

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

1. 動物体内における代謝試験

(1) ^{14}C 標識 DBN を用いたウサギ及びラット体内における代謝試験

(資料 No. M-1)

供試標識化合物： [^{14}C]ジクロベニル

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

非標識化合物； m. p. 143~144 °C

標識化合物； m. p. 144~145 °C

供試動物： ウサギ (Danish X Flemish Giant の F₁) 4 ヶ月齢、体重 約 2kg

ラット (Wistar, Choclat) 2 ヶ月齢 体重 150~200 g

試験方法： ウサギ、ラットとも投与前 16~18 時間絶食させ、検体を水に懸濁させ胃管挿入法により強制経口投与した。

① 吸収・排泄；

尿 投与後 96 時間まで 24 時間毎に 4 回に分けて尿を採取し、液体シンチレーションカウンター (以下 LSC) を用いて、放射エネルギーを測定した。

糞 尿と同様に 24 時間毎に 4 回に分けて採取し、アセトン抽出物はそのまま、抽出残渣は燃焼法により LSC を用い、放射エネルギーを測定した。

② 代謝物の同定；

尿 尿の pH を 4~5 に調整後、水蒸気蒸留して未変化の DBN を分離し、残留液中の抱合体を含む代謝物を分離するため加水分解後、異なった pH でエーテル抽出し、各分画とした。各分画をペーパークロマトグラフィー、TLC、カラムクロマトグラフィー、IR、再結晶法及び逆希釈法により同定・定量した。また、尿中のエーテル硫酸、メルカプトツール酸及びグルクロン酸抱合体を定量した。

糞 糞のアセトン抽出物中の代謝物を尿と同様な方法を用いて、同定・定量した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

結 果：

① 吸収・排泄

結果の概要を以下の表に示した。

	投与量	排泄物	単 位	時 間				
				0～24	24～48	48～72	72～96	計
ウ サ ギ	1回投与 126.4mg/kg (50 μ C/g) (3匹平均)	尿 糞 抽出物 抽出残	排泄量 (投与量%)	68.0	4.1	0.5	0.1	72.7
				14.4	0.2	—	—	14.6
				5.0	4.4	0.4	0.1	9.9
		合計		87.4	8.7	0.9	0.2	97.2
	1回投与 102.0mg/kg (250 μ C/g) (4匹平均)	尿 糞 抽出物 抽出残	排泄量 (投与量%)	80.2	3.0	0.9	0.2	84.3
				6.7	0.8	0.7	—	8.1
				4.6	3.7	—	—	8.3
		合計		91.5	7.5	1.6	0.2	100.6
ラ ソ ト	1回投与 55.8mg/kg (50 μ C/g) (10匹平均)	尿 糞 抽出物 抽出残	排泄量 (投与量%)	41.6	1.1	—	—	42.7
				38.9	0.9	—	—	39.7
				14.5	1.4	—	—	15.8
		合計		95.0	3.4	—	—	98.2
	1回投与 95.1mg/kg (250 μ C/g) (15匹平均)	尿 糞 抽出物 抽出残	排泄量 (投与量%)	45.8	8.8	0.9	0.6	56.1
				21.5	2.1	0.8	—	24.4
				13.2	6.3	—	—	19.5
		合計		80.5	17.2	1.7	0.6	100.1

「—」：検査しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

② 確認された主要な代謝物及びその割合を以下の表に示した。

動物	投与量	排泄物	代謝物 %		投与量に対する回収率 (%)
			A		
ウサギ	1回投与 250 μ C/g (4匹平均)	尿(3日間)	0.1		>25.0
		糞(2日間)	2.4		>3.5
ラット	1回投与 250 μ C/g (15匹平均)	尿(3日間)	0.1		>32.2
		糞(2日間)	4.8		>10.1

「-」：検査しなかった。

親化合物 A : 2,6-dichlorobenzonitril

③ 尿中の抱合体の含量を以下に示した。

動物	グルクロニド (mg)		エーテル硫酸 (mg)		メルカプツール酸抱合体 (mg)	
	投与前	投与後	投与前	投与後	投与前	投与後
ウサギ (6匹平均)	128	262	32	69	0.16	0.59
ラット (3匹平均)	708	703	62	95	0.29	0.53

- ・グルクロニドの数値はグルクロノラク톤のmgとして示した。
- ・エーテル硫酸の数値はSO₄²⁻のmgとして示した。
- ・メルカプツール酸抱合体の数値はI⁻のmgとして示した。

本試験の結果は次のように要約される。

ウサギ及びラットに投与されたDBNは24時間以内に、約80~95%が尿及び糞中に排泄される。

尿及び糞の加水分解物から代謝物として 及
 び が 確認された。主要代謝物は の
 であり、代謝の主要経路は の
 であった。親化合物のDBN (2,6-dichlorobenzonitril)は糞中からは10%以下の割合で認

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

められたが、尿中にはほとんど認められなかった。また、検体投与による抱合体の変化としてウサギの尿中には 及び が増加し、ラットの尿中には 及び が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(2) ^{14}C 標識 DBN を用いたラット及びイヌ体内における代謝試験

(資料 No. M-2)

供試標識化合物： [^{14}C]ジクロベニル

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

比放射能； 9.1 $\mu\text{C}/\text{mg}$

放射科学的純度；

供試動物： ラット (Proton SPF) 雌雄 2 ヶ月齢、体重 約 150~200 g
イヌ (Beagle) 雌雄 2~3 年齢、体重 7.2~12.7kg

方 法：

① 吸収・排泄

ラットはガラス製代謝ケージで飼育し、検体の落花生油溶液を胃管挿入法で強制経口投与した。尿、糞及び呼気を 24 時間毎に 4 日間採取し液体シンチレーションカウンター (以下 LSC) を用いて放射エネルギーを測定し、排泄率を求めた。投与後 4 日に動物を屠殺し、消化管及び内容物、皮膚、毛、カーカス (内臓を含む) の放射能を測定し体内分布を調べた。

イヌはステンレス製代謝ケージで飼育し、ゼラチンカプセルに入れた検体の落花生油溶液を強制経口投与した。尿及び糞は 24 時間毎に 4 日間採取し、放射能排泄量を LSC を用いて測定して排泄率を求めた。

② 代謝物の同定

ラットの尿は、HCl を加え加水分解後エーテル及び酢酸エチルで抽出し、ペーパークロマトグラフィー、TLC、カラムクロマトグラフィー、GC 及び電気泳動法を用いて、代謝物を同定した。

又、別の試験としてラットに 13 $\mu\text{C}/\text{mL}$ の L- (^{35}S) -シスチンを、1.5 mL を 5 日間投与し、第 4 日及び 5 日に放射性非標識 DBN 5 mg を投与し、含硫代謝物の同定をした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

結 果：

① 吸収・排泄、体内分布

結果の概要を以下の表に示した。

	投与量	排泄物	単 位	排泄率 (%)				
				時 間				
				0~24	24~48	48~72	72~96	計
ラ ツ ト	♂ 0.8mg/動物 (9.1μC/mg) (6匹平均)	糞	排泄量 (投与量%)	5.4	8.9	1.8	0.8	16.9
		尿		66.0	5.5	1.3	1.2	74.0
		合 計		71.4	14.4	3.1	2.0	90.9
	♀ 1.3mg/動物 (9.1μC/mg) (6匹平均)	糞	排泄量 (投与量%)	4.0	4.1	4.7	2.9	15.7
		尿		69.5	6.0	1.3	0.8	77.6
		合 計		73.5	10.1	6.0	3.7	93.3
イ ヌ	♂ 0.92mg/動物 (8.52μC/mg) (2匹平均)	糞	排泄量 (投与量%)	16.0	7.3	1.5	0.4	25.2
		尿		47.8	11.0	2.6	1.0	62.4
		合 計		63.8	18.3	4.1	1.4	87.6
	♀ 0.92mg/動物 (8.52μC/mg) (2匹平均)	糞	排泄量 (投与量%)	13.9	3.6	3.2	0.8	21.5
		尿		51.9	10.2	4.7	1.5	68.3
		合 計		65.8	13.8	7.9	2.3	89.8

体内分布率 (%) 各6匹の平均、4日間の合計

ラ ツ ト	投 与 量	糞	尿	呼 気	消化管と 内容物	皮膚、 毛	カーカ ス	計
	♂ 0.8mg/動物	16.8	73.9	<0.02	1.2	0.2	0.2	92.2
	♀ 1.3mg/動物	15.6	77.6	<0.03	1.9	0.6	0.3	96.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

② ラット尿の加水分解物中の主要代謝物とその投与量%を以下の表に示した。

動物	経過 日数	代謝物 %	投与量%
ラット (12匹平均)	4日間		>81.0

代謝物

本試験の結果は次のように要約される。

ラット及びイヌに投与されたDBNは尿及び糞中に24時間以内に約65~75%が、4日後には約90%が排泄され、呼気には認められなかった。

投与されたDBNは腎を經由して排泄され、内臓には蓄積されず、排泄に種差及び性差は認められなかった。

尿及び糞中には未変化体のDBNはなく、ほとんどが代謝されており、ラット尿の加水分解物中の主な代謝物は で、その他の代謝物として 及び の合計が が であった。

また、ラットの加水分解前の尿中の代謝物として遊離の 及び の他にそれらの 及び または が認められた。

次頁にラット及びイヌ体内におけるジクロベニルの推定代謝経路を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

動物体内における推定主要代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

2. 植物体内における代謝試験

(1) ^{14}C 標識 DBN を用いたインゲン幼苗内における代謝試験

(資料 No. M-3)

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ ジクロベニル

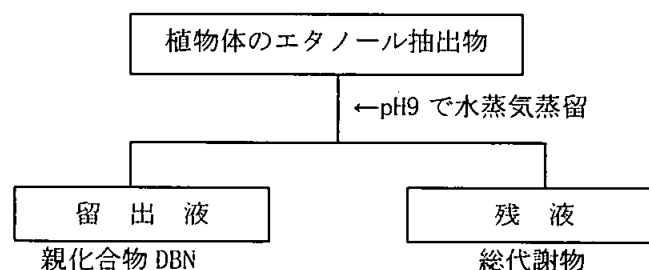
化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

比放射能； 7 及び 18mCi/g

供試動物： インゲン幼苗 (*Phaseolus Vulgaris*)、温室内で水耕栽培、発芽後 2 週、初生葉展開、生重量 7~9g。

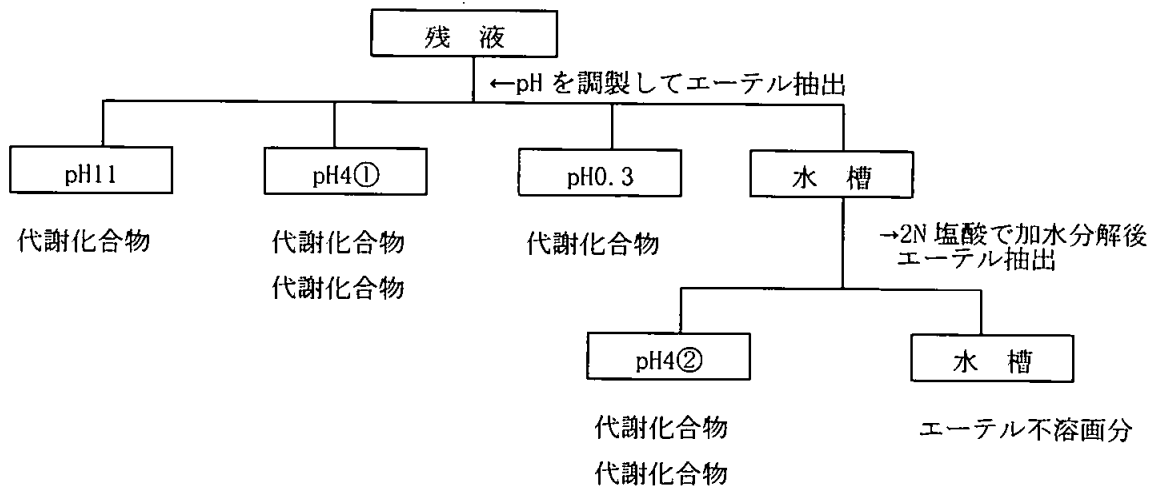
方 法：

- ① 密閉系において、検体 10 ppm を含有する溶液にインゲン幼苗の根を浸漬し、4 日後に根、茎、葉、葉からの蒸散、二酸化炭素 ($^{14}\text{CO}_2$) 及び器具に付着した総放射能を測定し、分布を調べた。
- ② 検体を 11.6 ppm 含有する溶液にインゲン幼苗の根を浸漬し、5 日後に根、茎及び葉中の親化合物の DBN 及び総代謝物を定量した。
植物体をエタノール及びエタノール 2N 塩酸溶液で抽出し、以下の方法に従い、抽出液及び残液中の放射能を液体シンチレーションカウンター (以下 LSC とする。) を用いて測定した。



また、葉及び根中の代謝物を以下の方法により分画した。また逆同位体希釈法を用いて、TLC により代謝物を同定し、放射能を LSC により測定し、代謝物を同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。



結 果：

①

溶液濃度	経過日数	回収率 (%)	分 布 (%)					
			根	茎	葉	蒸散	¹⁴ C ₂	器具
10ppm	4日	97	33	11	5	44	0	4

②

溶液濃度	経過日数	DBN (μg/g)			総代謝物 (μg/g)			茎葉 枯死
		根	茎	葉	根	茎	葉	
11.9ppm	5日	35	22	2	2	4	4	有

代 謝 物 %							
分 画	留出液	加水分解前のエーテル抽出物			加水分解後の エーテル抽出物	加水分解後の エーテル不溶画分	
		pH4①	pH0.3	pH11	pH4②	水 層	
化合物	A						未同定物
根	97						1
葉	13						1~3

「-」：確認できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

また、親化合物 DBN 及び主要代謝物の植物体に及ぼす影響を調べた。

化合物	処理量 10kg/ha		
	茎葉枯死	生長抑制*	発芽阻止**
A	±	—	++

* : インゲン、ソラマメ、ハコベ、テンサイ

** : カラシナ、スズメノカタビラ、ハコベ、キビ、ナズナの一部

++ : 活性あり ± : わずかに活性あり — : 活性なし

親化合物 A: 2,6-dichlorobenzonitril

代謝化合物

本試験の結果は次のように要約される。

根から吸収された DBN は茎葉に移行し、葉中では 4 日間で約 50%が蒸散し、残った DBN の約 70%が代謝される。

葉では根に比べて代謝がさかんに行われている。葉中では吸収された DBN の 84%が水酸化され、そのうち 14%が遊離の水酸化物であり、グリコシドと思われる抱合体は 52%、植物体ポリマーと抱合して抽出不可能な水酸化物が 18%であった。また、

