

2. 植物における代謝試験

(資料 P-1)

(1) キャベツにおける代謝試験

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス
社(英国)
報告書作成年：1998年

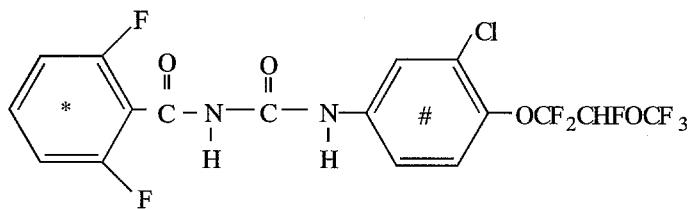
供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール- ^{14}C (U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール- ^{14}C (U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位；



: [Chlorophenyl- ^{14}C (U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル ; クロロフェニール環を ^{14}C でユニフォーム標識)

* : [Difluorophenyl- ^{14}C (U)]ノバルロンの標識部位(B ラベル ; ジフルオロフェニール環を ^{14}C でユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ^{14}C (U)標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ^{14}C (U)標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試植物：キャベツ (品種: Stonehead)

1) 栽培条件

プラスチックポット(長さ 70 cm x 幅 40 cm x 深さ 30 cm)に植え、トンネル状に網をはった戸外の場所で栽培した。栽培環境は自然環境とした。土壌は肥料を混合した砂質壤土(クレイ 12%, シルト 14%, 砂 74%, 有機炭素 0.8% および pH 7.7)を使用した。

2) 試験個数

各標識体に 6 キャベツ/ポットを 3 ポット使用

3) 栽培管理

充分な水やりと適切な殺虫剤の処理をした。ナメクジ剤を 4 回、アブラムシ用に 1 回殺虫剤を処理した。

方法：

1) 施用液の調製

[¹⁴C]ノバルロンを非活性成分ノバルロン 10EC に添加し、水に均一に懸濁して乳剤とし、施用液を調製した。

2) 処理の部位と方法

処理部位：キャベツ全体

処理回数：2 回散布

処理方法：各試験区 3 ポットを適切な場所におき散布用テントを木製フレームとプラスチックシートを用いてポットの周りに張った。施用液を入れた噴霧器を散布テントの切れ目から入れ、植物に全量を均一に散布した。散布テントは試料のサンプリングの為、取り外すまで 2-4 時間はそのまま放置した。

処理量：有効成分量として 50 g/ha/処理、製剤量として 0.25 L/ha

処理量の設定根拠：圃場における慣行施用量（有効成分量として 25-50 g/ha）に相当する量として 50 g/ha を選定した。

処理時期：表 1 に示す。

表 1 各ラベル体のキャベツへの処理時期と試験区の名称

処理	処理時期	
試験区名	6 week PHI	2 week PHI
1 回目処理	収穫前 8 週間	収穫前 5 週間
2 回目処理	収穫前 6 週間	収穫前 2 週間

3) 採取時期

3-1) 採取時期

採取時期を表 2 に示す。

表 2 各ラベル体処理後のキャベツの採取時期

試料採取時点	6 week PHI	2 week PHI
1 回目処理	収穫前 8 週間	収穫前 5 週間
2 回目処理	収穫前 6 週間	収穫前 2 週間
1 回目中間	収穫前 4 週間	収穫前 1 週間
2 回目中間	収穫前 2 週間	-
収穫	1997.10.1	1997.10.1

処理直後の採取は散布終了後 2-4 時間後に採取した。

3-2) 採取個数

各ポットから 1 個のキャベツをポリ袋に採取した。2 個は分析用に使用、残り 1 個は予備試料として凍結保存。

4) 分析方法

① 試料の前処理

処理開始前に根の土壤をすすぎ、根を除去し保存したが、分析はしなかった。

② 放射性総残留物 (TRR) の測定

根を除去した試料を採取後 24 時間にアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液の放射能レベルを LSC で測定した。表面洗浄後、キャベツは芯の下の部分でカットして外葉と内葉に分割した。収穫前 8 週間で採取した試料は個々に分析したが、他の試料は合わせた後分析した。

洗浄後のキャベツ試料はアセトニトリルおよびアセトニトリル:水混液でホモジナイズして抽出した。抽出物はろ紙でろ過し、抽出液を分取、抽出液の放射能レベルを LSC で測定した。抽出残渣は酸化燃焼処理後 LSC で測定した。

TRR は表面洗浄液(キャベツを入れたポリ袋の洗浄液を含む)、抽出物および抽出残渣の放射能の合計として求めた。

図 1 に分析法の概要を示す。

③ 放射能測定

液体試料は液体シンチレーション計数法(LSC)により、直接定量分析した。抽出残渣は試料燃焼装置で燃焼処理後 LSC により測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

③抽出物中の放射性成分の分析

図 1 で示された分析法により、得られた洗浄液および有機溶媒可溶抽出物で顕著な放射能レベルが検出された試料について HPLC 分析および LC-MS 分析に供した。

結果

結果を表 3 から 5 に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は 30 -45 g/ha/処理であった。

A ラベル製剤施用液中に不純物が検出され、放射能の % であった。施用液の放射化学的純度は % 以上であった。

2) TRR の分布および移行

各ラベル体をキャベツに処理した時の総放射能濃度を表 3 に要約し、分布を表 4 に示した。

放射性残留物のレベルは 1 回目処理後では 0.496 から 0.840 ppm であったが、2 回目の処理後では増大(0.535 から 1.085 ppm) した。その後収穫時にかけてキャベツの成熟により減少した(0.234 から 0.448 ppm)。

