

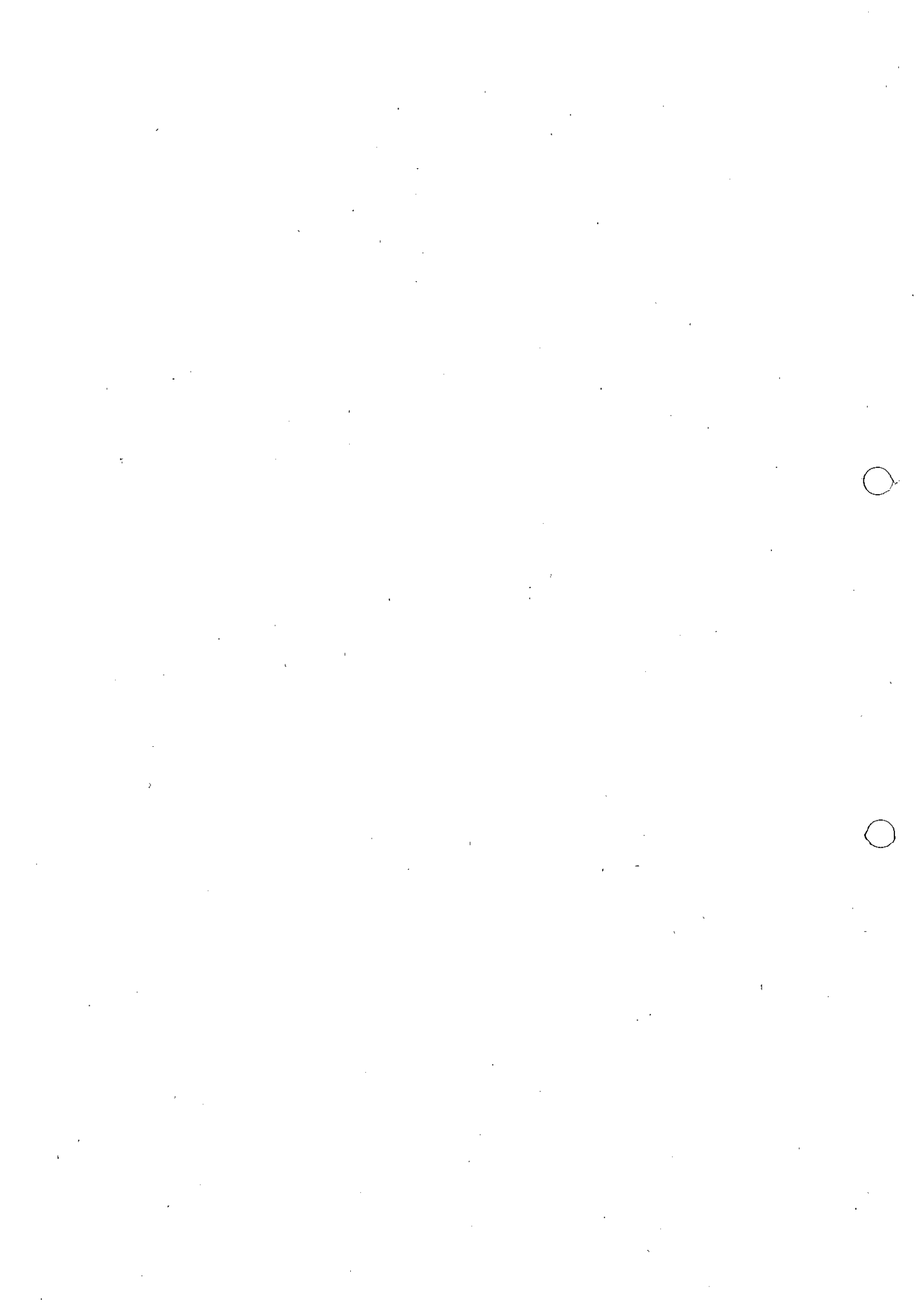
分科会 審議事項（農薬関係）

- ・ ビシクロピロン（インポートトレランス申請） 1-1~1-85
- ・ イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及び
ロニダゾール試験法 2-1~2-13
- ・ クロラムフェニコール試験法 3-1~3-12
- ・ カプタホール試験法（畜水産物） 4-1~4-7

各品目について

- ・ 諮問書（厚生労働大臣から薬事・食品衛生審議会会長へ）
- ・ 評価書（食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ）

と2文書がございます。

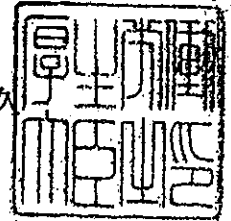


大

厚生労働省発生食 0517 第 6 号
平成 28 年 5 月 17 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭久



諮問書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる農薬等の食品中の残留基準設定について

農薬 1, 3-ジクロロプロペン
農薬 イソピラザム
動物用医薬品 エリスロマイシン
農薬 ビシクロピロン
動物用医薬品 ピペラジン
動物用医薬品 フルメトリン
動物用医薬品 ベダプロフェン
動物用医薬品 メトクロプラミド

平成 28 年 6 月 14 日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 28 年 5 月 17 日付け厚生労働省発生食 0517 第 6 号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づくビシクロピロンに係る食品規格（食品中の農薬の残留基準）の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

ビスクロピロン

今般の残留基準の検討については、関連企業から「国外で使用される農薬等に係る残留基準の設定及び改正に関する指針について」に基づく残留基準の設定要請がなされたことに伴い、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：ビスクロピロン [Bicyclopyrone (ISO)]

(2) 用途：除草剤

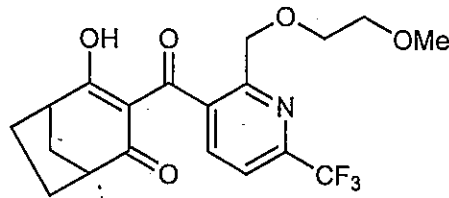
トリケトン系の除草剤である。プラストキノン生合成経路に関与する4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼの阻害により、殺草効果を示すものと考えられている。

(3) 化学名

4-Hydroxy-3-[[2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-6-(trifluoromethyl)-3-pyridyl]carbonyl]bicyclo[3.2.1]oct-3-en-2-one (IUPAC)

Bicyclo[3.2.1]oct-3-en-2-one, 4-hydroxy-3-[[2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-6-(trifluoromethyl)-3-pyridinyl]carbonyl]- (CAS)

(4) 構造式及び物性



分子式	$C_{19}H_{20}F_3NO_5$
分子量	399.36
水溶解度	1.2 g/L (25°C, 純水, pH 約 3) 38 g/L (25°C, pH 4.9) 119 g/L (25°C, pH 7.2) 119 g/L (25°C, pH 9.2)
分配係数	$\log_{10}P_{ow} = 0.25$ (25°C, pH 5) $\log_{10}P_{ow} = -1.2$ (25°C, pH 7) $\log_{10}P_{ow} = -1.9$ (25°C, pH 9)

2. 適用の範囲及び使用方法

本剤の適用の範囲及び使用方法は以下のとおり。

今回、とうもろこしに係る残留基準値の設定についてインポートトレランス申請がされている。

海外での使用方法

18.5%ピシクロピロン水溶液剤（米国）

作物名	1回当たりの 使用量	年間総使用量	使用方法	使用時期	使用回数
とうもろこし	0.045 lb ai/A	20.4 g ai/A	雑草茎葉 散布	播種後出芽前～ 8葉期もしくは 30インチまで； 収穫45日前ま で	1回以内

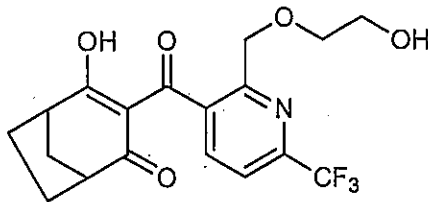
ai : active ingredient (有効成分)

3. 作物残留試験

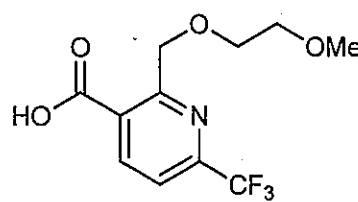
(1) 分析の概要

① 分析対象の化合物

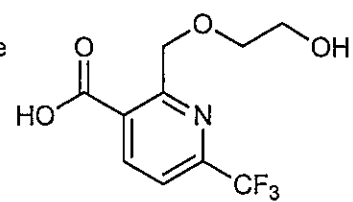
- ・ピシクロピロン
- ・4-ヒドロキシ-3-[2-(2-ヒドロキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ピリジン-3-カルボニル]-ピシクロ[3.2.1]オクト-3-エン-2-オン（以下、代謝物Aという）
- ・2-(2-メトキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ニコチン酸（以下、代謝物Bという）
- ・2-(2-ヒドロキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ニコチン酸（以下、代謝物Kという）
- ・加水分解により代謝物B又は代謝物Kに変換される代謝物



代謝物A



代謝物B



代謝物K

② 分析法の概要

試料からアセトニトリル・水（8：2）混液で抽出し、過酸化水素及び水酸化ナトリウム溶液でビシクロピロン及び代謝物Bに加水分解される代謝物を代謝物Bに、代謝物A及び代謝物Kに加水分解される代謝物を代謝物Kに加水分解する。スチレンジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体カラムを用いて精製した後、代謝物B及び代謝物KをLC-MS/MSで定量する。

なお、代謝物Bについては、換算係数1.43を用いて、ビシクロピロンに換算した値で示し、代謝物Kについては換算係数1.45を用いて代謝物Aに換算した値で示す。さらに、代謝物Aに換算した値は、換算係数1.04を用いてビシクロピロンに換算する。

定量限界： 代謝物B 0.01 ppm（ビシクロピロン換算値）
代謝物K 0.01 ppm（代謝物A換算値（ビシクロピロンに換算した場合の定量限界は0.0104ppm））

(2) 作物残留試験結果

海外で実施された作物残留試験の結果の概要については別紙1を参照。

4. ADI 及び ARfD の評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、食品安全委員会にて意見を求めたビシクロピロンに係る食品健康影響評価において、以下のとおり評価されている。

(1) ADI

最小毒性量：0.28 mg/kg 体重/day
（動物種） ラット
（投与方法） 混餌
（試験の種類） 慢性毒性／発がん性併合試験
（期間） 2年間

安全係数：1000

ADI：0.00028 mg/kg 体重/day

安全係数については、最小毒性量を用いたことによる追加係数を10とした1000が適用された。

発がん性試験において、雄ラットで角膜における扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫の増加が認められたが、腫瘍発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

(2) ARfD

一般（1歳以上）及び幼小児（1～6歳）：

無毒性量：200 mg/kg 体重

（動物種） ラット

(投与方法) 強制経口
(試験の種類) 急性神経毒性試験

安全係数：100

ARfD：2 mg/kg 体重

妊婦又は妊娠している可能性のある女性：

無毒性量：1 mg/kg 体重/day

(動物種) ウサギ

(投与方法) 強制経口

(試験の種類) 発生毒性試験

安全係数：100

ARfD：0.01 mg/kg 体重

5. 諸外国における状況

JMPR における毒性評価は行われておらず、国際基準は設定されていない。

米国、カナダ、EU、豪州及びニュージーランドについて調査したところ、米国及びカナダにおいてとうもろこしに基準値が設定されている。

6. 基準値案

(1) 残留の規制対象

ピシクロピロン、代謝物 B (加水分解により代謝物 B に変換される代謝物を含む) をピシクロピロンに換算したもの及び代謝物 K (加水分解により代謝物 K に変換される代謝物を含む) をピシクロピロンに換算したものの和とする。

米国においても、ピシクロピロン、代謝物 B に変換される代謝物及び代謝物 K に変換される代謝物を、農作物及び畜産物の規制対象物質及び暴露評価対象物質としている。

なお、食品安全委員会による評価においては、農作物及び畜産物中の暴露評価対象物質としてピシクロピロン (親化合物のみ) を設定している。

(2) 基準値案

別紙 2 のとおりである。

(3) 暴露評価

① 長期暴露評価

1 日当たり摂取する農薬等の量の ADI に対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙 3 参照。

	TMDI/ADI (%) ^{注)}
一般 (1歳以上)	0.9
幼小児 (1~6歳)	3.5
妊婦	1.1
高齢者 (65歳以上)	0.8

注) 各食品の平均摂取量は、平成17年~19年度の食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書による。

TMDI 試算法：基準値案×各食品の平均摂取量

② 短期暴露評価

各食品の短期推定摂取量 (ESTI) を推定したところ、一般 (1歳以上)、幼小児 (1~6歳) 及び妊産婦又は妊娠している可能性のある女性 (14~50歳) のそれぞれにおける摂取量は、急性参照用量 (ARfD) を超えていない^{注)}。詳細な暴露評価は別紙 4-1、4-2 及び 4-3 参照。

注) 基準値案を用い、平成17年~19年度の食品摂取頻度・摂取量調査及び平成22年度の厚生労働科学研究の結果に基づき ESTI を推定した。

ピシクロピロン海外作物残留試験一覧表 (米国)

農作物	試験圃場数	試験条件				最大残留量 (ppm) ^{注1)}	各化合物の残留量 (ppm) 【代謝物 [B] (ピシクロピロン換算値) / 代謝物 [K] (代謝物 [A] 換算値)】
		剤型	使用量・使用方法	回数	経過日数		
未成熟 とうもろこし (穂軸及び子実)	14	18.5% w/w 水溶液剤 (20.0% w/v 水溶液剤)	0.045 lb ai/A 雑草茎葉散布	1	39	圃場A : 0.0154	圃場A : <0.005/<0.01
					37	圃場B : 0.0154	圃場B : <0.005/<0.01
					54	圃場C : 0.0154	圃場C : <0.005/<0.01
					40	圃場D : 0.0154	圃場D : <0.005/<0.01
					40	圃場E : 0.0102	圃場E : <0.005/<0.005
					39	圃場F : 0.0154	圃場F : <0.005/<0.01
					42	圃場G : 0.0128	圃場G : <0.005/0.0075 (<0.01, NDの平均) ^{注3)}
					26	圃場H : 0.0356 (#) ^{注2)}	圃場H : <0.01/0.0247 (#) ^{注2)}
					43	圃場I : 0.0154	圃場I : <0.005/<0.01
					25	圃場J : 0.0154 (#) ^{注2)}	圃場J : <0.005/<0.01 (#) ^{注2)}
					34	圃場K : 0.0154	圃場K : <0.005/<0.01
					38	圃場L : 0.0154	圃場L : <0.005/<0.01
					45	圃場M : 0.0179	圃場M : 0.0075 (<0.01, NDの平均) ^{注3)} <0.01
					51	圃場N : 0.0184	圃場N : <0.005/0.0129

注1) 「最大残留量」欄に記載した残留値は、総量分析法を用いて代謝物 [B] として測定し、ピシクロピロン換算したものと及び代謝物 [K] として測定し、代謝物 [A] に換算したものをピシクロピロンに換算したものの和。(換算係数: 1.04)
各分析対象の残留量については、「各化合物の残留量」の欄に示し、検出限界未満の場合には定量限界である0.01 ppmの半分の<0.005 ppmとし、定量限界未満の場合には<0.01 ppmとした。

最大残留量: 当該農薬の申請の範囲内で最も多量に用い、かつ最終使用から収穫までの期間を最短とした場合の作物残留試験 (いわゆる最大使用条件下の作物残留試験) を複数の圃場で実施し、それぞれの試験から得られた残留量。(参考: 平成10年8月7日付「残留農薬基準設定における暴露評価の精密化に係る意見具申」)

表中、最大使用条件下の作物残留試験条件に、アンダーラインを付しているが、経時的に測定されたデータがある場合において、収穫までの期間が最短の場合にのみ最大残留量が得られるとは限らないため、最大使用条件以外で最大残留量が得られた場合は、その使用回数及び経過日数について () 内に記載した。

注2) (#) 印で示した作物残留試験成績は、申請の範囲内で試験が行われていない。なお、適用範囲内ではない試験条件を斜体で示した。
注3) 圃場Gの代謝物K (代謝物A換算) 及び圃場Mの代謝物B (ピシクロピロン換算) の値は、測定した2検体が定量限界未満及び検出限界未満であったため、0.01 ppmと0.005 ppmの平均をとり0.0075 ppmとした。

食品名	基準値 案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値		作物残留試験成績等 ppm
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm	
とうもろこし	0.03		IT		0.03 米国	【0.01-0.0356(#)(n=14)(米国)】

「登録有無」の欄に「IT」の記載があるものは、インポートライセンス申請に基づく基準値設定依頼がなされたものであることを示している。
 (#)申請の範囲内で試験が行われていないデータを含む。

ビスクロピロン推定摂取量 (単位: $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$)

食品名	基準値案 (ppm)	一般 (1歳以上) TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
とうもろこし	0.03	0.1	0.2	0.2	0.1
計		0.1	0.2	0.2	0.1
ADI比 (%)		0.9	3.5	1.1	0.8

TMDI: 理論最大1日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)

ビシクロピロン推定摂取量 (短期) : 一般(1歳以上)

食品名 (基準値設定対象)	食品名 (ESTI推定対象)	基準値 (ppm)	評価に用 いた数値 (ppm)	ESTI ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 /day)	ESTI/ARFD (%)
どうもろこし	スイートコーン	0.03	0.03	0.3	0

ESTI : 短期推定摂取量 (Estimated Short-Term Intake)

ESTI/ARFD (%) の値は、有効数字1桁 (値が100を超える場合は有効数字2桁) とし四捨五入して算出した。

ビスクロピロン推定摂取量（短期）：幼小児（1～6歳）

食品名 (基準値設定対象)	食品名 (ESTI推定対象)	基準値案 (ppm)	評価に用 いた数值 (ppm)	ESTI ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 /day)	ESTI/ARFD (%)
どうもろこし	スイートコーン	0.03	0.03	0.7	0

ESTI：短期推定摂取量 (Estimated Short-Term Intake)

ESTI/ARFD (%)の値は、有効数字1桁（値が100を超える場合は有効数字2桁）とし四捨五入して算出した。

ビスクロピロン推定摂取量 (短期) : 妊婦又は妊娠している可能性のある女性(14~50歳)

食品名 (基準値設定対象)	食品名 (ESTI推定対象)	基準値 (ppm)	評価に用 いた数值 (ppm)	ESTI ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	ESTI/ARFD (%)
どうもろこし	スイートコーン	0.03	0.03	0.3	3

ESTI : 短期推定摂取量 (Estimated Short-Term Intake)

ESTI/ARFD(%)の値は、有効数字1桁 (値が100を超える場合は有効数字2桁) とし四捨五入して算出した。

(参考)

これまでの経緯

平成26年12月19日 インポートトレランス申請(とうもろこし)
平成27年 2月13日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
平成27年11月10日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

穂山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井 里枝 埼玉県衛生研究所化学検査室長
○大野 泰雄 公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
尾崎 博 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
斉藤 貢一 星薬科大学薬品分析化学教室教授
佐々木 一昭 東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤 清 一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
佐野 元彦 東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山 敏廣 明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子 日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長
宮井 俊一 一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田 克士 大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一 静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申

ビシクロピロン

食品名	残留基準値
とうもろこし	ppm 0.03

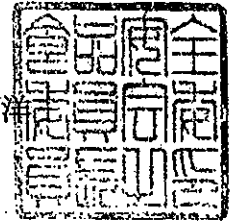
※今回基準値を設定するビシクロピロンとは、ビシクロピロン、代謝物B【2-(2-メトキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ニコチン酸】(加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む)をビシクロピロンに換算したもの及び代謝物K【2-(2-ヒドロキシ-エトキシメチル)-6-トリフルオロメチル-ニコチン酸】(加水分解により代謝物Kに変換される代謝物を含む)をビシクロピロンに換算したものの和をいう。



府食第 852 号
平成 27 年 11 月 10 日

厚生労働大臣
塩崎 恭久 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成 27 年 2 月 13 日付け厚生労働省発食安 0213 第 3 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたビスクロピロンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 23 条第 2 項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

ビスクロピロンの一日摂取許容量を 0.00028 mg/kg 体重/日、妊婦又は妊娠している可能性のある女性に対する急性参照用量を 0.01 mg/kg 体重、一般の集団に対する急性参照用量を 2 mg/kg 体重と設定する。

農薬評価書

ビシクロピロン

2015年11月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	7
I. 評価対象農薬の概要	9
1. 用途	9
2. 有効成分の一般名	9
3. 化学名	9
4. 分子式	9
5. 分子量	9
6. 構造式	9
7. 開発の経緯	9
II. 安全性に係る試験の概要	11
1. 動物体内運命試験	11
(1) 吸収 (ラット)	11
(2) 分布 (ラット)	12
(3) 代謝 (ラット)	14
(4) 排泄 (ラット)	16
(5) 畜産動物 (ヤギ)	18
(6) 畜産動物 (ニワトリ)	20
2. 植物体内運命試験	21
(1) とうもろこし	21
(2) さとうきび	24
3. 土壌中運命試験	26
(1) 好氣的土壌中運命試験①	26
(2) 好氣的土壌中運命試験②	26
(3) 好氣的土壌中運命試験③	26
(4) 好氣的/嫌氣的及び嫌氣的土壌中運命試験	27
(5) 土壌吸脱着試験①	28
(6) 土壌吸脱着試験②	28
(7) 土壌吸脱着試験③	29
(8) 土壌吸脱着試験④	29
4. 水中運命試験	29
(1) 加水分解試験	29
(2) 水中光分解試験 (自然水、緩衝液)	30

