謝物記号A〕であった。未変化のフェンアミドン〔代謝物記号A〕は、第2回中間収穫時にはTRRの74.34% (3.450mg/kg)、最終収穫時にはTRRの91.33% (8.241mg/kg) を占めた。

第2回中間収穫時及び最終収穫時を通じて、フェンアミドンの代謝物として2種類の  
及び  
が認められた。  
CP標識体処理レタスで認められた  
及び  
は、その標識位置 (N-フェニル環) のため認められなかった。

以上の結果から、フェンアミドンのレタスにおける代謝を以下に要約する。

1. CP標識体フェンアミドン及びNP標識体フェンアミドンをそれぞれ別個にレタスに4回散布処理した。最終収穫時のレタス全体の主要放射性成分は、CP標識体処理レタス全体及びNP標識体処理レタス全体とも未変化の親化合物フェンアミドンであった。  
最終収穫時における未変化のフェンアミドンは、CP標識体処理レタス全体ではTRRに対して91.80% (8.572mg/kg)、NP標識体処理レタス全体ではTRRに対して91.33% (8.241mg/kg) であった。
2. 最終収穫時におけるフェンアミドンの代謝物は、CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスとも  
、各種  
及び  
であった。

また第2回中間収穫時のCP標識体処理レタスにおいて、  
及び  
が認められたが、これら2種類の代謝物はNP標識体処理レタスでは認められなかった。

フェンアミドンのレタスにおける想定代謝経路を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

フェンアミドンのレタスにおける（想定）代謝経路

ばれいしょにおける代謝試験

(資料No. 運命-5)

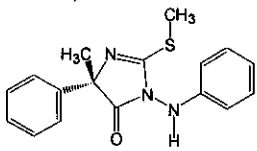
試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)

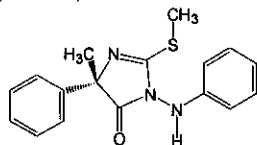
報告書作成年：1999年

供試化合物：

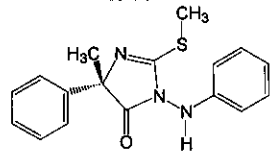
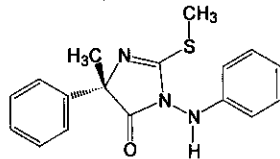
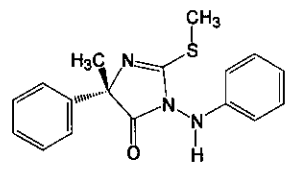
非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン  
(IUPAC)

構造式：  , 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の三種類を供試した。

|                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC)<br/>比放射能： G Bq/mmol (圃場試験)<br/>G Bq/mmol (温室試験)<br/>以下、CP標識体とする。</p> | <p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC)<br/>比放射能： G Bq/mmol (圃場試験)<br/>G Bq/mmol (温室試験)<br/>以下、NP標識体とする。</p> |
| <p>[13C]標識フェンアミドン</p> <p>構造式：</p>  <p>純度： %</p> <p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>                                    |                                                                                                                                                                                                           |

供試植物：ばれいしょ(品種：Desiree)

植物栽培方法：「圃場栽培」及び「温室栽培」を行った。圃場栽培は、ばれいしょ発芽後にフェンアミドンを3回処理した場合の残留物の量及びその性質を検討するために実施し、また温室栽培は、代謝物の同定に役立てるために実施した。

圃場栽培

処理溶液の調製：

・ CP標識体処理溶液

CP標識体を非標識フェンアミドンで希釈し、その後、乳剤白試料と混合して10%乳剤を調製した。本製剤を脱イオン水で希釈して、CP標識体処理溶液とした。

・ NP標識体処理溶液

NP標識体を非標識フェンアミドンで希釈し、その後はCP標識体処理溶液と同手順で調製した。

ばれいしょへの処理：

円筒形ポットに種いもを植え付け、屋外で栽培した。試験区は次のとおりであり、一区当たりのポット数は3個であった。

- ・CP標識体処理ばれいしょ：CP標識体処理溶液を、ばれいしょ発芽後に植物体の上から散布処理した。散布処理は計3回（1回当たりの設定薬量：有効成分 500 g/ha [有効成分25.13mg/試験区]）を行い、その累計設定薬量（有効成分1500 g/ha）は本剤の年間圃場施用量と同水準であった。
- ・NP標識体処理ばれいしょ：[C-フェニル-U-14C]処理溶液と同じ方法で、植物体に処理した。

