

II. 試験結果概要

1. ラットにおける動物体内運命試験

ジノテフランのテトラヒドロフラン環4位の炭素を¹⁴Cで標識したもの(Tf-¹⁴C-ジノテフラン)及びグアニジンの炭素を¹⁴Cで標識したもの(Gu-¹⁴C-ジノテフラン)を用いて代謝試験を行った。また、代謝物DN¹、UF及びMNGについてはグアニジンの炭素を¹⁴Cで標識したもの(¹⁴C-DN、¹⁴C-UF及び¹⁴C-MNG)を用いた。本試験で用いた試験設計概要は表1のとおりである。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない限りジノテフラン換算値で示すものとする。

表1 ラットにおける動物体内運命試験設計概要

標識体	Tf- ¹⁴ C-ジノテフラン及びGu- ¹⁴ C-ジノテフランの等量混合物					Tf又は Gu- ¹⁴ C- ジノテフラン
試験区分	①	②	③	④	⑤	⑥
投与方法	静脈内注射	強制経口				
投与回数	単回	単回	15日間*	7日間 (標識体)	単回	単回
用量	低用量	低用量	低用量	低用量	高用量	中用量
投与量 (mg/kg体重)**	50	50	50	50	1000	200

※1~14日目は非標識+15日目は標識体

※※③、④ではmg/kg体重/日

(1) 吸収排泄・血中濃度・体内分布試験

ジノテフランのSDラット(一群雌雄各5~9匹)を用いた動物体内運命試験(吸収排泄・血中濃度・体内分布)が実施された。

単回投与群(①、②、⑤)では投与後24時間で、尿中に投与量の84~99%が排泄され、投与後168時間で、尿中に投与量の88~100%、糞中に1~2.4%が排出された。反復投与群(③、④)では尿中に投与量の90~98%、糞中に2~3%排出された。

血中放射能の最高濃度(C_{max})は、低用量単回投与群(②)で0.3~0.5時間後(T_{max})に41~46μg eq/g、高用量単回投与群(⑤)で2時間後(T_{max})に471~566μg eq/gであった。半減期(T_{1/2})は、低用量で4~8時間、高用量で14~15時間であった。反復投与(③、④)の2試験区分間で、血中濃度に顕著な差異は認められなかった。

ジノテフランの低用量(②)及び高用量投与群(⑤)の主な組織中の残留放射能は表2のとおりである。脂肪組織には、極めて僅かに分布した。

¹ : 代謝物/分解物の略称は別紙1を参照(以下同じ)。

ほとんどの組織において放射能濃度は血漿中濃度以下であったが、腸管、腎、胃、膀胱及び胃内容物では血漿中濃度を上回っていた。また、脳や脂肪の濃度は低かった。

表 2 主な組織中の残留放射能

		血漿中最高濃度到達時	投与 168 時間後
低 用 量	雄	腎(79.4)、胃(67.3)、膀胱(45.8)、血漿(40.6)、肝(36.3)、 全血(34.8)、腸管(34.3)、皮膚(33.9)、肺(32.9)、胸腺(32.6)	全ての組織で 0.052 以下
	雌	胃(171)、腎(72.4)、腸管(47.5)、血漿(41.4)、肝(37.6)、 全血(35.0)、肺(34.5)、下垂体(32.6)、胸腺(32.6)、子宮(33.5)	全ての組織で 0.021 以下
高 用 量	雄	胃(3850)、胃内容物(3540)、腎(470)、腸管(423)、膀胱(368)、 血漿(287)、全血(261)、前立腺(253)、副腎(252)、肝(244)	全ての組織で 0.692 以下
	雌	胃内容物(3630)、胃(3340)、膀胱(998)、腸管(867)、腎(673)、 血漿(492)、全血(450)、副腎(438)、肝(436)、下垂体(400)	全ての組織で 0.703 以下

※ 低用量：投与 0.5 時間後 (T_{max})、高用量：投与 1.5 時間後 (T_{max} 付近)

注) 残留放射能濃度はジノテフラン換算濃度 (μg/g)

低用量(②)及び高用量(⑤)で単回経口投与し、胆管挿管した SD ラット (一群雌雄各 3 匹) を用いた動物体内運命試験 (吸収・排泄) が実施された。

48 時間後、低用量、高用量ともに胆汁中への排泄は、投与放射能 (TAR) の 0.6~0.9% であり、その分布は、尿への排泄が 85~95%、糞への排泄が 1.1~1.3% であった。消化管吸収率は 99% であり、ほとんどの放射能が消化管から吸収されると考えられた。

低用量単回経口投与(②)し、妊娠 18 日の SD ラット (一群雌 9 匹) を用いた胎盤移行試験が実施された。母動物と胎児ともに、全血試料の放射能濃度に差が認められず、ほとんどの組織で投与 0.5 時間後に最高濃度となり、以後速やかに減衰した。胎児への移行量は、投与後 0.5 時間で 0.13% TAR であった。

低用量単回経口投与(②)し、出産後 15 日の SD ラット (一群雌 9 匹) を用いた乳汁移行試験が実施された。投与放射能は速やかに吸収され、乳汁での濃度は血漿中の濃度とほぼ同様に推移した。

低用量(②)及び高用量(⑤)で単回経口投与し、SD ラット (一群雌雄各 4 匹) を用いた全身オートラジオグラフィが実施された。定量的な組織内分布試験の結果と同様に、消化管からの速やかな吸収、全身への分布及び腎臓を経由した速やかな膀胱への排泄を示し、中枢神経系における分布は極めて少なかった。

尿中に排出された放射能の大部分はジノテフランで、74~93% TAR であり、代謝物としては 446-CO、446-DO 及び PHP-Ac が合わせて 1~3% TAR、PHP、UF-DM 及び 446-OH+COOH が合わせて 0.8~3% TAR 認められ、その他の物質はいずれも 0.5% TAR 以下であった。糞中に排出された放射能のうちジノテフランは 0.3~3% TAR であり、代謝物としては MNG 及び 446-DO-Ac が投与量に対して 0.005 未満~0.4% TAR、PHP、UF-DM 及び 446-OH+COOH が合わせて 0.01~0.3% TAR、446-CO、446-DO 及び

