

殺菌剤グアザチンの環境中における動態

誌名	日本農薬学会誌
ISSN	03851559
著者	佐藤, 清 牧, 伸一
巻/号	14巻3号
掲載ページ	p. 383-393
発行年月	1989年8月

学会賞受賞論文

(奨励賞)

殺菌剤グアザチンの環境中における動態

佐藤 清, 牧 伸一

残留農業研究所化学部

Fate and Behavior of the Fungicide Guazatine
in the Environment

Kiyoshi SATO and Shin-ichi MAKI

*The Institute of Environmental Toxicology,
Suzuki-cho, Kodaira 187, Japan*

The environmental fate of the fungicide guazatine-triacetate (TA) was extensively investigated in view of safety. When applied to dwarf apple trees under laboratory conditions, ^{14}C -guazatine-TA stayed on the leaves and fruit for a long time because of its low permeability, although an appreciable amount of guazatine was photolysed on the plant surface. The fungicide that had penetrated into apple tissues was resistant against plant metabolism, and thus the large amount persisted in an unaltered form on/in the apple tissues. In outdoor studies, however, a major part of guazatine deposit was washed out of dwarf apple trees probably due to mechanical dislodgement by the rain. This indicates that in an actual field guazatine sprayed on apple trees is mostly transferred to soil. In soil, guazatine was rapidly and strongly adsorbed to a soil inorganic fraction, became resistant to microbial degradation both under upland and flooded conditions, and persisted in soil for a long time in an unaltered form. On the other hand, guazatine soil residues were unavailable to soybean and rice plants. This suggests that human uptake of guazatine from soil residues in rotational crop fields may be negligible. Thus, guazatine residues taken into humans and animals are mostly attributable to the residues in crops to which guazatine was directly sprayed. However, more than half of ^{14}C -residues in apple fruit was washed out with 0.1% detergent solution, which suggest that considerable amounts of guazatine crop residues would be reduced through processing. When guazatine-TA was orally administered to male rats, the bioavailability of guazatine was extremely low, while the tissue retention of absorbed guazatine was considerably high. The primary target organ for ^{14}C -retention was the kidney, in which the principal residue was mono-deamidinated guazatine. Deamidination was the primary metabolic route of guazatine in rats, although principal urinary metabolites have yet to be identified. The average amount of guazatine remaining in the body at a steady state during repeated uptakes was calculated to be only 0.34–0.56 times the daily uptake level. Our overall studies on the environmental fate of guazatine found that in terms of safety, adverse effects of guazatine on non-target species (including man) would be small.

はじめに

農業の生産性を高め、人類の食糧を安定に供給していくためには農業は必要不可欠の農業資材であり、その重

要性は今後さらに増大するものと思われる。しかし、農業は野外で散布されるため、環境中に拡散し、土壌、水系、大気を汚染する可能性がある。しかも農業は対象病害虫に対する強力な生理活性物質であるため、環境中に

生息する非標的生物にも影響を与え、農作物等の摂取を通じて、人類の健康にも悪影響を及ぼすおそれがある。したがって、農薬の環境中での動態を調べることは、農薬を安全かつ効果的に使用していく上できわめて重要な課題である。

グアザチン(三酢酸塩)は、1960年頃からヨーロッパを中心に柑橘類用の殺菌剤、穀類種子の消毒剤、鳥類の忌避剤として、商品名パノクチンの名で使用されてきた。しかし、合成法上の理由によりパノクチン中のグアザチンの含有率は低く、公称で約50%、実際は1%程度にすぎないという¹⁾。近年、大日本インキ化学工業株式会社がグアザチンの新合成法と精製法を開発し、グアザチンの純度が97%以上の製剤を工業的に製造することが可能となり、商品名ベフラン、一般名酢酸グアザチンが与えられた。ベフランは糸状菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、とくにリンゴ腐らん病、ブドウ晚腐病、ムギ類の紅色雪腐病等の難病害に卓効を示すため、1978年に農林水産省の新農薬開発事業の第一号に指定されて実用化が促進された結果、1983年に上市されるに至った。

グアザチンは水溶性の強塩基で、吸着性が強いいためその代謝研究には多大の困難を伴う。たとえば、一般的な有機溶媒による抽出、精製および分離法を適用できない。分析試料からの抽出ですら苛烈な条件が必要である。そのため、代謝分解物の同定も容易でない。本研究は、Fig. 1に示すグアニジノ基炭素(G-標識体)と1, 1', 8, 8'メチレン基炭素(M-標識体)の¹⁴C-ラベル化合物を用い、グアザチンの環境中と生体内での動態を安全性評価の観点から明らかにするために行なったものである。

本稿では、グアザチンの主対象作物であるリンゴ果樹に散布した場合を想定し、グアザチンの環境中での動態と人畜に摂取されるまでの過程および哺乳動物体中での代謝動態について、おもに室内試験で得られた結果を基

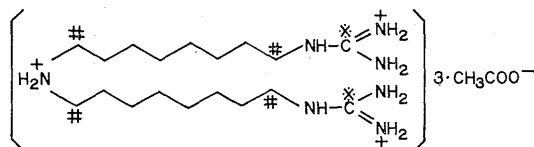


Fig. 1 Chemical structure and labeling positions of guazatine-TA, 1, 1'-iminiodi(octamethylene)-diguaniidum triacetate.

※: guanidino-¹⁴C label ([G-¹⁴C]guazatine-TA), #: methylene-¹⁴C label ([M-¹⁴C]guazatine-TA).

