

(6) ラッカセイ中の代謝

(資料 B-16)

試験機関：

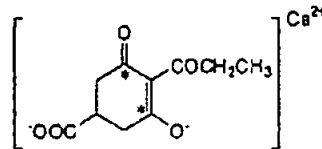
[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：シクロヘキセン環の3または5位を<sup>14</sup>Cで標識した。

名称 シクロヘキセン環 <sup>14</sup>C 標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\* : <sup>14</sup>C 標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

供試植物：ラッカセイ（品種：Florigiant）

試験方法：処理方法および試料採取： に、硫酸アンモニウムを含む水溶液として被験物質を 1.0 lb ai/A (1.12 kg ai/ha、年間最大散布量の 2.7 倍) で単回茎葉散布した。散布当日（散布後 30 分）および散布後 13 日に茎葉部を中間採取し、散布後 22 日（収穫期）に植物体を切り起こして莢実を空气中に露出させて乾燥させ、散布後 25 日の 10 月 25 日に収穫した。収穫した植物体は、分析場所に到着後、地上部と根部を分離し、水分含量が 10~15% となるよう試験室のフード内で乾燥させた。水分含量は 100℃で一晩乾燥させることで測定し、試料到着時の初期水分含量は殻付子実が 24%、茎葉部が 27%であった。なお、処理直後および収穫時に植物の下あるいは周辺の土壌を採土器で採取し、土壌中の放射能濃度を測定した。

抽出、分画および分析方法：次頁の図に概要を示す。採取後乾燥させた試料である子実、莢および茎葉部（乾草）を各々磨砕後、酸性下アセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ジクロロメタンで分配した。抽出残渣はヘキサン抽出を行った。子実試料についてはヘキサン抽出後の抽出残渣についてさらに石油エーテル/エーテル抽出を行った。

全ての抽出液、分画および抽出残渣について、得られた各画分中の放射能量を測定後、HPLC、TLC、LC/MS/MS、NMR による代謝物の同定あるいは特徴付けを行った。なお、各試料（子実、莢および茎葉部中の総残留放射能（TRR）については、それぞれの磨砕試料をオキシゲイザーで燃焼し、液体シンチレーションカウンター（LSC）

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

で測定した。

同定／特徴づけを実施するに当たり、得られたアセトニトリル（水溶性）画分および固形残渣の試料を、必要に応じて酸／アルカリ加水分解、炭水化物／蛋白質分解酵素処理（可溶化）あるいは、更に必要があれば、C18 および強陰イオン交換カラムによる固相抽出による分離、精製を行った。加えて、詳細な化学構造の検討を実施する場合には

LC/MS/MS および NMR による分析を行った。さらに必要に応じ分子量 3000 でカットオフする分子篩による限外濾過によって分離、精製した。

抽出および分画法の概略を次図に示す。

落花生／子実  
(peanut nutmeat)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

落花生／荚および茎葉部  
(peanut hulls and hay)

試験結果：

総残留放射能 (TRR)：得られた結果を次表に示す。

試料起源	試料	水分、%	TRR、ppm
茎葉部	処理後 30 分	-	634.6
	処理後 13 日	-	19.8
	収穫期(処理後 22 日)、乾燥前	-	18.3
	収穫期、乾燥後(乾草)	16.6	36.5
子実	乾燥子実	12.2	4.15
荚	乾燥外殻	-	2.50
土壌	処理直後 0~6 インチ	7.4	0.337
	収穫時	10.6	0.495

-：測定せず

処理後 30 分の茎葉部には 634.6 ppm および土壌には 0.337 ppm が検出され、処理した放射能量の大部分が落花生茎葉部に付着したと考えられた。子実および荚中の放射能量は各々 4.15 および 2.50 ppm であったことから、処理された放射能は茎葉部から荚(外殻)への移動および土壌から落花生荚実への移動の可能性があるものと考えられる。収穫時における土壌中放射能濃度は、処理後直ぐに採取した場合に比べ約 1.5 倍であり、これは降雨および散水による流去と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

A) 子実中における放射性成分の分布および同定/特徴付け: その結果を次図に示す。

落花生/子実 (peanut nutmeat) (TRR 4.15 ppm)
--

水溶性画分、ジクロロメタン画分、ヘキサン画分およびエーテル画分中における残留放射能は、各々26.9%、34.0%、3.01%および2.70%TRRであった。また、エーテル抽出後固形残渣中には、41.8%TRRが検出された。この分析操作による物質収支は約108.4%であった。

次表に有機画分 (63.1%TRR、2.62 ppm) における放射性成分の分布を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

ジクロロメタン画分(34.0%TRR、1.41 ppm)			水溶性画分(26.9%TRR、1.12 ppm)		
放射性成分	%TRR	濃度、ppm	放射性成分	%TRR	濃度、ppm
	2.99	0.124		2.10	0.087
	3.75	0.156		1.58	0.066
	1.37	0.057		0.93	0.039
	1.00	0.042		2.54	0.110
	3.88	0.161		2.26	0.094
	18.8	0.780		3.21	0.133
	2.21	0.091		14.2	0.592
計	34.0	1.41	計	26.9	1.12

ジクロロメタン画分、水溶性画分を HPLC (方法 2/方法 3) で放射性成分を分析した結果、各々  
 の他、5 成分のピークが得られた。水溶性画分中の 1 成分は  
 (1.58%TRR、0.066 ppm) であった。

水溶性画分には多数の水溶性物質が含まれていることが想定された。この画分を酸/アルカリ加水分解して、加水分解前、酸およびアルカリ加水分解後の試料を HPLC で、標準品と比較分析した結果、  
 およびその  
 が、主要な加水分解生成物であることから、子実中の低濃度で多くの成分から成る放射性成分は、遊  
 あるいはその  
 のアルカリによる分解性を有する抱合体であろうと推測された。なお、これらの放射性成分は、後述の莖葉部中の成分と同一であることが明らかになり、検討するに十分な量を確保し得る莖葉部試料を用いて検討したことを踏まえ、莖葉部の項に、検討の詳細を記す。

次いで、抽出残渣における各画分中の放射性成分の分布を次表に示す。

抽出残渣			
画分	放射性成分	%TRR	濃度、ppm
ヘキサン画分		3.01	0.125
エーテル画分		2.47	0.103
		0.23	0.010
抽出残渣		41.8	1.73

抽出残渣を更に、石油エーテル/エーテル画分後、その一部を再びアセトニトリル抽出した。この結果、エーテル画分中放射能の約 82%がアセトニトリル画分に抽出され、大部分が  
 であった (2.47%TRR、0.103 ppm)。ヘキサンにより抽出可能な成分は極少量であり、結合型放射能の割合が多かった。その詳細は項 D) に述べる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

B) 莢中における放射性成分の分布および同定/特徴付け: その結果を次図に示す。

落花生/莢 (peanut hulls) TRR 2.50 ppm
---

水溶性画分、ジクロロメタン画分およびヘキサン画分中には残留放射能が、各々39.1%、8.37%および0.01%TRR が存在した。また、ヘキサン抽出後の抽出残渣中には、37.7%TRR が検出された。有機画分の濃縮により生じた固形分中に放射能が 12.7%TRR 検出された。この分析操作による物質収率は約 97.9%であった。

次表に有機画分 (56.8%、1.42 ppm) における放射能量の分布を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

ジクロロメタン画分 (8.38%TRR, 0.210 ppm)			水溶性画分 (38.9%TRR, 0.973 ppm)		
放射性成分	%TRR	濃度, ppm	放射性成分	%TRR	濃度, ppm
	2.16	0.054		2.18	0.055
	0.25	0.006		4.59	0.115
	0.48	0.012		8.45	0.212
	0.57	0.014		6.33	0.158
	0.55	0.014		1.42	0.036
	2.50	0.063		0.73	0.018
	1.86	0.047		4.45	0.111
合計	8.37	0.210		0.81	0.020
				10.1	0.253
			合計	39.1	0.978

水溶性画分における HPLC 分析では、主要な成分として (8.45%TRR, 0.212 ppm) が検出され、その他に 7 成分が検出された。その内の一成分は遊離酸【2】であり、少量であった。ジクロロメタン画分では主要成分は (2.50%TRR, 0.063 ppm) および (2.16%TRR, 0.054 ppm) であり、その他は 0.6%TRR 以下であった。

水溶性画分を、後出の茎葉部における水溶性画分と比較検討したところ、乾草 (茎葉) と同様に 3 個の主要ピークが検出され、これらは および と同定された。また、酸/アルカリ加水分解して検討した結果、酸では加水分解前に存在した は消失したが、アルカリではそのまま存在した。この画分中には低濃度で多くの成分から成る放射能が存在し、これらは : であろうと推測された。

次いで、抽出残渣における各画分中の放射能の分布を次表に示す。

固形残渣(1)			
画分	放射性成分	%TRR	濃度, ppm
ヘキサン画分	-	0.01	0.0003
固形分 <sup>#</sup>	-	12.7	0.318
抽出残渣	-	37.7	0.943

- : HPLC 未測定 # : アセトニトリル抽出画分の濃縮により生じた固形分

ヘキサンにより抽出可能な成分は極少量であり、結合型放射能の割合が多かった。その詳細は項 D) に述べる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

C) 茎葉部における放射性成分の分布および同定および性状：その結果を次図に示す。

落花生／茎葉部 (peanut hay) TRR 36.5 ppm
---

次表に有機画分 (66.9%TRR、24.4 ppm) における放射能量の分布を示す。

ジクロロメタン画分(38.5%TRR、14.1 ppm)			水溶性画分(21.9%TRR、7.99 ppm)		
放射性成分	%TRR	濃度、ppm	放射性成分	%TRR	濃度、ppm
	1.74	0.635		4.38	0.160
	4.10	1.50		1.69	0.617
	0.69	0.252		0.58	0.212
	0.73	0.265		0.42	0.153
	15.8	5.77		3.40	1.24
	15.5	5.68		11.4	4.17
合計	38.5	14.1	合計	21.9	7.99

水溶性画分中の主要な放射性成分は、(4.38%TRR、0.160 ppm)、  
(3.40%、1.24 ppm) およびその他の3成分が検出された。ジクロロメタン  
画分では、(15.8%TRR、5.77 ppm) および (1.74%TRR、  
0.635 ppm) の他に3成分が検出された。 はジクロロメタン、水溶性および



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

ヘキサン画分（次頁の表）中に存在し、割合は各々15.8、3.40 および 0.006%TRR であった。

水溶性画分の1成分であり、HPLCで相対的により速やかに溶出するHA3と区分された画分を分離し、HPLCで標準品と比較検討し、更に、後IC/MS/MSで確認した結果、と同一と判定された。相対的にHPLCによる溶出が遅い成分のと区分された画分を分離し、酸/アルカリ加水分解および酵素加水分解、更にメチル化を行った。その結果、は酸および酵素に対して安定であったが、アルカリでは分解された。次いで、更に限外濾過およびHPLCで精製し単一成分とした後、で解析した結果、と同一と判定された。

よりも溶出が更に遅い成分である および と区分された画分を各々分離し、アルカリ加水分解および酵素加水分解処理した。HPLC上のこれらの挙動から、は酵素非依存性に相互に変換していると推定された。なお、をアルカリ加水分解した場合、になることが判明した。なお、前頁の表中のその他の成分として区分され、HPLCでより遅く溶出する成分の多くは極性が高く、これを酸/アルカリ加水分解した場合、酸には安定であったが、アルカリには不安定であった。これらの性状を勘案すると、この画分中の物質は、大部分がのアルカリ分解性の抱合体（そのほとんどはエステル型結合）であろうと推測され、ごく少量ではあるが、

等の種々の極性代謝物の抱合体を含む可能性が考えられた。なお、HPLCによる最も遅い溶出成分が、LC/MSで解析を試みた結果、であると同一と判定された。ジクロロメタン画分中放射性成分についても、同様な処理を行って分析した結果、が同一と判定された。

次いで、抽出残渣における各画分中の放射能量の分布を次表に示す。

抽出残渣			
画分	放射性成分	%TRR	濃度、ppm
ヘキサン画分		0.006	0.002
		0.006	0.002
		0.024	0.009
抽出残渣		41.7	15.2

- : HPLC未測定

HH1 : ヘキサン画分中の主要成分（未測定）

ヘキサンにより抽出可能な成分は極少量であり、結合型放射能の割合が多かった。ヘキサン画分にが極微量ながら検出された。その詳細は次項D)に述べる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

- D) 子実、莢および茎葉部から得られた抽出残渣中放射性成分の検討  
 子実、莢および茎葉部各試料の抽出残渣中に残存する放射性成分を、可能な限り明らかにするため、以下の操作を行い、分析を試みた。

固形残渣中放射能の性状分析の結果を次表に示す。

酵素処理/ 溶媒抽出	特 性	子実		莢		茎葉部	
		41.8%TRR、1.73 ppm		37.7%TRR、0.943 ppm		41.7%TRR、15.2 ppm	
		%TRR	濃度、ppm	%TRR	濃度、ppm	%TRR	濃度、ppm
酢酸緩衝液	緩衝液可溶性成分	25.7	1.06	6.41	0.160	18.7	6.81
炭水化物分解 酵素処理*	糖	12.6	0.52	4.73	0.118	5.93	2.16
蛋白質分解酵 素処理**	蛋白	2.33	0.096	3.06	0.0765	2.51	0.916
Dioxin/塩酸処 理	リグニン	NA	NA	13.6	0.345	13.0	4.74
結合型放射能		1.82	0.0753	6.13	0.153	3.11	1.13
回収総放射能		42.4	1.76	33.9	0.853	43.2	15.8
放射能回収率(%)		101		89.9		104	

