

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

(5) 代謝物 の嫌氣的土壤中運命試験

(資料 M13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

供試標識化合物: [ $^{14}\text{C}$ ]

化学構造:

化学名:

ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

供試土壌: 埴塚土 (日本の福岡県農業試験場で採取)。ISS 基準に基づく土壌特性を以下に示した。

pH ( $\text{H}_2\text{O}$ )	粒子径分布 (%)			有機物 (%)	陽イオン交換容量 ( $\text{mEq}/100\text{g}$ )	最大保水量 (%, $\text{pF } 0$ )	バイオマス ( $\mu\text{g C/g}$ 土壌)
	20~2000 $\mu\text{m}$	2~20 $\mu\text{m}$	<2 $\mu\text{m}$				
6.4	47	33	20	2.4	33.0	65.0	347

試験方法:

1) 試験土壌の調製

試験土壌は 2 mm の篩を通したものを使用した。

内径 4.5 cm のガラス製容器 (10 個) に、土壌を 5 cm の深さになるように入れ (乾燥重量: 約 112 g)、逆浸透水を土壌表面上 6 cm の深さになるように加えた。試験容器を  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、暗所に設置、窒素ガスを供給して嫌氣的状態になるまで予備培養した。予備の試験容器を用いて酸化還元電位及び酸素濃度を定期的に測定して、酸化還元電位が 0 mV 以下になった時点で嫌氣的環境になったと判断した。88 日後に土壌がこの嫌氣的状態に到達した。

2) 放射能標識化合物添加及び培養

上記の土壌容器を図 1 のようにトラップに連結した。トラップは 4 個連結し、それぞれのトラップにはエタンジオール、2%パラフィン/キシレン溶液及び 2M NaOH 水溶液 (2 本) を入れ、揮発性放射能を捕集した。

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

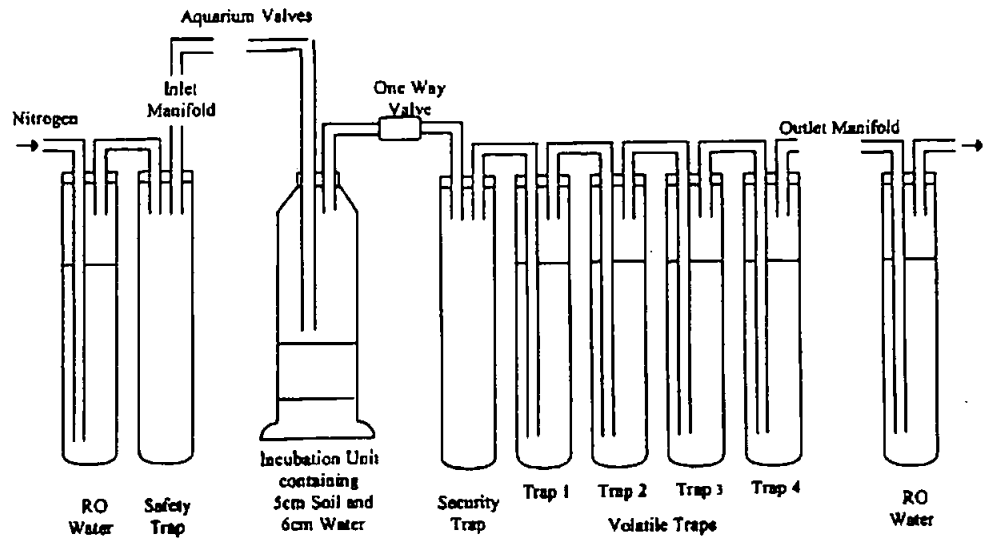


図 1 : 試験系の模式図

予備培養開始から 88 日後、酸化還元電位が 0 mV 以下になった時点で、各試験容器の水中に同位体希釈した放射能標識化合物 を 115  $\mu\text{g}$  (処理量 1.03 mg/kg に相当) 添加し、直ちに容器を攪拌し、25 $^{\circ}\text{C}$ 、暗所に戻した。添加量はイミシアホスを 4kg/ha の割合で圃場に処理し、土壌深度 20 cm の土壌中に均一に分散し、土壌の比重が 1 で、処理したイミシアホスの全量が に分解されたと仮定したときの濃度に相当する。培養期間中は定期的に酸化還元電位及び酸素濃度を測定した。

### 3) 試料採取

被験物質添加後 0 日 (添加直後)、3、7、14、30、58、120 及び 181 日に、各 1 個の試験容器を採取し、表層水と土壌層に分別した。0 日を除く試料採取日には、トラップ中の捕集液も分析用に採取した。

### 4) 分析法

土壌試料については燃焼して生成された  $^{14}\text{CO}_2$  を LSC 法で、水層試料及び抽出試料についてはシンチレーションカクテルと混合して LSC 法で放射エネルギーを測定した。

土壌は、図 2 のフローチャートに従って分析用試料を調製した。即ち、メタノール:40% 水酸化ナトリウム溶液で振とう抽出し、抽出物を塩酸で中和して、メタノールに転溶、さらに水に転溶し、HPLC 分析に供した。また、土壌抽出残渣については腐植質の分画を行い、特に多かったフルボ酸画分については HPLC 分析に供した。

代謝物の同定は、合成標品との HPLC 及び TLC によるクロマトグラフィーにより行った。また、水酸化ナトリウムトラップに捕集された放射能はバリウム沈殿法で  $^{14}\text{CO}_2$  であることを確認した。

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

培養終了時には非放射能標識被験物質を処理して同様に培養した試験容器を回収し、微生物バイオマスをくん蒸抽出法で測定した。

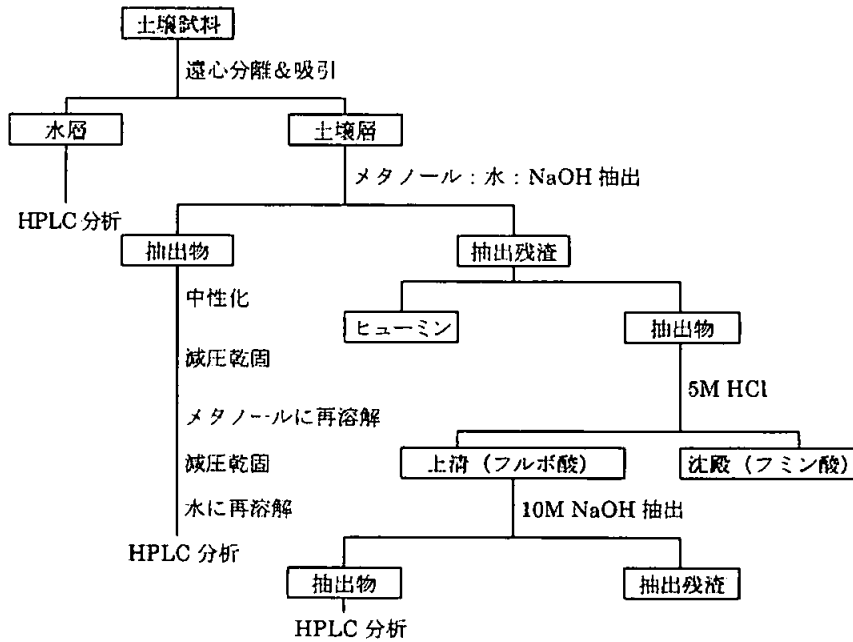


図 2：土壌試料中放射能の分析フローチャート

試験結果：

1) 酸化還元電位及び酸素濃度

試験期間中の土壌中における酸化還元電位及び酸素濃度を以下に示す。

表 1：土壌層の酸化還元電位の推移

測定時点 (日)	酸化還元電位 (mV)	酸素濃度 (%)
-74	85	5
-67	98	4
-60	101	3
-52	66	1
-46	61	1
-40	40	1
-30	32	0
-25	26	1
-18	4	0
-8	-6	1
0	-9	0
3	34	11
7	33	6
14	11	2
30	-69	1
58	128	0
120	86	0
181	35	3

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

被験物質処理時点の酸化還元電位は-9 mVであったが、試験期間中は-69~128 mVの範囲の変動がみられた。酸素含有量は処理後1週間を除いて3%未満に維持されていた。

## 2) 放射能の分布及び物質収支

被験物質添加後の経時的放射能分布及び物質収支を以下に示す。

表2：土壌層及び水層中放射能の分布（処理量%）

培養期間 (日)	水層 (%)	土壌抽出液				抽出残渣 (ヒューミン) (%)	揮発性 物質 (%)	物質 収支 (%)
		塩基性メタ ノール抽出物 (%)	フルボ酸 画分 (%)	フミン酸 画分 (%)	合計 (%)			
0	11.7	85.5	NA	NA	85.5	4.4	ND	101.6
3	20.3	71.3	5.8	0.2	77.3	4.1	ND	101.7
7	24.9	62.1	7.4	0.2	69.7	5.8	ND	100.4
14	19.8	64.7	9.1	0.2	74.0	7.3	0.1	101.2
30	10.8	65.1	12.1	0.4	77.6	11.3	0.2	99.9
58	5.2	66.0	14.0	0.3	80.3	13.9	0.2	99.6
120	2.3	63.0	15.2	0.4	78.6	18.8	0.3	100.0
181	3.0	60.0	17.0	0.3	77.3	18.4	0.8	99.5

ND：検出限界以下、NA：未分析

物質収支はいずれの時点でも99%以上で極めて良好であった。

揮発性放射能：エタンジオール及び2%パラフィン/キシレン溶液トラップ中には放射能は全く捕集されず、2M水酸化ナトリウム水溶液中に僅かに検出された。しかし、その放射能量は181日後でも処理放射能の0.8%に過ぎなかった。

水層中放射能：水層中放射能量は、0日後の11.7%から7日後には24.9%に増加、その後は減少に転じ、181日後には3%になった。

土壌中放射能：土壌中放射能量は、0日後の約85.5%から経時的に減少し続け、181日後には77.3%となった。この値にはフルボ酸画分中の放射能が含まれており、その値は3日目の5.8%から181日目の17%まで増加し続けた。フミン酸画分中にも微量の放射能が検出されたが、処理放射能の0.5%以下であった。結合残留物（ヒューミン画分中の放射能）は、120日後に最大値を示し、処理放射能の18.8%であった。

## 3) 抽出物のHPLC分析

水及び土壌抽出物のHPLC分析結果を下表に示す。

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

表 3：水層及び土壌抽出物の HPLC 分析

培養期間 (日)	試料	親化合物	その他の成分	未分離成分	合計
0	水	10.7 (0.13)	1.0 (0.01)	ND	11.7 (0.14)
	土壌	83.5 (0.86)	1.4 (0.01)	0.6	85.5 (0.88)
	合計	94.2 (0.52)	2.3 (0.01)	0.6	97.2 (0.54)
7	水	24.1 (0.29)	0.6 (0.01)	0.2	24.9 (0.30)
	土壌	61.5 (0.63)	0.4 (<0.01)	0.2	62.1 (0.64)
	フルボ酸	7.3 (0.08)	ND	0.1	7.4 (0.08)
	合計	92.9 (0.52)	1.0 (0.01)	0.5	94.4 (0.52)
30	水	9.0 (0.11)	1.7 (0.02)	ND	10.8 (0.13)
	土壌	63.7 (0.65)	1.1 (0.01)	0.3	65.1 (0.67)
	フルボ酸	11.7 (0.12)	ND	0.4	12.1 (0.12)
	合計	84.5 (0.47)	2.8 (0.02)	0.7	88.0 (0.49)
120	水	2.3 (0.03)	ND	ND	2.3 (0.03)
	土壌	58.3 (0.60)	4.3 (0.04)	0.4	63.0 (0.65)
	フルボ酸	15.1 (0.16)	ND	0.1	15.2 (0.16)
	合計	75.7 (0.42)	4.3 (0.02)	0.5	80.5 (0.45)
181	水	3.0 (0.04)	ND	ND	3.0 (0.04)
	土壌	57.7 (0.59)	1.6 (0.02)	0.8	60.0 (0.62)
	フルボ酸	14.9 (0.15)	1.7 (0.02)	0.4	17.0 (0.17)
	合計	75.5 (0.42)	3.3 (0.02)	1.2	80.0 (0.44)

土壌：塩基性メタノール抽出物、ND：不検出、注：0日後のフルボ酸画分は採取せず、( )：mg·eq/kg  
 \* 全体的に変化が乏しかったので、3、14及び58日後の結果は表示を省略した。

水層及び土壌を合わせた試験系全体における放射能の大部分は親化合物 であり、水層中に認められたその他の総放射能成分の最大値は30日後の処理放射能の1.7%であり、土壌中では120日後の4.3%が最大であった。

#### 4) の減衰速度

HPLC 分析により得られた の測定値から、一次減衰モデルに基づいて計算した の減衰速度 (DT<sub>50</sub> 及び DT<sub>90</sub>) を下表に示す。

