

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

〈代謝分解試験一覧表〉

資料 No.	試験の種類	供 試 動植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
代-1	動物体内 代謝に関 する試験	SPFラット 雌雄	<ul style="list-style-type: none"> 単回経口投与100 mg/kg ・血中濃度推移(72時間後まで) ・排泄 (72または144時間後まで) ・組織分布 (48時間後までの7時点) ・胆汁排泄(雄) ・尿中代謝物 	<p>チオシクロラム[A]は、投与後速やかに吸収され、そのほとんどが尿中に代謝物となって排泄された。糞及び呼気中への排泄はごく微量(各々投与量の約2%、4%)であった。胆汁への排泄は投与量の1%程度にすぎなかった。血中及び各臓器中濃度はパラレルに推移し、投与後、雄では1~2時間及び8時間に、雌では4時間後にピークを示し、その後非常に低い値へと減衰した。</p>		IX-5
代-2	動物体内 代謝に関 する試験	SPFラット 雄	<ul style="list-style-type: none"> 単回経口投与 25 mg/匹 ・尿中代謝物 	<p>尿中代謝物をTLCで分離し、NMR、MS、IRで同定した。尿中に計10種の代謝物が検出されたが、その主たるものは</p> <p>を経てS-S結合の開裂による硫黄のメチル化物及びその酸化体並びにそれらの抱合代謝物であった。親化合物及び は痕跡量しか検出されず、 は全く検出されなかった。</p>		IX-10
代-3 (GLP)	植物体内 代謝に関 する試験	水稲	<ul style="list-style-type: none"> ・水和剤 ・800 g a.i./ha x 3回 (収穫前6、4及び2週間) ・葉面散布 ・屋外栽培 ・採取部位：玄米、もみ殻、わら、根 	<ul style="list-style-type: none"> ・最終施用14日後試料のTRRは 玄米：7.6~7.7 mg/kg、 籾殻：46 mg/kg、 わら：8.8~9.4 mg/kg、 根：0.85 mg/kg であった。 ・玄米及びわら試料において、42~52%TRRが溶媒で抽出され、抽出後固形物には48%~58%TRR (うち11~33%TRRが酵素または酸及び塩基処理で遊離)が残存した。 ・チオシクロラム及び は<0.1~1.5%TRRであった。 ・ が玄米及び稲わらにそれぞれ5.3及び9.6%TRR検出され、その他の代謝物は10%TRR未満であった。 		IX-14
代-4 (GLP)	植物体内 代謝に関 する試験	リンゴ	<ul style="list-style-type: none"> ・水和剤 ・2000 g a.i./ha x 4回 (14日間隔) ・葉部及び果実散布 ・屋外栽培 ・採取部位： - 最終散布後14日の果実 - 最終散布後30日の果実と葉 	<ul style="list-style-type: none"> ・最終散布14及び30日後果実試料のTRRは約0.4 mg/kgであった。 ・果実では、表面洗浄液中にTRRの約36~42%が、抽出液中に約32~34%が、抽出後固形物中に約24~32%が分布した。 ・果実の表面洗浄液に (12.5~14.9%TRR) が、洗浄果実抽出液にチオシクロラム[A] (0.7~1.8%TRR) が、洗浄液及び果実抽出液中に多数の微量成分 (10%TRR未満) が認められた。 		IX-21

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁									
代-5 (GLP)	植物体内代謝に関する試験	ダイコン	<ul style="list-style-type: none"> 水和剤 1000 g a.i./ha x 2回 (14日間隔) 植物体に散布 屋外栽培 採取時期：最終散布後7日及び14日 採取部位：根部及び葉部 	<ul style="list-style-type: none"> 最終散布7及び14日後のTRRは、根部で0.19~0.21 mg/kg、葉部で10~12 mg/kgであった。 根部ではTRRの90~92%が抽出され、10~11%が抽出後の残渣に分布した。 根部における主な残留物は (17~18%TRR) 及び (9%TRR) であり、その他代謝物として多数の極性成分 (10%TRR未満) が認められた。 葉部表面洗浄液及び抽出液にはそれぞれ多数の代謝物が含まれていたが、 は検出されず、いずれも <10%TRRであった。表面洗浄液からは が微量検出された。 		IX-29									
代-6 [参考]	植物体内代謝に関する試験	インゲン豆の葉 (二葉期)	<ul style="list-style-type: none"> 30%水和剤の0.1%水溶液に相当する溶液を作成し、1植物当たり約100 µgの有効成分を処理 	<p>インゲン豆の葉に施用した場合、処理葉面内及び植物の他の部位への移行性は極めて低かった。葉面上に残留する量は、揮散及び光分解のため極めて少なく、主な分解生成物は]及び、 であつた。</p>		IX-36									
代-7 (GLP)	土壌中動態に関する試験	好氣的湛水土壤 (壤土)	<ul style="list-style-type: none"> 試験濃度：0.8 mg/kg 培養期間：30日 (滅菌土壤) 122日 (非滅菌土壤) 試験環境：25°C、暗所 	<ul style="list-style-type: none"> チオシクロラム[A]は好氣的湛水条件下において速やかに分解された。チオシクロラムのDT50及びDT90 <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>DT50</th> <th>DT90</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>非滅菌</td> <td>1.5日</td> <td>4.8日</td> </tr> <tr> <td>滅菌</td> <td>21.9日</td> <td>72.9日</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> 非滅菌湛水土壤中の主要な代謝物は (3日後に最大で68.9%AR) 及び¹⁴C₂O₂ (30日後に最大で27.8%AR) であつた。 非滅菌土壤における のDT50は80.1日であつた。 		DT50	DT90	非滅菌	1.5日	4.8日	滅菌	21.9日	72.9日		IX-38
	DT50	DT90													
非滅菌	1.5日	4.8日													
滅菌	21.9日	72.9日													
代-8 (GLP)	土壌中動態に関する試験	好氣的土壤 (壤土)	<ul style="list-style-type: none"> 試験濃度：3.5 mg/kg 培養期間：30日 (滅菌土壤)、121日 (非滅菌土壤) 試験環境：25°C、暗所 	<ul style="list-style-type: none"> チオシクロラム[A]は土壤微生物により急速に分解された。チオシクロラムのDT50及びDT90 <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>DT50</th> <th>DT90</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>非滅菌</td> <td>2.8日</td> <td>9.3日</td> </tr> <tr> <td>滅菌</td> <td>97.8日</td> <td>324.9日</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> 非滅菌土壤中の主要な代謝物は (3日後に最大で4.5%AR)、 (30日後に最大で27.4%AR) 及び¹⁴C₂O₂ (121日後に最大で38.3%AR) であつた。 非滅菌土壤における のDT₅₀は57.8日であつた。 		DT50	DT90	非滅菌	2.8日	9.3日	滅菌	97.8日	324.9日		IX-48
	DT50	DT90													
非滅菌	2.8日	9.3日													
滅菌	97.8日	324.9日													

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																														
代-9 [参考]	土壌中動態に関する試験	土壌	・試験濃度等：不明	チオシクロラム[A]は2種類の土壌中で速やかに分解され、及びを経て揮発性低分子物質へと分解された。これらの他にごく微量の未同定代謝物3種類が検出された。		IX-58																														
代-10 [参考]	土壌中動態に関する試験	土壌	土壌100g当り、標識検体の水溶液1mlを処理。 (各土壌試料は ¹⁴ Cを6.10×10 ⁶ dpmを含む)	検出された揮発性低分子分解物はCO ₂ のみであり、チオシクロラム[A]の分解はとによるものであった。		IX-59																														
代-11 (GLP)	水中動態に関する試験 (加水分解動態試験)	滅菌緩衝液 (pH7)	・試験濃度：1 µg/mL ・培養期間：30日間	・pH 7においてチオシクロラム[A]は緩やかに分解し、半減期は301日と推定された。 ・が30日後に4.8%検出され、その他の分解物は2.4 AR以下であった。		IX-60																														
代-12 (GLP)	水中動態に関する試験 (水中光分解動態試験)	滅菌緩衝液 (pH 5) 滅菌自然水 (池水)	・試験濃度：1 mg/L ・光源：キセノン光 (>290nm) ・光強度：460 W/m ² (300~800 nm) 49.6 W/m ² (300~400 nm) ・照射期間：48時間(pH5緩衝液) 72時間(自然水)	・チオシクロラム[A]は急速に分解した。 チオシクロラムの半減期 <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>pH5緩衝液</th> <th>自然水</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>測定値</td> <td>11.18時間</td> <td>8.88時間</td> </tr> <tr> <td>春の東京における推定値</td> <td>2.9日</td> <td>2.3日</td> </tr> </tbody> </table> ・及びが10%AR以上生成した。 ・10%AR以上認められたD-2ピークの構造は推定できなかった。 ・チオシクロラム[A]は：及び複数の極性分解物へと分解し、最終的に無機化された。		pH5緩衝液	自然水	測定値	11.18時間	8.88時間	春の東京における推定値	2.9日	2.3日		IX-64																					
	pH5緩衝液	自然水																																		
測定値	11.18時間	8.88時間																																		
春の東京における推定値	2.9日	2.3日																																		
代-13	土壌吸着性試験	I 土壌 (褐色火山灰土、SiCL) II 土壌 (灰色台地土、SCL) III 土壌 (LiC) IV 土壌 (LiC)	土壌:水(5:25)に対してチオシクロラムを100、20、4、0.8 µgを加え、16時間振とう後、遠心分離して水相及び土壌中の濃度を測定し、吸着係数を求めた。	吸着平衡時間は16時間であった。 物質収支：I、88.4%； II、89.0%； III、98.6%； IV、88.8% Freundlichの吸着等温式によって求めた定数項及び有機炭素吸着係数は以下の通り。 <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>1/n</th> <th>KF^{ads}</th> <th>r</th> <th>oc%</th> <th>KF^{ads}_{oc}</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>I</td> <td>0.8466</td> <td>14.300</td> <td>0.999</td> <td>3.61</td> <td>396</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>0.9014</td> <td>5.619</td> <td>0.999</td> <td>0.76</td> <td>739</td> </tr> <tr> <td>III</td> <td>0.8148</td> <td>5.117</td> <td>0.999</td> <td>1.75</td> <td>292</td> </tr> <tr> <td>IV</td> <td>0.8834</td> <td>7.188</td> <td>0.999</td> <td>1.15</td> <td>464</td> </tr> </tbody> </table> 各試験土壌の吸着係数と有機炭素含量の間には正の相関がみられ、相関係数0.903であった。	土壌	1/n	KF ^{ads}	r	oc%	KF ^{ads} _{oc}	I	0.8466	14.300	0.999	3.61	396	II	0.9014	5.619	0.999	0.76	739	III	0.8148	5.117	0.999	1.75	292	IV	0.8834	7.188	0.999	1.15	464		IX-75
土壌	1/n	KF ^{ads}	r	oc%	KF ^{ads} _{oc}																															
I	0.8466	14.300	0.999	3.61	396																															
II	0.9014	5.619	0.999	0.76	739																															
III	0.8148	5.117	0.999	1.75	292																															
IV	0.8834	7.188	0.999	1.15	464																															

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

〈代謝分解物一覧表〉

記号*1	由来	化学名	構造式
A	親化合物	5-dimethylamino-1,2,3-trithiane hydrogenoxalate [チオシクラム]	
B	親化合物 遊離体		
C	動物 植物 土壌 光		
D	動物 植物 土壌 光		
E	動物		
F	動物		
G	動物		
H	動物		
I	土壌 植物		
J	植物		
K	植物		

*1 記号は代謝分解経路図に対応するものとする。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1. 動物体内運命に関する試験

(1) ラットにおける体内運命試験

[資料 代-1]

試験機関

報告書作成年

供試標識化合物：

化学名	5-ジメチルアミノ-1,2,3-トリチアン シュウ酸塩
化学構造	
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	Ci/mg、 dpm/mg

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため

供試動物： SPF ラット 雌雄(尿及び糞への排泄実験 260~320 g、胆汁への排泄実験 265~320 g、組織分布実験 205~240 g、呼気中への排泄試験 205 及び 295g)

試験方法：

投与；標識検体及び非標識検体を水に溶解し、供試動物の体重 1 kg 当りに検体 100 mg を 1 回強制経口投与した後、次の項目について検討を行った。全放射能の測定は液体試料については直接、固体試料（組織試料、糞及び全血）については燃焼後、LSC で分析した。

試験設計概要

試験項目	投与量 (mg/kg)	雌雄動物数	屠殺時点 (hr)	主たる採取試料
組織分布試験	100	各 3~6	48	全血、組織
血中濃度	100	各 8	72	全血
排泄試験	100	雄 13、雌 6	144	尿、糞、
胆汁排泄	100	雄 6	74	胆汁、尿、糞
呼気中への排泄	100	雄 2、雌 1	50	呼気、尿、糞

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1) 組織分布 ; 検体投与後 0.5、1、2、4、8、24、48時間目に雌雄各3~6匹を屠殺し、次の組織への分布を調べた。

全血、脳、筋肉、皮膚、腎脂肪、心臓、脾臓、甲状腺、リンパ腺、唾液腺、脾臓、副腎、腎臓、肺、胸腺、肝臓、精巣、精巣上体、子宮、卵巣

2) 血中濃度 ; 血液は、0.25(雄)、0.5、0.75、1、1.25、2、3、4、6、8、10、12、14、16、20、24、36、38(雄)、39(雄)、48、63、72時間後に実験に供試した雌雄のラットの各8匹のうち3匹~6匹の尾部から採取し、全血中の放射エネルギーを測定した。

申請者注) 全血中の放射エネルギーを用いて、以下の薬物動態パラメーターを申請者がコンピュータプログラム WinNonlin の非コンパートメント解析により算出した。

- ・ 全血中放射能の最高濃度到達時間 (T_{max})
- ・ T_{max} における全血中放射能濃度 (C_{max})
- ・ 全血中濃度-時間曲線下面積 (AUC)
- ・ 消失半減期 ($t_{1/2}$)

3) 排泄試験 ; 尿及び糞は以下のスケジュールで採取し、放射エネルギーを測定した。

性別		試料	採取時点 (hr)							
雄	第1回 (6匹)	尿	—	—	—	24	—	48	72	144
		糞	—	—	—	24	—	48	72	144
	第2回 (7匹)	尿	4	12	14	—	36	—	72	—
		糞	—	—	—	—	36	—	72	—
雌	(6匹)	尿	4	12	14	—	36	—	72	—
		糞	—	—	—	—	36	—	72	—

4) 胆汁排泄試験 ; 胆管カニューレ挿管ラットを用いて胆汁を投与1、2、3、4、5、6、7、12、26、50、74時間後に採取し、放射エネルギーを測定した。また、投与24、48、72時間後に尿を、72時間後に糞を採取し、放射エネルギーを測定した。試験期間中、ラットにはリンゲル液を飲ませた。

5) 呼気中への排泄 ; 検体のN-脱メチル化によって生成すると思われる呼気中のCO₂を5N NaOH溶液に吸収させ、分析した。

6) 代謝パターン ; 採取した尿を凍結乾燥し、その残渣について薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いて代謝パターンについて検討した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

1) 組織分布；各採取時点における組織中放射能の分布の概要を表1に示す。

全ての臓器における濃度はパラレルに推移し、投与後、雄では1～2時間及び8時間後、雌では4時間後にピークを示し、その後非常に低い値へと減衰した。

表1 組織中平均残留レベル (単位：ppm チオシクラム eq.)

