

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。

2) ^{14}C -ジフルフェニカンの小麦種子における代謝物 (発芽前土壌処理)

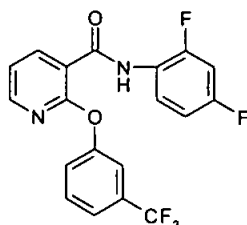
(資料 No.代 8)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルキシ)ニコチンアミド
(以下 ^{14}C -ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試植物：小麦 (品種 Timmo)

試験土壌：エセックス (英国)の農場より採取した砂質埴壤土を用いた。土壌の性質を以下に示す。

粘土	20%
シルト	16%
砂	64%
有機質	3.63%
pH	7.24
水分含量 (風乾土壌)	2.0%
大気圧での容水量	26.0%
陽イオン交換容量(meq/100g)	13.52

試験方法：

処理及び試料の採取；

試験土壌に小麦を播種した。 ^{14}C -ジフルフェニカン及び非標識ジフルフェニカンのアセトンに溶解し(4.12mCi / mmole)、500g ai/haの割合で発芽前土壌処理した。温室内で小麦を栽培し、播種後 129 日目に収穫し、種子を採取した。

小麦種子中の総放射能の分析；

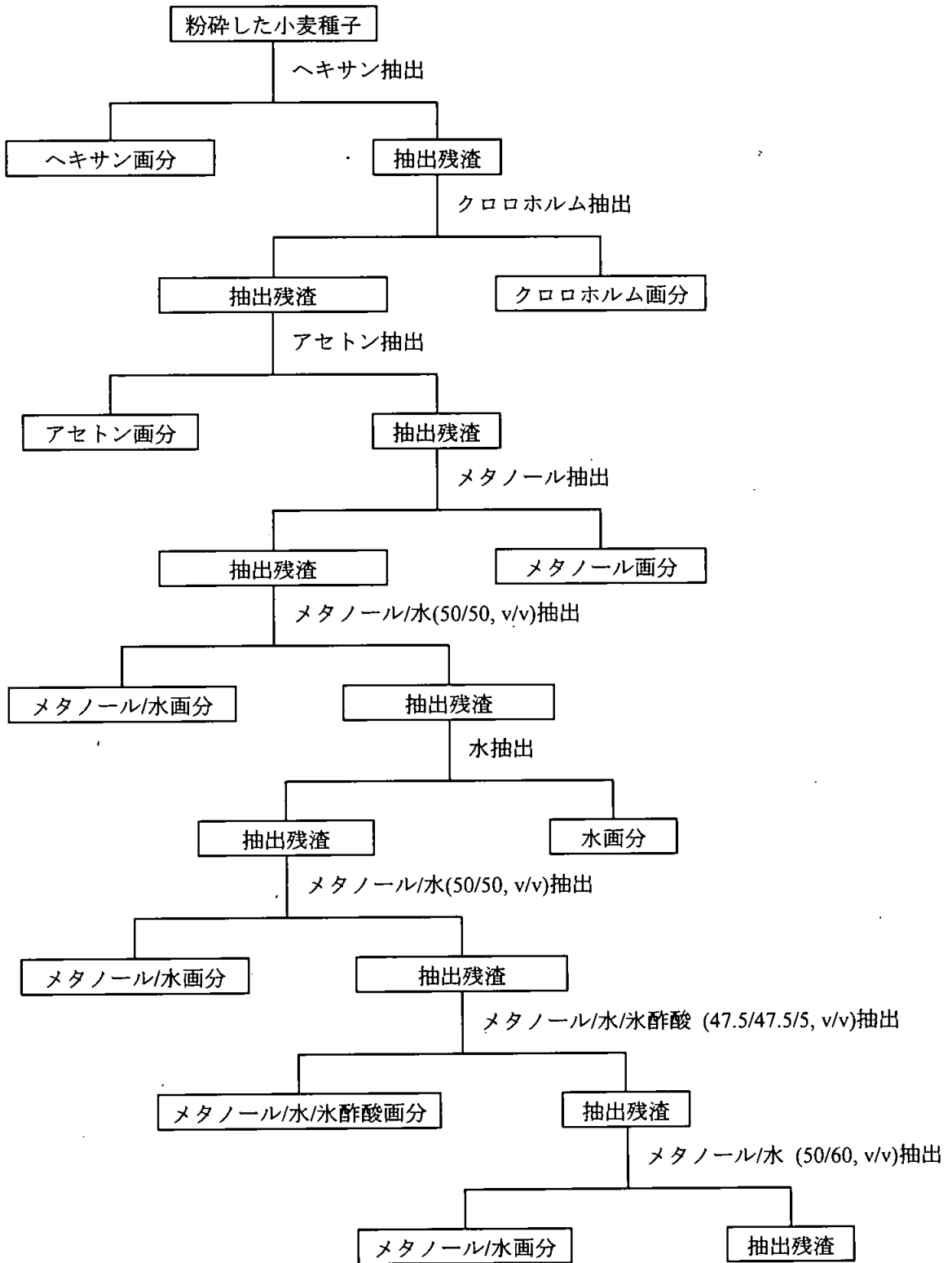
採取した小麦種子を粉砕し、総放射能残留(TRR)を液体シンチレーションカウンター(LSC)を用い燃焼法により測定した。また、小麦粉中のジフルフェニカン量をガスクロマトグラフ (GC)法 (Sharpe, J. P., 1984)により測定した。

小麦種子中代謝物の分離および分析；

以下のスキームに従って抽出、分画した。

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。

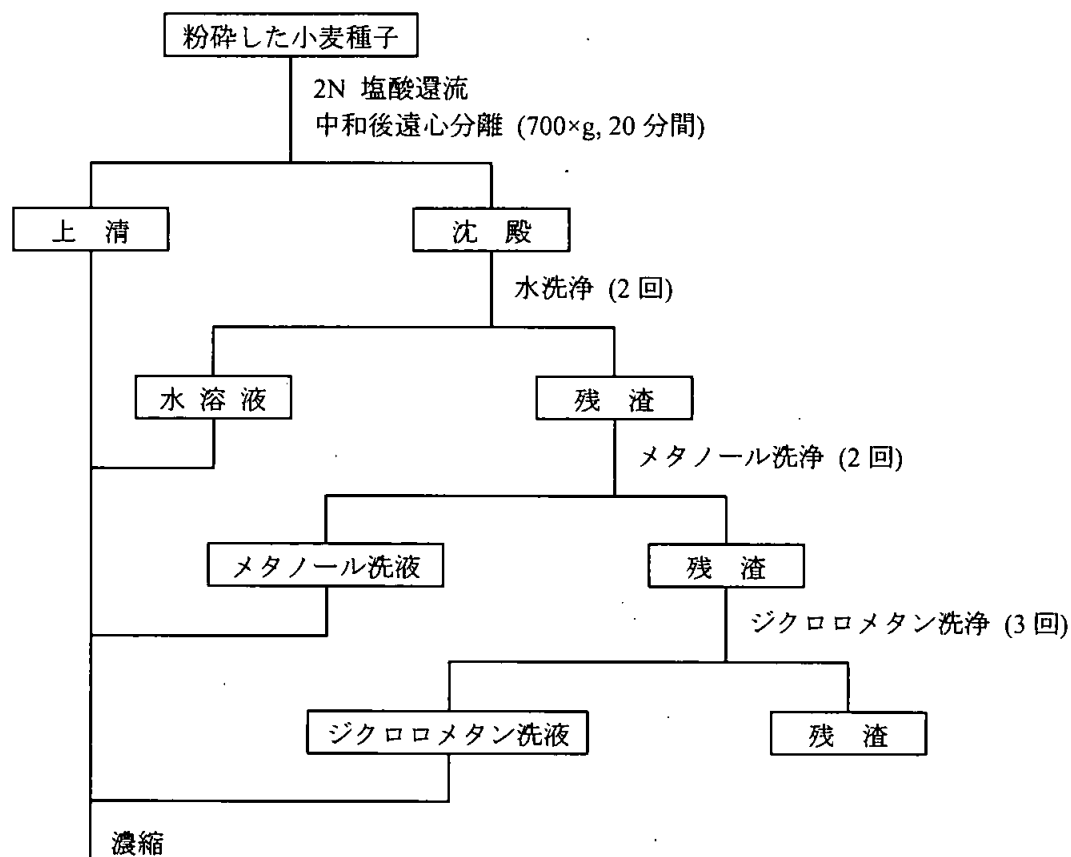
a) 溶媒抽出



各画分より、0.5mL を採り、LSC で放射能を測定した。メタノール及びメタノール/水画分中の代謝物をゲル濾過クロマトグラフィー(GPC)で検討した。

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。

b) 酸加水分解及び溶媒抽出

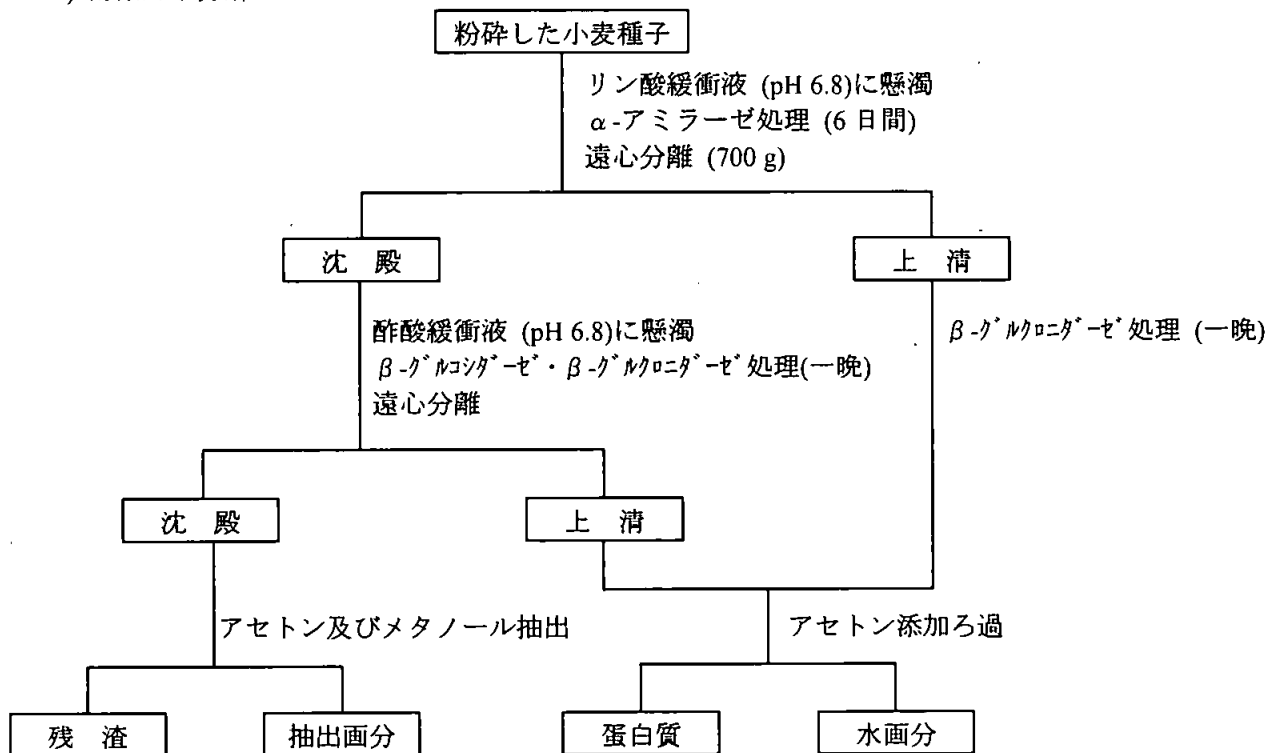


Sephadex (OH 型) カラムクロマトグラフィー

Sephadex カラムで分画した各画分を燃焼後、LSC で放射能を測定した。
放射性画分を濃縮し、HPLC で代謝物の分析を行った。

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

c) 酵素加水分解



残渣は燃焼した後、LSCで放射能を測定した。アセトン及びメタノール抽出画分は、濃縮した後HPLCで代謝物の分離を行った。水面分は濃縮した後、HPLC及びGPCで代謝物の分離を行った。

試験結果：

小麦種子中の総放射能残留；

種子中の TRR は約 0.07mg/kg ジフルフェニカン相当量であった。

また、GCにより測定した未変化のジフルフェニカン[A]は、検出限界(0.001mg/kg)未満であった。

小麦種子中の代謝物；

a) 溶媒抽出

結果の概要を表1に示す。

表1 溶媒抽出率

画分	総放射能に対する割合 (%)
ヘキサン	2.46
クロロホルム	1.51
アセトン	6.22
メタノール	2.04
メタノール/水	37.75
水	7.94

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。

溶媒抽出により抽出された放射能の大部分は、極性溶媒によるものであった。親化合物のジフルフェニカン是非極性の有機溶媒で抽出されるものと考えられる。

メタノール及びメタノール/水面分を GPC で分析したところ、放射能は炭水化物に結合していた。

b) 酸加水分解

TRR の 56.1%が酸加水分解により抽出された。HPLC で代謝物の分離を行ったところ、標準化合物の と保持時間が近いピークが検出された。

c) 酵素加水分解

結果の概要を表 2 に示す。

表 2 酵素加水分解抽出結果

画分	総放射能に対する割合 (%)
残渣	50
水面分 (炭水化物結合)	23
アセトン/メタノール抽出画分 (未知物質)	7
(親化合物)	12

酵素加水分解により TRR の 42%が抽出され、GPC で分析したところ、そのうちの 23%が炭水化物に結合していた。また、TRR の 50%が抽出されずに残渣中に存在していた。

以上の結果より、¹⁴C-ジフルフェニカン を 500g ai/ha で発芽前土壌処理したところ、収穫後の小麦種子中の TRR はジフルフェニカン相当量として 0.07mg/kg であったが、未変化のジフルフェニカン[A]は 0.001mg/kg 未満であった。しかし、種子の酵素加水分解後に溶媒により抽出された 0.008mg/kg の化合物が、クロマトグラフ的にジフルフェニカンと一致した。残りは炭水化物と結合しているものとみられ、種子から抽出できなかった。

が示唆された。

酵素加水分解、酸加水分解及び溶媒抽出後も種子中の放射能の約 50%は抽出できなかった。

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。

3) ¹⁴C-ジフルフェニカンの小麦における代謝試験 (茎葉処理)

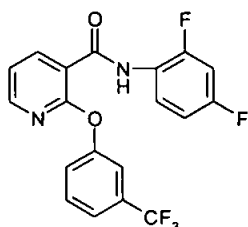
(資料 No.代 9)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試植物：小麦 (品種 Timmo)

試験土壌：エセックス (英国)の農場より採取した埴壤土を用いた。土壌の性質を以下に示す。

粘土	34%
シルト	28%
砂	47%
有機質	2.9%
pH	6.6
水分含量 (風乾土壌)	1.74%
大気圧での容水量	26.7%
0.33bar での容水量	25%
陽イオン交換容量(meq/100g)	22.1