表 4： の嫌氣的条件下における減衰速度

	全体	水	土壌
DT <sub>50</sub> (日)	500	22	1044
DT <sub>90</sub> (日)	1663	65	3468
相関係数 R <sup>2</sup>	0.881	0.956	0.690

以上の結果から、イミシアホスの土壌中主要分解生成物である の嫌氣的条件下における分解速度は緩慢で、分解物は殆ど認められなかったが、微量の炭酸ガスが検出されていること、及び腐植質に取り込まれていることから、本化合物は嫌氣的条件下でも徐々に無機化されることが示唆された。

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

(6) イミシアホスの土壌吸脱着試験

(資料 代 14)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

供試標識化合物: [<sup>14</sup>C]イミシアホス

化学構造:

化学名:

ロット番号:

比放射能: 3.22 MBq/mg

放射化学的純度:

供試土壌: 試験には米国、英国及び日本の畑地土壌を使用した。

試験に使用した土壌の特性を下表に示す。

表 1: 試験に使用した土壌の特性

名称	Ando	EFS-072E	SK961089	Speyer 2.1	EL-7	
採取地	日本	米国	英国	ドイツ	米国	
粒子径分布 (%)	2000~53 μm	56	78	37	89	36
	2~53 μm	22	14	28	7	39
	<2 μm	22	8	35	4	25
有機炭素 (%)	2.8	0.6	4.7	0.4	2.5	
有機物質 (%)	4.8	1.0	8.1	0.7	4.3	
pH (0.01M CaCl <sub>2</sub> )	5.7	6.8	7.6	5.2	6.2	
陽イオン交換 (mEq/100g)	24.2	0.2	26.4	0.4	30.8	
最大保水率 (pF 2.5, %)	60.5	8.5	37.3	3.4	37.1	
土性 (USDA)	砂壤土	砂壤土	埴壤土	砂土	壤土	
OECD 土壌区分	3	5	2	5	3	

申請者注: Ando 土壌は火山灰土

試験方法: OECD テストガイドライン 106 "Adsorption/Desorption using Batch Equilibrium Method、2000 年 1 月" に準拠して、フロインドリッヒの吸着等温線式を用いて試験土壌に対するイミシアホスの土壌吸着定数及び脱着定数を測定した。

1) 試験土壌の調製

予め土壌の乾燥重量を測定しておき、5 または 10 g を 50 ml のポリプロピレン製遠心管に小分けし、0.01M の塩化カルシウム水溶液をいれ、一夜放置した。この状態の土壌を

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

試験に使用した。

## 2) 予備検討

**溶解度**：0.01M の塩化カルシウム溶液に  $^{14}\text{C}$  標識体を 5、25 及び 50  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で溶解し、遠心分離前と遠心分離後の水溶液中放射能濃度を測定した。いずれの濃度でも、遠心分離前と後の水溶液中被験物質の濃度は同じであったことから、被験物質は 50  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で完全に 0.01M の塩化カルシウム溶液に溶解すると判断された。

**容器への吸着**：0.01M の塩化カルシウム溶液に 0.04  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で溶解した  $^{14}\text{C}$  標識体をポリプロピレン製遠心管に分注し、24 時間振とう攪拌した。振とう攪拌前後の溶液中放射能濃度を測定したところ、濃度に変化がみられなかったため、容器への吸着はないと考えられた。

**土壌/溶液比**：被験物質の塩化カルシウム溶液を、土壌 1 に対して 1、2 及び 5 倍量加え、土壌に吸着された放射能量を測定した。その結果を元に、試験に適した吸着率（20～80%）の得られた比率を各土壌について選択して本試験に適用した。

表 2：土壌/溶液比と吸着率（%）

土壌：溶液比	Ando	EFS-072E	SK61089	Speyer 2.1	EL-7
1:1	<b>45.6</b>	<b>70.9</b>	51.8	<b>86.9</b>	15.4
1:2	62.3	85.1	<b>66.9</b>	91.5	26.4
1:5	82.7	98.3	84.2	89.5	<b>49.6</b>

太字は本試験で採用した土壌/溶液比を示す。

**平衡時間**：乾燥土壌 5 g または 10 g と 0.01M 塩化カルシウム溶液の混合物に最終濃度が 5  $\mu\text{g/ml}$  になるように被験物質を添加し、1～72 時間振とう攪拌した。その試験土壌を遠心分離し、上清中放射能濃度を測定して土壌に吸着された放射能の推移を検討した。SK961089 土壌を除いて、24 時間振とうと 48 時間振とう試料における上清中放射能濃度に大きな差が認められず、24 時間で平衡に達したと考えられた。したがって、本試験では平衡時間を 24 時間とした。SK961089 土壌については 6 時間を平衡時間とした。

図 3：上清中放射能濃度の推移

振とう時間	Ando	EFS-072E	SK961089	Speyer 2.1	EL-4
0	1949	1949	1949	4195	1949
1	—	—	1633	—	—
2	—	—	1551	—	—
4	—	—	1516	—	—
6	—	—	1391	—	—
24	1021	1576	1516	3876	1058
48	947	1485	1314	3843	1060
72	918	1462	1393	3805	1048

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

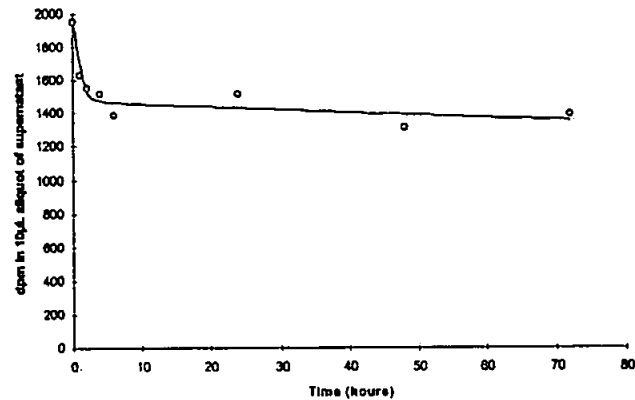


図 1: SK961089 土壌における吸着平衡時間

**被験物質の安定性:** 各土壌について、本試験で採用予定の土壌/溶液比で、SK961089 土壌は 6 時間、他の土壌は 24 時間振とう後、遠心分離して上清を分離、上清中被験物質を HPLC 分析した。また、土壌についてはクロロホルム:メタノールで抽出し、HPLC 分析を行った。その結果、その大部分が未変化のイミシアホスであった。したがって、試験期間中イミシアホスは安定であると考えられた。

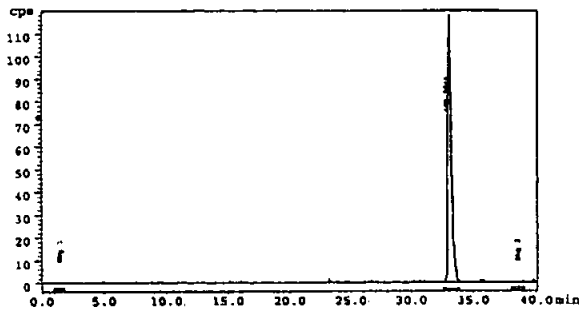


図 2: Ando 土壌における上清の HPLC クロマトグラム

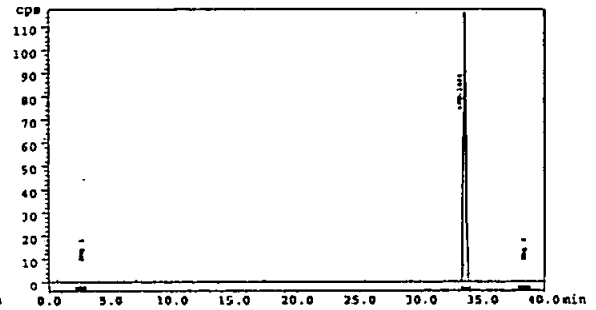


図 3: Ando 土壌における土壌抽出物の HPLC クロマトグラム

### 3) 本試験

**吸着等温試験:** 乾燥土壌 5 g または 10 g と 0.01M 塩化カルシウム溶液を予備試験結果から設定した土壌/溶液比で混合し、最終濃度 0.04~5 µg/ml になるように放射能標識被験物質を添加して、6 時間または 24 時間、25°C、暗所で振とう攪拌した。その後、試験溶液を遠心分離し、上清を採取して、上清中放射能濃度を測定した。

**脱着等温試験:** 吸着等温試験で採取した上清量と等量の 0.01M 塩化カルシウム溶液を試験容器に加え、土壌ペレットを粉砕した上で、さらに 24 時間振とう攪拌し、遠心分離して、脱着して上清中に移行した放射エネルギーを測定した。また、上清を全て取除き、土壌を乾燥してから土壌中放射エネルギーを燃焼分析して測定した。

試験結果: 吸着試験及び脱着試験における放射能分布を下表に示す。



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

表4：各試験土壌における放射能分布

土壌の種類	試験濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	吸着相		脱着相	
		Ce	X/m	Ci	Xi/M
Ando	0.04	0.0189	0.0187	0.0140	0.0170
	0.2	0.0928	0.0945	0.0683	0.0863
	1	0.4811	0.4202	0.3545	0.3846
	5	2.6575	2.0168	1.9315	1.8430
EFS-072E	0.04	0.0335	0.0088	0.0165	0.0046
	0.2	0.1471	0.0572	0.0689	0.0391
	1	0.8085	0.1583	0.3444	0.0945
	5	4.0455	1.0744	1.7345	0.7024
SK961089	0.04	0.0260	0.0277	0.0135	0.0174
	0.2	0.1421	0.1219	0.0699	0.0789
	1	0.7520	0.4714	0.3591	0.2537
Speyer 2.1	0.04	0.0374	0.0041	0.0137	0.0027
	0.2	0.1819	0.0205	0.0641	0.0144
	1	0.8899	0.0852	0.3027	0.0389
	5	4.8095	0.4573	1.6605	0.3640
EL-7	0.04	0.0172	0.1034	0.0091	0.0723
	0.2	0.0971	0.5511	0.0535	0.3721
	1	0.4836	2.4276	0.2554	1.5716
	5	2.7340	11.7804	1.3665	7.4487

Ce、Ci：上清中濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、X/m、Xi/m：土壌中濃度 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )

処理放射能に対する土壌中に吸着された放射能の割合及び脱着された放射能の割合を下表に示す。

表5：土壌中に吸着された放射能、脱着された放射能、脱着されなかった放射能

土壌の種類	試験濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	吸着率 (%)	吸着量 ( $\mu\text{g}$ )		吸着放射能の 脱着率 (%)	吸着放射能の 非脱着率 (%)
			吸着相	脱着相		
Ando	0.04	46.8	0.3741	0.3396	9.3	90.7
	0.2	47.9	1.8905	1.7260	8.7	91.3
	1	43.7	8.4050	7.6936	8.5	91.5
	5	40.2	40.344	36.8657	8.6	91.4
EFS-072E	0.04	22.1	0.1768	0.0926	47.6	52.4
	0.2	28.6	1.1458	0.7821	31.7	68.3
	1	16.7	3.1678	1.8905	39.3	60.7
	5	21.6	21.4971	14.0531	34.6	65.4
SK961089	0.04	34.6	0.2772	0.1744	37.1	62.9
	0.2	30.5	1.2201	0.7895	35.3	64.7
	1	24.0	4.7146	2.5380	46.5	53.5
	5	23.9	23.6185	14.0196	40.7	59.3
Speyer 2.1	0.04	10.2	0.0819	0.0533	39.0	61.0
	0.2	10.2	0.4095	0.2883	29.6	70.4
	1	8.7	1.7050	0.7789	58.4	41.6
	5	9.1	9.1505	7.2837	20.6	79.4
EL-7	0.04	54.3	0.5168	0.3615	30.4	69.6
	0.2	53.6	2.7588	1.8626	32.5	67.5
	1	49.9	12.1404	7.8597	35.3	64.7
	5	46.6	58.8373	37.2018	36.8	63.2

上記の結果を基に算出した土壌吸着/脱着係数を下表に示す。

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

表 6：各試験土壌、各試験濃度におけるイミシアホスの吸着/脱着係数

土壌の種類	試験濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	$K_d$ (ml/g)	$K_{doc}$ (ml/g)	$K_{dom}$ (ml/g)
Ando	0.04	1.0	35.4	20.7
	0.2	1.0	36.4	21.2
	1	0.9	31.2	18.2
	5	0.8	27.1	15.8
EFS-072E	0.04	0.3	44.0	26.4
	0.2	0.4	64.9	38.9
	1	0.2	33.4	20.1
	5	0.3	44.2	26.5
SK961089	0.04	1.1	22.7	13.2
	0.2	0.9	18.3	10.6
	1	0.6	11.9	7.8
	5	0.6	13.3	7.7
Speyer 2.1	0.04	0.1	27.4	15.6
	0.2	0.1	28.1	16.1
	1	0.1	24.0	13.7
	5	0.1	23.8	13.6
EL-7	0.04	6.0	240.4	139.8
	0.2	5.7	227.0	132.0
	1	5.0	200.9	116.8
	5	4.3	172.4	100.2

