

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2) チオベンカルブのダイズにおける代謝運命試験

(資料 73)

試験機関 :

[GLP 対応]

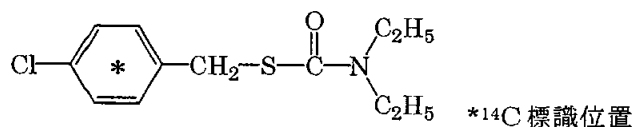
報告書作成年 : 2006 年

供試化合物 : チオベンカルブ

化学名 : *S*-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)

構造式および標識位置 :

[Phenyl-U-¹⁴C]チオベンカルブ (¹⁴C-Bz 標識体)



ロット番号 : 3551 - 035

比放射能 : mCi/mmol

放射化学的純度 :

標識位置の設定理由 : 代謝・分解経路が追跡できる部位として、また関連するガイドランス文書が芳香環の原子を標識することを推奨していることから、ベンゼン環の炭素を標識した。

試験方法 :

供試植物 : ダイズ (*Glycine max* (L.) Merrill) 品種 : Elena

土壌 : 砂壌土 (Warwickshire, U.K.から採取)

播種 : 2005年5月25日にプラスチックコンテナ (深さ 30 cm x 55 cm x 75 cm) にあらかじめペトリ皿内の湿らせた濾紙上で催芽させた種子を31粒ずつ播種した。

栽培条件 : Huntingdon Life Science 敷地内の北西側にある専用の区画で栽培した。野外のポリエチレンで被覆したトンネル中に設置した木製の台上にコンテナを置いた。コンテナおよび作物を通常気象条件で管理した。必要に応じて、灌水、農薬ならびに肥料の施用を行なった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験設計： 植物体試料の採取時期を下表に示す。土壌試料は処理当日に採取した。

採取時期	採取植物数	バッチ数	農産物（部位）
処理 36 日後（36DAT, 茎葉期）	20	2	全植物および根
処理 85 日後（85DAT, 未成熟子実期）	16	2	子実, 莢, 根ならびに茎葉部
処理 113 日後（113DAT, 最終収穫期）	26	3	子実, 根ならびに茎葉部+莢

処理方法：

模擬製剤の調製： アセトニトリル（10 ml）に溶かした[Phenyl-U-¹⁴C]チオベンカルブ（ mCi, 93.6 mg）に非放射性チオベンカルブ（0.7787 g, バッチ SQ-902）を加えた。混合物を窒素ガス気流下で乾固近くまで濃縮した。ブランク製剤（0.961 ml, バッチ G-2005-27）を放射性物質に加え、均質化して模擬製剤を調製し、施用に当って Elga 水を加え希釈した。

施用方法： 処理回数は 1 回とし、2005 年 5 月 25 日に実施した。施用時期はダイズを播種した後、同日に行った。施用方法は、本剤の適用上の使用量である 5 kg a.i./ha（実測値は 4.59 kg a.i./ha）の薬量で噴霧器を用いて土壌施用を行った。

試料採取： 施用当日に直径 2.5 cm のプラスチック円筒を用いて深さ 5 cm までの土壌コア 1 個を各区から採取した。中間採取試料は、処理 36 日後の 2005 年 6 月 30 日および処理 85 日後の 2005 年 8 月 18 日に、完熟子実は処理 113 日後の 2005 年 9 月 15 日に行った。試料は分析まで - 15 °C 以下の温度で保管した。

分析方法：

土壌の放射能の測定：

土壌コアを混合して重さを量り、少量試料 2 点を採り、燃焼して液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射エネルギーを測定した。

植物試料の抽出・分画および放射性総残留物（TRR）の測定（図 1）：

試料はすべて採取日に重さを量り、分析部位毎に均質化した。それぞれの試料を燃焼処理し、放射能レベルを LSC で測定した。

処理 36 日後に採取した試料はこれ以上の処理は行わなかった。

85DAT の子実、莢、茎葉部の試料、および 113DAT の子実試料は均質化した後、次の一連の溶媒で順次抽出し、抽出液中の放射エネルギーを LSC で測定した。また残渣中の放射エネルギーを燃焼処理したのち LSC で測定した。

抽出液 1 - 3：アセトニトリル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

抽出液 4-6 : アセトニトリル/水 (1/1)

抽出液 7-9 : 水

113DAT の子実試料については、さらに 1 回水で抽出を行った(抽出液 10)。

85DAT の子実および莢抽出液、113DAT の子実抽出液の一部を濃縮し、酢酸エチルで 3 回分配した。水相は塩酸で pH2 に調整し、更に酢酸エチルで 3 回分配した。中性および酸性下の有機溶媒抽出液を合わせ、分配した抽出物および水相の放射エネルギーを測定した。有機溶媒抽出液は濃縮し、クロマトグラフ分析を行った。

113DAT 子実から得た水可溶画分の少量試料を酸、塩基もしくは酵素と加温した。85DAT の子実および莢の少量試料を酸と加温した。これら処理を行ったのち酢酸エチルで 3 回分配した。水相を塩酸で pH 2 に調整し、更に酢酸エチルで 3 回分配した。残った水相および合わせた有機溶媒可溶画分中の放射エネルギーを測定した。

抽出できない残渣の一部試料について、さらに処理を加え、異なる天然成分中の放射能レベルを測定した。(代謝物の特徴付けの項を参照)

代謝物の特徴付け :

水可溶画分の酸による処理 :

113DAT の子実の水可溶画分、85DAT の子実ならびに莢の水可溶画分について、その一部を採った。等量の 2M 塩酸を加え(試料溶液濃度 : 1M 塩酸)、試料を 37 °C で 16 時間培養した。加温の後、試料を中和し、酢酸エチルで 3 回分配した。水相を塩酸で pH 2 に調整し、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機溶媒可溶画分および水相の放射エネルギーを測定した。有機溶媒抽出物は濃縮して、クロマトグラフ分析を行った。

上記処理をした 85DAT 子実および 113DAT の子実の水可溶画分を、さらに 6M 塩酸を用いて 37 °C で 16 時間加温した。加温後、試料を中和し、酢酸エチルで 3 回分配した。水相を塩酸で pH 2 に調整し、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機相および水相中の放射能レベルを測定した。有機溶媒抽出物は濃縮して、クロマトグラフ分析を行った。

抽出できない残渣の処理 (方法 1, 図 1) :

85DAT および 113DAT の抽出できない残渣は、ソックスレー抽出を行ったのち化学抽出を行い、ペクチン、リグニン、ヘミセルロースおよびセルロースの各画分に分画し、放射エネルギーを測定した。また固体残渣を燃焼処理し、放射エネルギーを調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

抽出できない残渣の処理（方法2，図2）：

85DAT および 113DAT の抽出できない残渣に、正リン酸一カリウムの pH 7 緩衝液を用いて水溶性のたんぱく質および多糖類を抽出した。生じた残渣をアミラーゼで処理し、でんぷん画分を抽出した。最後に生じた残渣をプロテアーゼで処理し、たんぱく質画分を抽出した。

定量および同定：

放射能の定量は放射能検出器付き HPLC により行った。試料注入に続き、カラム溶出物を 1 分間分画で集め、放射エネルギーを測定した。抽出液中の放射性成分は、参照物質との HPLC コクロマトグラフィーまたは TLC コクロマトグラフィーにより同定／特徴付けを行った。

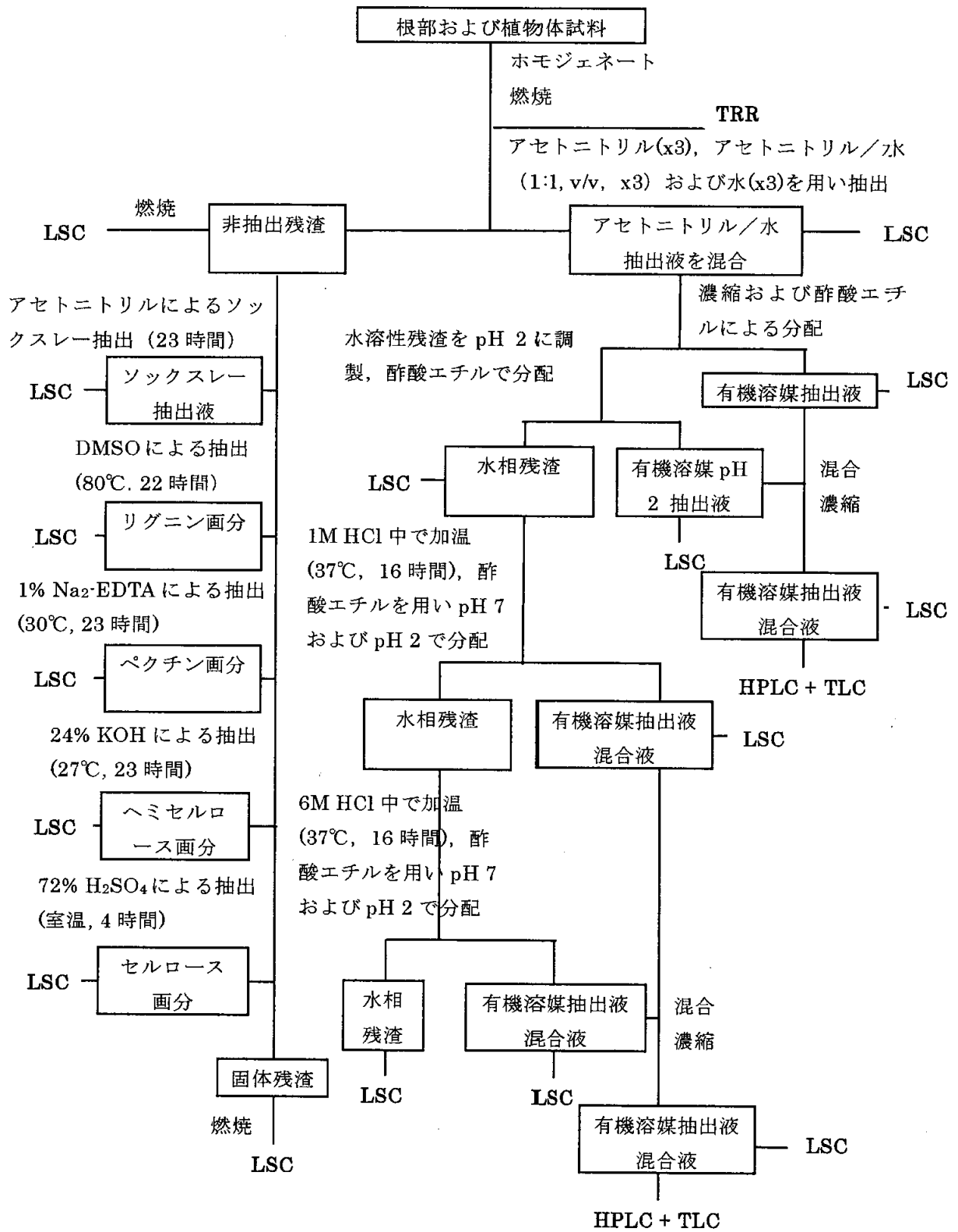


図 1. 試料からの抽出法の概要 (方法 1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

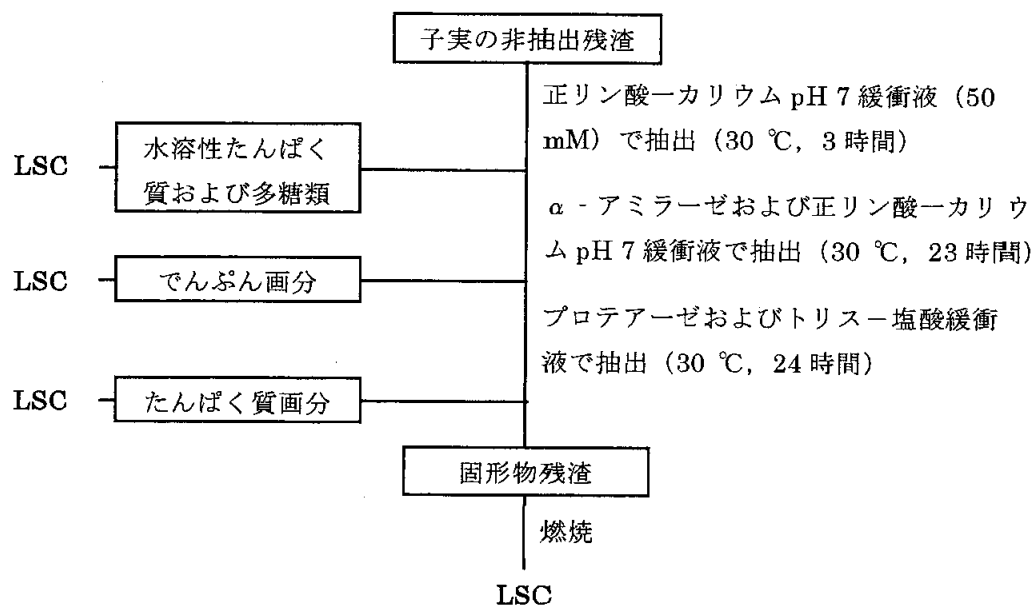


図 2. 試料からの抽出法の概要 (方法 2)

試験結果：

放射能濃度： 植物の部位毎の全放射能残留量に対する百分率 (%TRR) として、また、生重量当りのチオベンカルブ換算量 mg (mg eq./kg, ppm) として、結果を表示した。試験中の土壌および収穫時期別の植物体部位別の全放射能残留量を表 1 および表 2 に示した。

36DAT の採取では植物を茎葉部および根部に分けた。85DAT では子実 (枝豆)、莢、茎葉部ならびに根部に、113DAT では子実、根部ならびにその他残り (茎葉部 + 莢) の部位に分けた。

表 1. ¹⁴C-Bz 標識体の処理後の土壌試料 (0DAT) の全放射能残留量

区画	放射性総残留物 (TRR : mg eq./kg)
1	3.74
2	2.35
3	4.03
4	2.52
平均値	3.16

数値は mg eq./kg 生重量 (ppm) として表示

処理直後に採取した土壌コア中の放射エネルギーは平均で 3.16 mg eq./kg であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 2. ^{14}C -Bz 標識体の発芽前土壌処理によるダイズ試料の全放射能残留量

試料	36 DAT (茎葉期)	85 DAT (未成熟子実期)	113 DAT (収穫期)
根部	2.999	2.741	3.490
子実	n/a	0.084	0.295
莢	n/a	0.131	n/a
茎葉部	1.273	1.935	1.107 ^a

数値は mg eq./kg 生重量 (ppm)として表示

n/a 該当なし

DAT 処理後日数

^a 莢を含む

茎葉部 (もしくは茎葉部+莢) における全放射能残留量は 36DAT の 1.27 mg eq./kg から 85DAT の 1.94 mg eq./kg とやや増加し、作物の発育に伴って土壌から放射能を取り込んだことが示唆された。収穫期 (113DAT) では、全放射能残留量はやや減少し、植物体への取り込みが減少したことを示した。根部における全放射能残留量はいずれの時期でもほぼ同様であり、植物の発育期間中に土壌から放射能を取り込んでいることを裏付けるものであった。113DAT での増加は、根の乾燥 (重さの減少) によるものと考えられた。子実における 85DAT の全放射能残留量は 0.084 mg eq./kg であり、茎葉部より低かった。113DAT では 0.295 mg eq./kg に増加し、これは水分の減少 (乾燥) によるものであった。莢における 85DAT の全放射能残留量は 0.131 mg eq./kg を示し、茎葉部より低く、子実より高かった。

放射能の分布： 抽出物、有機溶媒可溶画分および水可溶画分、ならびに抽出できない残渣の分画物中の放射能の割合を表 3 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クマイ化学工業株式会社にある。

