

2. 植物代謝に関する試験

(1) カルタップの水稻における植物代謝試験

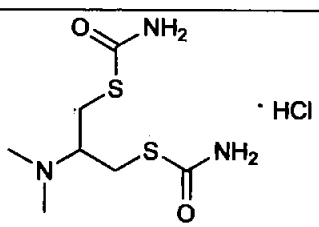
(資料 II-1)

試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：	
化学名	
放射化学的純度	
比放射能	

供試植物：水稻（品種：コシヒカリ）

（財）日本植物調節剤研究協会研究所（茨城県牛久市）より幼苗（育苗箱栽培）を入手

栽培土壌の調製：ワグネルポットに土壌（埼玉県農林総合研究センター（埼玉県熊谷市）水田土壌）を詰め、市販化成肥料（N:P:K:Mg=10:10:10:1）を約 500 kg/ha の割合で添加した。

処理区土壌：12.1 kg/ポット、土壌厚さ約 20 cm（× 6 ポット）

非処理対照区土壌：3.4 kg/ポット、土壌厚さ約 15 cm（× 1 ポット）

栽培：汲み置きした井戸水（急速濾過・活性炭吸着装置を通し、次亜塩素酸ナトリウムおよび殺菌灯にて殺菌されたもの）で灌水とした各土壌ポットに、健全な水稻幼苗（約第 2.5 葉期）を移植（処理区 5 個体/ポット、非処理対照区 2 個体/ポット）し、水深は栽培中 3 cm に維持した。収穫の約 1 ヶ月前に落水し、収穫日まで畑条件に維持した。病虫害防除のための薬剤は使用せず、追肥は中間採取期までに 2 回、さらに最終収穫期までに 1 回実施した。

気象条件；水稻の慣行栽培期の東京地方における気象条件を模したファイトトロン（表1）で栽培した。

光源； 自然太陽光

表1 ファイトトロンの設定温湿度条件

栽培日	昼間温度 ^a (6:00~18:00)	夜間温度 ^b (18:00~6:00)	相対湿度
2005.5.17 ~ 5.31	22.7	15.7	66
6.1 ~ 6.30	25.8	18.8	73
7.1 ~ 7.31	29.4	22.4	75
8.1 ~ 8.31	31.1	24.1	72
9.1 ~ 9.15	27.5	20.5	72

a：月間平均気温+4℃に設定（午前6時～午後6時）

b：月間平均気温-3℃に設定（午後6時～午前6時）

方 法：粒剤処理または水溶剤処理を行った。

1 [1,3-¹⁴C]カルタップ保存溶液

入荷時（放射化学純度 98.8%、5.31 MBq/mg の 0.1%酢酸水溶液）の状態 で保存溶液とした。

2 模擬製剤および施用液の調製、処理の部位と方法

模擬製剤/施用液の調製、処理量その設定根拠、処理方法等を次表にまとめる。

	粒剤	水溶剤
製剤白試料	パダン粒剤4白試料	パダンSG水溶剤白試料
処理量	4.0 mg a.i./ポット	3.75 mg a.i./ポット
設定根拠	慣行育苗箱施用量 ¹⁾ (800 g a.i./ha 相当)	慣行施用量 ²⁾ (750 g a.i./ha 相当)
実際施用量 (平均)	3.997 mg a.i./ポット	3.654 mg a.i./ポット

申請者注：処理量について

1)カルタップの水稻における粒剤処理の最大施用量は1回当たり 160 g ai/10 a（パダン粒剤4：カルタップ4%粒剤、4 kg/10 a）であり、本試験で用いた処理量 800 g ai/ha は、1回施用量の0.5倍である。

2)カルタップの水稻における水溶剤処理の最大施用量は1回当たり 150 g ai/10 a（パダン水溶剤：カルタップ50%水溶剤、150 L/10 a、500倍希釈）であり、本試験で用いた処理量 750 g ai/ha は、1回施用量の0.5倍である。

	粒剤	水溶剤
模擬製剤／ 施用液の調製	施用当日に、製剤白試料に保存溶液を加え、4 mg/100 mg 濃度の模擬製剤を調製（ポットごとに6ポット分）	施用当日に、保存溶液に約 0.1%製剤白試料水溶液および精製水を加え、3.75 mg/10 mL 濃度の施用液を 64 mL 調製
処理回数	1回	1回
施用時期	水稻幼苗移植直後	水稻幼苗移植 78 日後（乳熟期）
施用法	田面水施用	地上部茎葉散布

3 採取時期および部位

試験設計の概要を下表に示す。

試験区	採取時期	試験区	採取試料
粒剤 処理区	中間採取期（施用 56 日後）	処理区	茎葉部
	最終収穫期（施用 121 日後）	処理区 非処理対照区	玄米，籾殻， 稲わら，根部（水洗）
水溶剤 処理区	中間採取期（施用 14 日後）	処理区	茎葉部
	最終収穫期（施用 43 日後）	処理区 非処理対照区	玄米，籾殻， 稲わら，根部（水洗）

4 分析方法

採取した植物体各試料はドライアイスと共に粉碎して均質化した。

1) 燃焼処理による放射性総残留物（TRR）の測定

両処理区の最終収穫期の籾殻、根部および非処理対照区の最終収穫期の植物体各粉碎試料の一部を燃焼処理し、放射性総残留物（TRR）を測定した。

2) 両処理区の茎葉部、稲わら、玄米試料の分析

各試料の一部を氷冷下、0.05 N 塩酸水溶液中で磨砕抽出を 2 回行って、抽出液と抽出後残渣を得た。抽出液は放射能を定量後に濃縮・ろ過して HPLC 分析した。各試料を分析した際の HPLC 回収率は 103.9%であった。TRR の 10%以上の HPLC 画分は TLC による再分析を行った。抽出後残渣は室温で風乾し、燃焼処理した後、LSC 分析した。水溶剤処理区の茎葉部および玄米の抽出液を用いて、参照化合物との HPLC 保持時間の比較により、代謝物の同定または特徴づけを行った。水稻茎葉部への¹⁴Cカルタップの添加回収率は 98.8%であった。分析法の概要を図 1 に示す。

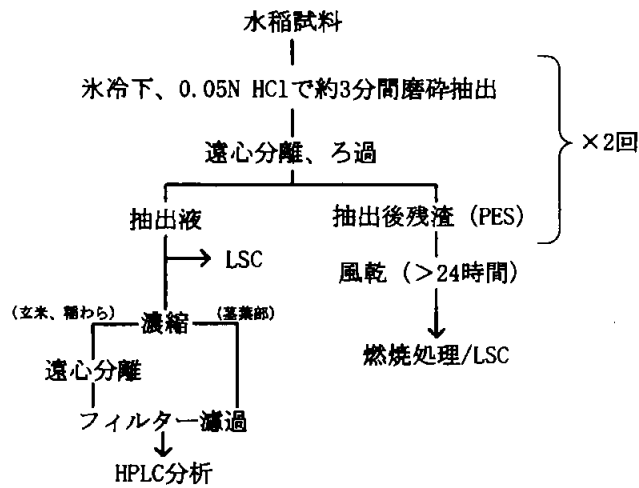


図1 水稲試料の分析法概要

5) 抽出後残渣中の放射性残留物の特徴づけ

① 玄米の抽出後残渣

図2に示す抽出を行い、緩衝液洗浄画分、デンプン画分、たんぱく質画分およびプロテアーゼ処理後残渣に分画し、放射能を測定した。

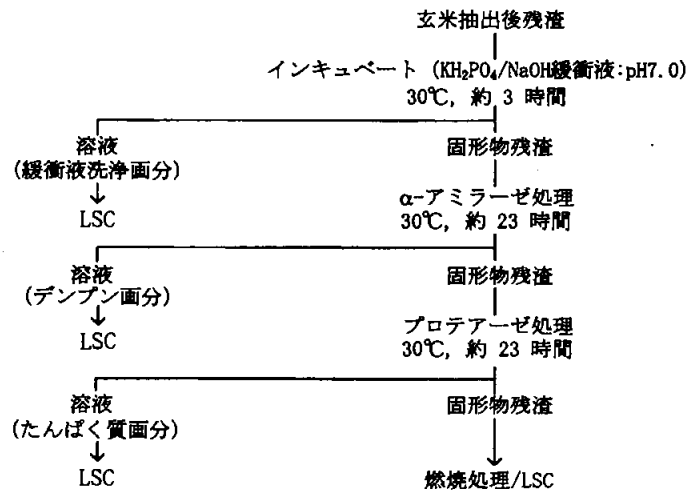


図2 玄米抽出残渣の特徴づけ

② 稲わらの抽出後残渣

図3に示す抽出を行い、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、セルロースおよび72%硫酸抽出後の固形物残渣の各画分に分画し、放射能を測定した。水溶性散布区試料のソックスレー抽出液については、さらにHPLC分析を行った。

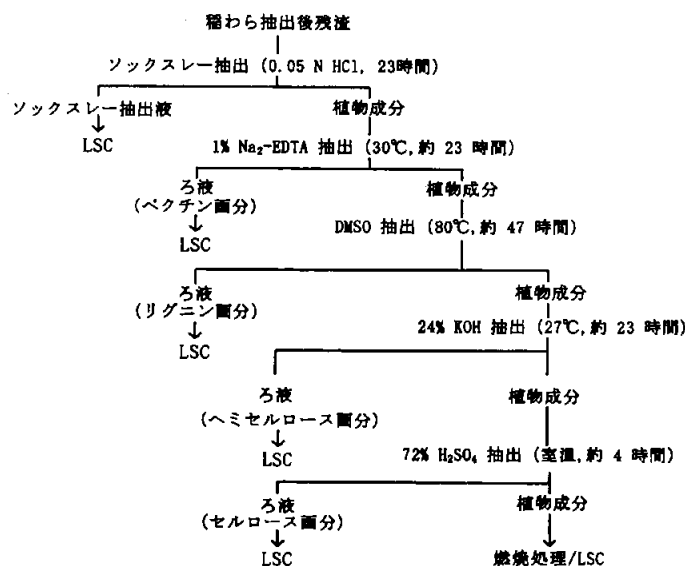


図3 稲わら抽出残渣の特徴づけ

結果:

1) 吸収および移行

処理区および対照区試料における各部位の放射能濃度を表2に示す。

表2 水稻体各組織中の放射能濃度

採取時期	部位	画分	粒剤処理区			水溶剤処理区		
			処理区		対照区	処理区		対照区
			mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg
中間採取	茎葉	放射性総残留物	0.2381	100.00	-	3.0290	100.00	-
		抽出液	0.0911	38.25	-	1.0799	35.65	-
		抽出後残渣	0.1470	61.75	-	1.9492	64.35	-
最終収穫	玄米	放射性総残留物	0.1960	100.00	0.0359	1.4157	100.00	0.0611
		抽出液	0.0243	12.38	-	0.5425	38.32	-
		抽出後残渣	0.1717	87.62	-	0.8732	61.68	-
	稲わら	放射性総残留物	0.6431	100.00	0.0398	6.4634	100.00	0.0841
		抽出液	0.2520	39.16	-	2.2764	35.20	-
		抽出後残渣	0.3910	60.84	-	4.1870	64.80	-
	根部	放射性総残留物	1.8817	-	0.0338	0.3851	-	0.0126

2点の平均

粒剤処理区において、中間採取（施用 56 日後）の茎葉部中の TRR レベルは 0.238 mg eq./kg であり、最終収穫期（施用 121 日後）の玄米および稲わら中の TRR レベルはそれぞれ 0.196 mg eq./kg および 0.643 mg eq./kg であった。最終収穫期の水稻各部位

の TRR レベルは根部が最も高く (1.882 mg eq. /kg)、次いで稲わら、籾殻、玄米の順であった。放射性残留物の抽出率は、玄米および稲わらでそれぞれ 12.4% および 39.2% であった。

水溶剤の散布処理区において、中間採取(施用 14 日後)の茎葉部中の TRR レベルは 3.029 mg eq. /kg であり、最終収穫期(施用 43 日後)の玄米および稲わら中の TRR レベルはそれぞれ 1.416 mg eq. /kg および 6.463 mg eq. /kg であった。最終収穫期の水稻各部位の TRR レベルは籾殻が最も高く (12.947 mg eq. /kg)、次いで稲わら、玄米、根部の順であった。放射性残留物の抽出率は、玄米および稲わらでそれぞれ 38.3% および 35.2% であった。

非処理対照区からは痕跡量の放射能が認められたのみであった。

2) 分布

① 中間採取試料

粒剤、水溶剤両処理における中間採取茎葉部試料の抽出液中放射性成分の定量結果を表 3 に示す。

表 3 茎葉部抽出液の放射性成分

HPLC 画分	粒剤処理区		水溶剤処理区	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	0.0529	22.22	0.3538	11.68
Fr. 3	0.0150	6.30	0.0646	2.13
Fr. 4	0.0049	2.06	0.0414	1.37
Fr. 5	0.0030	1.27	0.0308	1.02
Fr. 6	0.0020	0.86	0.0360	1.19
Fr. 7	<LOD	<LOD	0.0358	1.18
Fr. 8	0.0011	0.45	0.0208	0.69
Fr. 9	<LOD	<LOD	0.0101	0.33
Fr. 10 (カルタップ)	<LOD	<LOD	0.0259	0.85
Fr. 11	0.0015	0.65	0.0132	0.44
Fr. 12	0.0011	0.44	0.0292	0.96
Fr. 13	<LOD	<LOD	0.0240	0.79
Fr. 14	0.0016	0.67	0.0638	2.11
Fr. 15	<LOD	<LOD	0.0521	1.72
Fr. 16	0.0036	1.52	0.1401	4.62
Fr. 17	0.0043	1.80	0.1296	4.28
Fr. 18	<LOD	<LOD	0.0088	0.29
Fr. 19	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	0.0911	38.25	1.0799	35.65

2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル:0.68~0.94% (0.0019~0.0240 mg eq. /kg)

茎葉部抽出液の主要 HPLC 画分は、粒剤処理区、水溶剤処理区とも HPLC 画分 2 であり、TRR レベルはそれぞれ 0.053 mg eq./kg (TRR の 22.2%) および 0.354 mg eq./kg (TRR の 11.7%) であった。HPLC 画分 2 について TLC で放射性成分を定量した結果、粒剤処理区が TRR の 8.6% (0.021 mg eq./kg)、水溶剤処理区が TRR の 2.6% (0.078 mg eq./kg) 以下の複数の放射性成分から成ることが確認された。

② 最終収穫試料

粒剤、水溶剤両処理の最終収穫試料における玄米および稲わら抽出液中放射性成分の定量結果を表 4 に示す。

表 4 最終収穫試料玄米および稲わら抽出液の放射性成分

HPLC 画分	粒剤処理区				水溶剤処理区			
	玄米		稲わら		玄米		稲わら	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	0.0139	7.09	0.1665	25.95	0.2509	17.72	1.0824	16.74
Fr. 3	0.0044	2.27	0.0325	5.04	0.0662	4.67	0.1312	2.03
Fr. 4	0.0006	0.31	0.0165	2.57	0.0326	2.31	0.0776	1.20
Fr. 5	0.0010	0.53	0.0080	1.25	0.0134	0.95	0.0230	0.37
Fr. 6	<LOD	<LOD	0.0028	0.41	0.0337	2.38	0.0863	1.33
Fr. 7	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0178	0.29
Fr. 8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 9	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 10 (カルタップ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0111	0.79	<LOD	<LOD
Fr. 11	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0138	0.97	0.0201	0.32
Fr. 12 (MADT)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0497	3.51	0.0678	1.06
Fr. 13	0.0006	0.32	<LOD	<LOD	0.0124	0.88	0.0587	0.90
Fr. 14	<LOD	<LOD	0.0041	0.61	0.0155	1.09	0.1326	2.05
Fr. 15	<LOD	<LOD	0.0030	0.44	0.0081	0.57	0.1019	1.57
Fr. 16	0.0006	0.33	0.0069	1.03	0.0179	1.26	0.2571	3.97
Fr. 17	0.0030	1.54	0.0118	1.85	0.0172	1.21	0.2200	3.38
Fr. 18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 19	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	0.0243	12.38	0.2520	39.16	0.5425	38.32	2.2764	35.20

2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル: 0.53~1.30% (0.0017~0.0503 mg eq./kg)

a. 粒剤処理区

カルタップは、玄米および稲わら抽出液のいずれにおいても検出限界未満であった。

玄米抽出液中のすべての放射性成分は、10%TRR 未満であった。

稲わら抽出液中の主放射性成分は HPLC 画分 2 (0.1665 mg eq./kg、26.0%TRR) であった。HPLC 画分 2 について TLC で放射性成分の定量を行った結果、TRR の 7.9%(0.050 mg eq./kg) 以下の複数の放射性成分から成ることが確認された。

b. 水溶剤散布処理区

カルタップは玄米中にごく微量認められたが、稲わらでは検出限界未満であった。

玄米および稲わらにおける主放射性成分は HPLC 画分 2 (玄米および稲わらでそれぞれ 0.2509 mg eq./kg、17.7%TRR および 1.0824 mg eq./kg、16.7%TRR) であった。HPLC 画分 2 について TLC で放射性成分の定量を行った結果、玄米が TRR の 4.0% (0.057 mg eq./kg)、稲わらが TRR の 2.9% (0.191 mg eq./kg) 以下の複数の放射性成分から成ることが確認された。また、玄米および稲わら試料から MADT (4-methylamino-1,2-dithiolane) が検出されたが、この代謝物を含めて玄米、稲わらの両抽出液は 10%TRR 未満の複数の放射性成分で構成されていた。

3) 抽出後残渣中の放射性残留物の特徴づけ

① 玄米の抽出後残渣

両処理区玄米の抽出後残渣の酵素処理を行い、特徴付けを行った。結果を表 5 に示す。

表 5 玄米抽出後残渣の特徴づけ

画分	粒剤処理区		水溶剤処理区	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
抽出後残渣中の ¹⁴ C	0.1717	87.62	0.8732	61.68
緩衝液洗浄画分	0.0182	9.30	0.1043	7.37
デンプン画分	0.0632	32.24	0.3400	24.02
タンパク質画分	0.0437	22.32	0.1407	9.94
固形物残渣	0.0357	18.19	0.2483	17.54
総回収	0.1608	82.05	0.8334	58.87

緩衝液洗浄液中の放射能は、粒剤処理区で 9.3%TRR、水溶剤散布処理区試料で 7.4%TRR であった。デンプン画分、タンパク質画分、固形物残渣には粒剤処理区でそれぞれ TRR の 32.2%、22.3%、18.2%が、水溶剤散布処理区試料でそれぞれ TRR の 24.0%、9.9%、17.5%が検出された。

② 稲わらの抽出後残渣

両処理区稲わらの抽出後残渣について特徴付けを行った。結果を表6に示す。

表6 稲わらの抽出後残渣の特徴づけ

画分	粒剤処理区		水溶剤処理区	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
ソックスレー抽出液	0.0626	9.76	0.9603	14.81
ペクチン画分	0.0014	0.21	0.0204	0.32
リグニン画分	0.0425	6.62	0.8826	13.68
ヘミセルロース画分	0.1683	26.10	2.0930	32.44
セルロース画分	0.0661	10.27	0.0928	1.43
最終植物固形物	0.0502	7.88	0.1381	2.13
総回収	0.3910	60.84	4.1870	64.80

粒剤処理区では、ソックスレー抽出で9.8%TRRの放射能が追加抽出された。ソックスレー抽出後の放射性残留物は、大部分がヘミセルロース画分(26.1%TRR)およびセルロース画分(10.3%TRR)に分布しており、[1,3-¹⁴C]カルタップ由来の放射性残留物が、植物体構成成分に取り込まれた可能性が示唆された。

水溶剤散布処理区では、ソックスレー抽出で14.8%TRRの放射能が追加抽出されたためHPLC分析を行ったが、HPLCクロマトグラムは稲わら抽出液と同様であった。ソックスレー抽出後の放射性残留物は、大部分がリグニン画分(13.7%TRR)およびヘミセルロース画分(32.4%TRR)に分布しており、粒剤処理区と比べ分布は異なっていたが、粒剤処理区同様、植物体構成成分への取り込みの可能性が示唆された。

4) 代謝

カルタップの水稻における主代謝経路はMADTの生成であった。MADTはさらに代謝を受け、玄米ではデンプンやタンパク質、粒剤処理区の稲わらではヘミセルロースやセルロース、水溶剤散布処理区の稲わらではリグニンやヘミセルロースなどの植物体構成成分に取り込まれて、結合型残留物を形成すると考えられた。

水稻におけるカルタップの推定代謝経路を図4に示す。

図4 水稻におけるカルタップの推定代謝経路

(2) カルタップのはくさいにおける植物代謝試験

(資料 II-2)

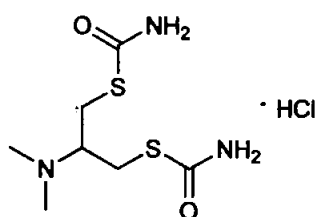
試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：



化学名：

放射化学的純度：

比放射能：

供試植物：はくさい（品種：富風）、市販の種子を購入

栽培土壌の調製：

育苗用土壌；試験用土壌（茨城県農業総合センター農業研究所（茨城県水戸市）畑地土壌）3.0 kg に市販化成肥料（N：P：K = 8：8：8）3 g および消石灰 3 g を加えて混和し、小型プラスチック製ポットに分け入れた。

栽培用土壌；試験用土壌（同上）90 kg に市販化成肥料（N：P：K = 8：8：8）90 g および消石灰 90 g を加えて混和し、底部に赤玉土を入れたプラスチック製ポット 6 個に約 14.7 kg ずつ詰めた。

栽培：育苗用ポットにはくさい種子を播種し、井戸水（急速濾過・活性炭吸着装置を通し、次亜塩素酸ナトリウムおよび殺菌灯にて殺菌されたもの）を適宜給水して移植時まで栽培した。育苗期間中 2 回間引きを行ない、生育の良好な幼苗を栽培用ポットに 1 本ずつ移植した。散布前の馴化期間および散布処理後の栽培期間中は、自動散水器を用いて、井戸水を植物体にかからないようにして 1 日 1 回給水した。病虫害防除のための薬剤は使用せず、馴化栽培期間中に 1 回追肥（化成肥料および消石灰 10 g/ポット）を行った。

