

2. 植物代謝に関する試験

2-1. <sup>14</sup>C-標識検体の春小麦における代謝試験

(資料 P1)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試標識化合物：検体（クロルメコートクロリド）の以下の部位を <sup>14</sup>C で標識した。

略 称	<sup>14</sup> C-CCC
構造式・標識部位	$\left[ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array} \right] \text{Cl}^-$
化学名	2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリド [1, 2- <sup>14</sup> C]
分子式	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> N
分子量	158.1
比放射能	dpm/μg = GBq/mmol
放射化学的純度	> 97.2 %
化学的純度	95.8 %

供試植物：春小麦（品種名：Star）

栽培環境：人工気象生育室（ファイトロン）内で栽培した。

照明：蛍光灯 12時間照射/日

土壌：Limburgerhof 土壌（土性；砂土：壤土=2：1）

ポット：16 x 16 cm

散布方法：

1) 処理量

使用量：1380g a. i. /ha

2) 処理

処理部位・方法：手動式散布機で散布

処理回数：1回

処理時期：1988年1月27日 [播種日1987年11月10日]

試料の採取：

植物部分	処理後の日数
茎葉	0 日
茎葉	28 日
茎葉	84 日
種子	118 日
麦わら	

試料調製：

- (1) 茎葉： 長さ数 mm の小片に切断し、超低温凍結後、凍結乾燥した。
- (2) 麦わら： 小片に切断し、超低温凍結後粉末ドライアイスを加えて浸軟器で浸軟させ、室温で 6 時間放置しドライアスを蒸発させた。
- (3) 種子： ミルで粉碎した。

上記の試料を燃焼法及び液体シンチレーションカウンター (LSC) で総残留放射能 (TRR) を 1 試料につき 3 反復で測定した。

分析：

(1) 茎葉及び麦わら試料

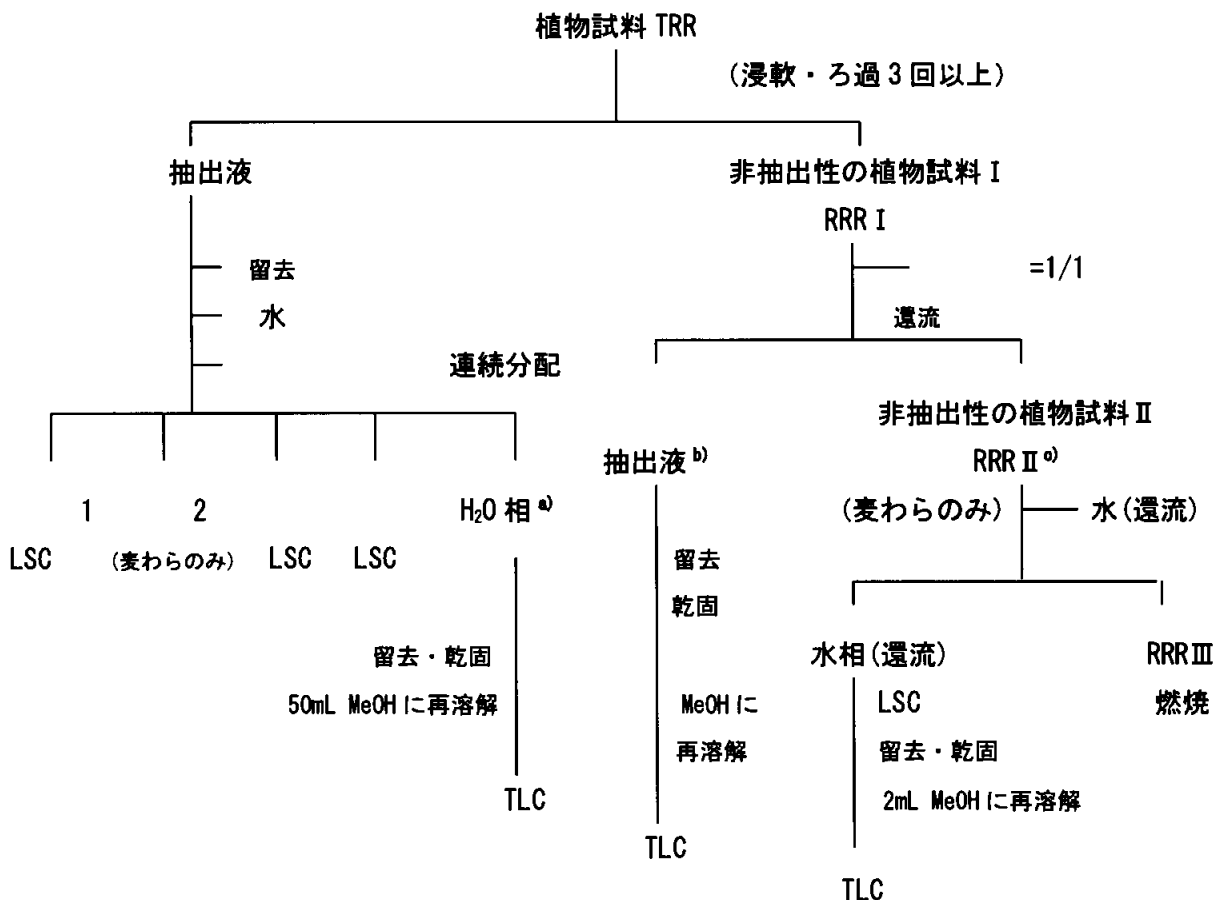
調製した試料を と混合し浸軟し、ろ過して固相と液相に分離し、液相の一部を LSC で分析した。固相は乾燥させて燃焼及び LSC で非抽出性残留放射能を測定し、RRR I とした。液相の を減圧下で留去し、水を添加後、(Cyhe)、(DCM) 及び (EA) の溶媒を用いた一連の分配操作を行い、全液相の残留放射能を LSC で測定した。さらに水相は留去して乾固させメタノールに再溶解してクロマトグラフィー分析に供した。

非抽出性残留放射能 (RRR I) は (1:1) を添加して還流し、液相及び固相 (RRR II) に分け、液相は TLC 分析に供した。麦わらでは RRR II に水を添加し還流ろ過後に水相を LSC で測定し、さらに処理して TLC 分析に供した。スキーム I に示す。

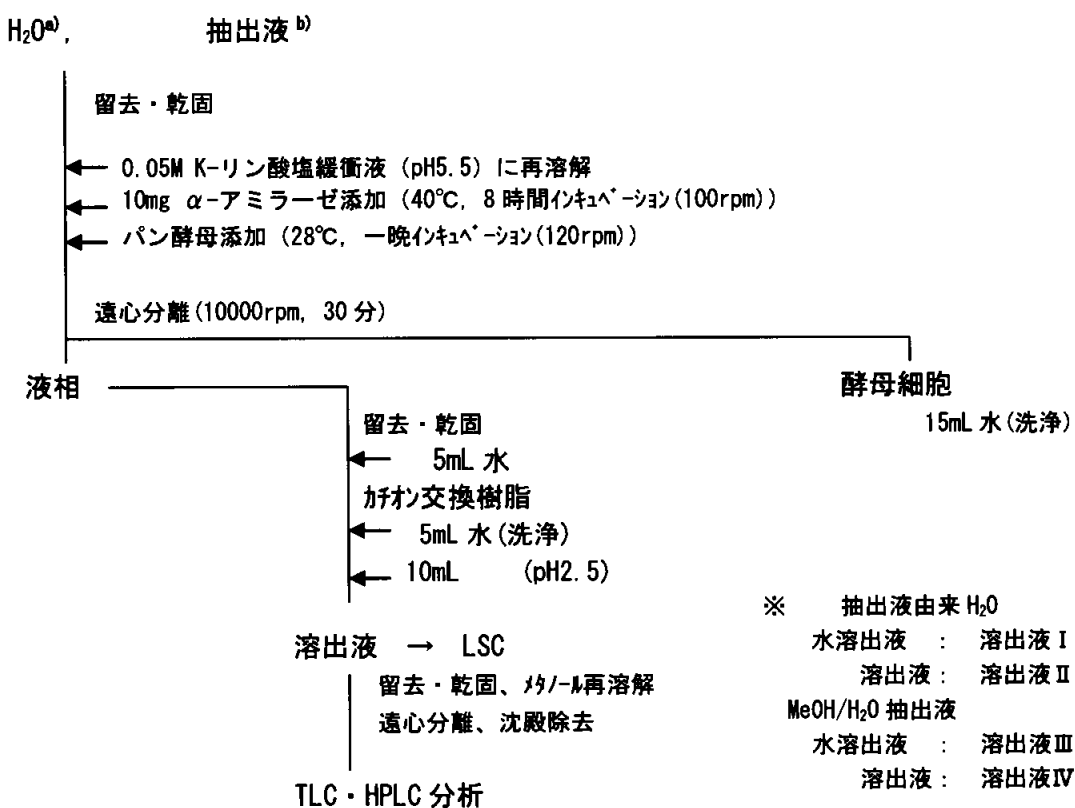
(2) 種子試料

茎葉及び麦わらと同様の処理をし、スキーム I の H<sub>2</sub>O 相<sup>a)</sup>、抽出液<sup>b)</sup>及び RRR II を得た。澱粉が多いため、さらに 2 つの液相に追加処理 (スキーム II) を行った。得られた液相及び水相は留去・乾固し、水を加えてカチオン交換樹脂に流した。これを 10mL ギ酸 (pH2.5) で溶出し、溶出液を LSC で測定した。さらに溶出液を処理して TLC 及び HPLC で分析した。

スキーム I



スキーム II (種子の追加分画処理)

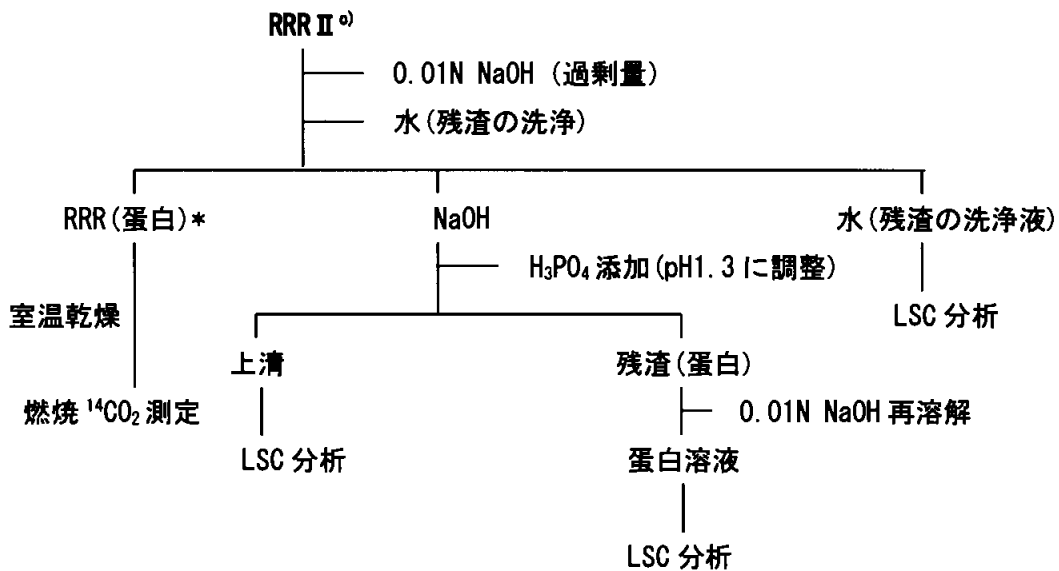


(3) リグニン、セルロース、蛋白及び澱粉の分画

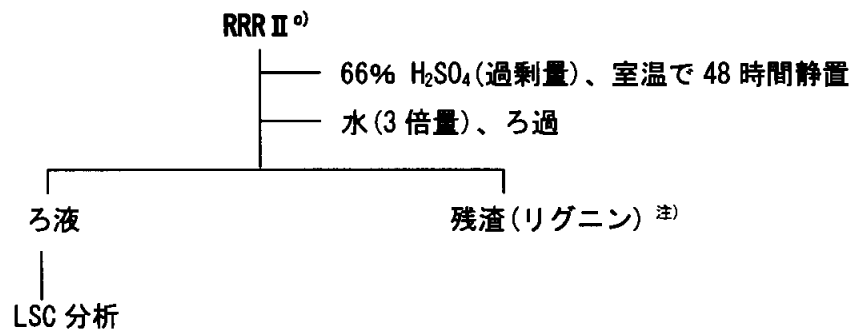
麦わら及び種子の非抽出性試料を用いて以下に示すスキームで植物の各画分中に取り込まれた残留放射能を測定した。

