

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																								
No. 代-1	動物代謝 吸収、分布、代謝、排泄 メチル ¹⁴ C標識	ラット	<p>単回経口投与 20mg/kg、雄</p> <p>(排泄・組織中分布) 糞・尿：投与後24時間毎、7日間採取。</p> <p>胆汁・呼気：投与24時間後まで採取または捕集。</p> <p>組織：投与3時間、1、7、14及び28日後に屠殺し、以下の組織等を取採。</p> <p>全血、血漿、血球、肝臓、腎臓、脳、肺、心筋、脾臓、膵臓、脂肪組織、骨格筋、骨髄、精巣、精囊、精巣上体 (及び輸精管)、胸腺、副腎、甲状腺、下垂体、涙腺、背部被毛、胃 (含内容物)、腸管 (含内容物)、残部体組織。血中濃度測定のための連続採血は24時間以内。</p> <p>(代謝物検索) 投与6時間後までに排泄された尿、胆汁及び呼気を代謝物の検索に使用。 また、投与3時間から7日後の血球、肝臓、腎臓、精巣、精囊、輸精管及び精巣上体について組織中の残留物を検索。</p>	<p><血中動態(全血)> 血中濃度及び半減期： T_{max} 投与15分～1時間 P_{max} 18.6～20.5ppm T_{1/2} α相；8.05～8.2時間 T_{1/2} β相；17.7日</p> <p><吸収率> ほぼ100%</p> <p><臓器及び組織への分布> 組織中分布及び半減期： ほとんどの組織中に分布 T_{1/2} α相；1日以内 T_{1/2} β・γ相；10日以上 消化管を除く体組織中に含まれる¹⁴Cは投与3時間で63%、1日後で16%であった。投与28日後においても2.8%が体組織中に保持されていた。 肝臓、腎臓、血球への顕著な移行がみられた。 初期の脂肪組織を除く全ての組織で血漿中¹⁴C濃度を有意に上回る¹⁴C濃度が検出された。</p> <p><代謝・排泄> 主排泄経路は尿であった。胆汁への排泄は投与0.5～1時間後に最高になり、24時間後には10.6%であった。呼気への排泄速度は1時間後に最高になった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>24 時間後</th> <th>7 日後</th> <th>主代謝物</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>呼気</td> <td>6.2%</td> <td>8.5%</td> <td>CO₂</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td>70.8%</td> <td>75.5%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>1.3%</td> <td>2.4%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>体内残留</td> <td>17.9%</td> <td>6.3%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>合計</td> <td>96.2%</td> <td>92.7%</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>主代謝経路は 経路であった。7日後までに投与したMITC [P]の約56%が非酵素的及び酵素的に として尿中に排出された。約8.5%は何らかの酸化的な代謝を受けて主に炭酸ガスとなり呼気中に排泄された。また、投与量の約6.3%が全体組織に残留し、約2.3%は非酵素的に各組織中の蛋白質などの生体高分子物質の求核性残基に が結合し残留した。</p>		24 時間後	7 日後	主代謝物	呼気	6.2%	8.5%	CO ₂	尿	70.8%	75.5%		糞	1.3%	2.4%		体内残留	17.9%	6.3%		合計	96.2%	92.7%		(1979年)	代-7
	24 時間後	7 日後	主代謝物																											
呼気	6.2%	8.5%	CO ₂																											
尿	70.8%	75.5%																												
糞	1.3%	2.4%																												
体内残留	17.9%	6.3%																												
合計	96.2%	92.7%																												

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																								
No. 代-2	植物代謝 土壌中動態 ³⁵ S標識	トマト	³⁵ S標識体 400mgをキリン溶液として、各デシケーター中の土壌に5cmの深さで5カ所注入後、吸引開始。22日後に、各デシケーターに4、5、6週間育苗したトマト苗を1本ずつ植付け、8、21、30及び52日間栽培後、根、茎、葉、頂芽及び側芽、花房を分別採取して吸収された ³⁵ Sを測定。	土壌：約40%が22日間で揮散、土壌中の ³⁵ Sは硫酸塩画分(MSO ₄ , M ₂ SO ₄)に含まれていた。 植物：吸収された ³⁵ S放射能は植物体全体に広範に分布しており、土壌中に処理した全放射能の1%に達した。吸収放射能の大部分は硫酸塩画分にあった。蒸気蒸留画分には、最高0.15ppmの極微量の ³⁵ Sが検出されたのみであったことから、測定可能なMITCそのものの吸収が根からあったとは考えられず、硫酸塩として根から吸収されたものと推定された。吸収された硫酸塩は還元されチオール体(R-SH)となり、最終的に含硫アミノ酸の生成に利用されるものと推定された。	(1961年)	代-18																																																								
No. 代-3	植物代謝 土壌中動態 メチル ¹⁴ C標識	だいこん (葉部及び根部)	10kgの土壌に、1,3-ジクロロプロパン製剤で製剤化した[¹⁴ C]標識体 1.065gを処理 (処理濃度106.5 mg/kg)。5L容三角フラスコに処理土壌2kgを入れて封入、25°C暗条件下で45日間培養。フラスコを開封し揮発性物質を除去、さらに開放条件下で2ヶ月間ガス抜きを行った後はだいこんを播種。二ヶ月後に葉部と根部を収穫。同じ土壌に二回目の播種を行い、二ヶ月後に葉部及び根部を収穫。根部の各種抽出画分を分析して放射能を特性化。	土壌中放射能濃度 (フラスコ開封後) <table border="1"> <thead> <tr> <th>日数</th> <th>溶媒*抽出物</th> <th>NaOH抽出物</th> <th>非抽出残渣</th> <th>合計</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>32</td> <td>26.7 (36)</td> <td>23.1 (31)</td> <td>24.8 (33)</td> <td>74.5 (100)</td> </tr> <tr> <td>68</td> <td>4.85 (7)</td> <td>33.2 (44)</td> <td>36.6 (49)</td> <td>74.6 (100)</td> </tr> <tr> <td>136</td> <td>0.94 (2)</td> <td></td> <td>51.0 (98)</td> <td>51.9 (100)</td> </tr> </tbody> </table> <p>*: メタノール/水混合液、数値単位mg/kg: MITC換算 (数値)単位%</p> <p>葉部における放射能残留</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>抽出性放射能</th> <th>非抽出性放射能</th> <th>合計</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>葉部</td> <td>2.2 (55)</td> <td>1.8 (45)</td> <td>4.0 (100)</td> </tr> </tbody> </table> <p>数値単位mg/kg: MITC換算 (数値)単位% 抽出性放射能は、極めて高極性物質で構成。</p> <p>根部における放射能残留</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>抽出・還流</th> <th>抽出性放射能</th> <th>非抽出性放射能</th> <th>合計</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>総放射能</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>2.4 (100)</td> </tr> <tr> <td>①エタノール/水</td> <td>2.1 (65)</td> <td>1.1 (35)</td> <td>3.2 (100)</td> </tr> <tr> <td>②エタノール</td> <td>1.5 (59)</td> <td>1.1 (41)</td> <td>2.6 (100)</td> </tr> <tr> <td>③6M塩酸</td> <td>2.1 (83)</td> <td>0.4 (1.7)</td> <td>2.5 (100)</td> </tr> <tr> <td>④6M塩酸</td> <td>2.1 (95)</td> <td>0.1 (5)</td> <td>2.2 (100)</td> </tr> <tr> <td>メタノール/水</td> <td>1.3 (67)</td> <td>0.6 (33)</td> <td>1.9 (100)</td> </tr> </tbody> </table> <p>メタノール/水抽出は2回目収穫物で実施、数値単位mg/kg: MITC換算 (数値)単位% 総放射能: 未抽出燃焼分析 ①フェノール類/フェノール酸類の検討 ②糖類/カルボン酸類及び遊離アミノ酸類の検討 ③酢酸塩類及び酢酸類としての検討 ④蛋白質、アミノ酸の検討 分析の結果、根部放射能は①、②、③の植物生体成分への取り込みの何れにも該当しないことが示唆された。一方、④抽出成分は電気泳動によりグルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン又はニンヒドリン発色性アミノ酸の放射性スポットを認めたことから、根部の放射能の大部分は、蛋白質となったアミノ酸で構成されていることが示唆された。</p>	日数	溶媒*抽出物	NaOH抽出物	非抽出残渣	合計	32	26.7 (36)	23.1 (31)	24.8 (33)	74.5 (100)	68	4.85 (7)	33.2 (44)	36.6 (49)	74.6 (100)	136	0.94 (2)		51.0 (98)	51.9 (100)		抽出性放射能	非抽出性放射能	合計	葉部	2.2 (55)	1.8 (45)	4.0 (100)	抽出・還流	抽出性放射能	非抽出性放射能	合計	総放射能	—	—	2.4 (100)	①エタノール/水	2.1 (65)	1.1 (35)	3.2 (100)	②エタノール	1.5 (59)	1.1 (41)	2.6 (100)	③6M塩酸	2.1 (83)	0.4 (1.7)	2.5 (100)	④6M塩酸	2.1 (95)	0.1 (5)	2.2 (100)	メタノール/水	1.3 (67)	0.6 (33)	1.9 (100)	(1983年)	代-19
日数	溶媒*抽出物	NaOH抽出物	非抽出残渣	合計																																																										
32	26.7 (36)	23.1 (31)	24.8 (33)	74.5 (100)																																																										
68	4.85 (7)	33.2 (44)	36.6 (49)	74.6 (100)																																																										
136	0.94 (2)		51.0 (98)	51.9 (100)																																																										
	抽出性放射能	非抽出性放射能	合計																																																											
葉部	2.2 (55)	1.8 (45)	4.0 (100)																																																											
抽出・還流	抽出性放射能	非抽出性放射能	合計																																																											
総放射能	—	—	2.4 (100)																																																											
①エタノール/水	2.1 (65)	1.1 (35)	3.2 (100)																																																											
②エタノール	1.5 (59)	1.1 (41)	2.6 (100)																																																											
③6M塩酸	2.1 (83)	0.4 (1.7)	2.5 (100)																																																											
④6M塩酸	2.1 (95)	0.1 (5)	2.2 (100)																																																											
メタノール/水	1.3 (67)	0.6 (33)	1.9 (100)																																																											

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																																																																																					
No. 代-4	植物代謝 土壤中動態 メチル ¹⁴ C標識	レタス、トマト、カテナ	<p>(1) リーフディスク <i>in vitro</i> 代謝試験 (トマト、レタス) 直径10mmのリーフディスクを20mLの蒸留水に浮かべ、被検物質アセトン溶液を添加(、20μL)、19~22°Cの恒明条件で48時間培養、分析の供試。</p> <p>(2) 吸収移行性試験 (トト苗、経根) トト苗を被検物質濃度0.34mg/L添加した水(9mL)で水耕栽培し、48時間まで経時的に葉部放射能を測定・分析。</p> <p>(3) 土壤燻蒸試験 非標識体で希釈した被検物質をT-400型、1.3-ジクロロペンを用いて製剤化。吸・排気口付ガラス製培養チャンバーに充填した土壤に同製剤を有効成分濃度11.1mg/kgとなるように土壤深20cmに処理・覆土。密栓・遮光した容器全体を19±1°Cで7日間燻蒸(培養)。次いで28日間通気してガス抜き。</p>	<p>(1) リーフディスク <i>in vitro</i> 代謝試験</p> <table border="1" data-bbox="651 374 1134 646"> <thead> <tr> <th colspan="2">代謝物</th> <th colspan="2">生成量(meq, MITC換算値)</th> </tr> <tr> <th colspan="2"></th> <th>レタス</th> <th>トマト</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="4">マトリ抽出性放射能</td> <td>総抽出放射能</td> <td>11.23</td> <td>16.06</td> </tr> <tr> <td>親化合物[P]</td> <td>0.06</td> <td>0.15</td> </tr> <tr> <td>アスパラギン酸</td> <td>1.68</td> <td>非検出</td> </tr> <tr> <td>未知物質</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="3">マトリ抽出残渣</td> <td>加水分解抽出物</td> <td>1.48</td> <td>2.05</td> </tr> <tr> <td>共有結合付加物</td> <td>0.40</td> <td>0.55</td> </tr> <tr> <td>加水分解残渣</td> <td>0.33</td> <td>0.26</td> </tr> </tbody> </table> <p>加水分解: 6M HCl 共有結合付加物: 加水分解後生成するアセトンをメチルアセトンの標準化した放射能 アスパラギン酸は、MITCの酸化分解で生成した二酸化炭素が固定され、L-アスパラギン酸へ取り込まれたと考えられた。未知物質は、と推定された。<i>in vitro</i> 条件で植物がMITCに直接曝露した場合、MITCはマトリ不溶性高分子と結合、共有結合付加体を形成すると考えられた。</p> <p>(2) 吸収移行性試験</p> <table border="1" data-bbox="651 941 1134 1088"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処理開始後時間</th> <th colspan="3">トト葉部における放射能滞留(meq, MITC換算値)</th> </tr> <tr> <th>マトリ抽出放射能</th> <th>共有結合付加物</th> <th>合計</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>16</td> <td>0.502</td> <td>0.032</td> <td>0.534</td> </tr> <tr> <td>24</td> <td>1.392</td> <td>0.047</td> <td>1.439</td> </tr> <tr> <td>48</td> <td>2.960</td> <td>0.134</td> <td>3.094</td> </tr> </tbody> </table> <p>48時間後葉部放射能の95.7%が抽出されたが、未変化の[P]、は認められず、未同定極性成分で構成されていた。</p> <p>(3) 土壤燻蒸試験 ガス抜き後の燻蒸土壤中放射能</p> <table border="1" data-bbox="651 1258 1193 1440"> <thead> <tr> <th rowspan="2">経過日数</th> <th colspan="3">抽出性放射能*</th> <th rowspan="2">結合残留*</th> <th rowspan="2">総残留*</th> <th rowspan="2">%AR</th> </tr> <tr> <th>MeOH</th> <th>[P]</th> <th>MWA**</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>0.138 (5%)</td> <td>0.009 [1.4%]</td> <td>ND</td> <td>6.038 (95.0%)</td> <td>6.356 (100%)</td> <td>54.7</td> </tr> <tr> <td>36</td> <td>0.102 (6.1%)</td> <td>0</td> <td>0.068 (4.0%)</td> <td>1.515 (89.9%)</td> <td>1.685 (100%)</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>164</td> <td>0.014 (1.1%)</td> <td>0</td> <td>0.025 (2.0%)</td> <td>1.224 (90.9%)</td> <td>1.263 (100%)</td> <td>11.8</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND: 測定せず。*: (meq/kg) MITC換算値。%AR: 処理放射能に対する% ** : MeOH/水/アセトン成分 [P]: MeOH成分中の未変化[P]</p> <p>ガス抜き直後の燻蒸土壤に約6.4 mg/kg (TRRの54.7%、[P]換算値)の放射能が認められたが、未変化の[P]は0.090 mg/kg(1.4%)で、大部分は土壤有機成分への結合残留であった。36日及び164日後では、鉱化、¹⁴CO₂の生成が進行し、土壤中TRRはそれぞれ約1.7 mg/kg、約1.3 mg/kgとなった。いずれも未変化の[P]は認められず、結合残留がTRRの主成分であった。</p> <p>燻蒸土壤からの揮発性物質の特徴付け ガス抜き期間(28日間)の累計で処理放射能の20.2~20.3%が放出、そのうち¹⁴CO₂が5.5~5.6%、[P]以外の単一有機成分が14.7%であった。播種・植付後では鉱化が促進され、36日後までに処理放射能の33.6%が¹⁴CO₂として、2.1%が揮発性有機物として放出された。播種・植付後に放出された[P]は無いことが確認された。36日の時点で、処理放射能の56.0% (ガス抜き開始からの累積値)が揮発性放射能として回収され、¹⁴CO₂として39.1%、有機物として16.9%であった。</p>	代謝物		生成量(meq, MITC換算値)				レタス	トマト	マトリ抽出性放射能	総抽出放射能	11.23	16.06	親化合物[P]	0.06	0.15	アスパラギン酸	1.68	非検出	未知物質			マトリ抽出残渣	加水分解抽出物	1.48	2.05	共有結合付加物	0.40	0.55	加水分解残渣	0.33	0.26	処理開始後時間	トト葉部における放射能滞留(meq, MITC換算値)			マトリ抽出放射能	共有結合付加物	合計	0	0	0	0	16	0.502	0.032	0.534	24	1.392	0.047	1.439	48	2.960	0.134	3.094	経過日数	抽出性放射能*			結合残留*	総残留*	%AR	MeOH	[P]	MWA**	0	0.138 (5%)	0.009 [1.4%]	ND	6.038 (95.0%)	6.356 (100%)	54.7	36	0.102 (6.1%)	0	0.068 (4.0%)	1.515 (89.9%)	1.685 (100%)	ND	164	0.014 (1.1%)	0	0.025 (2.0%)	1.224 (90.9%)	1.263 (100%)	11.8	(1988年) [GLP]	代-23
代謝物		生成量(meq, MITC換算値)																																																																																									
		レタス	トマト																																																																																								
マトリ抽出性放射能	総抽出放射能	11.23	16.06																																																																																								
	親化合物[P]	0.06	0.15																																																																																								
	アスパラギン酸	1.68	非検出																																																																																								
	未知物質																																																																																										
マトリ抽出残渣	加水分解抽出物	1.48	2.05																																																																																								
	共有結合付加物	0.40	0.55																																																																																								
	加水分解残渣	0.33	0.26																																																																																								
処理開始後時間	トト葉部における放射能滞留(meq, MITC換算値)																																																																																										
	マトリ抽出放射能	共有結合付加物	合計																																																																																								
0	0	0	0																																																																																								
16	0.502	0.032	0.534																																																																																								
24	1.392	0.047	1.439																																																																																								
48	2.960	0.134	3.094																																																																																								
経過日数	抽出性放射能*			結合残留*	総残留*	%AR																																																																																					
	MeOH	[P]	MWA**																																																																																								
0	0.138 (5%)	0.009 [1.4%]	ND	6.038 (95.0%)	6.356 (100%)	54.7																																																																																					
36	0.102 (6.1%)	0	0.068 (4.0%)	1.515 (89.9%)	1.685 (100%)	ND																																																																																					
164	0.014 (1.1%)	0	0.025 (2.0%)	1.224 (90.9%)	1.263 (100%)	11.8																																																																																					

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																													
No. 代-4 (続き)	植物代謝 土壌中動態 メチル ¹⁴ C標識	レタス、 トマト、 カブナ	<p>栽培試験: ガス抜き完了同日にカブナ、レタス種子を上記土壌に播種、2葉期トマト苗を移植、茎葉を36日後に採取・分析(レタスはさらに43, 50, 57, 70日後にも採取・分析)。36日後植物を採取した土壌に4葉期トマト苗を移植、128日後に茎葉・果実を採取・分析。</p> <p>曝露試験: 揮発性物質曝露のため、燻蒸土壌をフラスコに入れ、無処理土壌に2葉期トマト苗を移植した容器と同じタンク内で栽培、36日後に茎葉を採取・分析。</p>	<p>栽培試験及び曝露試験 播種又は植付け後36日の放射能残留量は、レタス茎葉で約1.3 mg/kg ([P]換算値)、カブナ茎葉及びトマト茎葉ではそれぞれ約3.3 mg/kg及び2.9 mg/kgであった。レタス茎葉における放射能残留は経時的に減少し、播種後第70日には約0.19 mg/kgとなった。 トマト茎葉の残留放射能は、土壌中放射能及び土壌からの揮発性放射能に曝露させた場合では約2.9 mg/kgであったのに対し、燻蒸土壌からの揮発性物質のみに曝露させた場合では約4.8 mg/kgと高かった。この結果から、揮発性物質の吸収(同化)が植物における主たる¹⁴C吸収経路であると考えられ、土壌燻蒸後に生成した¹⁴CO₂が植物体内放射能の重要な供給源であることが示唆された。 ガス抜き後植付けたトマトでは、成熟期の放射能濃度は果実で約0.03 mg/kg及び茎葉で約0.3 mg/kg (何れもMITC換算値)であった。</p> <p>代謝物の特性化 トマト茎葉及びレタス茎葉における放射能分布</p> <table border="1" data-bbox="687 909 1225 1204"> <thead> <tr> <th colspan="2">試験の種類</th> <th colspan="2">曝露試験</th> <th colspan="2">燻蒸土壌での栽培試験</th> </tr> <tr> <th>植物部位</th> <th></th> <th>トマト茎葉</th> <th>レタス茎葉</th> <th>トマト果実</th> <th>レタス茎葉</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>播種/植付け後日数</td> <td></td> <td>36日</td> <td>36日</td> <td>128日*</td> <td>36日</td> </tr> <tr> <td>総残留</td> <td></td> <td>4.825</td> <td>2.906</td> <td>0.033</td> <td>1.266</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">放射能 / 代謝物</td> <td>MeOH抽出物</td> <td>1.581 (32.8%)</td> <td>1.206 (41.5%)</td> <td>-</td> <td>0.693 (54.7%)</td> </tr> <tr> <td>加水分解抽出物</td> <td>1.616</td> <td>0.970</td> <td>0.024</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>共有結合付加体</td> <td>0.083</td> <td>0.026</td> <td>0.0003</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>加水分解後残渣</td> <td>0.567</td> <td>0.307</td> <td>0.006</td> <td>0.573</td> </tr> </tbody> </table> <p>加水分解: 6M HCl 共有結合付加体: 加水分解で生成するカブナをメチル¹⁴Cで標識した放射能 (単位: mg/kg, MITC換算値) メチル¹⁴C抽出物に未変化の[P]、¹⁴Cは認められず、[P]は植物体マトリックスに取り込まれなかったと考えられた。メチル¹⁴C抽出残渣の加水分解後、メチル¹⁴C不溶性の高分子共有結合付加体がトマト茎葉及び果実に認められた。高分子共有結合付加体の値は、(1) <i>in vitro</i> 代謝試験で[P]を直接マトリ-フェイスクに曝露させた値と比較して低かった。また揮発性物質曝露試験での値は、栽培期間で[P]の土壌からの放出が無かったため、未変化の[P]ではなくその揮発性分解物に起因すると考えられた。</p> <p>生化学的分画 マトリ-フェイスクにおける放射能の大部分が低分子量可溶性画分に存在、一方、植付け後36日採取のトマト茎葉では、可溶性画分及び不溶性画分に同程度分布し、主として可溶性画分の放射能は中性画分(糖)に、不溶性画分の放射能は水溶性多糖類画分に存在した。トマト果実では、放射能の大部分は可溶性の中性(糖)画分及び不溶性のヘミセルロース画分に存在した。</p> <p>可溶性低分子量残留の同定 燻蒸土壌で栽培したレタス茎葉及びトマト茎葉、揮発性物質に曝露させたトマト茎葉の同分画を分析した結果、放射性グルタミン酸及びアスパラギン酸が認められた。</p>	試験の種類		曝露試験		燻蒸土壌での栽培試験		植物部位		トマト茎葉	レタス茎葉	トマト果実	レタス茎葉	播種/植付け後日数		36日	36日	128日*	36日	総残留		4.825	2.906	0.033	1.266	放射能 / 代謝物	MeOH抽出物	1.581 (32.8%)	1.206 (41.5%)	-	0.693 (54.7%)	加水分解抽出物	1.616	0.970	0.024	-	共有結合付加体	0.083	0.026	0.0003	-	加水分解後残渣	0.567	0.307	0.006	0.573		
試験の種類		曝露試験		燻蒸土壌での栽培試験																																															
植物部位		トマト茎葉	レタス茎葉	トマト果実	レタス茎葉																																														
播種/植付け後日数		36日	36日	128日*	36日																																														
総残留		4.825	2.906	0.033	1.266																																														
放射能 / 代謝物	MeOH抽出物	1.581 (32.8%)	1.206 (41.5%)	-	0.693 (54.7%)																																														
	加水分解抽出物	1.616	0.970	0.024	-																																														
	共有結合付加体	0.083	0.026	0.0003	-																																														
	加水分解後残渣	0.567	0.307	0.006	0.573																																														

