

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) らっかせいにおける代謝試験

(代謝試料 No.8)

試験機関：

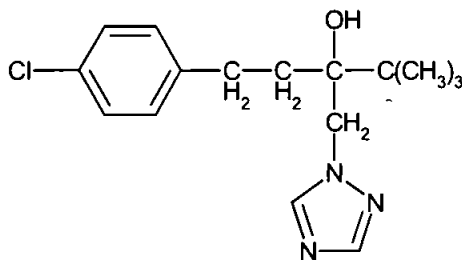
報告書作成年月日：1991年6月1日[GLP 対応]

供試標識化合物：

標識テブコナゾール

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)
ペンタン-3-オール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

試験方法：

供試作物：

らっかせい(品種 *Arachis hypogaea*)を、砂壤土を入れた表面積 18.3 平方フィート(約 1.7 m²)の鉢に播種し、圃場及び温室内で栽培した。

処理及び試料採取：

供試標識化合物に非標識化合物(純度 95%)を添加し、各処理につき 85.6mg を 45DF 製剤白試料 105mg 及び水 480mL と混合して濃度約 180mg/L(比放射能 24.6mCi/mmol)の溶液を調製した。この溶液を処理量 204g a.i./エーカー(=約 500g a.i./ha)、散布液量 300 ガロン/エーカー(=約 2800L/ha)で合計 7 回茎葉散布した。実用最高処理量は 1 回当たり 102g a.i./エーカーの計 4 回までで、1 作季当たり 408g a.i./エーカーに相当するため、この試験における処理量は実用最高処理量の 3.5 倍に相当した。1 回目の処理は播種 43 日後に行い、その後の処理は約 14 日ごとに行った。

最終処理 14 日後(播種 143 日後)に、植物を地表面で切断して茎葉を採取し、土壌から鞘を収穫した。残りの植物部位(主に茎及び少量の根)は茎葉と併せた。茎葉及び鞘は 4 日間風乾し、鞘を子実と殻に分離した。

試料の抽出：

分別した子実、殻及び茎葉は磨砕機を用いてドライアイス又は液体窒素中で磨砕した後、それぞれの部位ごとに抽出及び分析した。

1) 子実中の放射性残留物の特性化

磨砕した子実(25 g)をアセトン/水(3:1)で磨砕抽出し、抽出液をジクロロメタンで分配してジクロロメタン層と水層に分離した。水層を 1N 塩酸で還流(4 時間)した後、ジクロロメタンで分配してジクロロメタン層と水層に分離し、この水層をさらに酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。

アセトン/水抽出後の残留物はヘキサンで 2 回磨砕抽出した。抽出物をヘキサン/アセトニトリルで分配してアセトニトリル層とヘキサン層に分離し、このヘキサン層をさらに 0.2M 炭酸ナトリウムで分配して炭酸ナトリウム層とヘキサン層に分離した。ヘキサン層は濃縮した後、10%水酸化カリウム/エタノール溶液で還流(16 時間)して鹼化し、蒸留水に溶解してヘキサンで分配してヘキサン層と水層に分離した。この水層は濃塩酸で酸性化した後にヘキサンで分配し、ヘキサン層と水層に分離した。

ヘキサン抽出後の残留物はクロロホルム/メタノール(2:1)で 2 回磨砕抽出した。

クロロホルム/メタノール(2:1)抽出後の残留物は 1N 塩酸で還流(4 時間)した後、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。水層の半量は 6N 塩酸で還流(4 時間)し、残り半量は硫酸/メタノールで還流(18 時間)した後、それぞれ酢酸エチルで分配した。

2) 子実オイル中の放射性残留物の特性化

磨砕した子実(25 g)をヘキサンで還流抽出(18 時間)した後、抽出液をアセトニトリルで分配してアセトニトリル層とヘキサン層に分離した。ヘキサン層は濃縮して 1.8N 水酸化カリウム/5%含水エタノール溶液で鹼化(18 時間)した後、濃塩酸で酸性化してヘキサンで分配し、ヘキサン層と水層に分離した。このヘキサン層をさらにアセトニトリルで分配し、ヘキサン層とアセトニトリル層に分離した。

ヘキサン抽出後の残留物は 1N 塩酸で還流(4 時間)した後、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。

3) 殻

磨砕した殻(20g)をメタノール/水(4:1)で 4 回磨砕抽出した。抽出液を併せて濃縮乾固し、蒸留水に溶解した後、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。水層は 1N 塩酸で還流(4 時間)し、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。

メタノール/水抽出後の残留物は 1N 塩酸で還流(4 時間)し、残留物をさらに 6N 塩酸で還流(4 時間)した。それぞれの塩酸抽出画分を酢酸エチルで分配し、酢酸エチル層と水層に分離した。

4) 茎葉

磨砕した茎葉(20g)をメタノール/水(4:1)で 4 回磨砕抽出した。抽出液を併せて濃縮乾固し、蒸留水に溶解した後、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。水層は 1N 塩酸で還流(4 時間)し、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。

メタノール/水抽出後の残留物は 1N 塩酸で還流(4 時間)し、酢酸エチルで分配して酢酸エチル層と水層に分離した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

分析：

各試料の一部を燃焼し、液体シンチレーションカウンター(LSC)で総放射能を測定した。液体試料は LSC で直接放射能測定した。固体試料は燃焼して LSC で放射能測定した。各画分中に含まれる成分の定量及び同定は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)又は薄層クロマトグラフィー(TLC)で行った。鹼化後の画分は、0.25M ジアゾメタン(室温、2 時間)、ジメチル硫酸及び無水炭酸カリウム(還流、22 時間)、又は三塩化ホウ素メタノール(100°C、20 分)でメチル化し、メチル化前及びメチル化後の画分を TLC 分析した。また、ガスクロマトグラフィー/質量分析(GC/MS)及び液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)により構造を確認した。

試験結果：

植物体全体における放射能分布：

最終処理 14 日後に収穫したらっかせいの各部位における総放射能残留量は、茎葉で 110.480 ppm と最も高く、次いで殻で 17.741 ppm、子実で 0.545 ppm であった。

各試料における放射能分布：

1) 子実中の放射性残留物の特性化

子実の総放射能の 39%がアセトン/水に抽出され、そのうち 21%がジクロロメタン層に 18%が水層に分離した。水層を 1N 塩酸で還流すると有機溶媒可溶放射能はほとんど認められず、大部分の放射能(17%)が水層に分離した。

アセトン/水抽出後の残留物をヘキサンで抽出すると総放射能の 30%が抽出された。その後の操作によりこの放射能はアセトニトリル層及び炭酸ナトリウム層にはほとんど分離せず(それぞれ 1%以下)、29%がヘキサン層に分離した。このヘキサン層を鹼化して水/ヘキサンで分配すると有機溶媒可溶放射能はほとんど得られなかった。分配後の水層を酸性化してヘキサンで分配すると 26%がヘキサン層に分離した。

ヘキサン抽出後の残留物をクロロホルム/メタノールで抽出すると総放射能の 4%が抽出された。

クロロホルム/メタノール抽出後の残留物には総放射能の 27%が認められ、1N 塩酸加水分解により 23%が抽出され、4%が未抽出であった。1N 塩酸抽出放射能は 5%が酢酸エチル層に 18%が水層に分離した。この水層を 6N 塩酸又は硫酸/メタノールで加水分解した後に酢酸エチルで分配すると、1%が酢酸エチル層に 17%が水層に分離した。

2) 子実オイル中の放射性残留物の特性化

ヘキサンにより 25g のらっかせい子実から 7.9~8.5g のオイルが抽出された(子実重量の 32~34%相当)。オイルにおける放射能残留量は 0.480ppm~0.517ppm で、子実全体(0.545ppm)と比較すると、放射性残留物のオイルへの濃縮は認められなかった。

子実の総放射能の 43~48%がヘキサンに還流抽出された。抽出物をアセトニトリルで分配すると、13~18%がアセトニトリル層に 29~34%がヘキサン層に分離した。ヘキサン層に認められた放射能は、鹼化・酸性化及びその後の操作により 17~20%がヘキサン層、8~14%がアセトニトリル層、2%が水層に分離した。

ヘキサン抽出後の残留物には総放射能の 51~57%が認められ、1N 塩酸加水分解後の酢酸エチル層には 4~8%、水層には 17~28%の放射能が検出された。16~32%は未抽出であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) 殻

殻の総放射能の54%がメタノール/水に抽出され、そのうち46%が酢酸エチル層に8%が水層に分離した。水層を1N塩酸加水分解後に酢酸エチルで分配すると7%が酢酸エチル層に1%が水層に分離した。

メタノール/水抽出後の残留物には総放射能の46%が認められた。残留物を1N塩酸で加水分解すると19%の放射能が抽出され、大部分(18%)は酢酸エチル層に分配した。1N塩酸還流後の残留物を6N塩酸で還流しても抽出された放射能はわずか5%で、22%が未抽出であった。

4) 茎葉

茎葉の総放射能の88%がメタノール/水に抽出され、そのうち74%が酢酸エチル層に14%が水層に分離した。水層を1N塩酸加水分解後に酢酸エチルで分配すると12%が酢酸エチル層に2%が水層に分離した。

メタノール/水抽出後の残留物には総放射能の12%が認められ、1N塩酸加水分解により6%の放射能が抽出され、6%が未抽出であった。1N塩酸加水分解により抽出された放射能の大部分(5%)は酢酸エチル層に分離した。

代謝分解物の分析：

1) 子実中の放射性残留物の特性化

アセトン/水抽出後のジクロロメタン層をHPLC分析した結果、親化合物[I]が総放射能の19%検出された。また、水層を1N塩酸で還流した後に得られた水層には、TLC分析の結果、少なくとも2種類の極性成分が含まれていた。

ヘキサンに抽出された放射能は、その後の操作により大部分が鹼化・酸性化後のヘキサン層に分離し、天然脂肪酸に取り込まれた放射能と推定された。この画分のTLC分析は難しかったが、メチル化後にオレイン酸標準物質と同様の保持時間を有する成分が4%認められた。

クロロホルム/メタノールには4%の放射能が抽出され、結合性脂質に取り込まれた放射能と推定された。

以上の結果から、子実の総放射能の19%は親化合物[I]、30%は天然脂肪酸、4%は結合性脂質物質に取り込まれた放射能であった。また、9%は有機溶媒可溶物質、34%は極性水溶性物質と特性化されたが、未同定であった。4%の放射能は1N塩酸加水分解後に未抽出であった。

表 1 子実(子実中の放射性残留物の特性化)の分析結果

| 画分/代謝物 | % (子実の総放射能に対する%) | ppm (親換算) |
|-------------------------------|------------------|-----------|
| アセトン/水抽出物 | (39) | (0.212) |
| ジクロロメタン層 | 21 | 0.114 |
| [I]、親化合物 | 19 | 0.104 |
| 水層 | 18 | 0.098 |
| 1N 塩酸還流後の有機層 | 1 | (0.005) |
| 1N 塩酸還流後の水層 ¹⁾ | 17 | (0.093) |
| ヘキサン抽出物 ²⁾ | (30) | (0.164) |
| アセトニトリル層 | 1 | 0.005 |
| 炭酸ナトリウム層 | <1 | <0.01 |
| ヘキサン層 | 29 | 0.158 |
| 鹼化後のヘキサン層 | 1 | 0.005 |
| 鹼化後の水層 | 28 | 0.153 |
| 酸性化後のヘキサン層 | 26 | 0.142 |
| 酸性化後の水層 | 2 | 0.011 |
| クロロホルム/メタノール抽出物 ³⁾ | (4) | (0.022) |
| クロロホルム/メタノール抽出後の残留物 | (27) | 0.147 |
| 1N 塩酸還流後の酢酸エチル層 | 5 | 0.027 |
| 1N 塩酸還流後の水層 | 18 | 0.098 |
| 6N 塩酸又は硫酸/メタノール還流後の酢酸エチル層 | 1 | 0.005 |
| 6N 塩酸又は硫酸/メタノール還流後の水層 | 17 | 0.093 |
| 未抽出残留物 | 4 | 0.022 |
| 計 | 100 | 0.545 |