麦わら

蛋白の抽出：

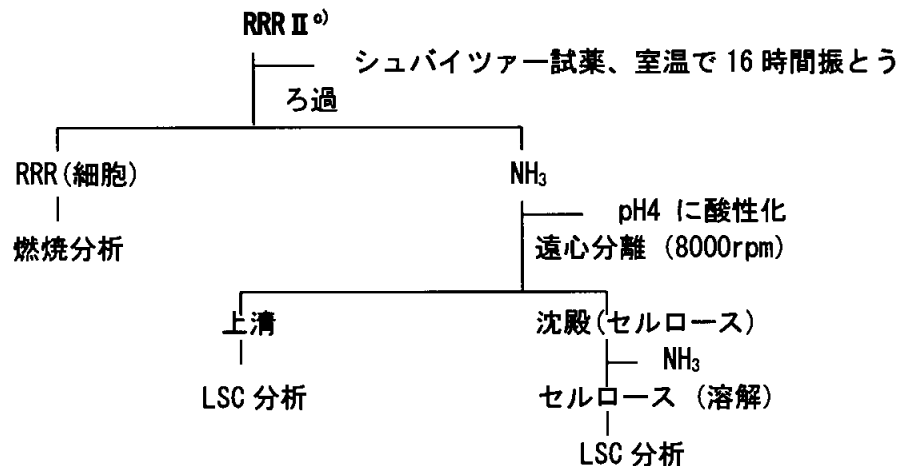


リグニン分画：



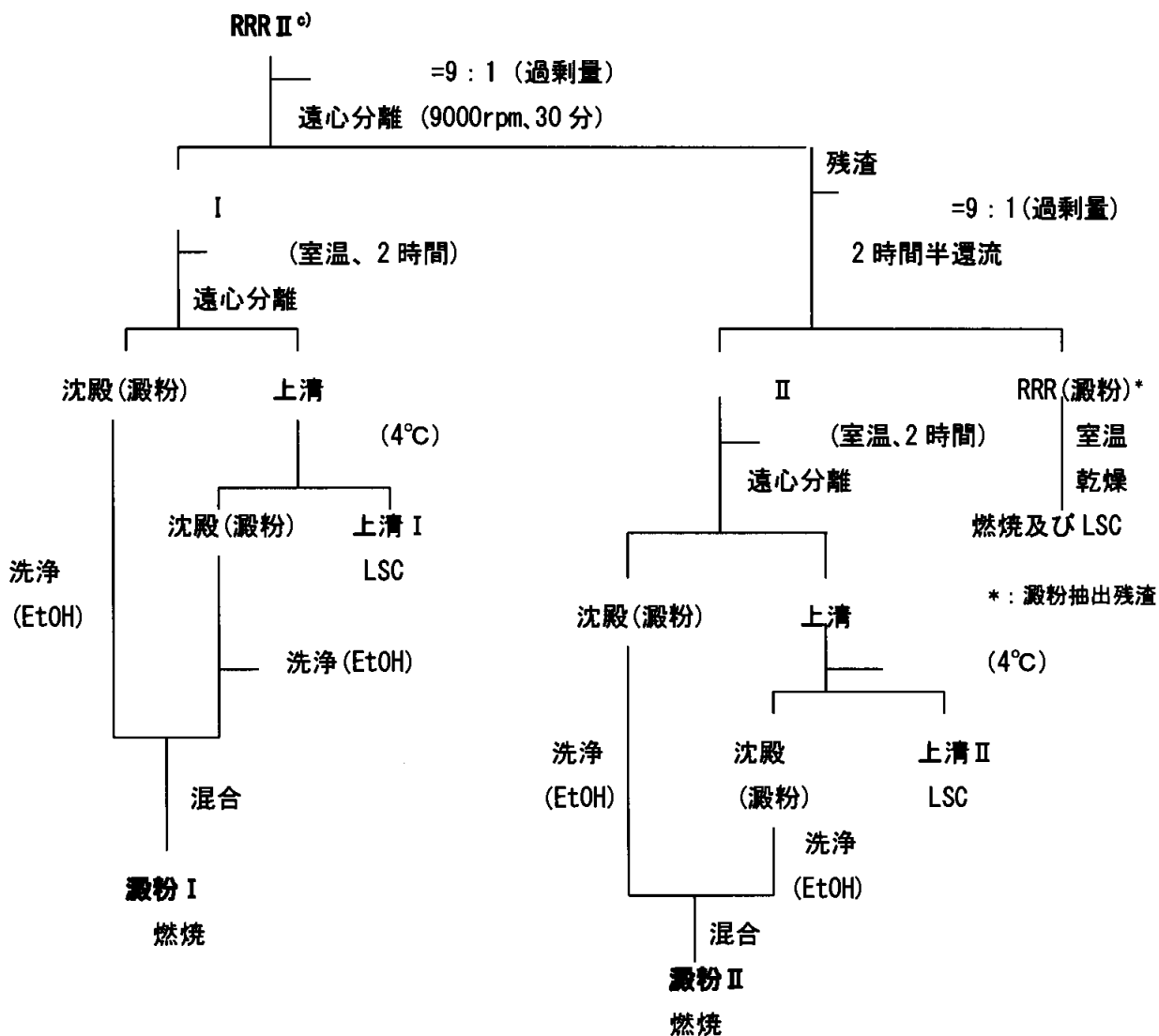
注) 残渣リグニンは RRR II とろ液の放射能の差に基づいて算出した。

セルロースの抽出：



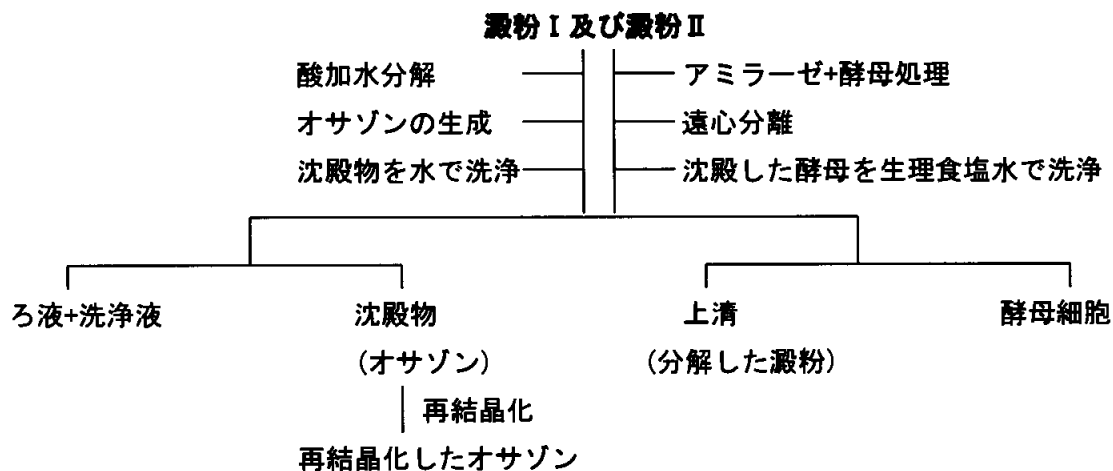
**種 子**

**澱粉の抽出：**



洗淨液は LSC で測定した。

澱粉 I 及び II については追加の特性検討を実施した。



蛋白、リグニン、セルロースの分画は麦わらと同様に行ったが、リグニン分画は量が少なく燃焼分析はできなかった。

(4) 放射能の測定

液体シンチレーションカウンターで少なくとも 2 回、燃焼法では少なくとも 3 回試料を測定した。

(5) 代謝物の特徴づけ

基準物質を用いて各放射能を含む分画を薄層クロマトグラフィー (TLC)、イオンクロマトグラフィー (IC)、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 及び HPLC/MS により代謝物の特徴づけを行った。基準物質として親化合物 (CCC)、  
及び   
を用いた。

結果及び考察

(1) 物質収支

各採取日の物質収支はほぼ 90%以上であり、概ね良好であった。

(84 日目の試料の物質収支は 85.5%と他よりも低かったが、RRR I と   
 相の放射能の総和では 89.9%であった。)

また、118 日目の TRR 値が 84 日目の TRR を上回ったことは、水分の消失及び乾燥に起因すると考えられた。

表 1. 物質収支

採取日	試料	TRR mg/kg	相		非抽出性残渣 (RRR I)				合計	
			mg/kg	%TRR	相 mg/kg	%TRR	残渣 (RRR II) mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
0	茎葉	49.24	44.16	89.6	0.41	0.8	0.04	0.1	44.61	90.5
28	茎葉	41.98	35.60	84.8	1.34	3.2	0.05	0.1	36.99	88.1
84	茎葉	14.35	11.33	79.0	0.86	6.0	0.07	0.5	12.26	85.5
118	麦わら	45.84	37.12	81.0	2.28	5.0	3.04**	6.6**	42.44	92.6
	種子	1.32	0.49	36.9	0.22	16.8	0.69	52.2	1.40	105.9

\*\* : 麦わらの RRR II 試料は水を添加して還流することにより、1.28mg/kg (2.8%TRR) が水相に抽出される。  
最終的な非抽出性放射能 (RRR III) は 1.50mg/kg (3.3%) であった。

表 2. 相の分離

採取日	試料	相		1&2		H <sub>2</sub> O		H <sub>2</sub> O		H <sub>2</sub> O	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
0	茎葉	44.16	89.6	1.90	3.8	0.14	0.3	0.04	0.1	41.94	85.2
28	茎葉	35.60	84.8	1.40	3.3	0.20	0.5	0.05	0.1	35.39	84.3
84	茎葉	11.33	79.0	0.40	2.8	0.03	0.2	0.02	0.1	10.38	72.3
118	麦わら	37.12	81.0	0.14	0.3	0.10	0.2	0.03	0.1	31.27	68.2
	種子	0.49	36.9	0.02	1.3	0.004	0.3	0.000	0.0	0.40	30.3

(2) 抽出性放射能の特性検討

1) ラジオ-TLC 分析

抽出相及び 抽出相について、0.5%TRR 以下の試料を除き、試料を異なる 3 つの固定相を用いたラジオ-TLC 分析で展開し、残留放射能成分の特徴づけをしたところ、親化合物、及びその他のいくつかの成分に分離された。主要成分は親化合物であり、その他の成分は最大でも %TRR であった。以下の表に結果の要約を示す。

表 3. ラジオ-TLC (SP I /MP I)

採取日	試料	TRR (mg/kg)	Rf~0.02		Rf~0.30		Rf~0.45 CCC		Rf~0.57		Rf~0.64	
			mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
0	茎葉	49.24	0.01	0.0**	1.66	3.3	39.91	80.9	0.77	1.5		
28	茎葉	41.98	0.04	0.1	1.43	3.3	31.91	76.1	-	-		
84	茎葉	14.35	0.03	0.2	0.50	3.5	10.02	69.7	-	-		
118	麦わら	45.84	0.02	0.0	1.75	3.8	35.60	77.7	-	-		
	種子	1.32	0.000	0.0	0.026	1.5	0.37	27.9	-	-		

表 4. ラジオ-TLC (SP II /MP II)

採取日	試料	TRR (mg/kg)	Rf~0.01		Rf~0.37		Rf~0.53 CCC		Rf~0.71		Rf~0.91	
			mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
0	茎葉	49.24	0.01	0.0**	-	-	42.35	86.0			-	-
28	茎葉	41.98	0.01	0.0	0.004	0.0	33.37	79.5			-	-
84	茎葉	14.35	0.02	0.1	-	-	10.52	73.3			-	-
118	麦わら	45.84	0.074	0.1	-	-	37.29	81.4			-	-
	種子	1.32	0.001	0.0	-	-	0.38	28.1			0.01	0.5

表 5. ラジオ-TLC (SP III /MP III)

採取日	試料	TRR (mg/kg)	Rf~0.00		Rf~0.29		Rf~0.42 CCC		Rf~0.47		Rf~0.89	
			mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
0	茎葉	49.24	-	-			41.61	84.5	0.75	1.5	-	-
28	茎葉	41.98	-	-			33.02	78.6	0.36	0.9	-	-
84	茎葉	14.35	0.004	0.0**			9.66	67.2	0.87	6.1	0.01	0.1
118	麦わら	45.84	0.002	0.0			37.30	81.4	-	-	-	-
	種子	1.32	-	-			0.41	30.2	0.005	0.5	-	-

SP=固定相, MP=移動相

SP I : シリカゲル 60F<sub>254</sub>

SP II : RP8F<sub>254</sub>

SP III : セルロース

MP I : = 30/70/2

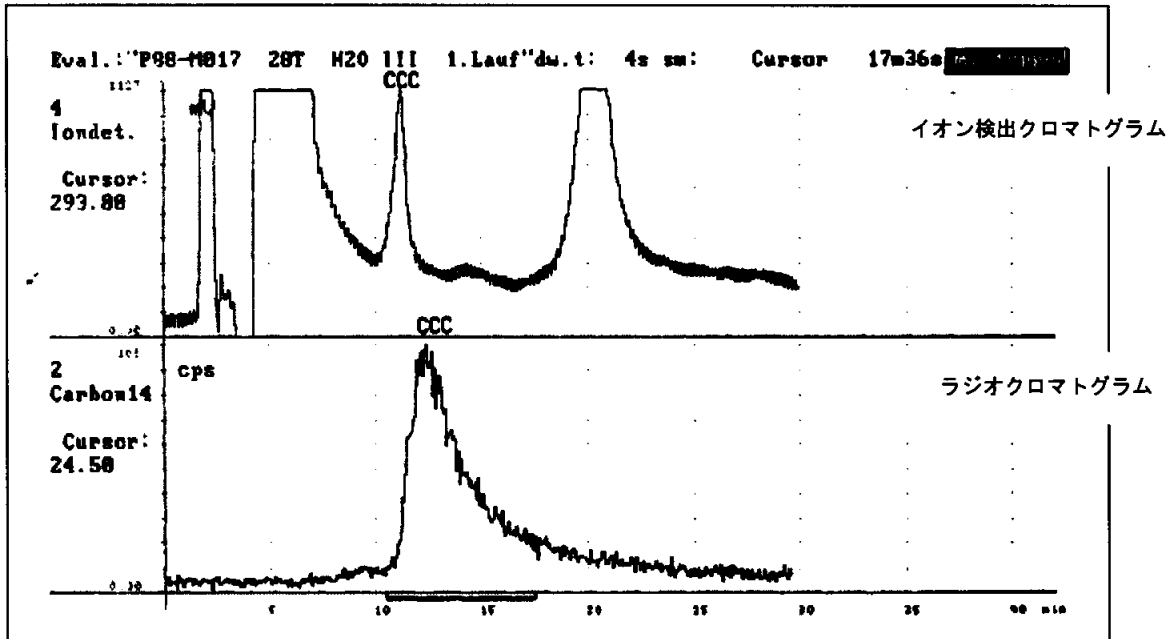
MP II : = 70/30/1

MP III : = 80/20/2/30

- : 不検出, \*\* : 四捨五入による

2) イオンクロマトグラフィーによる特性検討

0、28、84 日の試料の 、H<sub>2</sub>O 及び  相並びに麦わら試料の H<sub>2</sub>O 及び H<sub>2</sub>O(還流)相を検討したところ、親成分のみ検出された。代表的なクロマトグラムを以下に示す。



