

II-2. クロチアニジンのトマトにおける代謝分解性試験

(資料II-2)

試験機関：武田薬品工業株式会社

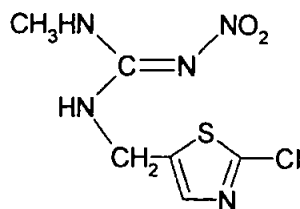
バイエルAG

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



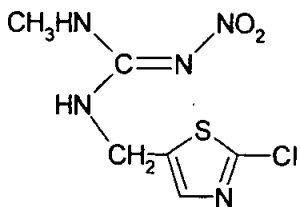
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識位置設定根拠；

供試植物：トマト (品種：パティオ及び Bonset F1)

試料調製：葉部及び果実部塗布処理によるクロチアニジンの組織中への吸収移行性及び半減期は、¹⁴C-クロチアニジンを含む 16%水溶剤(2000倍

希釈液) を、トマト(播種後 2 ヶ月) の葉部及び果実部表面にマイクロシリンジで $2.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (葉部: $2.5 \mu\text{g}$ 、果実部: $10 \mu\text{g}$) の割合で塗布処理後、人工光下($25,000 \text{ lux}$ 、 $22\sim 28^\circ\text{C}$) で所定時間(処理後 7、14、21、及び 28日目) 栽培した処理葉部及び果実部を用いた。

散布処理によるクロチアニジンの移行性は、 $\text{Ni-}^{14}\text{C}$ -クロチアニジンを含むフロアブル剤を、収穫 17日前及び 3 日前の 2 回、 $7.9 \text{ mg}/\text{株}$ の割合でマイクロスプレーを用いて散布処理した後、温室内の自然光下(温度: $16\sim 22^\circ\text{C}$ 、湿度: 約60%) で栽培し、最終散布処理後 3 日目に採取した果実部を用いた。

植穴処理によるクロチアニジンの移行性は、 $\text{Ni-}^{14}\text{C}$ -クロチアニジンを用いて調製した粒剤を $15 \text{ mg}/\text{株}$ の割合で、移植時にトマト体(6~8 葉期) の植穴に処理し、温室内の自然光下(温度: $16\sim 22^\circ\text{C}$ 、湿度: 約60%) で完熟期まで 97 日間栽培した果実部を用いた。

試料分析: 塗布処理した葉部及び果実部は、含水有機溶媒で表面の放射活性をふき取り表面上の放射活性を回収した後、含水有機溶媒で細断・抽出し抽出液及び抽出残渣に分画した。処理部表面回収液及び抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との 2次元展開TLCコクロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

散布処理で採取した果実部は、含水有機溶媒で表面の放射活性を回収した後、含水有機溶媒で細断・抽出し抽出液及び抽出残渣に分画した。果実部表面回収液及び抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との 2次元展開TLCコクロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

植穴処理で採取した果実部は、含水有機溶媒で細断・抽出し抽出液及び抽出残渣に分画した。抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との 2次元展開TLCコクロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

クロチアニジン及び代謝分解物は、抽出液を分析用標準品とのTLCコクロマトグラフィー及びHPLCコクロマトグラフィーに供し同定した。放射能の測定; 抽出液及び表面回収液中の放射活性は、液体シンチレーションカウンタ(LSC)により、抽出残渣中の放射活性は試料燃焼装置で燃焼後、LSCで測定した。

処理量設定根拠;

試験結果：

(1) 放射活性の分布；

^{14}C -クロチアニジンを葉部に塗布処理した場合、処理後 28 日目には処理量の 95.4~95.6% (Ni~Th、以下同様) が処理葉部に残存し、その大部分(87.6~89.7%) は葉面上に認められ、葉部内への移行量は僅か(7.8~5.9%) であった(表2-1 及び2-2 参照)。

^{14}C -クロチアニジンを果実部に塗布処理した場合、処理後 28 日目には処理量の 98.6~97.8% が処理果実部に認められた。果実部表面及び果実部内に認められた放射活性は、89.9~91.0% 及び 8.7~6.8% であり、果実部内への移行量は僅かであった(表3-1 及び3-2 参照)。

Ni- ^{14}C -クロチアニジンを散布処理した場合、最終散布処理後 3 日目の果実部における濃度は 0.57 ppm であり、その大部分は果実部表面に残存し(対総残留放射活性：96.8%)、果実部内への移行量は僅か(同：3.2%)であった(表1-1参照)。

Ni- ^{14}C -クロチアニジンを植穴処理した場合、処理後 97 日目の果実部に移行した放射活性は極僅か(濃度：0.014 ppm、対処理放射活性：約 0.3%) であった(表1-2参照)。

表1-1 トマト最終散布処理後 3 日目の放射活性の分布

画 分	濃度 (ppm)	対総残留放射活性 (%)
果 実 部 表 面	0.55	96.8
果 実 部 内	0.02	3.2
抽出性放射活性	0.02	3.1
非抽出性放射活性	<0.01	0.1
合 計	0.57	100.0

表1-2 トマト植穴処理後 97 日目の果実部における放射活性の分布

画 分	濃度 (ppm)	対総残留放射活性 (%)
抽出性放射活性	0.014	98.1
非抽出性放射活性	<0.001	1.9
合 計	0.014	100.0

注) 果実部に残存する放射活性は処理量の約0.3%

(2) 代

謝；

トマトの葉部及び果実部に塗布処理したクロチアニジンは半減期約 132~146 日及び約 136~158 日(Ni~Th、以下同様) で減少した。

処理葉部及び果実部における放射活性の大部分は親化合物であったが、代謝分解物としてⅡ(TZNG)、Ⅲ(TZMU)、Ⅳ(MNG)、Ⅵ(TMG)、Ⅶ(MG)、Ⅸ(TZU)及びⅪ(NTG)が僅かに認められた(表2-1、2-2、3-1及び3-2参照)。

Ni-¹⁴C-クロチアニジン散布処理した場合、最終散布処理後3日目のトマト体果実部に残存する放射活性の大部分は親化合物であった(濃度:0.55 ppm、対総残留放射活性:96.6%)。

Ni-¹⁴C-クロチアニジンを植穴処理し、完熟期まで97日間栽培したトマト体の果実部には親化合物が多く認められ(0.009 ppm、66.1%)、主要代謝分解物としてⅡ(0.001 ppm、8.4%)及びⅣ(0.002 ppm、17.7%)が同定された。

上記の代謝分解物から、トマト体において本剤には以下のような代謝分解機構が関与していると推察された。

- ① 親化合物からⅡへの脱メチル化反応
- ② 親化合物からⅢへの加水分解反応
- ③ 親化合物のチアゾリルメチル部分及びニトログアニジン部分間の炭素-窒素結合の開裂によるⅣの生成
- ④ 親化合物からⅥへの脱ニトロ化反応
- ⑤ ⅣからⅦへの脱ニトロ化反応
- ⑥ Ⅵのチアゾリルメチル部分及びグアニジン部分間の炭素-窒素結合の開裂によるⅦの生成
- ⑦ ⅡからⅨへの加水分解反応
- ⑧ ⅢからⅨへの脱メチル化反応
- ⑨ Ⅱのチアゾリルメチル部分及びニトログアニジン部分間の炭素-窒素結合の開裂によるⅪの生成
- ⑩ ⅣからⅪへの脱メチル化反応

以下の代謝分解物は、分析用標準品とのTLC及びHPLCクロマトグラフィーにより同定した。

代謝分解物Ⅱ；

代謝分解物Ⅲ；

代謝分解物Ⅳ；

代謝分解物Ⅵ；

代謝分解物Ⅶ；

代謝分解物Ⅸ；

また、以下の代謝分解物については、分析用標準品とのTLCクロマトグラフィーにより仮同定した。

代謝分解物Ⅺ；

本試験において認められた代謝分解物を基に、トマトにおける推定代謝分解経路を図1に示す。

表2-1 トマト葉部塗布処理における代謝分解物の経時的変化 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数									
	処理葉面上					処理葉面内				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
親化合物 (クロチアニジン)	97.8	92.2	86.5	83.3	82.2	2.3	4.0	4.1	4.6	4.9
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.3	0.3	0.3
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	ND	0.8	0.5	0.6	1.0	ND	0.2	0.1	0.3	0.2
代謝分解物Ⅳ (MNG)	ND	ND	0.3	0.5	0.4	ND	0.2	0.5	0.6	0.6
代謝分解物Ⅵ (TMG)	ND	0.4	0.7	1.5	0.8	ND	0.1	0.4	0.4	0.4
代謝分解物Ⅶ (MG)	ND	ND	0.7	1.0	0.8	ND	0.1	0.4	0.5	0.4
代謝分解物Ⅸ (TZU)	ND	0.3	<0.1	0.5	0.4	ND	ND	0.1	<0.1	<0.1
代謝分解物Ⅺ (NTG)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
未同定	ND	0.9	1.0	1.6	2.0	ND	0.2	0.4	0.9	0.5
非抽出放射活性	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	0.2	0.4	0.5	0.4
回収放射活性	97.8	94.6	89.7	89.0	87.6	2.3	5.2	6.7	8.2	7.8

表2-2 トマト葉部塗布処理における代謝分解物の経時的変化 (Th-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数									
	処理葉面上					処理葉面内				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
親化合物 (クロチアニジン)	98.0	90.4	86.2	85.6	83.5	2.0	3.3	3.5	3.6	3.3
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.2	0.2	0.2
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	ND	1.7	2.3	3.1	3.2	ND	0.1	0.2	0.3	0.2
代謝分解物Ⅵ (TMG)	ND	1.8	1.9	1.3	1.9	ND	0.1	0.3	0.4	0.5
代謝分解物Ⅸ (TZU)	ND	1.0	1.4	0.7	0.7	ND	0.1	0.1	0.1	<0.1
未同定	ND	0.8	0.2	0.5	0.4	ND	0.5	0.9	0.8	1.3
非抽出放射活性	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	0.2	0.3	0.4	0.4
回収放射活性	98.0	95.7	92.0	91.2	89.7	2.0	4.5	5.5	5.8	5.9

注) 表中の数値は処理放射活性に対する割合 (%)。ND: 検出されなかった。

表3-1 トマト果実部塗布処理における代謝分解物の経時的変化 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数									
	果実部表面					果実部内				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
親化合物 (カフェニン)	99.0	96.6	93.3	85.4	82.7	0.7	2.8	3.9	4.2	5.2
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1	1.0	1.7	1.4
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	ND	ND	0.8	2.6	2.0	ND	ND	0.1	0.3	0.5
代謝分解物Ⅳ (MNG)	ND	ND	ND	1.0	1.5	ND	ND	0.2	0.5	0.6
代謝分解物Ⅵ (TMG)	ND	ND	ND	1.6	2.1	ND	ND	ND	0.1	0.2
代謝分解物Ⅶ (MG)	ND	ND	ND	1.6	0.8	ND	ND	ND	0.2	0.2
代謝分解物Ⅸ (TZU)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.2
代謝分解物ⅩⅠ (NTG)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1
未同定	ND	ND	ND	ND	0.8	ND	ND	ND	ND	0.1
非抽出放射活性	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	<0.1	0.1	0.1	0.2
回収放射活性	99.0	96.6	94.1	92.2	89.9	0.7	2.9	5.3	7.3	8.7

表3-2 トマト果実部塗布処理における代謝分解物の経時的変化 (Th-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数									
	果実部表面					果実部内				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
親化合物 (カフェニン)	99.7	95.2	93.9	87.2	85.7	0.5	4.2	3.7	3.5	4.3
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	ND	ND	ND	0.9	0.8	ND	0.1	1.2	1.7	1.3
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	ND	ND	ND	1.8	2.5	ND	ND	ND	0.2	0.4
代謝分解物Ⅵ (TMG)	ND	ND	ND	1.7	2.0	ND	ND	ND	0.1	0.2
代謝分解物Ⅸ (TZU)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
未同定	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.3
非抽出放射活性	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	0.1	0.1	0.2	0.2
回収放射活性	99.7	95.2	93.9	91.6	91.0	0.5	4.4	5.0	6.0	6.8

注) 表中の数値は処理放射活性に対する割合 (%)。ND: 検出されなかった。

図 1 クロチアニジンのトマトにおける推定代謝分解経路

II-3. クロチアニジンのチャにおける代謝分解性試験

(資料II-3)

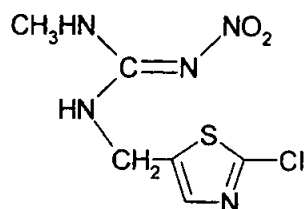
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造：



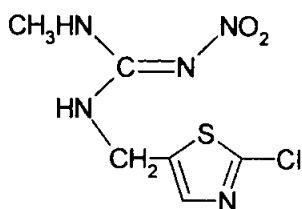
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造：



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識位置設定根拠；

供試植物：チャ (品種：やぶきた、樹齢：約5年生、3~4葉期)

試料調製：葉部塗布処理によるクロチアニジンの葉部内への吸収移行性及び半減期は、¹⁴C-クロチアニジンを含む16%水溶液(2000倍希釈液)をチャの葉部表面にマイクロシリンジで3.5 μg/cm² (3.5 μg/葉部)の割

合で塗布処理後、人工光下(25,000 lux、22~28℃)で所定時間(処理後7、14、21、及び28日目)栽培した処理葉部を用いた。

葉部塗布処理によるクロチアニジンの非処理部への移行性では、Ni-¹⁴C-クロチアニジンを含む16%水溶剤(2000倍希釈液)を、チャの葉部表面にマイクロシリンジで3.5 μg/cm²(50 μg/葉部)の割合で塗布処理後、人工光下(25,000 lux、22~28℃)で28日間栽培し、非処理上位葉、処理葉、非処理下位葉及び枝部を採取した。

試料分析：経時的に採取した処理葉部は、含水有機溶媒で表面の放射活性をふき取り葉部上の放射活性を回収した後、含水有機溶媒で細断・抽出し抽出液及び抽出残渣に分画した。葉部表面及び抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との2次元展開TLCコクロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

移行性試験で採取した処理葉部は、含水有機溶媒で細断・抽出し、抽出液及び抽出残渣に分画した。抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との2次元展開TLCコクロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

クロチアニジン及び代謝分解物は、抽出液をシリカゲル薄層クロマトグラフィーで精製後、各画分を分析用標準品との2次元展開TLCコクロマトグラフィー及びHPLCコクロマトグラフィーに供し同定した。

放射能の測定：ふき取り液及び抽出液中の放射活性は、液体シンチレーションカウンター(LSC)により、移行性試験で採取した非処理上位葉、非処理下位葉、枝部及び残渣中の放射活性は試料燃焼装置で燃焼後、LSCで測定した。

処理量設定根拠：

試験結果：

(1) 放射活性の分布：

¹⁴C-クロチアニジンを葉部に塗布処理した場合、処理後28日目には処理量の97.0~95.9%(Ni~Th、以下同様)が処理葉部に残存し、その大部分(88.7~90.7%)は葉面上に認められ、葉部内への移行量は僅か(8.3~5.2%)であった(表2-1及び2-2参照)。

Ni-¹⁴C-クロチアニジンを葉部に塗布処理した場合、処理した放射活性の大部分(対処理放射活性%：97.0%)は処理葉部に認められ、非処理葉部及び枝部中の放射活性はいずれも僅かであった(0.1%以下)。本試験における放射活性の全回収率は97.0%であった(表1参照)。

表 1 チャ葉部塗布処理後 28 日目の放射活性の分布

組 織	濃度 (ppm)	回収放射活性 (%)
非処理上位葉	0.02	<0.1
処 理 葉	117.91	97.0
非処理下位葉	<0.01	<0.1
枝	0.02	<0.1
合 計		97.0

(2) 代

謝；

チャの葉部に塗布処理したクロチアニジンは、半減期 140 日以上
の緩慢な速度で減少した。処理葉部における放射活性の大部分は親化
合物であったが、代謝分解物としてⅡ(TZNG)、Ⅲ(TZMU)、Ⅳ(MNG)、
Ⅵ(TMG)、Ⅶ(MG)及びⅨ(TZU)が僅かに認められた(表2-1及び2-2参照)。

¹⁴C-クロチアニジンを葉部に塗布処理し、28 日間栽培したチャの処
理葉部に残存する放射活性の大部分は親化合物であり(13.24～ 12.38 ppm)、
代謝分解物としてⅡ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅵ、Ⅶ及びⅨが僅かに(0.01～0.33 ppm) 認
められた。

