

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

Fluxapyroxad

2. 植物代謝に関する試験

2-1. ^{14}C -標識検体のトマトにおける代謝試験

(資料 代-P1)

試験機関：

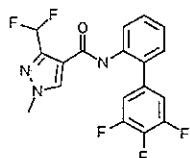
(GLP 対応)

報告書作成年：

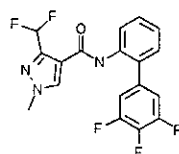
供試標識化合物

構造式：

A-標識体： $-\text{U-}^{14}\text{C}$ で均一に標識した 標識体



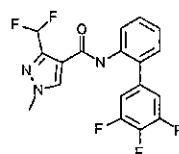
P-標識体： ^{14}C で標識した 標識体



^{14}C ： ^{14}C -標識部位

略 称	A-標識体	P-標識体
比放射能 (MBq/mg)		
放射化学的純度 (%)	98.2	98.6
化学的純度 (%)	97.3	97.9

N-標識体： ^{15}N 、 ^{15}N を標識した ^{15}N 標識体 (化学的純度 97.8%)



化学名：3-(ジフルオロメチル)-1-メチル-*N*-(3',4',5'-トリフルオロビフェニル-2-イル)-1*H*-ピラゾール-4-カルボキサミド (IUPAC)

供試植物：トマト (品種：Cedel)、1 植物/容器、13 容器/標識体

栽培環境：

植物の取り込み実験は 10L 容器 (上部直径 0.257m x 下部直径 0.195m x 高さ 0.24m) に壤質砂土 (German Scheme DIN4220) を充填した 13 容器を用い、各容器に 1 植物を植え付け、3 日間屋外で管理後、温室に移して管理した。

処理および試料採取：

処理製剤の調製：所定量の A-標識体を N-標識体のアセトニトリル溶液の所定量と混合 (55:45) し溶解した。P-標識体は所定量を非標識体 (純度 99.7%) と混合 (60:40) した。

その後、乳剤の白試料および水を加え、混合して散布液とした。

処理量、処理時期および試料採取時期：次表に示す。

処理量 (g ai/ha)		1 回目処理	2 回目処理	3 回目処理
設定量		100		
実処理量	A-標識体	100.2	108.6	118.5
	P-標識体	99.9	108.2	118.1
処理時期	植付後	55 日	62 日	69 日
試料採取時期		処理直後	処理直後	処理直後 最終処理 3 日後

処理方法：手動噴霧器で葉面処理

試料採取：各処理直後に 1 株/標識体ずつ採取し、茎葉および果実に分け、冷凍保存したが、分析しなかった。最終処理 3 日後には成熟果（少し色づいた果実を含む）、未熟の緑色果および茎葉（収穫後細断）を採取し、成熟果および茎葉を分析した。

分析方法：

総残留放射能 (TRR) の測定：

液体試料：一部試料にシンチレーションカクテルを添加した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。

固体試料：均質化試料の一部を燃焼して、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体試料と同様に LSC で放射能を計測した。

残留放射能の分画：

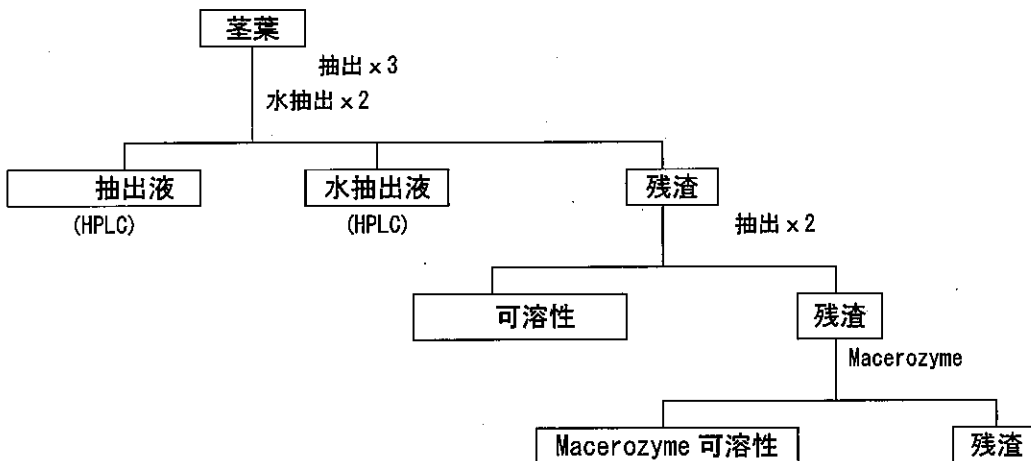
均質化および TRR の計測：抽出および TRR の測定前に、冷凍試料をミルでドライアイスと共に均質化した後、小分けして冷凍保存した。これを用いて、上記のように燃焼法で放射能を計測した。

抽出：均質化試料の一部はブレンダーを用いて抽出、遠心分離、濾過を 3 回繰り返して、抽出液はプールした。抽出残渣はさらに水で 2 回同様に抽出し、抽出液はプールした。この抽出液および水抽出液の合計を可溶性放射性残留 (ERR) とした。抽出残渣は凍結乾燥、均質化後、燃焼法で放射能を計測した (RRR)。ERR と RRR の合計を算出 TRR とし、表中の値はこの算出 TRR を用いた。

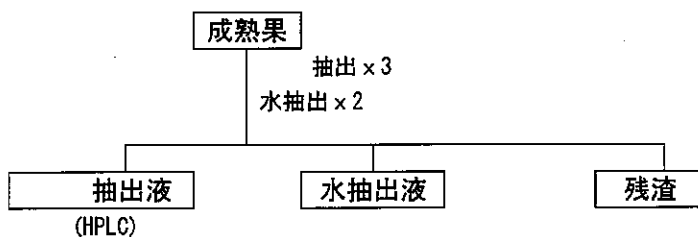
トマト茎葉の溶媒抽出後残渣の特徴付：抽出残渣を凍結乾燥後、ミルで均質化した後、1% 水を加えて、ブレンダーで抽出後、遠心分離して、可溶性画分を得た。抽出を 2 回繰り返して、可溶性画分をプールし、LSC で計測した。残渣は凍結乾燥後、均質化し、燃焼法で放射能を計測した。処理後の残渣は酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.9) に懸濁した後、Macerozyme R-10 を加えて 37°C で、72 時間振とう培養した。次いで、遠心分離して上清を分取した。残渣は凍結乾燥後、均質化し、燃焼法で放射能を計測した。

各試料の抽出スキームを以下に示す。

スキーム 1 : A-および P-標識体最終処理 3 日後の茎葉



スキーム 2 : A-および P-標識体最終処理 3 日後の果実



代謝物のパターンの分析・同定・定量：抽出液中の代謝物の定量には主として HPLC LC01 法 (Phenomenex Luna Phenyl-Hexyl-RP カラム) を用いた。代謝物の同定は標品および *Rhizopus oryzae* の細胞培養による単離代謝物とのクロマトグラフィーで保持時間の比較からピークの帰属を決定し、同定した。確認分析は HPLC LC02 法 (Phenomenex Columbus C18-RP カラム) を用いて行った。水溶液中の成分は LC01 および LC02 法を用い抽出液で得られた保持時間の比較から帰属を決定した。

の同定に用いた標品溶液には と MS で同定した微量の の 2 成分が含まれていたが、 のみの帰属は 2 成分の分離が可能な HPLC LC02 法で決定できた。 および の 2 成分からなる標品溶液は HPLC 法で分離できなかった。

保存安定性：収穫後 4 ヶ月間-18℃で冷凍保存した後、抽出した。次表に示すように、

抽出液は抽出 4 日後に分析し、水抽出液は抽出 1 ヶ月後に HPLC コクロマトグラフィーで定量した。さらに 抽出液は抽出後 10 週間以内に、水抽出液は抽出 15 週間以内に確認分析を行った。

試料	抽出液	採取から抽出までの期間	採取から分析までの期間	
			LC01	LC02
茎葉		120 日	124 日	187 日 ^a
	水	120 日	151 日	223 日
果実		120 日	124 日	187 日

^a: P-標識体は 188 日に分析した。

試験結果：

総残留放射能 (TRR)；均質化試料の一部を用いた燃焼法による TRR および抽出操作による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計に基づく TRR を表 1 に示す。

表 1 直接燃焼および抽出/残渣画分の合計による TRR

試料	最終処理後 日数 (DAT)	A-標識体		P-標識体	
		燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)	燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)
茎葉	3				
果実					

DAT：最終処理後収穫までの日数

燃焼法および抽出法に基づく TRR にはほとんど差が認められなかった。全ての TRR の計算には抽出法による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計を用いた。

最終処理 3 日後に収穫した試料中の抽出法による TRR は、A-標識体処理区では茎葉で mg/kg、果実で mg/kg であった。P-標識体処理区では、茎葉で mg/kg、果実で mg/kg であった。

残留放射能の抽出性；放射能の抽出性について表 2 に示す。

A-および P-標識体処理茎葉中の残留放射能の %TRR 以上が抽出された。大部分 (約 %TRR) は で抽出され、水での抽出率は %TRR 以下と少なかった。抽出後の RRR は %TRR 以下であった。

A-および P-標識体処理果実中の残留放射能の抽出性は茎葉とほとんど同様で、%TRR 以上が溶媒で抽出された。大部分 (%TRR 以上) は で抽出され、水での抽出率は %TRR 以下と少なかった。抽出後の RRR は %TRR 以下と少なかった。水抽出液および RRR 中の残留は非常に少なかったため、これらについてはこれ以上の分析をしなかった。

表 2 残留の抽出性

試料	DAT	TRR			水		溶媒可溶性 (ERR)		抽出残渣 (RRR)	
		mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
A-標識体										
茎葉	3									
果実										
P-標識体										
茎葉	3									
果実										

ERR の同定・特徴付および定量：

茎葉：最終処理 3 日後に収穫した茎葉中放射能の同定・特徴付した結果を表 3 (A-標識体) および表 4 (P-標識体) に示す。

A-標識体処理3日後に採取した茎葉の抽出液から主要な1ピークの他に微量のピークが認められた。主要なピークは親化合物(5.955mg/kg; %TRR)で、微量の2成分は (mg/kg; %TRR) および (mg/kg; %TRR)であった。さらに、 (mg/kg; %TRR) が同定された。他のピーク (mg/kg; %TRR) は同定できなかった。これらの結果は HPLC LC02 法で確認された。

水抽出液でも同様に主要な1ピークと微量ピークからなるクロマトグラムパターンが得られた。主要なピークは親化合物(0.084mg/kg; %TRR)で、2つの小ピークは (mg/kg; %TRR) および (mg/kg; %TRR)であった。さらに、 (mg/kg; %TRR) が同定された。他のピーク (mg/kg; %TRR) は同定できなかった。これらの結果は HPLC LC02 法で確認されたが、はこの方法では検出できなかった。

合計で %TRRがERRから同定され、 %TRRがHPLCの溶出パターンから特徴付された。RRRから可溶性画分として mg/kg; %TRRが遊離し、これは溶媒抽出が不十分であったか、あるいは不溶性植物成分(例えば、蛋白)と結合していたものと考えられる。次いで、Macerozyme 処理によりポリサッカライドが可溶化し mg/kg; %TRRが遊離した。合計で RRR 中の約 % (mg/kg; %TRR) が遊離した。最終残渣は mg/kg; %TRRであった。

表 3. A-標識体最終処理3日後に収穫した茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		水抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性(ERR)						
親化合物	5.955		0.084		6.039	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
抽出性残留の特徴付合計						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣(RRR)						
可溶性						
Macerozyme 処理上清						
遊離残留放射能の特徴付合計						
遊離残留放射能の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残留						
総合計						

¹: HPLC による分析。

²: ピーク。各ピークは mg/kg (%TRR)。

P-標識体処理 3 日後に採取した茎葉の抽出液から主要な成分として未変化の親化合物 (4.050mg/kg; %TRR)、その他に微量ピークが認められた。1 つは (mg/kg; %TRR)であった。他のピーク (mg/kg; %TRR) は同定できなかった。これらの結果は HPLC LC02 法で確認された。

水抽出液でも同様に主要な1ピークと微量4ピークからなるクロマトグラムパターンが得られた。抽出液で得られた代謝物の保持時間の比較から主要なピークは親化合物 (0.049mg/kg; 1.1% TRR) で、2 つの微量ピークは (mg/kg; %TRR) および (mg/kg; %TRR) と同定された。他のピーク (mg/kg; %TRR) は同定できなかった。これらの結果は HPLC LC02 法で確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

P-標識体処理茎葉の RRR も A-標識体処理茎葉と同様に可溶化処理し、可溶性画分として mg/kg; %TRR が、次いで、Macerozyme 処理により mg/kg; %TRR が遊離した。合計で RRR 中の約 % (mg/kg; %TRR) が遊離した。最終残渣は mg/kg; %TRR であった。

A-および P-標識体で得られた代謝物のパターンはほとんど同じで、標識体特異的代謝物は検出されなかった。

表 4. P-標識体最終処理 3 日後に収穫した茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		水抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	4.050		0.049		4.099	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
抽出性残留の特徴付合計						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
Macerozyme 処理上清						
遊離残留放射能の特徴付合計						
遊離残留放射能の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残留						
総合計						

¹: HPLC による分析。

²: 抽出液で ピーク、水抽出液で ピーク。各ピークは mg/kg (%TRR)。

果実: 最終処理 3 日後に収穫した果実中放射能の同定・特徴付した結果を表 5 (A-標識体) および表 6 (P-標識体) 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 BASF ジャパン株式会社にある。

Fluxapyroxad

A-標識体処理 3 日後に採取した果実の抽出液から主要な 1 ピークの他に微量 2 ピークが認められた。主要ピークは親化合物 (0.156mg/kg; % TRR) であった。微量の 1 成分は LC02 法で (mg/kg; %TRR) と同定されたが、他の 1 成分 (mg/kg; %TRR) は同定できなかった。

抽出液から合計で %TRR が同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

果実全体として、 %TRR が同定され、 %TRR が特徴付され、最終残渣は %TRR であった。

表 5. A-標識体最終処理 3 日後果実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		水抽出液 ³		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
F075 及び/又は F076						
F048						
F008						
親化合物	0.156		na		0.156	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
抽出性残留の特徴付合計						
ERR 中の特徴付合計						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計 ⁵						

nd : 未検出。

na : 未分析。

¹ : HPLC による分析。

² : 1 ピーク。

³ : HPLC で未分析。

P-標識体処理 3 日後に採取した果実の抽出液から 1 ピークのみ検出され、親化合物 (0.111mg/kg; % TRR) であった。この結果は HPLC LC02 法で確認された。

果実全体として、 %TRR が同定され、 %TRR が特徴付され、最終残渣は %TRR であった。

表 6. P-標識体最終処理 3 日後果実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		水抽出液 ²		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.111		na		0.111	
同定合計						
その他 HPLC による						
抽出性残留の特徴付合計						
ERR 中の特徴付合計						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd : 未検出。

na : 未分析。

¹ : HPLC による分析。

² : HPLC で未分析。

保存安定性 (表)

親化合物および代謝物は抽出後 3 ヶ月以内に HPLC コクロマトグラフィーで分析した。保存安定性は抽出液を冷凍保存後、10-15 週間以内に再分析した。代謝物のパターンに顕著な差はなく、保存中安定であることが確認された。

まとめ:

トマトの生育期に 100g ai/ha を処理間隔 7 日として 3 回 [植付後 55、62 および 69 日] 茎葉に噴霧器で処理し、処理 3 日後に茎葉および果実 (未熟果および成熟果) を収穫した。茎葉および成熟果について残留を分析した。

TRR は茎葉で高く (A-標識体 6.703mg/kg、P-標識体 4.456mg/kg)、果実では非常に少なかった (A-標識体 0.166mg/kg、P-標識体 0.112mg/kg)。

A-および P-標識体処理茎葉および果実とも残留放射能の抽出性は高く (%TRR 以上)、大部分 (約 %TRR 以上) は で抽出された。抽出後の RRR は %TRR 以下であった。

同定された残留放射能は A-および P-標識体でそれぞれ果実では %および %TRR、茎葉では %および %TRR であった。果実では %および %TRR、茎葉では %TRR および %が特徴付された。

茎葉の RRR の および Macerozyme 処理による可溶化処理で A-標識体では RRR 中の約 % (mg/kg ; %TRR) が、P-標識体では約 % (mg/kg ; %TRR) が遊離した。

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

Fluxapyroxad

主要な残留成分は親化合物で果実では 94%TRR 以上、茎葉では 90%TRR 以上を占めていた。代謝物として、微量の (果実は A-標識体のみ、茎葉は両標識体) および (茎葉: A-標識体のみ) が同定された。さらに、分離はできなかったが、 が茎葉で同定された(表 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 BASF ジャパン株式会社にある。

Fluxapyroxad

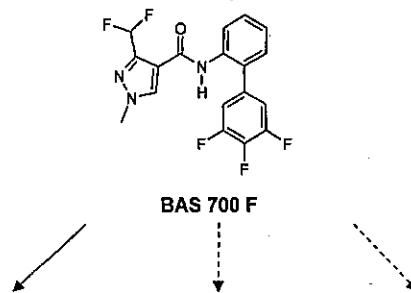
表 7. 同定物質のまとめ

標識体	代謝物	茎葉		果実	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
A-標識体	親化合物	6.039	90.1	0.156	94.4
P-標識体	親化合物	4.099	92.0	0.111	98.5

nd : 未検出

本化合物は主にピラゾール環の (), 次いで、ピラゾール環の () が起こる。微量の経路として、トマト茎葉中で親化合物のビフェニル基の あるいは () がある。この代謝経路は小麦およびトマトと同様である。

想定代謝経路：想定代謝経路を以下に示す。



トマトにおける想定代謝経路

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

Fluxapyroxad

2-2. ^{14}C -標識検体の大豆茎葉処理による代謝試験

(資料 代-P2)

試験機関：

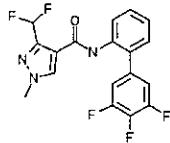
(GLP 対応)

報告書作成年：

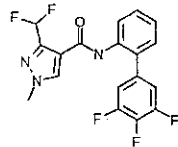
供試標識化合物

構造式：

A-標識体： ^{-14}C で均一に標識した 標識体



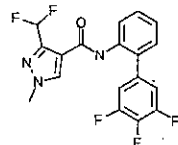
P-標識体： ^{-14}C で標識した 環標識体



^{14}C : ^{14}C -標識部位

略 称	A-標識体	P-標識体
比放射能 (MBq/mg)		
放射化学的純度 (%)	98.2	99.8
化学的純度 (%)	97.3	99.0

N-標識体： ^{-15}N 、 ^{-15}N を標識した ^{15}N 標識体



化学名：3-(ジフルオロメチル)-1-メチル-N-(3',4',5'-トリフルオロビフェニル-2-イル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (IUPAC)

供試植物：大豆 (品種：Pioneer 9091)、13 粒/容器、8 容器/標識体

栽培環境：

米国の代表的大豆生産地域の自然気象条件を模した人工気象室および温室内に設置したプラスチック製容器 (36.5 x 56 cm) に Schlag 33b 壤質砂土を充填した 8 容器 (1.64m²/標識体) を用いて行った。

処理：

処理製剤の調製：所定量の A-標識体を N-標識体のアセトニトリル溶液の所定量と混合し溶解した。P-標識体は所定量を非標識体 (純度 99.3%) と混合した。その後、乳剤の白試料および水を加え、混合して散布液とした。

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

Fluxapyroxad

設定処理量：60g a. i. /ha

処理時期/方法：BBCH16-17、51-59 および 71-75 の 3 回自動噴霧器で葉面処理

試料採取；1 回目処理直後（0 日）、3 回目処理直前（=2 回目処理 14 日後）および最終
処理約 1 ヶ月後（BBCH89）

播種との関連を次表に示す。

播種後 日数	生育時期 (BBCH)	処理	収穫
42	16-17	1 回目処理	
42			4 植物/処理直後（0 日）
49	51-59	2 回目処理 (1 回目処理 7 日後)	
63	71-75		4 植物/3 回目処理直前(1 回目処理 21 日後=2 回目処理 14 日後)
63	71-75	3 回目処理 (2 回目処理 14 日後)	
85			落葉(hay)採取（最終処理 22 日後）
92			落葉(hay)採取（最終処理 29 日後）
97	89		落葉(hay)採取、藁(straw)、種皮 (hull)、子実（最終処理 34 日後）

分析方法：

総残留放射能 (TRR) の測定；

液体試料/懸濁固形物：一部試料にシンチレーションカクテルを添加した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。

固体試料：均質化試料の一部を燃焼して、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体試料と同様に LSC で放射能を計測した。

残留放射能の分画；

均質化および TRR の計測：抽出および TRR の測定前に、冷凍試料をミルでドライアイスと共に均質化した後、小分けして冷凍保存した。これを用いて、上記のように燃焼法で放射能を計測した。

抽出：処理直後に採取した青刈り茎葉の均質化試料はブレンダーを用いて抽出、遠心分離、濾過を数回繰り返して、抽出液はプールした。抽出残渣はさらに水で 2 回同様に抽出し、抽出液はプールした。この抽出液および水抽出液の合計を可溶性放射性残留 (ERR) とした。抽出残渣は均質化後、燃焼法で放射能を計測した (RRR)。ERR と RRR の合計を算出 TRR とし、表中の値はこの算出 TRR を用いた。

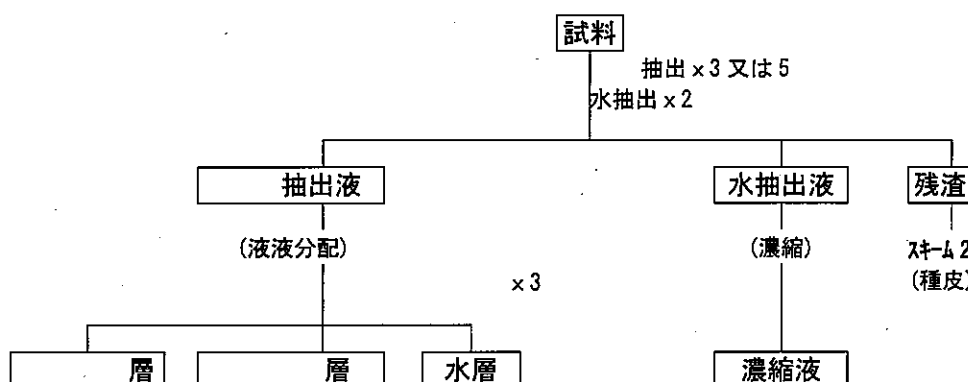
可溶性残留の液液分配：抽出液の抽出液を蒸発させた後、抽出液を 3 回分配し、各層をプール後、定容し、LSC および HPLC で分析した。子実の抽出液は濃縮後、水に再溶解した後、抽出液を 3 回分配した。有機層は脱水後、濃縮、水層は抽出液を除去後、定容し、同様に分析した。

