

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX.1.3 [^{14}C]メトコナゾールの胆管挿管ラットにおける吸収・排泄 (資料3-1-④)

試験機関：ハチソノリサーチセンター(株)(英国)

[GLP 対応]

報告書作成：1991年

供試標識化合物： メトコナゾールの の炭素を ^{14}C で標識した標識化合物。

化学名； (1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*) -5-(4-クロロベンジル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-4-イルメチル)シクロペンタノール

化学構造式；

	標識体 ([^{14}C]メトコナゾール)
比放射能	
放射化学的純度	
化学的純度	

標識位置の設定理由；

供試動物： フィッシャー344 系統ラット，1 群雌雄各 3 匹
雄； 206-238g, 雌； 179-182g

方 法：

投 与；

標識化合物 ([^{14}C]メトコナゾール) と非標識体被験物質で希釈し均一化後、ポリエチレングリコール 200 に溶解して、1mg/mL の濃度を調製した。2 mg/kg (低用量) をカニキュレーションラットに単回強制経口投与した。タウロコール酸ナトリウム含有 0.15M 食塩水を 25 mg/0.9 mL の流速で胃管を通して屠殺時までラットに輸液した。4%デキストロース:0.18%食塩水と標準飼料を屠殺時まで自由に摂取させた。試験設計のまとめを表IX-1-11 に示した。

用量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-1-11 試験設計

試験名		用量 (mg/kg bw)	動物数		投与方法
			雄	雌	
胆汁排泄試験	3-1-④	2	3	3	単回経口投与 (胆汁, 尿及び糞排泄、体内残留量、ケージ洗液)

胆汁排泄試験：

方 法；

動物の総胆管をカニューレション手術し、胆汁及び尿は投与後 6, 24, 48 時間、糞は投与後 24, 48 時間まで採取した。結果は表IX-1-12 に示した。

表IX-1-12 胆汁排泄試験

性別		雄	雌
用量 (mg/kg bw)		2 mg/kg	
胆汁	0-6	50.2	68.5
	6-24	27.9	13.9
	24-48	0.6	0.9
	0-48	78.7	83.3
尿	0-6	1.4	5.3
	6-24	2.3	5.1
	24-48	0.6	1.7
	0-48	4.3	12.1
糞	0-24	0.1	0.2
	24-48	0.1	0.1
	0-48	0.2	0.3
ケージ洗液		0.2	0.3
消化管		8.5	0.2
カーカス		3.6	1.0
回収率		95.5	97.2

結 果：

投与後 48 時間までに、雄では投与量の 78.7%、雌では 83.3%が胆汁中に排泄され、主排泄経路は胆汁への排泄であった。非カニューレションラットの低用量単回投与で投与後 48 時間までに排泄された糞排泄量は雄で 72.4%、雌で 58.5% (表IX-1-2 参照) であり、この糞排泄量を有意に越え、尿への排泄量が減少していた。すなわち、糞排泄のほぼ全量が胆汁中放射能に由来し、さらに腸肝循環が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結 論：

メトコナゾールの低用量の投与後 48 時間までの消化管吸収率は雄で 86.8%、雌で 96.7%であった。

(消化管吸収率=胆汁+尿+ケージ洗液+カーカス として算出)

すなわち、[¹⁴C]メトコナゾールは、雌雄の係わりなくほぼ定量的に吸収され、主排泄経路は胆汁中であり、一部の代謝物は腸肝循環していると想定された。

一方、高用量での消化管吸収率については、試験を行っていない。しかし、次のような理由で消化管吸収率に大きな差はないと推定される。

- ①表IX-1-2において、低用量と高用量で雄・雌ともに総排泄率が95%前後であり、雌雄差はあるものの尿と糞への用量に係わらず排泄率がほぼ同じである。(糞への排泄は未吸収のものも含まれる可能性はあるが、低用量での胆管挿管ラットにおける吸収・排泄試験ではほぼゼロである。)
- ②また、血漿中濃度推移試験において、吸収の割合を判断する AUC は (表IX-1-6 参照)、高用量では低用量の 100 倍以上となっていて、用量に相関して吸収されていると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX.1.4. [¹⁴C]メトコナゾールのラットにおける運命試験 (代謝物同定・定量) (資料3-1-②⑤⑥⑦)

試験機関: Sittingbourne Research Centre (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990-1992 年

供試標識化合物: メトコナゾールの炭素を ¹⁴C で標識した標識化合物。
 メトコナゾールの炭素を ¹⁴C で標識した標識化合物。

化学名; (1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*) -5-(4-クロロベンゾル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-5-イルメチル)-1*H*-ベンゾイミダゾール

資料	標識体 ([¹⁴ C]メトコナゾール)		標識体 ([¹⁴ C]メトコナゾール)	
	3-1-⑦	3-1-②	3-1-⑥	3-1-⑤
比放射能 MBq/mg				
放射化学的純度 (%)				
化学的純度 (%)				
シス: トランス異性体比				
化学構造式				

標識位置の設定理由;

供試動物: フィッシャー344 系統ラット

資料番号	3-1-⑦	3-1-②	3-1-⑥	3-1-⑤
投与量 mg/kg bw	200	164	2	2
群構成	雄 6 匹	雄 5 匹、雌 5 匹	雄 5 匹、雌 5 匹	雄 12 匹、雌 12 匹
体重				
雄	171-197 g	180-188 g	186-209 g	175-193 g
雌	—	129-136 g	124-135 g	156-174 g

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

方 法：

投 与；強制経口投与

次表に試験設計の概要をまとめた。

資料番号	3-1-⑦	3-1-②	3-1-⑥	3-1-⑤
投与液	70%ホリトキシ化ひまし油と30%等張食塩水	DMSO	DMSO	非標識 コーン油 標識体 DMSO
投与液量	5mL/kg bw	2mL/kg bw	2mL/kg bw	0.5mL/kg bw
投与回数	単回	単回	単回	14回+1回
排泄物採取 (尿・糞)	24時間間隔で 7日間	24時間間隔で 5日間	24時間間隔で 3日間	24時間間隔で 4日間

馴化期間中および実験終了まで餌は実験動物用飼料を与え、水は自由に摂取させた。

分析方法；図IX-1-4-1～5 参照

1) 放射性残留量の測定

糞については脱イオン水と混合・均質化後、試料を酸化的燃焼処理・LSC測定した。尿は直接LSC測定した。

2) 糞の抽出

アセトニトリルおよびアセトニトリル：水混液で抽出後、ジクロロメタン（酢酸エチル）などで分配し、その後の分離・特徴付けに供した。

3) 尿の抽出

酢酸エチルで分配しTLC分析や分取-HPLCで分け、分離特徴付けに供した。

4) 分析

5)

結 果：表IX-1-13-1～4 参照

1) 試験結果を総合して同定された代謝物をまとめると次のような傾向がある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

- 3) 雄と雌を比較したとき、雌で尿への の排泄が多い。しかし、性の違いで代謝物自体に差はない。
- 4) 投与量の違いで代謝物の違いは認められない。
- 5) 標識体と 標識体の代謝物の違いは が尿中で認められることである。しかし、量的には5%にすぎない。従って、標識体と 標識体で本質的な差はないと判断される。この代謝物は水中光分解及び土壌での代謝運命試験でも検出されている。
また、コムギやカンキツの代謝運命試験で検出された が
極微量検出されたが、 は認められなかった。
- 6) 反復投与した試験では主代謝物のみ分析したが、単回投与と大きな差は認められなかった。

まとめ

ラット体内での推定代謝経路を図IX-1-4-6 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-1-13-1 [-¹⁴C] メトコナゾール(200mg/kg)を単回経口投与後における排泄物中の代謝物の割合 (資料3-1-⑦)

投与量	投与量に対する割合 %		
	雄		
排泄先	糞	尿	合計
割合 %	76	20	96
メトコナゾール	—	—	—

未同定物は糞では50成分以上で最高投与量の3.6%以下、尿では5成分以上で最高投与量の5.6%以下である。

表IX-1-13-2 [-¹⁴C] メトコナゾール (2mg/kg) を単回経口投与後における排泄物中の代謝物の割合 (資料3-1-⑥)

性	投与量に対する割合 %					
	雄			雌		
排泄先	糞	尿	合計	糞	尿	合計
割合 %	80	15	95	67	26	93
メトコナゾール	2	—	2	2	—	2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-1-13-3 [-¹⁴C] メトコナゾール (164mg/kg) を単回経口投与後における排泄物中の代謝物の割合 (資料3-1-②)

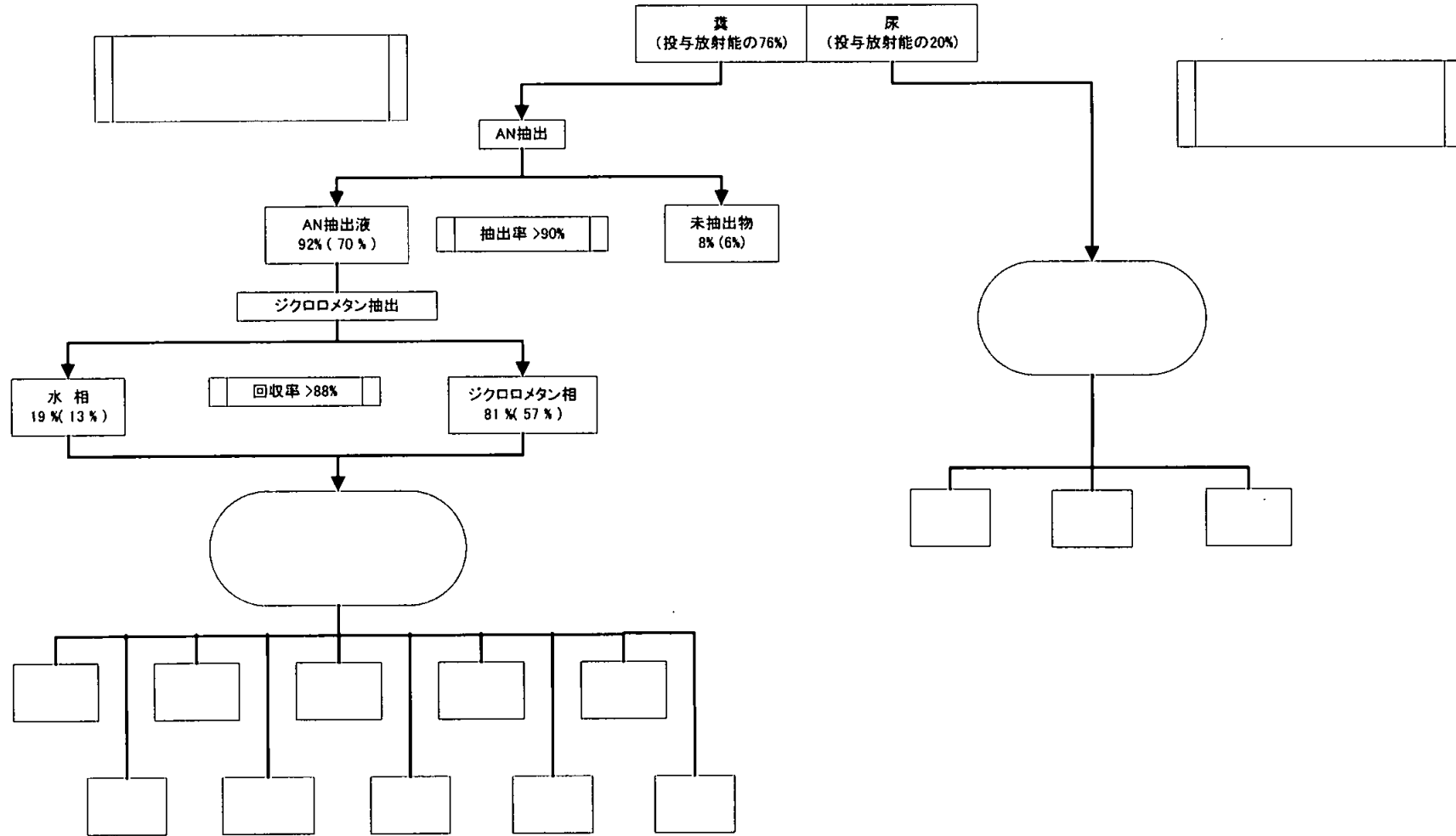
性	投与量に対する割合 %					
	雄			雌		
排泄先	糞	尿	合計	糞	尿	合計
割合 %	81	14	95	66	28	94
メトコナゾール	2	—	2	2	—	2

表IX-1-13-4 非標識体メトコナゾール(2mg/kg)を14日間反復経口投与後標識体 [-¹⁴C] メトコナゾール (2mg/kg) を単回経口投与後における排泄物中の主要代謝物の割合 (資料3-1-⑤)

性	投与量に対する割合 %					
	雄			雌		
排出物	糞	尿	合計	糞	尿	合計
割合 %	82	15	97	65	30	95

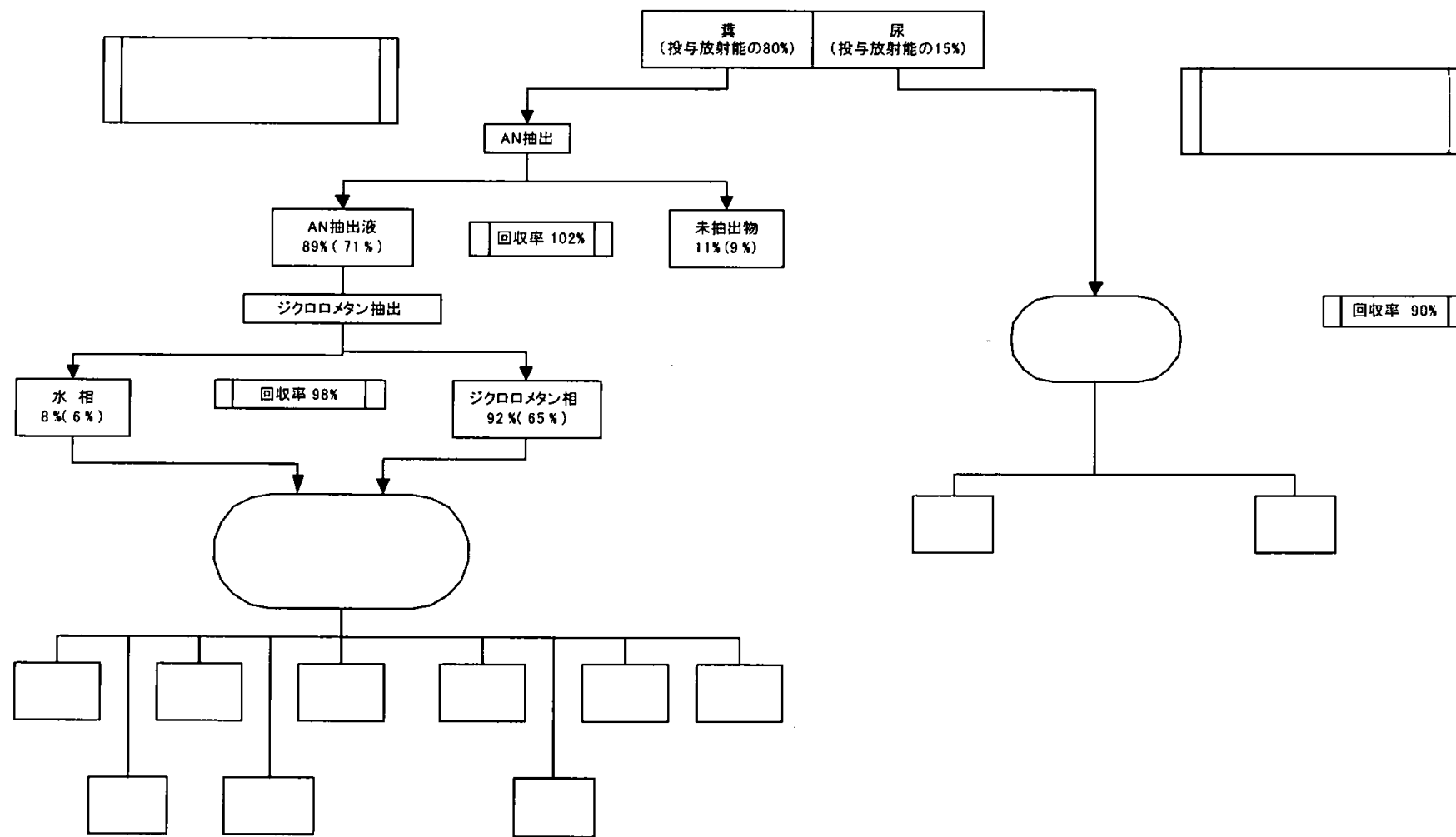
* : 尿中の は である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。



図IX-1-4-1 [-14C]メコナゾールcisを雄ラットに単回投与(200mg/kg)したときの
単離・同定 ()内は投与放射能に対する割合(%)(3-1-⑦)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。



図IX-1-4-2 [^{14}C]メコナゾールを雄ラットに単回投与(2mg/kg)したときの
単離・同定 ()内は投与放射能に対する割合%(資料3-1-⑥)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