NA：適用せず

\*: hemicellulose,  $\alpha$ -amylase, cellulysin, amyloglucosidase, pectinase

\*\* : pronase

各試料における酢酸緩衝液中の放射能を HPLC 等で分析したところ、子実および茎葉部に存在した。放射能は糖、蛋白およびリグニン中に存在し、種々の経路を経由して生体成分に取り込まれていくものと考えられた。各試料中の結合型放射性成分は、子実、莢および茎葉部に各々1.82、6.13および3.11%TRRであった。

結果の要約および考察：ラッカセイにおけるプロヘキサジオンカルシウム塩の代謝を総括し、考察する。

同定および特徴付けの結果を、有機溶媒可溶性成分、天然物質および極性物質中への放

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

射能の分布割合を次表に示す。

放射能の存在状態	各試料中放射能の分布、%TRR		
	子実	炭	茎葉部
有機溶媒可溶性成分	52.02	23.97	44.99
天然物質	14.82	21.46	20.41
極性物質	22.97	26.5	23.95

有機溶媒可溶性成分として残留放射能は、子実および茎葉部に 45～50%TRR 検出され、天然物質中には 14～21%TRR の放射能が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

子実、莢および茎葉部試料中の放射能について、同定された代謝物および検出された成分の性状検討で得られた結果を次表に集約する。

放射性成分	茎葉部 36.5 ppm		莢 2.50 ppm		子実 4.15 ppm	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
天然物質						
	12.7	4.63	15.9	0.40	3.06	0.13
	—	—	—	—	8.42	0.35
	3.33	1.21	1.41	0.04	—	—
	0.66	0.24	1.53	0.04	0.33	0.01
	0.02	0.01	0.01	<0.01	3.01	0.13
	3.70	1.35	2.61	0.07	—	—
小計	20.41	7.44	21.46	0.55	14.82	0.62
有機溶媒抽出成分						
	35.1	12.8 (78) <sup>a</sup>	9.66	0.24 (40) <sup>a</sup>	38.3	1.58 (73) <sup>a</sup>
	5.79	2.12	7.48	0.19	2.08	0.09
	1.27	0.46	2.45	0.06	5.63	0.23
	1.14	0.42	1.84	0.05	6.01	0.25
	1.69	0.615	2.54	0.06	0.00	0.00
小計	44.99	16.42	23.97	0.60	52.02	2.15
極性物質 <sup>c</sup>						
	8.84	2.50	13.9	0.35	10.1	0.42
	15.6	5.68	12.4	0.31	8.94	0.37
	1.51	0.55	0.20	0.01	3.93	0.16
小計	23.95	8.73	26.5	0.71	22.97	0.95
総計	89.35	32.59	71.93	1.86	89.81	3.72

a :

b :

c :

標機体プロヘキサジオンカルシウム塩を移植したラッカセイの茎葉に、1 lb有効成分/A (1.12 kg/ha、推奨最大散布量の約 2.7 倍相当) の量で散布処理した。処理後 25 日に子実、莢および茎葉部中の残留放射能量は、各々 4.15、2.50 および 36.5 ppm であった。これらの各試料をアセトニトリルで抽出後、ジクロロメタン/アセトニトリルで分配した。その結果、有機溶媒抽出可能な放射能は総残留放射能 (TRR) の 56.8~66.9% を占めた。この抽出可能な放射性成分について、代謝物の同定あるいはその性状を検討したところ、

および 2 個の微量な中間体 (IIA5 および IIA6) 等が検出された。ラッカセイの子実および乾草 (茎葉) では、<sup>a</sup> が、総残留放射能 (TRR) の 35~38% を占め、主要な化合物であった。それは子実および茎葉部において、各々有機溶媒可溶性成分の 73% および 78% を占めた。中間体と考えられる <sup>b</sup> は 1.69~2.54%TRR であり、その後、酸化的に代謝されて <sup>c</sup> を生成すると考えられ、天然に存在する分子である <sup>a</sup> は、3.06~15.9%TRR であった。

<sup>a</sup> は果物、野菜、穀類および土壌中等、自然界に広く存在することが知られてい

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

る。また、別の酸化的中間体である  $\beta$ -D-グルコース-6-リン酸は 2.08~7.48% と類似している  
と推定される は、比較的少量 (<10%TRR) であった。

残留放射能の 37.7~41.8%TRR を占める固形残渣の試料を酢酸緩衝液による抽出、酸/  
アルカリ加水分解、酵素による分解および各種の誘導化によって、

等極性物質が  
検出された。子実試料では糖への放射性成分の取り込みが確認され、酵素による分解に  
よって炭水化物および蛋白質への取り込みが明らかになった。

以上の結果から、プロヘキサジオンカルシウム塩のラッカセイ植物体における代謝は次  
のように想定された。

次頁にラッカセイ中におけるプロヘキサジオンカルシウム塩の推定代謝経路を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

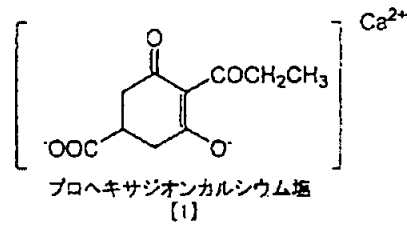


図1 ラッカセイにおけるプロヘキサジオンカルシウム塩の推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(7) リンゴ中の代謝

(資料 B-17)

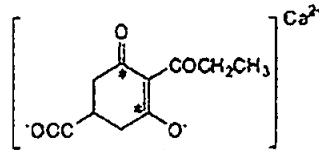
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 年

供試標識化合物：シクロヘキセン環の3または5位を  $^{14}\text{C}$  で標識した。

名称 シクロヘキセン環  $^{14}\text{C}$  標識プロヘキサジオンカルシウム塩  
化学構造



\* :  $^{14}\text{C}$  標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

供試植物： リンゴ (品種：Red MacIntosh Cultivar Campbell 種)

試験方法：

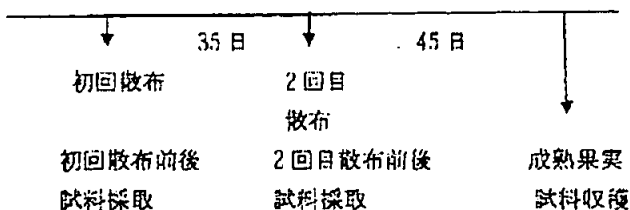
処理量および試料採取：

BAS 125 09W (プロヘキサジオン 10%顆粒水和剤) の白試料水溶液で被験物質を希釈し、展着剤 LatronB-1956 を添加して散布用薬液を作成した。263.4 ppm (1回目) および 264 ppm (2回目) の濃度の薬液をりんごの果実のみに2回散布した。1回目の散布は1995年6月9日に、2回目はその35日後の7月14日に行った。

米国での適用は、1回当たり 0.425 lb ai/A の使用量で、2~4回散布である。1作期の最大使用量は 1.7 lb ai/A となる。1回当たりの最大処理濃度である 0.85 lb ai/A を 400 gallon/A の散布水量で散布する場合の薬液中の濃度は、250 ppm に相当する。本試験における2回散布は合計で 1.76 lb ai/A [申請者註：1.96 kg ai/ha] の処理量であった。

試料の採取は、各散布前後および成熟果実として第2回散布後45日 (初回散布後80日) に行った。なお、対照樹木 (無処理) から成熟果実を採取した。全ての試料を採取した後、分析時まで冷凍した。

次図に、散布時期および試料採取時期の概略を示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

抽出／分画法： 概要を下図に示す。

試料（りんご果実）

↓



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

分析および同定法：

液体試料中放射エネルギーの測定は、液体シンチレーションカウンター（LSC）で行い、固体試料は酸化器で燃焼させた後、LSCで行った。なお、りんご果実中の総放射エネルギーは、抽出液および固形残渣中の放射エネルギーを合算することにより求めた。

有機溶媒可溶性抽出物および固形残渣の塩基加水分解産物は、HPLC法、LC/MS/MS法、GC/MSあるいはTLCにより、同定および性状の検討を行った。

試験結果：

試料中放射性成分の分布、回収率および総残留濃度<sup>1)</sup>

計画に基づいて試料を採取し、各抽出操作によって得られた試料中における放射性成分の分布を次表に示す。

試料採取時期 (初回散布後日数)	放射能分布(上段：%TRR、下段：残留濃度、ppm)				回収率 (%TRR)および 総残留濃度 (ppm)
	水抽出液	有機溶媒画分	水溶性画分	固形残渣	
0	92.81 (0.586)	81.30 (0.514)	11.87 (0.075)	7.19 (0.045)	100.36 (0.632)
34 (2回目散布直前)	92.54 (0.299)	74.28 (0.240)	10.08 (0.033)	7.46 (0.024)	91.82 (0.323)
35 (2回目散布直後)	94.34 (0.506)	60.76 (0.326)	24.98 (0.134)	5.66 (0.030)	91.40 (0.643 <sup>*)</sup> )
80 (成熟果実)	92.42 (0.282)	83.40 (0.254)	5.92 (0.018)	7.58 (0.023)	96.90 (0.305)

#：第1回及び第2回抽出時における平均値

0、34および35日に採取した果実における放射能残留濃度（TRR）は、各々0.632、0.323及び0.643ppm（抽出操作2回における平均；第1回では0.536ppm、第2回では0.750ppm）であった。2回目散布45日後（初回散布後80日経過）に採取した成熟果実における放射能残留濃度は0.305ppmであった。成熟果実試料における放射能残留濃度は有機溶媒画分中に83.4%TRR、水溶性画分中に5.92%TRR、抽出残渣には7.58%TRRであった。成熟果実における放射エネルギーの回収率は約97%TRRであった。

代謝物の同定および特徴付け

代謝物の放射エネルギーを量的に確保するため、34日後の採取果実および成熟果実を用いて、前述の抽出/分画法に基づいて分画し、各々あるいはその画分を合わせて、代謝物の同定および特徴付けを行った。

1) 有機溶媒画分

34日後採取果実（74.28%TRR、0.240ppm）および成熟果実試料（83.40%TRR、0.254ppm）における有機溶媒画分のHPLC分析を行った結果、どちらも約21種類の成分を含有することが判明した。成熟果実試料中では10%TRRを上回った成分は2個であり、その濃度は0.05ppm未満であった（表1および表2）。成熟果実における試料中の代謝物同定を試み、また単離するための試料として、34日後採取果実および成熟果実からの試料を合わせて

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

用いた。

表1に示すように、成熟果実中において、  
の各画分が主要代謝物群であろうと推定し、更に、画分毎に精製および誘導化を行い、  
同定あるいは特徴付けを行った。

A) 画分：濃縮後、  
ピーク（ ）が検出された。各々を単離し、次いで、それらの  
試料および 試料を HPLC で、想定される  
（および ）を用いて比較検討した。その結果、  
は  
である  
に近い保持時間を示すものの、断定するま  
では  
との比較の結果、  
と同定された。

B) 画分：濃縮、凍結乾燥後に  
し、HPLC (方法3) で  
分析したところ、4 個のピーク（ ）が検出された。  
および は、その放射能量が不十分であったことからこれ以上の検討を行わなかった。  
した および を各々想定される  
で検討した結果、前者は一致したが、後者は同定するには至らな  
かった。

C) 画分：濃縮、凍結乾燥後、  
により した後、HPLC (方法3)  
で分析したところ、2 個のピーク（ ）が検出された。想定される  
の  
標準品と HPLC で比較検討した結果、  
は  
は  
と一致した。

D) 画分：  
カラムを用いて抽出し濃縮後、  
HPLC (方法3) で分析したところ、4 個のピーク（ ）が検  
出された。再度、HPLC で各画分を展開した結果、 は保持時間 12.79 分の単一ピーク  
であり、 および は保持時間 17.37 および 19.30 分の 2 個のピークが各々みら  
れた。これは  
系化合物で通常みられる互変体の平衡状態を示してい  
るものと推定された。入手可能な標準品と一致しなかったため、この および  
の各ピークを画分、濃縮後、  
により した。更に、検討するた  
めにこれらの試料を LC/MS/MS を用いて解析した。なお、 は放射能量が不十分であ  
ったことから、これ以上の検討は進めなかった。

、 および のメチル化後、再び HPLC で分析した結果、いずれの場合も保持  
時間 19.76 分を有する単一ピークが検出され、これは前述した互変体の平衡状態を裏付  
けるものと考えられた。各々得られたこの単一ピークの画分を合わせ、  
として  
LC/MS/MS および GC/MS を用いて同定を行った。その結果、  
であろうと推定された。

E) 画分：HPLC (方法3) により 2 個のピーク（ ）が検出され、各々  
濃縮後、  
した。これらの  
溶液を HPLC (方法3)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

で展開した場合、からは単一のピーク（ ）が得られ、からは近接する2個のピーク（ ）が検出され、この2個のピークは異性体である可能性が考えられた。および はいずれも利用可能な標準品と合致しなかったため、各々のピークについて更に詳細な検討を行った。HPLC（方法3）による分析で、との保持時間が一致したことから、同一な化合物と推定された。次いで、LC/MS/MSあるいはGC/MSによる解析を、および を用いて行った。その結果、は に一致し、それは と推定された。は、 と同定された。

