

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

1. 動物代謝に関する試験

1) ラットにおける体内動態及び代謝

(資料 No.代-1)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム

化学名；	メチル スルファニルイルカーバメート
構造式；	
*は標識部位	
比放射能；	
放射化学的純度；	

供試動物：チャールズリバーCD(SD)系ラット、1群雌雄各5匹

体重 雄 191~256 g、雌 182~211 g

試験方法： ^{14}C -アシュラムを非標識アシュラムで希釈し、当量の水酸化ナトリウム水溶液に溶解し、投与量 30 及び 300 mg/kg を投与した。

投与量の設定根拠；毒性試験結果に基づき 30 及び 300 mg/kg を選択した。

試験群の構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与経路	投与回数 (回)		比放射能 (mCi/mmol)	試験目的
			放射性	非放射性		
高用量単回経口	300	経口	1	0		ADE
	300		1	0		M
低用量単回経口	30	経口	1	0		ADE
	30		1	0		M
低用量反復経口	30	経口	1	14		ADE
	30		1	14		M
低用量単回静注	30	静注	1	0		DME
高用量単回経口	300	経口	1	0		Pk
低用量単回経口	30	経口	1	0		Pk

(注) A：吸収、D：分布、E：排泄、M：代謝、Pk：体内動態

排泄物の採取；

尿、糞：投与 24 時間毎に 72 時間後まで採取した。

呼 気：通気流量は 0.3~0.4 L/分とし、エタノールアミンの 2-エトキシエタノー

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

ル溶液に導き、投与 24 時間毎に 48 時間後まで採取した。

組織の採取；投与 72 時間後に屠殺し、以下の組織等を採取した。

全血、副腎、大腿骨及び骨髄、脳、脂肪、胃腸管及びその内容物、
生殖腺、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、骨格筋、皮膚及び被毛、
甲状腺、子宮、残部体組織

代謝物の検索；投与後 0～24 時間に排泄された尿及び糞、及び 24～48 時間に排泄された尿を用いて代謝物の検索をし、TLC 及び HPLC により代謝物を分離同定し、MS により確認した。

薬物動態；投与前及び投与後 0.25、0.5、1、2、3、5、7、24 時間目及びそれ以降は 24 時間毎に 168 時間目まで尾静脈から採血した。

試験結果：

排泄経路、排泄率及び総回収率(72 時間目まで)；

アシラムの主要排泄経路は投与量、投与経路及び性別に係わらず尿であり、投与量の 80%以上が尿から、17%以下が糞から排泄された。尿及び糞の 0-72 時間目までの合計排泄率は 98%以上であった。呼気からの排泄は認められなかった。

排泄率及び総回収率の雌雄平均値は表 1 のとおりである。

これらの詳細は表 2 に示した。

表 1 排泄率、総回収率の雌雄平均値 (%) (0-72 時間)

試験群 試料	高用量単回 経 口	低用量単回 経 口	低用量反復 経 口	低用量 静 注
尿				
糞				
呼気*				
組織中残留				
ケージ洗液				
計				

(注) *：投与後 48 時間までの呼気に放射能が認められなかったため、以降の呼気の捕集は中止した。(nd=検出限界未満)

組織内分布 (表 2)；

いずれの試験群においても、投与後 72 時間目の組織内に分布する放射能は一貫して低く、皮膚・被毛及び胃腸管とその内容物を除きほとんどの場合組織 1

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

g 中の濃度はアシュラムとして 0.2 μg 以下であった。皮膚・被毛の濃度が他より高い理由は、投与量の大部分が尿から排泄されることからくる尿による汚染と考えられた。

また、全血中の放射能で検出できたのは高用量単回経口投与群のみであり、血漿中においては全て検出限界以下であった。

血中濃度の推移（表 3）；

最高血中濃度は高用量及び低用量単回経口投与群ともに、投与後 30 分以内に認められた。最高血中濃度は用量に比例して増加しており、雌雄の平均で高用量群では 166 $\mu\text{g/g}$ 、低用量群では 20 $\mu\text{g/g}$ であった。消失相後期における雌雄平均半減期は高用量群で 14.5 時間、低用量群で 8.7 時間であった。

代謝物の同定及び代謝物の割合（表 4）；

投与量及び投与方法によって若干代謝物の量に変動はあるが、投与量の約 91% が同定でき、その大部分（約 77%）が親化合物のアシュラムであり、次いで
約 12%、
約 2% であった。 は尿でのみ検出された。

想定代謝分解経路；

アシュラムの代謝パターンに性差、投与量及び投与経路による量的変化はほとんど認められなかった。代謝経路は図 1 のように推定された。

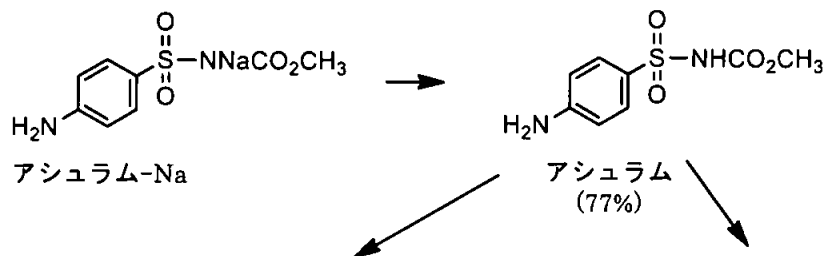


図 1 アシュラムのラットにおける想定代謝分解経路

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

表 2 排泄率、回収率及び投与 3 日後の組織内分布

試験群 試料		高用量 単回経口		低用量 単回経口		低用量 反復経口		低用量 単回静注	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
尿 (a)	0-24 時間								
	0-48 時間								
	0-72 時間								
糞 (a)	0-24 時間								
	0-48 時間								
	0-72 時間								
呼気	0-48 時間								
組織中の残留率 (%)									
ケージ洗液 (%)									
合計回収率 (%)									
組 織 内 分 布 (b)	血液								
	肝臓								
	腎臓								
	心臓								
	肺								
	脾臓								
	骨格筋								
	脂肪								
	生殖腺								
	胃腸管(及び内容物)								
	骨・骨髄								
	皮膚・被毛								
	膵臓								
	脳								
	副腎								
	甲状腺								
子宮									
残部体組織									

注：(a)投与放射能に対する排泄量の割合（累積）%

(b)組織 g 当たりアシュラム相当の組織含有量 (μg)

nd；検出限界未満

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

表 3 単回経口投与による血中濃度の推移

(アシラム当量 $\mu\text{g/g}$)

投与量 (mg/kg)		高用量 (300)		低用量 (30)	
性		♂	♀	♂	♀
経過時間(時間)					
0.25					
0.50					
1					
2					
3					
5					
7					
24					
48					
72					
96					
120					
144					
168					
Tmax (時間)		0.5	0.5*	0.5**	0.5
Cmax ($\mu\text{g/g}$)					
T _{1/2} ^{***} (時間)	消失相後期				
	消失相前期				

* : 5 匹中 1 匹は 1 時間。

** : 5 匹中一匹は 0.25 時間。

*** : T_{1/2} (時間) については申請者が再計算を行い、後期及び前期の半減期について記載した。

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

表 4 各代謝物の投与量に対する排泄量 (%)

試験群	性	分析試料	アシュラム				合計
高用量 単回 経口	♂	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
	♀	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
低用量 単回 経口	♂	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
	♀	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
低用量 反復 経口	♂	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
	♀	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
低用量 単回 静注	♂	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					
	♀	尿 0-24 時間 24-48 時間 糞 0-24 時間 計					

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

2) ラットを用いた組織内分布と体内動態

(資料 No.代-2)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム

化学名；	メチル スルファニルイルカーバメート
構造式； *は標識部位	
比放射能；	
放射化学的純度；	

非標識化合物：99.9%

供試動物：チャールズリバーCD(SD)系ラット、1群雌雄各4匹
体重 雄 184.2~248.4g、雌 181.1~207.9 g

試験方法： ^{14}C -アシュラムを非標識アシュラムで希釈し、当量の水酸化ナトリウム水溶液に溶解し、投与量 30 及び 300 mg/kg を投与した。

試験群の構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与経路	投与回数 (回)	試料採取時間 (時間)	試験目的
A	300	経口	1	0~72	血中薬物動態
B	30	経口	1		
C	300	経口	1	Tmax~6	組織内分布
D	30	経口	1		

試料の採取；

血液(A 及び B 群)；投与後次の各時間にラットの尾部からヘパリンを入れたガラス管に採取した。

0、0.25、0.5、1、2、3、6、8、24、32、48、56 及び 72 時間

臓器及び組織(C 及び D 群)；Tmax、 $T_{1/2}$ 及び 6 時間後に麻酔下で放血致死させ、次の臓器・組織を採取した。

肝臓、腎臓、心臓、肺、脳、脾臓、膵臓、骨格筋、腹部脂肪、卵巣、精巣、

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

腸及び内容物、胃及び内容物、骨(大腿骨)と骨髄、副腎、子宮、甲状腺及び皮膚と被毛。心臓内血液(血漿)、カーカス。

動物の飼育;飼育室の温度は $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に維持し、明暗 12 時間のサイクルに調整した。群毎に雌雄各 4 匹を性別にケージに收容し、水及び飼料は自由に摂取させた(ただし、投与前 16 時間は飼料を除去した)。

放射能の定量;血漿及び抽出液の一部は直接液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。脂肪、精巣、骨と骨髄、脾臓、子宮、甲状腺、卵巣及び副腎は直接燃焼させ、 CO_2 をトラップ後 LSC で測定した。血液は乾燥後同様に処理した。その他の臓器・組織はホモジナイズし、一定量を採取後同様に処理した。ただし、脾臓は量が少なくホモジナイズを行えなかった。

試験結果:

血中薬物動態; A 及び B 群の全血中平均放射能を表 1 に示した。また、この結果から求めた薬物動態パラメータを表 2 に示した。2 つの群ともにアシュラムの吸収が速く、吸収相の $C_{1/2}$ (最高血中濃度の半分の濃度) は推定しなかった。

表 1 全血中の放射能推移 (A 及び B 群) (μg アシュラム当量/g:全血)

時間 (h)	300 mg/kg (A 群)		30 mg/kg (B 群)	
	雄	雌	雄	雌
0				
0.25				
0.5				
1				
2				
3				
6				
8				
24				
32				
48				
56				
72				

*: ラットの一部分に汚染があった。

nd: 検出限界未満

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

表 2 全血における薬物動態パラメータ

試験群	投与量 (mg/kg)	性別	Cmax (μg 当量/g・全血)	Tmax (分)	T _{1/2} * (時間)	
					消失相後期	消失相前期
A	300	雄		30		
		雌		30		
B	30	雄		26		
		雌		23		

* : T_{1/2} については申請者が再計算を行い、後期及び前期の半減期について記載した。

いずれの投与量でも、アシュラムの吸収と排泄は極めて急速であった。

臓器・組織の放射能分布；C 及び D 群の各時間における臓器・組織の平均放射能分布を表 3 及び 4 に示した。

高用量群 (C 群) で投与 0.5 時間後に放射能濃度が最も高かったのが胃 (雄 3438 μg 当量/g、雌 4079 μg 当量/g) と腸 (雄 2025 μg 当量/g、雌 1556 μg 当量/g) であった。同様の結果は低用量群でも得られた (胃：雄 606 μg 当量/g、雌 247 μg 当量/g、腸：雄 172 μg 当量/g、雌 184 μg 当量/g)。Tmax の時点で吸収放射能濃度が最も高かったのはいずれの試験群でも同じ組織 (腎臓、血漿及び心臓内血液) であった。このほか筋肉、皮膚及び甲状腺からも比較的高濃度の放射能が検出された。各投与量で観察された分布特性から、標識被験物質は急速かつ大量に吸収されたことが明らかになった (Tmax における腸を除く吸収率は約 55%)。一方、吸収された放射能は急速に排泄され、投与 6 時間後における組織残留率 (腸を除く) は、投与量の約 5% に過ぎなかった。

¹⁴C 標識アシュラム 30 ないし 300 mg/kg を単回経口投与したときの吸収率は、性差も投与量による差も見られなかった。アシュラムは高い吸収率で急速に吸収され、その後の排泄率と排泄速度も高かった。放射能は組織に広く分布し、主として腸と腎臓への分布量が多かったが、組織に残留する傾向は無かった。

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

表3 300 mg/kg を単回経口投与したときの臓器・組織の平均放射能分布

試料	雄			雌			雄			雌		
	30分	68分	6時間	30分	85分	6時間	30分	68分	6時間	30分	85分	6時間
	μg 当量/g						投与量に対する%					
肝臓												
腎臓												
心臓												
肺												
脳												
脾臓												
膵臓												
骨格筋												
脂肪												
生殖腺												
胃+内容物												
腸+内容物												
骨+骨髄												
皮膚+被毛												
副腎												
子宮												
心臓内血液												
血漿												
甲状腺												
カーカス												
						腸を除く合計						
						合計						

nd : 検出限界未満

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

2. 植物代謝に関する試験

1) サトウキビにおける代謝経路と代謝物

(資料 No.代-3)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム

化学名；	メチル スルファニルイルカーバメート
構造式；	
*は標識部位	
比放射能；	
放射化学的純度；	

供試植物：サトウキビ (品種：不明)

4本/鉢のサトウキビの4葉期に ^{14}C -アシュラム水溶液を処理。温室内で管理。
試験は2反復で行った。

方 法：

試験溶液の調製；報告書に記載なし

散布薬量；6 lb-ai/acre (672.5 g-ai/10a)。植物体に 80 ppm 相当散布。

[申請者註：国内登録上の使用量は 800~1000 mL/10a。即ち、296~370 g-ai/10a。従って、国内登録の約 2 倍量を散布]

試料採取時期；薬剤処理 14 日後に地上部を刈り取り、処理部位の葉、処理後に生長した部位 (以下、新生長部と呼ぶ) 及び茎に分けた。

抽出操作；(i) 処理した葉の外表面を水で洗浄した。(ii) その後、アセトン、水及び酸で抽出した。

放射能の測定；各抽出液及び抽出残渣、新生長部及び茎を液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。また、各分離操作後の成分についても LSC で放射能を測定した。

分析方法；抽出試料を酸加水分解後ゲル濾過によりいくつかの画分に分け、さらに各画分毎に加水分解、酢酸エチル抽出、濾紙電気泳動法、薄層クロマトグラフィー及びペーパークロマトグラフィーなどを組み合わせ、参照標品との比較も含めて同定した。分離・定性・定量操作の 1 例を図 1 に示した。

