

9. 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 (1)>

抄録番号	資料No.	試験の種類及び項目	供試物	投与化合物 投与量、方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁																																																
9.1.1	M-1.1	ラット体内における代謝試験 (単回経口投与) 1) 尿糞中排泄 2) 血漿中濃度推移 3) 組織分布 4) 胆汁排泄 (低用量) 5) 代謝	雌雄 ラット	¹⁴ C-MCPA 10 及び 100 mg/kg 経口投与	1)尿糞中排泄 ・尿糞中排泄は 24h までにほぼ終了 ・尿糞中排泄率(%、0~120h) : <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">100 mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>101</td> <td>95</td> <td>94</td> <td>101</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>4</td> <td>3</td> </tr> </tbody> </table> 2)血漿中濃度推移 <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">パラメーター</th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">100 mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cmax(µg/mL)</td> <td>51.6</td> <td>42.3</td> <td>336</td> <td>342</td> </tr> <tr> <td>Tmax(h)</td> <td>3</td> <td>1</td> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>AUC(µg*h/mL)</td> <td>274</td> <td>199</td> <td>3967</td> <td>3523</td> </tr> <tr> <td>T_{1/2}(h)</td> <td>1.4</td> <td>1.3</td> <td>3.7</td> <td>4.2</td> </tr> </tbody> </table> 3)組織分布 血漿、全血、腎臓、肝臓で相対的に高く経時的に減少。脂肪中の消失はやや緩慢。 4)胆汁排泄 胆汁中排泄率は6~8%。吸収率は90%と推察。 5)代謝		10 mg/kg		100 mg/kg		雄	雌	雄	雌	尿	101	95	94	101	糞	2	1	4	3	パラメーター	10 mg/kg		100 mg/kg		雄	雌	雄	雌	Cmax(µg/mL)	51.6	42.3	336	342	Tmax(h)	3	1	3	3	AUC(µg*h/mL)	274	199	3967	3523	T _{1/2} (h)	1.4	1.3	3.7	4.2	(1992)	292
	10 mg/kg		100 mg/kg																																																				
	雄	雌	雄	雌																																																			
尿	101	95	94	101																																																			
糞	2	1	4	3																																																			
パラメーター	10 mg/kg		100 mg/kg																																																				
	雄	雌	雄	雌																																																			
Cmax(µg/mL)	51.6	42.3	336	342																																																			
Tmax(h)	3	1	3	3																																																			
AUC(µg*h/mL)	274	199	3967	3523																																																			
T _{1/2} (h)	1.4	1.3	3.7	4.2																																																			
9.1.2	M-1.2	ラット体内における代謝試験 (単回経口投与) 1) 血漿中濃度推移 2) 血漿中代謝物	雌雄 ラット	¹⁴ C-MCPA エテル あるいは ¹⁴ C-MCPA 10 mg/kg 経口投与	1)血漿中濃度推移 <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">パラメーター</th> <th colspan="2">¹⁴C-MCPA エテル</th> <th colspan="2">¹⁴C-MCPA</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cmax(µg/mL)</td> <td>40.8</td> <td>43.9</td> <td>44.8</td> <td>48.7</td> </tr> <tr> <td>Tmax(h)</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>AUC(µg*h/mL)</td> <td>265</td> <td>262</td> <td>287</td> <td>329</td> </tr> <tr> <td>T_{1/2}(h)</td> <td>2.6</td> <td>1.8</td> <td>3.5</td> <td>3.2</td> </tr> </tbody> </table> MCPA エテル投与と MCPA 投与による血漿中濃度推移は類似。 2)血漿中代謝物 かに MCPA エテル(A)は速や代謝。	パラメーター	¹⁴ C-MCPA エテル		¹⁴ C-MCPA		雄	雌	雄	雌	Cmax(µg/mL)	40.8	43.9	44.8	48.7	Tmax(h)	3	3	3	3	AUC(µg*h/mL)	265	262	287	329	T _{1/2} (h)	2.6	1.8	3.5	3.2	(1992)	301																			
パラメーター	¹⁴ C-MCPA エテル		¹⁴ C-MCPA																																																				
	雄	雌	雄	雌																																																			
Cmax(µg/mL)	40.8	43.9	44.8	48.7																																																			
Tmax(h)	3	3	3	3																																																			
AUC(µg*h/mL)	265	262	287	329																																																			
T _{1/2} (h)	2.6	1.8	3.5	3.2																																																			
9.1.3	M-1.3	ラット体内における代謝試験 (単回経口投与) 肝臓中代謝物	雌雄 ラット	¹⁴ C-MCPA エテル あるいは ¹⁴ C-MCPA 10 mg/kg 経口投与	肝臓中代謝物 かに MCPA エテル(A)は速や代謝。	(1992)	305																																																

<代謝分解試験一覧表 (2)>

抄録番号	資料 No.	試験の種類及び項目	供試物	投与化合物 投与量、方法	試験結果の概要	試験機関 報告年	頁															
9.2.1	M-2.1	稲における代謝試験 1) 幼植物の吸収、移行、代謝 2) 幼穂形成期処理における吸収、移行、代謝 3) 止め葉における吸収、移行、代謝	稲 約3葉期の幼植物あるいは幼穂形成期の稲	¹⁴ C-MCPA 1) 1ppm 水溶液浸漬あるいは200ppmメタノール溶液の葉面塗布 2) 40g ai/10a 田面水処理 3) メタノール溶液を葉面塗布処理 (4.28μg/葉)	1) 幼植物の吸収、移行、代謝 ・浸漬168時間で約70%が稲体に吸収。 ・放射能分布は茎葉/根部=3/7。 ・葉面塗布による下方移行はほとんどなし。 2) 幼穂形成期処理における吸収、移行、代謝 収穫時の総放射性残留物濃度(TRR)及び放射能分布(%TRR) <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>TRR(ppm)</th> <th>% dose</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>玄米</td> <td>0.238</td> <td>0.525</td> </tr> <tr> <td>籾殻</td> <td>0.173</td> <td>0.126</td> </tr> <tr> <td>稲藁</td> <td>0.346</td> <td>2.097</td> </tr> <tr> <td>合計</td> <td>-</td> <td>2.748</td> </tr> </tbody> </table> ・玄米中残留放射能の66%はデンプン画分。 3) 止め葉処理における吸収、移行、代謝 ・葉部から茎部への移行性若干あり。		TRR(ppm)	% dose	玄米	0.238	0.525	籾殻	0.173	0.126	稲藁	0.346	2.097	合計	-	2.748	(1992)	309
	TRR(ppm)	% dose																				
玄米	0.238	0.525																				
籾殻	0.173	0.126																				
稲藁	0.346	2.097																				
合計	-	2.748																				
9.2.2	M-2.2	稲における代謝試験 幼植物中のMCPA及びMCPA エチルの代謝比較	稲 約3葉期の幼植物	¹⁴ C-MCPA エチル あるいは ¹⁴ C-MCPA 各1ppm 水溶液浸漬	・MCPA エチル(A)は稲体中で速やかに代謝。 ・吸収、移行及び代謝は同様。	(1992)	319															
9.2.3	M-2.3	稲における代謝試験 幼植物中抱合体の加水分解	稲 約3葉期の幼植物	¹⁴ C-MCPA 1ppm 水溶液浸漬	セルラーゼ処理及び 1 規定水酸化ナトリウム処理(残留分析法)により加水分解。	(1992)	323															
9.2.4	M-2.4 GLP	小麦における代謝試験	小麦	¹⁴ C-MCPA Na 塩液剤として 640g ai/ha 処理 処理111日後 収穫	収穫時の総放射性残留物濃度(TRR)及び放射能分布(%TRR): <table border="1"> <tbody> <tr> <td rowspan="3">玄麦</td> <td>TRR</td> <td>0.054 ppm</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>7% TRR</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>93% TRR</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">麦藁</td> <td>TRR</td> <td>0.999 ppm</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>58% TRR</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>42% TRR</td> </tr> </tbody> </table> 代謝物同定及び特徴付け 玄麦; 40% TRR はデンプン画分 麦藁;	玄麦	TRR	0.054 ppm	抽出液	7% TRR	抽出残渣	93% TRR	麦藁	TRR	0.999 ppm	抽出液	58% TRR	抽出残渣	42% TRR	(2007)	325	
玄麦	TRR	0.054 ppm																				
	抽出液	7% TRR																				
	抽出残渣	93% TRR																				
麦藁	TRR	0.999 ppm																				
	抽出液	58% TRR																				
	抽出残渣	42% TRR																				
9.2.5	M-2.5 参考資料	植物代謝試験 植物体ホモジネート中のMCPA エステルの分解	稲及びはつかだいこん	MCPA エチル MCPA アリル MCPA プロチル	各粗酵素中分解速度: 稲のMCPA エチル(A)を除き半減期は3時間以内	(1984)	329															

<代謝分解試験一覧表 (3)>

抄録番号	資料 No.	試験の種類及び項目	供試物	投与化合物 投与量、方法	試験結果の概要	試験機関 報告年	頁																				
9.3.1	M-3.1	土壌中運命に関する試験 1)好氣的湛水土壌中運命試験 2)好氣的土壌中運命試験	群馬土壌(砂壤土)及び 埼玉土壌(重埴土)	¹⁴ C-MCPA 1 ppm 処理	1)好氣的湛水土壌中運命試験 ・土壌中半減期：4.5 日 (処理 56 日後で 52~58%) ・滅菌条件で分解は大きく抑制 2)好氣的土壌中運命試験 ・土壌中半減期：2.1~3.1 日 (処理 56 日後で 50~58%) ・滅菌条件で分解は大きく抑制	(1990)	330																				
9.3.2	M-3.2 参考資料	土壌中分解性試験 湛水条件及び畑地条件	茨城土壌及び 福岡土壌	MCPA エチル MCPA アリル MCPA プロピル	土壌中半減期：湛水及び畑地状態とも 3 時間以内	(1984)	338																				
9.3.3	M-3.3 GLP	土壌吸着性試験	軽埴土(1) 軽埴土(3) 微砂質埴土(3) 微砂質埴土(3) ()内は OECD 土壌タイプ	MCPA 土壌/水=1/5 4 濃度： 0.08~5.00 mg/L 温度：25°C	吸着平衡化時間：16h 吸着パラメータ： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th>土壌タイプ</th> <th>K</th> <th>1/n</th> <th>r²</th> <th>Koc</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>4.7</td> <td>0.92</td> <td>0.99</td> <td>284</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>2.1</td> <td>0.96</td> <td>1.00</td> <td>94</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>2.1</td> <td>0.91</td> <td>1.00</td> <td>140</td> </tr> </tbody> </table> 軽埴土(3)はスクリーニング試験のみ実施	土壌タイプ	K	1/n	r ²	Koc	1	4.7	0.92	0.99	284	3	2.1	0.96	1.00	94	3	2.1	0.91	1.00	140	(2000)	339
土壌タイプ	K	1/n	r ²	Koc																							
1	4.7	0.92	0.99	284																							
3	2.1	0.96	1.00	94																							
3	2.1	0.91	1.00	140																							
9.3.4	M-3.4 参考資料	土壌移動性試験(土壌溶脱試験)	埴土(3) 埴土(2) ()内は OECD 土壌タイプ	MCPA MCPA エチル MCPA アリル MCPA プロピル 2.33 mg 処理 10 mm 降雨相当量 5 日間流下	大部分のエステルが速やかに分解。 MCPA の移動性は土壌の種類によって大きく異なる。	(1988)	343																				
9.3.5	M-3.5 参考資料	土壌吸着性試験	埴土(3) 埴土(2) ()内は OECD 土壌タイプ	MCPA MCPA エチル MCPA アリル MCPA プロピル 2 濃度：飽和濃度及びその 1/2	振盪条件：30°C、48h 吸着係数： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th>被験物質</th> <th>埴土</th> <th>壤土</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MCPA</td> <td>3.0</td> <td>4.9</td> </tr> <tr> <td>MCPA エチル</td> <td>26</td> <td>27</td> </tr> <tr> <td>MCPA アリル</td> <td>54</td> <td>67</td> </tr> <tr> <td>MCPA プロピル</td> <td>114</td> <td>127</td> </tr> </tbody> </table>	被験物質	埴土	壤土	MCPA	3.0	4.9	MCPA エチル	26	27	MCPA アリル	54	67	MCPA プロピル	114	127	(1988)	345					
被験物質	埴土	壤土																									
MCPA	3.0	4.9																									
MCPA エチル	26	27																									
MCPA アリル	54	67																									
MCPA プロピル	114	127																									

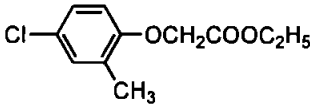
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

<代謝分解試験一覧表 (4)>

抄録番号	資料 No.	試験の種類及び項目	供試物	投与化合物 投与量、方法	試験結果の概要	試験機関 報告年	頁																											
9.4.1	M-4.1 GLP	水中運命に関する試験 加水分解試験	滅菌 緩衝液 pH 4, 7, 9	MCPA エチル 20 mg/L 処理 温度： 25～70℃	半減期： <table border="1"> <tr> <td></td> <td colspan="3">25℃における DT₅₀</td> </tr> <tr> <td></td> <td>pH 4</td> <td>pH 7</td> <td>pH 9</td> </tr> <tr> <td>MCPA エチル</td> <td>>1年</td> <td>17日</td> <td>5時間</td> </tr> </table>		25℃における DT ₅₀				pH 4	pH 7	pH 9	MCPA エチル	>1年	17日	5時間	(2002)	347															
	25℃における DT ₅₀																																	
	pH 4	pH 7	pH 9																															
MCPA エチル	>1年	17日	5時間																															
9.4.2	M-4.2 参考 資料	水中運命に関する試験 加水分解試験	滅菌 水溶液 pH 5, 7, 9	MCPA MCPA エチル MCPA アリル MCPA プロチル 各 5 mg/L 処理 温度：30℃	半減期： <table border="1"> <tr> <td></td> <td colspan="3">DT₅₀ (日)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>pH 5</td> <td>pH 7</td> <td>pH 9</td> </tr> <tr> <td>MCPA</td> <td>安定</td> <td>安定</td> <td>安定</td> </tr> <tr> <td>MCPA エチル</td> <td>6-8</td> <td>4-6</td> <td>4-6</td> </tr> <tr> <td>MCPA アリル</td> <td>14</td> <td>1-2</td> <td>1-2</td> </tr> <tr> <td>MCPA プロチル</td> <td>6-8</td> <td>4-5</td> <td>4-6</td> </tr> </table>		DT ₅₀ (日)				pH 5	pH 7	pH 9	MCPA	安定	安定	安定	MCPA エチル	6-8	4-6	4-6	MCPA アリル	14	1-2	1-2	MCPA プロチル	6-8	4-5	4-6	(1988)	351			
	DT ₅₀ (日)																																	
	pH 5	pH 7	pH 9																															
MCPA	安定	安定	安定																															
MCPA エチル	6-8	4-6	4-6																															
MCPA アリル	14	1-2	1-2																															
MCPA プロチル	6-8	4-5	4-6																															
9.4.3	M-4.3 GLP	水中運命に関する試験 水中光分解 運命試験	滅菌蒸 留水及 び滅菌 自然水	¹⁴ C-MCPA エチル 1 mg/L 処理 温度：25℃ キセノンランプ： 45 W/m ² (300～400nm)	半減期： <table border="1"> <tr> <td></td> <td rowspan="2">供試水</td> <td colspan="3">DT₅₀ (日)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>人工光</td> <td>太陽光</td> <td>暗所区</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">MCPA エチル</td> <td>蒸留水</td> <td>3</td> <td>18</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>自然水</td> <td>1</td> <td>4</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">MCPA</td> <td>蒸留水</td> <td>1</td> <td>6</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>自然水</td> <td>1</td> <td>7</td> <td>-</td> </tr> </table>		供試水	DT ₅₀ (日)				人工光	太陽光	暗所区	MCPA エチル	蒸留水	3	18	4	自然水	1	4	1	MCPA	蒸留水	1	6	-	自然水	1	7	-	(2007)	352
	供試水	DT ₅₀ (日)																																
		人工光	太陽光	暗所区																														
MCPA エチル	蒸留水	3	18	4																														
	自然水	1	4	1																														
MCPA	蒸留水	1	6	-																														
	自然水	1	7	-																														
9.4.4	M-4.4 参考 資料	水中運命に関する試験 水中光分解試験	蒸留水	MCPA MCPA エチル MCPA アリル MCPA プロチル 各 5 mg/L 処理 高圧水銀灯	MCPA の半減期：約 6 時間 エステル化合物の半減期：約 30 時間	(1988)	357																											

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

代謝分解物一覧表 (1)

記号	由来	略称	化学名 (IUPAC)	構造式
A	親化合物	MCPA エチル MCPE	ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate エチル=4-クロロ・2-メチルフェノキシアセタート	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2,4-D協議会にある。

代謝分解物一覧表 (2)

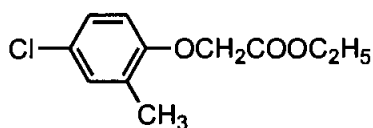
記号	由来	略称	化学名	構造式

MCPA エチル及び MCPA の代謝・分解試験に使用した被験物質について

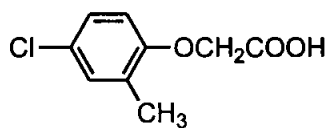
1. 標識化合物

代謝・分解試験に供試するため、

標識 MCPA エチルと MCPA の ^{14}C 標識化合物を合成した。



標識 MCPA エチル



標識 MCPA

2. 標識位置設定理由

3. 比放射能の表示

本抄録中では、 ^{14}C 標識化合物の比放射能は、MBq/mg 単位にて表記した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

9.1 動物体内運命に関する試験

9.1.1 ラット体内における代謝試験 (単回経口投与) (資料No. M-1.1)

試験機関:

報告書作成年: 1992年

供試標識化合物: ^{14}C -MCPA

構造式:



化学名: 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試動物: SDラット、雌雄; 6週令

試験方法:

投与方法: 非標識体で希釈した標識体を0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液中に懸濁し、5 mL/kgの割合で経口投与した。

用量設定根拠:

試験設計: 以下の表に試験設計をまとめた。

投与群	用量	回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時間 (h)
1	低用量	単回経口	雌雄各5	排泄/体内残留	尿:24, 48, 72, 96, 120 糞:24, 48, 72, 96, 120
2	高用量	単回経口	雌雄各5	排泄/体内残留	呼気: 0-24
3	低用量	単回経口	雌雄各5	血漿中濃度推移	血液(血漿): 0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 24,
4	高用量	単回経口	雌雄各5	血漿中濃度推移	48, 72, 96, 120
5	低用量	単回経口	雌雄各5	組織分布	屠殺:3, 24, 120
6	高用量	単回経口	雌雄各5	組織分布	
7	低用量	単回経口	雄3, 雌2	胆汁排泄	胆汁:2h毎12hまで,12-24 尿/糞:24

