

	X(7.0%TRR)	
--	------------	--

2. 植物体内運命試験

(1) 温州みかん (Ph-¹⁴Cビフェナゼート)

Ph-¹⁴Cビフェナゼートを5年生の果実肥大後期～着色初期のみかん樹全面に420g ai/haで散布し、散布後0、28、56、84日後に検体として果実及び葉を採取し、ビフェナゼートの温州みかん(品種: *C. unshiu Marcovitch*)における代謝試験が実施された。

84日後のみかん果実の総残留放射能(TRR)は0.28mg/kgで、その分布は果皮で41%、果肉で4.1%、表面洗浄液に55%であった。果皮と表面洗浄液でビフェナゼートが50%TRR(0.14mg/kg)、代謝物としてD、B、H及びCがいずれも2.6%TRR未満、果皮で水溶性物質が3.3%TRR認められた。果肉ではビフェナゼートが0.42%TRR(0.001mg/kg)、水溶性物質が2.6%TRR認められたほか、代謝物はほとんど認められなかった(0.01%TRR以下)。

84日後のみかん葉のTRRは16.5mg/kgで、そのうち表面洗浄液に71%であり、みかん葉に処理されたPh-¹⁴Cビフェナゼートの浸透移行速度は果実より遅かった。葉における代謝は果実中と同様であり、葉と表面洗浄液でビフェナゼートが55%TRR(9.15mg/kg)、代謝物としてB、D、C及びHが認められたがいずれも3.4%TRR未満であった。

ビフェナゼートはみかん果実において、代謝物B及びCに酸化され、代謝物BはさらにD及びHに代謝され、これらは水酸化ビフェニル誘導体やその一部は糖抱合体に変換され高極性の水溶性代謝物に代謝されるほか、植物体構成成分に取り込まれると考えられる。(参照13)

(2) 温州みかん (Ph-¹⁴Cビフェナゼート及びCar-¹⁴Cビフェナゼート)

Ph-¹⁴C及びCar-¹⁴Cビフェナゼートをみかん果実表面に処理し、14日後に検体として果実を採取し、ビフェナゼートの温州みかんにおける代謝試験が実施された。

試験結果は表5に示すとおり標識位置による大きな違いは認められなかった。その他の代謝物は標識体間に差はなく、ただビフェニル部分のみを有する代謝物Dが微量検出された。ヒドラジンカルボン酸エステル部分のみの代謝物は認められなかった。(参照14、9)

表5 みかんにおけるPh-¹⁴C及びCar-¹⁴Cビフェナゼートの代謝比較

		Ph- ¹⁴ Cビフェナゼート	Car- ¹⁴ Cビフェナゼート
表面洗浄液		76	81
果皮		18	9.5
果肉		<0.1	<0.1
表面洗浄液	ビフェナゼート	68	66
及び果皮中	代謝物	B(2.0), D(<0.1)	B(1.6), D(<0.1)

※単位は%TRR

(3) オレンジ

Ph-¹⁴Cビフェナゼートを4回目の結実期を迎えるオレンジ樹に420g ai/ha(通常施用

区) 及び 2240g ai/ha (過剰施用区) となるように散布し、散布後 0、43、184、274、442 日に検体として成熟果実及び葉を採取し、ピフェナゼートのオレンジにおける代謝試験が実施された。

43 日後の成熟オレンジ果実の TRR は通常施用区で 0.35mg/kg、過剰施用区で 1.47mg/kg であった。通常処理区では、表面洗浄液中で 77.8%、果皮で 20.2%、果肉で 0.9%、ジュースで 1.2% であり、果皮と表面洗浄液ではピフェナゼートが 75%TRR(0.266mg/kg)、主要代謝物として B が 7.4%TRR(0.026mg/kg)、果肉及びジュースからはピフェナゼートのみが認められ、0.2%TRR(0.001mg/kg) 及び 0.7%TRR(0.003mg/kg) であった。微量代謝物として C、D 及び H が同定されたが、いずれも 1%TRR 未満であった。過剰施用区についても、通常施用区と同様の傾向が認められた。

施用されたピフェナゼートは大部分が果実表面に残留し、少量が緩やかに果実内部に浸透し、代謝物 B に酸化され、最終的に極性代謝物及び結合体残留物として存在すると考えられる。(参照 15)

(4) りんご

Ph-¹⁴Cピフェナゼートを 1987 年に移植したりんご樹(Granny Smith種)に 420g ai/ha (通常施用区) 及び 2240g ai/ha (過剰施用区) となるように茎葉散布し、散布後 0、31、101 日後に検体として果実及び葉を採取し、ピフェナゼートのりんご樹における代謝試験が行われた。

101 日後の通常施用区の全果実における残留放射能及びその内容については表 6 に示すとおり。

表 6 101 日後の果実における残留放射能(通常施用区)

