

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

### 3. 土壌における運命

#### 土壌における代謝及び分解試験

(資料番号 5)

試験実施機関：Covance Laboratories Limited (英国) (GLP対応)

報告書作成年：1997年

被験物質：非放射性被験物質 アセフェート

化学名；O,S-ジメチル-N-アセチルホスホロアミドチオエート

放射性被験物質

(<sup>14</sup>C)-MBI-951

試験土壌：

用いた土壌は5種で下記に試験目的及び特徴をまとめた。

	A群	B群	C群	D群	E群	F群
土壌の名称	PT102	PT103	PT070	SK961089	23-GA-65	PT070
土壌分類(USDA)	砂壤土 (sandy loam)	砂壤土 (sandy loam)	シルト質壤土 (silt loam)	壤土 (loam)	壤質砂土 (loamy sand)	シルト質壤土 silt loam
土壌分類(BBA)	壤質砂土 (loamy sand)	壤質砂土 (loamy sand)	砂壤土シルト (sandy silt loam)	砂質埴壤土 (sandy clay loam)	壤質砂土 (loamy sand)	砂壤土シルト sandy loam
土壌産生国	英国	英国	英国	英国	米国	英国
試験目的	分解経路	分解率	分解率	分解率	分解率	分解率
保存温度	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	10℃
有機物含量(%)	3.4	2.4	3.8	5.7	1.2	3.8
pH(水中)	7.1	5.4	6.4	7.7	6.0	6.4
粘土含量	11	13	12	26	5.2	12

試験方法：

#### 1. 放射性被験物質及び非標識被験物質の調製

(<sup>14</sup>C)-アセフェート24.2mgを水8.1mlに溶解して調製した。

非標識アセフェート1.0mgを水3.3mlに溶解して調製した。

#### 2. 施用量、施用方法及び施用時期

50gの土壌(乾燥重量相当)を入れたA、B、C、D及びF群の20個の又、E群の26個のインキュベーションユニットに、(<sup>14</sup>C)-アセフェート(155.2µg; 13.66µCi; 約3kg ai/haに相当)の一定量(53µl)を土壌表面に施用し、十分に混合した。更に非標識アセフェートの一定量(150µg)を4個のユニットに処理し、試験終了時に土壌微生物バイオマスの定量に用いた。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及びSinon Corporationにある。

### 3. インキュベーション条件

被験物質施用後ユニットを59日間暗所に $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ (F群は $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ )で保持した。

炭酸ガスを含む空気のない空気を各ユニットに導入し、流出空気を連続した一連のトラップ(安全のための空のトラップ、極性及び非極性の揮発性物質のエタンジオール及び2%パラフィンキシレン溶液のためのトラップ、炭酸ガス収集のための2個の0.5M水酸化ナトリウムトラップ)を通した。

### 4. 試料の調製及び分析

被験物質施用の0(処理直後)、1、6、9、14、28及び59日後に土壌を採取した。土壌試料の抽出は下記の図に従った。

#### 土壌

全ての抽出物はLSCにより測定し、固体の残渣は風乾後、燃焼させた後にLSCにより放射能の定量をした。

施用した放射能の10%以上(AからD群及びF群)及び土壌1g当たりアセフェート換算で $0.01\mu\text{g}$ 以上(E群)を含有する抽出物をTLC及びHPLCで分析した。A群(6日後)及びD群(3日後)のExt.1試料についても施用放射能の10%以下であったが、 $DT_{50}$ 及び $DT_{90}$ を推定するために分析した。

非標識アセフェートの参照標準液は、標識化合物と共にクロマトグラム同時分析し、UV検出器を用いて215nmで検出し、標識化合物は放射能モニターで検出した。

TLC分析は酢酸エチル:メタノール:水:アンモニア(60:15:5:1)を溶媒として展開し、TLC板上の放射能領域を特定して、リニアアナライザーを用いて定量した。非標識化合物はヨウ素蒸気で可視化した。

トラップ溶液中の放射能は、分析時にユニットを除去したその都度LSCで定量した。水酸化ナトリウム中の炭酸ガスの存在は、トラップの試料の一部を遠心管に移し、塩化バリウムの飽和水溶液を

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

沈殿が消えるまで滴下して確認し、その後遠心分離し、得られた上澄み液の一部を採取してLSCにより放射能の定量をした。

抽出不可能な放射性の土壌残渣に関しては、各土壌の6及び59日目の試料Aについて更に次頁の様に抽出し、フミン、フミン酸及びフルビン酸中の放射能の分布を調査した。フルビンプラクシオンはジクロルメタンで分配し、有機溶媒可溶及び水溶性放射能に分離し分析した。

#### 土壌残渣

全ての液体試料中の放射能の定量は、直接シンチラントに添加してLSCにより計測した。抽出後風乾した土壌試料は粉碎し、バイオロジカルサンプルオキシダイザーを用いて酸素中で燃焼させLSCで放射能を定量した。

#### 結 果:

##### 1. 施用放射能の回収率

処理群A、B、C、E及びFからの放射能の合計回収率の平均値は、試料採取各時期で92.0%を越えた。D群では85.0%から91.2%の範囲であったが、これは早い試料採取時期に放射能標識の炭酸ガスが急激に生成されて損失が生じたためである。

##### 2. 施用放射能の分布

表1から6に各土壌のマテリアルバランスの2連の平均値を示した。

全処理群で、検体処理直後の施用放射能の97.0%以上がアセトニトリル:水(7:3、v/v)中に抽出された。アセトンでは1.0%、抽出不可能残渣が1.0%であった。アセトニトリル:水(7:3、v/v)中に抽出される量はその後急速に減少し、59日後には施用放射能の1%以下になった。抽出不可能残渣中の放射能は施用後増加した。水酸化ナトリウムトラップ中に回収された放射能は、AからE群では施用後急激に増加し、6日後に40%以上、59日後には70%以上の量が検出された。エタンジオール及びパラフィン/キシレントラップ中には少量しか回収されず、各採取時期で1.0%以下であった。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及びSinon Corporationにある。

表1 A群のマスバランス

採取 時期	土 壌 中					揮発性物質トラップ中					マ ス バ ラ ンス
	液体抽出			残 渣	合 計	Ethan.	Par /xy.	NaOH1	NaOH2	合 計	
	Ext.1	Ext.2	Ext.3								
0日	93.5	5.2	1.2	0.6	100.4	NA	NA	NA	NA	NA	100.4
1日	64.8	3.8	0.9	5.3	74.8	0.1	0.1	21.3	0.1	21.7	96.4
3日	23.9	1.5	0.3	12.8	38.5	0.1	0.3	58.7	0.1	59.1	97.6
6日	3.2	0.4	0.1	16.6	20.4	ND	0.2	74.8	0.3	75.2	95.6
9日	0.9	0.2	0.1	17.0	18.2	ND	0.2	77.1	0.5	77.7	95.9
14日	0.8	0.2	0.1	16.3	17.3	ND	0.2	81.0	0.9	82.1	99.5
28日	0.6	0.2	0.1	15.3	16.1	ND	0.2	77.7	0.1	78.0	94.1
59日	0.5	0.1	0.1	13.8	14.5	ND	0.2	79.7	0.7	80.6	95.1

報告書の表1から転記。

注：2回の平均値のため、合計値およびマスバランスの値に僅かに本表の合計値と異なる場合がある。

NA；データなし、ND；検出されず、

Ext.1；アセトリル：水(3:1)で抽出

Ext.2；アセトリル：水(3:1)で抽出(2回目)

Ext.3；上記の抽出残渣をアセトンで抽出

Ethan.；Ethanediol、Para/xy；2%パラフィンキシレン溶液

表2 B群のマスバランス

採取 時期	土 壌 中					揮発性物質トラップ中					マ ス バ ラ ンス
	液体抽出			残 渣	合 計	Ethan.	Par /xy.	NaOH1	NaOH2	合 計	
	Ext.1	Ext.2	Ext.3								
0日	94.7	3.8	0.7	0.4	99.6	NA	NA	NA	NA	NA	99.6
1日	85.5	3.6	0.7	2.1	91.9	ND	0.1	7.3	ND	7.4	99.4
3日	63.8	2.8	0.5	6.4	73.5	ND	0.1	22.6	1.7	24.4	97.8
6日	34.0	1.8	0.3	12.1	48.1	ND	0.1	47.8	0.2	48.1	96.2
9日	18.4	1.2	0.2	16.4	36.3	ND	0.1	52.2	6.2	58.5	94.8
14日	4.1	0.4	0.1	19.8	24.5	ND	0.1	69.6	0.8	70.5	95.1
28日	1.1	0.3	0.1	19.0	20.4	ND	0.1	71.1	0.7	71.9	92.4
59日	0.9	0.2	0.1	17.3	18.5	ND	0.1	71.4	2.1	73.6	92.1

報告書の表2から転記

注：表1と同じ

表3 C群のマスバランス

採取 時期	土 壌 中					揮発性物質トラップ中					マ ス バ ラ ンス
	液体抽出			残 渣	合 計	Ethan.	Par /xy.	NaOH1	NaOH2	合 計	
	Ext.1	Ext.2	Ext.3								
0日	92.8	5.2	1.2	0.6	99.7	NA	NA	NA	NA	NA	99.7
1日	85.1	4.9	1.2	2.6	93.8	0.1	ND	5.6	0.1	5.8	99.6
3日	65.4	4.0	0.9	7.6	77.8	0.1	0.1	20.5	0.1	20.6	98.5
6日	38.6	2.5	0.6	14.5	56.3	ND	0.1	40.1	0.1	40.3	96.5
9日	20.8	1.5	0.4	19.4	42.1	ND	0.1	53.5	0.2	53.9	95.9
14日	3.6	0.5	0.2	24.6	28.8	ND	0.1	67.0	1.3	68.4	97.3
28日	1.1	0.3	0.1	23.4	24.8	ND	0.1	65.6	1.9	67.6	92.4
59日	0.8	0.2	0.1	20.5	21.5	ND	0.1	70.7	1.0	71.8	93.4