と

の

生成比は約 4:1 であり、この水酸化物が茎葉枯死の原因と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

インゲン幼苗内における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(2) ^{14}C 標識 DBN を用いたコムギ、イネ幼苗内における代謝試験

(資料 No. M-4)

供試標識化合物： [^{14}C]ジクロベニル

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

比放射能； 27mCi/g

供試動物：コムギ幼苗 (*Triticum vulgare*) 発芽後 5 週、生重量 約 1.5~2.0 g
イネ幼苗 (*Oryza sativa*) 発芽後 8 週、生重量 約 1.5 g

方 法：

コムギ 検体 1 及び 9 ppm を含有する溶液にコムギの幼苗を 5 日間浸漬し、根、茎葉上部及び茎葉下部中の親化合物 DBN 及び総代謝物を定量した。根及び茎葉は 80%エタノールで抽出し、さらに熱時の 2N 塩酸で抽出後水蒸気蒸留により親化合物の DBN を分離、資料 No. M-3 の方法に基づき分画し、TLC を用いて代謝物の同定を行った。また、主要代謝物である
の分布を調べた。

イネ 検体 9ppm を含有する溶液にイネの幼苗の根を 5 日間浸漬し、根、茎葉上部及び下部中の親化合物 DBN 及び総代謝物を 2 回定量した。
根及び茎葉の抽出物はコムギと同様の方法で分画し、代謝物の同定及び分布を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

結 果：

コムギ

溶液濃度	経過日数	DBN (µg/g)			総代謝物 (µg/g)		
		茎葉 上部	茎葉 下部	根	茎葉 上部	茎葉 下部	根
9ppm	5日	2.5	24	9	22	60	1.2
1ppm		0.5	3	1.2	2.5	14	0.3
9ppm	11日	—*	45	13	41*	124	0.2
1ppm		1.5	—*	1.4	3.3	22*	0.2

*少量の親化合物 DBN を含む。

実験系を完全に密閉することは不可能であったことから、根からの吸収された総放射エネルギーに対して約 15%がジクロベニルとして茎葉およびフラスコからの蒸散によって失われた。

経過日数	抽出方法		
	遊離体	エタノール抽出された 抱合体	エタノール不溶性、植物体 ポリマーとの抱合体
5日	20	65	15
11日		60	40

5日後のエタノール可溶画分には 0.1%以下の が
認められた。

エタノール不溶画分には が認められた。

イネ

溶液濃度	経過日数	DBN (µg/g)			総代謝物量 (µg/g)		
		茎葉 上部	茎葉 下部	根	茎葉 上部	茎葉 下部	根
9ppm	5日	225	41	20	1.2	2.2	1.4

表中の数字は2回実験した平均値

根から吸収された総放射エネルギーに対して約 60%がジクロベニルとして茎葉及びフラスコからの蒸散によって失われた。

本試験の結果は次のように要約される。

DBNはコムギ及びイネの根より吸収され茎葉に移行し、根から吸収されたDBNは茎葉上部に比べ茎葉下部に蓄積される。また、イネ中のDBN濃度はコムギに比べ高く、総代謝物の濃度はコムギの方が高かったことからコムギはイネに比べ代謝がさかんに行われていると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

コムギで5日間吸収後の代謝物は主としてエタノールに可溶な
考えられ、時間の経過に伴いエタノールに不溶な
要代謝物はインゲン幼苗と同様に
量の
及び
められた。
イネ中の主要代謝物として
も認められた。

で存在すると
に移行し、主
であり、微
も認
が同定され、

コムギ、イネ幼苗内における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(3) 土壌処理したジクロベニルのぶどうによる取り込み及び代謝

(資料 No. M-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

供試標識化合物：[¹⁴C]ジクロベニル

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

放射化学的純度；
比放射能； 0.36 mCi/mmol
標識位置の選定理由；

供試植物：ぶどう
品種：Emperor

栽培方法：1 ha に 1,280 本の密度（畝間：3.8 m、樹間：2.2 m）でぶどうの樹が植えられているぶどう園の中に、ぶどうの木 1 本が中心になるように幅 1.22 m、長さ 3.05 m の処理区用の 2 区を隣接して設けた。これらの区から 100 m 以上離れた地点に、ぶどうの木が 1 本植えられている区を設け無処理区とした。

分析方法：

処理液の調製；

一般に用いられている粒剤の製剤化が困難であったので、試験用に特別に液剤を調製した。すなわち、被験物質の標識品 2.5 g を、Igepal Co-710 2.5 g、シクロヘキサノン 2.5 mL 及びトルエン 25 mL と混合した。これに脱イオン水を加えて 200 g とした後、脱イオン水 3585 mL に加えて 5 分間均質化した。これを脱イオン水約 3785 mL に加え、均質になるまでこの溶液を攪拌した。処理前後にこの処理液の一部を採取して分析して、標識被験物質濃度及び均質性を確認した。

処理薬量、時期及び方法；

1989 年 2 月 22 日に上記の希釈した処理液の全量（標識被験物質 2.5 g を含む）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

を、じょうろを用いて各処理区の土壌表面に散布した。この処理量は、ジクロベニル 6.72 kg/ha に相当する（本剤の過剰量散布は、葉害の恐れがあるために採用しなかった）。散布直後に土壌表面に散水し、さらに無処理土壌を 7.5 cm の厚さで覆って、被験物質の揮散による損失を防いだ。対照区は無処理とした。

試料の採取；

ぶどうの樹からの果実試料の採取は、収穫前 60、30 及び 0 日に相当する通常の商業ベースの収穫時期の 63（1989 年 7 月 31 日）及び 32 日前（1989 年 8 月 31 日）及びに通常の収穫期（1989 年 10 月 2 日）とした。各ぶどうの樹から各採取時点に採取した試料はプールして、1 つの試料とした。

各区からの土壌コアの採取は、処理前、土壌による被覆直後、処理後 61 日（1989 年 4 月 24 日）並びに上記の果実試料の各採取時期とした。処理区の土壌コアはプールして、採取時点及び層毎に 1 つの試料とした。

分析法；（図 1 には、放射能残留の特性検討のための主要な操作の概略を示す）

① 放射能分析用の試料調製

ぶどう

人手で採取して総重量を測定記録した後、ミル中でドライアイスと共に均質化した。スプーンまたはスパチュラで混合した後、部分試料 3 点を放射能測定用に秤取した。

土壌

処理前の試料は分析用ミル中で、処理後の試料はフードプロセッサー中で均質化した。スプーンまたはスパチュラで混合した後、部分試料 3 点を放射能測定用に秤取した。

② 放射能測定、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）及び二次元薄層クロマトグラフィー（TLC）などの測定法

放射能測定

分画前の均質化したぶどう果実、各種分画後の抽出残渣及び土壌試料は、燃焼して液体シンチレーション計数（LSC）により測定した。各分画操作で得られた有機及び水性液体試料は、シンチレーションカクテルと混合して直接計数した。

HPLC

ODS 系カラムから各種溶媒系を用いてグラジエント溶出して、放射能領域を分画した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

TCL

シリカプレート及び各種溶媒系を用いて想定代謝物標準品と共に二次元展開した。放射能スポットの検出は、UV 光照射及び放射能測定によった。

③ ぶどう中の抽出放射能の分画

上記①の均質化したぶどうの一部 (50 g) を採取し、メタノールの各 37 mL で 4 回磨砕抽出し、遠心分離して上澄液を合わせた。この抽出操作を 3 連で実施し、最初の抽出のみを代謝物の同定用に供試し、残りの 2 回は抽出効率の確認用とした (残渣は、乾燥し混合して放射能を燃焼分析)。メタノール抽出液のメタノールを留去した後、10%食塩水とジクロロメタン間で分配し、さらに水相を酸性化した後にジクロロメタン分配した。均質化試料 201 g を用いた代謝物の特性検討用に大量の物質を得る操作では、水相の酸性化は行わなかった。各ジクロロメタン相及び水相について LSC により放射能を測定後、HPLC による分画操作 (有機相) 及び加水分解操作 (水相) に供した。

④ ぶどう中放射能成分の定量及び代謝物の同定

上記③の HPLC による分画操作で得た各放射能画分はさらに TLC による想定代謝物標準品との二次元クロマトグラフィーに供試した。水相については、酵素及び塩酸加水分解後ジクロロメタン分配し、有機相及び水相の放射能測定並びに有機相の HPLC 及び二次元 TLC に供試した。

結 果：

土壤中における総放射能農残留の経時変化；

被験物質処理後の採取時期別の、土壤中の総放射能残留の経時変化を下表に示した。

収穫期の処理土壌は、親化合物相当で 0.216~0.507 ppm の範囲の放射能を含有していた。放射能の大部分が上層に認められた理由としては、土壌コア採取時の上方への圧力の発生及び被験物質の揮発性が原因していると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表1 土壌中における放射能残留の経時変化

採取時期	区	濃度：ジクロベニル相当 $\mu\text{g/g}$	
		上層 (0~7.6 cm)	下層(7.6~15.2 cm)
処 理 前	無処理区	—	—
	処 理 区	—	—
処 理 直 後	無処理区	—	—
	処 理 区	7.924	—
処理後 60 日	無処理区	—	—
	処 理 区	1.838	0.210
処理前 63 日	無処理区	—	—
	処 理 区	0.160	0.616
収穫前 32 日	無処理区	—	—
	処 理 区	0.389	0.139
收 穫 期	無処理区	—	—
	処 理 区	0.507	0.216

—：不検出

ぶどう果実中における総放射能残留の経時変化；

被験物質処理後の収穫前日数別の、ぶどう果実中の放射能残留の経時変化を下表に示した。収穫前の果実は、親化合物相当で 0.357 ppm の放射能を含有していた（特性検討時における測定値は 0.392 ppm であった）。

表2 ぶどう果実中における総放射能残留の経時変化

採取時期	区	濃度：ジクロベニル相当 $\mu\text{g/g}$
収穫前 63 日	無処理区	—
	処 理 区	0.322
収穫前 32 日	無処理区	—
	処 理 区	0.286
收 穫 期	無処理区	—
	処 理 区	0.357（放射能分析用に均質化した試料）
	処 理 区	0.392（代謝物の特性検討用に均質化した試料）

—：不検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

ぶどう果実中における放射能残留物のメタノール抽出画分への分布；

下表に示すように、3連で実施したメタノール抽出の結果、ぶどうの均質化物中に認められた総放射能残留量の平均99%または親化合物相当で0.39 ppmが遊離した。抽出残渣中の平均放射能は、9.9%または親化合物相当で0.04 ppmと少量であり、以後の特性検討は、実施しなかった。

表3 ぶどう果実中の放射能残留物のメタノール画分への分布

画 分	総放射能残留に対する%(ジクロベニル相当 ppm)			平均 % (ppm)
	1	2	3	
メタノール	99 (0.39)	104 (0.41)	94.5 (0.37)	99 (0.39)
残 渣	7.14 (0.03)	15.0 (0.06)	7.63 (0.03)	9.9 (0.04)
合 計	106 (0.42)	119 (0.47)	102 (0.40)	109 (0.43)

ぶどう果実のメタノール抽出画分中放射能の各画分への分布；

ぶどう果実中の放射能残留物の99%がメタノール抽出液中に回収されたので、放射能の各画分への分画は、この抽出液について重点的に実施した。メタノール留去後のジクロロメタン分配で得られた有機及び水性画分について、前記のクロマトグラフィーにより分画して、それぞれ放射能成分の解析同定を行った。結果を下表にとりまとめた(酸性にした水相との分配で得たジクロロメタン相についての結果)。

表に示すように、ジクロロメタン相へ移行した放射成分の大部分(75.9%)が、
であることが確認された。水相中の不明放射能成分(22.3%)のその後の解析により、

び
の存在が示唆されたが、放射能が少量のため及び他の理由から完全に分離同定することはできなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表4 メタノール抽出液のジクロロメタン分配後の各相への放射能の分布
(加水分解は、25%エタノール性塩酸による加熱還流による)

画分	帰属	総放射能残留 に対する%	ジクロベニル 相当 ppm	
ジクロロメタン			0.30	
	未同定	5.7	0.02	
水相(加水分解前)			0.02	
	未同定	22.3	0.09	
水相 (加水 分解後)	有機相		0.02	
		未同定	5.2	0.02
	水相			<0.01
				<0.01
		未同定	4.1	0.02
残渣	未同定	7.2	0.03	