臓器・組織	100 mg/kg 投与量													
	雄							雌						
	採取時点 (hr)							採取時点 (hr)						
	0.5	1	2	4	8	24	48	0.5	1	2	4	8	24	48
血液														
脳														
睾丸														
副睾丸														
筋肉														
皮膚														
腎脂肪														
心臓														
脾臓														
甲状腺														
リンパ腺														
唾液腺														
脾臓														
副腎														
腎臓														
肺														
胸腺														
肝臓														
子宮														
卵巣														

NA：該当なし

各組織中の残留レベルは申請者が報告書のF値から濃度に換算した。

F値＝検査組織中の放射能〔dpm/mg〕／放射能投与量〔dpm/体重(mg)〕

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

- 2) 血中濃度推移; 全血中の放射能濃度を表2に要約し、全血中濃度の推移を図1に示す。
投与後2～4時間で血中濃度のピークが現われ、以後かなり速やかに低レベルに減衰した。

申請者注) 申請者が計算した薬物動態パラメーターを表3に要約する。最高全血中濃度 (C_{max}) は、17.1～27.1 $\mu\text{g-eq/g}$ であり、2.0～3.0時間後に、 C_{max} に達した。消失半減期 ($t_{1/2}$) は、17.1～27.1時間であった。

表2 全血中平均放射能濃度

(単位: ppm eq.)

時間(hr)	雄	雌
0.25		
0.5		
0.75		
1		
1.25		
2		
3		
4		
6		
8		
10		
12		
14		
16		
20		
24		
36		
38		
39		
48		
63		
72		

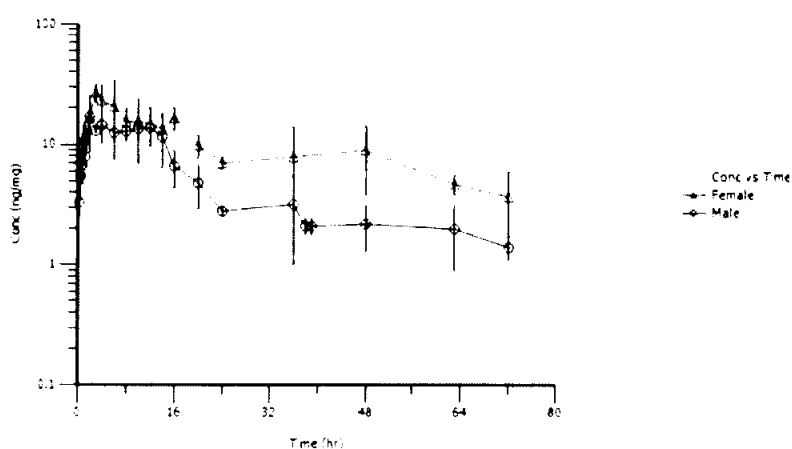


図1 全血中放射能濃度の推移

雄3～6匹、雌3～5匹の平均値

表3 薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg)	100	
	雄	雌
T_{max} (時間)	2.0	3.0
C_{max} ($\mu\text{g-eq/g}$)	17.1	27.1
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g-eq/g/時間}$)	367.9	846.8
半減期 (時間)	18.4	29.9

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

- 3) 排泄試験；100mg/kg経口投与後の糞及び尿への排出を表4に要約した。投与6日以内に、投与した¹⁴C-放射能の91(±3)%が尿中に排泄され、糞中にはわずか2(±1)%が排泄されたにすぎなかった。

表4 ラット尿および糞への累積排泄率

排泄率 (投与量 %)	時間(h)		0~24	0~48	0~72	0~144	
	雄	尿					
		糞					
	雌	時間(h)	0~4	0~12	0~36	0~72	
尿							
	糞						

雄の排泄率は2回の試験の平均

- 4) 胆汁排泄試験；100mg/kg経口投与後の胆管カニューレ挿管ラットにおける胆汁、糞及び尿への排出を表5に要約した。投与74時間以内に¹⁴C-放射能のわずか1.0(±0.5)%が胆管カニューレ挿管ラットの胆汁中に排泄された。胆管カニューレ挿管ラットにおける尿及び胆汁への排泄から計算すると、吸収量は86(±18)%であった。

表4 100mg/kg経口投与後の胆管カニューレ挿管ラットにおける胆汁、糞及び尿への累積排泄率(投与量 %)

時間(h)	0~12	0~26	0~50	0~74
胆汁				
時間(h)				
尿				
糞				

- 5) 呼気中への排泄；100mg/kg経口投与後の呼気、糞及び尿への累積排泄率の概要を表5に示した。投与した¹⁴C-放射能のわずか約4%が として呼気中に排出された。

表5 100mg/kg経口投与後の呼気、糞及び尿への累積排泄率(投与量 %)

時間(h)	0~5	0~10	0~24	0~50
呼気				
尿				
糞				

雄2匹及び雌1匹の平均

- 6) 代謝パターン；尿中には親化合物の他に6~7種の代謝物がTLCで検出された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) ¹⁴C-チオシクラムを用いたラット体内における代謝試験Ⅱ [資料 代-2]

試験機関

報告書作成年

供試標識化合物：

化学名	5-ジメチルアミノ・1,2,3-トリチアン シュウ酸塩
化学構造	
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	Ci/mg、 dpm/mg

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため

供試動物： SPFラット 雄12匹(平均約 250g)

方法： 標識検体を非標識検体で1/35に希釈後、脱イオン水で希釈して投与液とし、ラット1匹当たり56.0 μ Ci(=25 mg)を1回強制経口投与した。
投与24及び48時間後に、放射能の主要排泄経路である尿の試料から主要代謝物を単離した。
代謝物は参照標準品との保持時間の比較、NMR法、MS法、IR法により同一性を確認し、構造を推定した。
定量はTLC及びラジオクロマトグラムスキヤニングにより行った。
単離物を β -グルクロニダーゼ、アリルスルファターゼ、アルカリ及び酸で加水分解し、生成物と参照標品とのクロマトグラフィーを行った。

結果：

1) 尿への排泄； 投与量の約87%の放射能が投与後0～48時間の間に尿中へ排泄された。

2) 代謝； ラット尿中には合計10種の代謝物が検出された(代謝分解経路図参照)。

25 mg/kg投与におけるラットの主要代謝物は、

であり、投与量の23%であった。

代謝経路は がおこり、 を経て、

による 及びその 並びにそれらの

の生成であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

尿中代謝物の組成

番号* ¹	構造式	存在比* ² (%)
B		
C		
D		
E		
F		
G		

Trace : TLC で痕跡を認めた。(別途定量は実施せず)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

H	
(9)	
(10)	
(11)	
(12)	
(13)	

*¹ 番号は代謝分解経路図に対応するものとする。

*² 投与した全放射能に対する割合

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2. 植物体内運命に関する試験

(1) 水稲における代謝試験

[資料 代-3]

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	N,N-dimethyl-1,2,3- trithian-5-ylamine hydrogen oxalate
化学構造	
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	Ci/mmol

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため

供試植物：水稲（品種：

品種選定根拠； であるため

方法：

試験土壌	水田圃場より採取。 土性；軽埴土（ISSS 区分），pH；7.9，有機物含量；2.0%， 過去に放射能の使用歴なし。	
試験容器	木製の箱（表面積 0.5 m ² ，深さ約 46 cm） 試験土壌を詰めた時の土壌表面と地上表面がほぼ同じレベル	
試験植物の調製	6月4日に育苗箱に播種し，6月28日に幼苗を試験区へ移植後， 通常の農業栽培作業で栽培。	
栽培場所		
栽培条件	屋外，湛水条件（水深 約 12.7 ～25.7 mm）	
施用液調製法	同位体希釈 [¹⁴ C]チオシクラム（比放射能 dpm/mg），製剤白試料， 水を加え，50%水和剤として施用前日に調製	
施用方法	葉面散布（地上部）	
試験区	試験区 1（対照区） 処理区と 91 m 以上離して設置	試験区 2（施用区）
区画数	1	1
植物体数	6本 x 2列	6本 x 2列
面積	0.91 m x 0.91 m	0.5 m x 1.0 m
施用量	—	40 mg/80 mL/区画
施用量の根拠	—	慣行施用量（800 g a.i./ha/施用 1回）
施用回数及び時期	—	3回（ 年 9月 19日，10月 3日 及び 10月 17日）

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

採取時期	最終施用 14 日後 (. . . . 年 10 月 31 日)
採取部位	玄米, 粃殻, わら及び根

1) 分析方法

①玄米, 粃殻, わら及び根の分析操作; 根部試料は水で洗浄して土を除去した。玄米, 粃殻, わら及び洗浄後の根の試料は冷凍し, 均質化した。均質化試料を燃焼/LSC 分析し, 総放射性残留物 (TRR) を求めた。また, 施用区の玄米及びわら試料は図 1 に示す抽出操作を用い分析した。

液体試料は直接, 固体試料は燃焼後, LSC 分析して放射能を測定した。

玄米およびわら (~25 g)

図 1 水稻の処理操作

②施用区玄米及びわらの TRR ; 以下の両分中の放射能の合計を TRR とした。

アセトニトリル : 水混液の抽出液, 0.05 N 塩酸抽出液及び抽出後固形物

③放射能の分布 ; 抽出液の HPLC 分析により放射能の分布を求めた。

④代謝物の特徴付け; 代謝物は参照標準品 (チオシクロラム及びネライストキシン) との HPLC 保持時間の比較により特徴付けた。抽出試料あるいは HPLC クロマトグラフィーによる単離物を, 参照標準品との HPLC コクロマトグラフィーに基づき特徴付け/同定した。また, チオシクロラムを

を合成し, との HPLC 及び TLC コクロマトグラフィー並びに HPLC/MS 分析により, 特徴付け/同定した。さらに, 抽出後固形物中の放射能を酵素及び酸塩基加水分解により特徴付けた (図 2~図 4)。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

図 2 玄米の結合型残留物の酵素処理による特徴付け

図 3 わらの結合型残留物の塩基加水分解による特徴付け

図 4 わらの結合型残留物の酸加水分解による特徴付け

⑤保存安定性；玄米及びわら試料を初回の抽出後 401 日間冷凍保存した後に再分析し，チオシクロラム及び代謝物が安定であることが確認された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結果：

- 1) 施用液の放射化学的純度
各施用前後に測定し であることが確認された。
- 2) 達成施用量
製剤中の ^{14}C 量と施用後の散布容器に残存する ^{14}C 量を求め、その差から、達成施用量を算出した。達成施用量は 821 g a.i./ha であり、目標施用量の 103%であった。
- 3) TRR 及び放射能の分布
燃焼法による処理区の玄米、籾殻、わら及び根の TRR を表 1 に示す。また、抽出法による玄米及びわらの TRR 並びに放射能の分布を表 2 に示す。

表 1 燃焼法による処理区水稻試料中の TRR

	玄米	籾殻	わら	根
TRR (mg/kg)	7.687 ± 0.437	46.186 ± 0.328	9.395 ± 0.565	0.845 ± 0.023

処理区の根部の TRR 値は、玄米、籾殻、わらに比べ極めて低かった (0.845 mg/kg)。TRR の最大は籾殻 (46.186 mg/kg) でみられ、玄米及びわらはそれぞれ 7.687 及び 9.395 mg/kg であった。なお、対照区の玄米、籾殻、わら及び根部には、バックグラウンド値を超える放射能は検出されなかった。

表 2 抽出法による玄米及びわらの TRR 及び放射能の分布

	玄米		わら	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
アセトニトリル：水抽出液				
0.05 M 塩酸抽出液				
(抽出液小計)				
抽出後固形物				
合計 (TRR)				

抽出法による玄米及びわらの TRR はそれぞれ、7.607 mg/kg 及び 8.829 mg/kg であり、燃焼分析による値と一致した。玄米及びわら中の抽出後固形物はそれぞれ 58 及び 48%TRR であった。

- 4) 放射能の分布及び放射性残留物の特徴付け及び同定
数種の HPLC 条件を用いて玄米及びわら抽出液を分析した結果を表 3 に要約する。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表3 玄米及びわらにおける放射性残留物

成分	玄米		わら	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
チオシクロラム				
その他抽出成分				
抽出物小計				
抽出後固形物				
TRR				
同定済み小計				

A

チオシクロラムは玄米及びわら試料中でほぼ完全に分解し、玄米では 0.004 mg/kg (<0.1%TRR)、わらでは 0.045 mg/kg (0.5%TRR) であった。は玄米で 0.010 mg/kg (0.1%TRR)、わらで 0.134 mg/kg (1.5%TRR) が検出された。玄米及びわらにおける主要成分は極性代謝物であったが、個々には 9.1%TRR 以下であった。わらで最も多く認められた代謝物 (0.848 mg/kg, 9.6%TRR) は であると同定された。は玄米でも 0.401 mg/kg (5.3 %TRR) が検出された。