分析法:

尿: 水で希釈し、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC)にて放射能測定した。代謝物の分析では尿を酸性とし、酢酸エチルにて2回抽出した後、薄層クロマトグラフィー (TLC)分析に供した。さらに、同定を補佐するために、TLC画分を分取し、メタノール抽出後高速液体クロマトグラフィー (HPLC)分析に供した。また、尿中の極性代謝物については、酵素処理 (β -グルコニダーゼ)を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

糞：重量を測定後、含水メタノールで2回抽出した。残渣は乾燥後、燃焼法により残存放射能を測定した。抽出液は、放射能を測定後、尿と同様に抽出し、TLC分析に供した。

胆汁：水で希釈し、重量を測定後、一部をLSCにて放射能測定した。代謝物の分析は尿と同様の方法で実施した。

屍体：塩酸トルエン中で溶解後、一部をLSCにて放射能測定した。

組織/臓器：組織/臓器の一部あるいは全部について燃焼法によって放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

血漿：尿と同様の方法で分析を実施した。

肝臓：糞と同様の方法で分析を実施した。

放射能の測定：液体試料は、シンチレーターと混合して液体シンチレーションカウンター (LSC)により放射能を測定した。

固体試料は、試料自動燃焼装置にて燃焼後、トラップした $^{14}\text{CO}_2$ をLSCで測定した。

薄層クロマトグラフィー (TLC)：順相プレート (シリカゲル)と数種の展開溶媒を用いて試料分析を行った。解析はバ

イイメージングアナライザーを用いた。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：ラジオ検出器及びUV検出器を備えたHPLCを用いて試料分析を行った。

カラムは逆相カラム (C₁₈)を使用した。

質量分析：直接導入法及びFAB/MSによる質量スペクトルから代謝物の構造を推定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果：

尿糞中排泄；低用量及び高用量における120時間までの尿糞中排泄率を表1及び図1に示した（投与群1及び2）。

表1. 10 mg/kgあるいは100 mg/kg投与した雌雄ラットの排泄率（原報告書Table 3及び4）

試料	時間(h)	10 mg/kg		100 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
尿	0-24	96.88	93.19	87.59	96.80
	24-48	3.37 (100.25)	1.35 (94.54)	5.10 (92.69)	2.31 (99.11)
	48-72	0.63 (100.88)	0.32 (94.86)	0.73 (93.42)	1.03 (100.14)
	72-96	0.26 (101.14)	0.27 (95.13)	0.42 (93.84)	0.75 (100.89)
	96-120	< 0.11 (101.14)	0.12 (95.25)	0.26 (94.10)	0.45 (101.34)
	尿合計	101.17	95.24	94.10	101.34
糞	0-24	1.83	0.61	3.02	2.25
	24-48	0.08 (1.91)	0.18 (0.79)	0.28 (3.30)	0.27 (2.52)
	48-72	0.09 (2.00)	0.10 (0.89)	0.09 (3.39)	0.16 (2.68)
	72-96	0.03 (2.03)	0.05 (0.94)	0.06 (3.45)	0.06 (2.74)
	96-120	< 0.03 (2.03)	< 0.03 (0.94)	0.04 (3.49)	0.06 (2.80)
	糞合計	2.06	0.98	3.49	2.81
呼気, 0-24	< 0.12	< 0.11	< 0.13	< 0.20	
ケージ洗淨	0.24	0.58	0.39	0.65	
屍体	0.74	1.16	3.58	2.99	
合計		104.21	97.96	101.56	107.79

数値は投与放射能に対する比率として示した。

申請者注：各時間の排泄率から累積値を計算し、()内に記載した。

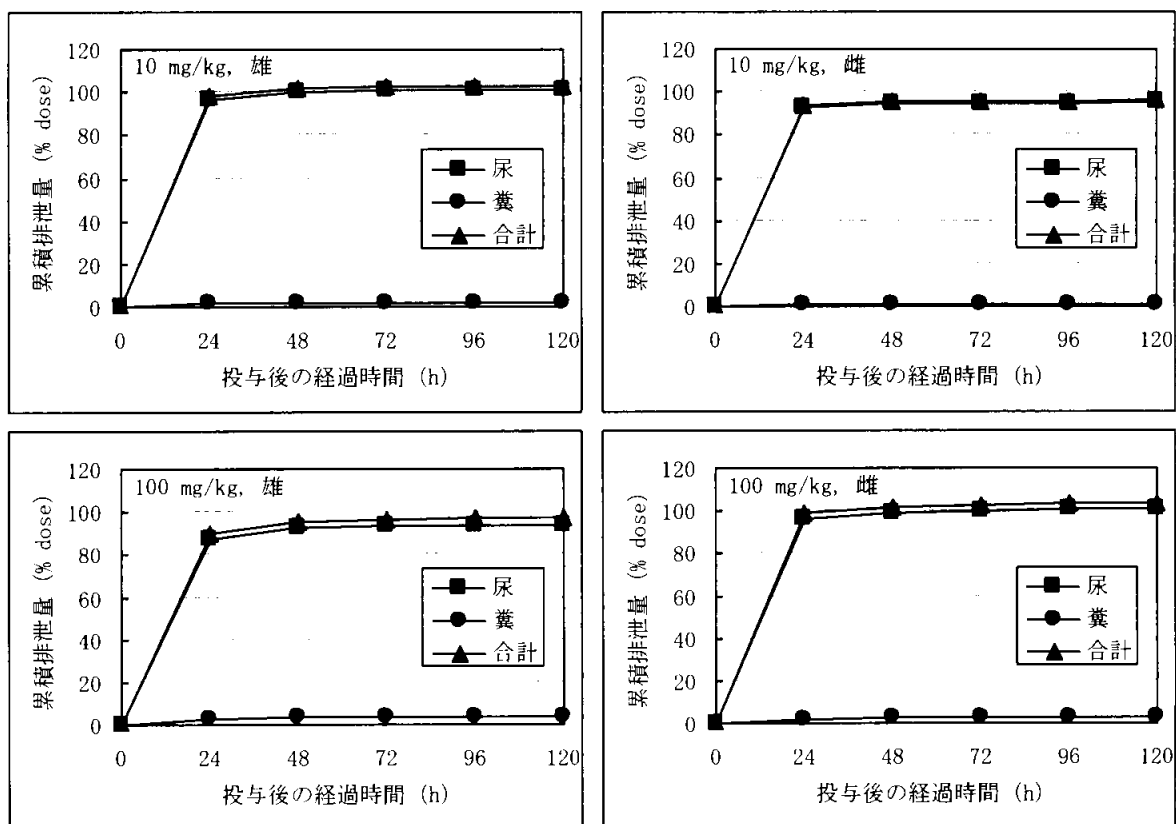


図1. 尿糞中累積排泄率（原報告書Figure 1~4）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

投与量あるいは雌雄によらず尿糞中への排泄は速やかであり、投与24時間後までに投与放射能の90%以上が排泄された。このうち尿中に排泄された割合は88~97%であった。投与120時間後における屍体中残存は低用量で約1%、高用量で3~4%であった。また、呼気中への放射能の排泄はみられなかった。

血中濃度推移；低用量及び高用量における血漿中濃度推移を表2及び図2に示した（投与群3及び4）。

表2. 10 mg/kgあるいは100 mg/kg投与した雌雄マウスの血漿中濃度推移
(原報告書Table 5及び7)

採取時間(h)	10 mg/kg		100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0.5	43.594	41.396	185.59	197.11
1	47.577	42.334	237.12	260.65
3	51.586	40.749	335.63	342.42
6	15.928	6.800	290.27	256.26
9	3.506	2.359	257.74	196.94
12	1.917	1.193	172.79	133.87
24	< 0.200	< 0.200	8.64	7.70
48	< 0.200	< 0.200	< 1.97	< 1.97
72	< 0.200	< 0.200	< 1.97	< 1.97
96	< 0.200	< 0.200	< 1.97	< 1.97
120	< 0.200	< 0.200	< 1.97	< 1.97

数値は μg 親換算/mLとして示した。

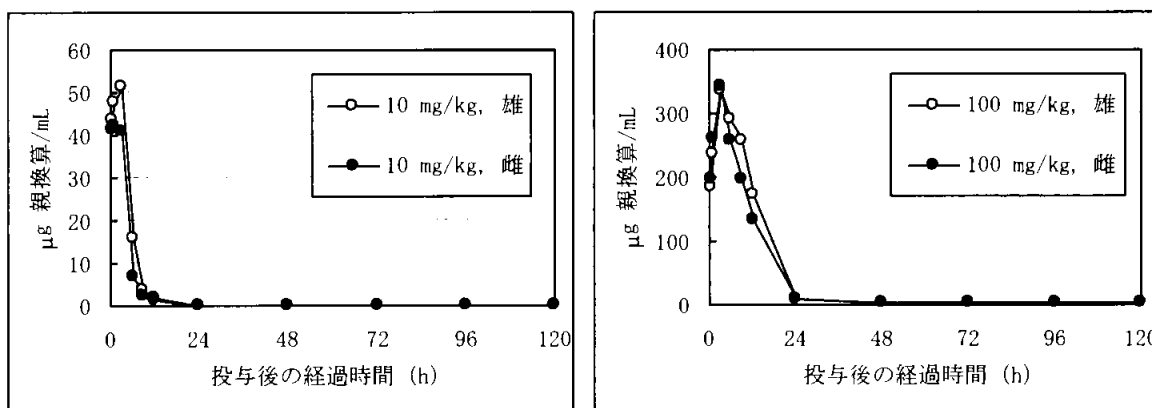


図2. 血漿中濃度推移 (原報告書Figure 5)

上記の結果を基に血漿中の放射能濃度推移に関する各パラメータを算出し、表3にまとめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表3. 血漿中放射能濃度推移における各パラメータ (原報告書Table 6及び8)

試料	性	Cmax µg/mL	Tmax h	T _{1/2} h	AUC µg·h/mL
10 mg/kg 血漿	雄	60.22 (51.586)	1.63 (3)	1.44	274.06
	雌	51.25 (42.334)	1.36 (1)	1.32	199.12
100 mg/kg 血漿	雄	386.23 (335.63)	3.51 (3)	3.66	3967.21
	雌	374.34 (342.42)	2.66 (3)	4.21	3522.83

パラメータはコンパートメントモデルに基づく最適化により計算した値を示した。

申請者注：()内に実測値を記載した。

血漿中濃度は両用量の雌雄において投与1～3時間後に最高濃度に達し、その濃度は低用量で42～52 µg親換算/mL、高用量で336～342 µg親換算/mL (いずれも実測値)であった。以後1.3～1.4時間 (低用量)あるいは3.7～4.2時間 (高用量)の半減期で消失した。血漿中濃度曲線下面積は低用量で199～274 µg·h/mL、高用量で3523～3967 µg·h/mLであった。

組織分布；低用量及び高用量における組織中濃度及び分布率を表4及び表5に示した (投与群5及び6)。

表4. 10 mg/kg投与した雌雄ラットの組織中濃度及び分布率 (原報告書Table 9～12)

試料	投与3時間後				投与24時間後				投与120時間後			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率
全血	37.02	23.97	36.15	23.31	0.20	0.15	0.93	0.68	ND	ND	ND	ND
血漿	55.02	19.26	55.72	19.41	0.32	0.13	1.44	0.55	0.04	0.02	0.06	0.03
脾臓	5.33	0.15	4.63	0.13	0.03	< 0.01	0.10	< 0.01	0.01	< 0.01	ND	ND
膵臓	6.82	0.14	6.05	0.15	0.05	< 0.01	0.24	< 0.01	0.03	< 0.01	0.02	< 0.01
脂肪	4.21	2.09	4.75	2.36	0.33	0.19	1.02	0.57	ND	ND	ND	ND
精巣	7.96	0.81	—	—	0.05	0.01	—	—	0.01	< 0.01	—	—
卵巣	—	—	13.28	0.08	—	—	0.46	< 0.01	—	—	ND	ND
子宮	—	—	11.97	0.30	—	—	0.40	0.01	—	—	ND	ND
副腎	8.98	0.02	7.95	0.03	ND	ND	0.42	< 0.01	ND	ND	ND	ND
腎臓	47.10	4.38	36.07	3.47	0.68	0.07	1.95	0.20	0.11	0.01	0.09	0.01
肝臓	11.31	3.57	8.89	3.15	0.23	0.14	0.23	0.13	0.06	0.04	ND	ND
肺	12.09	0.59	11.98	0.68	0.07	< 0.01	0.26	0.02	0.01	< 0.01	0.01	< 0.01
心臓	11.65	0.48	10.09	0.44	0.06	< 0.01	0.23	0.01	0.01	< 0.01	ND	ND
脳	0.80	0.08	0.67	0.08	0.01	< 0.01	0.02	< 0.01	ND	ND	ND	ND
消化管	12.84	8.40	10.78	6.92	0.28	0.41	0.64	0.86	0.03	0.05	0.04	0.06

濃度はµg親換算/mLあるいはg、分布率は投与放射能に対する比率 (%)を示す。

全血、血漿、脂肪の全量は各々体重の6.5%、3.5%、5%とし、分布率を計算した。

ND：検出せず、—：試料なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表5. 100 mg/kg投与した雌雄ラットの組織中濃度及び分布率 (原報告書Table 13~16)

試料	投与3時間後				投与24時間後				投与120時間後			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率	濃度	分布率
全血	262.63	16.69	252.34	16.05	12.28	0.91	17.87	1.28	0.49	0.04	0.58	0.05
血漿	313.92	10.78	307.63	10.57	18.89	0.76	27.13	1.05	0.60	0.03	0.80	0.04
脾臓	79.24	0.19	71.06	0.15	1.92	0.01	2.81	0.01	ND	ND	ND	ND
膵臓	75.00	0.15	64.83	0.19	8.20	0.02	8.97	0.02	2.32	0.01	2.66	0.01
脂肪	81.59	3.97	41.72	2.04	69.98	4.02	56.76	3.14	20.83	1.40	18.06	1.12
精巣	68.53	0.63	—	—	3.18	0.03	—	—	0.16	<0.01	—	—
卵巣	—	—	109.43	0.08	—	—	11.81	0.01	—	—	2.64	<0.01
子宮	—	—	111.96	0.24	—	—	9.47	0.02	—	—	0.64	<0.01
副腎	109.09	0.03	99.62	0.04	19.81	<0.01	17.54	<0.01	2.50	<0.01	ND	ND
腎臓	151.89	1.35	144.62	1.30	26.56	0.27	24.78	0.24	1.26	0.01	1.69	0.02
肝臓	170.58	5.36	141.61	4.66	6.07	0.36	6.31	0.31	1.14	0.07	0.61	0.03
肺	123.26	0.61	109.81	0.57	4.84	0.02	6.69	0.04	0.26	<0.01	0.33	<0.01
心臓	123.17	0.48	107.34	0.43	4.01	0.02	5.53	0.02	0.17	<0.01	0.25	<0.01
脳	14.81	0.13	12.73	0.15	0.26	<0.01	0.38	0.01	ND	ND	ND	ND
消化管	202.49	12.85	148.37	9.22	11.67	1.76	8.96	1.25	1.00	0.14	1.35	0.16

濃度は μg 親換算/mLあるいはg、分布率は投与放射能に対する比率 (%)を示す。

全血、血漿、脂肪の全量は各々体重の6.5%、3.5%、5%とし、分布率を計算した。

ND：検出せず、—：試料なし

組織中濃度について雌雄の差はなく、また分布率について投与量による差はなかった。投与3時間後における組織中濃度は、血漿、全血、腎臓で高い値を示した。それらの濃度は低用量で36~55 μg 親換算/mLあるいはg、高用量で145~314 μg 親換算/mLあるいはgであった。また、高用量においては肝臓中濃度も高く、142~171 μg 親換算/gであった。最も低い濃度を示したのは脳であり、低用量で0.7~0.8 μg 親換算/g、高用量で13~15 μg 親換算/gであった。分布率は全血で約20%、消化管で約10%、肝臓、腎臓、脂肪で1~5%、その他の組織で1%以下であった。

経時的に組織中濃度は減少し、投与120時間後では、高用量の脂肪を除き検出限界程度あるいはそれ以下となった。脂肪中濃度の消失は他組織に比べて緩やかであり、その傾向は高用量で顕著であった。

胆汁排泄；キャーラットを用いて低用量で投与したときの胆汁、尿及び糞中の排泄率を表6に示した(投与群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2, 4-D協議会にある。

表6. 10 mg/kg投与した雌雄ラットの胆汁、尿及び糞中排泄率及び体内残存率（原報告書Table 17）

試料	時間 (h)	10 mg/kg	
		雄	雌
胆汁	0~2	2.53	1.47
	2~4	3.27 (5.80)	1.89 (3.36)
	4~6	1.09 (6.89)	1.22 (4.58)
	6~8	0.57 (7.46)	0.82 (5.40)
	8~10	0.31 (7.77)	0.48 (5.88)
	10~12	0.21 (7.98)	0.29 (6.17)
	12~24	0.44 (8.42)	0.04 (6.21)
	合計	8.42	6.21
尿	0~24	79.99	82.10
糞	0~24	6.11	3.30
肝臓		0.19	0.16
消化管(内容物含む)		0.18	0.10
屍体		0.72	1.62
合計		95.61	93.49
吸収率*		89.32	90.09

数値は投与放射能に対する比率として示した。

申請者注：各時間の排泄率から累積値を計算し、()内に記載した。

*：吸収率＝胆汁＋尿＋肝臓＋屍体

低用量の雌雄ラットにおいて、投与24時間後までに投与放射能の6~8%が胆汁中に排泄された。このとき尿中には80~82%が排泄されており、排泄における胆汁の寄与は小さいことが明らかとなった。胆汁中、尿中排泄率および肝臓中、屍体中残存率の合計より経口投与後の吸収率は89~90%と計算された。

代謝物； 尿、糞、胆汁、血漿及び肝臓中で定量された代謝物を表7にまとめた。

表7. ラット中代謝物のまとめ（原報告書Table 18、20、22、24及び25）

代謝物	尿(0~24h) % dose	糞(0~24h) % dose	胆汁(0~24h) % dose	血漿(3h) 血漿中%	肝臓(3h) 肝臓中%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

