

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

〈代謝分解試験一覧表〉

資料No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代1-1 (非 GLP)	動物代謝に関する試験	ラット 雌雄	<p>試験項目：排泄バランス</p> <p>試験方法：経口及び静脈内投与 経口投与用量；2、20 mg/kg 静脈内投与用量；2 mg/kg 何れも [¹⁴C]クロルピクリンを単回投与</p> <p>尿及び糞を投与 24 時間毎に 168 時間後まで採取、呼吸は投与 6 時間後、以降 24 時間毎に 168 時間後まで採取 168 時間後に屠殺。カーカス、組織、ケージ洗液を採取。</p> <p>試験項目：血中キネティクス</p> <p>試験方法：経口単回投与 用量；2、20 mg/kg</p> <p>血液を投与 0.1 時間～168 時間後までに 最大 16 時点で採取。血漿を調製した。</p>	<p>ラットに経口投与された [¹⁴C]クロルピクリンは、性、用量に係りなく投与後 7 日間で投与量の 80～83%が排泄され、7～8%が投与 7 日後の体内に残留した。放射能の主排泄経路は性及び用量に係りなく呼吸であり、投与量の 48～54%が呼吸に、20～25%が尿に、7～12%が糞中に排泄された。</p> <p>静脈内投与群における放射能の排泄挙動は雌雄とも経口投与群と類似していた。投与後 7 日間で投与量の 50～56%が呼吸に、20～22%が尿に、5%が糞に排泄された。糞中への排泄が認められたことは、胆汁排泄の存在を示唆していた。</p> <p>経口投与及び静脈内投与の低用量群ラットにおける尿及び呼吸中への放射能の排泄率の比を基に、算出した低用量時の消化管吸収率は 93～97%と推定された。</p> <p>尿中に検出された放射性成分は未同定代謝物及び であった。</p> <p>糞中に検出された放射性成分は未同定代謝物及び であった。</p> <p>血漿中の薬物動態パラメーターは以下であった。 T_{max}：3～4.5 時間 C_{max}：低用量；1.29～1.44 μg eq/mL 高用量；14.9～15.7 μg eq/mL AUC： 低用量；119～126 μg eq · hr/mL 高用量；1030～1263 μg eq · hr/mL T_{1/2}：52～65 時間</p> <p>C_{max} 及び AUC は用量にほぼ比例し、雌雄間の AUC、ならびに雌雄及び用量間の半減期及び消失パターンに明確な差は認められなかった。 赤血球中の放射能濃度は血漿中とほぼ同様に推移したが、半減期は 長く 81～119 時間であった。雌雄間の AUC、雌雄及び用量間の半減期と消失パターンに差はなかった。</p>	(1996 年)	IX-7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

資料No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
代 I-1 (非 GLP)	動物代謝に 関する試験	ラット 雌雄	試験項目：胆汁排泄 試験方法：経口単回投与 用量：2 mg/kg 尿及び糞を投与 24、48 時間後に採取 胆汁及び呼気を投与 6、24、48 時間後に採取 48 時間後に屠殺。カーカス、組織、ケージ洗液を採取。	放射能の総回収率は、48 時間で 86～87%であった。投与後 48 時間で、胆汁中には投与量の 7～10%が、呼気中には 30～32%が排泄された。排泄バランス試験（経口投与）の低用量群と比較すると、呼気中排泄量は、低かったが、尿中排泄量（20～25% AD）は対応する排泄バランス試験低用量ラットの尿中排泄量（16～17% AD）と概ね同等であり、胆汁に排泄された放射性物質の腸肝循環は活発ではないと推測された。 吸収率の算出は、排泄バランス試験（経口投与及び静脈内投与）の低用量群ラットで行った。 胆汁中に検出された放射性成分は、 及び であった。	(1996 年)	IX-7
		ラット 雌雄	試験項目：組織分布 試験方法：経口単回投与 用量：2、20 mg/kg 臓器・組織を投与後 4.5、24、72 時間後に採取。168 時間後は、排泄バランス試験の結果を引用。	経口投与後の放射能の分布及び消長パターンは、性、用量に係りなく類似していた。また、臓器・組織中の濃度は用量の増加率に比例して検出され、雌雄間では類似していた。臓器・組織中 ¹⁴ C 濃度は肝臓で最も高く、腎臓がこれに次いだ。雌雄及び用量に係りなく、臓器・組織中の ¹⁴ C 濃度は、T _{max} 付近（4.5 時間）で最高となったのち経時的に低下したが、投与 7 日後においても全ての臓器・組織で有意な ¹⁴ C の残留が認められた。 高用量群の血漿中に検出された放射性成分は、 であった。		
		ラット 雄	試験項目：呼気排泄を主体とした排泄バランス及び呼気中代謝物の同定 試験方法：経口単回投与 用量：2、20 mg/kg 尿及び糞は投与 24、48 時間後に採取。 呼気は、投与 6、12、24、48 時間後に採取。 48 時間後に屠殺。カーカス、組織、ケージ洗液を採取。	経口投与された放射能は、用量に係りなく投与後 2 日間で投与量の 74～76%が排泄され、17～19%が投与 2 日後の体内に残留した。放射能の主排泄経路は用量に係りなく呼気であり、投与量の 52～54%が呼気に、13～18%が尿に、5～8%が糞中にそれぞれ排泄された。 呼気中放射性成分は と であり、投与後 48 時間後までの、 は投与量の 43～48%で、呼気中の主要代謝物であった。 は 10% AD 未済であった。		
		ラット	全試験項目のまとめ	ラットに経口投与されたクロロピクリンは用量及び雌雄にかかわらず、90%以上吸収される。代謝は極めて急速であり、主として呼気中に および として排泄されるほか、尿および胆汁を介して糞中にも排泄される。		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

資料No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代 1-2 (非 GLP)	動物代謝に関する試験	マウス 雌雄	試験項目：排泄バランス 組織分布 試験方法：経口単回投与 用量：30 mg/kg 尿及び糞を投与 24 時間毎に 168 時間後まで採取、 呼吸は投与 6 時間後、以降 24 時間毎に 168 時間後まで採取、 168 時間後に屠殺。カーカス、 組織、ケージ洗液を採取。	マウスに経口投与された ¹⁴ C)クロロピクリン の投与後 7 日間における総回収率は、87.3 ～87.9%であり、投与量 (AD) の 84.9～85.1 %が排泄され、体内には 2.31～2.77% AD が 残留していた。 主要排泄経路は、雌雄に係りなく呼吸 (41.4 ～44.4% AD) 及び尿 (33.1～39.3% AD) で あり、糞には 4.20～6.59% AD が排泄された。 また、投与 24 時間内に捕集された であり、この大部分が ラット代謝試験の結果から、 であると推定された。同様に と推定される成分は、31～32% AD であっ た。	(1996 年)	IX-27
		マウス 雌雄	試験項目：組織分布 試験方法：経口単回投与 用量：30 mg/kg 投与後 4.5、24、72 時間後に 屠殺。組織、カーカスを採取。	血漿中放射能濃度は、投与後 4.5 時間(Tmax 付近) で、22.77～24.40 mg eq./L であつた が、以後、半減期 26～32 時間で減衰し、168 時間後には 0.26～0.48 mg eq./L となつた。 体内残留放射能は、投与後 4.5 時間で、 41.3～43.9% AD、24 時間後では 9.99～19.8% AD に減少し、168 時間後には 2.31～2.77% AD となつた。全血、肺、肝臓及びハーダー 腺における放射能半減期は 40～56 時間であ り、雌雄いずれにおいても血漿中よりも長か つた。 組織-血漿濃度比は、投与後 4.5 時間で 0.5 ～1.3 であつたが、経時的に高くなり、168 時間後においても 1.7～13 と高い値であつ た。 従つて、 ¹⁴ C)クロロピクリン由来の放射能の 赤血球、肺、肝臓及びハーダー腺への親和性 は、血漿に比べて高いことが示された。		
		マウス 雄	試験項目：全身オートラジオ グラフィ 投与後 48、168 時間後に屠殺。 包埋、凍結、薄切片を作製。 凍結乾燥後、ARG 法により放 射能測定。	投与後 168 時間後の全身オートラジオグラ フィーの結果から、組織分布試験の結果が確認 された。		
試験 省略	植物代謝に 関する試験	クロロピクリンを有効成分とする農薬(製剤)は、登録されている使用方法からみて、当該農薬の成分 物質等が農作物を介して摂取するおそれが極めて低いと認められるため、試験省略した。学術誌に掲載 されたクロロピクリンの植物代謝試験に関する論文の要約を参考として記載した (IX-72 参考)。			IX-37	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代2 (非 GLP)	土壌中動態に関する試験	畑地 土壌 ()	試験方法： [14C]クロルピクリンを 150 mg/kg (乾土)で処理した。畑地圃場での土壌被覆を模して土壌施用後密栓期間を設け、3日間は密栓状態で、以降は解放状態で、25°Cでインキュベートした。土壌容器を収納する代謝チャンバーには揮発性物質捕集装置を接続した。施用0、3日後及び以降は経時的に土壌、揮発性物質捕集液(メタノール、NaOH等)を採取し、土壌から揮散した物質と土壌中の残留物を分析した。なお、3日後に採取した密栓試料は土壌容器内空気を強制排気して土壌容器内空気中の放射性物質を捕集したのち、土壌の分析を行った。	土壌に施用された放射能は、3日後の開封時に施用放射能(AR)の21~39%が土壌から揮散し、ほぼ全てがメタノールに捕集された。施用14又は21日後までに捕集された は82~88% ARであり、メタノールに57~69% AR、NaOH溶液に13~30% ARが捕集された。施用3及び7日後のメタノール捕集液中の放射性成分は、未変化のクロルピクリン(A:17~36%AR)及び微量の であったが、クロルピクリンの揮散は7日後までに終了した。それに伴いNaOH捕集液中の放射能が増加し、最終採取時で13~30% ARであった。NaOH捕集液中の放射性成分は、ほぼ全量が であった。一方、土壌中の放射能は施用直後の90~93%ARから、試験終了時では5~15% ARに減少した。そのうち、抽出性放射能は、施用3日後で31~35% ARであり、未変化のクロルピクリン(A:28~31%AR)及び が検出された。施用7日後以降は1% AR未満でありA及び は残留しないものと考えられた。また、未抽出性放射能は、3日後に最大(15~34% AR)であったが、その後は減少した。揮散消失も含めた土壌中のクロルピクリンの半減期は、 で4.84日、 で3.48日であった。 以上のことから、施用した 14Cクロルピクリンのかなりの部分は好氣的条件の土壌中で に無機化された。微量が に代謝され、一部は腐植物質に取り込まれた。実際の圃場ではクロルピクリンは十分な被覆により揮散が抑制され、土壌中の広い空間に拡散することから、より急速かつ徹底的に にまで無機化されると考えられた。	(1996年)	IX-38
試験省略	加水分解動態試験	加水分解性に関する試験において、pH 5.0、7.0及び9.0緩衝液中のクロルピクリンの25°Cにおける半減期は、何れのpHでも1年以上であり、分解が認められないことが示されたため、試験省略。				IX-48
代3 (GLP)	水中光分解動態試験	pH 5緩衝液 自然水(池水)	試験方法： [14C]クロルピクリンを2.6 µg/mLとなるように緩衝液及び自然水に添加し、キセノン光を用い、25°Cで54.6 W/m ² (300-400 nm)の光強度で最大約314時間連続照射した。経時的に試料を採取して放射能を測定し、放射性成分はHPLCで定量及び同定した。さらにGC/MSDにより放射性成分の同定も行った。	DT ₅₀ はpH 5緩衝液で65.4時間、自然水で19.7時間であり、春の東京における太陽光に換算するとそれぞれ16.2日及び5.8日であった。 検出された放射性成分はクロルピクリンと であった。クロルピクリンは光照射後急速に分解し、最終採取時点では1.8~3.0% ARとなった。それに伴い が増加し、最終採取時点で90% AR以上となった。 従って施用されたクロルピクリンはキセノン光に暴露後、急速に に分解し、顕著な中間分解物は検出されなかった。	(2007年)	IX-49
土吸1	土壌吸着性試験	クロルピクリンは試験系媒体である0.01mol/L塩化カルシウム水溶液中で不安定であること、土壌の分析法が塩酸性下でないことと確立できないこと及び物理化学的性状より揮散しやすいことから土壌吸着係数を求めることはできなかった。				IX-57

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

資料No	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
試験省略	生物濃縮性試験	クロルピクリンの n-オクタノール/水分配係数 (logPow = 2.6) は、3.5 未満であるため、試験省略。				IX-60
代 4 (非 GLP)	大気中光分解動態試験	空気	<p>試験項目： ①地表面大気中光分解 (直接光分解) ②NO₂含有大気中光分解 (間接光分解) ③短波長紫外線含有キセノン照射 (高層大気中光分解)</p> <p>試験方法： 2種類の供試空気 (A 純ガス+CO₂ 及び A 純ガス+CO₂+NO₂) を密閉型試験容器 (4口丸底フラスコ、キセノン光入射路は石英フランジ) に充填し、¹⁴Cクロルピクリンを約 21.6 ppmv (体積百万分率) で添加後キセノン光を連続照射して、空气中の濃度を経時的に測定した。</p> <p>①の試験では A 純ガス+CO₂ と光強度 0.41mW/cm²(300-400 nm) のキセノン光、②の試験では A 純ガス+CO₂+NO₂ と光強度 0.41mW/cm²(300-400 nm) のキセノン光、③の試験では A 純ガス+CO₂ と光強度 0.62mW/cm²(280-400 nm) のキセノン光を用い、25°C で、それぞれ、21、14 及び 7 日間連続照射した。</p>	<p>クロルピクリンの測定 DT₅₀ (暗所対照区の減衰速度を補正した DT₅₀) は試験①、②及び③において、それぞれ 10 日(11 日)、8 日(8 日)及び 1.6 日 (1.7 日) であった。また試験①の結果から、東京 (小平市) の 5 月の自然太陽光及び東京春 (4 月~6 月) の自然太陽光に換算した時の半減期は何れも約 4 日であった。</p> <p>従って、クロルピクリンは自然太陽光換算半減期約 4 日で急速に分解され、間接光分解の寄与率は低いが、太陽光を模した短波長紫外線を含む光ではさらに急速に分解されることが判明した。よって対流圏に滞留する可能性は低いと結論される。</p> <p>主要光分解物は であり、高濃度クロルピクリンの気相中の主要光分解物と報告されている は検出されなかった。</p>	(1996 年)	IX-61
参考	植物代謝に関する試験	いちご、てんさい、緑豆	<p>試験方法： 実圃場を模した条件下で 5.6kg/アール相当量の¹⁴Cクロルピクリンを土壌に注入処理し、放置し、14 日後に供試植物を播種/定植した。 植物を所定期間生育させた後 (最長は成熟期まで)、土壌及び植物をサンプリングした。 所定の方法で土壌及び植物の各部位に含まれる放射性炭素量を測定し、また放射性成分の分離/分画を行い、特徴づけを行った。</p>	<p>成熟期の植物体に含まれる総放射性炭素量は 0.1-2.7ppm であり、抽出及び抽出残渣画分からはクロルピクリン及び は検出されなかった。 抽出画分からは極性物質として、¹⁴Cグルコース、果糖、ショ糖が確認された。抽出残渣画分ではデンプン、タンパク質、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、セルロースに放射性炭素が分布していた。 この現象は、好氣的土壌中の最終代謝生成物である が植物体内で を経て上記成分となったものである。</p>	American Chemical Society Symposium series 652 (1966) を引用	IX-72

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

〈代謝分解物一覧表〉

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	クロルピクリン	trichloronitromethane	$\begin{array}{c} \text{Cl} \\ \\ \text{Cl}-\text{C}-\text{NO}_2 \\ \\ \text{Cl} \end{array}$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

1. 動物代謝に関する試験

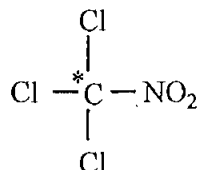
^{14}C 標識クロルピクリンを用いたラットにおける動物代謝試験 (資料 代 1-1)

試験機関：

報告書作成年：1996 年

供試標識化合物：

クロルピクリンの炭素を ^{14}C で標識した [^{14}C]クロルピクリン



構造式；

*： ^{14}C 標識位置

化学名； trichloronitromethane

比放射能； MBq/mmol

放射化学的純度；

標識位置の選定理由：本化合物の分子内の ^{14}C で標識可能な唯一の炭素であり、本化合物の炭素由来分解物の追跡が可能である。

供試動物：

種及び系統； 雌雄ラット (SPF/VAF 動物)

投与時週齢； 9 週齢

投与時体重； 雄 178-224 g、雌 121-147 g (群平均値)

飼育環境：入手後屠殺時まで水道水及びラット飼育用固形飼料を自由に摂取させ、下記環境の動物室で飼育した。馴化飼育期間は 4 日以上であり、胆管カニュレーション手術を施したラットには水道水の代わりに 0.25% グルコース含有 0.45% 食塩水を自由に摂取させた。

温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、明暗サイクル 12 時間、新鮮空気換気回数 > 20 回/時間。

ケージ：馴化飼育期間中は金網床ケージで群飼育した。投与後のすべての各個体はガラス製代謝ケージに個体別に収容して無拘束飼育した。

試験方法：

投与；投与経路として経口投与及び静脈内投与の 2 経路を設定した。投与液は、 [^{14}C]クロルピクリンを直接又は非放射性クロルピクリン (純度 99.5%) で放射能希釈し、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

に懸濁して調製した。

低用量は、2 mg/kg、高用量は 20 mg/kg とし、単回強制投与した。

用量設定根拠；

試験群の設定及び投与：次の試験群を設け、経口投与の場合は胃ゾンデで、静脈内投与の場合は尾静脈内にいずれも単回強制投与した。

試験群の略号	投与経路	用量 (mg/kg)	匹数と性	屠殺時点 (hr)	主調査事項
K	経口	2	3♂+4♀	168	血漿及び赤血球中濃度推移
B (経口投与)		2	4♂+4♀	168	尿、糞、呼気排泄、体内分布、排泄物及び組織中代謝物
C		2	4♂+3♀	48	胆管カニューレシオン個体の尿、糞、胆汁排泄と胆汁中代謝物
D		2	6♂+6♀	4.5、24、72	体内分布、組織中代謝物(肝臓、血漿) (2匹/時点/性)
A (呼気主体)		2	2♂	48	呼気排泄を主体とした尿、糞、呼気排泄、体内残留、呼気中代謝物
K		20	3♂+4♀	168	血漿及び血漿中濃度推移
B (経口投与)		20	4♂+4♀	168	尿、糞、呼気排泄、体内分布、排泄物及び組織中代謝物
D		20	6♂+6♀	4.5、24、72	体内分布、組織(肝臓、血漿)中代謝物 (2匹/時点/性)
A (呼気主体)	20	2♂	48	呼気排泄を主体とした尿、糞、呼気排泄、体内残留、呼気中代謝物	
B (静脈内投与)	静脈内	2	4♂+4♀	168	尿、糞、呼気排泄、体内分布、排泄物及び組織中代謝物

試料採取：

1) 胆汁及び血液の採取方法

試験群 C のラットに施術した胆管カニューレシオンより胆汁試料を採取。

試験群 K のラットの頸静脈に施術したカニューレシオンより血液試料を採取。

試験群 B 及び D のラットの後大静脈から血液試料を採取。

血液試料を遠心分離して血漿試料を調製した。

2) 呼気の捕集

呼気中の放射性物質は代謝ケージ内の空気を次の捕集剤に順次、連続通気発泡させ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

て捕集し、各捕集剤は各採取時点で交換した。尚、試験群 A では、NaOH 捕集剤は投与後 21、30、36 及び 45 時間でも新鮮捕集剤と交換し、各採取時点の捕集剤と合わせた。

試験群 A

- ① メタノール (1 連 ; 5°C に冷却)
- ② 冷却管 (揮発したメタノールの捕集用)
- ③ 2 M の NaOH (2 連)

試験群 B

- ① 2 M の NaOH (1 連)
- ② モノエタノールアミン : メチルセロソルブ(1:1、v/v)混液 (2 連)

3) 試料の採取

次表に示すように各試料を各試験群から各時点でそれぞれ採取した。

試料	試験群	投与後時間 (hr)	
尿及び糞	B	24、48、72、96、120、144、168	
	A 及び C	24、48	
胆汁	C	6、24、48	
呼気	B	6、24、48、72、96、120、144、168	
	A	6、12、24、48	
	C	6、24、48	
ケージ洗液	B	168	
	A 及び C	48	
臓器/組織	B	168	
	A 及び C	48	
	D	4.5、24、72	
血液	K	両用量 群 雌	0.1、0.5、1、2、3、4.5、6、9、24、48、72、 96、120、144、168
		低用量 群 雄	0.1、0.5、1、2、3、4.5、6、9、24、48、72、 96、120、168
		高用量 群 雄	0.1、0.5、1、2、3、4.5、6、9、24、48、72、 96、168
	B	168	
	D	4.5、24、72	

採取臓器/組織 :

試験群 B 及び D ; 血液、脂肪組織、骨髓、骨、骨格筋及び皮膚 (被毛付)、
被毛、脳、脳下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺、唾液腺、肺、胸腺、
心筋、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、精巣、前立腺、卵巣 (輸卵管を
含む)、子宮、胃 (内容物を含む)、腸管 (内容物を含む) 及びカーカ
ス

試験群 C ; 胃 (内容物を含む)、腸管 (内容物を含む) 及びカーカス

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

分析方法：

① 放射能測定

尿試料はろ過後、ろ過尿は直接、液体シンチレーション計測 (LSC) で、ろ過残渣及びろ紙は燃焼処理後 LSC で放射能測定し、その含量を尿中放射能とした。胆汁及びケージ洗液は直接 LSC で放射能測定した。糞は冷水又は水：2-プロパノール (1:1, v/v) 混液でホモジナイズしてその一部を、LSC 測定した。血液及び臓器・組織は、一部又は全量を可溶化処理又は燃焼処理したのち、LSC 法で放射能を定量した。

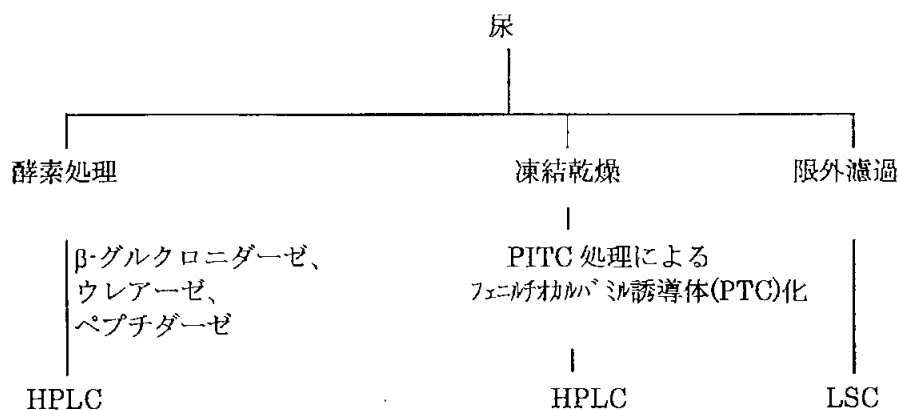
② 代謝物の同定, 定量

1) 分析試料の調製

試験群 A の呼気捕集液 (メタノール及び NaOH) 試験群 B (経口、静脈投与) の尿、試験群 B (経口投与) の糞及び試験群 C の胆汁の各採取時点の試料をそれぞれ、用量、性、投与経路別に一部又は全量を合わせて代謝物分析用試料とした。また、試験群 B (経口投与) 及び D の 4.5、72 及び 168 時間後の血漿、赤血球、肝臓試料を用量、性別に一部又は全量を 1 点にまとめ、代謝物分析用試料とした。