3) HPLC 及び HPLC/MS 分析

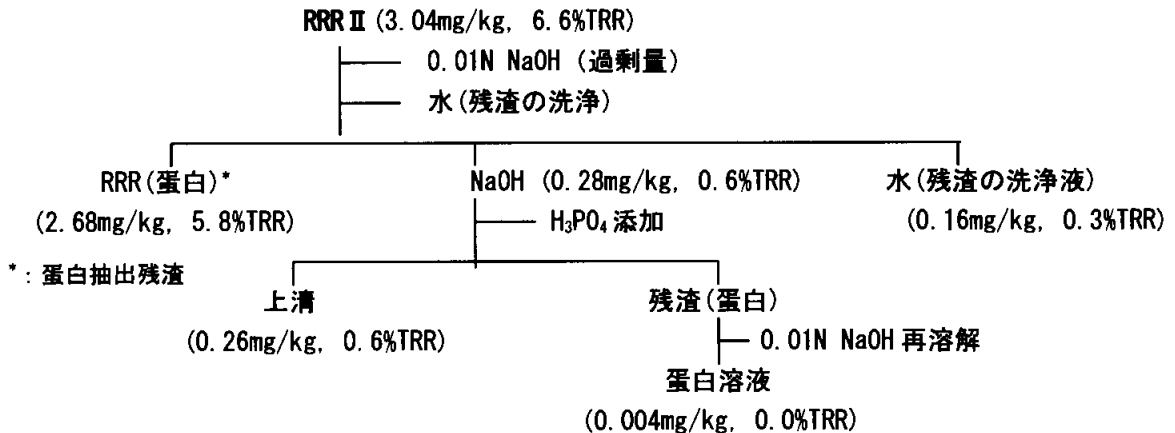
茎葉及び麦わらのすべての相では親化合物のみが認められた。

種子の溶出液 (I ~ III) では親化合物及び  が検出された。溶出液 IV からは親化合物のみが認められた。

(3) 非抽出性のリグニン、セルロース、蛋白及び澱粉中の放射能特性検討

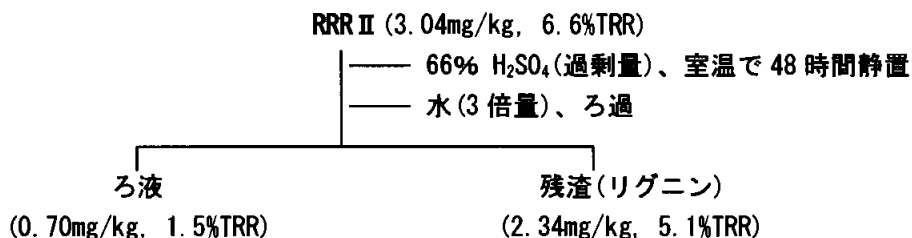
1) 麦わら

蛋白の分画： 以下の結果より蛋白画分中への取り込みはない。NaOH による抽出率が低かったことより非特異的抽出が示唆される。

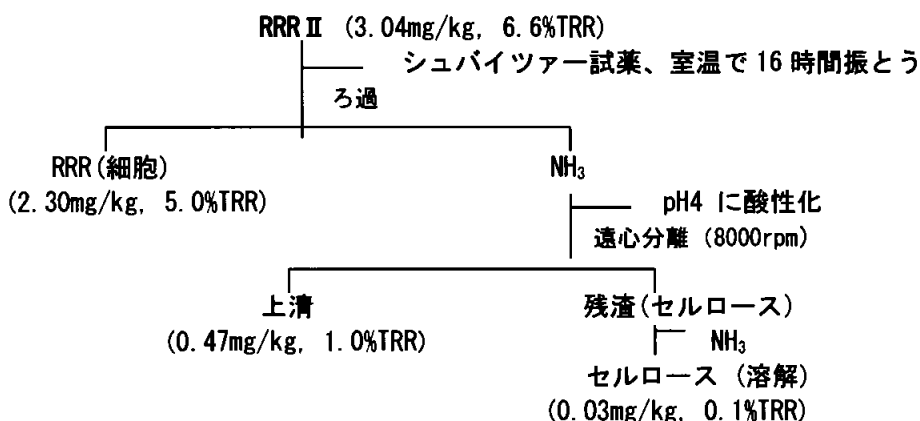




リグニンの分画： 以下の結果より RRR II の放射能の約 3/4 がリグニン画分から回収された。



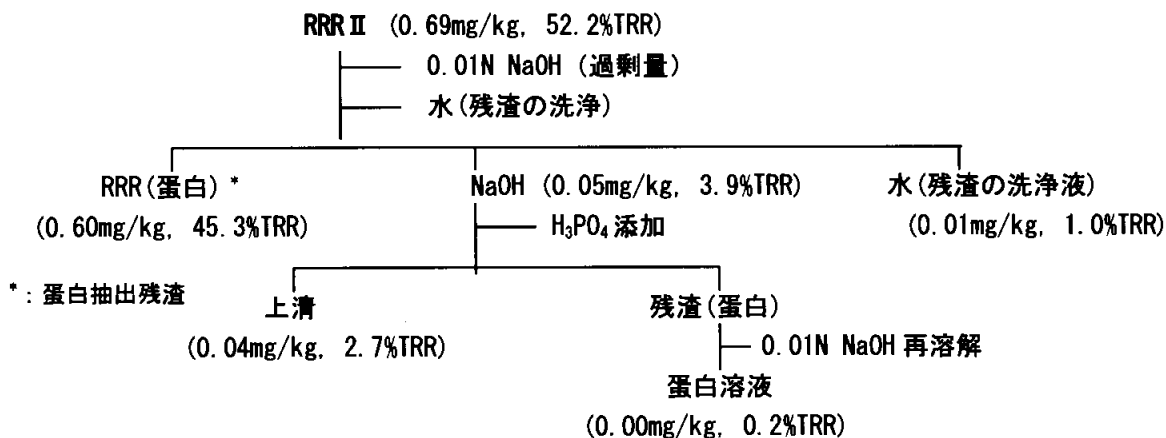
セルロースの分画： 以下の結果より RRR II の放射能の取り込みはなかった。



## 2) 種子

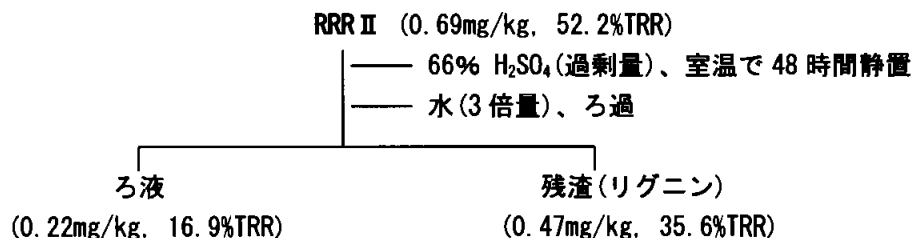
種子の放射能の大部分が RRR II に検出されたことより、以下の特性検討を実施した。

蛋白の分画： 以下の結果より蛋白画分中への取り込みはない。

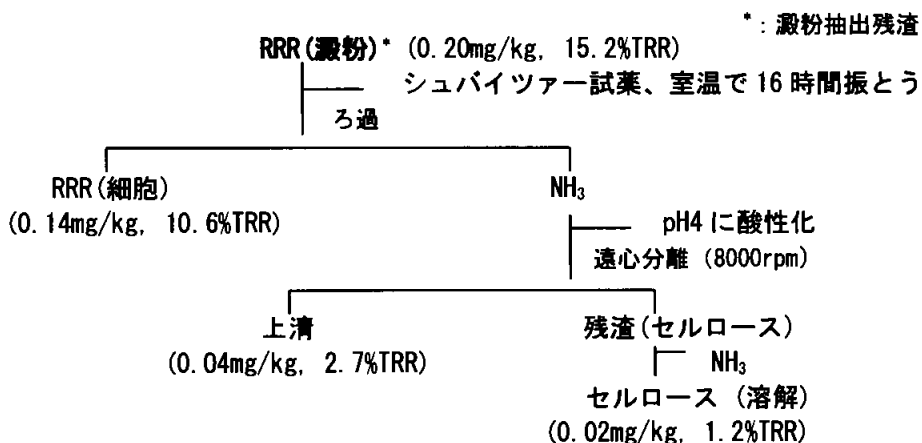


\*: 蛋白抽出残渣

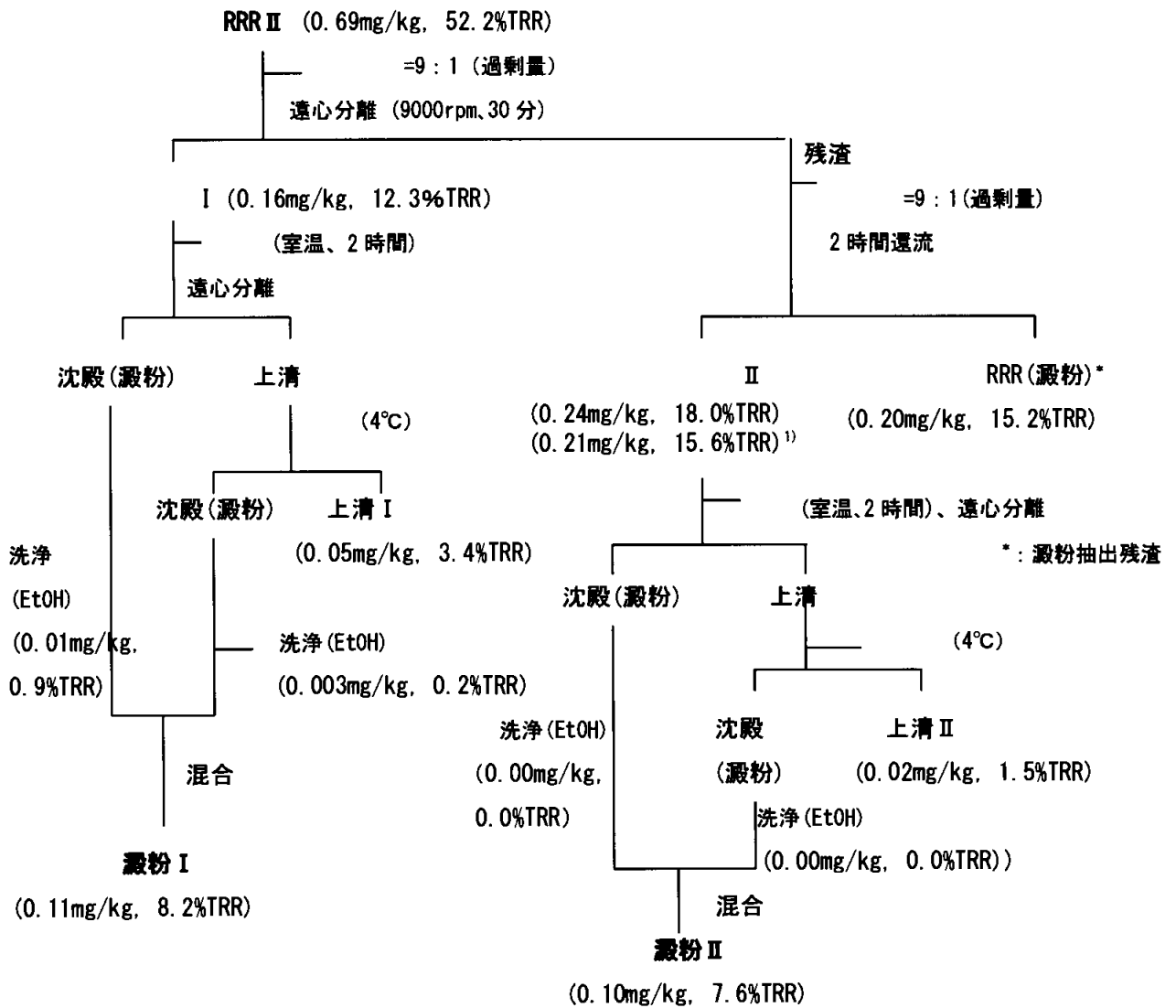
リグニンの分画： 以下の結果より RRR II の放射能の約 2/3 がリグニン画分から回収された。



セルロースの分画： RRR II の代わりに澱粉抽出後の残渣画分 (RRR(澱粉)) を用いた。  
以下の結果よりセルロース画分中への放射能の取り込みはなかった。



澱粉の分画： 以下の結果より RRR II の放射能の大部分が種子の澱粉画分に取り込まれていた。また、澱粉抽出後の RRR(澱粉)にかなりの量の放射能が保持されていた。



<sup>1)</sup> : IIのその後の分画に用いた2回目の処理における値

結果を以下の表にまとめる。麦わら画分では大部分の放射能がリグニン画分から検出され、蛋白及びセルロース画分では検出されなかった。種子画分でも同様であったが放射能の大部分は澱粉画分から検出された。

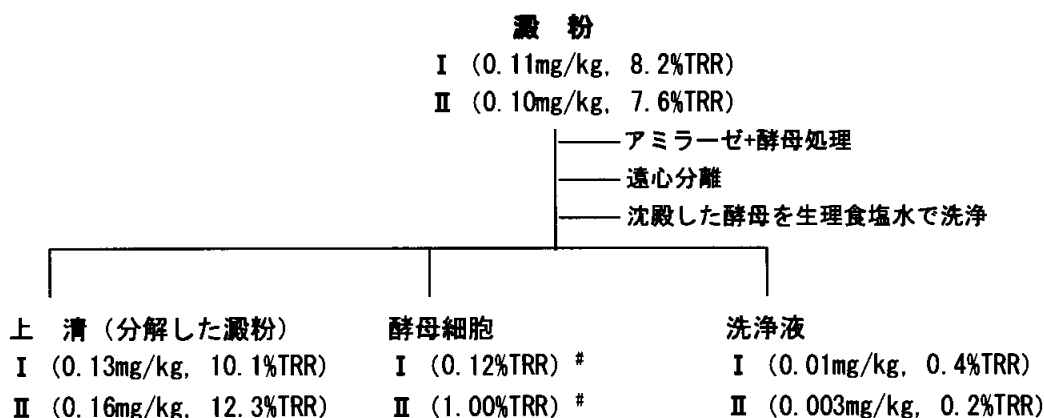
表6. 麦わら及び種子のRRR IIにおける放射能の特性検討結果

	麦わら		種子	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
RRR II	3.04	6.6	0.69	52.2
蛋白	0.004	0.0	0.00	0.2
リグニン	2.34	5.1	0.47	35.6
セルロース	0.03	0.1	0.02	1.2
RRR (澱粉) (澱粉抽出残渣)	—	—	0.20	15.2
澱粉	I	—	0.11	8.2
	II	—	0.10	7.6

(4) 澱粉中の残留放射能の特性検討

1) 酵素及び微生物による澱粉の分解

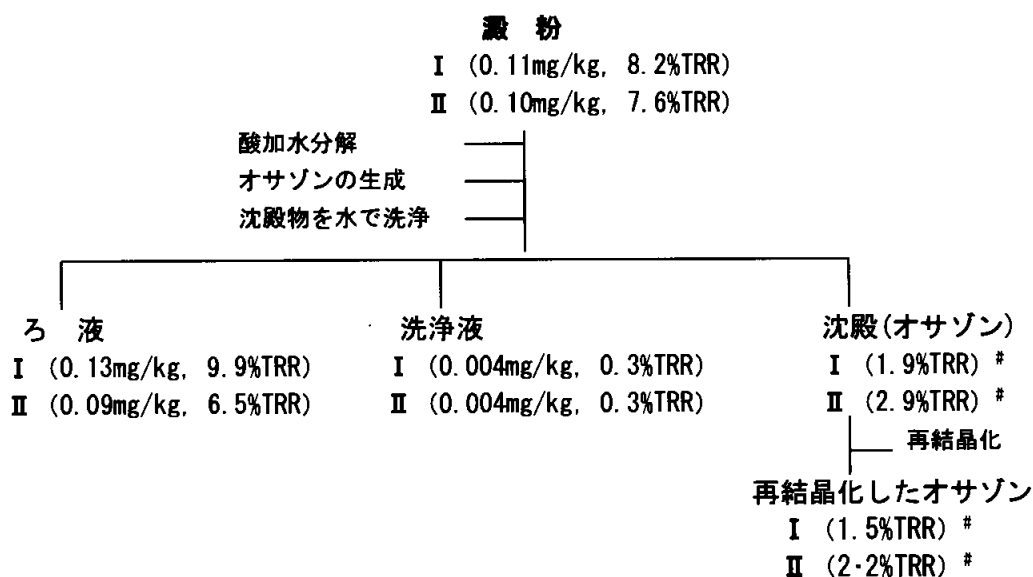
以下の追加検討より、放射能は上清のみに検出された。これをさらに 3 種のラジオ-TLC で分析したが、かなりの範囲に広がったので、基準物質への帰属を決定できなかった。



# : 計算は絶対値(μg)を用いた。

2) グルコサゾン生成による検討

以下の追加実験より、オサゾン画分より放射能がほとんど検出されなかった。よって、澱粉画分中の放射能は澱粉にゆるく結合したもので、取り込まれたり、または強く結合されたものではなかった。