全試験区の各採取試料で、放射能の大部分はアセトニトリルにより植物体の表面から洗浄除去された。1回目処理後の表面洗浄液の放射能比はTRRの94.8から97.7%であったが、収穫時ではTRRの81.9から90.0%に減少した。残りの放射能物質の大部分は外葉および内葉から抽出された。1回目処理後の外葉および内葉から抽出された放射性物質の比率はTRRの2.2から5.1%の範囲であった。この比率は植物体の表面洗浄放射能が減少するにつれてTRRの8.0から15.3%に増加した。このことよりノバルロンは葉に吸収された。外葉および内葉の抽出物中での放射性物質の大部分はその後の有機溶媒で抽出された。残りの水溶性性残留物はTRRの1.0% ($\leq 0.005 \text{ ppm}$)以下であった。キャベツ中の抽出不能放射性残留物のレベルはTRRの2.8% ($\leq 0.009 \text{ ppm}$)以下であった。

表 3 ^{14}C -ノバルロン処理後のキャベツ中の放射能濃度 ($\mu\text{g eq/g}$)

試料採取時点	処理			
	B ラベル (6 weeks PHI)	A ラベル (6 weeks PHI)	B ラベル (2 weeks PHI)	A ラベル (2 weeks PHI)
処理 1	0.840 (8 weeks PHI)	0.620 (8 weeks PHI)	0.530 (5 weeks PHI)	0.496 (5 weeks PHI)
処理 2	1.029 (6 weeks PHI)	1.085 (6 weeks PHI)	0.637 (2 weeks PHI)	0.535 (2 weeks PHI)
中間採取 1	0.634 (4 weeks PHI)	0.544 (4 weeks PHI)	0.601 (1 weeks PHI)	0.479 (1 weeks PHI)
中間採取 2	0.446 (2 weeks PHI)	0.435 (2 weeks PHI)	-	-
収穫	0.234	0.345	0.448	0.323

PHI：収穫時までの期間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エスバイオテックにある。

表 4-1 Bラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布(試料6 week PHI 区)

採取時点	処理 1 8 week PHI		処理 2 6 week PHI		中間採取 1 4 week PHI		中間採取 2 2 week PHI		収穫
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	
アセトニトリル 洗浄液:	94.8	0.796	87.7	0.903	87.0	0.552	85.7	0.382	81.9 0.192
アセトニトリル抽出物 外葉	3.9	0.033	9.3	0.096	10.6	0.067	10.9	0.048	12.6 0.030
内葉	0.7	0.006	0.5	0.005	0.5	0.003	0.5	0.002	0.6 0.001
アセトニトリル/水抽出物 外葉	0.4	0.004	1.8	0.018	1.0	0.006	1.7	0.008	2.1 0.005
内葉	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.000	ND	ND	ND ND
抽出物合計	5.1	0.044	11.7	0.12	12.2	0.076	13.1	0.058	15.3 0.036
有機溶媒可溶:	外葉	4.8	0.040	11.1	0.114	10.0	0.063	13.6	0.061
	内葉	0.7	0.006	0.6	0.006	0.5	0.003	0.6	0.003
水性残留物:	外葉	0.1	0.001	0.2	0.002	0.2	0.001	0.6	0.003
	内葉	0.0	0.000	0.0	0.000	0.0	0.000	ND	ND
抽出不能残渣:	外葉	0.1	0.001	0.5	0.005	0.8	0.005	1.1	0.005
	内葉	0.0	0.000	0.0	0.000	0.1	0.001	0.1	0.000
TRR	100.0	0.840	100.0	1.029	100.0	0.634	100.0	0.446	100.0 0.234

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

表 4-2 Aラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布(試料6 week PHI 区)

採取時点	処理 1 8 week PHI		処理 2 6 week PHI		中間採取 1 4 week PHI		中間採取 2 2 week PHI		収穫
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	
アセトニトリル 洗浄液:	96.9	0.601	94.4	1.024	91.3	0.497	90.9	0.396	89.3 0.309
アセトニトリル抽出物 外葉	1.7	0.011	4.2	0.045	6.3	0.034	6.5	0.028	6.6 0.023
内葉	0.8	0.005	0.4	0.004	1.0	0.005	0.7	0.003	1.1 0.004
アセトニトリル/水抽出物 外葉	0.3	0.002	0.5	0.006	0.6	0.003	0.8	0.004	0.3 0.001
内葉	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.001	ND ND
抽出物合計	2.9	0.019	5.2	0.056	8.0	0.043	8.1	0.036	8.0 0.028
有機溶媒可溶:	外葉	1.6	0.010	4.4	0.048	6.4	0.035	7.5	0.033
	内葉	0.8	0.005	0.4	0.005	1.1	0.006	0.8	0.003
水性残留物:	外葉	0.1	0.000	0.1	0.001	0.2	0.001	0.2	0.001
	内葉	0.0	0.000	ND	ND	0.0	0.000	ND	ND
抽出不能残渣:	外葉	0.1	0.001	0.3	0.004	0.6	0.003	0.8	0.003
	内葉	0.1	0.000	0.0	0.000	0.1	0.001	0.1	0.001
TRR	100.0	0.62	100.0	1.085	100.0	0.544	100.0	0.435	100.0 0.345