F) 画分：HILB カラムを用いて抽出し、 により 化（ ）とする）した。これらの試料を用いて、HPLC（方法3）、LC/MS/MS および GC/MS で詳細な検討を行った。その結果、中に が検出され、 および は、各々 と推定された。これらはいずれの場合も標準品と照合され、同定された。

G) 画分：濃縮後、 化し、HPLC（方法3）で分析した。操作前の試料である をHPLCで展開した結果は、約4個のピークが検出され、後の試料を同様に処理した結果では、約7個のピークが検出された。しかしながら、いずれの場合も放射能量が不十分であり、これ以上の検討は行わなかった。

H) 画分 をHPLC（方法1）で検討したところ、2個のピーク（ および ）が得られた。これにプロヘキサジオン標準品と同時HPLCを行った結果、ピークが増強され、更に、LC/MS および LC/MS/MS 分析の結果、 と同定された。次いで、 をジアゾメタンにより し、HPLC（方法3）で展開したところ、単一ピークであった。これをLC/MS/MS および GC/MS で検討した結果、 と同一であることが示唆された。

## 2) 水溶性画分

成熟果実試料における水溶性画分（5.92%TRR、0.018 ppm）を凍結乾燥し、HPLC（方法3）によって分析したところ、少なくとも4～5成分が含まれ、極性の高い成分であろうと推定された。

## 3) 固形残渣

成熟果実試料における固形残渣（7.58%TRR、0.023 ppm）をアルカリおよび酸加水分解を行い、各々詳細な検討を行った。

### 3-1) アルカリ加水分解

抽出残渣から加水分解物として2.96%TRR（0.0089 ppm）が遊離し、分子量3000でカットオフする限外ろ過装置を用いてろ過した。溶出した分子量3000以下の試料を、HPLC

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

で利用可能な標準品とともに同時クロマトグラフィーを行い、微量の  
 (0.11%TRR, 0.0003 ppm) および (0.45%TRR, 0.0014 ppm) が検  
 出された。

3-2) 酸加水分解

抽出残渣から加水分解物として2.2%TRR (0.00669 ppm) が得られ、フェニルヒドラジン  
 と反応させ、オサゾン結晶を得た。0.6%TRR (0.00195 ppm) を占める固形分を採取、溶  
 解し、TLC分析を行ったが、放射能量が極微量、かつ妨害物質のため成功しなかった。

次表に抽出残渣中放射能の分布を示す。

画 分	%TRR	残留濃度 (ppm)
同定化合物		
	0.45	0.0014
	0.11	0.00032
	2.20	0.00669
	2.76	0.00841
未同定化合物		
	0.26	< 0.01
	0.18	< 0.01
	0.22	< 0.01
	0.16	< 0.01
	0.50	< 0.01
	1.32	< 0.01 (0.004)
性状別		
	1.29	0.00391
	2.21	0.07381
性状別 計	3.50	0.07774

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### 結論および推定代謝経路

結果を表3に要約した。成熟果実における有機溶媒画分中残留放射能は、(1.83%TRR)、(2.44%TRR)、(1.24%TRR)、(9.12%TRR) および(5.55%TRR)であった。その他、(5.33%TRR)、(2.6%TRR)、(7.68%TRR) および(11.78%TRR)等のプロピオニル側鎖およびシクロヘキサジオン環の酸化により生ずる酸化的中間体の存在が推定された。また、有機溶媒画分には多数の未知化合物(約20個; 36.32%TRR)が検出されたが、個々の放射能量はごくわずかであった。抽出残渣(7.58%TRR)をアルカリ加水分解した場合、微量の(0.11%TRR) および(0.45%TRR)に加えて、5種類の極性成分が含まれていた。また酸加水分解した抽出残渣から約2.2%の糖環(オサゾンとして)が検出された。表3に示すように、個々の代謝物濃度は極めて低濃度であり、最大でも0.05ppmを超える成分はなかった。

プロヘキサジオンカルシウム塩のりんご果実における代謝経路は、次のように推定された。

に変換され、連続的に酸化的代謝により およびその他の酸化的中間体を経由して に代謝される。  
基の酸化およびその後の酸化的開裂により、これらの およびその他の類似中間体が生成する。 はその後代謝されて、 が酸化的に開裂し、 を経て開環化し、 となる。 はさらに代謝を受け、植物の炭素プールに入ると考えられる。従って、 は代謝され、 を経て天然物質の構成成分に取り込まれていくと推定される。

りんごにおけるプロヘキサジオンカルシウム塩の推定代謝経路を図1に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表1 34日後採取果実および成熟果実における有機溶媒画分中放射能のHPLCピークおよび放射能の分布

ピーク a	HPLCピークおよび保持時間における放射能分布				画分識別 <sup>b</sup>
	34日後採取果実		成熟果実		
	保持時間 (分)	%TRR	保持時間 (分)	%TRR	
1	4:44	3.47	6:34	1.38	
2	9:00	5.43	8:32	4.40	
3	11:38	3.12	11:50	1.96	
4	13:38	1.78	12:44	1.64	
5	15:00	2.68	14:40	1.86	
6	16:30	1.67	16:26	2.46	
7	19:06	7.80	18:14	5.44	
8	20:24	2.49	20:12	4.71	
9	21:58	4.45	21:16	10.05	
10	23:18	5.13	23:10	6.76	
11	25:34	1.58	25:08	3.53	
12	27:58	2.52	27:52	2.28	
13	29:14	6.43	28:44	11.78	
14	30:04	2.31	30:02	5.49	
15	32:18	1.94	32:06	1.72	
16	33:10	3.17	33:10	4.50	
17	34:08	2.20	34:40	1.88	
18	36:22	1.12	35:58	3.11	
19	38:06	1.37	38:40	1.26	
20	39:26	1.29	39:40	2.54	
21	41:28	9.55	41:38	4.65	

- : 画分識別なし

a : 各ピークはHPLC上のピークの開始および終了の間の領域である。

b : 各ピークの領域は、34日後採取果実および成熟果実から得られた調製用画分の識別に対応する。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表2 成熟果実における有機溶媒画分中放射能のHPLCピーク、画分および同定/  
推定代謝物の生成割合

画分	ピーク番号	%TRR	サブ画分	比率(%) <sup>2</sup>	代謝物識別	%TRR	残留濃度 (ppm)
	1	1.38		42.73		0.59	0.0018
				57.27		0.79	0.0024
	2	4.40		-		4.40	0.0134
	3、4	3.60		-		3.60	0.0110
	5	1.86		-		1.86	0.0057
	6、7	7.90		7.43		0.59	0.0018
				22.18		1.75	0.0053
				30.86		2.44	0.0074
				39.54		3.12	0.0095
	8、9	14.96		37.57		5.55	0.0169
				62.43		9.21	0.0281
	10	6.76		78.92		5.33	0.0163
				21.08		1.43	0.0044
	11	3.53		42.83		1.51	0.0046
				30.37		1.07	0.0033
				26.80		0.95	0.0029
	12	2.28		-		2.28	0.0070
	13	11.78		-		11.78	0.0359
	14	5.49		-		5.49	0.0167
	15、16	6.22		-		6.22	0.0190
	17	1.88		-		1.88	0.0057
	18	3.11		-		3.11	0.0095
	19~21	8.45		20.37		1.72	0.0052
				79.63		6.73	0.0205
同定代謝物(9)の割合						47.08	0.1435
未同定物質(20)の割合						36.32	0.1108

1: 画分の識別なし

2: 各画分中における比率

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 3 成熟果実 (0.305ppm) 中の代謝物

化合物	%TRR	ppm
天然物		
	1.24	0.0038
	2.44	0.0074
	2.20	0.00669
	5.88	0.0179
	5.55	0.0169
	9.21	0.0281
	5.33	0.0163
	2.60	0.0079
	11.78	0.0359
	1.83	0.0056
	7.68	0.0234
小計	43.92	0.1341
未固定代謝物群		
	36.32	0.1108
	1.32	0.0040
小計	37.64	0.1148
その他		
	5.92	0.0181
	1.29	0.0039
	2.21	0.0067
小計	9.42	0.0287
合計	96.92	0.2956



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

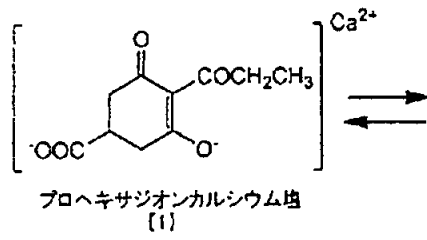


図1 りんご果実におけるプロヘキサジオンカルシウム塩の推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 3. 土壌中運命に関する試験

#### (1) 土壌中運命試験

(資料 B-7)

試験機関：

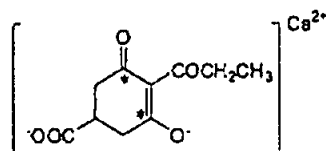
[非 GLP]

報告書作成年： 年

供試標識化合物：シクロヘキセン環の3または5位を<sup>14</sup>Cで標識した。

名称 シクロヘキセン環<sup>14</sup>C標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\*：<sup>14</sup>C標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

供試土壌：静岡土壌（沖積壤土）および茨城土壌（火山灰砂質壤土）を用いた。

土壌の性質は以下の通りであった。

特性項目	静岡土壌	茨城土壌
最大容水量 (%)	54.1	89.9
全炭素 (%)	1.48	2.18
全窒素 (%)	0.12	-
陽イオン交換容量 (me/100g)	11.2	16.8
pH (H2O) 1:2.5	5.5	5.7
粒径組成	粗砂 (%)	1.0
	細砂 (%)	47.8
	シルト (%)	25.5
	粘土 (%)	20.5
土性	CL	SCL

-：未測定

#### 試験方法：

##### 土壌の調製：

- (1) 畑地条件：各土壌をガラス容器に入れ、最大容水量の50%に水分を調整して暗所30℃で2週間予備培養を行った。
- (2) 湛水条件：各土壌をガラス容器に入れ、水深1cmとなるよう調整して暗所30℃で2週間予備培養を行った。
- (3) 滅菌畑地条件：(1)と同様に調製した土壌を110℃で30分間オートクレーブ処理した。
- (4) 滅菌湛水条件：(2)と同様に調製した土壌を110℃で30分間オートクレーブ処理した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

標識化合物の処理方法およびその量：

標識化合物を水に懸濁し、各土壌に処理量が0.3 ppm（乾土あたり）となるように添加、攪拌した。

培養方法：

培養は30℃の暗所で行った。培養期間中、土壌を入れたガラス容器はデシケーターに入れ吸気側に20%モノエタノールアミン水溶液および水のトラップを、排気側にポリウレタンフォームおよび20%モノエタノールアミン水溶液のトラップを設置し、二酸化炭素を除いた空気を継続導入することで、揮発性放射性化合物および放射性二酸化炭素を捕集した。

試料の採取：

畑地条件；処理後0、1、3、7、15、30日

湛水条件；処理後0、3、7、15、30日

放射能量の測定：

採取した土壌試料を下記に示したスキームで抽出し、放射能量を測定した。TLCを用いて、参照標準品とのクロマトグラフィーによって代謝分解物の定量および同定を行った。

トラップに用いたポリウレタンフォームは、トルエンにより揮発性放射性化合物を抽出し、放射能量を測定した。また、20%モノエタノールアミン水溶液は一定量を分取し、放射能量を測定した。

分析方法スキーム

土壌試料

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

(1)畑地および湛水条件における各抽出画分の代謝物の生成量を下表に示した

(処理放射能量に対する割合、%)

条件	画分 および 代謝物	処理後の経過日数												
		畑地土壌						湛水土壌						
		0	1	3	7	15	30	0	1	3	7	15	30	
畑地条件	揮発性	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	-	28.2	59.2	67.2	71.1	73.4	-	25.3	58.4	65.3	69.2	71.5
		その他	-	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	0.2	0.2
		計	-	28.2	59.2	67.3	71.2	73.5	-	25.3	58.4	65.3	69.4	71.7
	クロロホルム	親化合物 <sup>1)</sup>	96.8	44.8	5.2	2.2	1.3	0.5	90.8	45.9	5.8	2.3	1.0	0.6
			<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
		原点	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
		その他	3.2	2.4	0.8	0.6	0.5	0.6	5.6	3.4	0.8	0.8	0.6	0.4
	計	101	47.2	6.0	2.8	1.8	1.0	96.4	49.3	6.6	3.2	1.6	0.9	
	水層	2.9	4.6	2.0	2.3	1.7	1.6	3.3	4.2	3.6	2.3	1.8	1.6	
	抽出残渣	1.8	14.8	12.2	15.0	12.2	11.1	<0.1	16.5	17.4	14.9	13.0	10.0	
合計	105.6	94.8	73.4	87.4	86.9	87.3	99.6	95.2	86.0	85.6	85.8	84.3		
親化合物の半減期		0.7日						0.7日						
湛水条件	揮発性	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	-	-	38.2	59.4	66.6	70.9	-	-	48.7	65.4	72.6	77.2
		その他	-	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	-	<0.1	<0.1	0.2	0.2
		計	-	-	38.2	59.4	66.6	70.9	-	-	48.7	65.4	72.8	77.4
	クロロホルム	親化合物 <sup>1)</sup>	85.0	-	3.9	1.5	0.6	0.2	77.4	-	3.4	1.7	0.8	0.1
			<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
		原点	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
		その他	1.9	-	0.6	0.7	0.3	0.2	3.8	-	0.9	0.4	0.5	1.0
	計	86.9	-	4.4	2.2	1.0	0.5	81.2	-	4.2	2.2	1.2	1.0	
	水層	6.4	-	9.6	6.0	4.6	3.8	7.4	-	8.3	6.4	5.7	6.0	
	抽出残渣	7.8	-	26.4	25.6	23.8	20.7	5.8	-	25.8	23.2	21.0	17.6	
合計	101.2	-	78.6	93.2	96.0	95.8	94.4	-	87.1	97.1	100.7	102.0		
親化合物の半減期		0.7日						0.6日						