9.1.2 MCPAエチル及びMCPAのラットにおける代謝試験（血漿中濃度推移および血漿中代謝物）

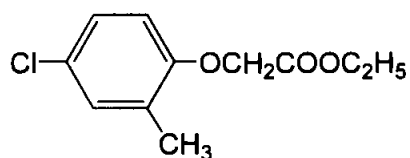
（資料No. M-1.2）

試験機関：

報告書作成年： 1992年

供試標識化合物：¹⁴C-MCPAエチル

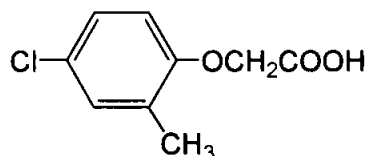
構造式；



化学名； ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate

供試標識化合物：¹⁴C-MCPA

構造式；



化学名； 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試動物；SDラット、雌雄；6週令

試験方法；

投与方法；非標識体で希釈した各標識体を橄榄油に溶解し、5 mL/kgの割合で経口投与した。

用量設定根拠；

試験設計；以下の表に試験設計をまとめた。

用量	回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時間 (h)
低用量	単回経口	雌雄各8	血漿中濃度推移	血液 (血漿):
				4匹 ; 0.25, 1, 3, 7, 12, 24 4匹 ; 0.5, 2, 5, 9, 12, 24
低用量	単回経口	雌雄各6	血漿中代謝物	屠殺:0.25, 3, 9

分析法；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

血漿中代謝物：水で希釈した血漿を酸性とし、酢酸エチルにて2回抽出した後、薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析に供した。

放射能の測定：試料は、シンチレーターと混合して液体シンチレーションカウンター (LSC)により放射能を測定した。

薄層クロマトグラフィー (TLC)：順相プレート (シリカゲル)と数種の展開溶媒を用いて試料分析を行った。解析はバ イオイメージングアナライザーを用いた。

試験結果：

血漿中濃度推移；¹⁴C-MCPAエチルあるいは¹⁴C-MCPAを投与した後の血漿中濃度推移を表1及び図1に示した。

表1. ¹⁴C-MCPAエチルあるいは¹⁴C-MCPAを投与した雌雄マウスの血漿中濃度推移 (μg親換算/mLとして表記、原報告書Table 3)

採取時間(h)	¹⁴ C-MCPAエチル		¹⁴ C-MCPA	
	雄	雌	雄	雌
0.25	12.44	10.56	34.42	33.48
0.5	17.41	21.30	35.54	29.45
1	27.51	25.55	36.03	36.29
2	29.53	39.34	39.86	45.10
3	40.84	43.93	44.80	48.72
5	29.97	29.21	20.64	29.97
7	18.85	20.44	18.66	22.58
9	8.42	6.76	16.00	10.89
12	6.35	3.85	5.97	6.20
24	0.23	0.21	0.11	0.38

数値はμg親換算/mLとして示した。

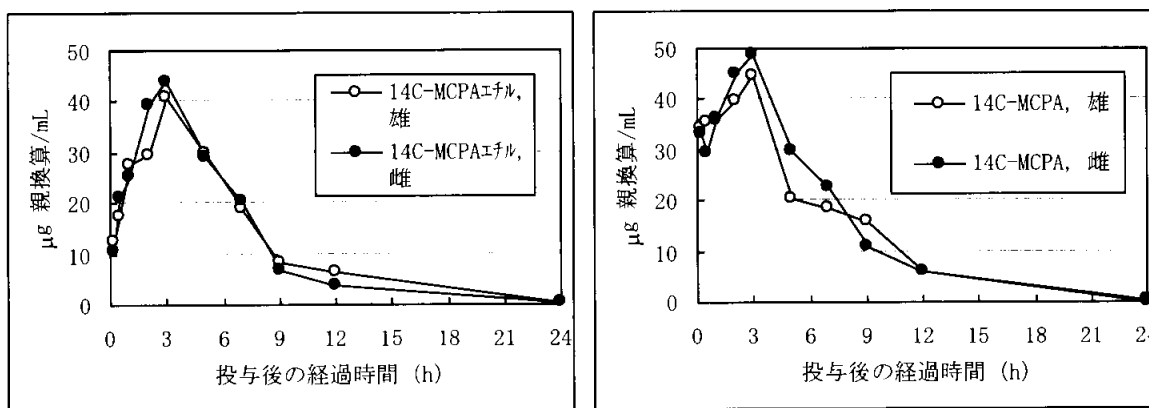


図1. 血漿中濃度推移 (原報告書Figure 1及び2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。
前記の結果を基に血漿中の放射能濃度推移に関する各パラメータを算出し、表2にまとめた。

表2. 血漿中放射能濃度推移における各パラメータ (原報告書Table 4)

試料	性	Cmax µg/mL	Tmax h	T _{1/2} h	AUC µg·h/mL
¹⁴ C-MCPAエチル 血漿	雄	36.80 (40.84)	2.43 (3)	2.63	264.7
	雌	40.52 (43.93)	2.37 (3)	1.75	261.7
¹⁴ C-MCPA 血漿	雄	45.69 (44.80)	1.09 (3)	3.52	287.4
	雌	49.02 (48.72)	1.69 (3)	3.23	328.9

パラメータはコンパートメントモデルに基づく最適化により計算した値を示した。

申請者注：()内に実測値を記載した。

血漿中濃度推移に雌雄差はなく、投与15分後の血漿中濃度は¹⁴C-MCPAエチル投与で11~12 µg親換算/mL、¹⁴C-MCPA投与で33~34 µg親換算/mLとMCPE投与の方が初期の吸収が遅かった。しかしいずれの投与においても投与3時間後に最高濃度に達し、その濃度は¹⁴C-MCPAエチル投与で41~44 µg親換算/mL、¹⁴C-MCPA投与で45~49 µg親換算/mLであった。それ以後の消失についてもともに速やかであり、2~4時間の半減期であった。血漿中濃度曲線下面積は¹⁴C-MCPAエチル投与で262~265 µg·h/mL、¹⁴C-MCPA投与で287~329 µg·h/mLとほぼ同等であった。

血漿中代謝物；血漿中代謝物の比率を表3および表4に示した。

表3. 雄ラットにおける血漿中代謝物 (原報告書 Table 6)

投与後時間 (h)	¹⁴ C-MCPAエチル			¹⁴ C-MCPA		
	0.25	3	9	0.25	3	9
酢酸エチル画分	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
水面分	ND	ND	ND	ND	ND	ND
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

数値は血漿中放射能に対する比率 (%)を示す。

ND：検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表4. 雌ラットにおける血漿中代謝物 (原報告書Table 7)

投与後時間 (h)	¹⁴ C-MCPAエチル			¹⁴ C-MCPA		
	0.25	3	9	0.25	3	9
酢酸エチル画分	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
水面分	ND	ND	ND	ND	ND	ND
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

数値は血漿中放射能に対する比率 (%)を示す。

ND : 検出せず

以上の結果から、ラットに投与されたMCPAエチル(A)は体内で速やかに となることが
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2, 4-D協議会にある。

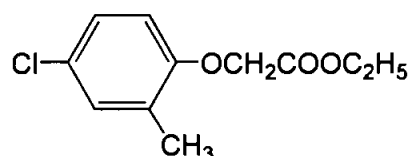
9.1.3 MCPAエチル及びMCPAのラットにおける代謝試験 (肝臓中代謝物) (資料No. M-1.3)

試験機関：

報告書作成年： 1992年

供試標識化合物：¹⁴C-MCPAエチル

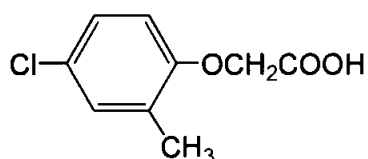
構造式；



化学名； ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate

供試標識化合物：¹⁴C-MCPA

構造式；



化学名； 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試動物；SDラット、雌雄；6週令

試験方法；

投与方法；非標識体で希釈した各標識体をオリーブ油に溶解し、5 mL/kgの割合で経口投与した。

用量設定根拠；

試験設計；以下の表に試験設計をまとめた。

用量	回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時間 (h)
低用量	単回経口	雌雄各6	肝臓中代謝物	屠殺:0.25, 3, 9

分析法；

肝臓中代謝物：摘出した肝臓を含水アセトンで2回抽出した。残渣は乾燥後、燃焼法により残存放射能を測定した。抽出液は、放射能を測定後、溶媒留去し、酸性下酢酸エチルにて2回抽出した後、薄層クロマトグラフィー (TLC)分析に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2,4-D協議会にある。

放射能の測定：液体試料は、シンチレーターと混合して液体シンチレーションカウンター (LSC)により放射能を測定した。

固体試料は、試料自動燃焼装置にて燃焼後、トラップした ^{14}C をLSCで測定した。

薄層クロマトグラフィー (TLC)：順相プレート (シリカゲル)と数種の展開溶媒を用いて試料分析を行った。解析はバリエーションアライナーを用いた。

試験結果：

肝臓中代謝物；肝臓での放射能分布と代謝物の比率を表1および表2に示した。

表1. 雄ラットにおける肝臓中代謝物 (原報告書Table 4及び6)

投与後時間 (h)	^{14}C -MCPAエチル			^{14}C -MCPA		
	0.25	3	9	0.25	3	9
放射能分布 (% dose)	1.5	3.8	2.1	1.1	4.6	1.0
含水アセトン画分	97.3	98.0	93.5	98.6	97.1	85.9
酢酸エチル画分	97.3	97.5	93.1	98.6	96.7	83.9
水画分	ND	ND	0.4	ND	0.4	2.0
抽出残渣	2.7	2.0	6.5	1.4	2.9	14.1
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

数値は肝臓中放射能に対する比率 (%)を示す。

ND：検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表2. 雌ラットにおける肝臓中代謝物 (原報告書Table 5及び7)

投与後時間 (h)	¹⁴ C-MCPAエチル			¹⁴ C-MCPA		
	0.25	3	9	0.25	3	9
放射能分布 (% dose)	2.2	2.7	1.4	3.0	3.3	3.1
含水アセトン画分	98.0	98.0	92.8	97.8	96.8	96.3
酢酸エチル画分	98.0	98.0	92.8	97.8	96.7	96.2
水画分	ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
抽出残渣	2.0	2.0	7.2	2.2	3.2	3.7
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

数値は肝臓中放射能に対する比率 (%)を示す。

ND : 検出せず

¹⁴C-MCPAエチルを投与した場合、雌雄ラットともMCPAエチル(A)は肝臓よりほとんど検出されなかった。

ラットに投与されたMCPAエチル(A)は体内で速やかに とな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2,4-D協議会にある。

ラット代謝試験のまとめ (資料No. M-1.1~M-1.3)

標識MCPAを雌雄ラットに低用量 (10 mg/kg)あるいは高用量 (100 mg/kg)で単回経口投与した後の吸収、分布、代謝及び排泄試験を実施した (資料No. M-1.1)。また、標識MCPAエチルあるいは標識MCPAを雌雄ラットに低用量で単回経口投与した後の血漿中濃度推移および血漿中代謝物 (資料No. M-1.2)あるいは肝臓中代謝物 (資料No. M-1.3)について検討した。試験結果の概要について以下にまとめた。

1. MCPAの体内動態 (資料No. M-1.1)

1-1. 吸収

標識MCPAを雌雄ラットに低用量投与したときの血漿中濃度は、雌雄とも投与1~3時間後に最高に達し (42~52 µg親換算/mL)、約1時間の半減期で消失した。高用量投与したときは、投与3時間後に最高に達し (336~342 µg親換算/mL)、半減期が約4時間であった。

低用量投与における胆汁、尿、肝臓及び屍体中の放射能を基に計算された吸収率は約90%であり、性差は認められなかった。

1-2. 分布

組織中濃度について雌雄の差はなく、また分布率について投与量による差はなかった。

投与3時間後では血漿、全血、腎臓及び肝臓 (高用量のみ)で相対的に高かったが、時間の経過にともない濃度は減少し、投与120時間後では、高用量の脂肪を除き検出限界程度あるいはそれ以下となった。脂肪中濃度の消失がやや緩慢であり、その傾向は高用量で顕著であった。

1-3. 代謝

1-4. 排泄

用量あるいは雌雄によらず尿糞中への排泄は速やかであり、投与24時間後までに投与放射能の90%以上がほとんど尿中に排泄された。低用量での胆汁中への排泄は10%以下であり、排泄における胆汁の寄与は小さかった。

2. MCPAエチルとMCPAの体内動態の比較 (資料No. M-1.2、M-1.3)

血漿中濃度推移は雌雄ラットともMCPAエチル投与でMCPA投与に比べ初期の吸収が遅い傾向がみられたものの、両投与で大きな差はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

9.2 植物体内運命に関する試験

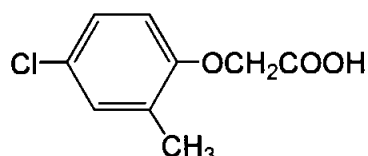
9.2.1 MCPAの稲における代謝試験 (資料No. M-2.1)

試験機関:

報告書作成年: 1992年

供試標識化合物: ^{14}C -MCPA

構造式;



化学名; 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試植物: 稲 (品種 日本晴、*Oryza sativa*、約3葉期及び幼穂形成期)

- 試験群: (1) 幼植物における吸収、移行及び代謝分解 (幼植物試験)
(2) 幼穂形成期における吸収、移行及び代謝分解 (ホット試験)
(3) 止め葉における吸収、移行及び代謝分解 (ホット試験)

試験方法:

(1) 幼植物における吸収、移行及び代謝分解 (幼植物試験)

(1)-1. 根部浸漬後の吸収及び移行

^{14}C -MCPA を非標識 MCPA で適宜希釈し春日井氏水耕液 (硫酸アンモニウム、リン酸二ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、塩化カルシウム、及び塩化第二鉄を含む、pH 6.3) に 1 ppm 濃度で溶解した (水耕液処理液)。水耕液処理液を 50 mL 容褐色ガラスビン 5 本に 30 mL ずつ分注し、これらに 2.8 葉期の稲幼植物 6 本ずつを根部浸漬し温室内で生育させた。浸漬後 6、24、48、72、168 時間に、幼植物を採取し根部を水洗後 5 本は茎葉部、根部及び種粒に分離した。1 本はオートラジオグラフィに供した。根部洗液は処理液と合わせて放射能測定した。茎葉部、根部及び種粒は風乾後、燃焼法にて放射能測定した。

申請者注) 処理濃度設定根拠:

(1)-2. 葉面塗布

50 mL 容のガラスビン 5 本に水耕液を 30 mL ずつ分注し、それぞれに稲幼植物を 2 本ずつ根部浸漬した。各幼植物の第 2 葉の中心部に ^{14}C -MCPA の 200 ppm メタノール溶液 5 μL をマイクロシリンジにて塗布した (処理薬量 1 μg /葉)。塗布後温室内にて生育させ、6、24、48、72、168 時間に幼植物を採取した。根部を水洗後、1 本は処理葉、茎葉部、根部及び種粒に分け燃焼法にて放射能測定した。1 本はオートラジオグラフィに供した。根部洗液は処理液と

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2,4-D協議会にある。

合わせて放射能測定した。

(1)-3. 根部浸漬後の代謝分解

^{14}C -MCPA の 1 ppm 水耕液処理液を 50 mL 容褐色ガラスビン 7 本に 30 mL ずつ分注した。各ビンに稲幼植物 20 本を根部浸漬し、温室内で生育させた。24 時間後すべてのビンから幼植物を取り出し根部を水洗後、MCPA を含まない水耕液に移植し同様に生育させた。移植後 0、6、24、48、72、120、168 時間に幼植物を採取し根部水洗後、茎葉部、根部及び種籾に分け分析に供した。種籾は燃焼法にて放射能測定した。

茎葉部と根部はそれぞれハシで細断後、80%メタノール (メタノール/蒸留水=4/1、v/v) を加えて磨砕抽出を行った。抽出液を濃縮しメタノールを留去後、0.1M 酢酸緩衝液 (pH 5) で希釈し 3 分割した。一つは蒸留水希釈後塩酸酸性下酢酸エチルにて抽出 (直接抽出)、一つはセルラーゼ (*Aspergillus niger* 由来) を加えて 37°C、17 時間インキュベート後塩酸酸性下酢酸エチルにて抽出 (セルラーゼ処理)、一つはセルラーゼを加えずインキュベート後酢酸エチル抽出した (セルラーゼブランク)。各酢酸エチル画分は濃縮後、薄層クロマトグラフィーにて代謝物分析した。

(2) 幼穂形成期における吸収、移行及び代謝分解 (ポット試験)

稲幼植物 3 本を 1 株として a/5,000 のワゲルポットに植え付け、幼穂形成期まで栽培した。 ^{14}C -MCPA の 40 ppm 水溶液処理液を調製し、湛水深 3cm としたポット田面水に処理液 20 mL を処理した。処理量は、800 μg /4.44 MBq/ポット、40 g ai/10a に相当した。処理ポットは収穫期まで温室内で生育させた。

申請者注) 処理濃度設定根拠:

処理 81 日後に地上部植物体を刈り取り、乾燥後、玄米、籾殻及び稲わらに分けた。玄米は粉碎後、籾殻はそのまま、稲わらは細断、粉碎後、それぞれ燃焼法にて放射能濃度 (TRR) を測定した。玄米及び稲わらについて、次頁のフローに従い代謝物及びデングソンの分析を行った。

(3) 止め葉における吸収、移行及び代謝分解 (ポット試験)

穂ばらみ期稲の止め葉の表の中心部に約 5 cm に亘って ^{14}C -MCPA のメタノール溶液 20 μL (MCPA として 4.28 μg) をマイクロシリンジで塗布処理した。処理後 0、1、3、7 日に処理葉を 2 枚ずつ採取し代謝物分析に供した。また、7 日後に処理葉を含む茎を中程より切り取りオートラジオグラフィーに供し、吸収、移行性を調べた。

止め葉処理葉はアセトンで表面を 3 回、裏面を 1 回洗浄した。洗浄後の葉を細断し、メタノールを加えてホジナイズし 30 分間の振盪抽出を 2 回行った。洗浄液と抽出液はそれぞれ TLC 分析に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

(4) 放射能の定性・定量

液体試料中の放射能は、試料の一部を乳化ソフレーターと混合し液体ソフレーションカウンター (LSC) (LS6000TA、ベックマン)にて測定した。固体中の放射能は、試料の一部を全自動試料燃焼装置(ASC-113、アカ)にて燃焼処理した後 LSC にて測定した。