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 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株式会社エス・ディー・エスバイオテックにある。

表 4-3 Bラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布（試料2week PHI 区）

採取時点	処理 1 5 week PHI		処理 2 2 week PHI		中間採取 1 1 week PHI		収穫		
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	
アセトニトリル 洗浄液：	96.6	0.512	96.4	0.614	92.7	0.556	88.3	0.395	
アセトニトリル抽出物 外葉	1.2	0.006	2.3	0.014	3.6	0.021	5.7	0.025	
内葉	1.7	0.009	0.6	0.004	2.2	0.013	4.0	0.018	
アセトニトリル/水抽出物 外葉	0.2	0.001	0.4	0.002	0.7	0.004	0.7	0.003	
内葉	0.2	0.001	0.1	0.001	0.4	0.003	0.7	0.003	
抽出物合計	3.3	0.017	3.4	0.021	6.9	0.041	11.1	0.049	
有機溶媒可溶：	外葉	1.3	0.007	2.1	0.013	6.2	0.037	7.1	0.032
内葉	1.9	0.010	0.6	0.004	2.2	0.013	4.8	0.021	
水性残留物：	外葉	0.1	0.000	0.2	0.001	0.2	0.001	ND	ND
内葉	ND	ND	0.0	0.000	ND	ND	0.1	0.001	
抽出不能残渣：	外葉	0.1	0.000	0.2	0.002	0.3	0.002	0.3	0.001
内葉	0.0	0.000	0.1	0.000	0.2	0.001	0.3	0.001	
TRR	100.0	0.530	100.0	0.637	100.0	0.601	100.0	0.448	

PHI：収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

表 4-4 Aラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布（試料2 week PHI 区）

採取時点	処理 1 5 week PHI		処理 2 2 week PHI		中間採取 1 1 week PHI		収穫		
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	
アセトニトリル 洗浄液：	97.7	0.485	94.0	0.503	91.5	0.438	90.0	0.290	
アセトニトリル抽出物 外葉	1.3	0.007	3.5	0.019	4.3	0.021	5.1	0.016	
内葉	0.6	0.003	1.6	0.009	2.8	0.014	3.2	0.010	
アセトニトリル/水抽出物 外葉	0.2	0.001	0.4	0.002	0.5	0.003	0.7	0.002	
内葉	0.1	0.000	0.1	0.001	0.4	0.002	0.6	0.002	
抽出物合計	2.2	0.011	5.6	0.031	8.0	0.04	9.6	0.03	
有機溶媒可溶：	外葉	1.4	0.007	3.6	0.019	4.7	0.023	5.8	0.019
内葉	0.7	0.003	1.6	0.008	1.8	0.009	3.3	0.011	
水性残留物：	外葉	ND	ND	0.1	0.000	ND	ND	ND	ND
内葉	ND	ND	0.0	0.000	1.0	0.005	0.3	0.001	
抽出不能残渣：	外葉	0.1	0.000	0.3	0.002	0.2	0.001	0.3	0.001
内葉	0.0	0.000	0.1	0.000	0.2	0.001	0.1	0.000	
TRR	100.0	0.496	100.0	0.535	100.0	0.479	100.0	0.323	

PHI：収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

3) 代謝

キャベツの放射性成分の分析結果を表 5 に示す。

全処理区において各採取時点で採取したキャベツの洗浄液および抽出物の放射性物質はほとんどすべてノバルロンであった。検出されたノバルロンの比率は 95.6 から 99.9% であり、そのレベルは 1 回目処理(0.484–0.834 ppm)から収穫時(0.225–0.447 ppm)に減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エスバイオテックにある。

表 5-1 ノバルロン処理後のキャベツ中の放射性成分の同定（試料 6 week PHI 区）

B ラベル	採取時点	処理 1 8 week PHI	処理 2 6 week PHI	中間採取 1 4 week PHI	中間採取 2 2 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm
A ラベル	採取時点	処理 1 8 week PHI	処理 2 6 week PHI	中間採取 1 4 week PHI	中間採取 2 2 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm

表 5-2 ノバルロン処理後のキャベツ中の放射性成分の同定（試料 2 week PHI 区）

B ラベル	採取時点	処理 1 5 week PHI	処理 2 2 week PHI	中間採取 1 1 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm
A ラベル	採取時点	処理 1 5 week PHI	処理 2 2 week PHI	中間採取 1 1 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

まとめ

キャベツに処理された [^{14}C] ノバルロンはキャベツに残留し、その大部分は外葉に検出された。またその残留量は時間経過につれ減少した。残留した主要放射能成分はノバルロンのみであった。

(資料 P-2)

(2) ジャガイモにおける代謝試験

試験機関：ハンティンドン ライフサイエンス
社(英国)
報告書作成年：1998年

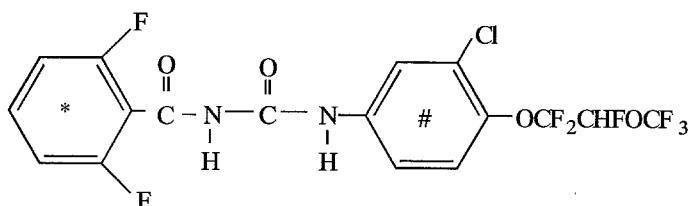
供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位；



: [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル ; クロロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