に概説したい。

リンゴ果樹での動態と光分解

農薬は対象作物に散布(施用)され、環境中に放出される。Herringtonら²⁾によれば、液剤を葉が繁茂した状態のリンゴ果樹に多量散布した場合、果樹全体には散布量の32~35%が付着し、そのうちの約70%が葉に付着するという。散布対象作物中での挙動と代謝分解について調べることは、第一義的には人畜が摂取しうる toxicologically significant residues の種類と量を究明することにあるが、作物からの消失情況を調べることで土壌および大気への移行を推測できるため、農薬の環境中での動態を知る上でも重要と考えられる。

そこでまず、イヌリンゴにおける代謝動態について検討した³⁾。Fig. 2は、G-標識体を定量的に塗布したイヌリンゴの葉における¹⁴Cの消長を示したものである。室内条件下では¹⁴Cの消失速度はきわめて遅く、計算上の半減期は67週間に及んだ。処理葉の内部に浸透移行した¹⁴Cは12週間で塗布量の約20%にすぎず、大部分が処理部表面に長期間残留した。また、オートラジオグラフィ(ARG)による観察では、表面および裏面に塗布したG-標識体は上方および下方のいずれの方向にも移動しなかった。また、処理葉外の果実および新葉への移行量もわずかであった。すなわち、グアザチンは表面残留性が高く、アポプラスト移行性とシンプラスト移行性がいずれも低いことがわかった。果実の表面に塗布したG-標識体の動態も葉での動態に類似し、¹⁴Cの大部分は果実の外周部に付着して残っており、果実の内部に浸透移行する¹⁴Cは少なかった。浸透したのも、大部分は果皮に留まり、果肉へはほとんど移行しないことが

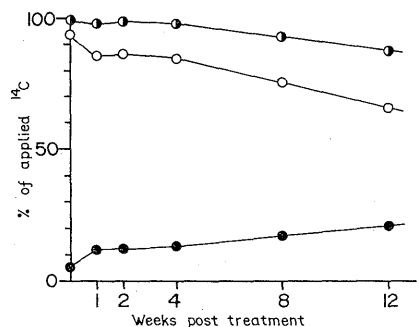


Fig. 2 Penetration of radioactivity into dwarf-apple leaves treated with [G-¹⁴C]guazatine-TA.

●: total ¹⁴C-recovery, ○: ¹⁴C in surface washings, ●: ¹⁴C in leaf interior.

果実切片の ARG でわかった。

Davis ら⁴⁾ はオレンジの葉のクチクラ層を単離して数種類の農薬の透過性を研究し、化合物の水溶性と透過性が反比例することを報告している。また、Brian⁵⁾ によれば、ピピリジリウム系除草剤パラコートやジクワットは葉組織および植物体表面物質に強く吸着し、吸着にはイオン交換および物理的吸着力が関与しているという。グアザチンのイヌリンゴにおける上記の動態は、その水溶性強塩基という化学的性質に起因するもので、グアザチンはクチクラ層自体に浸透し難く、クチクラ層に浸透したのもピピリジリウム系除草剤と同様の機構で吸着し immobile な状態になるのではないかとと思われる。農薬の浸透移行性はまた、植物の葉自身の化学組成とも密接に関連し^{6,7)}、リンゴやオレンジの葉は、ダイズやトウモロコシにくらべてクチクラ層が厚いため、薬剤の浸透移行性が低いという報告もある⁸⁾。現に、グアザチンの場合も植物間で若干の差が認められ、リンゴ葉にくらべダイズ葉への移行性はやや高かった⁹⁾。

一方、グアザチンはイヌリンゴの葉と果実においてまったくといっていいほど代謝されなかった。これは、上記のように植物体内部に浸透しても大部分がクチクラ層に留まるため、代謝に関与する植物体の実質組織内へほとんど移行しないためであろう。また、後述するようにグアザチンはラット体内で脱アミジン化で代謝されるが¹⁰⁾、酸化代謝は *in vivo* でも *in vitro*¹¹⁾ でも受け難く、生体中での酸化反応に resistant と考えられる。おそらく、イヌリンゴでも peroxidase 等の酸化酵素による代謝を受けず、脱アミジン化経路による代謝もイヌリンゴでは有意には起きないのであろう。

グアザチンは植物体中では代謝されなかったが、植物体表面では比較的容易に光分解した (4 週間で 25%)。植物体表面の光分解は、植物体内部への浸透移行や植物体成分の影響等の複雑な要因が多いので、モデル試験系としてガラス板上での光分解について検討した¹²⁾。放射照度 950 $\mu\text{E}/\text{s}/\text{m}^2$ の人工光 (陽光ランプ®) の照射により、G-標識体は二相性の減衰曲線を描いて植物体表面より速やかに分解した。第一相および第二相は、それぞれ約 40 時間および 910 時間であった。また、光分解様式には標識体による差がない (グアニジン基とメチレン基の間の開裂は有意ではない) こと、ガラス板上での光分解で生成する光分解物は植物体表面上の生成物と同一であること、グアザチンと光分解物は揮発性であることなどが明らかとなった。ガラス板上で最大 30~40% (施用量比) の率で生成する主光分解物 (以下、Pm と称する) は、そのグアニジン基を HFAA と反応させて 4,

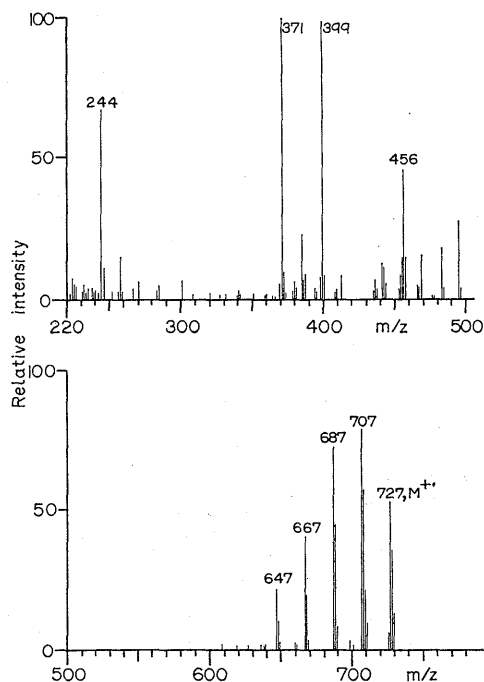


Fig. 3 EI-mass spectrum of a principal phototransformation product of guazatine after derivatization with hexafluoroacetylacetone.

