

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。

Pyraclostrobin

2-4. ピラクロストロビンのハクサイにおける代謝試験

(代謝・分解 6)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試化合物：

1. ¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置設定理由：

2. 代謝物同定用対照化合物；本試験に使用した対照化合物を末尾に記載した。

申請者注：本抄録中において

「 」標識化合物で処理した試料を「 」処理試料、

「 」標識化合物を処理した試料を「 」処理試料として表記した。

試験方法：

試料の調製：

本試験における供試作物、栽培方法、処理方法、散布方法並びに試料採取は次頁の表のとおりである。

供試作物	ハクサイ(品種:新京都3号). 各標識化合物当り3個体で計6個体.
栽培方法	7aitton [®] 内でポット育苗し, 本葉が約5枚となった健全株を1個体/ポットに移植. 以後, 試験期間中7aitton [®] 内で栽培. 光源は自然太陽光.
散布方法	上述の各標識化合物に白試料を添加後, 水を加えて散布液を調製し, この散布液をハクサイ個体全体に散布した.
散布濃度及び時期	予定最大散布量(x3000, 200L/10a)に相当する13gA.I./10aを収穫前17, 10及び3日の計3回散布.
最終散布から試料採取までの日数	最終処理3日後に結球部(可食部)と外葉部を切り取って収穫後, 適度な大きさに切断し, 直ちに $\leq -20^{\circ}\text{C}$ に冷凍保存.

*7aitton[®]の設定条件

栽培日	昼間温度	夜間温度	相対湿度
'99. 10. 12~ 10. 31	20. 6	14. 6	67
'99. 11. 1~11. 30	15. 6	9. 6	61
'99. 12. 1~12. 24	10. 9	7. 0	55

放射性成分の抽出及び同定:

凍結状態のまま各試料を適量のドライアイスと共に粉砕して均一化し, 各試料を燃焼してLSCで総放射能残留量(TRR)を測定した. 抽出可能放射能残留量(ERR)は, 均一化した試料をメタノールで2回抽出してLSCで測定した. 非抽出性放射能残留量(RRR)は, 抽出後の残渣を1日以上風乾後, 各試料を燃焼してLSCで測定した.

抽出液を濃縮後, 水で溶解し, この水溶液を逆相C18ミニカラムを用いたSPE分析を行い, 水溶液中に溶出する高極性水溶性成分以外の放射性成分をカラムに保持させた. 保持された成分を
で順次溶出させ, 低極性成分と極性成分に分画した.
の各溶出液についてLSCで放射能を測定した.

抽出液中の放射性成分の同定/特徴づけは2種類のHPLC条件下での対照化合物とのクロマトグラフィー並びにTLCクロマトグラフィーにより行った. また, SPE分画をHPLC/フローシンチレーションアナライザー法(HPLC/FSA法)で分離・定量した.

試験結果：

ハクサイの外葉部及び結球部における放射能残留量は「表 1」にみられるように、それぞれの標識化合物で処理した試料間で差はなく、「」処理試料の外葉部で 61.3%TRR、同結球部で 38.7%TRR であった。「」処理試料ではそれぞれ 62.6%TRR 及び 37.5%TRR であった。

表 1. 外葉部及び結球部の総放射能残留量 (TRR)

試料部位	「 <input type="text"/> 」処理試料		「 <input type="text"/> 」処理試料	
	TRR (mg eq/kg)	分布 (%)	TRR (mg eq/kg)	分布 (%)
外葉部	3.7219	62.55	2.7484	61.32
結球部	1.2013	37.45	1.1161	38.68
合計	---	100.00	---	100.00

放射性成分の抽出効率は、下表にみられるように外葉部あるいは結球部に関わらず、また標識位置の違いによる差もなく、放射能の大部分が抽出可能で、非抽出性放射活性は \leq %TRR であった。

表 2. 抽出効率 (数値は mg eq/kg, カッコ内は %TRR)

	「 <input type="text"/> 」処理試料		「 <input type="text"/> 」処理試料	
	外葉部	結球部	外葉部	結球部
総放射能残留量 (TRR)	3.7219 (100)	1.2013 (100)	2.7484 (100)	1.1161 (100)
抽出放射能 (ERR)	4.0166 (109.40)	1.2911 (108.95)	2.9260 (106.46)	0.9889 (88.60)
非抽出放射能 (RRR)	0.1511 (4.22)	0.0414 (3.49)	0.0978 (3.56)	0.0284 (2.54)
合計	4.1716 (113.63)	1.3324 (112.44)	3.0238 (110.02)	1.0172 (91.14)

SPE 分画後の水溶出液 (高極性水溶性成分)、溶出液 (低極性成分) 及び溶出液 (極性成分) における放射活性は「表 3」のとおりで、水溶出液中の放射能は標識位置あるいは試料部位に関わらず全て 0.5%TRR を超えるものではなかった。溶出液中に大部分の放射能が回収され、溶出液中の放射能はいずれの試料においても $< 10\%$ TRR であった。このことは「」あるいは「」いずれの処理においても、高極性の代謝物が生成する比率が低いことを示している。

表 3. SPE 分画後の各溶出液中の放射能 (数値は mg eq/kg, カッコ内は %TRR)

	「 <input type="text"/> 」処理試料		「 <input type="text"/> 」処理試料	
	外葉部	結球部	外葉部	結球部
総放射能残留量 (TRR)	3.7219 (100)	1.2013 (100)	2.7484 (100)	1.1161 (100)
抽出放射能 (ERR)	4.0166 (109.40)	1.2911 (108.95)	2.9260 (106.46)	0.9889 (88.60)
水溶出液	0.0116 (0.32)	0.0058 (0.49)	0.0046 (0.17)	0.0030 (0.27)
溶出液	3.7343 (101.71)	1.1831 (99.84)	2.6982 (98.17)	0.9097 (81.51)
溶出液	0.3128 (8.52)	0.0785 (6.63)	0.2421 (8.81)	0.0672 (6.02)
合計	4.0587 (110.55)	1.2674 (106.95)	2.9448 (107.15)	0.9798 (87.79)

SPE 分画からの溶出液を合わせ HPLC/FSA 法で分析し、得られた HPLC ラジオクロマトグラムを 22 画分に分画して、それぞれの画分についての定量結果を「表 4」にまとめた。

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。

Pyraclostrobin

「表 4」にみられるように、外葉部及び結球部に検出された放射活性の大部分は未変化の親化合物で、外葉部で 82.5~82.9%TRR、結球部で 74.2~85.1%TRR であった。主代謝物としては [] が検出され、「 [] 」処理試料の外葉部で [] %TRR、同結球部で [] %TRR であった。「 [] 」処理試料ではそれぞれ [] %TRR 及び [] %TRR であった。

主代謝物 [] 以外にも数種類の微量代謝物が検出されたが、いずれも HPLC 及び TLC コロマトグラフィーにおいて対照化合物とは一致しなかった。

これらの未知代謝物の中で最も放射能が高かった未知代謝物 [] においても最大 [] %TRR (「 [] 」処理試料の外葉部) にすぎなかった。

以上、 [] のハクサイにおける代謝試験の結果は次のようにまとめられる。
・ [] の主代謝経路は代謝物 [] であり、この代謝速度は比較的遅い。

- ・ 高極性の水溶性代謝物及び BOUND 残留物の生成はほとんど認められなかった。
- ・ また、ハクサイにおける知見は他の作物で得られた結果と同様と判断された。

本試験の結果に基づく想定代謝経路を「図 1」に示した。

表 4. 各画分中の放射能(数値は mg eq/kg、カッコ内は%TRR)

		「 」処理試料		「 」処理試料		備 考
		外葉部	結球部	外葉部	結球部	
総放射能残留量 (TRR)		3.7219 (100)	1.2013 (100)	2.7484 (100)	1.1161 (100)	
画分	溶出時間(分)					
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19	27.1~29.0	3.0279 (82.47)	1.0086 (85.11)	2.2789 (82.92)	0.8281 (74.20)	親化合物の溶出域*
20						
21						
22						
合 計		4.0471 (110.23)	1.2616 (106.46)	2.9402 (106.98)	0.9769 (87.53)	

*1. HPLCによる Rt 測定値: $\frac{\text{化合物}}{\text{親化合物}} \frac{\text{Rt 測定値(分)}}{27.0 \sim 27.4}$

*2. 「 」処理試料のみに検出(ジ'クロマトグラム)

*3. 「 」及び「 」処理いずれにも検出(ジ'クロマトグラム)

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

Pyraclostrobin

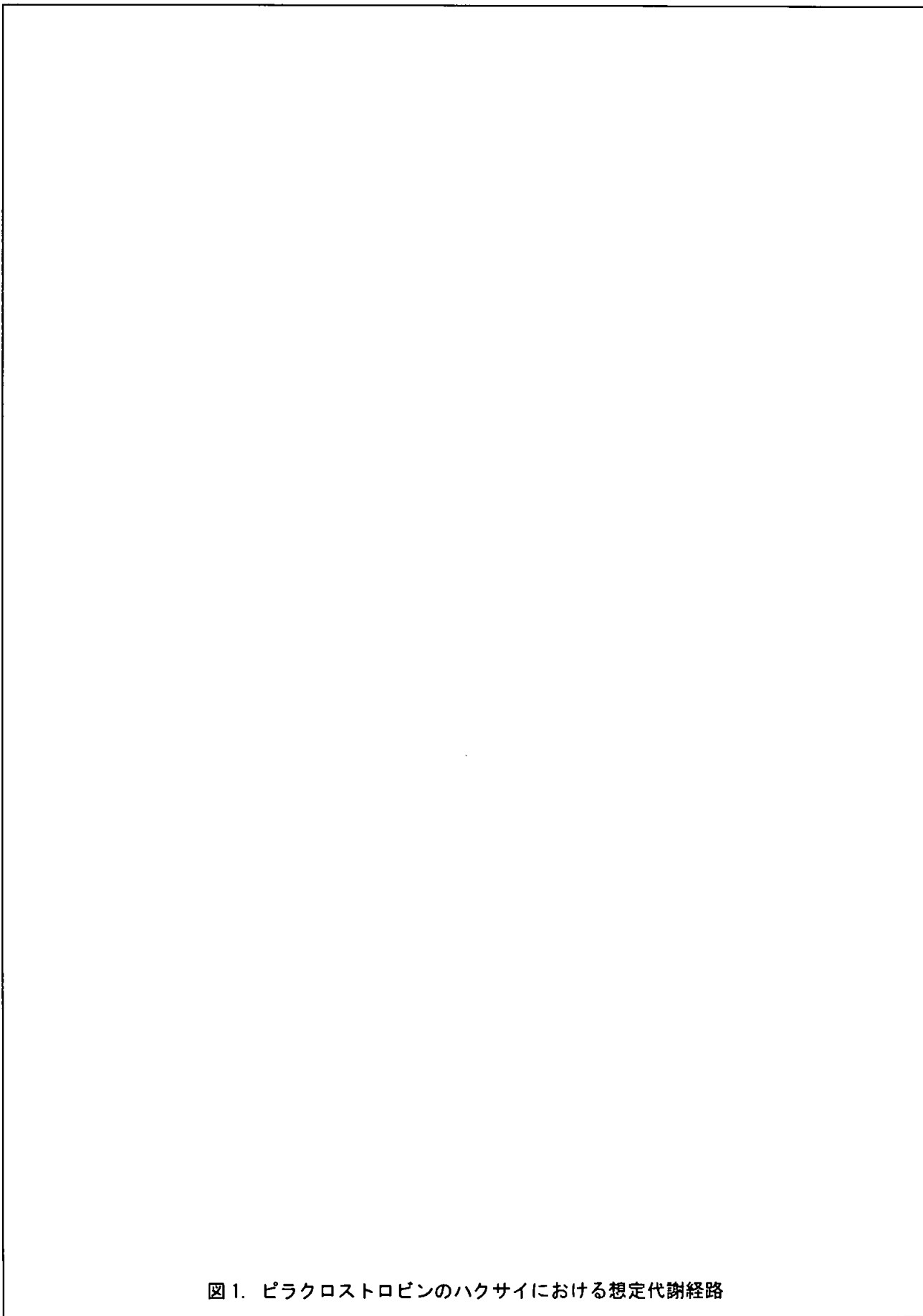


図1. ピラクロストロビンのハクサイにおける想定代謝経路

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。

Pyraclostrobin

同定に使用した対照化合物：

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

Pyraclostrobin

3. 土壌中運命に関する試験

3-1. ピラクロストロビンの好気条件下における土壌中の代謝

- ¹⁴C - 標識ピラクロストロビンの土壌中の代謝 (代謝・分解 7-1)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

- ¹⁴C - 標識ピラクロストロビンの土壌中の代謝 (代謝・分解 7-2)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

供試化合物:

1. ¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

2. 代謝物同定用対照化合物: 「 」標識及び「 」標識化合物での各試験に使用した対照化合物を末尾に記載した。

申請者注: 本抄録中において

「 」標識化合物を用いた試験を「 」試験、

「 」標識化合物を用いた試験を「 」試験として表記した。

供試土壌: 下記の土性の「砂壤土(注: USDAの土壌分類に基づく)」をそれぞれの試験に使用した。

	構成比(%)			pH	CEC	有機態炭素	総窒素(%)	最大含水量
	砂	シルト	粘土					
「 」試験	64	26	10	7.3	13.9	1.8	0.17	43
「 」試験	69	18	13	7.5	15.6	2.0	0.17	44

CEC: meq/100g (申請者注: mval=meq) 有機態炭素: g水/100g乾土

試験方法：

供試土壌の処理：

	「 」試験	「 」試験
添加量	0.33mg A. I. /kg 乾土：圃場での施用量 250g A. I. /ha に相当(土壌密度 1.5g/cm ³ で表層 5cm に均一に混和を基準) (以下「0.33mg/kg 処理土壌」とする)	2.0mg A. I. /kg 乾土(圃場施用量の 6 倍, 1500g A. I. /ha 相当)：代謝物の解析及び同定をより十分に行うための処理土壌(以下「2.0mg/kg 処理土壌」とする)
土壌水分	最大容水量(MWC)の 40%に調整し、下記のインキュベーション期間中、定期的にごうら皿を秤量して土壌水分を測定し、蒸発分を補充した。	
インキュベーション	1 トレ当たり調製土壌を入れたごうら皿 5 枚を代謝試験装置のステンレス製インキュベーションチューブに設置し、暗条件、温度 20±1°C でインキュベートした。	
試料採取	0.33mg/kg 処理土壌： 調製後 0, 1, 3, 7, 14, 33, 60, 87, 180, 270, 360 日(以下「XDAT」で表記)	0.33mg/kg 処理土壌： 調製後 0, 1, 3, 7, 14, 31, 59, 91, 180, 270, 360 日
	2.0mg/kg 処理土壌： 調整後 0, 7, 33, 60, 87, 180, 270 日	2.0mg/kg 処理土壌： 調整後 0, 180, 270, 360 日
通 気	インキュベーション期間中、代謝試験装置のインキュベーションチューブには湿った空気を通した。	
揮発性分の捕集	下記の吸収液を入れた 3 つの捕集瓶で捕集した(1 インキュベーションチューブ 当たり 1 セット) 1) 0.5M NaOH 25mL 2) 0.5M H ₂ SO ₄ 25mL 3) エチレングリコール 25mL 試料採取ごとに各捕集瓶に新しい吸収液を入れた。	下記の吸収液を入れた 3 つの捕集瓶で捕集した(1 インキュベーションチューブ 当たり 1 セット) 1) 0.5M NaOH 50mL 2) 0.5M H ₂ SO ₄ 50mL 3) エチレングリコール 50mL 試料採取ごとに各捕集瓶に新しい吸収液を入れた。
	NaOH 溶液中の放射活性が吸収した ¹⁴ C ₂ に由来するものであることを確認するため、NaOH 溶液を BaCl ₂ で処理し、Ba ¹⁴ CO ₃ 沈殿物を遠心分離後、上澄み液の放射活性を再度測定した。	

放射活性成分の抽出及び同定：

ODAT のそれぞれの処理試料を燃焼し、発生する ¹⁴C₂ を捕集し、LSC で測定し土壌中の TAR (総添加放射能) を測定した。

土壌試料からの抽出は、

- ・「 」試験では 3 回ずつ順次、
 - ・「 」試験では 各 3 回ずつ順次
- を行い、濾過後濾液について放射能を測定した。

抽出液を乾固()後、残渣を適当量の溶媒、

- ・「 」試験では
- ・「 」試験では

で溶解し、TLC 及び HPLC で分析し代謝パターンを得た。抽出後の土壌試料は風乾後、混合し、土壌中の残留放射能(RRR I)測定のため燃焼した。

土壌中の残留放射能(RRR I)成分について更に解析するため、土壌試料を乾燥・均質化し、0.5M NaOH を加えて窒素環境中で 3 回抽出した後、20 分間遠心分離した。それぞれの抽出から得られた上澄み液を合わせて濾紙で濾過した。

フルボ酸及びフミン酸を分離するため、各試料の NaOH 抽出液に濃塩酸を加えて pH1~2 とし、冷凍庫に 2 時間保存した。沈殿物(フミン酸画分)を遠心分離し、上澄み液(フルボ酸画分)について放射能を測定した。沈殿物(フミン酸画分)については更に 0.5M NaOH で溶解し、遠心分離により不溶解成分(クレー等)を除去して得られた上澄み液(フミン酸画分)について放射能を測定した。

遠心分離したクレー等の不溶解成分を NaOH 抽出後の土壌試料に加え(=RRR II)、風乾後、均質化し、燃焼した。

フルボ酸画分を で 3 回抽出し、抽出液を合わせて定容とし、放射能を測定した。残った水相部位についても放射能を測定した。

「 」試験では NaOH 抽出により、ク が検出されたことから、180~360DAT 試料について水を用いて同様の操作で抽出を行い、水抽出液について放射能を測定したが、放射能が微量(<2.5%TAR)であったことから、その後の検討は行わなかった。

放射能の測定は、液体試料ではシンチレーターと混合後、固形試料では燃焼後 $^{14}\text{C}02$ をシンチレーターに吸収し、シンチレーションカウンターで行った。

TLC 及び HPLC により代謝パターンを解析し、質量分析により代謝物の同定を行った。

試験結果：

残留放射活性成分の分布及びマスバランス；

「 」及び「 」試験それぞれにおける 0DAT~360DAT での放射性成分の分布を「表 1 - 1」及び「表 1 - 2」に示した。「 」試験では試験開始時に 102.3%TAR であった抽出可能放射能残留量(以下「ERR」とする)は試験終了時点では 23.2%TAR に減少した。全ての試料において、主要な放射性成分は で抽出可能で、 での抽出性は試験期間を通じて 0.3~2.3%TAR であった。この傾向は、「 」試験においても同様で 0DAT での ERR 102.2%TAR が 360DAT では 25.5%TAR に減少した。

非抽出性放射能残留成分(BOUND 残留；以下「RRR」とする)は極めて早い段階で生成し、「 」試験では 33DAT で 47.3%TAR、「 」試験では 31DAT で 53.0%TAR であった。360 日の試験終了時点での RRR は約 59%TAR(「 」試験)~約 65%TAR(「 」試験)であった。無機化はやや遅く、試験終了時で 8.0%TAR(「 」試験)/10.9%TAR(「 」試験)で、その他の揮発性成分は「 」及び「 」試験いずれにおいても検出されなかった。マスバランスは良好で「 」試験で 87~103%TAR、平均 93.7%TAR で「 」試験では 97~103%TAR、平均 100.4%TAR であった。