試料中の代謝物分析は、試料の一部をシリカゲルプレート (60F₂₅₄、0.25 mm、20×20 cm、Art.5715、メル)に塗布し、3種の展開溶媒を用いて代謝物標準品との一次元あるいは二次元展開によるクロマトグラフィーにより行った。TLC プレート上の放射能は、ラジオクロマトグラフ (JTC-601、アカ)、X線フィルム (RX、富士写真フィルム、露光期間 約 30 日)、あるいはバイオイメージングアンプ (BAS2000、富士写真フィルム)にて検出、定量した。

試験結果：

(1) 幼植物における吸収、移行及び代謝分解 (幼植物試験)

(1)-1. 根部浸漬後の吸収及び移行

根部浸漬後の放射能の吸収及び移行の結果を表 1. に示した。

表 1. ¹⁴C-MCPA を含む水耕液に稲幼植物を根部浸漬後の放射能分布 (原報告書 Table 2)

	浸漬後時間 (hr)				
	6	24	48	72	168
	処理放射能に対する比率(%)				
茎葉	1.9	2.7	8.0	10.9	21.7
根	4.2	7.4	12.7	23.8	44.2
種籾	0.3	0.5	0.6	0.7	2.3
小計	6.4	10.6	21.3	35.4	68.2
水耕液	89.5	84.0	70.1	55.6	13.1
総回収率	95.9	94.6	91.4	91.0	81.3
	幼植物中放射能に対する比率 (%)				
茎葉	29.2	25.3	37.5	30.9	31.9
根	66.0	69.9	59.6	67.3	64.8
種籾	4.8	4.8	2.9	1.8	3.3
合計	100	100	100	100	100
	放射能濃度 (MCPA 換算、 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重)				
茎葉	1.26	1.78	5.22	6.06	11.18
根	20.01	26.84	67.48	107.44	253.51
種籾	0.88	1.76	1.94	2.11	7.82

処理放射能に対する比率では、経時的に水耕液中放射能は減少し、幼植物中の放射能は増加した。水耕液中 MCPA の根部からの活発な吸収が示唆された。オートラジオグラフでも同様の結果が示された。総回収率の経時的な低下は、幼植物 6 本のうち 1 本をオートラジオグラフ用に採取したことによる放射能の損失と考えられた。

幼植物中放射能に対する比率では、いずれの時間においても茎葉、根、種籾への分布率はほぼ一定であり、茎葉/根は概ね 3/7 であった。種籾への残留は少なかった。

各部位における MCPA 換算濃度は、経時的に増加し、6 時間後から 168 時間までに約 10 倍となった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

(1)-2. 葉面塗布

葉面塗布後の放射能の吸収、移行の結果を表 2. に示した。

処理葉から他の茎葉への移行が認められたが、塗布 6 時間以降の経時的な増加は顕著ではなかった。根部への移行も僅かながら認められた。オートラジオグラフィでも同様の結果が示された。

表 2. ^{14}C -MCPA のメタノール溶液を稲幼植物葉面に塗布後の放射能分布 (原報告書 Table 3)

	塗布後時間 (hr)				
	6	24	48	72	168
	処理放射能に対する比率 (%)				
処理葉	90.4	49.8	66.1	55.1	66.0
茎葉	0.8	30.9	10.9	19.2	13.2
根	0.3	0.2	0.4	0.5	1.8
種籾	<0.1	0.2	<0.1	0.1	0.3
小計	91.5	81.1	77.4	74.9	81.3
水耕液	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
総回収率	91.6	81.2	77.6	75.1	81.5
	幼植物中放射能に対する比率 (%)				
処理葉	98.8	61.4	85.4	73.5	81.2
茎葉	0.9	38.1	14.0	25.7	16.3
根	0.3	0.2	0.5	0.7	2.2
種籾	<0.1	0.3	0.1	0.1	0.3
合計	100	100	100	100	100
	放射能濃度 (MCPA 換算、 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重)				
処理葉	49.64	27.04	35.66	28.31	26.37
茎葉	0.11	3.32	0.87	1.64	0.88
根	0.12	0.07	0.13	0.49	0.98
種籾	0.02	0.09	0.03	0.03	0.13

(1)-3. 根部浸漬後の代謝分解

^{14}C -MCPA を含む水耕液に幼植物を 24 時間根部浸漬した後、MCPA を含まない水耕液に移植した後の放射能分布を表 3. (処理放射能に対する比率)及び表 4. (幼植物中放射能に対する比率)に示した。

24 時間浸漬により水耕液中放射能の約 50%が幼植物へ吸収され (表 3.)、根部から茎葉部への経時的な移行は 6 時間以降顕著ではなく、168 時間後に茎葉と根部で等量分布していた (表 4.)。

茎葉中放射能はメタノールによって良く抽出されたが、根部では抽出率は徐々に低下した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

表 3. 移植後の稲幼植物における放射能分布 (原報告書 Table 4)

	移植後時間 (hr)						
	0	6	24	48	72	120	168
[茎葉]							
メタノール抽出	11.6	16.8	14.5	16.2	13.9	14.5	17.0
残渣	0.4	0.8	0.8	1.2	1.3	2.4	2.4
小計	12.0	17.6	15.3	17.4	15.2	16.9	19.4
[根]							
メタノール抽出	28.0	22.6	24.2	18.5	15.9	15.0	10.5
残渣	1.2	4.3	3.9	4.2	6.6	8.8	7.4
小計	29.2	26.9	28.1	22.7	22.5	23.8	17.9
[種籾]	0.5	2.7	1.4	3.2	3.4	1.0	4.0
植物体合計	41.7	47.2	44.8	43.3	41.1	41.7	41.3
浸漬水耕液	54.7	45.2	49.8	48.6	55.0	53.7	54.2
移植水耕液	-	3.8	1.4	0.6	0.4	0.5	0.2
総回収率	96.4	96.2	96.0	92.5	96.5	95.9	95.7

数値は処理放射能に対する比率 (%)

表 4. 移植後の稲幼植物における放射能分布 (原報告書 Table 5)

	移植後時間 (hr)						
	0	6	24	48	72	120	168
[茎葉]							
メタノール抽出	27.8	35.6	32.4	37.4	33.8	34.8	41.2
残渣	1.0	1.7	1.8	2.8	3.2	5.8	5.8
小計	28.8	37.3	34.2	40.2	37.0	40.6	47.0
[根]							
メタノール抽出	67.1	47.9	54.0	42.7	38.7	36.0	25.4
残渣	2.9	9.1	8.7	9.7	16.0	21.0	17.9
小計	70.0	57.0	62.7	52.4	54.7	57.0	43.3
[種籾]	1.2	5.7	3.1	7.4	8.3	2.4	9.7
植物体合計	100	100	100	100	100	100	100

数値は幼植物中放射能に対する比率 (%)

茎葉及び根部のメタノール抽出画分を直接あるいはセルラーゼ[®]処理後に酢酸エチルで抽出し、代謝物分析した結果を表 5. に示した*。

*: **申請者注)** 原報告書では茎葉と根部について個別の分析結果が記載されているが、ここでは申請者が計算して茎葉と根部の合計比率で表記した。

直接抽出の場合、酢酸エチル画分比率は移植 0 時間後で 71.9%であったが 168 時間後には 23.2%に減少した。これに伴い原点部や水画分比率が増加した。MCPA の比率も 44.2%から 2.2%に減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

セルラーゼ処理を行った場合、酢酸エチル画分比率は168時間後でも61.3%であり、原点部や水画分放射能が酢酸エチル可溶となった。

セルラーゼブランクでは、直接抽出の場合の比率と同様であり、上記の糖抱合体がセルラーゼ酵素によって加水分解されたことを示唆した（表には未記載）。

表5. 稲幼植物における MCPA の代謝分解（原報告書 Table 6、7、8、9 より申請者が改変）

		移植後時間 (hr)						
		0	6	24	48	72	120	168
メタノール抽出画分		94.9	83.5	86.4	80.1	72.5	70.8	66.6
直接抽出	酢酸エチル画分	71.9	48.0	45.9	35.1	32.7	25.7	23.2
	水画分	23.0	35.5	40.5	45.0	39.8	45.1	43.4
セルラーゼ処理	酢酸エチル画分	93.6	81.8	83.5	75.9	68.9	65.7	61.3
	水画分	1.3	1.7	2.9	4.2	3.6	5.1	5.3

数値は稲幼植物中放射能に対する比率 (%)

注) セルラーゼブランクの数値は、直接抽出の数値と同様であり省略した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

(2) 幼穂形成期における吸収、移行及び代謝分解（ポット試験）

玄米、籾殻及び稲わらでの MCPA 換算放射能濃度と処理放射能に対する分布比率を表 6. に示した。

玄米及び稲わらにおける MCPA 換算放射能濃度は、それぞれ 0.238 ppm 及び 0.346 ppm であった。処理放射能に対する稲地上部（玄米、籾殻、稲わら）への吸収率は 2.748% であった。コントロール試料から放射能は検出されなかった。

表 6. 玄米、籾殻及び稲わらにおける放射能分布（原報告書 Table 10）

部位	¹⁴ C-MCPA 処理		コントロール	
	ppm ¹⁾	% of dose ²⁾	ppm	% of dose
玄米	0.238±0.043	0.525±0.136	N.D. ³⁾	N.D.
籾殻	0.173±0.033	0.126±0.027	N.D.	N.D.
稲わら	0.346±0.057	2.097±0.291	N.D.	N.D.
合計		2.748		

数値は 5 ポットの平均値±S.E.

1) MCPA 換算 µg/g 乾燥重

2) 処理放射能に対する比率 (%)

3) 検出限界未満 検出限界：玄米 0.004 ppm、籾殻 0.004 ppm、稲わら 0.002 ppm

玄米中放射能の分画比率を表 7. に示した。

玄米中放射能のアセトン/0.1N 塩酸 (4/1) による抽出率は 5.7% に過ぎなかった。残渣をジメチルホルムシト/水 (9/1) で抽出し、エタノールを加えて沈殿させたデンプン画分には 65.5% の放射能が分布した。玄米中放射能の多くはデンプンに取り込まれていると推定された。

表 7. 玄米中放射能の分画比率(原報告書 Table 11)

アセトン/0.1N 塩酸抽出	5.7 (0.014)	酢酸エチル画分	4.2 (0.010)
		水画分	1.5 (0.004)
		エタノール可溶	6.7 (0.016)
非抽出残渣	94.3 (0.224)	エタノール不溶(デンプン画分)	65.5 (0.156)
		ジメチルホルムシト不溶	22.1 (0.053)
		合計	100 (0.238)

数値は玄米中放射能に対する比率 (%), () 内の数値は MCPA 換算放射能濃度 (µg/g)

稲わら中放射能の分画比率を表 8. に示した。

稲わら中放射能のアセトン/0.1N 塩酸 (4/1) による還流抽出率は 57.2% TRR 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、2, 4-D協議会にある。

表 8. 稲わら中放射能の分画比率 (原報告書 Table 12)

		稲わら中放射能に対する比率 (%)			
アセトン/0.1N 塩酸抽出	57.2		直接抽出	セルラーゼ処理	セルラーゼブランク
		酢酸エチル画分	37.0	44.8	37.8
		水画分	20.2	12.4	19.4
非抽出残渣	42.8				
合計	100				

()内の数値は MCPA 換算放射能濃度 ($\mu\text{g/g}$)

(3) 止め葉における吸収、移行及び代謝分解 (ポット試験)

穂ばらみ期の止め葉塗布後のアセトン洗浄液及びメタノール抽出液中代謝物の比率を表 9. に示した。

アセトン洗浄画分比率は 0 日後の 85.3% から 7 日後の 14.8% まで経時的に減少したが、メタノール抽出画分は 1 日後以降約 38% で推移した。一方、抽出残渣の比率が、経時的に増加した。回収率は 0 日後の 103.3% から 7 日後では 76.2% に減少したが、これはオートラジオグラムの観察から放射能が処理葉から茎部へ移行しているためと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 9. 止め葉塗布後の代謝物比率 (原報告書 Table 13)

	処理後日数 (日)			
	0	1	3	7
アセトン洗浄画分	85.3	48.4	34.9	14.8
メタノール抽出画分	17.6	37.4	38.5	38.1
合計(アセトン洗浄+メタノール抽出)	102.9	85.8	73.4	52.9
抽出残渣	0.4	5.7	11.3	23.3
回収率	103.3	91.5	84.7	76.2

数値は処理放射能に対する比率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

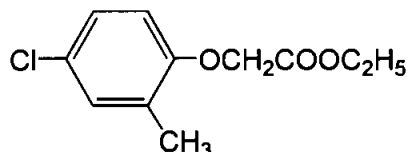
9.2.2 MCPAエチル及びMCPAの植物（稲）における代謝試験（資料No. M-2.2）

試験機関：

報告書作成年： 1992年

供試標識化合物：¹⁴C-MCPAエチル

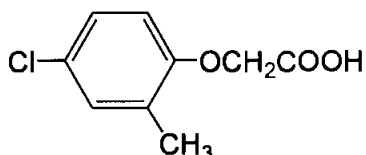
構造式；



化学名； ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate

供試標識化合物：¹⁴C-MCPA

構造式；



化学名； 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試植物： 稲（品種 日本晴、*Oryza sativa*、約3葉期）

- 試験群： (1) 水耕液中での安定性
(2) 幼植物における吸収及び移行
(3) 幼植物における代謝分解

試験方法：

(1) 水耕液中での安定性

¹⁴C-MCPAエチルあるいは¹⁴C-MCPAを1 ppm濃度で春日井氏水耕液（pH 6.3、オートクレーブ滅菌）400 mLに溶解し、その40 mLを50 mL容の褐色ガラスビンに移した。ビンの口をポリウレタンフォームで蓋をし、温室に静置後0、6、24、48時間に5 mLを採取して1 N塩酸にてpH 2としたのち酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル画分の残留成分を薄層クロマトグラフィー（TLC）にて分析した。

(2) 幼植物における吸収、移行及び代謝分解（幼植物試験）

¹⁴C-MCPAエチルあるいは¹⁴C-MCPAの1 ppm濃度の春日井氏水耕液溶液30 mLを50 mL容の褐色ガラスビン5本に分注し、各水耕液溶液に稲幼植物6本を根部浸漬した。浸漬後、3、6、9、24、48時間に幼植物を採取し、根部を蒸留水にて洗浄後、5本は茎葉部、根部及び種粒に分けそれぞれ放射能測定した。1本はオートグラフィーに供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

(3) 幼植物における代謝分解

^{14}C -MCPAエチルあるいは ^{14}C -MCPAの1 ppm濃度の春日井氏水耕液溶液30 mLを50 mL容の褐色ガラスビン3本に分注し、各水耕液溶液に稲幼植物20本を根部浸漬した。浸漬後、6、24、48時間に幼植物を採取し、根部を蒸留水にて洗浄後、茎葉部、根部及び種籾に分けた。種籾は乾燥後、燃焼法によって放射能測定した。茎葉部と根部はそれぞれハシで細断後、70%アセトン(アセトン/蒸留水=7/3, v/v)を加えてホジナイズ抽出した。

抽出液は濃縮しアセトンを留去後、0.1M酢酸緩衝液(pH 5)で希釈し3分割した。一つは蒸留水希釈後塩酸酸性下酢酸エチルにて抽出(直接抽出)、一つはセルラーゼ(*Aspergillus niger*由来)を加えて37°C、17時間インキュベート後塩酸酸性下酢酸エチルにて抽出(セルラーゼ処理)、一つはセルラーゼを加えずインキュベート後酢酸エチル抽出した(セルラーゼブランク)。各酢酸エチル画分は濃縮後、薄層クロマトグラフィーにて代謝物分析した。

(4) 放射能の定性・定量

液体試料中の放射能は、試料の一部を乳化シンチレーターと混合し液体シンチレーションカウンター(LSC)(LS6000TA、ベックマン)にて測定した。固体中の放射能は、試料の一部を全自動試料燃焼装置(ASC-113、アッカ)にて燃焼処理した後LSCにて測定した。

試料中の代謝物分析は、試料の一部をシカゲルプレート(60F₂₅₄、0.25 mm、20x20 cm、Art.5715、マルカ)に塗布し、4種の展開溶媒を用いて代謝物標準品との一次元あるいは二次元展開によるクロマトグラフィーにより行った。TLCプレート上の放射能は、ラジオオクロナイザー(JTC-601、アッカ)、X線フィルム(RX、富士写真フィルム、露光期間約3週間)、あるいはガイイメージングアナライザー(BAS2000、富士写真フィルム)にて検出、定量した。

試験結果：

(1) 水耕液中での安定性

^{14}C -MCPAエチルあるいは ^{14}C -MCPAの1 ppm濃度の春日井氏水耕液溶液中での安定性を表1. に示した。

MCPAエチルの48時間後の残存率は86%であり、比較的安定であった。

(2) 幼植物における吸収及び移行

^{14}C -MCPAエチルあるいは ^{14}C -MCPAの水耕液溶液に稲幼植物を根部浸漬後の植物体への経時的な吸収及び移行を表2. に示した。

水耕液からの植物体への吸収率、植物体中での茎葉、根、種籾への分布率及び各部位での濃度は、 ^{14}C -MCPAエチルと ^{14}C -MCPAのいずれの処理でも類似した傾向を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 1. ^{14}C -MCPA エテルあるいは ^{14}C -MCPA の春日井氏水耕液溶液中での安定性 (原報告書 Table 2)

	^{14}C -MCPA エテル処理				^{14}C -MCPA 処理			
	処理後時間 (hr)				処理後時間 (hr)			
	0	6	24	48	0	6	24	48
酢酸エテル画分	100.0	100.0	99.9	99.9	100.0	99.7	99.8	99.7
水面分	<0.1	<0.1	0.1	0.1	<0.1	0.3	0.2	0.3
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

数値は経時的に採取した水耕液 5 mL 中の放射能に対する比率 (%)

表 2. 水耕液中 ^{14}C -MCPA エテルあるいは ^{14}C -MCPA の幼植物への吸収及び移行 (原報告書 Table 3 及び 4)

