

2. 植物体内運命に関する試験

(1) ぶどうにおける代謝試験

(資料 No.M-03)

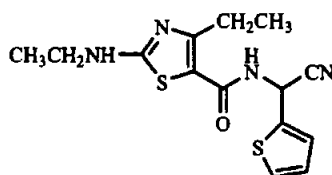
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2003 年

[GLP 対応]

供試標識化合物：

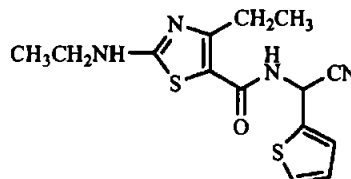
構造式：



* : ^{14}C 放射能標識位置

チアゾール環 ^{14}C 標識エタボキサム

(以下、[Tz- ^{14}C] 標識エタボキサム)



* : ^{14}C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン- ^{14}C 標識エタボキサム

(以下、[Tp- ^{14}C] 標識エタボキサム)

化学名；(RS)-N-(α -シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ^{14}C] 標識エタボキサム	[Tp- ^{14}C] 標識エタボキサム
-------	---------------------------------	---------------------------------

供試植物：ぶどう (品種：Thompson Seedless 種)

栽培条件および栽培管理；ぶどう園内に、プラスチックで完全に覆いをした散布ブースを被験物質処理のために設けた。栽培環境は自然環境とした。土壌は壤質砂土(クレイ 6%、シルト 20%、砂 74%、有機物 0.8%および pH 6.7)であった。ぶどうには定期的に散水し、植物が健全に生育するように必要に応じて適切な殺菌剤、殺虫剤および肥料を処理した。なお、水とぶどうの接触を避けるため、灌水は畝間に行った。

方法：

試験液の調製；供試標識化合物を 12.5%水和剤に調製し、これを所定濃度に希釈し、試験液とした。

処理方法；散布器を用いて、試験液を設定処理量 250 g ai/ha (慣行圃場施用量)の量で、散布ブース内のぶどう植物体全体に散布した。また、試験液が直接曝露しないよう保護したぶどうにも散布処理し、果実への被験物質の移行性を調べた。散布は 5 回 (収穫前 46、38、30、22 および 14 日) 行った。

採取時期：収穫前46、14、9および4日、収穫当日に試料を採取した。

薬剤処理と試料採取の関係を以下の表に示す。

	収穫前日数	薬剤処理	試料採取
第1回処理後	(収穫前46日)	○	○
第2回処理後		○	×
第3回処理後		○	×
第4回処理後		○	×
第5回処理後	(収穫前14日)	○	○
中間時期(5日)*	(収穫前9日)	×	○
中間時期(10日)*	(収穫前4日)	×	○
収穫時(14日)*		×	○

○：薬剤処理および試料採取実施 ×：薬剤処理および試料採取実施せず
*：最終処理からの日数

採取部位および個数：各試料採取時期に各処理区から無作為に1作物を選抜し、ぶどう果実(1-2房)および葉(5-10枚)を採取した。同様に移行性検討試料としてポリエチレンフィルムにより散布による暴露保護した果実試料を収穫時に採取した。

分析方法：分析法のスキームを図1-2に示す。

1) 葉部試料の総放射性残留量の測定および残留物の特徴付け

総放射性残留量の測定：均一化した試料を酢酸エチルで1回磨砕混合抽出した。抽出液の放射能を液体シンチレーションカウンター(LSC)で、抽出残渣の一部は燃焼処理後LSCで測定した。また他の一部残渣はアセトンで抽出後に遠心分離し、上澄液をアセトンで2回およびアセトン：水(1:1, v/v)で2回抽出した。プールしたこの抽出液(E1-E5)の放射能はLSCで、また残渣は燃焼処理後LSCで測定した。さらにアセトン：水(1:2, v/v, 2回)抽出後、水(2回)で抽出した。このプール抽出液(E6-E9)をLSCで、また残渣は燃焼処理後LSCで測定した。残渣中の放射能が0.05 ppm以上の場合には、セルラーゼ酵素処理後メタノール抽出し、プール抽出液(E10-12)の放射能をLSCで測定した。残渣は0.1 M HCl(1回)、0.1 M NaOH(1回)で処理し、プール抽出液(E13-14)の放射能をLSCで、また残渣は燃焼処理後LSCで測定した。収穫時の試料は均一化の前に酢酸エチルで洗浄し、洗浄液の放射能をLSCで測定した。

葉部試料の残留物の特徴づけ：図1-2に示す(E1-E5)、(E6-E9)、(E10-12)、(E13)および(E14)の各抽出液をHPLC/TLCで分析した。収穫時の試料は均一化の前に酢酸エチルで洗浄し、洗浄液をHPLC/TLCで分析した。

2) 果実試料の総放射性残留量の測定および残留物の特徴付け

総放射性残留量の測定：試料を均一化後、酢酸エチルで2回磨砕混合し抽出した。遠心分離後、有機相、残渣および水相をLSCで、残渣は燃焼処理後LSCで測定した。以降は葉部と同様に処理し、残渣中の放射能が0.05 ppm以上の場合には、アミログルコシダーゼおよびペクチナーゼ処理後メタノール抽出し、抽出液(E10-12)をLSCで、

残渣は0.1 M HCl (1回)、0.1 M NaOH (1回) で処理し、抽出液 (E10-12) を LSC で測定した。

残渣中の放射能が 0.05ppm 以上の場合には、2 M NaOH で1時間還流し、その後中和し、抽出液 (E14) を LSC で、残渣は燃焼処理後 LSC で測定した。収穫時の試料は均一化の前に酢酸エチルで洗浄し、洗浄液を LSC で測定した。

果実試料の残留物の特徴づけ：図 1-2 に示す (E1-E5)、(E6-E9)、(E10-12)、(E13) および (E14) の各抽出液を HPLC/TLC で分析した。収穫時の試料は均一化の前に酢酸エチルで洗浄し、洗浄液を HPLC/TLC で分析した。

果実試料の糖部分構造の確認：水溶性成分の極性画分を HPLC で分取後濃縮し、アセトニトリル/水に溶解させ、無水酢酸：ピリジン溶液 (1:1, v/v) を加えて、攪拌後、室温で約 18 時間反応させ、アセチル化した。反応液を TLC で展開後、*o*-アミノフェノールのエタノール-50%リン酸溶液に溶解し、画分をスポットした薄層板に噴霧し、80℃、1時間オートクレーブ後、スポットの発色を確認した。

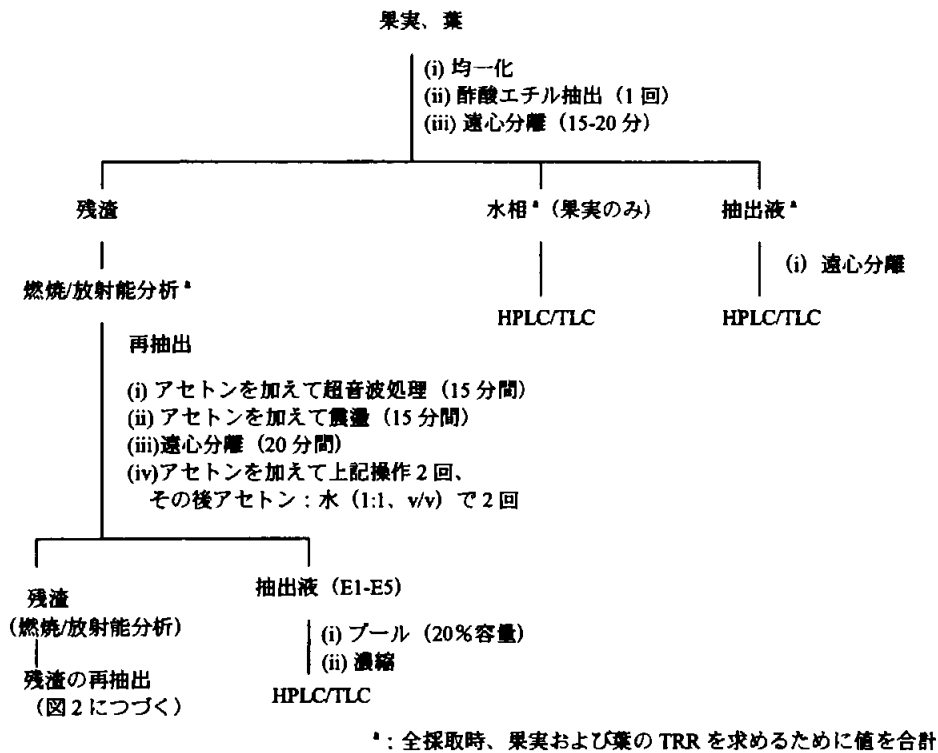
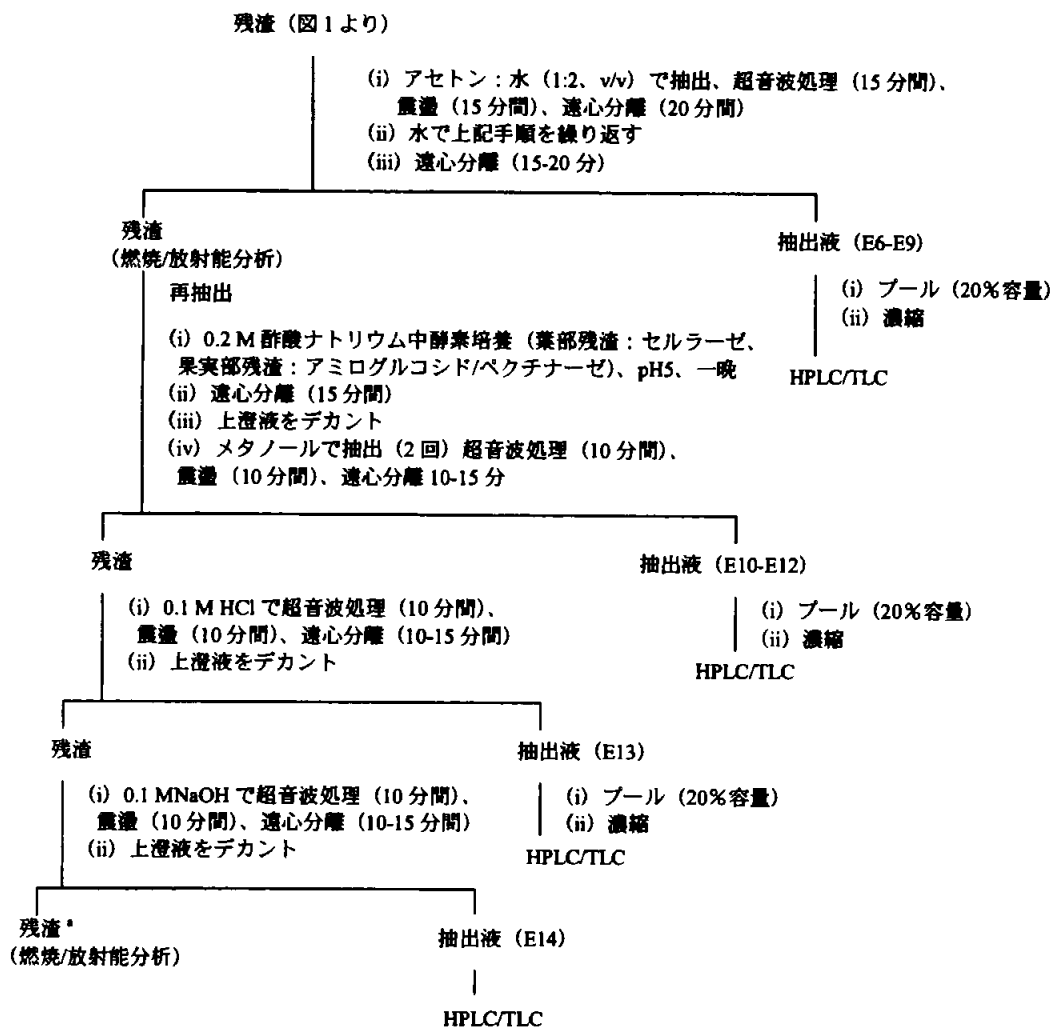


図 1 果実および葉の分析法



*: 果実残渣は更に 2 M 水酸化ナトリウムを加え 1 時間運流

図 2 追加抽出法

結果：

総放射能残留量の分析； 果実および葉部の総放射能濃度を表1に要約した。

果実中および葉部の総放射能残留量は処理後経時的に減少した。また、散布による暴露から保護した果実中の放射能残留量は $[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサムおよび $[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサムについて、それぞれ 0.137 ppm および 0.104 ppm であり、移行量は少ないと示唆された。

表1 果実および葉中の総放射能残留量 (ppm)

	$[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサム		$[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサム	
	葉	果実	葉	果実
第1回処理	14.8	0.111	18.8	0.119
第5回処理	72.9	1.83	105.7	1.56
中間採取1 (5日)*	42.5	0.816	41.2	0.901
中間採取2 (10日)*	39.7	0.919	45.0	0.903
収穫時 (14日)*	29.5	0.535	34.9	0.845
収穫時 (14日、保護試料)*	-	0.137	-	0.104

*：最終処理からの日数

放射能の分布；

両標識体の果実中の抽出放射能の分布および葉部の抽出放射能分布をそれぞれ表2および表3に示す。

果実における抽出放射能分布は、第1回処理後の酢酸エチル抽出画分において放射性残留物は最も高く、総放射能残留量 (TRR) の 70.9-77.7% (0.084-0.086 ppm) であった。収穫時には、この値は TRR の 40.6-48.9% (0.262-0.343 ppm) に減少した。アセトン/水画分の放射性残留物は第1回処理後 TRR の 17.9-24.1% (0.020-0.029 ppm) から、収穫時には TRR の 21.6-29.7% (0.116-0.251 ppm) まで増加した。有機溶媒に可溶性放射能成分 (酢酸エチル抽出部およびアセトン/水抽出物の E1-E5) は第1回処理後の TRR の 98.1-98.4% (0.109-0.117 ppm) から、収穫時の TRR の 86.8-94.3% (0.505-0.733 ppm) まで減少した。アセトン/水抽出後の残渣を処理した画分 (E6-E9) には、 $[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサムおよび $[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサムは、TRR の 0.6-0.8% (0.006-0.011 ppm) および TRR の 0.7-1.6% (0.006-0.014 ppm) の濃度で検出された。一方、酵素処理後の抽出画分 (E10-E12) に、それぞれ TRR の 0.1-0.9% (0.002-0.008 ppm) および TRR の 0.3-1.5% (0.005-0.013 ppm) が検出された。緩やかな酸性および塩基性処理後の画分 (E13-E14) にはそれぞれ、TRR の 0.2-2.3% (0.002-0.021 ppm) および TRR の 0.1-2.9% (0.001-0.025 ppm) が検出された。 $[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサムおよび $[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサムから抽出された TRR の全割合は、それぞれ、TRR の 94.3 - 98.4% (0.109 - 1.77 ppm) および TRR の 96.1 - 99.5% (0.117 - 1.52 ppm) であった。完全抽出操作後の残留量は、 $[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサムおよび $[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサムで、それぞれ、TRR の 1.5 - 5.7% (0.002 - 0.057 ppm) および TRR の 0.5 - 4.0% (0.002 - 0.042 ppm) であった。

薬部における抽出放射能分布は、収穫時の全抽出率は[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムで、それぞれ、TRR の 61.8% (18.2 ppm) および TRR の 61.1% (21.3 ppm) であった。所定の網羅的な抽出操作後、追加して行った溶媒/水抽出により (E6-E9)、さらに、TRR の 12.6-13.6% (4.01-4.40 ppm) の放射能が得られた。酵素処理後抽出により (E10-E12) さらに TRR の 5.3-5.4% (1.56-1.88 ppm) の放射能が得られた。緩やかな酸 (E13) および塩基処理 (E14) により、さらに TRR の 1.3-2.9% (0.38-1.01 ppm) の放射能が得られた。

抽出放射能量の総量は TRR の 83.8-84.1% (24.8-29.2 ppm) であり、非抽出性残留量は TRR の 15.9-16.3% (4.69-5.69 ppm) であった。

表 2 果実中の抽出性放射能の分布

被験物質	抽出操作	試料採取時期									
		第1回処理		第5回処理		中間採取1		中間採取2		収穫時	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
[Tz- ¹⁴ C] 標識 エタボ キサム	酢酸エチル画分	0.086	77.7	1.14	62.4	0.465	57.0	0.353	38.4	0.262	48.9
	水相	0.003	2.8	0.315	17.2	0.151	18.5	0.210	22.8	0.127	23.8
	アセトン/水 (E1-E5)	0.020	17.9	0.293	16.0	0.142	17.4	0.270	29.4	0.116	21.6
	追加抽出 ^a (E6-E9)	na		0.011	0.6	0.006	0.7	0.007	0.8	na	
	酵素+メタノール ^b (E10-E12)	na		0.002	0.1	0.007	0.8	0.008	0.9	na	
	0.1M HCl (E13)	na		<0.002	<0.1	<0.002	<0.2	0.002	0.2	na	
	0.1M NaOH (E14)	na		0.009	0.5	0.012	1.5	0.021	2.3	na	
	抽出物合計	0.109	98.4	1.77	96.8	0.783	95.9	0.871	94.8	0.505	94.3
	非抽出残渣	0.002	1.5	0.057	3.1	0.032	3.9	0.047	5.1	0.030	5.7
TRR	0.111		1.83		0.816		0.919		0.535		
[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボ キサム	酢酸エチル画分	0.084	70.9	0.911	58.4	0.498	55.3	0.401	44.4	0.343	40.6
	水相	0.004	3.1	0.268	17.2	0.141	15.6	0.195	21.6	0.139	16.5
	アセトン/水 (E1-E5)	0.029	24.1	0.307	19.7	0.199	22.1	0.219	24.3	0.251	29.7
	追加抽出 ^a (E6-E9)	na		0.011	0.7	0.006	0.7	0.008	0.9	0.014	1.6
	酵素+メタノール ^b (E10-E12)	na		0.005	0.3	0.006	0.7	0.006	0.7	0.013	1.5
	0.1M HCl (E13)	na		0.002	0.1	0.001	0.1	0.002	0.2	0.003	0.3
	0.1M NaOH (E14)	na		0.016	1.0	0.014	1.6	0.018	2.0	0.025	2.9
	2M NaOH (E15)	na		na		na		0.049	5.4	0.052	6.1
	抽出物合計	0.117	98.1	1.52	97.4	0.866	96.1	0.898	99.5	0.838	99.2
非抽出残渣	0.002	1.8	0.042	2.7	0.036	4.0	0.005	0.5	0.007	0.9	
TRR	0.119		1.56		0.901		0.903		0.845		

^a: E6-E9 抽出液; アセトン: 水 (1:2, v/v 2回)、水 (2回)

^b: E10-E12 抽出液; 酵素インキュベーション1晩、その後メタノール抽出 (2回)、

na: 実施せず

[Tz-¹⁴C]エタボキサム処理区の追加抽出 (E6-E14) 回収率は 69-108%、

[Tp-¹⁴C]エタボキサム処理区の追加抽出 (E6-E15) 回収率は 76-101%、

2M NaOH 還流の回収率は 85.8% (中間採取2) および 75.7% (収穫時)

表3 葉中の抽出性放射能の分布 (収穫時)

抽出操作	被験物質			
	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタボキサム		[Tp- ¹⁴ C] 標識エタボキサム	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
酢酸エチル画分	10.1	34.4	12.1	34.8
アセトン/水 (E1-E5)	8.08	27.4	9.18	26.3
追加抽出 ^a (E6-E9)	4.01	13.6	4.40	12.6
酵素+メタノール ^b (E10-E12)	1.56	5.3	1.88	5.4
0.1M HCl (E13)	0.38	1.3	0.63	1.8
0.1M NaOH (E14)	0.62	2.1	1.01	2.9
抽出物合計	24.8	84.1	29.2	83.8
非抽出残渣	4.69	15.9	5.69	16.3
TRR	29.5		34.9	

^a: E6-E9 抽出液; アセトン:水 (1:2, v/v 2回)、水 (2回)

^b: E10-E12 抽出液; 酵素インキュベーション1晩、その後メタノール抽出 (2回)

追加抽出の回収率は 83-114%の範囲

収穫時に採取した試料の一部を酢酸エチルで表面洗浄後、酢酸エチルで抽出した。結果を表4に示す。果実からの放射能は[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムにおいて、それぞれ、0.766 ppm及び1.81 ppmであった。一方、葉部は、それぞれ、40.6 ppmおよび7.8 ppmであった。直接抽出 (表面非洗浄) による結果と比較すると、表面洗浄することでより多くの放射能が抽出可能であることが示唆された。

表4 試料の表面洗浄操作の有無による抽出性放射能

試料	画分	被験物質							
		[Tz- ¹⁴ C] 標識エタボキサム				[Tp- ¹⁴ C] 標識エタボキサム			
		洗浄		非洗浄		洗浄		非洗浄	
		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
果実	酢酸エチル洗浄液	63.4	0.486	-	-	61.1	1.11	-	-
	酢酸エチル抽出液	5.0	0.038	48.9	0.262	4.0	0.07	40.6	0.343
	水相	17.9	0.137	23.8	0.127	15.2	0.28	16.5	0.139
	アセトン/水抽出液 (E1-E5)	8.6	0.066	21.6	0.116	10.4	0.19	29.7	0.251
	抽出性放射能	94.9	0.727	94.3	0.505	90.7	1.64	86.8	0.733
	非抽出残渣	5.0	0.038	5.7	0.030	9.2	0.17	13.2	0.112
	総放射能 (TRR)	0.766		0.535		1.81		0.845	
葉	酢酸エチル洗浄液	50.6	20.5	-	-	45.1	21.6	-	-
	酢酸エチル抽出液	9.2	3.74	34.4	10.1	9.0	4.3	34.8	12.1
	水相	-	-	-	-	-	-	-	-
	アセトン/水抽出液 (E1-E5)	23.0	9.34	27.4	8.08	24.5	11.7	26.3	9.18
	抽出性放射能	82.8	33.6	61.8	18.2	78.6	37.6	61.1	21.3
	非抽出残渣	17.3	7.02	38.2	11.3	21.4	10.2	38.9	13.6
	総放射能 (TRR)	40.6		29.5		47.8		34.9	

代謝：

- 1) 果実：収穫時に採取したぶどう果実試料の各抽出液中の放射性成分を逆相 HPLC で分析した結果を[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムそれぞれ、表 5 および表 6 に示す。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムでは、合量で TRR の 94.3% (0.505 ppm) の放射能が抽出された。主成分はエタボキサム (A) で TRR の 29.4% (0.157 ppm) であった。未知の極性画分、TzF1 は TRR の 28.5% (0.152 ppm) の割合で検出され、その他の放射性成分は TRR の $\leq 6.6\%$ (≤ 0.035 ppm) であった。

[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムからは、残渣を除いた合量で TRR の 99.2% (0.838 ppm) が抽出された。同様に成分を HPLC あるいは TLC により分析した結果、主成分はエタボキサム (A) で TRR の 27.4% (0.232 ppm) であった。未知の極性画分 TpF1 は TRR の 14.5% (0.123 ppm) で検出された。TpF3 が TRR の 18.4% (0.155 ppm) 検出され、質量分析法による分析および NMR による同定を行い、分離した代謝物を HPLC および TLC による標準物質とのコクロマトグラフィー分析により、 α -ケトカルボン酸 (LGC-35523 (G)) と同定した。他の放射性成分は TRR の $\leq 4.0\%$ (≤ 0.034 ppm) あった。なお、極性成分、TpF1 および TzF1 は、ともにアセチル化され、また反応液の TLC 画分が α -アミノフェノールのエタノール-50%リン酸溶液で発色したことにより、糖構造を有していると考えられた。

表5 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理ぶどう果実試料の収穫時における放射性成分

成分	HPLC 保持時間 (分)	抽出画分						総抽出量	
		酢酸エチル相		水相		アセトン：水 (E1-E5)			
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
有機相	-	0.262	48.9	0.127	23.8	0.116	21.6	0.505	94.3
TzF1 ^d	2.0-5.5	0.006	1.1	0.083	15.6	0.063	11.8	0.152	28.5
TzF2	5.5-6.0	<0.001	<0.1	0.010	1.9	0.009	1.7	0.019	3.6
TzF3	6.5-7.5	<0.001	<0.1	0.006	1.2	<0.003	<0.6	0.006	1.2
TzF4	8.0-10.0	0.001	0.1	0.021	4.0	<0.003	<0.6	0.022	4.1
TzF5	12.5-15.0	0.003	0.6	<0.002	<0.3	0.003	0.6	0.006	1.2
TzF6	15.0-16.5	0.002	0.4	0.004	0.8	0.004	0.7	0.010	1.9
TzF7	16.5-20.0	0.025	4.6	0.002	0.4	0.009	1.6	0.035	6.6
TzF8	20.0-21.5	0.002	0.3	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF9	21.5-24.0	0.005	1.0	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.005	1.0
TzF10	24.0-27.0	0.011	2.1	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.011	2.1
TzF11	27.0-28.5	0.007	1.3	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.007	1.3
TzF12	28.5-31.0	0.016	2.9	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.016	2.9
TzF13	31.0-32.5	0.005	0.9	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.005	0.9
TzF14	32.5-33.5	0.004	0.7	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF15	33.5-34.5	0.004	0.7	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF16	34.5-37.0	0.006	1.1	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.006	1.1
TzF17	37.0-40.5	0.008	1.5	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.008	1.5
TzF18 (エタボキサム(A))	40.5-43.5	0.130	24.3	<0.002	<0.3	0.027	<5.1	0.157	29.4
TzF19	43.5-46.0	0.006	1.1	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.006	1.1
TzF20	52.0-53.0	0.001	0.2	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF21	54.0-55.0	0.001	0.1	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF22	56.0-58.5	0.004	0.7	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF23	58.5-59.5	0.001	0.2	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF24	59.5-60.5	0.002	0.3	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF25	60.5-62.0	0.002	0.3	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
TzF26	62.0-63.5	0.002	0.3	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	<0.005	<0.9
その他 ^a		0.010	1.8	<0.002	<0.3	<0.003	<0.6	0.010	1.8
残渣 ^b								0.030	5.7
TRR ^c				0.535				0.535	

^a: 個別フラクションではなく、表中成分以外の成分の和とした

^b: 表2より抜粋

^c: 表1より抜粋

^d: TzF1は、4成分(3.0~12.9%TRR、0.016~0.069ppm)を含む

表6 [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理ぶどう果実試料の収穫時における放射能成分

成分	HPLC 保持時間 (分)	抽出画分						総抽出量	
		酢酸エチル相		水相		アセトン：水 (E1-E5)			
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
有機相	-	0.343	40.6	0.139	16.5	0.251	29.7	0.733	86.8
TpF1 ^e	2.0-4.0	0.008	0.9	0.057	6.8	0.057	6.8	0.123	14.5
TpF2	4.0-5.0	<0.001	<0.1	0.014	1.7	0.019	2.3	0.034	4.0
TpF3 (LGC-35523 (G))	7.0-11.0	0.025	2.9	0.068	8.0	0.063	7.5	0.155	18.4
TpF4	11.0-14.0	<0.001	<0.1	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF5	14.0-16.0	<0.001	<0.1	<0.002	<0.2	0.030	3.5	0.030	3.5
TpF6	16.0-17.5	<0.001	<0.1	<0.002	<0.2	0.006	0.7	<0.007	<0.8
TpF7	17.5-19.0	0.002	0.2	<0.002	<0.2	0.004	0.5	<0.007	<0.8
TpF8	19.0-20.5	0.003	0.4	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF9	20.5-24.0	0.008	0.9	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.008	0.9
TpF10	24.0-26.5	0.014	1.7	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.014	1.7
TpF11	26.5-28.5	0.014	1.6	<0.002	<0.2	0.014	1.7	0.028	3.3
TpF12	28.5-31.0	0.028	3.3	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.028	3.3
TpF13	31.0-32.0	0.004	0.5	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF14	32.0-33.0	0.005	0.6	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF15	33.0-34.0	0.005	0.6	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF16	34.0-35.0	0.004	0.5	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF17	35.0-37.0	0.008	1.0	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.008	1.0
TpF18	37.0-40.0	0.012	1.4	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.012	1.4
TpF19	40.0-41.0	0.003	0.3	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF20 (エタボキサム(A))	41.0-43.5	0.174	20.6	<0.002	<0.2	0.057	6.8	0.232	27.4
TpF21	43.5-45.0	0.008	1.0	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.008	1.0
TpF22	45.0-46.5	0.001	0.1	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF23	51.5-52.5	0.001	0.1	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF24	54.0-55.0	0.002	0.2	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
TpF25	57.0-58.5	0.007	0.8	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.007	0.8
TpF26	58.5-61.0	0.008	0.9	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	0.008	0.9
その他 ^a		<0.001	<0.1	<0.002	<0.2	<0.004	<0.5	<0.007	<0.8
溶媒抽出物 (E6-E9) ^b								0.014	1.6
酵素抽出物 (E10-E12) ^b								0.013	1.5
0.1 M HCl (E13) ^b								0.003	0.3
0.1 M NaCl (E14) ^{b, c}								0.025	2.9
2 M NaOH 還流 (E15) ^{b, c}								0.052	6.1
残渣 ^c								0.007	0.9
TRR ^d		0.845						0.845	

^a: 個別フラクションではなく、表中成分以外の成分の和とした

^b: 表2より抜粋

^c: TLCの溶媒系Cで分析

^d: 表1より抜粋

^e: TpF1は、2成分(6.5%TRR, 0.055ppm; 8.0%TRR, 0.068ppm)を含む

第2回中間採取時のぶどう果実水画分を酵素処理し、処理前および処理後のクロマトグラムの変化を調べたところ、 $[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサムでは、酵素非存在下のインキュベーションによって、TzF4がTRRの3% (0.028 ppm) からTRRの0.2% (0.002 ppm) に減少し、酵素処理によって、極性成分 TzF1がTRRの11.2% (0.103 ppm) から13.2% (0.121 ppm) とわずかに増加したが、他の成分は緩衝液あるいは酵素処理によるインキュベーションの影響はほとんど受けなかった。 $[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサムでは、酵素処理しない場合、成分 TpF1はTRRの5.3% (0.048 ppm) から7.5% (0.068 ppm) に、TpF2もまたTRRの1.8% (0.016 ppm) から2.4% (0.022 ppm) とわずかに増加した。TpF3は酵素の存在の有無にかかわらず、未変化のまま残った (TRRの4.1%-4.9%、0.037-0.044 ppm)。酵素存在下では、TpF3AがTRRの3.4% (0.031 ppm) から<0.2% (<0.02 ppm) に減少し、TpF5はTRRの0.4% (0.004 ppm) から4.0% (0.036 ppm) まで増加したが、他の成分は緩衝液あるいは酵素処理による影響はほとんど受けなかった。

2) 葉部：表面洗浄後の抽出物の放射性成分を表7および表8に示す。

$[Tz-^{14}C]$ 標識エタボキサムでは、未変化体のLGC-30473(A)はTRRの26.6% (10.8 ppm)、極性画分(TzL1)はTRRの12.1% (4.91 ppm)であった。他のすべての成分はTRRの $\leq 3.6\%$ (≤ 1.46 ppm)であった。 $[Tp-^{14}C]$ 標識エタボキサムでは、未変化体のLGC-30473がTRRの26.8% (12.8 ppm)、極性未知分画のTpL1およびTpL3はそれぞれTRRの7.9% (3.78 ppm) および7.2% (3.44 ppm) であった。他のすべての成分はTRRの $\leq 5.5\%$ (≤ 2.63 ppm) であった。

