

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

3. 土壤中運命に関する試験  
好氣的土壤中運命試験

(資料No. 運命-6)

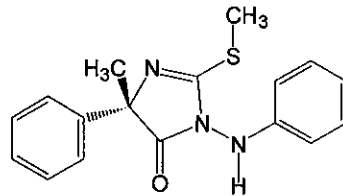
試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)  
報告書作成年：1999年

供試化合物：

非標識フェンアミドン：

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

構造式：



，純度：99.6%

炭素同位体標識フェンアミドン：次の三種類を供試した。

[14C] 標識フェンアミドン	
<p>[C-フェニル-U-<sup>14</sup>C]-フェンアミドン (以下、CP標識体とする) 構造式：</p> <p style="text-align: center;">*：標識位置</p> <p>放射化学的純度： % (ラジオHPLC) 比放射能： GBq/mmol</p>	<p>[N-フェニル-U-<sup>14</sup>C]-フェンアミドン (以下、NP標識体とする) 構造式：</p> <p style="text-align: center;">*：標識位置</p> <p>放射化学的純度： % (ラジオHPLC) 比放射能： GBq/mmol</p>
[13C] 標識フェンアミドン (以下、[13C] 標識体とする)	
<p>[<sup>13</sup>C]-フェンアミドン 構造式：</p> <p style="text-align: center;">*：標識位置</p>	<p>純度： %</p>

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

供試土壌：英国“Vorded Barns Farm, Ongar, Essex”土壌—埴壤土（96/52）、供試土壌の組成等を次表に示す。

土壌参照番号 96/52			
英国ADASによる分類：埴壤土		有機炭素含量	2.2 %
砂 (63~2000 μm) 25.88 %		有機物質含量	3.8 %
シルト (2~ 63 μm) 50.56 %		カチオン交換容量 (計)	14.5 (meq/100g)
粘土 (< 2 μm) 23.56 %		嵩比重	1.23 g/cm <sup>3</sup>
米国農務省による分類：壤土		pH (水)	7.3
		〃 (1m KCl)	6.6
砂 (50~2000 μm) 34.65 %		〃 (0.01M CaCl <sub>2</sub> )	6.8
シルト (2~ 50 μm) 41.79 %		最大容水量	59.46 %
粘土 (< 2 μm) 23.56 %		微生物バイオマス	
		(被験物質の処理前)	455 μg C/g土壌
		(試験終了時)	339 μg C/g土壌

#### 試験方法：

試験に先立ち、土壌中水分を最大容水量の約45%となるよう調整し、試験期間を通じて維持した。プレインキュベーションを、8日間行った。また、被験物質の処理前及び試験終了時に土壌中の微生物バイオマスを測定した（測定結果は、「供試土壌」の項の表中に記載した）。

#### 被験物質の処理：

2種類の[14C]標識フェンアミドン処理土壌を設けた。それぞれ対応する[14C]標識フェンアミドン処理溶液を、フラスコ中の土壌約100g(乾燥重量)に処理した。

- ・CP標識体処理土壌：CP標識体と非標識フェンアミドン混合物のアセトニトリル溶液を、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコ〔圃場処理量1600g有効成分/ha，最大累積圃場処理量 8×200g有効成分に相当〕の用量で土壌に処理した。
- ・NP標識体処理土壌：NP標識体と非標識フェンアミドン混合物のアセトニトリル溶液を、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコの用量で土壌に処理した。

また代謝物同定の補助とするため、次に記す2種類の[14C]標識フェンアミドン・[13C]標識フェンアミドン処理土壌を設けたが、報告しなかった。

- ・CP標識体/[13C]標識体処理土壌：CP標識体と[13C]標識体混合物のアセトニトリル溶液を、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコの用量で土壌に処理した。
- ・NP標識/<sup>13</sup>C標識処理溶液：NP標識体と[13C]標識フェンアミドン混合物のアセトニトリル溶液。代謝生成物の同定用として、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコの用量で、この処理溶液を土壌に処理した。

#### 土壌試料のインキュベーション：

被験物質で処理された各フラスコを、遮光性プラスチックバックに入れ、20°Cでインキュベートした。各フラスコには、水分を含みかつ二酸化炭素を含まない空気を供給した。

一本のフラスコには、二本の揮発性物質捕集用トラップを接続し、これをフラスコに接続した。フラスコに接続した二本の揮発性物質捕集用トラップには、一本の溶剤としてエチレングリコールを、他方の溶剤として2M水酸化カリウム溶液を用いた。

#### 土壌試料の採取：土壌試料の採取は、次の時点で行った。

処理直後（添加直後：0時間）、処理後1, 3, 7, 14, 28, 64, 90, 120, 182, 273及び365日

#### 揮発性放射能の測定：

各揮発性物質捕集溶剤の一部を、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。水酸化カリウム溶液に捕集した揮発性物質が二酸化炭素であることを確認するため、炭酸バリウムとして沈殿させて同定した。

#### 抽出放射能及び抽出残渣の放射能測定：各土壌試料を次の方法で抽出した。

- 1) アセトニトリル ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) による抽出及びアセトニトリル/水 (1 : 1) 混液による抽出
- 2)  $\text{CH}_3\text{CN}$ /水 (1 : 1) 混液によるソックスレー抽出  
この抽出法は、上記1)アセトニトリル；アセトニトリル/水混液による抽出で、処理放射能の回収率が90%以下であった場合に実施した。また、本抽出法は、処理後1日以降のCP標識及びNP標識土壌に適用した。
- 3) 水の環流による抽出  
本抽出法は、NP標識土壌で処理後1日以降、CP標識土壌で処理後8日以降の土壌試料に適用した。

得られた抽出液について、それぞれ濃縮操作を行った。

抽出後、各抽出液を遠心分離して上澄み液を採取し、その一部を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、風乾後、一部を粉碎して燃焼させ、燃焼生成物を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。

また各抽出液について、クロマトグラフィー分析にかける前に、それぞれ濃縮操作を行った。

#### 抽出残渣の特徴付け：

処理後90日の両土壌試料から得られた抽出残渣について、0.01M塩化カルシウムを用いて振とうし、その後「フミン画分」、「フルボ酸画分」及び「フミン酸画分」への放射能分布を調べた。

