

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2. 植物体内運命に関する試験

2-1. ¹⁴C-標識検体のレタスにおける代謝試験

(代謝・分解 3)

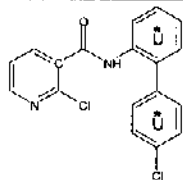
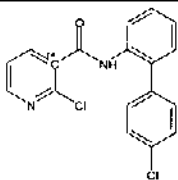
試験機関: BASF 農業研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告年: 1999年

供試標識化合物: 検体のジフェニル環及びピリジン環を ¹⁴C で標識した。

下表に検体について要約する。

| 略 称 | ジフェニル標識体 | ピリジン標識体 |
|---------------|---|---|
| 構造式・標識部位 |  |  |
| 化学名 | 2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide | |
| 分子式 | C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O | |
| 分子量 | 343.22 g/mol | |
| 比放射能 (MBq/mg) | | |
| 比放射能 (dpm/μg) | | |
| 放射化学的純度 | | |

標識部位の設定理由:

供試植物: レタス(品種名: Nadine)

栽培環境: 温室または植物育成室内に設置したプラスチック製ポット(表面積 18 x 18cm)で栽培した。

ポット: 壤質砂土を 15 個のポットに充填した。

移植: 各標識体につき 2 葉期の苗を 15 本移植

方 法:

1) 処理量

処理剤の調製: 検体を _____ に溶解し, _____, 水で希釈して散布液を調製した。

使用量: 700 g a. i. /ha (想定慣行圃場使用量)

散布量: 600L/ha(第1回目散布), 1000L/ha(第2, 3回目散布)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2) 処 理

処理部位・方法：茎葉に手動式噴霧器で散布

処理回数：3回

処理時期：移植後8日(3葉期)で第1回目散布，その後14日間隔で2回散布

処理面積：約0.5m²

3) 試料採取

採取時期：最終散布(3回目散布)18日後(1997年10月13日)

採取部位：茎葉部

採取後直ちに液体窒素で凍結し，-18℃以下の冷凍庫で保存した。一部試料は均質化後保存した。

分析方法：

(1) 総残留放射能(TRR)の測定

均質化試料の一部を採取し，

抽出後，遠心分離した。抽出液はLSCで放射能を計測し，残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。TRRは抽出液と残渣の含量

として算出した。

(2) 残留放射能の特徴付け及び同定

単離画分をLSCで放射能を計測して定量

した。またクロマトグラフィー及びLC/MS/MS分析で残留放射能の特徴付け及び同定を実施した。

分析法のスキームを図1に示す。

図1. レタス抽出操作スキーム

結 果

(1) 総残留放射能 (TRR) の分布

レタス試料中の TRR の分布を表 1 に示した。

表 1. レタス茎葉部中の残留放射能 (mg/kg)

| 標 識 体 | 抽出液 | 抽出残渣 | TRR |
|----------|-------------------|-----------------|------------------|
| ジフェニル標識体 | 17.412 (99.3%) | 0.129 (0.7%) | 17.541 (100%) |
| ピリジン標識体 | 17.507 (99.3%) | 0.115 (0.7%) | 17.622 (100%) |

() は TRR に対する %。

抽出操作で両 ^{14}C -標識体 (ジフェニル標識体及びピリジン標識体) とも TRR の約 99% が抽出され、抽出効率は良好であった。抽出残渣は 0.7% であった。

(2) 抽出物の同定、特徴付け及び定量

HPLC で特徴付け及び定量した結果を表 2 に示す。

表 2. 抽出物の HPLC 分析結果

| 標識体 | 同定抽出残留放射能 | | 未同定残留 | |
|----------|-----------|------|-------|------|
| | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
| ジフェニル標識体 | 17.412 | 99.3 | 0.129 | 0.7 |
| ピリジン標識体 | 17.507 | 99.3 | 0.115 | 0.7 |

両標識体の抽出液中には親化合物のみが検出され、LC/MS/MS で同定した。抽出残渣中の放射能は低濃度であったため、特徴付けは行わなかった。

結 論

- レタスへの処理量が $3 \times 700\text{g}$ 有効成分/ha と高かったこと、最終散布後 18 日の短期間で採取した試料であったことから、総残留放射能 (TRRs) は比較的高かった (17.5~17.6mg/kg)。
- 抽出効率 (>99%) が良好であったことから、検体は結合型残留物へ緩やかに代謝されることが示唆された。
- レタス茎葉部における主要な残留放射能は親化合物のみであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2-2. ¹⁴C-標識検体の果実における代謝試験

(代謝・分解 4)

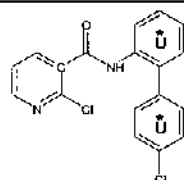
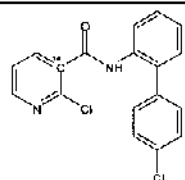
試験機関：BASF 農業研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告年：2001年

供試標識化合物：検体のジフェニル環及びピリジン環を ¹⁴C で標識した(申請者注：以下それぞれ「ジフェニル標識体」及び「ピリジン標識体」とする)。

下表に検体について要約する。

| 略 称 | ジフェニル標識体 | ピリジン標識体 |
|---------------|---|---|
| 構造式・標識部位 |  |  |
| 化学名 | 2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide | |
| 分子式 | C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O | C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O |
| 分子量 | 343.22 g/mol | 343.22 g/mol |
| 比放射能 (MBq/mg) | | |
| 比放射能 (dpm/μg) | | |
| 放射化学的純度 | | |

標識部位の設定理由：

供試植物：ぶどう樹(品種名：Mueller-Thurgau)

栽培環境：BASF 農業研究所(ドイツ)で4区画(1区画：長さ 1.1m)を用いて栽培し、2区画を処理区に使用した。栽培管理は慣行栽培方法に従った。

方 法：

1) 処理量

処理剤の調製：検体を 溶解して ，水で希釈して散布液を調製した。

使用量：800 g a. i. /ha (想定慣行圃場使用量)