蛋白除去：子実抽出液はアセトンを用いて一晚冷蔵保存して蛋白を沈澱させた後、遠心分離し、上清を除去後、再度蛋白沈澱を繰り返した後、上清をプールした。次いで、アセトンを蒸発させ、LSC で放射能を計測した。沈殿物は乾燥後、放射能を計測した。

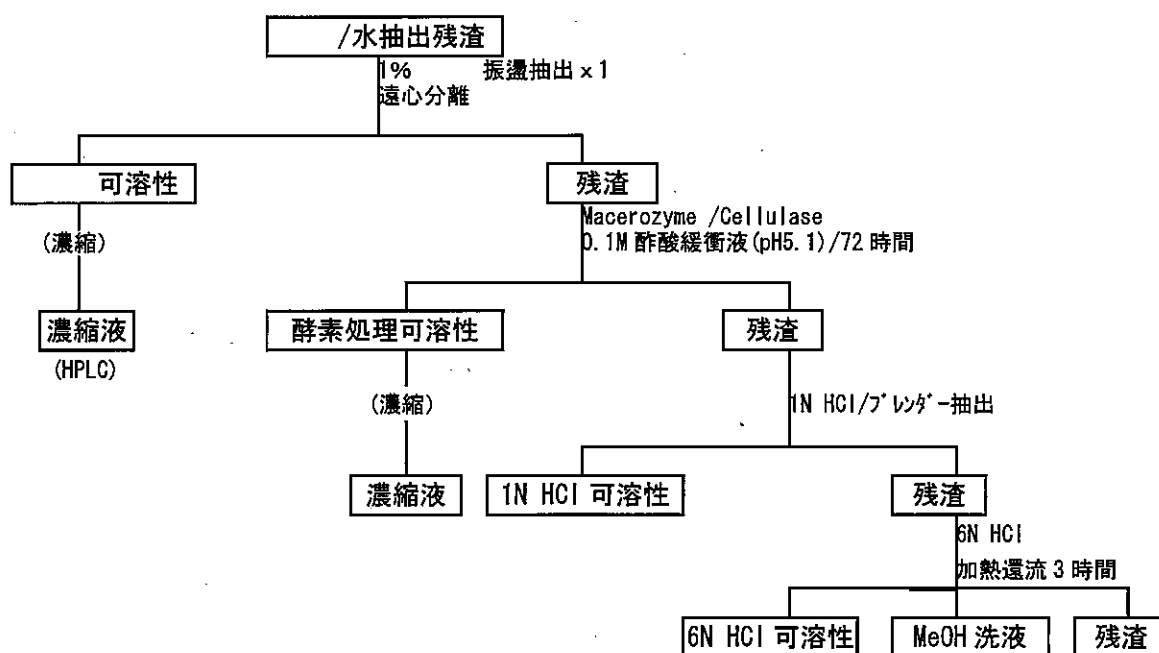
代謝物のパターンの分析：プール抽出液あるいは濃縮抽出液については HPLC で分析した。種皮の場合、RRR の溶解液および Macerozyme/Cellulase 処理後の上清について HPLC で分析した。

各試料の抽出スキーム（括弧内の Fig. 番号は原文中の番号を示す）を以下に示す。

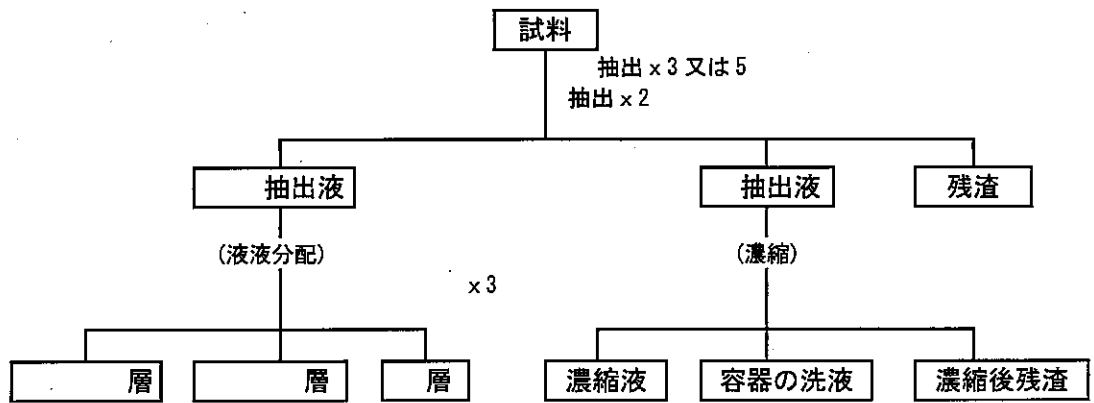
スキーム 1: A-標識体処理直後 (Fig. 2) および P-標識体処理 21 日後の青刈り茎葉 (Fig. 5)、最終処理 34 日後の藁 (Fig. 9) および種皮 (Fig. 10)



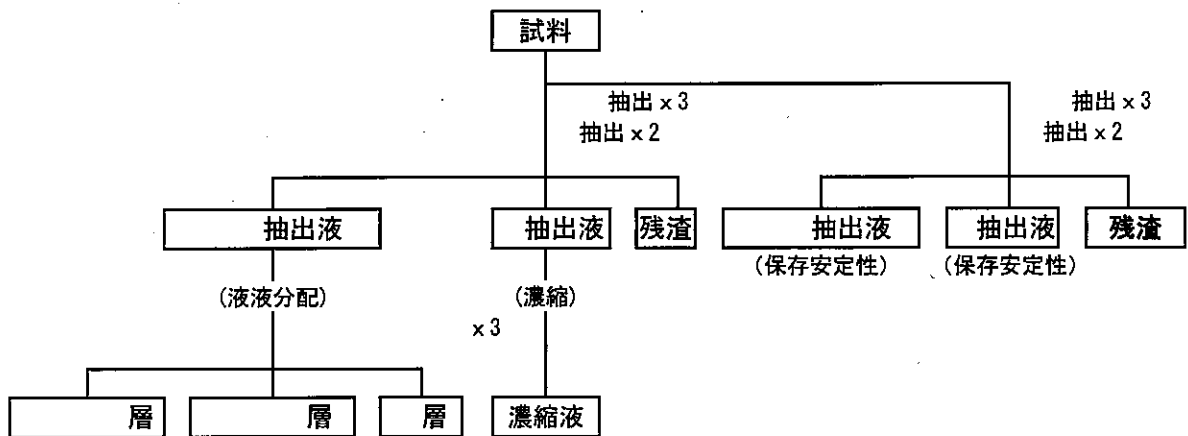
スキーム 2：標識体処理種皮（最終処理 34 日後収穫）の溶媒非抽出性残留 (RRR) の可溶化 (Fig11,13)



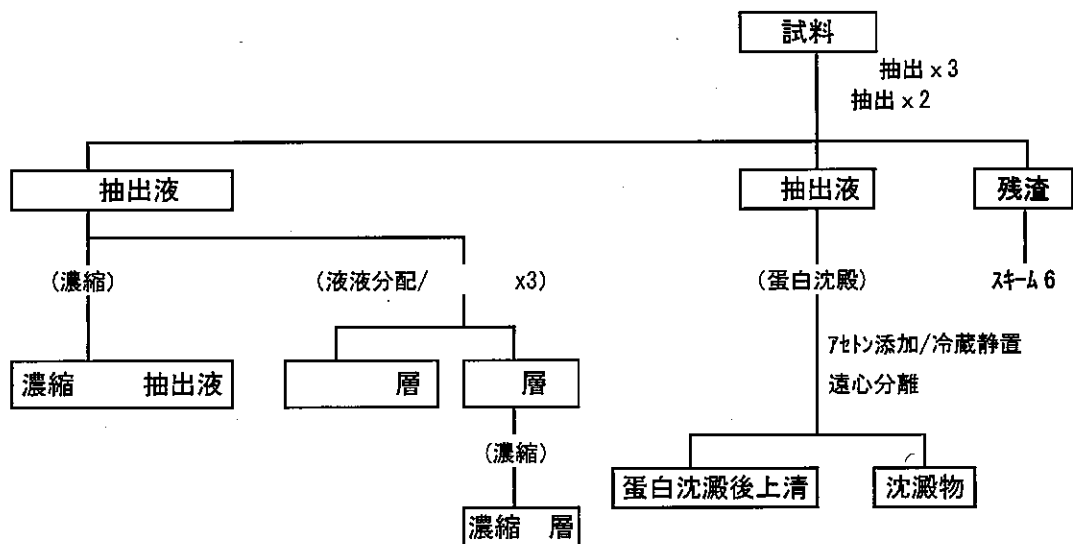
スキーム 3: P-標識体処理直後 (Fig. 3) および A-標識体処理 21 日後の青刈り茎葉 (Fig. 4)、最終処理 34 日後の種皮 (Fig. 12)



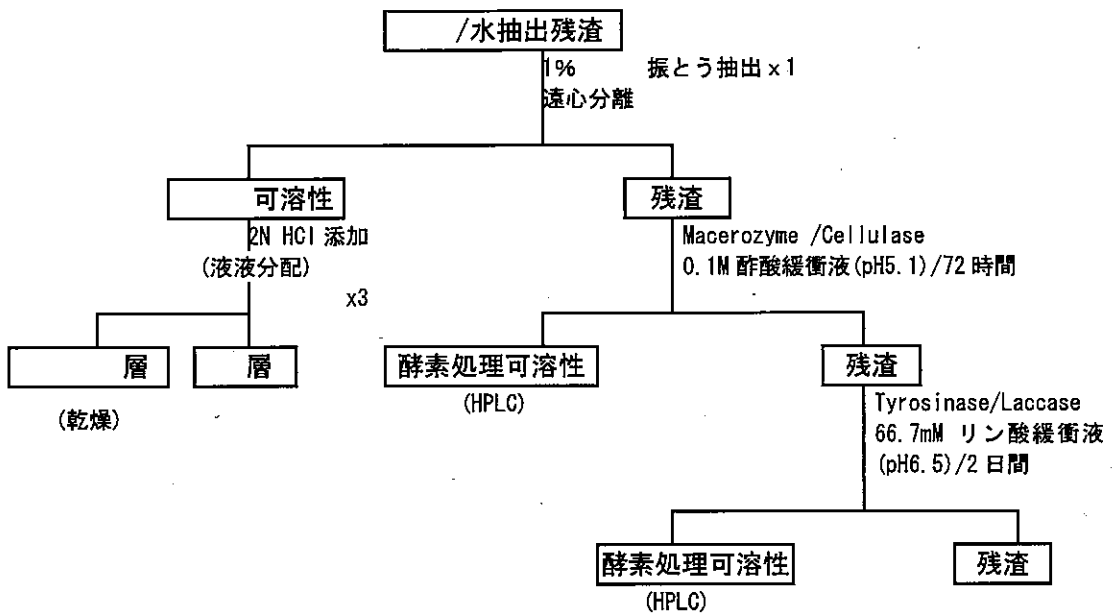
スキーム 4: A-標識体最終処理 22-34 日後の落葉の抽出、液液分配および保存安定性 (Fig. 7)



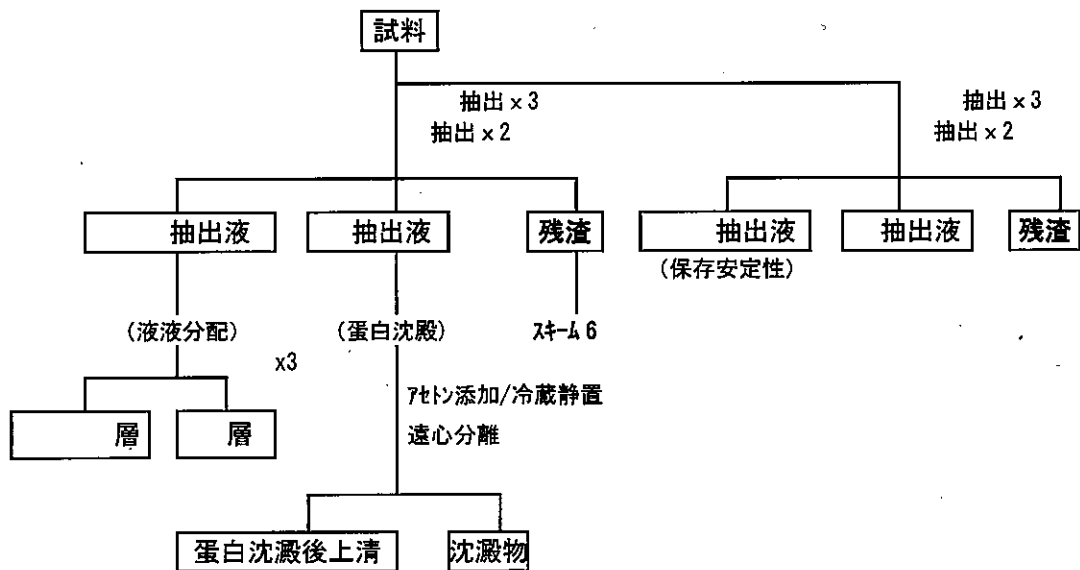
スキーム 5: A-標識体処理子実 (最終処理 34 日後収穫) の溶媒抽出、液液分配および蛋白沈殿 (Fig. 14)



スキーム 6: A-および P-標識体処理子実 (最終処理 34 日後収穫) の溶媒抽出後残渣 (RRR) の可溶化 (Fig. 15, 17)



スキーム 7：P-標識体処理子実（最終処理 34 日後収穫）の溶媒抽出、液液分配および保存安定性 (Fig. 16)



代謝物のパターンの分析・同定・定量：抽出液中の代謝物の定量には HPLC（主に Phenomenex Luna Phenyl-Hexyl -RP カラム）を用いた。代謝物の同定は A-標識体処理落葉の精製した抽出液の LC/MS、LC/MS/MS あるいは NMR で行った。さらに、P-標識体処理子実については標品とのクロマトグラフィーで同定した。HPLC ピークの帰属は同定物質と標品の保持時間、HPLC 溶離プロフィール、代謝物のパターンの比較で行った。確認 HPLC 分析は Phenomenex Columbus C18-RP カラムを用いて行った。

酵素加水分解: A-標識体処理落葉の抽出液の特定の画分を蒸発乾固後、酸性 0.1M 緩衝液に再溶解後、β-グルコシダーゼおよびヘスペリディナーゼを添加

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

Fluxapyroxad

した。一晚インキュベーション後、
を加えて抽出し、遠心分離後、上清を濃縮、溶離液を添加後、HPLC およびコクロマトグラフィーで分析した。

この特定の画分を蒸発乾固後、
に再溶解し、ペプシン含有 0.5%NaCl (pH2) あるいはパンクレアチン含有 0.5%NaCl (pH8) を加え、4 あるいは 7 時間振盪した。次いで、反応液に溶離液を加えた後、HPLC で分析した。

さらに、再溶解
液に、グルコース-6-リン酸-脱水素酵素および NADPH 含有 S9-Mix リン酸緩衝液 (pH7.4) を加え、3 時間振盪後、反応をアセトンで停止させた後、遠心分離した。反応液中のアセトンを蒸発、水を添加し、溶離液を混合後、HPLC で分析した。

酸加水分解：酵素加水分解に用いた同じ画分を 2N HCl を用い加熱 (90°C) 還流した。次いで、2N NaOH で中性とした後、
で分配し、大部分の放射能を含む層を濃縮後、HPLC およびコクロマトグラフィーで分析した。

アルカリ加水分解：酵素加水分解に用いた同じ画分を 1M NaOH を用い加熱 (90°C) 還流した。次いで、中性とした後、
で分配し、大部分の放射能を含む層を濃縮後、HPLC で分析した。

保存安定性：用事まで -18°C で冷凍保存した P-標識体処理落葉 (最終処理後 22-34 日) および子実 (最終処理後 34 日) の代表的試料を用いて安定性を検討した (スキーム 4 および 7 を参照)。次表に示す時期に抽出あるいは HPLC で分析し、パターンを比較した。

試料	採取から抽出までの期間	採取から分析までの期間
落葉	33 日	52 日、68 日 (初回分析)
		143 日、229 日 (再分析)
	300 日	313 日、314 日 (保存安定性分析)
子実	19 日	34 日 (初回分析)
		188 日、295 日 (再分析)
	300 日	307 日 (保存安定性分析)

試験結果：

総残留放射能 (TRR)；均質化試料の一部を用いた燃焼法による TRR および抽出操作による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計に基づく TRR を表 1 に示す。

表 1 直接燃焼および抽出/残渣画分の合計による TRR

試料	処理後日数 (DAT/PHI)	A-標識体		P-標識体	
		燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)	燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)
青刈り茎葉	ODAT				
	21DAT (2 回目処理 14 日後)				
落葉	22-34PHI (3 回処理後 22-34 日)				
莖	34PHI (3 回処理後 34 日)				
種皮					
子実					

DAT：処理後収穫までの日数

PHI：最終処理後収穫までの日数

燃焼法および抽出法に基づく TRR にはわずかの差が認められたが、試料の不均等および燃焼に用いた試料が少ないためであると考えられる。しかし、両者に顕著な差は認められなかった。したがって、全ての TRR の計算には抽出法による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計を用いた。

抽出法による TRR は、A-標識体処理区では処理直後の青刈り茎葉で mg/kg、21DAT (2 回目処理 14 日後) で mg/kg、22-34PHI (3 回目処理後 22-34 日) で落葉が mg/kg、34PHI (3 回目処理後 34 日) で莖が mg/kg、種皮が mg/kg、子実が mg/kg であった。

P-標識体処理区では処理直後の青刈り茎葉で mg/kg、21DAT で mg/kg、22-34PHI で落葉が mg/kg、34PHI で莖が mg/kg、種皮が mg/kg、子実が mg/kg であった。落葉の残留放射能が青刈り茎葉に比し、非常に高かったが、成熟に伴う水分の消失のためと考えられる。子実の残留放射能は最も少なかった。A-および P-標識体間の残留量の差は生物学的および技術的変動の範囲内であると考えられるが、子実では P-標識体の残留が多く、標識体特異的代謝物の取り込みによると考えられる。

残留放射能の抽出性；放射能の抽出性について表 2 に示す。

A-および P-標識体処理青刈り茎葉、落葉および莖の残留放射能の %TRR 以上が抽出された。大部分は で抽出され、水での抽出率は %TRR 以下と少なかった。種皮では約 %TRR が抽出され、大部分は で抽出され、水での抽出率は %TRR とわずかに多かった。A-標識体処理子実では約 %TRR、P-標識体処理子実では約 %TRR が抽出され、多くは で抽出され、水での抽出率は他の試料よりさらに多かった (A-標識体で %TRR、P-標識体で %TRR)。抽出残渣 (RRR) 中の放射能は経時的に増加していた。

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

Fluxapyroxad

表 2 残留の抽出性

試料	DAT /PHI	TRR				溶媒可溶性 (ERR)		抽出残渣 (RRR)		
		mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
A-標識体										
青刈り茎葉	ODAT									
	21DAT									
落葉	22-34PHI									
藁										
種皮	34PHI									
子実										
P-標識体										
青刈り茎葉	ODAT									
	21DAT									
落葉	22-34PHI									
藁										
種皮	34PHI									
子実										

抽出液を液液分配した結果を表 3 に示す。

抽出液を および を用いて液液分配した結果、抽出液中の放射能のほとんどが有機溶媒で抽出され、水溶性の画分は子実 (A-標識体で %TRR、P-標識体で %TRR) を除いて %TRR と非常に少なかった。

表 3. 抽出液の液液分配特性

試料	DAT /PHI	液液分配										回収率 *
		溶媒可溶性								水溶性		
		計		計		計		計				
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	%
A-標識体												
青刈り茎葉	ODAT											
	21DAT											
落葉	22-34PHI											
藁												
種皮	34PHI											
子実												
P-標識体												
青刈り茎葉	ODAT											
	21DAT											
落葉	22-34PHI											
藁												
種皮	34PHI											
子実												

*: (可溶性 + 可溶性 + 水溶性) × 100 / 抽出性

ERR の同定・特徴付および定量：

A-標識体処理直後 (ODAT) 大豆青刈り茎葉 (表 4)：

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物 (mg/kg ; % TRR) であった。この他に、微量の を含むピーク (mg/kg ; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。不純物に由来すると考えられる親化合物より極性の低いピーク (mg/kg ; %TRR) も検出された。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (0.042mg/kg ; 0.7% TRR) であった。他のピークは極性が高く、極微量 (mg/kg ; %TRR) であったので、これ以上の検討はしなかった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

表 4. A-標識体処理直後 (ODAT) の青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	6.221		0.042		6.264	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd : 検出せず

¹ : HPLC による分析。

² : 2 ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³ : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体処理直後 (ODAT) 大豆青刈り茎葉 (表 5)：

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (4.225mg/kg ; % TRR) であった。他のピークは を含む微量のピーク (mg/kg ; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (0.040mg/kg ; % TRR) であった。他に を含むピーク (mg/kg ; %TRR) が検出された。その他 ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) で、このうちの 1 ピークは不純物に由来す

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

Fluxapyroxad

ると考えられる親化合物より僅かに極性の低いピークであった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

表 5. P-標識体処理直後 (ODAT) の青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	4.225	96.7	0.040	0.9	4.264	97.6
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体処理 21DAT 大豆青刈り茎葉 (表 6):

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物 (4.739mg/kg; % TRR) で、微量の (mg/kg; %TRR) も同定された。 を含む微量のピーク (mg/kg; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他のピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、ピークは不純物に由来すると考えられる親化合物より極性の低いピークであった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (0.035mg/kg; % TRR) で、微量の (mg/kg; %TRR) も同定された。さらに、 を含む微量のピーク (mg/kg; %TRR) が検出された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、内 ピークは不純物に由来すると考えられる親化合物より僅かに極性の低いピークであった。未変化の親化合物は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

表 6. A-標識体処理 21DAT の青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	4.739		0.035		4.774	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd : 検出せず

¹ : HPLC による分析。

² : ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³ : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体処理 21DAT 大豆青刈り茎葉 (表 7) :

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物 (4.251mg/kg ; % TRR) で、微量の (mg/kg ; %TRR) も同定された。 を含む微量のピーク (mg/kg ; %TRR) も検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他のピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (0.026mg/kg ; % TRR) で、微量の (mg/kg ; %TRR) も同定された。さらに、 を含む微量のピーク (mg/kg ; %TRR) が検出された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) であった。未変化の親化合物および は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