試料部位	部位別分布 (%)	ピフェナゼート (%TRR)	代謝物 (%TRR)
表面洗浄液	54.8	33.0	B(4.8), C 及び D(1.0 未満)
絞るかす	34.9	0.6	B(0.8), C 及び D(0.1 以下)
ジュース	10.4	0.1 未満	B, C 及び D (0.1 以下)

※果実全体の TRR は 0.088mg/kg (2 本の果樹から得られた値の平均値)

101 日後の通常施用区の葉では、TRR が 9.3mg/kg であり、ピフェナゼートと代謝物 B が認められた。

過剰施用区でも、残留放射能及びその内容については通常施用区と同様の傾向が認められたが、全果実中から微量代謝物として I が 0.3%TRR (0.001mg/kg) 認められた。

ピフェナゼートのりんご中への浸透はきわめて少量であり、果実中に浸透した少量のピフェナゼートは代謝物 B に酸化され、最終的に多数の極性産物及び結合体残留物へと広範に代謝されると考えられる。(参照 16)

(5) なす

①なす幼植物における代謝試験

Ph-¹⁴Cビフェナゼートをアセトニトリル溶液 200 μ g/ml に調製したもの 100 μ Lを、6葉期まで栽培したなす(品種：千両 2号)の第4葉の表側に処理し、処理後3、7、14日後に処理葉、処理葉より上部、処理葉より下部及び根部を検体として、ビフェナゼートのなす幼植物における代謝試験が実施された。

14日後の検体全体の TRR は 4.4mg/kg であり、処理葉の表面洗浄液画分で 71.7%、有機溶媒抽出画分で 15.5%、水画分及び残渣でそれぞれ 5.95%、11.7%認められた。また、処理葉以外の合計で 1.04%であったことから、処理葉からそれ以外の植物体へ移行するビフェナゼート及び代謝物の量は極めて少ないと考えられる。

14日後の処理葉で、ビフェナゼートが 12.0%TRR (0.50mg/kg)、代謝物として B、K、C、G、D、F 及び少なくとも 8 種類の未知代謝物が認められたが、いずれも 6%TRR 未満であった。(参照 17)

②土壌処理後のなすへの吸収、移行及び代謝

Ph-¹⁴Cビフェナゼートを 100g ai/10aとなるようになす(品種：千両 2号)を栽培しているポットの土壌表面に灌注し、散布後7、14、21、28日後に検体として果実、へた、花、葉及び茎を採取し、土壌表面に落下したビフェナゼートのなすにおける吸収、移行及び代謝試験が実施された。

28日後のなすにおける放射能濃度は果実中で 5.3 μ g/kg、葉及び茎で 52 μ g/kg、花で 12.9 μ g/kg といずれも 0.3%TAR 以下であり、なすの根からの土壌中のビフェナゼート及びその代謝物の地上部への移行は少ないと考えられる。なお、なす採取後の土壌には残留放射能が 72mg/kg 認められ、アセトニトリル、アセトニトリル塩酸抽出により 7.5%TAR が抽出された。抽出液からビフェナゼート、代謝物 B、D、H 及び E が認められた。(参照 18)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌運命試験 (日本土壌：Ph-¹⁴Cビフェナゼート)

好氣的土壌(軽埴土：静岡、滅菌及び非滅菌)においてPh-¹⁴Cビフェナゼートを、乾土当たり約 0.4mg/kgとなるように均一に分布させて、25 $^{\circ}$ Cの暗条件下で28日間インキュベートし、ビフェナゼートの軽埴土における好気土壌中運命試験が実施された。

非滅菌土壌において、抽出可能画分は添加直後の 99.6%TAR から 28 日後には 13.6%TAR に減少し、抽出残渣は 28 日後で 72.8%TAR となった。

施用直後でビフェナゼートは 85.0%TARであり、0.5 時間後には 8.37%TARに減少した。ビフェナゼートの分解に伴い、分解物Bが急速に増加し、0.5 時間後には 77.7%TAR と最高濃度に達した後、急速に分解し、28 日後には 1.19%TARとなった。分解物D、H 及びJが 1 日後にそれぞれ 22.8%TAR、7.9%TAR及び 5.59%TARと最高濃度に達した後、28 日後にそれぞれ 1.93%TAR、0.84%TAR及び 0.48%TARに減少した。土壌から発生する放射性気体については、28 日後までにCO₂として 17.1%TAR認められた。

半減期はビフェナゼートのみでは分解が急速であったため求められず、ビフェナゼート

と分解物 B を合わせたもので 8.6 時間、分解物 B で 8.0 時間、分解物 D で 5.2 日であった。

滅菌土壌において、抽出可能画分は添加直後の 102% TAR から 28 日後には 65.7% TAR に減少し、抽出残渣は 28 日後で 34.1% TAR となった。

