

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

## 土壌代謝

$^{14}\text{C}$ -標識 スピノサドを用いた湛水条件における土壌中分解試験

資料No. 65

試験機関:

報告書作成年: 2001年

## 試験目的

この試験は、スピノサドの水田における土壌中の代謝運命及び推移を明らかにするために適当な標識位置と考えられるアグリコン環を標識した2種の標識化合物を用いて、湛水条件下で実施した。

## $^{14}\text{C}$ -標識化合物

### 化学名

[ $^{14}\text{C}$ ] スピノシンA

(2R, 3aS, 5aR, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bR)-2-(6-テ<sup>o</sup>オキシ-2, 3, 4-トリ-O-メチル- $\alpha$ -L-マンノピ<sup>o</sup>ラノシ<sup>o</sup>ルオキシ)-13-(4-ジ<sup>o</sup>メチルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラテ<sup>o</sup>オキシ- $\beta$ -D-エリスロピ<sup>o</sup>ラノシ<sup>o</sup>ルオキシ)-9-エチル-2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサテ<sup>o</sup>カヒト<sup>o</sup>ロ-14-メチル-1H-as-インダ<sup>o</sup>ゼノ[3, 2-d]オキサシクロテ<sup>o</sup>シン-7, 15-ジ<sup>o</sup>ン

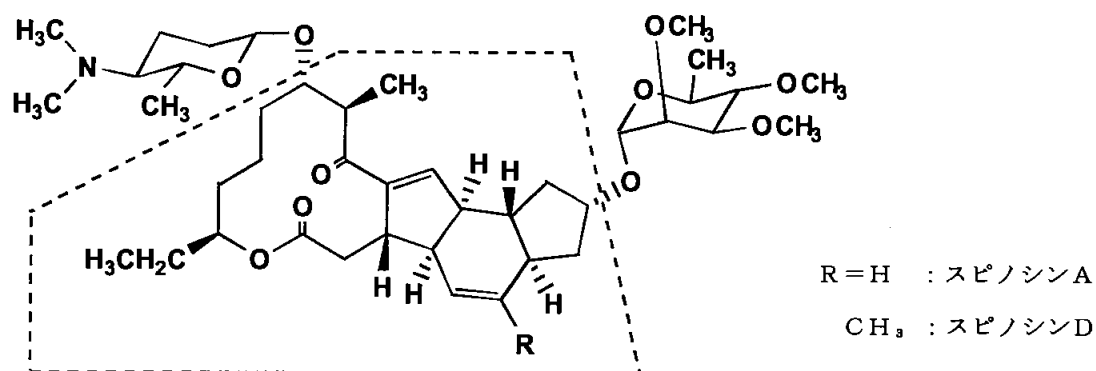
[ $^{14}\text{C}$ ] スピノシンD

(2S, 3aR, 5aS, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bS)-2-(6-テ<sup>o</sup>オキシ-2, 3, 4-トリ-O-メチル- $\alpha$ -L-マンノピ<sup>o</sup>ラノシ<sup>o</sup>ルオキシ)-13-(4-ジ<sup>o</sup>メチルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラテ<sup>o</sup>オキシ- $\beta$ -D-エリスロピ<sup>o</sup>ラノシ<sup>o</sup>ルオキシ)-9-エチル-2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサテ<sup>o</sup>カヒト<sup>o</sup>ロ-4, 14-ジ<sup>o</sup>メチル-1H-as-インダ<sup>o</sup>ゼノ[3, 2-d]オキサシクロテ<sup>o</sup>シン-7, 15-ジ<sup>o</sup>ン

	[ $^{14}\text{C}$ ] スピノシンA	[ $^{14}\text{C}$ ] スピノシンD
比放射能		
放射化学的純度		
標識位置	点線内の炭素原子を均一に $^{14}\text{C}$ で標識した。	
標識位置設定理由	分子の中心に位置するアグリコン環の標識を選択した。	
標識体合成法		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

構造式



供試土壌

茨城土壌（火山灰壤土）

福岡土壌（鈳質埴壤土）

項目	コード	土壌の種類	pH	有機炭素 %	産地
茨城土壌	M592	火山灰	5.6	3.6	茨城県牛久市
福岡土壌	M593	鈳質	6.0	1.7	福岡県小郡市

項目	かさ 密度	砂	シルト	粘土	土性	最大容水量 %
茨城土壌	0.72	62	26	12	壤土	37.2
福岡土壌	0.92	58	26	16	埴壤土	22.8

方 法

湛水条件：土壌深が1cmになるように土壌 15.76 g〔鈳質土壌〕または16.71 g〔火山灰土壌〕

（乾土換算）をバイオメーターフラスコに入れ、水深1cmになるように水を加えた。

暗所25℃で11日間プレインキュベーションした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

薬剤の施用：プレインキュベーション後の土壤に乾土あたり10.6ppm〔スピノシンA〕または11.2ppm〔スピノシンD〕になるように $[^{14}\text{C}]$ -スピノシンAまたは $[^{14}\text{C}]$ -スピノシンDを試験土壤の水面に添加した。

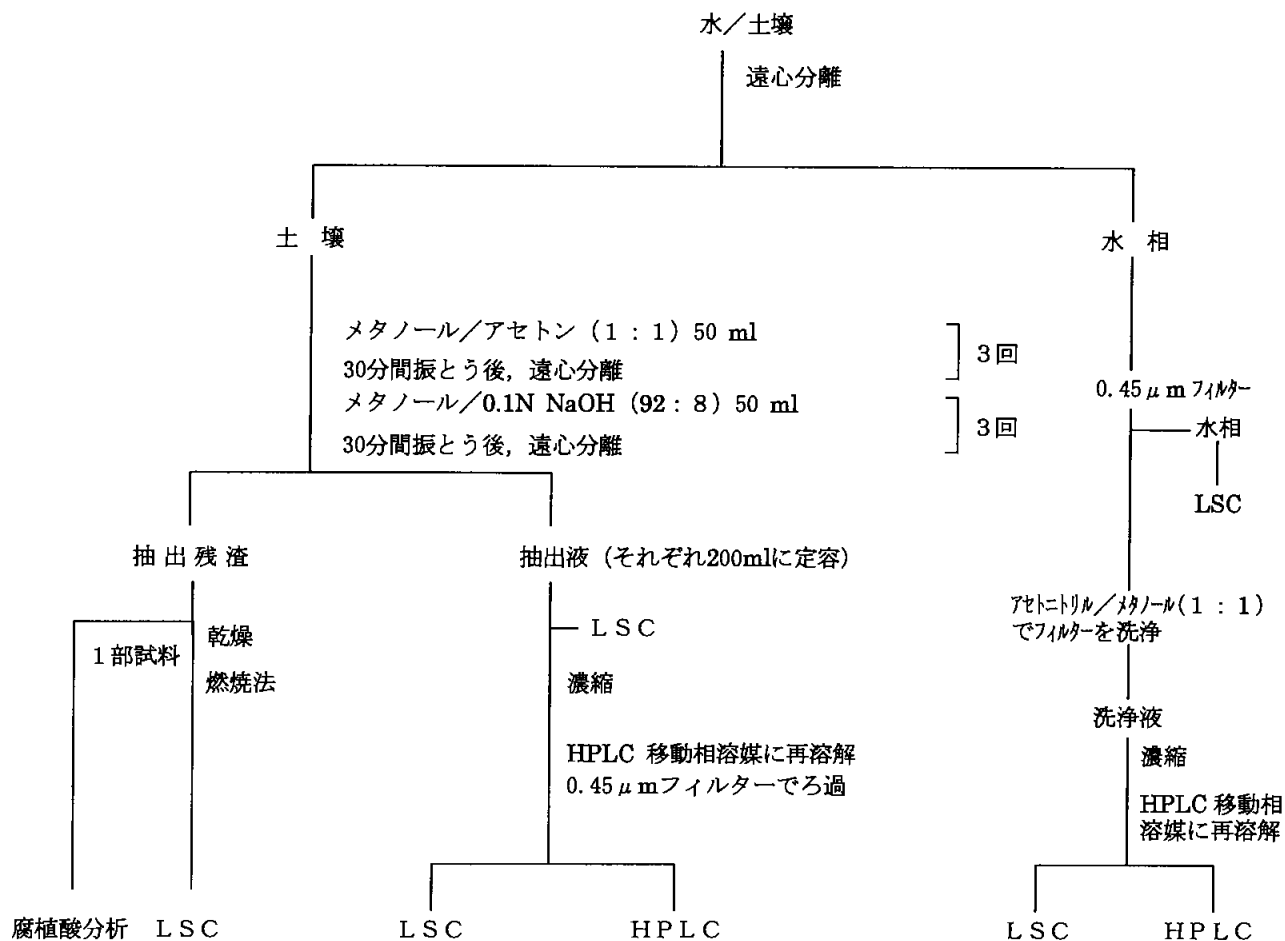
インキュベーション：薬剤施用後の土壤は、暗所25℃で最長100日間インキュベートした。インキュベート期間中、 $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した。

