

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

2. 植物体内運命に関する試験

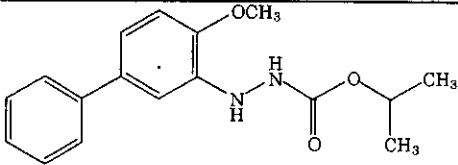
(1) 温州みかんにおける代謝試験

(資料 No. M-7)

試験機関 : (財)残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

供試標識化合物 : 以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.1MBq/mg	

化学名 : Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試植物 : 温州みかん (*C. unshiu Marcovitch*)、5 年生、果実肥大期・後期～着色期・初期。
みかん樹は馴化栽培後、野外ファイトロン内で栽培した。光源は自然太陽光とした。

試験方法 :

D2341 の処理

1) 施用液の調製及び施用量

200ppm の水和剤施用液を調製し、420g a. i. /ha* を目標施用量として処理を行った (1996 年 9 月 25 日)。施用量は、散布予定果樹 4 個体の平均樹形面積 (1661cm²) を基準として計算した。実際の施用量は 7.34±0.93mg/果樹 (目標量達成率 105%) であった。

*申請者注) 日本でのかんきつへの申請散布量は、267~1400g ai/ha である。

2) 施用法

D2341 の処理回数は 1 回とした。施用方法は、みかん樹全面への手動散布とした。スチール製の枠をビニールシートで覆った直径 70cm の散布容器内にみかん樹を 1 個体ずつ収容した。ポットは散布液で汚染されないように防護したが、土壌表面は露出させて散布液が落下するようにした。鉢はターンテーブル上に置き、散布中ターンテーブルを回転させてみかん樹への均一散布を行った。

試験設計及び試料の採取

下記 3 種類の実験区を設定した。実験目的を右に記した (原報告書 26 頁)。

実験区 FA	果実表面、果皮及び果肉における放射能の分布 各部位の主要放射性残留物の測定
実験区 FB	果実全体に残る放射性残留物の測定
実験区 L	葉表面と葉組織における放射能の分布 各部位の主要放射性残留物の測定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

処理後の4個体のみかん樹及び非処理対照みかん樹から、下表中に示した点数の果実及び葉試料を各時点で採取し、放射性総残留物（TRR）濃度と代謝物比率（%TRR）を測定した。

（原報告書 33 頁）

果樹番号	0 時点	28 日	56 日	84 日 (成熟期)
果実試料				
1 (非処理対照区)	0	1 ^a + 1 ^b	0	1 ^a + 1 ^b
2 (処理区)	2 ^{a, c} + 1 ^b	1 ^a + 1 ^b	1 ^a + 1 ^b	3 ^{a, c} + 1 ^b
3 (処理区)	2 ^{a, c} + 1 ^b	1 ^a + 1 ^b	1 ^a + 1 ^b	3 ^{a, c} + 1 ^b
4 (処理区)	2 ^{a, c} + 1 ^b	1 ^a + 1 ^b	1 ^a + 1 ^b	3 ^{a, c} + 1 ^b
5 (処理区/予備) ^d				2 ^e
葉試料				
1 (非処理対照区)	0	1 ^f	0	1 ^f
2 (処理区)	} A : 1 ^{f, g}	1 ^{f, g}	1 ^{f, g}	1 ^{f, g}
3 (処理区)				
4 (処理区)	} B : 1 ^{f, g}	1 ^{f, g}	1 ^{f, g}	1 ^{f, g}
5 (処理区/予備) ^d				

^a 実験区 FA（表面洗浄後に果皮と果肉に分離し、それぞれを分析）

^b 実験区 FB（表面洗浄を行わず全果実を分析）

^c 各果樹の果実をまとめ、1 点の混成試料を調製。

^d 果樹番号 2～4 で収穫試料に不足が生じた場合の予備果樹。

^e 予備果樹の一部の果実と葉は、散布処理時にビニール袋で覆って保護。最終収穫時に 2 点の果実及び葉試料をそれぞれ採取し、処理部位から未処理部位への放射能のシフト移行を測定。

^f 実験区 L（表面洗浄を行い、表面洗浄液と葉組織それぞれを分析）

^g 果樹 2 個体から無作為に 5 枚の葉を採り、これらを合わせて 1 点の混成試料を調製。

A、B：葉試料の識別コード

試料の分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

1) 添加回収実験

非処理のみかん植物体試料（全果実、果皮、果肉及び葉）に既知量の D2341 7セトリル 溶液を添加し、試料分析の方法で回収率を測定した結果、 D2341 の回収率は 99.8～106.4%の範囲であり、分析法の妥当性が確認された（原報告書 Table 3～5）。

2) 実験区 FA（果実の表面洗浄、果皮及び果肉分析）

2-1) 放射能の分布

表面洗浄、果皮及び果肉における放射能の分布を表 1 に示した。

散布直後（0 日）におけるみかん果実の総放射性残留物濃度（TRR）は 0.67ppm であった。さらに、28 日後、56 日後及び 84 日後にはそれぞれ 0.30、0.15、0.28ppm となった。

表面洗浄液中に回収された放射能は散布直後で 85%であり、以後減少したが 84 日後でも 55%を占めていた。果皮には散布直後で 15%が認められ、84 日後には 41%に増加したのみであった。

果肉中の TRR 濃度は 84 日後でも 0.0109ppm、5%TRR 未満であった。

みかん果実表面に処理された D2341 の果実組織中への浸透移行速度は遅かった。浸透した放射能の大部分は果皮に存在し、果肉に移行した比率は低かった。

表 1 実験区 FA の果実表面洗浄液、果皮及び果肉における放射能の分布

（原報告書 Table 6 より抜粋）

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR（3 連の平均）

	散布直後(0 日)	28 日後	56 日後	84 日後
表面洗浄液	0.5856(85.00)	0.2247(72.44)	0.0945(59.58)	0.1551(54.90)
果皮(抽出液+抽出残渣)	0.0825(14.70)	0.0694(25.45)	0.0536(35.65)	0.1135(41.01)
果肉(抽出液+抽出残渣)	0.0020(0.30)	0.0041(2.11)	0.0061(4.77)	0.0109(4.09)
合計	0.6701(100.00)	0.2982(100.00)	0.1543(100.00)	0.2795(100.00)

2-2) 放射性成分の分析

実験区 FA の果実中に認められた主要な放射性成分の濃度及び%TRR を表 2 に示した。

表面洗浄液：いずれの時点でも、未変化の D2341（記号 A）が主成分として検出された。その比率は散布直後で 83%TRR、84 日後で 38%TRR であった。

果皮抽出液：ヘキサン・酢酸エチル溶出液画分（低極性成分）においても未変化の D2341（記号 A）が主成分として検出された（10%TRR 程度）。

果皮抽出残渣：リクスレ抽出及び酵素処理と化学的抽出により特徴付けを行った結果、ペクチン、リグニン及びセルロース画分に分布していることがわかった。

果肉抽出液：84 日後のヘキサン・酢酸エチル溶出液画分に、未変化の D2341（記号 A）が 0.4%TRR 検出された。水溶出液画分中の放射性成分は本質的に果皮と同様であった。

果実全体で見ると、主成分は未変化の D2341（記号 A）であった（>50%TRR）。

表 2 実験区 FA の果実中放射性成分濃度及び比率（原報告書 Table15～16）

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR（3 連の平均）

	散布直後(0 日)			28 日後			56 日後			84 日後			
	表面 洗浄液	果皮： ヘキサン/酢酸 エチル溶出液	合計	表面 洗浄液	果皮： ヘキサン/酢酸 エチル溶出液	合計	表面 洗浄液	果皮： ヘキサン/酢酸 エチル溶出液	合計	表面 洗浄液	果皮： ヘキサン/酢酸 エチル溶出液	果肉： ヘキサン/酢酸 エチル溶出液	合計
D2341 (記号 A)	0.5704 (82.62)	0.0619 (11.36)	0.6323 (93.98)	0.1890 (61.38)	0.0293 (11.13)	0.2183 (72.51)	0.0753 (47.98)	0.0162 (10.73)	0.0914 (58.72)	0.1098 (38.19)	0.0337 (11.66)	0.0012 (0.42)	0.1447 (50.27)
合計			0.6627 (98.79)			0.2991 (100.37)			0.1546 (100.19)				0.2796 (99.84)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

3) 実験区 FB (全果実分析)

3-1) 果実中 TRR

みかん全果実中の TRR は実験区 FA 果実のそれと類似しており、散布直後 (0 日)、28 日後、56 日後及び 84 日後でそれぞれ 0.45ppm、0.48ppm、0.20ppm 及び 0.32ppm であった (原報告書 Table 17)。

3-2) 放射性成分の分析

実験区 FB の果実中に認められた主要な放射性成分の濃度及び比率を表 3 に示した。

主成分である未変化の D2341 (記号 A)

の定量結果は、実験区 FA 果実の結果とほぼ同様であった。

表 3 実験区 FB の果実中主要放射性成分の濃度及び比率 (原報告書 Table 23)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR (3 連の平均)				
	散布直後 (0 日)	28 日後	56 日後	84 日後
ヘキサン/酢酸エチル溶出液				
D2341 (記号 A)	0.4164 (89.92)	0.3372 (67.66)	0.1089 (54.22)	0.1450 (44.33)
水溶出液	0.0021 (0.45)	0.0084 (2.53)	0.0087 (4.81)	0.0164 (5.37)
アセトリル/メタノール溶出液**	0.0023 (0.54)	0.0169 (3.83)	0.0272 (13.20)	0.0486 (15.54)
抽出残渣	0.0063 (1.46)	0.0276 (5.88)	0.0215 (11.12)	0.0358 (10.97)
合計	0.4526 (98.31)	0.4683 (97.51)	0.1943 (98.82)	0.3122 (97.56)

*20 画分の合計値

**56 日後及び 84 日後のアセトリル/メタノール溶出液画分から 0.0097ppm (3.86%TRR) 及び 0.0046ppm (1.40%TRR) の D2341 が検出された。

4) 実験区 L (葉の表面洗浄及び葉組織分析)

4-1) 放射能の分布

葉の表面洗浄液と葉組織から検出された放射能の分布を表 4 に示した。

散布直後 (0 日)、28 日後、56 日後及び 84 日後の TRR は、それぞれ 34ppm、24ppm、21ppm 及び 16ppm となった。表面洗浄液中に回収された放射能比率は散布直後で 98%、84 日後で 71%であった。みかん葉に処理された D2341 の浸透移行速度は、果実より遅かった。

表 4 実験区 L の葉における放射能の分布 (原報告書 Table24 より抜粋)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR (2 連の平均)				
	散布直後 (0 日)	28 日後	56 日後	84 日後
表面洗浄液	33.2806 (97.74)	20.1367 (85.65)	15.6716 (75.43)	11.6939 (71.08)
葉組織 (抽出液+抽出残渣)	0.7844 (2.26)	3.3724 (14.35)	5.1055 (24.57)	4.7974 (28.92)
合計	34.0650 (100.00)	23.5091 (100.00)	20.7771 (100.00)	16.4913 (100.00)