気象条件；はくさいの慣行栽培期の東京地方における気象条件を模したファイトロン（表 1）で栽培した。

光源；自然太陽光

表1 ファイトトロンの設定温湿度条件

栽培日	昼間温度 ^a (6:00~18:00)	夜間温度 (18:00~6:00)	相対湿度
2005.9.12~10.2	28.5	18.5 ^b	72
10.3~10.31	23.2	13.2 ^b	66
11.1~11.30	18.0	8.0 ^b	60
12.1~12.26	13.4	7.0 ^c	55

a：月間平均気温+5℃に設定（午前6時～午後6時）

b：月間平均気温-5℃に設定（午後6時～午前6時）

c：機器の設定限界

方法：

1 施用液の調製、処理の部位と方法

施用液の調製、処理量その設定根拠、処理方法等を下表にまとめる。

製剤白試料	バダン SG 水溶剤白試料
処理量	3.535 mg a. i. /ポット
設定根拠	
実際施用量(平均)	3.525 mg a. i. /ポット
施用液の調製	施用当日に、[1, 3- ¹⁴ C]カルタップ/0.1%酢酸水溶液に約0.1%製剤白試料水溶液および精製水を加えて、3.535 mg/7.07 mL 濃度の施用液を23 mL 調製
処理回数	1回
施用時期	最終収穫20日前
施用法	葉の全面に散布処理
処理ポット数	処理区3ポット、非処理対照区1ポット

2 採取時期および部位

試験設計の概要を下表に示す。

試験区	採取時期	採取試料
散布処理区	散布10日後	外葉部、結球部
	散布20日後	外葉部、結球部
非処理対照区	散布20日後	外葉部、結球部

3 分析方法

1) 抽出、放射能定量および HPLC 分析

はくさいは結球部と外葉部に分け、外葉部はアセトニトリル/0.05 N 塩酸水溶液 (1 : 1) で表面を洗浄し、洗浄液を LSC 測定後、一部を濃縮して HPLC 分析した。洗浄後の外葉部および結球部は細断、次いでドライアイスと共に粉碎均質化後、氷冷下 0.05 N 塩酸水溶液中で磨砕抽出した。抽出操作は 2 回行い、抽出液を合わせて放射能を定量後一部を濃縮し、濃縮液を遠心分離・ろ過後 HPLC 分析した。各試料を分析した際の HPLC 回収率は 97.1%~100.2%であった。散布 20 日後の結球部抽出液の HPLC 画分 2 については、TLC による再分析を実施し、複数の放射能成分を分離した。抽出後の固形物残渣は風乾し、燃焼処理して LSC で分析した。表面洗浄液および洗浄後の外葉部での [1, 3-¹⁴C] カルタップの添加回収率は 98.3%および 95.3%であった。分析法の概要を図 1 に示す。

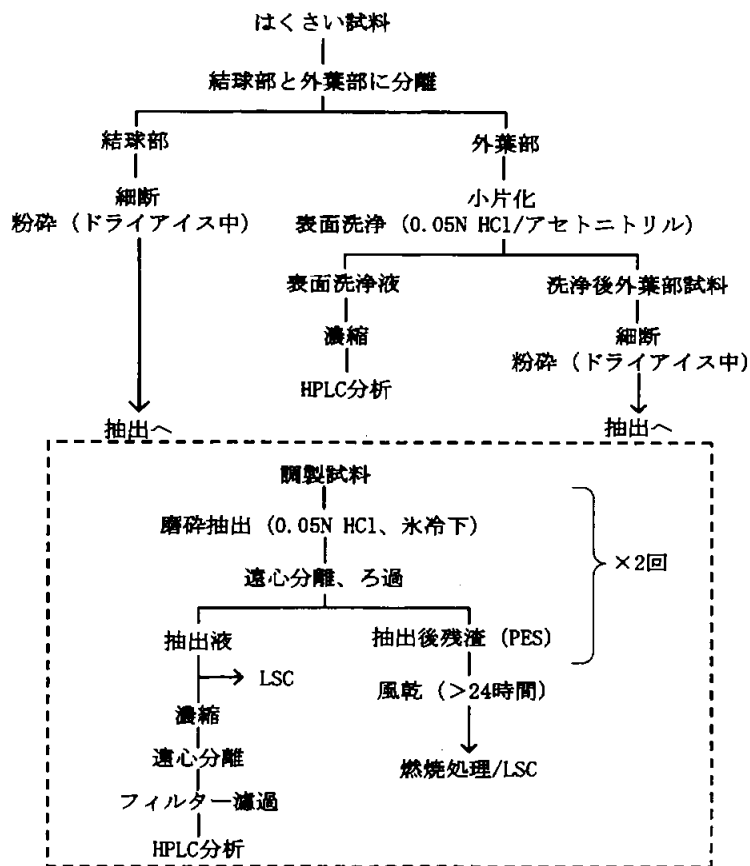


図 1 はくさい試料の分析法概要

2) 代謝物の同定および/または特徴づけ

各試料抽出液中の主要な放射性成分は、HPLC で参照化合物との保持時間の比較または LC-MS および LC-MS/MS 分析で同定/特徴づけを行った。

結果：

1) 吸収および移行

処理区および対照区試料における各部位の放射能濃度を表 2 に示す。

表 2 はくさい組織中の放射能濃度

試料 部位	画分	処理区				非処理対照区 ^{a)}	
		散布後の日数					
		10		20		20	
		mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	
結球部	抽出液	0.1542	77.97	0.1307	79.83	0.0005	
	抽出後残渣	0.0436	22.03	0.0330	20.17	0.0001	
	放射性総残留物	0.1978	100.00	0.1638	100.00	0.0006	
外葉部	表面洗浄液 ^{a)}	5.4143	69.66	4.9486	75.13	0.0001	
	表面洗浄後外葉	2.3585	30.34	1.6383	24.87	0.0008	
	抽出液	1.5845	20.39	1.1593	17.60	0.0004	
	抽出後残渣	0.7740	9.96	0.4791	7.27	0.0004	
	放射性総残留物	7.7728	100.00	6.5869	100.00	0.0009	

a) : 1 点の結果、その他は 2 点の平均

結球部中の放射性総残留物 (TRR) は散布 10 日後で 0.198 mg eq./kg、散布 20 日後で 0.164 mg eq./kg と低レベルであった。放射性残留物の抽出率は TRR の 78~80%であった。また抽出後の残渣中に残る放射能は 0.05 mg eq./kg 未満であった。

外葉部試料中の TRR は散布 10 日後で 7.773 mg eq./kg、散布 20 日後で 6.587 mg eq./kg であったが、残留する放射能の多く (散布 10 日後 ; 69.7%TRR、散布 20 日後 ; 75.1%TRR) が表面洗浄液中に回収された。外葉部の放射性残留物の抽出率も結球部同様に高く、抽出後残渣中に残る放射能は TRR の 10%未満であった。

非処理対照区の結球部および外葉部からは痕跡量の放射能が認められたのみであった。

2) 分布

① 結球部

結球部抽出液中放射性成分の定量結果を表 3 に示す。

表 3 結球部抽出液の放射性成分

フракション	散布後の日数			
	10		20	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	0.0151	7.61	0.0209	12.78
Fr. 3	0.0037	1.86	0.0041	2.48
Fr. 4	0.0025	1.27	<LOD	<LOD
Fr. 5	0.0027	1.35	<LOD	<LOD
Fr. 6	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 7	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 9 (カルタップ)	0.0660	33.36	0.0512	31.29
Fr. 10	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 11 (AMTC)	0.0076	3.84	0.0153	9.31
Fr. 12 (NTX)	0.0097	4.89	0.0181	11.07
Fr. 13	0.0023	1.18	<LOD	<LOD
Fr. 14	0.0026	1.33	0.0034	2.08
Fr. 15 (BCAD)	0.0298	15.08	0.0151	9.21
Fr. 16	0.0067	3.41	0.0026	1.60
Fr. 17	0.0020	1.04	<LOD	<LOD
Fr. 18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 19	0.0035	1.75	<LOD	<LOD
Fr. 20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 21	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 22	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 23	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 24	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 25	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 26	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 27	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	0.1542	77.97	0.1307	79.83

2点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル: 2.89~5.33% (0.0057~0.0087 mg eq./kg)

結球部抽出液中の主放射性成分は、両採取時点とも未変化の[1, 3-¹⁴C]カルタップ (散布 10 日後; TRR の 33.4%, 0.066 mg eq./kg、散布 20 日後; TRR の 31.3%, 0.051 mg eq./kg) であった。その他 10%を超えて検出されたのは、BCAD (散布 10 日後; TRR の 15.1%, 0.030 mg eq./kg) および NTX (4-dimethylamino-1,2-dithiolane) (散布 20 日後; TRR の 11.1%, 0.018 mg eq./kg) であった。散布 20 日後の抽出液からは、HPLC 画分 2 に TRR の 10%を超える放射能が検出された

ため TLC による再分析を行った。その結果、当該画分は TRR の 4.6% (0.008 mg eq. /kg) 以下の複数成分で構成されていることが確認された。

② 外葉部

外葉部表面洗浄液および抽出液の放射性成分の散布 10 および 20 日後における定量結果を、それぞれ表 4-1 および表 4-2 に示す。

表 4-1 外葉部の放射性成分 (散布 10 日後)

フракシオン	表面洗浄液 ^{a)}		外葉部抽出液 ^{b)}		総計	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	0.1044	1.34	0.0957	1.23	0.2001	2.57
Fr. 3	<LOD	<LOD	0.0488	0.63	0.0488	0.63
Fr. 4	<LOD	<LOD	0.0324	0.42	0.0324	0.42
Fr. 5	<LOD	<LOD	0.0746	0.96	0.0746	0.96
Fr. 6	0.0669	0.86	0.0343	0.44	0.1012	1.30
Fr. 7	0.0587	0.76	<LOD	<LOD	0.0587	0.76
Fr. 8	<LOD	<LOD	0.0054	0.07	0.0054	0.07
Fr. 9 (カルテップ)	3.1549	40.59	0.2513	3.23	3.4062	43.82
Fr. 10	0.0532	0.68	0.0377	0.49	0.0909	1.17
Fr. 11 (AMTC)	0.0653	0.84	0.0611	0.79	0.1263	1.63
Fr. 12 (NTX)	0.1801	2.32	0.1207	1.55	0.3008	3.87
Fr. 13	0.0496	0.64	0.0671	0.86	0.1167	1.50
Fr. 14	0.0522	0.67	0.0796	1.02	0.1318	1.70
Fr. 15 (BCAD)	1.5181	19.53	0.1965	2.53	1.7145	22.06
Fr. 16	0.0522	0.67	0.0940	1.21	0.1462	1.88
Fr. 17	0.0587	0.76	0.0818	1.05	0.1405	1.81
Fr. 18	<LOD	<LOD	0.0862	1.11	0.0862	1.11
Fr. 19	<LOD	<LOD	0.0632	0.81	0.0632	0.81
Fr. 20	<LOD	<LOD	0.0486	0.62	0.0486	0.62
Fr. 21	<LOD	<LOD	0.0360	0.46	0.0360	0.46
Fr. 22	<LOD	<LOD	0.0310	0.40	0.0310	0.40
Fr. 23	<LOD	<LOD	0.0255	0.33	0.0255	0.33
Fr. 24	<LOD	<LOD	0.0130	0.17	0.0130	0.17
Fr. 25	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 26	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 27	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	5.4143	69.66	1.5845	20.39	6.9988	90.04

a) : 1 点の結果、b) : 2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.21~0.59% (0.0162~0.0456 mg eq. /kg)

表 4-2 外葉部の放射性成分 (散布 20 日後)

フラクション	表面洗浄液 ^{a)}		外葉部抽出液 ^{b)}		総計	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	0.0935	1.42	0.0718	1.09	0.1653	2.51
Fr. 3	<LOD	<LOD	0.0508	0.77	0.0508	0.77
Fr. 4	<LOD	<LOD	0.0179	0.27	0.0179	0.27
Fr. 5	<LOD	<LOD	0.0308	0.47	0.0308	0.47
Fr. 6	0.0714	1.08	0.0157	0.24	0.0871	1.32
Fr. 7	<LOD	<LOD	0.0052	0.08	0.0052	0.08
Fr. 8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 9 (カルタップ [*])	2.8114	42.68	0.2300	3.49	3.0413	46.17
Fr. 10	<LOD	<LOD	0.0247	0.38	0.0247	0.38
Fr. 11 (AMTC)	<LOD	<LOD	0.0379	0.58	0.0379	0.58
Fr. 12 (NTX)	0.4975	7.55	0.1023	1.55	0.5998	9.11
Fr. 13	<LOD	<LOD	0.0460	0.70	0.0460	0.70
Fr. 14	<LOD	<LOD	0.0549	0.83	0.0549	0.83
Fr. 15 (BCAD)	1.2986	19.71	0.1258	1.91	1.4244	21.62
Fr. 16	0.0551	0.84	0.0728	1.10	0.1279	1.94
Fr. 17	0.0638	0.97	0.0650	0.99	0.1288	1.95
Fr. 18	0.0573	0.87	0.0639	0.97	0.1212	1.84
Fr. 19	<LOD	<LOD	0.0420	0.64	0.0420	0.64
Fr. 20	<LOD	<LOD	0.0353	0.54	0.0353	0.54
Fr. 21	<LOD	<LOD	0.0264	0.40	0.0264	0.40
Fr. 22	<LOD	<LOD	0.0187	0.28	0.0187	0.28
Fr. 23	<LOD	<LOD	0.0129	0.20	0.0129	0.20
Fr. 24	<LOD	<LOD	0.0084	0.13	0.0084	0.13
Fr. 25	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 26	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 27	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	4.9486	75.13	1.1593	17.60	6.1079	92.73

a) : 1 点の結果、b) : 2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.15~1.05% (0.0099~0.0691 mg eq. /kg)

表面洗浄液中の主放射性成分は、両採取時点とも未変化の[1, 3-¹⁴C]カルタップであった。[1, 3-¹⁴C]カルタップは、散布 10 日後で TRR の 40.6%、散布 20 日後で TRR の 42.7% であった。その他主要放射性成分として NTX (散布 10 日後 ; TRR の 2.3%、散布 20 日後 ; TRR の 7.6%) および BCAD (散布 10 日後 ; TRR の 19.5%、散布 20 日後 ; TRR の 19.7%) が認められた。

抽出液中の主放射性成分も同様に未変化の[1, 3-¹⁴C]カルタップであったが、この比率

は、散布 10 日後で TRR の 3.2%、散布 20 日後で TRR の 3.5%と低かった。また、その他主要放射性成分として AMTC (S-(2-dimethylamino-3-mercaptopropyl) thiocarbamate) (散布 10 日後; TRR の 0.8%、散布 20 日後; TRR の 0.6%)、NTX (散布 10 および散布 20 日後共に TRR の 1.6%) および BCAD (散布 10 日後; TRR の 2.5%、散布 20 日後; TRR の 1.9%) が認められたが、これら代謝物の比率も非常に低かった。

外薬部総計においても主放射性成分は未変化の[1, 3-¹⁴C]カルタップ (散布 10 日後; TRR の 43.8%, 3.406 mg eq./kg、散布 20 日後; TRR の 46.2%, 3.041 mg eq./kg) であった。その他の主放射性成分は BCAD であり、散布 10 日後に 22.1% TRR (1.715 mg eq./kg)、散布 20 日後に 21.6% TRR (1.424 mg eq./kg) が検出された。

3) 代謝

カルタップのはくさいにおける主代謝経路は、チオカーバメート部位での加水分解による AMTC の生成であった。AMTC は酸化的にジスルフィド (S-S) 結合を形成して NTX または BCAD を生成した。これらの代謝物は、さらに結合型残留物を形成すると考えられた。はくさいにおける推定代謝経路を図 2 に示す。

図2 はくさいにおけるカルタップの推定代謝経路

(3) カルタップの茶における植物代謝試験

(資料 II-3)

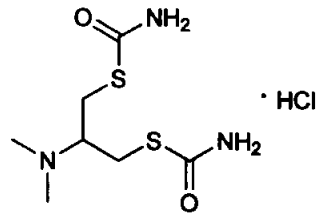
試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：



化学名：

放射化学的純度：

比放射能：

供試植物：茶（品種：さやまかおり）、（社）埼玉県茶業協会（埼玉県入間市）より高さ約 50 cm の茶樹を入手。

栽培土壌および栽培：市販のプランター培土を直径 28 cm のプラスチックポットに詰め、生育状態のよい茶樹を植えた（5 本／ポット、計 8 ポット）。屋外にて予備栽培を行った後、ファイトロン内で馴化栽培を行った。予備栽培期間には適宜井戸水（急速濾過・活性炭吸着装置を通し、次亜塩素酸ナトリウムおよび殺菌灯にて殺菌されたもの）を給水し、馴化栽培期間および散布処理後の栽培期間中には、自動散水器を用いて井戸水を植物体にかからないようにして 1 日 1 回給水した。病虫害防除のための薬剤は使用しなかった。

気象条件：茶樹の慣行栽培期の東京地方における気象条件を模したファイトロン（表 1）で栽培した。

光源：自然太陽光

表1 ファイトトロン[®]の設定温湿度条件

栽培日	昼間温度 ^a (6:00~18:00)	夜間温度 ^b (18:00~6:00)	相対湿度
2005.5.10 ~ 5.31	21.7	15.7	66
6.1 ~ 6.30	24.8	18.8	73
7.1 ~ 7.7	28.4	22.4	75

a : 月間平均気温+3℃に設定 (午前6時~午後6時)

b : 月間平均気温-3℃に設定 (午後6時~午前6時)

方 法 :

1 施用液の調製、処理の部位と方法

施用液の調製、処理量その設定根拠、処理方法等を下表にまとめる。

製剤白試料	パダン SG 水溶剤白試料
処理量	6.15 mg a. i./ポット
設定根拠	慣行施用量 ¹⁾ (1000 g a. i./ha 相当)
実際施用量 (平均)	6.044 mg a. i./ポット
施用液の調製	施用当日に、[1,3- ¹⁴ C]カルタップ/0.1%酢酸水溶液に約 0.1%製剤白試料水溶液および精製水を加え、6.15 mg/12.3 mL 濃度の施用液 25.2 mL を調製
処理回数	1 回
施用時期	茶樹の新葉の展開後
施用法	茶樹の全面に散布処理
処理ポット数	処理区 2 ポット、非処理対照区 1 ポット

2 採取時期および部位

下表に示す時点で葉を採取した。

散布処理後日数	処理区		非処理対照区	
	葉の採取枚数	分析点数	葉の採取枚数	分析点数
10 日	約 40 枚	約 20 枚 × 2	-	-
20 日	約 40 枚	約 20 枚 × 2	-	-
30 日	約 40 枚	約 20 枚 × 2	約 20 枚	約 20 枚 × 1

¹⁾申請者注：処理量について

カルタップの茶における散布処理の最大施用量は1回当たり 200 g ai/10 a (パダン SG 水溶剤：カルタップ 75%水溶剤、400 L/10 a、1500 倍希釈) であり、本試験で用いた処理量 1000 g ai/ha は、1 回施用量の 0.5 倍である。

3 分析方法

1) 抽出、放射能定量および HPLC 分析

葉試料は図 1 に示すようにアセトニトリル/0.05 N 塩酸水溶液 (1:1) に浸漬して表面洗浄し、洗浄液は LSC 測定後、濃縮して HPLC 分析した。洗浄後の葉試料は細断後、氷冷下 0.05 N 塩酸水溶液中で磨砕抽出した。抽出操作は 2 回行い、抽出液を合わせて放射能を LSC により定量後、濃縮して HPLC 分析した (HPLC 条件 1)。また表面洗浄液および散布 30 日後の抽出液で HPLC 条件 1 の保持時間が 1.5~4.0 分の画分 (HPLC 画分 2) は、条件の異なる HPLC (HPLC 条件 4) で再分析し、その画分に含まれる放射性成分を分離、定量した。さらに散布 10 および 30 日後の葉の表面洗浄液で HPLC 条件 4 の保持時間が 16.6~18.0 分の画分 (HPLC 画分 2-13) は別条件 (HPLC 条件 5) の HPLC で放射性成分の定量を行った。なお HPLC 条件 1、4 および 5 で試料を分析した際の HPLC 回収率は 97.1%~100.2%であった。抽出後の残渣は風乾後燃焼処理し、LSC で分析した。

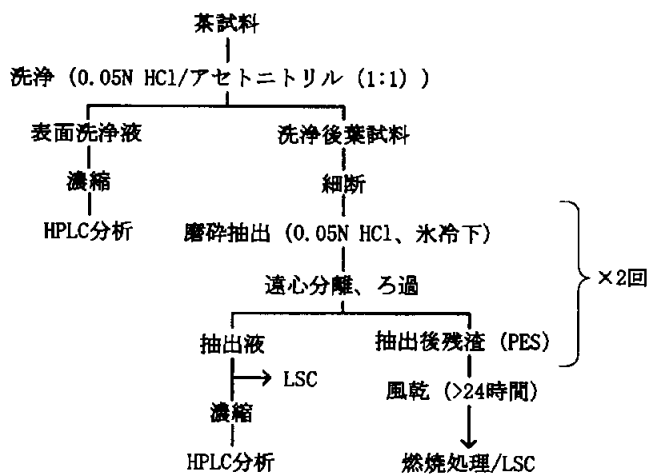


図 1 分析法の概要

表面洗浄液および洗浄後の葉での [1, 3-¹⁴C] カルタップの添加回収率は 98.1% および 94.7% であった。

2) 代謝物の同定および/または特徴づけ

① HPLC

表面洗浄液および試料抽出液中の主要な放射性成分は、HPLC での参照化合物との保持時間の比較または LC-MS および LC-MS/MS 分析での参照化合物とのマスキロマトグラフおよびフラグメントパターンの比較により、同定/特徴づけを行った。

