

4) ラットにおける胆汁排泄

(資料 運命-3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

供試標識化合物

化学名	1-(2,4-dichlorophenyl)-N-(2,4-difluorophenyl)-N-isopropyl-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazole-4-carboxamide
化学構造	
標識化合物名	
コード名	
略 称	
比放射能	
放射化学的純度	

標識位置の選定理由:

【方法】

1) 動物

Fischer 系ラット (F344/DuCr1Cr1j)

12 週齢時に胆管カニュレーション手術 (胆管バイパス手術) を実施。

4 日間以上馴化

投与時 13 週齢、体重 雄約 240 g、雌約 160 g

2) 標識体

3) 用量設定

4) 投与

適切な量の標識化合物を 3%ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPC) 水溶液に懸濁し、投与懸濁液を調製した後、1 回強制経口投与した。投与懸濁液の放射化学的純度は使用期間を通じて 以上、 以上であった。

表 18 試験群及び投与量

標識体	目標投与量 mg/kg 体重	雌雄	匹数	投与時 体重 g	実投与量*1 [mg/kg 体重]	投与放射能量 MBq/kg 体重	投与液量 g/kg 体重	放射能 [dpm/μg]
	2	雄	3	241.7	1.99	7.52	10.05	227108.0
		雌	4	161.2	2.01	7.60	10.16	227108.0
	100	雄	4	241.3	100.01	7.53	10.13	4515.1
		雌	4	157.7	101.37	7.63	10.27	4515.1
	2	雄	4	243.4	2.01	7.54	10.52	224663.9
		雌	4	158.0	2.00	7.49	10.45	224663.9
	100	雄	4	247.7	100.12	7.52	10.21	4505.8
		雌	4	160.6	101.25	7.60	10.33	4505.8

*1: 実投与量は投与懸濁液の測定濃度及び投与時のラット体重に基づく。

5) 試料採取

胆汁：投与 6、24 及び 48 時間後（最終調査時点）

尿：投与 6、24 及び 48 時間後（最終調査時点）

糞：投与 24 及び 48 時間後（最終調査時点）

組織：投与 48 時間後（最終調査時点）

血液を採取後、消化管（内容物を含む）と残部の体組織に分けて、それぞれを採取した。採取した血液は残部体組織に合わせた。

6) 放射能量の測定

胆汁及び尿等：液体試料は液体シンチレーションカウンターで直接放射能を測定した。

糞及び消化管：ホモジナイザーで磨砕・均一化し、可溶化処理後、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

残部体組織：酸化燃焼処理後、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

7) 代謝物の同定

胆汁（高用量/雄）試料を用いて、放射性代謝物成分を HPLC で分取・精製し、単離した。

HPLC コクロマトグラフィーにより代謝物の同定・特徴付けを行った。

単離した主要放射性成分の質量分析 (LC-MS/MS) により同定・特徴付けを行った。

【結果】

1) 回収率

胆汁、尿、糞、ケージ洗浄液及び体組織から回収された総放射能量 (投与量比、% AD) は 93.86~98.13%AD であった。

2) 胆汁への排泄率

投与された放射能は、ともに、胆汁及び尿両方の経路で排泄された。胆汁への排泄率は、低用量投与群で約 31~37%AD、高用量で約 14~15%AD と、低用量投与群の方が高かった。雌雄の差は小さかった。胆汁排泄はイプフェンカルバゾンの主要な排泄経路の一つであった。

表 19 投与 48 時間後の回収率及び吸収率 (投与量に対する%)

標識体		投与量比 (%AD)							
		2 mg/kg				100 mg/kg			
		2 mg/kg		100 mg/kg		2 mg/kg		100 mg/kg	
用量	雄		雌		雄		雌		
雌雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
胆汁	0-6hr	12.15	8.79	2.47	2.77	18.72	14.77	4.20	3.61
	6-24hr	18.20	16.64	7.00	7.48	17.56	16.22	6.51	8.64
	24-48hr	6.40	6.04	4.15	4.74	0.91	1.27	3.15	1.84
	小計	36.74	31.47	13.62	14.98	37.19	32.26	13.86	14.10
尿	0-6hr	2.54	2.55	0.56	0.02	5.17	6.68	1.60	1.44
	6-24hr	23.89	22.04	7.12	7.31	37.33	38.88	9.22	14.05
	24-48hr	13.83	18.22	6.95	11.72	3.71	5.67	4.37	6.53
	小計	40.25	42.81	14.64	19.05	46.21	51.24	15.20	22.03
糞	0-24hr	1.47	1.69	31.84	29.69	5.71	4.21	20.41	40.61
	24-48hr	1.98	1.74	28.04	23.25	1.73	1.14	36.63	14.15
	小計	3.46	3.43	59.88	52.94	7.44	5.35	57.04	54.76
ケージ洗浄	0.81	1.02	0.54	0.46	0.81	1.20	0.40	0.57	
総排泄量	81.27	78.72	88.68	87.43	91.65	90.04	86.49	91.45	
消化管 *1	1.87	2.53	2.21	2.15	0.21	0.34	5.87	1.41	
残部体組織	10.73	14.52	4.50	6.39	6.27	7.14	2.66	3.84	
総計	93.86	95.78	95.40	95.97	98.13	97.52	95.02	96.70	
吸収率 *2	87.73	88.80	32.76	40.42	89.68	90.63	31.72	39.96	

*1: 消化管内容物を含む *2: 胆汁+尿+残部体組織

3) 吸収率

48 時間後までのイプフェンカルバゾンの推定吸収率は、ともに、低用量投与群で約 88~91%、高用量で約 32~40%と、低用量投与群の方が高かった。雌雄の差は小さかった。

4) 腸肝循環

胆汁排泄試験と排泄バランス試験（資料 運命-2）における投与 48 時間後までの尿中排泄率を比較すると、胆汁排泄試験の方が低かった。これは、胆汁中に排泄された放射能の一部が腸管から再吸収されて、尿中に排泄されたためと推察され、イブフェンカルバゾンの体内動態において腸肝循環が部分的に関与することが示唆された。

表 20 胆汁排泄試験と排泄バランス試験における尿中排泄率の比較

	投与 48 時間後まで尿中排泄率 (%AD)	
	低用量投与群	高用量投与群
排泄バランス試験 ^{a)}	58~62	22~33
胆汁排泄試験	40~51	15~22

a:代-28 頁 表 16-1 尿における投与後 48 時間の数値を引用

5) 代謝物

胆汁中から投与量の 5%を超える代謝物は検出されなかった。マイナーな代謝物として、イブフェンカルバゾンの代謝物 A が 0.33~3.29%AD 検出された。未変化のイブフェンカルバゾン[A]は検出されなかった。

イブフェンカルバゾンのラットにおける胆汁中代謝物の生成経路は、以下のように推定された。イブフェンカルバゾンの主な代謝経路である

イブフェンカルバゾンはその後、代謝物 A の生成及びこれらの組み合わせによる代謝反応を受けて、主に尿を経由して排泄された。代謝物 A はマイナーな代謝物として胆汁中に検出されたが、腸管より再吸収されたものと考えられた。一方、代謝物 B はその後、代謝物 C 及びこれらの組み合わせによる代謝反応を受けて、尿を経由して排泄された。その他に、イブフェンカルバゾンの代謝物 D が胆汁排泄を受け、胆汁経路で腸管腔内に排泄された後、代謝物 E にまで変換され (代謝物 E)、糞へ排泄される経路も考えられた。

排泄バランス試験（資料 運命-2）及び胆汁排泄試験結果に基づき、イブフェンカルバゾンの想定代謝経路を図 3 に示す。

表 21 投与 48 時間後までに胆汁中に排泄された放射性成分と分布率 (投与量に対する%)

代謝物	投与量比 (%AD)							
	2 mg/kg				100 mg/kg			
	雄		雌		雄		雌	
標識体								
用量	2 mg/kg				100 mg/kg			
雌雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
小計 (同定) (胆汁中%)	7.37 (20.07)	7.33 (23.31)	3.62 (26.54)	3.63 (24.20)	5.60 (15.06)	3.53 (10.94)	2.56 (18.49)	0.92 (6.56)
その他(未同定*) (胆汁中%)	29.37 (79.93)	24.13 (76.69)	10.00 (73.46)	11.36 (75.80)	31.59 (84.94)	28.73 (89.06)	11.30 (81.51)	13.17 (93.44)
合計 (胆汁中%)	36.74 (100.0)	31.47 (100.0)	13.62 (100.0)	14.98 (100.0)	37.19 (100.0)	32.26 (100.0)	13.86 (100.0)	14.10 (100.0)

*1: 検出された各成分はいずれも 2.5%AD を超えなかった。

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

図 3 イブフェンカルバゾンのラットにおける想定代謝経路

2. 植物体内運命

水稻における代謝試験

(資料 運命-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009年

供試標識化合物：

化学名	1-(2,4-dichlorophenyl)-N-(2,4-difluorophenyl)-N-isopropyl-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazole-4-carboxamide
化学構造	
標識化合物名	
コード名	
略 称	
比放射能	
放射化学的純度	

標識位置の選定理由：

供試植物：イネ (*Oryza sativa* L.)、品種；コシヒカリ

(財)日本植物調節剤研究協会研究所から2008年5月16日に育苗箱栽培のイネ幼苗を入手し、その後移植時まで で栽培した。

栽培用土壌：埼玉県農林総合研究センターの水田土壌(2008年4月16日入手)

土壌の主な物理化学的特性を下表に示す。

土性	壤土
pH	H ₂ O 5.9 (26°C)
	KCl 4.6 (26°C)
有機炭素含量	0.76%
陽イオン交換容量	11.2 cmol _c /kg
粘土	23.5%

イネの栽培：1/2000a のワグネルポット内に土壌の厚さ約 20 cm まで詰めた土壌に、市

販化成肥料 (N:P:K = 8:8:8) を約 500 kg/ha で添加して栽培土壌を調製した。水深 3 cm となるように水を添加し、静置したワグネルポットに、イネ幼苗 (約第 2.2 葉期) を 2008 年 5 月 20 日に移植した。

栽培条件; 水稻の慣行栽培期の東京地方における気象条件を模したファイトトロン (表 1) で栽培した。田面水の水深は約 3 cm に維持し、登熟期まで栽培して収穫の 28 日前 (2008 年 8 月 11 日) に落水した。

光源; 自然太陽光

表 1 ファイトトロンの設定温湿度条件

栽培日	昼間温度 (午前6時～午後6時)	夜間温度 ^b (午後6時～午前6時)	相対湿度
2008. 5. 20	22.7 ^a	15.7	66
5. 21～ 5. 29	21.7 ^c	15.7	66
5. 30～ 6. 29	24.8 ^c	18.8	73
6. 30～7. 31	28.4 ^c	22.4	75
8. 1～ 8. 28	30.1 ^c	24.1	72
8. 29～ 9. 8	26.5 ^c	20.5	72

a: 月間平均気温 +4° C に設定 (午前 6 時～午後 6 時)

b: 月間平均気温 -3° C に設定 (午後 6 時～午前 6 時)

c: 月間平均気温 +3° C に設定 (午前 6 時～午後 6 時)

方 法:

処理量及び設定根拠; 1.25 mg a. i. /ポット (最大慣行施用量の 250 g a. i. /ha 相当)

模擬製剤; 施用当日に標識体標品に製剤白試料を加えて 2.5% a. i. 粒剤 (w/w) を調製した。

処理回数、施用時期及び施用法; イネ幼苗移植直後 (2008 年 5 月 20 日) 及び移植 14 日後 (2008 年 6 月 3 日) の 2 回、田面水に施用した。

採取時期及び部位; 試験設計の概要を下表に示す。

処理標識体	採取時期	試験区	採取試料
	中間採取期 (施用 71 日後)	処理区	茎葉部
	登熟期 (施用 111 日後)	処理区	玄米、籾殻、稲わら
非処理対照区		玄米、籾殻、稲わら	
	中間採取期 (施用 71 日後)	処理区	茎葉部
	登熟期 (施用 111 日後)	処理区	玄米、籾殻、稲わら
非処理対照区		玄米、籾殻、稲わら	

分析方法;

- 1) 処理区の籾殻及び非処理対照区の全植物体試料の分析;
粉砕試料の一部を、燃焼処理法により放射性総残留物 (TRR) を測定した。
- 2) 中間採取期の茎葉部と最終収穫期 (登熟期) の玄米及び稲わら処理区試料の分析;
粉砕試料の一部を、燃焼処理法により放射エネルギーを測定した。さらに抽出法により分析し、概要を図 1 に示す。

磨砕試料をアセトン/水で抽出した。溶媒抽出後の残渣は、さらにソックスレー抽出を行った。各抽出液の放射エネルギーをLSCにて測定した。ソックスレー抽出の残渣は、風乾、燃焼処理した後、LSCで放射エネルギーを測定した。溶媒抽出液及びソックスレー抽出液は固相抽出（SPE）により、[水溶性画分]、[低極性成分]及び[極性成分]に分画した。[低極性成分]及び[極性成分]をHPLCで分析した。

TRRは抽出液と抽出残渣中の総放射エネルギーの合計とした。

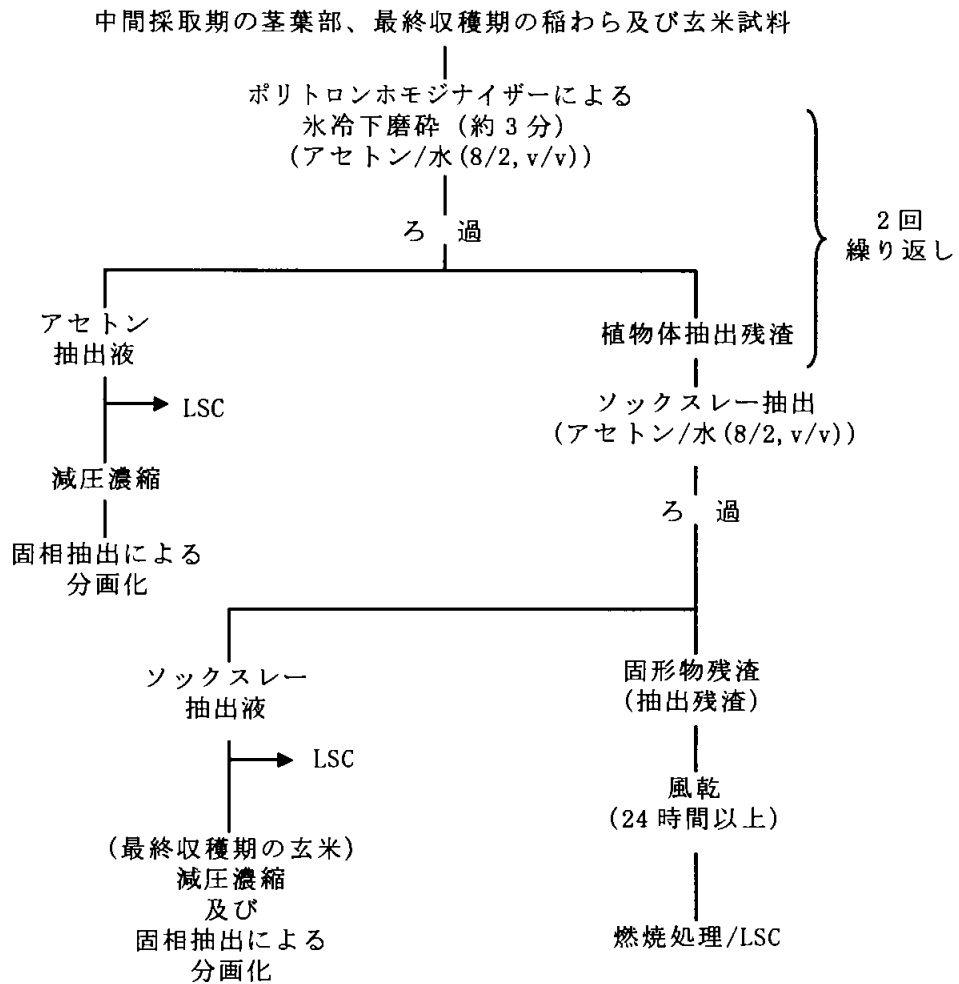


図1 ^{14}C 処理イネの茎葉部、玄米及び稲わらの抽出・分析法

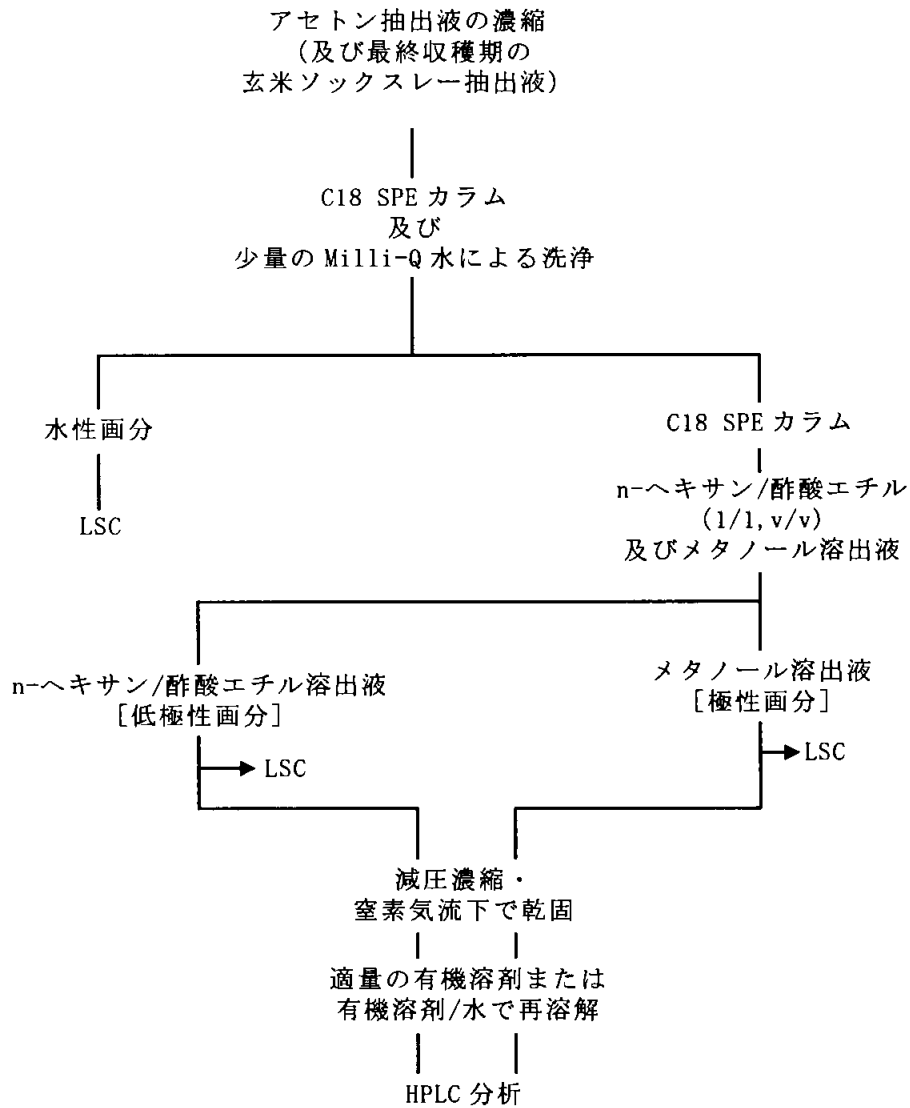


図1 $[^{14}\text{C}]$ 処理イネの茎葉部、玄米及び稲わらの抽出・分析法（続き）

- 3) 抽出後残渣中の放射能の特徴付け；
- ① 玄米抽出残渣； 図2に示す抽出操作を行った。α-アミラーゼとプロテアーゼで順次処理して、デンプン画分、タンパク質画分及びプロテアーゼ処理後残渣に分画した。各画分を燃焼処理し、放射エネルギーを測定した。

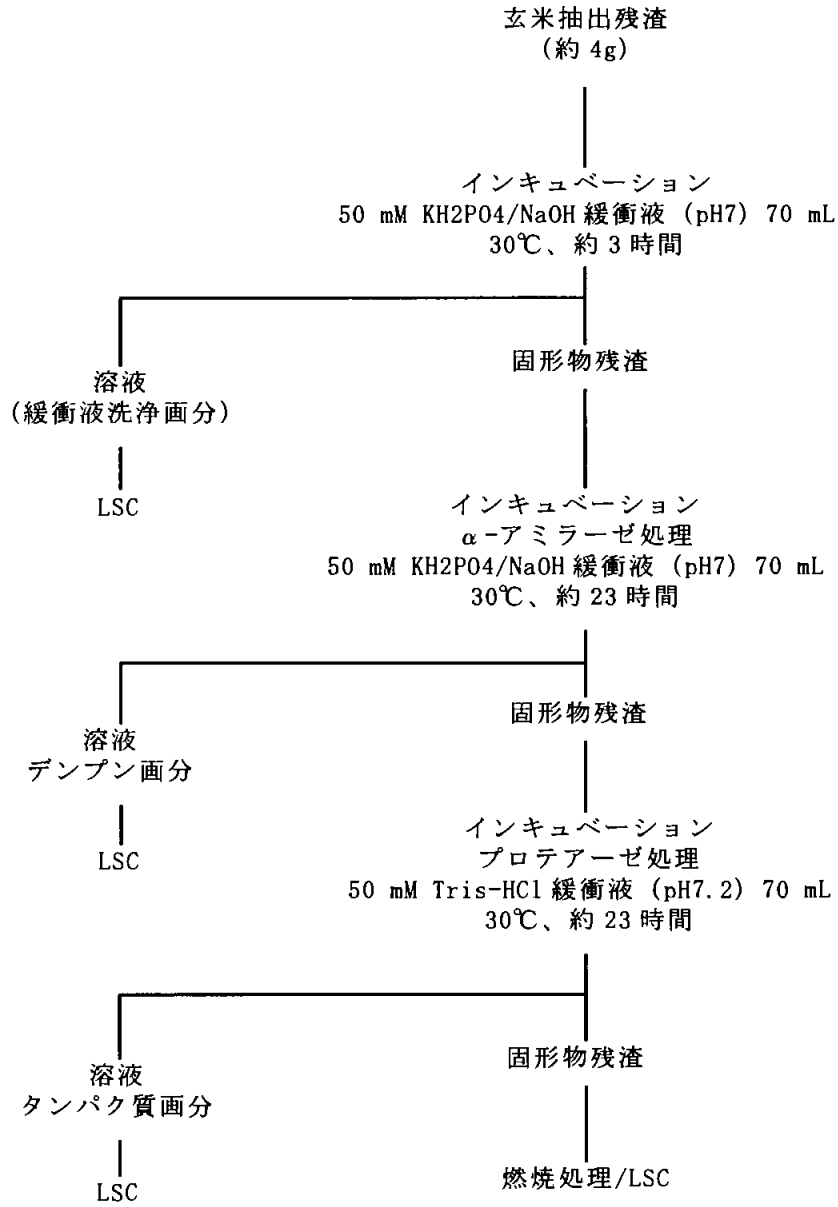


図 2 玄米抽出後残渣の酵素処理

- ② 稻わら抽出残渣；稻わらのソックスレー抽出後残渣は図 3 に示す抽出を行い、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、セルロース及び 72% 硫酸抽出後の固形物残渣の各画分に分画し、放射エネルギーを測定した。