表7 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理ぶどう葉部の収穫時における放射性成分

成分	HPLC 保持時間 (分)	総抽出量 ^a	
		ppm	%TRR
有機相	-	33.6	82.8
TzL1	2.0-4.5	4.91	12.1
TzL2	4.5-5.5	1.02	2.5
TzL3	5.5-7.5	1.18	2.9
TzL4	7.5-9.5	0.61	1.5
TzL5	9.5-12.0	0.16	0.4
TzL6	12.0-15.0	1.46	3.6
TzL7	15.0-17.0	1.10	2.7
TzL8	17.0-20.0	1.30	3.2
TzL9	20.0-23.0	0.97	2.4
TzL10	23.0-25.0	0.89	2.2
TzL11	25.0-27.0	0.93	2.3
TzL12	27.0-29.0	1.10	2.7
TzL13	29.0-30.5	0.61	1.5
TzL14	30.5-32.0	0.37	0.9
TzL15	32.0-34.0	0.41	1.0
TzL16	34.0-35.5	0.49	1.2
TzL17	35.5-37.0	0.24	0.6
TzL18	37.0-40.0	0.32	0.8
TzL19	40.0-41.5	0.12	0.3
TzL20 (エタボキサム(A))	41.5-44.0	10.8	26.6
TzL21	44.0-46.0	0.37	0.9
TzL21A	46.0-47.0	0.20	0.5
TzL22	52.0-53.0	0.08	0.2
TzL22A	55.5-57.0	0.12	0.3
TzL23	57.0-59.0	0.24	0.6
TzL24	59.0-61.0	0.20	0.5
TzL25	62.0-64.0	0.20	0.4
その他 ^b		0.37	0.9
TRR		40.6	

^a: 酢酸エチル表面洗浄液、酢酸エチル抽出液、アセトン：水抽出液の合量

値は HPLC 回収率 89.3% (酢酸エチル表面洗浄液) および 81.0% (酢酸エチル抽出液) で補正

^b: 個別フラクションではなく、表中成分以外の成分の和とした

表8 [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理ぶどう葉部の収穫時における放射性成分

成分	HPLC 保持時間 (分)	総抽出量 ^a	
		ppm	%TRR
有機相	-	37.6	78.6
TpL1	2.0-5.5	3.78	7.9
TpL2	5.5-7.0	0.43	0.9
TpL3	7.0-12.0	3.44	7.2
TpL4	12.0-14.5	0.33	0.7
TpL5	14.5-16.5	1.29	2.7
TpL6	16.5-19.5	1.05	2.2
TpL7	19.5-21.5	0.67	1.4
TpL8	21.5-24.0	1.10	2.3
TpL9	24.0-25.5	0.72	1.5
TpL10	25.5-27.0	2.63	5.5
TpL11	27.0-29.0		
TpL12	29.0-31.0	0.81	1.7
TpL13	31.0-32.5	0.43	0.9
TpL14	32.5-33.5	0.43	0.9
TpL15	33.5-36.0	1.10	2.3
TpL16	36.0-37.5	0.86	0.8
TpL17	37.5-38.5	0.48	1.0
TpL18	38.5-41.0		
TpL19 (エタボキサム(A))	41.0-44.5	12.8	26.8
TpL19A	44.5-46.0	0.48	1.0
TpL20	46.0-47.0	0.43	0.9
TpL21	49.5-50.5	<0.10	<0.2
TpL22	50.5-52.5	0.14	0.3
TpL22A	52.5-54.0	0.14	0.3
TpL23	54.0-56.0	0.24	0.5
TpL23A	56.0-57.0	0.33	0.7
TpL24	57.0-59.5	0.81	1.7
TpL24A	59.5-61.5	0.62	1.3
TpL25	61.5-63.0	0.24	0.5
その他 ^b		0.29	0.6
TRR		47.8	

^a: 酢酸エチル表面洗浄液、酢酸エチル抽出液、アセトン：水抽出液の含量

値は HPLC 回収率 88.9% (アセトン：水抽出液) および 80.1% (酢酸エチル抽出液) で補正

^b: 個別フラクションではなく、表中成分以外の成分の和とした

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

以上の結果から、エタボキサム (A) は α -ケトカルボン酸 (LGC-35523 (G)) に代謝され、その後、炭水化物として生体成分に取込まれる。

想定代謝経路；エタボキサムのぶどうにおける想定代謝経路を図 3 に示す。

(2) ばれいしょにおける代謝

(資料 No.M-04)

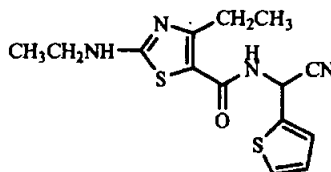
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年：2002年

[GLP 対応]

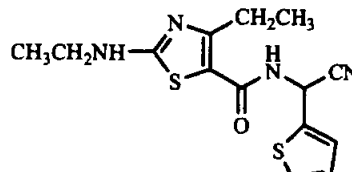
供試標識化合物：

構造式：



*：¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム
(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)



*：¹⁴C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン-¹⁴C 標識エタポキサム
(以下、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名；(RS)-N-(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
比放射能		
放射化学的純度		

供試植物：ばれいしょ (品種：Estima 種)

栽培条件および栽培管理；種イモは市販品を購入し、プラスチック容器 (35 cm x 35 cm x 25 cm) に移植し、戸外で栽培した。土壌は壤質砂土を使用した。それぞれの容器にばれいしょを 1 個ずつ 10-15 cm の深さに播種した。栽培環境は自然環境とした。植物が健全に生育するように必要に応じて適切な殺菌剤、殺虫剤および肥料を処理した。

方法：

試験溶液の調製；供試標識化合物を 12.5% 水和剤に調製し、これを所定濃度に希釈し、試験液とした。

処理方法；散布器を用いて、ポリエチレンシートと木枠で囲われたばれいしょ植物体全体に散布した。試験液を設定処理量 250 g ai/ha (慣行圃場施用量) の量で、5 回茎葉散布 (収穫前 46、38、30、22、14 日) した。処理後、作物を 24 時間プラスチックシートで覆い、降雨から防いだ。

採取時期；収穫前 46、14、9 および 4 日、収穫当日に試料を採取した。

薬剤処理と試料採取の関係を以下の表に示す。

	収穫前日数	薬剤処理	試料採取
第1回処理後	(収穫前 46日)	○	○
第2回処理後		○	×
第3回処理後		○	×
第4回処理後		○	×
第5回処理後	(収穫前 14日)	○	○
中間時期 (5日) [*]	(収穫前 9日)	×	○
中間時期 (10日) [*]	(収穫前 4日)	×	○
収穫時 (14日) [*]		×	○

○：薬剤処理および試料採取実施 ×：薬剤処理および試料採取実施せず
^{*}：最終処理からの日数

採取部位および個数：各標識体に1植物/容器とし、8個の試験容器を使用した。1作物を第1回および第5回処理後および中間採取時に採取し、残りの処理容器（[Tz-¹⁴C]処理3個および[Tp-¹⁴C]処理4個）は収穫時に採取した。茎葉部は、土壌表面の部位で切除し秤量した。塊茎部は採取した後、土壌を水で洗い、分析まで冷凍貯蔵庫に保存した。

分析方法；分析法のスキームを図1-4に示す。

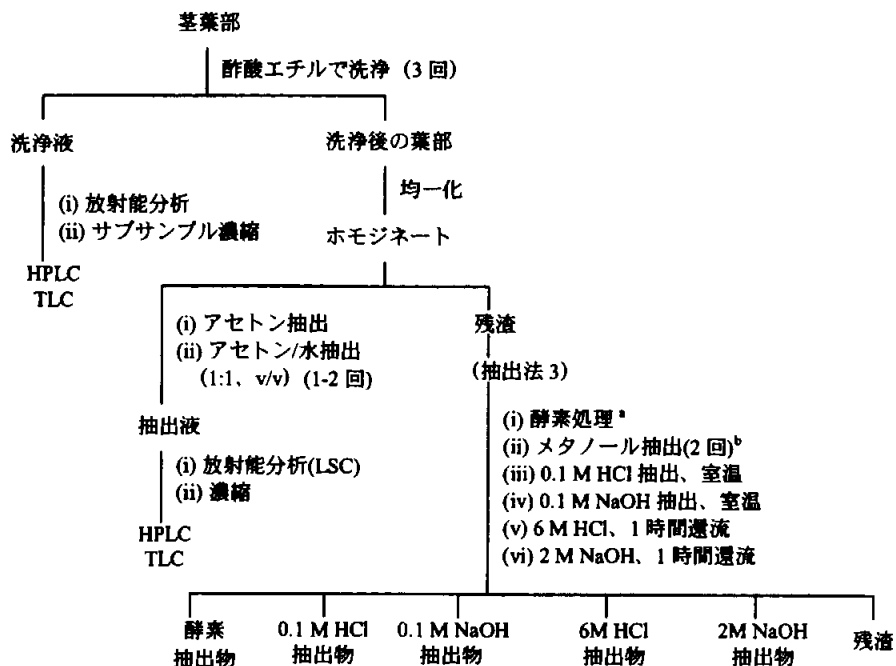
1) 茎葉部試料の総放射性残留物の測定および残留物の特徴付け

茎葉部を酢酸エチル浸漬（3回）により表面洗浄し、洗浄液中の放射能を液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定、残渣は均一化し燃焼処理後、LSCで測定した。表面洗浄後の均一化した試料を図1に従い、HPLCおよびTLCで分析した。

2) 塊茎部試料の総放射性残留量の測定および残留物の特徴付け

水洗した試料を均一化後、図2に従い操作し、各画分の放射エネルギーを測定した。抽出操作後の残渣は連続抽出し、ついで、酵素によるインキュベーション、室温下0.1 M HClおよび0.1 M NaOH処理し、さらに、6 M HClおよび2 M NaOHにより1時間還流処理した（抽出法3）。また、収穫時の塊茎部溶媒/水抽出物をpH2、7および12に調整し、酢酸エチルで抽出した（抽出法4）。澱粉抽出のため、収穫時の塊茎部ホモジネートを図4に示した方法で分画した。得られた画分をHPLCおよびTLCで分析した。

図1 茎葉部の分析法



- Ⓐ 葉部はセルラーゼ、ヘミセルラーゼ及びβ-グルコシダーゼで処理
- Ⓑ 塊茎残渣はアミログルコシダーゼ及びβ-グルコシダーゼで処理
- Ⓒ メタノール抽出液は酵素抽出液の一部とみなした

図2 塊茎部の分析法

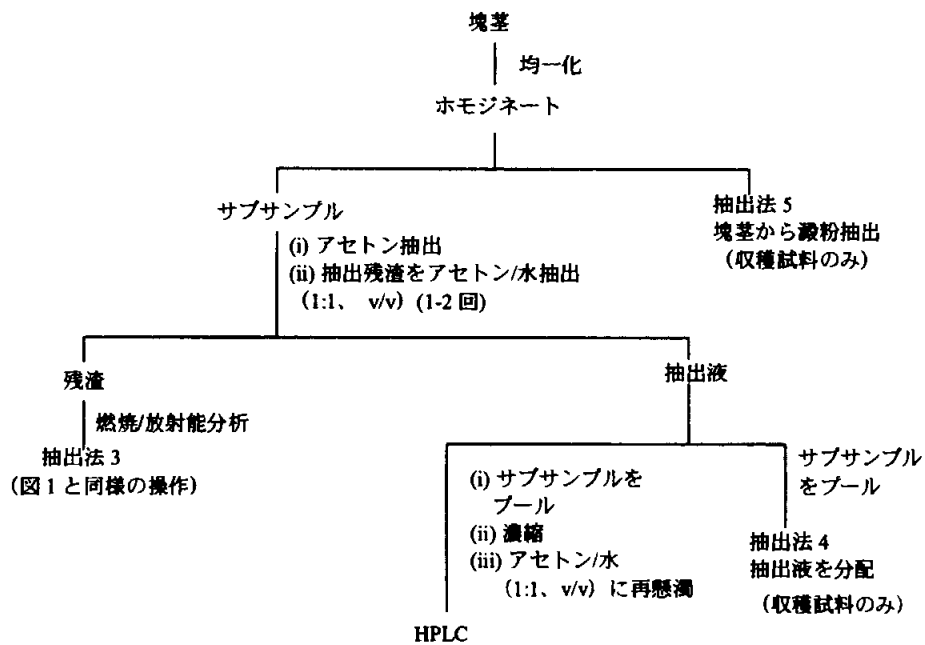


図3 収穫時の塊茎抽出物の分配 (抽出法4)

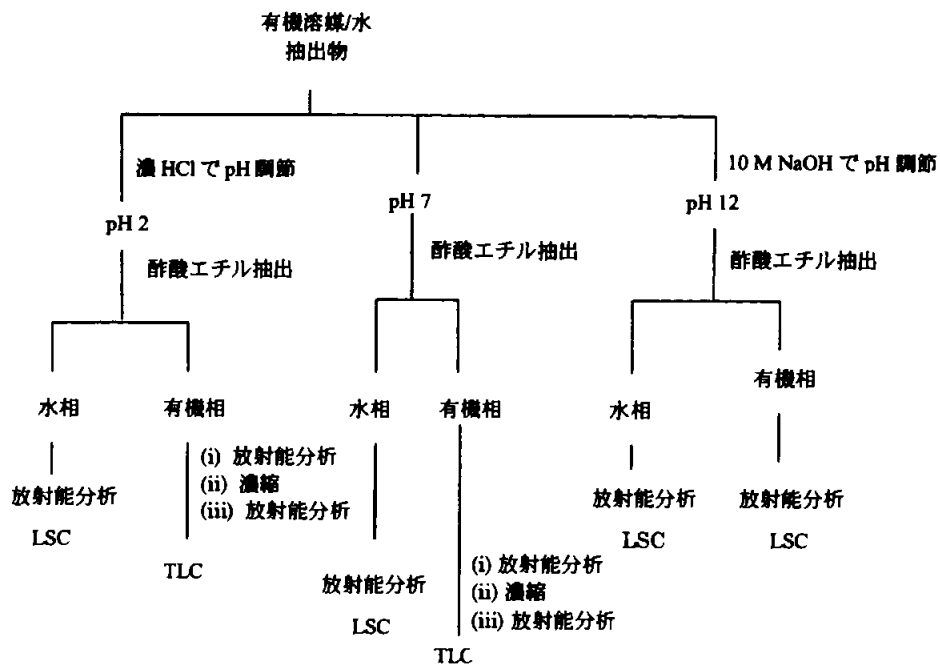
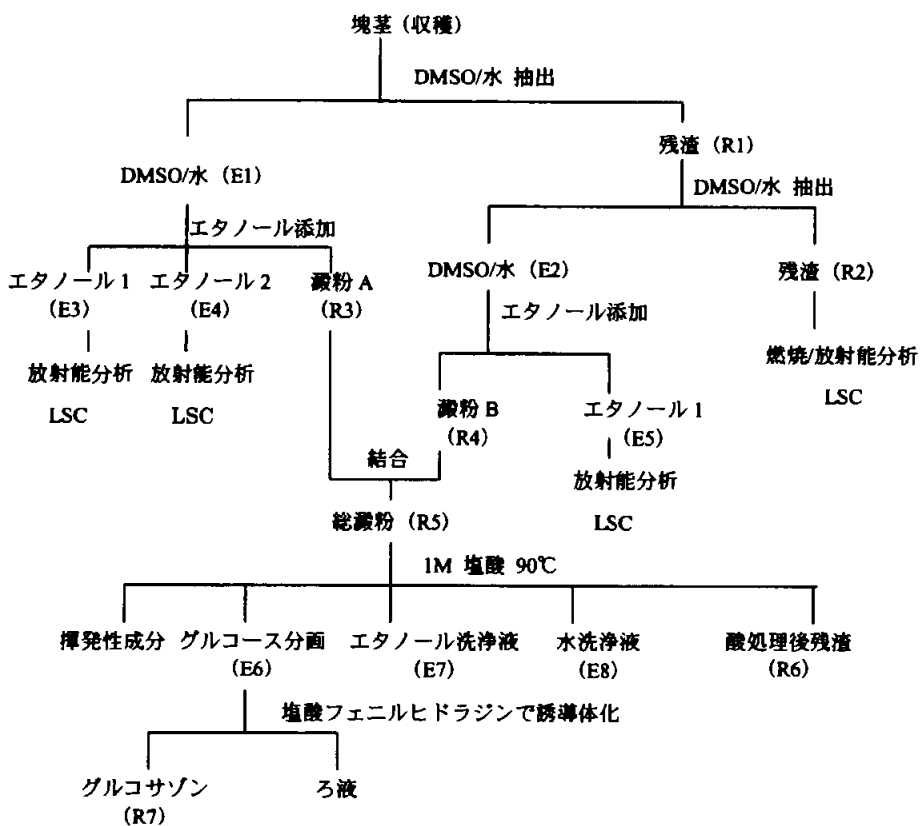


図4 塊茎部の澱粉抽出法 (抽出法5)



結果：

総放射能残留量 (TRR) の分析；ばれいしょの塊茎および茎葉の TRR を表 1 に要約した。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区における、5 回処理後の塊茎中の TRR は、それぞれ 0.037 ppm および 0.020 ppm であったが、収穫時には 0.073 ppm および 0.029 ppm に増加した。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区における、1 回処理後の茎葉中の TRR は、それぞれ 3.17 および 3.90 ppm であったが、5 回処理後には、それぞれ 13.8 ppm および 12.1 ppm に増加した。収穫時には、それぞれ 11.4 ppm および 7.02 ppm であった。

表 1 塊茎および茎葉中の総放射能残留量 (ppm)

試料採取時期	[Tz- ¹⁴ C]標識 エタボキサム		[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	
	塊茎	茎葉	塊茎	茎葉
第 1 回処理	0.001	3.17	0.001	3.90
第 5 回処理	0.037	13.8	0.020	12.1
中間採取 1 (5 日) *	0.073	25.0	0.033	19.0
中間採取 2 (10 日) *	0.038	11.7	0.023	15.3
収穫時 (14 日) *	0.073	11.4	0.029	7.02

*：最終処理からの日数

収穫時の茎葉中の放射能分布 (表 2)；[Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区において、それぞれ TRR の 72.1% (8.22 ppm) および 65.7% (4.61 ppm) であった。抽出法 3 で抽出した後、抽出放射能の総量は、それぞれ TRR の 98.6% (11.2 ppm) および 98.5% (6.91 ppm)、非抽出残留量は、それぞれ TRR の 1.4% (0.16 ppm) および 1.4% (0.10 ppm) であった。

表 2 収穫時の茎葉中放射能分布

画分	[Tz- ¹⁴ C]標識 エタボキサム		[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
溶媒/水抽出画分	8.22	72.1	4.61	65.7
酵素処理	1.38	12.1	0.90	12.8
0.1M HCl	0.35	3.1	0.33	4.7
0.1M NaOH	0.46	4.0	0.37	5.2
6M HCl 還流	0.46	4.0	0.41	5.8
2M NaOH 還流	0.38	3.3	0.30	4.3
抽出物合計	11.2	98.6	6.91	98.5
非抽出残渣	0.16	1.4	0.10	1.4
TRR (ppm)	11.4		7.02	

塊茎中の放射能分布 (表 3-5) ; 第 5 回処理後の塊茎中放射能抽出率は、 $[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区および $[Tp-^{14}C]$ エタボキサム処理区で、それぞれ TRR の 46.9% (0.017 ppm) および 66.6% (0.013 ppm) であった。抽出法 3 を用いてさらに抽出を行った結果、収穫時の採取試料における抽出率は、 $[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区および $[Tp-^{14}C]$ エタボキサム処理区で、それぞれ TRR の 94.6% (0.069 ppm) および 91.9% (0.027 ppm) に上昇した。

HPLC 分析の結果、TzPT3 および TpPT3 画分は、未変化体のエタボキサム (A) であった。これは、経時的に濃度は減少し、収穫時には、 $[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区および $[Tp-^{14}C]$ エタボキサム処理区で、それぞれ TRR の <0.9% (<0.001 ppm) および 2.7% (0.001 ppm) 認められた。

表 3 $[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区の塊茎中放射能分布

分析試料	HPLC 保持時間(分)	試料採取時期							
		第 5 回処理後		中間採取 (5 日) *		中間採取 (10 日) *		収穫時 (14 日) *	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
溶媒/水抽出画分		0.017	46.9	0.037	51.0	0.018	46.5	0.033	44.9
TzPT1	2.5-4.5	0.014	38.2	0.034	46.7	0.018	46.5	0.033	44.9
TzPT2	5.0-6.5	<0.001	<2.1	0.002	2.8	<0.001	<2.0	<0.001	<0.9
TzPT3 (エタボキサム (A))	23.5-24.5	0.003	8.7	0.001	1.4	<0.001	<2.0	<0.001	<0.9
その他		<0.001	<2.1	<0.001	<0.9	<0.001	<2.0	<0.001	<0.9
酵素処理		0.003	8.3	0.003	3.7	0.002	5.9	0.003	3.9
0.1M HCl		<0.001	1.1	0.001	0.9	<0.001	0.7	0.001	0.8
0.1M NaOH		0.001	2.2	0.002	2.4	0.001	2.6	0.003	3.7
6M HCl 還流		0.010	28.2	0.019	25.8	0.011	30.1	0.023	32.1
2M NaOH 還流		0.003	7.5	0.008	10.3	0.003	7.1	0.007	9.2
抽出物合計		0.035	94.2	0.069	94.1	0.035	92.9	0.069	94.6
非抽出残渣		0.002	5.7	0.004	5.9	0.003	7.0	0.004	5.4
TRR (ppm)		0.037		0.073		0.038		0.073	

* : 最終処理からの日数

表4 [Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区の塊茎中放射能分布

分析試料	HPLC 保持 時間(分)	植物試料採取時期							
		第5回処理後		中間採取(5日) [*]		中間採取(10日) [*]		収穫時(14日) [*]	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
溶媒/水抽出画分		0.013	66.6	0.022	67.0	0.015	63.1	0.018	61.1
TpPT1	2.5-4.5	0.011	56.1	0.021	65.1	0.015	63.1	0.017	58.4
TpPT2	5.0-6.5	0.001	2.5	0.001	1.9	<0.001	<2.5	<0.001	<2.5
TpPT3 (エタボキサム(A))	23.5-24.5	0.002	8.0	<0.001	<1.9	<0.001	<2.5	0.001	2.7
その他		<0.001	<1.9	<0.001	<1.9	<0.001	<2.5	<0.001	<2.5
酵素処理		0.002	11.5	0.002	6.5	0.001	5.3	0.002	6.7
0.1M HCl		<0.001	1.6	<0.001	0.6	<0.001	<1.1	<0.001	0.7
0.1M NaOH		0.001	3.6	<0.001	<0.5	<0.001	1.2	0.001	3.2
6M HCl 還流		0.002	11.3	0.004	11.6	0.003	13.9	0.004	12.4
2M NaOH 還流		<0.002	<10.6	0.002	7.2	0.002	8.7	0.002	7.8
抽出物合計		0.019	94.6	0.031	92.9	0.021	92.2	0.027	91.9
非抽出残渣		0.001	5.4	0.002	7.1	0.002	7.7	0.002	8.2
TRR(ppm)		0.020		0.033		0.023		0.029	

^{*}: 最終処理からの日数

なお、[Tz-¹⁴C]の5回処理以降の試料で6M HCl 還流抽出物に ≥ 0.01 ppmの放射能が残留したため、さらに収穫時(14日目)の試料について検討し、分配抽出した。その結果、ほとんどの放射能が有機溶媒可溶性画分に移行した。結果を表5に示す。

表5 [Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区の5回処理以降の試料を

6M HCl 還流した後の放射能分布(収穫時)

代謝物	保持時間 (分)	抽出画分		6M HCl 有機相 ^a		合計	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出画分		0.033	44.9	0.018	25.3 ^b	0.051	70.2
TzPT1	2.5-4.5	0.033	44.9	0.014	19.3	0.047	64.2
TzPT2	5.0-6.5	<0.001	<0.9	<0.001	<0.4	<0.001	<1.3
TzPT3 (エタボキサム(A))	23.5-24.5	<0.001	<0.9	<0.001	<0.4	<0.001	<1.3
その他		<0.001	<0.9	<0.001	<0.4	<0.001	<1.3
TRR(ppm)						0.073	

^a: pH1 で分配

^b: 低放射能回収率(76.4%)を補正した割合

代謝:

塊茎部の溶媒/水抽出物の放射能成分(表7および表8): 塊茎部の溶媒/水抽出物をHPLC分析により、[Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区でそれぞれ、0.014-0.047 ppm(TRRの38.2-64.2%)および0.011-0.021 ppm(TRRの56.1-65.1%)の難溶解性の極性画分の存在(TzPT1およびTpPT1)が示された(表3および表4)ため、収穫時の塊茎部の極性画分をさらにTLCで分析した(表7および表8)。

分析条件検討のため、収穫時における塊茎中の溶媒/水抽出物を、pH 2、7および11の条件で分配抽出を行った。抽出法4(図3)を用いて分配抽出した。結果を表6に示す。 $[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区および $[Tp-^{14}C]$ エタボキサム処理区において、pH 2ではそれぞれ0.012 ppm (15.9%) および0.010 ppm (34.5%) が有機相に分配され、0.021 ppm (29.0%) および0.008 ppm (26.6%) が水相に残留した。有機相に分配される放射能の割合はpHが高くなるにつれて減少し、pH 12ではそれぞれ0.006 ppm (8.5%) および0.002 ppm (8.1%) であった。よって、pH 2 および pH7 の溶媒/水抽出物の試料を用いて、TLCにより分析をすることとした。(表7および表8)。

表6 pH 2、7および12で分配時の抽出放射能(収穫時)

抽出条件		$[Tz-^{14}C]$ 標識 エタボキサム		$[Tp-^{14}C]$ 標識 エタボキサム	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR
pH2	有機相	0.012	15.9	0.010	34.5
	水相	0.021	29.0	0.008	26.6
pH7	有機相	0.009	12.8	0.004	12.5
	水相	0.023	32.1	0.014	48.6
pH12	有機相	0.006	8.5	0.002	8.1
	水相	0.027	36.4	0.015	53.0

$[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区の塊茎部抽出物極性画分は9成分に分離し、最も多いTzPT1Cは0.010 ppm (TRRの13.5%)であり、他の8成分はそれぞれ ≤ 0.007 ppm (TRRの $\leq 9.2\%$)であった。TzPT1CはpH2およびpH7においても水相に残留し、水溶性成分であった。残り8成分のうち3成分は主に有機溶媒可溶成分として、5成分はpH2において主に水溶性成分であった。副生成物のTzPT1Jは、塊茎部抽出物中には存在しなかったが、pH2およびpH7において有機相に検出された。

$[Tp-^{14}C]$ エタボキサム処理区の塊茎部抽出物の極性画分は6成分に分離したが、これらすべては ≤ 0.005 ppm (TRRの $\leq 16.1\%$)であった。これらの6つの極性成分のうち、pH2では、4成分は主に有機溶媒可溶成分、2成分は主に水溶性成分であった。副生成物であるTpPT1Gは塊茎部抽出物中には存在しなかったが、pH2およびpH7において有機相に検出された。

pH2の有機溶媒可溶画分をそれぞれ対応する標識体の茎葉部抽出物とクロマトグラフィードした。 $[Tz-^{14}C]$ エタボキサム処理区および $[Tp-^{14}C]$ エタボキサム処理区の塊茎部有機溶媒可溶画分中、3成分(TzPT1G、TzPT1H、TzPT1I)および2成分(TpPT1C、TpPT1D)は、茎葉部抽出物の副生成物と一致した。

表7 [Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区の塊茎中^a極性成分のTLC分析(収穫時)

成分	Rf 値	塊茎抽出成分		有機溶媒可溶成分			
				pH2		pH7	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
		0.033 ^b	44.9 ^b	0.012	15.9	0.009	12.8
TzPT 1A	0.03	0.002	2.7	<0.001	0.3	<0.001	<0.1
TzPT 1B	0.08	0.001	1.0	0.001	1.1	<0.001	<0.1
TzPT 1C	0.15	0.010	13.5	<0.001	<0.1	<0.001	<0.1
TzPT 1D	0.24	0.002	3.1	<0.001	<0.1	<0.001	<0.1
TzPT 1E	0.34	0.002	2.6	<0.001	<0.1	<0.001	<0.1
TzPT 1F	0.38	0.003	4.1	<0.001	<0.1	<0.001	<0.1
TzPT 1G	0.56	0.004	6.0	0.001	1.0	<0.001	0.6
TzPT 1H	0.60	0.002	2.6	0.001	1.9	0.002	2.3
TzPT 1I	0.64	0.007	9.2	0.006	7.8	0.007	9.2
TzPT 1J	0.73	<0.001	<0.1	0.002	2.8	0.001	0.8
その他		<0.001	<0.1	0.001	0.9	<0.001	<0.1

^a: 収穫時の塊茎部: 0.073ppm ^b: HPLC 分析の極性画分における値

表8 [Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区の塊茎中^a極性成分のTLC分析(収穫時)

成分	Rf 値	塊茎抽出成分		有機溶媒可溶成分			
				pH2		pH7	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
		0.017 ^b	58.4 ^b	0.010	34.5	0.004	12.5
TpPT1A	0.03	0.002	5.4	<0.001	0.8	<0.001	<0.1
TpPT1B	0.14	0.004	12.7	<0.001	<0.1	<0.001	<0.1
TpPT1C	0.36	0.005	16.1	0.004	14.3	<0.001	<0.1
TpPT1D	0.56	0.004	13.3	0.002	8.6	<0.001	1.1
TpPT1E	0.64	0.001	3.8	0.001	4.0	0.001	2.8
TpPT1F	0.71	0.002	7.3	0.002	5.9	0.002	7.4
TpPT1G	0.75	<0.001	<0.1	<0.001	0.4	<0.001	1.3
その他		<0.001	<0.1	<0.001	0.5	<0.001	<0.1

^a: 収穫時の塊茎部: 0.029ppm ^b: HPLC 分析の極性画分における値

澱粉抽出物の放射能成分: 塊茎部の収穫時採取試料を図4に示した方法で澱粉抽出し、各画分の放射能を測定した結果を図5および図6、表9に示す。

塊茎部中の主放射能成分は澱粉画分であり、[Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区および [Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区でそれぞれ、0.030ppm (TRR の 41.2%) および 0.012ppm (TRR の 42.9%) が検出された。

デンプンの加水分解によりグルコースついでグルコサゾン誘導体を得られたが、[Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区および [Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区でそれぞれ、0.017ppm (TRR の 22.8%) および 0.005ppm (TRR の 18.3%) が検出された。これらの結果より、生育した作物成分中に、かなりの量の標識体を取り込まれると考えられた。

図5 [Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区における塊茎部の澱粉分離処理後の各画分の放射性成分

