

表 10 ぶどう試料中親化合物及び代謝物 (%TRR)

試験区	7 日間栽培		16 日間栽培	
	[chl- ¹⁴ C]	[tri- ¹⁴ C]	[chl- ¹⁴ C]	[tri- ¹⁴ C]
親化合物	36	38	55	51
代謝物 M4	8	4	7	8
M9	11	11	11	14
極性代謝物	13	15	1	1
未抽出残渣	12	11	15	14

植物におけるミクロブタニルの主要代謝経路は、 α -ブチル基の水酸化 (M4 生成) と続くグルコース抱合 (M9 生成)、M9 のマロニル抱合 (M8 生成)、及び M4 のさらなる酸化 (M3 生成) と考えられた。小麦では、さらに M12 と M13 の生成も認められた。(参照 2)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的及び嫌氣的土壌中運命試験

[chl-¹⁴C]ミクロブタニルまたは[tri-¹⁴C]ミクロブタニルをシルト質壤土(米国、非滅菌)に 1 mg/kg の濃度で添加し、好氣的条件(367 日間¹)または嫌氣的条件(好氣的条件で 30 日間、嫌氣的条件で 62 日間)でインキュベートする土壌中運命試験が実施された。

好氣的条件下で、親化合物は試験開始直後(94~98%TAR)から添加 367 日後(29~33%TAR)まで経時的に減少した。

ミクロブタニルの好氣的土壌中における推定半減期は[chl-¹⁴C]ミクロブタニル添加区で 71.1 日、[tri-¹⁴C]ミクロブタニル添加区で 61.3 日と算出された。

分解物として、[chl-¹⁴C]ミクロブタニル添加区では ¹⁴CO₂ が経時的に増加し、試験終了時には全回収量の 30%存在した。[tri-¹⁴C]ミクロブタニル添加区では M11(トリアゾール)が試験開始 150~180 日後には全回収量の 18%に達し、367 日後にも 13%存在した。¹⁴CO₂ は試験開始 51 日後から確認され、試験開始 367 日後には 4%発生した。また、両標識体添加区で極性代謝物が最大で全回収量の 9%存在し、これは分解物 M10 と同定された。

嫌氣条件下では、ミクロブタニルの分解は認められなかった。(参照 2)

(2) 土壌吸着試験①

4 種類の国内土壌 [埴壤土(福島)、軽埴土(和歌山)、砂質埴壤土(岡山)、砂土(宮崎)] を用いて土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 3.08~13.3、有機炭素含有率により補正した吸着

係数 K_{oc} は 205~962 であった。(参照 2)

(3) 土壌吸着試験②

5 種類の米国土壌(埴壤土、砂土、シルト質壤土、砂壤土及び埴土)を用いて土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 1.46~9.77、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 226~920 であり、移動性は低いあるいは中程度であると考えられた。(参照 2)

(4) 土壌溶脱性試験

シルト質壤土(米国)を充填したカラム(内径 7.5 cm、高さ 28 cm)上部に、[chl-¹⁴C]ミクロブタニルまたは[tri-¹⁴C]ミクロブタニルを 1 mg/kg の濃度で混和した土壌 85 g を入れ、降雨量 13 mm に相当する水を、週 5 回 46 日目まで滴下して、土壌溶脱性試験が実施された。

試験終了時の土壌中には、[chl-¹⁴C]ミクロブタニル添加区で 85%TAR、[tri-¹⁴C]ミクロブタニル添加区で 100%TAR の放射能が存在した。この差は[chl-¹⁴C]ミクロブタニルのフェニル基が ¹⁴CO₂ にまで分解されたためと考えられた。

残留放射能のほとんど(85%TRR)は、カラム上部(0~10 cm)に存在した。土壌中の放射能の 87~91%TRR が親化合物であった。(参照 2)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

非標識ミクロブタニルを pH 5 (クエン酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液)及び pH 9 (塩化カリウム/水酸化ナトリウム緩衝液)の各水溶液に 50 mg/L の濃度で添加し、50℃、暗所条件下における加水分解試験が実施された。