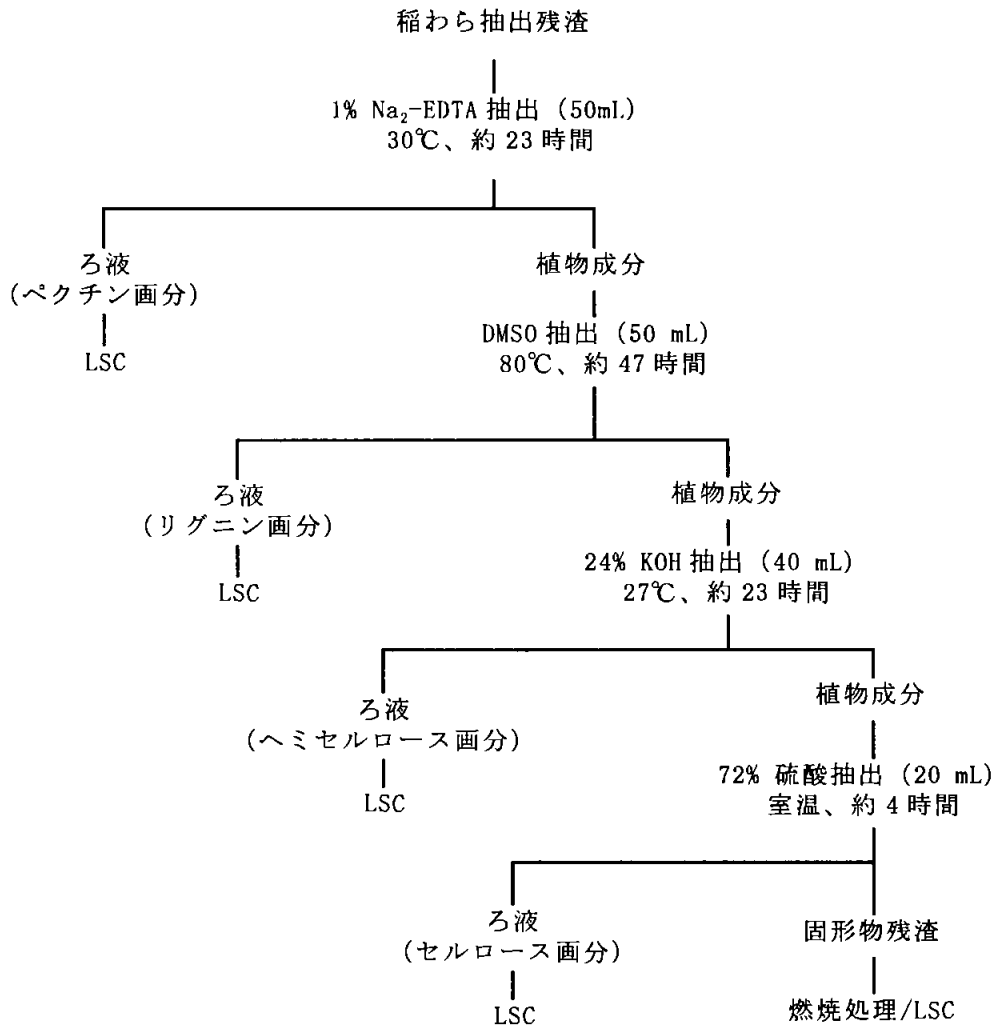


図 3 稲わらの抽出残渣中の化学的抽出

4) 代謝物の同定及び/または特徴付け；

SPE 有機溶媒抽出液中の成分は、参照化合物との HPLC コクロマトグラフィー及び TLC コクロマトグラフィーにより同定/特徴づけを行った。

結 果：

- 1) 施用液の放射化学的純度； 及び の放射化学的純度は、
であった。
- 2) 添加回収実験；無処理茎葉試料を用い、図 1 及び 2 に示した方法で抽出、SPE 分析、HPLC 分析を行って添加回収率を測定した。結果を次表に示す。

画分	添加放射能比 (%)
抽出液	95.5
SPE-水溶出液	0.3
SPE-ヘキササン/酢酸エチル溶出液	98.7
[¹⁴ C]HX-13059 回収率	98.7
SPE-メタノール溶出液	0.5
抽出残渣	0.6
総放射能	96.1

添加した の 95.5%が抽出液に抽出され、抽出後の残渣には 0.6%の放射能が検出された。また、抽出液中の イブフェンカルバゾン は、固相抽出において 98.7%が SPE-ヘキササン/酢酸エチル溶出液中に回収された。SPE-ヘキササン/酢酸エチル溶出液画分の HPLC 回収率は 98.7%であり、分析法の妥当性が確認された。

- 3) TRR レベル；処理試料及び対照試料の TRR レベルの結果を表 2 に示す。

表 2 イネ体各組織中の TRR レベル

部 位	イブフェンカルバゾン		イブフェンカルバゾン	
	処理区	対照区	処理区	対照区
	mg eq. /kg			
中間採取				
茎葉	0.4107 ^a	---	0.1524 ^a	---
登熟期				
玄米	0.0784 ^a	0.0064 ^b	0.0349 ^a	0.0079 ^b
籾殻	0.6260 ^b	0.0083 ^b	0.1876 ^b	0.0158 ^b
稲わら	0.8118 ^a	0.0072 ^b	0.4031 ^a	0.0141 ^b

データは 2 反復の平均値

a：抽出法（抽出液中放射能＋抽出残渣中放射能）

b：燃焼法

中間採取：施用 71 日後採取

登熟期：施用 111 日後採取

中間採取時の茎葉部の総残留放射能 (TRR) レベルは 0.15～0.41 mg eq. /kg であり、登熟期の水稻の茎葉部 (稲わら) のそれは増加して 0.40～0.81 mg eq. /kg となった。登熟期水稻の TRR レベルは稲わら (茎葉部) が最も高く、次いで籾殻が高く、可食部である玄米の TRR レベルは 0.03～0.08 mg eq. /kg と低かった。処理区の植物体各部位の TRR レベルは、いずれの部位でも 処理区のそれより 2 倍以上高かった。

対照区試料からも放射能が検出されたが、処理区試料に比べて顕著なものではなかった。この原因は、対照区試料を処理区試料と同一室内で栽培したことにより、標

識体処理区土壤中での分解により発生した放射性二酸化炭素 ($^{14}\text{CO}_2$) がイネ体に取り込まれ、炭酸同化作用により正常成分 (デンプンなど) となったためと推定された。

4) 放射性残留物の分布

① 有機溶媒抽出分析結果を表 3 に示す。

表 3 イネ体各組織からの放射性残留物の抽出分析結果

	フラクション	イプフェンカルバゾン		イプフェンカルバゾン	
		mg eq. /kg	% TRR	mg eq. /kg	% TRR
玄米	溶媒抽出液	0.0441	56.27	0.0110	31.53
	ソックスレー抽出液	0.0113	14.36	0.0012	3.44
	固形物残渣	0.0230	29.37	0.0227	65.03
	合計	0.0784	100.00	0.0349	100.00
稲わら	溶媒抽出液	0.6696	82.48	0.1996	49.78
	ソックスレー抽出液	0.0201	2.47	0.0131	3.27
	固形物残渣	0.1221	15.05	0.1887	46.95
	合計	0.8118	100.00	0.4013	100.00
中間採取の 茎葉部	溶媒抽出液	0.3582	87.24	0.0961	63.01
	ソックスレー抽出液	0.0083	2.02	0.0047	3.08
	固形物残渣	0.0441	10.74	0.0517	33.92
	合計	0.4107	100.00	0.1524	100.00

データは 2 反復の平均値

玄米 (可食部) 試料から抽出された放射性残留物は、溶媒抽出で TRR の 31.5~56.3%、ソックスレー抽出で TRR の 3.4~14.4% であり、
の方が高かった。固形物残渣中の放射能は TRR の 29.4~95.0% であり、
の方が高かった。固形物残渣中の放射能濃度は、
ともに 0.023 mg eq. /kg と低かった。稲わら試料から抽出された放射性残留物は、溶媒抽出で TRR の 49.8~82.5%、ソックスレー抽出で TRR の 2.5~3.3% であり、
の方が高かった。固形物残渣中の放射能は TRR の 15.1%~47.0% であり、
の方が高かった。また、中間採取期の茎葉部試料から抽出された放射性残留物は、溶媒抽出で TRR の 63.0~87.2%、ソックスレー抽出で TRR の 2.0~3.1% であり、稲わら試料と類似していた。

② 抽出液の固相抽出分析結果を表 4 に示す。

処理の玄米の溶媒抽出液中放射性残留物は、低極性 (n-ヘキサン/酢酸エチル) 画分及び極性 (メタノール) 画分にそれぞれ TRR の 33.8%、17.5% が回収され、放射性残留物のレベルは低極性画分が最も高かった。処理の玄米の溶媒抽出液中放射性残留物は、低極性画分及び極性画分にそれぞれ TRR の 5.0%、19.4% が回収され、放射性残留物のレベルは極性画分が最も高かった。標識体ともに水溶出画分の放射性残留物のレベルは低かった。

処理の玄米のソックスレー抽出液中放射性残留物は、低極性画分及び極性画分にそれぞれ TRR の 12.3%、1.8%が回収され、放射性残留物のレベルは低極性画分以外の画分は低かった。

表 4 抽出液の固相抽出分析結果

	フラクション	イブフェンカルバゾン		イブフェンカルバゾン	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
玄米	溶媒抽出液中 ¹⁴ C	0.0441	56.27	0.0110	31.53
	水溶出液 (A)	0.0031	3.90	0.0010	2.83
	ヘキサン/酢酸エチル溶出液 (B)	0.0265	33.77	0.0018	5.04
	メタノール溶出液 (C)	0.0138	17.53	0.0068	19.38
	総回収	0.0433	55.20	0.0095	27.24
玄米	ソックスレー抽出液中	0.0113	14.36		
	水溶出液 (A)	0.0011	1.45		
	ヘキサン/酢酸エチル溶出液 (B)	0.0096	12.29		
	メタノール溶出液 (C)	0.0014	1.80		
	総回収	0.0122	15.54		
稲わら	溶媒抽出液中 ¹⁴ C	0.6696	82.48	0.1996	49.78
	水溶出液 (A)	0.0321	3.95	0.0168	4.18
	ヘキサン/酢酸エチル溶出液 (B)	0.3278	40.38	0.0595	14.82
	メタノール溶出液 (C)	0.3279	40.02	0.1192	29.74
	総回収	0.6847	84.35	0.1955	48.74
中間採取の茎葉部	溶媒抽出液中 ¹⁴ C	0.3583	87.24	0.0961	63.01
	水溶出液 (A)	0.0169	4.11	0.0044	2.91
	ヘキサン/酢酸エチル溶出液 (B)	0.1970	47.97	0.0343	22.53
	メタノール溶出液 (C)	0.1424	34.67	0.0567	37.22
	総回収	0.3563	86.76	0.0954	62.65

データは 2 反復の平均値

処理の稲わらの溶媒抽出液中放射性残留物は、低極性画分及び極性画分にそれぞれ TRR の 40.4%、40.05%が回収され、放射性残留物のレベルは低極性画分及び極性画分が同程度に高かった。

処理の稲わらの溶媒抽出液中放射性残留物は、低極性画分及び極性画分にそれぞれ TRR の 14.8%、29.7%が回収され、放射性残留物のレベルは極性画分が最も高かった。標識体ともに水溶出画分の放射性残留物のレベルは低かった。

中間採取期の茎葉抽出液の固相抽出溶出パターンは稲わらと類似していた。放射性残留物は主に溶媒抽出液の低極性画分及び極性画分に存在し、水溶出画分及びソックスレー抽出液中には僅かであった。

- ③ 玄米抽出残渣の酵素処理による特徴づけ；
玄米のソックスレー抽出後の固形物残渣の酵素処理（ α -アミラーゼとプロテアーゼ）分析結果を表 5 に示す。

表 5 玄米抽出残渣の酵素処理分析結果

フラクション	イブフェンカルバゾン		イブフェンカルバゾン	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
固形物残渣中 ^{14}C	0.0230	29.37	0.0227	65.03
緩衝液洗浄	0.0103	13.10	0.0021	5.89
α -アミラーゼ可溶化 (デンプン画分)	0.0041	5.20	0.0050	14.34
プロテアーゼ可溶化 (タンパク質画分)	0.0012	1.49	0.0014	4.10
処理後の固形物残渣	0.0071	9.10	0.0150	43.01
総回収	0.0227	28.90	0.0235	67.34

データは 2 反復の平均値

処理区の玄米抽出後残渣の酵素処理による特徴付けで放射能は、酵素処理前の緩衝液洗浄液中に最も多く TRR の 29.4% が検出された。デンプン画分（ α -アミラーゼ処理）及びタンパク質画分（プロテアーゼ処理）に可溶化された放射能はそれぞれ TRR の 5.2 及び 1.5%、酵素処理後の固形物残渣中の放射能は 9.1% であった。処理区の玄米抽出後残渣の酵素処理による特徴付けで放射能は、酵素処理後の固形物残渣に最も多く TRR の 43.0% 検出された。デンプン画分（ α -アミラーゼ処理）及びタンパク質画分（プロテアーゼ処理）に可溶化された放射能はそれぞれ TRR の 14.3 及び 4.1%、緩衝液洗浄液中の放射能は 5.9% であった。

- ④ 稲わらの抽出残渣の特徴づけ；
稲わらのソックスレー抽出後の固形物残渣の化学的抽出による分析結果を表 6 に示す。

表 6 稲わらのソックスレー抽出後固形物残渣中の化学的抽出分析結果

フラクション	イブフェンカルバゾン		イブフェンカルバゾン	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
固形物残渣中 ¹⁴ C	0.1221	15.05	0.1887	46.95
ペクチン画分 ^a	0.0149	1.84	0.0071	1.78
リグニン画分 ^b	0.0427	5.27	0.0604	15.04
ヘミセルロース画分 ^c	0.0366	4.51	0.0567	14.14
セルロース画分 ^d	0.0106	1.30	0.0245	6.10
処理後の固形物残渣	0.0108	1.33	0.0147	3.66
総回収	0.1156	14.24	0.1634	40.71

データは 2 反復の平均値

a : 1% Na₂-EDTA 抽出

b : DMSO 抽出

c : 24% KOH 抽出

d : 72% H₂SO₄ 抽出

標識体ともに放射能は主にリグニン画分（それぞれ TRR の 5.3 及び 15.0%）及びヘミセルロース画分（それぞれ TRR の 4.5 及び 14.1%）に分布していた。化学的抽出処理後の固形物残渣中の放射能はごく少量であった。これらの結果から、[¹⁴C]HX-13059 由来の放射能はリグニン及びヘミセルロースなどの植物体を構成する正常成分に取り込まれた可能性が強く示唆された。

5) 代謝物プロファイル

中間採取の茎葉抽出液及び登熟期の玄米と稲わら抽出液について、HPLC による放射性成分の定量を行った。結果を表 7~8 に示す。

表 7 処理区の玄米抽出液の HPLC 分析

フラクション No.	同定化合物	記号	ヘキサン/酢酸エチル及びメタノール抽出画分		ソックスレー抽出画分		合計	
			mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
39	イブフェンカルバゾン (HX-13059)	A	nd	-	nd	-	nd	-

データは 2 反復の平均値、フラクション No. は HPLC 分画の番号

表 8 処理区の稲わら及び中間採取茎葉部抽出液の HPLC 分析

フラクション No.	同定化合物	記号	稲わら (111 日後)		中間採取茎葉部 (71 日後)	
			mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
39	イブフェンカルバゾン (HX-13059)	A	0.0098	1.21	0.0107	2.60

データは 2 反復の平均値、フラクション No. は HPLC 分画の番号

玄米； の登熟期の玄米抽出液からは TRR の 10%以上の主要代謝物として (0.036 mg eq./kg、TRR の 45.3%) が認められた。その他に (0.006 mg eq./kg、TRR の 7.8%) 及び

(0.003 mg eq./kg、TRR の 3.5%) が認められた。未変化体のイブフェンカルバゾン[A]は検出されなかった。

では玄米抽出液の固相抽出の各溶出液及びソックスレー抽出液の放射性残留物レベルがいずれも 0.01mg eq./kg 未満であった。

稲わら； の登熟期の稲わら抽出液からは TRR の 10%以上の主要代謝物として (0.121 mg eq./kg、TRR の 14.9%)、 (0.182 mg eq./kg、TRR の 22.5%) 及び (0.119 mg eq./kg、TRR の 14.6%) が認められた。 はフリー体としても検出され、

の残留レベルは 0.139 mg eq./kg (TRR の 17.2%) であった。未変化体のイブフェンカルバゾン[A]の残留レベルは 0.010 mg eq./kg (TRR の 1.2%) と低かった。

の登熟期の稲わら抽出液からは、未変化体のイブフェンカルバゾン[A] (0.012mg eq./kg、TRR の 3.0%) のみが検出された。

中間採取茎葉部；登熟期と同様に、 の中間採取茎葉部の抽出液からは TRR の 10%以上の主要代謝物として (0.103 mg eq./kg、TRR の 25.0%)、 (0.082 mg eq./kg、TRR の 19.9%) 及び (0.042 mg eq./kg、TRR の 10.3%) が認められた。

の残留レベルは、0.072 mg eq./kg (TRR の 17.5%) であった。未変化体のイブフェンカルバゾン[A]の残留レベルは 0.011 mg eq./kg (TRR の 2.6%) と低かった。

の中間採取茎葉部の抽出液からは、主放射性成分として未変化体のイ

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

プフェンカルバゾン[A] (0.014mg eq./kg、TRRの9.2%)のみが検出された。

まとめ；

- 1) の¹⁴C標識イプフェンカルバゾン () を250 g a. i./haの
施用量で2回 (幼苗移植直後及び14日後) 田面水施用した。中間採取時の茎葉部
のTRRレベルは、0.152~0.411 mg eq./kgであった。
- 2) 登熟期における玄米 (可食部) のTRRレベルは0.035~0.078 mg eq./kgであった。
籾殻のTRRレベルは0.188~0.626 mg eq./kgであった。稲わらのTRRレベルは0.403
~0.812 mg eq./kgであった。標識位置での残留放射能の比較では、
の方が
より2倍以上高かった。
- 3) TRRの10%以上の主要代謝物として、登熟期玄米から
が検出された。登
熟期稲わらからは、
が検出された。
中間採取時の茎葉からは、
が検出された。
- 4) イプフェンカルバゾン[A]の水稻中における主代謝経路は、

を生成した。また、イ
プフェンカルバゾン[A]由来の放射能は、リグニン及びヘミセルロースなどの植物
体構成成分に取り込まれ、結合型残留物を形成すると考えられた。

イプフェンカルバゾンの水稻における推定代謝経路を図4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北興化学工業株式会社にある。

図 4 イプフェンカルバゾンの水稲における推定代謝経路

3. 土壌中運命

3. 1 好氣的湛水土壌代謝試験

(資料 運命-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

供試標識化合物：

化学名	1-(2,4-dichlorophenyl)-N-(2,4-difluorophenyl)-N-isopropyl-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazole-4-carboxamide
化学構造	
標識化合物名	
コード名	
略 称	
比放射能	
放射化学的純度	

標識位置の選定理由：

供試土壌：土壌の物理化学的特性を表 1 に示す。

土壌は、使用前に 2 mm の篩に通した。

表 1 供試土壌の物理化学的特性

土壌名	牛久土壌	
入手先	日本植物調節剤研究協会研究所の水田	
入手年月日	2008 年 4 月 4 日	
土性 (ISSA 法)	埴壤土	
粒経組成	粗砂 (2.0-0.25 mm)	3.0%
	細砂 (0.25-0.05 mm)	25.6%
	シルト (0.05-0.002 mm)	39.6%
	粘土 (0.002 mm 以下)	31.8%

表 1 つづき

主要粘土鉱物	ハロイサイト、クロライト
pH (水)	5.9 (23°C)
pH (KCl)	5.0 (23°C)
pH (CaCl ₂)	5.4 (24°C)
有機炭素 (%)	5.05
陽イオン交換容量 (cmol _c /kg 乾土)	32.0

方法：試験は非滅菌土壌及び滅菌土壌を用いた試験系で行った。

試験溶液の調製；2種類の [¹⁴C]イプフェンカルバゾンの保存溶液の適量を乾固し、
残留物をアセトンに溶解して 250 mg/L の施用液 (表 2) を調製した。

表 2 施用液の詳細

標識化合物	保存溶液 採取量 (mL)	最終溶液量 (mL)	実測濃度 (mg/L)	土壌中施用濃度 (mg/kg)
	2.28	5.0	241.5	0.2415
	2.76	5.0	235.5	0.2355

【非滅菌土壌試験系】

土壌試料の調製；ガラス製広口ビン容器に秤量した乾土 50 g 相当量の試験土壌に、
水を加え、土壌厚 約 4.9 cm、水深 約 1.1 cm の湛水条件とした。調製後、
25±2°C の暗所でプレインキュベートしたのち還元層の形成 (土壌下層部
で 200 mV 以下) を確認した。

添加濃度；0.25 mg/kg 乾土 (最大慣行施用量の 250 g a. i. /ha に相当)

添加方法；マイクロシリンジで田面水に滴下し、土壌及び田面水の全体をよく混和
した。

試験系の調製；図 1 に示す放射性二酸化炭素 (¹⁴CO₂) 用捕集剤を接続したステンレ
ススチール製代謝チャンバー内に添加後の土壌容器をラベル体別に入れ、
二酸化炭素フリーの加湿空気を通気した。予備試験で、¹⁴CO₂ 以外の揮発性
有機物質等の発生は無いことが確認できたので、揮発性有機物質の捕集剤
は設置しなかった。