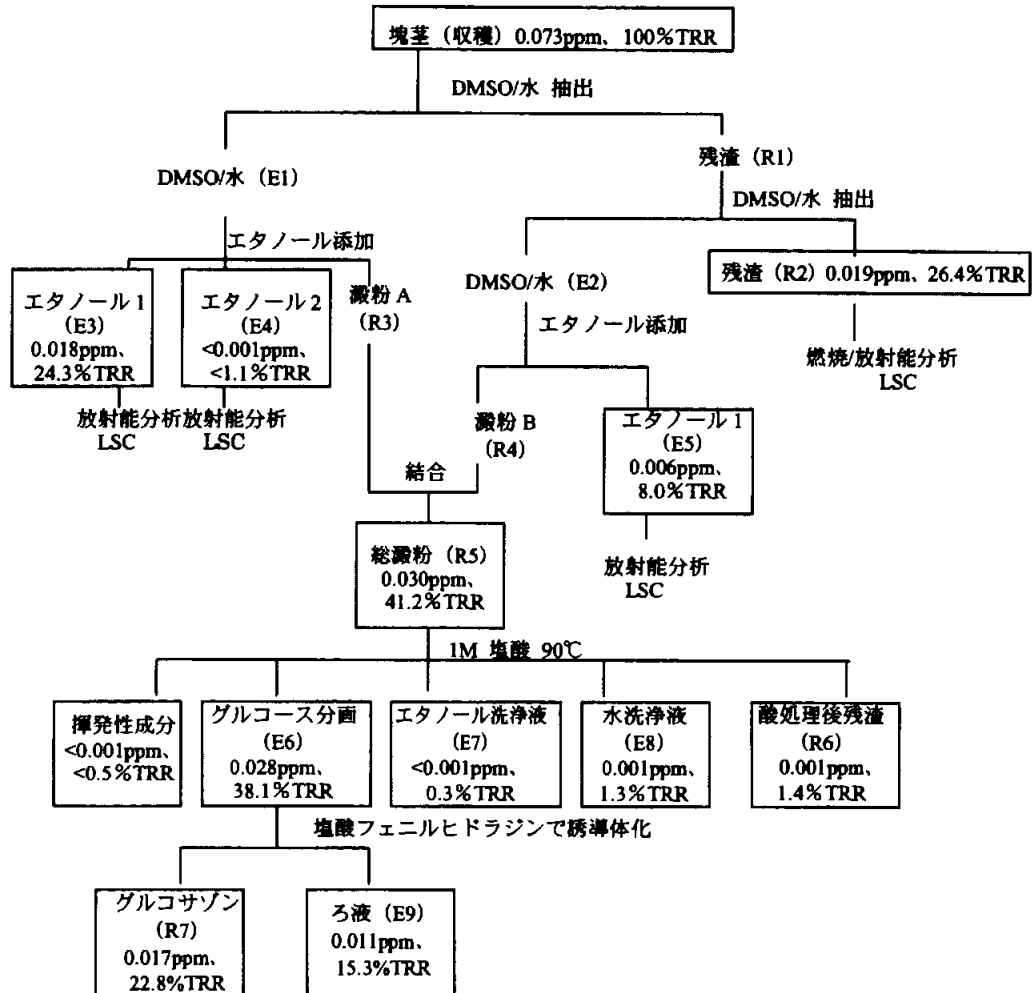


図 6 [Tp-¹⁴C] エタポキサム処理区における塊茎部の澱粉分離処理後の各画分の放射性成分

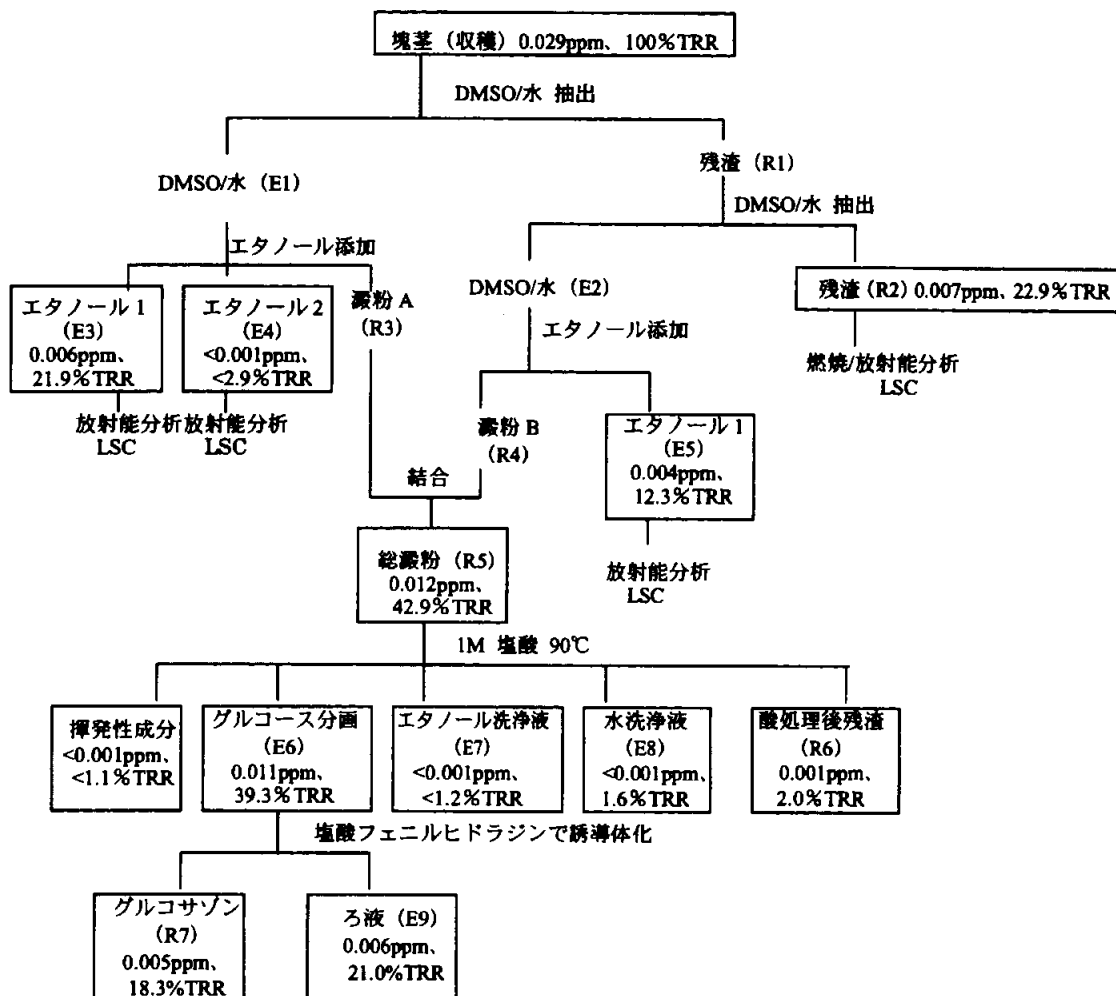


表9 澱粉分離処理後の各画分の放射性成分

画分		[Tz- ¹⁴ C]標識 エタボキサム		[Tp- ¹⁴ C]標識 エタボキサム	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR
揮発性成分		<0.001	<0.5	<0.001	<1.1
抽出画分	E1	-	-	-	-
	E2	-	-	-	-
	E3	0.018	24.3	0.006	21.9
	E4	<0.001	<1.1	<0.001	<2.9
	E5	0.006	8.0	0.004	12.3
	E6 (グルコース)	0.028	38.1	0.011	39.3
	E7	<0.001	0.3	<0.001	<1.2
	E8	0.001	1.3	<0.001	1.6
	E9	0.011	15.3	0.006	21.0
残渣	R1	-	-	-	-
	R2	0.019	26.4	0.007	22.9
	R5 (澱粉)	0.030	41.2	0.012	42.9
	R6	0.001	1.4	0.001	2.0
	R7 (グルコサゾン)	0.017	22.8	0.005	18.3
TRR		0.073	100	0.029	100

-: 測定せず

コクロマトグラフィーにより代謝物の同定を実施したが、エタボキサム (A) 以外の代謝物の同定はできなかった。エタボキサム (A) は代謝分解を経て澱粉の画分に取り込まれたことから、炭水化物の一部として生体成分に取り込まれると推定される。

想定代謝経路；エタボキサムのばれいしょにおける想定代謝経路を図7に示す。

(3) トマトにおける代謝試験

(資料 No.M-05)

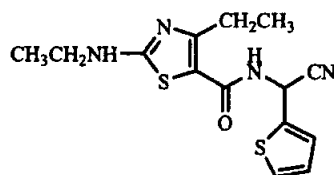
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2004年

[GLP 対応]

供試標識化合物：

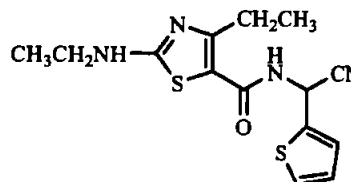
構造式：



* : ^{14}C 放射能標識位置

チアゾール環 ^{14}C 標識エタポキサム

(以下、[Tz- ^{14}C] 標識エタポキサム)



* : ^{14}C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン- ^{14}C 標識エタポキサム

(以下、[Tp- ^{14}C] 標識エタポキサム)

化学名：(RS)-N-(α -シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ^{14}C] 標識エタポキサム	[Tp- ^{14}C] 標識エタポキサム
比放射能		
放射化学的純度		

供試植物：トマト(品種：Monkey maker)

栽培条件および栽培管理；植物を成熟するまで果樹/蔬菜用培養土を入れた 10 インチのプラスチックポットで栽培した。植物は竹製の支柱 (約 5 フィート) で支えた。成熟するまでプラスチック製ポリトンネルで覆った。毎日、点滴注入灌漑システムを用いて灌漑し、必要に応じて、追加散水した。植物に窒素を基にした肥料を施肥した。また、Epsom 塩を散布し、マグネシウムを補った。各標識体にそれぞれ 9 本のトマトを使用した。

方法：

試験液の調製；供試標識化合物を 10%フロアブル剤に調製し、これを所定濃度に希釈し、試験液とした。

処理方法；植物を木製の枠内に置き、枠の側面と底面をプラスチックシートで覆った。被験物質を 200 g ai/ha (慣行圃場施用濃度) の量で散布ガンを用いてトマト果実に散布し、約 2 時間後、シートを取り除き、植物をプラスチック製フィルムトンネル内に再び設置した。また、試験液が直接曝露しないよう、1 本の植物では 3 個の果実の房をポリエチレン袋に入れ保護したトマトへも処理し、果実への被験物質の移行性を調べた。

散布は3回（収穫前37、29、21日）行った。

採取時期；収穫前37、21、18、14および7日、収穫当日に試料を採取した。

薬剤処理と試料採取の関係を以下の表に示す。

	収穫前日数	薬剤処理	試料採取
第1回処理後	(収穫前37日)	○	○
第2回処理後		○	×
第3回処理後	(収穫前21日)	○	○
中間時期(3日)*	(収穫前18日)	×	○
中間時期(7日)*	(収穫前14日)	×	○
中間時期(14日)*	(収穫前7日)	×	○
収穫時(21日)*		×	○

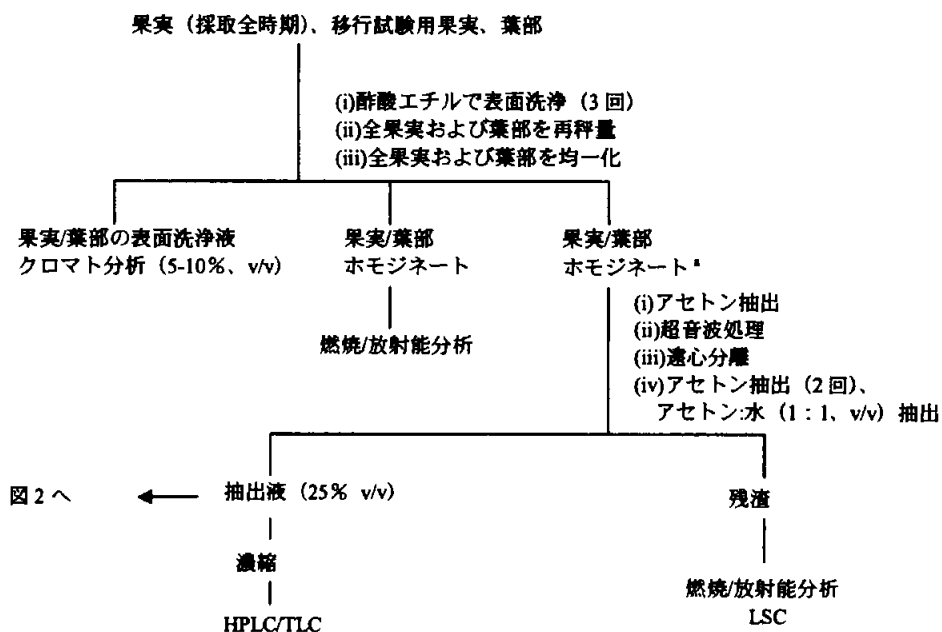
○：薬剤処理および試料採取実施 ×：薬剤処理および試料採取実施せず
*：最終処理からの日数

採取部位および個数；トマトの果実（通常5-8個）試料を第1回および第3回処理後、また、最終処理後3、7および14日目に採取した。収穫時には、各標識体の残りの果実を収穫し、成熟果実を分析に供した。

分析方法；分析法のスキームを図1および図2に示す。

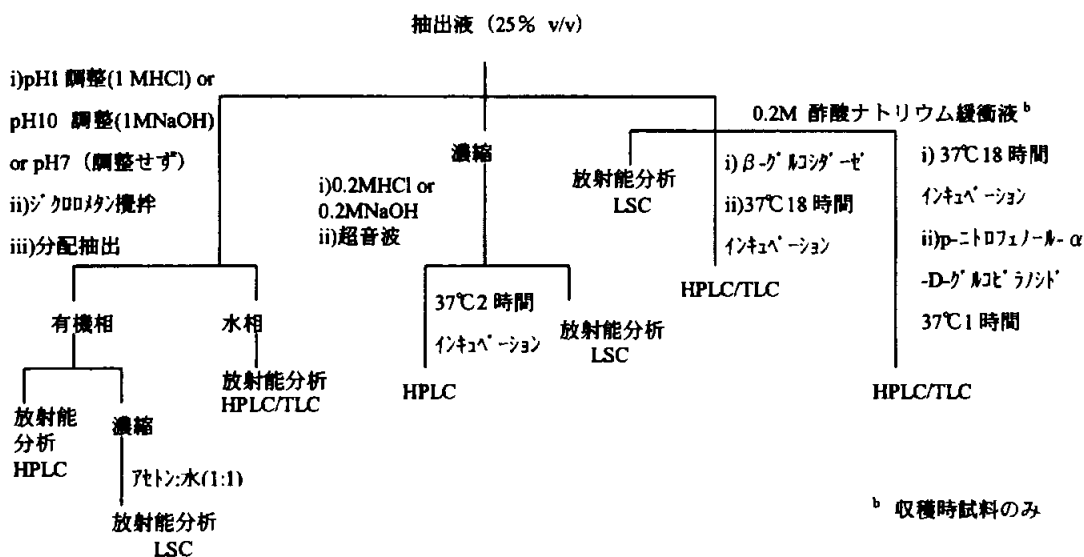
- 1) 葉部試料の放射能測定および残留物の特徴づけ：葉部を酢酸エチルに浸漬（3回）し、表面洗浄し、洗浄液を液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定、残渣は均一化し燃焼処理後、LSCで測定した。
収穫時の試料の表面洗浄液をHPLCで分析した。
- 2) 果実部試料の放射能測定および残留物の特徴づけ：果実を酢酸エチルに浸漬（3回）し、表面洗浄し、洗浄液をLSCで測定した。残渣は均一化し、図1のスキームに従い、得られた抽出液はLSCで、残渣は燃焼処理後LSCで測定した。
また、残留物の特徴付けのために、図1のスキームに従い、得られた表面洗浄液および抽出液をHPLCおよびTLCで分析した。抽出液の一部をpH1、pH7およびpH10に調整し、ジクロロメタンを加えて攪拌混合し、分配抽出後、有機相および水相を分離し、HPLCおよびTLCで分析した。また、収穫時の抽出液の一部をβ-グルコシダーゼとともに37℃で18時間インキュベーションし、HPLCおよびTLCで分析した。さらに、収穫時の抽出液の一部から有機溶媒を留去し、濃縮後に0.2M HClまたは0.2M NaOHを加え、攪拌混合および超音波処理し、37℃で2時間インキュベーション後、中和してHPLCで分析した。
- 3) 茎部および根部試料（収穫時）の試料の総放射能残留量（TRR）の測定：茎部は処理をせず、根部は土壌を除去した後にそれぞれ均一化し、燃焼処理後LSCで測定した。

図1 果実および葉部の分析法



* 移行試験用果実以外

図2 果実抽出物追加処理



^b 収穫時試料のみ

結果：

TRR の分析；全試料の TRR を表 1 に要約した。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区では、果実の TRR は第 1 回処理後に 0.643 ppm であったが、最終散布後 3 日目には 1.32 ppm に増加し、収穫時（最終散布後 21 日目）には 0.399 ppm に減少した。収穫時に採取した葉部、茎部および根部中の TRR は、それぞれ 55.2 ppm、6.85 ppm および 0.700 ppm であった。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理試料では、果実の TRR は第 1 回処理後に 0.514 ppm であったが、最終散布後 3 日目には 1.47 ppm に増加し、収穫時には 0.685 ppm に減少した。収穫時に採取した葉部、茎部および根部中の TRR は、それぞれ 54.6ppm、5.30 ppm および 1.06ppm であった。
保護果実の TRR は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムについて、それぞれ 0.053 および 0.016 ppm であり、移行量は少なかった。

表 1 各試料の総放射能残留量 (ppm)

試料	試料採取時期	[Tz- ¹⁴ C]標識 エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタポキサム
果実	1 回目処理	0.643	0.514
	3 回目処理	0.987	1.06
	DALA 3 日目	1.32	1.47
	DALA 7 日目	1.13	0.956
	DALA 14 日目	1.08	1.28
	収穫時	0.399	0.685
果実 (保護試料)	収穫時	0.053	0.016
葉部	収穫時	55.2	54.6
茎部	収穫時	6.85	5.30
根部	収穫時	0.700	1.06

DALA : 最終処理日からの日数

果実表面洗浄液および果実ホモジネートにおける放射能分布：結果を表 2 に示す。[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区ともに、収穫時以前は表面洗浄液に高い割合の放射能が認められた。

果実ホモジネート抽出液および残渣における放射能分布：各試料採取時期に、図 1 に示した操作後の果実ホモジネート抽出液および残渣の放射能を表 2 および表 3 に示す。

[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区では、抽出放射能は、第 1 回処理時に TRR の 13.6% (0.087ppm) から収穫時に TRR の 71.0% (0.283 ppm) に増加した。残渣は、TRR の 1.2-7.3% (0.008-0.032 ppm) の範囲であった。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区においても、抽出放射能は、第 1 回処理時に TRR の 14.3% (0.074ppm) から収穫時に TRR の 57.5% (0.394 ppm) に増加した。非抽出性放射能 (残渣) は 0.9-6.2% (0.005-0.042 ppm) の範囲であった。

代謝；

果実ホモジネート中の放射能成分：図 1 に従って抽出した結果を[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区に分けて、それぞれ表 2 および表 3 に示す。[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区では、表面洗浄液およびホモジネート抽出液中の親化合物の割合は、1 回処理後 TRR の 96.9% (0.623 ppm) から収穫時 TRR の 49.2% (0.196 ppm) に減少した。主極性画分 TzFl は、第 1 回処理 TRR の <0.2% (<0.001 ppm) から収穫時には TRR の 17.4% (0.069 ppm) に増加した。収穫時の他のすべての

成分（最大で17成分）は0.6-3.0%（0.002-0.012 ppm）の範囲であった。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区では、エタポキサム(A)は1回処理後TRRの97.0%（0.499 ppm）から収穫時TRRの57.7%（0.395 ppm）に減少した。主極性画分TpF1は、第1回処理TRRの<0.5%（<0.003 ppm）から収穫時TRRの10.3%（0.071 ppm）に増加した。また、TpF3は1回処理後TRRの<0.5%（<0.003 ppm）から収穫時TRRの3.9%（0.027 ppm）に増加した。収穫時の他のすべての成分（最大で15成分）はTRRの0.2-3.2%（0.001-0.022 ppm）であった。

表2 [Tz-¹⁴C] エタポキサム処理区の果実表面洗浄液および果実ホモジネート中の放射能分布

試料	試料採取時期											
	1回処理		3回処理		DALA 3		DALA 7		DALA 14		収穫時	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
ホモジネート	0.095	14.8	0.180	18.2	0.210	15.9	0.242	21.4	0.251	23.2	0.312	78.3
洗浄液	0.548	85.2	0.807	81.8	1.11	84.1	0.888	78.6	0.829	76.8	0.087	21.7
抽出 ^a	0.087	13.6	0.148	15.0	0.185	14.0	0.221	19.6	0.232	21.5	0.283	71.0
抽出合計	0.635	98.8	0.955	96.8	1.29	98.1	1.11	98.2	1.06	98.3	0.370	92.7
エタポキサム(A)	0.623	96.9	0.884	89.6	0.849	64.3	0.623	55.1	0.694	64.3	0.196	49.2
TzF1 ^b	<0.001	<0.2	0.014	1.4	0.073	5.5	0.078	6.9	0.110	10.2	0.069	17.4
他代謝物の 最大量 \leq	0.003	0.5	0.008	0.8	0.032	2.4	0.047	4.2	0.032	3.0	0.012	3.0
抽出性残渣	0.008	1.2	0.032	3.2	0.025	1.9	0.020	1.8	0.018	1.7	0.029	7.3
他代謝物数	[4]		[12]		[25]		[25]		[25]		[17]	

DALA：最終処理日からの日数^a：アセトン/水の混合溶媒による抽出

^b：収穫時、それぞれ \leq 4.7%TRR（0.019ppm）の6成分が含まれていた

表3 [Tp-¹⁴C] エタポキサム処理区の果実表面洗浄液および果実ホモジネート中の放射能分布

試料	試料採取時期											
	1回処理		3回処理		DALA 3		DALA 7		DALA 14		収穫時	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
ホモジネート	0.078	15.2	0.173	16.3	0.219	14.9	0.206	21.5	0.288	22.5	0.436	63.7
洗浄液	0.436	84.8	0.887	83.7	1.25	85.1	0.750	78.5	0.992	77.5	0.249	36.3
抽出 ^a	0.074	14.3	0.144	13.6	0.197	13.4	0.197	20.6	0.259	20.2	0.394	57.5
抽出合計	0.509	99.1	1.03	97.3	1.45	98.5	0.947	99.1	1.25	97.7	0.643	93.8
エタポキサム(A)	0.499	97.0	0.962	90.8	0.920	62.6	0.591	61.8	0.764	59.7	0.395	57.7
TpF3	<0.003	<0.5	0.007	0.7	0.050	3.4	0.020	2.1	0.045	3.5	0.027	3.9
(LGC-35523(G))	<0.003	<0.5	0.008	0.8	0.043	2.9	0.075	7.8	0.090	7.0	0.071	10.3
TpF1 ^b	<0.003	<0.5	0.008	0.8	0.043	2.9	0.075	7.8	0.090	7.0	0.071	10.3
他代謝物の 最大量 \leq	0.005	0.9	0.011	1.0	0.103	7.0	0.032	3.3	0.042	3.3	0.022	3.2
抽出性残渣	0.005	0.9	0.029	2.7	0.022	1.5	0.009	0.9	0.029	2.3	0.042	6.2
他代謝物数	[2]		[4]		[17]		[11]		[23]		[15]	

DALA：最終処理日からの日数^a：アセトン/水の混合溶媒による抽出

^b：収穫時、各成分 \leq 4.3%TRR（0.030ppm）である3成分が含まれていた

収穫時の葉中表面洗浄液、抽出液および残渣における放射能分布：結果を表4に示す。[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区ともに類似の傾向を示し、表面洗浄液に高い割合の放射能が認められた。

表4 葉中（収穫時）の放射能分布

試料	[Tz- ¹⁴ C]標識 エタボキサム		[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
表面洗浄液	37.5	68.0	36.1	66.1
抽出液	14.2	25.8	13.4	24.6
残渣	3.42	6.2	5.08	9.3
TRR (ppm)	55.2		54.6	

収穫時の葉部における放射能成分（表5）：両標識体において検出された主成分はエタボキサム（A）であった。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区では、表面洗浄液、抽出画分および合計は、それぞれ TRR の 48.7% (26.9 ppm)、11.4% (6.29 ppm) および 60.1% (33.2 ppm) であった。他の成分（最大で 26 成分）は 0.2-4.5% (0.11-2.48%) の範囲であった。

[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区では、表面洗浄液、抽出画分および合計は、それぞれ TRR の 35.3% (19.3 ppm)、10.1% (5.51 ppm) および 45.4% (24.8 ppm) であった。他の成分（最大で 30 成分）は 0.3-6.2% (0.16-3.39 ppm) の範囲で認められた。

表5 葉中の放射能成分（収穫時）

試料	標識位置	表面洗浄液		抽出画分		合計	
		ppm	TRR	ppm	TRR	ppm	TRR
抽出放射能	[Tz- ¹⁴ C]	37.5	68.0	14.2	25.8	51.8	93.8
	[Tp- ¹⁴ C]	36.1	66.1	13.4	24.6	49.5	90.7
エタボキサム (A)	[Tz- ¹⁴ C]	26.9	48.7	6.29	11.4	33.2	60.1
	[Tp- ¹⁴ C]	19.3	35.3	5.51	10.1	24.8	45.4
TzL1/TpL1	[Tz- ¹⁴ C]	0.33	0.6	2.15	3.9	2.48	4.5
	[Tp- ¹⁴ C]	0.16	0.3	1.64	3.0	1.80	3.3
他代謝物の 最大量≤	[Tz- ¹⁴ C]	1.82	3.3	0.77	1.4	2.38	4.3
	[Tp- ¹⁴ C]	2.89	5.3	1.15	2.1	3.39	6.2
抽出性残渣	[Tz- ¹⁴ C]	-	-	-	-	3.42	6.2
	[Tp- ¹⁴ C]	-	-	-	-	5.08	9.3
TRR(ppm)	[Tz- ¹⁴ C]	55.2					
	[Tp- ¹⁴ C]	54.6					

-: 測定値なし

果実抽出物追加処理後の放射能分布：抽出液の一部を、図2に従いβ-グルコシダーゼとともに37℃で18時間インキュベーション、0.2 M HCl または 0.2 M NaOH を加えて37℃で2時間加水分解、および pH 1、pH 7 および pH 10 で分配抽出した。各処理前後における有機相、主代謝物 TzF1/TpF1 およびエタボキサム(A)のTRRに対する割合を、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区について、それぞれ

表 6 および表 7 に示す。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区における TzF1/ TpF1 画分の放射能は、それぞれ酵素処理前の TRR の 17.1%および 10.1%から処理後に TRR の 14.8%および 9.3%に減少した。その他の成分は、酵素処理の影響を受けなかった。

両標識体とも酸/塩基による加水分解処理後において、放射能成分量にほとんど影響は認められなかった。

酸性、中性および塩基性条件下における果実抽出液の分配処理において、両標識体とも有機相と水相への分配は類似傾向を示した。主成分であるエタボキサム (A) は、ほとんど有機相から検出された。

HPLC および TLC コクロマトグラフィーにより、エタボキサム (TzF24/TpF24) (A) および LGC-35523 (TpF3) (G) が同定出来た。

表 6 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区の各処理後の放射能分布

処理操作	分析時期	有機相		TzF1		エタボキサム (A) (TzF24)	
		ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
酵素処理	処理前	0.283	71.0	0.068	17.1	0.120	30.0
	処理後	0.283	71.0	0.059	14.8	0.138	34.5
	対照区	0.283	71.0	0.076	19.0	0.150	37.7
緩やかな加水分解 (0.1M HCl)	処理前	0.283	71.0	0.068	17.1	0.120	30.0
	処理後	0.283	71.0	0.071	17.7	0.122	30.7
緩やかな加水分解 (0.1M NaOH)	処理前	0.283	71.0	0.068	17.1	0.120	30.0
	処理後	0.283	71.0	0.059	14.7	0.059	14.7
pH1	処理前	0.283	71.0	0.068	17.1	0.120	30.0
	有機相	0.142	35.7	0.002	0.6	0.138	34.7
	水相	0.141	35.3	0.057	14.2	0.005	1.2
pH7	処理前	0.283	71.0	0.068	17.1	0.120	30.0
	有機相	0.150	37.6	0.002	0.6	0.138	34.7
	水相	0.133	33.4	0.026	6.6	0.002	0.4
pH10	処理前	0.283	71.0	0.068	17.1	0.120	30.0
	有機相	0.136	34.2	0.004	0.9	0.130	32.7
	水相	0.147	36.8	0.079	19.7	<0.002	<0.4
TRR (ppm)	0.399						

表7 [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区の各処理後の放射能分布

処理操作	分析 時期	有機相		TpF1		LGC-35523 (G) (TpF3)		エタボキサム (A) (TpF24)	
		ppm	%TRR	ppm	%TR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
酵素処理	処理前	0.394	57.5	0.069	10.1	0.023	3.4	0.177	25.9
	処理後	0.394	57.5	0.064	9.3	0.042	6.2	0.184	26.9
	対照区	0.394	57.5	0.055	8.1	0.051	7.5	0.190	27.8
緩やかな加水分解 (0.1M HCl)	処理前	0.394	57.5	0.069	10.1	0.023	3.4	0.177	25.9
	処理後	0.394	57.5	0.058	8.5	0.034	5.0	0.151	22.0
緩やかな加水分解 (0.1M NaOH)	処理前	0.394	57.5	0.069	10.1	0.023	3.4	0.177	25.9
	処理後	0.394	57.5	0.084	12.2	0.025	3.7	0.087	12.7
pH1	処理前	0.394	57.5	0.069 ^a	10.1 ^a	0.023	3.4	0.177	25.9
	有機相	0.224	32.7	0.004	0.6	<0.001	<0.2	0.194	28.3
	水相	0.170	24.8	0.023	3.4	0.020	2.9	0.006	0.9
pH7	処理前	0.394	57.5	0.069 ^a	10.1 ^a	0.023	3.4	0.177	25.9
	有機相	0.203	29.7	<0.001	<0.2	<0.001	<0.2	0.186	27.2
	水相	0.190	27.8	0.036 ^a	5.3 ^a	0.052	7.6	0.003	0.4
pH10	処理前	0.394	57.5	0.069 ^a	10.1 ^a	0.023	3.4	0.177	25.9
	有機相	0.188	27.4	<0.001	<0.2	<0.001	<0.2	0.181	26.4
	水相	0.206	30.1	0.010	1.4	0.027	4.0	0.002	0.3
TRR (ppm)	0.685								

^a: TpF1 および TpF1A の2成分に HPLC で分離したが、両方の合算値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

想定代謝経路：以上の結果より、極性画分からエタボキサムの環切断による α -ケトカルボン酸である LGC-35523 (G) が認められた。

推定されるエタボキサムのトマトにおける想定代謝経路を図 3 に示す。

3. 土壌運命に関する試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

(資料 M-06)

試験省略

試験省略理由: 水田において使用されないため試験省略

(2) 好氣的土壤代謝試験 (分解経路)

(資料 No.M-07)