1) TLC 分析の結果、少なくとも 2 種類の極性成分が含まれていた。

2) 天然脂肪酸に取り込まれた放射能と推定された。

3) 結合性脂質物質に取り込まれた放射能と推定された。

2) 子実オイル中の放射性残留物の特性化

ヘキサン抽出後のアセトニトリル層には親化合物[I]が 13~18%検出された。ヘキサン層には 29~34%の放射能が認められ、鹼化・酸性化後に得たヘキサン層及びアセトニトリル層をメチル化前及びメチル化後に TLC 分析すると、これらの画分中の放射能はオレイン酸及びリノール酸標準物質と同様の保持時間を有した。放射能量が少なく同定はできなかったが、天然脂肪酸に取り込まれた放射能と考えられた。

ヘキサン抽出後の残留物を 1N 塩酸で還流抽出すると、酢酸エチル層に親化合物[I]が 1%、
 ()が 4%、 ()が 1%
 認められた。

表 2 子実(子実オイル中の放射性残留物の特性化)の分析結果

| 画分/代謝物 | %(子実の総放射能に対する%) ¹⁾ |
|---------------------|-------------------------------|
| ヘキサン抽出物 | (43~48) |
| アセトニトリル層 | 13~18 |
| [I]、親化合物 | 13~18 |
| ヘキサン層 ²⁾ | 29~34 |
| 鹼化・酸性化後のヘキサン層 | 17~20 |
| 鹼化・酸性化後のアセトニトリル層 | 8~14 |
| 鹼化・酸性化後の水層 | 2 |
| ヘキサン抽出後の残留物 | (51~57) |
| 1N 塩酸還流後の酢酸エチル層 | 4~8 |
| [I]、親化合物 | 1 4 1 |
| その他 | 2 |
| 1N 塩酸還流後の水層 | 17~28 |
| 未抽出残留物 | 16~32 |

¹⁾ 3~5 点の試料の数値(但し、1N 塩酸還流後の酢酸エチル層の HPLC 分析結果は 1 点の試料の数値)。

²⁾ 天然脂肪酸に取り込まれた放射能と推定された。

3) 殻

メタノール/水抽出後の酢酸エチル層には、HPLC 分析の結果、親化合物[I]が殻の総放射能の 37%、()が 2%検出された。その他に 10 種類の未同定成分が合計 7%認められ、単一ピークとしては 2%以下であった。水層を 1N 塩酸で加水分解して遊離した放射能には、HPLC 分析の結果、親化合物[I]が 1%、()が 2%、()が 1%検出された。その他に 5 種類の未同定成分が合計 3%認められ、単一ピークとしては 1%以下であった。

また、メタノール/水抽出後の残留物を 1N 塩酸及び 6N 塩酸で還流抽出すると、酢酸エチル層に親化合物[I]が合計 20%、()が<1%検出された。

以上の結果から、殻の総放射能の 58%は親化合物[I]、4%は()、1%は()と同定された。10%は有機溶媒可溶物質、5%は極性水溶性物質と特性化されたが、未同定であった。有機溶媒可溶物質は 10 種類以上の放射性成分で構成された。22%は 6N 塩酸還流後に未抽出であった。

表 3 殻の分析結果

| 画分/代謝物 | %(殻の総放射能に対する%) | ppm(親換算) |
|-----------------|----------------|------------------------|
| メタノール/水抽出物 | (54) | (9.577 ¹⁾) |
| 酢酸エチル層 | 46 | 8.159 ¹⁾ |
| [I]、親化合物 | 37 | 6.546 |
| | 2 | 0.319 |
| その他(10成分の合計) | 7 | 1.249 ¹⁾ |
| 水層 | 8 | 1.418 ¹⁾ |
| 1N 塩酸還流後の酢酸エチル層 | 7 | 1.241 ¹⁾ |
| [I]、親化合物 | 1 | 0.248 |
| | 2 | 0.373 |
| | 1 | 0.195 |
| その他(5成分の合計) | 3 | 0.425 ¹⁾ |
| 1N 塩酸還流後の水層 | 1 | 0.177 ¹⁾ |
| メタノール/水抽出後の残留物 | (46) | (8.162 ¹⁾) |
| 1N 塩酸還流後の酢酸エチル層 | 18 | 3.194 ¹⁾ |
| [I]、親化合物 | 18 | 3.105 |
| | <1 | 0.089 |
| 1N 塩酸還流後の水層 | 1 | 0.177 ¹⁾ |
| 6N 塩酸還流後の酢酸エチル層 | 2 | 0.355 ¹⁾ |
| [I]、親化合物 | 2 | 0.355 |
| 6N 塩酸還流後の水層 | 3 | 0.532 ¹⁾ |
| 未抽出残留物 | 22 | 3.903 ¹⁾ |
| 計 | 100 | 17.741 |

1) 申請者計算

4) 茎葉

メタノール/水抽出後の酢酸エチル層には、HPLC 分析の結果、親化合物[I]が茎葉の総放射能の 60%、()が 3%検出された。その他に 7 種類の成分が合計 11%認められ、単一ピークとしては茎葉の総放射能の 3%以下であった。このうちの 1 種類は LC/MS 分析により ()と仮同定された(3%)。また、HPLC 分析により微量の ()も仮同定された(<1%)。

メタノール/水抽出後の水層を 1N 塩酸で還流すると、酢酸エチル層に親化合物[I]が 6%、()が 3%、()が 1%検出された。1N 塩酸還流前の水層には LC/MS 分析により ()が検出された。従って、()はグルコース抱合体として存在し、酸加水分解により遊離したと示唆された。

メタノール/水抽出後の残留物を 1N 塩酸で還流すると、酢酸エチル層に親化合物[I]が 3%、()が 1%、()が<1%検出された。

以上の結果から、茎葉の総放射能の 69%は親化合物[I]、7%は ()、1%は ()と同定された。13%は有機溶媒可溶物質、3%は極性水溶性物質と特性化されたが、未同定であった。有機溶媒可溶物質は 7 種類以上の放射性成分で構成された。6%は 1N 塩酸還流後に未抽出であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 4 茎葉の分析結果

| 画分/代謝物 | %(茎葉の総放射能に対する%) | ppm (親化合物換算) |
|-------------------------------|-----------------|-------------------------|
| メタノール/水抽出物 | (88) | (97.332 ³⁾) |
| 酢酸エチル層 | 74 | 81.865 ³⁾ |
| [I]、親化合物 | 60 | 66.841 |
| | 3 | 3.314 |
| その他(7成分の合計) ¹⁾ | 11 | 11.710 ³⁾ |
| 水層 ²⁾ | 14 | 15.467 ³⁾ |
| 1N 塩酸還流後の酢酸エチル層 | 12 | 13.257 ³⁾ |
| [I]、親化合物 | 6 | 6.850 |
| | 3 | 3.425 |
| | 1 | 0.994 |
| その他(4成分の合計) | 2 | 1.988 ³⁾ |
| 1N 塩酸還流後の水層 | 2 | 2.210 ³⁾ |
| メタノール/水抽出後の残留物 | (12) | (13.257 ³⁾) |
| 1N 塩酸還流後の酢酸エチル層 ²⁾ | 5 | 5.523 ³⁾ |
| [I]、親化合物 | 3 | 3.535 |
| | 1 | 1.436 |
| | <1 | 0.331 |
| その他(1成分) | <1 | 0.221 |
| 1N 塩酸還流後の水層 | 1 | 1.105 ³⁾ |
| 未抽出残留物 | 6 | 6.629 ³⁾ |
| 計 | 100 | 110.480 |

¹⁾ ()が3%、 ()が<1%仮同定された。

²⁾ LC/MS 分析により ()が確認された。

³⁾ 申請者計算。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結論：

標識テブコナゾールを、播種 6、9、11、13、15、17 及び 19 週後に約 500g a.i./ha でらっかせいに合計 7 回茎葉散布した。最終処理 14 日後(収穫期)の総放射能残留量は、茎葉で 110.480 ppm、殻で 17.741 ppm、子実で 0.545 ppm であった。

子実の総放射能の 13~19%は親化合物[I]と同定された。29~34%の放射能は天然脂肪酸及び結合性脂質物質等の天然植物構成成分に取り込まれた放射能と考えられたが、放射能量が少なく同定することは出来なかった。また、ヘキサン抽出後の残留物の酸加水分解後に、()が子実の総放射能の 4%、()が 1%検出された。

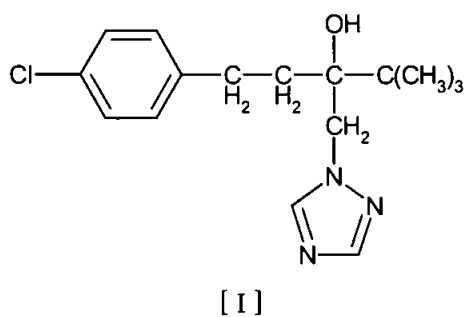
殻及び茎葉における主要残留成分は親化合物[I]で、殻の放射能の 58%(10.25ppm)、茎葉の放射能の 69%(77.23ppm)に相当した。その他には()が殻の放射能の 4%(0.78ppm)及び茎葉の放射能の 7%(8.18ppm)、()が殻の放射能の 1%(0.20ppm)及び茎葉の放射能の 1%(1.33ppm)検出された。また、()も同定され、この化合物は操作過程において()に酸加水分解したと示唆された。殻の総放射能の 22%は 6N 塩酸を用いた還流後でも抽出されなかった。

推定代謝経路：

テブコナゾールの推定代謝経路を図 1 に示す。親化合物[I]は t-ブチル基の水酸化により()に代謝され、さらに抱合化されて()へと代謝された。また、フェニル環の水酸化による()及び()への代謝も認められた他、結合残留及び脂肪酸等の天然植物構成成分の画分にも放射能が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図1 推定代謝経路



[]は、この試験では検出されなかった代謝分解物。

**は、仮同定された代謝分解物。

3. 土壤中動態に関する試験

(1) 好氣的土壤中動態試験及び嫌氣的土壤中動態試験

(代謝資料 No.9)

試験実施機関：

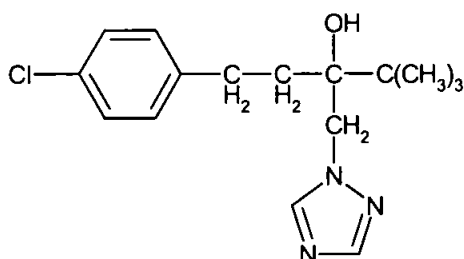
報告書作成年：1987年

供試標識化合物：

化学名：*(RS)*-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)ペンタン-3-オール

標識テブコナゾール

化学構造：

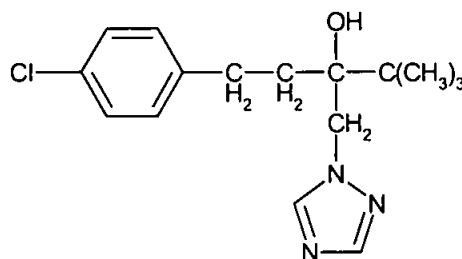


比放射能：

放射化学的純度：

標識テブコナゾール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

好氣的試験では

嫌氣的試験では

標識化合物及び

標識化合物を供試した。

標識化合物を供試し、

供試土壌：

| 土性 | 砂壤土 |
|--------------------------------|-----------------------------|
| 採取場所 | 研究農場 Stilwell カンサス市 アメリカ |
| 組成 砂 (0.02~2.0 mm) | 54.0% |
| シルト (0.002~0.02 mm) | 37.0% |
| 粘土 (<0.002 mm) | 9.0% |
| 有機物質含有量(%) | 1.8 |
| pH (0.01 M CaCl ₂) | 4.5 |
| 陽イオン交換容量 (meq/100g、pH8.2) | 16.0 |