② 加水分解

散布 10 日後の葉の表面洗浄液は、1N 塩酸中、100℃、3 時間の酸加水分解および 37℃、

16時間の酵素 (β -グルコシダーゼおよびセルラーゼ) 加水分解を行い、共通の分子部分への変換を試みた。

③ 抽出後残渣の特徴づけ

散布10日および30日後の葉の抽出後残渣は図2に示す化学的抽出を行い、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、セルロースおよび72%硫酸抽出後の固形物残渣の各画分に分画し、放射能を測定した。

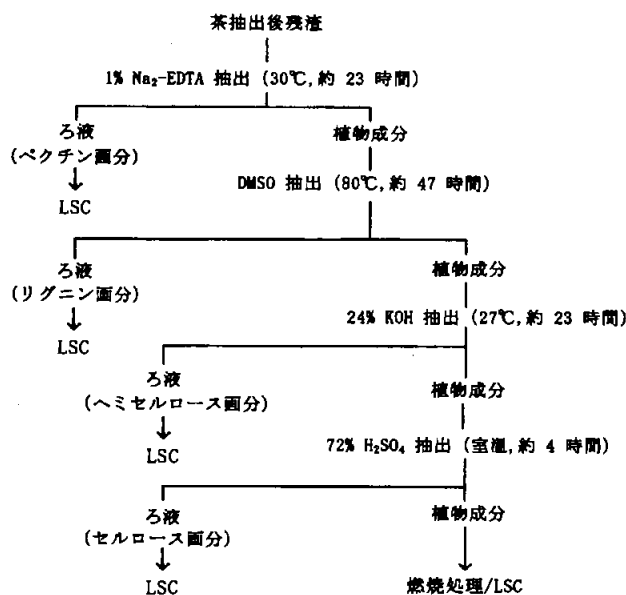


図2 葉の抽出後残渣の特徴づけ

結果:

1) 吸収および移行

処理区および対照区試料における各部位の放射能濃度を表2に示す。

表2 葉試料の放射能濃度

面分	処理区 a)			非処理対照区 b)
	散布後の日数			
	10	20	30	30
	上段 : mg eq./kg			
	下段 : %TRR			
表面洗浄液	4.6905	3.7709	4.5694	0.0022
	64.77	54.66	60.90	-
葉の組織	2.5304	3.1167	2.8980	0.0220
	35.23	45.34	39.10	-
抽出液	1.0040	1.1451	1.0283	0.0078
	13.99	16.63	13.84	-
抽出後残渣	1.5264	1.9716	1.8697	0.0142
	21.24	28.70	25.26	-
放射性総残留物	7.2209	6.8876	7.4674	0.0241
	100.00	100.00	100.00	-

a) : 2点の平均、b) : 1点の結果

散布10、20および30日後の葉の放射性総残留物 (TRR) レベルは、それぞれ7.221 mg eq./kg、6.888 mg eq./kg および7.467 mg eq./kg であり、ほとんど変化しなかった。葉の表面洗浄液と組織中の放射能の分布率に顕著な変動は認められず、葉に残留する放射能は、すべての採取時点で表面洗浄液中に多く回収された (TRR の54.7%~64.8%)。葉の抽出後の固形物残渣中に残る放射能はすべての採取時点でTRRの20%以上であった。

非処理対照区からは痕跡量の放射能が認められたのみであった。

2) 分布

散布10、20および30日後の葉における放射性成分の分布を、それぞれ表3-1、表3-2 および表3-3に示す。

表 3-1 散布 10 日後の葉の表面洗浄液および抽出液中の放射性成分 (HPLC 条件 1)

フラクション	表面洗浄液		葉抽出液		総計	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	3.1065	42.70	0.3394	4.76	3.4458	47.46
Fr. 2 中の主要放射性成分 (HPLC 条件 4)						
Fr. 2-6	0.6118	8.41	-	-	-	-
Fr. 2-7 (MASO)	0.4414	6.07	-	-	-	-
Fr. 2-13 ^{a)}	0.7943	10.98	-	-	-	-
Fr. 3	0.2392	3.31	0.0395	0.56	0.2787	3.87
Fr. 4	0.1030	1.41	0.0136	0.18	0.1166	1.59
Fr. 5	0.0831	1.15	0.0419	0.58	0.1250	1.73
Fr. 6	0.1384	1.89	0.0504	0.71	0.1888	2.59
Fr. 7	0.0968	1.34	<LOD	<LOD	0.0968	1.34
Fr. 8	0.0985	1.38	0.0102	0.13	0.1087	1.51
Fr. 9	0.0582	0.81	<LOD	<LOD	0.0582	0.81
Fr. 10 (カルタップ)	0.0624	0.88	0.0102	0.13	0.0725	1.01
Fr. 11	0.0228	0.34	0.0112	0.15	0.0340	0.48
Fr. 12	0.0474	0.66	0.0095	0.12	0.0569	0.78
Fr. 13	0.0503	0.70	0.0092	0.12	0.0595	0.82
Fr. 14 (NTX)	0.1284	1.78	0.2345	3.28	0.3629	5.07
Fr. 15	0.0635	0.89	0.0253	0.35	0.0888	1.24
Fr. 16	0.2360	3.33	0.1069	1.49	0.3430	4.82
Fr. 17	0.1403	1.97	0.1022	1.42	0.2425	3.39
Fr. 18	0.0158	0.23	<LOD	<LOD	0.0158	0.23
Fr. 19	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	4.6905	64.77	1.0040	13.99	5.6945	78.76

a) : TRR の 10%未満の複数成分、2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.34~0.57% (0.0227~0.0437 mg eq. /kg)

表 3-2 散布 20 日後の葉の表面洗浄液および抽出液中の放射性成分 (HPLC 条件 1)

フракシオン	表面洗浄液		葉抽出液		総計	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	3.1665	45.94	0.4157	6.04	3.5822	51.98
Fr. 2 中の主要放射性成分 (HPLC 条件 4)						
Fr. 2-6	0.5945	8.68	-	-	-	-
Fr. 2-7 (MASO)	0.4110	5.98	-	-	-	-
Fr. 2-13 ^{a)}	1.1063	15.98	-	-	-	-
Fr. 3	0.2214	3.22	0.0476	0.69	0.2690	3.91
Fr. 4	0.0696	1.00	0.0119	0.18	0.0815	1.18
Fr. 5	0.0470	0.68	0.0232	0.35	0.0703	1.03
Fr. 6	0.0561	0.82	0.0232	0.35	0.0793	1.16
Fr. 7	0.0177	0.25	<LOD	<LOD	0.0177	0.25
Fr. 8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 9	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 10 (カルタップ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 11	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 12	0.0221	0.31	0.0127	0.19	0.0348	0.50
Fr. 13	<LOD	<LOD	0.0113	0.17	0.0113	0.17
Fr. 14 (NTX)	0.0284	0.40	0.3293	4.76	0.3577	5.16
Fr. 15	0.0181	0.26	0.0391	0.57	0.0572	0.82
Fr. 16	0.0841	1.23	0.1102	1.60	0.1943	2.83
Fr. 17	0.0399	0.56	0.1208	1.75	0.1607	2.31
Fr. 18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 19	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 21	3.7709	54.66	1.1451	16.63	4.9160	71.30

a) : TRR の 10%未満の複数成分であることを 10 および 30 日後の表面洗浄液試料で確認 2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.57~0.74% (0.0403~0.0492 mg eq. /kg)

表 3-3 散布 30 日後の葉の表面洗浄液および抽出液中の放射性成分 (HPLC 条件 1)

フラクション	表面洗浄液		葉抽出液		総計	
	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR	mg eq. /kg	%TRR
Fr. 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 2	3. 8718	51. 59	0. 4382	5. 89	4. 3101	57. 48
Fr. 2 中の主要放射性成分 (HPLC 条件 4)						
Fr. 2-6	0. 6121	8. 12	0. 0119	0. 15	0. 6240	8. 27
Fr. 2-7 (MASO)	0. 5201	6. 93	<LOD	<LOD	0. 5201	6. 93
Fr. 2-13 ^{a)}	1. 4026	18. 54	0. 0187	0. 23	1. 4213	18. 77
Fr. 3	0. 2073	2. 74	0. 0504	0. 68	0. 2577	3. 42
Fr. 4	0. 1091	1. 46	0. 0129	0. 16	0. 1220	1. 62
Fr. 5	0. 0638	0. 86	0. 0276	0. 37	0. 0915	1. 23
Fr. 6	0. 0337	0. 42	0. 0183	0. 23	0. 0519	0. 65
Fr. 7	0. 0329	0. 41	<LOD	<LOD	0. 0329	0. 41
Fr. 8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 9	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 10 (カルタップ)	0. 0221	0. 28	<LOD	<LOD	0. 0221	0. 28
Fr. 11	0. 0265	0. 38	0. 0194	0. 28	0. 0459	0. 66
Fr. 12	<LOD	<LOD	0. 0103	0. 13	0. 0103	0. 13
Fr. 13	0. 0261	0. 38	0. 0103	0. 13	0. 0364	0. 51
Fr. 14 (NTX)	0. 0486	0. 66	0. 2029	2. 76	0. 2515	3. 42
Fr. 15	<LOD	<LOD	0. 0171	0. 21	0. 0171	0. 21
Fr. 16	0. 0687	0. 93	0. 1038	1. 41	0. 1725	2. 34
Fr. 17	0. 0587	0. 79	0. 1170	1. 58	0. 1758	2. 37
Fr. 18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 19	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fr. 20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
総計	4. 5694	60. 90	1. 0283	13. 84	5. 5977	74. 74

a) : TRR の 10%未満の複数成分、2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0. 41~0. 74% (0. 0283~0. 0514 mg eq. /kg)

いずれの時点においても表面洗浄液中の主放射性成分は HPLC 画分 2 (TRR の 42. 7%~51. 6%) であったが、抽出液の主放射性成分は NTX (4-dimethylamino-1, 2-dithiolane) および HPLC 画分 2 であり、その%TRR は低かった (NTX ; TRR の 2. 8~4. 8%、HPLC 画分 2 ; TRR の 4. 8~6. 0%)。

TRR の 50%前後の主な放射性成分として検出された HPLC 画分 2 (高極性画分) について、以下の特徴付けを行った。大部分の残留放射能が HPLC 画分 2 に相当する葉の表面洗浄液 (散布 10 日後の試料で確認) を酸および酵素加水分解に供した結果、反応前後の HPLC クロマトグラムにほとんど変化は見られず、新たに共通の分子部分を持つ化合物は生成されなかった。また、別条件の HPLC (条件 4) による分析を行った結果、HPLC 画分 2 の主放射性成分は HPLC 画分 2-13、HPLC 画分 2-6 であり、次いで MASO (HPLC 画分 2-7) が検出された。HPLC 画分 2-13 以外の放射性画分はいずれの採取時点でも TRR の 10%未満

であった。さらに HPLC 画分 2-13 は別条件 (条件 5) で HPLC 分析した結果、TRR の 6.5% (0.491 mg eq./kg) 以下の複数の放射性成分から成ることが確認された (散布 10 および 30 日後の表面洗浄液試料で確認)。

表面洗浄液および抽出液中の主な放射性成分は、MASO (表面洗浄液で散布 10 日後; TRR の 6.1%、0.441 mg eq./kg、散布 20 日後; TRR の 6.0%、0.411 mg eq./kg、散布 30 日後; TRR の 6.9%、0.520 mg eq./kg) および NTX (総計で散布 10 日後; TRR の 5.1%、0.363 mg eq./kg、散布 20 日後; TRR の 5.2%、0.358 mg eq./kg、散布 30 日後; TRR の 3.4%、0.252 mg eq./kg) であった。

これらの代謝物を含め、葉の表面洗浄液および抽出液中に認められた放射性成分は、すべて TRR の 10%未満であった。

3) 抽出後残渣中の放射性残留物の特徴づけ

散布 10 および 30 日後の葉の抽出後残渣について特徴づけを行った。結果を表 4 に示す。

表 4 葉の抽出後残渣の特徴づけ

画分	散布後の日数			
	10		30	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
ペクチン画分	0.1239	1.71	0.1352	1.80
リグニン画分	0.5599	7.79	0.6376	8.59
ヘミセルロース画分	0.5742	8.00	0.7261	9.82
セルロース画分	0.1098	1.53	0.0859	1.16
最終植物固形物	0.1585	2.22	0.2848	3.88
総回収	1.5264	21.24	1.8697	25.26

両採取時点において、抽出後の残渣中に存在する放射性残留物は、大部分がリグニンおよびヘミセルロース画分に分布していた。すなわち、抽出後の固形物残渣中の放射性残留物はそのほとんどが葉の植物体構成成分に取り込まれているものと推定された。

4) 代謝

カルタップの茶における主代謝経路は、加水分解による NTX の生成であった。NTX は、さらに MASO に酸化された。これらの代謝物は、リグニン、ヘミセルロースなどの植物体構成成分に取り込まれて結合型残留物を形成すると考えられた。

茶におけるカルタップの推定代謝経路を図3に示す。

図3 茶におけるカルタップの推定代謝経路

3. 土壌中動態に関する試験

(1) カルタップの好氣的湛水土壌中動態試験

(資料 III-1)

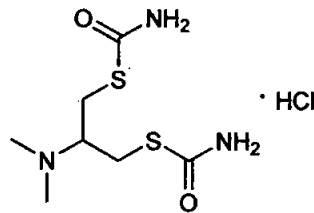
試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：



化学名：

放射化学的純度：

比放射能：

供試土壌：土壌の物理化学的特性を表 1 に示す。土壌は使用前に 2 mm の篩に通した。

表 1 供試土壌の物理化学的特性

土壌名	真壁土壌	
入手先	申請者試験農場（茨城県真壁郡）の水田圃場	
採取年月日	2003 年 11 月 13 日 (使用時まで約 4℃で保存)	
土性 (ISSA 法)	LiC (軽埴土)	
粒径組成 (%)	砂	52.4
	シルト	21.8
	粘土	25.8
主要粘土鉱物	カオリン、イライト	
pH (H ₂ O)	6.4 (18℃)	
pH (KCl)	5.3 (18℃)	
pH (CaCl ₂)	5.9 (18℃)	
有機炭素含量 (%)	1.83	
陽イオン交換容量 (meq./100 g 乾土)	18.4	
最大含水量 (%)	82.48	

方 法：

土壌試料の調製；乾土 80 g 相当量の試験土壌をガラス製広ロビンに入れ、精製水 55 mL

を添加して攪拌し湛水としたのち、湛水土壌を含む容器の総重量（初期値）を測定した。土壌厚は4.8 cm、水深は約1.1 cmであった。暗所条件下25±2℃で17日間（施用0日および3日後試料は46日間）ブレインキュベーションした。施用当日、酸化還元電位（200 mV以下）を確認した。

施用液の調製；[1,3-¹⁴C]カルタップを0.1%酢酸で溶解し、目標濃度1500 mg/Lの施用液を調製した。

施用量；1.6 mg/kg

施用量の設定根拠：

施用の方法；施用液を田面水表面に滴下し、土壌をスパーテルでよく混和した。

達成施用濃度；1.4617 mg/kg（施用0日および3日後試料では1.5651 mg/kg）

インキュベーション；施用後、CO₂捕集液を接続したステンレスチャンパー内に試験容器を収納し、CO₂フリーの加湿空気を流速20～50 mL/分で通気した。予備試験において¹⁴CO₂以外の揮発性物質の発生は無かったため、捕集剤はCO₂捕集液のみとした。これらチャンパーおよび捕集装置は恒温室（実測温度：24.7～25.4℃）内の暗所条件下でインキュベートした。土壌は約1ヵ月ごとに重量を測定し、蒸発による減少分を精製水で補給した。

装置の概要を図1に示す。

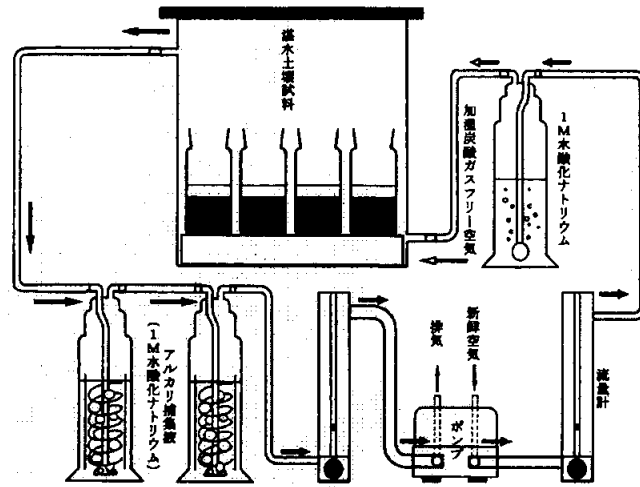


図1 通気および捕集装置の概要

採取時期；

試料	採取時期
湛水土壌	施用直後、3、7、14、28、56、119 および 182 日後
CO ₂ 捕集液	14、28、56、91、119、147 および 182 日後

分析方法；抽出および HPLC 分析は全て採取日に行った。田面水はデカンテーションしてろ過し、ろ液を LSC および HPLC で分析した（施用 119 日、182 日後試料の HPLC 分析は実施せず）。土壌試料は 50℃、0.05 M HCl 100 mL で 2 回、1.5% システイン含有 0.05 M HCl 100 mL で 2 回、各 30 分以上振とう抽出した。得られた抽出液を合し、抽出液の ¹⁴C を定量後、直接 HPLC 分析した。HPLC 回収率は、田面水試料で 94.33±1.02%、土壌抽出液試料で 97.37±0.18% であった。

抽出後の土壌残渣は 24 時間以上風乾し、燃焼処理して放射能を測定し、揮発性物質は、2 連のアルカリ捕集液を合わせ、LSC で定量した。

分析法の概要を図 2 に示す。

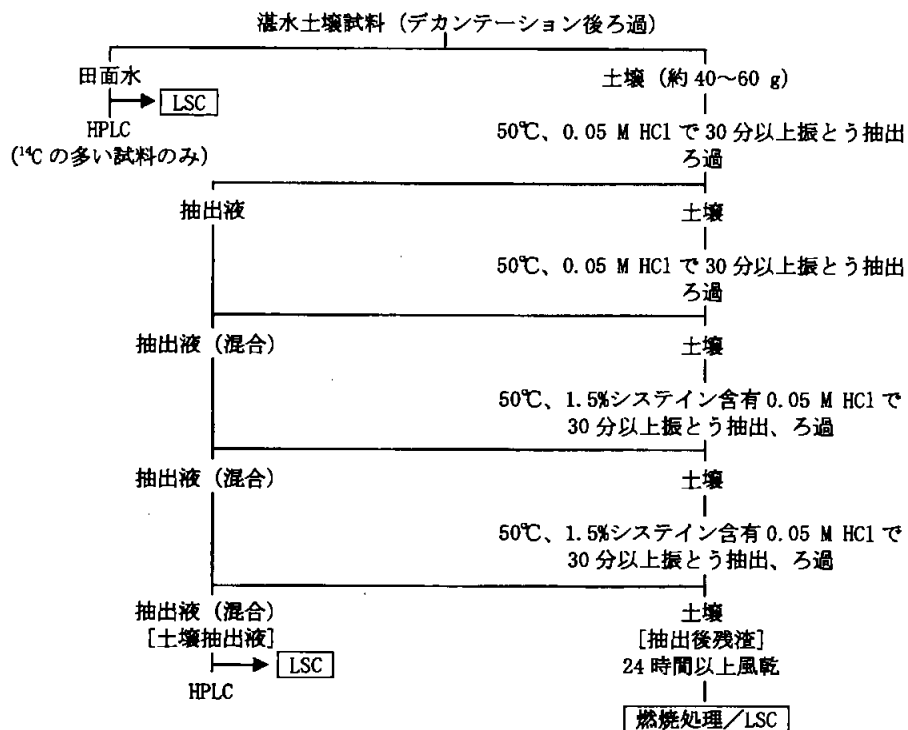


図 2 湛水土壌試料の分析法概要

施用 119 日後および 182 日後試料の抽出後土壌残渣は、腐植抽出法による抽出を行い、ヒューミン画分、腐植酸画分、フルボ酸画分、精製腐植酸画分および溶媒洗浄液画分に放射能を分画して特徴付けた。分画法の概要を図 3 に示す。

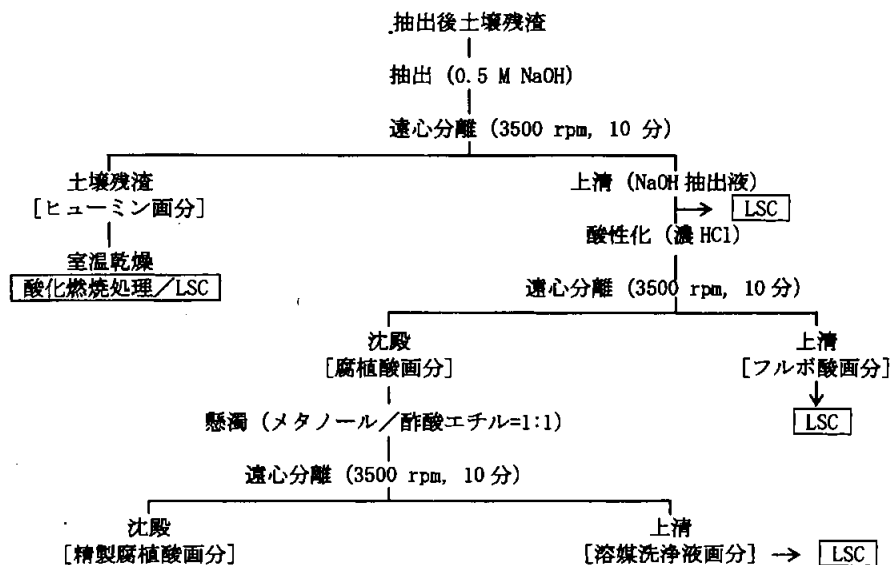


図 3 土壌残渣中の放射性残留物の特徴づけ

1 分解物の同定

土壌抽出液中の主要放射性成分は、参照化合物との HPLC 保持時間の比較により推定し、4 種類の展開溶媒系を用いた参照標品との TLC コクロマトグラフィーあるいは HPLC-MS スペクトルおよび MS/MS フラグメントイオンの一致により同定した。CO₂ の確認はアルカリ捕集液（水酸化ナトリウム溶液）に塩化バリウムを加え、Ba¹⁴CO₃ が生成することにより確認した。