試料採取時点：

土壤試料

添加直後， 3， 7， 21， 35， 49， 71， 84， 100日

土壤中 $^{14}\text{C}$ 化合物の抽出：所定時間インキュベートした土壤を次のフローチャートに従い抽出した。



LSC：液体シンチレーションカウンター

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

分解物の同定：各試料の有機溶媒抽出画分をLC-MS、LC-MS/MS及びNMRで分析し、土壌分解物の同定を実施した。

## 結 果

スピノシンA；結果の概要を表1、2、5、6、9、10に示す。

放射能標識物質の平均総回収率は、福岡鈳質土壌及び茨城火山灰土壌試料について、それぞれ添加量の94.9及び93.8%であった。

スピノシンAを処理した福岡鈳質土壌中の抽出可能な<sup>14</sup>C成分は、0日目の処理量に対する88.6%から100日目の27.7%に減少した。福岡鈳質土壌の抽出残渣は、0日目の処理量に対する1.5%から試験終了時の38.7%に増加した。水層中の<sup>14</sup>C成分は、0日目の処理量に対する15.4%から3日目の1.5%に減少した。代謝は時間の経過とともに進行したため、水層中には多くの微量代謝物が認められた。従って、水層中の<sup>14</sup>C成分は100日目では処理量に対する8.5%に増加した。試験の終了時までには、回収放射能の19.9%が<sup>3</sup>CO<sub>2</sub>として検出された。

スピノシンAを処理した茨城火山灰土壌中の抽出可能な<sup>14</sup>C成分は、0日目の処理量に対する77.2%から100日目の39.5%に減少した。茨城火山灰土壌の抽出残渣は、0日目の処理量に対する10.1%から試験終了時の51.9%に増加した。水層中の<sup>14</sup>C成分は、0日目の処理量に対する14.5%から3日目の0.7%に減少した。水層中の<sup>14</sup>C成分は、試験の残り期間を通して少量(処理量に対する0.4~2.3%)であった。試験の終了時までには、回収放射能の7.7%が<sup>3</sup>CO<sub>2</sub>として検出された。

福岡鈳質土壌においては、スピノシンAは

スピノシンBは35日目に、処理量の28.8%の最大値に達し、

幾つかのマイナー代謝物が観察さ

れたが、処理量の5%以下に留まっていた。茨城火山灰土壌においては、スピノシンAは

福岡鈳質土壌において、スピノシンAは速やかに分解した。スピノシンAの半減期は28日、DT<sub>90</sub>は94日で、

茨城火山灰土壌において、スピノシンAの半減期は28日、DT<sub>90</sub>は92日で、

スピノシンD；結果の概要を表3、4、7、8、9、10に示す。

スピノシンDの試料については、放射能標識物質の平均総回収率は、福岡鈳質及び茨城火山灰試料について、それぞれ添加量の96.2及び93.5%であった。

スピノシンDを処理した福岡鈳質土壌中の抽出可能な<sup>14</sup>C成分は、0日目の処理量に対する90.9%から100日目の35.8%に減少した。福岡鈳質土壌の抽出残渣は、0日目の処理量に対する1.2%から試験終了時の3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

3.1 %に増加した。水層中の $^{14}\text{C}$ 成分は、0日目の処理量に対する10.0 %から3日目の2.7 %に減少した。時間の経過とともに代謝が進行したので、水層中には多くの微量代謝物が認められた。従って、水層中 $^{14}\text{C}$ 成分は100日目では処理量に対する10.8 %に増加した。試験の終了時までには、回収放射能の15.3%が $\text{CO}_2$ として検出された。

スピノシンDを処理した茨城火山灰土壌中の抽出可能 $^{14}\text{C}$ 成分は、0日目の処理量に対する81.9 %から 100日目の処理量に対する42.2 %に減少した。茨城火山灰土壌の抽出残渣は、0日目の処理量に対する 9.0 %から試験終了時の45.0 %に増加した。水層中の $^{14}\text{C}$ 成分は、0日目の処理量に対する11.6 %から 3日目の0.4%に減少した。水層中の $^{14}\text{C}$ 成分は、試験期間を通して少量(0.4~3.8対処理量%)あった。試験の終了時までには、回収放射能の3.4%が $\text{CO}_2$ として検出された。

福岡鈹質土壌においては、スピノシンDは

幾つかのマイナー代謝物

が観察されたが、処理量の5%以下に留まっていた。茨城火山灰土壌においては、スピノシンDは

福岡鈹質土壌において、スピノシンDは速やかに分解した。スピノシンDの半減期は32日、 $\text{DT}_{90}$ は106日で、

茨城火山灰土壌において、スピノシンDの半減期は37日、 $\text{DT}_{90}$ は123日であり、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 1.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン A を添加した福岡鈹質土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)						
インキュベーション期間 (日)	アルカリトラップ ( $\text{CO}_2$ )	田面水	土壌抽出物 1	土壌抽出物 2	抽出残渣	回収率
0	NA	10.5	57.4	31.2	1.6	100.7
0	NA	15.4	53.3	29.5	1.5	99.6
3	0.0	1.8	47.8	41.8	5.7	97.2
3	0.0	1.5	47.2	40.6	5.6	95.0
7	0.0	1.7	60.3	27.4	6.6	96.0
7	0.1	1.8	50.3	38.4	7.6	98.2
21	0.2	1.2	49.3	29.0	9.8	89.4
21	0.1	1.3	49.5	29.7	9.4	90.0
35	0.8	1.8	41.5	37.6	17.0	98.7
35	0.6	1.6	39.6	32.7	14.4	88.9
49	5.4	10.6	34.8	14.5	28.7	94.0
71	4.4	6.9	37.1	16.8	24.6	89.9
71	4.5	7.4	36.9	21.8	26.2	96.9
84	2.9	2.6	35.3	28.7	29.8	99.4
84	14.1	8.0	24.0	9.3	32.8	88.2
100	18.7	8.5	25.2	10.1	38.7	101.1
100	19.9	6.7	20.8	6.9	35.9	90.2

表 2.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン A を添加した茨城火山灰土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)						
インキュベーション期間 (日)	アルカリトラップ ( $\text{CO}_2$ )	田面水	土壌抽出物 1	土壌抽出物 2	抽出残渣	回収率
0	NA	14.5	49.3	27.9	10.1	101.7
0	NA	13.7	47.2	28.4	10.2	99.5
3	0.1	1.1	27.4	32.0	29.9	90.5
3	0.0	0.7	29.9	38.3	29.4	98.3
7	0.2	0.8	30.0	32.1	28.6	91.7
7	0.2	0.8	31.2	33.7	28.8	94.6
21	0.4	0.7	31.3	19.6	39.1	91.1
21	0.1	0.4	34.7	22.0	32.2	89.4
35	1.5	1.4	29.3	20.6	44.1	96.9
35	0.7	0.9	31.6	24.4	40.6	98.1
49	3.0	1.6	27.8	9.8	49.5	91.7
49	1.0	0.8	31.1	13.7	45.8	92.3
71	5.4	2.3	37.4	7.7	39.5	92.3
71	3.2	1.4	25.9	16.4	44.4	91.3
84	4.6	1.7	24.6	5.7	49.9	86.5
84	4.2	1.6	24.5	7.3	56.7	94.2
100	5.4	1.6	24.7	13.6	51.9	97.2
100	7.7	2.1	34.9	4.6	40.9	90.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3.  $^{14}\text{C}$ -スピノシンDを添加した福岡鉾質土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)						
インキュベーション期間 (日)	アルカリトラップ ( $\text{CO}_2$ )	田面水	土壌抽出物 1	土壌抽出物 2	抽出残渣	回収率
0	NA	10.0	56.4	28.1	1.2	95.7
0	NA	8.6	52.8	38.1	1.4	100.9
3	0.0	2.7	45.1	41.8	7.3	96.8
3	0.1	1.3	46.5	45.0	5.5	98.4
7	0.0	1.3	52.1	38.3	5.8	97.6
7	0.0	1.1	52.6	36.9	5.7	96.4
21	0.7	2.5	44.3	33.7	14.1	95.2
21	0.1	1.5	56.4	32.7	8.3	98.9
35	0.6	2.0	44.4	33.6	13.8	94.5
35	0.3	1.5	50.8	31.3	10.9	94.8
49	1.2	5.9	31.1	37.4	19.5	95.2
49	1.1	4.3	40.8	29.3	18.5	94.0
71	5.7	4.4	47.2	13.9	27.6	98.8
71	5.9	10.4	37.4	14.5	26.9	95.0
84	5.1	9.1	34.6	16.3	29.8	94.8
84	11.1	11.2	30.5	11.7	33.1	97.6
100	15.3	10.8	25.1	10.7	33.1	94.9
100	7.2	8.7	35.8	13.5	27.5	92.8