4-2) 放射性成分の分析

実験区 L の葉中に認められた主要な放射性成分のべルを表 5 に示した。

葉における代謝運命は、果実中と同様であった。主放射性成分はいずれの時点でも未変化の D2341 (記号 A) であり、施用 84 日後でも約 55%TRR を占めた。

表 5 実験区 L の葉中主要放射性成分の濃度及び比率 (原報告書 Table31~32)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR (3 連の平均)

	散布直後 (0 日)			28 日後			56 日後			84 日後		
	表面 洗浄液	ペクチン/酢 酸エチル溶 出液	合計	表面 洗浄液	ペクチン/酢 酸エチル溶 出液	合計	表面 洗浄液	ペクチン/酢 酸エチル溶 出液	合計	表面 洗浄液	ペクチン/酢 酸エチル溶 出液	合計
D2341 (記号 A)	31.2956 (91.78)	0.5336 (1.51)	31.8292 (93.30)	15.7240 (66.89)	0.9382 (3.99)	16.6623 (70.88)	10.7284 (51.62)	1.3675 (6.58)	12.0959 (58.20)	8.0651 (48.78)	1.0831 (6.39)	9.1482 (55.17)
水溶出液			0.0142 (0.04)			0.1581 (0.67)			0.3471 (1.67)			0.4038 (2.44)
ペクチン/酢酸エチル溶 出液			0.0234 (0.07)			0.4012 (1.71)			0.8978 (4.32)			0.9582 (5.87)
抽出残渣			0.0551 (0.16)			0.9088 (3.87)			1.2273 (5.91)			1.1368 (6.91)
合計			34.0947 (100.08)			23.3309 (99.24)			20.7631 (99.93)			16.3318 (99.02)

5) 温州みかん代謝のまとめ

みかん樹に施用した D2341 の大部分は表面に留まり、果実及び葉内部に移行する比率は低かった。果実において 10%TRR 及び 0.01ppm を越える代謝物は検出されなかった。最も主要な代謝物は、最高比率で TRR (84 日後)、最高濃度で (0 日後) のであった。

D2341 のみかん果実及び葉における想定代謝経路を図に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

図 D2341 のみかん果実及び葉における想定代謝経路（原報告書 Figure38）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(2) 温州みかんにおける代謝試験 (及び D2341 の比較代謝)

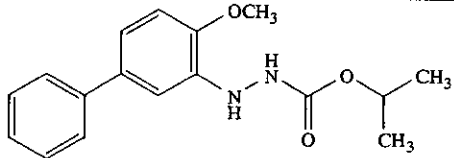
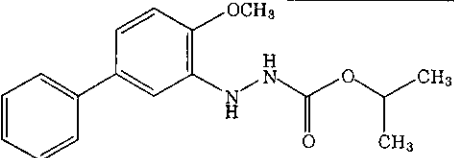
(資料 No. M-8)

試験機関 : 日産化学工業(株)

報告書作成年 : 2000 年

目的 : 及び D2341 を用いて比較代謝試験を行い、植物における D2341 の運命を明らかにする。

供試標識化合物 : 以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		7.07MBq/mg	
D2341		4.1MBq/mg	

化学名 : Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試植物 : 温州みかん (果実を有する市販のポット植えみかん樹 2 鉢)

みかん樹は馴化栽培後、RI 用温室内で栽培した。光源は自然太陽光とした。

試験方法 :

及び D2341 のみかん果実への処理

各標識体のみかん樹各 1 本/鉢を供試し、各樹につき同様の大きさの果実 2 個ずつに処理を行った。

各標識 D2341 のアセトリル溶液を調製し、みかん果実の上部表面にマイクロシリンジにて処理した。処理量を以下に示した。

; 90.9 μg /約 1,140,000dpm/100 μL アセトリル/10 cm^2 果実表面/個

; 93.2 μg /約 1,160,000dpm/100 μL アセトリル/10 cm^2 果実表面/個

みかん樹の栽培及び試料の採取

温室内の温度は 25 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度は 50%に設定し、毎日適量灌水してみかん樹を栽培した。

処理 14 日後に、各標識体を処理した果実 2 個ずつを採取し、分析に供した。

果実の分析

放射能の測定

抽出液は、乳化シンチレーターを加えて液体シンチレーションカウンター (LSC) にて放射能を測定した。抽出残渣は、燃焼法により処理後 LSC 測定した。TLC プレート上の放射能は、イメージングプレート法により検出した。

試験結果：

果実中放射能の分布

各標識 D2341 処理後 14 日目の果実における放射能分布を表 1 に示した。

表 1 及び 標識 D2341 処理 14 日後のみかん果実中放射能の分布
(原報告書 Table 2 より平均値を抜粋) (処理放射能に対する%)

表面洗浄 (SR)		81.3	75.8
果皮	有機可溶画分 (Org)	5.3	10.0
	水画分 (Aq)	0.4	1.2
	小計 (Ext)	5.7	11.2
	抽出残渣 (Res)	3.8	6.7
	合計	9.5	17.9
果肉	80%アセトリル (Ext)	<0.1	<0.1
	抽出残渣 (Res)	<0.1	<0.1
	合計	<0.1	<0.1
回収		90.8	93.7

表面洗浄液中には、 で 81.3%、 で 75.8%が検出された。果皮中には、それぞれ 9.5%及び 17.9%が認められた。果肉から放射能は検出されなかった。果実からの処理放射能に対する回収率は、 で 90.8%、 で 93.7%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日産化学工業株式会社にある。

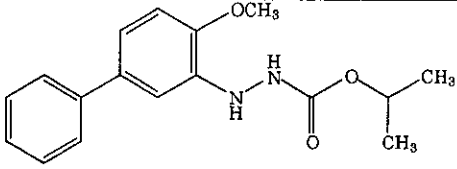
(3) オレンジにおける代謝試験

(資料 No.M-9)

試験機関 : Ricerca, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

供試標識化合物 : 以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.2MBq/mg	

化学名 : Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試植物 : 4 回目の結実期を迎えるバレンシアオレンジ 樹 (高さ約 3.5 フィート、樹冠直径約 3 フィート)

試験方法 :

被験物質の施用

被験物質は水和剤 (50WP) の剤型で製剤化し、茎葉散布によりオレンジ 樹に散布した。タニの活動期である早春 (1995 年 5 月 8 日) に 1 回処理を実施した。

2 本の果樹には予定圃場施用量である 0.375 ポンド / エーカー、1 本の果樹には過剰施用量である 2.0 ポンド / エーカー (5.3 倍) で施用した。1 本の樹は未処理 (対照区) とした。

各果樹への被験物質施用量を以下に示した。

	果樹 1 (0.375 ポンド / エーカー)	果樹 2 (0.375 ポンド / エーカー)	果樹 3 (2.0 ポンド / エーカー)
施用 mg 数	55.58	55.58	303.36
施用 MBq 数	63.42	63.42	346.06

申請者注) 0.375 ポンド / エーカーは 420 g ai/ha、2.0 ポンド / エーカーは 2240 g ai/ha に相当する。

日本でのかんきつへの申請散布量は、267~1400g ai/ha である。

施用 MBq 数は、原報告書の施用 mCi 数より申請者が換算した。

試料の採取

成熟果実 : 収穫日を以下に示した。加工処理しない果実は分析まで -5℃ 以下で保存した。

処理 43 日後、184 日後、274 日後、442 日後

葉 : 葉試料は、0 時点及び成熟果実を収穫した時点 (274 日後を除く) に採取した。

0 時点の葉試料は、被験物質の施用を立証することを目的として採取した。

成熟果実の加工処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

成熟レンジの分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

葉の分析

代謝物の同定あるいは特徴付け

試料の保存条件及び安定性

被験物質の溶液と葉及び果実試料は全て-5℃以下の冷凍庫中で保存した。試料は全て収穫後 30 日以内に抽出し、分析した。

試験結果：

1) 成熟オレンジ中の総放射性残留物 (TRR)

成熟オレンジ果実の表面洗浄液、ジュース、果肉及び果皮画分の TRR 値とそれらの総計で求めた全果実の TRR 値を表 1 に示した。

通常施用量である 0.375 ポンド/エーカーで処理後 43 日に収穫した成熟果実中 TRR は 0.353ppm であった。処理 184、274 及び 442 日後にはそれぞれ 0.096ppm、0.095ppm 及び 0.013ppm に減少した。2.0 ポンド/エーカー (5.3 倍) 処理の場合も TRR の同様な減衰が認められた。

表 1 成熟オレンジ果実の放射性残留物

0.375 ポンド/エーカー (原報告書 Table I 及び II より抜粋)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR、2 本の果樹の平均

	43 日後	184 日後	274 日後	442 日後
表面洗浄液	0.275 (77.8)	0.042 (43.0)	0.021 (22.1)	0.001 (7.6)
果皮(抽出液+抽出残渣)	0.070 (20.2)	0.050 (52.0)	0.068 (71.0)	0.009 (66.8)
果肉(抽出液+抽出残渣)	0.003 (0.9)	0.002 (2.0)	0.004 (3.7)	0.002 (14.8)
ジュース(抽出液+抽出残渣)	0.005 (1.2)	0.003 (3.1)	0.003 (3.2)	0.001 (10.8)
全果実	0.353 (100)	0.096 (100)	0.095 (100)	0.013 (100)

2.0 ポンド/エーカー (原報告書 Table III より抜粋)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR

	43 日後	274 日後	442 日後
表面洗浄液	1.182 (80.6)	0.020 (24.5)	0.004 (12.2)
果皮(抽出液+抽出残渣)	0.259 (17.7)	0.045 (55.9)	0.020 (61.9)
果肉(抽出液+抽出残渣)	0.013 (0.9)	0.010 (12.8)	0.005 (15.5)
ジュース(抽出液+抽出残渣)	0.012 (0.8)	0.005 (6.8)	0.003 (10.4)
全果実	1.466 (100)	0.081 (100)	0.032 (100)

表面洗浄を行わずに収穫した全オレンジ果実中の総放射性残留物も測定し、代表的試料 (1995 年 6 月収穫、処理 43 日後) について得られたデータを表 2 に示した。

全果実の平均の TRR 値は、表 1 に示した結果 (各画分の合計で算出した TRR 値) とよく一致した。残留レベルの変動は、サンプルサイズや果実に到達した散布量が様々であったことに起因すると考えられる。

表 2 成熟オレンジ果実の放射性残留物、全果実分析 (原報告書 47 頁)

数値は ppm eq.

	果樹 1 0.375 ポンド/エーカー	果樹 3 2.0 ポンド/エーカー
反復 1 ^a	0.284	1.045
反復 2 ^a	0.400	1.887
平均	0.342	1.466

^aそれぞれの反復試料について 2 個のオレンジを 1 セットとして収穫

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

2) 葉試料中の総放射性残留物 (TRR)

処理後 0、43 及び 184 日収穫の葉試料中の総放射性残留物 (TRR) パールを測定し、データを表 3 に示した。

表 3 葉試料中の放射性残留物 (原報告書 47 頁)

数値は ppm eq.