2 半減期の推定

カルタップの主要代謝物 NTX の分解は 2 相性の減衰を示したため、第 1 相と第 2 相の減衰曲線を下式から求め、その後フェザーリング法により求めた第 1 相と第 2 相の合成減衰曲線から 50% および 90% 消失に要する時間 (DT₅₀ および DT₉₀) を算出した。

$$\ln (C/C_0) = -kt \quad \left(\begin{array}{l} C: \text{任意の時間 } t \text{ における NTX の濃度} \\ C_0: \text{初濃度} \\ k: \text{減衰速度定数} \end{array} \right)$$

滅菌土壌；好氣的湛水土壌中でのカルタップの分解に関与する微生物活性を調べるため、オートクレーブ滅菌（121℃、20 分）処理した土壌試料を調製し、非滅菌土壌と同様に抽出、HPLC 分析を行った。

結 果：

1) 物質収支

放射能の物質収支を表 2 に示す。

表 2 物質収支

画分	施用後の日数							
	0	3	7	14	28	56	119	182
	施用量%							
田面水	0.96	0.91	1.54	1.61	1.13	1.15	0.64	0.69
抽出液	86.98	86.58	74.26	70.54	68.04	61.56	59.56	56.99
抽出後土壌残渣	6.83	11.32	20.81	22.51	24.73	25.46	30.24	31.19
揮発性 ¹⁴ C ^{a)} (累積)	N.M.	N.M.	N.M.	2.10	3.05	4.08	5.22	5.84
総 ¹⁴ C 回収	94.78	98.81	96.60	96.76	96.95	92.25	95.67	94.70
	濃度 (mg カルタップ eq./kg 乾土)							
田面水	0.0151	0.0143	0.0224	0.0235	0.0165	0.0169	0.0094	0.0101
抽出液	1.3614	1.3550	1.0854	1.0311	0.9945	0.8998	0.8706	0.8330
抽出後土壌残渣	0.1070	0.1772	0.3042	0.3291	0.3616	0.3721	0.4421	0.4559

a) : 1 点の結果、その他画分は 2 点の平均、N.M. : 測定せず

放射能の物質収支はいずれの分析時点でも 92~99%であった。

発生した放射性二酸化炭素 ($^{14}\text{CO}_2$) の累積発生量は 182 日後で施用量の 5.8%であった。

土壌からの抽出可能放射エネルギーは経時的に減少して 182 日後に約 57%となり、それに伴い抽出後土壌残渣中の放射能が増加し、182 日後では 31%となった。

田面水中の放射エネルギーは全試験期間を通じて少量であり、最大で施用量の 1.6% (施用 14 日後) であった。

2) 分布および代謝

土壌抽出液および田面水について HPLC 定量した結果を、それぞれ表 3 および表 4 に示す。

表 3 土壌抽出液中の主要放射能の分布

フракシオン番号 (識別)	施用後の日数							
	0	3	7	14	28	56	119	182
	施用量%							
2 (未知物質 1)	0.72	0.57	2.35	2.07	2.94	3.39	2.75	1.87
3 (未知物質 2)	1.36	1.57	2.01	1.95	2.08	1.63	2.63	1.63
4 (未知物質 3)	3.01	3.93	6.01	2.73	2.02	1.87	3.23	2.57
7 (NTX)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.33	0.29	<LOD
8 (カルタップ)	45.79	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
16 (未知物質 4)	<LOD	<LOD	4.37	5.08	5.37	5.91	5.66	6.07
19 (NTX)	33.43	74.60	56.56	56.09	52.80	45.91	38.76	39.80
22 (DATT) ¹⁾	1.00	2.96	2.96	2.37	1.59	2.16	5.54	4.70
その他フракシオンを含む合計	86.98	86.58	74.26	70.54	68.04	61.56	59.56	56.99
	濃度 (mg カルタップ eq./kg 乾土)							
2 (未知物質 1)	0.0113	0.0090	0.0344	0.0303	0.0430	0.0495	0.0401	0.0274
3 (未知物質 2)	0.0213	0.0246	0.0294	0.0285	0.0304	0.0238	0.0384	0.0239
4 (未知物質 3)	0.0470	0.0615	0.0878	0.0399	0.0295	0.0274	0.0472	0.0376
7 (NTX)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0048	0.0043	<LOD
8 (カルタップ)	0.7166	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
16 (未知物質 4)	<LOD	<LOD	0.0638	0.0743	0.0785	0.0864	0.0828	0.0888
19 (NTX)	0.5231	1.1676	0.8267	0.8199	0.7718	0.6711	0.5666	0.5818
22 (DATT) ¹⁾	0.0156	0.0464	0.0432	0.0346	0.0233	0.0316	0.0809	0.0687
その他フракシオンを含む合計	1.3614	1.3550	1.0854	1.0311	0.9945	0.8998	0.8706	0.8330

1) 第 22 フラクシオンは DATT と HPLC の保持時間が一致したが、保存中に分解する傾向があり、質量分析および TLC コクロマトグラフィーを試みたが同定には至らなかった。

2 点の平均

LOD: 検出限界、LOD レベル: 0.43~2.31% (0.0067~0.0337 mg eq./kg)

表 4 田面水中の主要放射能の分布

フラクション番号 (識別)	施用後の日数					
	0	3	7	14	28	56
	施用量%					
2 (未知物質 1)	0.02	0.07	0.63	0.85	0.74	0.69
3 (未知物質 2)	0.03	0.05	0.33	0.45	0.33	0.36
4 (未知物質 3)	0.02	0.06	0.17	0.12	0.06	0.10
7 (NTX)	0.08	0.21	0.37	0.16	<LOD	<LOD
8 (カルタツプ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
16 (未知物質 4)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
19 (NTX)	0.78	0.48	0.02	0.03	<LOD	<LOD
22 (DATT) ¹⁾	0.02	0.02	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
その他フラクションを含む合計	0.96	0.91	1.54	1.61	1.13	1.15
	mg カルタツプ eq./kg 乾土					
2 (未知物質 1)	0.0003	0.0011	0.0093	0.0124	0.0108	0.0102
3 (未知物質 2)	0.0005	0.0008	0.0049	0.0066	0.0049	0.0053
4 (未知物質 3)	0.0003	0.0009	0.0024	0.0017	0.0009	0.0015
7 (NTX)	0.0012	0.0034	0.0055	0.0024	<LOD	<LOD
8 (カルタツプ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
16 (未知物質 4)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
19 (NTX)	0.0122	0.0075	0.0004	0.0004	<LOD	<LOD
22 (DATT) ¹⁾	0.0003	0.0003	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
その他フラクションを含む合計	0.0151	0.0143	0.0224	0.0235	0.0165	0.0169

1) 第 22 フラクションは DATT と HPLC の保持時間が一致したが、保存中に分解する傾向があり、質量分析および TLC コクロマトグラフィーを試みたが同定には至らなかった。

2 点の平均

LOD : 検出限界、LOD レベル: 0.02~0.06% (0.0003~0.0009 mg eq./kg)

① カルタツプ

土壌抽出液中のカルタツプは処理直後で 45.8% であり、施用後 3 日後には土壌抽出液から検出不能となった。田面水からはいずれの時点でも検出されなかった。

② 主要代謝分解物

土壌抽出液中の主要放射性成分は NTX であった。NTX は、施用 3 日後に施用量の約 75% まで増加し、その後減少して施用 119 日以降は約 39~40% となった。土壌抽出液中には NTX 以外に少なくとも 6 種の代謝分解物ピークが認められたが、検出量として 5% を超えたのは最大 6.1% (施用 182 日後) の未知物質 4、最大 6.0% (施用 7 日後) の未知物質 3 および最大 5.5% (施用 119 日後) の DATT であった。その他、施用量の 4% を超える画分はなかった。

田面水中の放射能は施用直後および 3 日後では NTX が大部分であったが、施用 7 日以降は複数の極性代謝分解物で占められていた。極性代謝分解物として、HPLC 測定条件の異なる HPLC 分析で DPSO および MASO が確認された。

③ 分解速度

カルタップ：湛水土壤中のカルタップは非常に速やかに消失した。その50%消失期間(DT₅₀)は数十分と推定された。

NTX： NTXの減衰は2相性を示すと推定され、施用3日後を0時点と仮定したDT₅₀は約44日、DT₉₀(90%消失期間)は約759日であった。

同定代謝物のまとめ

LC-MSおよびMS/MS分析またはTLCクロマトグラフィーにより、NTX、NTXO、DPSOおよびMASOが同定された。同定された代謝分解物を図4にまとめる。

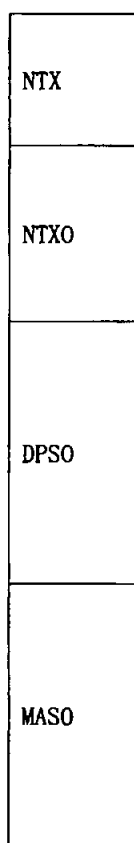


図4 代謝分解物の化学構造式

3) 抽出後の土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け

119日および182日後試料について腐植抽出法により抽出残渣中の放射能を抽出し、特徴付けを行った。結果を表5に示す。

表5 土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け

フラクション	施用後の日数				平均	
	119		182			
	施用量%	抽出残渣中放射能%	施用量%	抽出残渣中放射能%	施用量%	抽出残渣中放射能%
抽出後残渣	30.24	100.00	31.19	100.00	30.72	100.00
NaOH 抽出液	18.77	62.10	22.33	71.74	20.55	66.92
フルボ酸画分	14.88	49.19	17.74	57.00	16.31	53.10
腐植酸画分	3.89	12.90	4.58	14.73	4.24	13.82
精製腐植酸	2.66	8.83	2.85	9.19	2.75	9.01
溶媒洗浄液	1.23	4.08	1.73	5.54	1.48	4.81
ヒューミン画分	7.34	24.29	8.28	26.65	7.81	25.47
総放射能回収	26.12	86.39	30.61	98.39	28.36	92.39

腐植酸画分 = NaOH 抽出液 - フルボ酸画分

精製腐植酸 = 腐植酸画分 - 溶媒洗浄液

総放射能回収 = NaOH 抽出液 + ヒューミン画分

抽出残渣中の放射能の約 49~57%がフルボ酸画分に、24~27%はヒューミン画分に分布しており、土壌有機物に結合あるいは強く結合ないし取り込まれていると推定された。

4) 滅菌土壌

滅菌土壌抽出液および田面水中のカルタップは、速やかに消失し、滅菌土壌と非滅菌土壌との間で、放射能分布と代謝分解物パターンに大きな差が見られなかった。このことから、湛水土壌中におけるカルタップの挙動および分解は、主に非生物的な要因によるものと推定された。

5) 想定代謝経路

湛水状態の水田土壌に施用したカルタップは急速に加水分解され、カルバモイル基が離脱してジヒドロネライストキシンを経て NTX (ジスルフィド) に変換される。この反応は非生物的に進行すると推定された。NTX は一部 DATT (トリスルフィド) に変換されるほか、徐々にではあるが酸化され、NTXO (スルホキシド)、DPSO (ジスルホン酸)、MASO (N 脱メチル体) などの極性代謝分解物を経て CO₂ まで無機化されることが示唆された。

好氣的湛水条件下の土壌におけるカルタップの推定代謝経路を図5に示す。

図5 好氣的湛水条件下の土壤におけるカルタップの推定代謝経路

(2) カルタップの好氣的土壤中動態試験

(資料 III-2)

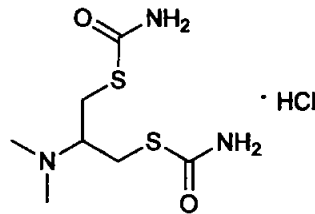
試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：



化学名：

放射化学的純度：

比放射能：

供試土壌：土壌の物理化学的特性を表 1 に示す。土壌は使用前に 2 mm の篩に通した。

表 1 供試土壌の物理化学的特性

土壌名	真壁土壌	
入手先	申請者試験農場（茨城県桜川市真壁町）の畑地圃場	
採取年月日	2004 年 12 月 13 日 (使用時まで 2~6℃の冷暗所で保存)	
土性 (ISSA 法)	LiC (軽埴土)	
粒径 組成 (%)	砂	38.1
	シルト	30.8
	粘土	31.1
主要粘土鉱物	アロフェン	
pH (H ₂ O)	6.7 (22℃)	
pH (KCl)	5.5 (22℃)	
pH (CaCl ₂)	6.1 (22℃)	
有機炭素含量 (%)	2.19	
陽イオン交換容量 (meq./100g 乾土)	32.8	
最大含水量 (%)	94.70	

方 法 :

土壌試料の調製 ; 乾土 15 g 相当量の供試土壌をガラス製深型シャーレに入れ、精製水を添加して最大容水量の 50% (初期値) とした (土層厚 約 1.0 cm)。暗所条件下 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ で 14 日間プレインキュベーションした。

施用液の調製 ; $[1, 3\text{-}^{14}\text{C}]$ カルタップの 1%酢酸保存原液を 0.1%酢酸で希釈し、目標濃度 1750 mg/L の施用液を調製した。

施用量 ; 3.5 mg/kg

施用量の設定根拠 :

施用方法 ; 施用液 30 μL を土壌表面に滴下してスパーテルでよく混和した。

達成施用濃度 ; 3.3833 mg/kg

インキュベーション ; 施用後、 CO_2 捕集液を接続したステンレスチャンパー内に試験容器を収納し、 CO_2 フリーの加湿空気を流速 20~50 mL/分で通気した。 CO_2 捕集液として 1 M 水酸化ナトリウムを接続した。これらチャンパーおよび捕集装置は恒温室 (実測温度 : $24.9 \sim 26.4^\circ\text{C}$) 内の暗所条件下でインキュベートした。土壌は 2 週間ごとに重量を測定し、蒸発した水分を精製水で補給した。

装置の概要を図 1 に示す。

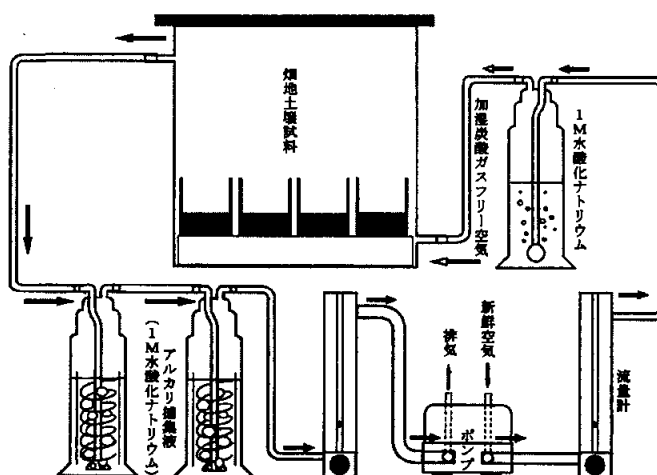


図1 通気および捕集装置の概要

採取時期；

試料		採取時期
非滅菌	土壌	施用直後、7、14、28、56、119 および 182 日後
	CO ₂ 捕集液	4、7、14、21、28、42、56、85、119、147 および 182 日後

バイオマス炭素の測定；バイオマス炭素の測定により微生物活性を確認した。土壌試料と同様に調製し14日間プレインキュベーションをおこなった土壌に、非放射性カルタップを乾土あたり 3.5 mg/kg となるよう施用し、直後およびインキュベーション終了時にバイオマス炭素を測定した。

滅菌土壌；好氣的土壌中でのカルタップの分解に関与する微生物活性を調べるため、オートクレーブ滅菌 (121°C、20 分) 処理した土壌試料を調製し、非滅菌土壌と同様に抽出、HPLC 分析を行った。

分析方法；試料採取日に抽出および HPLC 分析を行った。土壌を 50°C、0.05 M HCl 100 mL で 2 回、1.5% システイン含有 0.05 M HCl 100 mL で 2 回、各 30 分以上振とう抽出した。得られた抽出液を合し、抽出液の ¹⁴C を定量後、直接あるいは濃縮して HPLC 分析した。HPLC 回収率は、HPLC 条件 1 で 94.83±2.52%、HPLC 条件 2 で 81.32±16.48% であった。HPLC 条件 2 では回収率がやや低かったため、各画分の定量値を回収率で補正した。

抽出後の土壌残渣は 24 時間以上風乾し、燃焼処理して放射能を測定した。

揮発性物質は、2連のアルカリ捕集液を合わせ、LSCで定量した。

分析法の概要を図2に示す。

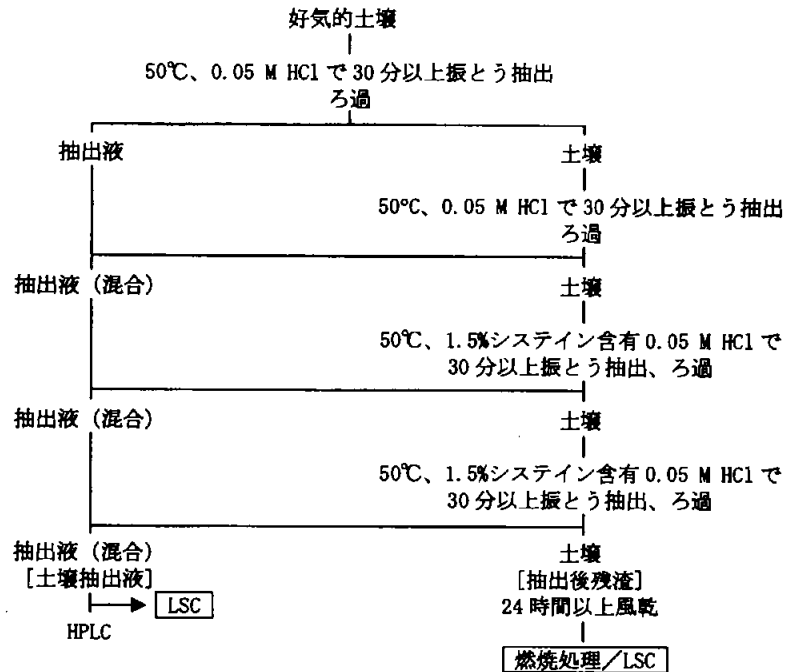


図2 土壌試料の分析法概要

施用119日後試料の抽出後土壌残渣は、腐植抽出法による抽出を行い、ヒューミン画分、腐植酸画分、フルボ酸画分、精製腐植酸画分および溶媒洗浄液画分に放射能を分画して特徴付けした。分画法の概要を図3に示す。

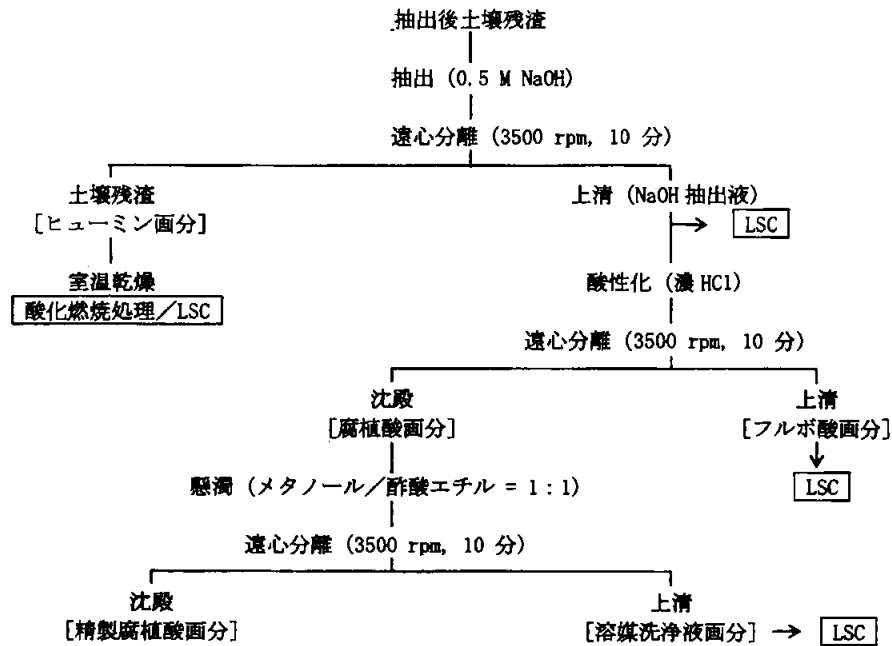


図3 土壌残渣中の放射性残留物の特徴づけ

1 分解物の同定

土壌抽出液中の主要放射性成分は、参照化合物との HPLC 保持時間の比較および TLC コクロマトグラフィーにより同定を行った。CO₂ の確認はアルカリ捕集液（水酸化ナトリウム溶液）に塩化バリウムを加え、Ba¹⁴CO₃ が生成することにより確認した。

2 半減期の推定

カルタップの主要代謝物 MASO の半減期 (DT₅₀) および 90% 消失時間 (DT₉₀) を、MASO の土壌中分解を 1 次反応と見なし、以下の方法で計算した。

$$\ln (C/C_0) = -kt \quad \left(\begin{array}{l} C: \text{任意の時間 } t \text{ における MASO の濃度} \\ C_0: \text{MASO の最高濃度} \\ k: \text{減衰速度定数} \end{array} \right)$$

より、

$$DT_{50} = (\ln 2)/k$$

$$DT_{90} = (\ln 10)/k$$

結果:

1) バイオマス炭素

インキュベーション開始時に比べ、終了時で土壌バイオマス炭素の低下が認められたが、代謝分解物の分解と無機化はインキュベーション期間後期においても認められており、微生物活性は維持されていたと判断した。