# : 計算は絶対値(μg)を用いた。

## 結 論

以上の結果より、クロルメコートクロリドは茎葉及び麦わらでは、  
及び  
への抽出性が極めて高かった(85~90%)が、種子では約 50%に過ぎなかった。検出された放射能は主に親化合物のクロルメコートであり、種子では  
が同定されたが、  
%TRR 未満であった。その他にも %TRR を超える代謝物は検出されなかった。

クロルメコートクロリドの春小麦における推定代謝経路を以下に示す。

### クロルメコートクロリドの推定代謝経路

基準物質

物質	構造式
親化合物（有効成分）： クロルメコートクロリド CCC,	$\left[ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array} \right] \text{Cl}^-$

R、R' = 脂肪酸

2-2. <sup>14</sup>C-標識検体の大麦及びキクにおける代謝試験

(資料 P2)

文献名：

供試標識化合物：[1, 2-<sup>14</sup>C] 臭化コリン及び[メチル-<sup>14</sup>C] 塩化コリン

供試植物：大麦及びキク

試験方法：<sup>14</sup>C 標識供試化合物を含む水溶液に下部を切断した植物を入れ、24 時間経過後放射能を分析した。

植物組織はホモジナイズ後、エーテル抽出、エタノール抽出、水抽出を行い、エーテル抽出物はさらに炭酸ナトリウム水溶液で洗浄して水とエーテルに分画し、放射能を分析した。その結果、エタノール抽出物に 58~84%の放射能回収があり、残りの放射能部分は残留溶液であった。

エタノール抽出物をイソプロパノール塩基性展開液によるペーパークロマトグラフィーにより展開し、放射能帯をメタノール溶出した。その結果、エタノール抽出物のうちのクロルメコート代謝物及びコリンと見られる放射能成分 20~30%が得られ、再度、エタノール塩基性展開液及びブタノール酸性展開液によるクロマトグラフィーで分別され、ドラージェンドルフ液変法液を用いて化合物の確認を行った。

試験結果：結果を下表に示す。

	Rf 値			ドラージェンドルフ 試薬発色	
	ブタノール酸性	イソプロパノール塩基性	エタノール塩基性		
<sup>14</sup> C クロルメコート	50	30	51	紅	
未知 A	55	33	47	赤	
未知 B	39	39	49	赤	
未知 C	36	28	43	紫	
未知 D	36	42	46	赤	
未知 E	32	35	49	赤	
<sup>14</sup> C コリンクロライド	36	28	43	紫	
コリン代謝 B-1	40	39	48	赤	
コリン代謝 D-1	36	43	46	赤	
コリン代謝 E-1	28	36	49	赤	
コリン代謝 F-1	22	-	-	-	
対照	コリン	36	28	43	紫
	クロルメコート	50	30	51	紅

注：F-1 は、コリン処理したキクからのみ検出

スポット C はコリンであることが確認され、スポット B、D、E はコリン代謝物のスポット B-1、D-1、E-1 と同一であると考えられる。

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

以上の結果より、クロルメコートは大麦とキクにおいて、未知化合物（スポット A）を経て、コリンに代謝され、更に 3 種の未知化合物に代謝される。また、親化合物の 10~15%が代謝されたものと考えられる。



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 ジャパン株式会社にある。

Chloromequat

2-3. 小麦における <sup>14</sup>C-クロルメコートを用いた代謝試験

(資料 P3)

文献名：

[試験機関：

]

供試化合物：<sup>14</sup>C-標識クロルメコート

構造式：

\*：標識部位

化学名：2-クロロエチルトリメチルアンモニウムクロリド (CCC と称する)

比放射能： $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

供試植物：小麦（春小麦及び冬小麦）

試験方法：0.075mg/mL の <sup>14</sup>C 標識クロルメコート水溶液（比放射能  $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ ）に2～3週令の冬小麦の葉のみを浸漬し、温室内にて栽培した。処理後1及び3週目に植物を取り出し、葉、根及び土壌に分離した。

葉はよく水洗し、洗液を葉表面分析試料とした。水洗後の葉、根及び土壌を抽出し、抽出物及びその残渣を分析試料とした。穀粒への影響については、春小麦を用いて冬小麦と同様に行い、処理後12週目に葉及び穀粒を分離後抽出し抽出物及びその残渣を分析試料とした。

各試料は液体シンチレーションカウンターにより測定し、更にペーパークロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィーにより、その同一性を確認した。

試験結果：小麦における放射能分布を下表に示す。

投与方法	検査組織		単位	処理後日数			
				0日	7日	21日	84日
冬小麦 葉浸漬 1回処理	葉	表面	分布率 (投与量%)	-	28.6	6.6	/
		抽出物		-	59.8	79.3	
		残渣		-	0.6	2.6	
	根	抽出物		-	4.3	1.1	
		残渣		-	3.0	0.3	
	土 壌	抽出物		-	-	1.6	
		残渣		-	-	4.6	
	合計			98.3	96.3	98.1	
春小麦 葉浸漬 1回処理	穀 粒	抽出物	分布率 (投与量%)	/	/	/	18.3
		残渣		/	/	/	2.2
	葉	抽出物		/	/	/	63.7
		残渣		/	/	/	15.8

各試料のクロマトグラフィーによる分析の結果、クロルメコート以外の放射性化合物の存在は認められなかった。以上の結果より、クロルメコートは小麦の葉から吸収されるがほとんど代謝を受けることはなく、非常にわずかな量が根に移行することが明らかとなった。

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

### 3. 土壌中動態に関する試験

#### 3-1. <sup>14</sup>C-クロルメコート (<sup>14</sup>C-CCC) の好氣的条件下における土壌代謝および分解試験 (資料 S1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

供試化合物: <sup>14</sup>C-クロルメコートクロリド (<sup>14</sup>C -CCC)

構造式: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリドの -位炭素を <sup>14</sup>C で標識した  
標識体

\* : <sup>14</sup>C 標識位置

化学名: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリド

比放射能: mCi/mmol ( μCi/mg)

放射化学的純度: >98% (測定純度は処理前 96.75%、処理後 95.18%であった)

非標識体: 化学的純度 100.3%

供試土壌: 土壌特性は次表のとおりである。

採取場所	土壌 I	土壌 II	土壌 III	土壌 IV	
	Speyer 2. 2 ドイツ	Itingen スイス	Collombey スイス	Les Evouettes スイス	
試験目的	代謝試験	分解試験			
土性	壤質砂土	微砂質壤土	壤質砂土	微砂質壤土	
採取時期 (年)	1993	1991	1993	1993	
粒子径 分布 (mm)	<0.002 (粘土%)	5.1	6.5	4.3	7.0
	0.002-0.02 (シルト%)	5.6	46.6	5.3	33.9
	>0.02 (砂%)	89.4	46.9	90.4	59.1
pH (CaCl <sub>2</sub> )	5.8	7.4	7.5	7.7	
陽イオン置換容量 (meq/100 g)	9.7	31.2	14.6	16.1	
有機炭素 (%)	2.3	2.1	1.8	1.4	
最大容水量 (g 水/ 100 g 乾土)	44	58.1	39.3	52.1	
圃場容水量 (g 水/ 100 g 乾土)	nd	43.1	25.1	39.8	
微生物活性 (mg 炭素/100 g 乾土)	試験開始時	72.3	124.1	76.3	109.7
	112 日後	37.8	112.8	51.9	52.9
	224 日後	29.6	nd	nd	nd

nd: 測定せず

土壌 I は LUFA Speyer から入手、土壌 II は 0 - 30 cm、土壌 III および IV は 0 - 20 cm の表層土を使用した。使用前に、土壌は 2 mm の篩で篩過し、土壌水分を最大容水量の 40% とした。

試験方法:

供試土壌の処理: 乾土換算土壌を 100 g ずつガラス製代謝フラスコに入れ、20±2°C の暗条件

下で湿潤空気を通気してインキュベートし、空気は CO<sub>2</sub> および揮発性物質の捕集液に通した。土壤水分は最大容水量の 40%に維持した。

<sup>14</sup>C-CCC を水に溶解し 2 回処理溶液を調製した。土壤を入れた各フラスコに、設定用量を 1403 g ai/ha (推奨最大処理量 1400 g ai/ha) として初回調製溶液を添加し、均一に混合した結果、処理量は 0.201 mg/フラスコ =                    dpm (1508 g ai/ha 相当) となった。土壤 IV の 84 および 112 日採取のフラスコのみ 2 回目の調製溶液を処理した結果、0.202 mg/フラスコ =                    dpm (1515 g ai/ha) となった。処理量は土壤の比重 1.5 g/cm<sup>3</sup> で、表層 5 cm の土壤に、均一に分布すると仮定して決定した。

無処理の土壤も同様の条件下でインキュベートし、微生物活性測定に用いた。

試料の採取：

土壤 I：処理直後(0日)、処理 7、14、28、56、84、112、147、182 および 224 日後

土壤 II、III および IV：処理直後(0日)、処理 7、14、28、56、84 および 112 日後

揮発性物質：下記の捕集液を入れたトラップを接続して 2 週間ごとに捕集した。

処理 98 日後まで：1) 2N NaOH 2) エチレングリコール 3) 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

処理 98 日以降： 1) 2N NaOH 2) 2N NaOH 3) エチレングリコール

放射能の抽出：

土壤：下記の溶媒を用いて抽出した。

処理日：1)            (2 回) 2)            (1/1, v/v) (3 回) 3)            (pH 2) (3 回)

その他の日：1)            (1/1, v/v) (4 回) 2)            (pH 2) (4 回)

および            抽出液はプールし、また水(pH 2)もプールし、各プール抽出液の放射能を液体シンチレーションカウンター(LSC)で計測した。次いで、減圧濃縮後、各濃縮液を次頁に示した溶媒系 SS3 および SS4 を用いて薄層クロマトグラフィー(TLC)で分析した。さらに、すべての抽出液をプールした後、次頁に示した溶媒系 SS2、SS3 および SS4 で同様に分析した。

非抽出性放射能は燃焼法により発生した <sup>14</sup>C<sub>2</sub>O を捕集液に捕集し、シンチレーションカクテルを加えて LSC で放射能を計測した。

揮発性物質：各捕集液の一部に水を添加/混合後、シンチレーションカクテルを加えて LSC で放射能を計測した。

土壤有機物の分画：処理 112 日後の土壤 I を上記のように溶媒で抽出後の残渣を用い、0.5M            で抽出後、pH を約 1 としてフミン酸を沈殿させた。次いで、遠心分離して液相に残るフルボ酸を分離した。フミン質画分は粘土鉱物とともに未抽出画分に含まれている。

代謝物の分析：

TLC：セルロースプレートおよび活性アルミナ 60F<sub>254</sub> プレートをを用い、下記溶媒を用いて展開した。

SS2 (セルロース)：	(70 : 20 : 10 ; v/v/v)
SS3 (セルロース)：	(80 : 20 : 10 : 30 ; v/v/v/v)
SS4 (活性アルミナ)：	(60 : 35 : 25 ; v/v/v)

非標識標品は発色反応により可視化して検出した。また、TLC プレートの放射能領域はリニアアナライザーを用いて検出した。

試験結果：

放射能の抽出性および回収率：

インキュベーション開始後、経時的に採取した各土壌の放射能を分画した結果を表 1、3、4 にまとめた。

土壌 I (表 1)：平均回収率は 93.6%TAR であった。

抽出性放射能：処理直後(0 日)の土壌ではほとんどすべての放射能が抽出された(回収率 106.7%TAR)。処理後の時間の経過につれて、抽出性は低下し、処理 112 日後には %TAR、224 日後には %TAR となった。

非抽出性放射能：処理 0 日の土壌では 6.0%TAR が土壌に結合していたが、処理 112 日後まで漸増し、24.2%TAR となり、その後漸減し 224 日後には 16.9%TAR となった。

揮発性物質：有機揮発性物質は処理 147 日にのみ 0.2%TAR が検出されたが、その他はすべて<0.1%TAR であった。これに対し、<sup>14</sup>C<sub>2</sub>への無機化率は高く、処理 112 日後には %TAR、224 日後には %TAR に漸増した。

表 1. 土壌 I における物質収支

(原文 38-39 頁 Table 1-2)

	画分	処理後時間 (日)									
		0	7	14	28	56	84	112	147	182	224
%TAR	抽出性										
	非抽出性	6.0	5.1	7.5	14.0	17.5	18.8	24.2	23.5	22.1	16.9
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.2	<0.1	<0.1
	<sup>14</sup> C <sub>2</sub>										
	回収率	106.7	93.8	95.3	99.5	91.2	87.7	92.2	85.3	92.1	92.4
	平均回収率	93.6									
	親化合物	100.7	86.2	65.9	56.6	28.9	15.1	10.8	5.7	4.7	3.3
ppm	抽出性										
	非抽出性	0.122	0.103	0.151	0.281	0.353	0.378	0.486	0.473	0.445	0.340
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	<0.001	<0.001
	<sup>14</sup> C <sub>2</sub>										
	回収量	2.147	1.887	1.916	2.001	1.834	1.764	1.855	1.715	1.854	1.859
	平均回収量	1.883									
	親化合物	2.026	1.735	1.327	1.138	0.582	0.303	0.217	0.116	0.095	0.066

%TAR : 処理量に対する回収率%

np : 分析未実施

<sup>14</sup>C-CCC の代謝物の分析 (表 2) : および (pH2) 抽出液は別々に濃縮後、代謝物について検索した。

親化合物 (CCC) の他に 4 未知物質が検出された。未知物質 1 は TLC-プレートの上に残る物質で、最高濃度は 7.2%TAR (処理 84 日後) で、処理 224 日後には 1.6%TAR に低下した。未知物質 2 は処理 84 日後から、未知物質 3 は処理後 56 日から検出されたが、

%TAR を超えることはなかった。その他に処理後 14、56、112 および 147 日土壌から各 1 個の未知物質が検出されたが、いずれも %TAR 以下であった。いずれの未知物質も標品の および と一致するものはなく同定できなかった。

表 2. 土壌 I における CCC および代謝物の消長

(原文 46 頁 Table 9)

	画分	処理後時間 (日)									
		0	7	14*	28	56*	84	112*	147*	182	224
%TAR	親化合物	100.7	86.2	65.9	56.6	28.9	15.1	10.8	5.7	4.7	3.3
	未知物質 1										
	未知物質 2										
	未知物質 3										
	合計	100.7	88.0	72.9	60.4	36.2	23.8	16.7	10.3	6.9	6.1
ppm	親化合物	2.026	1.735	1.327	1.138	0.582	0.303	0.217	0.116	0.095	0.066
	未知物質 1										
	未知物質 2										
	未知物質 3										
	合計	2.026	1.771	1.457	1.216	0.728	0.480	0.336	0.207	0.139	0.123

nd : 未検出

\* : 処理後 14、56、112 および 147 日の土壌では、溶媒系 SS3 を用いたとき、以下の代謝物が検出された : 14 日土壌 Rf0.38 の未知物質 %( ppm)、56 日土壌 Rf0.43 の未知物質 %( ppm)、112 日土壌 Rf0.95 の未知物質 %( ppm)、147 日土壌 Rf0.46 の未知物質 %( 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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