5. 土壤残留試験	31
6. 作物等残留試験	31
(1) 作物残留試験 (海外)	31
(2) 畜産物残留試験 (乳牛)	31
7. 一般薬理試験	32
8. 急性毒性試験	32
(1) 急性毒性試験 (ラット)	32
(2) 急性神経毒性試験 (ラット)	32
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	33
10. 亜急性毒性試験	33
(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット) ①	33
(2) 90日間亜急性毒性試験 (ラット) ②	34
(3) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)	35
(4) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)	36
(5) 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット)	36
(6) 28日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)	36
11. 慢性毒性試験及び発がん性試験	37
(1) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)	37
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	38
(3) 18か月間発がん性試験 (マウス)	39
12. 生殖発生毒性試験	40
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	40
(2) 発生毒性試験 (ラット)	42
(3) 発生毒性試験 (ウサギ) ①	42
(4) 発生毒性試験 (ウサギ) ②	43
(5) 発生毒性試験 (ウサギ) ③	44
13. 遺伝毒性試験	45
14. その他の試験	46
(1) 14日間反復経口投与試験 (ラット)	46
(2) 甲状腺ペルオキシダーゼ活性 (ラット)	47
(3) 肝臓及び甲状腺機能への影響試験 (ラット)	47
(4) 28日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	48
(5) 28日間免疫毒性試験 (マウス)	49
III. 食品健康影響評価	50
・別紙1: 代謝物/分解物略称	59
・別紙2: 検査値等略称	61
・別紙3: 作物残留試験成績—海外	62

▪ 別紙 4：畜産物残留試験成績	64
▪ 参照	65

<審議の経緯>

- 2014年 12月 19日 インポートトレランス設定の要請（とうもろこし）
2015年 2月 13日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0213第3号）
2015年 2月 16日 関係書類の接受（参照1～66）
2015年 2月 24日 第550回食品安全委員会（要請事項説明）
2015年 6月 4日 第45回農薬専門調査会評価第三部会
2015年 7月 8日 第125回農薬専門調査会幹事会
2015年 7月 28日 第571回食品安全委員会（報告）
2015年 7月 29日から8月27日まで 国民からの意見・情報の募集
2015年 10月 22日 第128回農薬専門調査会幹事会
2015年 11月 4日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2015年 11月 10日 第583回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

- | (2015年6月30日まで) | (2015年7月1日から) |
|----------------|---------------|
| 熊谷 進 (委員長) | 佐藤 洋 (委員長) |
| 佐藤 洋 (委員長代理) | 山添 康 (委員長代理) |
| 山添 康 (委員長代理) | 熊谷 進 |
| 三森国敏 (委員長代理) | 吉田 緑 |
| 石井克枝 | 石井克枝 |
| 上安平冽子 | 堀口逸子 |
| 村田容常 | 村田容常 |

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2014年3月31日まで)

・幹事会

- | | | |
|---------------|------|--------|
| 納屋聖人 (座長) | 上路雅子 | 松本清司 |
| 西川秋佳* (座長代理) | 永田 清 | 山手丈至** |
| 三枝順三 (座長代理**) | 長野嘉介 | 吉田 緑 |
| 赤池昭紀 | 本間正充 | |

・評価第一部会

- | | | |
|-------------|------|------|
| 上路雅子 (座長) | 津田修治 | 山崎浩史 |
| 赤池昭紀 (座長代理) | 福井義浩 | 義澤克彦 |
| 相磯成敏 | 堀本政夫 | 若栗 忍 |

・評価第二部会

- | | | |
|-------------|-------|------|
| 吉田 緑 (座長) | 桑形麻樹子 | 藤本成明 |
| 松本清司 (座長代理) | 腰岡政二 | 細川正清 |

泉 啓介	根岸友恵	本間正充
・評価第三部会		
三枝順三 (座長)	小野 敦	永田 清
納屋聖人 (座長代理)	佐々木有	八田稔久
浅野 哲	田村廣人	増村健一
・評価第四部会		
西川秋佳* (座長)	川口博明	根本信雄
長野嘉介 (座長代理*; 座長**)	代田眞理子	森田 健
山手丈至 (座長代理**)	玉井郁巳	與語靖洋
井上 薫**		* : 2013年9月30日まで
		** : 2013年10月1日から

(2014年4月1日から)

・幹事会		
西川秋佳 (座長)	小澤正吾	林 真
納屋聖人 (座長代理)	三枝順三	本間正充
赤池昭紀	代田眞理子	松本清司
浅野 哲	永田 清	與語靖洋
上路雅子	長野嘉介	吉田 緑*
・評価第一部会		
上路雅子 (座長)	清家伸康	藤本成明
赤池昭紀 (座長代理)	林 真	堀本政夫
相磯成敏	平塚 明	山崎浩史
浅野 哲	福井義浩	若栗 忍
篠原厚子		
・評価第二部会		
吉田 緑 (座長) *	腰岡政二	本間正充
松本清司 (座長代理)	佐藤 洋	根岸友恵
小澤正吾	杉原数美	山本雅子
川口博明	細川正清	吉田 充
桑形麻樹子		
・評価第三部会		
三枝順三 (座長)	高木篤也	中山真義
納屋聖人 (座長代理)	田村廣人	八田稔久
太田敏博	中島美紀	増村健一
小野 敦	永田 清	義澤克彦
・評価第四部会		
西川秋佳 (座長)	佐々木有	本多一郎
長野嘉介 (座長代理)	代田眞理子	森田 健

井上 薫**
加藤美紀

玉井郁巳
中塚敏夫

山手丈至
與語靖洋

* : 2015年6月30日まで

** : 2015年9月30日まで

要 約

除草剤「ビシクロピロン」(CAS No. 352010-68-5)について各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット、ヤギ及びニワトリ)、植物体内運命(とうもろこし及びさとうきび)、作物等残留、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、亜急性神経毒性(ラット)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、免疫毒性(マウス)、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、ビシクロピロン投与による影響は、主に眼(角膜混濁等)、肝臓(小葉中心性肝細胞肥大等)及び甲状腺(ろ胞細胞肥大等)に認められた。繁殖能に対する影響、免疫毒性及び遺伝毒性は認められなかった。

イヌを用いた1年間慢性毒性試験において、後根神経節の神経細胞にニッスル小体消失/腫脹が認められたが、明らかな神経毒性を示す臨床症状はいずれの試験でも認められなかった。

ウサギを用いた発生毒性試験において、胎児に肋軟骨奇形、心室中隔欠損、頸椎異常等が認められた。ラットでは催奇形性は認められなかった。

ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験において、雄で角膜における扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫の発生頻度の増加が認められたが、腫瘍発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、農産物及び畜産物中の暴露評価対象物質をビシクロピロン(親化合物のみ)と設定した。

各試験で得られた無毒性量又は最小毒性量のうち最小値は、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験の最小毒性量0.28 mg/kg 体重/日であった。食品安全委員会は、最小毒性量で認められた所見は甲状腺限局性ろ胞細胞過形成であることから、本試験における用量設定の間隔が大きく、用量反応性に関する情報が十分でないことから、最小毒性量を用いたことによる追加の安全係数を10とすることが妥当であると判断した。

以上より、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験の最小毒性量0.28 mg/kg 体重/日を根拠として、安全係数1,000(種差:10、個体差:10、最小毒性量を用いたことによる追加係数:10)で除した0.00028 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

ビシクロピロンの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、ウサギを用いた発生毒性試験③の無毒性量1 mg/kg 体重/日であり、認められた所見は母動物に毒性影響がみられない用量における胎児の過剰肋骨等であったことから、妊婦又は妊娠している可能性のある女性に対する急性参照用量(ARfD)は、これを根拠として、安全係数100で除した0.01 mg/kg 体重と設定した。また、一般の集団に対しては、ラットを用いた急性神経毒性試験の無

毒性量である 200 mg/kg 体重を根拠として、安全係数 100 で除した 2 mg/kg 体重を ARfD と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

除草剤

2. 有効成分の一般名

和名：ビスクロピロン

英名：bicyclopyrone (ISO名)

3. 化学名

IUPAC

和名：4-ヒドロキシ-3-{2-[(2-メトキシエトキシ)メチル]-6-(トリフルオロメチル)-3-ピリジルカルボニル}ビスクロ[3.2.1]オクト-3-エン-2-オン

英名：4-hydroxy-3-{2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-6-(trifluoromethyl)-3-pyridylcarbonyl}bicyclo[3.2.1]oct-3-en-2-one

CAS (No. 352010-68-5)

和名：ビスクロ[3.2.1]オクト-3-エン-2-オン,4-ヒドロキシ-3-[[2-[(2-メトキシエトキシ)メチル]-6-(トリフルオロメチル)-3-ピリジン]カルボニル]-

英名：Bicyclo[3.2.1]oct-3-en-2-one, 4-hydroxy-3-[[2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-6-(trifluoromethyl)-3-pyridinyl]carbonyl]-

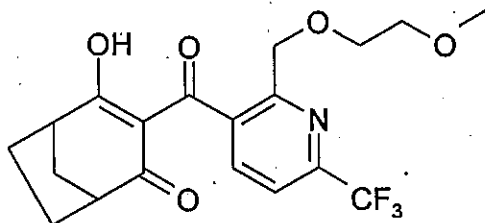
4. 分子式

$C_{19}H_{20}F_3NO_5$

5. 分子量

399.4

6. 構造式



7. 開発の経緯

ビスクロピロンは、ノバルティスクロッププロテクション AG により開発された

トリケトン系除草剤で、プラストキノン生合成経路に関与する4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼの阻害により除草効果を示すと考えられている。

国内での農薬登録はなされていない。今回、インポートトレランス設定（とうもろこし）の要請がなされている。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験 [II. 1~4] は、ビシクロピロンのピリジニル環の3位の炭素を¹⁴Cで標識したもの（以下「[pyr-¹⁴C]ビシクロピロン」という。）及びビシクロオクテノンの6及び7位の炭素を¹⁴Cで標識したもの（以下「[bic-¹⁴C]ビシクロピロン」という。）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は、特に断りがない場合は比放射能（質量放射能）からビシクロピロンの濃度（mg/kg又はμg/g）に換算した値として示した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) 吸収（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各4匹）に[pyr-¹⁴C]ビシクロピロンを2 mg/kg 体重（以下[1. (1)~(4)]において「低用量」という。）若しくは200 mg/kg 体重（以下[1. (1)~(4)]において「高用量」という。）で単回経口投与し、又は低用量で静脈内投与して動物体内運命試験が実施された。

a. 血中濃度推移

薬物動態学的パラメータは表1に示されている。

血漿中濃度は概して血中濃度より高く、赤血球への取り込みは示唆されなかった。（参照2、3）

表1 薬物動態学的パラメータ

投与方法		単回経口				静脈内	
		2		200		2	
投与量 (mg/kg 体重)							
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌
血漿	T _{max} (hr)	1.40	1.30	2.30	1.30	/	/
	C _{max} (μg/g)	3.33	2.93	425	441	6.08 ^a	6.57 ^a
	T _{1/2α} (hr)	2.74	2.45	3.20	1.83	1.96	1.42
	T _{1/2β} (hr)	NC	NC	12.5	68.6	/	/
	AUC _{0-∞} (hr · μg/g)	13.3	8.41	2,770	1,990	13.7	9.95
血液	T _{max} (hr)	0.88	0.92	2.30	1.40	/	/
	C _{max} (μg/g)	2.38	2.21	330	332	3.86 ^a	4.24 ^a
	T _{1/2α} (hr)	2.83	1.61	2.91	1.70	2.00	1.37
	T _{1/2β} (hr)	/	/	17.7	194	/	/
	AUC _{0-∞} (hr · μg/g)	8.96	5.26	2,140	1,480	9.74	6.84

NC: 放射能濃度が検出限界以下のため算出できず

/: 該当なし

^a: 投与開始時点に外挿した血中放射能濃度(μg/g)

b. 吸収率

胆汁中排泄試験[1. (4)②]から得られた投与後 48 時間の尿、胆汁、ケージ洗浄液及びカーカス¹の放射能の合計より、ビシクロピロンの経口投与後の吸収率は少なくとも雄で 85.0%、雌で 90.0%と算出された。

(2) 分布 (ラット)

① 単回経口投与及び静脈内投与

排泄試験[1. (4)①]における、投与 168 時間後の臓器及び組織中放射能濃度が測定された。

主要臓器及び組織における残留放射能濃度は表 2 に示されている。

大部分の臓器及び組織において投与 168 時間後の残留放射能は僅かであり、組織分布に雌雄差は認められなかった。投与経路及び投与量にかかわらず、肝臓、腎臓及び甲状腺に最も高い放射能が検出された。(参照 2、4)

表 2 主要臓器及び組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与群	投与量 (mg/kg 体重)	性別	投与 168 時間後
単回 経口	2	雄	肝臓(2.01)、腎臓(0.657)、甲状腺(0.074)、副腎(0.049)、脾臓(0.019)、肺(0.015)、心臓(0.014)、膵臓(0.005)、骨(脛骨+腓骨)(0.003)、筋肉(大腿四頭筋)(0.002)、腎臓脂肪(0.001)、血漿(ND)、血液(ND)
		雌	肝臓(1.39)、腎臓(1.01)、甲状腺(0.089)、副腎(0.035)、卵巣(0.020)、脾臓(0.020)、肺(0.017)、膵臓(0.010)、胸腺(0.005)、心臓(0.003)、腎臓脂肪(0.002)、血漿(ND)、血液(ND)
	200	雄	甲状腺(5.63)、肝臓(4.62)、副腎(3.54)、脾臓(3.23)、腎臓(1.95)、心臓(1.85)、膵臓(1.76)、肺(1.75)、胸腺(1.23)、脳(0.386)、筋肉(大腿四頭筋)(0.096)、血漿(ND)、血液(ND)
		雌	甲状腺(7.51)、肝臓(3.97)、副腎(3.36)、胸腺(3.29)、心臓(2.41)、脾臓(2.39)、腎臓(2.37)、子宮(1.82)、膵臓(1.62)、肺(1.38)、卵巣(1.27)、脳(0.614)、筋肉(大腿四頭筋)(0.579)、血漿(ND)、血液(ND)
静脈内	2	雄	肝臓(2.29)、腎臓(0.700)、甲状腺(0.076)、副腎(0.040)、脾臓(0.016)、肺(0.009)、胸腺(0.006)、腎臓脂肪(0.005)、血漿(ND)、血液(ND)
		雌	肝臓(1.83)、腎臓(1.01)、甲状腺(0.078)、副腎(0.030)、脾臓(0.025)、卵巣(0.023)、膵臓(0.019)、心臓(0.014)、肺(0.013)、胸腺(0.006)、筋肉(大腿四頭筋)(0.002)、腎臓脂肪(0.002)、血漿(ND)、血液(ND)

ND : 検出されず

¹ 組織及び臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという (以下同じ。)

② 単回経口投与

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 3 匹）に[pyr-¹⁴C]ピシクロピロンを低用量又は高用量で単回経口投与し、分布試験が実施された。

主要臓器及び組織における残留放射能濃度は表 3 に示されている。

放射能濃度は雄の消化管及び内容物で投与後 6 時間に最高濃度に達したほか、雌雄とも全ての臓器及び組織で投与後 2 時間に最高濃度に達した後、急速に減少し、投与後 24~48 時間に大部分の臓器及び組織で 5%TAR 未満となった。投与後 144 時間では、肝臓及び腎臓に比較的高い放射能が認められたが、ほとんどの臓器及び組織の放射能濃度は定量限界未満又は定量限界に近い値を示した。（参照 2、5）

表 3 主要臓器及び組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重)	性別	投与 2 時間後	投与 144 時間後
2	雄	肝臓(8.07)、腎臓(4.40)、血漿(2.49)、 血液(1.62)	肝臓(2.07)、腎臓(0.727)、脾臓 (0.017)、膵臓(0.013)、心臓(0.009)、 肺(0.008)、胸腺(0.005)、副腎(0.004)、 血漿(0.002)、血液(ND)
	雌	肝臓(6.32)、腎臓(3.52)、血漿(1.74)、 血液(1.12)	肝臓(1.96)、腎臓(1.31)、胸腺(0.014)、 脾臓(0.012)、肺(0.009)、甲状腺 (0.006)、副腎(0.005)、腎臓脂肪 (0.002)、血漿(ND)、血液(ND)
200	雄	血漿(301)、血液(211)、肝臓(202)、 肺(149)、心臓(143)、腎臓(137)、甲 状腺(137)	肝臓(5.12)、腎臓(1.71)、脾臓(1.65)、 胸腺(1.42)、心臓(0.807)、肺(0.717)、 筋肉(0.144)、血漿(ND)、血液(ND)
	雌	血漿(207)、肝臓(177)、血液(147)、 腎臓(110)、肺(104)、子宮(97.5)、甲 状腺(95.7)	肝臓(3.88)、腎臓(2.24)、子宮(1.31)、 脾臓(1.21)、胸腺(1.09)、肺(1.08)、膵 臓(0.656)、心臓(0.383)、血漿(ND)、 血液(ND)

ND：検出されず

③ 反復経口投与

Wistar Hannover ラット（一群雄各 3 匹）に[pyr-¹⁴C]ピシクロピロンを低用量で 7、10、21 又は 28 日間反復経口投与して、各採取時点の臓器及び組織中放射能濃度が測定された。

主要臓器及び組織における残留放射能濃度は表 4 に示されている。

大部分の組織において 10 回目の投与までに放射能濃度は定常状態に達した。全ての試料採取時点において放射能濃度は肝臓、次いで腎臓で高く、その他の組織では放射能濃度は 0.1 µg/g (0.001%TAR) 以下であった。放射能の蓄積は認められなかった。（参照 2、6）

表4 主要臓器及び組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与回数(回)		7	10	21	28					
最終投与後時間(時間)		24	24	24	24	72	168	336	672	840
臓器及び組織	血液	0.022	0.015	0.024	0.021	0.017	0.014	ND	ND	ND
	血漿	0.026	0.016	0.025	0.017	0.007	ND	ND	ND	ND
	胸腺	0.053	0.046	0.078	0.083	0.065	0.100	0.094	0.100	0.093
	肺	0.052	0.049	0.064	0.071	0.042	0.054	0.090	0.072	0.049
	心臓	0.045	0.041	0.058	0.072	0.061	0.062	0.058	0.054	0.046
	肝臓	3.66	3.95	4.30	3.84	3.43	2.94	2.60	1.74	1.43
	腎臓	0.961	0.900	0.940	0.949	0.935	0.813	0.749	0.622	0.570
	脾臓	0.084	0.060	0.079	0.098	0.100	0.103	0.105	0.102	0.086
	膵臓	0.092	0.050	0.068	0.117	0.063	0.078	0.073	0.093	0.043

(3) 代謝 (ラット)

吸収試験[1. (1)]で採取された血漿、排泄試験[1. (4)①、②、③]で採取された尿、糞及び胆汁並びに分布試験[1. (2)②]で採取された肝臓を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

各試料中の主要代謝物は表5に示されている。

単回経口投与群では低及び高用量のいずれにおいても尿中の主要成分は未変化のビシクロピロンであり、そのほか雌雄で代謝物A、G及びHが、雄のみでE及びFが認められた。糞中の主要代謝物はGであり、そのほか複数の代謝物が検出されたが、いずれも5%TAR未満であった。胆汁中の主要成分は未変化のビシクロピロン及び代謝物Gであり、そのほか複数の代謝物が検出されたが、いずれも5%TAR未満であった。代謝物Lは、放射性標識部位を含まない部分に由来するため、検出されたが定量はできなかった。

肝臓中では主要成分は未変化のビシクロピロンであり、代謝物はA、G及びHが認められた。

単回経口投与及び静脈内投与群の血漿中の主要成分はいずれも未変化のビシクロピロンであった。そのほか経口投与群では雄のみで代謝物G及びHが、静脈内投与群では雌で代謝物Iが検出された。

反復経口投与群では尿中の主要成分は未変化のビシクロピロンであった。尿及び糞中の代謝プロファイルに単回経口投与群と反復経口投与群で差は認められなかった。

ビシクロピロンのラットにおける主要代謝経路は、①メトキシエトキシメチル側鎖のO-脱メチル化による代謝物Aの生成、ピリジニル及びビシクロオクテノン環の開裂又はグリシン抱合化による代謝物B、L及びNの生成、②ビシクロオクテノン環のヒドロキシル化による代謝物G、H及びQの生成とその後のO-脱メチル化による代謝物E、F、I及びRの生成であると考えられた。(参照2、7)

表5 各試料中の主要代謝物 (%TAR、血漿及び肝臓ではµg/g)

