

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2. 植物代謝に関する試験

1) みかん及びなすにおける代謝試験

(資料 代謝6)

試験機関 三共(株)農薬研究所
報告書作成年 1989年

供試標識化合物：

構造式：

1) $^{14}\text{C-M. A}_3$

2) $^{14}\text{C-M. A}_4$

3) $^3\text{H-M. A}_3$

4) $^3\text{H-M. A}_4$

5) $^3\text{H-M. A}_3$

6) $^3\text{H-M. A}_4$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

7) $^3\text{H-M. A}_3$

8) $^3\text{H-M. A}_4$

化学名；

放射化学的純度と比放射能

放射化学的純度は、いずれの標識化合物も 99%以上であった。

比放射能は第 1 表に示す。

第 1 表 使用した標識化合物の比放射能

^{14}C 標識化合物		^3H 標識化合物	
標識化合物	比放射能 (mCi/mmol)	標識化合物	比放射能 (mCi/mmol)

供試植物：温州みかん、なす（千両 2 号）

栽培条件：ガラス温室内で栽培した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試験方法：

試験 1. みかんの葉及び果実における代謝

各 ^3H 標識の M. A₃ あるいは M. A₄ の乳剤を、M. A₃ では $3\mu\text{g/mL}$ 、M. A₄ では $7\mu\text{g/mL}$ となるように水で希釈し、みかんの葉 4~5 枚の表及び裏に 0.4mL、みかんの果実に 0.2mL をマイクロシリンジで塗布した。

みかんの葉については処理直後、1、3、6、15、30、60、90 日後、みかんの果実については処理直後、15、30、60、90 日後にサンプリングし分析に供した。また、同一枝上の未処理葉及び果実を 15、30、60、90 日後にサンプリングし、放射能の移行性を調べた。

葉及び果実の表面をメタノールで洗い、メタノール洗液とした。ついで、葉及び果実をメタノールで抽出し、抽出液は濾過してメタノール抽出液と残渣に分けた。

メタノール洗液とメタノール抽出液は、LSC で放射能を分析した。

抽出残渣は、燃焼後 LSC で放射能を分析した。

^{14}C -M. A₃ あるいは ^{14}C -M. A₄ の乳剤を、M. A₃ では $30\mu\text{g/mL}$ あるいは M. A₄ が $70\mu\text{g/mL}$ となるように希釈し、みかんの葉 4~5 枚の表及び裏に 0.4mL、みかんの果実に 0.2mL をマイクロシリンジで塗布した。 ^{14}C -標識化合物は比放射能が低いので、 ^3H -標識化合物の 10 倍量を供試した。

1 日及び 3 日後にサンプリングし、メタノール洗液とメタノール抽出液の濃縮液を、TLC あるいは HPLC により代謝物の検索を行った。

各試験は 2 連制で行った。

試験 2. なすにおける吸収移行性

の 1000 倍希釈液を野洲土壌に 0.5ppm (w/w) となる様に混和し、なす (三葉期) を定植した。定植 1、3、6、9、30 日後に根部と茎葉部をサンプリングし、なすによる土壌からの吸収、移行性を調べた。

根部と茎葉部は、燃焼後 LSC で放射能を分析した。茎葉部へ移行した放射能の性質を調べるため、定植 30 日後の茎葉部試料を中性、アルカリ性及び酸性条件下で溶媒抽出し、LSC で放射能を分析した。また、供試土壌についても LSC で放射能を分析した。試験は 2 連制で行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試験結果：

(1) みかんの葉及び果実における代謝 (試験1)

1) みかん葉における代謝 (第2表)

M. A₄をそれぞれ葉に処理したところ、いずれの標識化合物も葉から消失していく放射能は多く、3日後で30.0~66.4%、15日後では45.2~77.5%に達した。

M. A₄は処理1日後で2.6~7.2%残存していた。葉の表面のM. A₄は、速やかに減少し検出限界の0.1%以下になったのに対し、葉に取り込まれたM. A₄は葉の表面に比べ比較的安定で、半減期10~20日であった。

抽出残渣中の放射能は、処理15日後でも6.6~15.8%と少なかった。

第2表 M. A₄処理のみかん葉における放射能の分布

標識化合物	経過 日数	処理放射能に対する%				
		洗液 (M. A ₄) *	抽出液 (M. A ₄) *	残渣	小計	消失 放射能
³ H-M. A ₄	1	43.1 (1.5)	7.6 (1.1)	3.1	53.8	46.2
	3	42.5 (1.2)	5.8 (0.5)	4.1	52.4	47.6
	6	31.2 (<0.1)	6.6 (0.3)	4.5	42.3	57.7
	15	16.0 (<0.1)	6.5 (0.3)	6.8	29.3	70.7
³ H-M. A ₄	1	38.0 (3.3)	12.7 (1.8)	5.1	55.8	44.2
	3	28.3 (1.2)	10.8 (1.3)	7.5	46.6	53.4
	6	21.0 (<0.1)	13.7 (1.3)	8.3	43.0	57.0
	15	13.5 (<0.1)	11.1 (0.9)	11.4	36.0	64.0
³ H-M. A ₄	1	17.9 (1.6)	9.3 (2.2)	3.6	30.8	69.2
	3	17.1 (1.8)	11.2 (2.9)	5.3	33.6	66.4
	6	12.1 (0.8)	12.5 (2.6)	6.3	30.9	69.1
	15	5.9 (<0.1)	10.0 (1.1)	6.6	22.5	77.5
³ H-M. A ₄	1	47.6 (4.1)	22.7 (3.1)	9.8	80.1	19.9
	3	40.2 (1.5)	17.0 (1.6)	12.8	70.0	30.0
	6	33.6 (0.6)	17.8 (1.4)	14.1	65.5	34.5
	15	24.3 (<0.1)	14.7 (1.2)	15.8	54.8	45.2

* : 括弧内の値は未変化体の M. A₄ の%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) 処理みかん葉から未処理葉、未処理果実への放射能の移行性 (第3表)

みかん葉への処理直後の全放射能濃度 (0日) と未処理葉の放射能濃度との比で放射能の移行性を調べると、処理 15~90 日後のいずれの時点においても最高で M. A₃ [①] の場合 500 分の 1 以下、M. A₄ [①] で 200 分の 1 以下であった。同様に、未処理果実では処理 15~90 日後のいずれの時点においても 1000 分の 1 以下であった。

また、全放射能濃度を M. A₃ 及び M. A₄ と M. A₃ 及び M. A₄ を比較すると、
の全放射能濃度が低いことが認められた。

第3表 ³H-M. A₃、³H-M. A₄ 処理の葉における放射能の残留及び移行性 (長期試験)

標識化合物	経過 日数	全放射能濃度 ¹⁾	親化合物 ¹⁾ 残留濃度	放射能濃度 ¹⁾		
				未処理葉	未処理果実	
					果皮部	可食部
³ H-M. A ₃	0	685.2	685.2	—	—	—
	15	293.6 ± 0.0	6.9	<0.2	<0.2	<0.2
	30	268.0 ± 39.5	3.4	<0.2	0.4	<0.2
	60	177.5 ± 4.2	1.4	0.9	<0.2	<0.2
	90	153.2 ± 0.7	0.7	0.8	<0.2	<0.2
³ H-M. A ₃	0	476.6	476.6	—	—	—
	15	358.9 ± 0.0	6.2	0.5	<0.2	<0.2
	30	303.9 ± 23.3	3.8	0.7	0.3	<0.2
	60	272.0 ± 2.3	1.4	0.6	<0.2	0.2
	90	243.0 ± 6.9	1.0	0.8	<0.2	<0.2
³ H-M. A ₄	0	1502.4	1502.4	—	—	—
	15	741.3 ± 14.0	16.5	1.0	<0.5	<0.5
	30	557.8 ± 23.4	10.5	0.6	<0.5	<0.5
	60	401.9 ± 7.1	4.5	2.0	0.5	<0.5
	90	413.9 ± 4.9	4.5	1.1	<0.5	<0.5
³ H-M. A ₄	0	1408.6	1408.6	—	—	—
	15	1022.1 ± 57.9	24.0	5.3	<0.5	<0.5
	30	897.0 ± 41.8	9.9	6.8	0.9	<0.5
	60	768.5 ± 10.5	4.2	1.4	0.7	<0.5
	90	677.6 ± 25.0	3.5	1.1	0.6	<0.5

¹⁾ 数値は M. A₃ あるいは M. A₄ の ng 当量/g 組織。

— 分析せず

3) 果実での代謝 (第4表)

³H-標識の M. A₃ あるいは M. A₄ をみかんの果実に処理し、果皮の表面、果皮及び可食部に分けて M. A₃、M. A₄ 及び放射能濃度を調べた。

親化合物である M. A₃ [①] あるいは M. A₄ [①] の濃度は、90 日後でいずれも 100 分の 1~200 分の 1 になった。果皮から可食部への放射能の移行は、いずれの時点でも初期濃度の 250 分の 1 程度と極めて少なく、しかも親化合物は検出されなかった。果皮の表面 (メタノー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ル洗液)での放射能は速やかに減少し、15日後には2%以下になった。果皮に取り込まれた放射能濃度は、処理90日後で初期濃度のM. A₃ [①]で約5分の1、M. A₄ [①]で約4分の1になった。

これらのことから、M. A₃ [①]、M. A₄ [①]とも、処理葉、処理果実からの移行性は代謝物を含めてないと考えられた。また、M. A₃ [①]、M. A₄ [①]のみかんでの代謝は、処理葉及び処理果実の表面での速やかな光分解と葉のクチクラワックス層や果皮のオイル層に取り込まれた微量なM. A₃ [①]、M. A₄ [①]がゆるやかに代謝されていく、2種の経路で進行していくと思われる。

第4表 M. A₃/M. A₄処理のみかん果実における放射能の残留及び移行性

標識化合物	経過 日数	果 皮 部		可 食 部	
		全放射能濃度 ¹⁾	親化合物濃度 ¹⁾	全放射能濃度 ¹⁾	親化合物濃度 ¹⁾
³ H-M. A ₃	0	51.1	51.1	—	—
	15	38.0±4.1	3.46	0.17	<0.01
	30	32.0±2.1	1.79	0.07	<0.01
	60	18.0±1.1	0.84	0.09	<0.01
	90	10.5±0.1	0.25	0.07	<0.01
³ H-M. A ₃	0	35.6	35.6	—	—
	15	30.2±1.3	3.95	0.06	<0.01
	30	26.3±0.6	1.47	0.07	<0.01
	60	14.6±0.2	0.43	0.05	<0.01
	90	8.0±1.3	0.20	0.04	<0.01
³ H-M. A ₄	0	112.1	112.1	—	—
	15	84.9±3.4	11.78	0.21	<0.01
	30	72.6±2.9	8.81	0.19	<0.01
	60	36.2±2.8	2.82	0.08	<0.01
	90	28.0±0.9	1.61	0.11	<0.01
³ H-M. A ₄	0	105.1	105.1	—	—
	15	84.5±6.1	15.18	0.17	<0.01
	30	79.8±3.2	8.18	0.19	<0.01
	60	43.0±4.6	1.88	0.12	<0.01
	90	28.6±1.7	1.23	0.14	<0.01

¹⁾ 数値はM. A₃あるいはM. A₄のng当量/g組織

— 分析せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4) 代謝物の検索

① $^{14}\text{C-M. A}_3$ 及び $^{14}\text{C-M. A}_4$; みかん葉 (第5表)

同定された代謝物は、

であった。

みかん葉のメタノール洗液と抽出液中の酸性成分に、
在が推定されたことから、

の存

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三井化学アグロ株式会社にある。

第5表 ^{14}C -M. A₄ 処理のみかん葉における放射能の分布

化 合 物	処理後日数	
	1 日	3 日
メタノール洗液		
中 性 成 分		
M. A ₄ [①]	14.5	3.0
酸 性 成 分		
水溶性成分		
メタノール抽出液		
中 性 成 分		
M. A ₄ [①]	4.0	1.3
酸 性 成 分		
水溶性成分		
抽 出 残 渣		
消失放射能		

数値は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

② みかん葉と果実 (第6、7表)

処理のみかん葉における放射能の分布は、 ^{14}C -M. A₄ (第5表) とほぼ同様のパターンであった。また、 処理の果実における放射能の分布も量的には異なるが、パターンとしてはみかん葉と同様であった。なお、 も と同様な消失パターンを示した。

第6表 処理のみかん葉と果実における放射能の分布

化 合 物	葉処理後日数		果実処理後日数
	1 日	15 日	15 日
メタノール洗液			
中 性 成 分			
M. A ₃ [①]	4.6 (3.8)	0.4 (0.3)	<0.1 (<0.1)
酸 性 成 分			
水溶性成分			
メタノール抽出液			
中 性 成 分			
M. A ₃ [①]	2.3 (1.9)	1.3 (1.0)	17.0 (12.7)
酸 性 成 分			
水溶性成分			
抽 出 残 渣			
消失放射能			

数値は分布率%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第7表 処理のみかん葉と果実における放射能の分布

化合物	葉処理後日数		果実処理後日数
	1日	15日	15日
メタノール洗液			
中性成分			
M. A ₄ [①]	5.1 (4.1)	<0.2 (<0.1)	<0.1 (<0.1)
酸性成分			
水溶性成分			
メタノール抽出液			
中性成分			
M. A ₄ [①]	3.9 (3.1)	2.2 (1.2)	18.4 (16.5)
酸性成分			
水溶性成分			
抽出残渣			
消失放射能			

数値は分布率%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2) 土壤混和した M. A₄ (0.5ppm w/w) のなすによる吸収移行性 (試験 2) (第 8 表)

処理 30 日後においても、茎葉部、根部いずれも吸収、移行性は少なかった。茎葉部の放射能の性質を調べたところ、移行した 80% 以上が水溶性物質あるいは酸性物質であり、M. A₄ が土壤あるいは根で代謝分解し、生成した極性の代謝物が移行したものと考えられる。

第 8 表 土壤混和した M. A₄ のなすによる吸収移行性

経過日数	茎葉部	根部	土壤
1	<0.01	0.01	99.7
3	0.01	0.03	99.0
6	0.02	0.04	95.0
9	0.03	0.05	91.7
30	0.04	0.08	68.7

数値は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

みかんにおける代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) オレンジにおける植物代謝試験

(資料 代謝 15)

試験機関: Covance Laboratories Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

供試化合物:

^{14}C -M. A₄

構造式:

化学名: (10E, 14E, 16E, 22Z) - (1R, 4S, 5' S, 6R, 6' R, 8R, 13R, 20R, 21R, 24S) -6' -エチル-
21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4, 8}. 0^{20, 24}]
ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトライン-6-ステロ-2' -テトラヒドロピラン-2-オン

放射化学的純度:

比放射能:

供試植物: オレンジ (*Citrus sinensis*)

米国ウィスコンシン州 Madison の温室において栽培

方法:

処理液の調製: ^{14}C -M. A₄ のトルエン溶液の溶媒を窒素気流下で除去し、非標識 M. A₄ および空製剤 (M. A₄ の 100 倍量) を加え混合後、水を添加し均一になるまで攪拌することにより、製剤化した処理液を調製した。

処理方法: 推奨散布量をもとに 2 つの処理濃度区 (27.2 g ai/ha (1X 処理区) および 54.4 g ai/ha (2X 処理区)) を設定し、果実を付けた成熟期のオレンジの木に噴霧器を用いて単回散布を行った (1997 年 11 月 4 日)。実際の処理量は、28.0 g ai/ha (1X 処理区) および 57.2 g ai/ha (2X 処理区) であった。

採取時期: 処理 7 日後および 14 日後に、果実および葉を採取した。

分析試料: 果実は果皮および果肉に分画し、葉とともに分析試料とした。

分析方法: 各試料は液体窒素で凍結させドライアイスとともに粉碎機で均一化した。果肉に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