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
No. 代-5	土壌中動態 (好氣的) メチル ¹⁴ C標識	砂壤土 (採取地 : ドイツ国ベムン Frohnau)	処理量 : 104mg a.i./kg土壌 試験温度 : 22±2°C 暗黒下 試験期間 : 14日間	<代謝分解> 試験期間中の物質収支は84.19~101.50%の範囲であった。 土壌からの抽出放射能は、処理0日後の93.95%から10日後の0.10%と急速に減少した。 ベムンアミン捕集液及び土壌のソクスレ抽出物中の放射性成分は、何れも未変化の[P]のみであった。ソクスレ抽出に先立つ土壌のエタノール、水抽出物中の放射能の大部分は未変化の[P] <推定半減期 : t1/2> 0.3日	(1987年)	代-34
No. 代-6	水中動態 (加水分解) メチル ¹⁴ C標識	滅菌緩衝液	pH : 5、7、9 試験濃度 : 50.875 mg/L 試験温度 : 25±0.1°C 試験期間 : 337.7時間(pH5) : 792.1時間(pH7) : 313.1時間(pH9)	<分解> <推定半減期 : t1/2> 85時間 (pH 5.0) 490時間 (pH 7.0) 110時間 (pH 9.0)	(1986年)	代-38
No. 代-7	水中動態 (光分解) メチル ¹⁴ C標識	滅菌蒸留水 滅菌自然水	pH : 7.3 (蒸留水) pH : 6.5 (自然水) 試験濃度 : 5µg/mL 試験温度 : 25±2°C 光源 : キセノンランプ 光強度 : 29.71 W/m ² (測定波長 300-400nm) 試験期間 : 10日間	<分解> 照射終了時に[P]は処理放射能量の69.6% (蒸留水)、75.3% (自然水)残存した。 <推定半減期 : t1/2> 蒸留水 : 18.7日 [95.1日*] 自然水 : 24.9日 [71.4日*] *太陽光換算(東京、4~6月)	(2006年) [GLP]	代-44
No. 代-8	土壌吸着性 純品	4種の畑地土壌	試験濃度 : 0.03564 - 4.455 µg/mL 試験温度 : 20±1°C 土壌水比 : 1/5 平衡化 : 8時間 暗黒下	<吸着係数> K ^F _{ads} = 0.32 - 0.68 K ^F _{ads} ^{0c} = 27 - 46	(1990年)	代-49

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。

<代謝分解物一覧>

記号	由来	名称	化学名	構造式
[P]	親化合物	メチルイソチオシアネート MITC	メチルイソチオシアネート methyl isothiocyanate イソチオシアネートメタン isothiocyanatomethane	$H_3C-N=C=S$

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。

1 動物体内運命試験

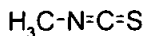
1) ラットにおける吸収、分布、代謝及び排泄 (ADME)

(資料No. 代-1)
 試験機関：
 報告書作成年：1979年

供試標識化合物

[メチル ¹⁴C]- 標識メチルイソチオシアネート (略称：¹⁴C-MITC)

構造式；



*：¹⁴Cの標識位置を示す

化学名； メチルイソチオシアネート (略称：MITC)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

【方法】

供試動物：ウイスターイマミチ系SPFラット (試験開始時の齢：雄 10週齢)

表-1に示すとおり、ラットを各試験群 (申請者記載) に供試した。馴化は7日間行った。

表-1 試験群

試験群 <目的>	投与量 (mg/kg体重)	匹数	試験 期間	飼育ケージ、付属装置等
単回経口投与 <排泄物採取>	20	5	7日間	ステンレス製代謝ケージ (糞・尿採取用)
		5	24時間	ボールマンケージ (胆汁採取用)
		5	24時間	ガラス製代謝ケージ (呼気分析用：活性炭 ガラム+モノエタノールアミンtrap装着は2匹、モノエタノールアミン trapのみ装着は3匹を供試)
単回経口投与 <組織・臓器の採取>	20	5	3時間	ステンレス製代謝ケージ
		5	1日間	
		5	7日間	
		5	14日間	
		3	28日間	

投与：¹⁴C-MITCを非標識MITCで希釈し、 (組織中¹⁴C分析用) と
 (代謝物検索用) のオリーブ油溶液とし、20 mg/kg強制経口投与した。

試料の採取：

<排泄物>

尿・糞：投与後24時間毎に7日後まで採取した。

胆汁：総胆管カニューレトし、投与後24時間まで採取した。

呼気：通気流量400 ml/分で、投与後6時間毎、24時間まで捕集した。

<組織・臓器>

投与3時間、1、7、14及び28日後に屠殺し、以下の組織等を採取した。

全血、血漿、血球、肝臓、腎臓、脳、肺、心筋、脾臓、膵臓、脂肪組織、骨格筋、骨髄、精
 巢、精囊、精巣上体 (及び輸精管)、胸腺、副腎、甲状腺、下垂体、涙腺、背部被毛、胃 (含
 内容物)、腸管 (含内容物)、残部体組織 (カーカス)。

血液中濃度測定のための投与24時間内の連続採血は尾静脈から行った。

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。

試料調製及び分析：

<全 ^{14}C 分析>

- ・尿、胆汁：PSC シンチレーション溶液に溶解し、液体シンチレーション計測した。
- ・モノエタノールアミン：捕集後の試料 2 ml を 3ml のメチルセロソルブと混和後、PSC シンチレーション溶液に溶解し、液体シンチレーション計測した。
- ・活性炭：メタノールで振とう抽出、抽出液の一部を PSC シンチレーション溶液に溶解し、液体シンチレーション計測した。
- ・糞、臓器(下記を除く)：3 倍容の 50%メタノールを加えてポリトロンにより均質化、その一部を燃焼処理し、液体シンチレーション計測した。
- ・脂肪組織、骨髄、副腎、涙腺、脳下垂体、甲状腺、300 mg の血液・血漿・血球：均質化を行わずに全量を燃焼処理し、液体シンチレーション計測した。

<組織残留物(高分子物質結合) ^{14}C 分析>

投与 3 時間から 7 日後の血球、肝臓、腎臓、精巣、精囊、輸精管及び精巣上体について、50%メタノールホモジネートを 10-15 倍容の 5%TCA、80%メタノール、アセトン・クロロホルム混液(4:1, V/V)、80%メタノールで放射活性の溶出がなくなるまで順次振とう抽出を繰り返し、得られた残渣を燃焼処理、液体シンチレーション計測し、その放射活性を高分子物質結合 ^{14}C とした。また投与 1 日後の肝臓ホモジネートについては、上記の抽出とは別に 10 倍容の n-ヘキサンで 3 回振とう抽出を行い、抽出物中の放射活性を測定した。

<肝臓グルタチオンの定量>

投与 3 時間後の肝臓について、DTNB 試薬による Ellman 法により還元型グルタチオンの定量を行った。また、Sephadex G-50 によるゲルろ過クロマトグラフィーによるグルタチオンの溶出性の検討も行った。

<In vitro 結合試験>

酵素液：10 週令のウィスターイマミチ系 SPF 雄ラットより、常法に従って得た肝臓 9000 g 上清液とマイクロゾーム分画(105000 g、20 分間遠心ペレット、いずれも 1.15M-KCl/0.2M Tris-HCl、pH 7.4 を抽出液として使用)を用いた。

試験方法：基本インキュベーション溶液は、1ml の 0.2M Tris-HCl (pH 7.4)に次の物質を含む。

0.5 μM ^{14}C -MITC (dpm, 10 μl のエタノール溶液)、NADPH 生成系 [10 μmole の NADP^+ , 2 IU の isocitrate dehydrogenase (Sigma 社), 8 μmole のイソクエン酸]、5 μmole の塩化マグネシウム、及び 240 mg の肝臓に相当する native もしくは 5 分間煮沸処理した 9000 g 上清液またはマイクロゾーム分画。

このほか試験物質として 1 μmole のシステイン、グルタチオン、または SKF-525A を上記基本反応液に添加した。

反応は ^{14}C -MITC の添加により開始し、37°C、好気条件下で 20 分間振とうインキュベートした。反応の停止は 10 倍容の 5% TCA 添加により行い、その後 80%メタノール、アセトン・クロロホルム(4:1, V/V)、80%メタノールで放射活性の溶出がなくなるまで抽出を繰り返した。残渣は 1 ml の NCS 組織可溶化剤(Amersham 社)に溶解し、高分子結合 ^{14}C 分画として液体シンチレーション測定に供した。

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。

<体外排泄代謝物の定性・定量>

投与 6 時間後までに排泄された尿、胆汁及び呼気を代謝物の検索に使用した。

・尿、胆汁

a) 液々分配

尿 1ml を 50%メタノール 30 ml で希釈、20 ml のクロロホルムで 2 回振とう抽出、中性分画とした。水層は 40 ml の水で希釈した後、塩酸で pH1.0 に調製し、40 ml の n-ブタノールで 3 回振とう抽出、酸性分画とした。残部水層は水溶性分画とし、各分画を液体シンチレーション測定に供した。

b) ゲルろ過

蒸留水で平衡化した Sephadex G-50 カラム(内径 2.6 cm X 50 cm)に、試料 1ml をチャージして蒸留水で溶出(0.5 ml/分)、溶出液はフラクションコレクターで 10 ml 毎に分画した。

c) 薄層クロマトグラフィー(TLC)

0.01M のリン酸緩衝液で pH7.0 に調製した尿、胆汁を 5 倍容のメタノールで除蛋白し、その遠心上清(4000rpm、5 分)を直接 TLC に供試した。

TLC plate : シリカゲル 60F₂₅₄ (Merck, 0.25mm)

展開溶媒系 : (I) n-ブタノール / iso-ブタノール / ぎ酸 / 水 (9:2:1:1)

(II) n-ブタノール / 酢酸 / 水 (4:1:1)

(III) n-ブタノール / iso-ブタノール / 2N アンモニア水 (2:1:1)

代謝物同定は想定代謝物と試料のコクロマトグラフィー及び混合試験により行った。

合成標品の検出は UV254 nm によるクエンチングとニンヒドリン試薬の噴霧により実施した。放射性スポットはβカメラ及びオートラジオグラフィーにより検出すると同時に、ニンヒドリン反応性を調査した。また、代謝物の放射能は、放射性スポットをピアル中に切りとり、液体シンチレーション計測して定量した。

・呼気排泄物

放射性ガスを捕集したモノエタノールアミン(10 ml)を 100 ml の濃塩酸中に滴下し、発生した気体を水酸化バリウム(4%)に導いた。生じた炭酸バリウムは蒸留水で洗浄後、カルボシル (Packard 社)とともに混濁させ、液体シンチレーション計測した。

【結果】

1. 排泄

投与した¹⁴C-MITC は24時間でその70.8%、7日間で75.5%が尿中に排泄された(表-2)。また、これらの値をプロットして解析した結果、尿排泄 β相の排泄速度定数 = 0.316 day⁻¹(r: 0.985)、尿中排泄総量は76.2%とそれぞれ算出された。一方、糞中への排出は7日間で2.4%という低レベルであった(表-2)。

表-2 ¹⁴C-MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットにおける尿、糞への放射能の経時的排泄

投与後日数	尿中排泄放射能 % (積算)*	糞中排泄放射能 % (積算)*
1	70.84 (70.84)	1.30 (1.30)
2	2.55 (73.39)	0.75 (2.05)
3	0.80 (74.19)	0.18 (2.23)
4	0.54 (74.71)	0.09 (2.33)
5	0.36 (74.95)	0.06 (2.38)
6	0.33 (75.28)	0.04 (2.42)
7	0.21 (75.48)	<0.02 (2.44)

*: 投与放射能(=100%)に対する%、ラット5匹平均

胆汁への排泄は糞中排泄量を有意に上回り、24時間で10.6%となった。またこの胆汁への排泄は排泄濃度、排泄速度ともに投与0.5-1時間後には最高となった(図-1)。

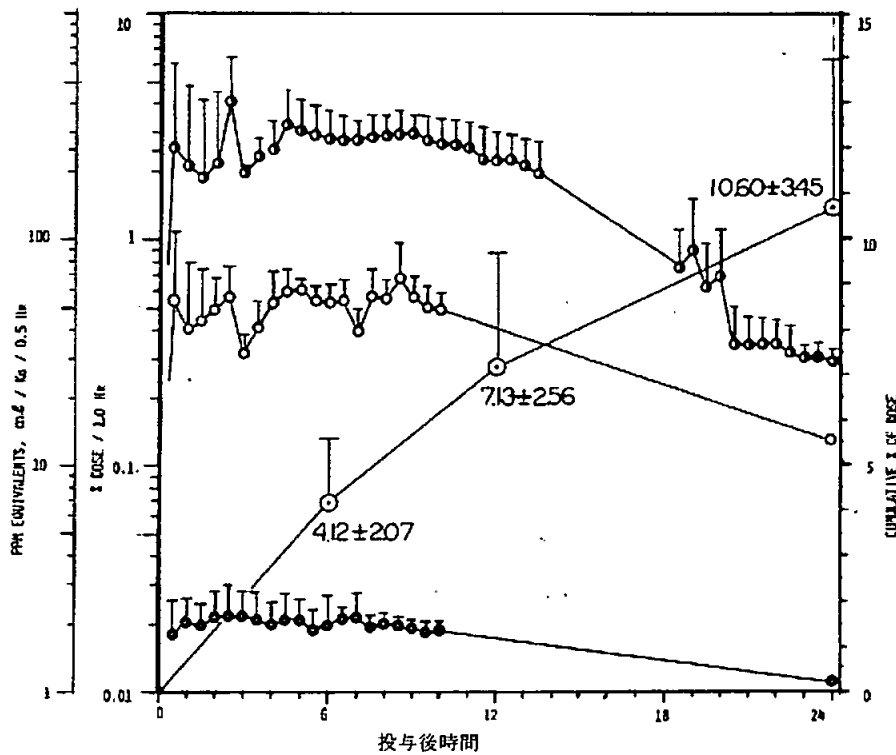
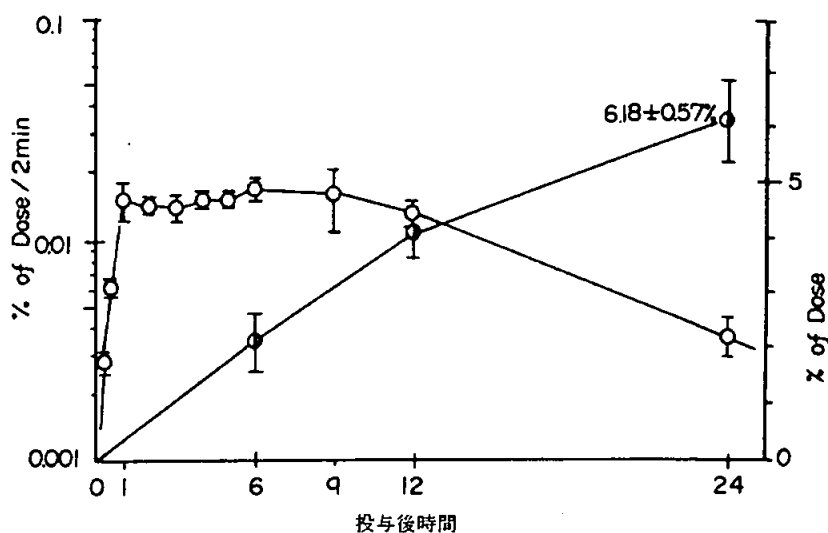


図-1 ¹⁴C-MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットにおける放射能の経時的胆汁排泄 (各プロットはラット5匹の平均±標準偏差値を反映)

- : 投与量に対する積算排泄量 (%) CUMULATIVE % OF DOSE
- ⊙: 排泄率 (%投与量/1.0時間) % DOSE/ml/kg/0.5 Hr
- : 放射能濃度(MITC換算値 ppm) PPM EQUIVALENTS
- : 胆汁量 (ml/kg体重/0.5時間) ml/kg/0.5 Hr

呼気中への排泄も認められ(モノエタノールアミンによる捕集)、排泄速度は胆汁と同様投与1時間後に最高となり、24時間で6.2%の排泄となった(図-2)。また積分法による推定排泄総量は8.5%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。



- : 呼吸率 (投与量に対する%/2分) 左Y軸
 ● : 投与量に対する積算% 右Y軸

図-2 ^{14}C -MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットにおける呼気中放射能の経時的推移 (各プロットはラット5匹の平均±標準偏差値を反映)

以上のように ^{14}C -MITCの主排泄経路は尿であり、尿、糞、呼気を通しての体外排泄量は投与1日後で78.3%、投与7日後までに86.4%であった。

表-3 ^{14}C -MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットにおける体外放射能排泄まとめ

	24時間後	7日後	総排泄量*
尿	70.8%	75.5%	76.2%
糞	1.3%	2.4%	-
呼気	6.2%	-	8.5%
体外排泄量	78.3%	86.4%	-

投与と放射能(=100%)に対する%、ラット5匹平均 - : 未測定または算定不能

* : 解析による推定値

2. 血中濃度変化および体内分布と組織保持性

血中濃度(^{14}C -MITC相当濃度)は投与15分から1時間後に最高値(18.6~20.5ppm、図-3)を示し、以降 α 相8.05~8.2時間(尾静脈のミルキング採血による図-3のデータから算出)、 β 相(後大静脈採血による表-3の値よりフェザリングによって算出)17.7日の生物学的半減期で減衰した(表-4、図-4)。

投与3時間、1、7、14、28日後の組織残留 ^{14}C -MITC濃度(^{14}C -MITC相当濃度)を表-4にまとめた。消化管を除く体組織中に含まれる ^{14}C は投与3時間、1日後で投与量のそれぞれ63%、16%であり、投与24時間後における ^{14}C バランスは前述の体外排泄量78.3%、体組織中残留物16.0%及び消化管内内容物1.9%を合わせ、96.2%で良好であった。なお、投与28日後においても投与量の2.8%が体組織に保持され、ラット体内における比較的長い残留性が示唆された。

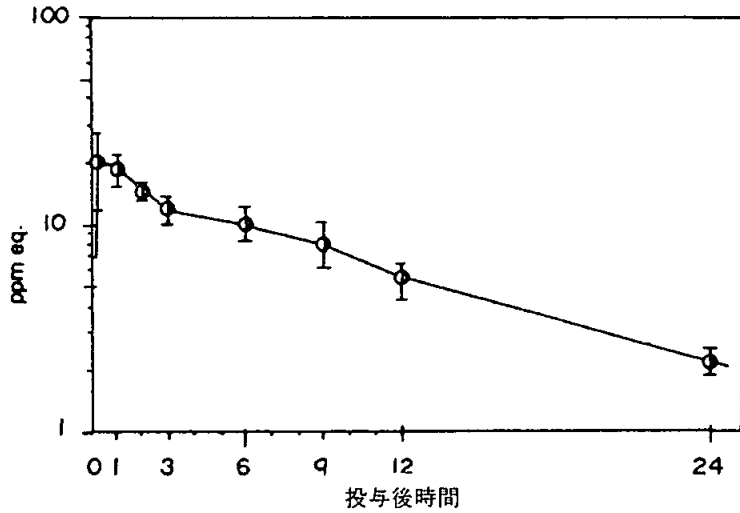
各組織への分布については肝臓、腎臓、赤血球への顕著な移行が見られるとともに初期の脂肪組織を除くすべての組織で血漿中 ^{14}C レベルを有意に($p < 0.01$)上回る ^{14}C 濃度が検出された。また、この対血漿レベル比は調査した全組織とも経時的に上昇し(表-3)、高い組織親和性と連投による蓄積的効果が表われやすい傾向が認められた。

血液以外の各組織における生物学的半減期もフェザリングによって算出し、2ないし3相に分割された(表-3)。 α 相の生物学的半減期はフェザリング分割によるポイント数の不足から算出しえなかった組織もあるが、その減衰パターンから多くの組織では血液と同様に1日以内のものとして推測された。一方、 β 、 γ 期においては血球、肝臓、腎臓、脳、脂肪組織、骨髄、精巣、涙腺、残部体組織が10日を越える比較的長い生物学的半減期を示した。

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。

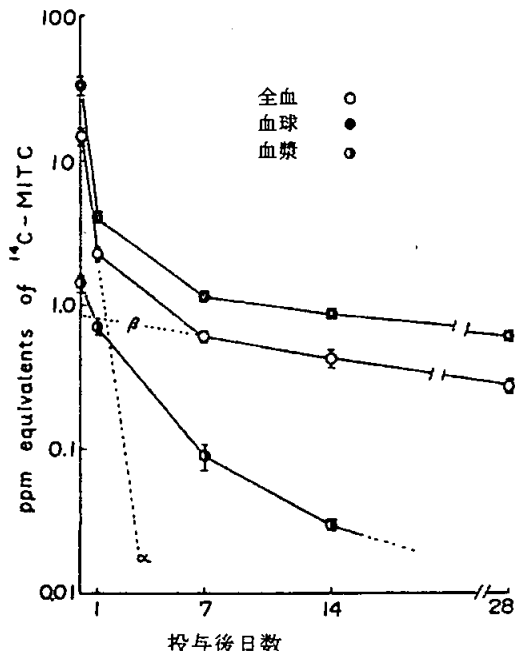
投与された ^{14}C -MITC ([P])の吸収率は、 ^{14}C バランス96.2%の試験系(投与24時間)で糞中排泄量の4.5倍の胆汁排泄が認められたことから、ほぼ100%と評価された。

吸収速度は血中濃度、胆汁排泄速度とその濃度、呼気排泄速度がいずれも投与後15分から60分で最高値に達したことより、極めて速いことが示唆された。



Y軸 (単位): MITC換算濃度 (ppm).