以上の結果から算出した Freundlich の吸着定数(K)並びに有機炭素( $K_{oc}$ )、有機物( $K_{om}$ )に対する吸着係数を下表に示す。

表 7： Freundlich の吸着パラメーターと相関係数

土壌の種類		$K_f$	$K_{oc}$	$K_{om}$	1/n	$r^2$
Ando	吸着相	0.8	29.6	17.2	0.94	0.9991
	脱着相	1.0	36.3	21.2	0.95	0.9988
EFS-072E	吸着相	0.3	42.7	25.6	0.95	0.9760
	脱着相	0.4	62.9	37.7	1.02	0.9708
SK961089	吸着相	0.7	14.4	8.4	0.88	0.9974
	脱着相	0.8	16.2	9.4	0.88	0.9906
Speyer 2.1	吸着相	0.1	24.3	13.9	0.97	0.9861
	脱着相	0.2	43.2	24.7	1.00	0.9367
EL-7	吸着相	4.7	188.3	109.5	0.93	0.9995
	脱着相	5.6	222.9	129.6	0.93	0.9977

以上の結果から、イミシアホスの Freundlich の吸着定数は 0.1~4.7、有機炭素に対する吸着係数は 14.4~188.3 ml/g であった。

本試験における物質収支を下表に示す。

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

表 8 : 処理放射能に対する吸着相及び脱着相の上清中放射能及び土壌中残留放射能 (%)

土壌の種類	吸着相上清	脱着相上清	土壌中残留物	合計
Ando	19.8	14.9	53.3	88.0
EFS-072E	52.1	21.2	23.6	96.9
SK961089	50.7	23.5	23.8	98.0
Speyer 2.1	61.3	20.5	12.4	94.2
EL-7	43.9	21.5	29.8	95.2

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

(7) の土壤吸脱着試験

(資料 代 15)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

供試標識化合物: [<sup>14</sup>C]

化学構造:

化学名:

ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

供試土壤: 試験には英国の畑地土壤 3 種及び日本の畑地土壤 1 種を使用した。試験に使用した土壤の特性を下表に示す。

表 1: 試験に使用した土壤の特性

名称	SK961089	SK179618	SK566696	牛久	
採取地	英国 Rutland 州 畑地	英国 Derby 州 畑地	英国 Nottingham 州 畑地	日本 茨城県 畑地	
粒径分布 (USDA、%)	2000~53 μm	38	34	77	49
	53~1 μm	28	46	13	24
	<2 μm	34	20	10	27
pH (0.01M CaCl <sub>2</sub> )	7.6	5.6	4.0	6.0	
陽イオン交換能 (mEq/100g)	38.2	24.9	12.7	19.2	
最大保水量 (pF2.5、%)	29.4	27.3	6.0	53.6	
有機炭素 (%)	4.6	3.8	0.8	2.7	
有機物質 (%)	7.9	6.6	1.4	4.7	
土壤分類 (USDA)	埴壤土	壤土	砂壤土	砂質埴壤土	
OECD 区分	2	4	5	3	

申請者注: 牛久土壤は火山灰土

試験方法: OECD テストガイドライン 106 "Adsorption/Desorption using Batch Equilibrium Method、2000 年 1 月" に準拠して、フロイドリッヒの吸着等温線式を用いて試験土

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

壤に対する の土壌吸着定数及び脱着定数を測定した。

### 1) 試験土壌の調製

予め土壌の乾燥重量を測定しておき、10 g を 50 ml のポリプロピレン製遠心管に小分けし、0.01M の塩化カルシウム水溶液を入れ、一夜放置した。この状態の土壌を試験に使用した。

### 2) 予備検討

溶解度：0.01M の塩化カルシウム溶液に  $^{14}\text{C}$  標識 を 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で溶解し、遠心分離 (6500 G、76 分間) 前と遠心分離後の水溶液中放射能濃度を測定した。遠心分離前と後の水溶液中被験物質の濃度は同じであったことから、被験物質は 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で完全に 0.01M の塩化カルシウム溶液に溶解すると判断された。

容器への吸着：0.01M の塩化カルシウム溶液に 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で溶解した  $^{14}\text{C}$  標識 をポリプロピレン製及びテフロン製遠心管に分注し、24 時間振とう攪拌した。振とう攪拌前後の溶液中放射能濃度を測定したところ、いずれも濃度に変化がみられなかったため、容器への吸着はないと考えられた。

土壌/溶液比：被験物質の塩化カルシウム溶液を土壌 1 (5 g) に対して 5 (25 ml)、25 (125 ml) 及び 50 (250 ml) を加え、土壌に吸着された放射能を測定した。4 種類の土壌において 1 : 5 の土壌/溶液比での吸着放射能量は 26.4~78.4% で、同一比率で最適な吸収量範囲 (20%、50%以上が望ましい) が得られたため、本試験では土壌/溶液比を 1 : 5 とした。

平衡時間：乾燥土壌 5g と 0.01M 塩化カルシウム溶液 25 ml の混合物に 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の被験物質を添加し、3~48 時間振とう攪拌した。その試験土壌を遠心分離し、上清中放射能濃度を測定して土壌に吸着された放射能の推移を検討した。また、脱着平衡時間を検討するために、上清を廃棄し、新鮮な被験物質を含まない 0.01M 塩化カルシウム溶液を添加し、同様に 3~48 時間振とう攪拌し、遠心分離して上清中放射能濃度を測定した。吸着及び脱着のどちらの段階においても、24 時間振とうと 48 時間振とう試料における上清中放射能濃度に大きな差が認められず、24 時間で平衡に達したと考えられた。したがって、本試験では平衡時間を 24 時間とした。

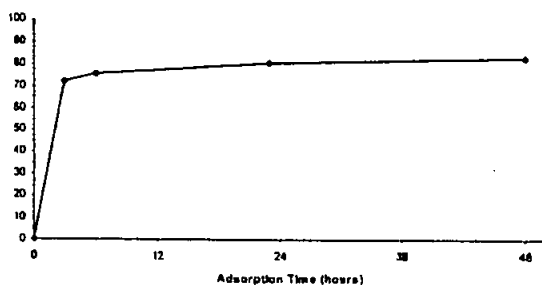


図 1：牛久土壌における吸着平衡時間

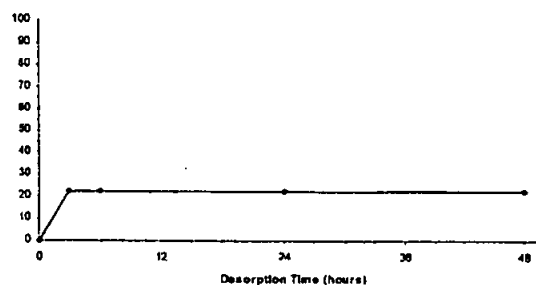


図 2：SK179618 土壌における脱着平衡時間

被験物質の安定性：乾燥土壌 5g と 0.01M 塩化カルシウム溶液 25 ml の混合物に 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$

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

の被験物質を添加し、48時間振とう攪拌後、遠心分離して上清を分離、上清中被験物質を HPLC 分析した。また、土壌については塩基性メタノール（メタノール：水：10M NaOH=20：1：1）で60分間4回または60分間2回+23時間1回抽出し、HPLC 分析を行った。その結果、放射能の総回収率は91~95%、その大部分（99~100%）が未変化の であつた。したがつて、試験期間中 は安定であると考えられた。

### 3) 本 試 験

吸着等温試験:乾燥土壌 5 g 及び 0.01M 塩化カルシウム溶液 25 ml の混合物に以下の濃度の被験物質調製液を添加し、24 時間、25℃、暗所で振とう攪拌した。その後、試験溶液を遠心分離し、上清を採取して、上清中放射能濃度を測定した。

表 2：被験物質処理溶液と試験溶液中最終濃度

処理溶液	処理溶液中 最終濃度 (mg/ml)	比放射能 (MBq/mg)	添加量 ( $\mu$ l)	CaCl <sub>2</sub> (0.01M) の容量 (ml)	試験溶液中 最終濃度 ( $\mu$ g/ml)
1	1.36	0.0642	92	25	5.0
2	0.685	0.128	92	25	2.5
3	0.137	0.640	92	25	0.5
4	0.0685	1.28	92	25	0.25
5	0.0135	6.45	92	25	0.05

脱着等温試験:吸着等温試験で採取した上清量と等量の 0.01M 塩化カルシウム溶液を試験容器に加え、土壌ペレットを粉碎した上で、さらに 24 時間振とう攪拌し、遠心分離して、脱着して上清中に移行した放射エネルギーを測定した。また、上清を全て取除き、土壌を乾燥してから土壌中放射エネルギーを燃焼分析して測定した。

試験結果：吸着試験及び脱着試験における放射能分布を下表に示す。

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

表 3 : 各試験土壌における放射能分布

土壌の種類	試験濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	吸着相		脱着相	
		Ce ( $\mu\text{g/ml}$ )	X/m ( $\mu\text{g/g}$ )	Ci ( $\mu\text{g/ml}$ )	Xi/m ( $\mu\text{g/g}$ )
SK961089	5	2.5900	11.8614	1.2405	7.2519
	2.5	1.2085	6.4512	0.6181	4.1213
	0.5	0.2080	1.4689	0.1162	1.0191
	0.25	0.0987	0.7583	0.0572	0.5334
	0.05	0.0174	0.1603	0.0105	0.1186
SK179618	5	3.2700	8.2680	1.1425	4.3582
	2.5	1.5795	4.4411	0.5851	2.3913
	0.5	0.2884	1.0301	0.1156	0.6034
	0.25	0.1370	0.5531	0.0578	0.3359
	0.05	0.0241	0.1239	0.0114	0.0794
SK566696	5	3.7500	6.1697	0.9105	3.0543
	2.5	1.7635	3.6686	0.4642	1.9916
	0.5	0.3169	0.9221	0.1026	0.5272
	0.25	0.1529	0.4902	0.0509	0.2936
	0.05	0.0294	0.1015	0.0102	0.0616
牛久	5	0.9738	20.0180	0.6301	17.7429
	2.5	0.3627	10.8119	0.2371	9.9486
	0.5	0.0393	2.3205	0.0265	2.2229
	0.25	0.0169	1.1765	0.0115	1.1341
	0.05	0.0024	0.2365	0.0017	0.2303

Ce、Ci : 上清中濃度、X/m、Xi/m : 土壌中濃度

処理放射能に対する土壌中に吸着された放射能の割合及び脱着された放射能の割合を下表に示す。

表 4 : 土壌中に吸着された放射能、脱着された放射能、脱着されなかった放射能量

土壌の種類	試験濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	吸着率 (%)	吸着量 ( $\mu\text{g}$ )		吸着された被験 物質の脱着率 (%)	脱着されな かった被験物質 (%)
			吸着相	脱着相		
SK961089	5	47.3	59.3613	36.2929	38.9	61.1
	2.5	51.5	32.2690	20.6149	36.1	63.9
	0.5	58.2	7.3356	5.0897	30.6	69.4
	0.25	60.1	3.7925	2.6676	29.7	70.3
	0.05	64.6	0.8025	0.5940	26.0	74.0
SK179618	5	32.9	41.2891	21.7636	47.3	52.7
	2.5	35.3	22.2210	11.9650	46.2	53.8
	0.5	40.9	5.1576	3.0214	41.4	58.6
	0.25	44.0	2.7719	1.6837	39.3	60.7
	0.05	49.9	0.6199	0.3975	35.9	64.1
SK566696	5	24.6	30.8112	15.2525	50.5	49.5
	2.5	29.1	18.3280	9.9500	45.7	54.3
	0.5	36.6	4.6071	2.6342	42.8	57.2
	0.25	38.9	2.4539	1.4698	40.1	59.9
	0.05	40.6	0.5050	0.3063	39.4	60.6
牛久	5	79.9	100.2397	88.8475	11.4	88.6
	2.5	85.6	53.9513	49.6437	8.0	92.0
	0.5	91.9	11.5771	11.0901	4.2	95.8
	0.25	93.1	5.8690	5.6572	3.6	96.4
	0.05	95.1	1.1818	1.1506	2.6	97.4

上記の結果を基に算出した土壌吸着/脱着係数を下表に示す。

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

表 5: 各試験土壌、各試験濃度における の吸着/脱着係数

土壌の種類	試験濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	$K_d$ (ml/g)	$K_{doc}$ (ml/g)	$K_{dom}$ (ml/g)
SK961089	5	4.58	100	58
	2.5	5.34	116	68
	0.5	7.07	154	89
	0.25	7.68	167	97
	0.05	9.24	201	117
SK179618	5	2.53	67	38
	2.5	2.81	74	43
	0.5	3.57	94	54
	0.25	4.04	106	61
	0.05	5.13	135	78
SK566696	5	1.65	206	118
	2.5	2.08	260	149
	0.5	2.91	364	208
	0.25	3.21	401	229
	0.05	3.46	432	247
牛久	5	20.56	761	437
	2.5	29.81	1104	634
	0.5	59.08	2188	1257
	0.25	69.58	2577	1480
	0.05	100.55	3724	2139