想定代謝経路；

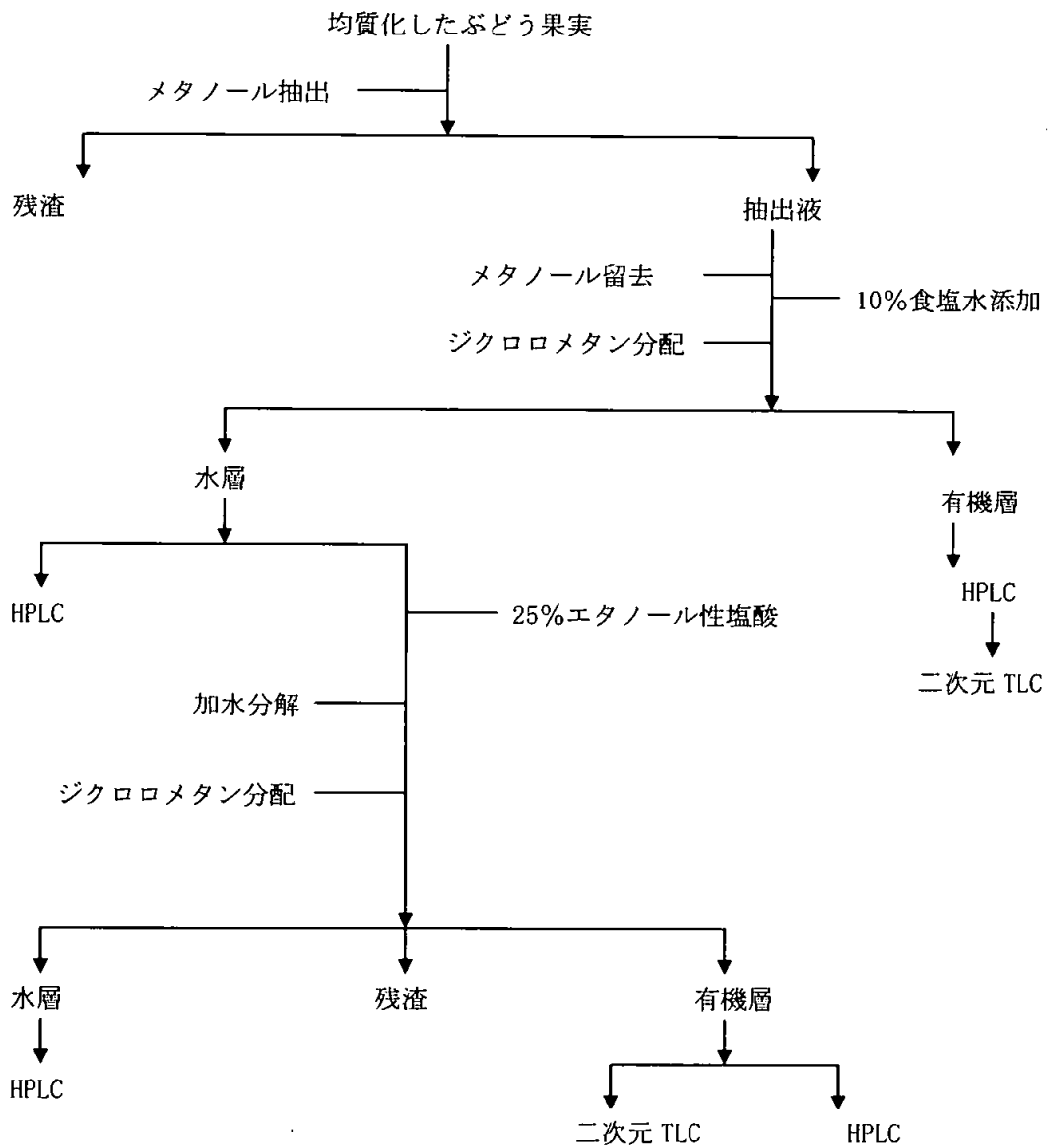
土壤に混和処理されたジクロベニルは、土壤中において代謝を受けて吸収され、または少量がぶどうの木にそのまま吸収されて代謝を受けた結果として、移行分の大部分が として果実部に存在し、その一部はその後代謝を受けて 及び などを生成するものと推定される。

まとめ；

以上の結果から、土壤混和後にぶどう果実部に移行したジクロベニル量及びその代謝物の総残留量は小さく、0.286~0.392 ppm の範囲であることが判明した。さらに、ぶどう果実中に認められた主要代謝物が であり、親化合物相当で約 0.3 ppm であることが明らかとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

図1 ぶどう果実中の代謝物の特性検討のための操作手順



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

ぶどうにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(4) 土壌処理したジクロベニルのりんごによる取り込み及び代謝

(資料 No. M-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

供試標識化合物：[¹⁴C]ジクロベニル

化学名；

分子式；

分子量；

化学構造；

放射化学的純度；

比放射能； 0.36 mCi/mmol

標識位置の選定理由；

供試植物：りんご

品種； Gravenstein

栽培方法：列状に植えられているりんごの木から 2 本を選び、りんごの木 1 本が中心になるように細長い処理区用の 2 区を隣接して設けた。これらの区から 100 ヤード以上離れた地点に、りんごの木が 1 本植えられている区を設けて無処理区とした。

分析方法：

処理液の調製；

試験用に特別の液剤を調製した。すなわち、被験物質の標識品 5.0 g を、Igepal CO-710 5.0 g、シクロヘキサノン 5.0 mL と混合した。これに脱イオン水を加えて 200 g とした後、脱イオン水 3585 mL に加えて液量を 3.8 L とし、10 分間均質化した。これを脱イオン水 11.3 L に加えて総液量を 15.1 L とした。処理前後にこの処理液の一部を採取して分析して、標識被爆物質濃度及び均質性を確認した。

処理薬量、時期及び方法；

上記の希釈した処理液の全量（標識被爆物質 5.0 g を含む）を、じょうろを

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

用いて各処理区の土壌表面に散布した。この処理量は、処理区画の面積に基づくとジクロベニルの 6.72 kg/ha に相当する（本剤の過剰量散布は、薬害の恐れがあるために採用しなかった）。散布直後に土壌表面に散水し、さらに無処理土壌 7.5 cm 層で覆って、被験物質の揮散による損失を防いだ。対照区は無処理とした。

試料の採取；

りんごの木からの果実試料の採取は、通常の商業ベースの収穫時期の 60、30 及び 0 日前とした。各りんごの木から各採取時点に採取した試料はプールして、1つの試料とした。

各区からの土壌コアの採取は、処理前、土壌による被覆直後、処理後 30 日並びに上記の果実試料の各採取時期とした。処理区の土壌コアはプールして、採取時点及び層毎に 1つの試料とした。

分析法；（図 1 に、放射能残留の特性検討のための主要な操作の概略を示す）

① 放射能分析用の試料調製

りんご

人手で採取して総重量を測定記録した後、ミル中でドライアイスと共に均質化した。ドライアイスが気化した後、部分試料 3 点を放射能分析用に秤取した。

土壌

処理前の試料は分析用ミル中で、処理後の試料はグラインダー中で均質化した。不均一な分布が予測されたので、部分試料 6 点を採取して放射能分析に供試した。

② 放射能測定、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）及び二次元薄層クロマトグラフィー（TLC）などの測定法

放射能測定

分面前の均質化したりんご、各種分画後の固体残渣及び土壌試料は、燃焼して液体シンチレーション計数（LSC）により測定した。各分画操作で得られた有機及び水性液体試料は、シンチレーションカクテルと混合して直接計数した。

HPLC

ODS 系カラムから各種溶媒系を用いてグラジエント溶出して、放射能領域を分画した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

TLC

シリカプレートを用いて想定代謝物標準品と共に二次元展開した。スポットの検出はUV 光照射及び放射能測定によった。

③ りんご中の抽出性残留放射能の分画

上記①とは別に均質化したりんごの一部（約 120 g）を採取し、メタノールの各 75 mL で 4 回磨砕抽出し、遠心分離して上澄液を合わせた（残渣は、乾燥し混合して放射能を燃焼分析）。メタノール抽出液を濃縮後、エチルエーテル及びトルエンとの間でそれぞれ分配した。各有機相について LSC により放射能を測定後、HPLC による分画操作に供した。

④ りんご中の放射能成分の定量及び代謝物の同定

上記③のトルエン分配/HPLC による分画操作で得た各放射能画分は、さらに TLC による想定代謝物標準品との二次元クロマトグラフィーに供試した。

結 果：

土壤中における総放射能残留の経時変化；

被験物質処理後の採取時期別の、土壤中の総放射能残留の経時変化を下表に示した。

処理土壌は、親化合物相当で 0.098～1.292 ppm の範囲の放射能を含有していた（無処理区に 0.004 ppm 検出されたのは、試料の前処理中の汚染が原因していると考えられる）。放射能の大部分が上層に認められた理由として、土壌コア採取時の上方への圧力の発生及び被験物質の揮発性が原因していると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表1 処理土壤中における放射能残留の経時変化

採取時期	区	濃度：ジクロベニル相当 $\mu\text{g/g}$	
		上層 (0~7.6 cm)	下層 (7.6~15.2 cm)
処 理 前	無処理区	—	—
	処 理 区	—	—
処 理 直 後	無処理区	—	—
	処 理 区	1.292	—
処理後 30 日	無処理区	—	—
	処 理 区	0.494	—
処理前 60 日	無処理区	0.004	—
	処 理 区	0.486	0.098
収穫前 30 日	無処理区	0.004	—
	処 理 区	0.746	0.166
収 穫 期	無処理区	—	—
	処 理 区	0.601	0.291

—：不検出

りんご果実中における総放射能残留の経時変化；

被験物質処理後の収穫前日数別の、りんご果実中の総放射能残留の経時変化を下表に示した。各時期に収穫した果実は、親化合物相当で0.012~0.042 ppmの放射能を含有していた。

表2 りんご果実中における総放射能残留の経時変化

採取時期	区	濃度：ジクロベニル相当 $\mu\text{g/g}$
収穫前 63 日	無処理区	—
	処 理 区	0.012
収穫前 30 日	無処理区	—
	処 理 区	0.028
収 穫 期	無処理区	—
	処 理 区	0.025(放射能分析用に均質化した試料)
	処 理 区	0.042(代謝物の特性検討用に均質化した試料)

—：不検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

りんご果実中における総放射能残留のメタノール抽出画分への分布；

メタノール抽出により、下表に示すようにりんごの均質化物中に認められた総放射能残留の81.2%または親化合物相当で0.0341 ppmが遊離した。抽出残渣中の平均放射能は、10.7%または親化合物相当で<0.01 ppmと少量であり、以後の特性検討は、実施しなかった。

表3 りんご果実中の相放射能残留のメタノール画分への分布

画 分	総放射能残留に対する%	ジクロベニル相当 ppm
メタノール	81.2	0.0341
残 渣	10.7	<0.01
合 計	91.9	0.0386

りんご果実のメタノール抽出画分中放射能の有機相への分布；

りんご果実中の総放射能残留の約80%を占めるメタノール抽出液について、放射能残留の分画を実施した。この抽出液のメタノール留去し、残った水相のエチルエーテル及びトルエン分配で得られた結果を下表に示した。

表4 りんご果実のメタノール抽出画分中放射能の有機相への分布

有機相	画分	メタノール抽出液中の総放射能残留に対する%	回収率 %	りんご果実中の総放射能残留に対する%	ジクロベニル相当 ppm
エチルエーテル	有機相	85.8	102	69.7	0.0293
	水相	16.7		13.6	<0.01
トルエン	有機相	72.6	105	59.0	0.0248
	水相	32.7		26.6	0.0112

両有機相にはメタノール抽出液中の総放射能残留の約73~86%が移行し、HPLCによる予備的な特性検討の結果、代謝物として

の存在が認められ、りんご果実中の総放射能残留の約60~70%を占めていた。

りんご果実のメタノール抽出画分中放射能の各画分への分布；

上記トルエン分配により得た放射能画分を前記のクロマトグラフィー（HPLC及びTLC）及びエチルエーテル分配により分画して、それぞれ放射能成分の解析同定を行った。結果を下表に取りまとめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表5 メタノール抽出液のトルエン分配後の各画分への放射能の分布

画 分	りんご中の総放射能 残留に対する%	ジクロベニル相当 ppm
	56.5	0.0237
非抽出性残留	10.7	<0.01
エチルエーテル分配後の水相	16.7	<0.01
分配後のエチルエーテル相の HPLCによる未同定分	13.2	<0.01
合 計	97.1	0.0394*

*<0.01に整理する前の数値を合計

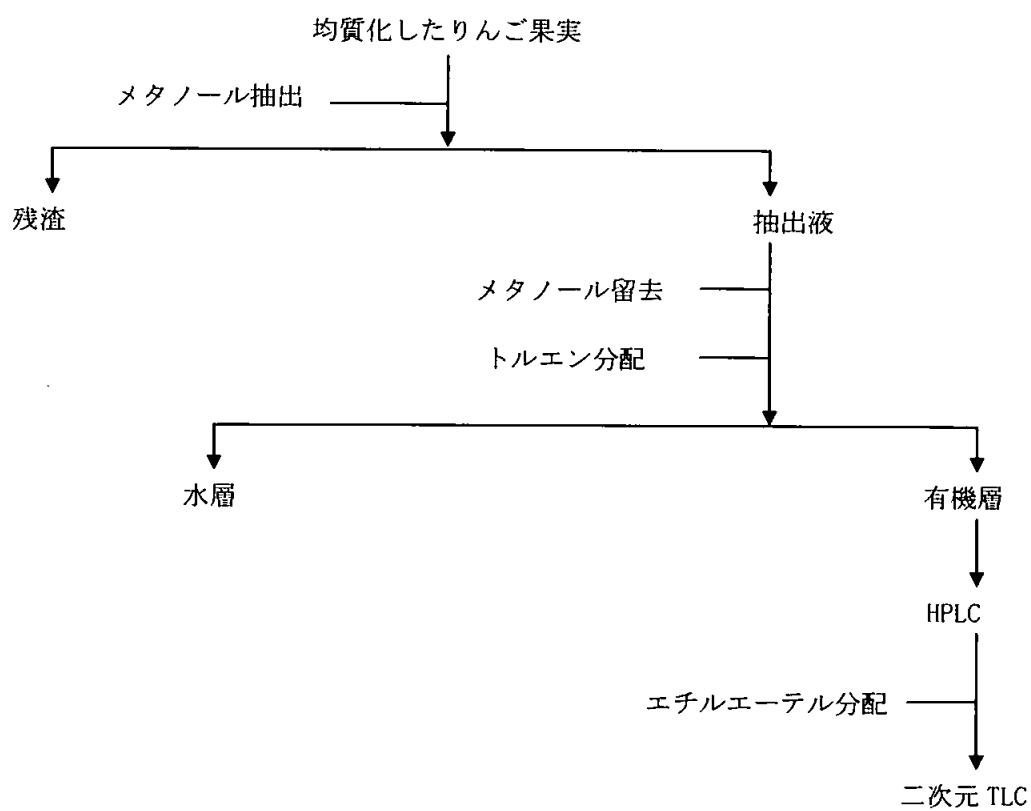
表に示すように、有機相へ移行した放射能成分中の主要成分が、
であることが確認された。すべての有機画分中には、その他の代謝物の存在は認められなかった。水相については、存在する放射能が少量のため特性検討は困難であった。

ま と め ;

以上の結果から、土壌混和後にりんご果実部に移行したジクロベニル量及びその代謝物の総残留量は小さく、総量で0.042 ppmの範囲であることが判明した。さらに、りんご果実中に認められた主要代謝物は
であり、ジクロベニル相当で0.0237 ppmであった。いくつか存在が確認された放射能成分の残留量は、それぞれ0.01 ppm未満であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

図1 りんご果実中の代謝物の特性検討のための操作手順



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

りんごにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

3. 土壌

(1) DBN の土壌における代謝試験

(資料 No. M-7)

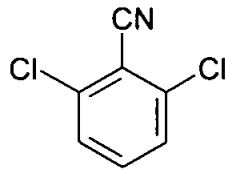
供試化合物： ジクロベニル

化学名； 2,6-ジクロロベンゾニトリル

分子式； $C_7H_3Cl_2N$

分子量； 172.02

化学構造；



供試土壌： 4種類の土壌を使用し、土性は次の通りであった。

土壌の種類	粘土	シルト	粗砂	細砂	有機質	水分	pH
埴 壤 土	13.9	11.9	22.3	37.3	2.1	17~25	9.85~8.05
砂質埴土	10.3	5.1	35.9	38.3	1.6	8~9	7.93~8.05
埴 土	12.7	11.7	24.2	39.4	2.6	12~23	7.92~8.00
ピ ー ト	15.7	4.7	9.0	3.6	59.0	65~135	5.98~6.02

分析方法： 圃場条件下で、DBN 粒剤を、有効成分量としてヘクタール当り 9 kg 処理した。処理後 0、4、8、16、32 週に表面から 0~4 (0~10.2 cm)、4~8 (10.2~20.3 cm) 及び 8~12 インチ (20.3~30.5 cm) の深度の残留量 (乾土当り ppm) を検査し、さらに半減期を求めた。

DBN の分析法は各土壌を 20%アセトン含有ヘキサンの抽出し、GC (ECD) で定量した。また、無処理の各土壌に DBN を 0.5~5 ppm 添加したときの回収率は 90~94%であった。

DBN の土壌中の主要代謝物の分析法は無水硫酸ナトリウムを添加後、酢酸エチルで抽出し、カラムクロマトグラフィーで精製後 GC (ECD) で定量した。また、無処理の各土壌に 0.5~5 ppm 添加したときの回収率は 81~91%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アグロ カネショウ株式会社にある。

結 果：

埴壤土

深度(インチ)	0 ~ 4		4 ~ 8		8 ~ 12	
経過時間(週)	DBN(ppm)		DBN(ppm)		DBN(ppm)	
0	18		N. D.		N. D.	
4	1.3		0.05		N. D.	
8	0.48		N. D.		N. D.	
16	0.44		N. D.		N. D.	
32	0.07		N. D.		N. D.	