図-3 ^{14}C -MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットにおける血中放射能濃度の推移(15分~24時間)
(各プロットはラット4匹の平均±標準偏差値を反映)



Y軸 (単位): MITC換算濃度 (ppm).

図-4 ^{14}C -MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットにおける血中放射能濃度の推移(15分~28日)

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-4 ¹⁴C-MITC単回経口投与(20 mg/kg)ラットの各臓器・組織における残留放射能の経時的推移及び生物学的半減期概算

組織・臓器	3時間後		1日後		3日後		14日後		28日後***	生物学的半減期概算		
	ppmeq.	T/P**	ppmeq.	T/P**	ppmeq.	T/P**	ppmeq.	T/P**	ppmeq.	第1相 (時間)	第2相 (日)	第3相 (日)
血浆	1.44 ± 0.25	1.0	0.72 ± 0.09	1.0	0.09 ± 0.02	1.0	0.03 ± 0.01	1.0	<0.02	—	2.5	—
全血	15.11 ± 2.32 (4.57 ± 0.74)*	10.5	2.30 ± 0.26 (0.72 ± 0.03)*	3.2	0.61 ± 0.07	6.6	0.42 ± 0.06	13.0	0.27 ± 0.03	8.2	17.7	—
血球	33.30 ± 5.41	22.4	4.14 ± 0.29	5.7	1.34 ± 0.07	14.6	0.86 ± 0.06	26.9	0.63 ± 0.05	7.3	19.5	—
肝臓	14.63 ± 3.65 (2.97 ± 0.32)*	10.1	7.55 ± 0.70 (2.43 ± 0.21)*	10.5	1.81 ± 0.31	19.7	0.62 ± 0.20	19.3	0.24 ± 0.03	—	2.1	10.8
腎臓	12.47 ± 2.51 (0.53 ± 0.12)*	8.6	3.92 ± 0.88 (0.27 ± 0.02)*	5.4	1.48 ± 0.16	16.1	0.51 ± 0.04	15.8	0.25 ± 0.05	—	3.1	13.7
脳	2.55 ± 0.54	1.7	1.23 ± 0.12	1.7	0.49 ± 0.13	5.3	0.31 ± 0.06	9.5	<0.24	28.8	10.5	—
肺	6.74 ± 0.81	4.7	3.73 ± 0.26	5.2	1.31 ± 0.09	14.3	0.62 ± 0.12	19.2	<0.31	12.2	6.3	—
心臓	3.11 ± 0.57	2.1	2.09 ± 0.08	2.9	1.06 ± 0.08	11.5	0.59 ± 0.09	18.4	<0.32	—	7.1	—
脾臓	9.59 ± 1.04	6.6	3.86 ± 0.84	5.3	1.01 ± 0.09	10.9	0.42 ± 0.13	13.0	<0.22	9.4	5.0	—
膵臓	8.16 ± 2.43	5.6	2.87 ± 0.41	4.01	1.10 ± 0.13	12.0	0.44 ± 0.14	13.7	<0.24	—	4.8	—
脂肪組織	0.50 ± 0.13	0.34	0.46 ± 0.06	0.64	0.37 ± 0.05	4.05	0.24 ± 0.05	7.4	<0.20	—	12.3	—
骨格筋	1.59 ± 0.21	1.1	1.34 ± 0.29	1.8	0.85 ± 0.09	9.3	0.51 ± 0.07	15.9	<0.42	—	9.5	—
骨髓	5.94 ± 0.94	4.1	6.61 ± 0.19	9.2	0.62 ± 0.14	6.7	0.23 ± 0.03	7.3	<0.17	—	1.5	34.8
精巣	1.57 ± 0.24	1.09	1.18 ± 0.07	1.6	0.67 ± 0.05	7.2	0.33 ± 0.05	10.2	0.21 ± 0.03	—	4.3	21.5
精囊	1.78 ± 0.48	1.2	2.01 ± 0.44	2.8	1.07 ± 0.13	11.6	0.52 ± 0.04	16.1	<0.21	—	6.5	—
精巣上体	1.52 ± 0.27	1.06	1.09 ± 0.14	1.5	0.59 ± 0.03	6.3	0.37 ± 0.08	11.6	<0.22	—	8.3	—
胸腺	2.32 ± 0.47	1.6	2.98 ± 0.27	4.1	1.14 ± 0.16	12.5	0.35 ± 0.12	10.9	<0.17	—	4.2	—
副腎	4.21 ± 0.39	2.9	3.80 ± 0.07	5.3	1.51 ± 0.18	16.5	0.47 ± 0.07	14.6	<0.26	—	4.3	—
甲状腺	3.90 ± 0.50	2.7	5.73 ± 1.17	7.9	1.38 ± 0.21	15.0	0.46 ± 0.12	14.3	<0.22	—	2.9	—
脳下垂体	2.65 ± 0.43	1.8	2.31 ± 0.20	3.2	1.19 ± 0.26	12.9	0.48 ± 0.11	15.0	<0.14	—	6.5	—
涙腺	2.47 ± 0.45	1.7	2.78 ± 0.68	3.8	1.01 ± 0.09	11.0	0.44 ± 0.02	13.6	0.25 ± 0.11	—	3.3	16.2
被毛	—	—	3.52	—	4.81	—	5.63	—	3.91	—	—	—
胃	311.2 ± 135.3 (36.50 ± 4.27)*	—	4.99 ± 1.32 (0.40 ± 0.06)*	—	0.62 ± 0.13	—	0.25 ± 0.12	—	<0.14	—	—	—
腸管	12.54 ± 4.91 (2.63 ± 1.20)*	—	4.35 ± 0.30 (1.50 ± 0.05)*	—	0.38 ± 0.06	—	0.14 ± 0.01	—	<0.08	—	—	—
カーカス	2.51 ± 0.43	2.2	2.72 ± 0.95	3.7	1.01 ± 0.09	11.0	0.61 ± 0.13	18.9	0.45 ± 0.03	—	2.9	34.1
全体組織	(62.95 ± 11.94)*	—	(15.99 ± 6.69)*	—	(6.33 ± 0.34)*	—	(3.36 ± 0.79)*	—	(2.77 ± 0.20)*	—	—	—

無印の数値：ラット5匹の¹⁴C-MITC等価濃度(ppm)の平均±標準偏差を示す

*：投与量に対する%

**：¹⁴C-MITC等価濃度(ppm)の組織レベル/血浆レベル比

***：ラット3匹の¹⁴C-MITC等価濃度(ppm)の平均±標準偏差を示す

3. 組織残留物と高分子物質への結合

組織残留物のうち、未変化の親化合物[P]等の親油性物質の有無について、肝臓(投与3時間後、体組織移行放射活性の3%を占める)をn-ヘキサン抽出して調べた。その結果、抽出された放射活性は肝臓中¹⁴Cの1.1% (0.16±0.08 ppm相当)と低レベルであった。この抽出物は減圧濃縮により、その97%が消失した(揮発性物質)ことから、未変化の[P]と推定された。

表-5に投与3時間後から7日までの7組織・臓器中におけるTCA不溶性・有機溶媒非抽出の、蛋白等の細胞内高分子物質から成る残渣中に検出された¹⁴C濃度をまとめた。血漿、血球中では80%以上が抽出可能な放射性物質であるのに対し、肝臓、腎臓、精巣、精囊、精巣上体+輸精管では組織中¹⁴Cの30~60%が抽出不能であった。これは投与3時間後の肝臓におけるデータを体組織全体に普遍化して投与量換算した場合、投与量の約26%に匹敵する値となる。この値は、脂肪を除く体組織における¹⁴Cの長期残留性の結果によく対応しており、また、その主原因となっているものと推定された。なお、この結合残渣の形成に伴って肝グルタチオン量の低下が認められ、投与3時間後では対照群の74% (5.67±0.21mM、N=5)に低下していた。

表-5 投与3時間~7日後における組織・臓器中の高分子物質への結合¹⁴C放射能

組織・臓器	¹⁴ C-MITC等価濃度[ppm] (総放射能に対する%)		
	投与3時間後	投与1日後	投与7日後
肝臓	5.67±1.12 (38.1±4.8)	3.50±0.39 (45.5±1.0)	1.04±0.20 (51.5±8.8)
腎臓	4.94±0.18 (40.3±4.8)	2.77±0.30 (48.8±2.60)	0.59±0.05 (41.6±5.5)
精巣	0.57±0.17 (35.8±7.2)	0.46±0.11 (39.9±7.5)	0.20±0.02 (30.5±3.3)
精囊	0.60±0.18 (34.4±9.0)	1.29±0.10 (62.3±16.4)	0.52±0.06 (52.1±7.1)
精巣上体+輸精管	0.85±0.19 (57.0±13.8)	0.50±0.09 (47.5±9.9)	0.21±0.04 (35.9±7.4)
血球	3.91±1.86 (11.7±4.8)	2.70* (31.0)*	0.23±0.04 (16.9±2.8)
血漿	—	0.15* (19.9)*	—

* : 2匹平均 (他は5匹平均)

4. *In vitro* 結合実験

ラット肝マイクロゾーム9000 g上清液またはマイクロゾーム分画と、¹⁴C-MITCとの結合実験の結果を表-6にまとめた。9000 g上清液では煮沸による失活化により、添加¹⁴C-MITC量の54%が結合して5.6倍に、またマイクロゾーム分画では1.5倍にそれぞれ増加した。また、この結合は9000 g上清ではNADPH生成系を除去することによっても3.2倍に増加したが、マイクロゾームでは有意差は認められず、更に9000 g上清系でSKF525A 1mMによる影響も認められなかった。低分子量SH化合物の結合に及ぼす影響を9000 g上清系で調査した。1 mMのシステイン、グルタチオンはnativeな酵素系と失活酵素系の両系において、結合に対する抑制効果を示し、その作用はnative酵素系においてより顕著であった。

ラット肝9000 g上清ならびにマイクロゾーム分画を用いた*in vitro*実験の結果は、TCA不溶性の蛋白を主体とする残渣中への¹⁴Cの取り込みは未変化の[P]による非酵素的な結合によるものであることを明確に示唆し、またその結合部位は[P]の化学的な特性から-SH、-NH₂、>NH等の求核性残基と推定された。

[P]を結合不能もしくは困難な形に転換する酵素系については、NADPH依存性の酵素が中心になっていることが明らかであるが、1mMのSKF-525Aによる結合の有意な低下は認められなかった。このことは、マイクロゾームの cytochrome P-450系がその主体となっていないか、または律速段階となっていないことを示唆している。

失活酵素系ならびnative 9000 g上清酵素系の*in vitro*両系で認められたシステイン、グルタチオンのような低分子量のSH化合物による結合抑制作用は、(1) 結合は未変化の[P]による ; (2) [P]の主代謝系はグルタチオンによる抱合化である ; (3) 肝臓グルタチオンレベルの低下が認められることとよく一致していた。従ってシステインとグルタチオン、特に生体内低分子量SH化合物の主成分たるグルタチオンは、*in vivo*系でも生体高分子物質への親電子的な結合を、[P] を抱合化することによって抑制し、生体高分子物質を保護しているものと推察された。また*in vitro*実験系でグルタチオンによる結合抑制作用が失活酵素系においてよりもnativeな9000 g上清系で より顕著に認め

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。

られたことは、MITCのグルタチオン抱合化が非酵素的に起こるほか、酵素的にも起きていることを示唆した。グルタチオン抱合に参与するグルタチオン-S-トランスフェラーゼは、105000 g上清に存在するNADPH依存性の酵素として知られているが、[P]を結合不能な形に転換する代謝系は前記のようにNADPH依存性を有している。このことと肝臓中に7.5 mM前後のグルタチオンが*in situ*に含まれていることを考慮した場合、[P]のグルタチオン抱合化は、生体内では上記のグルタチオン-S-トランスフェラーゼによって酵素的に行なわれている可能性が高いものと推定された。

表-6 ^{14}C -MITCの生体高分子物質との共有結合試験結果(*in vitro*)

実験系	結合性 ^{14}C (μmol)	対比%
肝マイクロゾーム9000 g 上清		
煮沸酵素基本酵素系	0.268 \pm 0.017	(100%) (547%*)
+ 1mM システイン	0.211 \pm 0.014	(79%*) (431%*)
+ 1mM グルタチオン	0.211 \pm 0.002	(79%*) (431%*)
native酵素基本酵素系	0.049 \pm 0.008	(18%*) (100%)
- NADPH	0.157 \pm 0.017	(59%*) (431%*)
+ 1mM グルタチオン	0.015 \pm 0.002	(6%*) (30%*)
+ 1mM SKF525A	0.051 \pm 0.010	(19%*) (104%*)
肝マイクロゾーム分画		
煮沸酵素基本酵素系	0.187 \pm 0.017	(100%)
native酵素基本酵素系	0.121 \pm 0.005	(65%*)
- NADPH	0.123 \pm 0.007	(65%*)

基本酵素系は0.5 μmol の ^{14}C -MITC、NADPH生成系、5 μmol の塩化マグネシウム及びnativeまたは煮沸により失活させたラット肝マイクロゾームの9000 g 上清または肝マイクロゾーム分画 (240 mgの肝臓に相当) を含む、1 mlの0.2M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4)からなる。好氣的条件下、37°Cで20分間反応させ、5% TCAにより反応を停止。数値は5反復の平均 \pm 標準偏差を示す。*: P < 0.01

5. 体外排泄代謝物

a) 呼気中代謝物

^{14}C -MITCガスは活性炭カラムに定量的に吸着される。活性炭カラムを用いた場合と使用しない場合の、モノエタノールアミンに捕集された ^{14}C は、前者では6.16% (R = 0.58%, N = 2)であり、後者は既述のように6.20 \pm 0.56% (N = 3)で有意差があるとは考え難い結果を示した。また活性炭に吸着させた ^{14}C -MITCのメタノールによる浸漬振とう溶脱は定量的でなかったものの、上記の*in vivo*系における活性炭カラムからは ^{14}C は検出されなかったことから、呼気中に未変化の[P]が排泄されている可能性は極めて低いと考えられた。一方、モノエタノールアミンに捕集された放射性物質は、同液を塩酸に滴下し、生じた気体を水酸化バリウムと反応させた結果、放射性的炭酸バリウムが形成されたことから、 CO_2 を主体(84%以上)とするものであることが示唆された。

b) 尿ならびに胆汁中の代謝物

尿試料の液々分配の結果、中性、酸性、水溶性の各分画にそれぞれ2.2、93.0、4.8%の ^{14}C が回収され、尿中排出物の大部分は酸性条件下でn-ブタノールに抽出可能な(酸性)代謝物であった。中性分画中の放射性物質は、減圧濃縮によりその99.7%が消失したことから、未変化の[P]ないしはそれに類似した低沸点化合物と推定された。

尿ならびに胆汁のSephadex G-50によるゲルろ過カラムクロマトグラフィーの結果、 ^{14}C の溶出位置は尿と胆汁では大きく異なり、胆汁中の主代謝物の分子量は尿中主代謝物のそれよりも大きいと考えられた。また、それらの溶出位置が分子量73の[P]より200以上大きな分子量を有するグルタチオンとほぼ同じであることから、尿ならびに胆汁中の主代謝物が抱合体である可能性が高いことが示唆された。

TLC分析の結果、尿、胆汁からはそれぞれ5種類以上の放射性代謝物が検出された。尿中放射活性の74% (4個体の平均値、以下も同様)を占める主代謝物はニンヒドリン反応陰性であり、酸性 (I)、(II)ならびに塩基性(III)の3種の展開溶媒系を用いた合成標品とのクロマトグラフィーまたは混合

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。

試験の結果、とRf値が
一致した()。そのほか数種の放射性微量代謝物が検出されたが、いずれもニンヒドリン反
応性は認められず、また

の合成標品ともRf値が一致しなかった。

胆汁中の主代謝物は胆汁中放射活性の68%を占めるニンヒドリン反応陽性化合物であり、塩基
性展開溶媒(III)では展開中に分解した。この主代謝物は、2種の酸性展開溶媒を用いたTLC混合
試験でとその挙動が一致し、同定された。他に微量成分として、尿中主代謝物である
が、同定された()。他の微量代謝物2種は、ニンヒドリン反応陰性であ
り、また上記のいずれともRf値が一致しなかった。

6. 代謝の概要及び代謝経路

代謝経路の主体は、の形成の後、
となり排泄される、を経て
経路であった。投与されたMITCの56%
以上はこの代謝経路によって代謝されていると見積られ、組織残留物中の抽出可能な非結合代謝
物の主体はこれら[P]のと考えられた。

その他の[P]代謝経路としては炭酸ガス形成に至る、投与量の少なくとも約8.5%が関与する代謝
系と投与量の約23%を占める未同定の数種類の微量代謝物の形成にかかわる代謝系が存在する。
[P]は化学的な加水分解によりメチルアミンに分解されるため、この反応系が関与している可能
性、活発な腸肝循環が認められることから、の腸内細菌代謝産物に由来する可能性が考えら
れた。

表-7 ¹⁴C-MITCのラットにおける代謝概要

分析部位	投与放射能に対する%	[P]					未同定 代謝物	CO ₂
呼気	24時間 6.2%	ND	-	-	-	-	≤1.0	≥5.2
	7日間 8.5% ¹⁾						1.4% ²⁾	7.1% ²⁾
尿	6時間 不明 100%	[2.2]	ND	ND			25.8%	-
	24時間 70.8%	-	-	-	-	-	-	-
	7日間 75.5%	-	-	-	-	-	19.5% ⁴⁾	-
糞	24時間 1.3%	-	-	-	-	-	-	-
	7日間 2.4%	-	-	-	-	-	2.4%	-
胆汁	6時間 不明 100%	ND					28.2	
	24時間 10.6%							
肝臓	3時間 3.0%	[0.03]					-	-
消化器	24時間 1.9%						-	-
全体組織	24時間 16.0%						-	-
	7日間 6.3%							
24時間合計	96.2%							
7日間合計	92.7%							

-: 未分析または該当しない ND, ND: 未検出

italic 数字: 試料中全¹⁴C (100%)に対する% [数字]: 別系での測定結果%

1): 解析による総排泄量推定値を代用、7日間の排泄量とした。

2): 24時間の呼気分析結果、未同定代謝物/CO₂=1.0/5.2の比率を1)の数値に乗じた。

4): 7日間尿中排泄量75.5%に、6時間尿の未同定代謝物分析結果25.8%を乗じて算出。

推定代謝経路を次図に示した。

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。

[メチルー¹⁴C] MITC のラット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。

2 植物代謝試験

1) ^{35}S -メチルイソチオシアネート (MITC) の土壌からの揮散とトマトによる吸収

(資料 No.代-2、)

試験機関：

報告書作成年：1961年

被験物質 (標識体)

化学名：メチルイソチオシアネート (略称：MITC)

化学構造： $\text{CH}_3\text{-N=C}^*\text{S}$ (*： ^{35}S 標識位置)

標識体： ^{35}S 標識メチルイソチオシアネート

比放射能：

供試植物：トマト

試験方法：

有機物含有量の多い土壌 (Compost soil：水分 20%、pH6.8) 4L を、直径 25cm のデシケーター4 個にそれぞれ入れ、各デシケーターに 20%キシレン溶液とした ^{35}S -MITC 400 mg を 5cm の深さのそれぞれ異なる 5 カ所に注入した。

デシケーターの蓋を閉じ、21 日後まで中の空気をたえず一定の速度で吸引してアンモニア飽和メタノール液に捕集し、同液をシンチレーション計測して放射エネルギーを測定した。22 日後、デシケーターの蓋を開き、土壌中の MITC を除くために攪拌し、蓋をした後、数時間空気を吸引し、アンモニア飽和メタノール液に捕集、同液をシンチレーション計測して放射エネルギーを測定した。

^{35}S -MITC 処理 23 日後、各デシケーターに 4、5、6 週間育苗したトマト苗を 1 本ずつ植付け、8、21、30 及び 52 日間栽培後収穫、以下のように部位に分け、細分化試料とした。

植物 I (植付時 4 週齢)：根、茎、葉

植物 II (植付時 5 週齢)：根、茎、葉

(分析法) 各試料の生重量測定後、濃硝酸を加え加熱酸化、さらに 30%過酸化水素水を加えて完全に灰化させた (湿式灰化処理)。硫酸ナトリウムと 30%塩化バリウム水溶液添加により硫酸バリウムを沈殿させた。同沈殿をろ別、水洗、乾燥後にシンチレーションカクテルに懸濁させ、シンチレーション計測して放射エネルギーを測定した。