濃縮抽出物のクロマトグラフィー分析及び放射性成分の特徴付け/定量：

ラジオ液体クロマトグラフィー（ラジオHPLC）を用いて、抽出液中の放射性成分のキャラクタリゼーション及びその定量を行った。また、ラジオ薄層クロマトグラフィー（ラジオTLC）を、ラジオHPLCによるキャラクタリゼーションの確認のために用いた。

- ・ラジオHPLC（放射性成分のキャラクタリゼーション及びその定量）

- ・ラジオTLC（ラジオHPLCによるキャラクタリゼーションの確認）

代謝物の同定：

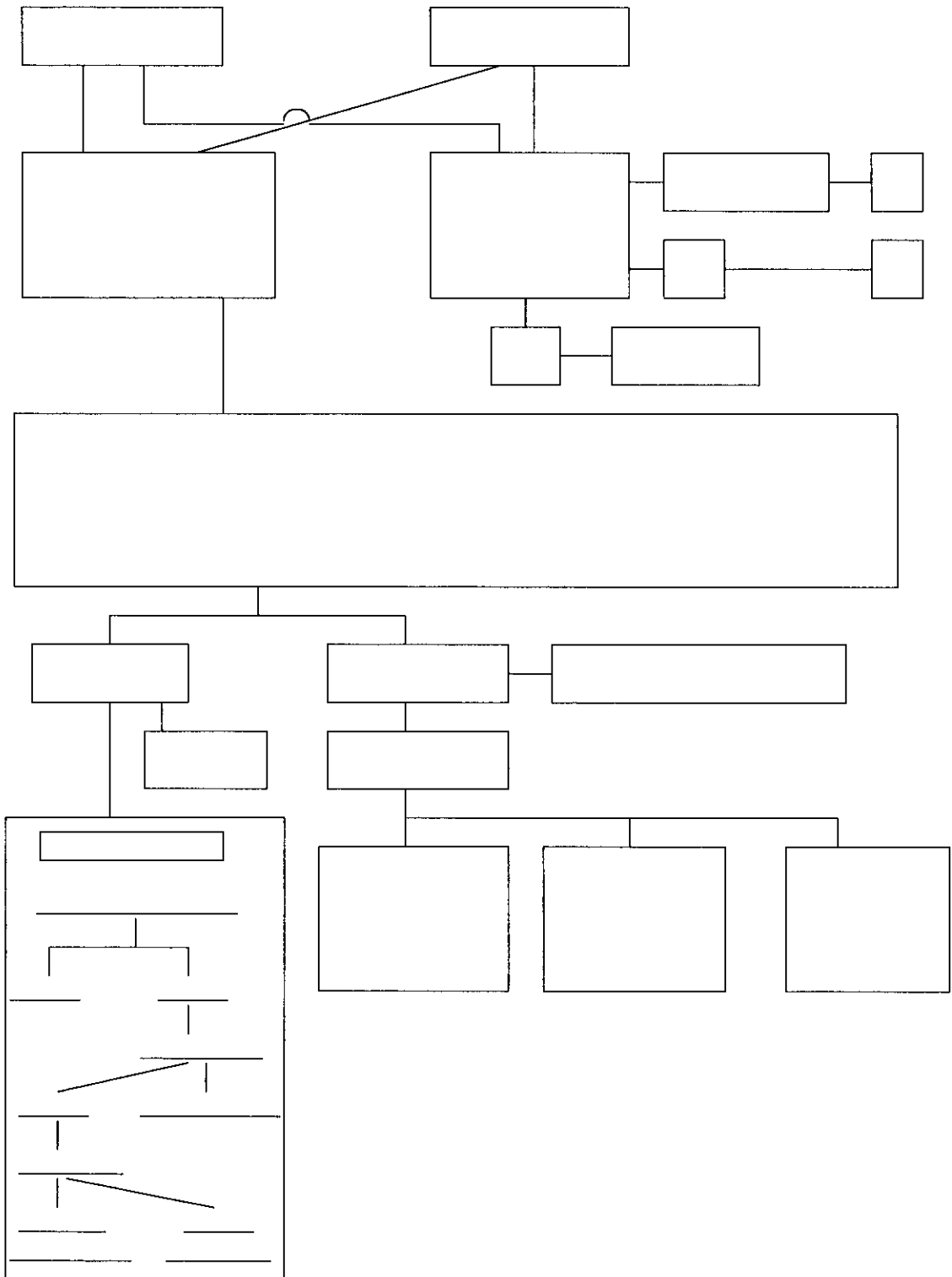
一部の濃縮抽出物について、放射性成分の同定を行った。一部の濃縮抽出物について、液体クロマトグラフィー/質量分析法（LC-MS）を行い、RPA407213（親化合物）、  
、  
、  
及び  
の各認証標準物質と比較した。条件は次のとおりであった。

- ・液体クロマトグラフィー

- ・質量分析

[<sup>14</sup>C]分析

試験手順を、フローチャートにまとめた。



結 果；

放射能の回収率：

表1～2に、CP標識体処理土壌の回収率及び放射能の分布を表1.に、NP標識体処理土壌の回収率及び放射能の分布を表2.に示す。

表1：CP標識体処理土壌に関する回収率及び放射能の分布

	処理後日数											
	0時間	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日
抽出性放射能(計)	97.33	91.98	87.84	76.84	66.24	62.93	51.67	54.95	53.24	55.77	47.56	49.50
CH <sub>3</sub> CN抽出+CH <sub>3</sub> CN/水 抽出	97.33	87.17	77.97	63.71	48.10	42.59	33.29	33.83	34.53	32.54	25.52	26.20
CH <sub>3</sub> CN/水 ソックス抽出	N/A	4.81	7.29	8.36	8.48	9.70	10.84	8.08	8.23	12.75	10.61	13.78
水の還流 抽出	N/A	N/A	2.58	4.78	9.66	10.63	7.54	13.05	10.48	10.47	11.43	9.52
揮発性放射能	N/A	0.19	0.40	0.60	1.00	1.70	3.14	4.99	5.88	7.48	9.95	8.39
結 合 残 渣	2.76	6.29	9.78	17.38	25.32	28.83	35.73	32.39	34.86	30.78	33.16	31.38
合計(回収率)	100.10	98.45	98.02	94.82	92.56	93.45	90.53	92.34	93.98	94.03	90.67	89.26
試験期間を通じた平均回収率 : 94.0%												

