

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

乳牛におけるホサロン¹⁴Cの代謝試験

(資料No.代5)

試験機関：ローディア インク (米国)

報告書作成年：1975年

供試標識化合物：¹⁴C - ホサロン

標識位置の設定理由：

実験1：乳牛No.1に

尿及び乳汁を採取した。

実験2：乳牛No.2に

、尿及び乳汁を採取した。

尿の分画：尿試料の倍量の塩化メチレンを加え、浸とう抽出を行った。また尿試料に塩化ナトリウムを加え、酢酸エチルで浸とう抽出し、さらに酢酸エチルで抽出した（分画A）後、水相をpH2とし、酢酸エチルで抽出した（分画B）。さらに水相を50°Cで24時間加熱した後酢酸エチルで抽出した（分画C）。

乳汁の分画：乳汁試料は、遠心分離しクリーム成分とスキムミルクに分けた後、スキムミルクにアセトンを加えタンパク質を沈殿させ、ろ過した。ろ過後、クロロホルムを加え浸とうし、抽出した後さらにクロロホルム・アセトン混合液で抽出した。水層中に残存する¹⁴C量は、1.0mlを検体として測定した。クロロホルム・アセトン層は、濃縮後メタノールに溶解、攪拌した後不溶物は除去し測定用に供試した。

放射能測定：放射能はPackard製3チャンネルTri-Carb Model3320シンチレーションスペクトロメーターで、外部標準法によって測定した。主測定溶液系はTriton-100 5ml、4.0g PPO及び250mgジメチル-POPOPを含む10mlトルエンシンチレーション液との混合液であった。尿及びその分画は試料に15ml測定用溶液を加え直接測定した。乳汁は0.5mlの試料をSolouene 1.0mlに溶解した後行った。その他の試料は15mlの主溶液系を加えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC プレートは、吸着剤をプレコーティングしたガラス板に 250 ミクロンの F-254 シリカゲルを用いた。プレートの放射能は、オートラジオグラフィーの後、かき取り、測定用溶媒を加え測定した。

尿分画 A の TLC 分析

分画 A を濃縮後、エタノールに溶解し、TLC プレートにスポットした。プレートはアセトンで展開し、オートラジオグラフィーと放射能測定を行った。

尿分画 B の TLC 分析

分画 B を濃縮後、メタノールに溶解し、TLC プレートにスポットした。プレートはエタノール・水酸化アンモニウム (20 : 1) で展開し、オートラジオグラフィーと放射能測定を行った。

質量スペクトル (MS) 及びガスクロマトグラフィー質量スペクトル (GC-MS) 分析

試料が固体の場合はそのまま、溶液の場合は 10 μ l をマイクロチューブに入れ、窒素ガス下で溶媒を蒸散させ直接導入した。また GC-MS 分析の場合、試料はシリル化剤でトリメチルジリル (TMS) 化を行い、GC-MS に導入した。

乳汁試料のクロマトグラフィー

乳汁メタノール試料は、I : ヘキサン-アセトン及びII : クロロホルム 2 回-アセトンの 2~3 度展開し、分離した。分離物の同定のため尿分画 A より精製した代謝物とのコクロマトグラフィーを行った。すなわち、TLC プレートに、乳汁メタノール試料、尿分画 A および両分画混合物をスポットし、ヘキサンで展開後、さらにアセトンで展開した。TLC プレートはデンシトメーターにかけ放射能を測定した。

試験結果

尿分画

尿試料より塩化メチレンで抽出可能な放射能は、実験 1 では 1% 以下、実験 2 では約 2% であった。

分画 A

分画 B

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

U-5 の分離及び同定

U-6 の分離及び同定

乳汁分画

M-2 および M-4 の同定

考察

以上より、乳牛におけるホサロンの代謝経路に加水分解が生じていることが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1. (a) 尿中の投与後の時間当たりの ^{14}C 量 (実験 1)

経過時間 (hr)						
8						
20						
32						

表 1. (b) 尿中の投与後の時間当たりの ^{14}C 量 (実験 2)

経過時間 (hr)						
8						
16						
32						

表 2. 尿分画 A におけるゾーン別、時間当たり ^{14}C 量
経過時間 (hr)

実験 1			実験 2	

表 3. 乳汁 (MB) 中ゾーン別 ^{14}C 量

ゾーン	乳汁総 ^{14}C に対する割合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

乳牛における代謝

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

動物における推定代謝経路まとめ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

植物体内運命に関する試験成績

(1)¹⁴C - ホサロンのソルガムでの代謝研究

(資料No.代 6)

試験機関：アナリティカルディベロップメント (米国)

報告書作成年：1978年

供試標識化合物：

試験方法：

この精製 ¹⁴C - ホサロ

ンを非標識ホサロンで希釈したものを使用した。この
希釈ホサロンの乳化液 (¹⁴C - ホサロン EC) を調製し、供した。

処理方法：以下の2条件で植物体に温室内で処理した。

グループ I

高さ 10~20 インチ(25.4-50.8cm)のソルガム 90 本 (1 群 30 本の 3 群) に処理量 3
ポンド・ai/A(3.36kg/ha)となるように蒸留水で希釈した ¹⁴C - ホサロン EC を処理
した。

グループ II

開花成長期のソルガム 60 本 (1 群 30 本の 2 群) に処理量 1.5 ポンド・ai/A(1.68kg/ha)
となるように蒸留水で希釈した ¹⁴C - ホサロン EC を処理した。

サンプリング：ソルガムは一定の時期に抜き取り、1%Triton X-100 水溶液で洗浄後、部分別に分
けた (表 1)。

分析方法：放射能は、液体シンチレーションスペクトロメーターを使用して外部標準比率法に
より測定した。

試験結果

ソルガム中の総放射能：すべてのソルガムサンプルについて、直接燃焼して植物体中の総放射能
を測定した。表 2 に結果を示す。

抽出可能な放射能と結合放射能：サンプリングされた植物体からアセトン：水(80：20)で摩砕抽
出を行った。抽出分は、ロータリーエバポレーターで濃縮し、ジクロロメタンで抽
出した。さらに水層は、酢酸エチルで抽出した。残った水層に濃塩酸を加え加熱還
流し、酢酸エチルで抽出した。表 3 に各段階での結果を示した。ソルガム各部分中
の ¹⁴C-化合物の同定：考えられる代謝物を TLC 上で良好に分離できる溶媒系を用い
て標準品とのクロマトグラフィーによって同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

GC/MSによる同定：

酸性加水分解後の酢酸エチル分画：

結論

グループ II において、やはり総 ^{14}C - 活性はほとんど減少しなかった。処理後 92 日目で葉中に 45.6ppm 存在していた。

表 4 に収穫時の茎葉、穀粒、穎皮の代謝物分布を示した。

表 5 に収穫期のサンプル中の代謝物分析結果を纏めた。

また推定される代謝経路を図 1 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C B C株式会社にある。

表 1. ¹⁴C ホサロンのソルガム中代謝サンプリング

グループ I : 3.0lb.ai/A (3.36kg/ha)	
処理後経過日数	サンプリング部位
1	地上部
7	"
7	根
14	地上部
14	根
57	地上部
開花期	頭状花と根
134	飼料
134	種子
グループ II : 1.5lb.ai/A (1.68kg/ha)	
処理後経過日数	サンプリング部位
1	地上部
1	頭状花
7	地上部
7	種子
92	飼料
92	種子

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 2. 総放射能

植物部分 グループ I	処理後経過日数	平均濃度 (生重 量) (ppm)	平均濃度 (乾重) (ppm)
地上部 (対照) (処理)	1	0.616 23.54	4.6 91.24
地上部 (対照) (処理)	7	0.175 76.32	0.754 408.1
地上部 (対照) (処理)	14	0.152 68.95	0.745 459.7
地上部 (対照) (処理)	57	3.186 25.89	12.90 103.8
地上部 (対照) (処理)	134	0.226 40.8	0.812 146.7
根 (対照) (処理)	7	0.281 0.12	0.826 28.76
根 (対照) (処理)	14	0.075 5.66	0.352 22.02
根 (対照) (処理)	57	0.074 2.69	0.165 7.81
頭状花 (対照) (処理)	57	0.012 0.053	0.028 0.162
穀粒 (対照) (処理)	134	0.0422 0.109	0.049 0.127
穎皮 (対照) (処理)	134	0.109 0.157	0.127 0.183

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 2. 総放射能 (続き)

植物部分 グループ II	処理後経過日数	平均濃度 (生重量) (ppm)	平均濃度 (乾重) (ppm)
地上部 (対照) (処理)	1	0.250 19.94	0.735 76.60
地上部 (対照) (処理)	7	0.180 39.62	0.453 118.7
地上部 (対照) (処理)	92	0.247 45.6	0.888 163.9
頭状花 (対照) (処理)	1	0.979 26.55	2.225 85.10
種子 (対照) (処理)	7	0.034 6.12	0.091 18.89
穀粒 (対照) (処理)	92	0.0351 *5.35(2.59)	0.041 6.22(3.01)
穎皮 (対照) (処理)		0.132 49.7	0.153 57.8

* () 内は水で洗浄後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 3 抽出可能な放射能 (10g サンプル)

植物部分 グループI	加水分解層				
	アセトン/水	ジクロロメタン	酢酸エチル	酢酸エチル	水層
地上部					
1日後					
7日後					
14日後					
134日後					
根					
7日後					
14日後					
57日後					
頭上花					
57日後					
穀粒					
134日後					
穎皮					
134日後					
グループII					
地上部					
1日後					
7日後					
92日後					
頭上花					
1日後					
種子					
7日後					
穀粒					
92日後 (水洗後)					
穎皮					
92日後					

%TR : 対総 ^{14}C の割合

%TER : 対抽出された ^{14}C の割合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 4 各フラクション及び代謝物の分布