つについてはその一部をはかり取り、直接液体シンチレーションカクテル (Ultina Gold) に加えて放射能測定し、総残留放射能 (TRR) を求めた。果皮および葉については、一部をオキシダイザーで燃焼して放射能測定し総残留放射能を求めた。次に採取した各試料は図 1 のスキームに従い抽出・分析した。酢酸エチルによる液々分配は放射エネルギーが低い場合は実施しなかった。親化合物および代謝物の同定・定量は、HPLC および 2D-TLC を用いた標品とのクロマトグラフィーにより行った。また未同定代謝物については TLC および HPLC で単離・精製後、LC/MS 分析を試みた。

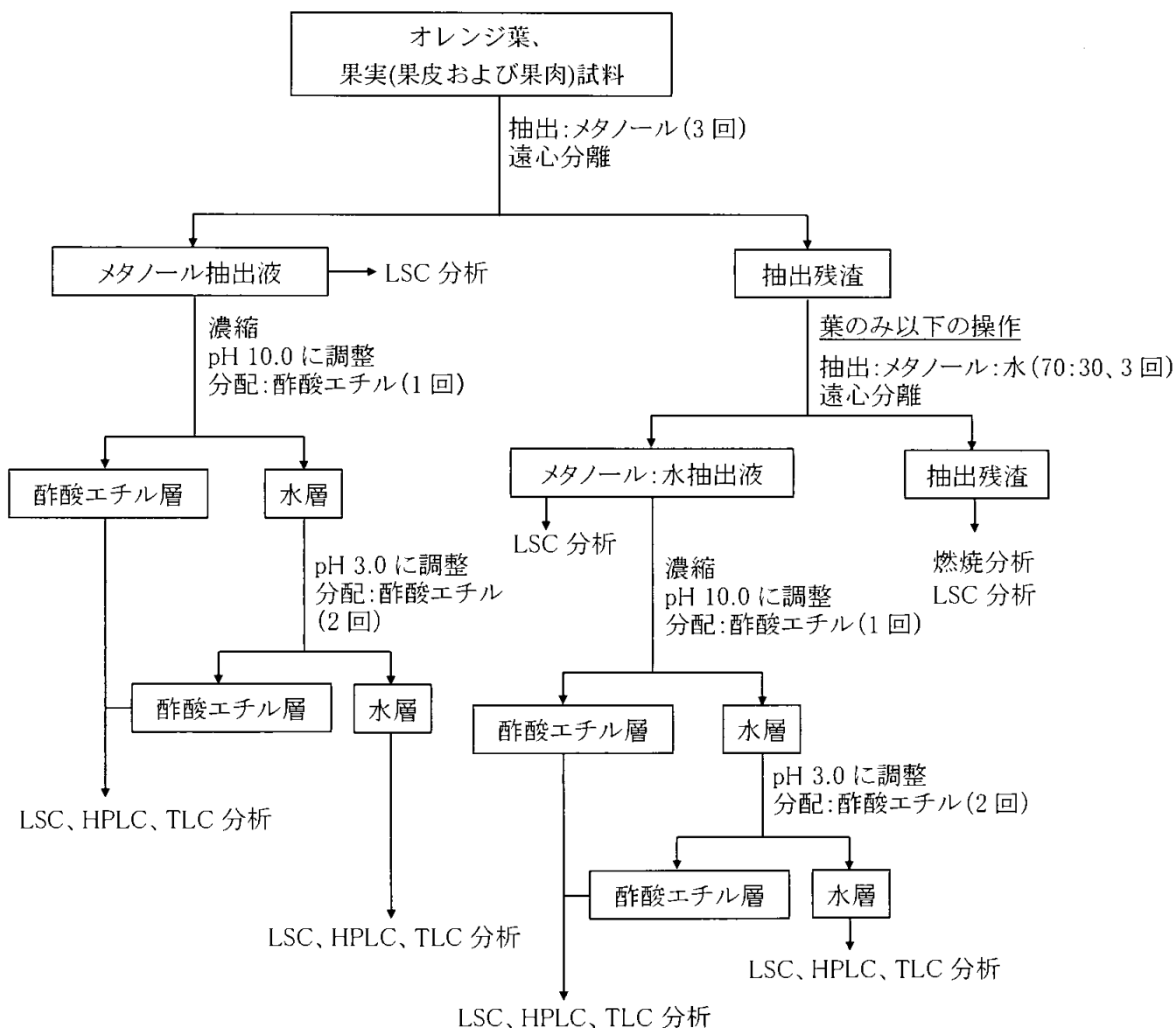


図 1 オレンジの各試料の抽出および分析スキーム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結果：

¹⁴C 分布：¹⁴C-M. A₄ 処理後の果肉、果皮および葉における総残留放射能および放射能分布を表 1～3 に示す。

1X 処理区の果皮、果肉および葉の総残留放射能は 7 日後でそれぞれ、0.023、0.003 および 1.210 ppm であり、14 日後はそれぞれ、0.035、0.003 および 1.120 ppm であった。2X 処理区の果肉、果実および葉の総残留放射能は 7 日後でそれぞれ、0.070、0.005 および 2.420 ppm であり、14 日後はそれぞれ、0.109、0.010 および 2.270 ppm であった。このように総残留放射能において経時的な減少は認められなかったが、総残留放射能は処理量にほぼ比例する傾向を示した。果肉の総残留放射能は 0.01 ppm 以下と低かったため、2X 処理区の 14 日後の果肉を除いて、溶媒抽出は行わなかった。

各試料からメタノールおよびメタノール/水で 83.3～96.2%TRR の放射能が抽出された。抽出残渣中の放射能量は、8.6～22.9%TRR であったが、果皮および果肉の抽出残渣中の放射能は極微量であった (0.013 ppm 以下)。

表 1 オレンジ果肉、果皮および葉における総残留放射能^a

試料	濃度 (ppm、親化合物換算値)			
	1X 処理区		2X 処理区	
	7 日後	14 日後	7 日後	14 日後
果皮	0.023	0.035	0.070	0.109
果肉	0.003	0.003	0.005	0.010
葉	1.210	1.120	2.420	2.270

a：果皮および葉は燃焼分析による結果。果肉は直接 LSC 分析による結果。

表 2 1X 処理区のオレンジ各試料における放射能分布

試料	メタノール抽出液		メタノール/水抽出液		抽出残渣		合計	
	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度
7 日後								
果皮	86.2	0.020 (抽出合計)	4.1 90.3	0.001 0.021)	10.3	0.002	100.6	0.023
果肉 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.003
葉	77.5	0.938 (抽出合計)	7.2 84.7	0.087 1.025)	17.3	0.210	102.0	1.210
14 日後								
果皮	85.1	0.030 (抽出合計)	3.4 88.5	0.001 0.031)	14.6	0.005	103.1	0.035
果肉 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.003
葉	79.7	0.893 (抽出合計)	8.6 88.3	0.096 0.989)	22.5	0.252	110.8	1.120

分布率は総残留放射能に対する割合 (%TRR)。

濃度は放射能濃度 ppm (親化合物換算値)。

NA：分析せず。 a：果肉の残留放射能が低かったため (<0.01ppm)、抽出しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 2X 処理区のオレンジ各試料における放射能分布

試料	メタノール抽出液		メタノール/水抽出液		抽出残渣		合計	
	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度
7 日後								
果皮	90.9	0.064 (抽出合計)	3.4 94.3	0.002 0.066)	8.6	0.006	102.9	0.070
果肉 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.005
葉	76.8	1.858 (抽出合計)	6.5 83.3	0.157 2.015)	17.6	0.426	100.9	2.420
14 日後								
果皮	92.8	0.101 (抽出合計)	3.4 96.2	0.004 0.105)	11.9	0.013	108.1	0.109
果肉 ^a	79.5	0.008 (抽出合計)	6.0 85.5	0.001 0.009)	22.9	0.002	108.4	0.010
葉	75.1	1.705 (抽出合計)	8.6 83.7	0.194 1.899)	20.2	0.458	103.9	2.270

分布率は総残留放射能に対する割合 (%TRR)。

濃度は放射能濃度 ppm (親化合物換算値)。

NA : 分析せず。 a : 果肉の残留放射能が低かったため (<0.01ppm)、抽出しなかった。

代謝 : 果皮および葉における代謝物の分析結果を表 4 および 5 に示す。

各試料とも大部分の放射能はメタノールおよびメタノール/水により抽出され、さらにその大部分は酢酸エチルに分配された。酢酸エチル層において、

が検出された。

果皮中では

であったが、葉中では

検出された未同定代謝物について、TLC および HPLC で単離・精製後、LC/MS 分析に供して同定を試みた。その結果、構造決定には至らなかったが、

であることが示唆された。

酢酸エチル層にはその他に HPLC クロマトグラム上に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 4 1X 処理区のオレンジ果皮および葉試料における代謝物分布*

	7日後		14日後	
	分布率	濃度	分布率	濃度
果皮				
メタノール抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
メタノール/水抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
抽出残渣				
合計				
代謝物 ^a				
M. A ₄ [①]	34.7	0.008	19.2	0.007
葉				
メタノール抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
メタノール/水抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
抽出残渣				
合計				
代謝物 ^b				
M. A ₄ [①]	37.6	0.456	23.1	0.258

* : HPLC 分析による結果。液々分配や溶媒濃縮の操作における放射能のロスなどを補正せずに測定値をそのまま記載したため、数値は必ずしも一致していない。

分布率は総残留放射能に対する割合 (%TRR)。

濃度は放射能濃度 ppm (親化合物換算値)。

a : メタノール抽出液由来の酢酸エチル層を HPLC により分析。

b : メタノール抽出液由来の酢酸エチル層、およびメタノール/水抽出液由来の酢酸エチル層を混合し、HPLC により分析。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 5 2X 処理区のオレンジ果皮および葉試料における代謝物分布*

	7日後		14日後	
	分布率	濃度	分布率	濃度
果皮				
メタノール抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
メタノール/水抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
抽出残渣				

合計				
代謝物 ^a				
M. A ₄ [①]	55.3	0.039	31.2	0.034

葉				
メタノール抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
メタノール/水抽出液				
酢酸エチル層				
水層				
抽出残渣				

合計				
代謝物 ^b				
M. A ₄ [①]	36.2	0.878	7.3	0.167

* : HPLC 分析による結果。液々分配や溶媒濃縮の操作における放射能のロスなどを補正せずに測定値をそのまま記載したため、数値は必ずしも一致していない。

分布率は総残留放射能に対する割合 (%TRR)。

濃度は放射能濃度 ppm (親化合物換算値)。

a : メタノール抽出液由来の酢酸エチル層を HPLC により分析。

b : メタノール抽出液由来の酢酸エチル層、およびメタノール/水抽出液由来の酢酸エチル層を混合し、HPLC により分析。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

オレンジにおける代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) りんごにおける植物代謝試験

(資料 代謝 16)

試験機関: Covance Laboratories Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1998 年

供試化合物:

^{14}C -M. A₄

構造式:

化学名: (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5' *S*, 6*R*, 6' *R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-6'-*I*-*l*-
21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4, 8}. 0^{20, 24}]
ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロラン-2-オン

放射化学的純度:

比放射能:

供試植物: りんご (品種: Granny Smith)

米国カリフォルニア州 Poterville の果樹園 (野外) において栽培

方法:

処理液の調製: ^{14}C -M. A₄ のトルエン溶液の溶媒を窒素気流下で除去し、非標識 M. A₄ および空製剤 (M. A₄ の 100 倍量) を加え混合後、水を添加し、均一になるまで攪拌することにより製剤化した処理液を調製した。

処理方法: 推奨散布量をもとに 2 つの処理濃度区 (27.2 g ai/ha (1X 処理区) および 54.4 g ai/ha (2X 処理区)) を設定し、成熟期近くの果実を付けているりんごの木に背負い式炭酸ガス噴霧器を用いて単回散布を行った (1997 年 9 月 11 日)。実際の処理量は、27.8 g ai/ha (1X 処理区) および 55.3 g ai/ha (2X 処理区) であった。

採取時期: 処理 7 日後および 14 日後に、果実および葉を採取した。

分析試料: 全果実、果皮と果肉に分けた試料および葉部を分析試料とした。採取した各

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試料の一部については蒸留水により表面洗浄を行い、洗浄後分析試料とした。
洗浄液については LSC 分析し放射エネルギーを測定した。

分析方法： 各試料は液体窒素で凍結させドライアイスとともに粉碎機で均一化し、その一部をオキシダイザーで燃焼して放射能測定することにより総残留放射能 (TRR) を求めた。表面洗浄しなかった試料について、図 1 のスキームに従い抽出・分析した。なおメタノール/水抽出液の放射エネルギーが低い場合には酢酸エチルによる液々分配は実施しなかった。親化合物および代謝物の同定・定量は、HPLC および 2D-TLC を用いた標品とのクロマトグラフィーにより行った。

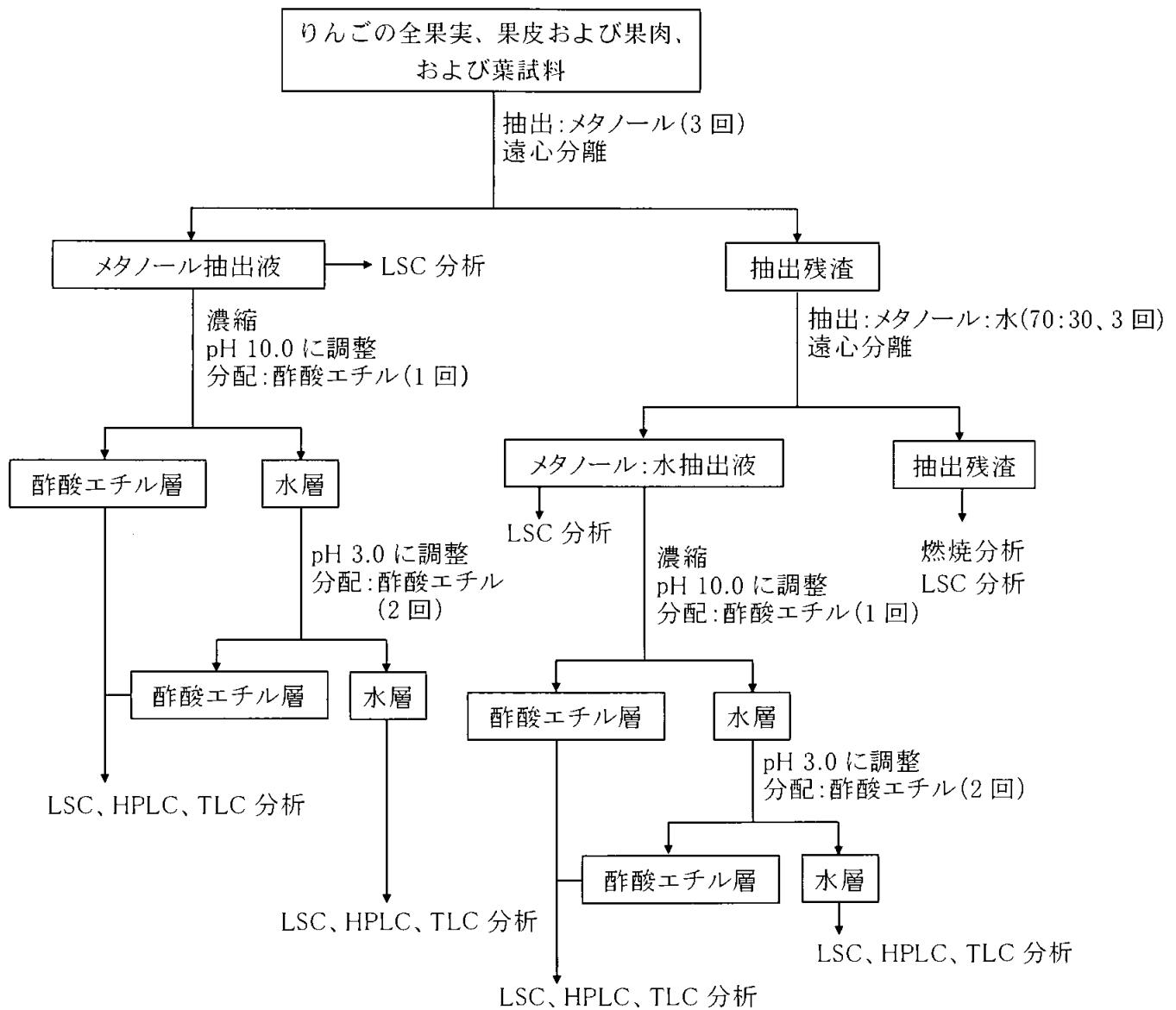


図 1 りんごの各試料の抽出および分析スキーム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結果：

¹⁴C 分布：¹⁴C-M. A₄ 処理後の果実および葉における総残留放射能および放射能分布を表 1～3 に示す。

未洗浄の全果実の総残留放射能は、処理 7 日および 14 日後において、1X 処理区ではそれぞれ 0.018 および 0.011 ppm、2X 処理区ではそれぞれ 0.036 および 0.014 ppm であった。未洗浄の葉の総残留放射能は、処理 7 日および 14 日後において、1X 処理区ではそれぞれ 1.730 および 1.080 ppm、2X 処理区ではそれぞれ 3.070 および 2.470 ppm であった。このように果実および葉とも総残留放射能は経時的に減少する傾向を示し、また処理量にほぼ比例する傾向を示した。果肉の総残留放射能は果皮の総残留放射能よりも低かった。また果実中の放射能は蒸留水を用いて表面洗浄することにより、果実から全残留量の 47.5～56.7%が除去された。果実および葉各試料からメタノールおよびメタノール/水により 59.6～101.4%TRR が抽出された。各試料の抽出残渣中の放射能量は 10.0～35.6%TRR であったが、全果実の抽出残渣中の放射能濃度は極微量であった (<0.010 ppm)。

