

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2. 植物における代謝試験

(資料 P-1)

(1) キャベツにおける代謝試験

試験機関：

報告書作成年：

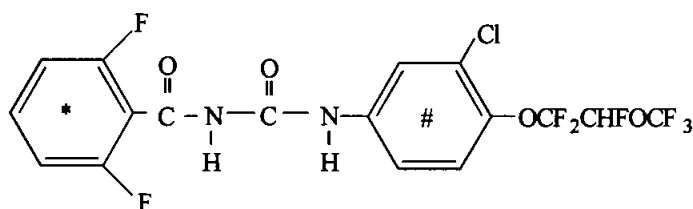
供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール-¹⁴C(U) 標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール-¹⁴C(U) 標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

*：[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U) 標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ¹⁴ C(U) 標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試植物：キャベツ (品種：Stonehead)

1) 栽培条件

プラスチックポット(長さ 70 cm x 巾 40 cm x 深さ 30 cm)に植え、トンネル状に網をはった戸外の場所で栽培した。栽培環境は自然環境とした。土壌は肥料を混合した砂質壤土(クレイ 12%，シルト 14%，砂 74%，有機炭素 0.8%および pH 7.7)を使用した。

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エス・ディー・エス パイオテックにある。

2) 試験個数

各標識体に6キャベツ/ポットを3ポット使用

3) 栽培管理

十分な水やりと適切な殺虫剤の処理をした。ナメクジ剤を4回、アブラムシ用に1回殺虫剤を処理した。

方法：

1) 施用液の調製

[¹⁴C]ノバルロンを非活性成分ノバルロン 10ECに添加し、水に均一に懸濁して乳剤とし、施用液を調製した。

2) 処理の部位と方法

処理部位：キャベツ全体

処理回数：2回散布

処理方法：各試験区3ポットを適切な場所におき散布用テントを木製フレームとプラスチックシートを用いてポットの周りに張った。施用液を入れた噴霧器を散布テントの切れ目から入れ、植物に全量を均一に散布した。散布テントは試料のサンプリングの為、取り外すまで2-4時間はそのまま放置した。

処理量：有効成分量として50 g/ha/処理、製剤量として0.25 L/ha

処理量の設定根拠：圃場における慣行施用量（有効成分量として25-50 g/ha）に相当する量として50 g/haを選定した。

処理時期：表1に示す。

表1 各ラベル体のキャベツへの処理時期と試験区の名称

処理	処理時期	
試験区名	6 week PHI	2 week PHI
1回目処理	収穫前8週間	収穫前5週間
2回目処理	収穫前6週間	収穫前2週間

3) 採取時期

3-1) 採取時期

採取時期を表2に示す。

表2 各ラベル体処理後のキャベツの採取時期

試料採取時点	6 week PHI	2 week PHI
1回目処理	収穫前8週間	収穫前5週間
2回目処理	収穫前6週間	収穫前2週間
1回目中間	収穫前4週間	収穫前1週間
2回目中間	収穫前2週間	-
収穫	1997. 10. 1	1997. 10. 1

処理直後の採取は散布終了後2-4時間後に採取した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

3-2) 採取個数

各ポットから1個のキャベツをポリ袋に採取した。2個は分析用に使用、残り1個は予備試料として凍結保存。

4) 分析方法

① 試料の前処理

処理開始前に根の土壌をすすぎ、根を除去し保存したが、分析はしなかった。

② 放射性総残留物 (TRR) の測定

根を除去した試料を採取後 24 時間内にアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液の放射能レベルを LSC で測定した。表面洗浄後、キャベツは芯の下の部分でカットして外葉と内葉に分割した。収穫前 8 週間で採取した試料は個々に分析したが、他の試料は合わせた後分析した。

洗浄後のキャベツ試料はアセトニトリルおよびアセトニトリル:水混液でホモジナイズして抽出した。抽出物はろ紙でろ過し、抽出液を分取、抽出液の放射能レベルを LSC で測定した。抽出残渣は酸化燃焼処理後 LSC で測定した。

TRR は表面洗浄液 (キャベツを入れたポリ袋の洗浄液を含む)、抽出物および抽出残渣の放射能の合計として求めた。

図 1 に分析法の概要を示す。

③ 放射能測定

液体試料は液体シンチレーション計数法 (LSC) により、直接定量分析した。抽出残渣は試料燃焼装置で燃焼処理後 LSC により測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

③抽出物中の放射性成分の分析

図 1 で示された分析法により、得られた洗浄液および有機溶媒可溶抽出物で顕著な放射能レベルが検出された試料について HPLC 分析および LC-MS 分析に供した。

結果

結果を表 3 から 5 に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は 30 -45 g/ha/処理であった。

A ラベル製剤施用液中に不純物が検出され、放射能の %であった。施用液の放射化学的純度は %以上であった。

2) TRR の分布および移行

各ラベル体をキャベツに処理した時の総放射能濃度を表 3 に要約し、分布を表 4 に示した。

放射性残留物のレベルは 1 回目処理後では 0.496 から 0.840 ppm であったが、2 回目の処理後では増大(0.535 から 1.085 ppm)した。その後収穫時にかけてキャベツの成熟により減少した(0.234 から 0.448 ppm)。

全試験区の各採取試料で、放射能の大部分はアセトニトリルにより植物体の表面から洗浄除去された。1回目処理後の表面洗浄液の放射能比は TRR の 94.8 から 97.7%であったが、収穫時では TRR の 81.9 から 90.0%に減少した。残りの放射能物質の大部分は外葉および内葉から抽出された。1回目処理後の外葉および内葉から抽出された放射性物質の比率は TRR の 2.2 から 5.1%の範囲であった。この比率は植物体の表面洗浄放射能が減少するにつれて TRR の 8.0 から 15.3%に増加した。このことよりノバルロンは葉に吸収された。外葉および内葉の抽出物中での放射性物質の大部分はその後の有機溶媒で抽出された。残りの水溶性性残留物は TRR の 1.0% (≤ 0.005 ppm)以下であった。キャベツ中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 2.8% (≤ 0.009 ppm) 以下であった。

表 3 ^{14}C -ノバルロン処理後のキャベツ中の放射能濃度 ($\mu\text{g eq/g}$)

試料採取時点	処理			
	B ラベル (6 weeks PHI)	A ラベル (6 weeks PHI)	B ラベル (2 weeks PHI)	A ラベル (2 weeks PHI)
処理 1	0.840 (8 weeks PHI)	0.620 (8 weeks PHI)	0.530 (5 weeks PHI)	0.496 (5 weeks PHI)
処理 2	1.029 (6 weeks PHI)	1.085 (6 weeks PHI)	0.637 (2 weeks PHI)	0.535 (2 weeks PHI)
中間採取 1	0.634 (4 weeks PHI)	0.544 (4 weeks PHI)	0.601 (1 weeks PHI)	0.479 (1 weeks PHI)
中間採取 2	0.446 (2 weeks PHI)	0.435 (2 weeks PHI)	-	-
収穫	0.234	0.345	0.448	0.323

PHI：収穫時までの期間

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 4-1 Bラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布 (試料6 week PHI 区)

採取時点	処理 1		処理 2		中間採取 1		中間採取 2		収穫	
	8 week PHI		6 week PHI		4 week PHI		2 week PHI			
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
アセトニトリル 洗浄液:	94.8	0.796	87.7	0.903	87.0	0.552	85.7	0.382	81.9	0.192
アセトニトリル抽出物										
外葉	3.9	0.033	9.3	0.096	10.6	0.067	10.9	0.048	12.6	0.030
内葉	0.7	0.006	0.5	0.005	0.5	0.003	0.5	0.002	0.6	0.001
アセトニトリル/水抽出物										
外葉	0.4	0.004	1.8	0.018	1.0	0.006	1.7	0.008	2.1	0.005
内葉	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.000	ND	ND	ND	ND
抽出物合計	5.1	0.044	11.7	0.12	12.2	0.076	13.1	0.058	15.3	0.036
有機溶媒可溶:										
外葉	4.8	0.040	11.1	0.114	10.0	0.063	13.6	0.061	14.6	0.034
内葉	0.7	0.006	0.6	0.006	0.5	0.003	0.6	0.003	0.5	0.001
水性残留物:										
外葉	0.1	0.001	0.2	0.002	0.2	0.001	0.6	0.003	0.3	0.001
内葉	0.0	0.000	0.0	0.000	0.0	0.000	ND	ND	ND	ND
抽出不能残渣:										
外葉	0.1	0.001	0.5	0.005	0.8	0.005	1.1	0.005	2.5	0.006
内葉	0.0	0.000	0.0	0.000	0.1	0.001	0.1	0.000	0.2	0.000
TRR	100.0	0.840	100.0	1.029	100.0	0.634	100.0	0.446	100.0	0.234

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

表 4-2 Aラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布 (試料6 week PHI 区)

採取時点	処理 1		処理 2		中間採取 1		中間採取 2		収穫	
	8 week PHI		6 week PHI		4 week PHI		2 week PHI			
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
アセトニトリル 洗浄液:	96.9	0.601	94.4	1.024	91.3	0.497	90.9	0.396	89.3	0.309
アセトニトリル抽出物										
外葉	1.7	0.011	4.2	0.045	6.3	0.034	6.5	0.028	6.6	0.023
内葉	0.8	0.005	0.4	0.004	1.0	0.005	0.7	0.003	1.1	0.004
アセトニトリル/水抽出物										
外葉	0.3	0.002	0.5	0.006	0.6	0.003	0.8	0.004	0.3	0.001
内葉	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.001	ND	ND
抽出物合計	2.9	0.019	5.2	0.056	8.0	0.043	8.1	0.036	8.0	0.028
有機溶媒可溶:										
外葉	1.6	0.010	4.4	0.048	6.4	0.035	7.5	0.033	7.5	0.026
内葉	0.8	0.005	0.4	0.005	1.1	0.006	0.8	0.003	0.9	0.003
水性残留物:										
外葉	0.1	0.000	0.1	0.001	0.2	0.001	0.2	0.001	0.2	0.001
内葉	0.0	0.000	ND	ND	0.0	0.000	ND	ND	ND	ND
抽出不能残渣:										
外葉	0.1	0.001	0.3	0.004	0.6	0.003	0.8	0.003	2.5	0.009
内葉	0.1	0.000	0.0	0.000	0.1	0.001	0.1	0.001	0.2	0.001
TRR	100.0	0.62	100.0	1.085	100.0	0.544	100.0	0.435	100.0	0.345

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 4-3 Bラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布 (試料2week PHI 区)

採取時点	処理 1		処理 2		中間採取 1		収穫	
	5 week PHI		2 week PHI		1 week PHI			
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
アセトニトリル 洗浄液:	96.6	0.512	96.4	0.614	92.7	0.556	88.3	0.395
アセトニトリル抽出物								
外葉	1.2	0.006	2.3	0.014	3.6	0.021	5.7	0.025
内葉	1.7	0.009	0.6	0.004	2.2	0.013	4.0	0.018
アセトニトリル/水抽出物								
外葉	0.2	0.001	0.4	0.002	0.7	0.004	0.7	0.003
内葉	0.2	0.001	0.1	0.001	0.4	0.003	0.7	0.003
抽出物合計	3.3	0.017	3.4	0.021	6.9	0.041	11.1	0.049
有機溶媒可溶:								
外葉	1.3	0.007	2.1	0.013	6.2	0.037	7.1	0.032
内葉	1.9	0.010	0.6	0.004	2.2	0.013	4.8	0.021
水性残留物:								
外葉	0.1	0.000	0.2	0.001	0.2	0.001	ND	ND
内葉	ND	ND	0.0	0.000	ND	ND	0.1	0.001
抽出不能残渣:								
外葉	0.1	0.000	0.2	0.002	0.3	0.002	0.3	0.001
内葉	0.0	0.000	0.1	0.000	0.2	0.001	0.3	0.001
TRR	100.0	0.530	100.0	0.637	100.0	0.601	100.0	0.448

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

表 4-4 Aラベルノバルロン処理後のキャベツ中の放射能分布 (試料2 week PHI 区)

採取時点	処理 1		処理 2		中間採取 1		収穫	
	5 week PHI		2 week PHI		1 week PHI			
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
アセトニトリル 洗浄液:	97.7	0.485	94.0	0.503	91.5	0.438	90.0	0.290
アセトニトリル抽出物								
外葉	1.3	0.007	3.5	0.019	4.3	0.021	5.1	0.016
内葉	0.6	0.003	1.6	0.009	2.8	0.014	3.2	0.010
アセトニトリル/水抽出物								
外葉	0.2	0.001	0.4	0.002	0.5	0.003	0.7	0.002
内葉	0.1	0.000	0.1	0.001	0.4	0.002	0.6	0.002
抽出物合計	2.2	0.011	5.6	0.031	8.0	0.04	9.6	0.03
有機溶媒可溶:								
外葉	1.4	0.007	3.6	0.019	4.7	0.023	5.8	0.019
内葉	0.7	0.003	1.6	0.008	1.8	0.009	3.3	0.011
水性残留物:								
外葉	ND	ND	0.1	0.000	ND	ND	ND	ND
内葉	ND	ND	0.0	0.000	1.0	0.005	0.3	0.001
抽出不能残渣:								
外葉	0.1	0.000	0.3	0.002	0.2	0.001	0.3	0.001
内葉	0.0	0.000	0.1	0.000	0.2	0.001	0.1	0.000
TRR	100.0	0.496	100.0	0.535	100.0	0.479	100.0	0.323

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

0.0= <0.05 0.000= <0.0005 ND: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

3) 代謝

キャベツの放射性成分の分析結果を表5に示す。

全処理区において各採取時点で採取したキャベツの洗浄液および抽出物の放射性物質はほとんどすべてノバルロンであった。検出されたノバルロンの比率は95.6から99.9%であり、そのレベルは1回目処理(0.484-0.834 ppm)から収穫時(0.225-0.447 ppm)に減少した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5-1 ノバルロン処理後のキャベツ中の放射性成分の同定 (試料 6 week PHI 区)

B ラベル	採取時点	処理 1 8 week PHI	処理 2 6 week PHI	中間採取 1 4 week PHI	中間採取 2 2 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm
A ラベル	採取時点	処理 1 8 week PHI	処理 2 6 week PHI	中間採取 1 4 week PHI	中間採取 2 2 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm

表 5-2 ノバルロン処理後のキャベツ中の放射性成分の同定 (試料 2 week PHI 区)

B ラベル	採取時点	処理 1 5 week PHI	処理 2 2 week PHI	中間採取 1 1 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm
A ラベル	採取時点	処理 1 5 week PHI	処理 2 2 week PHI	中間採取 1 1 week PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

まとめ

キャベツに処理された $[^{14}\text{C}]$ ノバルロンはキャベツに残留し、その大部分は外葉に検出された。またその残留量は時間経過につれ減少した。残留した主要放射能成分はノバルロンのみであった。

(資料 P-2)

(2) ジャガイモにおける代謝試験

試験機関：

報告書作成年

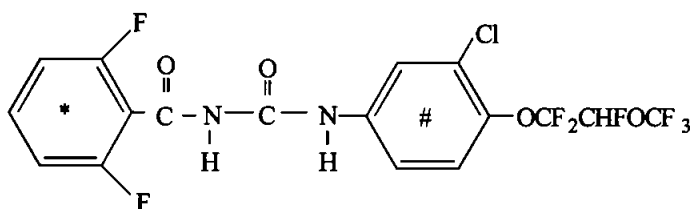
供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

*：[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試植物：ジャガイモ (品種：Maris Peer)

1) 栽培条件

種イモは市販品を購入。1997年7月2日にポット(直径 30 cm)に移植し、戸外で栽培した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

栽培環境は自然環境とした。土壌は肥料を混合した砂質壤土(クレイ 10 or 11%, シルト 26 or 30 %, 砂 64 or 59%, 有機炭素 1.7 or 0.5%および pH 7.0 or 7.3)を使用した。

2) 試験個数

各標識体に 1 ジャガイモ植物/ポットを 16 ポット使用。

3) 栽培管理

十分な水やりと胴枯れ病に対し、マンゼブを約 10 日間隔で処理をした。

方法：

1) 施用液の調製

[^{14}C]ノバルロンに非放射性ノバルロン()および不活性成分ノバルロン 10EC を添加し、水に均一に懸濁して乳剤とし、施用液を調製した。

2) 処理の部位と方法

処理部位：ジャガイモ植物体全体

処理回数：2 回散布

処理方法：各試験区ポットを適切な場所におき散布用テントを木製フレームとプラスチックシートを用いてポットの周りに張った。施用液を入れた散布装置を散布テントの切れ目から入れ、植物に全量を均一に散布した。散布テントは試料のサンプリングの為、取り外すまで 2-4 時間はそのまま放置した。