非抽出性放射能残留成分 (RRR) の解析；

土壌を NaOH で抽出して RRR について解析した結果、「」及び「」試験いずれも BOUND 残留放射能の半分以上が NaOH 抽出後の土壌中に残留し、いわゆるヒューミンを生成していた (表 1-1, 1-2)。NaOH 抽出成分のフミン酸及びフルボ酸への分画では、NaOH 抽出可能残留放射能の大部分がフミン酸分画に検出され、フルボ酸分画の検出量は相対的に少なかった。これらの試験結果は、残留放射性成分の土壌への結合は極めて強く、過酷な抽出手段でも分離不能であることを示している。

抽出可能残留放射性成分 (ERR) の解析及び同定；

HPLC 分析による ERR の解析及び同定の結果を「表 2」にまとめた。

被験物質の土壌中での分解は速く、「」及び「」試験いずれにおいても処理後 2 週間以内に 50% 以上が代謝され、試験終了時点での残留量は 4.5% TAR (「」試験) / 4.3% TAR (「」試験) であった。本試験で代謝物「」が「」及び「」試験双方で検出された。

HPLC 分析で確認されたピーク成分の内 1 種類 () だけが %TAR を超えており (「」及び「」試験)。別の 1 種 () は最大でも %TAR であった。これら成分は HPLC/MS 分析により であることが確認された。「」試験では検出されなかった「」が「」試験では検出されたが、この代謝物を含めその他の検出されたピーク成分は「」及び「」試験いずれにおいても %TAR を超えるものではなかった。

以上本試験の結果、「」及び「」試験いずれにおいても被験物質の好気条件土壌中での分解は速かったが代謝物の減衰は緩やかであった。各試験における親化合物並びに各代謝物の DT₅₀ 及び DT₉₀ 推定値を下表にまとめた。

表 3. DT₅₀ 及び DT₉₀ の推定値

	DT ₅₀ (日)		DT ₉₀ (日)	
	「 <input type="text"/> 」試験	「 <input type="text"/> 」試験	「 <input type="text"/> 」試験	「 <input type="text"/> 」試験
親化合物	12	14	143	152

注： 表中の DT₅₀ 及び DT₉₀ 値は、パラメータを最適化してデータ解析システム ModelMaker で計算して得られた推定値である。

本試験の結果に基づく想定代謝経路を「図 2」に示した。

表 1-1. 「 」試験における放射性成分の分布及び物質収支 [注：結果は%TAR；添加放射能 0.311mg/kg (=100%TAR) に対する比率]

経過 日数	抽出成分				非抽出成分							二酸化 炭素	その他 揮発成分	物質収支
				計	NaOH 抽出成分					フミン				
					計	フリン酸		フミン酸						
							水							
0	100.3	1.0	1.0	102.3	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	-	-	102.6
1	90.7	1.6	0.3	92.6	3.5	1.3	0.6	0.0	0.3	1.0	2.6	0.0	0.0	96.1
3	82.0	1.6	0.3	83.9	9.6	3.5	1.0	0.3	0.6	2.6	6.4	0.0	0.0	93.5
7	71.4	2.3	1.3	75.0	20.9	7.7	2.3	0.3	1.6	5.5	13.2	0.3	0.0	96.2
14	63.3	2.3	1.3	66.9	35.7	13.2	3.9	1.3	2.3	8.4	22.2	0.6	0.0	103.2
33	38.9	2.3	1.6	42.8	47.3	17.0	5.5	1.6	3.2	11.3	28.6	1.4	0.0	91.5
60	30.5	1.6	1.3	33.4	55.9	19.6	6.1	1.9	3.9	12.5	29.3	2.9	0.0	92.2
87	26.0	1.3	1.3	28.6	54.3	20.9	6.4	1.9	4.2	13.5	35.0	4.0	0.0	86.9
180	22.5	2.3	1.3	26.1	57.9	34.4	10.6	2.3	7.1	22.5	31.2	5.6	0.0	89.6
270	20.9	1.6	1.3	23.8	57.9	23.2	7.4	1.9	4.8	17.0	33.4	6.2	0.0	87.9
360	20.6	1.3	1.3	23.2	59.2	22.8	7.4	1.9	4.5	15.8	33.8	8.0	0.0	90.4

表 1-2. 「 」試験における放射性成分の分布及び物質収支 [注：結果は%TAR；添加放射能 0.321mg/kg (=100%TAR) に対する比率]

経過 日数	抽出成分			非抽出成分							二酸化 炭素	その他 揮発成分	物質収支	
			計	NaOH 抽出成分					フミン					
				計	フリン酸		フミン酸							
						水								
0	100.6	1.6	102.2	0.6								-	-	102.8
1	92.2	1.9	94.4	7.2	3.1	1.2	n. a.	n. a.	1.9	3.4		-	-	101.3
3	82.9	2.2	85.1	12.8	6.2	2.5	n. a.	n. a.	3.4	4.4		-	-	97.9
7	76.0	3.4	79.4	23.1	10.9	4.0	n. a.	n. a.	5.9	10.3	0.3	0.0	102.8	
14	59.2	4.0	63.2	34.6	16.8	6.2	5.3	0.6	9.3	15.9	0.6	0.0	98.4	
31	43.3	4.7	48.0	53.0	20.9	8.7	6.9	1.2	11.8	22.4	2.2	0.0	103.2	
59	34.0	5.0	39.0	57.6	25.9	10.0	8.1	1.6	14.3	23.7	4.0	0.0	100.6	
91	32.7	4.4	37.1	56.1	25.5	10.3	7.5	1.9	13.7	25.5	5.0	0.0	98.2	
180	28.7	4.4	33.1	58.9	26.2	10.6	8.1	1.9	14.0	28.7	7.8	0.0	99.8	
270	25.5	3.7	29.2	58.9	27.7	10.9	7.8	2.2	15.3	25.5	9.7	0.0	97.8	
360	22.4	3.1	25.5	65.4	29.0	10.6	8.4	1.6	16.2	29.9	10.9	0.0	101.8	

n. a. : 分析せず

表 2. 抽出放射性成分の同定 [注：結果は%TAR(添加放射能に対する比率： 「 」:0.311mg/kg=100%TAR
「 」:0.321mg/kg=100%TAR)]

経過 日数	未変化 親化合物													
0					95.5	100.4								
1					87.8	91.0								
3					76.5	80.7								
7					61.1	69.8								
14					48.9	49.2								
33/31					24.1	28.3								
60/59					16.7	15.9								
87/91					10.6	12.8								
180					7.7	8.1								
270					5.5	5.9								
360					4.5	4.3								

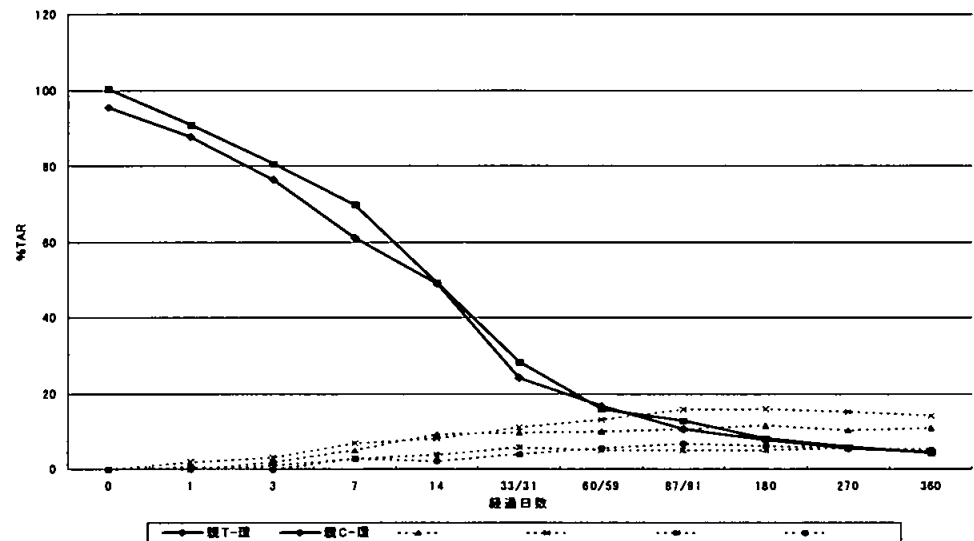


図 1. 親化合物及び代謝物 及び の土壤中の分解曲線 (注：)

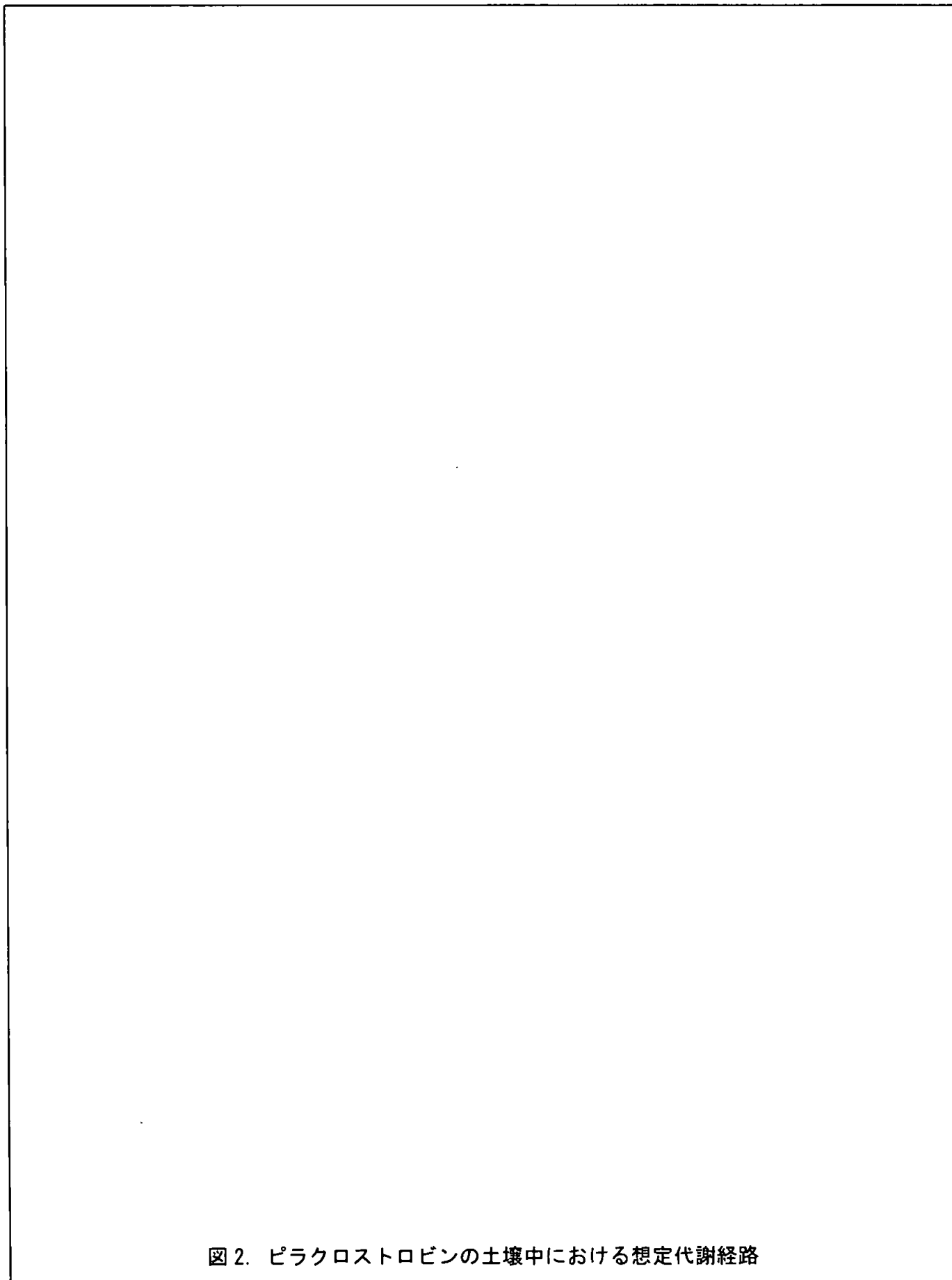


図 2. ピラクロストロビンの土壌中における想定代謝経路

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。

Pyraclostrobin

同定に使用した対照化合物：

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

Pyraclostrobin

3-2. 4 種類の土壌中における分解挙動

(代謝・分解 17)

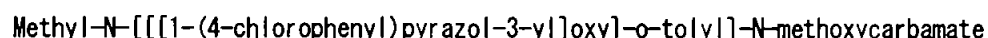
試験機関：

[GLP 対応]

報告年：

試験の目的：農薬は土壌と接触することで微生物の影響あるいは物理化学的反応により分解される。このため、土壌中における生物的分解について暗条件下で検討した。

供試化合物：¹⁴C-標識 (「 」標識化合物)



放射化学的純度：

比放射能：

標識位置設定理由：

供試土壌：下記の 4 種の土壌を本試験に用いた。土性は USDA 法に基づき分類した。

略称	US 土壌	Li35b 土壌	Lufa2.2	カナダ土壌
土壌の種類	Holly Springs 壤質砂土	Limburgerhof 壤質砂土	Speyer 壤質砂土	Minto 壤土
粘土 (<2 μm) %	5	8	12	15
微砂 (2~50 μm) %	9	8	5	36
砂 (50~2000 μm) %	86	84	83	49
有機炭素 %	2.1/2.5*	1.0	0.5	3
pH (CaCl ₂)	5.4/5.8*	6.5	5.6	7.7
陽イオン置換容量 (mVal/100g)	12.2/11.2*	3.6	4.5	33
最大容水量 (g 水/100g 乾土)	36/43*	30	35	43
圃場容水量 (0.33 バール) (g 水/100g 乾土)	13.6/14.7*	9.5	6.6	33
微生物バイオマス (mg 炭素/100g 乾土)				
実験開始時	45.9/55.9*	32.0	17.3	51.0
実験終了時	nd	18.3	5.0	nd

nd：測定せず

* 2 回測定した値を示す。

試験方法：

処理量： 250g(成分)/ha に相当する検体を土壌 5cm に均一に混合するとして、乾土 kg あたり 0.333mg の割合で添加し均一に混合した。

土壌水分：最大容水量の 20 又は 40%に調整し、インキュベーション期間中、必要に応じて土壌水分を補充した。

インキュベーション：1 トレー当たり調製土壌を入れたガラス皿 5 枚を代謝試験装置のステンレススチール製インキュベーションチューブに設置し、暗条件下で温度 5、20、30°C でインキュベートした。

通気：インキュベーション期間中、代謝試験装置のインキュベーションチューブには湿潤空気を通した。

揮発性成分の捕集：下記の捕集液を入れた 3 つの捕集瓶で捕集した。

- 1) 0.5M NaOH 25mL
- 2) 0.5M H₂SO₄ 25mL
- 3) エチレングリコール 5mL

試験区の構成：

供試土壌	土壌水分*	インキュベーション温度
US-土壌	40%	20°C
Li35b 土壌	40%	20°C
Lufa2.2 土壌	40%	20°C
かたが 土壌	40%	20°C
Lufa2.2 土壌	40%	5°C
Lufa2.2 土壌	40%	30°C
Lufa2.2 土壌	20%	20°C
Lufa2.2 土壌	滅菌, 40%	20°C

*：最大容水量に対する水分含有量%

滅菌：オートクレーブで 2 回滅菌

試料の採取：試験 0、3、7、14、30(又は 34)、60(又は 62 あるいは 63)、90、120 日

放射能の抽出及び測定：試料を それぞれ 1~
3 回ずつ振とう抽出、遠心分離、上清を採取して定容後、放射能を計測した。

代謝パターンの検討：抽出液については HPLC で分析した。
放射エネルギーが処理量の 3%以下であったので検討しなかった。

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

Pyraclostrobin

抽出手順：以下に概要を示した。

放射能の測定：液体試料はそのまま、固体試料は燃焼後、 $^{14}\text{CO}_2$ を捕集して液体シンチレーションカウンターで放射能を計測した。

試験結果：抽出性残留放射能の経時的分布及び分解物について表 1 及び 2 に示す。

残留放射能の分布及び物質収支；30°C/土壌水分 40%で保存した Lufa2.2 土壌についてのみ、放射能の収支を求めた。

全ての試料採取時期において、物質収支は処理量の 99.2~104.1%であった。

分解に及ぼす温度と土壌微生物の影響；

Lufa2.2 土壌を用い土壌水分 40%で 5°C、20°C及び 30°C並びに滅菌 20°Cで保存した試料において、5°C及び滅菌 20°C土壌における検体の分解は極めて遅く、ほとんど同じであった。これは、低温では土壌微生物の活性が抑制され、滅菌土壌では土壌微生物による分解がないためと考えられた。30°Cの高温では 20°Cに比し分解がわずかに

促進されたが、代謝物の生成量は 20°C の場合よりも少なかった。これは、結合残留が主要な代謝経路であることを示している。

分解に及ぼす土壌水分の影響：

Lufa2.2 土壌を用い土壌水分 20% 及び 40% で 20°C で保存した試料において、土壌水分が少ない場合、検体の分解はわずかに抑制された。これは、少ない土壌水分が土壌微生物の生息に適していないための間接的な影響を示唆していると考えられる。

分解に及ぼす土壌の種類 (US 土壌, Li35b 土壌, Lufa2.2 土壌, カガ' 土壌試料) の影響：

20°C / 土壌水分 40% において、土壌バイオマスの最も少ない Lufa2.2 土壌の分解がもっとも遅かった。

推定半減期 DT₅₀ (日) の比較：

供試土壌 (保存条件)				
US 土壌	20°C、土壌水分 40%	38	70	38
Li35b 土壌	20°C、土壌水分 40%	50	〃	〃
Lufa2.2 土壌	20°C、土壌水分 40%	101	131 ²⁾	〃
カガ' 土壌	20°C、土壌水分 40%	85	〃	〃
Lufa2.2 土壌	5°C、土壌水分 40%	安定		
Lufa2.2 土壌	30°C、土壌水分 40%	86	69 ²⁾	〃
Lufa2.2 土壌	20°C、土壌水分 20%	137	〃	〃
Lufa2.2 土壌	20°C、土壌水分 40%、殺菌	安定		

1) 推定不能 2) 標準偏差が大

以上の結果から、滅菌土壌及び低温条件下ではほとんど分解が認められず、これは土壌微生物の不在及び不活性によるものと考えられた。高温条件下では分解がやや促進されたが、代謝物の量は 20°C 条件より少なかった。土壌水分含量が少ない条件下における分解はやや遅く、これも土壌微生物にとって生息環境が適当でないためと考えられた。

表 1 : 抽出性残留放射能の経時的分布 (処理放射能に対する回収率%)