表 1 りんご果実および葉における総残留放射能*

試料	濃度 (ppm、親化合物換算値)			
	1X 処理区		2X 処理区	
	7 日後	14 日後	7 日後	14 日後
全果実	0.018	0.011	0.036	0.014
果皮	0.123	0.040	0.268	0.156
果肉	0.006	ND	0.017	0.007
葉	1.730	1.080	3.070	2.470
<u>洗浄後試料</u>				
全果実	0.006	0.005	0.010	0.009
果皮	0.044	0.045	0.077	0.047
果肉	<0.003	<0.003	0.004	<0.002
葉	0.369	0.335	0.815	0.723
<u>洗浄液</u>				
全果実	0.008	0.009	0.014	0.010
葉	0.113	0.077	0.208	0.116

*：燃焼分析による結果（洗浄液以外）

ND：検出せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表2 1X処理区のりんご各試料における放射能分布

試料	メノール抽出液		メノール/水抽出液		抽出残渣		合計	
	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度
7日後								
全果実	85.7 (抽出)	0.015 合計	6.5 92.2	0.001 0.016)	14.7	0.003	106.9	0.018
果皮	76.8 (抽出)	0.094 合計	6.5 83.3	0.008 0.102)	19.1	0.024	102.4	0.123
果肉	92.1 (抽出)	0.006 合計	9.3 101.4	0.001 0.007)	11.8	0.001	113.2	0.006
葉	70.7 (抽出)	1.223 合計	7.2 77.9	0.125 1.348)	24.3	0.421	102.2	1.730
洗浄後試料								
全果実	75.8 (抽出)	0.005 合計	11.3 87.1	0.001 0.006)	23.8	0.001	110.9	0.006
果皮	69.6 (抽出)	0.031 合計	8.6 78.2	0.004 0.035)	27.8	0.012	106.0	0.044
果肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<0.003
葉	62.6 (抽出)	0.231 合計	5.3 67.9	0.020 0.251)	30.7	0.113	98.6	0.369
14日後								
全果実	78.7 (抽出)	0.009 合計	9.4 88.1	0.001 0.010)	19.1	0.002	107.2	0.011
果皮	65.3 (抽出)	0.026 合計	9.4 74.7	0.004 0.030)	24.9	0.010	99.6	0.040
果肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	ND
葉	64.2 (抽出)	0.693 合計	8.5 72.7	0.091 0.784)	23.1	0.249	95.8	1.080
洗浄後試料								
全果実	75.4 (抽出)	0.004 合計	15.9 91.3	0.001 0.005)	28.8	0.001	120.1	0.005
果皮	61.9 (抽出)	0.028 合計	10.3 72.2	0.005 0.033)	24.9	0.011	97.1	0.045
果肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<0.003
葉	54.5 (抽出)	0.183 合計	5.1 59.6	0.017 0.200)	35.6	0.119	95.2	0.335

分布率は総残留放射能に対する割合(%TRR)。

濃度は放射能濃度 ppm(親化合物換算値)。

NA: 分析せず。

ND: 検出せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 2X 処理区のりんご各試料における放射能分布

試料	メタノール抽出液		メタノール/水抽出液		抽出残渣		合計	
	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度
7日後								
全果実	88.3 (抽出)	0.032 合計	6.5 94.8	0.002 0.034)	13.0	0.005	107.8	0.036
果皮	71.6 (抽出)	0.192 合計	7.2 78.8	0.019 0.211)	16.2	0.043	95.0	0.268
果肉	89.2 (抽出)	0.015 合計	7.8 97.0	0.001 0.016)	10.0	0.002	107.0	0.017
葉	74.2 (抽出)	2.278 合計	8.5 82.7	0.261 2.539)	20.4	0.626	103.1	3.070
洗浄後試料								
全果実	77.8 (抽出)	0.008 合計	9.0 86.8	0.001 0.009)	21.5	0.002	108.3	0.010
果皮	72.9 (抽出)	0.056 合計	8.5 81.4	0.007 0.063)	25.8	0.020	107.2	0.077
果肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.004
葉	68.1 (抽出)	0.555 合計	5.2 73.3	0.042 0.597)	29.9	0.243	103.2	0.815
14日後								
全果実	81.4 (抽出)	0.011 合計	10.6 92.0	0.001 0.012)	21.9	0.003	113.9	0.014
果皮	72.5 (抽出)	0.113 合計	9.3 81.8	0.015 0.128)	23.7	0.037	105.5	0.156
果肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.007
葉	65.0 (抽出)	1.605 合計	9.4 74.4	0.233 1.838)	21.4	0.528	95.8	2.470
洗浄後試料								
全果実	76.6 (抽出)	0.007 合計	12.1 88.7	0.001 0.008)	29.9	0.003	118.6	0.009
果皮	69.9 (抽出)	0.033 合計	11.4 81.3	0.005 0.038)	28.3	0.013	109.6	0.047
果肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<0.002
葉	68.2 (抽出)	0.493 合計	3.9 72.1	0.028 0.521)	33.9	0.245	106.0	0.723

分布率は総残留放射能に対する割合(%TRR)。
濃度は放射能濃度 ppm(親化合物換算値)。
NA: 分析せず。

代謝: 果実および葉における代謝物分析の結果を表 4 および 5 に示す。

果実および葉とも大部分の放射能はメタノールおよびメタノール/水により抽出され、さらにその大部分は酢酸エチルに分配された。酢酸エチル層において、未変化の M₄[①]が HPLC および 2D-TLC コクロマトグラフィーにより同定された。また、
が HPLC コクロマトグラフィーにより同定された(ただし TLC による同定の確認はできなかった)。可食部である果実中において、これらの残留量は低く、

であった。また、

検出

されたが、その残留量は

であったため、この代

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

謝物の同定は行わなかった。酢酸エチル層にはその他に HPLC クロマトグラム上に
が検出された。

表 4 1X 処理区のりんご果実および葉試料における代謝物分布*

	7 日後		14 日後	
	分布率	濃度	分布率	濃度
果実				
メタノール抽出液				
酢酸エチル層 ^a				
M. A ₄ [①]	<3.7	<0.001	4.8	0.001
水層				
メタノール/水抽出液				
抽出残渣				
合計				
葉				
メタノール抽出液				
酢酸エチル層 ^a				
M. A ₄ [①]	7.6	0.131	5.1	0.055
水層				
メタノール/水抽出液				
酢酸エチル層 ^a				
M. A ₄ [①]	0.1	0.001	<0.2	<0.002
水層				
抽出残渣				
合計				

* : HPLC 分析による結果。液々分配や溶媒濃縮の操作における放射能のロスなどを補正せずに測定値をそのまま記載したため、数値は必ずしも一致していない。分布率は総残留放射能に対する割合 (%TRR)。濃度は放射能濃度 ppm (親化合物換算値)。

a : HPLC クロマトグラム上に低レベルの分離できない (diffuse) 成分を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 5 2X 処理区のりんご果実および葉試料における代謝物分布*

	7 日後		14 日後	
	分布率	濃度	分布率	濃度
果実				
M. A ₄ [①]	7.0	0.003	4.2	0.001
水層 メタノール/水抽出液 抽出残渣				
合計				
葉				
メタノール抽出液 酢酸エチル層 ^a				
M. A ₄ [①]	3.1	0.095	4.4	0.109
水層 メタノール/水抽出液 酢酸エチル層 ^a				
M. A ₄ [①]	0.2	0.006	<0.6	<0.015
水層 抽出残渣				
合計				

* : HPLC 分析による結果。液々分配や溶媒濃縮の操作における放射能のロスなどを補正せずに測定値をそのまま記載したため、数値は必ずしも一致していない。

分布率は総残留放射能に対する割合 (%TRR)。

濃度は放射能濃度 ppm (親化合物換算値)。

a : HPLC クロマトグラム上に低レベルの分離できない (diffuse) 成分を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

M. A₄のりんごにおける代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4) 茶における代謝

(資料 代謝7)

試験機関 三共(株)農薬研究所

報告書作成年 1990年

供試標識化合物：

構造式：

1) ^{14}C -M. A₃

2) ^{14}C -M. A₄

3) ^3H -M. A₃

4) ^3H -M. A₄

化学名；

放射化学的純度と比放射能；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第1表 使用した標識化合物の比放射能

¹⁴ C 標識化合物		³ H 標識化合物	
標識化合物	比放射能 (mCi/mmol)	標識化合物	比放射能 (mCi/mmol)

供試植物：茶（品種；やぶきた）

栽培条件：ガラス温室内（昼 28℃、夜 23℃）でポット栽培した。

試験方法：³H 標識の ³H-M. A₃あるいは ³H-M. A₄の乳剤を、M. A₃では 3 μg/mL、M. A₄では 7 μg/mL、¹⁴C-M. A₄あるいは ¹⁴C-M. A₃の乳剤を、M. A₃及び M. A₄ともに 100 μg/mL となるように水で希釈し、茶の葉 4 枚の表及び裏に 0.4 mL をマイクロシリンジで塗布した。処理直後、1、3、6、15 日後にサンプリングし、分析に供した。また、同一枝上の未処理葉（新葉）をサンプリングし、放射能の移行性を調べた。

葉の表面をメタノールで洗い、メタノール洗液とした。ついで、葉をメタノールで抽出し、抽出液は濾過してメタノール抽出液と残渣に分けた。メタノール洗液とメタノール抽出液は、LSC で放射能を分析した。

抽出残渣及び未処理葉は、燃焼後 LSC で放射能を分析した。

メタノール洗液とメタノール抽出液の濃縮液については、TLC あるいは HPLC により代謝物の検索を行った。

各試験は 2 連制で行った。

試験結果：

(1) 葉における代謝（第2表、第3表）

M. A₃、M. A₄をそれぞれ葉に処理したところ、葉から消失していく放射能は

になった。¹⁴C-M. A₃と ¹⁴C-M. A₄処理における系外への放射能の消失は、³H 標識した M. A₃、M. A₄処理とほぼ同様の結果を示した。

抽出残渣中の放射能は、処理 15 日後でも 8.0~8.4%と少なかった。

M. A₃ [①] は処理 1 日後で 13.9%、15 日後には 2.1%と処理葉からの消失は速やかであった。M. A₄ [①] の消失も M. A₃ [①]と同様の結果を示した。M. A₃ [①]及び M. A₄ [①]の処理直後における速やかな減少には、主として葉の表面での光分解が関与しており、M. A₃ [①]及び M. A₄ [①]の半減期はいずれも 1 日以内であった。これに対し、処理 6 日以降のゆるやかな分解は、主として植物による分解が関与しており、半減期は 10~15 日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第2表 M. A₃ 及び M. A₄ 処理の葉における放射能の分布

標識化合物 (処理放射能濃度)	経過 日数	処理放射能に対する%				
		洗液	抽出液	残渣	小計	消失放射能
³ H-M. A ₃ (3ppm)	1	57.7	20.7	4.5	82.9	17.1
	3	51.8	20.9	5.1	77.8	22.2
	6	34.9	24.9	8.9	68.7	31.3
	15	31.9	22.5	8.4	62.8	37.2
³ H-M. A ₄ (7ppm)	1	58.6	21.4	4.9	84.9	15.1
	3	50.4	21.9	5.9	78.2	21.8
	6	43.3	18.7	7.5	69.5	30.5
	15	30.3	24.8	8.0	63.1	36.9
¹⁴ C-M. A ₃ (100ppm)	1	77.0	4.3	1.3	82.6	17.4
	3	65.4	4.8	3.5	73.7	26.3
	6	48.9	7.5	7.0	63.4	36.6
	15	44.9	5.8	7.0	57.7	42.3
¹⁴ C-M. A ₄ (100ppm)	1	78.5	4.1	1.1	83.7	16.3
	3	68.6	4.9	2.4	75.9	24.1
	6	52.1	7.5	7.2	66.8	33.2
	15	49.8	6.7	7.5	64.0	36.0

第3表 M. A₃ 及び M. A₄ 処理の葉における親化合物の消失

標識化合物	経過 日数	洗液中の親化合物	抽出液中の親化合物	合計
³ H-M. A ₃	1	9.6	4.3	13.9
	3	4.6	3.6	8.2
	6	0.6	3.0	3.6
	15	0.3	1.8	2.1
³ H-M. A ₄	1	9.6	3.0	12.6
	3	3.2	3.0	6.2
	6	1.1	1.4	2.5
	15	0.4	1.5	1.9

数値は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2) M. A₃ [①] 及び M. A₄ [①] の葉における放射能の残留及び移行性 (第4表)

処理葉から未処理葉への放射能の移行性については、³H-M. A₃ 処理の場合、1 日後では未処理葉の放射能濃度は処理葉の放射能濃度に対し、5000 分の 1、6 日後で 5000 分の 7、15 日後でも 1000 分の 3 であった。

³H-M. A₄、¹⁴C-M. A₃ 及び ¹⁴C-M. A₄ 処理の場合も、³H-M. A₃ 処理とほぼ同様の結果であった。処理葉から未処理葉への放射能の移行性は、試験したいずれの標識化合物の場合も少なかった。