処理量：有効成分量として 100 g/ha/処理， 製剤量として 0.5 L/ha/処理

処理量の設定根拠：圃場における慣行施用量（有効成分量として 100 g/ha 処理）に相当する量として 100 g/ha/処理を選定した。

処理時期：表 1 に示す。

表 1 各ラベル体のジャガイモへの処理時期

処理	処理時期
第 1 回処理	収穫前 43 日
第 2 回処理	収穫前 29 日

3) 採取時期

3-1) 採取時期

採取時期を表 2 に示す。

表 2 各ラベル体処理後のジャガイモの採取時期

試料採取時点	採取時期
第 1 回処理	収穫前 43 日
第 2 回処理	収穫前 29 日
第 1 回中間	収穫前 22 日
第 2 回中間	収穫前 10 日
収穫	1997. 10. 23

処理直後の採取は散布終了後 2-4 時間後に採取した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

3-2) 採取個数

各試験区から2個のジャガイモ植物をまず葉を切り取り、葉をポリ袋に採取した。次に土壌を掘りおこし、塊茎を採取し、別のポリ袋に採取した。1個の植物は分析用に使用、残り1個は予備試料として凍結保存。

4) 分析方法

① 試料の前処理

処理開始前に塊茎の土壌を水で洗浄し、その後塊茎を乾燥した。

② 放射性総残留物 (TRR) の測定

a. 葉の試料

採取後24時間内にアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液の放射能レベルをLSCで測定した。洗浄後の葉の試料はアセトニトリルおよびアセトニトリル：水混液でホモジナイズして抽出した。抽出物はろ紙でろ過し、抽出液を分取、抽出液の放射能レベルをLSCで測定した。抽出残渣は酸化燃焼処理後LSCで測定した。

TRRは表面洗浄液(ジャガイモ葉の試料を入れたポリ袋の洗浄液を含む)、抽出物および抽出残渣の放射能の合計として求めた。

図1に分析法の概要を示す。

b. 塊茎の試料

CO₂でホモジナイズ後1部を酸化燃焼処理後LSCで測定した。

③ 放射能測定

液体試料は液体シンチレーション計数法(LSC)により、直接定量分析した。固体試料は試料燃焼装置で燃焼処理後LSCにより測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

③抽出物中の放射性成分の分析

図1で示された分析法により、得られた洗浄液および有機溶媒可溶抽出物で顕著な放射能レベルが検出された試料について HPLC 分析を行い、一部の試料については LC-MS 分析に供した。

結果

結果を表3から5に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は 91 - 100 g/ha/処理であった。

A ラベル製剤施用液中に不純物が検出され、放射能の % であった。施用液の放射化学的純度は % 以上であった。

2) TRR の分布および移行

各ラベル体をジャガイモに処理した時の総放射能濃度を表3に要約し、分布を表4に示した。第1回処理後での葉中の放射性残留物のレベルは 1.56-2.17 ppm であった。放射性残留物のレベルは第2回の処理後では増大 (4.81- 6.96 ppm) し、その後収穫前10日では減少 (0.79 - 2.17 ppm) したが収穫時には葉が枯れたことにより増大した (5.89 - 9.87 ppm)。塊茎では収穫前10日および収穫時で極めて低いレベルの放射性残留物 (<0.01 ppm) が検出された。塊茎は TRR の調査しか行わなかった。

ジャガイモに処理された放射能の大部分は植物体(葉)の表面からアセトニトリルで洗浄除去された。第1回処理後の表面洗浄液の放射能比は TRR の 93.8 - 95.9% であった。これは収穫時には TRR の 80.5 - 83.3% に減少した。残りの放射能物質の大部分は葉から抽出された。第1回処理後の葉から抽出された放射性物質の比率は TRR の 3.9 - 6.0% の範囲であった。これは植物体の表面洗浄放射能が減少するにつれて TRR の 15.5 - 18.7% に増加した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

従ってノバルロンは葉に吸収されていた。葉の抽出物中での放射性物質の大部分は次いで有機溶媒可溶抽出物に分配された。残存水性残留物は TRR の 0.6% (≤0.049 ppm) 以下であった。葉中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 1.2% (≤0.119 ppm) 以下であった。

表 3 各標識体処理後のジャガイモ中の放射能濃度 (μg equiv./g, ppm)

	処理 1 43日 PHI (ppm)	処理 2 29日 PHI (ppm)	中間採取 1 22日 PHI (ppm)	中間採取 2 10日 PHI (ppm)	収穫 (ppm)
B ラベルノバルロン					
葉	2.17	4.81	4.37	0.79	9.87
塊茎	ND	ND	ND	<0.01	ND
A ラベルノバルロン					
葉	1.56	6.96	4.32	2.17	5.89
塊茎	ND	ND	ND	<0.01	<0.01

ND: 検出せず

PHI=収穫時までの期間

表 4-1 Bラベルノバルロン処理後のジャガイモの放射能分布

採取時点	処理 1 43日 PHI		処理 2 29日 PHI		中間採取 1 22日 PHI		中間採取 2 10日 PHI		収穫	
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
葉: アセトニトリル 洗浄液:	93.8	2.037	91.0	4.380	88.2	3.853	86.2	0.677	83.3	8.227
アセトニトリル抽出物:	5.5	0.120	7.3	0.350	10.5	0.457	11.5	0.090	11.2	1.107
アセトニトリル/水抽出物	0.5	0.011	1.0	0.050	1.0	0.045	1.2	0.010	4.3	0.422
抽出物合計	6.0	0.131	8.3	0.400	11.5	0.502	12.7	0.100	15.5	1.529
有機溶媒可溶:	5.7	0.125	7.7	0.372	11.8	0.515	13.1	0.103	14.6	1.438
水性残留物:	0.2	0.004	0.2	0.010	0.3	0.013	0.6	0.005	0.5	0.049
抽出不能残渣:	0.2	0.004	0.7	0.033	0.4	0.015	1.1	0.008	1.2	0.119
TRR	100.0	2.172	100.0	4.814	100.0	4.370	100.0	0.785	100.0	9.874
塊茎: TRR	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.0	0.001	ND	ND

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

ND: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 4-2 Aラベルノバルロン処理後のジャガイモの放射能分布

採取時点	処理 1 43日 PHI		処理 2 29日 PHI		中間採取 1 22日 PHI		中間採取 2 10日 PHI		収穫	
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
葉： アセトニトリル 洗浄液：	95.9	1.496	90.2	6.278	88.7	3.833	87.4	1.899	80.5	4.744
アセトニトリル抽出物：	3.6	0.056	6.5	0.451	9.7	0.419	10.8	0.235	15.0	0.886
アセトニトリル/水抽出物	0.3	0.005	2.2	0.154	1.1	0.048	1.1	0.024	3.7	0.216
抽出物合計	3.9	0.061	8.7	0.605	10.8	0.467	11.9	0.259	18.7	1.102
有機溶媒可溶：	3.9	0.061	8.1	0.562	11.4	0.491	11.8	0.257	18.3	1.077
水性残留物：	0.1	0.001	0.1	0.010	0.4	0.019	0.3	0.006	0.2	0.009
抽出不能残渣：	0.2	0.002	1.1	0.078	0.5	0.023	0.7	0.014	0.8	0.048
TRR	100.0	1.559	100.0	6.962	100.0	4.323	100.0	2.173	100.0	5.894
塊茎：										
TRR	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.0	0.001	100.0	0.001

PHI: 収穫時までの期間

TRR= アセトニトリル洗浄液+抽出物+残渣

ND: 検出せず

3) 代謝

ジャガイモの放射性成分の分析結果を表 5 に示す。

表 5 ノバルロン処理後のジャガイモ葉中の放射性成分の同定

B ラベル	採取時点	処理 1 43 日 PHI	処理 2 29 日 PHI	中間採取 1 22 日 PHI	中間採取 2 10 日 PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm
A ラベル	採取時点	処理 1 43 日 PHI	処理 2 29 日 PHI	中間採取 1 22 日 PHI	中間採取 2 10 日 PHI	収穫
	代謝物	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm	% TRR ppm

PHI: 収穫時までの期間

葉の表面洗浄液および有機溶媒可溶抽出物は HPLC で分析した。全処理区的全ジャガイモの洗浄液および抽出物の放射性物質はほとんどすべてノバルロンであるといえた。検出されたノバルロンの比率は 96.4 ~ 99.6% の範囲であり、そのレベルは第 1 回処理 (1.522 ~ 2.152 ppm) から収穫前 10 日 (0.772 ~ 2.093 ppm) で減少し、その後収穫時 (5.707 ~ 9.573 ppm) で葉が枯れたことにより増加した。

まとめ

ジャガイモに処理されノバルロンはジャガイモの葉に残留し、塊茎には顕著な放射能は検出されなかった。従って葉に処理されたノバルロンは塊茎に移行しなかった。残留した放射能は処理直後が高く、その後収穫 10 日前で減少したが、収穫時には再び高かった。これは葉が枯れたことによると推察された。

(資料 P-3)

(3) りんごにおける代謝試験

試験機関：

報告書作成年：

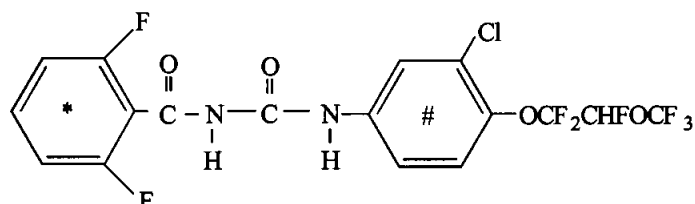
供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

*：[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試植物：りんご (品種：ゴールドデンデリシャス)

1) 作物選定の根拠

りんごは被験物質の代表的な適用作物の1つであり、作物での残留性と特徴について評価する為。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 栽培条件

2年生以上の結実した果実があるりんごの樹をプラスチックポット (38 cm × 38 cm) に植え、金網フェンスの中でトンネル状に網をはった場所で栽培した。栽培環境は自然環境とした。

3) 試験本数

各標識体に6本のりんごの樹を使用した。

4) 栽培管理

十分な水やりと適切な農薬および肥料の処理をした。農薬処理を一度行った以外は罹病した葉を剪定して害虫および病気の防除管理をした。

方法：

1) 施用液の調製

[¹⁴C]ノバルロンを非活性成分ノバルロン 10ECに添加し、水に均一に懸濁して乳剤とし、施用液を調製した。

2) 処理の部位と方法

処理部位：りんごの果実と葉

処理回数：2回散布と3回散布

処理方法：りんごの樹をポリテンでカバーした木製フレームの中に入れ、カバーの切れ目からエアゾール散布器を用い、果実と葉に処理した。2回処理用に4本、3回処理用に2本を選定した。3回処理用の1本の樹で果実のついた1枝をポリテン袋で覆い、薬剤に暴露しないようにした(防護試料と称す)。

処理量：25 g(ai)/ha/処理

処理量の設定根拠：圃場における使用予定濃度 (0.005 % 有効成分含有) 散布液を十分量とした。

処理時期：表 1 に示す。

表 1 各ラベル体のりんごへの処理時期

処理	処理時期
1回目処理	収穫前 110日
2回目処理	収穫前 90日
3回目処理	収穫前 60日

3) 採取時期

採取時期を表 2 に示す。

試料の採取量は処理直後と中間試料では果実・葉各6個以上、採集収穫時には各9個以上採取した。

表 2 各ラベル体処理後のりんごの採取時期

採取試料	採取時期		
	最終収穫時までの期間 (日)	処理後経過日数(日)	
		2回処理区	3回処理区
1回目処理直後	110	0	0
2回目処理直後	90	0	0
3回目処理直後	60	—	0
中間試料 1	60	最終処理後 30	—
中間試料 2	30	最終処理後 60	最終処理後 30
最終収穫および 防護試料	0	最終処理後 90	最終処理後 60

処理直後の採取は散布終了後約2時間後に採取した。

4) 分析方法

① 放射性総残留物(TRR)の測定

試料を採取後3-4時間内にアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液の放射能レベルをLSCで測定した。表面洗浄後、果実と葉はアセトニトリルおよびアセトニトリル：水混液でホモジナイズして抽出した。抽出物は遠心分離で分離し、抽出液を分取、抽出液の放射能レベルをLSCで測定した。1回目処理および2回目処理直後に採取した果実試料は果実全体を分析したが、その後、果実試料は表面洗浄後皮をむき皮と果肉を別々に抽出した。抽出残渣は酸化燃焼処理後LSCで測定した。TRRは表面洗浄液、抽出物および抽出残渣の放射能の合計として求めた。

図1に分析法の概要を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

②抽出物中の放射性成分の分析

図1で示された分析法により、得られた洗浄液および抽出物で顕著な放射能レベルが検出された試料について HPLC 分析に供し、HPLC 溶出液を分画し、各画分を LSC で測定した。また一部試料は TLC コクロマトグラフィーにより、成分の同定をした。

結果

結果を表3から9に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は 2.5-2.7 mg/樹/処理であった。これは 50 - 80 g/ha の濃度に相当し、0.005%有効成分を含む慣行施用をした場合の 1000-1600 L/ha 処理量に相当する。

2) TRR の分布および移行

各ラベル体をりんごに処理した時の果実および葉中の総放射能濃度を表3に要約し、表4-5に示した。

果実および葉中の放射性総残留物は処理後時間経過とともに減少した。処理直後の果実中の残留量は 0.1 - 0.2 ppm であったが、最終収穫時においては、2回処理(処理後90日)で 0.02 ppm および3回処理(処理後60日)で 0.03 - 0.04 ppm に減少した。同様に処理直後の葉中の残留量は 2 - 9 ppm であったが、最終収穫時においては、2回処理で 0.6 - 1.1 ppm および3回処理で 0.9 - 2.9 ppm に減少した。

果実の表面洗浄液中の放射能比は時間とともに減少し、最終処理直後で 70 - 95% 認められたが最終収穫時には 47 - 57% に減少した。抽出物は最終処理直後で 5 - 29% 検出されたが収穫時には 41 - 50% に増加した。抽出可能放射能の大部分は皮で回収された。この結果はノバルロンは果肉には極低レベルであることから、りんごの皮の部分に徐々に吸収されることを示した。抽出不能放射能は最終処理直後の 0.2 - 0.9% から収穫時で 3 - 5% に増加した。

葉の表面洗浄液中の放射能比は、最終処理直後の 85 - 98% から最終収穫時で 72 - 82% に時間とともに減少した。抽出物はそれに対応して最終処理直後の 2 - 15% から収穫時で 18 - 26% に増加した。抽出不能放射能は放射性総残留物の 3% 以下であった。

防護試料の果実では顕著な放射能は検出されなかった(<0.01ppm)。また葉には僅かに 0.04 - 0.05 ppm が検出された。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3 ^{14}C -ノバルロンをりんごの樹に処理後の果実と葉中の平均総放射能濃度 (TRR) (ppm)

試料	処理 1 (収穫前 110 日)	処理 2 (収穫前 90 日)	処理 3/ 中間試料 1 (収穫前 60 日)	中間試料 2 (収穫前 30 日)	最終 収穫
B ラベル					
2 回処理 果実	0.21	0.21	0.07	0.03	0.02
葉	5.02	3.58	1.39	1.21	0.57
3 回処理 果実	0.21	0.21	0.08	0.04	0.03
葉	5.02	3.58	6.66	3.40	2.87
防護処置 果実	ns	ns	ns	ns	<0.01
葉	ns	ns	ns	ns	0.05
A ラベル					
2 回処理 果実	0.17	0.12	0.06	0.01	0.02
葉	1.94	5.17	2.96	1.42	1.05
3 回処理 果実	0.17	0.12	0.09	0.10	0.04
葉	1.94	5.17	9.10	2.05	0.88
防護処置 果実	ns	ns	ns	ns	<0.01
葉	ns	ns	ns	ns	0.04

ns サンプルングせず。

表 4-1 Bラベル2回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		中間試料 1 (収穫前60日)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実： 表面洗浄液	98.5	0.205	70.4	0.149	71.4	0.051	52.9	0.014	46.8	0.007
抽出物	果皮	na	na	na	22.4	0.016	40.4	0.011	43.2	0.007
	果肉	1.5	0.003	29.4	0.062	2.4	0.002	5.1	0.001	6.6
残渣	果皮	na	na	na	3.6	0.003	1.4	<0.001	3.0	<0.001
	果肉	<0.1	<0.001	0.2	<0.001	0.1	<0.001	0.3	<0.001	0.4
TRR	100	0.208	100	0.212	100	0.072	100	0.027	100	0.016
葉： 表面洗浄液	98.8	4.957	85.4	3.060	83.8	1.163	83.3	1.006	73.7	0.419
抽出物	1.2	0.060	14.6	0.523	15.8	0.219	16.1	0.194	24.2	0.138
残渣	<0.1	<0.005	0.1	0.004	0.5	0.007	0.7	0.008	2.1	0.012
TRR	100	5.017	100	3.583	100	1.388	100	1.208	100	0.569