試験終了時、各 pH でミクロブタニルは 98.1~107%TAR 存在していた。

ミクロブタニルは加水分解を受けず、推定半減期は 1 年以上と算出された。(参照 2)

(2) 水中光分解試験

[chl-¹⁴C]ミクロブタニルまたは[tri-¹⁴C]ミクロブタニルを、それぞれ脱イオン水(滅菌、アセトン非添加)、脱イオン水(滅菌、アセトン添加)または自然水(池水、pH 7.6)に約 10 mg/L の濃度で添加し、360 時間蛍光灯(光強度: 2.8 W/m²、波長: 290 nm 以下カット)を照射する水中光分解試験が実施された。

ミクロブタニルの推定半減期は、アセトン添加脱イオン水中で 18.9 時間、アセトン非添加脱イオン水中で 222 日(5,330 時間)、自然水中で 24.6 日(591 時間)と算出された。自然水中の太陽光下(東京、春)に換算した推定半減期は、0.70 日と算出された。

¹ 本試験として、240 日間インキュベートを行い、補足試験として、同条件で 367 日間インキュベートする試験が実施され、両方の試験の結果を併せて検討された。

分解物として、アセトン添加脱イオン水中では、[chl-¹⁴C]ミクロブタニル添加区で¹⁴CO₂が試験終了時に45%TRR、[tri-¹⁴C]ミクロブタニル添加区でM11が試験終了時に49%TRR存在した。自然水中では、試験終了時に親化合物は64~73%TRRに減少していたが、分解物は¹⁴CO₂が2%TRR程度確認されたのみであった。アセトン非添加脱イオン水中では、ミクロブタニルはほとんど分解されなかった。(参照2)

5. 土壌残留試験

火山灰土・埴土(茨城)、沖積土・埴壤土(高知)、火山灰土・埴壤土(茨城)、火山灰土・壤土(茨城)を用い、ミクロブタニルを分析対象化合物とした土壌残留試験(容器内及び圃場)が実施された。推定半減期は表11に示されている。(参照2)

表11 土壌残留試験成績

試験	濃度 [※]	土壌	推定半減期(日)
			ミクロブタニル
容器内試験	0.2 mg/kg	火山灰土・埴土	182
		沖積土・埴壤土	200
		火山灰土・埴壤土	82
圃場試験	125 g ai/ha	火山灰土・壤土	23
	150 g ai/ha	沖積土・埴壤土	65

注) 容器内試験では純品、圃場試験では水和剤を使用

6. 作物残留試験

野菜、果実及び茶を用い、ミクロブタニル及び代謝物(M3、M4、M8及びM9の合計)を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。結果は別紙3に示されている。ミクロブタニル及び代謝物の可食部における最高値はいずれも最終散布14日後に収穫した茶(荒茶)の9.57及び1.85 mg/kgであった。(参照2)

7. 一般薬理試験

マウス、ラット及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表12に示されている。(参照2)

表12 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数/群	投与量 (mg/kg体重) (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg体重)	最小 作用量 (mg/kg体重)	結果の概要	
中枢神経系	一般状態 (Irwin法)	ddY マウス	雄 6	0, 80, 240, 720 (経口)	240	720	720 mg/kg 体重で探索行動の抑制、立ち直り反射の抑制、歩行異常、下痢、腹臥位
	自発運動量	ddY マウス	雄 10	0, 80, 240, 720 (経口)	720	—	投与による影響なし
	筋弛緩作用 (懸垂法)	ddY マウス	雄 10	0, 80, 240, 720 (経口)	240	720	720 mg/kg 体重で筋弛緩作用
	鎮痛作用 (酢酸 writhing 法)	ddY ラット	雄 10	0, 80, 240, 720 (経口)	240	720	720 mg/kg 体重で筋弛緩作用
	ヘキソバルビタール 睡眠	ddY マウス	雄 10	0, 80, 240, 720 (経口)	240	720	720 mg/kg 体重で反射消失
自律神経系	体温	SD ラット	雄 8	(経口)	720	—	投与による影響なし
	瞳孔径	ddY マウス	雄 10	0, 80, 240, 720 (経口)	240	720	720 mg/kg 体重で散瞳
循環器系	呼吸、血圧及び心拍数	NZW ウサギ	雄 4	0, 720, 1,440 (十二指腸内)	720	1,440	1,440 mg/kg 体重で血圧下降、呼吸数及び心拍数に対する影響なし