表 3. ¹⁴C-Bz 標識体の発芽前土壌処理によるダイズ試料中の放射能分布

試料/画分	85 DAT						113 DAT	
	子実		莢		茎葉部		子実	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
抽出液全体	52.6	0.044	72.7	0.095	83.4	1.614	56.3	0.166
有機溶媒可溶画分	38.6	0.032	59.6	0.078	n/a	n/a	35.3	0.104
水可溶画分	14.0	0.012	13.1	0.017	n/a	n/a	21.0	0.062
酸性下有機溶媒可溶	6.8	0.006	7.0	0.009	n/a	n/a	16.8	0.049
水可溶画分	7.2	0.006	6.2	0.008	n/a	n/a	4.2	0.012
非抽出残渣	47.4	0.040	27.3	0.036	16.6	0.321	43.7	0.129
特徴付け方法 1								
ソックスレー抽出液	7.7	0.006	2.9	0.004	4.9	0.095	13.9	0.041
ペクチン画分	3.5	0.003	3.2	0.004	2.0	0.039	1.4	0.004
リグニン画分	6.2	0.005	3.8	0.005	1.8	0.035	2.7	0.008
ヘミセルロース画分	23.7	0.020	7.0	0.009	5.0	0.097	17.2	0.051
セルロース画分	4.7	0.004	5.7	0.007	1.9	0.037	8.2	0.024
固形物残渣	1.6	0.001	4.8	0.006	1.0	0.019	0.3	0.001
合計	100	0.084	100	0.131	100	1.935	100	0.295
(参考：特徴付け方法 2)								
非抽出残渣	47.4	0.040	27.3	0.036	16.6	0.321	43.7	0.129
緩衝液抽出液	2.6	0.002	1.7	0.002	3.6	0.070	6.0	0.018
でんぷん画分	7.9	0.007	1.7	0.002	2.5	0.048	5.5	0.016
たんぱく質画分	19.4	0.016	6.1	0.008	3.6	0.070	15.7	0.046
固形物残渣	17.4	0.015	17.8	0.023	6.9	0.134	16.6	0.049

数値は全放射能残留量に対する割合 (%TRR) および mg eq./kg 生重量(ppm)として表示

n/a 該当なし

DAT 処理後日数

茎葉部では、放射能の大部分がアセトニトリル/水で抽出でき、その%TRRは83.4% (1.61 mg eq./kg) であった。抽出液はクロマトグラフ法で直接分析した。抽出できない放射能の分画 (特徴付け方法 1) の結果は、放射能が広範囲の植物体構成物と関係しており、ヘミセルロース画分 (5.0% TRR, 0.097 mg eq./kg) に最も高い割合で分布していた。特徴付け方法 2 の結果では、天然細胞構成物 (でんぷん, たんぱく質) と係りのあることが確認された。子実では 85DAT および 113DAT で同様の割合の放射能が抽出され (52.6 - 56.3 %TRR, 0.044 - 0.166 mg eq./kg)、同様の代謝物が存在することを示唆した。抱合代謝物の存在を調べるため、水可溶画分について加水分解処理 (1 M 塩酸, 次いで 6 M の酸で処理し、酢酸エチルで抽出) をした結果、有機溶媒に可溶性放射能が 85DAT および 113DAT でそれぞれ 6.8%TRR

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(0.006 mg eq./kg) および 16.8%TRR (0.049 eq. mg eq./kg) 生成した。残った水相については放射能レベルが低く共雑物が多かったことからこれ以上の特徴付けは行わなかった。抽出できない放射能の分画（特徴付け方法1）において、放射能が広範な天然細胞構成成分と係っており、分布パターンは85DAT および 113DAT で類似していた。抽出できない放射能の多くがヘミセルロース画分（17.2–23.7 % TRR, 0.020 - 0.051 mg eq./kg）に分布していた。

莢（85DAT）では放射能の大部分はアセトニトリル/水で抽出でき、その割合は72.7 % TRR (0.095 mg eq./kg) であった。抱合代謝物の存在を調べるため、水可溶画分について加水分解処理をした結果、有機溶媒可溶性放射能が7.0%TRR (0.009 mg eq./kg) 生成した。残った水相（6.2% TRR, 0.008 mg eq./kg）については放射能レベルが低く共雑物が多かったことからこれ以上の特徴付けは行わなかった。抽出できない放射能の分画（特徴付け方法1）において、放射能が広範な天然細胞構成成分と係っており、抽出できない放射能の多くがヘミセルロース画分（7.0 % TRR, 0.009 mg eq./kg）に分布していた。

放射性成分の割合： 試料中の放射性残留物の分布および同定の結果を表4に示した。

表4. ¹⁴C-Bz 標識体の発芽前土壌処理によるダイズ試料中の放射性残留物の同定／特徴付け

代謝物	85 DAT						113 DAT	
	子実		莢		茎葉部		子実	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
チオベンカルブ[1]	<1.1	<0.001	3.2	0.004	<0.5	<0.010	10.6	0.031
分析した合計	45.4	0.038	66.6	0.087	83.4	1.614	52.1	0.153
水可溶画分	7.2	0.006	6.2	0.008	n/a	n/a	4.2	0.012
非抽出残渣	47.4	0.040	27.3	0.036	16.6	0.321	43.7	0.129
合計	100	0.084	100	0.131	100	1.935	100	0.295

＊ マイナー代謝物の最大値を表示、() マイナーな未同定代謝物の数

n/a 該当なし

茎葉部の抽出物中にはチオベンカルブは検出されなかった。量の多い代謝物は (%TRR, mg eq./kg)、
(%TRR, mg eq./kg) な

らびに (%TRR, mg eq./kg) であり、 (% TRR, mg eq./kg) が低いレベルで検出された。

子実の DAT 試料の有機溶媒可溶画分中にはチオベンカルブ[1]は検出されなかった (< 1.1 % TRR, < 0.001 mg eq./kg) が、113DAT 試料中には低いレベルであるがチオベンカルブが検出された (10.6 % TRR, 0.031 mg eq./kg)。これは LC/MS でチオベンカルブであることを確認した。85DAT および 113DAT 子実の有機溶媒可溶画分中の代謝物の割合は類似しており、量の多い代謝物は (% TRR,

mg eq./kg)、 (%TRR, mg eq./kg) ならびに

(%TRR, mg eq./kg) であった。この他に有機溶媒可溶画分は最大 8 種類のマイナーな未同定成分で構成され、それらは最大でも %TRR (mg eq./kg) であった。水可溶画分の酸による加水分解処理後に得られた有機溶媒可溶画分を HPLC および TLC により分析した。これら画分は、いずれも 6.3 %TRR (0.018 mg eq./kg) より少なく、7 種類のマイナーな未同定成分で構成されていた。これら成分は加水分解された抱合代謝物であると推察された。加水分解処理後に残った水相 (4.2 - 7.2 %TRR, 0.006 - 0.012 mg eq./kg) については、放射能レベルが低かったのでこれ以上の分析を行わなかった。抽出できない残留物は 43.7 - 47.4 %TRR (0.040 - 0.129 mg eq./kg) であり、天然の植物細胞構成成分、特にヘミセルロースと係わりの深いことが示された。

莢 (85DAT) では低レベル (3.2 %TRR, 0.004 mg eq./kg) のチオベンカルブ[1]が検出された。量の多い代謝物は

(%TRR, mg eq./kg) であり、 (%TRR, mg eq./kg) および (%TRR,

mg eq./kg) も検出された。この他に有機溶媒可溶画分には 6 種類のマイナーな未同定成分が含まれ、最大でも %TRR (mg eq./kg) であった。水可溶画分の酸による加水分解処理後に得られた有機溶媒可溶画分を HPLC および TLC により分析した。この画分は、最大で 4.7 %TRR (0.006 mg eq./kg) の 3 種類のマイナーな未同定成分で構成されており、これらは、加水分解された抱合代謝物と推察された。加水分解処理後に残った水相残渣 (6.2 %TRR, 0.008 mg eq./kg) については、放射能レベルが低かったのでこれ以上の分析を行わなかった。抽出できない残留物は 27.3 % TRR (0.036 mg eq./kg) であり、天然の植物細胞構成成分、特にヘミセルロースおよびセルロースと係わりの深いことが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

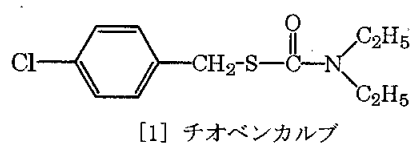


図3. チオベンカルブのダイズにおける想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) チオベンカルブのニンジンにおける代謝運命試験

(資料 74)

試験機関 :

[GLP 対応]

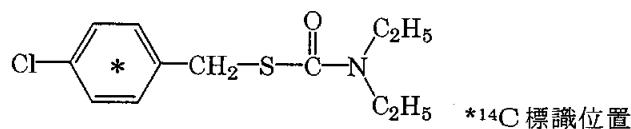
報告書作成年 : 2006 年

供試化合物 : チオベンカルブ

化学名 : *S*-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)

構造式および標識位置 :

[Phenyl-U-¹⁴C]チオベンカルブ (¹⁴C-Bz 標識体)



ロット番号 : 3551 - 035

比放射能 : mCi/mmol

放射化学的純度 :

標識位置の設定理由 : 代謝・分解経路が追跡できる部位として、また関連するガイダンス文書が芳香環の原子を標識することを推奨していることから、ベンゼン環の炭素を標識した。

試験方法 :

供試植物 : ニンジン (*Daucus carota* L.) 品種 : Nairobi

土壌 : 埴壤土 (Land research Associates, Derby から入手)

播種 : 2005年7月8日にプラスチックコンテナ(深さ 30 cm x 55 cm x 75 cm)に70粒の種子を深度 1 cm で3列に播種した。

栽培条件 : 植物はネットで被覆した施設内で栽培し、通常的气象条件で管理した。必要に応じて、灌水、農薬ならびに肥料の施用を行なった。ニンジンは処理後46日にコンテナ当たり30-39本に間引きした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験設計： 植物体試料の採取時期を下表に示す。土壌試料は処理当日に採取した。

採取時期	採取植物数	バッチ数	農産物（部位）
中間採取（生育ステージ 44 ^a , 76DAT）	約 30%	2	茎葉部および根部
最終収穫（110DAT）	残り全部	2	茎葉部および根部

[^a 申請者注：生育ステージ 44 は、根部の直径が収穫時の概ね 40%に生長した時期]

処理方法：

模擬製剤の調製： アセトニトリル（10 ml）に溶かした[Phenyl-U-¹⁴C]-チオベンカルブ（57.2 mg）に非放射性チオベンカルブ（578.8 mg, バッチ SQ-902）を加えた。混合物を窒素ガス気流下で乾固させた。ブランク製剤（0.751 ml）を放射性物質に加え、均質化して模擬製剤を調製し、施用に当って超高純度水を加え希釈した。

施用方法： 処理回数は 1 回とし、2005 年 7 月 8 日に実施した。施用時期はニンジンを播種した後、同日に行った。施用はスプレーガン用いて 5.05 kg a.i./ha の薬量で土壌に施用した。

試料採取： 施用当日に直径 2.5 cm、深さ 5 cm の土壌コア 2 個を各コンテナから採取した。中間採取試料を生育ステージ 44, 処理 76 日後（76 DAT）に、収穫期試料を処理 110 日後（110 DAT）に採取した。中間採取時には全作物の約 30%をランダムに採取し、収穫時期に残りの作物を採取した。コンテナ 2 および 3 の試料を合わせ、コンテナ 1 のニンジン試料は別に凍結保管した。

分析方法：

土壌の放射能の測定：

土壌コアは重さを量り、少量試料 2 点を採り、燃焼して液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射エネルギーを測定した。

植物試料の抽出・分画および放射性総残留物（TRR）の測定（図 1）：

試料はすべて採取日に重さを量り、分析部位毎に均質化した。それぞれの試料を燃焼処理し、LSC で放射エネルギーを測定した。

根部および茎葉部試料は均質化した後、次の一連の溶媒で順次試料を抽出し、LSC で抽出液中の放射エネルギーを測定した。また抽出後の根部および茎葉部残渣中の放射エネルギーを燃焼処理したのち LSC で測定した。

抽出液 1-3：アセトニトリル

抽出液 4-6：アセトニトリル/水（1/1）

抽出液 7-9：水

それぞれの抽出試料の放射能を含むアセトニトリル：水抽出物を合わせ、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

その一部を濃縮し、酢酸エチルで 3 回分配した。有機溶媒抽出液は合わせ、LSC で放射エネルギーを測定した。水相残渣は塩酸で pH2 に調整し、酸性化したのち、更に酢酸エチルで 3 回分配した。pH2 の有機溶媒可溶抽出物を合わせ、LSC で放射エネルギーを測定した。水相残渣は LSC で放射エネルギーを測定した。

有機溶媒可溶抽出物 (pH 7 及び pH 2) はそれぞれ濃縮し、アセトニトリルに溶かしクロマトグラフ分析を行った。水相残渣は凍結乾燥し、アセトニトリル/水 (2/8, v/v) に再度溶解させてクロマトグラフ分析を行った。

抽出できない残渣の一部試料について、さらに処理を加え、異なる天然成分中の放射能レベルを測定した。

抽出できない残渣の処理 (図 1) :

中間採取試料および収穫期試料残渣は、アセトニトリルでソックスレー抽出を行ったのち、化学抽出を行い、ペクチン、リグニン、ヘミセルロースおよびセルロースの各画分に分離し、放射エネルギーを測定した。また固体残渣を燃焼処理し、放射エネルギーを調べた。

定量および同定 :

放射能の定量は放射能検出器付き HPLC により行った。抽出液中の放射性成分は、参照物質との HPLC コクロマトグラフィーまたは TLC コクロマトグラフィーにより同定/特徴付けを行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

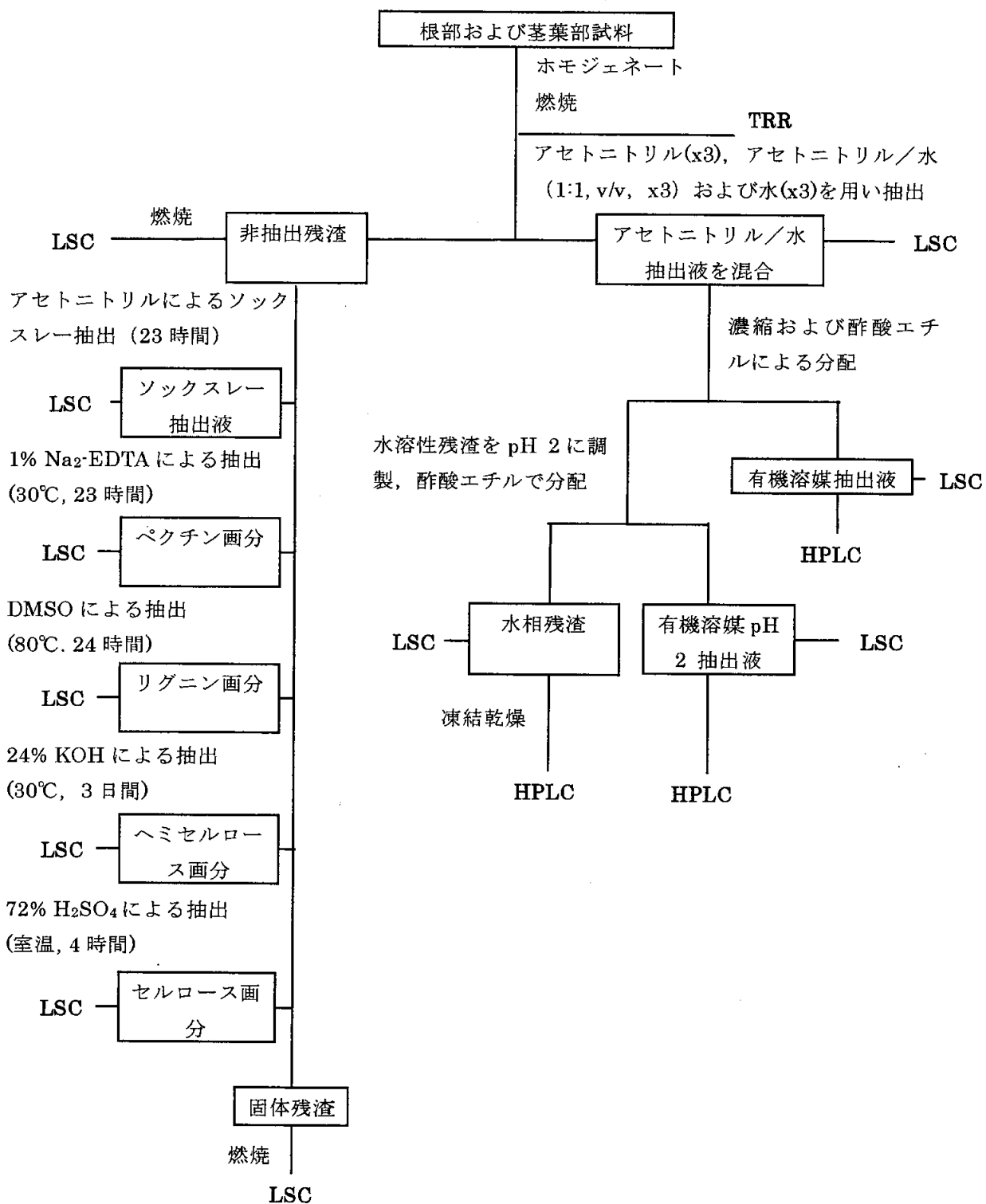


図 1. 試料からの抽出法の概要

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

放射能濃度： 植物の部位毎の全放射能残留量に対する百分率(%TRR)として、また、新鮮重当りのチオベンカルブ換算量 mg (mg eq./kg, ppm)として、結果を表示した。試験中の土壌および収穫時期別の植物体部位別の全放射能残留量を表 1 および表 2 に示した。