植物 III (植付時 6 週齢)：根、茎、葉、茎頂端 (もっとも若い完全展開葉を含む)・脇芽、花・花柄

(分析法) 各部位試料は各試料の生重量測定後、以下に示すように画分し、シンチレーションカクテルに溶解・懸濁させ、シンチレーション計測して放射エネルギーを測定した。

試料 1：酸化及び湿式灰化処理 (画分 1：全硫黄)

試料 2：-10°Cエタノール中で均質化したホモジネートの水蒸気蒸留、アンモニア飽和溶液による捕集物 (画分 2：主として MITC として結合した硫黄)

試料 3：-10°Cエタノール中で均質化したホモジネートを加熱し、酵素不活性化。

・ろ別・水洗した残渣乾燥物 (画分 3：水不溶性の硫黄)

・ろ液を加熱しながら塩酸、硫酸ナトリウム及び塩化バリウムを添加、生成した硫酸バリウム沈殿をろ別 (画分 4：硫酸塩硫黄)

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。

- ろ液を濃縮乾涸、残渣を酸化及び湿式灰化处理、再度硫酸バリウム沈殿を生成させ沈殿をろ別（画分 5：有機物に結合した水溶性硫黄）

土壌についてはトマト収穫後に各デシケータから土壌を採取し十分に混合、以下のよう
に操作して3分画を得、それぞれシンチレーションカクテルに溶解・懸濁後、シン
チレーション計測して放射エネルギーを測定した。

抽出画分 A：水で2回振とう抽出。濃縮乾涸後に湿式灰化处理、塩化バリウム添加
により生成した硫酸バリウム沈殿をろ別して回収。

抽出画分 B：アンモニア飽和メタノールで1回振とう抽出。

残渣画分 C：抽出残渣を Wurzschnitt 法により灰化处理、抽出物を塩酸酸性として
得られた硫酸塩を沈殿させ回収。

試験結果：

表 1 に、土壌処理した ^{35}S -MITC のトマト植付け前までの空気中への揮散量と移植した
植物を採取した後の土壌中残留量をデシケータ毎にまとめた。

土壌処理した ^{35}S -MITC は、処理 22 日後までに処理量の 35.8~39.1%、平均で約 37%
が空気中に揮散した。

収穫後土壌中における ^{35}S 放射能の大部分は、抽出画分 B への放射能分布から、MITC
そのものとして存在しているのではなく、おそらく MITC の酸化により生成した硫酸塩
(MSO_4 , M_2SO_4) として存在することが示唆された。

表 1 ^{35}S -MITC の植付け前土壌からの揮散量と植物採取後における土壌中残留量
(処理放射能に対する%)

デシケータ番号	1	2	3	4
処理 22 日後までに揮散した放射能	35.8%	37.7%	39.1%	38.2%
土壌採取時処理後日数	31	44	53	85**
収穫時処理後日数(栽培日数)*	31 (8)	44 (21)	53 (30)	75** (52)
トマト採取後土壌残留放射能				
抽出画分 A	15.2%	12.0%	9.7%	15.3%
抽出画分 B	1.9%	1.0%	3.5%	2.5%
残渣画分 C	44.4%	41.0%	44.9%	47.0%
A+B+C	61.5%	54.0%	58.1%	64.8%

*：植付けは処理 23 日後に行った。**：収穫 10 日後に土壌を採取

表 2 に ^{35}S -MITC 処理土壌で栽培したトマトの各部位における放射能残留値をまとめた。

^{35}S 放射能は速やかに植物体に吸収され、植付 8 日後には植物 III (植付時 6 週齢) で 189
 γ (= μg) に達し、主に葉・茎に分布した。植付 30 日後の植物 III では土壌処理放射能の
約 1% に相当する 1680 γ が検出され、主に葉に分布した。週齢の若い植物 I、II と比較し
て植物 III における放射能検出量が高い傾向を示した。

^{35}S の残留量(吸収量)が高い植物 III の、30 日間及び 52 日間栽培した試料各部位における
 ^{35}S 放射能の画分分布(%)を表 3 にまとめた。また、表 4 に植物 III の 21、30 及び 52 日間
栽培した試料各部位の画分 2 (水蒸気蒸留、アンモニア飽和溶液による捕集物)におけ
る ^{35}S 放射能濃度をまとめた。

各部位において、 ^{35}S の主たる部分は画分 4 (硫酸塩画分) にあった。蒸気蒸留画分には、
最高 0.15ppm の極微量の ^{35}S が検出されたのみであった。

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

表2 ^{35}S -MITC 処理土壌で栽培した植物各部位における放射能残留 ($^{35}\text{S} \gamma$ [$^{35}\text{S} \mu\text{g}$])

栽培日数	8 (31) ¹⁾		21 (44) ¹⁾		30 (53) ¹⁾		52 (75) ¹⁾	
植物 I		S合計		S合計		S合計		S合計
葉	21.6 [6]		17.7 [5]		94.7 [23]		} 193 [36]	} 211
茎	2.9 [1.4]		11.1 [4]		24.8 [6]			
根	9 [8]	34	5.5 [5]	35	7.9 [8]	128		
植物 II		S合計		S合計		S合計		S合計
葉	50.3 [7]		99 [66]*		500 [50]		} 491 [9]	} 491
茎	8.5 [1]		21.8 [5]		92.5 [6]			
根	17.3 [5]	76	14.5 [5]	135	25.2 [8]	618		
植物 III		S合計		S合計		S合計		S合計
花	-		-		31 [61]		9 [17]	
茎頂端	7.9 [10]		45.8 [18]		142 [13]		65 [14]	
葉	57.0 [7]		809 [66]		1292 [32]		664 [27]	
茎	83.5 [6]		84.9 [5]		174.5 [6]		283 [8]	
根	40.3 [6]	189	20.8 [5]	961	40.0 [9]	1680	48.2 [10]	1069

¹⁾: (処理後日数) []: 生重量 g * : 概算値 (正確に秤量できなかったため)

表3 植物 III 試料各部位における ^{35}S 放射能の画分分布 (%)

栽培日数	30 (処理後日数 53)			52 (処理後日数 75)		
部位	画分 4 硫酸塩	画分 5 可溶性・有機物 結合性硫黄	画分 3 不溶性・結合 性硫黄	画分 4 硫酸塩	画分 5 可溶性・有機物 結合性硫黄	画分 3 不溶性・結合 性硫黄
花・花柄	-	-	-	90	約 7	約 3
茎頂端	65	17	18	81	約 6	13
葉	85	11	4	72	0	28
茎	85	11	4	65	30	5
根	56	21	23	77	11	12

- : 試料が無い

表4 植物 III 試料各部位の画分 2*における ^{35}S 放射能濃度 ($^{35}\text{S} \gamma$ /g, ppm)

栽培日数 (処理後日数)	21 (44)	30 (53)	52 (75)
花・花柄	-	<0.02	<0.2
茎頂端	<0.1	<0.03	<0.03
葉	<0.15	<0.01	<0.01
茎	<0.02	<0.01	<0.01
根	<0.1	<0.05	<0.03

- : 試料が無い * : 水蒸気蒸留、アンモニア飽和溶液による捕集物 検出限界 0.01ppm

以上のことから、 ^{35}S は土壌を介して、測定可能な MITC そのものとしてトマトの根から吸収されたとは考えられず、硫酸塩として吸収されたものと考えられた。

トマトに吸収された硫酸塩は還元されチオール体(R-SH)となり、最終的に含硫アミノ酸の生成に利用されるものと考えられた。

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

2) だいこんにおける代謝

(資料 No.代-3、)

試験機関 :

報告書作成年 : 1983 年

被験物質 (標識体)

化学名 : メチルイソチオシアネート (略称 : MITC)

化学構造 : ${}^{\circ}\text{CH}_3\text{-N}=\text{C}=\text{S}$ (* : ${}^{14}\text{C}$ 標識位置)

標識体 : [メチル- ${}^{14}\text{C}$] 標識メチルイソチオシアネート

供試植物 : だいこん

試験方法 :

土壤への被験物質の処理及び播種

最大容水量の 40% に水分を調整したドイツ標準土壤 2.2 (壤質砂土) 10kg に、テロン 2 (1,3-ジクロロプロペン製剤) で製剤化した [${}^{14}\text{C}$] 標識 MITC 1.065g を処理した (土壤処理濃度 106.5 mg/kg)。処理土壤を 0°C まで冷却し、各 5L 容三角フラスコに処理土壤 2kg を入れた。フラスコを融解して封入し、25°C の暗条件下で 45 日間培養した。

培養終了後にフラスコを開封して揮発性物質を除去したが、播種しただいこんにに葉害 (生育抑制) が認められたため、第一回目の播種まで開放条件下で 2 ヶ月間 (68 日間) ガス抜きを行った。

植物の栽培及び収穫

第一回目の播種後 2 ヶ月間 (68 日間) にわたって栽培し、大根 (葉部と根部) を全て採取した。採取後、同じ土壤に第二回目の播種を行い、2 ヶ月後にだいこん (葉部及び根部) を採取した。

土壤中放射能の抽出及び放射能測定

試料をメタノール/アンモニア混合液 (メタノール 50mL + 25% アンモニア水溶液 1mL) 次いで水酸化ナトリウムで抽出し、各抽出物中の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。また抽出残渣は燃焼させ、放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。

だいこん (葉部) の抽出及び放射能測定

試料をアンモニア飽和メタノールで抽出し、抽出物及び抽出残渣の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。抽出物は薄層クロマトグラフィー (TLC) で分析した。

だいこん (根部) の抽出及び放射能測定

だいこん根部を凍結乾燥後、オキシダイザー内で燃焼させて根部総放射能を測定した。第一回目に採取しただいこん根部の放射能 (放射性炭素) が植物体内の天然物質として存在しているかを調査するため、次の分析を行った。

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。

① フェノール類及びフェノール酸類

エタノール/水混合液による抽出物を 2M 塩酸で加水分解し、加水分解物をエーテル抽出し、抽出物中の放射能を測定した。

② 糖類、ポリカルボン酸類及び遊離アミノ酸類

着色物質を除去するために石油エーテルで洗浄後、だいこん根部試料を 95% エタノールで抽出した。

抽出物に飽和酢酸鉛を添加してポリカルボン酸類を沈殿させた後、TLC に供した。

③ 酢酸塩類及び酢酸類

だいこん根部を 6M 塩酸による酸性還流条件下で 1-オクタノールと反応させ、クロロホルムで酢酸オクチルを抽出した。

④ 蛋白質となったアミノ酸

だいこん根部を 6M 塩酸で還流抽出し、抽出物をイオン交換カラムで精製した。カラムを水で洗浄後、1M 水酸化アンモニウム (120mL)、6M 水酸化アンモニウム (600mL) 及び濃水酸化アンモニウム (120mL) で溶出させた。

水酸化アンモニウム溶出液を TLC 次いで電気泳動クロマトグラフィー (TLE) に供し、ニンヒドリン試薬を噴霧した。

また第二回目に採取しただいこん根部について、メタノール/アンモニア混合液による抽出を行った。

TLC (薄層クロマトグラフィー) :

用いた TLC 条件は次のとおりであった。

TLC プレート : シリカゲル 254 F60

溶媒系 :

1. 酢酸ブチル+n-ブタノール+酢酸+水 (85+15+44+22, 容量)
2. n-ブタノール+ジエチルエーテル+酢酸+水 (9+3+6+1, 容量)
3. アセトニトリル+クロロホルム+水 (7+1+1, 容量)
4. n-ブタノール+酢酸+水 (3+1+1, 容量)
5. クロロホルム
6. 水+エタノール (3+7, 容量)

TLE (電気泳動) :

TLE は pH 2 及び pH 5.2 の条件で行った。

pH 2 の緩衝液 : 酢酸 (2N) + ギ酸 (0.6N) (1+1, v/v)

pH 5.2 の緩衝液 : ピリジン+酢酸+水 (2+1+97, 容量)

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

試験結果：

土壌における放射能残留：

表 1 に土壌残留放射能の内訳を示す。

土壌中放射能（抽出性及び抽出後の燃焼放射能の合計）は、MITC 換算濃度としてフラスコ開封後 32 日、68 日では約 75 mg/kg であり、開封後 136 日には約 50 mg/kg へと減少した。抽出後の燃焼放射能は経時的に増加した（表 1）。

また第一回目のだいこん播種時における未変化の土壌中 MITC 濃度は 1~2 mg/kg であった。

表 1：土壌中放射能

フラスコ開封後の経過日数	溶媒抽出物*		NaOH 抽出物		抽出後の燃焼放射能		合計	
	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
32 日	26.7	36	23.1	31	24.8	33	74.5	100
68 日**	4.85	7	33.2	44	36.6	49	74.6	100
136 日***	0.94	2			51.0	98	51.9	100

*：メタノール/アンモニア混合液 mg/kg：MITC 換算濃度

：第一回目播種時 *：第一回目播種だいこん採取時

だいこん葉部における残留：

表 2 に、葉部における放射能残留を示す。

葉部に認められた放射能残留は MITC 換算濃度として 4.0 mg/kg であり、その内の 55% が抽出された（表 2）。抽出性放射能は、TLC プレートでのクロマトグラフィー挙動から極めて極性の高い物質で構成されていると示された。

表 2：だいこん葉部における放射能残留

	抽出性放射能		非抽出性放射能		合計	
	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
だいこん（葉部）	2.2	55	1.8	45	4.0	100.0

mg/kg：MITC 換算濃度

だいこん根部における残留：

表 3 に、根部における放射能残留を示す。

抽出処理をおこなわず直接燃焼させただいこん根部における放射能残留は、MITC 換算濃度で 2.4 mg/kg であった（表 3）。

6M 塩酸による還流抽出により、最も多くの根部放射能（約 83~95%）が抽出できた。

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：だいこん根部における放射能残留

	抽出性放射能		非抽出性放射能		合計	
	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
総放射能残留（未抽出燃焼分析）	—	—	—	—	2.4	100
エタノール/水混合液抽出（① フェノール類/ フェノール酸類の検討用）	2.1	65	1.1	35	3.2	100
エタノール抽出（② 糖類/ポリカルボン酸類及 び遊離アミノ酸類の検討用）	1.5	59	1.1	41	2.6	100
6M 塩酸の還流抽出 （③ 酢酸塩類及び酢酸類としての検討用）	2.1	83	0.4	1.7	2.5	100
（④ 蛋白質となったアミノ酸の検討用）	2.1	95	0.1	5	2.2	100
メタノール/アンモニア抽出 〔第2回収穫のだいこん根部〕	1.3	67	0.6	33	1.9	100

mg/kg : MITC 換算濃度

だいこん根部放射能の天然成分における分布：

「① フェノール類及びフェノール酸類としての検討」、「②糖類、ポリカルボン酸類及び遊離アミノ酸類としての検討」、「③ 酢酸塩類及び酢酸類としての検討」の結果、だいこん根部放射能はこれら天然成分の何れにも該当しないと示された。

しかしながら「④ 蛋白質となったアミノ酸としての検討」では、薄層クロマトグラム及び電気泳動クロマトグラムにおいてニンヒドリン試薬で発色する放射性スポットが認められた。また電気泳動クロマトグラムでは、陽極移動性（グルタミン酸及びアスパラギン酸）と陰極移動性（グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン又はニンヒドリン発色性アミノ酸）の放射性スポットが認められた。

従って、だいこん根部の放射能の大部分は、蛋白質となったアミノ酸で構成されていることが示された。

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。

3) トマト、レタス及びカラシナにおける代謝

(資料 No.代-4)

試験機関 :

報告書作成年 : 1988 年 [GLP]

被験物質 (標識体)

化学名 : メチルイソチオシアネート (略称 : MITC)

化学構造 : ${}^*\text{CH}_3\text{-N}=\text{C}=\text{S}$ (* : ${}^{14}\text{C}$ 標識位置)

標識体 : [メチル- ${}^{14}\text{C}$] 標識メチルイソチオシアネート

非標識 MITC :

供試植物 : トマト (品種 First in the field)、レタス (品種 Crival 及び Ravel RZ) 及びカラシナ (品種 Fine white)

試験の構成 :

本試験は、(1) *in vitro* 条件での植物体内における MITC の代謝試験 (以降、*in vitro* 代謝試験と称する)、(2) トマト苗の根部を介した吸収移行性試験、(3) 被験物質の土壤燻蒸及びガス抜き後に植物を播種又は植付け、残留放射能の同定/特徴付けを行った試験 (以降、土壤燻蒸試験とする) で構成されている。

試験方法 :

(1) トマト及びレタスリーフディスクでの *in vitro* 代謝試験

(3) 土壤燻蒸試験の対照試験群で採取したトマト及びレタスの葉を蒸留水で浸漬し、穿孔器で直径 10mm のリーフディスクを作成した。リーフディスクをペトリ皿の蒸留水 20mL に浮かべて放射性標識 MITC アセトン溶液 (、20 μL) を添加し、19~22 $^{\circ}\text{C}$ 、恒明条件下で 48 時間培養した ([P]濃度 0.0097 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [申請者による計算値])。

(2) トマト苗の根部を介した吸収移行性試験

トマト苗をパーミキュライトで生長させ、その後根部をガラスバイアル内の水 (9mL) に浸漬させ、茎はバイアル内のシリコン潤滑油に埋め込み根部培地からの揮発性物質による汚染を避けた。放射性標識 MITC を根部培地濃度 0.34mg/L となるように処理し、葉部放射能を処理後 48 時間まで経時的に測定・分析した。

(3) 土壤燻蒸試験

被験物質の処理及びガス抜き処理 :

放射性標識 MITC 及び非標識 MITC を溶媒 (T-400 オイル) に溶解し、1,3-ジクロロプロペンを加えて MITC 製剤を調製した。空気吸気口及び排気口を有するガラス製培養チャンバー (試験容器、内径 20cm×高さ 50cm) に砂壤土を層長 30cm となるように充填した。MITC 製剤を土壌中の有効成分濃度 11.1mg/kg となるようにステンレス製カニューレで土壌深 20cm に千鳥状に処理し、覆土した。密栓した容器全体を銀箔で覆い、19 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ で土壌を 7 日間燻蒸 (培養) 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。

燻蒸後、ガス抜き処理として空気吸気口及び排気口を開放し、水分及び二酸化炭素を除去した空気を計 28 日間通気させた。培養チャンバーの排気口には揮発性物質を捕集する捕集液（2-メトキシエタノール：有機物捕集用、エタノールアミン及び 1M 水酸化ナトリウム：二酸化炭素捕集用）を接続した。ガス抜き期間中の温度は 18～21℃であった。ガス抜き第 25 日～28 日に、レタス種子を土壌表面に置き、発芽率を基に葉害の有無を調査した。ガス抜き第 28 日のレタス種子の発芽率が 100%であったため、ガス抜きは計 28 日間で終了した。28 日間のガス抜き期間における揮発性放射能を測定した。

栽培条件及び植物の採取：

土壌燻蒸試験の試験群は、「燻蒸土壌での栽培試験群」、「燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験群」及び「対照試験群」から成る。

「燻蒸土壌での栽培試験群」及び「対照試験群」では、レタス種子、カラシナ種子、トマト苗（2 葉期）4 本をそれぞれガス抜き終了日の燻蒸土壌及び無処理土壌に播種又は植付けて栽培し、36 日後に各植物を根元から切り取り採取した（カラシナ、トマトは全ての植物、レタスは 3 反復）。同時に土壌も採取した。

レタスについては植付け後 43、50、57、70 日にも同様に採取した。

さらに植物を採取した土壌を混合し、トマト苗（4 葉期）4 本を新たに植付けて栽培し、成熟期（植付け後 128 日）にトマト茎葉及び果実を採取した。

「燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験群」では、トマト苗（2 葉期）を「燻蒸土壌での栽培試験群」及び「対照試験群」と同日に無処理土壌に植付け、フラスコに入れたガス抜き後の燻蒸土壌と同一のタンク内に設置して栽培し、36 日後に植物を根元から切り取り採取した。

各試験群の構成を以下に示す。

土壌燻蒸試験－各試験群の構成

試験群	供試作物	栽培条件（ガラス温室栽培）	植物採取日	採取部位	
燻蒸土壌での栽培試験	カラシナ種子	試験容器内の燻蒸土壌に作物を播種又は植付けた。	播種後 36 日（試験第 36 日）	茎葉	
	レタス種子		播種後 36、43、50、57、70 日	茎葉	
	2 葉期		植付け後 36 日（試験第 36 日）	茎葉	
	トマト	4 葉期	播種又は植付け後 36 日に植物を採取した燻蒸土壌を混合し、4 葉期苗を植付けた。	4 葉期苗植付け後 128 日（試験第 164 日）	茎葉、果実
燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験	苗	2 葉期	無処理土壌に 2 葉期苗を植付け、燻蒸土壌と同一タンク内に設置、栽培した。	植付け後 36 日（試験第 36 日）	茎葉
対照試験	カラシナ種子	無処理土壌に供試作物を播種又は植付けた。	播種後 36 日（試験第 36 日）	茎葉	
	レタス種子		播種後 36 日（試験第 36 日）	茎葉	
			播種後 70 日（試験第 70 日）		
	トマト苗（2 葉期）		植付け後 36 日（試験第 36 日）	成熟期	茎葉、果実

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。

土壌残留放射能及び土壌からの揮発性放射能の測定：

播種又は植付け当日（試験第0日、トマト4葉期苗を除く）、播種又は植付け後36日（試験第36日）及びトマト4葉期苗植付け後128日（試験第164日）に、それぞれ土壌中放射能（処理量に対する%）を及び濃度（未変化のMITC、MITC分解物画分及び結合性残留画分）を測定した。

またガス抜き期間中及び播種又は植付け後の燻蒸土壌から放出される揮発性放射能を、ガス抜き処理と同様に一連の捕集液に捕集した。

植物（レタス）呼吸試験：

「燻蒸土壌での栽培試験群」のレタスを播種後70日に採取した。土壌を洗浄後、銀箔で覆った（暗所）ブフナーフラスコにレタスを入れ、減圧吸引下で植物体から放出される $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した。