2) 代謝物の定量及び特徴付け

- ・ 定量；メタノール捕集液は直接、尿及び胆汁はろ過後、HPLC 分析した。糞試料はメタノール及びメタノール/水 (1:1, v/v) 混液で抽出して抽出液を HPLC 分析した。HPLC 溶出液を分画し、各画分を LSC で定量した。
- ・ 特徴付け；尿中代謝物は、下図に示すように酵素加水分解 (スルファターゼ含有β-グルクロニダーゼ、ウレアーゼ、ペプチダーゼ)、フェニルイソチオシアネート (PITC) で誘導体化処理 (尿中アミノ酸の調査)、限外濾過フィルターを用いた限外濾過及び尿中正常成分との HPLC 保持時間の比較により特徴付けた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

尿中代謝物分析法概要

胆汁中代謝物は、酵素加水分解（スルファターゼ含有 β -グルクロニダーゼ）及び限外濾過後の HPLC 分析により特徴付けた。また、固相抽出して抽出液を TLC、HPLC、及び HPLC/MS で分析して胆汁中正常成分、胆汁酸及びその抱合体の調査を行った。血漿、肝臓、赤血球はトリクロロ酢酸及びアセトン、メタノールで振とう抽出、超音波処理及び遠心分離を繰り返して抽出し、抽出液と抽出残渣（「粗蛋白質画分」）に分離し、それぞれを LSC 分析した。

・代謝物の同定；

尿及び胆汁中の主要代謝物を HPLC で単離し、TLC 及び HPLC コクロマトグラフィーならびに HPLC/MS で同定した。

NaOH 捕集液中の ^{14}C は ^{14}C で ^{14}C の沈殿とすることによって同定した。

結 果：結果の概要を表 1～18 と図 1 及び図 2 にまとめた。

吸収・排泄：

1. 血漿中及び赤血球中 ^{14}C 濃度の経時推移（表 1、図 1 及び 2）

1) 血漿中濃度

^{14}C クロルピクリン (A) の吸収は急速であり、性ならびに用量に係りなく血漿中の ^{14}C 濃度は投与後 3～4.5 時間で最高値 (C_{\max}) に達したのち、以降は 1 相性の一次式に従った消失を示し、52～65 時間の半減期で穏やかに低下した。 C_{\max} 及び無限時間までの血漿中濃度曲線下面積 (AUC) は用量にほぼ正比例していた。また、雌雄間の AUC、ならびに雌雄及び用量間の半減期及び消失パターンに明確な差は認められなかった。

2) 赤血球中濃度

赤血球中の ^{14}C 濃度も血漿中 ^{14}C 濃度とおおむね同様に推移し、投与後 2～4.5 時間で最高値 (C_{\max}) に達したのち、以降は 1 相性の一次式に従った消失を示した。ただし、赤血球中での消失速度は血漿中よりも遅く、半減期は血漿中の約 1.5～1.9 倍の 81～119 時間であった。また、血漿中 ^{14}C 濃度の推移と同様に雌雄間の AUC、ならびに雌雄及び用量間の半減期及び消失パターンに明確な差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 1 経口投与後の血漿及び赤血球中 ^{14}C -濃度($\mu\text{g eq/mL}$ 血漿又は g 赤血球)の推移

時間 (hr)	血漿				赤血球			
	低用量(2 mg/kg)		高用量(20 mg/kg)		低用量(2 mg/kg)		高用量(20 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.1	0.485	0.673	4.211	6.234	0.443	0.659	5.988	8.759
0.5	0.869	0.977	7.286	8.899	0.667	0.933	7.211	10.127
1	1.001	1.028	10.784	11.241	0.861	1.050	9.686	12.046
2	1.343	1.059	13.712	14.398	1.014	1.064	11.825	14.068
3	1.386	1.062	12.826	14.943	0.993	1.007	12.569	14.493
4.5	1.441	1.290	15.738	13.173	0.936	1.072	13.773	13.832
6	1.236	1.286	11.460	14.329	0.949	1.045	11.567	13.988
9	1.212	1.167	12.628	12.536	0.915	1.003	11.519	12.410
24	0.987	0.894	10.178	9.483	0.794	0.809	9.621	9.698
48	0.878	0.811	7.400	6.388	0.738	0.816	7.818	7.803
72	0.613	0.562	6.103	4.730	0.626	0.645	6.608	6.663
96	0.489 ¹	0.473	3.802 ¹	3.173 ³	0.650 ¹	0.552	5.088 ¹	6.576 ³
120	0.358 ¹	0.365 ³	NA	2.597 ²	0.557 ¹	0.519 ³	NA	4.264 ²
144	NA	0.296 ¹	NA	1.924 ¹	NA	0.426 ¹	NA	4.048 ¹
168	0.220	0.215	2.296	1.826	0.357	0.350	3.876	3.736
Tmax (hr)	4.5	4.5	4.5	3	2	4.5	4.5	3
Cmax	1.441	1.290	15.738	14.943	1.014	1.072	13.773	14.493
吸収速度(hr ⁻¹)	1.827	1.006	1.456	2.241	-	-	-	-
AUC	126.408	119.455	1252.555	1029.859	165.913	161.147	1667.725	1586.473
半減期(hr)	63.357	65.448	64.351	52.294	119.181	106.575	93.962	81.266

AUC : $\mu\text{g eq} \cdot \text{hr/mL}$ 又は g 、半減期 : 最終相半減期、NA : 試料採取せず、- : 算出せず。

肩付き数値の無い濃度等は 3 匹(雄)又は 4 匹(雌)の平均値、肩付き数値は動物数。

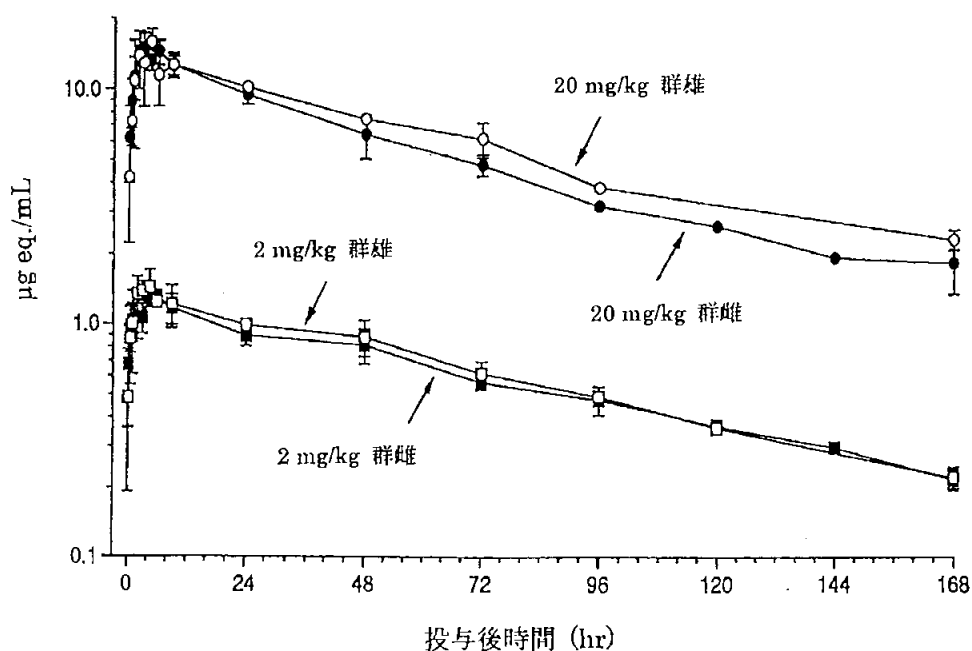


図 1 血漿中 ^{14}C -濃度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

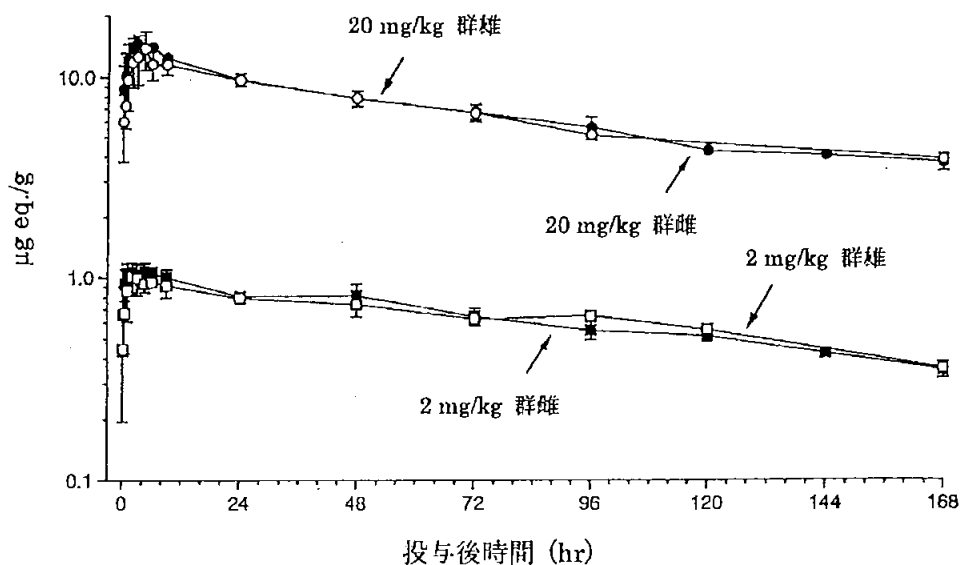


図 2 赤血球中 ¹⁴C-濃度

2. 排泄 (表 2~5)

- 1) 経口投与後ラットにおける排泄 (試験群 B (経口投与) 及び試験群 A、表 2 及び 3) すべてのラットで経口投与された放射能の 89~94%が回収された。

試験群 B (経口投与) では性、用量に係りなく投与後 7 日間で投与量の 80~83%が排泄され、7~8%が投与 7 日後の体内に残留した。放射能の主排泄経路は性及び用量に係りなく呼気であり、投与量の 48~54%が呼気に、20~25%が尿に、7~12%が糞中にそれぞれ排泄された。

試験群 A では用量に係りなく投与後 2 日間で投与量の 74~75%が排泄され、17~19%が投与 2 日後の体内に残留した。放射能の主排泄経路は用量に係りなく呼気であり、投与量の 52~54%が呼気に、13~18%が尿に、5~8%が糞中にそれぞれ排泄された。

何れの試験群においても明確な性差及び用量差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 2 試験群 B (経口投与) における ¹⁴C 排泄バランス(投与量%)

時間 (hr)	低用量 (2 mg/kg)						高用量 (20 mg/kg)					
	雄			雌			雄			雌		
	呼気	尿	糞	呼気	尿	糞	呼気	尿	糞	呼気	尿	糞
6	34.49	NA	NA	41.01	NA	NA	31.44	NA	NA	40.64	NA	NA
24	43.26	14.26	7.96	47.92	13.87	3.26	45.67	17.15	3.53	50.07	14.84	3.04
48	45.39	16.50	9.86	49.54	15.97	7.56	48.31	20.08	5.76	51.95	16.95	4.84
72	46.25	17.76	10.49	50.31	17.30	8.24	49.20	21.72	6.31	52.76	18.24	5.40
96	46.81	18.73	11.06	50.81	18.29	8.82	49.73	22.92	6.74	53.27	19.25	5.97
120	47.27	19.38	11.42	51.18	19.10	9.27	50.11	23.71	7.12	53.64	20.04	6.54
144	47.63	19.86	11.68	51.48	19.72	9.58	50.41	24.32	7.54	53.96	20.63	6.95
168	47.90	20.24	11.89	51.72	20.21	9.88	50.63	24.82	7.90	54.21	21.14	7.36
総排泄率	80.03			81.81			83.35			82.72		
ケージ洗液	0.17			0.09			0.14			0.09		
カーカス	8.41			7.05			8.04			8.26		
総回収率	88.61			88.94			91.53			91.06		

NA : 試料採取せず、数値は 4 匹の平均値。

表 3 試験群 A (呼気分析主体) における ¹⁴C 排泄バランス(投与量%)

時間 (hr)	低用量 (2 mg/kg) 雄					高用量 (20 mg/kg) 雄				
	呼気			尿	糞	呼気			尿	糞
	MeOH*	NaOH*	合計			MeOH*	NaOH*	合計		
6	2.28	41.54	43.82	NA	NA	2.13	32.84	34.97	NA	NA
12	3.78	45.05	48.83	NA	NA	4.60	39.43	44.03	NA	NA
24	5.22	46.82	52.04	10.78	5.35	7.58	41.82	49.41	14.68	3.72
48	5.86	48.15	54.02	12.66	7.64	8.94	43.33	52.26	17.68	5.10
総排泄率	74.31					75.05				
ケージ洗液	0.35					0.31				
カーカス	19.00					16.65				
総回収率	93.67					92.01				

* : 捕集剤、NA : 試料採取無し、数値は 2 匹の平均値。

2) 静脈内投与後ラットにおける排泄 (試験群 B (静脈内投与)、表 4)

試験群 B (静脈内投与) における排泄挙動は雌雄とも経口投与群と類似していた。投与後 7 日間で投与量の 50~56%が呼気に、20~22%が尿に、5%が糞にそれぞれ排泄された。7 日後の体内に残留する割合 (11~15%) は経口投与群よりもやや高かった。静脈内投与群においても糞中への排泄が認められ、胆汁排泄のあることを示唆していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 4 試験群 B (静脈内投与) における ^{14}C 排泄バランス(投与量%)

時間 (hr)	低用量 (2 mg/kg) 雄			低用量 (2 mg/kg) 雌		
	呼気	尿	糞	呼気	尿	糞
6	29.78	NA	NA	42.13	NA	NA
24	42.29	11.92	1.30	50.61	12.81	1.13
48	46.06	14.58	2.51	53.01	15.78	2.49
72	47.45	16.53	3.09	54.09	17.83	3.29
96	48.29	18.08	3.70	54.79	19.28	4.04
120	48.82	19.13	4.12	55.29	20.23	4.53
144	49.28	19.89	4.46	55.69	20.99	4.88
168	49.64	20.47	4.76	56.00	21.62	5.21
総排泄率	74.87			82.82		
ケージ洗液	0.26			0.15		
カーカス	14.98			11.06		
総回収率	90.11			94.03		

NA : 試料採取せず、数値は 4 匹の平均値。

3) 胆汁中への排泄 (試験群 C、表 5)

胆管カニューレションラットにおける 48 時間後の放射能の総回収率は 86~87%であった。胆汁中には 48 時間で投与量の 7% (雌) ~10% (雄) が排泄された。呼気中に排泄された放射能は、48 時間で投与量の 30~32%であり、試験群 B (経口投与) の低用量群ラットよりも 13% (雄) ~20% (雌) ほど低かった。尿中に排泄された放射能 (投与量の 20~25%) は対応する非カニューレションラット (投与量の 16~17%) と概ね同等であり、胆汁に排泄された放射性物質の腸肝循環は活発ではないと推測された。

表 5 胆管カニューレションラットにおける ^{14}C 排泄バランス (投与量%)

時間(hr)	低用量 (2 mg/kg) 雄			低用量 (2 mg/kg) 雌		
	6	24	48	6	24	48
胆汁	4.04	8.17	10.30	2.57	5.33	6.82
呼気	15.41	28.76	31.57	16.76	27.89	30.03
尿	NA	17.57	20.20	NA	22.12	24.84
糞	NA	8.15	13.37	NA	10.58	13.78
総排泄率	75.44			75.47		
ケージ洗液	0.14			0.21		
カーカス	10.21			11.08		
総回収率	85.78			86.76		

NA : 試料採取せず、数値は 3 (雌) 又は 4 (雄) 匹の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

4) 経口投与ラットにおける吸収率 (表 6)

以下の①及び②の理由により経口投与後の¹⁴Cクロルピクリン (A) の消化管吸収率を胆汁排泄試験の結果から求めるのは不適切と判断され、試験群 B (経口投与) 及び試験群 B (静脈内投与) の低用量 (2 mg/kg) 群ラットにおける尿及び呼気中への放射能の排泄率の比を基に算出した低用量時の消化管吸収率は、雄 97%及び雌 93%でほぼ同率であった。

①胆汁排泄試験では糞排泄率が非カニキュレーション動物よりも高く、手術で吸収率が低下したと推測される。

②カニキュレがあるため呼気排泄物を定量的に捕集することが困難であった。

高用量における消化管吸収率は、試験群 B (経口投与) における尿及び呼気中排泄率に用量差が認められないことから、低用量と同等であると推定された。

表 6 低用量経口投与後の推定吸収率 (投与量%, 168 時間)

		静脈内投与 呼気+尿 (a)	経口投与 呼気+尿 (b)	推定吸収率 b/a
低用量 (2 mg/kg)	雄	70.11	68.14	97.19%
	雌	77.62	71.93	92.67%

3. 体内分布 (表 7~11)

経口投与群では、血漿中 ¹⁴C-濃度の最高時点付近 (4.5 時間)、24 時間、72 時間 (以上試験群 D) 及び 168 時間 (試験群 B) の 4 時点で、また静脈内投与群 (試験群 B) では、168 時間後に、¹⁴C の体内分布を調査した。

経口投与後の放射能の分布及び消長パターンは、性、用量に係りなく類似していた。また、臓器・組織中の濃度も雌雄間で類似していた。臓器・組織中 ¹⁴C-濃度は肝臓で最も高く、腎臓がこれに次いだ。高用量群の臓器・組織中 ¹⁴C-濃度は、大部分の臓器・組織で低用量群の 12 倍 (雄) ~14 倍 (雌) であり、用量の増加率 (10 倍) にほぼ対応していた。雌雄及び用量に係りなく、ほぼ全ての臓器・組織中の ¹⁴C-濃度は、血漿中の ¹⁴C-濃度が最高濃度付近となる時点 (4.5 時間) で最高となったのち経時的に低下したが、投与 7 日後においても全ての臓器・組織で顕著な ¹⁴C の残留が認められ、組織中の残留量について、雌雄及び用量間において統計学的に有意な組織がいくつか認められた。しがしながら、雌雄間の差は最大でも 1.7 倍未満であり、顕著な性差はなかったと判断した。また用量間ではそれらの組織では用量にほぼ比例し、高用量群では低用量群に対して平均で雄 11 倍、雌 9 倍であった。放射能の主な残留組織は用量に係りなく雌雄とも肝臓と被毛であり、被毛では時間の経過とともに ¹⁴C-濃度がやや高くなったが、被毛中の放射能が、放射性揮発性物質が表面付着したものか、吸収された放射能が被毛に移行したものかは明確ではなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

静脈内投与群における分布パターンは経口投与群とほぼ同じであったが、経口投与群に比べて全体的にやや高濃度であり、特に赤血球と脾臓中で高かった。雄では被毛中 ^{14}C -濃度が、最も高かった。

静脈内及び経口投与群のいずれにおいても胃内容物から投与 7 日後においても顕著な放射能が検出されたことは吸収された放射能が胃液に分泌されていることを示唆していた。

表 7 低用量 (2 mg/kg) 経口投与後の ^{14}C の体内分布推移：投与量%

	雄				雌			
	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間
全血	3.262	2.398	1.530	0.699 ^{b)}	2.635	1.945	1.331	0.739
赤血球	1.195	1.109	0.707	0.379 ^{b)}	1.067	0.817	0.634	0.391 ^{b)}
血漿	2.145	1.331	0.874	0.328 ^{b)}	1.701	1.272	0.736	0.376
脂肪	0.363	0.189	0.150	0.107	0.276	0.164	0.134	0.104
副腎	0.005	0.004	0.003	0.002 ^{a)}	0.007	0.007	0.004	0.003 ^{a)}
骨	2.006	1.624	0.911	0.505 ^{a)}	1.632	1.183	0.740	0.377 ^{a)}
脳	0.078	0.038	0.025	0.020	0.095	0.046	0.036	0.024
眼球	0.013	0.009	0.006	0.003 ^{a)}	0.015	0.011	0.008	0.004 ^{a)}
ハーパー腺	0.056	0.044	0.018	0.010	0.056	0.047	0.021	0.010
心筋	0.059	0.043	0.030	0.020 ^{a)}	0.054	0.039	0.027	0.017 ^{a)}
腎臓	0.519	0.354	0.212	0.098	0.458	0.339	0.203	0.098
肝臓	7.195	4.096	2.171	0.993 ^{b)}	6.623	3.735	1.918	0.783
肺	0.115	0.098	0.069	0.038 ^{b)}	0.139	0.108	0.076	0.041
脾臓	0.164	0.062	0.038	0.024	0.156	0.074	0.047	0.028
脳下垂体	0.001	0.000	0.000	0.000 ^{a)}	0.001	0.001	0.001	0.000 ^{a)}
唾液腺	0.067	0.033	0.021	0.013	0.072	0.037	0.024	0.013
骨格筋	4.130	3.290	2.360	1.788	3.737	3.190	1.812	1.485 ^{b)}
脾臓	0.062	0.050	0.032	0.016 ^{a)b)}	0.053	0.049	0.036	0.021 ^{a)}
胸腺	0.026	0.020	0.016	0.008 ^{a)}	0.034	0.034	0.024	0.012 ^{a)b)}
甲状腺	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001	0.000
前立腺	0.013	0.009	0.010	0.005				
精巣	0.253	0.193	0.137	0.065				
卵巣					0.015	0.013	0.008	0.004
子宮					0.040	0.047	0.033	0.019
皮膚・被毛	5.946	5.381	5.545	4.291	4.029	3.566	2.587	2.479
消化管	18.893	5.707	2.650	1.011 ^{a)b)}	21.074	6.976	2.577	1.508 ^{a)b)}
胃	5.948	3.154	1.975	0.758 ^{*a)b)}	12.273	3.469	1.743	1.129 ^{**a)b)}
腸管	12.945	2.554	0.674	0.307	8.801	3.507	0.834	0.379
カーカス	14.090	10.108	7.425	5.595 ^{a)b)}	10.810	7.569	5.485	4.011 ^{a)}
屍体全体	42.875	22.038	13.637	8.413 ^{a)}	41.055	20.170	11.214	7.047 ^{a)b)}

168 時間後は 4 匹の、その他は 2 匹の平均値。

消化管、胃、腸管は内容物を含む。* 内容物は 0.608%、**内容物は 0.971%。

168 時間について有意差検定 (t-test) を実施。

^{a)}雌 (雄) ラットと比較して有意差あり ($p < 0.01$)、^{b)}高用量群と比較して有意差あり ($p < 0.01$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

表 8 低用量 (2 mg/kg) 経口投与後の ^{14}C の体内分布推移：濃度($\mu\text{g eq/g}$)

	雄				雌			
	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間
全血	0.964	0.705	0.432	0.199	0.884	0.639	0.419	0.227
赤血球	0.814	0.635	0.409	0.225 ^{a)}	0.767	0.576	0.422	0.265 ^{a)}
血漿	1.124	0.803	0.482	0.178	1.068	0.783	0.440	0.212
脂肪	0.139	0.072	0.055	0.039	0.120	0.070	0.055	0.041
副腎	0.504	0.377	0.294	0.149	0.483	0.410	0.272	0.156
骨	0.353	0.284	0.153	0.085	0.326	0.232	0.139	0.069
骨髓	0.628	0.574	0.310	0.127	0.642	0.473	0.265	0.133
脳	0.171	0.086	0.055	0.046	0.162	0.076	0.058	0.040
眼球	0.215	0.156	0.098	0.054	0.211	0.149	0.099	0.056
ハーダー腺	0.966	0.743	0.307	0.164	1.058	0.747	0.339	0.151
心筋	0.369	0.255	0.170	0.124	0.355	0.254	0.164	0.110
腎臓	1.321	0.877	0.517	0.240	1.273	0.934	0.544	0.262
肝臓	3.569	1.984	0.933	0.428	3.715	2.126	1.033	0.403
肺	0.607	0.503	0.354	0.190	0.622	0.495	0.342	0.190
膵臓	0.892	0.345	0.202	0.125	0.752	0.333	0.209	0.126
脳下垂体	0.401	0.286	0.256	0.105	0.418	0.334	0.203	0.112
唾液腺	0.692	0.348	0.223	0.124	0.712	0.351	0.228	0.117
骨格筋	0.198	0.157	0.108	0.082	0.203	0.170	0.093	0.074
脾臓	0.478	0.363	0.249	0.131	0.416	0.359	0.245	0.143
胸腺	0.404	0.390	0.299	0.139	0.398	0.412	0.290	0.134
甲状腺	0.362	0.272	0.262	0.102	0.297	0.256	0.178	0.111
前立腺	0.420	0.352	0.263	0.120				
精巣	0.392	0.290	0.204	0.111				
卵巣					0.493	0.451	0.287	0.137
子宮					0.385	0.461	0.277	0.144
皮膚・被毛	0.672	0.605	0.595	0.463	0.517	0.448	0.311	0.291
皮膚	0.705	0.653	0.548	0.269	0.508	0.463	0.398	0.271
被毛	0.025	0.075	0.604	2.106	0.081	0.104	0.243	0.921
カーカス	0.340	0.244	0.175	0.133 ^{a)}	0.303	0.209	0.146	0.106 ^{a)}