N/A：測定せず。表中の数字は、処理放射能に対する%(平均値, n=2)

CP標識体処理土壌では、処理放射能の試験期間を通じた平均回収率は94.0%であった。抽出性放射能は、処理後0時間における97.3%から処理後365日における49.5%に減少した。

揮発性放射能は、経時的に増加した。結合残渣は、処理後64日に35.7%で最高に達し、その後は30～35%の範囲で推移した。

表2：NP標識体処理土壌に関する回収率及び放射能の分布

	処理後日数											
	0時間	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日
抽出性放射能(計)	97.90	88.13	82.45	68.82	54.57	43.34	38.97	36.48	32.70	33.50	28.63	31.60
CH <sub>3</sub> CN抽出+CH <sub>3</sub> CN/水 抽出	97.90	85.68	75.88	61.14	46.16	34.32	30.29	28.69	25.10	23.14	20.06	20.99
CH <sub>3</sub> CN/水 ソックス抽出	N/A	2.09	5.41	5.97	5.33	5.63	5.42	3.47	3.60	6.44	4.80	6.85
水の還流 抽出	N/A	0.36	1.16	1.71	3.08	3.40	3.26	4.32	4.00	3.92	3.77	3.76
揮発性放射能	N/A	0.12	0.34	0.89	1.98	3.13	4.82	4.51	6.90	8.47	8.98	8.52
抽 出 残 渣	2.89	11.21	12.14	22.93	36.77	43.68	45.89	47.23	50.55	48.71	48.94	46.15
合計(回収率)	100.80	99.46	94.94	92.63	93.31	90.16	89.69	88.25	90.15	90.67	86.56	86.27
試験期間を通じた平均回収率 : 91.9%												

N/A：測定せず。表中の数字は、処理放射能に対する%(平均値, n=2)

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

NP標識体処理土壌では、試験期間を通じた平均回収率は91.9%であった。抽出性放射能は、処理後0時間における97.9%から処理後365日における31.6%に減少した。

揮発性放射能は、CP標識体処理土壌と同様に経時的に増加した。結合残渣は、CP標識体処理土壌と比較して高く、処理後120日に50.6%で最高に達し、その後は46~49%の範囲で推移した。

結合残渣の特徴付け：処理後90日の土壌試料における非抽出性放射能の内訳は、次のとおりであった。

CP標識体処理土壌			NP標識体処理土壌		
	抽出残渣の内訳 (%)	処理放射能に対する%		抽出残渣の内訳 (%)	処理放射能に対する%
塩化カルシウム	0.35	0.12	塩化カルシウム	0.07	0.03
フルボ酸画分	30.65	9.97	フルボ酸画分	10.49	4.97
フミン酸画分	22.68	7.38	フミン酸画分	31.37	14.84
フミン画分	46.34	15.06	フミン画分	58.08	27.47

表中の数字は、平均値：n=2

揮発性放射能の測定：放射能は、主に水酸化カリウム捕集溶液中に認められ、エチレングリコール捕集溶液中にも少量認められた。塩化バリウムを用いて沈殿させた結果、捕集溶液中の放射能の大部分は、 $^{14}\text{CO}_2$ として存在していた。

代謝生成物の同定：HPLC, TLC, LC/MSにおける標準物質との比較から、次の代謝生成物が同定された。

	フェンアミドン [代謝物記号A]				
CP標識処理土壌	同定				
NP標識処理土壌	同定				





表4. : NP標識体処理土壌における抽出性放射能の経時的变化

	「処理放射能に対する%」(表中の数字は、n=2の平均値)												
	0日	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日	
フェンアミドン[代謝物記号A]	97.90	83.84	76.57	59.45	34.87	17.15	5.03	4.26	2.85	2.73	2.56	2.13	

NP標識体処理土壌でも、CP標識体処理土壌と同様に親化合物が急激に減少した。親化合物は、2ヶ月後に処理放射能の5.0%に減少し、12ヶ月後には2.1%まで減少した。

代謝物  は、 後に最高平均濃度（処理放射能の%）に達したが、ヶ月後には%に減少した。

は、後に最高平均濃度に達し処理放射能の%を占めたが、後には%に減少した。

は、後に最高平均濃度（処理放射能の%）に達した。

CP標識体処理土壌及びNP標識体処理土壌から得られた  について、次のHPLC条件を用いてさらに検討した。

	<table border="1"> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> </table>																<table border="1"> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td></tr> </table>															



親化合物及び代謝生成物のDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>：KIMプログラムを用いて算出された親化合物及び代謝生成物のDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>を以下に示す。  
 に関しては、本試験においてほとんど減少しなかったため、DT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>を求めることができなかった。

化合物	DT <sub>50</sub> 及び DT <sub>90</sub> (日)							
	親化合物 [代謝物記号A]							
	DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>						
CP標識処理土壌	7.1	29.3						
(下段は相関性)	0.9995							
NP標識処理土壌	9.6	39.1						
(下段は相関性)	0.9995							

n. c. : 算出せず

以上の結果から、フェンアミドンの土壌代謝を以下に要約する。

フェンアミドンは好氣的土壌中で速やかに代謝され、主要代謝物として  
 代謝物として  
 た。  
 が認められた。またその他の  
 が認められ

フェンアミドンの代謝経路として、  
 が生成する。  
 を失い、  
 に付加して  
 に付加して  
 が生成する。  
 はさらにその  
 が生成する。また  
 が、

フェンアミドンは速やかに分解され、その平均DT<sub>50</sub>は8.4日、平均DT<sub>90</sub>は34.2日であった。フェンアミドンは好氣的土壌中で速やかに分解し、環境中に長期間残留するとは考えにくい。

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

フェンアミドンの想定代謝経路を以下に示す。

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

#### 4. 水中運命に関する試験

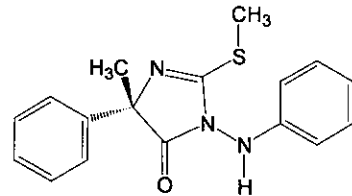
##### 4.1 加水分解運命試験

(資料No. 運命-7)

