

(資料 No. 運命 4)

2. 植物体内運命に関する試験

(1) 温室栽培りんごにおける代謝試験(挙動および代謝)

標識

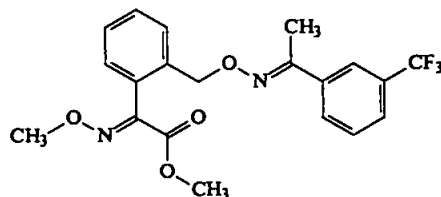
試験機関:

報告書作成年: 1997 年

供試標識化合物:

標識トリフロキシストロピン:

メチル=(E)-メキシイミノ-(E)- α -[1-(α, α, α -トリフルオロ-*m*-トリル)エチリデンアミノオキシ]-*o*-トリル]アセテートを用いた。



*: ^{14}C 標識位置

比放射能

放射化学的純度

方法:

処理および試料の採取:

りんご(2年生、高さ2m、品種ゴールデンデリシャス)3株を St. Aubin 砂壤土とピートとを混合した土壌を満たした3個のコンテナ(容量:約50 l)に各々植え付けた。開花後に植物は温室(温室施設 Schoren R-1205)に移動し、以下の管理条件下で栽培した:

昼間: 日照: 14 時間 温度: $22.1^{\circ}\text{C} \pm 1.0$ 相対湿度: $58.6\% \pm 3.1$

夜間: 温度: $17.8^{\circ}\text{C} \pm 1.0$ 相対湿度: $70.8\% \pm 3.5$

土壌特性	St. Aubin 砂土壌土
pH(KCl)	6.05
炭素(有機)	6.3%
土性	砂 47.9%シルト 30.6%粘土 21.5%
CEC	32.9 meq/100 g 乾燥土壌

標識トリフロキシストロピン[A]約54mgと非標識トリフロキシストロピン[A]約98mgを約150mgの製剤白試料と混合し50%顆粒水和剤を調製した。散布直前に150mLの水を用いて散布液を調製し、各株あたり500ml(有効成分濃度100ppm)を散布処理した。最初の散布は開花19日後(1995年8月2日)に実施し、その後4週間間隔で3回繰り返した(第2回散布8月30日、第3回散布9月27日、最終散布10月25日)。この処理量は総処理量400 g a.i./haの推奨圃場処理量に相当する。

1回目処理1時間後に各株当たり葉10枚を、4回処理1時間後に各株当たり葉10枚及び果実3個、4回処理2週間後(収穫期: 1995年11月8日)に全ての果実および葉を採取

した。

分析試料の調製・抽出

果実試料は表面洗浄後に果皮と果肉に分画し、葉は表面洗浄を行わずに磨砕・抽出した。

果実表面:りんご果実をアセトニトリル:水(1:1)で2回繰り返し洗浄し、表面残留画分とした。

葉、果皮および果肉:ホモジナイズした各試料をアセトニトリル:水 = 8:2(v/v)で振とう抽出し(5回または放射能が最初の抽出液中の放射能の5%未満になるまで繰り返した)、遠心分離した(常温抽出画分)。果皮および葉の抽出残渣はアルゴン気流下、マイクロ波オープンを用いて1-プロパノール:水, 8:2 (v/v)で抽出した(100°C 10分, 120°C 20分および150°C 20分)(MWE:マイクロ波抽出)。果肉の抽出残渣はマイクロ波オープンによる抽出は行なわなかった。

測定・分析

放射能量は液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。生の植物試料の総放射能ならびに非抽出性放射能は、サンプルオキシダイザーで燃焼し測定した。

抽出物は2種(Ⅱ、Ⅲ)の溶媒系を用いたTLCで分析した。溶媒系Ⅱを各代謝物の基本的な分離・定量に用い、トリフロキシストロビン[A]及び の分離・定量には溶媒系Ⅲを用いた。

代謝物の同定は既知標準化合物とのコクロマトグラフィーあるいは¹H-NMR および LC-MS 解析により行なった。

結果:

1. 各試料における総残留放射能量、トリフロキシストロビン残留量及び抽出率(表1)

りんごにおける総放射能残留量(TRR)は、1回散布後の葉で約28ppm、4回散布後の葉で約52~72ppm、果実全体では約1.3~1.4ppmであった。果実における放射能のうち、89.8%~86.9%が果実表面に分布し、果皮には9.1%~11.2%が、果肉へは1.1%~1.9%が分布した。

葉及び果実全体におけるトリフロキシストロビン[A]の残留量は1回散布後の葉で約25ppm、4回散布後の葉で約39~54ppm、4回散布後の果実で1.2~1.0ppmで、全放射能の大部分を占めた。

果実及び葉ともに抽出率は高く、約94~99%が抽出され(マイクロ波抽出を含む)、未抽出は約1~2%であった。

2. 放射能の特性(表 2-1、2-2)

アセトニトリル:水による抽出物をTLCを用いて分析し、結果を表 2-1(TLC II系)および2-2(TLC III系)に示した。

りんごの葉及び果実においてトリフロキシストロビン[A]及び
が最も多かった(II 25 画分)。次に
が加水分解し、
が酸化され
抱合した配糖体及びそのシス/トランス異性体)が多く認められた。次に
が多く認められた。

1 回処理の葉、または 4 回処理 1 時間後及び 2 週間後の葉、果実の代謝物パターンは類似していたため、以下には 4 回処理 2 週間後(収穫期)について、各部位ごとに記載した。

(1) 葉

収穫期の葉においてトリフロキシストロビン[A]及び
である II
25 が最も多く認められた(79.7%、表 2-1)。II 25 画分の内訳は溶媒系 III により III 9(トリフロ
キシストロビン[A], 75.1 %、54ppm)及び
であること
が、標準品とのクロマトグラフにより確認された(表 2-2)。
その他に
が 1.1~3.7%認められた。II 10a は、
'H-NMR および MS 解析により、
と同一し
た。II 11a および II 8a は II 10a の
であると推定された(表 2-1)。

以上のことから、葉における主代謝物はトリフロキシストロビン[A](75.1%、54ppm)であった。
その外は 3.9%以下の代謝物であった。

(2) 果実全体

果実全体において最も多く認められた画分はトリフロキシストロビン及び
画分 II 25
(91.5%)であった(表 2-1)。II 25 は溶媒系 III により、親化合物 III 9 (トリフロキシストロビン
[A], 83.0%、1.0ppm) 及び
であるこ
とが確認された(表 2-2)。
その他に少量代謝物として、配糖体である
が認められた
(表 2-1)。

以上のことから、果実における主代謝物はトリフロキシストロビン[A](83.0%、1.0ppm)であり、次
に
であった。

(3) 果実各部位(果実表面、果皮、果肉)

表面及び果皮においてはトリフロキシストロビン及び
が最も多かった。果肉に
おいては
が主な代謝物であったが、その残留量はごく少量であった。以下に記載
した%は特に記載しない限り TRR に対する%で示した。

果実表面

果実表面には果実全体における放射能の約 90%が分布したが、II 25 画分のみが認められた(表 2-1)。その内訳は溶媒系Ⅲにより、Ⅲ9(トリフロキシストロビン[A], 77.9%)、

であった(表 2-2)。トリフロキシストロビンが主残留物であり、の存在量は少なかった。

果皮

果皮でも II 25 画分が最も多く、果皮放射能の 65.1%(7.3%TRR)であった。トリフロキシストロビン及び の存在量は、Ⅲ9(トリフロキシストロビン[A], 4.9%)、

であった(表 2-2)。

その他に

が認められた(表 2-1)。

果肉

果肉における残留量は果実全体の 1~2%(0.02~0.03ppm)と少なかった。原点画分が最も多く、果肉中の 39.4%(0.75%TRR)であった。次いで が 0.46%であった。その他に

が認め

られた(表 2-1)。

そのほかにはⅢ9(トリフロキシストロビン[A], 0.22%)、

であった。

標識を用いた当代謝試験と、 標識を用いたりんご代謝試験(資料 No.運命 5)を比較したところ、各分析部位における分布及び代謝物パターンは類似していた。唯一、 のみが当試験のみで認められたが、少量であった。

標識トリフロキシストロビンを用いたりんごにおける代謝試験により、以下の代謝経路が明らかになった:

図 1 に推定代謝経路を示した。

表 1. りんご (葉及び果実) における総残留量と果実各部位への分布、トリフロキシストロビン残留量及び抽出率
(標識)

採取時期	作物部位	分布 [%] ¹	総残留放射能 (TRR) (ppm) ²	トリフロキシストロビン [A] (ppm)	常温抽出 [%] ³	MWE [%] ³	NE [%] ³	合計 [%] ³
1 回目散布 1 時間後	葉	100	27.502	25.247	98.3	—	1.1	99.4
4 回目散布 1 時間後	果実表面	89.8	—	—	—	—	—	—
	果皮	9.1	0.716	0.386	94.2	—	3.4	97.6
	果肉	1.1	0.020	0.001	86.2	12.1	7.4	105.7
	果実全体 ⁴	100	1.439	1.242	99.3 ⁵	0.1	n. a.	99.8 ⁵
4 回目散布 2 週間後 (収穫期)	葉	100	52.913	39.261	98.5	1	0.8	100.3
	果実表面	86.9	—	—	—	—	—	—
	果皮	11.2	0.697	0.307	92.4	1.3	2.7	96.4
	果肉	1.9	0.032	0.004	99.5	—	3.2	102.7
	果実全体 ⁴	100	1.276	1.059	99.1 ⁵	0.1	n. a.	99.6 ⁵
	葉	100	72.193	54.217	94.6	2.2	1.8	98.6

MWE: マイクロ波抽出、NE: 非抽出物

n. a. = 該当せず

- 1 果実表面および果皮または果肉で検出された放射能の合計を 100 % (果実全体) とした
- 2 トリフロキシストロビン当量
- 3 各分析部位における %
- 4 果実全体の放射能は果実表面放射能および果皮、果肉放射能の合計
- 5 果実表面放射能を含む

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

表 2-1. りんごの各分析部位における代謝物の分布及び残留量 (標識、TLCⅡ系)

採取 時期	作物 部位	総残留 放射能 (TRR) ppm ¹	分布 割合 %		原点										未 分離	小計	MWE+ NE	合計
1 回目 散布 1 時間後	葉	27.502	100.0	% ¹	n. d.										2.3	98.3	1.1	99.4
4 回目 散布 1 時間 後	果実 表面	—	89.8	% ¹	n. d.										3.5	100	—	100
	果皮	0.716	9.1	% ¹	n. d.										7.3	94.1	3.4	97.5
	果肉	0.020	1.1	% ¹	35.9										13.0	77.4	19.5	96.9
	果実 全体	1.439	100.0	% ¹	0.4										3.9	99.3	0.5	99.8
	葉	52.913	100.0	% ¹	2.1										5.7	98.5	1.8	100.3
4 回目 散布 2 週間 後 (収 穫 期)	果実 表面	—	86.9	% ¹ %TRR ²	n. d. n. d.										3.2 2.8	100 —	— —	100 —
	果皮	0.697	11.2	% ¹ %TRR ² ppm ³	7.4 0.83 0.052										4.2 0.47 0.028	90.7 — 0.632	4.0 — 0.028	94.7 — 0.697
	果肉	0.032	1.9	% ¹ %TRR ² ppm ³	39.4 0.75 0.013										7.3 0.14 0.002	90.2 — 0.029	3.2 — 0.001	93.4 — 0.032
	果実 全体	1.276	100.0	% ¹ ppm ³	1.5 0.019										3.4 0.043	98.8 1.261	0.5 0.006	99.3 1.276
	葉	72.193	100.0	% ¹ ppm ³	n. d. n. d.										8.6 6.209	94.6 68.295	4.0 2.888	98.6 72.193

NE: 非抽出 MWE: マイクロ波抽出 n. d. = 検出せず
 1 各分析部位における%、葉及び果実全体については TRR に対する%と同じ。
 2 TRR に対する%、申請者計算
 3 トリフロキシストロピン当量

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

表 2-2. りんごの各分析部位におけるトリフロキシストロビンおよび異性体の分布 (標識、TLCⅢ系)

採取時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹	分布割合 %			Ⅲ9		
						トリフロキシストロビン (EE-異性体) [A]		
1 回目散布 1 時間後	葉	27.502	100.0	% ¹		91.8		
4 回目散布 1 時間後	果実表面	—	89.8	% ¹		90.6		
	果皮	0.716	9.1	% ¹		54.0		
	果肉	0.020	1.1	% ¹		3.9		
	果実全体	1.439	100.0	% ¹		86.3		
	葉	52.913	100.0	% ¹		74.3		
4 回目散布 2 週間後 (収穫期)	果実表面	—	86.9	% ¹ %TRR ²		89.7 77.9		
	果皮	0.697	11.2	% ¹ %TRR ² ppm ³		44.0 4.9 0.307		
	果肉	0.032	1.9	% ¹ %TRR ² ppm ³		11.5 0.22 0.004		
	果実全体	1.276	100.0	% ¹ ppm ³		83.0 1.059		
	葉	72.193	100.0	% ¹ ppm ³		75.1 54.217		

n. d. = 検出せず

1 各分析部位における%、葉及び果実全体については TRR に対する%に同じ。

2 TRR に対する%、申請者計算

3 トリフロキシストロビン当量

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

図1 りんごにおいて推定されたトリフロキシストロビンの代謝経路(標識)

(資料 No. 運命 5)

2. 植物体内運命に関する試験

(2) 温室栽培りんごにおける代謝試験(挙動および代謝)

標識

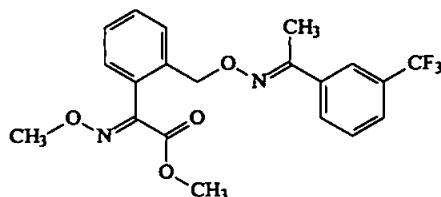
試験機関:

報告書作成年: 1997 年

供試標識化合物:

標識トリフロキシストロビン:

メチル=(E)-メトキシイミノ-(E)- α -[1-(α, α, α -トリフルオロ-*m*-トリル)エチリデンアミノオキシ]-*o*-トリルアセテートを用いた。



* : ^{14}C 標識位置

比放射能

放射化学的純度

方法:

処理および試料の採取:

りんご (2 年生、高さ 2m、品種ゴールドデリシャス) 3 株を St. Aubin 砂壌土とピートを混合した土壌を満たした 3 個のコンテナ (容量: 約 50 l) に各々植え付けた。開花後に植物は温室 (温室施設 Schoren R-1205) に移動し、以下の管理条件下で栽培した:

昼間: 日照: 14 時間 温度: $22.1^{\circ}\text{C} \pm 0.7$ 相対湿度: $58.5 \% \pm 3.6$

夜間: 温度: $18.3^{\circ}\text{C} \pm 0.9$ 相対湿度: $68.2 \% \pm 4.4$

土壌特性	St. Aubin 砂土壌土
pH (KCl)	6.05
炭素 (有機)	6.3 %
土性	砂 47.9 % シルト 30.6 % 粘土 21.5 %
CEC	32.9 meq/100 g 乾燥土壌

標識トリフロキシストロビン [A] 約 25mg と非標識トリフロキシストロビン [A] 約 125mg を 150mg の製剤白試料と混合して 50% 顆粒水和剤を調製した。散布直前に 1500mL の水で希釈して散布液を調製し、各株あたり 500ml (有効成分濃度 100ppm) を散布した。最初の散布は開花 19 日後 (第一回散布 1995 年 8 月 2 日) に実施した。その後、散布は 4 週間間隔で 3 回繰り返した (第二回散布 8 月 30 日、第三回散布 9 月 27 日、最終散布 10 月 25 日)。これは総処理量 400 g a. i. /ha の推奨圃場処理量に相当する。

1 回目処理 1 時間後に各株あたり葉 10 枚を、4 回処理 1 時間後に各株あたり葉 10 枚及び果実 4 個、4 回目処理 2 週間後（収穫期：1995 年 11 月 8 日）に全ての果実および葉を採取した。

分析試料の調製・抽出

果実試料は表面洗浄後に果皮と果肉に分画し、葉は表面洗浄を行わずに磨砕・抽出した。

果実表面：りんご果実をアセトニトリル：水(1:1)で 2 回繰り返し洗浄し表面残留画分とした。

葉、果皮および果肉：ホモジナイズした試料をアセトニトリル：水 = 8 : 2(v/v)で振とう抽出し(5 回または放射能が最初の抽出液中の放射能の 5%未満になるまで繰り返した)、遠心分離した(常温抽出画分)果皮および葉の抽出残渣はアルゴン気流下、マイクロ波オープンを用いて 1-プロパノール：水, 8 : 2 (v/v)で抽出した(100°C 10 分, 120°C 20 分および 150°C 20 分)(MWE:マイクロ波抽出)。果肉の抽出残渣は MLS による抽出は行なわなかった。

測定・分析

放射能量は液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。生の植物試料の総放射能ならびに非抽出性放射能は、サンプルオキシダイザーで燃焼し測定した。抽出物は 2 種(Ⅱ、Ⅲ)の溶媒系を用いた TLC で分析した。溶媒系Ⅱを各代謝物の基本的な分離・定量に用い、トリフロキシストロビン及びその異性体の分離・定量にはⅢ系を用いた。Ⅰ系を加水分解後のアグリコンの定量に用いた。

代謝物の同定は既知標準化合物とのクロマトグラフィーあるいは ¹H-NMR および MS 解析により同定した。

結果:

1. 各試料における総残留放射能、トリフロキシストロビン残留量及び抽出率(表1)

りんごにおける総残留放射能(TRR)は、1 回散布後の葉で 41ppm、4 回散布後の葉で 33 ~ 46ppm、果実全体で 0.83~1.6ppm であった。果実における放射能のうち 82~86%が果実表面に分布し、果皮には 13.3~16.6%が、果肉へは 0.7~1.2%が分布した。

トリフロキシストロビン[A]の残留量は 1 回散布後の葉で 38ppm、4 回散布後の葉で約 23~30ppm、4 回散布後の果実全体で 1.35~0.67ppm であり、残留放射能の大部分を占めていた。

果実及び葉ともにアセトニトリル：水による常温抽出で約 92~99%が抽出され、未抽出は 2.6%以下であった。

2. 放射能の特性 (表 2-1、2-2)

アセトニトリル：水による抽出画分を TLC を用いて分析し、結果を表 2-1 (TLC II 系) および 2-2 (TLC III 系) に示した。

りんごの葉及び果実にはトリフロキシストロビン[A]及び
が最も多かった (II 25 画分)。次に

及び

が多く認められた。次に
が認められた。

も果肉で認められた。

1 回処理の葉、または 4 回処理 1 時間後及び 2 週間後の葉、果実の代謝物パターンは類似していたため、以下には 4 回処理 2 週間後 (収穫期) について、各部位ごとに記載した。

(1) 葉

4 回散布後の葉においてトリフロキシストロビン及び の画分である II 25 画分が最も多く認められた (78.4%、表 2-1)。II 25 画分は溶媒系 III により確認し、III 9 (トリフロキシストロビン[A], 66.2%、30ppm)、

であった (表 2-2)。

少量代謝物として

が 0.7~3.9% 認められ、

が認められた (表

2-1)。

(2) 果実全体

果実における最大画分も II 25 であった (91.3%、表 2-1)。II 25 画分は TLC III 系により、III 9 (トリフロキシストロビン[A], 80.7%、0.672ppm)、

であった (表 2-2)。

その他には

が認められた (表 2-1)。

(3) 果実各部位

表面及び果皮においてはトリフロキシストロビン及びその異性体が最も多かった。果肉においては が主な代謝物であったが、その残留量はごく少量であった。以下に記載した%は特に記載しない限り TRR に対する%で示した。

果実表面

果実表面には果実における総放射能の 82.2%が分布したが、II 25 画分のみが認められ、表面残留放射能の 96.9%であった (表 2-1)。溶媒系 III により、III 9 (トリフロキシストロビン[A], 74.1%)、

が確認された (表 2-2)。

の存在量は少なかった。

た。

果皮

果皮には果実の総放射能の 16.6%が分布した。果皮でもⅡ25 画分が最も多く、果皮中の 68.2%を占めた。Ⅱ25 画分は TLCⅢ系によりⅢ9(トリフロキシストロビン[A], 6.39%、0.29ppm)、

が確認された。

その他には

が認

められた(表 2-1)。

果肉

果肉には果実における総放射能の 1.2%(0.012ppm)が分布した。果肉中でもⅡ25 画分が最も多く、果肉中の 23.8%であった。その内訳はⅢ9(トリフロキシストロビン[A], 0.2%、0.002ppm)、

であった。

その他には

が認められた。

マイナー分画

として特定

された。分画

と同定した。分画

であると推定された。

標識を用いた当試験と、標識を用いたりんご代謝試験(資料 No.運命 4)を比較したところ、各分析部位における分布及び代謝物パターンはほぼ類似しており、標識位置の違いは認められなかった。

標識トリフロキシストロビンを用いたりんご代謝試験から、以下の経路が示された:

図 1 に推定代謝経路を示す。

表 1. りんごの葉及び果実における総残留量と果実各部位における分布、トリフロキシストロビン残留量及び抽出率
(標識)

採取時期	作物部位	分布 [%] ¹	総残留放射能 (TRR) (ppm) ²	トリフロキシストロビン [A] (ppm)	抽出物 [%] ³	MWE [%] ³	非抽出 [%] ³	合計 [%] ³
1 回目散布 1 時間後	葉	100	41.234	38.224	99.5	—	1.0	100.5
4 回目散布 1 時間後	果実表面	86.0	—	—	—	—	—	—
	果皮	13.3	1.208	0.679	94.2	1.2	1.2	96.6
	果肉	0.7	0.014	0.005	94.6	—	5.1	99.7
	果実全体 ⁴	100	1.605	1.353	99.4	0.2	n. a.	99.6 ⁵
4 回目散布 2 週間後	葉	100	33.003	23.168	95.3	0.6	0.8	96.7
	果実表面	82.2	—	—	—	—	—	—
	果皮	16.6	0.752	0.290	88.6	2.2	3.5	94.3
	果肉	1.2	0.012	0.002	79.5	17.7	6.5	103.7
	果実全体 ⁴	100	0.833	0.672	98.6	0.6	n. a.	99.2 ⁵
	葉	100	46.422	30.731	92.1	3.8	2.6	98.5

NE : 非抽出 MWE : マイクロ波抽出

n. a. = 該当せず

1 果実表面、果皮または果肉で検出された放射能の合計を 100 % (果実全体)とした

2 トリフロキシストロビン 当量

3 各分析部位における%

4 果実全体の総残留量は果実果実表面放射能および浸透放射能の合計

5 果実表面放射能を含む

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

表 2-1. りんごの各分析部位における代謝物の分布及び残留量 (標識、TLCⅡ系)

採取 時期	作物 部位	総残留 放射能 (TRR) ppm ¹	分布 割合 %	%	原点							未分離	小計	MWE/ NE	合計		
																% ¹	n. d.
1 回目 散布 1 時間後	葉	41.234	100.0	% ¹	n. d.							1.4	99.5	1.0	100.5		
4 回目 散布 1 時間 後	果実 表面		86.0	% ¹	n. d.							1.0	100	—	100		
	果皮	1.208	13.3	% ¹	n. d.							2.6	94.2	2.4	96.6		
	果肉	0.014	0.7	% ¹	3.7							18.1	90.9	5.1	96.0		
	果実 全体	1.605	100.0	% ¹	<0.1							1.3	99.1	0.3	99.4		
	葉	33.003	100.0	% ¹	n. d.							6.9	95.3	1.4	96.7		
4 回目 散布 2 週間 後 (収穫 時)	果実 表面	—	82.2	% ¹ %TRR ²	n. d. n. d.							3.1 2.5	100 —	— —	100 —		
	果皮	0.752	16.6	% ¹ %TRR ² ppm ³	n. d. n. d. n. d.							12.0 2.0 0.09	88.5 — 0.666	5.7 — 0.043	94.2 — 0.752		
				% ¹ %TRR ² ppm ³	n. d. n. d. n. d.									15.8 0.19 0.002	73.1 — 0.009	24.2 — 0.003	97.3 — 0.012
				% ¹ ppm ³	n. d. n. d.									4.7 0.039	97.8 0.815	1.2 0.010	99.0 0.833
	果実 全体	0.833	100.0	% ¹ ppm ³	n. d. n. d.							6.9 3.203	92.1 43.033	6.4 2.971	98.5 46.422		
	葉	46.422	100.0	% ¹ ppm ³	n. d. n. d.												

NE : 非抽出、MWE : マイクロ波抽出、n. d. : 検出せず

1 各分析部位における%、葉及び果実全体については TRR に対する%と同じ

2 TRR に対する%、申請者計算

3 トリフロキシストロピン当量

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

表 2-2. りんごの各分析部位におけるトリフロキシストロビンおよび III9 の分布(EE-異性体) (標識)

採取時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹	分布割合 %			III9		
						トリフロキシストロビン (EE-異性体)		
						[A]		
1 回目散布 1 時間後	葉	41.234	100.0	% ¹		92.7		
4 回目散布 1 時間後	果実表面	—	86.0	% ¹		88.9		
	果皮	1.208	13.3	% ¹		56.2		
	果肉	0.014	0.7	% ¹		38.3		
	果実全体	1.605	100.0	% ¹		84.3		
	葉	33.003	100.0	% ¹		70.2		
4 回目散布 2 週間後 (収穫時)	果実表面	—	82.2	% ¹ %TRR ²		90.1 74.1		
	果皮	0.752	16.6	% ¹ %TRR ² ppm ³		38.5 6.39 0.290		
	果肉	0.012	1.2	% ¹ %TRR ² ppm ³		16.9 0.203 0.002		
	果実全体	0.833	100.0	% ¹ ppm ³		80.7 0.672		
	葉	46.422	100.0	% ¹ ppm ³		66.2 30.731		

n.d.: 検出せず

- 1 各分析部位における%、葉及び果実全体については TRR に対する%と同じ。
- 2 TRR に対する%、申請者計算
- 3 トリフロキシストロビン当量

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

図1 りんごにおいて推定された代謝経路(

標識)

サンプリング

3回目処理1時間後、1日後および7日後に採取した。3回目処理1時間後では、4本のきゅうりから各々1個の小型果実 (<20 cm, 合計 96.44 g) と1枚の葉 (合計 134.10 g) を採取した。3回目処理1日後では、作物あたり1個の大型果実 (>20 cm, 合計 798.12 g) を採取した。3回目処理7日後に全ての作物を収穫し、葉 (3918.3 g)、小型果実 (<20 cm (243.4 g = 60.9 g /株)、大型果実 (>20 cm, 8611.7 g = 2152.9 g /株) に分けた。

採取時期	供試 きゅうり 株数	採取試料		
		葉	小型果実 (<20cm)	大型果実 (>20cm)
3回散布 1時間後	4株	1枚/株 (計4枚、 計96.44g)	1個/株 (計4個、計96.44g)	採取せず
3回散布 1日後		採取せず	採取せず	1個/株 (計4個、 計798.12g)
3回散布 7日後 (収穫期)		4株を全採取 (計3918.3g)	4株を全採取 (計243.4g)	4株を全採取 (計8611.7g)

分析

抽出および分析：

均質にした作物試料をアセトニトリル/水 8:2 (v/v, 0.1~0.2 g/ml) に懸濁させ、振盪抽出し、遠心分離した(5回または放射能が最初の抽出液中の放射能の5%未満になるまで繰り返した)。抽出物は、溶媒による分配、C18 固相抽出を用いた精製あるいは、βグルコシダーゼを用いた分解等を行ない、3種の異なる TLC を用いて分析した。溶媒系Ⅲをトリフロキシストロピン[A]及び の分離・定量に用い、溶媒系Ⅰを溶媒系Ⅲの原点物質の分離・定量に用い、更に溶媒系Ⅱを用いて確認した。

非抽出放射能は、抽出残渣を燃焼して測定した。

均一な燃焼サンプルを準備することができなかつたため、総放射能残留物 (TRR) は抽出物 (E1) と非抽出放射能 (NE) の合計によって算出した。

放射能の測定：

液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。非抽出性放射能は、サンプルオキシダイザーで燃焼して測定した。

代謝物の同定；既知標準化合物との TLC コクロマトグラフィーにより同定した

結果：

1. 各試料における総残留放射能、主代謝物及び抽出率(表1)

総残留放射能(TRR)は、3回目処理1時間後の葉および小型果実で、それぞれ32.700ppm(親化合物：28.155ppm)および1.188ppm(親化合物：1.032ppm)であった。3回目処理1日後の大型果実で0.530ppm(親化合物：0.455ppm)。3回目処理7日後では、葉24.850ppm(親化合物：20.327ppm)、大型果実0.300ppm(親化合物：0.237ppm)、小型果実2.289ppm(親化合物：1.991ppm)であった。

主代謝物はトリフロキシストロビン[A]であり、最低でもTRRの79%以上であった。その他には

が1~3%認められた。

全ての試料で抽出率は高く80%アセトニトリルで99.2~99.9%が抽出され、未抽出残渣は最大でも0.8%と少なかった。

2. 放射能の特性(表2~4)