投与方法 [試験]	投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	ビシクロ ピロン	代謝物
単回経口 [1. (4)①]	2	雄	尿	41.0	A(9.93)、G(5.01)、E(3.80)、H(2.72)、F(1.13)
			糞	1.18	G(10.7)、E(3.41)、H(3.33)、A(3.11)、F(1.02)、 B2(0.67)、P-gly ^b (0.18)、N+Q(0.17) ^b
			ケージ 洗浄液	1.50	G(0.42)、A(0.21)、R1(0.14)、R2(0.05) ^c 、 H(0.02) ^c
		雌	尿	79.3	A(2.15)、G(1.22)、H(0.66) ^c
			糞	0.56	G(2.05)、H(0.52)、B2(0.15)、E(0.09)
			ケージ 洗浄液	5.01	G(0.15)、F(0.05) ^c 、A(0.05) ^c
	200	雄	尿	39.9	A(11.1)、G(7.59)、H(4.43)、E(3.36)、F(1.31)
			糞	2.11	G(8.06)、H(2.53)、A(2.14)、E(2.07)、F(0.67) ^c
			ケージ 洗浄液	4.19	G(0.14)、A(0.09)、H(0.02) ^c
		雌	尿	82.4	A(2.36)、G(1.61)、H(1.24)
			糞	1.79	G(2.20)、H(0.80)、A(0.38)、N+Q(0.12) ^c 、 B2(0.11) ^c
			ケージ 洗浄液	1.58	G(0.59)、A(0.26)、H(0.08)、R2(0.07)、F(0.03)、 B1(0.02) ^c 、B2(ND)
単回経口 ^a [1. (4)②]	2	雄	尿	30.8	A(5.22)、G(3.69)、H(1.51)、E(1.27)
			糞	9.0	A(0.63)、G(0.49)、B2(0.26)、I(0.22) ^c 、 E(0.14) ^c 、H(0.14)
			胆汁	2.32	G(7.16)、A(2.78)、H(2.11)、E(1.48)、 B1(0.25) ^c 、F(0.11) ^c 、B2(ND)
			ケージ 洗浄液	10.4	G(1.75)、R2(1.38)、A(0.86)、I(0.20)、F(0.16)、 N+Q(0.10)
		雌	尿	54.4	A(0.53)、G(0.23) ^c
			糞	3.38	I(0.27)、B(0.13)、A(0.13)、G(0.10)、 N+Q(0.07) ^c
			胆汁	0.95	G(0.54)、H(0.15)、A(0.08)、F(0.03) ^c 、 B(0.01) ^c
			ケージ 洗浄液	12.0	G(0.25)、F(0.09)、A(0.06)
	200	雄	尿	35.9	A(4.63)、G(2.74)、H(1.54)、E(0.67) ^c 、 F(0.29) ^c
			糞	4.93	A(0.33)、G(0.30)、H(0.17)、I(0.14)
			胆汁	9.87	G(4.91)、A(2.39)、H(1.43)、E(0.45)、F(0.15) ^c
			ケージ	9.63	G(1.23)、A(0.58)、R2(0.45)

			洗浄液		
		雌	尿	65.9	A(2.01)、G(1.57)、H(0.83) ^c
			糞	4.79	N+Q(0.17)、I(0.16) ^c 、G(0.15)、B(0.12) ^c 、 A(0.08)、H(0.08) ^c
			胆汁	4.48	G(1.08)、A(0.33)、H(0.31)
			ケージ 洗浄液	11.6	G(0.37)、A(0.12)、F(0.06)
反復経口 [1. (4)③]	2	雄	尿	60.3	A(5.88)、G(2.85)、E(1.77)、H(1.40)、F(0.70)
			糞	2.09	A(3.84)、E(1.03)、H(0.88)、F(0.31)、B(0.18)
単回経口 [1. (1)]	2	雄	血漿	3.70	A(0.180)、G(0.044)
		雌		1.17	A(0.009)
静脈内 [1. (1)]		雄		6.68	ND
		雌		6.34	I(0.127)
単回経口 [1. (1)]	200	雄	血漿	274	A(9.77)、G(4.36)、H(2.25)
		雌		143	A(1.32)
単回経口 [1. (2)②]	2	雄	肝臓	2.90	A(0.312)、G(0.141)、H(0.078)
		雌		1.89	H(0.033)、A(0.024)
	200	雄		99.4	H(8.02)、A(5.00)
		雌		81.3	H(1.62)

ND：検出されず

B1、B2：代謝物 B の保持時間の異なるピーク

R1、R2：代謝物 R の保持時間の異なるピーク（異性体）

a：胆管カニューレを挿管

b：ビシクロピロン-グリシン抱合体

c：定量限界以下

(4) 排泄（ラット）

① 尿及び糞中排泄

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 4 匹）に [pyr-¹⁴C] ビシクロピロンを低用量若しくは高用量で単回経口投与し、又は低用量で静脈内投与して排泄試験が実施された。

投与後 168 時間の尿及び糞中への排泄率は表 6 に示されている。

雌雄とも排泄は速やかで、投与 24 時間以内に 76.3~91.7% TAR が尿及び糞中に排泄され、主に尿中に排泄された。尿中の放射能の割合は雄と比較して雌で高かった。

静脈内投与における雌雄の糞中排泄率は、経口投与と同様であったことから、経口投与したラットの糞中の放射能の大部分は吸収されたビシクロピロンが胆汁排泄されたものと考えられた。（参照 2、4）

表6 投与後168時間の尿及び糞中排泄率(%TAR)

投与方法 投与量 (mg/kg 体重)	単回経口				静脈内	
	2		200		2	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	64.2	85.0	68.4	88.0	62.7	86.7
糞	27.3	4.60	23.1	5.81	28.6	4.62
呼気 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ケージ洗浄液 ^b	3.64	5.66	5.25	4.00	3.12	5.22
組織	4.49	3.51	0.141	0.151	5.30	4.72
カーカス	0.303	0.338	0.391	0.325	0.285	0.635
合計	100	99.1	97.3	98.3	100	102

ND: 検出されず

^a: 投与後24時間の排泄率

^b: ケージ層を含む

② 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Wistar Hannover ラット (一群雌雄各 4 匹) に [pyr-¹⁴C] ビシクロピロンを低用量又は高用量で単回経口投与して、胆汁排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中排泄率は表 7 に示されている。

性別又は投与量にかかわらず、投与放射能は主に尿中に排泄された。尿中の放射能の割合は雄と比較して雌で、胆汁中の放射能の割合は雌と比較して雄で高かった。(参照 2、8)

表7 投与後48時間の尿、糞及び胆汁中排泄率(%TAR)

試料	2 mg/kg 体重		200 mg/kg 体重	
	雄	雌 ^a	雄	雌
尿	41.7	55.4	45.8	69.4
糞	14.3	5.13	7.62	7.51
胆汁	16.1	1.84	19.4	7.09
ケージ洗浄液 ^b	22.2	28.4	16.6	13.0
カーカス	5.02	4.96	6.05	0.486
消化管	1.19	0.415	3.01	0.256
合計	100	96.2	98.5	97.8

^a: 3 匹の平均値

^b: ケージ層を含む

③ 反復経口投与による尿及び糞中排泄

Wistar Hannover ラット (一群雄各 3 匹) に [pyr-¹⁴C] ビシクロピロンを低用

量で28日間反復経口投与し、1及び28回投与後24時間の尿及び糞を採取して、排泄試験が実施された。

投与後24時間の尿及び糞中排泄率は表8に示されている。反復経口投与後の排泄パターンは単回投与後と同様であり、投与放射能は尿中に70%TAR以上が排出され、糞中には約6~11%TAR、ケージ洗浄液中には約5%TAR未満が認められた。(参照2、6)

表8 投与後24時間の尿及び糞中排泄率(%TAR)

投与回数(回)	1	28
尿	71.3	72.9
糞	6.28	10.9
ケージ洗浄液	2.56	4.91

(5) 畜産動物(ヤギ)

泌乳ヤギ(トッケンブルグ種及びブリティッシュアルパイン種、一群雌各1頭)に、[pyr-¹⁴C]ビシクロピロン又は[bic-¹⁴C]ビシクロピロンを1.3 mg/kg 体重/日(30 mg/kg 飼料相当)の用量で1日1回、7日間カプセル経口投与し、投与期間中毎日乳汁を午前、午後の2回、尿及び糞を1回採取し、最終投与11時間後にと殺し、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪を採取して、動物体内運命試験が実施された。

各試料における残留放射能及び代謝物は表9に、胆汁及び尿における残留放射能及び代謝物は表10に示されている。

投与放射能は主に尿中に排泄され、投与後7日間の排泄率は尿中に59.8~62.4%TAR、糞中に6.50~6.24%TARであった。乳汁中の残留放射能濃度は投与開始約2~3日後に定常状態に達した。

組織(肝臓、腎臓、混合筋肉、皮下脂肪及び腎臓周囲脂肪)中への残留は0.697~0.808%TARであった。組織及び乳汁中における代謝物プロファイルに両標識間で差は認められなかった。組織及び乳汁中において主要成分は未変化のビシクロピロン及び代謝物Aであり、それぞれ16.5~50.1%TRR(0.004~0.683 µg/g)及び27.6~74.0%TRR(0.004~2.02 µg/g)であった。ほかに代謝物E、F、K及びRが認められた。尿中ではそのほか代謝物G、H及びIが、胆汁中で代謝物Aのグルクロン酸抱合体が検出されたが、いずれも3%TRR未満と僅かであった。未同定画分には複数の代謝物が検出されたが、5%TRRを超える成分は認められなかった。

ビシクロピロンの泌乳ヤギにおける主要代謝経路は①メトキシエトキシメチル側鎖のO-脱メチル化による代謝物Aの生成とその後のビシクロオクテノン環の開裂によるKの生成とビシクロオクテノン環のモノヒドロキシル化による代謝物E、F及びRの生成、②ビシクロオクテノン環のヒドロキシル化による代謝物G及びHの生成とその後のO-脱メチル化による代謝物E、F及びIの生成で

あると考えられた。(参照2、9)

表9 各試料における残留放射能及び代謝物 (µg/g)

標識体	試料	総残留放射能	ピシクロピロン	A	E	F	K	R	未同定画分	抽出残渣
[pyr- ¹⁴ C] ピシクロピロン	乳汁	0.017	0.004 (22.9)	0.010 (57.2)	ND	ND	ND	ND	ND	0.001 (3.1)
	肝臓 ^a	2.73	0.449 (16.5)	2.02 (74.0)	0.038 (1.4)	0.044 (1.6)	0.030 (1.1)	0.022 (0.8)	ND	0.064 (2.4)
	腎臓	1.32	0.572 (43.5)	0.660 (50.2)	ND	ND	ND	ND	ND	0.029 (2.2)
	混合筋肉	0.025	0.010 (41.0)	0.012 (46.0)	ND	ND	ND	ND	0.001 (2.0)	0.001 (5.1)
	皮下脂肪	0.029	0.013 (41.4)	0.013 (41.9)	ND	ND	ND	ND	<0.001 (1.5)	<0.001 (1.2)
	腎周囲脂肪	0.014	0.004 (29.4)	0.004 (27.6)	ND	ND	ND	ND	<0.001 (0.9)	<0.001 (0.8)
[bic- ¹⁴ C] ピシクロピロン	乳汁	0.017	0.005 (27.0)	0.010 (59.5)	ND	ND	ND	ND	ND	0.001 (4.4)
	肝臓 ^a	2.97	0.683 (23.1)	1.86 (62.8)	0.047 (1.6)	0.073 (2.5)	ND	0.050 (1.7)	ND	0.092 (3.1)
	腎臓	1.28	0.641 (50.1)	0.606 (47.4)	ND	ND	ND	ND	ND	0.037 (2.9)
	混合筋肉	0.024	0.009 (39.2)	0.011 (43.0)	ND	ND	ND	ND	<0.001 (3.0)	0.001 (5.6)
	皮下脂肪	0.026	0.012 (43.6)	0.011 (40.4)	ND	ND	ND	ND	ND	0.001 (2.4)
	腎周囲脂肪	0.022	0.006 (27.9)	0.007 (31.7)	ND	ND	ND	ND	<0.001 (1.3)	<0.001 (1.2)

ND: 検出されず

下段(): %TRR

^a: 抽出残渣の追加抽出が実施された。

表 10 胆汁及び尿における残留放射能及び代謝物 (µg/g)

標識体	試料	総残留放射能	ビシクロピロン	A	E	F	G	H	I	K	R	A-gluc
[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン	胆汁	2.23	0.179 (<0.1)	1.61 (<0.1)	0.080 (<0.1)	0.049 (<0.1)	ND	ND	ND	ND	ND	0.225 (<0.1)
	尿 ^a	57.6	28.7 (5.5)	27.0 (5.2)	0.730 (0.1)	0.315 (0.1)	0.075 (<0.1)	0.049 (<0.1)	<LOQ	0.109 (<0.1)	0.033 (<0.1)	0.044 (<0.1)
[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	胆汁	2.87	0.102 (<0.1)	1.51 (<0.1)	0.109 (<0.1)	0.057 (<0.1)	ND	ND	ND	ND	ND	0.867 (<0.1)
	尿 ^a	33.5	17.1 (4.9)	14.3 (4.1)	0.510 (0.2)	0.229 (0.1)	0.073 (<0.1)	0.012 (<0.1)	<LOQ	ND	0.041 (<0.1)	0.041 (<0.1)

ND : 検出されず

LOQ : 定量限界

下段 () : %TRR

A-gluc : 代謝物 A のグルクロン酸抱合体

^a : 投与 4 日に採取された。

(6) 畜産動物 (ニワトリ)

産卵鶏 (品種 : イサブラウン、一群 5 羽) に、[pyr-¹⁴C]ビシクロピロン又は [bic-¹⁴C]ビシクロピロンを 20 mg/kg 飼料相当で 1 日 1 回、10 日間カプセル経口投与し、卵を 1 日 2 回、排泄物を 1 日 1 回及びと殺時に採取し、最終投与 11 時間後にと殺して、動物体内運命試験が実施された。

各試料における残留放射能及び代謝物は表 11 に示されている。

投与放射能は、最終投与後 11 時間に約 76%TAR が排泄物中に検出された。卵中残留放射能は投与開始 6~8 日後に定常状態に達した。

卵及び組織における主な成分は未変化のビシクロピロンであった。代謝物は A、E、G、H 及び I が検出されたが、いずれも 5%TAR 以下であった。

排泄物中では主要成分は未変化のビシクロピロンであった。代謝物は A、E、F、G 及び H が検出されたが、いずれも 0.5%TAR 未満であった。

ビシクロピロンの産卵鶏における主要代謝経路は①メトキシエトキシメチル側鎖の O 脱メチル化による代謝物 A の生成とその後のヒドロキシル化による代謝物 E、F 及び I の生成、②ビシクロオクテノン環のヒドロキシル化による代謝物 G 及び H の生成とその後の O 脱メチル化による代謝物 E、F 及び I の生成であると考えられた。(参照 2、10)

表 11 各試料における残留放射能及び代謝物 (µg/g)

標識体	試料	総残留放射能	ビシクロピロン	A	E	G	H	I	未同定画分	抽出残渣
[pyr- ¹⁴ C] ビシクロピロン	卵黄	0.104	0.080 (76.4)	0.001 (1.0)	0.002 (2.2)	ND	ND	ND	0.002 (2.3)	0.009 (9.0)
	卵白	0.127	0.119 (94.8)	0.003 (2.0)	ND	ND	ND	ND	ND	0.001 (0.5)
	肝臓 ^a	1.75	1.60 (91.1)	0.046 (2.6)	ND	ND	ND	ND	ND	0.034 (1.9)
	混合筋肉	0.136	0.112 (83.4)	0.004 (3.0)	ND	ND	ND	ND	ND	0.001 (0.7)
	腹膜脂肪	0.160	0.147 (91.9)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.008 (5.1)
	皮膚及び皮下脂肪	0.536	0.461 (85.9)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.041 (7.7)
[bic- ¹⁴ C] ビシクロピロン	卵黄	0.101	0.080 (79.3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.010 (10.1)
	卵白	0.086	0.080 (93.2)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<0.001 (0.2)
	肝臓 ^a	1.78	1.49 (83.8)	0.054 (3.1)	ND	0.033 (1.8)	0.035 (2.0)	<LOQ	0.006 (<0.3)	0.062 (3.5)
	混合筋肉	0.084	0.070 (83.5)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.002 (2.8)
	腹膜脂肪	0.178	0.166 (93.3)	0.004 (2.4)	0.01 (5.4)	ND	ND	ND	0.008 (4.7)	0.003 (1.9)
	皮膚及び皮下脂肪	0.416	0.371 (89.3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.038 (9.1)

ND : 検出されず

LOQ : 定量限界

下段 () : %TRR

^a : 抽出残渣のアセトニトリル/酸性水 (pH 2) による追加抽出が実施された。

2. 植物体内運命試験

(1) とうもろこし

容器内にとうもろこし (品種 : Carella 2910) を播種し、製剤に調製した [pyr-¹⁴C] ビシクロピロン又は [bic-¹⁴C] ビシクロピロンを 200 g ai/ha の用量で播種 1 日後に単回散布処理 (出芽前処理) 又は出芽前処理及び播種 57 日後 (出芽後処理) に 2 回散布処理し、出芽後処理 28 日後 (初期) に茎葉部を、出芽後処理 54 日後 (未成熟期) 及び 98 日後 (成熟期) に茎葉部、穂部及び穀粒をそれぞれ採取して植物体内運命試験が実施された。

茎葉中、穂軸中及び穀粒中の代謝物はそれぞれ表 12、13 及び 14 に示されている。

ビシクロピロンはとうもろこしにおいて広範囲に代謝され、未変化のビシクロピロンは初期茎葉、未成熟茎葉及び未成熟穂軸 (出芽前及び出芽後処理のみ) 中で最大 4.5%TRR 認められたが、穀粒中では検出されなかった。

出芽前及び出芽後処理の茎葉試料（初期、未成熟及び成熟茎葉）において10%TRRを超えて認められた代謝物は、Dの抱合体、E、F、G/H（グリコシドを含む。）、I、L及びSで、それぞれ最大10.3%TRR（0.004 mg/kg）、15.8%TRR（0.004 mg/kg）、14.9%TRR（0.005 mg/kg）、15.3%TRR（0.067 mg/kg）、20.6%TRR（0.191 mg/kg）、11.6%TRR（0.041 mg/kg）及び15.1%TRR（0.140 mg/kg）であった。

穂軸中の代謝物として代謝物Lが12.6～32.4%TRR（0.005～0.010 mg/kg）認められた。

穀粒（未成熟及び成熟）中の主要代謝物として代謝物E、F、G/H（グリコシドを含む）及びLがそれぞれ22.7%TRR（0.006 mg/kg）、2.3～10.9%TRR（0.001～0.002 mg/kg）、5.0～29.0%TRR（0.002～0.006 mg/kg）及び41.7～49.4%TRR（0.019～0.024 mg/kg）認められた。（参照2、11）

表12 茎葉中の代謝物 (mg/kg)

標識体	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン			[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン		
	初期	未成熟	成熟	初期	未成熟	成熟
採取時期						
単 回 散 布 処 理	ビシクロ ピロン	ND	ND	0.001 (3.6)	0.001 (4.3)	
	D抱合体	0.004 (10.3)	0.008 (10.1)			
	Nグリコシド	0.003 (7.7)	0.007 (8.0)			
	Kグリコシド	0.002 (5.3)	ND			
	L			0.004 (11.0)	0.001 (4.8)	
	I	0.003 (6.0)	0.008 (9.7)	0.002 (6.2)	0.002 (7.7)	
	S	0.002 (5.9)	0.005 (5.6)	0.002 (5.2)	0.001 (4.9)	
	E	0.003 (7.9)	0.007 (8.5)	0.004 (11.7)	0.004 (15.8)	
	Eグリコシド	0.001 (1.7)	0.005 (6.1)	ND	0.001 (4.8)	
	F	0.005 (10.9)	0.008 (9.6)	0.005 (14.9)	0.003 (13.7)	
	G/H(グリコシドを含む)	0.003 (8.0)	0.006 (7.5)	0.004 (11.8)	0.003 (14.6)	
	J	0.001 (1.7)	ND	ND	ND	
	未同定画分	0.006	0.013	0.050	ND	0.019

		(14.1)	(15.8)	(66.3)		(17.4)	(62.9)
2 回 散 布 処 理	ビスクロ ピロン	0.004 (0.9)	ND	ND	0.016 (4.5)	0.007 (1.6)	ND
	N	0.008 (1.9)	ND	0.016 (2.2)	/	/	/
	Nグリオシト*	0.023 (5.2)	0.042 (4.6)	0.030 (3.9)	/	/	/
	Kグリオシト*	0.011 (2.4)	0.017 (1.8)	0.024 (3.1)	/	/	/
	O	ND	0.027 (3.0)	0.006 (0.8)	/	/	/
	L	/	/	/	0.041 (11.6)	0.020 (4.3)	0.017 (3.8)
	I ^a	0.048 (10.8)	0.191 (20.6)	0.091 (12.0)	0.016 (4.6)	0.038 (8.3)	0.027 (6.0)
	S ^b	0.031 (7.1)	0.140 (15.1)	0.072 (9.4)	0.009 (2.6)	0.032 (7.1)	0.024 (5.3)
	E	0.049 (11.1)	0.052 (5.6)	0.018 (2.4)	0.027 (7.5)	0.018 (3.8)	0.011 (2.4)
	Eグリオシト*	0.019 (4.2)	0.078 (8.5)	0.049 (6.4)	0.010 (2.9)	0.030 (6.5)	0.023 (5.1)
	F	0.059 (13.4)	0.070 (7.6)	0.022 (2.9)	0.034 (9.5)	0.023 (5.0)	0.016 (3.5)
	G/H(グリオシトを含む)	0.067 (15.3)	0.022 (2.4)	0.034 (4.5)	0.032 (9.1)	0.019 (4.1)	0.010 (2.1)
	J	0.012 (2.6)	0.017 (1.8)	ND	ND	ND	0.007 (1.6)
	M	0.013 (2.9)	ND	0.020 (2.6)	ND	0.009 (2.0)	0.010 (2.2)
未同定画分	0.074 (16.6)	0.176 (19.3)	0.174 (23.1)	0.071 (20.7)	0.128 (28.4)	0.127 (27.8)	

ND: 検出されず / : 該当なし

下段 () : %TRR

a: 他の脱メチルヒドロキシビスクロピロン異性体を含んでいる可能性あり

b: 立体構造不明の異性体を含む

表 13 穂軸中の代謝物 (mg/kg)

2 回 散 布 処 理	標識体	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン		[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	
	採取時期	未成熟	成熟	未成熟	成熟
	ビシクロ ピロン	<0.001 (0.9)	ND	ND	ND
	L	/	/	0.010 (32.4)	0.005 (12.6)
	未同定画分	ND	0.011 (56.1)	0.007 (28.7)	0.012 (33.6)

ND: 検出されず /: 該当なし
下段 (): %TRR

表 14 穀粒中の代謝物 (mg/kg)