na: 分析せず 果肉: 1, 2回目処理直後は果実全体を分析

表 4-2 Bラベル3回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		3回目処理 (散布直後)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実： 表面洗浄液	98.5	0.205	70.4	0.149	84.6	0.067	56.0	0.024	56.6	0.019
抽出物	果皮	na	na	na	12.9	0.010	37.0	0.016	36.8	0.013
	果肉	1.5	0.003	29.4	0.062	2.2	0.002	5.9	0.003	3.7
残渣	果皮	na	na	na	0.4	<0.001	0.9	<0.001	2.6	0.001
	果肉	<0.1	<0.001	0.2	<0.001	0.1	<0.001	0.3	<0.001	0.2
TRR	100	0.208	100	0.212	100	0.079	100	0.043	100	0.034
葉： 表面洗浄液	98.8	4.957	85.4	3.060	96.0	6.394	88.3	3.000	81.7	2.348
抽出物	1.2	0.060	14.6	0.523	3.9	0.260	11.3	0.384	17.5	0.503
残渣	<0.1	<0.005	0.1	0.004	0.1	0.007	0.4	0.014	0.9	0.026
TRR	100	5.017	100	3.583	100	6.660	100	3.398	100	2.874
防護果実： 表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	31.3	0.001
抽出物	果皮	—	—	—	—	—	—	—	39.2	0.001
	果肉	—	—	—	—	—	—	—	25.8	0.001
残渣	果皮	—	—	—	—	—	—	—	2.6	<0.001
	果肉	—	—	—	—	—	—	—	1.1	<0.001
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.002
防護葉： 表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	61.3	0.031
抽出物	—	—	—	—	—	—	—	—	35.4	0.018
残渣	—	—	—	—	—	—	—	—	3.4	0.002
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.051

na: 分析せず 果肉: 1, 2回目処理直後は果実全体を分析

表 5-1 Aラベル2回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		中間試料 1 (収穫前60日)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実： 表面洗浄液	98.3	0.171	94.5	0.109	72.6	0.041	44.7	0.005	53.9	0.013
抽出物	果皮	na	na	na	22.6	0.013	45.6	0.005	37.1	0.009
	果肉	1.7	0.003	5.0	0.006	3.3	0.002	6.0	0.001	3.9
残渣	果皮	na	na	na	1.3	0.001	3.0	<0.001	4.9	0.001
	果肉	<0.1	<0.001	0.5	0.001	0.3	<0.001	0.8	<0.001	0.3
TRR	100	0.174	100	0.115	100	0.057	100	0.012	100	0.024
葉： 表面洗浄液	98.9	1.920	97.7	5.051	87.4	2.590	75.3	1.071	75.8	0.797
抽出物	1.1	0.021	2.3	0.119	12.1	0.359	22.9	0.326	21.7	0.228
残渣	<0.1	<0.002	0.1	0.005	0.6	0.018	1.8	0.026	2.5	0.026
TRR	100	1.941	100	5.170	100	2.963	100	1.422	100	1.052

na: 分析せず 果肉: 1, 2回目処理直後は果実全体を分析

表 5-2 Aラベル3回処理後のりんご中の平均放射能濃度 (%TRR, ppm)

	1回目処理 (散布直後)		2回目処理 (散布直後)		3回目処理 (散布直後)		中間試料 2 (収穫前30日)		最終収穫時	
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
果実： 表面洗浄液	98.3	0.171	94.5	0.109	84.6	0.080	69.0	0.066	54.2	0.022
抽出物	果皮	na	na	na	13.2	0.012	26.4	0.025	37.9	0.015
	果肉	1.7	0.003	5.0	0.006	1.4	0.001	2.8	0.003	3.6
残渣	果皮	na	na	na	0.7	0.001	1.7	0.002	3.9	0.002
	果肉	<0.1	<0.001	0.5	0.001	0.2	<0.001	0.2	<0.001	0.4
TRR	100	0.174	100	0.115	100	0.094	100	0.096	100	0.040
葉： 表面洗浄液	98.9	1.920	97.7	5.051	94.3	8.577	79.8	1.637	71.9	0.636
抽出物	1.1	0.021	2.3	0.119	5.4	0.491	18.9	0.388	25.5	0.225
残渣	<0.1	<0.002	0.1	0.005	0.3	0.027	1.4	0.029	2.6	0.023
TRR	100	1.941	100	5.170	100	9.095	100	2.051	100	0.884
防護果実： 表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	36.5	0.001
抽出物	果皮	—	—	—	—	—	—	—	48.1	0.001
	果肉	—	—	—	—	—	—	—	8.3	<0.001
残渣	果皮	—	—	—	—	—	—	—	6.1	<0.001
	果肉	—	—	—	—	—	—	—	1.1	<0.001
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.002
防護葉： 表面洗浄液	—	—	—	—	—	—	—	—	42.2	0.017
抽出物	—	—	—	—	—	—	—	—	47.0	0.016
残渣	—	—	—	—	—	—	—	—	4.9	0.002
TRR	—	—	—	—	—	—	—	—	100	0.035

na: 分析せず 果肉: 1, 2回目処理直後は果実全体を分析

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

3) 代謝

りんご果実および葉の放射性成分の分析結果を表 6-9 に示す。

全ての表面洗浄液および抽出物での主要成分は未代謝のノバルロンであり、果実(表面洗浄液と抽出物の合計)で放射性総残留物の 88.9%以上および葉では 92.6%以上検出された(表 8 - 9)。

他の成分は果実で 1.3% (0.001 ppm) および葉で 1.7% (0.024 ppm) 以下であった。分析しなかった抽出物は果実で <0.1 - 6.6% (<0.001-0.001 ppm) であった。抽出不能放射能は果実で <0.1-5.2% (<0.001-0.001 ppm) および葉で <0.1-2.6% (<0.005-0.023 ppm) であった(表 6 - 7)。

両標識体の結果の平均値として求めた最終収穫時におけるノバルロンの量は以下であった。

	ノバルロン(% of TRR)	ノバルロン (ppm)
果実:		
2回 処理	90.0	0.018
3回 処理	92.1	0.034
葉:		
2回 処理	97.7	0.792
3回 処理	97.5	1.833

りんご中の総残留物の主要成分はノバルロンのみであった。

顕著な放射能(<0.01ppm)はノバルロンを3回処理後の防護果実には検出されなかった。このことは移行が生じてないことを示唆した。

表 6 最終収穫時のりんご果実中の放射性成分比(%TRR, ppm)

成分	Bラベル				Aラベル				
	2回処理		3回処理		2回処理		3回処理		
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	

表 7 最終収穫時のりんご葉中の放射性成分比(%TRR, ppm)

成分	Bラベル				Aラベル				
	2回処理		3回処理		2回処理		3回処理		
	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	

表 8 りんご果実中のノバルロンの推移(%TRR, ppm)

収穫日までの 日数		Bラベル				Aラベル			
		2回処理		3回処理		2回処理		3回処理	
日数	採取時点	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
110	処理 1	98.2	0.204	98.2	0.204	97.5	0.170	97.5	0.170
90	処理 2	99.8	0.212	99.8	0.212	99.0	0.114	99.0	0.114
60	処理 3/中間 1	91.0	0.066	96.2	0.076	93.8	0.053	94.5	0.089
30	中間 2	92.6	0.025	91.7	0.039	89.7	0.011	94.8	0.091
0	最終収穫	88.9	0.014	92.0	0.031	91.0	0.022	92.1	0.037

表 9 りんご葉中のノバルロンの推移(%TRR, ppm)

収穫日までの 日数		Bラベル				Aラベル			
		2回処理		3回処理		2回処理		3回処理	
日数	採取時点	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm
110	処理 1	98.3	4.932	98.3	4.932	98.2	1.906	98.2	1.906
90	処理 2	100	3.583	100	3.583	99.6	5.149	99.6	5.149
60	処理 3/中間 1	92.6	1.285	99.1	6.600	97.2	2.880	97.5	8.868
30	中間 2	98.9	1.195	99.1	3.367	97.7	1.389	97.7	2.004
0	最終収穫	97.9	0.557	97.6	2.805	97.5	1.026	97.4	0.861

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

まとめ

りんごに処理された $[^{14}\text{C}]$ ノバルロンは、りんごに残留し、その大部分は果皮に検出された。またその残留量は時間経過につれ、減少した。残留した放射能成分はノバルロンのみであった。

さらに防護果実の結果より、移行はなかった。

3. 土壌中における動態

(資料 S-1)

(1) 好氣的土壌代謝試験(分解経路)

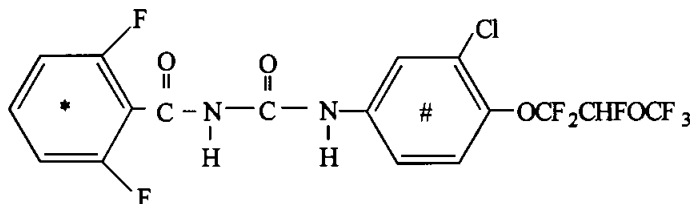
試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

供試化合物名； 1-[3-chloro-4-(1,1,2-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea
 クロロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)
 ジフルオロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位；



#：[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (Aラベル；クロロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

*：[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (Bラベル；ジフルオロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (Aラベル)	ジフルオロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (Bラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試土壌：砂壤土 (Arrow)。

土壌は使用前に 2 mm 篩に通した。

表 1 に使用した土壌の特性およびバイオマス測定結果について示す。

表 1 土壌の特性およびバイオマス測定結果

土壌名	Arrow	
源	Henry Doubleday Centre, Derbyshire, UK	
土性分類	SEEW	砂壤土
	USDA	砂壤土
有機炭素 (%)	1.8	
有機物 (%)*	3.1	
陽イオン交換容量 (mEq/100g)	14.6	
pH (1: 5) /水	6.2	
pH /塩化カルシウム	5.5	
最大容水量(%)	34.47	
容水量 _{0.33bar} (%)	14.0	
バイオマス(μgC/g) :		
被験物質処理日(0日)	466.7	
実験終了61日前(120日)	146.4	

* 有機物 (%) = 有機炭素 (%) × 1.72

試験項目：

試験は実験室好気条件下暗所 20±2℃で実施した。

表 2 試験条件および試験項目

被験物質	施用濃度 (ppm)	水分量 (% of 最大容水量)	試験項目
Aラベル Bラベル	0.13	約 40	TRR, 分布, 代謝, 代謝物の同定/特徴付け, 減衰
Aラベル Bラベル	5.0	約 40	代謝物の同定/特徴付け*
非標識	0.13	約 40	微生物活性

* : 処理はなされたが未同定代謝物に 10%を超えるものはなく同定の必要がないことから試料の採取はなされなかった。

方法：

1) 試験装置

空気加湿用水瓶, 試験土壌容器, ポリウレタン栓, 揮発性物質捕集用トラップを連結したガスフローシステムを使用。

2) 土壌の順化

乾土重 250 g の土壌を試験容器にはかり, 最大容水量の約 40%になるように水を添加後, 被

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

験物質処理前 7 日間約 20℃暗所でインキュベートして順化した。

3) 施用液の調製

0.13 ppm 試験区用施用液：

[¹⁴C]ノバルロンをアセトン (Bラベル) またはアセトニトリル (Aラベル) で溶解し、その一部を採取しアセトン溶液の場合は留去後アセトニトリルで再溶解する。水で希釈してアセトニトリル：水(15:85, v/v)混液の均一な施用液を調製した。

調製施用液の濃度：Aラベル；31.5 μg/5 mL

Bラベル；29.0 μg/5 mL

5.0 ppm 試験区用施用液：

[¹⁴C]ノバルロンをアセトン (Bラベル) またはアセトニトリル (Aラベル) で溶解し、アセトン溶液の場合は留去後アセトニトリルで再溶解する。各溶液の一部を非標識ノバルロンと共にアセトニトリルで溶解、希釈して施用液を調製した。

バイオマス測定用施用液：

非放射性ノバルロン()をアセトニトリルで溶解し、アセトニトリルおよび水で希釈してアセトニトリル：水(15:85, v/v)混液の添加用溶液(32.8 μg/5 mL)とした。

4) 処理の部位と方法

処理部位：土壌表面

添加後均一になるように土壌を混合した。

処理回数：1 回処理

処理濃度：0.13 ppm/乾土重, 5.0 ppm/乾土重。

処理方法：

0.13 ppm 区およびバイオマス測定区；施用液 5 mL を添加。

5.0 ppm 区；施用液 0.83 mL を添加。

処理濃度の設定根拠：0.13 ppm 区は圃場における慣行施用量 (約 100 g/ha) に相当する量とした。

5) 試験土壌のインキュベーションと管理

20℃の温度制御室暗所でインキュベートした。温度管理は温度測定器を用いて 60 分間隔で測定した。土壌試料は最大容水量の約 40%を保つ為、必要ならば水分補給した。空気を約 60 mL/min で流し一週間毎に確認して好気条件を維持した。

6) 採取時期

[¹⁴C]ノバルロン試験区：

土壌；処理直後, 処理後 1, 3, 7, 14, 30, 59, 90, 120 および 181 日後

(申請者註；90 は報告書本文には記載されていないが、表には記載あり)

捕集剤；土壌の採取時点

バイオマス測定区：

土壌；処理時および処理後 120 日後

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

7) 分析方法

① 放射性総残留物 (TRR) の測定

土壌の抽出：

試料は採取後、直ちに分析開始。土壌試料は個々に分析し、下記溶媒および回数を用いて順次、15 分間超音波処理後 15 分間振とう抽出した。

アセトニトリル×2

[アセトニトリル：水 (1 : 1, v : v)] ×2

[アセトニトリル：200 mM 塩酸 (1 : 1, v : v), 約 18 時間リフラックス] ×3

各抽出後土壌と清澄液は遠心分離で分離した。清澄液を採取し、容量を測定後、LSC で放射能測定した。抽出完了後の土壌残渣を酸化燃焼し、放射能測定をした。

図 1 に分析法の概要を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

②抽出物中の放射性成分の分析

図 1 で示された分析法により、得られた抽出物 (A, B, C) の混合液を調製した。初期試料では濃縮後直接 LSC 測定した。その他の試料は混合液をジエチルエーテルで抽出し、水層とジエチルエーテル層を分取、分取溶液の放射能を LSC で測定した。さらにジエチルエーテル層は濃縮後、LSC 測定した。

濃縮抽出物は HPLC 分析に供し、HPLC 溶出液を分画し、各画分を LSC で測定した。また試料は HPLC および TLC コクロマトグラフィーにより、成分の同定をした。

③微生物バイオマスの測定

くん蒸抽出法 (fumigation extraction) で測定した。

④放射能の測定

全液体試料は液体シンチレーション計測法 (LSC) で測定。固形物質は酸化燃焼処理後、LSC 測定した。

⑤TLC 分析

4 種の展開溶媒を用いて放射化学的純度の測定および試料のコクロマトグラフィーを実施した。

⑥質量分析

MS 分析 (負イオンモード) および MS/MS 分析 (プロダクトイオンモード) で代謝物の同定/特徴付けをした。

結果

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は 低施用濃度区では 0.13 mg ノバルロン/kg 乾土重であった。これは圃場施用濃度 100 g ai/ha に相当した。また高施用濃度区では 5 mg ノバルロン/kg 乾土重であった。放射化学的純度は %以上であった。

施用濃度	標識体	μg/土壌容器
低 (0.13 ppm)	[Chlorophenyl- ¹⁴ C(U)]	31.7
低 (0.13 ppm)	[Difluorophenyl- ¹⁴ C(U)]	31.1, 26.7
高 (5.0 ppm)	[Chlorophenyl- ¹⁴ C(U)]	1250.0
高 (5.0 ppm)	[Difluorophenyl- ¹⁴ C(U)]	1270.0

2) 試験土壌の微生物活性

結果を表 1 に示す。実験開始と 120 日時点で測定されたバイオマス値はそれぞれ 466.7 μgC/g および 146.4 μgC/g であり、120 日で減少した。また土壌有機炭素の 2.6% および 0.8% であった。

3) 放射能回収率

結果を表 3-4 に示す。

施用放射能の総回収率は [chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンおよび [difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの低施用濃度区でそれぞれ 96.6 - 103.4%および 93.9 - 98.5%であった。

抽出放射能は時間とともに減少し、7日までの試料からは両標識体とも 85%AR 以上が抽出されたが 181 日後では [chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン および [difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理試料でそれぞれ 64.0%AR および 61.7%に減少した。

抽出放射能の減少に伴い、抽出残渣が増加した：1.1-2.2%(3日)から 29.9-8.9%(181日)。

揮発性放射能の生成は [chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン 処理区では顕著でなく、4.3%AR (120日)がピークであった。[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理区では 30日 で 15.3%の揮発性放射能を二酸化炭素として生成した。その後は二酸化炭素の発生は約 20%でほぼ一定となった。

表 3 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの土壌からの回収率 (%AR)

処理後 経過日数	総抽出物	抽出残渣	揮発性物質		計
			有機性	CO ₂	

表 4 [Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの土壌からの回収率 (%AR)

処理後採取時点 (日)	総抽出物	抽出残渣	揮発性物質		計
			有機性	CO ₂	

4) 抽出残渣の特徴付け

結果を表 3, 4 および 5 に示す。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン を処理した試料中の結合残留物は14日以降 %AR以上であったが, [difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理試料では全ての採取時点で %未満であった。[chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの一部残留物試料について分画した結果は抽出残渣の約66%がフミン画分, 約5%がフルボ酸画分その他残りはフミン酸画分であった。