サンプル グループ I 分類	総 ¹⁴ C (TR) (ppm)										
地上部 (1日後)	23.5										
地上部 (7日後)	76.3										
地上部 (57日後)	30.3										
地上部(134 日後)	40.8										
根 (7日後)	6.12										
根 (57日後)	2.69										
頭上花 (57日後)	0.053										
穀粒 (134日 後)	0.109										
穎皮 (134日 後)	0.157										

同定に十分な放射活性を得られず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 4 各フラクション及び代謝物の分布

サンプル グループⅡ 分類	総 ¹⁴ C (TR) (ppm)	フラク ション																								
地上部 (1日後)	20.3																									
地上部 (7日後)	50.7																									
地上部 (92日後)	45.6																									
頭上花 (1日後)	26.6																									
種子 (7日後)	6.12																									
穀粒 (92日後)	5.35																									
穎皮 (92日後)	49.7																									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

数種の植物におけるホサロンの代謝

(資料No.代 7)

試験機関：ローヌ・ブーラン (仏国)

報告書作成年：1968年

供試化合物：非標識ホサロン

試験方法

投与方法

植物： 温室栽培（鉢植え、温度 $21\pm 2^\circ$ 、1日14時間連続照）のソラマメ、インゲンマメ及びナスタチュームと、露地栽培のひまわり、及びアルファルファを使用した。ホサロンの水懸濁液（60g/100l）を1000l/haの水量で散布した。経時的に葉を採取した。

分析方法

試料は、同量のアセトンで摩砕抽出し、濾過した。濾液は濃縮後、抽出時、アセトンの半分量の塩化メチレンで3回抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水後蒸発乾固し、アセトンに溶解した（溶液A）。濾過残渣は、水又は塩酸（pH1）に懸濁し、攪拌、濾過した。濾液は凍結乾燥し、メタノールに溶解した（溶液B）。

また、各種代謝物の定量は比色分析によって行なった。

試験結果

植物：

以

上より図1にホサロンの植物中での分解経路を示す。

表1、2、3に各種植物におけるホサロンおよび代謝物の分布量を示した。

以上より、ホサロン自体は安定であるが、その代謝物の分解速度は速く、土壌・植物中に蓄積はしないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1

露地栽培したヒマワリ中のphosalone残留物消失

単位 : mg/kg (a)

Number of days (N) between treatment and harvest	Treatment at 60g/hl	
	B (b)	C (c)
1	57±10	57±8
10	28±5	21±2
17	18±3	18±2
24	20±5	20±1
31	15±3	16±1

(a) - Analyses made only on treated leaves
 (b) - Biological method
 (c) - Chemical method (copper complex)

表 2

露地栽培したアルファルファ中のphosalone残留物消失

Number of days (N) between treatment and harvest	Treatment at 60g/hl	
	B (b)	C (c)
1	28±3	29±2
6	12±2	11.5±2
13	5±1	15±1
20	1.9±0.2	2.5±0.4
34	0.4±0.1	inf.a 0.2

(a) - Analyses made on the total aerial part of the plant
 (b) - Biological method
 (c) - Physico-chemical method.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表3 植物中のphosaloneおよび各種代謝物の定量

Product determined	Residue mg/kg		
	ソラマメ Broad bean	インゲンマメ Haricot bean	ナスタチューム Nasturtium

図1 ホサロンの代謝分解図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

植物について実施された3つの代謝分解試験を纏めると代謝経路は次のようになる：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

リンゴにおける代謝試験

(資料No.代 8)

試験機関 : Pharmacology and Toxicology
Research Laboratory-West
(米国) [GLP 対応]

報告書作成年 : 1990 年

供試標識化合物

構造式 :

標識位置の設定理由 :

供試植物 : リンゴ(品種 : レッドデリシャス)

栽培条件 : カリフォルニア州のリードリーの野外で行われた。約 1 エーカー (40 アール) のリンゴ果樹園に配置された 4 本の樹が研究用に選抜された。リンゴ樹は、約 10 年生で、5 フィート (1.52m) 幅の枝の広がりと 6 フィート (1.83m) の高さで、健全な状態にあり、樹当たり約 60 ポンド (27.2kg) の果実を実らせた。土壌の組織的分類は、1 フィート(30.5cm)の深さまで砂質ロームサンドで、1 から 4 フィート (0.3-1.2m)の深さでは砂質であった。点滴灌漑によって、各樹に最適な水量を与えた (12 ガロン(45.42L)/樹/日)。

試験方法 :

試験溶液の調整 : 1191mg のホサロン(分析用標準品)をテフロンキャップ付のガラス瓶 (A)に秤量し、8ml のアセトンを加えた。9mg の ^{14}C -ホサロンは 2ml のアセトンで溶解され、その溶液は、ガラス瓶 (A) に加えられた。

^{14}C -ホサロンを溶解した容器は、更に 2ml のアセトンで濯がれ、濯がれた溶液は、ガラス瓶 (A) に加えられた。この結果、 ^{14}C -ホサロンは適切な濃度(1220mg ホサロン/12.0ml アセトン)に非放射性標準品で希釈された。この溶液は、処理 I と処理 II のために 6.0ml ずつに分けられた。

両処理溶液は、処理まで冷凍庫で保存された。各処理の前に、処理溶液の純度は TLC によって確認され、処理液の比活性は 3287dpm/ μg であった。

処理方法 : 散布によるドリフトによる放射性物質の損失を防ぐために、試験物質を葉および果実の表面にブラシで塗りつけた。ホサロンのリンゴへ処理量は、一般的な散布量 (3 ポンド/エーカー(3.36kg/ha)) を目安とした。試験物質は、生育期間の 2 つの時期に処理した。処理 I は、果実が未熟な時期 (果実の直径 1.5 インチ(3.81cm)) に行われ、処理 II は、果実が熟す 4 週間前(果実直径 ; 約 2.5 ~3 インチ(6.35-7.62cm)) に行われた。各樹の 3 本の枝が処理のために選抜され、青いリボン(対照)と赤いリボン (^{14}C -ホサロン) で区別された。印を付けられた枝の全ての果実と約 75% の葉の表面を小さなブラシで薬液を塗布することで処理した。それぞれの処理液のガラス瓶は、1.0ml のアセトンで濯ぎ、そのアセトンも処理した。 ^{14}C -ホサロン樹が処理される前に、対照樹は溶媒(3.0ml アセトン)で処理された。 ^{14}C -ホサロン処理では、樹の下の地面の土壌汚染を避けるためにプラスチックで覆いをした。処理は、外気温が比較的低い早朝に行った。それぞれの処理に使われた 2 つのガラス瓶

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

は研究所に送付され、5.0mlのアセトンでリンスされ、残存量 (dpm) が測定された。

処理 I では、処理後 14 日目にすべての葉と果実が収穫され、処理 II では、処理後 14 日目に、葉と果実の半分が収穫され、処理後 24 日目に葉と果実の残りの半分が収穫された。*処理 II の 14 日目の収穫は分析しなかった。

分析試料調製：

葉： ^{14}C -ホサロン処理樹の収穫 I と収穫 II B (処理 24 日目) から得た全ての葉が用いられた。葉は、表面の放射能を取り除くためにメタノール(500ml)でリンスされた。3 連のサンプル(1.0ml)が放射エネルギーを測定するために計測され、また、サンプル (25-50 μl) が HPLC と TLC 分析に用いられた。リンスされた葉は、均一な濃度になるまでドライアイスと共にフードプロセッサーで破碎され、二酸化炭素を消散するために、冷凍庫内に保存した。3 連ないし 4 連のサンプル (200mg) が、燃焼によって、葉のマトリックス中の放射能総量を測定するために用いられた。2 連の 5g のサンプルが抽出用に使われた。サンプルは、20ml のメタノールで 3 回抽出された。3 回の抽出液を纏めて、20g の硫酸ナトリウムにより脱水処理をし、そして、減圧濃縮によって容量を減少させた(約 5ml)。抽出物のサンプルは、TLC 分析および HPLC 分析のために使用された。非抽出放射活性残渣の総量は、燃焼によって測定された。

果実： ^{14}C -ホサロン処理樹の収穫 I と収穫 II B (処理 24 日目) から得た全ての果実が、分析された。果実の表面の放射能を取り除くために 25%メタノール水 (500ml)でリンスされた以外の抽出過程、分析方法は、葉のそれに使用された方法と同じであった。分析方法：

HPLC 分析

HPLC 分析は、Perkin Elmer Model 4、LC ポンプと Supelco LC-18 カラム (25.0cm X 4.6mm(内径)、5 μm 粒子径)を用いた。溶媒は、アセトニトリル単独または、それと水との混合液(1:4 または 4:1)を用いた。溶離物質は、Perkin Elmer LC-90 紫外線検出器で検出した (UV 波長:254nm)。分画(0.5ml)は、Bio Rad 分画収集器で収集した。

TLC 分析

TLC 分析は、シリカゲル F254 プレート(0.25mm、Merck)で下記の溶媒系の一つで展開し、実施した：A) ヘキサン/アセトン(70:30)、B) トルエン/アセトニトリル/メタノール (20:4:1)、C) ベンゼン/酢酸エチル (80:20)。適宜、TLC プレートはオートラジオグラフィーを得るために Kodak の X-線フィルムに暴露した。ホサロンと分析標準品は、紫外線によって可視化した。

結果：

1) 分布

① 各処理時期のリンゴの葉と果実の残留物放射能レベルを下表に記す。

処理/収穫	処理/収穫 I	処理/収穫 II
収穫時期	処理後 14 日目	処理 14 日目 (処理 24 日目)
試料		
葉のリンス液		
葉の破碎物		
果実表面リンス液		
果皮		
果肉		

*処理 II の 14 日目の収穫は分析されなかった。

収穫 I : 葉(442.9g)、果実リンス液 (4335.7g)、果皮 (1429.0g)、果肉 (2816.2g)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

収穫Ⅱ：葉(300.8g)、果実リンス液 (4023.9g)、果皮 (1211.1g)、果肉 (2768.7g)
 リンゴの果皮には、58.08～79.85ppm、果肉には、0.63～0.87ppm の放射能が残留していた。また、葉のリンス液には 452.95～510.51ppm、葉の破砕物には 317.87～388.63ppm の放射能が残留していた。