第4表 ³H-M. A₃、³H-M. A₄、¹⁴C-M. A₃ 及び ¹⁴C-M. A₄
処理の葉における放射能の残留及び移行性

標識化合物 (処理放射能濃度)	経過 日数	処理葉の 放射能濃度	未処理葉の 放射能濃度 ¹⁾	処理葉から未処理 葉への移行 (B/A)
³ H-M. A ₃ (3ppm)	0	1.0435 ^{A)} ¹⁾	—	—
	1	0.8651 ± 0.013	0.0002 ¹⁾	0.0002
	3	0.8122 ± 0.028	0.0003	0.0003
	6	0.7160 ± 0.008	0.0015	0.0014
	15	0.6553 ± 0.002	0.0026	0.0025
³ H-M. A ₄ (7ppm)	0	2.4348 ^{A)}	—	—
	1	2.0671 ± 0.009	<0.0001	<0.0005
	3	1.9031 ± 0.024	0.0007	0.0003
	6	1.6922 ± 0.017	0.0022	0.0009
	15	1.5374 ± 0.013	0.0047	0.0019
¹⁴ C-M. A ₃ (100ppm)	0	38.1 ^{A)}	—	—
	1	31.5 ± 0.1	<0.05	<0.0013
	3	28.1 ± 1.1	<0.05	<0.0013
	6	24.2 ± 0.9	<0.05	<0.0013
	15	22.0 ± 0.1	0.07	0.0018
¹⁴ C-M. A ₄ (100ppm)	0	38.2 ^{A)}	—	—
	1	33.9 ± 0.4	<0.05	<0.0013
	3	30.9 ± 0.4	<0.05	<0.0013
	6	27.4 ± 0.4	<0.05	<0.0013
	15	26.4 ± 0.6	0.05	0.0013

¹⁾ 放射能濃度の数値は M. A₃ あるいは M. A₄ の μg 当量 / g 葉

— 分析せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3) 代謝物の検索

$^{14}\text{C-M. A}_3$ 及び $^{14}\text{C-M. A}_4$

標品とのクロマトグラフィーから同定された代謝物は、

であった。

$^{14}\text{C-M. A}_3$ 及び $^{14}\text{C-M. A}_4$ 処理 1 日後では、これら代謝分解物の生成量はいずれも少なかった。3 日後には、これらの代謝分解物はさらに分解が進み、多数のより極性の代謝物が生成した。

$^3\text{H-M. A}_3$ 及び $^3\text{H-M. A}_4$ (第 5 表、第 6 表)

$^3\text{H-M. A}_3$ を処理した 1 日後のメタノール洗液中、

であった。処理 15 日後にはメタノール洗液、抽出液中の代謝物は 処理の場合もほぼ同様の結果であった。

メタノール洗液、メタノール抽出液中の放射能は、中性及び酸性の酢酸エチル可溶性物質と水溶性物質に分けて分析した。 $^3\text{H-M. A}_3$ 処理 1 日後で、

であった。処理 15 日後の中性成分は

であった。このように M. A_3 は一旦代謝を受けると になるが、それらは 処理の場合も 処理の結果に分解され、主た 処理の結果とほぼ同様の結果であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第5表 $^3\text{H-M. A}_3$ 処理の葉における放射能の性質

化合物	葉処理後日数	
	1日	15日
メタノール洗液		
中性成分		
M. A ₃ [①]	11.6 (9.6)	0.5 (0.3)
酸性成分		
水溶性成分		
メタノール抽出液		
中性成分		
M. A ₃ [①]	5.2 (4.3)	2.9 (1.8)
酸性成分		
水溶性成分		
抽出残渣		
消失放射能		

数値は分布率%、() は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第6表 $^3\text{H-M. A}_4$ 処理の葉における放射能の性質

化合物	葉処理後日数	
	1日	15日
メタノール洗液		
中性成分		
M. A ₄ [①]	11.3 (9.6)	0.6 (0.4)
酸性成分		
水溶性成分		
メタノール抽出液		
中性成分		
M. A ₄ [①]	3.5 (3.0)	2.4 (1.5)
酸性成分		
水溶性成分		
抽出残渣		
消失放射能		

数値は分布率%、() は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

茶における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) いちごにおける代謝

(資料 代謝 8)

試験機関 コーヴァンス ラボラトリーズ
報告書作成年 1998 年

供試標識化合物：

^{14}C 標識 M. A₄ (以下 ^{14}C -M. A₄) を用いた。

構造式；

化学名； (10E, 14E, 16E, 22Z) - (1R, 4S, 5S, 6R, 6R, 8R, 13R, 20R, 21R, 24S) - 21, 24-ジヒドロキシ-6-イソプロピル-5, 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4, 8}. 0^{20, 24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロラン-2-オン

比放射能；

放射化学的純度；

供試植物：いちご (品種：Tristar)

米国ウィスコンシン州マディソンの圃場より採取したシルト質壤土を満たしたポットに各 1 株のいちごを栽培した。

無処理区 15 株、1 倍量処理区 60 株、4 倍量処理区 60 株のいちごを供試した。

方法：

①処理液調製；

^{14}C -M. A₄ の 1% 乳剤を調製し、水を加えて散布液を作製した。

②処理；

1 倍量処理区では 22. 3g ai/ha、4 倍量処理区では 88. 0g ai/ha の処理量で、均一に散布した。

③採取；

処理 1 日後に 1 倍量処理区及び 4 倍量処理区から、処理 3 日後に無処理区、1 倍量処理区及び 4 倍量処理区から、約 150~350g の果実試料及び茎葉部 (葉柄を含む、以下同様) 試料を採取した。水洗による本剤の除去を確認するため、各果実試料の半量は蒸留水で軽く洗浄し、洗浄果実と洗浄液を試料とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

なお、果実試料(非洗浄)及び茎葉部試料はそれぞれ3試料に分割し、分析に供した。

④分 析；

各試料の放射能は LSC で測定した。果実試料及び茎葉部試料については、放射能濃度の最も高い分割試料を溶媒抽出し、酢酸エチル層と水層に分画した。これらの画分及び果実洗浄液を対象として、HPLC 及び TLC を用いて、代謝物の同定及び定量を行った。

結 果：各試料の放射能濃度は次の通りであった。

試 料	1 倍量処理区		4 倍量処理区	
	処理 1 日後	処理 3 日後	処理 1 日後	処理 3 日後
果 実 ¹⁾	0.040	0.037	0.146	0.168
茎葉部 ¹⁾	1.170	1.430	4.310	3.790
洗浄果実	0.025	0.028	0.102	0.114

注) 表中の数値は放射能濃度(親化合物換算値、ppm)。¹⁾ 3 分割試料の平均値。

両処理区に認められた放射能濃度は、果実及び茎葉部とも処理量に比例した濃度であった。処理 1 日後と処理 3 日後に認められた放射能濃度は、両処理区及び各試料間に顕著な変化は見られなかった。また、非洗浄果実と洗浄果実の放射能の比較から、水洗により放射能の 20~30% が除去されることが認められた。

各試料の放射能は、溶媒抽出、分配等により、次の通り、分画された。

試 料	処理 1 日後					処理 3 日後					
	抽出量 (合計)	酢酸エ チル層	水 層	非抽出	回収率	抽出量 (合計)	酢酸エ チル層	水 層	非抽出	回収率	
1 倍 量	果 実	0.051 (94.5)	0.042 (78.3)	0.005 (8.6)	0.001 (2.2)	(96.7)	0.037 (90.8)	0.025 (62.1)	0.007 (16.2)	0.003 (8.4)	(99.2)
	茎葉部	1.318 (94.1)	1.045 (74.7)	0.050 (3.6)	0.099 (7.0)	(101.1)	1.302 (86.7)	1.003 (66.8)	0.072 (4.8)	0.261 (17.4)	(104.1)
	洗浄果実	0.025 (101.6)	0.019 (72.5)	0.001 (5.6)	0.002 (6.5)	(108.1)	0.028 (100.3)	0.023 (74.8)	0.005 (17.4)	0.001 (3.9)	(104.2)
4 倍 量	果 実	0.193 (100.8)	0.128 (66.5)	0.005 (2.7)	0.003 (1.3)	(102.1)	0.209 (102.9)	0.175 (86.0)	0.015 (7.3)	0.012 (5.8)	(108.7)
	茎葉部	4.486 (96.7)	4.240 (91.4)	0.061 (1.3)	0.143 (3.1)	(99.8)	4.612 (98.3)	3.888 (83.0)	0.214 (4.6)	0.544 (11.6)	(109.9)
	洗浄果実	0.109 (106.5)	0.091 (82.9)	0.003 (2.5)	0.002 (2.0)	(108.5)	0.103 (89.9)	0.089 (70.3)	0.006 (7.0)	0.003 (2.5)	(92.4)

注) 放射能濃度の最も高い分割試料を対象とした。
表中の数値は放射能濃度(親化合物換算値、ppm)。
()内は総放射能に対する割合(%)。

各試料の総放射能の 86.7~106.5% が中性溶媒(メタノール)で抽出された。抽出物を濃縮し、水/酢酸エチルで分配すると、大部分の放射能が有機溶媒可溶であることが認められ、総放射能の 62.1~91.4% が酢酸エチル層に、1.3~17.4% が水層に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

各試料の酢酸エチル層、0.006ppm 以上の放射能を含有する水層及び果実洗浄液を対象として、放射能の性質を検討した。

試 料		処理 1 日後		処理 3 日後	
		M. A ₄ [①]		M. A ₄ [①]	
1 倍 量	果 実	0.036 (66.6)		0.018 (43.5)	
	茎葉部	0.844 (60.3)		0.831 (55.4)	
	洗浄果実	0.017 (68.8)		0.120 (69.8)	
	果実洗浄液	ND		ND	
4 倍 量	果 実	0.128 (66.5)		0.176 (86.7)	
	茎葉部	4.120 (88.8)		2.767 (59.0)	
	洗浄果実	0.083 (81.2)		0.070 (61.2)	
	果実洗浄液	0.021 (62.2)		0.003 (14.5)	

注) 放射能濃度の最も高い分割試料を対象とした。

表中の数値は放射能濃度(親化合物換算値、ppm)。

()内は総放射能に対する割合(%)。

各試料とも主代謝物として M. A₄ [①] が検出され、果実及び茎葉部試料では大部分は酢酸エチル層に検出されたが、少量は水層にも存在した。代謝物としては、茎葉部試料から総放射能の 、4 倍量処理区の洗浄果実から総放射能の が、 として検出されたのみであった。これら以外の放射能は、多くのきわめて低濃度の放射能によるものと考えられ、同定することはできなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

イチゴにおける代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3. 土壌中動態に関する試験

土壌における代謝

(資料 代謝9)

試験機関 三共(株)農薬研究所
報告書作成年 1989年

供試標識化合物：

構造式；

1) $^{14}\text{C-M. A}_3$

2) $^{14}\text{C-M. A}_4$

3) $^3\text{H-M. A}_3$

4) $^3\text{H-M. A}_4$

5) $^3\text{H-M. A}_3$

6) $^3\text{H-M. A}_4$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

化学名；

放射化学的純度と比放射能：

供試土壌：野洲土、宇都宮土、福岡土、広島土、静岡土、牛久土、東北土、大中土
各土壌の性質は次の通りである。

第1表 使用した土壌の物理化学的性質

土壌	成因	土性	粘土含量 (%)	有機物含量 (%)	pH (H ₂ O)	陽イオン置換容量 (meq/100g)
野洲	沖積土	砂壤土	26.8	3.0	5.8	7.5
宇都宮	火山灰土	埴壤土	35.8	18.4	5.3	29.5
福岡	沖積土	埴壤土	40.97	2.34	5.3	31.9
広島	鉍質土	埴壤土	29.0	1.91	4.7	10.7
静岡	火山灰土	埴壤土	22.0	24.4	6.4	60.0
牛久	火山灰土	軽埴土	14.37	5.7	5.4	32.9
東北	火山灰土	埴壤土	40.75	10.59	5.8	30.2
大中	沖積土	砂壤土	29.19	3.09	5.8	13.1

(乾土基準 東京農業大学土壌学教室分析)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試験方法：

試験 1. 畑地条件における分解

好気条件の試験では、土壌を三角フラスコに 1 cm の深さにとり、M. A₃ あるいは M. A₄ を土壌に対し 0.5 ppm (w/v) 処理し、最大容水量の 60% に水分調節した。試験期間中約 20 mL/分 で通気し、野洲土、宇都宮土は 15、30、60、120、180 日後に、福岡土、広島土、静岡土及び牛久土 (M. A₄ のみ) は 15、30 日後にサンプリングし分析した。

ミルベメクチンの土壌分解性を調べるため、³H-M. A₃ と ¹⁴C-M. A₄ を野洲土、宇都宮土に処理し (ミルベメクチンとして 0.5 ppm w/v)、同様の方法で試験を行った。

無菌条件における試験は、宇都宮土を用いて行った。

嫌氣的条件における試験は、³H-M. A₄ (0.5 ppm w/v) を混和処理した野洲土、宇都宮土を用い、メタボリックフラスコ内を窒素置換して行った。

いずれの試験も全て暗黒下、25°C で行った。また、各試験は 2 連制で行った。土壌サンプルはメタノールで抽出し、抽出液は LSC で放射能を分析し、抽出残渣については燃焼後発生する ¹⁴CO₂ をモノエタノールアミン/メタノール (1/2) でトラップし、LSC で放射能の分析を行った。

試験 2. 代謝物の検索

土壌のメタノール抽出液を用い、代謝物の検索を TLC により行った。主代謝物については、分取用 HPLC にて単離し、その構造を決定した。

試験 3. 溶脱性 (リーチング)

溶脱性試験は、沖積土壌 (大中土) 及び火山灰土壌 (東北土) を用いた土壌 TLC と沖積土壌 (野洲土) 及び火山灰土壌 (宇都宮土) を用いた土壌カラムクロマトグラフィーにて行った。土壌カラムクロマトグラフィーでは、³H-M. A₃ あるいは同 M. A₄ を 5 ppm (w/v) となる様に混和した土壌を、処理直後あるいは 20 日間放置 (プレインキュベート) して供試した。

土壌 TLC では、2,4-D、Simazine を対照サンプルとした。

土壌カラムには 1 週間水を 120~130 mL/日流した後、土壌カラムを分割して、放射能の分布を調べた。

試験結果：

(1) 畑地条件における分解（試験1）

1) 好氣的条件（第2～7表）

ミルベメクチンは好氣的畑地条件で速やかに分解し、半減期はいずれの土壤も 10～15 日で、120 日後未変化体の M. A₃[①]は 2.4% (野洲土)、3.1% (宇都宮土)、M. A₄[①]では 6.1% (野洲土)、5.6% (宇都宮土)であった。

土壤から抽出されない は、180 日後で野洲土の M. A₃[①] 処理では、M. A₄[①] 処理では、宇都宮土の M. A₃[①] 処理で、M. A₄[①] 処理ではであった。

系外に消失する放射能は、15 日後で M. A₃[①] 処理で、M. A₄[①] では、180 日後には M. A₃[①] 処理で、M. A₄[①] でに達した。

無菌条件下での M. A₄[①]の分解性を調べたところ、60 日後においても全く分解せず、M. A₄[①]は土壤中に存在する土壤微生物によって分解することが示唆された。

M. A₄[①]を分解する菌は、広く土壤に分布しているものと考えられる。

また、M. A₃[①]と M. A₄[①]が混在した時の両者の分解性についても検討したが、M. A₃[①]と M. A₄[①]を単独で処理した際と分解性はほぼ同様であった。

2) 嫌氣的条件

嫌氣的条件(フラスコを窒素で置換)下で、M. A₄[①]は分解しなかった。

第2表 M. A₄[①]の各土壤における半減期

土壤	半減期
広島	15 日
牛久	13 日
福岡	12 日
野洲	15 日
宇都宮	12 日
静岡	10 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三井化学アグロ株式会社にある。

第3表 $^3\text{H-M. A}_3$ の土壤代謝：野洲土壤

処理 日数	処 理 放 射 能 に 対 す る %								
	メタノール抽出液							抽出 残土	消失 放射能
	中性成分				酸性 成分	水溶性 成分	小計		
M. A ₃ [①]									
15	35.0								
30	20.0								
60	8.2								
120	2.4								
180	1.4								