両標識体で得られた代謝物のパターンは質的および量的に類似していた。

表 7. P-標識体処理 21DAT の青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	4.251		0.026		4.277	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピーク。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体処理 22-34PHI 大豆落葉 (表 8):

表 8. A-標識体処理 22-34PHI 大豆落葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	52.769		1.490		54.259	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物 (52.769mg/kg ; % TRR) で、 (mg/kg ; % TRR) も同定された。 を含むピーク (mg/kg ; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) で、ピークは不純物に由来すると考えられる親化合物より極性の低いピークであった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、

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

Fluxapyroxad

さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (1.490mg/kg ; % TRR) で、微量の (mg/kg ; %TRR) も同定された。さらに、 を含む微量のピーク (mg/kg ; %TRR) が検出された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) で、内 ピークは不純物に由来すると考えられる親化合物より僅かに極性の低いピークであった。未変化の親化合物および は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

A-標識体処理落葉の濃縮 抽出液から得た HPLC サブ画分のスペクトル分析：

代謝物の構造決定をするために、 抽出液を HPLC で分画し、 画分を分取し、濃縮画分を別条件の HPLC 法で分画して 4 サブ画分を得た。これらの画分を LC-MS(/MS) および NMR で分析し、保持時間、MS ピークの質量およびアイソトープパターン、フラグメントパターンから以下の代謝物の構造を決定した。

サブ画分 1： (保持時間 分)； (保持時間 分)

サブ画分 2： (保持時間 分)； (保持時間 分)； (保持時間 分)； (保持時間 分)； (保持時間 分)； (保持時間 分)； (保持時間 分)

サブ画分 3： (保持時間 分)； (保持時間 分)； (保持時間 分)

サブ画分 4： (保持時間 分)； (保持時間 分)

また、 は 抽出液の液液分配の 層からも LC-MS(/MS) で同定された。

P-標識体処理大豆落葉 (表 9)：

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物 (45.638mg/kg ; % TRR) で、 (mg/kg ; %TRR) も同定された。 を含むピーク (mg/kg ; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (1.294mg/kg ; % TRR) で、微量の (mg/kg ; %TRR) も同定された。 を含むピーク (mg/kg ; %TRR) が検出された。他の微量の ピークはいずれも (mg/kg ; %TRR) 同定しなかった。未変化の親化合物および は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

両標識体で得られた代謝物のパターンは質的および量的に類似していた。

表 9. P-標識体処理 22-34PHI 大豆落葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	45.638		1.294		46.932	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体処理 34PHI 大豆葉 (表 10):

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物(0.911mg/kg; % TRR)で、 (mg/kg; %TRR) も同定された。 を含むピーク (mg/kg; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の非極性の微量の ピーク (mg/kg; %TRR) は不純物に由来すると考えられるピークであった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

水抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物(0.020mg/kg; % TRR)で、微量の (mg/kg; %TRR) も同定された。さらに、 を含む微量のピーク (mg/kg; %TRR) が検出された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、内 ピークは不純物に由来すると考えられる物質であった。未変化の親化合物および は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

表 10. A-標識体処理 34PHI 大豆藁中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.911		0.020		0.931	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd : 検出せず

¹ : HPLC による分析。

² : ピークまで。各ピークは (mg/kg (%TRR))。

³ : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体処理大豆藁 (表 11) :

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物 (0.721 mg/kg ; % TRR) であった。 (mg/kg ; %TRR) を含むピーク (mg/kg ; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物 (0.028mg/kg ; % TRR) であった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg ; %TRR) で同定しなかった。これらの内、不純物に由来すると考えられる物質および (mg/kg ; %TRR) に相当する成分が検出された。HPLC 条件の異なる分析法で未変化の親化合物が確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

両標識体で得られた代謝物のパターンは、 が P-標識体の 抽出液中で検出されなかったことを除いて、質的および量的に類似していた。

表 11. P-標識体処理 34PHI 大豆葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.721		0.028		0.749	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体処理 34PHI 大豆種皮 (表 12):

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物(1.674mg/kg; % TRR)で、 (mg/kg; %TRR) も同定された。 を含むピーク (mg/kg; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、うち ピークは不純物に由来すると思われる成分であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、1 ピークは親化合物(0.039mg/kg; % TRR)で、微量の (mg/kg; %TRR) も同定された。さらに、 に相当する微量のピーク (mg/kg; %TRR) が検出された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で同定しなかった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。さらに、RRR から mg/kg(%TRR) が同定され、 mg/kg(%TRR) が特徴付された。

表 12. A-標識体処理 34PHI 大豆種皮中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	1.674		0.039		1.713	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR) ⁴						
遊離残留放射能の同定合計						
遊離残留放射能の特徴付合計						
遊離残留放射能の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残留						
総合計 ⁵						

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

⁴: 詳細は表 13 参照

⁵: RRR の同定/特徴付 (原文 107 頁 Table 19) を含めた合計とした。

A-標識体処理 34PHI 大豆種皮溶媒抽出残渣の可溶化処理 (表 13): による可溶化処理で、 mg/kg (%TRR) が遊離し、この HPLC 分析で、ピークが検出され、1 ピークは未変化の親化合物 (0.007mg/kg; %TRR) で、他の ピーク (mg/kg; %TRR および mg/kg; %TRR) は微量で同定しなかった。 による可溶化処理後の残渣に mg/kg (%TRR) の残留があったので、Macerozyme/Cellrase で処理し、 mg/kg (%TRR) が遊離した。この HPLC 分析で ピークが検出され、最大のピークは未変化の親化合物 (0.034mg/kg; %TRR) で、 に相当する微量のピーク (mg/kg; %TRR) が検出された。残りの ピークのいずれも微量 (mg/kg; %TRR) であったので、これ以上の検討はしなかった。さらに、酵素処理残渣を 1N HCl で処理して mg/kg (%TRR) が遊離し、次いで 6N HCl で還流し mg/kg (%TRR) が遊離し、最終残留は mg/kg (%TRR) となった。

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

Fluxapyroxad

表 13. A-標識体処理 34PHI 大豆種皮の抽出残渣から遊離した残留放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	RRR から遊離した画分					
	可溶性 ¹		Macerozyme/Cellrase 処理可溶性 ¹		合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
RRR						
遊離残留放射能						
親化合物	0.007		0.034		0.041	
同定合計(遊離残留放射能から)						
その他 HPLC ピーク ²						
RRR から遊離した放射能の特徴付合計 (HPLC による)						
1N HCl 処理後上清						
6N HCl 処理後上清						
6N HCl 処理後メタノール洗浄						
6N HCl 処理後遊離残留の合計						
可溶化処理による RRR の特徴付合計						
遊離残留放射能の特徴付合計						
RRR から遊離した残留放射能の同定/特徴付合計						
最終残渣						
遊離残留放射能および最終残渣の合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

P-標識体処理大豆種皮 (表 14):

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物(1.181mg/kg; % TRR)で、 (mg/kg; %TRR)、 (mg/kg=代謝物の分子量で再計算値 mg/kg; %TRR) も同定された。 を含むピーク (mg/kg; %TRR) が検出されたが、微量でありこれ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、うち ピークは不純物に由来すると考えられる成分であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から ピークが得られ、量的に最も多い 2 ピークは親化合物(0.022mg/kg; % TRR)および (mg/kg; %TRR) であった。 に相当する微量のピーク (mg/kg; %TRR) が検出された。さらに、 (mg/kg=代謝物の分子量で再計算値 mg/kg; %TRR) も同定された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、うち ピークは不純物に由来すると考えられる成分であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法でも確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから特徴付された。

両標識体で得られた代謝物のパターンは、 が P-標識体で検出されなかったことを除

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

Fluxapyroxad

いて、質的および量的に類似していた。さらに、RRR から mg/kg (%TRR) が同定され、 mg/kg (%TRR) が特徴付された。

表 14. P-標識体処理 34PHI 大豆種皮中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	1.181		0.022		1.203	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR) ⁴						
遊離残留放射能の同定合計						
遊離残留放射能の特徴付合計						
遊離残留放射能の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残留						
総合計 ⁵						

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

⁴: 詳細は表 15 参照

⁵: RRR の同定/特徴付 (原文 110 頁 Table 22) を含めた合計とした。

P-標識体処理 34PHI 大豆種皮溶媒抽出残渣の可溶化処理 (表 15): による可溶化処理で、 mg/kg (%TRR) が遊離し、この HPLC 分析で、ピークが検出され、1 ピークは未変化の親化合物 (0.005mg/kg; %TRR) で、他のピーク (各ピークは mg/kg; %TRR) は微量で同定しなかったが、この内のピークは に相当すると思われた。による可溶化処理後の残渣に mg/kg (%TRR) の残留があったので、Macerozyme/Cellrase で処理し、 mg/kg (%TRR) が遊離したが、マトリックス効果のため信号対ノイズ比が最適下限であり、定量評価できなかったが、親化合物、および が存在すると思われた。さらに、酵素処理残渣を 1N HCl で処理して mg/kg (%TRR) が遊離し、次いで 6N HCl で還流し mg/kg (%TRR) が遊離し、最終残留は mg/kg (%TRR) となった。

両標識体で得られた による可溶化処理および Macerozyme/Cellrase 処理、並びに 1N および 6N HCl 処理して得られた代謝物のパターンは、質的および量的に類似していた。

表 15. P-標識体処理 34PHI 大豆種皮の抽出残渣から遊離した残留放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	RRR から遊離した画分					
	可溶性 ¹		Macerozyme/Cellrase 処理可溶性 ¹		合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
RRR						
遊離残留放射能						
親化合物	0.005		ng		0.005	
同定合計(遊離残留放射能から)						
その他 HPLC ピーク ²						
RRR から遊離した放射能の特徴付合計(HPLCによる)						
1N HCl 処理後上清						
6N HCl 処理後上清						
6N HCl 処理後メタノール洗浄						
6N HCl 処理後遊離残留の合計						
可溶化処理による RRR の特徴付合計						
遊離残留放射能の特徴付合計						
RRR から遊離した残留放射能の同定/特徴付合計						
最終残渣						
遊離残留放射能および最終残渣の合計						

nd: 検出せず

ng: 定量できなかった。

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)

A-標識体処理 34PHI 大豆子実 (表 16):

抽出液から ピークが得られ、最大のピークは親化合物(0.023mg/kg; % TRR) および (mg/kg; %TRR) であった。 を含む微量ピーク (mg/kg; %TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、うち ピークは不純物に由来すると考えられる成分であった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から蛋白を沈殿 (mg/kg; %TRR) させた後、上清から水抽出液中の放射能の約 2/3 (mg/kg; %TRR) が回収され、これを HPLC で分析した。沈殿物の分析はこれ以上しなかった。 ピークが得られ、最大のピークは (mg/kg; % TRR) で、親化合物(0.001mg/kg; % TRR) も同定された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で同定しなかった。条件の異なる HPLC 分析法で親化合物を除く代謝物のパターンが確認された。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから、さらに、 %TRR が蛋白として特徴付された。

表 16. A-標識体処理 34PHI 大豆子実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.023		0.001		0.024	
同定合計					0.047	41.0
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
抽出液の沈殿物 (蛋白)						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
Macerozyme/Cellrase 処理可溶性						
Tyrosinase/Laccase 処理可溶性						
遊離残留放射能の特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残留						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体処理 34PHI 大豆子実 (表 17):

抽出液から ピークが得られ、最大の ピークは親化合物 (0.019mg/kg; % TRR)、 (mg/kg; %TRR) および (mg/kg=代謝物の分子量で再計算値 mg/kg; %TRR) であった。 を含む微量ピーク (mg/kg; % TRR) が検出されたが、これ以上の検討はしなかった。他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で、同定しなかった。これらの結果は HPLC 条件の異なる分析法、さらに、液液分配で得られた各層の HPLC 分析でも確認された。

抽出液から蛋白を沈殿 (mg/kg; %TRR) させた後、上清から多くの放射能 (mg/kg; %TRR) が回収され、これを HPLC で分析した。沈殿物の分析はこれ以上しなかった。 ピークが得られ、最大のピークは (mg/kg=代謝物の分子量で再計算値 mg/kg; %TRR) であった。 (mg/kg; %TRR) も同定された。その他の ピークはいずれも微量 (mg/kg; %TRR) で同定しなかった。条件の異なる HPLC 分析法で の帰属を確認した。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %TRR が HPLC の溶出パターンから、さらに、

%TRR が蛋白として特徴付された。

両標識体で得られた代謝物のパターンは、P-標識体で が検出されたことを除いて、質的および量的に類似していた。

表 17. P-標識体処理 34PHI 大豆子実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液 ¹		抽出液 ¹		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.019		nd		0.019	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ²						
HPLC 分析による抽出性残留の特徴付合計						
抽出液の沈殿物 (蛋白)						
ERR の特徴付合計 ³						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
Macerozyme/Cellrase 処理可溶性						
Tyrosinase/Laccase 処理可溶性						
遊離残留放射能の特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残留						
総合計						

nd: 検出せず

¹: HPLC による分析。

²: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

³: 抽出液および 可溶性画分はさらに、液液分配して特徴付した。

保存安定性 (表 18)

(原文 117 頁 Table 28)

収穫後冷凍保存し、約 1 ヶ月以内に抽出した試料および約 10 ヶ月間冷凍保存し抽出した試料における抽出性にほとんど差はなく、また両抽出液の HPLC パターンの比較でも差はなく、保存中安定であることが確認された。さらに、初回の抽出液を約 5-10 ヶ月間冷凍保存した試料の HPLC パターンの比較でも差はなく、保存中安定であることが確認された。

表 18. 保存安定性試験における抽出性

試料	PHI	保存 期間 (月)	TRR				溶媒可溶性 (ERR)		抽出残渣 (RRR)		
			mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
落葉	22-34	1.1									
		10.0									
子実	34	0.6									
		10.0									

まとめ：

大豆の生育期に 60g ai/ha を 3 回茎葉に処理（処理間隔：初回処理 7 日後、2 回目処理 14 日後）し、青刈り茎葉を 0 および 21DAT、さらに、落葉を 22-34PHI に採取し、莖、種皮および子実を 34PHI に収穫した。

TRR は落葉で最も多く（A-標識体： mg/kg、P-標識体： mg/kg）、次いで青刈り茎葉、種皮、莖の順に少なく、子実は最も少なかった（A-標識体： mg/kg、P-標識体： mg/kg）。

残留放射能の抽出性は高く、青刈り茎葉、落葉および莖で %TRR、種皮および子実で %TRR であった。RRR は青刈り茎葉、落葉および莖で %TRR、種皮で約 %、子実で %TRR（A-標識体）および %TRR（P-標識体）であった。

同定物質のまとめを表 19 に示した。

表 19. 同定物質のまとめ

標識体	代謝物	青刈り茎葉		落葉	莖	種皮	子実
		ODAT	21DAT	34PHI			
A-標識体	親化合物	6.264	4.774	54.259	0.931	1.755	0.024
P-標識体	親化合物	4.264	4.277	46.932	0.749	1.207	0.019
同定合計	A-標識体						
	P-標識体						

上段の数値は mg/kg、括弧内の数値は%TRR。 nd：検出せず

親化合物の代謝は遅く、子実（ %TRR）を除く、すべての試料で主要な成分（ %TRR）であった。主要代謝物は P-標識体のみを検出された（子実： %TRR、種皮： %TRR）、次いで両標識体で検出された（子実： A-標識体で %TRR、P-標識体で %TRR；その他の試料で %TRR）であった。その他に

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

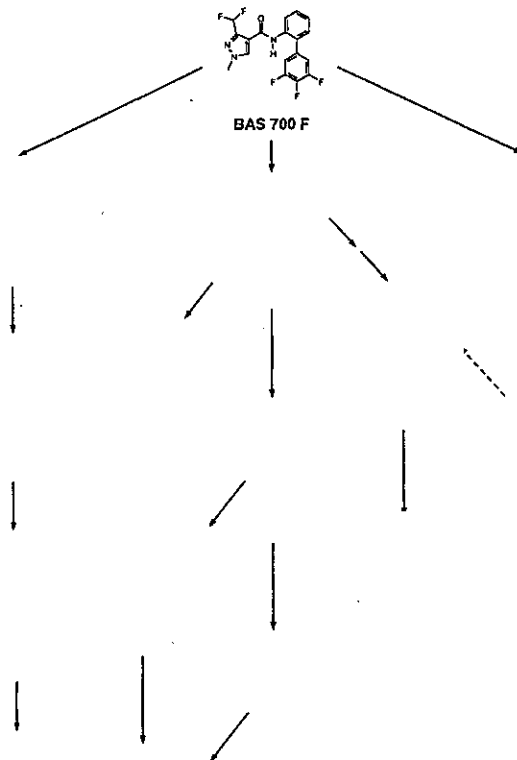
Fluxapyroxad

(%TRR)が検出されたが、微量のため分離する努力はしなかった。その他に数個の代謝物(抱合体)が落葉あるいは子実から LC-MS/MS あるいは NMR で同定された。 を除いて、両標識体で得られた代謝物のパターンは質的および量的に類似していた(表 19)。

種皮および子実の溶媒抽出後残渣の による可溶化処理で、溶媒抽出が不完全あるいは不溶性の植物成分(蛋白)に由来すると思われる残留放射能が遊離した。次いで、酵素処理で不溶性細胞壁炭化水素およびリグニンあるいはリグニン-炭化水素複合体に由来すると思われる残留放射能が遊離した。さらに、HCl 処理で可溶化処理をした。これらの可溶化処理で約 %TRR が遊離した。

本化合物は主に 1) 環の 、2) の加水分解により開裂、3) の水酸化、4) の水酸化により代謝され、次いで、 あるいは をする。芳香環の弗素原子の水素による置換が認められるが、主要な分解反応とは考えられない。この代謝経路は小麦およびトマトと同様である。

想定代謝経路：想定代謝経路を以下に示す。



大豆における想定代謝経路

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

Fluxapyroxad

2-3. ^{14}C -標識検体の小麦茎葉処理による代謝試験

(資料 代-P3)

試験機関：

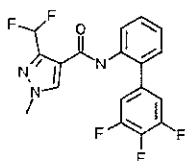
(GLP 対応)

報告書作成年：

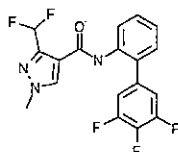
供試標識化合物

構造式：

A-標識体： ^{-14}C で均一に標識した 標識体



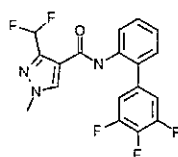
P-標識体： ^{-14}C で標識した 環標識体



^{14}C : ^{14}C -標識部位

略 称	A-標識体	P-標識体
比放射能 (MBq/mg)		
放射化学的純度 (%)	98.2	99.8
化学的純度 (%)	97.3	約 99

N-標識体： ^{15}N 、 ^{-15}N 標識体



化学名：3-(ジフルオロメチル)-1-メチル-*N*-(3',4',5'-トリフルオロビフェニル-2-イル)-1*H*-ピラゾール-4-カルボキサミド (IUPAC)

供試植物：春小麦 (品種：Thasos)

栽培環境：

植物の取り込み実験はプラスチック製容器 (36.5 x 56 cm) に Schlag 33b 壤質砂土 (German scheme) を充填した 16 容器 (2.21m²/標識体) に播種後、16 日間温室内で栽培した後、人工気象室内に移して栽培した。

処理：

処理製剤の調製：所定量の A-標識体および N-標識体又は P-標識体および非標識体 (純度 99.3%) の混合物に白試料/水を添加し、超音波処理して均質な懸濁液を散布液とした。

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

Fluxapyroxad

設定処理量：125 g a. i. /ha

処理時期/方法：播種後 43 日後 (GS30-35) および播種 92 日後 (GS69) の 2 回茎葉に噴霧処理

試料採取：初回処理 36 日後 (2 回目処理 13 日前) (GS59)、2 回目処理 4 日後 (4DALA) (GS73-75；室温で 16 日間乾燥) および成熟期 [GS89；A-標識体は 2 回目処理 35 日後 (35DALA)、P-標識体は 2 回目処理 34 日後 (34DALA)] に穂を刈り取り、藁を収穫したが、根部は収穫しなかった。穂は籾殻 (chaff) と子実 (seed) に分離し、藁は細断した。試料はすべて用事まで冷凍保存した。

分析方法：

総残留放射能 (TRR) の測定：

液体試料：一部試料にシンチレーションカクテルを添加した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。

固体試料：均質化試料の一部を燃焼して、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体試料と同様に LSC で放射能を計測した。

残留放射能の分画：

均質化および TRR の計測：抽出および TRR の測定前に、籾殻および子実はミルを用い室温で、冷凍茎葉および乾燥茎葉は磁器ナイフで細断後、ミルを用い液体窒素中で、藁はミルを用い液体窒素中で均質化した後、冷凍保存した。これを用いて上記のように燃焼法で放射能を計測した。

抽出：均質化試料はブレンダーを用い (3 回) および (2 回) で抽出し、抽出液はそれぞれプールした。この および 抽出液の合計を可溶性放射性残留 (ERR) とした。抽出残渣は均質化後、燃焼法で放射能を計測した (RRR)。ERR と RRR の合計を算出 TRR とし、表中の値はこの算出 TRR を用いた。