PHP-Ac が合わせて 0.03~0.3% TAR 認められ、その他の物質はいずれも 0.1% TAR 以下であった。

肝で認められた放射能 (投与 1.5 時間後) の中で、最も多く認められたものはジノテフランであり、0.005%未満~1% TAR で最大であり、その他の物質はいずれも 0.2% TAR 以下であった。

腸管で認められた放射能 (投与 1.5 時間後) の中で、最も多く認められたものは UF·DM、446·OH+COOH、446·CO、446·DO 及び PHP-Ac を含み、投与量の 0.005%未満~1% TAR であった。その他の物質はいずれも 0.2% TAR 以下であった。

胆汁中で認められた (低用量単回経口投与②・投与 6 時間後まで) 放射能の大部分はジノテフランで、0.46~0.52% TAR が検出された。その他、PHP 及び MNG 等が検出されたが 0.1% TAR 以下であった。

乳汁中で認められた (低用量単回経口投与②・投与 1.5 時間後まで) 放射能の大部分はジノテフランで、0.61% TAR が検出された。その他の物質はいずれも検出限界以下であった。

ジノテフランのラットにおける代謝経路は、脱ニトロ化、テトラヒドロフラン環の酸化的開裂、分子内環化、加水分解、グアニジン部及びテトラヒドロフラン環の開裂、脱メチル化又はニトロ基の還元が推測された。一部の代謝物は抱合化されると考えられた。(参照 7)

(2) 排泄・胆汁排泄試験

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又は Gu-¹⁴C-ジノテフランを 200mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与 (⑥) し、CD ラット (一群雄各 1 匹) を用いた排泄試験が実施された。

大部分は尿を通じて排泄され、投与 120 時間後までに 93% TAR 以上が尿中に排泄された。糞への排泄は 5% TAR で、標識位置による差は認められなかった。

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又は Gu-¹⁴C-ジノテフランを 200mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与 (⑥) し、胆管挿管した CD ラット (一群雄各 3 匹) を用いた胆汁排泄試験が実施された。

投与 48 時間後までの胆汁への排泄は、0.6~0.8% TAR であり、排泄における胆汁経路の関与は僅かと考えられた。(参照 8)

(3) *in vitro* 代謝試験

Gu-¹⁴C-ジノテフラン、主要代謝物 DN、UF 及び MNG の ¹⁴C 標識体 0.1 及び 1ppm にラット肝ミクロゾーム S-9 分画を加えて *in vitro* 代謝試験が実施された。

ジノテフランは 24 時間後の各用量で 92%以上回収され、代謝物の同定は出来なかった。また、主要代謝物については、分解はほとんど認められなかったか、あるいは緩やかであり、投与 24 時間後の各用量で供試化合物の残存率は DN で 99.1~100%、UF で 89.8~92.4%、MNG で 93.7~93.9%であった。代謝物の同定は MNG のみで可能であり、NG 及び MG が添加量の 2~3%程度検出された。(参照 9)

2. 植物体内運命試験

(1) 水稲①

Tf-¹⁴C-ジノテフラン及び Gu-¹⁴C-ジノテフランの等量混合物を、水稲（品種：日本晴）の出穂 5 又は 20 日後に 400g ai/ha を 1 回散布又は土壌処理し、出穂 20 日後（5 日後、投与群のみ採取）及び出穂 67 日後（収穫期）に検体を採取し、イネにおける植物体内運命試験が実施された。

出穂 5 日後での土壌処理群の収穫期における放射能分布は、放射能処理量に対してもみに 1.6%、わらに 21%、根部に 3%及び土壌で 73%が検出され、出穂 20 日後の散布処理群の収穫期における放射能分布は、もみに 11%、わらに 58%、根部に 0.3%及び土壌で 5%が検出され、試料中の代謝物の構成は処理日や処理方法による差は認められなかった。

土壌処理区の試料中の放射能分布は、もみで 0.35~0.40mg/kg、玄米で 0.05~0.06mg/kg、わらで 1.3~1.8mg/kg であった。玄米中の放射能の化学形態として、ジノテフランが 0.014~0.015mg/kg [残存放射能 (TRR) の 26.2~26.3%]、その他、UF、DN、PHP 及び 446-DO が各 0.001~0.005mg/kg (2.26~8.57%TRR)、MNG、UF、PHP 及び 446-DO の抱合体が合わせて 0.008~0.009mg/kg (14.8~15.8%TRR) 検出された。わら中の残留放射能はジノテフラン換算で 1.347~1.822mg/kg であり、そのうちジノテフラン (0.70~0.97mg/kg) 及び UF (0.18~0.22mg/kg) 等が検出された。

茎葉散布区の試料中の放射能分布は、もみで 5.1~5.8mg/kg、玄米で 0.34~0.61mg/kg、わらで 7.6~8.1mg/kg であった。可食部（玄米）中の放射能の化学形態については、ジノテフランが 0.18~0.20mg/kg (33.4~53.6%TRR)、その他、UF が 0.048~0.11mg/kg (14.1~17.2%TRR)、MNG、UF、PHP 及び 446-DO の抱合体が合わせて 0.030~0.104mg/kg (8.93~17.0%TRR)、DN、PHP 及び 446-DO が各 0.011~0.043mg/kg (3.31~7.05%TRR) 検出された。わら中の放射能として、ジノテフラン (4.0~5.6mg/kg)、UF (0.72~1.2mg/kg) 等が検出された。その他として、二酸化炭素など揮発性の成分が生成していると考えられた。(参照 10)

(2) 水稲②

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又は Gu-¹⁴C-ジノテフランを用いて水稲（品種：コシヒカリ）の 4 葉期に①50 μg ai を葉面処理し、6、9 及び 21 日後に検体を採取、②100 μg ai を田面水処理し、5、14 及び 21 日後に検体を採取し水稲の植物体内運命試験が実施された。

葉面処理では、処理 21 日後の放射能分布は、処理葉で 63~73%TAR、その他の地上部で 13~20%TAR、根部で 0.4~1%TAR であった。また、回収率の低下から二酸化炭素などの揮発性成分の生成が考えられた。処理 21 日後における放射能として、ジノテフランが 26.2~35.3%TRR、DN が 16.1~19.4%TRR、UF が 13.5~16.0%TRR、その他、MG、DN-2-OH 及び BCDN が 6%TRR 以下検出された。