168 時間後は 4 匹の、その他は 2 匹の平均値。

168 時間について有意差検定 (t-test) を実施。

^{a)}雌 (雄) ラットと比較して有意差あり ($p < 0.01$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表9 高用量 (20 mg/kg) 経口投与後の¹⁴Cの体内分布推移：投与量%

	雄				雌			
	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間
全血	3.854	2.828	1.553	0.897 ^{b)}	4.142	2.603	1.402	0.805
赤血球	1.927	1.210	0.801	0.481 ^{b)}	1.868	1.243	0.706	0.491 ^{b)}
血漿	1.988	1.751	0.777	0.426 ^{a)b)}	2.306	1.446	0.728	0.310 ^{a)}
脂肪	0.391	0.261	0.146	0.146 ^{a)}	0.384	0.193	0.161	0.095 ^{a)}
副腎	0.006	0.005	0.003	0.002 ^{a)}	0.011	0.009	0.005	0.003 ^{a)}
骨	2.488	1.475	0.822	0.548 ^{a)}	2.472	0.800	0.896	0.462 ^{a)}
脳	0.098	0.048	0.028	0.019 ^{a)}	0.142	0.070	0.035	0.025 ^{a)}
眼球	0.015	0.011	0.006	0.003	0.023	0.015	0.008	0.004
ハーパー腺	0.054	0.043	0.019	0.009	0.061	0.052	0.021	0.009
心筋	0.068	0.048	0.029	0.018	0.078	0.045	0.031	0.018
腎臓	0.506	0.379	0.203	0.098	0.567	0.355	0.212	0.097
肝臓	5.605	3.486	1.920	0.820 ^{b)}	6.183	3.528	1.722	0.765
肺	0.126	0.123	0.078	0.049 ^{b)}	0.170	0.132	0.083	0.046
膵臓	0.114	0.073	0.038	0.028	0.189	0.079	0.048	0.027
脳下垂体	0.001	0.001	0.000	0.000 ^{a)}	0.001	0.001	0.001	0.000 ^{a)}
唾液腺	0.056	0.036	0.022	0.012	0.079	0.041	0.022	0.012
骨格筋	5.497	3.874	2.176	1.576	6.148	3.181	2.007	1.304 ^{b)}
脾臓	0.065	0.050	0.036	0.019 ^{b)}	0.081	0.051	0.039	0.021
胸腺	0.029	0.031	0.018	0.007	0.044	0.032	0.019	0.009 ^{b)}
甲状腺	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001	0.000
前立腺	0.019	0.018	0.011	0.005				
精巣	0.266	0.208	0.122	0.067				
卵巣					0.018	0.014	0.007	0.004
子宮					0.093	0.041	0.034	0.011
皮膚・被毛	6.973	7.495	7.605	4.389	6.295	4.946	2.619	2.083
消化管	24.594	3.619	2.831	1.631 ^{a)b)}	15.059	4.586	2.993	1.995 ^{a)b)}
胃	18.204	1.775	2.124	1.243 ^{*a)b)}	6.965	2.041	2.284	1.612 ^{**a)b)}
腸管	6.390	1.843	0.707	0.388	8.094	2.545	0.709	0.383
カーカス	14.357	10.914	6.935	4.695 ^{b)}	16.338	10.075	5.550	4.787
屍体全体	47.467	20.711	13.113	8.036	40.558	20.517	11.567	8.258 ^{b)}

168 時間後は 4 匹の、その他は 2 匹の平均値。

消化管、胃、腸管は内容物を含む。

*内容物は 1.084%、**内容物は 1.359%。

168 時間について有意差検定 (t-test) を実施。

^{a)}雌 (雄) ラットと比較して有意差あり (p<0.01)

^{b)}低用量群と比較して有意差あり (p<0.01)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 10 高用量 (20 mg/kg) 経口投与後の ^{14}C の体内分布推移 : 濃度($\mu\text{g eq/g}$)

	雄				雌			
	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間	4.5 時間	24 時間	72 時間	168 時間
全血	11.835	9.020	4.771	2.666	13.978	9.039	4.703	2.261
赤血球	11.216	8.794	5.250	3.151	13.896	9.230	5.499	2.920
血漿	12.945	9.956	4.489	2.319 ^{a)}	14.222	9.423	4.277	1.654 ^{a)}
脂肪	1.563	1.084	0.583	0.563 ^{a)}	1.686	0.873	0.703	0.347 ^{a)}
副腎	6.370	5.154	3.214	1.615	7.007	5.241	3.054	1.364
骨	4.554	2.803	1.506	0.971 ^{a)}	4.976	1.646	1.793	0.774 ^{a)}
骨髓	7.060	6.928	3.114	0.743	8.060	7.512	3.273	1.214
脳	2.217	1.064	0.624	0.446 ^{a)}	2.485	1.187	0.584	0.382 ^{a)}
眼球	2.672	1.920	1.122	0.646	3.171	1.982	0.945	0.501
ハーダー腺	9.993	7.908	3.466	1.656 ^{a)}	11.754	9.478	3.373	1.262 ^{a)}
心筋	4.291	3.102	1.873	1.117 ^{a)}	4.892	3.132	1.968	0.987 ^{a)}
腎臓	13.248	9.771	5.065	2.559	17.044	10.502	5.770	2.294
肝臓	25.916	16.122	8.350	3.641	34.831	19.169	8.994	3.205
肺	6.691	6.246	3.908	2.371 ^{a)}	8.699	6.372	3.778	1.691 ^{a)}
脾臓	6.290	4.020	2.063	1.391 ^{a)}	9.270	4.174	2.437	1.114 ^{a)}
脳下垂体	4.304	3.833	2.099	1.129	5.273	3.701	1.793	0.966
唾液腺	5.879	3.945	2.291	1.251	7.907	4.152	2.220	1.049
骨格筋	2.746	2.009	1.086	0.761 ^{a)}	3.373	1.796	1.095	0.594 ^{a)}
脾臓	5.033	4.110	2.605	1.554 ^{a)}	6.255	4.312	2.726	1.270 ^{a)}
胸腺	4.395	4.229	2.896	1.231 ^{a)}	5.313	4.313	2.602	1.023 ^{a)}
甲状腺	3.967	3.604	1.897	1.223 ^{a)}	4.276	3.407	1.860	0.750 ^{a)}
前立腺	5.095	5.169	2.705	1.273				
精巣	4.452	3.451	2.027	1.133				
卵巣					6.410	5.349	2.483	1.213
子宮					7.268	5.186	2.398	1.175
皮膚・被毛	8.188	9.142	8.937	4.990	8.120	6.563	3.356	2.231
皮膚	8.917	10.008	6.462	2.685 ^{a)}	8.968	6.818	3.626	1.840 ^{a)}
被毛	0.480	1.276	15.805	8.606	0.652	0.827	1.872	3.902
カーカス	3.700	2.911	1.800	1.174	4.687	2.966	1.582	1.137

168 時間後は 4 匹の、その他は 2 匹の平均値。

168 時間について有意差検定 (t-test) を実施。

^{a)}雌 (雄) ラットと比較して有意差あり ($p < 0.01$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 11 静脈内投与後の ¹⁴C の体内分布 (2 mg/kg 投与、168 時間後)

	投与量%		µg eq/g	
	雄	雌	雄	雌
全血	1.442	1.870 ^{b)}	0.413	0.518 ^{b)}
赤血球	0.929	1.338 ^{b)}	0.604	0.883 ^{b)}
血漿	0.405	0.410	0.208	0.198
脂肪	0.162	0.136	0.060	0.049
副腎	0.002	0.004 ^{a)b)}	0.211 ^{b)}	0.190 ^{b)}
骨	0.655	0.628	0.112	0.104
骨髓	-	-	0.205	0.234 ^{b)}
脳	0.026	0.036 ^{b)}	0.059	0.055
眼球	0.003	0.004 ^{a)}	0.062	0.053
ハーダー腺	0.012 ^{b)}	0.012	0.210 ^{b)}	0.174 ^{a)}
心筋	0.027	0.027 ^{b)}	0.161	0.155 ^{b)}
腎臓	0.187 ^{b)}	0.187 ^{b)}	0.457 ^{b)}	0.443 ^{b)}
肝臓	1.034	0.930	0.460	0.435
肺	0.059 ^{b)}	0.076 ^{b)}	0.301 ^{b)}	0.292 ^{b)}
脾臓	0.028	0.032	0.155	0.134 ^{a)}
脳下垂体	0.000	0.000 ^{a)}	0.137	0.122
唾液腺	0.015	0.016 ^{b)}	0.159 ^{b)}	0.132 ^{a)b)}
骨格筋	2.078	1.709	0.097	0.077 ^{a)}
脾臓	0.082	0.142 ^{b)}	0.569	0.888 ^{b)}
胸腺	0.008	0.012 ^{a)}	0.155	0.136 ^{a)}
甲状腺	0.000	0.000	0.150	0.123
前立腺	0.005		0.142	
精巣	0.088		0.136	
卵巣		0.005		0.151
子宮		0.017		0.148
皮膚・被毛	5.381	2.871	0.591	0.306
皮膚	-	-	0.370	0.225 ^{a)}
被毛	-	-	2.876	0.561 ^{a)}
消化管	1.232	1.472	-	-
胃	0.802*	1.033**	-	-
腸管	0.430	0.439	-	-
カーカス	11.294	7.175 ^{b)}	0.277	0.170 ^{b)}
屍体全体	14.978 ^{b)}	11.057 ^{b)}	-	-

4 匹の平均値、 - : 数値無し、 * 内容物は 0.666%、**内容物は 0.892%。

消化管、胃、腸管は内容物を含む。

168 時間について有意差検定 (t-test) を実施。

^{a)}雄ラットと比較して有意差あり (p<0.01)

^{b)}経口投与群と比較して有意差あり (p<0.01)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

5) 代謝物

(1) 呼気、尿、糞、胆汁中代謝物

①呼気中代謝物 (表 12)

試験群 A (雄のみ) の呼気試料を用いて代謝物を特徴付けた。未変化の¹⁴Cクロロピクリン (A) は検出されず、NaOH 捕集液とメタノール捕集液に捕集される放射能のほぼ全量がそれぞれ、 と と同定された。経口投与後 24 時間までに呼気中に排泄された放射能のうち 14% (投与量の 7%) が であり、48 時間までの呼気中放射能の 83~89% (投与量の 43~48%) が、 であった。従って¹⁴Cクロロピクリン (A) の呼気中主要代謝物は であった。

また、雌では呼気中代謝物の特徴付けを行わなかったが、放射能の排泄、体内分布及び後述の尿中代謝物に顕著な性差が認められていないことから、雌においても呼気中の代謝物プロファイルは雄とほぼ同様と推測された。

以上のことから、性及び用量に係らず、呼気中主要代謝物は であり、体内に吸収された¹⁴Cクロロピクリン (A) は急速に まで分解され、排泄される。

表 12 呼気中の放射性成分：投与量%

	低用量 (2 mg/kg) 経口雄	高用量 (20 mg/kg) 経口雄
メタノール捕集液 (0-24 時間)	5.22 (10.0%)	7.58 (14.52%)
	NA	7.16 (13.71%)
その他	NA	0.42 (0.81%)
NaOH 捕集液 (0-48 時間、)	48.15 (89.13%)	43.33 (82.91%)
清澄液	ND	ND
沈殿	47.02 (87.03%)	42.79 (81.85%)

ND：検出せず、NA：分析せず、()：呼気中¹⁴Cに対する割合。

③尿中代謝物 (表 13)

試験群 B では、尿中から¹⁴Cクロロピクリン (A) は検出されなかった。尿中排泄物は 12 種以上の代謝物から成っていたが、雌雄、用量、投与経路による代謝物種の顕著な差は認められなかった。投与量の 5%以上を占めた代謝物 (HPLC ピーク) は高用量群雄で認められた 1 種類のみであり、その他の代謝物ピークは複数の成分から成っていた。

が尿中の微量成分 (投与量の 1-2%) の 1 つとして MS と HPLC で同定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

など尿中の主要な代謝物は、逆相系 HPLC における溶出特性の調査と限外濾過膜法、アリルスルファターゼ含有β-グルクロニダーゼ、ペプチダーゼによる酵素処理によって、硫酸抱合体ならびにグルクロン酸抱合体以外の、分子量 1500 以下の高極性のイオン性化合物で、ペプチドは含まれていないと特徴付けられた。また、生体内成分であるクレアチニン、オルニチン、シトルリン、尿酸、アラントイン、各種のアミノ酸 (11 種)、グルコース、グルタチオンについても調べられたが、それらと一致する ¹⁴C-ピークは検出されなかった。

表 13 尿中の代謝物分布：投与量%

	試験群 B (経口投与) 2 mg/kg (0-96 時間)		試験群 B (経口投与) 20 mg/kg (0-96 時間)		試験群 B (静脈内投与) 2 mg/kg (0-120 時間)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	1.29	1.74	1.35	1.18	0.76	2.00
未同定	17.42	16.54	21.56	18.06	18.36	18.21
	2.31	2.31	6.01	4.13	2.33	2.57
その他	15.11 (10 種)*	14.23 (11 種)*	15.55 (11 種)*	13.93 (10 種)*	16.03 (10 種)*	15.64 (10 種)*
最大成分*	3.33 (U3)*	3.08 (U3)*	2.94 (U2)*	2.75 (U3)*	3.63 (U3)*	4.43 (U3)*
合計	18.71	18.28	22.91	19.24	19.12	20.21

* : HPLC フラクション。

④ 糞中代謝物 (表 14)

経口投与群の糞中放射能の 70-74%が抽出された。糞抽出液を HPLC で分析した結果、¹⁴C]クロルピクリン (A) は検出されず、明確な放射性ピークとして検出されたのは、及びであり、それぞれ投与量の 0.2~0.5%及び 2.4~1.0%であった。糞中主要成分は尿中では検出されない未同定成分であり、尿中の主要成分は微量であった。その他は、8 種以上の ¹⁴C-成分から成っており、個々には投与量の 3%未満であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 14 糞中の代謝物分布：投与量%

	低用量(2 mg/kg)経口		高用量(20 mg/kg)経口	
	雄 (0-96 時間)	雌 (0-120 時間)	雄 (0-120 時間)	雌 (0-144 時間)
抽出液	8.72 (73.26)	7.35 (74.39)	5.54 (70.05)	5.17 (70.24)
	0.20	NA	0.46	NA
	2.37	NA	0.96	NA
その他	6.15 (9種)*	NA	4.12 (8種)*	NA
最大成分(F3)	2.58	NA	1.88	NA
抽出残渣	2.48 (20.82)	3.15 (31.90)	2.04 (25.80)	1.93 (26.24)

NA：分析せず。()：糞中放射能に対する割合。

*：HPLC フラクシオン。

⑥胆汁中代謝物 (表 15、16)

胆汁からは 9 種以上の ¹⁴C-ピークが検出されたが、未変化の [¹⁴C]クロルピクリン(A) ならびにアシルスルファターゼ含有β-グルクロニダーゼで加水分解される ¹⁴C-抱合体は含まれていなかった。雌雄間で代謝物パターンに有意な差はなく、主成分は未同定代謝物 及び微量の であった。その他の成分は個々には投与量の 2%未満であった。M2 は胆汁酸 (CDCA、DCA、CA) 及びその抱合体とは一致しなかった。

表 15 胆汁中の代謝物分布 (0-48 時間胆汁、投与量%)

	低用量(2 mg/kg)雄	低用量(2 mg/kg)雌
	5.00	3.47
	0.93	0.70
その他(>7 種)*	4.37	2.65
合計	10.30	6.82

*：HPLC フラクシオン。

胆汁試料から を単離し、LC-ESI/MS で分析したが、クロルピクリンに由来する塩素の同位体ピークは検出されなかった。また、 に由来すると推定するイオンを特定することができず、同定はできなかった。ただし、 は 0.1 M 又は 6 M 塩酸中、120°C 加熱 (15 時間) のいずれの条件でも分解され、それぞれその 64%又は 79%が揮散したことから、 は [¹⁴C]クロルピクリン (A) の放射性炭素が体内の正常成分として取り込まれたものではなく、体内でクロルピクリンから が脱離して生じたラジカルが生体内成分と共有結合したものであろうと推測された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 16 の酸加熱加水分解性

	対照区	0.1 M 塩酸	6 M 塩酸
反応終了後の残留液	91.19%	36.10%	21.20%
揮発性物質	8.81%	63.90%	78.80%

(2) 組織中代謝物 (表 17 及び 18)

血漿中の放射性成分の分布を表 17 に、また血漿、肝臓及び赤血球中放射能の粗蛋白質画分への分布を表 18 に示す。

高用量群雄の投与後 4.5 時間の血漿中では、未変化の ^{14}C クロルピクリン (A) は検出されず、 ^{14}C が血漿中放射能の 67% (8.63 $\mu\text{g eq./mL}$) であった。

血漿及び肝臓並びに赤血球中の粗蛋白質画分に回収される放射能の割合に顕著な性及び用量間の差はなかった。Tmax 時点では、それぞれ組織中放射能の 10~20% (血漿) 及び 40~50% (肝臓) であったが、168 時間後にはそれぞれ 4~11% (血漿) 及び 39~44% (肝臓) に低下した。168 時間後の赤血球では、組織中放射能の 44~54% が粗蛋白質画分に回収された。

表 17 血漿中の代謝物分布 (4.5 時間時点血漿、 $\mu\text{g eq./mL}$)

	高用量(20 mg/kg)雄
	8.63 (66.66)
その他(2 種)	4.32 (33.34)
合計	12.95 (100)

(): 血漿中放射能%

表 18 血漿、肝臓、赤血球中の粗蛋白質画分への放射活性の分布 (組織中放射能%)

	血漿		肝臓			赤血球
	4.5 時間	168 時間	4.5 時間	72 時間	168 時間	168 時間
低用量(2 mg/kg)雄	20.20	10.79	50.10	46.63	44.07	NM
低用量(2 mg/kg)雌	20.95	7.66	46.07	46.56	40.48	NM
高用量(20 mg/kg)雄	15.64	4.70	39.89	54.86	38.67	44.05
高用量(20 mg/kg)雌	12.02	4.39	39.69	54.57	42.83	53.86

NM: 測定せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

まとめ及び代謝経路：

ラットにおけるクロルピクリン (A) の推定代謝経路を図 3 に示す。主代謝経路は を生成する経路である。吸収されたクロルピクリン (A) は されて一部は として揮発され、一部は に取り込まれ、大部分は に、一部は に代謝される。第 2 の経路はクロルピクリン (A) 又はその代謝物が体内の構成成分と共有結合し、代謝物 を生成する経路である。

クロルピクリンの代謝挙動に関して、用量及び性差はなく、ラットに経口投与されたクロルピクリンはほぼ定量的に急速に吸収される。吸収されたクロルピクリン (A) はほぼ全量が代謝され、投与後初期では急速に排泄される。主要排泄経路は呼気であり、また尿及び胆汁を介して糞中にも排泄される。クロルピクリン (A) の体内からの消失はやや緩慢（排泄率：7 日間で投与量の 80%）でクロルピクリン (A) に由来する炭素は体内で を経て生体内の構成成分に再構成されて、及び／又は蛋白質結合体として主に肝臓に分布する。

図 3 ラットにおけるクロルピクリンの代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

^{14}C 標識クロロピクリンを用いたマウスにおける動物代謝試験 (資料 代 1-2)

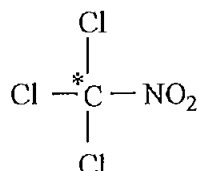
試験機関：

報告書作成年：2001 年

供試標識化合物：

クロロピクリンの炭素を ^{14}C で標識した [^{14}C]クロロピクリン

構造式；



* : ^{14}C 標識位置

化学名； Trichloronitromethane

比放射能； kBq/mg ($\mu\text{Ci}/\text{mg}$)

放射化学的純度；

標識位置の選定理由：本化合物の分子内の ^{14}C で標識可能な唯一の炭素であり、本化合物の炭素由来分解物の追跡が可能である。

供試動物：

種及び系統； 系雌雄マウス (SPF/VAF 動物)

投与時週齢； 10 週齢

投与時体重； 雄 41.0-42.7 g、雌 29.1-32.4 g (群平均値)

飼育環境：入手後屠殺時までマウス飼育用固形飼料及び水道水を自由に摂取させ、下記環境の動物室で飼育した。馴化飼育期間は 5 日以上とした。

温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 15\%$ 、明暗サイクル 12 時間、

新鮮空気換気回数 >20 回/時間。

ケージ：馴化飼育期間中は金網床ケージで群飼育した。投与後のすべての各個体はガラス製代謝ケージに個体別に収容して無拘束飼育した。

試験方法：

投与； [^{14}C]クロロピクリンは、 で入手し、必要に応じて希釈して投与液を調製した。

投与用量は、30 mg/kg とし、単回強制経口投与した。

用量設定根拠；

試験群の設定及び投与：次の試験群を設けた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

試験群	投与経路	用量 (mg/kg)	匹数と性別	屠殺時点 (hr)	主調査事項
1	経口	30	4 ♂	168	排泄バランス及び体内分布
2			4 ♀	168	
3			4 ♂	4.5 (Tmax)	体内分布
4			4 ♀	4.5 (Tmax)	
5			4 ♂	24	
6			4 ♀	24	
7			4 ♂	72	
8			4 ♀	72	
9			3 ♂	48	全身オートラジオグラフィ
10			3 ♂	168	

試料採取：全試験は、試験条件を一致させるため、呼気トラップを付して試験した。
下表に各試験群における採取試料と採取時点を示す。

試料	試験群	投与後時間 (hr)
尿及び糞	1 及び 2	24、48、72、96、120、144、168
呼気		6、24、48、72、96、120、144、168
ケージ洗液		168
臓器/組織		168
臓器/組織	3 及び 4	4.5
	5 及び 6	24
	7 及び 8	72
全身オートラジオグラフィ	9 及び 10	48、168

血液及び臓器・組織

試験群 9 及び 10 を除く全試験群の動物を、上記屠殺時点でジエチルエーテル麻醉下で開腹し、後大動脈から血液を採取後、頸椎脱臼により屠殺した。肺、ハーダー腺、肝臓及びカーカス試料を採取した。

血液（全血）試料は、放射能測定後、遠心分離して、血漿試料を調製した。

呼気

試験群 1 及び 2 から採取した。捕集溶液は、投与後 24 時間までは、メタノール（有機性揮発性成分捕集用）、[モノエタノールアミン：メチルセロソルブ(1:1 v/v)]混液及びメチルセロソルブ（二酸化炭素捕集用）とし、以降は [モノエタノールアミン：メチルセロソルブ(1:1 v/v)]混液及びメチルセロソルブとした。各採取時点で新鮮捕集溶液と交換した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

尚、その他の試験群では[モノエタノールアミン：メチルセロソルブ(1:1 v/v)]混液及びメチルセロソルブとし、24時間ごとに交換した。

尿

採取尿試料はろ紙を用いて減圧濾過し、尿受器及び残渣を冷水で洗浄・ろ過後、全ろ液を合わせ、尿試料（ろ過尿）とした。尿中放射能はろ過尿、ろ紙及びろ紙上の残渣中放射能の合計とした。