試験方法：

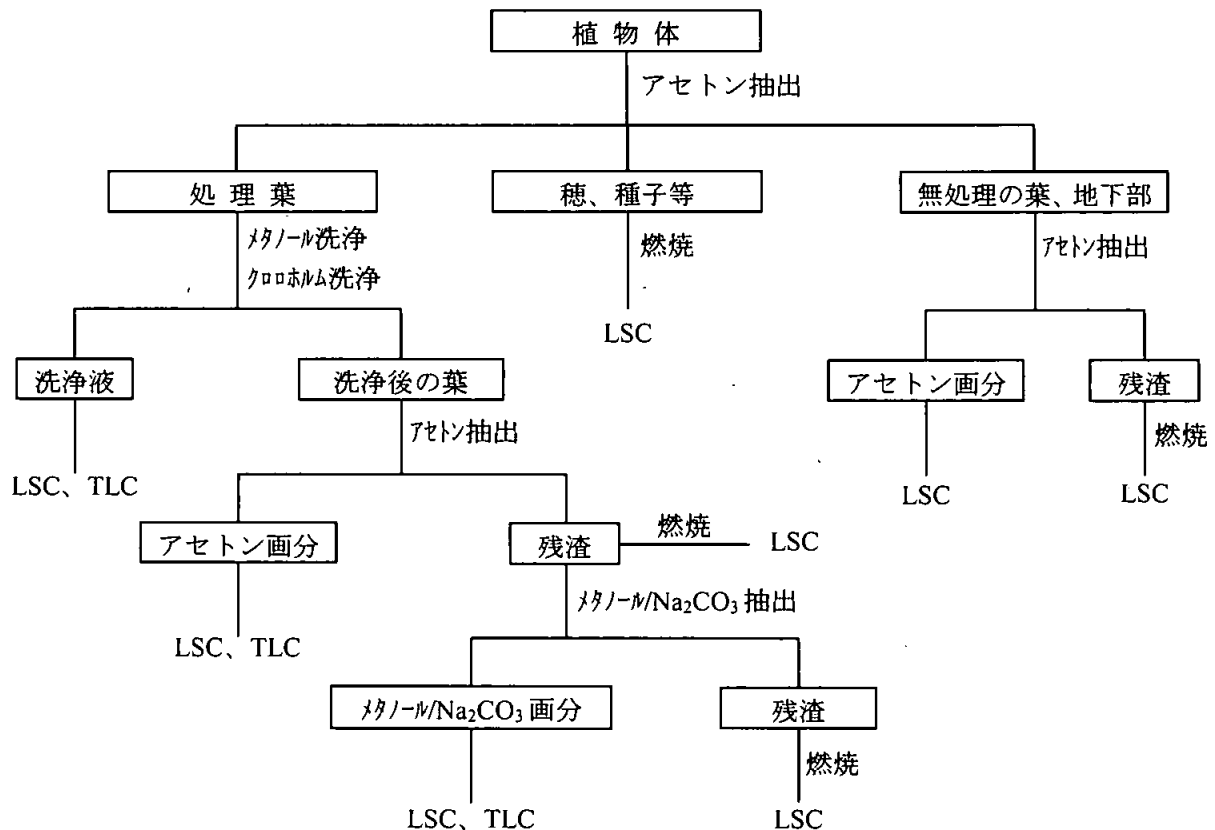
処理及び試料の採取；

乾燥し、ふるいにかけて土壌を直径 5 インチのポットにつめ、小麦を播種し、温室内で栽培した。¹⁴C-ジフルフェニカンのアセトンに溶解させ、生体当たり 17.3 mg/kg (約 416g ai/ha の施用割合)の割合で3葉期の小麦の葉に塗布処理した。処理当日(3葉期)、5葉期 (処理 13 日及び 14 日後)、伸長期 (処理 27 日及び 28 日後)、穂孕期 (処理 34 日後)及び収穫期 (処理 88 日後)に植物及び土壌試料を採取した。

植物試料は処理葉、処理葉以外の地上部及び地下部に分け採取した。更に穂孕期の植物試料は穂を取り出して分け、収穫期の植物試料は穂を種子と籾殻 (穂軸を含む)に分けた。処理後 28 日までの間、植物をポットごと代謝装置に置き、1 週間間隔で揮発性物質を捕集した。

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。

代謝物の分離及び分析；



処理葉のメタノール洗浄液について、GC/MS 及び NMR で親化合物の有無を調べた。各画分中の放射能は、直接または燃焼後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。また処理葉のメタノール/Na₂CO₃ 画分及びその抽出残渣を塩酸加水分解後、薄層クロマトグラフィー (TLC) で分析して、抱合体の存在を調べた。土壌試料及び捕集した揮発性成分は燃焼し、LSC で放射能を測定した。

試験結果：

放射能の分布；

結果の概要を表 1 に示す。

処理した放射能の大部分が処理葉で検出され (収穫期で処理放射能の約 86%)、無処理茎葉及びその他の植物部位への移行はわずかであり、可食部 (種子) 中の放射能濃度は 0.01ppm (処理放射能の 0.25%) であった。

また総放射能回収率は 82~94% の範囲内であった。

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。

表1 土壌及び植物体中の放射能の分布

試料採取時期		処理量に対する残留放射能 (%)								総回収率
小麦生育時期	処理後日数	土壌	小麦							
			処理葉	無処理茎葉	地下部	穂	種子	籾殻	合計	
3葉期	<1	<0.1	93.6 (14.84)	—	<0.05 (0.01)	—	—	—	93.6	94
5葉期	13	0.45	81.7 (10.33)	<0.5 (<0.01)	<0.05 (0.01)	—	—	—	81.7	82
伸長期	27	0.40	83.3 (24.06)	0.1 (<0.01)	<0.05 (0.01)	—	—	—	83.4	84
穂孕期	34	0.90	84.1 (51.78)	0.1 (<0.01)	<0.05 (0.01)	<0.05 (0.01)	—	—	84.2	85
収穫期	88	4.7	85.8 (88.31)	0.9 (0.03)	<0.05 (0.01)	—	0.25 (0.01)	0.1 (0.02)	87.0	92

()内の数値は、生重量あたりのジフルフェニカン相当量 (mg/kg)

— : 試料を採取せず

植物体中の放射能の性質 ;

植物体中の放射能の性質を検討した結果を表2に示す。

処理葉では、放射能の大部分がメタノール洗液及びクロロホルム洗液中に回収されたことから、処理した放射能は植物組織内にほとんど移行せず、処理葉の表面に残留しているものと考えられた。

表2 抽出放射能

試料採取時期		処理量に対する残留放射能 (%)							
小麦生育時期	処理後日数	処理葉						無処理茎葉	
		メタノール洗液	クロロホルム洗液	アセトン画分	メタノール/Na ₂ CO ₃ 画分	残渣	ろ紙	アセトン画分	残渣
3葉期	<1	88.9 (14.09)	2.9 (0.48)	1.8 (0.28)	—	<0.05 (<0.005)	—	—	—
5葉期	13	76.7 (9.68)	1.7 (0.22)	3.0 (0.38)	—	0.4 (0.05)	—	<0.5 (<0.01)	<0.05 (<0.01)
伸長期	27	73.6 (21.25)	2.9 (0.84)	5.8 (1.67)	0.7 (0.22)	0.2 (0.05)	0.2 (0.05)	<0.5 (<0.01)	0.1 (<0.01)
穂孕期	34	76.5 (46.92)	3.5 (2.21)	2.3 (1.49)	1.5 (0.98)	0.3 (0.16)	0.1 (0.05)	<0.5 (<0.01)	0.1 (<0.01)
収穫期	88	71.3 (73.58)	7.0 (7.02)	5.5 (5.67)	1.7 (1.72)	0.4 (0.34)	—	0.4 (0.01)	0.6 (0.02)

()内の数値は、生重量あたりのジフルフェニカン相当量 (mg/kg)

— : 試料を採取せず

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

処理葉中の代謝物；

処理葉の各画分中の代謝物の分析結果を表3に示す。

処理葉の洗液及び抽出液中の放射能の大部分は未変化のジフルフェニカン[A]であった。

その他に が分離された。これらのうち標準化合物とのコロマトグラフィーにより が示唆された（申請者による

考察）。

また、メタノール/Na₂CO₃ 抽出画分

は確認されなかった。

表3 処理葉における代謝物

生育時期	経過日数	画分溶媒	試料生重量当たりのジフルフェニカン相当量 (mg/kg)										
									ジフルフェニカン				
3葉期	<1	メタノール							13.98				
		クロロホルム							0.46				
		アセトン							0.26				
		メタノール/Na ₂ CO ₃							—				
		合計 ^{a)}							14.70				
		(合計%) ^{a)}							92.68				
5葉期	13	メタノール							9.42				
		クロロホルム							0.20				
		アセトン							0.27				
		メタノール/Na ₂ CO ₃							—				
		合計 ^{a)}							9.89				
		(合計%) ^{a)}							78.22				
伸長期	27	メタノール							20.64				
		クロロホルム							0.76				
		アセトン							1.41				
		メタノール/Na ₂ CO ₃							—				
		合計 ^{a)}							22.81				
		(合計%) ^{a)}							94.71				
穂孕期	34	メタノール							45.69				
		クロロホルム							2.00				
		アセトン							1.24				
		メタノール/Na ₂ CO ₃							—				
		合計 ^{a)}							48.93				
		(合計%) ^{a)}							79.48				
収穫期	88	メタノール							72.59				
		クロロホルム							6.69				
		アセトン							5.08				
		メタノール/Na ₂ CO ₃							0.34				
		合計 ^{a)}							84.70 (95.89)				
		(合計%) ^{a)}							82.26				

合計%は合計放射能の投与放射能に対する割合(%)

a) 申請者の計算による

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

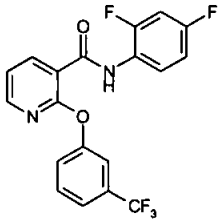
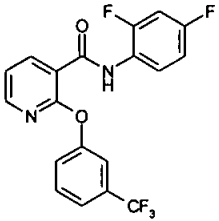
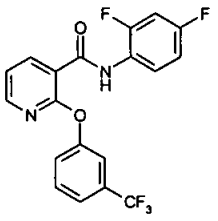
4) ¹⁴C-ジフルフェニカンのキャベツ、てんさい及び小麦における代謝試験 (資料No.代10)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

次に示す3種類の¹⁴C標識ジフルフェニカンを使用した。

化学名	2',4'-ジフルオロ-2-(α,α,α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアニリド		
標識体			
化学構造及び標識位置			
放射化学的純度			
比放射能			

供試植物：キャベツ (*Brassica oleracea*、品種 Duchy F1)、てんさい (*Beta vulgaris*、品種 Roberta) 及び小麦 (*Triticum aestivum*、品種 Chablis)

試験方法：

設定処理量

キャベツ	設定処理量	364 g 有効成分/ha	364 g 有効成分/ha	364 g 有効成分/ha
	倍量処理	728 g 有効成分/ha	728 g 有効成分/ha	—
てんさい	設定処理量	364 g 有効成分/ha	364 g 有効成分/ha	364 g 有効成分/ha
	倍量処理	728 g 有効成分/ha	728 g 有効成分/ha	—
小麦	設定処理量	364 g 有効成分/ha	364 g 有効成分/ha	364 g 有効成分/ha
	倍量処理	728 g 有効成分/ha	728 g 有効成分/ha	—

設定処理量：187.5g/ha で土壌処理を複数年続けた場合のジフルフェニカンの土壌中平衡濃度 (推定半減期を 350 日とした場合)

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。

試験系の調製及び植物の栽培

筒状ポットを英国農場の屋外土中に埋め込み、各ポットにシルト質壤土を充填した。各標識体をそれぞれ別個にアセトンに溶解し、二酸化炭素シリンダーの圧力で散布器から対応するプロット内部の土壌表層に散布した。なお散布口とプロット開口部を覆い、処理薬剤のプロット外への飛散を防いだ。

土壌処理 12 週後に、キャベツ苗、てんさい種子及び小麦種子を処理土壌に作付けた。またプロットの周囲には、プロット内と同じ植物を作付け、無処理対照試料として使用した。なお を処理した 1 プロットは土壌中放射能の検討用として用い、植物の作付けを行わなかった。

試料の採取

(土壌の採取)

を 364 g/ha で処理したプロットから、作付け時及びその後経時的 (植物の中間収穫時及び最終収穫時) に土壌を採取した。

(植物の採取)

各試験植物から、中間収穫試料及び成熟期の最終収穫試料を採取した。中間収穫試料の植物部位への分割は行わず、一方、最終収穫試料はキャベツを除いて次のとおり各部位に分割した。

供試植物 (最終収穫試料)	分割部位
キャベツ (地上部)	—
てんさい	葉部及び根部
小麦	穀粒、籾殻、わら及び切り株 (籾殻及び切り株は総放射能の測定のみ)

分析方法

(土壌の分析)

土壌はアセトニトリル次いでアセトニトリル/水 (70:30 v/v) 混合液により抽出した。各抽出物を合わせて液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定を行った。また抽出残渣は風乾後に燃焼させ、LSC による放射能測定に供した。

(植物体の分析)

図 1 に示したフローチャートに従い分析した。

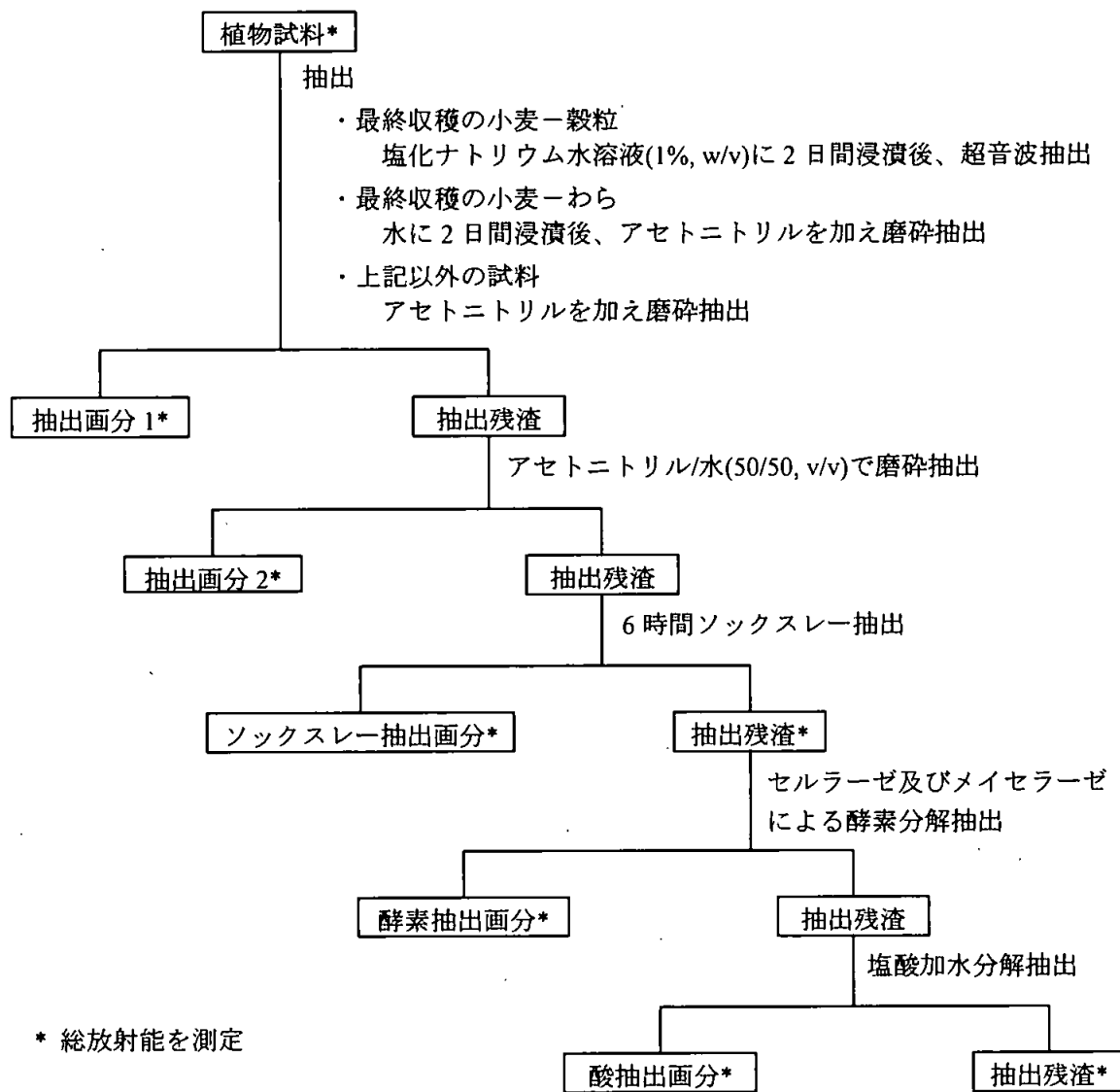
抽出前の試料、各抽出液及び抽出残渣中の総放射能を LSC で測定した。

抽出画分 1、抽出画分 2 及びソックスレー抽出画分を合わせ、HPLC 及び LC-MS/MS (正イオンスプレーイオン化分析) により、親化合物及び代謝物の定量、同定及び特徴付けを行った。