② 各処理時期の葉と果実のマトリックスからの総回収放射能の濃度および割合 (%) を下記表に記す。

サンプル	
収	葉
穫	果皮
I	果肉
収	葉
穫	果皮
II	果肉

*：サンプルがこぼれてなくなり測定できなかった。

2) 代謝

リンゴ樹の処理後のリンゴマトリックスの TLC 分析による放射能の同定/特徴

サンプル	処理Ⅰ/収穫Ⅰ		処理Ⅱ/収穫ⅡB	
	放射能(%)	ppm	放射能(%)	ppm

3 ポンド/エーカーの薬量でリンゴ樹に処理された¹⁴C-ホサロンは、ほんのわずかな範囲で代謝される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

リンゴにおいて想定される代謝経路を下記に示す。

リンゴ樹の処理後のリンゴマトリックスの HPLC 分析による放射能の同定／特徴

サンプル	放射能(%)	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C B C株式会社にある。

ブドウにおける代謝試験

(資料No.代 9)

試験機関：Pharmacology and Toxicology
Research Laboratory-West
(米国) [GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

供試標識化合物

構造式：

標識位置の設定理由：

供試植物： カリフォルニア州の Soledad の農家のぶどう園の一角で実施された。品種は pinot noir 種。処理区は 2 本のぶどう樹を用い、それぞれ別の処理を行った。隔離された場所に対照区を設定した。これらの樹は 30 房以上の果実をつけていた。試験期間中害虫防除は行わなかった。

試験方法：

試験区： 処理区は、推奨最高薬量の 2100g/ha を設定処理量として、1 回処理区と、半量の 2 回処理をする 2 区をもうけ、それぞれに 1 樹をあてた。

試験溶液の調整と処理： 供試化合物の放射能を非放射性標準品で希釈後 (78333dpm/ μ g) 30 mL のアセトン溶液に調製しプラスチック製散布器で 30 房に散布した。各果房は色テープで識別した。

1 回目の処理は 1992 年 8 月 19 日に実施し、2 回目の処理は 2 週間後の 1992 年 9 月 2 日に実施した。散布に際して葉は後退させて大部分が果房のみに散布された。

収穫： 通常収穫期の 1992 年 9 月 11 日、第一回散布の 23 日後で第二回散布の 9 日後にぶどうを収穫し分析に供した。

放射能測定： 固形試料は燃焼し生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集して液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。洗浄液、果汁試料および抽出液は直接液体シンチレーションカウンターで分析した。代謝物の放射能はラジオクロマトグラムにより測定した。

分析試料調製： 収穫したぶどうは脱イオン水で洗浄した後に果房は分析まで凍結保存した。洗浄液は容量測定後液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。果房試料はドライアイスとともにフードプロセッサ処理により果汁と果肉に分離した。果汁は液体シンチレーションカウンターと燃焼法により放射能を分析した。両方に差はなかったが、燃焼法のデータを採用した。

果肉はさらに Tekmer Tissumizer を用いて摩砕し重量を測定後、以下の段階的抽出処理を行った。

3 倍量のメタノールで 2 回
0.1N 塩酸メタノール
3N 塩酸で 3 時間還流

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

2%カセイソーダ 3時間還流

10%カセイソーダ 3時間還流

以上の各処理後遠心分離で得られた溶液は、一部を直接放射能測定した。残渣は燃焼法で放射能を測定した。

以上のように得られた果汁および果肉抽出液は代謝物の同定を容易にするため PorapakQ を充填したガラスクロマトグラフィーを用いて水、アセトニトリル/水 (1:19)、アセトニトリル/水 (1:1)、アセトニトリル、アセトニトリルの溶出液で順次溶出し、一部をとり放射能を測定した。次いで各画分は HPLC および TLC で分析した。極性成分はアセチル化、メチル化、アルカリ加水分解処理およびβグルコシダーゼ処理した。

結果：

- 1) 分布：処理された放射能の大部分 (>95%) は、両処理ともに果肉に存在し、処理方法の違いにかかわらず分布は類似していた。

	1回処理 (2100g/ha)		2回処理 (1050g/ha×2)	
	ppm	%	ppm	%
洗浄液	0.514	1.80	0.449	1.56
果汁	0.865	3.11	0.703	2.62
果肉	26.411	95.09	25.765	95.82
合計	27.790	100.00	26.917	100.00

洗浄液：果梗を含む果房重量当たり、果汁と果肉は果実重量当たり

1回処理は収穫 22 日前に、2回処理は収穫 22 日前と 9 日前に処理

果肉からの段階的抽出処理による抽出結果を下表に示す。最初のメタノール抽出で大部分の放射能が抽出され、その後の段階的処理で少量の放射能がされた。

	試料 ppm	1回目 MeOH		2回目 MeOH	酸 MeOH	塩酸	2% NaOH	10% NaOH	非抽出	回収率%
		抽出	非抽出							
1回処理		上段：ppm/ 下段：%								
Sub 試料 1	26.411	25.947	0.947	NA	NA	NA	NA	NA	NA	26.125
		95.3	3.6							98.9
Sub 試料 2		27.827	0.963	0.309	0.073	0.057	0.105	0.196	0.007	27.391
		4.2	3.7	1.2	0.3	0.2	0.4	0.7	0.03	103.7
2回処理										
Sub 試料 1	27.790	27.827	1.084	NA	NA	NA	NA	NA	NA	28.911
		108.0	4.2							112.2
Sub 試料 2		26.352	1.283	0.324	0.075	0.063	0.422	0.028	0.010	27.274
		102.3	5.0	1.3	0.3	0.2	1.6	0.1	0.04	105.8

代謝物の分析結果を次表に示した。1回処理および2回処理のいずれにおいても、ホサロンが洗浄液、果汁及び果肉における主要な残留物であった。1回処理の洗浄液、果汁および果肉中の量はそれぞれ 0.175ppm (RR の 0.63%)、0.388ppm (1.40%) および 24.367ppm (87.68) であり、合計で 24.930ppm 果実放射能の 89.71% であった。2回処理では、洗浄液、果汁および果肉中の量はそれぞれ 0.060ppm、0.329ppm および 27.117ppm、果実放射能に対しては 0.22%、1.22% 及び 100.74% であり、合計で 27.506ppm、果実放射能の 102.18% 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C B C株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

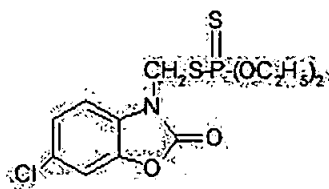
3. 土壌中運命に関する試験成績 土壌におけるホサロンの代謝

(資料No.代10)

試験機関：ローヌ・ブーラン社（仏国）

報告書作成年：1968年

供試化合物：非標識ホサロン



試験方法

投与方法

土壌：ホサロン10%粉剤を土壌表面（上層2cm）に有効成分として3kg/haあるいは6kg/haの薬量で混和処理した。経時的に残留と代謝物の生成を確認した。

分析方法

試料は、同量のアセトンで摩砕抽出し、濾過する。濾液は濃縮後、抽出時、アセトンの半分量の塩化メチレンで3回抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水後蒸発乾固し、アセトンに溶解する（溶液A）。濾過残渣は、水又は塩酸（pH1）に懸濁し、攪拌、濾過する。濾液は凍結乾燥し、メタノールに溶解した（溶液B）。

また、

各種代謝物の定量は比色分析によって行なった。

試験結果

土壌：

土壌中のホサロンの分解経路は図1のようになると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

この結果これら代謝物は急速に分解し、既に発表されている通りホサロンの半減期は1週間であることから、比較的ホサロンは安定と考えられる。表2にホサロン処理時の代謝物の定量結果を示す。

表1,滅菌及び非滅菌土壌における各種代謝物の分解

Product added	Quantity added mg/kg	Soil state	Levels mg/kg	
			Interval between treatment and sampling	
			3days	10days

表2.代謝物の残留量

Product analysed	Residues in mg/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C B C株式会社にある。

図 1 土壌中のホサロンの分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ホサロンの土壌微生物による代謝と微生物に対する影響

(資料No.代11)

試験機関：ローヌ・プーラン (仏国)

報告書作成年：1979年

供試標識化合物：¹⁴C-ホサロン

供試土壌： 壤土-カリフォルニア土壌
砂壤土-ニュージャージー土壌
土壌特性を表1に示した。

試験方法

投与方法： 代謝試験では、土壌に¹⁴C-ホサロンのアセトン溶液 (3.0mg/ml) を、最終濃度が乾土に対して10ppmとなるように投与し、機能試験では非標識ホサロンのアセトン溶液 (2.92mg/ml) を最終濃度10ppmとなるよう投与した (表2参照)。

試料採取法： 各試料は0、1、3、7、14、21及び30日目に採取した。総¹⁴C及び代謝物分析用として¹⁴C-ホサロン投与土壌より約50g採取し、非放射性土壌より約10g採取した。また揮発性¹⁴C物質及び¹⁴CO₂捕集器は試験期間を通じてモニターし、試料採取日に合せて揮発性¹⁴C物質捕集器をアセトンで洗浄した。¹⁴CO₂捕集器からも試料を採取し、放射性炭素を測定した。さらに、土壌からは、スターチとセルロースの分解試験用に0.5g×4、硝化作用試験用に5g×2、水分測定用に約10g及びタンパク分解試験用に5gを採取した。

微生物学的試験(表3に同定及び検討した各種微生物属を示す。)

非放射性土壌より得た試料約10gを、Ringers緩衝液95mlで振とうし、さらに99ml緩衝液で希釈し、最終的10万倍希釈をする。希釈液を表3の培地に添加し、25±2°Cで7日間インキュベートする。7日後、微生物検査 (検査項目は下記) と微生物数を測定した。

1. 鑑別染色：グラム染色、acid fast染色、メチレンブルー染色
2. 鏡検：形態学的検査、孢子及び運動性の存在
3. 生化学的検査：糖発酵、カタラーゼ、オキシダーゼ、鑑別培地