試験方法：

好氣的試験では 250mL 容三角フラスコに土壌 50g を添加し、揮発性物質捕集装置(1M KOH を含む洗浄瓶)を接続し、湿潤な空気を通した。温度を 23±2°C、土壌の水分量を 75%(1/3 bar)に維持し、暗所で最長 12 ヶ月インキュベートした。

嫌氣的試験では、好氣的条件下で 30 日間インキュベートした後、水深約 2.5cm に湛水して密栓し、さらに最長 60 日間インキュベートした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

処理量及び処理方法：

好氣的試験及び嫌氣的試験とも処理量は 10mg/kg 土壌とした。所定濃度の供試標識化合物のアセトン溶液 0.2mL を土壌 50g に混和した。

試料採取：

好氣的試験では 処理試験については処理 0、7、14、28、56、84、112 日後、
6 ヶ月後、12 ヶ月後、 処理試料については処理 0、30、58 日後に土壌及び捕集液を採取した。

嫌氣的試験では、湛水 0、30、60 日後に水層及び土壌を採取した。また、試料採取前に試験容器内の揮発性物質を 1M KOH 捕集液に吸引して採取した。

抽出及び分析：

土壌はメタノール/水(7/3)、次いでメタノールで抽出し、抽出液を併せて濃縮した。土壌抽出液、捕集液及び嫌氣的試験における水層は液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能測定した。抽出後の土壌は燃焼して LSC で放射能測定した。土壌抽出物及び嫌氣的試験における水層中の成分の同定及び定量は、薄層クロマトグラフィー(TLC)及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により行った。

各試験の最終採取時の抽出後の土壌はフルボ酸、フミン酸及びヒューミンに分画した。抽出後の土壌を 0.5M 水酸化ナトリウムで 24 時間攪拌し、上澄みと土壌に分離した。上澄みは塩酸で pH 1 とし、フミン酸を沈殿させて酸性化後の上澄み(フルボ酸)と分離し、各画分の放射能を LSC で測定した。分離後の土壌は燃焼し、ヒューミン画分に結合した放射能を LSC で測定した。

試験結果：

①好氣的試験

二酸化炭素の生成量は少なく、いずれの標識体処理試料においても回収放射能の 1%未満であった。 処理試料では、土壌抽出物中に回収放射能の 70.6%(12 ヶ月後)以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 29.1%(12 ヶ月後)以下であった。 処理試料では、土壌抽出物中に回収放射能の 85.5%(58 日後)以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 14.5%(58 日後)以下であった。試験終了時の未抽出放射能はフルボ酸、フミン酸及びヒューミンに分画された。

TLC 分析の結果、土壌抽出物中の放射能の多くは親化合物 [I] と同定され、試験終了時には 処理試料で 67.4%(12 ヶ月後)、 処理試料で 85.0%(58 日後)残存した。代謝分解物はほとんど認められず、 処理試料で 3.5%以下、 標識体処理試料で 0.6%以下であり、同定されなかった。

以上の結果から、親化合物の半減期は 1 年以上と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 処理試料の分析結果(回収放射能に対する%)

| | 0日 | 7日 | 14日 | 28日 | 56日 | 84日 | 112日 | 6ヶ月 | 12ヶ月 |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 揮発性物質(CO ₂) | — | 0 | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.7 | 0.3 |
| 土壤抽出物 | | | | | | | | | |
| [I]、親化合物 | 98.3 | 90.9 | 88.7 | 88.8 | 83.9 | 86.1 | 92.6 | 78.8 | 67.4 |
| 未同定物質 | — | — | — | — | — | — | — | 2.6 | 2.1 |
| 高極性未同定物質 ¹⁾ | 0.9 | 0.5 | 0.7 | 0.4 | 0.6 | 0.9 | 0.8 | 0.9 | 1.1 |
| 未抽出残留物 | 0.8 | 8.6 | 10.6 | 10.7 | 15.3 | 12.6 | 16.2 | 17.0 | 29.1 |
| フルボ酸 | | | | | | | | | 7.1 |
| フミン酸 | | | | | | | | | 9.9 |
| ヒューミン | | | | | | | | | 12.1 |

¹⁾ TLC 原点に認められた放射能

表 2 処理試料の分析結果(回収放射能に対する%)

| | 0日 | 30日 | 58日 |
|-------------------------|------|------|------|
| 揮発性物質(CO ₂) | — | — | 0 |
| 土壤抽出物 | | | |
| [I]、親化合物 | 98.1 | 89.4 | 85.0 |
| 高極性未同定物質 ¹⁾ | 0.6 | 0.3 | 0.5 |
| 未抽出残留物 | 1.3 | 10.3 | 14.5 |
| フルボ酸 | | | 3.4 |
| フミン酸 | | | 6.0 |
| ヒューミン | | | 5.1 |

¹⁾ TLC 原点に認められた放射能

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

②嫌氣的試験

二酸化炭素の生成は認められなかった。水層中には回収放射能の 4.1~7.5%、土壌抽出物中には 72.2~74.7%の放射能が検出され、未抽出放射能は 19.5~23.4%であった。

水層に認められた放射能は親化合物[I]と同定された。土壌抽出物中の放射能の多くは親化合物[I]で、代謝分解物は 2.7%以下であった。水層と土壌抽出物を併せると、親化合物[I]は灌水 0 日後に 77.2%、30 日後に 76.2%、60 日後に 77.8%残存した。

表 3 処理試料の分析結果(回収放射能に対する%)

| | 0 日 ¹⁾ | 30 日 | 60 日 ¹⁾ |
|-------------------------|-------------------|------|--------------------|
| 揮発性物質(CO ₂) | — | — | 0 |
| 水層 | | | |
| [I]、親化合物 | 4.1 | 4.4 | 7.5 |
| 土壌抽出物 | | | |
| [I]、親化合物 | 73.1 | 71.8 | 70.3 |
| 未同定物質 | — | — | 2.2 |
| 高極性未同定物質 ²⁾ | 1.6 | 0.4 | 0.5 |
| 未抽出残留物 | 21.2 | 23.4 | 19.5 |
| フルボ酸 | | | 2.8 |
| フミン酸 | | | 9.2 |
| ヒューミン | | | 7.5 |

¹⁾ 灌水後の経過日数。

²⁾ TLC 原点に認められた放射能。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) 好氣的土壤中動態試験及び土壌表面における光分解

(代謝試料 No.10)

試験実施機関：

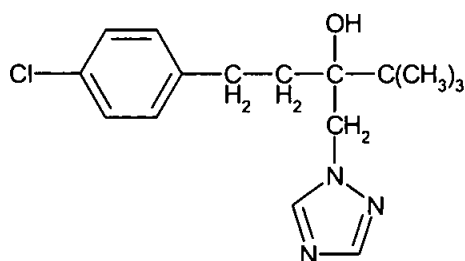
報告書作成年：1990年【GLP 対応】

供試標識化合物：

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)ペンタン-3-オール

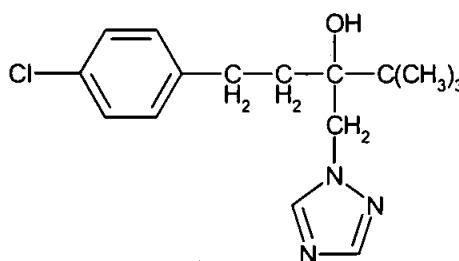
標識テブコナゾール

化学構造：



標識テブコナゾール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

比放射能：

放射化学的純度

肥料、処理量、処理方法、植生及び光等の影響を検討するため、好氣的条件下で以下の4種類の実験を行った。

- 1) 標準条件下(20°C、暗所)における分解性
- 2) 植生下及び非植生下における分解性(温室内及び屋外開放系)
- 3) 土壌表面における人工光による分解性
- 4) 土壌表面における自然光による分解性(屋外開放系)

供試土壌：各実験において、以下の3種類の土壌のうち1種類又は2種類を用いた。

| | Nisse 土壌 | Hofchen 土壌 | 土壌 2.2 |
|-------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 土性 | シルト質壤土 | シルト | 砂壤土 |
| 採取場所 | Nisse, Xeeland, オランダ | Hofchen 実験農場 (Burscheid, ドイツ) | Hanhofen, Vorderpfalz, ドイツ |
| 粒径組成 砂 | 2000~63 μm | 22.1% | 75.9% |
| シルト | 63~2 μm | 58.1% | 16.5% |
| 粘土 | <2 μm | 19.8% | 7.6% |
| 有機炭素含有量 (%) | 0.8 | 2.6 | 2.2 |
| pH | 6.0 | 5.4 | 5.4 |
| 陽イオン交換容量 (meq/100g) | 13.0 | 10.5 | 8.0 |
| 試験開始時の微生物バイオマス (mgC/kg) | 866 | 321 | 965 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

土壌抽出物中の放射能の多くは親化合物[I]と同定され、123 日後には 56.8%(
処理試料)及び 54.6%(
処理試料)検出された。さらに長時間インキュベートす
ると親化合物の分解速度は低下し、433 日後には親化合物は 29.6%(
処理試料)及び
41.9%(
処理試料)残存した。このような分解の推移は長期間のインキュベート
によりバイオマスが減少し、生物分解能が低下したためと考えられた。また、土壌粒子への吸着
の増加により生物利用性が低下したためと考えられた。

代謝分解物として、()及び ()
)又は ()の構造
が推定された。これらの代謝分解物はいずれの標識体処理試料においても認められ、含量で
1.2~2.1%検出された。さらに、()
処理試料において ()
が同定され、最大 5.9%検出された。

表 1 Nisse 土壌を用いた実験における分析結果(処理放射能に対する%)

| | 123 日 | 299 日 | 433 日 | 123 日 | 299 日 | 433 日 |
|----------|------------------|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 二酸化炭素 | 11.1 | 28.4 | 32.2 | 0.3 | 1.3 | 0.7 |
| 他の揮発性物質 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 |
| 土壌抽出物 | 62.2 | 43.6 | 34.2 | 67.9 | 57.0 | 52.7 |
| [I]、親化合物 | 56.8 | 36.7 | 29.6 | 54.6 | 43.7 | 41.9 |
| | } 2.0 | 2.1 | 1.4 | 2.0 | 1.2 | 1.3 |
| | | | | | | |
| | na ²⁾ | na ²⁾ | na ²⁾ | 5.9 | 2.8 | 3.8 |
| 未同定物質 | 1.4 | 1.9 | 1.7 | 2.3 | 5.9 | 2.0 |
| 分析操作ロス | 2.0 | 2.9 | 1.5 | 3.1 | 3.4 | 3.8 |
| 未抽出残留物 | 15.7 | 17.7 | 21.7 | 14.4 | 21.9 | 25.5 |
| 合計 | 89.0 | 89.7 | 88.1 | 82.6 | 80.1 | 78.9 |

¹⁾推定構造 ²⁾該当せず

②Hofchen 土壌(シルト)

二酸化炭素の生成量は少なく、()
処理試料においても処理放射能の 2.1%以下であ
った。()
処理試料では、土壌抽出物中に 79.4%(433 日後)以上の放射能が検出され、
未抽出放射能は 9.6%(123 日後)以下であった。()
処理試料では、土壌抽出物中
に 73.4%(433 日後)以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 7.7%(433 日後)以下であった。