第4表 $^3\text{H-M. A}_3$ の土壤代謝：宇都宮土壤

処理 日数	処 理 放 射 能 に 対 す る %								
	メタノール抽出液							抽出 残土	消失 放射能
	中性成分				酸性 成分	水溶性 成分	小計		
M. A ₃ [①]									
15	41.8								
30	22.7								
60	8.7								
120	3.1								
180	2.3								

第5表 $^3\text{H-M. A}_6$ の土壤代謝：野洲土壤

処理 日数	処 理 放 射 能 に 対 す る %								
	メタノール抽出液 ¹⁾							抽出 残土	消失 放射能
	中性成分				酸性 成分	水溶性 成分	小計		
M. A ₃ [①]									
15	49.2								
30	41.4								
60	24.8								
120	6.1								
180	0.9								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第6表 $^3\text{H-M. A}_4$ の土壤代謝：宇都宮土壤

処理 日数	処理放射能に対する%								
	メタノール抽出液						抽出 残土	消失 放射能	
	中性成分				酸性 成分	水溶性 成分			小計
M. A ₄ ①									
15	38.4								
30	31.9								
60	15.1								
120	5.6								
180	2.0								

第7表 好氣的畑地条件： $^3\text{H-M. A}_3$ / $^{14}\text{C-M. A}_4$ 処理土壤での放射能の分布

A) 野洲土壤

経過 日数	$^{14}\text{C-M. A}_4$			$^3\text{H-M. A}_3$		
	メタノール抽出画分	抽出残渣		メタノール抽出画分	抽出残渣	
15	61.8	23.7		61.6	7.1	
30	41.4	25.8		45.2	9.2	
60	22.8	17.3		21.3	7.8	
120	9.7	22.8		9.2	9.0	
180	5.4	17.9		9.3	8.2	

数値は処理放射能に対する%

B) 宇都宮土壤

経過 日数	$^{14}\text{C-M. A}_4$			$5\text{-}^3\text{H-M. A}_3$		
	メタノール抽出画分	抽出残渣		メタノール抽出画分	抽出残渣	
15	62.3	31.6		65.2	12.1	
30	46.3	34.7		51.5	11.7	
60	30.8	23.9		30.1	12.3	
120	11.3	38.0		14.7	13.0	
180	7.9	33.8		13.1	14.2	

数値は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2) 代謝物の検索 (試験 2)

土壌のメタノール抽出液の TLC オートラジオグラム及び HPLC で単離した代謝物の機器分析から代謝物を同定した。

主な代謝物は、

であり、それらの生成量は 30 日後に

になったが、180 日後にはそれぞれ

に減少した。

その他の代謝物として、

が同定され

たが、存在量はいずれも処理放射能の下であった。

(3) 溶脱性 (リーチング) (試験 3) (第 8、9 表)

土壌 TLC (大中土、東北土) では、M. A₃[①] と M. A₄[①] は原点から全く移動しなかったのに対し、2,4-D、Simazine はいずれも原点から移動した。M. A₄[①] は、土壌からの溶脱性のないことがわかった。土壌カラムによる M. A₃[①] あるいは M. A₄[①] の溶脱性試験では、M. A₃[①] あるいは M. A₄[①] 処理土壌のいずれも、土壌表層 (0) - 4cm までのところにほとんどの放射能が存在していた。0-4cm の土壌中の放射能の性質を調べたところ、M. A₃[①] は 55.5 ~ 57.0%、M. A₄[①] は 52.3 ~ 62.6% 残存しているのみであった。代謝物が検出されていることから、試験中代謝がおこっていることがわかった。土壌カラムの下方に放射能がほとんど移動していなかったことから、代謝物を含め M. A₃ (M. A₄) [①] は溶脱性がないと判断される。

第 8 表 土壌カラムによる ³H-M. A₄ の溶脱性

表層からの 距離 (cm)	処理放射能に対する %							
	処理直後土壌				20 日間ブレイクポイント土壌			
	M. A ₄ [①]				M. A ₄ [①]			
宇 都 宮 土	0-2	59.4			15.8			
	2-4	3.2			0.5			
	4-10	— ²⁾			—			
	10-20	—			—			
	20-30	—			—			
溶出水		—			—			
野 洲 土	0-2	43.0			26.8			
	2-4	9.3			0.7			
	4-10	—			—			
	10-20	—			—			
	20-30	—			—			
溶出水		—			—			

²⁾ — ; 確認を行っていない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第9表 土壌カラムによる $^3\text{H-M. A}_3$ の溶脱性

表層からの 距離 (cm)		処理放射能に対する%			
		処理直後土壌			
		M. A ₃ [①]			
宇 都 宮 土	0-2	48.6			
	2-4	8.4			
	4-10	— ²⁾			
	10-20	—			
	20-30	—			
溶出水		—			
野 洲 土	0-2	45.1			
	2-4	10.4			
	4-10	—			
	10-20	—			
	20-30	—			
溶出水		—			

²⁾ — ; 確認を行っていない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

土壌における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4. 光分解

(資料 代謝10)

試験機関 三共(株)農薬研究所
報告書作成年 1989年

供試標識化合物：

構造式：

1) $^{14}\text{C-M. A}_3$

2) $^{14}\text{C-M. A}_4$

化学名：

放射化学的純度と比放射能：

試験方法：

試験1. M. A₃、M. A₄及びミルベメクチンの光分解性

M. A₃、M. A₄あるいはミルベメクチンのアセトニトリル溶液をシャーレに $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後、太陽光、ブラックランプ、殺菌灯下で照射し、時系列的に M. A₃ あるいは M. A₄ の残存量を HPLC で求めた。

石英三角フラスコの底に M. A₄ のアセトニトリル溶液を $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後そのまま太陽光に曝した区と、窒素置換した後、密栓し酸素を遮断した区における光分解性を比較した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試験 2. 光分解物の検索

^{14}C -M. A₃あるいは ^{14}C -M. A₄のアセトニトリル溶液をシャーレに $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後太陽光に曝し、時系列的にサンプリングして代謝物の検索をTLCにより行った。上記と同様に処理したシャーレをアルミホイルで覆ったものを遮光区とした。主生成物については、M. A₃あるいはM. A₄のアセトニトリル溶液をシャーレに $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後太陽光に曝した後、分取用HPLCにて分解物を単離した。光分解物の検索は、TLC、HPLC及び単離した分解物を機器分析(NMR、MS)に供し、その構造を決定した。

試験 3. 光分解物の光分解性

M. A₄ [①] の光分解物である

のアセトニトリル溶液をシャーレに $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去して太陽光下で照射し、時系列的に各化合物の残存量をHPLCで求めた。

試験結果：

(1) M. A₃、M. A₄及びミルベメクチンの光分解性 (試験1) (第1～3表)

薄膜状態でのM. A₃ [①]及びM. A₄ [①]の太陽光による光分解半減期は、2～3時間であった。

ミルベメクチン中のM. A₃ [①]及びM. A₄ [①]の半減期は、単独で処理した場合と同じであった。

酸素を遮断した区では、太陽光による分解は抑えられた。

M. A₃ [①]、M. A [①]₄及びミルベメクチンは、ブラックランプ、殺菌灯下においても同様に分解が進行した。

第1表 M. A₃ [①]、M. A₄ [①]及びミルベメクチンの太陽光による分解

化 合 物	処理量に対する%		
	1 時間	2 時間	4 時間
M. A ₃ [①]	79.0	62.1	36.6
ミルベメクチン中のM. A ₃ [①]	75.8	56.7	34.7
M. A ₄ [①]	79.1	59.7	32.6
ミルベメクチン中のM. A ₄ [①]	81.3	63.1	32.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

第2表 M. A₃〔①〕、M. A₄〔①〕及びミルベメクチンのブラックランプによる分解

化合物	照射後時間					
	1時間	2時間	4時間	6時間	8時間	16時間
M. A ₃ 〔①〕	89.9	81.9	74.9	66.3	59.4	31.9
ミルベメクチン中のM. A ₃ 〔①〕	94.2	85.7	77.6	70.3	59.0	21.6
M. A ₄ 〔①〕	91.1	82.8	71.1	59.6	45.6	20.7
ミルベメクチン中のM. A ₄ 〔①〕	91.2	88.2	78.6	71.4	60.4	23.2

数値は処理量に対する%

第3表 M. A₃〔①〕、M. A₄〔①〕及びミルベメクチンの殺菌灯による分解

化合物	照射後時間		
	5分	10分	20分
M. A ₃ 〔①〕	12.6	8.0	5.7
ミルベメクチン中のM. A ₃ 〔①〕	11.0	10.0	4.8
M. A ₄ 〔①〕	18.9	10.2	3.4
ミルベメクチン中のM. A ₄ 〔①〕	11.4	10.7	4.9

数値は処理量に対する%

(2) 光分解物の検索 (試験2) (第4、5表)

同定された分解物は、

であった。

M. A₃〔①〕あるいはM. A₄〔①〕は速やかに分解し、5日後には

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三井化学アグロ株式会社にある。

第4表 ^{14}C -M. A₃及び分解物の生成比

	化 合 物	処理放射能に対する%		
		1 時間	24 時間	120 時間
照 射 区	中 性 成 分			
	M. A ₃ [①]	58.8	5.7	<0.1
	酸 性 成 分			
	水 溶 性 成 分			
	消 失 放 射 能			

第5表 ^{14}C -M. A₄及び分解物の生成比

	化 合 物	処理放射能に対する%		
		1 時間	24 時間	120 時間
照 射 区	中 性 成 分			
	M. A ₄ [①]	63.5	4.6	0.2
	酸 性 成 分			
	水 溶 性 成 分			
	消 失 放 射 能			
遮 光 区	M. A ₄ [①]	99.8	99.0	95.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3) 光分解物の光分解性 (試験3) (第6表)

同定された

の太陽光による分解性を調べたところ、

第6表 M. A₄ [①] 及びその光分解物の光分解性：太陽光

化合物	半減期 (Hrs.)
M. A ₄ [①]	2.5

試験日：1987年5月18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三井化学アグロ株式会社にある。

光 (薄膜状態) における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

5. 水中動態に関する試験

1) M. A₃の加水分解動態試験

(資料 代謝11)

試験機関 三共アグロ(株)農業科学研究所
[GLP対応]

報告書作成年 2004年

供試標識化合物:

¹⁴C-M. A₃を用いた。

構造式:

化学名: (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24-ジヒドロキシ-5', 6', 11, 13, 22-ペンタメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-ステロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

比放射能;

放射化学的純度;

供試水: pH 9.0 緩衝液(リン酸二水素カリウム/ホウ砂緩衝液)

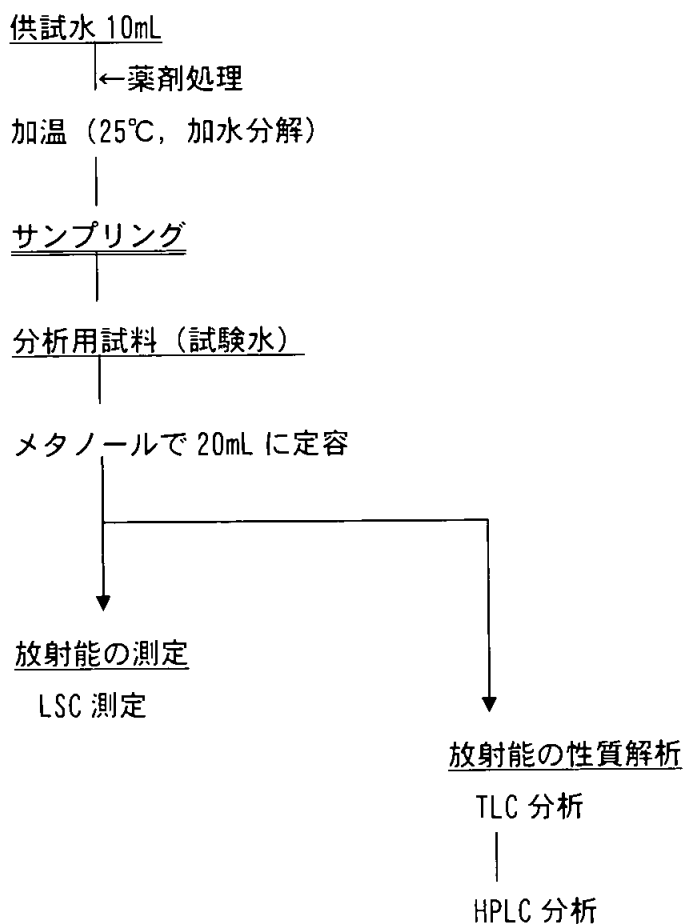
供試水はオートクレーブで滅菌(120°C、30分間)後、窒素ガスを通気し、溶存酸素を除去した上で供試した。

試験方法: 供試水 10mL をメスフラスコ(10mL容)に入れ、¹⁴C-M. A₃のメタノール溶液(20μL、¹⁴C-M. A₃ 4.0918μg)を加えて、水溶解度の1/2以下である約400ppbの試験溶液を調製した。試験溶液は暗黒下、25±1°Cで保持し、加水分解試験に供した。

試験開始直後(0日)、開始後3、7、10、15、20及び31日に試験溶液を採取し、LSC、TLC及びHPLCで分析を行った。なお、滅菌確認区も設定した。

試験操作のフローチャートは以下の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。



結 果：供試水中の M. A₃ [①] の消長及び放射能の物質収支は、次の通りであった。

処理後時間	0日 (直後)	3日	7日	10日	15日	20日	31日
M. A ₃ [①]	100.0	100.4	97.7	97.7	97.4	97.0	94.5
	409.2	410.8	399.8	399.8	398.6	396.9	386.7
物質収支	100.0	103.9	101.6	104.7	103.3	102.3	102.9

注) 表中の数値は処理量に対する割合(%)。M. A₃ の下段の数値は濃度 (ppb)。

試験期間を通し、供試水の放射能の物質収支は 100.0~104.7%であった。また、M. A₃ [①] の減少は緩やかで、処理 31 日後の M. A₃ [①] の残存率は 94.5%であった。供試水の HPLC 分析で分解物として が認められたが、

更に、処理 31 日後の HPLC クロマトグラムでは
の生成が認められた。

なお、TLC 分析では分解物の確認ができなかったが、これは HPLC 分析と比較して感度が低いことによるものと考えられた。

M. A₃ [①] の消長に基づき、指数近似式から算出した半減期 (DT₅₀)、90%消失期 (DT₉₀) を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

供試水	DT ₅₀	DT ₉₀
pH 9.0	385.1 日	1279.2 日

M. A₃ [①] は pH 9.0 において、わずかであるが加水分解性が認められた。緩衝液中における M. A₃ [①] の半減期 (DT₅₀) は 385.1 日であった。

なお、処理開始時及び終了時に供試水中の微生物数を測定したが微生物は確認できず、試験期間を通して、各供試水とも滅菌状態を維持したことが認められた。

加水分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) M. A₄の加水分解動態試験

(資料 代謝12)

試験機関 三共アグロ(株) 農業科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 2004年

供試標識化合物：

¹⁴C-M. A₄を用いた。

構造式：

化学名：(10E, 14E, 16E, 22Z)-(1R, 4S, 5', 5, 6R, 6', R, 8R, 13R, 20R, 21R, 24S)-6'-
ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラフル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]
ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

比放射能；

放射化学的純度；

供試水：pH 9.0 緩衝液(リン酸二水素カリウム/ホウ砂緩衝液)