5-ビス (トリフロロメチル) ピリミジン誘導体とし¹³⁾ GC-MS (低分解能, 高分解能) で分析した (Fig. 3)。また、TLC で単離し、¹H-NMR および IR 測定に供した。その結果明らかになったグアザチンの主光分解経路は、正確には phototransformation と呼ぶべきもので、Pm の分子量は未変化物より 28 大きく、しかも中央のイミノ基をはさんで非対称の変化を受けたものであった。ミリマス測定では、分子量変化は炭素と酸素が一原子ずつ増加したものと結果が得られた。IR 測定でカルボニルの吸収が認められたので分子量変化の 14 分はメチレンがカルボニルに光酸化されたことがわかったが、残りの 14 分は不明な点が多く、メチレン鎖のいずれかがメチル化されたとする仮説を考えた。しかし、メチル基の存在は ¹H-NMR で確認できず、その化学構造は炭素の由来とともに未確認のままとなっている。グアザチンの主光分解経路に photo-oxidation (メチレンのカルボニルへの酸化) が含まれることはいずれにしろ確実であるが、グアザチン自身には紫外・可視吸収がないため、その初発反応は光増感剤またはヒドロキシルラジカルによる hydrogen abstraction^{14,15)} と推察される。

リンゴ果樹から土壌への移行

作物体中の農薬が作物から消失するのに関与する要因としては、揮発、降雨による洗脱等の他の環境系への移行、光分解、代謝、化学分解等の化学的な変化による消失が上げられる。グアザチンは、植物表面で光分解する以外は化学的に安定である。室内条件下の実験では一般に揮発が最も大きな消失要因であるが¹⁶⁻¹⁹、グアザチンとその光分解物は不揮発性で、植物表面から揮散する量は少ない。そのため、室内条件下での残留性はきわめて高かった。

しかし、野外では降雨による洗脱の影響がある。グアザチンは植物表面での残留性が高く、その影響が大きいと考えられたので、グアザチン液剤（ペフラン）をイヌリンゴ果樹に散布し、温室内と野外でのグアザチンの消失速度を調べた（Fig. 4）²⁰。その結果、グアザチンは温室内にくらべ、野外でより速やかに消失することがわかった（半減期：1.4週間）。光分解、代謝、化学分解等は、温室内生育群と野外生育群ではほぼ同等に起きると推定されるが、両生育群で明らかに異なるのは、この間約400mm観察された降雨の影響のみである。このことから、グアザチンは降雨により果樹表面から容易に洗脱されるものと思われる。また、野外生育群の葉と果実でグアザチンの半減期がほぼ同じであったことも、野外では降雨がグアザチンの消失の律速因子となっていることを示唆する。グアザチンは表面残留性が高い上、水溶性も高いので雨水に溶解しやすいのであろう。しかし、植物体への吸着が強いことを考えると、雨水がくり返し植物体表面をたたく機械的効果は想像以上に大きいのではないかと

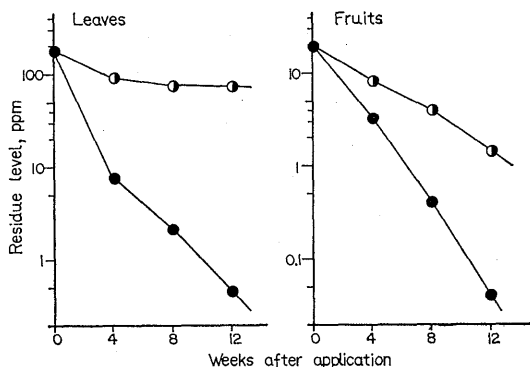


Fig. 4 Disappearance of guazatine from leaves and fruit of dwarf apple trees grown under greenhouse or outdoor conditions.

●: outdoor, ○: greenhouse.

と思われる。なお、野外生育群では親化合物であるグアザチンが洗脱するため、果実の一試料を除き Pm は検出されなかったが、降雨のない温室内では果実および葉とも Pm の生成量が多く、葉では残留性も高かった。

気象条件はきわめて不確定な要因であり、降雨の時期や量でグアザチンの植物での動態は大きく変動しうる。たとえば、散布直後に多量の降雨があったときは、グアザチンの残留量、植物体内部への浸透移行量、光分解物の生成量は減少する。逆に散布後に降雨がまったくないときや、施設栽培の作物では、グアザチンの動態は Fig. 2 の室内実験および Fig. 4 の温室内生育群での動態に近くなるであろう。ちなみに、グアザチンの作物残留試験における各種作物中での半減期²¹は、おおむね野外生育群の半減期と一致していた。

土壌中での動態

前記のように、リンゴ果樹に液剤を多量散布したときに果樹に付着する薬液は32~35%であるが、残りの大部分は土壌に落下すると考えられる。また、リンゴ果樹に付着したグアザチンの多くも降雨により洗脱する。したがって、土壌にはリンゴ果樹に散布されグアザチンのほぼ全量が土壌に負荷されるものと思われる。

グアザチンの土壌中での動態はきわめて特異で、土壌の種類や土壌条件を問わず、施用後速やかに土壌粒子に強く結合し、未変化のまま長期間残留した²²。たとえば畑地条件の熊谷土壌（沖積土壌）では、1年間の実験期間内に ¹⁴C の減少は認められず、抽出液画分と抽出不能画分中の ¹⁴C の割合にも変化がなかった（Fig. 5）。また、抽出液中の ¹⁴C の大部分は未変化物であった。ただし、抽出可能な ¹⁴C とはいっても、グアニジン塩酸の存在下²³メタノール性 NaOH 中で加熱還流するという苛烈な方法で抽出したものであり、メタノールのような通常の有機溶媒ではまったく抽出されない。その意味では、定義上その範疇には入らないが²⁴、Bound residue に匹敵する残留物である。畑地条件の千葉土壌（火山灰土壌）でも、¹⁴C の半減期は3.8年ときわめて長かった。本土壌では施用後に抽出可能な ¹⁴C の量が急速に減少したが（Fig. 5）、これは ¹⁴C-グアザチンの分解によるのではなく、メタノール性 NaOH でも抽出できなくなったものと考えられる。

これらの土壌から検出された分解物は ¹⁴CO₂ のみであったが、¹⁴CO₂ の発生量は少なく、各土壌での ¹⁴C の消失量にはほぼ対応していた。このような ¹⁴C-グアザチンの土壌中での動態は、澁水条件下の土壌（上記の2種畑地土壌および長岡水田土壌）でもまったく変わりな