1) :

-: サンプルなし

表中の数値はJISの方法によって算出した2回の平均値(%), <0.1はゼロとして扱った

プロヘキサジオンカルシウム塩は として分析した。プロヘキサジオンカルシウム塩は畑地および湛水条件のいずれの場合でも速やかに分解され、その半減期は0.6~0.7日であった。分解物の大部分は二酸化炭素であり、その生成割合は7日後で59.4~67.2%までに達した後、さらに30日後まで増加を示し、畑地条件で71.5~73.4%、湛水条件では70.9~77.2%となった。二酸化炭素以外の揮発性化合物の検出量は0.2%以下であった。水層画分中の放射能量は処理直後で

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2.9~7.4%を示し、その後大きな変動はみられなかった。一方、クロロホルム画分の放射能値が経時的に減少していることから、硫酸-アセトン抽出液中に占める水溶性の放射性成分の割合は経時的な増加傾向を示すと考えられた。クロロホルム画分中の放射性成分の大部分は親化合物であった。抽出残渣中の放射性成分は畑地条件では最大 17.4%以上、湛水条件では最大 26.4%に達したが、30日後で増加することはなかった。土壌の種類および試験条件により分解性の差は認められなかった。

(2) 畑地畑地および湛水湛水土壌条件における各抽出画分の代謝物の生成量を下表に示した。

(処理放射能量に対する割合、%)

条件	画分 および 代謝物	処理後の経過日数													
		静岡土壌						茨城土壌							
		0	1	3	7	15	30	0	1	3	7	15	30		
畑地畑地条件	揮発性	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	-	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	0.3	-	<0.1	<0.1	0.1	0.2	0.6	
		その他	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
		計	-	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	0.3	-	<0.1	<0.1	0.1	0.2	0.6	
	クロロホルム	親化合物 <sup>1)</sup>	92.0	85.3	74.7	81.1	77	70.9	92.4	91.2	73.8	82.4	79.6	73.3	
			0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
		原点	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
		その他	2.5	2.8	2.0	2.6	2.3	2.4	3.0	2.6	2.4	2.7	2.4	3.2	
		計	94.8	88.0	76.8	83.6	79.3	73.2	95.4	93.8	76.2	85.2	82.1	76.4	
	水層	2.8	4.0	3.6	4.4	4.2	5.4	2.6	2.9	3.6	3.6	4.3	4.6		
	抽出残渣	2.4	6.8	11.2	8.6	14.2	17.2	2.6	4.0	16.4	9.4	10.0	14.8		
	合計	100.0	98.8	91.4	96.6	97.8	96.2	100.6	100.7	96.3	98.2	96.6	96.4		
	親化合物の 半減期	111日						121日							
	湛水湛水条件	揮発性	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	-	-	0.1	0.7	4.1	11.3	-	-	0.1	0.9	5.9	40.5
			その他	-	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
計			-	-	0.1	0.7	4.1	11.3	-	-	0.1	0.9	5.9	40.5	
クロロホルム		親化合物 <sup>1)</sup>	86.6	-	84.1	72.1	67.2	42.9	89.0	-	80.2	77.6	65.8	24.0	
			<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
		原点	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
		その他	2.6	-	2.4	1.8	2.6	2.3	3.6	-	2.6	2.5	2.8	2.3	
		計	89.2	-	86.4	73.9	69.8	45.2	92.7	-	82.8	80.0	68.6	26.4	
水層		3.8	-	7.2	11.3	8.8	13.6	3.8	-	8.2	7.2	8.8	10.3		
抽出残渣		5.4	-	9.0	14.0	12.9	20.2	3.6	-	9.4	11.5	12.8	14.7		
合計		98.5	-	102.8	99.8	95.7	90.3	100.1	-	100.4	99.8	96.0	91.9		
親化合物の 半減期		30日						24日							

1):

-: サンプルなし

表中の数値はJISの方法によって算出した2連の平均値(%), <0.1はゼロとして扱った

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

滅菌条件でのプロヘキサジオンカルシウム塩の分解は遅く、その半減期は畑地および湛水条件でそれぞれ111~121日および24~30日であった。二酸化炭素の生成量は、畑地条件および湛水条件の30日後でそれぞれ0.3~0.6%および11.3~40.5%であった。クロロホルム画分中の放射性成分の大部分は親化合物であった。水層画分中の放射性成分は、畑地条件では培養期間を通じて2.6~5.4%であったが、湛水条件では増加する傾向を示し、30日後で最大13.6%に達した。抽出残渣中の放射能量は何れの条件でも経時的に増加した。土壌の種類による分解性に差はみられなかった。

以上から、プロヘキサジオンカルシウム塩は畑地および湛水条件の土壌中で速やかに二酸化炭素にまで分解され、その生成割合は土壌の種類や条件による差はなく30日後で約70%またはそれ以上に達した。クロロホルム画分中の大部分は親化合物で、その半減期は1日以内であり、

は検出されなかった。

土壌を滅菌することで分解は遅くなり、親化合物の半減期は畑地条件で111~121日、湛水条件の場合は24~30日であった。また、二酸化炭素の生成量も非滅菌条件に比べ少なくなり、プロヘキサジオンカルシウム塩の土壌中での分解に土壌微生物が大きく関与しているものと考えられた。抽出残渣中の放射性成分は比較的短時間で処理量の10%以上に達した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) 土壌中運命試験

(資料 B-8)

- 代謝物の同定・定量 -

試験機関:

[非 GLP]

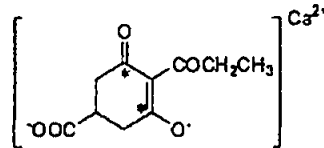
報告書作成年: 年

目的: 資料 B-7 では土壌中におけるプロヘキサジオンカルシウム塩の分解が極めて遅やかであったが、短時間内の分解速度および二酸化炭素以外の分解物を明らかにすることができなかつたため、更に詳細な検討を加える目的で以下の試験を行った。

供試標識化合物: シクロヘキセン環の3または5位を  $^{14}\text{C}$  で標識した。

名称 シクロヘキセン環  $^{14}\text{C}$  標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\*:  $^{14}\text{C}$  標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-ene-1-carboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

供試土壌: 茨城土壌 (火山灰砂質壇壤土) を用いた。

土壌の性質は以下の通りであった。

特性項目	茨城土壌	
最大含水量 (%)	89.9	
全炭素 (%)	2.18	
全窒素 (%)	-	
陽イオン交換容量 (me/100g)	16.8	
pH (H2O) 1:2.5	5.7	
粒徑組成	粗砂 (%)	14.2
	細砂 (%)	45.1
	シルト (%)	19.8
	粘土 (%)	20.9
土性	SCL	

試験方法:

土壌の調製:

土壌をガラス容器に入れ、水深 1cm となるよう調整して暗所 30°C で 2 週間予備培養を行い湛水条件とした。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

標識化合物の処理方法及びその量：

標識化合物を水に懸濁し、土壤に処理量が0.3 ppm（乾土あたり）となるように添加、攪拌した。

培養方法：

培養は30℃の暗所で行った。培養期間中、各土壤にポリウレタンフォームおよび20%モノエタノールアミン水溶液のトラップを設置し、ガスを通気することで、揮発性放射性化合物および放射性二酸化炭素を捕集した。

試料の採取：

処理後0、3、6、12、24、48、96時間

放射能量の測定：

採取した土壤試料を下記に示したスキームで抽出し、放射能量を測定した。TLCを用いて、参照標準品とのクロマトグラフィーによって分解物の定量および同定を行った。

トラップに用いたポリウレタンフォームは、トルエンにより揮発性放射性化合物を抽出し、放射能量を測定した。また、20%モノエタノールアミン水溶液は一定量を分取し、放射能量を測定した。

分析方法スキーム

土壤試料



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

各抽出面分の分解物の生成量を下表に示した

(処理放射能に対する割合、%)

面分	分解物および その誘導体	処理後の経過時間								
		0	3	6	12	24	48	96		
揮発性	<sup>14</sup> C <sub>2</sub>	0	0.8	4.0	9.0	19.6	34.7	56.7		
	その他	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		
	計	0	1.0	4.2	9.0	19.7	34.8	56.8		
クロロホルム抽出	ジクロロメタン層	親化合物 <sup>1)</sup>	2.2	1.8	1.4	1.0	0.6	0.6	0.2	
		—	78.0	66.0	59.4	49.2	32.4	18.2	6.6	
		—	0.7	0.2	0.3	0.1	0.1	<0.1	<0.1	
		—	1.3	1.4	1.2	1.2	0.6	0.3	0.1	
		原点	0.2	0.1	0.2	<0.1	0.1	0.1	0.1	
		その他	3.3	3.0	2.6	2.2	2.0	1.2	0.8	
		小計	85.7	72.4	65.0	53.6	35.8	20.4	7.8	
	水層	0.8	0.6	0.6	0.4	0.4	0.2	0.1		
	計	86.5	73.1	65.6	54.2	36.0	20.5	7.8		
	水溶性	ジクロロメタン層	未固定分解物	—	0.2	2.6	2.8	2.7	1.8	0.6
—				0.1	<0.1	0.1	0.1	<0.1	<0.1	<0.1
9				1.2	0.6	0.3	0.4	0.2	<0.1	<0.1
8				0.4	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
7				0.1	<0.1	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
6				0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	<0.1	<0.1
5				<0.1	<0.1	<0.1	0.1	<0.1	<0.1	<0.1
4				<0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	<0.1
3				<0.1	<0.1	0.2	0.1	<0.1	<0.1	<0.1
2				<0.1	0.2	0.2	0.2	<0.1	0.1	<0.1
1		<0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	<0.1	<0.1		
原点		0.1	0.2	0.4	0.3	0.5	0.6	0.2		
その他		1.6	1.4	1.7	1.5	1.4	1.0	0.6		
小計		3.8	5.6	6.4	6.0	4.4	2.4	1.0		
水層	0.6	1.8	2.4	2.6	2.4	2.3	1.2			
計	4.4	7.4	8.7	8.6	6.8	4.6	2.2			
抽出残渣		5.6	10.0	11.6	14.0	18.9	20.6	19.4		
総合計		96.5	91.4	90.1	85.9	81.4	80.6	86.2		
親化合物の半減期		27.5 時間								

1)： として検出

表中の数値はJISの方法によって算出した2連の平均値(%)、<0.1はゼロとして扱った

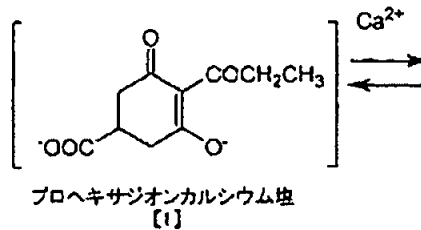
本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

放射能分布：土壤中放射能は速やかに減衰し 96 時間後までに処理量の 56.7%が二酸化炭素として放出された。クロロホルム画分の放射能量は 12 時間で 54.2%、96 時間で 7.8%に減少した。水溶性画分の放射能量は 12 時間後で 8.6%であったのに対し、96 時間後では 2.2%となった。抽出残渣は経時的に増加し 96 時間で 19.4%に達した。

クロロホルム画分の代謝物： による添加回収率は 77.8～  
78.3%であった。クロロホルム画分を したところ、一部  
や分解物も検出されたが、大部分は であった。分解物として  
がそのメチル誘導体とともに、合計で最大 2.0%検出された。  
TLC 上で明確にスポットとして認められない放射性成分（その他）は最大 3.3%であった。  
プロヘキサジオンカルシウム塩の半減期は一次速度式から 27.5 時間と算出された。

水溶性画分の代謝物： がそれ  
それぞれ最大で 2.8%および 0.1%検出された。 については、24 時間以  
降は検出されなかった。その他 9 種類の未同定分解物が検出されたが、検出量は 1.2%以下  
であった。

以上から、プロヘキサジオンカルシウム塩の土壤中における代謝・分解は極めて速やかで、96 時間で  
処理量の 56.7%が二酸化炭素 にまで分解され、二酸化炭素が最も主要な分解物と考えられた。そ  
の他の分解物として が認められた。抽  
出残渣中の放射能量は処理量の 20.6%まで増加した。親化合物の半減期は 27.5 時間であった。  
プロヘキサジオンカルシウム塩の土壤中推定代謝経路を以下に示した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(3) 土壌中運命試験

(資料 8-9)

- 土壌バウンドレシデュアの分画 -

試験機関：

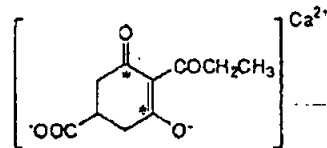
[非 GLP]

報告書作成年：

供試標識化合物：シクロヘキセン環の3または5位を  $^{14}\text{C}$  で標識した。

名称 シクロヘキセン環  $^{14}\text{C}$  標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\*:  $^{14}\text{C}$  標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

供試土壌：菊川土壌（沖積土）および茨城土壌（火山灰土）を用いた。

土壌の性質は以下の通りであった。

特性項目	菊川土壌	茨城土壌
最大容水量 (%)	62.6	102.7
全炭素 (%)	1.48	2.18
塩基置換容量 (me/100g)	11.2	16.8
pH (H2O)	5.48	5.70
土性	CL	SCL