表 1. ^{14}C -Bz 標識体の処理後の土壌試料 (0 DAT) の全放射能残留量

区画	放射性総残留物 (ppm)	
	土壌コア A	土壌コア B
1	6.53	11.5
2	4.80	8.26

数値は mg eq./kg 生重量(ppm)として表示

処理直後に採取した土壌コア中の放射能量は 4.8 から 11.5 mg eq./kg の範囲であった。

表 2. ^{14}C -Bz 標識体の発芽前土壌処理によるニンジン試料の全放射能残留量

試料	中間採取 (76 DAT)	最終収穫 (110 DAT)
根部	0.648	0.165
茎葉部	0.903	0.501

数値は mg eq./kg 生重量(ppm)として表示

放射性残留量のレベルは、根部および茎葉部でそれぞれ中間時点採取時に 0.648 および 0.903 mg eq./kg であったのが収穫時期には 0.165 および 0.501 mg eq./kg へと減少した。放射性残留量のレベルは根部よりも茎葉部のほうが高かった。

放射能の分布： 抽出物、有機溶媒可溶画分および水可溶画分、ならびに、抽出できない残渣の分画物中の放射能の割合を表 3 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クマイ化学工業株式会社にある。

表 3. ^{14}C -Bz 標識体の発芽前土壌処理によるニンジン試料中の放射能分布

試料/画分	中間採取 (76 DAT)				最終収穫 (110 DAT)			
	根部		茎葉部		根部		茎葉部	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
抽出液全体	93.0	0.603	88.8	0.801	90.3	0.149	89.3	0.447
有機溶媒可溶画分	56.7	0.368	27.0	0.244	60.8	0.100	47.1	0.236
酸性下有機溶媒可溶	32.0	0.207	45.2	0.408	18.8	0.031	29.9	0.150
水可溶画分	4.3	0.028	16.6	0.150	10.7	0.018	12.3	0.061
非抽出残渣	7.0	0.045	11.2	0.101	9.7	0.016	10.7	0.054
ソックスレー抽出液	0.3	0.002	0.8	0.007	2.3	0.004	1.8	0.009
ペクチン画分	0.6	0.004	0.8	0.007	0.5	0.001	0.5	0.003
リグニン画分	1.0	0.006	0.8	0.007	ND	ND	0.4	0.002
ヘミセルロース画分	3.1	0.020	6.5	0.059	2.2	0.004	6.1	0.031
セルロース画分	1.0	0.007	1.2	0.011	0.8	0.001	0.5	0.003
固体残渣	0.9	0.006	1.1	0.010	3.9	0.006	1.4	0.007
合計	100.0	0.648	100.0	0.903	100.0	0.165	100.0	0.501

数値は全放射能残留量に対する割合 (%TRR) および mg eq./kg 生重量(ppm)として表示
DAT 処理後日数

放射性残留物の大部分はアセトニトリル/水で抽出可能であった。ニンジン根部および茎葉部から抽出した放射能の割合は 88.8~93.0 % TRR (0.149~0.801 mg eq./kg) であった。分別操作により抽出可能な放射能は、pH 7 (27.0~60.8 % TRR ; 0.100~0.368 mg eq./kg) および pH 2 (18.8~45.2 % TRR ; 0.031~0.408 mg eq./kg) の有機性可溶抽出物および水相残渣 (4.3~16.6 % TRR ; 0.018~0.150 mg eq./kg) に分配された。抽出できない残留物に残った放射能の割合は 7.0~11.2 % TRR (0.016~0.101 mg eq./kg) の範囲にあった。

抽出できない残留物の特徴付けをした結果、放射能の割合の大部分がヘミセルロース画分 (TRR の 2.2 から 6.5 %) に係っていた。ペクチン、リグニンならびにセルロース画分の放射能の割合は低かった (最大 1.2 %TRR)。固体残渣中に残っている放射能の割合は 0.9~3.9 %TRR (0.006~0.010 mg eq./kg) の範囲にあった。

放射性成分の割合： 試料中の放射性残留物の分布および同定の結果を表 4 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クミアイ化学工業株式会社にある。

表 4. ¹⁴C-Bz 標識体の発芽前土壌処理によるニンジン試料中の放射性残留物の同定／特徴付け

代謝物	中間採取 (76 DAT)				最終収穫 (110 DAT)			
	根部		茎葉部		根部		茎葉部	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
チオベンカルブ[1]	59.8	0.388	14.8	0.134	47.9	0.079	15.7	0.079
その他 ^a								
分析した合計	89.2	0.585	86.9	0.785	82.4	0.136	84.5	0.423
極性物質 (Rt~3-6 minutes)	2.8	0.018	1.9	0.017	7.9	0.013	4.8	0.024
非抽出残渣	7.0	0.045	11.2	0.101	9.7	0.016	10.7	0.054
合計	100.0	0.648	100.0	0.903	100.0	0.165	100.0	0.501

^a マイナー代謝物の最大値を表示, () マイナーな未同定代謝物の数

根部では、チオベンカルブ[1]が主要な放射性残留物で中間採取時および最終収穫時の割合はそれぞれ 59.8 %TRR および 47.9 % TRR であった。根部のチオベンカルブ濃度は中間採取時の 0.388 mg eq./kg から最終収穫時には 0.079 mg eq./kg に減少した。

が根部での主要な代謝物であった (% TRR, mg eq./kg)。他に (% TRR, mg eq./kg)、 (% TRR, mg eq./kg)、 (% TRR, mg eq./kg) が代謝物として同定された。また、極性物質 (最大で 7.9 % TRR, 0.018 mg eq./kg) および低レベルの未同定代謝物 (3.1 % TRR, 0.020 mg eq./kg 以下) 4 種類が検出された。

茎葉部では、チオベンカルブ[1]が茎葉部から検出され、中間採取時および最終収穫時の割合はそれぞれ 14.8 %TRR および 15.7 % TRR であった。茎葉部のチオベンカルブ濃度は中間採取時の 0.134 mg eq./kg から最終収穫時期には 0.079 mg eq./kg に減少した。

(% TRR, mg eq./kg) および (% TRR, mg eq./kg) が茎葉部での主要な代謝物であった。他に (% TRR, mg eq./kg)、 (% TRR, mg eq./kg)、 (% TRR, mg eq./kg) が代謝物として同定された。また、極性物質 (最大で TRR

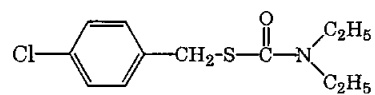
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

の 4.8 %、 0.024 mg eq./kg) および低レベルの未同定代謝物 (1.3 % TRR, 0.007 mg eq./kg 以下) 3 種類が検出された。

想定代謝経路： ニンジン植物体内における想定代謝経路を図 2 に示した。概要を以下に記述した。

チオベンカルブの土壌処理によるニンジン中の主要な代謝経路は、チオエステル結合の後、およびにより、およびなどを生成する。また、チオベンカルブはベンゼン環の、を受けると、最終的には植物成分に取り込まれる極性物質に代謝される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。



[1] チオベンカルブ



図2. チオベンカルブのニンジン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クミアイ化学工業株式会社にある。

3. 土壌中運命

1) 土壌中におけるチオベンカルブの分解

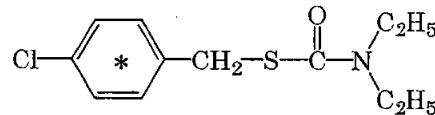
(資料 52)

試験機関：

[非 GLP]

報告年：1976年

被験物質： [Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブ
[Phenyl-U-¹⁴C] S-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)



比放射能 mCi/m mole 放射能純度

供試土壌： 愛知県農業試験（安城市）の水田作土（sandy clay loam）より採取し、供試した。

土壌条件及び処理：

湛水条件（水深 1cm）または畑地条件（土壌水分は最大容水量の 60%）に調整し、2 週間前培養した土壌に標識チオベンカルブ（ 25.8×10^5 dpm）を 0.5ml のアセトンに溶かして添加し、よく混合した（チオベンカルブ濃度は乾土当たり 10ppm）。80 日間本培養を続け、所定期間毎に分析した。

分析方法：

土壌を水-アセトンで抽出し、抽出物を n-ヘキサンと分配した。抽出残渣はアルカリ性、次いで酸性条件とし、アセトンで抽出した。¹⁴C 物質の同定・定量は TLC-ARG 法により行った。

試験結果：

(1) 土壌半減期

湛水条件下で約 100 日、畑地条件下で約 45 日であった。

(2) ¹⁴C の分布

アセトン抽出画分、抽出残渣および揮散損失分中への ¹⁴C の分布を経時的に調べたところ、アセトン抽出画分中の ¹⁴C は時間とともに減少し、その他の画分では増加した。

その傾向は畑地条件のほうが湛水条件より大きかった。

(3) 分解生成物

アセトン抽出後 n-ヘキサン転溶画分中の ¹⁴C 化合物を TLC で分析した。チオ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

ベンカルブ以外その分解生成物として以下の化合物を同定・定量した。

同定された分解物	湛水条件		畑地条件	
	20日	80日	20日	80日

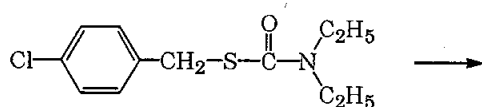
tr : 痕跡

単位は処理放射能に対する%

(4) 抽出残渣中の ^{14}C 化合物

80日後の抽出残渣をアルカリ性、次いで酸性で抽出したとき、アルカリ性下で約2分の1、酸性下で約4分の1の ^{14}C が抽出された。この抽出された ^{14}C の大部分はチオベンカルブであった。

結論： [Phenyl- ^{14}C] チオベンカルブは、湛水、畑地いずれの条件でも分解された。その程度は畑地条件のほうが大きかった。分解生成物として7種類の化合物が同定され、主な分解過程は次のように考えられた。



[1] チオベンカルブ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2) チオベンカルブ剤施用土壌中の

の同定
(資料 53)

試験機関：

[非 GLP]

報告年：1980 年

被験物質：チオベンカルブ 10%粒剤 (サターン粒剤)

供試土壌： 富山県高岡市の一般農家の水田圃場より水稻作の湛水中に作土を採取し供試した。この圃場は水稻にワイ化症が発生している。

試験方法：

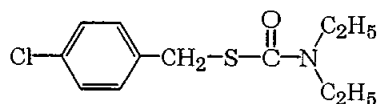
土壌をメタノールで抽出し、メタノールを留去後ジクロロメタンで抽出した。抽出画分を TLC、次いでカラムクロマトグラフィーで精製した後、GC-FPD、GC-MS で分析した。

試験結果：

土壌のメタノール抽出画分に GC-FPD で強い反応を示す未知ピークが認められ、この物質を TLC、カラムクロマトグラフィーで精製したところ、これらのクロマト挙動はチオベンカルブと極めてよく類似した。GC-FPD にも反応が強く、S 原子を含むものと推定され、さらに GC-MS による質量スペクトルはチオベンカルブとかなり類似した。詳細な解析の結果、この化合物は
と推定され、クロマト挙動および質量スペクトルは標品のそれと一致した。

結 論：

実際の水田土壌中より
が同定された。本化合物は
ある種の条件の土壌中で還元的にチオベンカルブから
することにより生成すると推定された。



[1] チオベンカルブ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) 土壌中におけるチオベンカルブ代謝分解

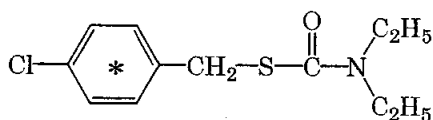
(資料 54)

試験機関：

[非 GLP]

報告年：1975 年

被験物質： [Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブ
 [Phenyl-U-¹⁴C] S-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)



比放射能 mCi/m · mole 放射能純度

供試土壌： カリフォルニア土壌 (C) およびルイジアナ土壌 (SCL)
 土壌条件は好氣的及び嫌氣的の2条件とした。

試験方法：

(1) ¹⁴CO₂の捕集

各々の条件の土壌に被験物質を約 6ppm となるようにアセトンに溶かして添加した。土壌に空気 (好氣的) もしくは窒素ガス (嫌氣的) を流入させ、流出するガスをエタノールアミン吸収管に導き、さらに水酸化バリウム溶液を通して CO₂ を捕集した。

(2) 分解生成物

土壌に約 6ppm となるように被験物質を添加し、嫌氣的条件は湛水した。ふたをして室温に静置し、経時的に取り出して分析した。全放射能量は土壌を直接オキシダイザーで燃焼して求めた。土壌を pH 2 に調整した後、酢酸エチルで抽出し、さらに水で抽出した。酢酸エチル層は濃縮後二次元 TLC-ARG 法により分析した。残渣土壌は水酸化ナトリウムで抽出し、腐植酸の分析を行った。

試験結果：(1) ¹⁴CO₂の発生

¹⁴CO₂の累積発生量は次のとおりであった。

(単位：処理放射能に対する%)

好氣的条件			嫌氣的条件		
経過 日数	カリフォルニア 土壌	ルイジアナ 土壌	経過 日数	カリフォルニア 土壌	ルイジアナ 土壌
14	9.66	8.43	15	0.08	0.01
31	25.79	22.23	33	0.31	0.06
92	61.08	41.81	90	0.69	0.43
182	71.77	49.74	180	1.40	0.78
365	77.37	54.45	364	2.56	1.52

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) チオベンカルブ分解半減期

嫌氣的条件では4～6ヶ月以上、好氣的条件では2～3週間でチオベンカルブは半減した。

(3) 分解生成物

酢酸エチル抽出画分中の¹⁴Cの大部分はチオベンカルブ由来であり、分解生成物は少量であった。分解生成物として次の化合物を同定、定量した。

分解生成物の最大量とそのときの経過日数 (単位：処理放射能に対する%)

同定された分解生成物	カリフォルニア土壌				ルイジアナ土壌			
	好氣的条件		嫌氣的条件		好氣的条件		嫌氣的条件	
	経過日数	%	経過日数	%	経過日数	%	経過日数	%

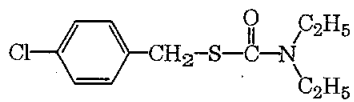
ND：検出せず

土壌条件によって分解生成物の量が異なり、好氣的条件のほうがはるかに多かった。最も多い分解生成物は であり、これを除けば、次いで の順であった。

これら分解生成物のほかに、 が同定されたが、定量に至らなかった。アルカリによっても bound residue の半分は抽出できず、抽出された¹⁴Cは腐植画分にあった。