* : [Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (B ラベル ; ジフルオロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試植物：ジャガイモ (品種: Maris Peer)

1) 栽培条件

種イモは市販品を購入。1997年7月2日にポット(直径 30 cm)に移植し、戸外で栽培した。

栽培環境は自然環境とした。土壤は肥料を混合した砂質壤土(クレイ 10 or 11%, シルト 26 or 30 %, 砂 64 or 59%, 有機炭素 1.7 or 0.5%およびpH 7.0 or 7.3)を使用した。

2) 試験個数

各標識体に 1 ジャガイモ植物/ポットを 16 ポット使用。

3) 栽培管理

充分な水やりと胴枯れ病に対し、マンゼブを約 10 日間隔で処理をした。

方法：

1) 施用液の調製

[¹⁴C]ノバルロンに非放射性ノバルロン(純度 99.3%)および不活性成分ノバルロン 10EC を添加し、水に均一に懸濁して乳剤とし、施用液を調製した。

2) 処理の部位と方法

処理部位：ジャガイモ植物体全体

処理回数：2 回散布

処理方法：各試験区ポットを適切な場所におき散布用テントを木製フレームとプラスチックシートを用いてポットの周りに張った。施用液を入れた散布装置を散布テントの切れ目から入れ、植物に全量を均一に散布した。散布テントは試料のサンプリングの為、取り外すまで 2-4 時間はそのまま放置した。

処理量：有効成分量として 100 g/ha/処理、 製剤量として 0.5 L/ha/処理

処理量の設定根拠：圃場における慣行施用量（有効成分量として 100 g/ha 処理）に相当する量として 100 g/ha/処理を選定した。

処理時期：表 1 に示す。

表 1 各ラベル体のジャガイモへの処理時期

処理	処理時期
第 1 回処理	収穫前 43 日
第 2 回処理	収穫前 29 日

3) 採取時期

3-1) 採取時期

採取時期を表 2 に示す。

表 2 各ラベル体処理後のジャガイモの採取時期

試料採取時点	採取時期
第 1 回処理	収穫前 43 日
第 2 回処理	収穫前 29 日
第 1 回中間	収穫前 22 日
第 2 回中間	収穫前 10 日
収穫	1997. 10. 23

処理直後の採取は散布終了後 2-4 時間後に採取した。

3-2) 採取個数

各試験区から 2 個のジャガイモ植物をまず葉を切り取り、葉をポリ袋に採取した。次に土壌を掘りおこし、塊茎を採取し、別のポリ袋に採取した。1 個の植物は分析用に使用、残り 1 個は予備試料として凍結保存。

4) 分析方法

① 試料の前処理

処理開始前に塊茎の土壌を水で洗浄し、その後塊茎を乾燥した。

② 放射性総残留物 (TRR) の測定

a. 葉の試料

採取後 24 時間内にアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液の放射能レベルを LSC で測定した。洗浄後の葉の試料はアセトニトリルおよびアセトニトリル：水混液でホモジナイズして抽出した。抽出物はろ紙でろ過し、抽出液を分取、抽出液の放射能レベルを LSC で測定した。抽出残渣は酸化燃焼処理後 LSC で測定した。

TRR は表面洗浄液(ジャガイモ葉の試料を入れたポリ袋の洗浄液を含む)、抽出物および抽出残渣の放射能の合計として求めた。

図 1 に分析法の概要を示す。

b. 塊茎の試料

CO₂ でホモジナイズ後 1 部を酸化燃焼処理後 LSC で測定した。

③ 放射能測定

液体試料は液体シンチレーション計数法(LSC)により、直接定量分析した。固体試料は試料燃焼装置で燃焼処理後 LSC により測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

③抽出物中の放射性成分の分析

図1で示された分析法により、得られた洗浄液および有機溶媒可溶抽出物で顕著な放射能レベルが検出された試料についてHPLC分析を行い、一部の試料についてはLC-MS分析に供した。

結果

結果を表3から5に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は91-100 g/ha/処理であった。

Aラベル製剤施用液中に不純物が検出され、放射能の%であった。施用液の放射化学的純度は%以上であった。

2) TRR の分布および移行

各ラベル体をジャガイモに処理した時の総放射能濃度を表3に要約し、分布を表4に示した。第1回処理後の葉中の放射性残留物のレベルは1.56-2.17 ppmであった。放射性残留物のレベルは第2回の処理後では増大(4.81-6.96 ppm)し、その後収穫前10日では減少(0.79-2.17 ppm)したが収穫時では葉が枯れることにより増大した(5.89-9.87 ppm)。塊茎では収穫前10日および収穫時で極めて低いレベルの放射性残留物(<0.01 ppm)が検出された。塊茎はTRRの調査しか行わなかった。

ジャガイモに処理された放射能の大部分は植物体(葉)の表面からアセトニトリルで洗浄除去された。第1回処理後の表面洗浄液の放射能比はTRRの93.8-95.9%であった。これは収穫時ではTRRの80.5-83.3%に減少した。残りの放射能物質の大部分は葉から抽出された。第1回処理後の葉から抽出された放射性物質の比率はTRRの3.9-6.0%の範囲であった。これは植物体の表面洗浄放射能が減少するにつれてTRRの15.5-18.7%に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エスバイオテックにある。

従ってノバルロンは葉に吸収されていた。葉の抽出物中での放射性物質の大部分は次いで有機溶媒可溶抽出物に分配された。残存水性残留物は TRR の 0.6% ($\leq 0.049 \text{ ppm}$) 以下であった。葉中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 1.2% ($\leq 0.119 \text{ ppm}$) 以下であった。