各試料抽出物のTLCⅢ系による分析で、トリフロキシストロビン[A]及び

及び原点物質Ⅲ0に分離した。原点物質Ⅲ0は3回散布7日後に最大で15.3%認められた(表2)。Ⅲ0画分の代謝物を確認するため溶媒系Ⅰによる分析を行ない、トリフロキシストロビン[A]及び を含む画分であるI17画分の他に6画分と原点画分I0に分離した。6画分のうちI15は として、I14は として、I12は として確認した。I0画分は最大で7.1%認められた(表3)。更に溶媒系Ⅱによる分析を行なった(表4)。

収穫時期の各分析部位において以下の代謝物が認められた。

(1)大型果実

3回処理1日後

親化合物が主残留物でありⅢ9(トリフロキシストロビン[A])が85.8%、0.455ppm認められた。

が認められたが、いずれもTRRの1%程度であった。その他に

が確認された。

3回処理7日後

7日後においてもⅢ9(トリフロキシストロビン[A])が最大残留物であり、TRRの79.1%(0.237ppm)が認められた。

も1%程度認められた。その他に

が認められた。

その他には溶媒系Ⅰで3成分(最大1.3%、0.004ppm)、溶媒系Ⅱにおいて9成分(最大1.0%、0.003ppm)の存在が確認された。

(2)小型果実

3回散布7日後の小型果実において、最大残留物はⅢ9(トリフロキシストロビン[A])、87.0%、1.9ppm)であった。

も認められたが少なかった。その他に
が確認された。
その他の成分は溶媒系 I では認められず、溶媒系 II では 10 成分（最大 0.4%、
0.009ppm）が存在していた。

(3) 葉

3 回散布 7 日後の葉には III9（トリフロキシストロビン[A]，81.8%）が認められ最大
残留物であった。

も少量認められた。

が認められた。その他には溶媒系 II において、7 成分
が認められ、最大で 1.8%（0.447ppm）が存在した。

以上の分析により、各分析部位における代謝物の種類及び分布割合は類似していた。

標識トリフロキシストロビン処理したきゅうり代謝試験によ
り以下の代謝経路が明らかになった：

図 1 に推定代謝経路を示した。

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

表1. きゅうりにおける総残留量及び主要代謝物の分布及び抽出率 (標識)

採取時期	作物部位	総残留放射能 (TRR)				III9			抽出物	非抽出	合計
						トリフロキシ ストロピン					
						[A]					
3回目散布 1時間後	葉	32.700	ppm ¹			28.155			99.3	0.7	100
	小型果実 (<20cm)	1.188	ppm ¹			1.032			99.7	0.3	100
3回目散布 1日後	大型果実 (>20cm)	0.530	%			85.8			99.9	0.1	100
			ppm ¹			0.455			0.529	0.001	0.530
3回目散布 7日後 (収穫期)	葉	24.850	%			81.8			99.2	0.8	100
	ppm ¹				20.327			24.65	0.199	24.850	
	大型果実 (>20cm)	0.300	%			79.1			99.7	0.3	100
	ppm ¹				0.237			0.299	0.001	0.300	
	小型果実 (<20cm)	2.289	%			87.0			99.6	0.4	100
	ppm ¹				1.991			2.280	0.009	2.289	

1 トリフロキシストロピン当量

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

表 2. きゅうりにおけるトリフロキシストロビン[A]、の分布、及び原点物質 (標識、TLC 系Ⅲ)

採取時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹	%	Ⅲ0	%	Ⅲ9	%	%	未分離	小計	非抽出	合計
				原点		トリフロキシストロビン [A]						
3回目散布 1日後	大型果実	0.530	%	9.3	%	85.8	%	%	2.4	100	0.1	100.1
				0.049		0.455			0.013	0.530	0.001	0.530
3回目散布 7日後 (収穫期)	葉	24.850	%	13.4	%	81.8	%	%	1.5	99.3	0.8	100.1
			ppm ¹	3.330	ppm ¹	20.327			0.373	24.676	0.199	24.850
	大型果実	0.300	%	15.3	%	79.1	%	%	2.0	99.9	0.3	100.2
			ppm ¹	0.046	ppm ¹	0.237			0.006	0.300	0.001	0.300
	小型果実	2.289	%	3.5	%	87.0	%	%	2.1	95.5	0.4	95.9
			ppm ¹	0.080	ppm ¹	1.991			0.048	2.186	0.009	2.289

1 トリフロキシストロビン当量

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

表 3. TLC 系 I を用いたきゅうりの代謝物分布 (標識)

採取時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹		10						117	未分離	小計	非抽出	合計
				原点						トリフロキシストロビン及び				
3 回目散布 1 日後	大型果実 (>20cm)	0.530	%	2.7						88.7	3.9	99.6	0.1	99.7
			ppm ¹	0.014						0.470	0.021	0.528	0.001	0.53
3 回目散布 7 日後 (収穫期)	葉	24.850	%	7.1						85.7	4.5	99.6	0.8	100.4
			ppm ¹	1.764						21.296	1.118	24.750	0.199	24.850
	大型果実 (>20cm)	0.300	%	4.8						81.4	3.3	97.0	0.3	97.3
			ppm ¹	0.014						0.244	0.010	0.291	0.001	0.300
	小型果実 (<20cm)	2.289	%	0.4						88.2	3.9	95.2	0.4	95.6
			ppm ¹	0.009						2.019	0.089	2.180	0.009	2.289

1 トリフロキシストロビン当量

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

表 4. TLC 系 II を用いたきゅうりの代謝物分析結果 (標識)

採取時期	作物 部位	総残留 放射能 (TRR) ppm ¹	%	Π0 原点	標識												
3回目散布 1日後	大型果実	0.530	% ppm ¹	<0.1 <0.001													
3回目散布 7日後 (収穫期)	葉	24.850	% ppm ¹														
	大型果実	0.300	% ppm ¹	<0.1 <0.001													
	小型 果実 ²	2.289	% ppm ¹	<0.1 <0.001													

採取時期	作物 部位	総残留 放射能 (TRR) ppm ¹	%					Π25	未分離	小計
								[A,]		
3回目散布 1日後	大型果実	0.530	% ppm ¹					90.5 0.480	6.5 0.034	99.9 0.529
3回目散布 7日後 (収穫期)	葉	24.850	% ppm ¹					87.1 21.644	2.5 0.621	99.0 24.602
	大型果実	0.300	% ppm ¹					86.0 0.258	3.1 0.009	99.8 0.299
	小型 果実 ²	2.289	% ppm ¹					0.3 0.007	0.6 0.014	3.9 0.089

1 トリフロキシストロピン当量

2 葉及び大型果実では80%アセトニトリル抽出画分をTLCⅡ系で分析しているが、小型果実については80%アセトニトリル抽出画分を濃縮後、pH3でジクロロメタンを用いて分配後の水層(4.4%TRR)をTLCⅡ系で分析。

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

図 1 きゅうりにおいて推定されたトリフロキシストロビンの代謝経路(標識)

(資料 No. 運命 7)

2. 植物体内運命に関する試験

(4) 温室栽培きゅうりにおける代謝試験(挙動および代謝)

標識

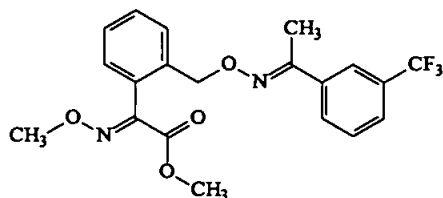
試験機関 :

報告書作成年 : 1997 年

供試標識化合物 :

標識トリフロキシストロビン :

メチル=(E)-メトキシイミノ-((E)- α -[1-(α , α , α -トリフルオロ-*m*-トリル)エチリデンアミノオキシ]-*o*-トリル)アセタートを用いた。



* : ^{14}C 標識位置

比放射能 :

放射化学的純度 :

方法 :

栽培及び処理 :

きゅうり (3 週齢, 品種 ARAMON, 一代雑種) を、Stein-Erde および TKS-1 の 1 : 1 混合土壌で満たしたプラスチックコンテナ (48 cm \times 29 cm \times 25cm, 全長 \times 幅 \times 高さ) で栽培した。

以下の条件下で栽培した :

人工光		14 時間
光度		約 390 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$
温度	昼間	約 25 \pm 5 $^{\circ}\text{C}$
	夜間	約 20 \pm 5 $^{\circ}\text{C}$
相対湿度	昼間	約 55 \pm 10 %
	夜間	約 75 \pm 10 %

最初の処理は、第一回目の開花直後におこなった(1996 年 6 月 12 日)。7 日後および 14 日後に 2 回目および 3 回目の処理をおこなった。

50% 顆粒水和剤の懸濁液 100 ml を計 3 回散布処理した(総処理量: 約 937.5g a. i. /ha)。

サンプリング：

3回目処理1時間後、1日後および7日後に採取した。3回目処理1時間後に4本のきゅうりから各々1個の小型果実 (<20 cm, 合計 129.05 g) ならびに1枚の葉 (合計 135.22 g) を採取した。3回目処理1日後では、作物あたり1個の大型果実 (>20 cm, 合計 832.90 g) を採取した。3回目処理7日後に全ての作物を収穫し、葉 (5110.20 g)、小型果実 (<20 cm, 717.90 g = 179.48 g /作物)、大型果実 (>20 cm, 5717.60 g = 1429.40 g /作物) に分けた。

採取時期	供試 きゅうり 株数	採取試料		
		葉	小型果実 (<20cm)	大型果実 (>20cm)
3回散布 1時間後	4株	1枚/株 (計4枚、 計135.22g)	1個/株 (計4個、 計129.05g)	採取せず
3回散布 1日後		採取せず	採取せず	1個/株 (計4個、 計832.90g)
3回散布 7日後 (収穫期)		4株を全採取 (計5110.20g)	4株を全採取 (計717.90g)	4株を全採取 (計5717.60g)

分析

抽出および分析：

均質にした作物試料をアセトニトリル/水 8:2 (v/v, 0.1~0.2 g/ml) に懸濁させ、振盪抽出し、遠心分離した(5回または放射能が最初の抽出液中の放射能の5%未満になるまで繰り返した)。抽出物は、溶媒による分配、C18 固相抽出を用いた精製あるいは、βグルコニダーゼを用いた分解等を行ない、3種の異なる TLC を用いて分析した。

非抽出放射能は、抽出残渣を燃焼して測定した。

均一な燃焼サンプルを準備することができなかつたため、総放射能残留物 (TRR) は抽出物 (E1) と非抽出放射能 (NE) の合計によって算出した。

放射能の測定：

液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。非抽出性放射能は、サンプルオキシダイザーで燃焼して測定した。

代謝物の同定；既知標準化合物とのクロマトグラフィーにより同定した

結果：

1. 各試料における総残留放射能量、分布及び抽出率(表1)

総残留放射能 (TRR) は、3回目処理1時間後の葉および小型果実で、それぞれ 34.715ppm (親化合物：29.022ppm) および 0.868ppm (親化合物：0.806ppm) であった。3回目処理1日後の大型果実で 0.401ppm (親化合物：0.367ppm)。3回目処理7日後では、

大型果実 0.193ppm (親化合物: 0.166ppm)、小型果実 0.586ppm (親化合物: 0.507ppm)、葉 16.643ppm (親化合物: 13.597ppm) であった。
全ての試料で抽出率は高く、80%アセトニトリルで 99.2~99.9%が抽出され、未抽出残渣は最大でも 0.8%であった。

2. 放射能の特性 (表 2~4)

各試料抽出物を TLCⅢ系により分析した結果、トリフロキシストロビン[A]及びの各画分の計 4 画分及び原点物質Ⅲ0 に分離した。原点物質Ⅲ0 は 3 回散布 7 日後の葉で最大で 14.3%認められた (表 2)。Ⅲ0 画分の代謝物を確認するため溶媒系 I による分析を行ない、トリフロキシストロビン[A]及びを含む画分である I17 画分の他に 6 画分と原点画分 I0 に分離した。6 画分のうち 3 画分をとして確認した。I0 画分は最大で 9.8%認められた (表 3)。更に溶媒系Ⅱによる分析を行なった (表 4)。
収穫時期の各分析部位において以下の代謝物が認められた。

(1) 大型果実

3 回処理 1 日後

Ⅲ9 トリフロキシストロビン[A]が最も多く、91.6%、0.367ppm であった。

であった (表 2)。

その他に、

が認められた (表 3)。

3 回処理 7 日後

Ⅲ9 トリフロキシストロビン[A]が最も多く、86.1%、0.166ppm であった。

(表 1)。その他に

が認められた (表 3 及び 4)。

(2) 小型果実 (3 回目処理 7 日後)

親化合物 Ⅲ9 (トリフロキシストロビン[A]が最も多く、86.6%、0.507ppm であった。

も認められた (表 2)。

が認められた (表 3 及び 4)。

(3) 葉 (3 回目処理 7 日後)

葉においてもⅢ9 トリフロキシストロビン[A]が最も多く 81.7%、14ppm であった。

も認められた (表 2)。

も認められた (表 3 及び 4)。

以上の分析により、各分析部位における代謝物の種類及び分布割合は類似していた。

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

標識トリフロキシストロビンを処理したきゅうり代謝試験により、以下の経路が明らかになった：

図 1 に推定代謝経路を示す。

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

表 1.. きゅうりにおける総残留放射能、主要代謝物の残留量及び抽出率 (標識)

収穫時期	作物部位	総残留放射能 (TRR)				III9			抽出物 %	非抽出 %	合計 %
						トリフロキシストロピン [A]					
3回目散布 1時間後	葉	34.715	ppm ¹			29.022			99.2	0.8	100
	小型果実 (<20cm)	0.868	ppm ¹			0.806			99.8	0.2	100
3回目散布 1日後	大型果実 (>20cm)	0.401	% ppm ¹			91.6 0.367			99.9	0.1	100
	葉	16.643	% ppm ¹			81.7 13.597			99.2	0.8	100
3回目散布 7日後	大型果実 (>20cm)	0.193	% ppm ¹			86.1 0.166			99.7	0.3	100
	小型果実 (<20cm)	0.586	% ppm ¹			86.6 0.507			99.6	0.4	100

1 トリフロキシストロピン当量

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

表 2. きゅうりにおけるトリフロキシストロビン[A]、の分布、及び原点物質 (標識、TLC 系Ⅲ)