上記の代謝分解物から、チャにおいて本剤には以下のような代謝機構
が関与していることが推察された。

- ① 親化合物からⅡへの脱メチル化反応
- ② 親化合物からⅢへの加水分解反応
- ③ 親化合物のチアゾリルメチル部分及びニトログアニジン部分間
の炭素-窒素結合の開裂によるⅣの生成
- ④ 親化合物からⅥへの脱ニトロ化反応
- ⑤ ⅣからⅦへの脱ニトロ化反応
- ⑥ Ⅵのチアゾリルメチル部分及びグアニジン部分間の炭素-窒素結合
の開裂によるⅦの生成
- ⑦ ⅡからⅨへの加水分解反応
- ⑧ ⅢからⅨへの脱メチル化反応

以下の代謝分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLCコクロマ
トグラフィーにより同定した。

代謝分解物Ⅱ；
代謝分解物Ⅲ；
代謝分解物Ⅳ；
代謝分解物Ⅵ；
代謝分解物Ⅶ；
代謝分解物Ⅸ；

本試験において認められた代謝分解物を基に、チャにおける推定代謝
分解経路を図 1 に示す。

表 2-1 チャ葉部塗布処理における代謝分解物の経時変化 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数									
	処理葉面上					処理葉面内				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
親化合物 (クロチアニジン)	100.8	89.0	88.3	86.2	86.3	0.1	2.8	2.5	4.2	4.2
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	-	0.1	<0.1	0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	0.1	0.1
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	-	1.0	1.1	1.1	0.4	-	0.2	0.3	0.4	1.0
代謝分解物Ⅳ (MNG)	-	1.0	1.1	0.9	0.4	-	0.1	0.2	0.3	0.7
代謝分解物Ⅵ (TMG)	-	1.2	0.9	0.6	0.4	-	0.1	0.2	0.3	0.3
代謝分解物Ⅶ (MG)	-	0.8	1.5	1.2	0.2	-	0.1	0.1	0.3	0.5
代謝分解物Ⅸ (TZU)	-	-	0.3	<0.1	0.1	-	-	<0.1	0.1	0.1
未同定	-	1.4	0.4	0.6	0.9	-	-	-	0.2	0.4
非抽出放射活性	-	-	-	-	-	<0.1	0.3	0.3	0.6	1.0
回収放射活性	100.8	94.5	93.6	90.7	88.7	0.1	3.6	3.6	6.5	8.3

表 2-2 チャ葉部塗布処理における代謝分解物の経時変化 (Th-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数									
	処理葉面上					処理葉面内				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
親化合物 (クロチアニジン)	101.7	93.6	92.5	87.1	85.4	0.1	2.3	3.2	3.5	2.8
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	-	0.2	0.2	0.6	0.2	-	<0.1	<0.1	0.1	0.1
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	-	0.7	1.2	2.1	1.7	-	0.2	0.4	0.8	0.7
代謝分解物Ⅵ (TMG)	-	1.6	1.2	1.3	1.8	-	0.1	0.2	0.3	0.5
代謝分解物Ⅸ (TZU)	-	-	<0.1	0.8	0.5	-	<0.1	<0.1	0.1	0.1
未同定	-	-	-	0.7	1.1	-	-	0.1	0.3	0.3
非抽出放射活性	-	-	-	-	-	<0.1	0.1	0.2	0.5	0.7
回収放射活性	101.7	96.1	95.2	92.6	90.7	0.1	2.7	4.1	5.6	5.2

注) 表中の数値は処理放射活性に対する割合 (%)。- : 検出されなかった。

図 1 クロチアニジンのチャにおける推定代謝分解経路

II-4. クロチアニジンのりんごにおける代謝試験

(資料II-4)

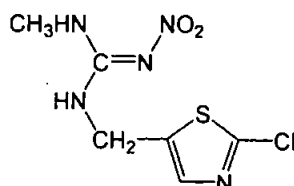
試験機関：Bayer AG

[GLP対応]

報告書作成年：1999年

供試標識化合物：[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン

構造式：



化学名：

標識位置：

放射化学的純度：

比放射能：

供試植物：りんご（品種：James Grieve）（屋外栽培）

方法：

処理液の調製：[¹⁴C]クロチアニジンを空製剤（SC）および水と混合し、処理液を調製した。

処理方法：りんごの木に[¹⁴C]クロチアニジン処理液を8.3 mg a. i./木の処理量で、85日間隔で2回、手動散布器を用いて木の両側から散布した¹⁾。

処理時期：1回目処理時期；収穫99日前（生理落果期）

2回目処理時期；収穫2週間前

採取時期：最終散布14日後の成熟時に果実および葉（葉柄を含む）を採取した。

¹⁾ 申請者注：クロチアニジンのりんごにおける（年間）最大施用量は1680 g a. i./ha（16%水溶剤、2000~4000倍希釈、200~700 L/10 a、3回）である。樹冠容積（CV）を約10000 m³/haと仮定すると、施用量は168 mg a. i./m³ CVとなる。試験で用いたりんご1本のCVが約0.41 m³であることから、1本あたりの施用量は約168 mg a. i. × 0.41 m³ = 約68.9 mg a. i.と算出される。したがって本試験での総処理量16.6 mg a. i.は、年間施用量の約0.24倍に相当する。

分析方法：果実および葉は、それぞれ図1および図2のスキームに従い分析し、洗浄液および抽出液を順相および逆相 TLC 分析に供して、クロチアニジンおよびその代謝分解物を同定・定量した。抱合体の同定は該当ピークを単離後セルラーゼによる加水分解に供し、得られたアグリコンと標品との TLC コクロマトグラフィーにより行った。

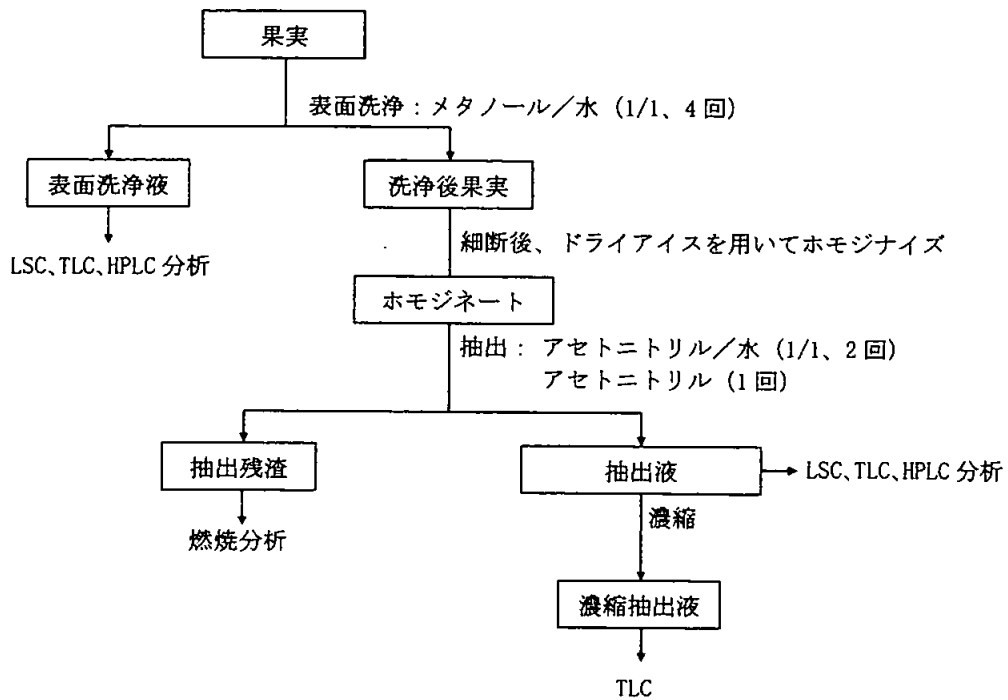


図1 果実の抽出および分析スキーム

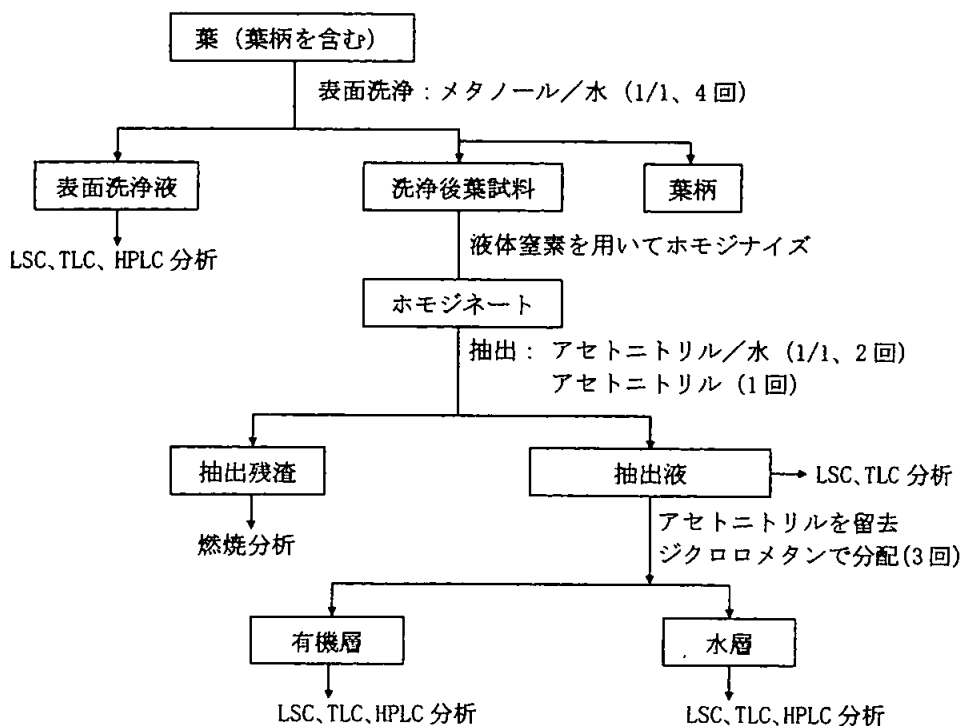


図2 葉部の抽出および分析スキーム

試験結果：

¹⁴C 分布： [¹⁴C]クロチアニジン散布後の果実および葉における ¹⁴C 分布を表1に示す。
 果実および葉における総 ¹⁴C 残留濃度 (TRR) は、それぞれ 0.076 および 6.45 ppm
 であり、抽出画分および抽出残渣中の ¹⁴C 量は、それぞれ 94.4~96.4%TRR および
 3.6~5.6%TRR であった。

表1 りんご果実および葉における総 ¹⁴C 分布

	果実		葉	
	%TRR	ppm*	%TRR	ppm
表面洗浄液	33.3	0.025	70.1	4.52
アセトニトリル/水抽出液	63.1	0.048	24.3	1.57
抽出残渣	3.6	0.003	5.6	0.36
合計	100.0	0.076	100.0	6.45

*: クロチアニジン換算値

代謝： 果実および葉における代謝分解物の分析結果を表2および3に示す。
 果実および葉における主要残留物は未変化のクロチアニジンであり、それぞれ61.5%TRR (0.046 ppm) および54.5%TRR (3.51 ppm) であった。
 果実における主要代謝分解物はTZMU (10.6%、0.009 ppm) であり、微量代謝物としてTZNG、THMN およびそのグルコース抱合体(THMN-Glc)が同定された。
 一方、葉においてはTZMU、THMN-Glc、TMG、MNG、MG、TZNG、TZU およびNTGが同定されたが、その生成量は7.2%TRR 以下であった。

表2 果実における代謝分解物分布

	表面洗浄液		抽出液		合計	
	%TRR	ppm*	%TRR	ppm	%TRR	ppm
クロチアニジン	27.1	0.020	34.4	0.026	61.5	0.046
TZNG	ND	ND	2.8	0.002	2.8	0.002
TZMU	2.1	0.002	8.5	0.007	10.6	0.009
THMN	ND	ND	1.5	0.001	1.5	0.001
THMN-Glc	ND	ND	3.7	0.003	3.7	0.003
未同定代謝物	ND	ND	2.7	0.002	2.7	0.002
TLC 原点	4.0	0.003	9.7	0.007	13.7	0.010
合計	33.3**	0.025	63.1**	0.048	96.4**	0.073

ND：検出せず

*：クロチアニジン換算値

**：四捨五入による誤差

表3 葉における代謝分解物分布

	表面洗浄液		抽出液		合計	
	%TRR	ppm*	%TRR	ppm	%TRR	ppm
クロチアニジン	51.2	3.30	3.3	0.21	54.5	3.51
TZNG	1.3	0.08	0.3	0.02	1.6	0.10
TZMU	6.3	0.41	0.9	0.06	7.2	0.47
TZU	ND	ND	1.0	0.07	1.0	0.07
MNG	ND	ND	3.8	0.25	3.8	0.25
NTG	ND	ND	<0.1	<0.01	<0.1	<0.01
MG	ND	ND	3.0	0.19	3.0	0.19
TMG	5.5	0.35	0.7	0.05	6.2	0.40
THMN-Glc	ND	ND	7.1	0.46	7.1	0.46
未同定代謝物 1	ND	ND	1.0	0.06	1.0	0.06
未同定代謝物 2	ND	ND	1.9	0.12	1.9	0.12
TLC 原点	5.8	0.37	1.4	0.09	7.2	0.46
合計	70.1	4.52**	24.3**	1.57	94.4	6.09

ND : 検出せず

* : クロチアニジン換算値

** : 四捨五入による誤差

推定代謝分解経路: クロチアニジンのりんごにおける主要代謝分解経路は図3に示すように、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂、および二級アミンの水酸化とそれに続くグルコース抱合化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

図3 クロチアニジンのりんごにおける推定代謝分解経路

II-5. クロチアニジンのてんさいにおける代謝試験

(資料II-5)

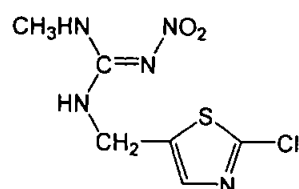
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年：2000年

供試標識化合物：[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン

構造式：



化学名：

標識位置：

放射化学的純度：

比放射能：

供試植物： てんさい (品種：Madison) (屋外栽培)

方法：

処理液の調製： [¹⁴C]クロチアニジンを空製剤 (WS70) と混合し、処理液を調製した。

処理方法： [¹⁴C]クロチアニジン処理液を 190 g a. i. /ha¹⁾ の処理量でてんさいの種子とバイアル中で混和し、添加した。

採取時期： 処理 48 日および 55 日後 (6~8 葉期)、ならびに処理 144 日後に根部および葉部を採取し、根部は水で洗浄し土を除いた。

分析方法： 根および葉の抽出および分析方法のスキームを図 1 に示す。

¹⁾ 申請者注：クロチアニジンのてんさいにおける 1 回あたりの最大施用量は 240 g a. i. /ha (16%水溶剤、2000~4000 倍、100~300 L/10 a) であり、本試験で用いた 190 g a. i. /ha は単回施用量の約 0.8 倍に相当する。

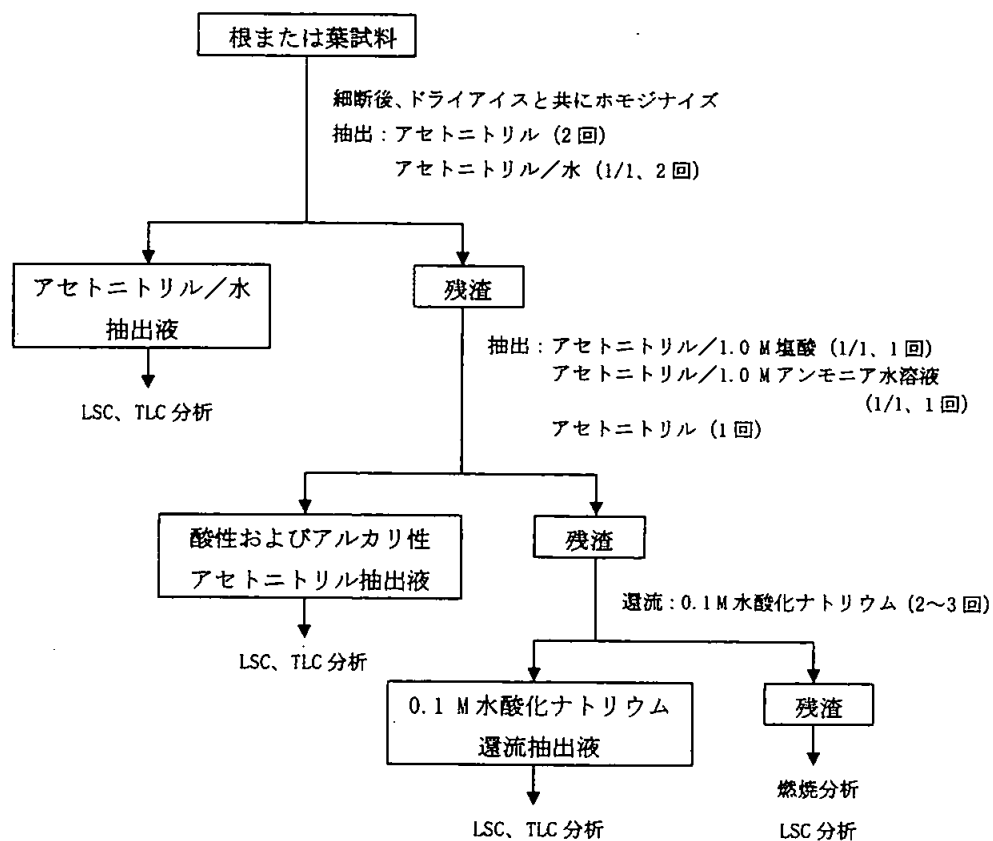


図1 てんさいの根および葉試料の抽出および分析スキーム

代謝分解物は、TLC を用いた標品とのクロマトグラフィーにより同定・定量した。

結果：

^{14}C 分布：てんさいの根および葉における ^{14}C 分布をそれぞれ表 1 および 2 に示す。

根における総 ^{14}C 残留量 (TRR) は、処理 48 日および 144 日後にそれぞれ 0.860 ppm および 0.034 ppm であった。大部分の ^{14}C はアセトニトリル/水混液中で抽出され、抽出残渣中の ^{14}C 量は処理 144 日後に 13.1%TRR であった。