表 5 抽出残渣の分画結果(%AR)

処理後採取時点 (日)	フミン	フルボ酸	フミン酸	計
59	18.8 (68)	1.5 (5)	7.4 (27)	27.7 (100)
120	16.2 (65)	1.5 (6)	7.1 (29)	24.8 (100)
181	19.5 (65)	1.7 (6)	8.8 (29)	30.0 (100)

()の値は抽出残渣量に対する各画分の %。

5) 土壌中の放射性成分の比率

土壌試料抽出液を HPLC により測定した土壌中の放射性成分の結果を表 6-8 および図 2 に示す。

表 6 土壌抽出物中の放射性成分

被験物質	放射性成分
[Chlorophenyl- ¹⁴ C(U)] ノバルロン	ノバルロン 代謝物 C(275-352 I): 代謝物 D(275-309 I): UKhh/A1, UKii/A2, UKjj/A3, UKkk/A4, UKll/A5 6 放射性領域
[Difluorophenyl- ¹⁴ C(U)] ノバルロン	ノバルロン 代謝物 A(275-158 I): UKmm/B1, UKnn/B2, UKoo/B3, UKpp/B4, UKqq/B5, UKrr/B6

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン:

Arrow 土壌中で[chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンは施用後 30 日までは速やかに分解し 25.4%AR となった。その後ノバルロンの分解速度は遅くなり明らかな 2 相性を呈した。数多くの代謝物が検出され, 7 代謝物および未解明放射能の 6 領域を HPLC より検出した。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの主要代謝物は代謝物 C

(コード名 275-352 I)と同定さ

れ, この代謝物は 7 日後に最大の %AR となり, 120 日後では %AR となった。他の同

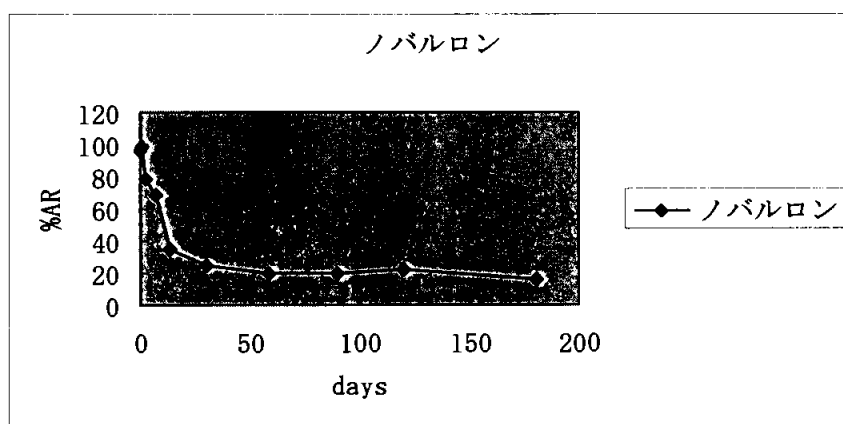
定代謝物は代謝物 D [(275-309 I)] であり, 14 日後から試験中約 %認められた。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンは緩やかに二酸化炭素へと無機化され, それは 181 日後に 2.9%AR を示した。

表 7 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理土壌抽出物の HPLC による同定成分の結果(%AR)

同定放射性成分	代謝物 C (275-352 I)	代謝物 D (275-309 I)	ノバルロン

図 2 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理土壌抽出物中のノバルロンの量



[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン：

表 8 [Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理土壌抽出物の HPLC による同定成分の結果 (%AR)

同定放射性成分	代謝物 A 275-158 I	ノバルロン

Arrow 土壌中で [difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの量は施用後 14 日までに %AR に減少した。この時点以降はノバルロンの分解はなかった。

[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの主要代謝物は二酸化炭素であり、最大で 26.5%AR を示した。二酸化炭素の発生は約 59 日インキュベーション後からはプラトーになった(表 4)。

他の同定代謝物は代謝物 A ()であったがその量は僅かであり、さらに 6 未同定代謝物が %AR 以下で検出された。

[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの代謝物は [chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン処理土壌の抽出物試料中には検出されず、ノバルロンの代謝物が 2 つの芳香環を含まないことを示唆した。

6) 土壌におけるノバルロンの減衰速度および主要代謝物

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンのデータを用いて Arrow 土壌中でのノバルロンおよび代謝物 C (275-352 I)の分解速度を 2 段階指数減衰曲線により求めた。結果を表 9 に示す。

土壌中のノバルロンの DT₅₀ および DT₉₀ 値はそれぞれ 9.9 日および試験期間(181 日)以上であった。

土壌中の代謝物 C (275-352 I)の DT₅₀ および DT₉₀ 値はそれぞれ 23.7 日および試験期間(181 日)以上であった。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 9 ノバルロンおよび 275-352 I の DT₅₀ および DT₉₀ 値

成分	DT ₅₀	DT ₉₀
[Chlorophenyl- ¹⁴ C(U)]ノバルロン	9.9	703.1
代謝物 C (275-352 I)	23.7	382.3

7) 土壌における想定分解経路

好氣的 Arrow 土壌におけるノバルロンの想定分解経路を図 3 に示す。分子のウレアブリッジの開裂がノバルロンの分解を起こし、2 個の芳香環を含む代謝物は検出されなかった。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの生成物は代謝物 C

(コード名 275-352 I) および代謝物 D [

(コード名 275-309 I)]であった。

最終的には両者ともさらに二酸化炭素へと代謝された。[difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン標識試料からは代謝物 A[

(275-158 I)]のみが同定された。Difluorophenyl

環はその後速やかに二酸化炭素へと無機化される。

図 3 想定分解経路

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結論

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンおよび[difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの分解を設定濃度 0.13 ppm(約 100 g ai/ha 使用量に相当)で最大容水量の 40%水分量の Arrow 土壌に処理し、暗所好氣的条件下で 181 日間インキュベートして試験した。

ノバルロンは速やかに分解し、DT₅₀ 値は 9.9 日であった。1 代謝物, 代謝物 A [(コード名 275-352 I)]が 存在し、
かつ 23.7 日の DT₅₀ で分解することが認められた。この実験からのデータはノバルロンがウレアブリッジで開裂が生じ次いで chlorophenyl および difluorophenyl 環の無機化が生ずる。

(資料 S-2)

(2) 好氣的土壌における代謝試験

試験機関：

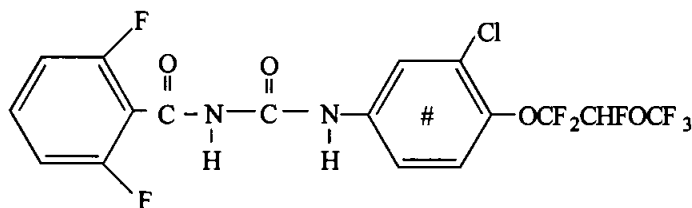
報告書作成年：

供試標識化合物：

供試化合物名：

クロロフェニール-¹⁴C(U)標識ノバルロン(これ以降Aラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの標識部位 (Aラベル；クロロフェニール環を¹⁴Cでユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ¹⁴ C(U)標識 (Aラベル)
比放射活性	
放射化学的純度	

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試土壌：3種類の土性の異なる土壌を用いた。表1に使用した土壌と試験条件について示す。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表1 土壌の特徴およびバイオマス測定結果

土壌名	Evesham 3		Wick	Malham
起源	Alconbury, UK		Warwickshire, UK	Buxton, UK
土性分類	粘土		砂壤土	シルト質埴壤土
有機炭素 (%)	1.7		0.8	3.7
陽イオン交換容量 (mEq/100g)	18.1		8.0	27.1
PH (1 : 5) /水	8.8		5.8	7.0
最大容水量(%)	56.2		50.4	86.0
容水量 _{0.33bar} (%)	24.5		12.7	33.6
好気条件下温度条件	20°C暗所	10°C暗所	20°C暗所	20°C暗所
バイオマス (μ gC/g) :				
被験物質処理日 (0 日)	316.2	249.3	153.8	270.7
実験終了日 (120 日)	364.5	557.7	180.9	475.3
採取年月日 (申請者註)	1998年2月19日		1998年2月19日 (屋外設置のコンテナより採取)	1998年2月13日

土壌は使用前に 2 mm 篩に通し、約 4°C で保存した。

試験項目 :

試験は実験室好気条件下暗所で実施した。各試験区の温度条件および試験項目について表 2 に示す。

表 2 試験条件および試験項目

土壌	温度条件 (°C)	水分量 (% of 最大容水量)	試験項目
Evesham 3	20	40	TRR, 分布, 代謝, 代謝物の生成、減衰、微生物活性
Evesham 3	10	40	TRR, 分布, 代謝, 代謝物の生成、減衰、微生物活性
Wick	20	40	TRR, 分布, 代謝, 代謝物の生成、減衰、微生物活性
Malham	20	40	TRR, 分布, 代謝, 代謝物の生成、減衰、微生物活性

方法 :

1) 土壌の馴化

乾土重 250 g の土壌を試験容器にはかり、最大容水量の 36 - 39% に成るように水を添加後、各試験温度で 7 日間インキュベートして馴化した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 施用液の調製

[^{14}C]ノバルロンを水で希釈してアセトニトリル：水(15:85, v/v)混液の均一な施用液を調製した。

別にバイオマス測定用に非放射性ノバルロン()をアセトニトリル:水(15:85, v/v)に溶解して添加用溶液とした。

3) 処理の部位と方法

処理部位：土壌表面

添加後均一になるように土壌を混合した。

処理回数：1回処理

処理方法：施用液 5 mL を添加。添加時の有機溶媒量は乾土重の 0.3%であった。この添加水分量で土壌中の水分量は最大容水量の 40%となった。

処理量：0.13 ppm/乾土重

処理量の設定根拠：圃場における慣行施用量(約 100 g ai/ha)に相当する量とした。

4) 試験土壌のインキュベーションと管理

20℃の温度制御室でまたは 10℃の恒温槽内暗所でインキュベートした。温度管理は温度測定器または温度計を用いて測定した。土壌試料は一週間毎に最大容水量の約 40%を保つ為、水分の補給をした。この操作時には、試験容器を空気で充満し、好気条件を維持した。

5) 採取時期

[^{14}C]ノバルロン試験区：

2 試料の土壌を処理直後、処理後 1, 3, 7, 14, 30, 59, 90 および 120 日インキュベーション後に採取した。

バイオマス測定区：

2 試料の土壌を A ラベル処理時および非放射性ノバルロンの添加後 120 日インキュベーション後に採取した。

6) 分析方法

①放射性総残留物(TRR)の測定

土壌の抽出：

分析用 2 試料のうち 1 試料は採取後、直ちに分析開始。他の試料は予備試料として凍結保存。土壌試料は個々に分析し、下記溶媒および回数を用いて順次、15 分間超音波処理後 30 分間振とう抽出した。

アセトニトリル×2

[アセトニトリル：水 (1 : 1, v : v)] ×2

[アセトニトリル：200 mM 塩酸 (1 : 1, v : v), 分離前、約 18 時間リフラックス] ×4

各抽出後土壌と上澄液は遠心分離で分離した。上澄液を採取し、容量を測定後、LSC で放射能測定した。得られた抽出液中の放射能が施用放射能の 5%以下の時は次の抽出操作を中止した。抽出完了後の土壌残渣を酸化燃焼し、放射能測定をした。

別に 120 日時点での採取試料では土壌残渣の一部をエタノールアミンで加熱リフラックス後、得られたスラリーを酸化燃焼し、放射能測定をした。

図 1 に分析法の概要を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1 分析法フローシート

②抽出物中の放射性成分の分析

図 1 で示された分析法により、得られた抽出物(A, B, C)の混合液を調製した。初期試料では濃縮後直接 LSC 測定した。その他の試料は混合液をジエチルエーテルで抽出し、水相とジエチルエーテル相を分取、分取溶液の放射能を LSC で測定した。さらにエーテル相は濃縮後、LSC 測定した。

濃縮抽出物は HPLC 分析に供し、HPLC 溶出液を分画し、各画分を LSC で測定した。また一部試料は TLC コクロマトグラフィーにより、成分の同定をした。

③微生物バイオマスの測定

くん蒸抽出法(fumigation extraction)で測定した。

④放射能の測定

全液体試料は液体シンチレーション計数法(LSC)で測定。固形物質およびスラリーは酸化燃焼処理後、LSC 測定した。

結果

結果を表 1 と表 3-9 および図 2-5 に示す。

1) 施用液

ノバルロンの処理濃度は 0.128 mg ノバルロン/kg 乾土重であった。これは圃場施用濃度 100 g ai/ha に相当する。放射化学的純度は %以上であった。

2) 試験土壌の微生物活性

結果を表 1 に示す。試験土壌のバイオマスは 120 日のインキュベーション期間中、比較的一定であったので試験土壌の活性は残存していた。全ての試験土壌で、実験開始と終了時に測定されたバイオマスの平均値は測定した土壌有機炭素の 1%以上であった。

3) 放射能回収率

定量結果は処理放射エネルギーに対するパーセント(%AR または%処理放射能)として表示した。ノバルロン 標識体の好氣的土壌中の代謝では顕著な揮発性放射能の生成が無かったこと(すなわち施用放射能の 20%以上)が先に報告されていたので、揮発性放射能は捕集しなかった。

放射能回収率の結果を表 3 に示す。

総放射能回収率は、Evesham 3, 20°Cでは 87-99.9%, Wick, 20°Cでは 90.1-103.9%, Malham, 20°Cでは 92.7-102.9%, および Evesham 3, 10°Cでは 89.1-103.6%, であった。

各土壌からの放射能抽出率の代表的な結果を表 4 に示す。全ての土壌で同様な結果であった。抽出操作は好気土壌の代謝試験で使用した方法であり、最終採取時点の試料の抽出には計 8 回の抽出が不可欠であった。

土壌から抽出可能な放射能は時間とともに減少した。早期の採取試料(0-7日)では 90%AR 以上が土壌から抽出されたが 120 日の試料では、抽出不能放射能は 29.2-46.7% AR となった。

4) 土壌中の放射性成分の比率

土壌試料抽出液を HPLC により測定した土壌中の放射性成分の結果を表 5-9 および図 2-5 に示す。

すべての土壌でノバルロンの減衰は 2 相性を示した(図 2-5)。半減期 DT_{50} は合成指数曲線式を用いて計算した。

20°Cでの全ての土壌中のノバルロンの最初の分解は速く、その 50%消失時間 DT_{50} は 5-12 日であった。20°Cでの全ての土壌中のノバルロンの分解はその後減速して続き、59 日で 80% 以上の分解が認められた。しかしながらこの時点以降もさらにごく僅かに分解がみられ、90% 消失時間は 120 日より大きかった。

10°Cでのノバルロン分解の 50%消失時間 DT_{50} は 20 日であり、20°Cで認められた期間の約 2 倍であった。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの 1 つの主要代謝物が検出され %AR 以上であった。この代謝物は [代謝物 C (コード名 275-352 I)] と特徴づけた。この代謝物は速やかに生成し、20°Cで 7 日間インキュベーション後に %AR のピークに達した。この代謝物の DT_{50} 値は 20°Cのインキュベーションで 46-64 日であり、10°Cのインキュベーションで 110 日であった。その他にマイナーな分解物が検出されたが、10%AR を超える分解物は検出されなかった。このうちの 1 個は参照物質との HPLC コクロマトグラフィーにより [代謝物 D(コード名 275-309 I)] と特徴づけた。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3 試験土壌(処理濃度 0.13 mg/kg)からの放射能の抽出および回収(%処理放射能)

試験温度 土壌	20℃				10℃			
	処理後 経過日数	総抽出物	抽出不能 残渣	計	処理後 経過日数	総抽出物	抽出不能 残渣	計
粘土 (Evesham 3)	0	97.7	0.8	98.5	0	98.7	0.6	99.3
	1	98.5	0.9	99.4	1	100.9	1.4	102.3
	3	95.5	2.6	98.1	3	100.5	1.4	101.9
	7	95.0	4.9	99.9	7	99.3	1.9	101.2
	14	88.2	9.9	98.1	14	95.6	8.0	103.6
	30	70.3	17.8	88.1	30	88.7	8.7	97.4
	59	60.4	26.6	87.0	59	75.3	18.0	93.3
	90	56.7	33.7	90.4	90	70.2	18.9	89.1
	120	53.0	35.3	88.3	120	64.9	29.2	94.1
砂壤土 (Wick)	0	96.9	1.0	97.9				
	1	103.2	0.7	103.9				
	3	99.2	1.7	100.9				
	7	96.4	5.9	102.3				
	14	91.2	4.8	96.0				
	30	80.1	12.8	92.9				
	59	70.4	19.7	90.1				
	120	65.5	32.3	97.8				
シルト質埴壤土 (Malham)	0	96.9	2.2	99.1				
	1	101.6	1.3	102.9				
	3	96.9	4.3	101.2				
	7	90.4	8.8	99.2				
	14	74.9	26.9	101.8				
	30	61.0	36.3	97.3				
	59	50.2	45.6	95.8				
	120	46.0	46.7	92.7				