(4) 放射能の測定（*in vitro*代謝試験及び土壌燻蒸試験）

固体試料（植物及び土壌）は燃焼させ、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。液体試料はシンチレーションカクテルと混合してLSCで測定した。

(5) 放射能の抽出及び放射性成分の分析（*in vitro*代謝試験及び土壌燻蒸試験）

各試料に、4.4mM ベンジルアミンのメタノール溶液抽出（3回）次いでメタノール/水/アンモニア混合液（500:7.5:2.5 v/v）抽出（3回）を行った。MITCはベンジルアミンによりN-ベンジル-N'-メチルチオウレアに変換される。

またMITC及び関連代謝物を総計として測定するため、試料に6M塩酸（HCl）による加水分解を行ってメチルアミンを生成させ、フェニルイソチオシアネートでN-メチル-N'-フェニルチオウレアへと変換する総残留法も適用した（(2) トマト苗の根部を介した吸収移行性試験を除く）。

放射性成分の同定/特徴付けとして、薄層クロマトグラフィー（TLC）、HPLC、薄層電気泳動（TLE）及びTLCの組み合わせにおいて、参照物質とのコクロマトグラフィーを行った。定量は、オートラジオグラフィー及びライナーアナライザーの組み合わせ、又はプレートから掻き取った放射能域をLSCで測定して行った（(2) トマト苗の根部を介した吸収移行性試験を除く）。

(6) 生化学的分画（*in vitro*代謝試験及び土壌燻蒸試験）

(1) *in vitro*代謝試験のトマトリーフディスク、(2) 土壌燻蒸試験において播種又は植付け後36日に採取したカラシナ及びトマト茎葉、植付け後128日に採取したトマト果実について、次のとおり放射能の生化学的分画を行った。

生化学的分画における画分

・可溶性画分

低分子量画分（アルカリ性画分、酸性化区分及び中性画分）

高分子量画分（蛋白質画分、RNA画分及びDNA画分）

・不溶性画分

中性脂質画分、極性脂質画分、水溶性多糖類画分、ペクチン画分、ヘミセルロース画分（画分1及び2）、リグニン画分、セルロース画分及び残渣画分（リグニン）

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：

(1) *in vitro* 代謝試験

表1にリーフディスクを用いた *in vitro* 代謝試験で認められた代謝物を示す。

メタノール抽出性放射能の TLC による分析により、多数の極性代謝物が認められた。最も極性が高かった代謝物は、
が認められた。またレタスではアスパラギン酸が *in vitro* 条件での MITC の代謝物として認められ、MITC の酸化分解で生成した二酸化炭素が固定され、L-アスパラギン酸プールに取り込まれたと考えられた。

MITC 換算値としてレタスで 4.81 mg/kg、トマトで 8.99 mg/kg の濃度で認められた未知物質は、
と推定された。

未変化の MITC はレタス及びトマトリーフディスクにおいて、それぞれ 0.06 mg/kg 及び 0.15 mg/kg の濃度で認められた。

レタス及びトマトリーフディスクの、メタノール抽出残渣の塩酸加水分解物中に共有結合付加体がそれぞれ 0.40 mg/kg、0.55 mg/kg (MITC 換算値) 認められた。従って、*in vitro* 条件で植物が [P] に直接曝露された場合、[P] はメタノール不溶性の高分子と結合し、共有結合付加体を形成すると考えられた。

表1：リーフディスクを用いた *in vitro* 代謝試験で認められた代謝物 (48 時間後)

代 謝 物		生成量 (mg/kg、MITC 換算値) [対 TRR%]	
		レタス	トマト
メタノール抽出性放射能	総抽出放射能	11.23 [83.6%]	16.06 [84.9%]
	MITC [P]	0.06 [<0.01%]	0.15 [0.8%]
		3.13 [23.5%]	2.73 [14.4%]
		1.55 [11.5%]	4.19 [22.1%]
	アスパラギン酸	1.68 [12.5%]	未検出
	未知物質	4.81 [36.1%]	8.99 [47.6%]
メタノール非抽出性放射能 (メタノール抽出残渣)	総メタノール非抽出性放射能	2.21 [16.4%]	2.86 [15.1%]
	(#)を除く 6M HCl 加水分解後の抽出物	1.48 [11.0%]	2.05 [10.8%]
	MITC 共有結合付加体 (#)	0.40 [3.0%]	0.55 [2.9%]
	6M HCl 加水分解後の非抽出物	0.33 [2.4%]	0.26 [1.4%]
総放射能残留		13.44 [100.0%]	18.92 [100.0%]

(#) 加水分解後に生成するメチルアミンを N-メチル-N'-フェニルチオウレアに誘導体化した放射能

(2) トマト苗の根部を介した吸収移行性

表2に、¹⁴C標識 MITC 溶液で最長 48 時間にわたって根部を浸漬したトマト苗の葉部放射能を示す。

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

トマト苗葉部の放射能は48時間の根部浸漬期間において経時的に増加し、浸漬終了時の残留値は約 3.1 mg/kg (MITC 換算値)であった。根部浸漬終了時の葉部放射能の95.7%が抽出されたが、抽出放射能に未変化の[P]、
は認められず、抽出放射能は未同定の極性成分で構成されていた。

表2： ^{14}C 標識 MITC 溶液に根部を浸漬させたトマト苗の葉部放射能

処理開始後時間 (hr)	葉部における放射能残留 (mg/kg、MITC 換算値)		
	メタノール抽出放射能	繊維結合放射能	合計
0	0	0	0
16	0.502	0.032	0.534
24	1.392	0.047	1.439
48	2.960	0.134	3.094

(3) 土壌燻蒸試験

ガス抜き後の燻蒸土壌中放射能：

ガス抜き後の燻蒸土壌中放射能を表3に示す。

ガス抜き直後に作付け(播種又は植付け)を行った試験第0日では、燻蒸土壌に約 6.4 mg/kg (MITC 換算値)が認められたが、未変化の MITC は 0.090 mg/kg (1.4%AR、AR：処理放射能に対する%)にすぎず、土壌残留の大部分は土壌有機画分への結合残留であった。

試験第36日及び第164日では、無機化及び $^{14}\text{CO}_2$ の生成(放出)が進行したことにより、燻蒸土壌中放射能はそれぞれ約 1.7 mg/kg 及び約 1.3 mg/kg (MITC 換算値)となった。試験第36日及び第164日の燻蒸土壌中に未変化の MITC は認められず、試験第0日と同様に結合残留が総残留の主成分であった。

表3：ガス抜き後の燻蒸土壌中放射能

ガス抜き後 (作付け後) 経過日数 (日)	抽出性放射能 (mg/kg *)			結合残留 (mg/kg *)	総残留 (mg/kg *)	%AR
	メタノール画分		メタノール/水/ アンモニア 画分			
	画分中 総放射能	未変化 MITC				
0 [試験第0日]	0.318 (5.0%)	0.090 [1.4%]	ND	6.038 (95.0%)	6.356 (100%)	54.7
36 [試験第36日]	0.102 (6.1%)	0	0.068 (4.0%)	1.515 (89.9%)	1.685 (100%)	NA
164 [試験第164日]	0.014 (1.1%)	0	0.025 (2.0%)	1.224 (90.9%)	1.263 (100%)	11.8

NA：未測定 *：MITC 換算値。%AR：処理放射能に対する%

燻蒸土壌からの揮発性物質の特徴付け：

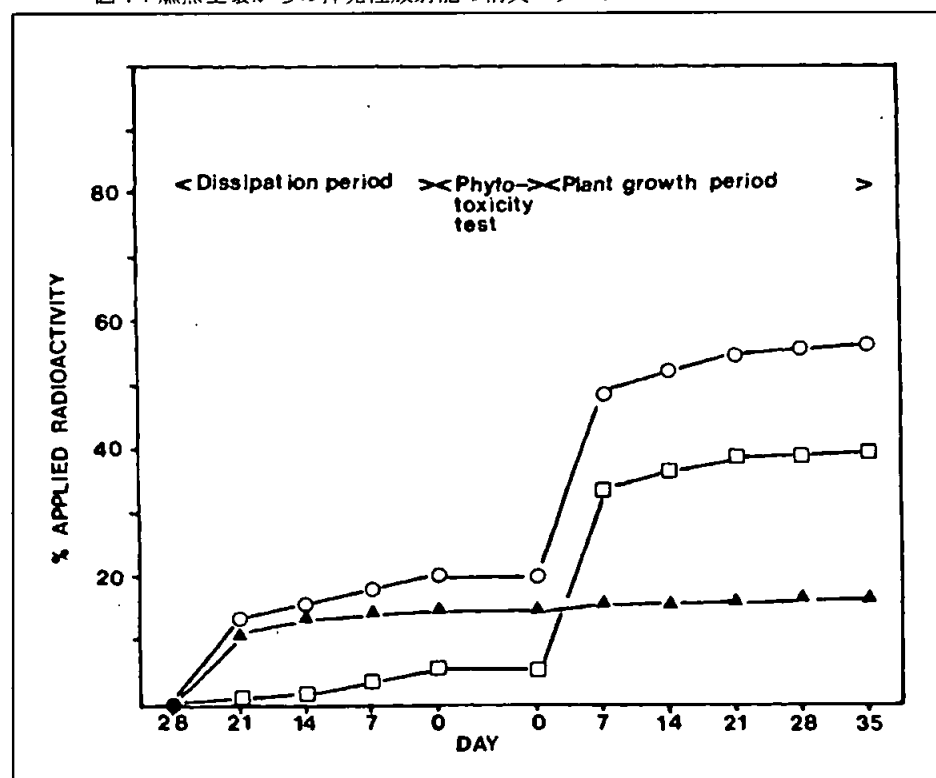
燻蒸土壌からの揮発性物質の生成パターンを図1に示す。

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。

28 日間にわたるガス抜き期間では累計で処理放射能の 20.3% が放出され、その内訳は $^{14}\text{CO}_2$ が 5.6%、MITC ではない単一有機化合物が 14.7% であった。播種又は植付け後では無機化が促進され、播種又は植付けから試験第 36 日までに処理放射能の 33.6% が $^{14}\text{CO}_2$ として、2.1% が揮発性有機物として放出された。MITC を捕集する 2-メトキシエタノール捕集液の分析から、播種又は植付け後に放出された MITC が無いことが示された。

試験第 36 日の時点で、処理放射能の 56.0% (累積値) が揮発性放射能として回収され、その内訳は $^{14}\text{CO}_2$ として 39.1%、有機物として 16.9% であった。

図 1: 燻蒸土壌からの揮発性放射能の消失パターン



○: 揮発性放射能 (計)、□: $^{14}\text{CO}_2$ 、▲: 有機物

土壌処理試験における植物体内の放射能残留:

土壌処理試験における採取時の植物体内放射能残留を、表 4 (レタス茎葉、カラシナ茎葉) 及び表 5 (トマト) に示す。

燻蒸土壌での播種又は植付け後 36 日の放射能残留量は、レタス茎葉では約 1.3 mg/kg (MITC 換算値) と低かったが、カラシナ茎葉及びトマト茎葉ではそれぞれ約 3.3 mg/kg 及び 2.9 mg/kg (MITC 換算値) であった。

レタス茎葉における放射能残留は経時的に減少し、播種後第 70 日には約 0.19 mg/kg (MITC 換算値) 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

トマト茎葉では、栽培環境による茎葉残留放射能の差が認められた。即ち茎葉残留放射能は、土壌中放射能及び土壌からの揮発性放射能に曝露させた場合（燻蒸土壌での栽培）では約 2.9mg/kg（MITC 換算値）であったのに対し、燻蒸土壌からの揮発性物質のみに曝露させた場合では約 4.8 mg/kg（MITC 換算値）と高かった。この栽培環境による差から、揮発性物質の吸収（同化）が植物における主たる吸収経路であると考えられ、土壌燻蒸後に生成した $^{14}\text{CO}_2$ が植物体内放射能の重要な供給源であることを示唆している。

ガス抜き後第 36 日に植付けたトマトでは、成熟期の放射能濃度は果実で約 0.03 mg/kg 及び茎葉で約 0.3 mg/kg（何れも MITC 換算値）であった。

表 4：レタス茎葉及びカラシナ茎葉における放射能残留

播種後経過日数 (日)	放射能残留 (mg/kg、MITC 換算値)			
	カラシナ (茎葉)		レタス (茎葉)	
	対照試験	燻蒸土壌での栽培試験	対照試験	燻蒸土壌での栽培試験
36 日	0.007	3.292	0.004	1.266
43 日	—	—	—	1.253
50 日	—	—	—	0.554
57 日	—	—	—	0.293
70 日	—	—	0.003	0.189

表 5：トマト茎葉及び果実における放射能残留

植付け後経過日数 (日)		トマトにおける放射能残留 (mg/kg、MITC 換算値)					
		対照試験		燻蒸土壌での栽培試験		燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験	
		茎葉	果実	茎葉	果実	茎葉	果実
2 葉期苗	36 日	0.002	—	2.906	—	4.825	—
	成熟期	0.003	0.002	—	—	—	—
4 葉期苗 (#)	128 日	—	—	0.227	0.033	—	—

(#)：試験第 36 日（ガス抜き後第 36 日）に植付け。

土壌燻蒸試験におけるトマト茎葉及びレタス茎葉における代謝物：

表 6 に、土壌燻蒸試験でのトマト及びレタスにおける代謝物を示す。

播種又は植付け後 36 日（試験第 36 日）に採取したトマト茎葉及びレタス茎葉では、総残留に対して燻蒸土壌での栽培試験で総残留の 41.5%（トマト茎葉）～54.7%（レタス茎葉）、燻蒸土壌からの揮発物質曝露試験で総残留の 32.8%（トマト茎葉）がそれぞれメタノール抽出された。

しかしながら、抽出放射能に未変化の[P]及び[M01]又は[M02]は認められず、未変化の[P]は植物体マトリックスに取り込まれなかったと考えられた。

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

メタノール抽出残渣の加水分解後、メタノール不溶性の高分子共有結合付加体がトマト茎葉及び果実に認められた。

高分子共有結合付加体の値は、トマト茎葉で 0.026 mg/kg (燻蒸土壌での栽培試験) 及び 0.083 mg/kg (燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験) (何れも MITC 換算値)、トマト果実で 0.0003 mg/kg (MITC 換算値) であり、「(1) *in vitro* 代謝試験」で MITC を直接トマトリーフディスクに曝露させた値と比較して低かった。また揮発性物質曝露試験での値は、栽培期間で MITC の土壌からの放出が無かったため、未変化の MITC ではなくその揮発性分解物に起因すると考えられた。

表 6: トマト茎葉及びレタス茎葉における放射能分布 (単位: mg/kg、MITC 換算値)

試験の種類		燻蒸土壌からの 揮発性物質曝露試験	燻蒸土壌での栽培試験		
植物部位		トマト茎葉	トマト茎葉	トマト果実	レタス茎葉
播種又は植付け後日数		36 日	36 日	128 日 (*)	36 日
総 残 留		4.825	2.906	0.033	1.266
放射能 / 代謝物	メタノール抽出物	1.581 (32.8%)	1.206 (41.5%)	—	0.693 (54.7%)
	6M HCl 加水分解後の抽出物	1.616	0.970	0.024	—
	共有結合付加体 (#)	0.083	0.026	0.0003	—
	6M HCl 加水分解後の非抽出物	0.567	0.307	0.006	0.573

(#) 加水分解後にメチルアミンで N-メチル-N'-フェニルチオウレアに誘導体化された放射能。

(*) : 試験第 36 日 (ガス抜き後第 36 日) に植付け。括弧 () 内は総残留に占める%。

レタス呼吸試験 :

70 日間にわたって燻蒸土壌で栽培したレタス茎葉は、暗所で $^{14}\text{CO}_2$ を放出した。48 時間の呼吸試験期間中、植物体総残留の 4.4% が $^{14}\text{CO}_2$ として放出され、揮発性物質として放出されたものは総残留の 0.4% のみであった。 [^{14}C] 標識 MITC に由来する放射能は、恐らく炭水化物として植物体の炭素プールに存在していると考えられた。

生化学的分画 (*in vitro* 代謝試験及び土壌燻蒸試験) :

表 7 にカラシナ、トマト茎葉及びトマトリーフディスクの生化学的分画結果を、表 8 にトマト果実の生化学的分画結果を示す。

被験物質に 48 時間曝露させたトマトリーフディスクの生化学的分画では、放射能の大部分が低分子量可溶性画分に存在していることが示された。一方、植付け後 36 日に採取したトマト茎葉 (燻蒸土壌での栽培試験) では、可溶性画分及び不溶性画分に同程度分布し、主として可溶性画分の放射能は糖で構成される中性画分に、不溶性画分の放射能は水溶性多糖類画分に存在していた。

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。

植付け後 128 日に採取したトマト果実（燻蒸土壌での栽培試験）では、放射能の大部分は可溶性の中性（糖）画分及び不溶性のヘミセルロース画分に存在した。

表 7: カラシナ、トマト茎葉及びトマトリーフディスクの生化学的分画結果

試 験	燻蒸土壌での栽培試験		燻蒸土壌から の揮発性物質 曝露試験	<i>in vitro</i> 代謝試験
	カラシナ	トマト茎葉	トマト茎葉	トマト リーフ ディスク
播種又は植付け後日数、 <i>in vitro</i> 試験期間	36 日	36 日	36 日	48 時間
総残留 (mg/kg、MITC 換算値)	3.29	2.91	4.83	21.69
生化学的分画	総残留に占める%			
可溶性画分	53.4	44.2	33.3	81.9
低分子量画分	50.6	39.7	27.3	76.0
アルカリ性画分	25.3	8.6	4.3	27.7
酸性画分	1.1	11.1	7.0	5.5
中性画分	24.2	20.2	11.6	17.1
高分子量画分				
蛋白質画分	1.0	2.6	5.0	2.0
RNA 画分	0.3	0.4	0.5	2.7
DNA 画分	0.2	0.4	0.4	0.6
特徴付けた可溶性画分	52.1	43.3	28.8	55.6
不溶性画分				
中性脂質画分	2.2	3.2	5.8	0.2
極性脂質画分	3.7	3.5	4.8	4.7
水溶性多糖類画分	9.8	10.4	7.7	1.4
ペクチン画分	2.7	5.5	5.1	0.1
ヘミセルロース画分 1	6.1	9.8	12.7	0.9
リグニン画分	2.4	3.6	5.3	0.4
ヘミセルロース画分 2	0.8	1.0	1.5	—
セルロース画分 及び残渣画分 (リグニン)	4.4	4.1	4.1	—
特徴付けた不溶性画分	32.1	41.1	47.0	7.7
その他 (濾紙残留放射能)	4.9	6.2	8.5	0.8
総 回 収 率	90.4	91.5	88.8	90.4

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 8 : トマト果実の生化学的分画

試 験	燻蒸土壌での栽培試験
植 物	トマト果実
植付け後日数	128 日 (*)
総残留 (mg/kg、MITC 換算値)	0.033
生化学的分画	総残留に占める%
可溶性画分	62.3
低分子量画分	60.8
アルカリ性画分	1.9
酸性画分	1.4
中性画分	32.9
高分子量画分	—
不溶性画分	
中性脂質画分	2.9
極性脂質画分	3.5
水溶性多糖類画分	1.6
ペクチン画分	5.0
ヘミセルロース画分 1	12.8
リグニン画分	1.6
ヘミセルロース画分 2	1.6
残渣画分 (リグニン)	4.1
総 回 収 率	90.3

(*) : 試験第 36 日 (ガス抜き後第 36 日) に植付け。

可溶性低分子量残留の同定 (土壌燻蒸試験) :

燻蒸土壌で栽培したレタス茎葉 (試験第 36 日及び第 43 日) 及びトマト茎葉 (試験第 36 日)、燻蒸土壌からの揮発性物質に曝露させたトマト茎葉部 (試験第 36 日) を TLE 次いで TLC で分析した結果、放射性グルタミン酸及びアスパラギン酸が認められた。

試 験	燻蒸土壌での栽培試験			燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験	
	植物部位	レタス茎葉		トマト茎葉	
	播種又は植付け後日数	播種後 36 日	播種後 43 日	植付け後 36 日	
グルタミン酸	mg/kg	0.31	微量	0.058	0.043
	%AR	44.1%	7%	4.8%	2.7%
アスパラギン酸	mg/kg	非検出	非検出	0.065	0.016
	%AR	—	—	5.4%	1.0%

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。

以上の結果を以下に要約する。

- ・ *in vitro* 条件で[P]を植物（トマト及びレタスリーフディスク）に直接曝露させた場合、植物体中に未変化の[P]並びに *が認められた。
- ・ 一方、[P]で燻蒸した土壌で植物を栽培した場合、*in vitro* 試験で認められた未変化の[P]並びには認められなかった。燻蒸土壌で栽培した植物体の残留は、天然物質、特に炭水化物及びアミノ酸（アスパラギン酸、グルタミン酸）で構成され、植物炭素プール及びアミノ酸プールに取り込まれたと考えられる。
- ・ [¹⁴C]標識[P]で燻蒸した土壌からの植物体への放射能移行は、茎葉による土壌からの揮発性物質の吸収と根茎放射能吸収が複合したものと考えられる。しかしながら、未変化の[P]及びその抱合体が認められなかったことは、次の二理由によると考えられた。
 - 1) 土壌からの主たる揮発性物質は二酸化炭素であり、茎葉吸収に由来する残留は二酸化炭素の固定によるものである。
 - 2) MITC は反応性に富む物質であり、処理後行われる土壌中で急速に土壌結合残留の変換及び無機化を受け、分解物のみが根茎吸収を受けると考えられる。

in vitro 条件下における MITC の植物体内代謝経路を以下に示す。

* : ¹⁴C-標識位置

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 土壤中動態

1) 好氣的土壤中動態

(資料No.代-5)

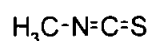
試験機関:

報告年: 1987年

供試標識化合物

[メチル ^{14}C] 標識メチルイソチオシアネート (略称: ^{14}C -MITC)

構造式:



*: ^{14}C の標識位置を示す

化学名: メチルイソチオシアネート (略称: MITC)

比放射能:

