

塩素酸塩の毒性試験の概要

三草会：株式会社 エス・ディー・エス バイオテック 農薬対策室
 保土谷化学工業株式会社 農薬事業部
 日本カーリット株式会社 ファインケミカル部

薬剤の概要

塩素酸塩の殺草作用はその強力な酸化力により植物体内の種々の物質と反応し、正常な生理反応を阻止することによるものである。

この薬剤は、欧米でも非農耕地除草剤として長く使用されており、わが国でも戦前から笹枯らしとして使用されてきた。戦後、日本国有鉄道での利用研究に始まり、林野非農耕地での利用研究の進展により、昭和30年頃より鉄道、林野を中心に使用され、現在では水田畦畔、水稻刈跡、非農耕地、果樹園、桑園など幅広い適用を持っている。

環境中では容易に NaCl に分解し、比較的環境毒性の低い薬剤である。

塩素酸塩の物理化学的性状は次の通りである。

一般名：塩素酸塩

商品名：クロレート、クサトール、テゾレート

化学名：塩素酸ナトリウム

分子式：NaClO₃

分子量：106.4

性状：白色粉末

融点：248℃

溶解度：水（0℃）79g/100ml、エタノールに可溶

ここでは本剤の農薬登録のために実施された安全性評価に係わる各種毒性試験についてその概要を報告する。

急性毒性試験

種々の投与経路による急性毒性試験の結果は次の通りである。

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (実施年)
〈原体〉 マウス	経口	雄	5,390	東京医科大 (1973年)
		雌	5,050	
	静脈内	雄	2,750	
		雌	2,790	
	経皮	雄	>20,000	
		雌	>20,000	
〈原体〉 ラット	経口	雄	7,620	Safepharma Laboratories Ltd. (1990年)
		雌	7,120	
	腹腔内	雄	3,430	
		雌	3,410	
	経皮	雄	>20,000	
		雌	>20,000	
吸入	雄	> 5.10 ¹⁾		
	雌	> 5.10 ¹⁾		
〈60%水溶剤〉 ラット	経口	雄	> 5,000	Safepharma Laboratories Ltd. (1989年)
		雌	> 5,000	
〈60%水溶剤〉 マウス	経口	雄	> 5,000	Safepharma Laboratories Ltd. (1990年)
		雌	> 5,000	
〈50%粒剤〉 ラット	経口	雄	> 5,000	Safepharma Laboratories Ltd. (1993年)
		雌	> 5,000	
〈50%粒剤〉 マウス	経口	雄	> 5,000	Safepharma Laboratories Ltd. (1993年)
		雌	> 5,000	
〈50%粉粒剤〉 ラット	経口	雄	> 5,000	Safepharma Laboratories Ltd. (1993年)
		雌	> 5,000	
〈50%粉粒剤〉 マウス	経口	雄	> 5,000	Safepharma Laboratories Ltd. (1993年)
		雌	> 5,000	

1) LC₅₀ (mg/ℓ)

刺激性試験

1. 60%水溶剤及び50%粉粒剤のウサギにおける眼一次刺激性試験

各9匹のウサギ（日本白色種）の左眼に塩素酸塩60%水溶剤及び同50%粉粒剤0.1gを処理し、他眼は無処

理対照とした。処理した各9匹のウサギのうち各6匹は非洗眼群とし、残りの各3匹は処理後2～3分に微温湯200mlで洗浄し洗眼群とした。処理後1、24、48、72時間、4、9日に一般症状と角膜、虹彩及び結膜の変化を観察した。

結果は両剤型において類似しており、両剤型とも非洗眼群では、一般症状として閉眼及び分泌物が観察され、眼の角膜に散在性または瀰慢性の混濁、虹彩に充血、結膜に軽度の発赤及び腫張などの一次刺激性が認められた。洗眼群では一般症状として閉眼及び分泌物が観察され、眼の結膜に軽微な腫張が認められたが、それらの程度は非洗眼群より弱く、処理後の洗眼効果が認められた。

以上の結果から塩素酸塩60%水溶剤及び同50%粉粒剤は共に軽度から中等度の刺激性があると判定され、また各々洗眼による効果が認められた。

(株式会社ボゾリサーチセンター 1985年)

2. 50%粒剤のウサギにおける眼一次刺激性試験

9匹のウサギ(New Zealand White種)の右眼に塩素酸塩50%粒剤を粉碎し0.1gを処理し、他眼は無処理対照とした。処理した9匹のウサギのうち6匹は非洗眼群とし、残りの3匹は処理後2～3分に微温の蒸留水100mlで洗浄し洗眼群とした。処理後1、24、48、72時間、7、14日に角膜、虹彩及び結膜の刺激性を観察した。

非洗眼群は瀰慢性あるいは半透明の角膜の混濁、虹彩の炎症、結膜に対する中等度の刺激性及び巻眼瞼が認められた。洗眼群では虹彩の炎症、軽度の結膜に対する刺激性が認められた。

以上の結果から塩素酸塩50%粒剤は中等度の刺激性があると判定され、洗眼した場合には軽度まで刺激性が減ると判定された。

(Safeparm Laboratories Ltd. 1990年)