	^{14}C -MCPA エテル処理					^{14}C -MCPA 処理				
	浸漬後時間 (hr)					浸漬後時間 (hr)				
	3	6	9	24	48	3	6	9	24	48
	処理放射能に対する比率 (%)									
茎葉	0.9	2.8	5.7	11.9	40.5	0.6	2.8	2.6	11.1	30.8
根	6.4	5.2	9.0	11.4	27.7	2.6	4.5	6.1	10.3	31.2
種籾	0.4	1.0	1.1	1.1	2.6	0.3	0.6	0.6	0.9	3.3
小計	7.7	9.0	15.8	24.4	70.8	3.5	7.9	9.3	22.3	65.3
水耕液	93.4	90.5	84.4	70.7	12.7	97.5	92.2	89.5	74.7	25.7
総回収率	101.1	99.5	100.2	95.1	83.5	101.0	100.1	98.8	97.0	91.0
	幼植物中放射能に対する比率 (%)									
茎葉	11.7	31.1	36.1	48.8	57.2	17.1	35.4	28.0	49.8	47.2
根	83.1	57.8	57.0	46.7	39.1	74.3	57.0	65.6	46.2	47.8
種籾	5.2	11.1	6.9	4.5	3.7	8.6	7.6	6.4	4.0	5.0
合計	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	放射能濃度 (MCPA エテルあるいは MCPA 換算 $\mu\text{g}/\text{g}$ 生鮮重)									
茎葉	0.37	1.50	2.28	4.87	12.64	0.24	1.24	1.04	3.76	10.36
根	10.08	8.08	10.94	16.45	32.95	8.95	4.21	10.79	12.65	41.53
種籾	1.04	2.32	2.50	3.82	6.14	0.77	1.35	1.54	2.26	7.91

*

(3) 幼植物における代謝分解

^{14}C -MCPA エテルあるいは ^{14}C -MCPA の水耕液溶液に稲幼植物を根部浸漬後の植物体における経時的な代謝分解の推移を表 3. に示した。

MCPA エテルあるいは MCPA のいずれの処理においても 48 時間後の植物体への吸収率は約 90%に達し、その多くは 70%アセトンに抽出された。直接抽出の場合は、原点部や水面分に放射能が留まったが、セルーゼ処理によりそれらの画分の放射能の多くは酢酸エテル可溶となった。

MCPA エテルは稲中で非常に速やかに MCPA に代謝され、その後の動態は MCPA 処理の場合と同様であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 3. ^{14}C -MCPA エテルあるいは ^{14}C -MCPA の稲幼植物における代謝分解
(原報告書 Table 5、6、10 より申請者が改変)

	^{14}C -MCPA エテル処理			^{14}C -MCPA 処理		
	浸漬後時間 (hr)			浸漬後時間 (hr)		
	6	24	48	6	24	48
茎葉+根部 70%アセトン抽出	21.6	58.2	74.1	18.9	59.6	67.8
「直接抽出」 酢酸エテル画分	19.7	42.3	28.1	17.3	43.5	30.0
水画分	1.9	15.9	46.0	1.6	16.1	37.8
「セルラーゼ」処理 酢酸エテル画分	21.4	56.6	70.3	18.7	58.6	65.1
水画分	0.2	1.6	3.8	0.2	1.0	2.7
抽出残渣	0.6	4.9	9.3	0.7	2.9	6.1
茎葉+根部 小計	22.2	63.1	83.4	19.6	62.5	73.9
種糞	3.8	6.5	10.0	1.9	10.5	14.5
植物体合計	26.0	69.6	93.4	21.5	73.0	88.4
水耕液残液	76.8	28.1	0.9	77.6	23.2	6.0
総回収率	102.8	97.7	94.3	99.1	96.2	94.4

数値は初期水耕液中放射能に対する比率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

9.2.3 MCPAの植物 (稲)における代謝試験—追加試験報告書— (資料No. M-2.3)

稲幼植物における抱合体の加水分解

試験機関：

報告書作成年： 1992年

供試標識化合物：¹⁴C-MCPA

構造式；



化学名； 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試植物： 稲 (品種 日本晴、*Oryza sativa*、約3葉期)

試験方法： 300 mL 容のガラスビーカーに¹⁴C-MCPAを1 ppm濃度で溶解した春日井氏水耕液100 mLを調製し、これに稲幼植物100本を根部浸漬した。水耕液は24時間後にはほとんど吸収されたが、以後MCPAを含まない水耕液を追加して栽培を継続した。

3日後に幼植物を取り出し、根部を蒸留水で洗浄した。洗液は水耕液残液と合わせて放射能を測定した。

幼植物は、茎葉、根及び種籾に分けた。種籾は燃焼法により放射能を測定した。茎葉と根はそれぞれ細断した後、70%アセトンを加えて磨砕抽出し、抽出液は濃縮してアセトンを留去した。得られた水溶液を5等分し、下表に示す操作を行った。

①はそのまま酢酸エチルで抽出して分析、②はMCPAエチルとMCPAの稲における比較代謝(資料No.M-2.2)で用いたセルラーゼによる加水分解、③はMCPAエチル製品の作物残留分析で用いられている方法(アルカリ加水分解)である。④は、③のアルカリ加水分解時間を延長した方法、⑤は加水分解のアルカリブランク試験である。

	①	②	③	④	⑤
方法名	直接抽出	セルラーゼ処理	NaOH 15分	NaOH 1時間	NaOH ブランク
添加溶液	蒸留水	pH5 酢酸緩衝液	蒸留水 メタノール	蒸留水 メタノール	蒸留水 メタノール
加水分解条件	なし	セルラーゼ 37°C、17時間	1N NaOH 70°C、15分	1N NaOH 70°C、60分	70°C、60分
抽出	酸性下 酢酸エチル抽出	酸性下 酢酸エチル抽出	酸性下 酢酸エチル抽出	酸性下 酢酸エチル抽出	酸性下 酢酸エチル抽出
代謝物分析	TLC	TLC	TLC	TLC	TLC

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

試験結果： 水耕液浸漬後の幼植物における放射能の分布を表 1. に示した。
 処理放射能に対し、29.0%が茎葉に、60.6%が根部に分布した。茎葉の放射能の 26.3%、
 根部の放射能の 52.4%が 70%アセトンに抽出された。

表 1. 幼植物における放射能の分布 (原報告書 Table 1)

植物体	処理放射能に対する比率 (%)		
	植物体	94.0	
茎葉	29.0	70%アセトン	26.3
		残渣	2.7
根部	60.6	70%アセトン	52.4
		残渣	8.2
種籾	4.4		
水耕液	1.1		
回収率	95.1		

茎葉及び根部の 5 つの分析方法による代謝物比率を表 2. に示した。

茎葉部及び根部共に、セルラーゼと NaOH 加水分解による MCPA の比率はほぼ同様であり、
 現行の残留分析法におけるアルカリ加水分解によって MCPA 抱合体も MCPA として一括評価
 されていると考えられた。

表 2. 茎葉及び根部の各分析方法による代謝物比率 (原報告書 Table 2)

	①	②	③	④	⑤
	直接抽出	セルラーゼ処理	NaOH 15分	NaOH 1時間	NaOH ブランク
「茎葉」 酢酸エチル画分	16.5	25.7	21.5	21.8	20.0
水面分	9.8	0.6	4.8	4.5	6.3
合計	26.3	26.3	26.3	26.3	26.3
「根部」 酢酸エチル画分	16.6	52.0	43.3	43.6	22.4
水面分	35.8	0.4	9.1	8.8	30.0
合計	52.4	52.4	52.4	52.4	52.4

数値は処理放射能に対する比率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

9.2.4 MCPAの小麦における代謝試験 (資料No. M-2.4)

試験機関:

報告書作成年: 2007年

[GLP対応]

供試標識化合物: ^{14}C -MCPA

構造式:



化学名: 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試植物: 小麦 (品種; Morph)

土壌が入ったコンテナに 450 植物/m² の割合で播種し、温室内で育成させた。

処理方法: 標識体 ^{14}C -MCPAを非標識体MCPAで希釈

処理液を調製した。

5 葉期の小麦にガス製噴霧器を用いて手動で散布処理した。処理は 640 g a.i./ha (MCPA 換算で 577 g a.e./ha)であった。散布水量は 70 mL/m²とした。

試料採取: 収穫時 (処理後 111 日後)に玄麦、粃殻、麦藁に分けて採取し、各試料の重量を測定後ドライアイスとともに均一磨砕した。

試験方法: 均一磨砕した各試料の一部を燃焼法によって総残留放射能 (TRR)を求めた。また、一部の試料は以下の分析フローに従って試料中の代謝物の特徴付け及び同定を行なった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

分析機器： 液体シンチレーションカウンター；シンチレーター（ウルチマコーールド[®]、パッカート[®]社製）を用い、液体試料中の放射能を測定した。
 自動燃焼装置；抽出残渣等の固体試料中の放射能は自動燃焼装置にて燃焼後、トラップした¹⁴C¹⁴O₂を液体シンチレーションカウンターで測定した。
 薄層クロマトグラフィー（TLC）；順相及び逆相の薄層プレートを用い、参照物質とのコクロマトグラフィーを行なった。定量はイメージアライバー（Fujix FLA-5000、フジフィルム社製）を用いた。

試験結果： 放射能分布；各試料における放射能分布を表 1. にまとめた。

表 1. 各試料中における TRR 及び放射能分布（原報告書 Table 2）

	玄麦		籾殻		麦藁			
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
リフラックス抽出	6.8	0.003	18.8	0.018	58.4	0.583	58.4	0.583
酢酸エチル画分	4.3	0.002	11.1	0.011	—	—	—	—
水画分	2.5	0.001	7.7	0.007	—	—	—	—
リフラックス残渣	93.2	0.050	81.2	0.078	41.6	0.416	41.6	0.416
デンプン画分	40.1	0.022	2.3	0.002	nf	nf	—	—
上澄画分	20.5	0.011	15.8	0.015	19.4	0.194	—	—
酵素抽出	—	—	—	—	—	—	25.3	0.253
残渣	32.6	0.018	63.1	0.061	22.2	0.222	16.3	0.163
合計	100	0.054	100	0.096	100	0.999	100	0.999

ppm：μg MCPA 換算/g、合計=リフラックス抽出+リフラックス残渣、nf：沈殿なし、-：実施していない

玄麦における総残留放射能（TRR）は 0.054 ppm であった。放射能分布は、リフラックス抽出液に 6.8% TRR（0.003 ppm）であり、大部分はリフラックス残渣であった（93.2% TRR、0.050 ppm）。リフラックス抽出液は酢酸エチル画分に 4.3% TRR（0.002 ppm）、水画分に 2.5% TRR（0.001 ppm）画分された。リフラックス残渣のうち 40.1% TRR（0.022 ppm）はデンプン画分、32.6% TRR（0.018 ppm）は残渣であった。これは MCPA が土壤中で無機化された後、炭酸同化によっ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

て取り込まれたり、低分子へ代謝され植物体内成分へ取り込まれたことによるものと推察された。

粃殻における TRR は 0.096 ppm であった。放射能分布は、リフラックス抽出液に 18.8% TRR (0.018 ppm)であり、大部分はリフラックス残渣であった。リフラックス残渣のうち 63.1% TRR (0.061 ppm)は残渣であった。

麦藁における TRR は 0.999 ppm であった。放射能分布は、半分以上がリフラックス抽出液に検出され (58.4% TRR、0.583 ppm)、リフラックス残渣は 41.6% TRR (0.416 ppm)であった。リフラックス残渣にはデンプン画分となる沈殿は認められず、上澄画分と残渣に同等に分画された。また、リフラックス残渣のペクチナーゼ及びセルラーゼ処理によって 25.3% TRR (0.253 ppm)が抽出された。このことから麦藁中の放射能の 42%は植物成分に取り込まれ、強固に結合していることが示唆された。

代謝物分析；粃殻の酢酸エチル画分の TLC 分析の結果を表 2. に示した。また、麦藁のリフラックス抽出液のβ-グルコシダーゼ処理による代謝物の影響を表 3. にまとめた。

表 2. 粃殻の酢酸エチル画分中代謝物 (原報告書 Table 4)

代謝物	% TRR	ppm
合計	11.2	0.011

表 3. 麦藁のリフラックス抽出液中代謝物と酵素処理による影響 (原報告書 Table 3)

代謝物	無処理		酵素なしインキュベート		酵素処理	
	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm
合計	58.3	0.582	58.4	0.582	58.3	0.583

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

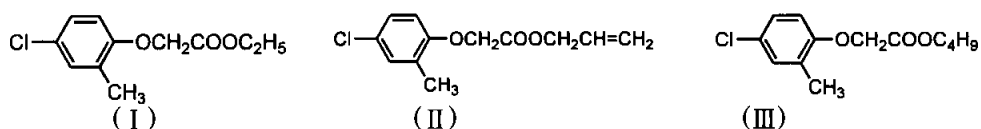
9.2.5 植物体ホモジネート中のMCPAエステルの分解 (資料No. M-2.5)

試験機関:

報告書作成年: 1984年

供試化合物: MCPAエチル、MCPAアリル、MCPAブチル

構造式:



化学名: (I) ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAエチル)

(II) allyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAアリル)

(III) butyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAブチル)

供試植物: 稲 (3葉期)及びはつかだいこん (20日間栽培)

試験方法: 各植物体の茎葉部 20 g をトリス塩酸緩衝液 (pH 7.6) 中で均一磨砕し、粗酵素液を調製した。供試化合物を含むトリス塩酸緩衝液 9 mL に粗酵素液を 1 mL 加え (供試化合物濃度: 1 mg/L)、30°C でインキュベートした。定期的に濃塩酸で酵素反応を止め、エーテルに転溶、メチル化後供試化合物と MCPA 由来の MCPA メチルを GC-MS で測定した。

試験結果: MCPA エステル供試化合物は酵素液の濃度が高いほど分解が速く、また、はつかだいこんよりも稲の酵素液のほうが分解は速かった。各供試化合物の半減期は稲の MCPA エチルを除いて 3 時間以内と短かった。

以上の結果から圃場において植物体に吸収された MCPA エステルは速やかに MCPA へ分解されると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

9.3 土壤中運命に関する試験

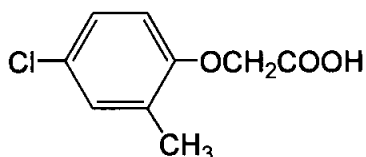
9.3.1 好氣的及び好氣的湛水土壌中運命試験 (資料No. M-3.1)

試験機関：

報告書作成年： 1992年

供試標識化合物：¹⁴C-MCPA

構造式；



化学名； 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

供試土壌： 以下の2種類の土壌を用いた。採取後2 mmメッシュの篩を通して、使用まで冷暗所 (5°C) に保存した。

採取地	群馬県	埼玉県
圃場	畑	水田
土性	砂壤土	重埴土
砂 (%)	74.9	16.8
シルト (%)	13.4	37.3
粘土 (%)	11.7	45.9
有機炭素 (%)	2.23	4.21
C.E.C. ¹⁾	9.0	23.7
pH (H ₂ O)	5.7	5.7
リン酸吸収係数 ²⁾	1230	1480
最大含水量 ³⁾	57.0	94.3

1) me/100g 乾土重

2) mg/100g 風乾土重

3) g/100g 乾土重

試験群： (1) 畑条件 (好氣的土壌中運命)
(2) 湛水条件 (好氣的湛水土壌中運命)
(3) 滅菌条件 (畑あるいは湛水条件)

試験方法：

(1) 畑条件 (好氣的土壌中運命)

群馬あるいは埼玉土壌の20 g (乾土換算)を100 mL容ビーカーに入れ、土壌水分量が最大含水量の55%になるように蒸留水を加えた。アルコールでビーカーに蓋をし、25°C、暗所で7日間予備培養を行った。予備培養後、¹⁴C-MCPAの20 ppm水溶液1 mLを加え良く攪拌後同様に培養した。MCPAの土壌に対する処理濃度は1 ppmとした。

申請者注) 処理濃度設定根拠：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

(2) 湛水条件 (好氣的湛水土壌中運命)

群馬あるいは埼玉土壌の 20 g (乾土換算) を 100 mL 容ビーカーに入れ、蒸留水を加えて湛水深約 1 cm とした。アルミで蓋をして、25°C、暗所で 7 日間予備培養を行った。予備培養後、¹⁴C-MCPA の 20 ppm 水溶液 1 mL を加え良く攪拌後同様に培養した。MCPA の土壌に対する処理濃度は 1 ppm とした。

(3) 滅菌条件 (畑あるいは湛水条件)

群馬あるいは埼玉土壌の 20 g (乾土換算) を 100 mL 容の共栓付ガラス三角フラスコに入れ、畑あるいは湛水条件とした。これを 1 日 1 回 3 日間連続してオートクレーブ滅菌した (120°C、20 分)。滅菌後、¹⁴C-MCPA の 20 ppm 水溶液 1 mL を加え良く攪拌後密栓し、25°C、暗所で培養した。

(4) 揮発性物質の測定

フラスコ腹部に 10 mL 容のガラス試験管をアームで連結させた 100 mL 容の三角フラスコ (Biometric flask) に土壌を入れ、畑条件、湛水条件、滅菌畑条件、滅菌湛水条件の各条件にした。試験管には炭酸ガス捕集用の 0.5N NaOH を入れ、アームの部分には揮発性有機物捕集用のポリウレタンフォームを詰めた。¹⁴C-MCPA の 20 ppm 水溶液 1 mL を加え良く攪拌後密栓し、25°C、暗所で培養した。

(5) 代謝物の分析

畑条件の土壌はメタノール/3%リン酸 (4/1, v/v) を加えて 30 分間の振盪抽出を 2 回繰返した。湛水条件の土壌は遠心分離により湛水を除去した後、同様に抽出した。各土壌残渣はさらに蒸留水で洗浄抽出した。メタノール/3%リン酸抽出液は濃縮しメタノールを留去後、除去した湛水や洗浄抽出液を合わせ、酸性酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル画分を薄層クロマトグラフィー (TLC) に供した。

処理 56 日後の抽出残渣は土壌有機物の分画方法に従って分析した。0.5N NaOH にて 90°C、6 時間加熱抽出し、この残渣をヒューシ画分とした。抽出液を塩酸酸性とし、生じた沈殿を腐植酸、上清をフルボン酸とした。フルボン酸画分は酢酸エチルで抽出し TLC 分析に供した。分析フローを次頁に示した。

(4) 放射能の定性・定量

液体試料中の放射能は、試料の一部を乳化シンチレーターと混合し液体シンチレーションカウンター (LSC) (LS6000TA、ベックマン) にて測定した。固体中の放射能は、試料の一部を全自動試料燃焼装置 (ASC-113、アロカ) にて燃焼処理した後 LSC にて測定した。

試料中の代謝物分析は、試料の一部をシリカゲルプレート (60F₂₅₄、0.25 mm、20×20 cm、Art.5715、メル) に塗布し、3 種の展開溶媒を用いて代謝物標準品との一次元あるいは二次元展開によるクロマトグラフィーにより行った。TLC プレート上の放射能は、ラジオクロマトイグラー (JTC-601、アロカ)、X 線フィルム (RX、富士写真フィルム、露光期間 約 30 日)、あるいはバリエーションングアライイグラー (BAS2000、富士写真フィルム) にて検出、定量した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果：