田面水処理では、処理 21 日後の放射能分布は、地上部で 35~45%TAR、その他、根部で 3~4%TAR、土壌で 45~57%TAR であり、ジノテフランが 32.0~34.5%TRR、DN が 22.3%TRR、UF が 14.5~19.0%TRR、その他、MG、DN-2-OH 及び BCDN が 5%TRR

以下検出された。

水稻におけるジノテフランの主要代謝経路は、ニトロ基の脱離による DN の生成、テトラヒドロフラン環の水酸化と開環による DN-OH 及び 446-DO の生成、分子内環化による BCDN 及び PHP の生成、DN のニトロイミノ基の加水分解による UF の生成、グアニジンとテトラヒドロフラン部の開裂による MNG の生成であり、代謝物(UF、PHP あるいは 446-DO)の糖抱合体の生成、さらに代謝を受け二酸化炭素及びその他の揮発性成分にまで分解されると考えられた。(参照 11)

(3) ナス

ナス(品種:千両2号)を用いて、植物体内運命試験が実施された。本試験で用いた、試験設計概要は表3のとおりである。

表3 ナスにおける植物体内運命試験の試験設計概要

標識体	Tf- ¹⁴ C-ジノテフラン又は Gu- ¹⁴ C-ジノテフラン				Tf及び Gu- ¹⁴ C- ジノテフラン の等量混合物
	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪
試験区分	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪
処理方法	葉面処理	土壌処理	葉面処理	植穴処理	果実処理
処理時の 植物体 ステージ	4葉期	2~3葉期	3葉期	2~3葉期	結実期
処理部位	3葉	土壌	2葉及び3葉	土壌	未熟果実
検体採取日	6、9、15	3、9、15	0~15	21	15
投与量 ($\mu\text{g ai}$)	50	50	150	100	50

⑦(葉面処理)、⑧(土壌処理1)、⑨(揮発性成分の捕集)、⑩(土壌処理2)及び⑪(果実処理)の条件で放射活性を測定した。

葉面処理(⑦)では、処理15日後の放射能分布は、処理葉で87~91%TAR、その他の地上部で0.6~1.7%TAR、根部で0.1~0.2%TARであり、ジノテフランが19.3~19.6mg/kg(36.9~49.7%TRR)、DNが5.3~9.8mg/kg(13.5~18.8%TRR)、UFが2.9~4.3mg/kg(7.3~8.3%TRR)、BCDNが2.7~4.8mg/kg(6.9~9.2%TRR)、その他、MG、PHP及び446-DOが2.5mg/kg以下検出された。

土壌処理1(⑧)では、処理15日後、処理放射能の約60%が植物に吸収され、その放射能分布は、地上部で処理量の58%、根部で1.3%TAR、土壌で33~35%TARであり地上部でジノテフランが1.09~1.48mg/kg(25.0~29.6%TRR)、DNが1.43~1.46mg/kg(28.6~33.4%TRR)、UFが0.67~0.79mg/kg(13.4~18.1%TRR)、その他、MG、PHP、MNG、446-DO及びBCDNが0.5mg/kg以下検出された。

揮発性成分の捕集 (⑨) では、処理 15 日後における放射能回収率は 99%TAR、二酸化炭素が 0.2~0.6%TAR、その他の揮発性成分が 0.01%TAR 以下検出された。

果実処理 (⑩) では、処理 15 日後の果実部における放射能回収率は 92%TAR であり、果実部でジノテフランが 0.69mg/kg (87.3%TRR)、UF が 0.03mg/kg (3.4%TRR)、DN が 0.02mg/kg(2.9%TRR)検出され、その他、PHP、BCDN、446-DO、MNG 及び MG が 0.01mg/kg 以下検出された。

土壌処理 2 (⑪) では、処理 21 日後、処理量の 40%が植物体に吸収され、その放射能分布は、果実部で 1.3~1.6% TAR、地上部で 36.6~36.8%TAR、根部で 1.5~1.6%TAR、土壌で 47.5~47.6%TAR であり、処理 15 日後の放射能として、果実部でジノテフランが 0.95~1.26mg/kg (55.4~63.5%TRR)、MNG が 0.08mg/kg (4.5%TRR)、446-DO (グルコース抱合体を含む) が 0.04~0.07mg/kg(2.39~3.51%TRR)、PHP が 0.05mg/kg(1.8~2.8%TRR)、その他、UF 及び DN が 0.02mg/kg 以下検出された。

ジノテフランのナスにおける主たる代謝経路は、ニトロ基の脱離による DN の生成、ニトロイミノ基の加水分解による UF の生成、テトラヒドロフラン環の酸化による DN-2-OH や 446-DO の生成、それに引き続く分子内の閉環による BCDN や PHP の生成、テトラヒドロフラン環とグアニジン基の開裂による MNG の生成、メチル基の脱離による FNG の生成、さらに糖抱合体及び二酸化炭素の生成が起これと考えられる。

(参照 12)

(4) キャベツ

Tf-¹⁴C-ジノテフラン及び Gu-¹⁴C-ジノテフランの等量混合物を用いて、キャベツ (品種: シキドリ) に 50 µg ai を① 4~5 葉期の葉面に塗布し、処理後 5、11 及び 19 日目に検体を採取 (葉面処理)、② 2~3 葉期の栽培土壌に土壌散布し、処理後 11、28 及び 43 日目に検体を採取 (土壌処理) し、キャベツにおける植物体内運命試験が実施された。

葉面処理では、処理 19 日後の放射能分布は、処理葉で 81%TAR、その他の地上部で 1%TAR、根部で 0.1%TAR であり、その他に二酸化炭素等の揮発性成分の生成が考えられた。処理 19 日後の処理葉での放射能として、ジノテフランが 16.4mg/kg (29.8%TRR)、PHP が 5.3mg/kg (5.3%TRR)、BCDN が 5.6mg/kg (10.2%TRR)、DN が 4.3mg/kg (7.9%TRR)、その他、UF、DN-3-OH 及び DN-2-OH が 3mg/kg 以下検出された。