放射化学的純度:

【方法】

1. 供試土壌

以下の砂壤土 1 種類を用いた。

土性	砂壤土
有機炭素含有量 (%)	1.110
pH	7.5
カチオン交換容量 (mVal/100g)	5
粘土 (<2~ μm) (%)	8.0
シルト (2~20 μm) (%)	9.6
粗シルト (20~63 μm) (%)	8.6
細砂 (63~200 μm) (%)	23.6
中砂 (0.2~0.63mm) (%)	45.9
粗砂 (0.63~2mm) (%)	4.3
容積重 (g/cm ³)	1.28
最大保水量 (g/100g 土壌)	31.94
採取地	ドイツ国ベルリン Frohnau

2. 試験温度及び条件

22±2°C、暗所。

3. 試験系の調製及び薬剤の処理

供試土壌を 2mm の篩にかけ、4°Cにて 17 日間保管した後、最大保水量の 40%に調製してインキュベーションフラスコに移し密栓、4°Cにて 3 日間保管した。

被験物質のエタノール溶液 (10.4mg 有効成分/100 μL エタノール) を調製し、4°Cにて冷蔵したインキュベーションフラスコ内土壌にシリンジを用いて処理した (処理量: 104mg 有効成分/kg 土壌、通常施用量の上限に相当)。

処理後、インキュベーションフラスコに一連の捕集装置 (順番、捕集液及び個数: ベンジルアミン×2 個、0.1N 水酸化カリウム×1 個、0.1M 硫酸×1 個及びエチレングリコール×1 個) を接続した。

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

インキュベーションフラスコには、二酸化炭素を除去した空気を 0.4L/時間の速度で通気した。なおベンジルアミンにより、高揮発性のメチルイソチオシアネートは無揮発性の *N*-ベンジル-*N'*-メチル-チオ尿素に変換される。

4. インキュベーション期間及び試料の採取

インキュベーションは最長 14 日間行った。試料採取は、下表に示す日程で行った。

	処理後日数							
	0 日	1 日	2 日	3 日	4 日	7 日	10 日	14 日
採取試料	土壌及び各捕集液							捕集液のみ
反復数	n=2							n=9

5. 揮発性放射能の測定

水酸化カリウム捕集液を液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定し、放射性二酸化炭素量を求めた。また水酸化カリウム捕集液に塩化バリウム溶液を処理し、捕集液中の放射性成分が二酸化炭素であることを確認した。

1 番目のベンジルアミン捕集液をラジオ高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に注入し、放射能を測定した。

その他の捕集液 (硫酸及びエチレングリコール) は、含有する放射能が少なかったためラジオ HPLC 分析に供しなかった。

6. 土壌の抽出及び結合残留の測定

土壌試料 (第 0 日～第 7 日) について冷却エタノール (3 回) 及び水 (3 回) で抽出し、その後エタノールを用いたソクスレー抽出を行った。第 10 日の土壌試料については、エタノール/ベンジルアミン混合液のみで抽出を行った。抽出物中の放射能は LSC で測定した。

また、エタノール抽出物及び水抽出物にベンジルアミンを添加し、ラジオ HPLC での直接分析に供した。

抽出後の土壌残渣は、乾燥/粉碎後にオキシダイザーで燃焼させて生成する放射能を測定した。

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

【結果】

1. 物質収支

表1に、本試験における物質収支を示した。

表1：物質収支（第0～10日の値はn=2の平均値、第14日の値はn=9の平均値）

経過 日数	処理放射能に対する%											
	捕集液中の放射能						土壌抽出物中の放射能				結合 残留 ^{c)}	合計 ^{d)}
	ベンジルアミン		水酸化カリウム (CO ₂ として)	硫酸	エチレン グリコール	計 ^{a)}	エタノール	水	ソクスレー	計 ^{b)}		
No.1	No.2											
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—	73.64	11.64	8.67	93.95	1.33	95.28
1	71.59	0.11	0.02 (N.D., 0.02)	N.D.	N.D.	71.72	7.70	2.11	5.82	15.63	4.81	92.16
2	65.83	0.11	0.03 (N.D., 0.04)	N.D.	N.D.	65.97	4.37	1.78	4.40	10.55	7.67	84.19
3	85.61	0.28	0.57	N.D.	N.D.	86.46	0.51	0.81	1.70	3.02	5.80	95.28
4	95.10	0.22	1.37	N.D.	N.D.	96.69	0.18	0.31	0.92	1.41	3.40	101.50
7	90.65	0.61	4.96	N.D.	0.02	96.22	—	0.62	0.65	1.27	3.55	101.04
10	79.95	0.29	3.75	N.D.	N.D.	83.99	0.10	—	N.A.	0.10	6.45	90.54
14	84.46	0.32	4.00	N.D.	N.D.	88.78	N.A.	N.A.	N.A.	—	N.A.	88.78

N.D.：検出限界（0.01%）以下。N.A.：未分析。—：未検出または算定不能。

測定値が検出限界以下と検出限界以上となった場合、N.D.=0.01%として平均を算出した。

a)：各時点捕集液中の放射能検出量合計 b)：各時点土壌抽出物分画中の放射能検出量合計

c)：各時点非抽出残渣における放射能量 d)：各時点 a)+b)+c)=各時点の物質(放射能)収支

試験期間中の物質収支は 84.19～101.50%の範囲にあり、試験期間を通じた物質収支は 93.6%であった。

土壌から抽出される放射能は、処理0日後の93.95%から処理10日後の0.10%と急速に減少した。これに対し、処理1日後には揮発性物質として各捕集液中に認められる放射能が71.72%認められた。捕集液中の放射能の大部分は、ベンジルアミントラップ2個のうち、最初のトラップ (No.1) に認められた。また水酸化カリウム捕集液中に二酸化炭素として回収された放射能も認められ、処理7日後に最高値4.96%を示した後、約4%の水準で推移した。

結合残留は、処理2日後に最高値7.67%が認められた。

2. 捕集液及び土壌抽出物中の放射性成分

表2に、一番目のベンジルアミン捕集液、エタノール又は水抽出物及びソクスレー抽出物中の放射性成分の推移を示す。

表2：捕集液及び土壌抽出物中の放射性成分（表中の数値は処理放射能に対する%、n=2の平均値）

経過 日数	放射性成分	ベンジルア ミン捕集液	エタノール抽出物			水抽出物			ソクスレ ー抽出物	合計
		[P]	U1	U2	[P]	U1	U2	[P]	[P]	[P]
0	—	—	0.55	1.15	69.4	0.25	0.15	11.2	8.65	89.25
1	71.65	71.65	0.65	0.60	5.55	0.30	0.15	1.55	5.80	84.55
2	65.90	65.90	0.20	0.20	3.55	0.40	<0.10	1.10	4.40	74.95
3	85.85	85.85	—	—	—	0.40	<0.10	0.25	1.70	88.45
4	95.35	95.35	<0.10	<0.10	<0.10	0.20	—	<0.10	0.95	96.30
7	91.25	91.25	—	—	—	—	—	—	0.65	91.90

—：未分析。

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。

ベンジルアミン捕集液及びソクスレー抽出物中の放射性成分は、何れも未変化の[P]のみであった。エタノール及び水抽出物中の放射能の大部分は未変化の[P]であり、また未知成分 U1 及び U2 が認められた。U1 は3種類の成分で構成され、

であると考えられた。U2 は処理0 日後にエタノール抽出物及び水抽出物から処理放射能に対して1.30%認められた。U1 及びU2 は、
供試 ^{14}C 標識体の不純物であると考えられた。

3. メチルイソチオシアネート[P]の半減期

マルチコンパートメントモデルにより、[P]の好氣的土壤中における半減期は0.3 日と算出された。

4. メチルイソチオシアネート[P]の代謝経路

好氣的土壤中で認められた[P]の分解物は、二酸化炭素のみであった。従って、[P]の代謝経路は、中間反応生成物を経て最終分解物（二酸化炭素）へと分解されることが考えられた。

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

4. 水中動態

1) 加水分解

資料No. 代-6

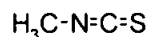
試験機関：

報告書作成年：1986年

供試標識化合物

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (略称：¹⁴C-MITC)

構造式；



*：¹⁴Cの標識位置を示す

化学名；メチルイソチオシアネート (略称：

MITC) 比放射能：

放射化学的純度：

試験方法

供試水：以下の緩衝液を用いた。

酢酸緩衝液 pH 5.0 (25°C)

リン酸緩衝液 pH 7.0 (25°C)

ホウ酸緩衝液 pH 9.0 (25°C)

各緩衝液は還流下に1時間煮沸して滅菌後、25°CにおいてpH 値を調製した。

ガラス器具の滅菌：

バイアル、ガラスシリンジ、スクリーキャップ及びバイアル用セプタムを含む全てのガラス器具は、135°C、12時間オープン中にて加熱、滅菌した後に使用した。

添加用被検物質溶液の調製：

非標識の MITC 40.626 mg と ¹⁴C-MITC 74 µg を 2.0 ml 容のメスフラスコに秤量、比放射能 MITC 30.35 mg/ml 濃度のメタノール溶液を調製、-30°Cの冷凍庫内に使用時まで保存した。

加水分解試験溶液の調製及び試験実施：

pH 調製後の各滅菌緩衝液 100ml を、それぞれ 250 ml 容の三角フラスコに移し、添加用被検物質溶液 250 µl を磁気攪拌子で激しく攪拌しながら各緩衝溶液に添加、加水分解試験溶液を調製した(最終濃度 76.35µg/ml)。これらの溶液の各々を、滅菌シリンジを用いて 20 個のガラスバイアル (1.85 ml 容) に上部まで完全に (ヘッドスペースがないように) 充填し、スクリーキャップ (セプタム付) で蓋をして気密状態とした。バイアルは25±0.1°C のサーモスタット水浴中に移し、暗所にてインキュベートして加水分解試験を開始した。

試料採取及び加水分解の測定：

適当な時間間隔でバイアルを水浴から取出し、内容物のうち 100 µl を以下の操作条件に設定した HPLC に直接注入して分析を行った。

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。

HPLC 操作条件

ポンプ：Waters M 6000 A

インジェクター：Waters U6K

HPLC カラム：ODS Hypersil (Shandon), 25 cm X 4.6 mm, 粒径 5 μm

流量：1 ml/分

溶離液：メタノール：水=50：50 または 30：70 (体積比)

検出器：HP 1036 UV 検出器(254 nm)

加水分解溶液の総放射エネルギーの平均値を測定するため、同じガラスバイアルから採取した 100 μl 試料 3 検体を、シンチレーションカクテル 12.5ml を含有する Beckmann Poly QTM バイアルに注入し、液体シンチレーション計数を行った。

HPLC カラムからの溶出液を UV 検出器により 12 分間モニタリングし、リニアフラクションコレクター及び Beckmann poly QTM バイアルの交換の際の溶離剤の損失を無くすために考案された液流遮断弁を用いて、24 秒ずつ 30 個の画分 (0.4ml) に分画した (1~30 画分)。各画分に、シンチレーションカクテル 12.5ml を添加し、液体シンチレーション計数により放射能を測定した。

加水分解速度及び半減期の計算：

クロマトグラフィーデータを一次速度式に直線回帰させることにより計算した。

$$\ln X = \ln A + B \cdot Y$$

式中、傾き B は一次速度定数 K (B=K) であり、A は 0 時の MITC の計算値、即ち、回帰直線の縦軸切片を示す。

半減期 $t_{1/2}$ は以下のようにして計算した。

$$t_{1/2} = \ln 2/k$$

加水分解生成物の同定：

標品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。

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

結果

各 pH 緩衝液における、HPLC 画分の経時的検出放射能成分量及び放射能収支(%)のまとめを表 1 から表 3 にまとめた。

表 1 pH 5 緩衝液の経時的検出放射能成分量及び放射能収支のまとめ(処理放射能に対する%)

放射能収支(処理放射能に対する%)									
時間	0.16	4.2	28.2	49.4	76.2	112.0	172.4	217.0	337.7
[P]	94.5	86.1	68.4	57.8	44.5	38.4	22.7	14.8	5.6
	3.9	7.0	25.5	34.6	47.3	52.4	69.1	77.4	83.0
その他分解物	0.7	0.9	1.1	1.6	1.7	1.4	1.5	2.4	1.1
カラム吸着	0.9	1.4	-	2.6	2.7	3.7	3.4	1.8	5.7
放射能収支(%)	100.0	95.4	95.0	96.6	96.2	95.9	96.7	96.4	95.4

表 2 pH 7 緩衝液の経時的検出放射能成分量及び放射能収支のまとめ(処理放射能に対する%)

放射能収支(処理放射能に対する%)									
時間	0.75	28.6	96.3	124.2	145.6	268.4	360.4	530.6	792.1
[P]	96.6	90.8	79.9	74.3	70.4	68.1	57.6	42.8	30.8
	3.2	-	7.8	10.3	20.2	16.8	26.5	38.8	49.3
その他分解物	0.2	-	1.2	1.4	1.8	2.2	1.7	2.6	2.5
カラム吸着	-	1.9	3.5	1.9	1.2	5.1	4.6	3.5	1.1
放射能収支(%)	100.0	91.5	92.4	87.9	93.6	92.2	90.4	87.7	83.7

表 3 pH 9 緩衝液の経時的検出放射能成分量及び放射能収支のまとめ(処理放射能に対する%)

放射能収支(処理放射能に対する%)									
時間	0.25	25.0	96.6	124.6	146.0	172.2	268.8	313.1	
[P]	94.6	74.4	37.7	36.3	31.3	27.4	15.7	12.2	
	0.8	8.6	24.9	30.3	32.7	36.8	47.1	49.2	
	0.9	6.8	24.8	19.2	19.8	21.0	22.5	23.3	
その他分解物	0.4	2.0	3.5	1.8	1.5	1.5	1.9	1.8	
カラム吸着	3.3	0.7	5.9	6.4	8.5	6.4	9.6	8.4	
放射能収支(%)	100.0	92.5	96.8	94.0	93.8	93.1	96.8	94.9	

各 pH 緩衝液の最終サンプリング時点において 83.7~95.4%の放射能収支が得られた。

いずれの pH 緩衝液においても見出された主分解物は であった。 の HPLC 溶離特性は加水分解溶液の pH に依存していた。すなわち pH5 緩衝液では画分 No. 8-23 に、pH7 緩衝液では画分 No. 8-30 に、pH9 緩衝液では画分 No. 12-30 に親化合物[P]及び

混在した。このため、残存する[P]を HPLC/UV 検出により定量し、処理放射能に対する割合(%)を算出、この値を と混在する画分中の放射能から減じて試料中に存在する の量を求めた。各 pH 緩衝液の最終サンプリング時点における の生成量は、pH5 緩衝液で 83.0%(337.7 時間後)、pH7 緩衝液で 49.3%(792.1 時間後)、pH 9 緩衝液で 49.2%(313.1 時間後)であった。pH 9 緩衝液においては が十分に分離した状態で画分 No. 7-9 に溶出した(最終サンプリング時点の 313.1 時間後において 23.3%検出)。

[P]は各 pH 緩衝液の最終サンプリング時点において減衰し、pH5 緩衝液で 5.6%(337.7 時間後)、pH7 緩衝液で 30.8%(792.1 時間後)、pH 9 緩衝液で 12.2%(313.1 時間後)が残存した。

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 pH における[P]の加水分解速度及び推定半減期の結果を下表にまとめた。

[P]の各 pH 緩衝液における推定半減期 $t_{1/2}$ は pH 5 で 85 時間、pH 9 で 110 時間、pH7 で 490 時間であった。

試験水	速度定数 K (時間 ⁻¹)	推定半減期 $t_{1/2}$ (時間)	最終サンプル 時期 (時間)	サンプル期間/ 半減期比
pH 5	8200	85	337.7	3.7
pH 7	1400	490	792.1	1.6
pH 9	6300	110	313.1	2.8

各 pH における推定加水分解過程（経路）を推定した。

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

2) 水中光分解

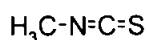
(資料 No. 代-7)

試験機関：
報告書作成年：2006年 [GLP]

供試標識化合物

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (略称：¹⁴C-MITC)

構造式：



* : ¹⁴Cの標識位置を示す

化学名：メチルイソチオシアネート (略称：

MITC) 比放射能：

放射化学的純度：

試験水：滅菌蒸留水及び滅菌自然水

試験水の物理的・化学的特徴

項目	滅菌蒸留水	滅菌自然水
pH	7.3	6.5
溶存酸素 (mg/L)	11	11.3
電気伝導度 (mmhos/cm)	0.05	<0.01
全蒸発残留物 (ppm)	34	8
全懸濁物 (ppm)	22	26

自然水は米国オハイオ州マジソン Bates Road の Koi 池から採取した(採取年月日：2005年1月17日)。蒸留水及び自然水を0.2µm フィルターで濾過滅菌した。

試験濃度：メチルイソチオシアネート 5µg/mL (共存溶媒としてアセトニトリル 0.08%を含む)

試験温度：25±2℃

照射装置 (光源) 及び光強度

照射装置：Suntest XLS+ (キセノンランプ)

光強度：

測定波長 [nm]	光強度 [W/m ²]
300~400	29.71

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。

試験方法：

試験系：滅菌蒸留水及び滅菌自然水を用いた本試験系は、光照射区と非照射区から構成された。

・ 光照射区

試験容器：密封可能な石英製容器

試験水量：45mL

光照射：Suntest XLS+装置から、290nm 以下の波長を除去した光を最長 10 日間にわたって連続照射した。Suntest XLS+装置における 1 日間の照射は、春期（4～6 月）太陽光（東京、北緯 35 度）の 3.820 日間に相当する。

・ 非照射区

試験容器：琥珀色容器、

試験水量：45mL

保管：暗環境チャンバ内で最長 10 日間にわたって保管した。

試料採取：次に示す間隔で、光照射区及び非照射区からそれぞれ 2 連の試験水（滅菌蒸留水及び滅菌自然水）を採取した。但し、開始直後（第 0 日）の試料は、照射試料及び暗対照試料共通の試料として採取した。

採取時点	滅菌蒸留水		滅菌自然水	
	照射試料	暗対照試料	照射試料	暗対照試料
第 0 日（開始直後）	○		○	
第 1 日	○	○	○	○
第 2 日	○	○	○	○
第 3 日	○	○	○	○
第 6 日	○	○	○	○
第 8 日	○	○	○	○
第 10 日	○	○	○	○

採取試料の分析：採取試料中の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。また試料を UV 検出器（220nm）及び放射能フロー検出器による高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分析した。第 10 日の照射試料（滅菌蒸留水及び滅菌自然水）を塩化メチレン又は酢酸エチルで分配し、得られた有機画分を HPLC 及びガスクロマトグラフィー/質量分析計（GC/MS）で分析した。

滅菌性の確認：開始直後（第 0 日）及び照射終了日（第 10 日）の試験水試料を好氣的計測プレートに処理し、室温にて 2 日間培養後の微生物増殖の有無を滅菌性の指標とした。微生物増殖は認められず、試験期間を通じて滅菌が維持されていた。

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。

試験結果：

物質収支：表1に各試験系における物質収支を示す。何れの試験系においても、物質収支は100%前後であり、良好であった。

表1：各試験系における物質収支 (処理放射能に対する%)

	滅菌蒸留水		滅菌自然水	
	照射試料	暗対照試料	照射試料	暗対照試料
物質収支	99.8 (97.6~101.6)	100.1 (97.5~101.9)	100.4 (98.5~101.7)	99.1 (97.1~100.4)

表中の数値は試験期間を通じた平均値であり、括弧 () 内の数値は各採取時点の物質収支の範囲を示す。

放射能の分布：滅菌蒸留水及び滅菌自然水中の放射能の分布をそれぞれ表2及び表3に示す。

光照射試料：

滅菌蒸留水中のメチルイソチオシアネート[P]は、照射試料では処理放射能に対して100.0% (第0日) から69.6% (第10日) へと減少した (表2)。滅菌自然水中の[P]も滅菌中流水と同様に、照射試料では処理放射能に対して99.0% (第0日) から75.3% (第10日) へと減少した (表3)。

また滅菌蒸留水及び滅菌自然水を共通して、Pが主要光分解物と認められた。Pの生成量は、滅菌蒸留水及び滅菌自然水において緩やかに増加し、照射終了日 (第10日) に処理放射能に対して最高値29.9% (滅菌蒸留水) 及び22.5% (滅菌自然水) となった (表2及び表3)。

滅菌蒸留水及び滅菌自然水の光照射試料において、その他に有意な分解生成物が認められなかった (表2及び表3)。

暗対照試料：

滅菌蒸留水及び滅菌自然水の暗対照試料において、[P]の分解は認められなかった (表2及び表3)。

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：滅菌蒸留水中における放射能分布（処理放射能に対する％）

		放射性成分				計
		MITC [P]		未知分解物	その他未知分解物	
照射試料	第 0 日	100.0	N.D.	N.D.	N.D.	100.0
	第 1 日	100.3	2.1	N.D.	N.D.	102.4
	第 2 日	94.1	5.0	N.D.	N.D.	99.1
	第 3 日	89.9	9.1	0.4	0.1	99.5
	第 6 日	79.1	18.9	0.5	0.2	98.7
	第 8 日	77.4	20.3	1.0	1.0	99.7
	第 10 日	69.6	29.9	0.7	1.0	101.2
暗対照試料	第 0 日	100.0	N.D.	N.D.	N.D.	100.0
	第 1 日	99.5	N.D.	N.D.	N.D.	99.5
	第 2 日	99.0	N.D.	N.D.	N.D.	99.0
	第 3 日	97.8	N.D.	N.D.	N.D.	97.8
	第 6 日	99.4	N.D.	N.D.	N.D.	99.4
	第 8 日	99.3	N.D.	N.D.	N.D.	99.3
	第 10 日	98.7	N.D.	N.D.	N.D.	98.7