また、14C-揮発性成分の取り込みを測定するために、対照ばれいしょを処理ポットの周辺に設置した。

圃場栽培における実処理量を下表に示す。

| 処 理  | 設定薬量<br>(mg/試験区) | 試験区への処理量 |          |         |          |
|------|------------------|----------|----------|---------|----------|
|      |                  | CP標識体処理  |          | NP標識体処理 |          |
|      |                  | mg/試験区   | 対設定薬量(%) | mg/試験区  | 対設定薬量(%) |
| 第1回  | 25.13            | 13.90    | 55.3     | 14.95   | 59.5     |
| 第2回  | 25.13            | 25.57    | 101.7    | 25.81   | 102.7    |
| 第3回  | 25.13            | 26.00    | 103.5    | 27.67   | 110.1    |
| 総処理量 |                  | 65.47    | 86.8     | 68.43   | 90.8     |

## 温室栽培

処理溶液の調製：

- ・CP標識体：[13C]処理溶液  
“非標識フェンアミドンで希釈したCP標識体”及び[13C]標識フェンアミドン（CP標識体：[13C]=4：1）をアセトニトリル/水混合液で希釈して、CP標識体：[13C]処理溶液を調製した。
- ・NP標識体：[13C]処理溶液  
“非標識フェンアミドンで希釈したNP標識体”及び[13C]フェンアミドン（NP標識体：[13C]=4：1）を[C-フェニル-U-14C]：[13C]と同じ方法で調製した。

ばれいしょへの処理：円筒形ポットに種いもを植え付け、温室内で栽培した。試験区は次のとおりであり、一区当たりのポット数は3個であった。

- ・「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ：  
「CP標識体：[13C]」処理溶液を、設定薬量として有効成分1500 g/ha [有効成分10.6mg/試験区] で、ばれいしょ植物体の葉及び茎の基部に単回処理した。なお、処理溶液を入れたパイアルの水洗浄液を、ばれいしょの葉及びその周辺の土壌に処理した。
- ・「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ：  
「NP標識体：[13C]」処理溶液を、「CP標識体：[13C]」処理溶液の場合と同じ方法で、ばれいしょ植物体に処理した。

温室栽培における実処理量を下表に示す。

| 設定薬量<br>(mg/試験区) | 試験区への処理量      |          |               |          |
|------------------|---------------|----------|---------------|----------|
|                  | CP標識体：[13C]処理 |          | NP標識体：[13C]処理 |          |
|                  | mg/試験区        | 対設定薬量(%) | mg/試験区        | 対設定薬量(%) |
| 10.6             | 11.17         | 105.4    | 9.80          | 92.4     |

試料採取：圃場栽培における、試料採取日は次のとおりであった。第一回及び第二回中間収穫は、第二回及び第三回(最終)処理の直前に行われた。

| 処 理 日 |            | 収 穫 日   |            |
|-------|------------|---------|------------|
| 第一回   | 1996年8月 1日 |         |            |
| 第二回   | 1996年8月15日 | 第一回収穫   | 1996年8月15日 |
| 第三回   | 1996年8月30日 | 第二回収穫   | 1996年8月30日 |
|       |            | 最 終 収 穫 | 1996年9月13日 |

温室栽培における試料採取日は、次のとおりであった。

| 処 理 日      | 収 穫 日          |            |
|------------|----------------|------------|
| 1998年8月19日 | CP標識体：[13C]処理区 | 1998年10月5日 |
|            | NP標識体：[13C]処理区 | 1998年11月3日 |

圃場栽培及び温室栽培で採取した「ばれいしょ」植物体は、次のとおり分割/脱イオン水で洗浄しその後ホモジナイズ処理を行って、全放射性残留量（TRR）測定及び代謝物〔抽出性放射能成分〕の検討試料とした。このホモジナイズした試料を、抽出処理及び分析まで-20℃～-25℃で凍結保存した。

| 栽培区分 | 収穫ばれいしょ | 分割試料の形態                 |
|------|---------|-------------------------|
| 圃 場  | 第一回中間収穫 | 「茎部」及び「皮付き塊茎部」          |
|      | 第二回中間収穫 | 「茎部」及び「皮付き塊茎部」          |
|      | 最終収穫 *  | 「茎部」、「皮剥き塊茎部」及び「(塊茎の)皮」 |
| 温 室  | —       | 「皮付き塊茎」                 |

\*：対照ばれいしょに関しては、「茎部」と「皮付き塊茎部」に分割した。

なお、茎部は可食部ではないが、代謝物同定に役立てるために分析した。

#### 試料からの抽出及び抽出液の分析

本試験で用いられた抽出/分析過程を、図 1（各部位のTRR測定用の抽出工程）及び図 2（抽出性放射能の検討）にフローチャートで示した。また、フローチャート内で示されている各分析方法の概要は、以下のとおりであった。なお、対照ばれいしょに関しては、抽出処理を行わずに燃焼させ、放射能を測定した。