収穫時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹	%	Ⅲ0 原点		Ⅲ9 トリフロキシ ストロビン [A]			未分離	小計	非抽出	合計
3 回目散布 1 日後	大型果実 (>20cm)	0.401	%	3.8		91.6			1.2	100	0.1	100.1
				0.015		0.367		0.005	0.401	0.000	0.401	
3 回目散布 7 日後	葉	16.643	%	14.3		81.7			0.8	99.4	0.8	100.2
			ppm ¹	2.380		13.597			0.133	16.543	0.133	16.643
	大型果実 (>20cm)	0.193	%	9.2		86.1			0.7	100	0.3	100.3
			ppm ¹	0.018		0.166			0.001	0.193	0.001	0.193
	小型果実 (<20cm)	0.586	%	4.1		86.6			0.9	95.4	0.4	100.4
			ppm ¹	0.024		0.507			0.005	0.559	0.002	0.586

1 トリフロキシストロビン当量

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

表 3. TLC 系 I を用いたきゅうりの代謝物分析結果 (標識)

収穫時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹		10						117	未分離	小計	非抽出	合計
				原点						トリフロキシストロピン及び				
3 回目散布 1 日後	大型果実 (>20cm)	0.401	%	1.6						94.1	2.9	100	0.1	100.1
			ppm ¹	0.006						0.377	0.012	0.401	<0.001	0.401
3 回目散布 7 日後	葉	16.643	%	9.8						82.9	3.8	98.4	0.8	99.2
			ppm ¹	1.631						13.797	0.632	16.377	0.133	16.643
	大型果実 (>20cm)	0.193	%	4.4						86.7	4.8	99.8	0.3	100.1
	小型果実 (<20cm)	0.586	%	0.4						0.167	0.009	0.193	0.001	0.193
			ppm ¹	0.002						88.5	2.9	95.1	0.4	95.5
										0.519	0.017	0.557	0.002	0.586

1 トリフロキシストロピン当量

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

表 4. TLC 系 II を用いたきゅうりの代謝物分析結果 (標識)

収穫時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹	%	II0 原点									
3 回目散布 1 日後	大型果実 (>20cm)	0.401	ppm ¹	<0.1 <0.001									
3 回目散布 7 日後	葉	16.643	ppm ¹										
	大型果実 (>20cm)	0.193	ppm ¹	<0.1 <0.001									
	小型果実 (<20cm)	0.586	ppm ¹	<0.1 <0.001									

収穫時期	作物部位	総残留放射能 (TRR) ppm ¹	%									II25	未分離	小計
3 回目散布 1 日後	大型果実 (>20cm)	0.401	ppm ¹									92.6 0.371	5.8 0.023	100.1 0.401
3 回目散布 7 日後	葉	16.643	ppm ¹									84.8 14.113	3.3 0.549	98.5 16.393
	大型果実 (>20cm)	0.193	ppm ¹									86.7 0.167	2.5 0.005	99.7 0.192
	小型果実 (<20cm)	0.586	ppm ¹									1.2 0.007	0.5 0.003	4.2 0.025

1 トリフロキシストロビン当量

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

図 1 きゅうりにおいて推定されたトリフロキシストロビンの代謝経路(標識)

2. 植物体内運命に関する試験

(5) トリフロキシストロピンのてんさいにおける代謝

標識

(資料 No. 運命 8)

試験機関:

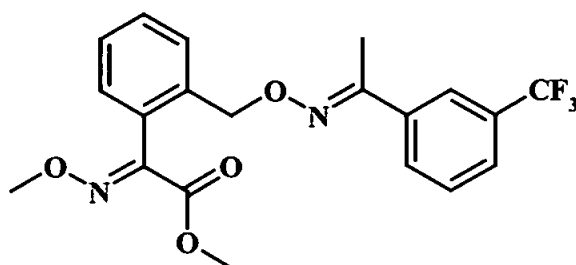
[GLP対応]

報告書作成年月日: 2000年9月21日

供試標識化合物

化学名 : メチル-(E)-メキシイミノ-(E)- α -[1-(α, α, α -トリフルオロ-*m*-トリル)-エチリデンアミノオキシ]-*o*-トリル]アセタート

化学構造 :



*: 標識部位

標識 : [$-^{14}\text{C}$][A]

比放射能:

放射化学的純度:

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は 229 頁に記した。

【方法】

1. 作物

スイス St. Aubin (FR)にあるノバルティス クロップ プロテクション社の圃場(試験群 2.4bN(通常量処理試験)及び 2.4aS(過剰量処理試験))でてんさいを栽培した。1999年4月12日に *Kassandra* 種のてんさいを約 10 粒/m²の割合で両試験区に播種した後、慣行条件で栽培し、一般防除は実施しなかった。

2. 薬剤処理及び試料採取

(1) 通常量処理試験

次表に示すように、[^{14}C]標識トリフロキシストロピン[A]約 54 mg を約 475 mg の乳剤白試料と混合し、乳剤(EC125)を調製した。乳剤を水道水 180 mL に分散後、200 mL に定容し、振り混ぜた後、希釈液 25 μL を液体シンチレーションカウンターを用いて 6 反復で測定し、希釈液中の均

一性を確認するとともに放射能濃度を測定した(表 1)。

1999年7月13日(1回目)、1999年8月3日(2回目)及び1999年8月24日(3回目)に Teejet flat-jet ノズルを4つ備えた小区画用散布器を用いて下表に示す量を散布した。いずれの処理時期においても、茎葉部の土壌に対する被覆度%はほぼ完全で90%であった。また、処理2回目及び処理3回目には根部は収穫可能な大きさであった。

表 1 通常量処理試験における調製量及び処理量

処理	調製 被験物質質量	調製 白試料量	希釈液中有効成分濃度 (mg/希釈液 200 mL)	処理量
1回目	54.16 mg	476.5 mg	56.8	56.5 mg (141 g a.i./ha)
2回目	55.25 mg	486.9 mg	52.7	52.6 mg (132 g a.i./ha)
3回目	53.04 mg	466.5 mg	51.2	50.9 mg (127 g a.i./ha)

1回目、2回目及び3回目処理1時間後に3株ずつ採取し、収穫期に当たる最終処理(3回目)21日後に10株、45日後に33株収穫した。てんさいは採取後、茎葉部と根部に分けた。

(2) 過剰量処理試験

下表に示すように、 ^{-14}C 標識トリフロキシストロビン[A]約138 mgを約1220 mgの乳剤白試料と混合し、乳剤(EC125)を調製した。乳剤を水道水80 mLに分散後、100 mLに定容し、振り混ぜた後、希釈液25 μL を液体シンチレーションカウンターを用いて6反復で測定し、希釈液中の均一性を確認するとともに放射能濃度を測定した(表 1)。

1999年7月13日(1回目)、1999年8月3日(2回目)及び1999年8月24日(3回目)に Teejet flat-jet ノズルを4つ備えた小区画用散布器を用いて下表に示す量を散布した。

表 2 過剰量処理試験における調製量及び処理量

処理	供試 被験物質質量	供試 白試料量	希釈液中有効成分濃度 (mg/希釈液 100 mL)	処理量
1回目	137.867 mg	1218.6 mg	167.4	166.0 mg (830 g a.i./ha)
2回目	137.875 mg	1220.0 mg	138.7	138.2 mg (691 g a.i./ha)
3回目	137.755 mg	1217.2 mg	136.6	136.5 mg (683 g a.i./ha)

収穫期に当たる最終処理(3回目)21日後に10株、45日後に14株収穫した。てんさいは採取後、茎葉部と根部に分けた。

3. 試料の抽出

てんさいを茎葉部と根部に分け、それぞれを液体窒素大気下、粉碎均質化した。均質化した試料をアセトニトリル/水(80/20)を用いて6時間振とう抽出し(5回あるいは放射能が最初の抽出の5%未満になるまで抽出操作を繰り返した)、遠心分離した(常温抽出画分)。抽出液は混合し、TLC分析に供した。残留物は更に1-プロパノール/水(80/20)を用いてアルゴン大気下、マイクロ波で抽出した(100°Cで10分、120°Cで20分、150°Cで20分)(苛酷抽出画分)。

通常量処理試験の2回目処理1時間後試料、最終処理21日後試料及び最終処理45日後試料の茎葉部については苛酷抽出を実施しなかった。

4. 測定・分析

茎葉部及び根部の総放射能残留量(TRR)は均質化した試料をオキシダイザーで燃焼した後、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した(燃焼分析)。抽出液は液体シンチレーションカウンターを用いて直接測定した。抽出後の残留物は燃焼分析に供した。

茎葉部及び根部の抽出液を直接、あるいは、抽出液を固相抽出あるいは液々分配により分画した各画分を TLC で分析した。TLC を展開後、各成分の位置をオートラジオグラフィーにより特定し、該当する位置を掻き取り、液体シンチレーションカウンターで定量した。

代謝物は TLC コクロマトグラフィー及びマスペクトルにより同定した。また、抱合体についてはβ-グルコシダーゼを用いた酵素分解により生成するアグリコンをマスペクトルにより同定した。

通常量処理試験群の3回処理21日後の試料を常温抽出した後の根部残留物(残留物1)を天然成分に分画するため、残留物1を熱水抽出し抽出液2と残留物2に分画した。抽出液2(水溶性非糖類)は濃縮後、残留物(ペクチン画分)と上清に分け、上清を塩酸で加水分解後フェニルヒドラジンと反応させオサゾンを得た(しょ糖画分)。残留物2は更にアルカリ抽出し、抽出液3と残留物3(セルロース画分)に分画した。抽出液3は酸性化後、生じる沈殿(リグニン画分)を遠心分離した。

【結果】

1. てんさい茎葉部及び根部における放射能の分布(表3)

通常量処理試験群の1回処理1時間後、2回処理1時間後、3回処理1時間後、3回処理21日後及び3回処理45日後の根部における残留量はそれぞれ0.055 ppm、0.033 ppm、0.063 ppm、0.113 ppm及び0.025 ppmであり、3回処理1時間後と比較し3回処理21日後の残留量が高いものの、残留量は経時的に減少した。一方、茎葉部における残留量は、それぞれ3.204 ppm、2.286 ppm、4.077 ppm、1.396 ppm及び0.727 ppmであり、3回処理後残留量は経時的に減少した。根部及び茎葉部における放射能の分布は処理直後に比べ、処理21日後及び処理45日後で根部への分布割合が高いものの、いずれの試料でも約90%以上と放射能の大部分が茎葉部に分布していた。

過剰量処理試験群の3回処理21日後及び3回処理45日後の根部における残留量はそれぞれ0.342 ppm及び0.487 ppmであり、茎葉部と同様に45日後における残留量が若干高かった。一方、茎葉部における残留量は、それぞれ7.131 ppm及び7.757 ppmであり、45日後における残留量が若干高いもののほとんど変わらなかった。根部及び茎葉部における放射能の分布は通常量処理試験群と同様、TRRの約90%以上の放射能が茎葉部に分布していた。

表3 てんさい茎葉部及び根部における残留量及び放射能の分布

		通常量処理					過剰量処理	
		1回処理 1時間後	2回処理 1時間後	3回処理 1時間後	3回処理 21日後	3回処理 45日後	3回処理 21日後	3回処理 45日後
根部	残留量(ppm)	0.055	0.033	0.063	0.113	0.025	0.342	0.487
	分布割合(%)	1.1	1.2	1.7	10.6	7.1	6.4	10.4
茎葉部	残留量(ppm)	3.204	2.286	4.077	1.396	0.727	7.131	7.757
	分布割合(%)	98.9	98.8	98.3	89.4	92.9	93.6	89.6

2. 各画分における総残留放射能の分布 (表 4)

根部においては、TRR の約 83%以上が抽出された。抽出された放射能の大部分 (TRR の約 76%以上) が常温抽出で抽出され、苛酷抽出で抽出された放射能量は TRR の 10%以下と少なかった。未抽出残留物も TRR の約 12%以下と少なく、通常量処理及び過剰量処理のいずれの試料においても常温抽出画分から大部分の放射能が回収された。

茎葉部では、全ての試料で TRR の約 95%以上が常温抽出で抽出され、苛酷抽出あるいは未抽出残留物から回収された放射能は少なかった。

表 4 各画分における総残留放射能の分布

試験群	部位	試料	残留量 (ppm)	TRR に対する割合 (%)			合計 ^{a)} (%)
				常温抽出 (%)	苛酷抽出 (%)	未抽出 (%)	
通常量 処理	根部	1回処理1時間後	0.055	106.7	0.7	0.3	107.7
		2回処理1時間後	0.033	88.2	5.2	3.0	96.3
		3回処理1時間後	0.063	87.0	6.3	6.9	100.1
		3回処理21日後	0.113	75.6	7.5	12.2	95.3
		3回処理45日後	0.025	84.5	9.2	3.5	97.2
	茎葉部	1回処理1時間後	3.204	96.5	0.1	0.1	96.7
		2回処理1時間後	2.286	95.2	- ^{b)}	1.1	96.2
		3回処理1時間後	4.077	99.8	0.3	0.5	100.6
		3回処理21日後	1.396	98.9	- ^{b)}	3.9	102.9
		3回処理45日後	0.727	96.9	- ^{b)}	4.7	101.6
過剰量 処理	根部	3回処理21日後	0.342	90.6	4.5	4.9	100.0
		3回処理45日後	0.487	93.9	6.7	6.9	107.5
	茎葉部	3回処理21日後	7.131	98.3	0.8	0.9	100.0
		3回処理45日後	7.757	101.6	- ^{b)}	2.4	104.1

a) 四捨五入による誤差を含む。

b) マイクロ波による苛酷抽出を実施せず。

3. トリフロキシストロビン[A]及び代謝物の同定及び分布 (表 5~6)

(1) 根部におけるトリフロキシストロビン[A]及び代謝物の分布

通常量処理試験群の 1 回処理 1 時間後試料では、TRR の大部分 (約 92%) がトリフロキシストロビン[A] 及び であって。通常量処理試験群の 2 回処理 1 時間後以降に採取した試料中での代謝物の分布は類似し、いずれの試料でもトリフロキシストロビン[A]及び が最大であった。[A]及び 以外に 9 種の代謝物が同定された。代謝物では

が多く、それぞれ最大で TRR の 10.8% (0.012 ppm、3 回処理 21 日後) 及び 19.6% (0.006 ppm、2 回処理 1 時間後) 認められた。その他に TRR の 10% を超える代謝物はなく、

が同定された。

未同定の成分はいずれも低濃度で、3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後の試料においてそれぞれ TRR の 2.7% (0.003 ppm) 及び 1.5% (<0.001 ppm) を超える成分は認められなかった (表 5)。

過剰量処理試験群においても代謝物の分布は比較的類似し、[A]及び が最も多く (TRR の約 49% 以上)、次いで が多く、それぞれ最大で TRR の 8.1% (0.039 ppm、3 回処理 45 日後) 及び 8.8% (0.030 ppm、3 回処理 21 日後) 認められた。(表 5)。

