

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

3) を用いたラットにおける糞尿及び胆汁中代謝物 (MS に因る代謝物の構造推定)
— 予備検討

(資料 No.代謝 1-3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物:

名称;

化学名;

構造式;

ロット番号;

放射化学的純度; %

比活性; 1.96 GBq/mmol (11.28 MBq/mgCi/mg)

標識位置の選定理由; 代謝分解経路の終末まで追跡できるように、DBN の基本骨格であるベンゼン環を標識位置とした。

非標識化合物:

名称; DBN (2,6-ジクロロベンゾニトリル)

化学名; 2,6-dichlorobenzonitrile

ロット番号;

純度; %

供試動物: Crj:CD(SD)BR 系ラット、8 週齢、1 群雌雄各 4 例、体重範囲; 雄 262~324 g、
雌 184~239 g

試験期間: 1998 年 10 月 15 日~2000 年 5 月 29 日

試験方法: ラットにおける吸収、分布及び排泄試験 (資料番号 代謝 1-1) において、投与量の
5%以上の排泄率で生成する代謝物の MASS スペクトル分析による構造推定を行った。

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

[対象試料]

群番号	試験項目	投与量 (mg/kg)	試料	性	採取時間 (hr)	排泄率 (%投与量)
9	胆汁及び尿、 糞中排泄率測定	10	胆汁	雄	0~48	82.6
10				雌		68.8
11			尿	雄		23.0
12				雌		30.0
13		100	胆汁	雄		30.4
14				雌		26.3
15			尿	雄		35.3
16				雌		32.5

HPLC 分析により 30 種類の代謝物ピークが検出され、そのうち、投与量の 5% を超えるものはピーク番号 3、4、7、8、13、14、18、20 及び 22 であった。また、ピーク番号 27 は酵素処理の結果、ピーク番号 22 の加水分解物であると考えられたのでこれらの代謝物について構造推定を行った。

[推定代謝物標品]

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

試験方法及び試験結果：

酵素処理；

代謝物の単離精製；

構造推定結果；

ピーク番号 3 及び 4；

ピーク番号 7；

ピーク番号 8；

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

ピーク番号 11 ;

ピーク番号 13 ;

ピーク番号 14 ;

ピーク番号 18 ;

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

ピーク番号 20 ;

ピーク番号 22 ;

ピーク番号 27 ;

MS 分析により以下の代謝物の存在が示唆された。

ピーク 番号	記号	代謝物	部位

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

4) を用いたラットにおける糞尿及び胆汁中代謝物 (予備検討)

(資料 No.代謝 1-4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物:

名称;

化学名;

構造式;

ロット番号;

放射化学的純度; %

比活性; 1.96 GBq/mmol (11.28 MBq/mgCi/mg)

標識位置の選定理由; 代謝分解経路の終末まで追跡できるように、DBN の基本骨格であるベンゼン環を標識位置とした。

非標識化合物:

名称; DBN (2,6-ジクロロベンゾニトリル)

化学名; 2,6-dichlorobenzonitrile

ロット番号;

純度; %

試験期間: 1999 年 9 月 3 日~2000 年 5 月 23 日

試験方法: ラットにおける吸収、分布及び排泄試験 (資料番号 代謝 1-1) において、得られた排泄物及び組織試料中の代謝物の分析を行った。分析に使用した試料を次表に示した。尿はエタノールを加えて 1 昼夜冷蔵庫中で静置後の上清をメタノールに溶解して抽出成分を回収して濃縮乾固し、少量のメタノールに再溶解した試料を使用した。糞はメタノール中で超音波処理した上清及び 50%メタノール抽出上清をメタノール抽出液として採取した。抽出残渣については水を加えて 100℃で 1 時間処理した水抽出物を採取しメタノール抽出物と合わせて濃縮乾固し、メタノールに再溶解後、分析用試料とした。胆汁は酸性化し、上清を採取し、凍結乾燥した残渣にメタノールを加えて超音波処理後、溶媒留去した。残渣に水を加えて再溶解し、上清を分析用試料とした。