表 4.  $^{14}\text{C}$ -スピノシンDを添加した茨城火山灰土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)						
インキュベーション期間 (日)	アルカリトラップ ( $\text{CO}_2$ )	田面水	土壌抽出物 1	土壌抽出物 2	抽出残渣	回収率
0	NA	11.6	45.7	27.2	9.4	93.9
0	NA	7.8	54.0	27.9	9.0	98.8
3	0.0	0.4	28.5	37.3	27.2	93.4
3	0.0	0.8	28.2	36.5	27.9	93.4
7	0.0	0.4	34.3	37.8	21.4	93.9
7	0.1	0.7	34.5	36.7	24.7	96.5
21	0.2	0.8	31.7	19.8	37.4	90.0
21	0.9	1.5	32.5	21.3	40.4	96.6
35	0.6	0.9	31.2	23.5	37.0	93.3
35	0.9	1.1	31.1	22.7	40.0	95.8
49	0.7	0.8	31.8	15.1	42.5	90.9
49	1.1	1.0	30.8	13.7	45.3	91.9
71	1.2	1.1	29.4	21.4	37.9	91.0
71	2.1	3.8	25.8	17.3	40.0	89.0
84	2.6	1.5	26.7	8.9	55.3	95.0
84	3.0	1.7	25.7	8.6	54.7	93.7
100	3.2	2.2	26.5	17.9	44.0	93.8
100	3.4	1.9	25.7	16.5	45.0	92.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 5.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン A を添加した福岡鈹質土壌の HPLC 分析

添加量に対する割合 (%)	
インキュベーション期間 (日)	Spinosyn A
0	78.2
0	83.3
3	80.1
3	77.7
7	73.9
7	74.4
21	59.4
21	58.5
35	31.9
35	33.0
49	12.3
71	12.7
71	16.2
84	17.6
84	8.6
100	8.7
100	6.2

<sup>a</sup> NA = 検出されず

表 6.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン A を添加した茨城火山灰土壌の HPLC 分析

添加量に対する割合 (%)	
インキュベーション期間 (日)	Spinosyn A
0	68.3
0	77.3
3	47.7
3	59.9
7	39.5
7	43.3
21	30.3
21	46.3
35	15.8
35	25.1
49	10.6
49	19.4
71	6.7
71	10.3
84	5.2
84	7.0
100	8.0
100	4.8



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 7.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン D を添加した福岡鈹質土壌の HPLC 分析

添加量に対する割合 (%)	
インキュベーション期間 (日)	spinosyn D
0	76.1
0	88.8
3	56.6
3	80.8
7	79.0
7	75.7
21	31.7
21	66.5
35	34.8
35	54.6
49	25.4
49	29.6
71	9.0
71	13.5
84	13.6
84	12.0
100	8.4
100	16.2

\* NA = 検出されず

表 8.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン D を添加した茨城火山灰土壌の HPLC 分析  
添加量に対する割合 (%)

インキュベーション期間 (日)	spinosyn D
0	68.6
0	81.5
3	59.5
3	53.8
7	63.8
7	55.4
21	30.3
21	18.2
35	26.8
35	21.0
49	24.1
49	19.0
71	18.3
71	11.6
84	8.7
84	8.8
100	13.9
100	11.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 9.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン A を添加した土壌の抽出残渣の腐植酸分析

試料	日	添加量に対する割合 (%)			計
		フルボ酸 <sup>a</sup>	フミン酸 <sup>b</sup>	ヒューミン <sup>c</sup>	
福岡鉾質土壌	35	8.6	2.3	6.0	17.0
	71	13.9	4.3	8.0	26.2
	100	20.6	6.4	11.8	38.7
茨城火山灰土壌	3	9.0	2.5	17.9	29.4
	71	23.1	4.5	11.9	39.5
	100	27.4	6.1	18.4	51.9

<sup>a</sup> 強酸性溶液および強塩基溶液.のいずれにも可溶な  $^{14}\text{C}$  成分

<sup>b</sup> 0.5 M NaOH..に可溶であるが強酸性溶液には不溶な  $^{14}\text{C}$  成分

<sup>c</sup> 0.5 M NaOH.によっても土壌から溶出しない  $^{14}\text{C}$  成分

表 10.  $^{14}\text{C}$ -スピノシン D を添加した土壌の抽出残渣の腐植酸分析

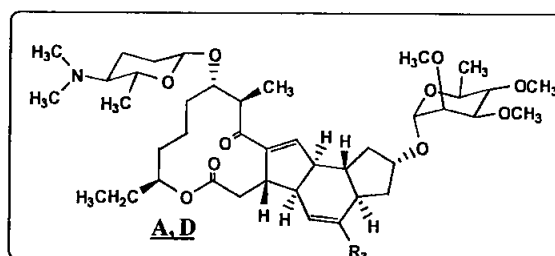
試料	日	添加量に対する割合 (%)			計
		フルボ酸 <sup>a</sup>	フミン酸 <sup>b</sup>	ヒューミン <sup>c</sup>	
福岡鉾質土壌	21	7.4	2.2	4.5	14.1
	49	9.3	3.0	6.1	18.5
	100	19.5	5.3	8.3	33.1
茨城火山灰土壌	7	5.3	2.0	14.1	21.4
	35	17.8	5.3	16.9	40.0
	100	21.7	5.6	16.6	43.9

<sup>a</sup> 強酸性溶液および強塩基溶液.のいずれにも可溶な  $^{14}\text{C}$  成分

<sup>b</sup> 0.5 M NaOH..に可溶であるが強酸性溶液には不溶な  $^{14}\text{C}$  成分

<sup>c</sup> 0.5 M NaOH.によっても土壌から溶出しない  $^{14}\text{C}$  成分

### スピノサドの湛水土壤中における代謝分解経路図



スピノシンAまたはスピノシンD

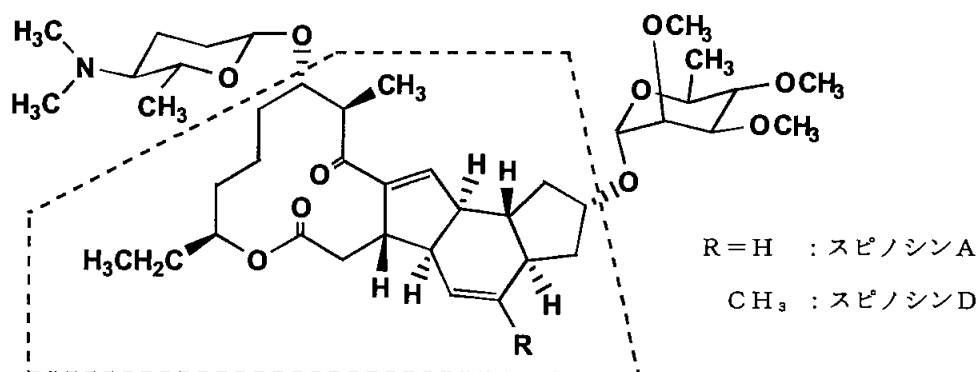


スピノシンBまたはN-脱メチルスピノシンD



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

構造式



供試土壌

Commerce土壌 (シルト質壤土)

Hanford 土壌 (砂壤土)

項目	コード	用途	pH	有機炭素 %	産地
Commerce土壌	92/9	スピノシンA用	7.7	1.1	米国 Georgia州
	93/2	スピノシンD用	7.8	1.05	米国 Georgia州
Hanford 土壌	92/8	スピノシンA用	7.5	1.0	米国 California 州

項目	コード	砂	シルト	粘土	土性	0.33 barに おける容水量 %
Commerce土壌	92/9	34	52	14	シルト質壤土	19.33
	93/2	37	50	13	シルト質壤土	14.91
Hanford 土壌	92/8	56	34	10	砂壤土	11.86

方 法

畑地条件：土壌 100g [スピノシンA] または50g [スピノシンD] (乾土換算) を 500ml 容三角フラスコに入れ、土壌水分を0.33bar における容水量の75%になるように蒸留水を加え、暗所25℃でスピノシンAについては1～4日間、スピノシンDについては12日間プレインキュベーションした。