砂質壤土

深度(インチ)	0 ~ 4		4 ~ 8		8 ~ 12	
経過時間(週)	DBN(ppm)		DBN(ppm)		DBN(ppm)	
0	6.8		N. D.		N. D.	
4	0.95		N. D.		N. D.	
8	0.85		0.018		N. D.	
16	0.15		0.011		N. D.	

壤土

深度(インチ)	0 ~ 4		4 ~ 8		8 ~ 12	
経過時間(週)	DBN(ppm)		DBN(ppm)		DBN(ppm)	
0	5.0		N. D.		N. D.	
4	2.3		0.06		N. D.	
8	0.27		N. D.		N. D.	
16	0.20		0.03		N. D.	
32	0.06		N. D.		N. D.	

PEAT

深度(インチ)	0~4		4~8		8~12	
経過時間(週)	DBN(ppm)		DBN(ppm)		DBN(ppm)	
0	6.5		N. D.		N. D.	
4	7.0		0.68		0.01	
8	3.4		0.18		0.18	
16	6.5		0.45		0.21	
32	2.8		0.05		0.02	

N. D. : 検出限界以下

「-」: 分析を実施しなかった。

また、各土壌の0~4インチの深度の分析値からDBNの半減期及び初期濃度の25%まで減少する時間を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

土 壤 の 種 類	半減期 (週)	初期濃度の 25% (週)
埴 壤 土	1~2	3~4
砂 質 埴 土	1~2	2~4
埴 土	3~4	5
ピ ー ト	3~20	32 以上

本試験の結果は次のように要約される。

DBN 粒剤を土壌に処理した場合の DBN の半減期はピートを除き短く、埴壤土及び砂質埴土で 1~2 週間、埴土で 3~4 週間であった。

また、土壌表面下 4 インチ (約 10 cm) での DBN の残留量はピートを除き少なく、縦浸透性は小さいと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(2) ^{14}C 標識 DBN の砂壌土における代謝試験

(資料 No. M-8)

供試標識化合物： [^{14}C]ジクロベニル

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

比放射能； 27mCi/g

供試標識化合物： [^{14}C]

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

比放射能； 27mCi/g

供試土壌： 砂土

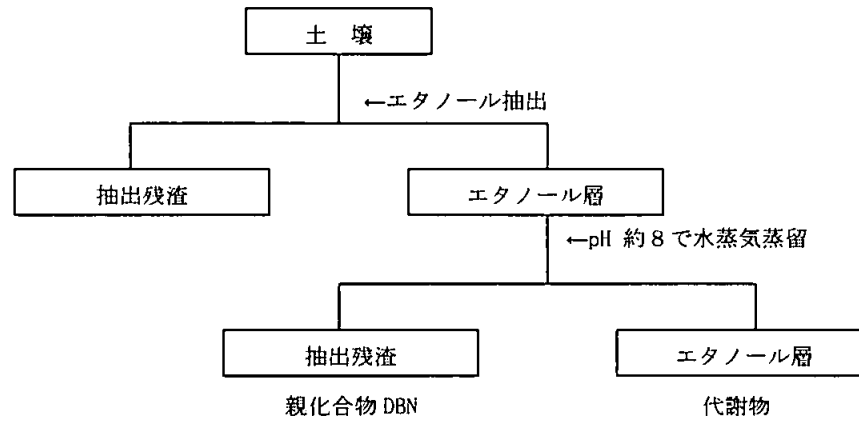
品種； Netherland

粘 土	シルト	細 砂	有機質*	水 分	pH
0 %	2 %	11 %	82 %	14	5.7

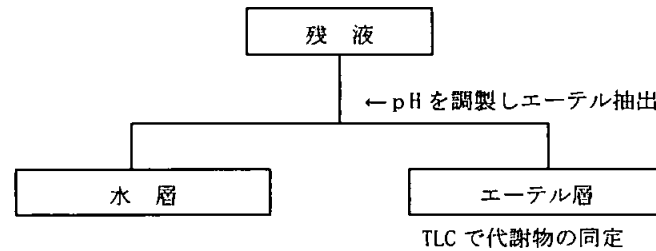
*有機質は湿重量当

試験方法： 飽和水分状態の土壌 60g (湿重量) に、140 μg 乾土当り 2ppm の検体を処理。
200mL 三角フラスコに入れ、20 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ の暗黒条件下に経時的に親化合物と、代
謝物を定量した。分画は下記の方法に従い、抽出残渣中の放射能は燃焼法で、
流出液及び残液中の放射能は液体シンチレーションカウンターを用いて測定
した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。



また、残液を以下の方法で分画し、TLC で代謝物の同定を行った。



結 果：

土 壤 種 類	分 画	貯 蔵 期 間								
		1 週	3 週	1 カ月	1.5 カ月	3 カ月	5.5 カ月	6 カ月	8 カ月	12 カ月
非滅菌 土 壤	代謝物の 合計	1	8	—	18	32	40	—	58	60
滅 菌 土 壤	DBN	—	—	95	—	94	—	89	—	—
	代謝物の合計	—	—	0	—	2	—	3	—	—
	抽出残渣	—	—	3	—	4	—	6	—	—

「—」：確認しなかった。

8 カ月後の非滅菌土壌中の代謝物は約 99%が で、その他
 の代謝物が TLC 上から 3~4 個認められたが、微量のため同定できなかった。
 DBN の土壌中の分解は主として微生物によるものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(3) ジクロベニル (DBN) の好氣的土壤中運命に関する試験

(資料 No. M-9)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

供試標識化合物: [¹⁴C] ジクロベニル

- 化学名;
- 分子式;
- 分子量;
- 化学構造;

- 放射化学的純度;
- 標識位置の選定理由;

供試土壌: Land Research Associates (Derby, 英国) oyobiLandLook (Leamington Spa, 英国) で採取した以下の新鮮な土壌 3 種を使用した。

- 土性; 壤質砂土 (Landlook, 2002 年 5 月 1 日試験機関に到着)
- 埴壤土 (Land Research, 2002 年 4 月 1 日試験機関に到着)
- シルト質埴壤土 (Landlook, 2002 年 5 月 1 日試験機関に到着)

		土壌 1	土壌 2	土壌 3
固形物質 (%)		95.8	95.7	99.1
水分 (%)		4.4	4.5	0.9
粒径分布	63 μ m~2mm	35.06	8.79	83.35
	2 μ m~63mm	32.81	68.32	7.77
	<2 μ m	32.13	22.89	8.88
土性分類	BS3882(1994)	埴壤土	シルト質埴壤土	壤質砂土
粒径分布	53 μ m~2mm	36.54	12.86	83.99
	2 μ m~53mm	31.61	64.62	6.88
	<2 μ m	31.84	22.52	9.13
土性分類	USDA	埴壤土	シルト質埴壤土	壤質砂土
pH (1MKCl)		7.6	6.1	5.9
CEC (mEq/100g)		35.5	29.5	10.5
有機炭素 (%)		3.9	3.6	1.1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

試験方法：

試験溶液の調製；

供試標識化合物をアセトニトリルで希釈し、非標識供試化合物をアセトニトリルで希釈した溶液と混合して土壌処理用の試験溶液とした。

処理方法；

試験期間中、土壌の水分含有量を保水量の $45 \pm 5\%$ の範囲で維持した。供試化合物の環境中予測濃度（PEC）に相当する土壌中 8.1 mg/kg の濃度を試験の処理濃度とし、乾燥土壌換算約 50 g の土壌に対して試験溶液を表面に滴下処理した。

インキュベーション；

処理した土壌試料を暗所、 $20 \pm 2^\circ \text{C}$ で 273 日間インキュベーションした。水酸化ナトリウムを充填したトラップを用いて $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した。放出される揮発性の供試標識化合物を吸着するために、ポリウレタン活栓を用いた。

通 気；

インキュベーション装置を、二酸化炭素を含まない、湿らせた空気を送り込むフロースルーシステムに接続した。しかし、供試標識化合物は揮発性であることから、通気は周 2 回のみ、15 分間ずつ、約 $20 \sim 25 \text{ mL/分}$ とした。

採取時期；

処理後、0、14、28、56、84、112、182 及び 273 日。

分析方法：

放射能活性測定；

土壌にメタノールを加え、室温下で振とう機にかけて約 1 時間振とうさせながら抽出し、抽出溶媒を遠心分離して抽出物を分離した。液体シンチレーションカウンター（LSC）で各抽出物の放射能活性総量を測定した。土壌中の抽出残渣は、風乾し、燃焼させて放射能活性を測定した。

112 日の埴壌土試料及び 273 日のシルト質埴壌土試料を対象として、抽出残渣の有機物を Kaufman 等（1976）の方法で分画した。試料に水酸化ナトリウムを加えて振とう抽出し、遠心分離後、残留物から抽出物を分離し、放射能活性を有する土壌成分（フミン）を燃料させて活性を測定した。濃塩酸を用いて抽出物の pH を約 1 に調製し、フミン酸画分を沈殿させ、遠心分離後、フルボ酸画分を含む上澄液を取り除き LSC にかけた。シルト質埴壌土のフミン酸画分の放射能活性は、直接、シンチラントに溶解させて定量した。埴壌土のフミン酸画分の放射能活性は、燃焼法で定量した。埴質砂土試料の抽出残渣は全時点において 10% 未満であったことから分析しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

ポリウレタン活栓の試料は、メタノールを加えて振とう抽出し、抽出物中の放射能活性を LSC で測定した。トラップの内容物は直接 LSC にかけて。インキュベーション装置から土壌試料を取り出した後、残留放射能活性を除去するためにこの装置をメタオールに浸し、LSC でこの洗浄液の放射能活性を測定した。

クロマトグラフによる分析；

第一段階として、HPLC により、土壌及びポリウレタン活栓から抽出した供試標識化合物及びその分解物を分析した。次いで、この結果を裏付けるため、試料を TLC で分析して、親化合物及びその分解物を分析した。次いで、この結果を裏付けるため、試料を TLC で分析して、親化合物及び分解物を同定し、定量した。

HPLC は UV 検出器（波長 250nm）付きの Agilent100HP150 を用いた。

TLC は、シリカゲル 60F₂₅₄ TLC Plate 及び展開相 [クロロホルム:エタノール:酢酸（容積比 89 : 10 : 1）] を用いた。

50%減衰期 (DT₅₀) 及び 90%減衰期 (DT₉₀) の算出；

一相性の動態とみなして、各時点の土壌試料抽出物に存在する供試化合物の百分率を自然対数 (ln) に換算してプロットし、得られた直線により回帰分析した。

結 果：

処理放射能の回収率及び分布；

供試標識化合物を壤質砂土、埴壤土及びシルト質埴壤土に処理後、所定の期間インキュベーションした試料の放射能回収率を表 1 に示す。回収率は約 95-111%の範囲であった。メタノールによる壤質砂土、埴壤土及びシルト質埴壤土試料抽出物中の回収率は、273 日間に処理放射能活性に対してそれぞれ 54%、76%及び 57%に低下した。

揮発した供試標識化合物の累計量は、273 日の時点で壤質砂土、埴壤土及びシルト質埴壤土試料でそれぞれ約 50%、13%及び 18%であった。トラップ内の水酸化ナトリウムに捕捉された ¹⁴C₂ は、273 日のインキュベーション後に、壤質砂土、埴壤土及びシルト質埴壤土でそれぞれ約 1%、2%及び 3%であった。抽出残渣は、壤質砂土、埴壤土及びシルト質埴壤土でそれぞれ処理放射能活性に対して 3-6%、2-14%及び 2-17%の範囲であった。埴壤土及びシルト質埴壤土の抽出残渣について、フミン、フルボ酸及びフミン酸に分画した結果を表 2 に示す。フミン、フルボ酸及びフミン酸の放射能活性は、埴壤土でそれぞれ 11.19%、1.32 及び 0.20%、シルト質埴壤土ではそれぞれ 12.77、1.55 及び 1.68%であった。洗浄液中の回収率は無視できる程度の量であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

代 謝；

試料のラジオ HPLC 分析により、供試化合物及び
の存在が示唆された。分析結果を表 3 に示す。

処理直後（0 日）における各種類の土壌抽出物に存在した放射能活性は、すべて標識供試化合物であった。273 日に壤質砂土の抽出物に残存した標識供試化合物は処理放射能活性に対して約 6%、 が 存在した。埴壤土では標識供試化合物約 7%及び 、シルト質埴壤土では標識供試化合物が約 5%、 存在した。

抽出物試料を放射能 TLC で分析し、標識供試化合物及び の存在が確認された。それらの比率は HPLC の分析結果に類似しており、TLC のデータは HPLC の分析結果を支持した。TLC 分析結果を表 4 に示す。

ポリウレタンの抽出物をプールし、ラジオ HPLC で分析したところ、標識供試化合物ジクロベニルが唯一の構成成分であった。

分解速度；

標識供試化合物の、（揮発による消失を計算に含めない） 分解速度を表 5 に示す。

揮発を除外した分解速度は、壤質砂土において、 DT_{50} 及び DT_{90} 値はそれぞれ 100.5 日及び 333.7 日、埴壤土では 77.9 日及び 258.7 日、シルト質埴壤土では 70.7 日及び 235.0 日であった。