可溶性残留の液液分配： 抽出液に適当量の水を加えた後、

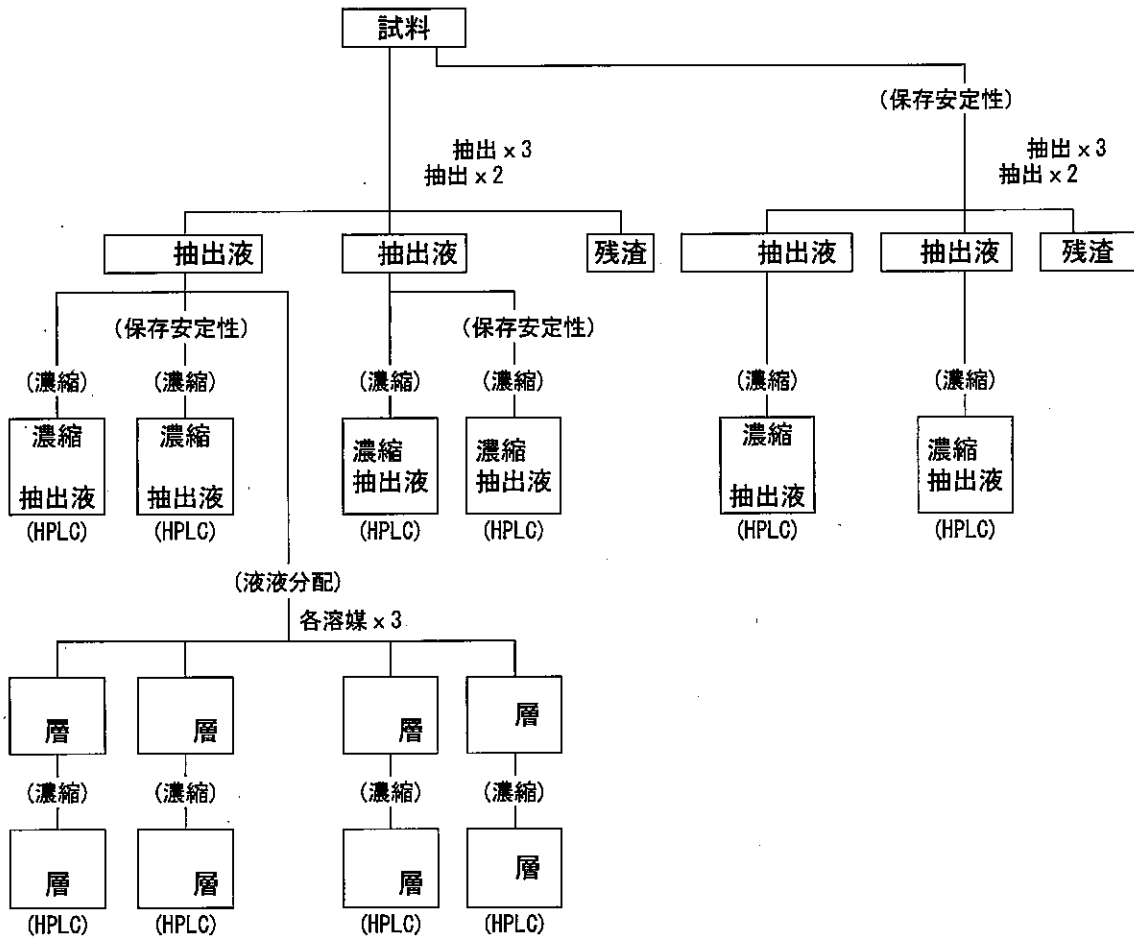
を蒸発させた。次いで、蟻酸を用いて pH3 とした後、
および で各 3 回分配し、各層をプール後、各溶媒で定容した。これら有機相は LSC および HPLC で分析した。各有機層は乾固後、 / Triton X-100 (藁)、また試料によっては溶解性を高めるために THF を添加して再溶解した。液液分配後の水層は少量に濃縮あるいは乾固後、水に再溶解した後、分析に供した。

各試料の抽出スキームを以下に示す。

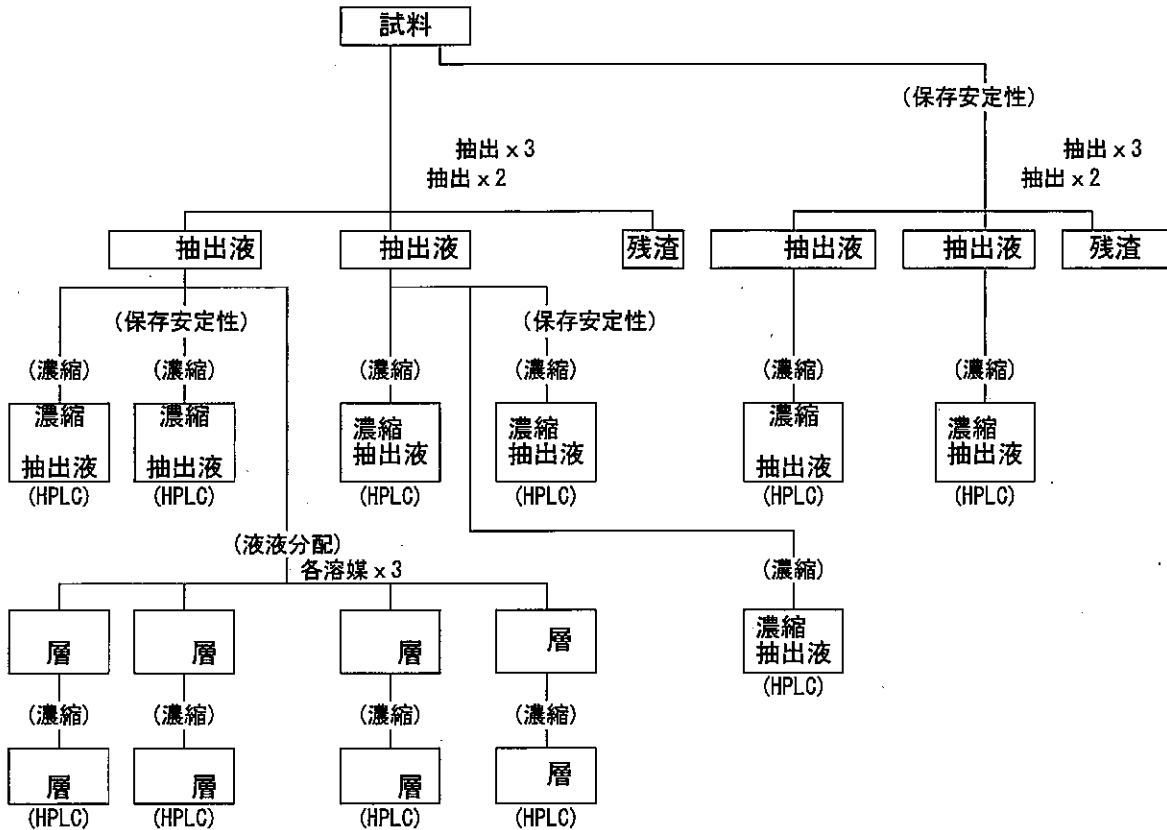
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fluxapyroxad

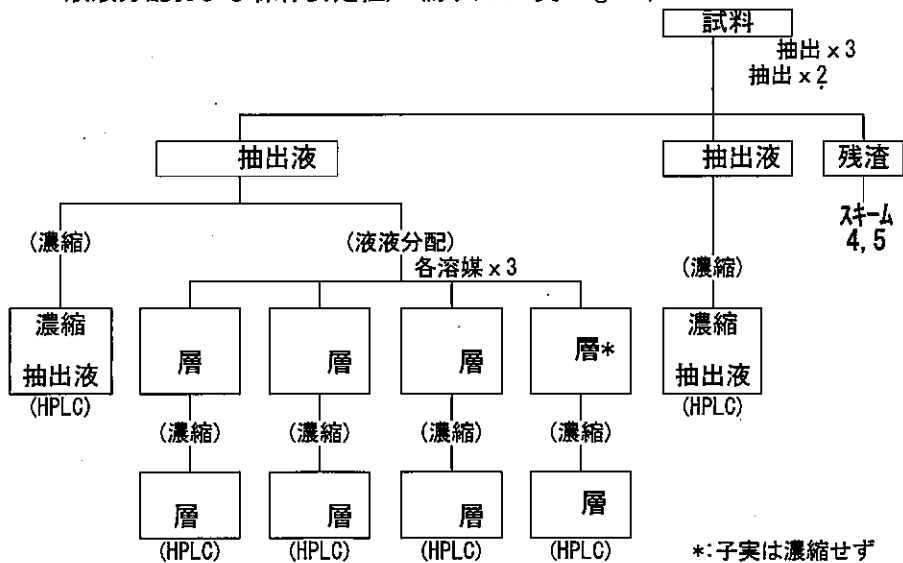
スキーム 1 : A-標識体-13DALA 小麦青刈り茎葉 (原文 144 頁 Fig. 2) 、A-標識体 35DALA 小麦藁 (原文 148 頁 Fig. 6) および P-標識体 34DALA 小麦藁 (原文 149 頁 Fig. 7)



スキーム 2: P-標識体-13DALA 青刈り茎葉 (原文 145 頁 Fig. 3)

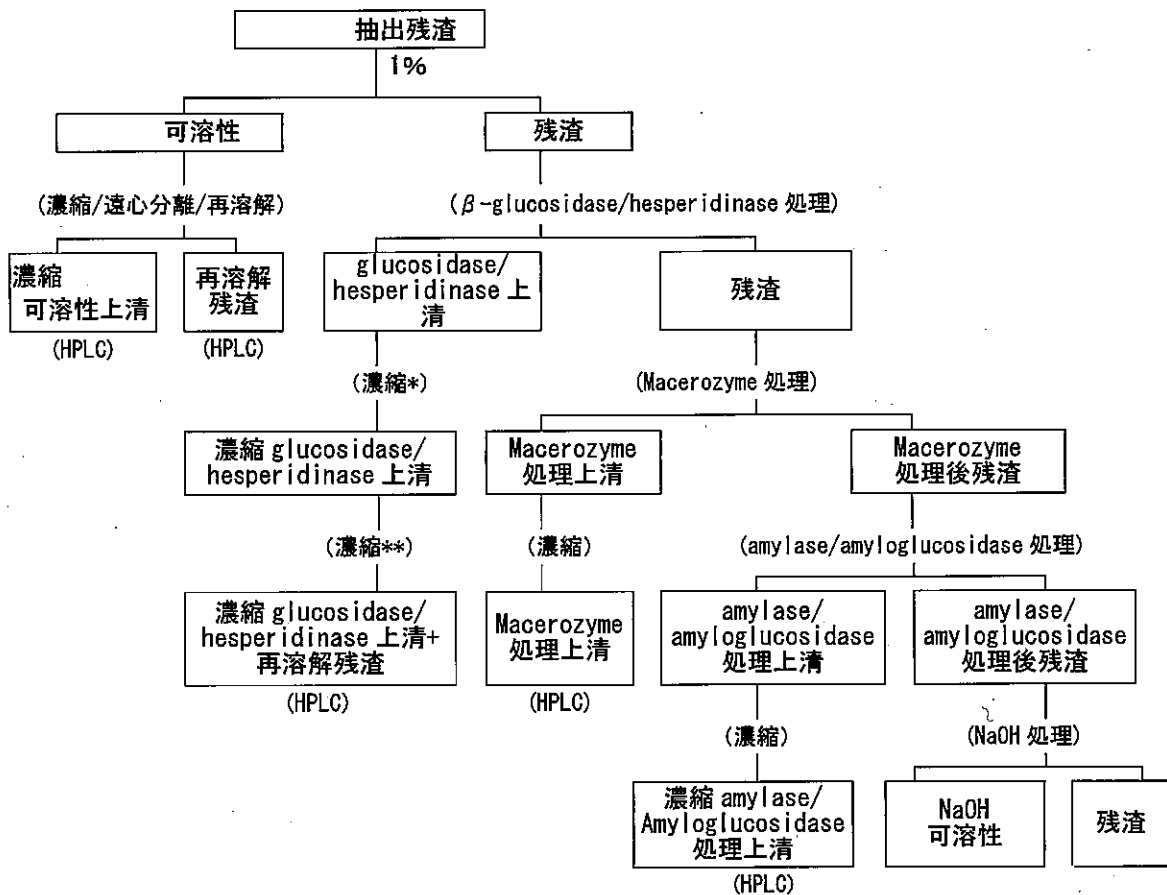


スキーム 3: A-標識体 (原文 146 頁 Fig. 4) および P-標識体 (原文 147 頁 Fig. 5) 4DALA 小麦乾燥茎葉、
A-標識体 35DALA 小麦粉殻 (抽出、液液分配および保存安定性) (原文 150 頁 Fig. 8)
および子実 (抽出、液液分配および保存安定性) (原文 154 頁 Fig. 12)
P-標識体 34DALA 小麦粉殻 (抽出、液液分配) (原文 152 頁 Fig. 10) および子実 (抽出、
液液分配および保存安定性) (原文 156 頁 Fig. 14)



溶媒抽出後残渣の可溶化処理 (スキーム 4 および 5) : 子実および籾殻の溶媒抽出残渣を乾燥後、均質化した後、1%NH₄OH 水溶液を用いて 3 日間攪拌した。次いで、遠心分離/濾過後可溶化画分 (蛋白) を得た。残渣は乾燥後、緩衝液中で 3 段階の酵素加水分解 [0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5) 中 β -glucosidase/hesperidinase で 2 日間 (グリコサイド開裂)、0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5) 中 Macerozyme で 3 日間 (細胞壁ポリサッカライド開裂) および 66.7mM リン酸緩衝液 (pH6) 中 amylase/amyloglucosidase で 4 日間 (澱粉可溶化)] に供した。各段階で遠心分離/濾過後可溶化画分を得た後、水で定容し、分析に供した。さらに、酵素処理後の残渣は NaOH で 2 日間処理後 NaOH 可溶性画分 (リグニン/ヘミセルロース可溶化) を得た。これらの可溶化画分を分析に供した。

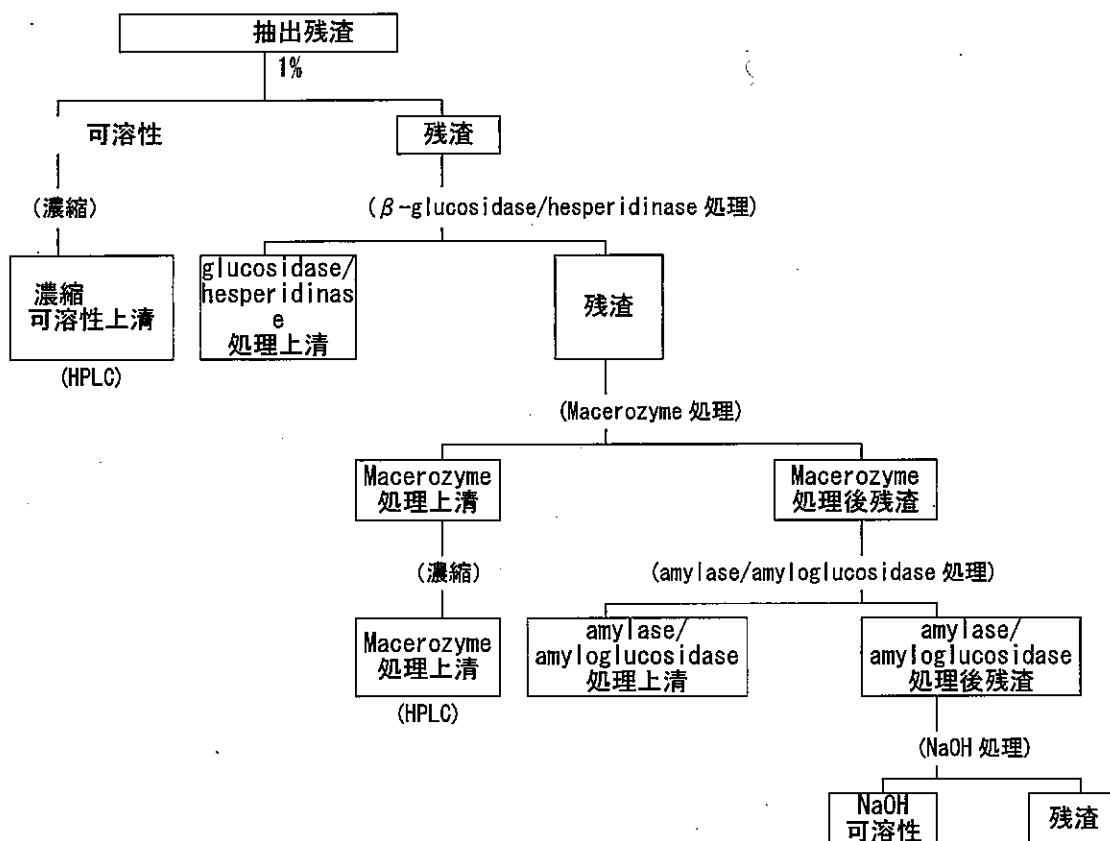
スキーム 4 : A-標識体 35DALA (原文 151 頁 Fig. 9) および P-標識体 34DALA (原文 153 頁 Fig. 11)
小麦籾殻の抽出残渣 (RRR) の連続可溶化スキーム



* (A-標識体) および** (P-標識体) : 遠心分離後、上清を分離し、残渣は
で洗浄し、再度遠心分離後両上清をプールした。

および TritonX-100

スキーム 5: A-標識体 35DALA (原文 155 頁 Fig. 13) および P-標識体 34DALA (原文 157 頁 Fig. 15)
小麦子実の抽出残渣 (RRR) の連続可溶化スキーム

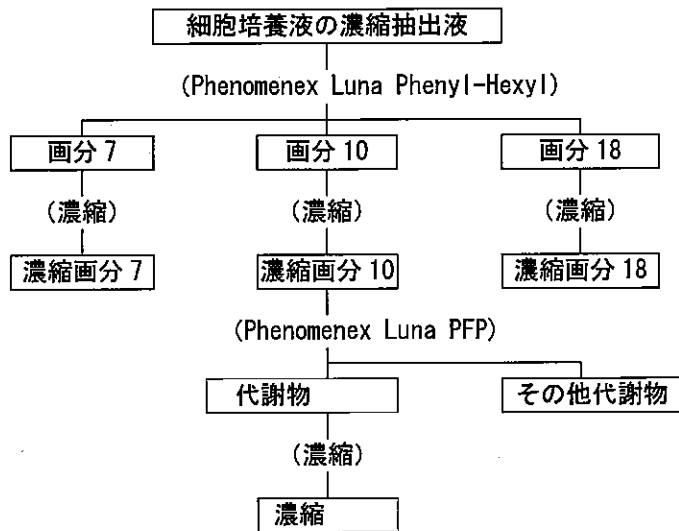


代謝物のパターンの分析・同定・定量:

抽出液中の代謝物の定量には HPLC (主に Phenomenex Luna Phenyl-Hexyl -RP カラム) を用いた。代謝物の同定は主に藁 (P-標識体 34DALA 収穫) の濃縮抽出液の層および層画分、並びに *Rhizopus oryzae* 細胞培養液画分中の代謝物の同定は LC-MS、LC-MS/MS 分析で行った。試料中のピークの帰属は分画抽出液中の代謝物の HPLC 溶出プロフィール/代謝物のパターンおよび標品 (同定代謝物) の保持時間との比較で決定した。確認 HPLC 分析は Phenomenex Columbus C18-RP カラムを用いて行った。

Rhizopus oryzae 細胞培養による代謝物: P-標識体含有培養液で *Rhizopus oryzae* 細胞培養を暗所で 8 日間行った。次いで、を添加後、Ultra-Turrax を用いて攪拌/均質化した後、遠心分離して上清を得た。上清を濃縮後、/Triton-X の混液に溶解し、スキーム 6 に従い HPLC 分析に供した。分析で 19 画分が得られ、濃縮後、少量の混液で希釈し、LC-MS/MS 分析に供した。画分 10 はさらに分画、精製した後、LC-MS/MS 分析に供した。

スキーム 6: *Rhizopus oryzae* 細胞培養液中の代謝物の分画 (代謝物の同定に用いた画分のみ示した)



保存安定性: すべての試料は用事まで冷凍保存した。残留の安定性は代表的試料として青刈り茎葉(A および P-標識体-13DALA) および藁(A-標識体 35DALA および P-標識体 34DALA) を用いた。試験の開始時および終了時に放射能の抽出性および抽出液中の代謝物のパターンについて HPLC で分析した。さらに、冷凍保存後の試料を再抽出した抽出液を HPLC で再分析した。これらの分析結果を比較して安定性を検討した。

試験結果:

総残留放射能 (TRR); 均質化試料の一部を用いた燃焼法による TRR および抽出操作による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計に基づく TRR を表 2 に示す。

表 2. 直接燃焼および抽出/残渣画分の合計による TRR

試料	処理後日数 (DALA)	A-標識体		P-標識体	
		燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)	燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)
青刈り茎葉	-13DALA (2 回目処理前, 1 回目処理 36 日後)				
乾燥茎葉	4DALA (2 回処理; 収穫後 16 日間乾燥)				
藁	35/34DALA (2 回処理)				
籾殻					
子実					

DALA: 最終処理後 (2 回処理) 後収穫までの日数

*: A-標識体は 35DALA, P-標識体は 34DALA に収穫

燃焼法および抽出法に基づく TRR にはわずかの差が認められたが、試料の不均質および燃焼に用いた試料が少ないためであると考えられる。しかし、両者に顕著な差は認められなかった。したがって、全ての TRR の計算には抽出法による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計を用いた。

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

Fluxapyroxad

抽出による TRR は、A-標識体処理区では-13DALA (1 回目処理 36 日) の青刈り茎葉で mg/kg、4DALA 収穫後の乾燥茎葉で mg/kg、35 DALA に収穫した藁で mg/kg、籾殻で mg/kg、子実で mg/kg であった。

P-標識体処理区では-13DALA (1 回目処理 36 日) の青刈り茎葉で mg/kg、4DALA 収穫後の乾燥茎葉で mg/kg、34DALA に収穫した藁で mg/kg、籾殻で mg/kg、子実で mg/kg であった。概ね、TRR は両標識体で同等であった。

残留放射能の抽出性；放射能の抽出性について表 3 に示す。

残留放射能の抽出性は青刈り茎葉、乾燥茎葉、藁および籾殻で %TRR と高く、子実では (A-標識体)又は %(P-標識体)TRR とわずかに低く、大部分は (%TRR) で抽出され、 (%TRR) での抽出率は少なかった。

溶媒抽出後の残渣中の放射能 (RRR) は青刈り茎葉、乾燥茎葉および藁で A-および P-標識体とも %TRR の範囲にあり、残留量は藁で最も高く約 mg/kg、乾燥茎葉で約 mg/kg、青刈り茎葉で最も少なく約 mg/kg であった。

籾殻では A-および P-標識体で %TRR (mg/kg) および %TRR (mg/kg)、子実でそれぞれ %TRR (mg/kg) および %TRR (mg/kg) であったので、可溶化処理を行い残留の特徴付を行った (表 12)。

表 3. 残留の抽出性

試料	DALA	TRR			溶媒可溶性 (ERR)		抽出残渣 (RRR)		
		mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	
A-標識体									
青刈り茎葉	-13								
乾燥茎葉	4								
藁	34								
籾殻									
子実									
P-標識体									
青刈り茎葉	-13								
乾燥茎葉	4								
藁	35								
籾殻									
子実									

DALA：最終処理後(2回処理)収穫までの日数

抽出液の液液分配： 抽出液を液液分配した結果を表 4 に示す。

抽出液を および を用いて液液分配した結果、すべての試料とも 抽出液中の放射能のほとんど(%)が有機溶媒で抽出された。

青刈り茎葉では 抽出液中の放射能のほとんどが有機溶媒で抽出され %TRR および %TRR)、乾燥茎葉、藁および籾殻とも 抽出された残留

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

Fluxapyroxad

の大部分が有機溶媒可溶性であった (A-および P-標識体でそれぞれ乾燥茎葉: %および %TRR; 藁: %および %TRR; 籾殻: %および %TRR)。子実では抽出された残留の約 %が有機溶媒可溶性であった (A-および P-標識体でそれぞれ %および %TRR)。