**非抽出性放射能の分画**：処理 112 日後の土壌において、17.5%TAR がフミン酸およびフミン質画分と結合していた。6.7%TAR がフルボ酸画分に結合していた。

これらの画分を TLC で分析したところ、親化合物は検出されなかった。また、

で分配したところ、各画分中放射能の %未満が有機層に分配されたが、TLC 分析で親化合物は検出されなかった。

表 3. 土壌 I の処理 112 日後の非抽出性放射能分画

(原文 34 頁)

有機物画分	残渣中の放射能を 100 としたときの比率	%TAR
不溶性フミン質画分	15.7	3.8
低い pH で可溶性画分(フルボ酸)	27.8	6.7
高い pH で可溶性画分(フミン酸)	56.5	13.7
合計	100	24.2

土壌中の分解試験；土壌Ⅱ、土壌Ⅲおよび土壌Ⅳを用いた分解試験における物質収支を表 4 に示す。

表 4. 土壌Ⅱ、土壌Ⅲおよび土壌Ⅳにおける物質収支

土壌	画分	処理後時間 (日)						
		0	7	14	28	56	84	112
<b>土壌Ⅱ</b>		(原文 40-41 頁 Table 3-4)						
%TAR	抽出性							
	非抽出性	1.7	7.6	8.1	11.8	17.2	12.9	19.0
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	回収率	96.3	103.4	100.1	88.8	106.1	96.2	98.2
	平均回収率	98.5						
ppm	親化合物	91.0	78.5	51.7	42.6	24.9	16.9	15.6
	抽出性							
	非抽出性	0.034	0.154	0.163	0.237	0.347	0.259	0.383
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	回収量	1.938	2.080	2.014	1.787	2.135	1.936	1.977
		平均回収量 1.981						
		1.832	1.579	1.041	0.856	0.502	0.339	0.313
<b>土壌Ⅲ</b>		(原文頁 42-43 Table 5-6)						
%TAR	抽出性							
	非抽出性	0.9	4.5	6.0	11.3	19.1	22.7	25.3
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	回収率	103.7	101.2	97.4	96.0	96.4	96.2	97.0
	平均回収率	98.6						
ppm	親化合物	102.8	90.0	72.2	59.6	36.8	16.6	6.8
	抽出性							
	非抽出性	0.017	0.091	0.121	0.227	0.385	0.456	0.509
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	回収量	2.086	2.037	1.960	1.932	1.939	1.976	1.952
		平均回収量 1.983						
		2.069	1.810	1.452	1.200	0.740	0.333	0.137
<b>土壌Ⅳ</b>		(原文頁 44-45 Table 7-8)						
%TAR	抽出性							
	非抽出性	2.0	7.5	14.2	18.2	26.6	23.5	27.8
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	回収率	103.0	103.4	100.6	97.4	102.8	85.5	98.1
	平均回収率	98.7						
ppm	親化合物	101.0	88.1	64.8	47.2	22.2	16.4	8.2
	抽出性							
	非抽出性	0.040	0.152	0.286	0.367	0.535	0.474	0.561
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	回収量	2.073	2.080	2.024	1.959	2.089	1.726	1.981
		平均回収量 1.987						
		2.032	1.773	1.303	0.950	0.447	0.332	0.167

%TAR : 処理量に対する回収率%

np : 分析未実施

平均回収率 : 土壌Ⅱ、土壌Ⅲおよび土壌Ⅳともほとんど同じで 98.5 - 98.7%TAR であった。

抽出性放射能 : 処理直後(0 日)の土壌ではほとんどすべての放射能が抽出された(回収率 96.3 - 103.7%TAR)。処理後の時間の経過につれて、抽出性は低下し、処理 112 日後には土壌Ⅱでは %TAR であったが、土壌Ⅲおよび土壌Ⅳでは %TAR と

顕著に低下した。

非抽出性放射能：3 土壌とも処理 0 日土壌では  $\leq 2.0\%$ TAR が土壌に結合していたが、処理 112 日後まで漸増し、土壌 II では  $19.0\%$ TAR、土壌 III および土壌 IV では 25.3 および  $27.8\%$ TAR まで増加した。

揮発性物質：有機揮発性物質はすべて  $< 0.1\%$ TAR であった。これに対し、 $^{14}\text{CO}_2$  への顕著な無機化がみられ、処理 112 日後には土壌 II で  $\quad\quad\quad\%$ TAR、土壌 III および土壌 IV では  $\quad\quad\quad\%$ TAR に漸増した。

CCC の消失：処理 0、7、14 および 28 後土壌について抽出液はプールし、56 日以降の土壌は抽出液ごとに CCC を分析した。CCC は経時的に漸減し、処理 112 日後には土壌 II で  $15.6\%$ TAR、土壌 III および土壌 IV では 6.8 および  $8.2\%$ TAR まで消失した。

消失速度：

土壌 I、土壌 III および土壌 IV の 3 土壌の  $DT_{50}$  および  $DT_{90}$  を最適 1 次速度式で計算した時、比較的良好一致しており  $DT_{50}$  は 30~34 日、 $DT_{90}$  は 99~112 日であった。2 次速度式による土壌 II の  $DT_{50}$  は 21 日、 $DT_{90}$  は 191 日で、他の 3 土壌と異なっていた。土壌 II を 1 次速度式で計算すると  $DT_{50}$  は 43 日、 $DT_{90}$  は 143 日であった。

表 5. 各土壌における消失速度

(原文 35 頁)

供試土壌	土壌 I	土壌 II	土壌 III	土壌 IV
	Speyer 2.2	Itingen	Collombey	Les Evouettes
最適モデル	1 次速度式	2 次速度式	1 次速度式	1 次速度式
相関係数	0.9951	0.9908	0.9921	0.9925
$DT_{50}$ (日)	33.83	21.21	29.71	31.60
$DT_{90}$ (日)	112.37	190.86	98.68	104.97

まとめ

主要な代謝物は  $^{14}\text{CO}_2$  で、土壌 I では処理 224 日後には  $\quad\quad\quad\%$ TAR に達した。その他の代謝物として 4 個の未知物質が検出され、TLC-プレートの原点に残る未知物質は最大で処理 84 日後に  $\quad\quad\quad\%$ TAR 生成し、その後漸減した。その他に  $\quad\quad\quad\%$ を超える代謝物は認められなかった。その他の土壌でも  $^{14}\text{CO}_2$  は主要な代謝物であった。有機揮発性物質は実質上認められなかった。

CCC は徐々に分解し、 $DT_{50}$  は土壌 I、土壌 II、土壌 III および土壌 IV でそれぞれ 34、21、30 および 32 日であった。 $DT_{90}$  は 112、191、99 および 105 日であった。

非抽出性放射能は徐々に増加し、処理 112 日後には土壌 I、土壌 II、土壌 III および土壌 IV でそれぞれ 24.2、19.0、25.3 および  $27.8\%$ TAR となった。

CCC の分解と使用した土壌の pH および有機炭素含有量との関連はないと考えられた。



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

Chlormequat

土壌Ⅱは他の 3 種土壌と異なり、抽出性放射能が多く、無機化率が低かった。イオン置換容量が他の土壌より比較的高いことが 4 種土壌間で認められる差であった。さらに、土壌Ⅱに対する吸着性は他の土壌より高いことが、低無機化率の理由と考えられた。

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

Chloromequat

3-2. <sup>14</sup>C-クロルメコート<sup>®</sup>の好氣的条件下における土壌代謝試験

(資料 S2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

供試化合物: <sup>14</sup>C-クロルメコートクロリド (<sup>14</sup>C -CCC)

構造式: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリドの 1-位炭素を <sup>14</sup>C で標識した  
標識体

\* : <sup>14</sup>C 標識位置

化学名: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリド

比放射能: MBq/mg

放射化学的純度: > 97%

非標識体: 化学的純度 97.2%

供試土壌: 土壌特性は次表のとおりである。

土壌/採取場所		土壌 I	土壌 II	土壌 III
		Speyer 5M ドイツ	Ittingen III スイス	Speyer 2.2 ドイツ
土性		砂壤土	埴壤土	壤質砂土
採取時期 (年. 月)		2006. 1	2006. 1	2005. 11
粒子径 分布 (mm)*	< 0.002 (粘土%)	10.9	32.5	7.9
	0.002-0.05 (シルト%)	29.0	43.5	14.2
	> 0.05 (砂%)	60.7	24.0	77.9
pH (CaCl <sub>2</sub> )		7.1	7.24	5.7
陽イオン置換容量 (mmol/kg 土壌)		12.0	28.6	11.0
有機炭素 (%) (g/100g 土壌)		1.34	2.50	2.33
有機物含量 (%) (g/100g 土壌)		2.31	4.31	4.02
最大容水量 (g 水/ 100 g 乾土)		40.4	71.7	49.0
圃場容水量 (g 水/ 100 g 乾土)		16.2	28.7	19.6
微生物活性 (mg 炭素/100 g 乾土)	試験開始時	18.9	55.7	15.8
	試験終了時	10.3	38.2	10.1

\* : USDA 分類による

注: 土壌特性は LUFA Speyer (ドイツ) が GLP で分析したが、Ittingen III の最大容水量は AgroLab AG (スイス) で、非 GLP で測定した。

土壌 I (Speyer 5M) および III (Speyer 2.2) は LUFA から入手した。土壌 II は当試験機関に近接したりんご園 (5 年以上肥料および農薬を未使用) から採取した。すべての土壌は 2 mm の篩で篩過した。3 土壌とも 0 - 20 cm の表層土である。土壌水分は最大容水量の 40% とした。

## 試験方法:

供試土壌の処理: 乾土換算土壌を 100 g ずつガラス製代謝フラスコ (内径約 10.6 cm、容量約 1 L) に入れ、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$  の暗条件下で湿潤空気を通気してインキュベートし、空気は  $\text{CO}_2$  および揮発性物質の捕集液に通した。処理当日 (0 日) の空気の捕集はしなかった。土壌水分は最大容水量の 40% に維持した。

非標識体の水溶液 (29.3 mg/mL) を調製後、使用前に精製した  $^{14}\text{C}$ -CCC を用いて水溶液 (0.224 mg/mL) を調製した。この両水溶液を混合して 1.308 mg/mL (= MBq/mg) の処理溶液を調製し、460  $\mu\text{L}$  を各フラスコの土壌に処理した。

土壌を入れた各フラスコに、設定処理量を 1500 g ai/ha (推奨最大処理量に相当) として各フラスコに添加し、均一に混合した結果、処理量は 6.46 mg ai/kg 土壌となった。処理量は土壌の比重 1.0 g/cm<sup>3</sup> で、表層 2.5 cm の土壌に、均一に分布すると仮定して決定した。

無処理の土壌も同様の条件下でインキュベートし、微生物活性測定に用いた。

また、通常処理量の 10 倍相当量で高用量処理区を設け、同様にインキュベートしたが、主要な代謝物の生成がみられなかったため、所定の時期に試料を採取し、冷凍保存したが、分析はしなかった。

## 試料の採取:

土壌: 処理直後 (0 日)、処理 5 時間後、処理 1、7、14、27、57 および 120 日後に 2 点ずつ採取し、抽出および分析に用いた。

揮発性物質:  $\text{CO}_2$  の生成が高いので、NaOH トラップは試料採取時期ごとに交換し、最初の 1 ヶ月間は 2-5 日ごとに、その後は 1-3 週間ごとに NaOH 溶液を交換した。エチレングリコールトラップは所定の採取時期に交換した。

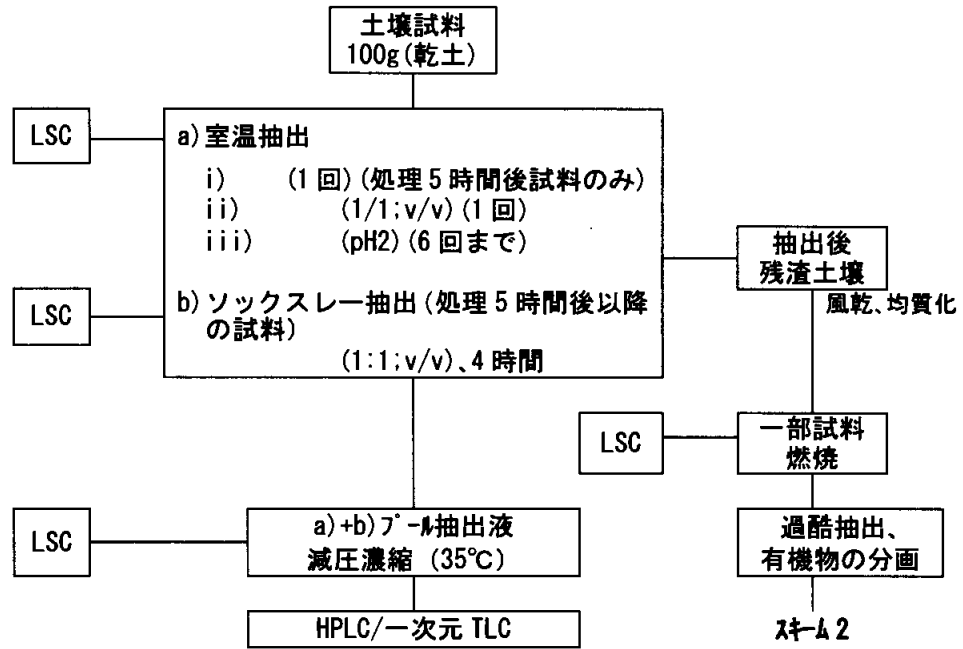
## 放射能の抽出:

土壌: スキーム 1 に従って放射能を (1/1, v/v) および (pH2) で抽出し、次いで、抽出後残渣は (1:1; v/v) を用いてソックスレー抽出を行った。

さらに、非抽出性放射能の特徴付けを過酷抽出後残渣を用い、スキーム 2 に従い、0.5N で抽出し、フミン酸、フルボ酸を分離した。ヒューミン画分は粘土鉱物とともに未抽出画分に含まれている。