試験方法：

土壌の調製：以下の条件で調製した。

灌水条件：各土壌を三角フラスコに入れ、水深を 10~15 mm に保って暗所 30°C で 8 日間前培養を行った。

畑地条件：各土壌を三角フラスコに入れ、最大容水量の 50% に水分を調整して暗所 30°C で 8 日間前培養を行った。

標識化合物の処理方法及び濃度：

標識化合物を土壌に処理量が 0.3 ppm (乾土あたり) となるように添加し、混合した。

培養方法：

培養は 30°C の暗所で 29 日間行った。培養期間中、5N 水酸化ナトリウム水溶液を入れたバイアル瓶を三角フラスコ内に吊るし、放射性二酸化炭素を捕集した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### バウンドレシデュースの調製：

灌水条件：培養土壌を入れた三角フラスコをトルエンおよび 5N 水酸化ナトリウム水溶液を含むト  
ラップに連結した。土壌に硫酸を加えて pH を約 1 に調整し、窒素ガスを通気して土壌  
中に溶存する放射性二酸化炭素を捕集した。土壌に硫酸、水、アセトンを加えて振とう  
抽出、吸引ろ過し、土壌残渣をアセトンで洗浄してこれを土壌バウンドレシデュースとし  
た。抽出液は濃縮後、クロロホルム抽出し、水層画分と分けた。

畑地条件：土壌に硫酸およびアセトンを加えて振とう抽出、吸引ろ過し、土壌残渣をアセトンで洗  
浄した。抽出液は濃縮後、クロロホルム抽出し、水層画分と分けた。

#### バウンドレシデュースの分画：

土壌抽出残渣を風乾し、0.5N 水酸化ナトリウム水溶液を加えて振とう、遠心分離して上澄液を採取  
した。この沈殿物（土壌残渣）をヒューミン画分とした。

上澄液に塩酸を加え pH1~2 とし、遠心分離して上澄液を採取した。この上澄液をフルボ酸画分、  
沈殿物を腐食酸画分とした。さらにフルボ酸画分は 6N 硫酸を加えてその溶液の硫酸濃度を約 1N に  
した後、クロロホルム抽出してフルボ酸のクロロホルム画分と水層画分に分けた。

#### 放射エネルギーの測定：

トラップ溶液、クロロホルム層、水層および腐食酸画分をそれぞれシンチレーターに溶かし、液体  
シンチレーションカウンターで放射エネルギーを測定した。

土壌残渣およびヒューミン画分は湿式酸化法で生成した放射性二酸化炭素をアルカリシンチレー  
ターに捕集して測定した。5N 水酸化ナトリウム水溶液中の放射性二酸化炭素は炭酸バリウム沈殿法  
で確認した。

土壌試料の抽出、分画のスキームを下記に示した。

#### バウンドレシデュースの調製（灌水条件）

土壌試料

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

バウンドレシデュースの調製 (畑地条件)  
土壌試料

バウンドレシデュースの分画  
土壌抽出残渣

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

土壌バウンドレシデュの割合：29日間の培養での土壌中放射能量の分布割合を下表に示した。

画分	処理量に対する割合 (%)				
	菊川土壌		茨城土壌		
	湛水	畑地	湛水	畑地	
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub> (捕集)	48.9	62.7	49.0	70.2	
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub> (溶存)	0.1	-	0.1	-	
小計	49.0	62.7	49.1	70.2	
揮発性成分	<0.1	-	0.1	<0.1	
抽出液	クロロホルム層	1.2	1.3	3.0	1.3
	水層	1.9	2.0	2.6	1.3
土壌残渣	15.7	14.7	20.1	12.0	
合計	67.8	80.7	74.9	84.8	

- : 分析せず

何れの土壌および培養条件においても放射性二酸化炭素が主要な分解物であり、処理量の 48.9～70.2%が回収された。また、湛水条件に比べ畑地条件で多く検出された。土壌残渣 (バウンドレシデュ) 中の放射能量は 12.0～20.1%であり、土壌の種類および条件による差は認められなかった。土壌抽出液中の放射能量は最大で 5.6%であった。

土壌バウンドレシデュの分画：

各分画中の放射能量の分布を下表に示した。

画分	処理量に対する割合 (%), 下段()内は分布割合 (%)				
	菊川土壌		茨城土壌		
	湛水	畑地	湛水	畑地	
ヒューミン	9.2 (58.6)	8.5 (57.6)	14.9 (74.1)	7.7 (64.2)	
腐植酸	2.5 (15.9)	2.6 (17.7)	1.9 (9.5)	2.1 (17.5)	
フルボ酸	クロロホルム層	0.3 (1.9)	0.2 (1.4)	0.6 (3.0)	0.2 (1.7)
	水層	3.7 (23.6)	3.4 (23.1)	2.7 (13.4)	2.0 (16.7)
合計	15.7 (100.0)	14.7 (100.0)	20.1 (100.0)	12.0 (100.1)	

土壌バウンドレシデュ画分中の放射能量の分布は土壌の種類および条件に係らずほぼ同じ傾向であった。放射性成分の多くがヒューミン画分に存在し (処理量に対して 7.7～14.9%)、次いで腐植酸およびフルボ酸の水層画分に分布した。フルボ酸のクロロホルム画分は処理量に対して 0.6%以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(4) 嫌氣的土壤中運命試験

(資料 8-11)

本化合物は、土壤半減期が 100 日を超えないため、試験を省略した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

#### 4. 水中遊命に関する試験

##### (1) 加水分解試験

(資料 12)

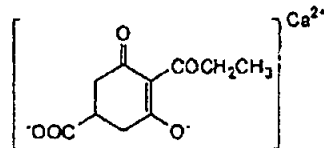
試験機関：

[非 G.I.P.]

報告書作成年：

供試化合物：プロヘキサジオンカルシウム塩 標品

化学構造



化学名

calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

純度

試験方法：OECD テストガイドライン 111 「pH の関数としての加水分解」(1981 年)に従って試験を実施した。

試験水：以下の緩衝液を用いた。

pH 4.0 フタル酸緩衝液：0.1N 水酸化ナトリウム 4 ml+0.1N フタル酸水素カリウム 500 ml+水で 1 l に定容

pH 7.0 リン酸緩衝液：0.1N 水酸化ナトリウム 296.3 ml+0.1N リン酸-カリウム 500 ml+水で 1 l に定容

pH 9.0 ホウ酸緩衝液：0.1N 水酸化ナトリウム 213 ml+ (0.1N 塩化カリウム+0.1N ホウ酸) 500 ml+水で 1 l に定容

試験溶液の調製：供試化合物を純水に溶解し、飽和溶液を調製する。この溶液を各緩衝液で希釈し、試験溶液とした。

濃度：77.0 ppm

温度：

予備試験 (pH 4, 7, 9)：50℃

試験 pH 4：20℃

pH 7：40, 60℃

試料の採取：以下の通り試料を採取した。

予備試験：試験溶液調製直後、5日後

pH 4, 20℃：試験溶液調製直後、5, 22, 48, 72, 144, 216, 264 時間後

pH 7, 40℃：試験溶液調製直後、72, 144, 240, 312, 408, 504, 576 時間後

pH 7, 60℃：試験溶液調製直後、5, 22, 26, 32, 48, 69, 77 時間後

分析：

試料を内標液と混合して HPLC に注入し、UV 検出器で検出した。プロヘキサジオンカルシウム塩は内標液中で となるため、これを定量することでプロヘキサジオンカルシウム塩の変化



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

を観察した。

計算方法：

半減期の算出：プロヘキサジオンカルシウム塩の半減期を以下の方法により求めた。

$$\log C = - ( K / 2.303 ) t + \log C_0$$

より速度定数を算出し、以下の式から半減期  $t_{1/2}$  を算出した。

$$t_{1/2} = 0.693 / K$$

ただし

K = 速度定数

C = 時間 t における濃度

$C_0$  = 初期濃度

pH 7 の緩衝液を用いた試験においては、40℃および 60℃条件下で得られた速度定数からアレニウスの関係式を用いて 20℃での速度定数を推定し、半減期を算出した。

試験結果：

20℃における推定半減期を下表に示す。

pH	20℃での速度定数 K (hr <sup>-1</sup> )	推定半減期
4	$3.4545 \times 10^{-3}$	200 時間
7	$1.595 \times 10^{-4}$	4345 時間
9	-	1 年以上

プロヘキサジオンカルシウム塩は pH 7 以上では安定であるが、酸性条件では不安定である。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) 加水分解運命試験

(資料 3-14、15)

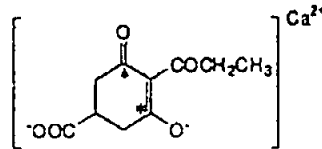
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：シクロヘキセン環の 3 または 5 位を  $^{14}\text{C}$  で標識した。

名称 シクロヘキセン環  $^{14}\text{C}$  標識プロヘキサジオンカルシウム塩  
化学構造



\* :  $^{14}\text{C}$  標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

試験方法：BBA Merkblatt No. 55 (1980 年 10 月) の「農薬の公的試験に関する BBA の指針」に準拠した。

試験水：以下の緩衝液を用いた。

pH 5 緩衝液：40.8 g のフタル酸水素カリウムを溶解した蒸留水 1900 ml + 1M 水酸化ナトリウム 100 ml、この溶液を 1M 水酸化ナトリウムまたは 1M 塩酸で pH 5 に調整

pH 7 緩衝液：19.3 g リン酸二水素カリウムおよび 7.16 g リン酸水素ジナトリウムを溶解した蒸留水 2000 ml を 1M 水酸化ナトリウムで pH 7 に調整

pH 9 緩衝液：12.4 g ホウ酸、14.9 g 塩化カリウムおよび 4.00 g 水酸化ナトリウムを溶解した蒸留水 2000 ml を 1M 水酸化ナトリウムで pH 9 に調整

試験水の滅菌：供試した試験水はオートクレーブ (121°C、15 psi で 20 分間、2 回) で滅菌した。

試験溶液の調製：試験溶液濃度を 1.45 mg/l に設定した。標識体プロヘキサジオンカルシウム塩水溶液の所定量を試験水に添加し、試験溶液を調製した。

試験温度：いずれの pH 緩衝液の場合も 20、50 および 70°C

試料の採取：試験開始後 0、1、2、4、8、16、30 日

分析方法：

プロヘキサジオンカルシウム塩の検出および定量：

HPLC で定量を行った。

放射性成分の定量および同定：採取試料に予想分解物の標準品を添加し、HPLC コクロマトグラフィーを行った。HPLC 溶出液を一定間隔で分取し、その放射能量を LSC で測定した。また、LC/MS により未同定分解物の確認を行った。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

計算方法：

水相からの揮発性：水溶解度および蒸気圧を求め、水相からの揮発性を以下の式により計算し、計算結果から揮発性を評価した。

$$\text{揮発性係数} = \text{水溶解度 (mg/L)} / \text{蒸気圧 (mbar)}$$

半減期の算出：各 pH 緩衝液の各試験温度および 22°C における半減期をアレニウス関係式から算出した。

試験結果：

1) 緩衝液中のプロヘキサジオンカルシウム塩濃度：

各緩衝液中でのプロヘキサジオンカルシウム塩濃度を下表に示した。

採取時間 (日)	濃度 (mg/l)								
	pH 5			pH 7			pH 9		
	20°C	50°C	70°C	20°C	50°C	70°C	20°C	50°C	70°C
0	1.57	1.56	1.55	2.07	2.04	1.96	2.03	1.99	1.98
1	1.32	0.23	ND	2.10	1.92	1.17	2.00	1.99	1.92
2	1.06	ND	/	2.02	1.62	0.68	1.87	1.92	1.57
4	1.00	/		1.64	1.28	0.70	1.78	1.71	1.53
8	0.60			1.63	0.84	0.28	1.84	1.51	1.34
16	0.19			1.43	0.23	ND	2.01	0.89	0.69
30	ND			0.86	ND	/	1.45	1.28	0.38

ND：検出されず

2) 半減期：

プロヘキサジオンカルシウム塩の pH 5 緩衝液中における分解は速やかであったため、50°C および 70°C における半減期を算出することはできなかった。算出したその他の条件における半減期は次表の通りである。

pH	温度 (°C)	半減期 (日)
5	20	5
	50	<1
	70	<1
	22	<5
7	20	25
	50	5
	70	3
	22	21
9	20	83
	50	48
	70	12
	22	89

2) 水相からの揮発性：

水溶解度および蒸気圧は次表の通りであった。また、算出した揮発性係数は、被験物質の水相からの揮発性は比較的低いことを示すものであった。

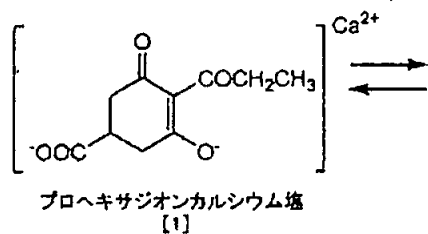
測定項目	測定値	揮発性係数
水溶解度	174.2 mg/L (20°C)	1.3 x 10 <sup>9</sup>
蒸気圧	1.335 x 10 <sup>9</sup> Pa (1.335 x 10 <sup>-7</sup> mbar)	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) 加水分解経路 :

HPLC 分析により および の存在が確認された。

以下にプロヘキサジオンカルシウム塩の推定加水分解経路を示した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(3) 水中光分解運命試験