通常量処理試験あるいは過剰量処理試験で見出された代謝物は共通し、同定された全代謝物は を保持し、いずれの環も開裂、脱離しなかった。

大部分の放射能が常温抽出画分から回収されたため、苛酷抽出画分中の成分については 3 回処理 21 日後及び 45 日後の試料についてのみ調べたが、両試料で常温抽出画分と苛酷抽出画分の成分の分布は比較的類似していた (表 6)。

(2) 茎葉部におけるトリフロキシストロビン[A]及び代謝物の分布 (表 5)

通常量処理試験群及び過剰量処理試験群の全ての試料でその成分の分布は類似し、[A]及びその異性体が最も多かった。茎葉部で見出された代謝物は根部と共通していたが、量的な分布においてのみわずかな違いが認められ、根部で多かった が比較的少なく、 が最も多い代謝物であった (表 5)。

通常量処理試験群と過剰量処理試験群における成分の分布は根部と同様、茎葉部においても比較的類似していた (表 5)。

通常量処理試験群及び過剰量処理試験群で見出された代謝物は共通し、同定された全代謝物は を保持し、いずれの環も開裂、脱離しなかった。

大部分の放射能 (約 95% 以上) が常温抽出画分から回収されたため、苛酷抽出画分中の成分については調べなかった。

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

表 5 トリフロキシストロビン[A]及び代謝物の分布

試験群	部位	試料		成分			
				トリフロキシ ストロビン [A] ^{a)}	同定成分 小計	未同定	合計
通常量処理	根部	1 回処理	TRR に対する割合 (%)	92.3	95.4	4.6	100.0
		1 時間後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.051	0.052		0.055
		2 回処理	TRR に対する割合 (%)	41.2	74.7	13.7	88.4
		1 時間後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.014			0.029
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	41.8	70.0	5.0	75.0
		1 時間後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.026			0.063
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	23.9	51.1	30.8	81.9
	茎葉部	21 日後 ^{c)}	残留量 (ppm)	0.027			0.113
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	33.5	55.6	22.1	77.7
		45 日後 ^{d)}	残留量 (ppm)	0.008			0.025
		1 回処理	TRR に対する割合 (%)	92.5	93.3	3.3	96.6
		1 時間後 ^{b)}	残留量 (ppm)	2.964			3.204
		2 回処理	TRR に対する割合 (%)	85.8	90.0	5.5	95.5
		1 時間後 ^{b)}	残留量 (ppm)	1.961			2.286
過剰量処理	根部	3 回処理	TRR に対する割合 (%)	89.5	94.1	5.7	99.8
		1 時間後 ^{b)}	残留量 (ppm)	3.649			4.077
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	57.0	77.3	21.9	99.2
		21 日後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.796			1.396
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	27.5	52.0	45.3	97.3
		45 日後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.200			0.727
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	59.1	77.4	13.3	90.7
過剰量処理	茎葉部	21 日後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.202			0.342
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	48.6	70.2	24.0	94.2
		45 日後 ^{b)}	残留量 (ppm)	0.237			0.487
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	78.8	84.0	13.7	97.7
		21 日後 ^{b)}	残留量 (ppm)	5.619			7.131
		3 回処理	TRR に対する割合 (%)	76.6	87.6	12.6	100.2
		45 日後 ^{b)}	残留量 (ppm)	5.942			7.757

a) トリフロキシストロビン[A]及び

を含む。b) 常温抽出画分のみにおける分布。

c) 常温抽出画分と苛酷抽出画分の有機層を合わせた成分の分布。d) 常温抽出有機層画分と苛酷抽出有機層画分を合わせた成分の分布。

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 6 常温抽出画分及び苛酷抽出画分における代謝物の分布

			成分 (画分中放射能に対する割合%)	
試験群	部位	試料		トリフロキシ トロピン [A] ^{a)}
通常量処理	根部	3回処理 21日後	常温抽出画分	30.63
			苛酷抽出有機層画分	9.09
	3回処理 45日後	常温抽出有機層画分	42.50	
		苛酷抽出有機層画分	50.00	

a) トリフロキシストロピン及び

を含む。

4. トリフロキシストロビン[A]及び の分布 (表 7)

通常量処理試験群及び過剰量処理試験群の 3 回処理 21 日後及び 45 日後の根部及び茎葉部における[A]及び の分布を調べた。[A]の含有率は全試料で 90%以上と最も多く、次いで

は検出されなかった。[A]及び の分布は根部と茎葉部で類似していた。

表 7 トリフロキシストロビン[A]及び の分布

試験群	部位	試料	成分	
			[A]	
通常量処理	根部	3 回処理	TRR に対する割合 (%)	22.9
		21 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	90.5
			残留量 (ppm)	0.026
			3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		45 日後 ^{b)}	異性体含有率 (%)	87.9
			残留量 (ppm)	0.006
	茎葉部		3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		21 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	95.4
			残留量 (ppm)	0.603
			3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		45 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	95.9
			残留量 (ppm)	0.155
過剰量処理	根部		3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		21 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	95.4
			残留量 (ppm)	0.279
			3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		45 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	97.6
			残留量 (ppm)	0.171
	茎葉部		3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		21 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	97.7
			残留量 (ppm)	4.956
			3 回処理	TRR に対する割合 (%)
		45 日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	98.4
			残留量 (ppm)	5.360

n. d. = 検出限界未満

a) 常温抽出画分における分布。

b) 常温抽出有機層画分における分布

c) 残留量が検出限界未満及び<0.001 ppm の場合、含有率を 0%とした。

5. 未抽出残留物の特性化

未抽出残留物の量は最大で 12%と少なかったが、未抽出残留物の特性化を試みた本試験では TRR の 31.1%の放射能が常温抽出で抽出されなかった。この未抽出残留物を天然成分に分画した所、セルロース画分、リグニン画分、ペクチン画分及び糖画分からそれぞれ 0.4%、2.4%、1.5%及び 5.9%が回収された。

表 8 放射能の天然成分への取り込み及びその分布

試験群	部位	試料	TRR に対する割合 (%)			
			セルロース画分	リグニン画分	ペクチン画分	しょ糖画分
通常量処理	根部	3 回処理 21 日後	0.4	2.4	1.5	5.9

6. トリフロキシストロビン[A]のてんさいにおける代謝経路

トリフロキシストロビン[A]はてんさいにおいて以下の経路で代謝を受けると推定された。推定代謝経路を図 1 に示す。

7. 結論

[^{14}C 標識トリフロキシストロビン[A]を乳剤として処理した後のてんさいにおけるトリフロキシストロビン[A]の挙動及び代謝を調べ、以下の知見が得られた。

- ・ 処理量あるいは処理後経過時間によらず、試験した全ての試料で放射能の大部分(約 90%以上)が茎葉部に分布していた。
- ・ 収穫期の根部における残留量は通常量処理試験の 3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後で 0.113 ppm 及び 0.025 ppm、過剰量処理試験の 3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後で 0.342 ppm 及び 0.487 ppm であった。
- ・ 根部及び茎葉部のいずれにおいてもトリフロキシストロビン[A]が最も多い成分であり、代謝物は根部及び茎葉部のいずれでも比較的少なかった。根部ではトリフロキシストロビン[A]に次いでが多く、茎葉部ではトリフロキシストロビン[A]に次いでが多かった。
- ・ 根部及び茎葉部で見出された代謝物は共通していたが、量的な分布はわずかに異なっていた。
- ・ 根部及び茎葉部で見出された全代謝物は を 保持し、いずれの環も開裂、脱離しなかった。
- ・ てんさいにおいてもりんご及びきゅうりで認められた代謝物と同様の代謝物が認められ、トリフロキシストロビン[A]はこれら作物と共通した経路-すなわち、トリフロキシストロビン[A]

代謝されると推定され

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

図1 トリフロキシストロビンのてんさい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. 植物における代謝試験

(6) トリフロキシストロピンのてんさいにおける代謝 標識)

(資料 No. 運命 9)

試験機関:

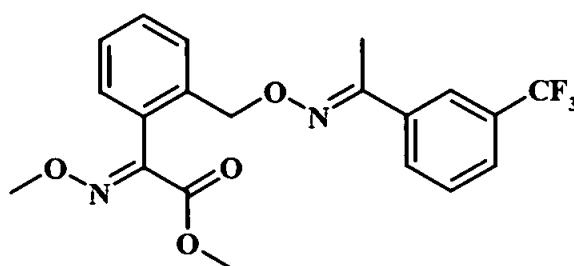
[GLP対応]

報告書作成年月日: 2000年9月21日

供試標識化合物

化学名 : メチル=(E)-メキシイミノ-(E)- α -[1-(α, α, α -トリフルオロ-*m*-トリル)-エチリデンアミノ
オキシ]-*o*-トリル]アセタート

化学構造 :



*: 標識部位

標 識 : [^{-14}C] [A]

比 放 射 能 :

放射化学的純度 :

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は 229 頁に記した。

【方法】

1. 作物

スイス St. Aubin (FR)にあるノバルティス クロップ プロテクション社の圃場 (試験群 1.3bS (通常量処理試験) 及び 1.3aS (過剰量処理試験)) でてんさいを栽培した。1999年4月12日に *Kassandra* 種のてんさいを約 10 粒/ m^2 の割合で両試験区に播種した後、慣行条件で栽培し、一般防除は実施しなかった。

2. 薬剤処理及び試料採取

(1) 通常量処理試験

次表に示すように、[^{-14}C] 標識トリフロキシストロピン [A] 約 55 mg を約 486 mg の乳剤白試料と混合し、乳剤 (EC125) を調製した。乳剤を水道水 180 mL に分散後、200 mL に定容し、振り混ぜた後、希釈液 25 μL を液体シンチレーションカウンターを用いて 3 反復で測定し、希釈液中の均一性を確認するとともに放射能濃度を測定した (表 1)。

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

1999年7月13日(1回目)、1999年8月3日(2回目)及び1999年8月24日(3回目)に Teejet flat-jet ノズルを4つ備えた小区画用散布器を用いて下表に示す量を散布した。いずれの処理時期においても、茎葉部の土壌に対する被覆度はほぼ完全で90%であった。また、処理2回目及び処理3回目には根部は収穫可能な大きさであった。

表1 通常量処理試験における調製量及び処理量

処理	調製 被験物質質量	調製 白試料量	希釈液中有効成分濃度 (mg/希釈液 200 mL)	処理量
1回目	55.26 mg	486 mg	52.3	52.2 mg (130 g a. i. /ha)
2回目	54.25 mg	477 mg	54.8	54.7 mg (137 g a. i. /ha)
3回目	54.38 mg	478.2 mg	52.3	51.4 mg (128 g a. i. /ha)

1回目、2回目及び3回目処理1時間後に3株ずつ採取し、収穫期に当たる最終処理(3回目)21日後に10株、45日後に33株収穫した。てんさいは採取後、茎葉部と根部に分けた。

(2) 過剰量処理試験

下表に示すように、 ^{-14}C 標識トリフロキシストロピン[A]約141 mgを約1247 mgの乳剤白試料と混合し、乳剤(EC125)を調製した。乳剤を水道水80 mLに分散後、100 mLに定容し、振り混ぜた後、希釈液10 μL を液体シンチレーションカウンターを用いて6反復で測定し、希釈液中の均一性を確認するとともに放射能濃度を測定した(表2)。

1999年7月13日(1回目)、1999年8月3日(2回目)及び1999年8月24日(3回目)に Teejet flat-jet ノズルを4つ備えた小区画用散布器を用いて下表に示す量を散布した。

表2 過剰量処理試験における調製量及び処理量

処理	供試 被験物質質量	供試 白試料量	希釈液中有効成分濃度 (mg/希釈液 100 mL)	処理量
1回目	141.55 mg	1247 mg	138.9	138.3 mg (692 g a. i. /ha)
2回目	141.232 mg	1244 mg	139.5	138.7 mg (693 g a. i. /ha)
3回目	140.416 mg	1234.4 mg	154.7	153.6 mg (768 g a. i. /ha)

てんさい試料は収穫期に当たる3回目処理21日後に10株、45日後に14株収穫した。てんさいは採取後、茎葉部と根部に分けた。

3. 試料の抽出

てんさいを茎葉部と根部に分け、それぞれを液体窒素大気下、粉碎均質化した。均質化した試料をアセトニトリル/水(80/20)を用いて6時間振とう抽出し(5回あるいは放射能が最初の抽出の5%未満になるまで抽出操作を繰り返した)、遠心分離した(常温抽出画分)。抽出液は混合し、TLC分析に供した。残留物は更に1-プロパノール/水(80/20)を用いてアルゴン大気下、マイクロ波で抽出した(100°Cで10分、120°Cで20分、150°Cで20分)(苛酷抽出画分)。

常温抽出による抽出率が高かった試料については苛酷抽出を実施しなかった。

4. 測定・分析

茎葉部及び根部の総放射能残留量 (TRR) は均質化した試料をオキシダイザーで燃焼した後、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した (燃焼分析)。抽出液は液体シンチレーションカウンターを用いて直接測定した。抽出後の残留物は燃焼分析に供した。

茎葉部及び根部の抽出液を直接、あるいは、抽出液を固相抽出あるいは液々分配により分画した各画分を TLC で分析した。TLC を展開後、各成分の位置をオートラジオグラフィーにより特定し、該当する位置を掻き取り、液体シンチレーションカウンターで定量した。

代謝物は TLC コクロマトグラフィー及びマススペクトルにより同定した。また、抱合体については β -グルコシダーゼを用いた酵素分解により生成するアグリコンをマススペクトルにより同定した。

【結果】

1. てんさい茎葉部及び根部における放射能の分布 (表 3)

通常量処理試験群の 1 回処理 1 時間後、2 回処理 1 時間後、3 回処理 1 時間後、3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後の根部における残留量はそれぞれ 0.097 ppm、0.010 ppm、0.051 ppm、0.038 ppm 及び 0.021 ppm であり、3 回処理以降、残留量は経時的に減少した。一方、茎葉部における残留量は、それぞれ 3.384 ppm、2.280 ppm、4.133 ppm、1.517 ppm 及び 0.453 ppm であり、3 回処理後残留量は経時的に減少した。根部及び茎葉部における放射能の分布は処理直後に比べ、処理 21 日後及び処理 45 日後で根部への分布割合が高いものの、いずれの試料でも約 90%以上と放射能の大部分が茎葉部に分布していた。

過剰量処理試験群の 3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後の根部における残留量はそれぞれ 0.548 ppm 及び 0.483 ppm であった。一方、茎葉部における残留量は、それぞれ 10.095 ppm 及び 4.155 ppm であり、経時的に減少した。根部及び茎葉部における放射能の分布は通常量処理試験群と同様、TRR の約 90%以上の放射能が茎葉部に分布していた。