5) 未抽出性残留物の特徴付け

①酵素処理による特徴付け

玄米試料の抽出後固形物 (PES) を図 2 に示す方法で分析した。結果を表 4 に示す。

表4 玄米試料の PES 試料中の放射能の酵素処理による特徴付け

	mg/kg	PES 試料中%	%TRR
緩衝液			
α-アミラーゼ			
プロテアーゼ			
酵素処理後固形物			
PES 合計			

リン酸緩衝液、α-アミラーゼ及びプロテアーゼとの処理により 2.9~6.4%TRR (0.221~0.490 mg/kg) が遊離した。酵素処理後固形物には 43.7%TRR (3.324 mg/kg) が残存した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

②化学的抽出法による特徴付け

わら試料の抽出後固形物 (PES) を図 3 及び図 4 に示す方法で分析した。結果を表 5 に示す。

表 5 わら試料の PES 試料中の放射能の酸塩基加水分解による特徴付け

わら試料	mg/kg	%TRR
1N NH ₄ OH		
6N NH ₄ OH		
合計 (塩基加水分解)		
1N HCl		
6N HCl		
合計 (酸加水分解)		

PES のアンモニウム水及び酸処理により、それぞれ 32.61%TRR (2.879 mg/kg) 及び 19.91%TRR (1.758 mg/kg) が遊離した。両塩基抽出液及び 6 N HCl 抽出液を逆相 HPLC で分析した結果、
の保持時間に痕跡量の ¹⁴C が検出された。

6) 水稻におけるチオシクロラムの推定代謝経路

チオシクロラムの水稻における推定代謝経路を図 5 に示す。

チオシクロラムは玄米及びわらにおいてほぼ完全に分解し、
を経て複数の極性代謝物を生成した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

図 5 チオシクラムの水稲における推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) リンゴにおける代謝試験

[資料 代-4]

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	<i>N,N</i> -dimethyl-1,2,3-trithian-5-ylamine hydrogen oxalate
化学構造	
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため。

供試植物：リンゴ（品種： ）

樹齢約 8 年

品種選定根拠：リンゴの一般的実用品種であるため

試験方法：試験設計の概略を下表に示す。

栽培場所	
栽培条件	屋外，慣行栽培 栽培段階において除草剤コル/オキシフルフェン及びラクトアップ/グリホサートを各 1 回使用した。
栽培土壌	壤質砂土
試験区画	植物体数及び区画数；1 本/1 区画（処理区及び無処理区） 無処理区は処理区から約 67 m 風上の場所
面積	0.5 m ²
植物体数	1 本
施用液調製法	同位体希釈した [¹⁴ C]チオシクラム（比放射能 dpm/mg）に水及び製剤白試料を加えて 50%水和剤として施用前日に調製
施用法	葉部及び果実に散布
名目施用量	100 mg/200 mL/区画/施用
施用量の根拠	2000 g a.i./ha/施用 1 回（慣行施用量）
施用回数及び時期	4 回（ 8 月 22 日 - 10 月 3 日に 14 日間隔で散布）
採取時期	収穫 1：最終施用 14 日後（ 10 月 17 日） 収穫 2：最終施用 30 日後（ 11 月 2 日）
採取部位	収穫 1：果実 収穫 2：果実及び葉部

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

分析方法：

試料は水およびメタノールで洗浄して表面残留物を除去した。次いで試料をドライアイスとともに均質化した。均質化した試料は燃焼/LSC 分析し、総放射性残留物 (TRR) を定量した。また、施用区の果実及び葉部は図 1～図 3 に示す手順で抽出した。洗浄液及び抽出液中の放射能は HPLC 分析及び/又は質量分析により同定/特徴付けた。液体試料は直接、固体試料は燃焼後、LSC 分析して放射能を測定した。

1) 試料の処理

果実及び葉部の処理操作を図 1～図 3 に示す。

図 1 収穫 1 果実試料の処理操作

図 2 収穫 2 果実試料の処理操作

図 3 収穫 2 葉部試料の処理操作

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) 総放射性残留物 (TRR)

施用区のリンゴ果実及び葉部の TRR は、表面洗浄液、抽出液及び抽出後固形物 (PES) 中の放射能の合計として求めた。

3) 放射能の分布

表面洗浄液及び抽出液の濃縮液を HPLC で分析して ^{14}C 残留物を分析した。

4) 代謝物の単離及び特徴付け

果実及び葉部試料の洗浄液及び抽出液は、図 4 及び図 5 に示す方法で、単離及び特徴付けを行った。

図 4 果実及び葉部抽出液の単離及び特徴付けの方法

図 5 葉部洗浄液の単離及び特徴付けの方法

5) 未抽出性残留物の特徴付け

果実及び葉部の PES を 1 N アンモニア水 (室温で 19.5 時間)、及び 6 N アンモニア水 (100 °C で 4 時間) を用いて順次、塩基加水分解処理し、特徴付けた。また、果実及び葉部の PES を 1 N HCl (室温で 19.5 時間) 及び 6 N HCl (100 °C で 4 時間) を用いて順次、酸加水分解処理し、特徴付けた。

6) 保存安定性

保存安定性の確認を果実及び葉部試料で実施し、401 日間凍結保存した後の HPLC クロマトグラフのプロファイルは初回分析のプロファイルと極めてよく類似しており、残留物の変化はみられなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

- 1) 施用液の放射化学的純度； (HPLC) であった。
- 2) 実際施用量；施用時期及び施用量を表 1 に示す。

表 1 達成施用量

	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回
目標施用量 (g a.i./ha)	2000			
達成施用量 (g a.i./ha)	2382	2304	2168	1974
平均達成施用量 (g a.i./ha)	2207			

製剤中の ^{14}C 量と施用後の散布容器に残存する ^{14}C 量を求め、その差から、達成施用量を算出した。達成施用量は 2207 g a.i./ha であり、目標施用量の 110%であった。

- 3) TRR 及び放射能の分布

果実及び葉部の TRR ならびに放射能の分布を表 2 及び表 3 に示す。

表 2 リンゴ果実の TRR 及び放射能の分布

果実	果実 (収穫 1)		果実 (収穫 2)		葉部 (収穫 2)	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
表面洗浄液						
アセトニトリル：水抽出液						
0.05 M 塩酸抽出液						
抽出後固形物						
果実合計 (TRR)						

リンゴ果実の TRR は 0.401~0.491 mg/kg, 葉部の TRR は 40.700 mg/kg であった。収穫 1 の果実試料では水及びメタノール洗浄で 36.0%TRR, アセトニトリル：水抽出で 31.6%TRR が回収され, PES には 32.4%TRR が認められた。収穫 2 の果実試料では水及びメタノール洗浄で 42.4%TRR, アセトニトリル：水抽出で 31.7%TRR, 0.05 M 塩酸抽出で 2.0%TRR が回収され, PES には 23.9%TRR が認められた。収穫 2 の葉部試料では表面洗浄で 39.6%TRR, アセトニトリル：水抽出で 23.9%TRR, 0.05 M 塩酸抽出で 2.9%TRR が回収され, PES には 33.7%TRR が認められた。

- 4) 放射性残留物の分布

果実：

最終施用 14 日後及び 30 日後の収穫果実における ^{14}C 残留物のプロファイルを表 4 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 4 リンゴ果実の放射性残留物の分布

	リンゴ果実 (収穫 1)		リンゴ果実 (収穫 2)	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
表面洗浄液				
その他成分				
表面洗浄液小計				
含水アセトニトリル抽出液				
チオシクロラム				
極性画分				
その他成分				
含水アセトニトリル抽出液 小計				
0.05 M HCl 抽出液				
抽出後固形物				
TRR				

n.a. = 実施せず

収穫 1 リンゴ果実では、洗浄液中の主要成分は (14.9%TRR) であった。アセトニトリル：水の抽出液中の主要成分は極性画分 (17.9%TRR) であり、その最大成分は 12.4%TRR であった。その他にチオシクロラム (1.8%TRR) が認められた。その他多数のピークが検出されたが、個々には 6.1%TRR 以下であった。

収穫 2 リンゴ果実では、洗浄液中の主要成分は (12.5%TRR) であった。アセトニトリル：水の抽出液中の主要成分は極性画分 (17.2%TRR) であり、その最大成分は 9.5%TRR であった。その他にチオシクロラム (0.7%TRR) が認められた。その他多数のピークが検出されたが、個々には 4.6%TRR 以下であった。また 0.05M 塩酸抽出液中の放射性残留物は 2.0%TRR であった。

いずれの収穫果実試料でも は検出されなかった。

葉部：

最終施用 30 日後の葉部における ^{14}C 残留物のプロファイルを表 5 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 5 リンゴ葉部の放射性残留物の分布

	リンゴ葉部 (収穫 2)	
	mg/kg	%TRR
表面洗浄液		
その他成分		
表面洗浄液小計		
含水アセトニトリル抽出液		
チオシクロラム		
極性画分		
その他成分		
の 保持時間に検出される 成分(HPLC 法 1)*		
含水アセトニトリル抽出液小計		
0.05 M HCl 抽出液		
極性画分		
その他成分		
0.05 M HCl 抽出液小計		
抽出後固形物		
TRR		

* : 別法 (HPLC 法 3) では と分離した。

収穫 2 リンゴ葉部では、洗浄液中の主要成分は (9.9%TRR) であった。アセトニトリル：水の抽出液中の主要成分は極性画分 (9.6%TRR) であり、その最大成分は 4.2%TRR であった。その他に 0.1%TRR がごく微量検出されたが、チオシクロラムは検出されなかった。その他多数のピークが検出されたが、個々には 2.5%TRR 以下であった。また 0.05M 塩酸抽出液中の放射性残留物は 2.9%TRR であった。

5) 放射性残留物の特徴付け及び同定

チオシクロラム及び は HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。葉部洗浄液の主要成分を単離し、図 5 に示すように処理後、LC-MS により特徴付けた。

していた。これらのデータから推定されるフラグメンテーションを図 6 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

図 6 代謝物の推定フラグメンテーション

6) 未抽出性残留物の加水分解による特徴付け

30 日後の果実及び葉部の抽出後固形物 (PES) 中の残留物を酸/塩基加水分解により特徴付けた。結果を表 6 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 6 抽出後固形物中の放射能の分布

抽出方法	遊離放射能			
	リンゴ果実 mg/kg	リンゴ果実 %TRR	リンゴ葉部 mg/kg	リンゴ葉部 %TRR
1N NH ₄ OH (室温 X 19.5 時間)				
6N NH ₄ OH (100 °C X 4 時間)				
合計 (塩基抽出)				
1N HCl (室温 X 19.5 時間)				
6N HCl (100 °C X 4 時間)				
合計 (酸抽出)				

リンゴ果実及びリンゴ葉部 PES の各酸抽出液中の残留物は、<10%TRR であった。リンゴ果実 PES の各塩基抽出液中の残留物は、<10%TRR であった。リンゴ葉部の塩基 (1 N NH₄OH) 抽出液には 16.20%TRR が認められ、HPLC 分析の結果、主要成分は極性画分に存在した。

7) リンゴにおけるチオシクロラムの推定代謝経路

チオシクロラムのリンゴにおける推定代謝経路を図 7 に示す。

図 7 チオシクロラムのリンゴにおける推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(3) ダイコンにおける代謝試験

[資料 代-5]

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	<i>N,N</i> -dimethyl-1,2,3- trithian-5-ylamine hydrogen oxalate
化学構造	* = 放射能標識位置
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため

供試植物：ダイコン（品種： ）

品種選定根拠：市販品種

試験方法：試験設計の概略を下表に示す。

栽培場所	
栽培条件	屋外、木製箱（土壌深さ 46 cm, 表面積 0.5 m ² ）で通常の栽培方法で栽培，殺虫剤散布せず。 播種： 8月15日，間引き： 9月5日
栽培土壌	砂壌土，pH7.2，有機物含量 0.9%
試験区	処理区及び無処理区 （各 1 区，両区画間の距離は 61 m 以上）
試験区面積	0.5 m ²
植物体数	20 本/区（10 本 x 2 列）
施用液調製法	同位体希釈した [¹⁴ C]チオシクラム水溶液に製剤白試料及び水を加えて水和剤希釈液とした。（比放射能： dpm/mg）
施用法	手動式散布機にて葉面散布
名目施用量	1000 g a.i./ha, 50 mg/50 mL/区画/施用
施用量の根拠	慣行施用量
施用回数及び時期	2 回（14 日間隔， 10 月 17, 31 日）
採取時期	最終散布 7 日後（収穫 1, 11 月 7 日）及び 14 日後（収穫 2, 11 月 14 日）
採取部位	根部及び葉部

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

分析方法：

試料は採取後、葉部と根部に分け、根部は付着土壌を水で洗浄した。葉部は水及び含水メタノールで洗浄した。根部及び洗浄後根部をドライアイスとともに均質化し、燃焼/LSC 分析した。また、施用区の根部及び葉部試料はそれぞれ図 1 及び図 2 に示す手順で抽出し、総放射性残留物 (TRR) を求めた。洗浄液及び抽出液中の放射能は HPLC 分析及び又は質量分析により同定/特徴付けた。液体試料は直接、固体試料は燃焼後、LSC 分析して放射能を測定した。

1) 試料の処理

根部及び葉部の処理操作をそれぞれ図 1 及び図 2 に示す。

図 1 根部試料の処理操作

図 2 葉部試料の処理操作

2) 施用区の総放射性残留物 (TRR)

根部及び葉部中の TRR は以下の画分中の放射能の合計として算出した。

根部：抽出液 + 抽出後固形物

葉部：葉部洗浄液 + 抽出液 + 抽出後固形物

3) 放射能の分布

表面洗浄液及び抽出液を HPLC で分析して ^{14}C 残留物を定量した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) 未抽出性残留物の特徴付け

収穫 2 根部及び葉部の PES を用いて、順次 1 N アンモニア水 (室温, 20.5 時間) 及び 6 N アンモニア水 (100 °C, 4 時間) または 1 N HCl (室温, 20.5 時間) 及び 6 N HCl (100 °C, 4 時間) で抽出し、特徴付けた。