散布量：600L/ha

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2) 処 理

処理部位・方法：茎葉に手動式噴霧器で散布

処理回数：3回

処理時期：1997年6月25日、1997年7月8日、1997年8月18日

処理面積：約1.2m²(長さ1.1mから計算)

3) 試料採取

採取部位：茎葉部、果房

採取時期：葉 部；最終散布後15日(1997年9月2日)

最終散布後45日(1997年10月2日)

果 房；最終散布後45日(1997年10月2日)

採取後直ちに果房は果実と果柄に分けた。各試料及び茎葉部を液体窒素で凍結し、均質化後約-18℃の冷凍庫で保存した。

分析方法：

分析には最終散布後45日で収穫した茎葉部と果房を使用した。

(1) 総残留放射能(TRR)の測定

果実及び果柄：

均質化試料の一部を採取し、次いで抽出後遠心分離した。各抽出液はLSCで放射能を計測し、残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。

TRRは抽出液と残渣の含量として算出した。

葉 部：

均質化試料の一部を採取し、抽出後遠心分離した。抽出液はLSCで放射能を計測し、残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。

TRRは抽出液と残渣の含量として算出した。

(2) 残留放射能の特徴付け

各試料の抽出液を濃縮し

で液々分配した。各有機溶媒層及び水層をLSCで放射能を計測し、さらに有機溶媒層はHPLCで分析した。

(3) 代謝物パターンの調査

抽出液、果柄の抽出液及び分配後の有機溶媒層の代謝物パターンをHPLCで分析・同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

(4) 保存安定性の調査

果実試料を用い、試験開始時と終了時(初回調査から 419 日後)に分析して、分析値の比較検討をした。終了時での分析は抽出のみとし、抽出液と残渣をそれぞれ LSC 及び HPLC 分析した。

分析法のスキームを図 1, 2 及び 3 に示す。

図 1. 果実の抽出操作スキーム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

図 2. 果柄の抽出操作スキーム

図 3. 茎葉部の抽出操作スキーム

結 果：

(1) 総残留放射能 (TRR) の分布

ぶどう樹試料中の TRR の分布を表 1 に示した。

表 1. 処理後のぶどう樹試料中の残留放射能 (mg/kg)

| 試 料 | TRR | 抽出液 | 抽出液 | 抽出可能 残留放射能 | 抽出残渣 |
|----------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| ジフェニル標識体 | | | | | |
| 果 実 | 1.181 (100%) | 1.095 (92.7%) | 0.005 (0.4%) | 1.100 (93.2%) | 0.081 (6.8%) |
| 果 柄 | 12.356 (100%) | 11.810 (95.6%) | 0.104 (0.8%) | 11.914 (96.4%) | 0.442 (3.6%) |
| 葉 部 | 43.672 (100%) | 42.801 (98.0%) | n. e. | 42.801 (98.0%) | 0.871 (2.0%) |
| ピリジン標識体 | | | | | |
| 果 実 | 2.066 (100%) | 1.905 (92.2%) | 0.009 (0.5%) | 1.916 (92.7%) | 0.150 (7.3%) |
| 果 柄 | 19.637 (100%) | 19.054 (97.0%) | 0.108 (0.5%) | 19.162 (97.6%) | 0.475 (2.4%) |
| 葉 部 | 63.359 (100%) | 62.031 (97.9%) | n. e. | 62.031 (97.9%) | 1.328 (2.1%) |

() は TRR に対する%。 n. e. = 操作せず。

総残留放射能はジフェニル標識体及びピリジン標識体で、それぞれ果実では 1.18mg/kg 及び 2.07mg/kg、果柄では 12.4mg/kg 及び 19.6mg/kg であり、茎葉部では 43.7mg/kg 及び 63.4mg/kg であった。

抽出率は高く、果実では約 93%、果柄では 96~97%、茎葉部では 98% であった。を用いた抽出でさらに 0.4~0.8% 抽出できた。抽出残渣中の残存放射能は低かった (TRR の 2~7%)。

(2) 抽出液の特徴付け

抽出液を
を表 3 に示す。

で分配した後、有機溶媒層を合わせた結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 2. 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

| 試料 | ジフェニル標識体 | | ピリジン標識体 | |
|----|--------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| | 有機溶媒層 | 水層 | 有機溶媒層 | 水層 |
| 果実 | 1.156 (97.9%) | 0.008 (0.7%) | 2.215 (107.2%) | 0.022 (1.1%) |
| 果柄 | 11.575 (93.6%) | 0.20 (0.2%) | 18.783 (95.6%) | 0.102 (0.5%) |
| 葉部 | 44.435 (101.8%) | 0.079 (0.2%) | 63.129 (99.7%) | 0.141 (0.2%) |

() = %TRR.

抽出された残留放射能は両標識体及び各試料で有機溶媒層に約94~107%検出され、有機溶媒可溶性であった。

(3) 抽出可能残留放射能の同定、特徴付け及び定量

HPLC で特徴付け及び定量し、LC/MS/MS で同定した結果を表 3 及び 4 に示す。

表 3. 抽出液の HPLC 分析結果—ジフェニル標識体

| 果実 | 分析結果 | | | | 計 | |
|----------|--------|------|-------|------|--------|------|
| | 抽出液 | | 抽出液 | | | |
| 化合物 | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
| 親化合物 | 1.095 | 92.7 | — | — | 1.095 | 92.7 |
| 抽出液中の放射能 | 1.095 | 92.7 | 0.005 | 0.4 | 1.100 | 93.2 |
| 総同定抽出放射能 | | | | | 1.095 | 92.7 |
| 果柄 | | | | | | |
| 親化合物 | 11.810 | 95.6 | 0.104 | 0.8 | 11.914 | 96.4 |
| 抽出液中の放射能 | 11.810 | 95.6 | 0.104 | 0.8 | 11.914 | 96.4 |
| 総同定抽出放射能 | | | | | 11.914 | 96.4 |
| 葉部 | | | | | | |
| 親化合物 | 41.752 | 95.6 | — | — | 41.752 | 95.6 |
| 未同定物質 | 1.049 | 2.4 | — | — | 1.049 | 2.4 |
| 抽出液中の放射能 | 42.801 | 98.0 | — | — | 42.801 | 98.0 |
| 総同定抽出放射能 | | | | | 41.752 | 95.6 |