試験区	抽出性残留放射能					非抽出性残留放射能 (結合残渣)	物質収支
	処理後日数				計		
US 土壌 (20°C/40%)	0	99.4	1.6	n. d.	101.0		
	3	93.5	2.3	0.7	96.5		
	7	85.4	3.1	0.9	89.4		
	14	81.8	3.7	1.2	86.6		
	30	69.4	4.8	2.4	76.7		
	62	62.1	4.7	2.7	69.5		
	90	61.1	4.0	2.5	67.6		
	120	53.5	4.2	2.7	60.4		
Li35b 土壌 (20°C/40%)	0	98.9	1.9	n. d.	100.8		
	3	96.1	1.8	0.2	98.2		
	7	92.2	2.4	0.7	95.3		
	14	87.5	2.9	0.6	90.9		
	30	74.6	6.2	1.3	82.1		
	62	68.0	3.4	1.0	72.4		
	90	63.6	3.1	1.0	67.6		
	120	60.6	3.1	1.0	64.7		
Lufa2.2 (20°C/40%)	0	98.0	3.4	n. d.	101.5		
	3	96.1	3.6	0.3	100.0		
	7	93.8	3.3	0.4	97.5		
	14	87.2	3.3	0.5	91.0		
	34	78.9	3.7	0.6	83.1		
	63	69.3	3.8	0.6	73.7		
	92	67.5	3.5	0.7	71.7		
	120	63.1	3.4	0.8	67.4		
かた ^a 土壌 (20°C/40%)	0	96.7	3.1	n. d.	99.8		
	3	82.6	2.4	1.1	86.1		
	7	83.4	6.3	1.6	91.3		
	14	80.1	3.1	2.2	85.4		
	30	68.9	4.8	2.5	76.2		
	60	62.9	3.7	1.3	67.9		
	90	59.8	4.1	1.9	65.8		
	120	56.5	3.8	1.6	61.9		
Lufa2.2 (5°C/40%)	0	96.5	2.8	n. d.	99.2		
	3	96.2	3.7	0.2	99.5		
	7	96.2	3.8	0.3	99.9		
	14	95.3	3.8	0.3	98.5		
	30	93.5	5.0	0.5	97.6		
	60	93.4	3.7	0.6	97.0		
	90	90.1	3.8	1.1	94.3		
	120	87.2	3.5	1.3	92.0		
Lufa2.2 (30°C/40%)	0	96.5	2.8	n. d.	99.2		99.2
	3	93.6	3.7	0.4	97.8	4.8	102.6
	7	86.1	3.8	1.1	91.0	11.7	102.7
	14	81.3	3.8	1.3	86.4	15.9	102.3
	30	76.3	5.0	1.7	83.1	17.4	100.5
	60	62.9	3.7	2.0	68.6	33.6	102.2
	90	57.3	3.8	1.5	62.6	41.4	104.1
	120	50.5	3.5	1.2	55.2	44.4	99.6
Lufa2.2 (20°C/20%)	0	98.9	4.2	n. d.	103.1		
	3	96.5	3.6	0.3	100.4		
	7	94.4	4.0	0.5	98.9		
	14	92.0	3.9	0.8	96.8		
	34	86.4	4.3	1.1	91.8		
	63	73.9	3.8	1.4	79.2		
	92	68.5	4.2	1.5	74.1		
	120	65.1	3.8	1.4	70.3		
Lufa2.2 (20°C/40% 滅菌)	0	97.5	2.6	n. d.	100.1		
	3	97.7	2.5	2.1	102.4		
	7	96.5	2.7	0.2	99.5		
	14	96.5	2.6	0.3	99.4		
	30	93.2	3.1	0.3	96.6		
	70	94.1	3.0	0.3	97.3		
	120	91.8	3.0	0.4	95.2		

表 2: 抽出可能残留放射能中の分解物 (HPLC 分析結果) (処理放射能に対する割合%)

試験区	処理後 日数		M00					合計
US 土壌 (20°C/40%)	0		101.0					101.0
	3		89.3					95.1
	7		77.6					88.1
	14		70.9					84.9
	30		50.9					73.2
	62		40.0					65.7
	90		39.3					62.4
	120		26.6					52.1
Li35b 土壌 (20°C/40%)	0		100.8					100.8
	3		97.9					97.9
	7		91.4					94.0
	14		89.2					89.8
	30		59.0					79.6
	62		42.3					70.6
	90		50.5					66.5
	120		21.6					60.3
Lufa2.2 (20°C/40%)	0		101.5					101.5
	3		99.2					99.7
	7		97.1					97.1
	14		85.7					89.5
	34		72.0					80.8
	63		56.5					72.5
	92		53.1					69.2
	120		47.2					64.8
かた 土壌 (20°C/40%)	0		99.0					99.7
	3		84.5					84.8
	7		86.9					89.2
	14		79.0					82.4
	30		70.7					73.7
	60		61.5					66.2
	90		48.3					63.0
	120		38.3					59.0
Lufa2.2 (5°C/40%)	0		98.8					99.2
	3		98.7					99.2
	7		99.7					99.7
	14		98.2					98.2
	30		97.1					97.1
	60		96.2					96.2
	90		92.1					93.1
	120		86.5					90.5
Lufa2.2 (30°C/40%)	0		98.8					99.2
	3		95.8					96.7
	7		87.5					89.5
	14		80.9					85.1
	30		74.0					80.5
	60		55.2					64.7
	90		49.5					61.0
	120		42.7					53.7
Lufa2.2 (20°C/20%)	0		103.1					103.1
	3		99.2					100.0
	7		96.8					98.4
	14		92.3					95.4
	34		86.1					90.2
	63		69.3					77.2
	92		58.6					71.9
	120		56.1					68.1

3-3. ピラクロストロビンの土壌表層における光分解

(代謝・分解 8)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

供試化合物:

1. ¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

申請者注: 本抄録中において

「 」標識化合物を用いた試験を「 」試験,

「 」標識化合物を用いた試験を「 」試験として表記した。

供試土壌: 下記の土性の「壤質砂土および砂壤土(注: USDAの土壌分類に基づく)」をそれぞれの試験に使用した。

試験 ^{*1}	「 」標識化合物 (40%MWC) ^{*2}	「 」標識化合物 (40%MWC)	「 」標識化合物 (80%MWC)
土質	壤質砂土	砂壤土	砂壤土
表示	Bruch West	Bruch West	Bruch West
試料番号	98/060/01	98/060/03	98/060/04
構成比: 砂	79%	70.4%	64.14%
シルト	16%	20.1%	27.27%
粘土	5%	9.5%	8.60%
pH	7.2	7.3	7.6
CEC	13meq/100g	13 meq/100g	13.3 meq/100g
有機態炭素	1.4%	1.60%	1.84%
総窒素	0.15%	0.15%	0.13%
最大容水量	44g水/100g 乾土	41.05 g水/100g 乾土	36 g水/100g 乾土

*1 以下それぞれ『「 」処理土壌』、『「 」処理土壌』及び『「 」処理高水分土壌』とする

*2. 40%MWC, 80%MWC: 最大容水量の40%, 80%に土壌水分を調整

申請者注: mval=meq

試験方法：

供試土壌の処理：

	「 」処理土壌	「 」処理土壌	「 」処理高水分土壌
添加量	約 1.65 $\mu\text{g/g}$ 乾土 (圃場での処理量 250g/ha に相当)		
土壌水分	最大容水量の 40% に調整 (= 40% MW)		最大容水量の 80% に調整 (= 80% MW)
	実験期間中、必要に応じて水分を補充した		
試料採取	処理 0, 2, 6, 9, 12, 15 日後 (以下「XDAT」で表記)		
通気	湿った空気を通した		
揮発性分の捕集	下記の吸収液を入れた 3 つの捕集瓶で捕集した 1) エチレングリコール, 0.5M H ₂ SO ₄ , 0.5M NaOH		
光照射	<ul style="list-style-type: none"> 15 日間紫外灯 (約 3mW/cm² (夏期の晴天日に相当), 290~1200nm) を継続照射。温度: 22±1°C, (申請者注: 測定波長: 300~800 nm) 暗条件対照区 (光非照射) を設定; 光照射しない以外は光照射区と同様に設定 		

放射性成分の抽出及び同定：

抽出可能放射能 (ERR) は、各土壌試料を

で 3 回ずつ順次抽出し、各抽出液について液体シンチレーションカウンティング (LSC) で測定した。また、抽出液を乾固後、残渣を適量の溶媒で再度溶解し、代謝パターン検討のため HPLC 及び TLC で分析した。

非抽出性放射能 (RRR) は、抽出後の残渣を風乾後均一化し、燃焼して測定した。RRR について特徴づけするため、15DAT 照射区及び非照射区の各処理土壌について 0.5M NaOH で 3 回抽出した後、15 分間遠心分離した。それぞれの抽出から得られた上澄み液を合わせて濾紙で濾過した。濾液については LSC で、残渣については燃焼により放射能を測定した。

フルボ酸及びフミン酸を分離するため、15DAT 照射「 」処理高水分土壌の NaOH 抽出液に濃塩酸を加えて pH2 とし、冷凍庫に 1 晩保存した。沈殿物 (フミン酸画分) を遠心分離し、上澄み液 (フルボ酸画分) について放射能を測定した。沈殿物 (フミン酸画分) については更に 0.5M NaOH で溶解し、放射能を測定した。

放射能の測定は、液体試料ではシンチレーターと混合後、固形試料では燃焼後 ¹⁴C₂ をシンチレーターに吸収し、シンチレーションカウンターで行った。

TLC 及び HPLC により代謝パターンを解析し、質量分析により代謝物の同定を行った。

試験結果：

40% MWC の「 」及び「 」処理土壌の光照射及び非照射における放射性成分分布及び物質収支を「表 1-1, -2」に、また「 」高水分土壌における収支を「表 1-3」まとめた。試験期間中に確認された揮発性成分は少量の CO₂ のみで、H₂SO₄ 及びエチレングリコール捕集液中には、何れの試料採取時点においても明らかな放射能は検出されなかった。全ての試験系において全体的な物質収支の平均は 93.0~96.6% TAR であった。

それぞれ を標識した化合物で処理した土壌において全ての点で同様な結果が得られた。光照射及び非照射における主たる差は、照射土壌の方が抽出効率が低いことで、抽出効率の差は主として照射土壌における より低い抽出効率に起因していた。

無機化率は全体的に低かったが、照射土壌の方がわずかに高かった。結合型残留物は同程度であった。

土壌水分の違い(最大容水量の40%と80%)による差は、照射土壌では高水分土壌の方が総抽出効率が低く、これは での抽出効率が明らかに低いことに起因している。加えて、結合型残留物が約3倍となった。非照射では、高水分土壌の方が総抽出効率が低かったが、照射土壌ほどの差はなかった。これに関連して、結合型残留物は高かったが低水分土壌の2倍程度であった。

それぞれの処理土壌について抽出可能残留放射性成分(ERR)の同定を行った結果を「表 2」にまとめた。

表 2. 抽出可能放射性成分の同定 (注: 結果は%TAR)

	経過 日数	未変化 親化合物							
		照射区	暗対照	照射区	暗対照	照射区	暗対照	照射区	暗対照
「 」試験 40%MWC 添加放射能: 51.95 μg/kg =100%TAR	0			91.81	91.81				
	2			89.23	93.08				
	6			81.01	84.36				
	9			69.59	78.94				
	12			76.37	73.84				
	15			74.35	74.79				
「 」試験 40%MWC 添加放射能: 49.65 μg/kg =100%TAR	0			93.24	93.24				
	2			81.19	82.42				
	6			71.69	73.60				
	9			67.88	65.36				
	12			73.70	57.13				
	15			63.58	62.96				
「 」試験 80%MWC 添加放射能: 49.47 μg/kg =100%TAR	0			97.56	97.56				
	2			72.90	82.63				
	6			47.51	53.82				
	9			42.93	55.26				
	12			44.81	42.52				
	15			29.24	38.72				

照射15日後において、「 」低水分土壌(40%MWC)では74.4%TAR、「 」低水分土壌(40%MWC)では63.6%TARが未変化の親化合物であった。「 」は、「 」土壌試料で照射0日後の %TARが試験終了時点では約 %TAR、「 」土壌試料では同 %TARが約 %TARとなった。「 」以外は、「 」土壌と「 」土壌の間にピークパターン及び濃度の差は認められなかった。

非照射土壌でのピークパターンは光照射土壌のパターンと同様であったが、2種の分解物「 」及び「 」の量がわずかに高かった; 分解物「 」の最大値は光照射土壌で %TAR(9DAT)に対し非照射では %TAR(15DAT)、分解物「 」の最大値は光照射で最大 %TAR(9DAT)に対し非照射では %TAR(12DAT)。分解物「 」は試験期間を通じて %TARと一定したレベルであった。「 」土壌試料では、ピークパターンは「 」土壌試料と同様であったが、2種の分解物「 」と「 」の濃度は「 」土壌試料より高かった;

「 」高水分土壌(80%MWC)の照射試料での被験物質の減衰(97.6%TARが29.2%TAR)は水分含量の低い土壌試料(40%MWC)より速かった。非照射での減衰は照射試料に比してやや遅く、試験期間中に97.6%TARから38.7%TARに低下した。非照射においても主要な分解物は「 」で試験終

了時点で %TARとなり、「 」は同 %TARであった。

非抽出性放射能残留成分は、総体的に、結合型残留物の約半分の放射性成分が NaOH 抽出後の土壌試料中に残留し、いわゆる「フミン」を生成していた。元の結合型残留物の >10%TAR が NaOH で抽出されたため、光照射「 」高水分土壌の 15 日後の試料(15DAT)の NaOH 抽出物についてフミン酸とフルボ酸の分離を行った結果、放射能の約 2/3 がフルボ酸で、結果を「表 3」にまとめた。

表 3. 非抽出性放射能残留成分(注: 結果は%TAR)

		非抽出成分			
		NaOH 抽出			
		フルボ酸	フミン酸	フミン	
「 」処理土壌/照射		13.4	4.8	n. a.	6.7
「 」処理土壌/照射		11.9	5.0	n. a.	5.3
「 」処理高水分土壌	照射	35.3	12.9	8.7	18.4
	非照射	24.3	24.3	n. a.	15.8

以上、異なる2種の土壌水分で行った被験物質の土壌表層における光分解試験の結果、被験物質の分解に「光」は明らかな影響を及ぼしていないことを示唆しており、光照射あるいは非照射における半減期は下記にみられるように同程度であった。

		DT ₅₀ (日)
40%MWC 土壌	照射	36.9
	非照射	31.7
80%MWC 土壌	照射	8.9
	非照射	10.4

注: 表中の DT₅₀ は、データ解析システム ModelMaker での推定値

しかしながら、土壌水分の増加は被験物質の分解速度を明らかに高めており、非照射でも同様な分解速度で、土壌水分を多くすると光照射及び非照射何れにおいても DT₅₀ は小さくなった。

本試験の結果に基づく想定分解経路を「図 1」に示した。

表 1-1. 「」試験の 40%MWC における放射性成分の分布及び物質収支 [注: 結果は %TAR (添加放射能: 51.95 μg/kg=100%TAR に対する比率)]

経過 日数	抽出成分 (ERR)								非抽出 成分 (RRR)		CO ₂		物質収支 (ERR+RRR+CO ₂)	
	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	合 計 照射 区	合 計 暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照
0	93.64	93.64	0.76	0.76	0.05	0.05	94.44	94.44	0.02	0.05	n. a.	n. a.	94.49	94.49
2	88.49	92.84	4.31	2.69	0.48	0.40	93.28	95.93	3.13	2.74	0.23	0.08	96.64	98.75
6	70.34	87.26	15.98	2.54	0.90	0.42	87.21	90.22	8.52	6.07	0.59	0.18	96.32	96.47
9	76.06	85.04	5.86	2.50	0.50	0.25	82.42	87.79	11.32	7.52	0.81	0.25	94.55	95.56
12	74.63	82.69	8.37	3.03	0.92	0.46	83.92	86.19	10.45	9.89	1.12	0.35	95.48	96.43
15	57.44	84.29	22.04	2.03	1.24	0.41	80.72	86.73	12.23	10.46	1.34	0.43	94.29	97.62
											平均		95.30	96.55

表 1-2. 「」試験の 40%MWC における放射性成分の分布及び物質収支 [注: 結果は %TAR (添加放射能: 49.65 μg/kg=100%TAR に対する比率)]

経過 日数	抽出成分 (ERR)								非抽出 成分 (RRR)		CO ₂		物質収支 (ERR+RRR+CO ₂)	
	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	合 計 照射 区	合 計 暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照
0	47.29	95.23	1.31	1.31	0.06	0.06	96.60	96.60	0.19	0.19	n. a.	n. a.	96.79	96.79
2	41.28	86.03	4.80	3.28	0.64	0.59	88.58	89.90	3.92	1.93	0.37	0.04	92.87	91.86
6	37.24	82.46	6.36	4.02	0.62	0.42	81.98	86.90	8.52	7.11	0.98	0.10	91.48	94.11
9	35.58	77.47	6.59	3.91	0.65	0.35	78.89	81.73	9.77	8.52	1.07	0.15	89.73	90.40
12	37.76	74.41	7.64	4.38	0.88	0.55	84.56	79.34	9.23	9.05	1.48	0.19	95.27	88.58
15	25.72	77.33	24.66	4.89	1.10	0.44	77.75	82.66	12.29	13.31	1.79	0.22	91.63	96.20
											平均		92.96	92.99

表 1-3. 「」試験の 80%MWC における放射性成分の分布及び物質収支 [注: 結果は %TAR (添加放射能: 49.47 μg/kg=100%TAR に対する比率)]

経過 日数	抽出成分 (ERR)								非抽出 成分 (RRR)		CO ₂		物質収支 (ERR+RRR+CO ₂)	
	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	合 計 照射 区	合 計 暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照	照射 区	暗対 照
0	98.11	98.11	1.26	1.26	0.08	0.08	99.46	99.46	0.06	0.06	n. a.	n. a.	99.52	99.52
2	84.05	89.56	4.85	3.02	0.63	0.50	89.52	93.08	8.86	4.82	0.28	0.08	98.67	97.98
6	64.81	70.43	5.93	3.52	0.69	0.42	71.44	74.37	21.09	13.25	0.90	0.26	93.42	87.88
9	60.52	77.72	6.60	3.94	0.83	0.54	67.95	82.20	26.02	16.76	1.67	0.44	95.64	99.41
12	62.04	68.81	7.59	3.89	0.79	0.45	70.42	73.14	23.98	20.55	1.92	0.63	96.32	94.33
15	46.18	67.77	6.97	3.79	1.60	0.92	54.75	72.48	34.88	24.33	2.28	0.86	91.91	97.67
											平均		95.91	96.13