インキュベート条件；暗所条件下 25±2°C

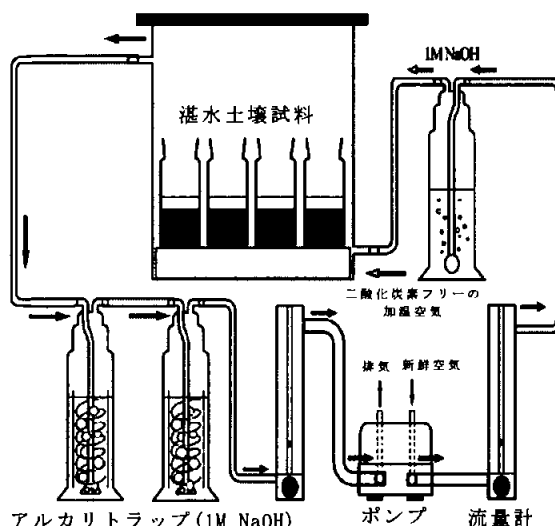


図 1 代謝チャンバー及び捕集装置の概要

採取時期；表 3 に示す時点で各試料を採取した。

表 3 試料採取時点

実験内容	標識体	試料採取（分析）時点
土壌残留物分析		施用直後、14、28、61、91、119、168 日後
揮発性物質定量		14、28、61、91、119、145、168 日後
		14、28、61、75、91、119、145、168 日後

分析方法；

灌水土壌試料；分析法の概略を図 2 に示す。

試料は以下の方法で田面水及び土壌画分に分けて分析した。

田面水面分；田面水はデカンテーションし、濾過した。濾紙上の土壌は土壌画分に合わせた。濾液の一部は LSC で測定した。

土壌画分；土壌はアセトニトリルで 2 回抽出し、抽出液を合わせた。次いで 0.1 M HCl 含有アセトニトリル (2:8, v/v) で抽出した。各抽出液は LSC で測定し放射能を定量した。各抽出液は 1 つに合わせて土壌抽出液とした。土壌抽出液は濃縮し、HPLC で分析して放射性成分の分離、定量を行った。

抽出後の土壌残渣は風乾後、一部を燃焼処理して LSC で測定した。土壌残渣は 0.1 M HCl 含有アセトニトリル (2:8, v/v) でソックスレー抽出した。抽出液は一部を LSC で測定し、HPLC で分析して放射性成分の分離、定量を行った。

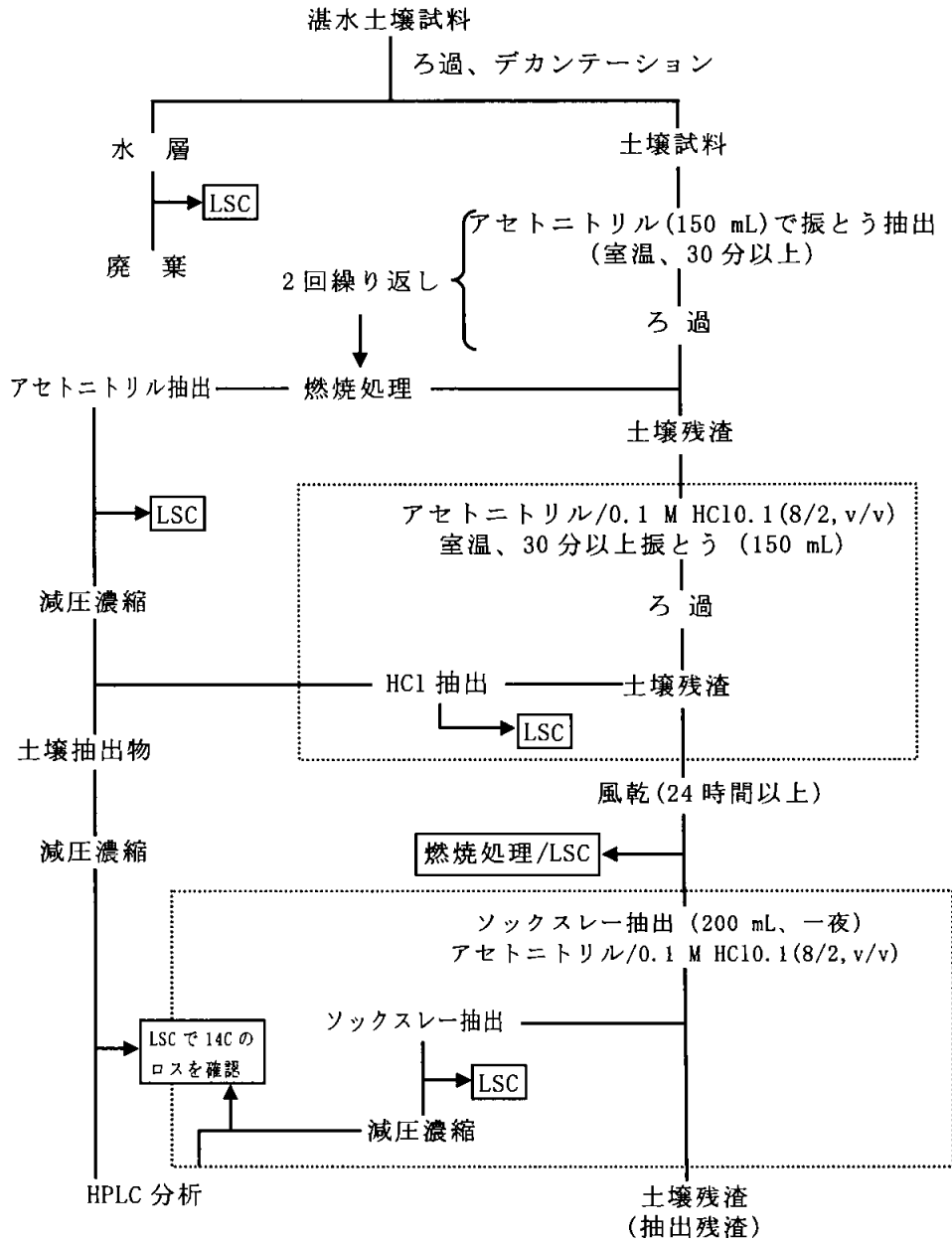


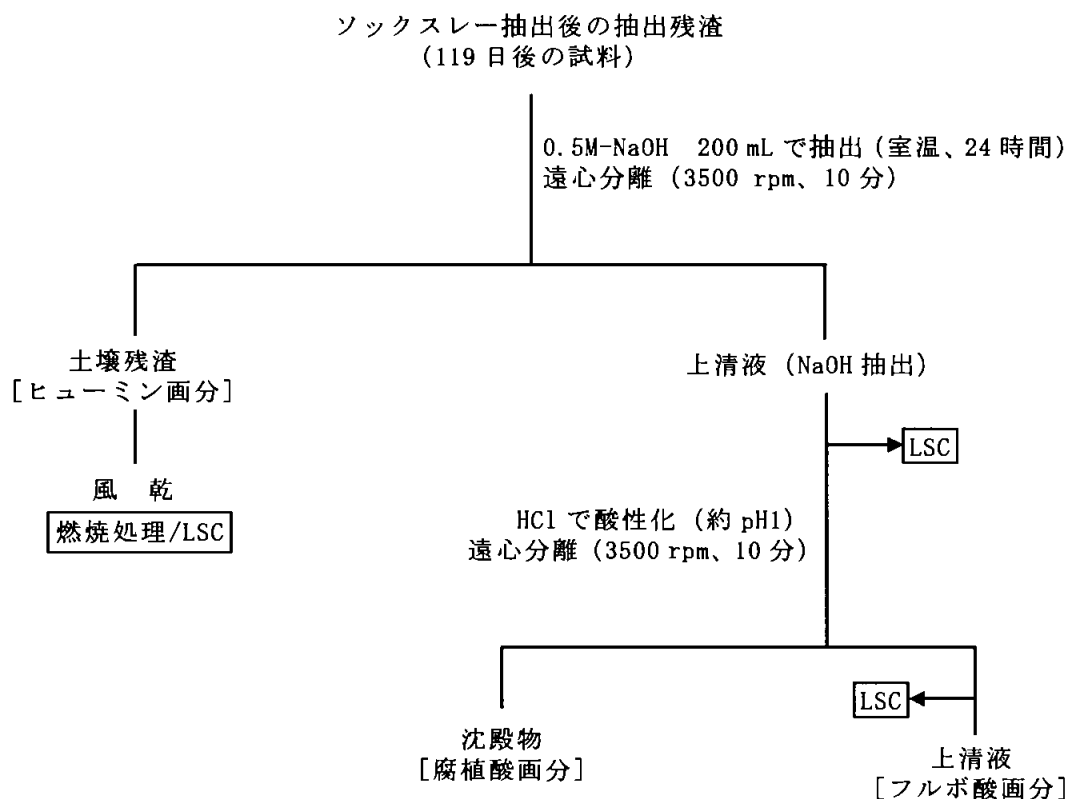
図 2 ^{14}C イプフェンカルバゾン処理汚水土壤の分析方法

揮発性物質捕集液；アルカリ捕集液を混合し、LSCで分析した。

代謝物の同定；田面水及び土壌抽出液中の主要放射性成分は参照化合物との HPLC コクロマトグラフィー及び TLC コクロマトグラフィーにより同定した。
標識体処理試験系の捕集された放射性二酸化炭素は、 BaCl_2 添加後の沈殿生成により同定した。

土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け；図3の手順に示す分析操作を用いて行った。
ソックスレー抽出後の土壌残渣はアルカリ溶液で抽出し、ヒューミン画分とアルカリ抽出液画分に分画した。さらにアルカリ抽出液画分は酸性とし、遠心分離により腐植酸画分（沈殿物）及びフルボ酸画分（上清液）に分画した。溶液画分はLSCで測定した。腐植酸画分の放射能は、アルカリ抽出液画分とフルボ酸画分との差から求めた。

図3 土壌残渣中の放射性残留物の特徴づけ



【滅菌土壌試験系】

非滅菌土壌試料と同様に土壌試料を調製し、23日間のプレインキュベーションのうち、最後の3日間は1日1回オートクレーブ滅菌（120℃、20分間）して、滅菌土壌試料を調製した。3回目の滅菌操作終了後、非滅菌土壌試料と同様に添加し、インキュベート、試料採取、分析を行った。なお、滅菌土壌試験系では揮発性物質捕集装置は接続しなかった。また、抽出残渣中の放射能が施用量の10%未満であったので、ソックスレー抽出は行わなかった。

湛水土壌試料分析時点： 処理後 28、91 日後

土壌中減衰速度計算法：イプフェンカルバゾンの土壌中の減衰速度及びDT₅₀、DT₉₀は、FOCUS レポートを参考として、以下のいずれかのモデルを用いて算出した。

1) Single first order (SF0) モデル

土壤中での分解を一次反応と見なすと、(1) 式が得られる。

$$-dC/dt = kC \quad (1)$$

(1)式に dt を乗じ、積分すると次式が得られる。

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

ここで、C は任意の時間 t におけるイプフェンカルバゾンの濃度、 C_0 は初濃度、k は減衰速度定数である。

DT_{50} (50% 消失に要する期間) 及び DT_{90} (90% 消失に要する期間) は、減衰速度定数 k を用いて最小二乗法を用いて算出した回帰直線の傾きから、減衰速度定数を求め、半減期 ($T_{1/2}$) は次式より算出した。

$$DT_{50} = -\ln(1/2)/k \quad (3)$$

$$DT_{90} = -\ln(1/10)/k \quad (4)$$

2) Double first order in parallel (DFOP) モデル

土壤中での分解を二相性または 2 コンパートメント、すなわち 2 つの一次反応の和と見なすと、(2) 式を元に次式が得られる。

$$C = C_1 \exp(-k_1 t) + C_2 \exp(-k_2 t) \quad (5)$$

ここで、C は 1. と同様、任意の時間 t におけるイプフェンカルバゾンの濃度である。 k_1 及び k_2 はそれぞれ第一相、第二相の減衰速度定数を表す。 C_1 及び C_2 はそれぞれ第一相、第二相における初濃度を表し、 C_0 を系全体の初濃度とすると、次の関係が成り立つ。

$$C_0 = C_1 + C_2 \quad (6)$$

DT_{50} 及び DT_{90} は、それぞれ $C = 0.5C_0$ 、 $C = 0.1C_0$ を満足する t を Excel のゴールシーク機能を用いて反復計算により求めた。

結果：

1) 施用液の放射化学的純度

[^{14}C]イプフェンカルバゾンの各施用液の放射化学的純度は調製時で % 以上であった。施用まで最長 で 57 日間、 で 48 日間保存したが、放射化学的純度の低下はみられなかった。

2) 放射能回収率及び放射能分布

土壌及び田面水中の放射性残留物及びアルカリ捕集液中の放射能 ($^{14}CO_2$) から放射能回収率を求めた。土壌中の放射性残留物の放射能分布を表 4 及び表 5 に示す。

処理試料；

放射能回収率は試験期間を通じて約 97.4~103.6% であった。

田面水中の放射能は処理直後には処理量の約 2.6% であったが、処理後 14 日以降は処理量の 1% 未満であった。

土壌抽出液中の放射能は、処理直後で施用量の 99.7% であったが、処理後 14 日~168 日では 76.1~85.9% であった。ソックスレー抽出では処理後 168 日に 11.2% まで増加した。抽出後の土壌残渣中の放射能は処理後 61 日まで

増加し、その後は横這い（約 10%）であった。

168 日間の累積 $^{14}\text{CO}_2$ は施用量の 0.4% であった。

処理試料；

放射能回収率及び分布は と同様であった。

放射能回収率は試験期間を通じて約 95.0~102.4% であった。

田面水中の放射能は処理直後には処理量の約 2.6% であったが、処理後 14 日以降は処理量の 1% 未満であった。

土壌抽出液中の放射能は、処理直後で施用量の 98.7% であったが、処理後 14 日~168 日では 71.7~85.4% であった。ソックスレー抽出では処理後 168 日に 10.3% まで増加した。抽出後の土壌残渣中の放射能は処理後 61 日まで増加し、その後は横這い（11~12%）であった。

168 日間の累積 $^{14}\text{CO}_2$ は施用量の 1.9% であった。

表 4 処理試料における放射能バランス（処理放射能%）

処理区	画分	試料採取時点（日）						
		0	14	28	61	91	119	168
	田面水	2.63	0.63	0.69	0.39	0.42	0.15	0.36
	土壌 ^a	100.97	97.73	97.16	98.04	99.76	98.24	96.62
	土壌抽出液 ^b	99.66	85.91	83.18	79.40	80.18	77.54	76.07
	ソックスレー抽出液 ^c	nm	6.29	6.38	8.79	9.33	11.58	11.15
	抽出後の土壌残渣	1.31	5.53	7.59	9.86	10.26	9.12	9.40
	揮発性 ^{14}C	nm	0.11	0.15	0.23	0.28	0.32	0.38
	総回収 ^{14}C	103.61	98.47	98.00	98.65	100.46	98.71	97.36
	田面水	2.55	0.57	0.38	0.31	0.25	0.17	0.17
	土壌 ^a	99.86	97.85	99.21	97.41	97.20	95.98	92.87
	土壌抽出液 ^b	98.68	85.38	84.21	78.89	77.60	74.57	71.74
	ソックスレー抽出液 ^c	nm	5.52	6.38	7.09	7.84	8.74	10.28
	抽出後の土壌残渣	1.18	6.95	8.62	11.43	11.76	12.66	10.85
	揮発性 ^{14}C	nm	0.07	0.18	0.54	0.90	1.29	1.93
	総回収 ^{14}C	102.40	98.48	99.78	98.25	98.35	97.44	94.97

2 点の平均（揮発性 ^{14}C を除く）

nm: 測定せず

a: 土壌抽出液+ソックスレー抽出液+抽出後の土壌残渣

b: アセトニトリル抽出液+アセトニトリル/0.1 M HCl (8:2, v/v) 抽出液

c: アセトニトリル/0.1 M HCl (8:2, v/v) 抽出

表 5 処理試料における放射能濃度 (mg eq./kg 乾土)

処理区	画分	試料採取時点 (日)						
		0	14	28	61	91	119	168
	田面水	0.0064	0.0015	0.0017	0.0009	0.0010	0.0004	0.0009
	土壌 ^a	0.2439	0.2360	0.2347	0.2368	0.2409	0.2373	0.2334
	土壌抽出液 ^b	0.2407	0.2075	0.2009	0.1918	0.1936	0.1873	0.1837
	ソックスレー抽出液 ^c	nm	0.0152	0.0154	0.0212	0.0225	0.0280	0.0269
	抽出後の土壌残渣	0.0032	0.0134	0.0183	0.0238	0.0248	0.0220	0.0227
	揮発性 ¹⁴ C	nm	0.0003	0.0004	0.0005	0.0007	0.0008	0.0009
	総回収 ¹⁴ C	0.2502	0.2378	0.2367	0.2383	0.2426	0.2384	0.2351
	田面水	0.0060	0.0013	0.0009	0.0007	0.0006	0.0004	0.0004
	土壌 ^a	0.2352	0.2305	0.2337	0.2294	0.2290	0.2261	0.2188
	土壌抽出液 ^b	0.2324	0.2011	0.1984	0.1858	0.1828	0.1757	0.1690
	ソックスレー抽出液 ^c	nm	0.0130	0.0150	0.0167	0.0185	0.0206	0.0242
	抽出後の土壌残渣	0.0028	0.0164	0.0203	0.0269	0.0277	0.0298	0.0256
	揮発性 ¹⁴ C	nm	0.0002	0.0004	0.0013	0.0021	0.0030	0.0046
	総回収 ¹⁴ C	0.2412	0.2320	0.2350	0.2314	0.2317	0.2295	0.2237

2 点の平均 (揮発性¹⁴C を除く)

nm: 測定せず

a: 土壌抽出液+ソックスレー抽出液+抽出後の土壌残渣

b: アセトニトリル抽出液+アセトニトリル/0.1 M HCl (8:2, v/v) 抽出液

c: アセトニトリル/0.1 M HCl (8:2, v/v) 抽出

3) 試料中の放射性成分の HPLC 分析

HPLC 回収率 ;

全 HPLC 分析試料の HPLC からの平均回収率は、99.2~102.2% (標準偏差 1.5~2.6) であった。

処理試料 ;

土壌抽出液及びソックスレー抽出液中の放射性成分の結果を表 6 に、また主要代謝物の経時的变化を表 8 に示す。

[¹⁴C]イプフェンカルバゾン は、施用後穏やかに減少し、施用後 61 日で 76.3%、168 日 (最終時点) で 66.9% まで減衰した。唯一の代謝物として
が検出された。

はイプフェンカルバゾン [A] の減少に伴って経時的に増加し、168 日後では 20.4% まで増加した。

はソックスレー抽出液にもかなりの割合で存在した。滅菌土壌の結果から、
は微生物活性により生成すると推定された。その他、検出限界を超えて検出された成分はなかった。

処理試料 ;

土壌抽出液及びソックスレー抽出液中の放射性成分の結果を表 7 に、また主要代謝物の経時的变化を表 8 に示す。

[¹⁴C]イプフェンカルバゾン は、施用後穏やかに減少し、施用後 61 日で

83.7%、168日（最終時点）で73.6%まで減衰した。主要な代謝物として
が検出された。

は で検出された の成分である。 はイブ
フェンカルバゾン[A]の減少に伴って経時的に増加し、168日後では7.8%で
あった。未抽出残渣中放射能及び放射性二酸化炭素量から、 は
より代謝分解を受けやすいと推定された。その他、 及び
画分の放射能が施用量の1%以上検出されたが、HPLC上でピークとし
て確認できなかった。この他に、検出限界を超えて検出された成分はなかつ
た。

表 6 処理土壌抽出液及びソックスレー抽出液中の放射性成分の分布

HPLC フラク ション 番号	同定	土壌抽出液								ソックスレー抽出液					
		試料採取時点（日）													
		0	14	28	61	91	119	168	0	14	28	61	91	119	168
17	イブフェン カルバゾン [A]	99.66	83.34	78.36	71.73	70.71	66.50	61.50	nm	3.89	3.62	4.53	5.09	6.88	5.36
		0.2407	0.2013	0.1893	0.1732	0.1708	0.1606	0.1485	nm	0.0094	0.0087	0.0109	0.0123	0.0166	0.0130
合計		99.66	85.91	83.18	79.40	80.18	77.54	76.07	nm	6.29	6.38	8.79	9.33	11.58	11.15
		0.2407	0.2075	0.2009	0.1918	0.1936	0.1873	0.1837	nm	0.0152	0.0154	0.0212	0.0225	0.0280	0.0269

HPLC分析2点の平均、上段：処理放射能に対する比率（%）、下段：放射能濃度（mg eq./kg 乾土）
nd：検出限界以下、 nm：測定せず

表 7 処理土壌抽出液及びソックスレー抽出液中の放射性成分の分布

HPLC フラク ション 番号	同定	土壌抽出液								ソックスレー抽出液					
		試料採取時点（日）													
		0	14	28	61	91	119	168	0	14	28	61	91	119	168
17	イブフェン カルバ ゾン[A]	98.68	85.38	84.21	78.89	71.30	68.40	63.96	nm	3.74	4.42	4.80	6.67	6.50	9.62
		0.2324	0.2011	0.1984	0.1858	0.1679	0.1611	0.1506	nm	0.0088	0.0104	0.0113	0.0157	0.0153	0.0227
合 計		98.68	85.38	84.21	78.89	77.60	74.57	71.74	nm	5.52	6.38	7.09	7.84	8.74	10.28
		0.2324	0.2011	0.1984	0.1858	0.1828	0.1757	0.1690	nm	0.0130	0.0150	0.0167	0.0185	0.0206	0.0242

HPLC分析2点の平均、上段：処理放射能に対する比率（%）、下段：放射能濃度（mg eq./kg 乾土）
nd：検出限界以下、 nm：測定せず

表 8 試験系全体での主要代謝物の HPLC 分布

処理区	主要代謝物	試料採取時点 (日)						
		0	14	28	61	91	119	168
	イブフェンカルバゾン [A]	99.66 0.2407	87.23 0.2107	81.98 0.1980	76.25 0.1842	75.80 0.1831	73.39 0.1772	66.86 0.1615
	合計	99.66 0.2407	92.20 0.2227	89.56 0.2163	88.18 0.2130	89.51 0.2162	89.12 0.2152	87.22 0.2107
	イブフェンカルバゾン [A]	98.68 0.2324	89.12 0.2099	88.64 0.2088	83.69 0.1971	77.96 0.1836	74.90 0.1764	73.58 0.1733
	合計	98.68 0.2324	90.90 0.2141	90.59 0.2134	85.97 0.2025	85.44 0.2013	83.32 0.1962	82.02 0.1932

HPLC 分析 2 点の平均、上段：処理放射能に対する比率 (%)、下段：放射能濃度 (mg eq/kg 乾土)
nd：検出限界以下

4) イブフェンカルバゾンの減衰速度

イブフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及びは 90% 消失期間 (DT₉₀) を表 9 に、またその減衰曲線を図 4 及び 5 に示す。及び の DT₅₀ は 420 日及び 400 日、DT₉₀ は 1729 日及び 1327 日であった。