また、小麦—穀粒、わら及びてんさい—根部の抽出液については塩酸加水分解を、小麦—わらについてはアルカリ加水分解を行い、LSC 及び HPLC 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図1 植物体試料の分析フローチャート



* 総放射能を測定

- ・ 酵素分解抽出は、小麦一穀粒の試験、小麦一わらのみ実施
- ・ 塩酸加水分解抽出は、小麦一穀粒の試験、小麦一わらのみ実施

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：

注：単位 mg/kg は、何れも親化合物当量値を意味する。

土壌中の放射能濃度

各土壌採取時点における土壌中放射能濃度を表 1 に示す。

表 1 土壌中放射能濃度 (単位：mg/kg)

採取時点		抽出性放射能	非抽出性放射能	総放射能
作付け時 (土壌処理 12 週間後)		0.585	0.158	0.743
キャベツ	中間収穫時 (作付け 42 日後)	0.132	0.062	0.194
	最終収穫時 (作付け 83 日後)	0.092	0.075	0.167
てんさい	中間収穫時 (作付け 76 日後)	0.927	0.250	1.177
	最終収穫時 (作付け 196 日後)	0.090	0.071	0.161
小麦	中間収穫時 (作付け 83 日後)	0.092	0.075	0.167
	最終収穫時 (作付け 125 日後)	0.315	0.138	0.452

植物体 (各部位)における総放射能残留 (TRR)

処理区植物体の TRR を表 2 に、周囲対照植物体の TRR を表 3 に示す。

(処理区)

キャベツ

各標識体の TRR に収穫時期による差は認められなかった。

処理量 364 g/ha の中間収穫キャベツでの最高 TRR は、

処理の 0.018 mg/kg であった。同処理量の最終収穫キャベツでも、最高 0.012 mg/kg の TRR が

処理の TRR は他の の約 1/4 程度(0.003 mg/kg)と低かったため、以降の溶媒抽出を行わなかった。

過剰量 728 g/ha の中間及び最終収穫キャベツでも、

処理の TRR が他の標識体と比較して低かった。

てんさい

処理量 364 g/ha の中間収穫てんさいでは、

処理で TRR が最も高く(0.023 mg/kg)、 で最も低かった (0.009 mg/kg)。

最終収穫てんさいの葉部及び根部の TRR も、中間収穫てんさいと同様に

処理で最も高く(葉部：0.050 mg/kg、根部：0.055 mg/kg)、 で最も低かった (葉部：0.016 mg/kg、根部：

0.014 mg/kg)。過剰量 728 g/ha でも、中間及び最終収穫とも

処理の TRR が低かった。

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。

小麦

処理量 364 g/ha の中間収穫小麦植物体の TRR は、
 処理とも 0.028 mg/kg ()
)~0.034mg/kg ()の範囲に
 あった。

処理量 364 g/ha の最終収穫小麦では、穀粒の TRR は 0.012 mg/kg ()
)~0.037mg/kg ()、わらの
 TRR は 0.081mg/kg () ~0.174mg/kg ()
)の範囲にあった。

過剰量 728 g/ha を処理した中間収穫小麦及び最終収穫小麦 (穀粒及びわら)では、処
 理量 364 g/ha と比較して TRR の増加が認められたが、増加の程度には、
 と で差が認められた。

過剰量の を処理した時の穀粒及びわらの TRR はそ
 れぞれ 0.018 mg/kg 及び 0.156 mg/kg であり、処理量 364 g/ha の結果と比較して 0.004
 ~0.006mg/kg の増加に留まった。一方、過剰量の
 を処理した時の穀粒及びわらの TRR はそれぞれ 0.084 mg/kg 及び 0.313 mg/kg
 であり、処理量 364 g/ha の結果と比較していずれも 2 倍以上となった。

表 2 総放射能残留 (TRR) (単位 : mg/kg)

		処理量 364 g/ha	処理量 728 g/ha	処理量 364 g/ha	処理量 728 g/ha	処理量 364 g/ha	処理量 364 g/ha
キャベツ	中間収穫	0.003	0.005	0.018	0.028	0.011	
	最終収穫	0.003	0.004	0.012	0.025	0.010	
てんさい		中間収穫	0.009	0.014	0.023	0.041	0.014
てんさい	葉部	最終収穫	0.016	0.020	0.050	0.084	0.040
	根部		0.014	0.016	0.055	0.085	0.049
小麦		中間収穫	0.031	0.031	0.028	0.091	0.034
小麦	穀粒	最終収穫	0.012	0.018	0.037	0.084	0.035
	わら		0.152	0.156	0.081	0.313	0.174
	籾殻		0.046	0.050	0.077	0.235	0.081
	切り株		0.172	0.263	0.126	0.360	0.181

(周囲対照植物体)

キャベツ及びてんさいでは、周囲に栽培した植物体の TRR は中間及び最終収穫時と
 も<0.001 mg/kg であった。小麦では、処理量 364 g/ha の穀粒及びわらでそれぞれ
 <0.001~0.003 mg/kg 及び<0.001~0.002 mg/kg の TRR が認められた。

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。

表3 周囲対照植物の総放射能残留 (TRR) (単位: mg/kg)

		処理量 364 g/ha	処理量 728 g/ha	処理量 364 g/ha	処理量 728 g/ha	処理量 364 g/ha	
キャベツ	中間収穫	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
	最終収穫	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
てんさい		中間収穫	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
てんさい	葉部	最終収穫	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
	根部		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
小麦		中間収穫	<0.001	0.001	0.001	0.001	
小麦	穀粒	最終収穫	<0.001	0.002	<0.001	0.002	
	わら		<0.001	<0.001	0.002	0.002	
	籾殻		0.001	0.001	0.001	0.002	
	切り株		0.001	0.002	0.001	0.003	

植物体からの抽出率

処理量 364 g/ha の植物体からの各抽出段階における抽出率を表4に、最終収穫小麦の追加抽出における抽出率を表5にそれぞれ示す。

(中間収穫植物体)

中間収穫植物体 (キャベツ、てんさい及び小麦)からの抽出率は、69~96% TRR の範囲にあった。

非抽出性放射能は、キャベツで 0.001~0.002 mg/kg (6.34~17.77%TRR)、てんさいで 0.001 ~ 0.002mg/kg (4.50 ~ 21.71%TRR)、小麦で 0.002 ~ 0.008mg/kg (8.98 ~ 30.57%TRR)であり、何れの植物体でも 0.01 mg/kg 以下であった。

(最終収穫植物体)

キャベツ及びてんさい (葉部及び根部)における抽出率は、TRR に対して 73~95% の範囲にあった。

一方、小麦の穀粒及びわらにおける抽出率は、TRR に対して 48~89%であった。穀粒及びわらのいずれも、処理での抽出率が
高かった。

非抽出性放射能は、キャベツで 0.001~0.002 mg/kg (8.90~15.75%TRR)、てんさいの葉部及び根部でそれぞれ 0.004~0.006 mg/kg (11.17~26.87%TRR)及び 0.002~0.004mg/kg (4.60~25.70%TRR)であった。

小麦の穀粒及びわらにおける非抽出性放射能は、穀粒で 0.004~0.018mg/kg (10.90~46.67%TRR)、わらで 0.027~0.069 mg/kg (24.04~51.64%TRR)であった。穀粒では
の非抽出性放射能が 0.018 mg/kg (46.67%TRR)と の中で最も
高く、わらでは 及び
放射能が 0.05 mg/kg 以上かつ 10%TRR 以上となった。の非抽出性

追加抽出として、の穀粒、

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。

及のわら試料を酵素加水分解及び塩酸加水分解に供した。
追加抽出の結果を含めた抽出率は、穀粒で 57~89%TRR (0.005~0.030mg/kg)、わらで 54~76%TRR (0.073~0.099mg/kg)となった。

表 4 植物体からの抽出率 (処理量 : 364 g 有効成分/ha)

試料	処理 標識体	抽出 1 ^{a)}		抽出 2 ^{b)}		ソックスレー抽出		総抽出 放射能		非抽出性 放射能		
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	
中間 収穫 試料	キャベツ	0.015	85.26	0.001	8.41	N/A	N/A	0.016	93.66	0.001	6.34	
		0.007	66.87	0.002	15.36	N/A	N/A	0.009	82.23	0.002	17.77	
	てんさい	0.008	69.89	0.001	8.40	N/A	N/A	0.009	78.29	0.002	21.71	
		0.018	91.30	0.001	4.20	N/A	N/A	0.019	95.50	0.001	4.50	
	小麦		0.010	76.56	0.001	10.84	N/A	N/A	0.011	87.40	0.002	12.60
			0.009	31.23	0.007	24.28	0.004	13.91	0.019	69.43	0.008	30.57
0.017			63.30	0.005	19.95	0.002	7.77	0.025	91.02	0.002	8.98	
		0.0093	28.94	0.011	34.37	0.004	12.74	0.024	76.06	0.008	23.94	
最終 収穫 試料	キャベツ	0.008	67.45	0.002	14.33	0.001	9.32	0.010	91.10	0.001	8.90	
		0.006	51.58	0.002	19.74	0.002	12.93	0.011	84.25	0.002	15.75	
	てんさい	葉部	0.007	41.81	0.004	22.46	0.002	9.49	0.012	73.13	0.004	26.87
			0.025	51.84	0.016	32.84	0.002	4.15	0.043	88.83	0.005	11.17
		根部	0.017	50.59	0.009	26.14	0.002	4.61	0.027	81.34	0.006	18.66
			0.006	43.68	0.003	23.56	0.001	7.06	0.011	74.30	0.004	25.70
	小麦	穀粒	0.024	53.27	0.016	34.12	0.003	5.79	0.043	93.18	0.003	6.82
			0.025	62.15	0.012	30.22	0.001	3.03	0.038	95.40	0.002	4.60
			0.004	38.54	0.002	18.88	0.000	0.00	0.005	57.42	0.004	42.58
		わら	0.024	69.69	0.007	19.40	0.000	0.00	0.030	89.10	0.004	10.90
			0.012	32.38	0.008	20.95	0.000	0.00	0.020	53.33	0.018	46.67
			0.051	37.82	0.007	5.39	0.007	5.15	0.065	48.36	0.069	51.64
	0.073	66.25	0.011	9.71	0.000	0.00	0.084	75.96	0.027	24.04		
	0.069	46.12	0.014	9.23	0.013	8.80	0.095	64.15	0.053	35.85		

N/A : 分析せず

- a) 最終収穫の小麦-穀粒 : 塩化ナトリウム水溶液(1%, w/v)に 2 日間浸漬後、超音波抽出
最終収穫の小麦-わら : 水に 2 日間浸漬後、アセトニトリルを加え磨砕抽出
上記以外の試料 : アセトニトリルを加え磨砕抽出
b) アセトニトリル/水 (50/50, v/v)抽出

表 5 最終収穫小麦の追加抽出 (処理量 : 364 g 有効成分/ha)

最終収穫試料	処理 標識体	溶媒抽出 放射能 (計)		酵素加水 分解		6M 塩酸 加水分解		総抽出 放射能		非抽出性 放射能	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
小麦	穀粒	0.020	53.33	0.004	10.66	0.003	9.04	0.027	73.04	0.010	26.96
		0.065	48.36	0.005	3.58	0.003	2.36	0.073	54.31	0.061	45.69
	わら	0.095	64.15	未実施		0.004	2.35	0.099	66.50	0.050	33.50

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。

代謝

364 g 有効成分/ha を処理した植物体における代謝物生成量を、表 6 (キャベツ)、表 7 (てんさい) 及び表 8 (小麦) にそれぞれ示す。

(キャベツ)

中間収穫及び最終収穫キャベツにおける代謝物プロファイルは類似しており、親化合物ジフルフェニカン[A]の他、
が認められた。

中間収穫

10%TRR 以上生成した代謝物として、親化合物ジフルフェニカン[A]の他、
が認められた。しかしながら、
未変化の親化合物を含むこれら代謝物の濃度は何れも 0.01 mg/kg を下回った。

最終収穫

及び とも、認められた代謝物は中間収穫キャベツと同一であり、またその生成量も中間収穫時とほぼ同程度であった。

10%TRR 以上生成した代謝物として、
に共通して認められた。
また では未変化の親化合物も 10%TRR 以上認められた。しかしながら、これらの濃度は何れも 0.01 mg/kg を下回った。

表 6 キャベツにおける代謝物

						ジフル フェニカン [A]	
中間 収穫	mg/kg					0.001	
		%TRR				6.90	
	mg/kg					0.001	
		%TRR				11.00	
最終 収穫	mg/kg					0.001	
		%TRR				5.52	
	mg/kg					0.001	
		%TRR				10.07	

(てんさい)

中間収穫

未変化の親化合物ジフルフェニカン[A]の他、

が 10%TRR 以上又はそれに近い量が認められた。なお
では、 のため

は検出されなかった。

また 認められた。
しかしながら、これらの濃度は何れも 0.01 mg/kg 以下であった。

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。

表 7-1 てんさい (中間収穫)における代謝物

						ジフル フェニカン [A]	
	mg/kg					0.006	
	%TRR					53.74	
	mg/kg					0.003	
	%TRR					17.05	
	mg/kg					0.003	
	%TRR					26.76	

最終収穫

葉部

及び
 び
 では、未変化の親化合物ジフルフェニカン[A]がそれぞれ
 53.67%TRR (0.009 mg/kg)、7.39%TRR (0.004 mg/kg)及び 13.76%TRR (0.005
 mg/kg)認められ、

生成した。

中間収穫てんさいで 10%TRR 以上認められた、

は、及び

で 10%TRR 以下の生成量 (濃度は何れも 0.003 mg/kg) となった。

また
 及び
 では、
 がそれぞれ 15.24%TRR (0.007 mg/kg) 及び 37.67%TRR (0.012 mg/kg)
 認められた。

根部

未変化の親化合物ジフルフェニカン[A]は
 は検出されず、また
 及び
 ではそれぞれ 9.79%TRR (0.005 mg/kg) 及び 7.89%TRR (0.003 mg/kg) 認め
 られた。

は、

で 22.69%TRR (0.003 mg/kg) 生成し、

及び
 ではそれぞれ 5.44%TRR

(0.003 mg/kg) 及び 8.68%TRR (0.004 mg/kg) 認められた。

及び
 の根部におい

て、葉部で認められた
 は認められず、また

はそれぞれ 3.37%TRR (0.001 mg/kg) 及び 6.58%TRR (0.003 mg/kg) 認められ
 た。

葉部と同様に
 が認められ、その生成量は

及び
 それぞれで 74.60%TRR (0.034 mg/kg)

及び 72.24%TRR (0.029 mg/kg) と、根部における抽出放射能の大部分を占めて
 いた。

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。

表 7-2 てんさい (最終収穫)における代謝物

						ジフルフェニカン [A]	
葉部		mg/kg				0.009	
		%TRR				53.67	
		mg/kg				0.004	
		%TRR				7.39	
		mg/kg				0.005	
		%TRR				13.76	
根部		mg/kg				n.d.	
		%TRR				n.d.	
		mg/kg				0.005	
		%TRR				9.79	
		mg/kg				0.003	
		%TRR				7.89	

a) : と推定された。

n.d. : 検出限界未満 (<0.001mg/kg)