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

結 果：

(i) 薬剤処理したサトウキビの放射能分布

表 1 に薬剤処理 14 日後の試料の放射能分布を示した。放射能の多くは、処理葉の最初の水抽出とそれに続くアセトン抽出に含まれていた。新生長部の放射能は少なく、薬剤の移動性は小さいと考えられた。従って、代謝物の同定・定量には処理葉外表面の水洗浄液と処理葉のアセトン抽出液を用いた。

表 1 ¹⁴C-アシュラムを約 80ppm 処理 14 日後のサトウキビの放射能分布

植物体部位	処理放射能に対する割合 (%)	
	試験 X	試験 Y
処理葉		
葉の外部		
水洗浄液		
葉全体		
アセトン抽出液		
水抽出液		
酸抽出液		
残留繊維質		
処理葉合計		
新生長部		
茎		
回収率合計		

試験 X：

試験 Y：

(ii) 薬剤処理した葉の外表面水洗浄液の代謝物の分離と定量

この洗浄液を塩酸で 1N とし、室温で 1.5 時間放置し加水分解を行い、苛性カリで pH 9 に調整後ゲル濾過法で 5~6 画分に分けた。さらに各画分を上記分析方法記載の操作を用いて分析を行った (図 1 参照)。その最終的なまとめを表 2 に示した。

水抽出物の中で最も多く検出されたものは親化合物アシュラムであり、処理放射能の約 7~13% を占めた。このほか、

が投与放射能の 3% 程度検出された。

また、

は水洗浄液だけから検出された。

(iii) 薬剤処理した葉のアセトン抽出液の代謝物の分離と定量

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

アセトン抽出液を 1N 塩酸で室温下加水分解を行い、pH3.0 とし酢酸エチルで 3 回抽出した。その後、図 2 に従って分離・分析操作を行った。そのまとめを表 3 に示した。

アセトン抽出液中においても最も多く検出されたものは親化合物アシュラムで施用量の 6.8% を占めていた。同定された他の代謝物は量的には少なかったが、

と
はアセトン抽出液からのみ検出された。

(iv) 想定代謝分解経路

表 2 及び表 3 の試験 Y のデータを表 4 にまとめた。

アシュラムのサトウキビにおける想定代謝分解経路を図 3 に示した。

水洗浄液から見つかった

と

に関しては追加試験の結果、植物体が無い条件でアシュラムの分析操作を行うと親化合物アシュラムが 76% 回収される他、4-アミノベンゼンスルフィン酸 12% と 4-アミノカテコール 11% が検出されることから分析操作に基づく人為的生成物と考えられた。このため、想定代謝分解経路図には記載しなかった。

表 2 薬剤処理 14 日後の葉の外表面水洗浄液中の代謝物

参照 No.	成分名	処理放射能に対する割合(%)*	
		試験 X	試験 Y
1	アシュラム	13.1	7.2
	未同定成分**	9.8	4.5
	合計	33.4	20.7

*：これらの数値は TLC の回収率で補正した

**：参照化合物と一致しなかった

§：この 一つの化合物は人為的生成物と判断された。

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

表 3 薬剤処理 14 日後の葉のアセトン抽出液中の代謝物(試験 Y)

参照 No.		成分名	処理放射能に対する割合(%)*
1		アシュラム	6.8
		未同定成分**	8.6
		未分析画分***	3.1
		合計	19.4

試験 X は単純化のためにアセトン抽出物の分析は中止したため、結果に至っていない。

* : これらの数値は必要に応じ回収率で補正した。

** : 参照化合物と一致しなかった

*** : これらは抽出後の水溶液中で投与 ^{14}C の 1%

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

表 4 薬剤処理 14 日後の葉の外表面水洗浄液及びアセトン抽出液中の代謝物 (試験 Y)

参照 No.		成分名	処理放射能に対 する割合(%)*
1		アシュラム	14.0
		未同定成分**	13.1
		未分析画分***	3.1
		合計	40.1

* : これらの数値は必要に応じ回収率で補正した。

** : 参照化合物と一致しなかったが、投与放射能の 1.5%を超える成分はなかった。

*** : これらは抽出後の水溶液中で投与 ^{14}C の 1%、

§:本化合物は人為的生成物と判断された。

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

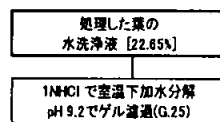


図 1 水抽出液の同定・分析操作及び画分放射能

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

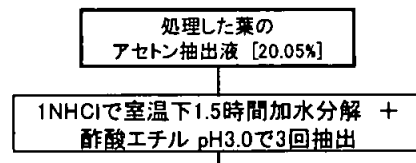


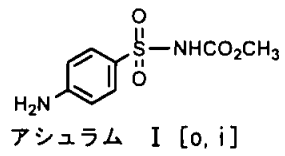
図2 アセトン抽出液の同定・分析操作及び画分放射能

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

葉の内側

共通の経路

葉の外側



[o] : 葉の外側から見つかった化合物

[i] : 葉の内側から見つかった化合物

図3 アシュラムのサトウキビにおける想定代謝分解経路

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

2) ライグラスにおける代謝

(資料 No. 代-4)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム・Na

化学名；	メチル スルファニルイルカーバメート ナトリウム塩
構造式；	
*は標識部位	
比放射能；	
放射化学的純度；	不明 (同位体希釈法及び TLC にて確認)

供試植物：ライグラス (*Lolium perenne*) 94%

スズメノカタビラ (*Poa annua*) 5%

ホワイトクローバー (*Trifolium repens*) 1%

Coldharbour 農場 (英国) の羊の牧草地からプラスチック容器に切り取り、
処理前 14 日間温室内で馴化した。

植物の管理；薬剤処理した植物と 4 つの無処理植物をアルミ容器に入れ、温室内に置き、
水は地下部に与えた。無処理の植物で 400~500 g の重量減が認められたら、
それぞれの容器に 1~2L の水をかけた。処理後 10 日及び 24 日目に水に液体
肥料を加えた。処理後 18~19 日目にアブラムシが発生したため、20 日目に
殺虫剤 (マラソン) を 1 回処理した。

方 法：

試験溶液の調製；標識化合物を非標識化合物で希釈し、1N 水酸化ナトリウム溶液に
溶解し、蒸留水で希釈し調製した。

散布薬量；1 lb·ai/acre (112 g·ai/10a)。植物体に 63 ppm 相当散布。

[申請者註：国内登録上の使用量は 400~600 mL/10a(北海道を除く全域。北
海道は使用時期により多少異なるが約 1/2 量)。即ち、148~222 g·ai/10a。
従って、国内最大散布量の約半分である。]

試料採取時期；薬剤処理後 0、2、7、14 及び 28 日目に地上 0.5 cm のところで刈り
取った。対照試料も同じ時期に採取した。14 日目の試料を採取した植物は、
さらに 14 日間そのまま生育させてさらに試料を採取した。これらの植物は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。
28日目の試料を採取したものと一緒にさらに37日間そのまま生長させ試料を採取した。これらの試料はプラスチック袋に入れ、ドライアイスで凍結し、に送付した。

植物体中の ^{14}C の分析；実験室に到着した植物は解凍せずに直ちに重量を測定し、1/2 インチに切断し、(i)アセトンを加えて磨砕した。濾過で分離し、植物体残渣をアセトン洗浄後、濾過残渣を(ii)水で洗浄し、別に保管した。残った植物体組織は(iii)2N 塩酸で 1 夜浸漬し、濾過、蒸留水で洗浄した。(iv)植物体組織を乾燥後、ハンマーミルで粉碎し、均一化した。これらを液体シンチレーション計測法 (LSC) で測定した。

植物抽出物中の定性分析操作；処理後 7 日目のアセトン抽出物、7 日後及び 14 日後の水抽出物及び 7 日後の繊維質を分析することにより代謝経路を最もよく明らかにすることができると考えられた。

(i)処理後 7 日目のアセトン抽出物の分析

抽出物中には処理薬剤の 43.65%が含有していた。

分析・抽出操作としては、加水分解及び酢酸エチルによる抽出、クリーンアップ操作、ゲル濾過法、イオン交換樹脂による分画と電気泳動分析及び薄層クロマトグラフィーによる分離と確認を行った。その詳細は図 1 に示した。

(ii)処理後 7 日及び 14 日目の水抽出試料の分析

処理 7 日と 14 日目のライグラス水抽出物には処理薬剤に対してそれぞれの放射能が含まれていた。

分析・抽出操作としてはアセトン抽出物と同じような操作を行った。7 日目の操作の詳細を図 2 に示した。

(iii)処理後 7 日目の繊維質の分析

7 日目の繊維質には処理放射能の が存在した。

分析・抽出操作としては、亜塩素酸塩分解、透析、酢酸エチル抽出、透析残渣の加水分解、電気泳動分析、薄層クロマトグラフィー等を行った。その詳細は図 3 に示した。

結 果：

(i)植物体中の ^{14}C の分布とその経時変化

処理後の各時期におけるライグラス中の放射エネルギーを、処理量に対する割合 (%) と植物体に対する濃度 (ppm) で表 1 及び 2 に示した。

処理した放射能は処理後 7 日目までは定量的に回収された。その後、 ^{14}C の量は植物体から着実に減少し、処理後 14 日及び 28 日の植物に残存する量は であった。

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

植物試料中の放射能の大部分はアセトン可溶であった

。水に可溶の ^{14}C 含有物質の量は、処理直後は であったが処理後 7 日目には 7 日目になつた。塩酸抽出物中の ^{14}C の量は処理後 2 日目以降 であつた。植物繊維中に取り込まれた ^{14}C 放射能は、直後で 7 日目及び 28 日目で であつた。

処理した植物の再生物中からはほとんど放射能が検出されなかつた。最初に刈り取りをすればその牧草中にはアシュラム及びその代謝物が含まれていないことを示していた。

(ii) 薬剤処理後 7 日目のアセトン抽出物の分析(図 1、表 3)

アセトン抽出物を塩酸で加水分解後酢酸エチルによる分配で処理放射能の 37.9%が酢酸エチル相に抽出された。これを水で洗浄後、ヘキサンで抽出したところ、大部分の放射能が水相に移行した。この水相とヘキサン相をさらに TLC で分析し、結果を表 3 にまとめた。主要な代謝物として、親化合物アシュラム (I、3.66%)

が確認

された。その他の画分は、放射能的には多くなかつた (表 3 参照)。

(iii) 薬剤処理後 7 日及び 14 日目の水抽出物の分析

水抽出物を加水分解し酢酸エチルで分配したところ、存在する成分は酢酸エチル可溶性のものより水溶性のものが多かつた

。水相をイオン交換クロマトグラフィーで分離すると、中性及び酸性画分中に 7 日目で 、14 日目で 、弱塩基性及び両性画分中に同じくそれぞれ 、強塩基性画分中に同じく 含有していた。これらをさらに分析を行うとともに、その他の画分についても分析を行った。その結果を表 4 に示した。同定されたものは全て処理量の 1%を超えるものは無く、また、同定できなかつた成分も数が多く、

ここで検出された成分 (中間物) の多くは、リグニン生合成、タンニン生合成及び Embden-Meyerhof 解糖経路の中間物であつた。

(iv) 薬剤処理後 7 日目の繊維質の分析

亜塩素酸塩分解により繊維質から処理放射能の 16.75%を取り出すことができた。それをさらに分析を進めたが、定量できたのは

のみであり、アシュラム及びその 1 次代謝物の存在は認められ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。
 なかった。

(v)ライグラスにおける想定代謝分解経路

アシュラムのライグラスにおける想定代謝分解経路を図4に示した。マイナーな代謝物としてリグニン生合成、タンニン生合成及び Embden-Meyerhof 解糖経路の中間物に相当するものが検出されたが、この想定代謝経路には(申請者として)含めなかった。また、は抽出・
 分析操作の過程でアシュラムから生成したものと考えられた。

表1 ライグラスに ^{14}C -アシュラムを処理したときの回収率

経過期間 (日)	植物体中 (%)					手袋	合計
	アセトン 抽出物	水抽出物	酸抽出物	繊維質	合計		
0							100.00*
2							101.96
7							93.78
14							84.86
28							66.82

* : 薬剤噴霧に対する保持率 25.81%

手袋は試料採取の際使用

[申請者註 : この表の合計の一部が横の積算と一致しないところがあるが、0.03%程度であり
 実質的な影響がないため、報告書の数値をそのまま記載した。]

表2 ライグラスに ^{14}C -アシュラムを処理したときの放射能の分布

経過期間 (日)	植物体中 (ppm)				
	アセトン 抽出物	水抽出物	酸抽出物	繊維質	合計
0					62.91
2					37.41
7					31.58
14					21.45
28					10.04
14+14					2.88
14+51					0.19
28+37					<0.11

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

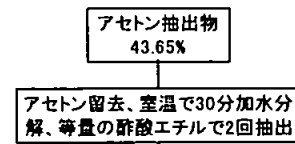


図1 ^{14}C アシュラム処理ライグラスの処理7日後のアセトン抽出物の分析操作と放射能分布

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

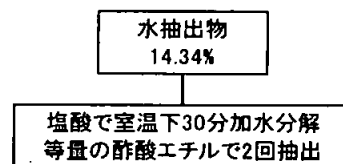


図2 ^{14}C アシュラム処理ライグラスの処理7日後の水抽出物の分析操作と放射能分布

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

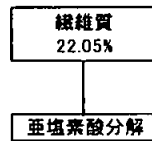


図3 ^{14}C アシュラム処理ライグラスの処理7日後の繊維質の分析操作と放射能分布

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

表3 ライグラスに ^{14}C -アシュラムを処理し7日後にアセトン抽出物で同定された化合物

参照 No.	成分名	処理 ^{14}C に 対する%
1	アシュラム	
	未同定成分*	10.45
	未分析	0.09
合 計		29.28

*：参照化合物と一致しなかった

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

表 4 ライグラスに ^{14}C -アシュラムを処理し 7 及び 14 日後に水抽出物で同定された化合物

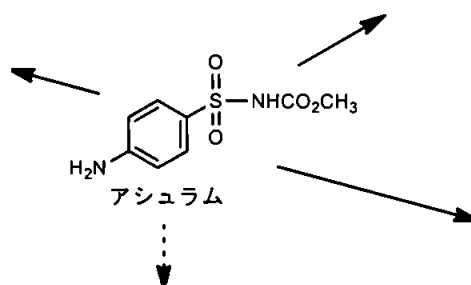
参照 No.	成分名	処理 ^{14}C に対する%	
		7 日後	14 日後
	未同定成分	9.83 [#]	6.70 ^{\$}
	未分析	0.27	1.40
	合 計	11.08	9.09 ¹⁾