滅菌土壌において、ビフェナゼートは施用直後で 93.8% TAR であり、0.5 時間後には 20.7% TAR に減少した。ビフェナゼートの分解に伴い、分解物 B が急速に増加し、施用直後の 4.6% TAR から 0.5 時間後には 73.5% TAR と最高濃度に達した後、速やかに分解し、28 日後には 34.6% TAR となった。非滅菌土壌と代謝物生成のパターンが類似していたが、全体的な分解速度は遅く、分解物 B の半減期は 12.6 日であった。分解物 D 及び H は施用直後から緩やかに増加し 14 日後には 8.59% TAR 及び 3.13% TAR 認められた。土壌から発生する放射性気体は認められなかった。

ビフェナゼートは主に非生物的な機構により分解物 B に酸化され、次いで主に生物的反応により分解物 D に分解され、H や J を生成し、これらのビフェニル基を有する主要分解物はさらに微生物によって分解され、最終的に CO₂ に無機化されるか、腐食物質中に取り込まれるか、もしくは腐食物質自体に代謝されて結合性残留物となると考えられる。(参照 19)

(2) 好氣的土壌運命試験 (米国土壌)

好氣的土壌 (砂壤土: 米国) において Ph-¹⁴C ビフェナゼートを、乾土当たり約 0.4 mg/kg となるように均一に分布させて、25 ± 1°C の暗条件下で 28 日間インキュベートし、ビフェナゼートの砂壤土における好気土壌中運命試験が実施された。

非滅菌土壌においては、施用直後でビフェナゼートは 93.2% TAR であり、0.5 時間後には 2.8% TAR に減少した。ビフェナゼートの分解に伴い分解物 B が急速に増加し、0.5 時間後には 92% TAR と最高濃度に達した後、急速に分解し、28 日後には 2.8% TAR となった。土壌から発生する放射性気体については、28 日後までに CO₂ として 1.1% TAR が認められた。

半減期はビフェナゼートで 0.5 時間未満、分解物 B で 7.3 時間、分解物 D で 60 日であった。

ビフェナゼートは分解物 B に酸化された後、芳香族ラジカル中間体に分解し、分解物 D を生成するほか、腐植質に取り込まれて結合性残留物を生成すると考えられる。(参照 20)

(3) 好氣的土壌運命試験 (日本土壌: Car-¹⁴C ビフェナゼート)

好氣的土壌 (埴壤土: 岩手) において Car-¹⁴C ビフェナゼートを土壌当たり 1.2 mg/kg となるように均一に分布させて、25°C の暗条件下で 144 時間インキュベートし、Car-¹⁴C ビフェナゼートの土壌中運命試験が実施された。

ビフェナゼートは添加直後で 88.9% TAR、24 時間後で 2.38% TAR、144 時間後で 1% TAR 未満に減少した。5% TAR を超えて生成した分解物は B のみであった。

分解物 B は添加直後で 7.08% TAR、24 時間後で 5.50% TAR、144 時間後で 1.66% TAR と減少した。その他 9 種類以上の分解物が認められたが、3.10% TAR 以下であり、これらは経時的に減少した。残渣中放射能は添加直後で 0.15% TAR、24 時間後に 3.31% TAR

に増加した後、144 時間後には 2.14% TAR に減少したことから、ビフェナゼートあるいはカルボニル基を有する代謝物が土壌中に残留することは少ないと考えられる。CO₂ が 24 時間後までで 77.5% TAR、144 時間後までで 86.2% TAR 認められたことから、ビフェナゼートのカルボニル部分は土壌中で速やかに脱離し、CO₂ になると考えられる。(参照 21)

(4) 嫌気性湛水底質運命試験

米国オハイオ州の池より採取した表面水と低質の実験系 (水/低質=3:1) を窒素雰囲気中において嫌気状態とし、その水相に Ph-¹⁴C ビフェナゼートを約 1 mg/kg となるように添加した後、攪拌して水と底質に分布させ、25±1°C の暗条件下で 12 ヶ月インキュベートし、嫌気性湛水底質 (米国底質土) における運命試験が実施された。

12 ヶ月後には可溶性画分は 47.2% TAR に減少し、結合性残留物は 51.5% TAR に増加した。CO₂ と揮発性物質は 12 ヶ月の試験期間中に少量 (0.5% TAR 未満) 認められた。

ビフェナゼートは、28 日後で 70.5% TAR、12 ヶ月後で 4.8% TAR が残存し、半減期は 77.9 日であった。分解物としては Z (B の脱メチル体)、E が認められ、それぞれ 8 ヶ月後、10 ヶ月後に最高濃度に達し 14.7% TAR、24.8% TAR であり、12 ヶ月後には 11.4% TAR 及び 21.6% TAR に減少した。