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

血漿はメタノールを加えて、超音波処理し、上清を溶媒留去して、メタノールに再溶解後、分析用試料とした。

組織は水を加えてホモジナイズした後、アセトニトリルを加えて超音波処理し、上清を溶媒留去後、メタノールに再溶解し、分析用試料とした。

【対象試料】

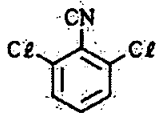
群番号	試験項目	用量 (mg/kg)	試料	性	採取時間 (hr)	排泄率 (%投与量)	
1	尿、糞、呼気中 排泄率測定	10	胆汁	雄	0~48	75.6	
2				雌		74.8	
3			尿	雄		17.2	
4				雌		16.6	
5		100	胆汁	雄		76.8	
6				雌		66.0	
7			尿	雄		15.4	
8				雌		20.7	
9	胆汁及び尿、糞中 排泄率測定	10	胆汁	雄	0~48	82.6	
10				雌		68.8	
11			尿	雄		23.0	
12				雌		30.0	
13		100	胆汁	雄		30.4	
14				雌		26.3	
15			尿	雄		35.3	
16				雌		32.5	
17	組織内濃度分布率 の測定	10	血漿	雄	1	29.2*	
18				雌		34.6	
19			肺	雄		22.3	
20				雌		26.8	
21			肝臓	雄		79.1	
22				雌		95.9	
23			腎臓	雄		139	
24				雌		128	
25		白色 脂肪	雄	247			
26			雌	372			
27		100	血漿	雄		4	116
28				雌			116
29			肺	雄			123
30				雌			121
31			肝臓	雄			376
32				雌			447
33	腎臓		雄	323			
34			雌	333			
35	白色 脂肪	雄	2540				
36		雌	2580				

* : μg equivalent of DBN/g or mL

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

代謝物は HPLC における保持時間を以下の推定代謝物標品の保持時間と比較して同定した。また、一部の代謝物についてはジアゾメタンによるメチル化処理後、GC/MS 分析を行って代謝物の同定を行った。

【推定代謝物標品】

ロット番号	化学名	構造式
	2,6-dichlorobenzonitrile (DBN)	

尿中代謝物の検討；

エタノール抽出画分を濃縮乾固し、少量のメタノールで再溶解した試料について HPLC による分析を行った。

糞中代謝物の検討；

前処理法検討 11 で得られたメタノール及びアセトニトリル抽出画分について HPLC

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

胆汁中代謝物の検討；

酵素処理；

尿及び胆汁試料は、酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5) を加えた後、 β -glucuronidase を加え、37°C で3時間培養後、アセトニトリルで放射能を抽出し、ACSII を加えて放射能回収率を測定した。また抽出物を濃縮し、メタノールに再溶解後、HPLC 分析に供した。

放射能回収率を下表に示した。

試料	群番号	放射能回収率 (%)			
		アセトニトリル抽出		エタノール抽出 (酵素処理なし)	
		抽出放射能	抽出残渣	抽出放射能	抽出残渣
尿	1	94.9	5.1	91.7	8.3
	2	96.7	3.3	95.3	4.7
胆汁	5	58.6	41.4	56.7	43.3
	6	45.7	54.3	44.7	55.3

尿試料では酵素処理後、アセトニトリルによりほぼ 95% の放射能を回収することができたが、胆汁試料では回収率が 60% 未満であり、アセトニトリルに回収されない極性の高い代謝物の存在が示唆された。

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

糞、尿及び胆汁に以下の代謝物の存在が確認された。

ピーク番号	記号	代謝物	部位

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

2. 植物代謝試験

(資料 No.代謝 2)

食品の用に供される農作物以外の農作物に使用される場合に該当するため試験省略。

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

3. 土壌中動態試験

1) DBN の好氣的湛水土壌中動態試験

(資料 No.代謝 3)

水田において使用されないため試験省略。

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

2) DBNの好氣的土壤中動態試験

(資料 No.代謝 4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物:

化学名;

化学構造;

比放射能; 1.95 GBq/mmoL (11.3 MBq/mguCi/mg)

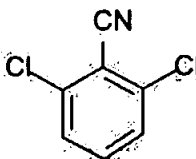
放射化学的純度; 以上 (HPLC 法)

標識位置選定理由; 本化合物の DBN の基本骨格であるベンゼン環に放射能を標識した。

非標識化合物: DBN

化学名; 2,6-ジクロロベンゾニトリル

化学構造;