抽出性の放射性成分について、次の方法の組み合わせを用いて同定及び特徴付けを行った。同定及び特徴付けに関しては、認証済み参照物質の(クロマトグラム上の)保持時間/Rf値及び（LC-MS/MSの）マスペクトルとの比較によって行った。

#### A. 抽出性放射能成分の同定及び特徴付け

順相 薄層クロマトグラフィー（順相TLC）

逆相高速液体クロマトグラフィー（逆相HPLC）①  
〔原報告書では、HPLC法Dとして記載されている〕

液体クロマトグラフィー-マススペクトロメトリー／マススペクトロメトリー  
(LC-MS/MS)  
液体クロマトグラフィー条件

マススペクトロメーター条件

なお、上記A.「抽出性放射能成分の同定及び特徴付け」で認められた「極性成分」に関しては、以下の方法を用いて特徴付けを行った。

- B.「極性成分」についての特徴付け  
逆相HPLC②（逆相）〔原報告書では、HPLC法Eとして記載されている〕

特徴付けに関しては、認証済み参照物質の(クロマトグラム上の)保持時間との比較によって行った。

図 1 : 各部位のTRR測定のための抽出工程に関するフローチャート

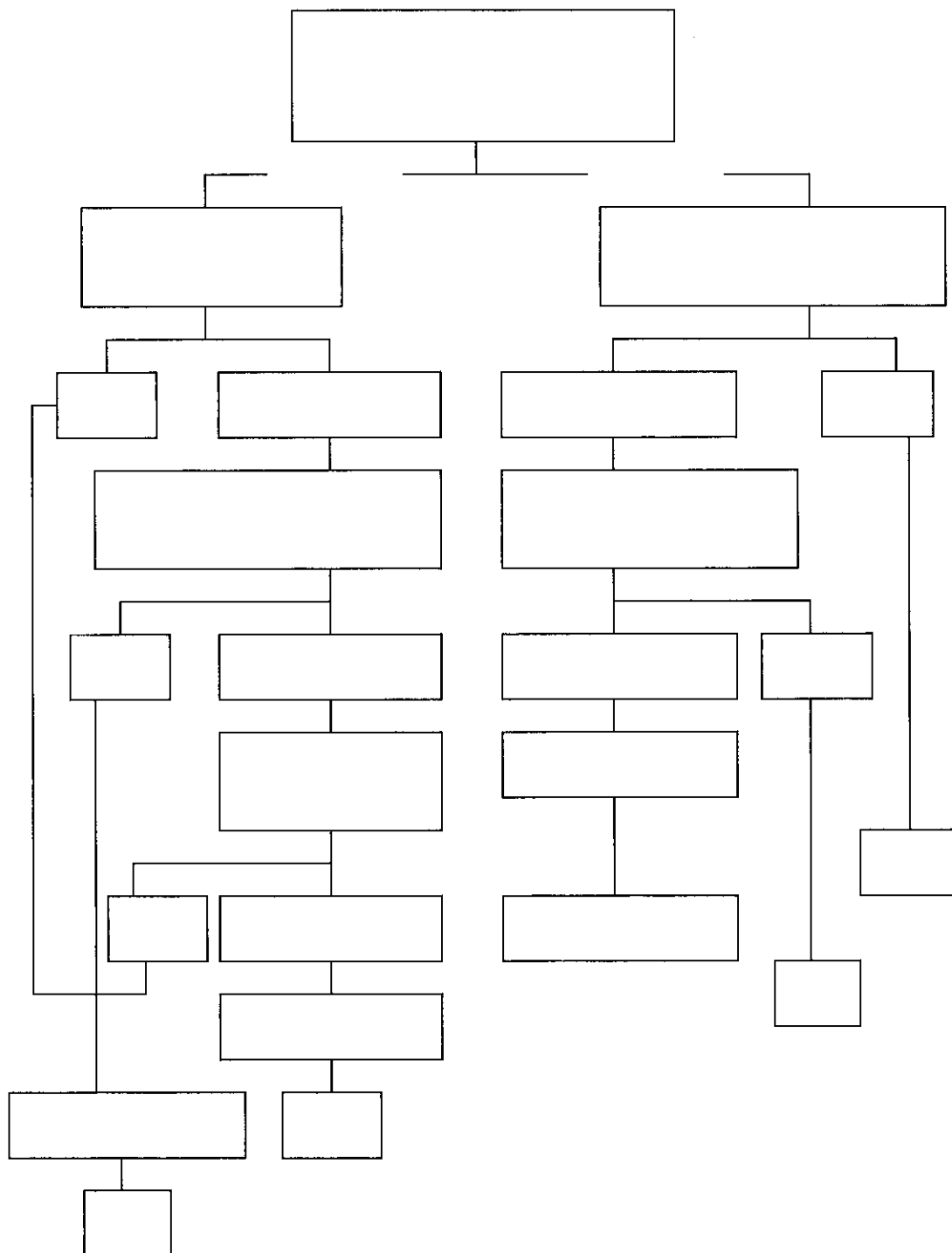
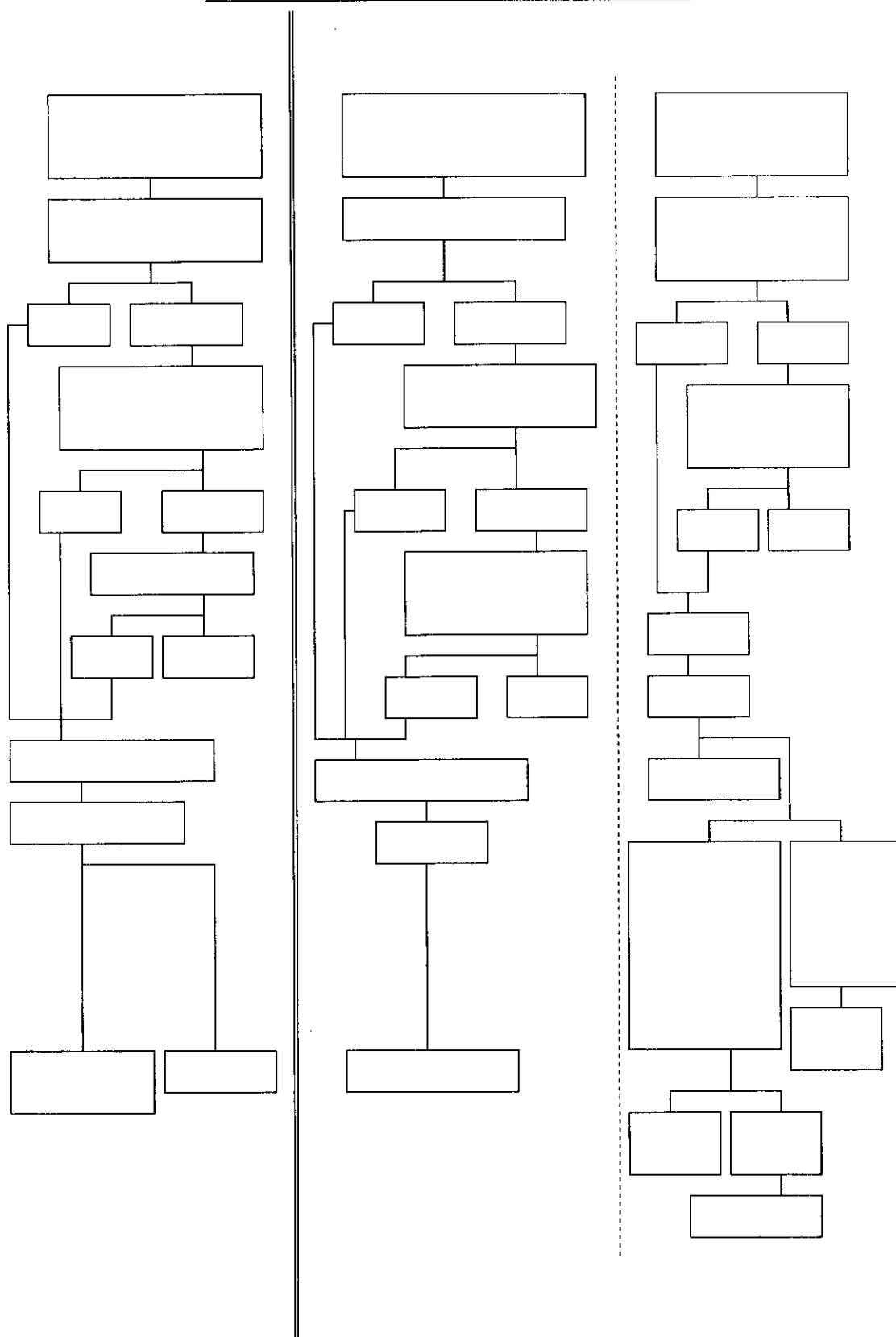