(資料 B-12)

試験機関：

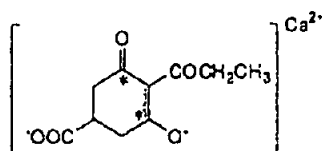
[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：シクロヘキセン環の 3 または 5 位を  $^{14}\text{C}$  で標識した。

名称 シクロヘキセン環  $^{14}\text{C}$  標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\* :  $^{14}\text{C}$  標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

放射化学的純度の確認：

試験の実施前に行った。液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能量を測定し、HPLC によって放射化学的純度を求めた。

試験系：

試験水：以下の試験水を使用した。試験水の滅菌は、バイオハザードキャビネット内で滅菌フィルターを通して行った。

自然水：静岡県掛川市の逆川の河川水を使用した。採取した河川水は使用時まで冷蔵保存した。

試験容器および器具類の滅菌：光照射区は石英ガラス製試験容器を、暗下区は PYREX ガラス製試験管を用い、試験容器および試験水と直接または間接的に接触しうる器具はアルコール滅菌した。各試験区の滅菌状態は、被験物質添加直後および最終試料採取時に、生育コロニー数を算定することで確認した。

光分解装置：光分解装置はキセノンアークランプを光源とし、290 nm 以下の波長をカットするコート処理石英ガラスフィルターを備えた光分解装置 (卓上型キセノン耐光促進試験機サンテスト CPS+, 300~400 nm の波長範囲における試験前および試験後の平均照射強度: 54.08 W/m<sup>2</sup>) を使用した。放射照度は、試験前および試験後に分光放射照度計で測定した。

光照射中の温度管理：試験溶液の水温は 25 ± 2°C に保った。暗下区は、容器をアルミホイルで覆い、25°C に設定した恒温庫内に設置した。

試験方法：

試験溶液の調製：

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験溶液濃度を 10 mg/L に設定した。調整操作は無菌的に行った。標識体プロヘキサジオンカルシウム塩の所定量に滅菌自然水を加え、超音波で溶解して調製した。

揮発性物質の捕集：

揮発性物質の捕集は行わなかった。

試料の採取：

以下の通り試料を採取した。

照射試料：試験溶液調製直後および照射 6、24、48、72、96、120 時間後

暗下区試料：120 時間後

試験水の物理化学的特性：

ろ過滅菌後の試験水の物理化学的特性は以下の通りであった。

検査の対象	単位	検査結果
pH (15℃)	-	7.9
溶存酸素量	mg/L	9.9
懸濁物質量	mg/L	1 未満
全蒸留残留物量	mg/L	360
電気伝導率	mS/m	57.3

分析方法：

放射能量の測定：測定は LSC で行った。

放射性成分の検出および定量：採取試料に標準品を添加し、HPLC コクロマトグラフィーを行った。

HPLC 溶出液を一定間隔で分取し、その放射能量を LSC で測定した。

放射性成分の同定および特徴付け：LC/MS を用いて MS スペクトルを測定することにより、同定および特徴付けを行った。

計算方法：

放射能量および濃度の表示：試料溶液中の放射能量は、濃度および処理量に対する比率 (%) で表示した。

半減期の算出：プロヘキサジオンカルシウム塩の分解を一次反応とみなし、分解速度定数と半減期を算出した。この半減期と実測したキセノン光の平均放射照度から太陽光下（北緯 35℃：東京、春：4～6 月）での推定半減期を算出した。

試験結果：

放射化学的純度：

以下の通り、何れの測定時も 98% 以上であった。

測定時期	純度
試験前	
試験開始前	
試験終了後	

試験溶液の温度および滅菌状態：

試験溶液の平均水温は試験期間を通じて 25±2℃ であった。また試験溶液中の生育コロニー数は以下の通りで、試験期間を通して滅菌状態は維持されていた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

生育コロニー数 (n = 2 の平均値、cfu/mL)

試料	生育コロニー数
ろ過滅菌前	480
ろ過滅菌後	0
試験終了後	0

物質収支：

各試料における <sup>14</sup>C 回収率を下表に示した。試験期間を通して処理放射能量の回収率は 90%以上であった。

(n = 2 の平均値、%)

試験区	照射時間 (時間)	処理放射能量 に対する%	被験物質換算濃度 (ng eq./l.)
光照射区	0	100.0	9.86
	6	100.1	9.87
	24	98.6	9.72
	48	96.6	9.52
	72	94.2	9.29
	96	92.9	9.16
	120	90.0	8.87
暗下区	120	100.1	9.87

プロヘキサジオンカルシウム塩および分解物の定量：

放射性成分の処理放射能量に対する割合を下表に示した。プロヘキサジオンカルシウム塩の濃度は光照射時間とともに減少し照射 120 時間後には処理放射能量の 36.4%となった。10%を超える分解物として [ ] が同定された。 [ ] の濃度は時間とともに増加し、照射 120 時間後に処理放射能量の 29.5%が検出された。また、未同定代謝物 [ ] が 120 時間後で 14.3%検出された。その他、 [ ] が照射 120 時間後で 3.0%生成した。

分解物の推移

HPLC の ピーク 番号	化合物	処理放射能量に対する (%)							
		光照射区							暗下区
		0 hr	6 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr	
#2.7		97.2	88.8	77.0	62.1	52.1	42.9	36.4	96.9
#2.3		0.4	3.9	10.8	16.7	22.6	25.8	29.5	0.5
#2.2		0.1	0.9	3.6	6.8	9.8	11.9	14.3	0.2
#2.4		1.4	2.3	2.8	3.5	3.1	3.5	3.0	1.3
-	その他の合計	0.8	1.3	2.8	3.8	4.4	5.1	5.6	0.8

1)： [ ] として検出

分解物の同定・特徴付け：HPLC のピーク#2.2 [ ] を LC/MS (MS) を使い、同定・特徴付けを行った結果、分子量 206 の化合物と推定されたが、化学構造の推定には至らなかった。

推定半減期：プロヘキサジオンカルシウム塩の推定半減期は 85.6 時間 (3.6 日) と算出された。また、太陽光下での半減期は 25.0 日と推定された。

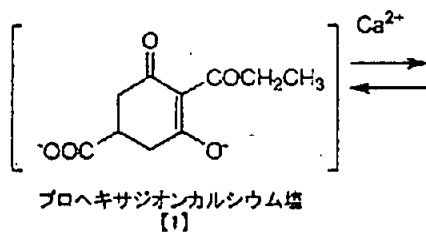
本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

プロヘキサジオンカルシウム塩の推定半減期

供試水	光照射区	
自然水	一次反応速度式	北緯 35° 春の太陽光換算
	3.6 日	25.0 日

推定光分解経路：プロヘキサジオンカルシウム塩は、水中では、  
 する。本化合物の主要な光分解経路は が  
 への開環反応が起こるものと推定された。  
 以下に推定水中光分解経路を示した。

と平衡状態で存在  
 となった後、





本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(4) 水中光分解運命試験

(資料 8-13)

試験機関：

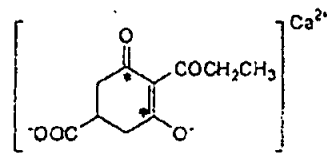
[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：シクロヘキセン環の 3 または 5 位を  $^{14}\text{C}$  で標識した。

名称 シクロヘキセン環  $^{14}\text{C}$  標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\* :  $^{14}\text{C}$  標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

試験系：

試験水：以下の緩衝液を用いた。試験水は、0.2  $\mu\text{m}$  のフィルターを通すことによって、試験溶液の調製直前にろ過滅菌した。

pH 5 緩衝液：チトリゾール濃縮バッファー（クニン酸塩/水酸化ナトリウム）を蒸留水で希釈し調製

pH 9 緩衝液：チトリゾール濃縮バッファー（ホウ酸塩）を蒸留水で希釈し調製

試験容器および器具類の滅菌：試験容器には、照射面が石英板でできた揮発性物質の捕集可能なガラス容器を用い、ガラス容器内部に試験溶液を分注したガラス皿を入れた。使用した全てのガラス器具はオープン（160 $^{\circ}\text{C}$ 、一晚）で乾熱滅菌した。試験開始前および最終試料採取時に試験溶液を添加した培地を培養し、微生物増殖を確認した。微生物増殖は観察されなかったことから、試験溶液の滅菌は、試験期間中維持されていた。

光分解装置：キセノンアークランプ光を、UV フィルターを用いて波長 290 nm 以下をカットして擬似太陽光とし、それを試料に照射した。試料設置部位における光強度は 1,700  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}^*$  に設定した。

\* : ノースカロライナ州において 4 月 25 日から 5 月 5 日までの間（午前 11 時から午後 4 時）で 1 日 2 回測定した値の平均値。この平均値となるよう光分解装置の光強度を調整した。

光照射中の温度管理：試験溶液の水温は 25  $\pm$  1 $^{\circ}\text{C}$  に保った。

試験方法：

試験溶液の調製：

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験溶液濃度を10mg/lに設定した。標識体プロヘキサジオンカルシウム塩の所定量を0.1N塩酸・アセトニトリル(1.2/8.8, v/v)混液に溶解して被験物質原液を調製した。ろ過滅菌して調整したpH5あるいはpH9緩衝液にこの原液を加えて照射試験溶液を調製した(アセトニトリルは1%以下)。試験溶液の濃度、pH、無菌性を確認後、光分解容器に分注した。

揮発性物質の捕集：

放射性二酸化炭素および揮発性放射性物質を水酸化ナトリウム捕集液およびエチレングリコール捕集液で捕集した。

試料の採取：

以下の通り試料を採取した。

照射試験料：照射開始0、26、49、68、96、120、141、169、219、294、360時間後

暗下区試験料：0、24、48、96、120、144、168、216、288、360時間後

分析方法：

放射能量の測定：測定はLSCで行った。

放射性成分の検出および定量：HPLC分析を行った。HPLC溶出液を一定間隔で分取し、その放射能量をLSCで測定した。

放射性成分の同定および特徴付け：GC/MSおよびLC/MSを用いてMSスペクトルを測定することにより、同定および特徴付けを行った。

試験結果：

物質収支：

各試料における<sup>14</sup>C回収率を下表に示した。試験期間を通して処理放射能量の回収率は90%以上であった。

物質収支

試料		処理放射能量に対する割合 (%)						
		試験溶液		揮発性物質		合計		
		pH 5	pH 9	pH 5	pH 9	pH 5	pH 9	
照射	pH 5	0 hr	100.0	100.0	-	-	100.0	100.0
		26 hr	100.9	102.0	-	-	100.9	102.0
		49 hr	96.93	103.5	-	-	96.93	103.5
		68 hr	86.99	96.74	6.42	-	93.41	96.74
		96 hr	100.2	92.67	7.52	1.58	107.8	94.25
		120 hr	84.51	97.37	8.43	-	92.94	97.37
		141 hr	98.42	93.22	1.60	0.20	100.1	93.42
		169 hr	90.92	96.40	1.91	-	92.83	96.40
		219 hr	88.31	96.01	4.14	-	92.45	96.01
		294 hr	86.67	98.23	4.57	-	91.24	98.23
	362 hr	85.88	94.11	8.08	0.78	93.96	94.89	
暗下		0 hr	100.0	100.0	-	-	100.0	100.0
		360 hr	98.55	103.2	-	-	98.55	103.2

-: 分析せず

プロヘキサジオンカルシウム塩および分解物の定量：

放射性成分の処理放射能量に対する割合を次表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

光照射試料中の分解物の推移

試料	分解物の種類と定量結果 (処理放射能に対する割合 %)						
	親化合物 <sup>1)</sup>						
pH 5	0 hr	97.26	1.62	1.12	nd	nd	nd
	26 hr	57.33	2.34	19.49	4.28	14.99	0.47
	49 hr	42.16	1.81	18.83	6.93	25.04	2.16
	68 hr	24.38	3.42	17.59	5.10	32.53	3.98
	96 hr	20.07	4.02	16.20	7.46	47.91	4.58
	120 hr	14.28	3.59	16.25	6.32	39.57	4.49
	141 hr	19.75	2.28	18.86	8.33	44.85	4.37
	169 hr	13.14	1.69	16.22	7.76	48.64	3.45
	219 hr	8.26	nd	72.76 <sup>2)</sup>	7.29	nd	nd
	294 hr	5.40	nd	71.98 <sup>2)</sup>	9.29	nd	nd
	362 hr	4.61	nd	72.77 <sup>2)</sup>	8.50	nd	nd
pH 9	0 hr	97.97	nd	2.03	nd	nd	nd
	26 hr	91.90	nd	5.93	1.02	3.16	nd
	49 hr	88.15	nd	6.74	1.69	6.91	nd
	68 hr	76.88	nd	3.91	4.80	11.15	nd
	96 hr	72.99	nd	4.40	5.22	10.06	nd
	120 hr	73.83	nd	8.60	6.21	8.74	nd
	141 hr	60.17	nd	8.54	10.48	14.03	nd
	169 hr	48.13	nd	8.27	10.16	29.85	nd
	219 hr	43.67	nd	8.37	13.89	30.07	nd
	283 hr	49.04	nd	8.55	18.88	19.95	1.82
	362 hr	42.92	nd	8.40	18.31	23.06	1.41

nd : 検出されず

1) :

2) :