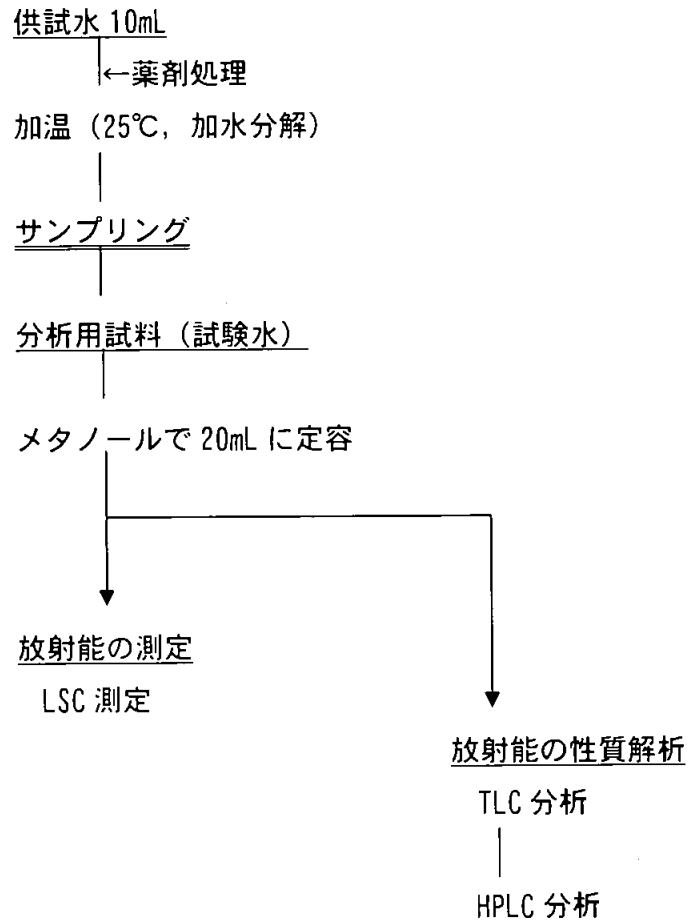
供試水はオートクレーブで滅菌(120°C、30分間)後、窒素ガスを通気し、溶存酸素を
除去した上で供試した。

試験方法：供試水 10mL をメスフラスコ(10mL 容)に入れ、¹⁴C-M. A₄のメタノール溶液(20μL、
¹⁴C-M. A₄ 4.1750μg)を加えて、水溶解度の1/2以下である約400ppbの試験溶液を調
製した。試験溶液は暗黒下、25±1°Cで保持し、加水分解試験に供した。

試験開始直後(0日)、開始後3、7、10、15、20及び31日に試験溶液を採取し、LSC、
TLC及びHPLCで分析を行った。なお、滅菌確認区も設定した。

試験操作のフローチャートは以下の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。



結 果：供試水中の MA_4 の消長及び放射能の物質収支は、次の通りであった。

処理後時間	0日 (直後)	3日	7日	10日	15日	20日	31日
$M. A_4$ [①]	100.0	99.7	102.1	97.1	95.0	95.1	95.9
	417.5	416.2	426.3	405.4	396.6	397.0	400.4
物質収支	100.0	103.0	101.9	103.1	102.3	103.6	102.6

注) 表中の数値は処理量に対する割合(%)。 $M. A_4$ の下段の数値は濃度 (ppb)。

試験期間を通し、供試水の放射能の物質収支は 100.0~103.6%であった。また、 $M. A_4$ [①] の減少は緩やかで、処理 31 日後の $M. A_4$ [①] の残存率は 95.9%であった。

供試水の HPLC 分析で分解物として 〃 が認められたが、

更に、処理 31 日後の HPLC クロマトグラムでは
〃 の生成が認められた。

なお、TLC 分析では分解物の確認ができなかったが、これは HPLC 分析と比較して感度が低いことによるものと考えられた。

$M. A_4$ [①] の消長に基づき、指数近似式から算出した半減期 (DT_{50})、90%消失期 (DT_{90}) を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

供試水	DT ₅₀	DT ₉₀
pH 9.0	364.8 日	1211.9 日

M. A₄〔①〕は pH 9.0 において、わずかであるが加水分解性が認められた。緩衝液中における M. A₄〔①〕の半減期 (DT₅₀) は 364.8 日であった。

なお、処理開始時及び終了時に供試水中の微生物数を測定したが微生物は確認できず、試験期間を通して、各供試水とも滅菌状態を維持したことが認められた。

加水分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) M. A₃ の水中光分解運命試験

(資料 代謝 13)

試験機関 三共アグロ(株) 農業科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 2004 年

供試標識化合物：

¹⁴C-M. A₃ を用いた。

構造式：

化学名：(10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24-ジヒドロキシ-5', 6', 11, 13, 22-ペンタメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

比放射能；

放射化学的純度；

供試水：蒸留水-HPLC 用蒸留水(ナカライテスク製、pH 7.44)

自然水-野洲川河川水(採取日：2004 年 3 月 1 日、採取地点：滋賀県野洲川橋橋梁下、pH 7.19)

両供試水はオートクレーブで滅菌(120°C、30 分間)後、窒素ガスを通気し、溶存酸素を除去した上で供試した。

光源：キセノンランプ(スガ試験機製、1.5W、フィルターを用いて 295nm 以下の紫外線を除去した。)

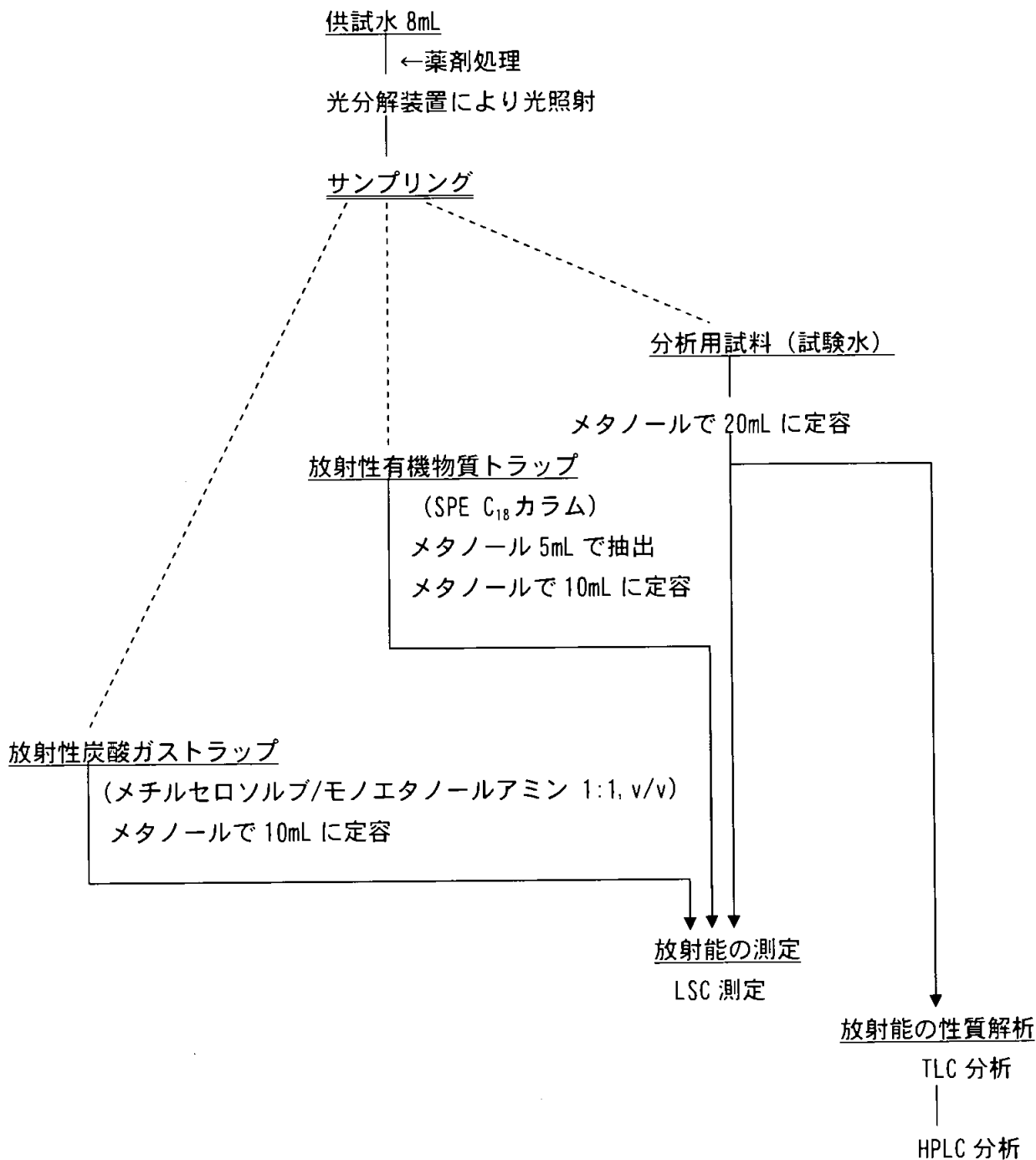
光強度：99~102W/m²(波長範囲 300~700nm)

試験方法：各供試水 8 mL を石英製フラスコ(10mL 容)に入れ、それぞれ ¹⁴C-M. A₃ のメタノール溶液(16 μL、¹⁴C-M. A₃ 3.2175 μg)を加えて、水溶解度の 1/2 以下である 400ppb の試験溶液を調製した。フラスコに栓をし、フラスコの底から光が当たるように逆さまにし、キセノンランプで照射した。

試験温度は 25 ± 2 °C とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

照射直前(0時間)、照射後1、3、6時間、1、2及び3日に試験溶液を採取し、LSC、TLC及びHPLCで分析を行った。別途、照射3日の試料については、気体捕集のため、揮発性有機物トラップ及び炭酸ガストラップを接続した気体捕集区を設定した。なお、両供試水に遮光区及び滅菌確認区も設定した。試験操作のフローチャートは以下の通りである。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：両供試水中の M. A₃ [①] 及び分解物の消長は次の通りであった。

供試水	化合物/照射時間	0 時間	1 時間	3 時間	6 時間	1 日	2 日	3 日
蒸留水	M. A ₃ [①]	100.5	83.0	66.1	65.2	37.5	18.6	15.0
		404.2	333.8	266.0	262.2	150.6	74.6	60.3
	合 計							
自然水	M. A ₃ [①]	99.5	69.8	63.5	58.5	51.4	38.6	27.6
		400.2	281.0	255.5	235.5	207.0	155.3	110.8
	合 計							

注) 表中の上段の数値は処理量に対する割合 (%)。下段の数値は親化合物換算濃度 (ppb)。

試験期間を通し、蒸留水の放射能の物質収率は 96.0~102.1% で、自然水は 97.0~102.5% であった。

両供試水とも M. A₃ [①] の分解は速やかで、照射 3 日後の残存率は蒸留水で 15.0%、自然水で 27.6% であった。遮光区では、両供試水とも M. A₃ [①] の分解は認められなかった。

蒸留水及び自然水の HPLC 分析で光分解物として が認められた。更に、照射時間の経過と共に

 が認められた。

また、TLC 分析結果より、

 を標準品との比較より同定した。これらの光分解物は HPLC では検出されず、生成量は微量であった。

両供試水の気体捕集区の照射 3 日後における放射能分布は、次の通りであった。

分析画分/供試水	蒸留水	自然水
試験水	100.2	99.3
揮発性有機物		
放射性炭酸ガス		
合 計		

注) 表中の数値は処理量に対する割合 (%)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

蒸留水では放射能が試験水中に 100.2%存在し、揮発性有機物及び炭酸ガスと合せて、の放射能を回収した。自然水では放射能が試験水中に 99.3%存在し、揮発性有機物及び炭酸ガスと合せて、の放射能を回収した。気体捕集区において、蒸留水区、自然水区いずれでも炭酸ガスの発生が確認された。両供試水ごとに M. A₃ [①] の消長に基づき、指数近似式から算出した半減期 (DT₅₀)、90%消失期 (DT₉₀)、また、太陽光 (北緯 35°、春) 照射に換算した半減期 (DT₅₀) を下表に示す。

供試水	DT ₅₀	DT ₉₀	太陽光 DT ₅₀
蒸留水	22.9 時間	76.0 時間	28.6 時間
自然水	35.5 時間	118.1 時間	44.4 時間

また、主光分解物であるの消失は M. A₃ [①] からの生成量も考慮する必要があるため、M. A₃ [①] との存在量を合算した上、指数近似式から、の半減期 (DT₅₀)、90%消失期 (DT₉₀) を下表の通り算出した。

供試水	DT ₅₀	DT ₉₀
蒸留水		
自然水		

両供試水とも M. A₃ [①] 及び主光分解物であるの半減期は短いことが認められた。

なお、試験開始時及び終了時に各供試水中の微生物数を測定したが微生物は確認できず、試験期間を通して、各供試水とも滅菌状態を維持したことが認められた。

これらのことから、M. A₃ [①] はなどの様々な光分解物に分解し、さらに極性分解物への分解を経て、最終的には炭酸ガスへと分解することが認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

水中光分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4) M. A₄の水中光分解動態試験

(資料 代謝 1 4)

試験機関 三共アグロ(株)農業科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 2004 年

供試標識化合物：

¹⁴C-M. A₄を用いた。

構造式：

化学名：(10E, 14E, 16E, 22Z)-(1R, 4S, 5' S, 6R, 6' R, 8R, 13R, 20R, 21R, 24S)-6'-エチル-21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4, 8}. 0^{20, 24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

比放射能：

放射化学的純度：

供試水：蒸留水-HPLC用蒸留水(ナカライテスク製、pH 7.44)

自然水-野洲川河川水(採取日：2004年3月1日、採取地点：滋賀県野洲川橋橋梁下、pH 7.19)

両供試水はオートクレーブで滅菌(120°C、30分間)後、窒素ガスを通気し、溶存酸素を除去した上で供試した。

光源：キセノンランプ(スガ試験機製、1.5W、フィルターを用いて295nm以下の紫外線を除去した。)