葉における ^{14}C 量は、処理 48 日および 144 日後にそれぞれ 1.750 ppm および 0.886 ppm であった。大部分の ^{14}C は根部と同様アセトニトリル/水混液中で抽出され、処理 144 日後の抽出残渣中の ^{14}C 量は 6.7%TRR であった。

表1 てんさいの根における¹⁴C分布

画分	処理 48 日後		処理 55 日後		処理 144 日後	
	%TRR	ppm ^a	%TRR	ppm	%TRR	ppm
アセトニトリル/水抽出液	91.1	0.783	81.3	0.164	65.0	0.022
酸およびアルカリ抽出液	3.3	0.028	9.1	0.018	17.8	0.006
0.1M水酸化ナトリウム抽出液	4.0	0.034	3.3	0.007	4.1	0.001
抽出残渣	1.6	0.014	6.2	0.013	13.1	0.004
合計	100	0.860	100	0.202	100	0.034

a クロチアニジン換算値

表2 てんさいの葉における¹⁴C分布

画分	処理 48 日後		処理 55 日後		処理 144 日後	
	%TRR	ppm ^a	%TRR	ppm	%TRR	ppm
アセトニトリル/水抽出液	92.8	1.620	89.1	0.465	78.5	0.696
酸およびアルカリ抽出液	2.1	0.037	2.6	0.014	6.1	0.054
0.1M水酸化ナトリウム抽出液	4.0	0.070	2.7	0.014	8.7	0.077
抽出残渣	1.1	0.019	5.6	0.029	6.7	0.059
合計	100	1.750	100	0.522	100	0.886

a クロチアニジン換算値

代謝： てんさいの根および葉における代謝分解物の分析結果をそれぞれ表3および4に示す。

根における主要残留物は、未変化のクロチアニジンであり、処理48、55および144日後にそれぞれ50.0、67.9および24.4%TRR(0.008~0.430ppm)であった。

収穫時期である処理144日後における代謝分解物としてTZNG、MG、TMG、MNGおよびTZMUが同定されたがいずれも9.8%TRR(0.003ppm)以下であった。

葉部において未変化のクロチアニジンは処理48および55日後にそれぞれ49.3および60.5%TRR(0.316~0.863ppm)であったが、処理144日後には4.3%TRR(0.038ppm)まで減少した。処理144日後の主要代謝分解物はMG(28.6%TRR)およびTMG(27.0%TRR)であり、その他の微量代謝分解物としてTZNG、TZU、NTG、MNGおよびTZMUが同定された。

表3 てんさいの根における代謝分解物分布

代謝物	処理 48 日後		処理 55 日後		処理 144 日後	
	%TRR	ppm ^a	%TRR	ppm	%TRR	ppm
アセトニトリル/水抽出液	98.4	0.846	90.4	0.183	65.0	0.022
クロチアニジン	50.0	0.430	67.9	0.137	24.4	0.008
TZNG	4.9	0.042	9.1	0.018	9.8	0.003
MG	10.3	0.089	4.7	0.009	6.2	0.002
TMG	5.9	0.051	1.0	0.002	3.1	0.001
TZU	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NTG	0.3	0.003	ND	ND	ND	ND
MNG	3.4	0.029	1.4	0.003	0.7	<0.001
TZMU	1.4	0.012	1.3	0.003	1.8	0.001
未同定代謝物	18.9 ^b	0.163 ^b	2.5	0.005	12.5 ^c	0.004 ^c
その他	3.5	0.030	2.5	0.005	6.4	0.002
酸およびアルカリ抽出液	- ^d	- ^d	- ^d	- ^d	17.8	0.006
水酸化ナトリウム抽出液	- ^d	- ^d	3.3	0.007	4.1	0.001
抽出残渣	1.6	0.014	6.2	0.013	13.1	0.004
合計	100	0.860	100	0.202	100	0.034

ND：検出せず。

a クロチアニジン換算値

b 4成分からなり、最大成分は8.6%TRR、0.074 ppm。

c 2成分からなり、最大成分は9.9%TRR、0.003 ppm。

d アセトニトリル/水抽出液に含まれる。

表4 てんさいの葉における代謝分解物分布

代謝物	処理 48 日後		処理 55 日後		処理 144 日後	
	%TRR	ppm ^a	%TRR	ppm	%TRR	ppm
抽出液	98.9	1.73	94.4	0.493	93.3	0.827
クロチアニジン	49.3	0.863	60.5	0.316	4.3	0.038
TZNG	5.6	0.098	10.3	0.054	3.3	0.029
MG	6.5	0.114	3.2	0.017	28.6	0.253
TMG	9.7	0.170	6.0	0.031	27.0	0.239
TZU	1.7	0.030	1.4	0.007	1.7	0.015
NTG	1.5	0.026	1.4	0.007	1.3	0.012
MNG	4.3	0.075	4.5	0.023	4.1	0.036
TZMU	3.6	0.063	2.9	0.015	4.3	0.038
未同定代謝物	15.6 ^b	0.273 ^b	2.2 ^c	0.012 ^c	14.4 ^d	0.128 ^d
その他	1.7	0.030	1.8	0.009	4.2	0.037
抽出残渣	1.1	0.019	5.6	0.029	6.7	0.059
合計	100	1.75	100	0.522	100	0.886

a クロチアニジン換算値

b 4成分からなり、最大成分は7.1%TRR、0.124 ppm。

c 3成分からなり、最大成分は1.0%TRR、0.005 ppm。

d 4成分からなり、最大成分は6.3%TRR、0.056 ppm。

推定代謝経路：クロチアニジンのてんさいにおける代謝分解経路を図2に示す。クロチアニジンのてんさいにおける主要代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱ニトロ化および脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂であった。

図2 クロチアニジンのてんさいにおける推定代謝分解経路

II-6. クロチアニジンのとうもろこしにおける代謝試験

(資料II-6)

試験機関 : Bayer AG

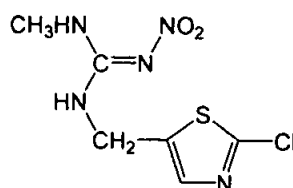
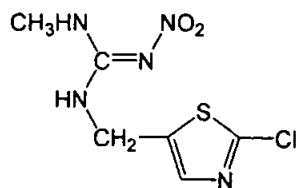
[GLP 対応]

報告書作成年 : 2000 年

供試標識化合物 : [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン

[チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジン

構造式 :



[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン [チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジン

化学名 :

[ニトロイミノ- ¹⁴ C]標識体	[チアゾリル-2- ¹⁴ C]標識体
標識位置	
比放射能	
放射化学的純度	

供試植物 : とうもろこし (品種 : Facet) (屋外栽培)

方法 :

処理液の調製 : [¹⁴C]クロチアニジンを空製剤 (WS70) と混合し、処理液を調製した。

処理方法 : とうもろこし種子 ([ニトロイミノ-¹⁴C]処理区 ; 25 個、[チアゾリル-2-¹⁴C]処理区 ; 8 個) と [¹⁴C]クロチアニジン処理液をガラス製遠心管に入れ攪拌し、添加した。なお、[ニトロイミノ-¹⁴C]および[チアゾリル-2-¹⁴C]処理区の種子への処理量はそれぞれ 54 mg および 89.5 mg であった。

処理量¹⁾ : [ニトロイミノ-¹⁴C]処理区 ; 1.06 mg a. i. /種子。

[チアゾリル-2-¹⁴C]処理区 ; 2.52 mg a. i. /種子。

採取時期 : 処理 60 日後 ([ニトロイミノ-¹⁴C]処理区) または処理 63 日後 ([チアゾリル-2-¹⁴C]処理区) に青刈り試料を採取した。

処理 145 日後 ([ニトロイミノ-¹⁴C]処理区) または処理 160 日後 ([チアゾリル-2-¹⁴C]処理区) に地上部を採取後、茎、葉、穂軸および穀粒に分け、穀粒以外はまとめて茎葉部とした。

分析方法 : 青刈り試料、茎葉部、穀粒および抽出残渣の抽出・分析スキームをそれぞれ図 1、2、3 および 4 に示す。

代謝分解物の同定は標品との TLC コクロマトグラフィーにより行った。

¹⁾ 申請者注 : クロチアニジンのだいたひにおける 1 回あたりの最大施用量は 240 g a. i. /ha (16%水溶剤、2000~4000 倍、100~300 L/10 a) であり、慣行栽培 (40000 株/ha、野菜作型別生育ステージ総覧、農林統計協会発行) をもとに算出した本試験での処理量 42.4~100.8 g a. i. /ha は 0.18~0.42 倍に相当する。

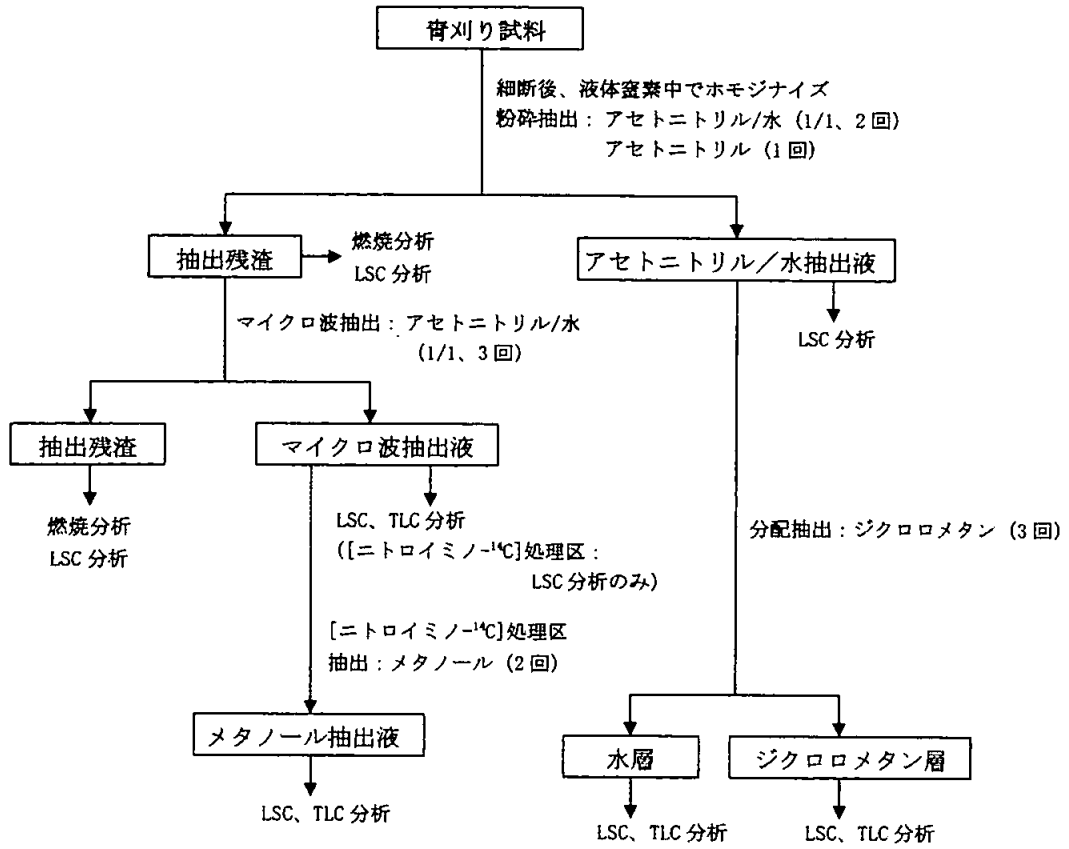
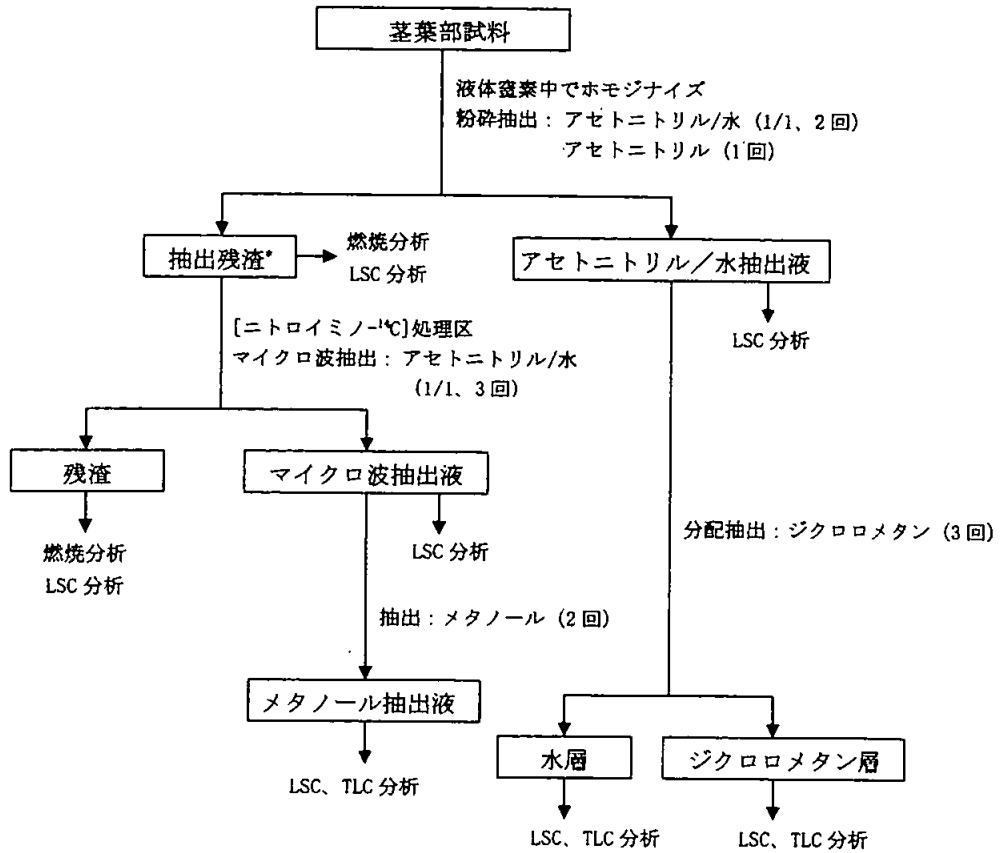
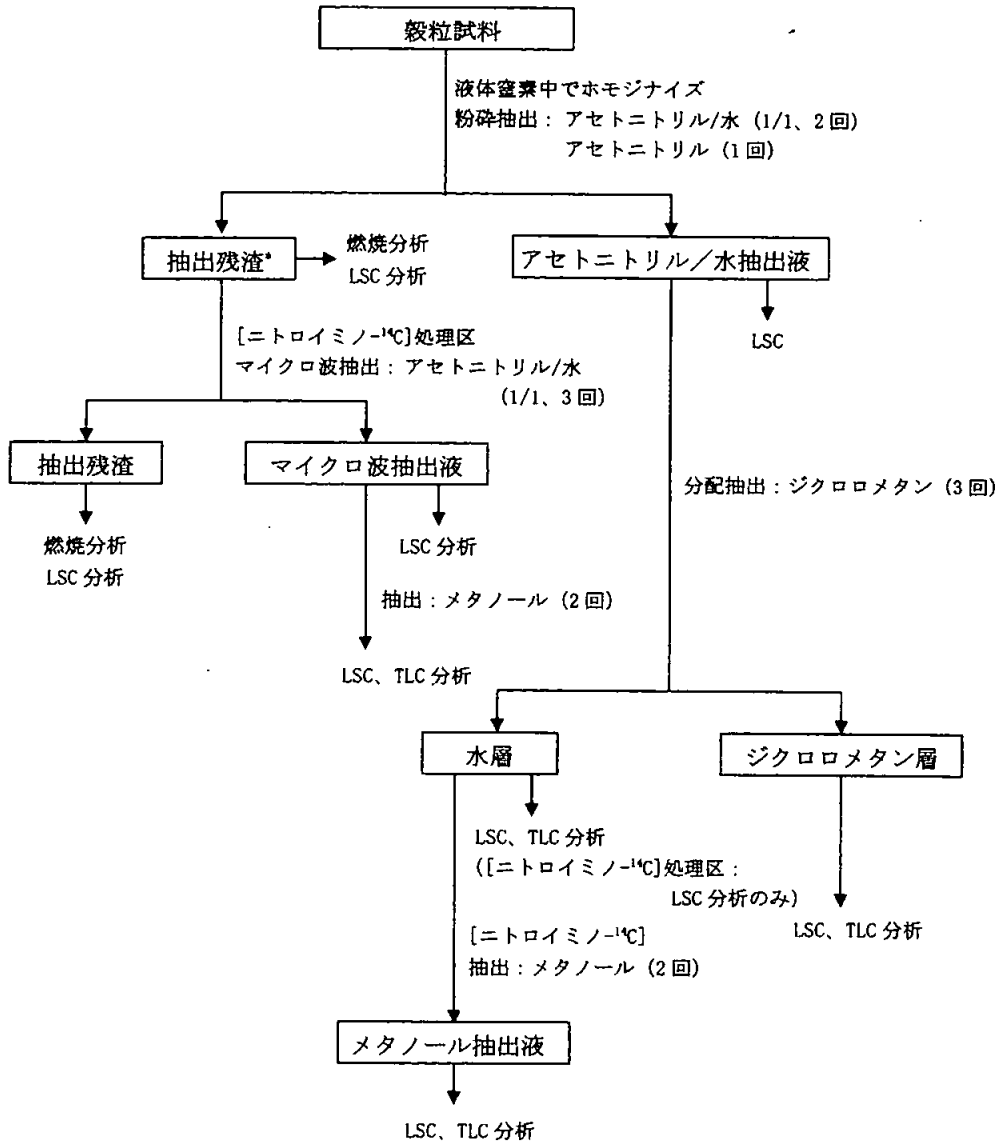