結合性残留物を酸加水分解したところ、分解物 E 等が認められたが、個別の放射能領域では 10% TRR 以下であった。有機物分画の中では放射能の多く (40% TAR) がフミンに認められた。

嫌気条件下で、ビフェナゼートはメチル基の脱離と N=N 結合の形成により、分解物 Z が生成し、分解物 E 又は底質の結合性残留物を生成したと考えられる。(参照 22)

(5) 分解物 D の土壌吸着試験 (日本土壌)

ビフェナゼート及びその主要代謝物 B は土壌中の半減期が短いため、土壌中で比較的安定な主要分解物 D について、重埴土、砂質埴壤土、シルト質埴壤土及び壤質砂土を用いて土壌吸着試験が実施された。

K=31~2518、Koc=2793~19384 であった。分解物 D の土壌中での移動性は極めて小さいと考えられる。(参照 23)

(6) 土壌カラムリーチング試験 (米国土壌)

米国 4 土壌 (シルト質壤土、砂壤土×2、シルト質埴壤土) を用いて土壌カラムリーチング試験が実施された。

内径 4.8cm×高さ 30cm の土壌カラムに 520g ai/ha の割合で Ph-¹⁴C ビフェナゼートを処理後、25±1°C の暗条件下、雨量換算 100mm/日 で 5 日間溶出したところ、いずれの土壌カラムにおいても全溶出液中で 3% TAR 未満であり、放射能の多くは土壌カラムの 0~6cm 部分に存在したことから、ビフェナゼートの土壌中でのリーチング性は低いと考えられる。(参照 24)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験①

Ph-¹⁴CビフェナゼートをpH4、7及び9の各滅菌緩衝液に1mg/Lとなるように加えた後、25及び35℃でインキュベートし、ビフェナゼートの加水分解試験が実施された。

ビフェナゼートの半減期はpH4、25及び35℃でそれぞれ21.5日、13.1日、pH7、25及び35℃で50.7時間、16.1時間、pH9、25及び35℃で50.7時間、16.1時間であり、主要分解物としてB及びJが認められた

加水分解反応は試験を行った全てのpHで2相性が認められ、試験の前半の分解速度は緩やかで、後半の分解速度が上昇する現象が観察された。(参照25)

(2) 加水分解試験②

Ph-¹⁴CビフェナゼートをpH4、5、7及び9の滅菌緩衝液中、暗所、25℃でインキュベートし、ビフェナゼートの加水分解試験が実施された。

pH4、5、7及び9のそれぞれの半減期は218時間、130時間、20時間、1.6時間、90%分解時間は504時間、264時間、28時間、2.0時間であった。分解過程は2相性を示し、第1相は緩やかに、第2相は速やかに進んだ。第1相では各pHに共通の分解物B、J及びDが生成した。その他、10%を超えて認められた分解物はpH7と9の緩衝液中でJの2量体であった。また、第2相ではpH4以外でHが7%TAR未満認められた。(参照26)

(3) 水中光分解試験

Ph-¹⁴Cビフェナゼートを滅菌蒸留水及び河川水に濃度1mg/Lとなるように加えた後、25℃で滅菌蒸留水については12時間、河川水については2時間キセノン光照射(290~800nmの範囲で450±10W/m²)し、ビフェナゼートの水中光分解試験が実施された。

半減期は光照射区で滅菌蒸留水が4.8時間、河川水が0.2時間、春期における東京(北緯35°)の太陽光換算でそれぞれ、21.8時間及び0.9時間であり、暗所区で12時間以上及び2時間以上であった。

2時間後の河川水中のビフェナゼートは1.9%TARであり、主要分解物としてBが72.3%TAR、その他の分解物H、D及びCは2%TAR未満であった。

12時間後の滅菌蒸留水中のビフェナゼートは5.0%TARであり、主要分解物としてBが55.8%TAR、その他、分解物WS-3が5.5%TAR、分解物H、D及びCは3%TAR未満であった。

光照射によりビフェナゼートは水中で速やかに消失し、Bに光分解され、さらにD、C、H及びWS-3へと分解されると考えられる。(参照27)

(4) 水中光分解試験(pH5滅菌緩衝液)

Ph-¹⁴CビフェナゼートをpH5の酢酸緩衝液に1mg/Lとなるように加えた後、25℃、150時間(12時間間隔)キセノンランプの疑似太陽光を照射し、ビフェナゼートのpH5滅菌緩衝液における水中光分解試験が実施された。

ビフェナゼートの半減期及び90%消失時間は光照射区で17時間及び41時間、暗所で

58 時間及び 96 時間であった。初期主分解物 B は、78 時間後最大の 54.3% TAR に達した後減衰した。分解物 B の半減期は光照射区で 41 時間、暗所で 43 時間であった。分解物 J 及び D は 24 時間後に 5.4% TAR 及び 3.5% TAR が認められた。分解物 J は 150 時間後に 15.8% TAR に増加した。D は 54 時間後に 13.1% TAR に増加し、150 時間後に 2.1% TAR に減衰した。H は徐々に増加して 150 時間後に 30.4% TAR に達した。CO₂ が 4% TAR 認められた。(参照 28)