試験機関：Rhone-Poulenc Agro Dargoire研(仏)  
報告書作成年：1998年

供試標識化合物：[C-フェニル-U-14C]標識フェンアミドン（以下CP標識体とする）

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



\*：標識位置

放射化学的純度： (TLCによる確認)

供試水溶液：供試水溶液として、次の各緩衝液を使用した。

pH4.0：クエン酸一水和物 緩衝液

pH5.0：クエン酸緩衝液

pH7.0：リン酸二水素緩衝液

pH9.0：ホウ酸緩衝液

試験方法：試験に先立ち、緩衝液、試験容器/器具等を滅菌処理した。試験に関しては、全て無菌及び遮光条件下で行った。なお、試験期間中の平均温度は、24.8～25.0℃であった。また試験開始31日後の各試料について、無菌状態が維持されていることを確認した。

加水分解速度の検討：各試験溶液として、上記4種の各緩衝溶液におけるCP標識体の濃度が3.89 μg/mlとなるように設定した（なお、共存溶媒としてアセトニトリル1%を含む）。試験開始後、経時的に試料（n=2）を採取し、採取試料を逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。分析は、1試料につき2回実施した。

また、分解生成物に関しては、認証済み標準物質との逆相HPLCクロマトグラフ上での比較または液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（LC-MS）での分析により確認した。

用いた分析条件及び認証済み標準物質は、次のとおりであった。

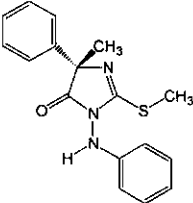
逆相 HPLC条件

LC-MS条件

マスマススペクトロメトリー

装置：QUATTRO II Triple Quadripoleマスマススペクトロメーター  
(APIインターフェース)

認証済み標準物質

フェンアミドン				
代謝物記号 A 				

揮発性化合物の検討：「加水分解速度の検討」とは別に、4種の各緩衝溶液におけるCP標識体の濃度が $0.389 \mu\text{g}/\text{ml}$ となるように調製した（共存溶媒としてアセトニトリル1%を含む）。

これらの溶液の試験容器（各緩衝液につき $n=2$ ）は密封し、試験開始後35日目に次のトラップを接続し、Miniportポンプを用いて30分間、揮発性物質をトラップに捕集した。各トラップの捕集液について、放射能を2回測定した。

捕集トラップ

- ・ エチレングリコールモノメチルエーテル（EGME）75mlトラップ-1本
- ・ 約2規定の水酸化ナトリウム（NaOH）75mlトラップ-2本
- ・ 水 75mlトラップ-1本

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

試験結果：

放射能収支：「加水分解速度の検討」における放射能回収率 及び「揮発性化合物の検討」における揮発性化合物の捕集量を以下に示す。

加水分解速度の検討－放射能回収率 (n=4：試料 2個×分析 2回 の平均値)

経過 日数 (日)	pH 4		pH 5		pH 7		pH 9	
	放射能 (dpm)	回収率 (%)	放射能 (dpm)	回収率 (%)	放射能 (dpm)	回収率 (%)	放射能 (dpm)	回収率 (%)
	初期放射能：53635 dpm							
0	54261	101.2	52927	98.7	52844	98.5	54112	100.9
5	54479	101.6	53606	99.9	53234	99.3	54572	101.7
10	54632	101.9	53049	98.9	53814	100.3	53740	100.2
14	54128	100.9	53838	100.4	53162	99.1	53922	100.5
19	53803	100.3	54306	101.3	52486	97.9	53333	99.4
25	54864	102.3	54192	101.0	54390	101.4	54258	101.2
31	53354	99.5	52784	98.4	51581	96.2	53953	100.6

揮発性化合物の検討－揮発性物質の捕集量

(初期放射能に対する%)

	pH 4	pH 5	pH 7	pH 9
揮発性物質捕集量 (トラップ： EGME+約2規定NaOH+水)	0.00	0.00	0.00	0.00

加水分解速度の検討における放射能回収率は96.2～102.3%であり、また揮発性物質の生成も認められなかった。

加水分解物の放射能分布：「加水分解速度の検討」で用いたHPLCにおける放射性成分の分布を次表に示す。

(n=4の平均値)

pH	経過日数 (日)	フェン アミドン							
4	0	100.00							
	5	91.61							
	10	84.60							
	14	80.06							
	19	70.44							
	25	66.81							
	31	59.66							
5	0	100.00							
	5	98.29							
	10	97.39							
	14	96.43							
	19	93.69							
	25	92.21							
	31	91.15							
7	0	100.00							
	5	100.00							
	10	98.06							
	14	98.35							
	19	96.54							
	25	96.02							
	31	95.34							
9	0	100.00							
	5	95.40							
	10	82.23							
	14	73.31							
	19	66.30							
	25	55.56							
	31	47.10							

各pHにおいて、初期放射能に対して10%以上の割合で生成した加水分解物は次のとおりであった。

pH 4 :  
pH 5及び7 :  
pH 9 :

分解生成物の同定：HPLCにおける標準物質との比較から、各pHにおいて初期放射能に対して10%以上の割合で生成した加水分解物は、次のとおりと考えられた。液体シンチレーション計測及びLC-MSでの確認から、次の主要分解生成物（親化合物-初期放射能に対して10%以上の量）として挙げられた。

pH 4 :

pH 9 :



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

LC-MSでの確認から、加水分解物は次のとおり同定され、また親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]も同定された。

フェンアミドン及びその分解生成物の濃度（各試料採取時点での初期放射能に対する割合%）推移を、申請者が次表にまとめた。

代謝物記号	A			
pH	経過日数 (日)	フェンアミドン		
4	0	100.00		
	5	91.61		
	10	84.60		
	14	80.06		
	19	70.44		
	25	66.81		
	31	59.66		
5	0	100.00		
	5	98.29		
	10	97.39		
	14	96.43		
	19	93.69		
	25	92.21		
	31	91.15		
7	0	100.00		
	5	100.00		
	10	98.06		
	14	98.35		
	19	96.54		
	25	96.02		
	31	95.34		
9	0	100.00		
	5	95.40		
	10	82.23		
	14	73.31		
	19	66.30		
	25	55.56		
	31	47.10		