表 4. 抽出液の液液分配特性

試料	DALA	抽出液		液液分配										回収率			
				溶媒可溶性								計				溶性	
				mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR			mg/kg	%TRR

A-標識体

青刈り茎葉	-13														105.9	98.9
乾燥茎葉 ¹	4														99.6	99.4
藁	35														100.9	99.2
籾殻															99.9	99.3
子実															101.9	96.3

P-標識体

青刈り茎葉	-13														107.7	98.4
乾燥茎葉 ¹	4														98.5	99.2
藁	34														100.9	99.0
籾殻															99.9	99.1
子実															99.5	93.8

¹: 収穫後、16日間乾燥した

²: (可溶性 + 可溶性 + 可溶性 + 溶性) × 100 / 抽出性

³: 溶媒可溶性 / (溶媒可溶性 + 溶性) × 100 (申請者算出)

ERR の同定・特徴付および定量:

代謝物同定のための MS 分析:

P-標識体処理藁 (34DALA) の抽出液を有機溶媒で液液分配後のおよび層を HPLC で分画し、各画分を LC-MS/MS で分析した。さらに、*Rhizopus oryzae* 細胞培養液から得た画分も分析した。同定された代謝物を小麦の残留分析の標品として用いた。

層: HPLC で分画した 11 画分のうち、画分 1-10 を分析した。

画分 1 の代謝物: 保持時間 分の成分 (質量) は (-N と分子結合の開裂) と同定した。

画分 2 の代謝物: 保持時間 分の成分 (質量) は (の が分離した体) と同定した。

画分 3 および 4 代謝物: 代謝物の有意なイオンが検出できなかった。

画分 5 の代謝物: 保持時間 分の成分 (質量) は (環が分解した体) と同定した。

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

Fluxapyroxad

画分 6 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ 分子の 1 分子水酸化 1 原子脱フッ素体）、 分の成分（質量 ）は （ 分子の位水酸化体）、 分の成分（質量 ）は （ の異性体で体）と同定したが、 分の成分（質量 ）は帰属を決定できなかった。

画分 7 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ の異性体で分子の 1 分子水酸化 1 原子脱フッ素体）と同定した。

画分 8 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ の異性体で 体）、 分の成分（質量 ）は （ の異性体で 体）、 分の成分（質量 および ）は LC-MS ピークが重なって検出されたが、フラグメントから （ 分子の体）および （ 側鎖が酸化し加水分解した 体）と同定した。

画分 9 の代謝物：保持時間 および 分の成分（質量 ）は供試化合物の不純物と思われる 分子の脱フッ素体で（4' 位）および（5' 位）、 分の成分（質量 ）は親化合物と同定した。 分の成分（質量 ）、 分の成分（質量 ）、 分の成分（質量 ）は帰属を決定できなかった。

画分 10 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は親化合物と同定した。

層：HPLC で分画した 11 画分のうち、画分 1-4、6 および 8-11 を LC-MS/MS で分析した。

画分 1 の代謝物：代謝物は検出されなかった。

画分 2 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は 、 分の成分（質量 ）は （ の 体）と同定した。

画分 3 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は と同定した。

画分 4 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ 分子の酸化開裂体）、 分の成分（質量 ）は （ 、 体）と同定した。 分の成分は代謝物の有意なイオンが検出できなかった。

画分 6 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ の 抱合体）と同定した。

画分 8 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は 、 分の成分（質量 ）は （ の 抱合体）と同定した。

画分 9 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ の異性体）、 分の成分（質量 ）は 、 分の成分（質量 ）は （ の 体）、 分の成分（質量 ）は と同定した。

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

Fluxapyroxad

画分 10 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （ の
体）、 分の成分（質量 ）は （ 抱合体）
と同定した。

画分 11 の代謝物：保持時間 分の成分（質量 ）は （
抱合体）、 分の成分（質量 ）は （ の
抱合体）、 分の成分（質量 ）は （
抱合体）と同定した。

Rhizopus oryzae 細胞培養液から得た画分の LC-MS 分析：P-標識体含有細胞培養液の HPLC
分析で 19 画分が得られ、LC-MS/MS 分析に供した。植物の抽出液から得た ¹⁴C-クロマトグ
ラムの保持時間が比較的に似ている 3 画分（画分 7、8 および 11）を精製後、LC-MS/MS 分
析し、保持時間、MS ピークの質量およびアイソトープパターン、フラグメントパターン
から以下の代謝物の構造を決定した。

画分 7 の代謝物：（親化合物の 抱合体）および（親
化合物の 抱合体）。主要成分は であった。

画分 10 の代謝物：（親化合物の かつ 抱合体）；2 成分の
保持時間が同じ代謝物で（ 体）および（親化合
物の 抱合体）；（ の 体）

画分 18 の代謝物：2 成分の保持時間が同じ代謝物で（親化合物の 体）
および（親化合物の 体）。前者が約 %、後者が約 %であった。

-13DALA 小麦青刈り茎葉：

A-標識体茎葉処理青刈り茎葉（表 5）：

抽出液から主要な ピークおよび少量の ピークが得られ、主要ピークは親
化合物(0.802mg/kg； % TRR)であった。2 番目の大きいピークは ピークからなる群
の 1 ピークであり、 %TRR（ mg/kg）を占め、LC-MS 分析でこの群から
が同定され、 が主要成分であった。その他に
を含むピーク（ %TRR、 mg/kg）は が主要成分で、 は微量成分であ
った。同定できなかったすべての各ピークは %TRR（ mg/kg）であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当す
る主要なピーク（ %TRR、0.006mg/kg）および少量の ピークが検出された。
抽出液と同様に ピークからなる群（ %TRR、 mg/kg）から
が同定され、2 番目の大きいピーク（ %TRR、 mg/kg）が主要成分であった。その他
に（ %TRR、 mg/kg）が同定された。同定できなかったすべての各ピークは
%TRR（ mg/kg）であった。

合計で小麦青刈り茎葉の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 5. A-標識体処理-13DALA 小麦青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.802		0.006		0.808	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体茎葉処理青刈り茎葉 (表 6) :

抽出液の代謝物のパターンは親化合物および標識体特異的でない代謝物については A-標識体の場合と類似していた。さらに、P-標識体特異的な数個の極性代謝物が検出された。主要ピークは親化合物 (0.918mg/kg; % TRR) であった。2 番目の大きいピークは %TRR (mg/kg) を占め、 が同定された。その他に標識体特異的代謝物 () (%TRR、 mg/kg) が同定され、 が主要成分であった。その他に を含むピーク (%TRR、 mg/kg) は が主要成分であった。さらに、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)/ (%TRR、 mg/kg) も同定された。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要なピーク (%TRR、 0.005mg/kg) および少量の ピークが検出された。

抽出液と同様に ピークからなる群 (%TRR、 mg/kg) から が同定され、2 番目の大きいピーク (%TRR、 mg/kg) が主要成分であった。その他のピークは保持時間の比較から (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg) の帰属を決定した。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

合計で小麦青刈り茎葉の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 6. P-標識体処理-13DALA 小麦青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.918		0.005		0.923	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは (mg/kg) (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

4DALA 小麦乾燥茎葉:

A-標識体茎葉処理乾燥茎葉 (表 7):

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量のピーク 18 が得られ、主要ピークは親化合物 (9.053 mg/kg; %TRR) であった。2 番目に大きいピークは ピークからなる群 (%TRR, mg/kg) の 1 ピークであり、%TRR (mg/kg) を占め、この群から が同定され、 が主要成分であった。その他の成分は保持時間の比較から、 (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)/ (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg) の帰属を決定した。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要ピーク (%TRR, 0.071mg/kg) および少量の ピークが検出された。ピークからなる群 (%TRR, mg/kg) から が同定され、大きいピーク (%TRR, mg/kg) が主要成分であった。その他の成分は保持時間の比較から、 (%TRR, mg/kg)、 ピーク (%TRR, mg/kg; %TRR, mg/kg; %TRR, mg/kg) からなる群は (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg) の帰属を決定した。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

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

Fluxapyroxad

ら標識体特異的代謝物である (%TRR、 mg/kg) および (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (それぞれ %TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg) の帰属を決定した。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

合計で小麦乾燥茎葉の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 8. P-標識体 4DALA 小麦乾燥茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	8.857		0.080		8.937	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

35/34DALA 小麦中放射能の同定・特徴付

A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦葉 (表 9):

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の ピークが得られ、主要ピークは親化合物 (15.711mg/kg; %TRR) であった。2 番目に大きいピークは ピークからなる群 (%TRR、 mg/kg) の 1 ピークであり %TRR (mg/kg) を占め、 を含み、 が主要成分で、 および は少量であった。その他のピークは保持時間の比較から (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg; が主要成分)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、

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

Fluxapyroxad

(%TRR、 mg/kg) の帰属を決定した。同定できなかった各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、主要ピーク (%TRR、 0.447mg/kg) は親化合物であった。2 番目に大きいピークは ピークからなる群 (%TRR、 mg/kg) の 1 ピークであり %TRR (mg/kg) を占め、 を含んでいた。その他のピークは保持時間の比較から (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg) の帰属を決定した。同定できなかったピークはそれぞれ %TRR (mg/kg) であった。

合計で小麦藁の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 9. A-標識体 35DALA 小麦藁中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	15.711		0.447		16.158	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体茎葉処理 34DALA 小麦藁 (表 10):

抽出液の代謝物パターンは親化合物および P-標識体特異的でない代謝物に関しては A-標識体処理藁から検出された代謝物パターンと類似していたが、数個の P-標識体特異的極性代謝物も検出された。主要な 1 ピークは親化合物 (%TRR、 14.424mg/kg) であった。2 番目に大きいピーク (%TRR、 mg/kg) は ピークからなる群 (%TRR、 mg/kg) の 1 ピークであり、この群には が含まれていた。その

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

Fluxapyroxad

他に、P-標識体特異的代謝物 (%TRR、 mg/kg) および (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)/ (%TRR、 mg/kg)、 (主成分)/ (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (主成分)/ (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg) が同定された。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要ピーク (%TRR、 0.472mg/kg) および少量の ピークが検出された。2 番目に大きいピーク (%TRR、 mg/kg) は ピークからなる群 (%TRR、 mg/kg) の 1 ピークであり、この群には (主成分) / が含まれていた。

抽出液の HPLC パターン比較から、 (主成分)/ を含むピーク (%TRR、 mg/kg) および (%TRR、 mg/kg) の帰属を決定し、これらは標識体特異的代謝物であった。さらに、 (%TRR、 mg/kg) を同定した。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

合計で %TRR が ERR から同定され、 %が HPLC の溶出挙動から特徴付された。

表 10. P-標識体 35DALA 小麦藁中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	14.424		0.472		14.896	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR)						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦籾殻 (表 11) :

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の ピークが検出され、主要ピークは親化合物(%TRR、5.219mg/kg)であった。2 番目に大きいピーク(%TRR、 mg/kg)は ピークからなる群(%TRR、 mg/kg)の 1 ピークであり、この群には が含まれていた。その他のピークは保持時間の比較から (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)/ (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)の帰属を決定した。同定できなかったピークはそれぞれ %TRR(mg/kg)であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要ピーク(%TRR、0.172mg/kg)の他に少量の 25 ピークが検出された。2 番目に大きいピーク(%TRR、 mg/kg)は ピークからなる群(%TRR、 mg/kg)の 1 ピークであり、この群には が含まれていた。その他のピークは保持時間の比較から、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)の帰属を決定した。同定できなかったピークはそれぞれ %TRR(mg/kg)であった。合計で小麦籾殻の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 11. A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦粉殻中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	5.219		0.172		5.391	
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR) ³						
RRR の可溶化画分の同定合計						
RRR の可溶化画分の特徴付合計						
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

³: 抽出残渣の特徴付した詳細は表 13 に示す。

抽出残渣の連続可溶化処理: A-および P-標識体処理粉殻および子実の溶媒抽出残渣について可溶化処理を行った結果を表 12 に、さらに各可溶化液中の代謝物について分析した結果を粉殻は表 13 および 15 に、子実は表 17 および 19 に示す。

表 12. 標識体処理籾殻および子実の溶媒抽出残渣の特徴付

画分	A-標識体				P-標識体			
	籾殻		子実		籾殻		子実	
	35DALA		35DALA		34DALA		34DALA	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
RRR								
可溶性								
処理残渣								
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清								
β -glucosidase/hesperidinase 処理残渣								
Macerozyme 処理上清								
Macerozyme 処理残渣								
amylase/amyloglucosidase 処理上清								
amylase/amyloglucosidase 処理残渣								
NaOH 可溶性								
NaOH 処理残渣								
可溶化残留放射能合計								
最終残渣								
回収率%*		89.6		116.7		93.7		114.7

*: (遊離放射能の合計+最終残渣) × 100/RRR

A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦籾殻の溶媒抽出残渣を可溶化した残留物の特徴付 (表 13) :

最初の による可溶化処理で、多くの残渣中の放射能 (%TRR、 mg/kg) が遊離した。 可溶化液を濃縮、遠心分離して沈殿物を分離した。上清と再溶解沈殿物を HPLC で分析した。上清から 1 主要ピーク (親化合物: 0.53%TRR、0.036mg/kg) と 個の微量ピークが検出され、 および 抽出液から検出されなかった微量代謝物が数個検出された。再溶解沈殿物からも 1 主要ピーク (親化合物: 0.25%TRR、0.017mg/kg) と数個の微量ピーク (mg/kg) が検出された。

処理後の残渣に mg/kg (%TRR) が含まれていたため、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により mg/kg (%TRR) が遊離した。上清から 1 主要ピーク (親化合物: 0.51%TRR、0.034mg/kg) と 個の微量ピークが検出され、2 ピークは (%TRR、 mg/kg) および (%TRR、 mg/kg) と帰属を決定した。帰属を決定できなかったピークは %TRR (mg/kg) であった。

β -glucosidase/hesperidinase 処理後の残渣をさらに、Macerozyme で処理し 0.027mg/kg (0.4% TRR) が遊離した。上清から 1 主要ピーク (親化合物: 0.33%TRR、0.023mg/kg) と 個の微量ピークが検出された。微量ピークは $\leq 0.01\%$ TRR (< 0.001 mg/kg) であった。

Macerozyme 処理後の残渣を amylase/amyloglucosidase で処理し mg/kg (%TRR) が遊離した。上清から 1 主要ピーク (親化合物: 0.25%TRR、0.017mg/kg) と 2 個のごく微量なピークが検出された。微量ピークは $\leq 0.01\%$ TRR (0.0005mg/kg) であった。amylase/amyloglucosidase 処理後の残渣を 1M NaOH で処理し、 mg/kg (%TRR) が遊離した。

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

Fluxapyroxad

これらの遊離物は β -glucosidase/hesperidinase 処理によるグリコシド結合の開裂、Macerozyme 処理によるポリサッカライドの開裂、amylase/amyloglucosidase 処理による澱粉の分解、NaOH 処理によるリグニン/ヘミセルロース可溶物と考えられる。

合計で、溶媒抽出残渣から mg/kg (%TRR) が遊離し、HPLC パターンから %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 13. A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦粉の溶媒抽出残渣を可溶化した残留放射能の特徴付

代謝物の帰属	可溶化した残留画分										画分合計	
	可溶性		可溶性画分の再溶解残留		β -glucosidase/hesperidinase 処理上清		Macerozyme 処理上清		amylase/amyloglucosidase 処理上清			
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
RRR												
可溶化した画分 ¹												
親化合物	0.036	0.53	0.017	0.25	0.034	0.51	0.023	0.33	0.017	0.25	0.126	1.9
同定合計												
その他 HPLC ピーク ²												
RRR の可溶化画分の HPLC 分析による特徴付合計 ³												
NaOH 上清												
RRR の可溶化画分の特徴付 (NaOH で可溶化後上清)												
RRR の可溶化画分の特徴付合計												
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計												
最終残渣												
RRR の可溶化画分+最終残渣の合計												

na: 該当なし nd: 検出せず

¹: NaOH 上清を含む

²: ピークまで。各ピークは < 0.005mg/kg (0.07%TRR)。

P-標識体茎葉処理 34DALA 小麦粉 (表 14):

抽出液の代謝物パターンは親化合物および P-標識体特異的でない代謝物に関しては A-標識体処理粉から検出された代謝物パターンと類似していたが、数個の P-標識体特異的極性代謝物も検出された。主要ピークは親化合物 (%TRR, 5.358mg/kg) であった。2 番目に大きいピーク (%TRR, mg/kg) は 2 ピークからなる群 (%TRR, mg/kg) の 1 ピークで、この群には が含まれていた。その他に、HPLC パターンの比較から、P-標識体特異的代謝物 (%TRR, mg/kg) および (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)、F082 (%TRR, mg/kg)、 (%TRR, mg/kg)、F134/F133 (%TRR, mg/kg) が同定された。同定できなかったすべての各ピークは %TRR (mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要ピーク (3.8%TRR, 0.278mg/kg) および少量の ピークが検出され、2 番目に大きいピーク (%TRR, mg/kg) は 2 ピークからなる群 (%TRR, mg/kg) の 1 ピーク

であり、この群には が含まれていた。

HPLC パターンの比較から、P-標識体特異的代謝物 (%TRR、 mg/kg)
(%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、
mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)、 (%TRR、 mg/kg)の帰属
を決定した。同定できなかったすべての各ピークは %TRR(mg/kg)であった。
合計で %TRR が ERR から同定され、 %が HPLC の溶出挙動から特徴付された。

表 14. P-標識体 34DALA 小麦籾殻中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性(ERR)						
親化合物	5.358	72.44	0.278	3.75	5.635	76.2
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣(RRR) ³						
RRR の可溶化画分の同定合計						
RRR の可溶化画分の特徴付合計						
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

³: 抽出残渣の特徴付した詳細は表 15 に示す。

抽出残渣の連続可溶化処理を行い、最初の による可溶化処理で、多くの残渣中放射能(3.2%TRR、0.235mg/kg)が遊離した。可溶化液を濃縮、遠心分離して沈殿物を分離した。上清と再溶解沈殿物を HPLC で分析した。上清から 個のピークが検出され、主要ピークは親化合物(1.39%TRR、0.103mg/kg)であった。その他のピークは %TRR(mg/kg)であった。再溶解沈殿物からも 1 主要ピーク(親化合物:0.46%TRR、0.034mg/kg)と微量の 2 ピーク(%TRR、 mg/kg)が検出された。

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

Fluxapyroxad

処理後の残渣に mg/kg(%TRR)が含まれていたため、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により mg/kg(%TRR)が遊離した。上清から主要1ピーク(親化合物: 1.17%TRR、0.087mg/kg)と微量のピークが検出され、2ピークは (%TRR、 mg/kg) および (%TRR、 mg/kg)と帰属を決定した。帰属を決定できなかったピークは \leq 0.02%TRR(0.001mg/kg)であった。

β -glucosidase/hesperidinase 処理残渣をさらに、Macerozyme で処理し 0.058mg/kg(0.8%TRR)が遊離した。上清から主要ピーク(親化合物:0.74%TRR、0.055mg/kg)と微量の1ピーク(%TRR、 mg/kg)が検出された。

Macerozyme 処理残渣を amylase/amyloglucosidase 処理し 0.045mg/kg(0.6%TRR)が遊離した。上清から主要ピーク(親化合物:0.53%TRR、0.039mg/kg)とごく微量の2ピークが検出された。微量1ピークは (%TRR、 mg/kg)と帰属を決定したが、他のピーク(0.02%TRR、0.001mg/kg)は決定できなかった。

amylase/amyloglucosidase 処理残渣を 1M NaOH で処理し、0.298mg/kg(4.0%TRR)が遊離した。

これらの遊離物はグリコシド結合の開裂、ポリサッカライドの開裂、澱粉の分解、リグニン/ヘミセルロース可溶物と考えられる。

合計で、溶媒抽出残渣から mg/kg(%TRR)が遊離し、HPLC パターンから %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

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

Fluxapyroxad

表 15. P-標識体茎葉処理 34DALA 小麦粉殻の溶媒抽出残渣を可溶化した残留放射能の特徴付

代謝物の帰属	可溶化した残留画分										画分合計		
	可溶性		可溶性画分の再溶解残留		β-glucosidase / hesperidinase 処理上清		Macerozyme 処理上清		amylase/ amyloglucosidase 処理上清				
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	
RRR													
可溶化画分 ¹													
親化合物	0.103	1.39	0.034	0.46	0.087	1.17	0.055	0.74	0.039	0.53	0.318	4.3	
同定合計													
その他 HPLC ピーク ²													
RRR の可溶化画分の HPLC 分析による特徴付合計 ³													
NaOH 上清													
RRR の可溶化画分の特徴付 (NaOH で可溶化後上清)													
RRR の可溶化画分の特徴付合計													
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計													
最終残渣													
RRR の可溶化画分+最終残渣の合計													

na : 該当なし nd : 検出せず

¹ : NaOH 上清を含む

² : ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦子実 (表 16) :

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の ピークが得られ、主要ピークは親化合物 (%TRR、0.027mg/kg) であった。2 番目の大きいピーク (%TRR、 mg/kg) は代謝物 () からなるピーク (%TRR、 mg/kg) であった。さらに、1 ピークには (%TRR、 mg/kg) が含まれていた。その他の同定できなかったピークはそれぞれ < 0.9%TRR (≤ 0.0004mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要なピーク (2.12%TRR、0.001mg/kg) の他に少量の ピークが検出された。少量の 1 ピークは (%TRR、 mg/kg) からなり、その他の同定できなかったピークはそれぞれ ≤ 2.0%TRR (< 0.001mg/kg) であった。

合計で小麦子実の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 16. A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦子実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.027	60.86	0.001	2.12	0.028	63.0
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR) ³						
RRR の可溶化画分の同定合計						
RRR の可溶化画分の特徴付合計						
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

³: 抽出残渣の特徴付した詳細は表 17 に示す。

抽出残渣の連続可溶化処理を行い、最初の による可溶化処理で、多くの残渣中の放射能 (%TRR、 mg/kg) が遊離した。この遊離液からは自然放射能以上のピークは全く検出されなかった。 処理後の残渣に 0.009mg/kg (19.2%TRR) が含まれていたため、β-glucosidase/hesperidinase 処理により 0.0005mg/kg (1.1%TRR) が遊離したが、放射能が低く分析はしなかった。