滅菌畑地条件：畑地条件と同様に調製した土壌試料をオートクレーブ (121℃, 15分間) で滅菌した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

薬 剤 の 施 用：プレインキュベーション後の土壤に乾土あたり0.4ppm [スピノシンA] または 0.2ppm [スピノシンD] になるように [ $^{14}\text{C}$ ]-スピノシンAまたは [ $^{14}\text{C}$ ]-スピノシンDを試験土壤に添加した。

インキュベーション：薬剤施用後の土壤は、暗所25℃で最長1年間インキュベートした。インキュベーション期間中、揮発性 $^{14}\text{C}$ 化合物および $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した。

試料採取時点：

土壤試料

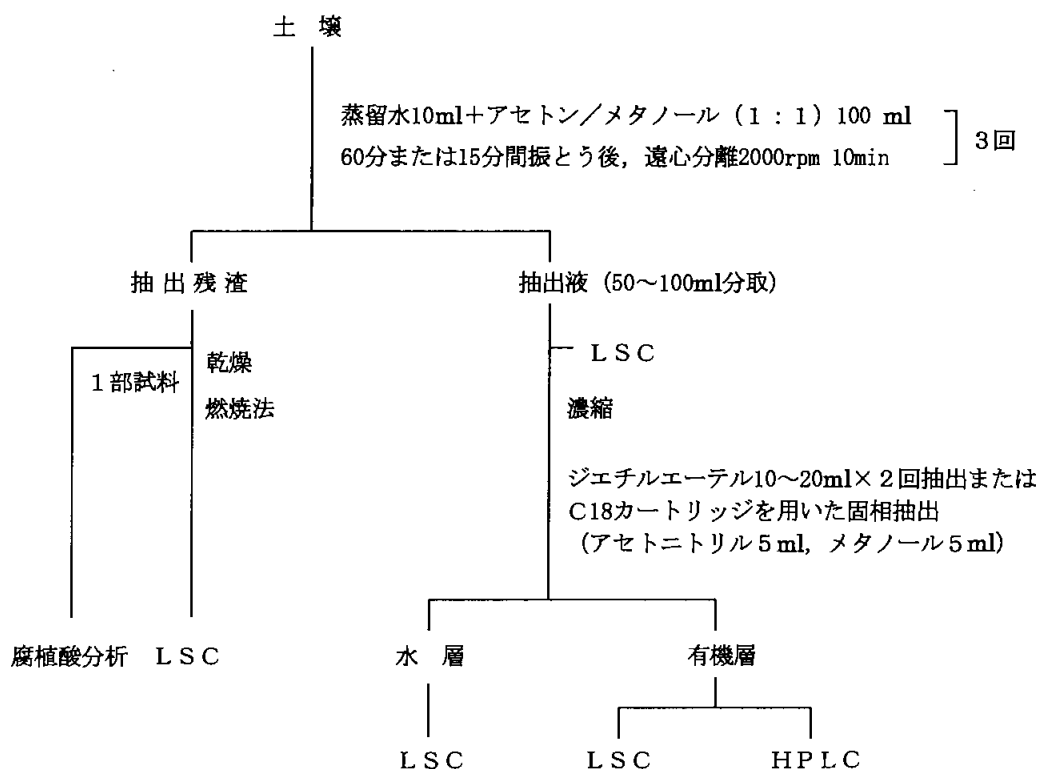
スピノシンA添加土壤 添加直後, 1, 3, 7, 14, 28, 56, 91, 140, 182, 273, 364日

スピノシンD添加土壤 添加直後, 1, 7, 10, 14, 28, 56, 91, 182日

スピノシンA添加滅菌土壤 0, 5, 28, 93, 183, 240, 365日

スピノシンD添加滅菌土壤 0, 28日, 3, 6ヵ月

土壤中 $^{14}\text{C}$ 化合物の抽出：所定時間インキュベートした土壤を次のフローチャートに従い抽出した。



LSC：液体シンチレーションカウンター

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

分解物の同定：各試料の酢酸エチル画分をHPLC、TLC及びLC-MSで分析し、土壤分解物の同定を実施した。

## 結 果

スピノシンA；結果の概要を表1～2に示す。

スピノシンAの半減期は17日（Commerce土壤）および9日（Hanford 土壤）と算出された。添加1年後の残留量は0.9～1.5%であった。

土壤に添加した放射能の物質収支は一部の例外を除き1年後まで90%以上であった。添加1年後までに生成した $^{14}\text{CO}_2$ は20%（Commerce土壤）および15%（Hanford 土壤）であった。

有機溶媒抽出性の放射能は時間の経過にともなって減少した。添加0日目で88～95%抽出されたものが、6カ月後では38～41%、1年後では16～27%に減少した。

非抽出性残留放射能は時間の経過にともなって増加した。1年後には43～51%に達した。主な代謝物として

スピノシンD；結果の概要を表3に示す。

スピノシンDの半減期は15日（Commerce土壤）と算出された。添加3カ月以降は検出されなかった。土壤に添加した放射能の物質収支は6カ月後まで90%以上であった。添加1年後までに生成した $^{14}\text{CO}_2$ は3%（Commerce土壤）であった。

有機溶媒抽出性の放射能は時間の経過にともなって減少した。添加0日目で96%抽出されたものが、3カ月後では65%、6カ月後では49%に減少した。

非抽出性残留放射能は時間の経過にともなって増加した。6カ月後には42%に達した。主な代謝物として

滅菌土壤；結果の概要を表4～7に示す。

スピノシンAの半減期は128日（Commerce土壤）および240日（Hanford 土壤）と算出された。

スピノシンDの半減期は177日（Commerce土壤）であった。

滅菌土壤の抽出物をHPLCで分析した結果、非滅菌土壤から検出された代謝物と同様な代謝物が検出された。このことからスピノシンAおよびDの分解は非生物的にも起こると考えられる。しかしながら分解速度は非滅菌土壤に比較して非常に遅いことから、土壤中におけるスピノサドの分解は主に微生物によ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及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表1  $^{14}\text{C}$ -スピノシンAを添加したCommerce土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)

インキュベーション 期 間 (日)	抽出物	フラスコ 洗 液	抽出残渣	揮発性成分	回収率
0	94.64	0.00	7.89	0.00	102.53
1	94.91	0.49	7.29	0.08	102.77
3	95.99	0.71	7.80	0.15	104.66
7	93.14	0.68	8.57	0.22	102.60
14	93.59	0.53	9.82	0.35	104.28
28	82.34	0.52	14.28	0.76	97.90
56	76.43	0.45	18.27	2.62	97.78
91	56.21	0.51	30.44	6.30	93.45
140	56.55	0.30	33.34	11.38	101.57
182	37.58	0.20	36.04	14.55	88.37
273	44.69	0.25	44.06	18.79	107.80
364	16.40	0.00	43.39	21.05	80.84

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表3  $^{14}\text{C}$ -スピノシンAを添加したHanford土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)

インキュベーション 期 間 (日)	抽出物	フラスコ 洗 液	抽出残渣	揮発性成分	回収率
0	87.65	0	2.55	0.00	90.20
1	88.12	0.83	5.27	0.23	94.44
3	88.98	0.65	6.34	0.47	96.45
7	84.52	1.17	8.55	0.58	94.82
14	80.26	0.62	14.50	0.75	96.13
28	72.94	0.68	18.15	1.51	93.29
56	62.82	0.69	27.14	3.13	93.78
91	55.58	0.31	38.58	5.60	100.07
140	44.76	0.50	41.46	8.40	95.13
182	41.16	0.37	46.28	9.55	97.35
273	33.42	0.28	47.97	12.56	94.24
364	26.72	0.15	51.16	15.52	93.55



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表 4  $^{14}\text{C}$ —スピノシンAを添加したHanford土壌のHPLC分析

添加量に対する割合 (%)

記号	A																			
インキュベーション 期間 (日)	スピノシン A 保持時間比 =1.0																			



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表 8 <sup>14</sup>C-スピノシンAを添加したCommerce滅菌土壌のHPLC分析

添加量に対する割合 (%)

記号	A													
インキュベーション 期間 (日)	スピノシン A 保持時間比 =1.0													

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表10  $^{14}\text{C}$ -スピノシンAを添加したHanford滅菌土壌のHPLC分析

添加量に対する割合 (%)

記号	A														
インキュベーション 期間 (日)	スピノシン A 保持時間比 =1.0														

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表11  $^{14}\text{C}$ -スピノシンDを添加したCommerce滅菌土壌の抽出