(小麦)

中間収穫

中間収穫の小麦植物体における抽出放射能は、主として極性代謝物 (HPLC カラムに保持されずに溶出した放射能の総量) で構成されていた。で認められた は、 で 64.85%TRR (0.018 mg/kg)、 で 64.74%TRR (0.018 mg/kg) 及び で 52.58%TRR (0.017 mg/kg)であった。

以外に 10%TRR 以上生成した代謝物として、 で が 12.48%TRR、及び で が 13.26%TRR 認められた。しかしながら、これらの濃度は何れも 0.01 mg/kg を下回った。

未変化の親化合物ジフルフェニカン[A]は、及び でそれぞれ 4.65%TRR (0.001 mg/kg)、5.08%TRR (0.001 mg/kg)及び 3.82%TRR (0.001 mg/kg)であった。

最終収穫

穀粒及びわらとも、抽出放射能の大部分は極性成分で占められていた。

穀粒

極性代謝物 (HPLC カラムに保持されずに溶出した放射能の総量) は、及び でそれぞれ 57.33%TRR (0.005 mg/kg)、87.52%TRR (0.030 mg/kg)及び 58.71%TRR (0.022mg/kg)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。

が 及び
 で認められたが、その生成量はそれぞれ 1.54%TRR (0.001 mg/kg)及び
 5.21%TRR (0.002mg/kg)のみであった。

わら

は、 及び
 でそれぞれ 44.50%TRR (0.060 mg/kg)、58.89%TRR (0.065
 mg/kg)及び 55.11%TRR (0.082mg/kg)であった。

未変化の親化合物ジフルフェニカン[A]は、
 及び のみで認められ、その量はそれ
 ぞれ 4.75%TRR 及び 5.51%TRR (何れも 0.006 mg/kg)であった。

及び も
 及び で微量代謝物として認められた。

表 8 小麦における代謝物

						ジフル フェニカン [A]	
中間 収穫		mg/kg				0.001	
		%TRR				4.65	
		mg/kg				0.001	
		%TRR				5.08	
		mg/kg				0.001	
		%TRR				3.82	
最終 収穫 (穀粒)		mg/kg				n.d.	
		%TRR				n.d.	
		mg/kg				n.d.	
		%TRR				n.d.	
		mg/kg				n.d.	
		%TRR				n.d.	
最終 収穫 (わら)		mg/kg				0.006	
		%TRR				4.75	
		mg/kg				0.006	
		%TRR				5.51	
		mg/kg				n.d.	
		%TRR				n.d.	

n.d. : 検出限界未満

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。

代謝物の同定/特徴付け

植物体 (又は各部位)中の放射性成分として、以下の3化合物が同定された。

	ジフルフェニカン[A]		
構造式			

(最終収穫てんさい (根部)の未知物質 1)

及び 処理したてんさいの
 根部抽出液を塩酸加水分解したところ、
 。質量分析により、
 と特徴付けられ、化学構造は次のと
 おり推定された。

又は

(最終収穫小麦 (穀粒及びわら)の極性代謝物)

の穀粒及びわらの抽出物を加水分解後に HPLC で分析した結果、得られた
 プロファイルに変化は認められなかった。また質量分光測定における のピ
 ークは とも同時間での であった。

従って、 、土壤及び植物体内で代謝分解された放射能
 が天然物質に取り込まれたものと考えられた。このことは、周囲対照小麦において
 放射能が認められたことから裏付けられる (表 3)。

以下に本試験結果を要約する。

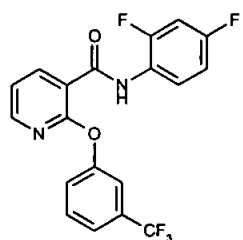
- ・ ジフルフェニカン を 364g 有効成分/ha で土壤に処理し、12 週間後に植物 (キャベツ、てんさい及び小麦)を作付けた。
- ・ 各植物体 (各部位)における残留組成は各植物とも本質的に同一であったが、相対的比率 (生成量)は変動した。キャベツ、てんさい及び小麦の可食部 (農産物)における残留組成は、未変化の親化合物ジフルフェニカン[A]、
 で構成されていた。またてんさいでは、上記の代

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。

謝物の他に

が認められた。

- ・ は、ジフルフェニカンが土壌又は植物体中で代謝され、天然物質に取り込まれたものと考えられた。また 及び はジフルフェニカンの土壌分解物でもある。これら代謝物は、植物体内におけるジフルフェニカンの代謝又は土壌からの取り込みによるものと考えられた。
- ・ 図2にジフルフェニカンの推定代謝経路を示す。



ジフルフェニカン[A]

図2 ジフルフェニカンの植物における推定代謝経路

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

5) ¹⁴C-ジフルフェニカンの小麦における代謝試験 (播種後発芽前処理)

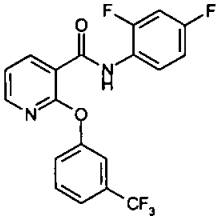
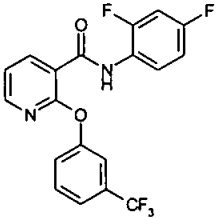
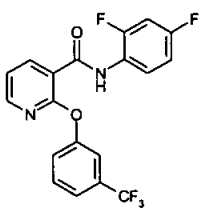
(資料 No.代 11)

試験機関:

報告書作成年:

供試標識化合物:

次に示す3種類の¹⁴C標識ジフルフェニカンを使用した。

化学名	2',4'-ジフルオロ-2-(α,α,α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアニリド		
標識体			
化学構造及び標識位置			
放射化学的純度			
比放射能			

供試植物: 小麦 (*Triticum aestivum*, 品種 Malacca)

試験方法:

設定処理量

通常処理区は、登録が取られている多くの国における最大処理割合である 187.5 g/ha とし、更に過剰処理区として通常処理区の 5 倍量処理 (937.5 g/ha) を設けた。

試験系の調製及び植物の栽培

筒状ポット(直径 80 cm、深さ 60 cm、厚さ 3 mm)を英国農場の屋外土中に埋め込み、各ポットにシルト質壤土を充填した。各ポットあたり 12.5 g の割合で小麦種子を播種した。播種 1 週間後に、各標識体をそれぞれ別個にアセトンに溶解し水で希釈したものを、二酸化炭素シリンダーの圧力で散布器からプロット内部の土壌表層に散布した。

試料の採取

中間収穫試料及び成熟期の最終収穫試料を採取した。中間収穫試料の植物部位への分割は行わず、一方、最終収穫試料は次のとおり各部位に分割した。

採取時期	処理後日数	分割部位
中間試料	215 日	分割せず
最終試料	272 日	穀粒、籾殻、わら(上部)及びわら(下部) わら(上部): 動物飼料に用いられる部位 わら(下部): 切り株

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。

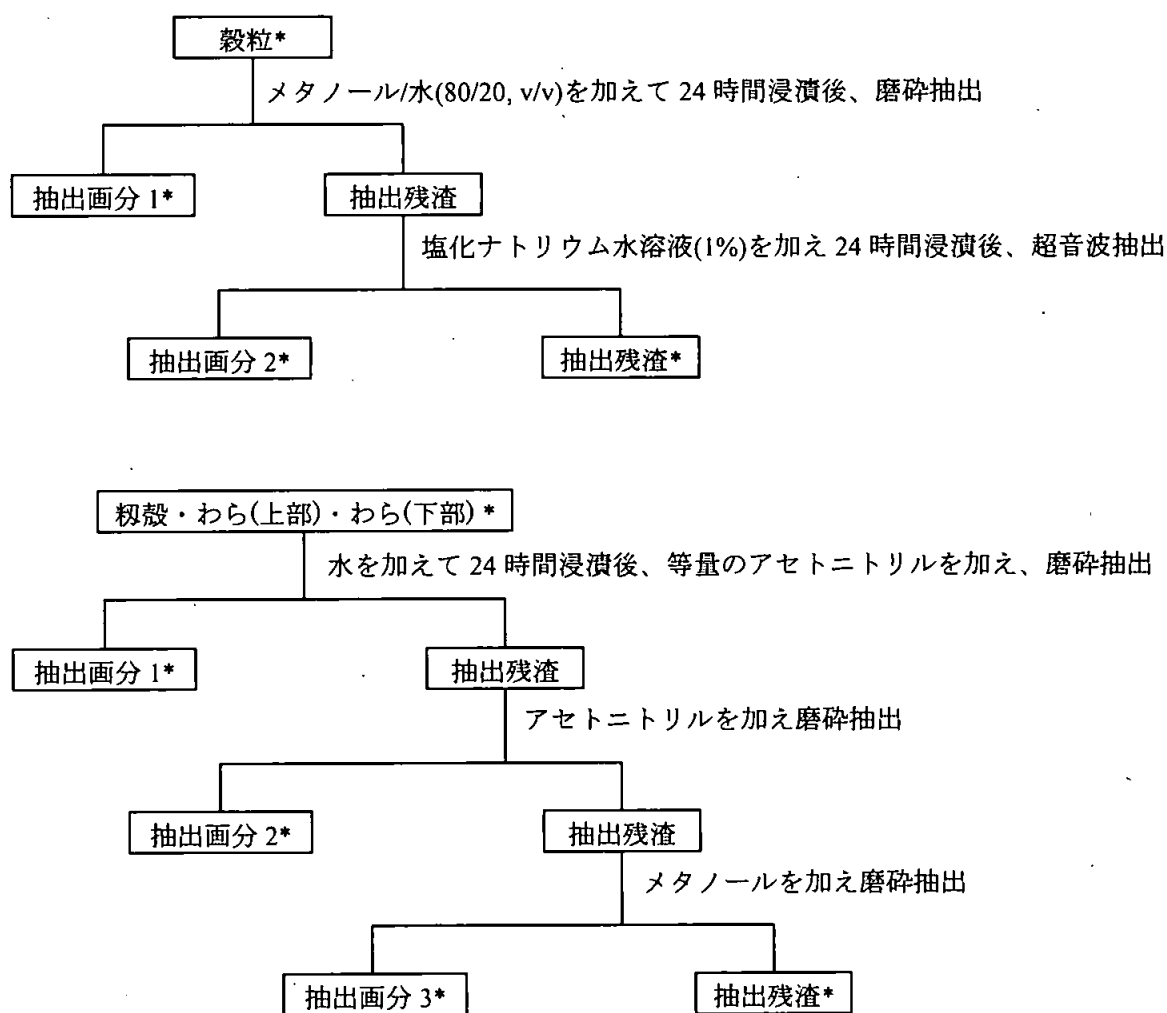
分析方法

図1に示したフローチャートに従い分析した。

抽出前の試料、各抽出液及び抽出残渣中の総放射能をLSCで測定した。

抽出液はHPLCにより、親化合物及び代謝物の定量、同定及び特徴付けを行った。

図1 各試料の分析フローチャート



* 総放射能を測定

- ・ 穀粒は抽出画分1を濃縮後、HPLC分析
- ・ 籾殻、わら(上部)は抽出画分1~3を合わせて濃縮後、HPLC分析
- ・ わら(下部)は抽出画分1~3をそれぞれ濃縮後、HPLC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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：

注：単位 mg/kg は、何れも親化合物当量値を意味する。

総放射能残留 (TRR)

通常処理区の各試料の総放射能残留(TRR)を表 1 に示す。

通常処理区で 0.01 mg/kg 以上の TRR が認められたのは、わら(上部)及びわら(下部)のみであった。最大の TRR が認められたのは最終試料のわら(下部)で、0.024 mg/kg() であった。穀粒における TRR は 0.002 mg/kg 以下であった。

表 1 通常処理区試料における総放射能 (単位：mg/kg)

試料			
中間試料	0.002	0.001	0.003
最終試料 穀粒	0.002	<0.001	0.002
最終試料 籾殻	0.004	0.003	0.008
最終試料 わら(上部)	0.010	0.006	0.009
最終試料 わら(下部)	0.024	0.012	0.015

植物体からの抽出率

各試料の抽出結果を表 2 に示す。

抽出された放射能の割合は、穀粒で TRR の 54.80%、籾殻で 67.28~74.98%、わら(上部)で 62.70~94.74%、わら(下部)で 71.82~89.81%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。

表2 各抽出による抽出率

試料	標識	抽出画分	各画分における放射能					
			通常処理区		過剰処理区			
			mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR		
穀粒		メタノール/水抽出	抽出せず		0.035	36.97		
		1% NaCl抽出			0.017	17.83		
		総抽出			0.052	54.80		
		抽出残渣			0.043	45.20		
		TRR			0.095	100.00		
初穀		アセトニトリル/水抽出	0.005	58.39	0.096	59.36		
		アセトニトリル抽出	0.001	13.11	0.006	3.68		
		メタノール抽出	0.000	3.48	0.007	4.24		
		総抽出	0.006	74.98	0.109	67.28		
		抽出残渣	0.002	25.02	0.053	32.72		
		TRR	0.008	100.00	0.162	100.00		
わら(上部)		アセトニトリル/水抽出	0.005	46.00	0.024	55.17		
		アセトニトリル抽出	0.001	11.49	0.004	10.15		
		メタノール抽出	0.001	5.21	0.002	5.36		
		総抽出	0.006	62.70	0.030	70.68		
		抽出残渣	0.004	37.30	0.013	29.32		
		TRR	0.010	100.00	0.043	100.00		
		アセトニトリル/水抽出	0.005	67.67	0.081	60.67		
		アセトニトリル抽出	0.001	18.45	0.013	9.72		
		メタノール抽出	0.001	8.62	0.006	4.77		
		総抽出	0.008	94.74	0.101	75.16		
		抽出残渣	<0.001	5.26	0.033	24.84		
		TRR	0.008	100.00	0.134	100.00		
		わら(下部)		アセトニトリル/水抽出	0.015	62.02	0.057	55.75
				アセトニトリル抽出	0.001	5.02	0.019	19.02
メタノール抽出	0.003			12.28	0.005	4.74		
総抽出	0.019			79.32	0.081	79.50		
抽出残渣	0.005			20.69	0.021	20.50		
TRR	0.024			100.00	0.102	100.00		
	アセトニトリル/水抽出		0.007	51.03	0.058	56.08		
	アセトニトリル抽出		0.001	6.67	0.016	15.91		
	メタノール抽出		0.002	14.13	0.005	5.02		
	総抽出		0.009	71.82	0.079	77.01		
	抽出残渣		0.004	28.18	0.024	22.99		
	TRR		0.013	100.00	0.103	100.00		
	アセトニトリル/水抽出	0.011	67.73	0.091	74.93			
	アセトニトリル抽出	0.003	16.56	0.014	11.80			
	メタノール抽出	0.001	4.43	0.004	3.07			
	総抽出	0.015	88.72	0.109	89.81			
	抽出残渣	0.002	11.28	0.012	10.19			
	TRR	0.016	100.00	0.121	100.00			

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。

代謝

通常処理区のわら(上部)及びわら(下部)における放射能の特徴付けの結果を表3に示す。

- ・ 穀粒
の過剰処理区のみ抽出液中の放射能の特徴付けを行った。抽出された放射能の大部分は
- ・ 籾殻
の通常処理区及び過剰処理区のみ抽出液中の放射能の特徴付けを行った。いずれも抽出された放射能の大部分は 検出されており、 であった。また、非常に少量の化合物が に検出された。
- ・ わら(上部)
及び の通常処理区のみ抽出液中の放射能の特徴付けを行った。両標識処理区は類似の結果であり、抽出された放射能の大部分は であった。ジフルフェニカン[A]が TRR の 2.0~3.6%検出された。その他にいくつかの少量の化合物が認められたが各ピークはいずれも 0.001mg/kg 未満であった。
- ・ わら(下部)
、 及び の通常処理区について、抽出液中の放射能の特徴付けを行った。 処理区ではジフルフェニカン[A](TRR の 30.0%)及び が主な放射能であり、その他に 0.001mg/kg 未満のいくつかの化合物が認められた。 及び 処理区ではジフルフェニカン[A]の量は少なく (TRR の 6.4~8.2%)、 が主要な放射能であり、また 0.001mg/kg 未満のいくつかの化合物が認められた。