図1 膏刈り試料の抽出および分析スキーム



* [チアソリル-2-¹⁴C]処理区の茎葉部抽出残渣の処理については図4に記載。

図2 茎葉部試料の抽出および分析スキーム



* [チアゾリル-2-14C]処理区の穀粒抽出残渣の処理については図4に記載。

図3 穀粒試料の抽出および分析スキーム

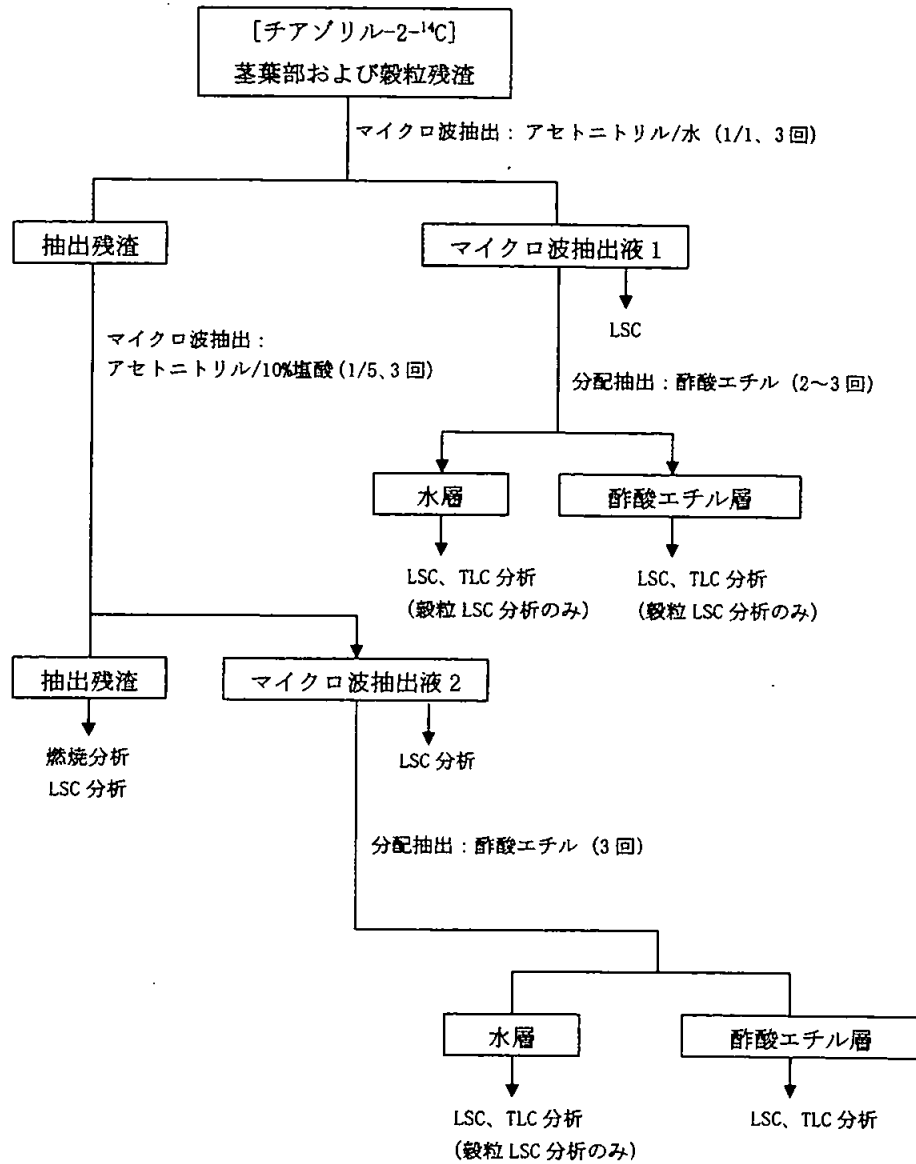


図 4 [チアゾリル-2-¹⁴C]処理区の茎葉部および穀粒の抽出残渣試料の抽出および分析スキーム

結果：

¹⁴C 分布： 青刈り試料、茎葉部および穀粒における ¹⁴C の分布を表 1 および 2 に示す。
 青刈り試料、茎葉部および穀粒における総 ¹⁴C 残留量 (TRR) はそれぞれ 0.130 ~ 0.89 ppm、0.170 ~ 3.06 ppm および 0.006 ~ 0.063 ppm であった。いずれの試料においても 54.8 ~ 89.4%TRR がアセトニトリル/水およびアセトニトリルで抽出され、抽出残渣中の ¹⁴C 量は 10.6 ~ 45.2%TRR であった。抽出残渣はさらにアセトニトリル/水もしくは塩酸中でのマイクロ波抽出に供し、最終的な未抽出性 ¹⁴C は 3.2 ~ 11.9%TRR (0.001 ~ 0.260 ppm) であった。

表 1 [ニトロイミノ-¹⁴C]処理区における ¹⁴C 分布

	青刈り試料		茎葉部		穀粒	
	%TRR	ppm*	%TRR	ppm	%TRR	ppm
アセトニトリル/水抽出液	89.4	0.117	72.7	0.123	66.0	0.004
ジクロロメタン層	45.8	0.060	22.5	0.038	13.1	0.001
水層	43.6	0.057	50.1	0.085	52.9	0.003
抽出残渣	10.6	0.014	27.3	0.046	34.0	0.002
マイクロ波抽出液	7.5	0.010	19.6	0.033	22.1	0.001
未抽出画分	3.2	0.004	7.7	0.013	11.9	0.001
合計	100.0	0.130	100.0	0.170	100.0	0.006

*：クロチアニジン換算値

表 2 [チアゾリル-2-¹⁴C]処理区における ¹⁴C 分布

	青刈り試料		茎葉部		穀粒	
	%TRR	ppm*	%TRR	ppm	%TRR	ppm
アセトニトリル/水抽出液	89.3	0.79	74.8	2.29	54.8	0.035
ジクロロメタン層	65.6	0.58	48.6	1.49	40.7	0.026
水層	23.6	0.21	26.3	0.80	14.1	0.009
抽出残渣	10.7	0.10	25.2	0.77	45.2	0.029
マイクロ波抽出液 1	4.5	0.04	11.1	0.34	6.2	0.004
酢酸エチル層	-	-	5.2	0.16	2.5	0.002
水層	-	-	5.9	0.18	3.7	0.002
マイクロ波抽出液 2	-	-	5.5	0.17	33.9	0.022
酢酸エチル層	-	-	1.8	0.06	15.6	0.010
水層	-	-	3.7	0.11	18.4	0.012
未抽出画分	6.2	0.06	8.5	0.26	5.1	0.003
合計	100.0	0.89	100.0	3.06	100.0	0.063

*：クロチアニジン換算値、-：分析せず

代謝： 青刈り試料、茎葉部および穀粒における代謝分解物の分析結果を表3および4に示す。青刈り試料、茎葉部および穀粒における主要残留物は未変化のクロチアニジンであり、それぞれ42.9～64.5%TRR (0.056～0.570 ppm)、20.1～39.5%TRR (0.034～1.21 ppm) および14.4～58.5%TRR (0.001～0.037 ppm) であった。10%TRR以上検出された主要代謝分解物はMG (茎葉部14.8%TRR、穀粒21.7%TRR)のみであり、その他に微量代謝物としてTMG、TZMU、MNG、TZNG、NTG、TZUおよびCTCAが生成した。

表3 [ニトロイミノ-¹⁴C]処理区における代謝物分布

	青刈り試料		茎葉部		穀粒	
	%TRR	ppm ^a	%TRR	ppm	%TRR	ppm
クロチアニジン	42.9	0.056	20.1	0.034	14.4	0.001
TZNG	1.6	0.002	1.1	0.002	nd	nd
TZMU	5.8	0.008	7.6	0.013	4.1	<0.001
TMG	7.8	0.010	6.2	0.010	6.8	<0.001
MNG	3.1	0.004	4.2	0.007	5.7	<0.001
NTG	1.5	0.002	2.4	0.004	nd	nd
MG	7.4	0.010	14.8	0.025	21.7	0.001
その他	26.7 ^b	0.035 ^a	36.0 ^b	0.061 ^b	35.4 ^c	0.002 ^c
抽出残渣	3.2	0.004	7.7	0.013	11.9	0.001
合計	100.0	0.130	100.0	0.170	100.0	0.006

* : クロチアニジン換算値、nd : 未検出

a : 11成分からなり、最大成分は8.5%TRR、0.011 ppm。

b : 12成分からなり、最大成分は6.4%TRR、0.011 ppm。

c : 7成分からなり、最大成分は9.9%TRR、0.001 ppm。

表 4 [チアゾリル-2-¹⁴C]処理区における代謝物分布

	青刈り試料		茎葉部		穀粒	
	%TRR	ppm*	%TRR	ppm	%TRR	ppm
クロチアニジン	64.5	0.57	39.5	1.21	58.5	0.037
TZNG	3.0	0.03	3.0	0.09	0.7	<0.001
TZMU	4.4	0.04	9.2	0.28	0.7	<0.001
TZU	0.9	0.01	2.7	0.08	nd	nd
TMG	6.0	0.05	8.8	0.27	2.2	0.001
CTCA	0.8	0.01	1.7	0.05	nd	nd
その他	14.3 ^a	0.13 ^a	26.7 ^b	0.81 ^b	32.8 ^c	0.021 ^c
抽出残渣	6.2	0.06	8.5	0.26	5.1	0.003
合計	100.0	0.89	100.0	3.06	100.0	0.063

*: クロチアニジン換算値、nd: 未検出。

a: 6成分からなり、最大成分は4.7%TRR、0.04 ppm。

b: 11成分からなり、最大成分は6.4%TRR、0.19 ppm。

c: 5成分からなり、最大成分は18.4%TRR、0.012 ppm。

推定代謝分解経路: クロチアニジンのとうもろこしにおける代謝分解経路を図5に示す。

クロチアニジンのとうもろこしにおける主要代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱ニトロ化および脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂であった。

図5 クロチアニジンのとうもろこしにおける推定代謝分解経路

Ⅲ. 土壤中運命に関する試験

Ⅲ-1. クロチアニジンの土壤中における分解性試験

(資料Ⅲ-1)

試験機関：武田薬品工業株式会社

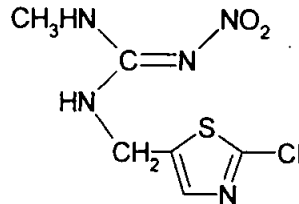
報告書作成年：2000年

(1) 湛水土壤中における分解性

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の 2 種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



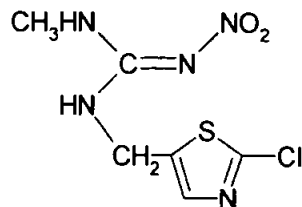
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供 試 土 壤：以下の特性を有する 3 種類の土壌を用いた。

土壌採取地	土 性	有機炭素 含有率(%)	粘土含有率 (%)	pH(H ₂ O)	pH(KCl)
茨城(畑地) ¹⁾	重埴土	2.89	45.6	6.9	6.1
香川(畑地) ²⁾	砂埴土	1.24	13.9	6.7	6.5
真壁(水田) ³⁾	軽埴土	3.25	31.8	5.5	4.9

1) 日本植物防疫協会(茨城県牛久市)、2) 香川県農業試験場(香川県高松市)

3) 武田薬品工業(株) 真壁圃場(茨城県真壁郡)

試 験 条 件：25℃(遮光下)

試 験 方 法：閉鎖系のビーカーに入れて湛水状態(土壌の厚さ 5 cm、水深 1 cm以上)とした各供試土壌を、好氣的及び嫌氣的条件下で 1 か月間恒温器(25℃、遮光下)で前培養した後、Ni- または Th-¹⁴C-クロチアニジン(乾燥重量)に対して 0.225 ppmとなるように加えて混和〔添加溶媒：アセトニトリル(0.2%=有機溶媒量/土壌乾土重量)〕し、空気及び窒素ガスを通気しながら、恒温器に所定期間(0、3、7、14、30、60、90、120 及び 180 日間)静置した。試験期間中に発生する揮発性の放射性物質は、1 N 水酸化ナトリウム水溶液を入れたガラス製容器を閉鎖系容器内に設置することにより捕集し、捕集液中の放射活性を測定した。採取した土壌は 50%アセトニトリル及びアンモニア水を含むアセトニトリルで順次抽出し、クロチアニジン及びその分解物を二次元 TLC により定量後、標品との TLC オートラジオグラフィー及び HPLC によって同定した。一方、土壌抽出残渣(非抽出性)は試料燃焼法により残存する放射活性を測定し、更に好氣的条件下で維持した処理後 60、90 及び 120 日目の土壌抽出残渣は 0.1N水酸化ナトリウム水溶液、0.1Mピロリン酸ナトリウム-0.1N水酸化ナトリウム混液で順次加熱還流し、フミン、フルボ酸及び腐植酸の 3 土壌有機画分に分画した。

処理量設定根拠：

半減期の算出法：下記の速度式(1)に基づいた 1 次式が成立すると仮定してクロチアニジンの各供試土壌中における半減期(DT₅₀)を算出した。

$$\ln(C_0/C) = kt \dots (1) \quad (C_0 : \text{初期濃度}, C : \text{時間}t\text{における濃度},$$

k : 反応速度定数)

$$DT_{50} = \ln(2)/k \quad (\ln(2) = 0.693, DT_{50} : \text{半減期})$$

試験結果：好氣的及び嫌氣的条件下における抽出性の放射活性はいずれも経時的に減少した。一方、非抽出性の放射活性は試験期間を通して経時的に増加し、処理後 180 日目の土壤中の非抽出性-¹⁴Cは、好氣的条件下では処理量の 71.0~80.0%、嫌氣的条件下では 80.3%となった。また試験期間中に生成した揮発性の放射活性は、両条件下で4.3%以下であった。

好氣的及び嫌氣的条件下においてクロチアニジンは経時的に減少し、その半減期は好氣的条件下で約 50~70 日、嫌氣的条件下で約 40 日であった(表 1)。好氣的及び嫌氣的条件に維持したいずれの土壤においても主要代謝分解物として VI (TMG) が同定され、その生成量は最大で処理量の 11.4% (嫌氣的条件下の真壁土壤、処理後 60 日目)であった。また、その他の分解物として II (TZNG)、III (TZMU) 及び IV (MNG) が同定されたが、いずれの分解物もその生成量は処理量の2.9%以下と僅かであった。一方、処理後 30 日目の滅菌土壤中に、分解物の生成は全く認められなかった。クロチアニジン及び土壤分解物の経時変化 (好氣的条件、真壁土壤) の一例を図 1 に示す。