MITC：メチルイソチオシアネート N.D.：未検出

表 3：滅菌自然水中における放射能分布（処理放射能に対する％）

		放射性成分				計
		MITC [P]		未知分解物	その他未知分解物	
照射試料	第 0 日	99.0	N.D.	N.D.	N.D.	99.0
	第 1 日	97.8	1.9	N.D.	N.D.	99.7
	第 2 日	94.4	3.8	N.D.	N.D.	98.2
	第 3 日	94.7	5.4	0.1	0.1	100.3
	第 6 日	82.5	15.6	0.3	1.1	99.5
	第 8 日	81.9	16.4	0.5	1.9	100.7
	第 10 日	75.3	22.5	0.7	2.3	100.8
暗対照試料	第 0 日	99.0	N.D.	N.D.	N.D.	99.0
	第 1 日	100.8	N.D.	N.D.	N.D.	100.8
	第 2 日	99.9	N.D.	N.D.	N.D.	99.9
	第 3 日	99.5	N.D.	N.D.	N.D.	99.5
	第 6 日	101.0	N.D.	N.D.	N.D.	101.0
	第 8 日	101.5	N.D.	N.D.	N.D.	101.5
	第 10 日	101.3	N.D.	N.D.	N.D.	101.3

MITC：メチルイソチオシアネート N.D.：未検出

光分解物の同定：第 10 日光照射試料（滅菌蒸留水及び滅菌自然水）を塩化メチレン又は酢酸エチルで分配し、得られた有機画分を HPLC 及びガスクロマトグラフィー/質量分析計（GC/MS）で分析した。その結果、メチルイソチオシアネート及び が同定された。

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。

分解速度：本試験で得られた実権値及び一次速度式に基づき、メチルイソチオシアネートの分解速度定数及び DT50/DT90 値を表 4 に示す。

表 4：実験値に基づくメチルイソチオシアネートの分解速度定数及び DT50 等

試験水	速度定数 (days ⁻¹)	DT50 (days)	DT90 (days)	r ²
蒸留水	0.0370	18.7	62.2	0.9711
自然水	0.0278	24.9	82.8	0.9592

また春期太陽光（東京、4～6月）条件下におけるメチルイソチオシアネートの DT50 及び DT90 値を表 5 に示す。

表 5：春期太陽光（東京、4～6月）における DT50 及び DT90 値

試料	DT50 (days)	DT90 (days)
照射自然水	95.1	316.3
照射蒸留水	71.4	237.6

推定光分解経路：滅菌蒸留水及び滅菌自然水中において、次の推定経路で示されるとおり[P] は に光分解された。

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

1) 土壌吸着性試験

(資料代-8)

試験機関：

報告書作成年：1990年

供試化合物

化学名：メチルイソチオシアネート (略称：MITC)

構造式：CH₃-N=C=S

化学的純度：100%

供試土壌

以下の4種類の畑地土壌を用いた。

土壌番号	I	II	III	IV
土壌群名		細粒黄色土		
採取場所	道立十勝農試	福島農試	岡山農試	日植防・宮崎
土性	埴壤土	埴壤土	砂質埴壤土	砂土
砂 (%)	57.1	53.4	60.5	87.1
シルト (%)	21.5	22.8	17.5	5.7
粘土 (%)	21.4	23.8	22.0	7.2
有機炭素含有率 (%)	2.56	1.08	0.69	1.50
pH				
H ₂ O	6.2	7.6	6.7	7.2
KCl	5.8	6.7	5.5	6.3
陽イオン交換容量 (meq/100 g)	11.7	13.5	8.7	7.0
りん酸吸収係数	1330	540	350	660
粘土鉱物の種類	アロフェン パーミキュライト	カオリン鉱物 パーミキュライト	ハロイイト	アロフェン ハロイイト

① 吸着試験

試験方法：

ヘッドスペースボトルに各土壌の乾土5g相当を量りとり、純水5mlを加え室温で24時間平衡化した。そこに供試化合物[P]の0.01M塩化カルシウム溶液(4濃度；4.455 µg/ml、0.891 µg/ml、0.1782 µg/ml及び0.03564 µg/ml)をそれぞれ20 ml加え、密栓して25 ± 1 °C、暗所条件下で8時間攪拌して吸着平衡化させた。終了後、懸濁液を3000rpmで20分間遠心分離して、気相(容積41 ml)、水相、固相(土壌相)に分離した。ガスタイトシリンジにより気相から採取した500 µlをガスクロマトグラフ(NPD)に注入して[P]を定量した後に開封した。上澄20mlを採取し、そのうちの10mlを4mlの酢酸エチルにより抽出、その2 µlをガスクロマトグラフに注入して[P]を定量した。

水相濃度と水分量から水相に存在する[P]の物質量を求め、これに気相中の物質量を和し、添加量からこれらの合量を減じて土壌吸着量を算出した。

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：

吸着係数 (K_F^{ads})は0.32~0.68、有機炭素吸着係数 ($K_F^{ads}_{OC}$) は27~46と算出された。

また、(K_F^{ads})値とOC%の一次相関をとり、その勾配を(K_{oc})とすると、(K_{oc})は18、切片(a) は0.21、相関係数 (r) は0.91912と算出された。

表1 吸着試験結果

土壌番号	1/n ¹⁾	K_F^{ads} ¹⁾	r ¹⁾	OC% ²⁾	$K_F^{ads}_{OC}$ ³⁾
I	1.12	0.68	0.97803	2.56	27
II	1.09	0.48	0.98383	1.08	44
III	1.04	0.32	0.98324	0.69	46
IV	1.02	0.40	0.98967	1.50	27

1) Freundlichの吸着等温式による定数項と相関係数

2) 土壌中の有機炭素含有率

3) K_F^{ads} を各土壌のOC%で除して求めた有機炭素吸着係数

②物質収支試験

試験方法：

0.891 μ g/mlの試験溶液を添加したボトルについて、吸着平衡後の気相及び水相の被検物質[P]の濃度を測定した（方法は吸着試験に同じ）。次いで水分を含む固相の入ったヘッドスペースボトルの重量を測定し、あらかじめ測定しておいた風袋重量を減じ、固相（土壌相）に含まれる水分量を算出した。次いで固相（土壌相）をヘッドスペースボトルから水200mlを用いて丸底フラスコに移し入れ、10mlの酢酸エチルを加えた後に蒸留装置に取り付け、40分過熱還流した。全流出液及び冷却管、流出液溜部分の水洗液20mlと共に分液ろうとに移し入れ、30gの塩化ナトリウムを加えて激しく振とうし、分液した酢酸エチル層を液相分離ろ紙によりろ過、その2 μ lをガスクロマトグラフに注入して被検物質[P]を定量した。

物質収支（回収率）は、上記のように測定した気相、水相及び固相（土壌相）の被検物質[P]の物質量を和し、添加した[P]の物質質量（17.82 μ g）で除して求めた。

結果：

物質収支は91.5~94.5%と良好であった。

表2 物質収支試験結果

土壌番号	初期添加量 [P](μ g)	ボトル内 ¹⁾ 物質質量 [P](μ g)	固相水分中物質質量 [P](μ g)	固相吸着量 [P](μ g)	固相吸着量平均 [P](μ g)	水相中物質質量平均 ²⁾ [P](μ g)	気相中物質質量平均 [P](μ g)	物質収支回収率 ³⁾ (%)	不足量 [P](μ g)
I	17.82	4.45 4.76	3.11 2.99	1.34 1.77	1.55	14.70	0.116	91.5	1.45
II	17.82	3.72 3.79	3.20 3.17	0.52 0.62	0.57	15.77	0.125	92.5	1.36
III	17.82	3.80 3.85	3.19 3.24	0.61 0.61	0.61	15.91	0.120	93.0	1.19
IV	17.82	3.82 3.91	3.18 3.21	0.64 0.70	0.67	16.04	0.113	94.5	1.00

1) 吸着平衡後のボトル内物質質量実測値 = 固相吸着量 + 固相水分中物質質量

2) 水相中物質質量 = 水相濃度 C_w X 20 ml + 固相水分中物質質量

3) 回収率 = (固相物質質量 + 水相物質質量 + 気相物質質量) X 100 / 初期添加量

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

代謝・分解のまとめ

<動物代謝>

(資料No.代-1) ラット

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (MITC、[P]) を用いて、ラット (雄) における動物体内代謝を試験した。投与は20mg/kg単回経口投与とした。

[P] の動物体内への吸収速度は血中濃度、胆汁排泄速度とその濃度、呼吸排泄速度がいずれも投与後15分から60分で最高値に達したことにより、極めて速いことが示唆された。投与24時間(¹⁴C収支96.2%)で糞中排泄量の4.5倍の胆汁排泄が認められたことから活発な腸肝循環が推定され、吸収率はほぼ100%と評価された。

投与後24時間で78.3%、7日間で86.4%の¹⁴Cが体外へ排泄された。主排泄経路は尿であり、投与24時間で70.8%、7日間で75.5%に達した。一方、糞中排泄量は低く、7日間で2.4%に過ぎなかった。また、投与量の6.2%が24時間までに、8.5%が呼気中に排泄された。

¹⁴Cは全ての組織中に分布し、肝臓、腎臓、血球、被毛に比較的高い濃度が検出された。また、各組織の¹⁴C濃度は全ての組織で経時的に上昇し、全ての体組織に対し、高い組織親和性と蓄積的な傾向が認められた。各組織からの¹⁴Cの減衰は、α相の場合、半減期はいずれも数時間から1日程度であったが、β、γ相では10日以上半減期を示す臓器もみられ、組織における残留性も認められた。全体組織における7日後の残留は投与量の6.3%であった。

主代謝経路は 経路であった。投与したMITC [P]の約56%が として体外に排出された。約8.5%は何らかの酸化代謝を受けて、主にCO₂として呼気中に排泄されたものと推定された。また、24時間後において投与量の約6%が 各組織中の蛋白質などの、生体高分子物質の求核性残基に 、7日後においても約2%が結合性残留として残留しているものと推定された。

<植物代謝・土壌中動態>

(資料No.代-2) トマト

[³⁵S]-標識メチルイソチオシアネート (MITC、[P]) をデシケーターに入れた土壌中に処理し、通気しながら22日間培養した。次いで各デシケーターに4、5、6週間育苗したトマト苗を1本ずつ植付け、8、21、30及び52日間栽培後収穫し、根、茎、葉、頂芽及び側芽、花房に吸収された³⁵S放射能を分析した。

土壌処理した³⁵S標識[P]の37%が22日以内に空气中に揮散した。土壌中に残存した³⁵S放射能の大部分は、[P]そのものとして存在しておらず、[P]の酸化により生成した硫酸塩画分 (MSO₄, M₂SO₄) に含まれていた。トマトに吸収された³⁵S放射能は植物体全体に広範に分布しており、土壌中に処理した全放射能の1%に達した。このうちの大部分は硫酸塩画分にあり、蒸気蒸留画分には、最高0.15ppmの極微量の³⁵Sが検出されたのみであった。このことから、測定可能な[P]そのものの吸収がトマトの根を介して行われたとは考えられず、硫酸塩として根から吸収されたものと推定された。トマトに吸収された硫酸塩は還元されチオール体(R-SH)となり、最終的に含硫アミノ酸の生成に利用されたものと推定された。

(資料No.代-3) だいこん

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (MITC、[P]) を5L容三角フラスコに入れた土壌2kgに処理し (処理濃度106.5 mg/kg)、密閉して25°Cの暗条件下で45日間培養した後開封し、揮発性

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。

物質を除去するため開放条件下で2ヶ月間(68日間)ガス抜きを行った後、はつかだいこんを播種。2ヶ月間(68日間)栽培し、葉部と根部を全て採取して¹⁴C放射能を分析した。採取後、同じ土壌に二回目の播種を行い、2ヶ月後に葉部及び根部を採取、根部の抽出性¹⁴C放射能を分析した。土壌中¹⁴C放射能(抽出性及び抽出後の燃焼放射能の合計)は、[P]換算濃度としてフラスコ開封後68日では約75 mg/kg、開封136日後には約50 mg/kgへと減少した。抽出後残渣の¹⁴C放射能は経時的に増加した。一回目播種時(開封後68日)における未変化の土壌中[P]濃度は1~2 mg/kgであった。葉部に認められた残留¹⁴C放射能は[P]換算濃度として4.0 mg/kgであり、その内の55%が抽出された。抽出性¹⁴C放射能は、極めて極性の高い物質で構成されていた。根部におけるTRRは、[P]換算濃度で2.4 mg/kgであった。6M塩酸による還流抽出により、最も多くの¹⁴C放射能(約83~95%)が抽出された。特性化分析の結果、グルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン及びニンヒドリン発色性アミノ酸が検出された。このことから、根部の放射能の大部分は、蛋白質となったアミノ酸で構成されていることが示唆された。

(資料No.代-4) トマト、レタス、カラシナ

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート(MITC、[P])を用いて以下の試験を行った。

(1) トマト及びレタスリーフディスクにおける代謝 (*in vitro*)

トマト及びレタスの葉から直径10mmのリーフディスクを作成し、蒸留水に浮かべて放射性標識[P]のアセトン溶液を添加し(濃度0.0097µg/ml)、19~22°C、恒明条件下で48時間培養後、植物体の¹⁴C放射能を分析した。

メタノール抽出性¹⁴C放射能の分析により、多数の極性代謝物が認められ、主代謝物であった。レタスでは放射性アスパラギン酸が認められたことから、[P]の酸化分解で生成した二酸化炭素が固定され、L-アスパラギン酸プールに取り込まれたものと考えられた。[P]換算値としてレタスで4.81 mg/kg、トマトで8.99 mg/kgの濃度で認められた未知物質は、

。未変化の[P]はレタス及びトマトにおいて、それぞれ0.06 mg/kg及び0.15 mg/kgの濃度で認められた。

レタス及びトマトの、メタノール抽出残渣の塩酸加水分解物中に共有結合付加体がそれぞれ0.40 mg/kg、0.55 mg/kg ([P]換算値)認められた。従って、*in vitro*条件で植物が[P]に直接曝露された場合、MITCはメタノール不溶性の高分子と結合し、共有結合付加体を形成すると考えられた。

(2) トマト苗の根部を介した吸収移行性試験

[P]濃度が0.34mg/Lとなるように処理した水に、トマト苗根部を48時間まで浸漬し、葉部の¹⁴C放射能を経時的に測定・分析した。

葉部の放射能は経時的に増加し、浸漬終了時の残留値は約3.1 mg/kg ([P]換算値)であった。根部浸漬終了時の葉部放射能の95.7%がメタノール抽出されたが、抽出放射能に未変化の[P]は認められず、未同定の極性成分で構成されていた。

(3) 土壌燻蒸試験

非標識[P]で希釈した¹⁴C標識[P]と1,3-ジクロロプロペンにより製剤を調製した。空気吸気口及び排気口を有するガラス製大型培養チャンバーに土壌を層長30cmとなるように充填し、製剤を土壌

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。

中[P]濃度が11.1mg/kgとなるように処理、覆土した。密栓し、暗黒下、 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ で7日間燻蒸（培養）した。燻蒸後、ガス抜き処理として空気吸気口及び排気口を開放し、水分及び二酸化炭素を除去した空気を計28日間通気させた（ $18 \sim 21^\circ\text{C}$ ）。排気口には揮発性物質捕集液（2-メトキシエタノール：有機物捕集用、エタノールアミン及び1M水酸化ナトリウム：二酸化炭素捕集用）を接続し、ガス抜き期間における揮発性 ^{14}C 放射能を測定した。その結果、28日間の累計で処理放射能の20.2～20.3%が放出、そのうち $^{14}\text{CO}_2$ が5.5～5.6%、[P]以外の単一有機成分が14.7%であった。

ガス抜きした土壌を以下の試験に供試した。

燻蒸土壌での栽培試験：レタス種子、カラシナ種子、トマト苗（2葉期）をそれぞれガス抜き終了日に播種又は植付け、36日後に各植物（茎葉）を採取して ^{14}C 放射能を分析した。また、上記植物採取後の燻蒸土壌を混合し、トマト苗（4葉期）を植付けて栽培し、成熟期にトマト茎葉及び果実を採取して ^{14}C 放射能を分析した。

燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験：トマト苗（2葉期）を無処理土壌に植付け、フラスコに入れたガス抜き後の燻蒸土壌と同一のタンク内に設置して栽培し、36日後に茎葉を採取、 ^{14}C 放射能を分析した。

ガス抜き直後の燻蒸土壌に約6.4 mg/kg（TRRの54.7%、[P]換算値）の放射能が認められたが、未変化の[P]は0.090 mg/kg（1.4%）で、大部分は土壌有機画分への結合残留であった。36日及び164日後では、鉱化、 $^{14}\text{CO}_2$ の生成が進行し、土壌中TRRはそれぞれ約1.7 mg/kg、約1.3 mg/kgとなった。いずれも未変化の[P]は認められず、結合残留がTRRの主成分であった。

36日後までに処理放射能の33.6%が $^{14}\text{CO}_2$ として、2.1%が揮発性有機物として放出されたが、[P]は存在しないことが確認された。なお、36日の時点で、ガス抜き開始からの累積値として処理放射能の56.0%が揮発性放射能として回収され、 $^{14}\text{CO}_2$ として39.1%、有機物として16.9%であった。

播種又は植付け後36日の放射能残留量は、レタス茎葉で約1.3 mg/kg（[P]換算値）、カラシナ茎葉及びトマト茎葉でそれぞれ約3.3 mg/kg、2.9 mg/kgであった。レタス茎葉における ^{14}C 放射能残留は経時的に減少し、播種後第70日には約0.19 mg/kgとなった。

トマト茎葉の残留放射能は、土壌中放射能及び土壌からの揮発性放射能に曝露させた場合では約2.9mg/kgであったのに対し、燻蒸土壌からの揮発性物質のみに曝露させた場合では約4.8 mg/kgと高かった。この結果から、揮発性物質の吸収（同化）が植物における主たる ^{14}C 吸収経路であると考えられ、土壌燻蒸後に生成した $^{14}\text{CO}_2$ が植物体内放射能の重要な供給源であることが示唆された。ガス抜き後植付けたトマトでは、成熟期の放射能濃度は果実で約0.03 mg/kg及び茎葉で約0.3 mg/kgであった。

上記の ^{14}C 放射能の特性化を行った。植物体のメタノール抽出物に未変化の[P]、は認められず、[P]は植物体マトリックスに取り込まれなかったと考えられた。メタノール抽出残渣の加水分解後、メタノール不溶性の高分子共有結合付加体がトマト茎葉及び果実に認められた。高分子共有結合付加体の値は、*in vitro*代謝試験で[P]を直接トマトリーフディスクに曝露させた値と比較して低かった。また揮発性物質曝露試験での値は、栽培期間で[P]の土壌からの放出が無かったため、未変化の[P]ではなくその揮発性分解物に起因すると考えられた。

トマトリーフディスクにおける放射能の大部分が低分子量可溶性画分に存在、一方、植付け後36日採取のトマト茎葉では、可溶性画分及び不溶性画分に同程度分布し、主として可溶性画分の放射能は中性画分(糖)に、不溶性画分の放射能は水溶性多糖類画分に存在した。トマト果実では、放射

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。

能の大部分は可溶性の中性（糖）画分及び不溶性のヘミセルロース画分に存在した。燻蒸土壌で栽培したレタス茎葉及びトマト茎葉、揮発性物質に曝露させたトマト茎葉の低分子量可溶性画分を分析した結果、放射性グルタミン酸及びアスパラギン酸が認められた。

<土壌中動態>

(資料No.動-1) 好氣的土壌中動態

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (MITC、[P]) を用いて、ドイツの畑地土壌（砂壤土）における標記の試験（処理量：104mg/kg、温度：22±2℃、暗黒下、試験期間：14日間）を実施した。

試験期間中の物質収支は84.19～101.50%の範囲であった。土壌からの抽出放射能は、処理0日後の93.95%から10日後の0.10%と急速に減少した。一方、処理1日後には揮発性物質として捕集された¹⁴C放射能が71.72%認められた。¹⁴CO₂として回収された放射能は、処理7日後に最高値4.96%を示した後、約4%の水準で推移した。結合残留は、処理2日後に最高値7.67%が認められた。ベンジルアミン捕集液及び土壌のソクスレー抽出物中の放射性成分は、何れも未変化の[P]のみであった。ソクスレー抽出に先立つ土壌のエタノール、水抽出物中の放射能の大部分は未変化の[P]と、未知成分U1及びU2が認められた。U1はであると考えられた。U2は処理0日後にエタノール、水抽出物から1.30%認められた。U1及びU2は、供試した[P]¹⁴C標識体の純度がであることから、不純物であると考えられた。すなわち好氣的土壌で認められた[P]の分解物は、¹⁴CO₂のみであったことから、[P]は中間反応生成物を経て最終分解物（二酸化炭素）へと分解されるものと考えられた。

[推定半減期] 0.3 日

<水中動態>

(資料No. 動-2) 加水分解

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (MITC、[P]) を用いて、pH5、7、9の滅菌緩衝液における標記試験を行った(試験濃度：50.875 mg/L、試験温度：25±1℃、試験期間：313.1時間～792.1時間、暗黒下)。

いずれのpHにおいても が主分解物として検出（49.2～83.0%）、pH9ではさらに が23.3%生成（最終サンプリング時）。[P]は各pH緩衝液の最終サンプリング時点において減衰、pH5で5.6%（337.7時間後）、pH7で30.8%（792.1時間後）、pH9で12.2%（313.1時間後）が残存した。

[推定半減期]

85時間 (pH 5.0)

490時間 (pH 7.0)

110時間 (pH 9.0)

(資料No. 動-3) 光分解

[メチル¹⁴C]-標識メチルイソチオシアネート (MITC、[P]) を用いて、滅菌蒸留水及び滅菌自然水(米国オハイオ州マジソン Bates RoadのKoi池)における標記試験を行った(試験濃度：5µg/mL、試験温度：25±2℃、光源：キセノンランプ、光強度：29.71W/m² (波長範囲 300-400nm)、試験期間：10日間)。

照射終了時に[P]は処理放射エネルギーの69.6%(蒸留水)、75.3%(自然水)残存した。光分解物としてが29.9%(蒸留水)、22.5%(自然水)検出された。

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。

[推定半減期]