β-glucosidase/hesperidinase 処理残渣をさらに、Macerozyme で処理し 0.004mg/kg (9.4%TRR) が遊離し、極性の 10 ピークを検出したが、子実 (A-標識体処理) および葉 (P-標識体処理; LC-MS 分析) の抽出液からも検出されなかったため、帰属を決定できなかった。

Macerozyme で処理後の残渣を amylase/amyloglucosidase で処理し 0.003mg/kg (5.8%TRR) が遊離したが、放射能が低く分析しなかった。amylase/amyloglucosidase で処理後残渣を 1M NaOH で処理し、0.001mg/kg (3.1%TRR) が遊離した。

これらの遊離物はグリコシド結合の開裂、ポリサッカライドの開裂、澱粉の分解、リグニン/ヘミセルロース可溶物と考えられる。

合計で、溶媒抽出残渣から mg/kg (%TRR) が遊離し、HPLC 分析で代謝物を同定できなかったが、 %TRR を特徴付した。RRR から特徴付された代謝物で mg/kg (%TRR)

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

Fluxapyroxad

を超えるものはなかった。

表 17. A-標識体茎葉処理 35DALA 小麦子実の溶媒抽出後残渣から可溶化した残留放射能の特徴付

代謝物の帰属	Macerozyme 処理上清		画分合計	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
RRR				
可溶化画分				
同定合計				
その他 HPLC ピーク ¹				
極性物質				
非極性物質				
RRR の可溶化画分の HPLC 分析による特徴付合計				
処理上清				
β-glucosidase/hesperidinase 処理上清				
amylase/amyloglucosidase 処理上清				
NaOH 上清				
RRR の可溶化画分の特徴付 (NaOH で可溶化後上清)				
RRR の可溶化画分の特徴付合計				
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計				
最終残渣				
RRR の可溶化画分+最終残渣の合計				

¹: 各ピークは mg/kg (%TRR)。

P-標識体 34DALA 小麦子実 (表 18) :

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の ピークが得られ、主要ピークは親化合物 (58.6% TRR、0.033mg/kg) であった。2 番目の大きいピーク (%TRR、 mg/kg) は 代謝物() からなるピーク (%TRR、 mg/kg) であった。2 ピークには (%TRR、 mg/kg) が含まれていた。さらに、1 ピーク (%TRR、 mg/kg) は からなる P-標識体特異的代謝物であった。その他の同定できなかったピークはそれぞれ %TRR (mg/kg) であった。

抽出液は ピークからなり、 抽出液のクロマトグラムパターンといくらか異なっていた。親化合物に相当する主要なピーク (1.6%TRR、0.001mg/kg) および (%TRR、 mg/kg) からなるピークが検出された。さらに、非常に極性の高い物質 (2.8%TRR、0.002mg/kg) および P-標識体特異的な比較的極性の高い物質 (0.16-0.85%TRR、0.0001-0.0005mg/kg) も検出された。その他の同定できなかったピークはそれぞれ<0.43%TRR (<0.0002mg/kg) であった。

合計で小麦子実の ERR から %TRR が同定され、 %TRR が特徴付された。

表 18. P-標識体 34DALA 小麦子実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.033	58.6	0.001	1.62	0.034	60.2
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出液の液液分配による特徴付合計 ²						
ERR 中の同定/特徴付合計						
抽出残渣 (RRR) ³						
RRR の可溶化画分の同定合計						
RRR の可溶化画分の特徴付合計						
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークまで。各ピークは mg/kg (%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

³: 抽出残渣の特徴付した詳細は表 19 に示す。

抽出残渣の連続可溶化処理を行い、最初の による可溶化処理で、多くの残渣中の放射能 (%TRR、 mg/kg) が遊離した。この遊離液からは自然放射能以上のピークは全く検出されなかった。 処理後の残渣に 0.005mg/kg (8.9%TRR) が含まれていたため、β-glucosidase/hesperidinase 処理により 0.001mg/kg (1.2%TRR) が遊離したが、放射能が低く分析しなかった。さらに、残渣を Macerozyme で処理し 0.002mg/kg (3.0%TRR) が遊離し、非常に極性の高い 2 ピーク (1.9%TRR、0.0011mg/kg ; 1.1%TRR、0.0006mg/kg) が検出され、A-標識体の子実で検出された非常に極性の高い 2 ピークと同じと考えられた。これらのピークは 藁 (P-標識体) の 抽出液の液液分配した各層の分析でも検出されなかったため帰属を決定できなかった。

Macerozyme で処理後の残渣を amylase/amyloglucosidase で処理し 0.002mg/kg (2.7%TRR) が遊離したが、放射能が低く分析しなかった。

これらの遊離物はグリコシド結合の開裂、ポリサッカライドの開裂、澱粉の分解、リグニン/ヘミセルロース可溶物と考えられる。

合計で、溶媒抽出残渣から mg/kg (%TRR) が遊離し、HPLC 分析で代謝物を同定できなかったが、 %TRR を特徴付した。RRR から特徴付された代謝物で mg/kg (%TRR)

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

Fluxapyroxad

を超えるものはなかった。

表 19. P-標識体茎葉処理 34DALA 小麦子実の溶媒抽出後残渣から可溶化した残留放射能の特徴付

代謝物の帰属	Macerozyme 処理上清		画分合計	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
RRR				
可溶化画分				
同定合計				
その他 HPLC ピーク ¹				
極性物質				
非極性物質				
RRR の可溶化画分の HPLC 分析による特徴付合計				
処理上清				
β-glucosidase/hesperidinase 処理上清				
amylase/amyloglucosidase 処理上清				
NaOH 上清				
RRR の可溶化画分の特徴付 (NaOH で可溶化後上清)				
RRR の可溶化画分の特徴付合計				
RRR の可溶化画分の同定/特徴付合計				
最終残渣				
RRR の可溶化画分+最終残渣の合計				

¹: 各ピークは mg/kg (%TRR)。

代謝経路: 小麦における代謝は緩慢で、未変化の親化合物がすべての部位で主要な成分であった。

親化合物は主要な 5 つの代謝経路を経て代謝される。

本化合物は主に 1) 環の、2) の加水分解により開裂、3) 分子の水酸化、4) 基の水酸化、5)

分子の N-グルコシル化により代謝され、次いで、グルコースあるいはマロン酸抱合する。芳香環のフッ素原子の水酸基による置換が認められるが、主要な分解反応とは考えられない。また、が 2 個 (および) 同定されたが、

は植物で一般的でないことから、処理溶液中の不純物に由来していると考えられる。この代謝経路は大豆およびトマトと同様である。

保存安定性: 分析試料の抽出および分析時期に関する詳細は表 20 に示す。

すべての試料は用時まで冷凍保存した。残留の安定性は代表的試料として青刈り茎葉 (A-および P-標識体-13DALA) および葉 (A-標識体 35DALA および P-標識体 34DALA) を用いた。試験の開始時 (試料採取 1-3 ヶ月以内) に抽出し、抽出後 2 ヶ月以内に分析した。さらに、抽出液を冷凍保存後約 11-13 ヶ月後に再分析した。また、試料採取後 15-16 ヶ月間冷凍保存後に再抽出し、抽出 2 週間以内に分析し、抽出液中の代謝物パターンに

ついて比較して安定性を検討した結果、意味のある変化は認められなかった。したがって、抽出液および保存試料中の残留は安定であることが確認された。

表 20. 保存安定性（空欄は分析せず）

試料	作業*	目的**	A-標識体		P-標識体	
			期間（日）		期間（日）	
			試料採取から抽出	試料採取から分析	試料採取から抽出	試料採取から分析
青刈り茎葉	抽出	定量/安定性	55	59	55	59
				104		104
	抽出	確認	55	431	55	431
				433		432
	抽出/再分析	抽出液中安定性	55	480	55	480
				483		483
	再抽出	試料中安定性	474	480	474	480
				483		483
	分配	分析	319	336	319	336
				343		343
		確認	319	439	319	438
				441		441
乾燥茎葉	抽出	定量/安定性	71	77	71	77
				88		88
	抽出	確認	71	415	71	414
				420		417
	分配	分析	312	319	312	319
				329		329
		確認	312	422	312	422
				424		424
藁	抽出	定量/安定性	15	18	16	19
				57		58
	抽出	確認	15	383	16	384
				385		386
	抽出/再分析	抽出液中安定性	15	431	16	432
				434		435
	再抽出	試料中安定性	426	431	427	432
				434		435
	分配	分析	68	68	69	69
				69		70
		確認	68	389	69	390
				390		391
	抽出	代謝物の同定			117	196
		代謝物の同定				201
		代謝物の同定				251
	分配	層の同定			134	196
				201		
層の同定				134	251	
					254	

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

Fluxapyroxad

表 20 つづき

試料	作業*	目的**	A-標識体		P-標識体	
			期間 (日)		期間 (日)	
			試料採取 から抽出	試料採取 から分析	試料採取 から抽出	試料採取 から分析
籾殻	抽出	定量/安定 性	40	46	41	47
				60		61
		確認	40	383	41	384
	386			386		
	分配	分析	281	288	282	289
				298		299
確認		281	391	282	392	
	393		394			
子実	抽出	定量/安定 性	14	18	15	19
				60		61
		確認	14	384	15	385
	389			390		
	分配	分析	271	293	272	294
				298		299
確認		271	396	272	397	

(注)*: 抽出の場合、「試料採取から分析」の欄の2つの日付のうち上段は抽出液、下段は抽出液についての分析までの期間を示す。分配の場合、上段は HPLC 分析をした最初の日、下段は分析終了日を示す。

** : 確認分析は定量/安定性の分析とは異なる分析法で分析した。

まとめ :

春小麦の生育期に 125g ai/ha を 2 回茎葉処理 (処理間隔 : 初回処理 49 日後) し、青刈り茎葉を 1 回目処理 36 日後; 2 回目処理 13 日前 (-13DALA)、乾燥茎葉を 2 回目処理 4 日後 (4DALA) (収穫後 16 日間乾燥)、さらに、成熟小麦を 2 回目処理後 35 日 (A-標識体) 又は 34 日 (P-標識体) (35 又は 34DALA) に採取した。成熟小麦は藁、籾殻および子実に分離した。

総残留放射能 (TRR) および放射能の抽出性 (表 21) : TRR は A-および P-標識体で概ね同等で、2 回茎葉処理による藁 (mg/kg) で最も多く、次いで乾燥茎葉 (mg/kg)、籾殻 (mg/kg) で少なく、子実 (mg/kg) は最も少なかった。1 回茎葉処理の青刈り茎葉では mg/kg であった。

残留放射能の抽出性は高く、青刈り茎葉、乾燥茎葉、藁および籾殻で %TRR、子実で 又は %が および で抽出され、そのほとんどが で抽出された。

表 21. 抽出法による総残留放射能 (TRR) および放射能の抽出性

試料	DALA	A-標識体			P-標識体		
		TRR	ERR	RRR	TRR	ERR	RRR
		mg/kg	%TRR	%TRR	mg/kg	%TRR	%TRR
青刈り茎葉	-13						
乾燥茎葉	4						
葉	35/34*						
籾殻							
子実							

DALA : 最終処理後 (2 回処理) 後収穫までの日数

* : A-標識体は 35DALA, P-標識体は 34DALA に収穫

抽出液を、および を用いて液液分配した結果、すべての試料とも 抽出液中の放射能のほとんど (%) が有機溶媒で抽出された。

代謝物 (表 22) : 代謝物は P-標識体処理葉の 抽出液の液液分配した および 層の HPLC 画分および P-標識体を用いた *Rhizopus oryzae* 細胞培養液から得た画分を LC-MS/MS 分析して同定した。また、これらの代謝物および合成標品の保持時間および溶出プロファイルの比較で同定した。

親化合物の代謝は比較的緩慢で、すべての試料で主要成分 (60.2-91.3%TRR) であった。(%TRR) はすべての試料で検出され、最も多い代謝物であった。その他の代謝物は %TRR と少なかった。P-標識体で検出された を除いて、両標識体ともその他の代謝物パターンは質的および量的に類似していた。

抽出残渣の可溶化 : 籾殻および子実の溶媒抽出後残渣の および酵素処理による可溶化処理で籾殻では主に親化合物およびすでに同定または特徴付された代謝物が検出されたが、子実では 可溶性画分にバックグラウンド放射能以上のピークはなく、macerozyme 可溶性画分では非常に極性の高い数個の代謝物が検出された。

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

Fluxapyroxad

表 22. 小麦茎葉処理による代謝物のまとめ

標識体	代謝物	青刈り茎葉	乾燥茎葉	葉	籾殻		子実
		-13DALA	4DALA		35/34ADLA		
		ERR		RRR		ERR	
A-標識体	親化合物	0.808 (91.3)	9.124 (89.4)	16.158 (83.8)	5.391 (80.1)	0.126 (1.9)	0.028 (63.0)
P-標識体	親化合物	0.923 (87.3)	8.937 (86.6)	14.896 (85.6)	5.635 (76.2)	0.318 (4.3)	0.034 (60.2)
同定合計	A-標識体						
	P-標識体						

上段の数値は mg/kg、括弧内の数値は%TRR。 nd: 検出せず ERR: 抽出画分 RRR: 非抽出画分
 (α-グルコシダーゼ/アスパラギナーゼ、マセリン、アミラーゼ/アミログルコシダーゼによる可溶化後に同定)
 DALA: 最終処理(2回処理)後、収穫までの日数
 *: A-標識体は 35DALA、P-標識体は 34DALA に収穫

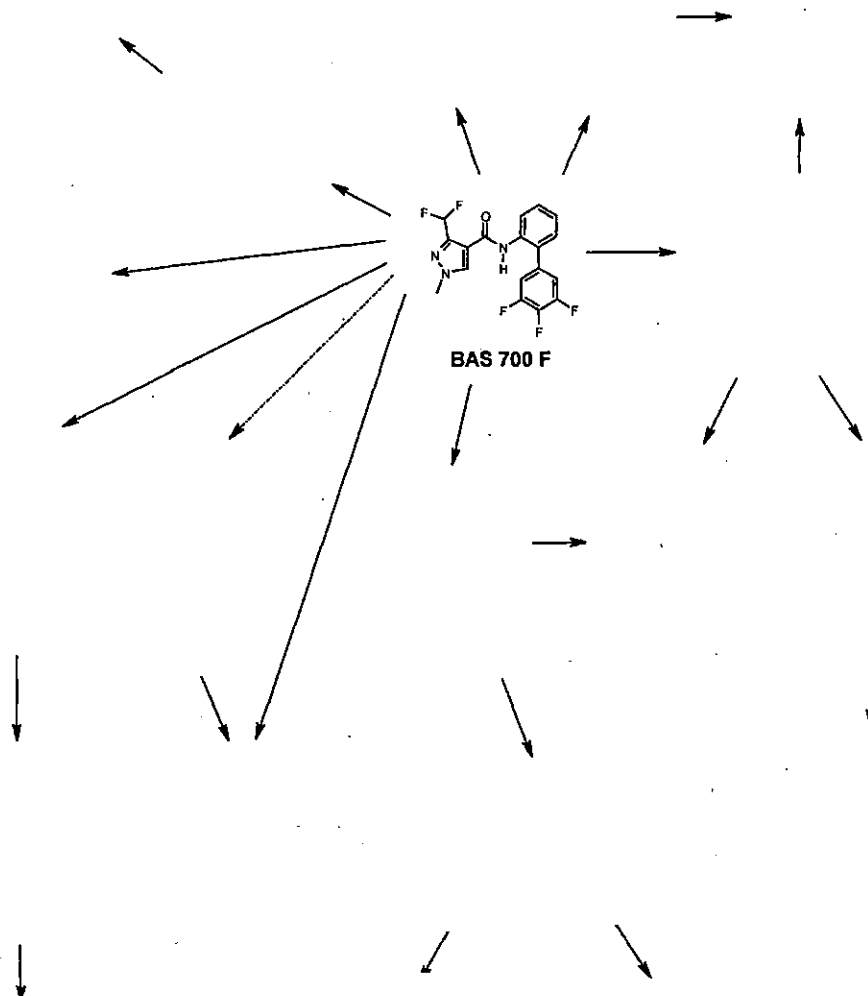
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。
Fluxapyroxad

代謝経路：

本化合物は主に 1) の脱メチル化、2) の加水分解により開裂、3) の水酸化、4) の水酸化、5)

の N-グルコシル化により代謝され、次いで、グルコースあるいはマロン酸抱合をする。芳香環のフッ素原子の水酸基による置換が認められるが、主要な分解反応とは考えられない。また、が 2 個 (F134 および F133) 同定されたが、は植物で一般的でないことから、処理溶液中の不純物に由来していると考えられる。この代謝経路は大豆およびトマトと同様である。

想定代謝経路：想定代謝経路を以下に示す。



小麦茎葉処理における想定代謝経路

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

Fluxapyroxad

2-4. ¹⁴C-標識検体の小麦種子処理による代謝試験

(資料 代-P4)

試験機関：

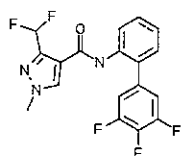
(GLP 対応)

報告書作成年：

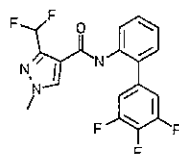
供試標識化合物

構造式：

A-標識体： ¹⁴C で均一に標識した 標識体



P-標識体： ¹⁴C で標識した 標識体



¹⁴C : ¹⁴C-標識部位

略 称	A-標識体	P-標識体
比放射能 (MBq/mg)		
放射化学的純度 (%)	97.1	97.7
化学的純度 (%)	92.7	約 95.1

化学名：3-(ジフルオロメチル)-1-メチル-*N*-(3',4',5'-トリフルオロビフェニル-2-イル)-1*H*-ピラゾール-4-カルボキサミド

供試植物：春小麦 (品種：Thasos)

栽培環境：

植物の取り込み実験はプラスチック製容器 (36.5 x 56 cm) に Bruch West 砂質壤土 (USDA) を充填した 2 x 10 容器 (2.04m²/標識体) に播種後、23 日間温室内で栽培した後、人工気象室内に移し、21 日間栽培後、容器を再度温室に戻した。

処理：

処理剤の調製：所定量の A-標識体および非標識体 (純度 99.3%) を 50 : 50 で秤入れた。また P-標識体および非標識体を 65 : 35 で秤入れた。これらの混合物をメタノールに溶解し、水で希釈後、白試料を添加し、超音波処理して均質な懸濁液を散布液とした。

設定処理量：75 g a. i. /100kg 種子=135g ai/ha 相当

処理時期/方法：種子を回転させながら均一に処理

播種時期：処理翌日

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

Fluxapyroxad

試料採取：処理 93 日後 (GS59) に青刈り茎葉、112 日後 (GS73-75；室温で 12 日間乾燥) に乾燥茎葉および成熟期 (GS89；A-標識体は 162 日後、P-標識体は 161 日後) に穂を刈り取り、藁を収穫したが、根部は収穫しなかった。穂は籾殻と子実に分離し、藁は細断した。試料はすべて用時まで冷凍保存した。

分析方法：

総残留放射能 (TRR) の測定；

液体試料：一部試料にシンチレーションカクテルを添加した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。

固体試料：均質化試料の一部を燃焼して発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体試料と同様に LSC で放射能を計測した。

残留放射能の分画；抽出スキームをスキーム 1-3 に示した。

均質化および TRR の計測：抽出および TRR の測定前に、籾殻および子実はミルを用い室温で、冷凍茎葉および乾燥茎葉はドライアイスとともに passing machine (Krefftt) で、冷凍藁の一部はミルを用い均質化した。すべての均質化試料は冷凍保存した。これを用いて上記のように燃焼法で放射能を計測した。

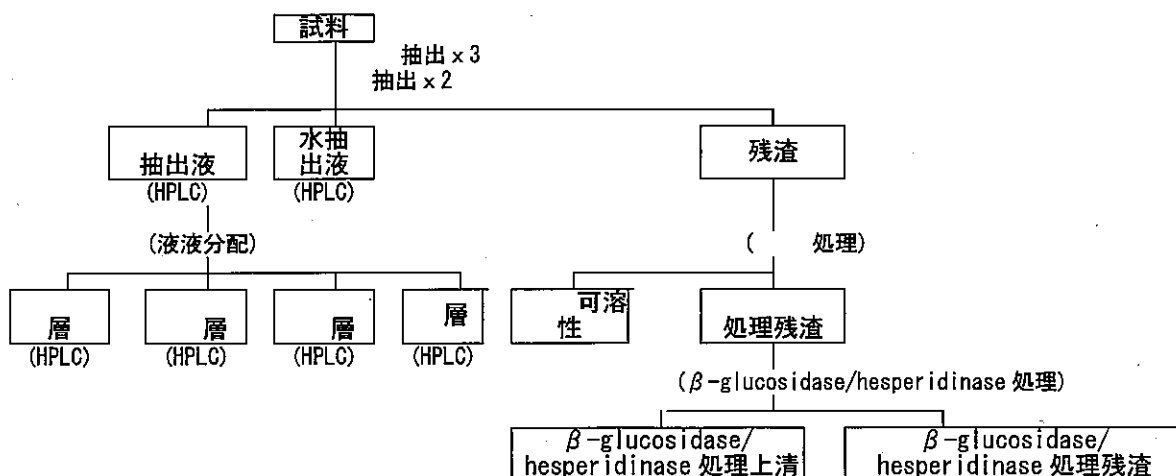
抽出法による TRR の計測：均質化試料はブレンダーを用い (3 回) および (2 回) で抽出し、抽出液はそれぞれプールした。この および 抽出液の合計を可溶性放射性残留 (ERR) とした。抽出残渣は均質化後、燃焼法で放射能を計測した (RRR)。ERR と RRR の合計を算出 TRR とし、表中の値はこの算出 TRR を用いた。

可溶性残留の液液分配：青刈り茎葉、乾燥茎葉、藁および籾殻の 抽出液の を蒸発させた後、蟻酸を添加して pH3-4 とした後、 および で各 3 回分配し、各層をプール後、各溶媒で定容した。これら有機相は LSC および HPLC で分析した。