結論：チオベンカルブは土壌中で分解されるが、特に好氣的条件で速やかであり、そのベンゼン環は最終的には¹⁴CO₂にまで分解される。同定された分解生成物より次の分解過程が推定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。



[1] チオベンカルブ



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

4)

(チオベンカルブの新代謝物の同定)

(資料 56)

試験機関：

[非 GLP]

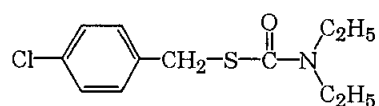
報告年：1985 年

被験物質： 非標識チオベンカルブ

試験方法： 好氣的畑状態状態の土壤（長野火山灰土、Light clay）にチオベンカルブ 10.7ppm を処理し、28℃で 15 日間培養した。土壤からメタノール：水=3：1 で抽出しさらにジクロロメタン抽出を行った。抽出画分を GC-MS で分析した。

試験結果： GC-MS 分析により、と同じ質量スペクトルを
与える分解生成物が同定された。この生成物の量は処理したチオベンカルブ量
の 0.1%以下であり、極めて少量であった。

結 論： 好氣的畑状態の土壤中でが検出、同定された。こ
の化合物は土壤中で次の反応により生成すると推定された。



[1] チオベンカルブ



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

参考) 土壌中における の分解

(資料 55)

試験機関:

[非 GLP]

報告年: 1985 年

被験物質:

比放射能 mCi/m · mole 放射能純度

供試土壌: 愛知県(安城市)および栃木県農業試験場の水田作土を供試した。土壌を破碎し、2mmで篩別し、通過した部分を用いた。

試験方法:

土壌を湛水条件(水深1.5cm)および畑地条件(水分は最大容水量の60%)に調整し、30℃の暗所で2週間培養した。標識脱クロルチオベンカルブを10ppmとなるように添加し、培養を続けた。定期的に容器内で発生するCO₂を捕集し、¹⁴C量を測定した。所定期間経過ごとに土壌中の¹⁴Cを抽出し分析した。土壌はアセトンで抽出した後、アルカリ性、ついで酸性条件下でさらにアセトンで抽出した。各抽出画分を濃縮し、エーテルで抽出し、TLC-ARGで¹⁴C化合物を分析した。

試験結果:

(1) 分解の速さ

土壌の条件と分解の速さは次の順であった;

畑地条件 > 湛水条件

また、土壌による 分解の速さは湛水、畑地条件とも次の順序であった;

栃木 > 安城

(2) 各画分への¹⁴C分布

湛水、畑地条件とも、また、安城、栃木土壌とも、時間の経過とともにアセトン抽出画分では減少し、抽出残渣画分での¹⁴Cが増加した(80日後に25~30%)。抽出残渣をアルカリ性、次いで酸性条件下でさらに抽出すると、吸着¹⁴Cのかなりの量が抽出可能となった。そのうちの大部分は であった。アルカリ性、酸性でも抽出できない¹⁴C量(bound residue)は畑地条件(80日後で処理放射能の20%前後)のほうが湛水条件(同5~9%)よりも多かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(3) 分解生成物

中性アセトン抽出物中の分解生成物を調べたが、大部分が
で、分解生成物量は少なかった。同定した分解生成物はいずれの条件と
も、また、いずれの土壌とも同じで、次の化合物であった。

一方、培養系から $^{14}\text{CO}_2$ の発生も見られ、湛水土壌系よりも畑地土壌系で著しく、中でも畑地条件下の栃木土壌では 80 日後に処理 ^{14}C の 40% に達した。

結 論：

は土壌に処理されると、畑地条件では速やかに、湛水条件ではゆっくりと分解した。分解生成物として数種類の脂溶性化合物が同定されたほか、 $^{14}\text{CO}_2$ も生成し、ベンゼン環が開裂することが判明した。同定した分解生成物から、
は
および
の 3 つの変化から分解が始まると推定される。このうち、
の分解経路中の中間生成物は同定されていないが、単離した土壌微生物による研究結果（資料 No.58）とあわせて考えるとき、主な分解経路は
の生成、それに続く
さらに
の $^{14}\text{CO}_2$ への酸化と想定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

参考) 微生物によるチオベンカルブの分解

(資料 57)

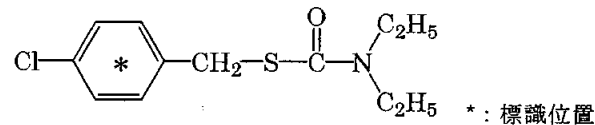
試験機関:

[非 GLP]

報告年: 1985 年

被験物質: [Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブ

[Phenyl-U-¹⁴C] S⁴-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)



比放射能 mCi/m·mole 放射能純度

試験方法: (1) 分解菌の集積、分離

土壤還流法により行い、寒天平板法により単離した。

(2) 洗浄菌体の調製

ペプトン-肉エキス培地中で4日間振とう培養した菌体を遠心分離し、リン酸緩衝液(0.1M pH 7.5)で洗浄後、再度遠心分離により集めた。この菌体をリン酸緩衝液に懸濁させて用いた。

(3) 菌体による分解

少量のアセトン溶液に溶かした被験物質を洗浄菌体懸濁液に加え(50ppm)、30℃で振とう培養を行った。生成する¹⁴CO₂をアルカリ液に捕集した。反応液をエーテルで抽出し、TLC-ARGを用いて¹⁴C化合物の分析を行った。また、反応液の一部は遠心分離し、上清と菌体とに分けて、各々の¹⁴C量を測定した。

試験結果:

(1) 土壤還流法による分解

土壤還流法によりチオベンカルブの分解活性は上昇した。ストレプトマイシンを添加した場合は分解活性が抑えられることから、チオベンカルブを分解する細菌が存在すると推定された。

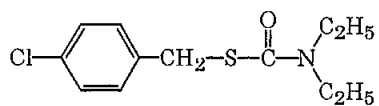
(2) 分解菌の分離

土壤還流液中に集積した分解菌をペプトン-肉エキス寒天培地で分離し、著しいチオベンカルブの分解活性を示す黄色いコロニーを形成する菌を単離した。この菌の性状を調べ、*Corynebacterium sp.*と推定した。

(3) 菌の生育と分解活性

アルブミン培地、土壤浸出液培地、無機塩-酵母エキス培地、ペプトン-肉エキス培地を用いて、菌の生育とチオベンカルブの分解活性を調べたところ、いず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。



[1] チオベンカルブ



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

参考) 微生物による

の分解

(資料 58)

試験機関:

[非 GLP]

報告年: 1985 年

被験物質:

比放射能 mCi/m·mole 放射能純度

供試土壌微生物:

土壌還流法により集積、単離したメチルベンカルブ分解能をもつ *Coryneform*
bacteria sp. をペプトン-肉エキス培地で 20 時間 30°C で振とう培養した菌体を遠
心分離し、0.1M リン酸緩衝液 (pH7.5) で 2 回洗浄し、遠心分離して用いた。

試験方法: 洗浄菌懸濁液に、少量のアセトンに溶かした を添加
し (80ppm)、30°C で振とう培養した。生成する CO₂ はアルカリ液に捕集した。
反応液は遠心分離により上清と菌体とに分けた。別に培養した反応液を酸性と
し、エーテルで抽出し、TLC-ARG または GC-MS で代謝物の同定・定量を行
った。

試験結果:

(1) 放射能分布

反応系の ¹⁴C 量は急激に減少し、同時に ¹⁴CO₂ が多量に生成した (56 時間後に
約 65%)。菌体、上清での ¹⁴C は、菌体は当初 30%程度で少しずつ減少したのに
対し、上清では約 70%から 20 時間後には約 20%と大幅に減少した。

(2) 代謝生成物

反応液のエーテル抽出層を分析し、同定した代謝物および量の変化は次のとお
りであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

同定した代謝物	培養時間				
	8 時間	21 時間	32 時間	40 時間	56 時間

tr : 痕跡

単位 : 処理放射能に対する%

結 論 : 単離された *Corynebacterium sp.*により は速やかに
CO₂にまで分解された。代謝生成物としては土壤中の分解生成物と同じく
が検出されたほか、
が認められた。この代謝物の比放射能は親化合物
の約 1 / 6 となっており、ベンゼン環構成炭素原子の一つを残したものと考え
られ、ベンゼン環はメタ位で開環するものと考えられた。
主な分解経路は以下のように推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

4. 水中運命に関する試験

(1) 加水分解運命試験

チオベンカルブは、加水分解性試験（資料 物化-11）において、pH 4 から pH 9 の範囲での半減期が 1 年以上であったことから、13 生産第 3986 号農林水産省生産資材課長通知（平成 13 年 10 月 10 日）記 5 の「加水分解運命試験」の第 1 項より、加水分解性が無いと考えられ、当該試験を省略した。したがって、加水分解性試験の概要を記す。

1) チオベンカルブの加水分解性試験

（資料 物化-11）

試験機関 :

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2000 年

供試化合物： チオベンカルブ（ベンチオカーブ）

化学名： *S*-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)

ロット番号： G01-33-167

純 度 :

被験物質水溶液： pH 4：0.05 M クエン酸緩衝液

pH 7：0.05 M リン酸緩衝液

pH 9：0.05 M ホウ酸緩衝液

被験物質の飽和水溶液から調製した 20 ppm 原液と 0.05 M の上記緩衝液を等量混合し、窒素ガスにより脱酸素したものを試験溶液とした。

試験方法：

OECD テストガイドライン 111 に準拠した。pH 当り 3 連の試料を調製した。

試験濃度： 6.7 mg/L

試験温度： 50±1° C

試験期間： 5 日間

分析方法： HPLC 法により定量した。

試験結果： 各 pH における初期および 5 日後の分析結果を表に示した。

チオベンカルブの 50°C における 5 日後の分解率は、pH 4, 7 及び 9 において 10% 以下であり、25°C での半減期は 1 年以上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クミアイ化学工業株式会社にある。

表. 初期および5日後のpHおよび被験物質濃度分析結果

試験溶液のpH		被験物質濃度 ^a (mg/L)		分解率(%)
初期値	5日後	初期値	5日後	
4.05	4.07	6.63	6.67	0
7.07	7.06	6.64	6.69	0
9.03	9.02	6.76	6.80	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クミアイ化学工業株式会社にある。

(2) 水中光分解運命

1) チオベンカルブの水中光分解運命試験

(資料 75)

試験機関 :

[GLP 対応]

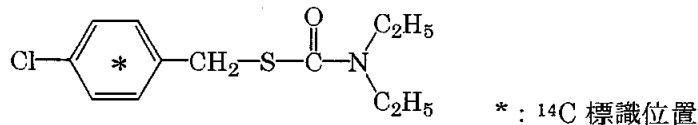
報告書作成年 : 2006 年

供試化合物 : [Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブ

化学名 ; S-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)

構造式および標識位置 ;

[Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブ (以降 ¹⁴C-Bz-TB と略記)



ロット番号 : 3551-035

比放射能 : MBq/mg (65.0 mCi/mmol)

放射化学的純度 :

供試水 : 蒸留水および自然水 (河川水)

蒸留水 ; 高速液体クロマトグラフ用 (市販品)

自然水 ; 河川水 (静岡県掛川市成滝, 逆川の河川水, 採水日 ; 2006 年 5 月 24 日)

供試水は濾過滅菌フィルターにより滅菌

表 1. 供試水の物理化学的特性

項 目	蒸留水	自然水
pH (12°C)	5.7	7.8
電気伝導率 (mS/m)	0.15	25.3
全蒸発残留物量 (mg/L)	1 未満	193
懸濁物質量 (mg/L)	1 未満	1 未満
溶存酸素量 (mg/L)	7.5	6.6

光照射装置 :

機種 ; 卓上型キセノン耐光促進試験機サンテスト CPS+ (東洋精機製作所)

光源 ; キセノンアークランプ (1.5kw)

フィルター ; 290 nm 以下をカットする石英ガラスフィルター

放射照度 ; 5.139 mW/cm² (波長範囲 300-400 nm ; 試験前および試験後の測定値の平均)

試験方法 :

溶液の調製 ; 試験溶液の設定濃度はチオベンカルブの水溶解度 (16.7 mg/L,

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

20°C, 蒸留水) の 1/2 以下である 5 mg/L とした。14C-Bz-TB を測り取り、メタノールで定容して処理溶液を調製した。この処理溶液の所定量を 300 ml 容三角フラスコに取り、溶媒を留去した後、試験水 (蒸留水または自然水) 145 ml を加えて密栓し、超音波により攪拌し溶解させた。試料調製時の濃度は蒸留水試験区で 5.21 mg eq./L, 自然水試験区で 5.01 mg eq./L であった。

照射方法； 反応容器として、光照射試料には 50 ml 容石英ガラス製試験容器を用いた。暗下区対照には 10 ml 容 PYREX ガラス製試験管をアルミホイルで覆い用いた。

揮発性物質の捕集； CO₂フリーの空気を循環させ、照射期間中に発生する揮発性物質および二酸化炭素 (14CO₂) を捕集した。捕集溶液として、1次トラップに揮発性物質を捕集するエチレングリコールを、2次および3次トラップに 14CO₂を捕集する 2N-NaOH を用いた。

試験条件； 試験温度は 25.0 ± 2°C に維持した。照射期間は、当試験施設で実施したチオベンカルブの水中光分解試験 (チオベンカルブの有効成分の性状、安定性、分解性に関する試験成績, No.13) における蒸留水および自然水の半減期がそれぞれ 3.7 日および 3.6 日であったことから、120 時間に設定し、その試料採取時点を以下の表に示す通りとした。暗下対照区については上記試験でチオベンカルブの分解が認められなかったことから、最長期間の 120 時間のみとした。

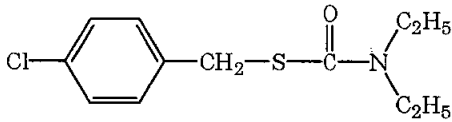
試料採取；

標識体	試験水	試験区	試料採取時点
14C-Bz-TB	蒸留水	光照射区	6, 24, 48, 72, 96, 120 時間
		暗下対照区	120 時間
	自然水	光照射区	6, 24, 48, 72, 96, 120 時間
		暗下対照区	120 時間

分析方法； 各時点において採取した試料の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射エネルギーを測定した。また試料の一部を直接 HPLC により分析し、放射性成分の定量を行った。各試験区の主要放射性成分は定量分析 (HPLC 分析) 時に参照化合物との保持時間を比較して一時的な同定/特徴付けを行った。同定/特徴付けは、参照化合物との共注入による HPLC コクロマトグラフィーを行い保持時間が一致することを確認した。さらに、適切な試料を LC/MS 測定に供し、それらの APCI/MS または ESI/MS (および ESI/MS/MS) スペクトルを測定し、参照化合物の MS スペクトルと比較することで行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

が生成した。自然水中ではチオベンカルブは光増感物質の関与する間接的光分解を受け、緩衝液中に比べ分解速度が加速され、施用量の10%を超える主要分解物として および が生成した。また微量生成する分解物として および が検出された。なお、揮発性成分の発生は %AR でありその殆どが $^{14}\text{CO}_2$ であった。



[1] チオベンカルブ

図 1. チオベンカルブの推定水中光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

¹⁴C回収試験； 水中光分解試験における¹⁴C回収率が80~88%とやや低かった。これは未回収¹⁴Cがエチレングリコールでは回収できない揮発性物質である可能性があると考えられることから、中揮発性物質（農薬等）測定用固相抽出カートリッジ（Sep-Pak®PS-Air； Waters）を2次トラップとして追加し、自然水を用いて¹⁴C回収試験を実施した。トラップの構成は次の通りとした。