(5) 自然水及び pH7 滅菌緩衝液における水中光分解

Ph-¹⁴C ビフェナゼートを濾過滅菌した自然水及び pH7 の緩衝液にそれぞれ 1mg/L とするように加えた後、25°C、12 時間キセノンランプの疑似太陽光を照射し、自然水及び pH7 滅菌緩衝液における水中光分解試験が実施された。

半減期及び 90% 消失時間は光照射区の自然水で 0.7 時間及び 2.5 時間、緩衝液で 9.8 時間及び 11.8 時間、暗所区の自然水で 9.9 時間及び 11.7 時間、緩衝液で 11.8 時間であった。なお、暗所区の 90% 消失時間は 12 時間照射で 40% TAR が残存したため計算しなかった。

自然水中及び緩衝液中の主要分解物として B が最大でそれぞれ 58.4% TAR (2 時間後) 及び 66% TAR (12 時間後)、D が 12.8% TAR (9 時間後)、2.8% TAR (12 時間後)、J が 11.7% TAR (4 時間後)、2.1% TAR (12 時間後)、H が 17.2% TAR (12 時間後) であった。CO₂ は投与 12 時間後までに、光照射区の自然水で 1.16% TAR、緩衝液で 0.40% TAR 認められた。(参照 29)

(6) 水中光分解試験 (分解物 B)

Ph-¹⁴C 分解物 B を滅菌蒸留水及び河川水に濃度 1mg/L とするように加えた後、25°C で滅菌蒸留水については 48 時間、河川水については 5 時間キセノン光照射 (290~800nm の範囲で 450±10W/m²) し、分解物 B の水中光分解試験が実施された。

半減期は光照射区で滅菌蒸留水が 20.1 時間、河川水が 2.2 時間、春期における東京 (北緯 35°) の太陽光換算でそれぞれ、91.5 時間及び 10.0 時間であり、暗所区で 43.0 時間及び 4.6 時間であった。

5 時間後の滅菌蒸留水中の分解物 B は 19.9% TAR であり、主要分解物として H が 5.2% TAR、その他ビフェナゼート、分解物 D 及び H がいずれも 5.0% TAR 未満、未知分解物が最大で 7.9% TAR 認められた。CO₂ が 5 時間後で 1.0% TAR 認められた。

48 時間後の滅菌蒸留水中の分解物 B は 17.6% TAR であり、主要分解物として D が 5.2% TAR、その他ビフェナゼート、分解物 C 及び H が認められたが、いずれも 5.0% TAR 未満であった。CO₂ が 48 時間後で 5.4% TAR 認められた。

光照射により分解物 B は水中で D、C、H 及び CO₂ に分解されると考えられる。(参照 30)

5. 作物残留試験

果実、野菜及び茶を用いて、ビフェナゼート及び代謝物 B 又はその含量を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析法は磨砕抽出、アスコルビン酸による還元、精製後、蛍光検出器付き HPLC で定量するものであるが、還元前に分離することによりビフェナゼー

トと代謝物 B の個別定量も可能である。

ビフェナゼートで最高値は 800g ai/ha で 1 回散布し、最終散布後 7 日目に収穫した茶（荒茶）の 22.7mg/kg であったが、14 日目及び 21 日目には、それぞれ 0.78mg/kg 及び 0.05mg/kg と減衰した。代謝物 B は最高で、最終散布 7 日後の茶（荒茶）で 1.43 mg/kg（ビフェナゼートの 6.3%）検出された。（別紙 2）（参照 31～33）

作物残留試験の含量分析値を用いて、ビフェナゼート及びそのアゾ体（代謝物 B）を暴露評価対象化合物として国内で栽培される農産物から摂取される推定摂取量を表 7 に示した。

なお、本推定摂取量の算定は、登録されている又は申請された使用方法からビフェナゼート及びそのアゾ体の含量が最大の残留を示す使用条件で、全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないと仮定の下に行った。