表3に同定および検討した各種微生物属を示す。

スターチとセルロース分解試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

採取した試料 (0.5g×2) をE.U.Buddemeyer double vial techniqueの変法で検討した。¹⁴C-スターチ及び¹⁴C-セルロースを使用し発生した¹⁴CO₂を経時的にプロットし20時間の値を算出した。

硝化作用

採取した試料 (5g×2) を (NH₄)₂SO₄とNaNO₂ 1 mgずつ含む滅菌水1mlと混和し10日間、23±2°Cでインキュベートする。10日後、土壤中の硝酸塩 (NO₃) の有無を調査した。

タンパク分解

窒素鉱化を指標とし、硝酸塩の変化量を検討した。

窒素固定

試料 (10g) に採取2日前に50%デキストロース2mlを加え、窒素を除去して、アセチレンを入れ、23±2°C、1晩インキュベートし、発生するエチレンを測定した。ただし、入手した土壌では窒素固定が認められなかったため、Azotobacter vinelandiiを用いて、23±2°Cで純粋培養を行った。純粋培養は下記の条件で行った。

- ・培地下
- ・培地下 + アセトン
- ・培地下 + フェノール
- ・培地下 + ホサロン (表4参照)

アセチレンを充填した後、23±2°C、1晩暗所でインキュベーションし、エチレン量を判定した。

土壌代謝

乾土50gを採取し、アセトン：水=80：20 (V/V) で30分間振とう抽出し、これを2回繰り返した。抽出された放射能は液体シンチレーション分光光度計で測定した。

濾過後、土壌残渣は、酸化して結合残渣を測定した。

抽出液は、濃縮後、ジクロロメタン (DCM) で抽出、さらに酢酸エチル (EA) で抽出した。DCM及びEAは脱水後、水層とともに濃縮し、薄層クロマトグラフィーとオートラジオグラフィーを行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

薄層クロマトグラフィー及びオートラジオグラフィー

シリカゲル薄層クロマトグラフィー (TLC) はオープンで110°C 1時間活性化し、ジクロロメタン:メタノール=90:10 (V/V) で展開した。さらに3週間Dupont Chronet X線フィルムに暴露し、ラジオオートグラフィーを行い、TLC板からかき取りを行い、放射活性を測定した。

液体シンチレーション測定

Beckman LS-230液体シンチレーション分光光度計を用いて、外部標準線源比による変換により補正し、測定した。

揮発性¹⁴C、¹⁴CO₂捕集器の試料はBeckman HP-Ready-Soly Cocktail 10mlを添加し5分間カウントした。土壌抽出試料は、Oxifluorに捕集し、¹⁴CO₂試料とともに燃焼し、結合残渣を測定した。親化合物と代謝物の比 (%) は、TLC板からかき取りを行い、HP-Ready-Soly 10ml中の¹⁴Cを測定した。スターチとセルロースの分解はBuddemeyer double vialで直接測定した。

試験結果及び考察

微生物 (表3)

ホサロンの投与に関する有意な微生物の変動は認められなかった。多くの場合、対照よりもホサロン投与の場合が、微生物数が多かった。

スターチとセルロース

ホサロン投与による影響は認められなかった。

硝化作用

好気性及び嫌気性条件での土壌へのホサロン投与による硝化作用の影響は認められなかった。

タンパク分解

ホサロン投与による影響は認められなかった。

窒素固定

窒素固定に対するホサロンの影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

土壌代謝

表5は放射能の分布である。無菌条件下では揮発性物質及び $^{14}\text{CO}_2$ は検出されず、好気性及び嫌気性条件下でも少量しか検出されなかった (<0.4%)。抽出された放射能は、壤土で投与量の45.9~101.0%、砂壤土で4.4~90.6%であった。また結合残渣は、壤土で好気性及び嫌気性で投与量の約40%、無菌条件下で約20%であり、砂壤土でそれぞれ約80%、30%であった。

ホサロンの分解は14日目までは認められず、30日目でのホサロンは壤土で投与量の17.63%、砂壤土で4.32%であった (好気性)。土壌の種類にかかわらず好氣的と嫌氣的条件の間に分解程度に明確な差は認められず、また無菌条件では壤土と砂壤土ともにやや分解が遅い傾向が認められ、それぞれ46.68%及び43.68%であった。代謝物として、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表1 土 壤 特 性

	カリフォルニア土壌	ニュージャージー土壌
土性	壤土	砂壤土
pH	5.8	5.2
カオチン交換容量 (mequ/100g)	27.97	12.9
全有機物含量	6.5%	1.3%
比重(g/ml)	0.964	1.16
水分含量(%)	11.55	10.03
成分分析(%)		
砂	50.4	86.4
シルト	40.4	6.4
粘土	9.2	7.2

表2 投 与 方 法 (カリフォルニア土壌)

	湿重量	乾重量	¹⁴ C - ホサロ ン (3.0mg/ml)	ホサロン (2.92mg/ml)	アセトン
<u>代謝試験</u>					
好気性対照	310.6g	300g	-	-	1.03ml
嫌気性対照	310.6g	300g	-	-	1.03ml
好気性	465.8g	450g	1.50ml	-	-
嫌気性	465.8g	450g	1.50ml	-	-
無 菌	465.8g	450g	1.50ml	-	-
<u>機能試験</u>					
(微生物学的試験, 硝化作用, スターチとセルロース分解)					
好気性対照	310.6g	300g	-	-	1.03ml
嫌気性対照	310.6g	300g	-	-	1.03ml
好気性	310.6g	300g	-	1.03ml	-
嫌気性	310.6g	300g	-	1.03ml	-
無 菌	310.6g	300g	-	1.03ml	-
(タンパク分解)					
好気性対照	103.5g	100g	-	-	0.34ml
嫌気性対照	103.5g	100g	-	-	0.34ml
好気性	103.5g	100g	-	0.34ml	-
嫌気性	103.5g	100g	-	0.34ml	-
無 菌	103.5g	100g	-	0.34ml	-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表2 投与方法 (ニュージャージー土壌)

	湿重量	乾重量	¹⁴ C - ホサロン (3.0mg/ml)	ホサロン (2.92mg/ml)	アセトン
<u>代謝試験</u>					
好気性対照	323.3g	300g	-	-	1.03ml
嫌気性対照	323.3g	300g	-	-	1.03ml
好気性	484.9g	450g	1.50ml	-	-
嫌気性	484.9g	450g	1.50ml	-	-
無菌	484.9g	450g	1.50ml	-	-
<u>機能試験</u>					
(微生物学的試験, 硝化作用, スターチとセルロース分解)					
好気性対照	323.3g	300g	-	-	1.03ml
嫌気性対照	323.3g	300g	-	-	1.03ml
好気性	323.3g	300g	-	1.03ml	-
嫌気性	323.3g	300g	-	1.03ml	-
無菌	323.3g	300g	-	1.03ml	-
(タンパク分解)					
好気性対照	107.8g	100g	-	-	0.34ml
嫌気性対照	107.8g	100g	-	-	0.34ml
好気性	107.8g	100g	-	0.34ml	-
嫌気性	107.8g	100g	-	0.34ml	-
無菌	107.8g	100g	-	0.34ml	-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表3 同定された微生物

Genera Identified	Loam	Loamy Sand
-------------------	------	------------

表4 Azotobacter 用培地

成分	量	
1液	(g)	
KH ₂ PO ₄	0.2	
K ₂ HPO ₄	0.8	
kgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2	
CaSO ₄ · 2H ₂ O	0.1	
FeCl ₃	微量	
Na ₂ MoO ₄	微量	
イーストエキス	0.5	
蒸留水	917.0ml	
2液		1液230ml+2液12.5ml +3液8ml→pH7.2
シュウクロース	40g	
蒸留水	100ml	
3液		
マニトール	45g	
蒸留水	100ml	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 5 放射能の分布 (対投与量%)

化合物	条件	*1 14 日後		21 日後		30 日後	
		*2EA	DCH	EA	DCM	EA	DCM
カリフォルニア土壤							

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表5 放射能の分布 (対投与量%)

化合物	条件	*1 14日後		21日後		30日後	
		*2 EA	DCH	EA	DCM	EA	DCM
<u>ニュージャージー土壤</u>							

* 1 : 投与後の経過日数

* 2 : EA-酢酸エチル DCM-ジクロロメタン

* 3 : カラムクロマトの際のカラム内の残留物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

図 ホサロン土壌分解の推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

[14C]-ホサロンの好氣的土壤代謝試験

(資料 No.代 12)

試験機関：PTRL West, Inc.