1次トラップ；エチレングリコール

2次トラップ；Sep-Pak®PS-Air

3次および4次トラップ；2N-NaOH

試料採取は、光照射中は行わず、調整直後（0時間）および120時間後とした。

他の試験条件は水中光分解試験と同条件とした。

結果を表5に示した。試験溶液（自然水）中の¹⁴C回収率は120時間後で83.0%であった。総回収率は85.2%であり、新たに設置したSep-Pak®PS-Airからは放射能が検出されなかった。以上の結果から、水中光分解試験で回収されなかった¹⁴CはエチレングリコールおよびSep-Pak®PS-Airでは捕集することが困難な非常に揮発性の高い物質であると考えられた。

表5. 自然水における揮発性物質捕集および総放射能回収率

光照射期間 (時間)	処理放射能に対する割合 (%)						総回収率
	自然水	1次 トラップ	2次 トラップ	3次 トラップ	4次 トラップ	洗浄液 ^a	
0	100.0	— ^b	—	—	—	—	100.0
120	83.0	<0.1	<0.1	1.1	<0.1	1.1	85.2

^a測定せず

^b捕集用シリコンチューブおよび試験容器をメタノール、酢酸エチルおよびクロロホルムで洗浄し回収した放射能の合計値の割合

参考) 水中光分解試験

(資料 59)

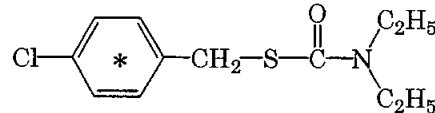
試験機関 :

[非 GLP]

報告書作成年 : 1977 年

被験物質 : [Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブ

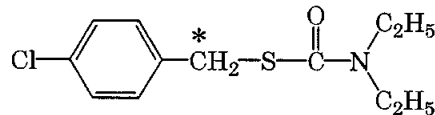
[Phenyl-U-¹⁴C] *S*-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)



比放射能 mCi/m·mole 放射能純度

[Benzyl- α -¹⁴C] チオベンカルブ

[Benzyl- α -¹⁴C] *S*-4-chlorobenzyl diethyl(thiocarbamate)



比放射能 mCi/m·mole 放射能純度

試験方法 :

(1) 紫外線照射による分解

低圧水銀灯 (最強波長 254 nm) および高圧水銀灯 (最強波長 365 nm) を光源として用いた。適切な容器に入れた被験物質または非標識チオベンカルブ水溶液 (10 ppm) に上記光源のいずれかを照射し、所定時間経過毎に一定量を採取し分析した。試料はエーテルで抽出し、非標識体の場合は GC、GC-MS で、標識体の場合は TLC-ARG で分析した。

(2) 太陽光照射による分解

[Benzyl- α -¹⁴C] チオベンカルブの水溶液 (10 ppm) に太陽光を照射した。所定時間経過毎に一定量を採取し、エーテルで抽出し、TLC-ARG で分析した。

(3) 紫外線照射下のガラス板上での分解

ベンゼン環標識チオベンカルブをガラス板上に塗布し、薄膜状とした (10 mg)。高圧水銀灯を照射し、所定時間ごとにその一部を分析した。

試験結果 :

(1) 低圧水銀灯による水溶液中での分解

チオベンカルブ水溶液に低圧水銀灯を照射したとき、チオベンカルブは速やかに分解した。GC による検索では分解物として

の 2 種類の化合物が同定された。生成量は処理チオベンカルブ量の各々 % および % 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クミアイ化学工業株式会社にある。

(2) 高圧水銀灯による水溶液中での分解

高圧水銀灯照射水溶液中の ^{14}C は、大部分がエーテル抽出可能であったが、時間とともに抽出不可能残渣中の ^{14}C 量が増加した (120 分後に処理量の 20%)。

エーテル画分中の同定された分解生成物とその量

同定された分解生成物	処理量に対する割合 (%)

(3) GC-MS による分解物の検索

高圧水銀灯照射後の水溶液のエーテル画分を GC-MS で分析した。40 種類以上の分解生成物が検出され、標準化合物との照合により次の 7 種類を同定した。

(4) 太陽光照射による分解

太陽光を照射したとき、容器に蓋をした場合に比べ、蓋をしない場合は水及び ^{14}C の揮発による損失が認められた。水中に残存する ^{14}C の大部分はチオベンカルブであり、分解生成物は非常に少なかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

化合物	蓋あり		蓋なし	
	6 時間	12 時間	6 時間	12 時間
チオベンカルブ[1]	73.3	70.6	53.5	12.4

単位：処理放射能に対する%

(5) ガラス板上での分解

[Phenyl-U-¹⁴C] チオベンカルブをガラス板上に塗布して薄膜とし、高圧水銀灯を照射した場合においてもチオベンカルブは分解した。分解生成物として次の化合物が同定され、時間的变化は次の通りであった。

化合物	照射時間			
	3/4 時間	6 時間	24 時間	47 時間
チオベンカルブ[1]	69.2	20.7	1.2	tr

tr：痕跡（0.1%以下）

単位：処理放射能に対する%

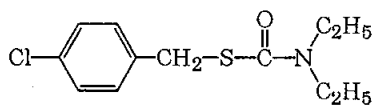
(6) 他農薬との分解速度の比較

低圧水銀灯により水溶液中における8種類の農薬の分解の速さを比較し、次の順を得た。

チオベンカルブ＝シメトリン>IBP>EPTC>DCPA>スエップ>フェニトロチオン>BPMC

結論：チオベンカルブは紫外線および太陽光により分解される。紫外線照射の場合比較した他の農薬より速やかに分解された。チオベンカルブの状態別では、水溶液、薄膜、いずれの場合も速やかに分解されたが、分解生成物は条件により異なった（
は薄膜を用いた試験でのみ検出された）。それらの生成量にも若干の差がみられた。同定した分解生成物から、主な分解経路は以下のように推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。



[1] チオベンカルブ



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

参考) チオベンカルブの酸化および遊離ラジカルを介する光分解過程

(資料 60)

試験機関 :

[非 GLP]

報告書作成年 : 1985 年

被験物質 : 非標識チオベンカルブ

供給光源及び装置 : RPR ランプ、及び Rayonette 反応装置

試験方法 :

(1) 溶液中の分解

水又は有機溶媒にチオベンカルブを溶かし (0.12 mM)、完全にガス抜きした後、光を照射した。TLC または GC で分析した。

(2) 薄膜状における分解

ガラスまたは薄層クロマト板 (シリカゲル板) 上に作ったチオベンカルブ薄膜に 300 nm 以上の光を照射した。

(3) 分解生成物の同定

GC、GC-MS、TLC により分析を行った。ほかに、NMR、UV スペクトルも測定した。

試験結果 :

(1) 溶液中の光分解生成物

水溶液中の分解生成物として 2 3 種類の化合物を同定した。

(2) ガラス板上での分解生成物

ガラス板上での分解生成物として 1 3 種類の化合物を同定した。

(3) シリカゲル板上での分解生成物

シリカゲル板上での分解生成物として 2 3 種類の化合物を同定した。

以上、(1) (2) (3) における主要生成物とその量は以下の通り。

主な分解生成物	水溶液中	ガラス板上	シリカゲル板上

単位 : 処理量に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

結 論： 水溶液、ガラス板上、シリカゲル薄層板上のチオベンカルブに光を照射したとき、29種類の分解生成物が検出、同定された。これらは複雑な経路を経て生成することがわかり、照射時のチオベンカルブの状態によっても主な生成物の種類には差は認められなかったが、生成量に差が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

参考) チオベンカルブの水中における間接的な光分解反応の中間生成物

(資料 61)

試験機関 :

[非 GLP]

報告書作成年 : 1981 年

被験物質 : 非標識チオベンカルブ

供給光源 : 太陽光

試験方法 :

(1) 光分解物の検索

チオベンカルブの水溶液 (20 mg/L、100 μ M 過酸化水素添加) を太陽光に 96 時間照射した後、ジクロロメタンで抽出した。抽出液を TLC、ついで MS で分析した。

(2) 光増感剤の効果

チオベンカルブ水溶液に過酸化水素 (100 μ M)、アセトン (340 mM)、メチレンブルー (134 μ M) またはトリプトファン (490 μ M) のいずれかを添加し、太陽光に暴露した。所定時間毎に試料の一部を採り、GC でチオベンカルブを分析した。

(3) Fenton 試薬による酸化

チオベンカルブ水溶液に硫酸第一鉄 7 水塩および過酸化水素を添加し、太陽光に当てた。酸化生成物を分析した。

(4) 分子状酵素との反応

チオベンカルブおよびエオシンのメタノール溶液に蛍光ランプ (F40BL) による光を照射し、定期的にチオベンカルブを分析した。

結 果 :

(1) 光分解物

チオベンカルブは過酸化水素添加の水溶液中で太陽光照射により速やかに分解した (半減期 41 時間)。光分解生成物として

が同定された。

(2) 光増感剤の効果

光増感剤の効果は以下の通りであった。

アセトン > 過酸化水素 > トリプトファン \geq メチレンブルー

(3) Fenton 試薬による酸化

Fenton 試薬の第 1 回処理でチオベンカルブ 12.5 mg/L から 7.4 mg/L に、また、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

第2回目処理で 3.7 mg/L まで減少した。分解生成物としては脱エチルチオベンカルブを除く(1)に述べた3化合物が検出された。

結 論： チオベンカルブは水溶液中で間接的な光分解も受ける。これは過酸化水素などのラジカルによる反応と考えられる。しかし、一重項酸素分子では酸化を受けない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

5. 土壌吸着性

(資料 物化-10)

1) 土壌吸脱着試験

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2000 年

被験物質 : チオベンカルブ

純度 : % (ロット番号 : G01-33-167)

化学名 : S⁴-Chlorobenzyl diethyl (thiocarbamate) (IUPAC)

供試土壌 : 4 種類の土壌を使用した。

I : 群馬土壌 群馬県勢多郡富士見村 (一般畑地)

II : 牛久土壌 茨城県牛久市 (日本植物調節剤研究協会研究所内畑地)

III : 掛川土壌 静岡県掛川市 (クミアイ化学工業生物科学研究所内畑地)

IV : 大東土壌 静岡県小笠郡大東町 (一般畑地)

項目	I	II	III	IV
土壌群名	黒ボク土	黒ボク土	造成土	灰色低地土
土性	SL	CL	CL	LS
砂%	68.0	42.3	51.5	87.5
シルト%	20.8	33.8	29.9	4.4
粘土%	11.2	23.9	18.6	8.1
有機炭素含有率%	3.9	4.3	0.8	0.4
pH (H ₂ O)	6.2	6.4	7.0	5.2
(KCl)	5.4	5.8	5.7	4.2
陽イオン交換容量 (me/乾土 100g)	15.9	25.8	7.9	3.2
有効態リン酸 (P ₂ O ₅ mg/乾土 100g)	29.7	23.3	36.6	13.6
リン酸吸収係数 (P ₂ O ₅ mg/乾土 100g)	1530	1720	640	150
水分含量 (%) ¹⁾	5.84	8.90	3.81	0.71
粘土鉱物の種類	アロフェン	アロフェン	クロライト, イライト, カ オリナイト, アロフェン	カオリナイ ト, アロフェ ン, クロライ ト, イライト

¹⁾ 100℃・15 時間乾燥による減量分を水分とする

材料の調製方法 :

供試土壌の調製 : 土壌の各 5 g を 50 ml 容遠沈管に取り, 水 5 ml を加え, 25±2℃・
暗所で 24 時間静置した。

試験溶液 : 被験物質 0.08, 0.4, 1, 50 µg/ml 濃度の 0.01M-CaCl₂ 水溶液を調製した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験方法： OECD テストガイドライン 106 に準拠した。

- 1) 吸着平衡化試験： 上記の調製土壌に被験物質 1 µg/ml の試験溶液を各土壌に 20 ml 加え（いずれも試験濃度 2.5 µg/ml）、25±2℃・暗所で 4, 8, 24, 48 時間振とう。遠心分離（3000 rpm, 5 分）後、上澄み液 10 ml を取り、被験物質を酢酸エチルで抽出し、HPLC で定量した。48 時間振とう試料については上澄み液を分別し、液量を測定した後、土壌からアセトンを用いて振とう抽出し被験物質を HPLC で定量した。上澄み液中の被験物質濃度の推移から平衡化時間を算出し、振とう 48 時間試料の上澄み液及び土壌抽出液中の被験物質質量から物質収支を計算した。
- 2) 等温吸着試験： 上記の調製土壌に被験物質 0.08, 0.4, 1, 5 µg/ml の試験溶液 20 ml を加え、25±1℃・暗所で 48 時間振盪。遠心分離（3000 rpm, 5 分）後上澄み液を取り、酢酸エチルで抽出後 HPLC で定量した。
- 3) 等温脱着試験： 等温吸着試験の 1 µg/ml 添加区から得られた土壌に、採取した上澄み液と等容量の 0.01M-CaCl₂ 水溶液を加え、25±1℃・暗所で 48 時間振とう。遠心分離（3000 rpm, 5 分）後、上澄み液中の被験物質を HPLC で定量した。さらにこの脱着操作をもう一度繰り返し、被験物質を HPLC で定量した。

計算方法：

$$\begin{aligned} \text{溶液濃度}(\mu\text{g/ml}) &= \text{HPLC 検出量}(\text{ng}) \times \text{最終定容液量}(\text{ml}) \\ &\quad \div \text{HPLC 注入量}(\mu\text{l}) \div \text{溶液分析容量}(\text{ml}) \end{aligned}$$

$$\text{溶液中の量}(\mu\text{g}) = \text{溶液濃度}(\mu\text{l/ml}) \times \text{溶液容量}(\text{ml})$$

$$\text{処理量}(\mu\text{g}) = \text{試験溶液濃度}(\mu\text{l/ml}) \times 20 (\text{ml})$$

$$\begin{aligned} \text{土壌吸着量}(\mu\text{g}) &= \text{処理量}(\mu\text{g}) - \text{吸着溶液濃度}(\mu\text{l/ml}) \\ &\quad \times (25 (\text{ml}) + \text{土壌水分量}(\text{ml})) \end{aligned}$$

$$\text{土壌吸着濃度}(\mu\text{g/g}) = \text{土壌吸着量}(\mu\text{g}) \div 5 (\text{g})$$

$$\text{脱着量}(\mu\text{g}) = \text{脱着溶液濃度}(\mu\text{g/ml}) \times (25 (\text{ml}) + \text{土壌水分量}(\text{ml}))$$

$$\text{回収率}(\%) = \text{回収量}(\mu\text{g}) \div \text{処理量}(\mu\text{g}) \times 100$$

$$\text{変動係数}(\%) = \text{回収率の標準偏差} \div \text{平均回収率} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

また、Freundlich 式から吸着係数 (K)、定数項(1/n)、相関係数(r)を算出した。

$$\log(\text{土壌吸着濃度}) = \log K + (1/n) \times \log(\text{吸着溶液濃度})$$

有機炭素吸着係数(Koc')

$$Koc' = K \div \text{有機炭素含有割合}$$

$$(\text{有機炭素含有割合} = \text{有機炭素含有率(oc\%)} \div 100)$$

吸着係数(K)、吸気炭素含有割合の 1 次相関より、Koc、Y 切片(a)、相関係数(r)を算出した。

$$K = Koc \times \text{有機炭素含有量} + a$$

試験結果：

1) 吸着平衡化試験

上澄み液中濃度の変化を下表に示した。この結果から、変化率が 10%/8 時間以下となる 24 時間を平衡化時間とした。

なお、試料採取 n 回目の変化率(%)及び変化率(%/8h)の計算は以下の通りである。

$$\text{変化率(\%)} = \{(\text{試料採取 } n-1 \text{ 回目の濃度} - \text{試料採取 } n \text{ 回目の濃度})\} \div (\text{試料採取 } n-1 \text{ 回目の濃度}) \times 100$$

$$\text{変化率(\%/8 時間)} = \text{変化率(\%)} \div [(\text{試料採取 } n \text{ 回目の振盪時間}) - (\text{試料採取 } n-1 \text{ 回目の振盪時間}) \div 8]$$