処理後120日目の土壤中の非抽出性-¹⁴Cはフミン画分、フルボ酸画分及び腐植酸画分のすべての画分に認められたが、特にフミン及びフルボ酸画分に多く認められ、それぞれ非抽出性-¹⁴Cの30.8~53.7%及び35.4~56.4%が分布していた。

表 1 湛水土壤中におけるクロチアニジンの半減期

土壤採取地	条 件	
	好氣的	嫌氣的
茨城	約 50 日	—
香川	約 70 日	—
真壁	約 60 日	約 40 日

注) — : 実施していない

以下の分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。

分解物 II :

分解物 III :

分解物 IV :

分解物 VI :

クロチアニジンの湛水土壤中における推定分解経路を図 2 に示す。

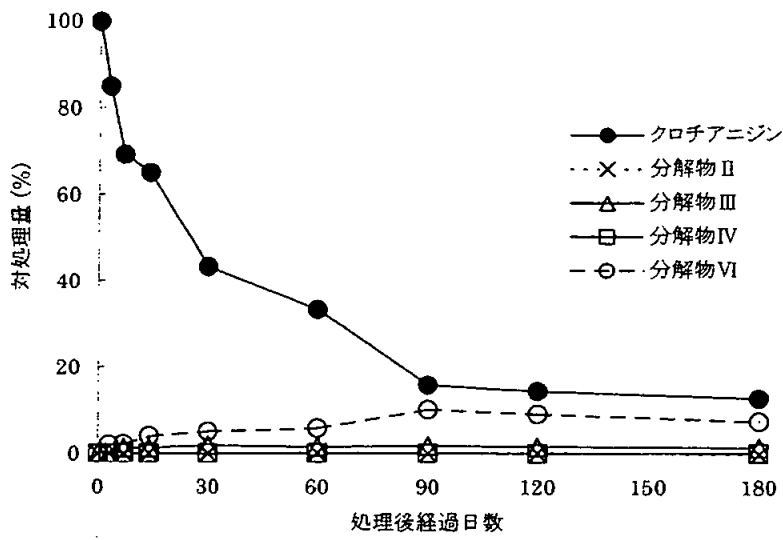


図1 好氣的条件下、真壁土壤中におけるクロチアニジン及びその分解物の経時変化 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン処理)

図2 クロチアニジンの湛水土壤中における推定分解経路

(2) 畑地土壌における分解性

(資料Ⅲ-2)

供試標識化合物：(1)の項に記載した。

供試土壌：(1)の項に記載した。

試験条件：(1)の項に記載した。

試験方法：閉鎖系のビーカーに入れて畑地状態（土壌容水量：1/3 bar、75%）とした各供試土壌を、好氣的及び嫌氣的条件下でそれぞれ1週間及び2週間恒温器（25℃、遮光下）で前培養した後、Ni- またはTh-¹⁴C-クロチアニジンを乾燥重量に対して0.5 ppmとなるように加えて混和〔添加溶媒：アセトニトリル（0.25%≡有機溶媒量/土壌乾土重量）〕し、空気及び窒素ガスを通しながら、恒温器に所定期間（0、7、14、30、60、90、120及び180日間）静置した。試験期間中に発生する揮発性の放射性物質は、1N水酸化ナトリウム水溶液を入れたガラス製容器を閉鎖系容器内に設置することにより捕集し、捕集液中の放射活性を測定した。採取した土壌は50%アセトニトリル及びアンモニア水を含むアセトニトリルで順次抽出し、クロチアニジン及びその分解物を二次元TLCにより定量後、標品とのTLCオートラジオグラフィー及びHPLCによって同定した。一方、土壌抽出残渣（非抽出性）は試料燃焼法により残存する放射活性を測定し、更に、好氣的条件下で維持した処理後90、120及び180日目の土壌抽出残渣は0.1N水酸化ナトリウム水溶液、0.1Mピロリン酸ナトリウム-0.1N水酸化ナトリウム混液で順次加熱還流し、フミン、フルボ酸及び腐植酸の3土壌有機画分に分画した。

処理量設定根拠：

半減期の算出法：(1)の項に記載した。

試験結果：好氣的及び嫌氣的条件下における抽出性の放射活性はいずれも経時的に減少した。一方、非抽出性の放射活性は試験期間を通していずれも経時的に増加し、処理後180日目の土壌中の非抽出性-¹⁴Cは、好氣的条件下では処理量の40.7～45.2%、嫌氣的条件では40.0～44.8%となった。また試験期間中に生成した揮発性の放射活性は、両条件下で8.5%以下であった。

好氣的及び嫌氣的条件下においてクロチアニジンは経時的に減少し、その半減期は約190～210日及び約220日であった（表2）。土壌分解物の生成量は比較的値かであったが、好氣的及び嫌氣的条件に維持したいずれの土壌においても、IV(MNG)の割合が比較的高く、その生成量は最大で処理量の3.4%（好氣的条件下の真壁土壌、処理後180日目）であった。また、その他の分解物としてII(TZNG)、III(TZMU)、及びXI(NTG)

XI(NTG) が同定された。一方、滅菌土壌中では、非滅菌土壌中において認められた分解物は全く生成しなかった。クロチアニジン及び土壌分解物の経時変化(好氣的条件、真壁土壌)の一例を図3 に示す。

処理後180日目の土壌中の非抽出性-¹⁴Cはフミン画分、フルボ酸画分及び腐植酸画分のすべての画分に認められたが、特にフルボ酸画分に多く認められ、非抽出性-¹⁴Cの89.6~95.5%が分布していた。

表2 畑地土壌中におけるクロチアニジンの半減期

土壌採取地	条 件	
	好氣的	嫌氣的
茨城	約 190 日	—
香川	約 210 日	—
真壁	約 200 日	約 220 日

注) — : 実施していない

以下の分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。

分解物Ⅱ :

分解物Ⅲ :

分解物Ⅳ :

分解物Ⅺ :

クロチアニジンの畑地土壌中における推定分解経路を図4 に示す。

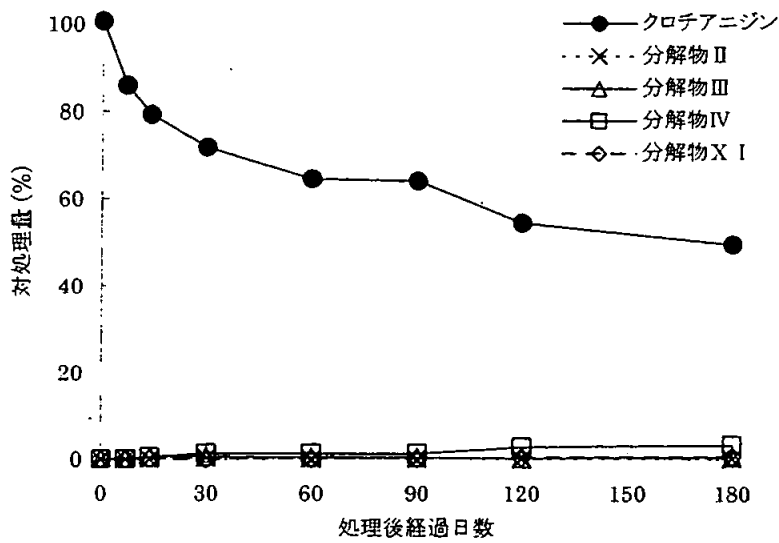


図3 好氣的条件下、真壁土壤中におけるクロチアニジン及びその分解物の経時変化 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン処理)

図4 クロチアニジンの畑地土壌中における推定分解経路

IV. 分解要因

IV-1. クロチアニジンの土壌表面における光分解性試験

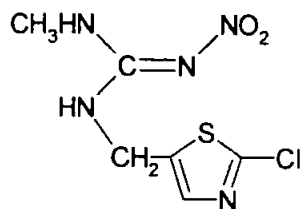
(資料IV-1)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物：Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識化合物の選定理由；

供試土壌：以下の特性を有する土壌（武田薬品工業㈱ 真壁圃場（茨城県真壁郡）を用いた。

土性	有機炭素含有率 (%)	粘土含有率 (%)	pH(H ₂ O)
軽埴土	2.94	31.8	5.5

試験条件：室温

試験方法：Ni-¹⁴C-クロチアニジンを 0.6 μg/cm² の割合で均一に処理（処理溶媒：アセトニトリル、10μl）した土壌薄層プレート（厚さ：0.5mm、ガラスプレート：10×5cm）を閉鎖系のガラス製（光照射面は石英ガラス製）容器内に入れ、キセノンショートアークランプにより、4.0mW/cm² の光強度（360～480nmの波長領域における光強度）で連続的に 14日間光を照射した。試験期間中に発生する揮発性の放射性物質は、1N 水酸化ナ

トリウム水溶液及びメタノールを入れたトラップ管に捕集し、捕集液中の放射活性を測定した。なお、本試験において、光カットフィルターは用いなかった。

光照射開始後 5 日目及び 14 日目に採取した薄層土壌をかき取った後、50%アセトニトリル及びアンモニア水を含むアセトニトリルで順次抽出し、クロチアニジン及びその分解物を二次元 TLC により定量後、標品との TLC オートラジオグラフィーにより同定した。一方、土壌抽出残渣(非抽出性)は試料燃焼法により残存する放射活性を測定した。

なお、対照試験として、遮光下で閉鎖系のガラス製容器内に入れた薄層土壌についても、光照射試料と同じ操作でクロチアニジン及びその分解物を同定定量した。

処理量設定根拠：

試験結果：光照射開始後14日目の薄層土壌における抽出性- ^{14}C 及び非抽出性- ^{14}C は、それぞれ処理量の78.0%及び18.0%であった。また、試験期間中に生成した揮発性の放射活性は処理量の1.5%であった。また、14日間光照射した薄層土壌において、クロチアニジンは処理量の73.0%認められ、分解物の生成量は同定されたⅡ、Ⅲ及びⅣを含め、いずれも処理量の1.3%以下と僅かであった。なお、対照試験(遮光下)におけるクロチアニジンの残存率は、処理量の85%であり、分解物として同定されたⅣの生成量は処理量の0.1%以下であった。

以下の分解物は、分析用標準品とのTLCコクロマトグラフィーにより同定した。

分解物Ⅱ：

分解物Ⅲ：

分解物Ⅳ：

クロチアニジンの土壌表面光分解における推定分解経路を図1に示す。

図1 クロチアニジンの土壌表面光分解における推定分解経路

V. 土壌吸着性試験

V-1. クロチアニジンの土壌中における吸着性

(資料V-1)

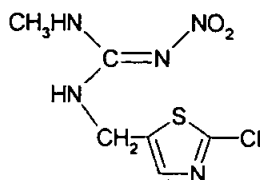
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

(1) 土壌吸着性

供試標識化合物：Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

供試土壌：以下の4種類の土壌を用いた。

土壌採取地	土性	有機炭素含有率(%)	粘土含有率(%)	pH(H ₂ O)	pH(KCl)	土壌/クロチアニジン溶液比 ¹⁾ (W/V)
茨城 ²⁾	重埴土	2.89	45.6	6.9	6.1	1:5
香川 ³⁾	砂埴土	1.24	13.9	6.7	6.5	1:1
真壁 ⁴⁾	軽埴土	3.25	31.8	5.5	4.9	1:5
宮崎 ⁵⁾	軽埴土	5.92	30.4	5.3	4.9	1:25

1) クロチアニジンの土壌吸着率が20~80%となる最適比

2) 日本植物防疫協会(茨城県牛久市)、3) 香川県農業試験場(香川県高松市)

4) 武田薬品工業(株) 真壁圃場(茨城県真壁郡)、5) 宮崎県総合農業試験場(宮崎県宮崎郡)

試験条件：25℃(遮光下)

試験方法及び実験実施期間：

OECDテストガイドライン106“Adsorption/Desorption using a Batch Equilibrium Method”に準拠して、供試土壌に対するクロチアニジンの土壌吸着平衡時間及び土壌吸着平衡時におけるクロチアニジンの土壌吸着濃度と吸着平衡溶液濃度の関係についてフロイドリッヒ吸着等温式を用いて解析した。なお、実験は1999年7月~1999年

8月の間に実施した。

吸着平衡時間の測定：2 mmのフルイを通した風乾土壌を遠心管に秤量し、0.01M塩化カルシウム溶液 (23ml) を加え土壌懸濁液を調製した。その土壌懸濁液に $\text{Ni-}^{14}\text{C}$ -クロチアニジン保存水溶液 (2 ml) を添加して濃度 $5 \mu\text{g/mL}$ の試験溶液を調製し、所定時間 (2、4、8、24 及び48 時間) 振盪した。所定時間毎に採取した土壌懸濁液は遠心分離し、水相中の放射活性を測定し、土壌吸着平衡時間を求めた。

K 値 の 測 定 ; 2 mmのフルイを通した 4 種の風乾土壌を遠心管に秤量し、0.01M塩化カルシウム溶液 (23ml) を加え土壌懸濁液を調製した。その土壌懸濁液に $\text{Ni-}^{14}\text{C}$ -クロチアニジン保存水溶液 (2 ml) を添加し、濃度 5、2、0.8、0.2 及び 0.05 $\mu\text{g/mL}$ の試験溶液を調製し、24 時間振盪した。振盪後、土壌懸濁液を遠心分離し、水相中の放射活性を測定して吸着平衡時間における土壌吸着濃度 ($\mu\text{g/g}$) 及び吸着平衡溶液濃度 ($\mu\text{g/mL}$) を求め、それらの値からフロイドリッヒ吸着等温式によりK値を求めた。

試 験 結 果 : 図 1 に溶液中におけるクロチアニジン濃度の経時的变化を示す。クロチアニジンは、いずれの供試土壌に対しても比較的速やかに吸着され、土壌吸着平衡時間は茨城、香川、真壁及び宮崎土壌でそれぞれ 8、8、2 及び 2 時間と推定された。振とう開始後 24 時間目 (いずれの供試土壌においても十分に吸着平衡に到達している時間) におけるフロイドリッヒのK値は、香川 (1.12) < 真壁 (4.33) < 茨城 (5.29) < 宮崎土壌 (14.8) の順となり (表 1-1)、フロイドリッヒのK値と供試土壌の有機炭素含有率の間には相関が認められた。

表 1 K 値及びKoc値

供試土壌	$1/n^{1)}$	$K^{1)}$	$r^{1)}$	OC% ²⁾	$K_{oc}^{3)}$
茨城	0.782	5.29	1.00	2.89	183
香川	0.836	1.12	1.00	1.24	90.0
真壁	0.803	4.33	1.00	3.25	133
宮崎	0.773	14.8	1.00	5.92	250

1) フロイドリッヒ吸着等温式による定数項と相関係数

2) 供試土壌中の有機炭素含有率

3) K 値を各供試土壌のOC%で割り求めた有機炭素吸着係数

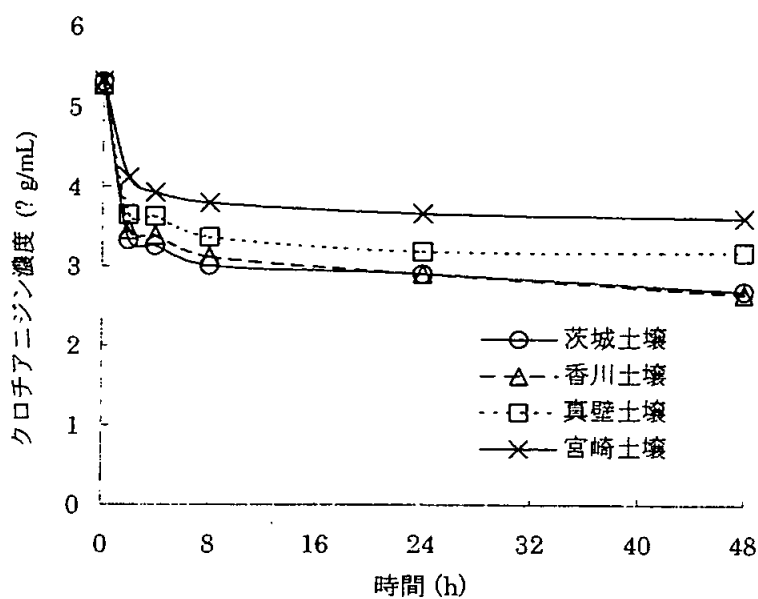


図1 溶液中におけるクロチアニジン濃度の経時的変化

VI. 土壌溶脱性試験

VI-1. クロチアニジンの土壌中における移行性試験

(資料VI-1)