以上の結果から算出した Freundlich の吸着定数(K)並びに有機炭素( $K_{oc}$ )、有機物( $K_{om}$ )に対する吸着定数を下表に示す。

表 6: Freundlich の吸着パラメーターと相関係数

土壌の種類		吸着定数 ( ml/g )			1/n	$r^2$
		K	$K_{oc}$	$K_{om}$		
SK961089	吸着相	5.43	118	69	0.8597	0.9994
	脱着相	6.21	135	79	0.8616	0.9992
SK179618	吸着相	3.00	79	45	0.8553	0.9999
	脱着相	3.87	102	59	0.8650	0.9995
SK566696	吸着相	2.22	277	158	0.8449	0.9966
	脱着相	3.67	459	262	0.8735	0.9960
牛久	吸着相	22.30	826	475	0.7345	0.9972
	脱着相	27.64	1024	588	0.7301	0.9960

以上の結果から、 の Freundlich の吸着定数は 2.22~22.3 ml/g、有機炭素に対する吸着定数は 79 から 826 ml/g であった。

本試験における物質収支を下表に示す。

表 7: 処理放射エネルギーに対する吸着相及び脱着相の上清中放射エネルギー及び土壌中残留放射エネルギー (%)

土壌の種類	吸着相上清	脱着相上清	土壌残留物	合計
SK961089	45.8	21.8	31.9	99.4
SK179618	20.6	20.6	18.8	98.6
SK566696	69.5	16.9	14.2	100.6
牛久	16.2	10.5	70.9	97.6



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

#### 4. 水中運命に関する試験

##### (1) イミシアホスの加水分解試験

(資料 代 16)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

放射能標識化合物:

化学名:

ロット番号:

放射化学的純度:

比放射能: 3.22MBq/mg 及び 3.31MBq/mg

試験方法: OECD テストガイドライン 111 「pH の関数としての加水分解」及び農林水産省のガイドラインに準拠し、加水分解性を評価した。

試験には以下の緩衝液を使用した:

pH 1.2 : 塩酸-塩化カリウム緩衝液 (0.1 M)

pH 4 : フタル酸カリウム-水酸化ナトリウム緩衝液 (0.1M)

pH 5 : クエン酸-クエン酸ナトリウム緩衝液 (10 mM)

pH 7 : トリスマレイン酸-水酸化ナトリウム緩衝液 (10 mM)

pH 9 : ホウ酸-水酸化ナトリウム緩衝液 (2.5 mM)

緩衝液は試験に使用する温度で pH を調整した後、減圧及び超音波処理によって脱気し、滅菌した容器に分注し、窒素を充填した上で密閉した。

この溶液に被験物質水溶液を最終濃度 10 µg/ml になるように添加し、15°C、25°C、37°C、62°C及び 74°Cの恒温槽中で最長 101 日間培養した。

原則として各 pH、各温度、各検査時につき各 2 本の試験容器を作成したが、15°C及び 74°C培養群は各 1 試験容器とし、各 pH の 25°C培養群については培養期間延長に伴い、最後の 2 時点の試験容器点数を 1 とした。試験群の構成を下表に示す。

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

表 1: 試験を実施した pH、温度、培養期間及び分析に供した試験容器数

pH	1.2	4				5		7				9	
温度℃	37	15	25	62	74	15	25	15	25	62	74	15	25
0日	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1	2
0.25日	1	-	2	-	-	-	2	-	2	-	-	-	2
1日	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1	2
2日	-	-	-	2	1	-	-	-	-	2	1	-	-
3日	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1	2
5日	1	-	-	2	1	-	-	-	-	2	1	-	-
7日	1	1	2	-	-	1	2	1	2	-	-	1	2
10日	-	-	-	2	1	-	-	-	-	2	1	-	-
14日	1	1	2	-	-	1	2	1	2	-	-	1	2
15日	-	-	-	2	1	-	-	-	-	2	1	-	-
21日	1	1	2	-	-	1	2	1	2	-	-	1	2
22日	-	-	-	2	1	-	-	-	-	2	1	-	-
30日	1	1	1	-	-	1	1	1	1	-	-	1	1
100日 (101日)	-	1	1	-	-	1	1	1	1	-	-	1	1

各 pH、各温度について、計画された試料採取時期に培養試料を採取し、直ちに氷水中に浸漬して冷却した後、放射能濃度を測定するとともに、培養した溶液の HPLC 分析及び TLC 分析を実施、必要に応じて LC/MS 分析及び NMR 分析により、加水分解物の構造推定を行い、可能であれば分析用標準品とのコクロマトグラフを実施した。

試験結果:

培養液の安定性; 試験開始時に各緩衝液に同濃度の非放射能標識被験物質を添加し、同条件下で培養した溶液の培養終了時における pH 測定値を下表に示す。

使用した緩衝液は概ね培養期間中安定であった。

表 2: 培養開始時及び終了時の試験溶液の pH 測定値

培養温度 (℃)	検査時期	pH				
		1.2	4	5	7	9
37	培養開始時	1.21	-	-	-	-
	培養終了時 (30日)	1.23	-	-	-	-
15	培養開始時	-	4.05	5.05	7.13	8.91
	培養終了時 (100日)	-	4.01	5.04	7.13	9.00
25	培養開始時	-	4.03	5.01	7.02	9.17
	培養終了時 (101日)	-	4.03	4.88	6.90	8.91
62	培養開始時	-	4.05	-	7.11	-
	培養終了時 (22日)	-	3.53	-	6.91	-
74	培養開始時	-	4.05	-	7.07	-
	培養終了時 (22日)	-	3.49	-	6.96	-

放射能回収率; 各 pH、温度及び培養期間における試験溶液中放射能量の処理放射能量に対する割合 (%) を下表に示す。

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

表3：各 pH、温度、培養期間における放射能回収率 (%)

培養 期間 (日)	pHと温度 (°C)												
	1.2	4				5		7				9	
	37	15	25	62	74	15	25	15	25	62	74	15	25
0	95.4	95.1	96.3	98.7	100.0	95.9	96.0	96.4	97.9	98.5	97.9	95.2	94.7
0.25	98.5	—	97.5	—	—	—	95.5	—	96.0	—	—	—	94.6
1	96.1	95.9	95.3	103.0	99.5	93.9	94.5	93.5	94.7	98.6	98.3	92.3	94.2
2	—	—	—	96.6	98.5	—	—	—	—	99.0	100.3	—	—
3	96.2	92.3	93.3	100.7	100.6	92.7	95.1	94.1	93.9	99.0	94.3	93.1	93.7
5	96.2	—	—	101.8	98.3	—	—	—	—	99.2	100.4	—	—
7	95.3	98.1	96.4	—	—	93.4	96.2	95.9	95.5	—	—	96.8	95.7
10	—	—	—	100.0	103.8	—	—	—	—	99.3	99.5	—	—
14	94.9	93.4	95.0	—	—	96.6	93.8	95.0	94.5	—	—	93.7	94.4
15	—	—	—	101.0	99.8	—	—	—	—	99.5	109.1	—	—
21	97.8	95.3	95.7	—	—	96.1	94.7	93.7	93.9	—	—	94.8	95.3
22	—	—	—	99.0	101.5	—	—	—	—	98.5	100.4	—	—
30	96.4	95.2	96.7	—	—	94.5	94.5	95.7	93.2	—	—	96.9	94.4
100 (101)	—	94.3	97.5	—	—	90.0	94.6	94.0	94.2	—	—	97.7	91.6

—：該当なし

いずれの pH、温度及び培養期間においても、処理放射能の回収率はすべて 90%以上であり、培養期間中に放射能の損失のなかったことが示唆された。

試験溶液の HPLC 分析；LC/MS/MS 解析及び合成標品との HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーによって、 が同定されたほか、NMR でも解析して  が同定された。各試験溶液の HPLC 分析結果を以下に示す。

表4：pH 1.2 (37°C) における加水分解物の HPLC 分析

温度	培養期間 (日)	イミシアホス		
37°C	0	99.1		
	0.25	62.0		
	1	31.8		
	3	9.2		
	5	1.7		
	7	ND		
	14	ND		
	21	ND		
	30	ND		

pH 1.2、37°Cではイミシアホスは比較的早く加水分解され、大部分が  に変換された。その他の加水分解物は 10%以下であった。

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

表 5 : pH 4 における加水分解物の HPLC 分析

温度	培養期間 (日)	イミシアホス					
15°C	0	96.5					
	1	99.1					
	3	99.0					
	7	99.4					
	14	95.7					
	21	96.5					
	30	97.4					
	100	90.1					
25°C	0	97.9					
	0.25	99.6					
	1	99.3					
	3	99.1					
	7	97.4					
	14	92.5					
	21	91.8					
	30	88.1					
62°C	0	99.3					
	1	73.3					
	2	55.2					
	3	40.7					
	5	22.5					
	10	4.6					
	15	1.1					
	22	ND					
74°C	0	99.7					
	1	41.1					
	2	16.6					
	3	6.1					
	5	0.9					
	10	ND					
	15	ND					
	22	ND					

a) : とその他成分との分離はできなかった

b) : 原文ではその他に分類

pH 4、25°Cでは、総分解生成物は 30 日に処理放射能の 10%以上に増加したが、次の時点 (101 日) まで単一の分解生成物が処理放射能の 10%を超えることはなかった。この時点で、 は処理放射能の 9.3%を占め、 (報告書では ) は 14.1%を占めた。量は少ないが、 及び が主要分解生成物であった。高温 (62°C及び 74°C) で検出されたその他の分解生成物は、 (報告書中では

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

、6%まで) 及び (1%以下) であった。

表 6 : pH5 における加水分解物の HPLC 分析

温度	培養期間 (日)	イミシアホス			
15°C	0	98.0			
	1	99.5			
	2	99.7			
	7	100			
	14	96.8			
	21	98.1			
	30	98.0			
	100	92.7			
25°C	0	98.7			
	0.25	99.7			
	1	98.9			
	3	99.5			
	7	97.9			
	14	93.6			
	21	93.1			
	30	92.0			
	101	76.2			

○ : とその他成分との分離はできなかった

◇ : とその他成分との分離はできなかった

● : その他成分から分離した

pH 5 における加水分解物の種類は pH 4 と同等であった。

25°Cでは、30 日までの時点でイミシアホスの分解率は 10%以下であった。 が 30 日の処理放射能の 2.3%から 101 日には 12.3%に増加し、 はこの時点で処理放射能の 4.2%であった。

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

表 7 : pH 7 における加水分解物の HPLC 分析

温度	培養期間 (日)	イミシアホス					
15	0	99.8					
	1	99.6					
	2	99.7					
	7	99.7					
	14	96.8					
	21	98.4					
	30	97.3					
	100	89.0					
25	0	99.2					
	0.25	99.8					
	1	99.5					
	3	99.3					
	7	96.9					
	14	91.6					
	21	90.8					
	30	88.7					
	101	68.4					
62	0	99.3					
	1	66.6					
	2	45.2					
	3	31.2					
	5	15.2					
	10	2.5					
	15	0.3					
	22	ND					
74	0	98.6					
	1	33.7					
	2	12.0					
	3	3.4					
	5	ND					
	10	ND					
	15	ND					
	22	ND					

0 : とその他成分との分離はできなかった

a) : 本文中その他成分の 3%が

b) : とその他成分との分離はできなかった

c) : 原文 50 頁の脚注を引用

d) : と (原文では ) の分離がでず合計値を表示。22 日試料の再分析では  
が 25.7%、 が 69.4%。

e) : 同上。22 日試料の再分析では が 20%、 が 60%。

pH 7 における分解経路は、pH 1.2、pH 4 及び pH 5 とは違っていた。即ち と  
の 2 つの主要分解生成物及び微量分解生成物 が認められた。25℃では、21 日にお

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

けるイミシアホス分解率は10%以下であったが、101日には31%の分解が認められた。この最終時点で、 は処理放射能の22.6%を占め、 は6.5%及び は2.4%であった。

62℃及び74℃の高温では、 と は分離されず、HPLCで1つのピークとして検出された。両者を合わせた値では、濃度は速やかに増加し、10日(62℃)あるいは3日(74℃)には処理放射能の85~90%に達した。最終時点で各温度各1試料を採取し、試料を再度クロマトグラフ分析したところ、 と の濃度比は約3:1であった。高温において量の多かったその他の分解生成物は、 であった。 は高温では増加し、10日(62℃)あるいは5日(74℃)後には処理放射能の約10%に達した。また、少量(処理放射能の2%以下)の も認められた。