: 参照化合物と一致しなかった

\$: 参照化合物と一致しなかったが

1) 示された数値の合計は 9.89 となる。同定作業中にロスした成分の影響と思われる (申請者注)。

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



[] : 想定中間代謝物

() : 分析操作中にアシュラムから誘導されてできた化合物

* : リグニン生合成、タンニン生合成及びEmbden-Meyerhof解糖経路など

図4 アシュラムのライグラスにおける想定代謝分解経路

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

3) アルファルファにおける代謝

(資料 No.代-5)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム

化学名；	メチル スルファニルイルカーバメート
構造式；	
*は標識部位	
比放射能；	
放射化学的純度；	不明 (同位体希釈法及び TLC にて確認)

供試植物：アルファルファ(C. V. Europe)、horseheath Lodge Farm(英国)より入手し
圃場から掘り上げポットに植え替え、温室内で管理した。さらに 7.5 週目に
再度植え替え(8インチポットに4株)、その約2週間後に薬剤処理を行った。
植物の管理；薬剤処理したポットと5個の無処理ポットを温室内のトレー上に置き、
土壌灌水を行った。

方 法：

試験溶液の調製；標識化合物を非標識化合物で希釈し、1N 水酸化ナトリウム溶液に
溶解し、蒸留水で希釈し調製した。

散布薬量；約 4 lb·ai/acre (448 g·ai/10a)。植物体に 200 ppm 相当散布。

[申請者註：国内ではアルファルファに適用がないが、牧草では 300~600
ml/10a の使用量である。即ち、111~222 g·ai/10a。従って、国内最大散布
量の約2倍の散布量である。]

試料採取時期；薬剤処理後 0、3、7、14、21 及び 28 日目に地上 1 cm のところで
刈り取った。対照試料も同じ時期に採取した。3~28 日目の試料を採取した
植物は、さらに最終収穫まで 14~25 日間そのまま生育させた。これらの試
料はプラスチック袋に入れ、ドライアイスで凍結し、 の研究所
に送付した。

植物体中の ^{14}C の分析；実験室に到着した植物は解凍せずに直ちに重量を測定し、1
センチの長さ切断し、(i)アセトンに充分浸漬した。濾過分離し、植物体
残渣をアセトン洗浄後、濾過残渣を(ii)水で洗浄し、別に保管した。残った

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。
植物繊維は(iii)2N 塩酸に 1 夜浸漬し、濾過、蒸留水で洗浄した。(iv)植物体組織を乾燥後、ハンマーミルで粉碎し、均一化した。
これらを液体シンチレーション計測法 (LSC) で測定した。

植物抽出物中の定性分析操作 ; 抽出物の ^{14}C 含有量に基づき、処理後 21 日目の試料を分析することにより代謝経路を明らかにすることができると考えられた。

(i) 薬剤処理後 21 日目のアセトン抽出物試料の分析

この抽出物には、処理した ^{14}C -アシュラムの 71.31%が含まれていた。
分析・抽出操作としては、加水分解及び酢酸エチルによる抽出、クリーンアップ操作、ゲル濾過法、イオン交換樹脂による分画と電気泳動分析及び薄層クロマトグラフィーによる分離と確認を行った。その詳細は図 1 に示した。

(ii) 薬剤処理後 21 日目の水抽出物試料の分析

処理後 21 日目のアルファルファ水抽出物には処理薬剤に対して 17.29%の放射能が含まれていた。
分析・抽出操作としてはアセトン抽出物と同じような操作を行った。7 日目の操作の詳細を図 2 に示した。

結 果 :

(i) 植物体中の ^{14}C の分布とその経時変化

薬剤処理後の各時期におけるアルファルファ中の放射エネルギーを、処理量に対する割合 (%) と植物体に対する濃度 (ppm) で表 1 及び 2 に示した。

^{14}C アシュラムをアルファルファに 200 ppm 処理した場合、試験期間中定量的な回収 (散布時の変動を修正した) が得られた。

植物試料中の放射能の大部分はアセトンで可溶であった

。水に可溶の ^{14}C

含有物質の量は、処理直後は 5% (11 ppm) であったが処理後 28 日目には
となった。塩酸抽出物中の ^{14}C の量は処理後 3 日目以降 5~6%

であった。植物繊維中に取り込まれた ^{14}C 放射能は、直後で

であった。

薬剤処理した植物の再生物中からはほとんど放射能が検出されなかった。最初に刈り取りをすればその後生長したアルファルファには、アシュラム及びその代謝物が含まれていないことを示していた。

(ii) 薬剤処理後 21 日目のアセトン抽出物試料含有成分

図 1 に示したようにアセトン抽出物には処理放射能の 71.3%が検出され、塩酸加水分解後酢酸エチルで分配すると酢酸エチル相に 62%が抽出された。これを n-ヘキサンで分配したところ、水相に 38.0%が残った。これをさら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。
に分析を進め、同定化合物を表 3 にまとめた。主要代謝物としては、アシュラム (1, 9.19%)、

等が確認された。その他の成分についても表 3 に示した。

(iii) 薬剤処理後 21 日目の水相抽出物試料含有成分

図 2 に示したように水抽出物には処理放射能の 17.29%が含まれ、加水分解後の抽出操作から酢酸エチル相に 8.98%含まれ、水相には 8.31%が残存した。酢酸エチル相及び水相を、さらに分析を進め、結果を表 4 にまとめた。量的には少ないが次のような化合物が含まれていた。主な代謝物は、

等であった。

さらに、アセトン抽出物と水抽出物から検出された代謝物を表 5 に示した。主要代謝物としては、アシュラム(9.19%)、

であった。

未同定物質は、多くの成分からなっており、処理量の 10%を超えるものは無かった。

[申請者註：報告書では付着量にばらつきがあることを考慮し、平均回収率で補正した結果も報告しているが、この抄録ではその数値は使用しなかった。]

(iv) 想定代謝分解経路

アシュラムのアルファルファにおける想定代謝分解経路を図 3 に示した。

[申請者註：報告書では検出された多くのカルボン酸やアミノ酸が植物の生合成経路や解糖経路に関連する物質であることを示すため、これらの経路についても文献等を引用して記載しているが、本抄録ではその部分を省略した。]

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

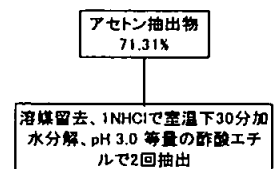


図1 ^{14}C -アシュラムを処理したアルファルファの処理21日後のアセトン抽出物の分析・同定操作と放射能分布

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

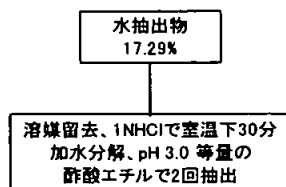


図2 ^{14}C -アシュラムを処理したアルファルフアの処理 21 日後の水抽出物の分析・同定操作と放射能分布

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

表 1 アルファルファに ^{14}C -アシュラムを処理したときの経時変化

(数値は回収率%)

薬剤処理後の日数 (日)	アセトン 抽出物	水抽出物	酸抽出物	繊維質	合計
0					100.00
3					
7					
14					
21					
28					

表 2 アルファルファに ^{14}C -アシュラムを処理したときの経時変化

(数値は回収アシュラム当量当たりの ppm)

薬剤処理後の日数 (日)	アセトン 抽出物	水抽出物	酸抽出物	繊維質	合計
0					203.49
3					
7					
14					
21					
28					
3+25					
7+21					
14+14					
21+21					
28+14					

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

表5 アルファルファに¹⁴C-アシュラムを処理し21日後にアセトン及び水抽出物中で同定された化合物

参照 No.	成分名	処理 ¹⁴ Cに 対する%
1	アシュラム	9.19
同定化合物合計		
未同定**		31.76
未分析		1.20
合計		66.31

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

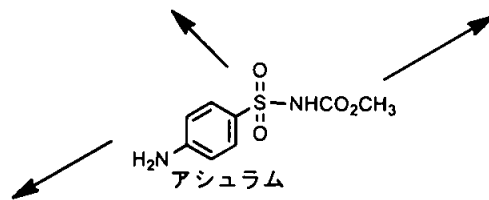


図3 アシュラムのアルファルファにおける想定代謝分解経路

[申請者註：想定代謝分解経路については、サトウキビ及びライグラスの想定代謝分解経路も参考とした。]

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

4) アシュラムのほうれんそうにおける代謝試験 (出芽後処理) (資料 No. 代-6)

供試標識化合物: ^{14}C アシュラム

構造式:

化学名: メチル[(4-アミノフェニル)スルホニル]カーバメート

供試植物: ほうれんそう (品種: Lazio F1) (温室栽培)

供試土壌: 以下の特性を持つ土壌をポット (35 L、表面積 0.13 cm^2) に詰め、ほうれんそうを栽培した。

分析項目	分析値
土性 (USDA 分類)	壤質砂土
砂	77.3%
シルト	17.5%
粘土	5.2%
有機炭素含有率	1.38%
pH (0.01 M CaCl_2)	5.90
陽イオン交換容量	5.00 meq/100 g
容積重	2.57 g/mL

方法:

処理液の調製: [^{14}C]アシュラム と非標識アシュラム (24 mg) を水 (5 mL) に添加後、溶解することにより処理液を調製した。

処理方法: 処理は、播種後 21 日 (出芽後 15 日) の 4 葉期 (BBCH 生育ステージ 14) に 1 回実施

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

した。処理量は 2.4 kg ai/ha の約 6% 増に設定し、手動式散布機を用いて処理液をほうれんそう葉および土壌に均一に散布した（散布水量 385 L/ha 相当）。散布機に残った量とポット周りの保護用プラスチックホイルに付着した量を差し引くと、実際の処理量は、2.4 kg ai/ha に相当した。

採取時期：処理後 14 日に、成熟期（BBCH 生育ステージ 49）のほうれんそうの葉を採取した。

分析方法：ほうれんそう試料の分析方法のスキームを図 1 に示す。アシュラムおよびその代謝物は、該当ピークを HPLC により単離・精製した後、LC-MS、LC-MS/MS、必要に応じて FT/MS および NMR 分析により、同定または化学的特徴付けを行った。

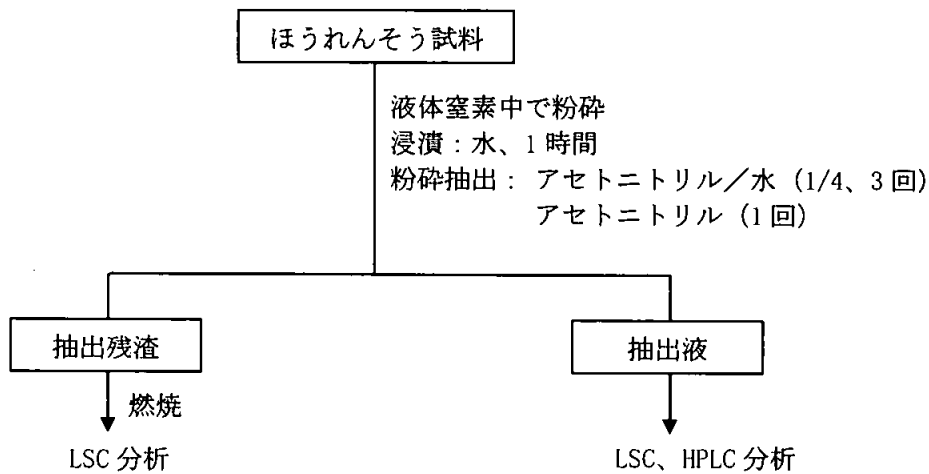


図 1 ほうれんそう試料の抽出および分析スキーム

試験結果：

^{14}C 分布：ほうれんそうにおける ^{14}C 分布を表 1 に示す。

ほうれんそうにおける総残留放射能（TRR）濃度は、184.4 mg/kg であった。放射能のほとんど大部分（99.5%TRR）がアセトニトリル/水（1/4）およびアセトニトリルで抽出され、抽出残渣中の放射能はわずか（0.5%TRR）であった。

表 1 ほうれんそうにおける ^{14}C 分布

画分	%TRR ^a	mg/kg ^b
抽出液	99.5	183.5
抽出残渣	0.5	0.9
合計	100.0	184.4

a：ほうれんそう中の総残留放射能（TRR）に対する割合（%）

b：アシュラム換算濃度

代謝：ほうれんそう試料の代謝物分析の結果を表 2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。
主要残留物は未変化のアシラムであり、77.4%TRR (142.8 mg/kg) 検出された。

そ

これら成分の正確な化学構造を決めることはできなかったが、いずれの成分も最も重要な部分に以下に示すような 2 個のアシラム由来であると推定された。

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

表2 ほうれんそうにおける代謝物分布

化合物	%TRR ^a	mg/kg ^b
抽出液	99.5	183.5
アシュラム	77.4	142.8

未同定代謝物

抽出残渣

合計	100.0	184.4
----	-------	-------

a: ほうれんそう中の総残留放射能 (TRR) に対する割合 (%)

b: アシュラム換算濃度

想定代謝経路: アシュラムのほうれんそうにおける想定代謝経路を図2に示す。

アシュラムはほうれんそうにおいて、主にマロン酸およびグルコースとの抱合化、ま
代謝さ
れると考えられた。

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

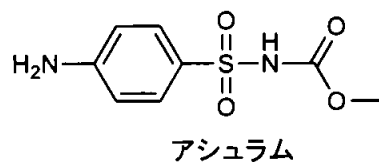


図2 アシュラムのほうれんそうにおける想定代謝経路

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

3. 土壌中動態試験

1) 好氣的土壌中動態試験

(資料No.代-7)