5) 保存安定性

保存安定性の確認を収穫 2 の根部及び葉部試料で初回抽出日から 407~408 日後に実施した。凍結保存試料の HPLC クロマトグラフのプロファイルは初回分析のプロファイルと極めてよく類似しており、変化は見られなかった。

結 果 :

1) 施用液の放射化学的純度 ; (HPLC) であった。

2) 達成施用量 ; 施用時期及び施用量を表 1 に示す。
達成施用量は目標施用量の 101.8~103.0% であった。

表 1 達成施用量

	第 1 回	第 2 回
目標施用量 (g a.i./ha)	1000	
達成施用量 (g a.i./ha)	1018 (101.8%)	1030 (103.0)

3) 総放射性残留物 (TRR) 及び放射能の分布

根部及び葉部の TRR 並びに放射能の分布を表 2 に示す。

表 2 ダイコンの TRR 及び放射能の分布

収穫時期	収穫 1				収穫 2			
	根部		葉部		根部		葉部	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
洗浄液								
アセトニトリル:水抽出液								
0.05 M 塩酸抽出液								
抽出後固形物								
合計 (TRR)								

NA = 該当なし

ダイコン根部の TRR は 0.194~0.213 mg/kg, 葉部の TRR は 9.929~12.185 mg/kg であった。根部中の放射性残留物はアセトニトリル:水及び 0.05 M 塩酸でそれぞれ 86.6~87.8%TRR 及び 2.3~2.6%TRR が抽出された。葉部では洗浄液に 5.9~7.9%TRR が検出され、アセトニトリル:水及び 0.05 M 塩酸でそれぞれ 42.6~43.0%TRR 及び 4.9~5.3%TRR が抽出された。根部及び葉部抽出後固形物の放射性残留物はそれぞれ 9.9~10.8%TRR 及

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

び 43.8~46.6%TRR であった。

4) 放射性残留物の分布

根部：

最終散布 7 日後及び 14 日後の根部のアセトニトリル：水抽出液における ¹⁴C 残留物の分布を表 3 に示す。

表 3 ダイコン根部の放射性残留物の分布

		収穫 1		収穫 2	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
アセトニトリル：水抽出液					
チオシクラム					
-					
-					
極性画分	計				
	最大成分				
	その他				
未知物質*					
アセトニトリル：水抽出液 小計					
0.05 M 塩酸抽出物					
抽出後固形物					
TRR					

n.d.= 未検出 *：極性画分以外の未同定物質

チオシクラムはいずれの試料からも検出されなかった。両収穫試料において、
 (0.017~0.020 mg/kg, 約 9%TRR) 及び (0.033
 ~0.038 mg/kg, 17.0~17.8%TRR) が認められたが、 は検出されなかった。その
 他の放射性成分は、個々には 10%TRR を超えなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

葉部：

最終施用 7 日後及び 14 日後の葉部アセトニトリル：水抽出液における ^{14}C 残留物の分布を表 4 に示す。

表 4 ダイコン葉部の放射性残留物の分布

	収穫 1		収穫 2	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
葉部洗浄液				
その他成分				
洗浄液 小計				
アセトニトリル：水抽出液				
チオシクラム				
極性画分				
その他成分				
抽出液 小計				
抽出後固形物				
TRR				

n.d. = 検出なし

A

は葉部試料の洗浄液または溶媒抽出液には検出されなかったが、収穫 2 葉部 PES 中の残留物の特徴付け (図 2) の結果、が検出された。表中数値は 6N 塩酸処理抽出液中の値である。

チオシクラムはいずれの試料からも検出されなかった。も表面洗浄液及び溶媒抽出液中では検出されなかったが、葉部 PES の酸/塩基処理により、が遊離した。は検出されず、が表面洗浄液中に認められた (0.179~0.282 mg/kg, 約 2%TRR)。その他の放射性成分は、個々には 10%TRR を超えなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

5) 放射性残留物の特徴付け及び同定

チオシクロラム及び¹⁴Cは、抽出液試料を直接、あるいは HPLC による単離物と標準品との HPLC 保持時間を比較して同定した。

は単離ピークの LC/MS により同定した (図 3)。はリンゴにおける代謝物 (資料 代-4) との HPLC 保持時間の一致及び質量分析により同定した。

図 3

のフラグメンテーション解析

6) 未抽出性残留物の加水分解による特徴付け

収穫 2 の根部及び葉部の抽出後固形物 (PES) を酸/塩基加水分解により、特徴付けた。結果を表 5 に示す。

表 5 抽出後固形物中の放射能の分布

抽出方法	遊離放射能			
	ダイコン根部 mg/kg	ダイコン根部 %TRR	ダイコン葉部 mg/kg	ダイコン葉部 %TRR
1N NH ₄ OH (室温 X 20.5 時間)				
6N NH ₄ OH (100 °C X 4 時間)				
合計 (塩基抽出)				
1N HCl (室温 X 20.5 時間)				
6N HCl (100 °C X 4 時間)				
合計 (酸抽出)				

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

根部 PES の酸/塩基による各抽出液中の放射性残留物は、10%TRR 未満 (≤ 0.016 mg/kg) であった。

葉部 PES の塩基及び酸抽出液のうち 3 試料 (両アルカリ抽出液及び 6 N HCl 抽出液) を HPLC で分析した。の保持時間に ^{14}C が全 3 試料で検出された。HPLC 条件を変えて分析した結果、であることが確認された (0.279 mg/kg, 2.8%TRR) (表 4 参照)。

7) ダイコンにおけるチオシクロラムの推定代謝経路

チオシクロラムのダイコンにおける推定代謝経路を図 4 に示す。

注) 申請者により加筆

図 4 チオシクロラムのダイコンにおける推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

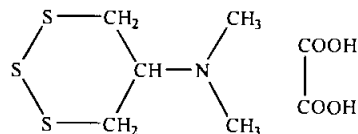
(4) インゲン豆における代謝試験)

[資料 代-6]

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物： 5-ジメチルアミノ-1,2,3-トリチアン シュウ酸塩



- ・比放射能
- ・放射化学的純度

供試植物： *Phaseolus vulgaris* (品種) 二葉期

方 法： 標識検体の水和剤を調製し、1植物当り有効成分約100 μ g (= dpm) を供試植物の各葉の表側全面に処理した。

この時、1サンプリング時点当り2枚のガラス板の各々の表面にも同じ薬量を同じ方法でスポットした。

植物は実験室内で温度と湿度を調節した条件で栽培し、0、3、7時間、1、4、7、14、28日後にサンプリングを行った。

採取した植物試料は処理葉、根茎、処理後生育した部分及び土壌に分けた。処理葉とガラス板の洗浄液、植物抽出液、植物抽出残渣、土壌抽出液について放射能を測定し、検体の消失、浸透、分布について検討を行った。また、葉とガラス板の洗浄液については、ラジオクロマトグラフィー(RDC)により、検体の代謝についても検討を行った。

結 果：

1) 消失、浸透、分布； 検体は大部分が処理した葉の表面に残留しており、処理葉面内及び植物の他の部位への移行はほとんど見られなかった。

土壌への移行は全く見られなかった。

葉面からの消失速度は次の3つの相に分かれており、処理7日後には有効成分の15%しか残留していなかった。ガラスプレート上でも速やかに消失しており、また、チオシクロラムに比べ、その遊離塩基の蒸気圧(4×10^{-6} Torr、20°C)が比較的高いことから、この消失の主な原因は揮散であると思われる。

1) 風化相期間の消失：薬剤処理後1日迄で半減期0.8日

2) 分解相期間の消失：薬剤処理後8日迄で半減期4日

3) 持続相期間の消失：薬剤処理後8日以降のごくわずかな消失

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

- 2) 代謝； 量的に有意な代謝物は、との
みであった。一次代謝物のは薬剤処理後4日以内に約9%
のピーク値に達し、7日から14日の間に約1%の安定レベルに達した。
は4日から7日の間に約7%のピーク値に達
し、7日から14日の間に約1%の安定レベルに達した。
以上の結果から、前述の三相説、即ち分解は主として薬剤処理後8日以内に
起こり、それ以後では代謝物は殆ど問題にならない程度にまで減少すること
が確認された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3. 土壌中動態に関する試験

(1) 好氣的湛水土壌中動態試験

[資料 代-7]

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	<i>N,N</i> -dimethyl-1,2,3- trithian-5-ylamine hydrogen oxalate
化学構造	* = 放射能標識位置
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	(HPLC)
比放射能	1Ci/mmol

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため。

供試土壌：土壌の仕様及び物理化学的特性を表1に示す。

土壌は、使用前に2mmの篩に通した。

表1 供試土壌の物理化学的特性

入手先		
採取年月日	4月25日	
pH (水)	5.9	
pH (KCl)	4.7	
pH (CaCl ₂)	5.3	
陽イオン交換容量 (cmol _c / kg)	11.2	
有機炭素 (腐植) (%)	0.89 (1.54)	
最大容水量 (%)	36.3	
粒径, 重量%	極粗砂 (2.0~1.0 mm)	0.3
	粗砂 (1.0~0.5 mm)	2.5
	中砂 (0.5~0.25 mm)	7.4
	細砂 (0.25~0.10 mm)	8.5
	極細砂 (0.10~0.05 mm)	13.5
	シルト (0.05~0.002 mm)	45.2
	粘土 (<0.002 mm)	22.6
主要粘土鉱物	クロライト, イライト	
土性 (USDA 分類)	壤土	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

方法：試験は非滅菌湛水土壌及び滅菌湛水土壌を用いた試験系で行った。

湛水土壌試料の調製；

① 非滅菌湛水土壌試験系

125 mL 容のガラス製褐色瓶に水田土壌約 73.7 g (60.0 g 乾燥重量相当) を入れ、水層が 1 cm 以上になるよう脱イオン水 (60 mL) を添加した。プレインキュベート期間 (25±1°C, 約 4 週間) 及び試験期間中、CO₂ フリーの加湿空気を通気した。必要に応じて土壌水分量を調整した。装置の概要を図 1 に示す。

図 1 通気及び捕集装置の概要

② 滅菌湛水土壌試験系

非滅菌湛水土壌試験系と同様に調製し、オートクレーブ滅菌後、水層が 1 cm 以上となるよう滅菌水で湛水にした (プレインキュベート期間：非滅菌湛水土壌試験系では約 4 週間、滅菌湛水土壌試験系では 2 週間)。揮発性成分採取用の捕集液は接続せず、容器は綿栓をした。

表 2 に試験設計を概略する。

表 2 試験設計

		非滅菌湛水土壌試験系	滅菌湛水土壌試験系
名目施用濃度		0.8 ppm (圃場施用量 800 g a.i./ha に基づく)	
施用液		[¹⁴ C]チオシクロラム保存原液 (0.1%ギ酸/メタノール) を水で希釈して、調製。メタノール含有量は土壌重量の<0.01%	
施用方法		施用液 200 µL を各湛水土壌に直接添加， 添加後試験系を軽く混合	
施用濃度実測値		0.785 ppm	0.792 ppm
捕集装置の接続		有	無
インキュベーション		25 ± 1 °C, 暗所, 122 日間	25 ± 1 °C, 暗所, 30 日間
採取 時点	土壌試料	0, 3, 7, 14, 31, 60 及び 122 日後	0, 3, 7, 14 及び 30 日後
	捕集液 ¹⁾	3, 7, 14, 31, 60 及び 122 日後	適用なし

¹⁾ 採取後、あるいは約 2~3 週間ごとに新しい溶液と交換。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1) 分析方法

- ① 揮発性物質捕集液は LSC 分析した。
- ② 湛水土壌試料は採取後、図 2 に示す抽出操作を行い分析した。水と土壌の分離は、0 時点試料では、遠心分離後、傾斜法で水層を分取して、またその他の採取時点試料では、傾斜法で水層を分取して行った。

図 2 抽出操作の概要

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

また、図3に示す方法により、土壌抽出後固形物中の結合残留物を分画し、ヒューミン、フミン酸及びフルボ酸画分の放射能を測定した。

図3 土壌腐植の分画

- ③ $^{14}\text{CO}_2$ の確認；塩化バリウム沈殿法により確認した。
 - ④ 試験系の酸化還元電位の確認；非滅菌湛水土壌の酸化還元電位は 200 mV 以下であり、滅菌土壌は 177-235 mV であった。
 - ⑤ 分解物の特徴付け及び同定；水層、土壌抽出液又は HPLC による単離物と参照標準品との HPLC コクロマトグラフィー又は LC/MS 分析により、代謝物を特徴付け及び/又は同定した。
 - ⑥ 試料の保存及び保存安定性；試料は採取日に抽出又は LSC 分析した。
- 2) 半減期の算定方法
- 以下の一次反応速度式を用いて化合物の DT_{50} 及び DT_{90} を推定した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (y = mx + b) \quad (m = \text{勾配})$$

ここで、 k = 分解速度定数、 C = 化合物濃度（施用放射能%として表示）、 t = 時間、 C_0 = 初期濃度である。

チオシクログラム及び： の半減期は次式を用いて算出した。

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{-m} = \frac{0.693}{k}$$

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

1) 土壌の微生物活性

湛水前にプレート培養法を用いて確認し、非滅菌土壌は微生物活性を有し、滅菌土壌には微生物活性がなかった。

2) 物質収支

好氣的湛水土壌における物質収支を表3に示す。

非滅菌湛水土壌における物質収支は施用放射能 (AR) の 97.5~104.8% であり、総平均回収率は 100.1%AR であった。滅菌湛水土壌試料の物質収支は 105.0~107.5%AR であり、総平均回収率は 106.1%AR であった。

表3 $[^{14}\text{C}]$ チオシクロラムを施用した好氣的湛水土壌における物質収支

試料	採取時点 (日)	回収率 (%AR)	総平均回収率(%AR)
非滅菌湛水土壌			
滅菌湛水土壌			

結果は2反復の平均値。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) 放射能の分布

非滅菌及び滅菌湛水土壌における放射能の分布を表4に示す。

表4 $[^{14}\text{C}]$ チオシクロラムを施用した好氣的湛水土壌における放射能の分布

試料	採取 時点 (日)	水層	土壌		NaOH 捕集液	総回収 率	水層	土壌		NaOH 捕集液	総回収
			抽出液	PES				抽出液	PES		
			%AR					mg/kg			
非滅菌 湛水土 壌											
滅菌 湛水土 壌											