表 9 イブフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及び 90% 消失期間 (DT₉₀)

標識位置	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
	420	1729
	400	1327

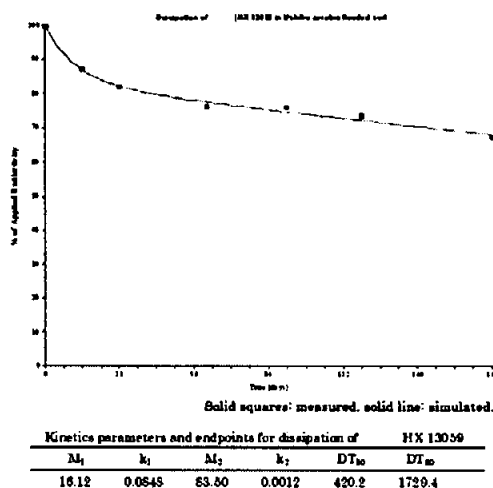


図 4 の減衰

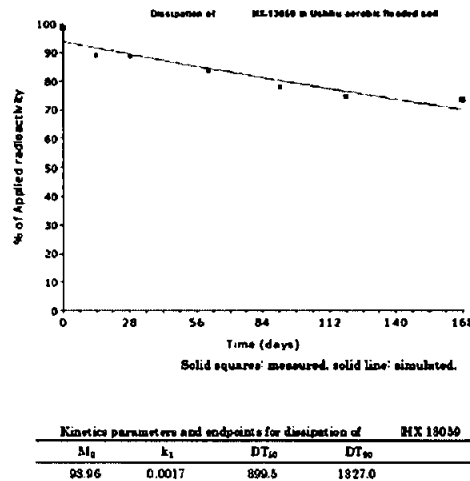


図 5 の減衰

5) ソックスレー抽出後の土壌残渣中の放射性残留物の特徴づけ

いずれの 標識体においても抽出後の土壌残渣中の放射能は施用 61 日後以降ほぼ一定であった。そこで、 標識体の 119 日後試料を用い、抽出不能残渣中の放射能を腐植抽出法により特徴付けを行った。結果を表 10 に示す。

分画化した放射能の分布パターンは 標識体で大きな差はなかった。ただし、 標識体における回収率の差は、 の分析操作中における放射能の揮発損失による可能性が推測された。土壌残渣中の放射能の大部分は、フルボ酸画分（ ）に分布し、土壌有機物に緩やかに結合した状態の代謝物に由来すると推定された。腐植酸画分には約 16%（ ）～19%（ ）、ヒューミン画分には約 24%（ ）～16%（ ）分布した。これらの結果は、好氣的湛水土壌中でイプフェンカルバゾンより生成する代謝物がアルカリ性有機溶媒を含む抽出によっても抽出困難な結合型残留物として存在することを示唆する。これらの抽出困難な放射能は、土壌有機物に強く結合あるいは取り込まれた状態であり、土壌微生物による分解を受け難い状態となっていると推定される。

表 10 119 日後試料の抽出後の抽出不能残渣の特徴付け

画分\標識体		
抽出不能残渣	9.12	12.66
	100.00	100.00
NaOH 抽出液	8.09	9.13
	88.73	72.05
フルボ酸画分	6.40	7.12
	70.15	56.26
腐植酸画分	1.70	2.01
	18.58	15.79
ヒューミン画分	2.22	2.00
	24.26	15.78
総回収 ¹⁴ C	10.31	11.13
	112.99	87.83

腐植酸画分 : NaOH 抽出液 - フルボ酸画分

総回収 ¹⁴C : NaOH 抽出液 + ヒューミン画分

上段 : 処理放射能に対する比率 (%)、 下段 : 抽出不能残渣に対する比率 (%)

6) 滅菌土壌試験

を施用した滅菌土壌における放射能の残存量及び検出された分解代謝成分を表 11 にまとめる。

滅菌土壌におけるイプフェンカルバゾン[A]の分解消失は非滅菌土壌に比べて極めて遅く、施用後 91 日で施用量の 95.2%残存した。また、滅菌土壌での放射能は 91 日後で 95.2%が抽出可能であり、残渣中の放射能は 7.6%であった。非滅菌土壌で検出された はまったく検出されなかった。これらの結果から、イプフ

エンカルバゾンの土壤中での分解、土壤有機物への取り込みなど大部分が微生物活性の起因することが示唆された。

表 11 滅菌土壤中の放射能の分布及び HPLC による特徴づけ

放射性成分	滅菌土壤 91 日後	非滅菌土壤 91 日後
	処理量 %	
抽出可能成分	95.20	80.18
抽出不能成分	7.56	19.59
イプフェンカルバゾン [A]	95.20	70.71

7) まとめ

好氣的湛水条件下の牛久土壤でのイプフェンカルバゾンの減衰は緩やかで、施用後 168 日（最終分析時点）において施用量の 66.9%（ ）～73.6%（ ）が残存した。イプフェンカルバゾンの DT_{50} （50%消失期間）及び DT_{90} （90%消失期間）は、それぞれ で 420 日及び 1729 日、 で 400 日及び 1327 日と算出された。

土壤から抽出可能な放射能は、いずれの標識体においても経時的にほぼ同様の推移を示した。有機溶媒で抽出可能な放射能は施用後 168 日で施用量の約 76%（ ）～72%（ ）となった。ソックスレー抽出液中に検出される放射能は経時的に増加し、施用後 168 日で施用量の約 11%（ ）～10%（ ）となった。抽出液中の放射エネルギーの減少に伴い抽出後の土壤残渣中の放射能が増加したが、施用後 61 日以降ではほぼ一定ないし若干減少した。施用後 61～168 日における土壤残渣中の放射エネルギーは施用量の約 9～10%（ ）及び約 11～13%（ ）であった。放射性二酸化炭素は では微量（施用後 168 日までの累積で施用量の 0.4%）、 では少量（施用後 168 日までの累積で施用量の 1.9%）検出された。

主要代謝物として、 が 同定された。 は経時的に増加し、施用後 168 日で施用量の約 20% になった。 処理土壤からは 以外の代謝物は検出されなかった。 は施用後 119 日に施用量の約 7.9% まで増加したが、168 日後では 7.8% とほぼ一定となった。 処理土壤からは施用量の約 1% 程度の放射能が 2 種類検出されたのみであった。

イプフェンカルバゾン [A] は土壤微生物の分解活性により し、 を生成する。 はさらに分解し、その一部が土壤結合残渣として土壤に取り込まれるものと推定される。一方、 も同様に土壤結合残渣として土壤に取り込まれるほか、その少量が二酸化炭素に無機化されると推定される。

イプフェンカルバゾンの好氣的湛水土壤中での想定代謝経路を図 6 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北興化学工業株式会社にある。

図 6 イプフェンカルバゾンの好氣的湛水土壤中における推定代謝経路

3. 2 好氣的土壤代謝試験

(資料 運命-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

供試標識化合物：

化学名	1-(2,4-dichlorophenyl)-N-(2,4-difluorophenyl)-N-isopropyl-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazole-4-carboxamide
化学構造	
標識化合物名	
コード名	
略 称	
比放射能	
放射化学的純度	

標識位置の選定理由：

供試土壤：土壤の物理化学的特性を表 1 に示す。

土壤は、使用前に 2 mm の篩に通した。

表 1 供試土壤の物理化学的特性

土壤名	牛久土壤（水田土壤）	
入手先	日本植物調節剤研究協会研究所	
入手年月日	2008 年 4 月 4 日	
土性（ISSA 法）	埴壤土	
粒経組成	粗砂 (2.0-0.25 mm)	3.0%
	細砂 (0.25-0.05 mm)	25.6%
	シルト (0.05-0.002 mm)	39.6%
	粘土 (0.002 mm 以下)	31.8%

表 1 つづき

主要粘土鉱物	ハロイサイト、クロライト
pH (水)	5.9 (23°C)
pH (KCl)	5.0 (23°C)
pH (CaCl ₂)	5.4 (24°C)
有機炭素 (%)	5.05
陽イオン交換容量 (cmol _c /kg 乾土)	32.0
最大含水量 (%)	131.2
バイオマス (mg C/g 土壌)	1.04

方法：試験は非滅菌土壌及び滅菌土壌を用いた試験系で行った。

試験溶液の調製；2種類の[¹⁴C]イプフェンカルバゾンの保存溶液の適量を乾固し、残留物をアセトニトリルに溶解して250 mg/Lの施用液(表2)を調製した。

表 2 施用液の詳細

標識化合物	保存溶液 採取量 (mL)	最終溶液量 (mL)	実測濃度 (mg/L)	土壌中施用濃度 (mg/kg)
	2.28	5.0	241.5	0.2415
	2.76	5.0	235.5	0.2355

【非滅菌土壌試験系】

土壌試料の調製；ガラス製広口ビン容器に秤量した乾土 30 g 相当量の試験土壌を採取した。土壌試料には最大含水量の 52.8%の水分が含まれていたため、水を加えなかった。土壌層は約 4.0 cmであった。25±2°Cの暗所で少なくとも 14 日間プレインキュベートした。

添加濃度；0.25 mg/kg 乾土 (最大慣行施用量の 250 g a. i. /ha に相当)

添加方法；マイクロシリンジで土壌表面に滴下し、土壌全体をよく混和した。

試験系の調製；図 1 に示す放射性二酸化炭素 (¹⁴CO₂) 用捕集剤を接続したステンレススチール製代謝チャンバー内に添加後の土壌容器をラベル体別に入れ、二酸化炭素フリーの加湿空気を通気した。予備試験で、¹⁴CO₂以外の揮発性有機物質等の発生は無いことが確認できたので、揮発性有機物質の捕集剤は装置しなかった。

インキュベート条件；暗所条件下 25±2°C

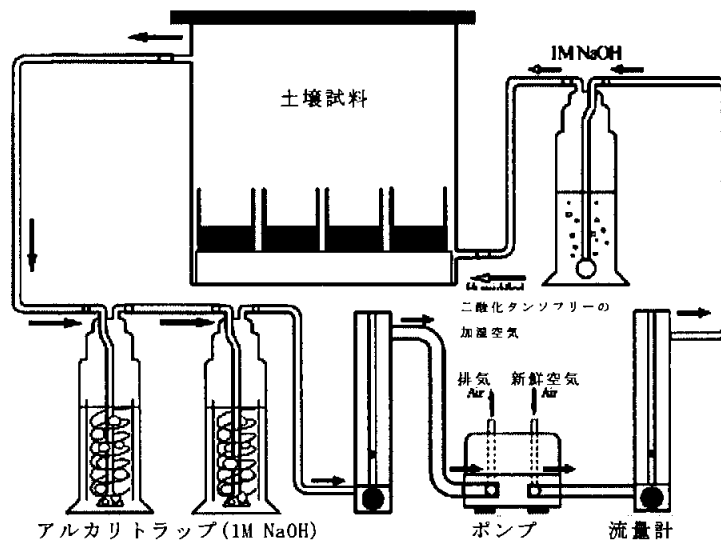


図 1 代謝チャンバー及び捕集装置の概要

採取時期；表 3 に示す時点で各試料を採取した。

表 3 試料採取時点

実験内容	標識体	試料採取（分析）時点
土壌残留物分析		施用直後、14、28、61、91、119、168 日後
揮発性物質定量		14、28、61、91、119、147、168 日後

分析方法；

土壌試料；分析法の概略を図 2 に示す。

試料は以下の方法で分析した。

土壌はアセトニトリルで 2 回抽出し、抽出液を合わせた。次いで 0.1 M HCl 含有アセトニトリル (2:8, v/v) で抽出した（施用直後は省略）。各抽出液は LSC で測定し放射能を定量した。各抽出液は 1 つに合わせて土壌抽出液とした。土壌抽出液は C18 固相抽出カラムで水溶出液とアセトニトリル溶出液に分画した（施用後 119 日及び 168 日試料は省略）。土壌抽出液またはアセトニトリル溶出液は HPLC で分析して放射性成分の分離、定量を行った。

抽出後の土壌残渣は風乾後、一部を燃焼処理して LSC で測定した。抽出後の土壌残渣から施用量の 5% 以上の放射能が検出された場合は、土壌残渣は 0.1 M HCl 含有アセトニトリル (2:8, v/v) でソックスレー抽出した。抽出液は一部を LSC で測定し、HPLC で分析して放射性成分の分離、定量を行った。

ソックスレー抽出後の土壌残渣中放射能は、ソックスレー抽出前の土壌残渣か

らソックスレー抽出液中の放射能を差し引くことにより求めた。

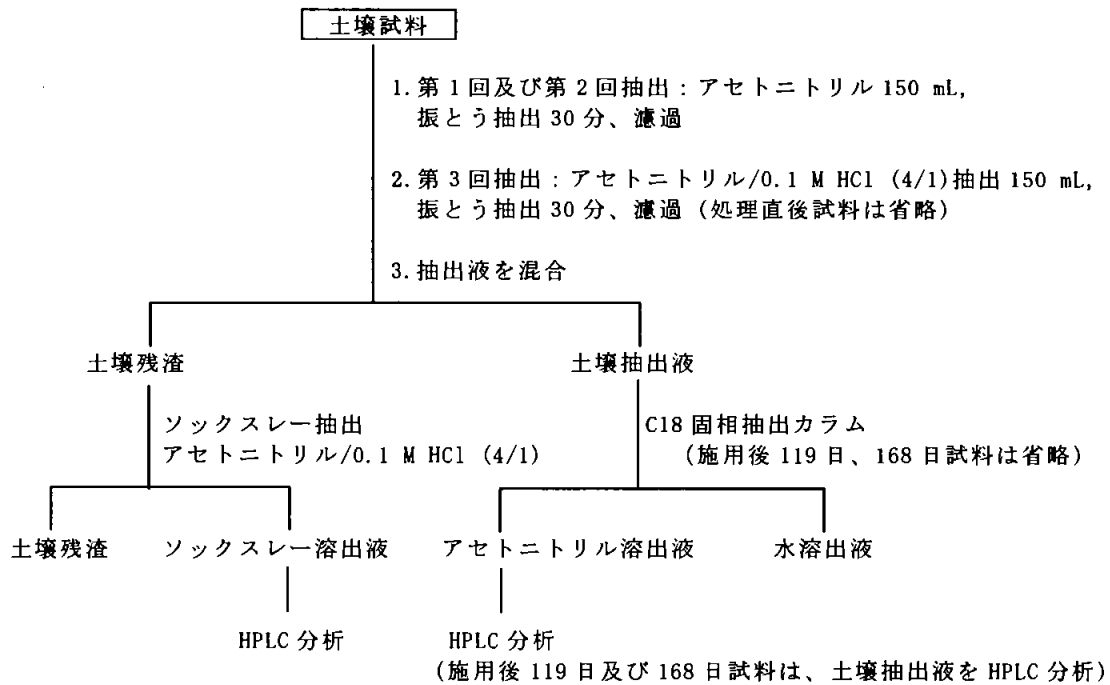


図 2 $[^{14}\text{C}]$ イプフェンカルバゾン処理土壌の分析法

揮発性物質捕集液；アルカリ捕集液を混合し、LSCで分析した。

代謝物の同定；土壌から抽出した液体試料中の放射性成分は参照化合物との HPLC コクロマトグラフィー及び TLC コクロマトグラフィーにより同定した。
標識体処理試験系の捕集された放射性二酸化炭素は、 BaCl_2 添加後の沈殿生成により同定した。

土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け；ソックスレー抽出後の土壌残渣中の放射能は施用量の 10% 未満であったので、特徴付けは行わなかった。

【滅菌土壌試験系】

非滅菌土壌試料と同様に土壌試料を調製し、14 日間のプレインキュベーションのうち、最後の 3 日間は 1 日 1 回オートクレーブ滅菌 (121°C 、20 分間) して、滅菌土壌試料を調製した。3 回目の滅菌操作終了後、を乾土あたり $0.25\text{mg}/\text{kg}$ となるように添加し、インキュベート、試料採取、分析を行った。水分調製は 2 週間に 1 回行った。なお、滅菌土壌試験系では揮発性物質捕集装置は接続しなかった。また、抽出残渣中の放射能が施用量の 5% 未満であったので、ソックスレー抽出は行わなかった。

土壌試料分析時点： 処理後 4、12 週間後

【バイオマス炭素の測定】

試験土壌中の微生物活性が維持されていることを確認するため、クロロホルム薫蒸法によりバイオマス炭素の測定を行った。施用直後及び 168 日後の 2 時点で試料を採取し、測定した。

土壌中減衰速度計算法

1) イプフェンカルバゾンの土壌中の減衰速度及び DT_{50} 、 DT_{90} は、FOCUS レポートを参考として、以下の Single first order (SF0) モデルを用いて算出した。

Single first order (SF0) モデル

土壌中での分解を一次反応と見なすと、(1) 式が得られる。

$$-dC/dt = kC \quad (1)$$

(1) 式に dt を乗じ、積分すると次式が得られる。

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

ここで、 C は任意の時間 t におけるイプフェンカルバゾンの濃度、 C_0 は初濃度、 k は減衰速度定数である。

DT_{50} (50% 消失に要する期間) 及び DT_{90} (90% 消失に要する期間) は、減衰速度定数 k を用いて最小二乗法を用いて算出した回帰直線の傾きから、減衰速度定数を求め、半減期 ($T_{1/2}$) は次式より算出した。

$$DT_{50} = -\ln(1/2)/k \quad (3)$$

$$DT_{90} = -\ln(1/10)/k \quad (4)$$

2) の分解速度定数の算出

結合型残留物と放射性二酸化炭素をまとめて"Sink"とし、イプフェンカルバゾンから を經由して"Sink"に至るシミュレーションモデルを設定した。

経路はいずれも一次反応に従うと仮定した。

結果：

1) 施用液の放射化学的純度

$[^{14}C]$ イプフェンカルバゾンの の各施用液の放射化学的純度は調製時で %であった。また、調製後の施用液(非滅菌土壌 15 日、滅菌土壌 28 日 ())の放射化学的純度も と純度の低下はみられなかった。

2) 放射能回収率及び放射能分布

土壌中の放射性残留物及びアルカリ捕集液中の放射能 ($^{14}CO_2$) から放射能回収率を求めた。土壌中の放射性残留物の放射能分布を表 4 及び表 5 に示す。

処理試料；

放射能回収率は試験期間を通じて約 99.7~101.3%であった。

土壌から抽出可能な放射能は、処理直後で施用量の 100.5%から緩やかに減少し、最終分析時点(処理後 168 日)で 95.5%となった。その内、アセトニトリル抽出液中の放射能は、処理後 119 日までに施用量の 77.6%まで減少し、その後はほぼ一定となり、最終分析時点の処理後 168 日で 78.3%と

なった。ソックスレー抽出液中の放射能は、処理後 119 日までは経時的に増加し施用量の 8.4% になった後、最終分析時点（処理後 168 日）で 7.3% とわずかに減少した。抽出液全体の放射能の減衰はより緩やかで、より多くの放射能が抽出可能であった。これは固有の代謝物に起因すると考えられた。抽出後の土壌残渣中の放射能は処理後 168 日でも施用量の 3.4% であった。168 日間の累積 ^{14}C は施用量の 0.9% であった。

処理試料；

放射能回収率は試験期間を通じて約 99.7~101.5% であった。

土壌から抽出可能な放射能は、処理直後で施用量の 100.8% から緩やかに減少し、最終分析時点（処理後 168 日）で 84.8% となった。その内、アセトニトリル抽出液中の放射能は、処理後 119 日までに施用量の 72.0% まで減少し、その後はほぼ一定となり、最終分析時点の処理後 168 日で 71.0% となった。ソックスレー抽出液中の放射能は、処理後 119 日までは経時的に増加し施用量の 7.3% になった後、最終分析時点（処理後 168 日）で 6.7% とわずかに減少した。抽出液全体の放射能の減衰はより速く、これはと同時に生成する固有の代謝物に起因すると考えられた。抽出後の土壌残渣中の放射能は処理後 168 日で施用量の 8.2% とより多い傾向が認められた。168 日間の累積 ^{14}C は施用量の 6.6% とより多かった。

表 4 処理試料における放射能バランス（処理放射能%）

処理区	画分	試料採取時点（日）						
		0	14	28	61	91	119	168
	土壌抽出液 ^a	100.53	96.76	97.00	98.04	96.35	96.24	95.46
	アセトニトリル抽出	100.53	92.57	92.41	84.98	82.04	77.58	78.25
	酸性アセトニトリル抽出	nm	4.19	4.59	7.83	8.73	10.29	9.93
	ソックスレー抽出	nm	nm	nm	5.23	5.57	8.37	7.29
	抽出後の土壌残渣	0.77	3.31	3.99	2.10	2.91	2.80	3.36
	揮発性 ^{14}C	nm	0.21	0.30	0.48	0.63	0.73	0.86
	総回収 ^{14}C ^b	101.30	100.28	101.29	100.62	99.87	99.77	99.68
	土壌抽出液 ^a	100.83	97.45	95.40	91.82	88.99	86.62	84.83
	アセトニトリル抽出	100.83	91.60	88.88	82.08	77.73	72.02	71.04
	酸性アセトニトリル抽出	nm	3.74	4.02	5.63	6.36	7.30	7.07
	ソックスレー抽出	nm	2.11	2.51	4.11	4.90	7.31	6.72
	抽出後の土壌残渣	0.70	3.18	4.08	6.53	7.40	7.95	8.20
	揮発性 ^{14}C	nm	0.83	1.62	3.16	4.39	5.43	6.63
	総回収 ^{14}C ^b	101.53	101.46	101.10	101.51	100.78	100.00	99.67

2 点の平均（揮発性 ^{14}C を除く）

nm: 測定せず

a: アセトニトリル抽出液 + 酸性アセトニトリル抽出液 + ソックスレー抽出液

b: 土壌抽出液 + 抽出後の土壌残渣 + 揮発性放射能

表 5 処理試料における放射能濃度 (mg eq./kg 乾土)