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

フェンアミドンの加水分解速度：フェンアミドンの加水分解反応を、擬一次反応と仮定し、(1)式から半減期(DT50)及び加水分解速度定数を算出した。

$$\ln(C/C_0) = kT \text{ 及び } DT50 = -0.693/K \text{ ----- (1)}$$

$C_0$  = フェンアミドンの初期濃度  
 $C$  = 時間Tにおけるフェンアミドンの濃度  
 $k$  = 速度定数  
DT50 = フェンアミドンの半減期

pH	4	5	7	9
k(日 <sup>-1</sup> )	-0.0166	-0.0031	-0.0017	-0.0251
DT50(日)	41.7	221.8	411.0	27.6

フェンアミドンに関する予想加水分解経路を、以下に示す。

フェンアミドンの加水分解経路

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

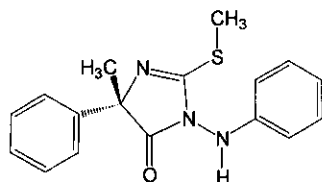
#### 4.2 水中光分解運命試験（緩衝液）

（資料No. 運命-8）

試験機関：Rhone-Poulenc Agro Dargoire研（仏）  
報告書作成年：1998年

供試標識化合物：[C-フェニル-U-14C]標識フェンアミドン

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



\*：標識位置

放射化学的純度：約 90%（薄層クロマトグラフィーによる確認）

供試水：滅菌緩衝液

設定濃度3.9 μg/ml（実際濃度3.77 μg/ml）のフェンアミドンを含むリン酸二水素カリウム緩衝液（pH7，共存溶媒としてアセトニトリルを1%含有）

光源と光量

光源：1000Wのキセノンランプ

放射照度：

波長 [nm]	本試験の光強度 [W/m <sup>2</sup> ] [Suntest装置]
300~800	720

フランス リオン市（1994年6月26日）の光強度：446 [W/m<sup>2</sup>]

Suntestの1時間照射 = 夏期太陽光の0.195日

試験方法：

光照射区

試験温度：25 ± 1°C

試験容器：Pyrex製 光化学リアクター

光照射：キセノンランプから、光(290nm以下の波長を除去)を連続的に照射した。

試料採取：光照射開始後0, 15, 24, 31及び48時間目に、それぞれ試料(n=2)を採取した。また、光化学リアクターに接続した各トラップ中に捕集された揮発性化合物について、光照射開始後0時間を除く各試料採取時点において回収した。なお、各トラップの内訳は次のとおりであった。

- トラップ1：EGME（エチレングリコールモノメチルエーテル）75mlを入れたトラップ1個
- トラップ2：2N NaOH 75mlを入れたトラップが計2個
- トラップ3：水 75mlを入れたトラップ1個

暗所対照区

試験温度：25 ± 1°C

試験容器：供試水を入れたSchottボトルを、Jouanインキュベーター内に48時間設置した。

試料採取：光照射区における、照射開始後48時間目に分析試料を採取した。フェンアミドンの加水分解試験（資料No. 運命-7）において揮発性化合物の生成が認められなかったことから、暗所対照区において揮発性化合物に

についての検討は行わなかった。

採取試料の分析

各採取時点において採取した試験水及びトラップ中の各溶液の放射能を、液体シンチレーションカウンターで測定した。

また、分解生成物に関しては、認証済み標準物質との逆相高速液体クロマトグラフィー（逆相HPLC）での比較または液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（LC-MS）での分析により確認した。

用いた分析条件及び認証済み標準物質は次のとおりであった。

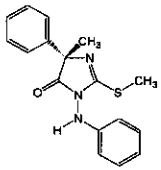
逆相HPLC

LC-MS

液体クロマトグラフィー

マススペクトロメトリー

認証済み標準物質

フェンアミドン				
代謝物記号 A				
				


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

### 無菌状態の確認

無菌状態は、試料の一部を栄養培地で培養し、約4日後の培地についての肉眼的検査及び500nmにおける光学密度（O.D.）を測定して確認した。

### 試験結果：

#### 放射能の回収率

各試料採取時点における放射能の回収率を次表に示す。

	光照射区：照射開始後						暗所対照区	
	0時間		15時間目		24時間目		48時間目	
滅菌緩衝液からの回収率	102.40;102.28 (102.34)	99.06;99.77 (99.42)	99.69;99.58 (99.64)	96.81;99.58 (98.20)	95.72;95.45 (95.59)	94.44;92.81 (93.63)	102.32;101.40 (102.36)	
揮発性化合物としての回収率	N.A.; N.A. (N.A.)	0.00; 0.00 (0.00)	0.02; 0.02 (0.02)	0.01; 0.02 (0.01)	0.04; 0.06 (0.05)	0.08; 0.09 (0.08)	N.A.; N.A. (N.A.)	
合計回収率	102.40;102.28 (102.34)	99.06;99.77 (99.42)	99.71;99.60 (99.66)	96.82;99.60 (98.21)	95.76;95.51 (95.64)	94.52;92.90 (93.71)	102.32;101.40 (102.36)	

N.A.：測定せず，（ ）：平均値

試験期間を通じて、放射能の回収率は光照射区で93.71～102.34%、暗所対照区で102.36%であった。

#### 揮発性化合物の内訳

トラップ中の各捕集液に捕集された揮発性化合物の内訳を、次の表にまとめる。  
(数値は初期放射能に対する%)

		照射開始後					
		0時間目	15時間目	24時間目	31時間目	39時間目	48時間目
捕集液	EGME	N.A.	0.00;0.00	0.01;0.01	0.00;0.01	0.00;0.00	0.00;0.01
	NaOH	N.A.	0.00;0.00	0.01;0.01	0.01;0.03	0.04;0.06	0.08;0.08
	水	N.A.	0.00;0.00	0.00;0.00	0.00;0.00	0.00;0.00	0.00;0.00
	合計	N.A.	0.00;0.00	0.02;0.02	0.01;0.04	0.04;0.06	0.08;0.09
	(平均)	N.A.	0.00	0.02	0.03	0.05	0.09