報告書の表3から転記

注；表1と同じ

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及びSinon Corporationにある。

表4 D群のマスバランス

採取 時期	土 壤 中					揮発性物質トラップ中					マ ス バ ラ ンス
	液体抽出			残 渣	合 計	Ethan.	Par /xy.	NaOH1	NaOH2	合 計	
	Ext.1	Ext.2	Ext.3								
0日	90.1	6.9	1.7	1.1	99.7	NA	NA	NA	NA	NA	99.7
1日	22.2	2.3	0.6	12.5	37.5	0.6	0.7	33.4	0.4	35.1	72.6
3日	1.4	0.4	0.2	15.3	17.2	0.1	0.7	68.1	0.2	69.1	86.3
6日	0.6	0.2	0.1	14.3	15.0	ND	0.3	64.7	5.4	70.5	85.5
9日	0.4	0.1	0.1	14.1	14.7	ND	0.3	69.4	0.7	70.4	85.0
14日	0.4	0.1	0.1	13.4	13.9	ND	0.3	76.5	0.4	77.3	91.2
28日	0.3	0.1	ND	12.5	12.9	ND	0.7	75.7	0.8	77.2	90.1
59日	0.3	0.1	ND	11.4	11.8	ND	0.6	73.9	1.5	76.0	87.7

報告書の表4から転記  
注;表1と同じ

表5 E群のマスバランス

採取 時期	土 壤 中					揮発性物質トラップ中					マ ス バ ラ ンス
	液体抽出			残 渣	合 計	Ethan.	Par /xy.	NaOH1	NaOH2	合 計	
	Ext.1	Ext.2	Ext.3								
0日	97.3	2.5	0.4	0.2	100.4	NA	NA	NA	NA	NA	100.4
1日	82.6	2.8	0.6	3.6	89.6	0.1	0.2	9.9	0.1	10.3	99.8
3日	48.2	1.9	0.5	10.0	60.5	0.3	0.9	36.2	0.1	37.5	98.0
6日	11.7	0.9	0.3	14.9	27.8	0.2	1.3	64.6	0.1	66.1	93.9
9日	7.7	0.6	0.3	15.3	23.9	0.1	0.8	70.8	0.5	72.2	96.1
14日	1.6	0.3	0.1	16.3	18.3	0.2	1.4	75.2	0.2	76.9	95.1
28日	1.0	0.2	0.1	15.0	16.4	0.2	1.1	75.8	0.2	77.2	93.5
59日	0.9	0.2	0.1	14.3	15.5	0.2	1.3	79.3	0.6	81.4	96.9

報告書の表5から転記  
注;表1と同じ

表6 F群のマスバランス

採取 時期	土 壤 中					揮発性物質トラップ中					マ ス バ ラ ンス
	液体抽出			残 渣	合 計	Ethan.	Par /xy.	NaOH1	NaOH2	合 計	
	Ext.1	Ext.2	Ext.3								
0日	92.6	5.3	1.2	0.7	99.7	NA	NA	NA	NA	NA	99.7
1日	88.8	5.2	1.2	1.5	96.7	ND	ND	2.5	0.1	2.6	99.3
3日	80.2	4.8	1.1	3.9	90.0	ND	ND	9.6	0.1	9.7	99.7
6日	65.9	3.9	1.0	8.3	79.0	ND	ND	4.2	ND	4.3	83.3
9日	45.4	2.9	0.8	12.7	61.7	ND	0.1	31.8	0.3	32.2	93.9
14日	29.4	2.1	0.5	16.6	48.6	ND	0.1	48.4	0.6	49.1	97.7
28日	5.6	0.6	0.2	22.7	29.2	ND	ND	67.2	0.2	67.5	96.6
59日	1.1	0.3	0.1	21.7	23.2	ND	0.1	71.8	0.3	72.2	95.4

報告書の表6から転記  
注;表1と同じ

### 3.抽出放射能の特徴

施用直後の抽出試料中に存在した放射能の主成分は、TLC及びHPLC分析により未変化のアセフェートであることが判明した。その後急激に減少した。表7及び8にTLC及びHPLCで各土壌の試料採取各時期のアセフェートの量を示した。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

第7表 TLC分析による各土壌中のアセフェートの量

試料 採取時期	20℃					10℃
	A群	B群	C群	D群	E群	F群
0日	98.9	97.1	96.3	92.1	96.7	96.3
1日	63.3	81.7	81.6	9.7	79.0	89.4
3日	20.1	50.6	57.7	<0.1	42.2	77.9
6日	2.0	17.7	26.8	NA	8.8	59.4
9日	NA	6.8	13.2	NA	5.3	37.5
14日	NA	0.5	1.1	NA	0.5	22.3
28日	NA	NA	NA	NA	0.1	NA
59日	NA	NA	NA	NA	0.1	NA

報告書 表21から転記 NA; データなし。

第8表 HPLC分析による各土壌中のアセフェートの量

試料 採取時期	20℃					10℃
	A群	B群	C群	D群	E群	F群
0日	98.7	97.1	96.1	92.5	96.7	96.5
1日	62.9	80.6	80.0	9.7	78.8	89.4
3日	20.1	49.5	57.1	ND	41.9	77.0
6日	2.1	17.1	26.3	NA	8.9	58.0
9日	NA	6.2	12.4	NA	5.6	36.2
14日	NA	0.5	1.1	NA	0.6	21.7
28日	NA	NA	NA	NA	0.1	NA
59日	NA	NA	NA	NA	0.1	NA

報告書 表22から転記 NA; データなし、ND; 検出されず(施用放射能の0.05%未満)。

代謝物であるメタミドホス及び未同定の代謝物が最高3物質が全処理群のTLC及びHPLCで認められた。メタミドホスを含めたこれら代謝物の最大量を表9(TLCの結果)及び表10(HPLCの結果)に要約した。

第9表

第10表

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

これらの物質は上記に示した最大量に達した後、土壤抽出物中に存在する放射能の量の低下に伴い減少した。

#### 4. 抽出不可能土壤残渣のフラクション分け

各処理群のアセトニトリル:水(7:3, v/v)及びアセトン抽出で抽出されずに残存した放射能の性質を6日目及び59日目の土壤を用いて調査した結果を表11(6日目及び59日目土壤)に示した。水中で還流して得た抽出溶液中には、6日目の残渣では施用放射能の2.3%から4.6%、59日目の残渣では2.6%から5.5%が検出された。処理群C及びEの水中還流抽出液の放射能をTLC及びHPLCで検討した結果、HPLCでは極性物質のみが検出されたが、TLC分析では施用放射能の約2.0%がアセフェートとして検出された。

第11表 6日目及び59日目の土壤結合残渣のフラクション別の割合

処理群	残渣 (施用%)		温水 抽出		フミン フラクション		フルビン酸 フラクション		フミン酸 フラクション		回収率	
	6	59	6	59	6	59	6	59	6	59	6	59
A	16.7	13.8	4.6	3.2	5.1	4.7	3.2	3.0	3.1	2.3	95.9	96.0
B	12.4	17.2	3.4	4.3	3.2	4.6	3.2	4.9	2.2	2.8	96.9	97.0
C	14.1	20.1	3.6	4.8	4.0	5.6	2.6	4.1	3.4	4.8	96.0	96.0
D	15.3	11.7	3.5	2.6	6.4	5.4	3.2	2.3	0.9	0.8	91.3	94.0
E	14.7	14.1	4.1	3.2	3.7	4.0	3.6	3.5	2.4	2.4	93.7	92.8
F	8.1	21.6	2.3	5.5	2.0	5.7	1.4	4.8	2.0	5.7	95.3	100.5

報告書の表25及び26から作成

#### 5. 分解率

表7及び8に示したアセフェートの量から各処理群のDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>を計算により求めた。処理群Dでは、急激な分解が認められ、回帰分析を実施するのに十分なデータが得られなかったが、TLC及びHPLC分析で得られた結果を吟味してDT<sub>50</sub>は1日以内、DT<sub>90</sub>は3日以内と推定した。その結果を第12表にまとめた。

第12表 親化合物(アセフェート)のDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>

土壤群	A	B	C	D	E	F
DT <sub>50</sub>	1.3日	2.6日	3.2日	<1日*	2.1日	6.7日
DT <sub>90</sub>	3.7日	7.9日	10.4日	<3日*	6.4日	21.8日

\*; 推定値、数字はTLC分析の結果

10℃に保持したF群のDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>の値は、同じ土壤を20℃に保持したC群の値の約2倍を示した。

#### 結 論:

アセフェートは20℃下で5種類の全土壤中迅速に分解され、DT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>の値は夫々1日から3.2日及び3日から10.4日以内の範囲であった。

10℃に保持した場合は、DT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>の値は同じ土壤を20℃に保持した場合の2倍であった。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

放射能の回収率はD群土壌(壤土)を除いて91.4%から103.0%の範囲であった。D群土壌の回収率は71.6%から99.9%であったが、これは処理後の早い時期に二酸化炭素及び揮発性物質として消失したためと考えられた。

主要な分解物は二酸化炭素で、59日目には施用放射能の71.7%から80.4%に達した。放射能の残りは抽出不可能な残渣として存在した(11.4%から21.7%)。この残渣のフラクション分けでは、放射能は全ての土壌フラクション(フミン、フミン酸及びフルビン酸)に分布していた。

試料採取の早い時期では、未変化のアセフェート、  
が確認された。

アセフェート(MBI-951)を好氣的条件下での土壌代謝経路は下図の様に推定された。括弧内の数字は試料中に認められた各物質の施用放射能に対する最大の割合を示す。

アセフェート



本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

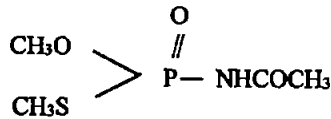
4. 土壌吸着試験

(資料番号 6)