供試標識化合物： 均一に標識した¹⁴C-アシュラム
 化学名； メチル スルファニルイルカーバメート
 構造式；

*は標識部位

比放射能；

放射化学的純度；

供試土壌：次に示す4種類の英国土壌を用いて試験を実施した。用いた土壌の分析結果は次のとおりである。

土壌参照番号		PT102	PT103	SK15556090	SK961089
英国土性 分類及び 粒度分布	分 類	砂壤土	砂壤土	埴壤土	埴壤土
	砂(2000~63 μm) %	50	75	21	36
	シルト(63~2 μm) %	38	12	60	32
	粘土(<2 μm) %	12	13	19	32
USDA 土性 分類及び 粒度分布	分 類	壤土	砂壤土	シル質壤土	埴壤土
	砂(2000~53 μm) %	51	76	23	38
	シルト(53~2 μm) %	37	11	58	30
	粘土(<2 μm)%	12	13	19	32
有機態炭素量 (%)		2.9	1.3	5.4	5.1
有機物量 (%)		5.0	2.2	9.3	8.8
陽イオン交換容量 (meq/100g)		19.8	9.8	28.5	37.8
容水量 (%)	pF 0 (0.001bar)	58.9	37.5	110.5	86.1
	pF 2.5 (0.33bar)	20.8	10.4	38.8	31.2
pH	H ₂ O	7.3	5.5	7.0	7.9
	KCl (1M)	6.7	5.1	6.1	7.3
微生物 バイオマス (μgC/g)	試験開始時	522.3	126.3	1084.9	992.1
	試験終了時 (20℃)	563.5	348.3	967.2	1017.3
	試験終了時 (10℃)	549.4	—	—	—

なお、これ以降に記述する土性分類は、いずれも英国土性分類のものである。

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

試験方法：

試験（培養）温度及び試験目的：

各供試土壌につき、暗所条件下で次の温度で試験を実施した。

供試土壌 (参照番号)		砂壤土 (PT102)	砂壤土 (PT103)	埴壤土 (SK15556090)	埴壤土 (SK961089)
試験温度	20℃	実施	実施	実施	実施
	10℃	実施	実施せず	実施せず	実施せず

試験系の調製：

試験の開始に先立ち、2 mmメッシュの篩に通した土壌各50 g

を対応する培養用の三角フラスコに分配した。

圃場施用量 4.4 kg有効成分/haに相当するように、 $[^{14}\text{C}]$ アシユラムの水酸化ナトリウム溶液を土壌試料の表面に霧状に噴霧し、土壌を混合した。

培養：

三角フラスコには、二酸化炭素を含まない加湿空気を通気した。また各土壌からの揮発性物質を計2個の2M水酸化ナトリウムトラップで捕集した。培養期間中、土壌の水分含有量を最大容水量の45%に保った。

試料採取：

各試験系から、次の時期に土壌試料を採取して分析に供した。

処理後0日（処理直後）、1日、3日、7日、28日、59日及び120日

トラップ中の捕集液は、土壌試料採取日又は約30~40日ごとの捕集液補充時に採取し、分析に供した。

土壌試料の抽出処理：

土壌試料は次の順で抽出処理を行った。

1. アセトン：水混液（50：50v/v、約75 mL）による2回の抽出
2. 酸性水（pH 2）によるソックスレー抽出（ソックスレー抽出1）
3. 酸性アセトニトリル（pH 2）によるソックスレー抽出（ソックスレー抽出2）

またアセトン：水混液、酸性水及び酸性アセトンによる各抽出後の土壌試料（処理後7日、14日、28日及び120日）について、塩酸及び水酸化ナトリウムによる酸／アルカリ抽出処理を行った。

なお処理後59日（20℃で培養した砂壤土（参照番号PT102）を除く）の試料について、代替抽出として塩化カルシウム（0.01M）、アセトン／水混液（1：1 v/v）、アセトニトリル、酢酸エチル、ジエチルエーテル、塩酸（0.5M）及び水酸化ナトリウム（0.5M）による追加抽出を行った。

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

抽出物、捕集液及びソックスレー抽出後の土壌試料中の放射能の測定：

各抽出物及び捕集液の一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定し、それぞれ含まれる放射能を測定した。

ソックスレー抽出後の土壌試料を燃焼させ、Oxysolve C-350に吸収させた燃焼生成物の放射能をLSCで測定した。

土壌結合残留の特徴付け：

抽出処理後の59日土壌試料を用いて、土壌結合残留のヒューミン画分、腐植酸画分、フルボ酸画分への分画（特徴付け）を行った。

代謝分解物の定量及び同定：

各抽出物を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による各参照物質とのコクロマトグラフィーに供した。カラム溶出液中の放射能は、液体セル及びシンチラントにより測定した。親化合物アシュラムの同定は、液体クロマトグラフィー-マススペクトロメトリー（LC-MS）により行った。

また、薄層クロマトグラフィー（TLC、プレート：Whatman K6Fシリカゲル、展開溶媒：1-ブタノール：水：酢酸=12：5：3 v/v/v）により未知物質の特徴付けを行った。TLCプレート上の放射能の定量は、Fuji BAS 1500バイオイメージアナライザーを用いて行った。

試験結果：

放射能の回収及び分布率：

各土壌からの経時的な放射能回収率（放射能分布率）を、表1（20℃）及び表2（10℃）に示す。また59日の試料について行った代替抽出の結果を表3に示した。

試験（培養）期間終了時（処理後120日）の放射能回収率は、20℃で培養した4土壌において86.2%（砂壤土、参照番号PT103）～91.9%（埴壤土、参照番号SK961089）、10℃で培養した1土壌（砂壤土、参照番号PT102）において90.6%であり、何れも良好な値と考えられた。

試験（培養）期間の当初は、処理放射能の大部分がアセトン・水抽出物として回収された。しかしながらアセトン・水抽出物として回収される放射能は経時的に減少した。20℃で培養した4土壌では、アセトン・水抽出物として回収された放射能は14日（埴壤土、参照番号SK15556090）～28日（砂壤土2種類及び一方の埴壤土）に処理放射能の10%以下となった（表1）。10℃で培養した1土壌では、59日に処理放射能の10%以下となった（表2）。

ソックスレー抽出物（酸性水抽出物及び酸性アセトン抽出物の合計）として回収さ

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

れる処理放射能も培養期間の当初は経時的に増加したが、後に減少に転じた。

ソックスレー抽出物（合計）として回収された放射能の最大値は、20℃で培養した4土壌では処理放射能の22%（埴壤土、参照番号SK961089、14日）～32%（砂壤土、参照番号PT103、28日）であり（表1）、10℃で培養した一土壌では処理放射能の23%（59日）であった（表2）。

アセトン・水混液による抽出及びソックスレー抽出後の土壌残留放射能は、試験（培養）期間を通じて経時的に増加した。何れの土壌及び試験（培養）温度においても、土壌残留放射能は試験（培養）期間終了時である120日に最大となった（表1及び表2）。土壌残留放射能について行った酸／アルカリ抽出の結果、抽出された放射能の大部分はアルカリ抽出によるものであった（表1及び表2）。酸／アルカリ抽出後の非抽出性残留は、大部分の土壌において処理後1ヶ月の時点で平衡となった。

揮発性物質として水酸化ナトリウム捕集液中に認められた放射能は、試験（培養）期間を通じて経時的に増加したが、その生成量は処理放射能に対して10%を上回ることはなかった。

アセトン・水抽出及びソックスレー抽出後の59日土壌試料について行った代替抽出の結果、土壌残留放射能は主としてアルカリ抽出により抽出された。

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

表 1 20℃で培養した各土壌における経時的放射能回収率 (処理放射能に対する%)

土壌 (参照番号)	放射性画分		処理後経過日数(日)							
			0	1	3	7	14	28	59	120
砂壤土 (PT102) (n=2の平均値、但し 第59日は n=1の値)	抽出物	アセトン:水抽出								
		ソックスレー抽出1								
		ソックスレー抽出2								
	土壌残留放射能 (計)									
	土壌残留 放射能の 酸/アルカリ 抽出の内訳	HC1(0.1M)抽出								
		NaOH(0.1M)抽出								
		非抽出性残留								
	捕集液	NaOHトラップ1								
		NaOHトラップ2								
	合 計									
砂壤土 (PT103) (n=1の値)	抽出物	アセトン:水抽出								
		ソックスレー抽出1								
		ソックスレー抽出2								
	土壌残留放射能 (計)									
	土壌残留 放射能の 酸/アルカリ 抽出の内訳	HC1(0.1M)抽出								
		NaOH(0.1M)抽出								
		非抽出性残留								
	捕集液	NaOHトラップ1								
		NaOHトラップ2								
	合 計									
埴壤土 (SK15556090) (n=1の値)	抽出物	アセトン:水抽出								
		ソックスレー抽出1								
		ソックスレー抽出2								
	土壌残留放射能 (計)									
	土壌残留 放射能の 酸/アルカリ 抽出の内訳	HC1(0.1M)抽出								
		NaOH(0.1M)抽出								
		非抽出性残留								
	捕集液	NaOHトラップ1								
		NaOHトラップ2								
	合 計									
埴壤土 (SK961089) (n=1の値)	抽出物	アセトン:水抽出								
		ソックスレー抽出1								
		ソックスレー抽出2								
	土壌残留放射能 (計)									
	土壌残留 放射能の 酸/アルカリ 抽出の内訳	HC1(0.1M)抽出								
		NaOH(0.1M)抽出								
		非抽出性残留								
	捕集液	NaOHトラップ1								
		NaOHトラップ2								
	合 計		99.2	97.7	92.5	94.2	93.0	92.6	90.3	91.9

n/a: 分析せず、HCl: 塩酸、NaOH: 水酸化ナトリウム、

ソックスレー抽出1: 酸性水(pH2)を使用、ソックスレー抽出2: 酸性アセトニトリル(pH2)を使用、

括弧 () 内の数値は処理放射能に対する%を示す (HCl抽出+NaOH抽出+非抽出性残留=土壌残留放射能 (計))

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

表 2 10℃で培養した土壌における経時的放射能回収率

(処理放射能に対する%)

土壌 (参照番号)	放射性画分		処理後経過日数(日)							
			0	1	3	7	14	28	59	120
砂壤土 (PT102) (n=1の値)	抽出物	アセトン：水抽出								
		ソックスレー抽出1								
		ソックスレー抽出2								
	土壌残留放射能 (計)									
	土壌残留 放射能の 酸/アルカリ 抽出の内訳	HCl(0.1M)抽出								
		NaOH(0.1M)抽出								
		非抽出性残留								
	捕集液	NaOHトラップ1								
		NaOHトラップ2								
	合 計		98.9	90.6	91.3	95.8	96.8	89.0	92.4	90.6

n/a : 分析せず、HCl : 塩酸、NaOH : 水酸化ナトリウム

ソックスレー抽出1 : 酸性水(pH2)を使用、

ソックスレー抽出2 : 酸性アセトニトリル(pH2)を使用

括弧 () 内の数値は処理放射能に対する%を示す (HCl抽出+NaOH抽出+非抽出性残留=土壌残留放射能(計))

表 3 処理第59日土壌のアセトン・水抽出及びソックスレー抽出後の代替抽出結果

(処理放射能に対する割合%)

土壌 (参照番号)	砂壤土 (PY103)	埴壤土 (SK15556090)	埴壤土 (SK961089)	砂壤土 (PT102)
試験(培養)温度	20℃			10℃
塩化カルシウム(0.01M)抽出				
アセトン・水(1:1)抽出				
アセトニトリル抽出				
メタノール抽出				
酢酸エチル抽出				
ジエチルエーテル抽出				
塩酸(0.5M)抽出				
水酸化ナトリウム(0.5M)抽出				
合 計	41.1	13.3	10.3	30.9

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

代謝物の量的推移：

20℃又は10℃で培養した各土壌における代謝物の量的推移を、表4～表7（20℃）及び表8（10℃）にそれぞれ示す。

20℃で培養した4種類の土壌において、親化合物アシュラムは経時的に減少した。土壌から抽出されるアシュラムは、埴壤土（SK15556090）では14日以降に処理放射能の10%以下となり、他の3種類の土壌（砂壤土PT102、埴壤土 SK961089）では28日以降に処理放射能の10%以下となった。

10℃で培養した砂壤土（PT102）においても、親化合物アシュラムは経時的に減少した。土壌から抽出されるアシュラムは、20℃で培養した同一土壌と比較して高く、処理放射能に対して10%以下となったのは59日であった。

処理放射能に対して10%以上生成した代謝物は、及び未知物質1であった。ともにある時点で最高値を示した後、減少に転じた。

20℃での培養土壌で認められたの最高値は、砂壤土（PT103）及び埴壤土（SK961089）でそれぞれ12.0%（28日）及び13.9%（14日）であり、砂壤土（PT102）及び砂壤土（SK15556090）ではそれぞれ6.5%（28日）及び4.6%（7日）であった。

10℃で培養した砂壤土（PT102）で認められたの最高値は、7.1%（14日）であった。

20℃での培養土壌で認められた未知物質1の最高値は、2種類の砂壤土（PT102及びPT103）ではそれぞれ8.5%及び14.2%（何れも59日）、2種類の埴壤土（SK15556090及びSK961089）ではそれぞれ19.7%及び11.9%（何れも28日）であった。

10℃で培養した砂壤土（PT102）で認められた未知物質1の最高値は、18.5%（59日）であった。

未知物質1はHPLC及びTLCによる検討から、10種類以上の成分で構成される極性物質集団であると特徴づけられた。

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

表4 砂壤土(PT102、試験温度 20℃)における分解生成物の量的推移
(処理放射能に対する%、n=2の平均値)

処理後 日数	分解生成物 コード	アセトン						その他の未知 物質(計)	バック グラウンド	合計
第0日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									91.7
第1日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									84.2
第3日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									72.5
第7日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									52.0
第14日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									44.6
第28日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									25.9
第59日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									14.0
第120日	アセトン:水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合計									5.9

n/a : 分析を行わず。 n/d : 検出限界以下。

括弧 [] 内の数値は、最も多く認められた単一未知物質の生成量を示す。

未知物質 1 : 複数の極性物質の集団であり、10種類以上の個別成分で構成されると推定された。

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

表 5 砂壤土(PT103、試験温度 20℃)における分解生成物の量的推移

(処理放射能に対する%、n=1の値)

処理後 日数	分解生成物 コード	アセトン					未知 物質 1	その他の未知 物質(計)	バック グラウンド	合計
第 0 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									93.7
第 1 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									85.9
第 3 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									74.0
第 7 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									60.4
第 14 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									44.2
第 28 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									38.0
第 59 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									15.0
第 120 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									10.3

n/a：分析を行わず。n/d：検出限界以下。

括弧 [] 内の数値は、最も多く認められた単一未知物質の生成量を示す。

未知物質 1：複数の極性物質の集団であり、10 種類以上の個別成分で構成されていると推定された。

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

表 6. 埴壤土(SK15556090、試験温度 20°C)における分解生成物の量的推移
(処理放射能に対する%、n=1 の値)