表 4. 抽出液の HPLC 分析結果—ピリジン標識体

| 果実 | 分析結果 | | | | 計 | |
|----------|--------|------|-------|------|--------|------|
| | 抽出液 | | 抽出液 | | | |
| 化合物 | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
| 親化合物 | 1.905 | 92.2 | — | — | 1.905 | 92.2 |
| 抽出液中の放射能 | 1.905 | 92.2 | 0.009 | 0.5 | 1.916 | 92.7 |
| 総同定抽出放射能 | | | | | 1.905 | 92.2 |
| 果柄 | | | | | | |
| 親化合物 | 19.054 | 97.0 | 0.098 | 0.5 | 19.152 | 97.5 |
| 未同定物質 | — | — | 0.010 | 0.1 | 19.162 | 97.6 |
| 抽出液中の放射能 | 19.054 | 97.0 | 0.108 | 0.5 | 19.162 | 97.6 |
| 総同定抽出放射能 | | | | | 19.152 | 97.6 |
| 葉部 | | | | | | |
| 親化合物 | 60.859 | 96.1 | — | — | 60.859 | 96.1 |
| 未同定物質 | 1.172 | 1.8 | — | — | 1.172 | 1.8 |
| 抽出液中の放射能 | 62.031 | 97.9 | — | — | 62.031 | 97.9 |
| 総同定抽出放射能 | | | | | 60.859 | 96.1 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

抽出可能残留放射能中の主要ピークは未変化の親化合物であった。抽出液中で約 92~97%TRR であり、抽出液中では約 0.4-0.8%TRR であった。

(4) 保存安定性試験

残留放射能の凍結保存中の安定性を果実試料で調査した。その結果を表 5 に示す。

表 5. 凍結保存後の果実中の残留放射能の分布 (mg/kg)

| 標識体 | 保存期間 (月) | 抽出液 | 抽出液 | 抽出残渣 | TRR |
|--------------|-------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| ジフェニル 標識体 | 2 | 1.095 (92.7%) | 0.005 (0.4%) | 0.081 (6.8%) | 1.181 (100%) |
| | 16 | 0.963 (89.2%) | — | 0.116 (10.8%) | 1.079 (100%) |
| ピリジン 標識体 | 2 | 1.905 (92.2%) | 0.009 (0.5%) | 0.150 (7.3%) | 2.066 (100%) |
| | 16 | 1.791 (91.9%) | — | 0.157 (8.1%) | 1.948 (100%) |

() = %TRR

両者の分析結果は通常の変動の範囲内であり、凍結保存後における抽出率に差は認められなかった。何れの場合でも HPLC 分析により主要ピークは親化合物であると同一した。両者のクロマトグラムから、残留放射能は約 16 ヶ月にわたる保存期間中安定であった。

結 論 :

- ・ジフェニルまたはピリジン環標識検体を用いてぶどう樹における代謝を調査した結果、3 回散布し、最終散布後 45 日で採取した試料(果実、果柄及び茎葉部)中の残留放射能はほとんど親化合物のみであった。
- ・検体の果実における代謝は極めて緩やかであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2-3. ¹⁴C-標識検体のまめにおける代謝試験

(代謝・分解 5)

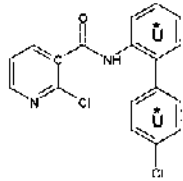
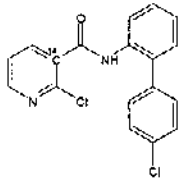
試験機関：BASF 農業研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告年：2001年

供試標識化合物：検体のジフェニル環及びピリジン環を ¹⁴C で標識した(申請者注：以下それぞれ「ジフェニル標識体」及び「ピリジン標識体」とする)。

下表に検体について要約する。

| 略 称 | ジフェニル標識体 | ピリジン標識体 |
|---------------|---|---|
| 構造式・標識部位 |  |  |
| 化学名 | 2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide | |
| 分子式 | C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O | |
| 分子量 | 343.22 g/mol | |
| 比放射能 [MBq/mg] | | |
| 比放射能 [dpm/μg] | | |
| 放射化学的純度 | | |

標識部位の設定理由：

供試植物：まめ(Bush bean [申請者注：いんげんと同一属] 品種名：Hild's Maxi)

栽培環境：

温室または栽培室内に設置したプラスチック製ポット(表面積 16 x 16cm)で栽培した。

ポット： 壤質砂土を 60 個のポットに充填した。

栽培管理：ピリジン標識体の試験を開始約 1 年後に、ジフェニル標識体の試験を開始した。

方 法：

1) 処理量

処理剤の調製：検体を 溶解して ， 水で希釈して散布液を調製した。

使用量：500 g a. i. /ha (想定慣行圃場使用量)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2) 処 理