試験実施機関：化学分析コンサルタント  
報告書作成年：1999年

供試化合物：

一般名：アセフェート  
化学名：O,S-ジメチル-N-アセチルホスホロアミドチオエート  
化学構造：



供試土壌：

試料番号	14	15	18	20
土壌群名	褐色火山灰土	灰色台地土	沖積鈣質土	砂丘未熟土
採取場所	日植防研牛久	愛知農総試	日植防研高知	日植防研宮崎
土性	SiCL	SCL	LiC	LS
砂 %	26.2	68.0	47.6	86.0
シルト %	50.9	14.5	27.2	7.1
粘土 %	22.9	17.5	25.2	6.9
有機炭素含有率%	2.25	1.11	1.33	1.5
H <sub>2</sub> O	6.8	6.6	6.5	5.9
pH KCl	5.9	6.0	6.4	5.3
0.01M CaCl <sub>2</sub>	5.6	—	—	5.4
陽イオン交換容量 (me/100g)	21.4	7.9	10.2	9.7
リン酸吸収係数	2300	290	370	1030
粘土鉱物の種類	アロフェン パーミキュライト	カオリン鈣物 イライト	クロライト イライト	アロフェン ハロイサイト
水分 (%)	13.2	1.4	1.8	3.4

試験方法：

平衡化試験：

試験溶液の作成；アセフェート100.0mg(純度換算相当量)を正確に秤取り、アセトンに溶解して100mlとし、1000µg/ml標準原液を調製した。この原液2mlを1リットル容フラスコに採取し、窒素ガスを通じて乾固させ、0.01M塩化カルシウム溶液1リットルを加えて30分間攪拌後ろ過し、2µg/mlの試験溶液を調製した。実質濃度を3連制で分析した平均分析濃度は、2.00µg/mlであった。

供試土壌の調製；50ml容共栓付遠沈管に各試験土壌5gを秤取り、5mlの純水を添加して密栓後24時間(25±2℃)放置して平衡させた。その後各土壌に試験溶液20mlを加えて密栓後、恒温槽(25±1℃)内で16、24、32及び48時間振とうさせた。対照として土壌を添加しない試験溶液を同様に用意し、同様の操作を行った。振とう終了後、恒温槽から遠沈管を取出し、20分間、3000rpmで遠心分離し、水相15mlを活性炭カートリッジに分離し、アセフェートの濃度を測定した。各土壌について2連制で実施した。

吸着平衡化時間の測定；各振とう時間(16、24、32及び48)後の水相中のアセフェートの濃度の変化率を下記の式により求め、変化率が10%以内となった振とう時間を平衡化時間とした。各試験土壌におけるアセフェートの濃度の減衰及び変化率を次の図及び表に示した。これらの結果から、本試験における平衡化時間は48時間とした。

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

試料番号	初期添加量 (μg)	振とう時間(hr)	平均水相中濃度(μg/ml)	変化率 (%)
14	40.00	16	1.50	—
		24	1.48	- 1
		32	1.36	- 8
		48	1.39	2
15	40.00	16	1.56	—
		24	1.57	1
		32	1.48	- 6
		48	1.44	- 3
18	40.00	16	1.52	—
		24	1.40	- 8
		32	1.51	8
		48	1.45	- 4
20	40.00	16	1.43	—
		24	1.46	2
		32	1.33	- 9
		48	1.40	5

高次試験：

試験溶液の作成；アセフェート100.0mg(純度換算相当量)を正確に秤取り、アセトンに溶解して100mlとし、1000μg/ml標準原液を調製した。この原液5mlを1リットル容フラスコに採取し、窒素ガスを通じて乾固させ、0.01M塩化カルシウム溶液1リットルを加えて30分間攪拌後ろ過して5μg/mlの試験溶液を調製した。実質濃度を3連制で分析した平均分析濃度は4.65μg/mlであった。0.01M塩化カルシウム溶液を用いてこの試験溶液の5、25及び125倍希釈液を夫々50ml調製した。夫々の濃度は、0.930、0.186及び0.0372μg/mlと算出された。

供試土壌の調製；50ml容共栓付遠沈管に各試験土壌5gを秤取り、5mlの純水を添加して密栓後、24時間(25±2℃)放置して平衡化させた。その後各土壌に上記で調製した4濃度の試験溶液20mlを加えて密栓後、恒温槽(25±1℃)内で48時間振とうさせた。対照として土壌を添加しない試験溶液及び各土壌に0.01M塩化カルシウム溶液を20ml添加したものを用意し、同様の操作を行った。振とう終了後、恒温槽から遠沈管を取り出し、20分間3000rpmで遠心分離して水相15mlを活性炭カートリッジに分取し、アセフェートの濃度を測定した。各土壌について2連制で実施した。得られた水相中のアセフェートの濃度と仕込んだ水の量(純水5ml+試験溶液20ml+試験土壌5g中の水分量)から、アセフェートの量(μg)を算出し、次式により土壌吸着量を求めた。

$$\text{土壌吸着量} = (\text{添加したアセフェートの量}) - (\text{水相のアセフェートの量})$$

吸着平衡定数( $K_F^{\text{ads}}$ )及び吸着指数(1/n)は次式により求めた。

$$X/m = K_F^{\text{ads}} \cdot C_e^{1/n}$$

$$\text{Log}(X/m) = \text{log } K_F^{\text{ads}} + 1/n \cdot \text{log } C_e$$

X：吸着量 (μg)

m：土壌の重量 (g)

$K_F^{\text{ads}}$ ：吸着平衡定数

$C_e$ ：平衡時の水相濃度

1/n：吸着指数

有機炭素吸着係数( $K_F^{\text{ads}}_{\text{oc}}$ )は次式により計算した。

$$K_F^{\text{ads}}_{\text{oc}} = K_F^{\text{ads}} \cdot 100/\text{OC}\%$$

OC%：有機炭素含有率

物質収支；遠沈管の固相をアセトン100ml、純水30mlを用いて300ml容分液漏斗に移し、固相中のアセ

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

フェートの量を分析した。水相及び固相中のアセフェートの量から試験系における物質収支を算出した。

分析方法 :

抽出 ; 水相 遠心分離後の水相15mlを活性炭カートリッジに分取し、バキュームマニホールドを用いて流速10~15ml/minで流下させた後、純水10mlで洗浄した。次いで5分間通気乾燥後、メタノール10mlを流下させ、アセフェートを溶離した。この液に2%ジエチルグリコール/アセトン溶液0.5mlを加え、約2mlまで減圧濃縮後通風乾固させ、4mlのアセトンに溶解したものを測定溶液とした。

固相 ; 遠心分離後の固相をアセトン100ml及び純水30mlを用いて300ml容分液漏斗に移し、30分間振とう後吸引ろ過した。ろ液を800ml容ナスフラスコに受け、残渣をアセトン50mlで2回洗浄し、ろ液と洗浄液を合わせ、アセトンがなくなるまで減圧濃縮した。濃縮後活性炭カートリッジに分取し、バキュームマニホールドを用いて流速10~15ml/minで流下させた後、純水10mlで洗浄した。次いで5分間通気乾燥後、メタノール10mlを流下させ、アセフェートを溶離した。この液に2%ジエチルグリコール/アセトン溶液0.5mlを加え、約2mlまで濃縮減圧後通風乾固させ、4mlのアセトンに溶解したものを測定溶液とした。

分析操作 : 分析は下記の装置・条件を用いてガスクロマトグラフにより実施した。

機種 : ヒューレッド・パッカー製 5890 (NPD)  
充填剤 : SPB-5  
カラム : 内径 0.53mm、長さ 30m、膜厚 0.5 $\mu$ m  
温度 : カラム 145 $^{\circ}$ C、注入口 280 $^{\circ}$ C、検出器 280 $^{\circ}$ C  
ガス流量 : ヘリウム 66kPa、水素 3ml/分、空気 100ml/分  
感度 : Range 2、  
データ処理装置アテネター 6  
チャートスピード : データ処理装置 5mm/分

前記で調製した測定液を残留量に応じて0.25%エチルグリコール/アセトン溶液で希釈し、その各4 $\mu$ lをガスクロマトグラフに注入し、あらかじめ作成した検量線を用いて水相及び固相のアセフェート濃度を算出した。

結果 : 水相からの平均回収率は、89.2%~96.6%、固相では88.7%~101%であった。対照区の回収率は87.8%~99.5%であった。平衡化試験では、土壌への吸着が殆ど認められなかったため、平衡化時間の設定が出来なかった。そのため参考値を得るために、平衡化時間を48時間として、高次試験を実施した。結果を次頁からの表及び図に示した。

吸着平衡定数は、0.0565~0.333、相関係数は、0.826~0.944であった。対照区の回収率は、81.6%~98.0%であった。

物質収支は2番目に高い濃度溶液(0.930 $\mu$ g/ml)を用いて計算したが、平均回収率で、93.6%~100%の範囲であった。

また、有機炭素吸着係数は、3.77~21.4であった。

有機炭素含有率0%に対して吸着平衡定数を相関させたときの傾きである土壌吸着平衡定数は、9(相関係数0.381)であった。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

高次試験結果

試料番号	初期添加量 (µg/ml)	水相濃度 (µg/ml)	固相濃度 (µg/g)	吸着平衡定数 ( $K_F^{ads}$ )	吸着指数 (1/n)	相関係数 (r)
14	0.744	0.02572	0.01930	0.333	0.743	0.944
		0.02278	0.03697			
	3.720	0.1371	0.04581			
		0.1330	0.07023			
	18.60	0.7060	0.1069			
		0.6594	0.3860			
93.00	3.400	1.306				
	3.473	0.8720				
15	0.744	0.02442	0.02693	0.231	0.809	0.848
		0.02474	0.02530			
	3.720	0.1442	0.02061			
		0.1447	0.01816			
	18.60	0.7333	0.04081			
		0.7513	*			
93.00	3.376	1.687				
	3.463	1.240				
18	0.744	0.02502	0.02367	0.285	0.742	0.916
		0.02494	0.02428			
	3.720	0.1338	0.07387			
		0.1429	0.02734			
	18.60	0.7233	0.09183			
		0.6577	0.4285			
93.00	3.598	0.5510				
	3.426	1.430				
20	0.744	0.02381	0.03000	0.0565	0.279	0.826
		0.02555	0.02104			
	3.720	0.1464	*			
		0.1444	0.01791			
	18.60	0.7293	0.4791			
		0.7413	*			
93.00	3.670	0.1083				
	3.740	*				