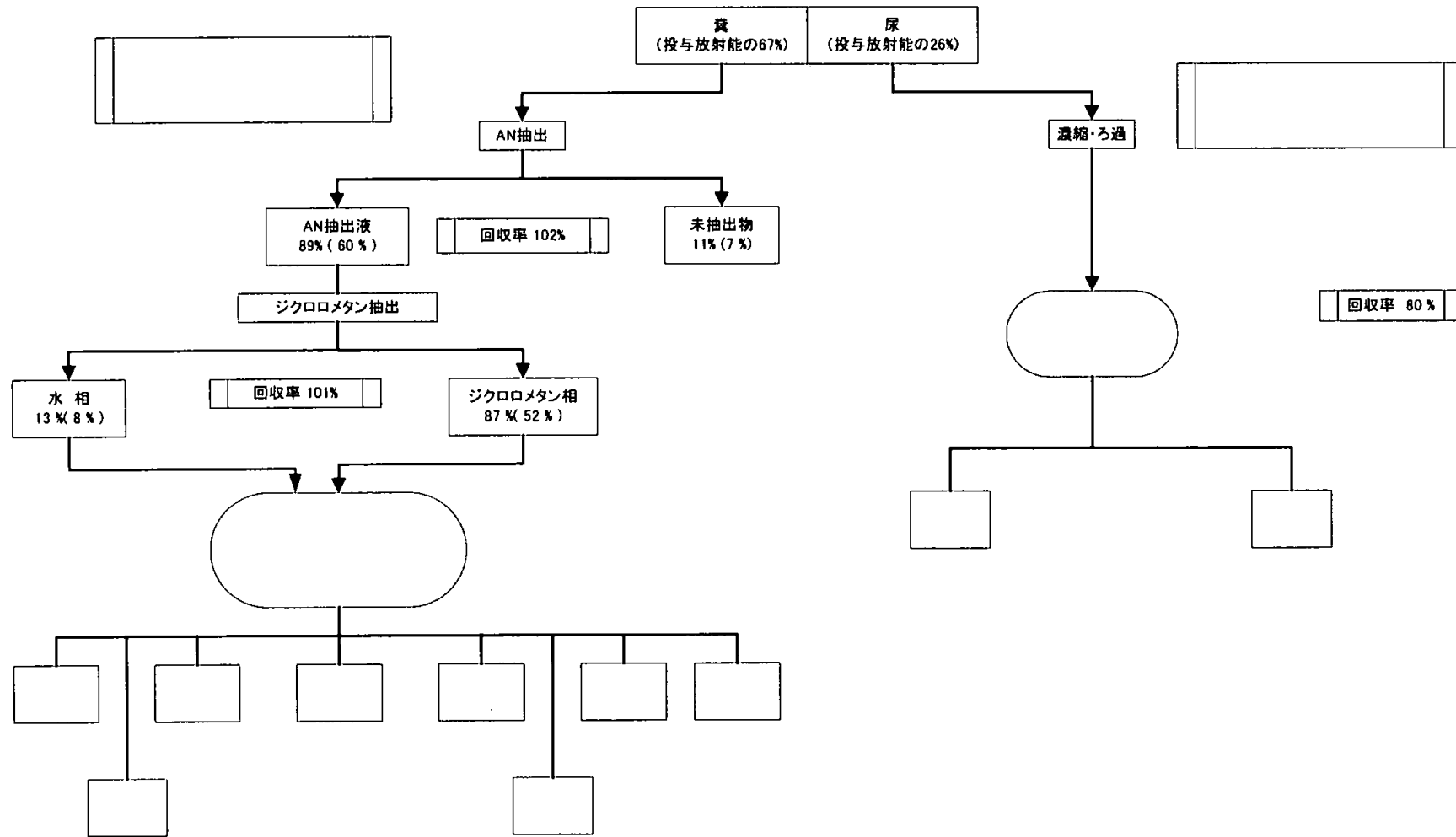
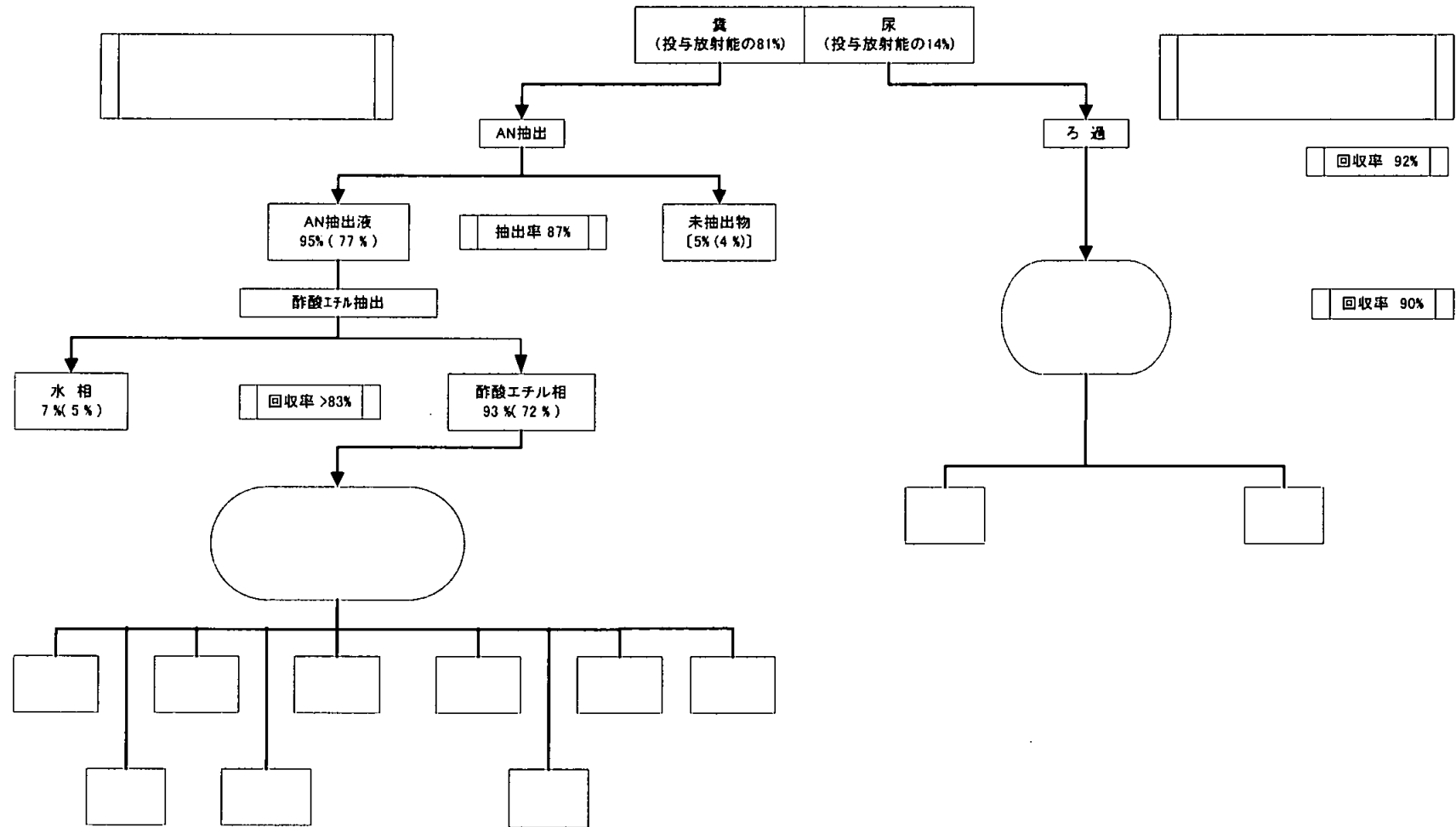


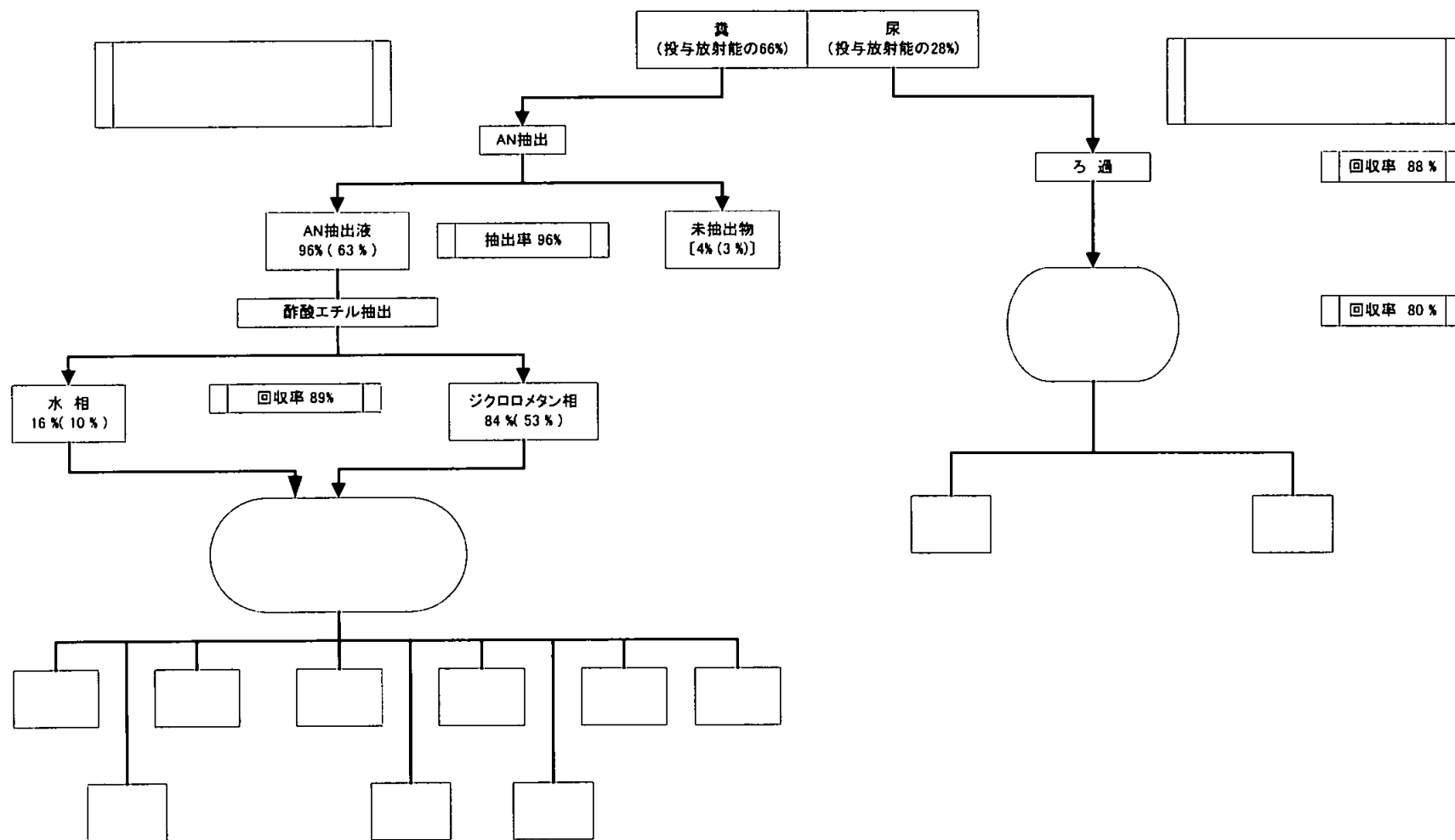
図 IX-1-4-3 [14C]メトコナゾールを雌ラットに単回投与(2mg/kg)したときの
単離・同定 ()内は投与放射能に対する割合%(資料3-1-⑥)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。



図IX-1-4-4 [¹⁴C]KNF-474mを雄ラットに単回投与(164mg/kg)したときの単離・同定
 ()内は投与放射能に対する割合(%) / []内は申請者が計算(資料3-1-②)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。



図IX-1-4-5 [¹⁴C]KNF-474mを雌ラットに単回投与(164mg/kg)したときの単離・同定
 ()内は投与放射能に対する割合(%)/[]内申請者が計算(3-1-②)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-1-4-6 ラットにおける推定代謝マップ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 2. 植物体内運命に関する試験

IX. 2. 1. コムギにおける代謝試験

(資料 3-2-①)

試験機関 (財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 2002 年

供試標識化合物：

化学名；(1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*) -5-(4-クロロペンゾイル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-イル)メチルシクロペンタノール

	標識体([¹⁴ C]メトコナゾール)	標識体([¹⁴ C]メトコナゾール)
製造元	Amersham Pharmacia Biotech	第一化学薬品株式会社
ロット番号		
比放射能		
放射化学的純度		
シス：トランス異性体比		
化学構造式		
* : ¹⁴ C 標識位置		

標識位置の選定理由；

供試植物：コムギ (*Triticum aestivum* L.) (品種：農林 61 号)

栽培条件：

1/2000a の畑作用ワグネルポットに土壌を充填、2000 年 11 月 13 日にコムギ種子を播種し、野外で予備栽培後、処理日までファイトトロン内で栽培した。ファイトトロン設定条件は、コムギの慣行栽培期における東京地方の月間平均気温、月間相対湿度を基準として設定した。光源は自然太陽光。灌水は 1 日 1 回自動給水。

方 法：

施用液の調製； [¹⁴C]KNF-474m を少量のアセトンに溶解し、これに製剤白試料を添加後、水を加えて 1000 倍に希釈し、施用液とした。

施用時期；処理回数は 1 回 (2001 年 4 月 17 日)、生育ステージは出穂期。

施用法；コムギ全面への手動散布。

処理量の設定根拠；予定最大慣行施用量 (9%乳剤 1000 倍×1500L/ha) 相当の 135g a. i. /ha。

試料採取時期及び調製方法；施用直後と登熟期に地表から数 cm の位置でコムギの茎を切断し茎葉

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

部を収穫した。登熟期の地上部は、麦わら（葉、枝梗を含む）、籾殻と穀粒に分けた。各時点で同一試験区から得られた試料は各部位毎に混合し分析試料とした。

分析方法；

1)

2)

3)

4)

5) 添加回収

未処理コムギの茎葉または穀粒に既知量の 標識体を添加し(添加濃度約 1.0 mg eq./kg)、上記の方法で抽出、固相抽出、HPLC 分析を行い(ただし、穀粒は固相抽出を行わず)、回収率を測定した。回収率は、穀粒で 95.8% ()、茎葉抽出液で 99.1% () であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-1-1 麦わら、籾殻あるいは茎葉部の抽出・分析と特徴付け操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-1-2 穀粒の抽出・分析と特徴付け操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-1-3 麦わら抽出 SPE メタノール画分の特徴付け操作

図IX-2-1-4 麦わら・籾殻抽出残渣の特徴付け操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結 果

- 1) 標識体及び 標識体の散布直後及び登熟期(56日後)におけるコムギ植物体中の TRR レベルを表IX-2-1-1に示す。

標識位置による顕著な差は認められなかった。穀粒中の TRR レベルは 標識体では他の分析部位と比較して極めて低く、 標識体代謝物は可食部へほとんど移行しなかった。一方、 標識体由来の代謝物は若干可食部へ移行した。

表IX-2-1-1 コムギ中の TRR レベル

	処理直後 (mg eq./kg)		登熟期(56日後) (mg eq./kg)	
	標識体処理	標識体処理	標識体処理	標識体処理
茎葉または麦わら	3.0	2.8	8.8	6.3
籾 殻	—	—	4.3	3.0
穀 粒	—	—	0.017	0.14

- 2) 各試料中の放射性残留物の による初期抽出率は、茎葉及び麦わらでは比較的高く (TRR の80%以上)、籾殻ではやや低く (TRR の約56%) (表IX-2-1-2~3参照)、穀粒では極めて低かった (標識体及び 標識体処理でそれぞれ TRR の約8%及び2%) (表IX-2-1-4参照)。 標識体処理の穀粒中の放射性残留物は、水を用いた追加抽出により TRR の約86%が抽出された。
- 3) 標識体処理の穀粒 () からは、主要代謝物として (TRR の約64%) と (TRR の約17%)が検出された。
- 4) 茎葉または麦わら及び籾殻中から TRR の10%を越えて検出された放射性成分は未代謝のメトコナゾールのみであった。その他に と を含む数種類の遊離代謝物 (いずれも痕跡量) 及び5種類以上の抱合体代謝物 (最大で TRR の約6%) が検出された。これらの代謝物は 標識体と 標識体で共通であった。抱合体代謝物は では加水分解されなかったが、 により と を含む4種類のアグリコンが検出された (最大で TRR の約7~8%)。
- 5) 穀粒を 抽出または 抽出を行った後に固形残渣中に残る放射性残留物について酵素 (α -アミラーゼとプロテアーゼ) で特徴付けを行った結果、 標識体処理穀粒中の抽出不能残渣はタンパク質、デンプンを主体とする植物成分に取り込まれたものであると推定された。一方、 標識体処理穀粒試料では が残留していたものの、それらを除いた残りの残留物は、 標識体同様植物成分に取り込まれていると推定された。
- 6) 麦わらと籾殻を で抽出後の固形物残渣中の放射性残留物は 標識体及び 標識体ともに、1/2程度が で抽出され、その大部分は未代謝のメトコナゾールであった。 後の放射性残留物は、いずれも大部分がリグニンとヘミセルロース画分に分布していて、ペクチンとセルロース画分中の放射能は少なかった。即ち、いずれの標識体でも放射性残留物の一部は、麦わら、籾殻の植物体構成成分に取り込まれていると推定された。
- 7) コムギでは が穀粒に移行する現象が認められた。しかし、それ以外の分析部位では、メトコナゾールのコムギにおける代謝運命に関する標識体間の差は顕著には認められなかった。また、メトコナゾールのトランス体とシス体の異性体間の変換は起きなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

- 8) コムギ全体としてのバランスを表IX-2-1-5に示した。 標識体及び 標識体ともに、麦わらに 94~95%、籾殻は残り 5~6%の残留であった。穀粒の残留は 標識体で、TRRの0.05%、 標識体では0.01%以下と極めて低かった。
- 9) コムギにおけるメトコナゾールの代謝の経路は図IX-2-1-5のように想定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-1-2 [^{14}C]メトコナゾール処理コムギ放射成分分布

Fraction	[^{14}C]KNF-474m					
	処理直後/茎葉部		登熟期/麦わら		登熟期/粃殻	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
初期抽出	2.9258	98.43	7.3654	83.19	2.4053	56.59
Fr-11(KNF-474m)	2.8600	96.27	3.8703	43.65	1.1051	25.97
抽出残渣	0.0469	1.57	1.4696	16.81	1.8525	43.41
全回収量	2.9727	100.00	8.8350	100.00	4.2578	100.00

—: not analyzed

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-1-3 [^{14}C]メトコナゾール処理コムギ放射成分分布

Fraction	^{14}C KNF-474m					
	処理直後/茎葉部		登熟期/麦わら		登熟期/籾殻	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
初期抽出	2.7662	98.45	5.0853	80.25	1.6733	56.36
-						
Fr-11(KNF-474m)	2.6731	95.14	2.3591	37.33	0.6885	23.24
抽出残渣	0.0436	1.55	1.2137	19.75	1.2950	43.64
全回収量	2.8097	100.00	6.2990	100.00	2.9683	100.00
- not analyzed						

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-1-4 穀粒の放射成分（登熟期）

Fraction	[^{14}C]KNF-474m		[^{14}C]KNF-474m	
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
抽出残渣	0.0153	91.70	0.0159	11.67
全回収率	0.0169	100.00	0.1366	100.00

—: not analyzed

表IX-2-1-5 コムギ代謝バランス（登熟期）

部位	Fraction	[^{14}C]KNF-474m		[^{14}C]KNF-474m	
		mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
麦 わ ら	Fr-11(KNF-474m)	3.3981	41.10	2.0611	35.42
	抽出残渣	1.2903	15.61	1.0604	18.22
	麦わら回収量	7.7571	93.83	5.5034	94.58
糊 殻	Fr-11(KNF-474m)	0.1324	1.60	0.0725	1.25
	抽出残渣	0.2219	2.68	0.1364	2.34
	糊殻回収量	0.5101	6.17	0.3126	5.37
穀 粒	抽出残渣	0.0000	0.00	0.0003	0.01
	穀粒回収量	0.0000	0.00	0.0029	0.05
	コムギ全体の回収量	8.2673	100.00	5.8189	100.00

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-1-5 コムギでの想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 2. 2. コムギにおける代謝試験 (参考 概要)

(資料 3-2-②③)

試験機関 Sittingbourne Research Centre

[GLP] 対応

報告書作成年 1991年

供試標識化合物:

化学名 ; (1RS, 5RS; 1RS, 5SR) -5-(4-クロロペンチル) -2, 2-ジメチル-1-(1#-1, 2, 4-トリアゾール-1-イルメチル) シクロペンタノール

	標識体 ([^{14}C] KNF-474c)	標識体 ([^{14}C] メトコナゾール)
資料 No.	3-2-②	3-2-③
製造元	Sittingbourne Research Centre	Sittingbourne Research Centre
試料番号		
比放射能		
放射化学的純度		
シス : トランス異性体比		
化学構造式		
* : ^{14}C 標識位置 # : ^{13}C 安定同位体含有		

標識位置の選定理由 ;

供試植物 : 冬コムギ (品種 : Avalon)

栽培条件 : Sittingbourne Research Centre 内圃場 1m²区画 散布前後のみポリエチレンシートで周囲植物と分離

方法 :