処理後 日数	分解生成物	アセトン					未知 物質 1	その他の未知 物質(計)	バック グラウンド	合計
	コード									
第 0 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									79.8
第 1 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									73.5
第 3 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									63.0
第 7 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									49.3
第 14 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									30.5
第 28 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									26.7
第 59 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									17.1
第 120 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									12.8

n/a：分析を行わず。n/d：検出限界以下。

括弧 [] 内の数値は、最も多く認められた単一未知物質の生成量を示す。

未知物質 1：複数の極性物質の集団であり、10 種類以上の個別成分で構成されると推定された。

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

表 7 埴壤土(SK961089、試験温度 20℃)における分解生成物の量的推移
(処理放射能に対する%、n=1の値)

処理後 日数	分解生成物	アセトン					未知 物質 1	その他の未知 物質(計)	バック グラウンド	合計
	コード									
第 0 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									70.5
第 1 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									83.0
第 3 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									73.8
第 7 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									53.0
第 14 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									39.2
第 28 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									24.8
第 59 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									12.3
第 120 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									3.1

n/a：分析を行わず。n/d：検出限界以下。

括弧 [] 内の数値は、最も多く認められた単一未知物質の生成量を示す。

未知物質 1：複数の極性物質の集団であり、10 種類以上の個別成分で構成されていると推定された。

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

表 8. 砂壤土(PT102、試験温度 10°C)における分解生成物の量的推移
(処理放射能に対する%、n=1の値)

処理後 日数	分解生成物	アシュラム					未知 物質 1	その他の未知 物質(計)	バック グラウンド	合計
	コード									
第 0 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									88.8
第 1 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									86.1
第 3 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									81.7
第 7 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									73.1
第 14 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									63.6
第 28 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									40.1
第 59 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出 (合計)									
	合 計									21.9
第 120 日	アセトン：水抽出									
	ソックスレー抽出(合 計)									
	合 計									16.5

n/a : 分析を行わず。n/d : 検出限界以下。0.0 : 検出限界以上、処理放射能の 0.1% 未満を意味する。

括弧 [] 内の数値は、最も多く認められた単一未知物質の生成量を示す。

未知物質 1 : 複数の極性物質の集団であり、10 種類以上の個別成分で構成されると推定された。

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

土壌結合残留の特徴付け：

処理後第59日土壌試料を用いて行った、土壌結合残留の特徴付け結果を表9に示す。土壌結合残留は、3種類の土壌画分（フルボ酸、腐植酸及びヒューミン）全てに分画された。

全体的にフルボ酸に分画された放射能が最も少なく、土壌の種類に応じてより多量の放射能が腐植酸及びヒューミンに分画された。

表9 土壌結合残留の特徴付け—各土壌画分への分画（%）

土壌 (参照番号)	砂壤土 (PT102)	砂壤土 (PT103)	埴壤土 (SK15556090)	埴壤土 (SK961089)	砂壤土 (PT102)
試験(培養)温度 20℃					10℃
フルボ酸					
腐植酸					
ヒューミン					
合計	100.0 [58.7]	100.0 [45.8]	100.0 [66.0]	100.0 [66.0]	100.0 [55.2]

括弧 [] 内の数値は、処理放射能に対する%を示す。

DT₅₀及びDT₉₀：

各土壌（20℃又は10℃）における親化合物アシュラムのDT₅₀及びDT₉₀値を以下に示す。

土壌 (参照番号)	砂壤土 (PT102)	砂壤土 (PT103)	埴壤土 (SK15556090)	埴壤土 (SK961089)	砂壤土 (PT102)
試験(培養)温度 20℃					10℃
DT ₅₀ (days)	2.81	2.34	1.49	3.45	7.38
DT ₉₀ (days)	14.72	15.75	8.83	15.79	34.61

想定代謝分解経路：

アシュラムの好氣的土壌中における分解経路は、への分解
及びその後の非抽出残留及び二酸化炭素への無機化のほか、アシュラムから非抽出
残留への変換が主要経路であると考えられた。また、
を含む極めて広範囲の微
量代謝物の生成も認められた。

次頁図1に申請者が作成したアシュラムの好氣的土壌中における想定代謝分解経路を示す。

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

微量代謝物

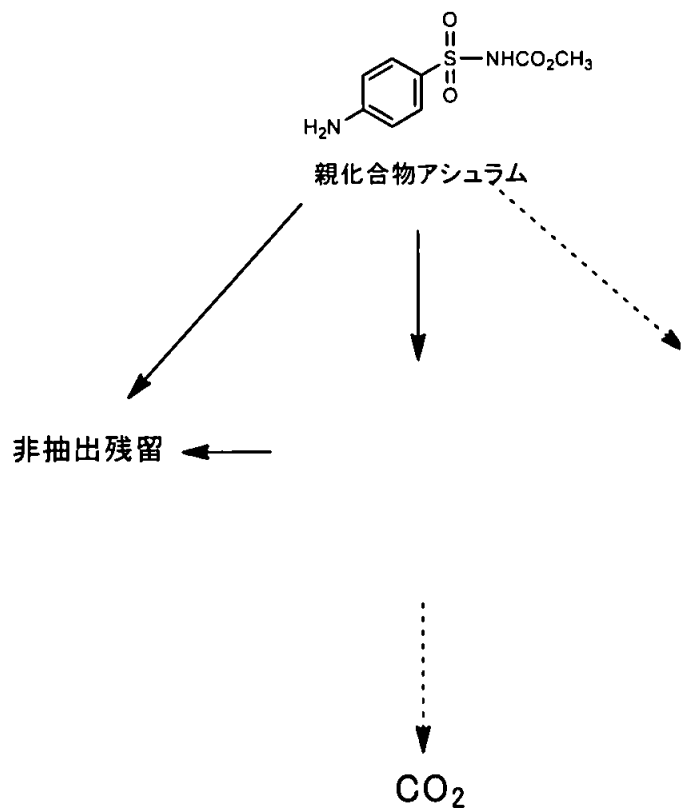


図1 アシュラムの好氣的土壤中における想定代謝分解経路
[申請者注：申請者が報告書をもとに作成した]

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

4. 水中動態に関する試験

4.1 滅菌緩衝溶液中の加水分解動態試験

(資料 No.代-8)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム
化学名： メチル スルファニルイルカーバメート
構造式：

*は標識部位

比放射能：
放射化学的純度：

方 法：

緩衝溶液；pH 5 酢酸ナトリウム緩衝液 (0.01M) は 1% 酢酸で pH 5 に調製
pH 7 リン酸ナトリウム緩衝液(0.01M)は 1% 水酸化ナトリウムで pH 7 に
調製
pH 9 ホウ酸ナトリウム緩衝液(0.01M)は 1.0M のホウ酸で pH 9 に調製

滅 菌；器具類は約 122 °C のオートクレーブで、緩衝液は無菌 0.45 μm フィルターで
処理。

試料調製；緩衝溶液に濃度 4.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の被験物質を添加しガラスバイアル瓶に入れ、密
栓後アルミホイルで遮光し 24~26 °C に調節した室内に維持した。

試料採取間隔；0、6、12 (pH9 は 13)、20、24 及び 31 日目

分 析；放射能分布は HPLC で調べた。HPLC 分画は LSC で分析した。

結 果： 各 pH におけるサンプルに処理した放射能の平均回収率は、100.8~106.0% で
あった。サンプルに処理した放射能に対する分布を表 1 に示す。

HPLC カラムに適用した放射能に対する分布を表 2 に示す。31 日間を通じた
平均回収率は 96.7~102.1% であった。

試験期間を通じて、各 pH ともに設定値の ± 0.05 の範囲に保たれていた。

結 論： 24~26°C \times 31 日間の加水分解試験において、アシュラムはほとんど分解が認
められず、分解半減期を算出することはできなかった。また、HPLC 分析から
 ^{14}C -アシュラムのほかに 4 つの微量成分が検出され、pH5 の HPLC 領域 1 が
適用放射能の最高 4.7% に達した他は、適用放射能の 1.4% を超えることはな
かった。

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

表 1 各 pH における試料のカラム適用放射能に対する分布

試料採取日 (日)	サンプルに処理した放射能に対する分布* (%)				
	領域** 1	¹⁴ C-7シユラム	領域 2	領域 3	領域 4
pH 5					
0		96.8			
6		96.4			
12		95.7			
20		95.3			
24		93.0			
31		96.3			
pH 7					
0		93.8			
6		97.1			
12		96.6			
20		97.9			
24		95.6			
31		97.7			
pH 9					
0		95.9			
6		97.7			
12		98.8			
20		95.4			
24		101.8			
31		97.6			

数値は n=2 の平均

*:各サンプル中の放射能濃度(dpm/ml)を0日目サンプル中放射能の平均濃度で割った値(%)

** :放射能が検出されたフラクションの部分を便宜上、領域と表現した

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

表 2 各 pH における試料のカラム適用放射能に対する分布

試料採取日 (日)	HPLC 適用放射能に対する分布 (%)					
	カラム回収率*	領域** 1	¹⁴ C-アシュラム	領域 2	領域 3	領域 4
pH 5						
0	100.1		96.8			
6	100.2		94.5			
12	99.1		94.4			
20	101.1		93.9			
24	97.7		90.9			
31	100.7		92.2			
pH 7						
0	99.7		93.8			
6	99.7		94.7			
12	98.9		94.8			
20	97.3		93.7			
24	96.7		92.8			
31	98.4		94.5			
pH 9						
0	100.9		95.9			
6	102.1		96.9			
12	99.7		96.1			
20	97.5		93.1			
24	100.3		96.1			
31	97.8		95.1			

数値は n=2 の平均

* : HPLC カラムから回収された総放射能 (dpm) を HPLC 系に適用した放射能 (dpm) で割った値 (%)

** : 放射能が検出されたフラクションの部分を便宜上、領域と表現した

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

4.2 水中光分解動態試験

1) 緩衝液

(資料 No.代-9)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム
化学名： メチル スルファニルイルカーバメート
構造式：

* は標識部位

比放射能：
放射化学的純度： (HPLC 及び TLC)

試験水：

1. pH 9 緩衝液 (0.1M グリシン/1M 水酸化ナトリウム緩衝液)
アシュラム設定濃度 0.6 mg/L、
共存溶媒としてアセトニトリルを 0.42% (v/v) を含有。
2. pH 4 緩衝液 (0.1M 酢酸ナトリウム/0.1M 酢酸緩衝液)
アシュラム設定濃度 0.6 mg/L、
共存溶媒としてアセトニトリルを 0.45% (v/v) を含有。

光源と光量：

光源：キセノンランプ

放射照度：

測定波長域	試験緩衝液	
	pH 9	pH 4
290~800 nm	309 W/m ²	306 W/m ²

試験方法：

試験装置：Haraeus Suntest CPS+

試験系：本試験は、光分解動態試験と量子収量測定試験で構成されている。

光分解動態試験：

・光照射区

試験温度：25±2 °C

試験容器：ガラス製 (但し、光の入射面は石英製)

試験水量：25 mL

光照射：キセノンランプを組み込んだ Haraeus Suntest CPS+ から、光 (290 nm 以下の波長を除去) を連続的に照射した。

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

・非照射（暗所対照）区

試験温度：25±1 °C

試験容器：ガラス製、容器は黒色プラスチックで遮光した。

試験水量：25 mL

光照射区および非照射区の試験装置には二酸化炭素を含まない空気を通気し、揮発性分解生成物捕集を目的として一連のトラップ系[トラップ1 (エチレングリコール) トラップ2 及び3 (2M 水酸化カリウム)]を接続した。

量子収量試験：

ピリジン(792.0 mg)に4-ニトロアセトフェノン[PNAP]のアセトニトリル溶液（濃度 0.03 mg/L）450 μLを加えた後に超純水で50 mL定容とし、アクチノメータ溶液を調製した。

pH 9 での量子収量試験：アクチノメータ溶液を照射試料及び非照射試料に分割し、通気せずに pH 9 の緩衝液中での光分解動態試験と同様に光照射又は暗所での培養を行った。アクチノメータ溶液中の PNAP 及びピリジン濃度は、それぞれ 1.73×10^{-6} M 及び 0.2003 M であった。

pH 4 での量子収量試験：pH 9 での量子収量試験と同様に、光照射又は暗所での培養を行った。アクチノメータ溶液中の PNAP 及びピリジン濃度は、それぞれ 1.85×10^{-6} M 及び 0.2042 M であった。

試料採取：

光分解動態試験及び量子収量試験の試料採取は、次の表に示す時点で行った。各採取時点で試験容器及びそれに付属するトラップ系を採取した。また滅菌確認用の試験水も採取した。

pH 9 緩衝液		採取時点（照射開始後経過時間）(hr)															
		0	2	4	7	10	14	21	27	29	33	40	46	48	54	75	
光分解 動態 試験	非照射	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	
	照射	処理 1	2	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
		処理 2	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-
		処理 3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		処理 4	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-
量子収 量試験	非照射	1	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	
	照射	1	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	

(表中の数値は、採取試料数を示す。)

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

pH 4 緩衝液		採取時点 (照射開始後経過時間) (hr)																
		0	1	2	4	7	10	13	16	19	22	23	26	32	48	55	72	79
光分解 動態 試験	非照射	0	—	—	1	—	1	—	—	1	—	1	—	1	1	1	—	—
	照射	処理 1	2	1	1	1	1	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
		処理 2	2	—	—	—	—	—	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—
量子収 量試験	非照射	1	—	—	1	—	1	—	—	—	—	1	1	1	1	1	1	1
	照射	1	—	—	1	—	1	—	—	—	—	1	1	1	1	1	1	1

(表中の数値は、採取試料数を示す。)

採取試料の分析

光分解動態試験：

各時点において採取した試験水、試験溶液の洗浄液 (アセトニトリル 5 mL/水 3 mL) およびトラップ中の各溶液の放射能を、液体シンチレーションカウンターで測定した。

また、試験水中の成分組成に関しては、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)及び液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー(LC-MS)を用いて特徴付け/同定を行った。