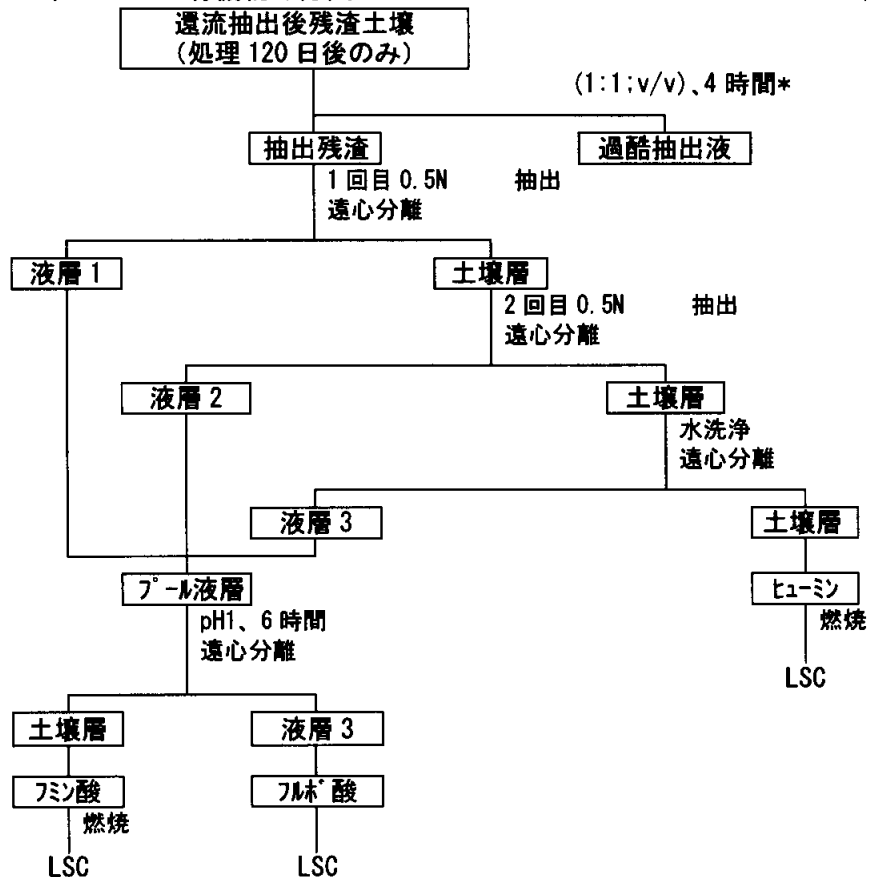
スキーム 1. 土壌試料の放射能の抽出

(原文 41 頁)



スキーム 2. 有機物の分画

(原文 42 頁)



\*: 過酷抽出を申請者が追記した。

**放射能の計測：**

液体試料（抽出液、揮発性物質捕集液）はシンチレーションカクテルを加えて液体シンチレーションカウンター(LSC)で計測した。固体試料（抽出残渣土壌）は燃焼法により発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集液に捕集し、液体試料と同様にLSCで放射能を計測した。

代謝物の分析；HPLCは処理後27日までの試料、TLCは処理57日以降の試料を用いて分析した。特定の試料については両分析法を用いて、それぞれの分析結果を確認した。

HPLC：以下の2方法を用いた。

HPLC法1：プレカラムー

カラムー

移動相ー溶媒A：水、溶媒B：アセトニトリル

グラジエントー溶媒A：0分 60%、80分 60%

溶媒B：0分 40%、80分 40%

HPLC法2：プレカラムー

カラムー

移動相ー2 mL 硝酸水 100%

グラジエントーイソクラティック

TLC： シリカゲル 60F<sub>254</sub>（ ； 順相）、 （逆相）、 、 又  
は プレートを用い、非標識体と試料の混合物をプレートに帯状に適用し、さらに、非標識体を試料の近くにスポットし、一次元TLCを下記溶媒系で展開した。

SS4 ( ) :	(60 : 35 : 25 ; v/v/v)
SS11 ( ) :	(80 : 20 : 10 : 30 ; v/v/v/v)
SS12 ( ) :	(70 : 20 : 10 ; v/v/v)
SS13 ( ) :	(1 : 1 : 0.01 ; v/v/v)
SS14-15 ( ) :	(80 : 20 : 2 ; v/v/v)
SS16 ( ) :	(80 : 20 : 2 ; v/v/v)

非標識標品はUV-光により可視化して検出した。

また、すべてのTLCプレートは蛍光画像分析に供した。

揮発性物質の確認：NaOHトラップの放射能は飽和水酸化バリウム溶液を添加して沈殿を生成させ、上清に放射能がないことを確認して、NaOHトラップには<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>のみであることを確認した。

**試験結果：**

放射能の抽出性および回収率；インキュベーション開始後、経時的に採取した各土壌の放射能を分画した結果を表1にまとめた。

表1. 3土壌における放射能の抽出性および物質収支（2分析の平均）

	画分	処理後時間 (日)							
		直後 (0)	5 時間	1 日	7 日	14 日	27 日	57 日	120 日
<b>Speyer 5M(土壌 I)</b>		(原文 33 頁 Table 3)							
%TAR	抽出性								
	ソックス抽出	np	9.2	5.6	5.1	3.9	2.3	1.8	0.7
	抽出性合計	99.9	71.5	77.7	79.2	49.4	13.5	5.5	2.7
	非抽出性	0.4	26.1	17.9	14.5	21.0	29.3	21.8	18.8
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>								
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	合計	100.3	97.6	96.3	97.0	110	103.2	103.6	102.9
平均回収率	101.5								
mg Eq/kg 乾土	抽出性								
	非抽出性	0.023	1.684	1.159	0.934	1.335	1.895	1.405	1.217
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>								
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	合計	6.480	6.303	6.222	6.264	7.171	6.669	6.692	6.644
	平均回収量	6.556							
<b>Itingen III(土壌 II)</b>		(原文 34 頁 Table 4)							
%TAR	抽出性								
	ソックス抽出	np	20.5	8.1	9.3	10.2	4.4	3.3	1.3
	抽出性合計	100.3	67.7	46.3	52.1	46.2	22.6	11.7	6.9
	非抽出性	0.4	31.6	49.5	41.1	39.5	47.2	36.4	35.1
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>								
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	合計	100.7	99.4	96.2	94.3	100.1	96.2	93.3	94.6
平均回収率	96.8								
mg Eq/kg 乾土	抽出性								
	非抽出性	0.024	2.041	3.195	2.654	2.555	3.050	2.348	2.265
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>								
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	合計	6.503	6.418	6.218	6.091	6.468	6.213	6.022	6.109
	平均回収量	6.255							
<b>Speyer 2.2(土壌 III)</b>		(原文 35 頁 Table 5)							
%TAR	抽出性								
	ソックス抽出	np	7.7	3.7	3.6	4.7	7.4	7.3	2.5
	抽出性合計	101.0	89.8	91.8	91.9	85.7	57.0	38.2	16.7
	非抽出性	0.4	7.7	5.3	5.9	6.9	17.2	21.0	25.7
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>								
	有機揮発性物質	np	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	合計	101.4	97.5	97.5	100.2	100.5	96.4	95.1	92.8
平均回収率	97.7								
mg Eq/kg 乾土	抽出性								
	非抽出性	0.025	0.499	0.344	0.383	0.448	1.108	1.356	1.661
	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>								
	有機揮発性物質	np	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	合計	6.548	6.301	6.295	6.470	6.492	6.228	6.145	5.992
	平均回収量	6.309							

%TAR : 処理量に対する回収率%

np : 分析未実施

平均回収率 : Speyer 5M、Itingen III および Speyer 2.2 土壌でそれぞれ 101.5、96.8 およ

び 97.7% TAR であった。

**抽出性放射能**：処理直後(0日)の土壌ではほとんどすべての放射能が抽出された(回収率 99.9-101.0% TAR)。処理後の時間の経過につれて、抽出性放射能は漸減したが、Speyer 2.2 土壌に比し、Speyer 5M および Itingen III は少なかった。処理 27 日後、Speyer 5M、Itingen III および Speyer 2.2 土壌からそれぞれ、 および %TAR が抽出され、処理 120 日後には、 および %TAR のみ抽出された。

**非抽出性放射能**：Speyer 5M および Itingen III 土壌の非抽出性放射能は処理後 5 時間 - 27 日の間は前者で 14.5 - 29.3% TAR、後者で 31.6 - 49.5% TAR で変動していたが、その後、試験終了時(処理後 120 日)には 18.8% TAR、35.1% TAR であった。Speyer 2.2 土壌の非抽出性放射能は前記の 2 土壌に比し、非常に少なく、時日の経過につれて漸増し、処理 120 日後には 25.7% TAR まで増加した。

**揮発性物質**：NaOH トラップの放射能は  $^{14}\text{CO}_2$  であることを水酸化バリウム溶液により沈殿を生成させ確認した。 $^{14}\text{CO}_2$  への無機化率は非常に高く、処理 120 日後には Speyer 5M、Itingen III および Speyer 2.2 土壌でそれぞれ、 および %TAR に達した。これに対し、有機揮発性物質は 0.1% TAR であった。

**非抽出性放射能の分画**：処理 120 日後土壌を用い、アセトニトリル/0.1M HCl で還流した過酷抽出、さらに続いて有機物を分画した結果を表 2 に示す。

表 2. 非抽出放射能の分画

(原文 39 頁 Table 9)

有機物画分	Speyer 5M		Itingen III		Speyer 2.2	
	非抽出性放射能を 100 としたときの比率%	%TAR	非抽出性放射能を 100 としたときの比率%	%TAR	非抽出性放射能を 100 としたときの比率%	%TAR
非抽出性(ソックスレー抽出後)	-	18.4	-	36	-	27.1
過酷抽出(0.1M HCl/アセトニトリル)	-	0.8	-	3.2	-	5.4
非抽出性残渣	100.0	17.6	100.0	32.8	100.0	21.7
低い pH で可溶性画分(フミン酸)	19.3	3.4	27.2	8.9	16.2	3.5
高い pH で可溶性画分(フミン酸)	26.4	4.6	12.7	4.2	32.9	7.2
不溶性フミン質画分	54.3	9.5	60.2	19.7	50.9	11.0
合計	100.0	17.6	100.0	32.8	100.0	21.7
合計(フミン酸およびフミン質)	80.7	14.2	72.8	23.9	83.8	18.2

- : 当該試料なし

%TAR : 処理量に対する回収率%

アセトニトリル/0.1M HCl 還流抽出で 0.8-5.4% TAR が抽出された。続いて有機物を分画して、非抽出性放射能の 72.8-83.8% (14.2-23.9% TAR) がフミン質およびフミン酸画分に含まれていた。フルボ酸画分の放射能は 16.2-27.2% (3.4-8.9% TAR) と少なかった。

$^{14}\text{C}$  -CCC の代謝物の分析： $^{14}\text{C}$  -CCC の分解パターンを表 3 に示す。

表 3. 3 土壌における  $^{14}\text{C}$  -CCC および代謝物の消長(%TAR) (原文 36-38 頁 Table 6-8)

土壌	画分	処理後時間 (日)							
		直後(0)	5 時間	1 日	7 日	14 日	27 日	57 日	120 日
Speyer 5M	親化合物	99.9	71.5	77.7	79.2	43.5	7.1	2.3	0.9
	未知物質 1								
	未知物質 2								
	未知物質 3								
	未知物質 4								
	非抽出性	0.4	26.1	17.9	14.5	21.0	29.3	21.8	18.8
	$^{14}\text{CO}_2$								
Itingen III	親化合物	100.3	67.7	45.6	52.1	43.7	19.5	8.6	4.4
	未知物質 1								
	未知物質 2								
	未知物質 3								
	未知物質 4								
	非抽出性	0.4	31.6	49.5	41.1	39.5	47.2	36.4	35.1
	$^{14}\text{CO}_2$								
Speyer 2.2	親化合物	101.0	89.8	91.8	91.9	84.7	53.0	34.6	12.2
	未知物質 1								
	未知物質 2								
	未知物質 3								
	未知物質 4								
	非抽出性	0.4	7.7	5.3	5.9	6.9	17.2	21.0	25.7
	$^{14}\text{CO}_2$								

%TAR：処理量に対する回収率%      np：分析未実施      nd：未検出または検出限界以下

親化合物は  $^{14}\text{CO}_2$  に分解され、速やかに消失した。抽出性画分中に検出された主要な成分は親化合物で、Speyer 5M、Itingen III および Speyer 2.2 土壌でそれぞれ処理直後の 99.9、100.3 および 101.0%TAR が処理 27 日後には 7.1、19.5 および 53.0%TAR、試験終了時の処理 120 日後には 0.9、4.4 および 12.2%TAR に速やかに減少した。親化合物の他に、非常に微量の 4 代謝物が検出されたが、標品の                      および                      と一致するものはなく同定できなかった。

消失速度：

Speyer 5M および Itingen III の消失速度は類似しており、DT<sub>50</sub> は 10-11 日、DT<sub>75</sub> は 20-22 日、DT<sub>90</sub> は 34-37 日であったが、Speyer 2.2 はそれぞれ 37 日、73 日および 121 日と、前の 2 土壌より若干長かった。



供試土壌	土壌 I	土壌 II	土壌 III
	Speyer 5M	Itingen III	Speyer 2.2
最適モデル	Single First order 一時速度式		
相関係数	0.8671	0.8892	0.9799
一時速度定数	0.06253	0.06821	0.01900
DT <sub>50</sub> (日)	11.1	10.2	36.5
DT <sub>75</sub> (日)	22.2	20.3	73.0
DT <sub>90</sub> (日)	36.8	33.8	121

本試験と既存試験結果(資料 S1)との比較；同一の試験施設で実施した好氣的条件下における土壌代謝試験結果を比較した、以下の差がみられた。

- ・ 本試験では主要な代謝物は生成しなかった。生成した代謝物はすべて <math>\%TAR</math>(既存試験では  $\leq \%TAR$ ) であった。これは両試験における分析技術の差によると考えられる。

既存試験はセルロースプレート又は酸化アルミニウム固定相でリニアアナライザーを用いる TLC で分析した。最早この方法は最新の技法ではなく、画分の分離が不十分な結果となった。TLC の原点で移動しないピークは TLC 固定相が原因で吸着放射能を有する懸濁土壌粒子の妨害によるものである。本試験で用いた TLC 逆相プレートはこれには該当しない。

- ・ 本試験で放射能の検出法として用いた蛍光画像は感度が高く、プレート全体の放射能領域を検出できる。
- ・ 既存試験で供試した土壌は入手できなかったため、新土壌を使用した。供試土壌の特性は両試験で非常に類似していた。したがって、本試験結果は異なる 3 土壌で類似の結果が得られており、供試化合物の代謝試験結果を代表するものと考えられる。

従って、本試験では 3 土壌で類似の結果が得られており、本試験と既存試験の差は土壌特異的ではないと考えられる。

#### まとめ

$^{14}C$ -CCC を最大推奨使用量 (1.5 kg/ha) で土壌に処理し、均一に混合後、 $20 \pm 2^{\circ}C$  の好氣的条件下の暗所でインキュベートし、揮発性物質を捕集した。土壌水分は最大容水量の 40% に維持した。Speyer 5M、Itingen III および Speyer 2.2 の 3 土壌を用い、処理 120 日後まで、インキュベートし、土壌代謝について検討した。

$^{14}C$ -CCC は速やかに分解し、DT<sub>50</sub> は Speyer 5M、Itingen III および Speyer 2.2 土壌でそれぞれ 11、10 および 37 日であった。

主要な代謝物は  $^{14}CO_2$  で、無機化率は非常に高く、処理 120 日後には  $\%TAR$  に達した。これに対し、有機揮発性物質は  $< 0.1\%TAR$  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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

その他に、微量の 4 代謝物が検出されたが、いずれもく %TAR と少なかった。

非抽出性放射能は、試験期間中最大で 26 - 50%TAR となった。

処理 120 日後土壌を用いた非抽出性放射能の分画で 14.2 - 23.9%TAR がフミン質およびフミン酸画分に含まれ、フルボ酸画分は 3.4 - 8.9%TAR と少なかった。