表 4 代表的な試験土壌(処理濃度 0.13mg/kg)からの放射能の抽出 (%処理放射能)

土壌 (温度条件)	処理後 経過日数	抽出回数								総 抽出物
		1	2	3	4	5	6	7	8	
粘土 (Evesham) (20℃)	0	72.3	21.4	4.0	na	na	na	na	na	97.7
	1	82.6	13.1	2.8	na	na	na	na	na	98.5
	3	75.1	16.0	4.4	na	na	na	na	na	95.5
	7	75.5	13.0	4.3	2.2	na	na	na	na	95.0
	14	61.8	10.4	5.1	4.0	5.1	1.8	na	na	88.2
	30	33.8	6.0	5.7	2.3	13.3	5.8	3.4	na	70.3
	59	23.5	4.1	6.4	2.2	13.1	6.9	4.2	na	60.4
	120	20.2	3.7	5.9	2.6	13.1	6.9	4.3	na	56.7
		17.4	3.6	5.1	2.1	11.8	5.7	4.4	2.9	53.0

na : 抽出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 20°C Evesham 3 土壌中の放射性成分量(%AR)

	HPLC 保持時間 (分)	採取 時点 (日)								
		0	1	3	7	14	30	59	90	120

図 2 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 20°C Evesham 3 土壌中の放射性成分量(%AR)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 6 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 20°C Wick 土壌中の放射性成分量(%AR)

	HPLC 保持時間 (分)	採取 時点 (日)								
		0	1	3	7	14	30	59	90	120

図 3 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 20°C Wick 土壌中の放射性成分量(%AR)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 7 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 20℃ Malham 土壌中の放射性成分量(%AR)

	HPLC 保持時間 (分)	採取 時点 (日)								
		0	1	3	7	14	30	59	90	120

図 4 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 20℃ Malham 土壌中の放射性成分量(%AR)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 8 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 10℃ Evesham 3 土壌中の放射性成分量(%AR)

	HPLC 保持時間 (分)	採取 時点 (日)								
		0	1	3	7	14	30	59	90	120

図 5 A ラベル処理後(処理濃度 ; 0.13 mg/kg)の 10℃ Evesham 3 土壌中の放射性成分量(%AR)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 9 ノバルロン/P および代謝物 C (275-352 I) の分解における DT50 および DT90 値

ノバルロン

土壌	温度 (°C)	DT50 (日)	DT90 (日)
Evesham 3	20	12	>120
Wick	20	10	>120
Malham	20	5	>120
Evesham 3	10	20	>120

代謝物 C (275-352 I):

土壌	温度 (°C)	DT50 (日)	DT90 (日)
Evesham 3	20	50	>120
Wick	20	46	>120
Malham	20	64	>120
Evesham 3	10	110	>120

まとめ

[Chlorophenyl-14C(U)]ノバルロンを名目濃度 0.13 ppm(約 100 g ai/ha の使用量に相当)で最大容水量の 40%水分量の 3 種類の土壌に処理し、暗所好気条件下でインキュベート後ノバルロンの分解を試験した。さらに 10°C の 1 土壌で分解速度に対する温度の影響を試験した。

20°Cでの全ての土壌ではノバルロンは速やかに分解し、DT₅₀ 値は 5-12 日の範囲であった。その後分解はゆるやかとなり、59 日後ではノバルロンの 80%以上が分解した。10°C の 1 土壌では DT₅₀ 値は 20 日であった。

分解は全ての土壌で質的に同じであった。主要代謝物が 1 つ、処理放射能の %を超えて検出された。この代謝物は代謝物 C

(コード名 275-352I)であり、ノバルロンの difluorobenzoyl 部位の消失により生成された。この代謝物の DT₅₀ 値は 20°Cで 46-64 日の範囲であり、10°Cで 110 日であった。他に全ての試料で 10% AR を超える代謝物は検出されなかった。

図 6 にノバルロンの土壌中の想定代謝経路を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 6 想定分解経路

4. 水中動態に関する試験

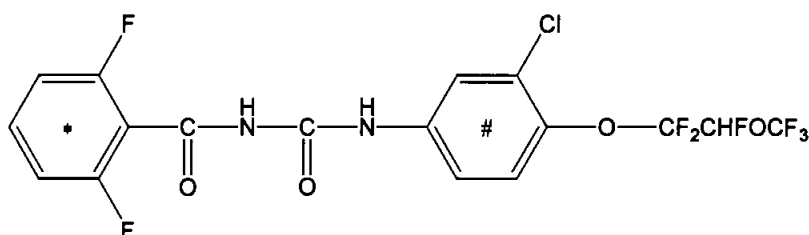
(資料 PC-7)

4. 1 加水分解試験

試験機関：

報告書作成年：

供試化合物： 化学構造



化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシ
エトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

標識検体① [クロロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン

標識部位 # [クロロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン (A ラベルと記す)

放射化学的純度

比放射活性

標識検体② [ジフルオロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン

標識部位 * [ジフルオロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン (B ラベルと記す)

放射化学的純度

比放射活性

非標識検体 純度

供試水溶液： pH 5.0 酢酸-水酸化ナトリウム緩衝液
pH 7.0 正リン酸二水素ナトリウム-水酸化ナトリウム緩衝液
pH 9.0 ホウ酸-水酸化ナトリウム緩衝液

試験方法

予備試験はあらかじめアセトニトリルに溶解した [クロロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン (A ラベル)のみを用い、初期濃度を 3.0 μg/L とし 50℃において 2 および 5 日間で実施した。本試験では、別々にアセトニトリルに溶解した 2 標識検体を各緩衝液に添加し、試験濃度を 1.5 μg/L とし、25, 50, 70℃において 0~30 日間で実施した。ジエチルエーテルあるいは酢酸エチルで抽出した試験溶液を分取して液体シンチレーションカウンターによる放射能の計測を行った。暗所でインキュベートした溶液は薄層クロマトグラフィーで分析し、ノバルロンとその放射性加水分解物の相対的割合を決定した。

溶液中におけるノバルロンの消失率は擬一次反応に従うと仮定して、それぞれの半減期を算出した。ただし、pH 9.0、20℃における半減期の推定は Arrhenius の式を用い 25, 50, 70℃のデータを外挿することによって求めた。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果：

1. 試験溶液の滅菌性および pH

試験期間を通じて微生物汚染は認められず、pH にも顕著な変化は認められなかった。

2. 物質収支

放射能の総回収率は、25℃では 95.5～103.2%(pH5)、97.9～105.8%(pH7)、88.7～118.3%(pH9)、50℃では 86.9～115.0%(pH9)、70℃では 87.6～104.8%(pH9)であった。

物質収支(初期放射能に対する%)：25℃の例

		インキュベーション期間(日)		
		0	15	30
pH 5	A ラベル	100.1	95.5	101.8
	B ラベル	100.2	103.2	100.6
pH 7	A ラベル	102.4	100.7	101.5
	B ラベル	105.8	97.9	102.0
pH 9	A ラベル	88.7	101.0	101.4
	B ラベル	97.6	118.3	101.7

物質収支(初期放射能に対する%)：50℃の例

		インキュベーション期間							
		0時間	3時間	6時間	12時間	1日	2日	3日	5日
pH 9	A ラベル	115.0	105.3	100.5	107.9	103.3	106.7	104.3	98.2
	B ラベル	86.9	93.0	97.9	91.4	97.2	99.4	97.3	96.6

物質収支(初期放射能に対する%)：70℃の例

		インキュベーション期間(時間)							
		0	0.5	1	2	4	6	24	48
pH 9	A ラベル	104.8	97.3	100.7	87.6	95.0	97.4	96.9	101.4
	B ラベル	97.9	98.3	97.9	97.9	88.0	94.0	91.0	101.3

3. 推定半減期

推定半減期は下表のように求められた。

設定試験温度(℃)	pH	推定半減期(日間)
25	5.0	—
	7.0	—
	9.0	101
50	9.0	1.2
70	9.0	0.09
20	9.0	(217)

—：変化が認められなかった ()：外挿値

4. ノバルロンの加水分解物

25℃(pH 9.0)の試験液を薄層クロマトグラフィーで分析した結果、8個の加水分解物が認められた。このうち、代謝物 A

、代謝物 B

、代謝物 C

、代謝物 D

(50、70℃試験区で存在)が確認された。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの分解物の濃度の経時的変化（初期放射能に対する％）：25℃の例

[クロロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン(順層 TLC)

	インキュベーション時間(日)							
	0	3	6	10	15	20	25	30

[ジフルオロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン(順層 TLC)

	インキュベーション時間(日)							
	0	3	6	10	15	20	25	30

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの分解物の濃度の経時的变化（初期放射能に対する％）：50℃の例

[クロロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン(順層 TLC)

	インキュベーション時間							
	0	3時間	6時間	12時間	1日	2日	3日	5日

[ジフルオロフェニル-¹⁴C(U)]ノバルロン(順層 TLC)

	インキュベーション時間							
	0	3時間	6時間	12時間	1日	2日	3日	5日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの分解経路

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

4.2 水中光分解試験

(資料 PC-8-1)

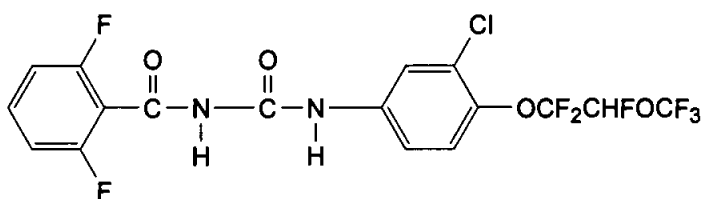
(1) ノバルロンの水中光分解性

試験機関：

報告書作成年：

供試化合物：

化学構造：



化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

純度：

供試水：蒸留水(高速液体クロマトグラフ用)

自然水(池水)

採取場所	まさんだ池/大阪府河内長野市小山田町
採取日	2001年5月7日
水質 濁度	2
色度	36
pH	採取時：7.7(21℃)
電気伝導度	166 μ S/cm ²
保存	冷蔵庫(5℃)

光源：キセノンアークランプ 1.5Kw

放射スペクトルは280~800nmの範囲で自然光と近似

UVフィルター：#275 ガラスフィルター使用。

光量：キセノンランプ光のスペクトル測定波長範囲と光強度

測定波長	280~500nm	280~800nm
試験開始直前の光強度 W/m ²	18.9	62.2
試験終了後の光強度 W/m ²	17.6	56.7

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

試験方法：

1) 試験溶液の調製

供試水をオートクレーブ(蒸留水)または除菌ろ過(自然水)により滅菌し、アセトニトリルを用いてノバルロンが 1.99 $\mu\text{g/L}$ の濃度になるように処理した。試験溶液中のアセトニトリル濃度は 0.2%であった。

2) 試験設計

試験温度：25.0～25.5℃

試験期間：7日間

試験容器：円筒ガラスセル(内径 30mm 高さ 70mm)に石英板(厚さ 1.2mm)で蓋をしたもの。

試料採取：光照射直前、1, 2, 3, 4 および 7 日後の各時期に試験溶液(円筒ガラスセル)を 1 個ずつ採取した。

遮光試料：照射試験と同等の試験設計をした試験容器をアルミホイルで覆い遮光区とした。

3) 分析方法

採取した試験溶液全量 40mL をヘキサン/酢酸エチル(7/3)で 2 回抽出し、濃縮後、アセトニトリル/蒸留水(1/1)2mL に溶解し HPLC でノバルロンを定量した。検出限界は 0.4 $\mu\text{g/L}$ であった。

5) 半減期の計算

一般に光分解反応は擬一次反応であり、ノバルロン濃度と時間の関係は次式で示される。

$$k = \frac{1}{t} \times \ln \frac{C_0}{C_t}$$

ここで、

C_t = t 時間におけるノバルロン濃度

C_0 = 0 時間におけるノバルロン濃度

k = 分解速度定数

t = 反応時間

ノバルロンの定量結果から残存率の自然対数を時間に対してプロットし、回帰直線を求めた。 k 値を直線の傾きから求め、次式により半減期 ($t_{1/2}$) を算出した。

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

(但し、 $\ln 2 = 0.693$)

結果

1) 試験溶液の pH

		蒸留水	自然水
2001年5月7日	試験溶液調製時	8.8(20℃)	8.2(20℃)
2001年5月21日	実験終了時	照射区	8.7(21℃)
		遮光区	8.6(21℃)
			8.1(21℃)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 回収試験

試験結果を表 1 に示す。

供試水からのノバルロンの回収試験結果は以下のとおり良好であった。

表 1 試験水からのノバルロンの回収試験結果

供試水	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
蒸留水	1.988	74.8	3.8
	0.5964	76.6	4.3
自然水	1.988	76.8	5.8
	0.5964	81.7	2.7

3) ノバルロンの水中光分解性

結果を表 2 および図 1~2 に示す。

ノバルロンの残存率は 7 日後で蒸留水 56.4%、自然水 76.5%であり、半減期はそれぞれ 7.5 日および 15.1 日と推定された。

遮光区のノバルロン残存率は 7 日後で蒸留水は 102.4%、自然水は 93.2%と残存していたことから、ノバルロンの主な分解経路は光分解によると考えられた。

また、ノバルロンの分解にともない生ずる分解物の確認は本条件ではできなかった。

表 2 ノバルロンの水中光分解性

照射時間 (days)		0	1	2	3	4	7	
分析値 ($\mu\text{g/L}$)	蒸留水	照射区	1.65	1.70	1.41	1.58	1.05	0.93
		遮光区	1.65	1.56	1.51	1.59	1.65	1.69
	自然水	照射区	1.62	1.69	1.46	1.40	1.27	1.24
		遮光区	1.62	1.54	1.36	1.60	1.61	1.51
残存率 (%)	蒸留水	照射区	100.0	103.0	85.5	95.8	63.6	56.4
		遮光区	100.0	94.5	91.5	96.4	100.0	102.4
	自然水	照射区	100.0	104.3	90.1	86.4	78.4	76.5
		遮光区	100.0	95.1	84.0	98.8	99.4	93.2
槽内温度 ($^{\circ}\text{C}$)		25.0	25.0	25.0	25.5	25.0	25.0	

申請者注：ノバルロンの東京・春の自然太陽光における半減期は蒸留水では 4.4 日、自然水では 8.8 日であった。

まとめ

ノバルロンは蒸留水および自然水中において、光分解特性を有する化合物であることが明らかとなった。

図 1 蒸留水中でのノバルロンの水中光分解性

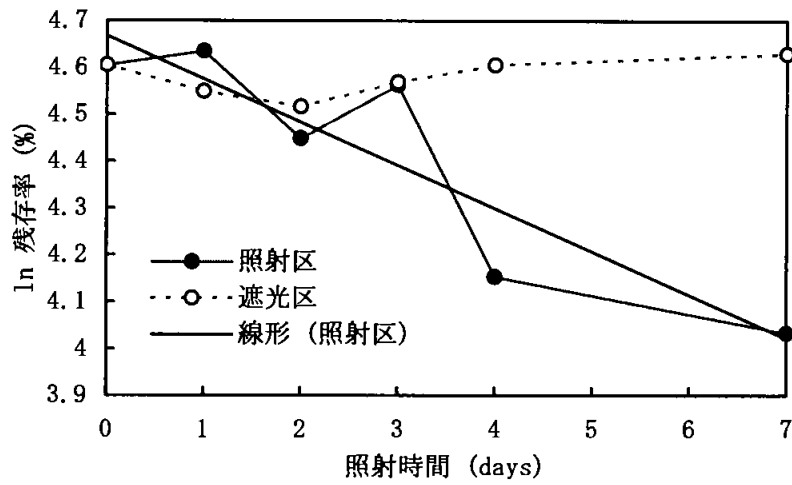
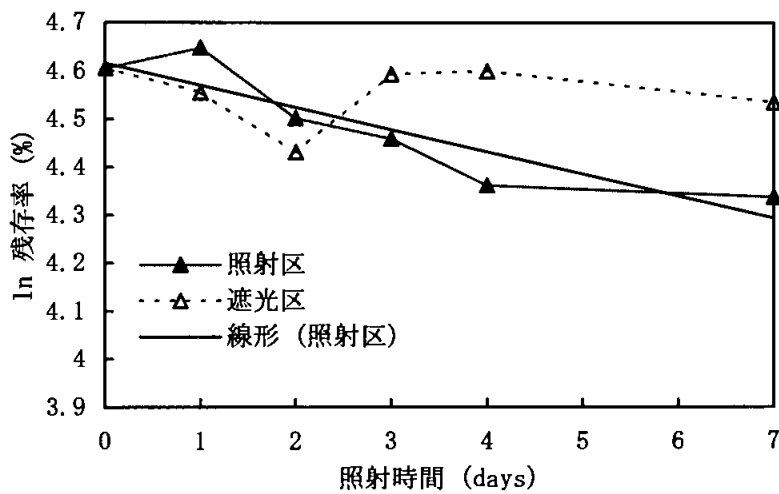


図 2 自然水中でのノバルロンの水中光分解性



(資料 PC-8-2)