施用液の調製 ; 各々の標識体を乳剤として製剤化し、施用直前に水で 40mL に希釈した (1mg/mL)。

施用法 ; ガス駆動の散布銃で散布処理。

施用量 ; 標識体が 370g/ha、 標識体が 360g/ha。400L/ha 相当。

施用時期および収穫時期 ;

	標識体 ([^{14}C] KNF-474c)	標識体 ([^{14}C] メトコナゾール)
資料 No.	3-2-②	3-2-③
処理日	1988年6月2日	1989年6月1日
生育段階	GS57-59 (60) 3/4 開花期と開花完了の間	
収穫日	1988年8月15日	1989年8月1日

試料採取 ; 穂をはさみで切り取り、脱穀し穀粒と稃殻に分けた。穀粒はさらに粉状に粉碎した。わらはは地表のすぐ上で切り取り、穀粒と一緒に粉碎した。

試料の採取は収穫期のみで、処理直後は採取していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

分析方法；

結果：

1) 収穫時の放射性総残留物

	mg eq. /kg (TRR に対する%)	
	標識体	標識体
麦わら (籾殻含む)	6.33 (93)	5.88 (99)
穀粒	0.66 (7)	0.074 (1)
施用放射能に対する回収率 (%)	31	28

2) 標識体処理の穀粒の分析から、代謝生成物は 0.46 mg eq. /kg と 0.16 mg eq. /kg であった。この2つの代謝物はそれ自体の分子量に換算するとそれぞれ mg/kg および mg /kg に相当する。

3) 麦わら中から 10%を超えて検出された放射性成分は未代謝の親化合物 (標識体で 1.38 mg eq. /kg (22%)、 標識体で 2.01 mg eq. /kg (34%)) だけであった。そのほか、

5) 推定代謝経路を図IX-2-2-3 に示す。

この代謝経路は、日本国内で実施したコムギの代謝試験 (資料 No. 3-2-①) の代謝経路とほぼ同じであり、再現性のある結果である。資料 3-2-①と異なる点は、この試験では が 検出されている点である。しかし、国内で実施した作物残留試験では および ともに定量限界以下であった (抄録V-2 頁参照)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-2-1 [14C]KNF-474c処理 麦わらの分析・特徴付け

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-2-2 【-14C】KNF-474m処理麦わらの分析・特徴付け

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-2-3 メトコナゾールのコムギにおける推定代謝運命経路（英国での試験）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 2. 3. ミカンにおける代謝試験

(資料 3-3-①)

試験機関 (財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 2002 年

供試標識化合物：

化学名；(1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*) -5-(4-クロロベンジル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-イルメチル)

シクロペンタノール

	標識体([¹⁴ C]メトコナノール)	標識体([¹⁴ C]メトコナノール)
製造元	Amersham Pharmacia Biotech	第一化学薬品株式会社
ロット番号		
比放射能		
放射化学的純度		
シス：トランス異性体比		
化学構造式		
*： ¹⁴ C 標識位置		

標識位置の選定理由；

供試植物：温州ミカン (*C. unshiu* Marcovitch) (品種：早生温州)

ミカン樹の高さは約 70~80cm、樹冠の直径は約 50~80cm。

栽培条件：

市販品 8 個体を園芸業者から購入。購入時、10 個以上の果実を着生していた。購入時の培土及び栽培容器 (直径約 28cm のプラスチックポット) のまま以降の栽培に供した。

ミカン樹は、屋外条件で予備栽培後、2001 年 9 月 5 日にファイトロン内に移し 10 月 10 日迄馴化栽培を行った。

ファイトロン設定条件は、ミカンの慣行栽培期での静岡地方の月間平均気温、月間相対湿度を基準として設定した。光源は自然太陽光。灌水は 1 日 1~2 回給水。

方法：

施用液の調製； [¹⁴C]KNF-474m を少量のメタノールに溶解し、これに製剤白試料の水希釈液を加えて施用液を調製。

施用時期；処理回数は 1 回 (2001 年 10 月 10 日)、生育ステージは果実収穫期の約 2 ヶ月前 (果実肥大期)。

施用法； 1 個体ずつ円筒形散布容器に入れ噴霧器でミカン全面に手動散布を行った。他に、各標

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

識体の対照区(非処理)用に1ポット準備し、非処置のままとした。

処理量の設定根拠;予定最大慣行施用量(5%顆粒水和剤 1000倍×400L/10a)相当の200 g a. i. /ha。
試料採取及び混成試料の調製;各標識体処理後の果実及び葉試料は、処理直後(葉液乾燥後)、処理28日後、果実成熟期(処理56日後)の3時点で採取した。各標識体ごとに2連の混成試料を作成。また、非処理対照として、成熟期の果実及び葉試料を採取し1点の混成試料とした。調製した混成試料は、直ちに生重量を測定後、採取日に表面洗浄を行った。

分析方法;処理手順詳細は図IX-2-3-1、IX-2-3-2参照。

1)表面洗浄;果実は、メタノールで表面を洗浄し、その一部はLSC分析を行い、HPLCによる定量分析に供した。

葉試料もメタノールで洗浄し、果実と同様に処理した。

2)抽出及び放射性総残留量(TRR)の測定

果皮、果肉または葉試料の一部をとり、メタノール:水(7:3あるいは1:1、v/v)で抽出しLSC測定を行うとともに、固形物残渣は乾燥し、燃焼・LSC測定を行った。果実は表面洗浄液と果皮及び果肉のそれぞれの抽出液と残渣中の残留量を合わせて各試料の放射性総残留物(TRR)を算出した。また、葉は表面洗浄液と組織抽出液及び抽出残渣からTRRを算出した。

3)

4)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-3-1 [14C] メトコナゾールを処理した温州ミカン果実または葉の抽出操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-3-2

の特徴付け操作

図IX-2-3-3

特徴付け

中の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結 果

1) 果実における¹⁴Cメトコナゾールの浸透移行と代謝

①放射性残留物の分布 (表IX-2-3-1 参照)

標識体及び 標識体におけるミカン果実全体の TRR 濃度は、処理直後から収穫期までほとんど変化しなかった。表面洗浄液中から回収される放射能の比率は経時的に低下した (及び 標識体それぞれ処理直後で TRR の 81.8%及び 84.0%、施用 56 日後 11.5%及び 15.1%)。一方、果皮中の放射性残留物は経時的に増加した (及び 標識体それぞれ処理直後で TRR の 18.2%及び 15.2%、施用 56 日後 86.9%及び 81.7%)。果肉中ではいずれの時点でも極めて低く、処理 56 日後でも TRR の 1.6%及び 3.1%であった。

即ち、ミカン果実表面に処理された¹⁴Cメトコナゾールはミカン果実組織中に速やかに浸透するが、大部分は果皮に存在し、果肉にはほとんど移行しなかった。

②果皮及び果肉中の放射性残留物の抽出

標識体及び 標識体ともに果皮中の放射性残留物は、効率よく抽出され、抽出後の果皮固形物残渣中の放射能レベルは TRR の 10%未満であるため、それ以上の検討は行わなかった。果肉中の放射性残留物の抽出効率も高かったが、量的には無視できるレベルであった。

③抽出液の 分析

標識体及び 標識体ともに、処理直後の果皮抽出液中の放射性残留物 (TRR の 17.6%及び 15.1%) は大部分 (TRR の 16.8%及び 14.7%) が 抽出液画分から回収された。処理 28 日と 56 日後では、果皮中の放射性残留物の増加に伴い 画分と 画分中の放射性残留物がいずれも増加したが、 液画分は無視しうるレベルであった。ただし、 分析に供した初期放射能に対する比率では、 液画分の比率が増加した。

以上のことから、ミカン果実に処理された¹⁴Cメトコナゾールは、果皮でより高極性の代謝物に変換されること、ミカン果実 (果皮) 中での代謝では、両標識体間に差がないと考えられた。果肉中の 分析では、 液の比率が高く、特に 標識体で顕著であったが、果肉中の放射性残留物濃度が低く (56 日後でそれぞれ TRR の 1.5%及び 3.0%)、これ以上の解析を行わなかった。

④放射性成分の定量 (表IX-2-3-2~3 参照)

標識体及び 標識体ともに、表面洗浄液中の放射性成分はいずれの時点でも大部分が未変化の¹⁴Cメトコナゾールであった。その量は処理直後で、 標識体 TRR の 77.5%、 標識体で TRR の 78.4%であったが、56 日後ではそれぞれ TRR の 6%及び 8.3%まで減少した。表面洗浄液からはその他の顕著な代謝物は認められなかった。

果皮抽出液では、処理直後で未変化の¹⁴Cメトコナゾールが 標識体で TRR の 17%、 標識体で TRR の 14.1%であったが、表面から果皮への浸透に伴い、56 日後では 標識体が TRR の 43%、 標識体が 39%まで増加した。また、 画分 5~7 に高極性と考えられる数種類の放射性ピークが増加した。 画分 6 は 56 日後で 及び 標識体それぞれ TRR の 20.1%、 19.3%であったが、当画分は少なくとも 5 種類の成分からなっており、個々の量はいずれも TRR の 10%未満であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

これらの極性代謝物は、
の結果、 と を含む4種類の代謝物をアグリコンとする糖抱合体であった(表IX-2-2-7)。このうち、
は TRR の 8.0~8.6%、
は TRR の 3.0~3.4%存在し、メトコナゾールの
代謝物と推定された。その他、
と保持時間が一致するピークを含む数種類のピークが認められたが、いずれも TRR の 10%未満であった。

ミカン果実における代謝運命は両標識体間で差がなかった。また、トランス体とシス体の比に
顕著な変動は認められず、異性体間の変換は無いと考えられた。

2) 葉における浸透移行と代謝 (表IX-2-3-4~7)

ミカンの葉に処理された¹⁴Cメトコナゾールは、葉組織中に徐々に浸透し、その浸透速度は果実より遅かった。その代謝挙動はより高極性の代謝物に変換されたが、葉に特有の有意な代謝物は存在しないことが示唆された。

葉組織全体(表面洗浄液と抽出液の合計)の¹⁴Cメトコナゾールの残留率の経時的推移は、果実とほぼ同じであり、果実と葉における¹⁴Cメトコナゾールの代謝速度はほぼ同じと考えられた。また、両標識体間で代謝運命に差がないことが分かった。トランス体とシス体の比に顕著な変動は認められず、異性体間の変換はないことが明らかになった。

即ち、ミカンの代謝運命では果実と葉においてほとんど差がないことが明らかとなった。

3) メトコナゾールのミカンにおける代謝運命 (図IX-2-3-4)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-1 [14C]メトコナゾール処理カンキツの放射成分分布

Fraction	[14C]KNF-474m					
	0日(処理直後)		28日		56日	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
表面洗浄液	0.0843	81.83	0.0195	19.85	0.0131	11.53
果皮残留量	0.0188	18.16	0.0765	78.68	0.0978	86.89
果皮抽出液	0.0182	17.56	0.0718	73.83	0.0902	80.15
HPLC分析へ(B+C)	0.0188	18.18	0.0696	71.56	0.0877	77.88
固形物抽出残渣	0.0006	0.60	0.0047	4.86	0.0076	6.76
果肉残留量	0.0000	0.01	0.0014	1.47	0.0018	1.58
果肉抽出液	<0.0002	<0.17	0.0013	1.32	0.0017	1.48
固形物抽出残渣	0.0000	0.01	0.0001	0.15	0.0001	0.10
総放射性残留量	0.1031	100.00	0.0974	100.00	0.1127	100.00

Fraction	[14C]KNF-474m					
	0日(処理直後)		28日		56日	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
表面洗浄液	0.1053	83.95	0.0181	18.15	0.0108	15.24
果皮残留量	0.0202	15.74	0.0790	79.87	0.0586	81.66
果皮抽出液	0.0193	15.07	0.0738	74.66	0.0543	75.64
固形物抽出残渣	0.0009	0.67	0.0052	5.21	0.0043	6.02
果肉残留量	0.0004	0.31	0.0020	1.98	0.0022	3.10
果肉抽出液	0.0003	0.26	0.0019	1.88	0.0022	3.01
固形物抽出残渣	0.0001	0.04	0.0001	0.10	0.0001	0.09
総放射性残留量	0.1259	100.00	0.0991	100.00	0.0716	100.00

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-2 [-¹⁴C] メトコナゾール処理カンキツのHPLC分析結果

Fr. No.	ID	表面洗淨					
		Day-0		Day-28		Day-56	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
11	KNF-474m	0.0796	77.21	0.0136	13.75	0.0068	5.95
全回収量		0.0843	81.83	0.0195	19.85	0.0131	11.53
果皮抽出							
11	KNF-474m	0.0176	16.97	0.0394	40.31	0.0485	42.98
全回収量		0.0188	18.18	0.0696	71.56	0.0877	77.86
合計							
11	KNF-474m	0.0971	94.18	0.0530	54.06	0.0553	48.93
全回収量		0.1031	100.01	0.0891	91.40	0.1008	89.41

N.A.: not analyzed

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-3 [^{14}C] メトコナゾール処理カンキツの HPLC 分析結果

Fr. No.	ID	表面洗淨					
		Day-0		Day-28		Day-56	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
11	KNF-474m	0.0978	78.04	0.0123	12.23	0.0059	8.33
全回収量		0.1053	83.95	0.0181	18.15	0.0108	15.24
果皮抽出							
11	KNF-474m	0.0180	14.08	0.0414	41.84	0.0280	38.92
全回収量		0.0195	15.22	0.0699	70.79	0.0511	71.22
合 計							
11	KNF-474m	0.1158	92.12	0.0537	54.06	0.0338	47.25
全回収量		0.1248	99.18	0.0881	88.94	0.0619	86.46

N.A.: not analyzed

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-4 [¹⁴C] メトコナゾール処理カンキツ葉の放射成分分布

Fraction	[¹⁴ C]KNF-474m					
	0日(処理直後)		28日後		56日後	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
表面洗淨液	3.3921	80.33	1.8139	51.80	1.4132	45.88
葉残留量	0.8306	19.67	1.6856	48.20	1.6771	54.12
葉抽出液	0.7964	18.86	1.5094	43.16	1.4655	47.34
固形物抽出残渣	0.0342	0.81	0.1762	5.04	0.2116	6.78
総放射性残留量	4.2227	100.00	3.4995	100.00	3.0903	100.00

Fraction	[¹⁴ C]KNF-474m					
	0日(処理直後)		28日後		56日後	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
表面洗淨	3.9666	82.03	2.0409	55.75	1.2937	39.10
葉残留量	0.8706	17.96	1.6196	44.25	2.0138	60.90
葉抽出液	0.8296	17.12	1.3159	35.95	1.6974	51.34
固形物抽出残渣	0.0410	0.85	0.3037	8.30	0.3163	9.55
総放射性残留量	4.8372	100.00	3.6605	100.00	3.3074	100.00

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-5 [¹⁴C] メトコナゾール処理カンキツ葉の HPLC 分析結果

Fr. No.	ID	表面洗淨					
		Day-0		Day-28		Day-56	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
11	KNF-474m	3.1682	75.02	1.1828	33.74	0.8154	26.51
全回収量		3.3921	80.33	1.8139	51.80	1.4132	45.88
葉抽出							
11	KNF-474m	0.7558	17.90	0.8121	23.16	0.6647	21.56
全回収量		0.8212	19.45	1.4225	40.63	1.3387	43.36
合計							
11	KNF-474m	3.9241	92.92	1.9950	56.91	1.4801	48.07
全回収量		4.2134	99.78	3.2364	92.43	2.7519	89.24

N.A.: not analyzed

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-6 [¹⁴C] メトコナゾール処理カンキツ葉の HPLC 分析結果

Fr. No.	ID	表面洗淨					
		Day-0		Day-28		Day-56	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
11	KNF-474m	3.7352	77.24	1.3334	36.42	0.7521	22.74
全回収量		3.9666	82.03	2.0409	55.75	1.2937	39.10
葉抽出							
11	KNF-474m	0.8462	17.47	0.6561	17.92	0.7437	22.48
全回収量		0.9105	18.79	1.2331	33.69	1.4904	45.07
合計							
11	KNF-474m	4.5815	94.71	1.9895	54.33	1.4958	45.23
全回収量		4.8770	100.82	3.2740	89.44	2.7840	84.18

N.A.: not analyzed

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-3-7 果皮または葉抽出液の

面分の酸加水分解

果 皮 試 料 (56日後)					
Fr. No.	ID	[^{-14}C]KNF-474m処理		[^{-14}C]KNF-474m処理	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
全回収量		0.0236	22.31	0.0148	21.95

葉 試 料 (56日後)					
Fr. No.	ID	[^{-14}C]KNF-474m処理		[^{-14}C]KNF-474m処理	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
全回収量		0.4897	11.78	0.4216	11.80

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-3-4 カンキツの想定代謝経路

IX. 2. 4. ミカンにおける代謝運命予備試験要約

(資料 3-3-②)

試験期間 (財)残留農薬研究所

報告書作成年 2002 年

目的

KNF-474mの適用作物の一つである温州ミカンにおける代謝運命試験の本試験の方法を確立するとともに代謝生成物について予備的検討を行う。

材料と方法

市販の着色期の温州ミカン樹(*C. unshiu* Marcovitch)5 個体の果実と葉面に2種類の¹⁴C標識 KNF-474m (標識体、 標識体:いずれも本試験と同一ロット)を滴下処理し、ガラス温室内で栽培した。果実試料は処理直後と収穫期(処理 21 日後)に収穫し、分析した。また、貯蔵病害に対する考慮から、収穫果実試料の一部を 28 日間常温で保存後(処理 49 日後)に分析した。葉試料は処理直後、果実収穫期(処理 21 日後)と 49 日後に採取し、分析した。

果実はメタノールで表面洗浄を行った後、果皮および果肉に分けて抽出し、それらにおける放射能分布と果実中の放射性総残留物(TRR)のレベルを測定した。葉試料も同様に表面洗浄を行った後、組織を抽出して TRR レベルを測定した。果実と葉の表面洗浄液、果皮と葉の抽出液は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析して主要放射性成分のレベルを測定し、放射性代謝物の特性に関する予備検討を行った。

結果・考察

- 1) 処理直後(0日)におけるミカン果実の TRR レベルは、 標識体(標識体)で 0.26 mg eq./kg、 標識体(標識体)で 0.28mg eq./kg であった。TRR レベルは、21 日後では大きな増減は認められなかったが、常温保存後の 49 日後ではやや増加した(標識体: 0.36 mg eq./kg、 標識体: 0.39 mg eq./kg)。この原因はおそらく保存中の水分損失である。葉の TRR レベルは処理直後、 標識体は 8.0 mg eq./kg、 標識体は 12.4 mg eq./kg であり、21 日後では大きな増減は認められなかったが、処理 49 日後には若干減少した(標識体: 6.4 mg eq./kg、 標識体: 7.4 mg eq./kg)。
- 2) 果実および葉の表面に処理した¹⁴C KNF-474mの各組織中への浸透移行速度は比較的遅かった。果実では処理 49 日後でも TRR の 46~49%が表面洗浄液から回収された。なお、浸透移行した放射能の大部分は果皮に存在しており(49 日後で TRR の 49~53%)、果肉から検出される放射能は 49 日後でも TRR の 1%程度にすぎなかった。葉における浸透移行性は果実よりもさらに低く、処理 49 日後で TRR の 59~67%が表面洗浄液中に回収された。
- 3) 植物体表面および組織中の主放射性成分は末代謝の¹⁴C KNF-474m であった。また、数種類の微量代謝物が検出され、そのうちの 3 種類は と HPLC 保持時間が一致した(処理 49 日後の存在量はいずれも TRR2%以下)。その他には、保持時間約 2.5~5 分に流出する高極性成分の比率が経時的に増加し、特に葉で顕著に認められた。
- 4) 葉の抽出液試料を用い、HPLC 分析条件を改良して高極性成分を分離した結果、複数の成分で