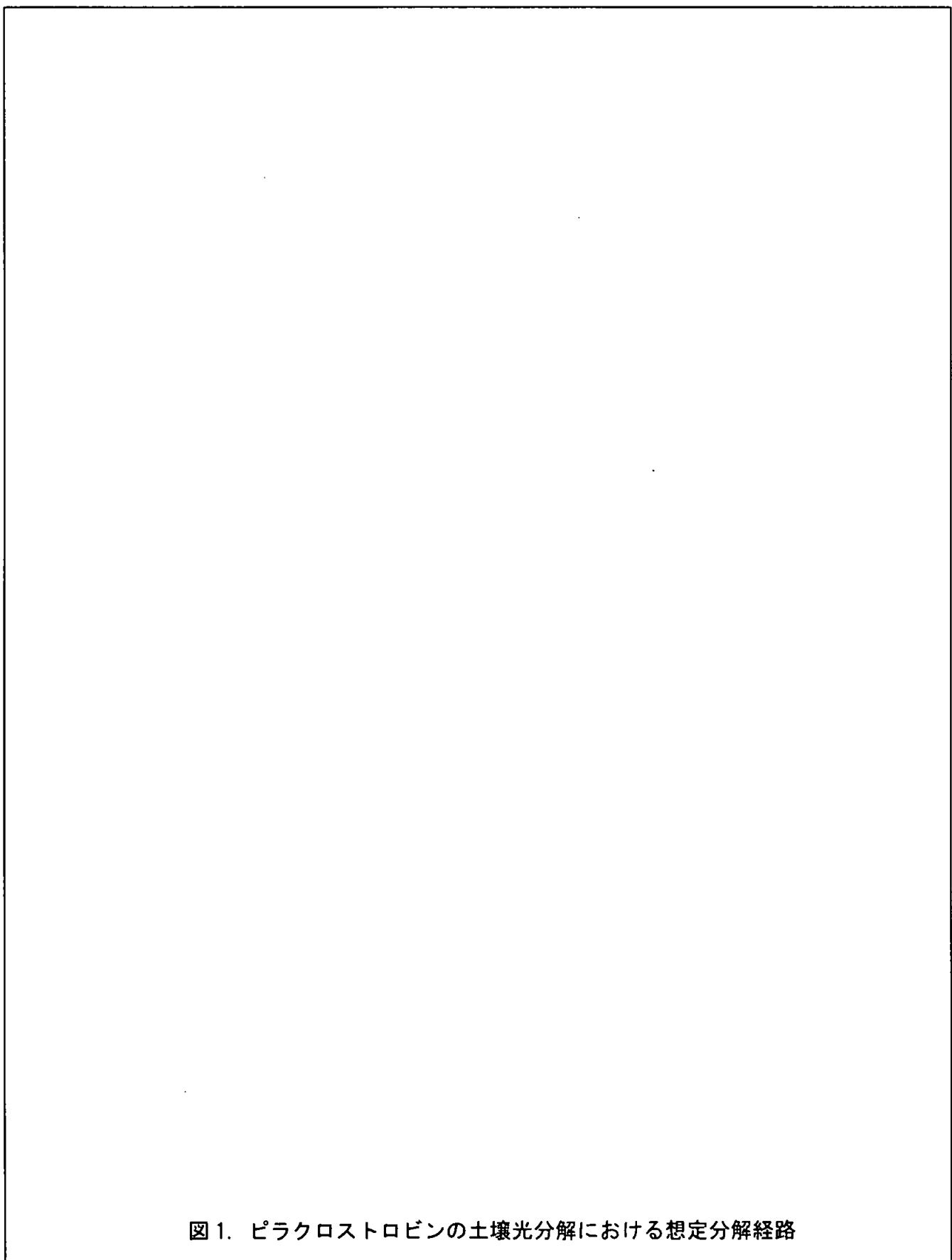


図 1. ピラクロストロビンの土壌光分解における想定分解経路

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

Pyraclostrobin

3-4a. ピラクロストロピンの土壌吸着試験

(代謝・分解 9)

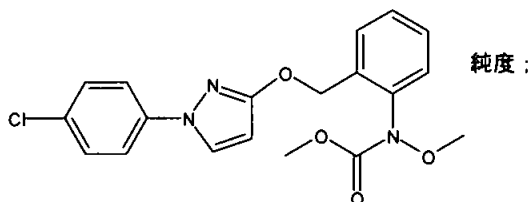
試験機関 :

[GLP対応]

報告年 :

供試化合物 : ()

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate



供試土壌 : 下記の 4 種類の土壌(日本植物防疫協会より入手)を試験に使用した。

供試土壌 (土壌番号*)	植調研柏田 (No. 6)	日植防高知 (No. 8)	日植防牛久 (No. 14)	日植防宮崎 (No. 20)
採取場所	植調研究所 圃場	日植防 高知試験農場 (沖積鈹質土)	日植防 牛久研究所 (淡色黒ボク土)	日植防 宮崎試験場 (砂丘未熟土)
土性	Light clay	Light clay	Heavy clay	Loamy sand
構成比 :				
砂 (%)	28.0	42.2	24.8	86.0
シルト (%)	35.4	31.9	27.5	7.1
粘土 (%)	36.6	25.9	47.7	6.9
有機炭素 (%)	2.60	1.21	3.33	1.5
pH (H ₂ O)	6.7	7.5	7.0	5.9
(KCl)	6.0	6.5	6.2	5.3
CEC(meq/100g)	21.5	11.3	29.8	9.7
リン酸吸収係数	820	390	2220	1030
粘土鈹物の種類	モンモリロナイト	クォリトイライト	アロフェンハーフ-ミキユライト	アロフェンハロイサイト
水分量 (%) *2	4.6	1.7	12.7	3.5

*1. 日植防(日本植物防疫協会)において付けられた吸着試験用の土壌番号

*2. の測定値(乾土当りの%)で、水分量以外は日植防より入手。

試験方法 :

準拠試験方法 : 9 農産第 5089 号, OECD 106 (1981 年版)

試験濃度は被験物質の水溶解度(2.4mg/L)の 1/2 である 1.2mg/L を最高濃度として以下 0.6, 0.3 及び 0.12mg/L の 4 濃度とし、既知情報(海外土壌での被験物質の $K_{oc}=6000\sim 16000$)から被験物質の土壌吸着は大きいと予測されたことから「土壌 : 水相=1 : 11(w/w)」とした。

予備試験並びにスクリーニング試験を行い、分析法並びに土壌吸着性及び安定性について以下の点を確認した。

・分析法 : 被験物質は に易溶で、UV 吸収があることから、 抽出

によるUV 検出器付きのHPLC 分析とし、検量線法により定量した。本分析法で、各土壌における土壌抽出物を含む水相からの被験物質の回収率は80~84%であった。

- ・土壌吸着性及び安定性；水相に添加した被験物質は振盪後の水相及び土壌から89~96%，土壌なしのコントロールでは94%が回収された。被験物質は16時間振盪しても安定であった。

本実験の概要は以下のとおりである。

- ・吸着平衡時間；風乾土壌 2.0g に水 2.0mL を加え、25±1°C で 24 時間放置後、CaCl₂ 溶液で調製した処理溶液 20.0mL を加えた。25±1°C で振盪し、2, 4, 8, 16 時間後にそれぞれ遠心分離(2000rpm で 20 分)し、濾液中の濃度をHPLC で分析した。
- ・吸着実験；風乾土壌 2.0g に水 2.0mL を加え、25±1°C で 24 時間放置後、CaCl₂ 溶液で調製した各濃度の処理溶液 20.0mL を加えた。25±1°C で 16 時間振盪後、遠心分離(2000rpm で 20 分)し、上澄み相及び沈殿土壌相それぞれについて被験物質濃度をHPLC で分析した。各土壌について被験物質無添加のブランク試料、各濃度について土壌なしのコントロール試料を調製し同様に吸着実験を行った。

試験結果：

吸着平衡時間は、4 土壌ともに水相中の被験物質濃度が16時間で平衡状態に達した(「図1」参照)ことから、平衡時間は16時間と判断された。各土壌における水相中平衡濃度を「表1」に示した。

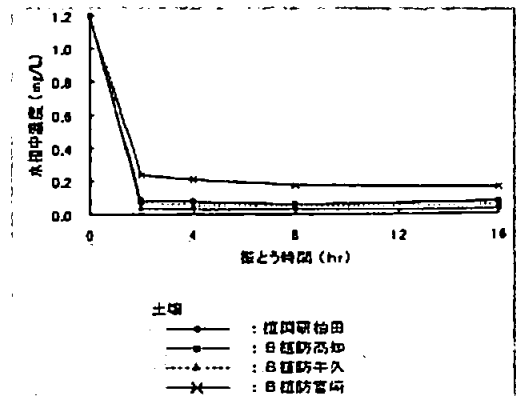


図1. 吸着平衡時間

表1. 各土壌における水相中平衡濃度

実験濃度	0(ブランク)	0.12	0.3	0.6	1.2
植調研柏田	0	0.0020	0.0051	0.0113	0.0216
日植防高知	0	0.0062	0.0122	0.0238	0.0501
日植防牛久	0	0.0029	0.0101	0.0198	0.0358
日植防宮崎	0	0.0145	0.0400	0.0803	0.163
コントロール	—	0.122	0.325	0.627	1.30

注：2回分析の平均値；mg/L

本実験での各土壌における物質収支(2回測定の前平均値)は表2のとおりであった。

表2. 平均回収率

供試土壌	被験物質回収率(%)		
	上澄み液	土 壌	合 計
植調研柏田	1.7	100	101
日植防高知	3.9	87	91
日植防牛久	2.7	90	93
日植防宮崎	12.9	78	91

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。

Pyraclostrobin

また、「表 1」のそれぞれの実験濃度の水相中平衡濃度を全回収率で補正し、Freundlich の吸着定数を計算した結果を「表 3」にまとめた。

以上、日本国内の有機物及び粘土含量の異なる 4 種の土壌を用いて行った土壌吸着試験の結果、Freundlich 吸着定数 (K_d) は 51~405、有機炭素含量に基づく吸着定数 (K_{oc}) は 3400~22800 であることが確認された。

表 3. Freundlich の吸着定数及び指数

供試土壌	$1/n$	K_F^{ads}	r	$K_F^{ads}_{oc}$
植調研柏田	0.939	405	0.998	15,600
日植防高知	1.088	276	0.993	22,800
日植防牛久	0.893	214	0.991	6,440
日植防宮崎	0.940	51	0.997	3,400

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。

Pyraclostrobin

3-4b. ピラクロストロピン代謝物 の土壤吸着/脱着試験

(代謝・分解 15-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試標識化合物：¹⁴C-

放射化学的純度：

比放射能：

対照非標識化合物：（純度：）

供試土壤：下記の6種類の土壤を試験に使用した。

採取国名	ドイツ標準土壤			米国		カナダ
供試土壤	ULFA Speyer 2.2 F21997	Limburgerhof Bruch West	Limburgerhof Schlag Li35b	538-30-5	538-31-2	95024 RCN95012
土性	砂土/壤質砂土	砂壤土	壤質砂土	壤質砂土	壤土	砂質壇壤土
組成：						
砂(%)	86	73	83	83	44	49
シルト(%)	9	17	10	9	43	28
粘土(%)	5	10	7	8	13	23
有機炭素(%)	2.5	1.5	1.1	0.4	0.5	3.4
pH	5.8	7.5	6.5	5.8	5.2	7.5
CEC (meq/100g)	11.2	12.1	7.2	4	10	26
水分含量(%)	1.58	1.49	0.80	0.41	1.75	5.2

申請者注：mval=meq

試験方法：

準拠試験方法：OECD 106(1981年版)、US EPA Guideline, Subdivision N, § 163-1(1982年版)

試験濃度は被験物質の水溶解度が3μg/Lと低いことから、吸着及び脱着の Freundlich の等温試験は行わず、1濃度について実施した。吸着試験は名目濃度1μg/Lの0.01M CaCl₂溶液で「土壤：水相=1：10(w/w)」として実施した。

吸着平衡試験：1μg/Lの0.01M CaCl₂溶液を土壤5gに50mlを加え、遠沈管に入れ、密封して1、2、4、8、16及び24時間、暗所、21±1°Cで振とう後、遠心分離して水相の放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。平衡時間は2つの連続した時点における値の変動が10%以内であることとした。その結果(表1)、6土壤すべてにおいて、4時間で平衡に達した。

表 1. 各種土壌における吸着平衡時間一経時吸着率 (%)

採取国名	ドイツ標準土壌			米国		カナダ
	供試土壌	ULFA Speyer 2.2 F21997	Limburgerhof Bruch West	Limburgerhof Schlag Li35b	538-30-5	538-31-2
土性	砂土/壤質砂土	砂壤土	壤質砂土	壤質砂土	壤土	砂質埴壤土
振とう時間						
1	77.0	88.5	75.1	93.4	97.2	87.7
2	84.2	91.8	94.0	97.2	96.7	95.1
4	92.9	97.4	97.9	98.2	98.0	97.2
8	92.8	98.6	98.7	99.2	98.4	99.2
16	96.3	98.7	98.2	98.9	98.9	98.8
24	97.8	98.7	99.0	99.4	99.3	99.2

対照試験として、土壌の添加及び非添加による 24 時間振とうを行ない被験物質の回収率を検討した結果、試験容器壁面への付着は 20~35%の範囲であった。

吸着試験：1 μg/L の 0.01M CaCl₂ 溶液を土壌 5g に 50ml を加え、遠沈管に入れ、密封して 4 時間、暗所、21±1°C で振とう後、重量から容量を算出し、遠心分離して土壌中及び水相の放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。

脱着試験：吸着試験における土壌試料に 0.01M CaCl₂ 溶液を加えて 50ml とし、16 時間振とう後、遠心分離して水相を分析用とした。重量から容量を算出し、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定し、土壌中の水溶性残留成分を重量法により算出した。本操作は 2 回繰り返した。

脱着試験からの土壌を抽出し、放射能を測定し、土壌中の水溶性成分について重量法により算出した。さらに抽出後の土壌を 105°C で乾燥後燃焼して、¹⁴C-CO₂ を測定し、被験物質の土壌中の残留量を求めた。

物質収支：吸着試験及び脱着試験における溶液中の被験物質質量、土壌試料の抽出物及び抽出残渣の結果を計算に加えた。

試験結果：

吸着係数 (K_d) 及び土壌中の有機炭素含量に対応した吸着係数 (K_{oc}) は表 2. のとおりであった。

表 2. 土壌吸着係数

供試土壌		K _d	K _{oc}
ULFA Speyer 2.2 F21997	砂土/壤質砂土	79	3160
		89	3560
Limburgerhof Bruch West	砂壤土	232	15500
		264	17600
Limburgerhof Schlag Li35b	壤質砂土	350	31800
		350	31860
538-30-5	壤質砂土	285	71300
		446	112000
538-31-2	壤土	353	70600
		915	183000
95024 RCN95012	砂質埴壤土	610	17900
		649	19100

脱着係数 (Kdes) 及び土壌中の有機炭素含量に対応した脱着係数 (Kocdes) は表 3. のとおりであった。

表 3. 土壌脱着係数

供試土壌		Kdes	Kocdes
ULFA Speyer 2.2 F21997	砂土/壤質砂土	1500	60000
		2300	91000
Limburgerhof Bruch West	砂壤土	1900	129000
		1900	130000
Limburgerhof Schlag Li35b	壤質砂土	1600	147000
		1400	126000
538-30-5	壤質砂土	2400	600000
		600	151000
538-31-2	壤土	2000	390000
		1200	250000
95024 RCN95012	砂質埴壤土	1500	43000
		1100	34000

物質収支は供試 6 土壌において 58~85%であった。この低い回収率は被験物質の水溶解度が極めて低く、吸着性が強いことによる容器壁面への吸着のためと考えられる。

この修正部分は報告書に記入はないが、報告書の内容ではおかしいと思う。報告書は分析値の変動には該当すると思う。

以上より、被験物質は 6 土壌において強い吸着性を示し Koc は 3160~183000 であった。水溶解度が低いこと、及び土壌吸着性の強いことにより吸脱着試験における水相中濃度が極めて低くなり、その結果 Kd 及び Kdes 値が大きくなった。さらに被験物質初期濃度の 20~35%が試験容器壁面に付着することがみられた。この壁面付着を考慮すると、計算された Kd 値は実測値より 25~40%低いと考えられる。

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

Pyraclostrobin

3-4c. ピラクロストロピン代謝物 の土壌吸着/脱着試験

(代謝・分解 15-2)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試標識化合物：¹⁴C-

放射化学的純度：

比放射能：

対照非標識化合物：（純度：）

供試土壌：下記の6種類の土壌を試験に使用した。

採取国名	ドイツ標準土壌			米 国		カナダ
供試土壌	ULFA Speyer 2.2 F21997	Limburgerhof Bruch West	Limburgerhof Schlag Li35b	538-30-5	538-31-2	95024 RCN95012
土 性	砂土/壤質砂土	砂壤土	壤質砂土	壤質砂土	壤土	砂質埴壤土
組成：						
砂 (%)	86	73	83	83	44	49
シルト (%)	9	17	10	9	43	28
粘土 (%)	5	10	7	8	13	23
有機炭素 (%)	2.5	1.5	1.1	0.4	0.5	3.4
pH	5.8	7.5	6.5	5.8	5.2	7.5
CEC (meq/100g)	11.2	12.1	7.2	4	10	26
水分含量 (%)	1.58	1.49	0.80	0.41	1.75	5.2

申請者注：mval=meq

試験方法：

準拠試験方法：OECD 106(1981年版)、US EPA Guideline, Subdivision N, §163-1(1982年版)

試験濃度は被験物質の水溶解度が5μg/Lと低いことから、吸着及び脱着の Freundlich の等温試験は行わず、1濃度について実施した。吸着試験は名目濃度 2.5μg/L の 0.01M CaCl₂溶液で「土壌：水相=1：10(w/w)」として実施した。

吸着平衡試験：2.5μg/L の 0.01M CaCl₂溶液を土壌 5g に 50ml を加え、遠沈管に入れ、密封して 1、2、4、8、16 及び 24 時間、暗所、21±1°C で振とう後、遠心分離して水相の放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。平衡時間は2つの連続した時点における値の変動が 10%以内であることとした。その結果(表 1)、6土壌すべてにおいて、16時間で平衡に達した。

表 1. 各種土壌における吸着平衡時間一経時吸着率 (%)

採取国名	ドイツ標準土壌			米国		カナダ
供試土壌	ULFA Speyer 2.2 F21997	Limburgerhof Bruch West	Limburgerhof Schlag Li35b	538-30-5	538-31-2	95024 RCN95012
土 性	砂土/壤質砂土	砂壤土	壤質砂土	壤質砂土	壤土	砂質埴壤土
振とう時間						
1	49.0	74.2	79.7	84.7	92.0	81.8
2	61.9	86.4	86.9	91.7	96.1	89.2
4	68.1	89.5	91.5	95.8	97.2	94.4
8	86.0	89.4	97.3	98.1	99.2	98.5
16	88.0	98.3	96.8	98.8	99.3	98.7
24	91.3	97.3	98.3	99.2	99.0	98.5

対照試験として、土壌の添加及び非添加による 24 時間振とうを行ない被験物質の回収率を検討した結果、試験容器壁面への付着は 35~55%の範囲であった。

吸着試験：2.5 µg/L の 0.01M CaCl₂ 溶液を土壌 5g に 50ml を加え、遠沈管に入れ、密封して 16 時間、暗所、21±1°C で振とう後、重量から容量を算出し、遠心分離して土壌中及び水相の放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。

脱着試験：吸着試験における土壌試料に 0.01M CaCl₂ 溶液を加えて 50ml とし、16 時間振とう後、遠心分離して水相を分析用とした。重量から容量を算出し、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定し、土壌中の水溶性残留成分を重量法により算出した。本操作は 2 回繰り返した。

脱着試験からの土壌を 抽出し、放射能を測定し、土壌中の水溶性成分について重量法により算出した。さらに抽出後の土壌を 105°C で乾燥後燃焼して、¹⁴C-CO₂ を測定し、被験物質の土壌中の残留量を求めた。

物質収支：吸着試験及び脱着試験における溶液中の被験物質質量、土壌試料の抽出物及び抽出残渣の結果を計算に加えた。

試験結果：

吸着係数 (K_d) 及び土壌中の有機炭素含量に対応した吸着係数 (K_{oc}) は表 2. のとおりであった。

表 2. 土壌吸着係数

供試土壌		K _d	K _{oc}
ULFA Speyer 2.2 F21997	砂土/壤質砂土	98	3920
		103	4120
Limburgerhof Bruch West	砂壤土	530	35300
		369	24600
Limburgerhof Schlag Li35b	壤質砂土	457	41500
		378	34400
538-30-5	壤質砂土	574	143500
		513	128300
538-31-2	壤土	761	152200
		738	147600
95024 RCN95012	砂質埴壤土	840	24700
		245	7200