収穫日(処理後日数)	0.375 ポンド/エーカー ^a	2.0 ポンド/エーカー
1995/ 5/ 8 (0)	27.6 ^a	110.3
1995/ 6/20 (43)	20.6 ^b	89.5
1995/11/ 8 (184)	5.4 ^b	23.9

^a2 本の果樹のパール試料

^b2 本の果樹についての平均値

3) 成熟オレンジ中の放射性残留物の分布

成熟オレンジ中の D2341 の濃度及び%TRR を表 4 に示した。

成熟オレンジ中の D2341 の比率は、通常施用量では処理 43 日後試料における 75.1% (0.266ppm) から、処理 442 日後収穫試料では 9.2% (0.001ppm) に減少した。

極性画分は、通常施用量処理 43 日後に収穫した成熟オレンジ中の TRR の約 8% (5.3 倍施用量処理の成熟果実では約 6%) から処理 274 日後試料の 40%までを占めていた。極性画分中の各成分は TRR の 1% (0.005ppm; 通常施用量) 未満であり、酸、塩基又は酵素加水分解後において単一の主要残留物は認められなかった。

表 4 成熟オレンジ中の D2341、及び極性画分 (原報告書 Table II 及び III より抜粋)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR

処理量	0.375 ポンド/エーカー				2.0 ポンド/エーカー		
処理後日数	43 日後	184 日後	274 日後	442 日後	43 日後	274 日後	442 日後
D2341 (記号 A)	0.266 (75.1)	0.035 (36.7)	0.015 (15.3)	0.001 (9.2)	1.161 (79.2)	NA	NA
極性画分 ^a	0.028 (7.9)	0.024 (25.7)	0.038 (39.5)	0.005 (39.5)	0.086 (5.9)	NA	NA

NA: 分析せず

^a 溶媒先端近く (Rt は 2~5 分) の幅広い区域に溶出した HPLC 領域

いずれの施用量でも、処理 43 日後試料は最も高濃度の放射性残留物を含有しており、成熟オレンジ中の残留物分布を代表するものとして分析し、それらの HPLC 分析結果を表 5 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 5 処理 43 日後成熟オレンジ中の放射性残留物（原報告書 Table IV 及び V）

0.375 ポンド/エーカー

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR、2本の果樹の平均

	表面洗浄	果皮	果肉	ジュース	全果実
アセトニトリル抽出画分	0.275 (77.8)	0.040 (11.5)	0.002 (0.5)	0.004 (1.0)	0.321 (90.8)
50%アセトニトリル抽出画分	NA	0.008 (2.4)	0.001 (0.2)	NA	0.009 (2.6)
抽出画分合計	0.275 (77.8)	0.048 (13.9)	0.003 (0.7)	0.004 (1.0)	0.330 (93.3)
D2341 (記号 A)	0.259 (73.2)	0.004 (1.0)	0.001 (0.2)	0.003 (0.7)	0.266 (75.1)
残留物合計	0.275 (77.8)	0.070 (20.2)	0.003 (0.9)	0.005 (1.2)	0.353 (100)

2.0 ポンド/エーカー

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR

	表面洗浄	果皮	果肉	ジュース	全果実
アセトニトリル抽出画分	1.182 (80.6)	0.147 (10.0)	0.006 (0.4)	0.009 (0.6)	1.343 (91.6)
50%アセトニトリル抽出画分	NA	0.038 (2.6)	0.003 (0.2)	NA	0.041 (2.8)
抽出画分合計	1.182 (80.6)	0.185 (12.6)	0.009 (0.6)	0.009 (0.6)	1.384 (94.4)
D2341 (記号 A)	1.121 (76.5)	0.037 (2.5)	0.001 (0.1)	0.001 (0.1)	1.161 (79.2)
残留物合計	1.182 (80.6)	0.259 (17.7)	0.013 (0.9)	0.012 (0.8)	1.466 (100)

NA：該当なし、BD：検出限界（0.001ppm）以下

^a 溶媒先端近く（Rt は 2～5 分）の幅広い区域に溶出した HPLC 領域

6) 保存中試料の安定性

-5℃以下で保存した試料の安定性を評価するために、約 14 ヶ月間保存していた 6 月収穫の代表的なジュース、果肉及び果皮試料を抽出し、試料分析の方法に従って分析した。それらの HPLC パターンから、凍結保存条件下では D2341 残留物がオレンジ中で安定であることが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

7) オレンジ 試料からの抽出効率

対照区のジュース、果肉及び果皮試料に D2341 を添加して抽出手順中における安定性を証明した。ジュースと果肉試料には 0.9ppm で添加し、果皮には 0.8ppm で添加した。試料分析の方法により、ジュース、果肉及び果皮試料中の放射能の 99%以上が抽出され、91%以上が D2341 であった。すなわち、これらの抽出条件下では、D2341 の分解は少ないことが示された。

8) 想定代謝経路

図 D2341 のオレンジにおける想定代謝経路（原報告書 Figure28）

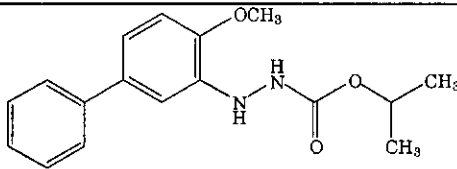
(4) りんごにおける代謝試験

(資料 No. M-10)

試験機関 : Ricerca, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

供試標識化合物 : 以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.2MBq/mg	

化学名 : Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試植物 : Granny Smith 種りんご樹、1987 年に移植され果樹園で栽培された樹

試験方法 :

被験物質の施用

被験物質は水和剤 (50WP) の剤型で製剤化し、茎葉散布によりりんご樹に散布した。ダニの活動期である晩春 (1996 年 6 月 21 日) に 1 回処理を実施した。

2 本のりんご樹には予定圃場施用量である 0.375 ポンド/エーカー、1 本の果樹には過剰施用量である 2.0 ポンド/エーカー (5.3 倍) で施用した。1 本の樹は未処理 (対照区) とした。

製剤化した被験物質の実際の施用量を以下に示した。

	果樹 2 (0.375 ポンド/エーカー)	果樹 3 (0.375 ポンド/エーカー)	果樹 4 (2.0 ポンド/エーカー)
施用 mg 数	41.8	42.6	210.7
施用 MBq 数	60.53	61.64	304.92

申請者注) 0.375 ポンド/エーカーは 420 g ai/ha、2.0 ポンド/エーカーは 2240 g ai/ha に相当する。

日本でのりんごへの申請散布量は、267~1400g ai/ha である。

施用放射能は原報告書には mCi で表記されている。申請者が MBq に換算した。

試料の採取

自然の成熟期 (処理 101 日後、1996 年 9 月 30 日) にりんごを採取した。

未成熟果実試料を処理 31 日後に採取した。0 時点と収穫期には葉も採取した。

りんごの加工処理 (成熟果実)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

果樹 3 (0.375 ポンド / エーカー) と果樹 4 (2.0 ポンド / エーカー) の 2 個の成熟果実 2 セットを、それぞれ表面洗浄せずに分析した。凍結したりんごを小片に切断し、ブレンダーを用いて磨碎し、細胞を破砕した。

成熟りんご（画分）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日産化学工業株式会社にある。

代謝物の同定あるいは特徴付け

試料の保存条件及び安定性

被験物質の溶液と葉及び果実試料は全て-5℃以下の冷凍庫中で保存した。試料は全て収穫後 30 日以内に抽出し、分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

1) 成熟りんご中の総放射性残留物 (TRR)

成熟果実の表面洗浄液、ジュース及び絞るかす画分の TRR 値とそれらの総計で求めた全果実の TRR 値を表 1 に示した。

全果実の TRR は 0.375 ポント/エカ-処理で、0.08~0.09ppm、2.0 ポント/エカ-処理で 0.37ppm であった。

表 1 処理 101 日後成熟りんご果実の放射性残留物 (原報告書 Table I より抜粋)

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR

	0.375 ポント/エカ-		2.0 ポント/エカ-
	果樹 2	果樹 3	果樹 4
表面洗浄液	0.042 (49.7)	0.054 (59.9)	0.244 (65.5)
絞るかす(抽出液+抽出残渣)	0.034 (40.2)	0.027 (29.6)	0.096 (25.7)
ジュース	0.008 (10.1)	0.010 (10.6)	0.033 (8.9)
全果実	0.084 (100)	0.091 (100)	0.373 (100)

表面洗浄を行わずにホゲナイズした全果実中の総放射性残留物濃度を表 2 に示した。

ホゲナイズした全果実の平均の TRR 値は、表 1 の結果 (各画分の合計で算出した TRR 値) とよく一致した。

表 2 成熟りんご果実の放射性残留物、全果実分析 (原報告書 52 頁)

数値は ppm eq.

	果樹 3	果樹 4
	0.375 ポント/エカ-	2.0 ポント/エカ-
反復 1 ^a	0.072	0.305
反復 2 ^a	0.084	0.331
平均	0.078	0.318

^aそれぞれの反復試料について 2 個のりんごを 1 セットとしてホゲナイズ

2) 葉試料中の総放射性残留物 (TRR)

処理後 0 及び 101 日収穫の葉試料中の総放射性残留物 (TRR) レベルを測定し、データを表 3 に示した。

表 3 葉試料中の放射性残留物 (原報告書 52 頁)

数値は ppm eq.

収穫日(処理後日数)	0.375 ポント/エカ- ^a	2.0 ポント/エカ-
1996/ 6/21 (0)	60.0	310.5
1996/ 9/30 (101)	9.3	70.8

^a2 本の果樹についての平均値

3) 成熟りんご中の放射性残留物の分布

成熟りんご中の放射性残留物の濃度及び%TRRを表4に示した。

成熟りんご中の D2341 (記号 A) の比率は、通常施用では TRR の 33.6% (0.030ppm)、5.3 倍施用では TRR の 46.9% (0.175ppm) であった。成熟果実中 5%TRR を超えた代謝物はのみであった。

可溶化画分中には多数の微量成分が存在していた。

10%TRR を越えた 2~8.5 分の極性画分領域は改良 HPLC 法により多数の微量成分に分離され、各成分は 0.008ppm 以下であると推定された。酸、塩基及び酵素加水分解によっても変化は認められなかった。

表4 成熟りんご中の放射性残留物濃度 (原報告書 Table II 及び III)

0.375 ポイント/エーカ-

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR、2本の果樹の平均

	表面洗浄	絞るかす	ジュース	全果実
アセトニトリル抽出画分	0.049 (54.8)	0.008 (9.2)	0.009 (10.4)	0.065 (74.3)
50%アセトニトリル抽出画分	NA	0.006 (6.8)	NA	0.006 (6.8)
抽出画分合計	0.049 (54.8)	0.014 (16.0)	0.009 (10.4)	0.071 (81.1)
D2341 (記号 A) ^a	0.029 (33.0)	0.001 (0.6)	< 0.001 (0.1)	0.030 (33.6)
残留物合計	0.049 (54.8)	0.031 (34.9)	0.009 (10.4)	0.088 (100)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