純度; %

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

供試土壌：日本植物調節剤研究協会牛久園場の土壌を使用した。土壌特性は以下の通り。土壌は2mmの篩を通して使用した。

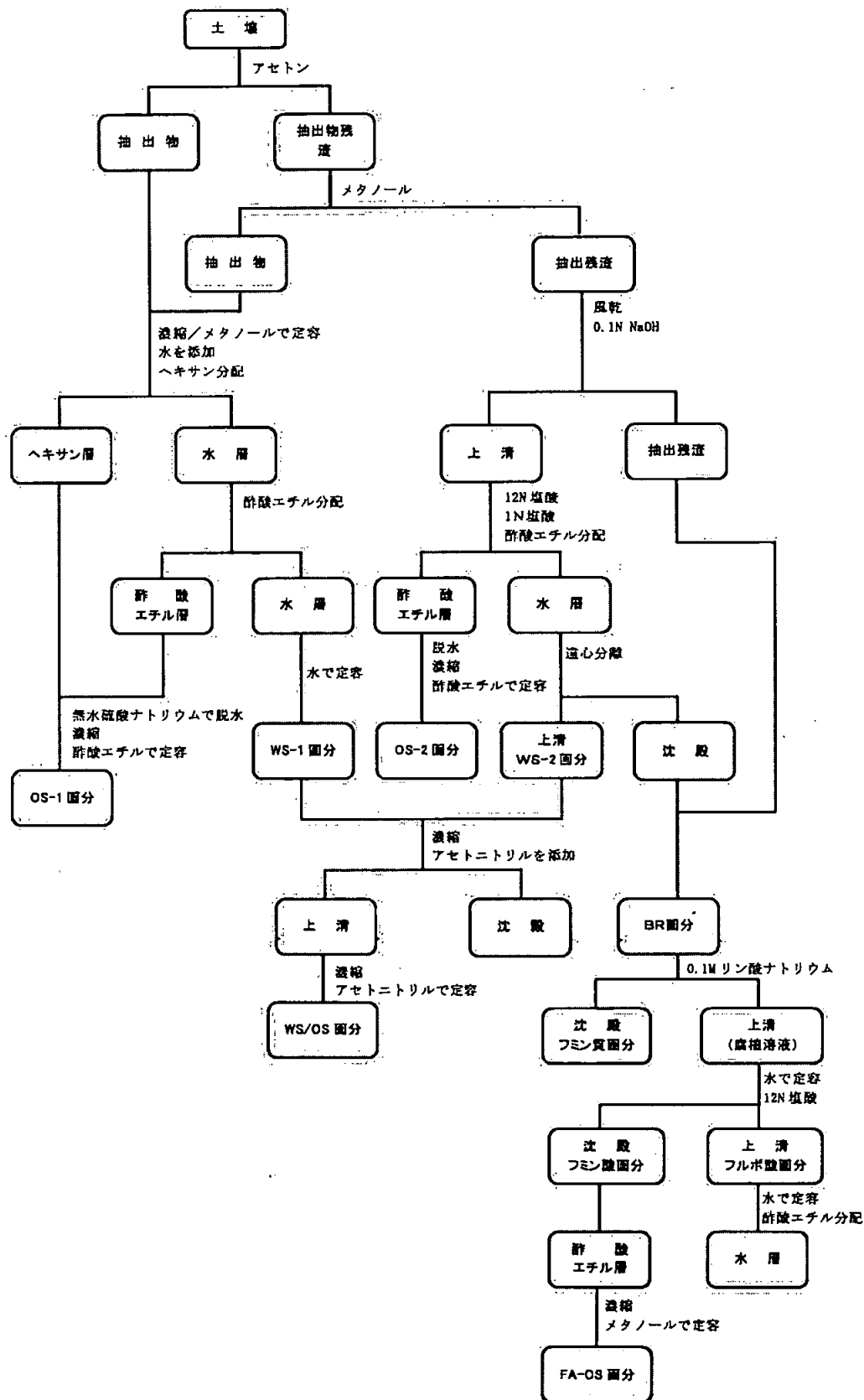
土性	軽埴土
砂含量	31.4%
シルト含量	35.5%
粘土含量	33.1%
pH (H ₂ O)	7.2
pH (KCl)	5.9
有機炭素量	5.4%
陽イオン交換容量	43.2 meq/100g
最大保水容量	78.3%
水分	31.4%

試験期間：1999年8月3日～2000年5月22日

試験方法：乾燥重量で30gの土壌を200mLの三角フラスコに取り、水分含量を最大容水量の60%に調製した後、25℃の恒温槽内暗所で7日間ブレインキュベーションを行った。DBN実用処理量である600g a.i./10aが深さ10cmの土壌に均一に混合された場合の土壌中理論濃度は6µg/gに相当する。をアセトンに溶解して約200µg/mL溶液を調製し、として540µg相当の溶液に非標識DBN 4.87gを加えて溶解した。この処理溶液(1800.2µg/mL)の100µL(180.0µg)をブレインキュベーション後の土壌に均一に混合した。この土壌を25℃の土壌分解装置内暗所で6ヵ月間培養した。培養期間中は発生する及び揮発性有機物放射能を捕集するためのNaOH吸収管及びウレタンフォーム吸収管を培養容器に装着した。吸収管は土壌試料採取時及び2週間ごとに交換して採取した。土壌試料は処理直後、14、30、62、92、121、153及び180日に採取した。各時点とも2連で実施した。土壌水分は2週間間隔で60%を維持するように調整した。なお、抽出残渣の化学的特徴の分析は、14、92及び180日の試料で行った。

土壌からの放射能抽出工程を次に示す。

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



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

OS 画分、WS 画分、腐植溶液、フルボ酸画分及び FA-OS 画分について、LSC による放射能測定を行った。

BR 画分については結晶セルロースを加えて混合し、オキシダイザーで燃焼処理後 LSC で放射能測定を行った。

CO₂ トラップは、NaOH 吸収管に捕集された放射能について LSC による分析を行った後、塩化バリウムを加えて を生成させ、上清中放射能を測定して、放射能が に由来していることを確認した。

揮発性有機酸トラップのウレタンフォームについてはメタノールで放射能を抽出し、LSC で測定した。

OS 画分及び WS/OS 画分について、HPLC 法及び TLC 法による代謝物の検討を行った。

検出された は HPLC クロマトグラムから面積百分率法で割合を求め、処理放射能に対する割合 (%) と土壤中濃度 (µg/g) を算出した。また、DBN の定量結果から半減期 (DT₅₀) 及び 90% 減衰期 (DT₉₀) を推定した。