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

暗下区試料中の分解物の推移

試料		分解物の種類と定量結果 (処理放射能に対する割合 %)				
		親化合物 <sup>1)</sup>				
pH 5	24 hr	81.33	14.65	1.53	0.46	0.57
	48 hr	72.39	25.31	0.85	nd	nd
	72 hr	63.06	33.15	1.27	1.06	nd
	96 hr	54.16	43.40	0.99	nd	nd
	120 hr	46.53	49.55	1.19	1.29	nd
	144 hr	42.99	53.45	1.27	0.85	nd
	168 hr	39.30	56.99	1.44	0.82	nd
	216 hr	30.50	64.97	1.39	1.69	nd
	288 hr	22.03	73.62	1.56	1.35	nd
	360 hr	14.48	81.55	1.20	1.33	nd
pH 9	24 hr	102.2	0.47	nd	nd	0.57
	48 hr	101.7	0.56	nd	nd	0.93
	72 hr	96.24	1.16	0.87	2.64	2.30
	96 hr	100.8	nd	nd	1.39	0.99
	120 hr	96.26	1.38	0.79	2.59	2.17
	144 hr	100.4	0.35	nd	1.49	0.95
	168 hr	97.92	0.37	3.42	1.50	nd
	216 hr	100.2	nd	nd	1.97	0.99
	288 hr	94.97	0.83	nd	4.66	2.73
	360 hr	85.75	1.07	5.54	6.39	4.44

nd : 検出されず

1) :                   として検出

pH 5 緩衝液 :

プロヘキサジオンカルシウム塩は光照射により速やかに分解し、照射 362 時間後には 4.61%まで減少した。主要な分解物は                   であった。照射 169 時間で |                   は、それぞれ 16.22%および 48.64%まで増加した。また照射 362 時間では および                   を合わせて 72.77%であった。その他、|                   が最大 9.29%、                   が最大 4.02%、未同定代謝物が最大 4.58%検出された

暗下区試料においてもプロヘキサジオンカルシウム塩は速やかに分解し、360 時間後には 14.48%まで減少した。一方、                   が 360 時間で 81.55%まで増加した。

pH 9 緩衝液 :

プロヘキサジオンカルシウム塩は光照射により緩やかに分解し、照射 362 時間で 42.92%となった。                   が主要な分解物として検出され、照射 362 時間で 23.06%であった。また、                   も最大 18.88%検出された。その他、                   が最大 8.6%認められた。暗下区試料では、360 時間で親化合物が 85.75%残存しており、pH 9 緩衝液中で安定であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

推定半減期：pH 5 緩衝液においては、暗下区試料で加水分解が認められたため、暗下区試料の親化合物残留量で照射試料中の親化合物残留量を補正し、光分解速度を求め、半減期を算出した。pH 9 緩衝液中では、加水分解による影響が少なかったことから、照射試料中の親化合物残留量をもとに半減期を算出した。半減期を次表に示した。

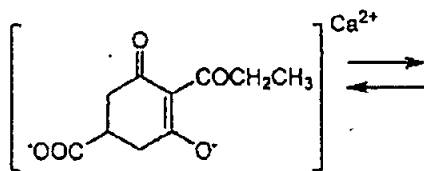
プロヘキサジオンカルシウム塩の推定半減期

推定半減期		
pH 5 緩衝液		pH 9 緩衝液
補正あり <sup>1)</sup>	補正なし <sup>2)</sup>	
8.67 日	3.61 日	11.41 日

1)：加水分解による影響を補正して計算した。

2)：加水分解による影響を補正せず計算した。

推定光分解経路：以下にプロヘキサジオンカルシウム塩の推定光分解経路を示した。



プロヘキサジオンカルシウム塩  
[1]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

5. 土壌吸脱着性

(1) 土壌吸脱着試験

(資料 II)

試験機関：

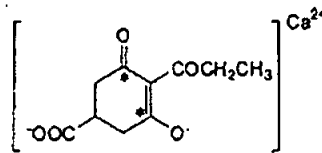
[非 GLP]

報告書作成年：

供試標識化合物：シクロヘキセン環の3または5位を<sup>14</sup>Cで標識した。

名称 シクロヘキセン環<sup>14</sup>C標識プロヘキサジオンカルシウム塩

化学構造



\*：<sup>14</sup>C標識の位置

化学名 calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohex-3-enecarboxylate

ロット番号

比放射能

放射化学的純度

供試土壌：以下の4種類の土壌を供試した。

- I：長野土壌 長野県菜花弁試験場内畑土壌
- II：古川土壌 日本植物調節剤研究協会研究所古川試験地内水田土壌
- III：茨城土壌 第一化学薬品(株)東海研究所内水田土壌
- IV：菊川土壌 クミアイ化学工業(株)生物科学研究所内水田土壌

測定項目	I 長野土壌	II 古川土壌	III 茨城土壌	IV 菊川土壌	
土壌群名	表層多腐植質 黒ボク土	細粒強グライ土	火山灰砂質 埴壇土	沖積埴壇土	
土性	L (埴土)	LiC (軽埴土)	SCL (砂質埴壇土)	CL (埴壇土)	
粒径組成	砂 %	57.2	14.0	59.3	48.8
	シルト %	37.4	44.1	19.8	25.5
	粘土 %	10.4	41.9	20.9	20.5
有機炭素含有率%	12.5	3.60	2.57	1.76	
pH (H2O)	4.7	5.0	5.6	5.4	
pH (KCl)	4.2	3.7	4.4	4.1	
陽イオン交換容量 CEC (me/乾土 100g)	47.5	26.5	19.7	12.4	
りん酸吸収係数 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/乾土 100g)	2290	1280	1130	620	
粘土鉱物の種類	パーキョライト、 カオリン鉱物	モンモリロナイト、 カオリン鉱物	パーキョライト、 イライト	イライト、 カオリン鉱物	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験方法：

供試土壌の調整：オートクレーブ殺菌土壌 5 g に 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  水溶液 15 ml を加え 16 時間振とうし、コンディショニングした。

土壌/水比：1/4

濃度：5、1、0.2、0.04  $\mu\text{g/ml}$  0.01 M  $\text{CaCl}_2$  水溶液

温度：25℃

吸着平衡化時間：5.0  $\mu\text{g/ml}$ 、4 土壌で 4、24、48、72、96 時間振とうし、上澄み液中濃度の変化が少なくなった時点を平衡化時間とした。

物質収支：5.0  $\mu\text{g/ml}$ 、4 土壌で 72-96 時間振とうした試料で測定した。

吸着操作：コンディショニングした土壌に 4 濃度の被験物質溶液を加え、25℃で振とうした。

分析：

1) 水相：上澄み液の一定量をあらかじめ液体シンチレーターを入れたバイアルに採取し、液体シンチレーションカウンターで放射能の総量を測定した。次に、上澄み液に 6N 硫酸 3.5 ml およびキャリアーとしてプロヘキサジオンを加えた後、酢酸エチルで 3 回抽出した。酢酸エチル溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、一定量を採取し放射エネルギーを測定し、残りの一部はシリカゲル薄層クロマトグラフィーに供試した。

2) 土壌：土壌試料に 6N 硫酸 0.5ml、アセトン 12ml を加え 30 分間振とう抽出した。遠心分離後、上澄み液を採取した。残渣にアセトン 5ml を加え、振とう後、再度遠心分離した。上澄み液を合わせ、その一定量を採取し、放射エネルギーを測定した。次に、上澄み液にキャリアーとしてプロヘキサジオンを加えた後、酢酸エチルで 3 回抽出した。酢酸エチル層を脱水濃縮後、酢酸エチルで定容し、一定量を採取し放射エネルギーを測定した。残りの一部はシリカゲル薄層クロマトグラフィーに供試した。

抽出残渣は、風乾後一定量を採取し、サンプルオキシゲイザーで燃焼させ、残存する放射エネルギーを測定した。

試験結果：

1) 平衡化時間：

- I 長野土壌：48 時間
- II 古川土壌：72 時間
- III 茨城土壌：72 時間
- IV 菊川土壌：48 時間

2) 物質収支：5.0  $\mu\text{g/ml}$ 、4 土壌で測定した結果、以下の通りであった。

- I 長野土壌：72 時間後で 79.5%
- II 古川土壌：72 時間後で 84.7%
- III 茨城土壌：72 時間後で 86.6%
- IV 菊川土壌：96 時間後で 69.9%

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 3) 等温吸着係数

吸着パラメータを下表に示した。

土壌	$1/n^{1)}$	$K_F^{ads}$	$r^{1)}$	OC% <sup>2)</sup>	$K_F^{ads/OC^{3)}$
I 長野土壌	0.995	475	0.999	12.5	3800
II 古川土壌	0.943	64.6	1.00	3.60	1790
III 茨城土壌	0.947	52.4	1.00	2.57	2040
IV 菊川土壌	0.932	16.2	1.00	1.76	920

1) : Freundlich の吸着等温式の定数項と相関係数

2) : 土壌の有機炭素含有率

3) :  $K_F^{ads}$  を OC% で割り求めた有機炭素吸着係数

K 値と有機炭素含有率の一次相関をとり、その勾配から  $K_F^{ads/OC}$  を求めた。

$K_F^{ads/OC} = 4330$	$a = -69.0$	$r = 0.998$
-----------------------	-------------	-------------



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

## 6. 生物濃縮性

(資料 16)

プロヘキサジオンカルシウム塩の  $n$ -オクタノール/水分配係数は 3.5 未満 (資料 10) であることから、平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号、平成 20 年 3 月 31 日一部改正 19 消安第 14966 号) 第 4. 試験成績の提出の除外について、別表 2 に基づき、本試験成績は省略できるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## 7. 代謝・分解のまとめ

プロヘキサジオンカルシウム塩の動物、植物、土壌中における代謝・分解および環境に関する試験の要約は次のとおりである。また、代謝経路および各試験結果の概要をそれぞれ図および表に示した。

### (1) 動物

#### ・吸収、排泄、分布

ラットに経口投与（低用量群：50mg/kg、高用量群：500mg/kg）された標識体プロヘキサジオンカルシウム塩は消化管から速やかに吸収され、全血および血漿中の最高濃度時間は雌雄、および低用量、高用量群とも投与30分後であった。

血中の減衰半減期は7～12時間であったが、高用量群の雄のみ個体別変動が大きかったため約50時間を示した。

最高血中濃度は低用量群では雌雄差を認めなかったが、高用量群では雄の方が雌のほぼ2倍高い値を示した。最高血中濃度の高用量：低用量の比は雄で1.5、雌で0.8となり、薬物動態学的挙動に雌雄差が認められた。

時間曲線下面積(AUC)を比較すると、低用量群では雄より雌で高く、高用量群では雄が高かったが、高用量を投与しても用量が増大したほどAUCは増加しなかった。

放射性成分の排泄は速やかで、主な排泄経路は低用量では尿中、高用量では糞中であり168時間までにそれぞれ投与量の76～83%、および58～61%が排泄された。体内残留はいずれの試験群でも認められなかった。

胆汁中への排泄率は0.2～0.3%と極めて僅かであった。また、呼気中への排泄も殆どなかった。

組織中への放射性成分の取り込みも速やかで概ね投与30分後に最高濃度を示し、6時間後から減少し168時間後では極めて低い値となり、低用量群では多くの組織・臓器で検出されなかった。

体内残留放射能も速やかに減少し、反復投与群でも体内蓄積性は認められなかった。

#### ・代謝

投与されたプロヘキサジオンカルシウム塩の殆どは  として尿糞中に排泄され、特に高用量群では投与量の61～68%に達し、低用量群では尿中に、高用量群では糞中に多かった。

主要代謝物として  と推定される  が尿中のみ認められ、この抱合体はβ-グルクロニダーゼや酸処理によっては影響を受けなかったが、アルカリ処理によって加水分解され  となった。また、i.C/MSによる解析でもこの抱合体の存在が指示された。

その他、代謝物として  が糞中のみ0.2～2.3%が認められた。肝、腎中の放射性成分は殆どが  であり、その割合も少なかった（投与量に対して0.31

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

～1.58%)。

低および高用量群、あるいは雌雄間で代謝物の種類に差は認められなかった。

以上のことから、プロヘキサジオンカルシウム塩は主として およびその  
として、また一部は として代謝・排泄されると考えら  
れた。

## (2)植物

### ・イネ代謝

出穂期のイネ茎葉部に標識体プロヘキサジオンカルシウム塩を30 g aiまたは3 g ai/10a処理し、25日後(中間採取)および収穫期(50日後)に根、茎、葉、穂または穀殻・玄米について放射能および代謝物を測定した。

葉部茎葉部位から他の部位への放射性成分の移行は少なかった。茎葉部からの移行性が小さい事はイネ幼苗を用いた別の試験でも再確認されたが、根部水耕液処理および茎葉基部処理では移行性が認められた。

玄米中の大部分は水溶性あるいは不溶性物質で、親化合物は処理量の0.2%またはそれ以下であった。代謝物としてプロヘキサジオンカルシウム塩の

およびそのシクロヘキサン環が開裂した がそれぞれ処理量の0.1%検出された。 は植物体中の有機酸として自然界に存在する物質である。

茎葉部中の多くは も僅かに存在した。特に は水層画分の主な代謝物であった。

処理25日後での代謝物としても が少量ながら各部位で検出された。

玄米抽出残渣中の放射能はでんぷん構成成分あるいは水溶性代謝物として存在し、茎葉部ではセルロースの加水分解物である糖画分に由来していた。

以上のとおり、処理されたプロヘキサジオンカルシウム塩は に代謝されたがその量は極く僅かであった。また、一方では植物体中の構成成分に取り込まれて存在した。

### ・ラッカセイ代謝

植物移植 91 日後に 1.12 kg ai/ha 相当量(年間最大散布量の 2.7 倍)の標識体プロヘキサジオンカルシウム塩を処理した。処理 22 日後の試料(収穫期)からは、豆(仁)、莢(外殻)、茎葉部(乾草)の総放射能残留量(TRR)がそれぞれ 4.15 ppm、2.50 ppm、36.5 ppm 検出された。各部位の主要な残留物は であり、この他に 並びにこの代謝物生成に至る