2.0 ポイント/エーカ-

数値は ppm eq.、カッコ内は%TRR

	表面洗浄	絞るかす	ジュース	全果実
アセトリル抽出画分	0.244 (65.5)	0.025 (6.7)	0.033 (8.9)	0.303 (81.1)
50%アセトリル抽出画分	NA	0.013 (3.6)	NA	0.013 (3.6)
抽出画分合計	0.244 (65.5)	0.038 (10.3)	0.033 (8.9)	0.316 (84.7)
D2341 (記号 A) ^a	0.173 (46.5)	0.001 (0.4)	< 0.001 (<0.1)	0.175 (46.9)
残留物合計	0.244 (65.5)	0.096 (25.7)	0.033 (8.9)	0.373 (100)

NA : 該当なし

^aMS 及び HPLC データより確認 (過量処理試料より分離)

^aMS 及び HPLC データより確認、 は 19.5～25 分領域に溶出

抽出不能残渣の特徴付け：

塩基処理により 5.3 倍施用の成熟果実の絞るかす (PES) 中放射能の大部分 (約 71%、10.0% TRR) が遊離された。塩基で遊離された放射能の約 83% (8.4% TRR) が酢酸エチルに分配された。この HPLC クロマトグラムから、残留濃度が 0.005ppm を超える単一の放射能領域はなかった。

この分析により、りんご中の抽出不能残留物は、D2341 の広範な代謝及び植物体構成成分との結合の結果によるものであることが示唆された。

4) 保存中試料の安定性

-5℃以下で保存した試料の安定性を評価するために、約 6 ヶ月間保存していた成熟りんごの代表的なジュース及び絞るかす試料を抽出し、試料分析の方法にしたがって分析した。それらの HPLC パターンから、凍結保存条件下では D2341 残留物がりんご媒体中で安定であることが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

5) りんご試料からの抽出効率

対照区のジュース及び絞るかす試料に D2341 を添加し (0.1ppm)、抽出手順中における安定性を証明した。

絞るかす試料中の放射能の 99%以上が抽出され、添加放射能の 95%以上が D2341 であった。

ジュース試料は、添加放射能の 98%以上が D2341 として回収されたが、ジュース中に施用した D2341 の約 72%が に変換されていた。

6) 想定代謝経路

図 D2341 のりんごにおける想定代謝経路 (原報告書 Figure31)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(5) なす幼植物における代謝試験

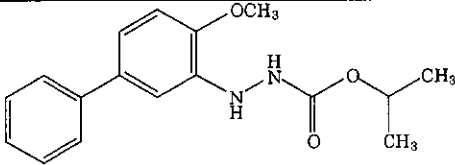
(資料 No. M-11)

試験機関：日産化学工業(株)

報告書作成年：2004 年

目的) 本試験は、なす幼植物の葉における D2341 の代謝及び代謝経路を確認することを目的として実施した。

供試標識化合物：以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.1MBq/mg	

化学名：Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試植物：なす (*Solanum melongena* L.、千両 2 号)

a/5000 ㎡ 鉢に播種し、6 葉期 (高さ 16~19cm) まで栽培した (3 植物体)。光源は太陽光とメタハライトランプを併用した。

試験方法：

D2341 処理液の調製及び処理

D2341 濃度 200ppm のアセトリル溶液を調製し、100 μL をマイクロシリンジにて第 4 葉の表側に処理した。200ppm は 20%水和剤を 1000 倍希釈した時の濃度として設定した。

試料の採取

D2341 処理 3、7 及び 14 日後に、それぞれの土壌を除去し、植物体を処理葉、処理葉より上部、処理葉より下部及び根部の 4 つに分け、生重量を測定した後、分析に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試料の分析

試験結果：

D2341 処理 3、7 及び 14 日後の処理葉、処理葉より上部、処理葉より下部及び根部の放射能（%TRR）と D2341 換算濃度を表 1 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 1 D2341 を葉面処理した植物体中放射能分布と濃度（原報告書 表 3 より）

植物体	画分/代謝物	処理後の経過日数					
		3		7		14	
		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
処理葉	表面洗浄画分 D2341	90.06	6.201	80.34	3.687	71.71	3.000
		35.71	2.459	17.69	0.812	11.73	0.491
	80%アセトン抽出液 酢酸エチル画分 D2341	5.46	0.376	10.18	0.467	15.53	0.650
		3.83	0.263	7.36	0.338	9.58	0.401
		0.29	0.020	0.49	0.023	0.30	0.013
	水画分 残渣	1.63	0.112	2.82	0.129	5.95	0.249
		4.19	0.288	8.73	0.401	11.73	0.491
	処理葉合計	99.71	6.865	99.25	4.555	98.97	4.141
	処理葉 上 部	<0.14	<0.006	0.26	0.004	0.59	0.003
		0.03	0.001	0.14	0.002	0.22	0.001
処理葉 下 部	抽出液	<0.14	<0.004	0.19	0.004	<0.17	<0.003
	残渣	0.12	0.003	0.06	0.001	0.09	0.002
根 部	抽出液	<0.14	<0.003	<0.15	<0.002	<0.17	<0.002
	残渣	0.14	0.003	0.11	0.001	0.14	0.001
処理葉以外の合計		0.29	0.007	0.76	0.012	1.04	0.007
合計		100.00	0.813	100.00	0.430	100.00	0.270

その他は多くの 10%TRR 未満のメチル-代謝物よりなる。

表 2 D2341 を処理した処理葉中代謝物のまとめ (原報告書 表 4 より)

代謝物	処理後の経過日数					
	3		7		14	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
D2341 (記号A)	36.00	2.479	18.18	0.835	12.03	0.504

1) なす植物体中放射能分布

D2341 を葉に処理した場合、処理 14 日までに放射能はその葉の表面洗浄画分から 70%TRR 以上検出され、抽出画分は 16%TRR 未満であった。水面分及び残渣中の放射能は、処理 14 日後でそれぞれ 5.95%TRR 及び 11.73%TRR であった。

処理葉以外へ移行した放射能は 1.04%TRR 以下であり、処理葉からそれ以外の植物体へ移行する D2341 及びその代謝物の量は極めて少ないと考えられた。

2) 代謝物

処理葉の表面洗浄画分及び酢酸エチル画分で検出された主な化合物は未変化体の D2341 (記号 A) であり、処理 14 日後で 12.03%TRR (0.504ppm) であった。代謝物として

が検出された。また、少なくとも 8 種類の未知代謝物が検出されたが、D2341 以外は全て 未満であった (表 4)。

以下に推定代謝経路を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

D2341 のなす幼植物における推定代謝経路

(6) 土壌処理後のなすへの吸収、移行及び代謝

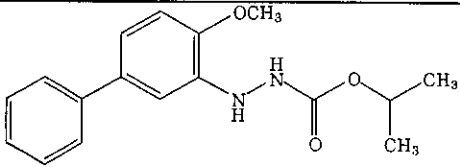
(資料 No. M-12)

試験機関：日産化学工業(株)

報告書作成年：1999 年

目的) 本試験は、散布後土壌表面に落下した D2341 の植物への吸収、移行及び代謝を調査することを目的として実施した。温室において比較的簡便に栽培可能な植物として選択した。

供試標識化合物：以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.1MBq/mg	

化学名：Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試植物：なす (*Solanum melongena* L.、千両 2 号)

a/5000 ワット 1 鉢に苗 1 本を移植し、果実、つぼみ及び花着生期まで栽培した。地上部高 71~75cm の植物体 2 本 (2 鉢) を供試した。

灌水は毎日土壌に 0.3L ずつ行い、光源は太陽光とフлуオリッド ランプ を併用した。

供試土壌：日産化学工業(株)生物科学研究所内試験用土壌 (埼玉県南埼玉郡白岡町) を用いた。

下表に土性を示した (原報告書 12 ページ)

土性 (国際法)	重植土
砂含量 (%)	18.8
シルト含量 (%)	32.5
粘土含量 (%)	48.7
有機炭素含量 (%)	1.87
pH (H ₂ O) 25℃	6.1
陽イオン交換容量 (meq./100g)	29.6
リン酸吸収係数 (P ₂ O ₅ mg/100g)	2510

土壌には千代田化成特 550 (N:P:K=15:15:10) を土壌 1kg あたり 1g、過磷酸石灰 (20%) を土壌 1kg あたり 20g 混和した。

試験方法：

D2341 処理液の調製及び処理

試料の採取

D2341 処理 7、14 及び 21 日後に、それぞれのポットより果実 1 個ずつを採取した。最終試料採取時点である処理 28 日後には、植物体地上部を採取し、果実、花、葉及び茎に分けた。果実はへたと果実に分け、速やかに生重量を測定し、採取当日に分析した。花、葉及び茎は生重量を測定した後、分析まで-20℃の冷凍庫に保存した。根（処理 28 日後）は、土壌を除去し、分析まで風乾した。土壌は、全重量を測定後均一に混和し、-20℃の冷凍庫に保存した。

試料の分析

試料の分析70-を以下に示した。

試験結果：

1) なす及び土壌中放射能

D2341 土壌処理 7、14 及び 21 日後の果実、処理 28 日後の果実、へた、花、葉、茎、根及び土壌中放射能と D2341 換算濃度を表 1 に示した。

果実中放射能濃度 (TRR) は、5.3~8.3ppb であり 10ppb 未満の低濃度であった。

処理 28 日後の葉及び茎には、ともに 52ppb 濃度が残留した。

なすにより吸収された放射能 (地上部と根中放射能の合値) は処理放射能の 4.40%、又、地上部へ移行した放射能は 0.47% (7、14、21 日後の果実+28 日後の果実、へた、花、葉及び茎の合計) であり、なす根からの土壌中 D2341 及びその代謝物の吸収は少なく、根から地上部への移行も少ないことが示された。

処理 28 日後での物質収支は、処理放射能の 76.57%であった。これは、土壌中で生成した揮発性代謝物 (二酸化炭素) が試験系外へ揮散したためと考えられた。

表 1 D2341 土壌処理後のなす及び土壌中放射能と濃度 (原報告書 表 2 より抜粋)

数値は 2 ポットの平均			
処理後日数	試料部位	D2341 換算濃度 (ppb)	処理放射能に対する%
7	果実	5.6	0.01
14	果実	7.7	0.02
21	果実	8.3	0.02
28	果実	5.3	0.01
	へた	NC	<0.01
	花	12.9	0.01
	葉	52.0	0.23
	茎	52.3	0.17
	根	NC	3.93
	土壌	NC	72.17
小計		NC	76.52
合計		NC	76.57

NC：未算出

2) 代謝物

2-1) 果実

果実の各抽出画分及び抽出残渣の放射能比率 (%TRR) とその濃度 (ppb) を表 2 に示した。80%アセトニトリル抽出画分は果実中放射能の 46.1~55.7%であった。80%アセトニトリル抽出液及び抽出残渣中放射能濃度は、2.4~4.2ppb と低かった。