EGME：エチレングリコールモノメチルエーテル， N.A.：測定せず

揮発性化合物は、主としてNaOH液中に捕集されていた。各時点において揮発性化合物として検出された放射能は、いずれも初期放射能に対して0.1%以下であった。

#### 放射能の分布（HPLC）

HPLCによって分離された光分解生成物の放射能分布を、表1に示す。

合計で14種類の光分解生成物が認められ、そのうち、初期放射能に対して

であった。このの光分解生成物は、HPLC

で、

の認証済み標準物質と同じ保持時間

を示した。

光分解物は、処理放射能に対してを占めた。供試した認証済み標準物質の内、保持時間がと一致したものはなかった。



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

$$“\ln(C/C_0) = kT” \text{ 及び } “DT50 = -0.693/k” \text{ ----- 1)}$$

$C_0$  = フェンアミドンの初期濃度  
 $C$  = 時間Tにおけるフェンアミドンの濃度  
 $k$  = 速度定数  
 $DT50$  = フェンアミドンの半減期

	Suntest時間	夏期太陽光下での日数 (北緯20°~50°)
DT 50	25.7時間	5.0日
k	-0.0270(時間 <sup>-1</sup> )	-0.138(日 <sup>-1</sup> )

また、北緯35度 (4~6月) の太陽光換算DT50 は、「7.79日」と計算された。

#### 光分解生成物の同定

処理放射能に対して

で生成した光分解生成物

、また試験水中の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]の構造は、LC-MSによって同定された。

またLC-MSによる分析から、処理放射能に対して

割合で生成した

はその分子量が325であり、  
があることと考えられた。

次の構造

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

フェンアミドンの水中光分解経路（緩衝液）

得られた結果から、次の経路が想定された。

[C-フェニル-U-14C]標識フェンアミドンを用いた水中光分解試験において、フェンアミドンは速やかに光分解（本試験条件下で推定半減期 25.7時間）され、主要光分解物（  
）が生成するものと考えられた。その他に、マイナーな光分解物（  
）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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

水中光分解試験（緩衝液）

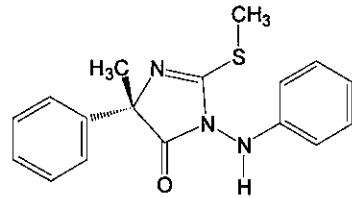
（資料 No. 運命-9）

試験機関：Rhone-Poulenc Agro Dargoire 研（仏）

報告書作成年：1999年

供試標識化合物：[N-フェニル-U-14C]標識フェンアミドン

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



\*：標識位置

放射化学的純度： %（TLC 及び HPLC による確認）

試験水：滅菌緩衝液

フェンアミドンを濃度 $3.9 \mu\text{g/ml}$ を含む $20\text{mM}$ リン酸二水素カリウム緩衝液（pH7, 共存溶媒としてアセトニトリルを1%含有）

光源と光量

光源：1000Wのキセノンランプ

光強度：

波長 [nm]	本試験の光強度 [W/m <sup>2</sup> ] [Suntest]
300~800	720

Suntest の1時間照射 = 夏期太陽光の0.195日

試験方法：

光照射区

試験温度： $25 \pm 1^\circ\text{C}$

試験容器：供試水を入れた Pyrex 光化学リアクター（カバーは石英ガラス）

光照射：キセノンランプから、光（290nm 以下の波長を除去）を連続的に照射した。

試料採取：光照射開始後0, 15, 24, 31及び48時間目に、試料を2組ずつ採取した。

また、光化学リアクターに接続した各トラップ中に捕集された揮発性化合物について、光照射開始後0時間を除く各試料採取時点において回収した。なお、各トラップの内訳は次のとおりであった。

- トラップ1：EGME（エチレングリコールモノメチルエーテル）75mlを入れたトラップ1個

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

- － トラップ2：2N NaOH 75mlを入れたトラップが計2個
- － トラップ3：水 75mlを入れたトラップ1個

暗所対照区

試験温度：25±1℃

試験容器：供試水を入れた Schott ボトルを、Jouan インキュベーター内に48時間設置した。

試料採取：光照射区における、照射開始後48時間目に分析用に試験水試料を採取した。

採取試料の分析

各採取時点において採取した試験水及びトラップ中の各溶液の放射能を、液体シンチレーションカウンターで測定した。

また試験水については、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で認証済み標準物質と光分解生成物の保持時間の比較を、液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（LC-MS）で分解生成物の同定を行った。なお、HPLC で使用した認証済み標準品は、[N-フェニル-U-14C]標識フェンアミドン、非標識フェンアミドン、であった。

無菌状態の確認

無菌状態は、試料の一部を栄養培地で培養し、約4日後の培地についての肉眼的検査及び500nm における光学密度（O. D.）を測定して確認した。その結果、試験通じて無菌状態が維持されていたことが確認された。

試験結果：

放射能の回収率

各試料採取時点における放射能の回収率を次表に示す。

	光照射区：照射開始後												暗所対照区	
	0時間		15時間目		24時間目		31時間目		39時間目		48時間目		48時間目	
滅菌緩衝液からの回収率	101.01	100.77	94.37	92.39	97.11	95.71	89.80	85.91	90.31	83.76	87.53	86.01	87.53	100.79
揮発性化合物としての回収率	N. A.	N. A.	0.14	0.11	0.19	0.60	0.52	0.46	0.99	0.68	1.77	3.40	N. A.	N. A.
合計回収率	101.01	100.77	94.51	92.50	97.30	96.31	90.32	86.37	91.30	84.44	89.30	89.41	101.19	100.79
	(100.9)		(93.5)		(96.8)		(88.3)		(87.9)		(89.4)		(101.0)	

N. A.：測定せず，（ ）：平均値

揮発性化合物の内訳

トラップ中の各捕集液に捕集された揮発性化合物の内訳を、次の表にまとめる。  
(数値は処理放射能に対する%)

		照射開始後											
		0時間目		15時間目		24時間目		31時間目		39時間目		48時間目	
捕 集 液	EGME	N. A.	0.04	0.04	0.02	0.05	0.06	0.06	0.06	0.04	0.11	0.14	
	NaOH	N. A.	0.09	0.07	0.17	0.56	0.46	0.41	0.93	0.64	1.67	3.26	
	水	N. A.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	合計	N. A.	0.14	0.11	0.19	0.60	0.52	0.46	0.99	0.68	1.77	3.40	
	(平均)	N. A.	0.13		0.40		0.49		0.84		2.59		