(米国) [GLP 対応]

報告書作成年：1995年

供試標識化合物：

標識位置設定の理由：

供試土壤： ドイツのLUF A Speyerから入手した砂壤土(ドイツ標準土壤2.2、pH5.6)で代謝試験を、更に分解速度の測定のためにさらに土性、有機炭素の含有量、pH及びカチオン交換容量(CEC)の異なる3種類のドイツ土壤、標準土壤2.1、標準土壤2.3及び果樹園の砂壤土を用いた。

試験溶液の調整 [14C]ホサロンの適用溶液は、1.45mlの所定濃度の原液を3.55mLのHPLCグレードのアセトニトリルで希釈、調製した。

処理 250 μ lのガラスシリンジ(SGD, オーストラリア)を用いて210 μ lの適用溶液を50gの土壤の各フラスコに土壤表面に均一に処理した。アセトニトリルを蒸発させた後、土壤含水量を40%の最大含水量に調整し、機械的に混和した。薬量は1.04 μ g/mg(1.04ppm)。これは、ホサロンの最大使用量である1kg有効成分/haに相当した。

インキュベーション 20 \pm 2 $^{\circ}$ C。代謝試験は1日の、分解速度試験は4日のプレインキュベーションを行った。

サンプリング 代謝試験のサンプリング時間は、処理後1、4、22及び48時間ならびに4、11、30及び45日後であった。分解速度試験のサンプリング時間は、処理後1時間から45日まで各土壤6あるいは7回のサンプリングを行った。

分析方法 アセトン、次にメタノール：水(9：1)(pH2)、最後に水を用い超音波処理及び振とうによって連続的に3回抽出した。土壤抽出液中の14C残留物の特徴付け及び定量は逆相HPLC分析によった。抽出残渣は4方法を用いて抽出した：①フミン酸/フルボ酸抽出、②メタノール(MeOH)を用いた20.5時間のソックスレー抽出、③Mメタノール性HClを用いた4時間の還流抽出、④1M NaOH水溶液を用いた4時間還流。これらは逆相HPLCおよびサイズ排除HPLCで特徴づけを行った。

結果：

1) 分布および回収率

標準土壤2.2において抽出物の大部分はホサロンであった。消失曲線は二相性を示し、その分解は速やかであった。DT50は2.9日、DT90は30日であった。抽出物中のホサロン以外の残留は最大で適用量のわずか5.1%であった。最大の単一分解物のピークは、適用量の2.6%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C B C株式会社にある。

あった。回収率は 96.9-104.3%であった。

	システムの分布 (適用量の%)						総回収率
	抽出液	ホサロン	その他	非抽出	¹⁴ CO ₂	揮発性物質	
1 時間	101.2	101.2	0	3.1	NA	NA	104.3
4 時間	90.8	90.8	0	10.3	0	0	101.2
22 時間	72.1	72.1	0	25.7	0.1	0	97.8
48 時間	57.9	56.7	1.2	42.9	0.3	0	101.0
4 日	42.1	41.2	0.9	54.8	0.6	0	97.6
11 日	20.2	18.3	1.9	77.5	1.2	0	98.9
30 日	13.4	8.3	5.1	84.7	2.7	0	100.8
45 日	12.4	7.4	5.0	80.6	4.0	0	96.9

2) 代謝

以上の結果

推定代謝経路が 1 図のように推定された。

3) 分解速度

ホサロンの 4 種のドイツ土壤における分解速度は下表に示すように速やかであった。

分解速度	土壤代謝 標準土壤 2.2	ドイツ圃場 砂壤土	標準土壤 2.1	標準土壤 2.3
DT50 (日)	2.9	0.8	4.1	0.8
DT90 (日)	30	13.3	16.5	19.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

[¹⁴C]-ホサロンの嫌氣的土壤分解試験

(資料No.代 13)

試験機関：Rhône-Poulenc Agriculture Limited
(仏国) [GLP 対応]

報告書作成：1999年

供試土壤

イギリス・エセックス州の Aldhams 農場 (Dead Lane, Lawford, Manningtree) の過去 5 年間に農薬処理が行われていない区域から採取した砂壤土を用いた。

供試標識化合物：

処理

1040g 有効成分/ha に相当する容量の [¹⁴C]-ホサロン溶液を水面に適用した。0、3 および 6 時間後サンプリング用のフラスコには、1001g 有効成分/ha に相当する [¹⁴C]-ホサロンを適用した。使用した物質の比放射能及び放射化学的純度は、

インキュベーション

20±2°C、遮光条件。2cm の水深で湛水。試験期間を通して連続的に窒素ガス交換を行った。プレインキュベーションは 39 日間、0、3 および 6 時間後のサンプルは 97 日間行った。

サンプリング

ホサロン適用 0、3 及び 6 時間、1、3、7、14、28、56 及び 77 日後に嫌気システムから各 2 連のサンプルを採取し分析した。窒素ガスはエチレングリコール及び 2M 水酸化カリウム溶液のトラップを通過させてサンプリングした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

分析方法

各サンプリング時に水と土壌を分離し、水および土壌抽出液中の放射エネルギーを LSC によって定量した。

土壌サンプルは、室温でメタノールあるいはメタノール/水を用いた振とう法により抽出し、次にアセトニトリル/水を用いたソックスレー抽出法により抽出した。77日後のサンプルのみ、アセトニトリル/水を用いたソックスレー抽出法のみで抽出した。土壌は風乾し、微粒子にして残留放射エネルギーを定量した。各サンプルの溶媒抽出液及び56日後までに採取した各サンプルの水相を逆相 HPLC を用いて分析した。代表的な土壌抽出液及び水サンプルについて、TLC を用いた確認分析を実施した。代表的な土壌抽出液を LC-MS/MS で分析して、化合物の構造を同定した。

結果

1) 分布

放射エネルギーは速やかに水相から土壌相に移行した。7日後の水相には適用放射エネルギーの14%のみが存在し、77日後には2%に減衰した。抽出残渣の放射エネルギーは、77日間後適用放射エネルギーの86%に増加した。77日後の揮発性物質は、適用放射エネルギーの<0.5%であった。総放射エネルギー回収率は85.49-100.22%の範囲で、平均は適用放射エネルギーの92%であった。

サンプリング	システムの分布 (適用量の%)									
	0時間	3時間	6時間	1日	3日	7日	14日	28日	56日	77日
水	60.55	38.30	22.40	27.22	20.06	14.02	9.89	7.79	1.42	1.97
土壌抽出液	28.97	49.48	62.78	48.92	35.43	29.98	24.93	15.43	14.70	12.59
揮発性物質	n/a	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.06	0.24	0.14
非抽出	1.04	2.81	7.49	9.35	28.83	47.81	57.35	66.44	74.82	85.53
総回収率	90.55	90.59	92.67	85.49	91.91	91.82	92.19	89.71	91.17	100.22

2) 代謝

水相のホサロンは、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

[¹⁴C]-ホサロン：嫌氣的分解：水相

インキュベーション時間 (日)	適用放射能量の%									
	0	0.13	0.25	1	3	7	14	28	56	77

nd=検出されなかった。na=HPLC 分析を実施しなかった。

土壌中のホサロンは、

[¹⁴C]-ホサロン：嫌氣的分解：土壌相

インキュベーション時間 (日)	適用放射能量の%									
	0	0.13	0.25	1	3	7	14	28	56	77

3) 分解速度

ホサロンの嫌氣的分解速度

相	KIM 分析	
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
水	0.10	1.65
土壌	4.33	37.93
システム全体	1.82	25.47

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

図 1 嫌氣的土壤条件におけるホサロンの分解の推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

4. 水中運命に関する試験成績

加水分解運命試験

(資料No.代 14)

試験機関: Bayer CropScience Ökochemie
[GLP 対応]

報告書作成: 2002 年

供試化合物

放射性被験物質

化学名: S-6-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-benzoxazol-3-ylmethyl
O,O-diethylphosphorodithioate

構造:

標識部位:

放射化学的純度:

非標識標準品

化学名:

化学名:

供試水溶液

pH: 4,7 及び 9

緩衝液: pH4 クエン酸を脱イオン水に溶解。

pH7 リン酸二水素カリウム及びホウ酸を脱イオン水に溶解。

pH9 塩化カリウム及びホウ酸を脱イオン水に溶解。

(いずれも水酸化ナトリウムで pH を調製。)

試験方法

試験系: 無菌条件

溶解補助剤: アセトニトリルを使用。

試験濃度: 放射活性標識被験物資を 10ml のアセトニトリルに溶解(約 5.46mg/10ml)し、原液とした。試験緩衝液は 650µL の原液に緩衝液を 500ml 加えて調整した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

試験温度及び期間：pH4 80℃(名目温度) 1日
pH7 70℃(名目温度) 7日
pH9 40℃(名目温度) 2日

分析方法：

- ①放射活性測定 液体シンチレーション計数 (LSC) によった。
- ②¹⁴C-検出器付き高速液体クロマトグラフィー(方法 A 及び方法 B を適用)
- ③ラジオ-TLC、¹⁴C-検出器付き薄層クロマトグラフィー
- ④加水分解サンプルの後処理として固相抽出(SPE)を行った。

結果

pH4 におけるインキュベーション

回収率は適用放射活性 (AR) の 104.0%であった。

76.1±0.1℃の試験温度において、HPLC 方法 A の分離条件下で 1 つの不明分解生成物及び親化合物が現れた。本試験で得られたサンプルと、加水分解試験 CP01/020(1)における 80℃、pH 4 の全てのサンプルを混合し、HPLC-システムに注入した結果、同一の分解パターンであることが確認された。

緩衝液除去のために SPE によって後処理されたサンプルから 90.1%が回収された。アセトニトリル溶出液は HPLC 方法 A と方法 B により調査された。

pH7 におけるインキュベーション

回収率は適用放射活性 (AR) の 103.7%であった。

67.2±0.3℃の試験温度において、

pH9 におけるインキュベーション

回収率は適用放射活性 (AR) の 94.4%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C B C株式会社にある。

39.3±0.1℃の試験温度において HPLC 方法 A の分離条件下で

加水分解における推定経路及び加水分解試験 CP01/020 の概要を次頁以降にしめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

図 加水分解における推定経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

加水分解試験 CP01/020 の概要

pH4,7,9 の緩衝液に溶解したホサロンの加水分解（濃度 0.7mg/L、20℃における 1/2 水溶解度）を、pH4.0(60,70,80℃)、pH7.0(50,60,70℃)、pH9.0(30,40℃)、暗黒・無菌条件下で調べた。その結果を下表に示す。なお、回収率は、pH4 は 104.7-109.5%、pH7 は 94-106%、pH9 は 96.9-100.4%であった。20℃及び 25℃における DT50 は Arrhenius の式で計算した。

ホサロンはアルカリ条件下でのみ加水分解を受け、DT50 は 25℃で 7.6 日であった。

各 pH における加水分解速度

	DT50(日)		
	pH4	pH7	pH9
20	>365	321	17.8
25	>365	157	7.6

pH9、30℃条件下における分解物の HPLC 分析結果

Phosalone	Sample	Incubation time in days											
		0	0.25	1.00	1.25	2.00	2.25	3.00	3.25	4.00	4.25	7	8
pH930 ℃													