80%アセトニトリル抽出液中放射能の多くが水画分に存在した。有機画分中放射能濃度は 1ppb 以下であったが、TLC 分析を試みた。その結果、原点部にわずかな黒化が認められる程度であり、D2341 (記号 A) や 等の代謝物は検出されなかった (原報告書 図 1 及び 2)。

表 2 なす果実中放射能の比率と濃度（原報告書 表 3 より抜粋）

数値は 2 ポットの平均

処理後日数	画分	D2341 換算濃度 (ppb)	果実中放射能に対する%
7	80%アセトニトリル抽出液	3.1	55.7
	有機画分	0.5	9.9
	水画分	2.6	45.8
	抽出残渣	2.5	44.3
	合計	5.6	100.0
14	80%アセトニトリル抽出液	3.9	51.8
	有機画分	0.7	9.9
	水画分	3.2	41.9
	抽出残渣	3.8	48.2
	合計	7.7	100.0
21	80%アセトニトリル抽出液	4.2	50.2
	有機画分	0.6	7.2
	水画分	3.6	43.0
	抽出残渣	4.1	49.8
	合計	8.3	100.0
28	80%アセトニトリル抽出液	2.4	46.1
	有機画分	0.5	9.0
	水画分	2.0	37.1
	抽出残渣	2.9	53.9
	合計	5.3	100.0

2-2) 葉及び茎

葉及び茎の 80%アセトニトリル抽出液有機画分、80%アセトニトリル抽出液水画分及び抽出残渣中放射能は、いずれも 50ppb 未満であった（原報告書 表 4）。有機画分（7.6～18.2ppb）の TLC 分析の結果、極性原点部に放射能が見られ、D2341、等の遊離代謝物は検出されなかった。

2-3) 土壌（処理 28 日後）

アセトニトリル抽出液中放射能は、平均で処理放射能の 5.66%（土壌中放射能の 7.8%）、アセトニトリル：塩酸抽出液中放射能は 1.82%（2.6%）であり、両抽出液を合計しても土壌中放射能の 10.4% でしかなかった（原報告書 表 5）。アセトニトリル抽出液について 2 次元 TLC による定性を行った結果、代謝物として D2341（記号 A）、

が検出された（原報告書 図 4）。

3) 吸収、移行及び代謝のまとめ

D2341 を約 100g a. i./10a で土壌に処理した場合、なす果実へ移行した放射能は処理放射能の 0.02% 以下であり、放射能濃度は D2341 換算で 8.3ppb 以下であった。従って、土壌からなす果実へ吸収、移行される D2341 及びその代謝物の量は極めて少ないと考えられた。

植物代謝試験のまとめ（資料 No. M-7～M-12）

D2341 の適用作物である、かんきつ、果実、茶の作物残留分析成分を決定するため、温州みかん、オレンジ（かんきつ）、りんごの3作物の果実と温州みかん及びなすの葉での植物代謝試験を実施した。温州みかんでは 及び D2341 の比較代謝試験を行った。根部吸収を調べるため、なすを用いて土壌処理後の吸収、移行性を調べた。試験方法の概要を表1に示した。

表1 D2341 植物代謝試験方法概要

作物	温州みかん	温州みかん	オレンジ	りんご	なす	なす
資料 No.	M-7	M-8	M-9	M-10	M-11	M-12
供試 標識体						
処理方法	水和剤果樹 散布	アセトリル溶液 果実塗布	水和剤果樹 散布	水和剤果樹 散布	アセトリル溶液 葉面処理	乳剤土壌 表面処理
処理量	420 g ai/ha	約 90 μ g/果実	420 g ai/ha 及び 2240 g ai/ha	420 g ai/ha 及び 2240 g ai/ha	20 μ g/葉	1000 g ai/ha
処理後 試料 採取日	0、28、56、84 日	14 日	43、184、274、 442 日	101 日	3、7、14 日	7、14、21、 28 日
試料分析 部位	1) 果実表面洗 液、果皮、果 肉、全果実 2) 葉	果実表面洗液、 果皮、果肉	果実表面洗液、 果皮、果肉、ジ ュース、全果実、 葉 (TRR のみ)	果実表面洗液、 絞りかす、ジ ュース、全果実	処理葉 (表面 洗浄、抽出)、 処理葉上部、 処理葉下部、 根部	全果実

申請作物の実用処理量は、267～1400 g ai/ha の範囲であり、植物代謝試験では、420、1000 あるいは過剰量 2240 g ai/ha の処理量で実施された。国内での実用処理時期は、作物によって異なるが概ね収穫前 6 ヶ月～前日までとなっている。植物代謝試験の結果の概要を以下にまとめた。

（1）果実及び葉における放射能分布

国内での処理時期を参考にして、420 g ai/ha で散布後の温州みかん 28 日後、オレンジ 43 日後、りんご 101 日後の果実あるいは葉（なす葉は処理濃度 200ppm として処理）における総放射性残留物濃度 (TRR) 及び各分画への分布比率 (%TRR) を表 2 に示した。尚、土壌処理したなすでは、果実分布率が処理放射能の 0.01% 及び TRR が 0.0053～0.0083ppm と低く、土壌からの吸収、移行性が殆ど認められなかったため表には加えなかった。

3 作物の果実に残留する放射能の多くは、表面洗液に分布した。果皮へ少量移行し、果肉あるいはジュースへの移行はさらに少なかった。葉においても同様であった。

温州みかん果実における 及び 処理後の放射能分布を表 3 に比較した。マスバランス比較のため濃度ではなく処理放射能に対する % で表記した。

いずれの標識体とも表面洗液に約 80% が認められた。放射能は果肉からは検出されず、果皮にお

ける分布もほぼ類似した。回収率は 90.8-93.7%であった。

表 2 D2341 処理後の果実及び葉における放射能分布 (TRR : D2341 換算 ppm)

温州みかん(果実)		オレンジ(果実)		りんご(果実)		温州みかん(葉)		なす(葉)	
420 g ai/ha		420 g ai/ha		420 g ai/ha		420 g ai/ha		20 μ g/葉	
28 日後		43 日後		101 日後		28 日後		14 日後	
TRR=0.2982ppm		TRR=0.353ppm		TRR=0.088ppm		TRR=23.5091ppm		TRR=4.141ppm	
分画	%TRR	分画	%TRR	分画	%TRR	分画	%TRR	分画	%TRR
表面洗液	72.44	表面洗液	77.8	表面洗液	54.8	表面洗液	85.65	表面洗液	71.71
果皮	25.45	果皮	20.2	果実絞り かす	34.9	葉組織	14.35	葉組織	27.26
果肉	2.11	果肉(絞り かす)	0.9	ジューズ	10.4				
		ジューズ	0.2						
全果実	100.0	全果実	100.0	全果実	100.0	全葉	100.0	処理葉	98.97

表 3 及び D2341 処理 14 日後の温州みかん果実における放射能分布
(処理放射能に対する%)

表面洗液		81.3	75.8
果皮	有機可溶可溶画分	5.3	10.0
	水画分	0.4	1.2
	抽出残渣	3.8	6.7
	合計	9.5	17.9
果肉	80%アセトニール画分	<0.1	<0.1
	抽出残渣	<0.1	<0.1
	合計	<0.1	<0.1
回収		90.8	93.7

(2) 果実及び葉における代謝物

3 作物の果実及び 2 作物の葉の主要残留成分は、親化合物 D2341 (記号 A) であった。

温州みかん 28 日後、オレンジ 43 日後、りんご 101 日後、なす 14 日後の果実あるいは葉における各代謝物の比率 (%TRR) 及び濃度 (ppm、D2341 換算) を表 4 に示した。

温州みかん果実における 及び 標識体処理後の表面洗液及び果皮中代謝物比率を表 5 に示した。D2341(記号 A)が 66.1-67.6%を占め主要であった。その他の成分及び分画比率も 標識及び 標識において類似した。

表 4 D2341 処理の果実あるいは葉における代謝物の比率 (%TRR) 及び濃度 (ppm)

	温州みかん(果実)		レモン(果実)		りんご(果実)		温州みかん(葉)		なす(葉)	
	420 g ai/ha		420 g ai/ha		420 g ai/ha		420 g ai/ha		20µg/葉	
	28 日後		43 日後		101 日後		28 日後		14 日後	
代謝物	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
D2341(記号 A)	72.51	0.2183	75.1	0.266	33.6	0.030	70.88	16.662	12.03	0.504

表 5 及び D2341 処理の温州みかん果実における代謝物の比率
(処理放射能に対する%)

	表面洗液		果皮		合計	
	標識	標識	標識	標識	標識	標識
D2341(記号 A)	63.1	61.4	3.0	6.2	66.1	67.6
合計	81.3	75.8	5.3	10.0	86.6	85.8

以上の結果、3 作物の果実及び 2 作物の葉における代謝は類似しており、主要残留成分は未変化体 D2341(記号 A)であった。共通代謝物については が 検出された以外は、各代謝物の残留は 以下と少なかった。
また、 及び 標識体における代謝物の様相は類似した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

3. 土壌中運命に関する試験

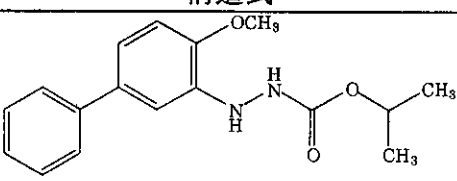
(1) 好気土壌における代謝（日本土壌）

(資料 No.M-13)

試験機関：(財)残留農薬研究所（GLP 対応）

報告書作成年：1998 年

供試標識化合物：以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.1MBq/mg	

化学名：Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試土壌：静岡県柑橘試験場（静岡県清水市）の土壌を試験に供した（以降、静岡土壌と称する）。土壌は使用前に 5mm の篩に通し、供試時まで 5℃の暗所に保存した。供試土壌の物理化学的性質を以下に示した（原報告書 Table3）。

土性	軽塩土
粘土含量* (%)	40.3
主要粘土鉱物	ハ'-ミクタイト、モンモリロナイト
pH(H ₂ O)	5.4
pH(KCl)	4.0
有機炭素 (%)	0.49
陽イオン交換容量 (meq./100g)	23.3
リン酸吸収係数 (P ₂ O ₅ mg/100g)	1050
最大容水量 (%)	63.31

*ISSA 法による分類

試験方法：

試験設計

本試験は、2 種類のグループ（非滅菌土壌実験、滅菌土壌実験）で構成した。その概要を以下に示した。

	試験内容
非滅菌土壌実験	土壌中の放射性残留物の分析 放射性気体の捕集・分析と ^{14}C -バランスの調査
滅菌土壌実験	土壌中の放射性残留物の分析 放射性気体の捕集・分析と ^{14}C -バランスの調査

培養条件及び処理方法

供試土壌 50g（乾土換算）を 100mL 容のガラス製ビーカー-か-或いは 200mL 容のガラス瓶に秤量し、土壌水分を最大容水量の 40%に調整した。アルミホイルで蓋をし、25±1℃の暗所条件のインキュベーター