処理部位・方法：茎葉に自動散布装置で散布

処理回数：3 回

処理時期：開花開始時，第 1 回目散布 8～10 日後，第 2 回目散布 8～10 日後

処理面積：各標識体を 30 ポットに散布した。

3) 試料採取

各試験区の採取時期及び採取部位を下表に示す。

| ジフェニル標識体 | | | |
|----------|----------------------------|---|-------------------------------------|
| 採取時点(日) | | 採取部位 | 識別名 |
| 最終散布後 | 0 日 | まめ植物体 | まめ植物 0 |
| | 14 日 | 茎葉部 | まめ茎葉部 14DALT |
| | | 青まめ：ホール 莢 子実 | 青まめ 14DALT 莢 14DALT 子実 14DALT |
| 53 日 | まめ乾燥茎葉部 まめ乾燥莢 まめ乾燥子実 | まめ乾燥茎葉部 53DALT まめ乾燥莢 53DALT まめ乾燥子実 53DALT | |

| ピリジン標識体 | | | |
|---------|----------------------------|---|-------------------------------------|
| 採取時点(日) | | 採取部位 | 識別名 |
| 最終散布後 | 0 日 | まめ植物体 | まめ植物 0DALT |
| | 15 日 | 茎葉部 | まめ茎葉部 15DALT |
| | | 青まめ：ホール 莢 子実 | 青まめ 15DALT 莢 15DALT 子実 15DALT |
| 51 日 | まめ乾燥茎葉部 まめ乾燥莢 まめ乾燥子実 | まめ乾燥茎葉部 51DALT まめ乾燥莢 51DALT まめ乾燥子実 51DALT | |

各試料は採取後直ちに約-18℃の冷凍庫で保存した。

分析方法：

(1) 総残留放射能 (TRR) の測定

均質化試料の一部を、抽出または、さらに一部を抽出、次いで抽出し、遠心分離した後、各抽出液を合わせ、LSC で放射能を計測し、残渣は燃焼処理後 LSC で放射能を計測した。

TRR は全抽出液と残渣の含量として算出した。

(2) 残留放射能の特徴付け

各試料の抽出液を濃縮し、希釈後

で液々分配した。

各有機溶媒層及び水層の放射能を LSC で計測し、さらに HPLC で分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF アグロ株式会社にある。

(3) 代謝物パターンの調査

(4) 代謝物の単離

ピリジン標識体処理まめ乾燥莢の代謝物：

(5) 抽出残渣中の放射能の調査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

(6) 保存安定性の調査

分析法のスキームを図 1 及び 2 に示す。各試料は図 1 及び 2 の抽出、分配、あるいは酵素及び沈殿処理を適宜組み合わせで分画し、その後 HPLC、LSC 及び LC/MS 等を適切に使用して分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

図 1. ジフェニル標識体処理試料の抽出操作スキーム

図 2. ピリジン標識体処理試料の抽出操作スキーム

結 果：

(1) 総残留放射能 (TRR) の分布

まめ試料中の TRR の分布を表 1 及び 2 に示した。

表 1. ジフェニル標識体処理後のまめ試料中の残留放射能 (mg/kg)

| 試 料 | TRR | 抽出液 | 抽出液 | 抽出可能 残留放射能 | 抽出残渣 |
|------------|---------|-----------------|--------------|-----------------|---------------|
| まめ植物 0 | 49.091 | 48.714 (99.2%) | 0.137 (0.3%) | 48.851 (99.5%) | 0.239 (0.5%) |
| まめ茎葉部 14 | 66.236 | 65.117 (98.3%) | 0.525 (0.8%) | 65.642 (99.1%) | 0.595 (0.9%) |
| 青まめ 14 | 1.027 | 1.003 (97.6%) | 0.007 (0.7%) | 1.010 (98.3%) | 0.017 (1.7%) |
| 青まめ莢 14 | 0.903 | 0.878 (97.3%) | 0.008 (0.9%) | 0.886 (98.2%) | 0.017 (1.9%) |
| 青まめ子実 14 | 0.198 | 0.176 (89.0%) | 0.005 (2.4%) | 0.181 (91.4%) | 0.017 (8.6%) |
| まめ乾燥茎葉部 53 | 127.285 | 122.037 (95.9%) | 1.101 (0.9%) | 123.138 (96.8%) | 4.147 (3.3%) |
| まめ乾燥莢 53 | 6.118 | 5.772 (94.3%) | 0.068 (1.1%) | 5.840 (95.4%) | 0.279 (4.6%) |
| まめ乾燥子実 53 | 0.205 | 0.154 (75.0%) | 0.011 (5.5%) | 0.165 (80.5%) | 0.040 (19.5%) |

TRR は計算値。() は TRR に対する%。抽出可能残留放射能 = 抽出液 + 抽出液

表 2. ピリジン標識体処理後のまめ試料中の残留放射能 (mg/kg)

| 試 料 | TRR | 抽出液 | 抽出液 | 抽出可能 残留放射能 | 抽出残渣 |
|------------|--------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| まめ植物 0 | 21.249 | 20.704 (97.4%) | 0.158 (0.7%) | 20.862 (98.1%) | 0.387 (1.8%) |
| まめ茎葉部 15 | 16.967 | 16.579 (97.7%) | 0.133 (0.8%) | 16.712 (98.5%) | 0.255 (1.5%) |
| 青まめ 15 | 0.090 | 0.088 (97.4%) | <0.001 (0.5%) | 0.088 (97.9%) | 0.002 (2.1%) |
| 青まめ莢 15 | 0.108 | 0.106 (97.6%) | <0.001 (0.4%) | 0.106 (98.0%) | 0.002 (2.0%) |
| 青まめ子実 15 | 0.067 | 0.063 (94.7%) | 0.001 (1.2%) | 0.064 (95.9%) | 0.003 (4.1%) |
| まめ乾燥茎葉部 51 | 93.775 | 79.801 (85.1%) | 8.708 (9.3%) | 88.509 (94.4%) | 5.265 (5.6%) |
| まめ乾燥莢 51 | 1.369 | 1.037 (75.8%) | 0.199 (14.6%) | 1.236 (90.4%) | 0.132 (9.7%) |
| まめ乾燥子実 51 | 0.126 | 0.060 (47.6%) | 0.027 (21.3%) | 0.087 (68.9%) | 0.039 (31.1%) |