サンプル 1 と 2 は各反復におけるホサロンの濃度、P1~P6 は平均値を示した。

保持時間 (分) ホサロン 28.6、P1:3.3 P2:4.5 P3:19.5 P4:21.7 P5:24.7 P6:26

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

水中光分解試験

¹⁴C - ホサロンの水中光分解 (純水/緩衝液中)

(資料No.代 15)

試験機関: RCC Ltd

(スイス) [GLP 対応]

報告書作成: 2002 年

供試化合物

¹⁴C-標識被験物質

化学名: S-6-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-benzoxazol-3-ylmethyl
O,O-diethylphosphorodithioate

構造:

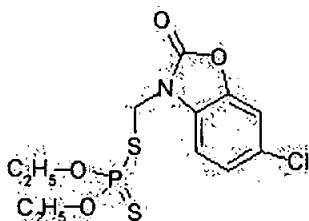
標識部位:

放射化学的純度:

非標識標準品

化学名: S-6-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-benzoxazol-3-ylmethyl
O,O-diethylphosphorodithioate

構造:



純度:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

標準品

コード番号	化学名	純度

試験系

[¹⁴C]-ホサロンを含む純水あるいは緩衝液の 200ml の 2 連の分割量及び 100ml の 1 連の分割量の各適用溶液の合計 500ml 容量を、水中光分解装置内で光照射した。容器は 20 ±2℃の温度でウォーターバスに接続された水ジャケットにより冷却された。インキュベーション容器はパイレックスガラス製で、ねじ式石英ガラスプレートで栓をした。溶液はマグネチックスターラーで連続的に攪拌した。

試験溶液

試験は、脱イオン水を超純水製造装置でさらに精製した純水およびそれを用いて調製した pH7 の緩衝液で行った。

水中光分解装置及び光源

1.8kW キセノンバーナーと UV フィルターシステム付き “SUNTEST CPS, Original Hanau”装置を使用した。

キセノンバーナー：765 W/m²、プレセット値で 400W/m² と 765W/m² の間の制御可能な放射照度を伴った最大 UV 吸収（ラムダ<800nm）時の最大放射照度。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

フィルター： 自然光に近づけるために 290nm を遮断するUVフィルター。

光強度： LI-1800 分光光度計で測定。

試験方法

溶解補助剤：アセトニトリルを使用。

超純水及び pH7 の緩衝液中の被験物質濃度：

適用溶液 I ~ III は放射活性被験物質をアセトニトリルに溶解して調製した。

適用溶液 IV は非標識原液と放射活性被験物質の分割量をアセトニトリルに溶解することによって調製した。

緩衝液 pH7	放射活性	¹⁴ C - ホサロン濃度
	[dpm/ml]	[μ g/ml]
適用溶液 I *	205380	17.16
適用溶液 II	210585	17.18
適用溶液 III	212528	17.19
適用溶液 IV	221475	16.31

*：適用溶液 I のみ超純水で調製した。

サンプリング間隔

適用溶液 I の処置：照射の 0、1、3、4 及び 5 日後

適用溶液 II の処置：照射の 0、4、5 及び 6 日後

適用溶液 III の処置：照射の 0、7 及び 10 日後

適用溶液 IV の処置：照射の 0 時間及び 12 日後

分析方法

- ① 放射性炭素検出手順 (LSC)
- ② 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)
- ③ 薄層クロマトグラフィー (TLC)
- ④ 液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS)
- ⑤ 光吸収

結果

[¹⁴C]-ホサロン水中光分解生成物を同定するため、親物質に短期間光照射した結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

(下表参照)。

表 純水及び緩衝液中の光分解パターン

処理	ホサロ ン濃度	溶媒	照射期 間 日	回収率 %	%処理放射能量				
1	17.16	蒸留水	5						
2	17.18	緩衝液	6						
3	17.19	緩衝液	7						
4	16.31	緩衝液	12						

*回収率の計算には揮発分を含まず。

水中光分解生成物

	質量 M*

水中光分解生成物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

	質量 M*

	質量 M*

水中光分解生成物

水中光分解物

次頁に推定される分解経路を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

水中光分解試験

¹⁴C - ホサロンの水中光分解 (自然水・河川水)

(資料No.代 16)

試験機関：日本残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

供試標識化合物：

化合物名： s-6-クロロ-2,3-ジヒドロ-2-オキソベンゾキサゾール-3-イルメチル
O,O-ジエチルフォスフォロジチオエイト

供試化合物名：

化学構造及び標識部位：

供試水： 自然水 (茨城県小貝川、2006 年 8 月 23 日採取、採取直後に濾過滅菌処理後試験
使用まで 4℃保管、その時の物理化学的性質を下表に示す。

	小貝川の水
pH	7.7
電気伝導度 (mS/m)	19.6
蒸発残渣 (mg/L)	162
分散した固形物 (mg/L)	<2
溶存酸素 (mg/L)	9.4

更に使用直前に 0.22 μm 濾紙にてろ過滅菌された。

光源： 6.5 kW キセノン短絡アーク灯付属の WACOM WXP-300S-65 型キセノンランプ照射装置 (WACOM ELECTRIC 社、埼玉)。光学フィルターを用いてキセノン光線の紫外部と赤外領域を除去して、スペクトルエネルギー分布が 290~800nm の波長範囲で照射した。

光強度： 照射期間中の平均光強度は、290-800nm 範囲で 175.9W/m²、300-400nm 範囲で 20.3W/m²であった。試験期間 14 日間の照射された 300-400nm の範囲の全光照射エネルギーから、東京の春季 (4~6 月) における自然太陽光照射に換算すると 36.6 日分に相当した。

試験方法：

1) 試験溶液の調製

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

[¹⁴C]ホサロン物質を酢酸エチルに溶解して 20-ml 容量の貯蔵溶液を作成した。その貯蔵溶液の放射化学的濃度は

この[¹⁴C]ホサロンの貯蔵溶液の 2-mL を採取し、蒸留乾固、残渣の[¹⁴C]ホサロン物質を 3.8mL のアセトニトリルに再溶解し、35mg/L の処理溶液を調製した。濾過滅菌試験水で希釈して[¹⁴C]ホサロンの最終濃度 0.35mg/L を調製した (5mL)。アセトニトリル溶媒の濃度はおよそ 1%であった。

濃度設定の根拠：試験濃度の 0.35mg/L は、ホサロンの水溶解度 (20℃) 1.4mg/L の 1/2 以下であり本試験遂行の為に適切であった。

2) 試験設計

試験温度： 25℃

試験期間： 14 日間

試験容器： 5mL 容量の石英の試験管 (約 17mm 直径)

試験採取： 被験物質添加直後、4 及び 8 時間目、及び 1、2、4、7、及び 14 日目の各時期に 2 点ずつ採取した。

暗所対照： 照射試験と同等の試験設計とした試験溶液を暗黒条件下に置き、暗所対照試料とした。

3) 分析方法

LSC で放射能を測定し、TLC、HPLC で成分分析し、LC-MS、LC-MS/MS 等で化合物の確認を行った。

① 放射性残留物の測定 放射能の測定

各サンプリング間隔に、試験溶液を適量のアセトニトリルで希釈してその一定量を LSC で分析して試験溶液中の全放射能を定量した。また別にその希釈液を HPLC で分析した。揮発物トラップ中の捕集溶液も LSC で分析された。各サンプルの各採取時期における放射能の回収率 (¹⁴C-バランス) が算出された。

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。揮発物トラップの NaOH 溶液中に捕集された放射能は BaCl₂ 溶液を使って Ba¹⁴CO₃ の沈澱物を酸化燃焼し、発生した CO₂ を吸収剤に捕集して LSC で放射能を測定した。

③ 有機画分の放射性成分の分析

各試験溶液中の有機画分の放射性成分は TLC 及び 2-DTLC で分析した。

。展開したプレートの各成分の割合はバイオイメージングアナライザーを用いて 2 次元クロマトグラムを作成して定量した。試験溶液の放射性成分の定量には、TLC の分析結果を用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

4) 細菌検査

各試験溶液の無菌性は試験開始時(0時)と試験最終(14日目)に採取して、滅菌前の河川水を対照サンプルとして市販キットを用いて微生物検定によって確認された。

5) DT₅₀及びDT₉₀値の算出

溶液中の¹⁴C]ホサロンの分解速度は次ぎの一次速度式に基づいて決定された:

$$\ln(C/C_0) = -k \times t$$

$$\text{又は } \ln(C) = -k \times t + \ln(C_0)$$

ここで、

C = 時間 t における試験物質の濃度 (または%AR)

C₀ = 時間 0 における試験物質の濃度 (または%AR)

k = 速度定数 t = 時間

(%AR ; 処理された放射能に対する割合)

時間に対する ln(C)の直線的回帰分析がその勾配=-k である式を誘導している。

したがって、半減期 (T_{1/2}=DT₅₀) と DT₉₀は次の式で算出した。

$$DT_{50} = \ln(2)/k$$

$$DT_{90} = \ln(10)/k$$

結果

1) 試験系の温度

光照射サンプル及び暗所対照サンプルの温度はそれぞれ 24.4±0.5℃及び 24.8±0.1℃であり、静置期間中を通して目標範囲に維持された。

2) 試験溶液の無菌性

光分解反応による分解速度に影響するような顕著な微生物混入は、反応期間を通して観察されなかった。

3) 放射能の回収

試験系の物質収支は表 3 と 4 に示した。河川水中の ¹⁴C ホサロンの当初試験濃度はおよそ 0.36mg [¹⁴C]ホサロン相当/L であって、設定濃度にほとんど合致していた。14日間の反応期間の物質収支は、光照射サンプルでは処理した放射能の 91.95~101.08%であり、暗所対照サンプルで 100.36~102.52%であった。