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

中で7日間プレインキュベートした。なお、滅菌土壌実験用の土壌は、プレインキュベート5日目にオートクレーブ滅菌（120℃、+1kg/cm²、20分）を行った。この操作を約24時間毎に2回繰り返した。プレインキュベート後、D2341 7セトトリル溶液（約200ppm）を100μL土壌表面に滴下し、よく混和した。達成施用濃度*は、非滅菌土壌で0.405ppm又は0.419ppm、滅菌土壌で0.401ppm又は0.396ppm（いずれも乾土換算）であった。

*）目標添加濃度は乾土当たり0.4mg/kg（ppm）とした。これは、D2341の予定慣行施用量（42g a.i./10a）を散布した際に、D2341が土壌の表層10cmに均一に分布すると仮定した場合の土壌中濃度に相当する。

申請者注）原報告書では、予定慣行施用量420g a.i./10aとなっているが、42g a.i./10aの誤りである。尚、その後予定施用量は120g a.i./10aに変更されている。

施用後の土壌容器（施用後短時間で分析した一部の試料は除く）は、発生する放射性気体を捕集するために代謝チャンバー（容量約21L、ねじロケータ）に収納した。代謝チャンバーから排出された空気は、下記の捕集管に順次導入した。

1. エレンゲリコル/200mL：揮発性有機物質捕集用
 2. 1M水酸化ナトリウム（0.1%フェノールフタレイン指示薬含有）/50mL：炭酸ガス捕集用
 3. 1M水酸化ナトリウム（0.1%フェノールフタレイン指示薬含有）/50mL：炭酸ガス捕集用（バックアップ）
- 土壌容器を入れた代謝チャンバーは、25℃の暗所条件下の土壌インキュベーター内に収納した。

試料採取

以下に示す時点で2点の土壌試料を採取した。

実験区	採取時点
非滅菌土壌	0（施用直後）、0.5、2、6時間及び1、3、7、14、28日後 又、1、3、7、14、21、28日後に揮発性物質捕集液の測定を行った。
滅菌土壌	0（施用直後）、0.5時間及び1、7、14日後 又、7、14日後に揮発性物質捕集液の測定を行った。

試料の分析

1) 抽出液中に添加する安定化剤

試料中に存在するD2341を安定的に分析し、回収するため、非放射性D2341を抽出液中に400ppm程度の濃度で添加した。なお、の添加回収実験において、の一部（約20%）は¹⁴C-D2341に変換した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

2) 土壌試料の分析

土壌試料の分析⁷⁰⁻を以下に示した（原報告書 Figure3～5）。

代謝物は、HPLC での標品との保持時間の比較（又は共注入）及び TLC コロマトグラフィーにて同定した。又、主要放射性成分について質量スペクトル分析を行った。以下に、HPLC 及び TLC 条件を示した。

HPLC 条件：

TLC 条件：

3) 揮発性物質捕集液の分析

捕集管中の 1M 水酸化ナトリウム溶液及びエチレングリコールはその一部を採取して LSC 分析し、放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

1) 非滅菌土壌中での代謝分解

^{14}C -パランスの結果を表1に示した。

土壌中の放射能は、0時点では定量的にアセトリル抽出液中に回収された。アセトリルに抽出される放射能はその後経時的に減少し、施用28日後には施用量の約10%になった。アセトリル：塩酸で抽出される放射エネルギーは全体的に少なかった（最高で6時間後の8.1%）。抽出液中に回収される放射能の減少に伴い、抽出残渣中の放射能が増加し、施用28日後には施用量の72.8%となった。

土壌から発生する放射性気体について、炭酸ガスとして約17%が施用28日後までに検出された。有機性の放射性気体については検出されなかった。

各分析時点における放射能の回収率は、施用量の97.7%～105.3%の範囲であった。

表1 非滅菌土壌中での放射能の回収（原報告書 Table 5）

数値は施用放射能に対する%（2連の平均値）、カッコ内は濃度（mg eq./kg 乾土）

	0 時点	0.5 時間	2 時間	6 時間	1 日	3 日	7 日	14 日	21 日	28 日
放射性気体（累積）	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	1.09	6.30	11.14	14.32	15.94	17.07
1M NaOH トラップ	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	1.09	6.30	11.14	14.32	15.94	17.07
エチレングリコールトラップ	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
土壌	99.76 (0.4175)	100.17 (0.4192)	98.62 (0.4127)	97.72 (0.4089)	99.20 (0.4014)	96.55 (0.3907)	88.36 (0.3576)	90.93 (0.3680)	N. A.	86.36 (0.3495)
抽出画分	99.61	97.99	93.06	79.43	63.76	31.26	24.60	18.11	N. A.	13.57
アセトリル抽出	98.08	95.79	90.90	71.34	57.42	27.01	20.98	14.95	N. A.	10.36
アセトリル：塩酸抽出	1.52	2.20	2.17	8.09	6.34	4.25	3.62	3.16	N. A.	3.21
抽出残渣	0.15	2.18	5.56	18.29	35.44	65.29	63.76	72.82	N. A.	72.79
放射性気体+土壌	99.76	100.17	98.62	97.72	100.29	102.86	99.50	105.25	N. A.	103.42

N. A. ; 分析せず N. D. ; 検出せず

土壌抽出液中の放射性成分の分析

土壌のアセトリル抽出液とアセトリル：塩酸抽出液（SPE-メタノール溶出液）の分析結果から求めた各分析時点での土壌中の主要放射性成分の残留レベルを表2に示した。

アセトリル抽出液の HPLC ラジオクロマトグラムからは、主要放射性成分として D2341（記号 A）、

の 7 化合物が検出された。アセトリル：塩酸抽出液（SPE-メタノール溶出液）の HPLC ラジオクロマトグラムからは、6 時間後ではアセトリル抽出液のそれと類似していたが、1 日以降では が主放射性成分であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2 非滅菌土壌における抽出液中の代謝物比率（原報告書 Table9）

施用放射能に対する％、カッコ内は濃度（mg eq./kg 乾土）

		0 時点	0.5 時間	2 時間	6 時間	1 日	3 日	7 日	14 日	28 日
同定、 特徴付けされた代謝物	D2341 (記号 A)	85.03 (0.3559)	8.37 (0.0350)	4.82 (0.0202)	3.92 (0.0164)	3.08 (0.0125)	1.11 (0.0045)	0.93 (0.0038)	0.92 (0.0037)	0.56 (0.0023)
未同定代謝物										

N. A. : 分析せず

D2341（記号 A）の分解速度は極めて速く、0 時点では施用量の 85.0％であったが、0.5 時間後には 8.4％に減少した。分解が急速であるため、その半減期を求めることができなかった。D2341 の分解に伴って が急速に増加し、0 時点の から 0.5 時間後には最高レベルの に達した。 はそれ以降速やかに減少し、28 日後には となった。

表 3 に主要放射性成分の見かけ上の DT_{50} と DT_{90} を示した。又、図 1 に D2341 及び主要放射性成分の推移を示した。

表 3 非滅菌土壌中での主要放射性成分の見かけ上の DT_{50} と DT_{90}

	D2341+ (0-24 時間)*		
DT_{50}	8.6 時間		
DT_{90}	28.6 時間		

*1 次減衰式を適合した時間範囲

図 1 非滅菌土壌における D2341 及び主要分解物の推移 (原報告書 Figure10)

施用 28 日後の非滅菌土壌の抽出残渣 (施用量の約 73% を含む) について、ソックスレ-抽出 (溶媒はアセトニトリル: 塩酸) を行った結果、施用量の 3.2% が抽出された。その主要成分は
であった。ソックスレ-抽出後の残渣の腐植抽出法による分画化では、放射能の多くがヒューミン画分に分布し (施用量の 35.6%)、腐植酸とフルボ酸画分からも有意な放射能 (それぞれ施用量の 5.4%、13.6%) が検出された。

2) 滅菌土壌中での代謝分解

乾土当たり 0.4mg/kg の D2341 を施用した滅菌土壌中での放射性残留物の抽出結果、放射性気体の捕集液の分析結果と、それらから求めた ^{14}C -バランスを表 4 に示した。

土壌中の放射能は、0 時点ではほぼ定量的にアセトニトリル抽出液中に回収された。アセトニトリルに抽出される放射能はその後経時的に減少したがその速度は非滅菌土壌に比べて遅く、施用 14 日後には施用量の約 62% が残留した。アセトニトリル: 塩酸で抽出される放射エネルギーは全体的に少なかった (最高で 1 日後の 5.7%)。抽出液中に回収される放射能の減少に伴い、抽出残渣中の放射能が増加したが、施用 14 日後でも施用量の約 34% であり、非滅菌土壌の 1/2 未満であった。

土壌から発生する放射性気体について、1M 水酸化ナトリウムとエチレンジアミン捕集液のいずれからも放射能は検出されなかった。

各分析時点における ^{14}C -バランスは、施用量の 96.9%~101.6% の範囲であった。

表 4 滅菌土壌中での放射能の回収 (原報告書 Table 10)

数値は施用放射能に対する % (2 連の平均値)、カッコ内は濃度 (mg eq./kg 乾土)

	0 時点	0.5 時間	1 日	7 日	14 日
放射性気体 (累積)	N. A.	N. A.	N. A.	N. D.	N. D.
1M NaOH トラップ	N. A.	N. A.	N. A.	N. D.	N. D.
エチレンジアミントラップ	N. A.	N. A.	N. A.	N. D.	N. D.
土壌	101.64 (0.4011)	99.24 (0.3916)	96.94 (0.3889)	99.87 (0.4006)	99.76 (0.4002)
抽出画分	101.64	98.74	91.91	76.61	65.68
アセトニトリル抽出	101.64	98.16	86.19	74.19	62.06
アセトニトリル: 塩酸抽出	<0.64	0.58	5.72	2.42	3.61
抽出残渣	<0.23	0.50	5.03	23.26	34.09
放射性気体+土壌	101.64	99.24	96.94	99.87	99.76

N. A. : 分析せず N. D. : 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

土壌抽出液中の放射性成分の分析

土壌の γ -ブチロラクトン抽出液と γ -ブチロラクトン：塩酸抽出液（SPE-メタノール溶出液）の分析結果から求めた各分析時点での土壌中の主要放射性成分の残留率を表 5 に示した。

γ -ブチロラクトン抽出液の HPLC 分離クロマトグラムからは、主要放射性成分として D2341（記号 A）、
の 3 化合物が検出された。又、も有意に検出された。 γ -ブチロラクトン：塩酸抽出液（SPE-メタノール溶出液）の HPLC 分離クロマトグラムは、 γ -ブチロラクトン抽出液のそれとほぼ同様であった。

表 5 滅菌土壌における抽出液中の代謝物比率（原報告書 Table12）

数値は施用放射能に対する％、カッコ内は濃度（mg eq./kg 乾土）

		0 時点	0.5 時間	1 日	7 日	14 日
同定、 特徴付けされた代謝物	D2341 (記号 A)	93.81 (0.3702)	20.66 (0.0815)	12.56 (0.0504)	8.18 (0.0328)	9.45 (0.0379)
未同定代謝物						