TRR は計算値。() は TRR に対する%。抽出可能残留放射能 = 抽出液 + 抽出液

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

まめ可食部における総残留放射能は他の部位よりも非常に低かった(青まめ: ジフェニル標識体; 1.027mg/kg/ピリジン標識体; 0.090mg/kg, 乾燥子実: ジフェニル標識体; 0.205mg/kg/ピリジン標識体; 0.126mg/kg)。まめの茎葉部試料で残留放射能が最も多かった(ジフェニル標識体; 127.285mg/kg/ピリジン標識体; 93.775mg/kg)。

抽出可能な残留放射能は乾燥子実(ジフェニル標識体; 80.5mg/kg/ピリジン標識体; 68.9%TRR)を除き多くの場合 90.4%TRR 以上であった。全ての試料で抽出可能な放射能の大部分は抽出液に認められたが、ピリジン標識体処理乾燥子実試料では による抽出も効果的であった。抽出残渣中の残存残留放射能は低かった。%TRR での最高値は乾燥子実で検出された(ジフェニル標識体; 0.040mg/kg/19.5%TRR, ピリジン標識体; 0.039mg/kg/31.1%TRR)。最低値は青まめ、莢、子実で検出された(ジフェニル標識体; 0.017mg/kg/1.7~8.6%TRR, ピリジン標識体; 0.002~0.003mg/kg/2.0~4.1%TRR)。

(2) 抽出液の特徴付け

抽出液及び抽出液(ジフェニル標識体)を分配した結果を表 3~5 に示す。

表 3. ジフェニル標識体 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

| 試料 | 抽出液 | %Rec | 有機溶媒可溶物 | | 水溶性物 |
|------------|---------|-------|-----------------|--------------|--------------|
| | | | 層 | 層 | |
| まめ植物 0 | 48.714 | 102.6 | 49.254 (100.3%) | 0.565 (1.2%) | 0.172 (0.4%) |
| まめ茎葉部 14 | 65.117 | 99.3 | 63.415 (95.7%) | 0.885 (1.3%) | 0.39 (0.6%) |
| 青まめ 14 | 1.003 | 105.0 | 1.027 (99.9%) | 0.014 (1.4%) | 0.012 (1.1%) |
| 青まめ莢 14 | 0.878 | 98.6 | 0.832 (92.2%) | 0.02 (2.2%) | 0.014 (1.6%) |
| 青まめ子実 14 | 0.176 | 113.6 | 0.191 (96.4%) | 0.005 (2.6%) | 0.004 (2.1%) |
| まめ乾燥茎葉部 53 | 122.037 | 100.6 | 119.867 (94.2%) | 2.296 (1.8%) | 0.646 (0.5%) |
| まめ乾燥莢 53 | 5.772 | 100.4 | 5.562 (90.9%) | 0.162 (2.7%) | 0.070 (1.1%) |
| まめ乾燥子実 53 | 0.154 | 103.2 | 0.143 (70.0%) | 0.012 (5.7%) | 0.004 (2.2%) |

%Rec=(有機溶媒可溶物+水溶性物) × 100/ 抽出液。()は TRR に対する%。

表 4. ジフェニル標識体 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

| 試料 | 抽出液 | %Rec | 有機溶媒可溶物 | | 水溶性物 |
|------------|-------|-------|--------------|--------------|--------------|
| | | | 層 | 層 | |
| まめ植物 0 | 0.137 | 100.7 | 0.097 (0.2%) | 0.009 (0.0%) | 0.032 (0.1%) |
| まめ茎葉部 14 | 0.525 | 98.5 | 0.410 (0.6%) | 0.036 (0.1%) | 0.071 (0.1%) |
| まめ乾燥茎葉部 53 | 1.101 | 78.4 | 0.560 (0.5%) | 0.055 (0.0%) | 0.248 (0.2%) |
| まめ乾燥莢 53 | 0.068 | 94.1 | 0.019 (0.3%) | 0.003 (0.1%) | 0.042 (0.7%) |

%Rec=(有機溶媒可溶物+ 溶性物) × 100/ 抽出液。()は TRR に対する%。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 5. ピリジン標識体 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

| 試料 | 抽出液 | %Rec | 有機溶媒可溶物 | 水溶性物 |
|------------|--------|-------|-----------------|---------------|
| | | | | |
| まめ植物 0 | 20.704 | 108.2 | 22.258 (104.7%) | 0.146 (0.7%) |
| まめ茎葉部 15 | 16.579 | 111.4 | 18.322 (108.0%) | 0.14 (0.8%) |
| 青まめ 15 | 0.088 | 105.7 | 0.078 (86.4%) | 0.015 (17.1%) |
| 青まめ莢 15 | 0.106 | 103.8 | 0.093 (86.0%) | 0.017 (15.7%) |
| 青まめ子実 15 | 0.063 | 84.1 | 0.019 (27.7%) | 0.034 (51.4%) |
| まめ乾燥茎葉部 51 | 79.801 | 106.3 | 84.284 (89.9%) | 0.553 (0.6%) |
| まめ乾燥莢 51 | 1.037 | 103.8 | 0.925 (67.6%) | 0.151 (11.0%) |
| まめ乾燥子実 51 | 0.060 | 91.7 | 0.033 (25.8%) | 0.022 (17.4%) |

%Rec=(有機溶媒可溶物+水溶性物) x 100/ 抽出液. ()は TRR に対する%.

ジフェニル標識体処理試料では 抽出液中の放射能の大部分は 層に分配された(乾燥子実: 70.0%TRR, その他は 90.9%TRR 以上). 層(1.2~5.7% TRR)及び 層(0.4~2.2%TRR)には少量であった. ピリジン標識体処理各試料では 抽出液の放射能の大部分は有機溶媒可溶性であり, 青まめ子実のみで 層よりも 層で高い放射能レベルであった.

(3). 抽出残渣中放射能の による抽出 または 抽出後の残渣を で抽出した時の放射能の分布を表 6 に示す.