および 等のマイナーな中間体が数個検出された。また、抽出残渣を検討した結果、放射能は蛋白画分、糖画分、リグニンなどに分画された。子実、莢、茎葉部の 3 部位において 15~21%TRR がこれら植物体を構成する有機化合物であり、24~52%TRR がプロヘキサジオンを主体とする有機溶媒可溶性成分、残りの 23~27%が極性抱合体や種々の極性物質であった。

以上のことから、プロヘキサジオンカルシウム塩は主として を経て、糖や脂質などの天然物への変換と考えられた。

#### りんご代謝

りんごでは、標識体プロヘキサジオンカルシウム塩を果実に35日間隔で2回、通常散布量の数倍程度処理し、2回目散布直前および収穫期の果実を分析した。総放射能残留量は、2回目散布直前：0.323 ppm、収穫物：0.305 ppmであった。代謝物のHPLC法による検討からイネ、ラッカセイと同様の代謝物が同定された。また、イネおよびラッカセイにおいて存在が推定された  
から生成すると推定される  
に至る2つの代謝中間体  
が  
検出された。これら代謝物の同定はシクロヘキセン環の開裂過程をより詳細に解明できたものであった。

#### キャベツ代謝

5~6葉期キャベツに<sup>14</sup>C標識体を塗布処理し経時的に地上部（処理葉、非処理茎葉）および地下部（根及び土壌）を採取した。地上部の残留量は処理7日後で31.1ppm、14日後で28.2ppm、21日後で20.5ppmであった。代謝物を  
しHPLC法により分析した結果、主代謝物はイネ、ラッカセイおよびりんごと同様の  
であった。キャベツにおける代謝経路も前記作物と同様にプロヘキサジオンカルシウム塩は先ず  
に変化し、酸化反応により  
および  
に変換される経路であると推察された。

#### (3) 土壌

プロヘキサジオンカルシウム塩は畑地および湛水条件の土壌中では極めて速やかに二酸化炭素  
にまで分解され、その生成量は30日後で処理量の70%以上に達し、最も主要な分解物であった。

親化合物としての半減期は1日以内で、二酸化炭素の発生量も含め土壌の種類や試験条件による差は認められなかった。

その他の土壌中代謝物として  
が同定されたが、それぞれ処理量の3%および0.1%と極く少量検出されたに過ぎなかった。

減菌土壌を用いた試験では分解は大幅に抑制され、二酸化炭素の発生量も非常に少なくなったが、湛水条件では11~40%まで達した。半減期は畑地条件で110日以上、湛水条件で24~30日となった。これらのことからプロヘキサジオンカルシウム塩の分解には土壌微生物が大きく関与していると考えられた。

土壌抽出残渣(バウンドレシデュール)中の放射能量は処理量の10~20%程度を占め、土壌の種類や試験条件によって大きな差を示すものではなかった。

バウンドレシデュール中の放射能は多くがヒューミン画分に分布し(処理量に対して7.7~14.9%)、次いで腐植酸およびフルボ酸の水層画分が多く、フルボ酸の有機層画分中では0.6%以下であった。

#### (4) 加水分解

20℃でのプロヘキサジオンカルシウム塩の水中での半減期はpH 5で5日、pH 7で25日、pH 9で83日と算出された。分解物として  
が確認された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

#### (5) 水中光分解試験

滅菌自然水中のプロヘキサジオンカルシウム塩は光照射により減少し、半減期は3.6日（太陽光換算で25.0日）であった。主要な代謝物として  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  が検出され、照射120時間で処理放射能量の29.5%となった。その他、 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  が照射120時間後に3.0%検出された。照射120時間で14.3%検出された分解物は分子量206の化合物と推定された。

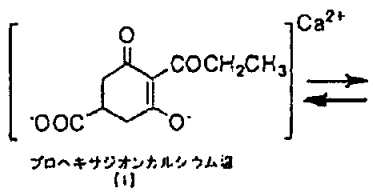
pH 5緩衝液中のプロヘキサジオンカルシウム塩は光照射により速やかに分解され、 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  が主要な代謝物として、照射169時間でそれぞれ16.2%および48.6%検出された。その他、 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ （最大9.3%）および  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ （最大4.0%）の検出が確認された。また、暗下区においてもプロヘキサジオンカルシウム塩は速やかに分解し、 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  が360時間で81.6%まで増加した。この加水分解による影響を補正して計算した推定半減期は8.67日（補正なし；3.61日）であった。

pH 9緩衝液では、pH 5緩衝液中に比べ緩やかに分解し、 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  が主要な代謝物として検出された。また、 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  も、それぞれ最大18.9%および8.6%認められた。暗下区での分解は認められなかったことから、加水分解の影響の補正なしに算出した推定半減期は11.41日となった。

#### (6) 土壌吸着係数

プロヘキサジオンカルシウム塩のフロインドリッヒ吸着等温式より求めた $K_f^{ads}$ は長野土壌で3800、古川土壌で1790、茨城土壌で2040、菊川土壌で920であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。



プロヘキサジオンカルシウム塩の動植物、土壤中および水中光による  
想定代謝・分解経路図

代謝・分解の概要

生物等	試験系		試料	期間	親化合物	代謝・分解物										その他	残液	合計						
	試験群	回数				尿	糞	呼吸	尿	糞	呼吸	尿	糞	呼吸	尿				糞	呼吸				
ラット ・投与量に対する%	低用量・単回投与	雄	尿	0~48時間	25.0 (32.0)**	2.7 (8.1)	17.7*	(1.5)									8.2		53.6					
			糞	0.5時間	14.1													1.7	3.7	19.5				
			呼吸	0~6時間	0.9													0.2		1.1				
		雌	尿	0~48時間	20.2 (24.7)	4.2 (11.4)	17.6*	(1.4)				0.1						7.3 (1.3)		19.2				
			糞	0.5時間	18.1													0.7	4.1	22.9				
			呼吸	0~6時間	7.5 (7.8)	0.7 (1.6)	6.6*	(0.4)										1.9 (0.6)		16.7				
	高用量・単回投与	雄	尿	0~48時間	53.4												1.6	8.3	64.4					
			糞	0.5時間	0.4														0.4					
			呼吸	0~6時間	0.3							0.1							0.3					
		雌	尿	0~48時間	3.4 (3.9)		3.7											1.7		8.8				
			糞	0.5時間	64.6			2.3										1.1	9.2	77.2				
			呼吸	0~6時間	31.6 (46.4)	1.9 (6.2)	21.3*	(0.9)										9.3		64.1				
反復投与	雄	尿	0~48時間	22.1												1.0	6.0	29.1						
		糞	0.5時間	22.9 (27.7)	3.2 (7.5)	13.5*	(2.4)									6.6		47.2						
		呼吸	0~6時間	21.3													3.1	5.0	29.4					
	雌	尿	0~48時間	3.3			0.3	0.2									3.4	3.2	10.4					
		糞	25日後*	21.8			1.0	1.7									6.0	3.8	34.3					
		呼吸	25日後*	20.2			1.2	2.8									13.7	11.9	49.8					
雄		尿	0~48時間	1.3			0.1	0.1									1.7	2.4	5.6					
		糞	50日後*	0.2			0.1	0.1									3.7	4.9	9.1					
		呼吸	50日後*	0.1			<0.1	0.1									1.4	1.3	3.0					
雌	尿	0~48時間	29.5			0.8	1.7									5.5	5.4	42.9						
	糞	25日後*	11.8			0.5	1.2									7.2	13.1	33.8						
	呼吸	25日後*	5.2			<0.1	0.1									4.1	2.0	11.4						
	低用量 処理 (3g/10a)	雄	尿	0~48時間	0.2 (0.002)			0.5 (0.004)	0.3 (0.002)								6.0 (0.049)	11.3 (0.092)	18.4 (0.149)					
			糞	50日後*	0.3 (0.010)			0.2 (0.007)	0.4 (0.013)								2.9 (0.124)	2.9 (0.120)	6.8 (0.275)					
			呼吸	50日後*	0.9 (0.009)			0.2 (0.002)	1.0 (0.010)								4.4 (0.044)	4.9 (0.049)	11.6 (0.115)					
雌		尿	0~48時間	5.4 (0.019)			0.7 (0.003)	2.7 (0.009)								15.3 (0.049)	25.2 (0.083)	49.3 (0.163)						
		糞	50日後*	<0.1 (<0.001)			<0.1 (<0.001)	<0.1 (<0.001)								10.9 (0.018)	2.2 (0.004)	14.3 (0.022)						
		呼吸	50日後*	0.1			0.1	0.1								3.7	4.9	9.1						
イネ 植物中放射能 に対する%	高用量 (30g/10a)	地上部	処理 21日後	26.38 (5.41)			2.20 (0.45)	0.27 (0.05)							0.86 (0.18)			100						
		根	処理 21日後	26.38 (5.41)			2.20 (0.45)	0.27 (0.05)								0.86 (0.18)			100					
ちっか せい %TRR (ppm)	1.12 kg /10a 単回 処理	乾草	地上部	処理 21日後	35.10 (12.8)			1.69 (0.615)	12.7 (4.63)							5.79 (2.12)			89.35 (32.59)					
			根	処理 21日後	35.10 (12.8)			1.69 (0.615)	12.7 (4.63)								5.79 (2.12)			89.35 (32.59)				
		刈草	地上部	収穫期 (22日後)	9.66 (0.24)			2.54 (0.06)	15.9 (0.40)								7.48 (0.19)			71.93 (1.86)				
			根	収穫期 (22日後)	9.66 (0.24)			2.54 (0.06)	15.9 (0.40)								7.48 (0.19)			71.93 (1.86)				
りんご %TRR (ppm)	1.96 kg/ha 果実に散布	果実	地上部	収穫期 (45日後)	1.83 (0.0056)			5.53 (0.0169)	1.24 (0.0038)							9.21 (0.0281)	5.33 (0.0163)	2.60 (0.0079)	11.78 (0.0359)	7.68 (0.0234)	2.44 (0.0074)	47.05 (0.1436)	2.21 (0.0067)	96.92 (0.2956)

生物等	試験系		期間	酸化化合物		代謝・分解物										残渣	合計			
	試験群	試料																		
火山灰砂質壤土 (潜水条件) 処理盤に 対する%			3時間	67.8			4.2	<0.1	0.8								8.7	10.0	91.4	
			12時間	50.2			4.0	0.1	9.0								8.5	14.0	85.9	
			24時間	33.0			2.5	<0.1	19.6								7.6	18.9	81.4	
			96時間	6.8			0.3	<0.1	58.7								3.1	19.4	86.2	
自然水 処理盤に 対する%	光 照射 区	射 区	0時間	97.2			1.4	0.4									0.9		100.0	
			6時間	88.8			2.3	3.9										2.2		97.2
			24時間	77.0			2.8	10.8										6.4		97.0
			48時間	62.1			3.5	16.7										10.6		92.9
			72時間	52.1			3.1	22.6										14.2		92.0
			96時間	42.9			3.5	25.8										17.0		89.2
	暗下 区	射 区	射 区	120時間	36.4			3.0	29.5									19.9		88.8
				120時間	96.9			1.3	0.6									1.0		99.7
				0時間	97.26			1.62							1.12	0.47				100.47
				26時間	57.33			2.34	14.99			4.28			19.49	2.18				100.61
				96時間	20.07			4.02	47.91			7.46			16.2	4.58				100.24
				169時間	13.14			1.69	48.64			7.76			16.22	3.45				90.90
暗下 区	射 区	射 区	362時間	4.61								8.5					72.77 <sup>1)</sup>		85.88	
			0時間	97.97													2.03		100.00	
			26時間	91.9					3.16								5.93		102.01	
			96時間	72.99					10.06				1.02				4.4		92.67	
			219時間	43.67					30.07				13.69				8.37		96.00	
			362時間	42.92					23.06				18.31				8.4	1.41		94.10
暗下 区	射 区	射 区	24時間	81.33			14.65										2.56		98.54	
			360時間	14.48			81.65											2.53		98.56
			24時間	102.2			0.47											0.57		103.24
			360時間	85.75			1.07										16.37		103.19	

# 未同定物質、原点物質を含む合計  
 \* 有酸素および水層の合計  
 \*\* ラットの()内数値はLichrosorb C8カラムHPLC分析の結果  
 1)

残渣の分析結果(塩酸又は硫酸加水分解による結果/植物中放射能に対する%)  
 a) 玄米残渣(5.0%): 炭化合物  
 b) 養葉残渣(21.5%): 炭化合物



附. プロヘキサジオンカルシウム塩の開発年表

	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
化合物選抜																														
特許 出願																														
物理化学的性状																														
製剤検討																														
残留性及び 環境中予測濃度																														
有用動植物等に 及ぼす影響																														
適用病害虫																														
毒性																														
急性毒性																														
亜急性毒性																														
長期・発がん性																														
繁殖性・催奇形性																														
変異原性																														
その他																														
代謝分解, 運命																														
動物																														
植物																														
水中, 土壌																														

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。