\* 算出不能

本頁に記載されている情報に係る権利及び責任は丸紅株式会社及びSinon Corporationにある。

物 質 収 支

試料 番号	初期添加 量 (μg)	プラト-到着時の 吸着量 (μg)	平衡溶液中 の量 (μg)	不足量 (μg)	回収率 (%)	
					実測値	平均値
14	18.60	-0.488	18.14	0.46	97.5	94.3
		-0.008	16.94	1.66	91.1	
15		-0.263	18.40	0.20	98.9	100
		-0.026	18.85	-0.25	101	
18		-0.290	18.15	0.45	97.6	93.6
		0.171	16.50	1.93	89.6	
20		-0.376	18.37	0.23	98.8	99.4
		-0.216	18.68	-0.08	100	

吸着平衡定数及( $K_F^{ads}$ )及び有機炭素吸着係数( $K_F^{ads_{oc}}$ )

試料 番号	吸着指数 $1/n$ <sup>1)</sup>	吸着平衡定数 $K_F^{ads}$	相関係数 $\gamma$ <sup>1)</sup>	有機炭素含有 率 OC% <sup>2)</sup>	有機炭素吸着 係数 $K_F^{ads_{oc}}$ <sup>3)</sup>
14	0.743	0.333	0.944	2.25	14.8
15	0.809	0.231	0.848	1.11	20.8
18	0.742	0.285	0.916	1.33	21.4
20	0.279	0.0565	0.826	1.50	3.77

1) フロイントリッヒ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

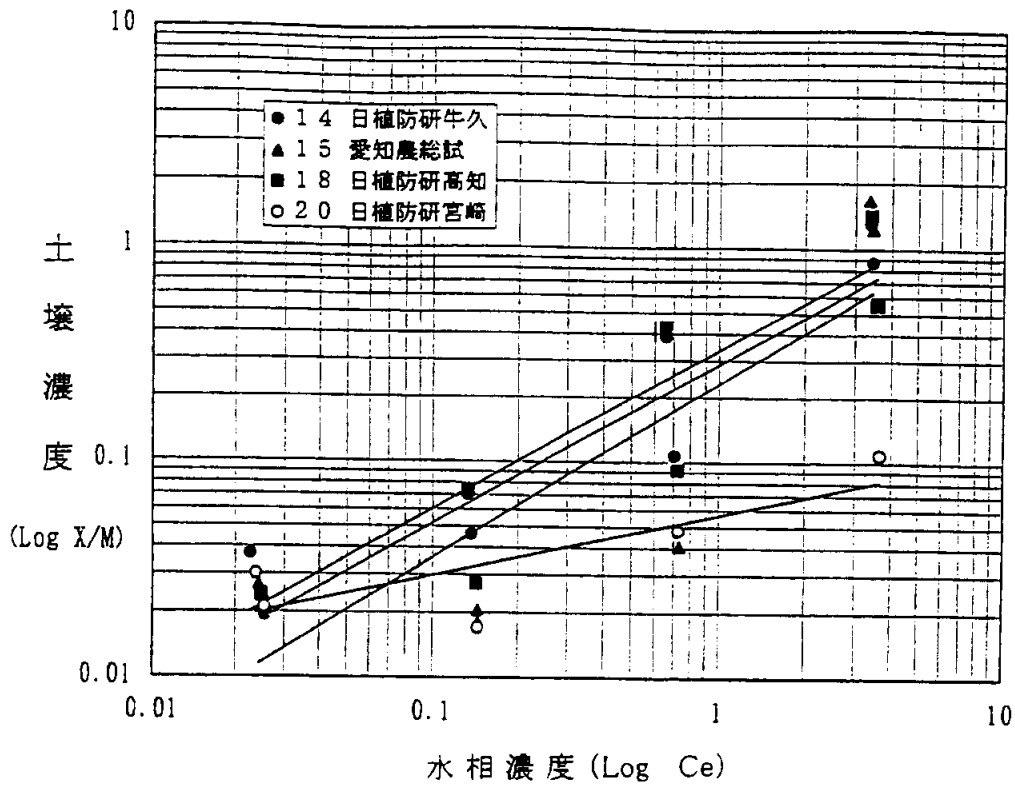
3)  $K_F^{ads}$ を土壌のOC%で割り求めた有機炭素吸着係数( $K_F^{ads_{oc}} = K_F^{ads} \times 100/OC$ )

土壌吸着平衡係数 $K_F^{ads_{oc}}$

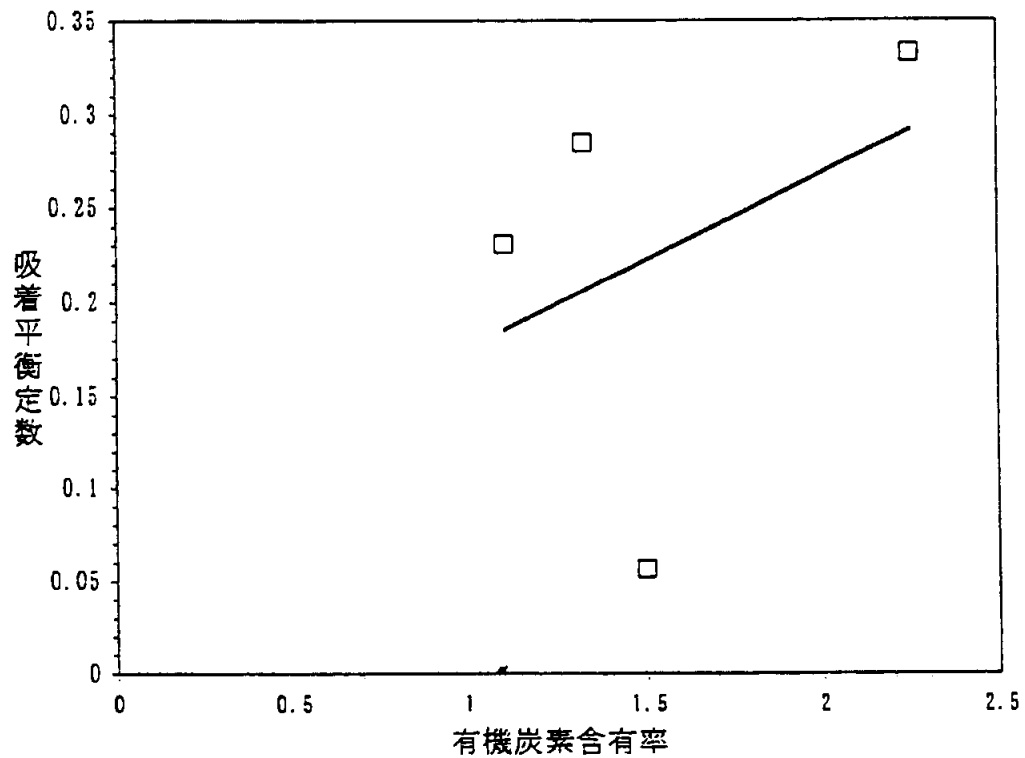
土壌吸着平衡定数 $K_F^{ads_{oc}}$	9
切片 a	0.083
相関係数 $\gamma$	0.381

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及びSinon Corporationにある。

吸着等温線



有機炭素含有率と吸着並行定数



本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は全国農業協同組合連合会にある。

## 5. 水中光分解試験

### ① 自然水中光分解

(資料番号 7-1)

#### MBI-951の自然水中光分解試験

試験実施機関：全農・営農・技術センター  
報告書作成年：2000年

#### 供試化合物：

一般名 ; アセフェート  
化学名 ; O,S-ジメチル-N-アセチルホスホロアミドチオエート  
純度 ; 99.0%以上  
ロット番号 ; MSF9278(和光純薬製)

#### 供試水：

自然水 ; 相模川河川水 (pH ; 6.95)  
採取場所 ; 平塚市四ノ宮  
採取年月日 ; 2000年2月10日  
採取方法 ; 河川の流れるのある所から、金属製容器でガラス容器に採取し、試験時まで5℃で暗所に保管した。

#### 試験装置：

加速暴露試験機 ; サンテスターXF-180(島津製作所)  
キセノンランプ定格 ; 1.8kw  
光フィルター ; 特殊UVフィルター  
放射照度計 ; RADIALUX(島津製作所)  
照度測定用センサー ; 紫外線波長 300~400nm用  
セル ; 合成石英ガラス製、容量50ml、光路長30mm、内径46mm  
高速液体クロマトグラフ ; システム: HP-1100DAD検出器付き(ヒューレットパッカード製)

#### 試験方法：

供試溶液の調製 ; アセフェート1000mgを100ml容褐色メスフラスコに取り、純水(ミリQプラスで処理したもので溶解しながら定容した。この溶液2.5mlを500ml容褐色メスフラスコに取り、供試水で定容した。この調製液はアセフェート50ppm、純水0.5%を含有している。

キセノン照射 ; 供試溶液約50mlを石英セルに入れ、気泡が入らないように密栓し、耐光性試験装置内に設置し、81.0W/m<sup>2</sup>の照度で、2、4、6、8、10、12及び14日間照射した。同時に暗所対照としてアルミホイルで遮光し、同試験装置内に静置した。照射区と同様に、静置後2、4、6、8、10、12及び14日目に一定量を採取した。供試溶液の温度を25℃に維持するために試験装置を14℃の恒温室に置いた。水温測定のために、ガラス製サンプル瓶に水深3cmになる様に水を入れ、これに記録式温度計センサー部を入れ、試験期間中の温度を測定した。