土壌処理では、処理 43 日後、処理放射能の 40%が植物体に吸収され、その放射能分布は、地上部で 38%TAR、根部で 1%TAR、土壌で 39%TAR であり、地上部では、ジノテフランが 0.38mg/kg (24.0%TRR)、MNG が 0.42mg/kg (26.5%TRR)、DN が 0.19mg/kg (11.9%TRR)、UF が 0.11mg/kg (7.26%TRR)、その他、PHP、BCDN 及び DN-3-OH が 0.1mg/kg 以下検出された。なお、地上部の代謝物として最も多かった MNG は、葉面散布では検出されていないことから土壌中で生成したものが吸収されたと考えられる。

(参照 13)

(5) キュウリ

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又は Gu-¹⁴C-ジノテフランを用いてキュウリ（品種：サガミハンシロ）に、①50 μg ai を 3～4 葉期の葉面に塗布し、処理後 3、9 及び 15 日目に検体を採取（葉面処理）、②50 μg ai を 3～4 葉期に栽培土壌に土壌散布し、処理後 6、10、15 及び 20 日目に検体を採取（土壌処理）、③20 μg ai を結実期の未熟果実に塗布し、処理後 3 及び 7 日目に検体を採取（果実処理）して、キュウリにおける植物体内運命試験が実施された。

葉面処理では、処理 9 日後の放射能分布は、処理葉で 81～92%TAR、地上部で 3～6%TAR、根部で 0.3～0.5%TAR であり、処理葉での放射能として、ジノテフランが 15.1～30.1mg/kg (59.9～67.4%TRR)、DN が 3.4～4.0mg/kg (9.0～13.7%TRR)、抱合体を含む UF が合わせて 1.9～3.0mg/kg (6.7～7.6%TRR)、その他、PHD、446-DO 及び BCDN が 1.4mg/kg 以下検出された。

土壌処理では、処理 20 日後の放射能分布は、地上部で 28～36%TAR、根部で 0.2～0.6%TAR、土壌で 57～68%TAR であり、地上部での放射能として、ジノテフランが 0.61～0.85mg/kg (37.3～55.6%TRR)、DN が 0.16～0.29mg/kg (10.4～17.7%TRR)、抱合体を含む UF が合わせて 0.19mg/kg (11.8～12.4%TRR)、その他、446-DO（抱合体を含む）が 0.12～0.17mg/kg (7.1～11.1%TRR) 検出された。

果実処理では、処理 7 日後の果実部における放射能は、処理量の 93～95%であり、果実での放射能として、ジノテフランが 0.1～0.5mg/kg (91%TRR) 検出され、ほとんど代謝されなかった。（参照 14）

(6) インゲン

インゲン（品種：グリーントップ）を用いて、植物体内運命試験が実施された。本試験で用いた、試験設計概要は表 4 のとおりである。

表 4 インゲンにおける植物体内運命試験の試験設計概要

標識体	Tf及び Gu- ¹⁴ C- ジノテフラン の等量混合物	Tf 及び Gu- ¹⁴ C-ジノテフラン			
	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯
試験区分	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯
処理方法	葉面処理	土壌処理	葉面処理	果実処理	基部注入処理
処理時の 植物体 ステージ	4 葉期	2～3 葉期	3 葉期	結実期	結実期
処理部位	第 3 葉	土壌	第 2 葉	未熟果実	実に近い 基部 2 箇所
検体採取日	10、20、27	22、40、55	11 日まで	11、25	11、25
投与量 (μg ai)	50	50	50	5	10

⑫ (葉面処理)、⑬ (土壌処理)、⑭ (揮発性成分の捕集)、⑮ (果実処理) 及び⑯ (茎部注入処理) の条件で放射活性を測定した。

葉面処理 (⑫) では、処理 27 日後の各検体における放射能分布は、豆で 0.2% TAR、さやで 1% TAR、葉で 83% TAR、葉の脇葉で 0.3% TAR、その他の地上部で 0.8% TAR、根部で 0.3% TAR、土壌で 0.5% TAR であり、処理葉での放射能として、ジノテフランが 15.1mg/kg (21.2% TRR)、DN が 7.9mg/kg (11.1% RR)、抱合体を含む PHP が 8.0mg/kg (11.3% TRR) 検出され、その他、446-DO、UF 等が 6mg/kg 以下検出された。

土壌処理 (⑬) では、処理 55 日後の各検体における放射能分布は、豆で 0.3% TAR、さやで 1% TAR、地上部で 13~23% TAR、根部で 1% TAR、土壌で 75~77% TAR であり、地上部での放射能として、ジノテフランが 0.04~0.09mg/kg (2.7~8.3% TRR)、抱合体を含む PHP が 0.18~0.33mg/kg (16.1~20.6% TRR)、MNG が 0.30mg/kg (18.4% TRR ; Gu-標識体のみ)、その他、446-DO、MG 及び DN が 0.30mg/kg 以下検出された。

揮発性成分の捕集 (⑭) では、処理 11 日後における放射能回収率は 90~95%、二酸化炭素が 0.1~0.2%、その他の揮発性成分が 0.04~0.2% 検出された。

可食部処理 (⑮) では、処理 25 日後の放射能分布は、豆で 5~7% TAR、さやで 60.6~72.2% TAR であり、果実部での放射能として、ジノテフランが 0.97mg/kg (67.4% TRR)、その他、PHP 等が 0.1mg/kg 以下検出された。

茎部注入処理 (⑯) では、処理 25 日後の放射能分布は、豆で 3~10% TAR、さやで 32~44% TAR であり、果実部での放射能として、ジノテフランが 0.48~1.16mg/kg (68.6~73.6% TRR)、PHP が 0.04~0.11mg/kg (6.1~7.1% TRR)、その他、UF 及び FNG 等が 0.06mg/kg 以下検出された。(参照 15)

(7) イチゴ

Tf-¹⁴C・ジノテフラン又は Gu-¹⁴C・ジノテフランをイチゴ(品種: トヨノカ)に、①50 μg ai を苗の葉面に塗布し、処理後 8、20 及び 29 日目に検体を採取 (葉面処理)、②20 μg ai を結実期の未熟果実に塗布し、処理後 8 及び 14 日目に検体を採取 (可食部処理) して、イチゴにおける植物体内運命試験が実施された。