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

構成されていること、個々の存在量は低いこと（TRR2%またはそれ以下）が分かった。また、高極性成分を 処理による加水分解処理に供したが、加水分解性は顕著には認められず、少なくともこれらの処理で加水分解されうる のような抱合体ではないと推定された。

- 5) 上記のミカンの果実および葉における代謝運命に関し、 標識体と 標識体の間で差は認められなかった。また、 標識体と 標識体のそれぞれのトランス体とシス体の比に顕著な変動は認められず、異性体間の変換は起きないことも明らかとなった。

結論

- 1) ミカン果実の TRR レベルは、処理直後から 21 日後までは大きな増減は認められなかったが、常温保存後の 49 日後ではおそらく水分消失のために、やや増加した。一方、葉の TTR レベルには若干減少傾向が認められた。
- 2) [¹⁴C]KNF-474m の果実中への浸透移行速度は比較的遅かった。浸透移行した放射能の大部分は果皮に存在しており、果肉から検出される放射能は 49 日後でも痕跡量であった。葉における浸透移行性は果実よりさらに低かった。
- 3) 植物体表面および組織中の主放射性成分は未代謝の [¹⁴C]KNF-474m であった。また、参照化合物 と一致する代謝物が認められたが生成量は少なかった。その他に、高極性成分の比率が経時的に増加し、特に葉で顕著に認められた。
- 4) 高極性成分について予備的に特徴づけを行った結果、複数の成分で構成されており、個々の存在量は低いこと、少なくとも 処理や 処理で加水分解されうる のような抱合体ではないことがわかった。
- 5) ミカン果実および葉における代謝運命に関し、 標識体と 標識体の間で差は認められなかった。また、 標識体と 標識体のそれぞれのトランス体とシス体の比に顕著な変動は認められず、異性体間の変換は起きなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 2. 5. なたねにおける代謝試験

(資料 3-7-①②)

試験機関 アメリカサイアミットカンパニー

[GLP 対応]

報告書作成年 1997 年

試験番号 MET97-015、MET97-016

供試標識化合物：

化学名； (1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*)-5-(4-クロロペンチル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-イルメチル)シクロペンタノール

	標識体 ([¹³ C] -メトコナゾール)	標識体 ([¹⁴ C] -メトコナゾール)	標識体 ([¹⁴ C] -メトコナゾール)
比放射能			
化学的純度			
放射化学的純度			
シス：トランス 異性体比			
化学構造式 △：標識位置(¹³ C) +：標識位置(¹⁴ C) (シスの構造を示す)			

非標識体の純度；97.4% (シス：トランス異性体比)

標識位置の選定理由；

た。

供試植物：

なたね (品種：Legend (標識体の試験) 及び 45A71 (標識体の試験))

栽培条件； カナダ・マニトバ州ミントの試験圃場に各 1.22 m×4.27 m の標識体処理区及び対照区を設置し、1996 年 5 月 24 日 (標識体の試験) 及び 1996 年 6 月 14 日 (標識体の試験) になたね種子を播種、慣行法に従って管理を行った。

方法：

施用液の調製；各標識体に非標識メトコナゾールと [¹³C]-メトコナゾールを混合し、それぞれの被験物質に n-アミルアルコールと界面活性剤、水を加えて 140.67 mg/219 ml に調製したものを施用液とした。

施用法； なたね全面への手動散布。

投下薬量； 設定の投下薬量は 270 g ai/ha 相当、散布液量は 42l L/ha 相当とした。これは標準的なメトコナゾール施用量(約 90 g ai/ha)の 3 倍量に相当する。実際の散布 l

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

回あたりの投下薬量は 標識体試験区で 264.5 g ai/ha 相当、 標識体試験区で 263.5 g ai/ha 相当であった。

施用時期； 施用回数は2回（ 標識体処理：1996年7月18日及び8月1日、 標識体処理：1996年8月2日及び8月16日）、1回目散布時の生育ステージはいずれの試験においても開花初期であった。

試料採取時期及び調製方法；施用直後及び1回目散布の14日後、28日後、42日後に区内から無作為に5株を選抜し茎葉部のサンプルとした。また42日後には、区内の残りすべての植物を刈り取り、自然乾燥させた後に種子と莢とに分けた（ 標識体処理1回目散布の58日後、 標識体処理1回目散布の64日後）。

分析方法；

総残留放射能 (TRR) の測定

ドライアイス中で粉碎した茎葉部、莢、種子を燃焼処理し、捕捉された ^{14}C 量を液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定することで各試料中の TRR を算出した。

放射性化合物の抽出

図IX-2-5-1~6 に示す方法で抽出操作を行った。ただし、残渣の放射能が TRR の10%以下となった時点で抽出工程は終了とし、以下の工程は実施しなかった。抽出液の放射能は LSC を用いて測定を行い、さらに代謝物の特徴づけのために高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた紫外線検出と放射活性検出、及びエレクトロスプレー質量分析を行った。固形残渣の放射能は TRR の測定方法と同様に燃焼処理後に LSC を用いて求めた。

グルコース抱合体の酵素加水分解

質量分析によって確認されたグルコース抱合体は、 β -グルコシダーゼによって加水分解を行い、HPLC を用いてそのアグリコンを解析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図 IX-2-5-1 茎葉部から
の放射能の抽出(標識体)

図 IX-2-5-2 莢からの放射
能の抽出(標識体)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-5-3 種子からの放射
能の抽出（標識体）

図IX-2-5-4 茎葉部からの放
射能の抽出（標識体）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図 IX-2-5-5 莢からの放射
能の抽出（標識体）

図 IX-2-5-6 種子からの放射
能の抽出（標識体）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

吸収・移行・分布；経時的にサンプリングを行った茎葉部及び刈り取り後に乾燥させて得た莢及び種子に含まれる総残留放射能(TRR)を表IX-2-5-1及び表IX-2-5-2に示す。

標識体を処理した茎葉部においては1回目散布28日後の濃度がいずれも約9 ppmであったのに対し、42日後では20.35 ppmに増加した。この増加は成熟植物における水の消失に起因する可能性が高い。一方、標識体を処理した茎葉部においては1回目散布当日及び14日後の濃度が、10.79 ppm及び14.95 ppmであったのに対し、28日後及び42日後では約6 ppmに減少した。これは植物の生長による希釈によるものと考えられる。

表IX-2-5-1 なたね中の総残留放射能(標識体処理、メトコナゾール当量)

1回目散布後の経過日数	2回目散布後の経過日数	茎葉部 (ppm)	莢 (ppm)	種子 (ppm)
0	-	8.76	N. A.	N. A.
14	0	9.89	N. A.	N. A.
28	14	8.63	N. A.	N. A.
42	28	20.35	N. A.	N. A.
58	44	N. A.	19.62	2.39

N. A. : 該当なし

表IX-2-5-2 なたね中の総残留放射能(標識体処理、メトコナゾール当量)

1回目散布後の経過日数	2回目散布後の経過日数	茎葉部 (ppm)	莢 (ppm)	種子 (ppm)
0	-	10.79	N. A.	N. A.
14	0	14.95	N. A.	N. A.
28	14	5.60	N. A.	N. A.
42	28	5.92	N. A.	N. A.
64	50	N. A.	20.67	1.85

N. A. : 該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-5-3 及びIX-2-5-4 に各抽出段階の抽出された放射エネルギーを示す。

標識体进行处理した場合、1回目散布当日及び14日後の茎葉部では、メタノール抽出によりTRRの93.4～97.7%が抽出された。一方、1回目散布28及び42日後の茎葉部及び莢ではメタノール抽出によってTRRの61.3～75.5%が抽出された。種子においては、TRRの12.1%がヘキサンで抽出され、TRRの約12%がなたね油中に存在することが示された。さらに抽出を進めた結果、いずれの部位においても抽出率は90%以上となった。

標識体进行处理した場合、1回目散布当日及び14日後の茎葉試料では、最初のメタノール抽出によりTRRの95.3～97.7%が抽出された。一方、1回目散布28及び42日後の茎葉部及び莢ではメタノール抽出によってTRRの60.3～74.5%が抽出された。種子においては、TRRの14.4%がヘキサンで抽出されて、TRRの約14%がなたね油中に存在することが示された。さらに抽出を進めた結果、いずれの部位においても抽出率は91%以上となった。

表IX-2-5-3 なたね試料に含まれる放射能の抽出結果（標識体処理）

画分		1回目散布後経過日数					
		0日後	14日後	28日後	42日後	58日後	
		茎葉部	茎葉部	茎葉部	茎葉部	莢	種子
ヘキサン抽出	%TRR	-	-	-	-	-	12.12
	ppm*	-	-	-	-	-	0.29
メタノール抽出	%TRR	97.67	93.38	75.51	61.28	74.19	35.97
	ppm*	8.56	9.24	6.52	12.47	14.56	0.86
水抽出	%TRR	-	-	-	-	0.28	31.71
	ppm*	-	-	-	-	0.05	0.76
1%酢酸/メタノール抽出	%TRR	1.36	1.87	2.02	19.69	-	-
	ppm*	0.12	0.18	0.17	4.01	-	-
2%塩酸/メタノール抽出	%TRR	0.44	0.80	2.07	2.12	4.32	9.44
	ppm*	0.04	0.08	0.18	0.43	0.85	0.23
ペプシン/メタノール抽出	%TRR	0.33	0.44	0.67	0.83	2.00	4.29
	ppm*	0.03	0.04	0.06	0.17	0.39	0.10
セルラーゼ/メタノール抽出	%TRR	-	-	2.44	1.22	0.38	-
	ppm*	-	-	0.21	0.25	0.07	-
0.5%Triton X-100抽出	%TRR	-	-	0.43	0.27	0.40	-
	ppm*	-	-	0.04	0.05	0.08	-
6N塩酸/メタノール抽出	%TRR	-	-	8.10	8.53	12.07	-
	ppm*	-	-	0.70	1.74	2.37	-
抽出残渣	%TRR	0.20	3.50	8.75	6.07	6.36	6.47
	ppm*	0.02	0.35	0.76	1.24	1.25	0.15

*（申請者注）一部の値は総残留放射能（ppm）及び%TRRから申請者が計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-5-4 なたね試料に含まれる放射能の抽出結果（標識体処理）

画分		1回目散布後経過日数					
		0日後	14日後	28日後	42日後	64日後	
		茎葉部	茎葉部	茎葉部	茎葉部	莢	種子
ヘキサン抽出	%TRR	-	-	-	-	-	14.42
	ppm*	-	-	-	-	-	0.27
メタノール抽出	%TRR	97.73	95.27	73.13	74.50	60.28	34.70
	ppm*	10.55	14.24	4.10	4.41	12.46	0.64
水抽出	%TRR	-	-	-	-	2.74	22.60
	ppm*	-	-	-	-	0.57	0.42
アセトン抽出	%TRR	-	-	-	-	1.89	-
	ppm*	-	-	-	-	0.39	-
2%塩酸/メタノール抽出	%TRR	-	-	5.29	3.80	2.05	18.23
	ppm*	-	-	0.30	0.22	0.42	0.34
ペプシン/メタノール抽出	%TRR	-	-	1.03	0.78	0.63	3.26
	ppm*	-	-	0.06	0.05	0.13	0.06
セルラーゼ/メタノール抽出	%TRR	-	-	1.79	1.11	1.71	-
	ppm*	-	-	0.10	0.07	0.35	-
0.5%Triton X-100 抽出	%TRR	-	-	0.60	0.39	0.23	-
	ppm*	-	-	0.03	0.02	0.05	-
6N 塩酸/メタノール抽出	%TRR	-	-	13.25	16.51	21.21	-
	ppm*	-	-	0.74	0.98	4.38	-
抽出残渣	%TRR	2.27	4.73	4.90	2.91	9.29	6.80
	ppm*	0.24	0.71	0.27	0.17	1.92	0.13

*（申請者注）一部の値は総残留放射能（ppm）及び%TRRから申請者が計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

代謝： 標識体及び 標識体処理後の放射性残留成分とその含量をそれぞれ表IX-2-5-5及びIX-2-5-6に示す。 標識体処理におけるCT-11と 標識体処理におけるCC-11は
であると推定された。

茎葉部：主要残留成分は、未変化のメトコナゾールであった（ 標識体処理：55.3～92.9%TRR（4.77～11.53 ppm）、 標識体処理：60.8～96.0%TRR（3.60～12.75 ppm））。その他の代謝物として、
が認められたが、TRRの10%を超えて残留する単一成分は認められなかった。

莢：未変化のメトコナゾールが主要残留成分であり、 標識体処理ではTRRの16.4%（3.32 ppm）、 標識体処理ではTRRの40.3%（8.32 ppm）を占めた。 標識体処理でメトコナゾールに次いで残留量が多いCT-6、CT-3、CT-4は、それぞれTRRの15.2%（2.99 ppm）、11.6%（2.28 ppm）、11.5%（2.26 ppm）を占めた。その他にTRRの10%を超えて残留する成分は認められなかった。 標識体処理でメトコナゾールに次いで残留量が多い成分は一水酸化物のCC-7であり、TRRの9.5%（1.97 ppm）を占めた。

種子： 標識体処理では、主要残留成分は でありTRRの40.2%（0.96 ppm）を占めた。この他に未変化体のメトコナゾールがTRRの24.1%（0.57 ppm）を占め、その他の成分はTRRの5.4%（0.13 ppm）以下であった。種子のTRRの約12%はヘキサンにより抽出されて（なたね油画分）、主にメトコナゾール（10%TRR、0.25 ppm）を含むことが示された。 標識体処理では、メトコナゾールが主要残留成分であり、TRRの39.0%（0.72 ppm）を占めた。微量成分であるCC-7、CC-9、CC-10及びCC-11は、TRRの7.2～8.3%（0.13～0.15 ppm）であり、その他の成分は、TRRの4.0%（0.07 ppm）以下であった。TRRの約14%は、ヘキサンにより抽出されて、主にメトコナゾールを含むことが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-2-5-5 なたね試料中の放射性残留成分と含量 (標識体)

残留成分		茎葉部								莢		種子	
		0日後*1		14日後*1		28日後*1		42日後*1		58日後*1		58日後*1	
		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
CT-12	トコナール	92.9	8.13	72.8	7.20	55.3	4.77	56.7	11.5	16.4	3.32	24.1	0.57
合計		97.7	8.55	93.4	9.23	90.8	7.84	93.9	19.12	93.0	18.25	93.5	2.23

*1 1回目散布後経過日数
 *2 分離されない多数のピークからなる領域

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 IX-2-5-6 なたね試料中の放射性残留成分と含量 (標識体)

残留成分		茎葉部								莢		種子	
		0 日後 *1		14 日後 *1		28 日後 *1		42 日後 *1		64 日後 *1		64 日後 *1	
		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
CC-12	メコナゾール	96.0	10.36	85.3	12.75	67.8	3.80	60.8	3.60	40.3	8.32	39.0	0.72
合計		97.7	10.55	95.3	14.24	94.5	5.29	96.7	5.72	90.5	18.71	93.2	1.72

*1 1 回目散布後経過日数

*2 分離されない多数のピークからなる領域

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-2-5-7 なたねにおけるメトコナゾールの想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX.3. 土壌中運命に関する試験

IX.3.1. 好氣的土壌中運命に関する試験

(資料3-4-①)

試験機関 財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 2002年

供試標識化合物：

化学名；(1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*)-5-(4-クロロペンチル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-イルメチル)
シクロペンタール

	標識体([¹⁴ C]メトコナゾール)	標識体([¹⁴ C]メトコナゾール)
製造元	Amersham Pharmacia Biotech	第一化学薬品株式会社
ロット番号		
比放射能		
放射化学的純度		
シス:トランス異性体比		
化学構造式		
* : ¹⁴ C 標識位置		

標識位置の選定理由；

供試土壌；軽植土 (LiC) ((社) 福井県植防鯖江試験地で採取)

粘土分 30.4%、主な粘土成分 イライト及びクロライト、pH6.0、有機炭素含量 1.62%、
陽イオン交換容量 14.6(meq./100g dry soil)

風乾後 2mm の篩で篩別後、供試まで約 4℃の冷暗所に保存

深型シャーレに乾土 50g を入れ、最大容水量の 45%となるよう水分を調整し、25±2℃の暗
所条件で 14 日間プレインキュベートした。

方 法：

土壌施用濃度と設定根拠；

土壌施用濃度は、

250 ga. i./ha (乾土当たり 0.25 mg/kg) とした。

施用液の調製；

標識体と 標識体のそれぞれの保存溶液と非放射性被験物質の保存溶液を採り、溶媒を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

留去・乾固・乾燥後アセトンで溶解し、125ppmの施用液を調製した（比放射能：
）。

土壌処理の方法；

マイクロシリンジで土壌施用液 100 μ L を土壌表面数箇所へ添加し、スパーテルでよく混和し調製した。

試料採取時点；

標識体	実験内容	試料採取（分析）時点
標識体	土壌中残留物分析	施用直後、14、35、56、84、112、140、196 日後
	揮発性物質定量	14、35、56、70、84、98、112、126、140、167、196 日後
標識体	土壌中残留物分析	施用直後、14、28、56、84、112、140、196 日後
	揮発性物質定量	14、28、42、56、70、84、98、112、126、140、169、196 日後

土壌微生物バイオマス炭素の測定；

プレインキュベーション終了時（メトコナゾール施用直前）と最終試料採取後（施用 199 日後）の土壌試料を用いてクロロホルム燻蒸法により土壌微生物バイオマス炭素を測定した。この土壌は非放射性メトコナゾールを 0.25 mg/kg dry soil で処理をした。分析は非 GLP でパリノ・サーヴェイ株式会社で行った。実験期間中、土壌バイオマス炭素の低下は認められず、微生物活性は維持されていた。

滅菌土壌試験；

滅菌土壌試料は、非滅菌土壌と同様に調製し、プレインキュベーション期間の最後の 3 日間（処理日を含む）に 3 回、オートクレーブ滅菌（121 $^{\circ}$ C、20 分）を行い、[$-^{14}$ C]メトコナゾールを 0.25 mg/kg dry soil となるよう処理し、通気装置は接続せずに 25 \pm 2 $^{\circ}$ C、暗所条件でインキュベートした（約 2 週間毎に水分調整）。処理 35、70 及び 196 日後に非滅菌土壌と同様に土壌残留物を分析した。