試験結果：各画分中放射能の処理量に対する比率 (%) の推移を下表に示した。

—：分析未実施

BR 画分中放射能分布を下表に示した。(処理放射能に対する%)

画分	培養期間(日)		
	14	92	180
BR	13.0	16.1	18.1
フルボ酸	0.5 (3.8)	1.1 (6.8)	1.6 (8.8)
FA-OS	0.4	1.0	1.5
フミン酸	0.4 (3.1)	0.7 (4.3)	0.7 (3.9)
フミン質	12.1 (93.1)	14.3 (14.3)	15.8 (87.3)

() :BR 画分中分布率 (%)

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

OS 画分、WS/OS 画分、FA-OS 画分について HPLC による分析を行ったところ、

各画分中

画 分	代 謝 物	培養期間(日)							
		0	14	30	62	92	121	153	180

ND : 未検出、- : 分析未実施

以上の結果から、DBN の好気性条件での土壌中半減期 (DT₅₀) は実測値から約 38 日、90% 減衰期 (DT₉₀) はシミュレーションの結果から約 290 日と推定された。土壌中から検出された代謝物は

以上の結果から

これらは植物体中に再吸収される可能性は低く、また地下水等の環境汚染の可能性は少ないと考えられた。

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

図 DBNの好氣的土壤中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保土谷化学工業株式会社にある。

3) の嫌氣的条件下における土壤中動態試験

(資料 No.代謝 5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

供試標識化合物:

化学名:

構造式:

比放射能: 59.7 mCi/mmole

放射化学的純度:

標識位置設定理由: 本化合物の基本骨格であるベンゼン環に放射能を標識した。

非標識 DCBN の純度:

供試土壌: 以下の日本から提供された土壌を試験に使用した。土壌特性は以下の通り。土壌は 2mm の篩を通して使用した。

土 性	砂壤土	栄 養 素	カルシウム	1900 ppm
砂	57%		マグネシウム	410 ppm
シルト	24%		ナトリウム	49 ppm
粘 土	19%		カリウム	430 ppm
比 重	0.78		水素	66 ppm
総窒素	0.347%		オルセンリン	100 ppm
可溶化塩類	0.48 mhos/cm		有機物含有量	12.3%
pH	6.9	陽イオン交換能	20.8meq/100 g	
水 分	1/3 気圧			
	15 気圧			

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

方法：嫌氣的条件下で保存した土壌（30 g、乾燥重量）を試験容器に採取し、精製水を土壌表面から 2 cm の深さになるように加えた（約 65 mL）。この試験容器を 2 週間 25℃ 暗所で嫌氣的に予備培養した。

酸化還元試験紙で嫌氣的条件を確認した後、試験容器の水層中に放射能標識被験物質を 6.56 mg/kg の割合で処理し、窒素ガスを注入した後、試験容器に、揮発性放射能を捕集するための KOH 捕集管及びエチレングリコール捕集管を連結、滅菌フィルターを通した窒素ガスを試験容器内に定期的に流し、還元条件を維持するとともに、揮発性放射能を回収した。試験容器は $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、暗所で培養し、試験 7 日には放射能の分布を均一にするために試験容器内容物の攪拌を行った。

試験容器各 2 個を試験開始時及びその後毎月 1 回採取し、水中及び土壌中放射能化合物をアセトンで抽出、LSC による放射能量の分析並びに HPLC 及び TLC による親化合物及び分解物の分析を行った。

また、同条件で非標識化合物を処理した土壌を培養し、土壌中微生物量の測定を行った。

結果：

試験期間中の土壌の酸化還元電位及び溶存酸素濃度を下表に示す。

		pH	酸化還元電位 (mV)	溶存酸素濃度 (mg/L)
培養期間 (日)	0	7.21	+ 174	1.75
	30	7.86	- 218	0.40
	31	NA	- 213	NA
	56	8.11	- 240	0.40
	90	7.88	- 249	0.50
	118	7.49	- 212	0.50
	146	7.20	- 192	0.40
	180	7.58	- 201	0.30

NA：測定未実施

試験期間中、試験土壌が非常に高い水準で嫌氣的状態であったことが示唆された。

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

試験期間中の土壌中微生物量を下表に示す。

		細菌数 (cfu/g)		燻蒸抽出法	
		栄養寒天培地	AC 寒天培地	mg C/100 g 土壌	微生物量 (%)
培養期間 (日)	-2	7.7×10^7	8.9×10^6	27.3	0.4
	90	NA	NA	16.4	0.2
	110	4.2×10^7	2.8×10^7	NA	NA
	180	1.3×10^8	1.6×10^7	16.3	0.2

NA : 測定未実施

試験期間中、土壌中に嫌気性菌量が十分保持されていたと考えられる。

試験期間中の水層及び土壌中放射エネルギーの推移、揮発性放射エネルギー、親化合物量等を下表に示す。

(〔申請者註〕 本表は、報告書(資料 No.代謝 5)の Table4 記載の結果を、処理放射エネルギーに対する、各面分に分布する放射エネルギーの割合として計算し、表記したものである。)