供試標識化合物：(1)の項に記載した。

供試土壌：以下の3種類の土壌を用いた。

土壌採取地	土性	有機炭素含有率(%)	粘土含有率(%)	pH(H ₂ O)	pH(KCl)
茨城	重埴土	2.89	45.6	6.9	6.1
香川	砂埴土	1.24	13.9	6.7	6.5
真壁	軽埴土	3.25	31.8	5.5	4.9

試験条件：室温(遮光下)

試験方法：① 処理直後における土壌カラム移行性試験

風乾後、2 mmのフルイに通した各供試土壌をガラス製カラム(内径：5 cm、長さ：40 cm)に深さ30 cmまで充填し、土壌カラムを調製した。調製した土壌カラムの最上層部に、所定量のNi-¹⁴C-クロチアニジンを混和処理(茨城及び香川土壌：98 μg、真壁土壌：44 μg)した各々の土壌(約20 g：乾燥重量換算)を均一に積層(深さ1 cm)した後、雨量換算で508 mmに相当する0.01 M塩化カルシウム水溶液(約998 ml)を20.8 ml/hrの割合で2日間連続的に灌水した。灌水終了後、土壌カラムを6 cm毎に5画分し、試料燃焼法により放射活性を測定すると共に溶出液中の放射活性を測定した。

② Aged soilによる土壌カラム移行性試験

風乾後、2 mmのフルイに通した各供試土壌(約20 g：乾燥重量換算)を畑地状態(土壌容水量：1/3 bar、75%：香川および茨城土壌)または灌水状態(土壌の厚さ5 cm、水深1 cm以上：真壁土壌)でそれぞれ1週間または4週間、暗所、25℃で前培養した。前培養終了後、各供試土壌に所定量のNi-¹⁴C-クロチアニジンを混和処理(香川、茨城土壌：98 μg、真壁土壌：44 μg)して、暗所、25℃で30日間agingした。Aging終了後、処理土壌を①と同様に土壌カラム最上層部に積層し508 mmの雨量に相当する約998 mlの0.01 M塩化カルシウム水溶液で灌水した。灌水終了後、土壌カラムを6 cm毎に5画分し、試料燃焼法により放射活性を測定すると共に、溶出液中の放射活性およびaging期間中に処理土壌より発生した揮発性-¹⁴Cを測定した。

処理量設定根拠；

試験結果：処理直後におけるカラム移行性試験（表2-1）では、溶出液中の¹⁴Cは茨城及び真壁土壌でそれぞれ処理量の0.1%および0.1%以下と僅かであったが、土壌吸着性試験において最も小さなK値を示した香川土壌では処理量の7.4%認められ、土壌カラムからの溶出量と土壌吸着性の間には相関性が認められた。一方、aged soil (aging 期間：30日間) を用いたカラム移行性試験（表2-2）では、いずれの供試土壌においても土壌カラム下層部への¹⁴Cの移行量は減少し、処理土壌を含む深さ6cmまでの画分に、茨城および真壁土壌ではその大部分（85.1～94.1%）が、香川土壌においても50%以上が認められ、溶出液中の¹⁴Cも僅か（<0.1～2.5%）であった。また、カラム中の土壌を分析したところ、非抽出性-¹⁴Cの占める割合が比較的多かった。

表2-1 土壌カラム中における放射活性の分布 (Non-aged soil)

画分\供試土壌	対処理量%		
	茨城	香川	真壁
1 (0～6cm)*	63.1	13.6	75.7
2 (6～12cm)	27.2	18.9	23.5
3 (12～18cm)	4.6	22.8	2.0
4 (18～24cm)	1.6	19.9	0.1
5 (24～30cm)	0.3	14.2	0.1
カラム溶出液	0.1	7.4	<0.1
合計	96.9	96.8	101.4

* () 内はカラム上端からの距離

表2-2 土壌カラム中における放射活性の分布 (Aged soil)

画分\供試土壌	対処理量%		
	茨城	香川	真壁
1 (0～6cm)*	85.1	54.3	94.1
2 (6～12cm)	7.4	11.4	2.2
3 (12～18cm)	1.1	13.9	0.7
4 (18～24cm)	0.4	11.1	0.2
5 (24～30cm)	0.6	6.3	<0.1
カラム溶出液	0.1	2.5	<0.1
揮発性- ¹⁴ C**	0.4	0.2	0.1
合計	95.1	99.7	97.3

* () 内はカラム上端からの距離

** Aging期間中に処理土壌より発生した揮発性-¹⁴C

VII. 水中運命に関する試験

VII-1. クロチアニジンの加水分解性試験

(資料VII-1)

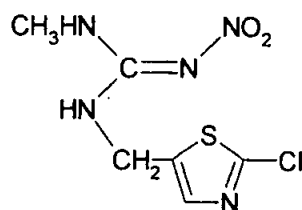
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C・クロチアニジン

化学構造；



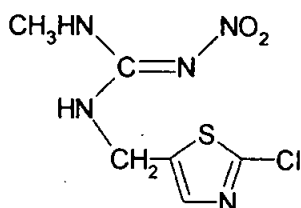
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C・クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識位置設定根拠；

ガイドライン及び試験実施期間：

クロチアニジンの加水分解性試験は、OECDテストガイドライン111 “pHの関数としての加水分解”に準拠して、1996年5月～1997年8月の間に試験を実施した。

供 試 水：

- (1) pH 4.0 緩衝液；50.0 mMくえん酸-カリウム、9.0 mM水酸化ナトリウム
- (2) pH 5.0 緩衝液；4.85 mM くえん酸、10.3 mM リン酸水素二ナトリウム
- (3) pH 7.0 緩衝液；1.77 mM くえん酸、16.5 mM リン酸水素二ナトリウム
- (4) pH 9.0 緩衝液；3.70 mM 炭酸ナトリウム、6.30 mMほう酸、
6.30 mM塩化カリウム
- (5) 蒸 留 水
- (6) 自 然 水；鬼怒川河水（採取場所：茨城県石下町石下橋付近、
pH 7.8、1995年8月採取）

試 験 方 法：本試験は滅菌済みの器具及び溶液を用い、反応の開始及び反応液の採取などの操作は無菌条件下で行った。

各供試水 100 mL に、Ni-¹⁴C-クロチアニジンまたはTh-¹⁴C-クロチアニジンを加えて濃度 1 ppm（溶解補助剤：アセトニトリル、試験液中におけるアセトニトリル濃度：0.1%）の試験液を調製した。各試験液を遮光下 25±1℃及び 50±1℃の恒温槽内に静置し（試験期間：25℃；1年間、50℃；12週間）、所定時間ごとに試験液の一部を採取し、液体シンチレーションカウンターにより ¹⁴C放射活性（¹⁴C）を測定した。またクロチアニジン及び主要分解物は、TLC 及び HPLCコクロマトグラフィーで同定後、それぞれ TLC剥離法により定量した。

半減期の算出方法：クロチアニジンの残存率の対数値と反応時間の間には、良好な直線関係が認められたので、下記の速度式 (1) に準拠した1次式が成立すると仮定し、半減期を式 (2) を用いて算出した。

$$\ln(C_0/C) = kt \quad \dots (1)$$

[C₀：初期濃度、C：時間tにおける濃度、k：反応速度定数]

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \quad \dots (2) \quad [\ln(2) = 0.693, t_{1/2} : \text{半減期}]$$

試 験 結 果：25℃及び 50℃の pH 4.0、5.0 及び 7.0 緩衝液中において、試験期間中クロチアニジンの分解は殆ど認められなかったが、pH 9.0 緩衝液中におけるクロチアニジンの半減期は、25℃及び 50℃ でそれぞれ 1.5

年及び 14 日と求められ、塩基性の水溶液中では、比較的加水分解を受けやすいことが示唆された。また、蒸留水及び自然水中において、クロチアニジンは 25℃で 12 か月後においても 90%以上が残存したが、50℃では比較的速やかに分解を受け、蒸留水及び自然水における半減期は、それぞれ 93 日及び 73 日と求められた。

表1 クロチアニジンの加水分解における推定半減期

試験水溶液	温度	時間	クロチアニジンの 残存率 [Ni~Th (%)]	加水分解推定半減期
pH 4.0	25℃	1 年	99.6~ 99.1	-
pH 5.0			100.1~100.4	-
pH 7.0			98.9~ 98.2	-
pH 9.0			64.1~ 62.4	1.5 年
蒸留水			97.9~ 96.9	-
自然水			92.8~ 91.0	9 年
pH 4.0	50℃	12週	100.2~ 99.4	-
pH 5.0			100.5~ 99.3	-
pH 7.0			98.5~ 96.5	-
pH 9.0			1.6~ 1.3	14 日
蒸留水			54.5~ 52.4	93 日
自然水			46.5~ 43.7	73 日

- : 加水分解推定半減期は、算出不可

加水分解の認められた pH 9.0 緩衝液、蒸留水及び自然水中における主要分解物としてⅢ (TZMU)、X (ACT)、X II (CTNU)及び二酸化炭素が同定された。また、pH 9.0 緩衝液及び自然水中におけるクロチアニジン及び各分解物の経時変化を次頁に示す。

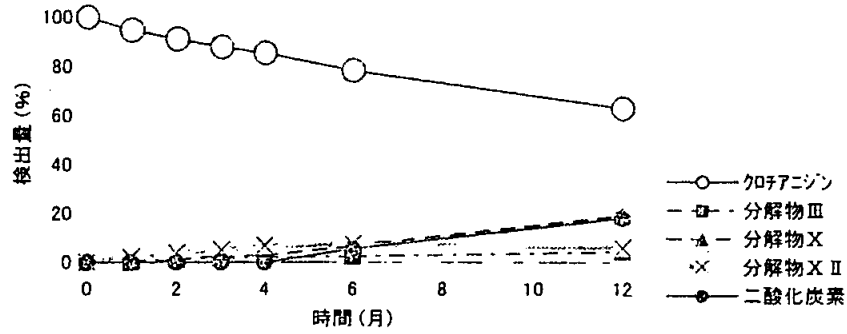
以下の分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLCコクロマトグラフィにより同定した。

分解物Ⅲ :

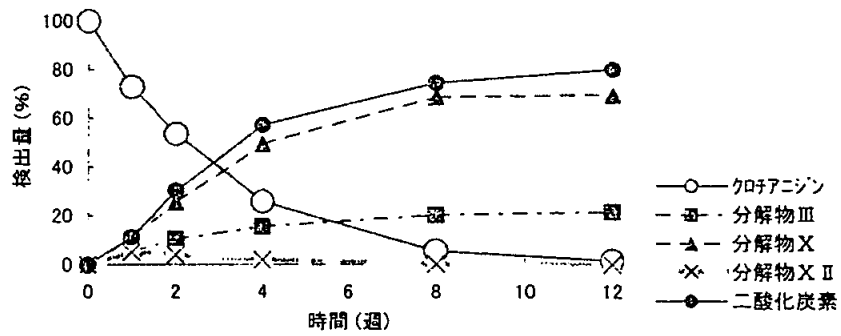
分解物 X :

分解物 X II :

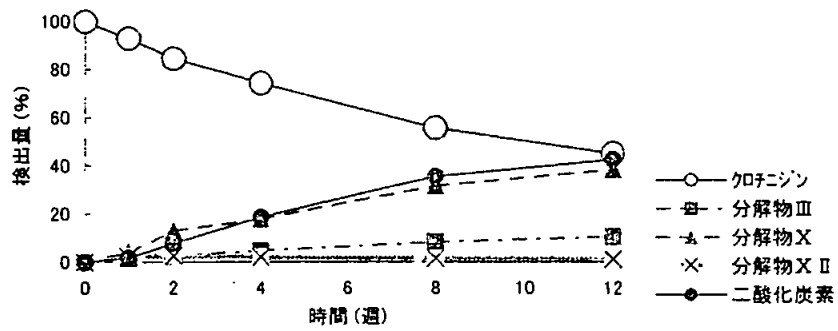
pH 9.0緩衝液、25℃



pH 9.0緩衝液、50℃



自然水、50℃



本試験において同定されたクロリアセチンの分解物を基に、推定される加水分解経路を次頁に示す。

クロチアニジンの水溶液中における推定加水分解経路

VII-2. クロチアニジンの水中光分解性試験

(資料VII-2)

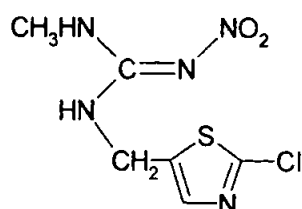
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



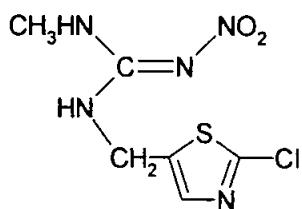
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識位置設定根拠：

ガイドライン及び試験実施期間：

クロチアニジンの水中光分解性試験は、“農薬の物理的・化学的性状に関する試験方法について”（9農産第5089号、H.9.8.29）に準拠して、1999年3月～1999年7月の間に試験を実施した。

供試水：滅菌蒸留水及び自然水 3種類

自然水の採取場所、pH及び採取年月日

鬼怒川河水：茨城県石下町石下橋付近、pH 7.4、1999年3月12日

霞ヶ浦湖水：茨城県土浦市霞ヶ浦ヨットハーバー付近、pH 7.7、1999年3月12日

真壁港假用水：茨城県真壁郡武田薬品工業株式会社真壁工場、pH 7.8、1999年3月12日

蒸留水は、オートクレーブにより滅菌して用いた。また、自然水は、濾紙により微粒子を除去後用いた。

試験方法：各供試水 50 mL に、Ni-¹⁴C-クロチアニジンまたは Th-¹⁴C-クロチアニジンを加えて濃度 1 ppm（溶解補助剤：アセトニトリル、試験液中におけるアセトニトリル濃度：0.1%）の試験液を調製した。調製した各試験液は、石英製ガラス試験管に入れ、25℃にて、キセノンショートアークランプにより、1.8 mW/cm²の光強度（360～480nm の波長領域における光強度）で連続的に 4 時間光照射した。また、本試験において、光カットフィルターは用いなかった。

光照射開始後、所定時間毎に反応液を採取して、供試水溶液中における ¹⁴C-放射活性（¹⁴C）を、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。クロチアニジン及びその分解物は、二次元TLC-オートラジオグラフィーに供し、それぞれをTLC剥離法で定量した。また、クロチアニジン及びその分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLCコクロマトグラフィーにより同定した。

半減期の算出方法：クロチアニジンの残存率の対数値と反応時間の間には、良好な直線関係が認められたため、下記の速度式 (1) に準拠した1次式が成立すると仮定し、半減期を式 (2) を用いて算出した。

$$\ln(C_0/C) = kt \quad \cdots (1)$$

[C₀：初期濃度、C：時間における濃度、k：反応速度定数]

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \quad \cdots (2) \quad [\ln(2) = 0.693, t_{1/2} : \text{半減期}]$$

試験結果：光照射下で、クロチアニジンは、速やかに分解を受けて消失した。

光照射開始 60 分後の蒸留水、鬼怒川河川水、霞ヶ浦湖水及び真壁灌漑用水中におけるクロチアニジンの残存率はそれぞれ 46.9～51.2% (Ni-¹⁴C-クロチアニン～Th-¹⁴C-クロチアニン、以下同じ)、48.4～52.4%、63.4～59.2%及び 53.8～55.0%であり、半減期はそれぞれ、40分～42分、46 分～47 分、58 分～54 分 及び 49分～54 分と推定された。またクロチアニジンの水中光分解に伴い、Ⅲ (TZMU) 及びⅧ (MAI) が経時的に増加し、水中光分解における主要分解物であった。蒸留水及び自然水 (鬼怒川河川水) 中におけるクロチアニンならびに同定された分解物 [Ⅲ、Ⅵ (TMG)、Ⅶ (MG)、Ⅷ、二酸化炭素] の試験期間中における経時的变化を図 1 に示す。

表1 クロチアニジンの水中光分解における推定半減期

試験水溶液	時間	クロチアニジンの 残存率 [Ni～Th(%)]	水中光分解推定半減期 [Ni～Th(分)]
蒸留水	60分	46.9～ 51.2	40～ 42
自然水 (鬼怒川 ¹⁾)		48.4～ 52.4	46～ 47
自然水 (霞ヶ浦 ²⁾)		63.4～ 59.2	58～ 54
自然水 (真壁 ³⁾)		53.8～ 55.0	49～ 54