表8: pH 9における加水分解物の HPLC 分析

温度	培養期間 (日)	イミシアホス			
15℃	0	99.3			
	1	92.7			
	3	93.7			
	7	85.7			
	14	68.9			
	21	62.2			
	30	51.2			
	100	12.3			
25℃	0	98.8			
	0.25	91.6			
	1	88.0			
	3	77.7			
	7	53.9			
	14	29.5			
	21	18.2			
	30	9.3			
	101	ND			

pH 9における加水分解経路は酸性pH及びpH7の経路とは違っており、常温で分解生成物の有意な生成が認められた。主要分解生成物は であった。次に主要な分解生成物は、 であった。この分解物はpH 7でも少量検出された。25℃では、2つの分解物が速やかに形成された。 は、3日後に処理放射能の14.8%に到達し、 は約7日後に処理放射能の12.9%に達した。101日には、イミシアホスは認められず、 及び はそれぞれ処理放射能の約69%及び27%を占めた。

イミシアホスの加水分解経路図を以下に示す。

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



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

減衰速度；本試験で得られたイミシアホスの各 pH 及び各温度における半減期を下表に示す。イミシアホスの加水分解は pH 1.2 を除いて、いずれも擬似一次反応に従った。pH 1.2 では二相性の一次減衰となった。DT<sub>50</sub> 及び DT<sub>90</sub> は擬似一次反応式 ( $y=C_0 \cdot e^{-kt}$ ) から算出し、pH 1.2 の場合は 2 コンパートメントモデル式 ( $y=C_0 \cdot e^{-k_1t} + b \cdot e^{-k_2t}$ ) から算出した。

表 9：イミシアホスの各 pH 及び温度における半減期・DT<sub>50</sub>・DT<sub>90</sub>、減衰速度定数及び相関係数

pH	℃	半減期 (日)	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	初期値 (C <sub>0</sub> , %)	速度定数 (k <sub>1</sub> )	相関係数 (r <sup>2</sup> )
1.2	37	0.6	0.4	2.8	94.2	1.186	0.986
4	15	802	785	2647	98.5	0.00086	0.811
	25	181	179	598	99.2	0.00383	0.984
	62	2.3	2.3	7.7	99.2	0.297	>0.999
	74	0.8	0.8	2.6	99.8	0.897	>0.999
5	15	1034	1023	3423	99.3	0.00067	0.832
	25	258	255	855	99.1	0.00268	0.973
7	15	610	610	2027	99.9	0.00114	0.957
	25	180	178	597	99.2	0.00384	0.979
	62	1.8	1.8	5.9	98.8	0.386	>0.999
	74	0.7	0.6	2.1	98.6	1.072	>0.999
9	15	32	31	105	97.8	0.0217	0.995
	25	8.5	8	28	96.4	0.0816	0.997

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

(2) の加水分解試験

(資料 代 17)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

放射能標識化合物:

化学名:

ロット番号:

放射化学的純度:

比放射能:

試験方法: OECD テストガイドライン 111 「pH の関数としての加水分解」に準拠し、加水分解性を評価した。

試験には以下の緩衝液を使用した:

pH4 : フタル酸緩衝液 (0.05M)

pH7 : トリスマレイン酸緩衝液 (0.05M)

pH9 : ホウ酸緩衝液 (0.025M)

緩衝液は 50°C で pH を調整した後、減圧及び超音波処理によって脱気後、滅菌した容器に分注し、窒素を充填した。

この溶液にアセトニトリルに溶解した被験物質を最終濃度 5.1 µg/ml になるように添加し、50°C 暗所で 5 日間培養した。最終溶液中アセトニトリル濃度は 0.8% であった。

試験濃度はイミシアホスの加水分解運命試験 (資料 M15) で適用した濃度とモル濃度で同一となる濃度を設定した。

各 pH について 4 本の試験容器を作成し、2 本は培養開始時の分析用、残りの 2 本は培養終了時の分析用とした。

各試料について、放射能濃度を LSC 法で分析すると共に、HPLC 及び TLC による親化合物及び分解物の分析を行った。

なお、同一の濃度の非標識被験物質を各緩衝液に添加し、5 日間同じ条件で培養して、培養終了後の pH の測定に使用した。

試験結果: 培養開始前及び培養終了後の各緩衝液における放射能回収率及び pH 実測値を下表に示す。

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

表 1 : 5 日間培養後の各試験溶液中放射能の回収率と pH

pH	放射能回収率 (%)		pH 実測値	
	0 日	5 日	0 日	5 日
4	104.8	101.9	4.01	4.08
7	102.2	101.7	7.02	6.95
9	102.9	103.0	8.97	8.92

培養前及び 5 日間培養した各試験溶液中から処理量とほぼ同等の放射能が回収され、被験物質が正確に試験溶液に処理され、培養期間中、放射能の損失の無かったことが示唆された。また、培養期間中の pH の変化もみられなかった。

培養前及び 5 日間培養後の各試験溶液の HPLC 分析結果を以下に示す。

表 2 : 5 日間培養した各試験溶液の HPLC 分析

pH	培養日数	放射能成分 (%)			物質収支 <sup>*)</sup> (%)
4	0 日				100.0
	5 日				100.0
7	0 日				100.0
	5 日				99.8
9	0 日				99.9
	5 日				99.5

\*) : 、最大の未知物質及びその他の未知物質の合計値

50℃で 5 日後、pH 4 では の約 2%が加水分解され、pH 7 では最大約 5%が、pH 9 では最大約 8%が加水分解された。

の 50℃、5 日間培養後の残存率はいずれの pH でも 90%以上であったことから、の一般的環境条件下における加水分解半減期は 1 年以上と考えられる。また、いずれの pH でも 2%を超える単一の分解生成物は認められなかった。

以上の結果から、の加水分解半減期は 1 年以上であり、OECD の試験法ガイドラインに基づいて、本試験は実施の必要がないと考えられた。

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

(3) イミシアホスの水中光分解運命試験

(資料 代 18)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

供試標識化合物: [ $^{14}\text{C}$ ] イミシアホス

化学構造:

化学名:

ロット番号:

比放射能: 3.22MBq/mg及び3.31MBq/mg

放射化学的純度:

供試水: 緩衝液及び自然水を使用した。

緩衝液は 0.01M フタル酸緩衝液 (pH 5) を使用した。最初はクエン酸緩衝液を使用した。照射で同緩衝液からラジカルが生じ、イミシアホスがこれと反応したため、使用する緩衝液をフタル酸緩衝液に変更した。加水分解に対して安定な pH 5 を試験に採用した。

自然水は英国ヨークシャー州の Fountains Abbey 湖で 2000 年 10 月 14 日に採取した。採取時の水温は 10.2°C、pH は 7.51 であった。自然水を 0.2 mm の篩で濾過して試験に使用した。

光源: キセノン光を使用、専用フィルターで 290 nm 以下の波長をカットし、自然の太陽光に近い波長分布の光を使用した。自然水を使用した試験における 300~800 nm の平均光強度は 325.2 W/m<sup>2</sup>、緩衝液を使用した試験では 324.0 W/m<sup>2</sup> であった。

試験方法: 試験濃度は 25°C における水溶解度の 1/2 以下で、分解生成物の分析が可能な 10 mg/l とした。この濃度は被験物質の水溶解度の 1/2 以下、0.01M 以下、250 ppm 以下である。試験に使用する自然水または緩衝液を石英製の試験容器に 25 ml ずつ分注し、オートクレーブで滅菌した。その試験容器に 2.55 mg/ml または 2.72 mg/ml の濃度の放射能標識体水溶液 100  $\mu\text{l}$  または 98  $\mu\text{l}$  を無菌的に分注し、Atlas Suntest CPS+または Hanau Suntest CPS の冷却ブロック内に設置、以下のように揮発性物質補足用トラップを連結して連続通気し、12 時間周期で光を照射した。試験容器の温度は 25 $\pm$ 1°C とした。

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

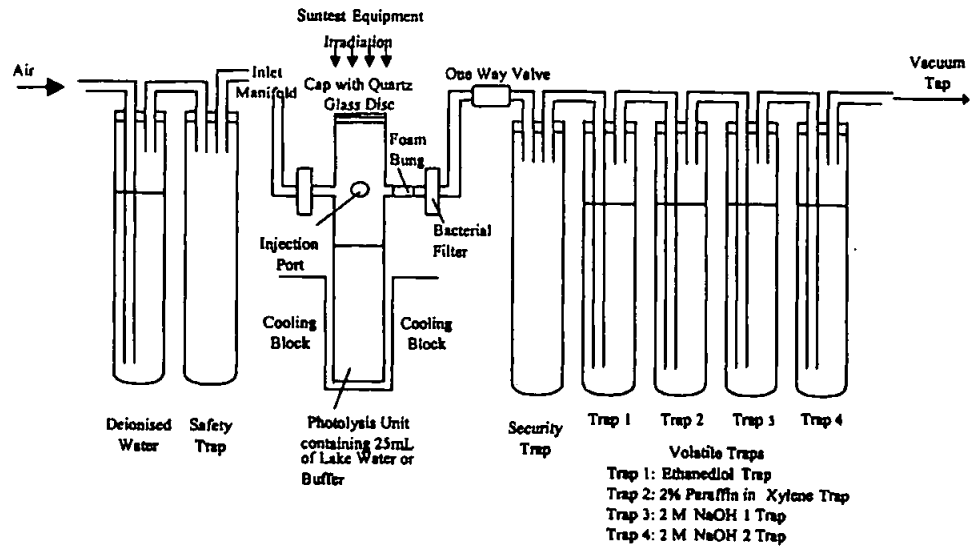


図 1 : 試験系の概要

暗所対照試験溶液は温度を 25℃に設定した恒温槽内、遮光下で、揮発性物質トラップを装着せずに培養した。

試験溶液の採取は、自然水で 0 日、2 日、7 日、14 日及び 30 日、緩衝液では 0 日、3 日、5 日、10 日、14 日、21 日及び 31 日に実施した。

試料採取時には試験溶液を別の容器に移し、容器を水で洗浄して、洗浄水を試験溶液とプールし、放射能及び分解生成物の分析用とした。光照射容器をアセトニトリルで洗浄し、回収された放射能を LSC で測定した。揮発性放射能については直接 LSC により放射能を測定した。

分解生成物の同定は LC/MS/MS 解析並びに標準品との HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーで行った。

試験結果：

1) 放射能の分布；

自然水及び緩衝液における放射能分布及び物質収支を以下に示す。

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

表 1：自然水における試験溶液中及び揮発性物質トラップ溶液中放射能量の処理量に対する%

	試験期間 (日)	試験溶液	容器洗浄液	揮発性放射能			物質収支
				ウレタン フォーム	有機溶媒	NaOH	
光照射区	0	101.5	0.1	NA	NA	NA	101.6
	2	99.8	0.1	0.2	ND	ND	100.0
	7	100.5	0.1	ND	ND	ND	100.6
	14	99.7	0.1	ND	ND	0.1	99.8
	30	98.2	0.7	ND	ND	0.1	99.0
暗所対照区	0	101.5	0.1	NA	NA	NA	101.6
	2	100.0	0.2	NA	NA	NA	100.2
	7	101.4	0.2	NA	NA	NA	101.6
	14	99.6	0.1	NA	NA	NA	99.6
	30	100.9	0.3	NA	NA	NA	101.2

NA：分析対象外、ND：検出限界以下

表 2：緩衝液における試験溶液中及び揮発性物質トラップ溶液中放射能量の処理量に対する%

	試験期間 (日)	試験溶液	容器洗浄液	揮発性放射能		物質収支
				ウレタン フォーム	有機溶媒&NaOH	
光照射区	0	100.4	0.1	NA	NA	100.5
	3	100.6	ND	ND	ND	100.6
	5	100.8	0.1	ND	ND	100.9
	10	101.3	ND	ND	ND	101.3
	14	101.1	ND	ND	ND	101.1
	21	100.9	ND	ND	ND	100.9
	31	100.9	ND	ND	ND	100.9
暗所対照区	0	100.4	0.1	NA	NA	100.5
	3	101.0	0.1	NA	NA	101.1
	5	101.2	ND	NA	NA	101.2
	10	100.9	0.1	NA	NA	101.0
	14	101.3	ND	NA	NA	101.3
	21	100.3	0.1	NA	NA	100.4
	31	100.6	0.1	NA	NA	100.7

NA：分析対象外、ND：検出限界以下

処理放射能に対する光照射容器内放射能(回収率)は99~102%の範囲内であった。放射能は主に水溶液(湖水または緩衝液)中に存在した。試験容器洗浄液には処理放射能の最大0.7%(湖水)および0.1%(緩衝液)が認められた。湖水および緩衝液いずれの試料についても、トラップ溶液中放射能量は処理放射能量の0.3%以下であった。暗所対照試料の放射能回収率も98~102%であった。試験容器洗浄液中放射能量は処理放射能の0.3%以下であった。

試験溶液中放射能の分析：試験溶液中に検出された放射能のHPLC分析結果を以下に示す。

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

表 3：自然水を用いた試験における試験溶液中放射能の HPLC 分析

	試験期間 (日)	イミシアホス						
光照射区	0	100.7						
	2	93.4						
	7	79.7						
	14	62.9						
	30	40.6						
暗所対照区	0	100.7						
	2	98.1						
	7	96.0						
	14	87.7						
	30	71.6						