(1) 畑条件 (好氣的土壤中運命)

畑条件における代謝分解を表 1. に示した。

群馬及び埼玉のいずれの土壤においても MCPA の分解は速く、最小二乗法による半減期は群馬で 3.1 日、埼玉で 2.1 日であった。

抽出残渣の比率も増加したが 14 日後以降概ね 40~50%に留まった。

表 1. 畑条件における代謝分解 (原報告書 Table 3 及び 4)

	処理後日数						
	0	1	3	7	14	28	56
群馬土壤							
メタノール/3%リン酸抽出	97.4	78.9	58.9	29.6	9.5	5.1	4.3
蒸留水洗浄	2.1	2.7	2.4	1.9	1.1	0.8	0.6
小計	99.5	81.6	61.3	31.5	10.6	5.9	4.9
酢酸エチル画分	99.3	80.9	60.0	29.3	8.0	3.9	2.9
水画分	0.2	0.7	1.3	2.2	2.6	2.0	2.0
抽出残渣	2.7	17.4	26.5	37.3	41.0	40.1	41.3
ポリウレタンフォーム	—*	—	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	10.4	25.7	43.9	52.8	57.5
合計	102.2	99.0	98.2	94.5	95.5	98.8	103.7
埼玉土壤							
メタノール/3%リン酸抽出	95.0	67.9	24.6	8.6	6.0	4.6	3.6
蒸留水洗浄	2.0	2.6	1.7	1.2	0.9	0.8	0.7
小計	97.0	70.5	26.3	9.8	6.9	5.4	4.3
酢酸エチル画分	96.8	68.4	22.6	6.1	4.0	2.8	2.3
水画分	0.2	2.1	3.7	3.7	2.9	2.6	2.0
抽出残渣	5.7	23.8	45.6	52.0	47.8	48.4	51.4
ポリウレタンフォーム	—	—	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	25.8	37.5	42.5	46.8	50.2
合計	102.7	94.3	97.7	99.3	97.2	100.6	105.9

数値は処理放射能に対する比率 (%)

* : 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、2, 4-D協議会にある。

(2) 湛水条件 (好氣的湛水土壤中運命)

湛水条件における代謝分解を表 2. に示した。

群馬及び埼玉のいずれの土壤においても MCPA の分解は速く、最小二乗法による半減期は両土壤ともに 4.5 日であった。

抽出残渣の比率も増加し、最大 42.9~45.8%

となった。

表 2. 湛水条件における代謝分解 (原報告書 Table 5 及び 6)

	処理後日数						
	0	1	3	7	14	28	56
群馬土壤							
湛水	69.5	49.7	41.0	23.4	7.7	0.3	0.2
メタノール/3%リン酸抽出	33.7	41.8	38.0	29.4	14.3	4.9	3.1
蒸留水洗浄	0.8	1.2	1.7	1.8	1.1	0.5	0.5
小計	104.0	92.7	80.7	54.6	23.1	5.7	3.8
酢酸エチル画分	103.7	92.1	79.8	53.1	20.8	3.8	2.2
水面分	0.3	0.6	0.9	1.5	2.3	1.9	1.6
抽出残渣	1.5	8.7	16.3	26.2	43.1	45.8	38.3
ポリウレタンフォーム	—*	—	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	5.3	17.3	35.3	50.9	57.6
合計	105.5	101.4	102.3	98.1	101.5	102.4	99.7
埼玉土壤							
湛水	73.1	51.6	39.1	11.1	9.3	1.6	0.6
メタノール/3%リン酸抽出	29.0	47.5	49.4	31.8	31.2	18.5	6.7
蒸留水洗浄	0.6	1.0	1.3	1.2	1.2	0.7	0.6
小計	102.7	100.1	89.8	44.1	41.7	20.8	7.9
酢酸エチル画分	102.3	99.5	89.2	42.5	40.5	19.8	6.4
水面分	0.4	0.6	0.6	1.6	1.2	1.0	1.5
抽出残渣	1.3	3.9	10.1	26.2	29.9	36.2	42.9
ポリウレタンフォーム	—	—	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	2.9	17.1	37.3	45.5	51.8
合計	104.0	104.0	102.8	87.4	108.9	102.5	102.6

数値は処理放射能に対する比率 (%)

* : 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2, 4-D協議会にある。

(3) 滅菌条件 (畑あるいは湛水条件)

滅菌畑条件及び滅菌湛水条件における代謝分解を表 3. 及び表 4. に示した。

群馬及び埼玉のいずれの土壌においても MCPA の分解は著しく抑えられた。処理 56 日後の MCPA の比率は 67.5~86.2%であった。

抽出残渣の比率は 56 日後で 7.4~27.9%に留まった。

表 3. 滅菌畑条件における代謝分解 (原報告書 Table 7 及び 8)

	処理後日数				
	0	7	14	28	56
	群馬土壌				
メタノール/3%リン酸抽出	96.8	76.3	76.5	73.0	69.2
蒸留水洗浄	1.7	2.5	2.6	2.8	3.0
小計	98.5	78.8	79.1	75.8	72.2
酢酸エチル画分	98.3	78.7	78.9	75.7	72.0
水面分	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
抽出残渣	2.8	20.9	22.3	23.1	27.9
ポリウレタンフォーム	—*	—	—	—	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	—	—	<0.1
合計	101.3	99.7	101.4	98.9	100.1
	埼玉土壌				
メタノール/3%リン酸抽出	95.3	86.8	86.5	85.8	84.6
蒸留水洗浄	1.7	2.1	2.5	2.5	2.4
小計	97.0	88.9	89.0	88.3	87.0
酢酸エチル画分	96.8	88.8	88.9	88.2	86.7
水面分	0.2	0.1	0.1	0.1	0.3
抽出残渣	5.1	11.8	11.7	13.3	14.8
ポリウレタンフォーム	—	—	—	—	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	—	—	<0.1
合計	102.1	100.7	100.7	101.6	101.8

数値は処理放射能に対する比率 (%)

* : 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、2、4-D協議会にある。

表 4. 滅菌湛水条件における代謝分解 (原報告書 Table 9 及び 10)

	処理後日数				
	0	7	14	28	56
群馬土壤					
湛水	63.3	48.0	44.5	41.3	42.2
メタノール/3%リン酸抽出	31.5	39.8	42.8	42.0	41.0
蒸留水洗浄	0.6	1.7	1.5	1.7	1.4
小計	95.4	89.5	88.8	85.0	84.6
酢酸エチル画分	95.2	89.2	88.5	84.9	84.2
水画分	0.2	0.3	0.3	0.1	0.4
抽出残渣	1.6	11.0	11.3	13.7	14.1
ポリウレタンフォーム	—*	—	—	—	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	—	—	0.2
合計	97.0	100.5	100.1	98.7	98.9
埼玉土壤					
湛水	55.2	45.3	40.0	41.7	39.5
メタノール/3%リン酸抽出	36.6	46.6	52.9	50.4	51.5
蒸留水洗浄	0.8	1.4	1.5	1.8	1.3
小計	92.6	93.3	94.4	93.9	92.3
酢酸エチル画分	92.3	93.0	94.0	93.5	91.6
水画分	0.3	0.3	0.4	0.4	0.7
抽出残渣	2.2	5.4	6.7	6.9	7.4
ポリウレタンフォーム	—	—	—	—	<0.1
0.5N NaOH(CO ₂)	—	—	—	—	<0.1
合計	94.8	98.7	101.1	100.8	99.7

数値は処理放射能に対する比率(%)

* : 測定せず

(4) 抽出残渣の土壤有機物分画

各条件における処理 56 日後の抽出残渣の有機物分画結果を表 5. に示した。

非滅菌の畑あるいは湛水条件の場合、抽出残渣に含まれる放射能の多くはヒューミンに分布した。次いで、フルボン酸、腐植酸の順であった。フルボン酸中放射能の多くは水画分であった。

滅菌条件の畑あるいは湛水条件の場合、抽出残渣に含まれる放射能の多くはフルボン酸に分布した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2、4-D協議会にある。

表 5. 処理 56 日後の抽出残渣の土壤有機物分画 (原報告書 Table 11 及び 12)

	畑条件		湛水条件		滅菌畑条件		滅菌湛水条件	
	群馬土壤	埼玉土壤	群馬土壤	埼玉土壤	群馬土壤	埼玉土壤	群馬土壤	埼玉土壤
フルボ酸	13.2 (32.0)*	8.6 (16.7)	12.8 (33.4)	9.6 (22.4)	21.9 (78.5)	9.7 (65.5)	12.5 (88.7)	4.5 (60.8)
酢酸エチル画分	4.3	2.4	3.9	4.4	21.5	9.4	12.4	4.3
水画分	8.9	6.2	8.9	5.2	0.4	0.3	0.1	0.2
腐植酸	5.5 (13.3)	4.6 (9.0)	6.0 (15.7)	5.5 (12.8)	2.1 (7.5)	2.4 (16.2)	0.9 (6.4)	1.1 (14.9)
ヒューミン	22.6 (54.7)	38.2 (74.3)	19.5 (50.9)	27.8 (64.8)	3.9 (14.0)	2.7 (18.3)	0.7 (4.9)	1.8 (24.3)
合計	41.3 (100)	51.4 (100)	38.3 (100)	42.9 (100)	27.9 (100)	14.8 (100)	14.1 (100)	7.4 (100)

数値は処理放射能に対する比率 (%)

* : カッコ内の数値は抽出残渣中放射能に対する比率 (%)

(5) 推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

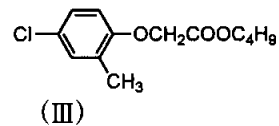
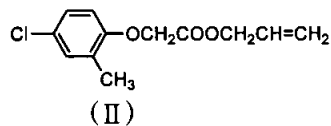
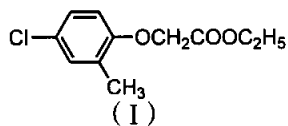
9.3.2 湛水及び畑地土壌中のMCPAエステルの分解(資料No. M-3.2)

試験機関：

報告書作成年： 1984年

供試化合物：MCPAエチル、MCPAアリル、MCPAブチル

構造式：



化学名； (I) ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAエチル)

(II) allyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAアリル)

(III) butyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAブチル)

供試土壌： 茨城県農試水田土壌 (腐植質火山灰壤土)及び福岡県農試水田土壌 (沖積砂壤土)

試験方法： 30°Cの暗所インキュベーター内で土壌 (乾土 20 g 相当)を 1 週間予備インキュベート後、各 200 mg/L アセトン標準液を 0.5 mL 添加した (添加濃度 5 ppm)。同条件でインキュベートしながら定期的に土壌を採取し、抽出、メチル化後供試化合物と MCPA 由来の MCPA メチルを GC-MS で測定した。

試験結果： MCPA エステル供試化合物は湛水及び畑地条件下で速やかに分解し、半減期は 3 時間以内であった。分解速度は火山灰土壌よりも沖積土壌のほうがやや速く、畑地よりも湛水の方が速かった。

以上の結果から圃場において土壌に処理された MCPA エステルは速やかに MCPA へ分解されることが考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2,4-D協議会にある。

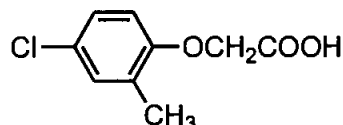
9.3.3 MCPAの土壌吸着性試験 (資料No. M-3.3)

試験機関:

報告書作成年: 2000年 [GLP 対応]

供試標識化合物: MCPA

構造式:



化学名: 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid

純度:

供試土壌: 本試験で使用した土壌の特性 (日本植物防疫協会資料) を以下に示した。

採取場所	日植調新潟 第一試験地	日植防 高知試験場	日植防 牛久研究所	日植防 宮崎試験場
土壌群名	沖積固結強グライ土	沖積鉍質土壌	褐色火山灰土壌	砂丘未熟土土壌
OECD 土壌タイプ	1	3	3	3
土性	軽植土	軽植土	微砂質埴壤土	微砂質埴壤土
砂 (%)	24.4	42.2	26.2	86.0
シルト (%)	44.5	31.9	50.9	7.1
粘土 (%)	31.1	25.9	22.9	6.9
有機炭素含有率 (%)	1.65	1.29	2.25	1.5
pH (KCl)	5.4	6.5	5.9	5.3
陽イオン交換容量 (me/100g)	21.5	11.3	21.4	9.7
リン酸吸収係数	790	390	2300	1030
粘土鉍物の種類	モンモリロナイト カオリン鉍物	クロライト イリト	アロフェン パーキユライト	アロフェン ハロイイト
水分 (%)#	3.22~3.64	1.34	11.57~12.45	2.31~2.52
その他	水田土壌	水田土壌	畑地土壌	畑地土壌

申請者注) OECD 土壌タイプは pH、有機炭素含有率及び粘土含有率を参考に申請者が付与した。
#: (財)残留農薬研究所による測定値

試験方法:

1) スクリーニング試験及び吸着平衡化試験

試験溶液: 被験物質を 0.01M 塩化カルシウム水溶液に溶解し、25 mg/L 溶液を調製した。

試験操作: 各乾土換算 5 g の土壌をステンレス製遠沈管に量り取り、0.01M 塩化カルシウム水溶液を全水分量が 25 mL になるように加え、12 時間振盪平衡化した。遠心分離後、上澄液 5 mL を採取し、同量の試験溶液を加え (初期被験物質濃度: 5 mg/L)、25°C 下で 16 時間振盪した。この時、土壌を含まないコントロール試験を同様に実施した。振盪終了後、遠心分離して上澄液と土壌に分別した。上澄液は分析に供し、吸着率を算出した。吸着率が 25% 以上であった新潟土壌、牛久土壌及び宮崎土壌は引き続き、分別した上澄液と同量の 0.01M 塩化カルシウム水溶液を各土壌に加え、16 時間振盪し (同様の操作を 2 回実施)、脱着性試験とした。吸着平衡化試験は新潟土壌、牛久土壌及び宮崎土壌に上記同様に試験溶液を添加後、0、1、2、4、6、16 及び 24 時間 (宮崎土壌のみ 23 時間) 振盪し、2 点時の濃度差が 10% 未満であることを目安に平衡化時間を設定した。全ての試験は 2 連で行い、平均値を評

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

価した。

2) 吸着等温試験

試験溶液：被験物質を 0.01M 塩化カルシウム水溶液に溶解し、5、1 及び 0.4 mg/L 溶液を調製した。

試験操作：1)と同様に試験溶液を加えた後（それぞれの初期被験物質濃度：1、0.2 及び 0.08 mg/L）、25℃下で 16 時間振盪した。振盪終了後、遠心分離して上澄液を分析に供した。初期被験物質濃度が 5 mg/L のデータは 1)から流用した。得られた測定値を用いて、横軸に上澄液中濃度の対数、縦軸に土壌中濃度の対数をとってプロットし、その回帰直線からポイント・比の吸着係数を算出した。

3) 分析方法

上澄液：20 mL に酢酸 0.1 mL を添加し、C18 ミニカラムで濃縮、精製後、高濃度処理区（5 及び 1 mg/L）はアセトリウム水=1/1 混液に溶解してフタバ イオン・アレイ検出器付 HPLC にて定量した。低濃度処理区（0.2 及び 0.08 mg/L）は C18 精製後、NH₂ ミニカラム精製を追加した。検出限界は高濃度処理区で 0.08 mg/L、低濃度処理区で 0.004 mg/L とした。

土壌：塩酸酸性下 30%含水アセトンで 3 回振盪抽出し、ジエチル・エーテル・ヘキサン（3/1）混液で抽出後、NH₂ ミニカラム精製した。アセトリウム水=1/1 混液に溶解してフタバ イオン・アレイ検出器付 HPLC にて定量した。検出限界は 0.08 mg/L とした。物質収支を算出するための土壌分析は初期被験物質濃度が 1 mg/L の試料に限定した。

添加回収：各ブランクの上澄液 20 mL に 1 mg/L 添加して C18 までの方法と NH₂ 精製を加えた方法をそれぞれ 2 連で実施した。各ブランクの土壌（高知土壌を除く）に 25 µg の被験物質を添加して 2 連で実施した。

試験結果：

添加回収：上澄液の添加回収は両方法とも 95～102%、平均 99%、変動係数 2.0%以下の良好な結果であった。土壌の添加回収は 66～88%、平均 81%、変動係数 10.7%と上澄液よりは低回収であったが、許容範囲であった。

スクリーニング試験：4 土壌を用いた吸着性試験結果を表 1. に、3 土壌を用いた脱着性試験結果を表 2. に示した。

表 1. 吸着性試験結果（原報告書表 1）

土壌名	初期濃度 (mg/L)	上澄液中濃度 (mg/L)				吸着率 (%)	吸着係数	K _{oc}
		実測値		レンジ	平均			
新潟	5.00	2.79	2.81	0.02	2.80	45	4.02	244
高知	5.00	4.63	4.58	0.05	4.61	9	0.48	37
牛久	5.00	3.60	3.53	0.07	3.57	30	2.08	93
宮崎	5.00	3.63	3.71	0.08	3.67	28	1.88	125
コントロール	5.00	5.04	5.05	0.01	5.05	—	—	—

表 2. 脱着性試験結果（原報告書表 2）

土壌名	初期濃度 (mg/L)	上澄液中濃度 (mg/L)					脱着率 (%)
			実測値		レンジ	平均	
新潟	5.00		1 回目	1.15	1.16	0.01	1.16
		2 回目	0.60	0.38	0.22	0.49	
牛久	5.00	1 回目	1.24	1.23	0.01	1.24	49
		2 回目	0.56	0.58	0.02	0.57	
宮崎	5.00	1 回目	1.02	1.01	0.01	1.02	56
		2 回目	0.39	0.38	0.01	0.39	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

スクリーニング試験の結果、新潟、高知、牛久及び宮崎の各土壌の吸着率はそれぞれ45%、9%、30%及び28%であり、コントロールの結果は容器への吸着性はなかった。低吸着性の高知土壌はこの時点で重要な意味を持たないと評価され、試験を終了した。新潟、牛久及び宮崎の各土壌の脱着率はそれぞれ38%、49%及び56%であった。
吸着平衡化試験：結果を表3. に示した。

表3. 吸着平衡化試験結果 (原報告書表3)