土壌抽出物中の放射能の多くは親化合物[I]と同定され、123 日後に 75.0%(
処理試料)及び 66.3%(
処理試料)、433 日後に 69.3%(
処理試料)
及び 61.9%(
処理試料)残存した。従って、Hofchen 土壌を用いた実験では、
Nisse 土壌と比較して親化合物は緩やかに分解した。

代謝分解物として、()及び ()
)又は ()
()の構造が推定され、含量で 2.6~4.8%検出された。
()
()の生成量は 0.1%以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

処理量及び処理方法：

処理量は最高実用使用量(約 0.5 mg a.i./kg 土壌)の 0.4 倍量(=約 0.2 mg a.i./kg 土壌)、4 倍量(=約 2mg a.i./kg 土壌)又は 12-13 倍量(=約 6~6.5mg a.i./kg 土壌)とした。

供試標識化合物及び非標識化合物(純度：99.5%)をメタノールに溶解し、必要量(表 3 及び 4)を水約 30mL に懸濁して土壌 2.5kg に混和処理又は表層処理した(各実験の処理方法は表 1 及び表 2 参照)。容器を約 20~30mL の水で洗い、洗液も処理した。

表 3 処理試料の処理量(mg/2.5kg 土壌)

| 実験 No. | No.1 | No.2 | No.3 | No.4 | No.5 |
|----------------------|--------|--------|----------|--------|--------|
| 処理量 | 0.4 倍量 | 4 倍量 | 12-13 倍量 | 4 倍量 | 4 倍量 |
| 供試標識化合物 | 0.51mg | 0.69mg | 0.71mg | 0.69mg | 0.62mg |
| 非標識化合物 | — | 4.41mg | 19.41mg | 4.41mg | 4.41mg |
| 実際の処理量 ¹⁾ | 0.51mg | 4.87mg | 16.62mg | 4.92mg | 4.92mg |

¹⁾ 処理後の容器に残った量を引いた値

表 4 処理試料の処理量(mg/2.5kg 土壌)

| 実験 No. | No.6 | No.7 | No.8 | No.9 | No.10 |
|----------------------|--------|--------|----------|--------|--------|
| 処理量 | 0.4 倍量 | 4 倍量 | 12-13 倍量 | 4 倍量 | 4 倍量 |
| 供試標識化合物 | 0.54mg | 1.16mg | 1.10mg | 1.16mg | 1.16mg |
| 非標識化合物 | — | 4.22mg | 19.22mg | 4.22mg | 4.22mg |
| 実際の処理量 ¹⁾ | 0.54mg | 5.22mg | 15.71mg | 5.03mg | 5.25mg |

¹⁾ 処理後の容器に残った量を引いた値

試料採取：

処理 291~393 日後に植生の地上部及び根部、並びに土壌を採取した(各実験のインキュベート期間は表 1 及び 2 参照)。

抽出及び分析：

土壌は、水又はメタノール/水(2/1)、メタノール、次いで酢酸エチル又はメタノール/25%アンモニア(60/40)で順次抽出した。水及びメタノール抽出液を併せてクロロホルムで抽出し、クロロホルム層と水層に分離した。クロロホルム層と酢酸エチル抽出液は併せた。植物地上部及び根部はメタノール、次いでクロロホルムで抽出した。

抽出物中の成分は TLC 及び HPLC 分析した。放射能測定及びクロマトグラフィー分析は実験 1 と同様に行った。また、一部の抽出物について質量分析(MS)、ガスクロマトグラフィー/質量分析(GC/MS)及び NMR スペクトル分析を行い、構造を同定及び確認した。

試験結果：

①親化合物の分解性

0.4 倍量で土壌混和処理し、植物を栽培した実験(No.1 及び 6)では、親化合物[I]は処理放射能の 2.3%(No.1、291 日後)及び 2.6%(No.6、299 日後)検出された。同条件で処理量を 12-13 倍量とした実験(No.3 及び 8)では、親化合物は 26.0%(No.3、329 日後)及び 21.0%(No.8、378 日後)検出され、処理量が多いほうが親化合物の残留量は高い数値であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4 倍量で土壌混和処理し、植物を栽培しない実験(No.2 及び 7)では、親化合物[I]は処理放射能の 6.1%(No.2、372 日後)及び 9.0%(No.7、318 日後)検出された。同条件で土壌表層処理した実験(No.5 及び 10)では、親化合物は 20.8%(No.5、374 日後)及び 28.9%(No.10、325 日後)検出され、土壌混和処理したほうが親化合物は速やかに分解した。

4 倍量で土壌表層処理し、植物を栽培した実験(No.4 及び 9)における親化合物[I]の残留量は処理放射能の 14.1%(No.4、393 日後)及び 15.3%(No.9、337 日後)で、同条件で植物を栽培しないバッチ(No.5 及び 10)と比較して低い数値であった。

②放射能分布及び代謝分解物の分析

回収率は 処理試料で処理放射能の 41.9~69.6%、 処理試料で 75.7~97.7%であり、この差は二酸化炭素への分解によると推定された。

土壌抽出物中には、構造が推定された代謝分解物として、 処理試料においても ()又は ()が認められ、最大 7.5%検出された。これらの化合物は互変異性体であり、標準品が利用できなかったため、いずれの形で存在しているのかは明らかではなかった。

処理試料には ()が最大 9.0%検出された他、 ()及び ()が 1%未満検出された。

植物体には約 4~20%(処理試料)及び約 32~36%(処理試料)の放射能が検出された。植物試料抽出物を HPLC 及び TLC 分析した結果、親化合物[I]が最大 5.1%検出された。

表 5 処理試料の分析結果(処理放射能に対する%)

| 実験 No. | No.1 | No.2 | No.3 | No.4 | No.5 | |
|------------------------|----------|--------|---------|-------|-------|------|
| 設定処理量 | 0.4 倍量 | 4 倍量 | 12-13倍量 | 4 倍量 | 4 倍量 | |
| 処理方法、植生の有無 | 混和、有 | 混和、無 | 混和、有 | 表層、有 | 表層、無 | |
| インキュベート期間 | 291 日 | 372 日 | 329 日 | 393 日 | 374 日 | |
| 土 壤 | 土壌抽出物 | 4.1 | 11.4 | 36.3 | 23.4 | 43.0 |
| | [I]、親化合物 | 2.3 | 6.1 | 26.0 | 14.1 | 20.8 |
| | | 0.5 | 1.6 | 5.3 | 3.6 | 7.5 |
| | 未同定物質 | 1.1 | 1.3 | 4.8 | 2.7 | 9.0 |
| | 分析操作ロス | 0.2 | 2.4 | 0.2 | 3.0 | 5.7 |
| | 未抽出残留物 | 36.5 | 30.5 | 21.4 | 23.5 | 26.6 |
| | 植 物 | 根部 抽出物 | 0.2 | / | 2.2 | 3.0 |
| 根部 未抽出残留物 | | 1.2 | 1.6 | | 2.8 | |
| 地上部 抽出物 | | 1.1 | 3.4 | | 10.1 | |
| 地上物 未抽出残留物 | | 1.3 | 2.4 | | 3.8 | |
| [I]、親化合物 ²⁾ | | 0.8 | 2.2 | | 3.5 | |
| 合計 | 44.4 | 41.9 | 67.3 | 66.6 | 69.6 | |

1) 推定構造 2) 植物抽出物の分析結果

表 6 処理試料の分析結果(処理放射能に対する%)

| 実験 No. | No.6 | No.7 | No.8 | No.9 | No.10 | |
|------------------------|------------|-------|---------|-------|-------|------|
| 設定処理量 | 0.4 倍量 | 4 倍量 | 12-13倍量 | 4 倍量 | 4 倍量 | |
| 処理方法、植生の有無 | 混和、有 | 混和、無 | 混和、有 | 表層、有 | 表層、無 | |
| インキュベート期間 | 299 日 | 318 日 | 378 日 | 337 日 | 325 日 | |
| 土 壤 | 土壌抽出物 | 10.6 | 28.4 | 30.4 | 28.3 | 51.8 |
| | [I]、親化合物 | 2.6 | 9.0 | 21.0 | 15.3 | 28.9 |
| | | 0.4 | 2.1 | 5.3 | 3.4 | 4.3 |
| | | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.1 |
| | | n.d. | n.d. | n.d. | 0.6 | 0.4 |
| | 未同定物質 | 4.5 | 9.0 | 0.9 | 4.0 | 7.1 |
| | 分析操作ロス | 2.0 | 5.5 | 3.0 | 5.0 | 5.6 |
| | 未抽出残留物 | 1.1 | 2.8 | 0.2 | — | 5.4 |
| 植 物 | 根部 抽出物 | 51.7 | 47.3 | 23.7 | 22.4 | 37.3 |
| | 根部 抽出物 | 0.7 | / | 1.0 | 3.9 | / |
| | 根部 未抽出残留物 | 3.9 | | 1.6 | 3.9 | |
| | 地上部 抽出物 | 10.1 | | 15.5 | 11.4 | |
| | 地上物 未抽出残留物 | 20.7 | | 17.7 | 12.4 | |
| [I]、親化合物 ²⁾ | <0.1 | 2.1 | | 5.1 | | |
| 合計 | 97.7 | 75.7 | 89.9 | 82.3 | 89.1 | |

1) 推定構造 2) 植物抽出物の分析結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) 土壌表面における人工光による分解性

供試標識化合物： 標識化合物及び 標識化合物

供試土壌： Nisse 土壌(シルト質壤土)

試験前に堆肥を約 80mL/kg 土壌で施肥した。

光照射条件： キセノンランプを 9 日後までは昼夜リズムで照射し、その後は連続照射した。

試験方法：

65mL 容石英ガラス製容器の底にろ紙を敷いて土壌 2g を薄く広げて均一な層とし、揮発性物質捕集装置を接続した。温度調節装置(温度 17~18°C)付の試料台上でキセノンランプを最長 89 日間照射した。給水用の注入針をろ紙の先端まで伸ばし、試験期間にわたり必要に応じて給水した。

処理量及び処理方法：

処理量は、 処理試料では最高実用使用量(約 0.5mg a.i./kg 土壌)の 1.3 倍量(=約 0.65mg a.i./kg 土壌)、 処理試料では 1.6 倍量(=約 0.8 mg a.i./kg 土壌)とした。

供試標識化合物をメタノールに溶解し、土壌に混和した。実際の処理量は 処理試料で 0.65 mg/kg 土壌、 処理試料で 0.8 mg/kg 土壌であった。

試料採取：

処理 8、26、49 及び 89 日後に土壌を採取し、窒素を通して試験容器内の揮発性物質を捕集装置に吸収させた。

抽出及び分析：

土壌は水、メタノール/水 (1/1)、メタノール、酢酸エチルで順次抽出した。抽出液を併せてクロロホルム/水で分配し、各層に分離した。

土壌抽出物中の親化合物を TLC 分析した。放射能測定及びクロマトグラフィー分析は実験 1 と同様に行った。

試験結果：

処理試料では、二酸化炭素が最大 17.0%、他の揮発性物質が最大 0.3%検出された。土壌抽出物中には 23.5% (89 日後) 以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 64.9%(89 日後)以下であった。

処理試料では、二酸化炭素が最大 4.0%検出され、他の揮発性物質は検出されなかった。土壌抽出物中には 54.1%(89 日後)以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 25.6%(89 日後)以下であった。