試料採取 (回)	振盪 時間 (h)	I 群馬		II 牛久		III 掛川		IV 大東	
		濃度 (µg/ml)	変化率 (%/8h)	濃度 (µg/ml)	変化率 (%/8h)	濃度 (µg/ml)	変化率 (%/8h)	濃度 (µg/ml)	変化率 (%/8h)
1	0	0.774	—	0.769	—	0.778	—	0.783	—
2	4	0.046	188.1	0.048	187.5	0.168	156.8	0.285	127.2
3	8	0.041	21.7	0.040	33.3	0.152	19.0	0.282	2.1
4	24	0.032	11.0	0.028	15.0	0.136	5.3	0.254	5.0
5	48	0.027	5.2	0.023	6.0	0.124	2.9	0.238	2.1
平衡化時間		48 h		48 h		24 h		8 h	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

吸着平衡化試験における振とう 48 時間後の物質収支は以下の通りであった。

画分	回収率(%)			
	I 群馬	II 牛久	III 掛川	IV 大東
上澄液	2.9	2.4	13.5	27.6
土壌抽出液	90.5	77.4	74.3	68.4
合計	93.4	79.8	87.8	96.0

2) 等温吸着試験

Freundlich の吸着パラメーターは以下の通りであった。

土壌	$1/n^1$	K^1	R^1	$oc\%^2$	Koc^3
I 群馬	0.713	49.43	1.00	3.9	1267
II 牛久	0.685	50.55	1.00	4.3	1176
III 掛川	0.804	16.13	1.00	0.8	2016
IV 大東	0.831	7.80	1.00	0.4	1950

¹ Freundlich の吸着等温式による定数項と相関係数

² 土壌の有機炭素含有率

³ K を $oc\%$ で割り求めた有機炭素吸着係数

以上の結果から、 $Koc=1088$ が算出された。

3) 等温脱着試験

脱着率は1回目で2.3~27.8%、2回目で1.8~22.4%であり、有機炭素含有率が低い土壌で脱着率が高かった。

土壌	有機炭素含有率(%)	脱着率(%)	
		1回目	2回目
I 群馬	3.9	3.0	2.2
II 牛久	4.3	2.3	1.8
III 掛川	0.8	14.6	11.1
IV 大東	0.4	27.8	22.4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

6. 生物濃縮性等

1) ブルーギルを用いた魚類濃縮性試験

(報告書表題：チオベンカルブのブルーギルを用いた代謝運命試験)

(資料 物化-9)

試験機関 :

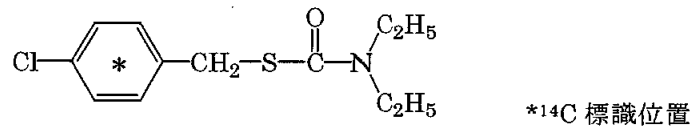
[GLP 対応]

報告書作成年：1992年

被験物質：[¹⁴C-U-phenyl] チオベンカルブ (以下 ¹⁴C-標識体)

化学名 : S-4-chlorobenzyl diethyl (thiocarbamate) (IUPAC)

構造式および標識位置 ;



ロット番号 ; 2372-030

比放射能 ; mCi/mmole,

放射化学的純度 ; ,

供試生物 : ブルーギル (*Lepomis macrochirus*)

体長 43 (± 5.5) mm, 体重 2.05 (± 0.89) g

1 濃度区当り 900 尾 (450 尾/容器, 2 反復)

試験方法 :

暴露条件 : 流水式

試験期間 : 取込期間 28 日, 排泄期間 14 日

試験濃度区 : 0.05 mg/L および溶媒 (DMF) 対照区

チオベンカルブのブルーギルにおける急性毒性 LC50 値が 1.3 mg/L であることから、その 1/10 と 1/100 の間の濃度である 0.05 mg/L (実測値 0.048 mg/L) を暴露濃度に設定した。

試験液の調製 : ¹⁴C 標識体および非標識のチオベンカルブの適当量をジメチルホルムアミド (DMF) に溶解して、試験水への供給原液とした。希釈用水は試験施設内にある深さ 45 m の井戸から採取した淡水を用いた。溶媒の DMF 濃度は 0.48 mg/L 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クマイ化学工業株式会社にある。

環境条件： 設定温度：22±1°C（実測値：21.5～22.3°C）
溶存酸素量：5.4～8.2 mg/L、（22°Cにおける飽和濃度の60%は5.23 mg/L）
収容量：2.05 g fish/L 未満
pH：7.4～7.8
光周期：16L-8D

試料採取および調製： 水中の¹⁴C-チオベンカルブ濃度を測定するための水試料は、取込期間の0, 0.3, 1, 3, 7, 10, 14, 21及び28日と排泄期間の0.3, 1, 3, 7, 10及び14日に採取し、液体シンチレーション分析を行った。

魚体試料中の放射性成分の濃度を測定するための組織試料は、取込期間の0, 0.3, 1, 3, 7, 10, 14, 21及び28日と排泄期間の0.3, 1, 3, 7, 10及び14日に各水槽から5匹ずつ採取し、体重を測定した後、1匹を全身の残留量のためにホモジェネートし、残り4匹は解剖して食用部位（筋肉組織）および非食用部位に分けてホモジェネートした。全身組織、食用部位組織および非食用部位組織はそれぞれ重量を測り、乾燥、燃焼して液体シンチレーション分析を行い、放射性成分を定量した。

代謝物の分析のための試料調製： 水試料は取込期間の14及び28日と排泄期間の7及び14日に採取した。魚体試料は取込期間の14及び28日と排泄期間の7及び14日に採取した。水試料は図1に示した手順で抽出した。魚体試料は食用部位と非食用部位に分け、それぞれ図2に示した手順で抽出した。抽出操作後の非抽出残渣は図3に示した手順で酸およびアルカリ加水分解による特徴付けを行った。各段階における抽出液は液体シンチレーション分析により放射性成分を定量した。

クロマトグラフィーによる同定： 上記の試料調製により得た各種画分について参照物質とのHPLCクロマトグラフィーおよびTLC/オートラジオグラフィーにより親化合物および代謝物の同定を行った。

LC/MSによる特徴付け： 排泄期間0日（= 取込期間28日）の非食用部位の抽出液から単離された未同定代謝物について、TLC精製を行った後LC/MS分析を行い、代謝物を推定した。

濃縮係数の算出： 実測生物濃縮係数（BCF_{ss}）を以下の式に基づき魚体組織中の被験物質濃度（C_r）と水中での被験物質の累加平均濃度（C_w）との比率から算出した。

$$BCF_{ss} = C_r / C_w$$

また、全¹⁴Cの予測生物濃縮係数（BCF_k）を以下の式に基づき、取込速度定数（k₁）と排泄速度定数（k₂）の比から算出した。取込速度定数と

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

排泄速度定数は、 BCF_k とともに水中濃度-組織濃度カINETイクスモデルを用いて求め、BIOFAC®コンピュータープログラムを用いて計算した。

$$BCF_k = k_1 / k_2$$

[申請者注：試験報告書中では BCF_{ss} は BCF_0 、 BCF_k は BCF_B とそれぞれ記載されているが、本抄録ではガイドラインの表記に準じ BCF_{ss} 及び BCF_k とした。]

試験結果：

魚の生死及び症状： 試験は当初、チオベンカルブと代謝物の魚体組織での分析のために十分な生物量を確保するために 1800 匹で開始した。過密による死亡を避けるために、試験の 15 日目にそれぞれの水槽から 100 匹を取り除いた。27 日目の溶媒対照区反復 B における明らかに溶存酸素濃度の低下による 10 匹の死亡を除き、認められた全ての死亡（180 匹）は過密によるものと考えられた。試験終了時における死亡率は対照区で 8~9%、処理区で 10~13%であった。排泄期間 7 日に対照群の 1 例に平衡失調が見られた以外に、試験期間を通じて生存動物に異常は認められなかった。

魚体中の被験物質濃度： 取込期間および排泄期間の各魚体試料採取時点における食用部位、非食用部位および魚体全身中の放射性成分の定量結果を表 1 に示す。総 ^{14}C の魚体への取込は速やかで、魚体全身での残留量は取込期間の 1 日までに定常状態の濃度に達した。同様の濃縮パターンは、食用部位および非食用部位でも認められた。非食用部位における濃度は、常に食用部位における濃度よりも高かった。排泄期間は 28 日目に被験物質の供給を終了した後に開始した。魚体全身および非食用部位の ^{14}C 残留物は排泄期間を通して、食用部位の ^{14}C 残留物は排泄期間 7 日まで検出された。食用部位、非食用部位の両方および魚体全身の総 ^{14}C は、排泄期間を通して減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 取込期間および排泄期間における食用部位、非食用部位および魚体全身中の ^{14}C 濃度

採取日		反復 A における ^{14}C 量 ^a			反復 B における ^{14}C 量 ^a		
		食用部位	非食用部位	魚体全身	食用部位	非食用部位	魚体全身
取 込 期 間	0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	0.3	1.63	6.86	4.92	1.02	10.61	3.89
	1	4.94	14.56	15.44	3.31	15.32	15.10
	3	2.94	26.00	13.74	2.76	25.53	16.51
	7	2.76	16.93	11.10	3.57	20.47	11.29
	10	2.27	8.65	10.19	2.36	9.85	9.14
	14	3.09	19.43	10.95	4.70	17.96	12.56
	21	2.42	11.97	13.75	2.72	10.30	14.84
	28	6.30	24.66	11.62	5.43	16.96	11.79
排 泄 期 間	0.3	0.88	8.21	4.73	1.14	9.11	5.98
	1	0.58	5.57	2.75	0.43	3.36	4.87
	3	0.32	1.58	1.2	0.28	1.81	0.86
	7	0.25	0.95	0.66	<LOQ	0.84	0.63
	10	<LOQ	0.87	0.49	<LOQ	0.82	0.48
	14	<LOQ	0.76	0.42	<LOQ	0.65	0.34

^a 単位は mg thiobencarb equivalents/kg、LOQ = 定量下限値;水中 0.009 mg/L, 組織中 0.21 $\mu\text{g/g}$

試験水中の被験物質濃度: 処理群の水槽 A および B の 28 日間の取込期間における水中の全 ^{14}C の平均実測濃度 ($\pm\text{SD}$) はそれぞれ 0.046 ± 0.0096 および 0.046 ± 0.0093 mg thiobencarb equivalents/L であった (表 2)。

表 2. 取込期間および排泄期間における水中および魚体全身中の ^{14}C 濃度

採取日		^{14}C -thiobencarb の平均濃度			生物濃縮係数	
		平均水中濃度 (mg/L)	累加平均水中濃度 (mg/L)	魚体全身中濃度 (mg/kg)	実測生物濃縮係数	定常状態における BCF 平均値*
取 込 期 間	0	0.0332	NA	<LOQ	NA	BCF _{ss} = 302 BCF _k = 254
	0.3	0.0266	0.0299	4.4	147	
	1	0.0517	0.0372	15.3	411	
	3	0.0502	0.0404	15.1	374	
	7	0.0513	0.0426	11.2	263	
	10	0.0468	0.0433	9.66	223	
	14	0.0490	0.0441	11.8	268	
	21	0.0486	0.0447	14.3	320	
	28	0.0550	0.0458	11.7	255	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 2. (続き)

採取日		¹⁴ C-thiobencarb の平均濃度			生物濃縮係数	
		平均水中濃度 (mg/L)	累加平均水中濃度 (mg/L)	魚体全身中濃度 (mg/kg)	実測生物濃縮係数	定常状態における BCF 平均値*
排泄期間	0.3	<LOQ	NA	5.36	NA	
	1	<LOQ	NA	3.81	NA	
	3	<LOQ	NA	1.03	NA	
	7	<LOQ	NA	0.64	NA	
	10	<LOQ	NA	0.48	NA	
	14	<LOQ	NA	0.38	NA	

LOQ = 定量下限値:水中 0.009 mg/L, 組織中 0.21µg/g、NA = 該当しない

* BCF 平均値は取込期間 1, 3, 7, 10, 14, 21 及び 28 日の測定値から算出した。

生物濃縮係数： 実測生物濃縮係数 (BCF_{ss}) を各試料採取時期において魚体全身および食用部位と非食用部位について計算した。魚体全身および組織中の総 [¹⁴C] の平均実測濃度は速やかに蓄積し、取込期間の 1 日目までに見かけの定常状態 (apparent steady state) に達した (表 2)。

見かけの定常状態における [¹⁴C]-チオベンカルブの平均 BCF_{ss} は、魚体全身で 302 であり、食用部位および非食用部位ではそれぞれ 83.3 および 403 であった。非食用部位における実測生物濃縮係数は、魚体全身の値よりもおおむね 1 ないし 1.5~2 倍大きかった。魚体全身、食用部位および非食用部位における総 [¹⁴C] の予測生物濃縮係数 (BCF_k) を BIOFAC® コンピューターモデルを用いて取込速度定数と排泄速度定数から計算した。実測および予測 BCF 値はよく類似しており、魚体全身および組織部位の BCF 値の比較を以下に示す

試料の種類	取込速度 (k ₁) (mL·g ⁻¹ ·day ⁻¹)	排泄速度 (k ₂) (day ⁻¹)	予測 BCF _k	実測 BCF _{ss}
魚体全体	567	2.23	254	302
食用部位	232	3.35	69.1	83.3
非食部	767	2.21	347	403

[申請者註：平成 20 年 4 月 21 日薬食審・食品衛生分科会における評価結果を以下に記す。] 「本試験から求められる TRR としての BCF は、BCF_{ss}=302 と算出されたが、この BCF_{ss} の値は全ての代謝物を含んでいる。チオベンカルブとしての BCF を算出するためには、試験水中および魚体全身の TRR に占めるチオベンカルブの割合を考慮する必要があるが、魚体全身に占めるチオベンカルブの割合に関するデータはない。このため、平衡状態に達しておりかつ各

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

成分の存在比率が測定されている 14 日及び 28 日の分析結果から、BCF を次のとおり試算した。

(チオベンカルブの BCF_{ss}) =

(各部位の TRR としての BCF_{ss} の平均) × (チオベンカルブの存在比率の平均)

魚肉: 108 × 38.1% = 41

内臓: 439 × 21.1% = 93

以上より、魚類における BCF_{ss} として 93 を採用することとした。」

代謝物の分析: 取込期間の中間点 (14 日)、排泄期間の開始時 (0 日)、排泄期間の中間点 (7 日) および排泄期間の終了時 (14 日) における、食用部位および非食用部位の可溶性画分 (アセトンおよびメタノール/水) と非抽出残渣の [¹⁴C]-残留物の割合を表 3-1、3-2 に示す。水中からは代謝物が検出されなかったことから、水試料の分析結果は表に示さなかった。

取込期間を通して、また排泄期間の中間点までは、食用部位および非食用部位における [¹⁴C]残留物の大部分 (≥95%) は可溶性画分に分布した。排泄期間の 7 日では食用部位における非抽出 [¹⁴C]-残留物が 60% 以上であり、非食用部位は 40% 以上が抽出されなかった。非抽出残渣は、酸加水分解およびアルカリ加水分解に供し、実質上食用部位における非抽出残渣のすべて (=99%) が加水分解された。非食用部位の非抽出残渣では約 97% が加水分解された。食用部位の非抽出残渣中の放射能の約 70% と非食用部位の非抽出残渣中の放射能の 50% 近くが、タンパクに結合しているであろうと考えられた。

食用および非食用部位のアセトニトリル、ヘキサンおよびメタノール/水画分の HPLC 分析により同定された主要な代謝物は、

1, および

であった。微量に生成する多くの (>15) 代謝物も検出された。取込期間の中間点 (14 日) においては、食用部位中の主要な放射性残留物はチオベンカルブ [1] (46%) であり、次いで

(%) であった。非食用部位においては取込期間の 14 日目でこの比率がちょうど逆転し、 とチオベンカルブの比率はそれぞれ全残留放射エネルギーの および 18% であった。