培養期間 (日)									
0									
28									
56									
90									
118									
146									
180									

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

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

4. 水中動態試験

1) DBN の加水分解性試験

(資料 No.代謝 6)

試験機関

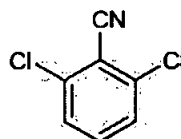
[GLP 対応]

報告書作成年 2000 年

供試化合物 : DBN

化学名 ; 2,6-ジクロロベンゾニトリル

化学構造 ;



純度 ; %

供試水溶液 : pH 4、7、9 の緩衝液を以下の方法で調製した。

pH 4 ; 0.1 M-フタル酸水素カリウム 250 mL に 0.1 M-水酸化ナトリウム 2 mL を加え、精製水で 500 mL に定容し、調製した。

pH 7 ; 0.1 M-リン酸二水素カリウム 250 mL に 0.1 M-水酸化ナトリウム 148 mL を加え、精製水で 500 mL に定容し、調製した。

pH 9 ; 0.1 M-塩化カリウム含有の 0.1 M-酢酸 250 mL に 0.1 M-水酸化ナトリウム 106 mL を加え、精製水で 500 mL に定容し、調製した。

試験方法 : 被検物質をメタノールに溶解させて調製した試験原液 (1000 mg/L) 1.00 mL を各 pH 緩衝液で希釈して試験液各 200 mL を調製した。この試験液 90 mL を 100 mL 容共栓付き三角フラスコに採取し、 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ に設定した恒温器に入れ、直後及び 5 日後に試験液中の検体濃度を HPLC で測定し、以下の式に基づき残留率 (%) を算出した。

$$\text{残留率 (\%)} = \frac{\text{5 日後の被検物質濃度 (mg/L)}}{\text{調製直後の被検物質濃度 (mg/L)}} \times 100$$

結果 : 各 pH の試験直後、5 日目の被検物質濃度及び残留率は下表の通りであった。

pH	直後(mg/L)	5 日目(mg/L)	残留率(%)
4	5.025	4.915	97.8
7	5.055	4.925	97.4
9	5.145	4.755	92.4

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

数値は2反復の平均

DBN は本試験条件 (50℃、5 日間) 遮光下において、各 pH における平均残留率が 90%以上であり、加水分解的には安定 ($T_{1/2}(25^\circ\text{C}) > 1$ 年) であると判断された。

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

2) DBN の水中光分解動態試験

(資料 No.代謝 7)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

供試標識化合物:

化学名;

化学構造;

比放射能; 53 mCi/mmole

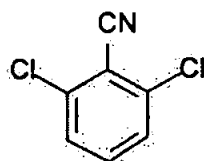
放射化学的純度;

標識位置設定理由; 本化合物の基本骨格であるベンゼン環に放射能を標識した。

供試非標識化合物: DBN

化学名; 2,6-ジクロロベンゾニトリル

化学構造;



純度; %

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

供試水溶液：pH 5、7、9の緩衝液を以下の方法で調製した。

酢酸緩衝液 (pH 5) ; 0.1M・氷酢酸 51.0mLに 0.01 M・酢酸ナトリウム 1000 mLを加え、
0.1N水酸化ナトリウム 0.4mLでpH4.93に調製した。

リン酸緩衝液 (pH 7) ; 0.067M・リン酸ナトリウム 30.0mLに 0.067M・リン酸二水素カリウム
61.0 mLを加え、精製水で 910 mLに定容した後、塩酸でpH6.98に
調製した。

ホウ酸緩衝液 (pH 9) ; 0.025 M・ホウ酸ナトリウム 1000 mLに 0.1 M・酢酸 20.0 mLを加え、
塩酸でpH9.00に調整した。

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
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

光源：キセノンランプ (1500B型)

290 nm以下の紫外線を除く光学フィルターを設置した。

光強度：17.8W/m² (測定波長範囲 300~400 nm)

試験方法：

試験濃度；1.04 mg/Lに設定した。水溶解度が 18 mg/L以上あることが分かっていたので、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 (pH 5、9)
2002年6月18日~25日 (pH 7、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 7 mL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 12 mL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 による放射能量の測定、HPLC/RAM、HPLC/UV 及び TLC で親化合物、分解物を分析した。

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。

pH 5 及び pH 9 は 6、24、48、72、96 及び 168 時間の光照射を行った。

pH 7 及び自然水は 24、48、72、96、144 及び 168 時間の光照射を行った。

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

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°)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 $IL-H$ (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。

$$I_s = I_0 \times (\text{L-H nm の放射照度}) / (\text{全波長の照射照度})$$

光強度 $IL-H$ における半減期を IDT_{50lab} (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。

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

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

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

DBN の減衰状況 ;