脱着係数 (Kdes) 及び土壌中の有機炭素含量に対応した脱着係数 (Kocdes) は表 3. のとおりであった。

表 3. 土壌脱着係数

供試土壌		Kdes	Kocdes
ULFA Speyer 2.2 F21997	砂土/壤質砂土	2078	83000
		3274	131000
Limburgerhof Bruch West	砂壤土	分析不能	-
Limburgerhof Schlag Li35b	壤質砂土	1108	101000
		8160	740000
538-30-5	壤質砂土	12298	3070000
		8183	2050000
538-31-2	壤土	8341	1670000
		8273	1660000
95024 RCN95012	砂質埴壤土	12988	380000
		12642	370000

物質収支は供試 6 土壌において 51~87%であった。この低い回収率は被験物質の水溶解度が極めて低く、吸着性が強いことによる容器壁面への吸着のためと考えられる。

以上より、被験物質は 6 土壌において強い吸着性を示し Koc は 3920~152000 であった。水溶解度が低いこと、及び土壌吸着性の強いことにより吸脱着試験における水相中濃度が極めて低くなり、その結果 Kd 及び Kdes 値が大きくなった。さらに被験物質初期濃度の 35~55%が試験容器壁面に付着することがみられた。この壁面付着を考慮すると、計算された Kd 値は実測値より 40~60%低いと考えられる。

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

Pyraclostrobin

3-5a. ピラクロストロビンの4土壌における浸透移行性(カラムリーチング試験)

(代謝・分解 10-1)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

供試化合物:

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

供試土壌: 下記の4種類の土壌を試験に使用した。

供試土壌	標準土壌 LUFA Spayer 2.1	標準土壌 LUFA Spayer 2.2	Li35B	Bruch West
土性	砂土	壤質砂土	壤質砂土	砂壤土
構成比:				
砂(%)	93	86	84	69
シルト(%)	4	9	11	18
粘土(%)	3	5	5	13
有機炭素(%)	0.5	2.1	1.0	2.0
pH (CaCl ₂)	5.4	5.4	6.5	7.5
GEC(meq/100g)	4.3	12.2	6.8	15.6
最大容水量*	820	36	30	44
水分量(%)	1.4	6.3	5.0	8.6

* 乾土 100g 当りの水の量(g) 申請者注; mval=meq

試験方法:

各試験土壌の水分を最大容水量の40%に調整し、¹⁴C-標識被験物質を添加して乾土換算当り約0.5ppm(処理量250g A. I. /ha相当)の処理土壌を調製した(以下「処理土壌」とする)。この処理土壌の1部について燃焼により総放射能残留量(TRR)を測定した。無処理区として¹⁴C-標識被験物質を添加しない土壌を調製した。

風乾して粒径<2mmに篩別した無処理土壌を内径50mmで60mm間隔で5つの分画に仕切られたガラスカラムに約27cmの高さまで充填し、このカラムを0.01M CaCl₂水溶液を入れた2Lメスシリンダー内に設置して水溶液をカラム下部からカラム中の土壌表面まで浸透させカラム中土壌の水分を飽和させた。このカラムの上部に各処理土壌約100gを充填後、0.01M CaCl₂水溶液

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。

Pyraclostrobin

393mL (降水量 200mm 相当) を灌水し、それぞれ約 100mL の浸出液分画を 2 日間かけて集めた (4 分画)。浸出期間中は遮光のためにカラム及び浸出液受器をアルミニウムフイルで覆った。浸出完了後、各浸出液について液体シンチレーションカウンティングにより放射能を測定した。

土壌の各分画については、室温で風乾後燃焼により残留放射能 (RRR) を測定した。5%TRR を超える土壌試料については、抽出物についてラジオ HPLC で分析すると共に LSC で放射能を測定した。抽出後の土壌試料については、燃焼により残留放射能を測定した。

試験結果：

浸出液中には、標準土壌 LUFA2.1 の 3 番目の浸出液中に最大 0.02%TAR (総投与放射能に対する%) が検出されたが、他の全ての土壌並びに浸出液中に放射能は検出されなかった。

浸出後における供試 4 土壌の各分画中の放射能は、「表 1」にみられるようにカラム上部の分画 1 に大部分が検出され、分画 2 の放射能は 4 土壌を通じて最大でも 8.7%TAR で、分画 3 以降の分画には検出されなかった。

表 1. 浸出後の土壌分画中の放射能

供試土壌	土壌分画	カラム 1	カラム 2	カラム 3
標準土壌 LUFA 2.1	1 (上位)	—	93.1	95.4
	2	—	7.2	8.7
	3~6	—	検出せず	検出せず
合計		—	100.3	104.1
標準土壌 LUFA 2.2	1 (上位)	—	96.2	103.0
	2	—	2.6	1.8
	3~6	—	検出せず	検出せず
合計		—	98.8	104.8
Li35b	1 (上位)	—	93.3	95.1
	2	—	3.1	3.3
	3~6	—	検出せず	検出せず
合計		—	96.4	98.4
Bruch West	1 (上位)	—	94.4	99.0
	2	—	2.2	1.8
	3~6	—	検出せず	検出せず
合計		—	96.6	100.8

注：・ 数値は総投与放射能に対する% (%TAR)

・ 「カラム 1」は無処理区土壌

放射能が検出された分画試料について抽出し、抽出可能放射能 (ERR) 及び非抽出性放射能 (RRR) を測定した結果を「表 2」にまとめた。

結果に見られるように、ERR は 27.6~45.3%TRR、RRR は 42.4~67.4%TRR であった。

抽出物について HPLC で分析した結果、HPLC クロマトグラムは大部分が未変化の被験物質であることを示していた。幾つかのマイナーな放射性成分が認められたが量が少なかったため同定できなかった。

表 2. 抽出結果

供試土壌		カラム 2		カラム 3	
		分画 1	分画 2	分画 1	分画 2
標準土壌 LUFA 2.1	抽出 (ERR)	44.6	23.0	45.3	21.3
	非抽出 (RRR)	52.2	35.9	49.8	31.9
	合 計	96.8	58.9	95.1	53.2
標準土壌 LUFA 2.2	抽出 (ERR)	43.8	—	41.7	—
	非抽出 (RRR)	67.4	—	54.8	—
	合 計	111.2	—	96.5	—
Li35b	抽出 (ERR)	27.6	—	32.2	—
	非抽出 (RRR)	63.9	—	60.7	—
	合 計	91.5	—	92.9	—
Bruch West	抽出 (ERR)	39.1	—	44.8	—
	非抽出 (RRR)	49.9	—	42.4	—
	合 計	89.0	—	87.2	—

注：数値は総放射活性残留量に対する% (%TRR)

以上、4種の土壌について行ったカラムリーチング試験の結果、被験物質は土壌カラムの上位分画のみに検出され、下位分画及び浸出液中には検出されなかったことから、被験物質は土壌中において浸透移行性はないと判断された。

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。

Pyraclostrobin

3-5b. ピラクロストロビンの土壌における浸透移行性 (30 日間熟成後のカラムリーチング試験)

(代謝・分解 10-2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告年:

供試化合物:

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

供試土壌: 下記の土壌を試験に使用した

(申請者注: この土壌は「代謝・分解 10-1」のリーチング試験に供された 4 土壌の内の 1 つである。)

供試土壌	標準土壌 LUFA Spayer 2.1
土性	砂土
構成比:	
砂 (%)	93
シルト (%)	4
粘土 (%)	3
有機炭素 (%)	0.5
pH (CaCl ₂)	5.4
CEC (meq/100g)	4.3
最大容水量*	820
水分量 (%)	1.4

* 乾土 100g 当りの水の量 (g) 申請者注: mval=meq

試験方法:

各試験土壌の水分を最大容水量の 40% に調整し, ¹⁴C-標識被験物質を添加して乾土換算当り約 0.5ppm (処理量 250g A. l. /ha 相当) の処理土壌を調製した (以下「処理土壌」とする)。この処理土壌を 20±2°C で飽和湿度の空気を低流量で通気する好気条件下で 30 日間インキュベート (熟成) した。この期間中, 揮発性成分及び ¹⁴CO₂ を吸収液で捕集した。熟成期間終了後, 処理土壌の 1 部について燃焼により総放射能残留量 (TRR) を測定した。無処理区として ¹⁴C-標識被験物質を添加しない土壌を調製した。

風乾して粒径<2mmに篩別した無処理土壌を内径50mmで60mm間隔で5つの分画に仕切られたガラスカラムに約27cmの高さまで充填し、このカラムを0.01M CaCl₂水溶液を入れた2Lメスシリンダー内に設置して水溶液をカラム下部からカラム中の土壌表面まで浸透させカラム中土壌の水分を飽和させた。このカラムの上部に処理土壌約100gを充填後、0.01M CaCl₂水溶液393mL(降水量200mm相当)を灌水し、それぞれ約100mLの浸出液分画を2日間かけて集めた(4分画)。浸出期間中は遮光のためにカラム及び浸出液受器をアルミニウム фольで覆った。浸出完了後、各浸出液について液体シンチレーションカウンティングにより放射能を測定した。

土壌の各分画については、室温で風乾後燃焼により残留放射能(RRR)を測定した。5%TRRを超える土壌試料については、抽出物についてラジオ HPLC で分析すると共に LSC で放射能を測定した。抽出後の土壌試料については、燃焼により残留放射能を測定した。

試験結果：

浸出液中に放射能は検出されなかった。

浸出後における各分画中の放射能は、「表1」にみられるようにカラム上部の分画1に大部分(88~94%)が検出され、分画2の放射能は約2% TARで、分画3以降には検出されなかった。

表1. 浸出後の土壌分画中の放射能

供試土壌	土壌分画	カラム1	カラム2	カラム3
標準土壌 LUFA 2.1	1(上位)	—	87.7	94.1
	2	—	2.1	2.2
	3~6	—	検出せず	検出せず

注：・数値は総投与放射能に対する%(%TAR)

・「カラム1」は無処理区土壌

放射活性が検出された分画1試料について、分画2、3で3回抽出し、抽出可能放射能(ERR)及び非抽出性放射能(RRR)を測定した結果を「表2」にまとめた。

表2. 抽出結果

供試土壌		カラム2(分画1)	カラム3(分画1)
標準土壌 LUFA 2.1	抽出(ERR)	54.3	48.3
	非抽出(RRR)	45.6	40.6
	合計	99.9	88.9

注：数値は総放射能残留量に対する%(%TRR)

結果に見られるように、ERRは48~54%TRR、RRRは41~46%TRRであった。抽出物についてHPLCで分析した結果、HPLCクロマトグラムは大部分が未変化の被験物質であるが、幾つかのマイナーな放射性成分の存在を示した。各成分についてHPLC/MSで同定した結果、以下の結果が得られた。

表 3. 残留成分の同定結果

LC/MS 同定化合物	面積 (%)*	申請者注
被験物質	100	未変化親化合物

* のピーク面積に対する比率

揮発性成分及び ^{14}C 捕集用の吸収液中の放射能は $<0.1\%$ であった。

以上、被験物質添加後 30 日間熟成した土壌について行ったカラムリーチング試験の結果は非熟成土壌での試験結果(代謝・分解 10-1)と同様に、被験物質は土壌カラムの上位分画のみに検出され、下位分画及び浸出液中には検出されなかった。分画中の残留成分は大部分が未変化の親化合物で、分解物としては と微量の が検出された。この結果より、被験物質及びその分解物は土壌中において浸透移行性はないと判断された。

4. 水中運命に関する試験

4-1a. ピラクロストロビンの水中光分解運命(緩衝液中)

(代謝・分解 11)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

供試化合物:

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

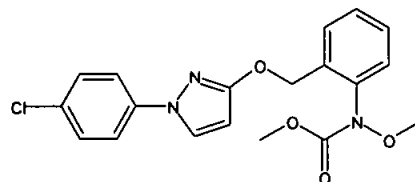
申請者注: 本抄録中において

「 」標識化合物で調製した試料溶液を「 」溶液,

「 」標識化合物を調製した試料溶液を「 」溶液として表記した。

非標識 BAS500F:

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate



純度:

試験方法:

石英製蓋付き容器 10 個を長方形の温度調節器付のブロックに納め、うち 8 個の容器を pH5 酢酸緩衝液で調製した各試験溶液(約 0.5 μg/mL)で満たし、滅菌フィルターで滅菌し、0.5M NaOH で CO₂ を除去した湿潤空気を 1~2 泡/秒で通気した。残りの 2 個の容器には後述のアクチノメーター溶液を入れた。被験物質から発生する ¹⁴CO₂ 及びその他の揮発成分は吸収液(エチレングリコール, 0.5M H₂SO₄, 0.5M NaOH)を入れた 3 本の吸収装置で捕集した。使用した全てのガラス器具は滅菌処理したものを使用した。

量子収率 (quantum yield) 測定のため、DULIN 及び MILL による化学アクチノメーター溶液 [PNA ($1 \cdot 10^{-5}M$) とピリジン ($5.94 \cdot 10^{-4}M$) の脱イオン水溶液] を 2 個の容器に入れ、被験物質溶液と同時に光照射した。この溶液では揮発性成分の捕集は行わなかった。

光照射にはキセノン灯を使用した。夏期の晴天日に相当する約 $3mW/cm^2$ とし、UV フィルターで $<290nm$ の波長をカットし、波長域を $290 \sim 800nm$ に設定して 25 日間継続照射をした。その間温度を $22 \pm 1^\circ C$ に保持した。暗条件対照試料溶液は $22 \pm 1^\circ C$ の人工気象室に保存し、試料採取時期、試料の数、及び滅菌度は照射試料と同様とした。(申請者注：測定波長； $300 \sim 800 nm$)

試験溶液試料及びアクチノメーター溶液を照射開始 0, 3, 6, 9, 24 時間, 3, 6, 10, 15, 18, 21, 25 日後に採取し、試験溶液は前処理をしないで直接分析した。全ての試験溶液について液体レーシオンカウンター (LSC) で放射能を測定し、HPLC で分解パターンを検討した。また、TLC 分析により HPLC 分析の結果を確認した。揮発性成分については、各測定時間ごとに捕集溶液について LSC で放射能を測定した。光分解物の構造解析は、質量分析並びに NMR 分析で行った。アクチノメーター溶液はその 1 部を採取し、分析まで冷蔵庫に保管し、HPLC で PNA 濃度の減衰を測定した。

被験物質及びその分解物の減衰速度を推定するため、「C-環」標識化合物及び「T-環」標識化合物それぞれについて 5-及び 7-コンパートメントモデルを適用し、本試験で用いた被験物質の移動及び分解パラメーターは ModelMaker v.3 patch 3.0.3 プログラムで推定した。動態に関するパラメーターは MARQUARDT-NEWTON 法 (最小二乗法) で最適化した。

試験結果：

各標識化合物で調製した試験溶液の総投与放射活性の回収率、物質収支を「表 1」にまとめた。

表 1. 試験溶液の総投与放射活性の回収率、物質収支

経過 日数	「C」溶液				「T」溶液			
	照射区試料			非照射 区試料	照射区試料			非照射 区試料
	水 中 %TAR	CO ₂	合計	水 中 %TAR	水 中 %TAR	CO ₂	合計	水 中 %TAR
0	100.0		100.0	100.0	100.0		100.0	100.0
3 時間	101.5	0.1	101.6	99.5	98.1	0.0	98.1	97.7
6	104.4	0.1	104.5	99.8	98.5	0.0	98.5	97.8
9	98.6	0.3	98.8	96.9	97.0	0.0	97.0	97.9
1 日	99.1	1.8	100.8	99.4	95.1	0.1	95.2	101.5
3	94.3	6.0	100.3	97.6	93.2	0.3	93.5	97.1
6	86.1	13.1	99.2	96.6	95.8	1.3	97.0	93.6
10	81.0	13.2	94.2	93.4	96.1	3.0	99.1	94.6
15	76.1	15.2	91.3	94.0	95.3	1.6	96.9	99.1
18	78.5	18.0	96.4	93.8	95.4	3.7	99.0	99.5
21	76.8	21.7	98.5	93.6	92.3	4.5	96.8	99.0
25	76.7	21.9	98.6	93.6	94.9	3.7	98.6	99.2
平均			98.7	96.2			97.5	98.1

結果に見られるように、物質収支の平均は 97.5 及び 98.7%TAR であった。揮発性成分捕集液中

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。

Pyraclostrobin

には CO₂ 以外の該当する放射能が検出されなかったため、揮発性成分として CO₂ のみを測定した。「C-環」標識化合物の試験区では、NaOH 捕集液中の放射能が 6DAT 以降 10%TAR を超えたことから、CO₂ であるか否かについて 25DAT 試料を用いて BaCl₂・2H₂O による沈殿生成について検討した結果、Ba¹⁴CO₃ の沈殿生成が確認され、NaOH 捕集液中の放射性成分は ¹⁴CO₂ のみであった。また、全ての試料の菌数計測により、滅菌状態であることが確認された。

試験溶液の分析の結果得られた溶液中の分解物の特徴づけ及び同定の結果を「表 2-1、2-2」にまとめた。非照射の暗対照試料溶液については分解が認められなかった。

表 2-1. 「 」溶液の HPLC 分析結果(注：数値は%TAR)

経過 日数						親化合物	CO ₂		
0						100.0	n. m. *3		
3 時間						39.69	0.0		
6						3.82	0.0		
9						4.69	0.0		
1 日							0.1		
3							0.3		
6							1.3		
10							3.0		
15							1.6		
18							3.7		
21							4.5		
25							3.7		

*1. それぞれが %TAR を超えない

*2. それぞれが %TAR を超えない

*3. n. m.: 測定せず

表 2-2. 「 」溶液の HPLC 分析結果(注：数値は%TAR)

経過 日数						親化合物	CO ₂		
0						94.07	n. m. *2		
3 時間						10.39	0.1		
6						2.43	0.1		
9						0.60	0.3		
1 日						0.54	1.8		
3							6.0		
6							13.1		
10						1.34	13.2		
15							15.2		
18							18.0		
21							21.7		
25							21.9		

*1. それぞれが %TAR を超えない

*2. n. m.: 測定せず

「表 2-1」に示した「 」溶液では、被験物質は 1 日後に完全に分解し、10%TAR を超える 4 種の主分解物： が検出された。「 」溶液(表 2-2)でも「 」溶

液と同様の結果で、被験物質は1日以内に殆ど分解し、%TAR を超える3つのピーク成分が1日以内に検出され、それらは 及び であった。CO₂への無機化は分解経路の一つであるが、顕著なものではなかった。「 」溶液で照射25日後約4%TAR、「 」溶液で同約22%TAR。別に検出されたのにピーク成分(「 」溶液で17本、「 」溶液では15本)についてMSで確認した結果、いずれも %TAR を超えなかった(表中の「マイナー分解物合計」欄)。「表2-1」及び「表2-2」の「その他」は、特異構造(あるいは質量)と関係しない全てのピーク成分及び/あるいは偶発的に検出された成分で、

「その他」に含めたいずれの成分も全ての試料採取時点において %TAR を超えなかった。

0~1DAT 試料について、HPLC 分析で認められた被験物質の分解挙動を TLC 分析で確認した結果を「表3」にまとめ、比較のために HPLC の結果も記載した。TLC 分析の結果は HPLC 分析の結果と一致しており、照射1日後には被験物質は最早検出されなかった。

表3. 照射区試料の TLC 分析による被験物質の減衰(注: 数値は%TAR)

経過 日数	「 」溶液		「 」溶液	
	TLC 分析	HPLC 分析	TLC 分析	HPLC 分析
0	97.8	94.1	96.3	100.0
3時間	8.9	10.4	15.4	39.7
6	4.6	2.4	4.5	3.8
9	1.2	0.6	4.8	4.7
1日	n. d.	0.5	n. d.	n. d.
3	n. a.	n. d.	n. a.	n. d.