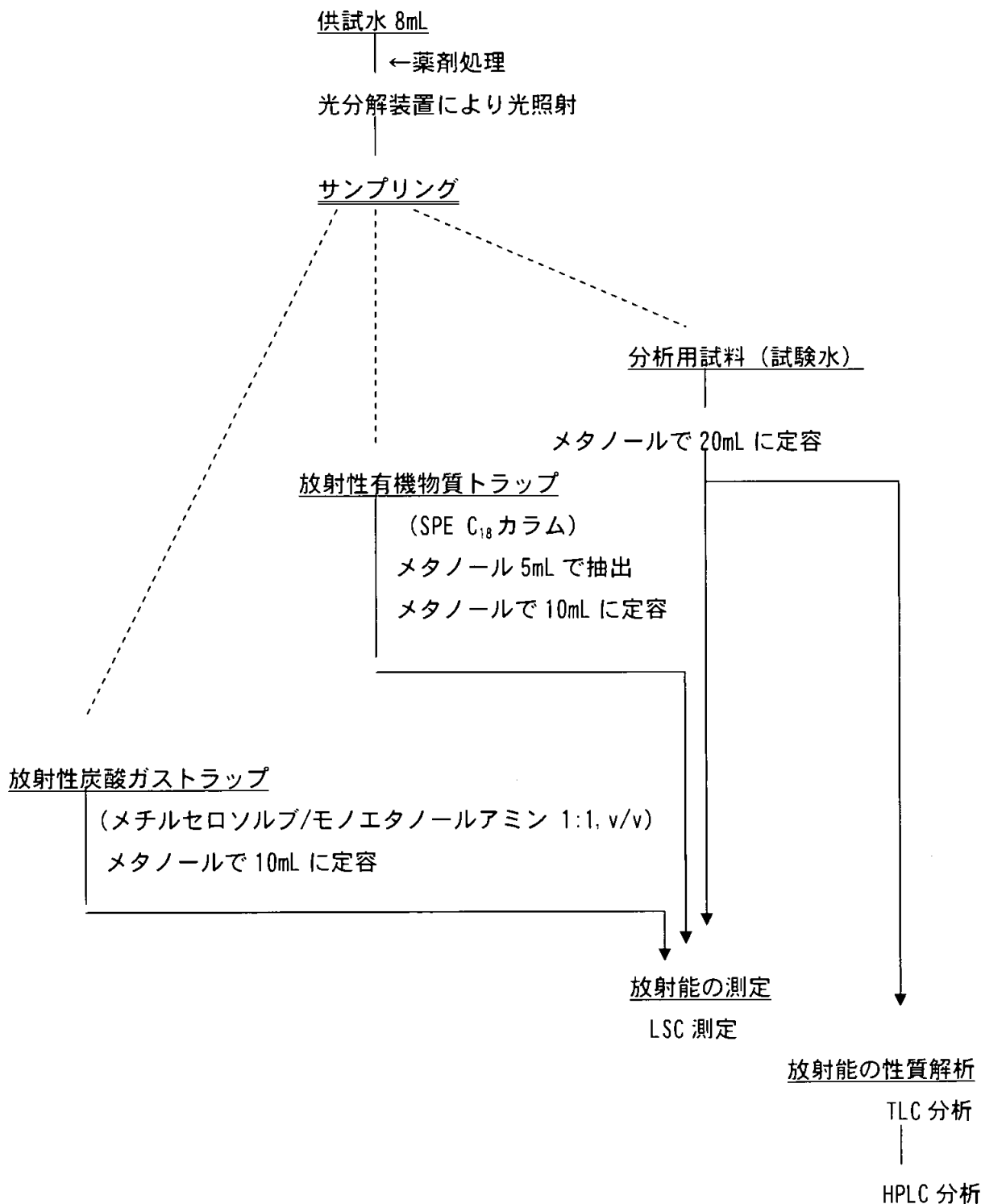
光強度：99~102W/m²(波長範囲 300~700nm)

試験方法：各供試水8mLを石英製フラスコ(10mL容)に入れ、それぞれ¹⁴C-M. A₃のメタノール溶液(17μL、¹⁴C-M. A₄ 3.2458μg)を加えて、水溶解度の1/2以下である400ppbの試験溶液を調製した。フラスコに栓をし、フラスコの底から光が当たるように逆さまにし、キセノンランプで照射した。

試験温度は25±2°Cとした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

照射直前(0時間)、照射後1、3、6時間、1、2及び3日に試験溶液を採取し、LSC、TLC及びHPLCで分析を行った。別途、照射3日の試料については、気体捕集のため、揮発性有機物トラップ及び炭酸ガストラップを接続した気体捕集区を設定した。なお、両供試水に遮光区及び滅菌確認区も設定した。試験操作のフローチャートは以下の通りである。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：両供試水中の M. A₄ [①] 及び分解物の消長は次の通りであった。

供試水	化合物/照射時間	0 時間	1 時間	3 時間	6 時間	1 日	2 日	3 日
蒸留水	M. A ₄ [①]	96.6	85.5	77.2	68.6	40.2	26.0	16.9
		391.9	347.0	313.2	278.4	163.1	105.5	68.6
	合 計							
自然水	M. A ₄ [①]	103.4	81.0	76.0	65.3	44.7	39.0	24.0
		419.5	329.0	308.5	265.3	181.5	158.2	97.4
	合 計							

注) 表中の上段の数値は処理量に対する割合 (%)。下段の数値は親化合物換算濃度 (ppb)。

試験期間を通し、蒸留水の放射能の物質収率は 95.8~102.8% で、自然水は 96.4~103.4% であった。

両供試水とも M. A₄ [①] の分解は速やかで、照射 3 日後の残存率は蒸留水で 16.9%、自然水で 24.0% であった。遮光区では、両供試水とも M. A₄ [①] の分解は認められなかった。

蒸留水及び自然水の HPLC 分析で光分解物として が認められた。更に、照射時間の経過と共に

が認められた。

また、TLC 分析結果より、 以外の光分解物として

を標準品との比較より同定し

た。これらの光分解物は HPLC では検出されず、生成量は微量であった。

両供試水の気体捕集区の照射 3 日後における放射能分布は、次の通りであった。

分析画分/供試水	蒸留水	自然水
試験水	98.9	99.3
揮発性有機物		
放射性炭酸ガス		
合 計		

注) 表中の数値は処理量に対する割合 (%)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

蒸留水では放射能が試験水中に 98.9%存在し、揮発性有機物及び炭酸ガスと合せて、の放射能を回収した。自然水では放射能が試験水中に 99.3%存在し、揮発性有機物及び炭酸ガスと合せて、の放射能を回収した。気体捕集区において、蒸留水区、自然水区いずれでも炭酸ガスの発生が確認された。両供試水ごとに M. A₄ [①] の消長に基づき、指数近似式から算出した半減期 (DT₅₀)、90%消失期 (DT₉₀)、また、太陽光 (北緯 35°、春) 照射に換算した半減期 (DT₅₀) を下表に示す。

供試水	DT ₅₀	DT ₉₀	太陽光 DT ₅₀
蒸留水	26.5 時間	87.9 時間	33.1 時間
自然水	31.9 時間	106.1 時間	39.9 時間

また、主光分解物であるの消失は M. A₄ [①] からの生成量も考慮する必要があるため、M. A₄ [①] との存在量を合算した上、指数近似式からの半減期 (DT₅₀)、90%消失期 (DT₉₀) を下表の通り算出した。

供試水	DT ₅₀	DT ₉₀
蒸留水		
自然水		

両供試水とも M. A₄ [①] 及び主光分解物であるの半減期は短いことが認められた。

なお、試験開始時及び終了時に各供試水中の微生物数を測定したが微生物は確認できず、試験期間を通して、各供試水とも滅菌状態を維持したことが認められた。

これらのことから、M. A₄ [①] はなどの様々な光分解物に分解し、さらに極性分解物への分解を経て、最終的には炭酸ガスへと分解することが認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

水中光分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

6. 土壌吸着性試験

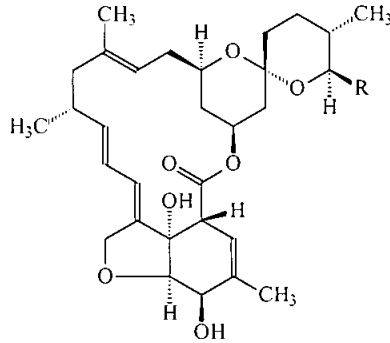
(資料 環境1)

試験機関 (財)日本食品分析センター

報告書作成年 1992年

供試化合物：ミルベメクチン原体 95.8% (M. A₃ 22.8%、M. A₄ 73.0%含有)

構造式；



R=CH₃ : M. A₃

R=C₂H₅ : M. A₄

化学名；M. A₃

(10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24-ジヒドロキシ-5', 6', 11, 13, 22-ペンタメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

M. A₄

(10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-6'-エチル-21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

供試土壌：

土壌の種類	畑地土壌			
	十勝農試	福島農試	岡山農試	日植防宮崎
採取場所	—	細粒黄色土	—	—
土壌群名	—	細粒黄色土	—	—
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
	KCl	5.8	6.7	5.5
陽イオン交換容量 (me/100g)	11.7	13.5	8.7	7.0
リン酸吸収係数	1330	540	350	660
粘土鉱物の種類	アロフィン ハ-ミキュライト	カオリン鉱物 ハ-ミキュライト	ハロサイト	アロフィン ハロサイト
土壌含水比%	6.6	2.4	2.7	1.7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試験方法：本試験は「OECD 試験指針-106-吸着/脱着」に基づき実施した。

吸着平衡試験；0.01M 塩化カルシウム溶液にミルベメクチン原体を加え試験溶液 (M. A₃ 0.10077 μg/mL、M. A₄ 0.25895 μg/mL) を調製した。

各土壌 5g を量り取り、純水 5mL を加え室温で 24 時間放置し平衡化した。これに調製溶液 20mL を加え、25 ± 1 °C の恒温槽で攪拌した。4、8 及び 16 時間後に取り出し、遠心分離後水相 20mL を分取し分析に供した。

各経過時間における水相濃度を測定して土壌への吸着量を求め、また、土壌吸着量の変化率を次式から求めた。この変化率がすべての土壌で 10% 以内となった経過時間を平衡化時間とした。

$$\text{変化率 (\%)} = [(n \text{ 回時の濃度}) - (n-1 \text{ 回時の濃度})] / (n-1 \text{ 回時の濃度}) \times 100$$

吸着等温試験；0.01M 塩化カルシウム溶液にミルベメクチン原体を加え下記 4 濃度試験溶液を調製した。

溶液	M. A ₃	M. A ₄
A	0.17229 μg/mL	0.33835 μg/mL
B	0.10077 μg/mL	0.25895 μg/mL
C	0.03812 μg/mL	0.07003 μg/mL
D	0.01525 μg/mL	0.02801 μg/mL

各土壌 5g を量り取り、純水 5mL を加え室温で 24 時間放置し平衡化した。これに各調製溶液 20mL を加え、25 ± 1 °C で 8 時間攪拌し吸着平衡化させた。遠心分離後水相 20mL を分取し分析に供し水相濃度を求めた。水相濃度と水分量から水相に存在する物質量を算出し、添加量からこれを減じて土壌吸着量を算出した。

物質収支 (回収率)；物質収支は、吸着平衡後の水相及び固相の試験物質量を測定し両者を加え、添加した試験物質量で除して算出した。

結 果：平衡化時間；16 時間

物質収支；M. A₃ 89.8~95.7%、M. A₄ 85.7~91.1%

供試化合物	土 壌	吸着指数 1/n	吸着平衡定数 K	相関係数 γ	有機炭素含有量 OC%	有機炭素吸着係数 Koc' ¹⁾	土壌吸着率 %
M. A ₃	十勝農試	0.792	11.21	0.99736	2.56	438	75.9
	福島農試	0.721	7.49	0.98676	1.08	694	79.4
	岡山農試	0.759	10.09	0.99426	0.69	1462	76.9
	日植防宮崎	0.746	7.94	0.99853	1.50	529	79.9
M. A ₄	十勝農試	0.900	37.44	0.98739	2.56	1462	79.9
	福島農試	0.795	21.83	0.98447	1.08	2021	83.2
	岡山農試	0.813	26.58	0.99202	0.69	3853	79.2
	日植防宮崎	0.809	19.61	0.98677	1.50	1307	82.8

¹⁾ Koc' = K × 100 / OC%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

7. 水中光分解試験

1) M. A₃の水中光分解試験

(資料 環境2)

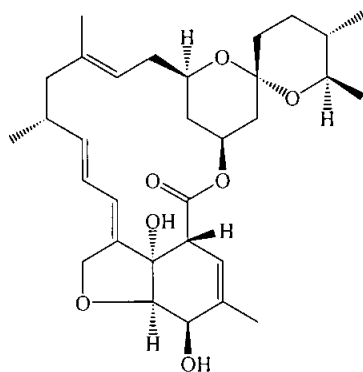
試験機関 三共(株)農業科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 2001年

供試化合物:

構造式:



化学名; (1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24-ジヒドロキシ-5', 6', 11, 13, 22-ペンタメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4, 8}. 0^{20, 24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ[2'-テトラヒドピラン-2-オン]

純度;

供試水: 蒸留水-HPLC用蒸留水をオートクレーブで滅菌(120°C、30分間)し、使用した(pH 6.75)。

自然水-2001年1月15日に、滋賀県野洲川河川水を採取し、使用した(pH 7.03)。

光源: キセノンランプ

フィルターを用いて295nm以下の紫外線をカットした。

なお、光量は100.0W/m²(波長300~700nm)であった。

試験方法: 農林水産省テストガイドライン12農産第8147号に準拠して行った。

脱気した各供試水を石英製フラスコに入れ、それぞれM. A₃のアセトニトリル溶液を加えて400ppbの試験溶液を調製した。照射区のフラスコは光が当たるように逆さにセットした。

遮光区(対照区)及び蒸留水については微生物数測定区も設定した。

照射区は照射0、3、6時間、1、2、4、7日後に、遮光区では試験終了時(7日後)にサンプリングし、HPLCで分析を行った。微生物数測定区では試験開始時及び試験終了時の微生物数を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：供試水中の M. A₃ の水中光分解性 (残存率 %) は下表の通りであった。

供 試 水		0 時間	3 時間	6 時間	1 日	2 日	4 日	7 日
蒸留水	照射区	100.0	70.7	57.1	39.3	22.0	10.2	0.6
	遮光区	—	—	—	—	—	—	100.6
自然水	照射区	100.0	77.3	63.9	32.1	11.1	7.7	0.0
	遮光区	—	—	—	—	—	—	94.0

M. A₃ は水溶液中で光により速やかに分解された。

照射区の M. A₃ の半減期は、蒸留水で 0.8 日、自然水で 0.7 日であった。

遮光区の 7 日後の残存率は蒸留水で 100.6%、自然水で 94.0%であった。

なお、蒸留水において実施した微生物数測定により、試験期間中無菌状態が保たれていたことが認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) M. A₄ の水中光分解試験

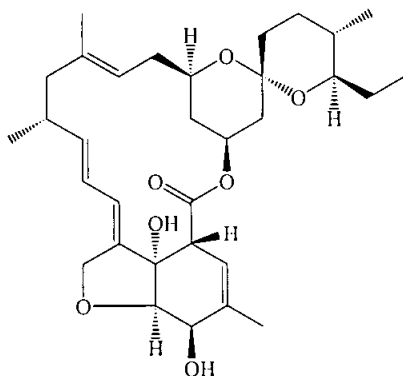
(資料 環境 3)

試験機関 三共(株)農業科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成年 2000 年

供試化合物:

構造式:



化学名; (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-6'-エチル-21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドピラン-2-オン

純度;

供試水: 蒸留水-HPLC 用蒸留水をオートクレーブで滅菌(120°C、30 分間)し、使用した。
自然水-2000 年 7 月 13 日に、滋賀県野洲川河川水を採取し、使用した。

光源: キセノンランプ

フィルターを用いて 295nm 以下の紫外線をカットした。

なお、光量は 100.3W/m²(波長 300~700nm)であった。

試験方法: 農林水産省テストガイドライン 9 農産第 5089 号に準拠して行った。

脱気した各供試水を石英製フラスコに入れ、それぞれ M. A₄ のアセトニトリル溶液を加えて 398.8ppb の試験溶液を調製した。照射区のフラスコは光が当たるように逆さにセットした。

遮光区(対照区)及び蒸留水については微生物数測定区も設定した。

照射区は照射 0、3、6 時間、1、2、4、7 日後に、遮光区では試験終了時(7 日後)にサンプリングし、HPLC で分析を行った。微生物数測定区では試験開始時及び試験終了時の微生物数を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：供試水中のM₄の水中光分解性(残存率%)は下表の通りであった。

供 試 水		0 時 間	3 時 間	6 時 間	1 日	2 日	4 日	7 日
蒸留水	照射区	100.0	82.5	70.7	29.9	9.9	7.1	0.0
	遮光区	—	—	—	—	—	—	98.5
自然水	照射区	100.0	80.9	66.1	34.9	15.7	0.5	0.0
	遮光区	—	—	—	—	—	—	105.5

M₄は水溶液中で光により速やかに分解された。

照射区のM₄の半減期は、蒸留水及び自然水いずれも0.6日であった。

遮光区の7日後の残存率は蒸留水で98.5%、自然水で105.5%であった。

なお、蒸留水において実施した微生物数測定により、試験期間中無菌状態が保たれていたことが認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