表3 通常処理区のわら(上部)及びわら(下部)における代謝物分析結果

代謝物	代謝物の濃度及び割合									
	わら(上部)				わら(下部)					
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
ジフルフェニカン[A]	0.0002	2.0	0.0003	3.6	0.0072	30.0	0.0007	6.4	0.0013	8.2

a) いくつかのピークの合計。各ピークはいずれも 0.001mg/kg 未満であった。

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。

6) ¹⁴C-ジフルフェニカンの小麦における代謝試験 (3 葉期処理)

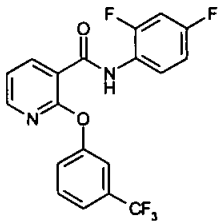
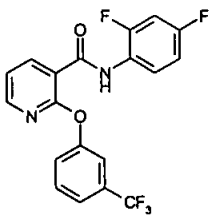
(資料 No.代 12)

試験機関:

報告書作成年:

供試標識化合物:

次に示す 2 種類の ¹⁴C 標識ジフルフェニカンを使用した。

化学名	2',4'-ジフルオロ-2-(α,α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアニリド	
標識体		
化学構造及び標識位置		
放射化学的純度		
比放射能		

供試植物: 小麦 (*Triticum aestivum*, 品種 Malacca)

試験方法:

設定処理量

通常処理区は通常の圃場処理量である 187.5 g/ha とし、更に過剰処理区 (400.0 g/ha) を設けた。

試験系の調製及び植物の栽培

筒状ポット(直径 80 cm、深さ 60 cm、厚さ 3 mm)を英国農場の屋外土中に埋め込み、各ポットにシルト質壤土を充填した。各ポットあたり 12.5 g の割合で小麦種子を播種した。両標識体をそれぞれ別個にアセトンに溶解し水で希釈したものを、二酸化炭素シリンダーの圧力で散布器からプロット内部の土壌表層に、小麦 3 葉期に散布した。

試料の採取

中間収穫試料及び成熟期の最終収穫試料を採取した。中間収穫試料の植物部位への分割は行わず、一方、最終収穫試料は次のとおり各部位に分割した。

採取時期	処理後日数	分割部位
中間試料	134 日	分割せず
最終試料	201 日	穀粒、籾殻、わら

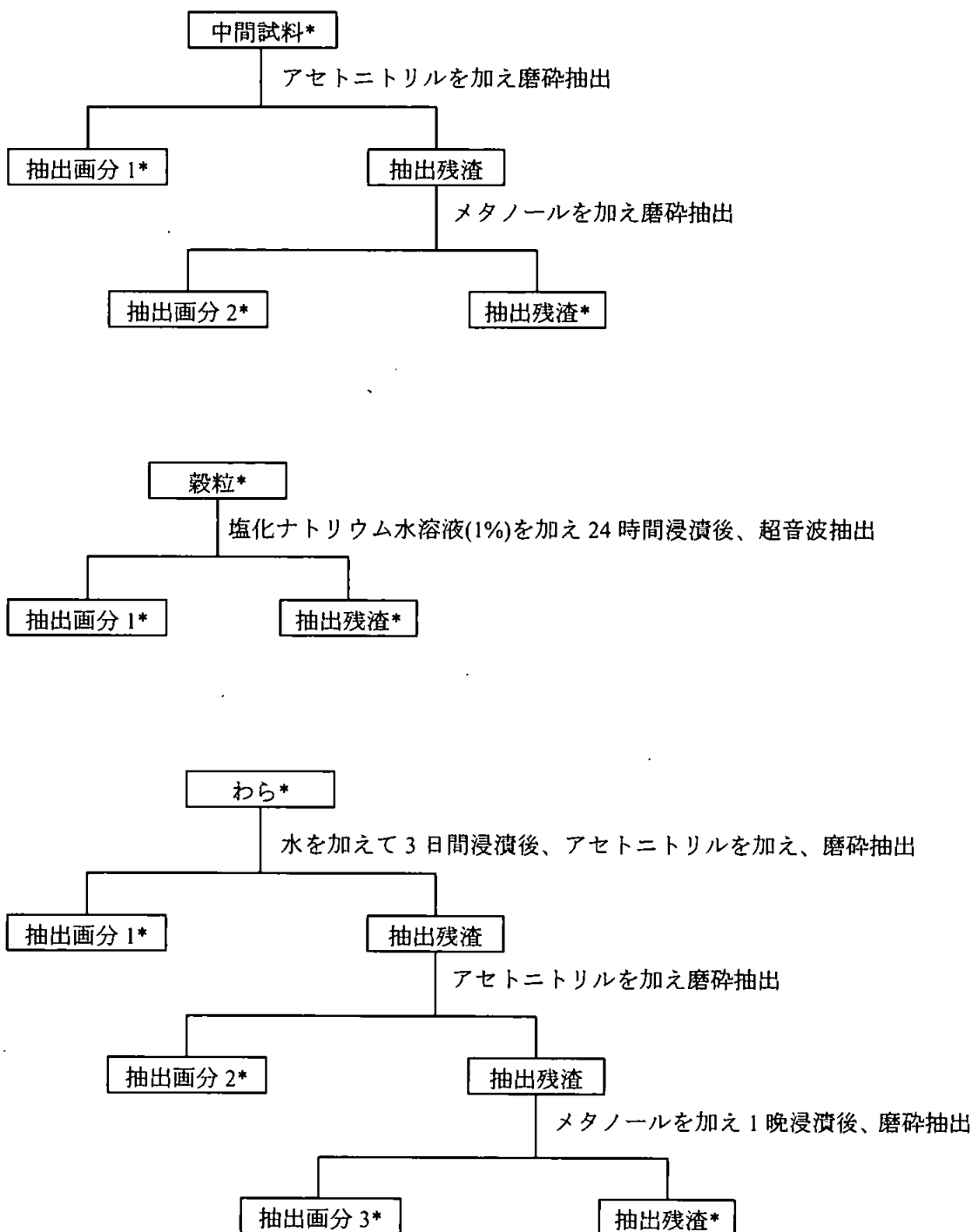
分析方法

図 1 に示したフローチャートに従い分析した。

抽出前の試料、各抽出液及び抽出残渣中の総放射能を LSC で測定した。

抽出液は HPLC により、親化合物及び代謝物の定量、同定及び特徴付けを行った。

図1 各試料の分析フローチャート



* 総放射能を測定

- ・ 中間試料は抽出画分 1 及び 2 を合わせて濃縮後、ヘキサンで分配し、HPLC 分析
- ・ 穀粒は抽出画分 1 を濃縮後、HPLC 分析
- ・ わらは抽出画分 1 をヘキサンで分配後、抽出画分 2 及び 3 と混合して濃縮し、HPLC 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：

注：単位 mg/kg は、何れも親化合物当量値を意味する。

総放射能残留 (TRR)

各試料の総放射能残留(TRR)を表1に示す。

通常処理区で TRR が比較的高かったのは最終試料のわら及び籾殻の 処理であったが、いずれも約 0.01 mg/kg であった。その他の通常処理区の試料の TRR はいずれも 0.01 mg/kg 未満であった。

表1 各試料における総放射能 (単位：mg/kg)

試料	通常処理区		過剰処理区	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
中間試料	<0.001	0.0015	0.004	0.011
最終試料 穀粒	<0.001	0.003	0.002	0.011
最終試料 わら	0.007	0.010	0.035	0.047
最終試料 籾殻	0.003	0.011	0.017	0.055

植物体からの抽出率

各試料の抽出結果を表2に示す。

抽出された放射能の割合は、中間試料で TRR の 57.6~83.5%、穀粒で 72.8%、わらで 53.2~83.9%であった。

表2 各抽出による抽出率

試料	標識	抽出画分	各画分における放射能			
			通常処理区		過剰処理区	
			mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
中間試料		アセトニトリル	抽出せず		0.001	30.6
		メタノール		0.001	27.0	
		総抽出		0.002	57.6	
		抽出残渣		0.002	41.4	
		アセトニトリル	抽出せず		0.007	49.3
		メタノール		0.005	34.2	
		総抽出		0.012	83.5	
		抽出残渣		0.002	15.9	
穀粒		1% NaCl抽出	抽出せず		0.008	72.8
		総抽出		0.008	72.8	
		抽出残渣		0.003	27.2	
わら		アセトニトリル/水抽出	0.0036	51.2	0.014	41.3
		アセトニトリル抽出	ND	ND	0.003	7.8
		メタノール抽出	0.0004	6.1	0.001	4.1
		総抽出	0.0041	57.2	0.018	53.2
		抽出残渣	0.003	42.8	0.016	46.8
		アセトニトリル/水抽出	0.009	70.0	0.029	53.6
		アセトニトリル抽出	0.002	13.9	0.002	4.5
		メタノール抽出	ND	ND	0.002	2.9
		総抽出	0.011	83.9	0.032	61.0
		抽出残渣	0.002	16.2	0.021	39.0

ND：検出限界未満

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。

代謝

通常処理区のわらにおける放射能の特徴付けの結果を表3に示す。

・ 中間試料

の過剰処理区の中間試料抽出液中の放射能は、ジフルフェニカン[A]及び
であった。

・ 穀粒

の過剰処理区の穀粒抽出液中の放射能は、主に極性成分であった。ジフル
フェニカン[A]より
も検出された。

・ わら

通常処理区の抽出液中の放射能は、ジフルフェニカン[A]、
及び
であった。
処理区わらの抽出液の HPLC で、
と同じ保持時間のピークが認められたが、非常に少量(0.0004 mg/kg)
であったため確認は行わなかった。

表3 通常処理区のわらにおける代謝物分析結果

代謝物	代謝物の濃度及び割合			
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
ジフルフェニカン[A]	0.0009	12.2	0.002	16.3

ND : 検出されず

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

3. 土壌中運命試験

1) ¹⁴C-ジフルフェニカンの好氣的土壌中運命試験

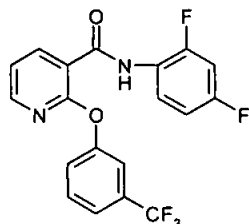
(資料 No.代 13)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

試験土壌：以下の2土壌を用いて試験した。

	砂壤土	埴壤土
砂	56.5%	47%
シルト	25.4%	28%
粘土	15.1%	34%
有機質	3.6%	2.9%
pH	7.7	6.6
仮比重	1.4	1.25
容水量 (0.33 バール)	24%	24%
陽イオン交換容量(meq/100g)	9.75	22

粒径区分は USDA 法による

試験方法：

検体 0.25mg を含む 0.5mL のアセトン溶液を加熱乾燥土壌 100g (試験濃度 2.5mg/kg) の入ったフラスコに加えた。土壌は 0.33 バール容水量の 75% に保った。処理後、フラスコは 1N NaOH 水溶液を入れたガス捕集ビンを接続し、22±2°C の暗室内でインキュベーションした。処理後 0、1、2、4、7、16、32 及び 52 週間後に 2 試料ずつを採取し、以下の方法で分析した。

(1) 揮発性画分

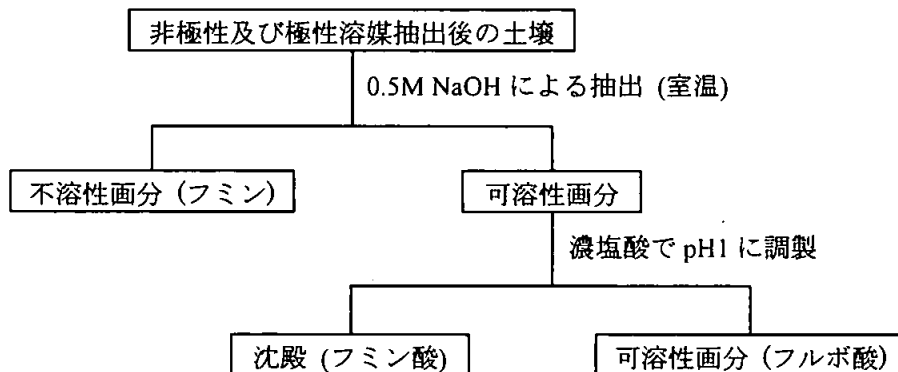
ガス捕集ビン中の溶液について、液体シンチレーションカウンター(LSC)で全放射能を測定した。

(2) 土壌

アセトニトリルで 2 回及びメタノールで 1 回抽出し、抽出液中の放射能を LSC で測定した。抽出液について薄層クロマトグラフィー(TLC)も実施した。抽出後の土壌については燃焼後、LSC により放射能を測定した。投与放射能の 10%以上が土壌に結合していると

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。

考えられた場合は、更にメタノールで3回及び水で1回抽出を行なった。これらの抽出の後でも土壤中に残留する放射能は結合残渣とみなし、以下の方法により分画した。



抽出液及びフルボ酸画分は LSC により放射能を測定した。フミン画分中の放射能は燃焼後、LSC により分析した。フミン酸画分の放射能量は酸性化前の放射能量とフルボ酸画分の放射能量の差により求めた。

分解生成物の同定；

標識ジフルフェニカンに非標識ジフルフェニカンを加えて比放射能を 0.41 mCi/mM にし、2.5kg の土壌に 25ppm の濃度で投与した。133 日間インキュベート後、溶媒による分配、カラムクロマトグラフィー及び TLC を用いて分解生成物を単離した。それらの同定は分光学的方法及びクロマトグラフ法により対照物質と比較して行なった。代謝物 M4 に対しては、さらに最初の試験のアセトニトリル抽出物から単離した試料を用いて、質量分析データを得た。

試験結果：

放射能の分布；

各画分に認められた放射能を表 1 に示す。

放射能の全回収率は、試験期間を通じて投与量の 94%以上であった。

揮発性放射能；

揮発性の画分における全放射能は炭酸バリウム沈澱反応より、
量は連続して増加し、52 週間後には砂壤土及び埴壤土において投与放射能量のそれぞれ
であった。

抽出割合；

アセトニトリルにより抽出性放射能の大部分が回収され、抽出性放射能の少なくとも 3/4 以上が抽出された。メタノール抽出により回収された放射能は、1 年後には埴壤土で抽出性放射能の約 20%まで増加した。水抽出により抽出性放射能の 5%以上が抽出されることはなかった。

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。

代謝物；

TLCにより分離したスポットの定量結果を表2に示した。親化合物の他に
が検出された。なお
と推定された。

土壌結合残渣；

土壌結合残渣は第16週までは増加し、その後はほぼ一定となった(第52週に砂壌土で12.8%、埴壌土で18.5%)。表3に結合残渣の分析についての結果を示した。フルボ酸、フミン酸、フミン画分間の結合残渣の分布は試験土壌によって異なり、砂壌土では結合残渣の約半分がフミン酸画分中に回収されたが、埴壌土においてはフミン画分が結合残渣の約半分の割合を占めた。

分解速度；

ジフルフェニカン、結合残渣、

。データを統計処理したところ、ジフルフェニカンの分解は一次反応に非常に近似した反応速度式に従うことが示された(両土壌とも相関係数0.992)。砂壌土及び埴壌土における半減期は、温度22°Cでそれぞれ8ヶ月及び6ヶ月であった。

以上の結果より、ジフルフェニカンは、好氣的条件下、温度22°Cでインキュベートした時に、一次反応速度式に従って分解し、その半減期は砂壌土及び埴壌土において、それぞれ8ヶ月及び6ヶ月であった。時間の経過と共に

及び結合残渣を生成した。結合残渣の濃度は、インキュベーションの16週後に一定に達した。ジフルフェニカンは、
の生成を経て
になると考えられた。好気土壌条件下でのジフルフェニカンの想定代謝経路を図3に示す。