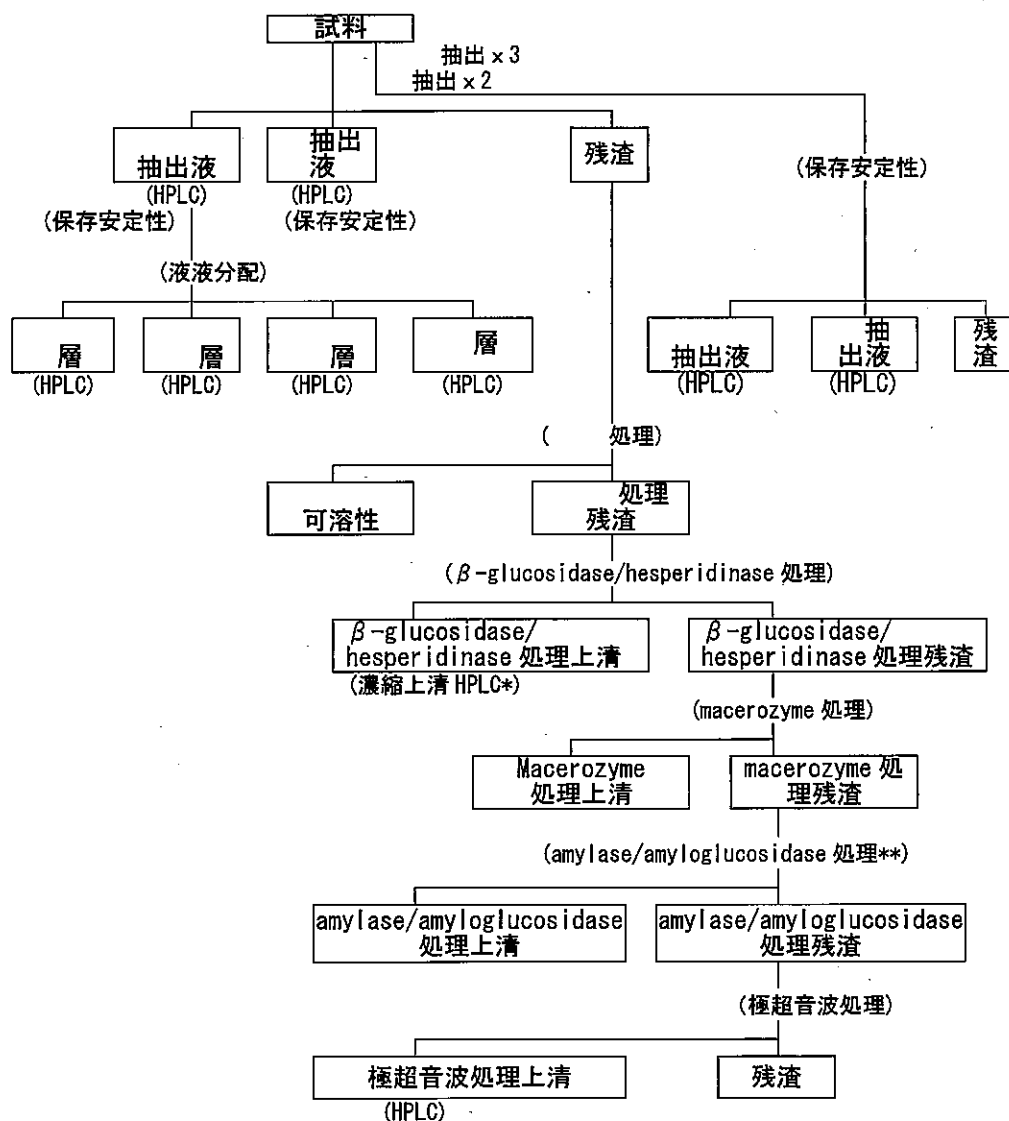
溶媒抽出後残渣の可溶化処理：溶媒抽出残渣を乾燥/均質化後、1% 水溶液を用いて 3 日間攪拌した後、遠心分離/濾過後可溶化画分 (蛋白) を得た後、残渣は乾燥した。青刈り茎葉および乾燥茎葉の残渣は β -glucosidase/hesperidinase で、籾殻 (P-標識体)、子実および藁 (両標識体) の残渣は β -glucosidase/hesperidinase で処理後、さらに、Macerozyme で、籾殻 (A-標識体) の残渣は β -glucosidase/hesperidinase、Macerozyme および amylase/ amyloglucosidase で処理し抽出した。さらに、加水分解後の残渣はアセトニトリル/水 (1/1) に懸濁後、150°C、10 分間超音波処理し抽出した。

酵素加水分解は β -glucosidase/hesperidinase では 0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5) 中で 2 日間 (グリコシド開裂)、Macerozyme では 0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5) 中で 2 日間 (細胞壁ポリサッカライド開裂)、 α/β -amylase/amyloglucosidase では 66.7mM リン酸緩衝液 (pH6) 中で 3 日間 (澱粉可溶化) 行った。各段階で遠心分離/濾過後可溶化画分を得た後、水で定容し、分析に供した。

スキーム 1：種子処理 93 日後小麦青刈り茎葉および 112 日後小麦乾燥茎葉

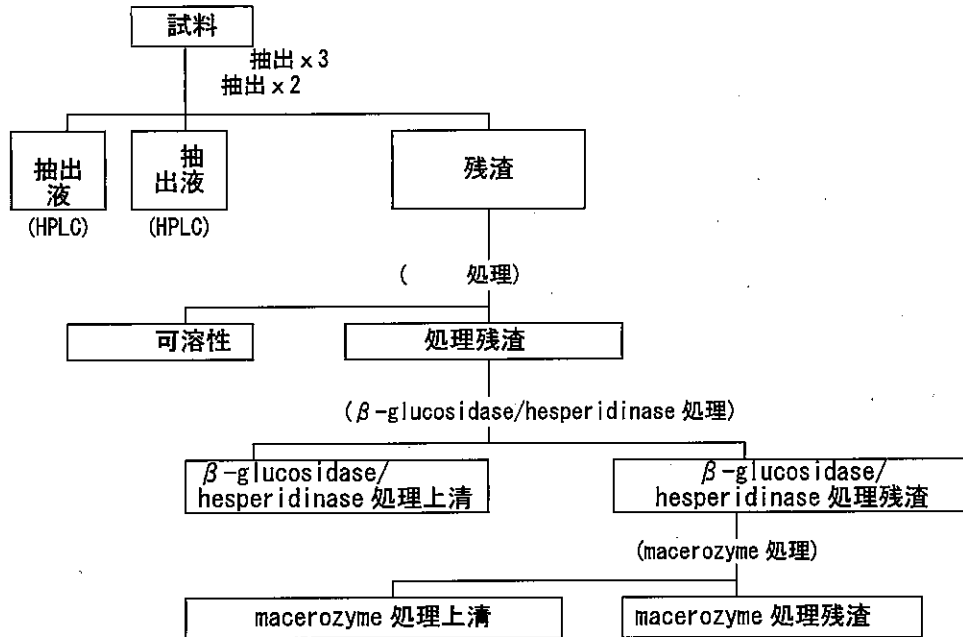


スキーム 2：種子処理小麦葉、籾殻



* 標識体の葉のみ、この操作を行った。
** 標識体の籾殻のみ、この操作を行った。

スキーム 3 : 種子処理小麦子実



代謝物のパターンの分析・同定・定量：

抽出液中の代謝物の定量には HPLC (主に Phenomenex Luna Phenyl-Hexyl -RP カラム) を用いた。代謝物の同定は主に薬 (P-標識体) の濃縮抽出液の層および抽出液の層の保持時間が同じ画分をプールし、LC-MS/MS 分析で行った。試料中のピークの帰属は分画抽出液中の代謝物の HPLC 溶出プロフィール/代謝物のパターンおよび標品 (同定代謝物) の保持時間との比較で決定した。確認 HPLC 分析は Phenomenex Columbus C18-RP カラムを用いて行った。

保存安定性：すべての試料は用事まで冷凍保存した。残留の安定性は代表的試料として薬 (A-標識体 162DALA および P-標識体 161DALA) を用いた。試験の開始時および終了時に放射能の抽出性および抽出液中の代謝物のパターンについて HPLC で分析した。さらに、冷凍保存後の試料を再抽出した抽出液を HPLC で再分析した。これらの分析結果を比較して安定性を検討した。

試験結果：

総残留放射能 (TRR)；均質化試料の一部を用いた燃焼法による TRR および抽出操作による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計に基づく TRR を表 1 に示す。

表 1. 直接燃焼および抽出/残渣画分の合計による TRR

試料	処理後日数	A-標識体		P-標識体	
		燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)	燃焼法 (mg/kg)	抽出法 (mg/kg)
青刈り茎葉	93 日				
乾燥茎葉	112 日 ¹				
藁	162/161 日 ²				
籾殻					
子実					

¹：収穫後、12 日間乾燥した

²：種子処理後 A-標識体は 162 日、P-標識体は 161 日に収穫

燃焼法および抽出法に基づく TRR にはわずかの差が認められたが、試料の不均質および燃焼に用いた試料が少ないためであると考えられる。しかし、両者に顕著な差は認められなかった。したがって、全ての TRR の計算には抽出法による溶媒可溶性画分 (ERR) と抽出残渣 (RRR) の合計を用いた。

抽出法による TRR は、A-標識体処理区では処理 93 日後の青刈り茎葉で 0.285mg/kg、処理 112 日後の乾燥茎葉で 1.115mg/kg、処理 162 日後に収穫した藁で 1.665mg/kg、籾殻で 0.307mg/kg、子実で 0.019mg/kg であった。

P-標識体処理区では処理 93 日後の青刈り茎葉で 0.288mg/kg、処理 112 日後の乾燥茎葉で 0.886mg/kg、処理 162 日後に収穫した藁で 1.871mg/kg、籾殻で 0.261mg/kg、子実で 0.032mg/kg であった。

概ね、TRR は両標識体で同等であった。

残留放射能の抽出性；放射能の抽出性について表 3 に示す。

残留放射能の抽出性は青刈り茎葉、乾燥茎葉、藁および籾殻で >74%TRR と高く、大部分は (60.0~94.8%TRR) で抽出され、(1.2~14.9%TRR) での抽出率は低かった。これに対し、子実では少し異なり、抽出性は 39.0(A-標識体)又は 35.9%(P-標識体)TRR と低く、(29.0(A-標識体)TRR および 16.6(P-標識体)%TRR、で 10.0(A-標識体)および 19.2%(P-標識体)TRR が抽出された。子実を除く抽出液については液液分配を行った (表 4)。

溶媒抽出後の残渣中の放射能 (RRR) は青刈り茎葉で 4.1-5.7%TRR (0.012-0.016mg/kg) であり、乾燥茎葉は 7.6-10.1%TRR (0.085-0.089mg/kg) とわずかに高く、藁で 11.0-12.3%TRR (0.204-0.206mg/kg)、籾殻で 19.8-25.9%TRR (0.052-0.080mg/kg) で、子実では 61.0-64.1%TRR (0.012-0.021mg/kg) と高かった。すべての RRR について、連続可溶性処理を行った (表 5)。

表 3. 残留の抽出性

試料	処理後 日数	TRR				溶媒可溶性 (ERR)		抽出残渣 (RRR)	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR

A-標識体

青刈り茎葉	93								
乾燥茎葉	112 ¹								
藁	162								
籾殻									
子実									

P-標識体

青刈り茎葉	93								
乾燥茎葉	112 ¹								
藁	161								
籾殻									
子実									

¹: 収穫後、12日間乾燥した

抽出液の液液分配: 抽出液を液液分配した結果を表4に示す。

抽出液を、およびを用いて液液分配した結果、抽出液中の放射能のほとんど(88-99%)が有機溶媒で抽出された。

表 4. 抽出液の液液分配特性

試料	処理後 日数	抽出液		液液分配								回収率	
				溶媒可溶性						水溶性			
						計							
mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	% ²	% ³		

A-標識体

青刈り茎葉	93														
乾燥茎葉	112 ¹														
藁	162														
籾殻															

P-標識体

青刈り茎葉	93														
乾燥茎葉	112 ¹														
藁	161														
籾殻															

¹: 収穫後、12日間乾燥した

²: (可溶性+ 可溶性+ 可溶性+ 溶性) / 抽出性 x 100

³: 溶媒可溶性/(溶媒可溶性+ 溶性) x 100 (申請者算出)

抽出残渣の連続可溶化処理: 種子処理小麦試料の溶媒抽出後残渣の可溶化処理を行った結果を表5に示す。これらの結果は、各試料について代謝物の同定および特徴付した結果の表にも含めた。

表 5. 標識体処理小麦試料の溶媒抽出後残渣の特徴付

画分	青刈り茎葉		乾燥茎葉		葉		籾殻		子実	
	93DAA		112DAA		162/161DAA		162/161DAA		162/161DAA	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
A-標識体										
RRR										
可溶性										
処理残渣										
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清										
β -glucosidase/hesperidinase 処理残渣										
Macerozyme 処理上清										
Macerozyme 処理残渣										
amylase/amyloglucosidase 処理上清										
amylase/amyloglucosidase 処理残渣										
超音波可溶性										
極超音波処理残渣										
可溶化残留放射能合計										
最終残渣										
回収率%*	99.3		101.2		104.9		106.2		99.2	
P-標識体										
RRR										
可溶性										
処理残渣										
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清										
β -glucosidase/hesperidinase 処理残渣										
Macerozyme 処理上清										
Macerozyme 処理残渣										
可溶化残留放射能合計										
最終残渣										
回収率%*	98.1		92.4		100.4		96.6		96.0	

DAA : 処理後収穫までの日数。162/161 は A-/P-標識体を示す。

* : (遊離放射能の合計+最終残渣) × 100/RRR

ERR の同定・特徴付および定量 :

代謝物同定のための MS 分析 :

P-標識体処理 161 日後葉の抽出液を有機溶媒で液液分配後の
 および 層を HPLC で分画し、各層の保持時間が同じ画分を混合/濃縮後、
 LC-MS/MS で分析し、以下の代謝物を同定した。同定された代謝物を分析用標品として用
 いた。

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

Fluxapyroxad

F007 : 保持時間 14.9 分の成分(質量 175)、	と	分子結合の開裂体
F036 : 保持時間 44.9 分の成分(質量 383)、脱メチル、		
F074 : 保持時間 48.9 分の成分(質量 559)、		のグルコース抱合体
F058 : 保持時間 51.8 分の成分(質量 645)、親化合物の ース抱合体		のマロニルグルコ
F048 : 保持時間 56.4 分の成分(質量 529)、親化合物の		の N-グルコシル体
F057 : 保持時間 57.2 分の成分(質量 559)、親化合物の 合体		のグルコース抱
F059 : 保持時間 58.8 分の成分(質量 645)、親化合物の コース抱合体		のマロニルグル
F005 : 保持時間 55.5 分の成分(質量 397)、親化合物の		分子の 4 位水酸化体
F042 : 保持時間 58.4 分の成分(質量 397)、親化合物の		分子の 1 分子水酸化体
F140 : 保持時間 61.3 分の成分(質量 455)、親化合物の 付加体		のグリコール酸
F141 : 保持時間 61.8 分の成分(質量 455)質量、親化合物の のグリコール酸付加体 (F140 の異性体)		脱メチル、
F041 : 保持時間 62.1 分の成分(質量 397)、親化合物の (F005、F006、F042 の異性体)		分子の 1 分子水酸化体
F006 : 保持時間 62.7 分の成分(質量 397)、親化合物の (F005、F041、F042 の異性体)		分子の 1 分子水酸化体
F008 : 保持時間 63.0 分の成分(質量 367)、		の脱メチル体
BAS700F : 保持時間 65.4 分の成分(質量 381)、親化合物		

処理 93 日後小麦青刈り茎葉における代謝物の同定 :

A-標識体種子処理 93 日後小麦青刈り茎葉 (表 6) :

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の 6 ピークが得られ、主要ピークは親化合物(0.223mg/kg ; 78.1% TRR)、2 番目の大きいピークは F008(%TRR、 mg/kg)であった。その他に F036(%TRR、 mg/kg)、F074(%TRR、 mg/kg)、F058(%TRR、 mg/kg)、F048/F057(%TRR、 mg/kg)。F042/F005(%TRR、 mg/kg)が同定された。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要なピーク(0.7%TRR、0.002mg/kg)および少量の 3 ピークが検出された。少量のピークは F058(%TRR、 mg/kg)および F008(%TRR、 mg/kg)が同定された。同

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

Fluxapyroxad

定できなかったピークは 0.1%TRR (0.0003mg/kg) であった。

合計で小麦青刈り茎葉の ERR から 95.8%TRR が同定され、0.1%TRR が特徴付された。同定された代謝物は小麦茎葉処理で同定された代謝物と同じであった。

溶媒抽出後残渣の処理により 0.5%TRR (0.002mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase /hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 0.3%TRR (0.001mg/kg) が遊離したが、両画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 3.2%TRR (0.009mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 0.8%TRR (0.002mg/kg) が特徴付された。

表 6. A-標識体種子処理 93 日後小麦青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.223	78.1	0.002	0.7	0.225	78.8
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: 1 ピークのみ。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体種子処理 93 日後小麦青刈り茎葉(表 7) :

抽出液の代謝物のパターンは親化合物および標識体特異的でない代謝物については A-標識体の場合と類似していた。さらに、極性代謝物が 3 個、中程度極性代謝物が 1 個検出された。主要ピークは親化合物 (0.199mg/kg ; 69.2% TRR) で、2 番目の大きいピークは F008 (%TRR、 mg/kg) であった。その他に P-標識体特異的代謝物 (F007) (%TRR、 mg/kg)、F036 (%TRR、 mg/kg)、F074 (%TRR、 mg/kg)、

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

Fluxapyroxad

F058 (%TRR, mg/kg)、F048/F057 (%TRR, mg/kg)、F059 (%TRR, mg/kg)、F042/F005 (%TRR, mg/kg) および P-標識体特異的代謝物 (F007) (%TRR, mg/kg) も同定された。同定できなかった 4 ピークはいずれも \leq %TRR (mg/kg) であった。

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、親化合物に相当する主要なピーク (1.1%TRR, 0.003mg/kg) および少量の 3 ピークが検出された。2 番目の大きいピークは F058 (%TRR, mg/kg) であった。その他に F008 (%TRR, mg/kg) が同定されたが、残りの 1 ピーク (0.1%TRR, 0.0003mg/kg) は同定できなかった。

合計で小麦青刈り茎葉の ERR から 90.8%TRR が同定され、3.5%TRR が特徴付された。

溶媒抽出残渣の 処理により 1.3%TRR (0.004mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 0.3%TRR (0.001mg/kg) が遊離したが、両画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 3.9%TRR (0.011mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 1.7%TRR (0.005mg/kg) が特徴付された。

表 7. P-標識体種子処理 93 日後小麦青刈り茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	メタノール抽出液		水抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.199	69.2	0.003	1.1	0.202	70.3
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: 4 ピークまで。各ピークは \leq 0.004 mg/kg (1.4%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

処理 112 日後の小麦乾燥茎葉における代謝物の同定：

A-標識体種子処理 112 日後の小麦乾燥茎葉 (表 8)：

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の 6 ピークが得られ、主要ピークは親化合物 (0.763mg/kg、68.4% TRR) で、2 番目の大きいピークは F008 (%TRR、 mg/kg) であった。その他に F036 (%TRR、 mg/kg)、F074 (%TRR、 mg/kg)、F058 (%TRR、 mg/kg)、F048/F057 (%TRR、 mg/kg)、F042/F005 (%TRR、 mg/kg) が同定された。

抽出液でも、親化合物に相当する主要なピーク (2.4%TRR、0.026mg/kg) および少量の 5 ピークが検出された。2 番目に大きいピークは F058 (%TRR、 mg/kg) であった。その他に F074 (%TRR、 mg/kg)、F008 (%TRR、 mg/kg) が同定された。同定できなかった 2 ピークの合計は 0.8%TRR (0.009mg/kg) であった。

合計で小麦乾燥茎葉の ERR から 91.5%TRR が同定され、0.8%TRR が特徴付された。

表 8. A-標識体種子処理 112 日後小麦乾燥茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.763	68.4	0.026	2.4	0.789	70.8
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd：検出せず

¹：2 ピーク、各ピークは ≤ 0.005 mg/kg (0.4%TRR)。

²：抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

溶媒抽出後残渣 処理により 1.0%TRR(0.011mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 0.6%TRR(0.006mg/kg) が遊離したが、両面分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 6.1%TRR(0.068mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 1.6%TRR(0.018mg/kg) が特徴付された。

P-標識体種子処理 112 日後の小麦乾燥茎葉(表 9) :

抽出液の代謝物パターンは親化合物および P-標識体特異的でない代謝物については A-標識体の場合と類似していた。したがって、P-標識体処理乾燥茎葉で検出された親化合物とすべての同定代謝物は A-標識体の場合と同じであった。さらに、P-標識体特異的極性代謝物が数個および F059 が検出された。主要ピークは親化合物(0.512mg/kg ; 57.8% TRR)で、2 番目に大きいピークは F008(%TRR、 mg/kg)であった。その他に F036(%TRR、 mg/kg)、F074(%TRR、 mg/kg)、F058(%TRR、 mg/kg)、F048/F057(%TRR、 mg/kg)、F059(%TRR、 mg/kg)、F042/F005 (%TRR、 mg/kg) も同定された。同定できなかった 3 ピークはいずれも $\leq 1.8\%$ TRR(0.016mg/kg)であった。

表 9. P-標識体種子処理 112 後小麦乾燥茎葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性(ERR)						
親化合物	0.512	57.8	0.008	0.9	0.520	58.7
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣(RRR)						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd : 検出せず

¹ : 29 ピークまで。各ピークは ≤ 0.016 mg/kg (1.8%TRR)。

² : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

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

Fluxapyroxad

抽出液も 抽出液と同様のクロマトグラムパターンを示し、主要なピークは親化合物 (0.9%TRR、0.008mg/kg) で、その他に 31 ピークが検出された。F058 (%TRR、 mg/kg) および F008 (%TRR、 mg/kg) が同定されたが、残りのピーク (それぞれ $\leq 0.7\%TRR$ 、 $\leq 0.006mg/kg$) は同定できなかった。

合計で小麦乾燥茎葉の ERR から 80.3%TRR が同定され、9.7%TRR が特徴付された。

溶媒抽出後残渣の 処理により 1.3%TRR (0.012mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 0.9%TRR (0.008mg/kg) が遊離したが、両画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 7.1%TRR (0.063mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 2.2%TRR (0.020mg/kg) が特徴付された。

種子処理 162/161 日後小麦中放射能の同定・特徴付

A-標識体種子処理 162 日後成熟小麦葉 (表 10) :

表 10. A-標識体種子処理 162 日後小麦葉中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	1.013	60.8	0.039	2.3	1.052	63.1
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
Macerozyme 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd : 検出せず

¹ : 6 ピーク、各ピークは ≤ 0.026 mg/kg (1.5%TRR)。

² : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の 9 ピークが得られ、主要ピークは親化合物(1.013mg/kg; 60.8% TRR)で、2 番目に大きいピークは F008(%TRR、 mg/kg)であった。その他に F036(%TRR、 mg/kg)、F074(%TRR、 mg/kg)、F058(%TRR、 mg/kg)、F048/F057(%TRR、 mg/kg)が同定された。同定できなかった 4 ピークはそれぞれ $\leq 1.5\%$ TRR(0.024mg/kg)であった。