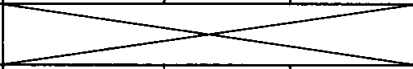
分析操作 ; 各時間照射後にセルを取り出し、溶液の一定量をHPLC用前処理フィルター(日本ミリポア社製: サンプルレップLCR13-LH)でろ過した。1試料について2点の分析試料を調製した。ろ液中のアセフェートを次頁の条件下でHPLCにより分析し、予め作成した検量線から供試溶液中のアセフェートの濃度を求め、2連測の平均値の供試溶液中の初期濃度に対する比率(残存率)を算出した。同時にキセノン照射下におけるアセフェートの半減期を求め、キセノン照度及び自然光照度から自然条件下における半減期を算出した。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は全国農業協同組合連合会にある。

HPLC条件

システム : HP-1100 DAD検出器付(ヒューレットパッカート社製)  
 カラム : Inertsil ODS-3 4.6mmφ × 250mm ステンレス製  
 溶離液 : 0.05%りん酸水溶液 : アセトニトリル(95:5) 1ml/分  
 測定波長 : 220nm

結果 : 試験期間中の水温は23.3~27.0℃の範囲で、平均水温は24.9℃であった。  
 供試溶液中のアセフェートの残存量は以下の通りであった。

キセノン光 照射日数	キセノン光照射試料			暗所対照試料		
	アセフェート 濃度(ppm)	平均値 (ppm)	残存率 (%)	アセフェート 濃度(ppm)	平均値 (ppm)	残存率 (%)
供試水	48.9	48.7	100.0			
	48.5					
2日間	44.9	45.0	92.4	48.4	48.3	99.3
	45.1			48.3		
4日間	41.7	41.7	85.7	47.4	47.5	97.5
	41.7			47.5		
6日間	38.9	39.0	80.1	47.4	47.4	97.3
	39.1			47.3		
8日間	36.6	36.5	75.0	46.8	46.7	95.9
	36.5			46.6		
10日間	34.2	34.1	70.0	46.7	46.7	96.0
	34.0			46.8		
12日間	31.5	31.3	64.2	46.3	46.4	95.2
	31.1			46.4		
14日間	29.5	29.5	60.5	45.8	45.7	94.0
	29.5			45.7		

供試溶液中のアセフェートの残存率は照射時間の経過とともに減少し、14日間のキセノン光照射により約60%までに減少した。

キセノン光照射におけるアセフェートの分解が一次反応によると仮定し、近似式を求め(次頁の図)、供試溶液中における半減期を求めた。半減期は、480.0時間(20日)と計算された。これを5~6月の東京における総日射量(紫外線波長300~400nmの範囲)から次式により換算して、自然環境下における半減期を算出した。また、暗所対照試料中のアセフェートの本試験系の半減期は同様に3940.6時間(164.2日)と計算された。

キセノン光下における半減期 : 480時間(照射強度 : 81.0Wh/m<sup>2</sup>)

キセノン光下における半減期までの露光量(Wh/m<sup>2</sup>) :

$$480.0時間 \times 81.0Wh/m^2 = 38,880 Wh/m^2 \quad \dots a)$$

$$5\sim6月の東京における1日当りの露光量 : 297.4(Wh/m^2/日)* \quad \dots b)$$

\* サンテスターXF-180技術資料による(島津製作所)

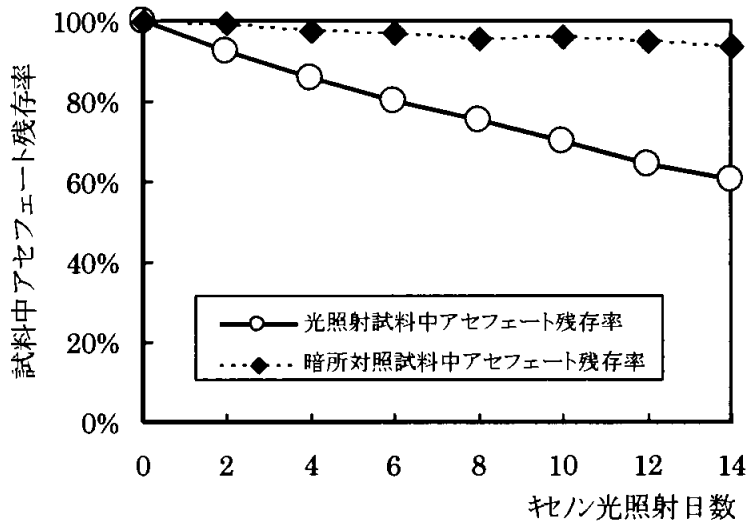
アセフェートの自然環境下における半減期

$$a) / b) = 130.7日$$

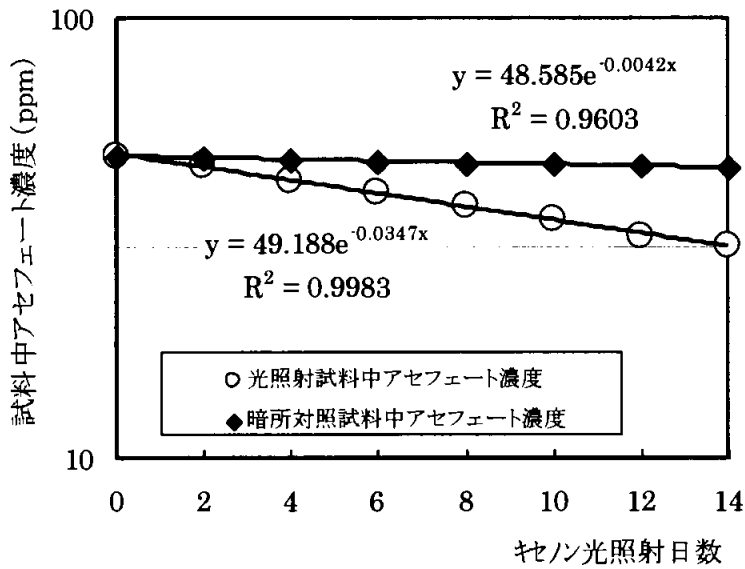
結論 : 神奈川県平塚市の相模川河川水を用いて、キセノンランプを連続照射した結果、自然水中におけるアセフェートの半減期は480時間であった。また、これを5~6月の東京における日射量に換算すると131日に相当した。



本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は全国農業協同組合連合会にある。



自然水中におけるキセノン照射光分解試験



自然水中におけるキセノン照射光分解試験

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

② 自然水中光分解 (資料番号 7-2)

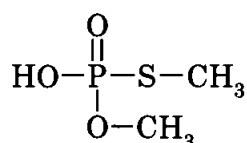
MBI-951の自然水中光分解試験

試験実施機関：Safepfarm Laboratories Limt. (英国)(GLP対応)

報告書作成年：2006年

被験物質：

- 一般名 ; アセフェート原体  
 化学名 ; O,S-ジメチル-N-アセチルホスホロアミドチオエート  
 純度 ;  
 バッチ番号 ;  
 構造式 ;



試験方法 :

供試水；

純水 ; ELGA水精製装置で調製。使用前に0.2 μmの殺菌フィルターを通して殺菌した。

自然水；英国 Shardlow DerbyshireのTrent川から2006年8月16日に採取した。使用前に0.2μmの殺菌フィルターを通して殺菌した。

上記水のpH、伝導度、溶存酸素濃度及び紫外線スペクトルを測定し、更に自然水についてはフィルター通過後の試料について懸濁物、溶存有機炭素及び試料乾燥・蒸発させた後の残渣量を測定した。試験開始前の純水及び自然水の採取時及び試験開始前の物理化学的特性を下表に示した。

測定項目	純水 (フィルター通過後)	自然水	
		フィルター通過前	フィルター通過後
pH	7.68	8.13	—
伝導度	59.0 μ S/cm	—	925 μ S/cm
溶存酸素濃度	7.41 mg O <sub>2</sub> /L	9.65 mg O <sub>2</sub> /L	5.2 mg O <sub>2</sub> /L
懸濁物量	—	—	0.0016 g/L
溶存有機炭素量	—	—	69.9 mg/L
蒸発後残渣量	—	—	714 mg/L

—;測定せず。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

#### 試験水の調製；

被験物質は純水及び自然水に夫々別々に直接溶解して試験水の調製をした。  
最終的な被験物質の濃度は、自然水では10.02mg/L、純水中では10.52mg/Lであった。  
尚、夫々の対照区として被験物質を添加しない純水及び自然水を用いた。  
試験水及び対照水を調製後直ちにそれらの被験物質濃度の分析をした。  
各試験水及び対照水を夫々2つの石英試験容器に入れ、1つは人工光に、他の1つは覆いをして暗黒状態に置いた。  
試験水の温度は $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ に保持した。

#### 光照射

光源 ;光源としてポリクロムランプ(ORSAM、HMI 575 W/SE)を用いた。290nm以下の波長を除去するためにフィルターを用いた。本ランプの290nm以下の波長を除去した場合、自然太陽光のスペクトルと同等の分布を示し、また380nmから780nmの可視域におけるスペクトル分布はキセノンランプと類似したものであった。  
光強度はUV-Aライトメーター(UV Light Technology社製、290~750nm用)を用いて測定したその結果、300~400nmの間で、 $44\text{W}/\text{m}^2$ であった。

照射処理:光照射処理は、試料保持容器、光源及びフィルターを乗せた回転盤を入れた密閉キャビネット内で実施した。回転盤の中央には光源を設置し、その周りに試料容器を置き、各試料が均等に照射されるように配置した。

このキャビネット内の温度を $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ に維持した。

自然水 ;光照射後0.1、0.9、1.1、1.8、2、2.8、4.8及び6日目に光照射試料及び暗黒状態に置いた試料の一部を採取して被験物質濃度の分析をした。照射6日後に、被験物質の約90%が分解したために処理を終了させた。