糞

受器内の混入飼料を取り除き、[2-プロパノール：ソルエン R-350 (1:1 v/v)]混液を加え、約 45°C で 24 時間振とうして均一化した。必要に応じて受器内を同混液で洗浄し、合わせた。

ケージ洗液

最終採取時点の尿及び糞試料を採取後、代謝ケージ内を水及びメタノールで洗浄し、ケージ洗液とした。ろ紙を用いて減圧濾過し、残渣をメタノールで洗浄・ろ過後、全ろ液を合わせた。ケージ洗液中の放射能はろ液、ろ紙及びろ紙上の残渣中放射能の合計とした。

全身オートラジオグラフィ

各採取時点で、動物をジエチルエーテルの過麻酔により屠殺後、6～8%CMC 水溶液で包埋、ドライアイス/アセトン溶液で凍結した。凍結ブロックから、正中線右側、正中及び正中左側面の厚さ 40 µm の薄切片を作製した。この切片を凍結乾燥後、ルミラー膜（4 µm）で被い、オートラジオグラフィ法（ARG 法）で放射能を測定した。

分析方法：

放射能測定

液体試料

全血及び血漿を除く全液体試料は、シンチレーションカクテルに溶解後、液体シンチレーション計数法（LSC 法）で放射能を測定した。

固体試料

全血及び血漿を含む固体試料のうち、尿及びケージ洗液のろ過残渣（ろ紙を含む）は酸化燃焼処理後 LSC 測定した。その他の試料は全て可溶化処理を行い、そのうち全血、肝臓、糞及び肺試料はさらに脱色した後、LSC 測定した。

オートラジオグラフィ法による定性分析

全身オートラジオグラフィ用切片はイメージングプレートに密着させ、2 日間（48 時間後試料）、又は 2 週間（168 時間後試料）露出後、イメージングアナラ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 1. 呼気、尿及び糞中に排泄された放射能 (4 匹の平均値、投与放射能に対する割合、%)

性別	期間内排泄量					累積排泄量				
	期間 (時間)	呼気		尿	糞	経過 時間 (時間)	呼気	尿	糞	合計
		メタノール*	合計**							
雄	0 - 6	3.83	25.28	34.59	3.26	6	25.28	-	-	-
	6 - 24	6.20	12.46			24	37.74	34.59	3.26	75.59
	24 - 48		2.35	2.60	0.49	48	40.10	37.19	3.74	81.03
	48 - 72		0.53	1.18	0.26	72	40.63	38.37	4.01	83.01
	72 - 96		0.28	0.33	0.09	96	40.91	38.70	4.10	83.71
	96 - 120		0.17	0.25	0.03	120	41.08	38.95	4.14	84.17
	120 - 144		0.16	0.16	0.02	144	41.24	39.11	4.17	84.52
	144 - 168		0.11	0.20	0.02	168	41.35	39.31	4.20	84.86
	合計	10.02	41.35	39.31	4.20					
雌	0 - 6	5.17	28.02	26.04	4.40	6	28.02	-	-	-
	6 - 24	7.01	13.39			24	41.42	26.04	4.40	71.86
	24 - 48		1.66	3.71	1.04	48	43.08	29.75	5.44	78.27
	48 - 72		0.49	1.30	0.37	72	43.57	31.05	5.81	80.43
	72 - 96		0.34	0.79	0.26	96	43.91	31.83	6.08	81.82
	96 - 120		0.24	0.52	0.23	120	44.15	32.36	6.31	82.82
	120 - 144		0.16	0.42	0.15	144	44.31	32.78	6.46	83.55
	144 - 168		0.12	0.31	0.13	168	44.43	33.09	6.59	84.11
	合計	12.18	44.43	33.09	6.59					

*: メタノール捕集液に捕集された放射能 (有機性揮発性成分)

** : 全捕集液中に捕集された放射能 (有機性揮発性成分+二酸化炭素)

- : 試料採取せず。

雌雄平均値の差について t 検定 ($p < 0.01$) を実施したが、有意差はみられなかった。

表 2. 投与 168 時間後の総回収放射能 (4 匹の平均値、投与放射能に対する割合、%)

性別	呼気	尿	糞	ケージ 洗液	排泄量 合計	体内残留 放射能	放射能 回収率
雄	41.35	39.31	4.20	0.26	85.12	2.77	87.90
雌	44.43	33.09	6.59	0.83	84.94	2.31	87.26

雌雄平均値の差について t 検定 ($p < 0.01$) を実施したが、有意差はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

体内分布；投与後 4.5、24、72 及び 168 時間における肺、肝臓、ハーダー腺及びカーカス中の残留放射能について、投与放射能に対する割合を表 3 に、濃度を表 4 及び図 2 に示し、それら濃度の血漿中放射能濃度に対する比を表 5 及び図 3 に示す。

Tmax 付近と推定される投与後 4.5 時間の血漿中放射能濃度は雄で 22.77 mg eq./L、雌では 24.40 mg eq./L で、以後、1 相性の 1 次減衰がみられ、168 時間後には雄で 0.26 mg eq./L、雌では 0.48 mg eq./L となり、半減期は雄で約 26 時間、雌では約 32 時間であった。

Tmax 付近における体内残留放射能は、投与量に対して雄が 41.30%、雌が 43.86%で、投与後 24 時間には雄で約 1/2、雌では約 1/4 に減少し、それぞれ投与放射能の 19.75%、9.99%となった。投与 72 時間後及び 168 時間後にはさらに減少したが、168 時間後においても体内残留放射能が検出され、雄で 2.77%、雌では 2.31%であった。このことは 168 時間後の全身オートラジオグラムによっても確認された。全血、肺、肝臓及びハーダー腺における放射能半減期は 40～56 時間と算出され、雌雄いずれにおいても血漿中よりも長かった。

血漿中濃度に対する臓器中濃度の比は、Tmax 付近で 0.5～1.3 であったが、時間の経過とともに高くなり、168 時間後においても 1.7～13 と高い値であった。これらの結果から、¹⁴C クロルピクリン由来の放射能の赤血球、肺、肝臓及びハーダー腺への親和性は、血漿に比べて高いことが示された。なお、投与後 24 時間以降に、統計上性差が検出された臓器・組織がいくつか存在したが、個体差が大きく、変動があることから実質的な差とは考えられなかった。

投与後 168 時間におけるハーダー腺中の放射能濃度は、血漿濃度に対する比が高かったが、ラットの試験（資料 代 1-1）では血漿濃度と同等であり、マウスにおける結果は種特有である可能性が大きいと考えられた。

表 3. 臓器・組織中の放射能分布（4 匹の平均値、投与放射能に対する割合、%）

性別	雄				雌				
	経過時間 (時間)	4.5	24	72	168	4.5	24	72	168
ハーダー腺		0.03	0.02	0.004	0.003	0.04	0.02	0.006	0.003
肝臓		5.34	2.18	0.72	0.37	4.48	1.72	0.87	0.32
肺		0.21	0.16	0.03	0.02	0.49	0.09	0.05#	0.02
カーカス*		35.71	17.39	2.67	2.38	38.85	8.16	4.06	1.96
合計		41.30	19.75	3.42	2.77	43.86	9.99	4.98	2.31

*：採取した全血を含む。

#：t 検定により対応する雄マウスと有意差あり（p<0.01）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 4. 臓器・組織中の放射能濃度 (4 匹の平均値、mg eq./kg 又は mg eq./L)

性別	雄					雌				
	経過時間 (時間)	4.5	24	72	168	半減期*	4.5	24	72	168
全血	24.79	11.64	1.13	1.33	40 時間 (0.668)**	28.56	6.20	2.60#	1.25	42 時間 (0.788)
血漿(mg/L)	22.77	8.78	0.48	0.26	26 時間 (0.808)	24.40	5.77	1.49#	0.48	32 時間 (0.875)
ハーダー腺	10.95	7.30	1.78	1.44	56 時間 (0.784)	11.19	5.43	2.30	0.83	46 時間 (0.947)
肝臓	28.81	13.59	4.49	2.85	53 時間 (0.834)	32.84	8.75	5.79	2.00	47 時間 (0.850)
肺	13.88	8.89	1.77	1.55	52 時間 (0.754)	14.05	4.92	2.87	1.31	55 時間 (0.856)

: t-検定により対応する雄マウスと有意差あり (p<0.01)

* : 最小二乗法による ¹⁴C 濃度-時間曲線から算出した。

** : ()内の数値は ¹⁴C 濃度-時間曲線の相関係数。

表 5. 血漿中放射能濃度に対する臓器・組織中の放射能濃度の比 (4 匹の平均値)

性別	雄				雌			
	経過時間 (時間)	4.5	24	72	168	4.5	24	72
全血	1.1	1.4	2.4	7.2	1.2	1.1#	1.8	2.7
血漿	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ハーダー腺	0.5	1.6	3.8	6.0	0.5	1.0	1.6#	1.7#
肝臓	1.3	2.5	9.5	13.1	1.3	1.5	4.0#	4.3#
肺	0.6	1.2	3.8	8.1	0.6	0.9	2.0#	2.8

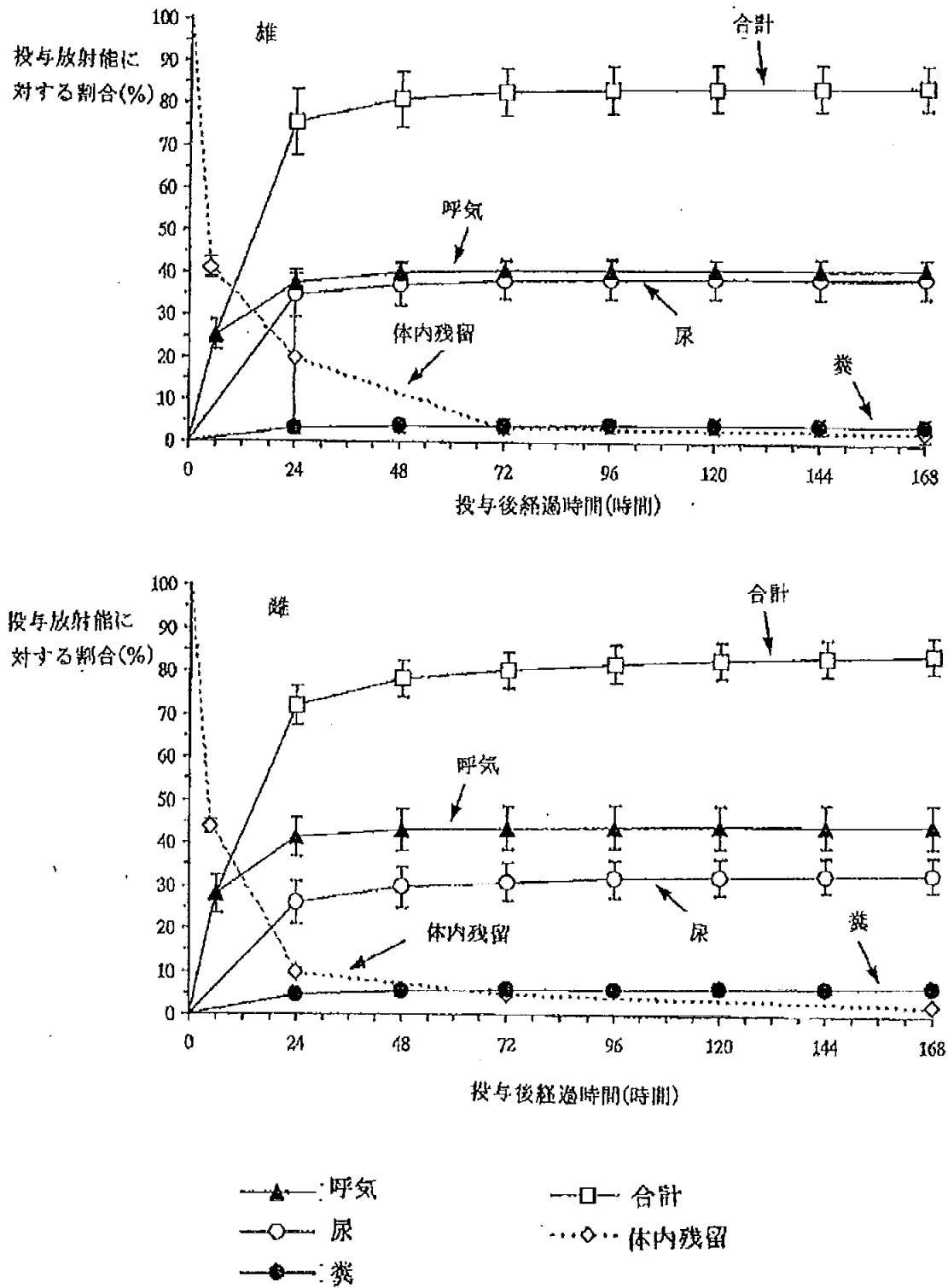
: t-検定により対応する雄マウスと有意差あり (p<0.01)

表 6. 全血及び血漿中のパラメータ算出結果

経過時間 (時間)	全血		血漿	
	雄	雌	雄	雌
Tmax(hr)	4.5	4.5	4.5	4.5
Cmax(µg/mL)	24.79	28.56	22.77	24.4
AUC(hr*µg/mL)	912.11	875.58	626.29	639.92
半減期(hr)	40	42	26	32

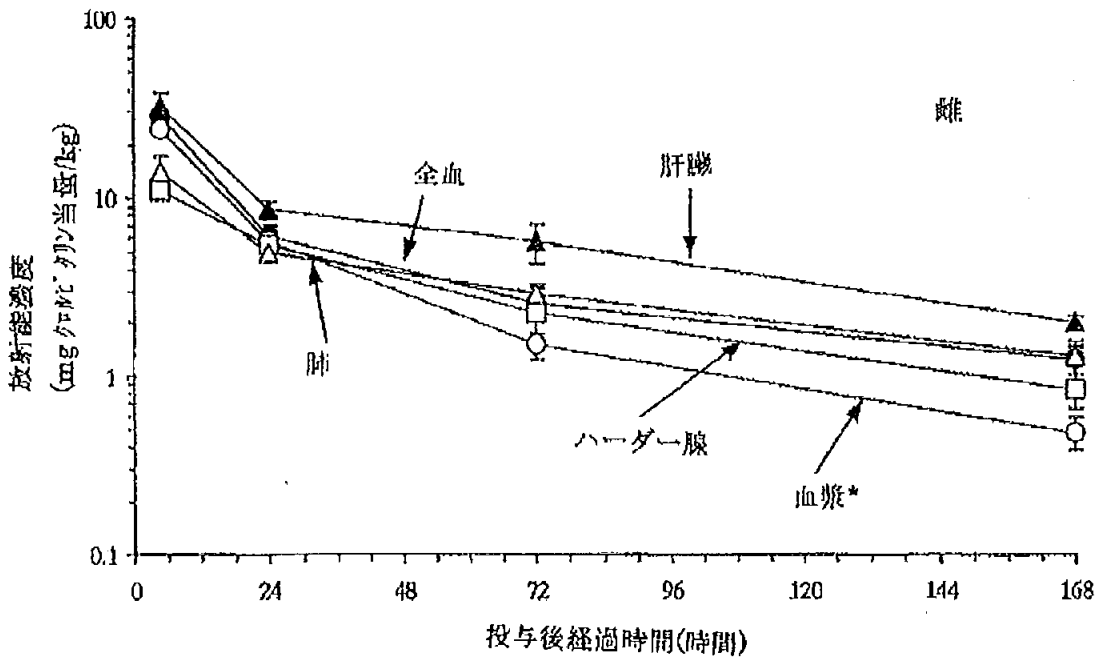
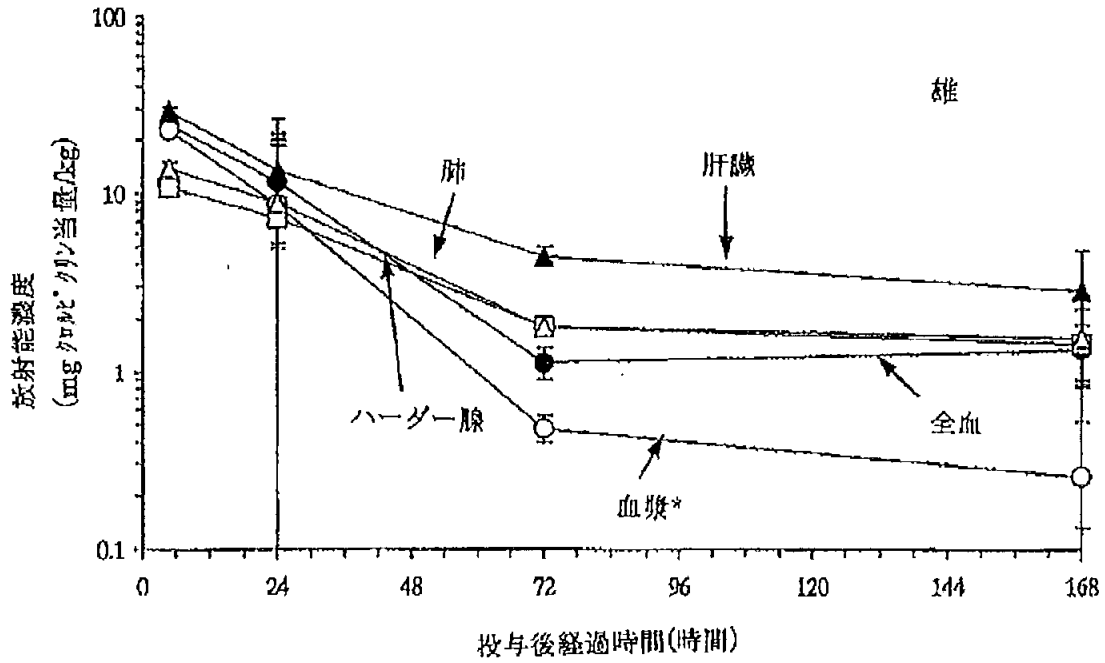
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

図 1. 呼気、尿、糞及び体内残留放射能の推移 (4匹の平均)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

図2. 血液、肺、肝臓、ハーダー腺及びカーカスの放射能濃度推移

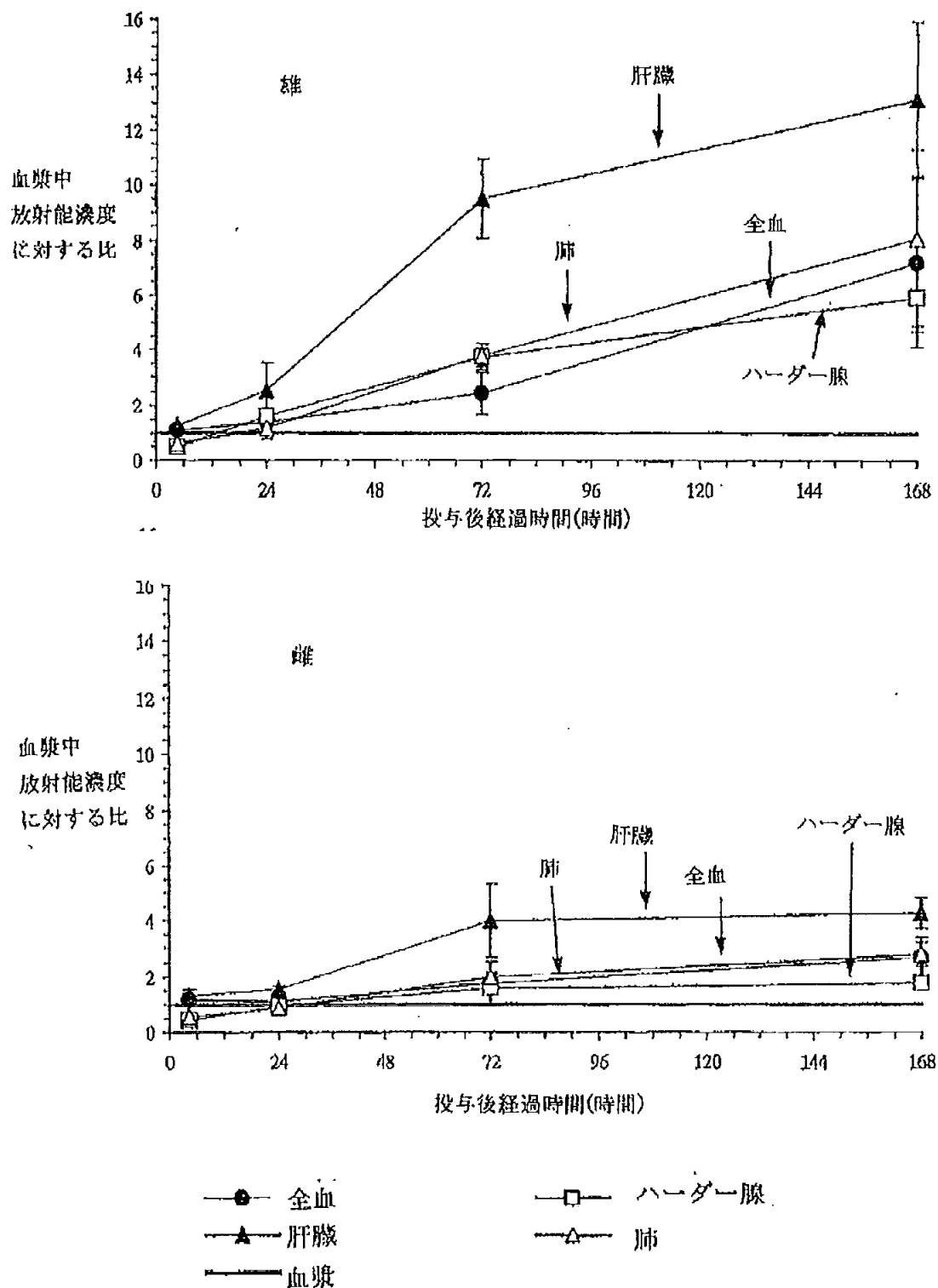


- 全血
- 血漿*
- ハーダー腺
- ▲ 肝臓
- △ 肺

* : mg/kg 相当量/L

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

図 3. 臓器・組織中放射能濃度の血漿中放射能濃度に対する比



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

2. 植物代謝に関する試験

試験省略。

クロルピクリンを有効成分とする農薬（製剤）は、登録されている使用方法からみて、当該農薬の成分物質等が農作物を介して摂取するおそれが極めて低いと認められるため、試験省略した。学術誌に掲載されたクロルピクリンの植物代謝試験に関する論文の要約を参考として記載した（IX-72 参考）。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

3. 土壤中動態に関する試験

好氣的土壤中動態試験

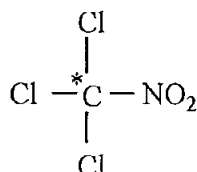
(資料代 2)

試験機関：

報告書作成年：1996年

供試標識化合物：

クロルピクリンの炭素を ^{14}C で標識した [^{14}C]クロルピクリン



構造式；

*： ^{14}C -標識位置

化学名； trichloronitromethane

比放射能； MBq/mmol

放射化学的純度；

標識位置の選定理由：本化合物の分子内の ^{14}C で標識可能な唯一の炭素であり、本化合物の炭素由来分解物の追跡が可能である。

供試土壌： と東 の畑地圃場から採取し、5 mm の篩いを通した下記特性の土壌を使用した（以下、それぞれ、 と称する）。

成因	火山灰土壌	沖積土壌
土性	LiC	CL
主粘土鉱物	アロフェン	モンモリロナイト
pH (H ₂ O)	6.3	7.4
OC (%)	4.44	0.81
CEC (m eq./100 g 乾土)	33.7	21.0
最大容水量 (%)	131.6	80.2

OC: 有機炭素含量、CEC: 陽イオン交換容量

試験方法及び分析方法：

1. 試験方法

圃場での土壌表面被覆を模して土壌施用後 3 日間は密栓状態で、以降は開放状態でインキュベートし、開封後に土壌から揮散した物質と土壌中の残留物を分析した。また、密栓 3 日後試料は土壌容器内空気を強制排気し、土壌容器内空気中の放射性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