表 7 食品中より摂取されるビフェナゼート及びそのアゾ体の含量の推定摂取量

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均		小児 (1~6 歳)		妊婦		高齢者 (65 歳以上)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)
トマト	0.17	24.3	4.13	16.9	2.87	24.5	4.17	18.9	3.21
ナス	0.5	4	2	0.9	0.45	3.3	1.65	5.7	2.85
きゅうり	0.1	16.3	1.63	8.2	0.82	10.1	1.01	16.6	1.66
みかん	0.02	41.6	0.83	35.4	0.71	45.8	0.92	42.6	0.85
みかん以外 のかんきつ	0.3	2.7	0.81	1.7	0.51	3.7	1.11	2.5	0.75
りんご	0.72	35.3	25.4	36.2	26.1	30	21.6	35.6	25.6
なし	0.9	5.2	4.68	4.5	4.05	5.4	4.86	5.2	4.68
もも	0.01	0.5	0.01	0.7	0.01	4	0.04	0.1	0.00
すもも	0.15	0.2	0.03	0.1	0.015	1.4	0.21	0.2	0.03
おうとう	0.38	0.1	0.04	0.1	0.04	0.1	0.04	0.1	0.04
イチゴ	1.11	0.3	0.33	0.4	0.44	0.1	0.11	0.3	0.33
ぶどう	0.93	5.8	5.39	4.4	4.09	1.6	1.49	3.8	3.53
その他の果実 (いちじく)	0.54	3.9	2.11	5.9	3.19	1.4	0.76	1.7	0.92
茶	0.54	3	1.62	1.4	0.756	3.5	1.89	4.3	2.32
合計			49.0		44.1		39.9		46.8

注) ・残留値は、申請されている使用時期・使用回数による各試験区の平均残留値のうちビフェナゼート及びそのアゾ体の含量の最大値を用いた（参照 別紙 2）。

- ・「ff」：平成 10 年～12 年の国民栄養調査（参照 34～36）の結果に基づく農産物摂取量（g/人/日）
- ・「摂取量」：残留値及び農産物残留量から求めたビフェナゼートの推定摂取量（μg/人/日）
- ・みかん以外のかんきつにはなつみかん、カボス、スダチが含まれるが、残留値の最も高かったカボスの 0.30mg/kg を用いた。
- ・スイカ及びメロンは全データが検出限界以下であったため摂取量の計算はしていない。
- ・その他の果実にはいちじくの残留値を用いた。

6. 土壌残留試験

火山灰埴壤土及び洪積埴壤土を用いて、ビフェナゼートと分解物 B の含量及び分解物 D を分析対象としたビフェナゼートの土壌残留試験（容器内及び圃場）が実施された。

推定半減期は各条件で表 8 のとおりであり、ビフェナゼートと分解物 B の含量としては 2 時間～2 日、分解物 D で 4～19 日、3 成分の合計では 5 時間～10 日であった。（参照 37）

表 8 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	ビフェナゼートと分解物 B の含量	分解物 D	3 成分合計
容器内試験	1.2mg/kg	火山灰埴壤土	2 日	12 日	10 日
		洪積埴壤土	2 日	4 日	3 日
圃場試験	1.2kg ai/ha	火山灰埴壤土	2 時間	7 日	5 時間
		洪積埴壤土	2 時間	19 日	5 時間

※容器内試験で純品、圃場試験で SC を使用

7. 急性毒性試験

ビフェナゼートの SD ラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験、急性吸入毒性試験、ICR マウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。急性経口 LD₅₀ はラットの雌雄で >4946mg/kg 体重、マウスの雌雄で >4946mg/kg 体重、経皮 LD₅₀ はラットの雌雄で >5000mg/kg 体重、吸入 LC₅₀ はラットの雌雄で >4.4mg/L であった。（参照 38～41）

代謝物 B 及び D について ICR マウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。

代謝物 B 及び D の急性経口 LD₅₀ は、ともに ICR マウスの雌雄で >5000mg/kg 体重であった。（参照 42～43）

8. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

ニュージーランド白色ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施されており、ビフェナゼート原体の眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。（参照 44～45）

ハートレー系モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施されており、ビフェナゼート原体に軽度の皮膚感作性が認められた。（参照 46）

9. 亜急性毒性試験

（1）13 週間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、50、100、150 ppm）投与による 13 週間の亜急性毒性試験が実施された。

100ppm 以上投与群の雌で、脾での色素沈着の発生頻度及び程度の増加が認められた。

本試験における無毒性量は雄で 150ppm(24.0mg/kg 体重/日)、雌で 50ppm(10.3mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 47)

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、40、200、400 ppm) 投与による 13 週間の亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた主な所見は表 9 に示すとおり。

なお、神経行動学的検査として投与 8 週及び 13 週に全動物を対象として、苦悶反応、旋回、振戦等の機能観察検査を実施したところ、検体投与と考えられる影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は雌雄で 40ppm (雄 : 2.7mg/kg 体重/日、雌 : 3.2mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 48)