2 回 散 布 処 理	標識体	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン		[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	
	採取時期	未成熟	成熟	未成熟	成熟
	L	/	/	0.019 (49.4)	0.024 (41.7)
	I ^a	0.001 (6.3)	ND	ND	ND
	S ^b	0.002 (9.1)	ND	ND	ND
	E	ND	0.006 (22.7)	ND	ND
	F	0.002 (10.9)	0.001 (5.2)	0.001 (2.3)	ND
	G/H(グリコ トを含む)	0.006 (29.0)	0.004 (19.3)	0.002 (5.0)	ND
	M	ND	0.001 (5.9)	ND	ND
	K(グリコト)	<0.001 (1.7)	ND	/	/
	未同定画分	0.003 (16.8)	0.003 (14.8)	0.006 (15.1)	0.006 (9.8)

ND: 検出されず /: 該当なし
下段 (): %TRR

- a: 他の脱メチルヒドロキシビシクロピロン異性体を含んでいる可能性あり
- b: 立体構造不明の異性体を含む

(2) さとうきび

容器内にさとうきび (品種: NC 0310) を播種し、[pyr-¹⁴C]ビシクロピロン又は[bic-¹⁴C]ビシクロピロンを 300 g ai/ha の用量で 7-8 葉期に単回散布処理を行い、処理 42 日後 (未成熟期) に茎葉、処理 301 日後 (成熟期) に葉部及び茎部を採取して、植物体内運命試験が実施された。

各試料中の残留放射能濃度は表 15、未成熟茎葉中の代謝物は表 16 に示されている。

未成熟茎葉において未変化のビシクロピロンは検出されず、主要代謝物として代謝物 F、K グリコシド、H グリコシド及び E がそれぞれ最大で 18.4%TRR (0.163 mg/kg)、17.0%TRR (0.151 mg/kg)、13.5%TRR (0.105 mg/kg) 及び 12.6%TRR (0.098 mg/kg) 認められた。(参照 2、12)

表 15 各試料中の残留放射能濃度 (mg/kg)

標識体		[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン		[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	
		直接燃焼分析	抽出液及び抽出残渣の合計	直接燃焼分析	抽出液及び抽出残渣の合計
未成熟期	茎葉	1.05	0.888	0.809	0.779
成熟期	葉部	0.003	抽出せず ^a	0.004	抽出せず ^a
	茎部	0.004	抽出せず ^a	0.002	抽出せず ^a

^a: 残留放射能濃度が 0.01 mg/kg 未満であったため抽出せず

表 16 未成熟茎葉中の代謝物 (mg/kg)

標識体	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン	[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン
I	0.058 (6.5)	0.043 (5.5)
K	0.024 (2.7)	ND
K グリコシド	0.151 (17.0)	ND
O	0.057 (6.4)	ND
J	0.072 (8.1)	0.072 (9.3)
E	0.088 (9.9)	0.098 (12.6)
F	0.163 (18.4)	0.136 (17.4)
F グリコシド	0.050 (5.6)	0.055 (7.1)
H	0.051 (5.7)	0.036 (4.6)
H グリコシド	0.095 (10.7)	0.105 (13.5)
モノト ^a ロキシビシクロピロン グリコシド ^a	0.018 (2.0)	0.033 (4.2)

モノヒドロキシピロピロン グリコシド ^a	0.020 (2.3)	0.027 (3.5)
------------------------------------	----------------	----------------

ND : 検出されず

下段 () : %TRR

^a: この2種類の代謝物のうち1種類はGグリコシドと特徴づけられた。

植物におけるピシクロピロンの代謝経路は、①ピシクロオクテノン環の水酸化による代謝物 G、H 及び J の生成とその後の O 脱メチル化による代謝物 E、F、I 及び S の生成、②メトキシエトキシメチル側鎖の O 脱メチル化による代謝物 A の生成及びその後の水酸化体の生成、③カルボキシル体及びアルコール代謝物の生成、並びに④ピリジニル環とピシクロオクテノン環の間の開裂による代謝物 K 及び L の生成であると考えられた。

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験①

壤土 (スイス) に [bic-¹⁴C]ピシクロピロンを 0.278 mg ai/kg 乾土 (208 g ai/ha 相当) となるように処理し、20±2°C、暗条件下で最長 365 日間インキュベートして好氣的土壌中運命試験が実施された。

ピシクロピロンの好氣的条件下における推定半減期は 19.8 日であった。

土壌中の残留放射能は処理当日の 101%TAR から試験終了時 (365 日後) に 22.2%TAR へと低下し、CO₂は試験終了時に 75.8%TAR となった。また、ピシクロピロンは経時的に分解し 1.3%TAR となった。5%TAR 以上生成した分解物は認められなかった。(参照 2、13)

(2) 好氣的土壌中運命試験②

5 種類の土壌 [壤土 (スイス)、砂質埴壤土 (英国)、シルト質埴壤土 (フランス)、シルト質埴壤土 (米国) 及び砂質埴壤土 (米国)] に [pyr-¹⁴C]ピシクロピロンを 0.271 mg /kg 乾土 (203 g ai/ha 相当) となるように処理し、20±2°C、暗条件下で、砂質埴壤土では最長 365 日間、その他の土壌では最長 120 日間インキュベートして、好氣的土壌中運命試験が実施された。

ピシクロピロンの好氣的条件下における推定半減期は 20.5 日 (壤土) ~153 日 (砂質埴壤土) であった。

ピシクロピロンは経時的に分解し、5%TAR を超える主要分解物として D 及び M がそれぞれ最大で 14.4%TAR 及び 6.0%TAR 認められた。そのほか分解物 B、C 及び P 並びに複数の未同定化合物が検出されたが、いずれも 5%TAR 未満であった。また、CO₂は経時的に増加し試験終了時に最大となり、10.7~65.8%TAR 認められた。(参照 2、14)

(3) 好氣的土壌中運命試験③

7 種類の米国土壌 (砂壤土 2 種、シルト質埴壤土、壤質砂土 2 種、埴壤土及

び壤土)に[pyr-¹⁴C]ピシクロピロンを 0.269~0.272 mg/kg 乾土 (202~204 g ai/ha 相当)となるように処理し、20±2℃、暗条件下で砂壤土 1 種では最長 365 日間、その他の土壤では最長 120 日間インキュベートして、好氣的土壤中運命試験が実施された。

ピシクロピロンの好氣的条件下における推定半減期は 59 日 (壤土) ~357 日 (砂壤土) であった。

ピシクロピロンは経時的に分解し、主要分解物として B、D 及び M がそれぞれ最大で 6.3% TAR、9.8% TAR 及び 5.9% TAR 認められた。そのほか C 及び P 並びに複数の未同定化合物が検出されたが、いずれも 5% TAR 未満であった。また、CO₂は経時的に増加し、試験終了時に最大となり、4.8~44.1% TAR 認められた。(参照 2、15)

好氣的土壤における分解経路はピシクロオクテノン環の開裂による分解物 B の生成、メトキシエトキシメチル側鎖の酸化による分解物 M の生成、さらにそれらの代謝による分解物 C、D 及び P の生成を経た CO₂への無機化であると考えられた。

(4) 好氣的/嫌氣的及び嫌氣的土壤中運命試験

3 種類の試験法による砂質埴壤土を用いた好氣的/嫌氣的及び嫌氣的土壤中運命試験が実施された。試験群の構成は表 17 に示されている。

表 17 試験群の構成

試験群	標識体	処理量 ^a (mg/kg)	試験条件(期間)
1	[pyr- ¹⁴ C] ピシクロピロン	0.267	被験物質添加後、好氣的条件下 30 日間に続き、窒素ガス通気により嫌氣的条件下 119 日(149 日間) (好氣的/嫌氣的土壤中運命試験)
2	[pyr- ¹⁴ C] ピシクロピロン	0.268	空気除去密閉系による嫌氣的条件確立後、被験物質添加(120 日間) (嫌氣的土壤中運命試験)
	[bic- ¹⁴ C] ピシクロピロン	0.269	
3	[pyr- ¹⁴ C] ピシクロピロン	0.266	被験物質添加後、窒素ガス通気により嫌氣的条件(61 日間) (好氣的/嫌氣的土壤中運命試験)
	[bic- ¹⁴ C] ピシクロピロン	0.268	

^a: ほ場使用量約 200 g ai/ha に相当

何れの試験においてもピシクロピロンは経時的に分解し、好氣的/嫌氣的及び嫌氣的条件下における推定半減期は試験群 1 で 1,000 日超、試験群 2 で 75.5~91.7 日及び試験群 3 で 313~400 日であった。

試験群 1 では分解物 B、M 及び N が最大で 3% TAR 認められた。試験群 2 では分解物 N が最大 20.5% TAR 認められ、ほかに分解物 B 及び C が最大 5% TAR 認められた。試験群 3 では分解物 B 及び C が認められたが 1% TAR 未満であった。

揮発性成分は試験群 1、2 及び 3 でそれぞれ最大 8.7、1.2 及び 0.4% TAR 認められた。

好氣的/嫌氣的及び嫌氣的土壤における分解経路はビシクロオクテノン環の開裂による分解物 B の生成、メトキシエトキシメチル側鎖の酸化による分解物 M の生成、さらにそれらから生成する分解物 C 及び N の生成を経た CO₂ への無機化であると考えられた。(参照 2、16)

(5) 土壤吸脱着試験①

5 種類の土壤 [砂質埴壤土 2 種 (英国及び米国)、壤土 (スイス)、シルト質埴壤土 (フランス) 及びシルト質壤土 (米国)] を用いたビシクロピロンの土壤吸脱着試験が実施された。

各土壤における吸着及び脱着係数は表 18 に示されている。(参照 2、17)

表 18 各土壤における吸着及び脱着係数 (mL/g)

土壤(採取地)	K_{ads_F}	$K_{ads_{Foc}}$	K_{des_F}	$K_{des_{Foc}}$
砂質埴壤土(英国)	1.34	46	1.47	51
砂質埴壤土(米国)	0.25	18	0.29	21
壤土(スイス)	0.20	10	0.21	10
シルト質埴壤土(フランス)	0.14	14	0.15	15
シルト質壤土(米国)	0.24	15	0.28	17

K_{ads_F} 及び K_{des_F} : Freundlich の吸着係数及び脱着係数

$K_{ads_{Foc}}$ 及び $K_{des_{Foc}}$: 有機炭素含有率により補正した吸着係数及び脱着係数

(6) 土壤吸脱着試験②

7 種類の米国土壤 (砂壤土 2 種、シルト質埴壤土、壤質砂土 2 種、埴壤土及び壤土) を用いたビシクロピロンの土壤吸脱着試験が実施された。

各土壤における吸着及び脱着係数は表 19 に示されている。(参照 2、18)

表 19 各土壤における吸着及び脱着係数 (mL/g)

土壤	K_{ads_F}	$K_{ads_{Foc}}$	K_{des_F}	$K_{des_{Foc}}$
砂壤土①	0.24	39	0.39	65
砂壤土②	1.39	32	1.74	40
シルト質埴壤土	0.83	35	1.05	44
壤質砂土①	0.37	31	0.56	46
壤質砂土②	0.22	28	0.34	43
埴壤土	0.45	11	0.52	13
壤土	0.35	11	0.41	13

K_{ads_F} 及び K_{des_F} : Freundlich の吸着係数及び脱着係数

$K_{ads_{Foc}}$ 及び $K_{des_{Foc}}$: 有機炭素含有率により補正した吸着係数及び脱着係数

(7) 土壤吸脱着試験③

5 種類の土壤 [壤土 (ハンガリー)、埴壤土 2 種 (フランス及びイタリア)、砂壤土 (フランス) 及び埴土 (イタリア)] を用いたビシクロピロンの土壤吸脱着試験が実施された。

各土壤における吸着及び脱着係数は表 20 に示されている。(参照 2、19)

表 20 各土壤における吸着及び脱着係数 (mL/g)

土壤(採取地)	K_{ads_F}	$K_{ads_{Foc}}$	K_{des_F}	$K_{des_{Foc}}$
壤土(ハンガリー)	0.11	7	0.13	8
埴壤土(フランス)	0.48	24	0.61	31
砂壤土(フランス)	0.29	59	0.43	86
埴土(イタリア)	0.13	11	0.16	14
埴壤土(イタリア)	0.91	61	1.08	72

K_{ads_F} 及び K_{des_F} : Freundlich の吸着係数及び脱着係数

$K_{ads_{Foc}}$ 及び $K_{des_{Foc}}$: 有機炭素含有率により補正した吸着係数及び脱着係数

(8) 土壤吸脱着試験④

2 種類の砂壤土 (ドイツ) を用いたビシクロピロンの土壤吸脱着試験が実施された。

各土壤における吸着及び脱着係数は表 21 に示されている。(参照 2、20)

表 21 各土壤における吸着及び脱着係数 (mL/g)

土壤	K_{ads_F}	$K_{ads_{Foc}}$	K_{des_F}	$K_{des_{Foc}}$
砂壤土①	0.321	29.2	0.606	55.1
砂壤土②	1.66	97.4	2.44	144

K_{ads_F} 及び K_{des_F} : Freundlich の吸着係数及び脱着係数

$K_{ads_{Foc}}$ 及び $K_{des_{Foc}}$: 有機炭素含有率により補正した吸着係数及び脱着係数

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

pH 4 (クエン酸緩衝液)、pH 5 (酢酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び

pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に[pyr-¹⁴C]ビシクロピロンを 1.3 mg/L となるように添加し、50°Cの暗条件下で 5 日間 (予備試験)、さらに pH 5、pH 7 及び pH 9 では 25°Cの暗条件下で 31 日間 (確認試験) インキュベートして、加水分解試験が実施された。

ビシクロピロンの加水分解は pH 4~9 のいずれの条件でも認められず、半減期は全て 1 年を超えると推定され、ビシクロピロンは加水分解に対して安定と考えられた。(参照 2、21)

(2) 水中光分解試験 (自然水、緩衝液)

滅菌自然水 (英国、pH 7.33) 並びに pH 5 (クエン酸緩衝液) 及び pH 7 (リン酸緩衝液) の緩衝液に[pyr-¹⁴C]ビシクロピロン又は[bic-¹⁴C]ビシクロピロンを 2.5 mg/L となるように添加した後、25±1°Cで最長 30 日間キセノンランプ (光強度: 25.9 W/m²、波長: 290 nm 以下をフィルターでカット) を照射して、水中光分解試験が実施された。

推定半減期は表 22 に示されている。

ビシクロピロンは、処理直後の 98.9~101% TAR から光照射 30 日後には 3.4 (pH 5 緩衝液) ~73.8% TAR (自然水) に減少した。

主要光分解物として、pH 5 緩衝液中に分解物 C 及び L がそれぞれ最大で 19.0% TAR (照射 30 日後) 及び 26.3% TAR (照射 18 日後) 認められた。自然水及び pH 7 緩衝液中には分解物 L がそれぞれ最大で 14.5 及び 18.7% TAR (いずれも照射 30 日後) 認められた。C₁₁H₁₁F₃NO₄の組成を有する未同定化合物が自然水及び pH 7 緩衝液中にそれぞれ最大で 13.7 及び 14.1% TAR (いずれも照射 18 日後) 認められたが、構造決定はできなかった。そのほか分解物 B 及び N 並びに複数の未同定分解物が検出されたがいずれも 10% TAR 未満であった。

ビシクロピロンの水中光分解経路は、ピリジニル及びビシクロオクテノン環の開裂による分解物 B 及び L の生成、その後の分解による分解物 C、N 及び C₁₁H₁₁F₃NO₄の組成を有する未同定化合物の生成を経た、多数の分解物の生成及び一部 CO₂への無機化であると考えられた。(参照 2、22)

表 22 ビシクロピロンの推定半減期 (日)

供試水	標識体	試験系	欧州・北米 夏季	東京 春季
自然水	[pyr- ¹⁴ C] ビシクロピロン	44.1	/	/
	[bic- ¹⁴ C] ビシクロピロン	57.0		
	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン +[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	49.7	49.7	166
pH 5 緩衝液	[pyr- ¹⁴ C] ビシクロピロン	11.2	/	/
	[bic- ¹⁴ C] ビシクロピロン	9.5		
	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン +[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	10.2	10.2	34.0
pH 7 緩衝液	[pyr- ¹⁴ C] ビシクロピロン	58.2	/	/
	[bic- ¹⁴ C] ビシクロピロン	44.2		
	[pyr- ¹⁴ C]ビシクロピロン +[bic- ¹⁴ C]ビシクロピロン	50.1	50.1	167

/: 単独の標識体では算出していないため該当なし

5. 土壌残留試験

土壌残留試験については、参照した資料に記載がなかった。

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験 (海外)

海外において、とうもろこしを用いて代謝物 B 又は K の構造を有する化合物及び代謝物 L 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。

代謝物 B の構造を有する化合物はいずれの試験においても定量限界未満であった。代謝物 K の構造を有する化合物の最大残留値は、散布 26 日後に収穫した未成熟とうもろこし (穂軸及び子実) における 0.0255 mg/kg であった。代謝物 L の最大残留値は、散布 100 日後に収穫したとうもろこし (子実) における 0.0258 mg/kg であった。(参照 23)

(2) 畜産物残留試験 (乳牛)

ホルスタイン種泌乳牛 (一群雌 3 頭) に、ビシクロピロンを 28 日間カプセル経口 (原体: 0、0.15、0.90 及び 3.0 mg/kg 飼料) 投与し、乳汁を投与 1 日前、投与 1、3、7、10、14、17、21、24 及び 28 日に午前、午後の 2 回採取し、最終投与 22~24 時間後にと殺し、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪を採取して、乳汁及び組織中のビシクロピロン及び代謝物 B 又は K の構造を有する代謝物の残留濃

度が測定された。結果は別紙4に示されている。

ビシクロピロンの組織及び臓器における最大残留値は0.90 mg/kg 飼料投与群における1.67 µg/g (肝臓、投与28日後)であり、代謝物Bの構造を有する代謝物では最大残留値は0.90 mg/kg 飼料投与群における1.40 µg/g (肝臓、投与28日後)、代謝物Kの構造を有する代謝物で0.90及び3.0 mg/kg 乾燥飼料投与群における0.19 µg/g (肝臓、投与28日後)であった。

乳汁中の残留濃度はいずれの分析対象化合物も投与期間を通して定量限界未満であり、乳汁中への蓄積はないと考えられた。(参照2、24)

7. 一般薬理試験

一般薬理試験については、参照した資料に記載がなかった。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (ラット)

ビシクロピロン (原体) を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表23に示されている。(参照2、25~27)

表23 急性毒性試験結果概要

投与経路	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口 ^a	Wistar Hannover ラット 雌3匹	/	>5,000	立毛(投与30分後~3日後)、円背位(投与1~5時間後)、鎮静(投与1~5時間後) 死亡例なし
経皮	Wistar Hannover ラット 雌雄各5匹	>5,000	>5,000	雌雄：投与部位皮膚に軽微な紅斑(雄：1例で24時間暴露直後のみ、雌：全例で24時間暴露直後から最長7日後まで) 死亡例なし
吸入	Wistar Hannover ラット 雌雄各5匹	LC ₅₀ (mg/L)		症状及び死亡例なし
		>5.21	>5.21	

/：実施せず

^a：上げ下げ法による評価

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各10匹) を用いた強制経口 (原体：0、20、200及び2,000 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

2,000 mg/kg 体重投与群の雄で投与1時間後に総運動量及び移動運動量が減少し、雌で投与0-10分後の移動運動量が減少した。神経病理学的検査においては、検体投与に関連した影響は認められなかった。

本試験において、2,000 mg/kg 体重投与群の雌雄で自発運動量減少が認められ

たので、無毒性量は雌雄とも 200 mg/kg 体重であると考えられた。明らかな急性神経毒性は認められなかった。(参照 2、29)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ウサギの眼に対して軽度から中等度の刺激性が一過性に認められたが、72 時間後には全て消失した。皮膚に対する刺激性は認められなかった。

CBA/Ca マウスを用いた皮膚感作性試験 (LLNA 法) が実施され、皮膚感作性は陰性であった。(参照 2、30~32)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①

Wistar (Alpk:AP_fSD) ラット (一群雌雄各 8 匹) を用いた混餌 [原体: 0、500、2,000 及び 5,000 ppm (高純度品及び工業品): 平均検体摂取量は表 24 参照] 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 24 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①の平均検体摂取量

投与量(ppm)		500 ^a	2,000 ^a	5,000 ^a	5,000 ^b
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	51.2	208	503	518
	雌	50.5	202	495	500

^a: 高純度品

^b: 工業品

各投与群の血漿中チロシン及びビスクロピロン濃度は表 25 に、各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

血漿中チロシン濃度が 500 ppm 以上投与群の雌雄で有意に増加した。また、工業品投与群と高純度品投与群の結果に差は認められなかった。関連する所見として、一般状態、眼科学的検査及び病理学的検査で雌雄とも眼 (角膜等) に変化が認められた。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄で角膜炎等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm (雄: 51.2 mg/kg 体重/日、雌: 50.5 mg/kg 体重/日) 未満であると考えられた。(参照 2、33)

表 25 血漿中チロシン及びビスクロピロン濃度

投与量(ppm)		0	500 ^a	2,000 ^a	5,000 ^a	5,000 ^b
血漿中チロシン濃度 (n mol/mL)	雄	133	2,480	2,180	2,430	2,640
	雌	108	2,020	2,100	1,800	1,890
血漿中ビスクロピロン濃度 (µg/mL)	雄	0.01	10.9	43.2	106	102
	雌	0.01	1.50	5.88	24.7	32.2