量子収量試験：

各時点において採取した照射区および非照射区の試験水を HPLC で分析し、ピリジン/PNAP アクチノメータを用いて量子収量を決定した。

無菌状態の確認：

採取試料の一部を栄養培地で数日間培養して、試験期間を通じて滅菌性が保たれていたことを確認した。

試験結果：

光分解動態試験 — 放射能の回収率：

各試料採取時点における光照射区および非照射区の放射能回収率を表 1 (pH 9 緩衝液) 及び表 2 (pH 4 緩衝液) に示す。

pH 9 緩衝液の光照射区及び非照射区の放射能回収率(表 1)は、各採取時点で何れも処理放射能に対して 95%以上と良好であった。

光照射区及び非照射区への処理放射能は、ほぼ全量が試験水中から回収された。

光照射区では、採取時点 21 時間以降 (照射時間 0.874 日以降) に捕集溶液中に放射能が認められたが、各時点で認められた量は処理放射能に対して 0.5%以下と極微量であった。

非照射区では、捕集溶液中に放射能は認められなかった。

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

pH 4 緩衝液の光照射区及び非照射区の放射能回収率（表 2）は、pH 9 緩衝液と同様に良好であった。光照射区の採取時点 10 時間（照射時間 0.341 日）の放射能回収率が 93.5%であったのを除き、何れの採取時点でも処理放射能に対して 95%以上と良好であった。

光照射区及び非照射区への処理放射能は、ほぼ全量が試験水中から回収された。光照射区では、採取時点 16 時間以降（照射時間 0.628 日以降）に捕集溶液中に放射能が認められたが各時点で認められた量は処理放射能に対して 0.2%以下であった。

非照射区では、捕集溶液中に放射能は認められなかった。

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

表 1 pH 9 緩衝液における放射能回収率

表中の放射能数値は処理放射能に対する%

採取 時点 (hr)	光照射区					非照射区				
	照射 時間 (day)	回収 放射能 (計)	試験 水中 放射能	容器洗 浄液中 放射能	捕集 液中 放射能	培養 時間 (day)	回収 放射能 (計)	試験 水中 放射能	容器洗 浄液中 放射能	捕集 液中 放射能
0	0.0	97.6				0.0	97.6			
2	0.094	97.6				-	-			
4	0.215	97.1				0.231	99.9			
7	0.277	99.5				-	-			
10	0.326	99.5				0.406	97.7			
14	0.590	101.5				-	-			
21	0.874	100.0				-	-			
27	1.113	97.9				-	-			
29	-	-				1.238	99.3			
33	1.340	98.3				-	-			
40	1.653	100.3				-	-			
46	1.929	96.7				-	-			
54	2.158	101.2				2.288	100.3			

N.A. : 分析せず

表 2 pH 4 緩衝液における放射能回収率

表中の放射能数値は処理放射能に対する%

採取 時点 (hr)	光照射区					非照射区				
	照射 時間 (day)	回収 放射能 (計)	試験 水中 放射能	容器洗 浄液中 放射能	捕集 液中 放射能	培養 時間 (day)	回収 放射能 (計)	試験 水中 放射能	容器洗 浄液中 放射能	捕集 液中 放射能
0	0.0	99.8				0.0	99.8			
1	0.056	100.3				-	-			
2	0.093	100.3				-	-			
4	0.160	102.7				0.212	96.7			
7	0.256	100.6				-	-			
10	0.341	93.5				0.419	104.8			
13	0.510	101.5				-	-			
16	0.628	102.3				-	-			
19	0.733	102.3				-	-			
22	0.839	99.4				-	-			
23	-	-				0.955	101.5			
26	1.074	101.2				-	-			
32	-	-				1.330	97.0			
48	-	-				2.045	100.5			
55	-	-				2.302	97.8			

N.A. : 分析せず

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

光分解動態試験 — 放射性成分の量的推移/同定/特徴付け：

試験系における放射性成分の量的推移を、pH 9 緩衝液については表 3 (光照射区) に、pH 4 緩衝液については表 5 (光照射区) 及び表 6 (非照射区) に示す。
なお pH 9 緩衝液の非照射区において、アシュラムの分解及び分解物の生成は認められなかった。

pH 9 緩衝液 (光照射区、表 3) においてアシュラムは急速に減少し、照射 51.8 時間の終了時点で処理放射能に対して 17.8% となった。

相対保持時間 (rrt) が 0.41 の放射性成分 (表 3 では成分 A と記載) は、LC/MS により同定された。
生成量は経時的に増加し、照射 46.3 時間に処理放射能に対して最高値となった後、照射終了時 (照射 51.8 時間) の生成量は となった。

相対保持時間 (rrt) が 0.93 の放射性成分 (表 3 では成分 B と記載) は、LC/MS によりその構造が であると考えられた。
照射 51.8 時間に処理放射能に対して最高値 が認められた。

及び

以外に、処理放射能に対して 10% 以上生成した成分は認められなかった。

その他に同定/特徴付けられた放射性成分として、 が認められた。
は、照射 26.7 時間で処理放射能に対して最高値 を示し、以降は減少した。
は検出されなかった。

相対保持時間 (rrt) が 0.75、0.78 及び 0.85 の未知成分並びに の測定値を、ソフトウェア Model Manager を用いて一次適合曲線に当てはめ、生成量の適合値を算出した。この適合値を表 4 に示す。

pH 4 緩衝液 (光照射区、表 5) においてもアシュラムは急速に減少し、照射 20.1 時間以降では処理放射能に対して 25% 以下となった。

pH 4 緩衝液 (光照射区) における主要分解物は であり、照射 20.1 時間では処理放射能に対して最高値 が認められた。

4 種類の未知成分 (相対保持時間 (rrt) = 0.75, 0.78, 0.88 及び 0.93) が認められたが、その最高生成量は処理放射能に対してそれぞれ びであった。

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

表 3 pH 9 緩衝液（光照射区）における放射性成分の推移

（表中の数値は、処理放射能に対する％）

照射時間 (時間)	試験 水中 放射能	7ｼｼﾞﾙﾙ	rrt	rrt	rrt	rrt	rrt	rrt	rrt	rrt	rrt	その他 未知 成分	容器 洗浄 液	揮発性 放射能 (計)
			0.19	0.23	0.41	0.75	0.78	0.83	0.85	0.88	0.93			
0	97.6	97.6											—	—
2.3	97.6	96.5											0.0	0.0
5.2	97.1	88.3											0.0	0.0
6.7	99.5	92.3											0.0	0.0
7.8	99.5	89.2											0.0	0.0
14.2	101.4	64.4											0.1	0.0
21.0	100.0	53.6											0.0	0.1
26.7	97.6	37.9											0.0	0.3
32.2	98.0	32.3											0.0	0.3
39.7	100.1	29.4											0.0	0.2
46.3	96.4	20.0											0.1	0.2
51.8	100.7	17.8											0.1	0.4

照射時間 0 時間の値は、n=4 の平均値、他の照射時間の値は n=1 の値。rrt : 相対保持時間。

表 4 pH 9 緩衝液（光照射区）における未知放射性成分 4 種類
(rrt=0.75, 0.78, 0.85 及び 0.93) の推移 (適合値)

（表中の数値は、処理放射能に対する％）

照射時間 (時間)	rrt 0.75		rrt 0.78		rrt 0.85		rrt 0.93	
	観測値	適合値	観測値	適合値	観測値	適合値	観測値	適合値
0								
2.3								
5.2								
6.7								
7.8								
14.2								
21.0								
26.7								
32.2								
39.7								
46.3								
51.8								

照射時間 0 時間の値は、n=4 の平均値、他の照射時間の値は n=1 の値。rrt : 相対保持時間

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

表 5 pH 4 緩衝液（光照射区）における放射性成分の推移

（表中の数値は、処理放射能に対する％）

照射 時間 (時間)	試験 水中 放射能	アシュラム						その他 未知成 分	容 器 洗 浄 液	揮 発 性 放 射 能 (計)
			rrt 0.19	rrt 0.75	rrt 0.78	rrt 0.88	rrt 0.93			
0	99.8	99.6						-	-	
1.3	100.2	94.3						0.0	0.0	
2.2	100.3	88.7						0.0	0.0	
3.8	102.6	87.2						0.0	0.0	
6.2	100.6	67.8						0.1	0.0	
8.2	93.5	55.9						0.0	0.0	
12.2	101.4	38.9						0.0	0.0	
15.1	102.1	38.1						0.1	0.1	
17.6	102.1	29.5						0.1	0.1	
20.1	99.2	21.0						0.0	0.1	
25.8	101.0	24.0						0.1	0.2	

照射時間 0 時間の値は、n=4 の平均値、他の照射時間の値は n=1 の値。rrt：相対保持時間

pH 4 緩衝液（非照射区、表 6）では、アシュラムの微量分解物（生成量は処理放射能に対して 1%以下）として
及び
が認められた。

表 6 pH 4 緩衝液（非照射区）における放射性成分の推移

（表中の数値は、処理放射能に対する％）

暗所培養時間 (時間)	試験水中 放射能	アシュラム		
			rrt=0.19	rrt=0.47
0	99.8	99.6		
5.1	96.6	95.9		
10.1	104.7	104.7		
22.9	101.3	101.3		
31.9	96.8	96.8		
49.1	100.4	100.4		
55.3	97.5	97.5		

暗所培養 0 時間の値は n=4 の平均値、他の時間の値は n=1 の平均値。rrt：相対保持時間

アシュラムの量子収量：

アシュラムの量子収量は、次のとおり算出された。

	pH 9	pH 4
アシュラム量子収量	0.157	0.114

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

アシュラムの DT₅₀ :

試験条件下のアシュラムの DT₅₀ 及び DT₉₀、そして申請者が算出した北緯 35 度の春期(4~6 月)太陽光条件下におけるアシュラムの DT₅₀ を下表に示す。

	試験条件下		春期(北緯 35 度、4~6 月) 太陽光条件下*
	DT ₅₀	DT ₉₀	DT ₅₀
pH 9 緩衝液	0.87 日	2.89 日	2.72 日
pH 4 緩衝液	0.44 日	1.46 日	1.36 日

*報告書のデータをもとに申請者が算出した

アシュラムの緩衝液(pH 4 及び 9)中における想定水中光分解経路:

以下に申請者が作成したアシュラムの緩衝液(pH 4 及び 9)中における想定水中光分解経路を示す。

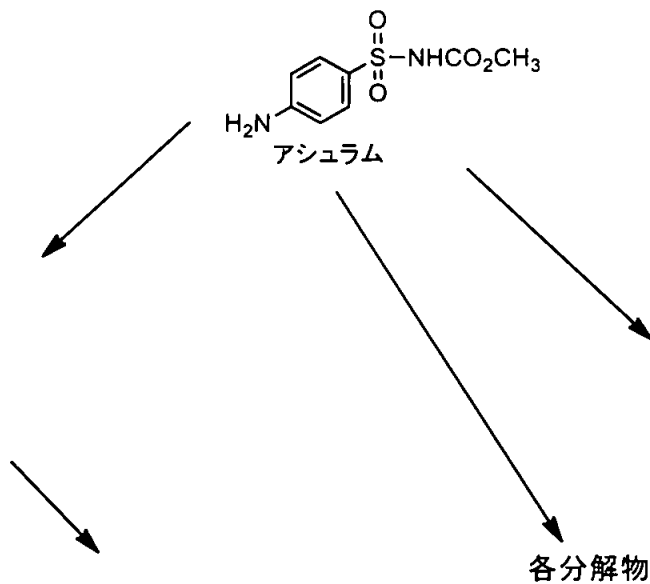


図 1 アシュラムの緩衝液(pH 4 及び 9)中における想定水中光分解経路

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

2) 自然水

(資料 No.代-10)

供試標識化合物： 均一に標識した ^{14}C -アシュラム
化学名： メチル スルファニルイルカーバメート
化学構造：

*は標識部位

比放射能：

放射化学的純度： $^1\text{H-NMR}$

試験水：滅菌自然水 [採取場所：英国 Essex 州 Ongar, Fyfield Road の溜池、採取年月日：
2004年6月22日、pH 7.8]

試験濃度：アシュラム 1 mg/L

光源及び光強度

光源：キセノンランプ

光強度：測定した光強度の測定結果を次に示す

測定波長 [nm]	光強度 [W/m ²]
300~400	39.0

試験方法：

試験装置： Heraeus Suntest CPS+

試験系： 本試験系は光照射区から構成されている。

・光照射区

試験温度：25±2 °C

試験水量：35mL

試験容器：ガラス製（但し、光の入射面（試験容器の上蓋）は石英製の窓）

光照射：キセノンランプを組み込んだ Heraeus Suntest CPS+から、光（290 nm 以下の波長を除去）を最長 145.7 時間にわたって照射した。この照射期間は、春期（4~6月）太陽光（東京、北緯 35 度）の 30.4 日間に相当する。

・非照射区

試験温度：25±1 °C

試験水量：35 mL

試験容器：ガラス製（但し、光の入射面は無窓の上蓋）、最長 169.6 時間にわたって暗所で培養した。

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

光照射区および非照射区の試験容器に揮発性生成物の捕集装置を接続せず、代わりに容器を密封して揮発性生成物の散逸を防いだ。

試料採取：次の採取間隔で光照射区及び非照射区から試験水を採取し、放射能測定及び分解生成物の分析に供した。

なお試験容器の採取時に Suntest 装置を消灯したため、照射時間（光照射区）は消灯期間を除いた時間、そして暗所培養時間（非照射区）は消灯期間を含めた時間とした。従って、実際の総照射時間又は暗所培養時間と処理後経過時間は異なる。

光照射区	0、1.5、4、8、10、15、19、23、30、39、49、57、68、78、92、102、120、140、144、147 時間
非照射区	0、23、47、72、144、168 時間

試験容器から試験水を採取した後、試験容器（処理直後（0 時間）の容器を除く）をアセトニトリルで洗浄した。

採取した試験水及び試験容器洗浄液の放射能測定：

採取した試験水及び試験容器洗浄液中の放射能を、液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。

試験水中の二酸化炭素の定量及び同定：

LSC で測定後の試験水に塩化バリウムを処理し、試験水中の二酸化炭素を炭酸バリウムとして沈殿させた。塩化バリウム処理後及び炭酸バリウム除去後の試験水中の放射能を計測し、塩化バリウム処理前後の計測値の差を試験水中の二酸化炭素量とした。