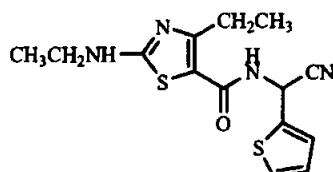
試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年: 2002年

[GLP 対応]

供試標識化合物:

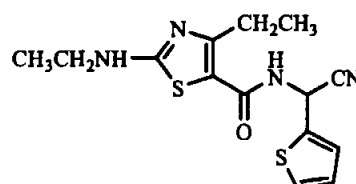
構造式:



*: ¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)



*: ¹⁴C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン-¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名: (RS)-N-(α-シアノ-2-チニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度: 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
比放射能		
放射化学的純度		

供試土壌: 砂壤土 (11 Acre)

供試土壌の特性およびバイオマス測定結果を表1に示す。

表1 土壌の特性およびバイオマス測定結果

土壌の名称	11 Acre
採取地	LandLook, leamington Spa, Warwickshire, UK
土性分類	砂壤土*
有機炭素量(%)	2.0
有機物量(%) ^b	3.4
陽イオン交換容量(mEq/100g) ^a	30.3
pH (1:5) (水) ^a	6.0
pH (1:5) (0.01 M CaCl ₂) ^a	6.0
含水量(乾燥重量%) ^a	16.1
最大容水量(%)	53.8
水分張力(pF 2.0, %) ^a	18.5
水分張力(pF 2.5, %) ^a	14.8
水分張力(pF 4.2, %) ^a	14.5
バイオマス(μgC/g)	
被験物質処理 0 日	381
被験物質処理 139 日	246
被験物質処理 222 日	226

^a: Soil Survey and Land Research Centre, Cranfield University, Silsoe, Bedford, UK
において別の GLP-適合試験として実施した

^b: 有機物 (%) = 有機炭素 (%) x 1.72 *: USDA および SEEW による分類

方法：

土壌の調整；土壌は採取後、2 mm の篩を通し、水分張力を pF 2 に調整後、被験物質処理前に 20℃±2℃の暗所で 2 週間順化した。

処理溶液の調製；供試標識化合物のアセトン濃縮溶液を HPLC 用水で希釈し、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理液を調製した。それぞれ 35.2 μg/mL および 38.4 μg/mL の濃度であった。

被験物質の処理方法；供試標識化合物を約 0.33 mg/kg（土壌乾重量あたり）の濃度を、シリンジを用いて出来るだけ均一に土壌表面に処理した。この処理量は約 250 g ai/ha の実用濃度に相当した。被験物質が土壌に取り込まれるよう土壌を静かに混合した。この実用濃度のバイオマス測定用土壌については、非標識被験物質を同様に処理した。

土壌のインキュベーション；試験土壌に被験物質を処理し混合した後に、試験系に連結し、20℃の暗所でインキュベーションを開始した。試験系は、空気の加湿用水瓶、試験土壌容器、逆流防止用空容器、揮発性有機化合物捕集用容器（エチレンジゴール入り）および二連の¹⁴CO₂捕集用容器（1M 水酸化カリウムおよびフェノールフタレイン指示薬入り）を直列に連結させて設定した。

試料採取時期(表 2)；放射能分析用土壌試料は、被験物質処理直後（ゼロ時）および 12 時間、1、2、3、7、14、30、61、120 および 180 日後に採取した。捕集溶液は土壌試料採取時期（ゼロ時および 12 時間後を除く）に採取し、さらに、45 日までは約 1 週間間隔で、その後は約 2 週間間隔で採取した。なお、バイオマス測定試料は被験物質処理時、139 日目およびインキュベート終了時の 222 日目に採取し、基質誘導呼吸法により測定し、その結果を表 1 に記載した。

揮発性放射能の測定；捕集液中放射能は、捕集溶液の一部を LSC で測定した。また、水酸化カリウムに捕集された放射能については、炭酸ナトリウムおよび塩化バリウムにより二酸化炭素であることを確認した。

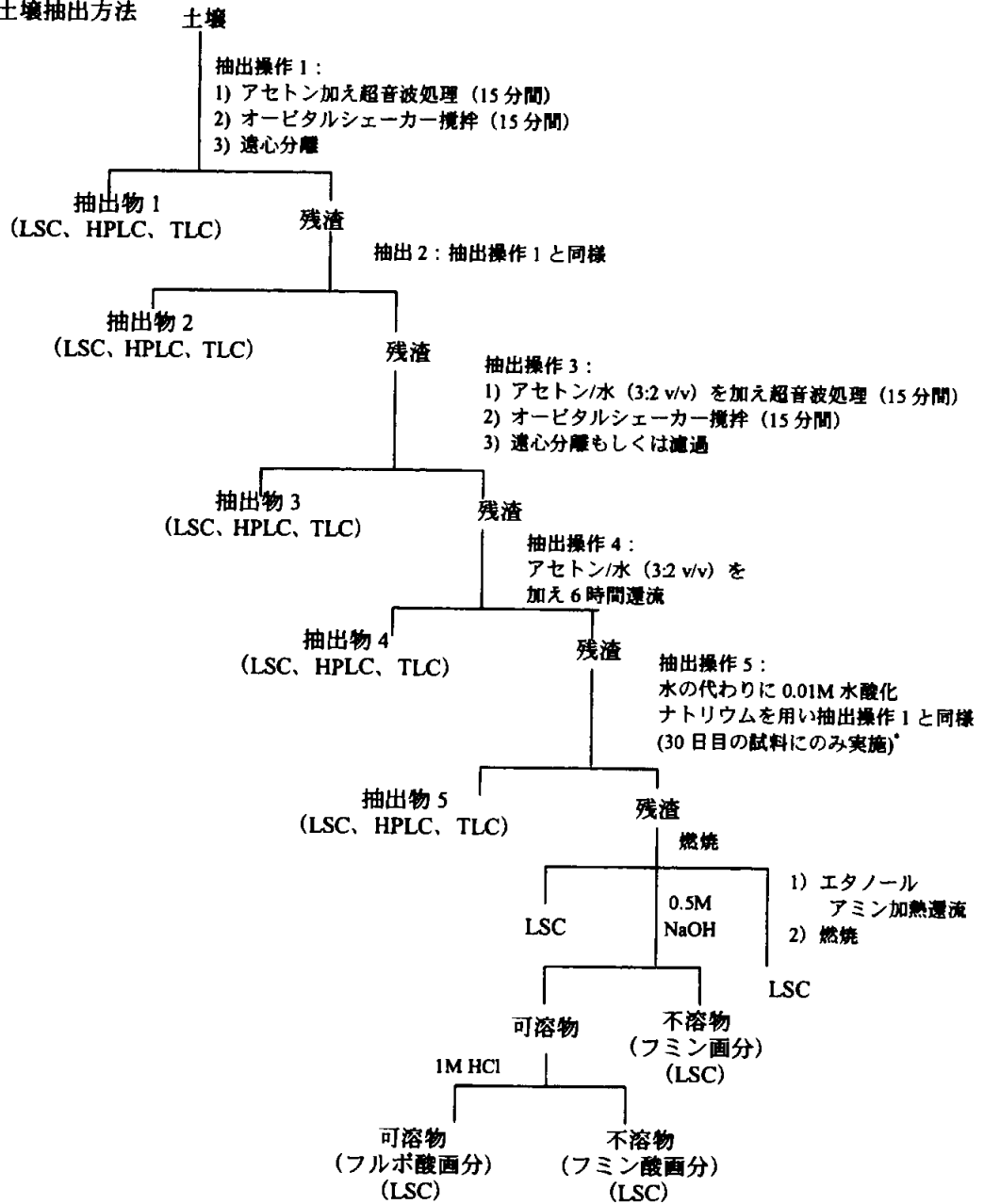
抽出放射能および抽出残渣の放射能測定および分析（図 1）；各土壌試料の土壌中放射能を抽出し、抽出物中の放射能を液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。抽出残渣中の放射能は、風乾後、一部を燃焼後 LSC 測定した。さらに残りの抽出残渣は、エタノールアミンを用いて 6 時間加熱還流し、その一部を燃焼後 LSC 測定した。土壌抽出物中の親化合物および代謝物は、HPLC で同定および定量し、また、TLC を用いて標準物質とのクロマトグラフィーにより同定した。

抽出残渣（非抽出性残渣）の特徴付け；処理後 14 日、61 日および 120 日試料の土壌抽出残

渣については、フミン、フルボ酸およびフミン酸に画分し、それぞれの放射能を LSC で測定した。

DT₅₀ および DT₉₀ 値; 一次速度式およびコンピュータ (二相性指数関数法) によって算出した。

図1 土壤抽出方法



*: <5%以下の放射能しか抽出されなかったため、それ以降の試料は本抽出を行わなかった

結果：

放射能回収率（表2および表3）： [Tz-¹⁴C] および[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理土壌からの放射能回収率はそれぞれ処理量の90.8~105%および89.5~102%であった。

[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区の土壌における抽出放射能は、処理量に対してゼロ時103%から7日後の43.8%に速やかに減少し、その後、180日までに9.3%に減少した。非抽出性放射能は、処理量に対してゼロ時2.2%であったが、30日までに49.8%まで増加した。二酸化炭素は、12時間以降検出され、180日に処理量の最大34.8%に達した。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区の土壌における抽出放射能は、処理量に対してゼロ時100%から7日後の41.4%に速やかに減少し、その後、180日までに6.1%に減少した。非抽出性放射能は、処理量に対してゼロ時2.2%であったが、30日までに36.9%まで経時的に増加し、その後、180日までに、30.3%に減少した。二酸化炭素の発生は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理土壌より多く、180日目の試料で処理量の61.1%であった。

表2 [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理土壌の放射能回収率(処理放射能に対する割合、%)

処理後 経過日数 (日)	抽出画分			総 抽出物	抽出 残渣	揮発性物質		総回 収率
	抽出物 1-3 ^a	抽出物 4 ^b	抽出物 5 ^c			有機性 ^d	CO ₂	
0	103	ns	ns	103	2.2	ns	ns	105
0.5	81.9	3.8	ns	85.7	7.2	nd	0.3	93.2
1	75.1	7.5	ns	82.6	11.5	nd	0.8	94.9
2	66.0	6.5	ns	72.5	20.0	nd	2.2	94.7
3	45.6	9.6	ns	55.2	38.5	nd	4.3	98.0
7	35.0	8.8	ns	43.8	39.0	nd	8.0	90.8
14	27.8	9.2	ns	37.0	44.1	nd	12.3	93.4
30	14.3	8.1	4.1	26.5	49.8	nd	19.0	95.3
61	9.3	6.8	ns	16.1	54.4	nd	25.7	96.2
120	5.2	6.5	ns	11.7	53.2	nd	31.5	96.4
180	4.3	5.0	ns	9.3	54.8	0.3	34.8	99.2

ns：試料なし nd：検出されず（バックグラウンド値の2倍以下）

^a：抽出物1-3（アセトン：水、常温）、^b：抽出物4（アセトン：水、還流）、^c：抽出物5（0.01M水酸化ナトリウム）、^d：有機性揮発物質はエチルジゴール抽出物

表3 [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理土壌の放射能回収率(処理放射能に対する割合、%)

処理後 経過日数 (日)	抽出画分			総 抽出物	抽出 残渣	揮発性物質		総回 収率
	抽出物 1-3 ^a	抽出物 4 ^b	抽出物 5 ^c			有機性 ^d	CO ₂	
0	100	ns	ns	100	2.2	ns	ns	102
0.5	82.3	4.0	ns	86.3	7.0	nd	1.1	94.4
1	72.5	6.3	ns	78.8	13.7	nd	2.4	94.9
2	54.9	7.5	ns	62.4	21.0	nd	6.1	89.5
3	50.1	8.8	ns	58.9	22.9	nd	9.6	91.4
7	33.3	8.1	ns	41.4	33.6	nd	19.1	94.1
14	23.1	8.0	ns	31.1	31.7	nd	28.6	91.4
30	12.1	6.5	2.3	20.9	36.9	nd	38.6	96.4
61	7.2	4.7	ns	11.9	29.6	nd	50.1	91.6
120	5.5	4.1	ns	9.6	29.8	nd	55.4	94.8
180	3.0	3.1	ns	6.1	30.3	nd	61.1	97.5

ns：試料なし nd：検出されず（バックグラウンド値の2倍以下）

^a：抽出物1-3（アセトン：水、常温）、^b：抽出物4（アセトン：水、還流）、^c：抽出物5（0.01M水酸化ナトリウム）、^d：有機性揮発物質はエチルジゴール抽出物

非抽出性放射能 (表4) ; インキュベーション 14 日、61 日および 120 日目に土壌の抽出残渣を酸塩基処理し、結合残留物をフルボ酸、フミンおよびフミン酸に分画した。

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理土壌では、放射能の大部分はフミンに結合していた (処理量の 21.6~26.6%)。フルボ酸およびフミン酸への分配は、それぞれ処理量の 11.1~15.2%および 6.4~17.7%であった。

[Tp-¹⁴C] を処理した土壌では、放射能の大部分はフミンに結合していた (処理量の 11.5~15.0%)。フルボ酸およびフミン酸への分配は、それぞれ処理量の 9.9~10.3%および 6.5~8.0%であった。各分画の放射能の相対的割合に経時的な変化はみられなかった。

表4 非抽出性土壌結合残留物の分画 (処理放射能に対する割合、%)

画分	標識体					
	[Tz- ¹⁴ C]			[Tp- ¹⁴ C]		
	処理後経過日数 (日)			処理後経過日数 (日)		
	14	61	120	14	61	120
フミン	26.6	21.6	25.9	15.0	12.6	11.5
フルボ酸	11.1	15.2	12.6	10.3	9.9	10.3
フミン酸	6.4	17.7	14.8	6.5	7.0	8.0
計*	44.1	54.4	53.2	31.7	29.6	29.8

*: 表3および4の抽出残渣値として示す。

親化合物および代謝物の分析 (表5および表6) ; 土壌抽出物を HPLC により分析した。

エタボキサム (A) はインキュベーションの時間とともに減少した。代謝物 LGC-32533 (I) が [Tz-¹⁴C] および [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区の 2 日目の試料に、それぞれ最大で処理量の 5.2% および 4.2% 認められた。LGC-32525 (H) も両標識体処理土壌から処理量の <1.4% 検出された。他の放射性成分はどの試料採取時においても処理量の 5.8% を超えることはなかった。エタボキサム、代謝物 LGC-32533 (I) および LGC-32525 (H) は、TLC によっても同定された。

表5 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理土壌の放射性成分の定量 (処理放射能に対する割合、%)

放射性成分	保持時間	処理後経過時間 (日)									
		0	0.5	1	2	3	7	14	30	61	120
TZS1	3-6	0.4	0.7	1.4	3.9	2.8	2.7	3.7	3.7	3.0	3.2
TZS2	10-11	<0.1	0.5	1.2	2.0	1.9	2.5	2.4	1.6	1.1	0.6
TZS3	18-20	0.9	1.6	2.6	4.8	2.2	2.7	1.3	2.0	0.9	0.7
LGC-32525 (H)	23-24	0.4	0.3	0.7	0.9	0.9	0.9	0.9	0.7	<0.3	<0.1
TZS5	26-27	0.4	1.7	3.0	2.9	3.4	3.9	3.7	2.5	1.4	1.1
LGC-32533 (I)	27-28	0.4	1.1	2.0	5.2	3.6	3.2	3.4	2.4	1.7	1.3
TZS7	30-31	<0.1	0.8	1.4	2.0	2.2	2.1	2.0	1.3	0.6	0.4
エタボキサム (A)	34-36	98.2	73.3	63.2	41.7	28.0	15.9	14.1	5.7	4.1	1.4
TZS9	37-38	0.3	2.0	2.3	3.2	3.8	3.1	1.7	1.0	0.3	<0.1
TZS10	42-44	1.0	3.7	4.4	5.3	3.8	3.9	2.8	2.0	1.5	0.8
その他*	—	0.9	<0.3	0.4	0.6	2.6	2.9	1.0	3.8	1.3	2.2

*: 上記の保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分
180 日目は抽出放射能が処理量の 10% 未満であったため分析せず

表6 [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理土壌の放射性成分の定量
(処理放射能に対する割合、%)

放射性成分	保持時間	処理後経過時間 (日)									
		0	1.5	1	2	3	7	14	30	61	120
TPS1	3-4	0.9	<0.3	0.5	0.8	0.5	0.5	1.0	0.8	0.6	1.7
TPS2	6-7	<0.1	0.3	0.6	1.6	1.4	1.6	1.4	1.2	1.2	0.8
TPS3	13-14	<0.3	<0.2	<0.3	0.5	<0.3	0.5	0.5	0.4	<0.4	<0.3
TPS4	19-20	1.0	1.9	3.3	3.7	2.3	2.2	1.5	1.3	1.0	0.9
LGC-32525 (H)	23-24	<0.3	0.4	0.8	1.0	0.8	1.4	1.1	0.4	<0.4	0.3
TPS6	25-26	0.4	1.4	2.1	2.9	3.5	3.3	3.0	3.1	1.6	1.2
LGC-32533 (I)	27-28	0.3	1.5	2.6	4.2	3.4	2.2	2.6	2.7	1.8	1.4
TPS8	30-31	0.4	0.9	1.3	2.2	2.2	2.3	1.9	1.4	0.5	0.4
エタボキサム (A)	34-36	94.1	74.2	58.8	34.1	36.2	17.9	11.8	6.3	4.9	1.8
TPS10	38-39	0.5	1.7	2.8	3.7	3.5	2.9	1.9	0.7	<0.4	<0.3
TPS11	41-44	1.2	3.7	5.8	5.0	5.0	5.6	3.9	2.5	0.5	0.8
その他*	—	0.9	<0.3	<0.2	2.8	<0.2	0.9	0.6	<0.3	<0.4	<0.3

*: 上記の保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分
180日目は抽出放射能が処理量の10%未満であったため分析せず

DT₅₀およびDT₉₀ (表7); 土壌中のエタボキサム残留量を、時間に対する片対数でプロットした結果、DT₅₀ (0日および2日目を含むデータより算出) は1.5日で、DT₉₀は5日であった。また、二相性指数関数法を適用して、コンピューターでDT₅₀およびDT₉₀を算出したところ、それぞれ、1.8および26.8日であった。

表7 11 Acre 土壌中におけるエタボキサムのDT₅₀ およびDT₉₀

試験系	一次速度式*		二相性指数関数法	
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
11 Acre	1.5	5	1.8	26.8

*: 相関係数: r²=0.9732

土壌中における想定分解経路:

推定されるエタボキサム (A) の想定分解経路を図2に示す。エタボキサム (A) は加水分解により LGC-32533 (I) および LGC-32525 (H) に分解した。エタボキサム (A) の両標識体は二酸化炭素に無機化された。両標識体に共通の種々の代謝物が検出されたが、処理量の5.8%を超えるものはなかった。これらの代謝物は無機化による二酸化炭素への変換経路の中間体と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

(3) 三種類の土壌中における好氣的分解速度

(資料 No.M-08)

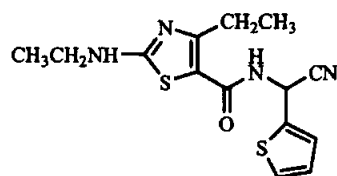
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2003年 [GLP 対応]

試験目的：好氣的土壌代謝試験(資料 No.M-07)で用いた土壌に加え、3種類の土壌を用いて被験物質の好氣的分解速度を検討する

供試標識化合物：

構造式：



* : ¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名：(RS)-N-(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度： 以下に表示する。

供試土壌：砂壤土、埴壤土砂質、シルト質埴土

土壌の特性およびバイオマス測定結果を表1に示す。

表1 土壌の特性およびバイオマス測定結果

土壌名		Bromsgrove	Evesham3	Sheringham
採取地		Stoneleigh, Warwickshire, UK	Alconbury, Cambridgeshire, UK	West Beckham, Holt, Norfolk, UK
土性分類	SSEW USDA	砂壤土 砂壤土	埴壤土 埴壤土	砂質シルト質埴土 埴土
有機炭素 (%)		0.9	2.0	1.1
有機物 (%) ^b		1.5	3.4	1.9
陽イオン交換容量 (mEq/100 g) ^a		16.7	34.0	21.0
pH (1:5) /水 ^a		5.9	6.7	6.4
pH (1:5) /0.01M CaCl ₂ ^a		4.6	6.4	5.9
水分張力 (pF 2, %) ^a		19.0 (17.8) ^c	35.3 (35.0) ^c	22.7 (27.1) ^c
バイオマス (μgC/g)				
被験物質処理 0 日		91.57	310.77	116.77(20°C) 、 274.37(10°C)
被験物質処理 120 日		70.37	229.57	194.37(20°C) 、 150.77(10°C)

^a : Soil Survey and Land Research Centre, Cranfield University, Silsoe, Bedford, UK において別の GLP 試験として実施した

^b : 有機物 (%) = 有機炭素 (%) x 1.72

^c : () 内の数値は pF 2 に含水量を維持するために添加する水量を算出するときに使用した値

方法：

土壌の調整；土壌は採取後、使用前に 2 mm の篩を通し、土壌の水分張力を pF 2 に調整後、被験物質処理前に 20℃±2℃あるいは 10℃±2℃の暗所で 1 週間順化した。

処理溶液の調製； 標識化合物のアセトン濃縮溶液を HPLC 用水で希釈し、[Tz-¹⁴C]標識エタボキサム処理液を調製した。33.9 µg/mL の濃度であった。

被験物質の処理方法； 供試標識化合物を約 0.33 mg/kg（土壌乾重量あたり）の濃度を、シリンジを用いて出来るだけ均一に土壌表面に処理した。この処理量は約 250 g ai/ha の実用濃度に相当した。被験物質が土壌に取り込まれるよう土壌を静かに混合した。この実用濃度のバイオマス測定用土壌については、非標識被験物質を同様に処理した。

土壌のインキュベーション；試験土壌に被験物質を処理し混合した後に、試験系に連結し、20℃あるいは 10℃の暗所でインキュベーションを開始した。試験系は、空気に加湿用水瓶、試験土壌容器、逆流防止用空容器、2 連の ¹⁴CO₂ 捕集用容器（1M 水酸化カリウムおよびフェノールフタレイン指示薬入り）を直列に連結させて設定した。

試料採取時期（表 2）；放射能分析用土壌試料は、被験物質処理直後（ゼロ時）および 12 時間、1、2、3、7、14、30、59 および 120 日後に採取した。捕集溶液は土壌試料採取時期（ゼロ時および 12 時間後を除く）に採取し、さらに、43 日までは約 1 週間間隔で、その後は約 2 週間間隔で採取した。なお、バイオマス測定試料は被験物質処理時およびインキュベート終了時の 120 日目に採取し、基質誘導呼吸法により測定し、その結果を表 1 に記載した。

表 2 試料採取時期

採取時期（日）	0	0.5	1	2	3	7	14	30	59	120
抽出性放射能	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
非抽出性放射能						○				○
CO ₂	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

○：採取

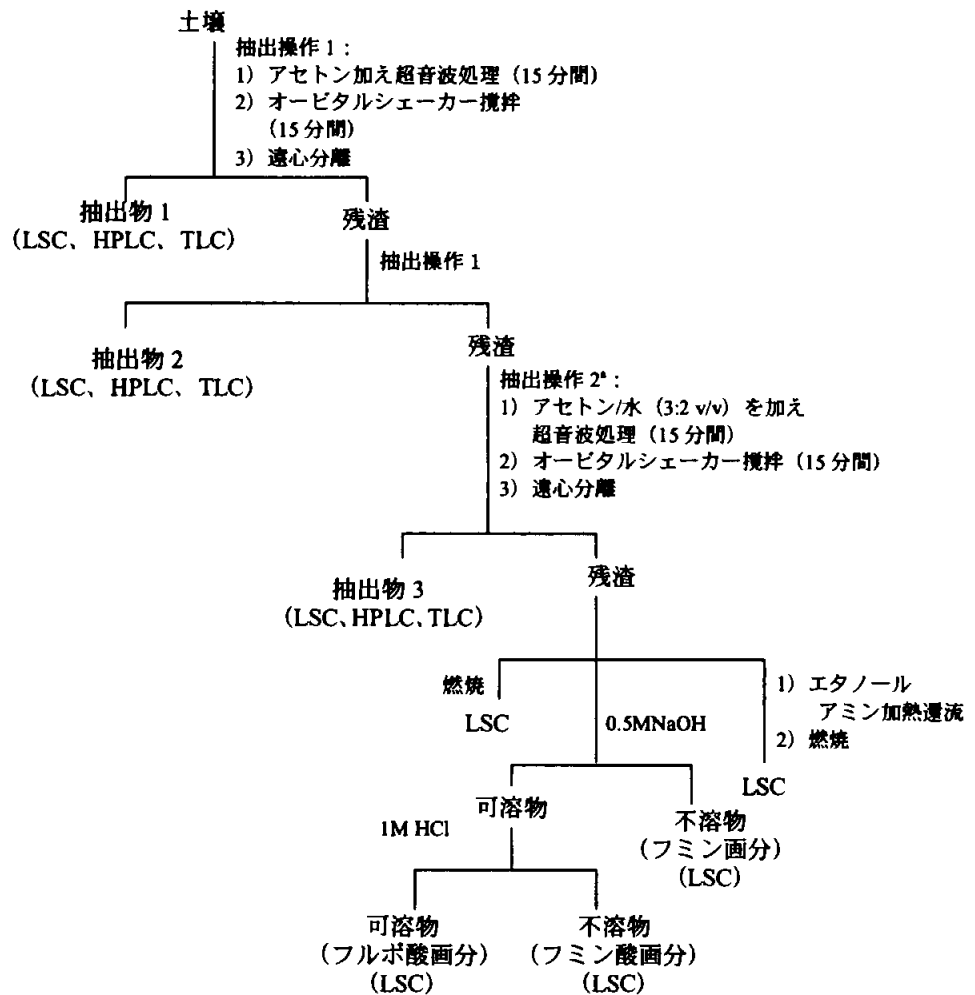
揮発性放射能の測定；捕集液中放射能は、捕集溶液の一部を LSC で測定した。また、水酸化カリウムに捕集された放射能については、炭酸ナトリウムおよび塩化バリウムにより二酸化炭素であることを確認した。

抽出放射能および抽出残渣の放射能測定および分析（図 1）；各土壌試料の土壌中放射能を抽出し、抽出物中の放射能を液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。抽出残渣中の放射能は、風乾後、一部を燃焼後 LSC 測定した。さらに残りの抽出残渣は、エタノールアミンを用いて 6 時間加熱還流し、その一部を燃焼後 LSC 測定した。土壌抽出物中の親化合物および代謝物は、HPLC で同定および定量し、また、TLC を用いて標準物質とのクロマトグラフィーにより同定した。

抽出残渣の特徴付け；処理後7日および120日試料の土壤抽出残渣については、フミン、フルボ酸およびフミン酸に画分し、それぞれの放射能をLSCで測定した。

DT₅₀およびDT₉₀値；一次速度式およびコンピュータ(二相性指数関数法)によって算出した。

図1 土壤抽出方法



*ゼロ時点では抽出操作2の代わりに抽出操作1を実施した。

試験結果：

放射能の回収率(表3)；[Tz-¹⁴C]標識エタボキサム処理土壌からの放射能回収率は、20℃では、Bromsgrove、Evesham 3 および Sheringham において、それぞれ処理量の91.6-109%、90.3-104%および93.3-105%であった。10℃では、Sheringham において、処理量の92.0-97.6%であった。

20℃でインキュベーションした各土壌における抽出放射能は、ゼロ時では、Bromsgrove、Evesham 3 および Sheringham において、それぞれ処理量の97.3%、95.4%および98.3%であり、120日までにそれぞれ処理量の6.6%、10.3%および5.6%に減少した。各土壌における非抽出性放射能は、20℃、ゼロ時では、Bromsgrove、Evesham 3 および Sheringham において、それぞれ処理量の2.7%、1.5%および1.0%であった。その後、それぞれ処理量の68.7% (7日目)、60.4% (30日目) および70.4% (14日目) の最大値まで経時的に増加した。120日目には、それぞれ処理量の56.3%、53.9%および57.9%に減少した。二酸化炭素は、12時間以降検出され、120日に、それぞれ処理量の46.5%、33.0%および33.2%である最大値に達した。

10℃でインキュベーションした Sheringham 土壌においても、抽出放射能は速やかに減少し、ゼロ時点で処理量の95.7%であり、120日までに処理量の11.1%に減少した。土壌中の非抽出性放射能は、ゼロ時点で処理量の1.0%から、120日目には処理量の59.2%の最大値まで経時的に増加した。二酸化炭素は12時間以降検出され、120日目に処理量の21.8%である最大値に達した。

表3 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理土壌の放射能回収率 (処理放射能に対する割合、%)

土壌	試験温度	期間(日)	抽出物	残渣	揮発性(CO ₂)	計
砂壌土 Bromsgrove	20℃	0	97.3	2.7	ns	100
		0.5	68.0	22.7	2.1	92.8
		1	48.0	38.8	4.9	91.7
		2	33.2	52.1	8.9	94.2
		3	31.6	50.0	10.0	91.6
		7	19.0	68.7	6.8	94.5
		14	13.5	66.9	26.0	106
		30	8.6	61.0	34.2	104
		59	6.3	50.4	40.6	97.3
120	6.6	56.3	46.5	109		
埴壌土 Evesham 3	20℃	0	95.4	1.5	ns	96.9
		0.5	86.8	7.7	0.2	94.7
		1	79.7	13.4	0.6	93.7
		2	72.1	19.5	1.4	93.0
		3	64.4	23.7	2.2	90.3
		7	53.7	31.4	6.2	91.3
		14	38.9	44.7	8.5	92.1
		30	23.8	60.4	19.6	104
		59	11.9	56.7	25.2	93.8
120	10.3	53.9	33.0	97.2		

ns：試料なし

表3 (続き) [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理土壌の放射能回収率
(処理放射能に対する割合、%)

土壌	試験温度	期間(日)	抽出物	残渣	揮発性(CO ₂)	計
砂質シルト 壤土 Sheringham	20℃	0	98.3	1.0	ns	99.3
		0.5	75.8	20.6	0.7	97.1
		1	69.7	23.3	0.4	93.4
		2	40.9	58.3	4.0	103
		3	36.3	56.3	5.4	98.0
		7	32.4	51.2	9.7	93.3
		14	18.6	70.4	14.2	103
		30	13.6	69.7	21.7	105
		59	8.3	66.2	27.8	102
		120	5.6	57.9	33.2	96.7
砂質シルト 壤土 Sheringham	10℃	0	95.7	1.0	ns	96.7
		0.5	90.0	4.7	0.1	94.8
		1	85.9	8.5	0.2	94.6
		2	80.5	16.5	0.6	97.6
		3	70.3	21.1	0.6	92.0
		7	49.9	43.4	3.8	97.1
		14	48.0	40.8	4.1	92.9
		30	26.6	56.9	10.4	93.9
		59	18.7	58.9	16.9	94.5
		120	11.1	59.2	21.8	92.1

ns : 試料なし

非抽出性放射能の同定(表4) ;