表 3 各標識体処理後のジャガイモ中の放射能濃度 ($\mu\text{g equiv./g, ppm}$)

	処理 1 43 日 PHI (ppm)	処理 2 29 日 PHI (ppm)	中間採取 1 22 日 PHI (ppm)	中間採取 2 10 日 PHI (ppm)	収穫 (ppm)
B ラベルノバルロン 葉	2.17	4.81	4.37	0.79	9.87
	ND	ND	ND	<0.01	ND
A ラベルノバルロン 葉	1.56	6.96	4.32	2.17	5.89
	ND	ND	ND	<0.01	<0.01

ND: 検出せず

PHI=収穫時までの期間

表 4-1 Bラベルノバルロン処理後のジャガイモの放射能分布

採取時点	処理 1 43 日 PHI % TRR ppm	処理 2 29 日 PHI % TRR ppm	中間採取 1 22 日 PHI % TRR ppm	中間採取 2 10 日 PHI % TRR ppm	収穫 % TRR ppm
葉: アセトニトリル 洗浄液:	93.8 2.037	91.0 4.380	88.2 3.853	86.2 0.677	83.3 8.227
アセトニトリル抽出物:	5.5 0.120	7.3 0.350	10.5 0.457	11.5 0.090	11.2 1.107
アセトニトリル/水抽出物 抽出物合計	0.5 0.011	1.0 0.050	1.0 0.045	1.2 0.010	4.3 0.422
	6.0 0.131	8.3 0.400	11.5 0.502	12.7 0.100	15.5 1.529
有機溶媒可溶:	5.7 0.125	7.7 0.372	11.8 0.515	13.1 0.103	14.6 1.438
水性残留物:	0.2 0.004	0.2 0.010	0.3 0.013	0.6 0.005	0.5 0.049
抽出不能残渣:	0.2 0.004	0.7 0.033	0.4 0.015	1.1 0.008	1.2 0.119
TRR	100.0 2.172	100.0 4.814	100.0 4.370	100.0 0.785	100.0 9.874
塊茎: TRR	ND ND	ND ND	ND ND	100.0 0.001	ND ND

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

ND: 検出せず

表 4-2 Aラベルノバルロン処理後のジャガイモの放射能分布

採取時点	処理 1 43日 PHI		処理 2 29日 PHI		中間採取 1 22日 PHI		中間採取 2 10日 PHI		収穫	
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
葉： アセトニトリル 洗浄液：	95.9	1.496	90.2	6.278	88.7	3.833	87.4	1.899	80.5	4.744
アセトニトリル抽出物：	3.6	0.056	6.5	0.451	9.7	0.419	10.8	0.235	15.0	0.886
アセトニトリル/水抽出物 抽出物合計	0.3	0.005	2.2	0.154	1.1	0.048	1.1	0.024	3.7	0.216
3.9	0.061	8.7	0.605	10.8	0.467	11.9	0.259	18.7	1.102	
有機溶媒可溶：	3.9	0.061	8.1	0.562	11.4	0.491	11.8	0.257	18.3	1.077
水性残留物：	0.1	0.001	0.1	0.010	0.4	0.019	0.3	0.006	0.2	0.009
抽出不能残渣：	0.2	0.002	1.1	0.078	0.5	0.023	0.7	0.014	0.8	0.048
TRR	100.0	1.559	100.0	6.962	100.0	4.323	100.0	2.173	100.0	5.894
塊茎： TRR	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.0	0.001	100.0	0.001

PHI：収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

ND:検出せず

3) 代謝

ジャガイモの放射性成分の分析結果を表 5 に示す。

表 5 ノバルロン処理後のジャガイモ葉中の放射性成分の同定

B ラベル	採取時点	処理 1 43 日 PHI	処理 2 29 日 PHI	中間採取 1 22 日 PHI	中間採取 2 10 日 PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm
A ラベル	採取時点	処理 1 43 日 PHI	処理 2 29 日 PHI	中間採取 1 22 日 PHI	中間採取 2 10 日 PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm

PHI: 収穫時までの期間

葉の表面洗浄液および有機溶媒可溶抽出物は HPLC で分析した。全処理区の全ジャガイモの洗浄液および抽出物の放射性物質はほとんどすべてノバルロンであるといえた。検出されたノバルロンの比率は 96.4 ~ 99.6% の範囲であり、そのレベルは第 1 回処理(1.522 ~ 2.152 ppm)から収穫前 10 日(0.772 ~ 2.093 ppm)で減少し、その後収穫時(5.707 ~ 9.573 ppm)で葉が枯れることにより増加した。

まとめ

ジャガイモに処理されノバルロンはジャガイモの葉に残留し、塊茎には顕著な放射能は検出されなかった。従って葉に処理されたノバルロンは塊茎に移行しなかった。残留した放射能は処理直後で高く、その後収穫 10 日前で減少したが、収穫時には再び高かった。これは葉が枯れることによると推察された。

(資料 P-3)