処理区	画分	試料採取時点 (日)						
		0	14	28	61	91	119	168
	土壌抽出液 ^a	0.2428	0.2337	0.2343	0.2368	0.2327	0.2324	0.2306
	アセトニトリル抽出	0.2428	0.2236	0.2232	0.2052	0.1982	0.1874	0.1890
	酸性アセトニトリル抽出	nm	0.0101	0.0111	0.0189	0.0211	0.0248	0.0240
	ソックスレー抽出	nm	nm	nm	0.0126	0.0135	0.0202	0.0176
	抽出後の土壌残渣	0.0019	0.0080	0.0096	0.0051	0.0070	0.0068	0.0081
	揮発性 ¹⁴ C	nm	0.0005	0.0007	0.0012	0.0015	0.0018	0.0021
	総回収 ¹⁴ C ^b	0.2447	0.2422	0.2446	0.2430	0.2412	0.2410	0.2408
	土壌抽出液 ^a	0.2375	0.2295	0.2247	0.2163	0.2096	0.2040	0.1998
	アセトニトリル抽出	0.2375	0.2158	0.2093	0.1933	0.1831	0.1696	0.1673
	酸性アセトニトリル抽出	nm	0.0088	0.0095	0.0132	0.0150	0.0172	0.0166
	ソックスレー抽出	nm	0.0050	0.0059	0.0097	0.0115	0.0172	0.0158
	抽出後の土壌残渣	0.0016	0.0075	0.0096	0.0154	0.0174	0.0187	0.0193
	揮発性 ¹⁴ C	nm	0.0020	0.0038	0.0075	0.0104	0.0128	0.0156
	総回収 ¹⁴ C ^b	0.2391	0.2390	0.2381	0.2391	0.2374	0.2355	0.2348

2点の平均 (揮発性¹⁴Cを除く)

nm: 測定せず

a: アセトニトリル抽出液+酸性アセトニトリル抽出液+ソックスレー抽出液

b: 土壌抽出液+抽出後の土壌残渣+揮発性放射能

3) 試料中の放射性成分の HPLC 分析

処理試料;

土壌抽出液 (アセトニトリル抽出液と酸性アセトニトリル抽出液を合わせたもの) 及びソックスレー抽出液中の放射性成分の結果を表 6 に、また主要代謝物の経時的変化を表 8 に示す。

[¹⁴C]イブフェンカルバゾン^aは、施用後穏やかに減少し、施用後 168 日 (最終時点) で施用量の 81.4% まで減衰した。唯一の代謝物として

として生成する が検出された。 はイブフェンカルバゾン [A] の減少に伴って経時的に増加し、168 日後では 14.1% まで増加した。 はソックスレー抽出液にもかなりの割合で存在し、土壌粒子または土壌有機物に比較的強く吸着しているものと推測された。滅菌土壌の結果から、 は微生物活性により生成すると推定された。その他、検出限界を超えて検出された成分はなかった。

処理試料;

土壌抽出液 (アセトニトリル抽出液と酸性アセトニトリル抽出液を合わせたもの) 及びソックスレー抽出液中の放射性成分の結果を表 7 に、また主要代謝物の経時的変化を表 8 に示す。

[¹⁴C]イブフェンカルバゾン^aは、施用後穏やかに減少し、施用後 61 日で 83.7%、168 日 (最終時点) で 84.5% まで減衰した。親化合物以外に施用量

の1%を超えて検出された成分はなかった。同じ土壌で実施した好氣的湛水土壌中運命試験で検出された は、この試験では検出されなかった。未抽出残渣中放射能及び放射性二酸化炭素量が多いことから、 はより代謝分解を受けやすいと推定された。

表 6 処理土壌抽出液及びソックスレー抽出液中の放射性成分の分布

HPLC フラク ション 番号	同定	土壌抽出液							ソックスレー抽出液				
		試料採取時点 (日)											
		0	14	28	61	91	119	168	61	91	119	168	
17	イブフェンカ ルバゾン[A]	100.53	93.97	92.33	86.03	80.99	77.94	76.90	3.39	3.27	5.16	4.51	
		0.2428	0.2270	0.2230	0.2078	0.1956	0.1883	0.1857	0.0082	0.0079	0.0125	0.0109	
合計		100.53	96.76	97.00	92.80	90.78	87.86	88.18	5.23	5.57	8.37	7.29	
		0.2428	0.2337	0.2343	0.2241	0.2192	0.2122	0.2130	0.0126	0.0135	0.0202	0.0176	

HPLC 分析 2 点の平均、上段：処理放射能に対する比率 (%)、下段：放射能濃度 (mg eq./kg 乾土)
nd：検出限界以下、 nm：測定せず

表 7 処理土壌抽出液及びソックスレー抽出液中の放射性成分の分布

HPLC フラク ション 番号	同定	土壌抽出液							ソックスレー抽出液					
		試料採取時点 (日)												
		0	14	28	61	91	119	168	14	28	61	91	119	168
17	イブフェンカ ルバゾン[A]	100.83	95.34	92.89	87.70	84.09	79.31	78.11	2.11	2.19	3.55	4.35	6.84	6.35
		0.2375	0.2246	0.2188	0.2066	0.1981	0.1868	0.1840	0.0050	0.0052	0.0084	0.0103	0.0161	0.0150
合計		100.83	95.34	92.89	87.70	84.09	79.31	78.11	2.11	2.51	4.11	4.90	7.31	6.72
		0.2375	0.2246	0.2188	0.2066	0.1981	0.1868	0.1840	0.0050	0.0059	0.0097	0.0115	0.0172	0.0158

HPLC 分析 2 点の平均、上段：処理放射能に対する比率 (%)、下段：放射能濃度 (mg eq./kg 乾土)
nd：検出限界以下、 nm：測定せず

表 8 試験系全体での主要代謝物の HPLC 分布

処理区	主要代謝物	試料採取時点 (日)						
		0	14	28	61	91	119	168
	イブフェンカルバゾン [A]	100.53	93.97	92.33	89.43	84.25	83.11	81.42
		0.2428	0.2270	0.2230	0.2160	0.2035	0.2007	0.1966
	合 計	100.53	96.76	97.00	98.04	96.35	96.24	95.46
		0.2428	0.2337	0.2343	0.2368	0.2327	0.2324	0.2306
	イブフェンカルバゾン [A]	100.83	97.45	95.09	91.26	88.44	86.15	84.46
		0.2375	0.2295	0.2240	0.2149	0.2083	0.2029	0.1989
	合 計	100.83	97.45	95.09	91.26	88.44	86.15	84.46
		0.2375	0.2295	0.2240	0.2149	0.2083	0.2029	0.1989

HPLC 分析 2 点の平均、上段：処理放射能に対する比率 (%)、下段：放射能濃度 (mg eq./kg 乾土)
nd：検出限界以下

4) イブフェンカルバゾンの減衰速度

イブフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及びは 90% 消失期間 (DT₉₀) を表 9 に、またその減衰曲線を図 4 及び 5 に示す。 の DT₅₀ は 568 日及び 646 日、DT₉₀ は 1886 日及び 2154 日であった。

表 9 イブフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及び 90% 消失期間 (DT₉₀)

標識位置	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
	568	1886
	646	2154

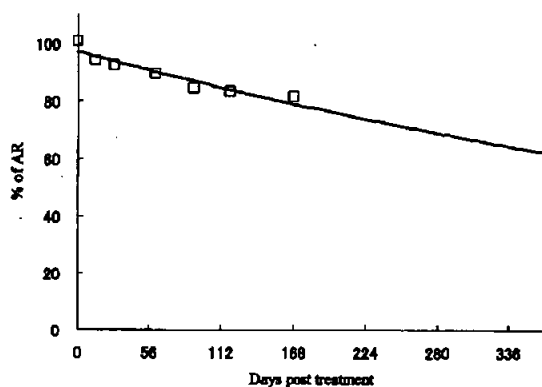


図 4 の減衰

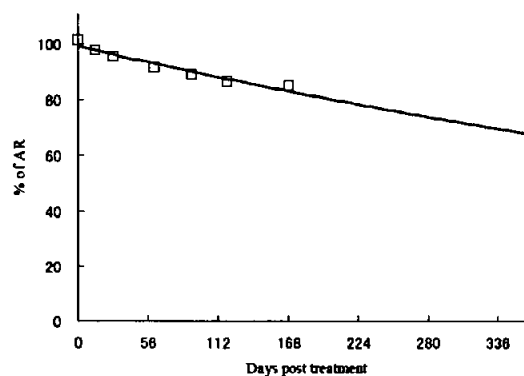


図 5 の減衰

また、主代謝物 の DT₅₀ 及び DT₉₀ は、分解速度定数 ($k_2=0.0034 \text{ day}^{-1}$) より、それぞれ 204 日及び 678 日と算出された。

5) ソックスレー抽出後の土壌残渣中の放射性残留物

いずれの 標識体においても抽出後の土壌残渣中の放射能は緩やかに増加した。土壌残渣中の放射性残留物は施用後 168 日までに 〇〇〇 で施用量の約 3%、
〇〇〇 で約 8%となった。いずれの 標識体においても土壌残渣中の放射性残留物が施用量の 10%未満であったので腐植抽出法により特徴付けは行わなかった。

6) 滅菌土壌試験

〇〇〇 を施用した滅菌土壌における放射能の残存量及び検出された分解代謝成分を表 10 にまとめる。

土壌から抽出可能な放射能量は施用後 28 日で 99.9%から 84 日で 95.5%とわずかに減少した。それに伴い、抽出後の土壌残渣中放射能は 2.7% (28 日) から 4.9% (84 日) へと増加した。滅菌土壌の土壌抽出液中からはイプフェンカルバゾン[A]のみが検出され、
〇〇〇 は検出されなかった。以上の結果より、好氣的土壌中におけるイプフェンカルバゾンから
〇〇〇 への変換は微生物活性によることが示唆された。

7) バイオマス炭素

インキュベーション開始時に比べて試験終了時における土壌バイオマス炭素の極端な低下は認められず、試験期間中に微生物活性は維持されていたと判断された。

8) まとめ

好気条件下の牛久土壌でのイプフェンカルバゾンの減衰は緩やかで、施用後 168 日 (最終分析時点) において施用量の 81.4% (〇〇〇) ~84.5% (〇〇〇) が残存した。イプフェンカルバゾンの DT_{50} (50%消失期間) 及び DT_{90} (90%消失期間) は、それぞれ
〇〇〇 で 568 日及び 1886 日、
〇〇〇 で 646 日及び 2154 日と算出された。

主要代謝物として、
〇〇〇 固有の
〇〇〇 が同定された。
〇〇〇 は施用後 14 日から緩やかに増加し、施用後 168 日で施用量の
〇〇% になった。
処理土壌からは施用量の 1%を超える代謝物は検出されなかった。

土壌からアセトニトリル及び酸性アセトニトリルで抽出可能な放射能は、施用後 168 日で施用量の 78% (〇〇〇) ~71% (〇〇〇) 及び約 10% (〇〇〇) ~7% (〇〇〇) となった。

ソックスレー抽出液中に検出される放射能は 標識体ともに施用後 119 日まで微増し、その後一定ないし微減となった。施用後 168 日で施用量の約 7%であった。抽出液中の放射能の減少に伴い抽出後の土壌残渣中の放射能が緩やかに増加したが、施用後 168 日における土壌残渣中の放射能は施用量の約 3% (〇〇〇) ~約 8% (〇〇〇) であった。

放射性二酸化炭素は
〇〇〇 では微量(施用後 168 日までの累積で施用量の 0.9%)、
〇〇〇 では少量 (施用後 168 日までの累積で施用量の 6.6%) 検出された。

イプフェンカルバゾン[A]は土壤微生物の分解活性により
を生成する。 の生成が予想されるが、
好氣的畑条件下では は速やかに分解したため、検出できなかったと考
えられる。
イプフェンカルバゾン[A]の分解は、 を経由して、最
終的に土壤結合残渣として抽出され難い形態となるほか、少量が二酸化炭素にまで
分解無機化されると推定される。
イプフェンカルバゾンの好氣的湛水土壤中での想定代謝経路を図6に示す。

図6 イプフェンカルバゾンの好氣的土壤中における推定代謝経路

4. 水中運命

4. 1 加水分解性試験

(資料 運命-7)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

供試標識化合物:

化学名	1-(2,4-dichlorophenyl)-N-(2,4-difluorophenyl)-N-isopropyl-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazole-4-carboxamide
化学構造	
標識化合物名	
コード名	
略 称	
比放射能	
放射化学的純度	

標識位置の選定理由:

方法

予備試験

本試験

試験標識体：

試験容器：10 mL 容ガラス製バイアル

試験濃度：0.2 mg/L

緩衝液：pH4、pH5、pH7、pH9 の滅菌緩衝液

- ・ pH4、pH5 緩衝液；0.01 M 酢酸と 0.01 M 酢酸ナトリウムを混合し、各々 pH4（実測 3.99）及び pH5（実測 4.98）に調製
- ・ pH7 緩衝液；0.02M リン酸二水素一ナトリウムと 0.02 M リン酸一水素二ナトリウムを混合し、0.01 M 緩衝液（実測 7.01）を調製
- ・ pH9 緩衝液；0.5M ホウ酸の pH を 9 に調製し、希釈して 0.01 M 緩衝液（実測 9.02）を調製
- ・ 滅菌；オートクレーブ、120℃、15psi、30 分

表 1. 標識体と試験緩衝液

標識体	緩衝液
	pH4、5、7、9
	pH7、9

試験溶液の調製：各標識体のアセトニトリル溶液を各滅菌緩衝液に混合して試験濃度とした試験溶液を調製した。試験溶液中のアセトニトリル含量は<1%であった。

温度：25±0.5℃

採取時点：0、1、3、7、14、21、30 日

採取試料の調製：

- ・ pH4、5、7 緩衝液；各試料にアセトニトリル 1 mL を添加し、混合。
- ・ pH9 緩衝液；試料に 0.375% トリフルオロ酢酸・アセトニトリル溶液 1 mL を添加し、混合。

滅菌性の確認：0 日試料と最終採取時点の 30 日試料で微生物培養法により確認した。

試験液の pH 測定：0 日後及び試験終了時の試料で測定した。

分析方法：

試験溶液；試験溶液中の放射能は LSC で測定した。

生成物の同定；分解生成物の同定は、HPLC を用いた参照化合物とのコインジェクションにより行った。また、0 日試料と 30 日試料について、TLC による同定を行った。を施用した pH9 試験溶液の一部について、TLC による単離及び LC/MS による同定を行った。

半減期の計算法：

イプフェンカルバゾンの水中での分解を一次反応と見なすと、(1) 式が得られる。

$$-dC/dt = kC \quad (1)$$

(1) 式に dt を乗じ、積分すると次式が得られる。

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

ここで、C は任意の時間 t におけるイプフェンカルバゾンの濃度、C₀ は初濃度、k は減衰速度定数である。

DT₅₀ (50% 消失に要する期間) 及び DT₉₀ (90% 消失に要する期間) は、減衰速度定数 k を用いて最小二乗法を用いて算出した回帰直線の傾きから、減衰速度定数を求め、半減期 (T_{1/2}) は次式より算出した。

$$DT_{50} = -\ln(1/2)/k \quad (3)$$

$$DT_{90} = -\ln(1/10)/k \quad (4)$$

結果：

- 1) 放射化学的純度： [¹⁴C]イプフェンカルバゾンの の放射化学的純度は、 であつた。
- 2) 試験溶液の濃度： の実平均濃度は、pH4、5、7 及び 9 の 0 日後の試験溶液において、各々 0.208、0.211、0.210 及び 0.206 mg/L であつた。
 の実平均濃度は、pH7 及び 9 の 0 日後の試験溶液において、各々 0.206 及び 0.202 mg/L であつた。
- 3) 滅菌状態及び pH の確認： 0 日後及び 30 日後の各 pH の試験溶液について、滅菌性を確認したところ、すべての試料で滅菌性が保たれていた。
 標識体を処理する前の試験溶液と 0 日後及び試験終了時の試料における pH にほとんど変動は認められなかつた。
- 4) 放射能回収率： 処理の各 pH 試料における総放射能の回収率は、91.2～105.5% であつた。 処理の各 pH 試料における総放射能の回収率は、92.2～106.0% であつた。

表 2. 放射能回収率

標識体	緩衝液	回収率 (%AR)	
		範囲	平均
	pH4	91.21 - 105.53	99.51
	pH5	97.88 - 104.71	101.05
	pH7	98.46 - 104.76	101.14
	pH9	94.88 - 103.24	98.26
	pH7	96.07 - 102.86	99.59
	pH9	92.16 - 106.00	98.56

5) 試料中の放射能成分

HPLC 回収率： HPLC 測定による放射能の回収率は、90～110% であつた。

放射能成分の分布及び経時的推移を表 3 に示す。pH4、5 及び 7 では、最終採取時点 (30 日後) までイプフェンカルバゾン [A] の減少は見られなかつた。また、pH4 及び 5 では分解物は全く認められず、pH7 では、微量のが検出された。一方、pH9 では、30 日後にはイプフェンカルバゾン [A] は施用量の約 11.2% (0.023 ppm) まで減少した。イプフェンカルバゾン [A] の

減少に伴い、分解物として
 いずれの pH においても、
 た。

が 88.4% (0.185 ppm) 検出された。
 以外の放射能成分は検出されなかつ
 た。

表 3. 処理の各 pH 試料における放射能成分の分布

緩衝液	成分	放射能分布 (上段 : %AR、下段 : ppm)						
		0日	1日	3日	7日	14日	21日	30日
pH4	イブフェンカル バゾン[A]	99.07 0.208	99.91 0.210	100.01 0.210	103.61 0.217	103.82 0.218	98.60 0.207	91.54 0.192
	合計	99.07 0.208	99.91 0.210	100.01 0.210	103.61 0.217	103.82 0.218	98.60 0.207	91.54 0.192
pH5	イブフェンカル バゾン[A]	102.14 0.211	98.59 0.204	101.18 0.209	104.65 0.217	101.07 0.209	100.54 0.208	99.19 0.205
	合計	102.14 0.211	98.59 0.204	101.18 0.209	104.65 0.217	101.07 0.209	100.54 0.208	99.19 0.205
pH7	イブフェンカル バゾン[A]	99.58 0.210	100.20 0.211	102.75 0.217	103.05 0.217	98.52 0.208	98.56 0.208	99.37 0.209
	合計	99.58 0.210	100.20 0.211	102.75 0.217	104.03 0.219	99.70 0.210	100.30 0.211	101.43 0.214
pH9	イブフェンカル バゾン[A]	97.20 0.203	89.52 0.187	77.48 0.162	57.70 0.121	33.80 0.071	20.82 0.044	11.17 0.023
	合計	98.25 0.206	96.95 0.203	97.00 0.203	97.21 0.203	97.39 0.204	101.49 0.212	99.56 0.208

HPLC 分析 2 点の平均、ND : 検出限界以下

放射能成分の分布及び経時的推移を表 4 に示す。

pH7 では、最終採取時点 (30 日後) までイブフェンカルバゾン[A]の減少は見られなかった。また、分解物として微量の が検出された (30 日後で施用量の約 1.1%)。一方、pH9 では、30 日後にはイブフェンカルバゾン[A]は施用量の約 10.9% (0.021 ppm) まで減少した。イブフェンカルバゾン[A]の減少に伴い、分解物として が 83.2% (0.162 ppm) 検出された。いずれの pH においても、 以外に施用量の 1%を超える放射能成分はなかった。

表 4. 処理の各 pH 試料における放射能成分の分布

緩衝液	成分	放射能分布 (上段 : %AR、下段 : ppm)						
		0日	1日	3日	7日	14日	21日	30日
pH7	イプフェンカルバゾン[A]	101.34 0.206	99.77 0.203	98.91 0.201	101.12 0.206	96.89 0.197	99.48 0.202	95.81 0.195
	その他	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	0.58 0.001	ND ND	0.64 0.001
	合計	101.34 0.206	99.77 0.203	98.91 0.201	101.12 0.206	98.13 0.200	100.26 0.204	97.59 0.198
pH9	イプフェンカルバゾン[A]	102.84 0.200	96.09 0.187	83.25 0.162	58.31 0.114	35.04 0.068	20.41 0.040	10.93 0.021
	その他	0.01 <0.001	ND ND	ND ND	0.55 0.001	0.50 0.001	0.22 <0.001	ND ND
	合計	103.45 0.202	103.12 0.201	102.20 0.199	97.15 0.189	97.36 0.190	92.48 0.180	94.15 0.183

HPLC 分析 2 点の平均、ND : 検出限界以下

6) イプフェンカルバゾンの減衰速度

pH9 試料におけるイプフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及び 90% 消失期間 (DT₉₀) を表 5 に、またその減衰曲線を図 1 及び 2 に示す。
 体の DT₅₀ は 9.6 日及び 9.2 日、DT₉₀ は 32 日及び 30 日であった。

表 5. イプフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及び 90% 消失期間 (DT₉₀)

標識体	緩衝液	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
	pH4	安定	
	pH5	安定	
	pH7	安定	
	pH9	9.6	32
	pH7	安定	
	pH9	9.2	30

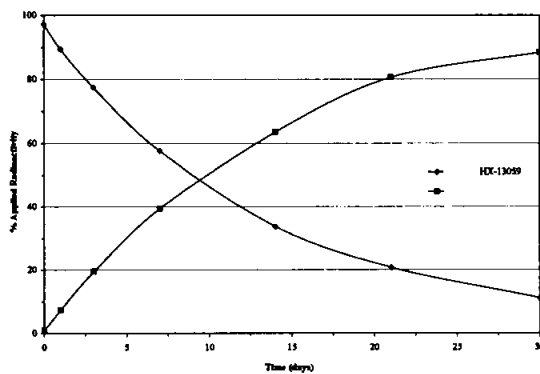


図 1. の減衰 (pH9 緩衝液)

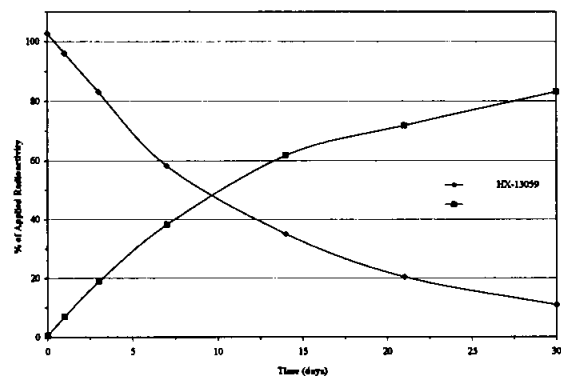


図 2. の減衰 (pH9 緩衝液)

4. 2 水中光分解性試験

(資料 運命-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

供試標識化合物：

化学名	1-(2,4-dichlorophenyl)- <i>N</i> -(2,4-difluorophenyl)- <i>N</i> -isopropyl-1,5-dihydro-5-oxo-4 <i>H</i> -1,2,4-triazole-4-carboxamide
化学構造	
標識化合物名	
コード名	
略 称	
比放射能	
放射化学的純度	