(2) ^{14}C -ノバルロン水中光分解動態試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

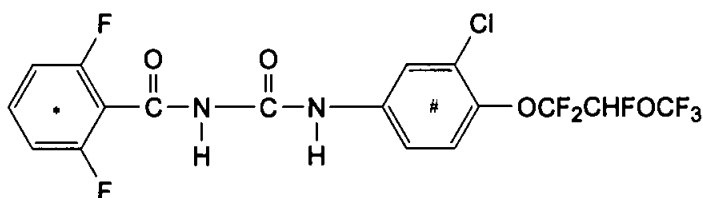
化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

供試化合物名：

クロロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：クロロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

*：ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

	クロロフェニル- ^{14}C (U)標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試水：滅菌緩衝水溶液 (pH5)

〔緩衝液の組成〕 酢酸 0.6 mL

水 (Super-Purity 級) 約 1000 mL

(水酸化 Na により pH5 に調製)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

光源：キセノンアーク灯人工光源

スペクトルエネルギー分布は250～800nmの波長範囲で自然太陽光と同等の発光スペクトルを示す。

鏡およびフィルターにより290nm以下の紫外線及び赤外線の照射を防止した。

光量：照射装置内の各点の光強度は290～400nmの範囲で42.76～49.16 W/m²であった。人工光の15日間照射の光量は北緯40°の夏期の太陽光(昼間の時間を12時間として)換算で67日に相当した。

試験方法：

1) 試験溶液の調製

酢酸緩衝液(pH5)に2種類の¹⁴C-ノバルロンをそれぞれ別々にアセトニトリルを用いて1.5 μg/Lの濃度になるように処理した。これは被験物質の水溶解度3.0 μg/Lの約1/2の濃度である。試験溶液中のアセトニトリル濃度は<1%であった。試験溶液は各採取時期毎に2反復ずつ調製し、一方はAラベルを、一方はBラベルを処理した。

2) 試験設計

試験温度：25℃

試験期間：15日間

試験容器：円筒形(内径2.5cm高さ8.0cm)の珪ホウ酸ガラス製容器をエアフローシステムに組み込み、エチル digol および1M水酸化ナトリウムのトラップを接続した。

試料採取：被験物質添加直後、1, 2, 3, 5, 10 および15日目の各時期に試験溶液と各トラップの溶液を採取した。

暗所対照：照射試験と同等の試験設計をした試験溶液を暗黒条件下におき暗所対照試料とした。

3) 分析方法

① 放射性残留物の測定

試験溶液は一部の試料(処理5日後)を除き、酢酸エチルで2回抽出した。処理5日後の試験溶液のみジエチルエーテルで2回と酢酸エチルで1回抽出した。抽出した有機相を合わせて有機画分とし、抽出後の水相は水相画分とした。各画分を定容後、一部を採り、放射能を測定した。

② 揮発性放射能の測定

各トラップ溶液の容量を測定し、一部を採り、放射能を測定した。

③ 放射能測定

各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

④ 有機画分の放射性成分の分析

各試料の有機画分の放射性成分は順相および逆相TLCで分析し、標準化合物とのコクロマトグラフィーにより成分の同定をした。各成分の割合は自動TLCリニアアナライザーまたはバイオイメージアナライザーを用いて定量した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

4) 細菌検査および pH 測定

各試験溶液は分析に先立ち、一部を採り、トリプトン大豆寒天プレートで培養し細菌およびカビの発生を検査した。また有機溶媒抽出の前に pH を測定した。

5) 消失半減期の計算

溶液中のノバルロンの消失速度は擬似 1 次カイネティクスであると想定すると、その濃度と照射時間の関係は次式で示される。

$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

ここで、

C = t 時間における化合物の割合

C_0 = 0 時間における化合物の割合

k = 1 次速度定数

t = 時間

ノバルロンの処理量に対する割合 (%) の対数を縦軸に、照射期間を横軸に取り、最尤直線を求めた。その勾配は速度定数 k であり次式により半減期 (DT_{50}) を算出した。

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k}$$

結果

1) 試験溶液の pH および無菌性

試料採取時の試験溶液の pH は処理後 5 日目の暗所対照試料で異常値 (5.32) であった以外は 4.89~5.18 の範囲にあった。すべての試験溶液は試験中、無菌であった。

2) 放射能の回収とノバルロンの分解速度

ノバルロンの照射溶液中での半減期 (DT_{50}) は、北緯 40° の夏期の太陽光の日数 (昼間の時間を 12 時間と仮定した) に換算して 139 日であった。この期間は照射期間の約 2 倍であった。放射能の回収率は全ての照射及び暗所対照溶液で、最初の処理量の 86.6~125.6% の範囲にあった。この回収率の範囲は、被験物質の初濃度が極めて低かった点を考慮し、許容され则认为られた。照射溶液では極めて少量の揮発性放射能が生成した (処理量の 2.6%、自然太陽光換算で 67 日間暴露後)。

結果を表 1 および 2 に示す。

申請者注：ノバルロンの実測値における半減期は 31 日で、東京春期の自然太陽光における半減期は 182 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1 ¹⁴C-ノバルロンを 1.5 μg/L 処理した照射試験溶液からの放射能の回収

処理後日数	ラベルタイプ	回収放射能 %			処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	揮発性成分 ^d	
0	A ラベル	97.1	2.9	-	93.6
0	B ラベル	89.7	10.3	-	95.1
1	A ラベル	97.8	2.2	b	105.1
1	B ラベル	98.5	1.5 ^a	b	92.3
2	A ラベル	96.5	3.5	b	101.7
2	B ラベル	96.2	3.8	b	95.6
3	A ラベル	96.0	4.0	b	95.4
3	B ラベル	96.8	3.2	b	90.3
5	A ラベル	100	0 ^c	b	106.5
5	B ラベル	86.1	13.9 ^c	b	98.0
10	A ラベル	93.5	4.5	2.1	125.6
10	B ラベル	97.0	3.0 ^a	b	96.6
15	A ラベル	86.1	10.9	3.0	86.6
15	B ラベル	92.7	7.3	b	117.7

a 水相中の放射能濃度は検出限界以下(2×バックグラウンド)であった。

b 対応する試験容器に接続した各トラップ溶液中の放射能濃度は検出限界以下(2×バックグラウンド)であった。この値はフローシステムに接続された試験容器の数に応じて 0.7~5.5%の間で変化した。

c 5日後の試験溶液は3回抽出された。3回抽出後の水相画分の放射能は実測値ではなく、2回抽出後の測定値から抽出2回後の有機画分の放射能と抽出3回後の有機画分の放射能の差を減じて計算された。5日後 A ラベルの値は0以下であったので0とした。

d 積算値 放射能は10日後の KOH 水溶液にのみ検出された。これは処理量の 2.6%に当る。これは10日後と15日後の総放射能回収率の差に相当する。

被験物質は極めて水溶解度が低いため、試験溶液の放射能初期濃度が低かった(約 500 dpm/mL)。このため、得られた抽出液中の放射能濃度はもとの試験溶液の放射能濃度よりさらに低く(水相画分では特に低かった)、従ってこれらの溶液についての放射能の測定の精度は低かった。全体的に放射能の回収率は、最初に試験容器に添加した量の 86.6%~125.6%の範囲にあった(細菌検査用に採取したサブ試料については補正を行い、揮発性放射能を含めた)。6個の値を除いて、回収率は全て 90~110%の範囲にあった。上記の試験溶液中の放射能の測定に伴う誤差を考慮すると、全ての試験溶液からの放射能の回収率は定量的であると考えられた。試験溶液中のノバルロン及びその光分解生成物の割合を表示するため、放射能の回収率を全体的に 100%に補正した。(以下、同様)

表 2 ¹⁴C-ノバルロンを 1.5 μg/L 処理した暗所対照試験溶液からの放射能の回収

処理後日数	ラベルタイプ	回収放射能 %			処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	揮発性成分 ^d	
1	A ラベル	98.6	1.4 ^a	b	90.8
1	B ラベル	98.8	1.2 ^a	b	96.5
2	A ラベル	99.0	1.0 ^a	b	104.4
2	B ラベル	98.5	1.5 ^a	b	92.1
3	A ラベル	98.4	1.6	b	103.9
3	B ラベル	98.2	1.8 ^a	b	99.9
5	A ラベル	96.8	3.2 ^c	b	117.1
5	B ラベル	100	0 ^c	b	118.6
10	A ラベル	90.1	9.9	b	121.7
10	B ラベル	94.5	5.5	b	109.1
15	A ラベル	91.7	8.3	b	105.4
15	B ラベル	92.2	7.8	b	103.3

a 水相中の放射能濃度は検出限界以下(2×バックグラウンド)であった。

b 対応する試験容器に接続した各トラップ溶液中の放射能濃度は検出限界以下(2×バックグラウンド)であった。この値はフローシステムに接続された試験容器の数に応じて 0.7~5.5%の間で変化した。

c 5日後の試験溶液は3回抽出された。3回抽出後の水相画分の放射能は実測値ではなく、2回抽出後の測定値から抽出2回後の有機画分の放射能と抽出3回後の有機画分の放射能の差を減じて計算された。5日後Bラベルの値は0以下であったので0とした。

3) ノバルロンの光分解生成物

多数のノバルロンの光分解生成物が順相薄層クロマトグラフィーにより分離され、両方のフェニル環を含有する生成物及びクロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれかのみを含有する開裂による生成物が検出された。一般に、照射溶液中のこれらの生成物の量は少なかった(処理放射エネルギーの %以下)。しかし、単離において高い値も認められた。1種類の生成物は最高で処理放射エネルギーの %を占めており、クロマトグラフィーにより代謝物 B と同定された。

ノバルロンは暗所対照溶液中でわずかに分解し、15日間のインキュベーション後には、処理放射エネルギーの約85%を占めていた。

結果を表 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3 照射試験溶液および暗所対照試験溶液中に残留するノバルロンの割合

処理後日数	照射区		暗所対照区
	北緯 40° における夏期の太陽光相当日数 (昼間 12 時間)	ノバルロン	ノバルロン
0	0	91.8 (95.1)	-
0	0	84.4 (85.6)	-
1	4.61	91.7 (94.6)	96.6 (96.7)
1	4.03	91.9 (95.0)	90.6 (93.7)
2	8.47	93.4 (95.2)	92.1 (96.5)
2	8.94	83.8 (91.1)	94.3 (94.7)
3	14.28	90.3 (93.2)	91.5 (92.4)
3	13.97	83.8 (88.4)	82.8 (90.6)
5	22.26	76.6 (75.2)	90.1 (95.3)
5	22.50	66.0 (61.3)	78.9 (95.5)
10	41.05	70.9 (69.7)	75.0 (85.9)
10	45.21	86.3 (93.7)	88.4 (93.2)
15	65.25	76.2 (81.1)	84.1 (86.3)
15	68.45	53.2 (62.9)	86.6 (86.5)

結果は処理放射能に対する%で示す。

数値は順相 TLC 分析(システム B)から得られた。()内の数値は逆相 TLC 分析(システム C)から得られた。

表 4 照射試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数	0		1		2		3		5		10		15	
北緯 40° における夏期の太陽光相当日数 (昼間 12 時間) ^a	0	0	4.61	4.03	8.47	8.94	14.28	13.97	22.26	22.50	41.05	45.21	65.25	68.45
ラベルタイプ	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B

結果は処理放射能に対する%で示す。

a 光強度は Suntest 照射装置内の各試験容器の位置で測定された。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5 暗所対照試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数	1		2		3		5		10		15	
ラベルタイプ	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B

結果は処理放射能に対する%で示す。

4) ノバルロンの水溶液中での想定光分解経路

ノバルロンの水溶液中での想定光分解経路を図 1 に示す。

図 1 ノバルロンの水溶液中での想定光分解経路

まとめ

ノバルロンは pH5 の滅菌水溶液中 (25°C) において光分解性が認められ、北緯 40° の夏期の太陽光の日数に換算した半減期 (DT₅₀) は、139 日であった。多数の光分解生成物が生成した。これらは量的に少量であった。これらの一部はクロロフェニル及びジフルオロフェニル環の両方を含有した。その他は、クロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれかのみを含有する開裂した生成物であった。これらの生成物の大部分は、処理放射エネルギーの 10% 以下を占めていた。1 種類の生成物が最高で処理放射エネルギーの % を占めており、代謝物 B と同定された。

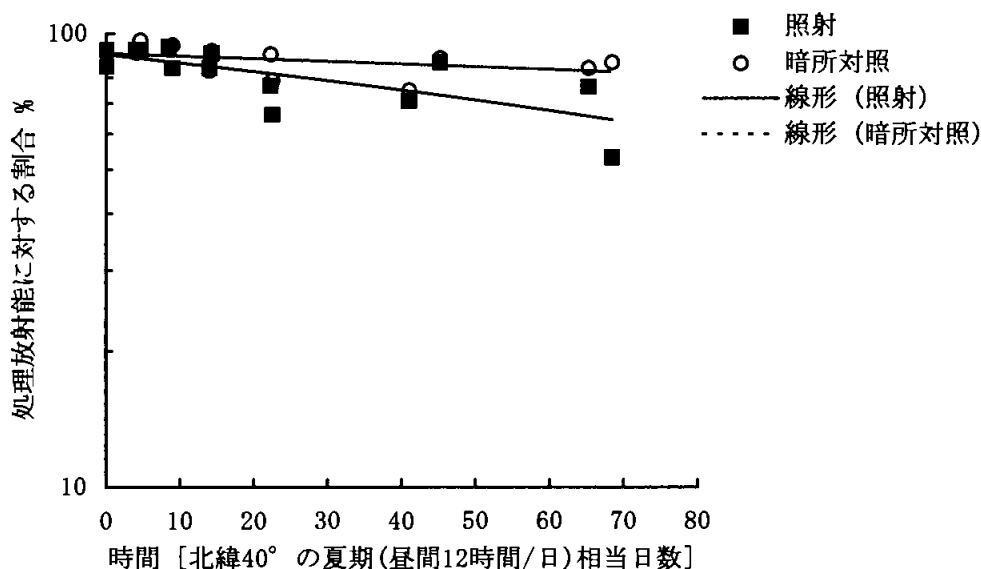


図 2 照射試料と暗所対照試料のノバルロンの減衰

(資料 PC-8-3)

(3) ^{14}C -ノバルロン水中光分解-自然水

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

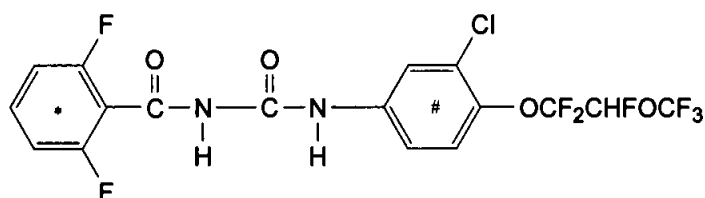
化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

供試化合物名：

クロロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：クロロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

*：ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)標識ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

	クロロフェニル- ^{14}C (U)標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

供試水：滅菌自然水(2002年2月25日に、Bury Pond, Cambridgeshire, 英国から採取)
自然水の特長検討結果を表1に示す。

光源：キセノンアーク灯人工光源

スペクトルエネルギー分布は250~800nmの波長範囲で自然太陽光と同等の発光スペクトルを示す。鏡およびフィルターにより290nm以下の紫外線及び赤外線照射を防止した。

光量：照射期間中の平均放射照度は39.1W/m²(300-400nm)であった。北緯35°の自然太陽光(東京の

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

4～6月の平均)に換算した各試料が受けた照射期間を表2に示す。最長照射期間(7日間)は35.39日(太陽光換算)と算出された。

試験方法：

1) 試験溶液の調製

滅菌自然水に2種類の ^{14}C -ノバルロンをそれぞれ別々にアセトニトリルを用いて約 $1.5\mu\text{g/L}$ の濃度になるように処理した。これは被験物質の水溶解度 $3.0\mu\text{g/L}$ の約 $1/2$ の濃度である。試験溶液中のアセトニトリル濃度は $<0.2\%$ であった。試験溶液は各採取時期毎に2反復ずつ調製し、一方はAラベルを、一方はBラベルを処理した。

2) 試験設計

試験温度： 25°C

試験期間：7日間

試験容器：円筒形(内径2.5cm高さ8.0cm)の珪ホウ酸ガラス製容器

試料採取：被験物質添加直後、1, 2, 3, 4, 5, および7日目の各時期に試験溶液を2点(AラベルおよびBラベル各1点ずつ)採取した。

暗所対照：照射試験と同等の試験設計をした試験溶液を暗黒条件下におき暗所対照試料とした。

3) 分析方法

① 放射性残留物の測定

試験溶液は酢酸エチルで2回抽出した。抽出した有機相を合わせて有機画分とし、抽出後の水相は水相画分とした。各画分を定容後、一部を採り、放射能を測定した。

② 放射能測定

各液体試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

③ 有機画分の放射性成分の分析

各試料の有機画分の放射性成分は順相TLCおよび逆相TLCで分析した。放射性成分は標準化合物とのクロマトグラフィーにより同定した。展開したプレートの各成分の割合はバイオイメージアナライザーを用いて2次元クロマトグラムを作成し、TINAソフトウェアを用いて直線スケールラジオクロマトグラムを作成し定量した。試験溶液の放射性成分の定量には、逆相TLCの分析結果を用いた。