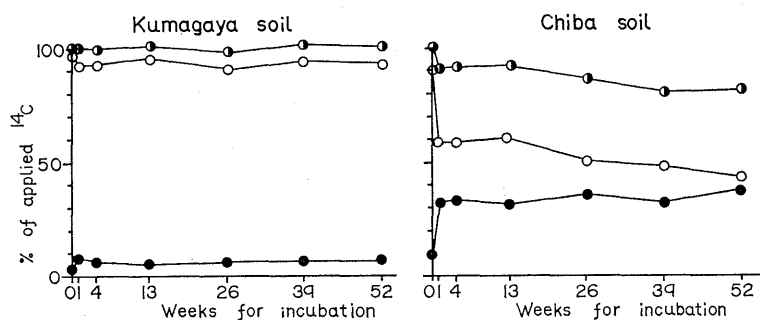


Fig. 5 Fate of [G-¹⁴C]guazatine-TA in Kumagaya and Chiba soils maintained under upland conditions.

○: total ¹⁴C-recovery, ○: ¹⁴C in extracts, ●: ¹⁴C in unextractable residues.

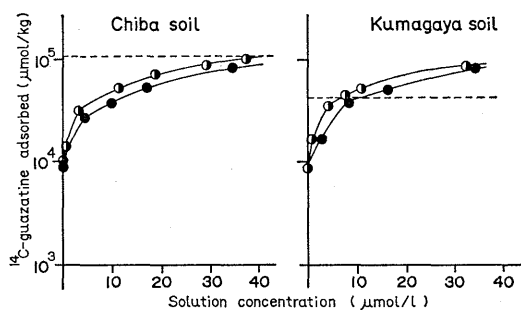


Fig. 6 Adsorption isotherms of guazatine in soils.

○: intact soil, ●: H₂O₂-treated soil, ---: CEC level of the soil.

った。これらのことから、グアザチンは施用後速やかに土壌粒子に強く吸着されるため、微生物に攻撃され難くになると考えられる。

Fig. 6 は、グアザチンの土壌吸着性を調べるため、バッチ吸着平衡法で測定したグアザチンの2種類の畑土壌に対する吸着等温線である。吸着等温線は、土壌への親和性がきわめて高いことを示すH-タイプ^{25,26)}であり、溶液濃度 10 μmol/l における吸着分配係数 K_d は約 5000 であった。この結果、グアザチンの土壌吸着の大きさはパラコートと同程度^{27,28)}であることがわかった。また、グアザチンの吸着等温線から求めた strong adsorption capacity (SAC)²⁷⁾ は、約 10⁴ μmol/kg であり、グアザチンを慣行施用したときの土壌負荷量の 4000 倍以上であった。

ビピリジリウム系除草剤の土壌における主要吸着部位は粘土鉱物であり、モンモリロナイトのような 2:1 型の粘土鉱物ではその層間に取り込まれることが知られて

いる^{28,29)}。グアザチンは分子の大きいため層間に取り込まれることはないと思われるが、主吸着部位については以下の二つの理由から、パラコートと同じ粘土鉱物と推定される。第一は、過酸化水素処理で有機物を除いた土壌にもグアザチンが著しく吸着され、土壌の粘土鉱物自身がグアザチンを多量に吸着したことである。第二は、¹⁴C-グアザチンを処理した土壌を腐植抽出法で抽出した結果（この方法は、化合物によっては必ずしも分布部位を正確に反映するとは限らないが、グアザチンではそのまま反映すると考えられる）、大部分の ¹⁴C がアルカリ抽出残渣に分布していたことである。主吸着機構についてもパラコートと同様^{27,30,31)}、イオン反応によると推定される。しかし、熊谷土壌では CEC 以上の量が吸着されたことから (Fig. 6)、疎水結合や水素結合等の有機物吸着も起きていると考えられる。

なお、グアザチンは 320 mm の降雨量に相当する蒸留水で土壌カラムから溶出しなかった。土壌表面に負荷されたグアザチンが下層土壌に移行し、さらに地下水系を汚染する可能性は低いと推定される。

いずれにしろ、土壌中でのグアザチンの動態はビピリジリウム系除草剤のそれと類似しており、カチオン性有機化合物一般の土壌との相互作用に共通する部分が多いと考えられる。

土壌中のグアザチンの植物による吸収

このように、土壌に負荷されたグアザチンはほとんど分解されずに長く残留するので反復使用により土壌中に蓄積する可能性が高い。このため土壌中に残留するグアザチンの植物による吸収が新たな研究課題となった。

そこで、G-標識体を施用し 26 週間インキュベートした畑地条件土壌（熊谷土壌および千葉土壌）と灌水条件

Table 1 Uptake of ^{14}C -guazatine residues in upland soils by soybean plants.

Plant parts	Kumagaya soil			Chiba soil		
	Weeks after planting					
	2	4	9	2	4	9
	$\mu\text{g } ^{14}\text{C-guazatine-TA eq./g dry tissue}$					
Stalk	0.036	0.478	—	0.034	0.473	—
1st trifoliolate leaves	0.035	0.259	—	0.030	0.229	—
2nd trifoliolate leaves	0.033	0.337	—	0.034	0.291	—
3rd trifoliolate leaves	0.038	0.770	—	0.035	0.392	—
4th trifoliolate leaves	0.039	0.605	—	0.038	0.621	—
Developing leaves	—	0.329	—	—	0.443	—
Root	0.770	0.909	—	0.127	0.127	—
Pods	—	—	0.052 ^{a)}	—	—	0.076 ^{a)}
Seeds	—	—	0.053 ^{a)}	—	—	0.084 ^{a)}
	$^{14}\text{C-Recovery } (\% \text{ of applied radioactivity})$					
From aerial tissues	0.004	0.077	—	0.003	0.116	—
From whole plant	0.026	0.125	—	0.010	0.179	—

Soils were treated with [^{14}C]guazatine-TA (5 ppm, dry weight basis) and incubated at 28°C in the dark for 26 weeks until soybean plants were transplanted.

Data with no mark are means of triplicate experiments.