表 3 てんさい茎葉部及び根部における残留量及び放射能の分布

		通常量処理					過剰量処理	
		1 回処理 1 時間後	2 回処理 1 時間後	3 回処理 1 時間後	3 回処理 21 日後	3 回処理 45 日後	3 回処理 21 日後	3 回処理 45 日後
根部	残留量 (ppm)	0.097	0.010	0.051	0.038	0.021	0.548	0.483
	分布割合 (%)	2.8	0.4	1.2	2.4	4.4	5.1	10.4
茎葉部	残留量 (ppm)	3.384	2.280	4.133	1.517	0.453	10.095	4.155
	分布割合 (%)	97.2	99.6	98.8	97.6	95.6	94.9	89.6

2. 各画分における総残留放射能の分布 (表 4)

根部においては、TRR の約 90%以上が抽出された。抽出された放射能の大部分 (TRR の約 79%以上) が常温抽出で抽出され、苛酷抽出で抽出された放射能量は TRR の 13%以下と少なかった。未抽出残留物も TRR の約 12%以下と少なく、通常量処理及び過剰量処理のいずれの試料においても常温抽出画分から大部分の放射能が回収された。

茎葉部では、全ての試料で TRR の約 87%以上が常温抽出で抽出され、苛酷抽出あるいは未抽出残留物から回収された放射能は少なかった。

表 4 各画分における総残留放射能の分布

試験群	部位	試料	残留量 (ppm)	TRR に対する割合 (%)			合計 ^{a)} (%)
				常温抽出 (%)	苛酷抽出 (%)	未抽出 (%)	
通常量 処理	根部	1回処理1時間後	0.097	102.4	- ^{b)}	10.2	112.5
		2回処理1時間後	0.010	86.0	13.2	5.2	104.3
		3回処理1時間後	0.051	81.0	11.2	7.9	100.1
		3回処理21日後	0.038	79.1	11.4	11.6	102.0
		3回処理45日後	0.021	99.2	6.8	10.6	116.7
茎葉部	1回処理1時間後	3.384	96.9	- ^{b)}	4.0	100.9	
		2回処理1時間後	2.280	98.2	- ^{b)}	5.3	103.5
		3回処理1時間後	4.133	95.1	1.1	0.9	97.1
		3回処理21日後	1.517	87.9	8.6	3.7	100.2
		3回処理45日後	0.453	97.0	5.3	2.2	104.5
過剰量 処理	根部	3回処理21日後	0.548	97.5	- ^{b)}	7.0	104.5
		3回処理45日後	0.483	93.0	2.8	3.1	99.0
	茎葉部	3回処理21日後	10.095	96.9	- ^{b)}	1.2	98.1
		3回処理45日後	4.155	98.9	- ^{b)}	2.7	101.6

a) 四捨五入による誤差を含む。

b) マイクロ波による苛酷抽出を実施せず。

3. トリフロキシストロビン[A]及び代謝物の同定及び分布 (表 5~6)

(1) 根部におけるトリフロキシストロビン[A]及び代謝物の分布

通常量処理試験群の1回処理1時間後試料では、TRRの大部分(約93%)がトリフロキシストロビン[A]及び
であった。
通常量処理試験群の2回処理1時間後以降に採取した試料中での代謝物の分布は類似し、いずれ
の試料でもトリフロキシストロビン[A]及びその異性体が最大であった。[A]及び
以外
に9種の代謝物が同定された。代謝物では[A]の
及
び

が多く、それぞれ最大でTRRの10.8% (0.002 ppm、3回処理45日後)及び14.9%
(0.003 ppm、3回処理45日後)認められた。その他にTRRの10%を超える代謝物はなく、

が同定された。

未同定の成分はいずれも低濃度で、3回処理21日後及び3回処理45日後の試料においてそれぞ
れTRRの2.7% (0.003 ppm)及び1.5% (<0.001 ppm)を超える成分は認められなかった(表5)。

過剰量処理試験群においても代謝物の分布は比較的類似し、[A]及び
が最も多く(TRR
の約49%以上)、
が多く、それぞれ最大でTRRの8.1% (0.039 ppm、3回処理45
日後)及び8.8% (0.030 ppm、3回処理21日後)認められた。(表5)。

通常量処理試験あるいは過剰量処理試験で見出された代謝物は共通し、同定された全代謝物は
保持し、いずれの環も開裂、脱離し
なかった。

大部分の放射能が常温抽出画分から回収されたため、苛酷抽出画分中の成分については3回処
理21日後及び45日後の試料についてのみ調べたが、両試料で常温抽出画分と苛酷抽出画分の成
分の分布は比較的類似していた(表6)。

(2) 茎葉部におけるトリフロキシストロビン[A]及び代謝物の分布(表5)

通常量処理試験群及び過剰量処理試験群の全ての試料でその成分の分布は類似し、[A]及び
が最も多かった。茎葉部で見出された代謝物は根部と共通していたが、量的な分布におい
てのみわずかな違いが認められ、根部で多かった
が比較的少なく、
が最も多い代謝物であ
った(表5)。

通常量処理試験群と過剰量処理試験群における成分の分布は根部と同様、茎葉部においても比
較的類似していた(表5)。

通常量処理試験群及び過剰量処理試験群で見出された代謝物は共通し、同定された全代謝物は
を保持し、いずれの環も開裂、脱離し
なかった。

大部分の放射能(約95%以上)が常温抽出画分から回収されたため、苛酷抽出画分中の成分に
ついては調べなかった。

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

表5 トリフロキシストロビン[A]及び代謝物の分布

試験群	部位	試料	成分				
			トリフロキシストロビン [A] ^{a)}	同定成分 小計	未同定	合計	
通常量処理	根部	1回処理	TRRに対する割合(%)	92.6	95.5	4.5	100.0
		1時間後 ^{b)}	残留量(ppm)	0.090	0.093		0.097
		2回処理	TRRに対する割合(%)	72.8	81.8	4.0	85.8
		1時間後 ^{b)}	残留量(ppm)	0.007	0.008		0.008
		3回処理	TRRに対する割合(%)	35.3	55.7	25.1	80.8
		1時間後 ^{b)}	残留量(ppm)	0.018	0.029		0.042
		3回処理	TRRに対する割合(%)	51.5	75.6	10.9	86.5
	茎葉部	21日後 ^{c)}	残留量(ppm)	0.020	0.028		0.029
		3回処理	TRRに対する割合(%)	42.7	76.4	15.2	91.6
		45日後 ^{d)}	残留量(ppm)	0.009	0.015		0.019
		1回処理	TRRに対する割合(%)	94.3	94.9	1.9	96.8
		1時間後 ^{b)}	残留量(ppm)	3.191	3.211		3.275
		2回処理	TRRに対する割合(%)	96.3	97.9	0.2	98.1
		1時間後 ^{b)}	残留量(ppm)	2.196	2.233		2.238
過剰量処理	根部	3回処理	TRRに対する割合(%)	85.5	89.1	6.2	95.3
		1時間後 ^{b)}	残留量(ppm)	3.534	3.712		3.939
		3回処理	TRRに対する割合(%)	68.9	81.5	15.3	96.8
		21日後 ^{c)}	残留量(ppm)	1.045	1.238		1.471
		3回処理	TRRに対する割合(%)	49.4	71.8	25.4	97.2
		45日後 ^{b)}	残留量(ppm)	0.224	0.325		0.440
		茎葉部	3回処理	TRRに対する割合(%)	85.2	93.2	4.3
21日後 ^{b)}	残留量(ppm)		0.467	0.511		0.534	
3回処理	TRRに対する割合(%)		69.9	76.0	17.2	93.2	
45日後 ^{b)}	残留量(ppm)		0.338	0.366		0.447	
3回処理	TRRに対する割合(%)		87.2	91.0	6.0	97.0	
過剰量処理	茎葉部	21日後 ^{b)}	残留量(ppm)	8.803	9.185		9.790
		3回処理	TRRに対する割合(%)	80.6	88.0	11.2	99.2
		45日後 ^{b)}	残留量(ppm)	3.349	3.657		4.121

a) トリフロキシストロビン[A]及び

を含む。b) 常温抽出画分のみにおける分布。

c) 常温抽出画分と苛酷抽出画分の有機層を合わせた成分の分布。d) 常温抽出有機層画分と苛酷抽出有機層画分を合わせた成分の分布。

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 6 常温抽出画分及び苛酷抽出画分における代謝物の分布

			成分 (画分中放射能に対する割合%)	
試験群	部位	試料		トリフロキシ ストロビン [A] ^{a)}
通常量処理	根部	3回処理 21日後	常温抽出画分	50.2
			苛酷抽出有機層画分	1.3
	3回処理 45日後	常温抽出有機層画分	62.2	
		苛酷抽出有機層画分	6.7	

a) トリフロキシストロビン及び

を含む。

4. トリフロキシストロビン[A]及び の分布 (表7)

通常量処理試験群及び過剰量処理試験群の3回処理21日後及び45日後の根部及び茎葉部における[A]及び の分布を調べた。[A]の含有率は全試料で92%以上と最も多く、次いで

は検出されなかった。[A]及び の分布は根部と茎葉部で類似していた。

表7 トリフロキシストロビン[A]及び の分布

試験群	部位	試料	成分	
			[A]	
通常量処理	根部	3回処理	TRRに対する割合 (%)	58.1
		21日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	100.0
			残留量 (ppm)	0.022
		3回処理	TRRに対する割合 (%)	47.4
		45日後 ^{b)}	異性体含有率 (%)	92.6
			残留量 (ppm)	0.010
	茎葉部	3回処理	TRRに対する割合 (%)	64.9
		21日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	98.2
			残留量 (ppm)	0.985
		3回処理	TRRに対する割合 (%)	34.3
		45日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	96.6
			残留量 (ppm)	0.155
過剰量処理	根部	3回処理	TRRに対する割合 (%)	79.0
		21日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	98.4
			残留量 (ppm)	0.433
		3回処理	TRRに対する割合 (%)	64.4
		45日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	100.0
			残留量 (ppm)	0.311
	茎葉部	3回処理	TRRに対する割合 (%)	88.5
		21日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	99.0
			残留量 (ppm)	8.934
		3回処理	TRRに対する割合 (%)	70.6
		45日後 ^{a)}	異性体含有率 (%)	99.0
			残留量 (ppm)	2.933

n. d. = 検出限界未満

a) 常温抽出画分における分布。

b) 常温抽出有機層画分における分布

c) 残留量が検出限界未満及び<0.001 ppmの場合、含有率を0%とした。

5. トリフロキシストロビン[A]のてんさいにおける代謝経路

トリフロキシストロビン[A]はてんさいにおいて以下の経路で代謝を受けると推定された。推定代謝経路を図1に示す。

6. 結論

[¹⁴C]標識トリフロキシストロビン[A]を乳剤として処理した後のてんさいにおけるトリフロキシストロビン[A]の挙動及び代謝を調べ、以下の知見が得られた。

- ・ 処理量あるいは処理後経過時間によらず、試験した全ての試料で放射能の大部分（約 90%以上）が茎葉部に分布していた。
- ・ 収穫期の根部における残留量は通常量処理試験の 3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後で 0.038 ppm 及び 0.021 ppm、過剰量処理試験の 3 回処理 21 日後及び 3 回処理 45 日後で 0.548 ppm 及び 0.483 ppm であった。
- ・ 根部及び茎葉部のいずれにおいてもトリフロキシストロビン[A]が最も多い成分であり、代謝物は根部及び茎葉部のいずれでも比較的少なかった。根部ではトリフロキシストロビン[A]に次いで C_1 が多く、茎葉部ではトリフロキシストロビン[A]に次いで C_2 が多かった。
- ・ 根部及び茎葉部で見出された代謝物は共通していたが、量的な分布はわずかに異なっていた。
- ・ 根部及び茎葉部で見出された全代謝物は C_1 を保持し、いずれの環も開裂、脱離しなかった。
- ・ 標識位置の違いによる代謝の差異は認められなかった。
- ・ てんさいにおいてもりんご及びきゅうりで認められた代謝物と同様の代謝物が認められ、トリフロキシストロビン[A]はこれら作物と共通した経路-すなわち、トリフロキシストロビン[A]の C_1 で代謝されると推定された。

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

図1 トリフロキシストロビンのてんさいにおける推定代謝経路

2. 植物における代謝試験

(7) トリフロキシストロピンの小麦における代謝 (標識)

(資料 No. 運命 10)

試験機関:

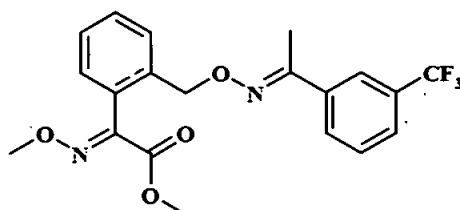
[GLP対応]

報告書作成年月日: 2002年7月16日

供試標識化合物

化学名 : メチル=(E)-メトキシイミノ-(E)- α -[1-(α, α, α -トリフルオロ-*m*-トリル)-エチリ
デンアミノオキシ]-*o*-トリル]アセタート

化学構造 :



* : 標識部位

標 識 : [^{-14}C] トリフロキシストロピン [A]

比 放 射 能 :

放射化学的純度 :

標識位置の設定理由 :

【方法】

1. 作物及び栽培

春小麦を屋外のライシメーター (1m²) (代謝実験) で栽培し供試した。補助実験として半屋外の 0.5m² のコンテナで栽培、薬剤処理及び試料調製を行ったが、分析には用いなかった。

2. 薬剤処理及び試料採取

圃場における年間有効成分投下量である 500g ai/ha を模して、標識トリフロキシストロピン乳剤を各 250g ai/ha 相当で 2 回散布処理した。1 回目の処理は 2001 年 5 月 30 日 (小麦の第 3 節が第 2 節の 2cm 以上上にある時期)、2 回目は 2001 年 7 月 10 日 (開花終了時) に行った。(実処理量 508g ai/ha)。

未成熟茎葉を 2 回目散布の 3 日後に採取し、室温で 4 日間乾燥して干し草試料とした。わら及び穀粒を 2 回目散布の 35 日後 (収穫期) に採取し試料とした。

3. 試料の抽出

磨砕した試料をアセトニトリル/水(8:2)を用いて抽出・ろ過し、抽出液と残さ1とに分画した。抽出液は濃縮後ジクロロメタンと分配し、ジクロロメタン相と水相1に分画する。干し草及びわら試料では、残さ1を更にアセトニトリル/水(1:1)を用いてマイクロウェーブ抽出を行った。穀粒試料では残さ1にジアスターゼ酵素を用いて分解し、ろ過してジアスターゼ抽出液と残さ2に分画した。ジアスターゼ抽出液を濃塩酸と還流して加水分解し、酢酸エチルと分配して、酢酸エチル相と水相2に分画した。抽出スキームを下記に示した。