(3) りんごにおける代謝試験

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス
社(英國)
報告書作成年：1998年

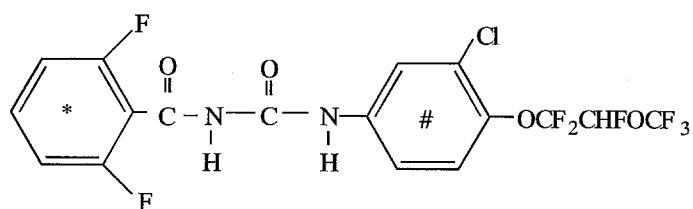
供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール-¹⁴C(U) 標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール-¹⁴C(U) 標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位；



* : [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル ; クロロフェニール環を¹⁴C でユニフォーム標識)

* : [Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (B ラベル ; ジフルオロフェニール環を¹⁴C でユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U) 標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ¹⁴ C(U) 標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試植物：りんご (品種：ゴールデンデリシャス)

1) 作物選定の根拠

りんごは被験物質の代表的な適用作物の 1 つであり、作物での残留性と特徴について評価する為。

2)栽培条件

2年生以上の結実した果実があるりんごの樹をプラスチックポット (38 cm × 38 cm) に植え、金網フェンスの中でトンネル状に網をはった場所で栽培した。栽培環境は自然環境とした。

3)試験本数

各標識体に 6 本のりんごの樹を使用した。

4)栽培管理

充分な水やりと適切な農薬および肥料の処理をした。農薬処理を一度行った以外は罹病した葉を剪定して害虫および病気の防除管理をした。

方法：

1) 施用液の調製

[¹⁴C]ノバルロンを非活性成分ノバルロン 10EC に添加し、水に均一に懸濁して乳剤とし、施用液を調製した。

2) 処理の部位と方法

処理部位：りんごの果実と葉

処理回数：2 回散布と 3 回散布

処理方法：りんごの樹をポリテնでカバーした木製フレームの中に入れ、カバーの切れ目からエアゾール散布器を用い、果実と葉に処理した。2 回処理用に 4 本、3 回処理用に 2 本を選定した。3 回処理用の 1 本の樹で果実のついた 1 枝をポリテն袋で覆い、薬剤に暴露しないようにした(防護試料と称す)。

処理量：25 g(ai)/ha/処理

処理量の設定根拠：圃場における使用予定濃度 (0.005 % 有効成分含有) 敷設液を十分量とした。

処理時期：表 1 に示す。

表 1 各ラベル体のりんごへの処理時期

処理	処理時期
1 回目処理	収穫前 110 日
2 回目処理	収穫前 90 日
3 回目処理	収穫前 60 日

3) 採取時期

採取時期を表 2 に示す。

試料の採取量は処理直後と中間試料では果実・葉各 6 個以上、採集収穫時では各 9 個以上採取した。

表 2 各ラベル体処理後のりんごの採取時期

採取試料	採取時期		
	最終収穫時までの期間 (日)	処理後経過日数(日)	
		2回処理区	3回処理区
1回目処理直後	110	0	0
2回目処理直後	90	0	0
3回目処理直後	60	—	0
中間試料 1	60	最終処理後 30	—
中間試料 2	30	最終処理後 60	最終処理後 30
最終収穫および 防護試料	0	最終処理後 90	最終処理後 60

処理直後の採取は散布終了後約2時間後に採取した。

4) 分析方法

① 放射性総残留物(TRR)の測定

試料を採取後3-4時間内にアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液の放射能レベルをLSCで測定した。表面洗浄後、果実と葉はアセトニトリルおよびアセトニトリル：水混液でホモジナイズして抽出した。抽出物は遠心分離で分離し、抽出液を分取、抽出液の放射能レベルをLSCで測定した。1回目処理および2回処理直後に採取した果実試料は果実全体を分析したが、その後、果実試料は表面洗浄後皮をむき皮と果肉を別々に抽出した。抽出残渣は酸化燃焼処理後LSCで測定した。TRRは表面洗浄液、抽出物および抽出残渣の放射能の合計として求めた。

図1に分析法の概要を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

②抽出物中の放射性成分の分析

図1で示された分析法により、得られた洗浄液および抽出物で顕著な放射能レベルが検出された試料についてHPLC分析に供し、HPLC溶出液を分画し、各画分をLSCで測定した。また一部試料はTLCコクロマトグラフィーにより、成分の同定をした。

結果

結果を表3から9に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は2.5-2.7 mg/樹/処理であった。これは50-80 g/haの濃度に相当し、0.005%有効成分を含む慣行施用をした場合の1000-1600 L/ha処理量に相当する。

2) TRRの分布および移行

各ラベル体をりんごに処理した時の果実および葉中の総放射能濃度を表3に要約し、表4-5に示した。

果実および葉中の放射性総残留物は処理後時間経過とともに減少した。処理直後の果実中の残留量は0.1-0.2 ppmであったが、最終収穫時においては、2回処理(処理後90日)で0.02 ppmおよび3回処理(処理後60日)で0.03-0.04 ppmに減少した。同様に処理直後の葉中の残留量は2-9 ppmであったが、最終収穫時においては、2回処理で0.6-1.1 ppmおよび3回処理で0.9-2.9 ppmに減少した。

果実の表面洗浄液中の放射能比は時間とともに減少し、最終処理直後で70-95%認められたが最終収穫時には47-57%に減少した。抽出物は最終処理直後で5-29%検出されたが収穫時には41-50%に増加した。抽出可能放射能の大部分は皮で回収された。この結果はノバルロンは果肉には極低レベルであることから、りんごの皮の部分に徐々に吸収されることを示した。抽出不能放射能は最終処理直後の0.2-0.9%から収穫時で3-5%に増加した。