回収%に対する割合

経過時間	pH 5	pH 7	pH 9	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

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

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。

pH 5 ; 71.4 時間 (2.98 日)

pH 7 ; 56.7 時間 (2.36 日)

pH 9 ; 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°）の春の太陽光換算では推定半減期（光強度：17.8W/m²、波長範囲 300~400 nm で算出）は以下の通りであった。

pH 5 ; 6.81 日

pH 7 ; 5.39 日

pH 9 ; 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保土谷化学工業株式会社にある。

各試験液における物質収支 (LSC 測定) ;

経過時間	pH 5		pH 7		pH 9		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 ;

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

pH 5 の分解様式

経過時間										
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0										
6										
24										
48										
72										
96										
168										

* ; 物質収支濃度との計算値

pH 7 の分解様式

経過時間								
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0								
24								
48								
72								
96								
144								
168								

* ; 物質収支濃度との計算値

pH 9 の分解様式

経過時間						
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0						
6						
24						
48						
72						
96						
168						

* ; 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保土谷化学工業株式会社にある。

pH 9 の分解様式

経過時間						
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0						
6						
24						
48						
72						
96						
168						

* ; 物質収支濃度との計算値

自然水の分解様式

経過時間						
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0						
24						
48						
72						
96						
144						

* ; 物質収支濃度との計算値

自然水の分解様式

経過時間								
	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%	濃度*	回収%
0								
24								
48								
72								
96								
144								

* ; 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保土谷化学工業株式会社にある。

図 DBN の推定水中光分解経路

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

3) の加水分解性試験

(資料 No.代謝 9)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 2001 年

供試化合物:

化学名;

化学構造;

純度; %

供試水溶液: pH 4、7、9 の緩衝液を以下の方法で調製した。

pH 4; 0.05 M-クエン酸 250 mL に 0.05 M-水酸化ナトリウムを加え、精製水で 500 mL に定容し、調製した。

pH 7; 0.1 M-リン酸二水素カリウム 250 mL に 0.1 M-水酸化ナトリウム 148 mL を加え、精製水で 500 mL に定容し、調製した。

pH 9; 0.1 M-塩化カリウム含有の 0.1 M-ホウ酸 250 mL に 0.1 M-水酸化ナトリウム 106 mL を加え、精製水で 500 mL に定容し、調製した。

試験方法: 被検物質をアセトニトリルに溶解させて調製した試験原液 (1000 mg/L) 1.00 mL を各 pH 緩衝液で希釈して試験液各 200 mL を調製した。この試験液約 100 mL を 100 mL 容共栓付き三角フラスコに採取し、 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ に設定した恒温器に入れ、直後及び 5 日後に試験液中の検体濃度を HPLC で測定し、以下の式に基づき残留率 (%) を算出した。

$$\text{残留率 (\%)} = \frac{\text{5 日後の被検物質濃度 (mg/L)}}{\text{調製直後の被検物質濃度 (mg/L)}} \times 100$$

結果: 各 pH の試験直後、5 日目の被検物質濃度及び残留率は下表の通りであった。

pH	直後(mg/L)	5 日目(mg/L)	残留率(%)
4			
7			
9			

数値は 2 反復の平均

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

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

4) の水中光分解性試験

(資料 No.代謝 10)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 2001 年

供試化合物:

化学名;

化学構造;

純度; %

供試水溶液: 蒸留水をろ過滅菌処理した。

光源: キセノンランプ

290 nm 以下の紫外線を除く光学フィルターを設置した。

光強度: 400 W/m² (波長範囲 300-800 nm)

試験方法: 被検物質をアセトニトリルに溶解させて調製した試験原液 (1000 mg/L) 1.00 mL を滅菌蒸留水で希釈して試験液 200 mL を調製した。この試験液約 50 mL を試験容器に採取 (pH 8.05) し、25 ± 1°C に設定した光分解装置 (サンテスト XLS+) に入れ、直後、7、14、21 及び 30 日後に試験液中の検体濃度を HPLC で測定し、以下の式に基づき残留率 (%) を算出した。

$$\text{残留率 (\%)} = \frac{\text{t 日後の被検物質濃度 (mg/L)}}{\text{調製直後の被検物質濃度 (mg/L)}} \times 100$$

また、コントロールとして、試験容器をアルミホイルで包んだものについても同様の操作を行った。

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

結 果

測定時点	光照射区		暗対照区	
	被験物質 濃度 (mg/L)	残留率(%)	被験物質 濃度 (mg/L)	残留率(%)
直後				
7日後				
14日後				
21日後				
30日後				

… : N.A.