7日および120日目に採取した各試料中の非抽出性土壌残留物を酸/塩基処理し、結合残留物をフルボ酸、フミンおよびフミン酸に分画した。

Bromsgrove および Sheringham (20℃) では大部分はフルボ酸分画に由来し(処理量の24.6~42.5%)、フミンおよびフミン酸分画は、処理量の2.8~17.2%であった。Sheringham (10℃) では大部分はフルボ酸分画に由来し(処理量の21.6~29.1%)、フミンおよびフミン酸分画は、処理量の8.9~17.7%であった。Evesham 3 では、大部分がフミン分画に由来し(処理量の15.1~27.9%)、フルボ酸およびフミン酸分画は、処理量の4.3~19.7%であった。

表4 非抽出性土壌結合残留物の分画 (処理放射能に対する割合、%)

土壌	フミン		フルボ酸		フミン酸		計*	
	7日	120日	7日	120日	7日	120日	7日	120日
Bromsgrove	12.2	11.0	39.4	42.5	17.2	2.8	68.7	56.3
Evesham 3	15.1	27.9	12.0	19.7	4.3	6.3	31.4	53.9
Sheringham (20℃)	11.1	16.3	24.6	27.2	15.5	14.5	51.2	57.1
Sheringham (10℃)	8.9	17.7	21.6	29.1	13.0	12.4	43.4	59.2

* : 表3の抽出残渣値として示す。

親化合物および代謝物の分析(表5~表8); 土壌抽出物を HPLC により分析した。

エタボキサム (A) はインキュベーションの時間とともに減少した。全ての供試土壌中で、エタボキサム (A) のほかに LGC-32533 (I) が検出され、14日目の Evesham 3 土壌中に、最大で処理量の 6.6%が認められた。他の土壌中の全ての試料採取時においても、処理量の ≤3.1%が認められた。LGC-32525 (H) も、全ての土壌中で検出されたが、処理量の 0.6%を超えることはなかった。他の放射能成分は、どの採取時においても、処理量の 8.3%を超えることはなかった。

表5 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理 Bromsgrove 土壌 (砂壤土) の放射能成分の定量 (20℃)
(処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	保持時間 (分)	採取時点 (日)									
		0	0.5	1	2	3	7	14	30	59	120
ARTZ1	3-6	<0.5	0.7	1.5	2.0	1.7	2.7	3.1	ns	ns	ns
ARTZ2	10-11	<0.5	1.0	1.3	1.0	1.1	1.3	0.4	-	-	-
ARTZ3	18-20	1.3	1.4	2.1	1.8	1.5	1.0	0.6	-	-	-
LGC-32525 (H)	23-24	<0.5	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	-	-	-
ARTZ5	26-27	<0.5	2.0	2.7	2.9	2.7	1.8	1.1	-	-	-
LGC-32533 (I)	27-28	<0.5	1.0	1.4	1.4	1.4	1.1	0.6	-	-	-
ARTZ7	30-31	<0.5	2.0	2.8	2.8	2.6	1.5	1.2	-	-	-
エタボキサム (A)	34-36	91.4	50.2	26.8	14.1	13.1	3.4	2.3	-	-	-
ARTZ9	37-38	1.2	1.9	2.0	1.5	1.4	0.9	0.6	-	-	-
ARTZ10	42-44	3.4	6.3	4.9	3.9	4.1	2.8	2.4	-	-	-
その他	-	<0.5	1.1	1.9	1.4	1.6	1.8	0.8	-	-	-

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分
ns：試料なし、-：該当データなし

表6 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理 Evesham 3 土壌 (埴壤土) の放射能成分の定量 (20℃)
(処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	保持時間 (分)	採取時点 (日)									
		0	0.5	1	2	3	7	14	30	59	120
ARTZ1	3-6	0.3	0.3	0.5	0.5	1.2	1.3	1.9	1.5	1.6	1.1
ARTZ2	10-11	0.3	0.6	1.0	1.4	1.7	2.0	1.8	0.5	<0.1	<0.1
ARTZ3	18-20	4.1	1.7	1.8	1.4	1.5	1.2	1.6	0.7	0.4	0.3
LGC-32525 (H)	23-24	<0.2	0.4	0.2	0.4	0.6	0.4	0.5	0.1	0.2	0.3
ARTZ5	26-27	1.0	1.5	1.2	2.3	2.4	3.5	2.9	2.3	1.0	0.5
LGC-32533 (I)	27-28	2.1	1.3	3.0	3.0	4.0	4.1	6.6	3.9	2.0	1.8
ARTZ7	30-31	0.3	0.5	1.0	0.9	0.9	1.2	0.9	0.9	0.3	0.3
エタボキサム (A)	34-36	85.6	73.3	65.0	53.1	40.6	29.9	16.7	9.3	3.2	2.6
ARTZ9	37-38	1.0	1.2	0.6	1.1	2.1	0.5	0.8	0.3	0.2	0.2
ARTZ10	42-44	0.9	5.9	5.1	7.8	8.2	8.3	4.0	3.9	2.7	2.6
その他	-	<0.2	0.1	0.4	0.3	1.2	1.2	1.3	0.5	0.4	0.7

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分

表7 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理 Sheringham 土壌 (砂質シルト壤土) の放射能成分の定量 (20℃) (処理放射能に対する割合、%)

放射性成分	保持時間 (分)	採取時点 (日)									
		0	0.5	1	2	3	7	14	30	59	120
ARTZ1	3-6	0.2	0.4	0.5	0.6	1.1	1.3	1.7	2.7	ns	ns
ARTZ2	10-11	<0.2	0.8	0.8	1.1	1.5	1.3	1.0	0.6	—	—
ARTZ3	18-20	2.2	3.0	1.3	1.3	1.3	1.1	1.0	1.0	—	—
LGC-32525 (H)	23-24	0.3	0.5	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.3	—	—
ARTZ5	26-27	0.6	2.0	2.2	2.5	2.6	3.0	2.4	1.0	—	—
LGC-32533 (I)	27-28	0.3	2.4	2.2	2.2	2.3	1.8	1.2	1.6	—	—
ARTZ7	30-31	0.4	1.5	1.6	2.4	2.5	2.3	1.8	1.0	—	—
エタボキサム (A)	34-36	92.0	57.1	51.2	21.1	16.5	12.1	5.2	2.7	—	—
ARTZ9	37-38	0.9	1.7	3.0	3.4	2.5	2.2	0.9	0.6	—	—
ARTZ10	42-44	1.4	4.5	5.4	4.9	4.4	5.0	2.1	1.5	—	—
その他	-	<0.2	1.9	1.1	1.0	1.3	1.8	0.9	0.6	—	—

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分
 ns：試料なし -：該当データなし

表8 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理 Sheringham 土壌 (砂質シルト壤土) の放射能成分の定量 (10℃) (処理放射能に対する割合、%)

放射性成分	保持時間 (分)	採取時点 (日)									
		0	0.5	1	2	3	7	14	30	59	120
ARTZ1	3-6	<0.5	0.7	0.2	0.3	0.6	0.9	1.0	1.8	3.3	2.0
ARTZ2	10-11	<0.5	0.5	0.4	0.6	0.8	1.3	1.8	1.1	0.4	0.3
ARTZ3	18-20	2.9	3.1	1.8	1.6	2.2	1.7	1.6	1.6	0.7	0.8
LGC-32525 (H)	23-24	<0.5	0.4	0.2	0.1	0.2	0.4	0.3	0.4	0.5	0.4
ARTZ5	26-27	<0.5	1.6	1.4	1.6	2.1	3.1	3.1	3.2	1.5	1.3
LGC-32533 (I)	27-28	<0.5	1.4	0.9	1.7	2.3	3.1	2.3	1.3	1.4	0.8
ARTZ7	30-31	<0.5	0.8	1.0	1.0	1.5	1.6	2.5	2.0	1.1	0.7
エタボキサム (A)	34-36	88.7	75.2	73.9	66.8	51.4	28.4	28.3	9.8	4.5	2.2
ARTZ9	37-38	1.8	1.7	1.3	1.1	3.0	3.0	2.7	1.4	0.9	0.7
ARTZ10	42-44	2.2	3.7	4.9	5.6	5.7	5.0	4.0	2.6	3.1	1.2
その他	-	<0.5	1.0	<0.1	<0.1	0.5	1.1	0.3	1.2	1.4	0.8

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分

DT₅₀およびDT₉₀ (表9)；土壌中のエタボキサム残留量を、時間に対する片対数でプロットした結果、最も酸性の高い土壌中 (Bromsgrove (砂壤土)、pH 5.9) で、DT₅₀は0.6日で、DT₉₀は2.2日であり、最も速やかに分解した。

表9 3種類の土壌中におけるエタボキサムのDT₅₀およびDT₉₀

土壌	温度 (℃)	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
Bromsgrove (砂壤土)	20℃	0.6	2.2
Evesham 3 (埴壤土)	20℃	4.4	14.8
Sheringham (砂質シルト壤土)	20℃	1.1	3.6
Sheringham (砂質シルト壤土)	10℃	6.1	20.3

相関係数：Bromsgrove $r^2=0.977$ 、Evesham 3 $r^2=0.962$ 、
 Sheringham (20℃) $r^2=0.962$ 、Sheringham (10℃) $r^2=0.959$

分解速度に及ぼす温度の影響； Sheringham 土壌（砂質シルト壤土）における 20℃および 10℃の結果から、温度が低い方が分解は遅い傾向がみられた。

結論；20℃で暗所に保存した 3 種類の土壌中および 10℃で暗所に保存した 1 種類の土壌中のエタポキサム（A）の好氣的分解速度を検討した。エタポキサム（A）の分解は、土壌の種類によって異なるが、20℃で 0.6 と 4.4 日の範囲の DT_{50} 値を示し、好氣的条件下で速やかに分解した。分解速度に及ぼす温度の影響は、Sheringham 土壌（砂質シルト壤土）において、20℃および 10℃でインキュベーションした場合、 DT_{50} はそれぞれ、1.1 日および 6.1 日であり、分解速度は温度の低下とともに減少した。どの土壌中にも主分解生成物は検出されなかった。資料 M-07 と同様に、LGC-32533 (I) および LGC-32525 (H) が同定された。

(4) 嫌氣的土壤中運命試験

(資料 M-09)

試験省略

試験省略理由: 当該農薬は、好氣的土壤中における推定半減期が 100 日を超えないことから、好氣的土壤中における当該農薬の成分物質等の消失が速やかであるため試験省略

(5) 実験室条件下での水/底質系における分解試験

(資料 No.M-10)

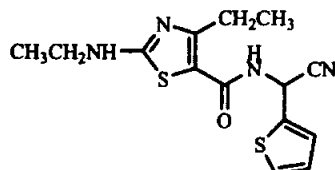
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2003年

[GLP 対応]

供試標識化合物：

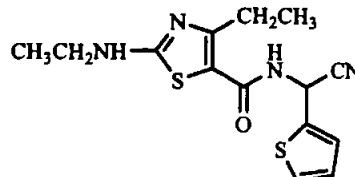
構造式：



* : ¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)



* : ¹⁴C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン-¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名；(RS)-N-(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
-------	--------------------------------	--------------------------------

供試水/底質系： 埴埴土の底質 (Bury Pond) および砂質埴埴土の底質 (Chatsworth Lake)

供試した水/底質系の詳細を表1に、また、特性およびバイオマス測定結果を表2に示す。

表1 供試底質および水の詳細

土壌の名称	Bury Pond	Chatsworth Lake
採取場所	Bury Pond, Bury, Cambridgeshire, UK	Emperor Lake, Chatsworth, Derbyshire, UK
水深 (cm)	130	5-10
底質の深さ (cm)	10	5-10
水温 (°C)	4-4.2	3.8-3.9
底質温度 (°C)	6.4	5.0
酸素濃度 (%) (水面から約 5cm 下)	43.7	96.3
酸素濃度 (%) (水/底質の界面)	38.0	92.4
水の pH	7.78	6.25
水の酸化還元電位 (mV)	+238	+155
底質の酸化還元電位 (mV)	-52	+412
試料採取日	2000年12月18日	2000年12月18日

表2 供試水-底質の物理化学的特性測定結果

	測定項目	Bury Pond	Emperor Lake	
底質	土性分類 ^a	埴壤土	砂質壤土	
	陽イオン交換容量 (meq/100g) ^a	10.7	10.0	
	pH (1:5) /水 ^a	8.1	6.3	
	pH (1:5) /0.01M 塩化カルシウム ^a	7.8	5.8	
	リン (総) mg/kg ^a	670.1	659.1	
	窒素 (総) mg/kg ^a	1750.2	2127.9	
	乾燥重量時含水量 (%)	1.6	1.4	
	バイオマス (µgC/g) ^a	被験物質処理 0 日目	340.9	827.6
		処理 100 日目	472.9	709.8
	有機炭素 (%) ^a	被験物質処理 0 日目	2.2	2.3
		処理 100 日目	2.1	2.6
有機物 (%) ^b	被験物質処理 0 日目	3.8	4.0	
	処理 100 日目	3.6	4.5	
水	硬度 (mg/L 炭酸カルシウム) ^a	729	36	
	溶存有機炭素 (mg/L) ^a	28.3	33.0	
	総窒素 (mg/L) ^a	14.0	12.6	
	総リン (mg/L) ^a	0.1	<0.05	
	浮遊物 ^a	4.0	20.0	
	有効カルシウム ^a	88.4	3.5	
	有効マグネシウム ^a	23.7	2.2	
	有効マンガン ^a	<0.05	<0.05	

^a: Soil Survey and Land Research Centre, Cranfield University, Silsoe, Bedford, UK において別の GLP 試験として実施 ^b: 有機物 (%) = 有機炭素 (%) x 1.72 ^c: SSEW および USDA による分類

方法:

水/底質系の調整: 底質は使用前に 2 mm 目の篩を通し、水は 212 µm の篩を通し、土壌試料を試験容器に入れて秤量後、篩に通した水を加えた。ガスフローラインに接続後、20°C±2°C の暗所で被験物質処理前に 27 日間静置順化した。順化期間中は、水温、酸化還元電位および溶存酸素濃度と底質の酸化還元電位を一定期間毎に測定し、これらの項目において平衡が得られたことを確認した。

処理溶液の調製: [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム (約 1.07 mg/mL) および [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム (約 0.86 mg/mL) のアセトン溶液を、それぞれ適量を ([Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム 1.2 mL, [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム 1.5 mL) 10 mL のメスフラスコへ移し、設定処理量 0.08 mg/mL の処理溶液を調製した。

処理方法: 温度 20°C、暗所の試験条件で順化した土壌 100 g (乾燥重量) に必要量 (0.08 mg/L) を処理した。バイオマス測定用土壌については、非標識被験物質を同様に処理した。処理量は、水深 30 cm に均一に取り込まれたと仮定すると実圃場使用量の約 250 g ai/ha に相当する量である。

インキュベーション: 試験土壌に被験物質を処理し混合した後に、試験系に連結し、20°C の暗所でインキュベーションを開始した。試験系は、空気の加湿用水瓶、試験土壌容器、逆

流防止用空容器、揮発性有機化合物捕集用容器（エチルジゴール入り）および二連の¹⁴CO₂捕集用容器（1M 水酸化カリウムおよびフェノールフタレイン指示薬入り）を直列に連結させて設定した。

試料採取時期（表 3）； 土壌試料は放射能分析用に、被験物質処理直後（ゼロ時）および 6 時間、1、2、4、7、14、30、60、および 100 日後に採取した。捕集溶液は土壌試料採取時期（ゼロ時および 12 時間後を除く）に採取し、さらに、60 日までは約 1 週間間隔で、その後は 2 週間間隔で採取した。なお、バイオマス測定試料は被験物質処理時およびインキュベーション終了時の 100 日目に採取し、バイオマスを燻煙抽出法により測定し、その結果を表 2 に記載した。

表 3 試料採取時期

採取時期 (日)		0	0.25	1	2	4	7	14	30	60	100
水	放射能	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
底質	抽出性放射能	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	非抽出性放射能	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	CO ₂			○	○	○	○	○	○	○	○
	揮発性有機物			○	○	○	○	○	○	○	○

放射能の測定； 各試験容器について、底質が乱れないように容器内の水をデカントし、放射能を測定した。底質試料から、図 1 に示す方法で放射能を抽出し、抽出物中の放射能は液体シンチレーションカウンター（LSC）で、抽出残渣は燃焼法で測定した。捕集液中放射能は LSC により測定した。また、水酸化カリウムに捕集された放射能については、炭酸ナトリウムおよび塩化バリウムを用い二酸化炭素であることを確認した。なお、Chatsworth Lake 試料のうち試験操作の後半で採取した数例の試料については、非抽出性残留物を測定するため、底質残留物試料をエタノールアミンで約 5 時間加熱還流し、燃焼後に放射能を測定した。

揮発性放射能の測定； 捕集液中放射能は、捕集溶液の一部を LSC で測定した。また、水酸化カリウムに捕集された放射能については、炭酸ナトリウムおよび塩化バリウムにより二酸化炭素であることを確認した。

水試料の放射能測定および分析； 底質が水中に散乱しないように容器内の水をデカントし、容積を測定した。この水試料を直接、LSC で測定した。

水試料中の親化合物および代謝物は、HPLC で同定および定量し、また TLC を用いて標準物質とのクロマトグラフィーにより同定した。

抽出放射能および抽出残渣の放射能測定および分析（図 1）； 水を除いた底質は、遠心管へ移し、土壌放射能を抽出し、抽出物中の放射能は液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。抽出残渣中の放射能は、風乾、燃焼後、LSC で測定した。

さらに残りの抽出残渣は、エタノールアミンを用いて5時間加熱還流し、その一部を燃焼後、LSC測定した。

土壤中抽出物の親化合物および代謝物は、HPLCで同定および定量し、またTLCを用いて標準物質とのコクロマトグラフィーにより同定した。

抽出残渣（非抽出性残渣）の特徴付け（図2）；処理後100日試料の土壤抽出残渣については、フミン、フルボ酸およびフミン酸に画分し、それぞれの放射能をLSCで測定した。

DT₅₀およびDT₉₀；水中および系全体について、一次速度式およびコンピューター（二相性指数関数法）によって算出した。

底質における、被験物質消失速度は、擬一次反応速度論で得られた等式 $\ln C = \ln C_0 - kt$ を用いて、試験液中の被験物質の消失に対するDT₅₀およびDT₉₀値は次式から算出した。

$$DT_{50} = \ln 2 / k \quad \text{および} \quad DT_{90} = \ln 10 / k$$

図1 底質の抽出方法

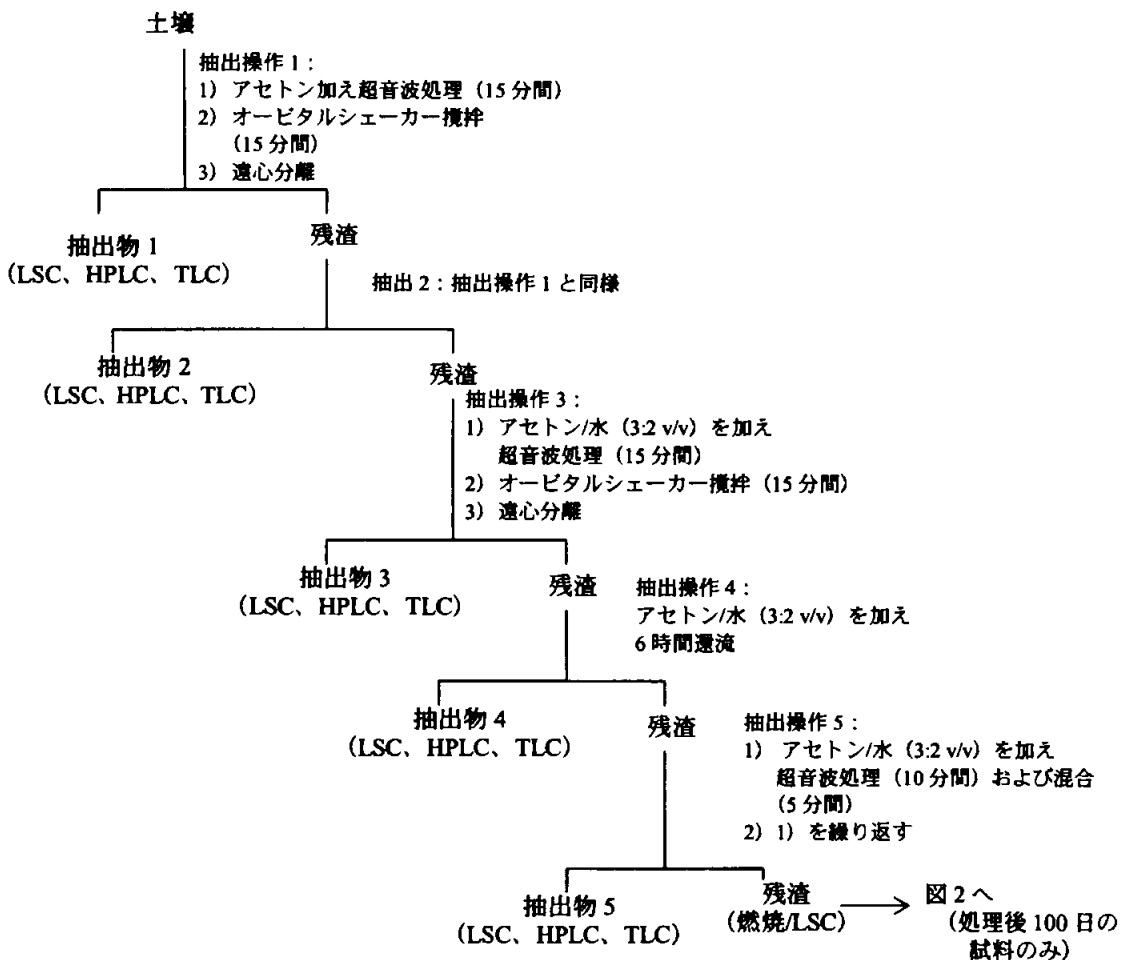
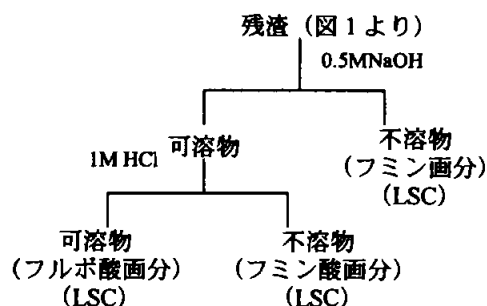


図2 抽出残渣（非抽出性残渣）の特徴付け



試験結果：

放射能の回収率； Bury Pond の結果を表4に、Chatsworth Lake の結果を表5に示す。

1) Bury Pond - 両標識体の放射能回収率は、処理量の90.8~108%であった。水中からの回収放射能は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムで、それぞれゼロ時における処理量の108%および106%から、100日後に処理量の7.4%および2.1%に低下した。底質からの回収放射能は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムで、それぞれゼロ時における処理量の0.3%および0.6%から、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムでは14日後に処理量の52.6%、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでは30日後に処理量の45.3%にそれぞれ増加したが、100日後には両標識体とも減少もしくはほぼ一定であった。底質中の非抽出性放射能は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムでは、処理量の<0.2%から、37.6%に増加した。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでは、底質中の非抽出性放射能はゼロ時において、処理量の0.2%から60日後の33.7%に増加し、100日後には27.2%に減少した。二酸化炭素は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムを処理した試験容器から7日目に検出され、100日後に処理量の12.1%まで増加した。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでは100日後で最大値である処理量の34.8%であった。

2) Chatsworth Lake - 両標識体の放射能回収率は、処理量の88.9~108%の範囲であった。水中からの放射能回収量は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムにおいて、ゼロ時に処理量の106%から4日後の39.0%となり、Bury Pondよりむしろ速やかに減少した。その後、水中の放射能量は30日目までおよそ一定に推移し、100日後には処理量の4.0%に減少した。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでは、ゼロ時における処理量の106%から7日後の43.5%および100日後の1.2%と、Bury Pond試験系と同様の減少傾向を示した。底質からの放射能回収率は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムを処理した試験容器はゼロ時の、処理量の2.1%から4日後の37.8%に増加し、4日~30日は、ほぼ一定(36.8~39.6%)に推移し、100日後には処理量の26.0%まで減少した。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムではゼロ時の、処理量の2.0%から7日後の35.8%に増加し、その後、インキュベーション100日後には処理量の11.8%まで減少した。底質中の非抽出性放射能は、両標識体において処理量の0.2%から、最大値、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムにおいて、60日後に処理量の43.4%および100日後に処理量の30.6%まで増加した。

二酸化炭素は[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムを処理した試験容器から2日目に検出され、60日後に最大値である処理量の20.2%に増加した。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでは生成は100日後でより高く、処理量の47.2%であった。

表4 Bury Pond 水/底質 (埴壤土) からの放射能回収率 (処理放射能に対する割合、%)

標識物質	処理後 経過日数 (日)	水	抽出画分			抽出 残渣	揮発性物質		計
			抽出物 1-3	抽出物 4	抽出物 5		CO ₂	有機性 ^b	
[Tz- ¹⁴ C] 標識 エタポキサム	0 ^a	108	0.3	ns	ns	<0.2	ns	ns	108
	0.25 ^a	97.0	5.7	ns	ns	1.5	nd	nd	104
	1 ^a	85.4	14.9	ns	ns	4.9	nd	nd	105
	2	64.2	23.5	ns	ns	6.5	nd	nd	94.2
	4	58.6	32.7	4.6	ns	5.8	nd	nd	102
	7	48.7	37.1	9.7	ns	10.1	0.1	nd	106
	14	41.4	48.0	4.6	ns	7.5	0.1	nd	102
	30	23.2	36.4	11.8	2.7	24.7	2.4	nd	101
	60	13.2	37.5	13.5	2.2	22.1	3.3	nd ^c	91.8
	100	7.4	30.3	6.9	1.5	37.6	12.1	0.3 ^c	96.1
[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタポキサム	0 ^a	106	0.6	ns	ns	0.2	ns	ns	107
	0.25 ^a	93.7	7.7	ns	ns	1.1	nd	nd	103
	1 ^a	76.6	18.1	ns	ns	3.8	nd	nd	98.5
	2	73.1	28.2	ns	ns	6.3	nd	nd	108
	4	61.1	30.1	3.2	ns	3.6	0.2	nd	98.2
	7	42.5	35.0	8.1	ns	10.7	1.8	0.1	98.2
	14	26.7	34.9	8.5	ns	13.8	6.9	nd	90.8
	30	17.2	34.4	9.5	1.4	17.2	12.4	nd	92.1
	60	4.4	21.9	4.9	0.9	33.7	32.7	nd ^c	98.5
	100	2.1	23.5	4.1	1.1	27.2	34.8	nd ^c	92.8

ns: 試料なし、nd: 検出限界以下、^a: 2回のみ抽出実施、^b: 捕集液および検洗浄液
^c: ウレタン検使用せず

表 5 Chatsworth Lake 水/底質 (砂質壤土) からの放射能回収率 (処理放射能に対する割合、%)

標識物質	処理後 経過日数 (日)	水	抽出画分			抽出 残渣	揮発性物質		計
			抽出物 1-3	抽出物 4	抽出 物 5		CO ₂	有機性 ^b	
[Tz- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	0 ^a	106	2.1	ns	ns	0.2	ns	ns	108
	0.25 ^a	95.2	4.1	ns	ns	0.7	nd	nd	100
	1 ^a	81.8	15.8	ns	ns	3.7	nd	nd	101
	2	53.7	28.2	ns	ns	20.6	0.4	nd	103
	4	39.0	33.2	4.6	ns	21.5	1.2	nd	99.5
	7	33.1	32.5	4.5	ns	25.0	2.3	0.1	97.5
	14	38.1	33.4	3.4	ns	18.8	1.7	nd	95.4
	30	35.4	35.8	3.8	ns	18.9	3.4	0.1	97.4
	60	11.3	15.3	4.0	ns	43.4	20.2	nd ^c	94.2
100	4.0	19.4	5.7	0.9	43.1	17.9	nd ^c	91.0	
[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	0 ^a	106	2.0	ns	ns	0.2	ns	ns	108
	0.25 ^a	83.8	8.7	ns	ns	2.0	nd	nd	94.5
	1 ^a	77.5	18.6	ns	ns	5.3	nd	nd	101
	2	62.4	18.6	ns	ns	12.8	0.2	nd	94.0
	4	39.9	30.4	3.7	ns	15.7	0.9	0.2	90.8
	7	43.5	32.3	3.5	ns	11.3	2.0	0.2	92.8
	14	20.2	28.8	3.5	ns	24.9	12.1	0.2	89.7
	30	11.6	22.7	4.2	ns	27.0	27.7	0.3	93.5
	60	15.7	19.0	3.0	ns	20.3	30.6	0.3 ^c	88.9
100	1.2	8.6	2.7	0.5	30.6	47.2	nd ^c	90.8	

ns: 試料なし、nd: 検出限界以下、^a: 2回のみ抽出実施、^b: 捕集液および洗浄液
^c: ウレタン栓使用せず

非抽出性放射能 (表 6); 100 日後に底質残渣を酸/塩基処理し、結合残留物をフルボ酸、フミン
 およびフミン酸に分画した。Bury Pond 底質においては標識体間の違いはほとんどなく、
 放射能の主成分は、フミン画分に結合しており、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび
 [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムにおいて、それぞれ、処理量の 23.1% および 17.2% であった。
 Chatsworth Lake 底質においてはほとんどの放射能はフルボ酸分画に存在し、[Tz-¹⁴C] およ
 び [Tp-¹⁴C] において、それぞれ、処理量の 17.4% および 12.6% であった。

表 6 非抽出性土壌結合残留物の分画 (処理放射能に対する割合、%)

標識体	画分	Bury Pond	Chatsworth Lake
[Tz- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	フミン	23.1	12.8
	フルボ酸	12.7	17.4
	フミン酸	1.7	12.8
	計	37.5	43.0
[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	フミン	17.2	9.7
	フルボ酸	8.5	12.6
	フミン酸	1.5	8.3
	計	27.2	30.6

親化合物および代謝物の分析 (表 7-表 10); 両標識体の処理試料から生成した主分解物は
 LGC-32533 (I) であった。Bury Pond では、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標
 識エタボキサム処理試料中、それぞれ、処理量の 6.0% (60 日目、底質で処理量の 4.9%
 および水で処理量の 1.1%)、および 4.7% (30 日目、底質で処理量の 3.5% および水で処

処理量の1.2%)が最大値として検出された。Chatsworth Lakeでは、同様に、それぞれ、処理量の6.5%(30日目、底質で処理量の3.8%および水で処理量の2.7%)、および5.2%(60日目、底質で処理量の2.5%および水で処理量の2.7%)が検出された。LGC-32525(H)も検出されたが、底質あるいは水のいずれにおいても処理量の>3%であった。Bury Pondで、30日目に処理量の合計10.7%(底質抽出物中処理量の8.8%および水中処理量の1.9%)である最大値が検出された。TZSd7は異なるクロマトグラフィー系により検討を加えたところ、底質抽出物中に処理量の>5%であった。両標識体および試験系に共通のその他数多くの代謝物が検出されたが、水あるいは底質中のいずれにも処理量の10%を超える代謝物は検出されなかった。