4) ホサロンの分解速度

ホサロンは人工太陽光線に照射されると自然の河川水中で速やかに分解された。時間に対する [¹⁴C]ホサロンの ln%の直線的回帰分析は、光分解反応が一次速度式に従うことが示唆された。 [¹⁴C]ホサロンの人工太陽ランプ下での DT₅₀ と DT₉₀ はそれぞれ 0.49日と 1.63日と計算され、これに相当する暗所対照区では、ホサロンの分解は比較的ゆるやかであり、DT₅₀ と DT₉₀ はそれぞれ 74.73日および 248.26日と試算された (表 1)。東京の春季における自然の太陽光のもとにシミュレートされた [¹⁴C]ホサロンの DT₅₀ 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C B C株式会社にある。

DT₉₀は、それぞれ 1.29 日と 4.27 日であると推定された(表 2)。

表 1 河川水中 25°C 光分解反応によるホサロンの消失に関する速度式パラメータ

試験水	光条件	本試験で用いた模擬人工太陽光条件下			
		DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	速度定数 (1/日)	r ²
河川水	光照射	0.49	1.63	1.4106	0.9234
	暗所	74.73	248.26	0.0093	0.9623

表 2 東京の春季における自然の太陽光条件下に推定された[¹⁴C]ホサロンの半減期

試験水	光条件	東京・春季換算推定値	
		DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
河川水	光照射	1.29	4.27

5) ホサロンの光分解生成物

HPLC のクロマトグラフィーの結果は、

。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

6) ホサロンの滅菌自然水中での想定分解経路

まとめ

試験系からの処理放射能の顕著なロス（損失）は光照射試験区でも暗所対照試験区でも観察されなかった。暗所対照試験区においては、ホサロンの分解は比較的緩やかで、DT₅₀は74.73日であったのに比べて、¹⁴Cホサロンは連続光照射では素早く分解されて、DT₅₀が一次速度式を使って0.49日になると計算された。東京の春季の自然の太陽光下にシミュレートすると、¹⁴CホサロンのDT₅₀値は1.29日になると推定された。連続照射の下で、

上記の結果から、自然の水中環境での光分解はホサロンの主要な分解経路であり、分解して二酸化炭素になると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 3 河川水中の ^{14}C ホサロンの光分解試験の光照射区と暗所対照区における放射能の物質収支（処理放射能の%として表現）

試験水	光条件	画分	処理放射能の割合 (%)							
			反応期間、日							
			0 (0h)	0.167 (4h)	0.333 (8h)	1 (24h)	2 (48h)	4 (96h)	7 (168h)	14 (336h)
河川水	光照射	試験溶液中放射能	100.30	100.42	101.08	96.82	91.07	87.79	78.81	64.56
		NaOH 捕集管	N.A.	<0.46	<0.48	0.55	1.80	5.84	13.80	27.39
		エチレンジアミン捕集管	N.A.	<0.26	<0.25	<0.23	<0.22	<0.25	<0.23	<0.27
		合計量	100.30	100.42	101.08	97.37	92.87	93.63	92.61	91.95
	暗所	試験溶液中放射能	101.81	101.83	101.02	102.52	102.32	101.69	100.36	101.13
		NaOH 捕集管	N.A.	<0.49	<0.47	<0.42	<0.43	<0.47	<0.50	<0.46
		エチレンジアミン捕集管	N.A.	<0.23	<0.22	<0.22	<0.21	<0.22	<0.24	<0.26
		合計量	101.81	101.83	101.02	102.52	102.32	101.69	100.36	101.13

N.A. : 検出せず

表 4 河川水中の ^{14}C ホサロンの光分解試験の光照射区と暗所対照区における放射能の物質収支（濃度で表現）

試験水	光条件	画分	濃度 (mg 当量/L)							
			反応期間、日							
			0 (0h)	0.167 (4h)	0.333 (8h)	1 (24h)	2 (48h)	4 (96h)	7 (168h)	14 (336h)
河川水	光照射	試験溶液中放射能	0.3573	0.3578	0.3601	0.3450	0.3244	0.3128	0.2808	0.2300
		NaOH 捕集管	N.A.	<0.0016	<0.0017	0.0019	0.0064	0.0208	0.0492	0.0976
		エチレンジアミン捕集管	N.A.	<0.0009	<0.0009	<0.0008	<0.0008	<0.0009	<0.0008	<0.0010
		合計量	0.3573	0.3578	0.3601	0.3469	0.3308	0.3336	0.3299	0.3276
	暗所	試験溶液中放射能	0.3627	0.3628	0.3599	0.3652	0.3645	0.3623	0.3576	0.3603
		NaOH 捕集管	N.A.	<0.0018	<0.0017	<0.0015	<0.0015	<0.0017	<0.0018	<0.0016
		エチレンジアミン捕集管	N.A.	<0.0008	<0.0008	<0.0008	<0.0007	<0.0008	<0.0009	<0.0009
		合計量	0.3627	0.3628	0.3599	0.3652	0.3645	0.3623	0.3576	0.3603

N.A. : 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C B C株式会社にある。

土壌吸着性試験

(資料No.代 17)

試験機関：化学分析コンサルタント
[GLP 対応]

報告作成年：1999 年

供試化合物：

一般名：ホサロン

化学名：3-ジエトキシホスホリルチオメチルー6-クロロベンズオキサゾロン

化学構造：

純度： %

供試土壌：

試料番号	2	8	14	20
種類	水田土壌	水田土壌	畑地土壌	畑地土壌
採取場所	植調古川試験地内	日本植物防疫協会高知試験農場	日本植物防疫協会牛久圃場	日本植物防疫協会宮崎試験農場
土壌群名	細粒強グライ土	沖積鉍質土壌	淡色黒ぼく土	砂丘未熟土土壌
土性(土質)	LiC	LiC	HC	SiCL
有機炭素含有率 アリソン式重量法	2.97	1.21	3.33	1.5
pH(KCl)	4.9	6.5	6.2	5.3
陽イオン置換容量 (me/100g)	27.7	11.3	29.8	9.7
リン酸吸収係数	830	390	2220	1030
鉍物の種類	モンモリロナイト、カオリン鉍物	クロライト、イライト	アロフェン、パーミキュライト	アロフェン、ハロイサイト
水分%	5.6	1.9	12.3	3.7

試験方法：

(1) スクリーニング試験：50ml 容量共栓付遠沈管に各試験土壌 5g をとり、精製水 5ml を加えて密栓後、25°C で 25 時間放置して平衡後、既知濃度 (0.731 μ g/ml) のホサロン試験溶液 20ml を加えて密栓後、定温振とう恒温槽中で 16 時間振とうした。ホサロン溶液の代わりに 0.01M 塩化カルシウムを加えた区、土壌を加えなかった区を設けて同様の処理を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

行った。振とう処理後 25℃の条件下、3000rpm で 20 分間遠心分離して水相 15ml を採取し、水相中のホサロン濃度をガス・クロマトグラフィー法により分析した。各土壌 2 連で実施した。

(2) 物質収支 (回収率) : 吸着後の水相及び土相のホサロンを測定し、添加量に対する比率を求め物質収支とし、また不足薬剂量を求めた。

(3) 平衡化試験及び高次試験 : 水相中のホサロン濃度が極めて低かったため、実施しなかった。

なお、遠心分離後の土相及び水相にそれぞれ 5 及び 15 μg 添加して回収率を求めた結果、水相は 94-96%、土相は 87-98%であった。

結果 :

吸着試験結果

試料番号	初期添加量 μg	振とう時間 (時間)	振とう後の水相中のホサロン濃度 $\mu\text{g/ml}$	
			実測値	平均値
2	14.62	16	<0.007, <0.007	<0.007
8	14.62	16	0.018, 0.018	0.018
14	14.62	16	<0.007, <0.007	<0.007
20	14.62	16	0.041, 0.041	0.041

コントロール試験

試料番号	初期添加量 μg	振とう時間 (時間)	回収率%	
			実測値	平均値
土壌なし区	14.62	16	91.0 91.2	91.1

物質収支

試料番号	初期添加量 μg	吸着量 μg	溶液中の 量 μg	不足量 μg	回収率%	
					実測値	平均値
2	14.62	13.90	0	0.72	95.1	95.6
		14.03	0	0.59	96.0	
8	14.62	11.48	0.16	2.68	81.7	81.2
		11.35	0.44	2.83	80.6	
14	14.62	5.19	0	9.46	35.3	35.2
		5.12	0	9.50	35.0	
20	14.62	8.46	1.04	5.12	65.0	64.6
		8.34	1.03	5.25	64.1	

結論 : スクリーニング試験結果において、水相中のホサロンは2土壌において検出限界以下 (<0.007 $\mu\text{g/ml}$) であり、他の2土壌においても微量であった。添加回収試験では高収率であったが、スクリーニング試験における物質収支は畑地土壌で低かった。なお、コントロール試験においてホサロンは試験期間安定であることが確認された。

以上の結果、平衡化試験及び高次試験は水相中のホサロン濃度が極めて低く、実施しなかったため、土壌吸着係数は求められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

生物濃縮性に関する試験

ホサロンの魚類濃縮性試験

(資料No代 18)

試験機関：アナリティカル バイオケミストリ 研究所

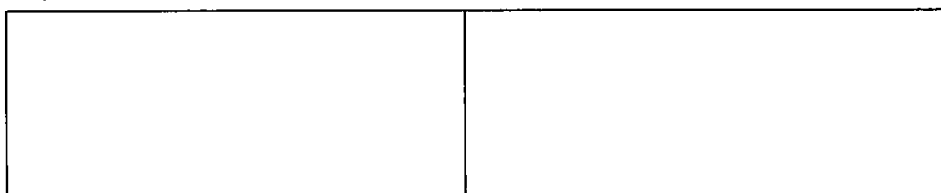
[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

供試物質：¹⁴C - ホサロン

化学名；S-6-クロロ-2,3-ジヒドロ-2-オクソ-1,3-ベンゾキサゾール-3-イルメチル
O,O-ジエチルフォスフォロジチオネート (IUPAC)