^{a)} Means of four replicate.

Table 2 Uptake of ^{14}C -guazatine residues in flooded soils by rice plants.

	Soil incubation period after ^{14}C -guazatine treatment					
	1 hr			26 weeks		
	Weeks after planting					
	$\mu\text{g } ^{14}\text{C-guazatine-TA eq./g dry tissue}$					
Shoot	15.4	5.74	2.37	0.84	0.48	0.23
Root	19.6	6.61	2.36	0.91	0.55	0.34
	$^{14}\text{C-Recovery } (\% \text{ of applied radioactivity})$					
From shoot	0.52	0.76	0.67	0.04	0.07	0.05
From whole plant	0.98	1.27	1.17	0.07	0.11	0.13

Soils were treated with [^{14}C]guazatine-TA (5 ppm, dry weight basis) and incubated at 28°C in the dark for 1 hr or 26 weeks until rice plants were transplanted.

Data are means of triplicate experiments.

土壌（長岡土壌）にそれぞれダイズとイネを移植し、その吸収を調べた。その結果、Table 1 と Table 2 に示すように土壌中のグアザチンはあまり吸収されないことがわかった²²⁾。

たとえば、ダイズの地上部から検出された ^{14}C の濃度は、移植 2 週間後で土壌中の ^{14}C -濃度の 1/100 以下、移植 4 週間後でも 1/6~1/20 にすぎなかった。移植 4 週間

後に地上部から検出された ^{14}C の量は、土壌施用量の 0.05~0.08% に相当した。移植 9 週間後におけるダイズ可食部（莢および種子）への移行はさらに少なかった（0.05~0.08 ppm）。また、イネにおいても、土壌施用直後に移植したイネにくらべ、土壌施用 26 週間後に移植したイネによる吸収量は低く、土壌中のグアザチンは経時的に吸収され難くなった。一方、5 ppm のグアザチン

を含む水耕液でイネ根部を処理すると、グアザチンは速やかに吸収され、7日後には根部の¹⁴C-濃度が表面吸着分を含めて2800 ppmとなった。これらのことから、本来は吸収されやすいグアザチンが、土壌吸着により植物体に unavailable になることがわかった。

Rilly と Wilkinson³⁵⁾ は、パラコートが植物に吸収される（この場合は除草活性が発現）閾値が、前述の土壌の SAC とほぼ一致することを報告しており、グアザチンにおいても当該土壌での SAC が植物による吸収の目安になると思われる。しかし土壌は千差万別であり、実態は必ずしも単純ではないであろう。パラコートの場合も2:1型鉱物と1:1型鉱物では吸着形態に差があり、availability も異なることが報告されている³⁴⁻³⁶⁾。グアザチンでもこの問題に関してはさらに多種類の土壌で例証することが望ましいと考えられる。しかし、グアザチンはパラコートと異なり、根部に吸収されても地上部への移行性は比較的低い（水耕液処理7日後で約7 ppm）。仮に SAC 以上のグアザチンが土壌に残留し、土壌水中に高い濃度のグアザチンが溶出し、根部が汚染されたとしても植物体地上部の汚染の恐れは低いと推定される。

リンゴ果実中に残留するグアザチンの摂取過程

果実中に残留するグアザチンは、摂食により、人体に移行する。リンゴ果実中に残留するグアザチンは、葉からシンプラスト移行した分と果実に直接散布した分に起因するが、前者は微量にすぎず、大部分は後者による。一方、農作物は通常、何らかの調理加工を受けたのちに食用に供される。この過程で農作物における残留量はかなり変化すると予測されるが、その実態調査が十分なされていないとはいえない³⁷⁻³⁹⁾。

Table 3 は、G-標識体を処理したイヌリンゴ果実を用い、水および市販合成洗剤溶液による放射性残留物の洗浄除去効果を調べた結果である。果実に残っている¹⁴Cの洗浄除去効果は著しく、水では37%、0.1%洗剤溶液では54.4%が除去され、この結果から、果皮表面に残っている¹⁴Cのそれぞれ60%および88%が洗浄除去されると考えられる。ただしこれは、室内条件下で生育したイヌリンゴ果実を用いたものであるため、降雨で表面残留物がすでに洗脱しているリンゴ果実での洗浄除去率はこれより低くなる。残留農薬の洗浄除去効果は、農作物の種類よりも化合物の種類や製剤形態で大きく異なることが報告されている³⁸⁾ことから、グアザチンには洗浄除去による人畜摂取量の削減効果が期待できる。また、前記のように果実内部に浸透移行したグアザチンの大部

Table 3 Removal of radioactive residues on/in apple fruit by washing with dist. water or a detergent.

Fraction	Dist. water	0.1% Detergent
	% of recovered ¹⁴ C	
First washing	25.0 (40.4)	46.7 (75.6)
Second washing	12.0 (19.4)	7.7 (12.4)
Sum	37.0 (59.8)	54.4 (88.0)
Residues in fruits after washing	63.0	45.6

Apple fruit were applied with [G-¹⁴C]guazatine-TA (1000 ppm) and grown for 12 weeks under laboratory conditions *in situ*.

Data in parentheses represent the washing effect on radioactive residues retained on the fruit surface.

分は果皮と果芯に残留しているため、リンゴを摂食する際に、皮むきと果芯の除去を行えば、摂取量はさらに大きく抑制できるであろう。

哺乳動物での動態

最後に、¹⁴C-グアザチンを雄ラットに経口（2葉量）、静脈内、腹腔内経路で投与し、その特徴的な体内動態を明らかにした結果を述べる¹⁰⁾。

Table 4 は、¹⁴C-グアザチンを1回経口投与および静脈内投与した後の体外排泄を見たものである。これから明らかなように、経口投与後グアザチンの吸収率はきわめて低い。吸収率を正確に測定することは困難であるが、経口および静脈内投与後の尿中排泄率の比からは8.2%、血液中の薬物濃度下面積（AUC）の比からは13.7%と算定された。グアザチンの吸収率がきわめて低いのは、グアザチンが強電解質というグアザチンの化学的性質によるものであり、ラット以外の哺乳動物においてもグアザチンの吸収率は低いと推察される。

Table 5 は、投与7日後の体内分布を調べた結果である。グアザチンは体組織への移行性と貯留性が高く、とくに腎臓への貯留性がきわめて高いことがわかった。投与経路や投与量に関係なく、投与7日後の体内に残留する¹⁴Cの約30%が腎臓（おもに外皮質の腎小体とその周辺）に貯留していた。一方、標識部位による体内動態の差も顕著で、投与7日後の体内に残留している¹⁴C量や各臓器・組織中の¹⁴C濃度はM-標識体の方が1.5倍高く、体外排泄率はこれと逆であった。このことから、ラット体内でグアザチンはグアニジノ基とメチレン鎖の

Table 4 Cumulative excretion of ^{14}C in urine and feces after single dosing of [^{14}C]guazatine-TA to male rats.