表7 [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理 Bury Pond 水/底質(埴埴土)における放射能成分の定量
(処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	保持時間(分)	水/底質	処理後経過日数(日)									
			0 ^a	0.25 ^a	1	2	4	7	14	30	60	100
TZSd1	3-5	水	6.6	1.7	5.6	1.2	1.0	0.5	0.8	1.4	0.9	1.4
		底質			0.3	0.3	0.3	3.2	1.6	4.5	3.3	8.9
TZSd2	5-7	水	<0.3	<0.4	<0.4	<0.4	1.1	1.1	2.9	5.5	1.0	2.2
		底質			0.1	<0.1	0.2	0.3	0.6	1.0	1.1	0.7
TZSd3	8-10	水	<0.3	0.4	<0.4	<0.4	<0.2	0.3	2.5	0.7	2.8	0.7
		底質			<0.1	<0.1	0.4	0.4	0.5	0.8	0.4	0.7
TZSd4	11-13	水	<0.3	<0.4	<0.4	<0.4	1.5	3.0	<0.2	3.8	0.5	1.3
		底質			<0.1	<0.1	0.2	0.8	0.2	1.3	2.9	1.0
LGC-32525(H)	14-16	水	<0.3	<0.4	<0.4	<0.4	<0.2	0.9	0.8	0.6	2.3	0.6
		底質			0.2	<0.1	<0.1	1.3	1.7	1.5	2.3	2.0
LGC-32533(I)	17-19	水	<0.3	<0.4	<0.4	0.4	1.0	1.5	1.5	1.0	1.1	0.5
		底質			0.4	0.4	1.1	1.9	1.8	3.0	4.9	3.5
TZSd7	20-22	水	0.8	0.6	<0.4	1.0	0.9	1.3	0.5	1.9	1.0	0.1
		底質			0.4	0.6	2.6	3.2	2.5	8.8 ^c	7.4	4.0
エタポキサム(A)	23-24	水	99.6	94.3	79.2	61.1	53.1	40.1	30.2	7.1	3.3	0.7
		底質			13.1	21.3	31.4	34.3	42.3	27.3	29.2	16.7
TZSd9 ^b	25-27	水	<0.3	<0.4	0.7	<0.4	<0.2	<0.3	1.0	<0.1	0.1	<0.1
		底質			0.4	0.3	1.0	1.1	0.9	0.9	1.0	0.8
TZSd10	28-30	水	1.1	<0.4	<0.4	0.4	<0.2	<0.3	1.1	1.2	<0.1	<0.1
		底質			<0.1	0.6	<0.1	0.2	0.3	1.7	0.6	0.3
その他	-	水	<0.3	<0.4	<0.4	<0.4	<0.2	<0.3	<0.2	<0.1	0.3	<0.1
		底質			<0.1	<0.1	<0.1	0.1	0.3	<0.1	0.1	<0.1

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分

^a：試料の放射能活性が低かったので分析を実施せず

^b：資料 No.M-参考1において LGC-32787 (J) もしくは LGC-32788 (K) と同定

^c：異なるクロマトグラフィー系で検討したが底質抽出物で TZSd7 は処理量の>5%認められなかった(資料 No.M-参考1)

表 8 [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理 Bury Pond 水/底質 (埋填土) における放射能成分の定量
(処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	保持時間 (分)	水/底質	処理後経過日数 (日)									
			0 ^a	0.25 ^a	1	2	4	7	14	30	60	100 ^a
TPSd1	3-5	水	0.7	1.9	2.1	3.4	0.7	0.6	0.7	1.0	0.5	
		底質			0.1	0.3	0.2	0.4	0.6	2.1	1.3	1.1
TPSd2	5-7	水	<0.3	<0.4	<0.3	0.4	0.2	<0.2	0.2	0.1	0.2	
		底質			<0.1	<0.1	<0.2	0.1	0.2	0.3	0.1	0.3
TPSd3	8-10	水	<0.3	<0.4	<0.3	<0.3	<0.2	<0.2	<0.1	<0.1	<0.1	
		底質			<0.1	0.1	<0.2	<0.1	<0.1	0.4	<0.1	<0.1
TPSd4	11-13	水	<0.3	<0.4	<0.3	<0.3	0.2	<0.2	<0.1	2.0	<0.1	
		底質			<0.1	0.1	<0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.3
LGC-32525 (H)	14-16	水	<0.3	<0.4	<0.3	<0.3	0.2	0.2	0.2	2.4	0.2	
		底質			<0.1	0.2	<0.2	0.5	0.3	0.7	0.6	0.6
LGC-32533 (I)	17-19	水	0.4	<0.4	<0.3	<0.3	0.9	1.5	0.9	1.2	0.6	
		底質			0.5	0.6	0.8	1.1	1.9	3.5	2.4	2.4
TPSd7	20-22	水	1.7	1.0	0.5	0.5	1.7	0.6	2.0	1.1	1.2	
		底質			0.7	1.2	1.8	2.2	3.9	4.6	5.0	3.4
エタポキサム (A)	23-24	水	100.9	90.8	74.0	68.3	56.6	39.7	22.5	9.3	1.7	
		底質			16.4	25.2	29.9	38.1	35.6	30.9	16.7	19.1
TPSd9 ^b	25-27	水	1.9	<0.4	<0.3	0.5	0.7	<0.2	<0.1	<0.1	<0.1	
		底質			0.4	0.4	0.6	0.6	0.7	1.5	1.1	0.9
TPSd10	28-30	水	0.3	<0.4	<0.3	<0.3	<0.2	<0.2	0.2	<0.1	<0.1	
		底質			<0.1	0.1	<0.2	<0.1	<0.1	1.0	0.2	0.3
その他	-	水	<0.3	<0.4	<0.3	<0.3	<0.2	<0.2	<0.1	<0.1	<0.1	
		底質			<0.1	<0.1	<0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.1

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分

^a：試料の放射能活性が低かったので分析を実施せず

^b：資料 No.M-参考 1 において LGC-32787 (J) もしくは LGC-32788 (K) と同定

表9 [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理 Chatsworth Lake 水/底質 (砂質壤土) における放射能成分の定量 (処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	保持時間(分)	水/底質	処理後経過日数(日)									
			0 ^a	0.25 ^a	1	2	4	7	14	30	60	100 ^a
TZSd1	3-5	水	0.7	1.1	2.7	1.1	1.1	1.7	1.5	3.8	3.0	
		底質			0.7	0.5	2.1	1.6	2.1	4.3	2.8	6.9
TZSd2	5-7	水	0.4	<0.4	<0.4	<0.4	1.2	2.0	<0.5	9.7 ^c	2.0	
		底質			0.1	<0.1	0.3	0.9	0.9	1.3	0.5	0.9
TZSd3	8-10	水	0.5	0.5	<0.4	0.6	1.2	2.7	4.3	2.6	0.5	
		底質			0.3	0.3	0.5	1.5	0.3	0.6	0.9	0.7
TZSd4	11-13	水	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	0.3	0.5	5.0	0.8	1.6	
		底質			0.4	0.1	0.6	0.2	1.0	1.1	1.2	0.5
LGC-32525 (H)	14-16	水	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	1.1	1.3	1.1	1.3	1.2	
		底質			0.2	0.1	0.5	1.7	1.7	0.9	0.6	2.3
LGC-32533 (I)	17-19	水	0.5	0.6	<0.4	0.9	1.7	1.7	2.1	2.7	1.0	
		底質			1.5	1.2	2.8	1.1	2.8	3.8	2.0	2.7
TZSd7	20-22	水	1.6	2.6	0.4	1.9	1.5	1.7	2.0	1.6	1.1	
		底質			1.1	1.7	3.3	4.3	3.9	2.9	3.1	3.8
エタポキサム (A)	23-24	水	102.3	89.6	77.1	47.5	30.9	20.9	21.6	12.7	0.6	
		底質			10.3	22.0	25.3	25.2	21.0	23.2	7.5	7.5
TZSd9 ^b	25-27	水	<0.4	<0.4	1.0	1.7	<0.2	0.7	0.5	<0.2	<0.1	
		底質			1.1	1.1	2.1	0.6	3.1	1.4	0.7	0.7
TZSd10	28-30	水	<0.4	0.9	0.7	<0.4	<0.2	<0.2	<0.5	<0.2	<0.1	
		底質			0.2	0.9	0.3	<0.2	<0.1	0.2	<0.1	0.1
その他	-	水	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.2	<0.2	<0.5	<0.2	0.3	
		底質			<0.1	<0.1	<0.1	<0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分

^a：試料の放射能活性が低かったので分析を実施せず

^b：資料 No.M-参考1において LGC-32787 (J) もしくは LGC-32788 (K) と同定

^c：異なるクロマトグラフィー系で検討したが底質抽出物で TZSd7 は処理量の >5% 認められなかった (資料 No.M-参考1)

表 10 [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理 Chatsworth Lake 水/底質 (砂質壤土) における放射能成分の定量 (処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	保持時間 (分)	水/底質	処理後経過日数 (日)									
			0 ^a	0.25 ^a	1	2	4	7	14	30	60	100 ^a
TPSd1	3-5	水	0.6	1.6	5.1	<0.6	1.1	2.3	1.2	1.3	1.2	
		底質			0.1	0.7	1.4	1.8	1.5	1.5	1.8	1.6
TPSd2	5-7	水	<0.5	<0.3	<0.3	<0.6	<0.2	0.2	0.5	0.3	<0.9	
		底質			<0.1	0.1	0.6	0.6	0.6	0.2	0.3	0.2
TPSd3	8-10	水	<0.5	<0.3	<0.3	<0.6	<0.2	<0.2	<0.2	<0.3	<0.9	
		底質			0.2	0.2	0.2	0.4	<0.1	0.4	0.4	0.1
TPSd4	11-13	水	<0.5	<0.3	<0.3	<0.6	0.2	<0.2	<0.2	<0.3	0.9	
		底質			<0.1	<0.1	0.8	0.9	0.5	0.5	0.6	<0.1
LGC-32525 (H)	14-16	水	<0.5	0.7	<0.3	<0.6	0.3	<0.2	0.2	1.1	1.1	
		底質			<0.1	0.1	0.8	1.0	0.9	0.9	0.7	0.3
LGC-32533 (I)	17-19	水	1.3	1.3	<0.3	<0.6	1.6	1.3	1.4	2.2	2.7	
		底質			0.7	1.5	3.5	3.8	2.5	2.3	2.5	1.3
TPSd7	20-22	水	2.7	2.2	0.9	1.7	2.3	2.1	2.8	2.3	4.5	
		底質			0.8	1.6	3.6	3.9	4.4	3.5	2.8	2.5
エタポキサム (A)	23-24	水	101.4	77.4	70.4	60.7	34.3	37.6	13.9	4.4	5.3	
		底質			16.6	13.8	22.1	17.6	21.1	16.5	10.6	4.6
TPSd9 ^b	25-27	水	<0.5	0.7	0.7	<0.6	<0.2	<0.2	<0.2	<0.3	<0.9	
		底質			0.2	0.5	1.2	5.4	0.8	0.7	2.0	1.2
TPSd10	28-30	水	<0.5	<0.3	<0.3	<0.6	<0.2	<0.2	0.3	<0.3	<0.9	
		底質			<0.1	0.1	<0.1	0.4	<0.1	0.3	0.3	<0.1
その他	-	水	<0.5	<0.3	0.4	<0.6	<0.2	<0.2	<0.2	<0.3	<0.9	
		底質			<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	<0.1	0.1

その他：上記に示した保持時間に含まれず個別ピークを示さなかった放射性成分

^a：試料の放射能活性が低かったため分析を実施せず

^b：資料 No.M-参考 1 において LGC-32787 (J) もしくは LGC-32788 (K) と同定

DT₅₀およびDT₉₀(表 11)：以上の結果から求めたエタポキサムのDT₅₀およびDT₉₀を以下に示す。

表 11 DT₅₀ および DT₉₀

採取場所	Bury Pond			Chatsworth Lake		
	水 ^a	水/底質 ^a	底質 ^b	水 ^a	水/底質 ^a	底質 ^b
DT ₅₀ (日)	6.0	29	81	3.3	12	47
DT ₉₀ (日)	20	95	268	11	41	157
相関係数 r ²	0.976	0.971	0.950	0.956	0.917	0.958

^a：ModelMaker (version 4)を用いて算出、^b：Microsoft Excel 97 による線形回帰解析

想定分解経路 (図 3) ; 以上の結果から推定される想定分解経路を以下に示す。エタボキサム (A) は LGC-32525 (H) に加水分解され、そのアルコール体である LGC- 32787 (J) およびアルデヒド体である LGC- 32788 (K) を経て未同定代謝物および二酸化炭素に無機化されるものと考えられた。また、エタボキサム (A) は LGC-32533 (I) に加水分解され、この代謝物を経て未同定代謝物および二酸化炭素に無機化されるものと考えられた。

4. 水中運命に関する試験

(1) 加水分解運命試験

(資料 No.M-11)

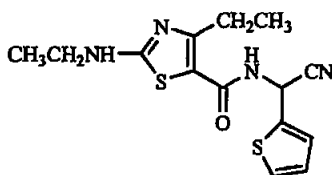
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2002年

[GLP 対応]

供試標識化合物：

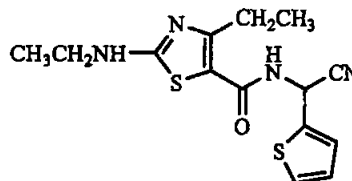
構造式：



*：¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)



*：¹⁴C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン-¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名；(RS)-N-(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
-------	--------------------------------	--------------------------------

緩衝液の調製： HPLC 分析用水を用いて、以下の緩衝液を調製し、滅菌後使用した。

0.01M、pH4； 氷酢酸 0.6 mL を約 900 mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 4 に調整した。溶液に水を加えて 1L に定容した。

0.01M、pH7； リン酸二水素ナトリウム 1.561 g を約 900 mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 7 に調整した。溶液に水を加えて 1 L に定容した。

0.01M、pH9； ホウ酸 0.618 g を約 900 mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液を加えて溶液の pH を 9 に調整した。溶液を水で 1L に定容した。

試験方法：

試験液の調製； [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム (0.83mg/mL) および [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム

(1.17mg/mL) のアセトン溶液のストック溶液とし、それぞれ 0.9 mL および 0.64 mL を各 pH の緩衝液 (150 mL) へ加え、試験液とした。試験濃度は、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム 5.14~5.31 mg/L および [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム 5.57~5.64 mg/L であった。試験液 10mL を試験容器に入れ、各 pH 試験液を 20℃±2℃の温度において、暗所で 30 日間インキュベーションした。

試料採取；試験容器への¹⁴C-LGC-30473 緩衝溶液の処理直後と3、7、11、16、21、25 および30 日後に試料を採取した。

分析方法；放射能は、液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。加水分解生成物の単離および同定は、HPLC および TLC により測定した。

滅菌の確認；インキュベーション開始時および終了時に試料を採取し、微生物コロニーを培地を用いて検出した。

半減期算法；被験物質消失速度は、擬一次反応速度論で以下の等式から得られた。

$$[C] = [C]_0 e^{-kt}$$

[C]₀ および[C]は、開始時 t=0 および試料採取時間 t における濃度、

k は親化合物の消失の速度定数を示す。

半減期は、次のように算出した： $T_{0.5} = \ln 2/k$

結果：

放射能の回収率、無菌性の確認および pH の変化；各 pH レベル試験液における放射能の回収率は、[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムで、それぞれ処理放射能の 98.6-101.6% および 98.3-102.6% の範囲内であった。試験期間中無菌性は保持されており、各試験溶液の pH に変化はなかった。

推定半減期（表 1）；20℃におけるエタボキサムの加水分解安定性は pH4 および pH9 では類似しており、推定半減期はそれぞれ 194 日および 163 日であった。pH7 では、エタボキサムは比較的安定であった。

表 1 各 pH 試験水における推定半減期（日）

標識物質	pH		
	4	7	9
[Tp- ¹⁴ C] 標識エタボキサム	202.0	1198.7	154.6
[Tz- ¹⁴ C] 標識エタボキサム	187.2	1547.9	173.2
[Tp- ¹⁴ C] 標識エタボキサム および [Tz- ¹⁴ C] 標識エタボキサム*	194.4	1348.7	163.3

*：各 pH 緩衝液の実データより算出

代謝物（表 2 および表 3）；[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムでは、pH4、pH7 および pH9 において、30 日後に親化合物は、それぞれ回収放射能の 89.4%、96.9% および 85.8% に減少した。[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムも同様の傾向であり、pH4、pH7 および pH9 において、それぞれ回収放射能の 87.9%、97.4% および 87.3% に減少した。

[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムの pH4 における主分解生成物は α-カルボニル化合物（LGC-32533 (I)）であり、30 日後にそれぞれ回収放射能の 7.0% および 8.0% であった。pH7 でも同様に α-カルボニル化合物（LGC-32533 (I)）が [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理後の溶液中で回収放射能の

1.8%が確認された。pH9では、[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムの主分解生成物としてα-アミド化合物 (LGC-32525 (H)) が30日後に回収放射能の7.6%および6.5%が確認された。また[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理後の溶液中から微量のLGC-32523 (L) が検出された。

表2 [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理溶液中の放射性成分の割合 (回収放射能%)

pH	経過 日数 (日)*	代謝物								
		極 性 物 質	TPH1	TPH2	TPH3	TPH5 (LCG- 32525) (H)	TPH6 (LCG- 32533) (I)	エタボキサム (LGC- 30473) (A)	TPH7	その他
4	0	nd	nd	nd	-	nd	nd	98.4	nd	1.6
	3	nd	nd	nd	-	nd	1.1	98.2	0.2	0.5
	7	nd	0.3	nd	-	0.1	2.2	96.8	0.1	0.5
	11	nd	0.6	0.1	-	0.3	3.2	95.0	0.2	0.5
	16	nd	0.9	0.2	-	0.2	4.2	93.8	0.1	0.6
	21	1.4	1.3	0.2	-	0.4	5.0	90.7	nd	0.8
	25	nd	1.7	0.1	-	0.5	5.6	91.1	nd	1.0
	30	nd	2.2	0.3	-	0.5	7.0	89.4	nd	0.6
7	0	-	nd	-	-	nd	nd	98.3	nd	1.7
	3	-	nd	-	-	nd	0.7	98.6	nd	0.7
	7	-	nd	-	-	nd	0.9	98.9	nd	0.2
	11	-	nd	-	-	nd	1.0	98.0	nd	1.0
	16	-	0.1	-	-	nd	1.3	97.8	nd	0.8
	21	-	nd	-	-	nd	1.3	97.6	nd	1.1
	25	-	0.2	-	-	nd	1.6	97.3	nd	0.9
	30	-	0.1	-	-	0.2	1.8	96.9	0.2	0.8
9	0	-	nd	-	nd	nd	nd	98.5	nd	1.5
	3	-	0.1	-	0.2	0.9	0.8	97.1	nd	0.9
	7	-	0.3	-	0.4	1.7	1.1	96.1	nd	0.4
	11	-	0.6	-	0.6	2.9	1.3	94.0	0.2	0.4
	16	-	0.9	-	0.8	4.5	1.7	90.9	nd	1.2
	21	-	1.2	-	1.0	5.4	1.7	89.7	0.3	0.7
	25	-	1.4	-	1.1	5.9	1.6	89.0	nd	0.4
	30	-	2.0	-	1.5	7.6	1.8	85.8	0.2	1.1

*: 報告書に記載されている日数を小数点第一位で四捨五入し整数で示した、nd: 検出限界以下

-: 該当なし

表3 [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理溶液中の放射性成分の割合 (回収放射能%)

pH	経過 日数 (日)*	代謝物							
		TZH1	TZH2 (LCG- 32523) (L)	TZH3	TZH5 (LCG- 32525) (H)	TZH6 (LCG- 32533) (I)	エタボキサム (LGC- 30473) (A)	TZH7	その他
4	0	-	nd	nd	nd	nd	98.6	nd	1.4
	3	-	0.4	nd	nd	1.4	97.5	0.1	0.6
	7	-	0.5	nd	nd	2.3	96.5	0.1	0.6
	11	-	1.5	nd	nd	3.3	94.7	nd	0.5
	16	-	1.2	nd	0.4	4.5	92.7	0.2	1.0
	21	-	1.3	0.3	0.3	5.3	91.6	nd	1.2
	25	-	1.4	0.7	0.4	6.1	90.5	nd	0.9
	30	-	1.7	0.9	0.4	8.0	87.9	nd	1.1
7	0	-	nd	-	-	nd	98.9	-	1.1
	3	-	0.2	-	-	0.8	98.2	-	0.8
	7	-	0.3	-	-	0.9	98.3	-	0.5
	11	-	0.4	-	-	1.3	94.1	-	4.2
	16	-	0.3	-	-	1.6	97.3	-	1.1
	21	-	0.4	-	-	1.8	97.1	-	0.7
	25	-	0.4	-	-	1.7	97.9	-	0.0
	30	-	0.4	-	-	1.8	97.4	-	0.4
9	0	nd	nd	-	nd	nd	98.4	nd	1.6
	3	nd	0.4	-	0.7	0.8	97.4	nd	0.7
	7	0.1	0.8	-	1.6	1.1	95.8	nd	0.6
	11	0.2	1.1	-	2.4	1.3	93.9	nd	1.1
	16	0.4	1.7	-	3.9	1.6	91.4	0.2	0.8
	21	0.5	1.8	-	5.1	1.6	89.8	0.2	1.0
	25	0.6	2.1	-	4.7	1.5	89.8	0.3	1.0
	30	0.8	2.6	-	6.5	1.6	87.3	0.4	0.8

*: 報告書に記載されている日数を小数点第一位で四捨五入し整数で示した、nd: 検出限界以下
 -: 該当なし

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。

推定加水分解経路； 以上の結果および同定試験より推定される、エタボキサムの緩衝水溶液中における推定分解経路を図 1 に示す。

(2) 水中光分解運命試験 (緩衝液)

(資料 No.M-12)

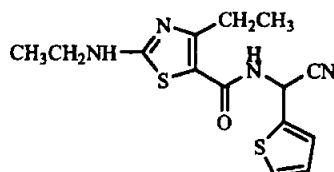
試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年: 2003 年

[GLP 対応]

供試標識化合物:

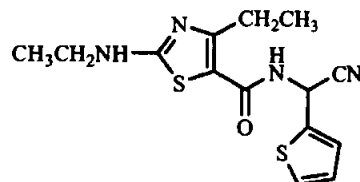
構造式:



*: ¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)



*: ¹⁴C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン-¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名: (RS)-N-(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度: 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
-------	--------------------------------	--------------------------------

緩衝液の調製: 0.01M、pH7; リン酸二水素ナトリウム 3.12g を約 1800mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 7 に調整した。溶液に水を加えて 2L に定容した。緩衝液は、オートクレーブ滅菌して使用した。

試験方法:

試験条件:

光源: キセノンアーク灯 (反射鏡およびフィルターにより 290 nm 以下の波長の光を除去)

光強度: 300-400 nm の範囲で、平均 38.7W/m²であった。

試験濃度: 5.11μg/mL ([Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム) および 5.44μg/mL ([Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム) (溶解補助剤としてメタノールを 1%添加)

試験温度: 20°C±3°C

照射期間: 143.6 時間 (29.78 日間 ([Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム) および 30.54 日間 ([Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム) 連続 (東京春季太陽光換算))

試験容器: 円筒形 (内径 2.5cm 高さ 8.0cm)、硼珪酸ガラス製 (テフロン加工スクリュウキャップ付)

試料採取: 試験開始直後、12、24、36、48、92 および 144 時間

分析法: 放射能は、液体シンチレーションカウンター (LSC) により測定した。HPLC で定量分析を行い、光分解性生物の単離および同定は、HPLC および TLC により測定した。

半減期算法；被験物質消失速度は、一次反応速度論で以下の等式から得られた。

$$C = C_0 e^{-kt}, \ln C = \ln C_0 - kt, t \text{ に対する } \ln C \text{ のプロットは } -k \text{ の傾きの直線となる。}$$

ここで、 $C = t$ 時における（被験物質の）割合、 $C_0 =$ ゼロ時における（被験物質の）割合

$k =$ 速度定数、 $t =$ 時間

試験液中の被験物質の消失に対する DT_{50} および DT_{90} 値は次式から算出した。

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{および} \quad DT_{90} = \frac{\ln 10}{k}$$

東京の春季太陽光日数の計算；農業試験ガイドライン 12 農産第 8147 号 2-6-2「水中光分解運命試験」に準じて、実照射時間を用いて算出された半減期より、北緯 35°（東京）における春季太陽光における半減期に換算した。

結果：

試験液の pH および無菌性；[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理試験液の pH は、光照射試料ではそれぞれ 6.84-7.11 および 6.85-7.09 であった。また、暗所対照試料ではそれぞれ 6.82-7.08 および 6.83-7.10 であった。全ての試験液は試験中無菌であった。

放射能の回収率（表 1）；

光照射試料 - [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理試験液におけるそれぞれの試料採取時の放射能回収率の範囲は、処理放射能の 96-101% および 93-99% であった。

暗所対照試料 - [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理溶液における放射能回収率は、それぞれ処理放射能の 98-101% および 97-99% であった。

表 1 放射能の回収率（処理放射能に対する割合、%）

試料採取 (時間)	実照射 時間 (時間)	東京春季 太陽光換算 (日)		北緯 40°での 太陽光換算 (日)		回収率 (%) (光照射区)		回収率 (%) (暗所対照区)	
		[Tz- ¹⁴ C]	[Tp- ¹⁴ C]	[Tz- ¹⁴ C]	[Tp- ¹⁴ C]	[Tz- ¹⁴ C]	[Tp- ¹⁴ C]	[Tz- ¹⁴ C]	[Tp- ¹⁴ C]
0	0	0	0	0	0	99.7	97.7	99.7	97.7
12	12.26	2.54	2.61	1.28	1.31	99.5	98.6	101	98.9
24	24.23	5.02	5.15	2.34	2.40	97.3	97.7	98.2	98.0
36	35.83	7.43	7.62	3.37	3.64	96.0	95.0	98.6	97.3
48	47.84	9.92	10.17	4.86	4.98	98.2	97.0	99.1	98.4
92	91.32	18.93	19.42	9.27	9.27	98.2	94.8	98.9	97.3
144	143.62	29.78	30.54	13.51	14.58	97.1	93.3	99.8	99.1

DT₅₀ および DT₉₀ (表 2) ; 結果を次の表に示した。

表 2 DT₅₀ および DT₉₀

標識位置	実照射 半減期 (時間)		北緯 40°の太陽 光換算半減期 (日)		東京春季太陽光 換算半減期 (日)	
	DT ₅₀	DT ₉₀	DT ₅₀	DT ₉₀	DT ₅₀	DT ₉₀
[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	33.7	112	3.22	10.7	6.99	—
[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	30.6	102	3.11	10.3	6.50	—
エタポキサム*	32.2	107	3.17	10.5	6.75	—

* : 両標識体の平均値

相関係数 : [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム $r^2=0.983231$ 、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム $r^2=0.967382$

分解生成物の同定および定量 (表 3-表 6) ; [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムを処理した緩衝液中、1 成分 (APiTz1) のみが処理量の 10% 以上であった。この成分は資料 No.M-参考 1 で揮発性の極性低分子量のカルボン酸と同定されたが、構造式は未同定である。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムで処理した緩衝液中、2 成分が処理放射能量の 10% 以上であった。この成分のうちの 1 成分 (APITp1c) は資料 No.M-参考 1 において、複数の成分が含まれていることが判明し、その各成分は処理放射能の <10% であった。もう 1 成分 APITp5 はエタポキサムのケトン分解物 (LGC-35525 (M)) であり、[Tz-¹⁴C] の照射試料中にもわずかに存在することが確認された (APiTz5a)。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムに特有の代謝物は、2-チオフェンカルボキサミド (Q) (APITp2) および 2-チオフェンカルボン酸 (R) (APITp3) であった。

両標識体の共通代謝物は APITp6/APITz6、APITp7/APITz7、および APITp9/APITz9 であった。これら分解物の構造より、チオフェン環の HNC-CN 側鎖およびチアゾール環の CH₃CH₂NH 側鎖付近で光分解反応が生じていることが示された。また、チアゾール環およびチオフェン環の環そのものの開裂による分解物は生成しないと考えられた。

暗所対照試料中ではほとんど分解はみられなかった。

表3 [Tz-¹⁴C]照射試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

化合物	HPLC 保持時間 (分)	経過時間 (時間)						
		0	12	24	36	48	92	144
APiTz1a (未同定)	2-5	-	-	1.6	3.6	7.1	1.7	2.6
APiTz1b (未同定)		-	-				3.9	4.3
APiTz1c (未同定)		-	-				15.7	19.0
APiTz1d (未同定)		-	-	-	-	2.1	-	
APiTz1e (未同定)		-	-	-	-	2.2	2.1	5.6
APiTz2a (未同定)	10-12	-	2.2	3.3	3.9	8.0	4.2	2.7
APiTz2b (未同定)		-					4.4	5.3
APiTz2c (未同定)		-					4.0	2.5
APiTz3a (未同定)	13-16	-	-	1.0	2.2	3.7	1.2	2.3
APiTz3b (未同定)		-	-	-	-	-	2.7	2.6
APiTz5a (LGC-35525 (M))	16-19	-	-	1.6	2.3	1.7	9.7	8.9
APiTz5b (LGC-35525 (M))		-	-	-	-	-	2.0	2.8
APiTz6 (LGC-32790 (N) / LGC-32791 (O))	20-22	-	-	-	-	-	2.5	2.2
APiTz7 (LGC-32789 (P))	23-27	-	-	-	-	-	4.5	4.9
APiTz8 (エタボキサム (A))	31-33	96.2	90.9	78.1	68.3	50.8	16.7	6.0
APiTz9 (LGC-32787 (J) / LGC-32788 (K))	33-36	-	-	2.4	2.8	4.7	8.0	6.4
その他*	-	3.9	6.9	12.1	16.9	21.7	14.6	22.0
合計	-	100.1	100.0	100.1	100.0	99.0	100.0	100.1

(値は、2連平均値の小数点以下2桁目を四捨五入) - : 該当データなし

* : その他には資料 No.M-参考1において質量分析により同定された化合物を含む。

APiTz2 および APiTz3 は[Tz-¹⁴C]においてのみ検出された。APiTz5 から APiTz9 は、資料 No.M-参考1の APiTz5 から APiTz9 に該当。APiTz1c は資料 No.M-参考1において同定された。

表4 [Tp-¹⁴C]照射試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

化合物	HPLC 保持時間 (分)	経過時間 (時間)						
		0	12	24	36	48	92	144
APiTp1a (未同定)	1-5	-	-	1.8	2.8	2.6	5.1	8.2
APiTp1b (未同定)		-	-			3.4	4.9	
APiTp1c (未同定)		-	-	2.2	2.0	7.5	11.8	
APiTp2 (2-チオフェンカル ボキサミド (Q))	5-6	-	-	0.8	1.4	1.9	6.6	6.9
APiTp3a (2-チオフェン カルボン酸 (R))	9-11	-	-	1.4	2.1	3.0	5.0	3.9
APiTp3b (2-チオフェン カルボン酸 (R))		-	-	0.6	1.0		2.6	2.5
APiTp4	11-13	-	-	1.2	2.6	2.7	6.5	7.0
APiTp5 (LGC-35525 (M))	16-19	-	-	2.5	3.8	4.0	11.4	11.1
APiTp6 (LGC-32790 (N) / LGC-32791 (O))	20-22	-	-	-	1.2	0.8	2.4	4.4
APiTp7a (LGC-32789 (P))	23-27	-	-	-	1.7	4.3	4.0	3.8
APiTp7b (LGC-32789 (P))		-	-	-			2.1	2.7
APiTp8 (エタボキサム (A))	31-33	97.1	91.0	78.5	60.2	64.7	15.6	4.4
APiTp9 (LGC-32787 (J) / LGC-32788 (K))	33-36	-	-	2.1	3.9	4.9	7.8	7.3
その他*	-	2.9	9.1	11.0	17.2	9.2	20.4	21.4
合計	-	100.0	100.0	99.9	100.1	100.1	100.4	100.3