添加量に対する割合 (%)

インキュベーション 期 間	抽出物	フラスコ 洗 液	抽出残渣	揮発性成分	回 収 率
0日	100.49	0.79	2.19	1.32	104.80
28日	87.82	1.02	3.98	0.76	93.58
3ヵ月	90.42	1.23	6.15	1.87	99.67
6ヵ月	102.72	0.55	3.87	1.67	108.81

表12  $^{14}\text{C}$ -スピノシンDを添加したCommerce滅菌土壌のHPLC分析

添加量に対する割合 (%)

記 号	D	E	その他の分解物	
インキュベーション 期 間	スピノシンD 保持時間比=1.0	N-脱メチル スピノシンD 保持時間比=0.84-0.87	保持時間比=0.52	小 計 (抽出物)
0日	97.68	2.81		100.49
28日	76.40	11.42		87.82
3ヵ月	63.92	26.49		90.42
6ヵ月	45.50	33.38	23.83	102.72

土壌吸着

スピノサドの土壌吸着性試験

資料No. 60

試験機関：

報告書作成年： 1996年

要 旨

「OECDのガイドライン106吸着/脱着」に基づき、標準品を用いて1.92ppm（スピノシンA）または0.874ppm（スピノシンD）の0.01M塩化カルシウム溶液を調製して土壌吸着性試験を実施した。

供試薬剤

化学名

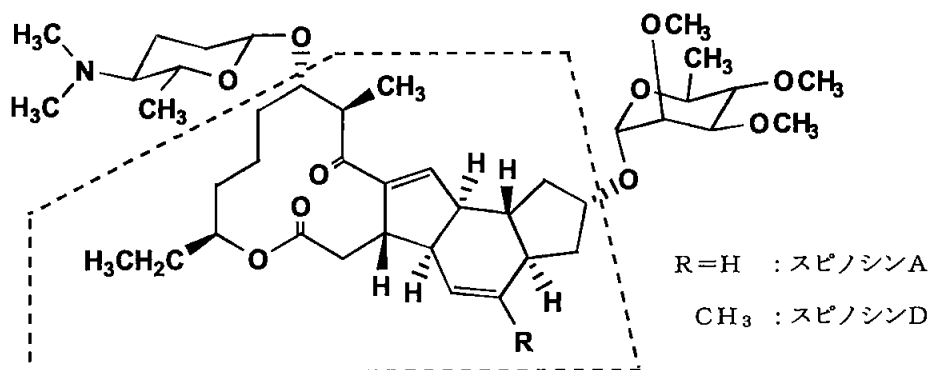
スピノシンA

(2R, 3aS, 5aR, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bR)-2-(6-テオキシ-2, 3, 4-トリ-O-メチル- $\alpha$ -L-マンノピラノシルオキシ)-13-(4-ジメチルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラテオキシ- $\beta$ -D-エリスロピラノシルオキシ)-9-エチル-2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサテカヒトロ-14-メチル-1H-as-インダゼノ[3, 2-d]キサンクロトデシン-7, 15-ジオン

スピノシンD

(2S, 3aR, 5aS, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bS)-2-(6-テオキシ-2, 3, 4-トリ-O-メチル- $\alpha$ -L-マンノピラノシルオキシ)-13-(4-ジメチルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラテオキシ- $\beta$ -D-エリスロピラノシルオキシ)-9-エチル-2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサテカヒトロ-4, 14-ジメチル-1H-as-インダゼノ[3, 2-d]キサンクロトデシン-7, 15-ジオン

構造式



供試土壌

1. 道立十勝農試内植調試験地内畑地土壌（河西郡芽室町）
2. 日植防研牛久圃場内畑地土壌（牛久市結束町）
3. 愛知県農業総合試験場内畑地土壌（名古屋市中区丸の内）
4. 日植防研高知試験農場内畑地土壌（香美郡野市町）

土壌の特性：

項目	1	2	3	4	
土壌群名	淡色黒ぼく土	褐色火山灰土壌	灰色台地土	沖積鈹質土壌	
採取場所	十勝植調試験地	日植防研牛久	愛知農総試	日植防研高知	
土性	CL	SiCL	SCL	LiC	
砂 %	57.1	26.2	68.0	47.6	
シルト %	21.5	50.9	14.5	27.2	
粘土 %	21.4	22.9	17.5	25.2	
有機炭素含有率	2.21	4.19	1.11	1.33	
有機炭素測定法	アリソン式重量法	アリソン式重量法	アリソン式重量法	アリソン式重量法	
pH	H <sub>2</sub> O	5.7	6.8	6.8	6.5
	KCl	5.8	6.9	6.0	6.4
陽イオン交換容量	11.7	21.4	7.9	10.2	
りん酸吸収係数	1300	2000	290	370	
粘土鉱物の種類	アロフェン	アロフェン	カオリン鉱物	クロライト	
	パーミキュライト	パーミキュライト	イライト	イライト	

試験方法

「OECDのガイドライン106吸着/脱着」に準拠

試験溶液：純品一定量を0.01M CaCl<sub>2</sub> 溶液に溶解し 1.92ppm（スピノシンA）または 0.879 ppm（スピノシンD）を調製。

試験操作：試験土壌（風乾細土）5g と純水 5g を遠沈管に秤り取り、一夜放置。これに試験溶液を20ml（スピノシンA）または30ml（スピノシンD）加え、一定時間25±1℃の恒温槽で振とう。遠心分離後の上澄液をジクロロメタン抽出後、HPLCによりスピノシンAまたはDを定量する。

物質収支：スピノシンA濃度2.2ppm，スピノシンD濃度 0.9～1.0ppmの試験で以下の通りの結果であった。

平衡化時間：24時間

## 2. スピノシンDの土壌吸着性について

標準品を用い常法に従って0.01M 塩化カルシウム溶液を用いて試験溶液を調製し実施した結果、北海道立十勝農試試料以外の3土壌については土壌吸着性が強く、残存する水層の濃度は最高濃度添加区において検出限界値(0.003ppm)の3~4倍程度で、以降の高次試験の実施が不可能であった。

### 参考文献

OECD化学品テイスガイドライン<sup>1</sup>

106 吸着/脱着



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

## 光分解

<sup>14</sup>C-標識 スピノサドを用いた水中光分解試験

資料No. 61

試験機関:

報告書作成年: 1994年

## 試験目的

この試験は、スピノサドの自然太陽光下での光分解の推移及び光分解運命を明らかにするために適当な標識位置と考えられるアグリコン環を標識した2種の標識化合物（スピノシンAおよびD）を用いて、pH7の緩衝液中で実施された。

## <sup>14</sup>C-標識化合物

### 化学名

#### [<sup>14</sup>C] スピノシンA

(2R, 3aS, 5aR, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bR)-2-(6-テ<sup>o</sup>キシ-2, 3, 4-トリ-O-メチル-  
α-L-マンノピ<sup>ラ</sup>ノシルオキシ)-13-(4-ジ<sup>メ</sup>チルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラテ<sup>o</sup>キシ-β-D-エリスロピ<sup>ラ</sup>ノシルオキシ)-9-エチル-  
2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサテ<sup>o</sup>カヒト<sup>ロ</sup>-14-メチル-1H-as-インダ<sup>セ</sup>ノ  
[3, 2-d]オキサシクロ<sup>ト</sup>テ<sup>シ</sup>ン-7, 15-ジ<sup>o</sup>ン

#### [<sup>14</sup>C] スピノシンD

(2S, 3aR, 5aS, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bS)-2-(6-テ<sup>o</sup>キシ-2, 3, 4-トリ-O-メチル-α-L-  
マンノピ<sup>ラ</sup>ノシルオキシ)-13-(4-ジ<sup>メ</sup>チルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラテ<sup>o</sup>キシ-β-D-エリスロピ<sup>ラ</sup>ノシルオキシ)-9-エチル-  
2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサテ<sup>o</sup>カヒト<sup>ロ</sup>-4, 14-ジ<sup>メ</sup>チル-1H-as-インダ<sup>セ</sup>ノ  
[3, 2-d]オキサシクロ<sup>ト</sup>テ<sup>シ</sup>ン-7, 15-ジ<sup>o</sup>ン