親化合物 [I] は速やかに分解し、26 日後に 40.7%(処理試料)及び 35.0%(処理試料)、89 日後に 3.8%(処理試料)及び 5.9%(処理試料)残存した。少量の試料を用いて親化合物の分解について試験したため代謝分解物の同定は困難であったが、TLC 分析の結果、ほとんどの放射能が高極性の成分と示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 分析結果(処理放射能に対する%)

| | 8日 | 26日 | 49日 | 89日 | 8日 | 26日 | 49日 | 89日 |
|------------------------|------|------|------|-------|------|------|------|------|
| 二酸化炭素 | 4.1 | 8.8 | 10.2 | 17.0 | 4.0 | 3.9 | 1.5 | 2.1 |
| 他の揮発性物質 | 0.3 | 0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 |
| 土壌抽出物 | 81.4 | 53.5 | 29.5 | 23.5 | 86.4 | 72.7 | 71.8 | 54.1 |
| 有機層 | 72.0 | 36.8 | 9.9 | 8.8 | 75.0 | 43.4 | 21.6 | 16.1 |
| 水層 | 1.7 | 7.1 | 8.0 | 9.0 | 4.8 | 22.4 | 42.2 | 33.8 |
| 分析操作ロス | 7.7 | 9.6 | 11.6 | 5.7 | 6.6 | 6.9 | 8.0 | 4.2 |
| [I]、親化合物 ¹⁾ | 72.0 | 40.7 | 6.2 | 3.8 | 75.0 | 35.0 | 11.4 | 5.9 |
| 未抽出残留物 | 9.8 | 32.0 | 54.2 | 64.9 | 9.5 | 14.7 | 19.4 | 25.6 |
| 合計 | 95.6 | 94.4 | 93.9 | 105.4 | 99.9 | 91.3 | 92.7 | 81.8 |

¹⁾ 有機層及び水層のTLC分析結果

4) 土壌表面における自然光による分解性(屋外開放系)

供試標識化合物： 標識化合物

供試土壌：土壌 2.2(砂壤土)及び Hofchen 土壌(シルト)

光照射条件：自然太陽光

土壌 2.2：3月22日から照射した。試験期間(70日間)における日射時間は438時間、累積照射エネルギーは107.8 kJ/cm²であった。

Hofchen 土壌：8月17日から照射した。試験期間(86日間)における日射時間は307時間、累積照射エネルギーは66.6 KJ/cm²であった。

試験方法：

土壌(450g又は907g)をアルミホイル(30cm×30cm)上に薄く広げて均一な層とし、石英ガラスで覆った。屋外開放系に設置した温度調節装置(20±2℃)付の試験台上で自然太陽光を70日間又は86日間照射した。

処理量及び分析方法：

処理量は、土壌 2.2 を用いた実験では最高実用使用量(約0.5mg a.i./kg 土壌)の11倍量(=約5.5mg a.i./kg 土壌)、Hofchen 土壌を用いた実験では6倍量(=約3 mg a.i./kg 土壌)とした。

標識化合物及び非標識化合物(純度：)をメタノールに溶解し、表1のとおり土壌に混和した。

表 1 処理量(mg/450g 土壌又は mg907g 土壌)

| 土壌 | 土壌 2.2 (450g) | Hofchen 土壌(907g) |
|---------|---------------|------------------|
| 供試標識化合物 | 1.944mg | 1.690mg |
| 非標識化合物 | 0.625mg | 1.470mg |
| 合計 | 2.569mg | 3.160mg |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試料採取：

土壌 2.2 を用いた実験では 70 日後、Hofchen 土壌を用いた実験では 86 日後に土壌を採取した。

抽出及び分析：

土壌 2.2 は、水、メタノール/水(1/1)、メタノール、酢酸エチル、メタノール/25%アンモニア(60/40)で順次抽出した。Hofchen 土壌は、メタノール/水(1/1)、メタノール、メタノール/25%アンモニア(60/40)で順次抽出した。各抽出液は併せてクロロホルムで抽出し、クロロホルム層と水層に分離した。

土壌抽出物中の成分は TLC 及び HPLC 分析した。放射能測定及びクロマトグラフィー分析は実験 1 と同様に行った。また、一部の抽出物について MS 分析及び GC/MS 分析を行い、構造を同定及び確認した。

試験結果：

①土壌 2.2(砂壌土)

土壌抽出物中には処理放射能の 67.8%が検出され、未抽出放射能は 14.1%であった。土壌抽出物中に認められた放射能の多くは親化合物[I]と同定され、53.0%検出された。また、()が 3.3%、()が 1.0%同定された他、()、()及び()がそれぞれ 1%未満で同定された。その他には()及び()の構造が推定され、含量で 1.8%検出された。

②Hofchen 土壌(シルト)

土壌抽出物中には処理放射能の 77.7%が検出され、未抽出放射能は 12.5%であった。土壌抽出物中に認められた放射能の多くは親化合物[I]と同定され、51.7%検出された。その他には()が 1.8%、()が 1.1%、()が 1.0%同定された。その他の同定又は構造が推定された代謝分解物はいずれも 1%未満であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 分析結果(処理放射能に対する%)

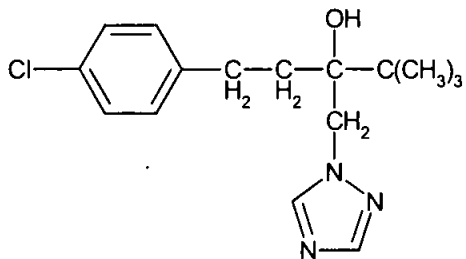
| | 土壌 2.2 | Hofchen 土壌 |
|--------------|--------|------------|
| | 70 日 | 86 日 |
| 土壌抽出物 | 67.8 | 77.7 |
| 有機層 | 60.1 | 62.7 |
| 水層 | 4.2 | 2.7 |
| 分析操作ロス | 3.5 | 12.3 |
| 未抽出残留物 | 14.1 | 12.5 |
| 合計 | 81.9 | 90.2 |
| 有機層及び水層の分析結果 | | |
| [I]、親化合物 | 53.0 | 51.7 |
| | 1.8 | 0.9 |
| | 0.5 | 1.1 |
| | 3.3 | 0.8 |
| | 0.4 | 1.8 |
| | 0.8 | 1.0 |
| | 1.0 | 0.6 |
| 未同定物質 | 3.5 | 7.5 |

1) 推定構造

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

推定代謝経路：

以上の結果から、代謝経路は以下のとおり推定された。



{ I }

** : MS 分析及び NMR スペクトル分析に基づく推定構造

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) 土壌表面における光分解

(代謝資料 No.12)

試験実施機関：

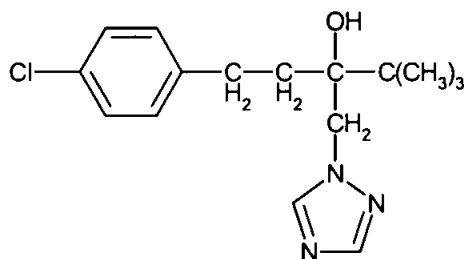
報告書作成年：1987年【GLP 非対応】

供試標識化合物：

標識テブコナゾール

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)
ペンタン-3-オール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

供試土壌：

| | |
|------------------------------|----------------------------|
| 土性 | 砂壤土 |
| 採取場所 | 研究農場 Stilwell カンサス市アメリカ |
| 組成 砂 (0.02~2.0mm) | 54.0% |
| シルト(0.002~0.02mm) | 37.0% |
| 粘土 (<0.002) | 9.0% |
| 有機物質含有量(%) | 1.8 |
| pH(0.01M CaCl ₂) | 4.5 |
| 陽イオン交換容量(meq/100g、pH8.2) | 16.0 |

光照射条件：

自然太陽光を7月30日から照射した。試験期間(34日間)における累積照射エネルギーは811.4 W分/cm²(=約48.7kJ/cm²)(300~4800nm)、平均光強度は311.2 W/m²(300~4800nm)であった。

試験方法：

直径5cmのシャーレに土壌3gを添加して厚さ0.5mmの層とした。合計17の試験容器(表1参照、開始時試料を除く)を光分解装置内に無作為に設置し、揮発性物質捕集装置(1N KOH、エチレングリコール又は交換樹脂をそれぞれ含む)を光分解装置に接続し、空気を通した。平均温度18~19℃で自然太陽光を最長34日間照射した。

処理量及び処理方法：処理量は122 µg/容器(=約41mg/kg土壌)とした。照射表面積が19.6cm²であったことから、630g/haに相当した。

供試標識化合物をアセトンに溶解し、濃度1.22mg/mLの溶液を調製した。溶液0.1mLを3gの土壌表面に均一に処理した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試料採取：各容器を表 1 のとおり採取した。光分解装置に接続した揮発性物質捕集装置は 5、13、22 及び 34 日後に交換した。

表 1 試料数及び採取時期

| | 容器数 | 採取時期 |
|---------------------|-----|-----------------------------------|
| 開始時試料 | 2 | 0 日後に 2 点の容器を採取 |
| 光照射試料 | 8 | 5、13、22 及び 34 日後に各試料につき 2 点の容器を採取 |
| 暗対照試料 ¹⁾ | 8 | |
| 無処理試料 ²⁾ | 1 | 13 日後に 1 点の容器を採取 |

1) アルミホイルで被覆。2) 揮発性物質の土壌への吸着を確認するため用意した。

抽出及び分析：土壌はメタノールで抽出し、抽出液を液体シンチレーションカウンター(LSC)及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。1N KOH 及びエチレングリコール捕集液は LSC で放射能測定した。抽出後の土壌及び交換樹脂は燃焼して LSC で放射能測定した。

試験結果：

揮発性物質捕集装置及び 13 日後の無処理試料に放射能は検出されなかった。

光照射試料では、土壌抽出物中に 89%(34 日後)以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 5.5%(34 日後)以下であった。土壌抽出物中の放射能の多くは親化合物[I]と同定され、86%(34 日後)以上残存した。その他には 2 種類の未同定物質が認められ、いずれも 3%以下で検出された。

暗対照試料では、土壌抽出物中に 97%(22 日後)以上の放射能が検出され、未抽出放射能は 1.7%(22 及び 34 日後)以下であった。土壌抽出物中に代謝分解物は検出されず、親化合物[I]は 97%以上で残存した。

表 2 分析結果(処理放射能に対する%)

| | | 0 日 | 5 日 | 13 日 | 22 日 | 34 日 |
|-----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 光照射 試料 | 土壌抽出物 | / | | | | |
| | [I]、親化合物 | | 96 | 95 | 94 | 86 |
| | 未同定物質 1 | | <1 | 2 | 3 | 3 |
| | 未同定物質 2 | | <1 | <1 | 3 | <1 |
| | 未抽出残留物 | | 2.6 | 3.1 | 3.6 | 5.5 |
| | 合計 | | 98.6 | 100.1 | 103.6 | 94.5 |
| 暗対照 試料 | 土壌抽出物 | | | | | |
| | [I]、親化合物 | 100 | 100 | 100 | 97 | 100 |
| | 未抽出残留物 | 0.3 | 1.2 | 1.5 | 1.7 | 1.7 |
| | 合計 | 100.3 | 101.2 | 101.5 | 98.7 | 101.7 |

推定半減期：

光照射試料における親化合物[I]の推定半減期は、分解が擬一次式に従ったと仮定すると 191 日と算出された。また、親化合物が半減するまでに要するエネルギーは 4280 W 分/cm²(=約 256.8kJ/cm²)と算出された。

4. 水中動態に関する試験

(1) 加水分解動態試験

(代謝資料 No.11)

試験実施機関：

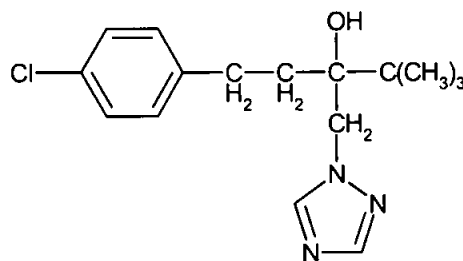
報告書作成年：1984年【GLP 非対応】

供試標識化合物：

標識テブコナゾール

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)ペンタン-3-オール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