4) 細菌検査およびpH測定

細菌検査およびpH測定のために特別に調製した試験溶液を7日後に採取し、トリプトン大豆寒天プレートで培養し細菌およびカビの発生を検査した。またpHメータを用いてpHを測定した。

5) DT_{50} および DT_{90} 値の算出

溶液中のノバルロンの消失速度は擬似1次カイネティクスであると想定すると、その濃度と照射時間の関係は次式で示される。

$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

ここで、

C = t 時間における化合物の割合

C_0 = 0時間における化合物の割合

k = 1次速度定数

t = 時間

ノバルロンの処理量に対する割合(%)の対数を縦軸に、照射期間を横軸に取り、最尤直線を求めた。その勾配は速度定数 k であり次式により DT_{50} および DT_{90} を算出した。

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

結果

1) 試験系の温度

照射及び非照射試料の温度はそれぞれ $24.3 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 及び $24.3 \pm 1.3^\circ\text{C}$ (平均±標準偏差)であった。

2) 試験溶液の無菌性

試験期間中、試験溶液は無菌であった。

3) 放射能の回収

被験物質の水溶解度が極めて低いため、試験溶液の最初の放射能濃度は極めて低かった(約 500dpm/mL)。従って、クロマトグラフィー分析のために酢酸エチルを用いて試験溶液を抽出した。一般に試験溶液中の放射能の有機溶媒への抽出は良好であった(表 3 及び 4)。暗所対照試料では、抽出後に水溶液中に残留している放射能の割合は、一般に、回収された総放射能の 5%以下であった。照射試料では、抽出後に水溶液中に残留している放射能の割合は、時間の経過に伴い増加した。これは、酢酸エチルに分配されない分解物が生成するためと考えられた。放射能の全体的な回収率は、処理量の 70.5~110.8%の範囲にあった。上記の試験溶液中の放射能の測定に伴う誤差を考慮した場合、全ての試験溶液について放射能の回収率は定量的であったと考えられた。試験溶液中のノバルロン及び光分解生成物の割合を表示する場合は、放射能の全体的な回収率を 100%に補正した。

4) ノバルロンの分解速度

TLC 定量により測定した各試験溶液中のノバルロンの割合を表 5 及び 6 に示す。照射開始後 7 日目(東京(北緯 35°)の春期太陽光の 35.39 日に相当)には、ノバルロンは最初の量の 41.9% (2 種類の放射能標識型の平均)に減少した。暗所対照試料でもノバルロンの多少の分解が認められ、インキュベーション開始後 7 日目では、ノバルロンは最初の量の 72.7% (平均)に減少していた。試験溶液中のノバルロンの割合及び最尤線を図 1 に示す。“一次反応カインेटィクスを想定した場合、ノバルロンの光分解半減期は東京(北緯 35°)の春期太陽光の 31.3 日に相当した。ノバルロンの分解速度を表 7 に示す。

5) ノバルロンの光分解生成物

順相及び逆相 TLC システムで、多数の光分解生成物が分離された。これらの放射性成分のうち 1 種類の少量分解物(DF1/CP3)は、クロロフェニル環及びジフルオロフェニル環の両方を含有していた(7 日目:回収放射能の最大 %を占めていた)。ジフルオロフェニル環のみを含有する分解物は回収された放射能の最大 %を占めており、代謝物 B

と同定された。クロロフェニル環のみを含有する 2 種類の分解物が生成したが、これらはいずれの時期においても個々には回収放射能の %以下を占めていたに過ぎなかった。クロマトグラムでは放射能が拡散して分布し、分離した放射性成分が検出されない領域が認められた。これらはゾーン 1~5 とした。結果を表 8 及び 9 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

6) ノバルロンの滅菌自然水中での想定光分解経路

ノバルロンの滅菌自然水中での想定光分解経路を図 2 に示す。

まとめ

ノバルロンは、pH8.25 の滅菌自然水中で光分解し、25℃における半減期(DT₅₀)は東京(北緯 35°)の春期太陽光の 31.3 日に相当した。多数の少量光分解物が生成し、これらのうちの 1 種類はクロロフェニル環及びジフルオロフェニル環の両方を含有していた。その他の少量分解物は、クロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれか一方のみを含有していた。照射試料において、これらの分解物の濃度は一般に低かった(回収された放射能の %以下)。回収された放射能の最大 %を占めていたジフルオロフェニル環のみを含有する分解物は代謝物 B

と同定された。ノバルロンは暗所対照容器中でも(加水分解的に)分解し、インキュベーション開始後 7 日目では、回収された放射能の 73%を占めていた。

表 1 自然水の特性

パラメーター	測定値
pH ^a	8.25
酸素飽和度(%) ^a	84.5
酸素飽和度(%) ^b	67.7
懸濁物質(g l ⁻¹) ^b	0.26
電気伝導率(μS cm ⁻¹) ^b	1159
全蒸発残留物(g l ⁻¹) ^b	0.40
総溶存炭素含量(mg/l) ^c	67.9

^a 採取時

^b 滅菌後

^c National Soil Resources により測定

表 2 各照射試料が受けた照射期間

名目照射期間 (日)	実質照射時間 (時間)	東京(北緯 35°)春期の自然太陽光換算照射期間(日)
1	23.85	5.00
2	48.06	10.07
3	71.92	15.06
4	95.94	20.10
5	120.14	25.17
7	168.97	35.39

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3 ^{14}C -ノバルロンを $1.5\ \mu\text{g/L}$ 処理した照射試験溶液からの放射能の回収

名目照射期間 (日)	ラベルタイプ	回収放射能 % (補正值)		処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	
0	B ラベル	98.3	1.7	99.5
	A ラベル	98.4	1.6	106.2
1	B ラベル	87.8	12.2	103.6
	A ラベル	92.7	7.3	80.6
2	B ラベル	97.9	2.1	94.1
	A ラベル	97.9	2.1	80.2
3	B ラベル	88.0	12.0	98.1
	A ラベル	85.5	14.5	81.8
4	B ラベル	84.1	15.9	70.5
	A ラベル	87.2	12.8	79.7
5	B ラベル	88.7	11.3	83.7
	A ラベル	82.6	17.4	77.3
7	B ラベル	71.0	29.0	88.3
	A ラベル	79.4	20.6	79.2

表 4 ^{14}C -ノバルロンを $1.5\ \mu\text{g/L}$ 処理した暗所対照試験溶液からの放射能の回収

処理後日数	ラベルタイプ	回収放射能 % (補正值)		処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	
0	B ラベル	98.3	1.7	99.5
	A ラベル	98.4	1.6	106.2
1	B ラベル	97.6	2.4	94.4
	A ラベル	98.8	1.2	100.5
2	B ラベル	100	0 ^a	97.3
	A ラベル	89.3	10.7	79.3
3	B ラベル	96.1	3.9	110.8
	A ラベル	98.7	1.3	93.0
4	B ラベル	96.0	4.0	94.6
	A ラベル	98.9	1.1	82.6
5	B ラベル	95.1	4.9	87.8
	A ラベル	98.5	1.5	91.7
7	B ラベル	93.9	6.1	85.2
	A ラベル	97.5	2.5	95.6

^a 水相画分中の放射能濃度は検出限界以下

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5 照射試験溶液中に残留するノバルロンの割合

名目照射期間 (日)	東京(北緯 35°)春 期の自然太陽光換 算照射期間(日)	ラベルタイプ	ノバルロン (% 回収放射能に 対する割合)	平均
0	0	B ラベル	93.5	93.0
		A ラベル	92.4	
1	5.00	B ラベル	77.8	78.7
		A ラベル	79.6	
2	10.07	B ラベル	72.6	71.3
		A ラベル	70.0	
3	15.06	B ラベル	55.6	58.6
		A ラベル	61.6	
4	20.10	B ラベル	50.4	51.3
		A ラベル	52.1	
5	25.17	B ラベル	54.0	52.8
		A ラベル	51.6	
7	35.39	B ラベル	43.6	41.9
		A ラベル	40.1	

表 6 暗所対照試験溶液中に残留するノバルロンの割合

処理後日数(日)	ラベルタイプ	ノバルロン (% 回収放射能に 対する 割合)	平均
0	B ラベル	93.5	93.0
	A ラベル	92.4	
1	B ラベル	95.7	93.3
	A ラベル	90.9	
2	B ラベル	83.4	81.9
	A ラベル	80.3	
3	B ラベル	83.4	85.4
	A ラベル	87.3	
4	B ラベル	78.5	81.1
	A ラベル	83.6	
5	B ラベル	80.0	77.3
	A ラベル	74.5	
7	B ラベル	70.8	72.7
	A ラベル	74.6	

表 7 ノバルロンの自然水中の分解速度 DT_{50} および DT_{90}

	DT_{50} (日)	DT_{90} (日)	r^2
照射	6.2 (31.3 ^a)	20.6 (103.8 ^a)	0.953469
暗所対照	19.3	64.0	0.898567

^a 東京(北緯 35°)の春期太陽光換算

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 8 照射試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数(日)	0	1	2	3	4	5	7
東京(北緯 35°)春期の自然太陽 光換算照射期間(日)	0.00	5.00	10.07	15.06	20.10	25.17	35.39

表 9 暗所対照試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数(日)	0	1	2	3	4	5	7

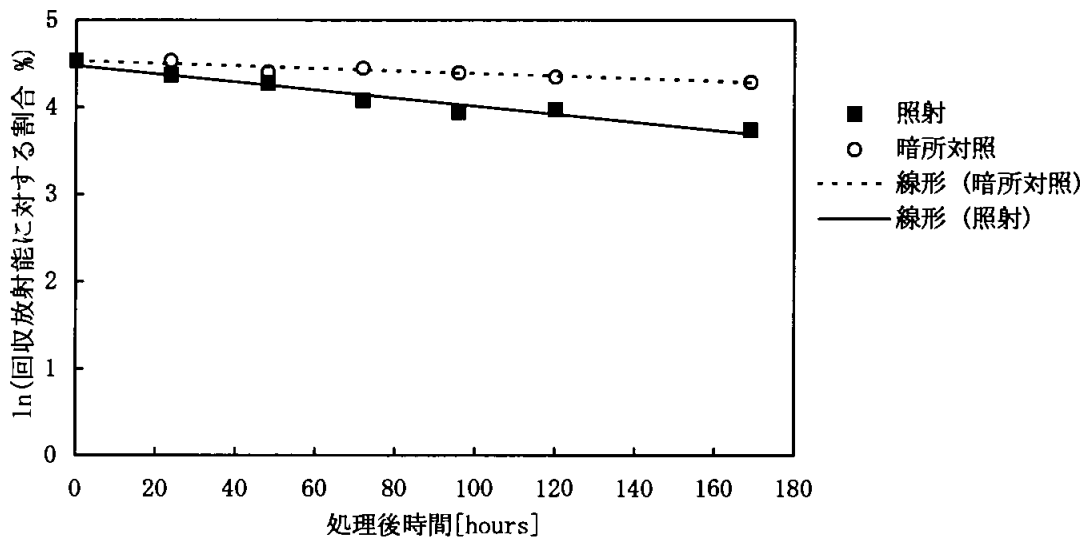


図 1 照射試料と暗所対照試料のノバルロンの減衰

図 2 ノバルロンの滅菌自然水中での想定光分解経路

(資料 PC-6)

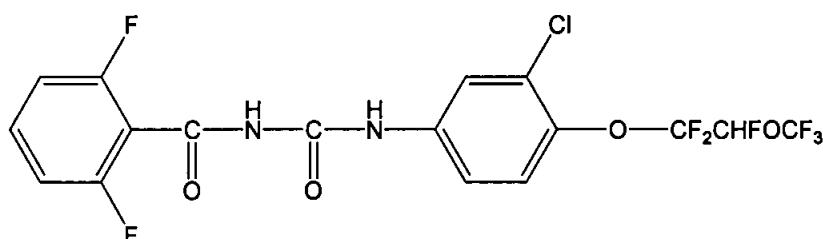
5. 土壌吸着試験

試験機関：

報告書作成年：

ノバルロンの土壌吸着係数は、ノバルロンの水溶解度が小さく予備試験においてすべての土壌試験系水層から検出することができなかつたので、測定することができなかつた。

供試化合物： 化学構造：



化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメチルエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロフェニル)ウレア

純度：

供試土壌：

採取場所	日植防 宮崎試験場	和歌山 和歌山農試	十勝 十勝農試	日植防 高知試験場
土壌群名	砂丘未熟土	灰色低地土	淡色黒ボク土 (火山灰土壌)	灰色低地土
土性	砂土	軽埴土	壤土	軽埴土
有機炭素含有率(%)	0.96	2.17	2.45	1.24
pH(H ₂ O)	6.2	6.1	5.6	6.4
陽イオン交換容量 (me/ 100 g)	6.4	14.3	12.0	9.8
リン酸吸収係数	510	610	1470	500
粘度鉱物の種類	アロフェン ハロイイト	カオリン鉱物 パーミキュライト	アロフェン パーミキュライト	クローイト イト

試験方法：

供試土壌の調製：

各土壌は、前処理として風乾されて2mmの篩を通してあったためそのまま試験に使用した。尚、試験開始前までは低温室(4℃)で保存した。

試験溶液の作成：

ノバルロン標準溶液は、ノバルロンをアセトニトリルに溶解することにより濃度を0.05 mg/lとした。また、試験に用いる0.01M塩化カルシウム溶液は蒸留水を用いて作成し調整後は冷蔵庫に保存した。

予備試験：

土壌(乾土相当)と水層の比が1：25となるように0.01M塩化カルシウム溶液を添加し、さらにノバルロン標準溶液1.5 µlをマイクロシリンジで添加した(水層中のノバルロンの初期濃度は0.003 mg/l相当)。

吸着試験操作は、25℃で約100 rpmの横振とうをあたえることにより行った。試験容器は遠沈管としアルミホイルで覆った。振とう4および16時間後に遠心分離機(3000 rpm、20分)で上澄液をえてこれを分析に供した。試験は2連で行った。同時に、土壌を入れない試験溶液のみの試料(コントロール)およびノバルロンを添加しない試料(ブランク)を供試した。

分析方法：

試験溶液を固相抽出カラムを用い抽出、アセトニトリルで溶出させ濃縮・乾固後、HPLC移動相で転溶してHPLC分析した。

結果：

予備試験

4種のすべての土壌試験系水層からノバルロンは検出されなかった。

試料	4時間振とう 分析値 mg/l(回収率%)	16時間振とう 分析値 mg/l(回収率%)
コントロール-1	0.002823 (94.2)	0.003223 (107.5)
コントロール-2	0.002716 (90.6)	0.002784 (90.0)
宮崎土壌(ブランク)	< 0.0005	< 0.0005
宮崎土壌	< 0.0005	< 0.0005
宮崎土壌	< 0.0005	< 0.0005
和歌山土壌(ブランク)	< 0.0005	< 0.0005
和歌山土壌	< 0.0005	< 0.0005
和歌山土壌	< 0.0005	< 0.0005
十勝土壌(ブランク)	< 0.0005	< 0.0005
十勝土壌	< 0.0005	< 0.0005
十勝土壌	< 0.0005	< 0.0005
高知土壌(ブランク)	< 0.0005	< 0.0005
高知土壌	< 0.0005	< 0.0005
高知土壌	< 0.0005	< 0.0005

定量限界：0.0005 mg/l

予備試験の結果より、水溶解度相当分を添加してもノバルロンが水層には検出されないため、ノバルロンの土壌吸着係数は測定不可能と判断した。

6. 生物濃縮性

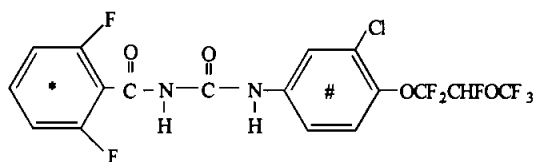
(資料 PC-10)

ブルーギルを用いた濃縮性試験

試験機関:

報告書作成年:

被験物質: ¹⁴C 標識ノバルロン (比放射能:)
構造式;



* (ジフルオロベンゾイル環) および
(クロロフェニル環) の両環標識体

化学名; 1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)尿素

供試生物: ブルーギル (*Lepomis macrochirus*)

一用量 約 120 匹、体長; 34-40 mm、体重; 0.4977-0.9164 g

方法:

暴露条件; 流水式 (900-1140 mL/min)、2 濃度 (公比 10)、35 日間暴露

試験期間; 2008 年 8 月 18 日~9 月 22 日

試験濃度区; 0.05 および 0.5 µg/L

試験液の調製; ラベル体 1 および 10 mg/L のメタノール溶解原液を作製し、それを流速 0.05 mL/min で流し、流速 1000 mL/min の水と混合して最終濃度の試験液とした。