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

3-3. <sup>14</sup>C-クロルメコートの土壌吸着性

(資料 S3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

供試化合物: <sup>14</sup>C-クロルメコートクロリド (<sup>14</sup>C -CCC)

構造式: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリドの -位炭素を <sup>14</sup>C で標識した  
標識体

\* : <sup>14</sup>C 標識位置

化学名: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリド

比放射能:  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度: 98.1% (TLC)

供試土壌: 4 種類の日本土壌を用いて試験を実施した。なお、用いた土壌の土壌特性は次表のとおりである。

土壌/採取場所	愛知	高知	宮崎	十勝
土性	砂質粘土	壤土	砂土	粘土
砂 (%)	68.0	47.6	87.1	57.1
シルト (%)	14.5	27.2	5.7	21.5
粘土 (%)	17.5	25.2	7.2	21.4
有機物含量 (%) (g/100 g 土壌)	0.76	1.15	1.5	2.56
GEC (meq/ 100 g)	7.9	10.2	7.0	11.7
リン酸吸収係数	290	370	660	1330

試験方法:

吸着試験: 供試化合物を 0.01 M 塩化カルシウム溶液に溶解させ、1.074、0.538、0.105、0.052 ppm の溶液を調製した。土壌試料 5 g とこれら溶液各 25 mL を遠心管に採り、平衡化試験実施により定めた期間 (愛知、高知、十勝土壌は 2 日間、宮崎土壌は 3 日間)、室温で振とうした。試料は 25°C で 1 時間 2600 rpm にて遠心分離し、上清液の放射能を測定した。実験は 3 回繰り返した。

脱着試験: 上記の各土壌残渣に 0.01 M 塩化カルシウム溶液 25 mL を加え、上記と同様に振とう抽出した。次に遠心分離し、上清液及び土壌残渣の放射能を測定した。

放射能の測定: 吸着試験及び脱着試験で得られた試料は、上清液は直接、土壌は燃焼後液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

薄層クロマトグラフィー分析: 吸着及び脱着試料を 3 種類の展開相を用いて、非標識親化合物標準品と共に一次元薄層クロマトグラフィーで分析した。

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

**試験結果：**

吸着及び脱着溶液の薄層クロマトグラフィーより、スポットが1つしか検出されなかったことから、本化合物が安定であったことが確認された。

平均土壌分布係数  $K_d$ 、フロイントリッヒの吸着係数  $K_F^{ads}$  及び  $1/n$ 、相関係数  $R$  の測定値は以下のとおりであった。

土壌	$K_d$	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{OC}^*$	$1/n$	$R$
愛知	7.10	4.76	626	0.847	0.9976
高知	6.35	4.95	430	0.900	0.9990
宮崎	2.77	1.89	126	0.825	0.9991
十勝	2.59	2.05	80	0.882	0.9991

\*：申請者による計算値

以上より、クオルメコートクロリドの土壌吸着性は、試験した4種類の土壌に関して中等度であることが確認された。

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

Chloromequat

#### 4. 水中動態に関する試験

##### 4-1. 加水分解動態試験

(資料 W1)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

供試標識化合物:  $^{14}\text{C}$ -クロルメコート ( $^{14}\text{C}$ -CCC)

構造式: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリドの  $\alpha$ -位炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識

\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

化学名: 2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリド (CCC と称する)

放射化学的純度 : > 99 % (TLC)

比放射能 : mCi/mmol、 MBq/mmol

緩衝液 : pH 4、7 および 9 の緩衝液は下記のように調製した緩衝液 100 mL を 95°C、30 分間滅菌し、冷却後チモール 5 mg/L を溶かした。緩衝液使用前に、無菌窒素ガスを通気した。

調製方法 (20°C)

pH 4 : クエン酸緩衝液

クエン酸 0.058 mol/L + 塩酸 0.044 mol/L + 水酸化ナトリウム 0.11 mol/L で pH 4.00 に調整

pH 7 : リン酸緩衝液

リン酸二水素カリウム 0.026 mol/L + リン酸水素ナトリウム 0.041 mol/L で pH 7.00 に調整

pH 9 : ホウ酸緩衝液

ホウ酸 0.05 mol/L + 水酸化ナトリウム 0.05 mol/L + 塩化カリウム 0.05 mol/L で pH 9.00 に調整

試験溶液の調製 : [ $^{14}\text{C}$ ] 標識体の精製時に得られた抽出液 ( Mdpm/水 13 mL ) を使用し、この抽出液 0.1 mL に各緩衝液 1 mL を加えて dpm (約 2.5 mg/L) の試験溶液を調製した。この試験溶液各 1.5 mL を 105°C で一晩滅菌したネジ蓋付ガラス瓶に注入し、1 分間窒素ガスを通気した後、密栓した。

インキュベーションの条件:

試験温度: 50±0.1℃  
装置: インキュベーター  
光条件: 暗所  
試料採取時点: 処理直後(0日), 処理後5日  
反復数: 3

分析方法:

総放射能の計測: 各溶液の一部試料 50 µL に、シンチレーションカクテル 3 mL を添加後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。

薄層クロマトグラフィー(TLC): セルロース F プレートに試験溶液 50 µL を 2cm の直線状に添付した。スポットを乾燥後、下記溶媒を用いて室温で展開した。

LMSS1: (4 : 1 : 5 ; v/v/v)

LMSS3: (8 : 2 : 1 : 3 ; v/v/v/v)

放射性成分の同定/定量: TLC プレート上の放射活性領域は TLC リニアアナライザーで走査して定量した。放射性ピークの帰属は非標識標品とのコクロマトグラフィーで検査し、非標識体のピークは発色剤を噴霧して可視化した。

試験結果:

50℃で5日間インキュベーションした試験溶液中の<sup>14</sup>C-CCC濃度(mg/L)および分解率を次表に示す。

pH	経過日数	<sup>14</sup> C-CCC (%)	<sup>14</sup> C-CCC 濃度 (mg/L)	分解率 (%)
4	0	99.81	2.45	-
	5	98.47	2.38	2.86
7	0	99.04	2.49	-
	5	98.52	2.44	2.01
9	0	98.93	2.43	-
	5	97.25	2.39	1.65

-: 当該データなし

インキュベーション5日後の分解率はいずれのpHとも<3%であった。

OECD ガイドラインに従うと、<sup>14</sup>C-CCC は緩衝液中で安定(t<sub>1/2</sub>=>1年)であり、これ以上の試験は要求されない。

以上の結果から<sup>14</sup>C-CCCはpH4~9の緩衝液中で、加水分解しないと判断される。

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat  
(資料 W2)

#### 4-2. 水中光分解動態試験

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：

供試標識化合物： $^{14}\text{C}$ -クロルメコート ( $^{14}\text{C}$ -CCC)

構造式：2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリドの -位炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識

\*： $^{14}\text{C}$  標識位置

化学名：2-クロロエチルトリメチルアンモニウム=クロリド (CCC と称する)  
比放射能：MBq/mg  
放射化学的純度：> 97 % (ラジオ-HPLC)  
化学的純度：> 97% (RI/HPLC)  
水溶解度：740 g/L

供試水：濾過滅菌した蒸留水および河川水（茨城県岩井市利根川 新下総利根大橋付近から採取）を用いた。供試水の特性は以下の通りであった。

検査項目	滅菌蒸留水	滅菌河川水
pH	6.77	7.40
電気伝導度 mS/m	0.176	17.7
溶存酸素 mg/L	np	10.9
懸濁物質 mg/L	np	< 2
全蒸発残留物 mg/L	np	154
BOD mg/L	np	4.4
COD mg/L	np	4.3

np：未分析

#### 試験方法

光照射装置：WXP-300S-65 型 キセノンアークランプ付き

容器：

光照射区：ガラス栓付 50 mL 容石英試験管

遮光区：50 mL 容試験管をアルミホイルで完全に遮光

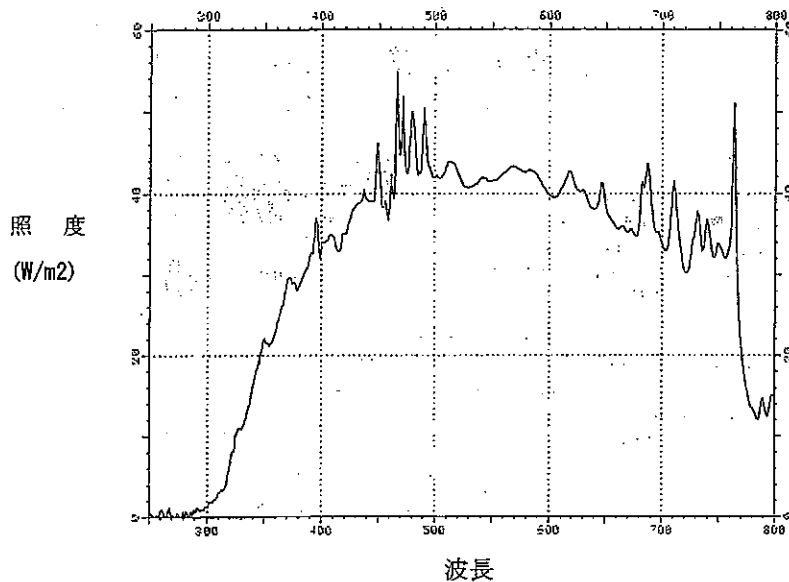
光条件：光源； 6.5 kW キセノンショートアークランプ

照射波長：290~800 nm (290 nm 以下および 800 nm 以上をカットした)

照度：平均 167.0 W/m<sup>2</sup> (290~800 nm)

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat



試験温度：25±1°C

試験溶液の調製：<sup>14</sup>C-CCC または非標識 CCC (純度 99.9%) を蒸留水に溶解して保存溶液を調製した。非標識 CCC の保存溶液に <sup>14</sup>C-CCC の保存溶液および蒸留水を加えて同位体希釈して、名目濃度 1000 mg/L (実測濃度： MBq/981.2 μg/mL ; 比放射能 dpm/μg ; 放射化学的純度 96.4%) の溶液を調製した。次いで、この溶液の一部に供試水を加えて 10 mg/L の試験液を調製し、50 mL 用の反応容器に 30 mL 分注した。

試料採取：処理直後(0)、処理後 1、2、3、6、10 および 16 日に各試料から 0.5 mL ずつ採取した。

反復数： 2

分析方法：液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測し、薄層クロマトグラフィー (TLC) で分析した。

TLC はセルロース薄層プレートに試験溶液を帯状に塗布した。また、非標識標品を重ねて塗布または隣接してスポットしてコクロマトグラフィーを行った。下記溶媒で一次展開した。非標識標品は発色剤を噴霧して可視化して検出した。

展開溶媒： (5 : 2 : 4 ; v/v/v)

無菌性の確認：処理直後および 16 日後に試験液を分取し、肉エキス寒天培地に滴下して、25°C、7 日間培養し無菌性の確認を行った。また、対照として、濾過滅菌前の CCC 無添加蒸留水および河川水も同様に検査した。



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 ジャパン株式会社にある。  
Chlormequat

試験結果：

滅菌蒸留水および滅菌河川水中の  $^{14}\text{C}$ -CCC の濃度は次表のとおりで、光照射 16 日後の  $^{14}\text{C}$ -CCC の残留率は > 94% であり顕著な分解は認められなかった。 $^{14}\text{C}$ -CCC 以外に検出された放射性成分は試験期間を通して % であり僅かであったので、特徴づけはしなかった。

また、遮光区の分解も認められなかった。

供試水	区	放射性成分	初期濃度 (mg/L)	照射期間 (日) / 初期濃度に対する残留率 (%)						
				0	1	2	3	6	10	16
滅菌蒸留水	照射	$^{14}\text{C}$ -CCC	-	97.2	94.4	92.9	96.0	96.3	95.1	96.1
		その他	-							
		合計	9.50	100.0	97.7	95.7	99.9	99.8	98.9	100.3
	遮光	$^{14}\text{C}$ -CCC	-	97.1	97.0	96.7	97.8	96.5	96.9	96.9
		その他	-							
		合計	9.30	100.0	100.6	100.1	101.8	100.3	101.3	101.3
滅菌河川水	照射	$^{14}\text{C}$ -CCC	-	96.9	96.3	94.9	95.0	95.1	94.4	95.4
		その他	-							
		合計	9.71	100.0	100.6	99.0	99.1	99.1	99.2	100.0
	遮光	$^{14}\text{C}$ -CCC	-	96.6	95.6	92.9	95.6	95.2	94.4	94.4
		その他	-							
		合計	9.71	100.0	99.4	97.1	99.3	99.0	99.1	98.7

- : 当該試料なし

実験した光条件下における半減期は 1 年以上と算出され、自然太陽光下における東京の春期 (4~6 月) に換算すると蒸留水および河川水ともに半減期は > 1 年と推定された。したがって、CCC は光化学的に安定である。

消失動態 パラメータ	滅菌蒸留水		滅菌河川水	
	照射区	遮光区	照射区	遮光区
速度定数 ( $\times 10^4$ /日)	-4.65**	1.64	7.33	7.42
DT <sub>50</sub> (実験条件下)	> 1 年	> 1 年	> 1 年	> 1 年
DT <sub>50</sub> (東京、春)*	> 1 年	-	> 1 年	-

\* : 16 日間の積算光照射は自然太陽光 [北緯 35 度 (東京) の春 (4~6 月)] に換算して 39.0 日に相当する。

\*\* :  $^{14}\text{C}$ -CCC は試験期間中ほとんど分解しなかったため、減衰速度の一次反応解析の結果、負の値として算出された。

- : 当該データなし

無菌試験の結果、菌の発育は認められなかったため、無菌状態を維持していたことが確認された。

以上の結果より、検体は滅菌蒸留水および滅菌河川水中において、16 日間光照射 (東京の春

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

季の 39.0 日間に相当) しても分解せず、安定であった。

## 代謝及び環境動態のまとめ

クロルメコートの哺乳動物、植物、土壌及び環境における代謝、分解、残留の要約は下記のとおりであり、想定代謝経路は代 77 頁に、代謝分解の概要は代 78 頁以降に示した。

### 動物代謝に関する試験：

**ラットにおける試験**（資料 A3, 4）：<sup>14</sup>C-CCC を用い、0.1mg/kg（静注投与）、0.5 および 30mg/kg（単回または反復経口投与）の 3 用量でラットに投与し、代謝について検討した。

**呼吸排泄**；30mg/kg で単回経口投与後、24 時間呼吸を採取した結果、呼吸排泄率は 0.4%TAD であったので、この経路の排泄は無視できると判断した。

**血中濃度**；単回経口投与では 0.5 および 30mg/kg 群とも投与後 2 時間で全血および血漿中濃度とも最高に達した。単回静注投与（0.1mg/kg）では投与後 5 分で全血および血漿中濃度とも最高に達した。AUC および T1/2 は以下の通りで、経口投与では AUC は投与量に比例して増加していたが、T1/2 には顕著な差は認められなかった。