供試土壌	振盪時間 (h)	振盪後の上澄液中濃度 (mg/L)		変化率 (%)	
		実測値	平均値		
新潟	0	4.57	4.40	4.49	—
	1	3.72	3.46	3.59	20
	2	3.43	3.66	3.55	1
	4	3.27	3.20	3.24	9
	6	3.16	3.03	3.10	4
	16	2.79	2.81	2.80	10
	24	2.57	2.60	2.59	8
牛久	0	4.18	4.06	4.12	—
	1	4.15	3.94	4.05	2
	2	4.03	4.04	4.04	0
	4	3.88	3.90	3.89	4
	6	3.91	3.91	3.91	1
	16	3.60	3.53	3.57	9
	24	3.58	3.66	3.62	2
宮崎	0	4.33	4.22	4.28	—
	1	4.12	4.10	4.11	4
	2	4.03	4.01	4.02	2
	4	3.95	3.62	3.79	6
	6	4.04	3.86	3.95	4
	16	3.63	3.71	3.67	7
	23	3.60	3.56	3.58	2

変化率の結果から、牛久土壌及び宮崎土壌は振盪1時間で、新潟土壌は振盪16時間で平衡に達していると判断された。総合的に考慮して平衡化時間を16時間に設定した。また、本試験と並行して実施されたコントロール試験の結果、土壌以外の要因による吸着や分解は認められなかった。

吸着等温試験：結果を表4. に示した。

表4. 吸着等温試験結果 (原報告書表5及び6)

土壌名 (OECD)	初期濃度 (mg/L)	上澄液中平均濃度 (mg/L)	土壌中濃度 (µg/g)	吸着係数 (K)	吸着指数 (1/n)	相関係数 (r ²)	有機炭素含有率 (%)	有機炭素吸着係数 (Koc)
新潟 (1)	0.080	0.039	0.21	4.68	0.915	0.993	1.65	284
	0.200	0.084	0.58					
	1.00	0.47	2.65					
	5.00	2.80	11.00					
牛久 (3)	0.080	0.054	0.13	2.12	0.959	1.000	2.25	94.2
	0.200	0.135	0.33					
	1.00	0.69	1.55					
	5.00	3.57	7.18					
宮崎 (3)	0.080	0.051	0.15	2.10	0.905	1.000	1.50	140
	0.200	0.132	0.34					
	1.00	0.68	1.60					
	5.00	3.67	6.65					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

各土壌の16時間振盪後の吸着係数(K)は2.10~4.68、相関係数は0.993~1.000であった。Kを有機炭素含有率で割り求めた有機炭素吸着係数(Koc)は94.2~284であった。物質収支：初期濃度が1.00 mg/L (25 µg 添加)の試料における物質収支の結果を表5. に示した。

表5. 物質収支結果 (原報告書表8)

土壌名	初期濃度 (mg/L)	平衡化時の 上澄液中量* (µg)	平衡化時の 土壌中量* (µg)	回収量 (µg)	平均物質収支 (%)
新潟	1.00	9.64	0.77	10.41	41
		9.68	0.28	9.96	
牛久	1.00	14.15	7.82	21.97	85
		14.36	5.98	20.34	
宮崎	1.00	14.96	9.18	24.14	99
		15.03	10.24	25.26	

*：各画分の回収率で補正した値

新潟土壌、牛久土壌及び宮崎土壌における物質収支は、それぞれ41%、85%及び99%であった。土壌以外の消失要因が認められなかったため、新潟土壌の低回収の原因は土壌への強固な吸着性あるいは分解であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

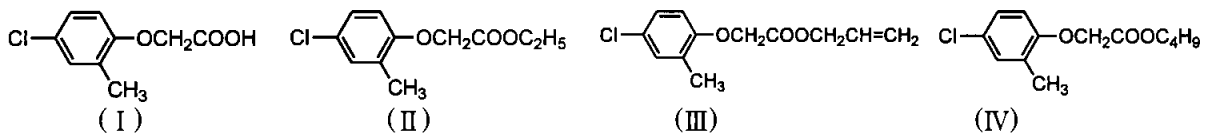
9.3.4 土壌移動性試験 (MCPA及びエステル類) (資料No. M-3.4)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

供試化合物: MCPA、MCPAエチル、MCPAアリル、MCPAブチル

構造式:



化学名: (I) 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA)
 (II) ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAエチル)
 (III) allyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAアリル)
 (IV) butyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAブチル)

供試土壌: 本試験で使用した水田土壌の特性を以下に示した。

採取場所	滋賀農試土壌	茨城農試土壌
土壌群名	沖積土壌	火山灰土壌
OECD 土壌タイプ	3	2
土性	埴壤土	壤土
粘土 (%)	20.4	14.9
有機炭素含有率 (%)	2.33	5.56
pH (H ₂ O)	5.7	6.3
陽イオン交換容量 (me/100g)	22.6	31.1
最大含水量 (%)	59.1	95.9

申請者注) OECD 土壌タイプは申請者が付与した。

各土壌を 2 mm 目の篩に通し、塩ビ製カラム (内径: 7.7 cm、高さ 5 cm×9 個 = 45 cm) に 35~40 cm になるようにつめ、水をカラムの上部まで加えた。

試験方法:

被験物質の処理: 各土壌 20 g に各被験物質のアセトン溶液を加え (2.330 mg、MCPA 換算 50 g/a 相当) アセトンを風乾後、よく混合した。この土壌を土壌カラムの上部に均一につめ、更にその上に無処理土壌を薄くつめた。

カラムからの溶出: 土壌カラムの上部に脱イオン水を入れた分液漏斗を設置し、466 mL/日 (10 cm 降雨量相当) の滴下速度で 5 日間流下させた。溶出液は 233 mL 毎に採取し分析に供した。流下終了後、土壌カラムは 5 cm コア毎に分析に供した。溶出液は塩酸酸性下で加ホルム抽出し、メチル化処理後 GC/MS で定量した。土壌は塩酸アセトンで抽出し、溶媒留去、加ホルム抽出し、メチル化処理後 GC/MS で定量した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果： 各被験物質における溶出液及び土壌中の分布率を表 1. にまとめた。

表 1. 溶出液における分布率 (原報告書表-1~7)

被験物質	土壌	分布率 (%)		
		溶出液	土壌	合計
MCPA	滋賀	60.1	4.1	64.2
	茨城	0.6	47.3	47.9
MCPA エチル	滋賀	1.0 (77.4)	1.8 (8.3)	2.8 (85.7)
	茨城	0.0 (0.8)	4.0 (80.8)	4.0 (81.6)
MCPA アリル	滋賀	0.0 (65.7)	1.0 (5.9)	1.0 (71.6)
	茨城	0.0 (0.2)	1.9 (66.7)	1.9 (66.9)
MCPA ブチル	滋賀	0.0 (32.0)	8.5 (5.4)	8.5 (37.4)
	茨城	0.0 (0.6)	4.2 (58.8)	4.2 (59.4)

数値は全て MCPA 換算値。()内の数値は分解物として検出された MCPA 分布率。

本試験によって、MCPA の土壌中での移動性は土壌の種類によって大きく異なることが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

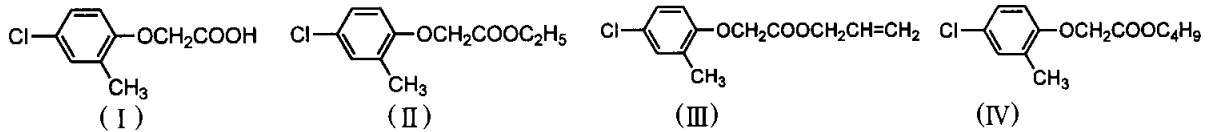
9.3.5 土壌吸着性試験 (MCPA及びエステル類) (資料No. M-3.5)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

供試化合物: MCPA、MCPAエチル、MCPAアリル、MCPAブチル

構造式:



化学名: (I) 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA)
(II) ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAエチル)
(III) allyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAアリル)
(IV) butyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAブチル)

供試土壌: 本試験で使用した水田土壌の特性を以下に示した。

採取場所	滋賀農試土壌	茨城農試土壌
土壌群名	沖積土壌	火山灰土壌
OECD 土壌タイプ	3	2
土性	埴壤土	壤土
粘土 (%)	20.4	14.9
有機炭素含有率 (%)	2.33	5.56
pH (H ₂ O)	5.7	6.3
陽イオン交換容量 (me/100g)	22.6	31.1
最大含水量 (%)	59.1	95.9

申請者注) OECD 土壌タイプは申請者が付与した。
本試験には 130°C、3 時間乾熱滅菌した土壌を用いた。

試験方法:

試験溶液: 各エステルの被験物質を蒸留水に溶解させ、飽和水溶液及びその半分の濃度の水溶液を調製した。MCPA の濃度はエステルの飽和水溶液及びその半分の濃度の水溶液に合わせた。

試験操作: 各風乾土壌 3 g を 300 mL 容三角フラスコに量り取り、各試験溶液を 100 mL 加え、30°C 下で 48 時間振盪した。振盪終了後、遠心分離して上澄液の一部 20 mL を分析に供した。分析は試料を塩酸酸性下でクロホルム抽出し (MCPA はメチル化後)、GC/MS で定量した。測定した上澄液中の被験物質濃度から土壌中濃度を算出し、吸着係数を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果： 上澄液中の被験物質濃度を基に算出した土壌吸着係数の結果を表 1. にまとめた。

表 1. 土壌吸着係数のまとめ (原報告書表 1 及び 2)

被験物質	供試土壌	供試液濃度 (mg/L)	上澄液中濃度 (mg/L)	土壌中濃度 (µg/g)	土壌吸着係数	平均吸着係数 (Kd)	有機炭素吸着係数 (Koc)*
MCPA	滋賀	48.8	44.3	150	3.4	3.0	129
		25.0	23.2	60	2.6		
	茨城	48.8	41.6	240	5.8	4.9	88.1
		25.0	22.3	90	4.0		
MCPA エチル	滋賀	63.7	34.4	977	28.4	26.2	1124
		31.8	18.5	443	24.0		
	茨城	63.7	37.6	870	23.1	27.2	489
		31.8	16.4	513	31.3		
MCPA アリル	滋賀	29.9	11.3	620	55	54	2318
		14.9	5.81	303	52		
	茨城	29.9	10.3	653	63	67	1205
		14.9	4.77	338	71		
MCPA プロピル	滋賀	10.7	2.50	273	109	114	4893
		5.6	1.24	147	118		
	茨城	10.7	2.36	278	118	127	2284
		5.6	1.11	151	136		

*：申請者注) 有機炭素含有率で補正した吸着係数 (Koc)については原報告書に記載がないため、申請者が計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

9.4 水中運命に関する試験

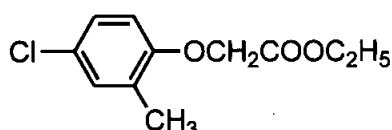
9.4.1 加水分解試験 (資料No. M-4.1)

試験機関:

報告書作成年: 2002年 [GLP対応]

供試化合物: MCPAエチル

構造式:



化学名: ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate

純度:

供試水溶液:

pH 4 緩衝液: 7-カル酸カリウム 0.05 mol を蒸留水 500 mL に溶解し、これに 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 4.0 mL を加え、蒸留水にて 1000 mL に定容。

pH 7 緩衝液: リン酸二水素カリウム 0.05 mol を蒸留水 500 mL に溶解し 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 296.3 mL を加え、蒸留水にて 1000 mL に定容。

pH 9 緩衝液: 酢酸及び塩化カリウム各 0.05 mol を合わせ蒸留水 500 mL に溶解し、これに 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 213.0 mL を加え、蒸留水にて 1000 mL に定容。

各緩衝液は 5 分間の窒素吹き込み後オートクレーブ滅菌 (121°C、20 分間) した。

試験方法: OECD テストガイドライン 111 に準拠した。滅菌蒸留水で調製した 40 mg/L 水溶液を同量の上記各緩衝液で希釈し、試験濃度として 20 mg/L (被験物質の水溶解度は 20 °C で 65.6 mg/L) を設定した。10 mL の各試験水を 10 mL 容試験管に分注し、ガラス製共栓で密栓した。予備試験として 50 °C で 5 日間インキュベートし、分解率が 10% 未満であった pH 4 緩衝液 (半減期: >1 年) を除き、各温度における本試験を実施した。

温度と試料採取時間の一覧表を以下に示した。

pH	温度 (°C)	採取時間 (h)	点数
7	50	3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 27, 30, 33, 36	11
	60	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14	12
	70	0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0	12
9	25	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12	11
	35	0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5	11

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

分析法；採取した試験管より試料5 mLをとり、pH 9の試料のみ1 M塩酸を0.2 mL加えた後、アセトリルで10 mLに定容した。HPLCに注入し、絶対検量線法によりMCPAエチル及びMCPAを定量した。

分析機器；UV検出器付高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

カラム；ODSカラム、移動相；アセトリル/0.2%ギ酸水溶液=7/3、測定波長；227 nm

半減期算出；pH 7、25 °Cにおける半減期はアレキウス式より外挿法にて算出した。

試験結果； pH 7及びpH 9におけるMCPAエチル及びMCPA濃度とマスバランスを表1～5に示した。

表1. pH 7、温度 50 °CにおけるMCPA及びMCPA濃度とマスバランス (原報告書表-3及び13)

時間 (h)	MCPAエチル濃度 (mg/L)	MCPA濃度 (mg/L)	MCPAエチル換算MCPA濃度 (mg/L)	マスバランス (%)
0	20.90	<0.40	<0.46	100.0
3	19.33	1.90	2.17	102.9
6	17.89	3.38	3.85	104.0
9	16.55	4.63	5.28	104.4
12	15.23	5.87	6.69	105.0
15	14.00	6.97	7.95	105.0
18	12.96	8.02	9.14	105.7
24	10.92	9.89	11.27	106.2
27	10.05	10.79	12.30	106.9
30	9.10	11.68	13.32	107.3
33	8.50	12.14	13.84	106.9
36	7.85	12.80	14.59	107.4

濃度は2連の平均値を示した。マスバランスは0時間時のMCPAエチル濃度を100として算出した。

表2. pH 7、温度 60 °CにおけるMCPA及びMCPA濃度とマスバランス (原報告書表-4及び14)

時間 (h)	MCPAエチル濃度 (mg/L)	MCPA濃度 (mg/L)	MCPAエチル換算MCPA濃度 (mg/L)	マスバランス (%)
0	18.24	<0.40	<0.46	100.0
1	16.99	1.58	1.80	103.0
2	15.71	2.72	3.10	103.1
3	14.48	3.81	4.34	103.2
4	13.44	4.81	5.48	103.7
5	12.48	5.74	6.54	104.3
6	11.55	6.61	7.54	104.7
7	10.64	7.38	8.41	104.4
8	9.86	8.06	9.19	104.4
9	9.14	8.75	9.98	104.8
10	8.40	9.33	10.64	104.4
12	7.22	10.44	11.90	104.8
14	6.19	11.35	12.94	104.9

濃度は2連の平均値を示した。マスバランスは0時間時のMCPAエチル濃度を100として算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 3. pH 7、温度 70 °Cにおける MCPA 及び MCPA 濃度とマスバランス (原報告書表-5 及び 15)

時間 (h)	MCPA エル濃度 (mg/L)	MCPA 濃度 (mg/L)	MCPA エル換算 MCPA 濃度 (mg/L)	マスバランス (%)
0	18.24	<0.40	<0.46	100.0
0.5	16.60	1.77	2.02	102.1
1.0	15.06	3.18	3.63	102.5
1.5	13.56	4.40	5.02	101.9
2.0	12.47	5.53	6.30	102.9
2.5	11.35	6.55	7.47	103.2
3.0	10.27	7.50	8.55	103.2
3.5	9.42	8.44	9.62	104.4
4.0	8.46	9.22	10.51	104.0
4.5	7.78	9.89	11.27	104.4
5.0	7.01	10.53	12.00	104.2
6.0	5.81	11.72	13.36	105.1
7.0	4.78	12.56	14.32	104.7

濃度は2連の平均値を示した。マスバランスは0時間時の MCPA エル濃度を 100 として算出した。

表 4. pH 9、温度 25 °Cにおける MCPA 及び MCPA 濃度とマスバランス (原報告書表-9 及び 16)

時間 (h)	MCPA エル濃度 (mg/L)	MCPA 濃度 (mg/L)	MCPA エル換算 MCPA 濃度 (mg/L)	マスバランス (%)
0	17.93	0.91	1.04	100.0
1	15.54	2.99	3.41	98.8
2	13.56	4.81	5.48	100.4
3	11.88	6.43	7.33	101.3
4	10.37	7.80	8.89	101.5
5	9.07	9.02	10.28	102.0
6	7.83	10.01	11.41	101.4
7	6.87	10.93	12.46	101.9
8	6.00	11.75	13.40	102.3
9	5.25	12.37	14.10	102.0
10	4.59	12.98	14.80	102.2
12	3.52	14.01	15.97	102.7

濃度は2連の平均値を示した。

マスバランスは0時間時の MCPA エル濃度と MCPA エル換算 MCPA 濃度の和を 100 として算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 2, 4-D 協議会にある。

表 5. pH 9、温度 35 °C における MCPA エル及び MCPA 濃度とマスバランス (原報告書表-10 及び 17)

時間 (h)	MCPA エル濃度 (mg/L)	MCPA 濃度 (mg/L)	MCPA エル換算 MCPA 濃度 (mg/L)	マスバランス (%)
0	17.83	0.68	0.78	100.0
0.25	16.17	2.32	2.64	101.1
0.50	14.58	3.81	4.34	101.7
0.75	13.22	5.10	5.81	102.3
1.0	11.82	6.36	7.25	102.5
1.25	10.67	7.42	8.46	102.8
1.5	9.41	8.39	9.56	101.9
1.75	8.58	9.34	10.65	103.3
2.0	7.68	10.09	11.50	103.1
2.5	6.23	11.49	13.10	103.9
3.0	5.12	12.56	14.32	104.5
3.5	3.98	13.28	15.14	102.7

濃度は 2 連の平均値を示した。

マスバランスは 0 時間時の MCPA エル濃度と MCPA エル換算 MCPA 濃度の和を 100 として算出した。

本試験におけるマスバランスは 98%~108% の範囲 (pH 4 を含む) であり、MCPA エルは定量的に MCPA へ分解されることが示された。

pH 7 及び pH 9 の各温度における MCPA エルの消失曲線に関するパラメータを表 6. 及び 7. にまとめた。

表 6. pH 7 の各温度における MCPA エルの消失曲線に関するパラメータ

温度(°C)	傾き	Y 軸切片	相関係数 r ²	反応速度定数	半減期(h)
50	-0.01195	1.324	0.9993	0.02752	25.18
60	-0.03365	1.263	0.9996	0.07750	8.942
70	-0.08282	1.261	0.9998	0.1907	3.634
25	-	-	0.9994	0.001746	396.9