環境条件; 温度 23±2°C、明 16 時間一暗 8 時間。

観察および測定; 温度、DO を毎日測定し、pH、硬度を週に 1 回測定した。

魚の生死および症状; 試験期間中生死等を観察した。

魚体中の被験物質濃度; 取込 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35 日、排泄 1, 3, 7, 10, 14, 28, 42 日に各濃度区とも 4 匹の魚を試料としその放射能を測定した。

試験水中の被験物質濃度; 魚体試料採取時に各濃度区とも 2 点の試料を採取し放射能を測定した。

魚体中の脂質含量; 取込 0, 28, 35 日、排泄 42 日に各区から試料を採取し (ただし 0 日は対照区のみから) 脂質含量を測定した。

結果:

(1) 魚体中の被験物質濃度 (µg/kg)

試験区 (µg/L)	取込期間 (日)						
	1	3	7	14	21	28	35
0.05	95.8	204	353	549	592	695	711
0.5	864	1699	3415	5288	6520	6888	7630

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

試験区 ($\mu\text{g/L}$)	排泄期間 (日)						
	1	3	7	10	14	28	42
0.05	657	681	420	332	297	132	71.9
0.5	5603	6486	5125	3708	2497	1193	594

両濃度において、類似した放射能の蓄積がみられた。魚中に蓄積された放射能は、42日間の排泄期間中に緩慢に消失し、排泄42日までに、取込期間終了時点（取込35日）で魚中に存在していた蓄積放射能の90%（0.05 $\mu\text{g/L}$ 区）、92%（0.5 $\mu\text{g/L}$ 区）が消失した。

(2) 試験水中の被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)

試験区 ($\mu\text{g/L}$)	取込期間 (日)						
	1	3	7	14	21	28	35
0.05	0.0539	0.0486	0.0461	0.0547	0.0413	0.0439	0.0514
0.5	0.5295	0.5538	0.4306	0.5148	0.4822	0.5050	0.4722

試験水中の被験物質濃度は試験期間を通してほぼ一定であった。

(3) 濃縮係数

① BCF_{ss}

試験区 ($\mu\text{g/L}$)	魚体中濃度(Cf) ($\mu\text{g/kg}$)	水中濃度(Cw) ($\mu\text{g/L}$)	濃縮係数(BCF _{ss})
0.05	711 《35日》	0.0500 《平均値》	14216
0.5	7630 《35日》	0.521 《平均値》	14645

0.05および0.5 $\mu\text{g/L}$ 区で、21、28および35日目のBCF（魚全体）の統計分析の結果、これらの値には有意差がみられなかった（Dunnettの検定）。しかし、14日目のBCFは、21、28および35日目のBCFとの間には有意差がみられた。よって定常状態に達していたとみなした。

② BCF_k

試験区 ($\mu\text{g/L}$)	取込速度定数 k_1	排出速度定数 k_2	濃縮係数(BCF _k)
0.05	1684	0.1758	17518
0.5	1262	0.0954	16408

(4) 観察

流速 900-1140 mL/min、温度 21.7-23.5 $^{\circ}\text{C}$ 、D0 7.1-9.8 mg/L、pH 7.1-7.9、硬度 158-198 mg/Lであった。試験開始時の体長 34-40 mm、体重 0.4977-0.9164 g。試験期間中、処理に関係した死亡または悪影響は認められなかった（ただし処理に関係しない死亡が溶媒対照4例、0.05 $\mu\text{g/L}$ 区で2例、0.5 $\mu\text{g/L}$ 区で1例あった）。

(5) 脂質含量

対照および溶媒対照区からの試料における脂質含量は内臓部分でそれぞれ 14.7-15.7、9.7-22.2%であった。

以上の結果から、本剤の濃縮度は14200-17500程度と考えられる。

代謝分解のまとめ

ノバルロン[®]の動物、植物、土壌、環境における代謝、分解、残留の概要、代謝分解経路図および概要表を以下に示す。

動物：

排泄バランス試験では、Aラベルの低用量群と反復投与群で、尿への排泄(ケージ洗液を含む)は0-168時間で投与量の5.1-9.4%、糞への排泄は0-168時間で投与量の85.9-95.3%、体内残留率(168時間、消化管および内容物を除く)は1.0-4.3%であった。Aラベルの高用量群では尿への排泄は0-168時間で投与量の0.6%(雌雄)、糞への排泄は0-168時間で投与量の93.8-95.4%、体内残留率(168時間)は0.1%(雌雄)であった。高用量では尿への排泄および体内残留率が低用量の約10%であった。Bラベルの低用量群では、尿への排泄は0-168時間で投与量の19.9%、17.5%、糞への排泄は0-168時間で投与量の76.0%、79.3%、体内残留率(168時間)は0.7%、0.9%であった。尿への排泄量はAラベル低用量に比べ、3倍以上多かった。以上、主要排泄経路は糞であった。高用量では尿に排泄される割合が低下した。BラベルではAラベルと比較して尿への排泄量が多く、排泄速度も速かった。これは親化合物開裂後のdifluorophenyl部位とchlorophenyl部位との代謝運命の差によるものと推察された。

胆汁排泄試験では、Aラベル低用量群で48時間までの排泄が、尿中(ケージ洗液を含む)に投与量の1.3、1.4%、胆汁中に<1%、糞中に75.9、68.6%、カーカス中に14.3、27.4%であった。Aラベル高用量群では48時間までの排泄が、尿中に0.1、0.0%、胆汁中に0.1%、糞中に72.3、95.4%、カーカス中に25.3、2.51%であった。Bラベル低用量群では48時間までの排泄が、尿中に4.7%、胆汁中に<1%、糞中に75.1、89.6%、カーカス中に13.0、6.7%であった。カーカス中での高濃度の放射能は消化管に残留した糞様物質による(追加ラットにて確認)。尿中、胆汁中の放射能は非カニキュレーションラットでの尿中放射能(0-48時間)の約1/2に低下した。

血中キネティクス試験では、血液中の濃度推移から、Aラベル低用量単回投与でT_{max} 5-8時間(雌雄)、C_{max} 0.03 μg eq/g(雌雄)、AUC₁₆₈ 1.08(雄)、1.98(雌) μg eq h/g、高用量単回投与でT_{max} 2(雄)、5(雌)時間、C_{max} 1.96(雄)、1.58(雌) μg eq/g、AUC₁₆₈ 26.8(雄)、8.31(雌) μg eq h/g、反復投与でT_{max} 5-8(雄)、2-8(雌)時間、C_{max} 0.08(雄)、0.10(雌) μg eq/g、AUC₁₆₈ 9.52(雄)、11.26(雌) μg eq h/g、また、Bラベル低用量単回投与ではT_{max} 8時間(雌雄)、C_{max} 0.04(雄)、0.05(雌) μg eq/g、AUC₁₆₈ 0.85(雄)、0.88(雌) μg eq h/gであった。高用量の血漿中AUC₁₆₈値は低用量の値の90倍(用量比は500倍)の増加を示した。また、低用量単回投与と反復投与の血液および血漿のAUC₁₆₈値の比較により血液細胞への蓄積が示された。

組織分布試験では、組織濃度は脂肪で最も高く、次いで肝臓、腎臓、脾臓およびリンパ節で高濃度であった。高用量は用量比が低用量の500倍となるが、組織濃度は約50-90倍の増加であった。反復投与の組織濃度は低用量単回投与の3から5倍高かった。反復投与での脂肪中放射能減衰の半減期は雄で52時間、雌で56時間であった。Bラベル投与での肝臓および腎臓中の濃度はAラベル低用量単回投与での1/3-1/4(168時間)であった。なお、全身オートラジオグラフィーの結果は、組織濃度の定量結果と一致していた。

代謝・分解について、尿中の未変化の親化合物は痕跡程度で、Aラベル投与では尿に数個の代謝物が含まれているが、低用量では投与量の%かあるいはそれ以下、高用量では%かあるいはそれ以下であった。反復投与では1個の未同定の代謝物が投与量の%で検出され、投与量の約%が本化合物のchlorophenyl aniline誘導体である代謝物D(275-309 I)と同定された。Bラベル投与では尿の主要代謝物は代謝物A[(275-158 I)]であった。糞には

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

顕著な代謝物は検出されず、大部分が未変化の親化合物であった。胆汁中では未変化の親化合物および chlorophenyl aniline 誘導体 代謝物 D(275-309 I) がそれぞれ投与量の %、 %であった。脂肪、肝臓および腎臓では、主要成分は未変化の親化合物であった。肝臓ではさらに代謝物の 1 つが代謝物 D(275-309 I) と特徴付けされた。

ラットへのノバルロンの経口投与では主要排泄経路は糞であり、投与量の 76-95 %が糞に排泄された。投与量の 20 %が吸収された。吸収された投与量比は高用量を投与した時はかなり減少した。吸収された放射能は消化管(+内容物)を除けば、脂肪に最も高濃度に分布した。尿および胆汁中では広く代謝され、代謝物が主要成分であった。代謝は chlorophenyl と difluorophenyl 部位の開裂を含んでいた。

植物：

キャベツを用いた散布試験での放射性残留物のレベルは、2 回目の処理後で 0.535-1.085 ppm、収穫時では 0.234-0.448 ppm であった。

アセトニトリルによる表面洗浄液の放射能比は 1 回目処理後で放射性総残留物 (TRR) の 94.8-97.7 %であったが、収穫時では 81.9-90.0 %と減少した。外葉および内葉から抽出された放射性物質の比率は 1 回目処理後で TRR の 2.2-5.1 %であったが、収穫時では 8.0-15.3 %と増加した。このことから本化合物は葉に吸収されたと考えられた。外葉および内葉の抽出物中での放射性物質の大部分はその後の有機溶媒で抽出された。残りの水溶性残留物は TRR の 1.0 % (≤ 0.005 ppm) 以下であった。またキャベツ中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 2.8 % (≤ 0.009 ppm) 以下であった。

表面洗浄液および抽出物の放射性物質は 95.6-99.9 %が未変化の親化合物であり、そのレベルは 1 回目処理時の 0.484-0.834 ppm から収穫時 0.225-0.447 ppm に減少した。

ジャガイモを用いた散布試験での放射性残留物のレベルは、葉中では、第 2 回処理後で 4.81-6.96 ppm、収穫前 10 日で 0.79-2.17 ppm、収穫時では葉が枯れており 5.89-9.87 ppm であった。塊茎では、収穫前 10 日および収穫時で極めて低い放射性残留物レベル (< 0.01 ppm) であった。

アセトニトリル葉表面洗浄液の放射能比は、第 1 回目処理後で放射性総残留物 (TRR) の 93.8-95.9 %であったが、収穫時では TRR の 80.5-83.3 %に減少した。葉から抽出された放射性物質の比率は第 1 回目処理後で TRR の 3.9-6.0 %であったが、収穫時では TRR の 15.5-18.7 %に増加した。従って本化合物は葉に吸収されたと考えられた。葉の抽出物中の放射性物質の大部分は有機溶媒可溶抽出物であった。残存水性残留物は TRR の 0.6 % (≤ 0.049 ppm) 以下であった。葉中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 1.2% (≤ 0.119 ppm) 以下であった。

葉表面洗浄液および有機溶媒可溶抽出物中の未変化の親化合物の比率は 96.4-99.6 %であり、そのレベルは第 1 回目処理後 1.522-2.152 ppm から、収穫前 10 日 0.772-2.093 ppm と減少したが、収穫時には葉が枯れたことにより 5.707-9.573 ppm と増加した。

りんごを用いた散布試験では、処理直後の果実中の残留量が 0.1-0.2 ppm であったが、収穫時には 3 回処理(最終処理後 60 日で収穫)で 0.03-0.04 ppm に減少した。同様に処理直後の葉中の残留量は 2-9 ppm であったが、最終収穫時には 3 回処理で 0.9-2.9 ppm に減少した。

果実表面洗浄液中の放射能比は最終処理直後で放射性総残留物 (TRR) の 70-95 %であったが収穫時には 47-57 %に減少した。抽出物は最終処理直後で 5-29 %検出されたが収穫時には 41-50 %に増加した。抽出可能放射能の大部分は皮で回収されたことから本化合物は果肉には極く低レベルが認められ、皮に徐々に移行すると考えられた。抽出不能放射能は収穫時で 3-5 %であった。葉表面洗浄

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

液中の放射能比は、最終処理直後で 85-98 %、収穫時で 72-82 %であった。抽出物は逆に最終処理直後で 2-15 %、収穫時で 18-26 %であった。抽出不能放射能は放射性総残留物の 3 %以下であった。

防護措置(袋かけ)を施した試料の果実では顕著な放射能は検出されなかった。また葉では僅かに 0.04-0.05 ppm が検出された。

表面洗浄液および抽出物での主要成分は未変化の親化合物であり、果実で TRR の 88.9 %以上および葉で 92.6 %以上であった。

以上 3 作物の代謝試験成績において代謝に大きな差がないと認められ、これらの作物以外の申請作物についても、これらの作物と同様の成績が得られるものと考えられる。

土壌：

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの Arrow 土壌(砂壤土)、Evesham 3 土壌(粘土)、Wick 土壌(砂壤土)、Malham 土壌(シル質埴土)への施用では、20℃での DT₅₀ 値は 5-12 日であった。分解はその後減速して続き、59 日で約 80 %以上分解したが、DT₉₀ 値は 120 日より大きかった。なお、Evesham 3 土壌の 10℃での DT₅₀ 値は 20 日であり、20℃で認められた期間の約 2 倍であった。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン施用 Arrow 土壌では、結合残留物が 14 日以降 10%AR を超えたがいずれの時期にもフミンがその 65%以上を占めていた。

さらに、[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン施用 Arrow 土壌では、有機性揮発性物質および二酸化炭素が回収された。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン施用時の主要代謝物はいずれの土壌においても代謝物 C

(275-352 I)と同定さ

れた。この代謝物は 20℃では 7 日後に %AR のピークに達し、120 日後に %AR となった。

本代謝物の DT₅₀ 値は 20℃で 23-64 日であり、10℃(Evesham 3 土壌)では 110 日であった。他にマイナーな分解物が検出されたが、10 %AR を超える分解物は検出されなかった。このうちの 1 つは代謝物 D

(275-309 I)と同定さ

れ、Arrow 土壌では約 %AR あった。これらの代謝物はさらに二酸化炭素へと無機化されると考えられた。

[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの Arrow 土壌(砂壤土)への施用では、施用後 14 日で 62.9%AR に減少した。結合残留物は 10%AR を超えなかった。主要代謝物は二酸化炭素で、最大で 26.5%AR を示した。他に代謝物 A[(275-158 I)]が同定された。

環境：

加水分解試験では pH9 においてのみ十分な分解が見られ、25、50、70℃における推定半減期はそれぞれ 101、1.2、0.09 日であり、20℃における外挿推定半減期は 217 日であった。

薄層クロマトグラフィー分析の結果 8 個の加水分解物が認められた。このうち、代謝物 A[

(275-158 I)]、代謝物 B[

(275-157 I)]、代謝物 C

{

(275-352 I)}、代謝

物 D[

(275-309 I)]の 4 つがコ

クロマトグラフィーで確認された。

水中光分解試験では、ノバルロンの残存率は 7 日後で蒸留水 56.4%、自然水 76.5 %であり、半減期はそれぞれ 7.5 日および 15.1 日(東京春季太陽光換算：蒸留水 4.4 日、自然水 8.8 日)と推定された。遮光区のノバルロン残存率は 7 日後で蒸留水 102.4%、自然水 93.2%であったことから、

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

水中でのノバルロンの主な分解は光によると考えられた。

標識体を用いた試験では、緩衝液及び自然水ともに分解生成物の一部はクロロフェニル及びジフルオロフェニル環の両方を含有したが、その他はクロロフェニル環またはジフルオロフェニル環のいずれか一方のみを含有する開裂した生成物で、これら生成物の多くは、処理放射エネルギーの %以下であったが、1つは最高で % (緩衝液) 及び % (自然水) を示し、代謝物 B

と同定された。また、緩衝液において、極めて少量の揮発性放射能が生成した (処理量の 2.6 %、太陽光換算日数で 67 日間暴露後)。

土壌吸着係数についての試験を砂丘未熟土 (砂土)、灰色低地土 (軽埴土)、淡色黒ボク土 (壤土)、灰色低地土 (軽埴土) を用いて実施しようとしたが、ノバルロンの水溶解度が小さいため、予備試験において、すべての土壌試験系水層からノバルロンを検出・測定することができず、土壌吸着係数は求める事ができなかった。

生物濃縮性についての試験をブルーギルを用い、0.05 および 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の 2 濃度で実施した。試験水中の被験物質濃度は試験期間を通してほぼ一定であった。2 濃度とも暴露 21、28 および 35 日目の BCF (魚全体) 値に統計学的有意差がみられず、定常状態に達したとみなした。濃縮度は 14200-17500 程度と考えられた。魚中に蓄積された放射能は、42 日間の排泄期間中に緩慢に消失し、排泄 42 日までに、取込期間終了時点 (取込 35 日) で魚中に存在していた蓄積放射能の 90~92 % が消失した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

代謝分解の概要

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロ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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

附 ノバルロンの開発年表