なお除去した炭酸バリウムを酸性化し、発生する気体を 2M 水酸化カリウム溶液に捕集し二酸化炭素であることを確認した。

試験水中の放射性成分の測定：

二酸化炭素除去後の試験水について、 $[^{14}\text{C}]$ -高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で放射性成分の定量を行った。また、 $[^{14}\text{C}]$ -HPLC 及び TLC による認証済み参照物質とのコクロマトグラフィーにより、分解生成物の同定を行った。

滅菌状態の確認：

以下の時点で採取した試験水の一部を寒天培地で 7 日間培養し、コロニー生育の有無を調査した。

光照射区	0、10、19、30、39、92、120、147 時間
非照射区	0、47、144、168 時間

試験結果：

物質収支及び二酸化炭素の生成量：

表 1 及び表 2 に、光照射区及び非照射区における物質収支（放射能回収率）を示す。

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

表 1 光照射区における放射能回収率

試料採取時点 (処理後経過時間)	総照射時間	処理放射能に対する%				試験容器 洗浄液 (アセトニトリル)	物質収支 (放射能回収率)
		試験水			二酸化炭素 (a) - (b)		
		塩化バリウム 処理前(a)	塩化バリウム 処理後(b)				
0.0	0.0					101.8	
1.5	1.3					103.1	
4	3.6					103.5	
8	7.4					103.9	
10	9.2					101.4	
15	15.0					104.4	
19	18.3					98.0	
23	22.4					100.7	
30	28.3					102.2	
39	38.2					96.4	
49	45.2					100.5	
57	52.5					99.2	
68	69.5					98.5	
78	77.7					99.9	
92	94.2					98.7	
102	101.7					99.1	
120	119.2					97.4	
140	139.1					98.1	
147	145.7					97.3	
総平均回収率							100.4

試料採取時点 0.0 時間の値は n=6 の平均値、試料採取時点 147 時間（総照射時間：145.7 時間）の値は n=2 の平均値

照射区及び非照射区共に、各試料採取時点の物質収支は処理放射能に対して 95% 以上と良好であった。試験水を採取後の試験容器に残存した放射能は、処理放射能に対して 0.3% 以下と極微量であった。

照射区では、二酸化炭素の生成量が経時的に増加する傾向にあり、試料採取時点 147 時間（総照射時間：145.7 時間）では処理放射能に対して 26.96% となった。非照射区では、二酸化炭素の生成量は試験期間を通じて無視しうる量であった。

HPLC における放射性成分の構成および定量：

HPLC 分析により得られた試験水中における放射性成分の構成及び量的推移を、表 3（照射区）及び表 4（非照射区）に示す。

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

表 2 非照射区における放射能回収率

試料採取時点 (処理後 経過時間)	暗所 培養 時間	処理放射能に対する%				試験容器 洗浄液 (アセトニル)	物質収支 (放射能 回収率)
		試験水			二酸化炭素 (a)-(b)		
		塩化バリウム 処理前(a)	塩化バリウム 処理後(b)				
0.0	0.0					102.7	
23	23.4					104.2	
47	47.2					102.6	
72	71.9					102.8	
144	144.7					103.8	
168	169.6					100.8	

試料採取時点 0.0 時間の値は n=2 の平均値

表 3 照射区-試験水中における放射性成分の組成及び量的推移

放射性成分 (ピーク No.)	処理放射能に対する%												残分 (#)
	BaCl ₂ 処理後 放射能	アシュ ラム											
相対保持時間	-	1.00	0.20	0.22	0.23	0.25	0.27	0.38	0.39	0.46	1.30	-	
試料採取 時 点 (時間)	総照射 時 間 (時間)												
0.0	0.0	101.62											
1.5	1.3	101.52											
4	3.6	98.81											
8	7.4	100.45											
10	9.2	97.30											
15	15.0	94.82											
19	18.3	89.80											
23	22.4	87.87											
30	28.3	89.60											
39	38.2	79.68											
49	45.2	80.28											
57	52.5	78.24											
68	69.5	77.11											
78	77.7	77.35											
92	94.2	73.76											
102	101.7	76.38											
120	119.2	75.50											
140	139.1	71.61											
147	145.7	70.26											
最高値		-	-	4.5	5.0	3.7	5.8	3.0	5.8	4.3	3.0	3.9	-

試料採取時点 0.0 時間の値は n=6 の平均値、試料採取時点 147 時間（総照射時間：145.7 時間）の値は n=2 の平均値。斜体及び下線部：処理放射能に対する個々の分解物の最高生成値。

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

表 4 非照射区—試験水中における放射性成分の組成及び量的推移

試料採取 時点 (時間)	暗所培養時間 (時間)	処理放射能に対する%	
		BaCl ₂ 処理後 の放射能	アシュラム
0.0	0.0	102.5	
23	23.4	103.0	
47	47.2	102.5	
72	71.9	102.5	
144	144.7	103.8	
168	169.6	100.3	

試料採取時点 0.0 時間の値は n=2 の平均値。

照射区において、アシュラムは急速に減少し、照射期間終了時には処理放射能の 1% 以下となった。照射期間中に多数の分解物が認められたが、何れも処理放射能に対して 10% を上回って生成した成分は無かった。処理放射能に対して 5% 以上生成した分解物として 3 種類が認められ、その最高値はそれぞれ 5.0% (相対保持期間 rrt=0.22)、5.8% (rrt=0.25) 及び 5.8% (rrt=0.38) であった。非照射区では、アシュラムの分解は認められなかった。

滅菌状態の確認：試験期間を通じて、滅菌状態が維持されていた。

アシュラムの DT₅₀ 及び DT₉₀：

試験条件及び環境条件（北緯 35 度の春期太陽光）におけるアシュラムの DT₅₀ 及び DT₉₀ 値は、次のとおり算出された。

	試験条件		環境条件 (北緯 35 度、春期太陽光)	
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
アシュラム	0.84	2.79	4.2	14.0

試験条件下の 1 日は、北緯 35 度の春期太陽光下の 5.01 日に相当する。

アシュラムの自然水中における想定光分解経路：

アシュラムは、多数の微量分解生成物を形成して急速に分解された。処理放射能に対して 10% 以上生成した主要分解生成物は二酸化炭素のみであると認められた。

図 1 に、自然水中におけるアシュラムの想定水中光分解経路を示す。

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

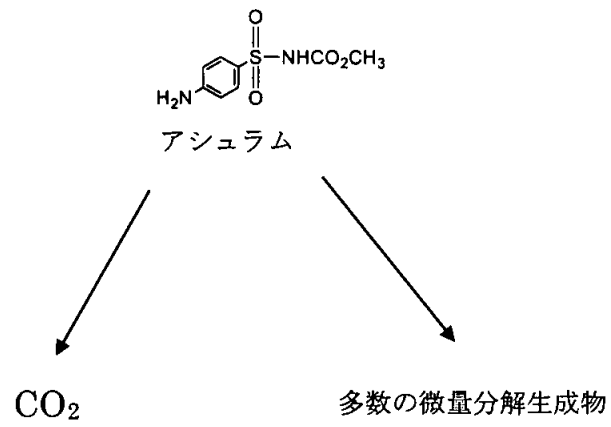


図1 アシュラムの自然水中における想定水中光分解経路

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

5. 土壌吸着性試験

1) 土壌吸着性試験

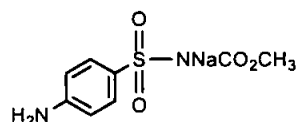
(資料 No.代-11)

供試化合物：

一般名： アシュラム・Na

化学名： メチル スルファニルイルカーバメート ナトリウム塩

構造式：



純度：

供試土壌：

採取場所；

No.12：

No.16：

No.17：

No.19：

土壌の特性；

試料 No.	12	16	17	19
採取場所				
土壌群名	細粒黄色土	洪積埴壤土	中粗粒黄色土 大代統	多腐食質 黒ボク土
土性	CL	LiC	SCL	SiCL
砂 %	53.4	41.7	60.5	30.6
シルト%	22.8	29.4	17.5	49.7
粘土%	23.8	28.9	22.0	19.7
有機炭素含有率%	1.08	1.75	0.69	12.91
pH H ₂ O	7.6	6.0	6.7	7.4
KCl	6.7	5.2	5.5	6.7
陽イオン交換容量 (me/100g)	13.5	11.0	8.7	49.9
リン酸吸収係数	540	410	350	1850
粘土鉱物の種類	カオリン鉱物 パーミキュライト	カオリン鉱物 パーミキュライト	ハロイサイト	アロフェン パーミキュライト

試験土壌の特性は日本植物防疫協会の資料による

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

試験方法：

供試土壌の調製；遠沈管内に試験土壌（風乾細土）5 g を量り取り、純水 5 mL を加え一夜放置した。

試験溶液の調製；被験物質の一定量を 0.01M 塩化カルシウム溶液に溶解し、3.10 及び 6.18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液を調製し、試験溶液とする。さらにこの試験溶液の一部を 0.01M 塩化カルシウム溶液で希釈し、0.615 及び 1.22 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計 4 濃度を調製した。

試験温度； $25 \pm 1^\circ\text{C}$ （遮光条件下）

吸着平衡化時間の測定；予め調製された土壌に最高濃度の試験溶液 20 mL を加え、恒温槽内で、4, 6, 8 及び 24 時間振とうし、平衡化時間を測定した。この結果から平衡化時間を 8 時間と決定した。

物質収支；3.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 試験溶液の上澄みおよび土壌層のアシラムを測定し、物質収支を各土壌について算出した。

吸着操作；予め調製された土壌に 4 濃度の試験溶液 20mL を加え、暗黒下 25°C で 8 時間振とうした。8 時間後上澄み液 15mL を分取し、下記分析方法に基づき水相濃度を定量した。

分析方法；水相は、15mL 分取後炭酸水素ナトリウム溶液を加え、酢酸エチルで洗浄後、塩酸を加え、pH 2~3 に調整後、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を減圧濃縮後 HPLC (UV 検出器) で定量した。

土壌中のアシラムは、残土をアセトン抽出し、減圧濃縮後水相と同様な操作で分析した。

結 果：

吸着試験結果；

供試土壌	1 / n ¹⁾	$K_F^{\text{ads}1)}$	r ¹⁾	oc % ²⁾	$K_F^{\text{ads}oc}$ ³⁾
12	0.830	0.123	0.926	1.08	11.4
16	0.939	0.450	0.907	1.75	25.7
17	0.910	0.504	0.983	0.69	73.0
19	0.815	4.26	0.997	12.91	33.0

- 1) フロインド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} を土壌中の OC% で除して算出した有機炭素吸着係数

$$(K_F^{\text{ads}oc} = K_F^{\text{ads}} \times 100 / \text{OC})$$

土壌吸着平衡定数；

土壌吸着平衡定数		33.0
切片	a	-0.0236
相関係数	r	0.994

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

物質収支；各土壌における回収率を次表に示す。No.19 の土壌の回収率が 65.1%とやや低かったが、有機炭素含有量が 12.91%と高くこのことが一つの原因と推測された。しかし、相関係数が 0.997 と高く、試験の精度としては問題ないと判断される。

試料 No.	初期 添加量 (μg)	プレート到着時 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
12	62.0	—	61.0	1.0	98.4	97.9
		—	60.4	1.6	97.4	
16	62.0	—	57.6	4.4	92.9	93.4
		—	58.2	3.8	93.9	
17	62.0	—	55.5	6.5	89.5	90.7
		—	57.0	5.0	91.9	
19	62.0	1.85	38.6	21.6	65.2	65.1
		1.67	38.6	21.7	65.0	

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

2) アシュラムの土壌吸着/脱着試験

(資料 No.代-12)

供試標識化合物： アシュラム

構造式：

化学名： メチル[(4-アミノフェニル)スルホニル]カーバメート

標識位置：

比放射能：

放射化学的純度：

供試土壌：表 1 に示した 5 種類の土壌および 1 種類の底質を使用した。

土壌および底質は 2 mm の篩に通し、風乾して $4 \pm 2^\circ\text{C}$ で暗所保存し、使用前に、重量比約 2 倍の水を添加して 24 時間攪拌することにより再平衡化させた。

表 1 土壌の物理化学的性質

土壌略称	英国-1	英国-2	英国-3	米国-1	米国-2	英国底質
土壌コード	PT 102	PT 103	SK 961089	LA98-983	LA99-3	Emperor Lake
採取場所	英国	英国	ラットランド	ジョージア州	ルイジアナ州	エンペラー湖
土性 (USDA 分類)	砂壤土	砂壤土	壤土	砂土	シルト質壤土	砂質埴壤土
砂 (%)	53	75	48	96	42	61
シルト (%)	36	12	32	2	52	18
粘土 (%)	11	13	20	2	6	21
有機炭素含有率 (%)	2.5	1.3	5.4	0.1	2.5	6.1
有機物含有率 (%)	4.3	2.2	9.3	0.2	4.3	10.5
pH (H ₂ O)	7.1	5.5	7.5	6.0	6.8	6.0
pH (1 M KCl)	6.8	4.8	7.2	4.9	6.1	4.8
陽イオン交換容量 (mEq/100 g)	16.3	8.8	34.6	1.0	9.7	23.9

試験方法：

[試験溶液の作成]

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

[¹⁴C]アシュラムのアセトニトリル溶液の一部を分取して溶媒を除去し、アシュラムと等モル量の水酸化ナトリウムを含む 0.01 M 塩化カルシウム溶液に再溶解して、[¹⁴C]アシュラムナトリウム塩の 0.01 M 塩化カルシウム溶液を調製した。これをさらに 0.01 M 塩化カルシウム溶液を用いて希釈し、濃度 0.04、0.2、1 および 5 µg/mL (アシュラムナトリウム塩ではなくアシュラム重量に基づく濃度) の処理液を調製した。濃度 5 µg/mL の処理液についてのみ、アシュラム標識体/非標識体を約 1/4 の比で同位体希釈して調製した。

[予備試験]

1) 土壌：水比の決定

土壌：水比 (W/V)

1/5 (5 g/25 mL)

1/2 (12.5 g/25 mL または 10 g/20 mL)

1/1 (10 g/10 mL)

2) 平衡化時間の測定

3) アシュラムナトリウム塩の安定性

[吸脱着試験]

1) 吸着および脱着性

乾土 10 g 相当の各供試土壌または底質をプラスチック製遠心管 (Nalgene® 50 mL 容) に入れ、処理液 10 mL を添加して、処理濃度を 0.04、0.2、1 および 5 µg/mL、土壌：水比を 1/1 (w/v) として、20 ± 2°C の暗条件下で 24 時間振盪した。その後遠心分離 (7000