葉の表面洗浄液中の放射能比は、最終処理直後の85-98%から最終収穫時で72-82%に時間とともに減少した。抽出物はそれに対応して最終処理直後の2-15%から収穫時で18-26%に増加した。抽出不能放射能は放射性総残留物の3%以下であった。

防護試料の果実では顕著な放射能は検出されなかった(<0.01 ppm)。また葉には僅かに0.04-0.05 ppmが検出された。

表 3 ^{14}C -ノバルロンをりんごの樹に処理後の果実と葉中の平均総放射能濃度(TRR) (ppm)

試料		処理 1 (収穫前 110 日)	処理 2 (収穫前 90 日)	処理 3/ 中間試料 1 (収穫前 60 日)	中間試料 2 (収穫前 30 日)	最終 収穫
B ラベル						
2回処理	果実	0.21	0.21	0.07	0.03	0.02
	葉	5.02	3.58	1.39	1.21	0.57
3回処理	果実	0.21	0.21	0.08	0.04	0.03
	葉	5.02	3.58	6.66	3.40	2.87
防護処置	果実	ns	ns	ns	ns	<0.01
	葉	ns	ns	ns	ns	0.05
A ラベル						
2回処理	果実	0.17	0.12	0.06	0.01	0.02
	葉	1.94	5.17	2.96	1.42	1.05
3回処理	果実	0.17	0.12	0.09	0.10	0.04
	葉	1.94	5.17	9.10	2.05	0.88
防護処置	果実	ns	ns	ns	ns	<0.01
	葉	ns	ns	ns	ns	0.04

ns サンプリングせず。

表 4-1 B ラベル2回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		中間試料 1 (収穫前60日)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実：										
表面洗浄液	98.5	0.205	70.4	0.149	71.4	0.051	52.9	0.014	46.8	0.007
抽出物 果皮	na	na	na	na	22.4	0.016	40.4	0.011	43.2	0.007
果肉	1.5	0.003	29.4	0.062	2.4	0.002	5.1	0.001	6.6	0.001
残渣										
果皮	na	na	na	na	3.6	0.003	1.4	<0.001	3.0	<0.001
果肉	<0.1	<0.001	0.2	<0.001	0.1	<0.001	0.3	<0.001	0.4	<0.001
TRR	100	0.208	100	0.212	100	0.072	100	0.027	100	0.016
葉：										
表面洗浄液	98.8	4.957	85.4	3.060	83.8	1.163	83.3	1.006	73.7	0.419
抽出物	1.2	0.060	14.6	0.523	15.8	0.219	16.1	0.194	24.2	0.138
残渣	<0.1	<0.005	0.1	0.004	0.5	0.007	0.7	0.008	2.1	0.012
TRR	100	5.017	100	3.583	100	1.388	100	1.208	100	0.569

na: 分析せず 果肉：1, 2回目処理直後は果実全体を分析

表 4-2 B ラベル3回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		3回目処理 (散布直後)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実：										
表面洗浄液	98.5	0.205	70.4	0.149	84.6	0.067	56.0	0.024	56.6	0.019
抽出物 果皮	na	na	na	na	12.9	0.010	37.0	0.016	36.8	0.013
果肉	1.5	0.003	29.4	0.062	2.2	0.002	5.9	0.003	3.7	0.001
残渣										
果皮	na	na	na	na	0.4	<0.001	0.9	<0.001	2.6	0.001
果肉	<0.1	<0.001	0.2	<0.001	0.1	<0.001	0.3	<0.001	0.2	<0.001
TRR	100	0.208	100	0.212	100	0.079	100	0.043	100	0.034
葉：										
表面洗浄液	98.8	4.957	85.4	3.060	96.0	6.394	88.3	3.000	81.7	2.348
抽出物	1.2	0.060	14.6	0.523	3.9	0.260	11.3	0.384	17.5	0.503
残渣	<0.1	<0.005	0.1	0.004	0.1	0.007	0.4	0.014	0.9	0.026
TRR	100	5.017	100	3.583	100	6.660	100	3.398	100	2.874
防護果実：										
表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	31.3	0.001
抽出物 果皮	—	—	—	—	—	—	—	—	39.2	0.001
果肉	—	—	—	—	—	—	—	—	25.8	0.001
残渣										
果皮	—	—	—	—	—	—	—	—	2.6	<0.001
果肉	—	—	—	—	—	—	—	—	1.1	<0.001
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.002
防護葉：										
表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	61.3	0.031
抽出物	—	—	—	—	—	—	—	—	35.4	0.018
残渣	—	—	—	—	—	—	—	—	3.4	0.002
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.051

na: 分析せず 果肉：1, 2回目処理直後は果実全体を分析

表 5-1 Aラベル2回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		中間試料 1 (収穫前60日)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実：										
表面洗浄液	98.3	0.171	94.5	0.109	72.6	0.041	44.7	0.005	53.9	0.013
抽出物 果皮	na	na	na	na	22.6	0.013	45.6	0.005	37.1	0.009
果肉	1.7	0.003	5.0	0.006	3.3	0.002	6.0	0.001	3.9	0.001
残渣 果皮	na	na	na	na	1.3	0.001	3.0	<0.001	4.9	0.001
果肉	<0.1	<0.001	0.5	0.001	0.3	<0.001	0.8	<0.001	0.3	<0.001
TRR	100	0.174	100	0.115	100	0.057	100	0.012	100	0.024
葉：										
表面洗浄液	98.9	1.920	97.7	5.051	87.4	2.590	75.3	1.071	75.8	0.797
抽出物	1.1	0.021	2.3	0.119	12.1	0.359	22.9	0.326	21.7	0.228
残渣	<0.1	<0.002	0.1	0.005	0.6	0.018	1.8	0.026	2.5	0.026
TRR	100	1.941	100	5.170	100	2.963	100	1.422	100	1.052