n. d.: 検出せず n. a.: 分析せず

前述のコンパートメントモデルにより、被験物質及び分解物の分解速度を推定し、得られた推定半減期を「表4」に示した。

の分

表4. ModelMaker による推定半減期(注: 数値は日数)

	「 」溶液	「 」溶液	平均
親化合物	0.04	0.08	0.06
			—
			—

*最適モデル(0.285)において k-37 の type-I エラーが大きすぎるため、適切な DT50 は算出不能

被験物質の量子収率は Dulin 及び Mill に従って算出し、計算は被験物質及びアクチノメーターの吸光度、アクチノメーター及び被験物質の分解速度、並びにアクチノメーターの量子収率に基づき行った。アクチノメーター溶液の分解速度は HPLC 分析の結果から一次動態に従って算出し、半減期の計算には ModelMaker プログラムを使用し、320nm のデータを計算に使用した。その結果、被験物質の量子収率は「 $\Phi_{1.0} = 2.17 \times 10^{-1}$ 」と算出された。これら結果より、被験物質を含有する製剤のヨーロッパ中央部での使用時期である 4~8 月における被験物質の水系表層

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。

Pyraclostrobin

における各月の光分解半減期は下記のように推定された。

月	4月	5月	6月	7月	8月
推定半減期	1.70日	0.93日	0.66日	0.66日	0.75日

光照射をしなかった暗対照区では分解は認められず、このことは被験物質が加水分解を受けない事を示している。

以上、被験物質の直接的な光分解による分解は、半減期 0.06 日 (1.44 時間) と極めて速かった。数多くの分解物が生成し、異なる分子量の異性体の生成が確認されたが、%TAR を超える主たる分解物は 5 個であった。

本試験の結果に基づく光分解における推定分解経路を「図 1」にまとめた。

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。

Pyraclostrobin

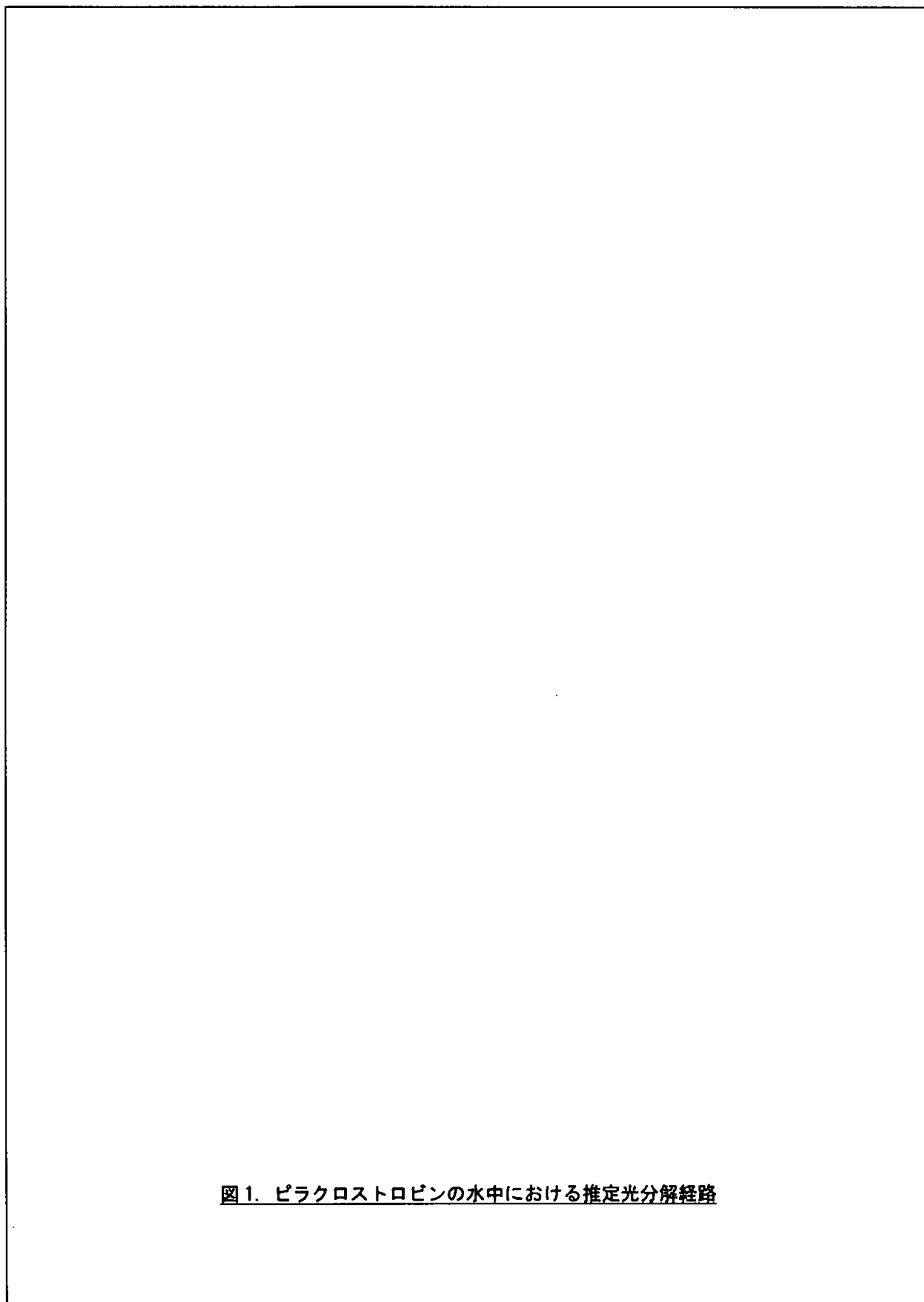


図 1. ピラクロストロビンの水中における推定光分解経路

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

Pyraclostrobin

4-1b. ピラクロストロピンの水中光分解運命試験(自然水中)

(代謝・分解 16)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

供試化合物: 及び を ^{14}C -標識した 2 種類の化合物を被験物質として使用した。

標識部位の設定理由:

^{14}C 標識体: * ; 標識部位

化学名:

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate-[]

化学構造:

比放射能:

放射化学的純度:

^{14}C 標識体: * ; 標識部位

化学名:

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate-[]

化学構造:

比放射能:

放射化学的純度:

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

Pyraclostrobin

供試水：ろ過滅菌 (0.2 μm) した自然水(池の水)。

標識体		
採水場所	"Kleiner Waldsee" 池、Kastenbergheide, 67105 Schifferstadt, ドイツ	
採水日	7月16日	5月7日
PH	8.0	7.9
総有機炭素 (mg/L)	13.7	14.1
NO ₃ (mg/L)	<0.10	0.15

試験方法：

試験装置

各被験物質を自然水に溶解して約 0.5 μg/mL (水溶解度の約 1/5 相当) とし、空気の送排気口付きガラス容器(内径：約 23 mm、水試料層の厚さ：約 15 mm)に入れ、石英ガラスで密閉した。この溶液に CO₂ を除去した加湿空気(流量約 1-2 気泡/秒)を通して、3 種類の捕集液に導き、揮発性分解物を捕集した。

光照射は SUNTEST CPS+ を用い、キセノンランプから照射強度 約 3.0 mW/cm² (290 nm 以下の紫外線カット用の UV-フィルター使用し、290~1200nm を連続照射) を照射し (放射スペクトルは地上表面の夏日の太陽光の照射強度と同等である)、試験温度は 22±1°C に設定した。(申請者注：測定波長：300~800 nm)

暗所対照試料は三角フラスコに入れ、同様の条件下の気象室で維持した。

試料の採取

照射 0, 0.125, 0.25, 0.375, 1, 3, 6, 10 及び 15 日後に試料を 2 連で採取した。これらの試料を用いて分解物の検索及び無菌性の確認を行った。

総放射能の測定及び分解物の同定

試験溶液及び捕集溶液の試料は精製しないで直接 LSC で放射能を計測し、又 HPLC で分析し、放射性成分の分離及び定量を行った。

同定/特徴づけは標品との HPLC コクロマトグラフィーを行い、保持時間の比較及び各画分の LC/ESI/MS/MS スペクトルと標品のスペクトルとの比較により同定した。

半減期の算定

時間に対する被験物質の残留濃度から半減期を算出した。

結果

1) 滅菌維持の確認

各試験溶液の微生物汚染は認められなかった。

2) 残留放射能の物質収支

各採取時点における残留放射能の物質収支(処理放射能に対する残留%)は次表のとおりである。

試験区	残留画分	照射期間 (日)									
		0	0.125	0.25	0.375	1	3	6	10	15	
標識体											
照射区	試験水	100.00	100.57	97.10	96.45	94.91	92.95	92.19	84.96	87.70	
	揮発性物質	-	0.02	0.07	0.03	0.07	0.73	3.13	8.10	6.91	
	総計	100.00	100.59	97.17	96.49	94.98	93.67	95.31	93.06	94.61	
暗所 対照区	試験水	100.00	96.04	94.32	94.51	95.06	93.62	100.18	101.47	99.43	
標識体											
照射区	試験水	100.00	96.10	97.58	96.22	99.66	96.50	94.59	95.99	93.68	
	揮発性物質	-	0.01	0.01	0.00	0.00	0.10	0.20	3.16	4.25	
	総計	100.00	96.11	97.59	96.23	99.66	96.60	94.79	99.15	97.93	
暗所 対照区	試験水	100.00	96.35	96.81	95.60	98.55	94.92	93.91	91.90	91.87	
分析結果は 2 点分析の平均値											

物質収支はいずれの時点ともに 91%以上であった。

3) 放射性成分の分布及び同定/特徴づけ

同定された光分解物を次表に示す。

分解物名	照射期間 (日)									
	0	0.125	0.25	0.375	1	3	6	10	15	
標識体										
	100	59.2	35.8	16.8	5.7	1.6	6.3	2.9	8.6	
CO ₂	-	0.02	0.07	0.04	0.07	0.7	3.1	8.1	6.9	
標識体										
	100	59.7	9.8	25.1	1.3	0.0	1.9	2.4	2.0	
CO ₂	-	0.01	0.01	0.0	0.0	0.1	0.2	3.1	4.2	

分析結果は2点分析の平均値

被験物質は速やかに分解し、3~4個の分解物として同定された。これらは、更に分解され、CO₂へ無機化された。揮発性物質のほとんどはCO₂であった。

4) 光分解の半減期及び90%分解時期

光分解の半減期及び90%分解時期は次表のとおりである。

標識体	光照射区	
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
	0.16	0.54
	0.13	0.43
平均	0.15	0.49

両標識体の光分解はきわめて早く、1日以内90%が分解した。

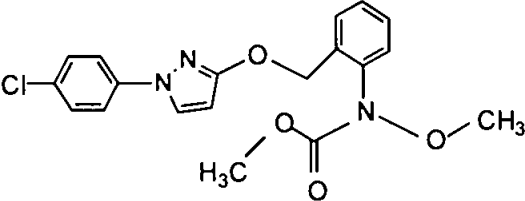
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

5) 光分解経路の推定

自然水中における光分解経路は直接光分解試験（緩衝液）で得られた経路と同じであった。

同定した主要分解物の構造を次表に示す。

識別名	分子量 [g/mol]	登録 No.	構造
親化合物	387	304 428	

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。

Pyraclostrobin

ピラクロストロビンの水中における推定光分解経路

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

Pyraclostrobin

4-2. ピラクロストロビンの水/底質系における自然条件下での光分解運命試験 (代謝・分解 12)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

試験目的:

供試化合物:

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「」標識化合物: 「」と呼称する

放射化学的純度:

比放射能:

「」標識化合物: 「」と呼称する

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

標識化合物の合成経路:

合成経路は本抄録 251~253 頁に記載した。

試験方法:

採取場所: ドイツ国 Kastenberghede の森の天然の池より水/底質相を採取し, 底質は 2mm の篩で篩別, 水相は 0.2mm 篩で濾過し, 試験容器に直ちに加えた。

採取試料の水質及び土質: 水相の pH, 溶存酸素, 酸化還元電位, 温度, 及び底質相の酸化還元電位並びに土質, 粒子系分布, 有機炭素, pH は以下のとおりであった。

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。

Pyraclostrobin

底質相の土性：土性は砂土 (USDA 法) に相当する。

土性：	USDA 分類：砂土	ドイツ分類：砂土/粘土質砂土
	<2 μm (粘土)：5%	<2 μm (粘土)：5%
	2~50 μm (シルト)：2%	2~63 μm (シルト)：2%
	50~2000 μm (砂土)：93%	63~2000 μm (砂土)：93%
粒度分布：	>200 μm：65%	
	20~200 μm：29%	
	6~20 μm：1%	
	2~6 μm：0%	
	<2 μm：5%	
有機態炭素 (%)：	0.4	
pH：	7.5	

更に、水相については順化期間中及び処理後の各試料の採取時にも測定した。底質については処理後の水相及び底質試料全量を採取時に酸化還元電位を測定した。これらの結果は以下のとおりであった。

水/底質系の特性：

(1) 試料採取当日

	水相	底質相
温度 (°C)：	23.2	—
pH：	8.58	—
溶存酸素 (mg/L)：	8.7	—
溶存酸素 (%)：	103	—
酸化還元電位 (mV)：	208	-165

(2) 順化期間中

	採取 1 日後		採取 3 日後	
	水/底質系	水系	水/底質系	底質なし
温度 (°C)：	15.4~17.5	15.8~17.2	13.3~15.1	13.1~14.9
pH：	8.34~8.43	8.63~8.65	8.20~8.42	8.65~8.65
溶存酸素 (mg/L)：	7.8~8.3	9.0~9.5	7.5~8.3	9.6~10.1
溶存酸素 (%)：	80~87	91~101	76~81	96~96
酸化還元電位 (mV)：	187~192	186~188	258~263	256~261

注：数値は「水/底質系」は n=4、「水系」は n=2 の最低値~最高値を示した。

(3) 処理後の各試料採取時の温度、pH 及び溶存酸素

処理後経過日数/時間	温度 (°C)	pH	溶存酸素 (%)
0 時間	13~16	8.20~8.65	83~1102
1 日	16~17	8.28~8.68	84~1100
2 日	16~17	8.22~8.64	79~195
3 日	14~15	8.19~8.66	75~195
7 日	約 17	8.14~8.72	72~198
10 日	16~18	8.27~8.76	21~197
14 日	17~19	8.23~8.69	58~196
21 日	18~19	8.23~8.70	54~196
30 日	約 20	7.85~8.64	36~192
45 日	約 21	7.93~8.53	50~195
62 日	約 21	8.62~8.85	89~1110

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。

Pyraclostrobin

試験区の設定：採取試料を試験容器に加え、下記の試験区を設けた。

- ・水/底質系試験区： 底質相深度約 1.5cm(底質 300g)/水相深度約 15cm(水 1550L)
- ・水系試験区(対照区)： 水相のみ 1550L(底質なし)

これらの容器は水を満たした大きなプラスチック製の箱の中に 7 日間放置して、温度変動の少ない環境で平衡させた。その後、中央ヨーロッパの 5 月～7 月の温度及び日照に設定した人工気象室でインキュベートした。

処理濃度：

実使用場面における最大使用量 250g 成分/ha のほぼ 2 倍相当量となるように調製した各標識化合物のメタノール溶液を各容器の水面に添加した。この処理量は BBA 指針Ⅳ、5-1 に従い、深度 30cm の池の水相に均一に分布すると仮定(BBA 指針Ⅳ、5-1)して、約 160~170 μg 成分/L の濃度に相当する。

試料の採取：各標識化合物を添加した試験系から次表のように試料を採取した。

試験系	試験容器	処理後経過時間													
		時間				日									
		0	3	6	9	1	2	3	7	10	14	21	30	45	62
水系	1	w	w		w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	ws
	2											w			ws
水/底質系	1	w				ws									
	2		w					ws							
	3			w					ws						
	4				w						ws				
	5						w						ws		
	6									w				ws	
	7											w			ws

w：水相試料のみ 50mL 採取

ws：残った水相及び底質相試料全量を採取

放射能の測定：水相試料は液体シンチレーションカウンター (LSC) で計測した。底質試料は抽出後、更に抽出し、遠心分離により上清(抽出可能放射能)と残渣(非抽出性放射能)に分け、直接または燃焼して LSC で計測した。

分解物の定量/同定/特徴付け：分析は当初高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で行ったが、分離が十分でなかったため、改めて全試料について高速薄層クロマトグラフィー(HPTLC)で分析、定量した。被験物質及び分解物の同定・特徴付けは標品とのクロマトグラフ並びに HPLC/MS で行った。

分解・減衰速度の推定：

動態に関するパラメーターは

(最小二乗法)で最適化した。

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。

Pyraclostrobin

これは、親化合物が急速に となるためと思われる。

対照区として同様に試験した「水系のみ(底質相なし)」の結果を「表 3-1, 3-2」にまとめた。

分解物 の生成量は最大でも処理放射能のく
で、実験終了時には減少した。 は処理 14 日後に処理放射能の %に達したが、処
理 62 日後には処理放射能の約 %に低下した。 (「 」試験区)及び 極性成分
(「 」試験区)は、実験終了時まで「水/底質系」試験区より量的に多かったが、これは被験物
質の底質相への消失及び分解経路がないことによるものである。

推定半減期

得られた結果に基づくコンパートメントモデルによる推定半減期は下記のように算出された。

	推定半減期(日)
親化合物；水相中：	5
親化合物；底質相：	4

以上、天然の池から採取した水/底質系に被験物質を実使用量の 2 倍量相当を添加し、自然の温度・日照に設定した試験条件下において、被験物質が水中に入った場合、光反応により極めて急速に極性物質を含む多くの分解物を生成すると同時に、底質相に吸着され、最終的に結合型残留物となり、被験物質の自然環境系における挙動が 2 つの主要な分解及び消失経路(光分解及び土壌吸着)に従っていることが明らかとなった。被験物質の推定半減期は水相で 5 日、底質相では 4 日であった。

本試験の結果に基づく実際の光及び温度条件下における水/底質系における被験物質の想定分解経路を「図 1」にまとめた。

表 1-1. 水/底質系「 」試験区における処理放射能の回収率, 物質収支
(注: 数値は処理放射能に対する%)

経過 日数	水 相	底 質 相					物質 収支
		ERR			RRR	合 計	
				合 計			
0	88.0						
3 時間	89.4						
6	87.1						
9	83.7						
1 日	82.8	10.2	0.4	10.6	0.5	11.1	93.9
2	76.7						
3	72.0	17.9	0.7	18.6	3.5	22.1	94.1
7	61.1	23.3	1.3	24.6	8.5	33.1	94.2
10	55.8						
14	50.2	23.3	1.3	24.6	21.1	45.7	95.9
21	45.1						
30	42.0	19.8	2.7	22.5	23.1	45.7	87.7
45	37.5	17.5	2.2	19.7	25.9	45.6	83.1
62	31.4	16.0	2.1	18.1	27.6	45.7	77.1

ERR : 抽出可能放射能

RRR : 非抽出性放射能

表 1-2. 水/底質系「 」試験区における処理放射能の回収率, 物質収支
(注: 数値は処理放射能に対する%)

経過 日数	水 相	底 質 相					物質 収支
		ERR			RRR	合 計	
				合 計			
0	89.4						
3 時間	91.4						
6	90.6						
9	83.8						
1 日	81.2	9.6	0.3	9.9	0.4	10.3	91.4
2	80.9						
3	78.4	17.5	0.6	18.1	1.8	19.9	98.3
7	69.1	24.3	1.3	25.6	4.5	30.1	99.1
10	63.4						
14	59.6	23.2	1.5	24.7	13.6	38.2	97.8
21	57.3						
30	55.9	23.6	3.0	26.6	14.3	40.9	96.9
45	51.5	21.1	3.0	24.2	19.7	43.9	95.3
62	46.2	19.3	2.2	21.5	25.5	47.0	93.2