表 6 抽出残渣中放射能の による抽出後の放射能分布 (mg/kg)
ジフェニル標識体:

| 試料 | RRR (%) | 抽出液 | 抽出後残渣 | 回収率 (%) |
|------------|---------------|---------------|--------------|---------|
| まめ植物 0 | 0.239 (0.5%) | 0.077 (0.2%) | 0.143 (0.7%) | 92.1 |
| まめ茎葉部 14 | 0.595 (0.9%) | 0.175 (0.3%) | 0.370 (0.6%) | 91.6 |
| まめ乾燥茎葉部 53 | 4.147 (3.3%) | 0.641 (0.5%) | 3.060 (2.4%) | 89.2 |
| まめ乾燥莢 53 | 0.279 (4.6%) | 0.075 (1.2%) | 0.201 (3.3%) | 98.9 |
| まめ乾燥子実 53 | 0.040 (19.5%) | 0.021 (10.4%) | 0.018 (8.9%) | 97.5 |

ピリジン標識体:

| 試料 | RRR (%) | 抽出液 | 抽出後残渣 | 回収率 (%) |
|------------|---------------|--------------|---------------|---------|
| まめ植物 0 | 0.387 (1.8%) | 0.109 (0.5%) | 0.145 (0.7%) | 65.6 |
| まめ茎葉部 15 | 0.255 (1.5%) | 0.079 (0.5%) | 0.108 (0.6%) | 73.3 |
| まめ乾燥茎葉部 51 | 5.265 (5.6%) | 0.622 (0.7%) | 3.794 (4.0%) | 83.9 |
| まめ乾燥莢 51 | 0.132 (9.7%) | 0.046 (3.4%) | 0.081 (5.9%) | 96.2 |
| まめ乾燥子実 51 | 0.039 (31.1%) | 0.011 (8.5%) | 0.017 (13.5%) | 71.8 |

RRR=残存性残留放射能. ()は TRR に対する%.

回収率=(抽出液+抽出後残渣)/RRR 単位: mg/kg

による抽出で抽出残渣中の残留性放射能の一部を抽出できた(0.2~10.4%TRR).

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

(4) 抽出可能残留放射能の同定、特徴付け及び定量

HPLC で特徴付け及び定量し、LC/MS/MS で同定した結果を表 7 に示す。

表 7-1. 抽出液の HPLC 分析結果

| まめ植物 0 DALI | ジフェニル標識体 | | ピリジン標識体 | |
|-----------------|----------|--------|---------|-------|
| | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
| TRR | 49.091 | - | 21.249 | - |
| 親化合物(同定) | 48.724 | 99.28 | 20.860 | 98.09 |
| 総同定抽出放射能 | 48.724 | 99.28 | 20.860 | 98.09 |
| 総特徴付けした抽出放射能 | 0.122 | 0.33 | 0.002 | 0.01 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | 0.077 | 0.20 | 0.109 | 0.50 |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 48.923 | 99.81 | 20.971 | 98.60 |
| 最終残渣中の放射能 | 0.143 | 0.30 | 0.145 | 0.70 |
| 総計 | 49.066 | 100.11 | 21.116 | 99.30 |

| まめ莖葉部 14/15 DALI | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
|--------------------|--------|--------|--------|-------|
| TRR | 66.236 | - | 16.967 | - |
| 親化合物(同定) | 65.269 | 98.57 | 16.695 | 98.39 |
| 総同定抽出放射能 | 65.269 | 98.57 | 16.695 | 98.39 |
| 総特徴付けし検体(同定)た抽出放射能 | 0.373 | 0.63 | 0.016 | 0.10 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | 0.175 | 0.30 | 0.079 | 0.50 |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 65.817 | 99.50 | 16.79 | 98.99 |
| 最終残渣中の放射能 | 0.37 | 0.60 | 0.108 | 0.60 |
| 総計 | 66.187 | 100.10 | 16.898 | 99.59 |

| 青まめ 14/15 DALI | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
|-----------------|-------|--------|----------------------------|---------------------------|
| TRR | 1.027 | - | 0.090 | - |
| 親化合物(同定) | 0.999 | 97.20 | 0.071 | 78.09 |
| (同定) | - | - | 0.003 | 2.80 |
| 総同定抽出放射能 | 0.999 | 97.20 | 0.074 | 80.89 |
| 総特徴付けした抽出放射能 | 0.011 | 1.10 | 0.014* 0.001 計 0.015 | 15.33* 0.79 計 17.02 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | n. d. | n. d. | n. d. | n. d. |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 1.010 | 98.30 | 0.089 | 97.91 |
| 最終残渣中の放射能 | 0.017 | 1.70 | 0.002 | 2.10 |
| 総計 | 1.027 | 100.00 | 0.091 | 100.01 |

TRR は表 1, 2, 3 参照.

HPLC 分析しない 抽出液は特徴付け放射能に入れた.

抽出放射能には 抽出液を含まず.

*強極性物質

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 7-2. 抽出液の HPLC 分析結果

| 青まめ英 14/15 DALT | ジフェニル標識体 | | ピリジン標識体 | |
|-----------------|----------|--------|---------|--------|
| | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
| TRR | 0.903 | - | 0.108 | - |
| 親化合物(同定) | 0.872 | 96.70 | 0.095 | 87.02 |
| (同定) | - | - | 0.002 | 2.15 |
| 総同定抽出放射能 | 0.872 | 96.70 | 0.097 | 89.17 |
| 総特徴付け抽出放射能 | 0.014 | 1.50 | 0.008 | 8.84 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | n. d. | n. d. | n. d. | n. d. |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 0.886 | 98.20 | 0.105 | 98.01 |
| 最終残渣中の放射能 | 0.017 | 1.90 | 0.002 | 2.00 |
| 総 計 | 0.903 | 100.10 | 0.107 | 100.01 |