EGME : エチレングリコールモノメチルエーテル, N. A. : 測定せず

揮発性化合物は、主として NaOH 液中に捕集されていた。また、その生成量は 2.59%まで増加した。NaOH 液中に捕集された揮発生成物は、炭酸バリウム沈殿法によって二酸化炭素と確認された。

放射能の分布 (HPLC)

HPLC によって分離された光分解生成物の放射能分布を、次の表に示す。

ラジオクロマトグラムから多くの光分解物が認められた。フェンアミドン、  
の量的推移を表1に示す。

フェンアミドン、  
のうち、処理放射能に対して 以外の光分解物の割合で生成したものはなかった。

(数値は、処理放射能に対する%, n=2)

	光照射 : 照射開始後							暗所対照
	0時間	15時間目	24時間目	31時間目	39時間目	48時間目	48時間目	
フェンアミドン	99.6	87.2	87.6	70.7	53.3	29.3	99.2	

フェンアミドンの水中光分解速度：

フェンアミドンの水中光分解を、擬一次反応と仮定し、1) 式から半減期 (DT50) 及び水中光分解速度定数を算出した。

$$\ln(C/C_0) = kT \text{ 及び } DT50 = -0.693/k \text{ ----- 1)}$$

$C_0$  = フェンアミドンの初期濃度

$C$  = 時間  $T$  におけるフェンアミドンの濃度

$k$  = 速度定数

DT50 = フェンアミドンの半減期

	Suntest 時間	夏期太陽光下での日数 (北緯20°~50°)
DT 50	29.5時間	5.8日
k	-0.0235(時間 <sup>-1</sup> )	-0.0046(日 <sup>-1</sup> )

また、北緯35度 (4~6月) の太陽光換算 DT50 は、「8.96日」と計算された (申請者の計算による)。

光分解生成物の同定

LC-MS によって の構造を決定した結果、  
と判明した。

また、光照射開始48時間目の試料を LC-MS で分析した結果、  
の存在が確認された。

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

[N-フェニル-U-14C]標識フェンアミドンの水中光分解経路  
得られた結果から、次の経路が想定された。

[N-フェニル-U-14C]標識フェンアミドンを用いた水中光分解試験において、フェンアミドンは速やかに光分解された。また、 $^{14}\text{CO}_2$ を含む多数の光分解物が認められたことから、窒素（N）フェニル環部位は広範囲に分解されると考えられた。

の生成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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

#### 4.3 水中光分解運命試験（自然水）

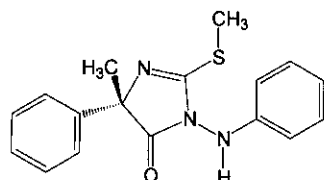
（資料No. 運命-10）

試験機関：Battele AgriFood Ltd.（英）

報告書作成年：2002年 [GLP]

供試標識化合物：[C-フェニル-U-14C]標識フェンアミドン

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



\*：標識位置

放射化学的純度： %（HPLC及びTLCによる確認）

供試水：滅菌自然水

（河川水、採取場所：英国 Roding川、採取年月日：2002年4月15日、pH 8.5）

設定濃度としてフェンアミドン $3.6\mu\text{g}/\text{ml}$ 、共存溶媒としてアセトニトリル $0.9\%v/v$ を含む。

光源と光量

光源：キセノンランプ

放射照度：

波長 [nm]	本試験の光強度 [W/m <sup>2</sup> ]	
290~800	350 (光分解運命試験-光照射区) (量子収量測定試験)	353 (光分解運命試験-追加光照射区)

試験方法：

試験装置：Suntest

試験系：本試験は、光分解運命試験と量子収量測定試験で構成されている。

光分解運命試験：

① 光照射区

試験温度： $25\pm 2^\circ\text{C}$

試験容器：ガラス製（但し、光の入射面は石英製）

光照射：キセノンランプを組み込んだHaraeus Suntest CPS+から、光(290nm以下の波長を除去)を連続的に照射した。

② 非照射（暗所対照）区

試験温度： $25\pm 1^\circ\text{C}$

試験容器：ガラス製、容器は黒いプラスチックで遮光した。

光照射区および非照射区の試験装置には、二酸化炭素を含まない空気を通気し、揮発性分解生成物捕集を目的として次に示すトラップ系〔トラップ1（エチレングリコール）、トラップ2（水酸化カリウム）およびトラップ3（水酸化カリウム）が連結〕を接続した。

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

### ③ 追加光照射区（揮発性物質捕集用）

光照射区において、光照射期間の後半に回収放射能の低下が認められたことから、光照射区と類似の条件で光を照射し、改良トラップ系〔トラップ1（ポリウレタンフォーム）、トラップ2（分子篩）、トラップ3（活性炭）およびトラップ4（水酸化カリウム）が連結〕を用いて揮発性分解物質の捕集を試みた。

#### 量子収量試験：

光照射区 および非照射区：ピリジン 162.72mgに、アクチノメーター溶液（4-ニトロアセトフェノン[PNAP] 0.0167mg/ml アセトニトリル溶液）450 $\mu$ lを加え、無菌自然水で希釈し100ml定容とした。この溶液を二分割し、50mlを照射区および残りの50mlを非照射区とした。

試料採取：次の時点で試料を採取した。

試料採取時点		光分解運命試験			量子収量試験	
照射期間	太陽光換算日数	光照射区	非照射区	追加光照射区	光照射区	非照射区
0 日間	0.00 日	○	○	—	○	○
16 時間	3.08 日	○	○	—	○	○
1 日間	4.64 日	○	○	—	○	○
2 日間	9.13 日	○	○	—	○	○
3 日間	14.79 日	○	○	—	○	○
5 日間	23.65 日	○	○	—	○	○
6 日間	29.57 日	○	○	—	○	○
7 日間	34.76 日	○	○	—	○	○
9 日間	44.61 日	○	○	○	○	○
13 日間	63.87 日	○	○	○	○	○
16 日間	78.63 日	○	○	○	○	○