排泄期間 0 日の非食用部位の抽出液から単離された未同定代謝物は LC/MS 分析の結果、 と推定された。

想定代謝経路: チオベンカルブのブルーギルにおける代謝は、2 つの経路が存在し、1 つは を生じるチオベンカルブの であり、もう 1 つは を生成させるベンゼン環の であると考えられた (図 4)。

表 3-1. 食用部位の可溶性画分 (アセトンおよびメタノール/水) と非抽出残渣の [¹⁴C]-残留物の割合 ^a

期間	試料採取日	チオベンカルブ					
取込期間	14	46.8					
	28	29.9					
排泄期間	7 ^b	ND ^c					
	14	ND					

a: 値は各フラクションの全放射能残留量に対する割合 (%) として示した

b: Based on single replicate of the two analysed

c: ND: 非検出 (検出下限 = 0.0021 µg)

表 3-2. 非食用部位の可溶性画分 (アセトンおよびメタノール/水) と非抽出残渣の [¹⁴C]-残留物の割合 ^a

期間	試料採取日	チオベンカルブ					
取込期間	14	18.2					
	28	24.0					
排泄期間	7	ND ^c					
	14	0.6					

a: 値は各フラクションの全放射能残留量に対する割合 (%) として示した

b: Based on single replicate of the two analysed

c: ND: 非検出 (検出下限 = 0.0021 µg)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

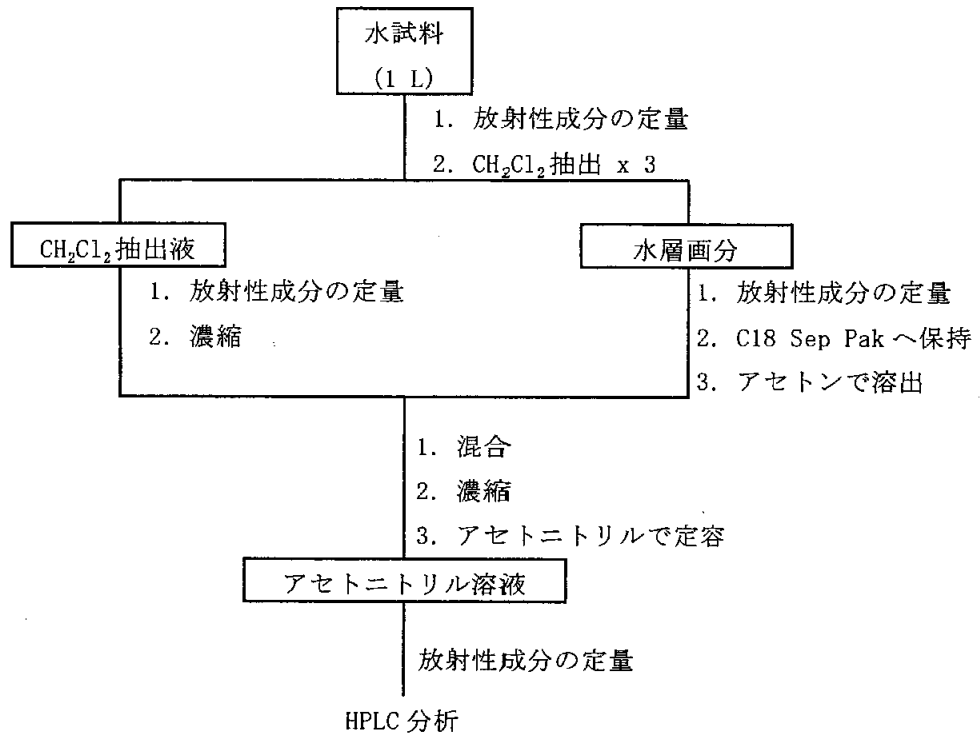


図 1. 水試料からの¹⁴C-チオベンカルブの抽出フロー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

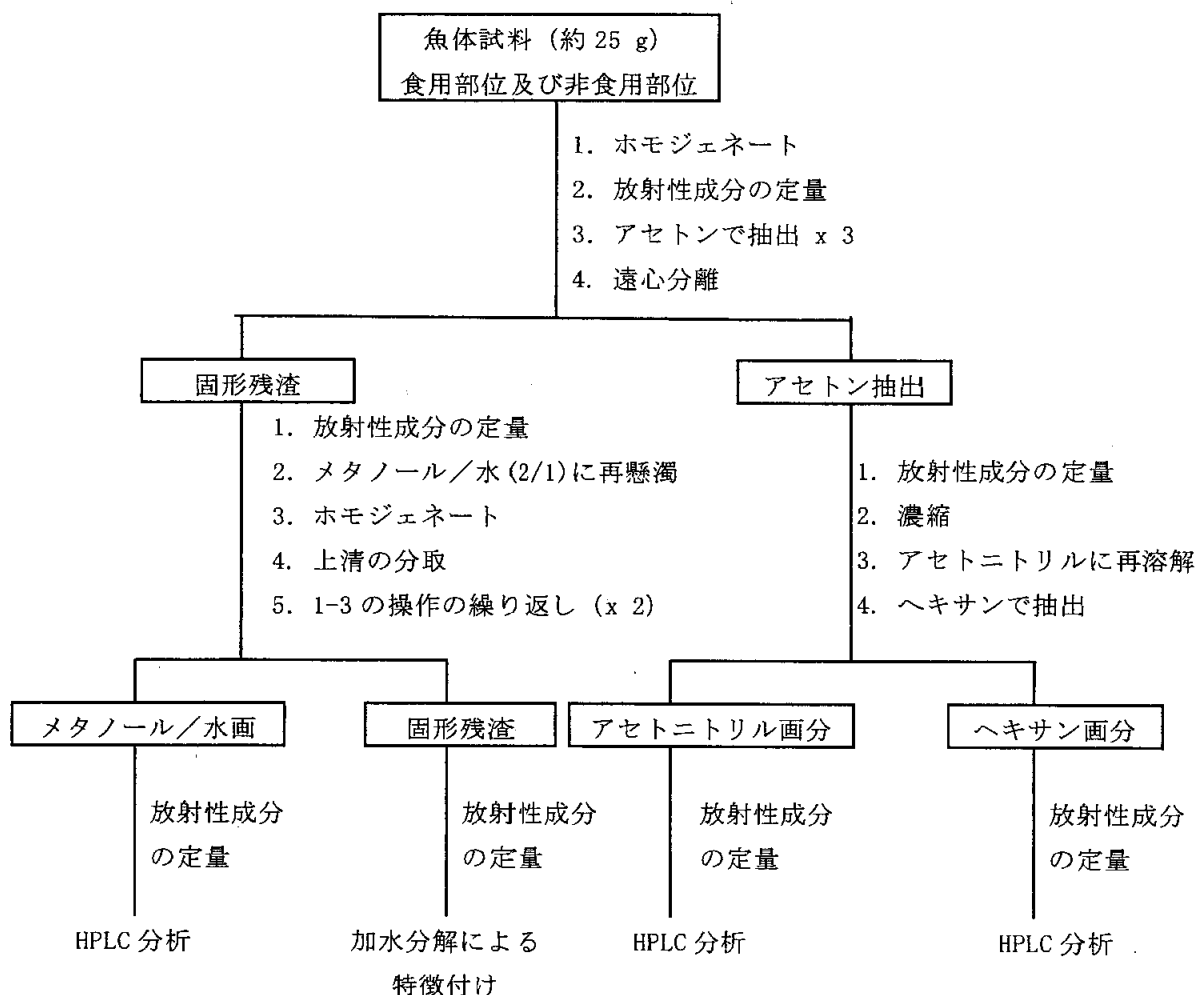


図 2. 組織試料からの $[^{14}\text{C}]$ -チオペンカルブの抽出フロー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

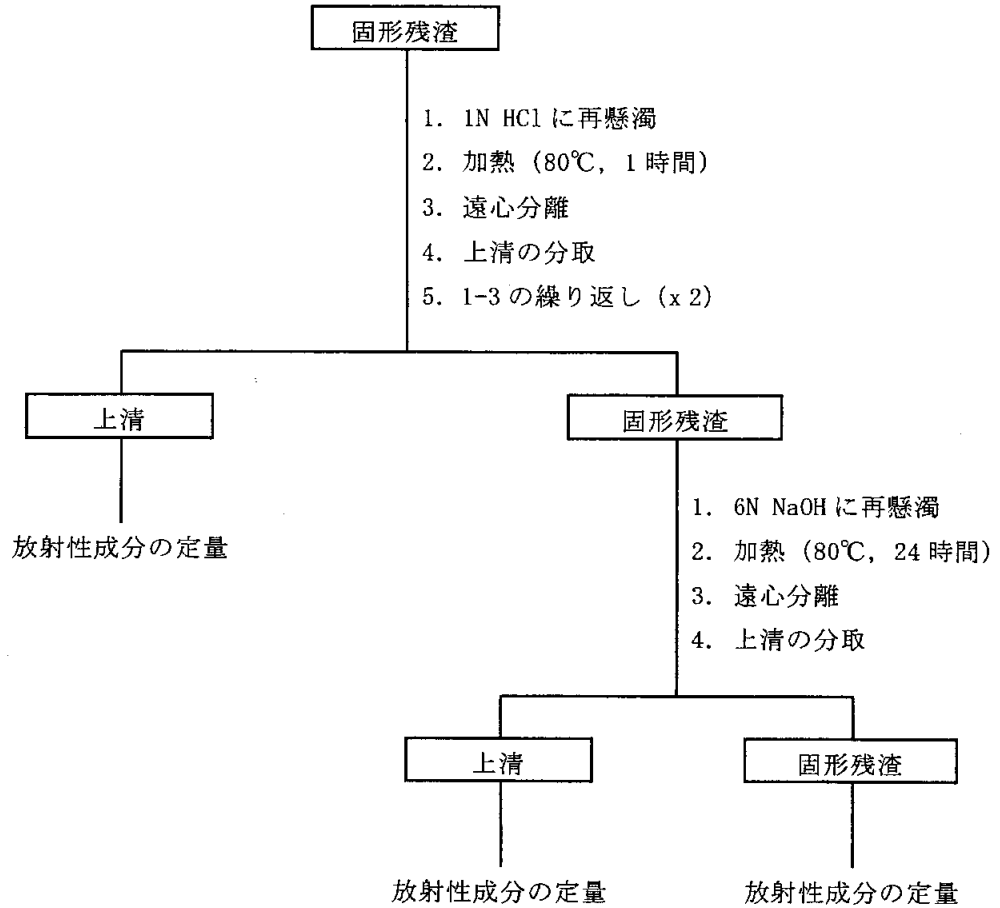
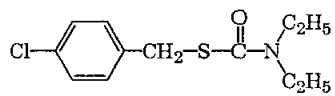


図 3. 非抽出残渣の酸およびアルカリ加水分解の概要

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。



[1] チオベンカルブ



図 4. 魚におけるチオベンカルブの想定代謝経路

参考) 魚におけるチオベンカルブの代謝

(資料 48)

試験機関 :
[非 GLP]
報告書作成年 : 1974 年

被験物質 : 非標識チオベンカルブ、
を供試した。

供試動物 : コイおよびブルーギル

方 法 :

(1) チオベンカルブの代謝

チオベンカルブ 0.2~2 ppm の水溶液中にコイ (水 1L に対し 1~3g 体重) を入れ、飼育した。経時的に魚体および水を採取し、分析した。

(2) 中間代謝物の代謝

および の水溶液 (1ppm) 中にブルーギルを放ち、飼育した。経時的に、魚体および水を採取し、分析した。

(3) 分析

魚体は磨碎し、ジクロロメタンで抽出した。水はジクロロメタンで抽出後、GC-FPD、GC-MS で分析した。

結 果 :

(1) チオベンカルブの代謝

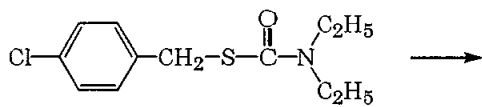
チオベンカルブを魚に吸収させた後、条件により濃縮程度は幾分異なり、初期の水中濃度 2 ppm の時は、約 100 倍の濃縮係数を示した。水中に排泄された代謝物として、および を同定した。

(2) 中間代謝物の代謝

を水中に供試した際、水中濃度は減少し、代謝物として が生成した。また、 を与えたときは急速に減少し、水中に が現れ、その も水中に検出された。

結 論 : チオベンカルブを水中に加え魚を放飼した時、水中に排泄される代謝物として および が同定された。 を与えた時は、 が、 を与えた時は が同定された。以上から、主な代謝経路は以下のとおりと推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。



[1] チオベンカルブ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) シジミでの濃縮度及び排泄性

(資料 物化-15)

試験機関 :

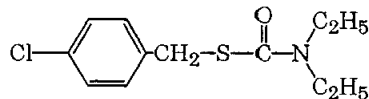
[非 GLP]

報告書作成年 : 1985 年

被験物質 : チオベンカルブ (ベンチオカーブ) 原体

純度 : (ロット番号 : Z5005)

構造式 :



供試生物 : ヤマトシジミ (*Corbicula Japonica*)

軟体部重量 : 平均 0.20 g, 殻長 : 平均 1.3 cm

脂質含有率 : 1.8%

採取地点 : 球磨川・植柳漁港支流 (熊本県八代市植柳町)

採取年月日 : 1985 年 10 月 25 日

試験方法 :

暴露条件 : 流水式

試験期間 : 取込期間 4 週間, 排泄期間 4 週間

試験濃度区 :

	チオベンカルブ ($\mu\text{g/L}$)	HCO-40 ($\mu\text{g/L}$)
第 1 濃度区	10	50
第 2 濃度区	1	5
対 照 区	0	50

[申請者注 : 濃縮性試験の先立って実施した急性毒性試験の結果、チオベンカルブのシジミに対する 48 時間 LC50 値は 8.22 mg/L であった]

試験液の調製 : 被験物質及び 5 倍量の分散剤 (ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 ; HCO-40) をアセトンに溶解し、アセトンを留去した後イオン交換水を添加して暴露濃度の 200 倍の原液を調製した。対照区は分散剤のみとし、第 1 濃度区と同濃度となるように原液を調製した。試験用水は試験施設内から揚水した地下水を用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験水は試験施設の組立流水式装置を用いて、原液 2 ml/分及び試験用水 400 ml/分の割合で 579 L/日を 100 L 容の試験水槽に供給した。

環境条件： 試験水槽：100 L 容ガラス製水槽

設定温度：25 ± 2℃

溶存酸素量：7.7～8.6 mg/L（取込期間），7.7～8.2 mg/L（排泄期間）

供試生物数：

	暴露開始時	排泄開始時
第 1 濃度区	300 個	204 個
第 2 濃度区	300 個	198 個
対 照 区	120 個	38 個

試料採取および調製： 試験水の分析は、取込期間では毎週 1 回計 4 回行い、1 回当りの分析試料は 1 点とした。排泄期間中の試験水の分析は行わなかった。シジミ試料は取込期間では毎週 1 回計 4 回、排泄期間では 1, 3, 7, 15 及び 28 日の計 5 回行った。1 回当りの分析試料は 10 個体を 1 試料として 2 反復で調製した。水試料およびシジミ試料の調製方法は図 1 および 2 に示した手順で行った。

定量分析： 上記の調製方法により得た試料を GC-MS を用いて定量した。試料は直線性の確認された濃度範囲となるように適宜希釈して用いた。なお、添加回収試験による被験物質の回収率は水試料で 88.4～92.0%、シジミ試料では 87.6%であった。

濃縮倍率の算出： 以下の式に基づき濃縮係数（BCF）を計算した。

$$\text{濃縮倍率 (J)} = \frac{P \times A(f) \times B \times D}{A(\text{std}) \times C} \times \frac{100}{E \times G \times I}$$

$$\text{供試生物中の被験物質絶対量}(\mu\text{g}) \text{ (F)} = \frac{P \times A(f) \times B \times D}{A(\text{std}) \times C} \times \frac{100}{E}$$

$$\text{供試生物中の被験物質濃度}(\mu\text{g/g}) \text{ (H)} = \frac{P \times A(f) \times B \times D}{A(\text{std}) \times C} \times \frac{100}{E \times G}$$