ND:検出限界以下

自然水試料中イミシアホスは、光照射試料および暗所対照試料のいずれにおいても低下した。光照射試料および暗所対照試料中で 30 日間の光照射期間終了時における残存率はそれぞれ 40.6%および 71.6%であった。

自然水試料中の主要な分解物は で、試験期間を通して増加し、30 日後には処理放射エネルギーの 26.8%に達した。 が 2 日から検出され、徐々に増加して 30 日には処理放射エネルギーの 7.8%となった。多数のマイナーな未同定化合物が検出された。これらのマイナーな化合物の種類および量は増加し、30 日には処理放射エネルギーの 22%に達した。これら未同定化合物のうち、最大の成分は 30 日の時点の処理放射エネルギーの 4.5%であった。

自然水におけるイミシアホスの推定分解経路図を以下に示す。

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

表 4：緩衝液（pH 5）を用いた試験における試験溶液中放射能の HPLC 分析

	試験期間 (日)	イミシ アホス						
照射区	0	99.9						
	3	98.9						
	5	99.5						
	10	98.7						
	14	96.0						
	21	94.4						
	31	92.2						
暗所対照区	0	NA						
	3	98.7						
	5	99.3						
	10	98.3						
	14	96.7						
	21	93.2						
	31	91.8						

NA：分析対象外、ND：検出限界以下

緩衝液中では、イミシアホスは有意に分解されず、照射試料でも暗所対照試料でも加水分解による同程度の軽度な分解が認められたのみであった。照射期間終了時のイミシアホス濃度は照射試料と暗所対照試料のいずれにおいても処理放射エネルギーの約 92% であった。

14 日以降、照射試料および暗所対照試料のいずれにおいても分解物が 3 物質同定された。 は処理放射エネルギーに対して最大 0.8%、 は処理放射エネルギーに対して 2.1%、 は処理放射エネルギーに対して最大 2.8% に達した。同定されなかったマイナーな化合物の合計は、試験期間を通じて増加し、処理放射エネルギーに対して最大で約 4% となった。

緩衝液（pH 5）におけるイミシアホスの推定分解経路図を以下に示す。



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

以上のようにイミシアホスは直接的な光分解を受けないが、自然水中では水中の光増感物質による間接的光分解を受けて分解された。

分解速度の推定：一次指数関数を用いたイミシアホスの自然水中及び緩衝液中における分解速度を以下に示す。

表 5：自然水及び緩衝液中におけるイミシアホスの減衰速度

		DT50 (日)	DT90 (日)	相関係数 (R <sup>2</sup> )
自然水	光照射区	22	74	0.995
	暗所対照区	62	206	0.975
緩衝液	光照射区	255	848	0.964
	暗所対照区	238	791	0.947

加水分解を除いた自然水中での光によるイミシアホスの分解速度は、光照射区と暗所対照区の分解速度の差 ( $0.0199 \text{ 日}^{-1}$ ) から  $DT_{50}=35$  と算出された。このキセノン光下での分解速度とキセノン光の 300~400 nm における光強度は  $1.574 \text{ MJ/m}^2/\text{day}$ 、日本の春の光強度を  $0.672 \text{ MJ/m}^2/\text{day}$  とした場合東京における半減期は自然水 (pH 7.5、湖水) で 35 日 (光分解  $DT_{50}=82$  日と加水分解  $DT_{50}=62$  日) と推定された。

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

## 5. その他の試験

(1) イミシアホスの好氣的土壤中における分解及び土壤浸透性予備試験 (資料 代 19)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

供試標識化合物:

[<sup>14</sup>C- ]イミシアホス

化学構造:

化学名:

ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度: 99.2% (HPLCによる)

[<sup>14</sup>C- ]イミシアホス

化学構造:

化学名:

ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度: 99.1% (HPLCによる)

供試土壤: 英国 Suffolk 州 Ipswich で採取した標準土壤 PT103 を試験に使用した。土壤の USDA 基準に基づく土壤特性を以下に示した。

表 1: 試験に使用した土壤の特性

土壤の 名称	土壤分類	pH (H <sub>2</sub> O)	砂 (%)	シルト質 (%)	粘土 (%)	有機物量 (%)	陽イオン 交換容量 (mEq/100g)	最大保水量 (%, pF2.5)	微生物バイオマス (μgC/g)
PT103	砂壤土	5.8	74	10	16	1.9	9.9	11.3	234.5

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

#### 試験方法：

##### 好氣的条件下における分解性試験

###### 1) 試験土壌の調製

篩 (2 mm) にかけた土壌試料 (乾燥重量 100 g) を 26 個の三角フラスコに入れ、13 個は 標識体処理用、残りは 標識体処理用とした。水分は最大保水量の 45% に調整した。

###### 2) 放射能標識化合物添加及び培養

アセトニトリルに溶解した放射能標識被験物質 0.406 mg/200 $\mu$ l を各土壌に処理した。この処理量は圃場における 4 kg/ha に相当する。土壌を混和後、揮発性放射能を捕集するためのトラップ (エタンジオール、2%パラフィンキシレン溶液及び 2M 水酸化ナトリウム) を連結し、20 $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub>フリーの加湿空気を連続通気して暗所で培養した。

###### 3) 試料採取

分析用試料は、被験物質処理後 0 (処理直後)、2、5、9、14、26 及び 28 日に採取した。揮発性物質捕集トラップは、土壌試料採取時に加えて 14 日間隔で捕集液を採取し、新鮮な捕集液と交換した。

###### 4) 分析法

各捕集液については LSC 法で放射能量の測定を行った。

土壌試料については中性溶媒 (クロロフォルム/メタノール) 及びメタノールで振とう抽出した。必要に応じて、抽出残渣の酸性溶媒抽出 (塩酸/メタノール)、塩基性溶媒抽出 (アンモニウム/アセトン)、酸性溶媒還流抽出 (塩酸/メタノール 5 時間還流) 抽出を組み合わせ実施し、酸性溶媒還流抽出残渣については、再度酸性溶媒抽出 (塩酸/メタノール) を行った。各操作で得られた抽出物の放射能量は LSC 法で分析し、固形物については燃焼法で精製した <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> を LSC 法で測定した。また抽出物については HPLC 分析及び TLC 分析を行うとともに、LC/MS による分解物の構造推定を行った。

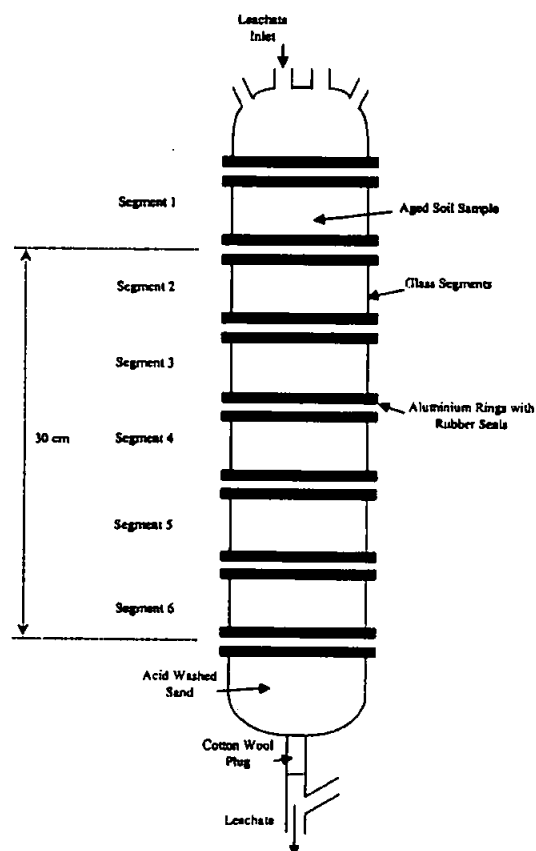


図 1：試験に使用したガラスカラムの模式図

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

### 土壤浸透性試験

#### 1) 土壤カラムの調製

1 mm の篩を通した PT103 土壤を図 1 のガラスカラム (内径 5 cm、高さ 6 cm のガラス円筒 6 個) に充填し、最上部にガラスフィルターを載せて、0.01M 塩化カルシウム溶液をゆっくり上から浸透飽和させた。

#### 2) 熟成土壤の重層及び浸透

14 日間培養した土壤を分析した時点で推定されたイミシアホスの好氣的土壤中 DT<sub>50</sub> 値 (26.1 日) に基づいて、26 日間培養した土壤を土壤カラムの最上部に重層し、降水量 200 mm に相当する 393 ml の 0.01M 塩化カルシウム溶液を 48 時間、ペリスタポンプを用いてカラム最上部から浸透させた。カラムは暗所、20℃の室内に設置し、浸透終了後、土壤をセグメントごとに分割するとともに、浸透液を採取した。

#### 3) 分析法

概ね上記の分解性試験における分析法と同じ方法で分析を行ったが、土壤はセグメント 1 と 2、3 と 4 及び 5 と 6 をプールして分析に供した。

試験結果：

#### 好氣的条件下における分解性試験

##### 1) 放射能の分布；

土壤中放射能分布及び揮発性放射能を以下に示す。

図 1： 標識体処理後好氣的条件下で培養した土壤における放射能の分布 (処理量%)

培養期間 (日)	中性溶媒	酸性溶媒	塩基性溶媒	酸還流	塩基性溶媒 (ペレット)	抽出残渣	NaOH トラップ	有機物質 トラップ	物質収支
0	93.7	1.2	0.6	NA	NA	0.4	NA	NA	95.9
2	88.9	1.3	0.8	NA	NA	2.7	4.0	0.1	97.9
5	79.5	NA	4.2	0.6	0.4	2.6	8.3	0.1	95.7
9	72.4	NA	NA	3.0	0.9	6.7	13.9	0.2	97.1
14	65.9	NA	NA	3.9	1.6	7.4	18.2	0.0	97.0
26	53.2	NA	NA	3.4	NA	11.5	27.4	0.0	95.5
28	46.3	NA	NA	5.8	NA	13.5	28.1	0.1	93.8

NA：分析未実施

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

表 2： 標識体処理後好気的条件下で培養した土壌における放射能の分布 (処理量%)

培養期間 (日)	中性溶媒	酸性溶媒	塩基性溶媒	酸還流	塩基性溶媒 (ペレット)	抽出残渣	NaOH トラップ	有機物質 トラップ	物質収支
0	99.2	1.5	0.9	NA	NA	0.7	NA	NA	102.3
2	89.0	3.4	3.6	NA	NA	ND	0.1	0.0	96.2
5	83.2	NA	12.0	1.3	0.2	0.8	0.5	0.0	98.0
9	79.1	NA	NA	13.4	2.9	3.8	1.1	0.0	100.3
14	72.1	NA	NA	17.5	4.3	5.3	1.8	0.0	101.0
26	61.0	NA	NA	21.9	NA	13.5	3.2	0.0	99.6
28	49.2	NA	NA	23.1	NA	20.9	3.4	0.0	96.6

NA ; 分析未実施

処理土壌から回収された総放射能量は 93.8~97.9% ( 標識体) 及び 96.2~102.3% ( 標識体) であった。

中性溶媒中に抽出された放射能は、被験物質処理時には 93.7%~99.2% であったが、28 日には 標識体及び 標識体処理土壌でそれぞれ 46.3% 及び 49.2% に低下した。熟成土壌試料を土壌浸透カラムに移した時点 (26 日後) の中性溶媒で抽出された放射能量はそれぞれ処理量の 53.2% 及び 61.0% であった。

標識体処理土壌では、培養期間の経過とともに中性溶媒に抽出される放射能が低下し、水酸化ナトリウムトラップに保持された放射能量は増加、28 日には処理放射能の 28.1% に達した。これは  $^{14}\text{C}$  標識側鎖が土壌中の微生物によって代謝され、二酸化炭素が生成したためと考えられる。極性揮発性物質捕集用エタンジオールトラップ中放射能量は処理量の 1% 以下、非極性揮発性有機物質捕集用の 2% パラフィンキシレン溶液中には放射能は検出されなかった。 標識体処理土壌でも、水酸化ナトリウムトラップに保持される放射能量が増加し、中性溶媒で抽出される放射能量が低下したが、その量は多くはなかった (28 日で処理放射能の 3.4%)。

標識及び 標識体処理土壌の酸還流抽出によりさらに放射能が抽出された。 標識体で処理放射能の 0.6%~5.8%、 標識体では処理放射能の 1.3%~23.1% が抽出された。本試験で使用した溶媒で抽出されずに 28 日後に抽出残渣中に残留した放射能量は、 及び 標識体処理土壌でそれぞれ 13.5% 及び 20.9% であった。

## 2) 抽出物の HPLC 分析 ;

試験土壌から中性溶媒抽出、酸性溶媒抽出及び酸性還流抽出で得られた抽出物の HPLC 分析結果を下表に示す。

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

表 3： 標識体処理土壌の中性溶媒、酸性溶媒及び酸還流抽出放射能成分の HPLC 分析 (処理量%)