物質を捕集した。

1) 土壌容器、プレインキュベーション

図 1 に示す密栓可能な 100 mL 容の褐色ガラス製ねじ口瓶 (外径 4 cm、ねじ蓋付き) の中央部にガラス棒又はガラス管を垂直に入れた (抽出溶媒注入のため) ものを土壌容器とし、これに土壌の厚さが 10 cm となるよう乾土重 35 g () または 50 g () 相当の供試土壌を充填し、下記条件で 8 日間 (代謝物同定用試料は 12 日間) プレインキュベートした。尚、土壌充填後の容器のヘッドスペースは
で約 16 mL、
で約 20 mL であった。

土壌水分含量 : 最大容水量の 40% () または 48% ()
温度 : 25 ± 1°C
照明 : 暗所

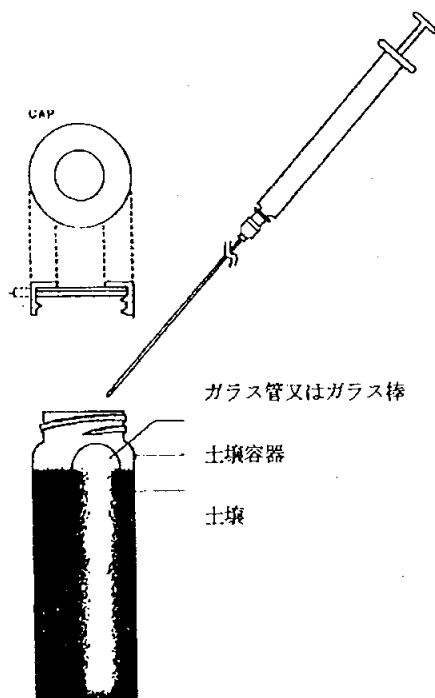


図 1 土壌容器

2) 施用

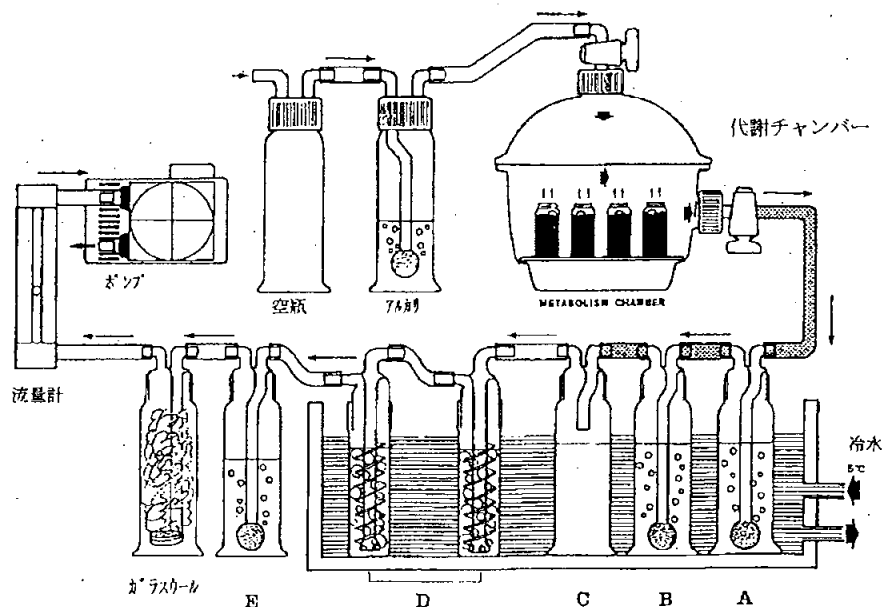
(1) 設定施用量 : 慣行施用量 (30 cm 四方に対し 80% 製剤を 3 mL) のクロロピクリンが深さ 30 cm の土壌に均一に分布した際の土壌中濃度に相当する 150 µg/g (乾土) とした。ただし、代謝物同定用試料では十分量の代謝物を得るため 300 µg/g (乾土、
のみ) とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

(2) 施用： $[^{14}\text{C}]$ クロルピクリンを水：アセトン（4:6, v/v）混液に溶解し、クロルピクリンを加えて同位体希釈した約 15000 ppm の施用液を調製した。この施用液の 500 μL （ ）または 350 μL （ ）を各土壌容器内の土壌層最深部に注入して施用した。施用後直ちに土壌容器を二重のパッキン付きのねじ蓋（中央部にパッキンを通してシリンジで溶媒等注入可能な穴付き）で密栓した。

3) インキュベーション

施用後 3 日間は密栓状態で、施用 3 日後以降は開封して、いずれも揮発性物質捕集装置と加湿空気の給気装置を備えた容積約 11 L のガラス製代謝チャンバー内で土壌別に施用後 21 日間（ ）または 14 日間（ ）インキュベートした（図 2）。ただし、代謝物同定用試料は密栓状態で 7 日間インキュベートした。CO₂ フリーの加湿空気を通気し、代謝チャンバーの後段に、揮発性物質捕集用の各捕集液を接続した。インキュベーション条件は温度が約 23°C であった点を除いてプレインキュベーションの条件と同じであった。



A&B:メタノール捕集液、C:水、D:1N NaOH 以上 5°C に冷却

E: メチルセロソルブ：モノエタノールアミン（1:1, v/v）混液

図 2 土壌試料のインキュベーションシステム

4) 試料採取

- ① 施用直後：土壌容器 2 本を採取。
- ② 3 日後：密栓土壌容器 4 本を、土壌容器内空気中の放射性気体の分析及び土壌中残留物の分析用に採取。また、各揮発性物質捕集液を採取し、新鮮捕集液と交換し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

た。残りの土壌容器は代謝チャンバーから取り出して密栓を開封し、容器内空気中の放射性気体を揮散させたのち、開封状態で代謝チャンバー内に再び収容、通気を再開した。

③ 7、10、14、17、21日後（ は14日後まで）：

各時点で土壌容器2本と放射性気体捕集装置の各捕集液(全量)を採取した。各捕集液は新鮮捕集液に交換した。

2. 分析方法

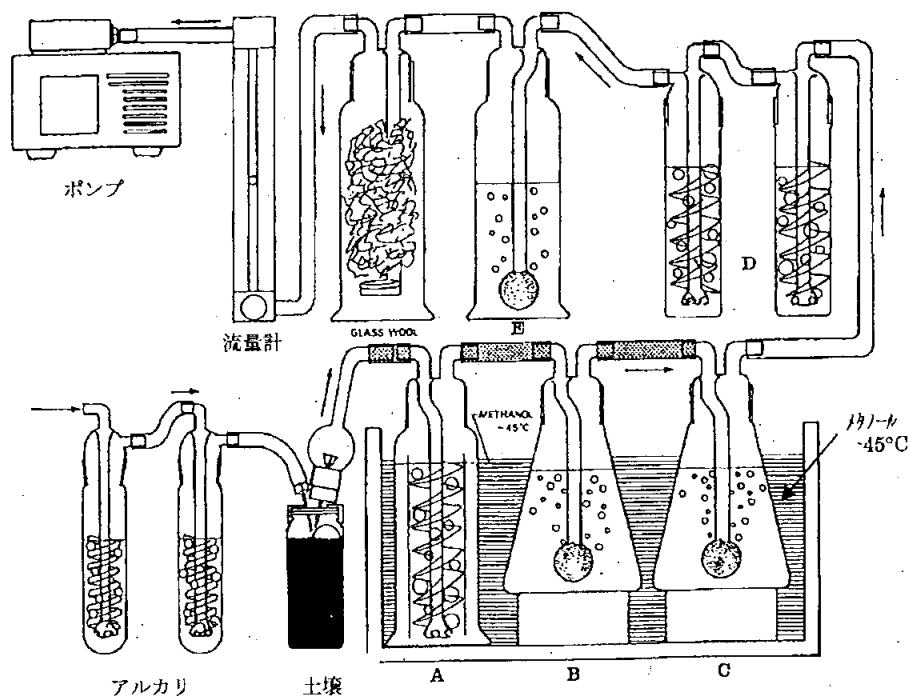
1) 代謝チャンバーからの捕集液

各捕集液中の放射能は、液体シンチレーション計測 (LSC) により、放射性成分は HPLC により測定した。

2) 個別土壌容器内空気中の揮発性物質の捕集液

図3に示すように土壌容器のパッキン部に各捕集液装置を接続させた2本の針を刺し、ポンプを用いてCO₂フリーの加湿空気を通気し、試験容器内空気中の揮発性物質を強制的に排出し、土壌容器後段に接続した各捕集液に捕集した。

各捕集液中の放射能は、LSC 計測により、放射性成分は HPLC により測定した。



A&B:メタノール捕集液、C:ヘキサン、以上-45°Cに冷却

D: 1N NaOH、E: メチルセロソルブ：モノエタノールアミン (1:1、v/v) 混液

図3 土壌容器内空気中の揮発性物質の捕集システム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

3) 土壌中残留物

図4及び5に土壌の分析操作の概要を示す。土壌容器は、施用直後試料はそのまま、3日後の試料は密栓状態で容器内空気を強制捕集したのち、その他の試料は採取時に栓をして -30°C の冷凍庫内で冷却後、土壌容器のパッキン部にガラスシリンジを通し、メタノールを注入後、1時間振とうした。土壌容器を再度 -30°C の冷凍庫内で冷却後、 5°C で遠心分離し、上清液(抽出液)の一部を採取し、LSCで放射能測定した。また、上清液の一部をHPLC分析して、放射性成分を測定した。ただし、代謝物同定用試料では、ジエチルエーテル:メタノール(9:1, v/v)で抽出した。土壌残渣は酸化燃焼処理後LSCで放射能測定した。さらに一部試料については酸・塩基抽出による腐植成分の分析を行い残渣中残留物の特徴付けを行った。

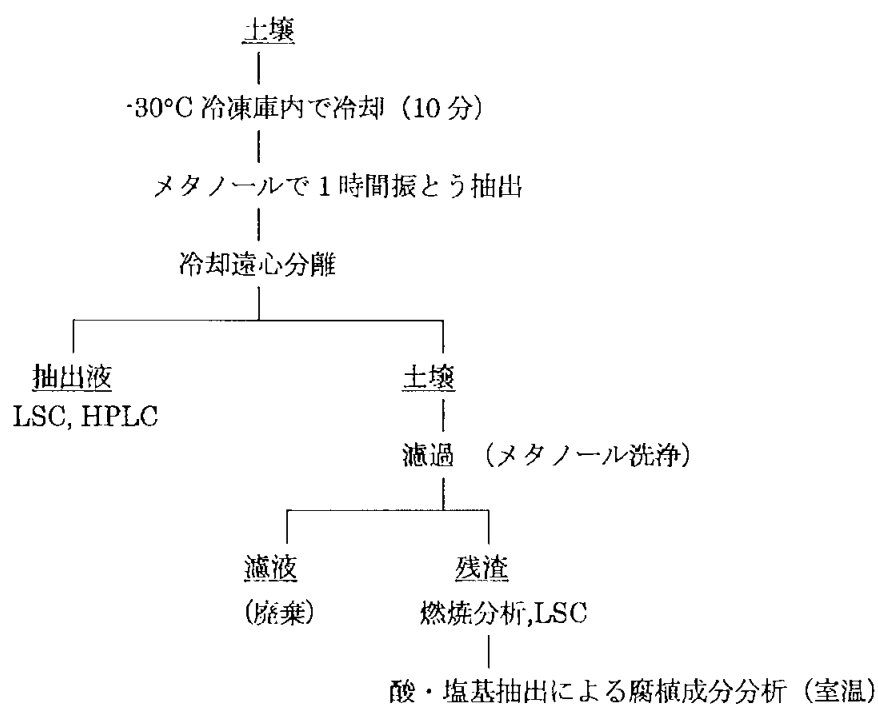


図4 土壌中残留物の分析法フローシート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

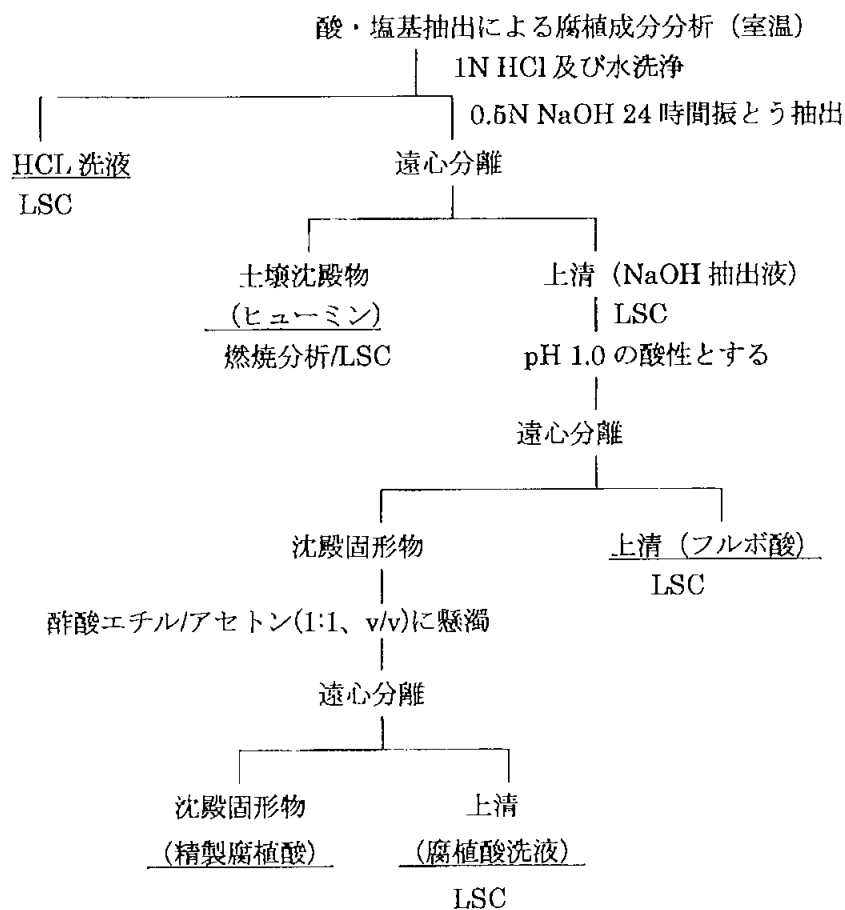


図5 土壌抽出残渣中残留物の特徴づけ

4) 土壌抽出液、揮発性物質捕集液中の代謝物等の分析及び同定

土壌のメタノール抽出液、揮発性物質捕集液 (メタノール捕集液) は直接、逆相系 HPLC で分析した。代謝物同定用試料のジエチルエーテル:メタノール (9:1,v/v) 抽出液は濃縮し、GC-MS で分析した。HPLC 分析では、¹⁴C-放射性物質は放射能フロー検出器で検出し、LSC 法で定量した。GC-MS 分析では、¹⁴C-放射性物質は GC 分離後にラジオ GC アナライザーで放射性メタンに変換して検出した。

クロルピクリンは HPLC 及び GC 分析における標準品との保持時間の比較及び GC-MS 分析で同定し、
は GC-MS 分析により同定した。

は NaOH 捕集液に BaCl₂ を加え、
沈殿とすることによって同定した。
その他の代謝物は HPLC における合成標品との保持時間の一致、または GC-MS (EI 及び CI) スペクトルの解析により同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

結果：結果の概要を表 1、2 と図 6 に示す。

1) 物質収支

最終採取時点である施用後 21 日 () または 14 日 () までの放射能の累積回収率は施用放射能の約 86-104%であった。土壤中の放射能は施用 3 日後の密封開放後は、急速に低下し、 () では施用 21 日後には施用量の約 15%、 () では 14 日後には約 5%となった。土壤から揮散した放射性物質の大部分はメタノール捕集液と NaOH 捕集液から回収された。

2) 揮発性物質の分布及び同定/特徴付け

メタノール捕集液に捕集された累積放射能は、 () では施用 21 日後までに施用量の約 57%、 () では施用 14 日後までに約 69%に達したが、そのうち () では施用量の約 21%、 () では約 39%が施用 3 日後の密封容器内の空気中から回収されたものであった。メタノール捕集液中の放射能の大部分は未変化の¹⁴C クロルピクリン (A) であり、 () では施用量の約 17~30%、 () では施用量の約 22~36%であった。両土壤とも¹⁴C クロルピクリン (A) の揮散は 7 日後までにほぼ終了した。また、代謝物 () が微量検出された (施用 7 日後で () 約 1.2%、 () 約 0.4%)。

NaOH 捕集液に回収された放射性物質の大部分 (≥98%) は () と同定された。 () は () では施用 21 日後までに施用量の約 30%、 () では施用 14 日後までに施用量の約 13%に達し、¹⁴C クロルピクリン (A) の主代謝物であった。いずれの土壤においても () は施用 3 日後以降に発生し、施用後 3 日から 7 日の間の発生量が最大 (() : 約 17%、 () : 約 11%) であった。

3) 土壤中残留物

土壤中の抽出性放射性残留物は、施用直後では施用量の約 88% (()) ~91% (()) であったが、施用 3 日後には 31% (()) ~35% (()) に減少し、施用 7 日後以降は両土壤とも施用量の 1%未満となった。

土壤抽出液からは未変化の¹⁴C クロルピクリン (A) および 1 種類の放射性代謝物が検出された。この代謝物はクロルピクリンのモノ脱塩素体である () と同定された。 () の一部は土壤から揮発し、メタノール捕集剤に捕集された。また、施用 7 日後以降の土壤抽出液では、その残留量が施用量の 1%未満と極めて微量であり、放射性成分 A 及び B は、ほとんど検出されないと示唆された。

土壤抽出残渣中の放射能は施用 3 日後に最高値 (() : 施用量の約 34%、 () : 約 15%) となり、その後は減少した。最高時点から最終時点までの土壤抽出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

残渣中の放射能の減少量と の生成量は概ね一致した。これは [¹⁴C]クロロピクリン (A) とその代謝物がクロロピクリン施用で死滅した微生物の高分子生体成分中に取り込まれ、これがクロロピクリン施用後も生存する土壤微生物に代謝されて最終的に主代謝物である に無機化されたためと推定された。

21日後試料の抽出残渣中の放射能は、主としてヒューミン、腐植酸及びフルボ酸画分に分布していた。

表 1 における [¹⁴C]クロロピクリンの物質収支

試験容器の状態		密封		開封					
インキュベーション期間		0日	3日	3日	7日	10日	14日	17日	21日
揮発性物質 [累積値]									
メタノール (1+2) *	[累積値]								
	[測定値]								
HPLC 測定値	クロロピクリン								
	その他								
	回収率								
ヘキサン* [累積値]									
水* [累積値]									
NaOH* ()	[累積値]								
	[測定値]								
メチルアルコール/メノエタノール* [累積値]									
土壌									
抽出液									
HPLC 測定値	クロロピクリン								
	その他								
	回収率								
抽出残渣									
HCl 洗浄液 (A)									
NaOH 抽出液 (B)									
腐植酸画分									
精製腐植酸									
腐植酸洗液									
フルボ酸画分									
ヒューミン画分 (C)									
分配操作回収率(A+B+C)									
総回収率 [累積値]									

数値は施用量% (開封 3 日を除き、揮発性物質は 1 点分析値、土壌は 2 点の平均値、開封 3 日の揮発性物質及び土壌は 4 点の平均値)。

*: 捕集剤。-: 分析せず。ND: 分析時点における不検出 (累積量における不検出は 0.00 と表記)。

() 内の値は µg/g。

揮発性物質及び総回収率は累積値及び又は測定値 (累積値及び測定値で識別)。

HPLC 分析による放射性成分の値は 1 点または 2 点の平均値 (開封 3 日後試料のみ)。

抽出残渣の分配特徴付けの結果は 2 点の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表2 埼玉土壌における¹⁴Cクロルピクリンの物質収支

試験容器の状態		密封		開封			
インキュベーション期間		0日	3日	3日	7日	10日	14日
揮発性物質	[累積値]						
メタノール (1+2)*	[累積値]						
	[測定値]						
HPLC 測定値	クロルピクリン						
	その他						
	回収率						
ヘキサン* [累積値]							
水* [累積値]							
NaOH* ()	[累積値]						
	[測定値]						
メチルアルコール/メタノール* [累積値]							
土壌							
抽出液							
HPLC 測定値	クロルピクリン						
	その他						
	回収率						
抽出残渣							
総回収率 [累積値]							

数値は施用量% (開封3日を除き、揮発性物質は1点分析値、土壌は2点の平均値、開封3日の揮発性物質及び土壌は4点の平均値)。

*: 捕集剤。 -: 分析せず。累積量における不検出は0.00と表記。()内の値はµg/g。

揮発性物質及び総回収率は累積値及び/又は測定値 (累積値及び測定値で識別)。

HPLC分析による放射性成分の値は1点または2点の平均値 (開封3日後試料のみ)

4) 推定半減期 (申請者算出)

好氣的土壌におけるクロルピクリンの減衰を一次反応と仮定し、次式を用いて半減期を算出した。

$$\ln (C_0/C_t) = -k_t$$

ここで: k = 速度定数、t = 時間

C₀: ¹⁴Cクロルピクリンの初濃度

C_t: t 時間後の¹⁴Cクロルピクリンの濃度

$$\text{半減期} = 0.693/k$$

0~7日後の結果から算出した 及び における半減期 (揮発消失を含む) を以下に示す。

土壌	半減期 (日)
	4.84
	3.48

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

5) 代謝

クロルピクリンの推定代謝経路を図6に示す。

土壤中に注入施用された $[^{14}\text{C}]$ クロルピクリン (A) のかなりの部分は好氣的土壤中
に無機化された。微量が に代謝され、一部は
土壤中から揮発し、一部は腐植物質に取り込まれた。

注入施用7日以降に土壤中に残るメタノール抽出可能な放射能は、施用量の0.7%以下
と少なく、クロルピクリン及び はほとんどないものと示唆された。

容器内という限定された空間内でのモデル実験であること、施用3日後に土壤容器を
開封(容器内空気を強制排気して捕集後)したことなどからこの試験ではクロルピクリ
ンの揮散率が過大評価され、土壤中分解率が過小評価された可能性が高い。実際の圃場
ではクロルピクリンは被覆により揮散が抑制され、土壤中の広い空間に拡散することか
ら、好氣的条件下において、より急速かつ徹底的に にまで無機化されると考えら
れた。

図6 クロルピクリンの畑土壤における代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

4. 水中動態に関する試験

4. 1. 加水分解動態試験

加水分解性に関する試験において、pH 5.0、7.0 及び 9.0 緩衝液中のクロルピクリンの 25°C における半減期は何れの pH でも 1 年以上であり、分解が認められないことが示されたため、試験を実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

4. 2. 水中光分解動態試験

[¹⁴C]クロルピクリンを用いた水中光分解動態試験

(資料代 3)

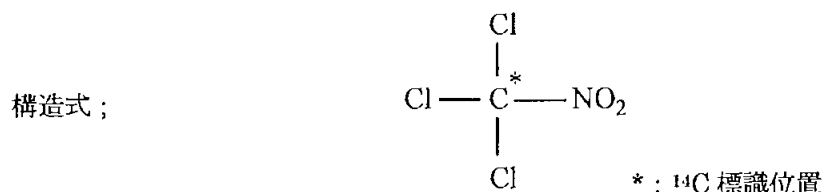
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007年