^a: 高純度品

^b: 工業品

表 26 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①で認められた毒性所見

投与群		雄	雌
工業品	5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制(投与 2 日以降) ・角膜混濁 #(眼科学的検査) ・角膜炎 ・TG 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・角膜混濁 #(眼科学的検査) ・角膜炎 ・瞳孔反射消失 # ・TG 増加
	5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制(投与 2 日以降)及び摂餌量減少(投与 1 日以降) ・胸腺絶対及び補正重量²減少 ・TG 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・TG 増加
高純度品	2,000 ppm 以上		<ul style="list-style-type: none"> ・胸腺絶対及び補正重量減少
	500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・角膜混濁 #(眼科学的検査) ・角膜炎 	<ul style="list-style-type: none"> ・角膜混濁 #(眼科学的検査) ・角膜炎

#: 統計検定は実施されていないが、検体投与による影響と考えられた。

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②

Wistar Hannover ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、2.5、10、2,500 及び 5,000 ppm: 平均検体摂取量は表 27 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 27 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②の平均検体摂取量

投与量(ppm)		2.5	10	2,500	5,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.18	0.72	183	363
	雌	0.22	0.88	229	442

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

本試験において、2,500 ppm 以上投与群の雌雄で角膜炎等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 10 ppm (雄: 0.72 mg/kg 体重/日、雌: 0.88 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、34)

²最終体重を共変量として補正した値をいう (以下同じ。)

表 28 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
5,000 ppm		・体重増加抑制(投与 1 週以降)
2,500 ppm 以上	・体重増加抑制(投与 1 週以降)及び ・摂餌量減少(投与 1 週) ・瞳孔反射消失 ・角膜混濁*(眼科学的検査) ・角膜炎 [§]	・瞳孔反射消失 ・角膜混濁*(眼科学的検査) ・角膜炎 [§]
10 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

*: 統計検定は実施されていないが、検体投与による影響と考えられた。

§: 統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。

ラットを用いた亜急性毒性試験①及び② [10. (1) 及び (2)] の総合評価として、無毒性量は雌雄とも 10 ppm (雄: 0.72 mg/kg 体重/日、雌: 0.88 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

(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、100、3,500 及び 7,000 ppm: 平均検体摂取量は表 29 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 29 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	3,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	15.4	523	1,130
	雌	20.8	809	1,340

各投与群で認められた毒性所見は表 30 に示されている。

本試験において、3,500 ppm 以上投与群の雄及び 7,000 ppm 投与群の雌で小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (15.4 mg/kg 体重/日)、雌で 3,500 ppm (809 mg/kg 体重/日) であると考えられた。（参照 2、35）

表 30 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
7,000 ppm		・小葉中心性肝細胞肥大 [§]
3,500 ppm 以上	・肝絶対及び補正重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大	3,500 ppm 以下 毒性所見なし
100 ppm	毒性所見なし	

§: 統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。

(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) を用いたカプセル経口 (原体: 0、5、25 及び 125 mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

尿検査において、検体投与群の全動物で尿ケトン体が認められたが、検体投与によって尿中にチロシンの代謝物 4-HPPA が排泄されたことに起因するもので、毒性所見とは考えられなかった。

本試験において、125 mg/kg 体重/日投与群雌雄で Chol 減少が、雌で網状赤血球数増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2、37)

(5) 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、500 及び 5,000 ppm、平均検体摂取量は表 31 参照) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 31 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与量(ppm)		50	500	5,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4	35	336
	雌	4	42	415

各投与群で認められた毒性所見は表 32 に示されている。

本試験において、50 ppm 以上投与群雄及び 5,000 ppm 投与群雌で角膜混濁等が認められたので、無毒性量は雄で 50 ppm (4 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 500 ppm (42 mg/kg 体重/日) であると考えられた。亜急性神経毒性は認められなかった。(参照 2、39)

表 32 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	・体重増加抑制(投与 8 週以降)及び摂餌量減少(投与 1 週) ・脳絶対及び補正重量減少	・体重増加抑制(投与 5 週以降)及び摂餌量減少(投与 1 週) ・角膜混濁(眼科学的検査)
500 ppm		500 ppm 以下
50 ppm 以上	・角膜混濁(眼科学的検査)	毒性所見なし

(6) 28日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

Wistar Hannover ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (原体: 0、50、250 及び 1,000 mg/kg 体重/日、5 日/週、6 時間/日) 投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

尿検査において、検体投与群の全動物で尿ケトン体が認められたが、検体投与

によって尿中にチロシンの代謝物 4-HPPA が排泄されたことに起因するもので、毒性所見とは考えられなかった。

本試験において、250 mg/kg 体重/日投与群雌雄で角膜変性が、1,000 mg/kg 体重/日投与群雄で腎絶対及び補正重量増加及び角膜炎が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 50 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2、40)

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 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、2.5、25 及び 125 mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群の血漿中チロシン、ビシクロピロン及び代謝物 A の暴露量 (AUC) は表 33 に、各投与群で認められた毒性所見は表 34 に示されている。

全ての投与群において反復投与後の親化合物、代謝物及びチロシンの暴露量は類似していた。

尿検査において、検体投与群の全動物で尿ケトン体が認められたが、検体投与によって尿中にチロシンの代謝物 4-HPPA が排泄されたことに起因するもので、毒性所見とは考えられなかった。

本試験において、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で後根神経節の神経細胞にニッスル小体消失/腫脹が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2.5 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。(参照 2、41、42)

表 33 血漿中チロシン、ビシクロピロン及び代謝物 A の暴露量

投与量(mg/kg 体重/日)		0	2.5	25	125
血漿中チロシン AUC ₀₋₂₄ ^a (hr · µg/mL)	雄	717	6,440	6,960	7,480
	雌	516	6,420	7,050	8,130
血漿中ビシクロピロン AUC ₀₋₂₄ ^a (hr · µg/mL)	雄	—	80.5	503	2,110
	雌	—	72.9	502	1,520
血漿中代謝物 A AUC ₀₋₂₄ ^a (hr · µg/mL)	雄	—	1.07	11.2	35.8
	雌	—	0.707	9.10	32.0

^a: 52 週時の値

—: データなし

表 34 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
125 mg/kg 体重/日	・死亡(投与 336 日に 1 例) ^a ・Chol 減少	・Chol 減少
25 mg/kg 体重/日以上	・角膜混濁 [#] (眼科学的検査)	・角膜混濁 [#] (眼科学的検査)
2.5 mg/kg 体重/日以上	・後根神経節神経細胞ニッスル小体消失/腫脹	・後根神経節神経細胞ニッスル小体消失/腫脹

[#]: 統計検定は実施されていないが、検体投与による影響と考えられた。

^a: 死因不明

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Wistar Hannover ラット (主群: 一群雌雄各 52 匹、12 か月中間と殺群: 一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、5、500、2,500 及び 5,000 ppm、平均検体摂取量は表 35 参照) 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。

表 35 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与量(ppm)		5	500	2,500	5,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.28	28.4	141	280
	雌	0.35	35.8	178	368

各投与群に認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 36 に、角膜の腫瘍発生頻度は表 37 に示されている。

尿検査において、検体投与群の全動物で尿ケトン体が認められたが、検体投与によって尿中にチロシンの代謝物 4-HPPA が排泄されたことに起因するもので、毒性所見とは考えられなかった。

500 ppm 以上投与群雄の少数で角膜における扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫が認められた。

雄で認められた角膜腫瘍発生メカニズムは、本剤投与による血漿中チロシンの増加に起因したものと考えられた。

本試験において、5 ppm 以上投与群雄で甲状腺限局性ろ胞細胞過形成が、500 ppm 以上投与群雌で角膜炎、角膜上皮過形成等が認められたので、無毒性量は雄で 5 ppm (0.28 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 5 ppm (雌: 0.35 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、43)

表 36 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
（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ハーダー腺変化 ・Glu 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・心臓絶対及び補正重量減少 ・Glu 増加
2,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制^a ・後肢握力低下 ・膵腺房細胞萎縮 ・外涙腺炎症/炎症細胞浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制(投与 3~4 週以降)及び摂餌量減少^b(投与 3 週以降) ・甲状腺ろ胞細胞肥大^c
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・瞳孔反射消失[#] ・角膜混濁[#](眼科学的検査) ・脳絶対及び補正重量減少 ・角膜炎及び角膜上皮過形成 ・甲状腺ろ胞細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・瞳孔反射消失[#] ・角膜混濁[#](眼科学的検査) ・脳絶対及び補正重量減少 ・角膜炎及び角膜上皮過形成
5 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺限局性ろ胞細胞過形成 	毒性所見なし

: 統計検定は実施されていないが、検体投与による影響と考えられた。

^a : 2,500 ppm 投与群では投与 3 週以降、5,000 ppm 投与群では投与 2 週以降。

^b : 統計学的に有意な減少が断続的に認められた。

^c : 雌のみ、投与 53 週では統計学的に有意な毒性所見が認められたが、投与 104 週では影響が認められなかった。

表 37 角膜の腫瘍発生頻度

性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	5	500	2,500	5,000	0	5	500	2,500
検査動物数		52	50	52	52	52	52	51	52	51
扁平上皮癌		0	0	2	2	2	0	0	0	0
扁平上皮乳頭腫		0 [#]	0	1	1	3	0	0	0	0

Fisher 直接確率検定において統計学的有意差なし。

: Peto 検定 (p<0.05)

(3) 18 か月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（0、70、1,700 及び 7,000 ppm、平均検体摂取量は表 38 参照）投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 38 18 か月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与量(ppm)		70	1,700	7,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	8.7	233	940
	雌	9.2	242	1,030

各投与群における毒性所見は表 39 に示されている。

7,000 ppm 投与群雄で肺胞腺腫（良性）の発現頻度に増加傾向が認められたが、雌には認められず、関連した非腫瘍性病変も認められないことから、加齢に伴う変化であると考えられた。

検体投与により発生頻度の増加した腫瘍性病変は認められなかった。

本試験において、7,000 ppm 投与群の雄及び 1,700 ppm 以上投与群の雌で、肝絶対及び補正重量増加が認められたので、無毒性量は雄で 1,700 ppm (233 mg/kg 体重/日)、雌で 70 ppm (9.2 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、44)

表 39 18 か月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
7,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝絶対及び補正重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・WBC 増加
1,700 ppm 以上	1,700 ppm 以下	・肝絶対及び補正重量増加
70 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、25、500 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 40 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 40 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与量(ppm)		25	500	5,000	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	1.9	38.4	377
		雌	2.1	42.4	410
	F ₁ 世代	雄	2.4	48.9	494
		雌	2.5	49.9	507

各投与群で認められた毒性所見は表 41 に示されている。

本試験において、親動物では 25 ppm 以上投与群の雌雄で角膜混濁、甲状腺コロイド変化、ろ胞拡張等が、児動物では 25 ppm 以上投与群の雄で包皮分離日齢遅延、500 ppm 以上投与群の雌で角膜混濁、角膜炎等が認められたので、無毒性量は親動物で 25 ppm (P 雄：1.9 mg/kg 体重/日、P 雌：2.1 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：2.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：2.5 mg/kg 体重/日) 未満、児動物の雄で 25 ppm (P 雄：1.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：2.4 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 25 ppm (P 雌：2.1 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：2.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 2、46)

表 41 2 世代繁殖試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	親 : P、児 : F ₁		親 : F ₁ 、児 : F ₂		
	雄	雌	雄	雌	
親動物	5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 (投与 36 日以降) 及び摂餌量減少 角膜炎及び角膜上皮過形成 #a 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 (投与 36 日以降) 及び摂餌量減少 授乳期発情休止期発現頻度の増加 # 	<ul style="list-style-type: none"> 角膜炎及び角膜上皮過形成 #a 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制及び摂餌量減少 角膜炎及び角膜上皮過形成 #a
	500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 甲状腺絶対重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> 角膜混濁、角膜炎 # (眼科学的検査) 角膜炎及び角膜上皮過形成 #a 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制及び摂餌量減少 脳絶対及び補正重量減少 腎盂拡張 # 	<ul style="list-style-type: none"> 脳絶対及び補正重量減少 甲状腺ろ胞上皮細胞剥離 # 腎盂拡張 # 角膜炎 (眼科学的検査)
	25 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 角膜混濁、角膜炎 # (眼科学的検査) 甲状腺絶対及び補正重量増加 小葉中心性肝細胞肥大 # 甲状腺コロイド変化 (好塩基性)、ろ胞拡張、上皮細胞剥離及びろ胞内出血 # 	<ul style="list-style-type: none"> 甲状腺コロイド変化 (好塩基性)、ろ胞拡張、上皮細胞剥離、コロイド内鉾質沈着及びろ胞内出血 # 	<ul style="list-style-type: none"> 角膜炎 (眼科学的検査) 小葉中心性肝細胞肥大 # 甲状腺コロイド変化 (好塩基性)、ろ胞拡張、上皮細胞剥離及びろ胞内出血 # 	<ul style="list-style-type: none"> 小葉中心性肝細胞肥大 # 甲状腺コロイド変化 (好塩基性)、ろ胞拡張、及びろ胞内出血 #
児動物	5,000 ppm		<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制
	500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 角膜混濁/粗面及び角膜炎 # (眼科学的検査) 脳絶対及び補正重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 角膜混濁及び角膜炎 # (眼科学的検査) 脳絶対及び補正重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 角膜混濁及び角膜炎 # (眼科学的検査) 脳絶対及び補正重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 角膜混濁及び角膜炎 # (眼科学的検査) 脳絶対及び補正重量減少
	25 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 包皮分離日齢遅延 	<ul style="list-style-type: none"> 毒性所見なし 	<ul style="list-style-type: none"> 包皮分離日齢遅延 	<ul style="list-style-type: none"> 毒性所見なし

: 統計検定は実施されていないが、検体投与による影響と考えられた。

Ⓜ : P 世代では 25 及び 5,000 ppm 投与群並びに F₁ 世代では 5,000 ppm 投与群で絶対重量に統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。

a : P 世代雄、F₁ 世代雌雄では 5,000 ppm 投与群のみ、P 世代雌では対照群、500 ppm 以上投与群において病理組織学的検査が実施された。

(2) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar Hannover ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~20 日に強制経口 (原体 : 0、100、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5% CMC 水溶液) 投与して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 42 に示されている。

本試験において、母動物では 100 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が、胎児では 100 mg/kg 体重/日以上投与群で後肢帯位置異常等が認められたことから、本試験における無毒性量は、母動物及び胎児とも 100 mg/kg 体重/日未満と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 2、48)

表 42 発生毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
1,000 mg/kg 体重/日		<ul style="list-style-type: none"> ・肋軟骨胸骨部非対称配列 ・胸骨分節非対称骨化部及び二分骨化 ・一部尾椎未骨化 ・後肢中足骨未骨化
500 mg/kg 体重/日以上		<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・過剰肋骨 ・肋軟骨過剰 ・肝中間裂過剰葉
100 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制(妊娠 6~7 日以降)及び摂餌量減少(妊娠 6~9 日以降) 	<ul style="list-style-type: none"> ・後肢帯位置異常 ・頸椎未骨化、胸骨分節不完全骨化及び未骨化、前及び後肢基節骨並びに後肢距骨の未骨化又は痕跡状過剰肋骨 ・第 11 肋軟骨伸長及び分裂

(3) 発生毒性試験 (ウサギ) ①

NZW ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 7~28 日に強制経口 (原体 : 0、10、50、及び 200 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5% CMC 水溶液) 投与し、発生毒性試験が実施された。

各投与群の血漿中チロシン及びピシクロピロン濃度は表 43 に示されている。

200 mg/kg 体重/日投与群の 7 例が妊娠 22~28 日に死亡又は切迫と殺された。

本試験において、200 mg/kg 体重/日投与群の母動物で死亡又は切迫と殺並びに統計学的に有意ではないが、体重増加抑制及び摂餌量減少が認められ、胎児においては、50 mg/kg 体重/日以上投与群で肋軟骨奇形 (癒合、分岐及び位置異常) が、10 mg/kg 体重/日以上投与群で第 13 肋骨及び仙椎前椎骨数 27 が認められたことから、本試験における無毒性量は、母動物で 50 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。(参照 2、52)

表 43 血漿中チロシン及びピシクロピロン濃度 (妊娠 28 日)

投与量(mg/kg 体重/日)	0	10	50	200
血漿中チロシン濃度(μg/mL)	<LOQ	29.7~150	40.6~92.0	51.1~157
血漿中ピシクロピロン濃度(μg/mL)	<LOQ	0.116~31	1.09~112	9.77~325

LOQ: 定量下限 (チロシンは 9.00 μg/mL、ピシクロピロンは 100 ng/mL)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ) ②

ヒマラヤウサギ (一群雌 22 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (原体: 0、10、50 及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒: 0.5% CMC 水溶液) 投与し、発生毒性試験が実施された。

各投与群の血漿中チロシン及びピシクロピロン濃度は表 44 に、各投与群で認められた毒性所見は表 45 に示されている。

本試験において、250 mg/kg 体重/日投与群の母動物で胃壁に発赤、赤色線条及びクレーター状隆起が認められ、10 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児で過剰肋骨及び肋軟骨過剰が認められたことから、本試験における無毒性量は、母動物で 50 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。母動物に影響のみられる用量で内臓異常 (卵巣/子宮角又は精巣/輸精管の欠損/変形/位置異常) 及び頸椎異常が認められた。(参照 2、54)

表 44 血漿中チロシン及びピシクロピロン濃度 (妊娠 27 日)

投与量(mg/kg 体重/日)	0	10	50	250
血漿中チロシン濃度(μg/mL)	10.8±2.52	46.6±15.3	81.8±24.1	112±25.5
血漿中ピシクロピロン濃度(μg/mL)	<LOQ	0.385±0.318	11.0±30.1	97.1±76.7

LOQ: 定量下限 (チロシンは 9.00 μg/mL、ピシクロピロンは 100 ng/mL)

表 45 発生毒性試験 (ウサギ) ②で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
250 mg/kg 体重/日	・胃発赤、赤色線条及びクレーター状隆起	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・卵巣/子宮角又は精巣/輸精管の欠損/変形/位置異常 ・総頸動脈過剰分枝 ・無名動脈分枝 ・心室中隔変異(中隔欠損) ・臍帯動脈欠損 ・頸椎異常(椎体又は椎弓の欠損、癒合、変形)及び変異(未骨化) ・肋骨/肋軟骨異常(短小、分裂、欠損)
50 mg/kg 体重/日以上	50 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・角膜及び水晶体混濁 ・心室中隔変異(表面外観異常) ・骨格変異(後肢帯位置異常) ・仙椎前椎骨数 27 ・肋軟骨胸骨部非対称配列
10 mg/kg 体重/日		<ul style="list-style-type: none"> ・過剰肋骨 ・肋軟骨過剰

(5) 発生毒性試験 (ウサギ) ③

ヒマラヤウサギ (一群雌 22 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (原体: 0、1、10、及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒: 0.5% CMC 水溶液) 投与し、発生毒性試験が実施された。

各投与群の血漿中チロシン及びビスクロピロン濃度は表 46 に、各投与群で認められた毒性所見は表 47 に示されている。

250 mg/kg 体重/日投与群の 2 例で全身状態悪化、活動性低下及び横臥位が認められたため、妊娠 22 日に切迫と殺した。

本試験において、250 mg/kg 体重/日投与群の母動物で着床後損失率及び吸収胚率の増加並びに平均胎児数の減少が認められ、10 mg/kg 体重/日投与群の胎児で過剰肋骨及び肋軟骨過剰が認められたことから、本試験における無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。母動物に影響がみられた用量で外表異常 (顎/口蓋裂)、内臓異常 (心室中隔欠損、子宮角欠損/卵巣変形) 及び頸椎異常が認められた。(参照 2、55)

表 46. 血漿中チロシン及びピシクロピロン濃度 (妊娠 27 日)

投与量(mg/kg 体重/日)	0	1	10	250
最終投与 1 時間後				
血漿中チロシン濃度(μg/mL)	/	/	/	/
血漿中ピシクロピロン濃度(μg/mL)	<LOQ	0.896±0.44	10.9±7.01	227±80.2
最終投与 6 時間後				
血漿中チロシン濃度(μg/mL)	10.3±1.75	26.3±11.2	57.6±23.4	112±28.7
血漿中ピシクロピロン濃度(μg/mL)	<LOQ	0.294±0.17	2.18±5.74	105±105

LOQ: 定量下限 (チロシンは 9.00 μg/mL、ピシクロピロンは 100 ng/mL)

/: 分析せず

表 47 発生毒性試験 (ウサギ) ③で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
250 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> 切迫と殺(2 例、妊娠 22 日)[胃発赤又は暗赤色巢] 着床後損失率及び吸収胚率増加、平均胎児数減少 	<ul style="list-style-type: none"> 低体重 顎/口蓋裂 心室中隔欠損 子宮角欠損/卵巣変形 大動脈弓過剰分枝 食道位置異常[§] 網膜離壁[§] 頸椎異常(椎体又は椎弓の癒合、変形、短小)及び変異(横孔欠損、腹側過剰部位、未骨化等) 肋骨/肋軟骨異常(短小、分裂、短小) 後肢帯位置異常
10 mg/kg 体重/日以上	10 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> 過剰肋骨 肋軟骨過剰
1 mg/kg 体重/日		毒性所見なし

§: 統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。

<発生毒性試験 (ウサギ) における無毒性量について>

発生毒性試験 (ウサギ) ①[12. (3)]の胎児において、第 13 肋骨及び仙椎前椎骨数 27 が、②[12. (4)]において過剰肋骨及び肋軟骨過剰が最小用量である 10 mg/kg 体重/日投与群で認められたことから、胎児に対する無毒性量は 10 mg/kg 体重/日未満と判断された。また、③[12. (5)]では 10 mg/kg 体重/日投与群において同様に過剰肋骨及び肋軟骨過剰の所見が認められたものの、1 mg/kg 体重/日投与群においては、本剤による毒性影響は認められなかったことから、食品安全委員会は以上の 3 試験を総合的に評価して、ウサギの胎児における無毒性量を 1 mg/kg 体重/日と判断した。