標識位置の選定理由：

方法

試験は予備試験を行った後、本試験を実施した。

予備試験

本試験

試験標識体：

試験濃度：0.2 mg/L（水溶解度 0.515 mg/L）

試験溶液：

pH5 緩衝液；0.01 M 酢酸緩衝液

0.01M 酢酸と 0.01M 酢酸ナトリウムを混合し、pH5 に調製した。

選定根拠はイプフェンカルバゾンが水中において pH7 及び pH9 に比べて pH5 で安定であったため。

pH5 緩衝液はオートクレーブ（120℃、15psi、30 分）を用いて滅菌した。

滅菌後の緩衝液は pH5.0 及び伝導率 0.60 mmhos/cm であった。

自然水；

2009 年 1 月 21 日に米国マサチューセッツ州 Wareham の Weweantic River より採取した自然水は 0.2 μm のフィルターを通して滅菌し、pH 及び溶存酸素を GLP 下で測定した。滅菌自然水は使用するまで 8℃ 以下で保存した。

滅菌後の自然水は pH7.3、溶存酸素 10.7mg/L 及び伝導率 0.18 mmhos/cm であった。

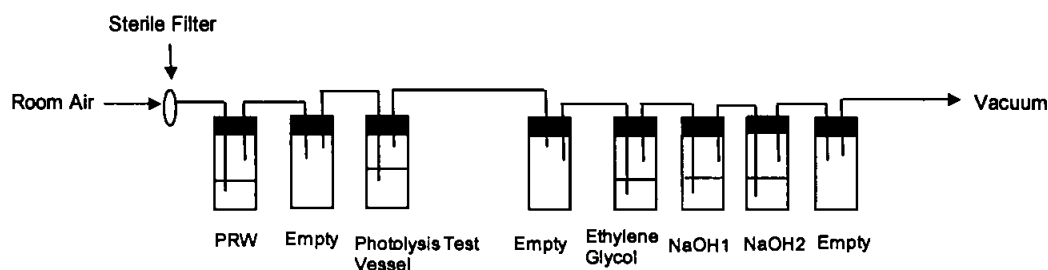
試験装置：

光照射装置；Heraeus サンテスト CPS+装置、赤外線フィルター及び 290 nm 以下の波長をカットする UV フィルター付きのキセノンアークランプを装着

試験容器；滅菌石英容器（光照射区）

滅菌密閉式石英容器（暗所対照区）

揮発性有機物質捕集装置；各試験容器に揮発性有機物質捕集用エチレングリコール容器 1 個及び CO₂ 捕集用 1 N 水酸化ナトリウム容器 2 個を接続した。



試験溶液量；5 mL

試験温度；25 ± 1℃

光強度；26.28 watts/m² (300~400 nm)

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

2.271 MJ/m²/24 時間

20.4 MJ/m²/9 日 (20.1 MJ/m²/東京の春 30 日)

試験期間：滅菌 pH5 緩衝液 15 日間

滅菌自然水 9 日間

試験溶液の調製：各標識体のアセトニトリル溶液を滅菌試験溶液に添加して所定試験濃度とした試験溶液を調製した。試験溶液中のアセトニトリル含量は<1%であった。

照射・インキュベーション条件：

光照射区；光照射装置を用いて連続照射した。光照射試験容器は、25±1℃に設定した循環式水槽に置いた。

暗所対照区；25±1℃の恒温器に置いた。

試料採取：

次の時点で各試験とも2連の試験容器を採取した。

試験溶液	標識体	試験区	採取時点
滅菌pH5緩衝液		照射区 暗所対照区	0、1、2、4、7、10、15日
滅菌自然水		照射区 暗所対照区	0、1、2、3、4、7、9日

滅菌性の確認：0日試料と最終採取時点の試料について微生物培養法により確認した。

試験溶液の pH 測定：0日試料と最終採取時点の試料について測定した。

分析方法：

試験溶液；各試験溶液にアセトニトリル 0.5 mL を加えた。試験溶液中の放射能は LSC で測定した。

放射能の分布及び分解生成物の特徴付け又は同定は、HPLC-RAD を使い、イプフェンカルバゾン及び分解生成物参照化合物とのクロマトグラフィーにより行った。さらに、0日、9日及び15日試料の特徴付けを薄層クロマトグラフィーにより行った。

CO₂ の確認；CO₂ 捕集液（1 N 水酸化ナトリウム水溶液）中の放射能は LSC で測定した。CO₂ 捕集液中の ¹⁴CO₂ の存在は塩化バリウム水溶液の添加により Ba¹⁴CO₃ の沈殿が生成することで確認した。

半減期の計算法：

イプフェンカルバゾンの分解を一次反応と見なすと、線形回帰分析より式(1)が得られる。

$$-dC/dt = kC \quad (1)$$

(1)式に dt を乗じ、積分すると次式が得られる。

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

ここで、C は任意の時間 t におけるイプフェンカルバゾンの濃度、C₀ は初濃度、k は減衰速度定数である。

DT₅₀ (50%消失に要する期間) 及び DT₉₀ (90%消失に要する期間) は、減衰速度定数 k を用いて最小二乗法を用いて算出した回帰直線の傾きから、減衰速度定数を求め、半減期 (T_{1/2}) は式(3)より算出した。

$$DT_{50} = -\ln(1/2)/k \quad (3)$$

$$DT_{90} = -\ln(1/10)/k \quad (4)$$

また、人工光下における半減期を東京(北緯 35°)の春の太陽光照射量に換算した。

$$k_{\text{Tokyo, spring}} = k_{\text{photolysis}} / C_F(3.381)$$

$$DT_{50}(\text{corr}) = \ln(2) / k_{\text{Tokyo, spring}}$$

$$DT_{90}(\text{corr}) = \ln(10) / k_{\text{Tokyo, spring}}$$

結果:

- 1) 放射化学的純度: [¹⁴C]イブフェンカルバゾンの放射化学的純度は、
であった。
- 2) 試験溶液の濃度: 0日での
の実濃度は 0.199~0.205 μg/mL、
の実濃度は 0.210~0.213 μg/mLであった。
- 3) 滅菌状態及び pH の確認: 0日及び最終採取時点 9日後又は 15日後の試験溶液について、滅菌性を確認したところ、すべての試料で滅菌性が保たれていた。
0日及び最終採取時点の試験溶液の pH は、pH5 緩衝液では pH 4.93~4.98 と変動が認められなかったが、自然水では pH 5.81~6.58 の差が認められた。
- 4) 放射能の物質収支:
処理の pH5 緩衝液及び自然水における平均総放射能回収率は、98.58%及び均 95.13%であった。暗所対照区は同様に、100.50%及び 95.43%であった。
処理の pH5 緩衝液及び自然水における平均総放射能回収率は、103.30%及び均 100.14%であった。暗所対照区は同様に、105.36%及び 98.37%であった。

表 1-1. 処理の pH5 緩衝液における放射能の物質収支 (2 点分析の平均値)

標識体	試験区	採取 時点	試験溶液	$^{14}\text{CO}_2$	VOC	総回収率	総回収率 濃度 $\mu\text{g/mL}$
			%AR				
		0	97.55	NA	NA	97.55	0.200
	照射区	1	101.06	NA	NA	101.06	0.207
		2	98.89	NA	NA	98.89	0.202
		4	99.11	NA	NA	99.11	0.203
		7	98.13	NA	NA	98.13	0.201
		10	100.43	NA	NA	100.43	0.205
		15	94.90	NA	NA	94.90	0.194
		総平均回収率					98.58
	暗所 対照区	1	105.28	NA	NA	105.28	0.215
		2	98.63	NA	NA	98.63	0.202
		4	99.33	NA	NA	99.33	0.203
		7	98.83	NA	NA	98.83	0.202
		10	103.78	NA	NA	103.78	0.212
		15	100.13	NA	NA	100.13	0.205
		総平均回収率					100.50

VOC : 揮発性有機物質、 NA : not applicable

表 1-1 から、 の pH5 緩衝液区では、照射 10 日及び 15 日後までに試験溶液中の放射能の減少は認められなかった。
暗所対照区も同様であった。

表 1-2. 処理の自然水における放射能の物質収支 (2 点分析の平均値)

標識体	試験区	採取 時点	試験溶液	$^{14}\text{CO}_2$	VOC	総回収率	総回収率 濃度 $\mu\text{g/mL}$
			%AR				
		0	94.14	NA	NA	94.14	0.203
	照射区	1	95.08	0.58	ND	95.65	0.206
		2	93.89	1.39	ND	95.28	0.206
		3	91.42	2.38	ND	93.80	0.202
		4	89.02	3.47	ND	92.49	0.200
		7	88.83	8.32	ND	97.15	0.210
		9	85.81	11.59	ND	97.40	0.210
		総平均回収率					95.13
	暗所 対照区	1	97.78	NA	NA	97.78	0.211
		2	95.44	NA	NA	95.44	0.206
		3	96.46	NA	NA	96.46	0.208
		4	95.42	NA	NA	95.42	0.206
		7	94.28	NA	NA	94.28	0.203
		9	94.50	NA	NA	94.50	0.204
		総平均回収率					95.43

VOC : 揮発性有機物質、 NA : not applicable、 ND : 検出限界以下

表 1-2 から、 の自然水区では、照射 9 日後までに試験溶液中の放射

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

能が処理量の 85.81% に減少した。照射 9 日後の ^{14}C は処理量の 11.59% であった。揮発性有機物質 (VOC) は検出されなかった。

暗所対照区では、試験溶液中の放射能にほとんど減少は認められなかった。

表 1-3. 処理の pH5 緩衝液における放射能の物質収支 (2 点分析の平均値)

標識体	試験区	採取 時点	試験溶液	^{14}C	VOC	総回収率	総回収率
			%AR				濃度 $\mu\text{g/mL}$
	照射区	0	104.36	NA	NA	104.36	0.212
		1	108.43	NA	NA	108.43	0.220
		2	100.21	NA	NA	100.21	0.204
		4	103.96	NA	NA	103.96	0.211
		7	101.49	NA	NA	101.49	0.206
		10	103.07	NA	NA	103.07	0.209
		15	101.58	NA	NA	101.58	0.206
		総平均回収率					103.30
	暗所 対照区	1	108.02	NA	NA	108.02	0.219
		2	104.61	NA	NA	104.61	0.212
		4	105.01	NA	NA	105.01	0.213
		7	105.28	NA	NA	105.28	0.214
		10	106.63	NA	NA	106.63	0.217
		15	103.58	NA	NA	103.58	0.210
		総平均回収率					105.36

VOC : 揮発性有機物質、NA : not applicable

表 1-3 から、 の pH5 緩衝液区では、照射 10 日及び 15 日後までに試験溶液中の放射能の減少は認められなかった。

暗所対照区も同様であった。

表 1-4. 処理の自然水における放射能の物質収支 (2 点分析の平均値)

標識体	試験区	採取 時点	試験溶液	^{14}C	VOC	総回収率	総回収率
			%AR				濃度 $\mu\text{g/mL}$
	照射区	0	98.83	NA	NA	98.83	0.211
		1	102.31	0.15	ND	102.46	0.219
		2	98.94	0.62	ND	99.56	0.213
		3	98.18	1.40	ND	99.58	0.213
		4	96.81	2.15	ND	98.96	0.212
		7	96.49	5.17	ND	101.66	0.217
		9	92.24	7.70	ND	99.94	0.214
		総平均回収率					100.14
	暗所 対照区	1	99.25	NA	NA	99.25	0.212
		2	99.49	NA	NA	99.49	0.213
		3	98.69	NA	NA	98.69	0.211
		4	99.52	NA	NA	99.52	0.213
		7	97.62	NA	NA	97.62	0.209
		9	95.19	NA	NA	95.19	0.203
		総平均回収率					98.37

VOC : 揮発性有機物質、NA : not applicable、 ND : 検出限界以下

表 1-4 から、 の自然水区では、照射 9 日後までに試験溶液中の放射能が処理量の 92.24%に減少した。照射 9 日後の ^{14}C は処理量の 7.70%であった。揮発性有機物質 (VOC) は検出されなかった。

暗所対照区では、試験溶液中の放射能にほとんど減少は認められなかった。

5) 試料中の放射能分布と成分

HPLC 回収率 : HPLC 測定による放射能の回収率は、90~110%であった。

暗所対照区は、全試験区においてイプフェンカルバゾン は安定であった。

表 2-1. 処理の pH5 緩衝液における放射能の分布と成分 (2 点分析の平均値)

標識体	試験区	採取時点	イプフェンカルバゾン [A]					その他	
			%AR						
	照射区	0	96.22					0.93	
		1	99.49					ND	
		2	95.99					<0.01	
		4	94.05					ND	
		7	89.88					ND	
		10	88.61					0.01	
		15	75.17					2.51	
	暗所対照区	1	104.68					0.14	
		2	98.19					ND	
		4	99.33					ND	
		7	98.11					0.23	
		10	103.78					ND	
			15	99.46				0.07	
				ppm (設定濃度 : 0.2 ppm)					
	照射区	0	0.197					0.002	
1		0.204					ND		
2		0.196					ND		
4		0.192					ND		
7		0.184					ND		
10		0.181					<0.001		
15		0.154					0.005		
暗所対照区	1	0.214					<0.001		
	2	0.201					ND		
	4	0.203					ND		
	7	0.201					<0.001		
	10	0.212					ND		
		15	0.203				<0.001		

ND : 検出限界以下

表 2-1 から、 の pH5 緩衝液光照射区では、イプフェンカルバゾン [A] は緩やかに分解し、照射 10 及び 15 日後で各々処理量の 88.61%及び 75.17% になった。処理量の 10%を超える分解物は認められなかった。

表 2-2. 処理の自然水における放射能の分布と成分 (2点分析の平均値)

標識体	試験区	採取時点	イブフェンカルバゾン[A]				その他		
			%AR						
	照射区	0	93.17				0.27		
		1	90.79				<0.01		
		2	86.01				ND		
		3	79.73				ND		
		4	74.49				ND		
		7	76.16				<0.01		
		9	66.75				2.41		
		暗所対照区	1	96.91				0.25	
			2	94.61				0.21	
	3		95.07				0.31		
	4		94.15				0.47		
	7		93.13				0.26		
	9		93.08				0.27		
				ppm (設定濃度 : 0.2 ppm)					
	照射区	0	0.201					0.001	
		1	0.196					<0.001	
		2	0.186					ND	
		3	0.172					ND	
		4	0.161					ND	
		7	0.164					<0.001	
		9	0.144					0.005	
		暗所対照区	1	0.209					0.001
			2	0.204					<0.001
	3		0.205					0.001	
4	0.203						0.001		
7	0.201						0.001		
9	0.201						0.001		

ND : 検出限界以下

表 2-2 から、 の自然水光照射区では、イブフェンカルバゾン[A]は緩やかに分解し、照射 9 日後で処理量の 66.75% になった。処理量の 10% を超える分解物は認められなかった。

表 2-3. 処理の pH5 緩衝液における放射能の分布と成分 (2 点分析の平均値)

標識体	試験区	採取 時点	イブフェン カルバゾン[A]				その他
			%AR				
		0	103.15				0.59
照射区		1	106.16				ND
		2	96.60				ND
		4	98.15				ND
		7	91.11				0.46
		10	90.41				ND
		15	78.86				2.99
	暗所 対照区		1	108.02			
		2	104.61				ND
		4	104.10				0.15
		7	104.67				0.13
		10	106.63				ND
		15	102.96				0.15
			ppm (設定濃度 : 0.2 ppm)				
		0	0.209				0.001
照射区		1	0.216				ND
		2	0.196				ND
		4	0.199				ND
		7	0.185				0.001
		10	0.184				ND
		15	0.160				0.006
暗所 対照区		1	0.219				ND
		2	0.212				ND
		4	0.211				<0.001
		7	0.213				<0.001
		10	0.217				ND
		15	0.209				<0.001

ND : 検出限界以下

表 2-3 から、 の pH5 緩衝液光照射区では、イブフェンカルバゾン[A] は緩やかに分解し、照射 10 及び 15 日後で各々処理量の 90.41% 及び 78.86% になった。処理量の 10% を超える分解物は認められなかった。

表 2-4. 処理の自然水における放射能の分布と成分 (2点分析の平均値)

標識体	試験区	採取時点	イブフェンカルバゾン[A]				その他	
			%AR					
	照射区	0	97.89				0.10	
		1	98.64				ND	
		2	89.23				1.46	
		3	86.17				1.55	
		4	80.27				1.66	
		7	81.27				2.65	
		9	68.35				5.77	
		暗所対照区	1	98.98				ND
			2	99.11				0.07
	3		97.90				0.39	
	4		98.97				ND	
	7		96.61				0.08	
	9		94.28				0.11	
	ppm (設定濃度 : 0.2 ppm)							
	照射区	0	0.209				<0.001	
		1	0.211				ND	
		2	0.191				0.003	
		3	0.184				0.003	
4		0.172				0.004		
7		0.174				0.006		
9		0.146				0.012		
暗所対照区		1	0.212				ND	
		2	0.212				<0.001	
	3	0.209				0.001		
	4	0.12				ND		
	7	0.207				<0.001		
	9	0.202				<0.001		

ND : 検出限界以下

表 2-4 から、 の自然水光照射区では、イブフェンカルバゾン[A]は緩やかに分解し、照射 9 日後で処理量の 68.35% になった。処理量の 10% を超える分解物は認められなかった。

処理量の 10% を超える光分解生成物として $^{14}\text{CO}_2$ が認められた。10% 未満の分解物として、 が同定された。また、LC-MS/MS により

が

と推定された。

6) イブフェンカルバゾンの減衰速度

イブフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT_{50}) 及び 90% 消失期間 (DT_{90}) を一次反応式により算出し、結果を表 3 に、またその減衰曲線を図 1 及び 2 に示す。

表 3. イプフェンカルバゾンの 50% 消失期間 (DT₅₀) 及び 90% 消失期間 (DT₉₀)

照射	標識体	試験溶液	人工光照射			東京春の太陽光日換算	
			DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	r ²	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
照射区		pH5緩衝液	42	141	0.8659	143	454
		自然水	20	67	0.8709	68	217
		pH5緩衝液	40	131	0.8959	134	424
		自然水	19	62	0.8505	64	201
暗所 対照区		pH5緩衝液	717	2384	0.0245	—	—
		自然水	290	964	0.2102	—	—
		pH5緩衝液	1062	3531	0.0295	—	—
		自然水	152	505	0.4716	—	—

Linear Regression Analysis of the Sterile pH 5.0 Buffer Irradiated Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0163
 intercept = 4.6019
 R² = 0.8659

DT₅₀ = 42 Days
 DT₉₀ = 141 Days

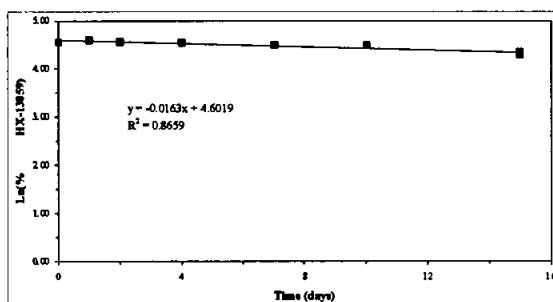


図 1-1. の pH5 緩衝液照射区の減衰

Linear Regression Analysis of the Sterile Natural Water Irradiated Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0342
 intercept = 4.5157
 R² = 0.8709

DT₅₀ = 20 Days
 DT₉₀ = 67 Days

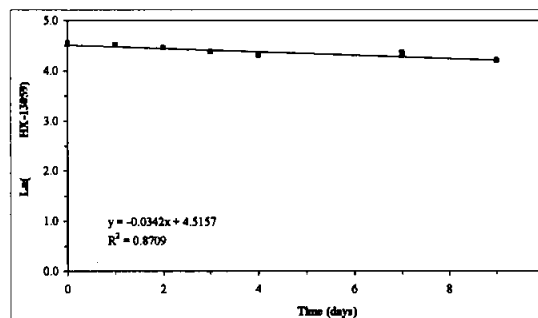


図 1-2. の自然水照射区の減衰

Linear Regression Analysis of the Sterile pH 5.0 Buffer Irradiated Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0175
 intercept = 4.6464
 R² = 0.8959

DT₅₀ = 40 Days
 DT₉₀ = 131 Days

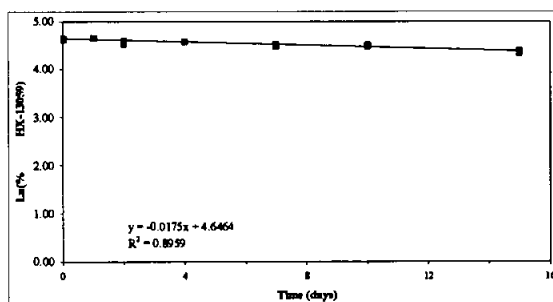


図 1-3. の pH5 緩衝液照射区の減衰

Linear Regression Analysis of the Sterile Natural Water Irradiated Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0369
 intercept = 4.5840
 R² = 0.8505

DT₅₀ = 19 Days
 DT₉₀ = 63 Days

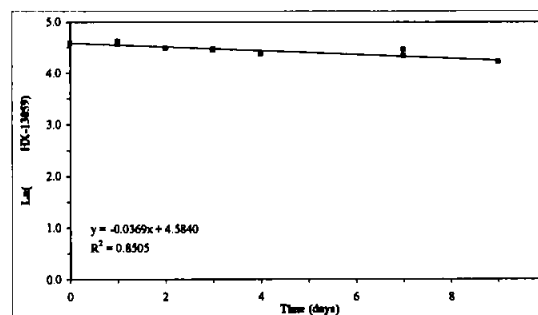


図 1-4. の 5 自然水照射区の減衰

Linear Regression Analysis of the Sterile pH 5.0 Buffer Dark Control Samples Treated with HX-13059.

Slope k = 0.0010 DT₅₀ = 717 Days
 intercept = 4.5991 DT₉₀ = 2384
 R² = 0.0245

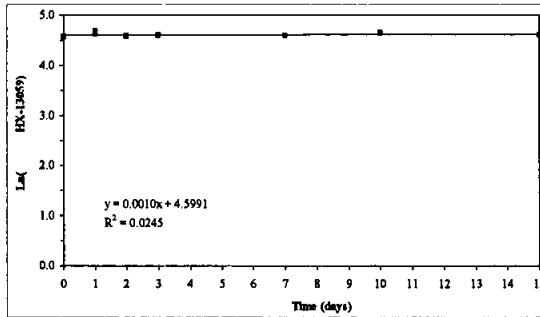


図 2-1. の pH5 緩衝液暗所対照区の減衰

Linear Regression Analysis of the Sterile Natural Water Dark Control Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0024 DT₅₀ = 290 Days
 intercept = 4.5552 DT₉₀ = 964
 R² = 0.2102

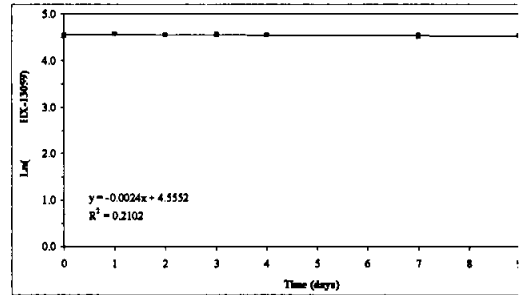


図 2-2. の自然水暗所対照区の減衰

Linear Regression Analysis of the sterile pH 5.0 Buffer Dark Control Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0007 DT₅₀ = 1862 Days
 intercept = 4.6361 DT₉₀ = 3531
 R² = 0.0295

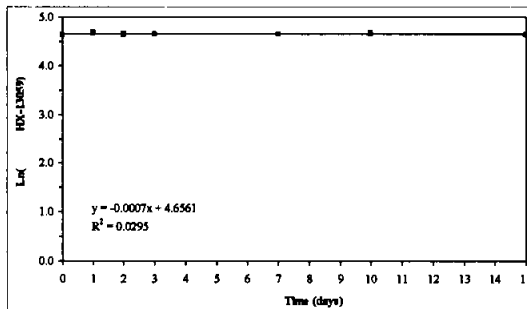


図 2-3. の pH5 緩衝液暗所対照区の減衰

Linear Regression Analysis of the Sterile Natural Water Dark Control Samples Treated with HX-13059.