純水 ;光照射後0.1、0.9、1.1、1.8、2、2.8、4.8、9、13、20、26、33及び40日目に光照射試料及び暗黒状態に置いた試料の一部を採取して被験物質濃度の分析をした。

#### 被験物質濃度の測定；

各試験水中の残存被験物質の量は、HPLCにより分析した。得られた結果と別に用意した検量線から試験水中の被験物質の残存量を算出した。

#### 分解物の同定；

HPLC分析により、被験物質と2つの分解物のピークが明確に認められた純水の照射後26日目の試料についてHPLC-MSにより分析した。自然水中の分解物のピークはバックグラウンドの妨害ピークが大きく、検出できたイオンが分解物のものであることが確認できなかったことから自然水に関してはHPLC-MSによる分析は実施しなかった。

#### 分析

; 検量線作成用の標準溶液、試験水及び分解物の同定に用いたHPLC及びHPLC-MS分析の詳細については最後にまとめて記載した。また光照射した試料中の修正濃度の対数を用いて修正濃度と経過時間について回帰曲線を作成し、 $\text{DT}_{50}$ 及び $\text{DT}_{90}$ の決定をした。更に得られた $\text{DT}_{50}$ を基に、JISC8911の規定に従い日本の東京における $\text{DT}_{50}$ を算出した。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

結果 :

自然水中の被験物質濃度を表1に、純水中の被験物質濃度を表2に示した。

表1 自然水中の被験物質濃度

照射後 日数	照射区実測濃度 ( mg/L )	非照射区実測濃度 ( mg/L )	非照射区分解濃度 <sup>1)</sup> ( mg/L )	照射区修正濃度 <sup>2)</sup> ( mg/L )	照射区修正濃度 自然対数
0	9.659	9.659	0.000	9.659	2.268
0.1	8.823	9.173	0.486	9.309	2.231
0.9	7.265	9.381	0.278	7.543	2.021
1.1	6.973	9.312	0.347	7.320	1.991
1.8	6.061	9.195	0.464	6.525	1.876
2	5.906	9.260	0.399	6.305	1.841
2.8	4.411	8.640	1.019	5.430	1.692
4.8	1.868	8.209	1.450	3.318	1.199
6	1.260	8.178	1.481	2.741	1.008

1) ;非照射区0日の実測濃度－非照射区 n日後の実測濃度

2) ;n日後の光照射区の実測濃度＋非照射区分解濃度

表2 純水中の被験物質濃度

照射後 日数	照射区実測濃度 ( mg/L )	非照射区実測濃度 ( mg/L )	非照射区分解濃度 <sup>1)</sup> ( mg/L )	照射区修正濃度 <sup>2)</sup> ( mg/L )	照射区修正濃度 自然対数
0	10.248	10.248	0.000	10.248	2.327
0.1	9.883	10.061	0.187	10.070	2.310
0.9	9.757	10.128	0.120	9.877	2.290
1.1	9.925	10.300	-0.052	9.873	2.290
1.8	9.471	10.219	0.029	9.500	2.251
2	9.659	10.329	-0.081	9.578	2.259
2.8	9.120	10.169	0.079	9.199	2.219
4.8	8.442	10.184	0.064	8.506	2.141
9	7.025	10.060	0.188	7.213	1.976
13	5.751	10.073	0.175	5.926	1.779
20	4.896	9.837	0.411	5.307	1.669
26	4.133	9.645	0.603	4.736	1.555
33	3.245	9.164	1.084	4.329	1.465
40	2.459	8.353	1.895	4.354	1.471

注釈は表1と同じ

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

前頁の光照射区の修正濃度の対数を用いて得られた、被験物質分解の回帰直線グラフを下記に示した。

図1 自然水中における被験物質の分解

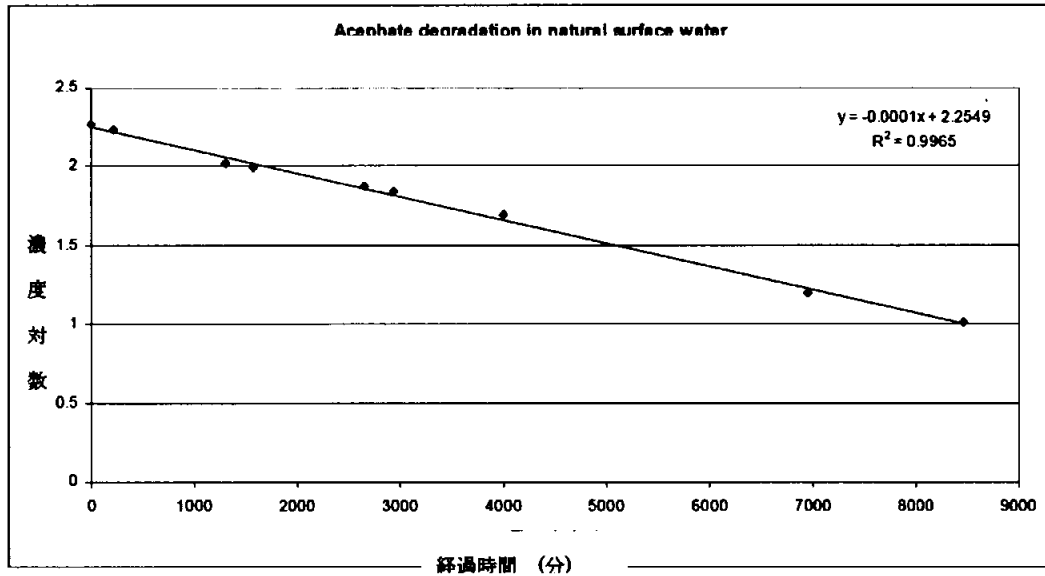
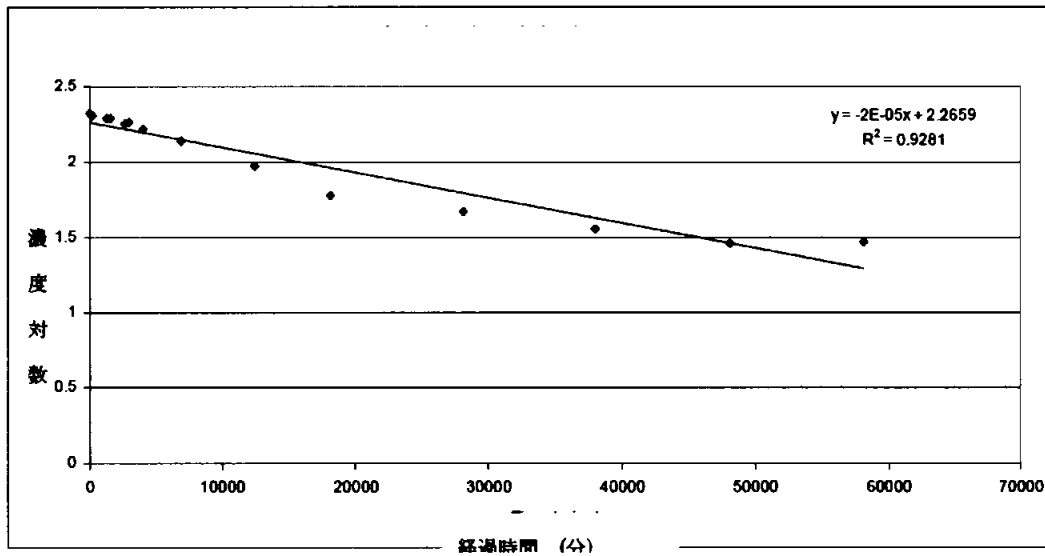


図2 純水中における被験物質の分解



以上の結果から、被験物質アセフェートの自然水中におけるDT<sub>50</sub>は4.72日、DT<sub>90</sub>は15.9日と計算された。また、純水中のDT<sub>50</sub>は21.9日、DT<sub>90</sub>は77.8日であった。

これを日本地域に換算すると、自然水中の半減期は26.7日、純水中の半減期は124日と計算された。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

純水の光照射26日後の試料のHPLC-MS分析のシングルモードを用いた分析の結果、質量イオン143、170及び184の位置に高いピークが認められた。陽イオンモード検出では検出された分子の分子量より1ユニット高いイオン質量を示すため、検出された物質は142、169及び183の分子量を持つ物質であることが判明した。

分子量183を持つ物質は被験物質であるアセフェートであることを示していた。

結論 :以上の結果から、被験物質アセフェートの自然水中における半減期は4.72日、これを日本地域に換算すると26.7日、純水中における半減期は21.9日、日本地域に換算すると124日と算定された。

。

本試験に用いたHPLC、HPLC-MSのシステム及び分析条件については次頁以降に示した。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

### 1. 検量線作成用標準溶液及び試験試料の分析 — HPLC

HPLCシステム Agilent Technologies 1050、  
オートサンプラー及びワークステーション装着

カラム Hypersil BDB, C<sub>18</sub>, 5μ(内径250×4.6mm)

カラム温度 室温

溶出溶媒 溶媒A:0.1%リン酸メタノール溶液  
溶媒B:0.1%リン酸水溶液

時間(分)	流量(mL/分)	%A
0	1.0	0
2	1.0	0
8	1.0	5
20	1.0	5
25	1.0	100
30	1.0	100
35	1.0	0
40	1.0	0

UV/Vis 検出波長 215nm

注入量 50μL

リテンションタイム 約11分

### 2. 分解物分析 —HPLC-MS

HPLCシステム Agilent Technologies 1100 MSD、  
オートサンプラー及びワークステーション装着

ソース エレクトロスプレー

フラグメント電圧 70ボルト

極性 ポジティブ

モード TIC 80オームから200オーム

ガス温度 350℃

乾燥ガス 12.0L/分

ネブライザー圧力 35psi

キャピラリー電圧 300ボルト

ゲイン 1.0

カラム Hypersil BDB, C<sub>18</sub>, 5μ(内径250×4.6mm)