分析方法；

1) 土壌試料の抽出

土壌試料の抽出操作は図 IX-3-1-1 に示す方法で、試料採取日に実施した。

抽出後の土壌残渣は室温で 1 日以上風乾後、一部を放射能測定に供した。

2) 揮発性物質の定量

揮発性物質は 2 連のアルカリ捕集剤で吸収し、放射エネルギーを測定した。また、発生した放射性気体の量を合わせて 14 C-バランスを調査した。

3) HPLC による放射性成分の定量及び代謝物の同定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

4) 抽出後土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け

土壌中残留物試験の代表的試料（標識体；処理 196 日後試料、標識体；処理 84 日後の試料）の抽出後の土壌残渣を用いて図 IX-3-2 に示す手順で腐植抽出法による抽出を行い特徴付けを行った。

図 IX-3-1-1 土壌試料の抽出操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-3-1-2 腐植抽出法による特徴付け操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結 果：

1) 分布 (表IX-3-1-1 及び 2 参照)

- 標識体、 標識体共に経時的にメタノールで抽出可能な放射エネルギーは緩やかに減少し、196 日後にはともに約 29%となった。 標識体での抽出可能な放射エネルギーは 140 日後にアセトン/NH₃抽出液で約 19%、抽出後の土壌残渣 (抽出不能残渣) 中で 40%と最大となり、その後は増加が見られなかった。また、 標識体の捕集 ¹⁴C₂O₂は 196 日間の累積で 2.1%と微量であった。
- 標識体での抽出可能な放射エネルギーはアセトン/NH₃抽出液は初期を除きほぼ一定であった。抽出後の土壌残渣 (抽出不能残渣) 中は 196 日後で 21.2%と最大となった。また、 標識体では捕集 ¹⁴C₂O₂は 196 日間の累積で 20.8%と 標識体と異なる挙動を示し、
無機化されると考えられた。
- 放射能回収率は、 標識体で約 100~105%、 標識体では約 89~102%であった。 標識体で放射能回収率が後半若干低い分析時点 (約 90%)があるが、操作中に CO₂が揮散した可能性が考えられ、実際の無機化率はさらに高かった可能性があった。
- アセトン/NH₃抽出液の固相抽出操作では、 標識体で水溶液中放射能の増加が顕著であった。

2) 代謝分解 (表IX-3-1-2 及び 3 参照)

- [¹⁴C]KNF-474mは、処理後 84 日までは速やかに減少し、処理量の半量以下までは減衰するが、その後減衰は緩やかであり、2 相性の減衰曲線を示した (図IX-3-1-3 参照)。その DT₅₀は、 標識体が 74 日、 標識体が 49 日、平均 62 日であった。
- 主な代謝物としては、
最高 5.3%、
が約 2%検出されたほかは、量的に施用放射能の 10%を越える代謝物はなかった。
- 異性体比 (トランス体/シス体) は、経時的に増加しトランス体に比較してシス体の代謝分解がやや速いと推定された。
- 抽出不能残渣に 標識体で最大 40%、 標識体で 21.2%の放射能が残存していることから、腐植抽出法により特徴付けを行った。両標識体ともに抽出不能残渣中の 42~48%がフミン画分に分布し、 標識体では 標識体に比べアルカリ及びフルボ酸画分に多く分布していた。
- 即ち、土壌中で生成する
代謝物は、土壌有機物 (腐植物質) に強く結合あるいは取り込まれ、フミン画分に分布すると推定される。
代謝物の多くは土壌有機物に結合しているか、フルボ酸画分に分布していることが示唆された。
- 滅菌土壌では、196 日後でも処理量の 90%以上のメトコナゾールが残存していた。このことから、メトコナゾールの土壌中での分解消失は主に微生物活性によ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及び内容の責任は株式会社クレハにある。

まとめ：

畑条件下の鯖江軽埴土壌に処理したメトコナゾールは、2相性の減衰曲線を描き代謝分解された。

図IX-3-1-4に鯖江軽埴土におけるメトコナゾールの想定代謝経路を示す。

以上

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は株式会 レハにある。

表IX-3-1-1 [¹⁴C]メトコナゾール処理土壌の放射能分布

[¹⁴ C]KNF-474m処理								
Fraction	試料採取時期							
	0日	14日	35日	56日	84日	112日	140日	196日
メタノール抽出 %	89.94	65.87	50.23	41.86	36.05	36.84	30.19	28.76
(mg eq./kg soil)	(0.2180)	(0.1597)	(0.1218)	(0.1015)	(0.0874)	(0.0893)	(0.0732)	(0.0697)
アセトン/塩酸抽出 %	11.11	13.98	12.27	13.81	13.54	14.02	13.23	13.14
(mg eq./kg soil)	(0.0269)	(0.0339)	(0.0297)	(0.0335)	(0.0328)	(0.0340)	(0.0321)	(0.0319)
アセトン/NH ₃ 抽出 %	2.71	9.66	12.27	13.69	16.59	17.39	18.70	17.76
(mg eq./kg soil)	(0.0066)	(0.0234)	(0.0297)	(0.0332)	(0.0402)	(0.0422)	(0.0453)	(0.0431)
水抽出画分 %	-	2.98	6.08	7.15	9.52	9.25	10.64	10.01
有機溶媒抽出画分 %	-	6.96	6.59	6.76	7.36	7.48	8.16	8.20
未抽出残渣 %	0.76	13.15	25.33	29.70	35.75	34.65	40.01	39.56
(mg eq./kg soil)	(0.0019)	(0.0319)	(0.0614)	(0.0720)	(0.0867)	(0.0840)	(0.0970)	(0.0959)
揮発性- ¹⁴ C %	-	0.25	0.70	1.03	1.39	1.66	1.82	2.13
全 ¹⁴ C回収率 %	104.53	102.91	100.79	100.10	103.31	104.57	103.95	101.35
[¹⁴ C]KNF-474m処理								
Fraction	試料採取時期							
	0日	14日	28日	56日	84日	112日	140日	196日
メタノール抽出 %	88.16	62.11	53.08	41.36	33.41	28.76	31.78	28.74
(mg eq./kg soil)	(0.2135)	(0.1504)	(0.1285)	(0.1002)	(0.0809)	(0.0697)	(0.0770)	(0.0696)
アセトン/塩酸抽出 %	10.06	14.88	17.56	14.24	14.20	14.14	14.28	12.95
(mg eq./kg soil)	(0.0244)	(0.0360)	(0.0425)	(0.0345)	(0.0344)	(0.0342)	(0.0346)	(0.0314)
アセトン/NH ₃ 抽出 %	2.45	7.93	6.07	8.24	8.00	8.50	9.24	7.21
(mg eq./kg soil)	(0.0059)	(0.0192)	(0.0147)	(0.0200)	(0.0194)	(0.0206)	(0.0224)	(0.0175)
水抽出画分 %	-	0.27	0.27	0.19	0.26	0.38	0.31	0.26
有機溶媒抽出画分 %	-	7.99	6.26	6.51	8.36	8.21	9.29	7.41
未抽出残渣 %	0.91	10.27	13.41	18.43	20.46	19.50	19.31	21.21
(mg eq./kg soil)	(0.0022)	(0.0249)	(0.0325)	(0.0446)	(0.0496)	(0.0472)	(0.0468)	(0.0514)
揮発性- ¹⁴ C %	-	4.04	8.48	13.70	16.07	18.28	19.47	20.83
全 ¹⁴ C回収率 %	101.58	99.23	98.60	95.98	92.15	89.17	94.08	90.94
%はAR(applied radioactivity)に対する割合 揮発性- ¹⁴ Cを除き2連の平均値で累積値 - はnot analyzed								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-3-1-2 [14C] メトコナゾール処理土壌中における代謝分解

[-14C]KNF-474m処理

成分組成	試料採取時期							
	0日	14日	35日	56日	84日	112日	140日	196日
KNF-474m	98.12	77.93	56.27	48.15	43.16	44.33	37.06	37.82
合計	101.05 (0.2449)	86.80 (0.2104)	69.09 (0.1674)	62.43 (0.1513)	56.94 (0.1380)	58.34 (0.1414)	51.58 (0.1250)	50.09 (0.1214)

[-14C]KNF-474m処理

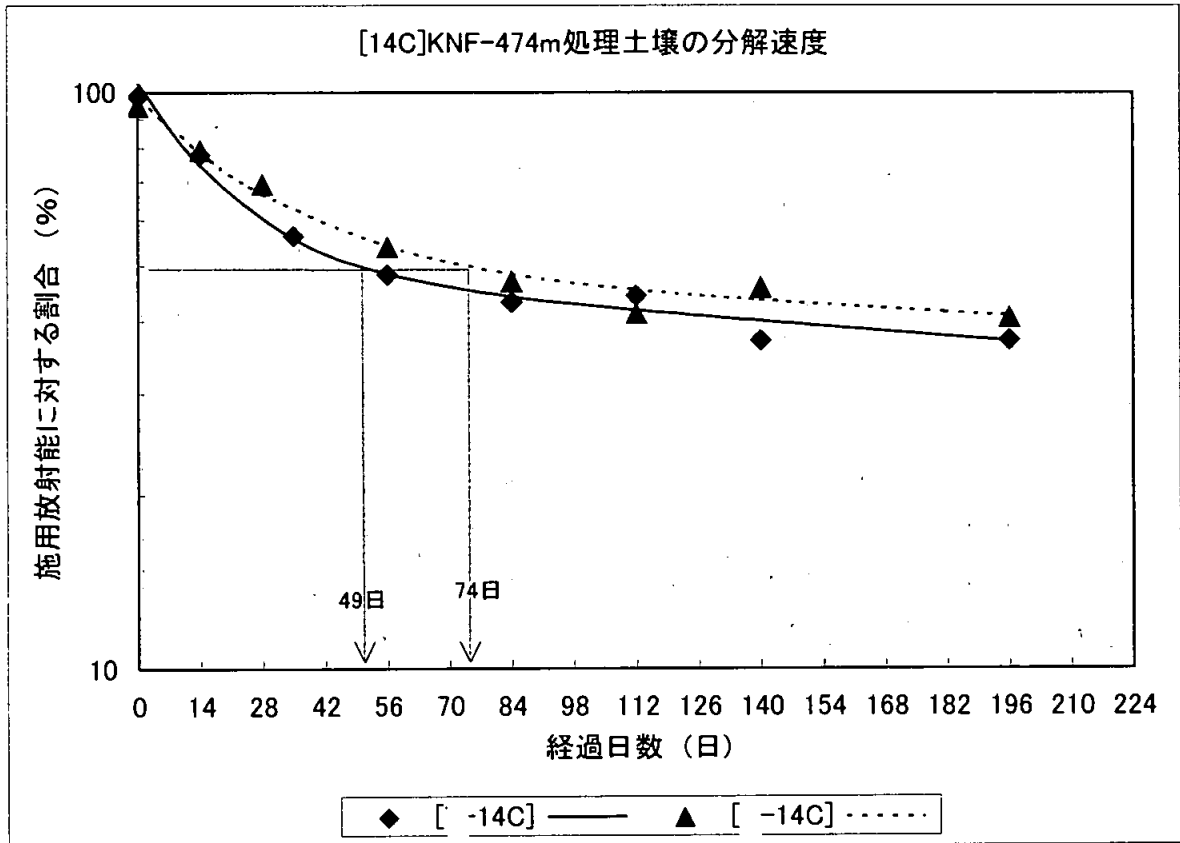
成分組成	試料採取時期							
	0日	14日	28日	56日	84日	112日	140日	196日
KNF-474m	94.44	79.26	69.08	53.67	46.86	41.22	45.67	40.50
合計	98.23 (0.2378)	84.98 (0.2057)	76.90 (0.1862)	62.12 (0.1504)	55.98 (0.1355)	51.11 (0.1237)	55.34 (0.1340)	49.10 (0.1189)

データは2連でのHPLC分析結果の平均値
 上段はARに対する%
 下段()は放射性濃度(mg KNF-474m eq./kg dry soil)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-3-1-3 抽出不能残渣土壌の特徴付け

Fraction	[^{14}C]KNF-474m (84日)		[^{14}C]KNF-474m (196日)	
	% of AR			
未抽出残渣	20.46	(100.00)	39.56	(100.00)
NaOH抽出	7.24	(35.46)	19.92	(50.35)
フルボ酸画分	5.09	(24.92)	16.65	(42.09)
フミン酸画分	2.14	(10.54)	3.27	(8.27)
精製腐植酸画分	0.65	(3.22)	1.22	(3.09)
溶媒洗浄液画分	1.51	(7.38)	2.05	(5.17)
フミン画分	9.91	(48.48)	16.74	(42.31)
全 ^{14}C 回収率	17.15	(83.94)	36.65	(92.66)
()内は未抽出残渣に対する割合(%)				
AR: applied radioactivity				
フミン酸、精製腐植酸画分、全 ^{14}C 回収率は次の式で計算した				
フミン酸画分	=NaOH抽出-フルボ酸画分			
精製腐植酸画分	=フミン酸画分-溶媒洗浄液画分			
全 ^{14}C 回収率	=NaOH抽出+フミン画分			



図IX-3-1-3 [^{14}C]メトコナゾールの土壌での分解曲線

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-3-1-4 土壌における想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX.3.2. 好氣的条件下での土壌分解経路 (参考 概要)

(資料 3-4-②)

試験機関 Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年 1992 年

供試標識化合物 :

化学名 ; (1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*) -5-(4-クロロペンチル)-2, 2-ジメチル-1-(1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-イルメチル)シクロペンタノール

	標識体([¹⁴ C]メトコナゾール)
資料 No.	
製造元	Sittingbourne Research Centre
試料番号	
比放射能	
放射化学的純度	
シス : トランス異性体比	
化学構造式	
* : ¹⁴ C 標識位置 # : ¹³ C 安定同位体含有	

標識位置の選定理由 ;

供試土壌 ; Sandy loam (英国 Lower Halstow 近郊の Elm 農場の表面土壌を採取)

砂 58%、シルト 28%、粘土 14%、pH6.7、有機炭素含量 1.3%、陽イオン交換量 17.1 meq/100g
採取した土壌は解放した大箱中に 4 日間室温で保存し、篩分し 8 日後にポットに移し、腰水式に給水した。ポットは温室に移し、水銀蛍光灯で自然光を補光した。試験期間中の日中の平均気温は 22±1°C、夜間は 18±1°C であった。

方法 :

土壌施用濃度 ; 標識化合物 60mg を製剤白試料で乳剤とし、施用直前に水道水で希釈し、マイクロシリンジで施用した。その量は約 400g/ha 相当である。施用したポットは温室および生育チャンバー (最初の 30 日間は温室) で 120 日間保持した。

試料採取 ; 温室および生育チャンバーのポットそれぞれ 1 ポットを用いた。

分析方法 :

- 1) 土壌試料の抽出
- 2) 両土壌はそれぞれ 4 分割し、アセトニトリル/水系で浸漬・抽出し、洗浄液を含めて 1 つとした。それを水と混合し、酢酸エチルで 3 回抽出し、有機相の溶媒を留去・乾固し、アセトニトリルに再溶解した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

3)

4) この試験においては未抽出残渣の特徴付けは実施していない。

結果：

- 1) 標識体 400g/ha 相当 (385 $\mu\text{g eq.}$, 100%) を処理し、120 日後抽出可能な総残留物は 240 $\mu\text{g eq.}$ (62.3%) であった。
- 2) 土壌から溶媒抽出された化合物で同定されたものは、親化合物のメトコナゾール 36.9%、
2.0%、 0.2% および 2.1% であった。そのほか、多くの代謝物が含有していた。同定されたものの他、マススペクトルによる推定構造に基づく分解経路を図 3-2-1 に示す。推定構造は、分子量、数種のフラグメントデータおよび特徴付けされたラットの代謝物との比較から得たものであり、帰属結果はクロマトグラフィー上の性質と一致する。

まとめ

この試験は、標識体を土壌処理し 120 日後の代謝生成物の同定・定量を主目的としたものである。従って、土壌代謝運命試験の一部に相当する。

抽出量から逆算すると 120 日後の土壌残渣は約 38% であり、資料 3-4-①が 112 日で約 35%、140 日で 40% であることからほぼ同じである。また、どちらの試験も同定できた代謝物は多くないものの、主な分解経路は と推測される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-3-2-1 メトコナゾールの英国土壌での推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 4. 水中運命に関する試験

IX. 4. 1. 加水分解運命試験

(資料 1-17-①②)

試験機関：(財) 化学物質評価研究機構

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

加水分解予備試験の結果、加水分解しないことが明らかになったので、加水分解試験および運命試験は実施しなかった。

供試化合物：

名称	メトコナゾール cis	メトコナゾール trans
化学名	(1 <i>RS</i> , 5 <i>SR</i>)-5-(4-クロロベンジル)-2,2-ジメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)シクロペンタノール	(1 <i>RS</i> , 5 <i>RS</i>)-5-(4-クロロベンジル)-2,2-ジメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)シクロペンタノール
純度 %		
ロット No.		
構造式		
水溶解度	16.4 mg/L (20°C)	11.9 mg/L (20°C)

供試緩衝液：

pH	緩衝液組成
4.0	0.1 mol/L 水酸化ナトリウム 180.0 mL、0.1 mol/L クエン酸一カリウム 1L を精製水で 2L に定容
7.0	0.1 mol/L 水酸化ナトリウム 592.8 mL、0.1 mol/L リン酸一カリウム 1L を精製水で 2L に定容
9.0	0.1 mol/L 水酸化ナトリウム 426.0 mL、0.1 mol/L 塩化カリウム・0.1 mol/L ホウ酸 1L を精製水で 2L に定容

試験方法：

被験物質溶液；被験物質をアセトニトリルに溶解し、1000 mg/L の溶液を調製

試験液；被験物質溶液 1 mL を分取して、脱気した各緩衝液 250 mL に添加し、メンブランフィルター(0.22 μm)で濾過し、試験溶液とした。器具はエタノールで洗浄滅菌した。

試験条件；

- 1) 試験濃度 約 4 mg/L
- 2) 試験温度 50 ± 0.1 °C
- 3) 試験期間 5 日間
- 4) 試験数 試験液を 3 連で調製、各々について n=2 で試験した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

5) 光条件 遮光条件下

6) サンプルング 開始時および5日後

分析 ; 2.5 mL を分取しアセトニトリルで5 mL に定容し、HPLC で分析した

結果 ;

1) メトコナゾール cis

pH	初期濃度 (mg/L)	5日後の濃度 (mg/L)	残留率 (%)	5日後の pH
4.0	3.77	3.76	99.6	4.1
	3.78	3.85	102	4.1
	3.86	3.81	98.9	4.1
7.0	3.83	3.77	98.2	7.0
	3.84	3.87	101	7.0
	3.83	3.84	100	7.0
9.0	3.77	3.84	102	9.0
	3.80	3.83	101	9.0
	3.86	3.85	99.5	9.0

2) メトコナゾール trans

pH	初期濃度 (mg/L)	5日後の濃度 (mg/L)	残留率 (%)	5日後の pH
4.0	3.72	3.75	101	4.1
	3.77	3.77	100	4.1
	3.64	3.71	102	4.1
7.0	3.76	3.70	98.4	7.0
	3.83	3.71	96.9	7.1
	3.73	3.76	101	7.1
9.0	3.75	3.71	98.9	9.0
	3.79	3.74	98.7	9.0
	3.75	3.81	102	9.0