ERR : 抽出可能放射能

RRR : 非抽出性放射能

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

Pyraclostrobin

表 2-1. 水/底質系「 」試験区における HPTLC 分析結果 (注: 数値は処理放射能に対する%)

経過日数/分析相		放射能 *1	分 布				
							親化合物 Rf 0.80
0 時間	水 相	88.0					82.7
3		89.4					80.7
6		87.1					79.3
9		83.7					75.0
1 日	水 相	82.8					69.1
	底質相	10.6					9.5
2	水 相	76.7					58.2
3	水 相	72.0					46.2
	底質相	18.6					15.6
7	水 相	61.1					28.3
	底質相	24.6					17.5
10	水 相	55.8					14.9
14	水 相	50.2					12.5
	底質相	24.6					9.7
21	水 相	45.1					3.8
30	水 相	42.0					0.7
	底質相	22.5					0.8
45	水 相	37.5					
	底質相	19.7					0.4
62	水 相	31.4					
	底質相	18.1					0.3

*1. 「水相」は「総放射能」, 「底質相」は「抽出可能放射能」

*2. 複数のピークを含む極性成分

*3. 最大 13 個の微量成分の合計値; 各成分は処理放射能に対し「水相」で ≤ % , 「底質相」で ≤ %

表 2-2. 水/底質系「 」試験区における HPTLC 分析結果(注: 数値は処理放射能に対する%)

経過日数/分析相		放射 活性 ^{*1}	分 布					
								親化合物 Rf0.80
0時間	水 相	89.4						85.2
3		91.4						84.0
6		90.6						82.4
9		83.8						75.5
1日	水 相	81.2						68.7
	底質相	9.9						8.9
2	水 相	80.9						61.0
3	水 相	78.4						51.0
	底質相	18.1						15.0
7	水 相	69.1						34.2
	底質相	25.6						18.3
10	水 相	63.4						17.3
14	水 相	59.6						14.0
	底質相	24.7						6.4
21	水 相	57.3						5.4
30	水 相	55.9						2.1
	底質相	26.6						0.9
45	水 相	51.5						0.8
	底質相	24.2						0.5
62	水 相	46.2						0.9
	底質相	21.5						0.3

*1. 「水相」は「総放射能」, 「底質相」は「抽出可能放射能」

*2. 最大 12 個の微量成分の合計値; 各成分は全ての採取時とも処理放射能に対し「水相」で < % , 「底質相」で < %

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。

Pyraclostrobin

表 3-1. 水相のみ(底質相なし)の「 」試験区における HPTLC 分析結果

(注: 数値は処理放射能に対する%)

経過 日数	総放射能	分 布						
						親化合物 Rf 0.83		
0	89.7					84.8		
3 時間	92.9					86.0		
6	92.3					80.6		
1 日	86.8					72.8		
2	91.1					69.9		
3	87.5					60.5		
7	88.9					38.9		
10	90.1					18.0		
14	86.8					11.4		
21	83.0					3.2		
30	78.6					1.0		
45	65.4					0.6		
62	61.1					0.7		

*1. 最大 22 個の微量成分の合計値, 各成分は全ての採取時とも処理放射能に対し %

表 3-2. 水相のみ(底質相なし)の「 」試験区における HPTLC 分析結果

(注: 数値は処理放射能に対する%)

経過 日数	総放射能	分 布						
						親化合物 Rf 0.83		
0	89.0					84.6		
3 時間	93.1					86.0		
6	90.5					78.8		
1 日	90.0					74.7		
2	93.9					69.9		
3	92.6					66.6		
7	94.0					40.4		
10	93.7					27.8		
14	94.5					17.7		
21	94.5					7.2		
30	94.4					2.8		
45	91.1					3.0		
62	87.4					2.4		

*1. 最大 17 個の微量成分の合計値, 各成分は全ての採取時とも処理放射能に対し %

図1. ピラクロストロビンの水/底質系における推定光分解経路

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

Pyraclostrobin

4-3. ピラクロストロビンの水中光分解

(代謝・分解 13)

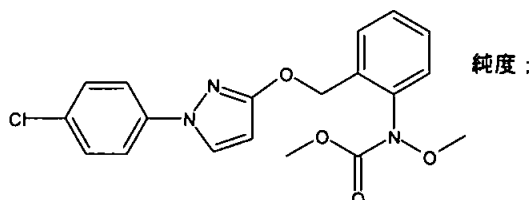
試験機関：

[GLP 対応]

報告年：

供試化合物：

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate



供試水：

滅菌精製水：純水製造装置を用いて、水道水を逆浸透、イオン交換、限外濾過して得た比抵抗 16MΩ・cm 以上の水を 121°C、20 分間、高圧滅菌した。pH6.1

自然水：神奈川県足柄郡を流れる酒匂川より 2000 年 1 月 27 日に採取した河川水を使用した。pH7.4

試験方法：

準拠試験方法：9 農産第 5089 号

被験物質の 100mg/L 0.5mL を精製水及び河川水それぞれで希釈して 0.5mg/L 溶液(被験物質の水溶解度の約 1/5 に相当)を調製した。この 5mL を石英試験管に採り、共栓をしてポリフィルムで密封し、液漏れを防ぐよう若干の角度をつけて Suntest CPS+キセノンランプの光源より約 23cm の位置に並べた。光照射条件は 600W/m²(日本の 8 月の 12 時における直射量の平均値に相当)、波長域を 290~800nm に設定した。照射期間中は水を循環して試験液中の温度を 25±1°C に保った。光照射をしない対照区を設定し、対照区の試験管はアルミフイルを巻いて 25±1°C の恒温槽内暗所に置いた。

照射開始 0、24、48、72、96 時間後に照射区及び対照区から試験管を取り出し、各試験溶液について HPLC で分析し、検量線法により定量した。分析は試験管を取り出した日に行った。

2 連分析の平均値に基づき、時間に対する濃度から被験物質の水中光分解における半減期を算出した。

試験結果：

精製水及び河川水中における被験物質濃度の減衰を「表 1」にまとめた。

この結果より、被験物質の水中光分解における半減期は「表 2」のように算出され、また、照射区及び対照区の試験溶液が試験期間中 25±1°C に保たれていたことを確認した。

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

Pyraclostrobin

自然太陽光下[北緯 35 度(東京)、春(4 月~6 月)]で推定される水中半減期 DT50sun について、
精製水及び河川水の結果を「表 3」にまとめた。

表 1. 精製水及び河川水中における被験物質濃度

露光/遮光 時間(時間)	精製水		河川水	
	照射区 (mg/L)	対照区 (mg/L)	照射区 (mg/L)	対照区 (mg/L)
0	0.43	0.43	0.45	0.45
24	0.32	0.43	0.32	0.44
48	0.24	0.43	0.24	0.43
72	0.18	0.43	0.18	0.41
96	0.14	0.43	0.14	0.42

表 2. 推定半減期

	精製水	河川水
光照射区:	59 時間	56 時間
対照区(暗対照):	減衰を認めず	減衰を認めず

表 3. 北緯 35 度(東京)、春(4~6 月)における

自然太陽光下での水中半減期(推計)

	人工光照射条件 半減期(時間)	自然太陽光下 半減期(日)
精製水	59	15
河川水	56	14

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。

Pyraclostrobin

4-4a. ピラクロストロビンの 50°C 及び 25°C における加水分解運命試験 (代謝・分解 14-1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告年:

4-4b. ピラクロストロビンの 90°C, 100°C 及び 120°C における加水分解運命試験

(代謝・分解 14-2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告年:

供試化合物:

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物: 「 」と呼称する

「4-4a」の試験

「4-4b」の試験

放射化学的純度:

比放射能:

「 」標識化合物: 「 」と呼称する

「4-4a」の試験

「4-4b」の試験

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

試験方法: 供試化合物は 10 倍に希釈した緩衝液 () に溶解した。

1) 50°C 及び 25°C における加水分解運命試験「4-4a。」

試験条件

異なる 2 温度における加水分解について検討するために、濃度約 1mg/L (予備試験, 50°C) 及び 0.5mg/L (本試験, 25°C) で試験した。更に、分解物同定用試料を得るために濃度約 3mg/L (同定用) も加えた。全ての試料は暗条件でインキュベートした。これらの試験概要は次表のとおりである。

	予備試験	本試験	同定用
試験濃度	約 1mg/L	0.5mg/L	約 3mg/L
試験 pH	4, 5, 7, 9	5, 7, 9	9
試験温度 (°C)	50	25	50
試験期間	5 日	30 日	10 日
試料採取時期 (開始後日数)	0, 1, 2, 3, 4, 5 日	0, 1, 3, 7, 15, 21, 24, 30 日	10 日

各試料採取時に滅菌度, pH を検査した。

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。

Pyraclostrobin

分解物の同定, 定量, 特徴付け

全試料について前処理なしで直接, 液体シンチレーションカウンターで放射能を計測し, 代謝パターンは HPLC と HPTLC で分析した. 同定は質量分析 (HPLC-MS) で行った.

2) 90°C, 100°C及び120°Cにおける加水分解運命試験「4-4b」

試験条件

調理/加工等の種々の処理(滅菌, 過熱, 殺菌)を行ったときの加水分解について検討するために以下の試験を行った. 全ての試料は暗条件で行った. これらの試験概要は次表のとおりである.

	滅菌試験	加熱試験	殺菌試験
試験濃度	約 0.5mg/L	0.5mg/L	約 0.5mg/L
試験 pH	4	5	6
試験温度 (°C)	90	100	120
処理時間	20 分間還流	60 分間沸騰	20 分間殺菌

分解物の同定, 定量, 特徴付け

全試料について前処理なしで直接, 液体シンチレーションカウンターで放射能を計測し, 代謝パターンは HPLC で分析した.

試験結果:

1) 50°C及び25°Cにおける加水分解運命試験「4-4a.」

予備試験: 分析結果及び物質収支を「表 1」に示す.

50°C試験では, 「」溶液及び「」溶液いずれにおいても pH4, 5, 7 で加水分解は認められなかった. 処理 0 日で検出された「」は他の採取時点でも検出され, その量はほぼ一定であった. pH9 では緩やかに分解し, 「」溶液中に 2 種の加水分解物「 (=)」と「 (=)」が, 「」溶液中には前記の 2 分解物の他に「 (=)」が検出された.

本試験: 分析結果を「表 2」に示す.

予備試験において 50°C, pH4 で加水分解が認められなかったことから, 本試験 (25°C) では pH5, 7, 9 で実施した.

25°Cにおいて「」溶液及び「」溶液のいずれにおいても pH5, 7 で加水分解は認められなかった. pH9 では 3 種の加水分解物「 (=)」, 「 (=)」, 「 (=)」が同定された. 量的には M02 が最大で処理放射能の < % で, 及び の検出は散発的であった.

2) 90°C, 100°C及び120°Cにおける加水分解運命試験「4-4b」

各試験溶液中の処理後の放射能(処理放射能に対する%)は下記のとおりで, いずれの処理条件においても分解は認められず, HPLC クロマトグラム上のピークは未変化の親化合物 (BF 500 F) のみであった.

試験終了時の物質収支

試験	「 <u> </u> 」溶液	「 <u> </u> 」溶液
滅菌試験	103.9	98.1
加熱試験	98.1	110.9
殺菌試験	96.1	97.4

3) 加水分解経路

3種の分解物が同定された。その推定分解経路を「図1」に示した。

以上の結果から、被験物質は暗条件の水溶液中で、25℃及び50℃いずれにおいても pH4, 5, 7 で加水分解は認められず、pH9 では常温で緩やかな加水分解が認められた。このため、加水分解における半減期の推定は行わなかった。また、pH9 では3種の分解物が同定された。滅菌、加熱あるいは殺菌条件下における分解は認められなかった。従って、被験物質は加水分解的に安定であった。

表 1. 50°Cにおける加水分解試験結果(注: HPLC 分析結果で、数値は処理放射能に対する%)

pH	日数	ピラクトロビン 3 成分 (BF 500 F: 親)						合 計			
		「 1 」	「 2 」	「 3 」	「 4 」	「 5 」	「 6 」	「 7 」	「 8 」		
4	0					82.5	90.6			87.0	94.5
	1					90.0	91.2			95.4	96.3
	2					96.0	93.1			101.1	97.3
	3					93.9	90.4			100.3	95.3
	4					97.1				101.5	*2
	5						89.4			*2	93.6
5	0					93.8	89.1			99.5	94.6
	1					94.4	91.8			99.2	96.7
	2					95.8	90.3			100.6	95.4
	3					96.9	94.3			101.6	99.9
	4					96.2	89.3			101.0	95.3
	5					95.5				100.4	*2
7	0					93.3	94.5			99.3	100.6
	1					97.2	93.4			102.3	98.4
	2					98.7	93.4			103.8	100.1
	3					95.3	93.9			101.2	99.8
	4					96.4	92.4			101.9	99.6
	5					100.1	97.8			104.9	101.5
9	0					91.7	87.8			98.7	91.9
	1					87.9	83.6			101.0	94.4
	2					89.7	75.7			100.5	94.4
	3					82.4	70.5			97.9	92.7
	4					77.0	65.4			100.5	96.2
	5					78.6	58.1			100.1	94.5

*1. 処理放射能に対し、%の微量成分の合計値。

*2. 他の試験に使用したため分析用試料が残らなかった。

表 2. 25°Cにおける加水分解試験結果(注: HPLC 分析結果で、数値は処理放射能に対する%)

pH	日数	ピーク3成分 (BF 500 F: 親)		合計	
		「 J 」	「 J 」	「 J 」	「 J 」
5	0	95.1	97.1	100.0	100.0
	1	91.4	90.5	97.9	95.2
	3	88.5	95.2	95.9	98.7
	7	90.4	92.5	96.5	97.0
	15	95.1	93.4	99.9	101.7
	21	89.9	84.5	96.0	93.2
	24	93.2	91.2	98.2	96.8
	30	93.8	88.7	97.1	95.4
7	0	93.7	90.7	100.0	100.0
	1	98.8	96.6	101.3	103.5
	3	95.6	95.3	101.0	102.2
	7	87.1	95.4	98.7	99.3
	15	94.5	94.6	98.4	99.8
	21	92.0	90.8	98.5	103.2
	24	93.0	91.1	97.4	100.7
	30	94.6	97.1	100.0	107.2
9	0	95.5	91.4	100.0	100.0
	1	98.0	83.0	105.2	97.6
	3	95.0	95.3	101.7	100.1
	7	92.0	89.7	98.8	95.8
	15	94.0	92.0	102.3	95.1
	21	93.0	95.8	102.8	99.8
	24	95.7	91.8	104.0	96.5
	30	88.0	78.4	97.5	91.2

*1. 処理放射能に対し、%の微量成分の合計値。

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

Pyraclostrobin

図 2. ピラクロストロピンの pH9, 50°Cにおける推定加水分解経路

5. 生物濃縮性試験

魚類における生物濃縮及び生体内代謝

(物化性 12)

試験機関：InvereskResearch(スコットランド)

[GLP対応]

報告年：

1) 試験条件

供試生物	供試薬剤 (純度または 含量%)	試験 水温 (°C)	被験物質 平均濃度 (ng/L)	流水量 (L/日)	密度 (g/L)	酸素濃度 (%)	昼夜周期 (照明/ 消灯)	実施機関 及び 報告年
ブルキル	¹⁴ C-標識 化合物	20.2 ~23.5	T: 305 C: 300	約 300	約 2.5 ²⁾	>80 ³⁾	16 時間/ 8 時間	()

1)

「 」標識化合物:

277000 dpm/μg

「 」標識化合物:

259000 dpm/μg

2) 約 150 尾 x 1g 体重/60L 水量

3) 飽和溶存酸素濃度に対する比率

2) 試験期間及び測定項目

取込/排泄試験:

取込段階として所定濃度 (300 ng/L) に設定したそれぞれの標識化合物流水に 37 日間暴露後、標識化合物を含まない流水に 14 日間(「 」試験区)/21 日間(「 」試験区)暴露した(排泄段階)。標識化合物を含まない流水に供試魚を暴露し、対照群とした。給餌は継続して行ったが、過剰量は 30~60 分後に除去した。

測定項目:

a) 試験水

試験水は平衡期間の最終 3 日間および取込期間には毎日採取し、LSCにて放射能を測定した。取込期間の 0、7、14、21、28 および 35 日についてはさらなる試料を採取し、代謝物分析に供した。排泄期間では、1、2、4、7、14 および 21 日 (21 日は T-環標識体試料のみ) に試料を採取し、LSCにて放射能を測定した。

b) 魚

放射能測定のため、試験開始直前、取込期間の 1、2、4、7、14、21、28、31 日 (対照区を除く)、35 日および排泄期間の 1、2、4、7、10、14 日に試料を採取した。対照区および T-環の試料に関しては、さらに排泄期間 19 日後にも試料を採取した。採取した魚は水で洗浄後、紙で水分をふきとり、強打して屠殺した。全長を測定後、可食部および非可食部にわけ、はさみで細断して、燃焼、放射能を測定した。

代謝物分析のため、取込期間 21 日および 28 日にさらなる試料を採取し、上記と同様に可食部および非可食部にわけた。はさみで細断後、抽出精製を行い、HPLC 分析に供した。

3) 試験結果

a) 試験水中放射能

表 1 に、取込段階における試験水の総放射能測定結果を示す。 および のそれぞれの平均総放射能濃度は 305 ng/L および 300 ng/L であった。

排泄期間では、1 日目に、 および 試料でそれぞれ設定濃度の 14% および 22% の放射能が検出されたものの、その後は LOQ 以下となった。

表 2 に、放射能の抽出および代謝物分析の結果を示す。抽出性放射能（総放射能の 82% 以上）の全てが親化合物であり、他の代謝物は検出されなかった。水中の放射能は初期実測放射能の 7.5% 以下と少なかったため、代謝物分析には供しなかった。

表 1 取込段階における水中放射能

	濃度範囲	平均
「 」試験区	263~344ng/L	305ng/L
「 」試験区	278~336ng/L	300ng/L

表 2 取込段階における水中放射能の分布および代謝物分析

画分	総放射能に対する割合 (%) ()内は濃度 (ng/L)						
	開始前	0	7	14	21	28	35
総放射能	100 (317)	100 (317)	100 (320)	100 (309)	100 (309)	100 (274)	100 (290)
有機層 =親化合物	98.4 (312)	82.7 (262)	83.8 (268)	82.1 (254)	87.8 (271)	99.4 (272)	93.0 (270)
水層	1.2	2.4	6.0	5.0	7.5	5.6	5.3
回収率	99.7	85.1	89.8	87.1	95.3	105.0	98.3
総放射能	100 (339)	100 (303)	100 (307)	100 (314)	100 (310)	100 (300)	100 (282)
有機層 =親化合物	87.5 (297)	88.5 (268)	87.0 (267)	84.6 (266)	82.9 (257)	95.4 (286)	86.8 (245)
水層	1.1	2.4	4.7	5.7	7.0	6.0	5.1
回収率	88.6	90.8	91.7	90.3	89.9	101.4	92.0

b) 魚体中放射能

表 3 に非可食部、可食部および全魚体における総放射能濃度、表 4 に総放射能に基づく two-compartment モデルによる動態解析結果を示す。

標識体では取込期間 4 日以降、 標識体では 2 日以降に魚体における放射能濃度での経時的増加あるいは減少は見られず、また、動態解析の結果も同様に、全器官において両ラベルで取込期間 2~4 日までに平衡状態の 90% に達したことを示していた。取込速度定数 (k_1) は、