数値は2反復の平均

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

5. 土壌吸着性試験

1) DBN の土壌吸着性試験

(資料 No. 代謝 8)

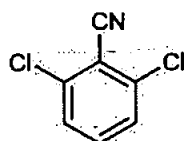
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試化合物: DBN

化学名: 2,6-ジクロロベンズニトリル



純度: %

供試土壌:

土 壤 No.	I	II	III	IV	
採 取 場 所	宇都宮大学 農学部	日本植物防疫 協会牛久 研究所	農林水産省 農業研究セン 谷和原	保土谷化学 工業(株) 下妻圃場	
土 壤 群 名	畑地土壌	畑地土壌	畑地土壌	畑地土壌	
土 性					
粘土 (%)	29.3	28.1	24.9	22.4	
有機炭素含有率(%)	8.25	5.10	3.73	0.62	
pH	H ₂ O	6.0	7.2	6.1	5.7
	KCL	5.3	6.3	5.4	4.3
陽イオン交換容量 (cmol(+)/kg)	41.9	40.4	25.8	1.6	
水分含有率(%)	32.5	23.6	3.92	15.8	

試験方法:

供試土壌の調製方法: 試験に使用する土壌を 2 mm 以下にふるい分けし、ガラスシャーレ上で 100℃で 12 時間乾燥させ、その後デシケーター内で 1 時間放冷させて、乾燥重量を測定、並びに水分含有率を算出した。

試験溶液の調製: DBN を 0.01 M 塩化カルシウム溶液に溶解し、5.00 mg/L に希釈した。

吸着平衡時間の測定: 乾土重量としてそれぞれ 25.0 g を試験容器に採取し、試験溶液 125 g を加えた後、25 ± 1℃で 2、4、6 時間振とうし、遠心分離、分析を行った。各経過時間における水相濃度変化率を次式から求め、この変化率が全ての土壌で 10% 以下となった経過時間を吸着平衡時間とし、その結果振とう時間を 6 時間に決定した。

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

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

本試験： 乾燥重量として約 6 g の土壌をそれぞれ試験容器に移し、4 濃度 (5, 1, 0.2, 0.04 mg/L) の試験物質溶液 30ml を各々 2 本ずつ、土壌ブランクとして 0.01 M 塩化カルシウム水溶液 30ml を 1 本に加えた。これを 4 種の土壌について行った。コントロールとして土壌を入れない試験容器に各濃度の試験物質溶液 30ml を 2 本ずつ入れた。これらを 25 ± 1℃ で 6 時間振とう、遠心分離、分析を行った。

物質収支：本試験において 1 mg/L 溶液の分析を行った後の固相にアセトニトリル 20 mL を加え 15 分間振とうした。遠心分離後上澄みをフラスコに移した。残渣について同じ抽出操作を計 3 回行った。得られた上澄みを合わせて 100 mL に定容し、50.0 μl に精製・濃縮後に HPLC で定量した。

結 果：

吸着試験結果；

土壌 No.	採取場所	$K_{F^{ads}}^{1)}$	oc% ²⁾	$K_{F^{ads}oc}^{3)}$	物質収支
I	宇都宮	18.6	8.25	225	98.4%
II	牛久	17.8	5.1	349	96.6%
III	谷和原	12.3	3.73	330	104%
IV	下妻	2.65	0.62	427	101%

1) Freundlich の吸着等温式による定数項と相関関係

2) 土壌中の有機炭素含有率

3) K 値を各土壌の oc で割り求めた有機炭素吸着係数

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

2) 土壌吸着性試験

(資料 No.代謝 11)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 2001年

供試化合物：

化学名；

化学構造；

純度； %

供試土壌：

試験方法：

供試土壌の調製方法：試験に使用する土壌を 2 mm 以下にふるい分けし、ガラスシャーレ上で約 105℃で 12 時間乾燥させ、その後デシケーター内で 1 時間放冷させて、乾燥重量を測定、並びに水分含有率を算出した。

試験溶液の調製： を 0.01 M 塩化カルシウム溶液に溶解し、1.00 mg/L に希釈した。

吸着平衡時間の測定：乾土重量としてそれぞれ 5.0 g を試験容器に採取し、試験溶液を加えた後、25±1℃で 24 及び 48 時間振とうし、遠心分離、HPLC による分析を行った。測定の結果、いずれの土壌も吸着平衡時間は 48 時間と算出された。

本試験：乾燥重量として 5.0 g の土壌をそれぞれ試験容器に移し、5 濃度 (1.00, 5.00, 10.0, 20.0, 50.0 mg/L) の試験物質溶液 5 ml を各々 2 本ずつ、土壌ブランクとして

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

0.01 M 塩化カルシウム水溶液 5 ml を 2 本に加えた。これを 4 種の土壌について行った。コントロールとして土壌を入れない試験容器に 10.0 mg/L の試験物質溶液 5 ml を 2 本ずつ入れた。これらを $25 \pm 1^\circ\text{C}$ で 48 時間（吸着平衡時間）振とう、遠心分離、分析を行った。なお、全ての土壌において、ブランク値が検出されなかったため、ブランク試験による補正は行わなかった。

物質収支：本試験において 10.0 mg/L 溶液の分析を行った後の固相にアセトニトリル 20 mL を加え 15 分間振とうした。遠心分離後上澄みをフラスコに移した。残渣について同じ抽出操作を計 2 回行った。得られた上澄みを合わせて 50.0 mL に定容し、100 μl 採取後、HPLC で定量した。