注) 1) : 茨城県石下町石下橋

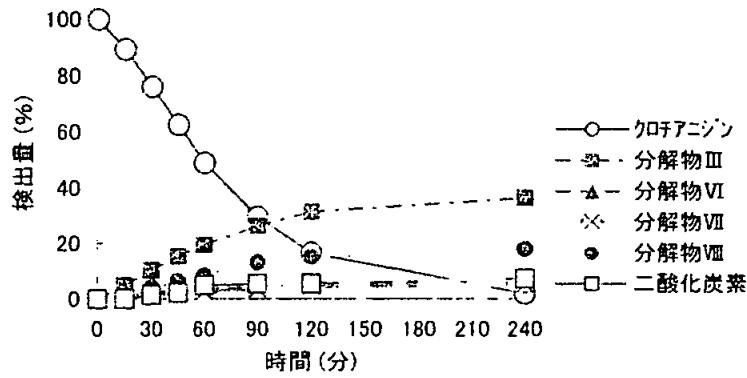
2) : 茨城県土浦市霞ヶ浦ヨットハーバー

3) : 茨城県真壁郡武田薬品工業(株)真壁工場

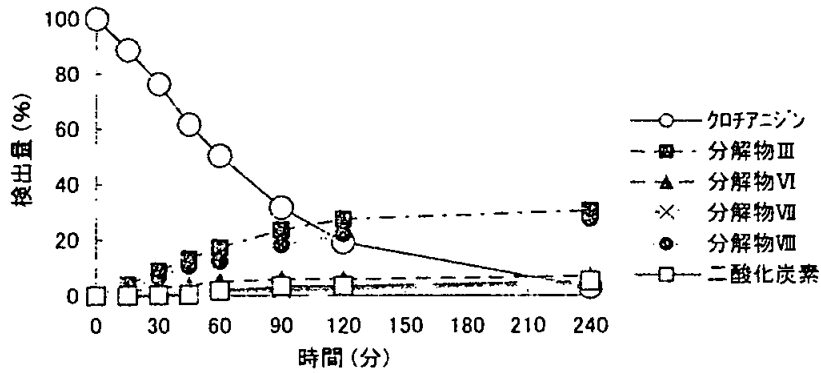
なお、対照試験 (遮光下) において、試験期間中クロチアニジンは安定であった。

図1 クロチアジンの水中光分解における経時変化

蒸留水



自然水 (鬼怒川河川水)



以下の分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLCコクロマトグラフィにより同定した。

- 分解物III :
- 分解物VI :
- 分解物VII :
- 分解物VIII :

また、以下の分解物については、分析用標準品との TLCコクロマトグラフィにより仮同定した。

- 分解物XIII :
- 分解物XIV :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

分解物X V :

分解物X VI :

分解物X VII :

本試験において認められた分解物を基に、推定される水中光分解経路を図2に示す。

図2 クロチアニジンの推定水中光分解経路

クロチアニジンの動植物および環境中における代謝分解

クロチアニジンの哺乳動物、植物、土壌及び水中における代謝・分解は下記の通りであり、予想代謝経路を図1に、結果の概要は添付の表にまとめた。

動物：

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環の2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンをラットあるいはマウスに5 mg/kgあるいは250 mg/kgの割合で単回経口投与した。

投与した¹⁴Cは速やかに吸収された後、低用量投与群では投与24時間以内に、高用量投与群では48時間以内に投与した¹⁴Cの90%以上が体外へと排泄され、その主要排泄経路は尿であった。投与した¹⁴Cは投与後速やかに全身の組織へと分布した後、血中からの¹⁴Cの消失にともなっていずれの組織においても¹⁴C濃度は経時的に減少し、特定の組織に¹⁴Cが蓄積する傾向は認められなかった。糞尿中における排泄物に顕著な種差はなく、糞尿中の主要排泄物は未変化のクロチアニジン（ラット：55.6～83.1%、マウス：36.8～38.3%）、TZNG（ラット：4.9～17.9%、マウス：29.2～30.2%）、MNG（ラット：5.5～13.2%、マウス：8.7～9.0%）、MTCA（ラット：4.9～10.0%）およびNTG（10.7～11.3%）、その他にTZMU、TMG、NTG、TZUおよびMGが同定された。

以上の結果、ラットおよびマウスにおいてクロチアニジンの体内動態に種差および性差はなく、主要代謝経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、チアゾリルメチルとグアニジン間のN-C結合の開裂およびそれに続くグルタチオン抱合化であった。

クロチアニジンを5 mg/kg/日あるいは25 mg/kg/日の割合でラットに14日間経口投与し、15日目にニトロイミノ基を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを経口投与したところ、投与した¹⁴Cの排泄速度、排泄経路および代謝物の割合は単回投与のそれとほぼ同じ傾向を示した。

植物：

イネ

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環の2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを出穂期の止め葉表面および土壌にそれぞれ1.0 μg/cm²（15 μg/葉身部、10 g/10 a相当）の割合で1回塗布および定植時に1.5 μg/cm²（300 μg/ポット、15 g/10 a相当）の割合で土壌混和处理し、収穫期（葉面処理48日間、土壌処理130日間）まで栽培した。玄米、籾殻、葉身および葉鞘は経時的に採取し、分析に供した。葉面処理および土壌処理とも、¹⁴Cの大部分は処理部（葉面84.4～91.0%、土壌88.0～91.9%）に留まり、玄米に移行した¹⁴Cはそれぞれ0.2%および0.1～0.2%と僅かであった。イネでの主要残留物は未変化のクロチアニジンであり、いずれの処理方法もしくは分析部位においても10%TRR（TRR：総残留放射能）を超えて存在した。玄米、葉身および葉鞘における主要代謝分解物として葉身部塗布処理

でMG(玄米：12.4%TRR)およびTZMU(非処理葉身：16.1~16.2%TRR、葉鞘：10.5~13.3%TRR)、
土壌混和处理でMG(葉身：11.2%TRR)、TZMU(玄米：6.3~13.3%TRR、葉身：15.3~15.7%TRR、
葉鞘：14.4~16.9%TRR)およびTMG(葉身：13.1~13.3%TRR)が検出された。その他の微量
代謝分解物としてTZU(最大5.6%TRR)、TZNG(同3.2%TRR)、MNG(同2.7%TRR)およびNTG
(同1.5%TRR)が生成した。

イネにおけるクロチアニジンの主要代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱メ
チル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジ
ン間のC-N結合の開裂であった。

トマト

ニトロイミノ基の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを果実および葉表面に2.5 µg/cm²
(25 g/10 a 相当)の割合で1回塗布、植物全体に7.9 mg/株(15.8 g/10 a 相当)の割合で収穫
17日および3日前に2回散布、あるいは定植時に15 mg/株の割合で株元処理し、収穫期(塗布処理
28日間、散布処理3日間、土壌処理97日間)まで栽培した。全体散布および株元処理におけるト
マト果実中の¹⁴C残留濃度はそれぞれ0.57 ppmおよび0.014 ppmであった。主要残留物は未変化のク
ロチアニジンであり、いずれの処理形態においても66.1%TRR以上検出され、主要代謝分解物として
MNG(最大17.7%TRR)およびTZNG(同8.4%TRR)が生成した。その他の微量代謝分解物とし
てTZMU、TMG、MG、TZUおよびNTGが検出されたが、いずれも添加¹⁴C(AR)の3.4%以下であ
った。

トマトにおけるクロチアニジンの主要代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱
メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニ
ジン間のC-N結合の開裂であった。

茶

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環の2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを
3.5 µg/cm²(3.5 µg/葉、35 g/10 a 相当)の割合で葉面に塗布し、処理28日後まで経時的に処理葉
および非処理葉(上位葉および下位葉)を採取した。28日後の処理葉には添加¹⁴Cの97.0%が残留
しており、非処理部に移行した¹⁴C量は0.1%未満と僅かであった。処理葉における主要残
留物は未変化のクロチアニジン(88.2~90.5%AR)であり、微量代謝分解物としてTZMU(最
大2.9%AR)、TMG(同2.3%AR)、MG(同1.6%AR)、MNG(同1.2%AR)、TZU(同0.9%AR)お
よびTZNG(同0.7%AR)が生成した。

茶におけるクロチアニジンの主要代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱メ
チル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジ
ン間のC-N結合の開裂であった。

りんご

ニトロイミノ基を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを8.3 µg/樹(40 g/10 a相当)の割合で収穫の99日および14日前に2回散布し、果実および葉を最終散布14日後に収穫した。果実および葉における¹⁴C残留濃度はそれぞれ0.076および6.45 ppmであった。主要残留物は未変化のクロチアニジンであり、果実および葉でそれぞれ61.5%TRR(0.046 ppm)および54.5%TRR(3.51 ppm)検出された。主要代謝分解物としてTZMUが7.2~10.6%TRR生成し、その他の微量代謝分解物としてTHMN-Glc(最大7.1%TRR)、TMG(同6.2%TRR)、MNG(同3.8%TRR)、MG(同3.0%TRR)、TZNG(同2.8%TRR)およびTZU(同1.0%TRR)が検出された。

りんごにおけるクロチアニジンの主要代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂、および二級アミンの水酸化とそれに続くグルコース抱合化であった。

てんさい

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環の2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを19 g/10 aの割合で種子処理し、処理144日後まで経時的に根および葉を採取した。処理144日後に採取した根および葉における¹⁴C残留濃度はそれぞれ0.034 ppmおよび0.886 ppmであった。未変化のクロチアニジンは根で24.4%TRR(0.008 ppm)および葉で4.3%TRR(0.038 ppm)であった。主要代謝分解物としてTZNG(9.8%TRR)、MG(28.6%TRR)およびTMG(27.0%TRR)が検出され、その他の微量代謝分解物としてTZMU(最大4.3%TRR)、MNG(同4.1%TRR)、TZU(同1.7%TRR)およびNTG(同1.3%TRR)が生成した。

てんさいにおけるクロチアニジンの主要代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱ニトロ化および脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂であった。

とうもろこし

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを1.06~2.52 mg/種子(4.2~10 g/10 a相当)の割合で種子処理し、処理60もしくは63日後に青刈り、処理145もしくは160日後の収穫期に茎葉部および穀粒を採取した。青刈り、茎葉部および穀粒での¹⁴C残留濃度はそれぞれ0.130~0.89 ppm、0.170~3.06 ppmおよび0.006~0.063 ppmであった。各部位における主要残留物は未変化のクロチアニジン(青刈り:42.9~64.5%TRR、茎葉:20.1~39.5%TRR、穀粒:14.4~58.5%TRR)およびMG(青刈り:7.4%TRR、茎葉部:14.8%TRR、穀粒:21.7%TRR)であり、その他の代謝分解物として、TZMU(最大9.2%TRR)、TMG(同8.8%TRR)、MNG(同5.7%TRR)、TZNG(同3.0%TRR)、TZU(同2.7%TRR)およびCTCA(同1.7%TRR)が同定された。

とうもろこしにおけるクロチアニジンの主要代謝分解経路は、メチルニトログアニジン

部分の脱ニトロ化および脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。

土壌：

水田土壌での代謝分解

茨城（重埴土）、香川（砂埴土）および真壁（軽埴土）にニトロイミノ基あるいはチアゾール環の 2 位の炭素を ^{14}C で標識したクロチアニジンを乾土あたり 0.225 ppm の割合で処理し、好氣的あるいは嫌氣的条件下 25°C の暗所で 180 日間インキュベーションした結果、クロチアニジンは好氣的条件下で半減期 49~72 日、嫌氣的条件下では 44 日で消失した。試験期間中に生成した主要代謝分解物は TMG（最大：11.4%、嫌氣条件、処理 60 日後）であり、その他 TZNG、TZMU および MNG が同定されたが未同定代謝分解物を含めその生成量は処理 ^{14}C 量の 2.9% 以下であった。処理 180 日後に揮発性 ^{14}C は処理量の 0.7~4.3%（好氣条件）および 1.8%（嫌氣条件）生成し、土壌残渣中の ^{14}C 量は 71.0~80.0%（好氣条件）および 80.3%（嫌氣条件）でその大部分はフルボ酸面分に分布（35.2~41.2%、処理 90 日後）していた。

湛水土壌中におけるクロチアニジンの主要代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱ニトロ化であり、その他メチルニトログアニジン部分の脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂等の代謝分解を受け、最終的に二酸化炭素にまで無機化されるかあるいは土壌に強固に吸着された。

以上の結果、クロチアニジンの好氣的および嫌氣的条件下の湛水土壌における分解速度や分解物の種類はほぼ同様であった。

畑地条件下における土壌での代謝分解

茨城（重埴土）、香川（砂埴土）および真壁（軽埴土）にニトロイミノ基あるいはチアゾール環の 2 位の炭素を ^{14}C で標識したクロチアニジンを乾土あたり 0.5 ppm の割合で処理し、好氣的あるいは嫌氣的条件下 25°C の暗所で 180 日間インキュベーションした結果、クロチアニジンは好氣的条件下で半減期 193~217 日、嫌氣的条件下では 217~231 日で消失した。処理量の 10% を超える、もしくは土壌中で蓄積傾向のある代謝分解物は認められなかった。試験期間中に生成した代謝分解物は MNG（最大：3.4%、真壁土壌、処理 180 日後）であり、その他 TZNG、TZMU および NTG が同定されたが未同定代謝分解物を含めその生成量は処理 ^{14}C 量の 1.9% 以下であった。処理 180 日後に揮発性 ^{14}C は処理量の 0.7~8.5%（好氣条件）および 0.9~5.1%（嫌氣条件）生成し、土壌残渣中の ^{14}C 量は 40.7~45.2%（好氣条件）および 40.0~44.8%（嫌氣条件）でその大部分はフルボ酸面分に分布（36.5~41.9%）していた。

畑地土壌中におけるクロチアニジンの代謝経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開

裂等の代謝分解を受け、最終的に二酸化炭素にまで無機化されるかあるいは土壤に強固に吸着された。

以上の結果、クロチアニジンの好気的および嫌気的条件下の畑地土壤における分解速度や分解物の種類はほぼ同様であった。

土壤吸着性

4種類の土壤〔茨城土壤（重埴土）、香川土壤（砂埴土）、真壁土壤（軽埴土）、宮崎土壤（軽埴土）〕を用いてニトロイミノ基の炭素を ^{14}C で標識したクロチアニジンの土壤吸着性試験を、 $25\pm 1^\circ\text{C}$ の暗条件下で平衡時間を24時間に設定し実施した。いずれの土壤においても吸着パターンはフロイントリッヒ吸着等温式によく適合し、同式より求めた吸着係数 (K_F^{ads}) および有機炭素吸着係数 (K_F^{adsoc}) はそれぞれ1.12~14.8および90.0~250であり、McCallらの定義では“High~Medium”の移行度に分類された。

カラム移行性

3種類の土壤〔茨城（重埴土）、香川（砂埴土）、真壁（軽埴土）〕20g（乾土換算）にニトロイミノ基の炭素を ^{14}C で標識したクロチアニジンを44~98 μg 処理し、処理直後または好気的条件下で30日間インキュベートした土壤を調製した。別途、内径5cmのガラスカラムに各土壤を30cmの高さまで充填して土壤カラムを作成し、その上層に各処理土壤を添加後、降雨量換算で508mmに相当する0.01M塩化カルシウム水溶液（998mL）を2日間で滴下した。処理直後土壤添加カラムでは、有機物含量の多い茨城および真壁土壤では処理した ^{14}C の大部分が土壤カラム上層部（処理部および0~12cm画分）に分布したが、有機物含量の少ない香川土壤では処理した ^{14}C の一部が下方に移行し、溶出液中に溶出した ^{14}C 量は処理 ^{14}C 量の7.4%であったのに対し茨城および真壁土壤ではそれぞれ0.1%および<0.1%であった。処理後インキュベーション土壤添加カラムでは、全ての土壤において処理直後土壤添加カラムと比較して下方への移行割合は減少し、溶出液中に溶出した ^{14}C 量は処理 ^{14}C 量の2.5%以下（茨城：0.1%、香川：2.5%、真壁：<0.1%）であった。

土壤表面光分解

ニトロイミノ基の炭素を ^{14}C で標識したクロチアニジンを真壁土壤（軽埴土）を用いて調製した土壤薄層（厚さ：0.5mm）に0.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の割合で均一に処理し、キセノンランプ光（4.0 mW/cm^2 、360~480nm）を14日間連続照射した。処理14日後の土壤におけるクロチアニジンの残留量は処理した ^{14}C 量の73.0%（暗対照区：85%）であり、生成した代謝分解物の生成量は同定されたMNG、TZNGおよびTZMUを含めて処理 ^{14}C 量の1.3%であった。