供試水：滅菌緩衝液

pH5 0.1M KH₂PO₄水溶液に0.1M Na₂HPO₄水溶液を加えてpH5に調整

pH7 0.1M KH₂PO₄水溶液に0.1M Na₂HPO₄水溶液を加えてpH7に調整

pH9 0.1M KH₂PO₄水溶液に0.1M Na₂HPO₄水溶液を加えてpH9に調整

試験方法：

60mL 容テフロン瓶に供試水 40mL を添加し、供試標識化合物のアセトニトリル溶液(濃度 1800mg/L)を 0.4mL 添加して濃度約 18mg/L の試験液を調製した。25±1°Cの暗所で最長 28 日間インキュベートした。

試料採取：各 pH について、試験開始時(0 日後)に 1 点の試料を採取し、処理 1、4、7、14、21 及び 28 日後に 2 点の試料を採取した。

分析方法：試験液は液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能測定した。試験液中の成分は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析し、質量分析(MS)により構造を確認した。

試験結果：

いずれの pH においても、試験液中に親化合物[I]が処理放射能の 99%以上で検出され、分解物は検出されなかった。従って、試験期間にわたり親化合物は安定であった。

表 1 試験液中の親化合物の分析結果(処理放射能に対する%)

| | 0 日 | 1 日 | 4 日 | 7 日 | 14 日 | 21 日 | 28 日 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| pH5 | 99.5 | 100.8 | 100.8 | 101.1 | 100.5 | 101.7 | 103.0 |
| pH7 | 100.0 | 99.7 | 99.4 | 100.0 | 102.6 | 104.3 | 104.2 |
| pH9 | 101.1 | 103.7 | 102.9 | 101.1 | 101.7 | 104.0 | 101.6 |

1) 各時点の濃度/初期濃度×100として申請者が算出した(0日を除き、2点の試料の平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) 水中光分解動態試験(滅菌緩衝液)

(代謝資料 No.12)

試験実施機関：

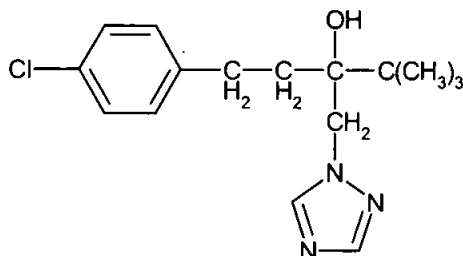
報告書作成年：1987年【GLP 非対応】

供試標識化合物：

標識テブコナゾール

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)
ペンタン-3-オール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

供試水：滅菌緩衝液(pH7.0 リン酸緩衝液)

光照射条件：

自然太陽光を9月8日から照射した。試験期間(30日間)における累積照射エネルギーは547.7 W分/cm²(=約32.9kJ/cm²)(300~4800nm)、平均光強度は244.4 W/m²(300~4800nm)であった。

試験方法：

供試水225mLに供試標識化合物のメタノール溶液1.4mLを添加して濃度22.24 mg/L(メタノール含有量0.62%)の試験液を調製し、2つの石英製容器(10×10×1cm)に分注して一方を光照射試料、他方を暗対照試料とした。平均温度24℃で自然太陽光を最長30日間照射した。

試料採取：0、5、10、18及び30日後に試験液の一部を採取した。

分析方法：試験液は液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能測定した。試験液中の成分は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。

試験結果：

光照射試料の試験液中には親化合物[I]が処理放射能の94%以上で検出された。暗照射試料においても親化合物は安定であり、試験液中に94%以上で検出された。

表2 試験液中の親化合物の分析結果(処理放射能に対する%)

| | 0日 | 5日 | 10日 | 18日 | 30日 |
|-------|--------------------|----|-----|-----|-----|
| 光照射試料 | n.s. ¹⁾ | 95 | 95 | 94 | 95 |
| 暗対照試料 | 100 | 97 | 95 | 94 | 94 |

¹⁾ 試料なし

推定半減期：

光照射試料における親化合物[I]の推定半減期は、分解が擬一次速度反応に従ったと仮定すると590日と算出された。また、親化合物が半減するまでに要するエネルギーは10383 W分/cm²(=約623kJ/cm²)と算出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) 水中光分解動態試験(滅菌及び非滅菌自然水)

(代謝資料 No.13)

試験実施機関：

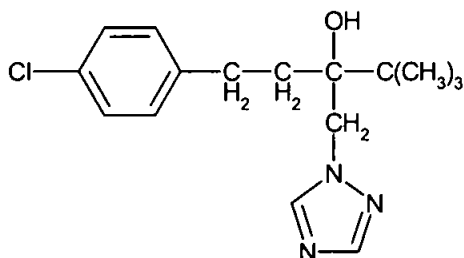
報告書作成年：1990年【GLP 対応】

供試標識化合物：

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)ペンタン-3-オール

標識テブコナゾール

化学構造：

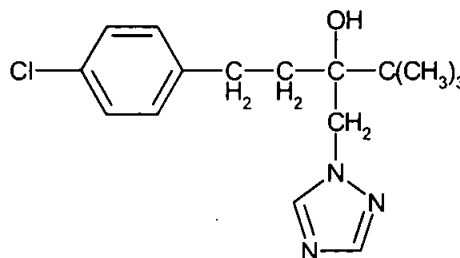


比放射能：

放射化学的純度：

標識テブコナゾール

化学構造：



比放射能：

放射化学的純度：

供試水：滅菌又は非滅菌自然水(オランダ IJzendoorn の果樹園の排水溝から採取)

光照射条件：キセノンランプ(光強度：100~140W/m²、測定波長：300~400nm)を連続照射した。

試験方法：

約 430mL 容石英ガラス製容器に供試水 250mL を添加し、供試標識化合物のアセトン溶液を添加して濃度約 0.375mg/L の試験液を調製した。実験 JA-219 及び JA-220 として生物的及び非生物的分解を検討し、実験 JA-221 及び JA-222 として物質収支を検討した。

揮発性物質を捕集するため、実験 JA-219 ではエチレングリコール、水酸化バリウム溶液、硫酸又は苛性ソーダ溶液をそれぞれ含む洗浄瓶を試験容器に接続した。その他の実験ではソーダ石灰及びパラフィンオイルを浸した綿栓を含むガラス管を試験容器に接続した。試験期間にわたり温度 25℃でキセノンランプを連続照射した。

表 1 実験 JA-219 及び JA-220 の試験条件

| 実験 No. | 供試水 | 標識位置 | 光照射日数 | 処理放射能 (kBq) | 処理量 (µg/250mL) |
|----------|---------------------|------|-------|-------------|----------------|
| JA-219-1 | 非滅菌自然水 | | 26 日 | 271.9 | 87 |
| JA-219-2 | 非滅菌自然水 | | 26 日 | 299.2 | 128 |
| JA-220-1 | 滅菌自然水 ¹⁾ | | 18 日 | 309.4 | 99 |
| JA-220-2 | 滅菌自然水 ¹⁾ | | 18 日 | 254.7 | 109 |

¹⁾ 滅菌ろ過した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 実験 JA-221 及び JA-222 の試験条件

| 実験 No. | 供試水 | 標識位置 | 光照射日数 | 処理放射能 (kBq) | 処理量 (µg/250mL) |
|----------|--------|------|-------|-------------|----------------|
| JA-221-2 | 非滅菌自然水 | | 28 日 | 365 | 117 |
| JA-221-1 | 非滅菌自然水 | | 53 日 | 365 | 117 |
| JA-222-1 | 非滅菌自然水 | | 28 日 | 233 | 100 |
| JA-222-2 | 非滅菌自然水 | | 53 日 | 233 | 100 |

試料採取、抽出及び分析：

実験 JA-219 及び JA-220；

実験 JA-219 では 5、15、19 及び 26 日後に試験液を採取した。5、19 及び 26 日後に捕集液を交換した。また、26 日後に試験容器をメタノールで洗浄し、洗浄液を採取した。

実験 JA-220 では 7 及び 18 日後に試験液を採取した。18 日後に窒素を通して試験容器中の揮発性物質を捕集装置に送出して採取した。また、18 日後に試験容器をメタノールで洗浄した。

試験液、洗浄液及び揮発性物質捕集装置中の放射能を液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。試験液を TLC プレートに直接塗布して分析した。

実験 JA-221 及び JA-222；

実験 JA-221-2 及び JA-222-1 では 28 日後、実験 JA-221-1 及び JA-222-2 では 53 日後に試験液を採取した。また、同時期に窒素を通し、試験容器中の揮発性物質を捕集装置に送出して採取した。

試験液及び揮発性物質捕集装置中の放射能を LSC で測定した。試験液を TLC プレートに直接塗布して分析した。また、試験液を C18 カートリッジで固相抽出してメタノール溶出画分と水画分に分離し、各画分を LSC 及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。

試験結果：

実験 JA-219 及び JA-220；

滅菌水における 18 日後の親化合物 [I] の残留量は 51.6% (処理試料) 及び 63.7% (処理試料) であった。非滅菌水における同時期(19 日後)の親化合物 [I] の残留量は 33.0% (処理試料) 及び 22.8% (処理試料) で、親化合物の分解速度は滅菌水中のほうが遅く、親化合物の分解には非生物的分解過程の他に微生物も関与すると示唆された。

二酸化炭素の生成量は、ヘッドスペース及び試験液中の溶存量を併せると、非滅菌水で 26 日後に 18.0% (処理試料) 及び 1.0% (処理試料)、滅菌水で 18 日後に 4.4% (処理試料) 及び 0.4% (処理試料) 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 実験 JA-219(非滅菌水試料)の分析結果(処理放射能に対する%)

| 実験 No. | JA-219-1 | | | JA-219-2 | | |
|-------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------|--------------------|--------------------|----------------|
| | 標識位置 | | | | | |
| 照射日数 | 15 日 ¹⁾ | 19 日 ¹⁾ | 26 日 | 15 日 ¹⁾ | 19 日 ¹⁾ | 26 日 |
| 揮発性物質 | | | | | | |
| ¹⁴ CO ₂ | | | 3.8 | | | 0.3 |
| 他の揮発性物質 | | | <0.1 | | | <0.1 |
| 試験液 | | | | | | |
| 溶存 ¹⁴ CO ₂ | | | 14.2 | | | 0.7 |
| 他の揮発性成分 (親化合物[I] ²⁾) | 75.0 (42.4) | 70.6 (33.0) | 69.7 (24.1) | 87.1 (28.2) | 89.1 (22.8) | 89.9 (13.0) |
| 容器洗浄液 | | | 0.8 | | | 1.6 |
| 回収率 | | | 88.5 | | | 92.5 |

1) 試験液の分析結果のみ報告。 2) 親化合物の分析結果。

表 4 実験 JA-220(滅菌水試料)の分析結果(処理放射能に対する%)

| 実験 No. | JA-220-1 | | JA-220-2 | |
|-------------------------------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|
| | 標識位置 | | | |
| 照射日数 | 7 日 ¹⁾ | 18 日 | 7 日 ¹⁾ | 18 日 |
| 揮発性物質 | | | | |
| ¹⁴ CO ₂ | | 1.7 | | <0.1 |
| 他の揮発性物質 | | <0.1 | | <0.1 |
| 試験液 | | | | |
| 溶存 ¹⁴ CO ₂ | | 2.7 | | 0.4 |
| 他の揮発性成分 (親化合物[I] ²⁾) | 80.2 (66.5) | 75.4 (51.6) | 81.9 (68.0) | 82.8 (63.7) |
| 容器洗浄液 | | 0.5 | | 0.5 |
| 回収率 | | 80.3 | | 83.7 |

1) 試験液の分析結果のみ報告。 2) 親化合物の分析結果。

実験 JA-221 及び JA-222 ;

処理試料では、二酸化炭素が 28 日後に 14.2%、53 日後に 53.6%、他の揮発性物質が 0.3~0.4%検出された。一方、
処理試料では、二酸化炭素が 28 日後に 0.6%、53 日後に 1.1%検出され、他の揮発性物質は<0.1%であった。