上記の反応速度定数を基にアレキスの計算式により、25 °C における半減期は 396.9 時間 (16.5 日) と算出された。

表 7. pH 9 の各温度における MCPA エルの消失曲線に関するパラメータ

温度(°C)	傾き	Y 軸切片	相関係数 r ²	反応速度定数	半減期(h)
25	-0.05893	1.251	0.9999	0.1357	5.1
35	-0.1849	1.256	0.9992	0.4258	1.6

pH 4、7 及び 9 における MCPA エルの加水分解様式はエステル結合の開裂のみであり、生成物である MCPA は各 pH において安定であることが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

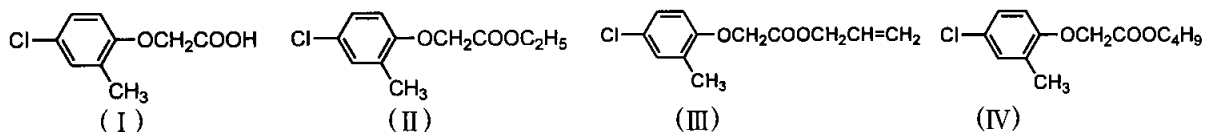
9.4.2 加水分解試験 (MCPA及びエステル類) (資料No. M-4.2)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

供試化合物: MCPA、MCPAエチル、MCPAアリル、MCPAブチル

構造式:



化学名: (I) 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA)
(II) ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAエチル)
(III) allyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAアリル)
(IV) butyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAブチル)

供試水溶液: 蒸留水に塩酸及び水酸化ナトリウムを加え、pH 5、7、9の供試水を調整した。
各供試水をミポフィルターを通して滅菌処理した。

試験方法: 各被験物質 1.5 mg に供試水を 300 mL 加え、15 分間超音波処理した (試験濃度: 5 mg/L)。
30 °C 暗所でインキュベートし、経時的に一部を採取して分析に供した。被験物質及び MCPA は、塩酸酸性下でクロロホルム抽出し、MCPA のみをメチル化後 GC/MS で定量した。

結果: MCPA; 各 pH における MCPA の残存率は 28 日間変わらず、安定であることが確認された。

MCPA エステル; 各被験物質の半減期を以下にまとめた。

	pH 5	pH 7	pH 9
MCPA エチル	6-8 日	4-6 日	4-6 日
MCPA アリル	14 日	1-2 日	1-2 日
MCPA ブチル	6-8 日	4-5 日	4-6 日

いずれの pH においてもエステルは速やかに分解した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

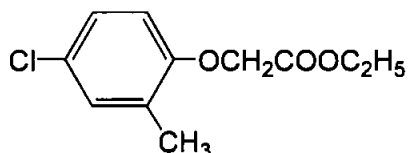
9.4.3 水中光分解運命試験 (資料No. M-4.3)

試験機関:

報告書作成年: 2007年 [GLP対応]

供試標識化合物: ^{14}C -MCPAエチル

構造式;



化学名; ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate

供試水: 蒸留水; 逆浸透純化システムで処理した高純度水を蒸留したものをオートクレーブ滅菌して使用した。滅菌蒸留水の pH は 7.2 であった。

自然水; 英国 Cambridgeshire にある Ouse 川より入手し、0.2 μm の滅菌フィルターに通して使用した。自然水は 2006 年 6 月 29 日に採取し、pH は 8.1 であった。

光源: キセノンアークランプ (波長範囲 300 nm ~ 800 nm、UV 特殊ガラスフィルター付) を設置した人工光照射装置 Heraeus Suntest を使用した。

光強度: 平均 44.6 W/m^2 (滅菌蒸留水) 及び 43.7 W/m^2 (滅菌自然水)、測定波長範囲 300 ~ 400 nm

試験方法: 試験濃度は 1 mg/L (被験物質の水溶解度は 20 $^{\circ}\text{C}$ で 20.2 mg/L) とし、滅菌供試水に被験物質のアセトニトリル溶液を添加した (アセトニトリルは約 0.1 %)。石英ガラス製試験容器に分注し、Suntest 内の水冷金属ブロックのケットに設置した。処理直後を除く照射区の試験容器には揮発性有機物用エチルジゴールトラップ及び二酸化炭素用 1 mol の水酸化カルシウム水溶液トラップ (フェノールメチン含有、2 連) を連結した。25 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ に設定し、光照射または暗所下でインキュベートした。下表に示す処理後時間に試料を採取した。6 日間の照射は太陽光換算で 34 日相当と算出された。

供試水	光条件	処理後時間(h)					
		0	1	2	4	5	6
滅菌蒸留水 及び自然水	照射区	○	○	○	○	○	○
	暗所区	—	○	○	○	○	○

○: 試験水を採取、—: 未実施

各容器は重量を測定後、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) にて放射能を測定し、回収率を算出した。試験水は、直接高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 及び薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析に供した。各試料採取時にトラップ内の捕集用溶液を放射能測定に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

分析機器；液体シンチレーションカウンター (LSC)：試料はシンチレーターと混合して放射能を測定した。

高速液体クロマトグラフ (HPLC)：ODSカラムにアセトリルとギ酸水溶液の移動相を使用し、グラジエン
トシステムにて分析した。定量は1分毎にカラム溶出液を分取し、LSCにて放射能を測定した。

薄層クロマトグラフ (TLC)：順相薄層に各試料を塗布し、3種類の展開溶媒を使い分け、純度測
定及び試料分析を行った。定量はイメージアナライザーを用いた。

ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS)：キャピラリーカラムを用いて昇温プログラムで各成分を分離し、
ESIモードで得られたマススペクトルを解析した。

分解速度；MCPA エテル及び MCPA の処理放射能に対する比率%をインキュベーション日数に対してプロットし、
ModelMaker を用いて、DT₅₀ 及び DT₉₀ を算出した。自然太陽光下における DT₅₀ 及び
DT₉₀ は人工光照射の 300~400 nm の測定値と東京における春季太陽光の代表値を基に
算出した。

試験結果： 滅菌蒸留水及び滅菌自然水の ¹⁴C 分布をそれぞれ表 1 及び表 2 に示した。

表 1. 滅菌蒸留水中の ¹⁴C 分布 (原報告書 Table 1 及び 3)

画分及び 化合物(記 号)	処理後の経過日数												
	照射区						暗所区						
	0	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
有機トラップ	—	ND	<0.1	ND	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—	—	—
	—	ND	<0.001	ND	0.001	<0.001	<0.001	—	—	—	—	—	—
CO ₂ トラップ	—	0.2	2.9	1.9	11.5	4.3	9.4	—	—	—	—	—	—
	—	0.002	0.029	0.019	0.113	0.042	0.092	—	—	—	—	—	—
水試料画分	98.2	95.4	93.0	93.1	80.4	89.3	85.0	96.1	99.0	99.2	100.7	100.5	100.1
	0.966	0.939	0.917	0.921	0.792	0.883	0.845	0.943	0.976	0.977	0.993	0.991	0.986
合計 (回収)	98.2	95.6	95.9	95.0	92.0	93.7	94.5	96.1	99.0	99.2	100.7	100.5	100.1
	0.966	0.941	0.946	0.940	0.906	0.925	0.937	0.943	0.976	0.977	0.993	0.991	0.986

数値は処理放射能に対する比率 (%、上段)及び濃度 (mg/L、下段)を示した。

—: 未実施、ND: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

滅菌蒸留水における物質収支は92~101%であり、揮発性有機物は0.1%のみであった。
 光照射によってMCPAエチル(A)は処理直後の93%から処理6日後の28%まで減少した。

表2. 滅菌自然水中の¹⁴C分布 (原報告書 Table 2 及び 4)

画分及び 化合物(記 号)	処理後の経過日数												
	照射区						暗所区						
	0	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
有機トラップ	—	ND	ND	0.1	0.1	0.1	0.2	—	—	—	—	—	—
	—	ND	ND	<0.001	<0.001	0.001	0.001	—	—	—	—	—	—
CO ₂ トラップ	—	0.1	0.3	1.6	3.4	4.2	6.3	—	—	—	—	—	—
	—	0.001	0.003	0.016	0.033	0.041	0.062	—	—	—	—	—	—
水試料画分	96.4	95.5	95.6	90.9	87.4	83.9	84.2	99.4	101.0	101.4	101.5	101.6	102.1
	0.928	0.921	0.923	0.879	0.841	0.813	0.816	0.958	0.973	0.978	0.979	0.979	0.985
合計 (回収)	96.4	95.6	95.9	92.6	90.9	88.2	90.7	99.4	101.0	101.4	101.5	101.6	102.1
	0.928	0.922	0.926	0.895	0.874	0.855	0.879	0.958	0.973	0.978	0.979	0.979	0.985

数値は処理放射能に対する比率(%, 上段)及び濃度(mg/L, 下段)を示した。

—: 未実施、ND: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

滅菌自然水における物質収率は88~102%であり、揮発性有機物は0.2%のみであった。照射によってMCPAエチル(A)は処理直後の92%から経時的に減衰し、処理6日後は検出されなかった。

MCPAエチル(A)及びMCPAの分解速度をModelMakerを用いて算出し(図1)、太陽光換算値を含めたDT₅₀及びDT₉₀を表3に示した。

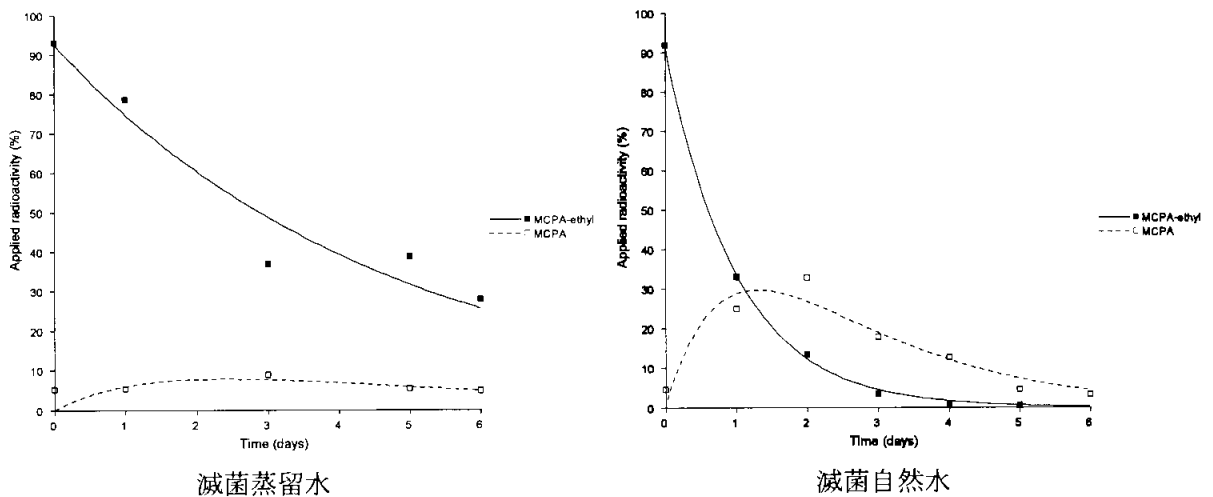


図1. 照射におけるMCPAエチル及びMCPAの消失曲線(原報告書 Figure 21)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

表 3. ModelMaker より算出した DT₅₀ 及び DT₉₀ (日)

化合物名		人工光照射区	暗所区	北緯 35° 春の 太陽光換算値	
MCPA エチル	滅菌蒸留水*	DT ₅₀	3.2	3.9	18.2
		DT ₉₀	10.8	12.9	60.6
	滅菌自然水	DT ₅₀	0.69	0.98	3.8
		DT ₉₀	2.3	3.3	12.7
MCPA	滅菌蒸留水*	DT ₅₀	0.96	-	5.6
		DT ₉₀	3.2	-	18.5
	滅菌自然水	DT ₅₀	1.2	-	7.1
		DT ₉₀	4.0	-	23.7

*: 照射 2 及び 4 日後のデータは異常値であり、分解速度算出には使用しなかった。

MCPA エチルの蒸留水と自然水中の太陽光換算分解速度は暗所区の分解速度よりも遅いことから、環境中では光分解よりも加水分解の方が優先されることが確認された。

MCPA エチルの推定分解経路を以下に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

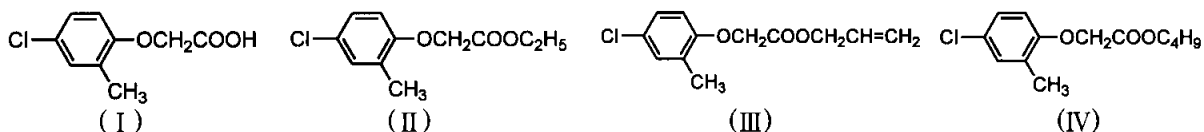
9.4.4 水中光分解運命試験 (MCPA及びエステル類) (資料No. M-4.4)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

供試化合物: MCPA、MCPAエチル、MCPAアリル、MCPAブチル

構造式:



化学名: (I) 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA)
(II) ethyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAエチル)
(III) allyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAアリル)
(IV) butyl 4-chloro-2-methylphenoxyacetate (MCPAブチル)

供試水溶液: 蒸留水

光源: 高圧水銀灯

試験方法: 各被験物質 2 mg に蒸留水を 400 mL 加え、15 分間超音波処理した (試験濃度: 5 mg/L)。試験水に高圧水銀灯を入れて光を照射した。経時的に一部を採取して分析に供した。被験物質及び MCPA は、塩酸酸性下でクロホルム抽出し、MCPA のみをメチル化後 GC/MS で定量した。

試験結果: MCPA; 他の被験物質 (エステル化合物) に比べて分解が速く、半減期は約 6 時間であった。MCPA エステル; 各被験物質の分解による MCPA の生成率は低く、10% 以下であった。各エステルの分解速度は同等であり、半減期は約 30 時間であった。

代謝分解のまとめ

【動物代謝】(資料 No. M-1.1、M-1.2、M-1.3)

吸収： 標識MCPAを雌雄ラットに低用量 (10 mg/kg)投与したときの血漿中濃度は、雌雄とも投与1～3時間後に最高に達し(42～52 μg 親換算/mL)、約1時間の半減期で消失した。高用量 (100 mg/kg)投与したときは、投与3時間後に最高に達し (336～342 μg 親換算/mL)、半減期が約4時間であった。また、 標識MCPAエチルを雌雄ラットに低用量で単回経口投与した後の血漿中濃度推移はMCPA投与に比べ初期の吸収が遅い傾向がみられたものの、大きな差はなかった。

低用量投与における胆汁、尿、肝臓及び屍体中の放射能を基に計算された吸収率は約90%であり、性差は認められなかった。

分布： 標識MCPAを雌雄ラットに単回経口投与したとき、組織内濃度について雌雄の差はなく、また分布率について投与量による差はなかった。

投与3時間後では血漿、全血、腎臓及び肝臓 (高用量のみ)で相対的に高かったが、時間の経過にともない濃度は減少し、投与120時間後では検出限界程度あるいはそれ以下となった。脂肪中濃度の消失がやや緩慢であり、その傾向は高用量で顕著であった。

代謝：

排泄： 標識MCPAを雌雄ラットに単回経口投与したとき、用量あるいは雌雄によらず尿糞中への排泄は速やかであり、投与24時間後までに投与放射能の90%以上がほとんど尿中に排泄された。低用量での胆汁中への排泄は10%以下であり、排泄における胆汁の寄与は小さかった。

以上の結果からラットに投与された MCPA エチルは体内で速やかに MCPA となり、MCPA エチル及びMCPA 投与で同様の体内動態を示すことが明らかとなった。

【植物代謝】 (資料 No. M-2.1、M-2.4)

標識MCPAを40 g ai/10aの割合で幼穂形成期の稲に湛水処理したとき、処理80日後(収穫時)の玄米中には親化合物換算で0.238 ppmの放射能が検出された。玄米中の放射能は、抽出残渣が大部分を占め(0.224 ppm、玄米中の94.3%)、抽出液は0.014 ppm(玄米中の5.7%)であった。抽出残渣のベンゼン分画の結果、ベンゼン分画には玄米中の65.5%(0.156 ppm)の放射能が分布し、玄米中の放射能の多くは土壌から発生した $^{14}\text{CO}_2$ を取り込んだ炭酸同化による結果であると推測された。

標識MCPAのNa塩液剤として640g ai/haの割合で5葉期の小麦に全面処理したとき、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

処理 111 日後 (収穫時)の玄麦中には親化合物換算で 0.054 ppm の放射能が検出された。玄麦中の放射能は、抽出残渣が大部分を占め (0.050 ppm、玄麦中の 93.2%)、抽出液は 0.003 ppm (玄麦中の 6.8%)であった。抽出残渣のベンゼン分画の結果、ベンゼン画分には玄米中の 40.1% (0.022 ppm)の放射能が分布し、玄麦中の放射能の多くは土壌から発生した $^{14}\text{CO}_2$ を取り込んだ炭酸同化による結果であると推測された。

【土壌代謝】 (資料 No. M-3.1)

標識 MCPA を土壌に 1 ppm 処理し、好気湛水条件及び好気条件下における MCPA の土壌代謝について検討した。

群馬及び埼玉土壌の好気湛水条件下で MCPA の半減期は 4.5 日と速やかであった。

群馬及び埼玉土壌の好気条件下での MCPA の半減期は、2.1~3.1 日であった。

滅菌湛水及び滅菌畑条件下では MCPA の分解は著しく抑えられたことから、分解の主要因は土壌微生物分解であることが確認された。

【土壌吸脱着】 (資料 No. M-3.3)

日本の 1 火山灰土壌を含む 4 土壌 (軽埴土及び微砂質埴壤土)における MCPA の最大濃度における K_{oc} は 37~244 であり、低吸着の 1 土壌 (軽埴土)は吸着等温試験から削除された。残りの 3 土壌における有機炭素吸着係数 K_{oc} は、94.2~284 であり、高移動性~中移動性の区分であった。MCPA エチルは土壌中で速やかに分解するため、有機炭素吸着係数を求めることは困難と判断された。

【加水分解】 (資料 No. M-4.1)

MCPA エチルの pH 4、7、9 における加水分解物は様々な温度で実施され、アレキス式による外挿法にて以下のように 25°C における半減期を算出した。

pH4: >1 年、pH7: 16.5 日、pH9: 5.1 時間

【水中光分解運命】 (資料 No. M-4.3)

MCPA エチルは滅菌緩衝液中において半減期 18.2 日 (太陽光換算)で減衰し、滅菌自然水中の半減期は 3.8 日 (太陽光換算)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2, 4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

[附] 開発年表

MCPの開発年表