蒸留水：18.7日 [東京 5月太陽光換算 95.1日]

自然水：24.9日 [東京 5月太陽光換算 71.4日]

<土壌吸着性>

(資料2-9 No.10) 土壌吸着性

メチルイソチシアネート (MITC、[P]) の純品 (化学的純度 ; 100%) を用いて、4種類の畑地土壌における標記の試験 (試験濃度 : 0.03564 - 4.455 $\mu\text{g/mL}$ 、試験温度 : $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、土壌水比 : 1/4、平衡化時間 : 24時間、暗黒下) を実施した。

4種類の土壌における吸着係数 $K^{\text{F}}_{\text{ads}}$ は 0.32~0.68、有機炭素吸着係数 $K^{\text{F}}_{\text{ads}}^{\text{OC}}$ は27~46であった。

土壌番号	採取場所	土性	1/n ¹⁾	$K^{\text{F}}_{\text{ads}}$ ¹⁾	r ¹⁾	OC% ²⁾	$K^{\text{F}}_{\text{ads}}^{\text{OC}}$ ³⁾
I	道立十勝農試	埴壌土	1.12	0.68	0.97803	2.56	27
II	福島農試	埴壌土	1.09	0.48	0.98383	1.08	44
III	岡山農試	砂質埴壌土	1.04	0.32	0.98324	0.69	46
IV	日植防・宮崎	砂土	1.02	0.40	0.98967	1.50	27

1) Freundlichの吸着等温式による定数項と相関係数

2) 土壌中の有機炭素含有率

3) $K^{\text{F}}_{\text{ads}}$ を各土壌のOC%で除して求めた有機炭素吸着係数

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 メチルイソチオシアネート(MITC)の推定代謝分解経路

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。

<代謝分解の概要>

ラット(雄)、メチル ¹⁴ C標識体 20mg/kg 単回経口投与										
分析部位	投与放射能に対する%			[P]					未同定代謝物	CO ₂
呼吸	24時間	6.2%		ND	-	-	-	-	≤1.0	≥5.2
	7日間	8.5% ¹⁾							1.4% ²⁾	7.1% ²⁾
尿	6時間	不明	100%	[2.2]	ND	ND			25.8%	-
	24時間	70.8%		-	-	-	-	-	-	-
	7日間	75.5%		-	-	-	-	-	19.5% ⁴⁾	-
糞	24時間	1.3%		-	-	-	-	-	-	-
	7日間	2.4%		-	-	-	-	-	2.4%	-
胆汁	6時間	不明	100%	ND					-	28.2
	24時間	10.6%								
肝臓	3時間	3.0%		[0.03]					-	-
消化器	24時間	1.9%							-	-
全体組織	24時間	16.0%							-	-
	7日間	6.3%							-	-
24時間合計	96.2%									
7日間合計	92.7%									

- : 未分析または該当しない ND, ND : 未検出

italic 数字 : 試料中全¹⁴C (100%)に対する% [数字] : 別系での測定結果%

1) : 解析による総排泄量推定値を代用、7日間の排泄量とした。

2) : 24時間の呼吸分析結果、未同定代謝物/CO₂=1.0/5.2の比率を1)の数値に乗じた。

4) : 7日間尿中排泄量75.5%に、6時間尿の未同定代謝物分析結果25.8%を乗じて算出。

³⁵S 標識体 400mg をデシケーター中の土壌に処理、22 日間空気を吸引。次いで各デシケーターに 4、5、6 週間育苗したトマト苗を 1 本ずつ植付け、8、21、30 及び 52 日間栽培後、根、茎、葉、頂芽及び側芽、花房に吸収された ³⁵S を測定。

土壌	経過日数	蒸気蒸留画分		硫酸塩画分	揮発性放射能	放射能合計
		[P]	その他			
0 日		(100%)				100%
22 日*		-		63%	37%	100%
トマト	移植	-		約 1%		約 1%
	8~52 日**	0.15 ppm (最大値)				

- : 未検出 * : 移植時 ** : 数値は植物体の各採取時点、各部位分析値のまとめ数値% : 処理放射能に対する割合%

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。

<代謝分解の概要> (続き)

メチル¹⁴C 標識体 1.065g を 10kg の土壌に処理 (処理濃度 106.5 mg/kg)。5 容器に処理土壌各 2kg を分け入れて封入、25℃暗条件下で 45 日間培養。容器を開封、揮発性物質を除去するため、開放条件下で 68 日間ガス抜きを行った後、だいこんを播種。68 日後に葉部と根部を採取。同じ土壌に二回目の播種を行い、二ヶ月後に葉部及び根部を採取。根部の各種抽出価分を分析して放射能を特性化。

土壌	フラスコ 開封後の 経過日数	溶媒抽出物*		NaOH 抽出物		抽出後の 燃焼放射能		放射能合計	
		mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
	32 日	26.7	36	23.1	31	24.8	33	74.5	100
	68 日**	4.85 (うち[P] 1~2)	7	33.2	44	36.6	49	74.6	100
	136 日***	0.94	2			51.0	98	51.9	100

*: メタノール/アンモニア混合液 mg/kg : MITC 換算濃度

** : 第一回目播種時 *** : 第一回目播種はつかだいこん採取時、第二回はつかだいこん播種時

	抽出性放射能		非抽出性放射能		合計	
	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
だいこん (第一回目播 種葉部)	2.2 (極高極性 物質)	55	1.8	45	4.0	100.0

mg/kg : MITC 換算濃度

だいこん 根部 (第一回目播種)						
	抽出性放射能		非抽出性放射能		合計	
	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
総放射能残留 (未抽出燃焼分析)	—	—	—	—	2.4	100
エタノール/水混合液抽出 (① フェノール類/フェノール酸類の検討用)	2.1*	65	1.1	35	3.2	100
エタノール抽出 (② 糖類/リカルボン酸類及び遊離アミノ酸類の検討用)	1.5*	59	1.1	41	2.6	100
6M 塩酸の還流抽出 (③ 酢酸塩類及び有機酸類としての検討用)	2.1*	83	0.4	1.7	2.5	100
(④ 蛋白質となったアミノ酸の検討用)	2.1**	95	0.1	5	2.2	100

* : ①、②、③の各検討成分としては特性化されず

mg/kg : MITC 換算濃度

** : グルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン、ニンヒドリン発色性アミノ酸として検出

だいこん 根部 (第二回目播種)						
	抽出性放射能		非抽出性放射能		合計	
	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
アンモニア飽和メタノール抽出	1.3	67	0.6	33	1.9	100

mg/kg : MITC 換算濃度

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。

<代謝分解の概要> (続き)

メチル ¹⁴ C 標識、リーフディスク in vitro 代謝試験 浸漬液中被検物質濃度 0.0097mg/L			
面分	代謝物	放射能残留濃度 (mg/kg, MITC 換算値) [対 TRR%]	
		レタス 48 時間後	トマト 48 時間後
メタノール 抽出性放射能	総抽出放射能	11.23 [83.6%]	16.06 [84.9%]
	MITC [P]	0.06 [<0.01%]	0.15 [0.8%]
		3.13 [23.5%]	2.73 [14.4%]
		1.55 [11.5%]	4.19 [22.1%]
	アスラバギン酸	1.68 [12.5%]	未検出
	未知物質	4.81 [36.1%]	8.99 [47.6%]
メタノール 非抽出性放射能 (メタノール抽出残液)	総メタノール非抽出性放射能	2.21 [16.4%]	2.86 [15.1%]
	(#)を除く 6M HCl 加水分解後の抽出物	1.48 [11.0%]	2.05 [10.8%]
	MITC 共有結合付加体 (#)	0.40 [3.0%]	0.55 [2.9%]
	6M HCl 加水分解後の非抽出物	0.33 [2.4%]	0.26 [1.4%]
総放射能残留		13.44 [100.0%]	18.92 [100.0%]

(#) 加水分解後に生成するメチルアミンを N-メチル-N'-フェニルチオウレアに誘導体化した放射能

面分 放射能成分	メチル ¹⁴ C 標識、トマト苗・経根吸収移行性試験 水耕液中被検物質濃度 0.34mg/L				
	葉部における放射能残留濃度 (mg/kg, MITC 換算値) [対 TRR%]				
	浸漬時間	0 時間	16 時間	24 時間	48 時間
メタノール抽出性放射能		0	0.502 [94.0%]	1.392 [96.7%]	2.960 [95.7%]
MITC [P]		0	N.D.	N.D.	N.D.
		0	N.D.	N.D.	N.D.
		0	N.D.	N.D.	N.D.
未知物質 (高分子)		0	0.502 [94.0%]	1.392 [96.7%]	2.960 [95.7%]
メタノール抽出残液 (結合性残留放射能)		0	0.032 [6.0%]	0.047 [3.3%]	0.134 [4.3%]
総放射能残留		0	0.534 [100.0%]	1.439 [100.0%]	3.094 [100.0%]

N.D.: 未検出

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。

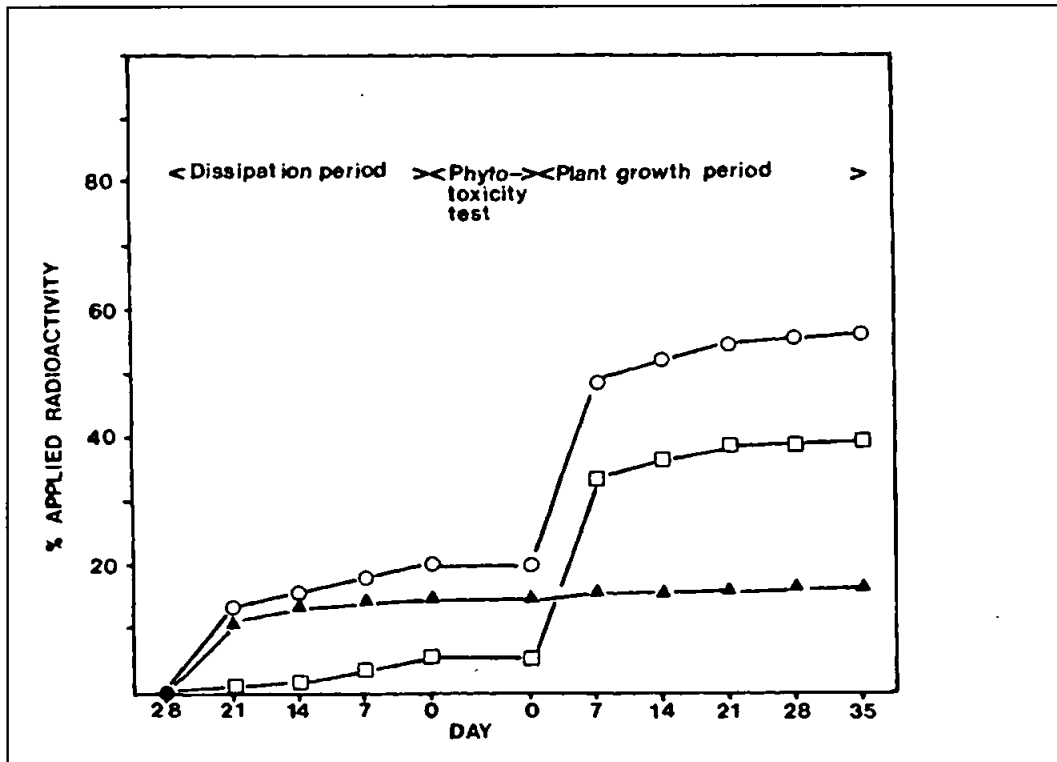
<代謝分解の概要> (続き)

11.1mg/kg となるようにメチル¹⁴C 標識体を土壌深 20cm に処理・覆土。密栓した容器全体を遮光、19±1°C で 7 日間燻蒸 (培養)。燻蒸後、空気吸気口及び排気口を開放し、水分及び二酸化炭素を除去した空気を計 28 日間通気させガス抜き。

ガス抜き後 (作付け後) 経過日数 (日)	土壌抽出性放射能 (mg/kg *)			土壌 結合残留 (mg/kg *)	土壌中 総残留 (mg/kg *)	%AR
	メタノール画分		メタノール/水/ アンモニア 画分			
	画分中 総放射能	未変化 MITC				
0 [試験第 0 日]	0.318 (5.0%)	0.090 [1.4%]	ND	6.038 (95.0%)	6.356 (100%)	54.7
36 [試験第 36 日]	0.102 (6.1%)	0	0.068 (4.0%)	1.515 (89.9%)	1.685 (100%)	NA
164 [試験第 164 日]	0.014 (1.1%)	0	0.025 (2.0%)	1.224 (90.9%)	1.263 (100%)	11.8

NA : 未測定 * : MITC 換算値。%AR : 処理放射能に対する%

ガス抜き 1~28 日後及びトマト苗移植 36 日後までの揮発性成分の推移



○ : 揮発性放射能 (計)、□ : ¹⁴CO₂、▲ : 有機物

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。

<代謝分解の概要> (続き)

試 験	燻蒸土壌での栽培試験 ¹⁾			燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験 ²⁾
	カラシナ	トマト		
植 物		茎葉	果実	トマト茎葉
播種又は植付け後日数	36日	36日	128日	36日
総残留 (mg/kg, MITC 換算値)	3.29	2.91	0.033	4.83
(%)	100.0	100.0	100.0	100.0
生化学的画分	総残留に占める%			
可溶性画分 (%)	53.4	44.2	62.3	33.3
低分子量画分	50.6	39.7	60.8	27.3
アルカリ性画分	25.3	8.6	1.9	4.3
酸性画分	1.1	11.1	1.4	7.0
中性画分	24.2	20.2	32.9	11.6
高分子量画分	2.8	3.5	—	6.0
蛋白質画分	1.0	2.6	—	5.0
RNA 画分	0.3	0.4	—	0.5
DNA 画分	0.2	0.4	—	0.4
特徴付けた可溶性画分	52.1	43.3	—	28.8
不溶性画分 (%)	32.1	41.1	—	47.0
中性脂質画分	2.2	3.2	2.9	5.8
極性脂質画分	3.7	3.5	3.5	4.8
水溶性多糖類画分	9.8	10.4	1.6	7.7
ペクチン画分	2.7	5.5	5.0	5.1
ヘミセルロース画分 ¹	6.1	9.8	12.8	12.7
リグニン画分	2.4	3.6	1.6	5.3
ヘミセルロース画分 ²	0.8	1.0	1.6	1.5
残渣画分 (リグニン)	4.4	4.1	4.1	4.1
特徴付けた不溶性画分	32.1	41.1	—	47.0
その他 (濾紙残留放射能) (%)	4.9	6.2	—	8.5
総 回 収 率 (%)	90.4	91.5	90.3	88.8

¹⁾ 栽培試験：ガス抜き完了同日にカラシナ種子を土壌に播種、2葉期トマト苗を移植、茎葉を36日後に採取・分析。

36日後植物を採取した土壌に4葉期トマト苗を移植、128日後に茎葉・果実を採取・分析。

²⁾ 曝露試験：揮発性物質曝露のため、燻蒸土壌と無処理土壌を同一タンク内に設置、2葉期トマト苗を移植、36日後に茎葉を採取・分析。

試 験	燻蒸土壌での栽培試験 ¹⁾			燻蒸土壌からの揮発性物質曝露試験	
	植物部位	レタス茎葉			トマト茎葉
播種又は植付け後日数		播種後 36日	播種後 43日	植付け後 36日	
グルタミン酸	mg/kg	0.31	微量	0.058	0.043
	%AR	44.1%	7%	4.8%	2.7%
アスパラギン酸	mg/kg	非検出	非検出	0.065	0.016
	%AR	—	—	5.4%	1.0%

¹⁾ 栽培試験：ガス抜き完了同日にレタス種子を土壌に播種、2葉期トマト苗を移植し栽培し茎葉を採取・分析。

²⁾ 曝露試験：揮発性物質曝露のため、燻蒸土壌と無処理土壌を同一タンク内に設置、2葉期トマト苗を移植、36日後に茎葉を採取・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。

<代謝分解の概要> (続き)

(処理放射能に対する%、第0~10日の値はn=2の平均値、第14日の値はn=9の平均値)

					抽出放射能				揮発性放射能			結合性 残留	総放射能 収支
					[P]	[U1]	[U2]	未同定 放射能	[P]	¹⁴ C ₂	未同定 放射能		
土 壤 代 謝	好 気 的 土 壤	フェニル標識 104 mg a.i. /kg 土壌 土壌注入 22±2°C	ドイツ国 ベルリン Frohnau 砂壤土	0日	89.25	0.80	1.30	2.60	N.D.	N.D.	N.D.	1.33	95.28
				1日	12.90	0.95	0.75	1.03	71.65	0.02	0.05	4.81	92.16
				2日	9.05	0.60	0.15	0.60	65.90	0.03	0.04	7.67	84.19
				3日	2.60	0.40	<0.10	0.57	85.85	0.57	0.04	5.80	95.28
				4日	0.95	0.15	N.D.	0.26	95.35	1.37	-	3.40	101.50
				7日	0.65	N.D.	N.D.	0.62	91.25	4.96	0.01	3.55	101.04
				10日	N.A.	N.A.	N.A.	0.10	N.A.	3.75	83.99	6.45	90.54
				14日	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	4.00	84.78	N.A.	88.78

N.D.: 検出限界 (0.01%) 以下 N.A.: 未分析 - : 算定不能

測定値が検出限界以下と検出限界以上となった場合、N.D.=0.01%として平均を算出した。

[U1]:

[U2]: 未同定成分 いずれも ¹⁴C 標識[P]中の不純物と推定

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。

<代謝分解の概要> (続き)

(数値は処理放射能に対する割合%)

			[P]			未同定放射能	カラム吸着放射能	総放射能収支	
水	加水分解	pH5 滅菌緩衝液	0.16 時間	94.5	3.9	N.D.	0.7	0.9	100.0
			0.42 時間	86.1	7.0	N.D.	0.4	1.5	95.4
			28.2 時間	68.4	25.5	N.D.	1.1	-	95.0
			49.4 時間	57.8	34.6	N.D.	1.5	2.7	96.6
			76.2 時間	44.5	47.3	N.D.	1.6	2.8	96.2
			112.0 時間	38.4	52.4	N.D.	1.3	3.8	95.9
			172.4 時間	22.7	69.1	N.D.	1.3	3.6	96.7
			217.0 時間	14.8	77.4	N.D.	2.3	1.9	96.4
			337.7 時間	5.6	83.0	N.D.	0.8	6.0	95.4
		pH7 滅菌緩衝液	0.75 時間	96.6	3.2	N.D.	0.2	-	100.0
			28.6 時間	90.8	-	N.D.	-	1.9	91.5
			96.3 時間	79.9	7.8	N.D.	1.2	3.5	92.4
			124.2 時間	74.3	10.3	N.D.	1.4	1.9	87.9
			145.6 時間	70.4	20.2	N.D.	1.8	1.2	93.6
			268.4 時間	68.1	16.8	N.D.	2.2	5.1	92.2
			360.4 時間	57.6	26.5	N.D.	1.7	4.6	90.4
			530.6 時間	42.8	38.8	N.D.	2.6	3.5	87.7
			792.1 時間	30.8	49.3	N.D.	2.5	1.1	83.7
		pH9 滅菌緩衝液	025 時間	94.6	0.8	0.9	0.4	3.3	100.0
			25.0 時間	74.4	8.6	6.8	2.0	0.7	92.5
			96.6 時間	37.7	24.9	24.8	3.5	5.9	96.8
			124.6 時間	36.3	30.3	19.2	1.8	6.4	94.0
			146.0 時間	31.3	32.7	19.8	1.5	8.5	93.8
			172.2 時間	27.4	36.8	21.0	1.5	6.4	93.1
			268.8 時間	15.7	47.1	22.5	1.9	9.6	96.8
			313.1 時間	12.2	49.2	23.3	1.8	8.4	94.9

N.D.: 未検出 - : 算定不可

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。

<代謝分解の概要> (続き)

(数値は処理放射能に対する割合%)

			[P]		未知分解物	その他未知分解物	総放射能収支	
水 中 光 分 解	[メチル- ¹⁴ C]標識 5µg/mL pH7.3 滅菌蒸留水 25°C ±2°C	光照射区	0日	100.0	N.D.	N.D.	N.D.	100.0
			1日	100.3	2.1	N.D.	N.D.	102.4
			2日	94.1	5.0	N.D.	N.D.	99.1
			3日	89.9	9.1	0.4	0.1	99.5
			6日	79.1	18.9	0.5	0.2	98.7
			8日	77.4	20.3	1.0	1.0	99.7
			10日	69.6	29.9	0.7	1.0	101.2
		暗対照区	0日	100.0	N.D.	N.D.	N.D.	100.0
			1日	99.5	N.D.	N.D.	N.D.	99.5
			2日	99.0	N.D.	N.D.	N.D.	99.0
	3日		97.8	N.D.	N.D.	N.D.	97.8	
	6日		99.4	N.D.	N.D.	N.D.	99.4	
	8日		99.3	N.D.	N.D.	N.D.	99.3	
	10日		98.7	N.D.	N.D.	N.D.	98.7	
	[メチル- ¹⁴ C]標識 5µg/mL pH6.5 滅菌自然水 25°C ±2°C		光照射区	0日	99.0	N.D.	N.D.	N.D.
		1日		97.8	1.9	N.D.	N.D.	99.7
			2日	94.4	3.8	N.D.	N.D.	98.2
			3日	94.7	5.4	0.1	0.1	100.3
			6日	82.5	15.6	0.3	1.1	99.5
			8日	81.9	16.4	0.5	1.9	100.7
		10日	75.3	22.5	0.7	2.3	100.8	
暗対照区		0日	99.0	N.D.	N.D.	N.D.	99.0	
		1日	100.8	N.D.	N.D.	N.D.	100.8	
		2日	99.9	N.D.	N.D.	N.D.	99.9	
	3日	99.5	N.D.	N.D.	N.D.	99.5		
	6日	101.0	N.D.	N.D.	N.D.	101.0		
	8日	101.5	N.D.	N.D.	N.D.	101.5		
	10日	101.3	N.D.	N.D.	N.D.	101.3		

N.D.: 未検出