(値は、2連平均値の小数点以下2桁目を四捨五入) - : 該当データなし

* : その他には資料No.M-参考1において質量分析により同定された化合物を含む。

APiTp1およびAPiTp4は[Tp-¹⁴C]においてのみ検出された。APiTp1cは資料No.M-参考1において分離した。APiTp2、APiTp3、APiTp5、APiTp6、APiTp7およびAPiTp9は資料No.M-参考1において同定された。

表5 [Tz-¹⁴C]暗所対照試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

化合物	HPLC 保持時間 (分)	経過時間 (時間)						
		0	12	24	36	48	92	144
APdTz1 (エタボキサム (A))	33-35	96.2	99.8	93.6	100	98.2	95.8	95.8
その他	-	3.9	0.2	6.3	0.0	1.8	4.2	4.2
合計	-	100.0	100.0	99.9	100.0	100.0	100.0	100.0

表6 [Tp-¹⁴C]暗所対照試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

化合物	HPLC 保持時間 (分)	経過時間 (時間)						
		0	12	24	36	48	92	144
APdTp1 (エタボキサム (A))	33-35	97.1	99.0	93.1	91.6	96.7	99.4	98.1
その他	-	2.9	1.0	6.9	8.4	3.3	0.6	1.9
合計	-	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

想定水中光分解経路； 以上の結果および同定試験（資料 No.M-参考 1）より推定されるエタボキサムの想定水中光分解過程を図 1 に示す。

(3) 水中光分解運命試験 (滅菌自然水)

(資料 No.M-13)

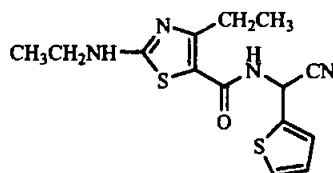
試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd (英国)

報告書作成年: 2008 年

[GLP 対応]

供試標識化合物:

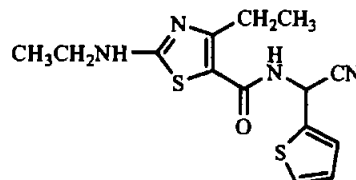
構造式:



*: ¹⁴C 放射能標識位置

チアゾール環 ¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム)



*: ¹⁴C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン-¹⁴C 標識エタポキサム

(以下、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム)

化学名: (RS)-N-(α-シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度: 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
-------	--------------------------------	--------------------------------

自然水: 河川 (The River Great Ouse, UK) から採取した自然水を用いた。供試自然水の物理化学的性状を以下に示す。

項目	値	項目	値
pH	7.66	電気伝導率度 (μS) ^b	0.81
溶存酸素含有量 (%) ^a	75.0	総溶存炭素量 (mgC/L) ^b	68.1
浮遊固形物 (g/L) ^b	0.01006	溶存酸素量 (%) ^c	96~114.2
総蒸発残渣 (g/L) ^b	0.00566		-

a: 採取時現地にて測定 b: 212μm のフィルター通過後測定 c: 滅菌後測定 (使用の 24 時間以内)

試験方法:

試験条件:

光源: キセノンアーク灯 (反射鏡およびフィルターにより 290 nm 以下の波長の光を除去)

光強度: 300-400 nm の範囲で、平均 43.5W/m²であった。

試験濃度: 5.03mg/L ([Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム) および 5.07mg/L ([Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム) (溶解補助剤アセトニトリルは、試験溶液中 0.2%)

試験温度: 25°C±2°C

照射期間: 72 時間 (約 17 日間連続 (東京春季太陽光換算 (北緯 35°)))

試験容器: 円筒形 (内径 2.5cm 高さ 8.0cm) 硼珪酸ガラス製 (上面石英ガラス、テフロン加工ス)

クリューキャップ付)

試料採取：試験開始直後、3、6、9、24、48 および 72 時間

分析法：放射能は、液体シンチレーションカウンター (LSC) により測定した。HPLC で定量分析を行い、光分解生成物の単離および同定は、LC-MS、MS/MS および TLC により測定した。

半減期算定法；被験物質消失速度は、擬一次反応速度論で得られた。

東京の春季太陽光日数の計算；農薬試験ガイドライン 12 農産第 8147 号 2-6-2「水中光分解運命試験」に準じて、実照射時間を用いて算出された半減期より、北緯 35° (東京) における春季太陽光における半減期に換算した。

結果：

試験液の pH；[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理試験液の pH は、光照射試料ではそれぞれ 6.57 および 7.05 であった。また、暗所対照試料ではそれぞれ 7.26 および 7.05 であった。

放射能の回収率 (表 1)；

光照射試料 — [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理試験液におけるそれぞれの試料採取時の放射能回収率の範囲は、処理放射能の 95.9-99.0% および 95.7-97.6% であった。

暗所対照試料 — [Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理溶液における放射能回収率は、それぞれ処理放射能の 95.4-98.4% および 96.5-99.0% であった。

表 1 放射能の回収率 (処理放射能に対する割合、%)

実照射時間 (時間)	東京春季太陽光換算 (日)	回収率 (%) (光照射区)		回収率 (%) (暗所対照区)	
		[Tz- ¹⁴ C]	[Tp- ¹⁴ C]	[Tz- ¹⁴ C]	[Tp- ¹⁴ C]
0	0	100.0	100.0	100.0	100.0
3	0.7	98.1	97.6	96.8	98.8
6	1.4	96.3	96.9	96.3	97.8
9	2.1	95.9	97.5	95.4	97.7
24	5.59	96.7	96.9	95.4	96.7
48	11.19	97.9	96.7	96.2	96.5
72	16.78	99.0	95.7	98.4	99.0

DT₅₀ および DT₉₀ (表 2) ; 結果を次の表に示した。

表 2 DT₅₀ および DT₉₀

標識位置	実照射半減期 (時間)		東京春季太陽光 換算半減期 (日)	
	DT ₅₀	DT ₉₀	DT ₅₀	DT ₉₀
[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム (照射区)	12.7	42.2	2.96	—
(暗所対照区)	538	1787	—	—
[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム (照射区)	13.6	45.0	3.17	—
(暗所対照区)	5306	17628	—	—

相関係数 : [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム $r^2=0.9713$ (照射区)、 $r^2=0.7252$ (暗所対照区)
[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム $r^2=0.9959$ (照射区)、 $r^2=0.6139$ (暗所対照区)

分解生成物の同定および定量 (表 3-表 6) ; [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムを処理した自然水中、処理放射能の 10% を上回る他の主要な光分解物は、PiTz2、PiTz5 および PiTz1 であった。それぞれ処理放射能の最大 33.6%、10.0% および 13.6% を占めた。光分解物 PiTz2 および PiTz5 は、それぞれプロピオン酸 (Y) および LGC-35525 (M) として同定された。光分解物 PiTz1 は、最大で 6 つの成分からなり、それぞれが処理放射能の 0.4~5.3% を占めることが判明した。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムで処理した自然水中、PiTp4 および PiTp5 は、それぞれ処理放射能の最大 13.0 および 10.6% であった。光分解物 PiTp4 および PiTp5 は、それぞれ 2-チオフェンカルボン酸 (R) および LGC-35525 (M) として同定された。他に同定された光分解物は、2-チオフェンカルボキサミド (Q) および LGC-35523 (G) であり、それぞれ処理放射能の 4.2 および 4.9% であった。

両放射能標識体に共通する主要な光分解物は、PiTz7/PiTp7 (処理放射能の最大 13.8~15.3%) であった。この光分解物は、資料 No.M-参考 1 においても主要な光分解物の APiTp7/Tz7 として同定されていたものであり、LGC-30473 の異性体 (LGC-32789 (P)) として同定された。次に両放射能標識体に共通する光分解物は、PiTz6/PiTp6 (処理放射能の最大 4.5%) であり、資料 No.M-参考 1 においても主要な光分解物の APiTz6/Tp6 として同定されていたものと同一であった。これは、LGC-30473 のイミン体 (LGC-32790 (N)) またはジヒドロケト体 (LGC-32791 (O)) のいずれかとして同定された。暗所対照試料中ではほとんど分解はみられなかった。

表3 [Tz-¹⁴C] 照射試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

	HPLC 採取画分 (分)	処理経過日数 (時間)						
		0	3	6	9	24	48	72
PiTz1*	3.0-5.0	0.5	0.8	5.9	4.1	8.4	10.3	13.6
PiTz2 (プロピオン酸(Y))	5.0-9.0	<0.1	1.4	<0.1	6.2	24.5	23.8	33.6
PiTz2a	9.0-11.5	<0.1	0.2	<0.1	0.8	2.3	2.7	1.7
PiTz2b	11.5-13.0	<0.1	<0.1	<0.1	0.4	0.9	1.2	1.1
PiTz2c	13.0-15.0	<0.1	0.4	<0.1	0.3	0.7	0.8	4.6
PiTz3	15.0-17.0	<0.1	0.2	1.6	1.3	4.1	4.5	2.2
PiTz4	17.0-18.5	<0.1	0.8	2.0	2.8	4.5	3.4	3.1
PiTz4a	18.5-21.5	<0.1	1.7	0.7	4.5	5.4	5.9	5.3
PiTz4b	21.5-23.5	<0.1	2.3	0.3	1.5	1.4	1.2	1.2
PiTz4c	23.5-25.0	<0.1	0.4	<0.1	0.4		0.7	1.6
PiTz4d	25.0-26.5	<0.1	0.8	0.5	1.5	1.6	1.7	4.4
PiTz4e	26.5-27.5	<0.1	0.7	3.2	1.4	2.3	3.9	
PiTz5 (LGC-35525 (M))	27.5-31.5	<0.1	2.2	1.5	7.0	9.1	10.0	7.8
PiTz6 (LGC-32790 (N) / LGC-32791 (O))**	31.5-34.0	<0.1	1.3	2.4	3.3	3.6	4.5	2.5
PiTz6a	34.0-35.0	<0.1	0.5	1.8	1.3	1.1	1.1	0.5
PiTz7 (LGC-32789 (P))**	35.0-39.0	0.2	1.7	4.0	5.9	13.8	13.8	13.6
PiTz7a	39.0-40.5	0.5	0.4	0.7	0.6	0.6	0.8	0.3
PiTz7b	40.5-42.0	<0.1	0.6	0.9	0.6	0.5	0.4	<0.1
APiTz8 (エタボキサム(A))	43.0-45.5	97.9	69.3	64.2	48.8	12.5	5.4	1.9
PiTz8a	45.5-47.0	<0.1	0.8	1.4	1.2	0.5	0.7	0.3
PiTz8b	47.0-48.0	<0.1	2.2	4.8	3.9	1.4	0.7	0.2
PiTz8c	53.0-55.0	0.3	0.9	1.6	0.6	0.1	0.2	<0.1
PiTz9	56.0-57.5	<0.1	0.2	0.8	1.0	0.2	1.3	0.5
PiTz10	58.5-60.5	0.3	1.0	0.5	0.3	0.5	0.5	<0.1
PiTz10a	60.5-62.0	<0.1	<0.1	0.2	<0.1	<0.1	0.3	<0.1
PiTz11	62.5-64.5	<0.1	4.9	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

(値は、2 連平均値)

* : 48 時間および72 時間試料は6 成分からなっており、それぞれは処理放射能の0.4~5.3%であった

** : 資料 No.M-参考1 において同定

表4 [Tp-¹⁴C] 照射試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

放射能成分	HPLC 採取画分 (分)	処理経過日数 (時間)						
		0	3	6	9	24	48	72
PiTp1 ^b	2.2-3.1	<0.1	2.5	1.3	1.2	2.0	8.9	9.0
PiTp1a ^b	3.1-4.0	<0.1				2.4	5.6	4.7
PiTp1b ^b	4.0-4.6	<0.1				0.5	1.0	1.2
PiTp2 ^b	4.6-5.8	<0.1	0.3	1.1	0.9	1.9	6.1	5.8
PiTp2a ^b	5.8-7.9	<0.1	0.6	0.7	0.6	2.2	3.9	3.2
PiTp2b ^b	7.9-10.0	<0.1				0.6	1.6	0.9
PiTp3 ^b	10.0-11.2	<0.1	0.7	4.1	3.7	0.5	1.2	0.6
PiTp3a ^{bc}	11.2-12.2	<0.1				3.5	5.3	6.2
PiTp3b ^b (LGC-35523 (G))	12.2-13.4	<0.1				4.0	4.9	4.1
PiTp3c ^b	13.4-14.7	<0.1				0.6	1.3	1.5
PiTp4 (2-チオフェンカルボン酸 (R))	15.0-19.5	0.1	0.9	3.0	2.4	6.4	12.0	13.0
PiTp4a	19.5-22.0	0.2	0.9	3.5	2.4	2.1	2.7	2.1
PiTp4b	22.0-24.5	0.1	0.5	0.8	0.9	1.9	6.5	5.5
PiTp4c	24.5-26.0	<0.1	0.8	2.6	2.4	5.4	2.1	2.3
PiTp4d	26.0-28.5	<0.1	0.6	1.9	1.4	3.6	4.3	5.0
PiTp5 ^b (LGC-35525 (M))	28.5-30.0	<0.1	2.4	6.2	5.3	10.0	10.3	10.6
PiTp5a ^b (LGC-32525 (H))	30.0-32.0	<0.1	0.6	0.6	0.9	1.2	1.3	1.1
PiTp6 (LGC-32790 (N)) /LGC-32791 (O))**	32.5-35.0	0.1	1.5	3.0	2.6	4.5	3.6	2.7
PiTp6a	35.0-36.5	<0.1	0.6	1.1	0.8	1.2	0.8	0.6
PiTp7 (LGC-32789 (P))	36.5-40.0	0.4	2.0	4.2	4.3	11.5	13.0	15.3
PiTp7a	40.0-42.0	0.9	1.2	0.6	1.1	0.8	0.4	0.6
PiTp7b	42.0-43.5	<0.1	0.2	0.9	0.2	0.3	0.1	0.2
PiTp8 (エタボキサム (A))	43.5-46.0	97.2	78.4	56.9	63.1	26.5	1.6	2.3
PiTp8a	46.0-47.0	<0.1	2.6	4.5	3.9	3.3	0.2	0.3
PiTp8b	47.0-49.0	<0.1	0.7	0.4	0.5	0.5	0.1	0.3
PiTp8c	55.0-56.0	0.6	1.0	0.8	0.6	0.5	0.1	<0.1
PiTp9	57.0-59.0	0.4	0.6	1.2	0.8	1.1	1.1	0.9
PiTp10	59.0-62.0	<0.1	0.6	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

(値は、2 連平均値)

^b: Laura 放射性トレーサー解析により構造を決定した

^c: PiTp3A1 (処理放射能の 4.2%、2-チオフェンカルボキサミド (Q)) および PiTp3A2 (処理放射能の 2.0%) から構成されている

** : 資料 No.M-参考 1 において同定

表5 [Tz-¹⁴C] 暗所対照試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

化合物	HPLC 採取画分 (分)	経過時間 (時間)						
		0	3	6	9	24	48	72
PDTz13 (エタボキサム(A))	42.0 - 47.0	97.9	96.1	96.5	97.0	97.2	95.4	86.9
その他	-	>1.8	>2.3	>3.6	>3.0	>2.7	>4.7	13

表6 [Tp-¹⁴C] 暗所対照試料の放射性成分の割合 (処理放射能に対する割合、%)

化合物	HPLC 採取画分 (分)	経過時間 (時間)						
		0	3	6	9	24	48	72
PDTp10 (エタボキサム(A))	43.0 - 49.0	97.2	97.2	97.3	97.6	97.3	97.2	96.2
その他	-	>3.1	>2.9	>2.5	>2.3	>2.6	>2.9	>3.8

想定水中光分解経路； 以上の結果および同定試験 (資料 No.M-参考1) より推定されるエタボキサムの想定自然水中光分解過程を図1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住友化学株式会社にある。

5. 土壌吸着試験

エタポキサムの土壌吸着試験

(資料 No.M-14)

試験機関：(財)化学物質評価研究機構

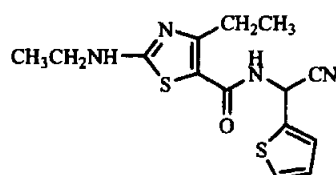
報告書作成年：2008年

[GLP 対応]

供試化合物：

化学名；(RS)-N-(α -シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

構造式；



供試土壌：下表の性状を示す4土壌を(社)日本植物防疫協会から購入して供試した。

表1. 供試土壌の性状

土壌資料 No.		1	2	3	4
採取場所		宮崎県宮崎郡 佐土原町 日植防研 宮崎試験場	埼玉県大里郡 岡部町 普通畑地*	栃木県栃木市 大塚町栃木県 農試栃木分場	茨城県牛久市 結束町日本植物 防疫協会研究所*
土 性	砂含量 (%)	91.1	42.8	37.8	33.5
	シルト (%)	5.4	39.3	41.7	47.0
	粘土含量 (%)	3.5	17.9	20.5	19.5
粘土鉱物の種類		アロフェン	アロフェン、 緑泥岩・パーミキュライト 中間体	カオリン鉱物	緑泥岩 (クロライト)、 アロフェン
土壌含水率		0.609	8.46	6.67	4.58
pH(水)		6.2	5.5	6.2	6.1
pH(0.01M CaCl ₂)		5.3	5.2	5.5	5.6
陽イオン交換容量 (me/100g)		4.9	22.8	15.4	28.5
リン酸吸収係数		370	1480	830	2040
有機炭素含有率 (%)		0.69	3.20	1.44	5.17
成 因		砂丘未熟土	黒ボク土	灰色低地土	黒ボク土
OECD 土壌タイプ		5 に類似	4	3 に類似	2 に類似

*：火山灰土壌

試験方法 (OECD 106 間接法) : 吸着速度試験および吸着等温試験は、予備試験の結果から被験物質が安定であると予想されたことから、各試験液の水相中の被験物質濃度を測定し、土壌への吸着率および吸着係数を算出する間接法により実施した。

試験 1. 予備試験 : 土壌/溶液比検討

土壌への吸着率が 20%以上となると想定される濃度および土壌/溶液比を予備試験で確認した。結果を表 1 に示す。

表 1 各土壌/溶液比による吸着率および物質収支

試験土壌	土壌 No.1		土壌 No.2		土壌 No.3		土壌 No.4	
土壌/溶液比 ¹⁾	1/8 (w/vol)		1/25 (w/vol)		1/40 (w/vol)		1/50 (w/vol)	
	吸着率 (%)	物質収支 (%)	吸着率 (%)	物質収支 (%)	吸着率 (%)	物質収支 (%)	吸着率 (%)	物質収支 (%)
2 mg/mL	22.3	95.7	21.2	96.3	23.8	92.3	20.3	96.7
0.02 mg/mL	33.6	—	31.3	—	40.5	—	32.8	—

試験 2. 予備試験 : 平衡化時間の決定 (吸着速度試験)

試験条件 ;

試験濃度 : 0.2 mg/L

試験温度 : 25±1℃

試験容器 : 37 mL 容共栓付ガラス製遠心管 (土壌 No.1)

50 mL 容共栓付ガラス製遠心管 (土壌 No.2、3 および 4)

土壌/溶液比¹⁾ : 試験 1 で確認した土壌/溶液比を用いた。

1/8 (w/vol) (土壌 No.1)、1/25 (w/vol) (土壌 No.2)

1/40 (w/vol) (土壌 No.3)、1/50 (w/vol) (土壌 No.4)

試験連数 : 2

光条件 : 遮光条件下 (試験容器をアルミホイルで覆った。)

試験期間 : 24 時間 (土壌 No.3 および No.4)

48 時間 (土壌 No.1 および No.2)

試験液の調製 ;

試験区ごとに適量の土壌をはかりとり、適量の 0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液を加え、

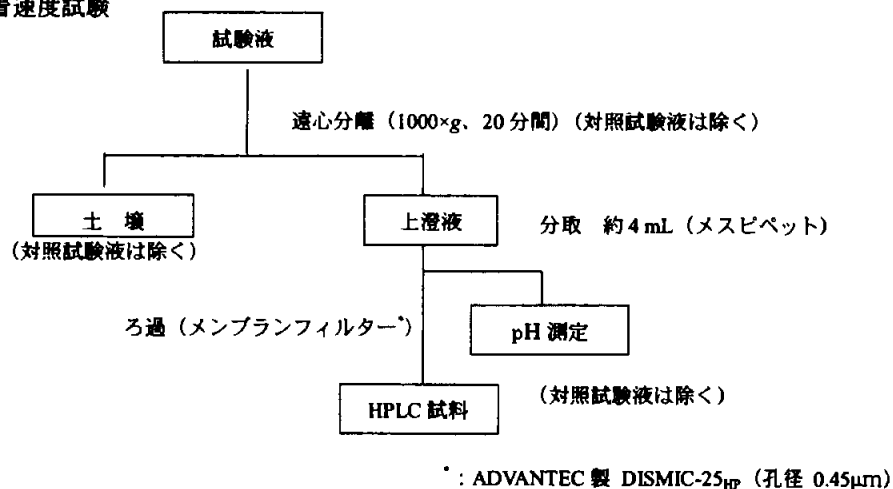
16 時間、回転振とう機を用いて振とうした後、適量の 20 mg/L の被験物質アセトニトリル溶液を添加して試験液とした。(混合量は下表)

試験土壌	土壌サンプル量 (g)	塩化カルシウム量 (mL)	被験物質量 (mL)
土壌 No.1	約 2	15.84	0.16
土壌 No.2	約 2	49.5	0.5
土壌 No.3	約 1	39.6	0.4
土壌 No.4	約 1	49.5	0.5

なお、土壌を含まない 0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液 (49.5 mL) を、16 時間にわたり回転振とう後、0.5 mL の 20 mg/L 被験物質アセトニトリル溶液を添加した対照試験液、各試験土壌に被験物質を添加せず、適量の 0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液を加え、16 時間回転振とうしたそれぞれの土壌のブランク試験液も調製した。

試験操作；試験液について回転振とう機を用いて振とうし、2、4、6、8 および 24 時間後にそれぞれ取り出し (土壌 No.1 および 2 は 48 時間後も)、土壌ブランク試験液については試験液が吸着平衡に達した後 (土壌 No.1 および 2 は 48 時間後、土壌 No.3 および 4 は 24 時間後)、対照試験液は 48 時間後に取り出し、図 1 スキームに従って前処理を行い、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析した。また、吸着平衡に達した試験液および土壌ブランク試験液について上澄液の pH を測定した。

図 1 吸着速度試験



平衡化時間の決定；各経過時間における HPLC 試料中の被験物質濃度を測定して吸着率を算出し、経過時間に対してプロットした。

$$\text{変化率 (\%)} = \frac{(\text{n 回時の吸着率}) - (\text{n-1 回時の吸着率})}{(\text{n-1 回時の吸着率})} \times 100$$

結果を表 2 に示す。

表 2 経時的吸着率 (%)

振とう時間 (時間)	土壌 No.1	土壌 No.2	土壌 No.3	土壌 No.4
2	11.3	16.4	9.0	13.0
4	17.5	23.3	18.3	18.2
6	20.2	24.2	28.5	23.7
8	24.1	26.0	30.7	24.2
24	26.2	26.7	30.7	24.5
48	26.6	26.3	—	—

—測定せず

平衡化時間は、土壌 No.1 および 2 においては 48 時間、土壌 No.3 および 4 においては 24 時間であった。

試験 3. 本試験 (吸着等温試験)

試験条件；

試験濃度：0.02、0.08、0.2、0.8 および 2 mg/L

試験濃度以外は試験 1 と同じ条件である。

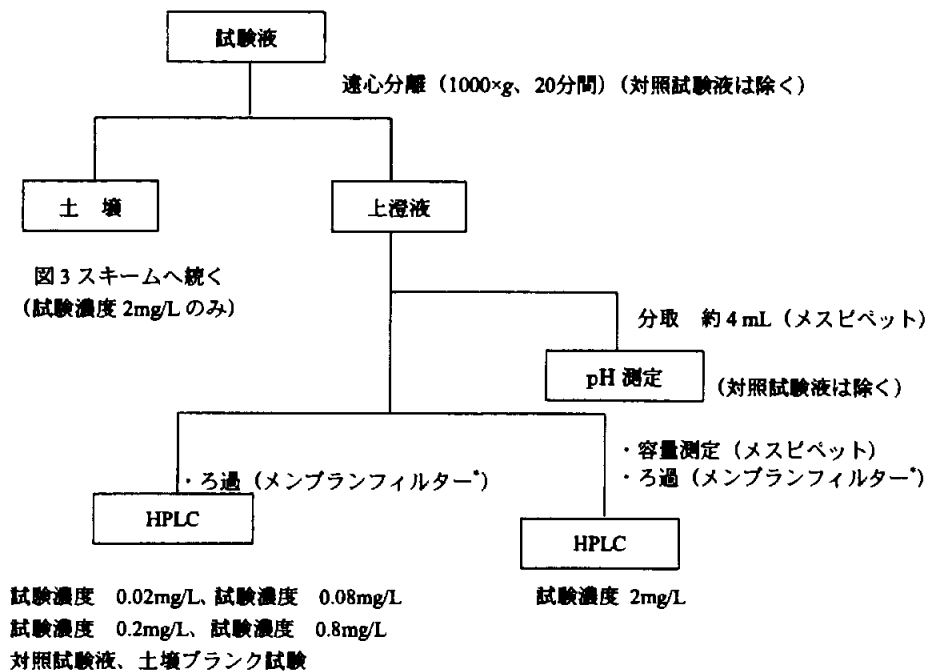
試験液の調製；

試験濃度以外は試験 1 と同じ操作で試験液を調製した。一定濃度の被験物質アセトニトリル溶液 0.5 mL を添加して試験液とした。

なお、土壌を含まない 0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液 (49.5 mL) を、16 時間、回転振とう機を用いて振とうした後、0.5 mL の 20 mg/L 被験物質アセトニトリル溶液を添加した対照試験液、各試験土壌に被験物質を添加せず、適量の 0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液を加え、16 時間、回転振とう機を用いて振とうした土壌ブランク試験液も調製した。

試験操作；試験液、対照試験液および土壌ブランク試験液を試験 1 で決定した平衡化時間 (土壌 No.1 および 2 は 48 時間、土壌 No.3 および 4 は 24 時間) 振とうし、図 2 スキームに従って前処理を行い、HPLC 分析した。また、吸着平衡に達した試験液および土壌ブランク試験液について上澄液の pH を測定した。

図2 吸着等温試験

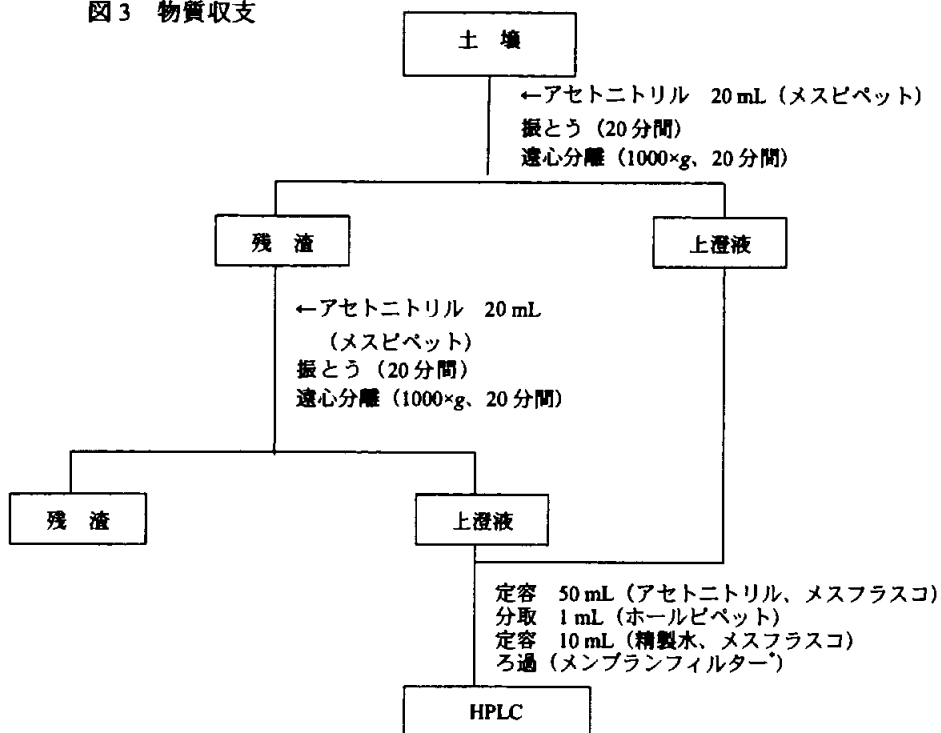


*: ADVANTEC 製 DISMIC-25_{HP} (孔径 0.45μm)

試験4. 物質収支

試験方法；試験3の吸着等温試験における試験濃度2mg/Lの試験液について、水相中の被験物質濃度を、試験3で測定した被験物質濃度および体積から求めた。また、土壌から抽出される被験物質質量は図2スキームに従ってHPLC分析した。これらの合計質量と試験液中に最初に添加した被験物質質量から物質収支を算出した。なお、各土壌ブランク試験液の土壌についても同様の前処理を行い、HPLC分析した。

図3 物質収支



*: ADVANTEC 製 DISMIC-25_{HP} (孔径 0.45 μ m)

結果:

試験3. 吸着等温試験 (本試験): 4種類の試験土壌を用いて土壌吸着試験を行った結果、表3の吸着等温パラメーターが得られた。 K^{ads}_F は2.31~14.8 および K^{ads}_{FOC} は251~903の範囲であり、移動性は低いと考えられた。

表3 吸着試験成績

試験土壌	フロイントリッヒ 指数 $1/n$	フロイントリッヒ 吸着係数 K^{ads}_F	r^1	OC% ²⁾	K^{ads}_{FOC} ³⁾
土壌 No.1	0.873	2.31	1.00	0.69	335
土壌 No.2	0.890	8.02	1.00	3.20	251
土壌 No.3	0.818	13.0	1.00	1.44	903
土壌 No.4	0.892	14.8	1.00	5.17	286

¹⁾: フロイントリッヒの吸着等温式による定数項との相関係数

²⁾: 土壌中の有機炭素含有率

³⁾: K^{ads}_F 値を各土壌の有機炭素含有率で割り求めた有機炭素吸着係数

試験 4. 物質収支；試験濃度 2 mg/mL の試験液の水相および土壌中の被験物質量を測定し、物質収支を得た。何れの土壌においても物質収支は 91.5～99.2%の範囲にあり、分析過程において被験物質は安定であることが示された。