葉面処理では、処理 29 日後の放射能分布は、果実部で 0.7~1% TAR、処理葉で 84~86% TAR、その他の地上部で 1% TAR、根部で 0.04~0.1% TAR、土壌から 0.2~0.3% TAR であり、その他に二酸化炭素等の揮発性成分の生成が考えられた。処理 29 日後の処理葉での放射能として、ジノテフランが 20.2~24.2mg/kg (42.4~45.7% TRR)、その他、UF、BCDN、DN 及び MG 等が 4mg/kg 以下検出された。

可食部処理では、処理 14 日後の果実部における放射能の回収率は、処理量の 95~98% であり、果実での放射能として、ジノテフランが 1.1~1.7mg/kg (89.0% TRR)、その他、UF 及び DN 等が 0.1mg/kg 以下検出された。(参照 16)

(8) カブ

Tf-¹⁴C・ジノテフラン又は Gu-¹⁴C・ジノテフランを用いてカブ (品種: 耐病ひかり) に、

①50 $\mu\text{g ai}$ を4～5葉期の葉面に塗布し、処理後10、14及び20日目に検体を採取（葉面処理）、②Gu-¹⁴C-ジノテフランの50 $\mu\text{g ai}$ を2～3葉期のカブ栽培土壌に土壌処理し、処理後6、10、15及び30日目に検体を採取（土壌処理）し、カブにおける植物体内運命試験が実施された。

葉面処理では、処理20日後の放射能分布は、主根部で2～3% TAR、処理葉で81～86%TAR、その他の地上部で1～2%TAR、細根部で0.1%TAR、土壌で0.3～0.4%TARであり、その他に二酸化炭素等の揮発性成分の生成が考えられた。処理20日後の処理葉での放射能として、ジノテフランが1.62～1.78mg/kg（12.2～12.8%TRR）、DNが3.22～3.36mg/kg（23.1～25.3%TRR）、その他、PHP及びその抱合体、446-DO及びその抱合体並びにUFが1.3mg/kg以下検出された。主根部で検出された放射能は0.02mg/kgでその大部分がDNであった。

土壌処理では、処理30日後の放射能分布は、主根部で2% TAR、地上部で49% TAR、細根部で0.6%TAR、土壌で41%TARであり、主根部での放射能として、ジノテフランが0.02mg/kg（35.8%TRR）、DNが0.02mg/kg（35.3%TRR）、その他、UFが0.005mg/kg以下検出された。地上部の主要代謝物はDNで1.83mg/kg（30.4%TRR）であった。

（参照 17）

（9）ミカン

Tf-¹⁴C-ジノテフラン及びGu-¹⁴C-ジノテフランの等量混合物を用いて、みかん（品種：青島）に、①50 $\mu\text{g ai}$ を苗の葉面に塗布し、処理後14、37及び60日目に検体を採取（葉面処理）、②Tf-¹⁴C-ジノテフラン又はGu-¹⁴C-ジノテフランの20 $\mu\text{g ai}$ 、結実期の未熟果実に塗布し、処理後3、6、12及び16週目に検体を採取（可食部処理）し、ミカンにおける植物体内運命試験が実施された。

葉面処理では、処理60日後の放射能分布は、処理葉で84% TAR、周辺葉で0.6% TARであり、その他に二酸化炭素等の揮発性成分の生成が考えられた。処理60日後における処理葉での放射能として、ジノテフランが10.6mg/kg（23.4%TRR）、その他、MNG、抱合体を含むPHP、抱合体を含む446-DO及びDN等が4.2mg/kg以下検出された。

可食部処理では、処理16週後の放射能分布は、果実部で87% TAR、周辺葉で3～5%TARであり、果実での放射能としては、ジノテフランが0.05～0.07mg/kg（43.6～44.3%）、その他、MNG、抱合体を含む446-DO及びFNG等が0.01mg/kg以下検出された。（参照 18）

（10）ナシ

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又はGu-¹⁴C-ジノテフランを用いて結実期のナシ（品種：幸水）に、20 μg を未熟果実に塗布し、処理後4、9及び12週目に検体を採取し、ナシにおける植物体内運命試験が実施された。

12週後の放射能分布は、リンズ部で9～15%TAR、果皮で34～36%TAR、果肉で34～36%TARであり、その他に二酸化炭素等の揮発性成分の生成が考えられた。処理12

週後の果実部での放射能として、ジノテフランが 0.03mg/kg (32.3%TRR)、抱合体を含む PHP が 0.01~0.02mg/kg (12.0~13.9%TRR)、MNG が 0.01mg/kg (10.3%TRR)、その他、抱合体を含む 446-DO、UF 及び DN 等が 0.01mg/kg 以下検出された。

(参照 19)

(11) リンゴ

Tf-¹⁴C・ジノテフラン又は Gu-¹⁴C・ジノテフランを用いてリンゴ (品種: 王林) に、50 μg を葉面処理し、処理後 20、30 及び 55 日目に検体を採取し、リンゴにおける植物体内運命試験が実施された。

処理 55 日後の放射能分布は、処理葉で 83~84%TAR、周辺葉で 1%TAR であり、その他に二酸化炭素等の揮発性成分の生成が考えられた。処理 55 日後の処理葉での放射能として、ジノテフランが 11.1~21.0mg/kg (27.9~30.8%TRR)、抱合体を含む PHP が 0.89~4.9mg/kg (2.2~7.2%TRR)、抱合体を含む 446-DO が 7.7~9.4mg/kg (11.4~23.6%TRR)、その他 UF が 2.4~3.6mg/kg (3.6~9.6%TRR)、DN が 3.7~5.4mg/kg (8.0~9.4%TRR) 検出された。(参照 20)

(12) 代謝物 DN のキュウリ及びインゲンにおける植物体内運命試験

キュウリ (品種: サガミハンシロ) 及びインゲン (品種: グリーントップ) に、50 μg の ¹⁴C-DN を土壌、葉面、茎部注入 (キュウリのみ) し、処理 14~21 日後に検体を採取し、代謝物 DN の各植物体での植物体内運命試験が実施された。