Slope k = -0.0046 DT₅₀ = 152 Days
 intercept = 4.5984 DT₉₀ = 505
 R² = 0.4716

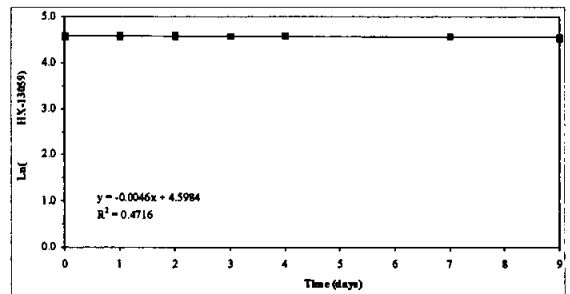


図 2-4. の自然水暗所対照区の減衰

7) まとめ

[¹⁴C]イブフェンカルバゾンの水中光分解について、滅菌 pH5 緩衝液及び滅菌自然水（河川水）を用いて人工光照射による挙動を調べた。

光照射試料中のイブフェンカルバゾン[A]は緩やかに分解し、pH5 緩衝液では 15 日後に 75.17~78.86%、自然水では 9 日後までに 66.75~68.35%まで減少した。光照射試料中のイブフェンカルバゾンの半減期は、東京春の太陽光日換算において pH5 緩衝液で 134~143 日、自然水で 64~68 日であった。分解は自然水の方が pH5 緩衝液より速やかであったが、分解パターンは各標識体及び試料において同様であった。

施用量の 10%を超える分解物として、光照射の自然水試料から ¹⁴CO₂ が 9 日後までに 7.70~11.59%認められた。他に 10%を超える分解物は認められなかった。

施用量の 10%未満の分解物として、が pH5 緩衝液で
認められた。由来の

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

が pH5 緩衝液で
認められた。
イプフェンカルバゾン[A]は暗所対照区試料で安定であり、pH5 緩衝液で 15 日後に 96.22~103.15%、自然水で 9 日後に 93.08~97.89%が認められた。
イプフェンカルバゾンの量子収率は、滅菌 pH5 緩衝液で
であった。
イプフェンカルバゾンの水中における光分解では、
を含む複数の微量分解物
が生成されたほか、さらに分解が進行した CO₂ も検出された。CO₂ への無機化は、
上記の反応により遊離した
から特に優先的に進行すると推定された。

図 3. イプフェンカルバゾンの滅菌 pH5 緩衝液及び滅菌自然水中における人工光照射下における推定代謝経路

5. 土壌吸着性試験

(資料 運命-9)

試験機関：

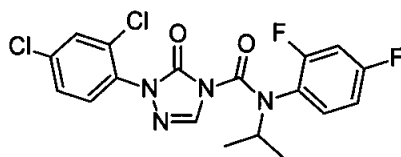
[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

供試化合物：

化学名： 1-(2,4-dichlorophenyl)-N-(2,4-difluorophenyl)-N-isopropyl
-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazole-4-carboxamide

化学構造：



純度： %

供試土壌

OECDテストガイドラインに示されている7タイプの土壌のうち次表に示す5タイプの土壌を用いて供試化合物の土壌吸着係数を測定した。

表1 供試土壌

土壌の種類 (OECD分類)	タイプ 5	タイプ 4	タイプ 3	タイプ 1	タイプ 2 火山灰
土壌試料名	徳島	福島	青森	埼玉	栃木
採取場所	徳島県名西 郡石井町	福島県 郡山市	青森県 黒石市	埼玉県南埼玉 郡白岡町	栃木県 鹿沼市
土性 (USDA)	S: 砂土	L: 壤土	SL: 砂壤土	SiC: シルト質埴土	SiCL: シルト質埴壤土
砂 (%)	94.4	50.8	56.8	11.1	16.3
シルト (%)	2.1	32.0	30.3	42.3	50.1
粘土 (%)	3.5	17.2	12.9	46.6	33.6
有機炭素含有率 (%)	0.07	0.47	2.86	4.15	8.93
有機物含有率 (%)	0.12	0.81	4.93	7.15	15.4
pH(0.01 M CaCl ₂)	8.4	5.9	5.6	5.7	4.7
陽イオン交換容量 (cmol _c /kg)	2.3	11.6	21.8 ¹⁾	32.3	39.4
リン酸吸収係数 (g/kg)	0.8	3.2	13.9	11.8	26.1
粘土鉱物の種類	モンモリロナイト、 カオリン鉱物	ハロサイト、 イライト	アロフェン	イライト、 クロライト	アロフェン

試験方法

供試土壌の調製

表1に示す供試土壌を2 mmの篩に通したのち、風乾土壌を調製した。土壌試料の水分量を乾熱法により測定した。結果を下表に示す。

土壌試料名	徳島	福島	青森	埼玉	栃木
土壌水分量 (%)	0.47~1.00	1.73~1.97	4.53~4.82	7.93~10.23	16.83~20.40

試験溶液の作成

検体の5000 µg/mL アセトニリル溶液をアセトニトリルで段階希釈して、8、20、50、100及び250 µg/mLの各標準溶液を調製した。各検体の標準溶液は12時間以上25°Cで振とうして予備平衡化した試験系（土壌／水）の水相に添加した。なお、アセトニトリルの初期水相における含有量は0.1%であった。

土壌／水比の決定根拠

有機炭素含量の最も高い土壌（栃木）及び低い土壌（徳島）を用いて、最適な土壌／水比を求めるための試験を行った。以下の条件で試験を実施し、吸着パラメーター（吸着率、吸着係数等）及び物質収支を求めた。

初期水相中の検体濃度：5 µg/mL、土壌／水比：0.2（5 g/25 mL）、
吸着振とう時間：24時間、暗所 試験温度：25°C

その結果、栃木及び徳島土壌の吸着率は、それぞれ88.2%及び88.0%であり、物質収支は96%及び94%であった。従って最適な土壌／水比を0.2（5 g/25 mL）と決定した。

吸着平衡化時間の測定

全土壌について、土壌／水比を0.2（5 g/25 mL）とし、以下の条件で試験を実施し、水相中の検体の濃度を測定し、評価した。

初期水相中の検体濃度：0.25 µg/mL、試験温度：25°C
吸着振とう時間：4、8、16、24及び48時間、暗所

図1に示す結果に基づき、全土壌について吸着平衡化時間を48時間と決定した。

さらに、48時間後の水相分取後の土壌画分に水相画分と同量の0.01 mol/L塩化カルシウム溶液を加えた後、再び48時間振とうして、脱着試験の予備試験を実施した。脱着水相と土壌画分中の検体の濃度を測定し、脱着率、脱着係数及び物質収支を求めた。その結果、脱着率は3.8%~24.1%、脱着係数は15.9~129.9及び物質収支は90%~110%であり、検体は安定であると判断された。

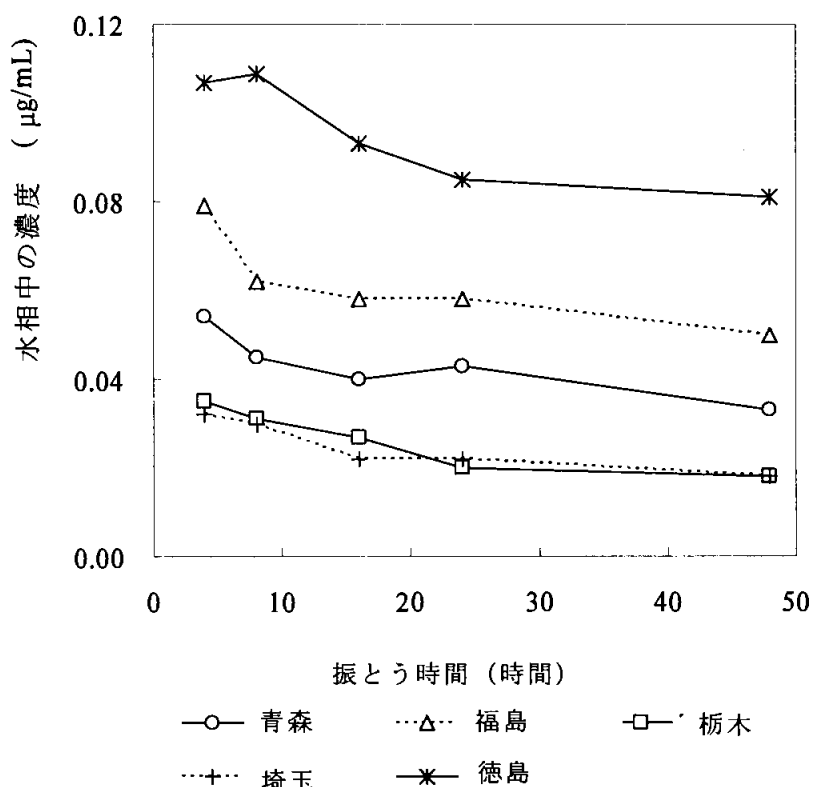


図1 各土壌における吸着振とう時間の測定試験

物質収支

試験系（土壌／水）を各平衡化時間で土壌画分と水相に分画化し、各画分中の検体濃度を測定した。各画分中の検体の合計量の添加量に対する比率を求めた。

吸着試験（Freundlichの吸着等温線の作成）

全土壌について、以下の条件で吸着試験を実施し、種々の吸着パラメーター（吸着率、吸着係数、有機炭素含有率補正吸着係数）を求めた。さらにFreundlichの吸着等温線を作成し、回帰式から、Freundlichの吸着定数とその係数（1/n）を求めた。

初期水相中の検体濃度：0.008、0.02、0.05、0.1、0.25 µg/mL、
 土壌／水比：0.2（5 g/25 mL）、試験温度：25°C、
 吸着振とう時間（平衡化時間）：48時間、暗所

脱着試験（Freundlichの脱着等温線の作成）

吸着試験で分取した土壌画分に、同時に分取した水相画分量と同量の0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液を土壌画分に加え、48時間脱着振とうした。分画した水相画分中の検体濃度を測定し、Freundlichの脱着等温線を作成した。Freundlichの脱着係数及びその係数（1/n）を求めた。

コントロール試料の測定

0.01 mol/L塩化カルシウム溶液25 mL中の検体の初期水相中濃度0.25 $\mu\text{g/mL}$ 及び0.1 $\mu\text{g/mL}$ のコントロール試料（土壌なし）を、25°Cでそれぞれ、48時間及び96時間、振とう後、溶液中の検体濃度を測定して、検体の安定性及び試験容器への吸着性を評価した。さらに、コントロール試料分取後の容器をアセトニトリル/水（6:4, v/v）混液 25 mLで洗浄、振とう抽出し、検体の試験容器への吸着性を評価した。

分析方法

水相画分：分取した水相画分の10 mLをとり、 C_{18} ミニカラムで精製・抽出後、LC-MSにより測定した。

土壌画分：分取した土壌画分をアセトニトリルで抽出し、抽出液を濃縮・乾固後水に溶解した。その後水相画分と同様の精製・抽出操作を行った後、LC-MSにより測定した。

図2に分析操作のフローシートを示す。

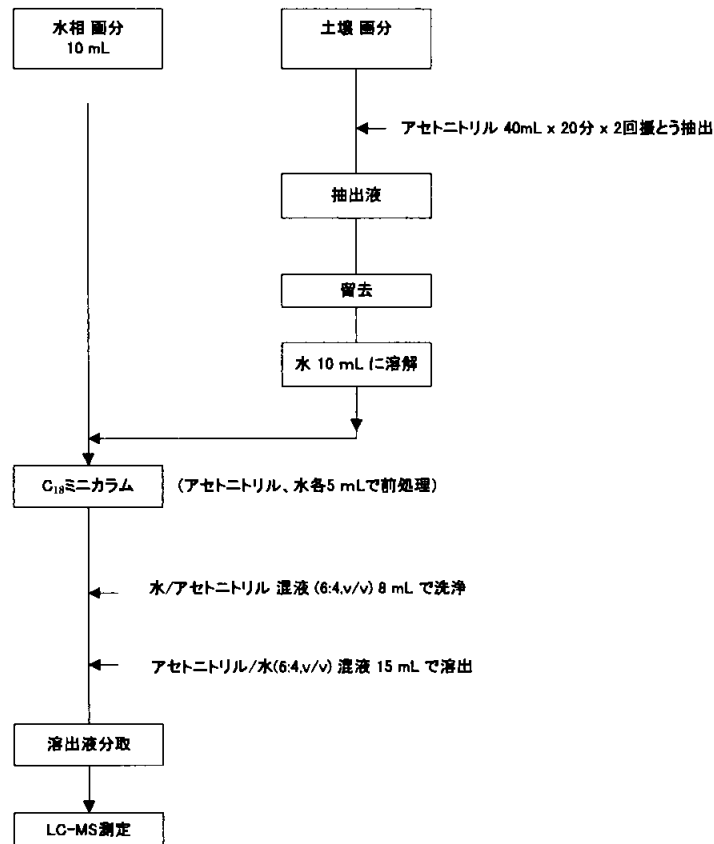


図2 水及び土壌画分の分析操作

結 果

物質収支

吸着試験及び脱着試験終了時点における青森、福島、栃木、埼玉及び徳島土壌の物質収支は 90%～110%であった。

コントロール試料

水相からの検体の回収率は0.25 µg/mL、48時間の試料で 77%、0.1 µg/mL、98時間の試料で76%であり、一方、試験容器表面からの検体の回収率は0.25 µg/mL、48時間の試料で 20%、0.1 µg/mL、98時間の試料で25%であった。検体の試験容器への吸着が認められた。

吸着試験 (Freundlich の吸着等温線の作成)

初期水相中検体濃度：選定した検体濃度範囲 0.008～0.25 µg/mL は、OECD テストガイドラインの推奨濃度範囲を満足するのは、徳島土壌のみであった。これは検体の水溶解度が低い (0.515 mg/L、20℃) こと、試験容器表面への検体の吸着が認められたことから、土壌/水比を低く設定することが困難であったためである。

吸着試験 (Freundlich の吸着等温線の作成) の結果

Freundlich の吸着等温線を図 3 に示す。また 5 種土壌における吸着係数及び有機炭素吸着係数を下表に示す。青森土壌、福島土壌、栃木土壌、埼玉土壌及び徳島土壌における吸着係数はそれぞれ 40.0、21.3、53.3、20.1 及び 19.4 であり、有機炭素吸着係数はそれぞれ 1399、4532、597、484 及び 27714 であった。この結果からイプフェンカルバゾン は極めて低い移動性～中程度の移動性を示すものと考えられた (Briggs の定義による)。

土 壌		1/n*1	吸着係数 K _F ^{ads}	R ² *1	有機炭素含量 %	有機炭素吸着係数 K _F ^{ads} _{oc}
土壌タイプ	採取場所					
3	青森	1.003	40.0	0.984	2.86	1399
4	福島	0.958	21.3	0.987	0.47	4532
2 (火山灰)	栃木	0.940	53.3	0.993	8.93	597
1	埼玉	0.724	20.1	0.964	4.15	484
5	徳島	1.219	19.4	0.938	0.07	27714

*1 : Freundlich の脱着等温式による定数項と相関係数

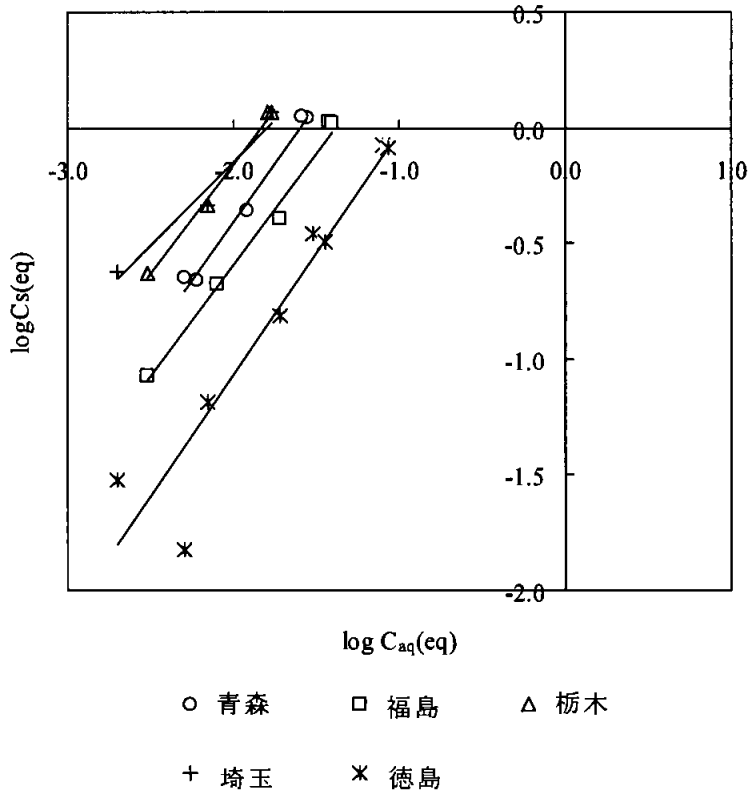


図3 各土壌における Freundlich の吸着等温線

脱着試験 (Freundlich の脱着等温線の作成) の結果

Freundlich の脱着等温線を図4に示す。また5種土壌における脱着係数を下表に示す。脱着係数は青森、福島、栃木、埼玉及び徳島土壌について、それぞれ 20.7、115.3、38.1、71.9ならびに 9.89であった。

土 壌		1/n ^{*1}	脱着係数 K _F ^{des}	R ² ^{*1}
土壌タイプ	採取場所			
3	青森	0.799	20.7	0.980
4	福島	1.273	115.3	0.953
2 (火山灰)	栃木	0.820	38.1	0.988
1	埼玉	0.959	71.9	1.000
5	徳島	0.939	9.89	0.980

*1: Freundlich の脱着等温式による定数項と相関係数

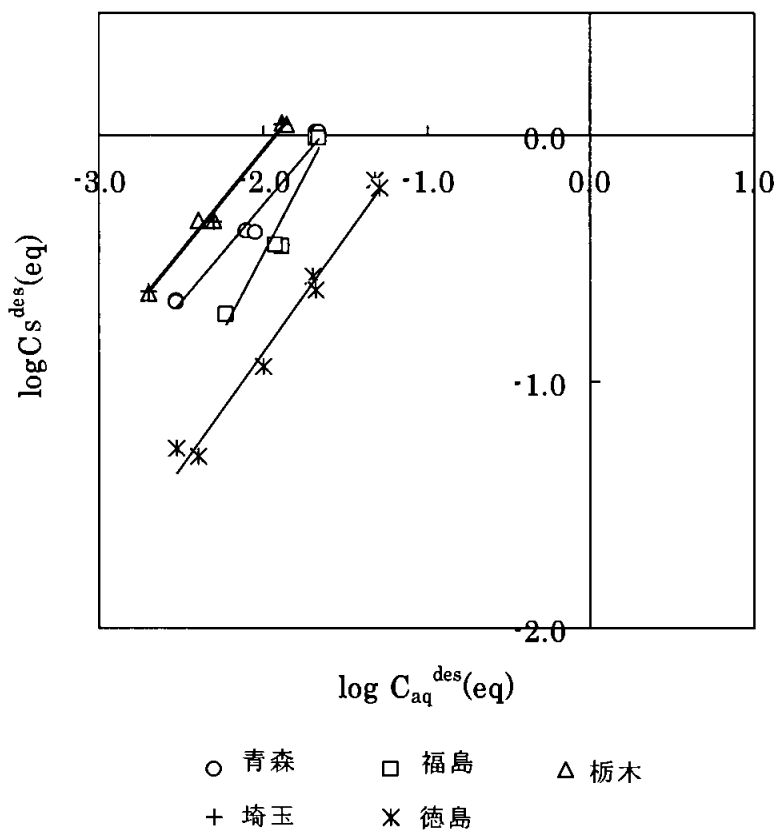


図4 Freundlichの脱着等温線

青森、福島、栃木及び埼玉土壌では、0.008及び0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度の試験結果（定量限界未満）を除く。

代謝分解のまとめ

それぞれの運命試験には、イブフェンカルバゾンの

標識化

化合物、または非標識化合物を使用した。

1. 動物体内運命

イブフェンカルバゾンの を用いて、ラット体内運命を調べた。投与用量は、低用量試験群が放射性被験物質の比放射能から実施可能な最低用量の 2 mg/kg 体重に、高用量試験群が低用量の 50 倍の 100 mg/kg 体重に設定した。

ラットにおける吸収（血中薬物動態）試験（資料 運命-1）において、
、低用量及び高用量、雌雄ともに放射能は血漿に速やかに吸収され、約 24～47 時間の半減期で消失した。消失は一次反応式に従った。最高濃度（Cmax）への到達時間（Tmax）は低用量で 2～6 時間、高用量で 6～24 時間であった。全血液では、約 63～93 時間の半減期で消失した。Tmax は低用量で 2～6 時間、高用量で 24 時間であった。