構造式；



非標識ホサロン：純度

供試魚：ブルーギル (*Lepomis macrochirus*) 1群 160匹 平均体重 6.8g 平均体長 58mm、
供試前 14日間馴致した。

試験期間：28日間暴露

方法：¹⁴C - ホサロンのアセトン溶液を調製し、十分に通気された井戸水の入ったガラス水槽(100L)に添加した後(目標濃度：1.0 μg/L)、平衡安定化後、ブルーギル 160匹を放飼して 28日間暴露させた。その後、ブルーギルを非汚染井戸水に換水して 14日間飼育した。試験は流水式で実施し、Mount と Brungs の比例希釈システムを用いて目標濃度は、維持された。通気された井戸水は 320ml/分/水槽の割合で換水された。暴露の 0.04、0.08、0.17、0.33、1、3、7、14、21 および 28 日後に水槽から 6 匹 (例外：21 日後は 15 匹、28 日後は 25 匹) のブルーギルを採取し、魚全体(3 匹)、または解剖して (3 匹、例外：21 日後は 12 匹、28 日後は 22 匹) 魚肉部と内臓に分けて燃焼法によって試料中の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。さらに、暴露終了後非汚染井戸水にブルーギルを移した排泄期間については 0.04、0.08、0.17、0.33、1、3、7、10 および 14 日後に上記と同様に魚体の放射能を測定した。供試水のサンプリングは、放射能測定のためにブルーギルの採取とすべて同時期に行った。なお、処理水槽へ流入するアセトンのみを同等量流入させた対照区を設けた。試験水槽は、ヒーターと攪拌装置により温度を 22°C(±2°) に保った。各試験区において魚の死亡及び異常は見られなかった。また、脂質含有量は測定されなかった。

試験濃度設定根拠；濃縮性試験の開始前にホサロンのブルーギル

(*Lepomis macrochirus*) に対する 7 日間の流水式急性毒性試験を実施した。半致死濃度(LC50)は、0.068mg/L、無作用濃度は、0.012mg/L と計算された。この結果に基

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

づき、¹⁴C - ホサロンがブルーギルに対して致死濃度ではなく、安全にホサロンの濃縮性を調べられる暴露濃度（名目濃度 1.0 μg/L）を設定した。

結果：暴露期間中の供試水濃度、組織残留濃度および生物濃縮係数(BCF)を以下の表に示した。

暴露日数	供試水 測定濃度 (μg/L)	¹⁴ C - ホサロン濃度(ppb)			BCF		
		魚肉部	内臓	魚体全体	魚肉部	内臓	魚体全体
0	1.0						
0.04	0.78	12	25	17	13	26	19
0.08	0.71	19	51	36	23	61	43
0.17	0.68	23	68	50	29	86	63
0.33	0.75	30	43	64	38	120	82
1	0.83	45	150	100	57	190	130
3	0.86	52	240	170	65	300	210
7	1.5	49	170	100	55	190	110
14	1.1	74	260	180	81	280	200
21	0.93	78	270	180	85	300	200
28	1.1	73	260	180	78	280	190

28日間暴露後の組織残留濃度は、魚肉部、内臓および魚体全体でそれぞれ73、260および180ppbであり、BCFで表すとそれぞれ78、280および190であった。

排泄期間中の組織残留濃度および排泄率を以下の表に示した。

排泄日数	供試水 測定濃度 (μg/L)	¹⁴ C - ホサロン濃度(ppb)			排泄率(%) ^{a)}		
		魚肉部	内臓	魚体全体	魚肉部	内臓	魚体全体
0.04	0.26	72	240	160	1.4	7.7	11
0.08	0.15	71	240	150	2.7	7.7	17
0.17	0.081	55	220	130	25	15	28
0.33	0.086	43	180	140	41	31	22
1	b	23	140	82	68	46	54
3	b	8.4	29	22	88	89	88
7	b	4.9	14	9.8	93	95	95
10	b	4.7	13	8.5	94	95	95
14	b	3.5	9.4	6.0	95	96	97

a：排泄率は、暴露28日後の¹⁴C - ホサロン濃度（魚肉部：73 ppb、内臓：260 ppb、魚体全体：180 ppb）を基準に求めた。

b：検出限界濃度以下

14日間の排泄期間における排泄率は、魚肉部、内臓および魚体全体でそれぞれ95、96および97%であった。

代謝物は同定されなかった。

以上の結果、ホサロンのブルーギルにおける生物濃縮は低いレベルであることが示唆され

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

た。非線形の2コンパートメント動態モデル(BIOFAC)による魚体全体の取込/排泄分析により得られたパラメータは以下の通りであった。

取込速度定数(K1)	180	濃縮係数	180
排泄速度定数(K2)	0.98	90%定常状態到達時間(日)	2.4
排泄半減期(日)	0.71		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

代謝分解のまとめ

ホサロンの哺乳動物、植物、土壌および水中における代謝分解について下記に要約した。
マウス、ラットにおけるホサロンは、消化管より急速に吸収され、体内で代謝された後、分解物及び代謝物の形で尿中にあるいは二酸化炭素の形で呼気中に、その大部分が急速に排泄される。

。

ソルガムに吸収されたホサロンは、地上部では約100日間で半分が代謝される。代謝物は、

。

他の植物体(ソラマメ、インゲン、ナスタチューム、ひまわり、アルファルファ)の場合もほぼ同様で、ホサロン自体の割合は比較的高く、代謝物は少なかった。

。

リンゴの幼果期および収穫21日前に葉と果実に塗布処理した試験では残留は葉及び果皮にあり、果肉への移行は0.4%以下であった。

。

ぶどうの収穫23日前から1回あるいは2回散布処理したぶどう果実において果肉に95%以上残留し、

。

土壌中におけるホサロンは、その代謝物に比べると、安定ではあるが、代謝物の分解は早い。
土壌中の代謝物は

。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ドイツ土壌を用いた1995年の好氣的土壌代謝試験において、ホサロンはDT50が2.9日、DT90が30日と速やかに分解されたが、

嫌氣的土壌代謝試験においてホサロンは速やかに土壌層に移行し、水層及び土壌層において速やかに分解し、それぞれのDT50は0.1日および4.33日であった。

ホサロンの水中光分解試験の純水及び緩衝液（pH 7）の条件において、半減期は2.1日で、

ホサロンの28日間暴露後の組織残留濃度は、魚肉部、内臓および魚体全体でそれぞれ73、260および180ppbであり、BCFで表すとそれぞれ78、280および190であった。14日間の排泄期間における排泄率は、魚肉部、内臓および魚体全体でそれぞれ95、96および97%であった。以上の結果、ホサロンのブルーギルにおける生物濃縮は低いレベルであることが示唆された。

以上のようにホサロン及びその代謝物は、その動植物及び土壌中に蓄積する可能性は低く、人を含む自然環境中に長期間残留することは極めて少ないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ホサロンの動植物、水中及び土壌中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C B C株式会社にある。

代謝分解の概要

化合物No.	投与量・経過時間	%投与量	投与量に対する% (動物、但し組織中の組織対量当たり%)														
動物	ラット	尿 ♂ ♀	1mg/kg 0-6h	46.6 56.9													
		糞 ♂ ♀	1mg/kg 6-12h	9.7 11.1													
		全血 ♂ ♀	1mg/kg 1-1.5h	μ g 当量/g 0.228-0.270													
		脳 ♂ ♀	1mg/kg 1-1.5h	μ g 当量/g 0.175-0.229													
		腎臓 ♂ ♀	1mg/kg 1-1.5h	μ g 当量/g 0.488-0.676													
		肝臓 ♂ ♀	1mg/kg 1-1.5h	μ g 当量/g 0.706-0.307													
		脂肪 ♂ ♀	1mg/kg 1-1.5h	μ g 当量/g 0.208-0.265													
		骨格筋 ♂ ♀	1mg/kg 1-1.5h	μ g 当量/g 0.169-0.158													
	ラット	全身 ♀	35 mg/kg 0-24h														
		肝臓 ♀	100 mg/kg 30、210分														
マウス	尿・糞	50mg/kg 0-24h															
牛	尿	0.53, 2.57															
	乳	μ Ci/mg															

ラットの炭酸ガスは 0-24 時間の分析結果、ND は分析されずを示し、回収率は実験期間全体のものを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

化合物No.		投与量 ・ 処理時期	残留 量 ppm	14C全残留に対する%															
植 物	ソ ル ガ ム	地 上 部	PHI (aLb/A) 134(3) 92(1.5)	40.8 45.6															
		顆粒	PHI (aLb/A) 134(3) 92(1.5)	0.11 5.35															
		顆皮	PHI (aLb/A) 134(3) 92(1.5)	0.16 49.7															
	リ ン ゴ																		
		葉*	PHI24 3aLb/A	317.9															
		果皮*		58.1															
	果肉	0.9																	
	ぶ ど う 果 実		2100g/ha 1回処理	27.79															
			1050g/ha の2回処理	26.917															
		ソ ラ マ メ	600g/ha 塗布処理 幼植物																
	イ ン ゲ ン	10日後茎葉																	
	ナ ス タ ー チ ュ ム																		

*リンゴの葉及び果皮はリンス後試料の分析結果、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

化合物No		標識位置	投与量・ 処理時期	採取日	14C 処理に対する%														
水中	加水分解	P h	pH4 60℃	18															
			pH7 60℃	4															
			pH9 30℃	8															
	水中光分解		緩衝液 (pH7)	1 15															
土壌	好氣的土壌 分解	P h	Senozan	7															
			Speyer2.1	7															
			Speyr2.2	7															
			Spra 04	7															
	嫌氣的土壌 分解		英国砂壤 土	14 56															

好氣的土壌分解は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ホサロンの開発年表

	1960	1970	1980	1990	1995	2000	2005	2008	2010
薬効薬害試験		←→	←→	←→	←→	←→	←→		
毒性試験(人畜)	←→			←→					
毒性試験(運命)		←→		←→					
水産動植物		←→							
有用生物						←→			
物理的・化学的性状	←→							←→	
作物残留性試験		←→	←→						
土壌残留性試験			←→	←→					
製造		—	—	—	—	—	—	—	—
販売		—	—	—	—	—	—	—	—