---

[<sup>14</sup>C] スピノシンA

[<sup>14</sup>C] スピノシンD

---

比放射能

放射化学的純度

標識位置 点線内の炭素原子を均一に<sup>14</sup>Cで標識した。

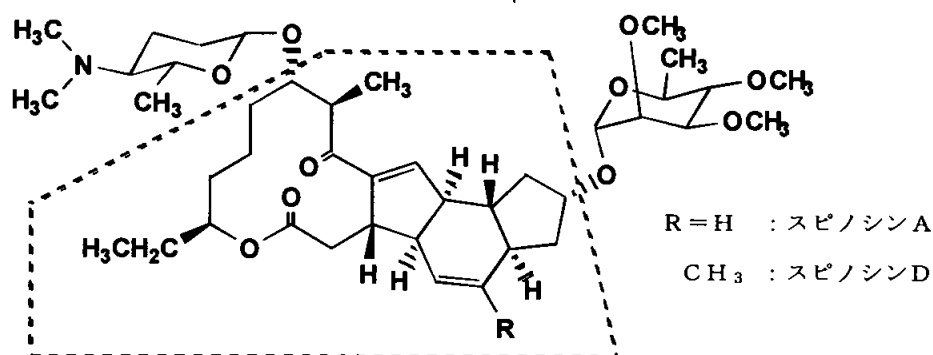
標識位置設定理由 分子の中心に位置するアグリコン環の標識を選択した。

標識体合成法

---

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

### 構造式



### 供試溶液

0.01M (ヒドロキシメチル) アミノメタン緩衝液 (pH 7)

### 光源

自然太陽光 : 米国インディアナ州 (北緯 39.8°)

	スピノシンA	スピノシンD
暴露開始日	1991年 6月 26日	1991年 7月 15日
暴露終了日	1991年 6月 28日	1991年 7月 17日

### 光量

$4.58 \times 10^{-3}$  ein/cm<sup>2</sup> · day (波長範囲 200~460nm)

### 試験方法

#### 試験系:

緩衝液: 蒸留水で調製した0.01M (ヒドロキシメチル) アミノメタン緩衝液 (1.2MのHCLでpH7に調整) を使用した。緩衝液はオートクレーブで滅菌し、使用前に除菌空気を吹き込んで再飽和させた。

溶媒: 0.5%のアセトニトリル

添加量: 1.96 μg/ml (スピノシンA)

2.00 μg/ml (スピノシンD)

平均温度: 25.1 ± 0.1 °C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試量採取日：光照射試料は石英製試験管を用い、試験0、3、21、24、42および48時間、溶媒無添加試料および暗所対照試料は48時間後に採取した。

揮発性物質の捕集：気泡プラグおよびエチレングリコール（EG、50ml）トラップ各1本を用いて有機揮発性物質を捕集した。10%NaOH溶液トラップ2本（2×50ml）を用いて、CO<sub>2</sub>を捕集した。

定量方法：試験溶液を直接HPLCに導入し分析した。HPLCからの溶出液をフラクションコレクターで回収し、液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を測定した。

同定方法：定量試験とは別に各試料4本ずつ用意し、48時間処理した後、4本を合してジクロロメタン（3×30ml）で抽出した。抽出液を濃縮後、HPLC/MSで試料中の分解物を同定した。スピノシンAについてはNMRによる同定を行うために60本の試料を用意した。ジクロロメタン抽出、2種の分取逆相TLCで精製後<sup>1</sup>H-NMR（300MHz）および<sup>13</sup>C-NMR（75MHz）を測定して分解物の構造を解析した。

## 結 果

結果の概要を表1～3に示す。

緩衝液（pH7）で自然太陽光に暴露した場合、擬一次反応速度に基づいて算出したスピノサドの半減期はスピノシンAおよびDで以下の様になる。

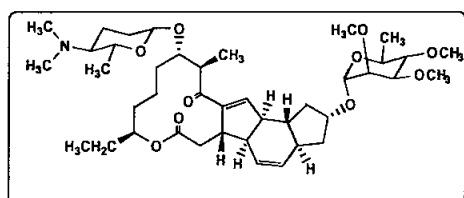
成 分	照 射	暗 所
A	0.93 日	30.3 日
D	0.82 日	59.1 日

主要光分解物として、スピノシンAおよびDからそれぞれ3および4種類が検出された。

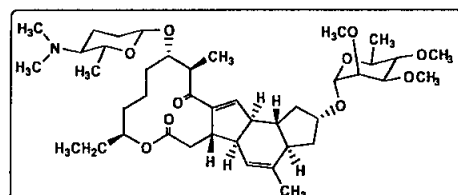
記号	分解物	特 徴

物質収支は1点の例外を除いて97～103%の範囲であった。

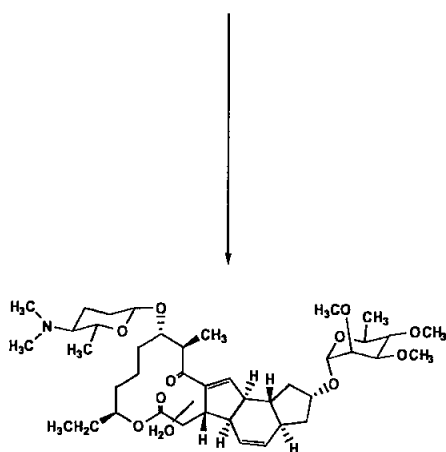
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。



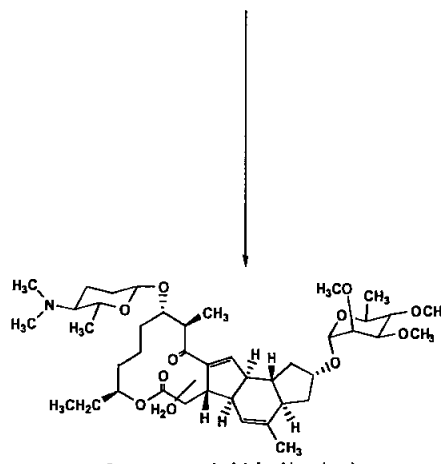
スピノシンA (A)



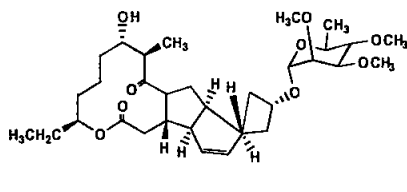
スピノシンD (D)



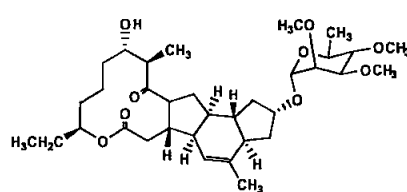
スピノシンA水付加体 (AE)



スピノシンD水付加体 (AF)



ジビトロ<sup>®</sup>擬似アカリオンA (AC)



ジビトロ<sup>®</sup>擬似アカリオンD (AD)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 2 成分Dと分解物の割合 (対添加量%)

時 間	試料A		試料B		平 均
	分解物		分解物		分解物
	成分D (D)		成分D (D)		成分D (D)
0時間	95.168		94.610		94.889
3時間	76.585		75.648		76.117
21時間	60.407		61.075		60.741
24時間	47.321		46.486		46.904
42時間	31.860		33.207		32.534
48時間	23.485		23.917		23.701
溶媒無添加 (48時間)	18.371		21.706		20.039
暗対照 (48時間)	94.137		84.198		89.168

( ) 内は代謝物一覧表の記号を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

#### 供試水

米国インディアナ州 Hancock County の農業用貯水池から採取した水を用いた。

アルカリ度	浮遊固形物	pH	硬 度	伝導率
71	0	9.2	80	0.15
(mg/mL CaCO <sub>3</sub> )	(mg/L)		mg/L CaCO <sub>3</sub>	nS/cm

#### 光 源

自然太陽光：米国インディアナ州（北緯 39.9°）

	スピノシンA	スピノシンD
暴露開始日	1996年 8月19日	1996年 8月19日
暴露終了日	1996年 8月21日	1996年 8月21日

#### 光強度

p-ニトロアセトニトリル/ピリジンを対照に用いて測定した試験系が被曝した光強度は真夏の光の約1/3であった。

#### 試験方法

##### 試 験 系：

自然水：冷蔵保存した水を室温に戻して使用した。

容 器：パイレックス試験管

供溶媒：アセトニトリル（水に対して0.5%になるように添加した）

添加量：2.0 μg/ml（スピノシンA）

0.2 μg/ml（スピノシンD）

（成分Aと成分Dは別々の試験管に添加した。）

平均温度：25.3±0.5 °C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試量採取：光照射試料および暗所対照資料を試験0, 2, 5, 21, 24, 43および48時間後に採取した。

定量方法：試験溶液をメタノールおよびジクロロメタンで抽出後、溶媒を留去した。濃縮物をHPLCの移動相溶媒に溶解し一部をHPLC (UV: 250nm)に導入し分析した。定量値は7点 (0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0および5.0mg/L)の標準液から作成した検量線から求めた。