表 9 ラット 13 週間亜急性毒性試験で認められた所見

400ppm 投与群	雄	体重増加抑制、摂餌量減少、赤血球数及びヘモグロビンの減少、脳(脳幹を含む)、脾、精巢 (精巢上体を含む) 及び腎体重比重量 (以下「比重量」という) 増加、肝及び脾の髓外造血亢進、肝クッパー細胞色素沈着
	雌	Ht ³ 減少、副腎比重量増加、赤脾髄色素沈着増加
200ppm 以上投与群	雌雄	小葉中心性肝細胞肥大
	雄	肝単細胞壊死、リンパ組織球性細胞浸潤、赤脾髄色素沈着増加、副腎皮質束状帯の空胞化
	雌	体重増加抑制、摂餌量減少、赤血球数及びヘモグロビンの減少、脳(脳幹を含む)、脾、腎及び肝比重量増加

(3) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体 : 40、400、1000 ppm) 投与による 13 週間の亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた主な所見は表 10 に示すとおり。

本試験における無毒性量は雌雄で 40ppm (雄 : 0.9mg/kg 体重/日、雌 : 1.3mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 49)

³ 検査値等の略称は別紙 3 参照 (以下同じ)

表 10 イヌ 13 週間亜急性毒性試験で認められた所見

1000ppm 投与群	雌雄	体重増加抑制
	雄	網状赤血球数の増加、血漿中コレステロール及び ALP の増加、肝細胞の小葉中心性又はびまん性の肥大
400ppm 以上投与群	雌雄	赤血球数、ヘモグロビン及び Ht の減少、MCV、MCH 及び血小板数の増加、 β 1-グロブリン減少、肝比重量増加、クッパー細胞褐色色素沈着
	雄	尿の褐色化及びビリルビンの増加
	雌	摂餌量減少、網状赤血球数増加、肝細胞の小葉中心性又はびまん性の肥大

(4) 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (原体: 80、400、1000 mg/kg 体重/日) 投与による 21 日間の亜急性毒性試験が実施された。

剪毛・剃毛したラットの背部皮膚に、蒸留水で湿らせたビフェナゼート原体を塗布し、投与部位をガーゼで閉塞貼付し、6 時間後に投与部位を湯で洗浄した。

1000mg/kg 体重/日投与群の雌雄でヘモグロビン減少、脾比重量増加が、雄で体重増加抑制、血小板数増加、尿比重増加、副腎比重量増加、脾の髄外造血亢進が、雌で赤血球数及び Ht の減少、血漿中総ビリルビンの増加が認められた。

400mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で摂餌量減少が、雄で尿量減少が、雌で体重増加抑制、脾の髄外造血亢進が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄で 80mg/kg 体重/日であると考えられる。(参照 50)

10. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (原体: 40、400、1000 ppm) 投与による 1 年間の慢性毒性試験が実施された。

1000ppm 投与群の雄でヘモグロビン及び Ht 減少、血漿中 α 2-グロブリン増加が、雌で白血球数及びリンパ球数増加、肝比重量増加が認められた。

400ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制傾向、赤血球数減少、網状赤血球数、MCV、有核赤血球数及び血小板数増加、血漿中総ビリルビン増加、 β 1-グロブリン減少、尿の褐色化及びビリルビン増加、大腿骨、肋骨及び胸骨の骨髓過形成、腎の近位尿細管上皮褐色色素沈着、肝クッパー細胞内褐色色素沈着が、雄で摂餌量減少傾向、白血球数、分葉好中球数及びリンパ球数の増加が、雌で MCH 増加、ヘモグロビン及び Ht 減少が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄で 40ppm (雄: 1.0mg/kg 体重/日、雌: 1.1mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 51)

(2) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、80、200 (雄)、160 (雌) ppm) 投与による 104 週間の慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

200ppm 投与群の雄で体重増加抑制、摂餌量減少、血漿中総コレステロール減少が、160ppm 投与群の雌でヘモグロビン及び Ht 減少、脾色素沈着の程度の増強が認められ、80ppm 以上投与群の雄で脾色素沈着の程度の増強が、雌で体重増加抑制、摂餌量減少、赤血球数の減少が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄で 20ppm (雄: 1.0mg/kg 体重/日、雌: 1.2mg/kg 体重/日) であると考えられる。発がん性は認められない。(参照 52)

(3) 78 週間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、10、100、225 (雄)、175 (雌) ppm) 投与による 78 週間の発がん性試験が実施された。

225ppm 投与群の雄で体重増加抑制、摂餌量減少、赤血球数減少、肝比重量増加が、175ppm 投与群の雌で肝比重量増加が、100ppm 投与群の雄で白血球及びリンパ球数減少、腎比重量減少が、雌で体重増加抑制が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄で 10ppm (雄: 1.5mg/kg 体重/日、雌: 1.9mg/kg 体重/日) であると考えられる。発がん性は認められない。(参照 53)

1.1. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験①

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、80、200 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では、200ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制(P)、雌で脳、腎、脾、卵巣及び副腎比重量増加 (P及びF₁) が、80ppm以上投与群の雄で体重増加抑制 (F₁) が、20ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制 (F₁) が認められた。