結 果：

吸着試験結果：

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

代謝分解のまとめ

DBNの哺乳動物、土壌、水中における代謝分解の要約は下記の通りであり、代謝経路を図1に、結果の概要を表1に示す。

動物代謝

- ・10mg/kg 経口投与後の血漿中濃度は0.5～0.75時間で最高に達し、その後24時間までは雌雄とも5～5.7時間の半減期で速やかに減衰した。また、100 mg/kg 経口投与では1～2時間以降8時間まで高濃度が維持され、その後4.2～9.4時間の半減期で減衰した。
- ・投与した放射能量の74～80%が尿中に排泄され、15.8～22.2%が糞中に排泄された。呼吸中への排泄は認められなかった。投与量の90%が48時間以内に排泄された。
- ・胆管結紮ラットでは吸収された放射能の大部分は胆汁中に排泄され、消化管吸収率は低用量群で90%以上、高用量群で約75%であった。
- ・経口投与後、脂肪、肝臓、腎臓における放射能濃度の急速な増加が認められ、これらの臓器への移行性が示唆されたが、組織中放射能濃度は速やかに減衰し、168時間では肝臓及び腎臓に極めて少量の放射能が認められるものの、大部分の組織中放射能濃度は検出限界以下となり、残留性は認められなかった。
- ・MS等を用いた代謝物の構造推定検討から、各試料から以下の主要代謝物が検出された。

試料	主要代謝物

土壌中動態

1) 好氣的土壌中動態

- ・好気性土壌におけるDBNの半減期は約38日、90%減衰期は約290日と推定された。
- ・代謝物としては が検出された。
- ・揮発性物質としては、未変化体の他に少量の炭酸ガスが認められた。
- ・抽出残渣中放射能はフミン質及びフミン酸画分に多く分布しており、植物体中に再吸収される可能性は低いと考えられる。

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

2) 嫌氣的土壤中動態

水中動態

1) 加水分解性

pH 4、7、9 に調整した緩衝液を用いて実施した試験の結果、DBN は 50℃、5 日間の条件下において、各 pH における平均残留率が 90% 以上であり、加水分解的には安定 ($T_{1/2}$ (25℃) > 1 年) であると判断された。

2) 水中光分解動態

pH 5、7、9 に調整した緩衝液及び自然水中の DBN の水中光分解性を調べた。

試験は設定濃度 1.04 mg/L、試験温度 25±2℃、人工光源にキセノンランプを用い、光強度 17.8 W/m²、(波長範囲 300 ~400 nm) で 7 日間行った。

DBN の推定半減期は、下表の通り 2~6 日であった。

試験溶媒	推定半減期 (日) ^{a)}
pH = 5.0	6.81
pH = 7.0	5.39
pH = 9.0	4.59
自然水	2.19

a) 日本の東京 (北緯 35°) の春の太陽光換算

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。

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。

代謝物として、

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

4E-77

図 DBNの動物、土壌および水中における推定代謝分解経路図

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

数値は処理量に対する割合 (%)

代謝分解物																								
動物 (ラット)	10 mg/kg	尿	0~48 時間後	雄																				
			雌																					
		糞	0~48 時間後	雄																				
			雌																					
		血液	1時間後	雄																				
			雌																					
		肺	1時間後	雄																				
			雌																					
	肝臓	1時間後	雄																					
		雌																						
	腎臓	1時間後	雄																					
		雌																						
	脂肪	1時間後	雄																					
		雌																						
100 mg/kg	尿	0~48 時間後	雄																					
		雌																						
	糞	0~48 時間後	雄																					
		雌																						
	血液	4時間後	雄																					
		雌																						
	肺	4時間後	雄																					
		雌																						
肝臓	4時間後	雄																						
	雌																							
腎臓	4時間後	雄																						
	雌																							
脂肪	4時間後	雄																						
	雌																							

—: 分析せず、N.D.: 検出せず

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

数値は処理量に対する割合 (%)

代謝分解物																					
動物 (胆管挿管ラット)	10 mg/kg	胆汁	0~48 時間後	雄																	
				雌																	
		尿	0~48 時間後	雄																	
			雌																		
100 mg/kg	胆汁	0~48 時間後	雄																		
			雌																		
	尿	0~48 時間後	雄																		
			雌																		
土壌	6 mg/kg	好氣的土壌	0日目																		
			62日後																		
			180日後																		
	6.56 mg/kg	嫌氣的土壌	180日後																		
加水分解	pH 4.0	5日後																			
	pH 7.0	5日後																			
	pH 9.0	5日後																			

—: 分析せず、N.D.: 検出せず

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

数値は処理量に対する割合 (%)

代謝分解物									
水中光分解	pH 5	0 日目							
		48 日後							
		168 日後							
	pH 7	0 日目							
		48 日後							
		168 日後							
	pH 9	0 日目							
		48 日後							
		168 日後							
	自然水	0 日目							
		48 日後							
		144 日後							

4E-80

— : 分析せず、N.D. : 検出せず

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

〔附〕 DBNの開発年表