各処理における放射能回収率は 82~95% であり、二酸化炭素などの揮発性成分が生成していると考えられた。検出物の多くは DN であり、土壌処理した DN はほとんど植物に吸収されず、また葉面塗布や茎部注入では DN は大半が処理部位にとどまった。代謝物については微量で同定には至らなかった。処理後 14 日のキュウリ及び 21 日のインゲンにおける DN の残存率は 89.5~96.9%TRR であり、DN の植物体での代謝は緩慢であるものと考えられる。(参照 21)

(13) 代謝物 UF のキュウリにおける植物体内運命試験

キュウリ (品種: サガミハンシロ) に、50 μg の ¹⁴C-UF を葉面処理し、最長 22 日後に検体を採取し、代謝物 UF のキュウリにおける植物体内運命試験が実施された。

放射能回収率は 78% であり、揮発性成分として二酸化炭素が投与量の 1%TAR 生成していた。残留放射能について分析したところ UF が 13.2mg/kg (33.1%TRR)、UF-DM 及び UF の抱合体が 21.0mg/kg (52%TRR) 検出された。

UF はメチル基の脱離などの代謝を受けるものと考えられる。(参照 22)

(14) 代謝物 MNG のキュウリにおける植物体内運命試験

キュウリ (品種: サガミハンシロ) に、50 μg の ¹⁴C-MNG を栽培土壌に処理し、3 週後に検体を採取し、代謝物 MNG のキュウリにおける植物体内運命試験が実施された。

放射能回収率は89%であり、地上部で29%TAR、根部で0.3%TARが検出された。残留放射能について分析したところ、代謝物としてMNGが0.98mg/kg(65.5%TRR)、MGが0.33mg/kg(21.9%TRR)及びNGが0.04mg/kg(2.83%TRR)検出された。MNGはニトロ基及びメチル基の脱離などの代謝を受けるものと考えられる。(参照23)

(15) 代謝物PHP及び446-DOのキュウリにおける植物体内運命試験

インゲン(品種:グリーントップ)に、50 μ gの代謝物PHP及び446-DOを葉面処理し、処理葉を2週後に採取し、PHP及び446-DOの代謝物の同定試験が実施された。

PHPの代謝物として446-DO、DN-2-OH及びBCDNが検出され、446-DOの代謝物としてPHP、MG、DN-2-OH及びBCDNが検出された。(参照24)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又はGu-¹⁴C-ジノテフランを、2種類の埴壤土(茨城畑土壌、高知畑土壌)及び軽埴土(大阪畑土壌)に乾土当たり1 μ g/gの濃度で混和し、好氣的条件下、25 $^{\circ}$ C、インキュベーション時間は茨城畑土壌及び高知畑土壌については16週間、大阪畑土壌については20週間として、ジノテフランの土壌中運命試験が実施された。

ジノテフランの半減期は埴壤土で5~6週間、軽埴土で10~11週間であった。試験開始12週間後に、ジノテフランが12.3~39.8%TAR、NGが8.8~17.1%TAR、MNGが11.7~15.0%TAR、UF(FNGを含む)が0.26~0.60%TAR検出された。試験開始後16週間の時点で、茨城土壌及び高知土壌でTf-¹⁴C-ジノテフランで56~62%TAR、Gu-¹⁴C-ジノテフランで26~28%TARの二酸化炭素が検出された。茨城土壌の16週後の抽出残査は、18.60~22.50%TARであり、50~60%TRRがフルボ酸、フミン酸及びフミンの土壌有機物に取り込まれた。これら抽出残渣放射能(RRR)の33.4~49.2%が塩酸抽出部から抽出され、ジノテフランが7.1~9.1%RRR、未同定分解物のUK1、NG、MNG及びUF+FNGがそれぞれ9.2~11.4、8.6、4.0、0.05%未満~1.5%RRR検出された。

また、滅菌埴壤土を用いてジノテフランの代謝試験を行ったところ、ほとんど代謝が進まなかったため、ジノテフランの好氣的条件下での土壌代謝には微生物が関与しているものと考えられる。

ジノテフランの好氣性土壌における代謝経路は、テトラヒドロフラン部とグアニジン部の開裂によるMNGの生成、MNGのメチル基の脱離によるNGの生成及びニトロイミノ基の加水分解によるUFの生成等であり、これらの代謝物はさらなる代謝を受けて二酸化炭素まで分解されるものと考えられる。(参照25,26)

(2) 好氣的湛水土壌

Tf-¹⁴C-ジノテフラン又はGu-¹⁴C-ジノテフランを、軽埴土、砂質埴土及び灰色低地土壌に乾土当たり0.4 μ g/gの濃度で混和し、好氣的条件下、25 $^{\circ}$ C、16週間インキュベーションし、ジノテフランの好氣的湛水土壌運命試験が実施された。

ジノテフランの半減期は各土壌で4~5週間であった。軽埴土中で放射能は抽出残渣に徐々に移行し、16週間後には57.1~65.4%TARが抽出残渣に移行した。二酸化炭素への移行は同時点で6.2~7.8%TARであった。16週間後には、ジノテフランが3.8~7.7%TAR、主要分解物としてDNが12.7~25.7%TAR、その他、UFが1.0~1.8%TAR検出された。16週の青森土壌の抽出残渣の塩酸抽出により83.12~75.82%TARが可溶化し、その大半がDNであった。腐食に約20%TARが取り込まれていた。

また、滅菌埴壤土中ではジノテフランはほとんど分解が進まなかったため、ジノテフランの好氣的条件での土壌代謝には微生物が関与しているものと考えられる。

ジノテフランの好氣的湛水土壌における代謝経路は、脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解等であり、これらの代謝物はさらなる代謝を受けて二酸化炭素まで分解されるものと考えられる。(参照 27)

(3) 嫌氣的土壌

Gu-¹⁴C-ジノテフランを、埴壤土(茨城)に乾土当たり0.4μg/gの濃度で混和し、26週間インキュベーションして、ジノテフランの嫌氣的土壌における代謝試験を行った。