図 2 : 抽出性放射能の検討に関するフローチャート



## 結 果

全放射性残留量（TRR）：圃場栽培ばれいしょの各部位におけるTRR、及び対照ばれいしょ中のTRRを表1及び表2にまとめた。

表 1：圃場栽培ばれいしょの各部位におけるTRR（mg/kg、親化合物換算）

| ばれいしょ<br>作物部位 | CP標識体処理ばれいしょ   |                |                | NP標識体処理ばれいしょ   |                |                |
|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|               | 中間収穫           |                | 最終収穫           | 中間収穫           |                | 最終収穫           |
|               | 第一回            | 第二回            |                | 第一回            | 第二回            |                |
| 茎 部           | 1.289 [99.68%] | 2.682 [98.13%] | 6.575 [98.29%] | 1.366 [99.74%] | 1.916 [99.33%] | 5.895 [98.94%] |
| 塊茎部(皮剥き)      |                |                | 0.080 [ 1.27%] |                |                | 0.032 [ 0.95%] |
| 皮             |                |                | 0.116 [ 0.44%] |                |                | 0.060 [ 0.12%] |
| 皮付き塊茎部        | 0.007 [ 0.32%] | 0.050 [ 1.87%] | 0.087 [ 1.71%] | 0.006 [ 0.26%] | 0.019 [ 0.67%] | 0.038 [ 1.07%] |
| ばれいしょ全体       | 0.815[100.0%]  | 1.350[100.0 %] | 2.892[100.0 %] | 0.857[100.0 %] | 1.147[100.0 %] | 2.760[100.0 %] |

注：第一回及び第二回中間収穫時の塊茎部試料は、皮及び塊茎部(皮剥き)に分割しなかった。

[ ]：各部位への放射能分布率（申請者が算出した。）

フェンアミドンの処理回数が増えるにつれて、各部位におけるTRRが増加した。各収穫時点において、皮付き塊茎部のTRRは茎部の全放射性残留濃度は皮付き塊茎部のTRRを著しく上回った。この部位におけるTRRの違いは、表面積の広い葉が放射性炭素標識フェンアミドンに暴露されたこと、またフェンアミドン及びその代謝物の茎部から皮付き塊茎部への移行が限られているためと考えられた。

表 2：対照ばれいしょの各部位におけるTRR（単位：mg/kg、親化合物換算）

|       | CP 標 識 体 処 理 区 の 対 照 ば れ い し ょ |        |       |        |         |        | NP 標 識 体 処 理 区 の 対 照 ば れ い し ょ |        |       |        |         |       |
|-------|--------------------------------|--------|-------|--------|---------|--------|--------------------------------|--------|-------|--------|---------|-------|
|       | 中 間 収 穫                        |        |       |        | 最 終 収 穫 |        | 中 間 収 穫                        |        |       |        | 最 終 収 穫 |       |
|       | 第 一 回                          |        | 第 二 回 |        |         |        | 第 一 回                          |        | 第 二 回 |        |         |       |
|       | 塊 茎 部                          | 茎 部    | 塊 茎 部 | 茎 部    | 塊 茎 部   | 茎 部    | 塊 茎 部                          | 茎 部    | 塊 茎 部 | 茎 部    | 塊 茎 部   | 茎 部   |
| 洗 浄 液 | <0.001                         | <0.001 | 0.001 | <0.001 | <0.001  | <0.001 | <0.001                         | <0.001 | 0.001 | <0.001 | <0.001  | 0.001 |
| 燃 焼   | <0.001                         | 0.002  | 0.001 | 0.006  | 0.001   | 0.009  | <0.001                         | 0.001  | 0.001 | 0.006  | 0.001   | 0.008 |
| TRR   | <0.001                         | 0.002  | 0.002 | 0.006  | 0.001   | 0.009  | <0.001                         | 0.001  | 0.001 | 0.006  | 0.001   | 0.009 |

対照ばれいしょでは、塊茎部から検出された放射能は<0.001～0.001mg/kg（親化合物換算）であり、茎葉部から検出された放射能は最高で0.009mg/kg（親化合物換算）であった。従って、塊茎部及び茎部のTRRに影響を及ぼす<sup>14</sup>C揮発性生成物の取り込みは、起こらないものと考えられた。