3) まとめ

メトコナゾール cis 体 (KNF-474c) 及び trans 体 (KNF-474t) は、各 pH ともに 50°C 5日後の残留率が90%以上であり、25°Cにおける半減期は1年以上であると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 4. 2. [^{14}C]メトコナゾールの水中光分解運命試験

(資料 3-5-①)

試験機関 RCC Ltd. スイス

[GLP 対応]

報告書作成年 2002 年

[供試標識化合物]

メトコナゾールの ^{14}C で標識した標識化合物 ([^{14}C]メトコナゾール) を使用した。

下記に被験物質について要約する。

化学名 ; (1*RS*, 5*RS*; 1*RS*, 5*SR*)-5-(4-クロロベンジル)-2, 2-ジメチル-1-
-1-イルメチル)シクロペンタノール (1*H*-1, 2, 4-トリアゾール
cis isomer; (1*RS*, 5*SR*), 85%,
trans isomer; (1*RS*, 5*RS*), 15%

分子式 ; $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}$

分子量 ; 319.8 g/mol

比放射能 ;

放射化学的純度 ;

化学構造 ; * :

標識位置の設定理由 ;

[供試水溶液]

蒸留水 ; 脱イオン水を純水精製装置で精製した超純水 (以降純水と称す)

自然水 ; 池水

供試水の選定根拠 :

下表に供試水の特性について纏める。

試験水	特 性
純水	pH ; 7.05 溶存酸素 ; 0.4 mg/L 酸化還元電位 ; 140 mV 電気伝導率 ; 0.54 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (22.1°C)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

池水	採取場所 ; Fröschiweiher pond (北緯 47° 32'、東経 7° 48') 岸から約 1m の場所。水深 10 ~ 20 cm で採水 採取年月日 ; 2002 年 3 月 26 日 試験開始日までの保存条件 ; 4°C で約 2 ヶ月保存 pH ; 8.08 溶存酸素 ; 11.8 mg/L 酸化還元電位 ; 233 mV 電気伝導率 ; 474 μ S/cm (21.2°C) 蒸発残留物 ; 0.26 g/L
----	---

池水は 0.2 mm のフィルターを通したものを使用した。純水は 121°C で約 30 分オートクレーブにより滅菌、池水はろ過滅菌した。

[試験方法]

1) 施用液

施用液 I : 非放射性被験物質 (純度) 原液

調製方法 : アセトニトリルで溶解,

メトコナゾール ; 21.34 mg/2 mL

施用液 II : [¹⁴C] 標識被験物質施用液

調製方法 : [¹⁴C] 標識被験物質の 50 μ L をエタノール留去後アセトニトリル 2 mL に溶解,

メトコナゾール ; 0.392 mg/2 mL, 76243 dpm/1 mL

2) 試験溶液の調製

調製方法 : 施用液 I , 100 μ L (1.067 mg) と施用液 II , 950 μ L (0.186 mg) とを各滅菌供試水で希釈して 250 mL の定容とし、この各溶液 80 mL を滅菌試験容器に入れ、試験溶液とした。試験溶液の初期値を下表に示す。

試験系	[¹⁴ C]メトコナゾールの濃度 [mg/L]
純水	4.928
池水	4.944

試験容器 : 面積 ; 28.3 cm² パイレックスガラス製で上部を石英製プレートでカバーした。

ガラス器具は全てオートクレーブ又はエタノール/水混液で滅菌した。

溶解補助剤 : アセトニトリル 0.42%

3) 試験濃度 : 約 5 mg/L

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

設定根拠：

4) 試験温度：25.2 ± 0.2℃

5) 試験装置：

光照射区； キセノン光照射装置 “SUNTEST CPS, Original Hanau” 装置

光源； 1.8 kW のキセノンバーナー

UV フィルター付き；キセノン光はフィルターを通し、290 nm 以下の 紫外線及び 800 nm 以上の赤外線をカットした。

光強度：43.1 W/m²（波長範囲 300 ~ 400 nm）

暴露面積；約 500 cm²

暗所対照区；暗所に設置した以外は照射区と同一条件。

6) 試験容器の設置：

光照射区；照射区域内の中央に試験容器を設置し、試験溶液は連続混合した。試験容器の周囲は水を循環させ、試験溶液の温度を 25.2 ± 0.2℃に保持。またろ過、加湿空気を流速約 10 mL/min で反応容器に通気し、捕集剤を用いて放射性二酸化炭素と有機性揮発物質を捕集した。

暗所対照区；暗所に設置した以外は照射区と同一条件。

7) 試験期間：連続照射/インキュベーション，14 日間

8) 試料採取時点：照射区 8 時点，暗所対照区 7 時点

照射区；施用直後(0)，施用後 0.17, 1, 3, 5, 7, 10 及び 14 日

暗所対照区；施用直後(0)，施用後 0.17, 3, 5, 7, 10 及び 14 日

各採取時点で試験溶液の一部約 4 mL を 2 点（照射区）または 1 点（暗所対照区）を採取し、直ちに分析した。揮発性物質の捕集剤は各採取時点で交換し、分析した。

[分析方法]

1) 試験系の滅菌維持の確認

0 時点と 14 日後の試験溶液の一部を採取し、微生物平板培養法により確認した。陽性対照試料に水道水、陰性対照試料に滅菌水を用いた。

2) 総放射能の測定

試料を精製操作なしで直接 LSC 測定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

3) 放射性成分の分離及び定量

試料を精製操作なしで直接 HPLC/FSA で分析し、放射性成分の分離及び定量を行った。一部試料については TLC により分析し、蛍光イメージングアナライザーにより定量した。

異性体 KNF-474 *cis* と KNF-474 *trans* とを定量し、その含量をメトコナゾールとした。

4) 放射性成分の同定/特徴づけ

試料を参照化合物との HPLC 又は TLC コクロマトグラフィーに供し、保持時間又は Rf 値の比較により同定/特徴づけした。

[半減期 (DT₅₀) 及び DT₉₀ 値の算定法]

下記の一次反応式を使用した。

$$C = C_0 \exp(-k \cdot t)$$

C = 各インキュベーション時点での KNF-474 *cis*, *trans*,
又は m の量 (mg/L)

C₀ = 0 時点での KNF-474 *cis*, *trans*, 又は m の量 (mg/L)

t = 照射時間 (日)

k = 1 次反応速度定数 (days⁻¹)

DT₅₀ 及び DT₉₀ は次式により求めた。

$$DT_{50} = \frac{\ln(2)}{k} \quad DT_{90} = \frac{\ln(10)}{k}$$

[結果]

1) 滅菌維持の確認

各試験溶液は無菌であった。

2) キセノン光の強度

光強度 : 43.1 W/m² (波長範囲 300 ~ 400 nm)

放射照度 : 3.724 MJ/ m²day

キセノン光 14 日間連続照射期間は太陽光照射 (東京, 春(4月~6月)) 77.6 日間に相当

試験溶液の pH

純水試料 ; 6.0 ~ 8.2

池水試料 ; 8.5 ~ 9.4

4) 放射性残留物の物質収支

各採取時点における放射能物質収支の結果を表 IX-4-1 及び IX-4-2 に示す。

物質収支は各試験溶液で施用量の 89% 以上であり、平均回収率は照射区では施用放射能の 98.1% (純水) 及び 98.3% (池水)、対照区では 95.1% (純水) 及び 96.3% (池水) であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 IX-4-1 [¹⁴C]メトコナゾール の 25.2 ± 0.2℃における照射区試験溶液中放射能の物質収支

照射区	初期濃度 (mg/L)	照射期間 (日)							
		0	0.17	1	3	5	7	10	14
		%AR* (mg/L)**							
純水	4.928	100.0	101.4 (5.00)	97.8 (4.82)	97.1 (4.79)	97.5 (4.80)	95.5 (4.71)	95.8 (4.72)	97.4 (4.80)
CO ₂		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
有機性揮発物質		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
総計		100.0	101.4 (5.00)	97.8 (4.82)	97.1 (4.79)	97.6 (4.81)	95.5 (4.71)	95.8 (4.72)	97.5 (4.80)
総平均値 ± S. D.		98.1 ± 2.2							
池水	4.944	100.0	100.7 (4.98)	98.7 (4.88)	100.4 (4.96)	97.8 (4.84)	95.9 (4.74)	94.2 (4.66)	94.4 (4.67)
CO ₂		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
有機性揮発物質		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
総計		100.0	100.7 (4.98)	98.7 (4.88)	100.4 (4.96)	97.8 (4.84)	95.9 (4.74)	94.2 (4.66)	94.5 (4.67)
平均値 ± S. D.		98.3 ± 3.2							

分析結果は2点分析の平均値

n. p. : 処理せず

*: 初期濃度(施用放射能, AR)に対するパーセント

**: %AR と初期濃度からの計算値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 IX-4-2 [¹⁴C]メトコナゾール 25.2 ± 0.2°Cにおける暗所対照区試験溶液中放射能の物質収支

暗所 対照区	初期 濃度 (mg/L)	照射期間 (日)						
		0	0.17	3	5	7	10	14
		%AR* (mg/L)**						
純水	4.928	99.1 (4.88)	100.2 (4.94)	95.6 (4.71)	94.3 (4.65)	94.2 (4.64)	89.3 (4.40)	93.1 (4.59)
CO ₂		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
有機性 揮発物質		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
総計		99.1 (4.88)	100.2 (4.94)	95.6 (4.71)	94.3 (4.65)	94.2 (4.64)	89.3 (4.40)	93.1 (4.59)
総平均値 ± S. D.		95.1 ± 3.7						
池水	4.944	100.2 (4.95)	101.4 (5.01)	97.1 (4.80)	95.6 (4.73)	91.9 (4.54)	92.7 (4.58)	95.1 (4.70)
CO ₂		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
有機性 揮発物質		n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
総計		100.2 (4.95)	101.4 (5.01)	97.1 (4.80)	95.6 (4.73)	91.9 (4.54)	92.7 (4.58)	95.1 (4.70)
平均値 ± S. D.		96.3 ± 3.6						

分析結果は2点分析の平均値

n. p. : 処理せず

*: 初期濃度(施用放射能, AR)に対するパーセント

**: %AR と初期濃度からの計算値

4) 放射性成分の分布及び同定/特徴づけ

各試験溶液の HPLC 分析結果を表 IX-4-3~5 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株式会社クレハにある。

表IX-4-3 [¹⁴C]メトコナゾールの 25.2 ± 0.2°Cにおける照射区純水試験液中の放射能分布

放射能分布 純水 照射区 (初期濃度 4.928 mg/L)	照射期間 (日)							
	0	0.17	1	3	5	7	10	14
	%AR* (mg/L)**							
メトコナゾール (cis + trans)	100.0	101.4 (5.00)	97.8 (4.82)	90.8 (4.47)	88.2 (4.35)	84.9 (4.18)	78.5 (3.87)	71.9 (3.54)
¹⁴ CO ₂	n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
計	100.0	101.4 (5.00)	97.8 (4.82)	97.1 (4.79)	97.5 (4.80)	95.5 (4.71)	95.8 (4.72)	97.5 (4.80)

分析結果は2点分析の平均値

n. p. : 処理せず

*: 初期濃度(施用放射能, AR)に対するパーセント

** : %AR と初期濃度からの計算値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-4-4 [¹⁴C]メトコナゾールの 25.2 ± 0.2°Cにおける照射区池水試験液中の放射能分布

放射能分布 池水 照射区 (初期濃度 4.944 mg/L)	照射期間 (日)							
	0	0.17	1	3	5	7	10	14
	%AR* (mg/L)**							
メトコナゾール (cis + trans)	100.0	100.7 (4.98)	97.6 (4.83)	93.4 (4.62)	86.7 (4.29)	83.0 (4.10)	78.5 (3.88)	73.0 (3.61)
¹⁴ CO ₂	n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
計	100.0	100.7 (4.98)	98.7 (4.88)	100.4 (4.96)	97.8 (4.84)	96.0 (4.75)	94.2 (4.66)	94.5 (4.67)

分析結果は2点分析の平均値

n. p. : 処理せず

*: 初期濃度(施用放射能, AR)に対するパーセント

** : %AR と初期濃度からの計算値。

光照射区 :

[¹⁴C]-メトコナゾールは初期値 100.0%から 14 日後には施用放射能の 71.9% ~ 73.0% となった。異性体, KNF-474 *cis* 及び KNF-474 *trans* は 0 時点ではそれぞれ施用放射能の
及び であり, 14 日後には 及び に減少した。

KNF-474 *cis*, KNF-474 *trans* の他に特徴づけされた化合物は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

及び であり、その最大量はそれぞれ純水で施用量の 6.7%, 2.9%及び 3.5%, 池水で 3.8%, 5.1%及び 3.3%であった。他の未同定画分は、個々には施用放射能の 7.0% 以下であった。

表IX-4-5 [¹⁴C]メトコナゾールの 25.2 ± 0.2°Cにおける暗所対照区試験液中の放射能分布

放射能分布	照射期間 (日)						
	0	0.17	3	5	7	10	14
暗所対照区	%AR* (mg/L)**						
純水 (初期濃度 4.928 mg/L)							
メトコナゾール (cis + trans)	99.1 (4.88)	100.2 (4.94)	95.6 (4.71)	94.3 (4.65)	94.2 (4.64)	89.3 (4.40)	90.1 (4.44)
¹⁴ CO ₂	n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
計	99.1 (4.88)	100.2 (4.94)	95.6 (4.71)	94.3 (4.65)	94.2 (4.64)	89.3 (4.40)	93.1 (4.59)
池水 (初期濃度 4.944 mg/L)							
メトコナゾール (cis + trans)	100.2 (4.95)	101.4 (5.01)	97.1 (4.80)	95.6 (4.73)	91.9 (4.54)	92.7 (4.58)	92.1 (4.55)
¹⁴ CO ₂	n. p.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
計	100.2 (4.95)	101.4 (5.01)	97.1 (4.80)	95.6 (4.73)	91.9 (4.54)	92.7 (4.58)	95.1 (4.70)

分析結果は2点分析の平均値

*: 初期濃度(施用放射能, AR)に対するパーセント

** : %AR と初期濃度からの計算値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

暗所対照区：

[^{14}C]-メトコナゾールは試験期間中 89 ～ 100% (純水) 及び 92 ～ 101% (池水) 検出され、安定であった。

揮発性物質：

全試験区において放射性二酸化炭素と他の揮発性物質は試験期間中、施用量の 0.1% 未満であった。

以上の結果から水中でのメトコナゾールの光分解推定経路を図 IX-4-1 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

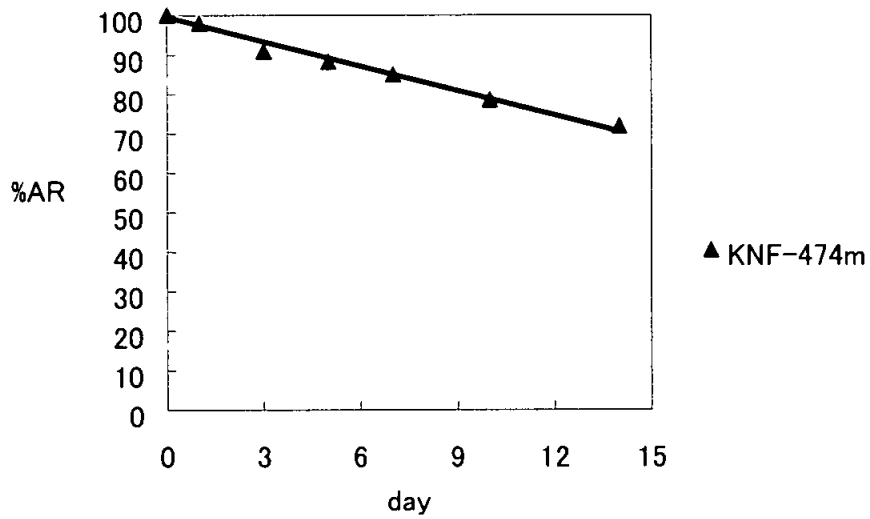
図IX-4-1 メトコナゾールの水中光分解推定経路

5) 推定半減期

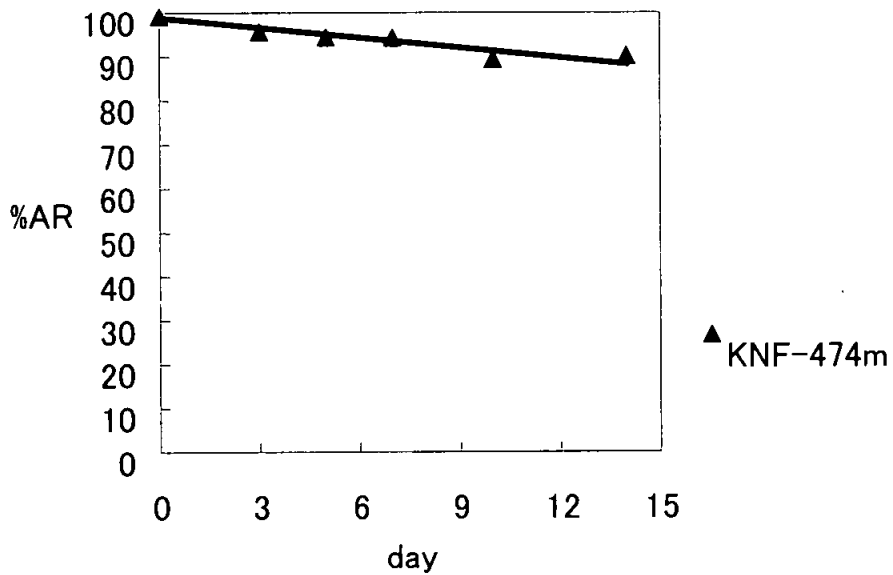
メトコナゾールの減衰曲線を図IX-4-2 - 図IX-4-3 及び光分解キネティクスパラメーターを表IX-4-6 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-4-2-1 純水照射区試験溶液中の KNF-474m,
の減衰曲線