揮発による消失を含めた分解及び消失速度を表 6 に示す。壤質砂土では DT_{50} 及び DT_{90} 値がそれぞれ 79.7 日及び 264.7 日、埴壤土で 75.3 日及び 250.3 日、シルト質埴壤土では 65.4 日及び 217.2 日であった。

試験終了時点に向けて分解速度の減速がみられた。これは、微生物活性の低下に起因すると思われる、したがって、実際の環境中における分解速度は、おそらく、本試験の結果より速いと考えられた。

以上の結果から、土壌中で、ジクロベニルは分解して になるか
あるいは揮発消失する。従って、土壌中に長期間残存しないと予測される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 1. 総放射能活性回収率

土壌の種類	処理後の経過日数	処理放射能活性に対する回収率(%)					合計
		メタノール抽出物	¹⁴ C ₂	揮発した ¹⁴ C	抽出残渣	器具の洗浄液	
壊質砂土	0	104.79	試料なし	試料なし	0.48	試料なし	105.27
	14	82.99	0.22	21.05	2.99	0.02	107.27
	26	72.60	0.29*	26.18	3.86	0.00	102.93
	56	60.79	0.40	35.94	4.48	0.00	101.61
	84	58.46	0.41	39.90	4.57	0.01	103.35
	112	50.35	0.43	46.46	4.66	0.02	101.90
	182	49.55	0.50	47.57	4.26	0.01	101.89
	273	53.86	0.91	50.20	5.69	0.01	110.67
埴壤土	0	99.80	試料なし	試料なし	1.77	試料なし	101.57
	14	91.22	0.34	6.33	6.02	0.04	103.95
	26	81.66	0.53	10.82	10.12	0.00	103.13
	56	76.72	0.63	10.91	11.50	0.01	99.77
	84	77.25	0.68	12.55	11.84	0.00	102.32
	112	76.62	0.94	11.00	13.95	0.00	102.51
	182	73.67	1.20	13.51	12.90	0.01	101.29
	273	76.48	1.86	12.80	12.32	0.00	103.49
シルト質埴壤土	0	102.67	試料なし	試料なし	2.11	試料なし	104.78
	14	93.53	0.41	8.23	3.71	0.01	105.89
	26	86.61	0.43	11.61	5.37	0.00	104.02
	56	81.99	0.49	12.15	6.60	0.01	101.24
	84	75.74	0.73	17.78	8.86	0.00	103.11
	112	71.18	1.18	16.35	15.19	0.00	103.90
	182	70.34	1.81	16.47	14.70	0.02	103.34
	273	56.86	2.55	17.87	17.35	0.00	94.63

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 2. 抽出残渣中の有機物画分

土壌の種類	処理後の経過日数	処理放射能活性に対する各画分の放射能活性(%)			
		フミン	フミン酸	フルボ酸	残渣の層放射能活性に対する回収率(%)合計
埴壤土	112	11.19	0.20	1.32	92.85
シルト質埴壤土	273	12.77	1.68	1.55	93.68

表 3. ラジオ HPLC 分析による放射能活性の分布

土 壌 の 種 類	処理後の経過日数	処理放射能活性に対する各成分の放射能活性(%)	
		¹⁴ C-ジクロベニル	
埴 質 砂 土	0	104.79	
	14	51.48	
	26	26.86	
	56	20.63	
	84	18.71	
	112	13.50	
	182	8.72	
	273	6.40	
埴 壤 土	0	99.80	
	14	67.17	
	26	45.86	
	56	29.20	
	84	19.91	
	112	15.02	
	182	10.20	
	273	7.07	
シルト質埴壤土	0	102.67	
	14	69.76	
	26	47.50	
	56	29.34	
	84	16.95	
	112	18.20	
	182	7.80	
	273	5.13	

*ND : 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 4. TLC 分析結果

土 壤 の 種 類	処理後の経 過日数	処理放射能活性に対する 各千分の放射能活性 (%)	
		¹⁴ C-ジクロベニル	
壤質砂土	0	104.79	
	84	14.50	
	273	5.11	
埴壤土	0	99.80	
	84	16.76	
	273	5.93	
シルト質埴 壤 土	0	102.67	
	84	15.63	
	273	4.12	

表 5. 揮発による消失を計算に含めない 50%減衰期間 (DT₅₀) 及び
90%減衰期間 (DT₉₀)

土壌の種類	試験期間	相関係数 (R2)	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
壤質砂土	0~273 日	0.853	100.5	333.7
埴壤土	0~273 日	0.898	77.9	258.7
シルト質埴壤土	0~273 日	0.913	70.7	235.0

表 6. 分解及び揮発による消失を含めた 50%減衰期間 (DT₅₀) 及び
90%減衰期間 (DT₉₀)

土壌の種類	試験期間	相関係数 (R2)	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
壤質砂土	0~273 日	0.801	79.7	264.7
埴壤土	0~273 日	0.881	75.3	250.3
シルト質埴壤土	0~273 日	0.911	65.4	217.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(4) 2種の水/底質系中におけるジクロベニルの好氣的湛水土壤中運命試験

(資料 No. M-10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

供試標識化合物: [¹⁴C] ジクロベニル

化学名;

分子式;

分子量;

化学構造;

放射化学的純度;

比放射能; 1.96 GBq/mmol (53mCi/mmol)

標識位置の選定理由;

供試した水/底質系:

Goorven 試験系;

オランダ、Noord-Brabant 州の Oisterwijk (北緯 51 度 33 分 51 秒、東経 5 度 12 分 30 秒) に位置する国立公園内の低地帯から採取したもの。

Engelse Dijk 試験系;

同州の's-Hertogenbosh (北緯 51 度 42 分 42 秒、東経 5 度 17 分 31 秒) に位置する、19 世紀の水路跡の小さな池から採取したもの。

採取方法及びプレインキュベーション前までの処理:

両試験系は 2003 年 9 月に採取した。水は各土手から 1.5~2m はなれた中央よりの深さ 1m までの表層から採取し、150 μ m の篩に通した後、冷蔵庫 (4 \pm 2 $^{\circ}$ C) 内で好氣的条件下に保存した。共に還元状態にあった底質は、表層 0~10cm から採取した 2mm の篩を通した後、同様に保存した。

これら試験系の性質を次頁の表 1 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表1 供試した試験系の性質

相	項目	Goorven	Engelse Dijk
水	総窒素 (mg/L)	2.8	1.4
	総リン (mg/L)	0.1	0.1
	硬度 (CaCO ₃ g/L)	29.0	126.0
	溶存酸素量 (mg/L)	14.6 (開始時)	19.5 (開始時)
		9.7 (終了時)	4.9 (終了時)
	pH (採取時)	5.44	7.46
	酸化還元電位(採取時、mV)	157	39
酸素濃度(採取時、mg/L)	7.9	7.19	
底質	土性	砂土	微砂質埴壌土
	砂 (63 μ m~2mm、%)	99.37	17.97
	シルト質 (2~63 μ m、%)	0.56	49.97
	粘土 (<2 μ m、%)	0.07	32.06
	有機炭素量 (%)	1.2 (開始時)	5.45 (開始時)
		0.5 (終了時)	7.2 (終了時)
	pH (water)	6.2 (開始時)	7.5 (開始時)
		5.4 (終了時)	7.3 (終了時)
	CEC (mEq/100g)	1.1	45.2
	総窒素 (mg/kg)	448.0	9225.5
総リン (mg/kg)	36.4	2165.4	

方 法：

プレインキュベーション；

褐色の 1L 容代謝試験用フラスコ（予備も考慮して各系について合計 24 個）に、湿った各底質を（Goorven 試験用：約 250g、Engelse Dijk 試験系：約 125g）及び水 470mL を入れて、底質層が約 2cm 及び水層が約 6cm になるようにした。フラスコを環境調節室（約 20℃）に収容して通気装置に連結し、プレインキュベーション期間中は水の表層を気泡が通過するようにした。各種パラメーターの測定専用には、各系から選んだフラスコ 2 個の水層中の溶存酸素、pH 及び酸化還元電位並びに底質層の酸化還元電位を週に 2 回測定した。プレインキュベーション終了時点で、各フラスコ 2 個の底質層を合わせてくん蒸抽出法により微生物バイオマスを測定した。

薬剤添加及びインキュベーション；

① 試験装置

次頁の図 1 に示すように、代謝試験フラスコの首の部分にポリウレタンフォーム（PUF）プラグを挿入し、2-メトキシエタノールを入れたトラップ 1 個

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

及び 2N NaOH を入れたトラップ 2 個を連結した。

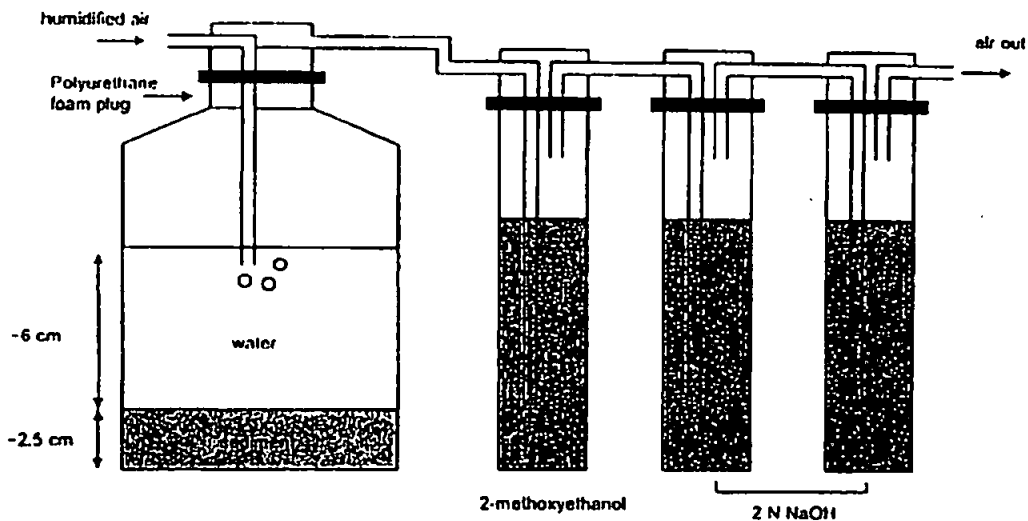


図 1 試験装置

② 薬剤の添加

各フラスコへのジクロベニル (DBN) (標識品 0.027mg に非標識品約 1.2mg を加えて希釈したもの) の添加量は、以下に示す根拠に基づいて水層中の DBN 濃度が 2.7mg/L、フラスコ当りの放射エネルギーが 0.3MBq になるようにした。添加液量は 450 μ L (水層に対して 0.1% v/v) とし、添加溶媒にはアセトニトリルを用いた。

本剤の推奨最大圃場処理薬量は 8.1kg ai/ha であるので、圃場土壌への処理と同一方法で水面に処理し、30cm の水層中に均一に分布すると想定し、試験フラスコ中の水層の液量に基づくと、以下の式から濃度は 2.7mg/L となる。

$$[8.1\text{kg/ha} \times 1\text{ha}/10000\text{m}^2 \times 1/0.3\text{m} \times 1\text{m}^3/1000\text{L} \times 1000000\text{mg/kg} = 2.7\text{mg/L}]$$

インキュベーションは 20 \pm 2 $^{\circ}$ C の環境調節室内で実施し、その期間は両試験系について 100 日間とした。試験中に、各系の専用フラスコ 2 個 (無処理) の水層中の溶存酸素、pH 及び酸化還元電位並びに底質層の酸化還元電位を適時測定した。通気は、原則として期間中の毎日の午前及び午後各 1 回の 30 分間とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

試料の採取時期；

薬剤添加後 0 日（添加後 30 分）、3、7、15、30、59 及び 100 日に、各試験系について 2 個のフラスコを取出した。試料採取日には、PUF プラグ及び液体トラップも分析用に採取して、新規のものに取り替えた（中間時点にも取り替えてトラップが飽和しないようにした）。

分析法；（放射能の分画及び分析のフローを図 2 に示す）

放射能の測定は、液体シンチレーション計数（LSC）より行った。液体試料はシンチレーションカクテルと混合し、抽出残渣は燃焼後測定した。

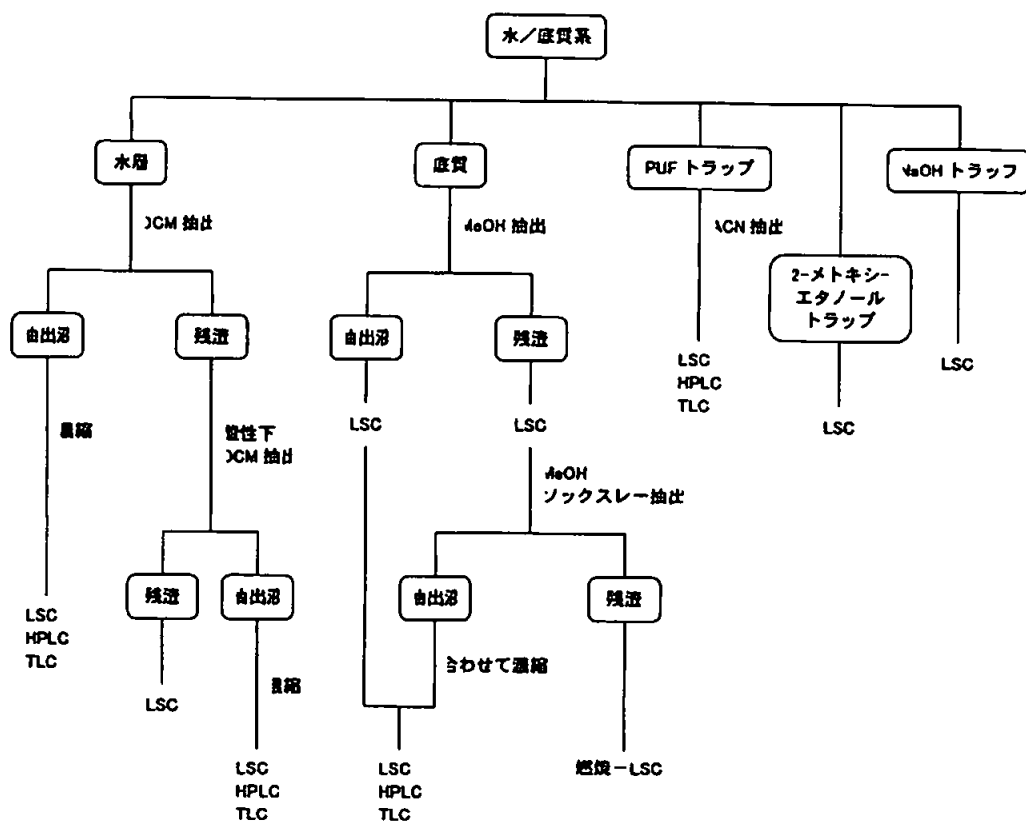


図 2 水/底質の分析フローチャート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

① 水層からの抽出

水層はデカントして採取して総重量を測定した後、約1mLの2連を採取して、LSCに供試し、別の約200mLをジクロロメタン(DCM)100mLで2回抽出した。合わせた抽出液及び残りの水相中の総放射能を、それぞれLSCにより測定した。合わせたDCM相にアセトニトリル10mLを加えた後、ロータリーエバポレーターを用いて30°Cで約10mLに濃縮し、濃縮液中の放射能をLSCにより測定した(濃縮ロス測定)。抽出しなかった水、抽出後の残りの水及び濃縮したDCM相は、フリーザー(約15°C)内に保存した。30日後以降のEngelse Dijk系の抽出後の残りの水の一部約100mLを1M塩酸溶液でpH3とし、DCM50mLで2~3回抽出した。合わせた抽出液及び残りの水相中の総放射能を、LSCにより測定した。抽出後の残りの酸性の水相及び濃縮したDCM相は分画まで、フリーザー内に保存した。