供試標識化合物：

クロルピクリンの炭素を ¹⁴C で標識した [¹⁴C]クロルピクリン



化学名； trichloronitromethane

比放射能； GBq/mmol、 DPM/μg

放射化学的純度；

標識位置の選定理由：本化合物の分子内で ¹⁴C-標識が可能な唯一の位置であり、本化合物の炭素由来分解物の追跡が可能である。

供試水：試験に用いた供試水について、次表にその特性をまとめる。

試験に用いた供試水	pH 5 緩衝液 (0.015 M)	自然水 (池水)
供試水の調製方法	0.1N 水酸化ナトリウム水溶液 50 mL + 0.1M 酢酸 73 mL / 500 mL 蒸留水	の池から採取 (使用時まで冷蔵保存)
供試水の選定根拠	[¹⁴ C]クロルピクリンが pH 5 で加水分解的に最も安定であるため	自然環境中の間接光分解の有無を調査するため
採取日	—	2006年6月16日
pH	5.04	7.1
カルシウム	—	1.7 ppm
マグネシウム	—	0.9 ppm
ナトリウム	—	0.8 ppm
硬度	—	8 mg equivalent CaCO ₃ /L
電気伝導率	868 μS/cm	0.09 mmhos/cm
ナトリウム吸収比 (SAR)	—	0.12
全蒸発残留物量	—	22 ppm
全懸濁物質	—	12 ppm
濁度	—	8.93 NTU
溶存酸素量	9.8 mg/L	8.5 mg/L
滅菌の有無	有	有

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

光源：光強度 600 W/m² のキセノンアークランプ

規格； Heraeus サンテスト CPS+

分光分布； 300～800 nm

光学フィルター； 赤外線及び 290 nm 以下の波長をカットするフィルター使用

平均光強度； 478 W/m² (波長範囲 300～800 nm)

54.6 W/m² (波長範囲 300～400 nm)

試験方法：

試験容器； 光照射区試料； 石英試験管 (内径 10 mm、長さ 66 mm)

暗所対照区試料； パイレックス[®]試験管 (アルミホイルで被覆)

何れもテフロン[®]コーティングのシリコンセプトラム付ねじ蓋の試験容器

供試水及びガラス器具の滅菌； 供試水はろ過滅菌 (酢酸セルロース滅菌フィルター、孔径 0.22 μm)、ガラス器具はオートクレーブ滅菌 (121°C、0.10 MPa、30 分間)

施用液の調製； [¹⁴C]クロロピクリン原液 (水/アセトニトリル、1/1、v/v) の一部と各試験系を混合して約 2.6 μg/mL の [¹⁴C]クロロピクリンの名目濃度となるように調製。

試験系の調製； 各施用液の 6～7 mL を各試験容器に分取。

溶解補助剤； アセトニトリル、<1%

試験濃度； 2.6 μg/mL (クロロピクリンの水溶解度 (1.6 mg/mL) の 1/2 以下)

試験温度； 25 ± 1°C

光照射区試料； 温度制御の循環水浴中に静置

暗所対照区試料； 恒温チャンバー内に静置

試験期間； 最長 13 日間

試験区の設定、採取時点及び採取点数； 表 1 に示す。

表 1 試験区の設定

試験水	試験区	試料採取時点 (時間)	採取点数*
pH 5 緩衝液	光照射区	26.5、50.5、72.5、146、215、313.8	3
	暗所対照区	0、312	3
自然水	光照射区	4、6、16.8、25.7、51.2、98.8	3
	暗所対照区	0、4、6、25.7、51.2、98.8	3

*：3 点のうち 1 点は予備試料として採取。

分析方法； 試料は採取後、直ちに LSC により放射エネルギーを測定し、また同時に HPLC 分析して試料中の放射性成分を測定した。放射性成分の同定は、参照標準品 (クロロピクリン、¹⁴C[NaHCO₃]) との HPLC コクロマトグラフィー、または保持時間の比較あるいは GC/MSD により行った。さらに溶液中の は で を沈殿させて特徴づけ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

た。

化学光量計；p-ニトロアセトフェノン（PNAP）及びピリジン（PYR）で構成される低光学濃度の光量計を使用した。

滅菌性の確認；0時点と最終時点の試験溶液を用いて微生物培養法により、微生物の生育の有無を確認した。

半減期の算出方法；クロルピクリンの水中光分解を1次反応とみなし、次式を用いて半減期を算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (y = mx + b) \quad (m = \text{傾き})$$

ここで：

k = 分解速度定数

C = 化学物質濃度（施用放射エネルギー%で示したクロルピクリン）

t = 時間

C₀ = 初期濃度

結果：

1) 試験系の管理

(1) 試験系の pH

pH 5 緩衝液：5.01~5.04、自然水試料：6.57~6.78

(2) 滅菌性の確認

何れの時点でも微生物の生育は認められず、試験系の滅菌性が確認された。

2) 物質収支

各試験区の物質収支を表 2 に示す。

pH 5 緩衝液及び自然水の物質収支は、それぞれ施用量の 100.1 ± 8.9%AR 及び 101.6 ± 7.6%AR であった。

表 2-1 pH 5 緩衝液における物質収支

pH 5 緩衝液				
インキュベーション 期間 (時間)	施用量%		ppm	
	照射区	暗所対照区	照射区	暗所対照区
0	103.0		2.79	
26.5	110.0	/	2.98	/
50.5	95.1		2.58	
72.5	109.9		2.98	
146	98.0		2.66	
215	93.7		2.54	
312		100.6		2.73
313.8*	92.0		2.21	
総平均回収率	100.1 ± 8.9		—	

施用濃度：2.71 ppm、*；2.40 ppm、表中の分析値は 2~3 点の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 2-2 自然水における物質収支

自然水				
インキュベーション 期間 (時間)	施用量%		ppm	
	照射区	暗所対照区	照射区	暗所対照区
0*	111.3		3.39	
4***	92.5	94.4	2.78	2.83
6**	107.7	102.8	3.01	2.87
16.8**	113.0		3.16	
25.7*	103.2	90.3	3.14	2.75
51.2**	104.8	94.3	2.92	2.63
98.8*	95.2	104.8	2.89	3.19
総平均回収率	101.6 ± 7.6		—	

施用濃度：* ; 3.04 ppm、** ; 2.79 ppm、*** ; 3.00 ppm、表中の分析値は 2~3 点の平均値。

3) 分布

[¹⁴C]クロルピクリン (A) 及びその分解物の分布を、HPLC 分析により求めた。結果を表 3 及び表 4 に示す。

表 3 pH 5 緩衝液における放射能の分布

インキュベーション 期間 (時間)	施用量%						ppm					
	照射区			暗所対照区			照射区			暗所対照区		
	A		その他	A		その他	A		その他	A		その他
0	102.5		0.5	102.5		0.5	2.78		0.02	2.78		0.02
26.5	73.2		0.3				1.98		0.01			
50.5	56.0		0.0				1.52		0.00			
72.5	46.0		0.0				1.24		0.00			
146	17.3		0.0				0.47		0.00			
215	5.3		0.0				0.15		0.00			
312				100.6		0.0				2.73		0.00
313.8*	1.8		0.0				0.04		0.00			

施用濃度：2.71 ppm、* ; 2.40 ppm、表中の分析値は 2~3 点の平均値。

0 時間の照射区の数値は暗所対照区の測定値を引用。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 4 自然水における放射能の分布

インキュベーション 期間 (時間)	施用量%				ppm			
	照射区		暗所対照区		照射区		暗所対照区	
	A		A		A		A	
0*	111.3		111.3		3.39		3.39	
4***	68.2		94.4		2.05		2.83	
6**	72.3		102.8		2.02		2.87	
16.8**	45.8				1.28			
25.7*	31.5		89.2		0.96		2.71	
51.2**	13.2		93.2 ^a		0.37		2.60 ^a	
98.8*	3.0		101.8		0.09		3.10	

施用濃度：* ; 3.04 ppm、** ; 2.79 ppm、*** ; 3.00 ppm、表中の分析値は 2~3 点の平均値

0 時間の照射区の数値は暗所対照区の測定値を引用。

① 照射区試験系

pH 5 緩衝液: [14C]クロルピクリン(A)は、0時点の 102.5%から照射 72.5 時間後で 46.0%AR、313.8 時間後には 1.8%AR となり急速に分解した。主要分解物は であり、26.5 時間では 34.7%AR 検出され、313.8 時間では 90.3%AR に増加した。その他マイナーな分解物が認められたが、各ピークは 1% AR 以下であった。

自然水: [14C]クロルピクリン (A) は、0 時点の 111.3%から照射 16.8 時間後に 45.8%AR であり、98.8 時間の照射終了時では 3.0%AR に減少した。唯一の分解物は であり、照射 4 時間後には 24.4%AR で、98.8 時間後では 92.2% AR に増加した。

② 暗所対照区試験系

クロルピクリン (A) は、pH 5 緩衝液及び自然水の暗所対照区試料中で加水分解的に安定であり、インキュベーション期間終了時にはそれぞれ 100.6%AR 及び 101.8%AR であった。

4) 放射性成分の同定

同定及び特徴づけされた放射性成分は[14C]クロルピクリン (A) と であった。

5) 推定半減期 (DT₅₀) と 90%消失時間 (DT₉₀)

クロルピクリンの DT₅₀ 及び DT₉₀ 値を下表に、減衰曲線ならびに分解物の生成と減衰曲線を図 1 及び図 2 に示す。

pH 5 緩衝液及び自然水における半減期は、それぞれ 55.4 時間及び 19.7 時間であり、米国の 40°N における全天太陽光 (1 日当たりの太陽光放射照度、年平均) 及び東京春の太陽光に換算すると、pH 5 緩衝液ではそれぞれ 5.8 日及び 16.2 日、自然水では 2.1 日及び 5.8 日であった。pH 5 緩衝液及び自然水における DT₉₀ は、それぞれ 184 時間及び 65.6 時間であり、米国の 40°N における全天太陽光及び東京春の太陽光に換算すると、pH 5 緩衝液ではそれぞれ 19.3 日及び 54 日、自然水では 6.9 日及び 19 日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

試験区試料		人工光 時間	全天太陽光() 日	春の東京 日	R ²
pH 5 緩衝液	DT ₅₀	55.4	5.8	16.2	0.979
	DT ₉₀	184	19.3	54.1	
自然水	DT ₅₀	19.7	2.1	5.8	0.984
	DT ₉₀	65.6	6.9	19.2	

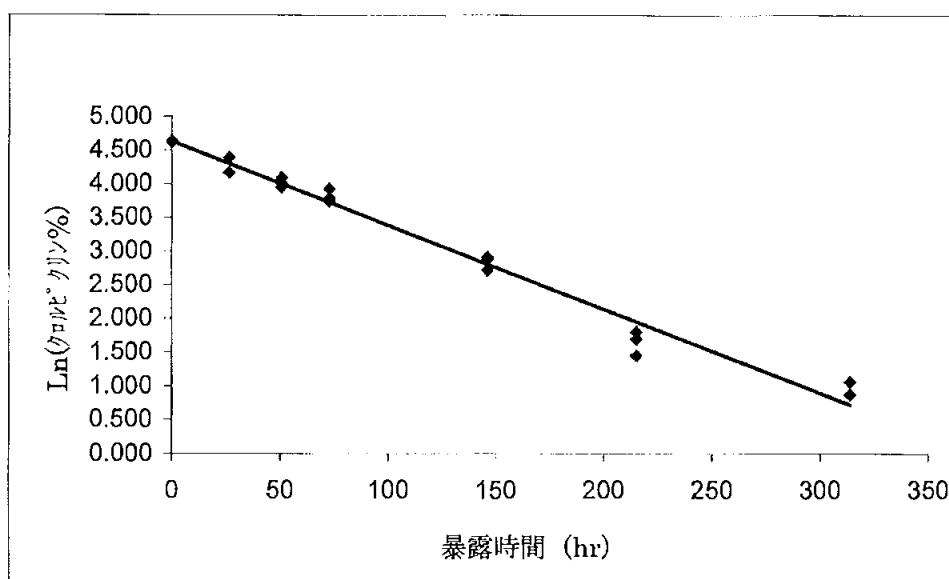


図 1-1 [14C]クロルピクリンの pH 5 緩衝液における減衰曲線

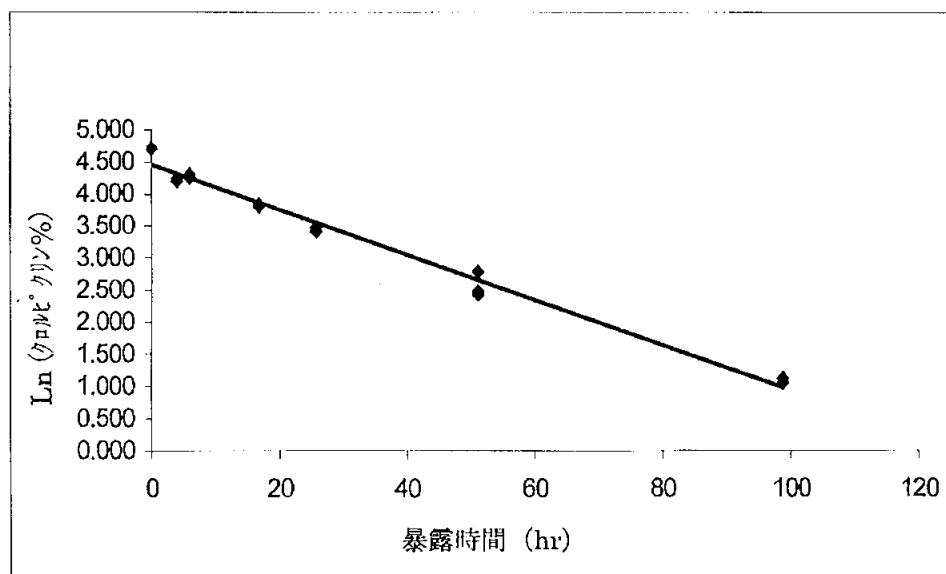


図 1-2 [14C]クロルピクリンの自然水における減衰曲線

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

図 2-1 pH 5 緩衝液光照射区試料における放射性成分の生成と減衰曲線

図 2-2 自然水光照射区試料における放射性成分の生成と減衰曲線

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

6) [¹⁴C]クロルピクリンの量子収率

PNAP/PYR 化学光量計を用いて求めたクロルピクリンの量子収率は 0.40 であった。

7) 想定分解経路

クロルピクリンは人工光に曝露後、急速に に分解した。顕著な中間体は観察されなかった。想定分解経路を図 3 に示す。分解速度は緩衝液試験区よりも自然水系でより速く、分解速度が腐植物質等の溶解物質に起因する間接光分解の多大な影響を受けることが証明された。

以上のことから、水系におけるクロルピクリンの消失において光分解は重要な一因であることが示唆される。

図 3 人工光曝露時の水環境中におけるクロルピクリンの想定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

5. 土壌吸着性試験

(資料 土吸 1)

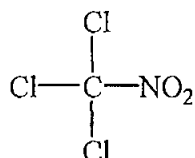
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

供試化合物：

構造式；



化学名；Trichloronitromethane 一般名；クロルピクリン

化学的純度；

供試土壌：下表に示す土壌を使用した。

採取場所				
土壌特性				
土壌群名	細粒強グライ土	沖積堆積土	淡色黒ボク土	砂丘未熟土
土性	LiC (軽埴土)	LiC (軽埴土)	HC (重埴土)	SiCL (微砂質埴土)
有機炭素含量 (%)	2.97	2.60	3.33	1.5
pH	5.2 (H ₂ O)、 4.9 (KCl)	6.7 (H ₂ O)、 6.0 (KCl)	7.0 (H ₂ O)、 6.2 (KCl)、 6.4 (CaCl ₂)	5.9 (H ₂ O)、 5.3 (KCl)、 5.4 (CaCl ₂)
陽イオン交換容量 (me/100g)	27.7	21.5	29.8	9.7
リン酸吸収係数	830	820	2220	1030
粘土含有量 (%)	砂：14.0 シルト：44.1 粘土：41.9	砂：28.0 シルト：35.4 粘土：36.6	砂：24.8 シルト：27.5 粘土：47.7	砂：86.0 シルト：7.1 粘土：6.9
粘土鉱物の種類	モンモリロナイト カオリン鉱物	モンモリロナイト	アロフェンパーミ キュライト	アロフェンハロイ サイト
OECD 土壌タイプ*	3	4	2	5

試験方法：

クロルピクリンの土壌吸着試験を実施するため、スクリーニング試験の予備検討としてコント

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

ロール試験、ブランク試験、吸着試験及び物質収支試験を次表に示す条件で行った。

試験条件	試験名		
	ブランク試験	土壌吸着試験/物質収支試験	コントロール試験
試験温度	25±2℃		
平衡化媒体	0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液		
吸着平衡時間	16 時間		
試験容器	200 mL 容ステンレススチール製遠沈管 (内面テフロンコーティング処理 蓋付き)		
遠心条件	3100 ×g、遠心時間：20 分、設定温度：25℃		
試験系の調製			
土壌	5 g	5 g	—
水相中のクロルピクリンの初期濃度	—	5.0 mg/L	5.0 mg/L
水(平衡化媒体)*	25mL	25mL	25mL
土壌/水比	1 : 5	1 : 5	—

*：土壌中水分含有量との合計、—：適用なし。

予備検討試験の結果：

1) ブランク試験

16 時間振とう、遠心分離後分取した土壌及び上澄液画分を用い、クロルピクリンの 2.03 µg/g 又は 2.03 mg/L 添加回収試験（クロルピクリンメタノール溶液 1 mL を添加）を行って分析法を確立した。

分析法；上澄液は、試料 5 mL に 5%NaCl 溶液 5 mL 及びヘキサン 5 mL を加え、分配後ヘキサン層を分取、液相分離ろ紙で脱水・ろ過後ガスクロマトグラフで測定、定量した。土壌画分は分取試料（乾土 5 g 相当量）に 6 mol/L 塩酸 2 mL 及びアセトン 50 mL を加え、振とう抽出後、ガラスウールを用いてろ過し、ろ液をアセトンで 100 mL に定容した。そのうちの 5 mL を分取し、5%NaCl 溶液 50 mL 及びヘキサン 5 mL を加え、分配後ヘキサン層を分取、以降上澄液と同様に分析した。

クロルピクリンの平均回収率は上澄液画分で 93~108% (C.V. : 3.9~11.5%)、土壌画分で 77~91% (C.V. : 1.3~8.6%) であった。クロルピクリンの検出限界は、土壌画分は 0.01 µg/g、上澄液画分は 0.01 mg/L であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

2) 土壌吸着試験/物質収支試験

クロルピクリンの吸着率及び物質収支の結果を下表に示す。

測定項目	土壌			
クロルピクリンの吸着率 (%)	100	100	98	90
クロルピクリンの物質収支 (%)	1	0	1	2

数値は2連の平均値。

クロルピクリンの吸着率は、90～100%であったが、試験系における物質収支が0～2%と極めて低かった。また、上澄液及び土壌のGCクロマトグラム上にクロルピクリン（保持時間約9分）の他に保持時間約7分にピークが検出され、試験系中でのクロルピクリンの分解が推測された。

3) コントロール試験

水相中のクロルピクリンの平均濃度は、0.84 mg/L であり、設定濃度の17%しか回収されなかった。この原因を解明するため、0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液中でのクロルピクリンの安定性を調査したところ、クロルピクリン5 mg/L の0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液の調製直後でクロルピクリンは設定濃度の57～66%となり、4日間冷蔵（4℃）保存後では7%となった。従ってクロルピクリンは0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液中で極めて不安定であることが解った。

以上のことから、クロルピクリンは平衡化媒体である0.01 mol/L 塩化カルシウム溶液中で極めて不安定であり、かつ土壌の分析法として土壌に塩酸添加後アセトン抽出を行わないと、分析法が確立できないこと及び揮発性の高いことから、農林水産省試験指針及びOECDガイドラインに準拠して、クロルピクリンの土壌吸着係数を算出することはできないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

6. 生物濃縮性試験

試験省略。

クロルピクリンの n-オクタノール/水分配係数は 2.6 であり、3.5 未満であることから、試験を実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

7. 大気中光分解動態試験

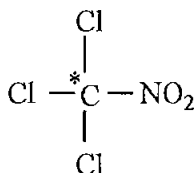
(資料 代 4)

試験機関：

報告書作成年：1996 年

供試標識化合物：

クロルピクリンの炭素を ^{14}C で標識した [^{14}C]クロルピクリン



構造式；

*： ^{14}C -標識位置

化学名； trichloronitromethane

比放射能； MBq/mmol

放射化学的純度；

標識位置選定理由：本化合物の分子内で ^{14}C -標識が可能な唯一の位置であり、本化合物の炭素由来分解物の追跡が可能である。

供試気体：

① 供試空気 1 (特注品、組成を以下に示す)：

A 純ガス合成空気 (酸素約 20%、窒素約 80%、総炭化水素 <0.1 ppm、CO <0.1 ppm、NO_x <0.1 ppm) に CO₂ を約 350 ppm の濃度で添加した空気。

② 供試空気 2 (特注品、組成を以下に示す)：

A 純ガス合成空気に CO₂ を約 340 ppm の濃度で、さらに NO₂ (OH ラジカル発生源) を 28 ppm の濃度で添加した空気。

気相分解装置：

図 1 に示すようにキセノンショートアークランプ、オープン及び反応容器で構成される試験装置を使用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

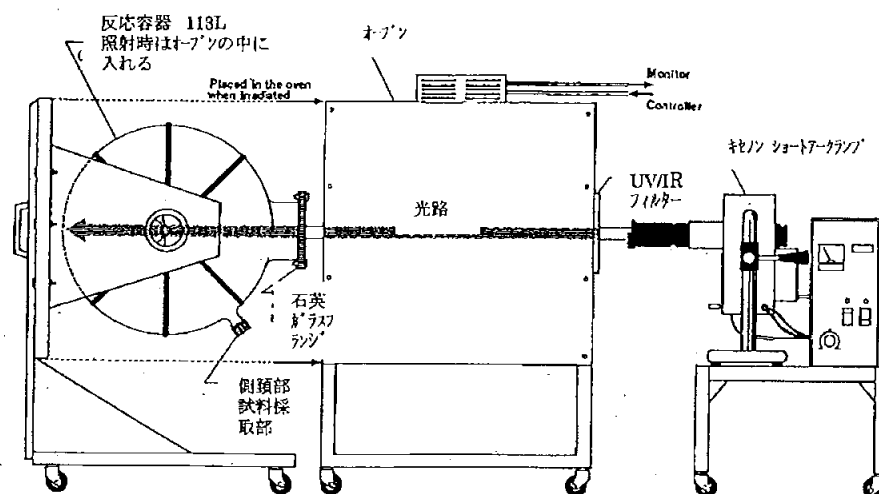


図 1 気相分解装置の概略図

光源及び光強度：

光源；

①照射光 1

300 nm 以下と 800 nm 以上の光をカットしたキセノンショートアーク光

②照射光 2

280 nm 以下の光をカットしたキセノンショートアーク光

光強度； 気相分解装置のキセノン光（光束は入射部で約 5 cm）で照射を受ける反応容器中の空気試料は一部（算出照射体積：全体の約 3%）であること及び入射光強度は光源からの距離で異なっていることから、反応容器全体が均一に光照射された場合の照射光強度を、照射体積と反応容器体積の比及び容器のそれぞれの位置での入射光強度を用いて算出した。実際の入射光強度と均一照射換算値の関係は表 1 の通りである。

表 1 キセノン光の入射光強度と均一照射換算値

光源	波長範囲	入射光強度 (mW/cm ²)		均一照射換算値 (mW/cm ²)	
		容器頂部	容器底部	換算値の範囲	平均
照射光 1	300-400 nm	24.04-30.07	10.30-12.89	0.36-0.46	0.41
	300-800 nm	163.7-198.8	70.15-85.21	2.48-3.02	2.87
照射光 2	280-400 nm	40.79	17.48	0.62	-
	280-800 nm	199.3	85.43	3.02	-

∴ なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

試験方法及び分析方法：

1) 試験方法

(1) 試験設計

次の表 2 に掲げる 3 試験区を配置した。各試験区とも光照射区と暗所対照区を設定した。

表 2 試験設計

試験区		空気条件	光条件
AL1	地表面大気中光分解 (直接光分解)	供試空気 1	照射光 1
BL1	NO ₂ 含有大気中光分解 (直接+間接光分解)	供試空気 2	照射光 1
CL2	短波長紫外線含有キセノン光 照射 (高層大気中光分解)	供試空気 1	照射光 2