培養期間 (日)	イミシ アホス								
0	90.1								
2	87.6								
5	78.7								
9	71.6								
14	65.4								
26	52.1								
28	45.2								

ND：検出限界以下、\*：放射能量が処理量の5%以下であったため分析しなかった画分の合計値

標識体処理土壌の中性溶媒抽出液の分析では、イミシアホス濃度は初期値の90.1%から28日には45.2%に低下した。

は最大の分解物で 標識体に固有で、28日に最大値、処理放射能の5.4%に達した。その他の分解物はいずれも処理放射能の1.0%以下で、すべて合計しても28日に最大で処理放射能の1.0%であった。

表 4： 標識体処理土壌の中性溶媒、酸性溶媒及び酸還流抽出放射能成分の HPLC 分析 (処理量%)

培養期間 (日)	イミシ アホス								
0	95.9								
2	86.5								
5	79.9								
9	74.7								
14	62.1								
26	48.5								
28	40.6								

ND：検出限界以下、NA：分析未実施、

\*：放射能量が処理量の5%以下であったため分析しなかった画分の合計値

標識体処理土壌の中性溶媒抽出液の分析では、処理放射能に対するイミシアホス濃度が初期値95.9%から28日には40.6%に低下した。これに伴って が生成し、28日後には処理量の31.1%を占めた。その他に が多く認められたが、これらはいずれも と同じ成分であると考えられた。

は 標識体に固有な代謝物で LC/MS/MS によって後に と命名された化合物と同一のものと構造決定された。

主要な分解物で 標識体と 標識体に共通な分解物は検出されず、イミシアホスは代謝の初期段階で と推測された。

### 3)イミシアホスの分解速度；

好氣的条件下におけるイミシアホスの一次指数曲線から推定した減衰速度を下表に示す。

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

表5：イミシアホスの好気的土壌中における分解速度

	DT50 (日)	DT90 (日)
標識体	30.0	99.7
標識体	24.7	82.1
平均	27.4	90.9

イミシアホスの好気的条件下における土壌中減衰速度 DT<sub>50</sub> は概ね 27.4 日、DT<sub>90</sub> は 90.9 日であった。また、土壌に被験物質を添加後 14 日の時点で推定された DT<sub>50</sub> は 26.1 日であった。したがって、26 日の土壌試料を土壌浸透性試験に使用することとした。

### 土壌浸透性試験

- 1) 放射能の分布；好気的条件下で 26 日間培養した土壌を土壌カラムに重層し、200 mm 相当の 0.01M 塩化カリシウム溶液を 2 日間浸透させた後の放射能分布を以下に示す。

表6： 標識体処理熟成土壌を重層した土壌カラムにおける放射能分布 (処理放射能量%)

	中性溶媒	酸性還流	抽出残渣	浸透液	回収放射能量
セグメント1	4.4	2.6	11.0	NA	18.0
セグメント2	3.1	0.2	0.5	NA	3.8
セグメント3	7.6	NA	0.4	NA	8.0
セグメント4	11.9	NA	0.6	NA	12.5
セグメント5	14.2	NA	1.4	NA	15.6
セグメント6	7.4	NA	0.2	NA	7.6
セグメント7	ND	NA	ND	NA	ND
セグメント計	48.6	2.8	14.1	NA	65.5
浸透液	NA	NA	NA	0.5	0.5
小計	48.6	2.8	14.1	0.5	66.0
処理量	53.2	3.4	11.5	NA	68.1
回収率**	71.4	4.1	20.7	0.7	96.9

ND：検出限界以下、NA：分析未実施、\*\*：重層した放射能量に対する回収率

表7： 標識体処理熟成土壌を重層した土壌カラムにおける放射能分布 (処理放射能量%)

	中性溶媒	酸性還流	抽出残渣	浸透液	回収放射能量
セグメント1	9.5	11.7	14.5	NA	35.7
セグメント2	5.3	1.9	7.2	NA	14.4
セグメント3	7.5	NA	0.5	NA	8.0
セグメント4	13.1	NA	0.5	NA	13.6
セグメント5	14.4	NA	0.5	NA	14.9
セグメント6	3.5	NA	0.4	NA	3.9
セグメント7	0.3	NA	ND	NA	0.3
セグメント計	53.6	13.6	23.6	NA	90.8
浸透液	NA	NA	NA	0.4	0.4
小計	53.6	13.6	23.6	0.4	91.2
処理量	61.0	21.9	13.5	NA	96.4
回収率**	55.6	14.1	24.5	0.4	94.6

ND：検出限界以下、NA：分析未実施、\*\*：重層した放射能量に対する回収率

熟成土壌において土壌浸透カラムから回収された放射能の処理放射能に対する割合は 標識体で 96.9%、 標識体で 94.6%であり、土壌浸透液には処理放射能のそれぞれ 0.7%及び 0.4%が溶出した。

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

及び 標識体のいずれにおいても、土壌カラム下部（セグメント6または7）からも放射能が検出されたが、セグメント1に最も多くの放射能が残存しており、その多くは抽出残渣中から回収された。

2) 抽出放射能の HPLC 分析；

土壌カラムから抽出された放射能及び浸透液の HPLC 分析結果を下表に示す。

表 8： 標識体処理熟成土壌カラムのセグメント及び浸透液中放射能の HPLC 分析（処理放射能%）

	イミシアホス					
26 日熟成土壌	52.1					
セグメント 1+2	6.9					
セグメント 3+4	19.4					
セグメント 5+6	21.2					
セグメント 7	NA					
浸透液	NA					
合 計	47.5					
回収率**	91.2					

ND：検出限界以下、NA；分析未実施

\*：放射能量が処理量の 5% 以下であったため分析しなかった画分の合計値

\*\*：重層した放射能量に対する回収率

表 9： 標識体処理熟成土壌カラムのセグメント及び浸透液中放射能の HPLC 分析（処理放射能%）

	イミシアホス									
26 日熟成土壌	48.5									
セグメント 1+2	9.7									
セグメント 3+4	20.5									
セグメント 5+6	17.8									
セグメント 7	NA									
浸透液	NA									
合 計	48.0									
回収率**	99.0									

ND：検出限界以下、NA；分析未実施

\*：放射能量が処理量の 5% 以下であったため分析しなかった画分の合計値

\*\*：重層した放射能量に対する回収率

標識体及び 標識体のどちらについても、26 日間熟成した土壌中に検出された分解物と同様の分解物が土壌セグメントから検出された。どちらの標識体についても、最も高濃度のイミシアホス（処理放射能の 19.4% 及び 21.2%）が土壌カラムのそれぞれ中間層（セグメント 3 及び 4）と下位層（セグメント 5 及び 6）に認められた。土壌カラム中に認められたイミシアホスの総量は、26 日の試料中に認められた量とほぼ同等であった（処理放射能の 47.5%/52.1%、48.0%/48.5%）。抽出されなかった放射能（ 標識体 14.1%、 標識体 23.6%）の大部分は土壌カラムの上位層に認められた。 標識体では土壌抽出液からは主要な分解物は検出されなかったが、 標識体では が処理放射能の 16.5% 検出された。この代謝物は土壌カラムの上位層のみから検出された。検出量は 26 日間熟成させてカラムに重層した土壌試料からの検出量 33.8% よりかなり低く、 が抽出残渣に変化されたためと推測



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

された。どちらの標識体の場合も土壌カラム浸透液には処理放射能の1%未満の放射能しか検出されなかったため分析は実施しなかった。

以上のように、イミシアホスの好氣的土壌中における減衰速度 DT50 は 27.4 日で、主要分解物は  $^{14}\text{C}$  であることが示された。また、イミシアホスを処理後、半減期に達した時点の土壌を土壌カラムに重層し、200mm 相当量の塩化カルシウム溶液を浸透させた場合、親化合物は土壌層を下方へ移行する傾向がみられるが、浸透液中にはほとんど放射能が検出されなかったことから、親化合物及び分解物は浸透液には移行せず、さらに土壌カラム中で  $^{14}\text{C}$  が抽出残渣に分解されることが示唆された。

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

## 5. 代謝分解のまとめ

イミシアホス（コード名：AKD-3088）の動物、植物、土壌および水中における代謝分解並びに消長の概要を以下に示すとともに、想定代謝分解経路図を 387 頁に、結果の概要を 383～386 頁に示す。

動物：雄雌のラットに低用量（1 mg/kg）または高用量（30 mg/kg）の 標識体または 標識体を単回経口投与し、血液中動態、吸収排泄、体内分布、胆汁排泄等について検討し、糞尿中代謝物の分析も行った。また、連続投与後の吸収排泄及び体内分布についても検討した。本剤は経口投与後速やかに吸収され、血漿中濃度は投与後 30 分から 1 時間でピークに達し、その後の減衰も速く、24 時間後には  $C_{max}$  の 3% 以下になった。また、本剤は血液の中では血漿及び赤血球の両方に分布することが明らかになった。血液中動態指標に明らかな性差は認められなかった。

排泄経路、排泄速度に明らかな用量差、性差は認められず、 標識体をラットに経口投与した試験では、概ね投与量の 95% 以上が投与後 48 時間以内に糞及び尿中に排泄され、投与後 96 時間の体内残留量は最大で 0.5% 程度であった。主な排泄経路は尿で、ケージ洗浄液を含めた場合、投与後 96 時間の尿中排泄量は投与量の 87～88% を超え、糞中排泄量は 10% 以下であった。呼気中排泄が殆どみられないことは予備試験で確認されている。

一方、 標識体をラットに投与した試験では、 標識体を用いた試験と同じく、投与後 48 時間までに大部分の放射能が、主に尿中に排泄されるが、投与放射能に対する放射能の総排泄量は 72～86% であった。そこで、代謝ケージに触媒コンバーターを接続して、呼気を採取したところ、低用量群で投与量の約 24%、高用量群で約 13% が投与後 72 時間以内に呼気中に排泄され、その大部分は  $^{14}CO_2$  であったが、2.5～5% はその他の揮発性物質であることが示唆された。

標識体を用いた胆汁排泄試験では、概ね 8～9% が胆汁中に排泄され、尿及び胆汁中排泄量（ケージ洗浄液を含む）及びカーカス中残留量から算出した本剤の吸収率は 90～93% であった。

低用量と高用量のいずれにおいても、経口投与後の体内分布と経時推移は雄雌で類似しており、性差は認められなかった。また、特定の組織に対する蓄積傾向も認められなかった。

標識体を経口投与後、体内分布を経時的に詳細に検討したところ、いずれの臓器においても、投与後 1 時間が最も放射能濃度が高く、その後急激に低下して、96 時間後には一部の臓器（肝臓、腎臓、血液、肺等）を除けば、殆ど放射能は検出されなかった。 標識体については、投与後 1 時間と 168 時間に体内分布について検討した。 標識体と同様、投与後 1 時間の値が高く、168 時間後には著しく低下していたが、残留量は投与後の検査時点が遅い

標識体の方が、 標識体に比べて高い傾向が認められた。そこで資料 M2 に示したように、体内残留放射能の特徴付けを肝臓、血液及び脳を用いて実施した。その結果、脳及び肝臓中残留放射能は大部分がアセトンやメタノールでは抽出されず、プロテアーゼ処理で大部分が、アミラーゼ処理で少量が遊離され、すでに内因性の蛋白や炭水化物に同化されていると考えられた。また、赤血球においても、赤血球中放射能の 2/3～3/4 が膜に局在し、同じくプロテアーゼ処理で遊離され、内因性蛋白に同化されているものと考えられた。

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

非放射能標識イミシアホス原体を14日間経口投与し、15日目に 標識体を経口投与して、糞尿中放射能排泄量及び体内残留量について検討したところ、いずれも単回投与と同様な結果が得られた。

植物： 標識体あるいは 標識体を土壌処理した土壌で作物を栽培し、可食部及び植物体における放射能分布並びに放射能成分の分析をトマト、ダイコン及び馬鈴薯を用いて実施した。また、土壌中主要分解生成物である について、根からの吸収移行性をレタスを用いて検討した。

トマトを用いた試験では3.0 kg ai/haに相当する放射能標識化合物を処理した土壌にトマトの苗を移植し、未成熟期（移植後31日）の茎葉部及び収穫適期（移植後68日、75日）の茎葉部及び果実を採取した。茎葉部中には3~4 mg/kg（未成熟期）及び0.8~3.8 mg/kg（収穫期）の放射能が検出されたが、果実中に移行した放射能量は0.05~0.13 mg/kgであった。果実を果汁と絞りかす（固形物）に分画して放射能の分布を検討したところ、 標識体では58~67%が果汁に、 標識体では79%の放射能が果汁に分布していた。 標識体処理果実中放射能の大部分は極性物質で、微量の親化合物及び が検出された。 標識体処理果実でも同じ傾向であったが、極性物質は 標識体処理果実に比べて幾分少なく、微量の親化合物と の他に残留放射能量の25~29%に相当する が検出された。両標識体処理果実において大量に検出された極性物質についてさらに分析を進めたところ、吸収された<sup>14</sup>Cはグルコース、フラクトースやサッカロースといった生体内物質に取り込まれていることが確認された。また、その後の茎葉部を用いた追加分析では、新たにイミシアホスの である の存在が確認された。