ジノテフランの半減期は約9週間であった。放射能は抽出残渣に徐々に移行し、26週間後に49.3%TARが抽出残渣に移行した。二酸化炭素への分解は同時点で1.2%TARであった。また、26週間後には、ジノテフランが17.8%TAR、主要分解物としてDNが27.3%TAR、その他、UFが4.2%TAR検出された。16週間目の試料の抽出残渣に43.2%TARが存在し、その塩酸抽出液中に残渣中放射能の81%が検出され、そのほとんどがDNであった。

ジノテフランの嫌氣的土壌における代謝経路は、脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解等であるものと考えられる。(参照 28)

(4) 分解物 DN の土壌中運命試験

¹⁴C-DNの好氣的土壌及び好氣的湛水土壌での代謝試験を行ったところ、半減期は好氣的土壌では16週間以上、好氣的湛水土壌では6週間であった。各試料中の主要成分はDNであり、微量代謝物は同定しなかった。二酸化炭素は16週間後に好氣的土壌で6%TAR、好氣的湛水土壌で15%TAR検出された。(参照 29)

(5) 分解物 UF の土壌中運命試験

¹⁴C-UFの好氣的土壌及び好氣的湛水土壌での代謝試験を行ったところ、半減期は好氣的土壌で約7日、好氣的湛水土壌では推定16週間であった。好氣的湛水土壌を用いた代謝試験では処理15週間後にUF(処理量の53.0%)及びUF·DM(2.1%TAR)が検出された。二酸化炭素は4週間後に好氣的土壌で71%TAR、処理15週間後に好氣的湛水土壌で26%TAR検出された。(参照 30)

(6) 分解物 MNG の土壤中運命試験

^{14}C -MNG の好氣的土壤及び嫌氣的土壤での代謝試験を行ったところ、半減期は好氣的土壤で約 11 週間、嫌氣的土壤で約 3 週間であった。各試料中の主要成分は好氣的土壤では処理 16 週間後に NG (処理量の 16.8%) 及び MNG (36.2% TAR)、嫌氣的土壤では処理 12 週間後に、MNG (4.9% TAR) 及び MG (0.08% TAR) であった。二酸化炭素は処理 16 週間後に好氣的土壤で 27.4% TAR、処理 12 週間後に嫌氣的土壤で 47.7% TAR 検出された。(参照 31)

(7) 分解物 NG の土壤中運命試験

^{14}C -NG の好氣的土壤及び嫌氣的土壤での代謝試験を行ったところ、半減期は好氣的土壤で約 3 日間、嫌氣的土壤で約 8 日間であった。各試料中の主要成分として、好氣的土壤では処理 20 日間後に NG (処理量の 0.7%)、嫌氣的土壤では処理 42 日間後に NG (1.31% TAR) が認められた。二酸化炭素は、処理 20 日間後に好氣的土壤で 74.1% TAR、処理 42 日間後に嫌氣的土壤で 41.0% TAR 検出された。(参照 32)

(8) 土壤吸着試験

ジノテフラン (4 種類の国内土壤使用)、代謝物 DN (7 種類の外国土壤使用) 及び MNG (5 種類の外国土壤使用) の土壤吸着試験を行った。有機炭素含量を基にした吸着係数 $K_{\text{ads}_{\text{oc}}}$ はジノテフランで 23.3~33.6 であった。代謝物 DN の $K_{\text{ads}_{\text{oc}}}$ は 58~2502 であった。代謝物 MNG の $K_{\text{ads}_{\text{oc}}}$ は 8~31 であり、 $K_{\text{ads}_{\text{oc}}}$ が 12~28 であることから、MNG の吸着は可逆的であると考えられた。(参照 33~35)

(9) 土壤カラムリーチング試験

$\text{Tf-}^{14}\text{C}$ -ジノテフラン又は $\text{Gu-}^{14}\text{C}$ -ジノテフランを用いて、2 種類の埴壤土 (茨城畑土壤、高知畑土壤) 及び砂質壤土 (千葉畑土壤) に乾土当たり 5.9mg/kg の濃度で添加した後、土壤層を 30cm としてカラムに充填した土壤に灌水液 (0.01M 塩化カルシウム水溶液) を 4 日間連続流下して、ジノテフランの土壤カラムリーチング試験が実施された。

放射能回収率は 96~99% であり、57~77% TAR が溶出液から検出された。溶出液中及び土壤層中の主成分はジノテフランであり、千葉土壤、茨城土壤、高知土壤で溶出液で処理量の 56~58、66~73、61~74% TAR が、土壤層中で 36、20~25、19~33% TAR が、溶出液及び中び土壤層中から、NG 及び MNG と推定される代謝物が僅かに検出された。(参照 36)

(10) エイジドリーチング試験

好氣的条件下では、水分を最大溶水量の 60% に調整し 26°C で 2 週間インキュベーションした埴壤土 (茨城畑土壤) に、好氣的湛水条件下では、蒸留水を加水水深を 4cm に調整した後、26°C で 5 週間インキュベーションした壤土 (三重水田土壤) に、 $\text{Tf-}^{14}\text{C}$ -ジノテフラン又は $\text{Gu-}^{14}\text{C}$ -ジノテフランを、乾土当たり 0.4mg/kg の濃度で混和した後、30

日間インキュベーションした。これらのエージングした土壌を当該土壌で作成した 30cm の土壌カラムの上に載せて灌水液 (0.01M 塩化カルシウム水溶液) を 4 日間連続流下して、ジノテフランのエイジドリーチング試験が実施された。

好氣的条件下でのインキュベーション後の放射能回収率は 59~87%であり、ジノテフラン、MNG、NG 及び抽出残渣が 42~44、22、7 及び 11~14% TAR 検出された。好氣的灌水条件下でのインキュベーション後の放射能回収率は 91~95%であり、ジノテフラン、DN 及び抽出残渣が 60~62、11~12 及び 19~20% TAR 検出された。

土壌カラムリーチングでの放射能回収率は、好氣的条件下で 54~87%で、溶出液から 17~40% TAR が、好氣的灌水条件下の放射能回収率は 94~107%で、溶出液から 30~32% TAR が検出された。好氣的条件下の溶出液中で、ジノテフランが 15~17% TAR、MNG が 18% TAR 及び NG が 6% TAR、土壌層中で、ジノテフランが 21~26% TAR、MNG が 6% TAR 及び NG が 3% TAR 検出された。好氣的灌水条件下の溶出液中で、ジノテフランが 27~28% TAR、土壌層中で、ジノテフランが 32~38% TAR、DN が 15~19% TAR 検出された。なお、DN はその殆どが土壌層の 0~5cm 層で検出された。(参照 37)