クロチアニジンの土壤表面光分解における分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂であった。

水中：

加水分解

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環の2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを1 mg/Lとなるよう、pH 4、5、7および9の滅菌緩衝液および濾過滅菌した蒸留水および自然水(茨城県鬼怒川から採取、pH 7.8)に添加し、25 および 50°Cの暗所で最大 12 ヶ月間静置して加水分解試験を実施した。クロチアニジンは中性および酸性条件下で安定であったが塩基性条件下で分解を受け、pH 9 の緩衝液および自然水中での半減期(25°C)はそれぞれ1.5年および9年であった。主要分解物として、ACT(最大生成量：69.8%、pH 9 緩衝液：50°C、12 週後)、CTNU(同：7.8%、pH 9 緩衝液：25°C、6 ヶ月後)、TZMU(最大生成量：24.6%、pH 9 緩衝液：50°C、12 週後)および二酸化炭素(同：80.4%、pH 9 緩衝液：50°C、12 週後)が生成した。

クロチアニジンの加水分解における主要分解経路はニトログアニジン部分の脱メチルアミンおよび脱ニトロアミン反応であり、ウレア部分の逐次的な分解により最終的には二酸化炭素まで無機化された。

水中光分解

ニトロイミノ基あるいはチアゾール環の2位の炭素を¹⁴Cで標識したクロチアニジンを1 mg/Lとなるよう、濾過滅菌した蒸留水および自然水3種(茨城県鬼怒川河川水：pH 7.4、霞ヶ浦湖水：pH 7.7、茨城県真壁灌漑用水：pH 7.8)に添加し、25°Cでキセノンランプ光(1.8 mW/cm²、360~480 nm)を4時間連続照射した。いずれの供試水中においても、光照射下でクロチアニジンの分解が促進され、クロチアニジンの自然太陽光下(東京、春)における消失半減期は31~46分であった。クロチアニジンの水中光分解における主要分解物は、TZMU(最大生成量：40.6%、蒸留水、240分後)、MAI(同：31.6%、霞ヶ浦湖水、240分後)およびTMG(同：9.8%、真壁灌漑用水、240分後)であった。その他同定されたMG、HMIO、MU、TMHGおよびMACを含め最大6.5%以下の微量分解物が認められ、揮散成分として二酸化炭素が最大7.4%(蒸留水、240分後)検出された。

クロチアニジンの水中光分解における主要分解経路は、ニトログアニジン部分の加水分解、ならびに脱ニトロ化に続く分子内環化反応であり、その他イミノ窒素への水酸基の付加とそれに続く脱ニトロ化反応、およびチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂を経て最終的には二酸化炭素まで無機化された。

試験の種類	クロチアニジンの動植物体、土壌及び水中における代謝・分解
代謝・分解 の経路	
A:動物体内	
P:植物体内	
S:土壌中	
SL:土壌表面 光分解	
W:加水分解	
L:水 中 光分解	

クロチアニジンの代謝概要
動物における代謝概要

		代謝分解物		907-N	TZMO	TZMU	MNG	MTCA	TMO	MG	TZU	ACT	NTG	TZG	TN4H	TZMU	Urea	CTCA	HPLC 検出成分*	未測定	排泄物	合計		
動物代謝	ラット (武田薬品)	N6標識体	5 mg/kg, 雄	0~7日	1.8	0.1	ND	0.1	ND	2.5	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.9	5.7	
			0~7日	72.2	7.1	1.0	7.5	ND	0.3	ND	1.5	ND	1.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	0.0	92.3	
			5 mg/kg, 雌	0~7日	1.8	<0.1	ND	0.1	ND	1.8	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.5	4.4
			0~7日	77.4	4.9	0.8	7.8	ND	0.4	ND	1.6	ND	0.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	0.0	95.0	
			15 mg/kg × 15 日	0~7日	3.5	0.2	ND	0.2	ND	1.9	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	1.4	7.3
			0~7日	78.7	7.1	0.2	5.3	ND	2.2	ND	0.6	ND	0.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.0	94.7	
		15 mg/kg × 15 日	0~7日	2.6	<0.1	ND	<0.1	ND	2.3	<0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.5	5.5	
		0~7日	79.6	5.6	<0.1	8.9	ND	2.9	ND	0.2	ND	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.0	95.5		
		250 mg/kg, 雄	0~7日	2.5	0.5	0.1	0.1	ND	2.8	0.2	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.8	8.9	
		0~7日	81.4	13.5	0.5	9.6	ND	2.1	ND	1.2	ND	2.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.0	90.8		
		250 mg/kg, 雌	0~7日	1.6	0.2	0.1	0.1	ND	1.5	0.1	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.9	4.6	
		0~7日	85.5	14.4	0.4	8.4	ND	1.0	ND	1.1	ND	1.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	0.0	92.5		
	Th標識体	5 mg/kg, 雄	0~7日	2.8	0.2	ND	ND	0.3	1.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	1.0	6.0	
		0~7日	88.4	8.2	0.9	ND	5.3	1.2	ND	2.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.8	0.0	92.0		
		5 mg/kg, 雌	0~7日	1.2	0.1	ND	ND	0.1	2.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.4	0.9	4.7	
		0~7日	75.7	8.0	0.8	ND	5.4	1.8	ND	2.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.0	0.0	95.8		
		15 mg/kg × 15 日	0~7日	1.2	0.2	<0.1	ND	0.2	2.9	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.0	2.5	8.7	
		0~7日	77.4	8.3	0.7	ND	4.9	0.4	ND	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	0.0	93.2		
		15 mg/kg × 15 日	0~7日	5.7	0.3	0.1	ND	ND	3.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.4	1.0	8.2	
		0~7日	89.9	13.0	0.5	ND	7.7	0.5	ND	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.8	0.0	92.7		
		250 mg/kg, 雄	0~7日	1.2	0.2	<0.1	ND	0.2	2.9	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.0	2.5	8.2	
		0~7日	81.7	17.5	0.9	ND	8.8	0.5	ND	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.7	0.0	93.4		
		250 mg/kg, 雌	0~7日	2.2	0.1	<0.1	ND	ND	3.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.3	0.8	8.9	
		0~7日	76.5	7.1	0.3	ND	6	1.4	ND	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.6	ND	92.9		
N6標識体 (Bayer)	2.5 mg/kg, 雄	0~24時間	0.90	0.14	ND	*	ND	1.44	*	0.12	ND	*	0.38	ND	0.10	ND	0.50*	ND	0.50*	0.28	ND	3.95		
	0~24時間	54.85	11.25	ND	13.21	ND	0.11	0.45	0.52	ND	3.92	ND	0.11	0.16	0.25	ND	ND	0.80	3.87	ND	92.18			
	合計	55.55	11.39	ND	13.21	ND	1.55	0.45	0.63	ND	3.92	0.36	0.11	0.28	0.25	ND	0.80	3.87	ND	2.08	93.32			
	2.5 mg/kg, 雌	0~48時間	0.53	0.08	ND	*	ND	0.60	*	0.07	ND	*	0.18	ND	0.03	ND	0.34*	ND	0.34*	0.24	ND	2.08		
	0~24時間	73.49	7.01	ND	7.75	ND	0.13	0.30	0.49	ND	1.42	ND	0.12	0.10	0.13	ND	0.34	2.62	ND	2.38	ND	93.32		
	合計	74.02	7.07	ND	7.75	ND	0.73	0.30	0.58	ND	1.42	0.19	0.12	0.13	0.13	ND	0.34	2.62	ND	2.38	ND	93.32		
	250 mg/kg × 15 日	0~24時間	59.88	12.48	ND	9.46	ND	0.19	0.30	0.84	ND	3.49	ND	0.09	0.29	ND	ND	ND	1.88	ND	1.88	ND	89.85	
	Th標識体	2.5 mg/kg, 雄	0~72時間	88.53	10.18	ND	8.78	ND	0.18	0.24	0.67	ND	1.92	ND	0.17	0.08	ND	ND	ND	2.48	ND	91.30		
	0~72時間	1.51	0.18	ND	ND	0.02	2.17	ND	0.20	0.28	ND	0.54	ND	ND	ND	ND	0.06	ND	0.41	ND	5.37			
	合計	59.83	10.44	ND	ND	8.62	0.20	ND	0.21	1.02	ND	ND	ND	ND	0.18	ND	0.89	ND	8.55	ND	87.85			
	N6標識体 (武田薬品)	5 mg/kg, 雄	0~7日	1.5	1.3	ND	0.2	ND	1.0	ND	ND	ND	ND	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.4	1.0	8.8	
		0~7日	38.8	29.2	ND	8.7	ND	ND	ND	ND	ND	11.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8.4	ND	92.4		
5 mg/kg, 雌		0~7日	1.4	0.8	ND	0.2	ND	0.8	ND	ND	ND	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.7	0.8	3.0		
0~7日		38.3	30.2	ND	9	ND	ND	ND	ND	ND	10.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.5	ND	93.7			

*: HPLC検出成分はMG, NTG, MNGの合計を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

別表 (イネ土壌混和処理した場合の玄米及び葉身部における非抽出物の化学的特徴付け)

酵素処理における非抽出物の化学的特徴付け

玄米

酵素	緩衝液のpH	Ni- ¹⁴ C-クロチアニン			Th- ¹⁴ C-クロチアニン		
		酵素処理で遊離した ¹⁴ C	残渣中の ¹⁴ C	合計	酵素処理で遊離した ¹⁴ C	残渣中の ¹⁴ C	合計
セルラーゼ	pH 5	12.7	35.9	48.6	14.5	55.0	69.5
β-グルコシダーゼ	pH 5	8.7	39.9		5.6	63.9	
ペクチナーゼ	pH 5	9.9	38.7		19.1	50.4	
プロテアーゼ	pH 7	15.9	32.7		11.1	58.4	
対照(緩衝液のみ)	pH 5	10.9	37.7		12.7	56.8	
対照(緩衝液のみ)	pH 7	16.3	32.3	14.1	55.4		

(表中の数値は、回収放射能合計に対する割合)

葉身部

酵素	緩衝液のpH	Ni- ¹⁴ C-クロチアニン			Th- ¹⁴ C-クロチアニン		
		酵素処理で遊離した ¹⁴ C	残渣中の ¹⁴ C	合計	酵素処理で遊離した ¹⁴ C	残渣中の ¹⁴ C	合計
セルラーゼ	pH 5	6.3	19.9	26.2	5.8	27.0	32.8
β-グルコシダーゼ	pH 5	5.5	20.7		4.3	28.5	
ペクチナーゼ	pH 5	5.8	20.4		4.7	28.1	
プロテアーゼ	pH 7	7.5	18.7		7.8	25.0	
対照(緩衝液のみ)	pH 5	5.7	20.5		4.6	28.2	
対照(緩衝液のみ)	pH 7	6.5	19.7	6.9	25.9		

(表中の数値は、回収放射能合計に対する割合)

酸、塩基処理における非抽出物の化学的特徴付け

抽出方法*	玄米部		葉身部	
	Ni- ¹⁴ C-クロチアニン	Th- ¹⁴ C-クロチアニン	Ni- ¹⁴ C-クロチアニン	Th- ¹⁴ C-クロチアニン
酸、塩基による室温条件下での抽出	10.3	11.7	9.8	9.9
塩基性条件、加熱還流下での抽出	29.2	51.5	13.5	17.2
上記処理後の残渣	9.1	6.3	2.9	5.7
合計	48.6	69.5	26.2	32.8

(表中の数値は、回収放射能合計に対する割合)

* : 非抽出物からの抽出については、アセトニトリル-水系を用いて調製した非抽出物を、まず酸及び塩基による室温条件下で抽出後、得られた残渣をさらに塩基性条件、加熱還流下で抽出を行った。

試験の種類		代謝・分解物																	未同定	非抽出物	CO ₂	回収放射能の合計			
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII							
土	過水状態 (遮光下)	Ni	好氣的 (120日後)	14.6	0.2	1.7	0.1		9.3	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.0	69.2*	0.9	97.0		
			好氣的 (180日後)	13.0	ND	1.6	0.3		7.6	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.9	77.4	1.6	102.4	
			嫌氣的 (120日後)	8.8	ND	1.8	ND		9.1	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.8	74.5	1.3	96.3	
		Th	嫌氣的 (180日後)	6.1	ND	1.7	ND		8.1	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.9	80.3	1.8	98.9	
			好氣的 (120日後)	13.3	0.1	1.8		ND	9.9		ND	ND	ND		ND				ND	ND	1.2	68.9*	0.7	95.9	
			好氣的 (180日後)	10.5	ND	1.7		ND	10.1		ND	ND	ND		ND				ND	ND	1.1	72.1	1.2	96.7	
	畑地状態 (遮光下)	Ni	好氣的 (180日後)	49.7	0.3	0.6	3.4		ND	ND	ND	ND		0.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	45.2*	0.7	101.8	
			嫌氣的 (180日後)	52.4	0.4	1.1	3.1		ND	ND	ND	ND		0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	44.8	0.9	104.3	
			好氣的 (180日後)	50.8	0.2	0.7		ND	ND		ND	ND	ND		ND				ND	ND	0.2	43.0*	4.4	99.3	
		Th	嫌氣的 (180日後)	54.7	0.9	0.9		ND	ND		ND	ND	ND		ND				ND	ND	0.0	40.0	5.1	101.6	
			光照射 (14日後)	73.0	0.1	1.2	0.3		ND	ND	ND	ND		ND	-	-	-	-	ND	-	3.4	18.0	1.5	97.5	
			遮光下 (14日後)	85.0	ND	ND	<0.1		ND	ND	ND	ND		ND	-	-	-	-	ND	-	0.0	11.0	ND	96.0	
水	遮光下	Ni	pH 4 (1年, 25℃)	99.6	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	ND	99.6		
			pH 5 (1年, 25℃)	100.1	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	ND	100.1	
			pH 7 (1年, 25℃)	98.9	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.9	0.0	99.8	
			pH 9 (1年, 25℃)	64.1	ND	3.7	ND		ND	ND	ND	ND		ND	5.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.2	0.0	18.4	99.0
			蒸留水 (1年, 25℃)	97.9	ND	0.7	ND		ND	ND	ND	ND		ND	1.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.6	0.0	ND	100.2
			自然水 (1年, 25℃)	92.8	ND	0.9	ND		ND	ND	ND	ND		ND	1.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0	4.6	100.2	
		Th	pH 4 (1年, 25℃)	99.1	ND	ND		ND	ND		ND	ND	ND		ND				ND	ND	ND	0.0	ND	100.4	
			pH 5 (1年, 25℃)	100.4	ND	ND		ND	ND		ND	ND	ND		ND				ND	ND	ND	0.0	ND	100.4	
			pH 7 (1年, 25℃)	98.2	ND	0.5		ND	ND		ND	ND	0.9		0.5				ND	ND	ND	0.0	ND	100.1	
			pH 9 (1年, 25℃)	62.4	ND	5.5		ND	ND		ND	ND	19.6		6.9				ND	ND	6.5	0.0	ND	100.9	
			蒸留水 (1年, 25℃)	96.9	ND	0.6		ND	ND		ND	ND	1.7		0.8				ND	ND	ND	0.0	ND	100.0	
			自然水 (1年, 25℃)	91.0	ND	1.1		ND	ND		ND	ND	5.5		1.7				ND	ND	ND	0.0	ND	99.3	
	光照射	Ni	蒸留水 (2時間後)	14.8	ND	28.7	ND		4.6	4.7	17.3	ND		ND	ND	1.6	ND	ND	4.7	2.7	20.0	0.0	ND	99.1	
			自然水 (2時間後)	17.7	ND	26.0	ND		5.2	2.9	21.8	ND		ND	ND	1.0	ND	1.1	ND	4.1	19.8	0.0	ND	99.6	
			蒸留水 (2時間後)	18.5	ND	34.4		ND	7.0		13.3	ND	ND		ND				2.9		14.5	0.0	5.6	96.2	
		Th	蒸留水 (2時間後)	20.8	ND	29.1		ND	6.7		22.4	ND	ND		ND				ND		16.4	0.0	3.5	98.9	

Ni: Ni-¹⁴C-クロチアニジン Th: Th-¹⁴C-クロチアニジン ND: 検出されなかった -: 確認を行っていない 空白: 検出部位を含まないため確認ができない
 *: 土壌分解性試験における非抽出物の分析結果を下記の別表に示した。
 ・土壌分解性試験における供試土壌は、真壁土壌(茨城県真壁郡)。
 ・水中分解性試験における自然水は、鬼怒川河川水。

別表 (土壌分解性試験における非抽出物の分析結果)

試験の種類		土壌有機成分			
		フミン成分	フルボ酸成分	腐植酸成分	合計
過水状態	Ni 好氣的 (120日後)	28.8	32.3	8.1	69.2
	Th 好氣的 (120日後)	27.4	33.9	7.6	68.9
畑地状態	Ni 好氣的 (180日後)	1.8	41.9	1.5	45.2
	Th 好氣的 (180日後)	2.3	40.0	0.7	43.0

(表中の数値は、回収放射能合計に対する割合)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

(

8

4