(2) 反応容器

容積 113 L の硼珪酸ガラス製 4 口丸底フラスコを使用した。中央のキセノン光入射部は石英ガラス製フランジ、3 か所の側頸部はテフロンで裏打ちされたネジロキャップ (サンプリング用の穴付き) を使用して密閉した。

(3) 試験系の調製

側頸部から反応容器体積の約 4~5 倍の供試空気を吹き込んで内容を置換し、0.5 mL の精製水を加えて空气中相対湿度を約 30% に調整した後 (試験区 CL2 は非添加、推定相対湿度は約 10%)、容器を密閉した。

(4) 供試化合物の添加

供試化合物を封入したガラス製アンプルを (約 40°C で冷却) 側頸部から挿入し、容器内で破壊・開封後、容器を密閉した。反応容器を 25±1°C の恒温槽中に置いて¹⁴C クロルピクリンを気化させた後、容器を回転し、均一に分布させた。

(5) 試験濃度

空气中名目初濃度は約 21.6 ppmv (体積百万分率) とした。これは慣行施用量 (80% 製剤を 50 L/10a) のクロルピクリンを土壌処理した際に、ビニールシート被覆区と無被覆区圃場の高さ約 1.2 m の地表面における 24 時間平均の気中濃度 (それぞれ 0.05 及び 0.25 ppmv) のそれぞれ約 430 倍及び 86 倍に相当する (気体中濃度は 25°C における理想気体の状態方程式から算出し、ppmv の単位で表示した)。気中濃度が 0.05 及び 0.25 ppmv では濃度が低く試験実施が困難であることから上記初濃度を設定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

(6) 試験温度

照射区試料は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温槽中に設置し、暗所対照区試料は装置を暗幕で覆い、遮光したのち、約 23°C の室温に放置した。

(7) 光照射

連続照射

(8) 試料採取時点

各試験区の照射区と暗所対照区試料を採取し、分析した。

試験区	実験区	反復数	試料採取時点
AL1	照射区	2	施用直後、照射開始 3、7、10、14、21*日後
	暗所対照区	1	
BL1	照射区	2	施用直後、照射開始 1、3、7、10、14 日後
	暗所対照区	1	
CL2	照射区	1	施用直後、照射開始 1、2、3、7 日後
	暗所対照区	1	

*: 照射区の反復 2 試料のうち、1 試料は照射開始 10 日後の試料採取後にキセノン光照射が一時停止(2 日間)したため、以降の採取時点は、2 日間ずらして行った。また、照射区 21 日後試料に対応する暗所対照区試料はインキュベーション開始 21 日後の試料と 23 日後の試料を採取して分析した。

2) 分析方法

空気試料は反応容器側頸部のサンプリング部位からガスタイトシリンジを用いて採取し、以下の分析に供した。

(1) 放射能測定

① 気体試料

- ・ 暗所対照区及び添加直後の照射区の空気試料；
採取した空気試料を直接バイアル瓶中に注入し、溶媒に吸収させた後、液体シンチレーション計測 (LSC) で測定した。
- ・ 照射区の空気試料；
各実験区の最終分析時点で、暗所対照区と照射区の空気試料を GC/放射能フロー検出法で分析し、暗所対照試料と照射試料の各ピーク面積比を求めた。LSC 法で実測した暗所対照試料の放射能から照射試料の放射能を算出した。照射区試料の中間分析時点の空气中放射能は、施用時 (LSC 法による実測値) と最終分析時点の 2 時点のデータから導いた 1 次減衰式から計算により求めた。

② 液体試料 (トラップ液等)

すべて、直接 LSC により測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

(2) 放射性成分の分析

採取試料を GC により昇温分析し、GC 流出気体を還元型コンバージョンリアクターに通して放射性炭素を $^{14}\text{CH}_4$ としたのち放射能フロー検出器で検出した(定性分析)。別途、GC 注入後、コンバージョンリアクターで転換した $^{14}\text{CH}_4$ を水素炎イオン化検出器 (FID) 中で燃焼して $^{14}\text{CO}_2$ としたのち CO_2 吸収液中に捕集し、吸収液を LSC で測定し、放射性成分を定量した。

(3) 放射性成分の同定

^{14}C クロルピクリン及び分解物は GC における合成標品 (非放射性または放射性) との保持時間の比較に基づいて同定した。

(4) 半減期

① キセノン光連続照射下での半減期

^{14}C クロルピクリンの分解を擬似 1 次反応と見做し、次式により半減期を算出した。

$$\ln (C_0/C_t) = -k_t$$

k : 速度定数、 t : 時間、

C_0 : ^{14}C クロルピクリンの初濃度

C_t : t 時間後の ^{14}C クロルピクリンの濃度

$$\text{半減期} = 0.693/k$$

② 実験区 AL1 と実験区 BL1 の東京都小平市 (5 月) における自然太陽光換算半減期

自然太陽光換算半減期 (HL_S) は、東京都小平市で観測した 5 月の 1 日当り (1994 年～1996 年の 3 年間の平均値) の地上到達自然太陽光の積算放射照度 (A24) とキセノン光の 24 時間当りの積算放射照度 (均一照射換算のキセノン光放射照度から算出) の比、及びキセノン光下での半減期 (HL_X) を基に次式より算出した。算出に当り、光放射照度はキセノン光、太陽光ともすべて 300-400 nm の観測値を基にした。

$$\text{HL}_S = \text{HL}_X \times 0.41 \times 24 / \text{A24}$$

0.41 : 照射光 1 の均一照射換算値の平均 (mW/cm^2)

24 : 24 時間

A24 : 24.60 ($\text{mW} \cdot \text{hr}/\text{cm}^2$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

③実験区 AL1 と実験区 BL1 の東京における春（4～6 月）の自然太陽光換算半減期

[申請者注：以下の式を用いて東京春（4～6 月）の自然太陽光下における半減期を推定した。

$$HL_{Tokyo} = I_{DT50} / I_s$$

$$I_s = 0.672 \text{ (MJ/m}^2\text{/d)}$$

$$I_{DT50} = HL_X \times 4.1 \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} \text{ (MJ/m}^2\text{)}$$

4.1：照射光 1 の均一照射換算値の平均 (W/m²)

HL_X：キセノン光下でのクロルピクリンの半減期]

結果：結果の概要を表 1-5 と図 2 に示す。

1) 反応容器中の ¹⁴C-クロルピクリンの初濃度 (表 1)

表 1 に示すように ¹⁴C-クロルピクリンの初濃度実測値 (約 21.3～23.7 ppmv) は名目初濃度 (21.6 ppmv) とよく一致した。

表 1 試験容器の空气中的放射能濃度 (ppmv)

試験区	試料	施用時点	最終採取時点
AL1	暗所対照区	21.80	17.56 (17.17**)
	照射区 反復 1	21.91	17.40*
	反復 2	21.80	17.66*
BL1	暗所対照区	21.88	20.19
	照射区 反復 1	23.65	17.76*
	反復 2	23.16	22.71*
CL2	暗所対照区	21.27	20.21
	照射区	21.86	19.63*

数値は LSC 測定値。

*：暗所対照区とのピーク面積 (GC-RAD) の比較により算出。

**：インキュベーション開始 23 日後の採取試料の値。

2) 放射能の分布及び分解生成物

① 低層大気中光分解 (試験区 AL1)

結果を表 2 に示す。

照射区試料中の [¹⁴C]クロルピクリン (A) は、速やかに減少した。主要放射性成分は
であり、 [¹⁴C]クロルピクリン (A) の分解に伴って、ほぼ経時的に増加し、
14 日後には初期濃度の約 41% となった。参照化合物 と一致する放射性成分は、
検出されず、その他の放射性成分は個々には初期濃度の 10% 未満であった。

暗所対照区試料の空气中全放射能濃度は経時的に緩やかに減少し、21 日後には初期濃度の約 80% となり、他の試験区よりも低かった。この要因として、放射能の容器からの漏洩、シリコンセパタム部への吸着、長期の実験期間 (21 日) 等が推定された。主

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

要放射性成分はクロルピクリン (A) であり、試験期間を通じて初期全放射能濃度の 62%~79%が検出された。その他に微量放射性成分として が 5~10%検出された。

表 2-1 試験区 AL1 におけるクロルピクリンの気相中光分解経時変化 (初期濃度%)

時間 (日)	照射区				暗所対照区			
	クロルピクリン		その他*	回収率	クロルピクリン		その他*	回収率
0								
3								
7								
10								
14								
21								

数値：照射区は 2 実験の平均値、暗所対照区は 1 実験の値(但し、暗所対照区 21 日後は、上段がインキュベーション開始 21 日後、下段がインキュベーション開始 23 日後の値)

*：その他の放射性成分は個々には初期濃度の 10%未満。

表 2-2 試験区 AL1 におけるクロルピクリンの気相中光分解経時変化 (ppmv)

時間 (日)	照射区				暗所対照区			
	クロルピクリン		その他	計	クロルピクリン		その他	計
0								
3								
7								
10								
14								
21								

数値：照射区は 2 実験の平均値、暗所対照区は 1 実験の値(但し、暗所対照区 21 日後は、上段がインキュベーション開始 21 日後、下段がインキュベーション開始 23 日後の値)

② NO₂ 含有大気中光分解 (試験区 BL1)

結果を表 3 に示す。

照射区試料中の空气中全放射能濃度は、経時的に緩やかに減少し、14 日後では約 87% となった。[¹⁴C]クロルピクリン (A) は速やかに減少し、照射 14 日後には初期濃度の約 23%となった。主要放射性成分は であり、[¹⁴C]クロルピクリン (A) の分解に伴って、ほぼ経時的に増加し、14 日後には初期濃度の約 45%となった。その他の放射性成分は個々には初期濃度の 10%未満であった。

暗所対照区試料の空气中全放射能濃度も経時的に減少したが、その速度は遅く 14 日後でも初期濃度の約 92%が残存した。主要放射性成分である[¹⁴C]クロルピクリン (A) の有意な減衰はみられず、安定であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 3-1 試験区 BL1 におけるクロルピクリンの気相中光分解経時変化 (初期濃度%)

時間 (日)	照射区				暗所対照区			
	クロルピクリン		その他*	回収率	クロルピクリン		その他*	回収率
0								
1								
3								
7								
10								
14								

数値：照射区は 2 実験の平均値、暗所対照区は 1 実験の値
*：その他の放射性成分は個々には初期濃度の 10%未満。

表 3-2 試験区 BL1 におけるクロルピクリンの気相中光分解経時変化 (ppmv)

時間 (日)	照射区				暗所対照区			
	クロルピクリン		その他	計	クロルピクリン		その他	計
0								
1								
3								
7								
10								
14								

数値：照射区は 2 実験の平均値、暗所対照区は 1 実験の値

③ 短波長紫外線含有キセノン光による大気中光分解 (試験区 CL2)

結果を表 4 に示す。

照射区試料中の空気中全放射能濃度は、試験期間を通じて約 90~100%であった。^[14C]クロルピクリン (A) は極めて速やかに減少し、照射 7 日後には初期濃度の約 4%となった。主要放射性成分は であり、^[14C]クロルピクリン (A) の分解に伴って、ほぼ経時的に増加し、7 日後には初期濃度の約 76%となった。その他の放射性成分は個々には初期濃度の 10%未満であった。

暗所対照区試料の空気中全放射能濃度の減少はほとんどみられず、7 日後で初期濃度の約 95%が残存した。主要放射性成分である^[14C]クロルピクリン (A) は緩やかに減少し、試験開始 7 日後で初期濃度の約 63%となった。

表 4-1 試験区 CL2 におけるクロルピクリンの気相中光分解経時変化 (初期濃度%)

時間 (日)	照射区				暗所対照区			
	クロルピクリン		その他	回収率	クロルピクリン		その他	回収率
0								
1								
2								
3								
7								

数値：1 実験の値
*：その他の放射性成分は個々には初期濃度の 10%未満。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 4-2 試験区 CL2 におけるクロルピクリンの気相中光分解経時変化 (ppmv)

時間 (日)	照射区				暗所対照区			
	クロルピクリン		その他	計	クロルピクリン		その他	計
0								
1								
2								
3								
7								

数値：1 実験の値

3) クロルピクリンの気相中光分解半減期

[¹⁴C]クロルピクリン (A) の減衰を一次反応キネティクスに従うとみなして求めた各試験区における半減期を表 5 に示す。

試験区 AL1 では、クロルピクリン (A) の見かけ上の半減期は約 10 日であり、暗所対照区の減衰速度を補正した実質光分解半減期は約 11 日であった。従って、クロルピクリンは直接光分解により急速に分解することが明らかとなった。また、東京 5 月 (小平市) 及び東京春の太陽光に換算した半減期は、何れも約 4 日であった。

[申請者注：東京春の太陽光に換算した半減期約 4 日は申請者が算出]

試験区 BL1 では、クロルピクリン (A) の半減期は約 8 日であり、NO₂ 添加により、分解促進効果があると判断されたが、その程度は小さく、間接光分解の寄与率は低かった。また、東京 5 月 (小平市) 及び東京春の太陽光に換算した半減期は、それぞれ約 3 日及び約 2.9 日であった。

[申請者注：東京春の太陽光に換算した半減期約 2.9 日は申請者が算出]

試験区 CL2 では、クロルピクリン (A) の見かけ上の半減期は約 1.6 日であり、暗所対照区の減衰速度を補正した実質光分解半減期は約 1.7 日であった。従って、地上到達光より短波長の紫外線 (280 nm 以上) を含むキセノン光下での分解は更に急速であることが明らかとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 5 クロルピクリンの気相中光分解半減期

	試験区 AL1		試験区 BL1		試験区 CL2	
	照射区	暗所 対照区	照射区	暗所 対照区	照射区	暗所 対照区
実測半減期 (日)	9.99 (11.34)	83.5	8.26 (8.26)	*** —	1.63 (1.72)	28.7
太陽光換算 半減期 (日)	4.0*	—	3.3*	—	—	—
	4.0**	—	2.9**	—	—	—

*東京地方の5月(1994年~1996年)の地上到達太陽光観測結果に基づく値。

** 東京都小平市 春季(4~6月)の太陽光換算値[申請者実施]

*** 有意な減衰は認められなかった。

(): 暗所対照区の減衰速度を補正した実質光分解半減期

4) クロルピクリンの分解

クロルピクリンの大気における推定光分解経路を図2に示す。

クロルピクリンは、地表面付近の低層大気中で地表到達太陽光の波長スペクトルに類似した人工太陽光の照射により、半減期約4日(自然太陽光換算半減期)で急速に分解された。また、間接光分解の寄与率は低かったが、地上から離れた高層における太陽光を模した短波長紫外線(>280 nm)を含む光照射によりクロルピクリンは更に急速に分解された。従ってクロルピクリンが対流圏に滞留する可能性は低いと結論される。主要光分解物は であり、 は検出されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

図2 クロルピクリンの大気中における光分解経路
[]: 想定中間分解物もしくは文献的に既知の分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

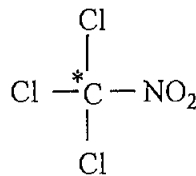
8. 植物代謝に関する試験 (参考)

文献: Wilhelm, S. N., Shepler, K., Lawrence, L. J., Lee, H., American Chemical Society Symposium series 652, 79-93, (1996), Environmental Fate of Chloropicrin

植物代謝に関する試験については、参考として上記文献で公開されている内容を要約して記載する。

供試標識化合物:

クロロピクリンの炭素を ^{14}C で標識した [^{14}C]クロロピクリン



構造式;

*: ^{14}C -標識位置

比放射能; mCi/mmole

放射化学的純度;

試験方法及び分析方法:

1. 供試植物

いちご (品種 Muir)、緑豆 (green bean、品種 Blue Lake)、
てんさい (品種 Detroit Dark Red)

2. 薬剤処理及び栽培方法

直径 12 インチ、深さ 24 インチのプラスチック製円筒管に土壌 (silt loam 微砂質壤土) を入れ、ポリエチレンフィルムで被覆した。2.5mL (5.6kg/ゲル相当量) の標識したクロロピクリンを土壌中に注入し、2 日後に被覆を除去した。これら方法は実際の圃場における慣行の方法に則った。

クロロピクリン処理 14 日後に、1 区画あたり 1 種類の植物を播種又は定植した。いちごは 8 株、緑豆 (green bean) は 16 粒、てんさいは 24 粒である。灌水、農薬散布 (セビン、ダイアジノン)、及び施肥 (Peters 20/20/20) は、試験期間中適宜行った。

3. サンプリングと分析

供試植物の茎、葉、根、及び果実は播種/定植後 66 日、及び成熟期に採取した。土壌サンプルは薬剤処理 2、14、70 日後、及び収穫時に深さ 24 インチまでの部分を採取した。分析/特徴付けの期間中、全てのサンプルは -25°C に保存した。植物体及び土壌サンプルは、Packard Model 306 Biological Sample Oxidizer を用いて燃焼し、 ^{14}C -二酸化炭素として測定した。液体シンチレーションによる放射活性測定は Packard 1500 液体シンチレーションカウンター (LSC) を用いた。化学ルミネセンスを極小化するため、リグニン画分の亜塩素酸酸化生成物は、Hionic-Fluor カクテル (Packard 製) と混合した。緑豆 (green bean) の葉のアセトニトリル抽出液は、LSC 測定前に市販の漂白剤で透明にした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

すべての植物体組織は重炭酸ナトリウムとアセトニトリルで連続的に抽出した。10g のサンプル 2 点 (但し、緑豆 (green bean) のさやと根部分はそれぞれ 15g 及び 2g) を 45mL のポリプロピレン管に入れ、15mL (但し、いちご果実は 10mL) の 1N-重炭酸ナトリウム水溶液を加え、ポリトロン (Brickmann, PT10-35) を用いて室温で 3 分間ホモジナイズした。得られたホモジネートを 4°C で 25 分間遠心分離にかけ、上清をデカントして分取後、不溶残渣は更に 2 回 1N-重炭酸ナトリウム水溶液でホモジナイズを繰り返した。その後更にアセトニトリルで抽出を行った。全試料で重炭酸ナトリウムにより抽出性放射能の大部分が抽出された。6 つの抽出液の重量を測定し、LSC により放射能測定を行った。不溶性残渣は乾燥し秤量した後、燃焼して、結合型放射性炭素を定量した。

重炭酸ナトリウム抽出液の HPLC 分析により、放射性炭素は逆相系で溶媒先端に溶出する極性化合物のみで構成されていることが明らかとなった。HPLC 系は、Supelco C18 カラム (25 cm x 0.46 cm) と LC90UV 検出器 (210nm) 付き Perkin Elmer Series 4LC 又は Supelco C18 カラムを用いた 3 連ポンプの Spectra-Physics SP8700XR を使用した。SP8700 は Micromeritics 787 Variable UV/Vis 検出器 (210nm)、及び Radiomatic Flo-One Beta 放射能フロー検出器を備えており、それぞれ UV 吸収スペクトルとラジオクロマトグラムを作成する。ラジオクロマトグラムは研究所で開発したコンピュータープログラムを用いて再作成した。両 HPLC 系とも、以下の条件のリニヤーグラジエント (流速 1 mL/分) を使用した: 0-5 分; 100%水、5-25 分; 100%水から 100%アセトニトリル、25-30 分; 100%アセトニトリル、30-35 分; 100%アセトニトリルから 100%水、35-40 分; 100%水。溶出液は ISCO フラクションコレクターで LSC バイアルに分画後、研究所で開発したコンピュータープログラムでラジオクロマトグラムを再作成した。

重炭酸ナトリウム、ニトロメタン、及びクロルピクリンを含む標準溶液を調製した。

ニトロメタンはクロルピクリンが二酸化炭素に分解される過程での中間体として同定されていたので、分析することにした。全 3 種植物体の重炭酸ナトリウム抽出液のラジオクロマトグラムでは、保持時間約 4 分に単一ピークが認められた。ニトロメタン及びクロルピクリンのピークは認められなかった。これら 2 つの化合物の水溶解度は比較的 low (20°C でそれぞれ 0.16% 及び 10.5%)、かつ 100%水相の溶離液で放射性炭素が溶出したことから、放射性炭素はその特性として水溶性及び極性物質であることが明らかとなった。

さらに薄層クロマトグラフィーを用いて重炭酸ナトリウム抽出液中の放射性炭素の同定を行った。緑豆 (green bean) の葉、いちご果実、及びてんさい塊根の分析を極性溶媒系 (ブタノール:酢酸:水、4:1:1, v:v:v) を用いて行った。放射性炭素の全量が原点に残存し、重炭酸ナトリウム抽出液中の放射性炭素は極性の特性を持つことが実証された。

第 3 の分析方法として下降法のペーパークロマトグラフィーを用いて、放射性炭素の分離と暫定的な同定を行った。この方法による分析では高い放射能が必要であること及び HPLC クロマトグラムは、全試料抽出液で実質的に同一であったことから、いちご果実抽出液を 3 種植物体の代表サンプルとした。下降法のペーパークロマトグラフィーは、Whatman 3mm Chr machine direction paper を用い、展開液を n-ブタノール:エタノール:水 (3:0.67:1, v:v:v) として行った。乾燥後、ペーパークロマトを 1cm の長さに切り分け、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

それぞれを33%メタノールで溶出してLSCで定量した。この分析により、 ^{14}C 極性化合物は、Clプールを経て取り込まれた放射性炭素原子から生じた炭水化物であると推定されたことから、 ^{14}C -グルコース、 ^{14}C -果糖、 ^{14}C -ショ糖、 ^{14}C -デンプン、 ^{14}C -クエン酸塩 (New England Nuclear) の標準液を用いて、Rf値を求め、それぞれ抽出液のショ糖、果糖、及びグルコースと一致した。デンプンとクエン酸塩は原点から移動しなかった。いちご果実の重炭酸ナトリウム抽出液を更にエタノール不溶画分、ピリジン可溶画分、陰イオン性、陽イオン性、及び中性画分に分画して特徴づけた。つまり抽出液(49.8mL)に無水エタノール150mLを加え、沈殿物(高分子、例えばタンパク質)を遠心分離で除いた。上清をろ過し、丸底フラスコに入れ、ロータリーエバポレーターで濃縮・乾固した。残留物をピリジンに溶解し、10分間蒸気加温した後、サンプルをろ過し、更に2.5mLピリジンで洗浄すると、粘性のある状態となり、炭水化物の存在が示された。放射性炭素の大部分はこの画分に含まれた。陰イオン性残留物の分離は陰イオン交換カラムを用い、1N塩酸で溶出して行った。中性及び陽性残留物は陽イオン交換カラムを用いて、水、続いて1.5Nアンモニア水で溶出して分離した。

抽出後の植物体組織中の結合型放射性炭素は、細胞壁の分画方法に従ってデンプン、タンパク質、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、セルロースに分画した。最初に乾燥固形物約1gを100mLの50mMリン酸カリウム緩衝液(pH7)により洗浄した。

フィルター上の固形物は α -アミラーゼにより30°C、20時間加水分解し、ろ過してデンプン画分を分離した。更にデンプンを抽出後の固形物は、Tris-塩酸緩衝液(pH7.2)に懸濁し、プロナーゼEを用いて30°C、16時間加水分解し、ろ過した。得られたろ液はタンパク質画分として放射能測定を行った。タンパク質を抽出後の固形物は、EDTA/酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.5)で80°C、6時間抽出を行い、ろ過した。フィルター上の固形物はペクチンを含むが、これを水洗し、風乾した。植物体の固型残留物は、リグニンを除去するため氷酢酸と亜塩素酸ナトリウム2水和物で3回処理した。リグニンを除去した残留物は、24%水酸化カリウム水溶液中で27°C、24時間インキュベート後、酢酸でpH4.5に調整し、遠心分離を行った。上清にはヘミセルロースが含まれた。残った沈殿物は72%硫酸に室温で4時間懸濁後、水酸化カリウムで中和した。硫酸カリウムを水に溶解した後、ろ過し、セルロース画分を得た。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

結果：結果を表1に要約する。

表1.