Time (day)	Oral				Intravenous			
	G-label				G-label		M-label	
	3 mg/kg		30 mg/kg		3 mg/kg		3 mg/kg	
	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine	Feces
	% of dosed ^{14}C							
0-1	3.16	78.7	2.35	62.9	19.1	9.6	5.7	5.6
2	3.70	88.0	3.30	87.5	31.8	17.9	14.2	16.2
3	4.03	90.8	3.77	88.9	40.6	20.3	22.0	20.4
4	4.23	90.9	4.08	89.0	46.3	21.8	27.7	23.5
5	4.37	91.0	4.30	89.1	50.6	22.7	32.1	25.6
6	4.48	91.0	4.46	89.1	54.0	23.5	35.4	27.5
7	4.57	91.0	4.58	89.1	56.2	25.0	37.9	28.8

Each value represents the mean of 4 rats.

Table 5 Distribution of radioactivity in tissue and organs of male rats 7 days after single dosing of [^{14}C]guazatine-TA.

Tissue	Oral		Intravenous	
	G-label		G-label	M-label
	3 mg/kg	30 mg/kg	3 mg/kg	3 mg/kg
	$\mu\text{g } ^{14}\text{C-GZ eq/g tissue } [\% \text{ of dosed } ^{14}\text{C}]$			
Blood	0.001[0.002]	0.006[<0.001]	0.002[<0.01]	0.011[<0.01]
Plasma	<0.001[<0.001]	0.004[<0.001]	0.001[<0.01]	0.007[<0.01]
Adipose tissue	0.005[0.015]	0.043[0.014]	0.047[0.15]	0.169[0.51]
Adrenal gland	0.013[<0.001]	0.138[<0.001]	0.314[<0.01]	0.755[<0.01]
Bone marrow	0.095[—]	1.06 [—]	0.835[—]	1.314[—]
Brain	0.003[0.001]	0.037[<0.001]	0.131[0.05]	0.192[0.08]
Heart muscle	0.009[0.002]	0.113[0.002]	0.500[0.13]	4.36 [0.24]
Kidney	0.523[0.28]	6.15 [0.39]	10.1 [5.85]	16.7 [9.08]
Lacrimal gland	0.026[0.002]	0.257[0.002]	0.427[0.03]	0.922[0.07]
Liver	0.043[0.13]	0.473[0.17]	0.835[2.58]	1.569[5.00]
Lung	0.029[0.007]	0.279[0.007]	0.649[0.16]	1.403[0.39]
Pancreas	0.011[0.002]	0.111[<0.001]	0.195[0.02]	0.520[0.50]
Pituitary gland	0.037[<0.001]	0.573[<0.001]	1.427[<0.01]	2.54 [<0.01]
Salivary gland	0.033[0.003]	0.538[0.002]	1.950[0.26]	3.33 [0.39]
Skeletal muscle	0.006[0.13]	0.072[0.19]	0.157[4.2]	0.268[6.5]
Spleen	0.060[0.009]	0.741[0.013]	0.656[0.09]	1.12 [0.15]
Thymus	0.017[0.003]	0.221[0.004]	0.429[0.11]	0.536[0.10]
Thyroid gland	0.068[<0.001]	0.724[<0.001]	1.273[0.01]	3.60 [0.02]
Epididymis	0.009[0.001]	0.096[<0.001]	0.127[0.02]	0.362[0.04]
Seminal duct	0.007[<0.001]	0.096[<0.001]	0.107[<0.01]	0.234[<0.01]
Seminal vesicle	0.008[0.001]	0.099[<0.001]	0.125[0.02]	0.269[0.04]
Testis	0.005[0.003]	0.056[0.003]	0.072[0.04]	0.127[0.06]
Gut	— [0.051]	— [0.062]	— [0.69]	— [1.05]
Residual carcass	0.012[0.528]	0.164[0.668]	0.230[10.5]	0.390[17.4]
Whole body	0.020[1.0]	0.25 [1.3]	0.40 [20.6]	0.67 [34.2]

Each value represents the mean of 4 rats.

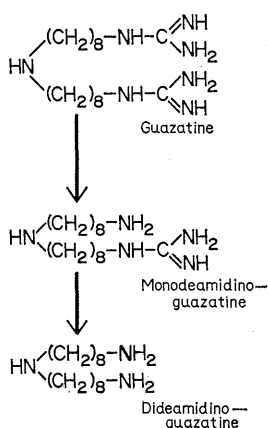


Fig. 7 Deamidation path of guazatine in male rats.