ラットにおける組織分布試験（資料 運命-1： ）において、Tmax 時（低用量：投与 6 時間後、高用量：12 時間後）にはすべての組織に放射能が分布したが、168 時間後までに減少した。168 時間後において、 の低用量投与群では赤血球の ¹⁴C 濃度が最も高く（1.53～1.98 mg eq./kg）、次いで全血液（0.95～1.16 mg eq./kg）が高かった。他に、脾臓（0.42～0.68 mg eq./kg）、肝臓（0.29～0.34 mg eq./kg）、腎臓（0.24～0.26 mg eq./kg）及び肺（0.23～0.29 mg eq./kg）が高かった。血漿中 ¹⁴C 濃度（0.04～0.06 mg eq./kg）に対する比率は、赤血球 35～37 倍、全血液 20～23 倍、脾臓 10～12 倍、肝臓 6～7 倍、腎臓 5～6 倍及び肺 5 倍であった。 の高用量投与群でも赤血球の ¹⁴C 濃度が最も高く（32.97～39.75 mg eq./kg）、次いで全血液（17.13～21.94 mg eq./kg）が高かった。他に、脾臓（10.15～12.15 mg eq./kg）、肝臓（3.58～4.43 mg eq./kg）、腎臓（3.96～4.39 mg eq./kg）及び肺（2.86～4.44 mg eq./kg）が高かった。血漿中 ¹⁴C 濃度（0.44～0.87 mg eq./kg）に対する比率は、赤血球 47～77 倍、全血液 26～40 倍、脾臓 15～23 倍、肝臓 5～8 倍、腎臓 5～9 倍及び肺 5～7 倍であった。

の低用量投与群では赤血球の ¹⁴C 濃度が最も高く（0.65～0.77 mg eq./kg）、次いで全血液（0.54～0.60 mg eq./kg）が高かった。血漿中 ¹⁴C 濃度（0.12～0.18 mg eq./kg）に対する比率は、赤血球 4～6 倍、全血液 3～5 倍であった。 の高用量投与群でも赤血球の ¹⁴C 濃度が最も高く（19.35～26.76 mg eq./kg）、次いで全血液（11.88～14.56 mg eq./kg）

が高かった。血漿中¹⁴C濃度(2.24~4.08 mg eq./kg)に対する比率は、赤血球7~9倍、全血液4~5倍であった。

に比べて で赤血球及び全血液中¹⁴C濃度が高い傾向が認められた。
雌雄差は小さかった。

ラットにおける組織分布試験(資料 運命-2:)において、投与168時間後で、低用量投与群では肺の¹⁴C濃度が最も高く(0.46~0.75 mg eq./kg)、次いで肝臓が高かった。血漿中¹⁴C濃度(0.03~0.04 mg eq./kg)に対する比率は、肺が16~18倍であった。全血液及び赤血球の¹⁴C濃度は0.10及び0.17~0.18 mg eq./kgであった。高用量群では肝臓(4.26~6.30 mg eq./kg)及び肺(4.90~5.77 mg eq./kg)で高く、血漿中¹⁴C濃度(0.56~0.59 mg eq./kg)に対してそれぞれ7~11倍及び9~10倍であった。全血及び赤血球の¹⁴C濃度は1.87~2.12及び3.38~3.81 mg eq./kgであった。

組織における¹⁴C濃度の蓄積性はないと考えられた。

ラットにおける排泄バランス試験(資料 運命-2)において、尿及び糞への¹⁴Cの排泄率は低用量投与群では尿(44.48~67.59%AD) >糞(15.69~29.41%AD)、高用量投与群では尿(19.33~38.78%AD) <糞(54.68~69.38%AD)の傾向であった。 投与群での呼吸への排泄は投与168時間後までに¹⁴CO₂として7.93~25.59%ADが排泄された。投与168時間後の体内残留放射能は、標識位置及び雌雄に係らず、低用量群で2.74~5.85%AD、高用量群で1.38~2.54%ADであった。

尿における代謝物プロファイルは、標識体間で異なったが、顕著な性差及び用量差は認められなかった。投与量の5%を超える主要代謝物として、

が検出された。

が検出された。いずれの試験区においても、尿中残留物として未変化のイブフェンカルバゾン[A]はほとんど検出されなかった。

糞における代謝物プロファイルは、標識位置に係らず各用量で比較的類似していた。また顕著な性差は認められなかった。投与量の5%を超える主要代謝物として、及び未変化のイブフェンカルバゾン[A]が検出された。

イブフェンカルバゾンの主要代謝経路の一つは、

する経路であった。 はその後、

の生成及びこれらの組み合わせによる代謝反応を受けて、主に尿を経由して排泄された。さらに、

に伴い、主に二酸化炭素にまで代謝され、呼吸から排泄された。一方、

はその後、及びこれらの組み合わせによる

代謝反応を受けて、尿を経由して排泄された。その他に、イブフェンカルバゾンの

が を受けた後、

にまで変換され、糞を経由して排泄される経路も考えられた。

ラットにおける胆汁排泄試験（資料 運命-3）において、ともに胆汁
及び尿両方の経路で排泄された。胆汁への排泄率は、低用量投与群で約 31~37%AD、高用量
で約 14~15%AD と、低用量投与群の方が高かった。雌雄の差は小さかった。胆汁排泄はイプ
フェンカルバゾンの主要な排泄経路の一つであった。

48 時間後までのイプフェンカルバゾンの推定吸収率は、ともに、低用
量投与群で約 88~91%、高用量で約 32~40%と、低用量投与群の方が高かった。雌雄の差は
小さかった。

胆汁排泄試験と排泄バランス試験における投与 48 時間後までの尿中排泄率を比較すると、
胆汁排泄試験の方が低かった。これは、胆汁中に排泄された放射能の一部が腸管から再吸収
されて、尿中に排泄されたためと推察され、イプフェンカルバゾンの体内動態において腸肝
循環が部分的に関与することが示唆された。

胆汁中から投与量の 5%を超える代謝物は検出されなかった。マイナーな代謝物として
、イプフェンカルバゾン[A]の

を受けた抱合位置の異なるが検出された。未変化のイプフェ
ンカルバゾン[A]は検出されなかった。

イプフェンカルバゾンのラットにおける胆汁中代謝物の生成経路は、以下のように推定さ
れた。イプフェンカルバゾンの主な代謝経路である

及びこれらの組み合わせによる代謝反応を受けて、
主に尿を経由して排泄された。はマイナーな代謝物として胆汁中に検出されたが、
腸管より再吸収されたものと考えられた。一方、

及びこれらの組み合わせによる代謝反応を受けて、尿を経由して排
泄された。その他に、イプフェンカルバゾン[A]の

を受け、胆汁経由で腸管腔内に排泄された後、に
まで変換され（）、糞へ排泄される経路も考えられた。

排泄バランス試験及び胆汁排泄試験の結果を合わせると、ラットへの経口投与後のイプフ
ェンカルバゾンは、低用量投与群において約 87~91%AD、高用量投与群において約 30~40%
AD が体内に吸収され、第一相及び第二相の代謝変換を受けた後、呼気、尿及び糞（主に胆汁
排泄）を経由して速やかに体外へ排泄されると考えられる。

2. 植物体内運命（資料 運命-4）

イプフェンカルバゾンのを用いて、水稻体内運命を調べた。
¹⁴C標識イプフェンカルバゾンの2.5%粒剤(w/w)を調製し、移植直後及び移植14日後にポット
あたり1.25 mg a. i.（最大慣行施用量250 g a. i./haに相当）を、田面水に処理した。

中間採取時の茎葉部の総残留放射能(TRR)は、0.152~0.411 mg eq./kgであった。
処理111日後の収穫期における残留放射能は、玄米0.035~0.078 mg eq./kg、粳穀0.188~0.626
mg eq./kg、稲わら0.403~0.812 mg eq./kgであった。標識位置での残留放射能の比較では、
より2倍以上高かった。

玄米から抽出された放射性残留物は、溶媒抽出で 0.001~0.011 mg eq/kg (TRR の 31.5~

56.3%)、ソックスレー抽出で 0.011~0.044 mg eq/kg (TRR の 3.4~14.4%) であり、
の方が高かった。固形物残渣中の放射能は両標識体ともに 0.023 mg eq/kg (TRR の 29.4~65.0%) であり、
の方が高かった。
稲わらの抽出性放射能は、0.08~0.21 mg eq/kg、TRR の 59~73%であった。
稲わらの主要代謝物は、溶媒抽出で 0.200~0.670 mg eq/kg (TRR の 49.8~82.5%)、ソックスレー抽出で 0.013~0.020 mg eq/kg (TRR の 2.5~3.3%) であり、
の方が高かった。固形物残渣中の放射能は 0.122~0.189 mg eq/kg (TRR の 15.1~47.0%) であり、
の方が高かった。

TRRの10%以上の主要代謝物として、収穫期玄米から
が検出された。収穫期稲
わらからは、
が検出された。中間採取時の茎
葉からは、
が検出された。

イプフェンカルバゾンの水稻中における主代謝経路は、

を生成した。また、イプフェンカルバゾン由来の放射能は、リグニン及びヘミセルロースなどの植物体構成成分に取り込まれ、結合型残留物を形成すると考えられた。

3. 土壌中運命

1) 好氣的湛水土壌 (資料 運命-5)

イプフェンカルバゾンの
を用いて、牛久土壌(埴壤土)に土壌乾土重量あたりイプフェンカルバゾン 0.25 mg/kg 相当を処理して、好氣的湛水土壌中運命を調べた。好氣的湛水条件下の牛久土壌でのイプフェンカルバゾン[A]の減衰は緩やかで、施用後 168 日(最終分析時点)において施用量の 66.9% () ~73.6% () が残存した。イプフェンカルバゾンの DT₅₀ (50%消失期間) 及び DT₉₀ (90%消失期間) は、各々
で 420 日及び 1729 日、
で 400 日及び 1327 日と算出された。土壌から抽出可能な放射能は、いずれの標識体においても経時的にほぼ同様の推移を示した。有機溶媒で抽出可能な放射能は施用後 168 日で施用量の約 76% () ~72% () となった。ソックスレー抽出液中に検出される放射能は経時的に増加し、施用後 168 日で施用量の約 11% () ~10% () となった。抽出液中の放射エネルギーの減少に伴い抽出後の土壌残渣中の放射能が増加したが、施用後 61 日以降ではほぼ一定ないし若干減少した。施用後 61~168 日における土壌残渣中の放射エネルギーは施用量の約 9~10% () 及び約 11~13% () であった。放射性二酸化炭素は
では微量(施用後 168 日までの累積で施用量の 0.4%)、
では少量(施用後 168 日までの累積で施用量の 1.9%) 検出された。

主要代謝物として、
固有の
及び
固有の
が同定された。
は経時的に増加し、施用後 168 日で施用量の約 20% になった。
処理土壌からは
以外の代謝物は検出されなかった。

は施用後 119 日に施用量の約 7.9% まで増加したが、168 日後では 7.8% とほぼ一定となった。
処理土壌からは施用量の約 1% 程度の放射エネルギーが

2 種類検出されたのみであった。

イプフェンカルバゾン[A]は土壤微生物の分解活性により
を生成する。 はさらに分解し、その一部が土壤結合
残渣として土壤に取り込まれるものと推定される。一方、
も同様に土壤結合残渣として土壤に取り込まれるほか、その少量が二酸化炭素に無機化され
ると推定される。

2) 好氣的土壤 (資料 運命-6)

イプフェンカルバゾンの を用いて、牛久土壤(埴壤土)に土壤乾土重
量あたりイプフェンカルバゾン 0.25 mg/kg 相当を処理して、好氣的土壤中運命を調べた。
好氣条件下の牛久土壤でのイプフェンカルバゾン[A]の減衰は緩やかで、施用後 168 日(最終
分析時点)において施用量の 81.4% () ~84.5% () が残存した。
イプフェンカルバゾンの DT_{50} (50%消失期間) 及び DT_{90} (90%消失期間) は、各々 で
568 日及び 1886 日、 で 646 日及び 2154 日と算出された。
主要代謝物として、 固有の が同定された。
 になった。 処理土壤からは施
用量の 1%を超える代謝物は検出されなかった。

土壤からアセトニトリル及び酸性アセトニトリルで抽出可能な放射能は、施用後 168 日で施
用量の 78% () ~71% () 及び約 10% () ~7% () とな
った。

ソックスレー抽出液中に検出される放射能は 標識体ともに施用後 119 日まで微増し、その
後一定ないし微減となった。施用後 168 日で施用量の約 7%であった。

抽出液中の放射エネルギーの減少に伴い抽出後の土壤残渣中の放射能が緩やかに増加したが、施
用後 168 日における土壤残渣中の放射エネルギーは施用量の約 3% () ~約 8% ()
であった。

放射性二酸化炭素は では微量(施用後 168 日までの累積で施用量の 0.9%)、
では少量(施用後 168 日までの累積で施用量の 6.6%) 検出された。

イプフェンカルバゾン[A]は土壤微生物の分解活性により
を生成する。 の生成が予想されるが、好氣的
畑条件下では は速やかに分解したため、検出できなかったと考えられる。
イプフェンカルバゾン[A]の分解は、 を經由して、最終的に土
壤結合残渣として抽出され難い形態となるほか、少量が二酸化炭素にまで分解無機化される
と推定される。

4. 水中運命

1) 加水分解性 (資料 運命-7)

イプフェンカルバゾンの を用いて、滅菌緩衝液における
分解性を調べた(設定濃度 0.2 mg/L、pH4、pH5、pH7 及び pH9、25°C、30 日間)。
イプフェンカルバゾン[A]は pH4、5 及び 7 の滅菌緩衝液中で安定であったが、pH9 では速や
かに分解した。

pH9 の滅菌緩衝液中での半減期 (DT_{50}) は 9.2~9.6 日であった。
 主要分解物は、であった。
 イブフェンカルバゾン[A]は、pH9 の弱アルカリ性条件下でを生成し
 た。

2) 水中光分解性 (資料 運命-8)

イブフェンカルバゾンのを用いて、人工光照射による滅
 菌 pH5 緩衝液及び滅菌自然水 (河川水) における水中光分解性を調べた。
 水中光分解は、設定濃度 0.2 mg/L、温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、人工光源にキセノンアークランプを用い、
 光強度 26.28 watts/m^2 (300~400 nm) で 9 日間 (滅菌自然水) ~15 日間 (滅菌 pH5 緩衝液)
 行った。
 光照射試料中のイブフェンカルバゾン[A]は緩やかに分解し、pH5 緩衝液では 15 日後に 75.17
 ~78.86%、自然水では 9 日後までに 66.75~68.35%まで減少した。
 光照射試料中のイブフェンカルバゾンの半減期は、東京春の太陽光日換算において pH5 緩衝
 液で 134~143 日、自然水で 64~68 日であった。分解は自然水の方が pH5 緩衝液より速やか
 であったが、分解パターンは各標識体及び試料において同様であった。
 施用量の 10%を超える分解物として、光照射の自然水試料から $^{14}\text{CO}_2$ が 9 日後までに 7.70~
 11.59%認められた。他に 10%を超える分解物は認められなかった。
 施用量の 10%未満の分解物として、由来の が pH5 緩衝液で 10 日後に施
 用量の、 自然水で 9 日後に認められた。 由来の
が pH5 緩衝液で 15 日後に施用量の、自然水で 9 日後に 認め
 られた。が
と推定された。

イブフェンカルバゾン[A]は暗所対照区試料で安定であり、pH5 緩衝液で 15 日後に 96.22
 ~103.15%、自然水で 9 日後に 93.08~97.89%が認められた。
 イブフェンカルバゾンの量子収率は、滅菌 pH5 緩衝液で

イブフェンカルバゾンの水中における光分解は、
が生成し、その後、さらに分解が進み二酸化炭素にまで無
 機化されると推定された。

5. 土壌吸着性 (資料 運命-9)

日本の 5 土壌を用いた土壌吸着性試験の結果は下表のとおりであり、有機炭素吸着係数
 $K_{f_{oc}}$ は 484~27714 であった。

土 壤		1/n*	吸着係数 $K_{f_{ads}}$	r^2 *	有機炭素含量 %	有機炭素吸着係数 $K_{f_{oc}^{ads}}$
土壌タイプ	採取場所					
3	青森	1.003	40.0	0.984	2.86	1399
4	福島	0.958	21.3	0.987	0.47	4532
2 (火山灰)	栃木	0.940	53.3	0.993	8.93	597
1	埼玉	0.724	20.1	0.964	4.15	484
5	徳島	1.219	19.4	0.938	0.07	27714

* Freundlich の吸着等温式による定数項と相関係数

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

イプフェンカルバゾンの動植物等における代謝分解経路図

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

代謝分解物		A											CO ₂	未同定	非抽出物	合計	投与量に対する総回収率			
動物 ラット 168h 累積 排泄バランス試験	低用量	雄	尿	0.53												34.05	0.14	63.02		
			糞	4.13													9.00	3.75	25.96	
			合計	4.66													43.05	3.89	88.96	98.85
		雌	尿	0.46													29.03	0.27	67.59	
			糞	3.79													5.88	2.92	21.54	
			合計	4.25													34.91	3.20	89.14	99.02
	高用量	雄	尿	nd												12.03	0.10	26.88		
			糞	60.12													1.14	1.86	65.54	
			合計	60.12													13.16	1.95	92.39	96.72
		雌	尿	nd													5.40	0.07	25.74	
			糞	58.04													3.19	1.30	65.60	
			合計	58.04													8.59	1.38	91.35	95.35
低用量	雄	尿	nd												37.73	0.12	62.78			
		糞	3.48													6.78	4.77	22.70		
		合計	3.48													44.51	4.89	85.48	95.24	
	雌	尿	nd													41.58	0.12	64.86		
		糞	3.99													6.97	3.37	21.37		
		合計	3.99													48.55	3.50	86.24	95.79	
高用量	雄	尿	nd												14.78	0.04	25.08			
		糞	61.94													1.30	1.90	67.88		
		合計	61.94													16.08	1.94	92.96	97.10	
	雌	尿	nd													25.62	0.07	37.44		
		糞	49.00													0.00	1.59	53.17		
		合計	49.00													25.62	1.65	90.60	96.89	

数値は、総放射能に対する比率(%)を示す。

*1: 抱合体を含む。

n. d. : 検出されず。

空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

動物	ラット	代謝分解物		A	CO ₂	未同定	非抽出物	合計	投与量に 対する総 回収率	
		排泄バランス試験	胆汁排泄							
動物	ラット	排泄バランス試験	低用量	尿		24.73	0.18	44.04		
				糞		5.01	2.06	19.82		
				合計	19.54	29.74	2.23	83.39	90.68	
		胆汁排泄	高用量	尿		24.74	0.16	44.14		
				糞		3.81	1.59	14.57		
				合計	25.59	28.55	1.75	84.30	91.73	
	胆汁排泄	48h 累積	低用量	雄	尿		9.92	0.17	20.99	
					糞		1.13	1.02	60.40	
					合計	8.82	11.05	1.19	90.21	94.07
			高用量	雌	尿		7.96	0.06	19.07	
					糞		0.00	0.79	64.99	
					合計	7.93	7.96	0.84	91.98	94.82
胆汁排泄	48h 累積	低用量	雄	胆汁		29.37		36.74		
				胆汁		24.13		31.47		
				胆汁		10.00		13.62		
		高用量	雌	胆汁		11.36		14.98		
				胆汁		31.59		37.19		
				胆汁		28.73		32.26		
胆汁排泄	48h 累積	低用量	雄	胆汁		11.30		13.86		
				胆汁		13.17		14.10		
				胆汁						
		高用量	雌	胆汁						
				胆汁						
				胆汁						

数値は、総放射能に対する比率(%)を示す。

*1：抱合体を含む。

n. d.：検出されず。

空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

代謝分解物		A											CO ₂	未同定 その他	非抽 出物	合計	投与量に 対する総 回収率	
土 壤 好 気 的 灌 水 条 件 牛 久 土 壌 (埋 塚 土) 0.25mg/ kg 乾土	0日	99.7													2.6	1.3		103.6
		0.241													0.006	0.003	0.250	
	14日	87.2													0.1	5.5		98.5
		0.211													0.0003	0.013	0.238	
	28日	82.0													0.2	7.6		98.0
		0.198													0.0004	0.018	0.237	
	61日	76.3													0.2	9.9		98.7
		0.184													0.0005	0.01	0.238	
	91日	75.8													0.3	10.3		100.5
		0.183													0.0007	0.025	0.243	
	119日	73.8													0.3	9.1		98.7
		0.177													0.0008	0.022	0.238	
	168日	66.9													0.4	9.4		97.4
		0.162													0.0009	0.023	0.235	
	0日	98.7													2.5	1.2		102.4
		0.232													0.006	0.003	0.241	
14日	89.1													0.1	6.6		98.5	
	0.210													0.0002	0.016	0.232		
28日	88.6													0.2	8.6		99.8	
	0.209													0.0004	0.020	0.235		
61日	83.7													0.5	11.4		98.3	
	0.197													0.0013	0.027	0.231		
91日	78.0													0.9	11.8		98.4	
	0.184													0.0021	0.028	0.232		
119日	74.9													1.3	12.7		97.4	
	0.176													0.0030	0.030	0.230		
168日	73.6													1.9	10.9		95.0	
	0.173													0.0046	0.026	0.224		

数値は、上段が総放射能に対する比率(%）、下段が濃度(ppm)を示す。
nd: 検出されず。 空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

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

代謝分解物		A											CO ₂	未同定 その他	非抽 出物	合計	投与量に 対する総 回収率			
土 壤	好 気 条 件	牛 久 土 壕 (堆 壕 土) 0.25mg/ kg 乾土	0日	100.5											0.0	0.8	0.002	0.245	101.3	
				0.243												0.000	0.002	0.002	0.245	
			14日	94.0												0.2	3.3			100.3
				0.227												0.001	0.008		0.242	
			28日	92.3												0.3	4.0			101.3
				0.223												0.001	0.010		0.245	
			61日	89.4												0.5	2.1			100.6
				0.216												0.001	0.005		0.243	
			91日	84.3												0.6	2.9			99.9
				0.204												0.002	0.007		0.241	
			119日	83.1												0.7	2.8			99.8
				0.201												0.002	0.007		0.241	
			168日	81.4												0.9	3.4			99.7
				0.197												0.002	0.008		0.241	
				100.8												0.0	0.7			101.5
				0.238												0.000	0.002		0.239	
	97.5												0.8	3.2			101.5			
	0.230												0.002	0.008		0.239				
	95.1												1.6	4.1			101.1			
	0.224												0.004	0.010		0.238				
	91.3												3.2	6.5			101.5			
	0.215												0.008	0.015		0.239				
	88.4												4.4	7.4			100.8			
	0.208												0.010	0.017		0.237				
	86.2												5.4	8.0			100.0			
	0.203												0.013	0.019		0.236				
	84.5												6.6	8.2			99.7			
	0.199												0.016	0.019		0.235				

数値は、上段が総放射能に対する比率(%）、下段が濃度 (ppm) を示す。
nd: 検出されず。 空欄は当該試験において認められなかったことを示す。

イプフェンカルバゾンの開発年表

化合物選抜				
委託試験				
合成プロセス				
特許				
毒性				
急性毒性				
亜急性				
慢性／発がん性				
繁殖性				
催奇形性				
変異原性				
薬理				
代謝				
植物				
動物				
土壌				
水				
有用生物に及ぼす影響				
農薬残留量				