N. A. ; 分析せず

滅菌土壌においても D2341（記号 A）は半減期 0.5 時間以内で急速に分解した（0 時点で施用量の 93.8％、0.5 時間後で 20.7％）。ただし、全体的な分解速度は非滅菌土壌より遅く、1 日後で 12.6％、14 日後でも 9.5％残留した。D2341 の分解に伴って

が急速に増加し、0 時点の から 0.5 時間後には最高値の に達した。
はそれ以降速やかに減少したが、非滅菌土壌に比べてその消失は遅く（ DT_{50} は 、
14 日後でも が残留した。

図 2 に D2341 及び主要放射性成分の推移を示した。

図 2 滅菌土壌における D2341 及び主要放射性成分の推移（原報告書 Figure13）

施用 14 日後の滅菌土壌の抽出残渣（施用量の約 34%を含む）について、リクスレ-抽出（溶媒はアセトリル：塩酸）を行った結果、施用量の 6.2%が抽出された。その主要成分は
であった。リクスレ-抽出後の残渣の腐植抽出法による分画化では、非滅菌土壌の場合と同様、放射能の多くがヒューミン画分に分布し（施用量の 16.1%）、腐植酸とフルボン酸画分からも有意な放射能（それぞれ 1.7%、4.2%）が検出された。

3) 未知代謝物

D2341 を非滅菌土壌に 5ppm のレベルで施用した同定用試料（8 日後）のアセトリル抽出液を LC-MS で分析し、未知代謝物の ESI-MS スペクトル及び ESI-MS/MS スペクトルを測定した。

4) 代謝分解のまとめ

D2341 の畑条件土壌中での想定代謝経路を図 3 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

図 3 D2341 の畑条件下での想定代謝経路（原報告書 Figure28）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

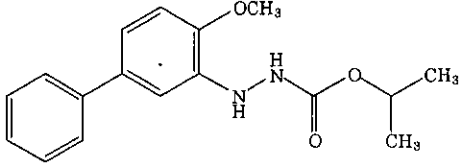
(2) 好気土壌における代謝 (米国土壌)

(資料 No. M-14)

試験機関 : Ricerca, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1996 年

供試標識化合物 : 以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.2MBq/mg	

化学名 : Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試土壌 : Madison (Ohio) の土壌を試験に供した。土壌は使用前に 2mm の篩に通し、供試時まで保存した。供試土壌の物理化学的性質を以下に示した (原報告書 APPENDIX B)。

土性	砂壤土
pH	6.7
陽イオン交換容量 (meq./100g)	5.59
有機物含量 (%)	1.89
容水量, 1/3 バール (%)	9.29
容水量, 15 バール (%)	4.02
砂含量 (%)	73.2
シルト含量 (%)	18.0
粘土含量 (%)	8.8

試験方法 :

培養条件及び処理方法

乾土重 50g (総重量 52.23g) の土壌試料 26 点を調製し、本試験のデータ採取時点の 2 連試料を供給した。試料への施用直前に土壌含水量を 9% (1/3 バールの約 75%) に調整した。水分量は 1 週間毎に調整を行い、このバールを維持した。

当試験の土壌中の D2341 濃度は $0.4\mu\text{g/g}$ (ppm) *とした。施用は、マイクロイソペンサを用い、D2341 アセトリル溶液 ($0.038\mu\text{g}/\mu\text{L}$) を 0.532mL 土壌試料に添加し、栓をして手で振とうした。1 日以降の採取時点の土壌試料を入れた瓶は栓をせずに試験系中に置いた。一方、0 から 8 時間の採取時点の土壌を入れた瓶は、抽出時まで栓をしたままにした。

*) D2341 の予定使用量は 3/8 ポイント a. i. /エーカである。この量は 3 インチエーカの土壌層で 0.375ppm に相当する。

施用後の土壌容器は、発生する放射性気体を捕集するために代謝容器に収納した。代謝容器から排出された空気は、下記の捕集管に順次導入した。

1. 乾燥塔 (ドライライト™)
2. 活性炭トラップ (低分子量化合物捕集用)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

3. 揮発性有機物トラップ[®]（テックス TATM）、2 連

4. 二酸化炭素トラップ[®]（1N 水酸化ナトリウム）、2 連

全てのトラップ[®]は、1 日以降の各試料採取時点で交換した。代謝容器は環境チャンバ[®]中の暗所に維持し、25±1℃の温度に保持した。

試料採取

0（施用直後）、0.5、2、8 時間及び 1、3、7、14、28 日後に土壌試料を分析した。又、1、3、7、14、及び 28 日後に揮発性物質トラップ[®]の分析を行った。

試料の分析

1) 抽出液中に添加する安定化剤

試料中に存在する D2341 を安定的に分析し、回収するため、非放射性 D2341 を抽出液中に 40ppm の濃度（2.0mg/50mL）で添加した。

2) 土壌試料の分析

3) 揮発性物質捕集液の分析

活性炭及びテックス TATMトラップ[®]含有物は、メノールにて抽出し、LSC 分析を行った。1N 水酸化ナトリウムトラップ[®]はその一部を採取し、LSC 分析を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

1) ^{14}C 分布及び収支

土壌に添加した ^{14}C の各時点における収支（回収率）を表 1 に示した。

抽出可能画分は、0 日の 107.3% から 28 日後には 29.8% に減少した。結合体残留物は 28 日後で 73.8% に達した。又、28 日の試験期間中に、少量の二酸化炭素と揮発性物質が検出された（施用量の 1.2% 未満）。

各時点での ^{14}C の回収率は、98.8%～107.5% の範囲であった。

表 1 各時点での ^{14}C の分布（原報告書 Table II）

数値は施用放射能に対する%									
時間	0 時点	0.5 時間	2 時間	8 時間	1 日	3 日	7 日	14 日	28 日
抽出可能画分 ¹	107.3	100.3	87.8	65.5	47.0	37.8	34.5	31.4	29.8
結合体残留物 ¹	0.2	5.5	15.5	37.1	57.2	60.9	66.1	70.8	73.8
$^{14}\text{CO}_2$	NA	NA	NA	NA	0.0	0.1	0.4	0.8	1.1
揮発性化合物	NA	NA	NA	NA	ND	ND	ND	ND	ND
回収率	107.5	105.8	103.3	102.6	104.2	98.8	101.0	103.0	104.7

¹2 連の平均

NA：適用なし ND：検出せず

2) D2341 と代謝物の半減期

D2341 とその代謝物の分布を表 2 に示した。又、D2341 及び代謝物の推移を図 1 に示した。代謝の速度は極めて速く、D2341（記号 A）は 0 時点の 93.2% から 0.5 時間後には 2.8% に減少した。

当試験条件下の好気土壌中における D2341 の半減期は 0.5 時間未満であった。

表 2 D2341 とその代謝物の分布（原報告書 Table III）

数値は施用放射能に対する%									
時間	0 時点	0.5 時間	2 時間	8 時間	1 日	3 日	7 日	14 日	28 日
抽出可能画分 ¹	107.3	100.3	87.8	65.5	47.0	37.8	34.5	31.4	29.8
D2341 (記号 A)	93.2	2.8	1.6	1.3	1.2	1.0	0.9	0.7	0.6

¹2 連の平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

²M1、M2 及び M3 はそれぞれ保持時間約 3 分、10 分及び 8 分の微小ピークを示す
ND：検出せず

図 1 D2341 及び代謝物の推移（原報告書 Figure17）

3) 抽出残渣固体の特徴付け

4) 想定代謝経路

好気土壌における想定代謝経路を図 2 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

図 2 D2341 の好気土壌における想定代謝経路 (原報告書 Figure24)

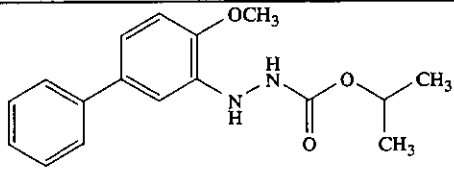
(3) 好気土壌における代謝 (日本土壌)

(資料 No. M-15)

試験機関：日産化学工業(株)

報告書作成年：1999 年

供試標識化合物：以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		7.1MBq/mg	

化学名：Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試土壌：(社)岩手植物防疫協会のリンゴ果樹園(岩手県岩手郡滝沢村)の土壌を試験に供した。

土壌は使用前に 2mm の篩に通し、供試時まで 4℃ の冷蔵庫に保存した。供試土壌の物理化学的性質を以下に示した(原報告書 10 ページ)。

土壌名	岩手土壌
採取場所	岩手植防果樹園
成因	火山灰土壌
土性(国際法)	埴壤土
砂含量 (%)	52.5
シルト含量 (%)	29.4
粘土含量 (%)	18.1
有機炭素含量 (%)	10.18
pH (H ₂ O) 1:2.5、25℃	4.9
陽イオン交換容量 (meq./100g)	34.9
リン酸吸収係数 (P ₂ O ₅ mg/100g)	2310
最大容水量 (%)	134.3
水分含有率 (%)	43.4
粘土鉱物	アロフェン

試験方法：

試験容器と土壌の充填

試験容器には、10mL 容丸底管を溶接した 100mL 容の三角フラスコ(ハ イオメータ-フラスコ)を使用した。この容器に乾土 15g 相当量(26.53g)の土壌を入れ、土壌最大容水量の 60%となるように蒸留水で調製した。土壌厚は約 2cm であった。丸底管上部をシリコン製栓で、フラスコ上部をアクリル箔で蓋をし、25℃の遮光された恒温槽中で 8 日間予備培養した。

揮発性化合物の捕集

試験容器であるハ イオメータ-フラスコの丸底管部にアルカリトラップとして 4mL の 1N NaOH 水溶液を入れ、溶接部に有機トラップとしてポリウレタンフォームを付けた。ポリウレタンフォームは予備培養開始 7 日後に、1N NaOH 水溶液は薬剤添加直前に設けた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

D2341 の添加

当試験の土壌中の D2341 濃度は $1.2\mu\text{g/g}$ (ppm) *とした。施用は、マイクロシリンジを用い、

D2341 アセトリル溶液 (180ppm) を $100\mu\text{L}$ 土壌表面に添加し、添加直後分析用試料を除いてガラス棒で十分混和した。ガラス棒は試験容器内に残し、容器上部をガラス栓で密封した。

* D2341 の予定使用量は 120g a.i./10a である。この量は 10cm の土壌深で 1.2ppm に相当する。

土壌培養条件及び試料の採取

D2341 添加後の土壌容器は、 25°C の遮光された恒温槽内に静置した。添加直後、24、72 及び 144 時間後に各 2 点の試料を恒温槽から取り出し、土壌、ポリウレタンフォーム及び 1N NaOH 水溶液をそれぞれ分析した。

試料の分析

1) 土壌試料の分析

試験結果：

1) ^{14}C 分布及び収支

土壌に添加した ^{14}C の各時点における代謝物の分布及び収支を表に示した。又、D2341 及び代謝物の推移を図 1 に示した。

アセトリル抽出画分は、添加直後で添加放射能の 96.70% であったが、添加 24 時間後では 8.90% と急速に減少した。アセトリル：塩酸抽出画分は、添加直後で 2.42%、24 時間で 0.74%、72 時間で 0.56%、144 時間で 0.36% であり、いずれにおいても低い値であった。