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

表 1 各土壌における放射能分布

土壌	画分	インキュベーション時間 (週)							
		0	1	2	4	7	16	32	52
砂 壤 土	揮発性分画 NaOH 捕集液(V)	—	0.10	0.30	2.50	6.40	17.50	31.50	42.80
	土壌抽出物								
	1 回目抽出								
	アセトニトリル	91.95	94.15	93.70	90.80	84.80	69.60	52.45	41.05
	メタノール	2.40	2.20	2.45	2.20	2.15	2.25	1.60	1.75
	2 回目抽出								
	メタノール	—	—	—	—	1.75	2.20	2.25	2.30
	水	—	—	—	—	0.40	0.40	0.30	0.50
	抽出放射能合計(E)	94.35	96.35	96.15	93.00	89.10	74.45	56.60	45.60
	結合残渣 (B)	0.15	1.55	2.30	4.15	6.35	11.05	12.70	12.75
総回収率 (V+E+B)	94.50	98.00	98.75	99.65	101.85	103.00	100.80	101.15	
埴 壤 土	揮発性分画 NaOH 捕集液(V)	—	0.10	0.30	2.50	6.40	18.90	38.40	51.20
	土壌抽出物								
	1 回目抽出								
	アセトニトリル	92.15	91.95	91.90	85.15	77.10	51.40	33.75	21.45
	メタノール	1.90	2.50	3.15	3.25	2.95	3.65	2.65	2.00
	2 回目抽出								
	メタノール	—	—	—	—	3.65	4.80	4.35	3.50
	水	—	—	—	—	1.65	2.85	1.30	0.60
	抽出放射能合計(E)	94.05	94.45	95.05	88.40	85.35	62.70	42.05	27.55
	結合残渣 (B)	0.05	2.80	3.55	7.40	8.30	18.85	19.05	18.45
総回収率 (V+E+B)	94.10	97.35	98.90	98.30	100.05	100.45	99.50	97.20	

数値は投与放射能に対する割合で、2 反復の平均値

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。

表2 各土壌における代謝物の生成

土壌	インキュベーション時間(週)	抽出物合計	ジフルフェニカン [A]					
砂壌土	0	%TAR	94.4	93.5				
		mg/kg	2.36	2.33				
	1	%TAR	96.4	95.1				
		mg/kg	2.41	2.37				
	2	%TAR	96.1	94.7				
		mg/kg	2.40	2.36				
	4	%TAR	93.0	90.4				
		mg/kg	2.32	2.26				
	7	%TAR	89.1	84.1				
		mg/kg	2.23	2.10				
	16	%TAR	74.4	69.4				
		mg/kg	1.86	1.73				
	32	%TAR	56.6	53.2				
		mg/kg	1.42	1.33				
52	%TAR	45.6	40.6					
	mg/kg	1.14	1.00					
埴壌土	0	%TAR	94.1	92.6				
		mg/kg	2.35	2.31				
	1	%TAR	94.4	93.5				
		mg/kg	2.36	2.33				
	2	%TAR	95.0	94.2				
		mg/kg	2.37	2.35				
	4	%TAR	88.4	85.8				
		mg/kg	2.21	2.15				
	7	%TAR	85.3	76.9				
		mg/kg	2.13	1.92				
	16	%TAR	62.7	51.1				
		mg/kg	1.57	1.28				
	32	%TAR	42.0	35.1				
		mg/kg	1.05	0.88				
52	%TAR	27.6	21.9					
	mg/kg	0.69	0.55					

数値は2反復の平均値

%TARは投与放射能に対する割合(%)

表3 結合残渣の特性

土壌	砂壌土				埴壌土				
	インキュベーション時間(週)	7	16	32	52	7	16	32	52
結合残渣合計		6.4	11.1	12.7	12.8	8.3	18.9	19.1	18.5
フミン画分		0.8	1.3	2.3	2.0	4.0	7.6	11.6	9.9
フルボ酸画分		2.3	3.1	3.9	4.2	2.6	5.0	5.3	4.1
フミン酸画分		2.4	4.1	5.4	6.3	1.7	3.9	5.1	5.9

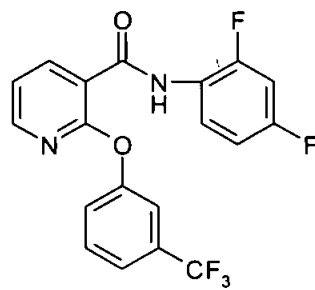
数値は投与放射能に対する割合で、2反復の平均値

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。

図 1

図 2

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。



ジフルフェニカン[A]

図3 好気土壌条件下におけるジフルフェニカンの想定代謝経路

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. 水中運命試験

1) ¹⁴C-ジフルフェニカンの加水分解運命試験

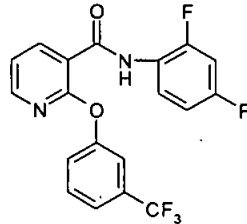
(資料No.代14)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名： 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度：

比放射能：

供試水：

オートクレーブ滅菌した pH 5、7 及び 9 の緩衝液

緩衝液組成：

pH 5： 0.021M 水酸化ナトリウム	0.043M フタル酸水素カリウム
pH 7： 0.0088M リン酸水素二ナトリウム	0.0083M リン酸二水素一カリウム
pH 9： 0.0195M 水酸化ナトリウム	0.1M ホウ酸 0.05M 塩化カリウム

試験方法：

¹⁴C-ジフルフェニカンをアセトニトリルに溶解し、5ppm 溶液を調製した。この溶液 4mL を滅菌した各緩衝液 1996mL に添加し、攪拌した(¹⁴C-ジフルフェニカン濃度 0.01mg/L、アセトニトリル濃度 0.2%)。約 22°C、暗黒下でインキュベートし、処理後 0、1、3、7、14、21 及び 30 日に試料を採取した。

各試料は液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。また、試料をジクロロメタンで抽出後、薄層クロマトグラフィー(TLC)を行い、加水分解物中の成分を定量した。また 30 日後に残った緩衝液を用いてジクロロメタンによる抽出効率を調べ、更に、各 pH で得られた抽出液を濃縮後、HPLC 及び GC/MS により分析した。

薄層クロマトグラフィー分析：

処理後 0、1、3、7、14、21 及び 30 日の加水分解物抽出液と、30 日後残存緩衝液の濃縮抽出液を、各溶媒系 [(トルエン/メタノール/アセトン/氷酢酸 (70/20/5/0.5, v/v)、クロロホルム/メタノール/アンモニア水(90/9/1, v/v)及びジクロロメタン/酢酸エチル(4/1, v/v)]を用い、TLC 分析を実施した。

高速液体クロマトグラフィー分析：

30 日後残存緩衝液の濃縮抽出液を用いて HPLC を実施した。
移動相としてメタノール/アセトニトリル/水 (40/30/30, v/v)を用いた。

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。

ガスクロマトグラフィー/質量分析；

30日後残存緩衝液の濃縮抽出液について、GC/MSを用いて¹⁴C-ジフルフェニカンの有無を調べた。

試験結果：

総放射能；

各採取時点における総放射能を0日目の総放射能に対する比率(%)として計算し、これに基づいて¹⁴C-ジフルフェニカン当量(μg/mL)を求めた。結果を表1に示す。

各緩衝液中の総放射能は試験期間を通じて一定で、放射化学的平衡が認められた。

表1 総放射能の推移

試験水	経過日数	総放射能割合 (%) ^{a)}	ジフルフェニカン当量 (μg/mL)
pH 5	0	100.0	0.0103
	1	100.1	0.0103
	3	99.1	0.0103
	7	97.6	0.0101
	14	98.1	0.0101
	21	100.2	0.0103
	30	95.2	0.0098
pH 7	0	100.0	0.0103
	1	98.9	0.0102
	3	99.8	0.0103
	7	99.5	0.0103
	14	99.3	0.0103
	21	99.2	0.0102
	30	94.2	0.0097
pH 9	0	100.0	0.0103
	1	100.7	0.0102
	3	100.9	0.0103
	7	101.0	0.0103
	14	100.3	0.0103
	21	100.0	0.0102
	30	99.1	0.0097

数値は3反復の平均値

a) 0日目の総放射能に対する割合

溶媒抽出による放射能回収率；

ジクロロメタンによる水相からの放射能の回収率は、いずれについても定量的であった。

加水分解物；

0~30日目の試料及び30日後に濃縮した試料の加水分解物には、TLC及びHPLC分析により、¹⁴C-ジフルフェニカンの移動度及びクロマトグラフィー特性に類似した単一成分が含まれることが示された。

ガスクロマトグラフィー/質量分析；

pH 5、7及び9の30日目の試料中の加水分解物のGC/MSでは、それぞれ保持時間19.4分のピークが認められた。

このピークの質量スペクトルでは¹⁴C-ジフルフェニカンを示唆するイオンが認められ、単一成分は¹⁴C-ジフルフェニカンであると考えられた。

濃度0.01 mg/L、pH 5、7及び9、約22°C、暗黒下の条件で¹⁴C-ジフルフェニカン水溶液の加水分解について試験した結果、¹⁴C-ジフルフェニカンはいずれのpHにおいても、30日間の試験期間を通じて、加水分解に対して安定であることが示された。

2) ¹⁴C-ジフルフェニカンの水中光分解運命試験 (滅菌緩衝液) - 1

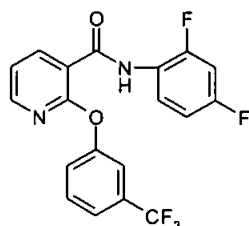
(資料 No.代 15)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

比放射能；

供試水：

オートクレーブ滅菌した pH 9 緩衝液

緩衝液	組成	mL
pH 9	12.36gホウ酸を含む0.1M塩化ナトリウム溶液	2000
	0.1M水酸化ナトリウム 溶液	780
	蒸留水	1220

光源：

300~450nm の放射スペクトルの Blacklight Blue 蛍光灯 a (最大放射 350 nm、量子量 1×10^{17} quanta/min)。

スペクトルエネルギー分布は太陽光線にほぼ一致。

試験方法：

¹⁴C-ジフルフェニカンをアセトニトリルに溶解し、5ppm 溶液を調製した。この溶液 3mL を滅菌した緩衝液 1497mL に添加し、攪拌した(¹⁴C-ジフルフェニカン濃度 0.01mg/L、アセトニトリル濃度 0.2%)。揮発性物質を捕集するため反応槽にトラップを付け、室温を約 22°C に制御した暗室で 30 日間連続照射した。非照射区は、反応槽をアルミホイルで包んで遮光し、実施した。

放射能測定；

0、1、3、7、14、21 及び 30 日目に、照射区及び非照射区の緩衝液中の放射能を液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。また、30 日目に揮発性成分捕集液中の放射能を LSC で測定した。

光分解物成分測定；

光分解物成分を測定するため照射区及び非照射区の試料をジクロロメタンで抽出し薄層クロマトグラフィー(TLC)を実施した。TLC は、トルエン/メタノール/アセトン/氷酢酸 (70/20/5/0.5, v/v)の酸性溶媒、及びクロロホルム/メタノール/アンモニア水 (90/9/1, v/v)の塩基性溶媒を用いて実施した。

30 日間照射後の残存緩衝液についてもジクロロメタンで抽出し、TLC 及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を行った。また HPLC により分離した放射性成分についてはガスクロ

マトグラフィー/質量分析 (GC/MS)を実施した。TLC 及び HPLC において、ジフルフェニカン[A]、及び を標準物質として用いた。

試験結果：

放射能測定；

照射区及び非照射区の各採取時点における放射エネルギーを、初期総放射能に対する比率 (%)として計算し、これに基づいて ^{14}C -ジフルフェニカン当量 ($\mu\text{g/mL}$)を求めた。結果を表 1 に示す。

各緩衝液中の総放射能は試験期間を通じて一定で、揮発性成分に放射能はほとんど検出されなかった。

表 1 試験溶液中放射能の推移

経過 日数	照射区		非照射区	
	総放射能割合 (%) ^{a)}	ジフルフェニカン当量 ($\mu\text{g/mL}$)	総放射能割合 (%) ^{b)}	ジフルフェニカン当量 ($\mu\text{g/mL}$)
0	100.0	0.0106	-	0.0124
1	101.6	0.0107	100.0	0.0108
3	101.2	0.0107	96.8	0.0104
7	101.9	0.0108	95.9	0.0103
14	97.2	0.0103	95.3	0.0102
21	98.3	0.0104	95.1	0.0102
30	97.4	0.0103	96.5	0.0104

数値は 3 反復の平均値

a) 0 日後の放射能に対する割合

b) 1 日後の放射能に対する割合

光分解物成分測定；

薄層クロマトグラフィー

照射区の光分解物抽出液には ^{14}C -ジフルフェニカンの移動度に類似した主要成分と、3 日目に出現する 2 つの光分解物が含まれることが示された。30 日目残存緩衝液濃縮抽出液には ^{14}C -ジフルフェニカンの移動度に類似した主要成分と、酸性移動相で 0.73 と 0.77、塩基性移動相で 0.55 と 0.86 の移動度を示す 2 つの光分解物が含まれることが示された。非照射区において、光分解物抽出液及び 30 日目の残存緩衝液の濃縮抽出液には、 ^{14}C -ジフルフェニカンの移動度に類似した単一成分が含まれていた。

高速液体クロマトグラフィー

照射区の 30 日目の残存緩衝液の濃縮抽出液には、
が含まれることが示された。この 80%の成分と非照射区の 30 日目の残存緩衝液に認められた単一成分は、HPLC において ^{14}C -ジフルフェニカンに類似したクロマトグラフィー特性を示した。

ガスクロマトグラフィー/質量分析

30 日目の残存照射緩衝液の主要成分と非照射区の 30 日目の残存緩衝液の単一成分の GC/MS は、 ^{14}C -ジフルフェニカン標準物質の GC/MS と一致したことから、これらの成分は ^{14}C -ジフルフェニカンであると考えられた。

30 日目の残存照射緩衝液において認められたその他の成分については、少量のためスペクトルデータから解析することはできなかった。

光分解物の推定

標準物質の TLC におけるジフルフェニカンに対する相対移動度、及び HPLC の保持時間を表 2 に比較した。

表 2 標準物質の TLC における移動度及び HPLC における保持時間

標準物質	TLC 酸性移動相 ^{a)}	TLC 塩基性移動相 ^{a)}	HPLC 保持時間 (分)
ジフルフェニカン[A]	1	1	47.7

a) ジフルフェニカンに対する相対移動度

これらの移動度、保持時間の比較から、30 日目の残存照射緩衝液に検出された総放射能の 11% に相当する成分は であると考えられ、これは今回の試験条件下で、¹⁴C-ジフルフェニカンの により形成されるものと推定された。

¹⁴C-ジフルフェニカン半減期の推定

酸性移動相を用いた TLC により測定した照射光分解物中の ¹⁴C-ジフルフェニカン残存量を表 3 に示した。

表 3 ¹⁴C-ジフルフェニカン残存率

経過日数	¹⁴ C-ジフルフェニカン残存率(%)
0	100
1	97.80
3	96.89
7	93.85
14	88.98
21	85.98
30	80.94

数値は 2 反復の平均値

時間に対して ¹⁴C-ジフルフェニカンの対数をプロットしてグラフを作成し、その勾配より ¹⁴C-ジフルフェニカンの半減期を求めたところ、102 日であった。

一方、HPLC により測定した 30 日目残存照射緩衝液の濃縮抽出液中の ¹⁴C-ジフルフェニカンの量は 79.82% であり、同様に ¹⁴C-ジフルフェニカンの半減期を算出すると、92 日であった。