—: 最小作用量を設定できなかった。

検体はコーン油に懸濁して用いた。

8. 急性毒性試験

ミクロブタニル(原体)、代謝物M3、M4、M12、M13、原体混在物②及び⑬の急性毒性試験が実施された。結果は表13及び14に示されている。(参照2、3、6)

表 13 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	2,620	2,710	体重減少、体重増加抑制、流涎、自発運動量低下、鎮静、痙攣、伏臥、下痢、あえぎ 雄: 1,400 mg/kg 体重以上、雌: 3,080 mg/kg 体重以上で死亡例
	SD ラット 雌雄各 10~20 匹	1,600	2,290	自発運動量低下、運動失調、疲弊、痙攣、振戦、腹式呼吸、流涎、流涙、下痢、糞便量の減少 死亡動物で肺、眼及び胃粘膜の発赤、胃液体貯留 雄: 1,040 mg/kg 体重以上、雌: 1,050 mg/kg 体重以上で死亡例
	SD ラット 雌雄 (匹数不明)	1,750	1,800	
	ICR マウス 雌雄各 5 匹	2,270	2,440	歩行異常、流涎、鎮静、あえぎ、下痢、伏臥、立毛、自発運動量低下、痙攣 死亡例で胃出血斑 雌雄: 1,820 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICR マウス 雌雄各 10 匹	1,910	1,840	自発運動量低下、疲弊、瀕死状態、運動失調、痙攣、振戦、流涎、腹式呼吸、ラ音、体温低下、下痢、糞便量の減少、鼻吻部の赤色あるいは黄褐色の汚れ、肛門生殖器周辺の汚れ 死亡例で胃液状物質貯留、胃拡張、腸管発赤、腸管液体貯留 雌雄: 1,300 mg/kg 体重以上で死亡例
	ICR マウス 雄 (匹数不明)	3,230		
	ICR マウス 雌雄 (匹数不明)	>4,420	1,360	
	経皮	NZW ウサギ 雌雄各 6 匹	>5,000	>5,000
吸入	SD ラット 雌雄各 10 匹	LC ₅₀ (mg/L)		呼吸困難、呼吸嚕赤、ラ音、あえぎ呼吸、趾の赤化、眼周囲の赤色浸出物、腹部被毛の濡れ
		>5.1	>5.1	死亡例なし

注) 空欄: 参照した資料に記載なし

表 14 急性毒性試験結果概要 (代謝物及び原体混在物)

投与経路	検体	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
経口	代謝物 M3	ICR マウス 雌雄各 5 匹	300~ 1,000	1,000~ 3,000	自発運動量低下、鎮静、拳尾、痙攣、伏臥 雌雄: 300 mg/kg 体重以上で死亡例
	代謝物 M4	ICR マウス 雌雄各 5 匹	300~ 1,000	300~ 1,000	自発運動量低下、鎮静、拳尾、痙攣、伏臥 雌雄: 300 mg/kg 体重以上で死亡例
	代謝物 M12	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	尿量増加 死亡例なし
		NMRI マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	代謝物 M13	Tif: RAIF ラット 雌雄各 3 匹	>5,000	>5,000	呼吸困難、眼球突出、立毛、背弯姿勢 死亡例なし
	原体混在物 ②-1	ICR マウス 雌雄各 5 匹	1,000~ 3,000	1,000~ 3,000	自発運動量低下、鎮静、拳尾、痙攣、伏臥 雌雄: 300 mg/kg 体重以上で死亡例
原体混在物 ②-2	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>3,000	>3,000	自発運動量低下、鎮静、拳尾、痙攣、伏臥 雌雄: 1,000 mg/kg 体重以上で死亡例	
腹腔内	代謝物 M12	Wistar ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	運動機能障害、弛緩状態、立毛、下痢 死亡例なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ミクロブタニルは眼に対し強い刺激性を示したが、皮膚に対しては刺激性を示さなかった。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 変法及び Maximization 法) が実施され、Buehler 変法では皮膚感作性は疑陽性であったが、Maximization 法では軽微な皮膚感作性が認められた。(参照 2、3、6)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100、300 及び 3,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