D2341（記号 A）は、直後で添加放射能の 88.94%（アセトリル抽出画分及びアセトリル：塩酸抽出液有機抽出画分の合値）であり、24 時間後で 2.38%、144 時間後で 1% 以下となった。本試験での D2341 の土壌中半減期は 24 時間以内であり、D2341 の土壌中残留は極めて少ないことが示された。

残渣中放射能は、添加直後で添加放射能の 0.15% であったが、24 時間後には 3.31% に増加した。それ以降は減少し、144 時間後には 2.14% となった。従って、D2341 或いは

代謝物が土壌中に bound residue として残留することは少ないと考えられた。

有機トラップであるポリウレタンフォームからは放射能は検出されなかった。一方、アルカリトラップである 1N NaOH 水溶液中放射能は 24 時間後で 77.48%、72 時間後で 82.67%、144 時間後で 86.20% と経時的に増加した。アルカリトラップ中放射能は、

炭素であることが確認された。従って、D2341 或いは代謝物 二酸化炭素 は土壌中で極めて速やかに脱離し、二酸化炭素になることが示された。

各時点での ^{14}C の回収率は、90.43%～99.27% の範囲であった。

表 各時点での ^{14}C の分布（原報告書 表 2）

	数値は添加放射能に対する%、2 連平均 添加後時間 (hr)			
	0	24	72	144
アセトリル抽出液	96.70	8.90	5.16	3.10
D2341（記号 A）	86.96	2.28	1.36	0.75
アセトリル：塩酸抽出液	2.42	0.74	0.56	0.36
D2341（記号 A）	1.98	0.10	0.07	0.04
抽出残渣	0.15	3.31	2.33	2.14
有機トラップ	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
アルカリトラップ	<0.01	77.48	82.67	86.20
合計	99.27	90.43	90.72	91.80

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

図 1 D2341 及び代謝物の推移（原報告書 図 2）

2) 代謝分解のまとめ

このように、D2341 或いは 代謝物は土壌中の残留がほとんど無いことが示された。

D2341 の畑地土壌における推定代謝経路を図 2 に示した。

図 2 D2341 の畑地土壌における推定代謝経路（原報告書 図 10）

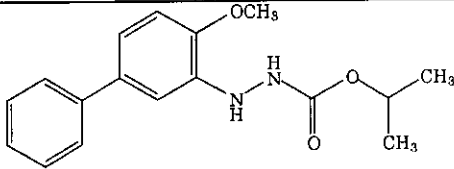
(4) 嫌気性湛水底質における代謝 (米国底質土)

(資料 No. M-16)

試験機関 : Ricerca, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

供試標識化合物 : 以下の ^{14}C 標識化合物を供試した。

名称	構造式	比放射能	放射化学的純度
D2341		4.2MBq/mg	

化学名 : Isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl)hydrazinoformate

供試土壌 : ハワイ州北東部田園地帯の非農耕地の池から得られた底質と水を試験に使用した。底質は 2mm メッシュの篩に通し、水は 0.6mm の篩に通した。これらは供試時まで室温で保存した。底質の含水率を測定した結果、99+%であった。風乾した底質及び水の物理化学的性質を以下に示した (原報告書 Table I 及び II)。

底質	pH	6.6
	陽イオン交換容量 (meq./100g)	14.56
	有機物含量 (%)	6.85
	容水量, 1/3 H^+ - pH (%)	31.05
	容水量, 15 H^+ - pH (%)	15.49
	砂含量 (%)	34.8
	シルト含量 (%)	40.4
	粘土含量 (%)	24.8
	土性	壤土
	H^+ の密度 (g/cc)	1.15
水	pH	6.958
	伝導率 (μMHOS)	6200
	硬度 ($\mu\text{g/mL}$)	
	カルシウム	71.6
	マグネシウム	17.3

各分析時点用の 2 連試料、微生物活性分析用の試料及び予備試料として、湿重量 20g の底質試料 61 点を調製した。その他に、代謝物の単離と同定を目的として 50 点の試料を調製した。水と底質の比を 3:1 とするために、それぞれの底質試料には 20g の水を添加した。被験物質の添加に先立ち、試験試料を窒素雰囲気下のデシケーター中に入れ、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗所で約 3 ヶ月間インキュベートした。

試験開始前 (1995 年 10 月 25 日)、試験開始時 (1995 年 10 月 31 日)、試験中の数時点及び試験終了時点 (1996 年 11 月 5 日) に底質の微生物分析を行い、いずれも微生物の棲息が確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験方法：

水系試料への施用

水系試料は、施用の前に窒素を充満させたグローブバッグに入れた。試料の水相に 35 μL の施用液 A (D2341 0.862 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ アセトリル) を施用した (D2341 1.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ 水に相当)。代謝物の単離及び同定用の試料には、水相に 35 μL の施用液 B (D2341 1.242 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ アセトリル) を施用した (D2341 1.24 $\mu\text{g}/\text{g}$ 水に相当)。試料に蓋をし、ボルテックスミキサーを用いて 1 分間激しく攪拌して被験物質を水と底質に分布させた。0 時点の試料を除く全試料の蓋を取り、それらを窒素環境中のデシケター中に入れた。0 時点の試料は直ちに抽出、分析した。

試験系

代謝容器の導入口からは、酸素トラップと水カラムを通した高純度の加圧窒素を流入させた。代謝容器から流出する窒素は、ドライアイス乾燥塔、低分子量化合物捕集用の活性炭トラップ、2 連の揮発性有機物トラップ (テックス TA™) 及び 2 連の二酸化炭素トラップ (1N NaOH) を通過させた。代謝容器中には追加の二酸化炭素トラップ (1N NaOH) を置いた。すべてのトラップは、2 日以降の各試料採取時点で交換した。底質対照区試料及び代謝物単離同定用試料は、2 対の通気捕集システムを用いた別々の代謝容器中に収容した。代謝容器は環境チャンバの中で暗所に維持し、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の温度に保持した。嫌気条件は、試験の開始前に確認 (酸化還元電位が負であること) した他、試験期間中にもモニターした (酸化還元電位は -283 から -120mV の範囲であった)。

試料採取と取り扱い

0 時点、2、7、14 及び 28 日後と 2、4、6、8、10 及び 12 ヶ月後に 2 連の底質試料を分析した。二酸化炭素トラップ、活性炭トラップ及び揮発性物質トラップは、採取日程に従って交換し、分析した。

代謝物の単離と同定用に調製した試料は、21 日後と約 6 ヶ月後に分析した。

試料はすべて 24 時間以内に抽出し、HPLC で分析した。必要に応じ、試料は -5°C の冷凍庫中で一夜保存した。

底質/水試料の分析

試料は、底質/水試料の分析手順 (下図、原報告書 Figure2) に従って抽出し、分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試料の保存条件及び安定性

すべての施用液と底質抽出液は -5°C の冷凍庫中で保存した。

揮発性トラップの分析

分解物の単離、特徴付け及び誘導体化

PES の特徴付け

以下の抽出手順を用いて抽出後の固体残渣の特徴付けを行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

1) ^{14}C 分布及び収支

試料に添加した ^{14}C の各時点における収支（回収率）を表 1 に示した。計算は、水相、有機溶媒抽出可能、揮発物トラップ及び PES 中に認められた ^{14}C の合計量に基づいて行った。

個別の試料採取日の物質収支は平均で 92.3 から 100.6% の範囲であった。

可溶性画分は、平均値で 0 時点の 100.1% から 28 日後には 85.8% に、試験終了時である 12 ヶ月後には 47.2% に減少した。結合体残留物(PES)は 0 時点の 0.5% から 28 日後には 12.1% に、12 ヶ月後には 51.5% に増加した。12 ヶ月の試験期間中に、少量（施用量の 0.5% 未満）の二酸化炭素と揮発性物質が観察された。

表 1 各時点での ^{14}C の分布（原報告書 Table IV）

数値は施用放射能に対する%、2 連平均

	水相 AQ	底質相抽出		小計	固体残渣	$^{14}\text{CO}_2$	揮発性 物質	合計
		OR1	OR2					
0 時点	14.1	83.7	2.3	100.1	0.5	0.00	0.00	100.6
2 日	7.4	81.9	5.6	94.8	3.2	0.00	0.00	98.0
7 日	6.1	78.4	5.4	89.9	7.8	0.01	0.00	97.7
14 日	5.2	67.9	9.9	83.0	12.1	0.02	0.00	95.1
28 日	5.2	68.3	12.4	85.8	12.1	0.03	0.00	97.9
2 ヶ月	4.6	73.0	6.7	84.2	15.8	0.04	0.00	100.0
4 ヶ月	4.5	52.3	15.2	72.0	28.4	0.07	0.00	100.5
6 ヶ月	3.2	40.3	15.8	59.3	35.5	0.09	0.00	94.9
8 ヶ月	3.0	34.5	12.4	49.8	42.4	0.12	0.00	92.3
10 ヶ月	2.9	33.2	13.6	49.6	46.1	0.14	0.00	95.8
12 ヶ月	2.6	35.0	9.6	47.2	51.5	0.17	0.00	98.9

2) D2341 と代謝物の半減期

D2341 とその代謝物の分布を表 2 に示した。又、D2341 及び代謝物の推移を図 1 に示した。代謝の速度は遅く、D2341（記号 A）は 0 時点の 93.1% から 28 日後に 70.5% に減少した後、8 ヶ月後で 10% に減少した。

採用した嫌気条件下での全試験期間中における D2341 の半減期は 77.9 日と算出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2 D2341 とその代謝物の分布（原報告書 Table V）

数値は施用放射能に対する％、2 連平均

測定時点	HPLC 画分					
				⁴ ₂ D2341、記号 A)		
0 時点				93.1		
2 日				88.6		
7 日				78.5		
14 日				69.0		
28 日(1 ヶ月)				70.5		
58 日(2 ヶ月)				60.6		
119 日(4 ヶ月)				32.5		
175 日(6 ヶ月)				17.5		
231 日(8 ヶ月)				7.1		
294 日(10 ヶ月)				6.1		
356 日(12 ヶ月)				4.8		

各数値は、全分析画分（AQ、OR1、OR2）の HPLC 画分の合計

ND：検出せず

図 1 D2341 の分解及び代謝物の生成と消失（原報告書 Figure20）

3) PES の特徴付け

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

4) 被験物質と試料の保存中における安定性

試験期間中に冷凍保存していた間、底質抽出液中の被験物質はかなり安定であった。2ヶ月後のAQ、OR1及びOR2抽出液を、抽出の0時点及び -5°C で約1ヶ月間保存後にHPLCにより分析した。その結果、抽出液はかなり安定であり、保存期間における組成変化は6%未満であった。

5) 想定代謝経路

嫌気性湛水底質における想定代謝経路を図2に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

図 2 D2341 の嫌気湛水底質における想定代謝経路（原報告書 Figure28）