放射能の抽出性：圃場栽培ばれいしょ各部位のTRR抽出性は、表3のとおりであった。

表3：圃場栽培ばれいしょ各部位のTRR抽出性（各部位のTRRに対する％）

| ばれいしょ<br>作物部位 | C P 標 識 体 処 理 |      |       |      |         |      | N P 標 識 体 処 理 |      |       |      |         |      |
|---------------|---------------|------|-------|------|---------|------|---------------|------|-------|------|---------|------|
|               | 中 間 収 穫       |      |       |      | 最 終 収 穫 |      | 中 間 収 穫       |      |       |      | 最 終 収 穫 |      |
|               | 第 一 回         |      | 第 二 回 |      |         |      | 第 一 回         |      | 第 二 回 |      |         |      |
|               | 抽 出           | 非抽出  | 抽 出   | 非抽出  | 抽 出     | 非抽出  | 抽 出           | 非抽出  | 抽 出   | 非抽出  | 抽 出     | 非抽出  |
| 茎 部           | 79.3          | 20.7 | 69.6  | 30.4 | 76.7    | 23.3 | 73.6          | 26.4 | 72.9  | 27.1 | 77.6    | 22.4 |
| 塊茎部(皮剥き)      |               |      |       |      | 75.8    | 24.2 |               |      |       |      | 45.5    | 54.5 |
| 皮             |               |      |       |      | 65.6    | 34.4 |               |      |       |      | 47.5    | 52.5 |
| 皮付き塊茎部        | 85.7          | 14.3 | 86.0  | 14.0 | 73.2    | 26.8 | 66.6          | 33.3 | 63.2  | 36.8 | 46.1    | 53.9 |

抽出：抽出性の放射性成分、非抽出：非抽出性の放射性成分

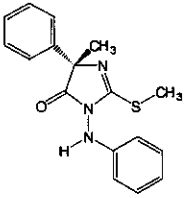
第一回及び第二回中間収穫時の塊茎部試料は、皮及び塊茎部(皮剥き)に分割しなかった。

皮付き塊茎部では、CP標識体処理及びNP標識体処理ばれいしょともに、経時的に非抽出性の放射性成分の量が増大した。また、皮付き塊茎部におけるNP標識体処理ばれいしょの非抽出性の放射性成分は、CP標識体処理ばれいしょに対して約 2～3倍となった。

抽出性の放射性成分の特徴付け及び同定：逆相HPLC法①及び順相TLCにおける、各認証済み標準物質との比較から、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]、

及び

の存在が確認された。また皮抽出液から、低レベルの  
が検出された。

|                                                                                     |     |     |     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| フェンアミドン<br>[代謝物記号A]                                                                 | [ ] | [ ] | [ ] | [ ] |
|  |     |     |     |     |

LC-MS/MSにより、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]、  
が同定された。

最終収穫時のばれいしょ各部位TRR中での、放射性成分の内訳（逆相HPLC①による）を表4に示す。なお、表中の％は、各部位のTRRに対する百分率を示し、mg/kgは親化合物換算である。



## CP標識体処理ばれいしょ

### 茎 部

茎部において最も多く認められた放射性成分は、未変化のフェンアミドン[代謝物記号A]であり、茎部TRRに対して51.41%(3.380mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いで が茎部TRRに対して %( mg/kg)、 が茎部TRRに対して %( mg/kg)認められた。その他の放射性成分として、 が茎部TRRに対して %( mg/kg)、 が茎部TRRに対して %( mg/kg)認められた。

### 皮付き塊茎部

皮付き塊茎部において最も多い放射性成分は、多成分からなる であり、最終収穫時の皮付き塊茎部TRRに対して %( mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いで が皮付き塊茎部TRRに対して % ( mg/kg) が認められた。

その他の放射性成分として、皮付き塊茎部TRRに対して が %( mg/kg)、 が %( mg/kg)、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]が2.28%(0.002mg/kg)、 が %( mg/kg)、 が %( mg/kg)認められた。

なお は茎部からは検出されなかったのに対し、塊茎部からそのTRRに対して %( mg/kg) 検出された。塊茎部で認められた は植物体内を移行したものではなく、むしろ周囲の土壌粒子から皮付き塊茎部に吸収された放射性成分に由来するものと示唆された。従って皮付き塊茎部中の放射性成分は、茎部から移行した放射性成分及び周囲の土壌から吸収した放射性成分から構成されていると考えられる。

## NP標識体処理ばれいしょ

### 茎 部

茎部において最も多く認められた放射性成分は、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]であり、その茎部TRRに対して68.89%(4.061mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いで が茎部TRRに対して % ( mg/kg)、 が茎部TRRに対して %( mg/kg)認められた。

### 皮付き塊茎部

皮付き塊茎部における主要成分は、CP標識体処理ばれいしょの皮付き塊茎部と同様に であり、そのTRRに対して %( mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いでTRRに対して未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]が5.77%(0.002mg/kg)、 が %( <0.001mg/kg)、 が %( mg/kg)認められた。

CP標識体処理ばれいしょで認められた 及び  
 は、NP標識体の標識位置のため認められなかった。  
 は、皮付き塊茎部TRRに対して % ( mg/kg)であった。

極性物質の特徴付け：温室栽培ばれいしょ皮付き塊茎部の抽出液を濃縮し、逆相HPLC①で分析した。その結果、相対保持時間から同一の極性成分が圃場栽培及び温室栽培ばれいしょ塊茎部に存在しているものと考えられた。

逆相HPLC①による、温室栽培した「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ及び「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょの各皮付き塊茎部の、分析結果を表5及び表6に示す。