3,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、T.Bil 減少、肝細胞肥大、腎尿管上皮空胞変性、副腎皮質空胞化、副腎束状帯萎縮及び副腎球状帯微細空胞化が、雄で

尿円形細胞増加、Glu及びTGの減少、肝及び腎絶対及び比重量²増加、副腎絶対及び比重量減少が認められた。

本試験における無毒性量は、雌雄とも300 ppm（雄：18.8 mg/kg 体重/日、雌：19.6 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照2、3）

(2) 90日間亜急性毒性試験（ラット）②

SDラット（一群雌雄各10匹）を用いた混餌（原体：0、10、30、100、300、1,000、3,000、10,000及び30,000 ppm）投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群に認められた毒性所見は表15に示されている。

30,000 ppm投与群で認められた死亡は、いずれも衰弱によるものであり、体重、摂餌量、血液学的検査及び肉眼的病理検査等において、衰弱に伴う各種の変化が認められた。

本試験において、3,000 ppm以上投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも1,000 ppm（雄：51.5 mg/kg 体重/日、雌：65.8 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照2）

表15 90日間亜急性毒性試験（ラット）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
30,000 ppm	死亡（全例）	死亡（全例）
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 摂餌量減少 Ht、Hb、MCV減少 T.Chol、GGT増加 腎暗色化 肝細胞腫大、空胞化、凝固壊死 肝クッパー細胞色素沈着 脾赤色脾髄ヘモジデリン沈着 慢性肺炎 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制、摂餌量減少 Hb、MCV減少 T.Chol、GGT増加 腎及び肝暗色化 肝小葉構造明瞭化 肝クッパー細胞色素沈着 副腎皮質空胞化
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 肝絶対及び比重量増加、腎比重量増加 肝暗色化 肝小葉構造明瞭化 肝腫大 肝細胞肥大（小葉中心性、び慢性） 肝細胞壊死 腎曲尿管上皮色素沈着 副腎皮質空胞化 甲状腺小胞増加 	<ul style="list-style-type: none"> 肝絶対及び比重量増加、腎比重量増加 肝細胞肥大（小葉中心性、び慢性） 肝細胞壊死
1,000 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

² 体重比重量を比重量という（以下同じ）

(3) 90日間亜急性毒性試験（マウス）

ICRマウス（一群雌雄各10匹）を用いた混餌（原体：0、3、10、30、100、300、1,000、3,000及び10,000 ppm）投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群に認められた毒性所見は表16に示されている。

本試験において、3,000 ppm以上投与群の雌及び1,000 ppm以上投与群の雄で肝絶対及び比重量増加、肝細胞壊死等が認められたので、無毒性量は雄で300 ppm（42.7 mg/kg 体重/日）、雌で1,000 ppm（232 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照2、3、6）

表16 90日間亜急性毒性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 摂餌量減少 WBC、Lym、Ht、MCV、MCH減少、Seg、MCHC増加 AST、ALP、BUN、GGT増加、Glu減少 胆管増生 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制、摂餌量減少 Hb、Ht、MCV、MCH減少、PLT、MCHC増加 ALT、AST、ALP、BUN、GGT増加 胆管増生 腎マクロファージ色素沈着
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 ALT増加 肝肥大（肝小葉構造明瞭化を伴う） 肝クッパー細胞色素沈着 脾色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> T.Chol、Glu減少 肝絶対及び比重量増加 肝肥大（肝小葉構造明瞭化を伴う） 肝絶対及び比重量増加 肝細胞肥大 肝細胞空胞化 肝細胞壊死 肝小葉中心性壊死性肝炎 肝クッパー細胞色素沈着 副腎束状帯細胞好酸性化/肥大
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> T.Chol減少 肝絶対及び比重量増加 肝細胞肥大 肝細胞空胞化 肝細胞壊死 肝小葉中心性壊死性肝炎 副腎束状帯細胞好酸性化/肥大 	1,000 ppm 以下毒性所見なし
300 ppm 以下	毒性所見なし	