分解物の同定：分解物の標準品と試料をHPLCのコクロマトグラフィーに供し同定した。

### 結 果

結果の概要を表1～3に示す。

自然水 (pH9.2)で自然太陽光に暴露した場合、擬一次反応速度に基づいて算出したスピノサドの半減期はスピノシンAおよびDで以下の様になる。

成 分	照 射	暗 所
A	0.18 日	安定
D	0.18 日	安定

分解物として  
図を示す。

が検出された。以下に推定分解経路

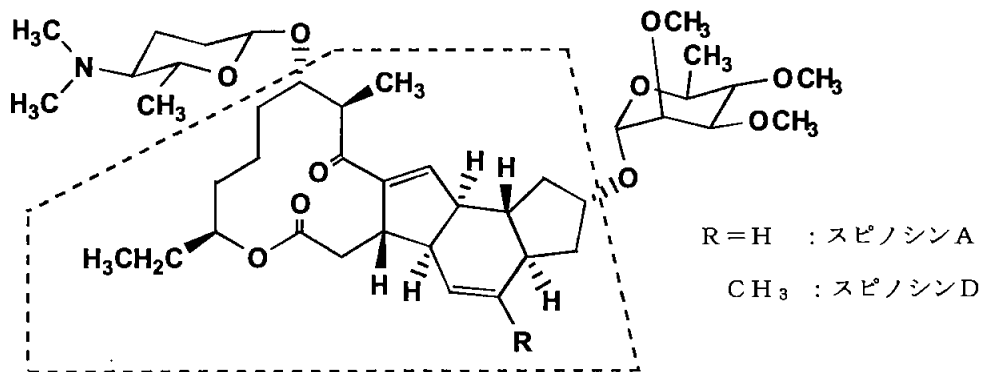
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

時間	太陽光換算 (日)*	添加量に対する割合 (%)			
		スピノシンA (2.0 $\mu$ g/ml)		スピノシンD (0.2 $\mu$ g/ml)	
		照射区	暗対照区	照射区	暗対照区
0	0.00	91.5	91.8	101.8	98.2
0	0.00	92.2		94.6	
2	0.08	67.7	92.2	68.8	87.5
2	0.07	66.2		68.8	
5	0.15	54.4	91.5	57.2	89.3
5	0.12	55.9		54.5	
21	0.21	44.7	92.2	41.1	96.4
21	0.21	41.8		37.6	
24	0.34	24.7	89.2	24.2	99.1
24	0.33	21.7		23.3	
43	0.56	9.9	89.2	12.6	89.3
43	0.52	11.3		12.6	
48	0.77	5.4	88.9	3.7	87.5
48	0.76	4.7		5.5	



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

構造式



供試水溶液

pH 5 : 酢酸緩衝液

pH 7 : トリシュー塩酸緩衝液

pH 9 : 炭酸緩衝液

試験方法

[<sup>14</sup>C] スピノサドを pH 5, 7 および 9 の緩衝液に 2 μg/ml の割合で添加し, 25°C で最長 30 日間インキュベート後, HPLC で分析し, 一次反応速度式に基づきスピノサドの半減期を算出し, また主要加水分解物を同定した。

結果

結果の概要を表 1 ~ 2 に示す。

	半減期		速度定数 (day <sup>-1</sup> )	
	A	D	A	D
pH 5	安定	安定	-0.00041	-0.00089
pH 7	648日	安定	0.00107	-0.00003
pH 9	200日	259日	0.00347	0.00268

pH 5 および 7 では, スピノシン A および D の加水分解はほとんど認められなかった。

pH 9 では両成分とも徐々に加水分解された。

スピノシン A から

, スピノシン D から

を HPLC クロマトグラフィー・TLC および質量分析で, 同定した。

その他に単独で処理量の 10% を越える分解物は検出されなかった。このうち, 1 つの未同定分解物 ( ) については質量分析および HPLC クロマトグラフィー・TLC の挙動が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表1 スピノサドの緩衝液中での加水分解

pH	成分	時間 (days)	検出量 ( $\mu\text{g/ml}$ )			回収率	
			A*	B*	平均		
5	A	0.0	1.96	1.98	1.97	100.0	
		1.9	1.76	1.78	1.77	89.8	
		6.9	1.91	1.91	1.91	97.0	
		14.9	1.96	1.96	1.96	99.5	
		21.9	1.95	1.98	1.97	99.7	
		29.9	1.85	1.87	1.86	94.4	
	D	0.0	1.94	1.96	1.95	100.0	
		1.9	1.71	1.76	1.74	89.0	
		6.9	1.90	1.90	1.90	97.4	
		14.9	1.94	1.92	1.93	99.0	
		21.9	1.93	1.96	1.95	99.7	
		29.9	1.82	1.92	1.87	95.9	
	7	A	0.0	2.01	2.01	2.01	100.0
			1.9	1.96	1.96	1.96	97.5
6.9			1.98	1.96	1.97	98.0	
14.9			1.95	1.98	1.97	97.8	
21.9			1.95	1.95	1.95	97.0	
29.9			1.93	1.91	1.92	95.5	
D		0.0	2.00	2.00	2.00	100.0	
		1.9	1.95	1.99	1.97	98.5	
		6.9	1.96	1.90	1.93	96.5	
		14.9	1.90	1.97	1.94	95.0	
		21.9	1.91	1.89	1.90	95.0	
		29.9	2.06	1.99	2.03	101.3	
9		A	0.0	1.99	2.01	2.00	100.0
			1.9	1.99	1.96	1.98	98.8
	6.9		1.89	1.91	1.90	95.0	
	14.9		1.93	1.95	1.94	97.0	
	21.9		1.77	1.77	1.77	88.5	
	29.9		1.81	1.83	1.82	91.0	
	D	0.0	1.96	1.96	1.96	100.0	
		1.9	1.97	1.95	1.96	100.0	
		6.9	1.81	1.84	1.83	93.1	
		14.9	1.90	1.88	1.89	96.4	
		21.9	1.71	1.71	1.71	87.2	
		29.9	1.80	1.92	1.86	94.9	

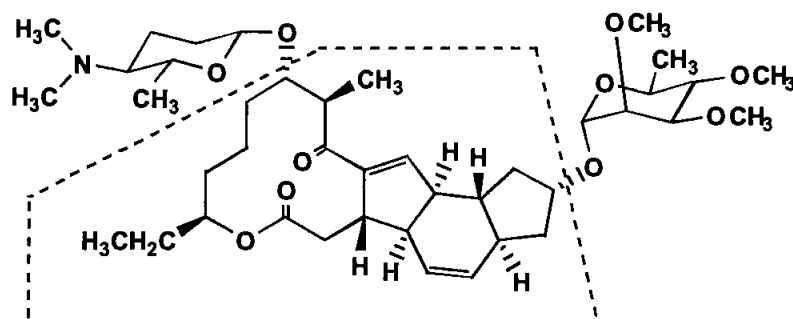
\* 反復

魚介類における濃縮性

試験機関：

報告書作成年：1994年

供試標識化合物：均一に $^{14}\text{C}$ で標識したスピノシンAを使用した。



スピノシンA

化学名：

[ $^{14}\text{C}$ ]スピノシンA

(2R, 3aS, 5aR, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bR)-2-(6-テトラヒドロ-2, 3, 4-トリ-O-メチル- $\alpha$ -L-マンノピラニルオキシ)-13-(4-ジメチルアミノ-2, 3, 4, 6-テトラヒドロ- $\beta$ -D-エリスロピラニルオキシ)-9-エチル-2, 3, 3a, 5a, 5b, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16a, 16b-ヘキサデカヒドロ-14-メチル-1H-as-インダセノ[3, 2-d]オキサシクロトデシン-7, 15-ジオン

供試魚：ニジマス (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)

試験期間：高濃度-28日間暴露及び17日間排泄、低濃度-14日間暴露14日間排泄

$^{14}\text{C}$ 標識及び $^{13}\text{C}$ 標識供試化合物：

比放射能

放射化学的純度

方法：設定濃度10~20 ng/mL 及び3~5 ng/mLの[ $^{14}\text{C}$ ]スピノシンAに、ニジマスをそれぞれ、28日間及び14日間暴露した。高濃度及び低濃度暴露相で試料採取ポイントをそれぞれ9及び6点設け、暴露試料採取時間は、高濃度及び低濃度試験でそれぞれ1、2、4、7、11、14、21、25及び28日及び1、2、4、7、10及び14日であった。高濃度及び低濃度暴露相でそれぞれ17及び14日間の排泄期間を設けた。各暴露相終了時、暴露チャンパー内の残りの魚を新鮮な希釈水（1日約6.1回交換に維持）を貫流させた水槽に移した。排泄相の試料採取計画は、暴露相の結果に基づいて決定した。排泄相は、魚体内の総 $^{14}\text{C}$ 残留濃度が観察されたプラトー濃度の約10%以下になるまで継続した。高濃度試験の排泄相中の試料採取ポイント