親化合物[I]は 28 日後に 39.9%(
処理試料)及び 44.2%(
処理試料)、53 日後に 3.4%(
処理試料)及び 7.8%(
処理試料)残存した。試験液中に比較的多く認められた分解物は (
)、 (
)及び (
)で、
処理試料では は最大 21.0%、
は最大 14.3%、 は最大 14.0%検出された。及び は
処理試料にも認められ、 は最大 3.5%(補正值では 21.0%)、 は最大 6.3%(補正值では 37.8%)検出された。その他に同定又は構造が推定された分解物は (
)、 (
)及び (
)
で、いずれも 2%以下であった。未同定放射能は比較的多く、最大 18.6%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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 5 実験 JA-221 及び JA-222(非滅菌水試料)の分析結果(処理放射能に対する%)

| 実験 No. | JA-221-2 | JA-221-1 | JA-222-1 | JA-222-2 |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------|--------------------|
| 標識位置 | | | | |
| 照射日数 | 28 日 | 53 日 | 28 日 | 53 日 |
| 揮発性物質 | | | | |
| ¹⁴ CO ₂ | 5.9 | 48.2 | 0.2 | 1.1 |
| 他の揮発性物質 | 0.3 | 0.4 | <0.1 | <0.1 |
| 試験液 | | | | |
| 溶存 ¹⁴ CO ₂ | 8.3 | 5.4 | 0.4 | n.m. ²⁾ |
| メタノール溶出画分 | 55.8 | 14.3 | 74.0 | 48.2 |
| [I]、親化合物 | 39.9 | 3.4 | 44.2 | 7.8 |
| | 0.7 | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 1.5 | 0.7 | 1.3 | 0.7 |
| | 1.8 | 0.5 | 2.0 | 1.0 |
| | 0.5 | n.d. | 0.4 | 0.4 |
| | 2.2(13.2) ³⁾ | 3.5(21.0) ³⁾ | 8.9 | 15.8 |
| | 4.4(26.4) ³⁾ | 3.0(18.0) ³⁾ | 6.0 | 10.9 |
| 未同定物質 | 4.8 | 3.2 | 11.2 | 11.6 |
| 水面分 | 19.7 | 23.9 | 17.3 | 41.2 |
| | n.d. | n.d. | 2.7 | 5.2 |
| | 1.9(11.4) ³⁾ | 2.3(13.8) ³⁾ | 1.9 | 3.4 |
| | — | — | 5.3 | 14.0 |
| 未同定物質 | 14.8 | 16.4 | 7.4 | 18.6 |
| 分析操作ロス | 3.0 | 5.2 | — | — |
| 回収率 | 90.0 | 92.2 | 91.9 | 90.5 |

1) 推定構造 2) 測定せず

3) 補正值(フェニル環に由来する炭素を 1 つ含む構造のため、6 倍にして補正)

推定半減期：

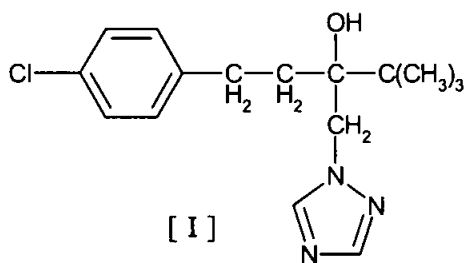
親化合物[I]の半減期は、0 日の値を 100%として分解が擬一次反応に従ったと仮定して算出すると、非滅菌自然水で 9~15 日、滅菌自然水で 20~30 日と算出された(申請者が算出)。

| 実験 No. | 供試水 | 標識位置 | 推定半減期 |
|------------|--------|------|-------|
| JA-219-1 | 非滅菌自然水 | | 12 日 |
| JA-219-2 | 非滅菌自然水 | | 9 日 |
| JA-220-1 | 滅菌自然水 | | 20 日 |
| JA-220-2 | 滅菌自然水 | | 30 日 |
| JA-221-1/2 | 非滅菌自然水 | | 11 日 |
| JA-222-1/2 | 非滅菌自然水 | | 15 日 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

推定分解経路：

以上の結果から、分解経路は以下のとおり推定された。



** : MS 分析及び NMR スペクトル分析に基づく推定構造

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

5. 土壌吸着性試験

(代謝資料 No.14)

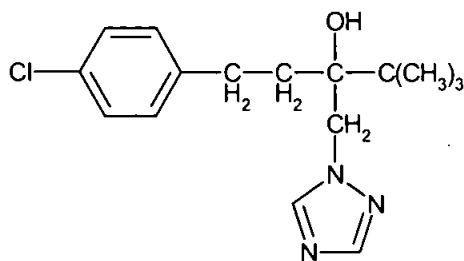
試験実施機関：

報告書作成年：1992年【GLP 非対応】

供試化合物：非標識テブコナゾール

化学名：(RS)-1-*p*-クロロフェニル-4,4-ジメチル-3-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)
ペンタン-3-オール

化学構造：



純度：

供試土壌：

| 土壌 | 採取場所 | 土性 ¹⁾ | 有機炭素含有率(%) | 陽イオン交換容量 (meq/100g) | リン酸吸収係数 |
|-----|--------|------------------|------------|------------------------|---------|
| I | 福島農試 | CL | 0.96 | 13.5 | 540 |
| II | 日植防・牛久 | SiCL | 4.11 | 21.4 | 2000 |
| III | 愛知農総試 | SCL | 1.11 | 7.9 | 290 |
| IV | 和歌山農試 | LiC | 1.37 | 11.0 | 410 |

¹⁾ 土性：CL = 埴壌土、SiCL = シルト質埴土、SCL = 砂質埴土、LiC = 軽埴土

試験方法：

OECD ガイドライン 106 に準拠して行った。

4 種類の土壌各 5g(風乾重)を 50mL 容の栓付きガラス製遠沈管に採り、純水 5mL を加えて 24 時間平衡化した。供試化合物を 0.01M CaCl₂ 溶液に溶解して濃度 0.05、0.2、1.0、5.0mg/L の溶液を調製し、設定濃度 0.04、0.2、1、5mg/L となるように溶液 20mL をそれぞれ各遠沈管に添加した。温度 25°C で、平衡到達時間(土壌 I、II 及び IV は 32 時間、土壌 III は 16 時間)まで振とうし、水相中のテブコナゾールを定量した。

また、設定濃度 1mg/L の試料について、土壌中のテブコナゾールを定量して物質収支を算出した。

抽出及び分析方法：

水相；

遠心分離後の上清 20 mL をジクロロメタンで抽出した(10 mL×2 回)。抽出液を合わせて脱水及び濃縮乾固した後、アセトンに溶解し、ガスクロマトグラフィー(GC)によりテブコナゾールを定量した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

土壌；

遠心分離後の土壌全量を 80%アセトン溶液で 5 分間激しく振とう抽出した(25 mL×3 回)。抽出液を合わせてアセトンを留去した後、ジクロロメタンに転溶し、ガスクロマトグラフィー(GC)によりテブコナゾールを定量した。

試験結果：

① 吸着試験

| 土壌 | 1/n ¹⁾ | K _{F^{ads}} ¹⁾ | r ¹⁾ | oc ²⁾ | K _{F^{ads}oc} ³⁾ |
|-----|-------------------|--|-----------------|------------------|--|
| I | 0.889 | 7.67 | 0.991 | 0.96 | 799 |
| II | 0.897 | 19.0 | 0.999 | 4.11 | 462 |
| III | 0.812 | 3.89 | 0.997 | 1.11 | 351 |
| IV | 0.904 | 16.1 | 0.999 | 1.37 | 1175 |

1) フロイントリッヒの吸着等温式における定数項と相関係数

2) 土壌中の有機炭素含有率(%)

3) K_{F^{ads}}を各土壌の oc で割求めた有機炭素吸着係数

②物質収支

水相と土壌を合わせた物質収支は、土壌 I で 105%、土壌 II で 104%、土壌 III で 109%、土壌 IV で 107%と良好であった。

6. 生物濃縮性に関する試験

魚類濃縮性試験

(代謝資料 No.15)

試験機関：

報告書作成年月日：1988年1月22日

被験物質：C¹⁴-テブコナゾール原体

供試生物：ブルーギル

1群45匹、体長；6.94 ± 0.35cm, 体重；4.5 ± 0.65g

試験方法：検体濃度として0.02ppm、0.2ppmを流水式条件下で3日間ブルーギルに暴露し、その後6日間の排泄期間を設けた。無処理対照群も設けた。魚の生死及び異常行動の観察は週末をのぞき、1日少なくとも1回行った。一般観察と同じタイミングで、水温、pHおよび溶存酸素を測定した：

温度；21℃, pH；7.9~8.1, 溶存酸素；8.2~9.3mg/L

検体を含む試験液約25Lを1時間ごとに水槽に注入した。

魚及び水は液体シンチレーション計測で放射能を測定するため、暴露開始後0、6、12、24、48、72、108、144、180及び216時間に採取した。暴露期間終了時に採取した魚において、残留成分の性質を調べた。

結果：

(1) 臨床症状

中毒症状および死亡はいずれの投与区でも認められなかった。

(2) 魚体内の検体濃度(ppm)

| 試験区 (ppm) | 取込期間(暴露開始後時間) | | | | | | 排泄期間(暴露開始後時間) | | | |
|--------------|---------------|------|------|------|------|------|---------------|------|------|------|
| | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 108 | 144 | 180 | 216 |
| 0.02 | 0.00 | 0.50 | 0.95 | 1.26 | 1.99 | 1.52 | 0.12 | 0.19 | 0.04 | 0.02 |
| 0.2 | 0.0 | 4.4 | 8.1 | 11.0 | 11.6 | 10.0 | 3.0 | 2.3 | 0.7 | 0.1 |

取り込み期間(72時間のみ6匹での平均,他4匹での平均)

排泄期間(216時間のみ6匹での平均,他3匹での平均)

取込期間の3日間での魚体中最高濃度は0.2ppm区では11.6mg/kgであり、0.02区では1.99mg/kgであった。暴露開始後144時間(排泄開始後74時間)の排泄率は、取り込み期間中の最高検体濃度から計算すると、0.02ppm区では90%、0.2ppm区では80%となり、暴露開始後216時間(排泄開始後144時間)

ではいずれの試験区でも排泄率は最大放射能の99%が排泄された。排泄期間中に親化合物換算濃度は1.52 mg/kg から0.02 mg/kg(0.02ppm 区)及び10.0 mg/kg から0.1 mg/kg(0.2ppm 区)に減少した。

(3) 試験水中の被験物質濃度(ppm)

| 試験区 (ppm) | 取込期間(時間) | | | | | |
|--------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 |
| 0.02 | 0.018 | 0.017 | 0.018 | 0.018 | 0.019 | 0.017 |
| 0.2 | 0.215 | 0.209 | 0.210 | 0.211 | 0.215 | 0.210 |

3反復の平均

取込期間の3日間の水中濃度は0.02ppm 区及び0.2ppm 区でそれぞれ0.017~0.019mg/L 及び0.209~0.215mg/L であった。取込期間における実測水中濃度の平均(それぞれの採取時間の平均)は0.018 及び0.211mg/L であった。

(4) 濃縮係数

BCF_{ss}

| 試験区 (ppm) | 取込期間(時間) | | | | | | 排泄期間(時間) | | | |
|--------------|----------|----|----|----|-----|----|----------|-----|-----|-----|
| | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 | 72 | 108 | 144 | 180 | 216 |
| 0.02 | 0 | 28 | 54 | 71 | 112 | 86 | 7 | 11 | 2 | 1 |
| 0.2 | 0 | 21 | 38 | 52 | 55 | 47 | 14 | 11 | 4 | 1 |