② 底質からの抽出

底質層を遠心用ボトルに移し、フラスコをメタノール(MeOH)100mLで洗浄して底質に加え、30分間振とう抽出した。1761gで5分間遠心し、上澄液を丸底フラスコに移した。この操作をさらに2回繰り返した。合わせたMeOH抽出液中の放射能をLSCにより測定した。抽出後の底質をソックスレー抽出装置に移し、MeOH250mLによる抽出を3時間行った。抽出後装置をMeOH50mLで洗浄して抽出液と合わせ、放射能をLSCにより測定した。さらに、加熱していないMeOH抽出液とソックスレー抽出液を合わせ、総放射能をLSCにより測定した。残りの底質は、放置して風乾した後一部を燃焼/LSCに供試した。

③ PUFプラグからの抽出

PUFプラグからの抽出は、アセトニトリル50mLを用いたガラス棒による軟化及びボルテックス攪拌により行い、2反復とした。抽出液中の放射能をLSCにより測定した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析の前に抽出液を合わせて、フリーザー内に保存した。

④ 液体トラップからの抽出

液体トラップ中の放射能は、採取した一部のLSCにより測定した。Engelse Dijk系の100日後試料の最初のNaOHトラップ中に捕集された放射能について、水酸化バリウム溶液を添加して二酸化炭素の定性確認を行った。

⑤ クロマトグラフィー分析

HPLC

合わせたPUFの抽出液、濃縮した水及び底質の抽出液のすべてをHPLC分析に供試した。カラムはSpherisorb ODS2を用い、移動相として0.005M酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルの混合系を用いるグラジエント溶出とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

水層を酸性にした後の DCM 抽出液 (Engelse Dijk 系の 30、59 及び 100 日後) の濃縮液の HPLC 分析については、0.05%ギ酸水溶液とアセトニトリルの混合系を用いるグラジエント溶出とした。分析した抽出液毎に、測定したカラム溶出液全体を採取して秤量、放射能を LSC により分析した。

^{14}C -DBN 標準品、

標準品及び

標準品を、各分析シリーズに参照用物質として加えた。は、LC-MS/MS 分析で代謝物として存在する可能性があるとして予測された場合にのみ用いた。また、代謝物の同定を確かなものとするために、選抜した試料に少量の、または を添加して、HPLC により分析した。

薄層クロマトグラフィー (TLC)

選抜した PUF 抽出液を合わせたもの、濃縮した水及び底質の抽出液について実施した。シリカゲル 60F₂₅₄ プレートを用い、展開溶媒としてクロロホルム/エタノール/ジエチルアミン (89 : 10 : 1 体積比) を用いて実施した。 ^{14}C -ジクロベニル標準品及び 標準品を、各プレート上に参照用物質として添付した。は、ほとんどすべてのプレート上に参照用物質として添付した。は、LC-MS/MS 分析で代謝物として存在する可能性があるとして予測された場合にのみ用いた。

⑥ LC-MS/MS 分析

Engelse Dijk 系の酸性下の抽出液中に、顕著な量の未知代謝物が認められた。その構造を明らかにするために、LC-MS/MS 分析を選抜した試料について実施した。

結 果 :

微生物バイオマス ;

プレインキュベーション終了時点の微生物バイオマス (有機炭素に対する%) は、Goorven 系が 1% 及び Engelse Dijk 系が 2.3% であり、試験終了時点では、Goorven 系が 0.9 及び Engelse Dijk が 1.7% であった。この結果は、試験開始時から終了時点までの十分な生存条件を示している。

pH、酸化還元電位及び溶存酸素濃度 ;

Goorven 系の pH (水層) 範囲は 4.3~5.9 であり、いくらか酸性であった。溶存酸素濃度 (水層) は 6.4~8.7mg/L の間で変動していた。正の酸化還元電位 (77~233mV) と共に、これらの測定値は全試験時間を通じて、水層が好気的条件であったことを示している。底質層の酸化還元電位は負の値 (-29~-235mV) を示し、全試験期間を通じて嫌気的条件に保たれていた。

Engelse Dijk 系の pH (水層) 範囲は 7.3~8.3 であり、中性~わずかな塩基

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

性であった。溶存酸素濃度（水層）は 6.1～8.7mg/L の間で変動していた。正の酸化還元電位（55～175mV）と共に、これらの測定値は全試験期間を通じて、水層が好氣的条件であったことを示している。底質層の酸化還元電位は負の値（-29～-235mV）を示し、全試験期間を通じて嫌氣的条件を保たれていた。Engelse Dijk 系の pH（水層）範囲は 7.3～8.3 であり、中世～僅かな塩基性であった。溶存酸素濃度（水層）は 6.1～8.7mg/L の間で変動していた。正の酸化還元電位（55～175 mV）と共に、これらの測定値は全試験期間を通じて、水層が好氣的条件であったことを示している。底質層の酸化還元電位は負の値（-119～-280 mV）を示し、全試験期間を通じて嫌氣的条件に保たれていた。

放射能の分布及び全体的な物質収支；

経時的な測定結果を表 2 に示した。両試験系共に全試験期間を通じて約 98% 以上の物質収支を示し、良好な結果であった。

① 揮発した放射能

処理放射能の 37.04 及び 31.61% が、それぞれ Goorven 及び Engelse Dijk 系の 100 日後のトラップ群に回収されたが、そのほとんどは PUF プラグ中であり、NaOH トラップ中には 100 日後の 4.51%（Engelse Dijk 系、表には記載していない）が最大であり、メトキシエタノールトラップ中へは回収は、無視できる程度（処理放射能の < 0.1%）であった。PUF トラップに多量の放射能が認められたことは、両方の水／底質系から放射能が揮散により顕著に損失したことを示している。また、NaOH トラップ中への回収が少量であったことから、DBN の CO₂ 及び水への無機化は、両水／底質系における DBN の相対的な運命の中では主要な役割を果たしていないことを示している。なお、Engelse Dijk 系の NaOH トラップ中の放射能は、捕集された CO₂ が全量を占めていた。

② 水槽中の放射能

Goorven 系

水層中に回収された放射能量は、0 日後の処理放射能の 98.51% から試験終了時の 18.80% に連続的に減少した。放射能の最大の減少は、0～3 日の間にみられた。この減少は、水の底質間の放射能の急速な分配により引き起こされたものである。水層中の放射能の 99.77%（0 日後）～82.98%（100 日後）が、DCM により抽出可能であった。水層中の抽出残分（非抽出性放射能）は、経時的に増加して試験終了時において処理放射能の最大 3.34 に達した。これは DCM では抽出し難い極性の代謝物の生成によるものと考えられる。

Engelse Dijk 系

水層中に回収された放射能量は、0 日後の処理放射能の 98.76% から試験終了時の 27.38% に連続的に減少した。放射能の最大の減少は、0～3 日の間にみ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

られた。この減少も水と底質間の放射能の急速な分配により引き起こされたものである。水層中の放射能の急速な分配により引き起こされたものである。水層中の放射能の>99% (0日後) ~50.04% (59日後) が、DCMにより抽出可能であった。30日後以降にも、酸性条件下でDCMにより追加的な量(処理放射能の4.56~12.93%)が抽出された(表にはDCM抽出分はまとめており、酸性下での抽出分は記載していない)。これは、酸性条件下でDCMに抽出されやすい酸性代謝物の存在を示している。水層中の残留放射能量は、経時的に増加して59日後において処理放射能の4.16%に到達した。これはDCMまたは酸性下のDCMでは抽出し難い極性の代謝物の生成によるものと考えられる。

表2 両水/底質系における放射能の分布

(数値は処理放射能に対する%、すべて2反復の平均)

試験系	経過 日数	揮発性 物質 (合計)	水層			底質層			物質 収支
			全体	DCM 抽出液 合計	抽出 残分	MeOH/ SOX 抽出液 の合計	抽出 残分	合計	
Goorven	0	-	98.51	98.28	0.56	1.42	0.04	1.46	99.97
	3	3.54	54.28	54.18	0.50	41.00	0.42	41.42	99.24
	7	5.44	45.26	45.72	0.56	47.86	0.80	48.66	99.37
	15	9.61	31.40	30.96	0.66	45.57	1.27	56.84	97.86
	30	15.74	26.09	25.69	0.98	55.24	1.44	56.68	98.52
	59	25.72	22.64	19.74	2.36	48.70	2.03	50.73	99.09
	100	37.04	18.80	15.60	3.34	39.30	3.03	42.32	98.17
Engelse Dijk	0	-	98.76	99.58	0.85	2.07	0.09	2.16	100.92
	3	4.85	65.64	64.06	0.83	28.36	1.69	30.55	101.03
	7	6.91	49.06	49.13	0.82	43.59	1.81	45.39	101.36
	15	11.29	37.55	36.54	1.25	49.83	2.43	52.26	101.09
	30	16.96	34.73	32.41	2.65	45.19	3.41	48.60	100.29
	59	23.52	33.37	29.63	4.16	33.88	7.83	41.71	98.60
	100	31.61	27.38	11.21	1.66	32.02	7.75	39.77	98.76

- : 該当せず
 DCM : ジクロロメタン(Engelse Dijk系については、酸性DCM抽出との合計)
 MeOH : メタノール
 SOX : ソックスレー

③ 底質中の放射能

Goorven系:

底質層中の総放射能は、15日後に処理放射能の最大56.84%に達し、その後試験終了時の42.32%に減少した。底質と結合していた放射能の減少は、吸着していた放射能の水層への再分配によるものと考えられる。再分配に向かわせる力は、水層からの放射能の連続的な揮散である。底質と結合している放射能の92.86~98.99%が、MeOHとMeOH/ソックスレーにより抽出可能であ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

った。結合残留は、100 日後が最大で、3.03%であった。

Engelse Dijk 系：

底質層中の総放射能は、15 日後に処理放射能の最大 52.26%に達し、その後試験終了時の 39.77%に減少した。Goorven 系と同様に、この減少は、吸着していた放射能の水層への再分配によるものと考えられる。底質と結合している放射能の 96.03~80.51%が MeOH/ソックスレーにより抽出可能であった。結合残留は、59 日後の処理放射能が最大で、7.83%であった。

HPLC 分析に基づく放射能の各分画への分布；

HPLC により同定した代謝物画分への抽出性放射能の分布を表 3 に示した。

表 3 親化合物及び主要代謝物の各画分への分布

(数値は処理放射能に対する%、すべて 2 反復の平均)

試験系	経過 日数	水			底質			揮発性物質 (PUF)	
		DBN			DBN			DBN	その他
Goorven	0	97.48			1.41			0.00	0.00
	3	54.00			41.00			3.49	0.00
	7	45.42			47.86			5.34	0.00
	15	30.39			55.57			9.48	0.00
	30	24.42			55.24			15.45	0.00
	59	16.80			48.70			25.31	0.00
	100	11.14			37.56			36.40	0.00
Engelse Dijk	0	98.34			2.07			0.00	0.00
	3	63.90			26.84			4.74	0.09
	7	47.77			42.36			6.89	0.00
	15	33.08			47.06			10.50	0.63
	30	20.73			40.01			16.59	0.00
	59	9.81			25.15			20.91	0.00
	100	7.24			22.74			25.87	1.21

DBN：ジクロベニル、

ND：不検出 (<0.01)

1：非抽出性残留を含む。Goorven 系で最多 4 種、Engelse Dijk 系で最多 8 種の代謝物を含む。

2：非抽出性残留を含む。Engelse Dijk 系で最多の 4 種の代謝物を含む。

① 揮発性放射能

Goorven 系の PUF の抽出液の HPLC 分析により、捕集された放射能のすべてが親化合物の形で存在していることが判明した。Engelse Dijk 系の PUF 抽出液中には、時折マイナーな代謝物が認められた(100 日後の処理放射能の 1.21%)。

② 水層中の放射能

Goorven 系

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

水層中の親化合物量は、処理放射能の 97.48% から試験終了時には 11.14% に減少した。水層中には、100 日後に最大 の が検出された。量は最大値またはプラトー的な一定のレベルを示すことなく、試験終了時にも依然増加していた。水層中の非抽出性放射能を含む の代謝物の合計は、と同様の挙動を示し、試験終了時には に達した。分析した抽出液中の は、個別には処理放射能の 代謝物からなっていた。

Engelse Dijk 系

水層中の親化合物量は、処理放射能の 98.34% から試験終了時には 7.24% に減少した。水層中には、100 日後に最大 の が検出された。量は最大値またはプラトー的な一定のレベルを示すことなく、試験終了時にも依然増加していた。30 日後に、代謝物 が初めて認められ、59 日後には の最大値に達し、試験終了時にも を占めていた。水層中の非抽出性放射能を含むその他の代謝物の合計は、59 日後に最大 10.73%、試験終了時にも 7.55% を占めていた。分析した抽出液中の 代謝物からなっていた（全部が同時に存在したわけではない）。これらのマイナーな代謝物の 1 つが、暫定的に と同定された。

③ 底質層の放射能

Goorven 系

底質中の抽出性放射能のほぼ全量が、親化合物の形で存在した。底質中の親化合物の最大量は、15 日後に測定された (55.57%)。試験終了時では、37.56% が底質から抽出された親化合物であった。最終の試料採取時点にのみ、の が認められた。他には代謝物は認められなかった。