標識体では非可食部、可食部および全魚体においてそれぞれ 236、833 および 514 mL/g/日、T-環標識体では 243、994 および 598 mL/g/日であった。

両ラベルで魚体からの排泄はかなり早く、半減期および 90% 減衰するまでの期間はそれぞれ 0.7 日~1.0 日および 2.3~3.2 日であった。排泄速度定数 (k_2) は 標識体では非可食部、可食部および全魚体においてそれぞれ 1.020、0.711 および 0.762/日、 標識体では 0.901、0.797 および 0.812/日であった。

c) 総放射能に基づく濃縮係数

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

Pyraloclostrobin

表 4 に示したように、取込速度係数 k_1 および排泄速度定数 k_2 から算出される総放射能に基づく濃縮係数は、標識体では非可食部、可食部および全魚体でそれぞれ 232、1171 および 675、標識体ではそれぞれ 269、1246 および 736 であった。

水中放射能および魚体中放射能から算出される総放射能に基づく濃縮係数を、表 5 に示す。両ラベルにおいて、取込期間 4 日以降には魚体中放射能の継続的増加は観察されず、また動態解析の結果では、取込期間 2 日～4 日に平衡状態の 90% に達していた。したがって、取込期間 4 日～35 日の平均値を平衡状態での濃縮係数とし、標識体では非可食部、可食部および全魚体でそれぞれ 232、1169 および 673、標識体ではそれぞれ 262、1221 および 719 であった。

結果として、動態解析および総放射能より直接得られた全魚体における平衡状態での濃縮係数に差はなく同等であった。

表 3 試験期間における魚体中放射能の分布

日数	魚体新鮮重に対する放射能濃度 (ng/g)						
	可食部	非可食部	全魚体	可食部	非可食部	全魚体	
取 込 期 間	1	47	180	112	70	197	125
	2	63	284	168	59	336	197
	4	80	325	190	74	331	196
	7	66	314	184	84	327	192
	14	69	325	188	82	393	230
	21	67	353	201	78	348	205
	28	71	404	223	82	425	243
	31	71	398	235	77	367	223
	35	66	342	198	76	383	227
排 泄 期 間	1	26	174	95	43	159	98
	2	15	83	48	20	96	56
	4	6	36	20	10	35	21
	7	3	11	7	15	17	16
	10	3	9	6	6	10	8
	14	2	8	5	6	8	7
	19	-	-	-	6	7	7

表 4 two-compartment モデルによる動態解析の結果

	放射能濃度 (ng/g)					
	可食部	非可食部	全魚体	可食部	非可食部	全魚体
取込速度定数、 k_1 (mL/g/日)	236	833	514	243	994	598
排泄速度定数、 k_2 (/日)	1.020	0.711	0.762	0.901	0.797	0.812
平衡状態の 90% に達する期間 (日)	2.3	3.2	3.0	2.6	2.9	2.8
濃縮係数 (k_1/k_2)	232	1171	675	269	1246	736
半減期、 t_{50} (日)	0.7	1.0	0.9	0.8	0.9	0.9
90% 排泄までの期間 t_{90} (日)	2.3	3.2	3.0	2.6	2.9	2.8

表 5 総放射能に基づく濃縮係数（水中および魚体中放射能濃度より算出）

日数	濃縮係数					
	可食部	非可食部	全魚体	可食部	非可食部	全魚体
1	177	677	421	248	699	443
2	212	956	566	199	1135	666
4	262	1066	623	233	1041	616
7	206	981	575	274	1065	625
14	223	1052	608	261	1252	732
21	217	1142	650	252	1123	661
28	259	1474	223	273	1417	810
31	230	1288	761	270	1288	782
35	228	1179	683	270	1358	805
平均(4日~35日)	232	1189	673	262	1221	719

d) 魚体中放射能の抽出および代謝物分析

表 6 に、取込期間 21 および 28 日魚体試料の非可食部および可食部をそれぞれ

した結果を示す。両ラベル、両部位において、

であり、その 80%以上が

された。非抽出画分は 11.2%以

下であった。

各試料の

をそれぞれ HPLC による代謝物分析に供した。28 日における結果を、

魚体中総放射能の割合として表 7 に示す。

被験物質は初期段階において代謝物

となり、その後

代謝物

及び同

、更に

代謝物

及び 5 種の未知成分(

)に分解すると考えられる。

表 6 魚体中放射能の抽出

画分	総放射能に対する割合(%TRR)							
	21		28		21		28	
	可食部	非可食部	可食部	非可食部	可食部	非可食部	可食部	非可食部
総放射能	100	100	100	100	100	100	100	100
水	80.6	90.1	88.7	84.7	88.4	101.1	81.9	81.6
残渣	5.3	2.3	5.2	3.0	4.2	2.4	4.8	4.5
回収率	8.2	3.9	9.0	5.6	11.2	5.5	11.2	7.6
	94.0	96.2	103.8	93.4	103.8	109.0	98.0	93.7

表 7 取込期間 28 日の魚体試料 抽出液における代謝物分析

成分	総放射能に対する割合 (%)			
	可食部	非可食部	可食部	非可食部
親化合物	73.7(52)	38.6(156)	62.8(51)	57.4(244)
水層	5.2(4)	3.0(12)	4.8(4)	4.5(19)
残渣	9.9(7)	5.6(23)	11.2(9)	7.6(32)
合計	103.8(74)	93.3(375)	97.9(79)	93.6(397)

()内は魚体新鮮重に対する濃度 (ng/g)

e) 親化合物に基づく濃縮係数

取込期間 28 日後に最も高い BCF を示したため、取込期間 28 日後の水中の親化合物濃度および 28 日の魚体中親化合物濃度に基づき、親化合物に基づく濃縮係数を算出した。その結果を表 8 に示す。

取込期間 21 日のデータは報告書に記載がないが、取込期間 21 日および 28 日の および の各部位での平均値を同じく表 8 に示す。

結果として、全魚体における親化合物に基づく濃縮係数の最大値は 507 であり、本被験物質の濃縮性は低いものであった。

表 8 親化合物に基づく濃縮係数

	21 日			28 日		
	可食部	非可食部	全魚体	可食部	非可食部	全魚体
28 日	191	574	379	178	853	507
平均 ^{a)}	209	809	494			

a) 21 日および 28 日の および の値の平均値

代謝分解のまとめ

ピラクロストロビンの有する 2 つの環をそれぞれ又はいずれか一方を標識した被験物質(下図参照)を用いて実施した動物、植物、土壌、環境要因中における代謝、分解、残留の概要は下記のとおりであり、想定代謝経路を 代 145 頁に、結果の概要を 代 146~代 154 頁に示した。

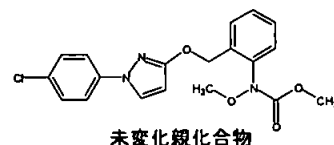
() 標識化合物

() 標識化合物

動物

生体内における動態試験(代謝・分解 1)の結果、被験物質は経口投与により胃腸管から急速に吸収されるが完全には吸収されず、生物学的利用能は 45~50%TAR(注:「%TAR」は総投与放射能に対する比率)であった。吸収された後、被験物質は全ての臓器に分布し、血漿中最高濃度(Cmax)到達時間は低用量(5mg/kg·bw)及び高用量(50mg/kg·bw)群共に投与 0.5 時間後(雌)~8 時間後(雄)であった。しかしながら、臓器中の放射能は急速に消失し投与 120 時間後の全臓器における放射能は高用量群で $<1 \mu\text{gEq/g}$ 、低用量群では $<0.1 \mu\text{gEq/g}$ であった。「 」標識化合物の経口投与では主として糞中に排泄され最初の 48 時間で低及び高用量共に 74~91%TAR、尿中排泄は同 10~13%TAR で、48 時間までの尿中及び糞中排泄量の合計は 120 時間における総排泄量(90~105%TAR)の 91~99%と排泄が早いことが確認された。この排泄パターンは、「 」標識化合物の高用量(50mg/kg·bw)経口投与においても認められた。胆汁中排泄は低用量と高用量投与間に差はなく投与 48 時間後で 35~38%TAR であった。この値は同時間における糞中への排泄量(約 74~91%TAR)と比較するとかなり低いもので、投与した被験物質の全量が必ずしも吸収されていないことを示唆している。また、各標識化合物の高用量単回経口投与において動物の呼気中に放射能は検出されなかった。反復投与(非標識化合物 50mg/kg/日 x14 日後標識化合物 5mg/kg を 1 回投与)においては投与 120 時間後に極めて微量の放射能が血球($<0.005\sim0.01\%$ TAR)、肝臓(0.05~0.06%TAR)、皮膚(0.02%TAR)及び残部屍体(0.07%TAR)に検出されたが、放射能濃度は甲状腺(0.35~0.18 $\mu\text{gEq/g}$)を除く全ての各臓器において $\leq 0.1 \mu\text{gEq/g}$ (0.1ppm)で、単回投与における結果と同様に反復投与においても臓器内への蓄積はないことを示していた。

生体内における代謝試験(代謝・分解 2)では、糞、肝臓及び腎臓中放射能のそれぞれ 63~81%、58~80%及び 67~84%が抽出され、血漿中放射能は 74~87%が抽出された。分析の結果全ての主要代謝物及び何種類かのマイナーな代謝物が単離され、全部で 33 個の代謝物が同定された。経口投与での主要排泄経路である糞中の主要代謝物は(右図参照)で %TAR であった。少量の未変化親化合物が糞中に検出されたが、尿中及び胆汁中には検出されなかった。尿中あるいは胆汁中に未変化の親化合物が検出されなかったことは、動態試験でも確認されたように、被験物質が腸管からは完全に吸収されず、生体内に取り込まれた被験物質は急速且つ完全に代謝されることを示している。また、Cmax 到達時間の近くにおける血漿中の未変化親化合物は $<0.01\%$ TAR であったが、肝臓中には微量(最大約 0.4%TAR)検出され、



腎臓中に微量検出された放射能 ($\leq 0.04\%$ TAR) の大部分は未変化親化合物であった。雄動物と雌動物の間には代謝に関する明らかな差、あるいは単回投与と反復投与の間にも生成代謝物に質的あるいは量的な変化は認められず、体内蓄積のないことを示すと共に代謝酵素系の誘導がないことも示している。これらの知見より、被験物質の第1相生体内代謝反応の特長は以下のとおりで、

により、

多くの代謝物が生成するものと考えられる。

植 物

植物における代謝試験は「ぶどう」、「馬鈴薯」、「小麦」、「はくさい」の4種の作物に「 」及び「 」標識化合物それぞれを処理して実施された。

「ぶどう」での代謝試験(代謝・分解3)では、果実中の主要放射性成分は未変化の親化合物及び動物での代謝試験でも検出されている代謝物 で、他に検出された代謝物は $\%TRR$ (注:「 $\%TRR$ 」は総放射能残留量に対する比率)を超えるものではなかった。標識位置が異なっても代謝パターンは同じで、単環化合物への開裂は認められなかった。非抽出性放射性成分は微量で、リグニン及びセルロース等の高分子作物成分と結合していた。

「馬鈴薯」での代謝試験(代謝・分解4)では茎葉、塊茎及び根部の各部位について分析した結果、未成熟試料(3回処理)及び成熟試料(6回処理)いずれにおいても茎葉部の放射能が最も高く、塊茎部では茎葉部の 0.1% 以下であった。「 」処理試料と「 」処理試料では抽出効率「 」処理試料の方が高く、検出された代謝物も「 」試料の方が数が多かった。食用部位である塊茎中の主要放射性成分は、「 」及び「 」処理試料いずれにおいても未変化の親化合物で、主要代謝物は代謝物 (前述)であった。他に最大 $\%TRR$ 検出された代謝物 は ある ことが確認された。その他の代謝物はいずれも $\%TRR$ を超えるものではなく、大部分は $\%TRR$ であった。

「小麦」では代謝試験とは別に被験物質の未処理部位への移行について試験された(代謝・分解5-1)結果、第3葉、第2葉に処理した場合、第1葉の放射能は処理部位の $0.4\sim 1.0\%$ 、第2葉、第1葉に処理した場合の穂における放射能は同 $1.4\sim 1.5\%$ で、新たに展開した部位への被験物質の移行が極めて小さいことが確認された。

同作物での代謝試験(代謝・分解5-2)では、代謝パターンは成熟麦わらと青刈り試料では同様であったが、食用部位である子実とは異なっており、成熟麦わらと青刈り試料中の主要放射性成分は未変化の親化合物と代謝物 (いずれも前述)であったが、子実中においてはこれらは量的に微量であった。一方、子実中においては、前記の「馬鈴薯」の代謝試験の知見と同様に、開裂後代謝物を經由して (代謝物 ; 前述)を生成することが確認された。他に検出された代謝物は $\%TRR$ で、大部分は $\%TRR$ であった。

「はくさい」での代謝試験(代謝・分解 6)では、外葉部の放射能は結球部の約3倍で、両部位での残留成分の大部分は未変化の親化合物であった。標識位置の違いによる代謝での量的あるいは質的な差は認められなかった。検出された主要代謝物は で、他は最大でも %TRR であった。

以上、4種の植物について試験した結果、未処理部位への被験物質の移行は極めて微量(小麦での試験)であった。植物体内の残留成分は4作物共に主体は未変化の親化合物であり、代謝物としては であった。主たる代謝パターンにおいては作物種の違いによる差、あるいは標識位置の違いによる差は認められなかった。特徴的な点は、小麦の子実あるいは馬鈴薯の塊茎のように澱粉質の多い部位での の生成で、これは被験物質の開裂・代謝に伴って起こるものと考えられた。

土 壤

好気条件下での土壌代謝試験(代謝・分解 7-1, 同 7-2)も「 」及び「 」をそれぞれ標識した化合物を用いて実施された。好気条件土壌中ではいずれの標識化合物処理においても非抽出性残留放射能(結合型残留物)の生成は速かった(処理後 31~33 日で 47~53%)が、無機化率は少なく(試験終了時で 8~11%)、CO₂以外の揮発性成分はいずれの標識化合物処理においても検出されなかった。親化合物の好気条件下における土壌中の推定半減期は 12 日(「 」)~14 日(「 」)、DT₉₀は 143 日(「 」)~152 日(「 」)となった。検出された主要分解物は 2 種; 及び (下図参照)で、 は「 」, 「 」いずれの処理土壌においても処理 180 日後に最大(%TRR)となり、その後徐々に減衰した。標識位置の違いによる土壌中での分解挙動における差は認められなかった。

しかしながら、我が国で実施した圃場条件における土壌残留試験においてはこれらの分解物あるいは は下表にみられるように極めて微量/検出限界以下であったことから、土壌残留試験における分析対象物質は親化合物のみとした。

処理後日数	分解物		分解物	
	福島土壌	長野土壌	福島土壌	長野土壌
-0(処理直前)				
7				
15				
30				
60				
90/92				
120				

土壌表層における光分解試験(代謝・分解 8)では、40%MWC(注:「%MWC」は最大容水量に対する水分%)土壌の光照射条件下での挙動はいずれの標識化合物で処理した土壌においても同様であった。

検出された揮発性成分は CO₂ のみで、無機化率は照射土壤の方がわずかに高かったが、結合型残留物は照射・非照射共に同程度であった。80%MWC 土壤では、結合型残留物が 40%MWC 土壤の照射試料の約 3 倍、非照射試料では約 2 倍多かった。前記の土壤代謝試験と同様に分解物及び 〃の生成が土壤表層における光分解試験でも確認され、非照射試料(最大約 %TAR)の方が照射試料(最大約 %TAR)より多く、これら分解物 〃及び 〃の生成は土壤水分の多い方が大きかった。土壤表層における被験物質の推定光分解半減期は 40%MWC 土壤で約 37 日(照射)～約 32 日(非照射)、80%MWC 土壤では約 9 日(照射)～約 10 日(非照射)であった。標識位置の違いによる差は認められなかった。

環 境

土壤吸着試験(代謝・分解 9)を 4 種類の土壤を用いて試験した結果、吸着係数(Koc)は 3400～22800 で、被験物質の土壤吸着能は大きく、溶脱はほとんどないことを示していた。また、分解物(〃)の土壤吸着試験(6 土壤)(代謝・分解 15-1, 15-2)においても Koc は 3100～183000 であり、分解物も溶脱しないことを示していた。

この土壤吸着能の大きいことは「 〃」標識化合物の 4 種類の土壤における浸透移行性(カラムリーチング)試験(代謝・分解 10)においても確認され、試験した 4 種類の土壤いずれも、最上位の分画 1 に >90%TAR、分画 2 で <10%TAR で、分画 3 以降(注:カラムの分画数は 5)には放射能は検出されなかった。分画 1 及び 2 の抽出可能放射性成分の大部分が未変化の親化合物と推定され、カラムからの浸出液中に放射能は検出されなかった。

「 〃」及び「 〃」標識化合物で実施した水中における光代謝試験(代謝・分解 11[緩衝液]、代謝・分解 16[自然水])において、標識位置の違いに関わらず照射 1 日以内にほとんどが分解し、半減期は約 4 時間以内と推定された。一時的に 10%TAR を超える分解物が 5 個同定された。光分解に緩衝液と自然水の差はほとんど認められなかった。非照射での分解は認められなかった。天然の池から採取した水/底質系に各標識化合物を添加し、ヨーロッパの 5～7 月の温度・日照条件に設定したファイトロンでの光分解運命試験(代謝・分解 12)においても水相中での急速な光分解と同時に底質相への急速な吸着が認められ、被験物質が自然環境における 2 つの主要な減衰要因: 光分解と土壤吸着、に従うことが確認された。この試験条件での水相及び底質相での半減期はそれぞれ 5 日と 4 日と推定された。非標識化合物を用いて実施した精製水及び河川水中での光分解試験(代謝・分解 13)でも、被験物質は精製水及び河川水いずれにおいても光照射により分解し、半減期は 56 時間(河川水)～59 時間(精製水)と推定された。非照射では、精製水中での分解は認められず、河川水では分解は緩やかで半減期は 859 時間と推定された。

加水分解試験は、pH9, 7, 5, 4 緩衝液中 50°C 及び/又は 25°C での試験(代謝・分解 14-1)と pH6, 5, 4 緩衝液中での高温条件(90～120°C)における試験(代謝・分解 14-2)が実施された。その結果、標識位置の違いによる加水分解の差はなく、50°C/pH9 では最大約 %TAR の分解物が検出されたが 50°C/pH4, 5, 7 では全て < %TAR であった。pH9 で検出された分解物は全て既知の代謝物あるいは分解物であった。25°C では pH5, 7 で分解は認められず、pH9 で 3 種の分解物が検出されたが、いずれも散発的で %TAR を超えるものではなかった。滅菌、加熱及び殺菌目的での高温条件下での加水分解試験においても被験物質が加水分解的に安定であることが確認された。

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。

Pyraclostrobin

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。

Pyraclostrobin

代謝分解の概要：環境-1：土壌代謝 (代謝・分解 7-1, 7-2)

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

Pyraclostrobin

代謝分解の概要：環境-2：土壤中光分解 (代謝分解 8)

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

Pyraclostrobin

代謝分解の概要：環境-3：水中光分解（代謝分解11）

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。

Pyraclostrobin

代謝分解の概要：環境-3：水中光分解 (代謝・分解 16)