取込期間中の各採取時点での生物濃縮係数(魚全体)は約28~112(0.02ppm 区)及び約21~55(0.2ppm 区)であった。72時間の濃縮係数(BCF_{ss})は、0.02ppm 区で86、0.2ppm 区で47であった。

本検体は魚に速やかに取り込まれ、係数にして約50~95で濃縮された。暴露を中止すると、極めて速やかに排泄された。

申請者注)24時間から定常状態に達したものと考え、24時間、48時間、72時間の平均から、計算すると濃縮係数(BCF_{ss})は、0.02ppm 区で90、0.2ppm 区で51であった。

BCF_k

| 試験区(ppm) | 取込速度定数(K1) | 排泄速度定数(K2) | BCF _k |
|----------|------------|------------|------------------|
| 0.02 | 5.72 | 0.062 | 93 |
| 0.2 | 4.84 | 0.088 | 55 |

(5) 代謝物の定量

0.2ppm 区の 2 層(アセトニトリル層及びアセトニトリル/水層)を HPLC で分析した。代謝物の分布は以下のとおりであった：

未変化の親化合物は主としてアセトニトリル層に分布し、総回収量の約 2/3(63.5%)に相当した。残りの 21.4%は主要代謝物である

に帰属され、アセトニトリル/水層にのみ分布した。

及び はアセトニ

トリル/水層に認められ、いずれも総回収放射エネルギーの 1~2%の量で含まれていた。未同定 3 代謝物は回収放射エネルギーの約 10%であり、いずれも 6%未満であった。

0.02ppm 区の抽出液中の放射エネルギーは定量分析できないほど少ない量であった。

混合アセトニトリル層中(約 20%)の量が主として主要代謝物の

から構成されるアセトニトリル/水層中(約

79%)の量に比べて少なかったことから、親化合物の割合が低いことが推察された。

申請者注)親化合物のみで考えた場合、濃縮係数は、それぞれ 0.635 を乗じた値が濃縮係数と考え、BCF_{ss} は 57、BCF_k は 59 を提案する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝のまとめ

動物代謝試験

テブコナゾールを 2mg/kg で単回又は反復経口投与、又は 20mg/kg で単回経口投与し、ラットにおける動物代謝を検討した結果、以下の結論が得られた。

吸収率：

胆管にカニューレを挿入した雄動物に 標識テブコナゾールを 2mg/kg で単回投与した結果、投与 48 時間後の吸収率は 98.29%(注：胆汁中への排泄率+尿中への排泄率+動物体内における残留量(胃腸管を除く)として申請者が算出)で、投与放射能はほぼ完全に吸収された。

[資料 1]

血漿中動態：

最高濃度到達時間(T_{max})は 0.33~1.70 時間であり、いずれの投与においても速やかに最高濃度に達した。最高相対濃度(P_{max})は 0.11~0.20、最終半減期は($T_{1/2}$)は 31.93~52.46 時間であった。また、濃度-時間曲線下面積(AUC_{total})は 1.74~5.24 時間、総クリアランス(CL_{total})は 0.64~1.85mL/分、平均滞留時間(MRT)は 26.87~48.63 時間、定常時の分布容積(V_{ss})は 8.18~17.93mL/gであった。[資料 1]

| | 2 mg/kg 単回 | | 2 mg/kg 反復 | | 20 mg/kg 単回 | |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------|---------------------|---------------------|
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| $T_{1/2}$ (時間) | 48.46 | 52.46 ¹⁾ | 31.93 | 43.68 | 34.45 ¹⁾ | 34.81 ²⁾ |
| $AUC_{experimental}$ ((mg/L)・時間) | 3.57 | 2.00 | 3.61 ¹⁾ | 1.96 | 4.24 ¹⁾ | 1.52 ¹⁾ |
| AUC_{total} ((mg/L)・時間) | 4.75 | 2.51 | 4.35 ¹⁾ | 2.51 | 5.24 ¹⁾ | 1.74 ²⁾ |
| P_{max} | 0.17 | 0.20 | 0.14 | 0.13 | 0.18 ¹⁾ | 0.11 ¹⁾ |
| T_{max} | 0.87 | 0.33 | 1.70 | 1.67 | 1.67 ¹⁾ | 1.06 ²⁾ |
| CL_{total} (mL/分) | 0.71 | 1.35 | 0.71 | 1.35 | 0.64 ¹⁾ | 1.85 ¹⁾ |
| CL_{renal} (mL/分) | 0.15 | 0.55 | 0.13 ¹⁾ | 0.54 | 0.13 ¹⁾ | 0.57 ²⁾ |
| MRT (時間) | 48.63 ¹⁾ | 41.89 | 41.55 | 44.27 | 42.73 ¹⁾ | 26.87 ²⁾ |
| V_{ss} (mL/g) | 10.90 | 16.74 | 8.71 | 17.93 | 8.18 ¹⁾ | 14.87 ²⁾ |

¹⁾ 4 動物の平均。 ²⁾ 3 動物の平均。

組織・臓器中濃度：

標識テブコナゾールを 2mg/kg で単回又は反復経口投与、又は 20mg/kg で単回経口投与 72 時間後の動物体内における残留量は、投与量の 0.21~0.67%と低い数値であった。72 時間後の組織・臓器中濃度は、他の組織及び臓器と比較すると肝臓に高い数値が認められた。

[資料 1]

標識テブコナゾールを 20mg/kg で単回経口投与し、全身オートラジオグラフィにより放射能の相対的な分布を評価した結果、投与 1 時間後にはほとんど全ての組織及び臓器に放射能が認められ、投与放射能は組織及び臓器に急速に分布した。肝臓及び副腎皮質に他の組織及び臓器と比較して高い濃度の分布が認められた。[資料 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝：

親化合物[I]は主に t-ブチル基の水酸化により () に代謝され、さらに代 () へと酸化された。また、ベンジル位炭素の水酸化による () の生成及び酸化による () の生成も認められた。 () 及び () の t-ブチル基の水酸基は抱合化され、 ()、 () 及び () へと代謝された。その他には、フェニル環の水酸化による () の生成、 () の脱炭酸による () の生成及び () の生成も認められた。[資料 3]

排泄率：

呼気への排泄はわずかであった(0.03%)。胆管にカニューレを挿入した動物における主要排泄経路は胆汁で 90.68%であった。その他の試験における主要排泄経路は糞であった。

標識テブコナゾールを投与した場合、尿中への排泄率は雌のほうが雄よりも高く、糞中への排泄率は雄のほうが雌よりも高かった。[資料 1 及び 3]

| 資料 | 標識位置 | 投与方法 | 測定時期 | 性別 | 呼気 | 胆汁 | 尿 | 糞 | 動物体内 |
|----|------|----------------|-------|-----------------|-------|-------|--------------------|-------|--------------------|
| 1 | | 20mg/kg 単回経口投与 | 72 時間 | ♂ | 0.030 | — | 16.18 | 75.81 | 0.44 ³⁾ |
| | | 2mg/kg 単回経口投与 | 48 時間 | ♂ ²⁾ | — | 90.68 | 7.40 | 1.50 | 0.21 ³⁾ |
| | | 2mg/kg 単回経口投与 | 72 時間 | ♂ | — | — | 16.31 | 82.11 | 0.54 ³⁾ |
| | | | | ♀ | — | — | 32.89 | 62.48 | 0.34 ³⁾ |
| | | 2mg/kg 反復経口投与 | 72 時間 | ♂ | — | — | 15.00 | 78.77 | 0.67 ³⁾ |
| ♀ | — | | | — | 32.33 | 61.46 | 0.42 ³⁾ | | |
| 3 | | 2mg/kg 単回経口投与 | 72 時間 | ♂ | — | — | 14.6 | 77.1 | 0.8 |
| | | | | ♀ | — | — | 33.6 | 60.6 | 0.6 |
| | | 2mg/kg 反復経口投与 | 72 時間 | ♂ | — | — | 16.8 | 80.3 | 1.2 |
| | | | | ♀ | — | — | 31.4 | 65.0 | 1.1 |
| | | 20mg/kg 単回経口投与 | 72 時間 | ♂ | — | — | 14.5 | 77.2 | 1.5 |
| | | | | ♀ | — | — | 24.1 | 67.5 | 1.8 |
| | | 20mg/kg 単回経口投与 | 72 時間 | ♂ | — | — | 19.3 | 77.2 | 0.4 |
| | | | 48 時間 | ♂ | — | — | 24.0 | 70.7 | 5.9 |
| | | ♀ | | — | — | 24.5 | 72.7 | 3.0 | |

1) 標識テブコナゾール、 標識テブコナゾール。

2) 胆管にカニューレを挿入した動物。 3) 胃腸管を除く。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

植物代謝試験

小麦、ぶどう及びびらっかせいにおける植物体内運命を検討した結果、植物における主な代謝経路は、t-ブチル基の水酸化による ()への代謝及び抱合化による ()への代謝、 ()の生成並びに ()から ()、 ()及び ()への代謝と推定された。[資料 4~8]

土壌中動態試験

好氣的条件下(暗所、23±2℃)において土壌中運命を検討した結果、テブコナゾールの半減期は1年以上と推定された。土壌抽出物中の放射能の多くは親化合物で、代謝分解物はほとんど認められなかった。[資料 9]

また、好氣的条件下において、肥料、処理量、処理方法、植生及び光等の影響を検討した。これらの条件下においてテブコナゾールは、 ()、 ()、 ()、 ()、 ()、 ()及び二酸化炭素へと代謝分解された。二酸化炭素を除き、これらの代謝分解物の生成量はいずれも10%未満であった。[資料 10]

水中動態試験

加水分解性及びに緩衝液及び自然水における水中光分解性を検討した結果、以下の結論が得られた。

加水分解：

pH5、7及び9緩衝液を用い、25℃で28日間試験した結果、いずれのpHにおいても分解は認められず、テブコナゾールは加水分解に対して安定であった。[資料 11]

水中光分解：

緩衝液及び自然水における半減期は下表のとおり算出された。緩衝液を用いた試験では、試験期間(30日間)にわたりテブコナゾールは94%以上残存し、試験液中に分解物は認められなかった。自然水を用いた試験では、分解物として ()、 ()、 ()、 ()、 ()及び二酸化炭素が検出され、 ()、 ()及び二酸化炭素が比較的多く認められた。[資料 12 及び 13]

| 資料 | 供試水 | 温度 | 推定半減期 |
|----|-----------|-----|---------|
| 12 | pH7 滅菌緩衝液 | 24℃ | 590 日 |
| 13 | 非滅菌自然水 | 25℃ | 9~15 日 |
| | 滅菌自然水 | 25℃ | 20~30 日 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

土壌吸着性試験

4 種類の土壌を用いて土壌吸着性試験を行った結果、テブコナゾールの有機炭素吸着係数 ($K_{F^{ads}_{oc}}$)は 351~1175 であり、土壌中における移動性は比較的低いと考えられた。〔資料 14〕

| 土壌 | 1/n ¹⁾ | $K_{F^{ads}}$ ¹⁾ | r ¹⁾ | oc ²⁾ | $K_{F^{ads}_{oc}}$ ³⁾ |
|-----|-------------------|-----------------------------|-----------------|------------------|----------------------------------|
| I | 0.889 | 7.67 | 0.991 | 0.96 | 799 |
| II | 0.897 | 19.0 | 0.999 | 4.11 | 462 |
| III | 0.812 | 3.89 | 0.997 | 1.11 | 351 |
| IV | 0.904 | 16.1 | 0.999 | 1.37 | 1175 |

1) フロイントリッヒの吸着等温式における定数項と相関係数

2) 土壌中の有機炭素含有率 (%)

3) Kを各土壌のocで割求めた有機炭素吸着係数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

テブコナゾール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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝分解の概要

テブコナゾールの開発年表