| 青まめ子実 14/15 DALT | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
|------------------|-------|--------|---------|---------|
| TRR | 0.198 | - | 0.067 | - |
| 親化合物(同定) | 0.173 | 87.50 | 0.043 | 64.88 |
| (同定) | - | - | 0.007 | 9.97 |
| 総同定抽出放射能 | 0.173 | 87.50 | 0.050 | 74.85 |
| 総特徴付け抽出放射能 | 0.008 | 3.90 | 0.009* | 13.13* |
| | | | 0.004 | 5.66 |
| | | | 0.001 | 1.06 |
| | | | 計 0.015 | 計 21.05 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | n. d. | n. d. | n. d. | n. d. |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 0.181 | 91.40 | 0.065 | 95.90 |
| 最終残渣中の放射能 | 0.017 | 8.60 | 0.003 | 4.10 |
| 総 計 | 0.198 | 100.00 | 0.068 | 100.00 |

| まめ乾燥茎葉部 53/51 DALT | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
|--------------------|---------|-------|--------|-------|
| TRR | 127.285 | - | 93.775 | - |
| 親化合物(同定) | 120.968 | 95.10 | 87.780 | 93.62 |
| (同定) | 0.610 | 0.50 | - | - |
| 総同定抽出放射能 | 121.578 | 95.60 | 87.780 | 93.62 |
| 総特徴付けした抽出放射能 | 1.560 | 0.08 | 0.737 | 0.79 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | 0.641 | 0.50 | 0.622 | 0.70 |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 123.779 | 96.18 | 89.139 | 95.11 |
| 最終残渣中の放射能 | 3.060 | 2.40 | 3.794 | 4.00 |
| 総 計 | 126.839 | 98.58 | 92.933 | 99.11 |

TRR は表 1, 2, 6 参照.

HPLC 分析しない 抽出液は特徴付け放射能に入れた.

抽出放射能には 抽出液を含まず.

*強極性物質

表 7-3. 抽出液の HPLC 分析結果

| まめ乾燥莢 53/51 DALT | ジフェニル標識体 | | ピリジン標識体 | |
|------------------|----------|-------|--------------------------------------|----------------------------------|
| | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
| TRR | 6.118 | - | 1.369 | - |
| 親化合物(同定) | 5.788 | 94.52 | 1.090 | 79.68 |
| (同定) | - | - | 0.015 | 1.11 |
| 総同定抽出放射能 | 5.788 | 94.52 | 1.105 | 80.79 |
| 総特徴付けした抽出放射能 | 0.052 | 0.88 | 0.035* 0.091* 他0.004 計0.130 | 2.56* 6.71* 他0.35 計9.61 |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | 0.075 | 1.20 | 0.046 | 3.40 |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 5.915 | 96.60 | 1.281 | 93.80 |
| 最終残渣中の放射能 | 0.201 | 3.30 | 0.081 | 5.90 |
| 総 計 | 6.116 | 99.90 | 1.362 | 99.70 |

| まめ乾燥子実 53/51 DALT | mg/kg | %TRR | mg/kg | %TRR |
|-------------------|-------|-------|-------------------------------------|---------------------------------|
| TRR | 0.205 | - | 0.126 | - |
| 親化合物(同定) | 0.148 | 72.00 | 0.047 | 36.94 |
| (同定) | - | - | 0.002 | 1.72 |
| 総同定抽出放射能 | 0.148 | 72.00 | 0.049 | 38.66 |
| 総特徴付け抽出放射能 | 0.015 | 8.51 | 0.008* 0.002 0.002 計0.012# | 6.29* 1.24 1.40 計8.93# |
| 抽出残渣中の特徴付けした放射能 | 0.021 | 10.40 | 0.011 | 8.50 |
| 総同定/特徴付けした放射能 | 0.184 | 90.91 | 0.072# | 56.09# |
| 最終残渣中の放射能 | 0.018 | 8.90 | 0.028# | 22.60# |
| 総 計 | 0.202 | 99.81 | 0.116 | 90.89 |

TRR は表 1, 2, 6 参照.

HPLC 分析しない 抽出液は特徴付け放射能に入れた.

抽出放射能には 抽出液を含まず.

*強極性物質

#申請者が、報告書の図 84 を基に算出した.

全まめ試料で未変化の親化合物が顕著なピークとして検出された.

ピリジン標識体処理試料では青まめ、莢、子実並びに乾燥莢及び乾燥子実の

抽出液中に (F47) が 0.002~0.015mg/kg の濃度範囲で検出された. 液々分配後、この代謝物は水層のみに認められた. さらに、他の極性代謝物が 抽出液中に検出された. 抽出液中の放射能で同定及び/または特徴付けできた放射能は乾燥子実 51DALT では約 77%であったが、他の試料では約 94~99%であった.

ジフェニル標識体処理試料では 抽出液中では代謝物は検出できなかった(表 6, まめ乾燥莖葉部を除く)が、液々分配後の各層で検出できた(報告書: 図 21~45).

層には親化合物のみが検出され、 層には多くの極性ピークと 幾つかの無極性ピークが検出された. まめ乾燥莖葉部の 層には親化合物の他

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

に 10 個の極性ピークが 0.02~0.61%TRR の濃度で認められた(報告書: 図 46)。対応する水層には 6 個のピークが 0.01~0.35%TRR の濃度で認められた(報告書: 図 46)。極性物質の幾つかは 同定され、

さらに、検体の が同定された。

(F62) が極めて低い濃度 (0.02~0.7%TRR) でまめ植物、茎葉部、青まめ、青まめ子実、乾燥茎葉部に検出された(報告書: 図 21~45)。抽出液中の放射能で同定及び/または特徴付けできた放射能は約 90~100%であった。

HPLC 分析により 抽出液中の主要構成成分は親化合物であり、さらに幾つかのピークがみられた(報告書: 図 24, 31, 49, 55, 62, 66, 78, 83)。