1.3. 遺伝毒性試験

ピシクロピロン (原体) の細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラットを用

いた小核試験及び *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験が実施された。

試験結果は表 48 に示されているとおり、全て陰性であったことから、ビシクロピロンに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 2、56~61)

表 48 遺伝毒性試験概要 (原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2(pKM101)、WP2uvrA(pKM101)株)	①100~5,000 µg/プレート (+/-S9) ②3~5,000 µg/プレート (+/-S9) 33~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験 マウスリンパ腫由来細胞 (L5178Y TK ⁺)	125~3,994 µg/mL (+/-S9) 500~3,994 µg/mL (+/-S9)	
	染色体異常試験 ヒトリンパ球	①500~1,250 µg/mL (+/-S9)(3 時間処理) ②1,250~1,500 µg/mL (+S9)(3 時間処理) 125~500 µg/mL (-S9)(20 時間処理)	
<i>in vivo</i>	小核試験 Wistar ラット(骨髓細胞) (一群雄各 5 匹)	500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	UDS 試験 Wistar Hannover ラット (肝細胞) (一群雄 3 匹)	2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	

注) +/-S9: 代謝活性系存在下及び非存在下

14. その他の試験

(1) 14 日間反復経口投与試験 (ラット)

Wistar Hannover ラット (一群雄 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、0.5、1、2.5、5 及び 10 ppm) 投与による 14 日間反復経口投与試験が実施された。

血漿中チロシン及びビシクロピロン濃度は表 49 に示されている。

検体投与量の増加に伴い、血漿中のチロシン及びビシクロピロン濃度に用量相関性のある増加が認められた。(参照 2、63)

表 49 血漿中チロシン及びビシクロピロン濃度

投与量(ppm)	0	0.5	1	2.5	5	10
血漿中チロシン濃度(n mol/mL)	134	295	306	655	930	1,700
血漿中ビシクロピロン濃度(ng/mL)	<5	17.5	12.9	72.5	108	200

(2) 甲状腺ペルオキシダーゼ活性 (ラット)

Wistar Hannover ラットの雄 5 匹から甲状腺ミクロソームを調製し、ラット甲状腺ペルオキシダーゼ活性に対するビスクロピロン (0, 0.1, 10 及び 100 μM) の影響が *in vitro* で検討された。

試験したいずれの濃度においても、ビスクロピロン処理によるラット甲状腺ペルオキシダーゼ活性への影響は認められなかった。なお、10 μM の 6-プロピル-2-チオウラシル (陽性対照) 処理により、甲状腺ペルオキシダーゼ活性は 100%阻害された。(参照 2, 64)

(3) 肝臓及び甲状腺機能への影響試験 (ラット)

Wistar Hannover ラット (一群雄 75 匹、陽性対照群: 雄 30 匹) を用いた 28 日間混餌 (原体: 0, 5, 500 及び 5,000 ppm: 平均検体摂取量は表 50 参照) 投与により、肝臓及び甲状腺機能への影響試験が実施された。陽性対照群には PB を 1,200 ppm の濃度で 7 日間混餌投与した。なお、ビスクロピロン投与群 (0~5,000 ppm) は投与 2, 4, 8, 15 及び 29 日後に、PB 投与群は投与 4 及び 8 日後にそれぞれ 15 匹が計画と殺され、各種の検査が行われた。

表 50 肝臓及び甲状腺機能への影響試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与量(ppm)	ビスクロピロン			PB
	5	500	5,000	1,200(7日間)
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.5	41.5	400	105

各投与群で認められた変化は表 51 に示されている。

血清中チロシン濃度はビスクロピロン投与群の全ての測定時点で対照群と比較して増加し、平均増加率はビスクロピロン 5, 500 及び 5,000 ppm 投与群でそれぞれ 6, 14 及び 15 倍であった。

本試験の結果、血清チロシンの増加、 T_3 及び T_4 の減少、甲状腺ろ胞上皮細胞肥大及び小葉中心性肝細胞肥大の発現頻度の増加並びに肝 UGT 活性の増加を伴う肝臓重量の増加が認められた。(参照 2, 65)

表 51 肝臓及び甲状腺機能への影響試験（ラット）で認められた変化

投与群	雄
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制(投与 1 日後から 14 日後) ・小葉中心性肝細胞肥大
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少(投与 1 日後から 13 日後) ・T₃減少 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・肝ミクロソーム蛋白量増加 ・肝 UGT 活性上昇
5 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・T₄減少 ・肝補正重量増加
PB 1,200 ppm(7 日間)	<ul style="list-style-type: none"> ・呼吸促迫、横転又は失調性歩行、活動性の亢進と低下及び低姿勢 ・体重増加抑制 ・T₄減少及び TSH 増加 ・肝絶対及び補正重量増加 ・甲状腺補正重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大

(4) 28 日間亜急性毒性試験（イヌ）＜参考資料³＞

ビーグル犬（一群雌雄各 1 匹）を用いたカプセル経口（原体：0、10、100 及び 250 mg/kg 体重/日）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施され、血漿中チロシン濃度測定等が行われた。

各投与群の血漿中ビスクロピロンの AUC 値は表 52 に、血漿中チロシン濃度は表 53 に示されている。

本試験において、250 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与 7 日に自発運動抑制、不安定歩行、不安定、心拍数増加、嘔吐等が認められ、切迫と殺された。同投与群雌及び 100 mg/kg 体重/日以下投与群雌雄に検体投与による影響は認められなかった。（参照 2、36）

表 52 血漿中ビスクロピロンの AUC 値 (hr・μg/ mL)

投与群 (mg/kg 体重/日)		10	100	250
投与 1 日	雄	176	662	3,140
	雌	151	565	2,190
投与 26 日	雄	160	917	/
	雌	208	638	/

/ : 該当せず

³ 本試験は動物数が少ないため、参考資料とした。

表 53 血漿中チロシン濃度 (n mol/mL)

採取時期	性別	投与群 (mg/kg 体重/日)			
		0	10	100	250
投与 1 日 24 時間後	雄	<55	1,300	1,170	1,370
	雌	<55	1,550	1,490	1,370
投与 26 日 1 時間後	雄	533	1,430	1,430	/
	雌	1,120	1,670	1,740	/
投与 26 日 24 時間後	雄	118	1,070	1,510	/
	雌	878	1,490	1,570	/

/ : 試料なし

(5) 28 日間免疫毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、500 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 54 参照) 投与による 28 日間免疫毒性試験が実施された。陽性対照として、シクロホスファミドを投与 24 日から 27 日まで 1 日 1 回腹腔内投与する群が設定された。

表 54 28 日間免疫毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与量(ppm)		50	500	5,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雌	10.6	107	1,190

羊赤血球静脈内投与による一次液性免疫反応では、いずれの用量においても対照群との間に有意差は認められなかった。

本試験において、5,000 ppm 投与群で肝絶対及び補正重量増加が認められたので、無毒性量は 500 ppm (107 mg/kg 体重/日) であると考えられた。本試験条件下で免疫毒性は認められなかった。(参照 2、62)

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「ビシクロピロン」の食品健康影響評価を実施した。

¹⁴C で標識されたビシクロピロンのラットを用いた動物体内運命試験の結果、ビシクロピロン経口投与後 48 時間の吸収率は少なくとも雄で 85.0%、雌で 90.0%と算出された。投与放射能の排泄は速やかで、投与 24 時間以内に 76.3~91.7% TAR が尿及び糞中に排泄され、主に尿中に排泄された。尿中の主要成分は未変化のビシクロピロンであり、主な代謝物として A、E、F、G 及び H が認められた。

畜産動物を用いた動物体内運命試験の結果、主要成分として泌乳ヤギの乳汁及び組織で未変化のビシクロピロン及び代謝物 A が 16.0~50.1% TRR 及び 27.6~70.4% TRR、産卵鶏では鶏卵及び各組織で未変化のビシクロピロンが 76.4~94.8% TRR 認められた。そのほか複数の代謝物が検出されたが、いずれも 10% TRR 未満であった。

¹⁴C で標識されたビシクロピロンの植物体内運命試験の結果、とうもろこしにおいて、茎葉部及び穂軸では代謝物 D の抱合体並びに代謝物 E、F、G/H (グリコシドを含む)、I、L 及び S が、穀粒では代謝物 E、F、G/H (グリコシドを含む) 及び L が、さとうきび茎葉では、代謝物 E、F、H グリコシド及び K グリコシドが 10% TRR を超えて認められた。

海外においてとうもろこしを用いて代謝物 B 又は K の構造を有する化合物及び代謝物 L を分析対象化合物とした作物残留試験が実施され、代謝物 B の構造を有する化合物はいずれの試験においても定量限界未満であった。代謝物 K の構造を有する化合物の最大残留値は、0.0255 mg/kg (未成熟とうもろこし穂軸及び子実) であった。代謝物 L の最大残留値は、0.0258 mg/kg (とうもろこし子実) であった。

ビシクロピロン及び代謝物 B 又は K の構造を有する代謝物を分析対象化合物とした畜産物残留試験 (泌乳牛) が実施された。組織及び臓器における代謝物 B の構造を有する代謝物の最大残留値は 1.40 µg/g (肝臓)、代謝物 K の構造を有する代謝物の最大残留値は 0.19 µg/g (肝臓) であった。乳汁中ではいずれの分析対象化合物も検出限界未満であった。

各種毒性試験結果から、ビシクロピロン投与による影響は、主に眼 (角膜混濁等)、肝臓 (小葉中心性肝細胞肥大等) 及び甲状腺 (ろ胞細胞肥大等: ラット) に認められた。

繁殖能に対する影響、免疫毒性及び遺伝毒性は認められなかった。

イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験において、後根神経節の神経細胞にニッスル小体消失/腫脹が認められたが、明らかな神経毒性を示す臨床症状はいずれの試験でも認められなかった。

ウサギを用いた発生毒性試験において、胎児に肋軟骨奇形、心室中隔欠損、頸椎異常等が認められた。ラットでは催奇形性は認められなかった。

ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験において、雄の少数で角膜における扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫が認められたが、腫瘍発生機序は遺伝毒性メ

カニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

畜産動物を用いた動物体内運命試験の結果、代謝物 A が 10%TRR を超え、植物体内運命試験の結果、可食部又は家畜用の飼料として利用される部位（とうもろこし穀粒、成熟茎葉及び穂軸並びにさとうきび成熟茎葉）において代謝物 E、F、G/H（グリコシドを含む）及び L が 10%TRR を超えて認められた。代謝物 G 及び H グリコシドはラットにおいて認められなかったが、代謝物 G 及び H はラットで認められたことから、農産物及び畜産物中の暴露評価対象物質をビスクロピロン（親化合物のみ）と設定した。

各試験における無毒性量等は表 55 に、単回経口投与等により惹起されると考えられる毒性影響等は表 56 に示されている。

各試験で得られた無毒性量又は最小毒性量のうち最小値は、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の最小毒性量 0.28 mg/kg 体重/日であった。食品安全委員会は、最小毒性量で認められた所見は甲状腺限局性ろ胞細胞過形成であること、本試験における用量設定の間隔が大きく、用量反応性に関する情報が十分でないことから、最小毒性量を用いたことによる追加の安全係数を 10 とすることが妥当であると判断した。

ラットを用いた 90 日間亜急性神経毒性試験、2 世代繁殖試験及び発生毒性試験並びにイヌを用いた 1 年間慢性毒性試験において無毒性量が得られなかったが、食品安全委員会は各試験の最小毒性量、認められた所見の程度等から、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の最小毒性量を根拠として、安全係数 1,000 で除した値を一日摂取許容量（ADI）と設定することで安全性は確保できると判断した。

以上より、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の最小毒性量 0.28 mg/kg 体重/日を根拠として、安全係数 1,000（種差：10、個体差：10、最小毒性量を用いたことによる追加係数：10）で除した 0.00028 mg/kg 体重/日を ADI と設定した。

ビスクロピロンの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、ウサギを用いた発生毒性試験③の無毒性量 1 mg/kg 体重/日であり、認められた所見は母動物に毒性影響がみられない用量における胎児の過剰肋骨等であったことから、妊婦又は妊娠している可能性のある女性に対する急性参照用量（ARfD）は、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.01 mg/kg 体重と設定した。また、一般の集団に対しては、ラットを用いた急性神経毒性試験の無毒性量である 200 mg/kg 体重を根拠として、安全係数 100 で除した 2 mg/kg 体重を ARfD と設定した。

ADI	0.00028 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験
(動物種)	ラット
(期間)	2年間
(投与方法)	混餌
(最小毒性量)	0.28 mg/kg 体重/日
(安全係数)	1,000 (種差 : 10、個体差 : 10、追加の安全係数 : 10)

ARfD	2 mg/kg 体重
※一般の集団	
(ARfD 設定根拠資料)	急性神経毒性試験
(動物種)	ラット
(投与方法)	強制経口
(無毒性量)	200 mg/kg 体重
(安全係数)	100

ARfD	0.01 mg/kg 体重
※妊婦又は妊娠している可能性のある女性	
(ARfD 設定根拠資料)	発生毒性試験③
(動物種)	ウサギ
(投与方法)	強制経口
(期間)	妊娠 6~27 日
(無毒性量)	1 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

参考

<米国 EPA (2015 年) >

cRfD	0.00028 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験
(動物種)	ラット
(期間)	2年間
(投与方法)	混餌
(最小毒性量)	0.28 mg/kg 体重/日
(安全係数)	1,000 (種差 : 10、個体差 : 10、追加の不確実係数 : 10)

ARfD (13~49歳の女性)	0.01 mg/kg 体重
(ARfD 設定根拠資料)	発生毒性試験
(動物種)	ウサギ
(期間)	妊娠 7~28 日
(投与方法)	強制経口
(最小毒性量)	10 mg/kg 体重/日
(安全係数)	1,000 (種差 : 10、個体差 : 10、 追加の不確実係数 : 10)

ARfD (一般の集団)	設定の必要なし
--------------	---------

表 55 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 ¹⁾
ラット	90日間亜急性毒性試験①	0、500、2,000、5,000 ppm 雄：0、51.2、208、503、518 雌：0、50.5、202、495、500	雄：－ 雌：－	雄：51.2 雌：50.5	雌雄：角膜炎等
	90日間亜急性毒性試験②	0、2.5、10、2,500、5,000 ppm 雄：0、0.18、0.72、183、363 雌：0、0.22、0.88、229、442	雄：0.72 雌：0.88	雄：183 雌：229	雌雄：角膜炎等
	90日間亜急性毒性試験①及び②の総合評価		雄：0.72 雌：0.88	雄：51.2 雌：50.5	
	90日間亜急性神経毒性試験	0、50、500、5,000 ppm 雄：0、4、35、336 雌：0、4、42、415	雄：－ 雌：42	雄：4 雌：415	雌雄：角膜炎等 (亜急性神経毒性は認められない)
	2年間慢性毒性/発がん性併合試験	0、5、500、2,500、5,000 ppm 雄：0、0.28、28.4、141、280 雌：0、0.35、35.8、178、368	雄：－ 雌：0.35	雄：0.28 雌：35.8	雄：甲状腺限局性ろ胞細胞過形成 雌：角膜炎、角膜上皮過形成等 (雄：角膜扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫)
	2世代繁殖試験	0、25、500、5,000 ppm P雄：0、1.9、38.4、377 P雌：0、2.1、42.4、410 F ₁ 雄：0、2.4、48.9、494 F ₁ 雌：0、2.5、49.9、507	親動物 P雄：－ P雌：－ F ₁ 雄：－ F ₁ 雌：－ 児動物 雄 P雄：－ F ₁ 雄：－ 雌 P雌：2.1 F ₁ 雌：2.5	親動物 P雄：1.9 P雌：2.1 F ₁ 雄：2.4 F ₁ 雌：2.5 児動物 雄 P雄：1.9 F ₁ 雄：2.4 雌 P雌：42.4 F ₁ 雌：49.9	親動物 雌雄：角膜混濁、甲状腺コロイド変化、ろ胞拡張等 児動物 雄：包皮分離日齢遅延 雌：角膜混濁、角膜炎等 (繁殖能に対する影響は認められない)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 ¹⁾
	発生毒性 試験	0、100、500、1,000	母動物：－ 胎児：－	母動物：100 胎児：100	母動物：体重増加抑制及び摂餌量減少 胎児：後肢帯位置異常等 (催奇形性は認められない)
マウス	90日間亜 急性毒性 試験	0、100、3,500、 7,000 ppm 雄：0、15.4、523、 1,130 雌：0、20.8、809、 1,340	雄：15.4 雌：809	雄：523 雌：1,340	雌雄：小葉中心性肝細胞肥大等
	18か月発 がん性試 験	0、70、1,700、7,000 ppm 雄：0、8.7、233、 940 雌：0、9.2、242、 1,030	雄：233 雌：9.2	雄：940 雌：242	雌雄：肝絶対及び補正重量増加 (発がん性は認められない)
ウサギ	発生毒性 試験①	0、10、50、200	母動物：50 胎児：－	母動物：200 胎児：10	母動物：死亡、体重増加抑制及び摂餌量減少等 胎児：第13肋骨、仙椎前椎骨数27 (肋軟骨奇形が認められた)
	発生毒性 試験②	0、10、50、250	母動物：50 胎児：－	母動物：250 胎児：10	母動物：胃発赤、赤色線条、クレーター状隆起 胎児：過剰肋骨及び肋軟骨過剰 (内臓異常等が認められた)
	発生毒性 試験③	0、1、10、250	母動物：10 胎児：1	母動物：250 胎児：10	母動物：死亡、吸収胚率増加等 胎児：過剰肋骨及び肋軟骨過剰 (内臓異常等が)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 1)
					認められた)
イヌ	90日間亜急性毒性試験	0、5、25、125	雄：25 雌：25	雄：125 雌：125	雌雄：Chol減少等
	1年間慢性毒性試験	0、2.5、25、125	雄：－ 雌：－	雄：2.5 雌：2.5	雌雄：後根神経節神経細胞ニッスル小体消失/腫脹

－：無毒性量が設定できなかった。

1)：備考欄には最小毒性量で認められた主な毒性所見等を記した。

表 56-1 単回経口投与等により生ずると考えられる毒性影響等
(一般の集団)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重)	無毒性量及び急性参照用量設定に 関連するエンドポイント ¹⁾ (mg/kg 体重)
ラット	急性毒性	雌 : 5,000	雌 : - 雌 : 立毛 (投与 30 分~3 日後)、円背位 (投与 1~5 時間後)、鎮静 (投与 1~5 時間後)
	急性神経毒性	0、20、200、2,000	雌雄 : 200 雄 : 総運動量及び移動運動量減少 (投与 1 時間後) 雌 : 移動運動量減少 (投与 0~10 分後)
ARfD			NOAEL : 200 SF : 100 ARfD : 2
ARfD 設定根拠資料			急性神経毒性試験

ARfD : 急性参照用量 SF : 安全係数 NOAEL : 無毒性量 - : 無毒性量は設定できない

¹⁾ : 最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。

表 56-2 単回経口投与により生ずると考えられる毒性影響等
(妊婦又は妊娠している可能性のある女性)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量及び急性参照用量設定に 関連するエンドポイント ¹⁾ (mg/kg 体重/日)
ウサギ	発生毒性 試験①	0、10、50、200	胎児：－ 胎児：第13肋骨、仙椎前椎骨数27
	発生毒性 試験②	0、10、50、250	胎児：－ 胎児：過剰肋骨、肋軟骨過剰
	発生毒性 試験③	0、1、10、250	胎児：1 胎児：過剰肋骨、肋軟骨過剰
ARfD			NOAEL：1 SF：100 ARfD：0.01
ARfD 設定根拠資料			ウサギ発生毒性試験①～③

ARfD：急性参照用量 SF：安全係数 NOAEL：無毒性量 －：無毒性量は設定できない

¹⁾：最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

記号	略称	化学名
ビシクロ ピロン	NOA449280	4-hydroxy-3-[2-(2-methoxy-ethoxymethyl)-6-(trifluoromethyl)-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]oct-3-en-2-one
A	CSAA915194	3-[2-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione
B	SYN503780	2-(2-methoxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-nicotinic acid
C	CSCC163768	6-trifluoromethyl-pyridine-2,3-dicarboxylic acid
D	CSCD656832	3-hydroxy-6-trifluoromethyl-pyridine-2-carboxylic acid
E	CSCD675162	6-hydroxy-3-[2-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, (1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-rel
F	CSCD677693	8-hydroxy-3-[2-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, (1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-rel
G	CSCD675164	6-hydroxy-3-[2-(2-methoxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, (1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-rel
H	CSCD677306	8-hydroxy-3-[2-(2-methoxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, (1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-rel
I	CSCD677692	6,8-dihydroxy-3-[2-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, (1 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-rel
J	CSCD677694	6,8-dihydroxy-3-[2-(2-methoxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carbonyl]-bicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, (1 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-rel
K	CSCD686480	2-(2-hydroxy-ethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-nicotinic acid
L	CSAA589691 norcamphoric acid	Cyclopentane-1,3-dicarboxylic acid, (1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-rel
M	CSCD642512	[3-(2,4-dioxo-bicyclo[3.2.1]octane-3-carbonyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-2-ylmethoxy]-acetic acid
N	CSAA806573	2-hydroxymethoxy-6-trifluoromethyl-nicotinic acid
O	CSCD686481	2-(carboxymethoxymethyl)-6-trifluoromethyl-pyridine-3-carboxylic acid
P	CSAA757083	2-hydroxy-6-trifluoromethyl-nicotinic acid
Q	ヒドロキシビシクロ	Hydroxy-NOA449280

	ピロン	
R	脱メチルモノヒドロキシシビシクロピロン	Desmethyl monohydroxy-NOA449280
S	脱メチルジヒドロキシシビシクロピロン	Desmethyl dihydroxy-NOA449280