上記の結果の平均値から、¹⁴C-ジフルフェニカンの半減期は約 97 日と推定された。

¹⁴C-ジフルフェニカン濃度 0.01 mg/L で pH 9 緩衝液中、300~450nm の光を連続的に 30 日間照射したところ、3 つの光分解物が得られることが示された。30 日間の照射後における ¹⁴C-ジフルフェニカンは検出された総放射能の 80% を占め、ジフルフェニカンの半減期は約 97 日であった。なお、揮発性の光分解物は認められなかった。30 日目に検出された総放射能の 11% を占める主要光分解物は、 と推定された。非照射区では分解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。

3) ^{14}C -ジフルフェニカンの中水光分解運命試験 (滅菌緩衝液)-2

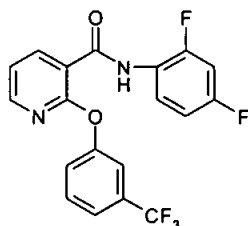
(資料 No.代 16)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式；



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチン酸ニトリド
(以下 ^{14}C -ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試水：

pH 7 (加水分解において分解が認められない pH) 緩衝液。6.8g のリン酸二水素カリウムを 2L の蒸留水に溶解し、1M 水酸化カリウム溶液で pH 7.0 \pm 0.05 に調整したもの。使用前に 0.22 μm のフィルターでろ過滅菌した。

光源：

光源； キセノンランプ (290nm 以下の波長を除去)

光照射強度； 336W/m² (290~800nm)、37.8W/m² (300~400nm)

試験方法：

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。

試験に先立ち、試験容器/器具はオートクレーブで滅菌処理した。

光分解運命試験；

被験物質の処理

試験溶液は、 ^{14}C -ジフルフェニカン/アセトニトリル溶液 (3.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 389 μL を緩衝液 60mL に加えて 0.025mg/L (アセトニトリル濃度 0.6%) になるよう調製した。これは水溶解度 (0.05mg/L) の 2 分の 1 である。

インキュベーション

光照射区

試験温度： 25 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$

試験容器： ガラス製 (入射光面は石英製)

光照射： キセノンランプを組み込んだ Heraeus Suntest CPS+ から、光を連続的に照射した。

非照射区

試験温度： 25 $^{\circ}\text{C}$ (設定温度)

試験容器： ガラス製、黒のプラスチックシートで遮光した。

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。

各容器には二酸化炭素を含まない無菌空気を通気し、揮発性分解物の捕集のため、エチレングリコールトラップ、それに続き水酸化カリウムの2つのトラップを接続した。

量子収量試験；

ピリジン 185.5mg に、アクチノメーター溶液 (4-ニトロアセトフェノン 0.0137mg/mL アセトニトリル溶液) 450 μ L を加え、無菌 pH 7 緩衝液で 100mL に定容した。この溶液 60mL を光照射区、残りを非照射区として、インキュベートした。

試料採取；

光照射区及び非照射区： 0、16時間、1、2、3、4、7、8、9、11、14及び17日後
(0日目のみ2試料採取。16時間後は光照射区のみ採取。)

量子収量試験： 照射前、1、2、3、6、7、8、10、13及び17日後

採取試料の分析；

光分解運命試験

各時点で採取した試験水 (試験容器の洗浄液を含む)及びトラップ中の放射能を、液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

また、試験水中の放射性成分の組成に関しては、薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いて分析し、最終日の試料中のジフルフェニカン は HPLC を用いて確認した。

量子収量試験

HPLC で分析した。

無菌状態の確認；

特定の時点の試料を採取して栄養培地に添加し、それを培養することにより、無菌状態の維持について確認した。

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：

放射能収支；

各試料採取時点における光照射区及び非照射区の放射能回収率を表1に示す。

表1 放射能の分布及び回収率

採取時点		処理放射能に対する割合 (%)					
サテテスト 時間	太陽光 換算日数 ^{a)}	光照射区			非照射区		
		試験水	揮発性物質	回収率	試験水	揮発性物質	回収率
0日	0日	99.5	0.0	99.5	99.5	0.0	99.5
0日	0日	100.9	0.0	100.9	100.9	0.0	100.9
16時間	3.8日	107.6	0.3	108.0	採取せず		
1日	4.9日	93.6	0.3	93.9	92.4	0.5	92.9
2日	9.6日	96.2	0.1	96.3	93.2	0.2	93.4
3日	14.4日	106.0	1.2	107.2	97.0	0.4	97.4
4日	19.0日	96.1	0.6	96.7	95.8	0.6	96.5
7日	32.7日	95.1	0.5	95.6	98.8	0.5	99.3
8日	38.1日	95.4	0.8	96.2	94.4	1.6	96.0
9日	42.1日	96.1	1.3	97.4	93.2	0.4	93.6
11日	52.8日	102.6	1.7	104.3	96.6	0.5	97.1
14日	66.1日	98.5	3.0	101.5	91.4	0.5	91.9
17日	81.5日	100.3	2.1	102.4	93.6	0.3	93.9
				平均回収率 100.0%	平均回収率 96.0%		

a) 北緯 35°、春期太陽光換算

試験期間を通じて、光照射区及び非照射区とも放射能の回収率は90%以上であった。揮発性分解物の生成量は、処理放射能に対して光照射区で3%以下、非照射区で1.6%以下の少量であった。

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。

分解物の定量及び同定；

各試料採取時点における分解物の生成量を処理放射能に対する割合として表 2 に示す。

表 2 分解物の処理放射能に対する割合

採取 時点 (サンテスト 時間)	処理放射能に対する割合 (%)											
	光照射区						非照射区					
	ジフル フェニカン [A]						ジフル フェニカン [A]					
0日	99.5						99.5					
0日	96.2						96.2					
16時間	98.5											
1日	99.7						99.1					
2日	99.1						99.8					
3日	98.8						99.6					
4日	98.5						99.1					
7日	95.4						99.5					
8日	96.7						98.4					
9日 ^{b)}	98.7						96.8					
11日	95.1						99.5					
14日	90.2						99.5					
17日	92.1						99.7					

nd：検出限界未満

a) 個々の値は処理放射能の 4%未満。

b) 9日の非照射区の試料は、無菌性が損なわれていた。

光照射区において、ジフルフェニカン[A]は徐々に減少して照射 7 日には 95.4%となった。
 がいずれも約 2%以下の少量生
 成した。また、
 認められたが、いずれも 4%未満であった。
 非照射区では、ジフルフェニカン[A]はほとんど減少せず、処理 7 日後で 99.5%であった。

推定半減期；

ジフルフェニカンの半減期 (DT₅₀)及び DT₉₀ を、一次反応速度式を用いて算出した。結果
 を表 3 に示す。

表 3 ジフルフェニカンの推定半減期

	DT ₅₀	DT ₉₀
実験条件下 (サンテスト時間)	133 日	1.2 年
北緯 35°、春期太陽光換算	1.8 年	5.9 年

量子収量；

ジフルフェニカンの緩衝液 pH 7 中での量子収量は 2.75×10^{-5} 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。

4) ¹⁴C-ジフルフェニカンの水中光分解運命試験 (自然水)

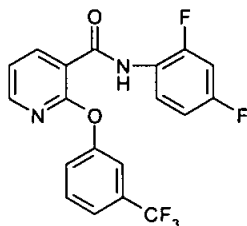
(資料No.代17)

試験機関:

報告書作成年:

供試標識化合物:

構造式:



化学名: 2',4'-ジフルオロ-2-(α, α, α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度:

比放射能:

供試水: 自然水

採取場所: Boarded Barns Farm, Fyfield Road, Ongar, Essex の Roding 川 (イギリス)

採取年月日: 2002年9月20日

pH: 8.2

滅菌: 0.22 μ m のフィルターでろ過滅菌

光源:

光源: キセノンランプ (290nm 以下の波長を除去)

光照射強度: 336W/m² (290~800nm)、37.8W/m² (300~400nm)

試験方法:

試験に先立ち、試験容器/器具はオートクレーブで滅菌処理した。

被験物質の処理:

試験溶液は、¹⁴C-ジフルフェニカン/アセトニトリル溶液 (2.75 μ g/mL) 600 μ L を自然水 60mL に加えて 0.0275mg/L (アセトニトリル濃度 1%) になるよう調製した。液体シンチレーションカウンターによる放射能測定の結果、実際の濃度は 0.0267mg/L であった。これは水溶解度 (0.05mg/L) の約 2 分の 1 である。

インキュベーション:

光照射区

試験温度: 25 \pm 2 $^{\circ}$ C

試験容器: ガラス製 (入射光面は石英製)

光照射: キセノンランプを組み込んだ Heraeus Suntest CPS+ から、光を連続的に照射した。

非照射区

試験温度: 25 $^{\circ}$ C (設定温度)

試験容器: ガラス製、黒のプラスチックシートで遮光した。

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。

各容器には二酸化炭素を含まない無菌空気を通気し、揮発性分解物の捕集のため、エチレングリコールトラップ、それに続き水酸化カリウムの2つのトラップを接続した。

試料採取；

照射区及び非照射区：0、1、2、6、7、8、9、10、13、14、15及び17日後

(0日目のみ2試料採取)

分析；

総放射能測定

各時点で採取した試験水 (試験容器の洗浄液を含む)及びトラップ中の放射能を、液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

TLC分析

各時点で採取した試験水の一部をジクロロメタンを用いて抽出した後に濃縮し、TLC分析した。

また、ジクロロメタンによる抽出及び濃縮工程における放射能回収率について確認した。

HPLC分析

選択した2時点における分解物について、HPLCを用いて同定、確認した。

LC/MS分析

HPLCにより同定された分解物をLC/MSによるマススペクトル分析により確認した。

無菌状態の確認；

特定の時点の試料を採取して栄養培地に添加し、それを培養することにより、無菌状態の維持について確認した。

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：

放射能収支；

各試料採取時点における光照射区及び非照射区の放射能回収率を表1に示す。

表1 放射能の分布及び回収率

採取時点		処理放射能に対する割合 (%)					
サンテスト 時間	太陽光 換算日数 ^{a)}	光照射区			非照射区		
		試験水	揮発性物質	回収率	試験水	揮発性物質	回収率
0日	0日	96.4	n/a	96.4	96.4	n/a	96.4
0日	0日	96.8	n/a	96.8	96.8	n/a	96.8
1日	4.6日	100.6	0.0	100.7	98.4	0.0	98.4
2日	9.2日	103.2	0.1	103.4	101.2	0.1	101.4
6日	28.0日	97.4	0.3	97.7	91.8	0.1	91.9
7日	33.6日	96.8	0.2	97.1	92.4	0.2	92.6
8日	38.0日	94.4	0.3	94.7	92.9	0.0	92.9
9日	42.3日	97.6	0.2	97.8	92.5	0.2	92.7
10日	47.2日	95.1	0.7	95.9	96.9	0.1	97.0
13日	62.2日	89.6	1.1	90.7	87.4	0.1	87.5
14日	66.5日	95.6	0.8	96.3	93.9	0.2	94.1
15日	72.1日	98.1	0.9	99.0	95.7	0.3	96.0
17日	81.5日	99.0	1.0	100.0	99.8	0.2	100.0
		平均回収率 97.4%			平均回収率 95.2%		

n/a 分析せず

a) 北緯 35°、春期太陽光換算

試験期間を通じて、光照射区及び非照射区とも放射能の回収率は90%以上であった。揮発性分解物の生成量は、処理放射能に対して光照射区で1.1%以下、非照射区で0.3%以下の少量であった。

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。

分析工程における回収率；

ジクロロメタンによる水相からの放射能の回収率、及びジクロロメタン抽出液の濃縮工程における放射能回収率を表 2 に示す。

表 2 ジクロロメタン抽出及び濃縮工程における回収率

採取時点		回収率 (%)			
サンプリング 時間	太陽光 換算日数 ^{a)}	照射区		非照射区	
		抽出	濃縮	抽出	濃縮
0日	0日	98.3	87.2	98.3	87.2
0日	0日	97.3	94.6	97.3	94.6
1日	4.6日	96.4	97.6	96.7	81.2
2日	9.2日	92.9	99.3	99.6	98.4
6日	28.0日	93.1	100.9	96.7	99.7
7日	33.6日	93.7	102.8	100.3	100.3
8日	38.0日	92.7	100.0	101.6	103.1
9日	42.3日	95.3	100.4	101.9	97.4
10日	47.2日	96.6	95.5	101.9	96.4
13日	62.2日	94.9	99.7	99.8	101.8
14日	66.5日	93.2	99.2	98.9	101.3
15日	72.1日	92.9	100.9	97.0	103.4
17日	81.5日	94.4	91.4	95.0	101.4
平均回収率		94.7	97.7	98.8	97.4

a) 北緯 35°、春期太陽光換算

試験期間を通じて、照射区の抽出における回収率は水試料中の 90%以上、濃縮における回収率も最初の 1 時点を除き抽出液中の 90%以上であった。非照射区における各回収率も同様の結果であった。従って、本試験の分析工程における放射能の有意な損失は無かったと考えられた。

分解物の定量及び同定；

LC/MS による分析から、親化合物ジフルフェニカン[A]及び が同定され
た。また標準物質とのクロマトグラフィーにより、照射区において
が、非照射区において が認められた。

各試料採取時点における分解物の生成量を表 3 に示す。なお、本試験で用いた放射能 TLC は、放射能 HPLC と比して S/N 比が優れていたため、分解物の生成量はラジオ TLC の値を採用した。

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。

表3 分解物の処理放射能に対する割合

採取 時点 (サンテスト 時間)	水中総放射能に対する割合 (%)											
	照射区						非照射区					
	ジフル フェニカン [A]						ジフル フェニカン [A]					
0日	100.0						100.0					
0日	100.0						100.0					
1日	99.0						99.4					
2日	98.9						99.9					
6日	96.5						99.9					
7日	95.7						99.8					
8日	95.5						100.0					
9日	93.2						99.8					
10日	90.7						99.9					
13日	87.4						99.9					
14日	87.3						99.8					
15日	87.9						99.7					
17日	87.7						99.8					

nd : 検出限界未満

a) 個々の値は処理放射能の2%未満。

照射区において、ジフルフェニカン[A]は徐々に減少して、照射7日(太陽光換算日数約34日相当)には95.7%となった。生成した分解物は試験期間を通じて何れも水中総放射能の10%未満であった。主な分解物として が同定され、照射7日後で約4%生成した。

非照射区では、ジフルフェニカン[A]は安定であり、分解物はほとんど検出されなかった。

推定半減期 ;

ジフルフェニカンの半減期 (DT₅₀)及びDT₉₀を、一次反応速度式を用いて算出した。結果を表4に示す。

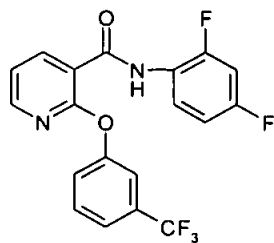
表4 ジフルフェニカンの推定半減期

	DT ₅₀	DT ₉₀
実験条件下 (サンテスト時間)	80 日	265 日
北緯 35°、春期太陽光換算	388 日 (1.1 年)	1289 日 (3.5 年)

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。

推定分解経路；

図1に申請者が推定したジフルフェニカンの自然水中における光分解経路を示す。



ジフルフェニカン[A]

図1 ジフルフェニカンの自然水中における推定光分解経路

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。

5. 土壌吸着性試験

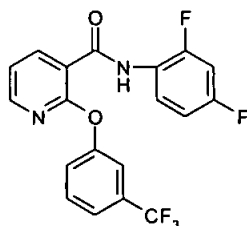
(資料No.代18)

試験機関：

報告書作成年：

供試化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α, α, α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド

純度；

試験土壌：

項目	I	II	III	IV
土壌群名	細粒黄色土	細粒グライ土	褐色火山灰土壌	中粗粒黄色土
採取場所	福島植防郡山	石川植防試験地	日植防研牛久	岡山農試
土性	CL	LiC	SiCL	SCL
砂 (%)	53.4	53.1	26.2	60.5
シルト (%)	22.8	19.6	50.9	17.5
粘土 (%)	23.8	27.3	22.9	22.0
有機炭素含有率 (%)	1.08	1.02	3.61	0.69
pH H ₂ O	7.6	7.1	7.7	6.7
KCl	6.7	5.8	6.9	5.5
陽イオン交換容量 (meq/100g)	13.5	20.3	21.4	8.7
リン酸吸収係数 (mg/kg)	540	720	2000	350
粘土鉱物の種類	カオリン鉱物 パーミキュライト	カオリン鉱物 モンモリロナイト	アロフェン パーミキュライト	ハロイイト