ダイコンを用いた試験では3.0 kg ai/haに相当する放射能標識化合物を土壌に処理し、直ちに播種を行った。播種後47日及び90日に植物体を採取し、葉部及び根部の分析を行った。

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

各マトリックス中放射能 (mg/kg) は以下の通りであった。

標識体では大部分の放射能はアセトニトリル及び水で抽出されたが、標識体では酸及び塩基環流抽出も必要であった。根部及び葉部

		標識体	標識体
根 部	47 日 (未熟期)	0.045	0.080
	90 日 (成熟期)	0.039	0.033
葉 部	47 日 (未熟期)	0.155	0.132
	90 日 (成熟期)	0.227	0.151

における主要放射性成分は極性物質 (非保持成分) で、根部では親化合物も高濃度で検出された (残留放射能量の 30~44%, 0.01~0.02 mg/kg) が、葉部では親化合物は検出されず、及び 並びに が検出された。標識体処理根部試料中極性物質の酵素及び酸加水分解では 及び が遊離されたが、標識体処理根部試料から得られた極性物質の加水分解処理では有意な成分は遊離されず、多くの極性物質で構成されていることが確認された。このことは、トマトと同じく  $^{14}\text{C}$  が糖質のような生体構成成分に同化されていることを示唆している。

馬鈴薯を用いた試験では 3.0 kg ai/ha に相当する放射能標識化合物を土壌に処理し、直ちに種イモの植え付けを行った。標識体処理馬鈴薯植物体は植付け後 57 日 (未熟期) 及び 79 日 (成熟期) に、標識体では 68 日及び 96 日に植物体を採取して分析に供した。

各試料における残留放射能量は以下の通りであった。

標識体処理試料では、アセトニトリル及び水で大部分の放射能が塊茎及び茎葉試料から抽出された。この抽出液の HPLC

		標識体	標識体
塊 茎	未熟期	0.028	0.084
	成熟期	0.028	0.076
茎 葉	成熟期	0.388	0.484

分析では、塊茎試料中主要残留物はイミシアホスと極性物質で、その他に及び が検出された。茎葉試料でも同様な代謝物が検出されたが、親化合物の割合は塊茎試料より低く、が主要残留物であった。極性物質の加水分解処理により が多く遊離し、一部 も検出された。

標識体処理試料中放射能の多くはアセトニトリル及び水で抽出されたが、抽出効率をあげるためにさらに、酸及び塩基、並びに環流抽出が必要であった。塊茎のアセトニトリル及び水抽出物の HPLC 分析では親化合物の他、及び とともに極性物質が多く認められた。茎葉試料抽出物の分析では親化合物、が認められ、極性物質は少なかった。塊茎抽出物の酵素及び酸加水分解処理では茎葉中

が遊離の に変化した以外、有意な変化はなかった。極性物質のアミノカラムを用いた分析では、トマトやダイコンと同じく  $^{14}\text{C}$  の植物体成分への同化が示唆された。

以上の結果、土壌処理したイミシアホスのトマト、馬鈴薯、ダイコンにおける代謝挙動は類似しており、根から吸収され、多くは茎葉部に移行するが一部は果実や塊茎や根部に移行することが明らかになった。主要残留物は親化合物の他、が多く、その他に微量の が検出された。は特に馬鈴薯の茎葉で

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

多く検出されたが、塊茎及びダイコン（根部、葉部）、トマトで残留放射能の10%を超えることはなかった。また、特に 標識体試料において多く検出された極性物質は化合物が代謝されて生成した  $^{14}\text{C}$  物質が生体内の糖類に同化された物質であることが示唆された。

また、土壌中主要分解生成物である の吸収移行性について、レタスを用いて検討した。親化合物  $4\text{ kg ai/ha}$  に相当する  $1\text{ mg/kg}$  の  $^{14}\text{C}$  を土壌に処理し、直ちにレタスを播種、生育させて、播種後77日に収穫した。残留放射能量は  $0.064\text{ mg/kg}$  で、その大部分はアセトニトリル及び水で抽出された。抽出物のHPLC分析では残留物の約90%が未変化の で、一部極性物質も検出された。したがって、吸収された は植物体内で徐々に極性物質に代謝されると考えられる。

土壌：イミシアホスの土壌中運命試験については、 標識体及び 標識体を用いて、好氣的条件下並びに嫌氣的条件下で試験を実施した。また、土壌中主要分解生成物である についても、好氣的条件下並びに嫌氣的条件下で試験を実施した。

標識体を用いた好氣的条件下における土壌中運命試験は日本の畑地砂壤土及び米国の壤質砂土を用いて実施した。本化合物の  $\text{DT}_{50}$  は砂壤土で18日、壤質砂土で30日であった。主要分解生成物は で最大値は砂壤土で21%、壤質砂土で53%に達した。その他に  $^{14}\text{CO}_2$  と微量の が検出された。日本の畑地砂壤土をガンマー線で滅菌して、同じ条件で培養した場合の  $\text{DT}_{50}$  は33日で、主要分解生成物は非滅菌土壌と同じく 及び少量の であった。

標識体を用いた好氣的条件下における土壌中運命試験は日本の軽埴土及び米国の壤質砂土をもちいて実施した。 $\text{DT}_{50}$  は軽埴土で27日、壤質砂土で36日であった。主要分解物として  $^{14}\text{CO}_2$  がトラップされた。親化合物以外に土壌から抽出された分解物はなく、大部分の残留放射能が抽出残渣中から回収された。抽出残渣の腐植質分析では、ヒューミン中に多くの放射能が画分された。

及び 標識体を用いた嫌氣的条件下における土壌中運命試験は日本の畑地壤土及び英国の畑地壤土（PT102）を用いて実施した。試験系全体（水層及び土壌層）の  $\text{DT}_{50}$  は日本の土壌で48日、英国土壌で38日であった。 標識体を処理した英国及び日本土壌では、分解物として が多く生成され、その他に 及び微量の が検出されたが、揮発性物質は殆ど検出されなかった。 標識体を処理した土壌では 及び が  $^{14}\text{CO}_2$  とともに検出されたほか、 $^{14}\text{CO}_2$  以外の揮発性物質の存在が示唆された。

の好氣的条件下における土壌中運命について、日本の畑地軽埴土を用いて検討した。その結果、土壌中における の減衰速度は遅く、 $\text{DT}_{50}$  は670日と算出された。微量の  $^{14}\text{CO}_2$  の生成が確認されたが、その他に抽出可能な主要分解物は認められず、処理放射能の1%以下の未同定物質の他は大部分が抽出残渣中に認められ、腐植質への変換が示唆された。

の嫌氣的条件下での土壌中運命について、日本の畑地埴土を用いて検討した。その

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

結果、試験系全体の DT<sub>50</sub> は 500 日と算出された。大部分の放射能は土壤中に局在し、少量の揮発性物質の他、微量の分解物は土壌抽出物から検出されたが、腐植質への変換も認められた。

5 種類の土壌を使用した土壌吸着試験を 標識体を用いて実施したところ、いずれの土壌でもフロイドリッヒの吸着係数 (Koc) は低く、14.4~188.3 ml/g であった。同様に 4 種類の土壌で検討した の土壌吸着係数 (Koc) はイミシアホスより若干高い 79~826 ml/g であった。

水： 標識体を用いた加水分解運命試験及び水中光分解運命試験を実施した。

加水分解運命試験は pH1.2、4、5、7 及び 9 で実施した。各 pH における半減期を下表に示す。

本剤は弱酸性及び中性領域では安定であるが、塩基性条件では不安定であった。また、哺乳動物の胃の酸度に相当する pH 1.2 ではさらに不安定であった。

pH 1.2、37°C の条件では 90% 以上が に速やかに分解された。

pH 4 および 5 における主要分解物は および であった。pH 7 では の生成はみられず、 および がみられた。pH 9 における主要分解物は とであった。

	15°C	25°C	37°C
1.2	—	—	0.4 日
4	785 日	179 日	—
5	1023 日	255 日	—
7	610 日	178 日	—
9	31 日	8 日	—

水中光分解性試験では 標識体を用いて、pH 5 の緩衝液および英国の湖で採取した自然水を使用した。イミシアホスは直接的な光分解は受けないが、間接的な光分解によって自然水中では分解された。緩衝液に 標識体を添加してキセノン光を照射した試験における DT<sub>50</sub> は 255 日で、非照射対照区 (283 日) と同等であった。揮発性物質の生成はみられず、分解物として、微量の および が検出されたが、いずれも非照射対照区との明らかな差はなかった。自然水を用いた試験における DT<sub>50</sub> は非照射対照区では 62 日であったが、光照射区では 22 日であった。緩衝液と同じく揮発性物質は検出されなかったが、 および の生成が確認された。

以上のように、イミシアホスおよび本剤の主要分解物 は土壌および水中で比較的安定で、土壌吸着性が低く、水溶性も高いことから、本剤を畑地に処理した場合、本剤やその分解生成物の地下浸透が懸念されるため、熟成土壌を用いたカラムリーチング試験を実施した。

標識体および 標識体を土壌に処理し、半減期に相当する 26 日間 20°C で培養した土壌を 30 cm の土壌カラム (内径 5 cm) の最上部に重層し、200mm 相当量の 0.01M 塩化カルシウム水溶液を 48 時間かけて浸透させた。その結果、大部分の放射能が土壌カラム中の土壌から回収され、浸透液に移行した放射能量は 0.4~0.5% であった。したがって、畑地に

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

処理した本剤あるいはその代謝物が地下水へ移行する可能性はきわめて低いと考えられる。





本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。  
 《代謝分解物一覧表 - 2》

代謝分解物		放射能量	イシホス																			
産 物	体 積 体	トマト	果実(68日)	果 汁	0.044	10.1 (0.006)																
				固形物	0.008	2.0 (0.001)																
			果実(75日)	果 汁	0.040	5.4 (0.003)																
				固形物	0.011	2.5 (0.001)																
		トマト	果実(68日)	果 汁	0.074	4.8 (0.006)																
				固形物	0.054	1.8 (0.002)																
			果実(75日)	果 汁	0.065	5.9 (0.006)																
				固形物	0.037	1.9 (0.003)																
		ダイコン	根部 90日	90日	0.039	44.0 (0.017)																
			葉部 47日	47日	0.155	ND																
			葉部 90日	90日	0.227	ND																
		ダイコン	根部 90日	90日	0.033	30.5 (0.010)																
	葉部 47日		47日	0.132	ND																	
	葉部 90日		90日	0.151	ND																	
	馬鈴薯	塊茎 57日	57日	0.028	38.5 (0.011)																	
		塊茎 79日	79日	0.028	25.3 (0.007)																	
		茎葉 79日	79日	0.388	7.9 (0.031)																	
	馬鈴薯	塊茎 68日	68日	0.084	19.0 (0.016)																	
		塊茎 96日	96日	0.076	12.4 (0.009)																	
		茎葉 96日	96日	0.484	13.1 (0.061)																	

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

《代謝分解物一覧表 - 3》

代謝分解物			放射能量	イミシアホフ																	
土	環境体	好氣的条件	砂塚土	0日	2.09	99.9															
				7日	2.07	77.7															
				14日	2.02	58.3															
				30日	2.00	35.4															
				91日	2.01	10.7															
				162日	1.85	4.7															
				275日	1.92	3.1															
		好氣的条件	壤質砂土	0日	1.53	101.5															
				7日	1.51	86.3															
				14日	1.49	74.3															
				30日	1.50	54.6															
				91日	1.51	18.3															
				162日	1.42	7.1															
				275日	1.52	3.5															
		好氣的条件	砂塚土 (減菌)	0日	2.02	98.5															
				7日	2.22	84.5															
				21日	2.29	26.4															
	43日			2.60	45.2																
	60日			1.98	38.1																
	105日			1.88	19.3																
	環境体	好氣的条件	軽塚土	0日		94.1															
				7日		72.7															
				14日		57.0															
				29日		40.2															
				91日		14.4															
				180日		6.2															
				好氣的条件	壤質砂土	0日		97.7													
		7日				76.9															
		14日				63.1															
		29日				48.9															
		61日				31.8															
		120日				16.6															
		環境体	嫌氣的土壤	塚土 (日本)	0日		95.1														
					7日		84.2														
14日						72.4															
30日						50.2															
58日						33.7															
120日					16.0																
181日					7.6																
嫌氣的土壤	塚土 (英国)		0日		98.6																
			6日		85.3																
			14日		68.7																
			31日		46.0																
			59日		34.1																
			119日		10.9																
			180日		4.6																
			180日		7.7																

IX-162



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

《イミシアホスの動植物体内及び環境中における推定代謝経路図》

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

[附]

《イミシアホスの開発年表》