<別紙 2 : 検査値等略称>

略称	名称
ai	有効成分量 (active ingredient)
AUC	薬物濃度曲線下面積
Chol	コレステロール
CMC	カルボキシメチルセルロース
C _{max}	最高濃度
Glu	グルコース (血糖)
4-HPPA	4-ヒドロキシフェニルピルビン酸
PB	フェノバルビタール
PHI	最終使用から収穫までの日数
T _{1/2α}	第一相消失半減期
T _{1/2β}	第二相消失半減期
T ₃	トリヨードサイロニン
T ₄	サイロキシン
TAR	総投与 (処理) 放射能
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高濃度到達時間
TSH	甲状腺刺激ホルモン
TRR	総残留放射能
UGT	ウリジン二リン酸グルクロノシルトランスフェラーゼ
WBC	白血球数

<別紙3：作物残留試験成績—海外>

作物名 (分析部位) 実施国 (実施年)	試験 ほ場数	試験条件			残留値 ¹⁾ (mg/kg)		最大残留値 ⁴⁾ (mg/kg)	
		剤型	使用量・使 用方法	回数	PHI (日)	B ²⁾		K ³⁾
未成熟とう もろこし (穂軸及び 子実) 米国 (2012年)	1	18.5% w/w水溶 液剤 (20.0% w/v水溶 液剤)	50.4 g a.i./ha 雑草茎葉 散布	1	39 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				37 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				54	<0.005	<0.01	0.015
	1				40 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				40 ^a	<0.005	<0.005	0.01
	1				39 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				42 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				26 ^a	<0.01	0.0255	0.0355
	1				43 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				25 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				34 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				38 ^a	<0.005	<0.01	0.015
	1				45	<0.01	<0.01	0.02
1	51	<0.005	0.0131	0.0181				

1)：定量限界未満は<0.01 mg/kg、検出されない場合は<0.005 mg/kgと記載した。

2)：代謝物Bの構造を有する化合物のピシクロピロン換算値

3)：代謝物Kの構造を有する化合物の代謝物A換算値

4)：検出されない場合には定量限界である0.01 ppmの半分の0.005 ppmとし、定量限界未満の場合には0.01 ppmとして合計した。

・農薬の使用量及び PHI が登録又は申請された使用方法から逸脱している場合には、使用量及び PHI に a を付した。

作物名 (分析部位) 実施国 (実施年)	試験 ほ場数	試験条件			代謝物L 最大残留値 (mg/kg)	代謝物L 無処理区(参考) (mg/kg)	
		剤型	使用量・使 用方法	回数			PHI (日)
とうもろこ し (子実) 米国 (2012年)	1	18.5% w/w水溶 液剤 (20.0% w/v水溶 液剤)	50.4 g a.i./ha 雑草茎葉 散布	1	100	<0.01	<0.01
	1				94	0.0180	<0.01
	1				90	<0.01	<0.01
	1				110	<0.01	<0.01
	1				92	0.0116	<0.01
	1				79	0.0151	0.0168
	1				112	<0.01	<0.01
	1				100	0.0133	<0.01
	1				100	0.0117	0.0109
	1				98	<0.01	<0.01

	1				103	0.0111	<0.01
	1				100	0.0176	0.0131
	1				100	0.0258	0.0147
	1				80	0.0172	0.0168
	1				80	<0.01	<0.01
	1				99	<0.01	<0.01
	1				106	<0.01	<0.01
	1				113	<0.01	<0.01
	1				98	<0.01	<0.01
	1				86	<0.01	<0.01
	1				109	<0.01	<0.01
	1				96	<0.01	<0.01

<別紙 4 : 畜産物残留試験成績>

①乳牛

乳汁残留量

投与群 (mg/kg 飼料)	残留量 (µg/g)		
	ビシクロピロン	B ¹⁾	K ²⁾
対照	ND	ND	ND
0.15	/	/	/
0.90	/	/	/
3.0	ND ³⁾	ND ³⁾	ND ³⁾

ND : 検出されず

/ : 算出せず (3.0 mg/kg 飼料投与群で残留が認められなかったことから測定しなかった)

1) : 代謝物 B の構造を有する代謝物のビシクロピロン換算値

2) : 代謝物 K の構造を有する代謝物の代謝物 A 換算値

3) : 各測定時点全てで、検出されなかった。

臓器及び組織残留量 (投与 28 日後)

投与群 (mg/kg 飼料)		残留量 (µg/g)		
		ビシクロピロン	B ¹⁾	K ²⁾
脂肪	対照	ND	ND	ND
	0.15	/	/	/
	0.90	/	/	/
	3.0	ND	ND	ND
筋肉	対照	ND	ND	ND
	0.15	/	/	/
	0.90	/	/	/
	3.0	ND	ND	ND
肝臓	対照	ND	ND	ND
	0.15	0.76	0.79	0.11
	0.90	1.67	1.40	0.19
	3.0	1.19	1.17	0.19
腎臓	対照	ND	ND	ND
	0.15	0.27	0.28	0.01
	0.90	0.34	0.35	0.02
	3.0	0.31	0.34	0.03

ND : 検出されず

/ : 算出せず (3.0 mg/kg 飼料投与群で残留が認められなかったことから測定しなかった)

1) : 代謝物 B の構造を有する代謝物のビシクロピロン換算値

2) : 代謝物 K の構造を有する代謝物の代謝物 A 換算値

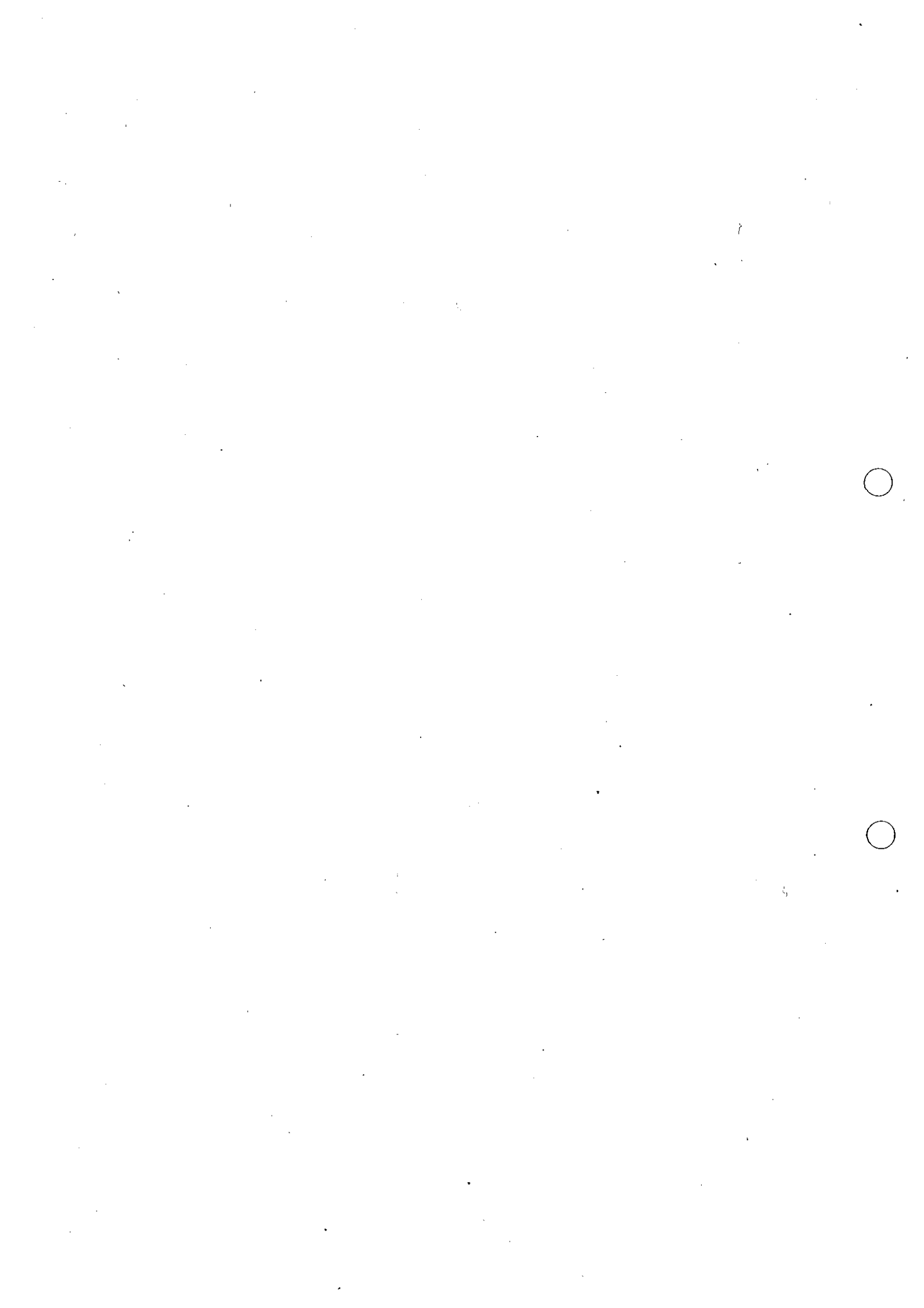
<参照>

1. 食品健康影響評価について（平成 27 年 2 月 13 日付け厚生労働省発食安第 0213 第 3 号）
2. 農薬ドシエ ビシクロピロン（除草剤）（2014 年）：シンジェンタ ジャパン株式会社、一部公表
3. [¹⁴C]-NOA449280: An Investigation into the Pharmacokinetics Following Single Oral and Intravenous Administration to the Rat (GLP) : Covance Laboratories Limited、2009 年、未公表
4. [¹⁴C]-NOA449280- Excretion and Tissue Distribution Following Single Oral or Intravenous Administration to the Rat (GLP) : Covance Laboratories Limited、2009 年、未公表
5. [¹⁴C]-NOA449280- Tissue Depletion in the Rat Following a single Oral Administration (GLP) : Covance Laboratories Limited、2010 年、未公表
6. [¹⁴C]-NOA449280- Excretion and Tissue Distribution Following Repeated Oral Administration to the Rat (GLP) : Covance Laboratories Limited、2010 年、未公表
7. [¹⁴C]-NOA449280- Biotransformation in the Rat (GLP) : Covance Laboratories Limited、2012 年、未公表
8. [¹⁴C]-NOA449280- An Investigation into Absorption, Distribution, Metabolism and Biliary Excretion Following a Single Oral Administration to the Rat (GLP) : Covance Laboratories Limited、2010 年、未公表
9. [¹⁴C]-NOA449280- Metabolism in the lactating goat (GLP) : Covance Laboratories Limited、2010 年、未公表
10. Metabolism of [¹⁴C]-NOA449280 in the Laying Hen (GLP) : Covance Laboratories Limited、2010 年、未公表
11. NOA449280- The Metabolism of NOA449280 in Maize (GLP) : Charles River Laboratories、2010 年、未公表
12. NOA449280- The Metabolism of NOA449280 in Sugar Cane (GLP) : Charles River Laboratories、2009 年、未公表
13. NOA449280- Metabolism and Rate of Degradation of ¹⁴C-bicyclooctenone Labelled NOA449280 under Aerobic Laboratory Conditions, in One Soil, at 20°C (GLP) : Covance Laboratories Limited、2010 年、未公表
14. NOA449280- Metabolism and Rate of Degradation of ¹⁴C-Pyridine Labelled NOA449280 under Aerobic Laboratory Conditions, in Five Soils, at 20°C (GLP) : Covance Laboratories Limited、2009 年、未公表
15. NOA449280- Metabolism and Rate of Degradation of ¹⁴C-Pyridine Labelled NOA449280 under Aerobic Laboratory Conditions, in Seven US Soils, at 20°C (GLP) : Covance Laboratories Limited、2009 年、未公表

16. NOA449280- Metabolism and Rate of Degradation of ¹⁴C-Pyridinyl and ¹⁴C-bicyclooctenone Labelled NOA449280 under Aerobic Laboratory Conditions, in One Soil, at 20°C (GLP) : Covance Laboratories Limited, 2010年、未公表
17. NOA449280- Adsorption and Desorption Properties in Five Soils (GLP) : Covance Laboratories Limited, 2010年、未公表
18. NOA449280- Adsorption and Desorption Properties in Seven Soils (GLP) : Covance Laboratories Limited, 2010年、未公表
19. NOA449280- Adsorption and Desorption Properties in Five Soils Taken from Field Study Sites (GLP) : Covance Laboratories Limited, 2010年、未公表
20. [¹⁴C]-NOA449280- Adsorption and Desorption Properties of Two Soils (GLP) : Battelle UK Ltd., 2009年、未公表
21. [Pyridinyl-¹⁴C]- Labelled NOA449280- Hydrolysis at Four Different pH Values (GLP) : RCC Ltd., 2008年、未公表
22. NOA449280- Photodegradation and Quantum Yield in Sterile, Aqueous Solution (GLP) : Covance Laboratories Limited, 2009年、未公表
23. Bicyclopyrone SL(A16003E)- Magnitude of the Residues in or on Corn USA 2012 (GLP) : Syngenta Crop Protection, LLC, 2013年、未公表
24. Magnitude of Residues in Milk and Tissues of Daily Cows Following Multiple Oral Administrations of NOA449280 (GLP) : Syngenta Crop Protection, LLC, 2012年、未公表
25. NOA449280: Acute Oral Toxicity Study in the Rat (Up and Down Procedure) (GLP) : RCC Ltd., 2007年、未公表
26. NOA449280: Acute Dermal Toxicity Study in Rats (GLP) : RCC Ltd., 2007年、未公表
27. NOA449280- 4-Hour Acute Inhalation Toxicity Study In Rats (GLP) : RCC Ltd., 2008年、未公表
28. NOA449280 Technical- A Preliminary Acute Neurotoxicity Study of NOA449280 Technical in Rats (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC, 2009年、未公表
29. NOA449280- An Oral (Gavage) Acute Neurotoxicity Study of in Rats (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC, 2012年、未公表
30. NOA449280: Primary Skin Irritation Study in Rabbits (4-Hour Semi-Occlusive Application) (GLP) : RCC Ltd., 2007年、未公表
31. NOA449280: Primary Eye Irritation Study in Rabbits (GLP) : RCC Ltd., 2007年、未公表
32. NOA449280- Local Lymph Node Assay in the Mouse (GLP) : Safeparm Laboratories Limited, 2008年、未公表

33. NOA449280: 90 Day Dietary Toxicity Study in Rats (GLP) : Central Toxicology Laboratory、2003 年、未公表
34. NOA449280- 13 Week Rat Dietary Toxicity Study (GLP) : Charles River Laboratories、2009 年、未公表
35. NOA449280- 90 Day Mouse Preliminary Carcinogenicity Study (GLP) : Charles River Laboratories、2009 年、未公表
36. NOA449280: 28 Day Oral Toxicity Study in Dogs (GLP) : Central Toxicology Laboratory、2003 年、未公表
37. NOA449280- 13-Week Oral (Capsule) Toxicity Study in the Beagle Dog (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2009 年、未公表
38. NOA449280 A 28-Day Preliminary Study of NOA449280 in Rats (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC、2012 年、未公表
39. NOA449280- 90 Day Dietary Neurotoxicity Study in Rats (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC、2012 年、未公表
40. NOA449280- 28-Day Dermal Toxicity Study in the Wistar Rat (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2009 年、未公表
41. NOA449280- 52-Week Oral (Capsule) Toxicity Study in the Dog (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2010 年、未公表
42. NOA449280- Histopathology Changes in the Dorsal Root Ganglion of the Dog Following Dosing for 52 Weeks (非 GLP) : Syngenta Ltd.、2012 年、未公表
43. NOA449280- 104 Week Rat Dietary Carcinogenicity Study with Combined 52 Week Toxicity Study (GLP) : Charles River Laboratories、2012 年、未公表
44. NOA449280- 80 Week Mouse Dietary Carcinogenicity Study (GLP) : Charles River Laboratories、2012 年、未公表
45. NOA449280- Oral (Dietary) Multigeneration Range Finding Study in the Rat (GLP) : Sequani Limited、2009 年、未公表
46. NOA449280- Oral (Dietary) Multigeneration Study in the Rat (GLP) : Sequani Limited、2012 年、未公表
47. NOA449280- Dose Range-Finding Prenatal Developmental Toxicity Study in the Han Wistar Rat (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2011 年、未公表
48. NOA449280- Prenatal Developmental Toxicity Study in the Han Wistar Rat (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2011 年、未公表
49. NOA449280 Dose Range Finding Study In The Pregnant Rabbit (GLP) : Syngenta Ltd.、2007 年、未公表
50. NOA449280- A Dose Range-Finding Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC、2012 年、未公表
51. NOA449280- A Dose Range-Finding Prenatal Developmental Toxicity Study

- in New Zealand White Rabbits (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC、
2012年、未公表
52. NOA449280- A Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC、2012年、未公表
 53. NOA449280- Dose Range-Finding Prenatal Developmental Toxicity Study in the Himalayan Rabbit (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2012年、未公表
 54. NOA449280- Prenatal Developmental Toxicity Study in the Himalayan Rabbit (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2012年、未公表
 55. NOA449280- Prenatal Developmental Toxicity Study in the Himalayan Rabbit (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2012年、未公表
 56. NOA449280 Bacterial Mutation Assay In *S.typhimurium* And *E.coli* (GLP) : Syngenta Ltd.、2007年、未公表
 57. Bicyclopyrone- Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli Reverse Mutation Assay (GLP) : Harlan Laboratories Ltd.、2010年、未公表
 58. NOA449280 L5178Y TK+/- Mouse Lymphoma Mutation Assay (GLP) : Syngenta Ltd.、2006年、未公表
 59. NOA449280 In Vitro Cytogenetic Assay In Human Lymphocytes (GLP) : Syngenta Ltd.、2006年、未公表
 60. NOA449280- Micronucleus Assay in Bone Marrow Cells of the Rat (GLP) : RCC Cytotest Cell Research GmbH、2008年、未公表
 61. NOA449280 In Vitro Rat Liver Unscheduled DNA synthesis Assay (GLP) : Syngenta Ltd.、2007年、未公表
 62. NOA449280- A 28-Day Dietary Immunotoxicity Study in CD-1 Female Mice (GLP) : WIL Research Laboratories, LLC、2012年、未公表
 63. NOA449280 14 Day Preliminary Dietary Toxicity Study In Rats (GLP) : Syngenta Ltd.、2007年、未公表
 64. Bicyclopyrone- Effect on Rat Thyroid Peroxidase Activity *In Vitro* (非 GLP) : Leatherhead Food Research (LFR)、2012年、未公表
 65. Bicyclopyrone- 28 Day Dietary Thyroid Mode of Action Study in Rats (GLP) : Charles River Laboratories、2012年、未公表
 66. ビシクロピロンの海外における残留基準値および適正農業規範

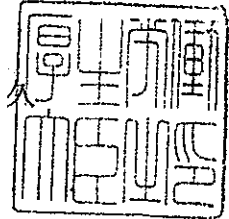


大

厚生労働省発生食 0517 第 7 号
平成 28 年 5 月 17 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭久



諮問書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる規格基準の設定について

イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
カプタホール試験法（畜水産物）
クロラムフェニコール試験法

平成 28 年 6 月 14 日

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 28 年 5 月 17 日付け厚生労働省発生食 0517 第 7 号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づくイプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法に係る規格基準の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

イプロニダゾール、ジメトリダゾール、 メトロニダゾール及びロニダゾール試験法

イプロニダゾールは、一律基準で規制されているところであるが、食品安全委員会による食品健康影響評価において「イプロニダゾールについては、遺伝毒性を示す可能性を否定することができず、発がん性が示唆されたことから、ADIを設定すべきではないと判断した。」と評価された。

ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールは、ポジティブリスト制度導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められ、その後、平成26～27年に見直しが行われた。これより食品安全委員会による食品健康影響評価において「ジメトリダゾールについては、DNAとの共有結合残留物が生成される可能性があること、遺伝毒性を示す可能性を判断することはできず、発がん性が示唆されたこと及びADIの設定に適切なNOAEL等が得られなかったことから、ADIを設定できなかった。」、「メトロニダゾールは遺伝毒性発がん物質であることが否定できず、ADIを設定することは適当でない。」及び「ロニダゾールの遺伝毒性を判断できず、発がん性が示唆されたことから、ADIを設定すべきでない」と判断した。」と評価された。

この評価結果をふまえ、イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールは、平成28年3月に、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会において、「食品に含有されるものであってはならない」（以下「不検出基準」という。）と改定することとされた。

従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

既存試験法はジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールのみを分析対象として開発されたものであり、イプロニダゾール及びその他の規制対象物質を分析対象としてその試験法の性能が評価されたものではない。そのため、イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールの試験法について開発が進められてきたところ、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

1. 概要

(1) 分析対象の化合物

イプロニダゾール：イプロニダゾール、1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール（以下「イプロニダゾール代謝物B」という。）

ジメトリダゾール：ジメトリダゾール、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール（以下「HMMNI」という。）

メトロニダゾール：メトロニダゾール、1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチ

ル-5-ニトロイミダゾール（以下「メトロニダゾール代謝物A」という。）

ロニダゾール：ロニダゾール、HMMNI

(2) 分析対象食品
畜水産物

(3) 試験法の概要

各分析対象化合物を試料から酢酸酸性下アセトンで抽出する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラムで精製し、液体クロマトグラム・タンデム型質量分析計で定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界

イプロニダゾール：0.0001 mg/kg

イプロニダゾール代謝物B：0.0001 mg/kg

ジメトリダゾール：0.0002 mg/kg

メトロニダゾール：0.0001 mg/kg

メトロニダゾール代謝物A：0.0001 mg/kg

ロニダゾール：0.0002 mg/kg

HMMNI：0.0002 mg/kg

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として真度及び併行精度の確認を実施した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏の筋肉、鶏卵、さけ、うなぎ、しじみ及びはちみつ