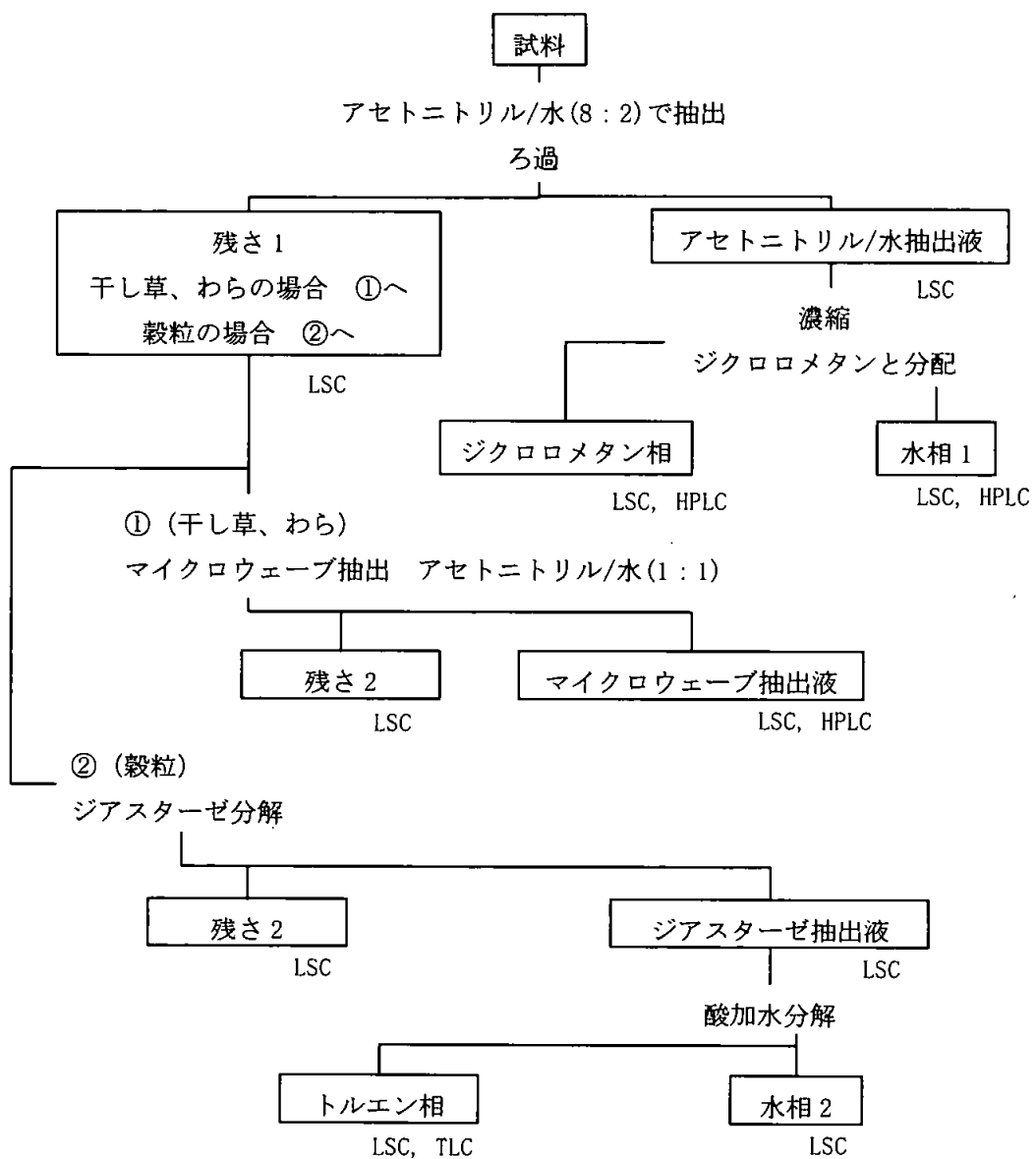


図1 抽出スキーム

4. 測定・分析

放射能の測定は液体試料では液体シンチレーション計測器 (LSC) を用いて測定し、固体試料は燃焼後に LSC で測定した。

親化合物及び代謝物の定量は HPLC を用いた。穀粒の水相の代謝物は単離して LC/MS 及び LC/MS/MS を行い、標準品の娘イオンとの比較かあるいはフラグメンテーションの評価により同定した。穀粒の残さ 1 のジアスターゼ分解液はマトリックスが多く直接 TLC あるいは HPLC による分析が不可能であった。従って、酸加水分解後に TLC を用いた。わら及び干草の水相及びマイクロウェーブ抽出についてはセルラーゼ分解を行った後、穀粒の水相についてはグルコシダーゼ分解を行った後、アグリコンの同定を行った。

【結果】

1. 小麦の干し草、わら及び穀粒における総放射能残留量及び各抽出画分の放射能分布 (表 1)

干し草における総放射能残留量は 5.98mg/kg であった。このうち、94.1%の放射能がアセトニトリル/水混液で抽出され、ジクロロメタン相へは 54.1% (3.24mg/kg)、水相 1 へは 40.0% (2.39mg/kg) が分布した。残さ 1 には 5.9%が存在したが、マイクロウェーブ抽出で 4.5%が抽出された。

わらにおける総放射能残留量は 6.12mg/kg であった。このうち、76.3% (4.67mg/kg) がアセトニトリル/水混液で抽出され、ジクロロメタン相へ 50.0%、水相 1 に 26.3%が分配された。残さ 1 には 23.7%が存在したがマイクロウェーブ抽出で 16.9%が抽出された。

穀粒における総放射能残留量は 0.262mg/kg と低く、76.5% (0.201mg/kg) がアセトニトリル/水混液で抽出された。ジクロロメタン相へは 16.3%、水相 1 は 60.2%が分配された。残さ 1 (0.061mg/kg) をジアスターゼ処理すると残さ中の未抽出残留量 (残さ 2) は 0.017mg/kg まで減少した。

表1 小麦の干し草、わら及び穀粒における放射能分布 (%) 及び残留量 (mg/kg)

画分	干し草		わら		穀粒	
	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg
ジクロロメタン相	54.1	3.24	50.0	3.06	16.3	0.043
水相 1	40.0	2.39	26.3	1.61	60.2	0.158
(アセトニトリル/水) 抽出計	94.1	5.63	76.3	4.67	76.5	0.201
(残さ 1, 更に抽出した)	(5.9)	(0.35)	(23.7)	(1.45)	(23.5)	(0.061)
マイクロウェーブ抽出	4.5	0.27	16.9	1.03	n. a.	n. a.
ジアスターゼ抽出 (更に加水分解した)	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	(17.0)	(0.044)
酢酸エチル相	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	14.0	0.037
水相 2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	3.0	0.008
残さ 2 (未抽出残留物)	1.4	0.08	6.8	0.42	6.5	0.017
総放射能残留量 (TRR)	100.0	5.98	100.0	6.12	100.0	0.262

n. a. : 実施せず

2. 代謝物の分布

標識内の干し草、わら、穀粒における代謝物パターンをジクロロメタン相、水相及びマイクロウェーブ抽出相について、HPLC クロマトグラムを用いて比較したが、各試料の各相間で代謝物は良く類似していた。

標識試験の HPLC クロマトグラムとの比較で、ジクロロメタン相の 2 標識間のパターンは非常に類似しており、また未開裂の化合物のみが存在していたので、標識試験においてはジクロロメタン相の代謝物の単離同定は行わず、クロマトグラムの比較により代謝物を同定した。

水相の 2 標識間のクロマトグラフの比較では保持時間約 40~130 分のパターンは非常に類似していたが、極性代謝物が溶出している保持時間のクロマトには 2 標識間で相違が認められた。

確認した代謝物の残留量をトリフロキシストロビン (その異性体を含む)、同定代謝物、同定アグリコンの抱合体、仮同定代謝物及び特性化物に分けて、干し草、わら、穀粒の各試料ごとに表 2、3、4 にそれぞれ示した。

トリフロキシストロビン及び

トリフロキシストロビン[A]及び

の合計は干し草で TRR 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある

53.1% (3.18mg/kg)、わらにおいては 29.3% (1.79mg/kg)、穀粒においては 17.9% (0.047mg/kg) であった。各試料で異性体全てが認められたが、10%を超えたのはトリフロキシストロビン[A] () のみであった。

同定代謝物

干し草では、 、その他に
など 6 化合物が認められたが、いずれも 2% 未満であった。

わらでは、
認められ、
であった。

穀粒では、
であった。

同定アグリコンの抱合体

干し草では、
の範囲で認められた。

わらでも同様に、
の範囲で認められた。

小麦における代謝試験において、トリフロキシストロビン () [A] はそれぞれ
された。主要な代謝経路は
が生成し、さらに
が生成するか、
あるいは
が生成するもので
あった。 も多く認められた。
を生成した。 も確認された。

それぞれの残留量は異なるが、干し草、わら、穀粒における代謝物は類似しており、10%
以上の成分はトリフロキシストロビン[A]のみであった。

小麦における 標識 トリフロキシストロビンの推定代謝経路を図
2 に示した。

表2 小麦干し草におけるトリフロキシストロビン及び代謝物の分布
(標識)

代謝物	性状	由来 画分	%	mg/kg
同定化合物 (親化合物, 代謝物及びアグリコン)			(85.9)	(5.13)
トリフロキシストロビン及びその異性体			(53.1)	(3.18)
トリフロキシストロビン[A] (CGA279202)		D, M	40.3	2.41
同定代謝物			(8.9)	(0.53)
仮同定 (代謝物)			(0.1)	(0.01)
同定アグリコンの抱合体			(23.7)	(1.42)
特性化の小計 (抽出法, 分配及びHPLCによる)			(12.7)	(0.76)
抽出 計			98.6	5.89
残渣 2 (未抽出残さ)			1.4	0.08
総残留量			100.0	5.98

D: ジクロロメタン相、A:水相、M: マイクロウェーブ抽出

表3 小麦わらにおけるトリフロキシストロピン及び代謝物の分布
(標識)

代謝物	性状	由来 画分	%	mg/kg
同定化合物 (親化合物, 代謝物及びアグリコン)			(70.4)	(4.31)
トリフロキシストロピン及び			(29.3)	(1.79)
トリフロキシストロピン[A] (CGA279202)		D, M	18.6	1.14
同定代謝物			(33.5)	(2.05)
仮同定代謝物			(1.5)	(0.09)
同定アグリコンの抱合体			(6.1)	(0.09)
特性化の小計 (抽出法, 分配及びHPLCによる)			(22.8)	(1.46)
抽出 計			93.2	5.70
残さ 2 (未抽出残さ)			6.8	0.42
総残留量			100.0	6.12

D: ジクロロメタン相、A: 水相、M: マイクロウェーブ抽出

表 4 小麦殻粒におけるトリフロキシストロビン及び代謝物の分布
(標識)

代謝物	性状	由来 画分	%	mg/kg
同定化合物 (親化合物, 代謝物及びアグリコン)			(48.2)	(0.126)
トリフロキシストロビン及び			(17.9)	(0.047)
トリフロキシストロビン[A] (CGA279202)		D, A1	11.1	0.029
同定代謝物			(19.2)	(0.050)
仮同定代謝物			(11.1)	(0.029)
特性化 小計 (by 抽出法, 酵素による加水分解, 酸加水分解, 分配 及び HPLC または TLC)			(26.9)	(0.032)
抽出 計			93.5	0.245
残さ 2 (未抽出残さ)			6.5	0.017
総残留量			100.0	0.262

D : ジクロロメタン相、A1、A2:水相、EA : 酢酸エチル相

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

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. 試料の抽出

磨砕した試料をアセトニトリル/水(8:2)を用いて抽出・ろ過し、抽出液と残さ1とに分画した。抽出液は濃縮後ジクロロメタンと分配し、ジクロロメタン相と水相1に分画する。干し草及びわら試料では、残さ1は更にアセトニトリル/水(1:1)を用いてマイクロウェーブ抽出を行った。穀粒試料では残さ1をジアスターゼ酵素分解した後、ろ過してジアスターゼ抽出液と残さ2に分画した。ジアスターゼ抽出液を濃塩酸と還流して加水分解し、トルエンと分配して、トルエン相と水相2に分画した。(標識と同様の抽出法)

4. 測定・分析

放射能の測定は液体試料では液体シンチレーション計測器(LSC)を用いて測定し、固体試料は燃焼後LSCで測定した。親化合物及び代謝物の定量はHPLCを用いた。わらのジクロロメタン相及び穀粒の水相の代謝物は単離してLC/MS及びLC/MS/MSを行い、標準品の娘イオンとの比較があるいはフラグメンテーションの評価により同定した。その他特性化あるいは構造の解析には標準品とのクロマトグラフィー、¹H-NMRを用いた。穀粒の残さ1のジアスターゼ分解液はマトリックスが多く直接TLCあるいはHPLCによる分析が不可能であったため、酸加水分解後にTLCを用いた。わら及び干し草の水相及びマイクロウェーブ抽出についてはセルラーゼ分解を行った後、穀粒の水相についてはグルコシダーゼ分解を行った後、アグリコンの同定を行った。

【結果】

1. 小麦の干し草、わら及び穀粒における総放射能残留量及び各抽出画分の放射能分布 (表1)

干し草における総放射能残留量は5.20mg/kgであった。このうち、92.3%の放射能がアセトニトリル/水混液で抽出され、ジクロロメタン相へは53.0%(2.75mg/kg)、水相1へは39.3%(2.04mg/kg)が分布した。残さ1には7.7%が存在したが、マイクロウェーブ抽出で5.6%が抽出された。

わらにおける総放射能残留量は6.13mg/kgであった。このうち、71.9%(4.41mg/kg)がアセトニトリル/水混液で抽出され、ジクロロメタン相へ47.8%、水相1に24.1%が分配された。残さ1には28.1%が存在したがマイクロウェーブ抽出で19.1%が抽出された。

穀粒における総放射能残留量は0.120mg/kgと低く、66.9%(0.081mg/kg)がアセトニトリル/水混液で抽出された。ジクロロメタン相へは26.2%、水相1は40.7%が分配された。残さ1(0.040mg/kg)をジアスターゼ処理すると残さ中の未抽出残留量(残さ2)は0.014mg/kgまで減少した。

表1 小麦の干し草、わら及び穀粒における放射能分布 (%) 及び残留量 (mg/kg)