(1 1) 分解物 DN、UF 及び MNG の土壌カラムリーチング試験

$^{14}\text{-C-DN}$ 、 $^{14}\text{-C-UF}$ 及び $^{14}\text{-C-MNG}$ を、埴壌土 (茨城畑土壌 : DN、UF 及び MNG) 及び砂質壤土 (千葉畑土壌 : DN) に乾土当たり各々 4.6、4.7 及び 2.8 $\mu\text{g/g}$ の濃度で添加した後、土壌層を 30cm としてカラムに充填した各々の土壌に灌水液 (0.01M 塩化カルシウム水溶液) を 4 日間連続流下して、代謝物 DN、UF 及び MNG の土壌カラムリーチング試験が実施された。

DN は処理量の 98~100%が土壌層から検出され、その殆どが 0~5cm から検出され、溶出液からは検出されなかった。土壌層中の主成分は DN で 72~89% TAR 検出された。

UF は処理量の 85%が溶出液中から検出され、溶出液中及び土壌層中の主成分は UF で、溶出液中から 83% TAR、土壌層中から 9% TAR が検出された。

MNG は処理量の 76%が溶出液中から検出され、溶出液中及び土壌層中の主成分は MNG で、溶出液中から 73% TAR、土壌層中から 13% TAR が検出された。(参照 38)

(1 2) 鉛直浸透試験 (水田圃場)

ジノテフランの 1%粒剤を 10a 当たり 4kg の割合 ($4\mu\text{g/cm}^2$) で水田 (軽埴土) に全面施用し、田面水、0~10cm の表層土及び深度 1m までの土を採土管で採取し、ジノテフラン粒剤の鉛直浸透試験が実施された。

田面水でのジノテフラン濃度は処理直後 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 検出されたが、処理 28 日後で 0.002 $\mu\text{g/mL}$ に減少した。代謝物 MNG、UF 及び DN は処理 14 日後にいずれも最高濃度に達し、0.002、0.006 及び 0.004 $\mu\text{g/mL}$ 検出されたが、処理 28 日後には全ての代謝物が検出限界以下となった。代謝物 BCDN、DN-3-OH 及び MG は、いずれも試験期間中で検出限界以下であった。

土壌層 0~10cm でのジノテフラン濃度は処理 1 日後に 0.048 $\mu\text{g/g}$ 検出され、処理 14

日後に最高値の $0.110 \mu\text{g/g}$ が検出され、処理 133 日後で $0.009 \mu\text{g/g}$ に減少した。代謝物 DN は処理 49~161 日後まで $0.02 \mu\text{g/g}$ 検出され、10cm より下の土壌層においては、ともに検出限界以下であった。ジノテフランの推定半減期は 8 日、ジノテフラン及び代謝物(MNG、UF 及び DN)を合算した場合の推定半減期は 9 日であった。代謝物 BCDN、DN-3-OH 及び MG は、処理後 7 日目の土壌中 0~30cm において検出限界以下であった。(参照 39)

(13) 鉛直浸透試験 (畑圃場)

ジノテフラン粒剤または水溶剤を 600g ai/ha で畑 (壤土) に全面施用し、深度 1m までの土及び土壌層 90~100cm の土壌から遠心分離により土壌水を採取し、ジノテフラン粒剤及び水溶剤の鉛直浸透試験が実施された。

ジノテフランは土壌層 0~10cm の処理直後において粒剤処理区及び水溶剤処理区でそれぞれ 1.12 及び $1.39 \mu\text{g/g}$ 、処理 124 日後に 0.052 及び $0.024 \mu\text{g/g}$ と経時的に減少した。試験期間中に粒剤処理区において土壌層 40~50cm で $0.006 \mu\text{g/g}$ 、水溶剤処理区において土壌層 30~40cm で $0.007 \mu\text{g/g}$ 検出された。

DN は全ての土壌層において検出限界以下であった。UF は処理直後の土壌層 0~10cm で $0.02 \mu\text{g/g}$ 検出された。MNG は土壌層 0~10cm の処理直後において粒剤処理区、水溶剤処理区でそれぞれ 0.06 及び $0.09 \mu\text{g/g}$ 、処理 124 日後に 0.02 及び $0.01 \mu\text{g/g}$ と経時的に減少した。試験期間中に粒剤処理区において土壌層 30~40cm で $0.03 \mu\text{g/g}$ 、水溶剤処理区において土壌層 20~30cm で $0.02 \mu\text{g/g}$ 検出された。NG は粒剤処理区及び水溶剤処理区ともに処理 77 日後に初めて検出され、粒剤処理区において土壌層 30~40cm で $0.02 \mu\text{g/g}$ 検出された。0~100cm の土壌層において、ジノテフランの半減期は粒剤処理区で 29 日、水溶剤処理区で 12 日であった。ジノテフラン及び代謝物 (MNG、UF、DN 及び NG) を合算した場合の半減期は、粒剤処理区で 58 日、水溶剤処理区で 13 日であった。

土壌層 90~100cm の土壌水中のジノテフラン及び代謝物(MNG、UF 及び DN)は検出限界以下であった。(参照 40)

(14) 土壌表面光分解試験

Tf- ^{14}C -ジノテフラン又は Gu- ^{14}C -ジノテフランを、乾土当たり $50 \mu\text{g/g}$ の濃度 (600g ai/ha に相当) で土壌表面に処理し、 26°C 、30 日間メタルハライド光照射 [8.10W/m^2 (測定波長: 315~400nm)] し、ジノテフランの土壌表面光分解試験が実施された。

試験開始 30 日後に、ジノテフランは明条件で 64.6~70.0% TAR、暗条件で 93.0% TAR 検出された。推定半減期は、47~56 日、90%減衰期間は 172~202 日であった。分解物として、MNG、DN、BCDN、DN-3-OH、FNG、UF 及び PHP が検出されたが、いずれも処理量の 2%以下であった。揮発性成分は処理量の 14.5~16.0%であった。(参照 26,41)