(4) 90日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各4匹）を用いた混餌（原体：0、10、200、800及び1,600 ppm）投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群に認められた毒性所見は表17に示されている。

本試験において、200 ppm以上投与群の雄で肝細胞肥大が、800 ppm以上投与群の雌でALP増加及び肝細胞肥大が認められたので、無毒性量は雄で10 ppm（0.34

mg/kg 体重/日)、雌で 200 ppm (7.88 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、3)

表 17 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,600 ppm	・体重増加抑制、摂餌量減少	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・肝絶対及び比重量増加
800 ppm 以上	・ALP 増加 ・肝絶対及び比重量増加	・ALP 増加 ・肝細胞肥大 (小葉中心性及び小葉中間帯)
200 ppm 以上	・肝細胞肥大 (小葉中心性及び小葉中間帯)	200 ppm 以下毒性所見なし
10 ppm	毒性所見なし	

1.1. 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 6 匹) を用いた混餌 (原体: 0, 10, 100, 400 及び 1,600 ppm) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群に認められた毒性所見は表 18 に示されている。

死亡例は認められなかった。

本試験において、400 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm (雄: 3.09 mg/kg 体重/日、雌: 3.83 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、3)

表 18 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,600 ppm	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・RBC 減少、PLT 増加 ・ALT、ALP、無機リン増加、Alb 減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝肥大 ・肝小葉構造明瞭化	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・Alb 減少、GGT、無機リン増加 ・肝肥大 ・肝小葉構造明瞭化
400 ppm 以上	・肝細胞肥大 (小葉中心性、び漫性)	・ALP 増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝細胞肥大 (小葉中心性、び漫性)
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 110 匹) を用いた混餌 (原体: 0, 50, 200 及び 800 ppm) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

各投与群に認められた毒性所見は表 19 に示されている。対照群と投与群で死亡

率に差は認められなかった。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雄で精巣絶対重量減少等が、800 ppm 投与群の雌で肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雄で 50 ppm (2.49 mg/kg 体重/日)、雌で 200 ppm (12.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 2、3)

表 19 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
800 ppm	・体重増加抑制、摂餌量減少	・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加
200 ppm 以上	・精巣絶対重量減少 ・精巣萎縮	200 ppm 以下毒性所見なし
50 ppm	毒性所見なし	

(3) 2 年間発がん性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (0 及び 2,500 ppm) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

対照群と投与群で死亡率に差は認められなかった。

投与群の雌雄で体重増加抑制、肝細胞肥大 (小葉中心性、小葉中間帯)、肝細胞空胞化が、雄で有核赤血球減少、肝絶対及び比重量増加、精巣絶対重量減少及び精巣精子無形成が、雌で Neu 減少、Lym 増加、肝比重量増加が認められた。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、2,500 ppm 投与群の雌雄で腫瘍性病変の発生頻度の増加が認められなかったので、2,500 ppm 以下 (雄: 106 mg/kg 体重/日、雌: 136 mg/kg 体重/日以下) でマイクロプタニルはラットに対し発がん性を示さないと考えられた。(参照 2)

(4) 2 年間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 110 匹) を用いた混餌 (0, 20, 100 及び 500 ppm) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

対照群と投与群で死亡率に差は認められなかった。

500 ppm 投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加、限局性肝細胞変質及び多巣性肝細胞空胞化が、同群の雄で小葉中心性肝細胞肥大、門脈周辺性点状空胞化、肝クーパー細胞色素沈着、肝細胞壊死が、同群の雌で ALT 増加が認められた。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験における無毒性量は、雌雄とも 100 ppm (雄: 13.7 mg/kg 体重/日、雌: 16.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 2、6)