試験方法：

OECD テストガイドライン(106 吸着/脱着)に従って実施した。

(1) 吸着平衡化試験

ジフルフェニカンを 0.01M の CaCl₂ 溶液に溶解して 0.033ppm 試験溶液を調製する。

あらかじめ遠沈管内に試験土壌 (風乾細土) 5g を秤り取り、純水 5mL を加え、一夜放置する。上記試験溶液 20mL を遠沈管内に加えて密栓後 (試験濃度約 0.03ppm)、恒温槽内(25 ± 1°C)で 4、6、8、16 及び 24 時間振とう後、3000rpm で 15 分間遠心分離を行い、上清と土壌画分に分離する。

上清をヘキサンで抽出後、ガスクロマトグラフィーで定量する。

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

(2) 物質収支

吸着平衡化試験の24時間後の土壌画分をアセトンで抽出し、ヘキサン転溶する。フロリジ
ルカラムクロマトグラフィーで精製後、ガスクロマトグラフィーで定量する。

物質収支は平均で74.2~84.1%であった。

結果：

吸着平衡化試験を試みたところ、ジフルフェニカン塩化カルシウム溶液に対する溶解度が低
く、又、土壌吸着性も強く水層に残存する濃度は検出限界値と同レベルであったため、以降の
高次試験の実施が不可能であった。

参考までに、物質収支で求めた土壌及び水相濃度 (検出限界付近値)より Kd 値を求めた。

表1 各土壌における吸着係数(Kd)及び物質収支 (24時間平衡化)

試験 土壌	初期 添加量 (μg)	土壌		水相		Kd	物質収支 (%)
		吸着量 (μg)	濃度 (ppm)	残存量 (μg)	濃度 (ppm)		
I	0.66	0.502	0.102	0.033	0.0013	82	80
II	0.66	0.562	0.117	<0.01	<0.0007	—	84
III	0.66	0.479	0.109	0.020	0.0008	146	74
IV	0.66	0.506	0.103	0.051	0.0020	53	83

値は2反復の平均値

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。

6. 生物濃縮性に関する試験

魚類濃縮性試験

(資料 No.代-19)

試験機関：

報告書作成年：1998年[GLP]

被験物質：[¹⁴C]-標識ジフルフェニカン（ ）比活性
及び非標識ジフルフェニカン（ ）

供試生物：ニジマス(学名 *Oncorhynchus mykiss*)

各サンプリング時毎に1群各5匹、13週齢、試験開始日体重：1.1-1.5g

方法：

暴露条件；連続流水式。試験容器は60L容量ガラスタンクを、希釈水は炭ろ過脱塩素した水道水を用いた。

試験期間；28日間コイに暴露し、その後14日間回復（排泄）期間を設けた。

試験濃度区；設定濃度0.3及び3.0µg a.i./L

試験液の調製；被験物質を3.15及び31.5µg/mLの設定濃度でN,N-ジメチルホルムアミドに溶解しストック溶液を調製した。これを注入ポンプを用いて希釈水と混合した。ストック溶液の流入速度は28.56mL/タンク/日、希釈水の流入速度は300L/タンク/日でありDMFの最終濃度は約0.1g/Lであった。対照区は、希釈水は水槽に入る前にDMFを混合した。

環境条件；水温13.4-15.9°C、pH7.3-8.1、溶存酸素60%以上、室内蛍光灯による明暗サイクル16時間明、8時間暗

観察及び測定；

魚の生死及び症状；毎日観察した。

試験水の測定；予備平衡化段階の最後の3日間、取込期間中の毎日、及び排泄期間の1、3、7及び14日に、総放射能を分析した。放射能の性状を、取込期間の0、7、14、21及び28日に、採取した。

魚体の測定；取込期間の1、3、7、14、21及び28日と、排泄期間の1、3、7、10及び14日、5匹の魚を採取し総放射能を測定した。放射能の性状は、取込期間の14、21及び28日目に各試験水槽から10匹の魚を採取し分析した。

魚体中の脂質含量測定；取込期間の1、3、7、14、21及び28日と、排泄期間の1、3、7、10及び脂質含量の分析のため、取込期間の7、14、21及び28日目に対照水槽から5匹の魚を採取した。

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。

結果：暴露に関連した所見はみられなかった。以下に濃縮性に関する結果を示す。

(1) 魚体中の被験物質濃度 (µg a.i.相当/g)

試験区 (µg a.i./L)		取込期間 (日)						排泄期間 (日)				
		1	3	7	14	21	28	1	3	7	10	14
0.3	可食部	0.093	0.160	0.159	0.279	0.292	0.269	0.206	0.079	0.040	0.015	0.006
	非可食部	0.261	0.308	0.514	0.649	0.638	0.626	0.489	0.221	0.103	0.041	0.015
	魚体全体	0.168	0.231	0.323	0.432	0.432	0.429	0.327	0.138	0.070	0.025	0.010
3.0	可食部	1.245	2.266	2.246	3.206	3.450	3.118	2.797	1.989	0.604	0.315	0.074
	非可食部	2.422	3.957	4.613	6.478	6.134	6.347	5.384	4.698	1.416	0.777	0.190
	魚体全体	1.758	3.047	3.331	4.758	4.576	4.439	3.857	3.228	0.939	0.526	0.123

数値は5匹の平均値

魚体中の放射能濃度は、14日目には定常状態に到達した。また定常状態濃度の90%到達時間は各部位とも7.8-8.0日の範囲であった。

放射能の排泄は速く、排泄の半減期は各組織とも2.3-2.4日の範囲であり、14日の排泄後に、97%以上が排泄された。

(2) 試験水中の被験物質濃度 (µg a.i.相当/L)

試験期間	日	0.3µg a.i./L 区	3.0µg a.i./L 区
取 込 み 期 間	0	0.31	3.10
	1	0.22	2.18
	2	0.28	2.69
	3	0.37	2.76
	4	0.34	3.13
	5	0.37	2.69
	6	0.33	2.89
	7	0.30	3.05
	8	0.36	3.63
	9	0.30	3.02
	10	0.37	3.16
	11	0.33	3.18
	12	0.37	3.22
	13	0.33	2.96
	14	0.34	3.24
	15	0.32	3.09
	16	0.37	3.29
	17	0.27	3.49
	18	0.39	3.17
	19	0.32	3.20
	20	0.34	3.14
	21	0.29	2.74
	22	0.30	2.90
	23	0.32	2.84
	24	0.34	2.95
	25	0.39	3.13
	26	0.34	3.25
	27	0.35	2.83
28	0.32	3.00	
排 泄 期 間	1	0.07	0.74
	3	ND	0.40
	7	ND	0.23
	14	ND	ND

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) 濃縮係数

① BCF_{ss} (14~28日)

試験区 (µg a.i./L)	魚体中濃度		水中濃度	濃縮係数*	
	可食部	非可食部		可食部	非可食部
0.3	0.265	0.573	0.00029	910	1969
3.0	3.350	6.016	0.00291	1159	2072

*各測定時点毎の平均であるため、平均魚体中濃度/平均水中濃度の結果と多少異なる。

② BCF_k

試験区 (µg a.i./L)	取込速度定数(k ₁)			排泄速度定数(k ₂)			濃縮係数*		
	可食部	非可食部	全体	可食部	非可食部	全体	可食部	非可食部	全体
0.3	230	552	379	0.289	0.290	0.298	798	1906	1276
3.0	266	463	356	0.238	0.209	0.223	1118	2214	1596

*有効数字の表記から、k₁/k₂の結果と多少異なる。

(4) 脂質含量

7-28日の曝露期間に採取された魚組織の脂質含量は、BlighとDyerの方法の改良法で測定した。28日間の平均を以下に示す。

部位	%(w/w : 魚体生重量換算)
可食部	3.57
非可食部	6.23
魚体全体*	4.90

* = 魚体全体の脂質含量は各部位の結果から求めた。

E.G. Bligh & W. J. Dyer : A rapid method of total lipid extraction and purification, Can. J. Biochem. & Physiol., 37, 911 (1959)

(5) 放射性残留の解析

取り込み28日目に採取された魚組織中の放射性残留を抽出しHPLCにて分析した結果、大部分が親化合物であった。結果を以下に示す。

試験区 (µg a.i./L)	0.3		3.0	
	可食部	非可食部	可食部	非可食部
放射性画分				
親化合物	86.2	87.1	103.3	100.6
未同定1	ND	ND	ND	0.8
アセトリル抽出画分	ND	ND	ND	2.5
水+アセトリル抽出画分	7.4	2.2	2.2	0.8
非抽出性画分	10.7	2.9	2.9	2.1
合計	104.3	92.2	108.4	106.8

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。

代謝のまとめ

の各標識ジフルフェニカンもしくは非標識のジフルフェニカンを用いて、各種代謝試験を実施した。

[動物体内運命試験]

をラットに単回経口投与し、ジフルフェニカンの動物体内運命を検討した。更に を用いて 14 日間反復経口投与試験も実施した。

吸収

胆汁カニューレを挿入したラットにジフルフェニカン単回経口投与すると、投与後 48 時間に、低用量群(5mg/kg)では雄で 49.15%()及び 38.81%()、雌で 34.04%()及び 30.21%()が、高用量群(250mg/kg)では雄で 12.82%()、雌で 14.10%()がそれぞれ胆汁中に排泄された。投与したジフルフェニカンの胃腸管からの吸収率は、低用量群()で約 20~78%、高用量群()で約 10~20%であった。高用量群での吸収率が低いことから、吸収の飽和の可能性が考えられた。

分布

の単回経口投与後の血中放射能は、6~12 時間後に最高値に達した。投与放射能は短時間で広範な組織に分布し、脂肪、肝臓、肺等で放射能濃度が比較的高かった。脂肪、子宮及び卵巣では放射能濃度の低下が認められなかったものの、その他の組織では急速に減衰した。

及び の単回経口投与試験においても、血中放射能は 6~8 時間後に最高値に達し、投与放射能は広範な組織に分布した。放射能濃度は脂肪、腸(内容物を含む)において比較的高かった。

代謝・排泄

単回経口投与されたジフルフェニカンのラット体内における一次代謝は、 の生成、及び の生成であった。その後、 による高次代謝を受けた。投与放射能の 10%を超えて生成した代謝物は、主に糞中で認められた 及び胆汁中で認められた であった。いずれの標識体を投与した場合でも投与後 7 日間で投与放射能の大部分は糞から排泄され(80~97%)、尿からの排泄量は 10%未満であった。糞中の主な放射能は未変化のジフルフェニカン[A]で、投与放射能の 19~75%であった。

反復経口投与

14 日間反復経口投与の結果は単回経口投与の結果と類似しており、反復投与の影響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。

[植物体内運命試験]

標識ジフルフェニカンを土壌処理後に作付け (キャベツ、てんさい、小麦)

及び を用いて、植物体におけるジフルフェニカンの運命を検討した。試験植物としてキャベツ、てんさい(分析部位：根部及び葉部)及び小麦(分析部位：穀粒及びわら)を用い、各標識体を土壌に処理後、12週後に作付けした。

364g/ha の割合で土壌に処理されたジフルフェニカンの植物体への移行量は少なく、総放射能残留は、キャベツで0.003~0.010mg/kg、てんさいの葉部で0.016~0.050mg/kg、てんさいの根部で0.014~0.055mg/kg、小麦の穀粒で0.012~0.037mg/kg、小麦のわらで0.081~0.174mg/kgであった。小麦の穀粒を除く植物体、部位から未変化のジフルフェニカン[A]が検出されたが、その量はいずれも0.01mg/kg未満であった。 以外に0.01mg/kg以上検出された代謝物は、てんさいの葉部及び根部で認められた

化合物(根部で最大0.03mg/kg)のみであった。その他に、 及び が少量検出された。

標識ジフルフェニカンを小麦播種後発芽前処理・小麦3葉期処理

小麦の播種後発芽前に 及び を、小麦の3葉期に 及び をそれぞれ処理し、収穫期の小麦を分析した。

播種後発芽前もしくは3葉期に187.5g/haの割合で処理された小麦における総放射能残留は低く、穀粒で0.001~0.003mg/kg(播種後発芽前処理)及び<0.001~0.003mg/kg(3葉期処理)、籾殻で<0.001~0.002mg/kg(播種後発芽前処理)及び0.003~0.011mg/kg(3葉期処理)、わらで0.003~0.010mg/kg(播種後発芽前処理)及び0.007~0.010mg/kg(3葉期処理)であった。

未変化のジフルフェニカン[A]がわらでのみ検出されたが、その量はいずれも0.01mg/kg未満であった。その他に 及び が認められた。

[土壌中運命試験]

を用いて、好気条件における土壌中のジフルフェニカンの運命を検討した。

ジフルフェニカンは好気条件下で比較的緩やかに分解し、DT₅₀は砂壤土8ヶ月、埴壤土で6ヶ月であった。処理放射能の10%を超える代謝物はCO₂のみであり、52週後に砂壤土で42.8%、埴壤土で51.2%に達した。微量代謝物として、 及び と推定される化合物が認められた。

[加水分解運命試験]

を用いて、pH5、7、9の緩衝液中における加水分解運命について検討した。

いずれのpHにおいてもジフルフェニカンは安定であり、有意な半減期は求められなかった。分解物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。

[水中光分解運命試験]

を用い、pH 7 の緩衝液及び自然水中における水中光分解運命について検討した。

緩衝液

光照射区の緩衝液中で、ジフルフェニカン半減期 133 日 (北緯 35° における春期太陽光換算で 1.8 年) で分解した。

また暗対照区においては有意な分解は認められなかった。

処理放射能の 10% を超える分解物は認められず、

及び 　　　　　　　　　　がわずかに認められた。

自然水

光照射区の自然水中で、ジフルフェニカン半減期 80 日 (北緯 35° における春期太陽光換算で 1.1 年) で分解した。

また暗対照区においては有意な分解は認められなかった。

が最大で 8.3% 認められた以外に、2% を越える分解物は認められなかった。

[土壌吸着試験]

3 種の非火山灰土壌及び 1 種の火山灰土壌を用いて、ジフルフェニカンの土壌吸着性を検討した。

平衡化後の水相中ジフルフェニカン濃度が低かったため K_{Foc} は求められなかった。参考として、1

試験濃度における K_d (土壌濃度/水相濃度) を計算したところ、3 土壌の K_d は 53、82、146 mL/g で、

1 土壌については算出できなかった。

[生物濃縮性試験]

ニジマスを用いて、試験濃度 0.3 及び 3.0 $\mu\text{g ai./L}$ 、連続式流水条件下で、28 日間曝露後、14 日間

の排泄期間を設けた。BCF_k は低濃度の 0.3 $\mu\text{g/L}$ 区で 1276、高濃度の 3.0 $\mu\text{g/L}$ 区で 1596 であった。

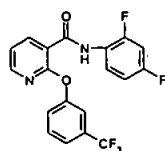
また、BCF_{ss} は定常状態にあると考えられる 14~28 日の濃縮係数から、低濃度の 0.3 $\mu\text{g/L}$ 区で

910(可食部)、1969(非可食部)、高濃度の 3.0 $\mu\text{g/L}$ 区で 1159(可食部)、2072(非可食部) と算出された。

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

ジフルフェニカンの動植物等における代謝分解経路

- A 動物体内
- P 植物体内
- S 土壤中
- Ph 光分解
- [] 推定代謝物
- []* 想定代謝物



ジフルフェニカン [A]