2) 物質収支

放射能の物質収支を表 2 に示す。

表 2 物質収支

画分	施用後の日数						
	0	7	14	28	56	119	182
	施用量%						
抽出液	93.74	48.77	42.16	33.14	23.79	14.59	10.69
抽出後土壌残渣	5.72	38.50	37.56	42.14	43.84	41.68	41.21
揮発性 ^{14}C ^{a)} (累積)	N.M.	9.05	14.33	20.50	27.11	35.40	39.16
総 ^{14}C 回収	99.46	96.32	94.06	95.78	94.74	91.67	91.06
	mg カルタップ eq./kg 乾土						
抽出液	3.1714	1.6501	1.4265	1.1212	0.8050	0.4938	0.3615
抽出後土壌残渣	0.1936	1.3027	1.2709	1.4257	1.4833	1.4101	1.3942

a) 1 点の結果、その他画分は 2 点の平均
N.M. : 測定せず

放射能の物質収支はいずれの分析時点でも 91~99%であった。

土壌から発生した放射性二酸化炭素 ($^{14}\text{CO}_2$) の累積発生量は、182 日後で施用量の約 39% に達した。

土壌から抽出可能な放射能の量は経時的に減少して 182 日後で施用量の約 11%となり、それに伴い抽出後の土壌残渣中の放射能が増加し、182 日後では約 41%となった。

3) 分布および代謝

HPLC 分析による定量結果を表 3-1 および表 3-2 に示す。

表 3-1 主要放射能の%分布 (単位: 施用量%)

フラクション番号(識別)	施用後の日数						
	0	7	14	28	56	119	182
HPLC 条件 1							
1 + 2 + 3 ^{a)}	3.65	29.19	31.02	28.27	22.47	13.19	9.97
4 (未知物質 3)	0.77	1.61	2.93	1.76	0.72	1.41	0.40
8 (カルタップ)	83.85	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
15 (MADT)	<LOD	4.96	3.86	1.08	<LOD	<LOD	<LOD
16 (未知物質 5)	<LOD	3.36	1.68	0.30	<LOD	<LOD	<LOD
19 (NTX)	1.47	7.36	2.47	0.95	<LOD	<LOD	<LOD
その他	3.98	2.30	0.21	0.78	0.60	<LOD	0.31
単一成分の最大量	2.15	1.39	0.21	0.33	0.60	<LOD	0.31
分解物の数	5	3	1	3	1	0	1
HPLC 条件 2 (上述 HPLC 条件 1 の 1 + 2 + 3 画分を再分析した結果)							
10 (DPSO)	---	4.37	5.18	4.54	4.60	2.07	1.19
11 (未知物質 8)	---	3.33	0.85	1.11	0.57	0.27	<LOD
12 (MASO)	---	8.81	11.11	9.92	6.80	2.14	0.75

a) 複数の高極性代謝物の合計。これら代謝物はその後 DPSO、未知物質 8 および MASO を特定できる HPLC 条件 2 で分離、定量した。

2 点の平均、---: 分析せず

LOD: 検出限界、LOD レベル: 0.38~1.63%

表 3-2 主要放射能の濃度分布 (単位: mg カルタップ eq./kg 乾土)

フラクション番号(識別)	施用後の日数						
	0	7	14	28	56	119	182
HPLC 条件 1							
1 + 2 + 3 ^{a)}	0.1236	0.9875	1.0497	0.9565	0.7603	0.4462	0.3374
4 (未知物質 3)	0.0262	0.0546	0.0990	0.0596	0.0244	0.0476	0.0136
8 (カルタップ)	2.8371	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
15 (MADT)	<LOD	0.1678	0.1304	0.0365	<LOD	<LOD	<LOD
16 (未知物質 5)	<LOD	0.1137	0.0568	0.0101	<LOD	<LOD	<LOD
19 (NTX)	0.0497	0.2489	0.0835	0.0320	<LOD	<LOD	<LOD
その他	0.1348	0.0777	0.0071	0.0265	0.0203	<LOD	0.0105
単一成分の最大量	0.0727	0.0471	0.0071	0.0111	0.0203	<LOD	0.0105
分解物の数	5	3	1	3	1	0	1
HPLC 条件 2 (上述 HPLC 条件 1 の 1 + 2 + 3 画分を再分析した結果)							
10 (DPSO)	---	0.1479	0.1752	0.1537	0.1555	0.0700	0.0402
11 (未知物質 8)	---	0.1125	0.0286	0.0376	0.0193	0.0091	<LOD
12 (MASO)	---	0.2980	0.3758	0.3355	0.2300	0.0724	0.0255

a) 複数の高極性代謝物の合計。これら代謝物はその後 DPSO、未知物質 8 および MASO を特定できる HPLC 条件 2 で分離、定量した。

2 点の平均、---: 分析せず

LOD: 検出限界、LOD レベル: 0.0127~0.0550 mg eq./kg

① カルタップ

カルタップは速やかに消失し、施用後 7 日以内に検出限界未満となった。

② 主要代謝分解物

HPLC 分析の結果、7 種類以上の放射性代謝分解物が検出され、NTX、MADT、DPSO および MASO が同定された。同定された代謝分解物を図 4 にまとめる。

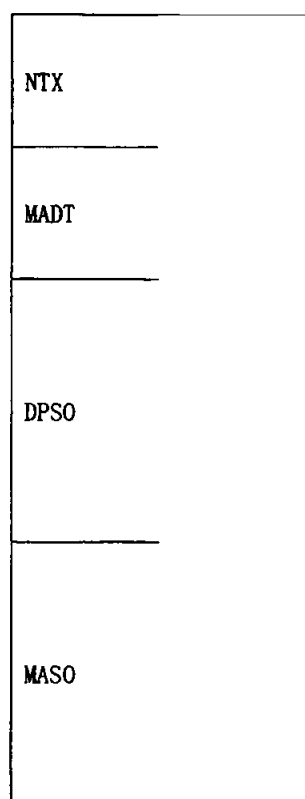


図 4 代謝分解物の化学構造式

主要代謝分解物である MASO は、施用 14 日後に施用量の約 11% に達し、施用 182 日後には施用量の約 0.8% まで減少した。

DPSO は施用 14 日後に最大（施用量の約 5%）となり、施用 182 日後には施用量の約 1.2% まで減少した。

NTX と MADT は同様の挙動を示し、いずれも施用 7 日後に最大（それぞれ施用量の約 7% および 5%）となり、施用 56 日以降は検出限界未満となった。

未同定を含め、施用量の 10%を超えて検出されたのは MASO のみであり、その他の代謝分解物の生成量は最大で施用量の 6%程度であった。

4) 抽出後の土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け

119 日後試料について腐植抽出法により抽出残渣中の放射能を抽出し、特徴付けを行った。結果を表 4 に示す。

表 4 土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け

フラクション	施用後の日数	
	119	
	施用量%	抽出残渣中放射能%
抽出後残渣	41.68	100.00
NaOH 抽出液	24.27	58.18
フルボ酸画分	11.94	28.67
腐植酸画分	12.33	29.51
精製腐植酸	9.68	23.15
溶媒洗浄液	2.64	6.36
ヒューミン画分	11.95	28.65
総放射能回収	36.22	86.83

腐植酸画分 = NaOH 抽出液 - フルボ酸画分

精製腐植酸 = 腐植酸画分 - 溶媒洗浄液

総放射能回収 = NaOH 抽出液 + ヒューミン画分

抽出残渣中放射能の約 29 および 30%が、フルボ酸および腐植酸画分にそれぞれ分布しており、土壌有機物に結合していることが推定された。また約 29%はヒューミン画分に分布しており、土壌有機物に強く結合ないし取り込まれていることを示していた。

5) 滅菌土壌

オートクレーブ滅菌した土壌においては、非滅菌土壌と異なり、NTX が主要分解物として蓄積し、施用 70 日後においても施用量の約 12%が残存していた。また、有意な放射性二酸化炭素の発生はみられなかった。このことから、非滅菌土壌では微生物活性により NTX が速やかに分解され、最終的に無機化されたことが示唆された。

6) 分解速度

カルタップ：土壌中のカルタップは速やかに消失した。その 50%消失期間 (DT_{50}) は数日であり、90%消失期間 (DT_{90}) も 7 日以内と推定された。

MASO：施用 14 日後を 0 時点として 1 次反応式により算出した MASO の半減期 (50%消失期間) は、約 42 日であった。

7) 想定代謝経路

好気状態の畑地土壤に施用したカルタップは急速に加水分解され、カルバモイル基が脱離してジヒドロネライストキシシシンを経て NTX (ジスルフィド) に変換される。

この反応は滅菌土壤においても見られたことから、主に非生物的に進行すると推定された。NTX は土壤微生物の分解活性により、MADT (N-脱メチル体) あるいは DPSO (スルホン酸)、次いで MASO などの極性代謝分解物を経て CO₂ まで無機化される。また代謝分解物の一部は土壤有機物に結合するか、腐植成分に親和した形態となった。

カルタップの好氣的土壤における推定代謝経路を図 5 に示す。

図 5 好氣的土壤におけるカルタップの推定代謝経路

4. 水中動態に関する試験

(1) カルタップの加水分解動態試験

(資料 IV-1)

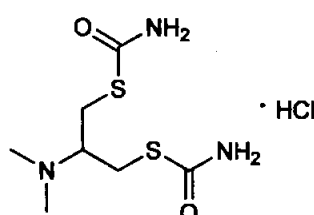
試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：



化学名：

放射化学的純度：

比放射能：

供試水溶液：以下の 2 種の水溶液を混合し、水を加えて 1000 mL とした pH 4、pH 7 および pH 9 緩衝液を用いた。なお、pH 9 緩衝液は 0.1 M 塩酸で pH 調整した。

- ・ pH 4：0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 18 mL、0.1 M クエン酸一カリウム水溶液 100 mL
- ・ pH 7：0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 59.3 mL、0.1 M リン酸一カリウム水溶液 100 mL
- ・ pH 9：0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 42.6 mL、0.1 M 塩化カリウム/ホウ酸水溶液 100 mL

調製した緩衝液は 0.22 μm のフィルターでろ過滅菌し、施用液添加前にろ過滅菌フィルター（孔径 0.20 μm）を通じた窒素ガスを 5 分間通気して、溶存酸素を除去した。

試験方法：

試験濃度；5.0 mg/L；カルタップの水溶解度（200 g/L）の 1/2 以下

試験溶液の調製；密栓付き滅菌ガラス容器（褐色）に各緩衝液 4.95 mL を入れ、ろ過滅菌した [1, 3-¹⁴C]カルタップ施用液（約 500 mg/L 0.1% 酢酸溶液）を 0.05 mL 添加して調製した。試験溶液中の酢酸濃度は 0.001% であった。

施用量（目標到達量）；

4.9648 mg/L (pH 4 試験溶液)

4.9360 mg/L (pH 7 および pH 9 試験溶液)

試験温度および期間；試験系を $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ の暗所に静置し、最長 30 日間インキュベートした。

試験期間中の試験溶液の温度 (温度測定用の試料でモニタリング)

・ pH 4 : $24.7\sim 25.6^{\circ}\text{C}$ (平均温度 : 24.9°C)

・ pH 7 : $24.6\sim 25.3^{\circ}\text{C}$ (平均温度 : 25.0°C)

・ pH 9 : $24.6\sim 25.1^{\circ}\text{C}$ (平均温度 : 24.9°C)

試料採取；各 pH の試験溶液につき、以下の 7 時点で、2 点の試料を全量採取した。

・ pH 4 : 0、1、2、4、7、14、30 日

・ pH 7 : 0、0.2、0.5、2 時間および 1、7、30 日

・ pH 9 : 0、0.2、0.5、2 時間および 1、7、30 日

予備試験から揮発性物質は発生しないと予測されたため、揮発性物質は捕集しなかった。

分析方法；

- 1) 滅菌性の確認：[1, 3- ^{14}C]カルタップ添加直後および 30 日後の試料を用いて微生物培養法により確認した。
- 2) pH の確認：[1, 3- ^{14}C]カルタップ添加直後および 30 日後に、各試験溶液の pH を測定した。
- 3) 試験溶液の分析：採取試料の一部を LSC および HPLC で分析した。

pH 7 および pH 9 試験溶液中ではカルタップの加水分解速度が極めて速く、試料採取時から分析までの間においても反応が進行することが予測されたため、採取時点で酢酸 0.005 mL を採取試料溶液に添加して pH を約 4 に調整し、分析した。(pH 7 試験区の 0、0.2、0.5 時間後および pH 9 試験区の 0、0.2 時間後の試料)

分析法の妥当性は添加回収試験 (カルタップの回収率、92.13~97.83%) および HPLC 回収試験 (回収率、93.1~99.3%) で確認した。

カルタップおよび分解物 (AMTC、NTX) の特徴づけと同定は、参照標品との HPLC

コクロマトグラフィー、HPLC/MS 分析および MS/MS 分析で行った。NTXO の特徴づけは、参照標品との HPLC コクロマトグラフィーにより行った。また BCAD は、代表的な分析試料を用いた HPLC/MS 分析のスペクトル (m/z 387 [M+H]⁺) および MS/MS 分析でのフラグメントイオン (m/z 116、150、195、342) より構造を推定した。

半減期の算定方法：カルタップの加水分解を 1 次反応と見なし、半減期 (DT_{50}) および 90% 消失時間 (DT_{90}) を以下の方法で計算した。

$$\ln (C/C_0) = -kt \quad \left(\begin{array}{l} C: \text{任意の時間 } t \text{ におけるカルタップの濃度} \\ C_0: \text{初濃度} \\ k: \text{減衰速度定数} \end{array} \right)$$

より、

$$DT_{50} = (\ln 2)/k$$

$$DT_{90} = (\ln 10)/k$$

なお、pH 9 緩衝液中ではカルタップは急激に減衰し、最初の分析時点 (0.2 時間後) までにほぼ消失したため、半減期および 90% 消失時間をいずれも 0.2 時間以内と表示した。

結 果：

1) 滅菌状態の維持

[1, 3-¹⁴C]カルタップ添加直後および 30 日後の試料を添加した培地上に微生物コロニーは検出されず、試験期間中の滅菌の維持が確認された。

2) pH の維持

[1, 3-¹⁴C]カルタップ添加直後および 30 日後の試料の pH を確認した。いずれの試験区においても添加直後の pH は目標値を達成していた。また、最終調査時点の pH は、初期時点の値から変動していなかった。

3) 分布 (物質収支)

各 pH 緩衝液の各採取時点における物質収支を表 1~3 に示す (pH 7 緩衝液の 30 日後は 1 点の測定値。それ以外は 2 点測定の平均値)。

表 1 pH 4 緩衝液の各採取時点における物質収支

インキュベーション期間	0 時間	1 日	2 日	4 日	7 日	14 日	30 日
施用量%	102.31	101.53	101.59	101.48	100.68	101.41	100.65
濃度 (mg eq./L)	5.0795	5.0407	5.0439	5.0383	4.9985	5.0350	4.9969

表 2 pH 7 緩衝液の各採取時点における物質収支

インキュベーション期間	0 時間	0.2 時間	0.5 時間	2 時間	1 日	7 日	30 日
施用量%	102.75	101.03	100.26	100.66	102.53	99.81	100.96
濃度 (mg eq. /L)	5.0717	4.9868	4.9489	4.9687	5.0609	4.9265	4.9833

表 3 pH 9 緩衝液の各採取時点における物質収支

インキュベーション期間	0 時間	0.2 時間	0.5 時間	2 時間	1 日	7 日	30 日
施用量%	98.44	100.34	97.72	99.30	100.19	99.79	98.07
濃度 (mg eq. /L)	4.8588	4.9527	4.8233	4.9014	4.9455	4.9258	4.8407

試験溶液中の物質収支は、pH 4 では施用量の 100.65~102.31%、pH 7 では 99.81~102.75%、pH 9 では 97.72~100.34%であった。

いずれの pH、いずれの時点においても施用放射能の全量が試験溶液中に回収され、器壁への吸着や揮発性物質の発生等による放射能の損失は、実験期間を通じて無いことが確認された。

4) 分解

カルタップ施用緩衝液において検出されたカルタップおよび分解物を図 1 にまとめる。

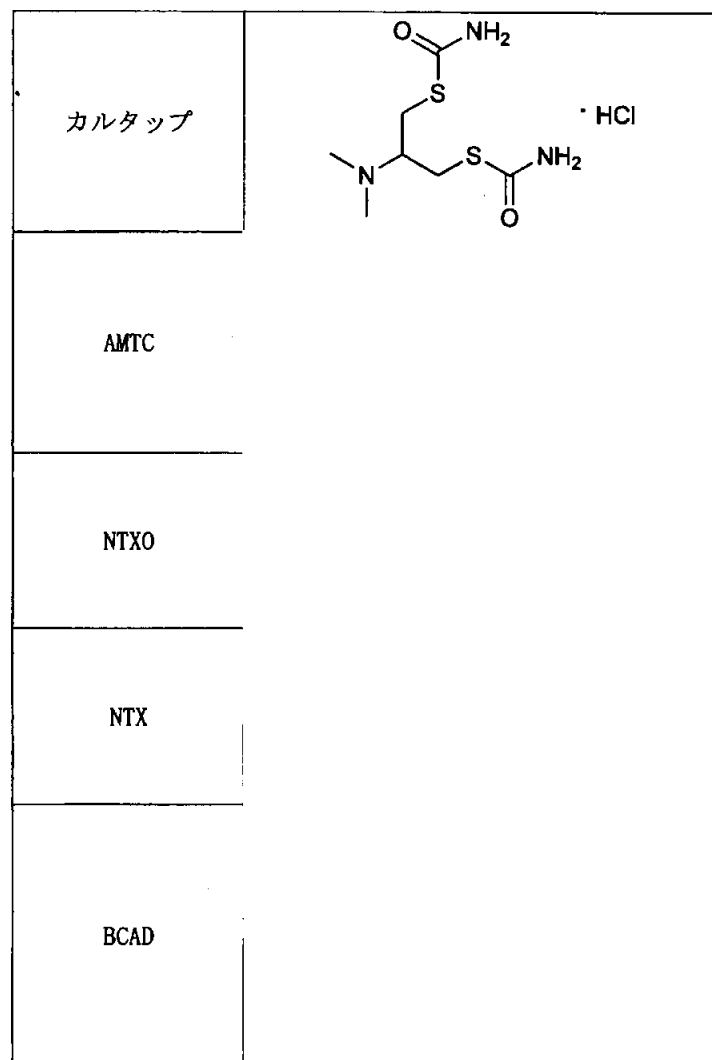


図1 カルタップおよび分解物の化学構造式

① pH 4 緩衝液における分解物

各採取時点におけるカルタップおよび分解物の分布を、施用量%および濃度 (mg eq./L) として表 4 に示す。

表 4 pH 4 緩衝液における分解物の分布

化合物	インキュベーション期間 (日)						
	0	1	2	4	7	14	30
	施用量%						
NTXO	0.51	0.38	0.64	0.79	1.56	3.03	3.72
カルタップ	97.83	68.76	48.43	23.62	8.23	0.87	<LOD
AMTC	0.66	19.61	31.90	38.36	29.45	9.05	0.64
NTX	0.18	4.04	10.71	27.89	50.63	78.11	87.77
BCAD	1.00	1.24	2.00	2.33	1.91	0.45	<LOD
その他	2.08	7.25	7.75	8.43	8.81	9.83	8.43
単一成分の最大量	0.39	0.94	1.11	1.11	1.51	2.63	3.12
分解物の数	11	19	17	18	20	19	11
総計	102.31	101.53	101.59	101.48	100.68	101.41	100.65
	濃度 (mg eq./L)						
NTXO	0.0254	0.0187	0.0318	0.0393	0.0773	0.1503	0.1846
カルタップ	4.8569	3.4138	2.4042	1.1729	0.4085	0.0434	<LOD
AMTC	0.0329	0.9737	1.5837	1.9044	1.4623	0.4494	0.0317
NTX	0.0089	0.2006	0.5318	1.3844	2.5137	3.8783	4.3576
BCAD	0.0497	0.0617	0.0994	0.1157	0.0948	0.0222	<LOD
その他	0.1030	0.3597	0.3846	0.4184	0.4375	0.4879	0.4187
単一成分の最大量	0.0193	0.0465	0.0551	0.0553	0.0751	0.1307	0.1551
総計	5.0795	5.0407	5.0439	5.0383	4.9985	5.0350	4.9969

2 点測定 of 平均値

LOD : 検出限界

LOD レベル: 0.06~0.12% (0.0032~0.0061 mg eq./L)

未変化の [1, 3-¹⁴C]カルタップの残留量は、0 時点での施用量の 97.83% から 7 日後に 8.23% に減少し、30 日後には検出限界未満となった。

主要分解物として AMTC および NTX が検出された。AMTC は 4 日後に施用量の 38.36% の最大生成量となり、その後は経時的に減少して 30 日後には 0.64% となった。一方、NTX の生成量は経時的に増加し、30 日後に施用量の 87.77% となった。微量分解物として NTXO と BCAD が検出され、その最大生成量はそれぞれ 3.72% (30 日後) および 2.33% (4 日後) であった。

その他 11~20 種類の微量な未同定分解物が検出されたが、その総量は最大で 9.83% (14 日後) であり、単一成分としての生成量は最大で 3.12% (30 日後) であった。