- P : 被験物質の標準溶液濃度 (ng/ml)
- A(std) : 被験物質の標準溶液注入時のピーク高さ(mm)
- A(f) : 試料注入時のピーク高さ(mm)
- B : 希釈倍率
- C : 分取比
- D : 最終液量

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

- E : 回収率(%)
 G : 供試生物量(g)
 I : 供試生物取出期日までの試験水中の平均被験物質濃度(μg/L)

試験結果：

試験水中の被験物質濃度： 結果を表1に示した。第1濃度区では設定値（10 μg/L）の70～75%が、第2濃度区では設定値（1 μg/L）の73～83%が維持された。

表1. 試験水中の被験物質濃度（暴露開始時からの測定値の平均値：μg/L）

試験区	取 込 期 間				
	設定濃度	1 週	2 週	3 週	4 週
第1濃度区	10	7.07	7.20	7.48	7.54
第2濃度区	1	0.727	0.778	0.832	0.832
対 照 区	—	ND	ND	ND	ND

ND 検出下限未満

シジミ中の被験物質濃度： シジミ軟体部中の被験物質濃度の平均値を表2に示した。

表2. シジミ軟体部中の被験物質濃度（ng/g）

試験区	取込期間 ¹				排泄期間				
	1 週	2 週	3 週	4 週	1 日	3 日	7 日	15 日	28 日
第1濃度区	5260	4950	4780	2488	4025	2430	2120	554 ²	685
第2濃度区	1432	2128	2696	2288	2230	1445	1585	572	—
対照区	ND	ND	ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA

ND 検出下限未満，NA 分析せず

¹ 取込期間中の濃度は、報告書に生データの記載がないことから、濃縮倍率と試験水中の被験物質濃度から、申請者が算出した。

² 2反復のうち1つが異常値を示したことからその値を除外して示した。

濃縮倍率： 濃縮倍率の平均値を表3に示した。4週間後にはほぼ平衡に達したものと考えられた。シジミにおける濃縮倍率は第1濃度区で330～744倍、第2濃度区で1970～3240倍であり、濃度により濃縮倍率の程度に差が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 3. シジミにおける濃縮倍率

試験区	取 込 期 間				
	設定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	1 週	2 週	3 週	4 週
第 1 濃度区	10	744	688	639	330
第 2 濃度区	1	1970	2735	3240	2750

[申請者注]

平均濃縮倍率： 水中濃度 10 $\mu\text{g/L}$ 292～ 770 (定常状態 1～4 週目の平均値 600)

水中濃度 1 $\mu\text{g/L}$ 1580～3300 (定常状態 2～4 週目の平均値 2908)

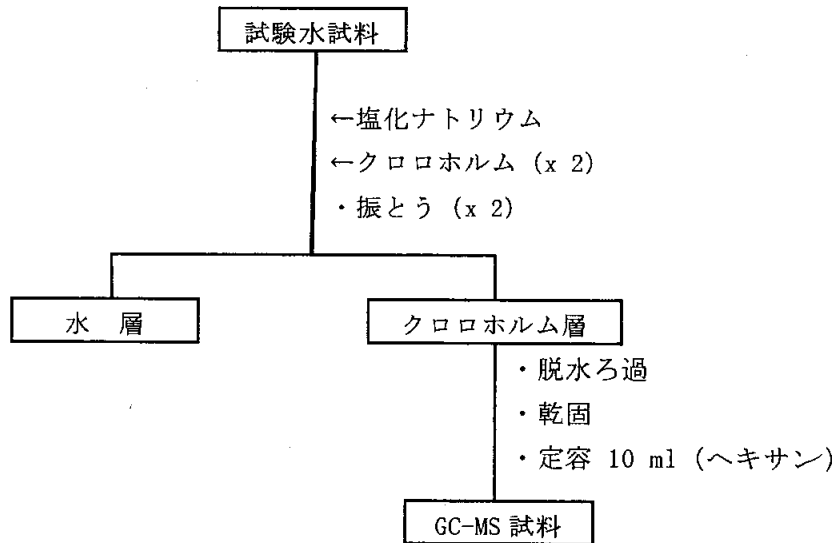


図 1. 試験水の GC-MS 分析用試料の調製

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

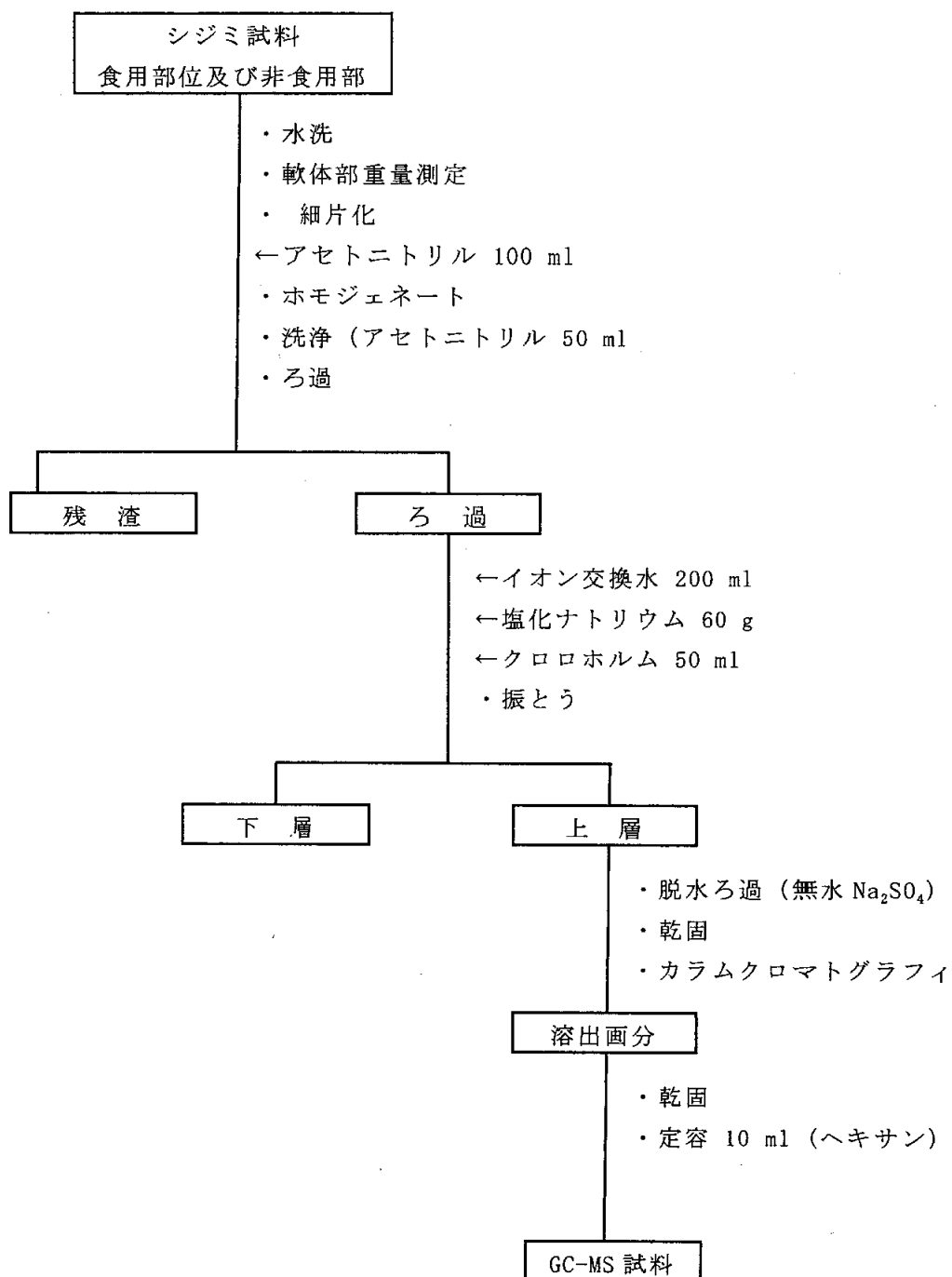


図 2. シジミの GC-MS 分析用試料の調製

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(6) 代謝分解試験のまとめ

1. 哺乳動物による吸収・排泄・代謝

<吸収, 分布, 排泄>

ラットおよびマウスに ^{14}C 標識体を経口投与した場合、放射性成分は速やかに胃腸管から吸収され、短時間のうちに体内に分布したあと、大部分が尿中に代謝物として排泄され(48 時間で 80%以上)、一部が糞中に排泄された(同 10%以内)が、呼気中にはほとんど検出されなかった(1 週間で 1%以下)。

^{14}C 化合物の特定臓器への蓄積はないものと推定された。

<代謝>

代謝分解は主として肝中で行なわれており、酸化酵素群による酸化反応が主で、肝中の主代謝物として、また、尿中の主要代謝物として (尿中 ^{14}C の %以上)が検出された。

2. 植物による吸収・移行・代謝

<水稻>

収穫時において玄米にはチオベンカルブ換算 0.3 ppm、稲わらには同 2 ppm の ^{14}C が残存した。玄米中の ^{14}C の大部分は抽出できず、抽出画分中の主代謝物は

(ppm)であった。稲わらは約半分が抽出可能で、主代謝物は であつた。収穫物中に親化合物は検出されなかった。

<ダイズ>

ダイズでは、収穫時の子実における主要代謝物としてチオベンカルブ[1] (10.6%)、および (%) が検出された。他に 10%未満の代謝物として (%) および (%) が検出された。

<ニンジン>

ニンジンでは、根部における主要な代謝物として、チオベンカルブ[1] (47.9%) および (%) が、茎葉部における主要な代謝物として (%) および (%) が検出された。他にマイナーな代謝物として (%)、 (%) が検出された。

<代謝経路>

チオベンカルブの土壌処理による植物中の主要な代謝経路は、以下のように推定された。チオエステル結合の 後、 および および により、 および などを生成する。また、チオベンカルブはベンゼン環の を受ける。これら植物中の代謝物は土壌中で生成され、植物に直接取り込まれているものもあることが考えられる。最終的には植物成分に取り込まれる極性物質に代謝される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3. 土壌中における分解

チオベンカルブは非湛水条件下でより速やかに分解され(半減期:湛水条件下で100日またはそれ以上、非湛水条件下で45日以内)、ベンゼン環は最終的に炭酸ガスにまで分解された。分解生成物は炭酸ガスがもっとも多量で、中間的な生成物はいずれも少量であった。

一方、限られた条件下のある種の土壌中では の生成が認められた。
の生成量はその特殊な条件下ではかなり大きいものと考えられる。また、
は通常の土壌条件下ではチオベンカルブと類似の様相で分解されるこ
とが判明した。

4. 加水分解、水中光分解

チオベンカルブは水中で安定でありpH 4~9での加水分解性は1年以上であった。また、チオベンカルブは太陽光、紫外線、いずれによっても分解を受け、極めて多種の分解生成物を与えた。水溶液、液体薄膜などチオベンカルブの状態により生成物量は幾分異なるが、生成物は酸化的反応によると考えられるものが多かった。

5. 魚介類における生物濃縮・代謝

ブルーギルでの生物濃縮係数は302であった。水中に代謝物として
および が排泄された。
シジミを用いた定常状態における濃縮倍数の平均値は2893であった。

6. 代謝・分解経路

チオベンカルブの代謝・分解経路は主として次の5種類の反応から起きると推定されるが、生物的要因による場合、かなりの経路が各分解者に共通的に認められる。各経路の重要性は分解者によって異なり、従って、主な最終生成物も分解者によって異なる。

i)

ii)

iii)

iv)

v)

非生物的要因による分解物も生物的要因による分解物と類似性があり、分解機構は異なっても類似の反応の起きることが推定できた。代謝・分解生成物は酸化的なものが多く、生物体、環境中でチオベンカルブは特殊な場合を除き分解され易いものと想定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要

試験系 代謝分解物	動物											
	資料 69						資料 47					
	ラット雄 ^a						ラット雌			マウス雌		
	300mg/kg		30mg/kg		30mg/kg		5 mg/kg			1 mg/kg		
	単回		単回		連投		単回			単回		
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	肝臓		尿	肝臓		尿
	48 h		48 h		48 h		3 h	6 h	48h	3 h	6 h	48h
	[1] 親	1.7	ND	0.8	ND	0.7	ND	4.4	1.8	0.1	<0.1	3.9
[2]												
[3]												
[4]												
[5]												
[6]												
[7]												
[8]												
[14]												
[15]												
[16]												
[17]												
[20]												
[27]												
[29]												
[30]												
[31]												
[43]												
[47]												
未同定 非抽出物												
CO ₂	捕集せず		捕集せず		捕集せず		-	-	-	-	-	-
投与量に 対する回 収率(%)	8.8	95.1	5.4	99.3	7.5	95.6	-	-	-	-	-	-

表中の数値は投与量に対する%、-：確認を行っていない ND：未検出

^a 雌雄で差がないことから雄のみを記載した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要—続き

試験系 代謝分解物	植物									
	資料 50		資料 73				資料 74			
	イネ 5.62 kg ai/ha 1 回処理		ダイズ 4.59 kg ai/ha 1 回処理				ニンジン 5.05 kg ai/ha 1 回処理			
	玄米	稲わら	茎葉部	莢	子実		根部		茎葉部	
	148 日	148 日	85 日	85 日	85 日	113 日	76 日	110 日	76 日	110 日
[1] 親	<1.7	<0.3	<0.5	3.2	<1.1	10.6	59.8	47.9	14.8	15.7
[2]										
[3]										
[4]										
[5]										
[6]										
[7]										
[8]										
[14]										
[15]										
[16]										
[17]										
[20]										
[27]										
[29]										
[30]										
[31]										
[43]										
[47]										
未同定 非抽出物 CO ₂										
投与量に対 する回収率 (%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a 抱合体を含む

表中の数値は TRR に対する%, —: 確認を行っていない ND: 未検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要—続き

試験系 代謝分解物	土壌											
	資料 54											
	好氣的土壌						嫌氣的土壌					
	カリフォルニア 埴土 6 mg/kg 処理			ルイジアナ 砂質埴壤土 6 mg/kg 処理			カリフォルニア 埴土 6 mg/kg 処理			ルイジアナ 砂質埴壤土 6 mg/kg 処理		
	15 日	56 日	183 日	15 日	56 日	183 日	14 日	56 日	181 日	14 日	56 日	181 日
[1] 親	61.4	17.8	4.7	60.3	12.2	1.4	73.8	59.4	46.1	84.5	68.6	56.1
[2]												
[3]												
[4]												
[5]												
[6]												
[7]												
[8]												
[14]												
[15]												
[16]												
[17]												
[20]												
[27]												
[29]												
[30]												
[31]												
[43]												
[47]												
未同定 非抽出物 CO ₂												
投与量に 対する回 収率(%)	97.9	112.7	106.6	95.9	89.6	69.3	89.6	91.7	84.5	88.4	83.6	59.3

表中の数値は投与量に対する%、—：確認を行っていない ND：未検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要—続き

試験系	水中	
	資料 75	
	光分解	
	5 mg/L	
代謝分解物	蒸留水	自然水
	120 h	120 h
[1] 親	66.5	31.2
[2]		
[3]		
[4]		
[5]		
[6]		
[7]		
[8]		
[14]		
[15]		
[16]		
[17]		
[20]		
[27]		
[29]		
[30]		
[31]		
[43]		
[47]		
未同定 非抽出物 CO ₂		
投与量に 対する回 収率(%)	88.4	80.0

表中の数値は投与量に対する%、—は確認を行っていない ND:未検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

図. チオベンカルブの動物・植物・土壌・水中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クミアイ化学工業株式会社にある。

表. ベンチオカールブ (チオベンカルブ) の開発年表