○：採取、—：採取せず。

#### 採取試料の分析

##### 光分解運命試験：

各時点において採取した試験水、試験溶液の洗浄液およびトラップ中の各溶液の放射能を、液体シンチレーションカウンターで測定した。

また、試験水中の成分組成に関しては、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（各種の方法）/薄層クロマトグラフィー（TLC）/液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（LC-MS）を用いて特徴付け/同定を行った。

##### 量子収量試験：

各時点において採取した照射区および非照射区の試験水をHPLCで分析し、ピリジン/PNAPアクチノメーターを用いて量子収量を決定した。

無菌状態の確認：無菌状態は、各時点での採取試料の一部を栄養培地で数日間培養して確認した。

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

試験結果：

光分解運命試験 — 放射能の回収率：

各試料採取時点における光照射区および非照射区の放射能回収率を表 1に示す。また、追加光照射区における全体の回収率を表 2に、追加光照射区で用いた改良トラップ系における放射能回収率の内訳を表 3に示す。

表 1：光照射区および非照射区の放射能回収率

採取時点	太陽光 換算日数	処理放射能に対する%						
		光照射区				非照射区		
		試験水	容器 洗浄液	揮発性 物質	回収率	試験水	揮発性 物質	回収率
0日*	0日	99.59	—	n/a	99.6	99.56	n/a	99.6
16時間	3.08日	100.39	—	0.00	100.4	96.51	0.01	96.5
1日	4.64日	98.12	—	0.00	98.1	98.88	0.01	98.9
2日	9.13日	94.23	—	0.01	94.2	99.18	0.00	99.2
3日	14.79日	99.01	—	0.00	99.0	101.61	0.00	101.6
5日	23.65日	98.95	—	0.08	99.0	99.57	0.00	99.6
6日	29.57日	97.53	—	0.23	97.8	98.81	0.01	98.8
7日	34.76日	96.90	—	0.28	97.2	95.66	0.01	95.7
9日	44.61日	86.00	0.94	0.66	87.6	99.23	0.02	99.3
13日	63.87日	70.78	0.55	1.32	72.7	98.79	0.03	98.8
16日	78.63日	65.99	—	2.23	68.2	101.61	0.02	101.6
平均回収率					92.8	平均回収率		99.1

\*：n=2の平均値、その他はn=1、 n/a：分析せず。

表 2：追加光照射区の放射能回収率 (n=1)

採取時点	太陽光 換算日数	処理放射能に対する%		
		試験水	トラップ系	回収率 (計)
9日	44.6日	87.2	0.50	87.7
13日	65.7日	75.6	1.64	77.2
16日	80.0日	70.1	2.22	72.3

表 3：追加光照射区 — 改良トラップ系における放射能回収率の内訳 (n=1)

採取時点	各トラップ中の放射能—処理放射能に対する%			
	トラップ 1	トラップ 2	トラップ 3	トラップ 4
	(ポリウレタンフォーム)	(分子篩)	(活性炭)	(水酸化カリウム)
9日	0.19	0.13	0.08	0.11
13日	0.63	0.56	0.13	0.31
16日	0.80	0.72	0.23	0.51

光照射区において、照射7日目（太陽光に換算して約35日間に相当）までの回収率は、処理放射能の94.2～100.4%（照射7日目までの平均98.3%）であった。これ以降の採取時点（照射9～16日目）では、回収率が90%以下となった。追加光照射区においても、同様の回収率低下



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

が認められた。

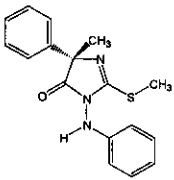
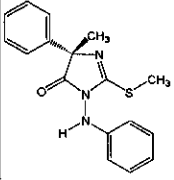
この回収率の低下は、後述する光分解物の  
が不十分であったためと考えられた。

の捕集

非照射区における回収率は、95.7～101.6%の範囲にあり、生成した揮発性分解物の量は無視しうるものであった。

光分解運命試験 — 分解生成物の同定：

用いた各種の分析条件から、照射区および非照射区における次の分解生成物が同定された。

照射区				非照射区			
フェンアミドン [A]				フェンアミドン [A]			
							

光分解運命試験における放射能成分の構成および定量（HPLC）：照射区および非照射区における放射能成分について、その構成および生成量を、下表に示す。

採取 時点	太陽光 換算日数	処理放射能に対する%							
		照射区				非照射区			
		フェンアミドン [A]				フェンアミドン [A]			
0日*	0日	99.59				99.59			
16 hr	3.08日	93.49				96.51			
1日	4.64日	90.17				97.84			
2日	9.13日	72.27				96.46			
3日	14.79日	62.91				98.79			
5日	23.65日	40.60				95.85			
6日	29.57日	31.45				87.90※			
7日	34.76日	28.54				92.31			
9日	44.61日	19.64				95.95			
13日	63.87日	1.56				92.97			
16日	78.63日	1.72				94.14			

\*：n=2の平均値、その他はn=1。

※：非照射区の6日目の値は、異常値と考えられた。

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

光照射区において、フェンアミドンは照射0日の99.59%から照射7日目（太陽光換算日数 約35日に相当）の28.54%へと急速に減少した。

光照射区において処理放射能に対して 生成した光分解物は、  
であった。照射7日目（太陽光換算日数 約35日  
に相当）の時点で、処理放射能に対して は %。  
は の値となった。

光照射区において、このほかに および が認め  
られたが、その生成量は処理放射能に対して %以下であった。

非照射区におけるフェンアミドンは、照射0日の99.59%から照射7日目（太陽光換算日数 約35日に相当）の92.3%へと、緩やかに減少した。非照射区における分解物として、  
が認められた。

#### 光分解運命試験 — DT50およびDT90：

光分解運命試験におけるフェンアミドンのDT50およびDT90は、一次反応速度式を用いて次の  
とおり算出された。

	DT 50 (日)	DT 90 (日)
一次反応速度式	3.71日	12.3日
北緯35度、4～6月の条件下	18.8日	62.5日

光分解運命試験 — 自然水中における光分解経路：次頁に、フェンアミドンの自然水中における  
光分解経路を示す。

量子収量試験：フェンアミドンの自然水中における量子収量は、「 $2.44 \times 10^{-2}$ 」であった。

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

## 自然水中における光分解経路