抽出液でも、親化合物および主要な同定代謝物については A-標識体の場合と同じであった。主要なピークは親化合物(2.3%TRR、0.039mg/kg)で、その他に少量の 9 ピークが検出された。2 番目に大きいピーク (1.5%TRR、0.026mg/kg) は同定できなかった。F058(%TRR、 mg/kg)、F048/F057(%TRR、 mg/kg)、F008(%TRR、 mg/kg)が同定された。その他の同定できなかった 5 ピークはそれぞれ $\leq 0.9\%$ TRR (0.015mg/kg)であった。

合計で小麦葉の ERR から 79.5%TRR が同定され、8.3%TRR が特徴付された。

溶媒抽出後残渣 処理により 4.4%TRR(0.073mg/kg)が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 1.0%TRR(0.016mg/kg)が遊離した。さらに、Macerozyme 処理で 0.7%TRR(0.011mg/kg)が遊離した。いずれの画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 6.9%TRR(0.114mg/kg)が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 6.0%TRR(0.100mg/kg)が特徴付された。

P-標識体処理 161 日後成熟小麦葉(表 11) :

抽出液の代謝物のパターンは親化合物および主要な代謝物については A-標識体の場合と類似していた。主要ピークは親化合物(1.192mg/kg、63.7% TRR)で、2 番目の大きいピークは F008(%TRR、 mg/kg)であった。その他に F036(%TRR、 mg/kg)、F074(%TRR、 mg/kg)、F058(%TRR、 mg/kg)、F048/F057(%TRR、 mg/kg)、F059(%TRR、 mg/kg)が同定された。同定できなかった残りの 2 ピークは 1.2%TRR(0.023 mg/kg)および 0.08%TRR(0.015 mg/kg)であった。抽出液の濃縮液の液液分配による 層の LC-MS/MS 分析で F140、F141、F041、および F042 あるいは F006 が同定されたが、抽出液では検出限界以下であり、定量はできなかった。

抽出液から主要なピークおよび少量の 22 ピークが検出された。主要なピーク(1.4%TRR、0.025mg/kg)は親化合物であった。その他に F036(%TRR、 mg/kg)、F074(%TRR、 mg/kg)、F058(%TRR、 mg/kg)、F059(%TRR、 mg/kg)、F008(%TRR、 mg/kg)が同定されたが、残りの 17 ピーク(それぞれ $\leq 0.4\%$ TRR、 ≤ 0.007 /kg)は同定できなかった。

合計で小麦葉の ERR から 83.4%TRR が同定され、5.6%TRR が特徴付された。

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

Fluxapyroxad

溶媒抽出後残渣 処理により 3.2%TRR (0.060mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 1.4%TRR (0.026mg/kg) が遊離した。さらに、Macerozyme 処理で 0.6%TRR (0.011mg/kg) が遊離した。最終残渣には 5.9%TRR (0.110mg/kg) が含まれていた。 β -glucosidase/hesperidinase 可溶性画分を HPLC で分析したが、残留量が少なく、定量できなかった。

合計で、溶媒抽出後残渣中の 5.2%TRR (0.097mg/kg) が特徴付された。

表 11. P-標識体種子処理 161 日後小麦藁中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	1.192	63.7	0.025	1.4	1.217	65.1
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣 (RRR)						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
Macerozyme 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: 17 ピークまで。各ピークは ≤ 0.023 mg/kg (1.2%TRR)。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体種子処理 162 日後成熟小麦初穀 (表 12):

抽出液から主要な 1 ピークおよび少量の 3 ピークが得られ、主要ピークは親化合物 (0.158mg/kg; 51.5% TRR) で、2 番目の大きいピークは F008 (%TRR, mg/kg) であった。その他に F074 (%TRR, mg/kg)、F042/F005 (%TRR, mg/kg) が同

定された。

抽出液でも、親化合物に相当する主要なピーク (11.7%TRR、0.036mg/kg) と少量の 1 ピークが検出され、少量のピークは F008 (%TRR、 mg/kg) と同定された。

合計で小麦粗穀の ERR から 74.1%TRR が同定された。

溶媒抽出後残渣の 処理により 4.2%TRR (0.013mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 2.8%TRR (0.009mg/kg) が遊離し、Macerozyme 処理で 2.6%TRR (0.008mg/kg) が遊離した。さらに、amylase/amyloglucosidase 処理で 3.2%TRR (0.010mg/kg) が遊離した。残渣に多くの放射能 (14.5%TRR、0.045mg/kg) が検出されたので、極超音波処理したところ、7.4%TRR (0.023mg/kg) が遊離し、親化合物と同定された。 および酵素処理可溶性画分のいずれとも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 7.4%TRR (0.023mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 7.4%TRR (0.023mg/kg) が同定され、12.7%TRR が特徴付された。

表 12. A-標識体種子処理 162 日後小麦粗穀中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR						
抽出性 (ERR)						
親化合物	0.158	51.5	0.036	11.7	0.194	63.3
同定合計						
その他 HPLC ピーク ¹						
ERR の特徴付合計 ³						
抽出残渣 (RRR)						
極超音波処理抽出液中の親化合物 (単一ピーク)						
RRR 同定合計						
可溶性						
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清						
Macerozyme 処理上清						
amylase/amyloglucosidase 処理上清						
RRR の特徴付合計						
RRR の同定/特徴付合計						
同定合計						
特徴付合計						
同定/特徴付合計						
最終残渣						
総合計						

nd: 検出せず

¹: ピークなし。

²: 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体種子処理 161 日後成熟小麦粉殻 (表 13) :

抽出液から親化合物に相当する主要なピーク (56.3%TRR、0.147mg/kg) の他に少量の 1 ピークのみ検出され、F008 (%TRR、 mg/kg) と同定された。

抽出液から 14 ピークが検出され、親化合物 (2.0%TRR、0.005mg/kg) と F008 (%TRR、 mg/kg) と同定された。その他のピークはそれぞれ ≤4.2%TRR (0.011mg/kg) で同定できなかった。

合計で小麦粉殻の ERR から 67.8%TRR が同定され、12.4%TRR が特徴付された。

溶媒抽出後残渣 処理により 4.8%TRR (0.013mg/kg) が遊離し、次いで、β-glucosidase/hesperidinase 処理により糖関連物質と考えられる 3.4%TRR (0.009mg/kg) が遊離した。さらに、Macerozyme 処理で 1.5%TRR (0.004mg/kg) が遊離した。いずれの画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 9.3%TRR (0.024mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 9.8%TRR (0.026mg/kg) が特徴付された。

表 13. P-標識体種子処理 161DAA 小麦粉殻中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR					0.261	100.0
抽出性 (ERR)					0.209	80.2
F008						
親化合物	0.147	56.3	0.005	2.0	0.152	58.3
同定合計					0.177	67.8
その他 HPLC ピーク ¹	nd	nd	0.032	12.4	0.032	12.4
ERR の特徴付合計					0.032	12.4
抽出残渣 (RRR)					0.052	19.8
可溶性					0.013	4.8
β-glucosidase/hesperidinase 処理上清					0.009	3.4
Macerozyme 処理上清					0.004	1.5
RRR の特徴付合計					0.026	9.8
RRR の同定/特徴付合計					0.026	9.8
同定合計					0.177	67.8
特徴付合計					0.058	22.1
同定/特徴付合計					0.235	90.0
最終残渣					0.024	9.3
総合計					0.259	99.3

nd : 検出せず

¹ : 12 ピークまで。各ピークは ≤0.011 mg/kg (4.2%TRR)。

² : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

A-標識体種子処理 162 日後成熟小麦子実 (表 14) :

抽出液から 3 ピークが検出され、親化合物 (0.0032mg/kg ; 16.8% TRR) と F008 (%TRR、 mg/kg) をそれぞれ P-標識体処理成熟小麦葉および籾殻の分析に基づく保持時間の比較から同定した。

抽出液からベースラインを超える 2 ピーク (極性物質:6.3%TRR、0.0012mg/kg および中程度極性物質:3.7%TRR、0.0007mg/kg) が検出されたが、同定できなかった。

合計で小麦子実の ERR から 21.2%TRR (0.004mg/kg) が同定、17.7%TRR (0.003mg/kg) が特徴付された。

溶媒抽出後残渣の 処理により 15.8%TRR (0.003mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により 4.0%TRR (0.001mg/kg) が遊離し、Macerozyme 処理で 27.6%TRR (0.005mg/kg) が遊離した。いずれの画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 13.0%TRR (0.002mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 47.5%TRR (0.009mg/kg) が遊離した。

表 14. A-標識体種子処理 162DAA 小麦子実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR					0.0191	100.0
抽出性 (ERR)					0.0074	39.0
F008						
親化合物	0.0032	16.8	nd	nd	0.0032	16.8
同定合計					0.0040	21.2
その他 HPLC ピーク ¹	0.0015	7.7	0.0019	10.0	0.0034	17.7
ERR の特徴付合計 ³					0.0034	17.7
抽出残渣 (RRR)					0.0116	61.0
可溶性					0.0030	15.8
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清					0.0008	4.0
Macerozyme 処理上清					0.0053	27.6
RRR の特徴付合計					0.0091	47.5
RRR の同定/特徴付合計					0.0091	47.5
同定合計					0.0040	21.2
特徴付合計					0.0125	65.2
同定/特徴付合計					0.0165	86.5
最終残渣					0.0025	13.0
総合計					0.0190	99.5

nd : 検出せず

¹ : ピークなし。

² : 抽出液はさらに、液液分配して特徴付した。

P-標識体種子処理 162 日後成熟小麦子実 (表 15) :

抽出液から 4 ピークが検出され、親化合物 (0.0023mg/kg ; 7.1% TRR) と F008 (%TRR、 mg/kg) を同定した。残りの 2 ピーク (4.6%TRR、0.0015mg/kg; 2.7%TRR、0.0009mg/kg) は極性物質で同定できなかった。

抽出液の放射能は低く、ベースラインを超えるピークは検出されなかった。

合計で小麦子実の ERR から 9.4%TRR (0.003mg/kg) が同定、7.3%TRR (0.002mg/kg) が特徴付された。

溶媒抽出後残渣 処理により 14.1%TRR (0.005mg/kg) が遊離し、次いで、 β -glucosidase/hesperidinase 処理により 3.4%TRR (0.001mg/kg) が遊離し、Macerozyme 処理で 25.6%TRR (0.008mg/kg) が遊離した。いずれ画分とも放射能が少なく、HPLC 分析は実施しなかった。最終残渣には 18.5%TRR (0.006mg/kg) が含まれていた。合計で、溶媒抽出後残渣中の 43.1%TRR (0.014mg/kg) が遊離した。

表 15. P-標識体種子処理 161 日後成熟小麦子実中放射能の同定・特徴付

代謝物の帰属	抽出液		可溶性合計	
	(mg/kg)	(%TRR)	(mg/kg)	(%TRR)
TRR			0.0322	100.0
抽出性 (ERR)			0.0116	35.9
F008				
親化合物	0.0023	7.1	0.0023	7.1
同定合計			0.0030	9.4
その他 HPLC ピーク ¹	0.0024	7.3	0.0024	7.3
抽出による特徴付			0.0062	19.2
ERR の特徴付合計 ³			0.0086	26.5
抽出残渣 (RRR)			0.0207	64.1
可溶性			0.0045	14.1
β -glucosidase/hesperidinase 処理上清			0.0011	3.4
Macerozyme 処理上清			0.0082	25.6
RRR の特徴付合計			0.0138	43.1
RRR の同定/特徴付合計			0.0138	43.1
同定合計			0.0030	9.4
特徴付合計			0.0224	69.6
同定/特徴付合計			0.0254	79.0
最終残渣			0.0060	18.5
総合計			0.0314	97.5

¹: 2 ピークまで。各ピークは ≤ 0.001 mg/kg (4.6%TRR)。

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

Fluxapyroxad

代謝経路：小麦における代謝は緩慢で、未変化の親化合物がすべての部位で主要な成分であった。次いで、最も多い代謝物は F008 であった。

親化合物は主要な 4 つの変換経路を経て代謝される。

本化合物は主に 1) の脱メチル化、2) 分子の水酸化、3) の水酸化、4) 分子の N-グルコシル化により代謝され、次いで、グルコースあるいはマロン酸抱合する。さらに、マイナー経路として、の加水分解により開裂代謝される。種子処理により同定された代謝物は茎葉処理で同定された代謝物の範囲内にあった。茎葉処理では残留量が多いことから多数の代謝物が同定されたものと考えられる。種子処理による代謝経路は茎葉処理と同じであり、また他の作物と同様である。

保存安定性：すべての試料の抽出および分析時期に関する詳細は表 16 に示す。また、異なる冷凍保存期間後の小麦藁の残留放射能の抽出性について表 17 に示す。

表 16. 保存安定性 (空欄は分析せず)

試料	作業*	目的**	A-標識体		P-標識体	
			期間 (日)		期間 (日)	
			試料採取から抽出	試料採取から分析	試料採取から抽出	試料採取から分析
青刈り茎葉	抽出	定量	108	112	108	112
				122		
		確認	108	195	108	196
				206		199
	分配	分析	123	129	123	125
				130		
		確認	123	201	123	200
				202		202
乾燥茎葉	抽出	定量	91	93	91	93
				103		
		確認	91	176	91	176
				187		187
	分配	分析	104	110	104	107
				127		
		確認	104	182	104	182
				183		187
葉	抽出	定量/安定性	27	29	28	29
				28		
		確認	27	124	28	126
				130		132
	抽出/再分析	抽出液中安定性	27	148	28	149
				148		
		確認	27	152	28	153
				152		153
	再抽出	試料中安定性	146	147	147	148
				147		
		確認	146	152	147	153
				152		153
	分配	分析	55	56	56	57
				60		
		確認	55	131	56	132
				133		138
分配	層の同定	-	-	93	97	
			-			100
	層の同定	-	-	93	105	
			-		110	
結合残渣酵素処理	定量	-	-	90	96	
	確認	-	-	-	135	
初穀	抽出	定量	39	145	40	139
				53		
		確認	39	127	40	127
				131		138
	分配	分析	55	56	56	57
				61		
		確認	55	133	56	134
				na		-
RRR の処理	定量	78	na	-	-	
		144	145	-	-	
子実	抽出	定量/安定性	26	127	27	128
				29		
		確認	26	29	27	30
				-		30

(注)*: 抽出の場合、「試料採取から分析」の欄の2つの日付のうち上段は抽出液、下段は抽出液についての分析までの期間を示す。分配の場合、上段は HPLC 分析をした最初の日、下段は分析終了日を示す。

** : 確認分析は定量/安定性の分析とは異なる分析法で分析した。

表 17. 異なる冷凍保存期間後の小麦藁の残留放射能の抽出性

試料	処理後 日数	保存期 間 (カ 月)	TRR				溶媒可溶性 (ERR)		抽出残渣 (RRR)		
			mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
A-標識体											
藁	162	0.9	1.665	1.346	80.8	0.115	6.9	1.461	87.7	0.204	12.3
		4.9	1.255	0.982	78.3	0.096	7.6	1.078	85.9	0.177	14.1
P-標識体											
藁	161	0.9	1.871	1.535	82.0	0.130	7.0	1.665	89.0	0.206	11.0
		4.9	2.092	1.629	77.9	0.168	8.0	1.796	85.9	0.296	14.1

残留の安定性は代表的試料として成熟小麦藁(A-標識体種子処 162 日後および P-標識体種子処理 161 日後)を用いた。試験の開始時(試料採取 1-4 ヶ月以内)に抽出し、青刈り茎葉(処理 93 日後)、乾燥茎葉(処理 112 日後)および藁は抽出後 1 ヶ月以内に、籾殻および子実は約 4 ヶ月後に分析した。さらに、抽出液を冷凍保存後約 4 ヶ月後に再分析した。また、試料採取後約 4 ヶ月間冷凍保存後に再抽出し、抽出 1 週間以内に分析し、抽出液中の代謝物のパターンについて比較して安定性を検討した結果、意味のある変化は認められなかった。また、収穫後、約 1 ヶ月間および 5 ヶ月間冷凍保存した小麦藁の抽出性にほとんど差は認められなかった。したがって、抽出液および保存試料中の残留は安定であることが確認された。

まとめ:

春小麦の種子に 75g ai/100kg 種子(=135g ai/ha 相当)処理し、翌日に播種した。処理 93 日後に青刈り茎葉を、処理 112 日後に茎葉を収穫し、12 日間乾燥した(乾燥茎葉)。さらに、処理 162(A-標識体)/161(P-標識体)日後に成熟小麦を収穫し、藁、籾殻および子実に分離した。

総残留放射能(TRR)および放射能の抽出性(表 18):

TRR は藁で最も多く、次いで乾燥茎葉、籾殻および青刈り茎葉で、子実は最も少なかった。

残留放射能の抽出性は青刈り茎葉、乾燥茎葉、藁および籾殻で >74%TRR と高く、大部分は (60.0~94.8%TRR) で抽出され、(1.2~14.9%TRR) での抽出率は低かった。これに対し、子実では 36-39%TRR と低く、 で 17-29%TRR、 で 10-19%TRR が抽出された。溶媒抽出後の残渣中の放射能(RRR)は青刈り茎葉で最も少なく(4-6%TRR)、次いで乾燥茎葉(8-10%TRR)、藁(11-12%TRR)および籾殻(20-26%TRR)と多くなり、子実(61-64%TRR)は最も多かった。

子実を除く 抽出液については液液分配を行った結果、抽出液中の放射能のほとんど(88-99%)が有機溶媒()、および ()で抽出され、 溶性の放射能は非常に少なかった。

表 18. 抽出法による TRR および抽出性

試料	処理後 日数	A-標識体					P-標識体				
		TRR	ERR ²		RRR ³		TRR	ERR		RRR	
		mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
青刈り茎葉	93	0.285	0.274	95.9	0.012	4.1	0.288	0.272	94.3	0.016	5.7
乾燥茎葉	112	1.115	1.030	92.4	0.085	7.6	0.886	0.797	89.9	0.089	10.1
藁	162/ 161 ¹	1.665	1.461	87.7	0.204	12.3	1.871	1.665	89.0	0.206	11.0
籾殻		0.307	0.228	74.1	0.080	25.9	0.261	0.209	80.2	0.052	19.8
子実		0.019	0.007	39.0	0.012	61.0	0.032	0.012	35.9	0.021	64.1

¹: 種子処理後 A-標識体は 162 日、P-標識体は 161 日に収穫

²: および による抽出放射能

³: 抽出残渣

代謝物 (表 19):

親化合物の代謝は比較的緩慢で、すべての試料で主要な成分(青刈り茎葉、乾燥茎葉、藁および籾殻で 58.3-78.8%TRR; 子実で 16.8 又は 7.1%TRR)であった。次いで、最も多い代謝物は F008 (%TRR)で、すべての試料で検出された。その他の代謝物は ≤4.2%TRR (0.079mg/kg)と少なかった。P-標識体で検出された F007、F059 および未同定の数個の代謝物を除いて、両標識体ともその他の代謝物のパターンは質的および量的に類似していた。

表 19. 小麦種子処理による代謝物のまとめ

標識体	代謝物	青刈り茎葉	乾燥茎葉	藁	籾殻	子実
		93DAA	112DAA	162/161DAA		
A-標識体	親化合物	0.225 (78.8)	0.789 (70.7)	1.052 (63.1)	0.217 (70.6)	0.0032 (16.8)
	F036					
	F074					
	F058					
	F048/F057					
	F042/ F005					
	F008					
P-標識体	親化合物	0.202 (70.3)	0.520 (58.7)	1.217 (65.1)	0.152 (58.3)	0.0023 (7.1)
	F007					
	F036					
	F074					
	F058					
	F048/F057					
	F059					
	F042/ F005					
F008						

DAA: 処理後収穫までの日数。162/161 は A-/P-標識体を示す。

上段の数値は mg/kg、括弧内の数値は%TRR。 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 BASF ジャパン株式会社にある。

Fluxapyroxad

抽出残渣の可溶化：

溶媒抽出後残渣の および酵素処理、さらに A-標識体処理籾殻については極超音波処理による可溶化処理を行った結果、最終残留は青刈り茎葉、乾燥茎葉、葉および籾殻で 3.2-9.3%TRR、子実で 13.0%TRR (0.002mg/kg) および 18.5%TRR (0.006mg/kg) (それぞれ A-および P-標識体) となった。籾殻の極超音波処理による可溶化画分を HPLC で分析したところ、親化合物のピークのみ検出された。

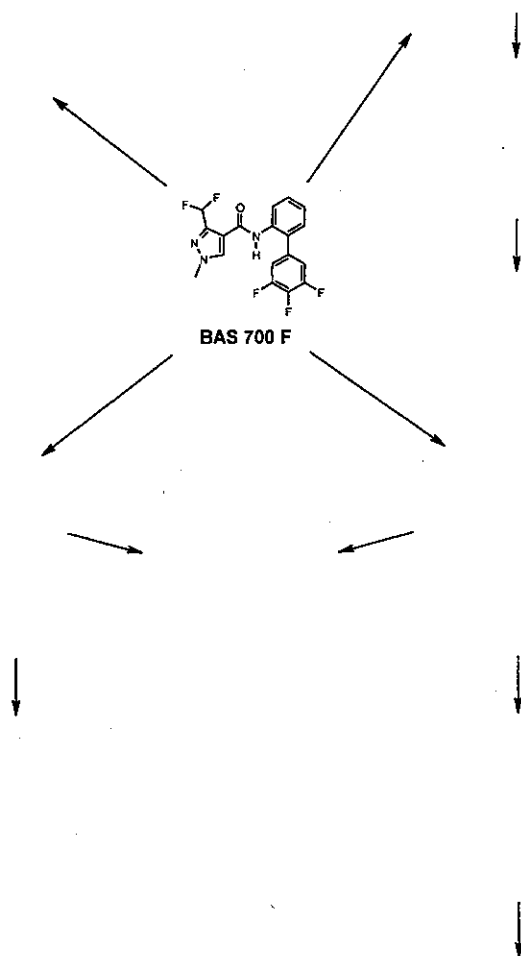
代謝経路：

本化合物は主に 1) の脱メチル化、2) の水酸化、3) の水酸化、4) の N-グルコシル化により代謝され、次いで、グルコースあるいはマロン酸抱合する。さらに、マイナー経路として、の加水分解により開裂代謝される。種子処理による代謝経路は茎葉処理と同じであり、また他の作物と同様である。

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

Fluxapyroxad

想定代謝経路：想定代謝経路を以下に示す。



小麦の種子処理における想定代謝経路