結果は2反復の平均値。na: 適用なし。

PES: 抽出後固形物 (post extracted solids)。

① 非滅菌湛水土壌

水層には、0時点で39.1%ARが検出され、7日後に1.7%ARに減少したが、その後122日後まで3.0~6.6%ARであった。土壌抽出液には、0時点で51.0%ARが検出され、3日後に79.2%ARに増加し、その後減少して122日後には41.5%ARとなった。PESには、0時点で7.4%ARが検出され、60日後に26.1%ARに増加し、122日後では23.0%ARと僅かに減少した。NaOH捕集液中の放射能は経時的に増加し、122日後では27.8%ARとなった。有機性揮発性物質は検出されなかった。

② 滅菌湛水土壌

水層には、0時点で35.5%ARが検出され、3~30日後では4.0~4.4%ARに減少した。土壌抽出液には、0時点で60.4%ARが認められ、3~30日後では85.1~87.7%ARであった。PESには、0時点で10.0%ARが検出され、3~30日後では15.3~16.7%ARであった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) 抽出性放射能の分布

水層及び土壌抽出液を HPLC で分析し、チオシクロラム及び代謝物を定量した。非滅菌湛水土壤及び滅菌湛水土壤の結果をそれぞれ表 5 及び 6 に示す。

① 非滅菌湛水土壤

表 5 非滅菌湛水土壤系のチオシクロラム及び代謝物の分布^{a)}

試料	採取 時点 (日)	チオシ クロラム	%AR			チオシ クロラム	mg/kg		
			3分	5~6分	その他		3分	5~6分	その他
水層									
土壌抽出液									
水層+土壌抽出液									

^{a)} 水層及び抽出液中濃度 (mg/kg) は申請者が算出 (= %AR × 0.785/100)。結果は 2 反復の平均値。

湛水土壤系におけるチオシクロラムは速やかに分解し、0 時点の 70.1%AR から 7 日後には 2.8%AR となった。主要代謝物は 3 日後に最大 68.9%AR となり、122 日後には 27.6%AR に減少した。マイナー代謝物が多数検出されたが、施用放射能の 10%を超えたのは約 3 分の成分であった。この画分を単離し、異なる HPLC 条件で再分析した結果、いずれのピークも個々には 3.7%AR 以下であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② 滅菌湛水上壌

表 6 滅菌湛水土壌系のチオシクロラム及び代謝物の分布^{a)}

試料	採取 時点 (日)	チオシ クロラム		その他	チオシ クロラム		その他
		%AR			mg/kg		
水層	0						
	3						
	7						
	14						
	30						
土 壌 抽 出 液	0						
	3						
	7						
	14						
	30						
水層 + 土 壌 抽 出 液	0						
	3						
	7						
	14						
	30						

^{a)}水層及び抽出液中濃度 (mg/kg) は申請者が算出 (= %AR × 0.792/100) 結果は 2 反復の平均値。

チオシクロラムは速やかに分解し、0 時点の 32.4%AR から 30 日後には 7.6%AR に減少した。は 0 時点で 60.0%AR が検出され、14 日後に最大 85.6%AR となり、30 日後では 76.0%AR であった。

5) 代謝物の同定及び/又は特徴付け

チオシクロラムは HPLC コクロマトグラフィーにより、また は HPLC コクロマトグラフィー及び LC/MS により同定した。

6) 未抽出性残留物の特徴付け

非滅菌土壌の PES を図 2 に従って分析し、未抽出性放射能を特徴付けた。結果を表 7 に示す。

表 7 未抽出性残留物の特徴付け (%AR)

PES 試料	フルボ酸	フミン酸	ヒューミン
60 日後試料	—		—

PES 中の放射性残留物 (27.3%AR, 24.9%AR) は、8.1~8.3%AR, 13.2~14.3%AR 及び 3.3~5.0%AR がそれぞれフルボ酸画分、フミン酸画分及びヒューミン画分に分布していた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

7) 分解速度

分解速度はチオシクロラム及び について算出した。

① チオシクロラム

非滅菌及び滅菌湛水土壌における分解速度を表 8 に、減衰曲線を図 4 及び図 5 に示す。

表 8 好氣的湛水土壌におけるチオシクロラムの DT₅₀ 及び DT₉₀ 値

試料	DT ₅₀	DT ₉₀	r ²
非滅菌好氣的湛水土壌	1.5 日	4.8 日	0.78
滅菌好氣的湛水土壌	21.9 日	72.9 日	0.13

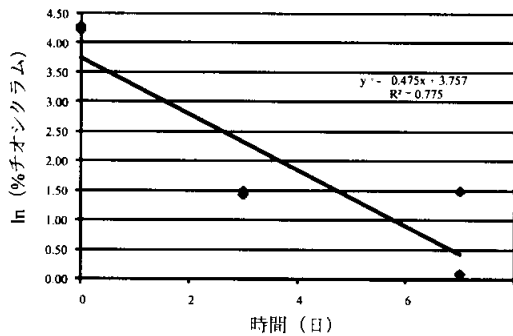


図 4 非滅菌好氣的湛水土壌におけるチオシクロラムの減衰

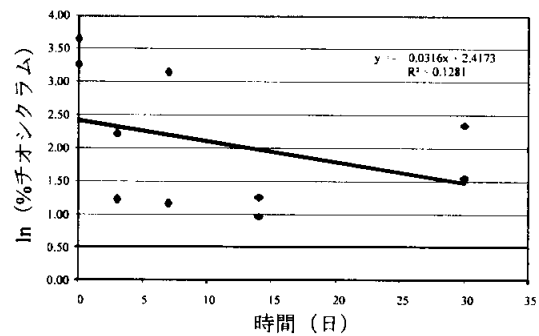


図 5 滅菌好氣的湛水土壌におけるチオシクロラムの減衰

非滅菌及び滅菌好氣的湛水土壌中のチオシクロラムの半減期 (DT₅₀) はそれぞれ 1.5 日及び 21.9 日であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) 好気的土壌中動態試験

[資料 代-8]

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	<i>N,N</i> -dimethyl-1,2,3- trithian-5-ylamine hydrogen oxalate
化学構造	* = 放射能標識位置
標識化合物名	[¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	(HPLC)
比放射能	Ci/mmol

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため。

供試土壌：土壌の仕様及び物理化学的特性を表1に示す。

土壌は、使用前に2mmの篩に通した。

表1 供試土壌の物理化学的特性

入手先		
採取年月日 / 入手年月日	4月25日 / 6月15日	
pH (水)	6.9	
pH (KCl)	5.6	
pH (CaCl ₂)	6.2	
陽イオン交換容量 (meq/100g)	13.6	
有機炭素 (腐植) (%)	0.86 (1.48)	
最大容水量 (%)	39.8	
粒径, 重量%	極粗砂 (2.0~1.0 mm)	0.1
	粗砂 (1.0~0.5 mm)	0.6
	中砂 (0.5~0.25 mm)	2.8
	細砂 (0.25~0.10 mm)	16.0
	極細砂 (0.10~0.05 mm)	22.3
	シルト (0.05~0.002 mm)	45.2
	粘土 (<0.002 mm)	13.0
主要粘土鉱物	クロライト, バーミキュライト	
土性 (USDA 分類)	壤土	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

方法：試験は非滅菌土壌及び滅菌土壌を用いた試験系で行った。

土壌試料の調製；

① 非滅菌土壌試験系

125 mL 容のガラス製褐色瓶に土壌約 37.7 g (30.00 g 乾土重相当, 土壌の厚さ; 1~3cm) を入れ, 土壌水分量を最大容水量の 40~60%に調整した。施用前約 3 週間のプレインキュベート (25±1°C) 期間及び施用後の試験期間に CO₂ フリーの加湿空気を通気した。必要に応じて土壌水分量を調整した。装置の概要を図 1 に示す。

図 1 通気及び捕集装置の概要

② 滅菌土壌試験系

非滅菌土壌試験系と同様に調製し, [¹⁴C]チオシクロラム施用前にオートクレーブ滅菌した (プレインキュベート期間: 約 5 週間, 2/12~3/19)。揮発性成分採取用の捕集液は接続せず, 容器は綿栓をした。

表 2 に試験設計を概略する。

表 2 試験設計

		非滅菌土壌試験系	滅菌土壌試験系
名目施用濃度		3.5 ppm (圃場の最大単回施用量 3.5 kg a.i./ha に基づく)	
施用液		[¹⁴ C]チオシクロラム保存原液 (1%ギ酸/メタノール) を水/酸性メタノール(18:1, v/v) で希釈して, 調製	
施用方法		施用液 300 µL を各土壌に直接添加	
施用濃度実測値		3.444 µg/g	3.527 µg/g
捕集装置の接続		有	無
インキュベーション		121 日間	30 日間
採取 時点	土壌試料	0, 1, 3, 7, 14, 30, 62 及び 121 日後	0, 5, 15, 20 及び 30 日後
	捕集液 ¹⁾	1, 3, 7, 14, 30, 62 及び 121 日後	適用なし

¹⁾ 採取後, あるいは約 1 ヶ月ごとに新しい溶液と交換

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1) 分析方法

- ① 揮発性物質捕集液；直接 LSC 分析
- ② 土壌試料；採取後，図 2 に示す抽出操作を行い分析した。また，図 3 に示す方法により，土壌抽出後固形物中の放射性残留物を特徴付けた。

図 2 抽出操作の概要

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

図3 土壤腐植の分画

- ③ $^{14}\text{CO}_2$ の確認；塩化バリウム沈殿法により確認した。
 - ④ 代謝物の特徴付け及び同定；土壤抽出液又は HPLC による単離物と参照標準品との HPLC コクロマトグラフィーにより，代謝物を特徴付け及び/又は同定した。
 - ⑤ 試料の保存及び保存安定性；試料は採取日に抽出又は LSC 分析した。HPLC 分析は採取後 1 週間以内実施した。土壤抽出液の再 HPLC 分析から，チオシクロム及び抽出物は抽出液中で 1 週間安定であるが，6 ヶ月保存後ではチオシクロムは
に分解した。
- 2) 半減期の算定方法
- 以下の一次反応速度式を用いて化合物の DT_{50} 及び DT_{90} を推定した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (y = mx + b) \quad (m = \text{勾配})$$

ここで， k = 分解速度定数， C = 化合物濃度（施用放射能%），
 t = 時間， C_0 = 初期濃度である。

従って， DT_{50} 及び DT_{90} は次式を用いて算出した。

$$\text{DT}_{50} = \frac{\ln 2}{-m} = \frac{0.693}{k} \qquad \text{DT}_{90} = \frac{\ln 10}{-m} = \frac{2.303}{k}$$

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

9) 土壌の微生物活性

施用前にプレート培養法を用いて確認し、非滅菌土壌は微生物活性を有し、滅菌土壌には微生物活性がなかった。

10) 物質収支

好氣的土壌における物質収支を表 3 に示す。

表 3 $[^{14}\text{C}]$ チオシクロムを施用した好氣的土壌における物質収支

試料	採取時点 (日)	回収率 (%AR)	総平均回収率(%)
非滅菌土壌	—		
	—		
	—		
	—		
	—		
	—		
滅菌土壌	—		
	—		
	—		
	—		

結果は 2 反復の平均値。

非滅菌土壌における物質収支は施用放射能 (AR) の 93.4~105.8% (総平均: 99.8% AR) であり、滅菌土壌試料の物質収支は 101.5~107.3% AR (総平均: 104.6% AR) であった。

11) 放射能の分布

非滅菌及び滅菌土壌における放射能の分布を表 4 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表4 $[^{14}\text{C}]$ チオシクロラムを施用した好気的土壌における放射能の分布

試料	採取 時点 (日)	抽出液	PES	NaOH 捕集液	総回収	抽出液	PES	NaOH 捕集液	総回収
		%AR				mg/kg			
非滅菌土壌	0								
	1								
	3								
	7								
	14								
	30								
	62								
	121								
滅菌土壌	0								
	5								
	15								
	20								
	30								

結果は2反復の平均値。 PES: 抽出後固形物 (post extracted solids)
n.a.: 適用せず。 -: 揮発性物質の NaOH 捕集液への捕集は実施せず。

① 非滅菌土壌

抽出液中の放射能は0時点では99.0% ARであったが、121日後では23.4% ARに減少した。抽出後固形物 (PES) 中の放射能は0時点の6.8% ARから、30日後に最大32.2% ARに増加し、その後121日まで同レベルで推移した。NaOH 捕集液中の放射能は経時的に増加し121日後には38.3% ARであった。

② 滅菌土壌

抽出液中の放射能は0時点の102.1% ARから、30日後では90.8% ARに減少した。PESの放射能は0時点の5.0% ARから、30日後には10.8% ARに増加した。

12) 抽出性放射能の分布

土壌抽出液を異なる数種条件下のHPLCで分析し、チオシクロラム及び代謝物を分離・定量した。

表5に、チオシクロラムと のHPLC分離条件による非滅菌土壌抽出液の分析結果を、表6に表5の領域3のHPLC再分析結果 (HPLC条件を変更) を、表7に滅菌土壌抽出液の分析結果 (表5と同HPLC条件) を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

① 非滅菌土壌

表 5 非滅菌土壌抽出液中のチオシクロラム及び代謝物の分布

採取 時点 (日)	チオ シク ラム	%AR					チオシ クロ ラム	mg/kg				
		領域 1	領域 2	領域 3	領域 4	その 他		領域 1	領域 2	領域 3	領域 4	その他
0												
1												
3												
7												
14												
30												
62												
121												

結果は 2 反復の平均値。

HPLC 保持時間：チオシクロラム; 32.81 分, ; 26.88 分, 領域 1; 19-24 分,
領域 2; 14-17 分, 領域 3; 4-6 分, 領域 4; 10-13 分。

表 6 非滅菌土壌抽出液中の極性代謝物 (表 5 領域 3) の分布

採取 時点 (日)	%AR						mg/kg					
	3分	5分	6分	8分	(10-11 分)	その 他	3分	5分	6分	8分	(10-11 分)	その他
30												
62												
121												