② pH 7 緩衝液における分解物

各採取時点におけるカルタップおよび分解物の分布を、施用量%および濃度 (mg eq./L) として表 5 に示す。

表 5 pH 7 緩衝液における分解物の分布

化合物	インキュベーション期間 (時間)						
	0	0.2	0.5	2	24 [1日後]	168 [7日後]	720 [30日後]
	施用量%						
NTXO	0.64	0.44	0.52	3.39	3.74	4.09	2.92
カルタップ	96.81	21.33	5.78	0.21	0.12	0.30	0.51
AMTC	0.43	45.29	19.02	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
NTX	0.37	26.89	69.18	92.32	93.27	84.59	79.27
BCAD	1.61	0.94	0.73	<LOD	0.12	<LOD	0.19
その他	2.73	5.94	4.92	4.54	5.15	10.83	18.07
単一成分の最大量	0.65	0.71	0.79	1.70	2.02	2.44	4.92
分解物の数	11	18	17	9	8	14	13
総計	102.75	101.03	100.26	100.66	102.53	99.81	100.96
	濃度 (mg eq./L)						
NTXO	0.0317	0.0217	0.0259	0.1672	0.1845	0.2020	0.1442
カルタップ	4.7783	1.0527	0.2855	0.0105	0.0061	0.0148	0.0250
AMTC	0.0210	2.2354	0.9386	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
NTX	0.0183	1.3274	3.4148	4.5568	4.6036	4.1752	3.9128
BCAD	0.0793	0.0466	0.0361	<LOD	0.0057	<LOD	0.0092
その他	0.1348	0.2933	0.2428	0.2239	0.2541	0.5345	0.8921
単一成分の最大量	0.0320	0.0351	0.0392	0.0840	0.0996	0.1203	0.2430
総計	5.0717	4.9868	4.9489	4.9687	5.0609	4.9265	4.9833

2 点測定 of 平均値 (30 日後試料を除く)

LOD : 検出限界

LOD レベル: 0.06~0.13% (0.0032~0.0066 mg eq./L)

未変化の [1, 3-¹⁴C]カルタップの残留量は、0 時点での施用量の 96.81% から 0.2 時間後には 21.33% へと急速に減少し、2 時間後には 0.21% とほぼ消失した。

主要分解物として AMTC および NTX が検出された。AMTC は 0.2 時間後に施用量の 45.29% の最大生成量となり、急速に減少して 2 時間後には検出限界未満となった。NTX の生成量は経時的に増加して 24 時間後には施用量の 93.27% に到達後、以降わずかに減少して 30 日後には 79.27% となった。微量分解物として NTXO と BCAD が検出され、その最大生成量はそれぞれ 4.09% (7 日後) および 1.61% (0 時間後) であった。

その他 8~18 種類の微量な未同定分解物が検出されたが、その総量は最大で 18.07% (30 日後) であり、単一成分としての生成量は最大で 4.92% (30 日後) であった。

③ pH 9 緩衝液における分解物

各採取時点におけるカルタップおよび分解物の分布を、施用量%および濃度 (mg eq./L) として表 6 に示す。

表 6 pH 9 緩衝液における分解物の分布

化合物	インキュベーション期間 (時間)						
	0	0.2	0.5	2	24 [1 日後]	168 [7 日後]	720 [30 日後]
	施用量%						
カルタップ	92.13	0.46	<LOD	<LOD	0.17	0.23	<LOD
NTX	0.33	84.07	91.84	93.65	94.32	85.48	84.01
その他	5.86	15.59	5.55	5.46	5.49	14.03	13.73
単一成分の最大量	1.30	7.51	1.28	1.32	1.24	7.42	7.37
分解物の数	15	13	12	13	12	15	10
総計	98.44	100.34	97.72	99.30	100.19	99.79	98.07
	濃度 (mg eq./L)						
カルタップ	4.5473	0.0226	<LOD	<LOD	0.0085	0.0114	<LOD
NTX	0.0162	4.1499	4.5333	4.6227	4.6556	4.2193	4.1469
その他	0.2895	0.7693	0.2737	0.2693	0.2709	0.6924	0.6779
単一成分の最大量	0.0641	0.3708	0.0631	0.0653	0.0611	0.3661	0.3637
総計	4.8588	4.9527	4.8233	4.9014	4.9455	4.9258	4.8407

2 点測定の平均値

LOD : 検出限界

LOD レベル: 0.07~0.22% (0.0035~0.0106 mg eq./L)

未変化の[1, 3-¹⁴C]カルタップの残留量は急速に減少し、0 時点での施用量の 92.13% から 0.2 時間後には 0.46% とほぼ消失した。[1, 3-¹⁴C]カルタップの半減期は 0.2 時間以内と推定された。

主要分解物として NTX のみが検出された。NTX は経時的に増加し、24 時間後には施用量の 94.32% に到達し、その後 30 日後までわずかに減少して 84.01% となった。

その他 10~15 種類の微量な未同定分解物が検出されたが、その総量は最大で 15.59% (0.2 時間後) であり、単一成分としての生成量は最大で 7.51% (0.2 時間後) であった。

5) 分解速度

カルタップは、いずれの試験 pH 条件下でも速やかに加水分解された。その分解速度は pH 依存的であり、酸性条件から塩基性域へと pH が上昇するのに従い分解速度は急激に加速した。

カルタップ処理緩衝液における DT_{50} 、 DT_{90} および分解速度定数を表 7 に示す。

表 7 加水分解運命試験におけるキネティックパラメーター (25°C)

緩衝液 pH	DT_{50} (時間)	DT_{90} (時間)	分解速度定数 (時間 ⁻¹)
4	47.0	156.1	1.475×10^{-2}
7	0.13	0.42	5.534
9	<0.2	<0.2	N. A.

N. A. : 適用せず

6) 推定分解経路

加水分解反応の主要分解物として AMTC および NTX が検出されたが、このうち AMTC の生成は一過性であり、最終的には NTX が試験溶液中の最大成分となった。pH 9 では AMTC が検出されなかったが、これは同 pH 条件下ではカルタップから AMTC を経由して NTX へと加水分解する反応が極めて容易に進行するため、中間分解物として AMTC が検出されなかったものと考えられた。

以上の結果より、カルタップの主分解経路はいずれの pH においても、チオカーバメートエステル部分の S-C 結合の加水分解により AMTC を生成した後、もう一方の S-C 結合の分解によるジチオール型中間分解物を遷移的に経由後、直ちに分子内でジスルフィド (S-S) 結合を形成して最終的に NTX を生成する経路であると推定された。また、AMTC が 2 分子間でジスルフィド (S-S) 結合を形成して生成された BCAD および NTX の酸化体である NTXO も検出されたが、BCAD は AMTC と同様に消長していることから、AMTC に再分解するなどすばやく分解すると考えられた。

カルタップの推定加水分解経路を図 2 に示す。

図2 カルタップの推定分解経路 (pH 4、pH 7 および pH 9 滅菌緩衝液中)

以上の結果から、加水分解はカルタップの環境中での主要な分解要因の一つになり得ると考えられる。

(2) カルタップの水中光分解動態試験

(資料 IV-2)

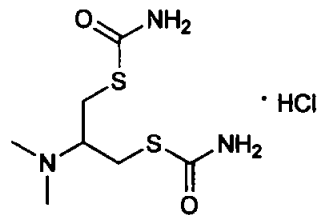
試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：[1, 3-¹⁴C]カルタップ

構造式：



化学名：

放射化学的純度：

比放射能：

供試水：

供試水	pH 4 緩衝液	河川水 (自然水)
採取場所	—	小貝川 (茨城県つくばみらい市谷和原大橋付近)
採取年月日	—	2006 年 8 月 23 日
緩衝液調製法	0.1 M NaOH 水溶液 36 mL + 0.1 M クエン酸-カリウム水溶液 200 mL / 2000 mL Milli-Q 水	—
選定根拠	加水分解運命試験において [1, 3- ¹⁴ C]カルタップが、pH 4 緩衝液中で比較的安定であったため選択	カルタップが畑および水田用の殺虫剤であるため、農業地帯の河川水を選択
採水後の供試水の処理	—	採水日にグラスファイバーろ紙でろ過し、使用時まで冷蔵保管 (約 4℃)
滅菌の有無	有 (孔径 0.22 μm のフィルターによりろ過滅菌、滅菌後の供試水は冷蔵保存 (約 4℃) し、14 日以内に使用)	
pH	4.0	8.0
電気伝導率 (mS/m)	112.0	19.7
全蒸発残留物量 (mg/L)	—	162
懸濁物質 (mg/L)	—	< 2
溶存酸素量 (mg/L)	7.8	9.4

光照射装置： WXP-300S-65 型キセノン光照射装置

光源； 6.5 kW キセノンショートアークランプ

フィルターの有無；有（2枚のフィルターで 290 nm 以下の紫外線および 800 nm 以上の赤外線をカット）

光放射強度；設定値およびモニタリング結果を下表に示す。

波長	強度	
	設定値	実測値
290～800 nm	120～200 W/m ²	188.5 W/m ²
290～400 nm	15～25 W/m ²	21.9 W/m ²
300～400 nm	—	21.8 W/m ²
300～400 nm における 1 日当りの積算放射照度	—	1.88 MJ/m ² /日

試験方法：

各供試水の光照射区試験系および暗所対照区試験系の調製；

	光照射区試験系	暗所対照区試験系
反応容器	5 mL 容の石英試験管（直径約 15 mm＝光行路長）、密栓付き	褐色珪酸ガラス製試験管密栓付き
[1, 3- ¹⁴ C]カルタップの施用液調製	約 500 mg/L 0.1%酢酸溶液（実測値、493.8684 μg/mL）（[1, 3- ¹⁴ C]カルタップの入手原液（0.1%酢酸溶液）を 0.1%酢酸で希釈して調製後、孔径 0.22 μm のフィルターでろ過滅菌）	
試験溶液の調製	反応容器に各供試水 4.95 mL を分取し、施用液 0.05 mL 施用して調製（試験溶液中の酢酸濃度は 0.001%）	
試験濃度	約 5.0 mg/L（カルタップの水溶解度（200 g/L）の 1/2 以下）	
施用量（目標到達量）	4.9599～5.0592 mg eq./L	
光照射またはインキュベーション装置への設置	キセノン光照射装置の光源に対し同心円上の位置に静置	恒温室内に静置
試験温度および制御方法	25±2℃ 試験容器を設置した室内の温度を調整することにより制御	
試験期間	pH 4 緩衝液試験区；72 時間（3 日間） 河川水試験区；48 時間（2 日間）	

揮発性物質の捕集装置の有無	反応期間 24 時間まで；無、試験容器は密栓
	反応期間 24 時間以降；有、 CO ₂ フリーの加湿ろ過滅菌空気を反応容器に約 1 mL/min で通気し、反応容器の後段にろ過滅菌フィルター、 α -ブタノールトラップ（アセトン/ドライアイス冷却、1 本、10 mL）および 1 M 水酸化ナトリウムトラップ（2 本、各 10 mL）を配置して捕集

試料採取；下表に示す 7 時点で、各試験区について 2 連の試料の全量および揮発性物質捕集液（適用のある場合）を採取した。

供試水	試験区	試料採取時点
pH 4 緩衝液	照射区	0、2、6、12、24、48、72 時間
	暗所対照区	0、2、6、12、24、48、72 時間
河川水	照射区	0、0.2、0.5、1、6、24、48 時間
	暗所対照区	0、0.2、0.5、1、6、24、48 時間

第 0 時間の試料採取は、試料調製直後の（初期）時点のことである。

① 反応終了後における揮発性物質の捕集操作

反応終了後、試験溶液の pH を塩酸で約 2 とし、窒素ガスでバブリングをすることにより、溶液中の溶存二酸化炭素を揮発促進し、捕集液で追加捕集した。また 24 時間未満の採取時点での採取試験試料には、反応終了時に 1 M 水酸化ナトリウム捕集液（2 本、各 10 mL）を新たに接続後、同様の操作を行った。但し、pH 4 緩衝液試験区の反応 24 時間未満の試料については、塩酸を添加する操作は行わなかった。

② 試料採取後の反応容器および通気流路の洗浄

試験溶液を試験管に移したあとの反応容器および試験容器から α -ブタノール捕集液までの流路をアセトン、1 M 塩酸、0.5 M 硫酸および 1 M 水酸化ナトリウムで順次洗浄し、各洗浄液について全量 LSC 測定した。

分析法；

1) 放射性成分の分析

溶液中の放射能は直接 LSC により測定した。また施用液の放射化学的純度および試験溶液中の放射性成分の測定は HPLC を用いて定量および確認した。HPLC を用いた定量で分離が不十分な放射性成分については、その HPLC 画分を分取後 TLC 分析して分

離、定量した。

2) 放射性成分の同定/特徴付け

カルタップおよび AMTC、NTX および NTXO の特徴づけと同定は、参照化合物との HPLC コクロマトグラフィー、HPLC/MS および MS/MS 分析で行った。参照化合物がない Cartap-DM (Reg. #16) の場合には、HPLC/MS、MS/MS および MS/MS/MS スペクトルのフラグメントパターンの解析を行い、その結果、HPLC/MS 分析で m/z 224 に $[M+H]^+$ に分子イオンが検出され、 m/z 150 フラグメントイオンから m/z 116 フラグメントイオンが生成するカルタップと同一のフラグメンテーションを示したことから減少する分子量から、カルタップのジメチルアミノ基の脱メチル体と推定した。

3) 放射性二酸化炭素の同定

1 M 水酸化ナトリウム捕集液中の放射性二酸化炭素の同定は、バリウム沈殿法により、 $Ba^{14}CO_3$ 沈殿後の上澄液および沈殿中の放射能をそれぞれ LSC および酸化燃焼/LSC 分析により測定して行った。

4) 滅菌維持の確認

微生物培養法により、添加直後および最終採取時点で確認し、試験中滅菌状態が維持されていたことが確認された。

半減期の算定方法：カルタップの分解反応を 1 次反応と見なし、半減期 (DT_{50}) および 90% 消失時間 (DT_{90}) を以下の方法で計算した。

$$\ln (C/C_0) = -kt \quad \left(\begin{array}{l} C: \text{任意の時間 } t \text{ におけるカルタップの濃度} \\ C_0: \text{初濃度} \\ k: \text{減衰速度定数} \end{array} \right)$$

より、

$$DT_{50} = (\ln 2)/k$$

$$DT_{90} = (\ln 10)/k$$

結果：

1) 試験温度実測値

試験温度モニタリング結果を表 1 に示す。

表1 実験期間を通じた試験温度モニタリング結果

試験水	試験区	実測温度 (°C)
pH 4 緩衝液	照射区	23.8~26.1 (平均温度: 25.0)
	暗所対照区	23.4~25.1 (平均温度: 24.9)
河川水	照射区	24.1~25.9 (平均温度: 25.1)
	暗所対照区	24.8~25.1 (平均温度: 25.0)

試験温度は許容範囲内 ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) であった。

2) 物質収支

各試験区における物質収支を表2~5に示す。

表2および4から、各試験区の物質収支は、pH 4 緩衝液/暗所対照区、pH 4 緩衝液/照射区、河川水/暗所対照区および河川水/照射区で、それぞれ施用量 (目標到達量) の100.97~103.09%、93.98~103.28%、100.79~102.43%および93.71~100.43%であった。

表2 pH 4 緩衝液における物質収支 (施用放射能%)

試験区		反応期間 (時間)						
		0	2	6	12	24	48	72
照射区	試験溶液	102.00	99.61	99.63	103.02	99.73	97.08	88.99
	BuOH 捕集液	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0.08	0.39	1.03
	NaOH 捕集液	N.A.	<LOD	<LOD	<LOD	0.26	0.94	3.58
	反応容器洗浄液	N.A.	0.28	0.25	0.26	0.13	0.12	0.38
	接続チューブ 洗浄液	N.A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.00
	総計	102.00	99.90	99.88	103.28	100.20	98.53	93.98
暗所 対照区	試験溶液	102.44	100.72	100.81	102.33	102.02	102.99	102.63
	BuOH 捕集液	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	<LOD	<LOD	<LOD
	NaOH 捕集液	N.A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	反応容器洗浄液	N.A.	0.26	0.20	0.16	0.05	0.10	0.09
	総計	102.44	100.97	101.01	102.49	102.07	103.09	102.73

表中数値は2連測定の平均値。N.A. : 分析せず。

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.00~0.11%。

表3 pH 4緩衝液における物質収支 (mg eq./L)

試験区		反応期間 (時間)						
		0	2	6	12	24	48	72
照射区	試験溶液	5.0375	4.9196	4.9205	5.0878	4.9255	4.7944	4.3951
	BuOH 捕集液	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	0.0041	0.0191	0.0507
	NaOH 捕集液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	0.0127	0.0466	0.1766
	反応容器洗浄液	N. A.	0.0139	0.0123	0.0129	0.0064	0.0060	0.0187
	接続チューブ 洗浄液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0002
	総計	5.0375	4.9335	4.9328	5.1006	4.9487	4.8661	4.6413
暗所 対照区	試験溶液	5.0592	4.9741	4.9787	5.0539	5.0384	5.0865	5.0688
	BuOH 捕集液	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD
	NaOH 捕集液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	反応容器洗浄液	N. A.	0.0127	0.0097	0.0077	0.0025	0.0048	0.0046
	総計	5.0592	4.9868	4.9884	5.0616	5.0410	5.0913	5.0734

表中数値は2連測定の平均値。N. A. : 分析せず。

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.0000~0.0054 mg eq./L。

表4 河川水における物質収支 (施用放射能%)

試験区		反応期間 (時間)						
		0	0.2	0.5	1	6	24	48
照射区	試験溶液	100.43	99.93	99.91	99.03	94.54	87.57	85.69
	BuOH 捕集液	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	1.41	2.22
	NaOH 捕集液	N. A.	<LOD	<LOD	0.10	0.79	3.31	5.33
	反応容器洗浄液	N. A.	0.11	0.29	0.62	2.96	1.41	1.04
	接続チューブ 洗浄液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.02	0.01
	総計	100.43	100.04	100.20	99.75	98.30	93.71	94.30
暗所 対照区	試験溶液	100.79	100.81	101.78	102.35	100.91	101.41	101.58
	BuOH 捕集液	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	<LOD	<LOD
	NaOH 捕集液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	反応容器洗浄液	N. A.	0.14	0.16	0.08	0.15	0.13	0.19
	総計	100.79	100.95	101.94	102.43	101.06	101.54	101.78

表中数値は2連測定の平均値。N. A. : 分析せず。

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.00~0.11%。

表 5 河川水における物質収支 (mg eq. /L)

試験区		反応期間 (時間)						
		0	0.2	0.5	1	6	24	48
照射区	試験溶液	4.9599	4.9352	4.9345	4.8908	4.6690	4.3247	4.2321
	BuOH 捕集液	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	0.0695	0.1098
	NaOH 捕集液	N. A.	<LOD	<LOD	0.0049	0.0393	0.1635	0.2633
	反応容器洗浄液	N. A.	0.0056	0.0141	0.0305	0.1464	0.0694	0.0514
	接続チューブ 洗浄液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0009	0.0007
	総計	4.9599	4.9408	4.9486	4.9262	4.8547	4.6280	4.6574
暗所 対照区	試験溶液	4.9779	4.9787	5.0267	5.0548	4.9836	5.0083	5.0169
	BuOH 捕集液	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	N. A.	<LOD	<LOD
	NaOH 捕集液	N. A.	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	反応容器洗浄液	N. A.	0.0070	0.0078	0.0038	0.0073	0.0066	0.0095
	総計	4.9779	4.9858	5.0346	5.0586	4.9910	5.0149	5.0264

表中数値は 2 連測定の平均値。N. A. : 分析せず。

LOD : 検出限界、LOD レベル : 0.0000~0.0055 mg eq. /L。

3) 放射能の分布 (表 2 および 4)

① 暗所対照区

pH 4 緩衝液および河川水試験区共に、試験溶液中に施用放射能のほぼ全量が回収され、試験容器内への吸着は 0.3% 以下であった。揮発性物質は検出されなかった。

② pH 4 緩衝液 / 照射区

試験溶液中の放射能は照射 48 時間後までは 97% 以上であり、照射 72 時間後には 88.99% に減少した。一方、*n*-ブタノールおよび 1 M 水酸化ナトリウムの各捕集液中の放射能は、照射 48 時間後までの 1% 以下から、照射 72 時間後にはそれぞれ 1.03% および 3.58% に増加した。また、洗浄液中の放射能は、容器洗浄液で最大 0.38% であり、通気流路の洗浄液ではほとんど回収されなかった。

③ 河川水 / 照射区

試験溶液中の放射能は照射 6 時間後までは 94% 以上であったが、照射 48 時間後には 85.69% に減少した。一方、*n*-ブタノールおよび 1 M 水酸化ナトリウムの各捕集液中の放射能は、照射 6 時間後までの 1% 以下から、照射 48 時間後にはそれぞれ 2.22% および 5.33% に増加した。また、洗浄液中の放射能は、容器洗浄液では照射 6 時間後で最大 2.96%、照射 48 時間後で 1.04% であったが、通気流路の洗浄液ではほとんど回収されなかった。

④ 1 M 水酸化ナトリウム捕集液中の放射能の確認

照射区の両試験系における 1 M 水酸化ナトリウム捕集液中の放射能は全て CO₂ であっ

た。

4) 試験溶液中の放射性成分の分布

試験溶液中の放射性成分をHPLC分析および一部のHPLC画分についてはTLC分析して、定量した結果を各試験区について表6~9に纏める。

① pH 4 緩衝液/暗所対照区 (表6)

未変化の[1,3-¹⁴C]カルタップは、経時的に減少し、0時点での施用量の96.61%から72時間後には32.86%となった。

主要分解物としてAMTCおよびNTXが検出された。AMTCおよびNTXの生成量は経時的に増加し、72時間後にはそれぞれ施用量の38.56および20.26%となった。その他の微量分解物としてNTXOが検出され、その最大量は1.16%であった。

未同定分解成分が、72時間後の試料で最大10種類、総量として施用量の9.49%が検出された。しかしながら、未同定分解成分のうち単一成分の実験期間における生成量は最大でも4.74%であった。

表6 pH 4 緩衝液中における放射性成分の分布 (暗所対照区)