表 4 物質収支

試験土壌	平均物質収支 (%)
土壌 No.1	96.9
土壌 No.2	91.5
土壌 No.3	94.6
土壌 No.4	99.2

数値は 2 反復の平均

結論：土壌 No. 3（カオリン鉱物含有灰色低地土）で有機炭素量により補正した吸着係数 ($K_{\text{FOC}}^{\text{ads}}$) が他の土壌よりもわずかに高かったが、エタポキサムが土壌吸着性を有すると判断するほどではなかった。

6. その他

加工処理条件下における加水分解試験

(資料 No.M-その他)

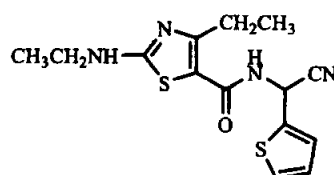
試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

試験目的：エタボキサムが実際のな農産物の主な加工操作条件下においてどのような加水分解への影響を蒙るかについて、また加水分解物の生成について検討した。

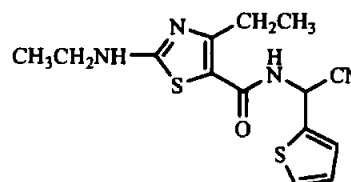
供試標識化合物：

構造式：



* : ^{14}C 放射能標識位置

チアゾール環 ^{14}C 標識エタボキサム
(以下、[Tz- ^{14}C] 標識エタボキサム)



* : ^{14}C 放射能標識位置

チオフェン-2-メチレン- ^{14}C 標識エタボキサム
(以下、[Tp- ^{14}C] 標識エタボキサム)

化学名； (RS)-N-(α -シアノ-2-テニル)-4-エチル-2-(エチルアミノ)-1,3-チアゾール-5-カルボキサミド

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

供試化合物	[Tz- ^{14}C] 標識エタボキサム	[Tp- ^{14}C] 標識エタボキサム

緩衝液の調製：以下の緩衝液を調製した。

0.01M、pH4；氷酢酸 0.6 mL を約 900 mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 4 に調整した。溶液に水を加えて 1L に定容した。

0.01M、pH5；氷酢酸 0.6 mL を約 900 mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 5 に調整した。溶液に水を加えて 1L に定容した。

0.01M、pH6；リン酸二水素ナトリウム 1.561 g を約 900mL の水と混合し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH を 6 に調整した。溶液に水を加えて 1L に定容した。

試験方法：

試験液の調製；[Tz- ^{14}C] 標識エタボキサムおよび[Tp- ^{14}C] 標識エタボキサムの保存溶液から、それぞれ 136 μL および 144 μL を 50mL 容スクリーキャップ付フラスコへ取り、窒素気流化で濃縮乾固し、各 pH の緩衝液を加え、超音波処理および攪拌し、試験液 (約 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) とした。

試験条件；以下の条件でインキュベーション処理を行った。

1. 低温殺菌処理条件 - pH 4、90℃、20分（オートクレーブ）
2. 醸造・パン製造加熱・煮沸処理条件 - pH 5、100℃、60分（オートクレーブ）
3. 殺菌処理条件 - pH 6、120℃、20分（油浴）

試料採取；インキュベーション終了後、試験容器を常温になるまで放置し、冷却後、試料を直接放射能測定に供した。

分析方法；放射能は、液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。加水分解生成物の単離および同定は、HPLCおよびTLCにより測定した。

結果：

放射能の回収率（表1）；各pHレベル試験液における放射能の回収率は、[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムで、それぞれ処理放射能の100.9～105.5%および99.7～103.7%の範囲内であった。

表1 各条件下における放射能回収率（処理放射能に対する割合、%）

インキュベーション条件	[Tz- ¹⁴ C] 標識エタポキサム	[Tp- ¹⁴ C] 標識エタポキサム
1 pH 4、90℃、20分	100.9	101.2
2 pH 5、100℃、60分	101.0	103.7
3 pH 6、120℃、20分	105.5	99.7

分解物（表2）；

[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区 - インキュベーション終了時点で、エタポキサム (A) は処理量の72.9% (120℃、pH 6)、92.5% (100℃、pH 5) および96.0% (90℃、pH 4) であった。120℃における主分解生成物 (>10%) はチアゾールカルボキサミド (LGC-32523 (L)) で処理量の16.8%であった (100℃で処理量の0.9%、90℃で処理量の0.2%)。他の分解生成物はα-カルボニル化合物 (LGC-32533 (I)) (120℃で処理量の6.5%、100℃で処理量の6.0%、90℃で処理量の1.9%)、α-アミド化合物 (LGC-32525 (H)) (120℃で処理量の2.7%、90℃で処理量の0.5%) であった。TzB3 画分のHPLC保持時間に一致する成分は120℃のみで、処理量の0.2%生成した。

[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理区 - インキュベーション終了時点で、親化合物は処理量の72.0% (120℃、pH 6)、91.3% (100℃、pH 5) および97.1% (90℃、pH 4) であった。120℃における主分解生成物はTpB4で、処理量の11.2%であった (100℃で処理量の0.7%)。他の分解性生物はα-カルボニル化合物 (LGC-32533 (I)) (120℃で処理量の6.7%、100℃で処理量の6.3%、90℃で処理量の1.8%) およびα-アミド化合物 (LGC-32525

(H) (120℃で処理量の2.7%、100℃で処理量の0.3%)であった。

以上の結果より、加水分解の受けやすさの順序は、120℃ (殺菌処理条件下) > 100℃ (醸造・パン製造加熱・煮沸処理条件) > 90℃ (低温殺菌処理条件) であった。

表2 各インキュベーション条件下における放射性成分 (処理放射能に対する割合、%)

標識化合物	化合物	HPLC 保持時間 (分)	pH 4, 90℃ 20分	pH 5, 100℃ 60分	pH 6, 120℃ 20分
[Tz- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	TzB1	2.0-3.0	<0.2	<0.2	0.2
	TzB2	10.0-11.5	<0.2	<0.2	<0.2
	TzB3*	15.5-16.0	<0.2	<0.2	0.2
	TzB4 (LGC-32523 (L))	18.5-20.0	0.2	0.9	16.8
	TzB5 (LGC-32525 (H))	31.0-32.0	0.5	<0.2	2.7
	TzB6 (LGC-32533 (I))	36.5-37.5	1.9	6.0	6.5
	TzB7 (エタボキサム (A))	42.0-44.0	96.0	92.5	72.9
	TzB8	44.5-45.5	0.5	0.6	0.4
	その他	-	0.9	<0.2	0.3
[Tp- ¹⁴ C] 標識 エタボキサム	TpB1	2.0-3.0	<0.2	<0.1	0.5
	TpB2	10.0-11.5	<0.2	0.5	3.6
	TpB3	13.0-14.5	<0.2	0.4	2.9
	TpB4	18.5-20.0	<0.2	0.7	11.2
	TpB5 (LGC-32525 (H))	31.0-32.0	<0.2	0.3	2.7
	TpB6 (LGC-32533 (I))	36.5-37.5	1.8	6.3	6.7
	TpB7 (エタボキサム (A))	42.0-44.0	97.1	91.3	72.0
	TpB8	44.5-45.5	0.6	0.5	0.2
	その他	-	0.5	<0.1	0.2

その他は (100-他成分の和) により算出した * : HPLC 保持時間により同定

推定加水分解経路 ; 推定される加工処理条件下での加水分解経路を図1に示す。

エタボキサム (A) は2種類の分解経路を経由して、主分解生成物であるチアゾールカルボキサミド (LGC-32523 (L)) に分解した。シアノ基の酸化的置換によって α -カルボニル化合物 (LGC-32533 (I))、続くチオフェンカルボニル基の加水分解によってチアゾールカルボキサミド (LGC-32523 (L)) へ分解される経路、および、シアノ基のアミドへの変換による α -アミド化合物 (LGC-32525 (H)) へ分解、続くチオフェンカルボキサミドの開裂によるチアゾールカルボキサミド (LGC-32523 (L)) の生成である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

7. 参考

未知代謝物の同定に関する試験

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。

代謝分解のまとめ

エタボキサムの動物、植物および土壌における代謝分解、加水分解、光分解および土壌吸着の概要を以下にまとめ、結果の概要を表1に、推定代謝経路を図1に示す。

1. 動物体内運命：(資料 No.M-01 および M-02)

吸収・分布・排泄 (資料 No.M-01)

チアゾール環またはチオフェン-2-メチレン位を ^{14}C 標識エタボキサム (以下、それぞれ $[\text{Tz-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムあるいは $[\text{Tp-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムと記す) を低用量 (10 mg/kg) ならびに高用量 (150 mg/kg) で単回経口投与、また低用量 (10 mg/kg) で14日間反復投与した雌雄ラットにおける吸収・分布・排泄を調べた。吸収は雌雄共に速やかで、高用量群より低用量群で高い割合であった。血漿および血球中の C_{max} および T_{max} は標識体間で差は認められなかったが、用量間で差が認められた。また、血球中の半減期は血漿中の半減期より長かった。体内臓器および組織には速やかに分布し、その後排泄され残留はほとんど認められなかった。低用量投与群で約35-45%の胆汁排泄が観察された。高用量投与群および低用量投与群ともに体外への主たる排泄経路は糞であり、次いで尿であった。呼吸へはほとんど排泄されなかった。

代謝 (資料 No.M-01)

主な代謝は基本環構造を保持したまま、N-脱エチル化によって LGC-32794 (B) (TzB22) が生成し、次いでチアゾール環の硫黄原子の酸化により LGC-32800 (C) (TzU17 および TpU17) が生成すると推定された。エタボキサム (A) のエノール体の加水分解によりアミド化合物 LGC-32801 (D) (TzU13 および TpU13) が生成し、別の経路では、エノール体の硫酸抱合によって LGC-32802 (E) (TzFE17 および TpFE17) が生成し、次いで水酸化され LGC-32803 (F) (TzFE15 および TpFE15) が生成すると推定された。

尿中および糞中代謝物プロファイルに標識体間差、用量間差および雌雄差は認められなかったが、胆汁中代謝物プロファイルにわずかな性差が観察された。

体内分布 (資料 No.M-02)

$[\text{Tz-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムあるいは $[\text{Tp-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムを低用量 (10 mg/kg) ならびに高用量 (150 mg/kg) で単回経口投与し、雌雄ラットにおける経時的組織内分布を調べた。

$[\text{Tz-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムあるいは $[\text{Tp-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムを低用量投与した雌雄ラットでは、肝臓 (約 10-13 $\mu\text{g/g}$ 、投与量の約 4-6%相当) および腎臓 (約 6-9 $\mu\text{g/g}$ 、投与量の < 1%相当) に最高濃度が認められた。投与 120 時間後では、両用量群の全組織中の濃度は < 1 $\mu\text{g/g}$ および投与量の $\leq 0.7\%$ であった。高用量群の雌雄ラットでも同様の結果が得られた。 $[\text{Tz-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムあるいは $[\text{Tp-}^{14}\text{C}]$ 標識エタボキサムを 150 mg/kg 投与した雌雄ラットでは、肝臓 (約 40-49 $\mu\text{g/g}$ 、投与量の約 1%相当) および腎臓 (約 24-29 $\mu\text{g/g}$ 、投与量の < 0.2%相当) に最高濃度が認められた。投与 120 時間後では、両用量群の全組織中の濃度は < 8 $\mu\text{g/g}$ および投与量の $\leq 0.4\%$ であった。

放射能標識エタボキサム相当量の経時的組織中濃度および消失は、性別や放射能標識位置に関わ

らず類似していた。また、試験期間を通じて、組織中濃度は投与量に比例して残存していた。
[Tz-¹⁴C]標識エタボキサムを投与した雌雄ラットの甲状腺組織のみがこれらの傾向と異なった。これらの雌雄ラットでは、甲状腺におけるエタボキサム相当量濃度は120時間の試料採取期間にわたり、比較的变化が小さかった。しかし、甲状腺の濃度は低く、全時点で投与量の<0.01%であった。

2. 植物内運命：(資料 No.M-03~M-05)

ぶどう (資料 No.M-03)

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムあるいは [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムを製剤化し、250 g ai/ha 相当量をぶどうに5回散布処理した。収穫前46日(第1回処理日)、収穫前14日(第5回処理日)、収穫前9日、収穫前4日および収穫日に試料を採取し、果実部および茎葉部を分析した。茎葉中の主要代謝物は未変化のエタボキサム(A)であり、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区において、それぞれ TRR の26.6% (10.8ppm) および26.8% (12.8ppm) であった。果実中では、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区において、未変化のエタボキサム(A)は、それぞれ TRR の29.4% (0.157ppm) および27.4% (0.232ppm) であった。[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区より α-ケトカルボン酸である LGC-35523 (G) が TRR の18.4% (0.155ppm) 生成した。また、両標識体とも高極性成分が検出されたが、TRR <10% の多くの成分から構成された画分であり、糖を成分として含有することから植物構成成分に取込まれるものと推察された。よって、LGC-35523 (G) 代謝中間体を介し、その後、両標識体とも炭水化物として存在すると考えられた。

ばれいしょ (資料 No.M-04)

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムあるいは [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムを製剤化し、250 g ai/ha 相当量をばれいしょに5回散布処理した。収穫前46日(第1回処理日)、収穫前14日(第5回処理日)、収穫前9日、収穫前4日および収穫日に試料を採取し、塊茎部および茎葉部を分析した。塊茎中では[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区において、未変化体のエタボキサム(A)が検出されたが、経時的に濃度は減少し、収穫時には、それぞれ TRR の<1.3% (<0.001ppm) および2.7% (0.001ppm) であった。

塊茎中の主放射能成分はデンプン画分であり、[Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C]エタボキサム処理区でそれぞれ、TRR の41.2% (0.030ppm) および42.9% (0.012ppm) が検出された。デンプンの加水分解によりグルコースついでグルコサノン誘導体が得られたが、[Tz-¹⁴C] エタボキサム処理区および[Tp-¹⁴C] エタボキサム処理区でそれぞれ、TRR の22.8% (0.017ppm) および18.3% (0.005ppm) が検出された。これらの結果より、塊茎中では、両標識体とも約40%がデンプン中に取込まれ、炭水化物として存在すると考えられた。

トマト (資料 No.M-05)

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムあるいは [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムを製剤化し、200g ai/ha 相当量をトマトに3回散布処理した。収穫前37日(第1回処理日)、収穫前21日(第3回処理日)、収穫

前18日、収穫前14日、収穫前7日および収穫日に試料を採取し、果実部および葉部を分析した。トマトでは茎葉処理後、植物体内での移行量は少なく、葉部では、未変化体のエタボキサム(A)が処理部に留まった状態であり、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区において、それぞれ TRR の 60.1% (33.2ppm) および 45.4% (24.8ppm) であった。果実中では、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区において、収穫日にエタボキサム(A)がそれぞれ TRR の 49.2% (0.196ppm) および 57.7% (0.395ppm) であった。[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区より α-ケトカルボン酸である LGC-35523 (G) が TRR の 3.9% (0.027ppm) 生成した。

3. 土壌中運命：(資料 No.M-07、08 および 10)

好氣的土壌代謝 (資料 No.M-07)

好氣的条件の下で[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムあるいは [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム 250 g ai/ha 相当量 (0.33 ppm) を土壌に処理し、容器内試験 (20℃、暗所下) を行った。エタボキサムの半減期は 1.5-1.8 日で、速やかに分解された。標識体間で若干の差はあるものの 180 日目には処理放射能の約 90% が土壌に結合もしくは二酸化炭素に無機化された。微量の LGC-32533 (I) および LGC-32525 (H) の生成が確認された。

好氣的土壌代謝 (資料 No.M-08)

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムを用いて 3 種類の英国土壌に 250 g ai/ha 相当量 (0.33 ppm) を処理し (20℃もしくは 10℃、畑条件、暗所下)、好氣的分解速度を検討した。半減期は 0.6-4.4 日と速やかであった。低温条件 (10℃) において分解は遅くなり、半減期は 6.1 日 (20℃、1.1 日) であった。微量の LGC-32533 (I) および LGC-32525 (H) の生成が確認された。

水/底質系土壌分解 (資料 No.M-10)

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムあるいは [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムを 250 g ai/ha 相当量 (0.08 mg/L) を 2 種類の英国水/底質系へ処理し、20℃、暗所下でインキュベーションした。系全体の半減期は 12-29 日であった。エタボキサム (A) は LGC-32525 (H) に加水分解され、そのアルコール体である LGC-32787 (J) およびアルデヒド体である LGC-32788 (K) を経て未同定代謝物および二酸化炭素に無機化されるものと考えられた。また、エタボキサム (A) は LGC-32533 (I) に加水分解され、この代謝物を経て未同定代謝物および二酸化炭素に無機化されるものと考えられた。

4. 水中運命試験：(資料 No.M-11~M-13)

加水分解 (資料 No.M-11)

[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサムあるいは [Tp-¹⁴C] 標識エタボキサムを 5.0 mg/L の濃度で pH 4、pH 7、pH 9 の滅菌緩衝液に溶解し、20℃での加水分解性を調べた。インキュベーション 30 日後、エタボキサム (A) は、[Tp-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区では、pH 4、pH 7 および pH 9 において、それぞれ回収放射能 (RR) の 89.4%、96.9% および 85.8%、[Tz-¹⁴C] 標識エタボキサム処理区では、pH 4、pH 7 および pH 9 において、それぞれ RR の 87.9%、97.4% および 87.3% であり、加水分解に

安定であった。pH4 および pH7 では LGC-32533 (I)、pH 9 では LGC-32525 (H) および LGC-32523 (L) がわずかに検出された。

水中光分解 (滅菌緩衝液) (資料 No.M-12)

滅菌した緩衝液に [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムを約 5 μ g/mL の濃度で溶解し、人工光 (300-400 nm の範囲で、光強度 38.7W/m²) を 143.6 日間 (29.78 日間 ([Tz-¹⁴C] 標識) および 30.54 日間 ([Tp-¹⁴C] 標識) (東京春季太陽光換算)) 照射し、水中光分解性を調べた。半減期は [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでそれぞれ、6.99 日および 6.50 日であった。多数の微量水中光分解物が検出され、主な分解生成物は、LGC-35525 (M) であり、[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムにおいて、それぞれ最大値は 9.7%AR および 11.4%AR であった。

水中光分解 (自然水) (資料 No.M-13)

滅菌した河川から採取した自然水に [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムを約 5mg/L の濃度で溶解し、人工光 (300-400 nm の範囲で、光強度 43.5W/m²) を 72 時間 (約 17 日間 (東京春季太陽光換算)) 照射し、水中光分解性を調べた。半減期は [Tz-¹⁴C] 標識エタポキサムおよび [Tp-¹⁴C] 標識エタポキサムでそれぞれ、2.96 日および 3.17 日であった。[Tz-¹⁴C] 標識体処理区における分解生成物は、プロピオン酸 (Y) 33.6%AR および LGC-35525 (M) 10%AR であった。[Tp-¹⁴C] 標識体処理区における分解生成物は、2-チオフェンカルボン酸 (R) 13%AR および LGC-35525 (M) 10.6%AR であった。

5. 土壌吸着 : (資料 No.M-14)

日本の土壌 4 種類を用いてエタポキサムの吸着試験を実施した。土壌吸着係数は、 K^{ads}_F は 2.31~14.8 および K^{ads}_F oc は 251~903 の範囲であり、1 種類の土壌で有機炭素量により補正した吸着係数 (K^{ads}_{Foc}) が他の土壌よりもわずかに高かったが、エタポキサムは、土壌中移動性は低いと考えられた。

6. その他 加工処理条件下における加水分解 (資料 No.M-その他)

低温殺菌処理 (pH 4、90 $^{\circ}$ C、20 分)、醸造、パン製造加熱・煮沸処理 (pH 5、100 $^{\circ}$ C、60 分) および殺菌処理 (pH 6、120 $^{\circ}$ C、20 分) の各条件下、1 μ g/mL の濃度で両標識体の加水分解性を調べた。[Tz-¹⁴C] 標識エタポキサム処理後、それぞれの条件下で 96.0%AR、92.5%AR および 72.9%AR であった。[Tp-¹⁴C] 標識エタポキサム処理後は、97.1%AR、91.3%AR および 72.0%AR であった。加水分解の受けやすさの順序は、120 $^{\circ}$ C (殺菌処理条件下) > 100 $^{\circ}$ C (醸造・パン製造加熱・煮沸処理条件) > 90 $^{\circ}$ C (低温殺菌処理条件) であった。

エタポキサム (A) の分解は、加水分解 (資料 No.M-11) と同様であった。

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。

表1. 代謝分解の概要

試験	代謝物: 化合物または代謝物に於ける割合%																				母体: 抽出液または抽出物に於ける割合%								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T		U	V	W	X	Y	未 測定	合計	CO ₂
[T ₁ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 48時間後	尿	10.1	22	78		9.1	6.2																						97.9
	胆汁	4.7		6.3																									
	尿		29	99																									
	胆汁	59				10.8	4.8																						
[T ₂ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 48時間後	尿		6.2	2.2																									97.3
	胆汁																												
	尿	17.3		23	8.5		9.5	5.8																					104.6
	胆汁			27	9.2																								
[T ₃ - ¹⁴ C] 150 mg/kg 48時間後	尿	14.0				6.5	5.1																						99.5
	胆汁																												
	尿		21	3.1																									102.02
	胆汁																												
[T ₄ - ¹⁴ C] 150 mg/kg 48時間後	尿	50.5		3.0		5.2	3.6																						108.13
	胆汁																												
	尿		68.3			3.4	2.3																						94.8
	胆汁			4.0																									
[T ₅ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	46.9		1.6	2.7	4.3	4.0																						99.17
	胆汁																												
	尿	53.6		2.1	2.9	4.2	3.5																						100.84
	胆汁																												
[T ₆ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	14.5		1.2	7.2	7.5	4.1																						102.56
	胆汁																												
	尿		2.1	6.9		9.5	4.7																						100.0
	胆汁																												
[T ₇ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	26.6																											100.0
	胆汁																												
	尿		10.0																										99.0
	胆汁																												
[T ₈ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	29.4																											100.0
	胆汁																												
	尿		0.157																										0.513
	胆汁																												
[T ₉ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	26.8																											100.1
	胆汁																												
	尿		12.8																										0.49
	胆汁																												
[T ₁₀ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	27.4																											100.1
	胆汁																												
	尿																												0.9
	胆汁																												
[T ₁₁ - ¹⁴ C] 10 mg/kg 反復投与 48時間後	尿	0.232																											0.840
	胆汁																												
	尿																												
	胆汁																												

動物や人に於ける尿中排泄率(%)を算出するために代謝物の濃度を測定した。空欄は分析せず。nd:検出限界以下 () 内値は排泄率 ppm * : 動物代謝物

*: 25 成分からなる (最大成分は 12.1%TRR, 4.91ppm) †: 28 成分からなる (最大成分は 12.9%TRR, 0.069ppm)

‡: 25 成分からなる (最大成分は 7.9%TRR, 3.44ppm) §: 25 成分からなる (最大成分は 8.0%TRR, 0.069ppm)

試料	測定日時	(注) 試料 (試料番号または試験機に対する番号)																			検出限界 又は測定限界 濃度(%)									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S		T	U	V	W	X	Y	Z	合計	CO ₂
試料 A	検出限 0日	87 (0.008)																										57		99.9 (0.077)
	検出限 5日	14 (0.001)																										59		100.0 (0.077)
	検出限 10日	<2.0 (<0.001)																										70		99.9 (0.038)
	検出限 14日	<0.9 (<0.001)																										54		100.0 (0.078)
試料 B	検出限 0日	80 (0.002)																										54		100.0 (0.020)
	検出限 5日	<1.9 (<0.001)																										71		100.0 (0.033)
	検出限 10日	<2.5 (<0.001)																										77		99.9 (0.021)
	検出限 14日	2.7 (0.001)																										82		100.1 (0.029)
試料 C	検出限 0日	60.1 (33.2)																										62		100.0 (51.2)
	検出限 5日	49.2 (0.196)																										73		100.0 (0.398)
	検出限 10日	45.4 (24.8)																										93		100.0 (54.8)
	検出限 14日	57.7 (0.398)								3.9 (0.007)																		62		100.0 (0.68)
試料 D	検出限 1日	61.2								0.7	2.0																	16.7		11.5 0.8 94.9
	検出限 14日	14.1								0.9	3.4																	18.6		44.1 12.3 93.4
	検出限 120日	1.4								<0.1	1.3																	<4.9		53.2 31.5 96.4
	検出限 1日	58.8								0.8	2.6																	16.6		13.7 2.4 94.9
試料 E	検出限 14日	11.8								1.1	2.6																	15.6		31.7 28.6 91.4
	検出限 120日	1.8								0.3	1.4																	6.1		29.8 55.4 94.8
	検出限 1日	73.9								0.2	0.9																	10.9		8.5 0.2 94.6
	検出限 14日	28.3								0.3	2.3																	17.1		40.8 4.1 92.9
試料 F	検出限 1日	2.2								0.4	0.8																	7.7		29.2 21.8 92.1
	検出限 14日	51.2								0.4	2.2																	15.9		23.3 0.4 93.4
	検出限 120日	5.2								0.4	1.2																	11.6		70.4 14.2 100
	検出限 1日	26.8								0.5	1.4																	5.6		57.9 33.2 96.7
試料 G	検出限 14日	2.3								0.4	0.6																	19.3		38.8 4.9 91.7
	検出限 1日	65.0								0.2	3.0																	9.8		66.9 26.0 106
	検出限 14日	16.7								0.5	6.6																	6.2		56.3 46.5 109
	検出限 120日	2.6								0.3	1.8																	15.1		44.7 8.5 92.1

空欄は分析せず。nd: 検出限界以下 () 内値は検出濃度 ppm * : 検出限界

*: 93.7%TRRのうち、44.9%TRRは9成分からなる (最大成分は 11.5%TRR、0.010ppm) †: 99.2%TRRのうち、58.4%TRRは6成分からなる (最大成分は 16.1%TRR、0.005ppm)

*: 26成分からなる (最大成分は 4.5%TRR、2.48ppm) †: 23成分からなる (最大成分は 4.7%TRR、0.010ppm)

*: 30成分からなる (最大成分は 6.2%TRR、3.39ppm) †: 19成分からなる (最大成分は 4.3%TRR、0.005ppm)

本資料に記載された情報に依る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

試料		代謝物 (尿中または尿中に検出される割合%)																			代謝物総量								
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	米	割合	CO ₂	尿中
尿中	pH	尿中 1日	13.1					0.2	0.4	0.4																0.8	49	nd	105
		水	79.2					<0.4	<0.4	0.7																5.6			
	pH	尿中 14日	42.1					1.7	1.8	0.9																6.0	75	0.1	102
		水	30.2					0.8	1.5	1.0																8.8			
	pH	尿中 100日	16.7					2.0	3.5	0.8																16.4	376	12.1	96.1
		水	0.7					0.6	0.5	<0.1																3.7			
尿中	pH	尿中 1日	16.4					<0.1	0.5	0.4															0.8	3.8	nd	98.5	
		水	74.0					<0.3	<0.3	<0.3															2.6				
	pH	尿中 14日	35.6					0.3	1.9	0.7															5.0	13.8	6.9	90.8	
		水	22.5					0.2	0.9	<0.1															3.1				
	pH	尿中 100日	19.1					0.6	2.4	0.9															5.5	27.2	34.8	92.8	
		水(1.2)																											
尿中	pH	尿中 1日	10.3					0.2	1.5	1.1															2.8	17	nd	101	
		水	77.1					<0.4	<0.4	1.0															3.8				
	pH	尿中 14日	21.0					1.7	2.8	3.1															8.2	18.8	1.7	95.4	
		水	21.6					1.1	2.1	0.5															12.5				
	pH	尿中 100日	7.5					2.3	2.7	0.7															12.9	43.1	17.9	91.0	
		水(1.2)																											
尿中	pH	尿中 1日	16.6					<0.1	0.7	0.2															1.1	53	nd	101	
		水	70.4					<0.3	<0.3	0.7															6.4				
	pH	尿中 14日	21.1					0.9	2.5	0.8															7.0	24.9	12.1	89.7	
		水	13.9					0.2	1.4	<0.2															4.8				
	pH	尿中 100日	4.6					0.3	1.3	1.2															4.5	30.6	47.2	90.8	
		水(1.2)																											
尿中	pH	尿中 30日後	87.9					0.4	8.0		1.7														1.7			99.7	
		尿中 30日後	97.4					1.8			0.4														1.4			101.0	
	pH	尿中 30日後	87.3					6.5	1.6		2.6														3.0			101.0	
		尿中 30日後	89.4					0.5	7.0																2.8			99.7	
	pH	尿中 30日後	96.9					0.2	1.8																2.6			101.5	
		尿中 30日後	85.8					7.6	1.8																5.6			100.8	
尿中	pH	尿中 30日後	96.0					0.5	1.9		0.2														2.3			100.9	
		尿中 30日後	92.5					<0.2	6.0		0.9													<0.4			106.0		
	pH	尿中 30日後	72.9					2.7	6.5		16.8														6.6			105.5	
		尿中 30日後	97.1					<0.2	1.8																<0.1			101.2	
	pH	尿中 30日後	91.3					0.3	6.3																5.8			100.7	
		尿中 30日後	72.0					2.7	6.7																18.3			99.7	

空欄は分析せず。nd:検出限界以下。*:尿中検出割合が低い試料のみ分析済み。

本資料に添付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。

試料	代物 (母半量または母物量に対する割合%)										分析結果																		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	未 測定	合 計	CO ₂	
水中不溶物 (固形物)	0 時間	98.2																								3.5	99.7		
	48 時間	50.8								4.7			1.7													4.1	98.2		
	144 時間	6.0	c							6.4			8.8*	2.2	4.9				c		c	c	c	c	c	63.9	97.1		
	0 時間	98.2																								3.5	99.7		
	48 時間	98.2																								0.9	99.1		
	144 時間	93.8																								4.0	99.8		
水中不溶物 (可溶性)	0 時間	97.1																								0.6	97.7		
	48 時間	64.7								4.9		4.0	0.8	4.3	1.9	3.0									13.4	97.0			
	144 時間	4.4	c							7.3		11.1	4.4	3.8*	6.9	2.5*			c	c	c	c	c	c	46.3	93.3			
	0 時間	97.1																								0.6	97.7		
	48 時間	96.7																								1.7	98.4		
	144 時間	98.1																								1.0	99.1		
水中不溶物 (可溶性)	0 時間	97.9																								<0.1	<1.6	100.0	
	24 時間	12.5										<0.1	<0.1	0.2											24.5	33.2	96.7		
	72 時間	1.9										9.1	3.6	13.8											31.6	39.6	99.0		
	0 時間	97.9																								2.1	100.0		
	24 時間	97.2																										98.4	
	72 時間	86.9																										98.4	
水中不溶物 (可溶性)	0 時間	97.2																								11.5	100.0		
	24 時間	28.5										<0.1	0.1	0.4					0.1							<1.9	100.0		
	72 時間	3.3										10.6	4.5	11.5				6.4								32.8	96.9		
	0 時間	97.2																									46.6	95.7	
	24 時間	97.3																									2.8	100.0	
	72 時間	98.2																									2.8	96.7	99.0

空欄は分析せず。 ad : 検出感度以下 b : HPLCにおいて2成分に分離したため同値を併記 c : 微量検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

付録：エタボキサムの開発年表