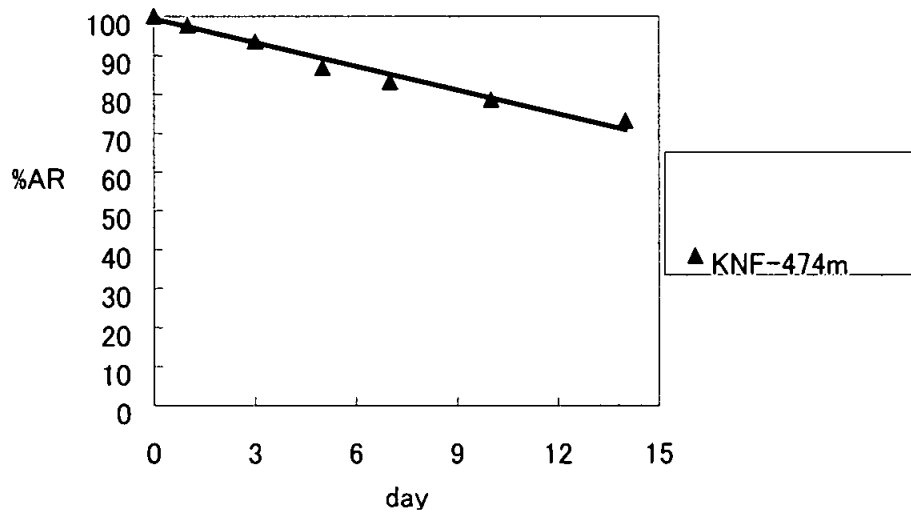


図IX-4-2-2 純水暗所対照区試験溶液中の KNF-474m,
の減衰曲線

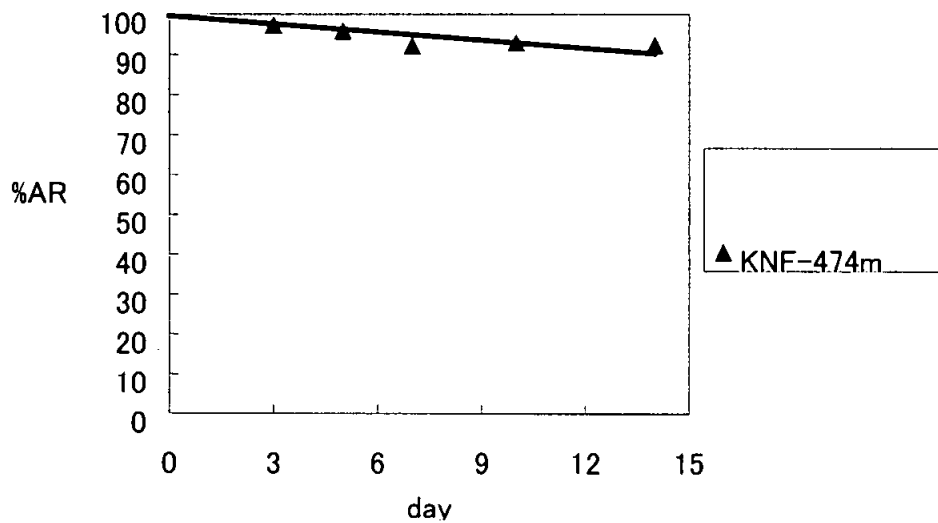


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-4-3-1 池水照射区試験溶液中の KNF-474m,
の減衰曲線



図IX-4-3-2 池水暗所対照区試験溶液中の KNF-474m,
の減衰曲線



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表IX-4-6 メトコナゾール *cis*, メトコナゾール *trans* 及びメトコナゾールの光分解キネティクス

	メトコナゾール <i>cis</i>		メトコナゾール <i>trans</i>		メトコナゾール	
	純水	池水	純水	池水	純水	池水
“Suntest” 照射						
DT ₅₀ (日)	25.9	26.3	34.2	31.2	28.7	28.7
DT ₉₀ (日)	85.9	87.5	113.7	103.6	95.5	95.5
東京 春の太陽光換算						
DT ₅₀ (日)	143.6	145.8	189.6	172.9	159.1	159.1
DT ₉₀ (日)	476.1	485.0	630.2	574.2	529.3	529.3

“Suntest” 連続照射条件下での純水及び池水中の光分解半減期 (DT₅₀) 値は KNF-474 *cis*, KNF-474 *trans* 及びメトコナゾールについてそれぞれ純水においては 26, 34, 及び 29 日, 池水においては 26, 31 及び 29 日であった。対応する DT₉₀ 値は 86 日から 114 日の範囲であった。

これを東京における春の太陽光線に換算すると, メトコナゾール *cis*, メトコナゾール *trans* 及びメトコナゾールについてそれぞれ純水においては 144, 190 及び 159 日, 池水においては 146, 173 及び 159 日であった。

[結論]

滅菌純水と滅菌池水中のメトコナゾールは擬似太陽光により確実に光分解され, その光分解半減期 (DT₅₀) 値は両試験系で 29 日であった。対応する DT₉₀ 値は 96 日であった。

これは北緯 35° (東京) における春の太陽光照射に換算すると半減期は 159 日に相当した。

放射性二酸化炭素と他の揮発性物質は照射期間中, 施用量の 0.1% を超えなかった。

一方, 暗所対照区試料ではメトコナゾールは安定であることから, メトコナゾールは水系環境中で直接的に光分解されることが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 5. 土壌吸着性試験

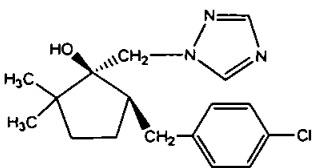
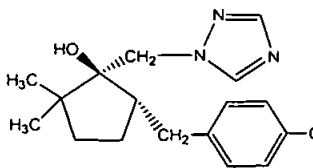
(資料 3-6-①②)

試験機関 財団法人残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 2002 年

供試化合物：

	メトコナゾール cis	メトコナゾール trans
化学名	(1 <i>RS</i> , 5 <i>SR</i>)-5-(4-クロロベンジル)-2,2-ジメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)シクロペンタノール	(1 <i>RS</i> , 5 <i>RS</i>)-5-(4-クロロベンジル)-2,2-ジメチル-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)シクロペンタノール
構造式		
ロット番号		
純度 (%)		

供試土壌：

土壌名	Hatzenbeler	Oregon	栃木	宮崎
OECD No.	2	3	4	5
採取場所	Painsville, Ohio St., USA	Washington County, Oregon St., USA	栃木県鹿沼市	宮崎県宮崎郡砂土原町
土性(USDA)	Clay Loam	Silt Loam	Clay Loam	Sand
砂	32%	22%	31.0%	90.1%
シルト	36%	60%	44.5%	5.2%
粘土	32%	18%	24.5%	4.7%
有機炭素含有率	3.1%	2.2%	11.0%	0.96%
有機物含有率	5.4%	3.8%	19.0%	1.67%
pH 0.01 mol/L CaCl ₂	7.1	5.5	4.6	4.6
陽イオン交換容量 (me/100g)	18.9	13.1	16.8	6.4
リン酸吸収係数	740	910	2590	510
粘土鉱物の種類	イライト、クロライト	クロライト	アロフェン	アロフェン、ハロイサイト
水分量 (%)	5.88-6.09	2.80-3.23	45.11	1.42-1.55

栃木土壌は火山灰土壌として選定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

試験方法：

供試土壌の調整；乾土 10g 相当に 0.01mol/LCaCl₂水溶液を加え 12 時間以上振盪し予備平衡化し、試験に供した。

試験溶液の作成；被験物質をメタノールで溶解し、希釈して 80～5000 mg/L の標準液を作成し、それを 50 μL 添加し、初期水相中濃度 0.08～5.00 mg/L を調整した。

土壌：水比の決定根拠；初期水相中濃度 5.00mg/L で 25℃ に設定した恒温振盪機で 24 時間振盪し、吸着率が 20% 以上となるよう土壌／水比を 1/5 に設定した。

吸着平衡化時間の設定；初期水相中濃度 5.00mg/L で土壌／水比を 1/5 に設定し、4～48 時間まで経時的に吸着率を求め、連続する 2 点間の差が 10% 以内を判断基準とした。その結果ガイドラインの最高時間の 48 時間を選択した。

物質収支；土壌／水比の設定時（初期水相中濃度 5.00mg/L、吸着平衡時間 24 時間）と吸着等温線の作成時（同 2.00mg/L、48 時間）に測定し算出した。

吸着操作；土壌／水比＝1/5、振盪時間を 48 時間とし、初期水相中濃度 0.08～5.00mg/L の範囲 5 段階を設定して実施した。

分析方法；上澄液画分 20mL を C₁₈ ミニカラムおよびシリカゲルカラムで精製し分析に供した。土壌画分はアセトンで抽出後濃縮し、C₁₈ ミニカラムおよびシリカゲルカラムで精製し分析に供した。分析は、DB-5 カラムを使用したガスクロマトグラフで行った。

回収率；

土壌名	メトコナゾール cis			メトコナゾール trans		
	平均回収率 (%)	C. V. (%)	pH	平均回収率 (%)	C. V. (%)	pH
上澄液画分 (0.1mg/L)						
Hatzenbeler	97	1.0	7.39-7.46	90	0.6	7.48-7.55
Oregon	96	2.2	5.72-5.74	87	5.0	5.90-5.92
栃木	96	2.1	4.49-4.71	90	5.1	4.60-4.61
宮崎	98	6.4	5.27-5.35	88	1.3	5.32-5.33
土壌画分 (0.5ppm)						
Hatzenbeler	76	8.8		93	4.5	
Oregon	77	9.4		89	3.4	
栃木	78	2.2		83	1.4	
宮崎	86	4.8		87	3.5	

結果：

KNF-474 の cis 体および trans 体をそれぞれ、Hatzenbeler、Oregon、栃木、ならびに宮崎土壌を使用して Freundlich の吸着係数 (KFads) を測定し、いずれも Freundlich の吸着等温式に従うと判断した。有機炭素含有率で補正した吸着定数 KFadsOC は cis 体で 362～1198、trans

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

体で 736~1313 であった。有機炭素含有率と吸着係数は相関係数 cis 体 0.984、trans 体 0.996 で有意な相関関係が認められた。また、物質収支は cis 体で 102~115%、trans 体で 84~98% であった。

吸着試験結果；

土壌試料	1/n	KFads	γ^2	OC%	KFadsOC
メトコナゾール cis					
Hatzenbeler	0.882	20.0	1.000	3.1	645
Oregon	0.853	13.5	0.999	2.2	614
栃木	0.805	39.8	0.990	11.0	362
宮崎	0.910	11.5	0.999	0.96	1198
メトコナゾール trans					
Hatzenbeler	1.017	24.5	0.997	3.1	790
Oregon	0.938	16.2	0.993	2.2	736
栃木	1.036	81.3	0.915	11.0	739
宮崎	0.993	12.6	0.986	0.96	1313

注： $\log Cs(eq) = \log KFads + 1/n \times \log Caq(eq)$

Cs(eq)：吸着平衡時の土壌中濃度計算値 (ppm)

Caq(eq)：吸着平衡時の水相中濃度 (mg/L)

KFads：Freundlich の吸着係数

OC%：土壌中の有機炭素含有率 (%)

$KFadsOC = KFads / OC\% \times 100$

有機炭素含有率と吸着係数の相関性；

メトコナゾール cis			メトコナゾール trans		
a	b	γ^2	a	b	γ^2
9.03	2.82	0.984	3.17	7.06	0.996

$KFads = a \times OC\% + b$

平均物質収支；

土壌種類	メトコナゾール cis (%)	メトコナゾール trans (%)
Hatzenbeler	115	84
Oregon	103	89
栃木	110	88
宮崎	102	98

初期水相中濃度 2.00 mg/L

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX.6. 生物濃縮性試験

(資料 4-7-③)

試験機関 American Cyanamid Company
ABC Laboratories [GLP 対応]
報告書作成年 1996 年

[供試標識化合物]

メトコナゾール(KNF-474m と略す)の
用し、
た。その特性は次のとおりである。

の炭素を ^{14}C -標識した標識化合物を使
で同位体希釈し、最終被験物質を調製し

cis : trans 比 :
放射化学的純度 :
比放射能 :

化学構造 ;

標識位置の設定理由 ;

[試験方法]

1) 水

汚染のない地下水 (deep well source)

2) 試験魚

	高用量群	低用量群	
魚種	ブルーギルサンフィッシュ (<i>Lepomis macrochirus</i>)		
ロット番号	8095	7995	
入手先	Osage Catfisheries, Inc. (Osage Beach, MO)		
入手日	1995 年 11 月 21 日		
順化条件	16 時間照光: 8 時間暗所; 光周期推移時間 30 分の蓄養水槽		
順化期間	20 週	25 週	
試験時の年齢	1 年齢未満		
試験時の 大きさ	試験開始時	7.03 ± 1.44 g, 61 ± 4.1 mm	6.32 ± 1.58 g, 58 ± 4.2 mm
	試験終了時	5.39 ± 0.92 g, 57 ± 2.9 mm	8.47 ± 2.16 g, 64 ± 6.0 mm
試験時の魚体脂質含量	6.1% (5.7~6.3%)		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

3) 試験場所

インライフ実験段階： Analytical Bio-Chemistry Laboratories (ABC)

KNF-474m 由来残留物の特徴づけ及び同定： American Cyanamid Company

4) 試験条件

試験方式： 流水式

試験設計： 試験設計の概要を下表に纏める。

試験 I：

試験群	高用量群 (B)	対照群 (C)
水槽容量	100 L ガラス製	
水槽の数	1	1
水量の交換速度	取込期間： 6.3 倍量/日 (平均) 消失期間： 5.3~6.9 倍量/日	
照明条件	16 時間照光： 8 時間暗所； 光周期推移時間 30 分	
試験濃度	0.40 mg/L	0 mg/L
魚体数	122	123
取込期間 (日)	28	
消失期間 (日)	14	

試験 II：

試験群	低用量群 (D)	対照群 (E)
水槽容量	100 L ガラス製	
水槽の数	1	1
水量の交換速度	取込期間： 6.3 倍量/日 (平均) 消失期間： 5.9~6.9 倍量/日	
照明条件	16 時間照光： 8 時間暗所； 光周期推移時間 30 分	
試験濃度	0.04 mg/L	0 mg/L
魚体数	120	117
取込期間 (日)	28	
消失期間 (日)	14	

試験濃度の設定根拠：

試験水設定温度： 22 ± 2°C (実測値 20~22°C)

処理水の調製方法： 最終被験物質原液 (アセトン溶液) 全量をアセトンで希釈して 4000 mg/L (0.40 mg/L 群) 及び 400 mg/L (0.04 mg/L 群) を調製した。

処理方法： 処理群； 希釈システムを用いて各処理液を水に添加して流し、各水槽中の濃度が所定濃度となるよう 2~3 日間平衡化した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

対照群；アセトン (0.2 mL/2 L 水)を添加した。

取込期間終了後B群及びD群の試験水槽は新鮮水と交換し、消失期間の実験を開始した。

給餌方法：順化期間中；Rangens® Salmon Starter を自由に与えた。

試験期間中；魚体体重の約2%量/日の Salmon Starter を与えた。

試料採取時点及び採取量：下表に纏める。

試験名, 群名		水		魚体		
		I	II	I	II	
					D	E
採取時点 (日)		試料採取量 (mL)		魚体採取量 (尾)		
取込期間開始後	0	1500		4		
	0.17	500		4		
	1	500		4		
	2	500		4		
	3	500		4		
	7	500		4		
	14	1500		4		
	21	1500		4		
	28	1500		66	70	
消失期間開始後	1	500		4		
	2	500		4		
	3	500		4		
	7	500		4		
	14	500		4	4	3

各採取時点で水試料はそのまま、魚体試料は食用部 (胴体, 筋肉, 皮膚, 骨格) と内臓部 (ひれ, 頭, 内臓) に分割後全試料を放射能測定まで凍結保存した。

[分析方法]

1) 総放射性残留物 (TRR) の測定

水試料：直接 LSC 測定

食用部及び内臓部試料：ドライアイスと共に磨砕後、フリーザーに保存してドライアイス
を除去した。磨砕均一化試料の一部を酸化燃焼処理し、生成する¹⁴C CO₂
を LSC で測定した。

全魚体濃度：試験 28 日後に測定した食用部と内臓の構成比率から各濃度を用いて全魚体
に計算した。

2) 放射性成分の抽出, 単離

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

分析試料： B 群（名目濃度 0.4 mg/L）の取込開始後 3 日，28 日
D 群（名目濃度 0.04 mg/L）の取込開始後 28 日

各凍結組織の一部をメタノールで抽出，遠心分離し，メタノール抽出液（上清液）を分取後混合する。混合液を濃縮後 2 種類の HPLC 系（UV，RAD 検出器付き，ODS 系カラム，グラジエント分析）で分析し，放射性成分を単離した。抽出後固形物（PES）は秤量後，一部を燃焼処理して抽出不能放射能を測定した。単離した各放射性成分は別個に混合し，更に HPLC を用いて精製後，質量分析に供した。

3) 代謝物酵素的加水分解

分析試料： B 群（名目濃度 0.4 mg/L）取込開始後 28 日の内臓部及び食用部

試料抽出物の一部を

により加水分解した。

37°C で約 18 時間インキュベートし，メタノールで反応停止後反応混合物を遠心分離，濃縮，HPLC 分析した。

4) 放射性成分の HPLC による特徴づけ

試料を参照化合物との HPLC コクロマトグラフィーに供し，保持時間の比較により特徴づけした。HPLC 溶出液を 0.5-1 分で分画し，各画分を分取，LSC 測定した。測定値より放射性成分の分布率を求めた。

5) 放射性成分の質量分析による同定

[結果]

1) 試験水

a. 濃度（表 IX.6.1.および 2）

[^{14}C]KNF-474m の試験水濃度の平均値は 0 (C 群及び E 群)， 0.38 ± 0.022 mg/L (B 群) 及び 0.038 ± 0.0029 mg/L (D 群) であり，実測値は名目濃度に対し 85~105% であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

b. 溶存酸素濃度：実測値 5.5～8.7 mg/L (飽和濃度の 65～100%)

c. pH：7.79～8.28

2) 試験魚

試験期間中全試験群で死亡魚はなく、全て健全であった。

3) 取込、排泄及び生物濃縮係数

水及び魚試料中の放射性残留物の結果を表IX.6.1.および 2 に示す。

ブルーギルサンフィッシュによる¹⁴C]KNF-474m残留物の取込及び排泄は速く、魚組織中の¹⁴C]KNF-474m 残留物は暴露約 2 日間で平衡に達し、その後 24 時間消失期間で速やかに魚から排泄された。

食用部の日間生物濃縮係数は B 群では 29～68 であり、D 群では 17～63 の範囲であった。対応する暴露期間中の食用部の¹⁴C]KNF-474m 平均濃度は 11～26 mg/kg (B 群)及び 0.65～2.4 mg/kg (D 群) であった。

内臓の日間生物濃縮係数は B 群では 61～182 であり、D 群では 47～218 であった。対応する暴露期間中の内臓の¹⁴C]KNF-474m 平均濃度は 23～69 mg/kg (B 群)及び 1.8～8.5 mg/kg (D 群) であった。

B 群の食用部と内臓の構成比率は各 52.2%と 47.8%であり、D 群では各 54.3%と 45.7%であった。全魚体の日間生物濃縮係数はそれぞれ B 群では 45～124 であり、D 群では 32～128 であった。対応する暴露期間中の全魚体の¹⁴C]KNF-474m 平均濃度は 17～47 mg/kg (B 群)及び 1.2～5.0 mg/kg (D 群) であった。

[¹⁴C]KNF-474mの排泄を測定する為に、14 日間の消失期間試験を実施した。表IX.6.1.および 2 に示すように放射性残留物の 99%以上が全組織から 14 日以内に排泄された。

全魚体の取込/消失データをモデル式 (BIOFAC) を用いて解析した結果を表IX.6.3.に示す。

BCF 計算値は B 群及び D 群について測定された生物濃縮係数の平均値の 105%及び 103% であり、ブルーギルサンフィッシュ中の KNF-474mは速やかに排泄されたことを示す。2 濃度試験から得られた KNF-474m の動態に差は認められなかった。

4) 魚体中の放射性残留物の抽出、特徴づけ及び同定

取込期間 3 日 (0.40 mg/L 試験群) 及び 28 日 (0.40 mg/L, 0.04 mg/L 試験群)の魚体試料を代謝物の特徴づけ及び同定に用い、結果を表IX.6.4.に示す。