na: 分析せず 果肉：1, 2回目処理直後は果実全体を分析

表 5-2 Aラベル3回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		3回目処理 (散布直後)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実：										
表面洗浄液	98.3	0.171	94.5	0.109	84.6	0.080	69.0	0.066	54.2	0.022
抽出物 果皮	na	na	na	na	13.2	0.012	26.4	0.025	37.9	0.015
果肉	1.7	0.003	5.0	0.006	1.4	0.001	2.8	0.003	3.6	0.001
残渣 果皮	na	na	na	na	0.7	0.001	1.7	0.002	3.9	0.002
果肉	<0.1	<0.001	0.5	0.001	0.2	<0.001	0.2	<0.001	0.4	<0.001
TRR	100	0.174	100	0.115	100	0.094	100	0.096	100	0.040
葉：										
表面洗浄液	98.9	1.920	97.7	5.051	94.3	8.577	79.8	1.637	71.9	0.636
抽出物	1.1	0.021	2.3	0.119	5.4	0.491	18.9	0.388	25.5	0.225
残渣	<0.1	<0.002	0.1	0.005	0.3	0.027	1.4	0.029	2.6	0.023
TRR	100	1.941	100	5.170	100	9.095	100	2.051	100	0.884
防護果実：										
表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	36.5	0.001
抽出物 果皮	—	—	—	—	—	—	—	—	48.1	0.001
果肉	—	—	—	—	—	—	—	—	8.3	<0.001
残渣 果皮	—	—	—	—	—	—	—	—	6.1	<0.001
果肉	—	—	—	—	—	—	—	—	1.1	<0.001
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.002
防護葉：										
表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	42.2	0.017
抽出物	—	—	—	—	—	—	—	—	47.0	0.016
残渣	—	—	—	—	—	—	—	—	4.9	0.002
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.035

na: 分析せず 果肉：1, 2回目処理直後は果実全体を分析

3) 代謝

りんご果実および葉の放射性成分の分析結果を表 6-9 に示す。

全ての表面洗浄液および抽出物での主要成分は未代謝のノバルロンであり、果実(表面洗浄液と抽出物の合計)で放射性総残留物の 88.9%以上および葉では 92.6%以上検出された(表 8 - 9)。

他の成分は果実で 1.3% (0.001 ppm) および葉で 1.7% (0.024 ppm) 以下であった。分析しなかった抽出物は果実で <0.1 - 6.6% (<0.001 - 0.001 ppm) であった。抽出不能放射能は果実で <0.1 - 5.2% (<0.001 - 0.001 ppm) および葉で <0.1 - 2.6% (<0.005 - 0.023 ppm) であった(表 6 - 7)。

両標識体の結果の平均値として求めた最終収穫時におけるノバルロンの量は以下であった。

	ノバルロン(% of TRR)	ノバルロン (ppm)
果実 :		
2 回 処理	90.0	0.018
3 回 処理	92.1	0.034
葉 :		
2 回 処理	97.7	0.792
3 回 処理	97.5	1.833

りんご中の総残留物の主要成分はノバルロンのみであった。

顕著な放射能(<0.01 ppm)はノバルロンを 3 回処理後の防護果実には検出されなかった。このことは移行が生じてないことを示唆した。

表 6 最終収穫時のりんご果実中の放射性成分比(%TRR, ppm)

成分	B ラベル		A ラベル	
	2 回処理		3 回処理	
	%	ppm	%	ppm

表 7 最終収穫時のりんご葉中の放射性成分比(%TRR, ppm)

成分	B ラベル		A ラベル	
	2 回処理		3 回処理	
	%	ppm	%	ppm

表 8 りんご果実中のノバルロンの推移(%TRR, ppm)

収穫日までの 日数	採取時点	B ラベル		A ラベル	
		2 回処理	3 回処理	2 回処理	3 回処理
110	処理 1	98.2	0.204	98.2	0.204
90	処理 2	99.8	0.212	99.8	0.212
60	処理 3/中間 1	91.0	0.066	96.2	0.076
30	中間 2	92.6	0.025	91.7	0.039
0	最終収穫	88.9	0.014	92.0	0.031

表 9 りんご葉中のノバルロンの推移(%TRR, ppm)

収穫日までの 日数	採取時点	B ラベル		A ラベル	
		2 回処理	3 回処理	2 回処理	3 回処理
110	処理 1	98.3	4.932	98.3	4.932
90	処理 2	100	3.583	100	3.583
60	処理 3/中間 1	92.6	1.285	99.1	6.600
30	中間 2	98.9	1.195	99.1	3.367
0	最終収穫	97.9	0.557	97.6	2.805

まとめ

りんごに処理された [^{14}C] ノバルロンは、りんごに残留し、その大部分は果皮に検出された。またその残留量は時間経過につれ、減少した。残留した放射能成分はノバルロンのみであった。

さらに防護果実の結果より、移行はなかった。