表 検討結果の真度及び併行精度

		検討結果	目標値
真度	イプロニダゾール	82～92%	70～120%
	イプロニダゾール代謝物 B	88～94%	
	ジメトリダゾール	89～94%	
	メトロニダゾール	82～99%	
	メトロニダゾール代謝物 A	75～86%	
	ロニダゾール	87～95%	
	HMMNI	85～111%	
併行精度	イプロニダゾール	1～3%	30%未満
	イプロニダゾール代謝物 B	1～3%	
	ジメトリダゾール	0.5～3%	
	メトロニダゾール	1～5%	
	メトロニダゾール代謝物 A	2～6%	
	ロニダゾール	2～6%	
	HMMNI	1～8%	

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考) これまでの経緯

【イプロニダゾール】

- 平成27年 1月 8日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成27年10月27日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
- 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
- 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
- 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

【ジメトリダゾール】

- 平成17年11月29日 残留基準告示
- 平成24年 2月22日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成27年 4月14日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
- 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
- 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
- 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

【メトロニダゾール】

- 平成17年11月29日 残留基準告示
- 平成24年 2月22日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成26年 5月20日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知

平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

【ロニダゾール】

平成17年11月29日 残留基準告示
 平成24年 2月24日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
 平成26年 7月29日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
 平成27年12月15日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
 平成28年 3月 1日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

- | | |
|--------|-----------------------------|
| 穂山 浩 | 国立医薬品食品衛生研究所食品部長 |
| 石井 里枝 | 埼玉県衛生研究所化学検査室長 |
| ○大野 泰雄 | 公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長 |
| 尾崎 博 | 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授 |
| 斉藤 貢一 | 星薬科大学薬品分析化学教室教授 |
| 佐々木 一昭 | 東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授 |
| 佐藤 清 | 一般財団法人残留農薬研究所技術顧問 |
| 佐野 元彦 | 東京海洋大学海洋生物資源学部門教授 |
| 永山 敏廣 | 明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授 |
| 根本 了 | 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長 |
| 二村 睦子 | 日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長 |
| 宮井 俊一 | 一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問 |
| 由田 克士 | 大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授 |
| 吉成 浩一 | 静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授 |
| 鱒淵 英機 | 大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授 |

(○：部会長)

答申

イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法

分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
イプロニダゾール	イプロニダゾール, 1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール (以下「イプロニダゾール代謝物B」という。)
ジメトリダゾール	ジメトリダゾール, 2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール (以下「HMMN I」という。)
メトロニダゾール	メトロニダゾール, 1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール (以下「メトロニダゾール代謝物A」という。)
ロニダゾール	ロニダゾール, HMMN I

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計

2. 試薬, 試液

次に示すもの以外は, 第2添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ギ酸 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム (500mg) 内径12~13mm のポリエチレン製のカラム管に, 強酸性陽イオン交換樹脂500mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水, 精製水, 純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には, n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

イプロニダゾール標準品 本品はイプロニダゾール98%以上を含む。

イプロニダゾール代謝物B標準品 本品はイプロニダゾール代謝物B 98%以上を含む。

ジメトリダゾール標準品 本品はジメトリダゾール98%以上を含む。

メトロニダゾール標準品 本品はメトロニダゾール98%以上を含む。

メトロニダゾール代謝物A標準品 本品はメトロニダゾール代謝物A 98%以上を含む。

ロニダゾール標準品 本品はロニダゾール98%以上を含む。

HMMN I 標準品 本品はHMMN I 98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

試料10.0g (はちみつの場合は試料10.0gに水10mlを加えて溶解したもの) に酢酸1ml及びアセトン50mlを加えてホモジナイズし、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。上澄液を採り、残留物 (はちみつの場合は水5mlを加えて溶解したもの) にアセトン30mlを加えてホモジナイズし、上記と同様の条件で遠心分離する。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、アセトンを加えて正確に100mlとする。

この溶液から正確に10mlを分取し、40℃以下で約2mlに濃縮する。これにn-ヘキサン飽和アセトニトリル10ml及びn-ヘキサン10mlを加えて振とう後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に2vol%ギ酸5mlを加えて溶かす。

b 精製法

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム (500mg) にアセトニトリル5ml, 2 vol%ギ酸5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、更に2vol%ギ酸5ml, メタノール5ml, 0.5%アンモニア水5mlを順次注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水 (1:3) 混液10mlを注入し、溶出液を採る。

この溶出液に、硫酸アンモニウム2gを加えて溶解した後、酢酸エチル10mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1vol%ギ酸に溶かし、正確に1mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作方法

a 検量線の作成

各標準品の0.1vol%ギ酸の溶液を数点調製し、それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、イプロニダゾール、イプロニダゾール代謝物B、メトロニダゾール及びメトロニダゾール代謝物Aにあつては、試料中0.0001mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.0001mg/lである。同様に、ジメトリダゾール、ロニダゾール及びHMMN Iにあつては、試料中0.0002mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.0002mg/lである。

b 定量

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、a 検量線の作成により各分析対象化合物の定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計により確認する。

d 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径3mm, 長さ150mm, 粒子径3 μ m

カラム温度：40℃

移動相：0.1vol%ギ酸（A液）及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（B液）を、下表の濃度勾配で送液する。

時間 (分)	A液 (%)	B液 (%)
0	98	2
5	90	10
15	5	95
20	5	95

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ポジティブイオンモード

主なイオン (m/z)

イプロニダゾール：プリカーサーイオン 170, プロダクトイオン 124, 109

イプロニダゾール代謝物B：プリカーサーイオン 186, プロダクトイオン 168, 122

ジメトリダゾール：プリカーサーイオン 142, プロダクトイオン 96, 95

メトロニダゾール：プリカーサーイオン 172, プロダクトイオン 128, 82

メトロニダゾール代謝物A：プリカーサーイオン 188, プロダクトイオン 126, 123

ロニダゾール：プリカーサーイオン 201, プロダクトイオン 140, 55

HMMN I：プリカーサーイオン 158, プロダクトイオン 94, 55

注入量：5 μ l

保持時間の目安

イプロニダゾール：15分

イプロニダゾール代謝物B：13分

ジメトリダゾール：12分

メトロニダゾール：11分

メトロニダゾール代謝物A：11分

ロニダゾール：12分

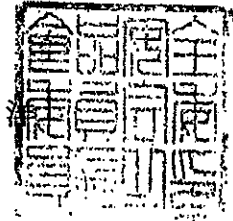
HMMN I：11分



府食第345号
平成28年5月24日

厚生労働大臣
塩崎 恭久 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤



食品安全基本法第11条第1項第1号の食品健康影響評価を行う
ことが明らかに必要でないときについて (回答)

平成28年5月17日付け厚生労働省発生食0517第3号により貴省から当
委員会に対し照会された事項について、下記のとおり回答いたします。

記

以下の事項については、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24
条第1項第1号の規定に基づき、厚生労働大臣が当委員会に意見を求めるに当
たって、同法第11条第1項第1号の食品健康影響評価を行うことが明らかに
必要でないときに該当すると認められる。

1. 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき定めら
れた、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号。以下「規格
基準告示」という。）第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5に、新たな試
験法として「カプタホール試験法（畜水産物）」を追加すること。
2. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の（5）及び6の
（5）に示す「カプタホール試験法」の名称を「カプタホール試験法（農産物）」
と改定すること。
3. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の（7）に示す「ク
ロラムフェニコール試験法」を改定すること。

4. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の(11)に示す「ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法」を削除し、新たな試験法として「イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法」と改定すること。





府食第345号

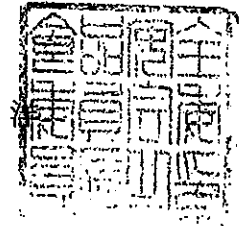
平成28年5月24日

厚生労働大臣

塩崎 恭久 殿

食品安全委員会

委員長 佐藤



食品安全基本法第11条第1項第1号の食品健康影響評価を行う
ことが明らかに必要でないときについて (回答)

平成28年5月17日付け厚生労働省発生食0517第3号により貴省から当
委員会に対し照会された事項について、下記のとおり回答いたします。

記

以下の事項については、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24
条第1項第1号の規定に基づき、厚生労働大臣が当委員会に意見を求めるに当
たって、同法第11条第1項第1号の食品健康影響評価を行うことが明らかに
必要でないときに該当すると認められる。

1. 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき定めら
れた、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号。以下「規格
基準告示」という。）第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5に、新たな試
験法として「カプタホール試験法（畜水産物）」を追加すること。
2. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の（5）及び6の
（5）に示す「カプタホール試験法」の名称を「カプタホール試験法（農産物）」
と改定すること。
3. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の（7）に示す「ク
ロラムフェニコール試験法」を改定すること。

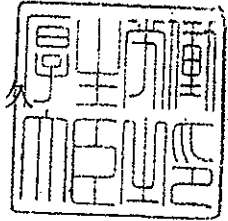
4. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の(11)に示す「ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法」を削除し、新たな試験法として「イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法」と改定すること。



厚生労働省発生食 0517 第 7 号
平成 28 年 5 月 17 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭久



諮問書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる規格基準の設定について

イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
カプタホール試験法（畜水産物）
クロラムフェニコール試験法

平成 28 年 6 月 14 日

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 28 年 5 月 17 日付け厚生労働省発生食 0517 第 7 号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づくクロラムフェニコール試験法に係る規格基準の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

クロラムフェニコール試験法

クロラムフェニコールは、ポジティブリスト制度導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められた。この見直しが平成26年に行われ、食品安全委員会による食品健康影響評価において「遺伝毒性を有しているものと考えられること、発がん性を有する可能性が否定できないこと及びヒトでは用量相関性のない再生不良性貧血に関連していると考えられることから、一日摂取許容量を設定することは適当でない。」と評価された。

この評価結果をふまえ、平成26年10月に、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会において、引き続き「食品に含有されるものであってはならない」（以下「不検出基準」という。）とすることとされ、規制対象がクロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体に変更となった。

従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。

既存試験法はクロラムフェニコールのみを分析対象として開発されたものであり、クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を分析対象としてその試験法の性能が評価されたものではない。そのため、試験法について開発が進められてきたが、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

1. 概要

(1) 分析対象の化合物

クロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

クロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を試料からメタノールで抽出する。クロラムフェニコールグルクロン酸抱合体をβ-グルクロニダーゼで加水分解してクロラムフェニコールに変換した後、酢酸エチルに転溶する。ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計で定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界 0.0005 mg/kg (ローヤルゼリーは0.005 mg/kg)

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として真度及び併行精度の確認を実施した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵、うなぎ、しじみ、はちみつ及び
ローヤルゼリー（生及び乾燥）

表 検討結果の真度及び併行精度

		検討結果	目標値
真度	親化合物	84～109%	70～120%
	抱合体	79～104%	
併行精度	親化合物	2～5%	30%未満
	抱合体	3～6%	

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考) これまでの経緯

- 平成17年11月29日 残留基準告示
- 平成23年 1月24日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
- 平成26年 3月 3日 食品安全委員会から委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成26年 7月31日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
- 平成26年10月21日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
- 平成28年 3月10日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
- 平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
- 平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
- 平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

- 穉山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部長
- 石井 里枝 埼玉県衛生研究所化学検査室長
- 大野 泰雄 公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
- 尾崎 博 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
- 斉藤 貢一 星薬科大学薬品分析化学教室教授
- 佐々木 一昭 東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授

佐藤 清	一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
佐野 元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山 敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本 了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長
宮井 俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
鱒淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申

クロラムフェニコール試験法

クロラムフェニコール及びクロラムフェニコールグルクロン酸抱合体を分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計

2. 試薬、試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。

酢酸エチル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。
ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500mg) 内径12~13mm
のポリエチレン製のカラム管に、ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体
500mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。
水 蒸留水、精製水あるいは純水などの化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分
である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用
いる。

β -グルクロニダーゼ (タイプIX-A) *Escherichia coli* 由来の β -グルクロニダーゼタイ
プIX-Aを用いる。本品の1単位は、フェノールフタレイン β -D-グルクロニドを
基質として、pH6.8、37°Cにおいて1時間に1.0 μ gのフェノールフタレインを生成する酵素
量とする。

β -グルクロニダーゼ溶液 β -グルクロニダーゼ (タイプIX-A) を0.1mol/l リン酸緩
衝液 (pH6.8) に溶解して、1,500単位/mlとなるように調製する。用時調製する。

0.1mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8) 第1液：リン酸二水素カリウム1.36gを量り、水を加えて
溶かし正確に100mlとする。第2液：リン酸水素二ナトリウム1.42gを量り、水を加えて溶
かし正確に100mlとする。第1液に第2液を加えて混和し、pHを6.8に調整する。

3. 標準品

クロラムフェニコール標準品 本品はクロラムフェニコール98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類等の場合は、検体を細切均一化した後、試料10.0gを
量り採る。乳、卵、はちみつ及びローヤルゼリーの場合は、検体をよく混合して均一化した
後、試料10.0gを量り採る。ローヤルゼリー (乾燥) は、検体をよく混合して均一化した後、
試料5.00gを量り採り、水10mlを加えて30分間放置する。

これにメタノール50mlを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離

し、上澄液を採る。残留物にメタノール 30ml を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。得られた上澄液を合わせ、メタノールで正確に 100ml とする。この溶液から正確に 4ml を分取し、40℃以下で溶媒を除去する。この残留物に 0.1mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8) 9ml を加えて、超音波処理を行いよく混合する。

b 加水分解

a で得られた溶液に β -グルクロニダーゼ溶液 1ml を加え、37℃で60分間加温する。加水分解後の溶液に酢酸エチル 10ml を加え振とう抽出する。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、酢酸エチル層を採る。水層に酢酸エチル 10ml を加えて振とう抽出した後、上記と同様に遠心分離する。得られた酢酸エチル層を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水及びメタノール (1:1) 混液 5ml を加え、超音波処理を行いよく混合する。

c 精製法

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500 mg) にメタノール 5ml, 水及びメタノール (1:1) 混液 5ml を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに b で得られた溶液 5ml を注入した後、水及びメタノール (1:1) 混液 5ml を注入し、流出液は捨てる。次いで、水及びメタノール (1:4) 混液 10ml を注入し、溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水 (3:7) 混液に溶かし、正確に 2ml とし、ローヤルゼリー (乾燥) にあっては正確に 1ml としたものを試験溶液とする。

5. 操作方法

a 検量線の作成

クロラムフェニコール標準品のアセトニトリル及び水 (3:7) 混液の溶液を数点調製し、それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.0005mg/kg に相当する試験溶液の濃度は、0.0001mg/l である。

b 定量

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、a 検量線の作成によりクロラムフェニコールの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計により確認する。

d 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.1mm, 長さ 150mm, 粒子径 3 μ m

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び 10 mmol/l 酢酸アンモニウム溶液 (3:7) 混液

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ネガティブイオンモード

主なイオン (m/z)

プリカーサーイオン 321, プロダクトイオン 152

プリカーサーイオン323, プロダクトイオン152

注入量: 5 μ l

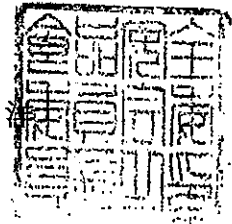
保持時間の目安: 4分



府食第345号
平成28年5月24日

厚生労働大臣
塩崎 恭久 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤



○ 食品安全基本法第11条第1項第1号の食品健康影響評価を行う
ことが明らかに必要でないときについて（回答）

平成28年5月17日付け厚生労働省発生食0517第3号により貴省から当
委員会に対し照会された事項について、下記のとおり回答いたします。

記

以下の事項については、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24
条第1項第1号の規定に基づき、厚生労働大臣が当委員会に意見を求めるに当
たって、同法第11条第1項第1号の食品健康影響評価を行うことが明らかに
必要でないときに該当すると認められる。

-
1. 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき定めら
れた、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号。以下「規格
基準告示」という。）第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5に、新たな試
験法として「カプタホール試験法（畜水産物）」を追加すること。
 2. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の（5）及び6の
（5）に示す「カプタホール試験法」の名称を「カプタホール試験法（農産物）」
と改定すること。
 3. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の（7）に示す「ク
ロラムフェニコール試験法」を改定すること。

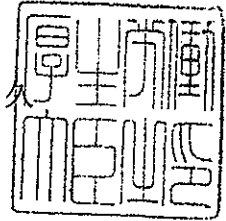
4. 規格基準告示第1 食品の部A 食品一般の成分規格の5の(11)に示す「ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びピロニダゾール試験法」を削除し、新たな試験法として「イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びピロニダゾール試験法」と改定すること。



厚生労働省発生食 0517 第 7 号
平成 28 年 5 月 17 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭久



諮問書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる規格基準の設定について

イプロニダゾール、ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
カプタホール試験法（畜水産物）
クロラムフェニコール試験法

平成 28 年 6 月 14 日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 28 年 5 月 17 日付け厚生労働省発生食 0517 第 7 号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づくカプタホール試験法に係る規格基準の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

カプタホール試験法

カプタホールは、ポジティブリスト制度導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められた。

従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。当該成分の試験法については、厚生省告示第370号において示されているが、この試験法は農産物に特化して開発されたものであり、畜水産物の全般に渡ってその試験法の性能が評価されたものではなかった。

そのため、畜水産物を対象としたカプタホールの試験法について開発が進められてきたところ、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

1. 概要

(1) 分析対象の化合物

カプタホール

(2) 分析対象食品

畜水産物

(3) 試験法の概要

試料からリン酸酸性下アセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製する。さらにグラファイトカーボンミニカラムで精製後、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフで定量及び確認する方法である。

(4) 検出限界 0.01 mg/kg

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として真度及び併行精度の確認を実施した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、えび、さけ、うなぎ、しじみ、牛乳、鶏卵及びはちみつ

表 検討結果の真度及び併行精度

	検討結果	目標値
真度	89~112%	70~120%
併行精度	2~6%	15%未満

3. 答申案

別紙のとおり。

(参考) これまでの経緯

平成17年11月29日 残留基準告示

平成27年 3月

～平成27年12月 残留農薬等公示分析法検討会で随時検討

平成28年 5月17日 薬事・食品衛生審議会へ諮問

平成28年 5月18日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会

平成28年 5月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知

平成28年 5月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井 里枝	埼玉県衛生研究所化学検査室長
○大野 泰雄	公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室教授
佐々木 一昭	東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤 清	一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
佐野 元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山 敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本 了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長
宮井 俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
鰐淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申

カプタホール試験法（畜水産物）

1. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフを用いる。

2. 試薬、試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

エーテル ジエチルエーテル。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

塩化ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

グラファイトカーボンミニカラム (250mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン250mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、合成ケイ酸マグネシウム910mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

酢酸エチル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

カプタホール標準品 本品はカプタホール 97%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

脂肪の場合は、分解をできるだけ避けるために包丁などで検体を細切均一化した後、その5.00gを量り採る。

脂肪以外の場合は、分解をできるだけ避けるために包丁などで検体を細切均一化した

後、その10.0gを量り採る。しじみなどの一個体が小さいものは、検体を正確に量り、重量比で1/2量の10vol%リン酸溶液を加え、磨砕均一化した後、検体10.0gに相当する量を量り採る。

これに3vol%リン酸溶液20ml（しじみなどの場合は水10ml）及びアセトン100mlを加え、細砕した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加えて細砕した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40℃以下で約20mlまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、n-ヘキサン100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にn-ヘキサン30mlを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20mlとする。この溶液から正確に2ml（脂肪の場合は正確に4ml）を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及びn-ヘキサン（1：4）混液5mlを加えて溶かす。

② 乳、卵及びはちみつの場合

検体を均一化した後、その10.0gを量り採る。これに3vol%リン酸溶液20ml及びアセトン100mlを加え、細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン50ml（はちみつの場合は水20ml及びアセトン50ml）を加えて細砕した後、上記と同様に遠心分離し、得られた上澄液を合わせ、40℃以下で約20ml（はちみつの場合は約50ml）まで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、n-ヘキサン100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にn-ヘキサン30mlを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20mlとする。この溶液から正確に2mlを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及びn-ヘキサン（1：4）混液5mlを加えて溶かす。

b 精製法

① 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910mg）にn-ヘキサン5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、エーテル及びn-ヘキサンの混液（1：4）5mlを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及びn-ヘキサン（1：9）混液30mlを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル5mlを加えて溶かす。

② グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（250mg）にアセトニトリル5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーで得られた

アセトニトリル溶液を注入した後、アセトニトリル15mlを注入し、全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をn-ヘキサンに溶かし、正確に2mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作方法.

a 検量線の作成

カプタホール標準品をアセトンに溶解して500 mg/lとし標準原液とする。標準原液1mlをアセトンで25mlに定容し、20mg/l溶液（アセトン）を調製する。この溶液をn-ヘキサンで希釈した溶液を数点調製し、それぞれ電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01ppmに相当する試験溶液中濃度は0.005mg/lである。

b 定量試験

試験溶液を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入し、aの検量線の作成によりカプタホールの定量を行う。

c 確認試験

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフにより確認する。

d 測定条件

(例)

定量用

カラム：5%フェニル-メチルシリコン 内径0.25mm, 長さ30m, 膜厚0.25 μ m

カラム温度：50℃ (1分) -25℃/分-125℃-10℃/分-300℃ (5分)

試験溶液注入口温度：230℃

検出器：300℃

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。流速を至適条件に調整する。

注入量：1 μ l

保持時間の目安：18分

確認用

カラム：35%フェニル-メチルシリコン 内径0.25mm, 長さ30m, 膜厚0.25 μ m

保持時間の目安：19分

他の条件は定量用と同じ。