Engelse Dijk 系

底質中の抽出性放射能の大部分が、親化合物の形で存在した。15 日後に、親化合物は処理放射能の最大 47.06% に達した。試験終了時には、底質中の親化合物は、22.74% を占めていた。30 日後以降、はその量を増しながら検出され、試験終了時には、最大 に達した。群は試験期間中にわたって増加し、終了時には最大 7.25% に達した。は、代謝物からなっており、その中には処理放射能の >10% を超えるもの、または水層中で連続した 2 時点に 5% を超えるものはなかった。

④ LC-MS/MS 他による同定結果の確認

LC-MS/MS 分析からは、Engelse Dijk 系の 59 日後の酸性下の抽出液中の存在も明らかになった。この化合物は、30 日後の同様な抽出液中には認められなかった。DBN、及び は、HPLC の保持期間の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

一致及び TLC により同定した。さらに、及び については、幾つかの試料に または を添付して HPLC 分析を行って同定を確実なものとした。 についても、LC-MS/MS 分析により確認した。

ジクロベニル (DBN) の消失速度 (半減期) ;

表 4 に、コンパートメント及びプロセス毎に計算した、DBN の消失速度を示した。

表 4 DBN の消失速度の計算結果

コンパートメント	消失プロセス	Goorven 系		Engelse Dijk 系	
		半減期 (日)	r ² *	半減期 (日)	r ² *
水	揮散+底質への移動+分解	10.9	0.814	10.1	0.934
		3.52 ¹		6.26 ¹	
		39.4	0.988	28.6	0.991
	3.52		6.26		
	分解	233	0.989	56.6	0.986
水+底質	揮散+分解	100	0.997	47.0	0.975
	分解	358 ²	0.999	72.6 ²	0.990
		307	0.973	65.6	0.962
底質	分解+水への再分配	152	0.948	68.6	0.925
	分解	737	0.989	119	0.986

1. Hockey stick model, 折れ曲がり点の前(上段)、折れ曲がり点の後(中断)、全体(下段)
 2. 一次マルチコンパートメントモデル(上段)及び標準化したデータ/一次(下段)に基づいた。
- * 決定係数

水、水+底質及び標準化した水+底質中の DBN 含有量における減少は、単純な一次カイネティクスで表現することが可能であった。水層からの親化合物の消失 (揮散、底質への吸着及び分解) の半減期は、10.9 日 (Goorven 系) 及び 10.1 日 (Engelse Dijk 系) であった。水と底質層を合わせた系からの消失 (揮散及び分解) の半減期は、100 日 (Goorven 系) 及び 47.0 日 (Engelse Dijk 系) であった。標準化したデータを用いて得られた半減期から、水と底質層を合わせた系における DBN の分解速度の推定値が求められ (揮散による損失は計算せず)、307 日 (Goorven 系) 及び 65.6 日 (Engelse Dijk 系) であった。

水からの消失は一次カイネティクスで表現可能であったが、Hockey stick model がより良好であった。自らの親化合物の消失は、水と底質間の急速な分配及び揮散により引き起こされる初期の急速な減衰であると特徴付けられた。この減衰の後に、より緩慢な速度の消失が続いた (主として、揮散、いくらかの分解及び水と底質間の再分配による)。初期の急速な減衰の半減期は、3.52 日 (Goorven 系) 及び 6.26 日 (Engelse Dijk 系) であり、緩慢な次の段

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

階の半減期は 39.4 日 (Goorven 系) 及び 28.6 日 (Engelse Dijk 系) であった。

底質中の親化合物の消失は、一次カイティックスにより表現可能であった。消失は水層への再分配及び分解の結果であり、152 日 (Goorven 系) 及び 68.6 日 (Engelse Dijk 系) の半減期で進行した。

水及び底質中において分解のみに起因する (揮散及び水と底質間の大量移動を排した) 半減期を推定するために、2 種の概念モデルを作成して、それに基づいたところ、得られたデータに良好に適合した。その結果、Goorven 系の水及び底質中における分解は、それぞれ 233 及び 737 日の半減期で緩慢に進行した。Engelse Dijk 系中では、水及び底質中における分解は、それぞれ 56.6 及び 119 日の半減期で速やかに進行した。

水/底質系におけるジクロベニル (DBN) の総体的な運命 ;

水層に DBN を添加すると、水と底質層間で急速に分配された。両方の系において、顕著な量の DBN が揮散 (主要なプロセス) によって失われた。この揮散により、水と底質層間での連続的な再分配が起こった。DBN は水及び底質中において、及び代謝物に分解した。及び

代謝物への分解は、Engelse Dijk 系中において最も主要なものであり、Goorven 系中において占める位置は低かった。完全な無機化及び結合残留の形成は、両方の系において主要なプロセスではなかった。水/底質系におけるジクロベニルの想定分解経路を次頁に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

水／底質系における想定分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

4. 土壌吸着性試験

DBN の土壌吸着係数試験

(資料 No. M-11)

試験機関：

報告書作成年：2001年

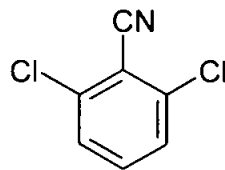
供試化合物：DBN 原体

化学名：2,6-ジクロロベンゾニトリル

分子式： $C_7H_3Cl_2N$

分子量：172.02

化学構造：



供試土壌：以下の4種の土壌を供試した。

土 壌	土壌構成成分 (%)			有機炭素含有率 (%)	陽イオン交換容量 (me/100g)	pH	土壌中の水分 (%)
	砂	シルト	粘土				
No. 6 水田土壌	28.0	35.4	36.6	2.60	21.5	6.7	4.1
No. 8 水田土壌	42.2	31.9	25.9	1.29	11.3	6.3	1.6
No. 14 畑土土壌	24.8	27.5	47.7	3.33	29.8	7.0	11.7
No. 20 畑土土壌	86.0	7.1	6.9	1.5	9.7	5.9	3.3

No. 6：植調研究所圃場水田土壌

No. 8：日植防高知試験農場水田土壌

No. 14：日植防牛久研究所畑土土壌

No. 20：日植防宮崎試験場内畑土土壌

試験方法：「OECD 試験指針 106 吸着/脱着」に準拠して実施した。

試験結果：以下のように要約される。

土壌	1/n	K_f^{ads} , l/kg	r	$K_f^{ads}_{oc}$, l/kg	平均物質収支 (%)
No. 6	0.825	11.9	0.999	458	90.6
No. 8	0.778	6.01	0.999	466	94.9
No. 14	0.734	16.4	0.999	492	84.6
No. 20	0.784	6.11	0.999	407	90.2

考 察：

1. 土壌吸着率は水田土壌の植調土壌 74.2%、高知土壌 57.7%、畑地土壌の牛久土壌 80.7%、宮崎土壌 53.4%であり、水田と畑土土壌間での吸着率の相違はあまりなかった。
2. 土壌吸着係数 (K_f^{ads}) と有機炭素吸着係数 ($K_f^{ads}_{oc}$) は植調土壌で 11.9 と 458、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

高知土壌で 6.01 と 466、牛久土壌で 16.4 と 492 及び宮崎土壌で 6.11 と 407 であった。

3. 4 種類の供試土壌は粘土含有が異なるにもかかわらず、土壌の有機炭素含有率で除した $K_f^{ads}_{\infty}$ は土壌間ではほぼ同じ係数であった。

結 論： DBN の物質収支は 4 土壌いずれも 84.6～94.9%回収されて良好であった。DBN の吸着や分解は認められなかった。水相及び固相の平均回収率は 89～92%及び 90～92%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アグロ カネショウ株式会社にある。

5. 光及び水による分解

5.1 加水分解運命試験

(資料 No. M-12)

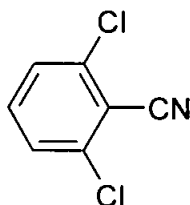
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

供試化合物：

構造式：



化学名；2,6-ジクロロベンゾニトリル

分子式； $C_7H_3Cl_2N$

分子量；174.02

純度；

供試水溶液：

pH	滅菌緩衝液
5	0.1 mol/L フタル酸水素カリウム +0.05 mol/L 水酸化ナトリウム
7	0.071 mol/L フタル酸水素カリウム +0.01 mol/L リン酸水素二ナトリウム
9	0.1 mol/L ホウ酸+0.1 mol/L 塩化カリウム +0.1 mol/L 水酸化ナトリウム

試験方法：EPA テストガイドライン 161-1 に準じて実施した。各 pH における本剤の試験濃度を 7~9 ppm とし、22°C の条件下で 150 日間培養した。各 pH における初期濃度と 16、30、60、90、150 日後の濃度をガスクロマトグラフィーで分析した。

結果：pH に関係なく試験 30 日でほとんど分解はみられなかった。
各 pH における分析結果を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

経過時間	DBN の濃度 (初期濃度に対する割合%)		
	pH5	pH7	pH9
0 日	7.24	8.90	8.93
16 日	7.16 (98.9)	8.55 (96.1)	8.68 (97.2)
30 日	7.14 (98.6)	8.64 (97.1)	8.65 (96.8)
60 日	7.04 (97.2)	8.57 (96.3)	8.55 (95.7)
90 日	7.20 (99.4)	8.58 (96.4)	8.30 (92.9)
150 日	6.83 (94.3)	8.24 (92.6)	8.18 (91.6)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

5.2 DBN の水中光分解運命試験

(資料 No. M-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

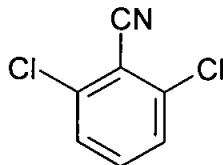
供試標識化合物： [¹⁴C]ジクロベニル

化学名；
分子式；
分子量；
化学構造；

ロット番号；
比放射能； 53 mCi/mmole
放射化学的純度；
標識位置設定理由；

供試非標識化合物： ジクロベニル

化学名； 2,6-ジクロロベンズニトリル
分子式； C₇H₃Cl₂N
分子量； 172.02
化学構造；



ロット番号；
純度；

供試水： 以下の種類を試験に使用した。

蒸留水 (pH5)； 酢酸緩衝液
実測 pH 4.93
溶存酸素濃度 8.1mg/L
電気伝導率 900µmhos

蒸留水 (pH7)； リン酸緩衝液
実測 pH 6.98
溶存酸素濃度 8.1mg/L

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

電気伝導率 850 μ hos

蒸留水 (pH9) ; ほう酸緩衝液

実測 pH 9.00

溶存酸素濃度 8.1mg/L

電気伝導率 3400 μ hos

自然水 ;

湖沼水

アメリカ、マサチューセッツ州、ワーハム、Weweantic 川、ビーチ島、
自然保護区

採取時期 2002年6月11日

pH 6.67

溶存酸素濃度 8.1mg/L

電気伝導率 20 μ hos

懸濁物質量 3.33mg/L

全蒸発残留物量 71.1mg/L

滅菌方法 0.2 μ m フィルターを用いたろ過滅菌

保存方法 冷蔵

陽性対象物質 ; 4'-nitroacetophenone (Actinometer)

ロット番号 05727BS

純度 98%

入手先 Aldrich Company

陽性対象物質の触媒 ; Pyridine

ロット番号 70K0935

純度 99%以上

入手先 Sigma-Aldrich

光源 : キセノンランプ (1500B 型)

290nm 以下の紫外線を除く光学フィルターを設置した。

光強度 : 123 W/m² (波長範囲 290-800nm)

試験方法 :

試験濃度 ;

1.04mg/L に設定した。水溶解度が 18mg/L 以上あることが分かっていたので、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

溶解助剤は用いなかった。

試験温度；

設定温度 (25±2℃)

実測温度 (最低 22.4℃～最高 26.0℃)

試験期間 (光照射)；

2002年3月5日～12日 (pH5、9)

2002年6月18日～25日 (pH7、自然水)

試験容器；

光照射群と暗対照群で異なった。

光照射群はテフロンキャップの付いた石英ガラスチューブで容量は7mLであった。暗対照群はテフロンキャップの付いたホウ珪酸ガラスチューブで容量は12mLであった。さらに暗対照群はアルミホイルで包み、黒色布の下に設置した。また、これらの容器はオートクレーブで滅菌した。

試験液はLSCによる放射エネルギーの測定、HPLC/RAM、HPLC/UV及びTLCで親化合物、分解物を分析した。

参照物質；

参照物質として以下の物質を用意した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

予備試験 - 1 ;

試験容器の途中まで試験液を満たし、その試験容器の前にガス洗浄器、後に捕集器をテフロンチューブを用いて接続し、本試験と同様の装置、条件で試験を実施した。

その結果、半減期は pH5 で 40.9 時間、pH7 で 54.6 時間、pH9 で 43.5 時間、自然水で 46.3 時間であった。なお、物質収率は 103~56.8%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アグロ カネショウ株式会社にある。

予備試験 - 2 ;

別の容器の pH5 の試験容器では試験液をいっぱいに入れ、被験物質の蒸発といかなる分解物の可能性を最小限に抑えるため、空隙をなくした条件で本試験と同様の装置、条件で試験を実施した。48 時間後及び 96 時間後の物質収率は 101~96.2%であり、満足するものであった。

本試験 ;

試験容器に試験溶液をいっぱいに入れ、空隙をなくし、ウォーターバスに浸して温度制御を行った。

pH5 及び pH9 は 6、24、48、72、96 及び 168 時間の光照射を行った。

pH7 及び自然水は 24、48、72、96、144 及び 168 時間の光照射を行った。

それぞれの陽性対照は 72 及び 168 時間で試料採取を行った。暗対照はそれぞれの試験液の分析時と同時に試料採取を行った。

それぞれの試験溶液について、試験開始時及び試験終了時に無菌テストを行い、無菌性が確認された。

半減期の計算方法

光分解率と半減期は回帰直線分析で計算を行った。

光分解定数は以下の方程式で求めた。

$$\ln (C_0/C) = kt$$

C_0 ; DBN の初期値濃度 (mg/L)