パラメータ	単回経口								単回静注			
	0.5mg/kg				30 mg/kg				0.1 mg/kg			
	全血		血漿		全血		血漿		全血		血漿	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
AUC <sub>0-∞</sub> *	0.595	0.600	0.433	0.570	28.955	37.007	23.485	29.902	0.064	0.065	0.087	0.070
T1/2(時間)	84.7	56.2	22.2	36.3	92.9	96.7	45.8	51.8	1.5	2.0	5.5	2.5

\*：μg Eq 時間/g

**吸収/排泄実験**；投与後 168 時間までの合計回収率に対する尿排泄率はいずれの群とも >90%TAD で、そのほとんどが親化合物（約 95%以上；80%TAD 以上）であった。その他に (<3%TAD)、親化合物より Rf 値の高い非極性代謝物が (<2%TAD) 検出された。

糞排泄率は <6%TAD と少なかったが、約 50%TRR が で抽出され、その 82%以上 (<6%TAD) が親化合物であった。その他に (<0.3%TAD)、親化合物より Rf 値の高い非極性代謝物が (<0.2%TAD) 検出された。糞の酸加水分解で、約 53~71%TRR が上清から得られ、その約 64~74%が親化合物で、約 25~36%が TLC の原点に留まる極性物質であった。

**胆汁排泄**；単回経口投与（0.5 から 30 mg/kg）による胆汁排泄は 1%TAD 以下と非常に少なく、TLC 分析による成分は約 79%以上が親化合物であった。その他に微量の および非極性代謝物が検出された。%TAD はすべての試料で検出限界（0.05%TAD）以下であった。

**組織内分布**；30mg/kg 単回および 0.5mg/kg 7 日間反復経口投与し、最終投与後 168 時間後の屠殺を含め 5 時点で屠殺し、組織内分布について検討した。胃腸管を除いて、肝臓および腎臓の濃度が最も高く、30mg/kg 単回経口投与では投与 1.5 時間後の肝臓で 22~29 μg Eq/g、腎臓で 35~87 μg Eq/g であったが、投与 72 時間後にはすべての組織で <0.5 μg Eq/g となり、投与 168 時間後各組織内残留濃度は ≤0.24 μg Eq/g となった。これに対し、0.5mg/kg

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 ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

の7日間反復経口投与では投与40分後の肝臓で $1.3\sim 1.6\mu\text{g Eq/g}$ 、腎臓で $1.6\sim 8.5\mu\text{g Eq/g}$ であったが、投与72時間後にはすべての組織で $<0.03\mu\text{g Eq/g}$ となり、投与168時間後各組織内残留濃度は $\leq 0.01\mu\text{g Eq/g}$ となった。吸収/排泄実験(0.1mg/kg 静注投与、0.5及び30mg/kg 単回経口投与、並びに0.5mg/kg 反復経口投与)における投与168時間後屠殺時の組織内合計残留は $\leq 0.3\%TAD$ と少なかった。

最も残留の多かった肝臓および腎臓について TLC 分析した結果、臓器中放射能の90%以上が親化合物で、  
が3~8%であった。

ビーグル犬における試験(資料 A5, 6) ; 10mg/kg を単回経口投与した結果、血清中濃度は投与後2~3時間で最高濃度に達した。尿および糞とも投与後24時間までに大部分が排泄された。投与48時間後、組織中の濃度は腎臓の濃度が最も高く、次いで肝臓であった。

また、ビーグル犬に10mg/kg を4週間反復経口投与した結果、投与終了後2時間で最高血清中濃度(2.6ppm)に達し、24時間後にはほとんど消失し、0.2ppmとなった。尿および糞とも投与後24時間までに大部分が排泄された。最終投与72時間後の屠殺で、組織中の濃度は単回投与の場合と同様に腎臓の濃度が最も高く、次いで肝臓であった。

これらの結果はラットにおける場合とほとんど同様であった。

#### 植物代謝に関する試験 :

小麦における試験(資料 P1) ; 春小麦の生育期(播種78日後)に1380g ai/ha を1回茎葉処理し、処理直後(0日)、28、84に青刈り茎葉、118日後に収穫し、CCCの残留について特徴付けを行った。総残留放射能(TRR)は処理直後(0日)、28および84日後の青刈り茎葉でそれぞれ49.24mg/kg、41.98mg/kg および14.35mg/kg で、118日後の収穫時試料で45.84mg/kg (麦わら) および1.32mg/kg (種子)であった。

残留放射能の抽出性は高く、青刈り茎葉および麦わらで非常に高く85~90%TRRが抽出されたが、種子では約50%TRRのみであった。

未変化のCCCが主要な成分で、さらに、種子から  
が同定されたが、  
%TRRと少なかった。その他にも  
%TRR以上の代謝物は全く確認されなかった。

大麦やキクにおける試験(資料 P2) ; 植物の茎部下を切断した茎葉を、 $^{14}\text{C}$ -CCC および  $^{14}\text{C}$ -塩化コリン水溶液に挿し、24時間吸収させた後、放射性成分を抽出し、ペーパークロマトグラフィーで分析した結果、5代謝物が検出された。1代謝物は  
と確認されたが、  
その他の代謝物は  $^{14}\text{C}$ -  
の代謝物と同一であると考えられた。

小麦における試験(資料 P3) ; 小麦の葉を  $^{14}\text{C}$ -CCC 水溶液に浸漬処理し、栽培後、葉、根、穀粒、土壌の放射能を分析した。その結果、クロルメコートは小麦の葉から吸収され、ほとんど代謝を受けず、非常にわずかな量が根に移行することが確認された。

代謝経路：クロルメコートは \_\_\_\_\_ に代謝され、クロルメコートあるいは \_\_\_\_\_ が茎葉のリグニンおよび種子の澱粉に結合していると想定される。

#### 土壌中動態に関する試験：

クロルメコートを最大推奨使用量 (1.4 kg/ha) で土壌に処理し、均一に混合後、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$  の好気的条件下の暗所でインキュベートし、揮発性物質を捕集した。土壌水分は最大容水量の 40% に維持した。Speyer 2.2 土壌 (土壌 I) は処理 224 日後まで、インキュベートし、土壌代謝について検討した。Itingen 土壌 (土壌 II)、Collombey 土壌 (土壌 III) および Les Evouettes 土壌 (土壌 IV) は処理 112 日後までインキュベートし、CCC の消失について検討した (資料 S1)。

主要な代謝物は  $^{14}\text{CO}_2$  で、土壌 I では処理 224 日後には約 70% TAR に達した。その他の代謝物として 4 個の未知物質が検出され、TLC-プレートの原点に残る未知物質は最大で処理 84 日後に %TAR 生成し、その後漸減した。その他に % を超える代謝物は認められなかった。その他の土壌でも  $^{14}\text{CO}_2$  は主要な代謝物であった。有機揮発性物質は実質上認められなかった。

CCC は徐々に分解し、 $\text{DT}_{50}$  は土壌 I、土壌 II、土壌 III および土壌 IV でそれぞれ約 34、21、30 および 32 日であった。 $\text{DT}_{90}$  は約 112、191、99 および 105 日であった。

非抽出性放射能は徐々に増加し、処理 112 日後には土壌 I、土壌 II、土壌 III および土壌 IV でそれぞれ 24.2、19.0、25.3 および 27.8% TAR となった。

CCC の分解と使用した土壌の pH および有機炭素含有量との関連はないと考えられた。土壌 II は他の 3 種土壌と異なり、抽出性放射能が多く、無機化率が少なかった。Itingen 土壌のイオン置換容量は他の土壌に比し、比較的高いことが低無機化率の理由と考えられた。

前記の試験 (資料 S1) で、代謝物の分析にはセルロースプレート又は酸化アルミニウム固定相でリニアアナライザーを用いる TLC で分析したが、代謝物を同定できなかったことから、代謝物の性質および生成率を再検討するために、Speyer 5M (土壌 I)、Itingen III (土壌 II) および Speyer 2.2 (土壌 III) の 3 土壌を用い、処理 120 日後まで、インキュベートし、HPLC あるいは 5 種類の TLC プレートおよび 5 種溶媒系との組み合わせによる分析、蛍光画像による放射能の検出により土壌代謝について再検討した (資料 S2)。

$^{14}\text{C}$ -CCC は速やかに分解し、 $\text{DT}_{50}$  は土壌 I、土壌 II および土壌 III でそれぞれ約 11、10 および 37 日であった。

前記の試験と同様に主要な代謝物は  $^{14}\text{CO}_2$  で、有機揮発性物質は非常に少なかった。また、微量の 4 代謝物が検出されたが、いずれもく %TAR (前記試験では  $\leq$  %TAR) と少なかった。非抽出性放射能は、試験期間中最大で 26~50% TAR (前記試験では 19~28% TAR) となった。処理 120 日後土壌を用いた非抽出性放射能の分画で 14.2~23.9% TAR がフミン質およびフミン酸画分に含まれ、フルボ酸画分は 3.4~8.9% TAR と少なかった。従って、代謝物の構造を決定することはできなかった。

日本の土壌 4 種を用いて、土壌吸着性を調べたところ、フロイントリッヒの吸着係数  $K_F^{\text{ads}}$

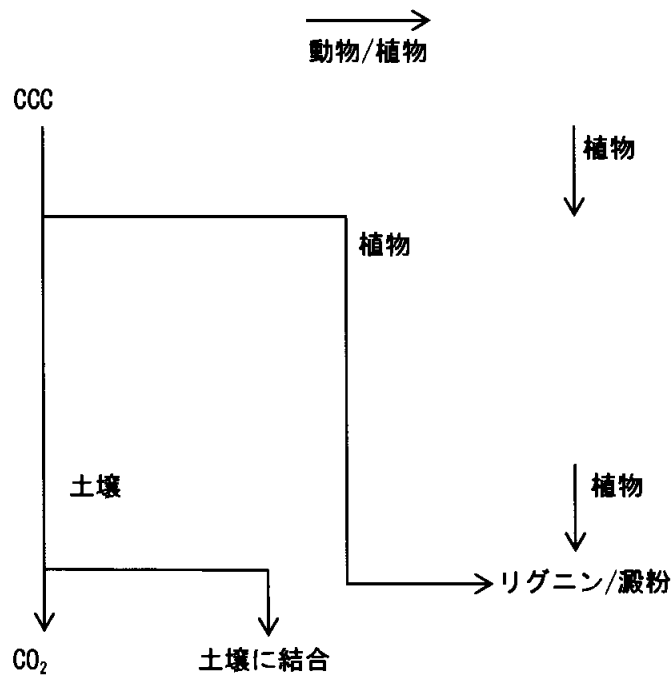
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

は 1.89~4.95 であり、中等度の土壌吸着性であることが確認された（資料 S3）。

**加水分解および水中光分解動態に関する試験**（資料 W1, 2）：pH4、7 および 9 の緩衝液を用いた加水分解並びに滅菌蒸留水および河川水を用いた水中光分解試験において、半減期はいずれも 1 年以上で、分解は認められず、安定であった。

**想定代謝経路**：想定代謝経路は以下のとおりである。



クロルメコートの代謝分解の概要

資料 No.	供試動物	投与方法 mg/kg	分析試料	代謝物											
				CCC			非極性物質	その他	非抽出性	CO <sub>2</sub>					
A1	ラット(%TAR)	雄	(158.3 μCi)	尿	0-48h	95.6									
			30 単回経口	尿		44.6									
A4	ラット <sup>b</sup> (%TAR)	雄	0.1 単回静注	尿	0-24h	38.3									
						88.5									
		雌	0.1 単回静注	糞			83.5								
							0.8								
		雄	0.5 単回経口	尿	0-48h	0.4									
						86.2									
		雌	0.5 単回経口	糞			79.9								
							2.1								
		雄	30 単回経口	尿	0-72h	2									
						83.7									
		雌	30 単回経口	糞	0-168h	90.8									
						3.3									
		雄	0.5 反復経口	糞(酸加水分解後上清)	24-48h	3.9									
						0.1									
		雌	0.5 反復経口	尿	0-24h	0.2									
						82.6									
		雄	0.5 単回経口	糞	0-48h	83.0									
						5.2									
		雌	0.5 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	0-2h	2.6									
						100									
雄	30 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	2-3h	96											
				91											
雌	30 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	3-4h	84											
				75											
雄	30 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	0-2h	78											
				81.3											
雌	30 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	2-3h	79											
				76											
雄	30 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	3-4h	81											
				81											
雌	30 単回経口	胆汁 <sup>a</sup>	0-2h	74											
				3.5											
雄	30 単回経口	肝臓	1.5h	2.7											
				2.6											
雌	30 単回経口	腎臓	1.5h	1											
				148											
A5, 6	イヌ (ppm)	雄	10 単回経口	尿	0-8h	128									
					8-24h	8.5									
					24-48h	32.9									
				糞	0-8h	39.3									
					8-24h	2.6									
					24-48h	<0.1									
				血液	48h	0.07									
					0.05										
					0.22										
					0.27										
			横隔膜	0.09											
				0.11											
			大腿筋	0.24h	203										
				24-48h	6.2										
			雄	10 反復経口 28日間投与後	尿	0-24h	0.9								
							42.9								
			雌	10 反復経口 28日間投与後	糞	24-48h	0.8								
							1.0								
			雄	10 反復経口 28日間投与後	血液	24h	0.2								
							<0.05								
雌	10 反復経口 28日間投与後	脳	72h	<0.05											
				<0.06											
雄	10 反復経口 28日間投与後	心臓	72h	<0.06											
				0.09											
雌	10 反復経口 28日間投与後	肝臓	72h	<0.06											
				<0.06											
雄	10 反復経口 28日間投与後	腎臓	72h	0.08											
				<0.06											
雌	10 反復経口 28日間投与後	横隔膜	72h	0.08											
				0.08											

資料 No.	供試動植物	投与方法 Mg/kg	分析試料		代謝物							
					CCC			非極性物質	その他	非抽出性	C02	
P1	小麦 <sup>o</sup> (上段:%TRR、 下段:mg/kg)	1308g/ha	青刈り茎葉	0日	84.5							
					41.61							
				28日	78.6							
				84日	67.2							
					9.66							
				118日	81.4							
		37.30										
		30.2										
		0.41										
P2	大麦及びキク	下部切断植物を <sup>14</sup> C 標識体含有水溶液 で栽培	茎葉	24h	○							
P3	小麦	葉面を <sup>14</sup> C 標識体含有水溶液 (0.075mg/mL)に浸漬	穀粒、葉、 根、土壌	処理 1.3週 後又は 12週後	○							
S1	土壌 好氣的代謝 1500g/ha 相 当 (%TAR)	Speyer 2.2 壤質砂土	112日	10.8								
			224日	3.3								
		Itingen 微砂質壤土	112日		15.6							
				Collombey 壤質砂土		6.8						
	Les Evouettes 微砂質 壤土		8.2									
S2		Speyer 5M 砂壤土		0.9								
			Itingen III 壤壤土	120日	4.4							
			Speyer 2.2 壤質砂土		12.2							

<sup>a</sup>: 胆汁は TLC に添加した放射能に対する各代謝物の比率%TRR

<sup>b</sup>: 溶媒系 3 による分析結果

<sup>c</sup>: セルロース/

(80/20/2/30) によるラジオ-TLC による分析



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

## クロルメコートの開発年表