土壌及び作物	分析画分	放射性炭素総残留量 (TRR)		
		処理後経過日数		
		2 日後	66 日後 (未成熟期)	収穫時 (成熟期)
土壌	0-6 インチ層	35-50 ppm		5-10 ppm
	18-24 インチ層	2-4 ppm		1.3 ppm
全植物体 (緑豆、イチゴ、 てんさい)	果実、葉、茎、根、根/胚軸、 さや		1.9-8.4 ppm	0.1-2.7 ppm

作物	分布	残留量及び特徴		
全植物体	抽出物	17.7-60.7% TRR 同定物：クエン酸塩、グルコース、果糖及びシ ヨ糖。 クロルピクリン及びニトロメタンは非検出。		
	未 抽 出 物	イチゴ (果実、葉、茎、根)	0.007-0.578 ppm	全残留物は、デンプン、タン パク質、ペクチン、リグニン、 ヘミセルロース及びセルロ ース画分に分布。 クロルピクリン及びニトロメ タンは非検出。
		てんさい (根/胚軸、葉、茎)	0.003-0.140 ppm	
		緑豆 (さや、葉、茎、根)	ND-0.307 ppm	

1. 放射性炭素の分布

土壌中の総放射性炭素は、0-6 インチの層では試験期間中大幅に減少し、処理2日後の35-50ppmから植物体収穫時では5-10ppmに低下した。全てのサンプリング時点を通じて、土壌深度が深くなるに従い放射性炭素レベルは減少し、例えば 18-24 インチの層では、処理2日後に僅かに2-4ppm、収穫期では1.3ppmであった。

66日後に収穫した未成熟植物体中の総放射性炭素量は、全植物体画分で1.9-8.4ppmであった。成熟期では、放射性炭素レベルは、大幅に減少し、0.1-2.7ppmであった。成熟期の植物体の全画分に存在する総放射性炭素の17.7-60.7%が1N重炭酸ナトリウム水溶液で抽出された。いちご果実、てんさい、及び緑豆さやに関しては、それぞれ総放射性炭素の53.7、60.7、及び58.9%が重炭酸ナトリウム水溶液で抽出された。更に1.3-6.1%がアセトニトリルで抽出された。

残りの放射性炭素は結合体画分に由来していた。緑豆 (green bean) の葉を除いて、全ての結合体画分中の放射性炭素は、デンプン、タンパク質、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、及びセルロース画分中に含まれていた。いちごの果実、葉、茎、及び根の放射性炭素のレベルは0.007-0.578ppm、てんさいの根/胚軸、葉、及び茎のレベルは0.003-0.140ppm、緑豆 (green bean) のさや、葉、茎、及び根ではND-0.307ppmであった。植物体サンプルの分析における検出限界は、サンプル量により0.002-0.02ppmであった。全ての植物体の分析で放射性炭素の総回収率は101.2±10.0%であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

2. 植物代謝物

クロロピクリン或いはは全ての結合性画分或いは抽出性画分から検出されなかった。HPLC及びTLCによる特徴付けにより、重炭酸ナトリウム抽出液中の放射性炭素は極性の特性を持つことが分かった。ペーパークロマトグラフ分析により、重炭酸ナトリウムで抽出可能な放射性炭素は、グルコース、果糖、ショ糖であると同定された。残りの結合型放射性炭素は細胞分画法により特徴付け、デンプン、タンパク質、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース、及びセルロースに分布していることが分かった。

いちご果実の重炭酸ナトリウム抽出液では、総放射性炭素量の30.8%がピリジン可溶性画分に存在し、22.4%がクエン酸塩、グルコース、果糖、及び/又はショ糖と同定された。重炭酸ナトリウム抽出液中のエタノール不溶性画分には総放射性炭素量の4.5%が含まれており、 ^{14}C -タンパク質の存在を示唆した。陰イオン画分 (ND)、陽イオン画分 (4.0%)、及び中性画分 (17.3%) 中に認められた総放射性炭素のうち、最大の単一成分が、 ^{14}C -グルコース、 ^{14}C -果糖、 ^{14}C -ショ糖と同定された。

これらの結果から、 ^{14}C -クロロピクリンで処理された土壌で栽培した植物体中に認められる放射性炭素は放射能標識された炭素原子が取り込まれて植物体の自然の生化学的成分を構成していることが示唆される。

が好氣的条件下の土壌中におけるクロロピクリンの最終代謝生成物と同定されているので、上記のメカニズムは明らかにを経たの取り込みである。さらにそれぞれの植物体組織中にある大部分の放射性炭素は、主に組織中に存在する自然の植物体成分と関連していた。例えば全3種の植物体の茎中に認められた放射性炭素の32-35%は、リグニン、ヘミセルロース、セルロースを由来としていた。植物体の根によるの吸収及びその後の多くの生体内物質への代謝は公表文献 (文献*) 中にあきらかである。

文献*

- ・ Basra, A. S., Malik, C. P., Biological Review, 60, 357-401, (1985),
Non-photosynthetic fixation of carbon dioxide and possible biological roles in higher plants

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロロピクリン工業会にある。

代謝分解のまとめ

クロロピクリンの動物、植物および土壌における代謝分解、水中光分解及び大気中における光分解の概要を以下にまとめ、結果の概要を表1(IX-84~86頁)に、推定代謝分解経路を図1(IX-83頁)に示す。

1. 動物代謝

1.1 ラットにおける代謝 (資料 代1-1)

[¹⁴C]-クロロピクリンの低用量 (2 mg/kg) および/または高用量 (20 mg/kg) で単回経口投与または静脈内投与を行い、投与後 48 時間または 168 時間までの薬物動態、排泄バランス (尿、糞、呼気排泄)、体内分布および代謝を調査した。

薬物動態

[¹⁴C]-クロロピクリンの経口単回投与後の血漿及び赤血球中の薬物動態パラメーターを下表に示す。

時間 (hr)	血漿				赤血球			
	低用量(2 mg/kg)		高用量(20 mg/kg)		低用量(2 mg/kg)		高用量(20 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Tmax (hr)	4.5	4.5	4.5	3	2	4.5	4.5	3
Cmax	1.441	1.290	15.738	14.943	1.014	1.072	13.773	14.493
吸収速度(hr ⁻¹)	1.827	1.006	1.456	2.241	-	-	-	-
AUC	126.408	119.455	1252.555	1029.859	165.913	161.147	1667.725	1586.473
半減期(hr)	63.357	65.448	64.351	52.294	119.181	106.575	93.962	81.266

血漿および赤血球中のクロロピクリンの推移はほぼ同様であり、急速に吸収されたのち、性ならびに用量に係りなく ¹⁴C 濃度は投与後 2~4.5 時間で最高値 (C_{max}) に達したのち、血漿中半減期 52~65 時間で緩やかに低下した。C_{max} 及び無限時間までの血漿中濃度曲線下面積(AUC) は用量にほぼ正比例していた。また、雌雄間の AUC、ならびに雌雄及び用量間の半減期及び消失パターンに明確な差は認められなかった。

排泄

① 経口投与後の排泄

168 時間の排泄バランス試験及び呼気排泄を主体とする 48 時間試験を行った。両試験における放射能の回収率は 89~94%であった。何れの試験においても、性、用量に係りなく投与後 2 日間で投与量の 72~75%が排泄され、投与後 7 日間の排泄量は投与量 (AD) の 80~83%であり、7~8% AD が投与 7 日後の体内に残留した。放射能の主排泄経路は性及び用量に係りなく呼気 (投与後 2 日間: 45~54% AD、投与後 7 日間: 48~54% AD) であり、次いで尿 (投与後 2 日間: 13~20% AD、投与後 7 日間: 20~25% AD) 及び糞 (投与後 2 日間: 5~10% AD、投

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

与後 7 日間：7～12% AD) であった。呼気への排泄は速やかであった。

② 静脈内投与後の排泄

[¹⁴C]-クロルピクリンの排泄挙動は雌雄とも経口投与群と類似していた。投与後 7 日間の呼気、尿及び糞への排泄は、それぞれ 50～56% AD、20～22% AD、及び 5% AD であった。7 日後の体内残留量は 11～15% であり、経口投与群よりもやや高かった。静脈内投与群においても糞中への排泄が認められ、胆汁排泄のあることが示唆された。

③ 胆汁中への排泄

[¹⁴C]-クロルピクリンを 2 mg/kg の用量で胆管カニューレションラットに経口投与し、6、24、及び 48 時間後の胆汁、呼気、尿・糞（6 時間後を除く）への排泄を調査した。48 時間後の放射能の回収率は 86～87% であった。48 時間後における胆汁、呼気、尿及び糞への排泄量は、それぞれ 7～10% AD、30～32% AD、20～25% AD 及び 13～14% AD であった。排泄バランス試験の結果と比較すると、呼気への排泄は低かったが、尿への排泄は概ね同等であり、胆汁に排泄された放射性物質の腸肝循環は活発ではないと推測された。

④ 吸収率

経口投与及び静脈内投与のラットにおける呼気及び尿中の排泄量から求めた吸収率を下表に示す。その結果、雌雄とも放射能の吸収率はほぼ定量的（93～97%）であった。

		静脈内投与 呼気+尿 (a)	経口投与 呼気+尿 (b)	推定吸収率 b/a
低用量 (2 mg/kg)	雄	70.11	68.14	97.19%
	雌	77.62	71.93	92.67%

体内分布

[¹⁴C]-クロルピクリンの経口投与及び静脈投与後の臓器・組織中の残留濃度を、経口投与では T_{max} 付近（4.5 時間）を含む 4 時点（最終時点は 168 時間後）又は静脈投与では 168 時間後に調査した。

経口投与後の放射能の分布及び消長パターンは、性、用量に係りなく類似していた。また、臓器・組織中の濃度も雌雄間で類似しており、肝臓（168 時間後：0.765～0.993% AD、0.403～3.641 µg eq./g）で最も高く、腎臓（168 時間後：0.097～0.098% AD、0.240～2.559 µg eq./g）がこれに次いだ。¹⁴C-濃度はほぼ用量に比例していた。静脈内投与後の分布パターンは経口投与群とほぼ同じであり、特に赤血球（0.604～0.883 µg eq./g）、脾臓（0.569～0.888 µg eq./g）及び被毛（雄のみ、2.876 µg eq./g）中 ¹⁴C-濃度が高かった。何れの投与方法及び用量群でも投与後 168 時間後においても、胃内容物から約 1% AD の放射能が検出された。

代謝

[¹⁴C]-クロルピクリン (A) は呼気、尿、糞、胆汁及び血漿中には検出されなかった。

呼気中の主要代謝物は、であり 43～48% AD（48 時間後）であった。その他に、メタノール捕集液中で が検出され、7% AD（24 時間後）であった。

尿中で 5% AD を超えて検出された代謝物は M1（未同定代謝物）のみであり、約 2～6% AD で

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

あった。その他に が約 1~2% AD のレベルで検出された。
糞中で検出された代謝物は 及び であり、それぞれ投与量の 0.2~0.5%及び 1.0~2.4%で
あった。
胆汁中で検出された代謝物は、 及び であり、それぞれ投与量の 3~5%及び 0.7~0.9%
であった。また、胆汁中にはアシルスルファターゼ含有β-グルクロニダーゼで加水分解される
¹⁴C-抱合体は含まれず、 は胆汁酸及びその抱合体とは一致しなかった。
血漿中で検出された代謝物は、 であった（血漿中放射能の 67%、8.63 μg eq./mL）。

以上のことから、ラットにおけるクロルピクリンの主要代謝経路は を生成する経路
である。吸収されたクロルピクリンは されて一部は として揮発され、
一部は に取り込まれ、大部分は 素に、一部は に代謝される。第 2
の経路はクロルピクリン又はその代謝物が体内の構成成分と共有結合し、代謝物 を生
成する経路である。

1.2 マウスにおける代謝（資料 代 1-2）

[¹⁴C]-クロルピクリンを 30 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 168 時間までの排泄バラン
ス（尿、糞、呼吸排泄）、体内分布および全身オートラジオグラフィーによる放射能の分布を調
査した。

排泄

投与後 168 時間における放射能の分布は下表に示す通りで、総放射能回収率は 87.3~87.9%で
あり、投与量（AD）の 84.9~85.1%が排泄され、体内には 2.31~2.77% AD が残留していた。
主要排泄経路は、雌雄に係らず呼吸（41.4~44.4% AD）及び尿（33.1~39.3% AD）であった。
また、投与 24 時間内に捕集された は 10~12% AD であり、この大部分がラッ
ト代謝試験（代 1）の結果から、 であると推定された。同様に と
推定される成分は、31~32% AD であった。

性別	呼吸	尿	糞	ケージ 洗液	排泄量 合計	体内残留 放射能	放射能 回収率
雄	41.35	39.31	4.20	0.26	85.12	2.77	87.90
雌	44.43	33.09	6.59	0.83	84.94	2.31	87.26

体内分布

投与後 4.5、24、72、168 時間後の全血、血漿、ハーパー腺、肝臓、肺及びカーカスを採取し、
臓器中の放射能分布及び組織-血漿濃度比を調査した。

血漿中放射能濃度は、投与後 4.5 時間(T_{max} 付近)で、22.77~24.40 mg eq./L であったが、以
後、半減期 26~32 時間で減衰し、168 時間後には 0.26~0.48 mg eq./L となった。
体内残留放射能は、投与後 4.5 時間で、41.3~43.9% AD、24 時間後では 9.99~19.8% AD に減
少し、168 時間後には 2.31~2.77% AD となった。これらの結果は全身オートラジオグラフィー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

でも確認された。全血、肺、肝臓及びハーダー腺における放射能半減期は 40~56 時間であり、雌雄いずれにおいても血漿中よりも長かった。

組織-血漿濃度比は、投与後 4.5 時間で 0.5~1.3 であったが、経時的に高くなり、168 時間後においても 1.7~13 と高い値であった。

従って、 ^{14}C クロルピクリン由来の放射能の赤血球、肺、肝臓及びハーダー腺への親和性は、血漿に比べて高いことが示された。

2. 植物代謝：(参考)

アメリカ化学会シンポジウム要旨集 (ACS Symposium series 652, 1996 Wilhelm, S.N., Shepler, K., Lawrence, L.J., Lee, H.) からの引用。

^{14}C -クロルピクリン 500lb/acre (5.6 kg/a) 相当量を処理した土壌で栽培した緑豆 (green bean)、イチゴ、てんさいについて総放射能及び ^{14}C 代謝物を調査した。

各植物体の茎、葉、根及び果実ならびに土壌を採取し、分析した。土壌は酸化燃焼/LSC 法により、その他の植物体の各画分試料は重炭酸ナトリウムとアセトニトリルにより抽出して、放射性総残留物 (TRR) を求めた。重炭酸ナトリウム抽出液を HPLC、TLC 及び下降法のペーパークロマトグラフィーにより、放射能の分離と同定を行った。

放射能の分布

土壌: 土壌中の TRR は 0.6 インチの層では、処理 2 日後の 35-50 ppm から収穫時では 5-10 ppm に大幅に低下した。また全試料採取時点において、TRR は土壌深度が深くなるに従い減少し、例えば 18-24 インチの層では、処理 2 日後に僅かに 2-4 ppm、収穫時では 1.3 ppm であった。

植物体: 全植物体画分中の TRR は、処理 66 日後収穫した未成熟植物体各画分で 1.9-8.4 ppm、であったが、成熟植物体各画分では 0.1-2.7 ppm であり、大幅に減少した。そのうち、TRR の 17.7-60.7% が 1 N 重炭酸ナトリウム水溶液で抽出された。いちご果実、てんさい及び緑豆さやに関しては、それぞれ TRR の 53.7、60.7、及び 58.9% が重炭酸ナトリウム水溶液で抽出され、1.3-6.1% がアセトニトリルで抽出された。抽出後の固形物中の放射能は緑豆の葉を除き、全植物体でデンプン、タンパク質、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース及びセルロース画分に分布していた。その量はいちご (果実、葉、茎、及び根) では 0.007-0.578 ppm、てんさい (根/胚軸、葉、及び茎) では 0.003-0.140 ppm、緑豆 (さや、葉、茎、及び根) では ND-0.307 ppm であった。植物体各画分の分析において、検出限界は、0.002-0.02 ppm、放射能の総回収率は 101.2±10.0% であった。

代謝

クロルピクリン (A) 及び は全抽出液画分及び抽出固形物画分から検出され
なかった。重炭酸ナトリウム水溶液で抽出された放射成分で同定又は特徴付けられた代謝物はクエン酸塩、グルコース、果糖及びシヨ糖であった。さらに、抽出後固形物中の放射能がデンプン、タンパク質、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース及びセルロース画分に分布したことから、 ^{14}C -クロルピクリンで処理された土壌で栽培された植物体中に認められる放射性炭素は、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

自然の植物体成分を構成していることが示唆された。土壌代謝試験で土壌中での最終代謝生成物は であることから、土壌中でクロルピクリンの分解により生成した が植物体の根から吸収され、体内で様々な植物体成分に変化したものである。

3. 土壌中動態

好氣的土壌代謝：(資料 代 2)

[¹⁴C]-クロルピクリンの好氣的畑地土壌における代謝・分解性を調査した。

非滅菌 (沖積、軽埴土) 及び非滅菌 (火山灰、埴壤土) に慣行施用量 (30 cm 四方に対し 80% 製剤を 3 mL) のクロルピクリンが深さ 30 cm の土壌に均一に分布した際の土壌中濃度に相当する 150 µg/g 乾土を添加し、25°C、暗所で試験を行った。試験は施用 3 日後まで、密閉状態でインキュベートし、3 日後に開封後、容器内空気を強制排気/捕集したのち、揮発物質捕集装置をつけてインキュベートした。

物質収支：最終採取時点 (: 21 日後、 : 14 日後) までの放射能の累積回収率は施用量 (AR) の 86-104% であった。

放射能の分布：土壌中の放射能は、施用直後で 90~93%AR、施用 3 日後で 69~46% AR であったが、施用 3 日後の密封開放後は、急速に減少し、最終採取時点では、15~5% AR となった。土壌中の抽出性放射能は、施用直後で 88~91%AR、施用 3 日後で 35~31%AR であったが、その後減少し、最終採取時点では、両土壌とも 1%未満となった。土壌の抽出残渣中の放射能は、施用 3 日後に最高値 (: 34% AR、 : 15% AR) となり、その後は減少した。土壌からの放射能回収率の低下に伴い、放射性物質捕集用のメタノール捕集液と NaOH 捕集液から回収される放射能が増加した。メタノール捕集液中の累積回収放射能は、最終採取時点までに 57~69% AR に達したが、そのうち 21~39% AR が施用 3 日後の密封容器内の空気中から回収されたものであった。NaOH 捕集液中の累積回収放射能は、最終採取時点までに 30~13% AR であった。そのうち両土壌で施用 3 日後の検出量は低く、施用 3~7 日間の発生量 (17~11%AR) が最大であった。

代謝：土壌抽出液中で同定/特徴付られた放射性成分はクロルピクリン (A) 及び

であり、施用 3 日後で、それぞれ 31~28% AR 及び 3~1% AR が検出されたが、施用 7 日後以降の土壌の TRR は 1% AR 未満と極めて低く、クロルピクリン (A) 及び は認められないと示唆された。

メタノール捕集液中で同定/特徴付られた放射性成分は大部分がクロルピクリン (: 17~30% AR、 : 22~36% AR) であり、 が微量 (0.2~1.2% AR) 検出された。

NaOH 捕集液中で同定/特徴付られた放射性成分は であった。

21 日後試料の抽出後固形物中の放射能は、主としてヒューミン、腐植酸及びフルボ酸画分に分布していた。

また揮散消失も含めた土壌中のクロルピクリンの半減期は、 で 4.84 日、 で 3.48

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

図 1 クロルピクリンの代謝分解経路

M: 動物代謝

S: 土壤中動態

LW: 水中光分解

LA: 大気中光分解

[]: 想定中間分解物もしくは文献的に既知の分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

表 1. 代謝分解の概要

試料			投与量または TRR に対する回収率%							投与量又は TRR に対する回収率			
			A				未同定	非抽出物	その他揮発物		回収放射能の合計		
動物代謝 ラット	メタノール 捕集液	経口投与 低用量 (2 mg/kg) 0-24 時間	雄										
			雌										
		経口投与 高用量 (20 mg/kg) 0-24 時間	雄										
			雌										
	NaOH 捕集液	経口投与 低用量 (2 mg/kg) 0-48 時間	雄										
			雌										
		経口投与 高用量 (20 mg/kg) 0-48 時間	雄										
			雌										
	尿	経口投与 低用量 (2 mg/kg) 0-96 時間	雄										
			雌										
		経口投与 高用量 (20 mg/kg) 0-96 時間	雄										
			雌										
糞	経口投与 低用量 (2 mg/kg) 0-96 時間	雄											
		雌											
	経口投与 高用量 (20 mg/kg) 0-120 時間	雄											
		雌											
胆汁	経口投与 低用量 (2 mg/kg) 0-48 時間	雄											
	経口投与 高用量 (20 mg/kg) 0-48 時間	雌											
血漿 ¹⁾	経口投与 高用量 (20 mg/kg) 4.5 時間	雄											

NA: 分析せず。空欄: 検出せず。¹⁾ 分析値は $\mu\text{g eq/mL}$ 。
A: 親化合物 クロルピクリン

未同定: 個々の成分は 10%AR 未満。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

試料		投与量または TRR に対する回収率%							回収放射能の合計	投与量又は TRR に対する回収率	
		A				未同定	非抽出物	その他揮発物			
植物代謝	文献引用のため省略										
土壌	畑地土壌 (軽積土)	0日後	土壌								
		3日後 開封前	捕集液								
		3日後 開封後	捕集液								
			土壌								
		7日後	捕集液								
			土壌								
		10日後	捕集液								
		土壌									
	14日後	捕集液									
		土壌									
	17日後	捕集液									
		土壌									
	21日後	捕集液									
		土壌									
畑地土壌 (壤壤土)	0日後	土壌									
	3日後 開封前	捕集液									
	3日後 開封後	捕集液									
		土壌									
	7日後	捕集液									
		土壌									
	10日後	捕集液									
	土壌										
14日後	捕集液										
	土壌										
水中	加水分解	試験省略									
	水中 光分解	緩衝液 (pH 5)	照射区	0*							
				26.5*							
				50.5*							
				72.5*							
				146*							
				215*							
				313.8*							
		暗所 対照区	0*								
			312*								
		自然水	照射区	0*							
				4*							
				6*							
				16.8*							
				25.7*							
	51.2*										
	98.8*										
	暗所 対照区	0*									
		4*									
		6*									
25.7*											
51.2*											
98.8*											

空欄：検出せず、NA：分析せず、-：適用なし、*：施用後経過期間（時間）
A：親化合物 クロルピクリン

土壌：() 内の数値は投与量又は TRR に対する累積回収率。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

試料			投与量または TRR に対する回収率%							初期濃度に対する回収率		
			A				未同定	非抽出物			その他揮発物	回収放射能の合計
大気 気相中 光分解	試験区 AL1	照射区	0日後									
			3日後									
			7日後									
			10日後									
			14日後									
		21日後										
		暗所対照区	0日後									
			3日後									
			7日後									
			10日後									
	14日後											
	試験区 BL1	照射区	0日後									
			1日後									
			3日後									
			7日後									
			10日後									
		暗所対照区	14日後									
			0日後									
			1日後									
			3日後									
			7日後									
試験区 CL2	照射区	10日後										
		14日後										
		0日後										
		1日後										
		2日後										
	暗所対照区	3日後										
		7日後										
		0日後										
		1日後										
		2日後										

試験区 AL1: 供試空気 1+人工光照射 (300 nm 以下と 800 nm 以上をカット)
 試験区 BL1: 供試空気 2+人工光照射 (300 nm 以下と 800 nm 以上をカット)
 試験区 CL2: 供試空気 1+人工光照射 (280 nm 以下をカット)
 空欄: 検出せず nd: 検出限界以下、 TRR: 放射性総残留物、
 A: 親化合物 クロルピクリン

未同定: 個々の成分初期濃度の 10%未満。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクロルピクリン工業会にある。

(附) クロルピクリンの研究開発年表