結果は 2 反復の平均値。

[¹⁴C]チオシクロラムは 0 時点では 87.8% AR であったが、30 日後では 1%未満に減少した。は 1 日後に 3.7% AR が検出され、3 日後に最大 4.5%AR と増加し、7 日後には 1.7% AR に減少した。領域 1 は 3 日後に最大 19.8% AR であったが、その後 14 日後には検出限界未満となった。この領域中の放射能は保存中に分解し、特徴付けできなかつた。領域 3 は 14 日後に最大 47.5% AR に増加し、その後 121 日後には 23.2% AR に減少した。表 6 から、この領域中の放射能には代謝物が含まれており、は 30 日後で 27.4% AR であり、その後 121 日後では 9.2% AR に減少した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② 滅菌土壌

表 7 滅菌土壌抽出液中のチオシクロラム及び代謝物の分布

採取 時点 (日)	チオシ クロラム	U-2 ¹⁾	U-1 ²⁾	その他 ³⁾	チオシ クロラム	U-2 ¹⁾	U-1 ²⁾	その他 ³⁾
0								
5								
15								
20								
30								

結果は 2 反復の平均値。

¹⁾ U-2 : HPLC 保持時間 7~8 分に溶出。

²⁾ U-1 : HPLC 保持時間 38 分に溶出。

³⁾ その他 : 10 以上の微量ピークを含む (3.5% AR を超える単一ピークはなし)。

[¹⁴C]チオシクロラムは 0 時点の 93.3% AR から、30 日後には 75.9% AR に減少した。
 は 0 時点では 4.3% AR が検出され、30 日後には 1.6% AR に
 減少した。代謝物 U-2 は 0 時点では検出されず、その後 2.6~5.5% AR 認められた。
 また代謝物 U-1 は 0 時点から検出され、2.2~2.8% AR であった。両代謝物ともこ
 れ以上の特徴づけは行わなかった。

13) 代謝物の同定及び/又は特徴付け

HPLC コクロマトグラフィーにより特徴付け/同定した化合物はチオシクロラム、
 (土壌抽出液中放射性成分と参照標準品) 及び (単離物と参照
 標準品) であった。

14) 未抽出性残留物の特徴付け

非滅菌土壌の PES を図 3 に従って分析し、未抽出性放射能を特徴付けた。結果を表 8
 に示す。

表 8 未抽出性残留物の特徴付け (%AR)

PES 試料	抽出液	フルボ酸	フミン酸	ヒューミン
30 日後試料				
平均				

PES 中の放射性残留物 (32.2% AR) は、13.4% AR, 14.2% AR 及び 4.7% AR がそれぞ
 れフルボ酸画分、フミン酸画分及びヒューミン画分に分布していた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

15) 分解速度

分解速度はチオシクロラム及び について算出した。

① チオシクロラム

非滅菌及び滅菌土壌における分解速度を表 9 に、減衰曲線を図 4 及び図 5 に示す。

表 9 好氣的土壌におけるチオシクロラムの DT₅₀ 及び DT₉₀ 値

試料	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	r ²
非滅菌好氣的土壌	2.8	9.3	0.8658
滅菌好氣的土壌	97.8	324.9	0.9615

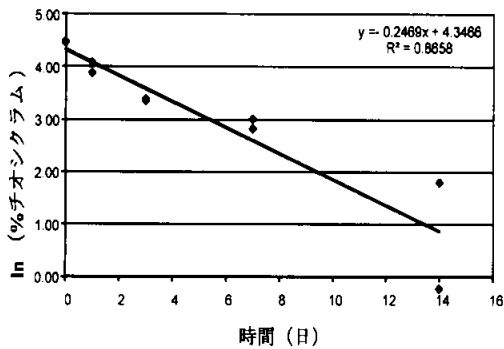


図 4 非滅菌好氣的土壌におけるチオシクロラムの減衰

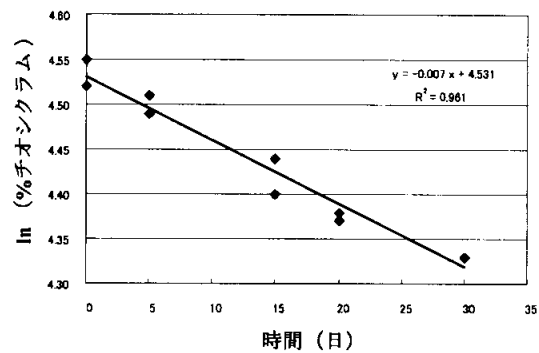


図 5 滅菌好氣的土壌におけるチオシクロラムの減衰

非滅菌及び滅菌好氣的土壌中のチオシクロラムの半減期 (DT₅₀) はそれぞれ 2.8 日及び 97.8 日であった。

②

非滅菌好氣的土壌中の の分解速度を 30~121 日後のデータを用いて算出した。結果を表 10 に示す。

の半減期は 57.8 日であった。

表 10 非滅菌好氣的土壌における の DT₅₀ 及び DT₉₀ 値

試料	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	r ²
非滅菌好氣的土壌	57.8	191.9	0.9949

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

16) 推定代謝経路

非滅菌土壌では、チオシクロラムは脱硫を経て急速に分解し、を生成した。続いてにより複数のマイナーな極性代謝物及び
が生成した。さらに土壌結合型残留物及び $^{14}\text{CO}_2$ が生成された。推定代謝経路を図6に示す。

図6 チオシクロラムの好氣的土壌における推定分解経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

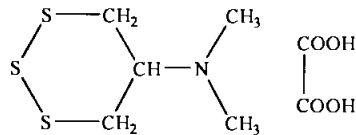
(3) 土壌における動態 I

[資料 代-9]

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物： 5-ジメチルアミノ-1,2,3-トリチアン シュウ酸塩



供試土壌： 土壌A：BBA土壌

土壌B：BBA土壌

土壌組成

土 壤	有機物含量	クレー含量 ($< 20 \mu$)	pH	カチオン交換能 meq/100 g
A	2.80%	12.7%	6.8	22.3
B	0.94%	23.3%	5.2	9.1

方 法： 標識検体を処理した土壌を投与0、1、3、7、21日後に採取し、抽出を行った。抽出液及び抽出残渣についてシンチレーションカウンターを用いて¹⁴C-放射能を測定した。

抽出液については、更に、ラジオ薄層クロマトグラフィー等を用いて代謝物の量的組成を調べた。

結 果： チオシクロラムは両土壌中において非常に速やかに分解された。

21日間の試験において、消失速度は両土壌とも2つの相に分かれた。

それぞれの半減期は、土壌Aが1日以下と約1日、土壌Bが2.5日と4.5日であった。また、両土壌とも21日以内に投与した放射能の約50%が消失していた。この消失は主に揮散によるものと思われる。

検出された主代謝生成物は、

であり、その他にごく微量の未同定代謝物3種類が検出された。土壌Aでは、検体処理1日後に CH_2S が60.3%、

CH_2S が12.4%のピーク値に達した。土壌Bでは処理0日に

CH_2S が6.1%、処理3日後に CH_2S が18.9%のピーク値に達した。

その後、いずれも低い値へと減衰した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

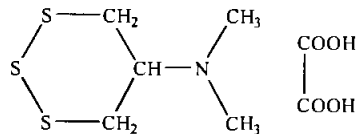
(4) 土壌における動態 II

[資料 代-10]

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物： 5-ジメチルアミノ-1,2,3-トリチアン シュウ酸塩



供試土壌： 土壌A：BBA土壌

土壌B：BBA土壌

土壌組成

土 壌	有機物含量	クレー含量 ($< 20 \mu$)	pH	カチオン交換能 meq/100 g
A	2.80%	12.7%	6.8	22.3
B	0.94%	23.3%	5.2	9.1

方 法： 土壌100 g 当り標識検体の水溶液 1 ml を処理し(各土壌サンプルは ^{14}C を 6.10×10^6 dpm 含む)、水分が40%となるように調節した土壌表面上に、純粋な酸素を通した(流速 2~6 ml/min)。排気された気体はトルエン、0.1N H_2SO_4 、12% エタノールアミン含有メタノールトラップを用いて捕集した。所定の間隔でトラップ溶液中の ^{14}C -放射能を測定した。実験終了時(32日日)に、各土壌をアセトニトリルで抽出し、抽出液及び抽出残渣について ^{14}C -放射能を測定した(抽出残渣については燃焼法を使用した)。

結 果： 土壌に投与したチオシクロラムの小さな分子への分解は、投与後直ちに始まった。検出された揮発性低分子物質は のみであり、 あるいは を含有する分解物は検出されなかった。したがって、分解は 及び (豆植物体とは異なる)によるものと推測される。 の60%迄が に代謝され、約30%が抽出不可能な残留物として残り、後者はおそらく一部分が天然の土壌構成物質へ組み込まれていくと考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

半減期の算出：

次式を用いて緩衝液中のチオシクロラムの半減期を算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (y = mx + b) \quad (m = \text{勾配})$$

k = 分解速度定数

C = 化合物濃度 (施用放射能%として表示)

t = 時間

C₀ = 初期濃度

従って、半減期は以下の等式を用いて算出した。

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{-m} = \frac{0.693}{k}$$

結 果：

1) 滅菌性の維持及び pH

試験期間を通じて試験系の滅菌性は維持されており、その pH は 6.89～7.05 であった。

2) 放射能の分布及び分解

① 物質収支

結果を表 1 示す。

表 1 0.05M 滅菌 pH 7 緩衝液中のチオシクロラムの物質収支

試料(日)	回収率	平均回収率
	%AR	
0		
3		
7		
11		
18		
24		
30		

滅菌 pH 7 緩衝液中のチオシクロラムの物質収支は、施用放射能 (AR) の 95.1～100.0% であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② 放射能の分布

各採取時点における滅菌 pH 7 緩衝液中のチオシクロラム及び分解物の分布を表 2 に示す。

表 2 0.05M 滅菌 pH 7 緩衝液における放射能の分布^{a)}

試料 (日)	チオシ クロラム		その他	総回収 率	チオシ クロラム		その他	総回収
	%AR				mg/L			
0								
3								
7								
11								
18								
24								
30								

^{a)} 緩衝液中濃度 (mg/L) は申請者が算出 ($=1.0374 \times \%AR/100$)。

結果は 2 反復の平均値。

滅菌 pH 7 緩衝液中の¹⁴Cチオシクロラムは、0 時点で 93.7%AR であったが、30 日後では 85.4%AR に減少した。は 0 時点で 3.7%AR が検出され、30 日後では 4.8%AR であった。その他のピークは個々には 2.4%AR を超えなかった。

3) 分解物の同定

HPLC コクロマトグラフィーにより特徴づけ/同定した化合物はチオシクロラム及び
であった。

4) 推定半減期

25°C における滅菌 pH 7 緩衝液中の¹⁴Cチオシクロラムの半減期及び DT₉₀ は、それぞれ 301 日及び 1001 日であり、速度定数は 0.0023 日⁻¹であった。

5) 推定加水分解経路

滅菌 pH 7 緩衝液において¹⁴Cチオシクロラムは脱硫を経て緩やかに加水分解し、
を生成した。¹⁴Cチオシクロラムの推定分解経路を図 1 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

図1 滅菌 pH 7 緩衝液における $[^{14}\text{C}]$ チオシクロムの推定加水分解経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) 水中光分解運命試験

[資料 代-12]

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	<i>N,N</i> -dimethyl-1,2,3-trithian-5-ylamine hydrogen oxalate
化学構造	* = 放射能標識位置
標識化合物名	[5- ¹⁴ C]チオシクラム
ロット番号	
放射化学的純度	(HPLC)
比放射能	Ci/mmol

標識位置の選定理由：分解後の化合物の挙動を適切に追跡できるため。

供試水：試験に用いた供試水について、次表にその特性をまとめる。

供試水	自然水	pH5 緩衝液
供試水の調製方法	池水； で採取	0.01 M 酢酸緩衝液； 0.1 M NaOH 100 mL + 0.1 M 酢酸 146 mL/1000 mL/水
採取日	8月2日	—
pH	8.05	5.00
溶存酸素 (ppm)	8.82	8.01
電気伝導率 (mS)	2.55	0.839
全蒸発残渣 (ppm)	2146	—
全懸濁物質 (ppm)	14	—

1) 光源：キセノンランプ (600 W/m²)

光照射装置；Heraeus サンテスト CPS+ユニット

分光分布；290 nm ~

光学フィルター；290 nm 未満の波長をカットするフィルターを使用

光強度；49.6 W/m² (波長範囲 300~400 nm)

従ってサンテスト照射 3.8 時間が東京・春における太陽光 1 日に相当する。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) 試験方法：

溶解補助剤の使用；メタノール，<1%

試験濃度；名目濃度 1 mg/L（水溶解度；16.4 g/L，pH 6.8，20°C）

実測濃度 1.003～1.019 µg/mL

試験温度；25±2°C

試験期間；72 時間（自然水）及び 48 時間（pH 5 緩衝液）

試験容器；石英製（照射区）及び Pyrex[®]製（暗所対照区）の試験管，
内径 11 mm，蓋付き

供試水の滅菌；自然水及び pH 5 緩衝液をそれぞれ使用直前にろ過滅菌
（0.2 µm のフィルター）

試験溶液の調製；[¹⁴C]チオシクロム施用液を 0.1%ギ酸/メタノールで調製した。

施用液 375 µL を滅菌自然水 145.0 mL に，施用液 310 µL を滅菌 pH 5 緩衝液 120.0 mL
に添加した。

試験系の調製；各試験容器に上記調製試験溶液 5 mL を分注。

各試験容器は捕集装置（エチレングリコール溶液 1 本及び 1M NaOH 溶液 2 本，各
20 mL を接続して，照射区は光源下に，暗所対照区は試験管をアルミホイルで包み
遮光して恒温室に静置。

揮発性物質の捕集装置；捕集装置の概要を図 1 に示す。

図 1 通器及び捕集装置の概要

採取時点及び採取試料；試料採取時点を表 1 に示す。

表 1 試料採取時点

供試水	試料採取時点	
自然水	照射区	0, 3, 6, 16, 24, 48 及び 72 時間後
	暗所対照区	0, 3, 6, 16, 24, 48 及び 72 時間後
pH 5 緩衝液	照射区	0, 3, 6, 14, 24, 36 及び 48 時間後
	暗所対照区	0 及び 48 時間後