表5：温室栽培－「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ

| 分析部位   |       | フェンアミドン | 極性物質（計）# | 抽出残渣 | 合 計 |
|--------|-------|---------|----------|------|-----|
| 皮付き塊茎部 | %TRR  |         |          |      |     |
|        | mg/kg |         |          |      |     |

# : 相対保持時間0.12の一本のピークが確認された。  
 %TRR : TRRに対する百分率、 mg/kg : 親化合物換算

表6：温室栽培－「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ

| 分析部位   |       | フェンアミドン | RPA 405862 | 極性物質(計)# | 未知代謝物2 | 抽出残渣 | 合 計 |
|--------|-------|---------|------------|----------|--------|------|-----|
| 皮付き塊茎部 | %TRR  |         |            |          |        |      |     |
|        | mg/kg |         |            |          |        |      |     |

# : 相対保持時間0.14の一本のピークが確認された。  
 %TRR : TRRに対する百分率、 mg/kg : 親化合物換算

温室栽培ばれいしょ皮付き塊茎部の濃縮抽出液を分析した結果、極性物質は複数のピークに分離した。「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部では、極性物質は9ピークに分離し、「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部では、極性物質が4ピークに分離した。

これらの結果を基に、別の最終収穫したCP標識体処理及びNP標識体処理ばれいしょの各塊茎部（皮剥き塊茎部及び皮）中の極性物質組成の特徴について、逆相HPLC②で分析した温室栽培ばれいしょの各皮付き塊茎部の分布パターンを外挿した。

表7～8に、温室栽培ばれいしょ塊茎部中の極性物質の分離パターン及び圃場栽培ばれいしょ塊茎部への外挿結果を示す。

表7：温室栽培－「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部中の極性物質の分離パターン及び圃場栽培－CP標識体処理ばれいしょ塊茎部への外挿

| HPLC② に       |                                      | 極性物質  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|---------------|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| おけるピーク        |                                      | ピーク 1 | ピーク 2 | ピーク 3 | ピーク 4 | ピーク 5 | ピーク 6 | ピーク 7 | ピーク 8 | ピーク 9 | 極性物質  |
| 相対保持時間        |                                      |       |       |       |       |       |       |       |       |       | (計)** |
| 温室栽培<br>(精製後) | %TRR                                 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|               | mg/kg                                |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 圃場栽培          | %TRR**                               |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|               | 表4：皮付き塊茎部における極性物質(計)： mg/kg (TRRの %) |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|               | mg/kg*                               |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |

\*：報告書に記載された外挿値， \*\*：申請者が算出

%：「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ又はCP標識体処理ばれいしょの各塊茎部TRRに対する割合

表8：温室栽培－「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部中の極性物質の分離パターン及び圃場栽培－NP標識体処理ばれいしょ塊茎部への外挿

| HPLC② におけるピーク |                                      | 極 性 物 質 |      |      |      | 極性物質<br>(計) ** |
|---------------|--------------------------------------|---------|------|------|------|----------------|
| 相対保持時間        |                                      | ピークA    | ピークB | ピークC | ピークD |                |
|               | %TRR                                 |         |      |      |      |                |
|               | mg/kg                                |         |      |      |      |                |
| 圃場栽培 *        | %TRR**                               |         |      |      |      |                |
|               | 表4：皮付き塊茎部における極性物質(計)： mg/kg (TRRの %) |         |      |      |      |                |
|               | mg/kg                                |         |      |      |      |                |

\*：報告書に記載された外挿値， \*\*：申請者が算出

%：「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ又はNP標識体処理ばれいしょの各塊茎部TRRに対する割合

また、「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部の精製抽出液に濃ギ酸による酸加水分解処理を行い、HPLC②で分析した。この結果、上記のピーク3及びピーク4に相当するピークは認められず、RPA717879と同じ保持時間のピークが認められ、その塊茎部TRRに対する割合が増加した。

表9に、「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部の濃縮抽出液を酸加水分解した後のプロファイルを示す。

表9：「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部－濃縮抽出液の酸加水分解による分離パターンの変化  
(酸加水分解前)

| HPLC②に        |       | 極性物質 |      |      |      |      |      |      |      |      | 極性物質<br>(計) | のピーク | 合計 |
|---------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------|------|----|
| おけるピーク        |       | ピーク1 | ピーク2 | ピーク3 | ピーク4 | ピーク5 | ピーク6 | ピーク7 | ピーク8 | ピーク9 |             |      |    |
| 相対保持時間        |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |             |      |    |
| 温室栽培<br>(精製後) | %TRR  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |             |      |    |
|               | mg/kg |      |      |      |      |      |      |      |      |      |             |      |    |