画分	干し草		わら		穀粒	
	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg
ジクロロメタン相	53.0	2.75	47.8	2.93	26.2	0.032
水相 1	39.3	2.04	24.1	1.48	40.7	0.049
(アセトニトリル/水) 抽出計	92.3	4.79	71.9	4.41	66.9	0.081
(残さ 1, 更に抽出した)	(7.7)	(0.40)	(28.1)	(1.72)	(33.1)	(0.040)
マイクロウェーブ抽出	5.6	0.29	19.1	1.17	n. a.	n. a.
ジアスターゼ抽出 (更に加水分解した)	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	(21.4)	(0.026)
トルエン相	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	10.5	0.013
水相 2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	10.9	0.013
残さ 2 (未抽出残留物)	2.1	0.11	9.0	0.55	11.7	0.014
総放射能残留量 (TRR)	100.0	5.20	100.0	6.13	100.0	0.120

n. a. : 実施せず

2. 代謝物の分布

認められた代謝物をトリフロキシストロビン (その異性体を含む)、同定代謝物、同定アグリコンの抱合体及び特性化物に分けて、干し草、わら、穀粒の各試料ごとに表 2、3、4 にそれぞれ示した。

トリフロキシストロビン及びその異性体

トリフロキシストロビン[A]及び
43.5% (2.26mg/kg)、わらにおいては 25.5% (1.56mg/kg)、穀粒においては 39.7% (0.048mg/kg) であった。各試料で異性体全てが認められたが、10%を超えたのはトリフロキシストロビン[A] のみであった。 の合計は干し草で TRR の

同定代謝物

干し草では、

など7化合物が認められたが、いずれも2%未満であった。

わらでは、

など7化合物が認められたが、最大でも4.2%であった。

穀粒では、

5化合物が認められたがいずれも3%未満であった。

同定アグリコンの抱合体

干し草では、

が 8.1% (0.42mg/kg) ~0.3% (0.02mg/kg) の範囲で認められた。

わらでも同様に、

が 2.2% (0.14mg/kg) ~0.7% (0.04mg/kg) の範囲で認められた。

小麦における代謝試験において、トリフロキシストロビン [A]は
された。主要な代謝経路は

生成するもので

あった。水酸化された代謝物の配糖体も多く認められた。

それぞれの残留量は異なるが、干し草、わら、穀粒における代謝物の種類は類似しており、
10%以上の成分はトリフロキシストロビン[A]のみであった。

小麦における
路を図2に示した。

標識 トリフロキシストロビンの推定代謝経

表2 小麦干し草におけるトリフロキシストロピン及び代謝物の分布
(標識)

代謝物	性状	由来 画分	%	mg/kg
同定化合物 (親化合物, 代謝物及びアグリコン)			(80.7)	(4.19)
トリフロキシストロピン及びその異性体			(43.5)	(2.26)
トリフロキシストロピン[A] (CGA279202)		D, M	31.1	1.61
同定代謝物			(10.3)	(0.54)
同定アグリコンの抱合体			(26.8)	(1.39)
特性化の小計 (抽出法, 分配及びHPLCによる)			(17.2)	(0.89)
抽出 計			97.9	5.09
残渣 2 (未抽出残さ)			2.1	0.11
総残留量			100	5.2

D: ジクロロメタン相、A: 水相、M: マイクロウェーブ抽出

表3 小麦わらにおけるトリフロキシストロビン及び代謝物の分布
(標識)

代謝物	性状	由来 画分	%	mg/kg
同定化合物 (親化合物, 代謝物及びアグリコン)			(67.1)	(4.11)
トリフロキシストロビン及びその異性体			(25.5)	(1.56)
トリフロキシストロビン[A] (CGA279202)		D, M	14.3	0.88
同定代謝物			(34.1)	(2.09)
同定アグリコンの抱合体			(7.6)	(0.46)
特性化の小計 (抽出法, 分配及びHPLCによる)			(23.9)	(1.46)
抽出 計			91.0	5.58
残さ 2 (未抽出残さ)			9.0	0.55
総残留量			100	6.13

D: ジクロロメタン相、A:水相、M: マイクロウェーブ抽出

表4 小麦殻粒におけるトリフロキシストロビン及び代謝物の分布
(標識)

代謝物	性状	由来 画分	%	mg/kg
同定化合物 (親化合物, 代謝物及びアグリコン)			(61.4)	(0.074)
トリフロキシストロビン及びその異性体			(39.7)	(0.048)
トリフロキシストロビン[A] (CGA279202)		D, A1	19.6	0.024
同定代謝物			(21.7)	(0.026)
特性化 小計 (by 抽出法, 酵素による加水分解, 酸加水分解, 分配 及びHPLC または TLC)			(26.9)	(0.032)
抽出 計			88.3	0.106
残さ 2 (未抽出残さ)			11.7	0.014
総残留量			100	0.12

D: ジクロロメタン相、A1、A2:水相、T: トルエン相

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

(資料 No. 運命 10)

3. 土壌中運命に関する試験

(1) 好氣的土壌における代謝試験(

標識)

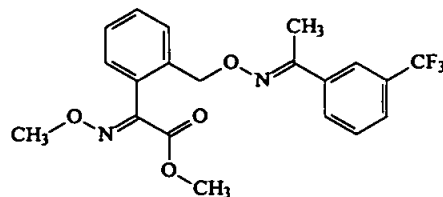
試験機関:

報告書作成年: 1997年、GLP

試験目的: 本試験は、**標識トリフロキシストロピンの好氣的土壌における分解及び代謝を明らかにすることを目的として行った**

供試標識化合物:

標識トリフロキシストロピンを用いた。



*: 標識位置

比放射能;
放射化学的純度;

供試土壌:

以下の土壌を使用した。

圃場での採取後、土壌を約 20°C の温室内で芝草をかぶせて保存した。土壌はサンプリング後、2 mm ふるいでふるいにかけてその水分は 75 % FC に調整した。処理前に、土壌は常温で少なくとも 1 日平衡化した(好気性培養)。

Gartnacher 土壌

土壌採取場所: スイス国 Les Barges

土壌分類 (USDA)	シルトローム
粒度分布	粘土 10.4%, シルト 51.1%, 砂 38.5%
FC (%) at pF 1.8	43.8
MWC (%)	60.9
pH	7.20
CEC (meq/100 g soil)	14.10
有機炭素 (%)	2.10
全窒素 (%)	0.26
CaCO ₃ (%)	8.30
微生物バイオマス (mg C/100 g soil)	35.7~50.9 mg/kg

試験方法:

試験系;

3日間の短期間好気性培養、364日間の長期間好気性培養および91日間の好気性/滅菌培養を実施した。

処理および培養;

短期サンプルを除いて200gの土壌(乾燥重量当量)を検体の培養に使用した。3日間の短期間培養サンプルには、50gの土壌試料を使用した。処理溶液0.22mlおよび0.055mlを200g土壌および50g土壌サンプルに添加した。処理は、マイクロシリンジを用いて実施した。

このように、各試験システムに処理したトリフロキシストロビンの全量は、3日より長く培養したサンプルでは0.996 $\mu\text{g a.i./g}$ 土壌(乾燥重量)で、0~3日間培養した培養サンプルでは1.023 $\mu\text{g a.i./g}$ 土壌(乾燥重量)であり、約0.55 kg a.i./haの圃場割合に相当する。

処理後、培養フラスコは、代謝装置に接続し、 $19.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (平均値)、 $17.3 \sim 19.7^\circ\text{C}$ の範囲で暗所で培養した。サンプルは約40 ml/分の流速で連続的に通気した。好気性/滅菌条件を維持するために、滅菌マイクロフィルター(0.2 μm)を空気吸入口に挿入した。

試料採取: 試料採取は以下のように行った。

試験の種類	試料採取日(処理後経過日数)
好気性/非無菌土壌サンプル	処理 0, 0.13, 0.25, 0.58, 1, 3, 7, 14, 40, 90, 180, 271 および 364 日後
好気性/無菌サンプル	0, 30, 60 および 91 日後
微生物量定量サンプル	投与前(0日)そして処理 91, 181 および 363 日後

試料調製および分析;

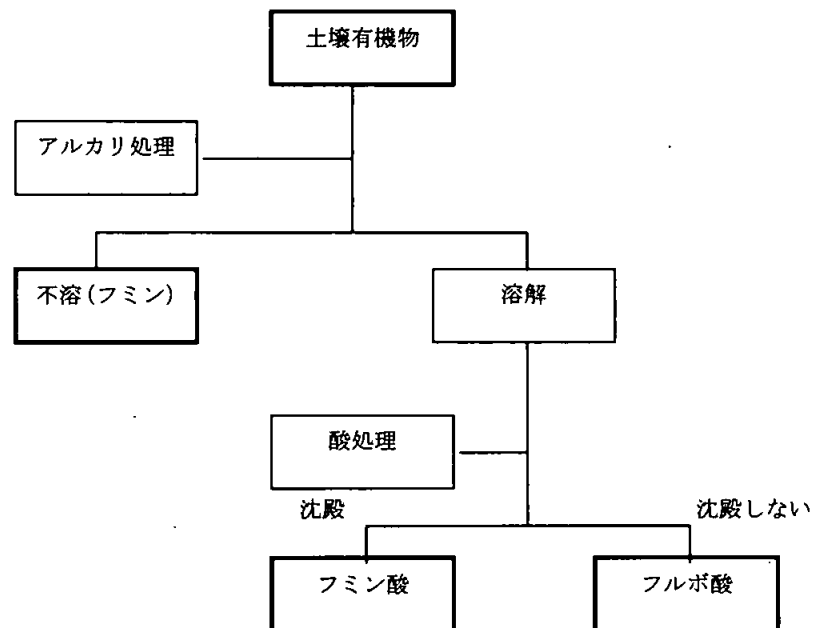
土壌試料は最初に100mlアセトニトリル+8ml水、そして100mlアセトニトリル+水(80+20, v)で4回、各々325rpmで60分間振盪して抽出した。各抽出ステップ後に土壌は遠心分離し(550g)抽出液試料を液体シンチレーション計数(LSC)に供した。

その後、土壌はアセトニトリル180mlで約6時間ソックスレー抽出し、抽出液の放射能をLSCによって定量した。冷抽出液とソックスレー抽出液は合わせて一部分を留去して濃縮した。残った水相は凍結乾燥し残留物を5mlメタノールに溶解した。最終的な濃縮液をLSCによって定量、TLCとHPLCによって分析した。

抽出後の土壌中放射能は、燃焼し放射能を測定した。

上記抽出後の残渣の一部は、さらに以下の分画スキームにて抽出した。上清液をTLCで分析、残渣を燃焼して放射能を測定した。

揮発性成分はNaOHトラップで捕集し、放射能はCO₂であることを確認した。



結果:

土壌中の放射能分布を表 1~2 に示す。

トリフロキシストロピンは、20℃好気性条件下の土壌で速やかに分解された。検体の半減期および DT90 値は、それぞれ 0.6 日および約 1.8 日であった。滅菌土壌中での代謝は著しく遅かった (DT₅₀ = 128 日)。主な抽出分解物として、が約 88 % (自然土壌) まで生成し、明
 らかな DT₅₀ および DT₉₀ は、それぞれであった。他の生成物の量は処理
 放射能の 3 % を下回った。好気性条件下の活性土壌での無機化の割合は高く (364 日後に約
 63 % まで) 非抽出残留物は約 24 % に達した。
 非抽出残留物は、さらにフミン 12.6%、フミン酸 1.8%、フルボ酸 2.1% 画分に分離した。

トリフロキシストロピンの分解は、主に親化合物の を經由して進行し、
、あるいは少量の
 を生成した。親の もまた、定量限界 (<1.2%) 程度が生成した。そ
 の他の分解経路からは、
が生成した。また を導いた。
 一部は、土壌中の結合残渣 (非抽出画分) となり最終的に CO₂ に分解される。

標識トリフロキシストロピンの好氣的土壌における想定代謝経路を図1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

表 1. 標識トリフロキシストロビン／好氣的条件

培養条件	培養 期間 (日)	トリフロキシスト ロビン [A]							未分離	抽出面分	非抽出	CO ₂	回収率
好氣的 反復1	0	94.37							1.07	98.09	0.08	-	98.17
	0.13	74.41							0.79	98.17	0.77	-	98.94
	0.25	68.87							0.74	99.05	0.77	-	99.82
	0.58	44.61							0.49	100.2	1.01	-	101.21
	1	25.31							0.37	98.22	0.99	-	99.21
	3	7.39							0.39	98.41	1.42	-	99.83
	7	1.43							0.98	94.44	2.66	2.89	99.99
	14	0.92							1.63	87.87	4.12	5.48	97.47
	40	0.54							2.68	75.66	8.92	14.18	98.76
	90	0.37							1.22	53.88	15.05	28.38	97.31
	180	0.37							0.62	26.28	21.99	48.07	96.34
271	0.33							0.75	10.87	24.41	56.00	91.28	
364	0.21							0.69	5.39	23.81	62.56	91.76	
好氣的 反復2	0	97.34							0.55	101.1	0.07	-	101.17
	0.13	76.86							0.83	98.79	0.78	-	99.57
	0.25	69.90							0.86	100.97	0.77	-	101.74
	0.58	44.87							0.51	99.9	1.00	-	100.9
	1	26.98							0.43	98.53	1.03	-	99.56
	3	7.22							0.48	98.29	1.43	-	99.72
	7	1.37							1.44	92.59	2.61	3.01	98.21
	14	0.92							1.63	88.45	4.12	5.55	98.12
	40	0.53							2.77	75.54	9.04	12.18	96.76
	90	0.33							0.8	53.49	15.81	28.82	98.12
	180	0.37							0.62	26.42	22.03	46.83	95.28
271	0.24							0.82	10.79	24.30	60.10	95.19	
364	0.16							0.69	5.45	23.72	64.51	93.68	

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. 標識トリフロキシストロビン/好氣的滅菌条件

培養条件	培養期間 (日)	トリフロキシ ストロビン [A]							未分離	抽出画分	非抽出	CO ₂	回収率
好氣的/滅菌 反復1	0	92.26							3.09	99.42	0.09	-	99.51
	30	87.36							3.36	97.14	1.15	0.02	98.31
	60	79.08							2.50	99.64	1.24	0.03	100.91
	90	58.28							1.95	99.14	1.42	0.03	100.60
反復2	0	91.21							3.25	99.12	0.08	-	99.20
	30	89.04							2.85	98.28	1.17	0.02	99.47
	60	64.45							2.29	100.62	1.23	0.03	101.88
	90	61.68							1.63	99.91	1.37	0.03	101.31

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

図 1 土壌における推定代謝経路