揮発性物質捕集液は 0 時点を除き，各採取時点に採取した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

分析方法；採取後，試料を図 2 に示す操作に従い処理し分析した。

D2, D4：分解物 2, 分解物 4（保持時間）

図 2 処理操作の概要

滅菌性の確認；0 時点，最終時点及び試験期間中の任意の時点でプレート培養法により確認した。

pH の確認；各採取時点で試料の pH を確認した。

半減期の算出方法；チオシクロラムの分解速度定数， DT_{50} 及び DT_{90} を次式にデータを適合させて算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (y = mx + b) \quad (m = \text{勾配})$$

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{-m} = \frac{0.693}{k} \qquad DT_{90} = \frac{\ln 10}{-m} = \frac{2.303}{k}$$

ここで，

k = 分解速度定数

C = 化合物濃度（溶液中の HPLC% として表示した $[^{14}\text{C}]$ チオシクロラム）

t = 時間

C_0 = 初期濃度

分解物の特徴付け及び同定；各光分解試料又は HPLC による単離物と参照標準品との HPLC コクロマトグラフィー，TLC コクロマトグラフィー又は LC/MS/MS 分析により，分解物を特徴付け及び/又は同定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

1) 放射化学的純度

[¹⁴C]チオシクロラムの放射化学的純度は であつた (HPLC)。

2) 試験系の pH 及び滅菌性の維持

(1) 試験系の pH 平均値

自然水：8.47, pH 5 緩衝液：5.03

(2) 滅菌性の確認：滅菌状態は試験期間中維持されていた。

3) 物質収支及び放射能の分布

①滅菌自然水試料

表 2 に照射区試料, 表 3 に暗所対照区試料の物質収支を示す。

表 2 照射区滅菌自然水における放射能の物質収支

試料 (時間)	% AR (施用放射能)				mg/L			
	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	回収率	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	全回収
0								
3								
6								
16								
24								
48								
72								
総平均±SD					—			

EG:エチレンジキロール。na:適用なし。結果は2反復の平均値

表 3 暗所対照区滅菌自然水における放射能の物質収支

試料 (時間)	% AR				mg/L			
	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	回収率	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	全回収
0								
3								
6								
16								
24								
48								
72								
総平均±SD					—			

EG:エチレンジキロール。na:適用なし。結果は2反復の平均値

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

滅菌自然水における物質収支は照射区で施用放射能（AR）の $98.6 \pm 1.9\%$ ，暗所対照区で $99.7 \pm 1.5\%$ であった。照射区の放射能は，水溶液中では 0 時点の 101.0% から 72 時間後には 91.7% に減少した。NaOH 中では 72 時間後に $3.0\%AR$ となり，エチレングリコール液中では $1.6\%AR$ が回収された。一方，暗所対照区では，放射能は試験期間中ほぼ一定であった（ $101.0 \sim 95.1\%AR$ ）。

②滅菌 pH 5 緩衝液試料

表 4 に照射区試料，表 5 に暗所対照区試料の物質収支を示す。

表 4 照射区滅菌 pH 5 緩衝液における放射能の物質収支

試料 (時間)	% AR				mg/L			
	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	回収率	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	全回収
0								
3								
6								
14								
24								
36								
48								

EG:エチレングリコール。na:適用なし。結果は2反復の平均値

表 5 暗所対照区滅菌 pH 5 緩衝液における放射能の物質収支

試料 (時間)	% AR				mg/L			
	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	回収率	水溶液	NaOH 捕集液	EG 捕集液	全回収
0								
48								

na:適用なし。結果は2反復の平均値

全試料の物質収支は $97.6 \pm 3.9\%$ であった。照射区の放射能は，水溶液中では 0 時点の 100% から 72 時間後には $84.3\%AR$ に減少した。NaOH 中では 36 時間後に $10.6\%AR$ が認められたが，72 時間後には $7.1\%AR$ となり，エチレングリコール液中では 36 時間後に $1.0\%AR$ ，72 時間後に $0.9\%AR$ が認められた。一方，暗所対照区では，水溶液中の放射能は 48 時間後に $103.3\%AR$ であり，NaOH 及びエチレングリコール液中では検出されなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) 放射能の分布

試料を異なる数種条件下の HPLC で分析し、チオシクロラム及び代謝物を分離・定量した。

①照射区試料

滅菌自然水：

表 6 に、照射区滅菌自然水の HPLC による分析結果を、表 7 に分解物 D-2 の HPLC による再分析結果（HPLC 条件を変更）を示す。

表 6 照射区滅菌自然水試料における放射能の分布

試料 (時間)	%AR					mg/L						
	チオ シク ラム		D-2	D-3	D-4	その 他	チオ シク ラム		D-2	D-3	D-4	その 他
0												
3												
6												
16												
24												
48												
72												

結果は 2 反復の平均値

HPLC 保持時間：D-2; 4.75-5.25 分, D-3; 6.75-8.25 分, D-4; 10.25 分。

表 7 照射区滅菌自然水試料より単離した D-2 の放射能の分布

試料 (時間)	%AR									
	成分 A	成分 B	成分 C	成分 D	成分 E	成分 F	成分 G	成分 H	その 他	合計
3										
6										
16										
24										
48										
72										

1 反復試料の結果。

HPLC 保持時間：成分 A; 3.75-4.25 分, 成分 B; 8.75-9.25 分, 成分 C; 12.25-12.75 分,
成分 D; 13.75-14.25 分, 成分 E; 14.75-15.25 分, 成分 F; 16.25-16.75 分,
成分 G; 17.75-18.25 分, 成分 H; 27.25-27.75 分。

照射区自然水中のチオシクロラムは 0 時点の 93.7%AR から 72 時間後では、0.2%AR に分解した。

は、0 時点の 4.8%AR から 16 時間後には 1%未満に減少した。主要分解物として D-2 が検出され、3 時間後の 14.9%AR から 72 時間後には 90.7%AR と増加した。D-3 及び D-4 は 0.2~4.9%AR が検出された。表 7 に示すように D-2 は 8 成分とその他 25 個のマイナー成分からなり、成分 A 及び B が試験期間中、10%AR 以上であった。成分 A は 72 時間後までに 25.8%AR に増加した。成分 B は 72 時間後には 23.0%AR となった。その他の成分は個々には 9.6%AR を超えなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

滅菌 pH 5 緩衝液 :

表 8 に、照射区滅菌 pH 5 緩衝液の HPLC による分析結果を、表 9 に分解物 D-2 の HPLC による再分析結果 (HPLC 条件を変更) を示す。

表 8 照射区滅菌 pH 5 緩衝液試料における放射能の分布

試料 (時間)	%AR						mg/L					
	チオシクラム		D-2	D-3	D-4	その他	チオシクラム		D-2	D-3	D-4	その他
0												
3												
6												
14												
24												
36												
48												

結果は 2 反復の平均値

HPLC 保持時間 : D-2; 4.75-5.25 分, D-3; 6.75-8.25 分, D-4; 10.25 分。

表 9 照射区滅菌 pH 5 緩衝液試料より単離した D-2 の放射能の分布

試料 (時間)	%AR						
	成分 A	成分 B	成分 C	成分 D	成分 E	その他	合計
6							
14							
24							
36							
48							

1 反復試料の結果。

HPLC 保持時間 : 成分 A; 3 分, 成分 B; 9 分, 成分 C; 15 分, 成分 D; 16 分, 成分 E; 18 分。

照射区 pH 5 緩衝液中のチオシクラムは 0 時点の 95.0%AR から 48 時間後では、6.0% AR に分解した。

は、0 時点の 1.6%AR から 6 時間後に 8.3%AR の最大となり、36 時間後には 1%未満に減少した。10%AR を超える代謝物として、D-2 及び D-4 が検出され、D-4 は、3 時間後の 1.9%AR から 36 時間後に 15.4%AR の最大となり、48 時間後では 12.3%AR と減少した。D-2 は 0 時点に 0.1%AR が検出され、その後増加して 48 時間後には 54.8%となった。表 9 に示すように D-2 には 5 成分とその他 28 個のマイナー成分が検出された。成分 A は 48 時間後までに 26.7% AR に増加した。成分 B は 36 時間後に最大 16.9%AR となり、48 時間後には 13.7% AR に減少した。その他の成分は個々に 3.1%AR を超えなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

②暗所対照区試料

暗所対照区滅菌自然水及び pH 5 緩衝液試料の放射能の分布を表 10 及び表 11 に示す。

滅菌自然水：

表 10 [¹⁴C]チオシクロラムの暗所対照区試料における放射能の分布

成分 (時間)	%AR						mg/L					
	チオシクロラム		D-2	D-3	D-4	その他	チオシクロラム		D-2	D-3	D-4	その他
0												
3												
6												
16												
24												
48												
72												

結果は 2 反復の平均値

滅菌 pH 5 緩衝液：

表 11 [¹⁴C]チオシクロラムの暗所対照区試料における放射能の分布

成分 (時間)	%AR						mg/L					
	チオシクロラム		D-2	D-3	D-4	その他	チオシクロラム		D-2	D-3	D-4	その他
0												
48												

結果は 2 反復の平均値

暗所対照区自然水試料においてチオシクロラムは比較的安定であり、72 時間後で 87.3% AR であった。主要分解物は、
であり、72 時間後で 5.8% AR であった。

また、暗所対照区 pH 5 緩衝液試料においてチオシクロラムは安定であり 48 時間後で 94.7% AR であった。

5) 放射性成分の同定及び特徴付け

参照標準品との HPLC コクロマトグラフィーにより、チオシクロラム及び

を確認した。また、HPLC コクロマトグラフィー及び TLC コクロマトグラフィーにより極性物質を特徴付けた。D-2 及び D-4 は図 3 に示す方法で特徴付けた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2X施用液で作成した光分解生成物

図3 分解物 D-2 及び D-4 の特徴付け

また、質量分析により、以下の放射性成分の構造が推定された。

化合物名	推定される構造	推定根拠
D-2	推定できず	

6) 半減期 (DT_{50}) 及び 90%消失時間 (DT_{90})

結果を表 12 に、減衰曲線を図 4~6 に示す。

チオシクロラムの自然水における DT_{50} は 8.88 時間であり、 DT_{90} は 29.48 時間であった。また、pH 5 緩衝液における DT_{50} は 11.18 時間であり、 DT_{90} は 37.1 時間であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

これを春の東京の太陽光に換算すると、自然水での DT₅₀ 及び DT₉₀ はそれぞれ 2.3 日及び 7.8 日に相当した。また pH5 緩衝液での DT₅₀ 及び DT₉₀ はそれぞれ 2.9 日及び 9.8 日に相当した。

表 12 チオシクラムの DT₅₀ 及び DT₉₀ 値

試料	DT ₅₀	DT ₉₀	r ²
測定値 (時間)			
照射区滅菌自然水	8.88	29.48	0.896
照射区滅菌 pH 5 緩衝液	11.18	37.14	0.951
春の東京における推定値 (日)			
照射区滅菌自然水	2.3	7.8	-
照射区滅菌 pH 5 緩衝液	2.9	9.8	-

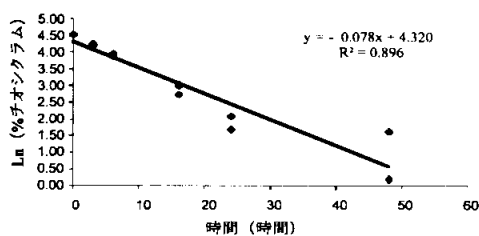


図 4 照射区滅菌自然水中の [14C]チオシクラムの減衰曲線

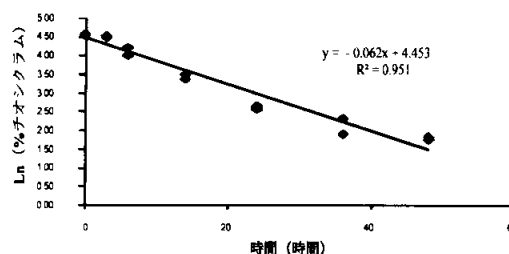


図 5 照射区滅菌 pH 5 緩衝液中の [14C]チオシクラムの減衰曲線

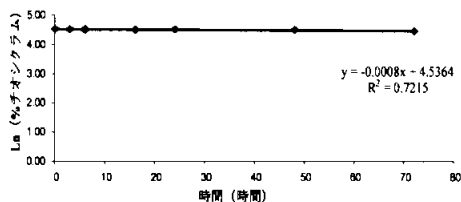


図 6 暗所対照区滅菌自然水中の [14C]チオシクラムの減衰曲線

7) 推定分解経路

チオシクラムは へ分解された。 は急速に酸化され、 及び複数のマイナーな極性分解物を生成した。自然水及び pH5 緩衝液においてチオシクラムは無機化され、 が形成した。

チオシクラムの推定光分解経路を図 7 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

図7 チオシクロラムの推定光分解経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

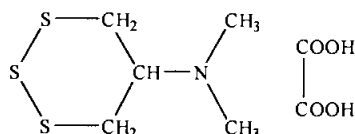
5. 土壌吸着性試験

[資料 物化-12]

試験機関：

報告書作成年：

供試化合物： 5-ジメチルアミノ-1,2,3-トリチアン シュウ酸塩



純度

供試土壌： 供試した土壌の特性を下表に示した。

土壌番号	No. 14	No. 15	No. 16	No. 18
土壌群名	褐色火山灰土壌	灰色台地土		
採取場所				
土性	SiCL	SCL	LiC	LiC
砂(%)	26.2	68.0	41.7	47.6
シルト(%)	50.9	14.5	29.4	27.2
粘土(%)	22.9	17.5	28.9	25.2
有機炭素含有率	3.61%	0.76%	1.75%	1.15%
有機炭素測定法	-	-	-	-
pH	H ₂ O	7.7	7.1	6.0
	KCl	6.9	6.0	5.2
陽イオン交換容量	21.4	7.9	11.0	10.2
りん酸吸収係数	2000	290	410	370
粘土鉱物の種類	アロフェン パーミキュライト	カオリン鉱物 イライト	カオリン鉱物 パーミキュライト	クロライト イライト
水分含量(%)	10.99	1.48	2.13	1.64