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

g) し、上清を LSC および HPLC 分析に供した。

吸着過程終了後の土壌または底質に、新しい 0.01 M 塩化カルシウム溶液 10 mL を添加し、24 時間振盪した後、遠心分離し (7000 g)、上清を LSC 分析に供した。脱着過程は 2 回実施した。

2) 物質収支

濃度 5 µg/mL の試料については、2 回目の脱着過程の後、遠心分離後の土壌および底質にアセトニトリル 20 mL を添加して 20 分間振盪して抽出し、遠心分離 (2500 g) した。抽出は合計 3 回行い、抽出液を合わせて LSC 分析に供した。

濃度 5 µg/mL の抽出後土壌および底質と、その他の濃度の 2 回目の脱着過程後の土壌および底質は、風乾させた後、燃焼分析に供した。

3) フロイントリッヒ等温式

フロイントリッヒの吸着および脱着定数と $1/n$ 値は、直線回帰分析により算出した。また、土壌または底質の有機炭素含有量の関数としてのフロイントリッヒの吸脱着定数も算出した。

試験結果：

[予備試験]

1)

表 2 アシュラムナトリウム塩の土壌：水比決定実験結果

土壌：水比	土壌または底質	24 時間後の吸着割合 (%)
1/5	米国-1	
1/2	米国-1	
	英国-3	
	英国底質	
1/1	英国-1	
	英国-2	
	英国-3	
	米国-1	
	米国-2	
	英国底質	

数値は 2 連の平均値。土壌：水比 1/1 の米国-1 のみ 3 連の平均値。

2) 平衡化時間の決定

吸着および脱着過程の上清中放射能の経時的变化のグラフを作成して、吸着および脱着平衡化時間を 24 時間とした。

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

3) アシュラムナトリウム塩の安定性

吸脱着試

験の吸着過程終了後の上清中放射能の97%TAR以上がアシュラムナトリウム塩であることも確認された。

[吸脱着試験]

1) 吸着および脱着性

各土壌または底質における吸着および脱着に関するフロイントリッヒ等温式のパラメーターを表3、平衡化時間経過後の溶液中および土壌に吸着した ^{14}C アシュラムナトリウム塩濃度を表4、吸着および脱着した ^{14}C アシュラムナトリウム塩の量および割合を表5、吸着係数を表6に示す。

脱着定数 $K_{F^{des}oc}$ が対応する吸着定数 $K_{F^{ads}oc}$ よりかなり高値であることから、吸着したアシュラムは、容易に脱着しないことが示された。これは低処理濃度および有機炭素含有量の多い土壌または底質において顕著であり、表5に示したように、濃度 $0.04 \mu\text{g/mL}$ の英国底質では、92.7%TAR (%TAR: 総処理量に対する割合) が吸着し、2回の脱着過程後に89.0%TARが吸着したままであった。

また英国-1土壌、英国-3土壌、米国-2土壌および英国底質について、1回目の脱着期間中に化合物は脱着ではなく吸着したことが示され、初期の高速の吸着に続いて、24時間の平衡化時間以降にも、低速の吸着が持続している可能性が示された。

2) 物質収支

物質収支を表7に示す。物質収支は94.6~100.0%TARの範囲であった。濃度 $5 \mu\text{g/mL}$ の2回目の脱着過程後の土壌のアセトニトリル抽出により一部(2.0~7.5%TAR)が抽出されたが、大部分(3.3~54.3%TAR)は土壌に結合したままであった。

3) フロイントリッヒの吸着定数

吸着定数 $K_{F^{ads}}$ は0.3~2.6、 $1/n$ は0.68~0.82、有機炭素含有率で補正した $K_{F^{ads}oc}$ 値は15.4~149.7であった。

1回目の脱着定数 $K_{F^{des}}$ は0.3~5.6、 $1/n$ は0.72~0.79、有機炭素含有率で補正した $K_{F^{des}oc}$ 値は46.9~310.3であった。

2回目の脱着定数 $K_{F^{des}}$ は0.7~10.8、 $1/n$ は0.76~0.88、有機炭素含有率で補正した $K_{F^{des}oc}$ 値は117.5~695.5であった。

$K_{F^{ads}oc}$ 値から、Hollisの分類により、米国-1土壌以外の土壌については「mobile (高移動性)」、米国-1土壌では「moderately mobile (中等度の移動性)」であることが示された。

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

表 3 $[^{14}\text{C}]$ アシュラムナトリウム塩に関する Freundlich 等温式のパラメーター

吸着過程	供試土壌	$1/n^{1)}$	$K_{F^{ads}}^{1)}$	$r^{2 1)}$	OC% 2)	$K_{F^{adsoc}}^{3)}$
	英国-1	0.73	0.4	0.9997	2.5	15.5
	英国-2	0.82	0.3	0.9997	1.3	23.4
	英国-3	0.71	0.8	0.9994	5.4	15.4
	米国-1	0.82	0.1	0.9996	0.1	149.7
	米国-2	0.73	0.6	0.9990	2.5	25.5
	英国底質	0.68	2.6	0.9904	6.1	42.5
	平均					45.3
脱着過程 1回目	供試土壌	$1/n^{1)}$	$K_{F^{des}}^{1)}$	$r^{2 1)}$	OC% 2)	$K_{F^{desoc}}^{3)}$
	英国-1	0.74	1.2	0.9990	2.5	48.6
	英国-2	0.78	0.7	0.9999	1.3	53.3
	英国-3	0.79	2.5	0.9966	5.4	46.9
	米国-1	0.78	0.3	0.9988	0.1	310.3
	米国-2	0.72	1.6	0.9986	2.5	65.9
	英国底質	0.73	5.6	0.9992	6.1	92.4
	平均					102.9
脱着過程 2回目	供試土壌	$1/n^{1)}$	$K_{F^{des}}^{1)}$	$r^{2 1)}$	OC% 2)	$K_{F^{desoc}}^{3)}$
	英国-1	0.80	3.3	0.9950	2.5	131.1
	英国-2	0.79	1.5	0.9992	1.3	117.5
	英国-3	0.88	6.4	0.9944	5.4	118.3
	米国-1	0.78	0.7	0.9984	0.1	695.5
	米国-2	0.76	3.8	0.9968	2.5	152.2
	英国底質	0.81	10.8	0.9966	6.1	176.4
	平均					231.8

1) Freundlich の吸着等温式による定数項と相関係数

2) 土壌または底質中の有機炭素含有率

3) $K_{F^{ads}}$ 値または $K_{F^{des}}$ 値を土壌または底質の有機炭素含有率で割り求めた有機炭素吸着または脱着係数

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

表 4 平衡化時間経過後の溶液中および土壌に吸着した[¹⁴C]アシュラムナトリウム塩濃度

土壌	処理濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	吸着過程		脱着過程 1 回目		脱着過程 2 回目	
		上清中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	土壌中濃度 ($\mu\text{g/g}$)	上清中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	土壌中濃度 ($\mu\text{g/g}$)	上清中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	土壌中濃度 ($\mu\text{g/g}$)
英国-1	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
英国-2	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
英国-3	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
米国-1	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
米国-2	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
英国底質	5						
	1						
	0.2						
	0.04						

数値は 2 連の平均値

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

表 5 吸着および脱着した¹⁴C]アシュラムナトリウム塩の量および割合

土壌	処理濃度 (µg/mL)	吸着割合 (%) *	吸着した化合物重量 (µg)			脱着した割合 (%)		脱着しなかつた割合 (%) **
			吸着	脱着 1回目	脱着 2回目	脱着 1回目	脱着 2回目	
英国-1	5							
	1							
	0.2							
	0.04							
英国-2	5							
	1							
	0.2							
	0.04							
英国-3	5							
	1							
	0.2							
	0.04							
米国-1	5							
	1							
	0.2							
	0.04							
米国-2	5							
	1							
	0.2							
	0.04							
英国 底質	5							
	1							
	0.2							
	0.04							

数値は2連の平均値。

* : 処理量に対する吸着した割合

** : 吸着した化合物に対する、2回の脱着過程後も吸着している化合物の割合

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

表6 ^{14}C アシュラムナトリウム塩の吸着係数

土壌	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	吸着係数		
		Kd	Kdoc	Kdom
英国-1	5	0.3	11.5	6.7
	1	0.5	18.8	11.0
	0.2	0.7	29.1	16.9
	0.04	1.2	49.1	28.6
英国-2	5	0.2	18.9	11.2
	1	0.3	26.0	15.4
	0.2	0.5	36.1	21.3
	0.04	0.6	46.0	27.2
英国-3	5	0.7	12.1	7.0
	1	1.1	20.7	12.0
	0.2	1.9	36.0	20.9
	0.04	3.3	61.0	35.4
米国-1	5	0.1	116.7	58.3
	1	0.2	157.7	78.9
	0.2	0.2	227.3	113.7
	0.04	0.3	284.4	142.2
米国-2	5	0.5	19.0	11.0
	1	0.9	34.4	20.0
	0.2	1.2	49.5	28.8
	0.04	2.1	85.0	49.4
英国底質	5	3.0	48.6	28.2
	1	4.2	68.4	39.7
	0.2	6.9	112.7	65.5
	0.04	23.0	376.6	218.8

数値は2連の平均値。

$\text{Kdoc} = \text{Kd} \times 100 / \text{有機炭素含有率} (\%)$

$\text{Kdom} = \text{Kd} \times 100 / \text{有機物含有率} (\%)$

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

表 7 処理放射能の回収率

土壌	処理 濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理放射能に対する割合 (%)					物質収支
		上清			アセトニトリル 抽出液	土壌または 抽出後土壌	
		吸着	脱着 1 回目	脱着 2 回目			
英国-1	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
	平均						
英国-2	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
	平均						
英国-3	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
	平均						
米国-1	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
	平均						
米国-2	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
	平均						
英国 底質	5						
	1						
	0.2						
	0.04						
	平均						

数値は 2 連の平均値。

NA : 適用せず

* : アセトニトリル抽出液を含む。

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

6. 生物濃縮性試験

水／オクタノール分配係数 (logPow) が 3.5 未満であるため、試験提出条件に該当しないため省略する。

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

7. 代謝分解のまとめ

アシュラムの動物、植物、土壌および水中における代謝、分解の要約は下記の通りであり、代謝分解経路図をIX-103 頁に、結果の概要をIX-104 頁に示した。

動物：

アシュラムは、投与経路や投与量に関係なく投与後速やかに吸収され、投与 24 時間後までに、尿から投与量の約 78~92%、糞から 4~14%が排泄された。投与 3 日後の組織内残留率は、0.2~0.8%程度であり、体内臓器に蓄積する可能性はないと判断された。血液における薬物動態パラメータからも速やかな血中濃度の上昇とそれに続く急激な消失が示され、上記吸収・排泄を裏付けていた。

ラットの尿及び糞から検出された代謝物は、親化合物アシュラムが主体（75~78%）であり、その他

及び

が同定された。

植物：

4 葉期のサトウキビにアシュラムを散布し、14 日後の試料の分析からアシュラムは葉の表面から植物内に吸収されることが明らかになった。しかし、処理後に生長した部位の放射能レベルは低く、植物内の移動性は小さいと考えられた。処理 14 日後の葉から抽出代謝物は、アシュラム（親化合物）が 14%で最も多く、その他 10%未満ではあるが

が検出され、これらは を

除き動物体内からも検出された代謝物であった。このほか、

などが検出された。

ライグラス及びアルファルファについても、同様に試験を行い、本質的には同じような挙動を示すと判断された。即ち、茎葉から吸収され、植物体内での移行は小さいことが明らかになった。検出された代謝物は植物で多少違いが認められるが、量的に最も多いのはアシュラムであり、共通であった。ライグラスでは

が多く、一方アルファルファでは、

が比較的多かった。

アシュラムは植物体内で代謝され、次第に植物の持つ生合成経路に入っていくと考えられた。

土壌：

英国土壌 4 種類で実施された好氣的土壌中動態試験の結果、アシュラムの土壌中の分解は速やかに進行し、その半減期 (DT₅₀) は 20°Cにおいて 1.5~3.5 日、10°Cにおいて 7.4 日であった。

アシュラムは急速に土壌と結合する一方、無機化も着実に進行した。主たる代謝物は であり、処理放射能の 10%を上回ったが、試験終了時には処理放射能の 5%以下であり、代謝分解が進んだ。

非抽出性残留は、処理 1 ヶ月で平衡状態となり、120 日後には処理放射能の 20~57%となった。土壌結合残留に親化合物が含まれている徴候はなく、放射性二酸化炭素も試験終了時まで生成が続いた。

以上から、アシュラムは好氣的土壌条件下で速やかに分解され、その代謝生成物も土壌に吸着されるものの無機化が進むと判断され、土壌蓄積の恐れはないと考えられる。

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

水中：

加水分解：

pH 5、7 および 9 で 25°C 31 日間の試験においてアシュラムはほとんど分解が認められなかった。

水中光分解（緩衝液）：

pH 4 および 9、温度 25°C における水中光分解において、その半減期は、北緯 35° 春期太陽光条件に換算して 1.36～2.72 日と速やかに分解が起こった。その分解生成物は pH によって異なり、pH 4 においては が処理放射能の最高 55.5% 検出され (20.1 時間)、その後減少傾向が見られた。一方、pH 9 においては

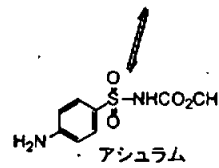
が 10% を超えて認められ、それ以外に 10% を超えて検出された化合物はなかった。

なお、pH 4 及び 9 の非照射区ではほとんど分解は認められなかった。

水中光分解（自然水）：

自然水 (pH 7.8) の温度 25°C における水中光分解における半減期は、北緯 35° 春期太陽光条件に換算し 4.2 日と、緩衝液と同様速やかな分解であった。主な代謝物として二酸化炭素が試験終了時 (照射 145.7 時間) で約 27% 検出され、その他同定できなかった多数の分解物が認められたが、処理放射能の 10% を超えるものはなかった。また、非照射区ではほとんど分解が認められなかった。

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



A: 動物体内
P: 植物体内
S: 土壤中
L: 水中光分解
-->: 推定経路

アシュラムの動植物等における代謝分解経路図

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

X. アシュラムの開発年表

--	--	--	--	--