化合物	反応期間 (時間)						
	0	2	6	12	24	48	72
	施用量%						
カルタップ	96.61	91.43	85.43	79.52	67.77	48.40	32.86
NTXO	0.88	0.95	1.16	1.04	0.95	0.67	1.02
AMTC	1.13	4.19	8.39	14.74	24.57	35.43	38.56
NTX	<LOD	0.70	1.29	2.10	3.97	10.68	20.26
その他	3.61	2.72	4.00	4.23	4.49	7.49	9.49
単一成分の最大量	1.78	1.15	1.64	1.38	2.63	4.01	4.74
分解物の数	5	4	5	5	4	7	10
総計	102.44	100.72	100.81	102.33	102.02	102.99	102.63
	濃度 (mg eq./L)						
カルタップ	4.7712	4.5154	4.2190	3.9274	3.3467	2.3906	1.6230
NTXO	0.0436	0.0467	0.0570	0.0513	0.0468	0.0333	0.0502
AMTC	0.0557	0.2070	0.4145	0.7278	1.2132	1.7499	1.9045
NTX	<LOD	0.0344	0.0639	0.1036	0.1961	0.5273	1.0003
その他	0.1784	0.1342	0.1977	0.2087	0.2220	0.3700	0.4686
単一成分の最大量	0.0878	0.0569	0.0812	0.0681	0.1298	0.1982	0.2342
総計	5.0592	4.9741	4.9787	5.0539	5.0384	5.0865	5.0688

表中数値は2点測定の平均値、LOD: 検出限界、
LODレベル: 0.17~0.42% (0.0082~0.0207 mg eq./L)

② 河川水/暗所対照区 (表 7)

未変化の[1,3-¹⁴C]カルタップは、0 時点での施用量の 95.15%から 0.2 時間後には 18.12%まで急速に減少し、1 時間後には 0.58%とほぼ消失した。

主要分解物としてAMTCおよびNTXが検出された。AMTCは0.2時間後に施用量の45.09%に到達後、急速に減少して6時間後には2.38%であった。NTXの生成量は経時的に増加して6時間後には施用量の92.86%に達し、以降わずかに減少して48時間後には89.42%となった。その他の微量分解物としてNTXOが検出され、その最大生成量は4.62%であった。

未同定分解成分が、48時間後の試料で3種類、総量として施用量の2.66%が検出された。しかしながら、未同定分解成分のうち単一成分の実験期間における生成量は最大でも2.83%であった。

表 7 河川水中における放射性成分の分布 (暗所対照区)

化合物	反応期間 (時間)						
	0	0.2	0.5	1	6	24	48
	施用量%						
カルタップ	95.15	18.12	2.00	0.58	0.44	0.75	0.85
NTXO	0.64	0.85	1.16	1.95	3.35	3.87	4.62
AMTC	0.89	45.09	19.77	4.15	2.38	2.21	3.63
NTX	<LOD	31.84	73.27	92.36	92.86	91.71	89.42
その他	3.78	3.97	3.92	2.53	0.43	2.69	2.66
単一成分の最大量	2.08	2.83	2.59	0.68	0.43	1.02	1.26
分解物の数	4	3	4	5	1	4	3
総計	100.79	100.81	101.78	102.35	100.91	101.41	101.58
	濃度 (mg eq./L)						
カルタップ	4.6989	0.8951	0.0988	0.0288	0.0219	0.0373	0.0422
NTXO	0.0316	0.0418	0.0572	0.0962	0.1656	0.1912	0.2283
AMTC	0.0438	2.2267	0.9766	0.2050	0.1174	0.1091	0.1791
NTX	<LOD	1.5724	3.6185	4.5612	4.5862	4.5292	4.4162
その他	0.1868	0.1962	0.1938	0.1250	0.0214	0.1328	0.1313
単一成分の最大量	0.1025	0.1400	0.1278	0.0334	0.0214	0.0504	0.0621
総計	4.9779	4.9787	5.0267	5.0548	4.9836	5.0083	5.0169

表中数値は2点測定の平均値、LOD: 検出限界、
LOD レベル: 0.18~0.44% (0.0087~0.0216 mg eq./L)

③ pH 4 緩衝液/照射区 (表 8)

未変化の[1,3-¹⁴C]カルタップは、経時的に減少し、0 時点での施用量の 97.06%から 72 時間後には 7.59%まで減少した。

主要分解物として Cartap-DM (Reg. #16) が検出された。Cartap-DM は 24 時間後に施用量の 21.44% に達し、その後は経時的に減少して、72 時間後に施用量の 8.75% となった。その他の微量分解物として NTXO と AMTC が検出され、その最大生成量はそれぞれ 4.02% と 5.56% であった。

未同定分解成分が、72 時間後の試料で 19 種類、総量として施用量の 67.42% が検出された。しかしながら、未同定分解成分のうち単一成分の実験期間における生成量は最大でも 8.60% であった。

表 8 pH 4 緩衝液中における放射性成分の分布 (照射区)

化合物	反応期間 (時間)						
	0	2	6	12	24	48	72
	施用量%						
カルタップ	97.06	89.83	79.96	67.84	45.11	20.85	7.59
Cartap-DM	0.57	2.48	6.22	13.09	21.44	20.34	8.75
NTXO	1.13	1.12	1.17	2.12	2.60	4.02	2.69
AMTC	0.97	3.13	5.56	5.32	3.32	3.11	1.94
その他	2.05	3.05	5.19	14.09	27.12	48.50	67.42
単一成分の最大量	1.56	1.45	1.71	2.28	4.92	8.60	7.04*
分解物の数	2	4	6	19	17	21	19*
総計	102.00	99.61	99.63	103.02	99.73	97.08	88.99
	濃度 (mg eq./L)						
カルタップ	4.7935	4.4364	3.9489	3.3506	2.2279	1.0295	0.3748
Cartap-DM	0.0282	0.1223	0.3070	0.6462	1.0590	1.0043	0.4322
NTXO	0.0556	0.0556	0.0580	0.1046	0.1282	0.1984	0.1329
AMTC	0.0478	0.1547	0.2748	0.2626	0.1638	0.1535	0.0957
その他	0.1013	0.1507	0.2564	0.6958	1.3392	2.3954	3.3295
単一成分の最大量	0.0770	0.0715	0.0845	0.1127	0.2428	0.4247	0.3477*
総計	5.0375	4.9196	4.9205	5.0878	4.9255	4.7944	4.3951

表中数値は 2 点測定 の 平均値、LOD : 検出限界、
LOD レベル: 0.18~0.49% (0.0090~0.0243 mg eq./L)

*: HPLC および TLC 分析の結果

④ 河川水/照射区 (表 9)

未変化の [1,3-¹⁴C]カルタップは、経時的に減少し、0 時点での施用量の 94.28% から 0.2 時間後には 9.63% まで減少した。

主要分解物として AMTC および NTX が検出された。AMTC は 0.2 時間後に施用量の 38.61%

に到達後、急速に減少して1時間後には3.17%となり、その後ほぼ消失した。NTXは0.5時間後に施用量の63.19%に到達後、急速に減少して6時間後に3.68%となり、その後ほぼ消失した。その他の微量分解物としてNTXOが検出され、その最大生成量は7.28%であった。

未同定分解成分が、48時間後の試料で28種類、総量として施用量の73.06%が検出された。しかしながら、未同定分解成分のうち単一成分の実験期間における生成量は最大でも9.00%であった。

表9 河川水中における放射性成分の分布（照射区）

化合物	反応期間（時間）						
	0	0.2	0.5	1	6	24	48
	施用量%						
カルタップ	94.28	9.63	2.06	0.76	2.63	3.01	3.66
NTXO	1.04	1.26	3.00	3.49	7.28	4.74	4.20
AMTC	1.57	38.61	16.37	3.17	4.57	3.05	1.85
NTX	<LOD	40.98	63.19	51.15	3.68	1.77	0.86
その他	2.67	8.57	13.04	36.85	75.13	72.61	73.06
単一成分の最大量	1.92	3.95	3.36	3.68	5.44	8.18*	9.00*
分解物の数	3	9	12	34	46	38*	28*
総計	100.43	99.93	99.91	99.03	94.54	87.57	85.69
	濃度（mg eq./L）						
カルタップ	4.6564	0.4754	0.1015	0.0376	0.1297	0.1486	0.1809
NTXO	0.0514	0.0621	0.1481	0.1722	0.3597	0.2341	0.2075
AMTC	0.0775	1.9068	0.8084	0.1564	0.2255	0.1504	0.0915
NTX	<LOD	2.0237	3.1210	2.5259	0.1816	0.0875	0.0424
その他	0.1321	0.4232	0.6439	1.8197	3.7103	3.5859	3.6083
単一成分の最大量	0.0947	0.1951	0.1661	0.1816	0.2689	0.4041 *	0.4445 *
総計	4.9599	4.9352	4.9345	4.8908	4.6690	4.3247	4.2321

表中数値は2点測定の平均値、LOD：検出限界、
LODレベル：0.17～0.53%（0.0085～0.0264 mg eq./L）
*：HPLC および TLC 分析の結果

5) 半減期

カルタップの人工光下、各試験区におけるDT₅₀、DT₉₀および分解速度定数を表10に示す。

表 10 人工光を用いた光分解試験におけるキネティックパラメーター (25°C)

試験水	試験区	DT ₅₀ (時間)	DT ₉₀ (時間)	速度定数 (/時間)	光分解のみの速度定数(/時間)
pH 4 緩衝液	照射区	19.97	66.35	3.470×10^{-2}	2.018×10^{-2}
	暗所対照区	47.71	158.48	1.453×10^{-2}	
河川水	照射区	0.06	0.20	1.141×10	3.714
	暗所対照区	0.09	0.30	7.694	

① pH 4 緩衝液

カルタップの半減期は、暗条件下で 47.71 時間、キセノン光照射下で 19.97 時間であった。従ってカルタップが、直接的な光分解により分解することが明らかであった。

② 河川水

カルタップの半減期は暗条件下で 0.09 時間、キセノン光照射下で 0.06 時間であった。カルタップの急速な分解のため、自然水における間接的光分解の寄与について明確に評価出来なかった。しかしながら、照射条件下の光分解速度定数から暗条件下の加水分解速度定数を差し引いて求めた光分解のみの速度定数を用いて半減期を算出したところ、pH 4 緩衝液および河川水の半減期はそれぞれ 34.36 および 0.19 時間であり、間接的光分解の寄与が示唆された。

③ 東京、春の自然太陽光下における推定半減期

東京、春の推定半減期は、光分解のみの速度定数を用いて東京、春の自然太陽光下における光分解のみの速度定数を求め、これに暗所対照区における加水分解速度を考慮して自然太陽光下における分解速度定数を算出し、推定した。結果を表 11 に示す。

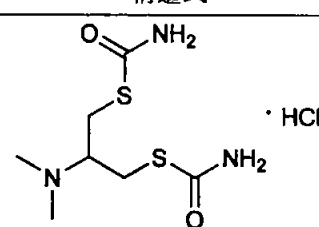
pH 4 緩衝液および河川水の東京、春における推定光分解半減期はそれぞれ 31.91 時間および 0.08 時間であった。

表 11 東京、春における推定光分解半減期

試験水	人工光照射	東京、春における推定値				DT ₅₀ (時間)	DT ₉₀ (時間)
	速度定数 (/時間)	速度定数 (/時間)					
	光分解のみの 速度定数	光分解のみ の速度定数	加水分解速度 定数 (暗所)	総分解 速度定数			
pH 4 緩衝液	2.018×10^{-2}	7.194×10^{-3}	1.453×10^{-2}	2.172×10^{-2}	31.91	106.00	
河川水	3.714	1.325	7.694	9.019	0.08	0.26	

6) 放射性成分の同定および/または特徴付け

同定および／または特徴付けされた放射性成分を下表に纏める。

化合物	構造式	化合物	構造式
カルタップ		NTXO	
AMTC		Cartap-DM (Reg. #16)	
NTX			

7) 推定水中光分解経路

カルタップの推定水中光分解経路を図1に示し、以下に纏める。

① pH 4 緩衝液

pH 4 緩衝液中の主要分解物は Cartap-DM であった。従ってカルタップの主分解経路は、ジメチルアミノ基の脱メチル化反応により Cartap-DM を生成した後、複数の高極性分解物へと分解され、その一部は更に二酸化炭素へと分解される経路と考えられた。その他の微量成分として NTXO および AMTC も生成したが、最大で約 6% であった。暗所対照区における主要加水分解物である AMTC の検出量はわずかであり、NTX は検出されなかった。従ってこれら両化合物も高極性分解物へと容易に光分解されると考えられた。

② 河川水

河川水中の主要分解物は AMTC および NTX であり、Cartap-DM は検出されなかった。従ってカルタップの主分解経路は、急速な加水分解反応により AMTC を経て NTX を生成した後、これらが光分解により複数の微量な高極性分解物へと分解され、一部は更に二酸化炭素へと分解される経路と考えられた。その他の微量成分として NTXO も生成したが、最大で約 7% であった。

以上から、カルタップの光照射下における水中での分解は、光分解反応と加水分解反

応との複合的な反応であり、加水分解的に比較的安定な pH 4 緩衝液中と、急速に加水分解反応が進行する河川水中とでは、カルタップの加水分解速度の違いによって主分解経路が異なることが示された。

これらの結果より、水中光分解反応は加水分解反応と共にカルタップの環境中での主要な分解要因の一つになり得ることが明らかとなった。

図1 カルタップの推定水中光分解経路

5. 土壌吸着性に関する試験

(1) カルタップの土壌吸着試験

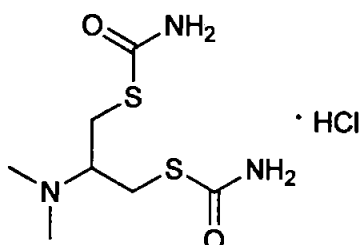
(資料 V-1)

試験機関：(株) 化学分析コンサルタント

報告書作成年：1991年

供試化合物：非標識カルタップ

構造式：



化学名：

純度：

水溶解度：

供試土壌：以下の水田土壌を使用した。

土壌名	古川土壌	牛久土壌	高知土壌	宮崎土壌
採取場所	日植調古川試験地	日植調研牛久圃場	日植防研高知	日植防研宮崎
土壌群名	微細強グライ土	洪積埴壤土	沖積鉾質土	灰色低地土
土性	軽埴土	軽埴土	軽埴土	砂壤土
砂 (%)	14.0	39.8	42.2	73.2
シルト (%)	44.1	24.0	31.9	13.5
粘土 (%)	41.9	36.2	25.9	13.3
有機炭素含有率 (%)	3.37	2.83	1.21	1.49
pH (H ₂ O)	5.7	6.4	7.5	6.0
pH (KCl)	4.9	5.7	6.5	5.5
陽イオン交換能 (meq/100 g)	27.7	22.9	11.3	8.3
リン酸吸収係数	830	920	390	490
OECD 土性分類 ¹	4	3	3	5
水分 (%)	4.9	4.2	1.8	2.2

申請者注 1：OECD 土壌分類について

申請者が OECD106 土壌選択ガイダンスに従い分類した。

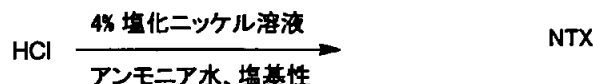
試験方法：「OECD テストガイドライン 106 吸着／脱着」に基づいて実施

平衡化試験；

カルタップ純品を 0.01 M 塩化カルシウム溶液に溶解し、3.46 µg/mL の試験溶液を調製した。

試験土壌 5 g (風乾土) を遠心管に量り取り、純水 5 mL を加えて一夜放置する。そののち、試験溶液 20 mL を添加 (土壌／水比：1/5) し、恒温槽内 (25°C、遮光下) で 4、6、8、16 および 24 時間振とうした。振とう終了後、3000 rpm で 15 分間遠心分離した。

水相中濃度はカルタップを下記の方法で NTX (ネライストキシン) に変換後、ジクロロメタン抽出し、FPD 検出器付 GC で測定した。



水相中濃度の各採取時間間の変化率 (10%以下となる時間) をもとに平衡化時間を求めた。

高次試験；

カルタップ純品を 0.01 M 塩化カルシウム溶液に溶解し、0.512、1.28、3.43 および 4.50 µg/mL の 4 種の試験溶液を調製した。

平衡化試験と同様の方法で試験土壌に上記 4 種の試験溶液をそれぞれ添加したのち、振とうし、遠心分離した。なお、振とう時間は平衡化試験の結果を基に 24 時間とした。

水相中カルタップ濃度は平衡化試験と同様の方法で測定して求めた。

土壌中濃度は添加量と水相中総量との差を土壌吸着量として算出した。

別途、土壌無添加の対照試料についても同様に試験をした。

水相中濃度に対する土壌中濃度をプロットして Freundlich の吸着等温式 ($y = a \cdot x^b$) を作成し、吸着平衡定数 ($K^{ad}_F : a$)、吸着指数 ($1/n : b$) および相関係数 (r) を求め、各土壌の有機炭素含有率 (%) を基に有機炭素吸着係数 (K^{ad}_{Foc}) を算出した。

物質収支；

高次試験で 3.43 µg/mL 試験溶液 (68.6 µg) を添加した試料について、試験後に遠心分離して得られた土壌相を 0.05 M 塩酸で抽出した。その抽出液中のカルタップ量

について平衡化試験と同様の方法で測定し、土壌からの回収量を求めた。水相からの回収量を合わせて回収率を求めた。

試験結果：

土壌からの回収率：

4.0 µg/g 添加で古川土壌が 68.4%、牛久土壌が 70.4%、高知土壌が 68.4%および宮崎土壌が 76.8%であった。

平衡化試験：

平衡化試験結果を表 1 に示した。

表 1 の結果から、平衡化時間を 24 時間と決定した。

高次試験：

高次試験結果を表 2 および図 1 に示した。

表 2 の測定結果を基に作成した Freundlich の吸着等温式 (図 1 参照) から、吸着平衡定数 (K^{ads}_f)、吸着指数 ($1/n$) および相関係数 (r) を求め、有機炭素吸着係数 (K^{ads}_{Foc}) を算出した。

	古川土壌	牛久土壌	高知土壌	宮崎土壌
吸着平衡定数 (K^{ads}_f)	27.7	26.7	15.5	12.6
吸着指数 ($1/n$)	0.569	0.616	0.802	0.685
相関係数 (r)	0.984	0.996	0.985	0.969
有機炭素含有率 (%)	3.37	2.83	1.21	1.49
有機炭素吸着係数 (K^{ads}_{Foc})	822	943	1280	846

物質収支：

結果を表 3 に示した。

回収率は 40.4~88.2%であった。

結論：本試験で得られた土壌吸着係数は、加水分解試験等の結果を考慮すると、結果的に NTX を評価したものであると考えられた。

表1 平衡化試験

回数 (n)		1	2	3	4	5
振とう時間 (hr)		2	6	8	16	24
古川土壌	水相中残存率 (%)	15.4	16.2	20.0	13.5	19.2
	変化率 (%) ^{a)}	—	5	23	-35	42
牛久土壌	水相中残存率 (%)	20.4	20.0	21.7	11.8	12.4
	変化率 (%) ^{a)}	—	-2	8	-46	9
高知土壌	水相中残存率 (%)	20.2	18.8	16.8	23.4	23.4
	変化率 (%) ^{a)}	—	-7	-11	39	0
宮崎土壌	水相中残存率 (%)	43.2	45.4	50.0	36.4	36.4
	変化率 (%) ^{a)}	—	5	10	-27	0
対照溶液	回収率 (%)	—	76.3	80.0	84.8	90.1

初期添加量 : 69.2 μg

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

表 2 高次試験

	初期添加量 (μg)	1		2		吸着平衡定数 ($K_{ad,p}^{ads}$)	吸着指数 ($1/n$)	相関係数 (r)	有機炭素吸着係数 ($K_{ads,Foc}^{ads}$)
		水相濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	土壌濃度 ($\mu\text{g/g}$)	水相濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	土壌濃度 ($\mu\text{g/g}$)				
古川土壌	10.24	0.01242	2.068	0.01176	2.072	27.7	0.569	0.984	822
	25.60	0.04271	5.110	0.04029	5.122				
	68.60	0.3487	12.46	0.3497	12.45				
	90.00	0.3198	17.07	0.3248	17.04				
牛久土壌	10.24	0.01761	2.041	0.01482	2.056	26.7	0.616	0.996	943
	25.60	0.06476	4.993	0.06390	4.997				
	68.60	0.2596	12.92	0.2684	12.88				
	90.00	0.5076	16.08	0.4963	16.14				
高知土壌	10.24	0.07748	1.693	0.07356	1.714	15.5	0.802	0.985	1280
	25.60	0.1715	4.346	0.1646	4.381				
	68.60	0.5778	11.04	0.5656	11.10				
	90.00	1.019	13.14	0.9460	13.52				
宮崎土壌	10.24	0.05085	1.830	0.05542	1.806	12.6	0.685	0.969	846
	25.60	0.2434	3.979	0.2413	3.989				
	68.60	0.8877	9.453	0.8432	9.681				
	90.00	0.7997	14.27	0.7823	14.36				
対照試料（振とう時間：24時間）の回収率 10.24 μg 添加：114%、25.60 μg 添加：102%、68.60 μg 添加：91.6%、 90.00 μg 添加：82.8%									

表 3 物質収支

	初期添加量 (μg)	平衡時の吸着量 (μg)	平衡時の溶液中の量 (μg)	不足量 (μg)	回収率 (%)
古川土壌	68.60	51.73	8.80	8.07	88.2
牛久土壌	68.60	23.76	6.65	38.2	44.3
高知土壌	68.60	13.40	14.35	40.9	40.4
宮崎土壌	68.60	25.40	21.72	21.5	68.7