C ; DBN の試料の採取時の濃度 (mg/L)

k ; 定数 (hr⁻¹)

t ; 時間

時間と $\ln (C_0/C)$ を回帰直線分析で計算すると直線の傾きが k と等しくなる。

また、半減期は以下の方程式で求めた。

$$t_{1/2} = 0.693/k$$

さらに日本の東京 (北緯 35°C) の春の太陽光換算は農林水産省の資材課長通知に試験に関する記載に基づき、以下のように行った。

太陽光下での水中半減期の推定

全天日射量の 1 日積算量を I_0 とすると、4 月から 6 月の平均値は

$$I_0 = 14.6 \text{ (mJ/m}^2\text{/d)} \text{ と示される。}$$

試験に用いた人工光源の光強度を I_{L-H} (測定波長範囲 $L-H$ nm, W/m^2) とすると、 $L-H$ nm の波長領域での太陽光の放射照度 (I_s) は基準太陽光の分光放射照度分布 (JISC8911-1998) から次式に示される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

$$I_s = I_o \times (L-H \text{ nm の放射照度}) / (\text{全波長の照射照度})$$

光強度 IL-H における半減期を $IDT_{50\text{lab}}$ (d) とすると、試験開始から半減期までの放射照度の積算値 IDT_{50} (MJ/m²) は次式で示される。

$$IDT_{50} = IL-H \times DT_{50\text{lab}} \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} \text{ (MJ/m}^2\text{)}$$

従って、太陽光下での推定半減期 $DT_{50\text{sun}}$ (d) は次式で示される。

$$DT_{50\text{sun}} = IDT_{50} / I_s$$

DBN の減衰状況 ;

回収%に対する割合

経過時間	pH5	pH7	pH9	自然水
0	88.9	102.9	97.4	103.7
6	92.0	-	92.6	-
24	86.8	94.3	88.0	75.8
48	56.9	88.2	59.3	44.8
72	45.5	68.1	44.3	22.4
96	45.5	47.8	29.5	8.8
144	-	20.0	-	1.2
168	23.0	10.9	32.1	-

回帰直線分析の計算結果から実験室条件下での半減期は以下の通りであった。

pH5 ; 71.4 時間 (2.98 日)

pH7 ; 56.7 時間 (2.36 日)

pH9 ; 48.3 時間 (2.01 日)

自然水 ; 28.4 時間 (1.18 日)

蒸留水に比較して自然水の方が直接あるいは間接的な光分解反応により、速やかに光分解することが予測された。これは、DBN の分解を高める光分解生成物の中間体を形成することができる有機物（フミン酸のような）を含有する場合に間接光分解を受けることを意味する。

なお、暗対照は各試験液とも、DBN の有意な減少はみられなかった。

日本の東京（北緯 35°C）の春の太陽光換算では推定半減期は以下の通りであった。

pH5 ; 6.81 日

pH7 ; 5.39 日

pH9 ; 4.59 日

自然水 ; 2.19 日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

各試験液における物質収支 (LSC 測定) ;

経過時間	pH5		pH7		pH9		自然水	
	平均濃度 (mg/L)	平均回収 率 (%)	平均濃度 (mg/L)	平均回収 率 (%)	平均濃度 (mg/L)	平均回収 率 (%)	平均濃度 (mg/L)	平均回収 率 (%)
0	0.926	89.0	1.07	103	1.01	97.4	1.09	105
6	0.968	93.1	-	-	0.989	95.1	-	-
24	0.957	92.0	1.06	102	0.988	95.0	1.12	108
48	0.774	71.5	0.815	78.4	1.03	98.6	1.07	103
72	0.684	65.8	1.05	101	1.11	107	0.897	86.3
96	0.889	85.5	1.02	97.8	0.950	91.4	1.00	96.2
144	-	-	1.01	96.8	-	-	0.885	85.1
168	0.853	82.1	1.02	98.5	0.931	89.5	-	-

光分解物の構造決定 ;

10%以上生成した光分解物の構造決定を HPLC、TLC、HPLC/RAM、LC/MS、TIC (全イオン電流) あるいは CID (衝突誘導乖離) 分析を用いて行った。

その結果、参照物質と一致した物質は 及び
であった。以下 及び と
表記する。

は pH 7 で最高、 は pH 7 で最高 であった。
他に 10%以上生成した光分解物としては 3.74~21.2%生成した未同定物質 1 (Unknown 1)、13.5~23.4%生成した未同定物質 4 (Unknown 4)、11.4~24.6%生成した未同定物質 5 (Unknown 5) が認められた。HPLC/RAM の保持時間が未同定物質 1 で 4.5 分、未同定物質 4 で 6.6 分、未同定物質 5 で 3.6 分であった。また、それぞれのピークは小さく、オーバーラップしていた。従って、保持時間が近似している複数の物質の集まりと推定され、生成率も複数のピークの合計であると考えられた。

なお、自然水に 12%、pH 9 に 10%認められた 11 分ピークは単一であった。これらの物質は分析過程の様子から非常に極性が高く、水溶性も高いと推定される。通常の有機溶媒では水から抽出できないこともあり、分離精製が困難であった。

未同定物質らはアルデヒド、グリコール、酸、有機アミド類の可能性が示唆されたが、解析困難であったため、構造決定ができなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

pH5 の分解様式

経過時間	D B N				Un 1		Un 5	
	濃度*	回収%			濃度*	回収%	濃度*	回収%
0	0.823	88.9			-	-	-	-
6	0.891	92.0			-	-	-	-
24	0.831	86.8			0.002	2.0	-	-
48	0.423	56.9			0.041	5.5	0.022	2.9
72	0.311	45.5			0.051	7.4	0.034	4.9
96	0.404	45.5			0.136	15.3	0.063	7.1
168	0.196	23.0			0.128	15.0	0.097	11.4

* ; 物質収支濃度との計算値 Un 1 ; 未同定物質 1 Un 5 ; 未同定物質 5

pH7 の分解様式

経過時間	D B N				Un 1	
	濃度*	回収%			濃度*	回収%
0	1.101	102.9			-	-
24	1.000	94.3			-	-
48	0.719	88.2			0.030	3.7
72	0.715	68.1			0.076	7.2
96	0.488	47.8			0.111	10.9
144	0.202	20.0			0.158	15.6
168	0.111	10.9			0.171	16.8

* ; 物質収支濃度との計算値 Un 1 ; 未同定物質 1

pH9 の分解様式

経過時間	D B N			
	濃度*	回収%		
0	0.984	97.4		
6	0.916	92.6		
24	0.869	88.0		
48	0.611	59.3		
72	0.492	44.3		
96	0.280	29.5		
168	0.299	32.1		

* ; 物質収支濃度との計算値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

pH9 の分解様式

経過時間	Un 1		Un 4		Un 5	
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	0.014	1.4
24	-	-	-	-	0.033	3.3
48	0.024	2.3	0.054	5.2	0.170	16.5
72	0.033	3.0	0.114	10.3	0.272	24.5
96	0.012	1.3	0.010	10.5	0.257	27.0
168	0.034	3.7	0.126	13.5	0.230	24.7

* ; 物質収支濃度との計算値

Un 1 ; 未同定物質 1 Un 4 未同定物質 4 Un 5 未同定物質 5

自然水の分解様式

経過時間	DBN			
	濃度*	回収%		
0	1.130	103.7		
24	0.849	75.8		
48	0.479	44.8		
72	0.201	22.4		
96	0.088	8.8		
144	0.011	1.2		

* ; 物質収支濃度との計算値

自然水の分解様式

経過時間	Un 1		Un 2		Un 3		Un 4	
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0	-	-	-	-	-	-	-	-
24	0.067	6.0	0.026	2.3	0.053	4.7	-	-
48	0.123	11.5	0.036	3.4	0.048	4.5	0.048	4.5
72	0.161	17.9	0.032	3.7	0.025	2.8	0.095	10.6
96	0.203	20.3	0.035	3.5	0.011	1.1	0.166	16.6
144	0.188	21.2	0.001	2.8	0.004	0.5	0.207	23.4

* ; 物質収支濃度との計算値、

Un 1 ; 未同定物質 1、Un 2; 未同定物質 2、Un 3; 未同定物質 3、Un 4; 同定物質 4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

水中光分解における想定代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

6. 代謝物 の土壌吸着性試験

の土壌吸着係数試験

(資料 No. M-14)

試験機関：

報告書作成年：2001年

供試化合物：

化学名；

分子式；

分子量；

化学構造；

供試土壌：以下の4種の土壌を供試した。

土 壌	土壌構成成分 (%)			有機炭素含 有率 (%)	陽イオン交換 容量 (me/100g)	pH	土壌含水 比 (%)
	砂	シルト	粘土				
No. 6 水田土壌	28.0	35.4	36.6	2.60	21.5	6.7	4.1
No. 8 水田土壌	42.2	31.9	25.9	1.21	11.3	7.5	1.6
No. 14 畑土土壌	26.2	50.9	22.9	2.25	21.4	6.8	11.8
No. 20 畑土土壌	86.0	7.1	6.9	1.5	9.7	5.9	3.4

No. 6：植調研究所圃場水田土壌

No. 8：日植防高知試験農場水田土壌

No. 14：日植防牛久研究所畑土土壌

No. 20：日植防宮崎試験場内畑土土壌

試験方法：「OECD 試験指針 106 吸着/脱着」に準拠して実施した。

試験結果：スクリーニング試験は以下のように要約される。

土 壌	土壌吸着率 (%)	K_F^{ads} , 1/kg	$K_F^{ads}_{oc}$, 1/kg	平均物質収支 (%)
No. 6	9.6	0.534	20.6	102
No. 8	3.6	0.186	15.4	101
No. 14	8.8	0.498	22.1	96.5
No. 20	6.6	0.354	23.6	100

考 察：

- 4 土壌試験における の土壌吸着率を求めるために
スクリーニング試験では、土壌吸着率は 3.6~9.6%、吸着係数 K_F^{ads} は 0.186
~0.534 であり、 は低土壌吸着性化合物であった。
したがって、高次試験（平衡化試験及び吸着等温線試験）は実施しなかった。
- 各土壌の有機炭素吸着係数 $K_F^{ads}_{oc}$ は 15.4~23.6 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アグロ カネショウ株式会社にある。

3. 水相と固相の物質収支（回収率）は 96.5～102%であり、試験中におけるの器具等への吸着及び分解等は認められなかった。

結 論： は低土壌吸着性化合物と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

7. 代謝分解のまとめ

DBNの動物、植物及び土壌における代謝、分解、残留の要約は下記の通りであり、代謝経路及び結果の概要は76~79頁に示した。

動物に本剤（標識化合物）を投与した試験では、その放射能は速やかに排泄された。ウサギ及びラットとも、投与後24時間で投与量のほぼ80~95%が、また投与後96時間ではほぼ全量が排泄され、その主要な排泄ルートは尿であった。

排泄物中の主要代謝物としては、
及び
が確認されている。またラットの尿の加水分解物中には、このほか
、また微量の
及び
が検出されている。また未同定であるが芳香族酸エステルの
も確認されている。

植物の根から吸収された検体は葉面に至るが、インゲン幼苗を使用した試験では葉で検出された全放射能の13%が未変化の
で、抽出可能な抱合体も含めて主要な代謝物は、
、ついで
であった。また微量の
も確認されている。

イネ及びコムギの幼苗を使用した試験においても主要代謝物は、インゲン幼苗を使用した場合と同様であり、時間の経過に伴い代謝物は抽出不可能な植物体ポリマーとの抱合体に移行する。

ぶどうにおける代謝試験から、ぶどう果実部に移行した親化合物2,6-ジクロロベンズニトリル量及びその代謝物の総残留量は小さかった(0.286~0.392ppm)。ぶどう果実中に認められた主要代謝物は

りんごにおける代謝試験から、りんご果実部に移行した親化合物2,6-ジクロロベンズニトリル量及びその代謝物の総残留量は小さかった(0.042ppm)。りんご果実中に認められた主要代謝物は
であった。その他のマイナーな代謝物も確認されたが、0.01ppm未満であった。

土壌中における主要代謝物は、砂土、粘土、あるいは、壤土のいずれの土壌においても、
であった。

この代謝物の生成量と残存する未変化の親化合物2,6-ジクロロベンズニトリルの量の比は、土壌に処理した後の時間の経過とともに変化することも確認されている。親化合物2,6-ジクロロベンズニトリルは主として微生物により分解され
になるかあるいは揮発消失し、土壌中に長期間存在しないと予測される。

水/底質系における運命試験で、親化合物2,6-ジクロロベンズニトリルは水と底質層間で急速に分配されたが、両方の系において顕著な量が揮散によって失われた。また、水及び底質中において
及び

代謝物が確認された。完全な無機化及び結合残留の形成は、両方の系において主要な代謝経路ではなかった。

水中においては、ほとんど分解されず、非常に安定であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

光分解においては、日本の東京（北緯 35°C）の春の太陽光換算推定半減期は、pH5 ; 6.81 日、pH7 ; 5.39 日、pH9 ; 4.59 日および自然水 ; 2.19 日である。また、代謝物として
及び

であった。

土壌吸着試験では、親化合物 2,6-ジクロロベンゾニトリルの吸着は弱く、分解も認められ
なかった。また、
についても低土壌吸着性化合物と
判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

DBNの動植物等における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

代謝分解の概要

代謝分解物		A (親化合物)							
動物	ラット	尿(4日間)	N. D.						
		体内分布 (4日後)	糞	尿	呼気	消化管	皮膚・毛	カーカス	
			雄 16.8	73.9	N. D.	1.2	0.2	0.2	
	雌 15.6	77.6	N. D.	1.9	0.6	0.3			
	ウサギ	尿(3日間)	0.1						
		糞(2日間)	4.8						
植物	インゲン	葉(5日後)	13						
		根(5日後)	97						
	イネ	茎葉 (5日後)	72						
		根	23						
	コムギ	茎葉 (5日後)	19						
		根	6						
土壌	壤土	77							
	埴土	85							
	砂質壤土	79							
	壤土	24							
	埴土	20							
	砂質壤土	47							
	砂土	N. D.							

N. D. : 検出限界以下であった。 「-」: 検査しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

代謝分解物		A (親化合物)		
湛 水 土 壌	Goorven 水 100 日後	11.14		
	Goorven 底質 100 日後	38.56		
	Goorven 揮発性 100 日後	36.40		
	Engelse Dijk 水 100 日後	7.24		
	Engelse Dijk 水 100 日後	22.74		
	Engelse Dijk 揮発性 100 日後	25.87		
加 水 分 解	pH5	16 日	98.9	
		30 日	98.6	
		60 日	97.2	
		90 日	99.4	
		150 日	94.3	

N. D. : 検出限界以下であった。

「-」: 検査しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

代謝分解物		A (親化合物)		
加水分解	pH7	16日	96.1	
		30日	97.1	
		60日	96.3	
		90日	96.4	
		150日	92.6	
	pH9	16日	97.2	
		30日	96.8	
		60日	95.7	
		90日	92.9	
		150日	91.6	
光分解	pH5 168時間後	23.0		
	pH7 168時間後	10.9		
	pH9 168時間後	32.1		
	自然水 144時間後	1.2		

N. D. : 検出限界以下であった。

「-」: 検査しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。