間で開裂し、しかも2個のグアニジノ基のうち1個だけが開裂する反応が主体であることが示唆された。ラット体内での代謝反応を確認するため、主貯留臓器である腎臓中の代謝物分析を行なったところ、腎臓中に貯留する主代謝物としてはモノ脱アミジン体、これに次ぐ代謝物としてジ脱アミジン体が同定された。この結果、ラット体内でのグアザチンの主代謝経路は脱アミジン化であることがわかった(Fig. 7)。

なお腎臓中でのモノ脱アミジン体の腎臓での半減期は約11日で、未変化グアザチンのそれ(1.6日)にくらべかなり長く、グアザチンの反復投与で腎臓中にモノ脱アミジン体が著しく蓄積した。腎臓内での ^{14}C の貯留部位は、グアザチンのラット慢性毒性試験⁴⁰⁾および亜急性毒性試験⁴¹⁾での障害部位である近位および遠位尿管とはほぼ一致しており、グアザチンまたはモノ脱アミジン体の貯留と蓄積が腎障害の発現に関与しているものと思われる。毒作用の発現機構については不明であるが、一般にアルキルグアニジン系化合物は、ミトコンドリアの酸化リン酸化を阻害する⁴²⁻⁴⁵⁾ことが知られており、グアザチンもしくはモノ脱アミジン体の毒作用の発現にも関連しているかもしれない。

なお、脱アミジン化の機構については、それを解く鍵である尿中主代謝物が同定できなかったため不明である。グアニジノ基の脱アミジン化の既知代謝経路としては、アルギニンにおける尿素への加水分解またはグリシンへのアミジン転移が知られている⁴⁶⁾が、それらの代謝反応で生成しうる尿素・クレアチン・クレアチニンは、いずれも尿中に検出されなかった。グアザチンの脱アミジン化は未知の代謝機構によると考えられる。脱ア

ミジン化反応がラットにおいてのみ活発に起きたことは興味深い。

ラットと人体におけるグアザチンの毒作用の種間差を考える上で、グアザチンが人体でも脱アミジン化されるか否かは重要である。グアニジン系化合物であるグアノキサンは、イヌにおいて上記のアルギニンと同じ代謝様式で脱アミジン化される⁴⁷⁾。これは、xenobioticsとして脱アミジン化されることが報告されている唯一の例であるが、グアノキサンの脱アミジン化反応は種特異性が高く、ヒトでは起きていない⁴⁸⁾。グアザチンの脱アミジン化機構はグアノキサンと異なるものであり、本研究ではラット以外の哺乳動物を用いなかったため、その種特異性については不明のままとなっている。これについては今後の検討課題としたい。

今回の研究では連続投与試験を行なわなかったが、1回経口投与で得た結果を次式⁴⁹⁾に外挿することで、グアザチンを連続して摂取したときの体内蓄積量(D_{ss})を予測することができる。

$$D_{ss} = 1.44 F \cdot D \cdot HL / \tau$$

ここで、 F は吸収率(8.2~13.7%)、 D は薬量、 HL は体循環コンパートメントでの生物学的半減期、 τ は摂取間隔である。 HL の値は、脱アミジン化後も ^{14}C を失わないM-標識体を基準にした場合で68.6時間であったので、1日に1回の割合でグアザチンを反復摂取したときの D_{ss} は、1回の摂取量 D の0.34~0.56倍と推定される。このことから、残留農薬としてグアザチンを日常的に摂取しても、グアザチンとその代謝物が人畜に蓄積する可能性は低いと推測される。

このほかわれわれは、植物体残留物の体内動態を調べるため、 ^{14}C -グアザチンを処理したイヌリンゴを雄ラットに経口投与し、その動態が ^{14}C -グアザチンそのものを投与したときほとんど差がないこと、および光分解物のラットでの代謝動態はグアザチンとやや異なり、吸収率は若干高いが腎臓への貯留性がないことなどを明らかにした⁵⁰⁾。

ま と め

以上の研究内容の概要をFig. 8にまとめた。グアザチンの環境中での動態と人畜に摂取されるまでの過程および哺乳動物中での代謝動態を量的および質的变化の両面から総合的に判断すると、残留農薬としてのグアザチンの摂取に伴うリスクはかなり低いのではないかと考えられる。Matsumura⁵¹⁾は、農薬の環境中での動態を支配する最も大きな要因は、農薬自身の化学的性質であると述べているが、グアザチンの例を見るとまさにその

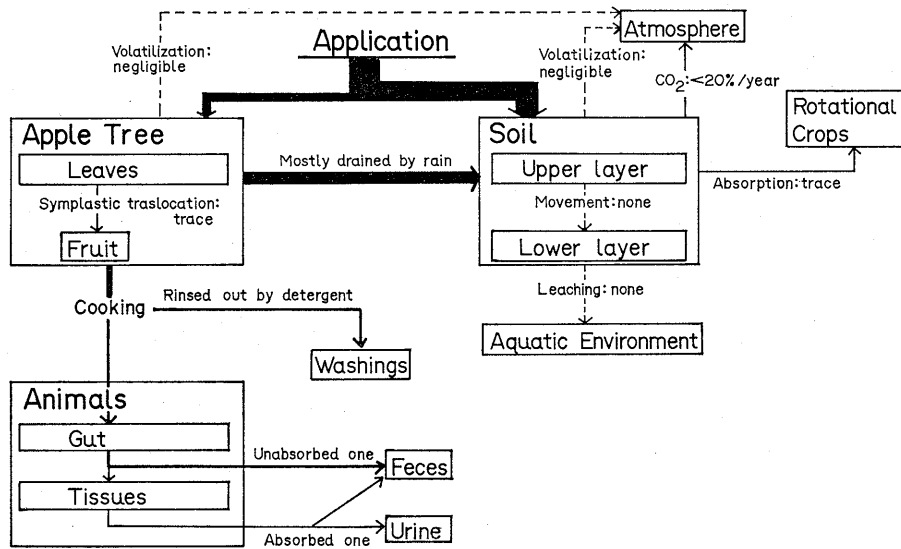


Fig. 8 Environmental fate of guazatine-TA applied to apple trees.