児動物ではビフェナゼート投与の影響は認められなかった。

本試験の無毒性量は親動物の雄で 20ppm(P雄: 1.5mg/kg体重/日、F₁雄: 1.7mg/kg体重/日)、雌で 20ppm未満 (P雌: 1.7mg/kg体重/日未満、F₁雌: 1.9mg/kg体重/日未満)、児動物の雌雄で 200ppm(F₁雄: 15.3mg/kg体重/日、F₁雌: 17.2mg/kg体重/日、F₂雄: 17.4mg/kg体重/日、F₂雌: 19.4mg/kg体重/日)であると考えられる。繁殖に対する影響は認められない。(参照 54)

(2) 2 世代繁殖試験②

SDラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体: 0、7.5、15、20ppm) 投与により、2 世代繁殖追加試験が実施された。本試験は 2 世代繁殖試験① (1.1. (1) 参照) で認められた親動物の 20ppm投与群のF₁雌で認められた体重への影響を確認するために実施されたものである。

親動物では、20ppm 投与群の雄で肝及び精巣上部尾部比重量増加(P)、雌で胸腺比重量の増加(P)が認められた。体重への影響は認められなかった。

児動物ではビフェナゼート投与の影響は認められなかった。

本試験の無毒性量は親動物の雌雄で 15ppm(P雄：1.1mg/kg体重/日、P雌：1.3mg/kg体重/日、F₁雄：1.1mg/kg体重/日、F₁雌：1.2mg/kg体重/日)、児動物の雌雄で 20ppm(F₁雄：1.5mg/kg体重/日、F₁雌：1.7mg/kg体重/日、F₂雄：1.5mg/kg体重/日、F₂雌：1.7mg/kg体重/日)であると考えられる。(参照 55)

(3) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体：0、10、100、500 mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、500mg/kg 体重/日投与群で、四肢の退色、糞量減少、膣からの褐色流出物が、100mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制、摂餌量減少、鼻周囲の赤色汚れ・付着物が認められた。胎児ではビフェナゼート投与の影響は認められなかった。

本試験の無毒性量は母動物で 10mg/kg 体重/日、胎児で 500mg/kg 体重/日であると考えられる。催奇形性は認められない。(参照 56)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

ニュージーランドホワイトウサギ (一群雌 20 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体：0、10、50、200 mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。ビフェナゼート投与の影響は親動物、胎児ともに認められなかった。

本試験の無毒性量は、母動物及び胎児で 200mg/kg 体重/日と考えられる。催奇形性は認められない。(参照 57)

12. 遺伝毒性試験

ビフェナゼートの細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来培養細胞(L5178Y)を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) を用いた染色体異常試験、ラットを用いた *in vivo* 肝不定期 DNA 合成(UDS) 試験、マウスを用いた小核試験が実施された。試験結果は全て陰性であった。

従って、ビフェナゼートに遺伝毒性はないものと考えられる。(表 11) (参照 58~63)

表 11 遺伝毒性試験結果概要 (ピフェナゼート原体)

試験	対象	投与量 (mg/kg 体重)	結果	
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験 (±S9)	<i>B. subtilis</i> H17, M45 株	陰性	
	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 <i>E. coli</i> WP2uvrA 株	陰性	
	遺伝子突然変異試験 (±S9)	マウスリンパ腫由来培養細胞(L5178Y)	陰性	
	染色体異常試験 (±S9)	チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞株 (CHO)	陰性	
<i>in vivo</i>	肝 UDS 試験	SD ラット (一群雄 3 匹)	0、500、2000 (単回強制経口投与)	陰性
	小核試験	ICR マウス (一群雌雄各 5 匹)	雄：0、96、192、384 雌：0、50、100、200 (単回腹腔内投与)	陰性

注) ±S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 B に関して細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来培養細胞 (L5178Y) を用いた遺伝子突然変異試験及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験が実施された。代謝物 B の細菌を用いた復帰突然変異試験で S9mix 存在下の TA98 株で弱い陽性反応が認められたが、その他の試験は全て陰性であった。(表 12)

代謝物 B の細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性反応が認められたが、マウスリンパ腫由来培養細胞(L5178Y)を用いた遺伝子突然変異試験で陰性であったこと及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験の結果が陰性であったことを考え合わせると、生体において問題となるような遺伝毒性が発現することはないものと考えられる。

代謝物 D についても細菌を用いた復帰突然変異試験が行われており、結果は陰性であった。(表 12) (参照 64~67)

表 12 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	投与量 (mg/kg 体重)	結果
B	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株	/	陽性 (+S9) TA98 株
	遺伝子突然変異試験 (±S9)	マウスリンパ腫由来培養 細胞(L5178Y)	/	陰性
	小核試験	ICR マウス (一群雄 5 匹)	0、164、260 (単回腹腔内投与)	陰性
D	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> 株	/	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9 : 代謝活性下系存在下