2 連試料の平均値

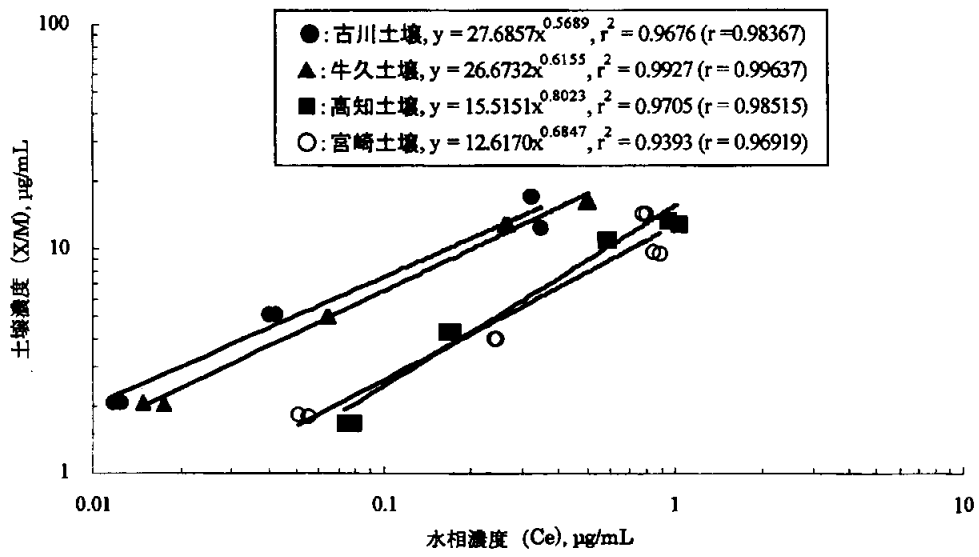


図1 吸着等温線

カルタップの動植物および環境中における代謝分解

カルタップの哺乳動物、植物、土壌における代謝、分解、残留の要約は下記のとおりであり、予想代謝経路を図1に、また、結果の概要は添付の表にまとめた。

動物：

プロパン部分の1位および3位を¹⁴Cで標識したカルタップを雌雄ラットに1 mg/kgもしくは25 mg/kgにて強制単回経口投与した。経口吸収率は90.2%以上であり、速やかに吸収された。血漿中¹⁴C濃度は投与後0.5~2時間に最高濃度を示し、投与後8~24時間まで半減期約4~5時間で低下し、投与後48時間には定量限界未満となった。¹⁴Cは多くの器官および組織に分布したが、経時的に減少し、投与後168時間には多くの器官および組織で定量限界未満となり、蓄積傾向は認められなかった。主要排泄経路は尿中であり、速やかに排泄された。排泄物中では未変化体が定量限界未満であったことから、吸収されたカルタップは体内ではほぼ完全に代謝され、12種類の代謝物(DBMP、NTX、DMMP(I)、DMMP(II)、ASTP、DBSP、AMSP、DBMP-N-oxide、NTX-N-oxideおよび3種の未知代謝物)に代謝された。排泄物中主要代謝物はDBSP、DMMP(I)およびDBMP-N-oxideであった。カルタップの主要代謝反応は、1) -S-CO-結合の開裂によるジチオプロパンの生成、2) 窒素原子の酸化によるN-oxideの生成、3) 硫黄原子の還元、4) 還元後、硫黄原子のメチル化によるメチルチオ誘導体の生成、5) メチルチオ誘導体の硫黄原子の酸化によるメチルスルフィニル誘導体の生成、6) ジメチルアミノ基のN-脱メチル化であった。

植物：

水稲

2つのメチレン基を¹⁴Cで標識したカルタップを収穫121日の水稲に800 g ai/haの割合で1回田面水処理し、経時的に植物全体を採取した。田面水処理では、茎葉部(処理56日後)、玄米および稲わら(処理121日後)における¹⁴C残留濃度はそれぞれ0.238、0.196および0.643 ppmであった。いずれの部位からも未変化のカルタップは検出されず、代謝物として高極性成分が総残留放射能(TRR)の7.1~26.0%生成し、最大成分は8.6%TRR(茎葉部)であった。さらに¹⁴Cで標識したカルタップを収穫43日前の水稲に750 g ai/haの割合で1回茎葉散布し、経時的に植物全体を採取した。茎葉散布では、茎葉部(散布14日後)、玄米および稲わら(散布43日後)における¹⁴C残留濃度はそれぞれ3.029、1.416および6.463 ppmであった。全ての部位においてカルタップは1%TRR未満であり、微量代謝物としてMADTが最大3.5%TRR(玄米)検出され、その他に高極性成分が11.7~17.7%TRR生成し、最大成分は4.0%TRR(玄米)であった。

カルタップの水稲における主要代謝分解経路はカルバモイル基脱離後の分子内ジスルフィド結合の形成とそれに続くメチル基の脱離であり、最終的に植物構成成分に取り込まれた。

はくさい

2つのメチレン基を¹⁴Cで標識したカルタップを最終収穫20日前のはくさいに500 g ai/ha

の割合で1回散布し、散布10日および20日後に結球部と外葉部を採取した。異なる収穫時期の分析結果に大きな相違は認められなかった。 ^{14}C 残留濃度は結球部で0.164~0.198 ppm、外葉部で6.587~7.773 ppmであり、未変化のカルタップは結球部および外葉部でそれぞれ最大33.4および46.2%TRR検出された。代謝分解物としてNTX(最大11.1%TRR、散布20日後、結球部)、BCAD(最大22.1%TRR、散布10日後、外葉部)、AMTC(最大9.3%TRR、散布20日後、結球部)が生成した。

カルタップのはくさいにおける主要代謝分解経路は、カルバモイル基の脱離、分子内および分子間ジスルフィド結合の形成であり、最終的に植物構成成分に取り込まれた。

茶

2つのメチレン基を ^{14}C で標識したカルタップを最終収穫30日前の茶樹に1000 g ai/haの割合で1回散布し、散布10、20および30日後に葉を採集した。異なる収穫時期の分析結果に大きな相違は認められなかった。葉における ^{14}C 残留濃度は6.888~7.467 ppmであった。未変化のカルタップは1.0%TRR以下であり、代謝分解物としてNTX(最大5.2%TRR、散布20日後)とMASO(最大6.9%TRR、散布30日後)が生成した。

カルタップの茶における主要代謝分解経路は、カルバモイル基脱離後の分子内ジスルフィド結合の形成とそれに続くメチル基の脱離あるいは硫黄原子の酸化であり、最終的に植物構成成分に取り込まれた。

土壌:

好氣的湛水土壌中動態試験

2つのメチレン基を ^{14}C で標識したカルタップを真壁水田土壌(軽埴土、pH 6.4、有機炭素含量1.83%)と蒸留水の水/底質系に乾土当たり1.6 ppmの割合で添加し、好氣的湛水条件下 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の暗所で、182日間インキュベーションした。カルタップは処理直後に処理放射能量(TAR)の45.79%まで速やかに消失しており、その消失半減期は系全体で数十分と推定された。主要代謝分解物はNTXで最大74.60%TAR(処理3日後)生成したが、半減期約44日で消失した。その他の代謝分解物としてNTXOおよびDATTが最大で0.33%TAR(処理56日後)および5.54%TAR(処理119日後)検出された。処理182日後に生成した $^{14}\text{CO}_2$ は5.84%TAR、土壌残渣中の ^{14}C 量は31.19%TARであった。土壌残渣中の ^{14}C はフルボ酸画分に最も多く分布し、ヒューミン画分、腐植酸画分と続いた。試験期間中の物質収支は92.25~98.81%であった。

カルタップの好氣的湛水土壌における主要代謝分解経路は、カルバモイル基脱離後の分子内ジスルフィド結合の形成とそれに続く硫黄原子の酸化、あるいは分子内トリスルフィド結合の形成であり、最終的に二酸化炭素まで無機化および土壌に強固に吸着された。

好氣的土壌中動態試験

2つのメチレン基を ^{14}C で標識したカルタップを真壁土壌(軽埴土、pH 6.7、有機炭素含量2.19%)に乾土あたり3.5 ppmの割合で添加し、好氣的条件下 $24.9 \sim 26.4^\circ\text{C}$ の暗所で182日間インキュベーションした。カルタップは処理7日後には検出限界未満まで速やかに消失しており、その消失半減期は数日と推定された。主要代謝分解物としてMASO(11.1%TAR、処理14日

後)生成したが、半減期約42日で消失した。その他の代謝分解物としてNTX(最大7.36%TAR、処理7日後)、MADT(最大4.96%TAR、処理7日後)およびDPSO(最大5.18%TAR、処理14日後)が検出された。試験期間を通して生成した¹⁴C₂O₂は最大で39.16%TAR(処理182日後)、土壌残渣中の¹⁴C量は43.84%TAR(処理56日後)であった。土壌残渣中の¹⁴Cはフルボ酸、ヒューミン、腐植酸画分にはほぼ均等に存在した。試験期間中の物質収支は91.06~99.46%であった。

カルタップの好氣的土壌における主要代謝分解経路は、カルバモイル基脱離後の分子内ジスルフィド結合の形成、あるいは硫黄原子の酸化とこれらに続くメチル基の脱離であり、最終的に二酸化炭素まで無機化および土壌に強固に吸着された。

土壌吸着性

カルタップの濃度が0.512、1.28、3.43および4.50 µg/mLとなるように調整した0.01 M塩化カルシウム水溶液20 mLを4種類の水田土壌〔古川土壌(軽埴土)、牛久土壌(軽埴土)、高知土壌(軽埴土)、宮崎土壌(砂埴土)〕各5 gに加えて、25℃の暗条件下で24時間振とうして土壌吸着性試験を実施した。カルタップは分析操作中、速やかにNTXに変換されるためNTXの土壌吸着係数について測定した。フロイントリッヒ等温式より求めた吸着係数(K_{ads})および有機炭素吸着係数(K_{ads}^{oc})はそれぞれ12.6~27.7および822~1280であり、McCallらの定義では“low”の土壌移行度に分類された。

水中:

加水分解動態試験

2つのメチレン基を¹⁴Cで標識したカルタップをpH4、pH7またはpH9の滅菌緩衝液へ添加し、5 mg/Lの試験水(0.001%の酢酸を含む)を調製後、遮光条件下、25±1℃で最大30日間静置して加水分解試験を行った。カルタップは酸性条件から塩基性域へとpHが上昇するに従い急激に分解速度が加速され、その分解半減期は47日(pH4)、0.13日(pH7)、<0.2日(pH9)であった。認められた分解物はいずれのpHにおいても同様で、AMTC(最大45.29%、pH7、処理0.2時間後)、NTX(最大94.32%、pH9、処理24時間後)、BCAD(最大2.33%、pH4、処理4日後)およびNTXO(最大4.09%、pH7、処理168時間後)であった。試験期間中の物質収支は97.72~102.75%であった。

カルタップの加水分解における主要分解経路は、カルバモイル基の脱離、分子内および分子間ジスルフィド結合の形成とそれに続く硫黄原子の酸化であった。

水中光分解動態試験

2つのメチレン基を¹⁴Cで標識したカルタップを、滅菌クエン酸-カリウム緩衝液(0.1 M、pH4)あるいは滅菌河川水(茨城県つくばみらい市谷和原大橋付近で採取、pH8.0)に添加し、約5 mg/Lの試験水(0.001%の酢酸を含む)を調製し、波長290nm以下の紫外線および800以上の赤外線をフィルター除去したキセノンランプ光(光強度:21.8 W/m²、300~400 nm)を25±2℃で2(河川水)~3(pH4緩衝液)日間連続照射した。照射下においてカルタップは速やかに分解され、東京(北緯35度)、春(4月~6月)の太陽光換算値における半減期は緩衝液で31.9時間、河川水で0.08時間であった。pH4緩衝液中におけるカルタップの主分解物は

Cartap-DM (最大 21.44%、処理 24 時間後)、AMTC (最大 5.56%、処理 6 時間後)、NTXO (最大 4.02%、処理 48 時間後) であり、最終的に二酸化炭素 (最大 3.58%、処理 72 時間後) へと無機化された。河川水中では AMTC (最大 38.61%、処理 0.2 時間後)、NTX (最大 63.19%、処理 0.5 時間後) および NTXO (最大 7.28%、処理 6 時間後) が生成し、いずれも緩衝液中と同様、最終的には二酸化炭素 (最大 5.33%、処理 48 時間後) へと無機化された。試験期間中の物質収支は 93.71~103.28%であった。

カルタップの水中光分解における主要分解経路はメチル基の脱離あるいはカルバモイル基の脱離、分子内ジスルフィド結合の形成とそれに続く硫黄原子の酸化であり、最終的に二酸化炭素へと無機化された。

図1 カルタップの動植物、土壌および水中における代謝分解経路

表1 代謝分解の概要

動物代謝	試料	投与または経口投与に対する割合 (%TAR)														抽出	揮発性 (μg/g)	その他	総回収率			
		MTX	NTE-N-oxide	DBMP	DBMP-oxide	DMP (I)	DMP (II)	DBSP	ASTP	AMSP	MADT	MASO	AMTC	BCAD	DAIT					DP50	MTVO	Carlip-DW
ラット	雄	0-24時間尿	ND	2.2	3.8	ND	16.9	10.5	4.3	30.1	5.8	3.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	11.7 ⁴⁴	ND	88.3	
		0-48時間尿	ND	0.2	NA	0.2	NA	ND	0.3	ND	0.3	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.9	4.3	ND	7.0
	雌	0-24時間尿	ND	ND	3.7	ND	12.6	21.9	8.1	25.8	7.8	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.2 ⁴⁵	ND	89.1	
		0-48時間尿	ND	0.3	NA	ND	NA	ND	0.5	ND	0.5	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.5	3.6	ND	5.9
マウス	雄	0-24時間尿	ND	ND	5.4	ND	17.7	12.9	6.6	30.6	8.0	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.7	ND	90.9	
		0-48時間尿	ND	0.3	NA	0.3	NA	0.4	ND	0.5	ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.8	2.5	ND	5.7
	雌	0-24時間尿	ND	ND	1.3	ND	13.6	23.6	11.8	22.6	7.1	7.5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.0	ND	91.6	
		0-48時間尿	ND	0.2	NA	ND	NA	ND	0.4	ND	0.4	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.2	2.5	ND	4.3
水	処理5日後	1,3- ¹⁴ Cカ ルタップ	ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	38.25 ⁴⁶ (0.0911 ⁴⁶)	61.75 (0.1470)	100 (0.2381)	
		水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12.38 ⁴⁶ (0.0243 ⁴⁶)	87.62 (0.1717)	100 (0.1960)	
		水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	39.15 ⁴⁶ (0.2320 ⁴⁶)	56.84 (0.3910)	100 (0.6431 ⁴⁶)	
		水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	0.85 (0.0739)	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	34.80 ⁴⁶ (1.0540 ⁴⁶)	64.35 (1.9492)	100 (3.0290 ⁴⁶)	
		水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	0.79 (0.0111)	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	34.07 ⁴⁶ (0.4817 ⁴⁶)	61.68 (0.8732)	100 (1.4157)	
		水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	34.14 ⁴⁶ (2.2033 ⁴⁶)	64.60 (4.1870)	100 (6.4634)	
	はく さい	処理10日後	1,3- ¹⁴ Cカ ルタップ	33.36 (0.0660)	4.89 (0.0097)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.84 (0.0078)	15.08 (0.0293)	ND	NA	NA	NA	20.80 ⁴⁷ (0.0411 ⁴⁷)	22.03 (0.0430)	100 (0.1978)
			水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	43.82 (3.4062)	3.87 (0.3008)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.53 (0.1259)	32.05 (1.7149)	ND	NA	NA	18.66 ⁴⁷ (1.4510 ⁴⁷)	9.96 (0.7740)	100 (7.728)	
			水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	31.29 (0.0512)	11.07 (0.0181)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.31 (0.0153)	9.21 (0.0151)	ND	NA	NA	18.95 ⁴⁷ (0.0310 ⁴⁷)	20.17 (0.0330)	100 (0.1637)	
		処理20日後	1,3- ¹⁴ Cカ ルタップ	46.17 (3.0413)	9.11 (0.5998)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.58 (0.0379)	21.62 (1.4244)	ND	NA	NA	15.25 ⁴⁷ (1.0645 ⁴⁷)	7.27 (0.4791)	100 (6.5870)	
			水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	1.01 (0.0725)	5.07 (0.3629)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.07 (0.4414)	NA	NA	NA	NA	66.61 ⁴⁷ (4.8177 ⁴⁷)	21.24 (1.5260)	100 (7.2209)	
			水溶液、750 g ai/ha 相当、1回	0.28 (0.0221)	3.42 (0.2515)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.93 (0.5201)	NA	NA	NA	NA	64.11 ⁴⁷ (4.8040 ⁴⁷)	25.26 (1.8697)	100 (7.4674)	

MA: 分析せず, ND: 検出されず, -: 分析対象無しあるいは測定位置を含まない代謝物であるため測定できず。
 41: 投与後0~48時間の呼吸中に検出された代謝物を示す。42: 2個の成分からなり、最大成分は9.33TAR。43: 2個の成分からなり、最大成分は6.23TAR。44: 3個以上の成分からなり、最大成分は7.09TAR (0.0139 ppm)。45: 7個以上の成分からなり、最大成分は7.90TAR (0.050 ppm)。46: 16個以上の成分からなり、最大成分は4.62TAR (0.140 ppm)。47: 11個以上の成分からなり、最大成分は8.60TAR (0.0210 ppm)。48: 7個以上の成分からなり、最大成分は4.57TAR (0.0652 ppm)。49: 11個以上の成分からなり、最大成分は4.57TAR (0.0652 ppm)。50: 13個以上の成分からなり、最大成分は3.07TAR (0.2571 ppm)。51: 9個以上の成分からなり、最大成分は2.51TAR (0.1655 ppm)。52: 18個以上の成分からなり、最大成分は4.60TAR (0.085 ppm)。53: 4個以上の成分からなり、最大成分は4.60TAR (0.085 ppm)。54: 18個以上の成分からなり、最大成分は2.51TAR (0.1655 ppm)。55: 16個以上の成分からなり、最大成分は8.41TAR (0.6118 ppm)。56: 13個以上の成分からなり、最大成分は8.27TAR (0.6240 ppm)。57: 小分子第五位を四捨五入したため個々の値とその合計が一致しない。

表1 代謝分解の概要 (続き)

試料	メソッド	殺菌または経路放射能に対する割合 (%TAR)														抽出 残量	揮発性 (%揮発)	その他 (%揮発)	回収率							
		RTX	RTX- oxide	DBSP	DBSP- oxide	DWSP (I)	DWSP (II)	DBSP	ASTP	ANSP	MADT	MASO	AUTC	BCAD	DATT					DPSO	NTXO	Carbap- M	未測定			
土壌中動態	好気的 土壌 処理7日後 田面水 処理28日後 田面水 処理182日後 田面水	56.56	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.96	NA	NA	NA	14.74 ¹¹	20.81	NA	<0.01	95.07			
		0.02	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	ND	0.37	NA	NA	1.13	-	0.02	1.54			
		52.80	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.59	NA	NA	NA	12.41 ¹⁸	24.73	3.05	1.24	95.82			
		ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.70	NA	NA	NA	1.13	-	<0.01	1.13			
		39.80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12.14 ¹⁹	31.19	5.84	0.35	94.02			
	好気的 土壌 処理7日後 土壌 処理28日後 土壌 処理56日後 土壌 処理182日後 土壌	7.36	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	0.69 ¹¹		
		0.95	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.96	8.81	NA	NA	8.30	38.50	9.05	14.97 ¹¹	96.32		
		ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.08	9.92	NA	NA	3.17	42.14	20.50	13.48 ¹¹	95.78		
		ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	ND	6.80	NA	NA	1.29	43.84	27.11	11.10 ¹⁴	94.74		
		ND	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.75	NA	NA	NA	0.40	41.21	39.16	8.35	91.06		
水中動態	pH 4 4日後 7日後 30日後 0.2時間後 2時間後 30日後 0.2時間後 24時間後 30日後 6時間後 24時間後 72時間後 0.2時間後 6時間後 48時間後	23.62	27.89	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	38.36	2.33	NA	0.79	NA	-	101.48 ¹¹	
		8.23	50.63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	29.45	1.91	NA	1.56	NA	-	100.68 ¹¹	
		ND	87.77	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.64	ND	NA	8.43	-	-	100.65 ¹¹	
		21.33	26.89	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	45.29	0.94	NA	0.44	NA	-	101.03 ¹¹	
		0.21	92.32	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	ND	ND	NA	3.39	NA	-	100.66 ¹¹	
	pH 7 0.2時間後 24時間後 30日後 6時間後	0.51	79.27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.19	NA	2.92	NA	18.07 ¹⁵	-	100.96
		0.46	84.07	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15.59 ¹⁶	-	100.34 ¹¹	
		0.17	94.32	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.49	-	100.19 ¹¹	
		79.96	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	13.73 ¹⁷	-	98.07 ¹¹	
		45.11	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.56	NA	1.17	6.22	5.19	-	99.88 ¹¹
水中動態 pH 4 0.2時間後 6時間後 24時間後 72時間後 0.2時間後 6時間後	7.59	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.32	NA	2.60	21.44	27.12 ¹⁸	-	100.20 ¹¹	
	9.63	40.98	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.94	NA	2.89	8.75	67.42 ¹⁹	-	93.98 ¹¹	
	2.63	3.68	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	38.61	NA	1.26	NA	8.57	-	100.04 ¹¹	
	3.66	0.86	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.57	NA	7.28	NA	75.13 ²⁰	-	98.30 ¹¹	
	3.66	0.86	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.85	NA	4.20	NA	73.06 ²¹	-	94.30 ¹¹	

NA: 分析せず, ND: 検出されず, -: 分析対象外, あるいは経路放射能を含まない代謝物であるため測定できず
 #18: 4個の成分からなり, 最大成分は6.01%TAR, #19: 4個の成分からなり, 最大成分は5.37%TAR, #20: 4個の成分からなり, 最大成分は6.07%TAR, #21: 放射線量が少ないため分析せず, #22: 複数の高極性代謝物部分 (12.70%TAR), #23: 複数の高極性代謝物部分 (12.70%TAR) を含む, #24: 複数の高極性代謝物部分 (10.50%TAR) を含む, #25: 13個の成分からなり, 最大成分は7.51%TAR, #27: 10個の成分からなり, 最大成分は7.37%TAR, #28: 17個の成分からなり, 最大成分は4.92%TAR, #29: 19個の成分からなり, 最大成分は7.04%TAR, #30: 46個の成分からなり, 最大成分は5.44%TAR, #31: 28個の成分からなり, 最大成分は9.00%TAR, #32: カルタップおよびその分解物の各成分と一致しないが報告書の値をそのまま引用した。

X. その他参考資料

(カルタップの動植物及び土壌等における代謝分解試験)