8. 加水分解性試験

1) M. A₃の加水分解性予備試験

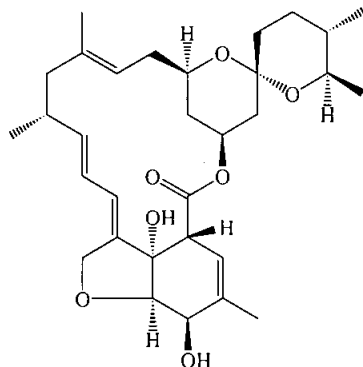
(資料 環境4)

試験機関 (財)化学検査協会

報告書作成年 1989年

供試化合物:

構造式:



化学名; (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24-ジヒドロキシ-5', 6', 11, 13, 22-ヘンタメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

純度;

試験方法: OECD テストガイドライン 111 pH の関数としての加水分解に準拠して行った。
M. A₃ 60 μg を pH 4, 7, 9 の緩衝液に添加し、50 ± 1°C の温度で 5 日間加温攪拌後、HPLC で分析を行った。

試験結果: M. A₃ の残留率は下表の通りであった。

pH	残留率 (%)	
4	86	88
7	91	83
9	69	62

M. A₃ は、pH 4, 7 において 9 割前後残留したが、pH 9 においては M. A₃ の減少が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) M. A₄の加水分解性予備試験

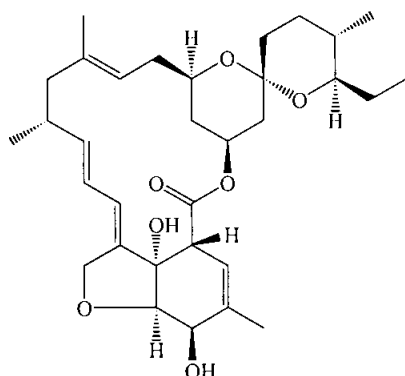
(資料 環境5)

試験機関 (財) 化学品検査協会

報告書作成年 1989年

供試化合物:

構造式:



化学名; (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-6'-エチル-21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

純度;

試験方法: OECD テストガイドライン 111 pHの関数としての加水分解に準拠して行った。

M. A₄ 60 μg を pH 4, 7, 9 の緩衝液に添加し、50 ± 1°C の温度で 5 日間加温攪拌後、HPLC で分析を行った。

試験結果: M. A₄ の残留率は下表の通りであった。

pH	残留率 (%)	
4	93	91
7	95	92
9	60	64

M. A₄ は、pH 4, 7 において 9 割以上残留したが、pH 9 においては M. A₄ の減少が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) M. A₃の加水分解性試験

(資料 環境6)

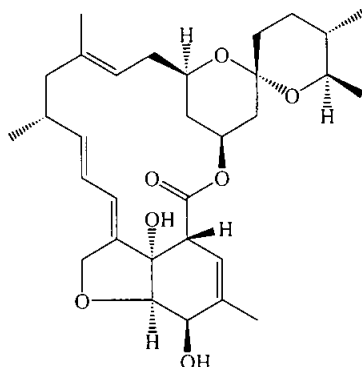
試験機関 (株)化学分析コンサルタント

[GLP 対応]

報告書作成年 2003年

供試化合物:

構造式:



化学名; (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-21, 24-ジヒドロキシ-5', 6', 11, 13, 22-ペンタメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スチロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

純度;

試験方法: 農林水産省テストガイドライン 12 農産第 8147 号及び OECD テストガイドライン 111 pH の関数としての加水分解に準拠して行った。

M. A₃を滅菌した pH 1.2、4.0、7.0、9.0 の各緩衝液に 0.4 μg/mL を溶解し、25°C 及び 40 度で 60 日間、pH 1.2 は 37°C で 30 日間低温恒温器内(暗所)に保持した。pH 4.0、7.0、9.0 は開始前、10、20、30、40、50 及び 60 日後、pH 1.2 は開始前、5、10、15、20、25 及び 30 日後に試験溶液を採取し、HPLC で分析を行った。

試験結果: M. A₃の加水分解速度(推定半減期)は下表の通りであった。

試験温度 (°C)	pH	推定半減期 (T _{1/2})
25	4.0	1年以上
	7.0	1年以上
	9.0	340日
40	4.0	1年以上
	7.0	1年以上
	9.0	43日
37	1.2	40日

M. A₃溶液の加水分解性は、弱酸性~中性では安定(推定半減期 1年以上)だが、アルカリ性では不安定であり、推定半減期は 43日と算出された。pH 1.2の酸性では 30日後には約 40%が分解され、推定半減期は 40日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4) M₄の加水分解性試験

(資料 環境7)

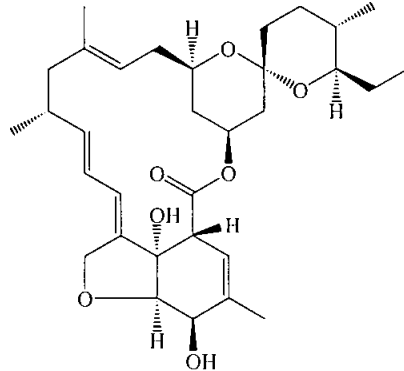
試験機関 (株)化学分析コンサルタント

[GLP 対応]

報告書作成年 2003年

供試化合物:

構造式:



化学名: (10*E*, 14*E*, 16*E*, 22*Z*)-(1*R*, 4*S*, 5'*S*, 6*R*, 6'*R*, 8*R*, 13*R*, 20*R*, 21*R*, 24*S*)-6'-エチル-21, 24-ジヒドロキシ-5', 11, 13, 22-テトラメチル-3, 7, 19-トリオキサテトラシクロ[15. 6. 1. 1^{4,8}. 0^{20,24}]ペンタコサ-10, 14, 16, 22-テトラエン-6-スチロ-2'-テトラヒドロピリジン-2-オン

純度:

試験方法: 農林水産省テストガイドライン 12 農産第 8147 号及び OECD テストガイドライン 111 pH の関数としての加水分解に準拠して行った。

M₄を滅菌した pH 1.2、4.0、7.0、9.0 の各緩衝液に 0.4 μg/mL を溶解し、25°C 及び 40 度で 60 日間、pH 1.2 は 37°C で 30 日間低温恒温器内(暗所)に保持した。pH 4.0、7.0、9.0 は開始前、10、20、30、40、50 及び 60 日後、pH 1.2 は開始前、5、10、15、20、25 及び 30 日後に試験溶液を採取し、HPLC で分析を行った。

試験結果: M₄の加水分解速度(推定半減期)は下表の通りであった。

試験温度 (°C)	pH	推定半減期 (T _{1/2})
25	4.0	1年以上
	7.0	1年以上
	9.0	270日
40	4.0	1年以上
	7.0	1年以上
	9.0	45日
37	1.2	35日

M₄溶液の加水分解性は、弱酸性～中性では安定(推定半減期 1年以上)だが、アルカリ性では不安定であり、推定半減期は 45 日と算出された。pH 1.2 の酸性では 30 日後には約 44% が分解され、推定半減期は 35 日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

9. 生物濃縮性試験

(資料 環境8)

試験機関 三共(株)農業研究所

報告書作成年 1989年

供試生物		コイ、体重1~2g	
供試薬剤		純度99%以上 $^3\text{H-M. A}_3$: 比放射能 $^3\text{H-M. A}_4$: 比放射能	
試験濃度		M. A ₃ 、M. A ₄ : 約5 $\mu\text{g/L}$	
試験期間		濃縮試験: 14日間、排泄試験: 14日間	
試験方法	試験方式	流水式	
	流量	80L/日	
	換水率	4回/日相当	
	試験水量	20L	
	検体の分析法	シンチレーションカウンター	
結果	試験区	M. A ₃	M. A ₄
	試験水の検体濃度	平均5.5 $\mu\text{g/L}$	平均4.5 $\mu\text{g/L}$
	試験魚の検体濃度	最大144 $\mu\text{g/kg}$	最大242 $\mu\text{g/kg}$
	生物濃縮係数	26	54
結論		<p>魚体内に取り込まれたM. A₃及びM. A₄の濃度は試験開始後すぐに一定となり、ほとんど増加の傾向を示さなかったため、蓄積性は低いと考えられた。</p> <p>排泄試験では魚体中のM. A₃、M. A₄共濃度の減少は速やかであり、M. A₃は排泄1日後、M. A₄は排泄2日後には検出限界以下となった。</p>	

代謝分解のまとめ

ミルベメクチン の哺乳動物、植物、土壌、光、水中における代謝、分解の要約は下記の通りであり、代謝分解経路の概要は「ミルベメクチン A₃, A₄の動植物等における代謝分解経路図」に示した。

動物代謝

経口投与におけるラットの代謝実験から、ミルベメクチンは哺乳動物において速やかに吸収、排泄され、体内貯留性を有しないことが示された。単回投与では、7日以内に糞及び尿中に90%以上が排泄され、連続投与と単回投与の組織中濃度分析の比較において違いは認められず、最終投与後速やかに放射能濃度は低下し、蓄積性は認められなかった。代謝物としては、

などが確認され、 に代謝されていくことを明らかにした。連続投与においても量的、質的な差は認められず、代謝機能に影響はなかった。

ヤギ反復投与試験では乳汁中に残留した放射能は0.031ppmと少量であり、乳汁及び可食組織中の代謝物

植物代謝

みかんの葉におけるミルベメクチンの半減期は1日以内であった。ミルベメクチンは、葉及び果実で速やかに代謝分解し、生成した代謝分解物はさらに になり、最終的に として系外に消失した。代謝物としては、

などが確認され、次いで に代謝されていくことが明らかになった。処理葉から未処理葉、未処理果実への移行性及び処理ミカンから可食部への移行性もなかった。

オレンジ、りんご及び茶における代謝試験でも、親化合物は速やかに減少し、代謝物としてはみかんと同様であった。

M. A₄を用いたいちごにおける代謝試験でも、みかん及び茶と同様な代謝が認められた。

また、土壌からなすへのミルベメクチンの移行性も認められなかった。

土壌中動態

ミルベメクチンの畑地条件における半減期は、沖積土、火山灰土いずれも10~15日であり、120日後には10%以下にまで減少した。系外へ消失する放射能 は、いずれも60日後で50%以上に達し、ミルベメクチンは土壌中で代謝分解物を含め速やかに分解していくことが明らかになった。代謝物としては が確認されているが、生成した代謝物も時間の経過とともに減少していった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ミルベメクチンのリーチング性は代謝物を含めて小さく、ミルベメクチンは土壌表層で速やかに代謝分解することから、処理した場所以外への移行はないものと推測される。

光分解

ミルベメクチンは薄膜状態で速やかに分解し、その光分解半減期は2~3時間であった。

M. A₃あるいはM. A₄単独での光分解も同様であり、

にまで分解し、系外へと消失していくことが明らかになった。

水中動態

加水分解試験ではpH9.0で僅かな加水分解性が認められ、緩衝液中における半減期は364.8~385.1日であった。水中光分解試験では速やかに分解し、最終的にはへと分解することが明らかになった。太陽光照射に換算した半減期は、蒸留水で28.6~33.1時間、自然水で39.9~44.4時間であった。

環 境

土壌吸着性試験で、有機炭素吸着係数は438~3853であった。水中光分解試験では、照射区の半減期は蒸留水で0.6~0.8日、自然水で0.6~0.7日であった。加水分解試験では、緩衝液中における半減期は1年以上(pH4.0・7.0)、43~45日(pH9.0)、35~40日(pH1.2)であった。

コイにおける生物濃縮は、M. A₃で26、M. A₄で54と低かった。

以上のように、ミルベメクチンは動物体内で速やかにと
なって排泄されること、又、植物、土壌、光においても代謝分解し、を
経て、として消失す
る放射能が多かった。

ミルベメクチンはこのように環境中で生物学的、非生物学的代謝分解を受け易く、しかもそれらの反応は主として酸化であり、特異的な代謝分解物が確認されないことから、ミルベメクチンを使用することによる環境に及ぼす影響はきわめて低いものと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ミルベメクチンA₃, A₄の動植物等における代謝分解経路図

代謝物の概要 (M. A₃)

代謝分解物		M. A ₃ ①																			
動物・ラット	25mg/kg 単回投与	雄糞：0-48hr 雄尿：0-48hr 雌糞：0-48hr 雌尿：0-48hr	9.0 0.1 5.0 0.1																		
	体内分布	単回投与 0.75mg/kg	臓器 7日後	M. A ₃ のμg当量/g組織 (ppm)																	
	みかん	果実 15日後	17.0																		
	茶	葉 1日後 15日後	6.9 1.7																		
* 植物		茶	1日後 15日後	16.8 3.3																	
	土壌	野洲土壌 (沖積土)	15日後 120日後	35.0 2.4																	
光分解		宇都宮土壌 (火山灰土)	15日後 120日後	41.8 3.1																	
		薄膜	1時間後 1日後	58.8 5.7																	
加水分解		水中	31日後	94.5																	
		自然水	3日後	27.6																	

(注) 数値は、処理放射能に対する回収率%

* 植物は、分配率、分配率、分配率に対する割合(%)。

代謝物の概要 (M. A₄)

代謝分解物	M. A ₄ ①	M. A ₄ のμg当量/g組織 (ppm)									
		雄糞: 0-48hr	雄尿: 0-48hr	雌糞: 0-48hr	雌尿: 0-48hr	臓器 7日 後	脂肪: <0.01 (雄)	0.03 (雌)	0.04 (雄)	0.01 (雌)	0.01 (雄)
動物	25mg/kg 単回投与	6.4	0.1	5.3	0.1	肝臓: <0.01 (雄) 筋肉: <0.01 (雄)	<0.01 (雄)	<0.01 (雄)	<0.01 (雄)	<0.01 (雄)	<0.01 (雄)
ラット	単回投与 1.75mg/kg	0.005	0.050	N. D.	N. D.	0.002					
	** 体内分布	乳汁	反復投与 89.6mg/kg	腎臓	肝臓	筋肉					
ヤギ	果実	15日後	18.4								
	葉	1日後	9.0								
植物	オレンジ	15日後	2.2								
		果皮	18.6								
植物	りんご	果実 14日後	0.007								
		可食部	N. A.								
植物	りんご	葉	N. A.								
		14日後	20.8								
植物	りんご	葉	0.258								
		14日後	4.5								
植物	りんご	果実	0.001								
		葉	5.3								
植物	りんご	14日後	0.055								
		14日後	0.055								

(注) 数値は、処理放射能に対する回収率%

植物は、分配率: 各部位における残留放射能に対する割合 (%)。 * 下段は、親化合物換算濃度 ppm

** ヤギの体内分布は、親化合物換算濃度 ppm

N. D.: 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三井化学アグロ株式会社にある。



代謝物の概要 (M. A₄)

代謝分解物		M. A ₄ ①																									
茶	葉	1日後	14.8																								
		15日後	3.0																								
いちじ	果実	1日後	66.4																								
		3日後	0.036 43.2 0.018																								
	葉	1日後	60.4																								
		3日後	0.844 52.0 0.831																								
土壌	野洲土壌 (沖積土)	15日後	49.2																								
		120日後	6.1																								
	宇都宮土壌 (火山灰土)	15日後	38.4																								
		120日後	5.6																								
光分解	薄膜	1時間後	63.5																								
		1日後	4.6																								
水中 光分解	加水分解	31日後	95.9																								
		蒸留水	3日後	16.9																							
		自然水	3日後	24.0																							

注) 数値は、処理放射能に対する回収率%

* 植物の上段は、分配率；各部位における残留放射能に対する割合 (%)。下段は、濃度 (ppm) (親化合物換算濃度)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

〔付〕 ミルベメクチンの開発年表