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

は7点、低濃度試験での試料採取ポイントは6点であった。試料採取時間は、高濃度及び低濃度試験で、それぞれ消失第0.5、1、2、4、7、14及び17日及び、1、2、4、7、10及び14日であった。

各試料採取時に、魚全体を分析するための試料及び魚を解剖して魚全体、筋肉及び残余組織を分析するための試料を採取した。暴露及び排泄相の試験溶液の総<sup>14</sup>C放射能を毎日測定した。

結果：暴露及び排泄期間中の供試水、組織残留濃度及び生物濃縮係数を以下の表に示した。

<暴露終了時の総残留放射能>

処理濃度	19.0 ng/mL (28日間)	5.0 ng/mL (14日間)
水中	19.0±5.6ng/mL	5.0±0.6 ng/mL
魚全体	1599 ng/g魚 (平均値)	415 ng/g魚 (平均値)
魚筋肉	414 ng/g魚 (平均値)	72 ng/g魚 (平均値)
残余組織	1820 ng/g魚 (平均値)	713 ng/g魚 (平均値)

<排泄期間の総残留放射能>

処理濃度	19.0 ng/mL (17日間)	5.0 ng/mL (14日間)
水中	定量限界以下～0.4 ng/mL	定量限界以下～0.4 ng/mL
魚全体	183 ng/g魚 (平均値)	57 ng/g魚 (平均値)
魚筋肉	36 ng/g魚 (平均値)	9 ng/g魚 (平均値)
残余組織	200 ng/g魚 (平均値)	57 ng/g魚 (平均値)

<生物濃縮係数 BCF>

処理濃度	19.0 ng/mL	5.0 ng/mL
魚全体	114 (111～117)	84 (75～95)
魚筋肉	28 (26～30)	16 (14～18)
残余組織	152 (147～157)	103(95～111)

( ) : 95%信頼限界

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝物の同定；

ニジマスに<sup>14</sup>C スピノシンA水溶液に28ないし14日間、19.0（高濃度）及び5.0（低濃度）ng/mLの2種の異なる曝露濃度で曝露した。2種の異なる曝露試験の速度定数及びBCF値は同様の評価であり、全魚体中親物質スピノシンAのBCFは、高濃度群及び低濃度群でそれぞれ、114及び84 mL/gであった。魚を清浄な流水に入れると、スピノシンA及びその代謝物は全魚体から急速に消失し、半減期は5日と算出された。スピノシンAは急速に代謝され、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2-コンパートメント・モデルを用い、処理群の魚全体による取込／排泄を算出した結果は以下のとおりであった。

処 理 濃 度 (ng/mL)	33 ng/mL	8.2 ng/mL
魚全体の取込/排泄データ		
K 1 : mg/Kg(魚)/mg/L(水)/日	18.9	18.9
K 2 : /日	0.164	0.157
生物濃縮係数 (BCF)	115	100
50%排泄到達時間 (日)	4	4
90%定常状態到達時間 (日)	14	15

K 1 : 平均取込速度定数

K 2 : 排泄速度定数

代謝試験：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

#### 代謝分解のまとめ

スピノサドの動物、植物、土壌における代謝、分解、残留の要約は下記のとおりであり、代謝経路を 419～420頁に、結果の概要を 421～429頁に示した。

動物：スピノシンA投与群では投与量の90%以上が尿、糞、呼気中CO<sub>2</sub>、組織、カーカス及びケージ洗浄液から回収された。糞中排泄が主な排泄経路で、投与後7日までに（大部分は最初の24時間に）投与量の85～88%（雄ラット）及び81～82%（雌ラット）が糞中に排泄された。投与量の6～10%が尿中に排泄された。高用量投与群では、放射能の糞中排泄は雌ラットより雄ラットで速かった。すなわち、雄ラット及び雌ラットでのα相の半減期（ $t_{1/2\alpha}$ ）はそれぞれ14時間及び28時間であった。投与後7日の個々の組織における放射エネルギーは低く、高用量群の雌ラットの脂肪を除いて、組織（g）当たり投与量の $\leq 0.07\%$ であり、組織及びカーカスにおける総回収率は投与量の $< 3\%$ であった。

胆汁排泄試験の結果、吸収率は雌雄ラットとも投与量の約70～80%と推定された。この結果から糞中に排泄される投与量の約20%は未吸収のスピノシンAであると考えられる。

スピノシンAの代謝及び排泄の主要経路はそれぞれグルタチオン抱合及び胆汁経由の糞中排泄であった。

スピノシンD投与群では92%以上の放射能が糞、尿、CO<sub>2</sub>、組織、カーカス及びケージ洗浄液から回収された。胆汁排泄試験の結果、吸収率は約70%と推定された。糞が主な排泄経路で、投与量の84%（雄）及び92%（雌）が投与後168時間に糞中から回収された。投与後24時間までに投与量の71～76%が尿中及び糞中から回収され、速やかに排泄された。投与後168時間の個々の組織における放射エネルギーは低く、雌雄ラットともに脂肪を除くすべての組織で組織1g当たり投与量の $\leq 0.02\%$ であり、組織及びカーカスにおける総回収率は投与量の $< 1\%$ であった。雌雄ラットともに経口投与量の約1/2がスピノシンDの未変化体で糞中に速やかに排泄された。



以上スピノシンAとスピノシンDのラットにおける吸収、分布、代謝、排泄は基本的に同等であった。またそれぞれの成分で性及び用量による顕著な差は認められなかった。

植 物：キャベツ、カブ、リンゴに処理して吸収、移行、代謝および残留物の性質を検討したところ、基本的な動態は植物の種類による顕著な差は認められなかった。スピノサドの植物中で以下の動態を示した。

- ・スピノシンAおよびDは急速に代謝される。
  - ・スピノシンAおよびDの代謝には光分解が大きな役割を果たしている。
  - ・スピノシンAおよびDの大部分は吸収されず、表面にとどまる。
  - ・試料中の放射能は主として極性の高い多くの成分に変換された。
  - ・散布部位から他部位への移行が少量ながら認められた。
  - ・かぶの根にはスピノシンAおよびDの残留が多かった。これは葉や土により光の影響が少ないためであった。
  - ・玄米中にはスピノサドの基本骨格を有する残留物は認められなかった。
- 代謝物として

土 壌：スピノシンAの二酸化炭素への代謝は顕著で、2種類の畑地土壌において処理1年後までに生成した $^{14}\text{CO}_2$ は処理放射能の14.5%及び19.6%であった。2種類の湛水土壌においては処理100日後までに7.7%及び19.9%が $^{14}\text{CO}_2$ として検出され、土壌により生成量に差が認められた。スピノシンDを処理した畑地土壌（1種類）における処理6ヵ月後までの二酸化炭素の生成量は、スピノシンA処理土壌ほど顕著ではなく、処理放射能の3%が $^{14}\text{CO}_2$ として検出された。一方湛水土壌（2種類）においては処理100日後までに3.4%及び15.5%が $^{14}\text{CO}_2$ として検出され、土壌の種類によっては生成が顕著であった。

スピノシンAを処理した土壌は、時間の経過にともなって有機溶媒による土壌残留放射能の抽出性が減少した。それにもなって非抽出性残留放射能（NER）が増加し、畑地土壌では1年後には43%及び51%、湛水土壌では100日後に39%及び52%に達した。代表的試料について、水酸化ナトリウム溶液を用いた従来のフミン酸抽出法によりNERを抽出した。スピノシンD処理土壌では、スピノシンAと同様なNERレベル（畑地土壌：6ヵ月後に42%、湛水土壌：100日後に33%及び44%）が得られた。

有機溶媒抽出物中から畑地土壌ではスピノシンAの主代謝物（40ppb以上）1種類、湛水土壌では主代謝物2種類検出された。その他の代謝物は処理放射能の10%以下であった。畑地土壌の主代謝物は、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

スピノサドの主有効成分  
スピノシン A の動植物等に  
おける代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

スピノサド副成分(約 10%)  
スピノシン D の動植物等に  
おける代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (抜粋版：各試料から代表試料を抽出して1枚にまとめた。詳細は次葉からの各試料毎の概要表[8枚]参照のこと)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (続: 2/8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (3/8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (5/8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (6/8)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (7/8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

代謝分解物の概要 (8/8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

[附] スピノサドの開発年表