カラム温度 室温

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

移動相溶媒

溶媒A:0.1%ギ酸水溶液

溶媒B:0.1%ギ酸メタノール溶液

時間(分)	流量(mL/分)	%A
0	0.8	0
2	0.8	0
8	0.8	5
20	0.8	5
25	0.8	100
30	0.8	100
35	0.8	0
40	0.8	0

UV/Vis 検出波長

215nm

注入量

50 $\mu$ L

リテンションタイム

約14分



本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

③ 緩衝液中光分解(滅菌)

(<sup>14</sup>C)-MBI-951の殺菌水中の光分解試験

(資料番号 8)

試験実施機関：Covance Laboratories Limited (英国) (GLP対応)

報告書作成年：1998年

被験物質：非放射性被験物質 アセフェート

化学名；O,S-ジメチル-N-アセチルホスホロアミドチオエート

放射性被験物質

(<sup>14</sup>C)-MBI-951

\*

試験方法：水に溶解した(<sup>14</sup>C)-アセフェート(約1.29mg; 約11.45 $\mu$ Ci)を無菌状態でpH5.0のクエン酸/クエン酸三ナトリウムの緩衝液に適用した。光照射用に8個、非照射対照用に8個及び0時間分析用に2個の培養容器を設けた。

光照射処理を施す容器はHanau Suntest CPS加速暴露器を用い、キセノンランプで12時間照射、12時間暗黒とし、25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cに保持した。非照射対照区の容器は、アルミホイルに包み恒温器中で25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cに保持した。

揮発性物質の収集には、一連のウレタン泡沫栓、空のトラップ、エタンジオールトラップ、2%パラフィンキシレン溶液トラップ及び2個の水酸化ナトリウムトラップに炭酸ガスフリーのガスを導入した。試料の採取間隔は、フロリダの太陽光暴露の0、3、6.9、14.4及び30.5日間に相当する間隔とした。

放射能の分析には液体シンチレーションカウンターを用いた。代謝物のプロファイルには、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)及び薄層クロマトグラフィ(TLC)を用いて特定した。( <sup>14</sup>C)-アセフェートのDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>の値はHPLCのデータからLotus1-2-3及びFreelanceのソフトウェアを用いて算出した。

結果： 光照射及び非照射対照試料の緩衝溶液、容器洗浄液及び揮発性物質間の放射能の分布について表1及び2にまとめた。光照射した試料からは投与放射能の98から100%が回収された。揮発性物質として回収された量は、30.5日後で4.9%であった。その殆どが水酸化ナトリウム溶液中に回収され、炭酸ガスであると考えられた。

光照射及び非照射対照試料中の親化合物及び分解物のプロファイルについての個々の値のHPLC分析結果を表3及び4に、TLC分析結果を表5及び6に示した。光照射試料中のアセフェートの量は、0時間の98(HPLC)%から30.5日には80(HPLC)%にまで減少した。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

非照射対照区のアセフェートの量は、0時間の98(HPLC)%から徐々に減少し、30.5日で92(HPLC)%になった。

光照射及び非照射対照区の両方におけるアセフェートの分解は、一次式のキネティックスによると考えられ、分解率は下記のように計算された。

群(pH5)	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
光照射区	98	324
非照射対照区	326	1083

結 論：

以上のようにpH5.0の緩衝液中でのアセフェートの分解は、疑似太陽光の照射により徐々に進み半減期は98日で、暗黒状態での分解は更に緩やかに進み、半減期は326日と計算された。アセフェートの分解により

光分解は、アセフェートの分解過程における1つの重要な過程であると考えられた。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

第1表 光照射処理した水溶液中からの(<sup>14</sup>C)-アセフェートの回収

試料採取 時 期	緩衝液中	ユニット 洗浄液中	エタン ジオール	2%パラフィン/ キシレン	0.5M 水酸化ナトリウ ム溶液中	泡沫栓中	接続管中	揮 発 性 物 質 合 計	マスバランス*
0日	98.31	0.40	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	98.31 (98.71)
3.0日	100.04	0.06	0.02	0.01	0.08	0.08	0.02	0.21	100.25 (100.31)
6.9日	97.53	0.07	0.05	0.02	0.25	0.24	0.03	0.59	98.12 (98.19)
14.4日	96.25	0.03	0.24	0.06	1.14	0.52	0.16	2.12	98.37 (98.40)
30.5日	93.41	0.03	0.62	0.03	3.03	0.50	0.70	4.88	98.29 (98.32)

\* ; マスバランスの数値の( )内は、報告書中にはユニット洗浄液中のアセフェートが加算されていないため、申請者が加算して記した。

第2表 非照射対照の水溶液中からの(<sup>14</sup>C)-アセフェートの回収

試料採取 時 期	緩衝液中	ユニット 洗浄液中	マ ス バ ラ ンス
0日	98.31	0.40	98.70
3.0日	99.48	0.06	99.54
6.9日	99.03	0.28	99.31
14.4日	99.66	0.03	99.69
30.5日	99.69	0.02	99.71

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

第3表HPLCによる光照射処理区の親化合物及び分解物の割合

試料採取 時 期	アセフェート (12.0)*	合 計
0日	98.04	98.31
3.0日	98.10	100.04
6.9日	92.24	97.53
14.4日	85.57	96.25
30.5日	79.94	93.41

\* : リテンションタイム

第4表HPLCによる非照射対照区の親化合物及び分解物の割合

試料採取 時 期	アセフェート (12.0)*	合 計
0日	98.04	98.31
3.0日	99.15	99.48
6.9日	96.56	99.03
14.4日	95.80	99.66
30.5日	92.41	99.69

\* : リテンションタイム

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

第5表TLCによる光照射処理区の親化合物及び分解物の割合

試料採取 時 期	アセフェート (0.4)*	合 計
0日	97.90	98.31
3.0日	98.31	100.04
6.9日	94.37	97.53
14.4日	91.86	96.25
30.5日	80.66	93.41

\* : Rf値

第6表TLCによる非照射対照区の親化合物及び分解物の割合

試料採取 時 期	アセフェート (0.4)*	合 計
0日	97.9	98.31
3.0日	98.83	99.48
6.9日	97.2	99.03
14.4日	99.06	99.66
30.5日	91.67	99.69

\* : Rf値

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

## 6. 加水分解試験

(<sup>14</sup>C)-MBI-951の加水分解試験

(資料番号 9)

試験実施機関：Covance Laboratories Limited (英国) (GLP対応)

報告書作成年：1999年

被験物質：非放射性被験物質 アセフェート

化学名；O,S-ジメチル-N-アセチルホスホロアミドチオエート

放射性被験物質

(<sup>14</sup>C)-MBI-951

\*

試験方法：下記の試験条件を用いた。

温度	pH	試料採取時期(日)
50℃	4	0、0.1、1、4、5、6、7、8、11
	7	0、0.1、1、2、3、5、6、7
	9	0、0.1、0.5、1、1.4、2、4、5
25℃	4	0、31、38、45
	5	0、7、31、38、45
	7	0、25、31、38、45
	9	0、7、15、25
38℃	4	0、2、4、10、15、20、30、40、50、91
	7	0、2、4、10、15、20、25、30、40、50

各緩衝液は以下のものを用いた。

pH4.0 水酸化ナトリウム(0.1M) / フタル酸水酸化カリウム(0.1M)

pH5.0 ケエン酸ナトリウム(10mM) / ケエン酸三ナトリウム(10mM)

pH7.0 水酸化ナトリウム(10mM) / TRISマレイン酸(10mM)

pH9.0 ホウ酸(10mM) / テトラホウ酸ナトリウム(2.5mM、ホウ酸10mM相当)

これらの緩衝液は、調製後オートクレーブにより殺菌し、オートクレーブ後に各pHになる様に調製した。

検体溶液は下記の様に調製した。

50℃試験 — 殺菌水に溶解した非標識の検体水溶液(約6.44mg、1.7ml)に標識した検体の保存溶液(約22.07mg/ml、0.3ml)を添加して調製した。対照には殺菌水中(1ml)に約6.761mgの非標識検体を溶解した水溶液を用いた。

25℃試験 — 殺菌水に溶解した非標識の検体水溶液(約5.491mg、1.76ml)に標識した検体の保存溶液(約22.07mg/ml、0.24ml)を添加して調製した。対照には殺菌水中(1.5ml)に約8.758mgの

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

非標識検体を溶解した水溶液を用いた。

38℃試験 — 殺菌水に溶解した非標識の検体水溶液(約5.45mg、1.5ml)に標識した検体の保存溶液(約22.07mg/ml、0.245ml)を添加して調製した。対照には殺菌水中(1.2ml)に約8.94mgの非標識検体を溶解した水溶液を用いた。

検体の試験系への投与は下記の手順で実施した。

50℃試験 — 殺菌水中に溶解した(<sup>14</sup>C)-アセフェート(約23μl: 約0.151mg : 約6.69μCi、0.248MBq)を、20個のガラス容器に入れた各緩衝液(3ml)の表面に無菌状態で分配した。非標識検体溶液(0.149mg、22μl)を同様に12個のガラス容器に分配し、対照区とした。

25℃試験 — 殺菌水中に溶解した(<sup>14</sup>C)-アセフェート(約28μl: 約0.123mg : 約6.53μCi、0.242MBq)を、10個のガラス容器に入れた各緩衝液(3ml)の表面に無菌状態で分配した。非標識検体溶液(0.123mg、21μl)を同様に8個のガラス容器に分配し、対照区とした。

38℃試験 — 殺菌水中に溶解した(<sup>14</sup>C)-アセフェート(約19μl: 約0.149mg : 約7.06μCi、0.261MBq)を、20個のガラス容器に入れた各緩衝液(3ml)の表面に無菌状態で分配した。非標識検体溶液(0.149mg、20μl)を同様に10個のガラス容器に分配し、対照区とした。