(酸加水分解後)

| HPLC②に         |       | 極性物質 |      |      |         |      |      |  | 極性物質<br>(計) | のピーク | 合計 |
|----------------|-------|------|------|------|---------|------|------|--|-------------|------|----|
| おけるピーク         |       | ピーク1 | ピーク2 | ピーク5 | ピーク6及び7 | ピーク8 | ピーク9 |  |             |      |    |
| 相対保持時間         |       |      |      |      |         |      |      |  |             |      |    |
| 温室栽培*<br>(精製後) | %TRR  |      |      |      |         |      |      |  |             |      |    |
|                | mg/kg |      |      |      |         |      |      |  |             |      |    |

従って、HPLC②のピーク3及び4は、RPA717879の抱合体と推定された。

以上の結果から、最終収穫時の圃場栽培ばれいしょ塊茎部における放射能分布を、申請者が以下のようにまとめた。

圃場栽培：CP標識体処理ばれいしょ（最終収穫時）

| 代謝物記号 |     | A          |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|-------|-----|------------|-------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 分析部位  | 名称  | フェン<br>アミド |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|       | 皮付き | mg/kg      | 0.002 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 塊茎部   |     | %          | 2.28  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|       |     |            |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

圃場栽培：NP標識体処理ばれいしょ（最終収穫時）

| 代謝物記号 |       | A       |  |  |  |  |  |  |  |
|-------|-------|---------|--|--|--|--|--|--|--|
| 分析部位  | 名 称   | フェンアミドン |  |  |  |  |  |  |  |
| 皮 付 き | mg/kg | 0.002   |  |  |  |  |  |  |  |
| 塊 茎 部 | %     | 5.77    |  |  |  |  |  |  |  |

以下にフェンアミドンのばれいしょにおける代謝を要約する。

- 最終収穫時の茎部の全放射性残留濃度(5.895～6.575mg/kg、親化合物換算)は、最終収穫時の皮付き塊茎部の全放射性残留濃度(0.038～0.087mg/kg、親化合物換算)を著しく上回った。この部位における全放射性残留濃度の違いは、表面積の広い葉が放射性炭素標識フェンアミドンに暴露されたこと、またフェンアミドン及びその代謝物の茎部から皮付き塊茎部への移行が限られているためと考えられた。
- 最終収穫時の茎部における主要放射性成分は、未変化のフェンアミドンであり、茎部TRRに対して51.41%～68.89%(3.380～4.061mg/kg、親化合物換算)認められた。最終収穫時の茎部におけるその他の主要放射性成分は、  
及び  
であった。  
その他の放射性成分として、  
及び  
が認められ、その生成量はTRRに対して約 % ( mg/kg、親化合物換算)であった。
- 最終収穫時の皮付き塊茎部における主要放射性成分は、  
であった。  
は、CP標識体処理では皮付き塊茎部TRRに対して % ( mg/kg、親化合物換算)、NP標識体処理では皮付き塊茎部TRRに対して30.78% ( mg/kg、親化合物換算)であり、CP標識体処理がNP標識体処理を上回った。  
最終収穫時の皮付き塊茎部におけるその他の主要放射性成分は、  
であった。  
は、CP標識体処理ではTRRに対して % ( mg/kg、親化合物換算)、NP標識体処理ではTRRに対して % ( mg/kg、親化合物換算)であり、NP標識体処理がCP標識体処理を上回った。
- 最終収穫時の皮付き塊茎部におけるこれら極性物質及び抽出残渣の生成量の違いは、供試標識体の標識位置によるものと考えられた。NP標識体の代謝過程で、N-N結合の開裂により非標識の  
及び  
が生成する。この過程で  
が生成するものと考えられる。  
は植物成分と結合することが知られており、これが抽出残渣の生成量の違いにつながったものと考えられる。

5. 最終収穫時の皮付き塊茎部におけるその他の放射性成分として、CP標識体処理では未変化のフェンアミドン[代謝物記号 A]、

及び が認められ、NP標識体処理では未変化のフェンアミドン[代謝物記号 A]、 が認められた。

は茎部から認められなかったが、皮付き塊茎部から認められた。このことから、むしろ周囲の土壌粒子から皮付き塊茎部に吸収された放射性成分に由来するものと考えられた。従って皮付き塊茎部中の放射性成分は、茎部から移行した放射性成分及び周囲の土壌から吸収した放射性成分から構成されていると考えられる。

6. 最終収穫時の皮付き塊茎部から認められた について、CP標識体処理では から構成されており、NP標識体では から構成されていると考えられた。CP標識体処理の の内、2 と考えられた。

フェンアミドンのばれいしょにおける植物代謝経路は、次のとおりと考えられた。

#### ばれいしょにおける想定代謝経路