食用部中の放射性残留物はメタノールで容易に抽出可能であった (TRR の 96～98%)。メタノール抽出物の HPLC 分析で TRR の 78～90% (19.38～21.66 ppm; B 群) 及び 65% (1.03 ppm; D 群) が未変化の親化合物 (T-18) であった。残りの放射性成分は B 群及び D 群でそ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

それぞれ TRR の 3%及び 9%未満であった。

内臓中の放射性残留物はメタノールで抽出可能であった (TRR の 98~99%)。メタノール抽出物の HPLC 分析で TRR の 79~80% (46.40~46.91 ppm; B 群) 及び 38% (2.21 ppm; D 群) が親化合物 (T-18) であった。残りの放射性成分は B 群及び D 群でそれぞれ TRR の 5%及び 16%未満であった。

合計 18 の [^{14}C]KNF-474m に由来する残留成分 () が HPLC により検出された。各残留成分の化学的特性は参照標準品の HPLC 保持時間, 質量分析マススペクトルあるいは酵素的加水分解処理後の放射エネルギーの比較により求めた。

5) 想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 IX.6.1. ブルーギルサンフィッシュ (*Lepomis macrochirus*) の暴露と消失期間中の試験水 (B 群, 名目濃度 0.4 mg/L) 及び魚組織中の総 ^{14}C -放射能

[^{14}C]KNF-474m ^a としての総 ^{14}C 濃度								
日	水		食用部		全魚体		内臓	
	実測値 mg/L	連続 平均	mg/kg	BCF ^b	mg/kg	BCF ^b	mg/kg	BCF ^b
<u>暴露</u>								
0	0.41	---	---	---	---	---	---	---
0.17	0.34	0.38	11	29	17	45	23	61
1	0.38	0.38	26	68	40	105	55	145
2	0.37	0.38	25	66	44	116	65	171
3	0.36	0.37	24	65	41	111	59	159
7	0.38	0.37	25	68	44	119	64	173
14	0.40	0.38	26	68	47	124	69	182
21	0.40	0.38	22	58	42	111	63	166
28	0.39	0.38	25	66	41	108	59	155
<u>消失</u>								
1	0.011	---	6.3	---	16	---	26	---
2	0.0053	---	0.64	---	3.5	---	6.7	---
3	0.0025	---	0.35	---	1.5	---	2.8	---
7	0.00066	---	0.17	---	0.31	---	0.46	---
14	0.00047	---	0.099	---	0.17	---	0.25	---

総放射能 (TRR) は、[^{14}C]KNF-474m換算で示した。

^a 全濃度値は丸め処理をして有効数字 2 桁で表示する。

^b 日間生物濃縮係数 (BCF) は組織濃度を水の各採取日を含むそれまでの全測定の前平均濃度 (連続平均) で割って求めた。

[結論]

[^{14}C]KNF-474m を 0.04 及び 0.4 mg/L 濃度でブルーギルサンフィッシュへの定常状態 28 日間の処理は極めて低い生物濃縮係数 (BCF) が得られ、全魚体で 124~128, 食用部で 63~68 及び内臓で 182~218 であった。 [^{14}C]KNF-474m は魚組織中へ速やかに取り込まれ約 2 日間で平衡に達し、取込速度定数は 181~191 mg/kg 魚体/mg/L 水/日であった。暴露中止後取り込まれた残留物は速やかに魚組織から排泄され、消失速度定数は 1.5~1.7 days⁻¹ であり、排泄の半減期は 0.41~0.45 日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 IX.6.2. ブルーギルサンフィッシュ (*Lepomis macrochirus*) の暴露と消失期間中の試験水 (D群, 名目濃度 0.04 mg/L) 及び魚組織中の総 ¹⁴C-放射能

[¹⁴ C]KNF-474m ^a としての総 ¹⁴ C 濃度								
日 暴露	水		食用部		全魚体		内臓	
	実測値 mg/L	連続 平均	mg/kg	BCF ^b	mg/kg	BCF ^b	mg/kg	BCF ^b
0	0.042	—	—	—	—	—	—	—
0.17	0.034	0.038	0.65	17	1.2	32	1.8	47
1	0.037	0.038	1.8	47	3.4	89	5.4	142
2	0.038	0.038	1.9	50	4.0	105	6.4	168
3	0.041	0.038	2.4	63	4.4	116	6.7	176
7	0.040	0.039	2.0	51	4.6	118	7.7	197
14	0.040	0.039	2.1	54	5.0	128	8.5	218
21	0.034	0.038	1.8	47	4.3	113	7.2	189
28	0.039	0.038	1.6	42	3.5	92	5.8	153
<u>排泄</u>								
1	0.0020	—	0.19	—	0.70	—	1.3	—
2	0.00035	—	0.15	—	0.26	—	0.39	—
3	<MQL ^c	—	0.10	—	0.14	—	0.19	—
7	<MQL	—	0.040	—	0.056	—	0.075	—
14	<MQL	—	0.022	—	0.032	—	0.044	—

総放射能 (TRR) は、[¹⁴C]KNF-474m換算で示した。

^a 全濃度値は丸め処理をして有効数字 2 桁で表示する。

^b 日間生物濃縮係数 (BCF) は組織濃度を水の各採取日を含むそれまでの全測定の平均濃度 (連続平均) で割って求めた。

^c 水の最小定量限界 (MQL) は 0.000321 mg/L であった。

表IX.6.3. ブルーギルサンフィッシュにおける KNF-474mの取込及び排泄動態(モデル式)

	B 群 (名目濃度 0.4 mg/L)	D 群 (名目濃度 0.04 mg/L)
K ₁ , 取込速度定数 (mg/kg 魚体/mg/L 水/日)	181	191
K ₂ , 消失速度定数 (days ⁻¹)	1.5	1.7
50%排泄期間 (日)	0.45	0.41
生物濃縮係数(BCF)	119	114
90%定常状態の期間 (日)	1.5	1.4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 IX.6.4. ブルーギルサンフィッシュ中の KNF-474m 由来残留成分の分布 (%TRR)

残留成分	化学名	高用量 (0.40 ppm 名目濃度)		低用量 (0.04 ppm 名目濃度)	
		食用部 (%TRR)	内臓 (%TRR)	食用部 (%TRR)	内臓 (%TRR)
T-18 (KNF-474m)	親化合物	78-90	79-80	65	38

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 7. 代謝分解のまとめ

メトコナゾール(メトコナゾール)の代謝、分解および残留の要約は次の通りであり、その推定代謝経路をIX-114 頁に、結果の概要をIX-115 頁に示した。

IX. 7. 1 動物代謝

ラットに単回経口投与したメトコナゾールは、消化管で吸収され代謝分解を受け、低用量(資料 3-1-①)で 72 時間、高用量(資料 3-1-②)で 120 時間内に定量的 (93~96%) に排泄され、体内残留量は 2%以下であった。雌雄ともに主要排泄経路は糞中であつたが、雌の方が尿への排泄が多く性差が認められた。反復投与においてもその傾向に差はなかつた。血漿中濃度は、その T_{max} が低用量で 0.25 時間、高用量で 4 時間であり、また半減期は、雌雄及び用量に関りなく一相性の一次減衰性であり、低用量で 20~34 時間、高用量では 25~34 時間である。吸収率は投与量に影響していない(資料 3-1-③)。

体内分布は吸収部位である消化管が最も高く、次いで肝臓と副腎で高濃度が検出され、特に低用量の副腎でやや残留する傾向が認められた。胆汁排泄試験(資料 3-1-④)から、糞排泄は全量胆汁中放射能に由来し、腸肝循環が示唆された。

IX. 7. 2 植物代謝

IX. 7. 2. 1. コムギ(資料 3-2-①)

バランスとしては麦わらから 94~95%が、籾殻から 5~6%が検出され、メトコナゾールが一部移行することが確認された。そのうち 10%以上含まれる成分は親化合物だけであり、代謝分解は緩慢であつた。

IX. 7. 2. 2 ミカン(資料 3-3-①)

処理後時間とともにメトコナゾールがミカン表面から果皮に移行するが、果肉中にはほとんど移行しなかつた (0.01mg/kg 未満)。

果皮ではより高極性の代謝物が生成するが、TRR の 10%を越えるのは親化合物のみで代謝分解は緩慢であつた。

基本的な同じ代謝経路であつた。

コムギと

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

IX. 7. 2. 3 なたね(資料 3-7-①②)

処理されたメトコナゾールの大部分は茎葉部および莢に存在し (最大 14.95~20.67 ppm)、種子に移行した放射能はわずかであった (1.85~2.39 ppm)。茎葉部及び莢では、未変化のメトコナゾールが主要残留成分であり、

種子中では、 標識体処理では 及び親化合物が、 標識体処理では親化合物が、それぞれ主要成分であった。コムギ及びミカンと同様、メトコナゾールは

IX. 7. 3. 土壌代謝(資料 3-4-①)

軽埴土を用いたメトコナゾールの土壌代謝試験では、半減期前後までは比較的速やか(半減期 49-74 日)に分解するが、次第に結合型残留物 (bound residue) が増加し分解は緩慢になる。基本的にコムギと同じ代謝経路が考えられ、CO₂の発生も確認された (標識体 196 日後で 20.8%)。分解は微生物分解が主と考えられた。4 種の土壌での土壌吸着はやや強く、移動性は小さいと判断され地下水汚染の心配はないと考えられる。

IX. 7. 4. 水中運命(資料 1-17-①②及び 3-5-①)

加水分解予備試験において pH4, 7 及び 9 かつ 50℃ 5 日間において 90%以上の残存率であり、25℃で 1 年以上安定と判断される。

標識体を用いた試験では、蒸留水と池水(自然水)ともにほとんど差がなく光分解が進み、その半減期は北緯 35° の春に換算すると cis 体で約 145 日、trans 体で約 180 日、メトコナゾールとして 159 日であり、比較的緩慢である。

IX. 7. 5. 土壌吸着性 (資料 3-6-①②)

メトコナゾール cis 体および trans 体の火山灰土壌を含む 4 種類の土壌での土壌吸着定数 KFadsOC は、それぞれ 362~1198 および 736~1313 であり、比較的土壌に吸着しやすく、移行性は小さく地下水等への移行の心配はないと判断される。

IX. 7. 6. 生物濃縮性 (資料 4-7-③)

メトコナゾールのブルーギルサンフィッシュを使用した生物濃縮性試験の結果、試験濃度 0.4mg/L および 0.04mg/L における生物濃縮係数 (BCF) は 119 および 114 と小さく、また、90% 排泄期間も 1.5 日ないし 1.4 日と非常に速やかに排泄される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

図IX-7-1 メトコナゾールの動物・植物・土壌および水中光分解運命における推定代謝経路

表IX-7-1 代謝分解のまとめ

試験項目	代謝物	濃度 (ng/L)										合計	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
代謝物	20ng/L 濃度 (0-72h) 検	nd										81	
	164ng/L 濃度 (0-96h) 検	nd										15	
	20ng/L 濃度 (0-72h) 検	nd										81	
	164ng/L 濃度 (0-96h) 検	nd										14	
	20ng/L 濃度 (0-72h) 検	nd										81	
	164ng/L 濃度 (0-96h) 検	nd										28	
代謝物	200ng/L 濃度 (72-96h) 検	nd										28	
	20ng/L 濃度 (0-72h) 検	nd										28	
	164ng/L 濃度 (0-96h) 検	nd										78	
	20ng/L 濃度 (0-72h) 検	nd										20	
	164ng/L 濃度 (0-96h) 検	nd										20	
	20ng/L 濃度 (0-72h) 検	nd										20	
コルチコステロイド	検出 (54日検)	37.3										100.0	
	検出 (54日検)	7.253										0.218	
	検出 (54日検)	23.9										100.0	
	検出 (54日検)	0.819										2.528	
	検出 (54日検)	nd										100.0	
	検出 (54日検)	nd										0.137	
コルチコステロイド	検出 (54日検)	43.8										100.0	
	検出 (54日検)	3.879										0.823	
	検出 (54日検)	26.9										100.0	
	検出 (54日検)	1.11										0.258	
	検出 (54日検)	nd										100.0	
	検出 (54日検)	nd										0.017	
メカニ	検出 (28日検)	12.2										18.2	
	検出 (28日検)	0.212										0.271	
	検出 (54日検)	8.3										15.2	
	検出 (54日検)	0.026										0.019	
	検出 (28日検)	41.8										80.0	
	検出 (28日検)	0.041										0.078	
	検出 (54日検)	38.9										81.7	
	検出 (54日検)	0.078										0.098	
	検出 (28日検)	13.8										18.8	
	検出 (28日検)	0.014										0.026	
	検出 (54日検)	6.0										11.5	
	検出 (54日検)	0.027										0.019	
メカニ	検出 (28日検)	40.3										78.7	
	検出 (28日検)	0.028										0.027	
	検出 (54日検)	43.0										84.8	
	検出 (54日検)	0.028										0.028	
	検出 (28日検)	55.3										100	
	検出 (28日検)	4.27										8.63	
	検出 (42日検)	58.7										100	
	検出 (42日検)	11.5										20.25	
	検出 (58日検)	18.4										100	
	検出 (58日検)	3.27										18.81	
	検出 (58日検)	74.1										100	
	検出 (58日検)	0.57										2.28	
メカニ	検出 (28日検)	67.8										100	
	検出 (28日検)	3.29										5.80	
	検出 (42日検)	80.8										100	
	検出 (42日検)	3.80										5.82	
	検出 (64日検)	40.3										100	
	検出 (64日検)	8.22										20.87	
	検出 (64日検)	38.9										100	
	検出 (64日検)	0.73										1.85	
	メカニ	検出 (14日)	77.8										102.8
		検出 (28日)	25.2										100.8
		検出 (54日)	48.2										83.8
		検出 (84日)	43.2										87.2
検出 (112日)		44.2										85.1	
検出 (140日)		37.1										81.7	
検出 (168日)		37.8										83.8	
メカニ		検出 (14日)	77.2										100.2
		検出 (28日)	45.1										83.8
		検出 (54日)	33.7										64.8
		検出 (84日)	48.8										82.8
		検出 (112日)	41.2										87.0
	検出 (140日)	45.7										84.7	
	検出 (168日)	40.8										81.2	
	水中成分分解	検出 (pH7.0で20°Cの予備試験の結果分解が10%未満のため、代謝試験は実施されず)											
		検出 (3日)	87.8										97.8
		検出 (6日)	90.8										97.1
		検出 (14日)	88.2										97.8
		検出 (20日)	84.8										95.8
検出 (28日)		78.5										95.8	
検出 (40日)		71.8										91.2	
検出 (54日)		87.8										98.7	
検出 (87日)		82.8										100.5	
検出 (14日)		88.7										97.8	
検出 (20日)		83.0										85.8	
検出 (28日)		73.5										84.2	
検出 (40日)	72.0										84.5		

IX.7.7. メトコナゾールの動植物代謝における異性体間での代謝の差異に関する考察

メトコナゾールは、メトコナゾール cis 及びメトコナゾール trans の二つの異性体混合物であり、メトコナゾール原体は、cis 体、trans 体をそれぞれ含有する。物理化学性の安定性試験でも安定な物質であり、通常の保存条件では、異性体変換は生じない。代謝物及び親化合物の異性体構成比を動物及び植物体内運命試験の前後で比較することにより、異性体間の代謝の差異の有無を推定した。いずれの試験においても trans 体由来の代謝物の存在を確認することができなかつたため、代謝物からは異性体間の代謝の差異に関する情報は得られなかつたが、親化合物の異性体構成比は、動物および植物体内運命試験のいずれにおいても試験開始前と試験後で顕著な差は認められなかつた。また、cis 体のみを処理したコムギ植物体内運命試験においても、trans 体のメトコナゾールは検出されなかつた（資料 3-2-②）。異性体間の変換が起こる場合、供試化合物の異性体構成比は試験開始前と試験後で変化すると推定されるが、動物体内及び植物体内運命試験において試験前後のメトコナゾールの異性体構成比に顕著な変動は認められなかつたことから、動物及び植物体中での異性体間の変換は起こらないものと考えられた。

動植物代謝試験における試験前後のメトコナゾールの異性体比

試験名	資料番号	標識位置	投与量 (mg/kg)	分析対象サンプル	供試メトコナゾールの異性体構成比 (ct)	親化合物残留量 (投与放射能に対する割合%)	(異性体構成比)
動物代謝	3-1-②	標識体	164	糞 (0~96h)		2	↑
				尿 (0~96h)		nd	↑
				糞 (0~96h)		2	↑
	3-1-⑤	標識体	2	尿 (0~96h)		nd	↑
				糞 (0~72h)		2	↑
				尿 (0~72h)		2	↑
	3-1-⑦	標識体	200	糞 (0~72h)		nd	↑
				糞 (24~96h)		nd	↑
				尿 (24~96h)		nd	↑

試験名	資料番号	標識位置	散布量 (g ai/ha)	分析対象サンプル	供試メトコナゾールの異性体構成比 (ct)	親化合物残留量 (投与放射能に対する割合%)	(異性体構成比)	
コムギ	3-2-①	標識体	135	葉わら(56日後)		43.7	↑	
				籾殻(56日後)		26.0	↑	
				穀粒(56日後)		-	↑	
	3-2-③	標識体	135	葉わら(56日後)		37.3	↑	
				籾殻(56日後)		23.2	↑	
				穀粒(56日後)		-	↑	
	3-2-④	標識体	360	葉わら(61日後)		31.7	↑	
				穀粒(61日後)		-	↑	
	3-2-⑤	標識体	370	葉わら(74日後)		17.5	↑	
				穀粒(74日後)		-	↑	
	植物代謝 メカン	3-3-①	標識体	200	果実表面洗浄液(28日後)		13.8	↑
					果実表面洗浄液(56日後)		8.0	↑
果皮抽出液(28日後)						40.3	↑	
果皮抽出液(56日後)						43.0	↑	
標識体			200	果実表面洗浄液(28日後)		12.3	↑	
				果実表面洗浄液(56日後)		8.3	↑	
				果皮抽出液(28日後)		41.8	↑	
				果皮抽出液(56日後)		38.9	↑	
標識体			200	葉表面洗浄液(28日後)		33.7	↑	
				葉表面洗浄液(56日後)		26.5	↑	
				葉抽出液(28日後)		23.2	↑	
				葉抽出液(56日後)		21.8	↑	
標識体		200	葉表面洗浄液(28日後)		35.4	↑		
			葉表面洗浄液(56日後)		22.7	↑		
			葉抽出液(28日後)		17.9	↑		
			葉抽出液(56日後)		22.5	↑		
3-3-②		標識体	200	果実表面洗浄液(21日後)		59.9	↑	
				果実表面洗浄液(49日後)		36.21	↑	
				果皮抽出液(49日後)		26.41	↑	
				果実表面洗浄液(21日後)		58.74	↑	
		標識体	200	果実表面洗浄液(49日後)		32.88	↑	
				果皮抽出液(49日後)		31.04	↑	
				葉表面洗浄液(21日後)		49.92	↑	
				葉表面洗浄液(49日後)		28.44	↑	
標識体	200	葉抽出液(49日後)		11.18	↑			
		葉表面洗浄液(21日後)		59.51	↑			
		葉表面洗浄液(49日後)		38.42	↑			
		葉抽出液(49日後)		9.76	↑			

メトコナゾール開発年表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。