感を深くする。本研究の成果が、グアザチンの安全性評価の面のみならず、グアジン系化合物および塩基性有機化合物一般の環境中での動態を理解する上の資料として役立てば幸いである。

本研究の遂行にあたり多大のご支援とご指導をいただいた残留農薬研究所・理事（化学部長）後藤真康博士、侯野修身副部長および代謝研究室長加藤保博博士，多くのご教示を賜った東京農工大学の内山正昭教授，東京農業大学の山本 出教授および名古屋大学の鋤塚昭三教授，ならびに多大のご協力を賜った農業環境技術研究所の宍戸 孝博士，残留農薬研究所化学部の同僚諸氏および大日本インキ化学工業株式会社の関係各位に心からお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 大日本インキ化学工業株式会社： 私信
- 2) P. J. Herrington, H. R. Mapother & A. Stringer: *Pestic. Sci.* **12**, 515 (1981)
- 3) K. Sato, Y. Kato, S. Maki, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **10**, 81 (1985)
- 4) D. D. Davis, J. S. Mullins, G. E. Stolzenberg & G. D. Booth: *Pestic. Sci.* **10**, 19 (1979)
- 5) R. C. Brian: *Ann. Appl. Biol.* **59**, 91 (1967)
- 6) E. A. Baker: *Pestic. Sci.* **11**, 367 (1980)
- 7) B. E. Juniper & G. C. Cox: *Pestic. Sci.* **4**, 543 (1973)
- 8) C. E. Price & N. H. Anderson: *Pestic. Sci.* **16**, 369 (1985)
- 9) 佐藤 清・加藤保博・牧 伸一： 未発表
- 10) Y. Kato, K. Sato, S. Maki, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **10**, 661 (1985)
- 11) 加藤保博・佐藤 清・牧 伸一： 未発表
- 12) K. Sato, Y. Kato, S. Maki, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **10**, 91 (1985)
- 13) H. Kobayashi, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **2**, 427 (1977)
- 14) W. M. Draper & D. G. Crosby: *J. Agric. Food Chem.* **29**, 699 (1981)
- 15) W. M. Draper & D. G. Crosby: *J. Agric. Food Chem.* **32**, 231 (1984)
- 16) K. Mihara & J. Miyamoto: *J. Agric. Biol. Chem.* **38**, 1913 (1974)
- 17) K. Ogawa, M. Tsuda, F. Yamaguchi, I. Yamaguchi & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **1**, 219 (1976)
- 18) H. H. Sauer: *J. Agric. Food Chem.* **20**, 578 (1972)
- 19) H. Ohkawa, R. Yoshimura, T. Kohara & J. Miyamoto: *Agric. Biol. Chem.* **38**, 1035 (1974)
- 20) K. Sato, Y. Kato, S. Maki, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **11**, 271 (1986)
- 21) 小林裕子： 私信
- 22) K. Sato, S. Maki, Y. Kato, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **9**, 39 (1984)
- 23) H. Kobayashi, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **7**, 513 (1982)
- 24) D. D. Kaufman: "Bound and Conjugated Pesticide Residues," ed. by D. D. Kaufman, G. G. Still, G. D. Paulson & S. K. Bandel, American

- Chemical Society, Washington, DC, pp. 1-10, 1976
- 25) C. H. Giles, T. H. McEwan, S. N. Nakhwa & D. Smith: *J. Chem. Soc.* **1960**, 3973
- 26) S. B. Weed & J. B. Weber: "Pesticide in Soil and Water," ed. by W. D. Guenzi, Soil Science Society of America, Inc., publisher Madison, Wisconsin, pp. 39-66 (1974)
- 27) B. A. G. Knight & T. E. Tomlinson: *J. Soil Sci.* **18**, 233 (1967)
- 28) J. B. Weber, P. W. Perry & R. P. Upchurch: *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **29**, 678 (1965)
- 29) B. A. G. Knight & P. J. Penny: *Weed Res.* **10**, 40 (1970)
- 30) G. E. Coats, H. H. Funderburk, Jr., J. M. Lawrence & D. E. Davis: *Weed Res.* **6**, 58 (1966)
- 31) C. I. Harris & G. F. Warren: *Weeds* **12**, 120 (1964)
- 32) K. Sato, S. Maki, Y. Kato, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **9**, 49 (1984)
- 33) D. Rilly & W. Wilkinson: "Bound and Conjugated Pesticide Residues," ed. by D. D. Kaufman, G. G. Still, G. D. Paulson & S. K. Bandel, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 301-353, 1976
- 34) J. B. Weber & D. C. Scott: *Science* **152**, 1400 (1969)
- 35) J. B. Weber, S. B. Weed & J. A. Best: *J. Agric. Food Chem.* **17**, 1075 (1969)
- 36) J. B. Weber, R. C. Meek & S. B. Weed: *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **33**, 382 (1969)
- 37) J. R. Geisman: *Res. Rev.* **54**, 43 (1975)
- 38) 俣野修身・永吉宮子・小島路子・小林裕子・後藤真康: 日本農薬学会第8回大会講演要旨集, No. 306, 1983
- 39) 俣野修身・後藤真康: 日本農薬学会第12回大会講演要旨集, p. 157, 1987
- 40) M. Hirano, K. Maita, K. Mitsumori & Y. Shirasu: *J. Toxicol. Sci.* **10**, 266 (1985)
- 41) 大日本インキ化学工業株式会社: 私信
- 42) B. C. Pressman: *J. Biol. Chem.* **238**, 401 (1963)
- 43) J. B. Chappell: *J. Biol. Chem.* **238**, 410 (1963)
- 44) R. J. Guillory & E. C. Slater: *Biochim. Biophys. Acta* **105**, 221 (1965)
- 45) S. Papa, M. Gomez-Puyou & A. Gomez-Puyou: *Eur. J. Biochem.* **55**, 1 (1975)
- 46) 日本化学会編: 生化学ハンドブック, 第2巻-別冊(代謝マップ), 東京化学同人, 1979
- 47) A. C. -Rodriguez: *Experientia* **22**, 472 (1966)
- 48) D. B. Jack, J. B. Stenlake & R. Templeton: *Xenobiotica* **2**, 35 (1972)
- 49) R. E. Notari: "Biopharmaceutics and Pharmacokinetics: An Introduction," Marcel Dekker Inc., New York, pp. 101-179, 1975
- 50) K. Sato, Y. Kato, S. Maki, O. Matano & S. Goto: *J. Pesticide Sci.* **11**, 267 (1986)
- 51) F. Matsumura: "Environmental Toxicology of Pesticides," ed. by F. Matsumura, G. M. Boush & T. Misato, Academic Press, New York and London, pp. 525-548, 1972

略歴

佐藤 清

生年月日: 1950年5月3日

最終学歴: 東京農工大学農学部植物防疫学科

趣味: サイクリング

牧 伸一

生年月日: 1952年11月21日

最終学歴: 東京農業大学農学部農芸化学科

趣味: 天文写真