(4) 保存安定性試験

残留放射能の凍結保存中の安定性をまめ試料で調査した。その結果を表 8 に示す。

表 8. 凍結保存後のまめ中の残留放射能の分布 (mg/kg)

| 試料 | 保存期間 (日) | TRR (計算値) | 抽出液 | 抽出液 | 抽出残渣 |
|--------------------------------|-------------|--------------|----------------|---------------|--------------|
| 青まめ 14 DALT (ジフェニル標識体) | 12 | 1.027 | 1.003 (97.6%) | 0.007 (0.7%) | 0.017 (1.7%) |
| | 147 | 0.947 | 0.927 (97.8%) | 0.006 (0.7%) | 0.014 (1.5%) |
| 青まめ 15 DALT (ピリジン標識体) | 43 | 0.090 | 0.088 (97.4%) | <0.001 (0.5%) | 0.002 (2.1%) |
| | 873 | 0.062 | 0.057 (91.9%) | 0.001 (1.6%) | 0.004 (6.5%) |
| まめ乾燥茎葉部 51DALT (ピリジン標識体) | 25 | 93.775 | 79.801 (85.1%) | 8.708 (9.3%) | 5.265 (5.6%) |
| | 837 | 73.183 | 67.424 (92.1%) | 0.359 (0.5%) | 5.400 (7.4%) |

() = %TRR.

試験期間(採取から安定性試験の実験までジフェニル標識体では約 5 ヶ月、ピリジン標識体では約 29 ヶ月)中の試料の約-18℃での保存安定性は非常に良好であった。青まめ 14/15DALT(ジフェニル標識体/ピリジン標識体)及びまめ乾燥茎葉部 51DALT(ピリジン標識体)では、保存抽出液の再分析後及び元の試料を再抽出・分析後において放射能の量及び特徴に変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

(5) 代 謝

各試料中で同定された代謝物を表 9 にまとめ、またその想定代謝経路を図 3 に示す。

表 9. ¹⁴C-検体を処理したまめ試料中の同定代謝物

| 試 料 | 化合物名 |
|---------|-------------------------------|
| まめ植物 | 親化合物, (F62) |
| まめ茎葉部 | 親化合物, (F62) |
| 青まめ | 親化合物, (F47), (F62) |
| 青まめ莢 | 親化合物, (F47) |
| 青まめ子実 | 親化合物, (F47), (F62) |
| まめ乾燥茎葉部 | 親化合物, (F62), (代謝物 F50, 想定代謝物) |
| まめ乾燥莢 | 親化合物, (F47) |
| まめ乾燥子実 | 親化合物, (F47) |

まめ乾燥茎葉部で同定された親化合物の結合部置は特定できず、クロロフェニル環またはピリジン環への結合であると推測された。

結 論

¹⁴C-検体を 3 × 500g ai/ha の処理量で、初回散布は開花時に行い、2 回目の散布はその後 8 ~10 日後に、3 回目は 2 回目散布 8~10 日後に実施した。まめの可食部における総残留放射能は極めて低かった(青まめ: ジフェニル標識体; 1.027mg/kg/ピリジン標識体; 0.090mg/kg, 乾燥子実: ジフェニル標識体; 0.205mg/kg/ピリジン標識体; 0.126mg/kg)。青まめの莢と子実の放射能レベルは子実よりも莢で高いことが示された。それは乾燥莢と乾燥子実でも同じであった。放射能の多くは植物/茎葉部試料中及び乾燥茎葉部試料中で検出された(ジフェニル標識体/ピリジン標識体; 127.285mg/kg)。検体の茎葉部から莢へ及び莢から子実への移行は極めて少ないと思われた。

抽出効率は非常に良好で抽出残渣中の残存残留放射能は低かった。多くの場合、89.0%TRR 以上が抽出できた。まめ乾燥茎葉部(ピリジン標識体)、乾燥莢(ピリジン標識体)及び乾燥子実(ジフェニル標識体/ピリジン標識体)では抽出効率は低く、追加の抽出で総抽出可能放射能を増やすことができた。抽出可能残留放射能(ERR)は両標識体の乾燥子実を除き 90.4%TRR 以上であった。検体は炭水化物、たんぱく質あるいは他の自然物質との結合型残留放射能へ殆んど代謝されないことが示された。

全ての試料において未変化の親化合物が HPLC により主要残留放射能として検出された。微量代謝物がピリジン標識体処理試料の青まめ、莢、子実並びに乾燥莢及び乾燥子実で検出された。ジフェニル標識体では代謝物の多くが元の抽出液を液々分配後に検出できた。層は大部分親化合物であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF アグロ株式会社にある。

には極微量の極性ピークと非極性ピークが検出された。極性物質の一部は親化合物のと同定され、さらに検体のが同定された。が極めて低濃度(0.02~0.7%TRR)でまめ植物、茎葉部、青まめ、子実及び乾燥茎葉部に検出された。

図 3. まめにおける想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF アグロケミカル株式会社にある。

表 3-2. 投与後 0-48 時間尿糞中の代謝物の組成 (投与群 B, C, D ; 投与量%)

| 同定代謝物 | 投与群B (低用量単回) | | | | | | 投与群C (高用量反復) | | | | | | 投与群D (高用量単回) | | | | | | |
|-----------------|--------------|---|---|---|---|---|--------------|---|---|---|---|---|--------------|---|---|---|---|---|--|
| | ジフェニル | | | 雌 | | | ジフェニル | | | 雌 | | | ジフェニル | | | 雌 | | | |
| | 雄 | 糞 | 尿 | 雄 | 糞 | 尿 | 雄 | 糞 | 尿 | 雄 | 糞 | 尿 | 雄 | 糞 | 尿 | 雄 | 糞 | 尿 | |
| ¹⁴ C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 同定代謝物等 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 尿 + 糞 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| その他糞抽出残渣等 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

-, * : 不検出