試験実施温度： 25±1℃

試験方法：「OECDガイドライン 106 吸着/脱着」に準拠した。

- 1) 吸着平衡試験：供試化合物の標準液を蒸留水で平衡化した各供試土壌 5 g (乾土) に加え、振とう攪拌した。所定の時間後に遠心分離し、水相中および土壌中の供試化合物およびネライストキシンを分析した。得られた結果より、土壌中の吸着量、吸着平衡時間を得た。
- 2) 吸着等温試験：所定濃度の供試化合物の標準液を蒸留水で平衡化した各供試土壌 5 g (乾土) に加え16時間振とう、吸着平衡化し遠心分離後、水相を分析した。得られた結果より、土壌中の吸着量を得た。
- 3) 物質収支：吸着平衡後の水相及び土壌の供試化合物を測定して求めた。
- 4) 分析法(水相)：遠沈後の水相の一部にNaHCO₃水溶液を加えpHを調整し、ジクロロメタンで抽出し、脱水、濃縮後、ガスクロマトグラフィー(FPD)で定量する。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

- 5) 分析法(土壌)：遠沈後の土壌と水相の上記残りに、5N HClとメタノール(1:10v/v)を加えて振とう抽出する。これを遠心分離し、その上澄みをジクロロメタンで2回洗浄し、ジクロロメタン留去後の残留物をメタノールで溶解してガスクロマトグラフィ(FPD)で定量する。

試験結果

1) 平衡化時間

すべての土壌で16時間

2) 吸着等温試験

土壌番号	吸着定数 1/n ¹⁾	吸着平衡定数 K _{F^{ads}} ¹⁾	相関定数 r ¹⁾	有機炭素 含有量 oc% ²⁾	有機炭素 吸着定数 K _{F^{ads}oc} ³⁾
No. 14	0.8466	14.300	0.999	3.61	396
No. 15	0.9014	5.619	0.999	0.76	739
No. 16	0.8148	5.117	0.999	1.75	292
No. 18	0.8834	7.188	0.999	1.15	464

¹⁾ Freundlichの吸着等温式による定数項と相関係数

²⁾ 土壌中の有機炭素含有率

³⁾ K_{F^{ads}}を各土壌のoc%で割り求めた有機炭素吸着係数

吸着平衡定数(K_{F^{ads}})を土壌の有機炭素含有率(oc%)に対してプロットしたところ、相関係数0.903の正の相関が認められた。

3) 物質収支

No. 14 : 88.4% No. 15 : 89.0% No. 16 : 98.6% No. 18 : 88.8%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

代謝分解のまとめ

を標識した¹⁴C-チオシクロラムを用いて行なった哺乳動物体内(ラット)、植物体内(水稲、リンゴ、ダイコン及びインゲン豆)、土壌中及び水中における代謝、分解、残留の要約は下記のとおりであり、代謝分解経路をIX-78頁に、結果の概要をIX-79～IX-82頁に示した。

動物：(資料 IX-1、IX-5頁) (資料 IX-2、IX-10頁)

チオシクロラムは動物体内では速やかに吸収され、そのほとんどが尿中に代謝物となって排泄され、糞及び呼気中にはごく微量(それぞれ投与量の約2%、4%)が排泄された。胆汁への排泄は投与量の1%程度にすぎなかった。

血中及び各臓器中の濃度はパラレルに推移し、投与後、雄では1～2時間及び8時間に、雌では4時間後にピークを示し、その後非常に低い値へと減衰した。

ラットの尿中には合計10種類の代謝物が検出されたが、親化合物及びは痕跡量しか検出されず、は全く検出されなかった。

植物：

水稲、リンゴ、ダイコン及びインゲン豆を用いて慣行施用の散布濃度及び回数で試験した。

1) 水稲 (資料 IX-3、IX-14頁)

最終収穫期(最終施用14日後)の残留放射能は玄米で7.6～7.7 mg/kg、籾殻で46 mg/kg、稲わらで8.8～9.4 mg/kgであった。玄米の抽出性放射能は総放射性残留物(TRR)の42%であり、58%TRRが抽出後固形物(PES)中に残存した。稲わらの抽出性放射能は52%TRRであり、48%TRRが抽出後固形物(PES)中に残存した。

玄米中の主要代謝物は、未同定代謝物とされて生じる(5.3%TRR, 0.40 mg/kg)であり、稲わら中の主代謝物は、(9.6%TRR, 0.8 mg/kg)であった。は玄米と稲わらのいずれにおいても微量代謝物(玄米0.1%TRR, わら1.5%TRR)であった。

水稲におけるチオシクロラムの主代謝経路は、及びそのを経た複数の極性代謝物の生成と考えられた。

2) リンゴ (資料 IX-4、IX-21頁)

最終散布14及び30日後のTRRは、果実で0.4～0.5 mg/kg、葉部で41 mg/kgであった。チオシクロラムの浸透性は低く、果実中TRRの36～42%が表面洗浄液に回収された。32～34%が表面洗浄後の果実から抽出され、24～32%TRRが抽出後固形物に残った。葉部では、TRRの40%、27%、34%が表面洗浄液、抽出液及び抽出後固形物にそれぞれ分布した。

果実における主要代謝物は(13～15%TRR, 0.050～0.073 mg/kg)と未同定の極性代謝物であった。その他にチオシクロラムが認められた(0.7～1.8%TRR)。

葉部における主要代謝物は(9.9%TRR, 4.021 mg/kg)であった。その他にが認められた(0.1%TRR)。は果実、葉部とも表面洗浄液にのみ認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

リンゴにおけるチオシクロラムの主要代謝経路は、
を経た複数の極性代謝物の生成であった。

3) ダイコン (資料 IX-5、IX-29頁)

最終散布7日後及び14日後のTRRは、根部で0.19~0.21 mg/kg、葉部で10~12 mg/kgであった。根部中TRRの大部分(89~90%)が抽出され、一部(10~11%)が抽出後固形物に残った。葉部では、TRRの6~8%及び48%が表面洗浄液と抽出液に回収され、44~47%が抽出後固形物に残った。

根部における主要代謝物は、
(17~18%TRR)及び
(8.8~9.4%TRR)であった。葉部における主要代謝物は未同定代謝物であったが、表面洗浄液から
も少量(1.8~2.3%TRR)認められた。また、最終施用
14日後の葉部抽出後固形物試料の
が遊離した
(2.8%TRR)。

ダイコンにおけるチオシクロラムの主要代謝経路は
を経た複数の
の生成であった。

4) インゲン豆 (資料 IX-6、IX-36頁)

植物体に対して葉面散布されたチオシクロラムは、処理葉面内及び植物の他の部位へほとんど移行しなかった。葉面上に残留する量は、光分解及び揮散のため極めて少なく、主な分解生成物は
であった。

以上のように、植物体に散布されたチオシクロラムの主要代謝経路は、4種作物のいずれにおいても、
を生成し、これがさらに酸化などされて複数の
の極性代謝物になる経路であった。
の生成はもう1つの主要経路であるが、これはりんご果実と葉及びダイコン葉の表面洗浄液でのみ検出されており、[以下、申請者による考察]その生成には光が関与しているものと推測される。

土壌:

1) 好気湛水土壌 (資料 IX-7、IX-38頁)

水田土壌(、壤土)を用いて乾土重あたり、0.8 mg/kgで施用して、好氣的湛水条件下で試験した。

放射能回収率は97.5~104.8%であり、CO₂無機化率は27.8%であった。チオシクロラムのDT50は1.5日、DT90は4.8日であり、急速に分解した。

主要代謝物は
であり、最大68.9%が検出されたが、122日後には27.6%
となった。
のDT50は、80.1日であった。

チオシクロラムの主要代謝経路は、
の生成で
あった。さらに代謝によりCO₂、あるいは土壌結合型残留物が生成した。

2) 好気土壌 (資料 IX-8、IX-48頁)、(資料 IX-9、IX-58頁) (資料 IX-10、IX-59頁)

畑地土壌()を用いて乾土重あたり、3.5 mg/kgで施用して、好氣的条件下で試験した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

放射能回収率は93.4～105.8%であり、CO₂無機化率は38.3%であった。チオシクラムのDT50は2.8日、DT90は9.3日であり、急速に分解した。

主要代謝物は であり、最大27.4%検出された。 は最大4.5%検出されたが14日後以降は0.1%以下となった。 のDT50は、57.8日であった。

ドイツの土壌を用いた試験でもチオシクラムは速やかに分解され、
及び土壌結合型残留物が生成した。

以上より、好気条件土壌でのチオシクラムの主要代謝経路は、
ならびに土壌結合型残留物の生成であり、
はCO₂にまで無機化された。

水中：

1) 加水分解 (資料 IX-11、IX-60頁)

pH 4, 7, 9で実施した加水分解性試験において、チオシクラムは25°CのpH 4及び9水溶液中では安定であったが、pH 7では分解が認められた。そこで、pH 7の滅菌緩衝液を用いて設定濃度1 µg/L、25 °Cで30日間試験した。放射能の回収率は95.3～99.9%であった。

pH 7緩衝液におけるチオシクラムのDT50 は301日であり、分解は緩やかであった。30日後における主要残留物はチオシクラム (85.4%) であり、 が最大で4.8%認められた。

チオシクラムは中性の加水分解条件下において減衰し、 が生成された。

2) 水中光分解 (資料 IX-12、IX-64頁)

自然水 (池水) 及びpH 5緩衝液を用いて、設定濃度1 mg/L、25 °Cで72時間 (自然水) 及び48時間 (pH 5緩衝液) 試験した。その結果、放射能の回収率は92.3～101.0%であった。チオシクラムはいずれの試験水中でも急速に分解し、自然水では72時間後に0.2%に、pH 5緩衝液では48時間後に6.0%になった。主要分解物は

であり、それぞれ最大4.8～8.3%及び4.9～15.0%になった。

CO₂無機化率は3.0～10.6%であった。

チオシクラムの半減期は自然水で9時間、pH 5 緩衝液で11時間であり、東京の春の太陽光下におけるチオシクラムの半減期は、自然水で2.3日、pH 5緩衝液で2.9日と推定された。

チオシクラムは光によって、 に速やかに分解した。

以上、総括すると、チオシクラムは動植物体内、土壌中及び水中において急速、かつ徹底的に代謝・分解されることが判った。また、いずれの代謝物も環境中において残留物として重要な量に達することはないと考えられる。

以上の代謝分解経路を次頁の図に示した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

チオシクロラムの動植物等における代謝分解経路図

代謝分解の概要

①動物代謝（単位は対投与放射能[%AD]）

代謝分解物			A (親化合物)	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	未同定 その他	非 抽出物	¹⁴ CO ₂		投与量に 対する回 収率(%)	
動物	ラット	糞	0~72時間後																
		尿	0~24時間後																
		呼気	0~50時間後																
	臓器	血液	48時間後																
		肝臓	48時間後																
		腎臓	48時間後																

空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

注) 表中の数値は、概要書の表中の数値を2桁に丸めて示した。回収率が100%以上の数値は小数点以下を丸めた。

②植物代謝（上段は総残留放射エネルギー[mg/kg]、下段は対総放射性残留物[%TRR]を示す）

代謝分解物				A (親化合物)	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	未同定	非抽出物	¹⁴ CO ₂	合計	投与量に対する回収率(%)		
植物	水稻	玄米	抽出液	14日後																	
		わら	抽出液	14日後																	
	リンゴ	果実	表面洗浄液	抽出液	14日後																
			表面洗浄液			抽出液	30日後														
		葉部	表面洗浄液	抽出液	30日後																
			表面洗浄液			抽出液	14日後														
	ダイコン	根部	抽出液	抽出液	7日後																
			抽出液		14日後																
		葉部	表面洗浄液	抽出液	7日後																
			表面洗浄液			抽出液	14日後														
			表面洗浄液	抽出液	14日後																
			表面洗浄液			抽出液	14日後														
	インゲン豆	茎葉		抽出液	28日後																

空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

注) 表中の数値は、概要書の表中の数値を2桁に丸めて示した。回収率が100%以上の数値は小数点以下を丸めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

③ 土壌中運命 (単位は対施用放射能 [%AR])

代謝分解物	A (親化合物)	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	未測定	非抽出物	¹⁴ C ₂		投与量に 対する 回収率(%)	
																	土壌
代謝分解物	0日後																
	3日後																
	7日後																
	14日後																
	31日後																
	60日後																
	122日後																
	0日後																
	1日後																
	3日後																
好氣的土壌 (久喜土壌)	7日後																
	14日後																
	30日後																
	62日後																
	121日後																
	21日後																
	21日後																
	土壌A (Neuhofen土壌)																
	土壌B (Hatzenbühl土壌)																

空欄は当該試験において認められなかったことを示す。
注) 表中の数値は、概要書の表中の数値を2桁に丸めて示した。回収率が100%以上の数値は小数点以下を丸めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

④水中運命（単位は対施用放射能 [%AR]）

代謝分解物		A (親化合物)	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	未測定 その他*	非 抽出物	¹⁴ C O ₂	投与量に 対する回 収率(%)	
加水分解	pH 7	0 H 後															
		3 日 後															
		7 日 後															
		11 日 後															
		18 日 後															
		24 日 後															
		30 日 後															
		0 時 間 後															
		3 時 間 後															
		6 時 間 後															
水中光分解	pH 5	14 時 間 後															
		24 時 間 後															
		36 時 間 後															
		48 時 間 後															
		0 時 間 後															
		3 時 間 後															
		6 時 間 後															
		16 時 間 後															
		24 時 間 後															
		48 時 間 後															
白然水	白然水	72 時 間 後															
		0 時 間 後															
		3 時 間 後															
		6 時 間 後															
		16 時 間 後															
		24 時 間 後															
		48 時 間 後															
		0 時 間 後															
		3 時 間 後															
		6 時 間 後															

na:適川なし

*:揮発性有機物を含む

空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

注) 表中の数値は、概要書の表中の数値を2桁に丸めて示した。回収率が100%以上の数値は小数点以下を丸めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

チオシクロムの開発年表