ガラス容器は、夫々50±0.5℃、25±0.5℃及び38±0.5℃に維持した温浴槽内に採取時期まで保持した。

試料の分析は高速液体クロマトグラフィ(HPLC)で分析した。更に薄層クロマトグラフィ(TLC)を展開し、オートラジオグラムを作成して分解物を定量した。

放射能の分析は全試料の重量を測定した後液体シンチレーションカウンターで、緩衝液を直接シンチラントに添加して測定した。

(<sup>14</sup>C)-アセフェートのDT<sub>50</sub>の値はHPLCのデータからLotus1-2-3Freelance及びマイクロソフトエクセルのソフトウェアを用いて算出した。

結果: 放射能の回収率は、91%から110%であった。  
表1から3に各温度における加水分解速度をまとめた。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

表1. 50°Cにおける加水分解速度

項 目	pH4	pH7	pH9
2.4時間(0.1日)後における分解率	<1 %	<1 %	3%
5日後の分解率	26 %	41 %	95 %
速度定数(k)	0.0670 /日	0.1113 /日	0.6071 /日
DT <sub>50</sub> (日)	10	6.2	1.1
一次相関関数	1.00	1.00	1.00

全てのpH条件下で、2.4時間後の分解率は5%未満であった。5日後では10%以上が加水分解された。これに基づき25°Cにおける試験をpH4、5、7及び9で実施した。

表2. 25°Cにおける加水分解速

項 目	pH4	pH5	pH7	pH9
速度定数(k)	N/C*	N/C*	N/C*	0.02115 /日
DT <sub>50</sub> (日)	208	359	118	33
一次相関関数	0.98	1.00	0.99	1.00

\*: 分解率が低かったために計算せず。

表3. 38°Cにおける加水分解速度

項 目	pH4	pH7
速度定数	0.0157 /日	0.0206 /日
DT <sub>50</sub> (日)	44	34
一次相関関数	1.00	0.99

どの温度条件下でも分解率は高い相関関数を示す回帰直線を伴った一次関数を示した。これらの結果に基づいてアレニウスの式を用いて20°Cにおける加水分解速度を計算した。pH9に対しては50°C及び25°Cのデータを用いたが、pH4及び7については25°Cの分解率が不十分であったため、50°C及び38°Cのデータを用いた。この結果、20°Cでの速度定数及びDT<sub>50</sub>は下記のように計算された。

表4. 20°Cにおける加水分解速度定数及びDT<sub>50</sub>値

項 目	pH4	pH7	pH9
速度定数(k)	0.0014 /日	0.0012 /日	0.0101 /日
DT <sub>50</sub> (日)	492	560	68



本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

。

本頁に記載されている情報に係る権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

## 代謝のまとめ

### 1. 動物

投与された<sup>14</sup>Cは、24時間以内に高用量群で84.2%(雄)から87.1%(雌)が、低用量群で72.4%から81.8%(雄)、

79.3%から80.4%(雌)が尿中に排泄された。糞への排泄は5.7%(雄高用量群)から1.4%(雄低用量群)でその

殆どが、24時間以内に排泄された。168時間後の組織中の<sup>14</sup>Cは、皮膚、心、肺、脾、肝(高用量のみ)、腎、副腎及び生殖腺(低用量のみ)に認められた。又、低用量群では、最高9%までがCO<sub>2</sub>に変換される揮発性物質として回収された。

両用量共検体の吸収は急速に起こり、血漿及び血中の濃度は、投与後1時間以内に最高値に達し、高用量の最高値は低用量の約50倍、又AUC(0-t)値は30倍であった。

低用量での血中の半減期が血漿中に比較して3倍に達し、放射能が赤血球に結合していることが示唆された。高用量の血漿及び血中濃度の二次的な上昇は、静脈内投与により物質の吸収の影響であることが判明した。

### 2. 植物

トマト、キャベツ共土壌施用した植物体に比較して、茎葉散布した植物体の方に放射能は量的に多く認められたが、質的には類似していた。特に果実(トマト)及び成熟期の茎葉部では2倍に達していた。メタドホスは、両植物共茎葉散布区の植物体に比較して土壌施用の植物体に多く認められたことは、土壌中で生成された放射能がその後に植物体に吸収されることを示唆している。オレンジの果実の洗浄液中の残留放射能の65%が未変化の親化合物で、

### 3. 土壌中運命

5つの異なった土壌を用いた代謝分解試験では、アセフェートの半減期(DT<sub>50</sub>)は1日から3.2日であった。20℃下に比較して10℃下のDT<sub>50</sub>は約2倍であった。

主要な分解物はCO<sub>2</sub>で、59日には施用放射能の71.7%から80.4%に達した。

### 4. 土壌吸着

平衡化試験では、土壌への吸着が殆ど認められなかったため、平衡化時間の設定が出来なかった。参考値を得るために、平衡化時間を48時間として高次試験を実施した。吸着平衡定数は、0.0565~0.333、相関係数は、0.826~0.944であった。物質収支は平均回収率で、93.6%~100%の範囲であった。また有機炭素吸着係数は、3.77~21.4であり、土壌吸着平衡定数は、9(相関係数0.381)であった。

### 5. 水中光分解

神奈川県平塚市の相模川河川水を用いて、キセノンランプを連続照射した場合、アセフェートの半減期は、480時間であった。これを5・6月の東京における日射量に換算すると、自然水中におけるアセフェートの半減期は131日と推定された。一方暗黒下においた場合の半減期は1073日と推定された。

また、緩衝液を用いて、pH5.0下でフロリダの太陽光30.5日に相当する擬似光を照射した場合のアセフェートの半減期(DT<sub>50</sub>)は98日であった。暗黒下に置いた場合のDT<sub>50</sub>は326日で、光が分解の主要な経路であると考えられた。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

6. 加水分解

アセフェートは酸性及び中性条件下よりもpH9.0条件下でより速く分解された。pH9に対しては50℃及び25℃、pH 4及びpH7に対しては50℃及び38℃での分解結果をアレニウスの方程式に基づいて20℃での分解速度を計算した結果、pH4, 7及び9でのアセフェートの加水分解DT<sub>50</sub>は、夫々 492日、560日及び68日であった。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

代謝分解物の概要 (動物)

・分析値はHPLCの結果を表示した。

			アセフェート (親化合物)								投与量 (%)		
(1) 動物	ラット	糞	24時間後雄	4.6									
		尿	24時間後雄	62.2									
	臓器	7日後雄	カーカス										
			皮膚										
			骨										
			脳										
			脂肪										
			心										
			肺										
			脾										
			肝										
			腎										
			腸管及び 内容物										
			筋肉										
副腎													
生殖腺													

た。

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

代謝分解物の概要(続き) (植物)

・分析値はHPLCの結果を表示した。

				アセフェート (親化合物)							投与量 (%)	
(2)	ト マ ト	茎 葉 散 布	果 実	最終散布の 56日から111 日後	ND							
			茎葉部		0.070 (5.7)							
			根 部		ND							
		茎葉部	最終散布の 7日後	7.716 (62.6)								
		根 部		0.184 (8.9)								
		土 壌 施 用	果 実	最終散布の 56日から111 日後	ND							
	茎葉部	0.023 (3.3)										
	根 部	ND										
	茎葉部	最終散布の 7日後	5.581 (60.2)									
	根 部		0.700 (22.0)									
	キ ャ ベ ツ	茎 葉 散 布	茎葉部	最終散布の 112日後	0.002 (0.2)							
			根 部		ND							
		茎葉部	最終散布の 7日後	14.916 (63.8)								
		根 部		0.052 (1.3)								
		土 壌 施 用	茎葉部	最終散布の 112日後	ND							
			根 部		0.002 (0.1)							
			茎葉部	最終散布の 7日後	5.062 (56.7)							
			根 部		0.356 (8.6)							
		土 壌	7日後	0.226 (31.1)								
		オ レ ン ジ	果 肉	7日後	0.047 (9.5)							
	果 皮		2.031 (49.7)									
葉 部	39.84 (55.3)											

本頁に記載されている情報に係る権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

代謝分解物の概要(続き)(土壌及び水中)

・分析値はHPLCの結果を表示した。

			アセフェート (親化合物)							投与量 (%)
(3) 土 壌	59 日 間	20°C	砂壤土(英国)	1.3日						
			砂壤土(英国)	2.6日						
			シルト質壤土(英国)	3.2日						
			壤土(英国)	<1日						
			壤質砂土(米国)	2.1日						
		10°C	シルト質壤土(英国)	6.7日						
(4) 土 壌 吸 着 (25°C)			褐色火山灰土(日植防牛久)	Koc=14.8						
			灰色台地土(愛知総農試)	Koc=20.8						
			沖積鈹質土(日植防高知)	Koc=21.4						
			砂丘未熟土(日植防宮崎)	Koc=3.77						
(5) 水 中	自然水	14日間	光照射	130.7日						
			非照射	164.2日						
	緩衝液	pH5.0 30.5日間	光照射	98日						
			非照射	326日						
(6)加水分解	50°C (11日)	pH4	10日							
		pH7	6.2日							
		pH9	1.1日							
	38°C (91日)	pH4	44日							
		pH7	34日							
		pH9	33日							
	25°C (45日)	pH4	208日							
		pH5	359日							
		pH7	118日							
		pH9	33日							

(2) ; アセフェートの数値は半減期、その他は最高検出量(%)を記載した。カッコ内は検出日

(5) ; アセフェートの数値は半減期、

(6) ; アセフェートの数値は半減期、その他は最高検出量(%)を記載した。

本頁に記載されている情報に係る権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

## アセフェートの推定代謝経路

本頁に記載されている情報に係わる権利及び責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

附) アセフェートの開発年表

	94	95	96	97	98	99	2000	2012
物理的・化学的性状		—————						
有用動植物等に及ぼす影響					—————			
農薬残留			—————					
適用病害虫		—————						
毒性		—————						
短期毒性等			—————					
慢性毒性及び発ガン性			—————					
催奇形性		—————						
繁殖性			—————					
製剤毒性					—————			
代謝			—————					
追加毒性							—————	
製造		—————						