3. 60%水溶剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験

6匹のウサギ(日本白色種)の背部を剪毛し、2部位に分け、1部位に塩素酸塩60%水溶剤0.5gをリント布にのせ同量の生理食塩水で湿らせて貼り固定した。他部位は無処理対照とし、リント布のみを貼付した。4時間の処理後リント布を取り除き蒸留水で清拭した。薬剤除去後1、24、48、72時間に皮膚の状態を観察した。

いずれの観察時期においても一般症状及び皮膚に変化は認められなかった。

以上の結果より、塩素酸塩60%水溶剤の皮膚一次刺激性はないものと判断された。

(株式会社ボゾリサーチセンター 1986年)

4. 50%粒剤及び50%粉粒剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験

各6匹のウサギ(New Zealand White種)の背部から腹側部を剪毛し、塩素酸塩50%粒剤の試験では2部位に分け、1部位に擦過傷を施し、他部位は非擦過とした。同50%粉粒剤の試験では部位を分けることなく非擦過皮膚においてのみ試験した。粒剤、粉粒剤共に0.5gを0.5mlの蒸留水で湿らせてガーゼパッチに塗布し、各部位に貼り固定した。4時間の処理後ガーゼパッチを取り除き蒸留水に浸した脱脂綿で清拭した。薬剤除去後1、24、48、72時間に皮膚の状態を観察した。

粒剤の試験では非擦過部位、擦過部位とも薬剤除去後1時間で軽度の紅斑がそれぞれ全例及び5例認められたが、72時間では全紅斑が消失した。このうち1例の擦過部位では72時間に落屑が認められた。また、非擦過部位、擦過部位とも1時間で軽度または極めて軽度の浮腫がそれぞれ1例及び2例認められたが、48時間までに消失した。

粉粒剤の試験では薬剤除去後1時間で4例の処理部位に極めて軽度の紅斑が認められたが、24時間ではすべての処理部位は正常であった。

以上の結果より、塩素酸塩50%粒剤の皮膚一次刺激性は軽度であるが、同50%粉粒剤では刺激性はないものと判定された。

(Safeparm Laboratories Ltd. 1990、1993年)

皮膚感作性試験

1. 60%水溶剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

1群20匹のモルモット(Hartley系)を用い、Maximization法に従って塩素酸塩60%水溶剤の皮膚感作性試験を実施した。同時に1群7匹のモルモットをDNCBで感作処理し陽性対照群とした。また各群についてそれぞれ同数の動物を用いて感作に対する無処理対照群を設けた。24時間の惹起処理終了後0、24及び48時間に処理部位の紅斑及び浮腫の有無等を観察した。

検体感作群及びその無感作対照群における各時点の

観察では各群の全例ともに皮膚の変化は認められなかった。一方陽性対照群では明らかな感作反応が確認された。

以上の結果から、塩素酸塩60%水溶剤の皮膚感作性は陰性であると判断された。

(株式会社ボゾリサーチセンター 1986年)

2. 50%粒剤及び50%粉粒剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

1群20匹のモルモット(Dunkin-Hartley系)を用い、Buehler法に従って塩素酸塩50%粒剤及び同50%粉粒剤の皮膚感作性試験を実施した。同時に1群10匹のモルモットとDNCBを用いて陽性対照群とした。また各群についてそれぞれ同数の動物を用いて感作に対する無処理対照群を設けた。各感作処理終了後の約24時間及び惹起処理終了後24及び48時間に処理部位の皮膚反応(紅斑の有無及び浮腫の有無等)を肉眼的に観察した。

塩素酸塩50%粒剤及び同50%粉粒剤共に検体処理群では感作及び惹起時とも皮膚反応は認められなかった。両試験の陽性対照群では明らかな感作反応が確認された。

以上の結果から、塩素酸塩50%粒剤及び同50%粉粒剤の皮膚感作性はいずれも陰性であると判断された。

(Safepharm Laboratories Ltd. 1990、1993年)

亜急性毒性試験

1. ラット及びマウスにおける3カ月亜急性経口毒性試験

1群雌雄各10匹のラット(Wister-Imamichi系)及びマウス(ICR系)に塩素酸塩を0、400、2000、10000、50000ppmの濃度で粉末飼料に混合し13週間自由摂取させた。一般症状及び生死を観察し、体重、飼料及び薬物摂取量、飲水量、投与終了時に血液学的検査、血液生化学検査、尿検査を行い、剖検後、臓器重量の測定、組織病理学的検査を行った。

一般症状及び生死について、ラットでは雌雄とも一般症状に異常は認められず、また死亡も認められなかった。マウスでは50000ppm群雌雄とも試験開始後3週間後より体重減少、削瘦、脊柱彎曲、立毛、運動量減少の状態になり、5~6週までに全例死亡した。体重変化について、ラットでは雌雄とも50000ppm群で試験開始

当初より体重増加の抑制が認められた。マウスでは雌雄とも50000ppm群で試験開始1週から体重の著明な減少を示し死に至った。さらに雌雄ともに10000ppm群でそれぞれ12~13週及び13週に有意差のある体重抑制が認められた。飼料摂取量、食餌効率ではラット、マウスの雌雄いずれも50000ppm群で飼料摂取量の低下が認められた。飲水量はラットの雄で投与量が高くなるにつれて軽度ながら減少する傾向がみられたが、雌では特にその傾向はみられなかった。マウスの雄では対照群に比べて投与群は全体的に軽度ながら飲水量の増加を見た。雌では対照群に比べ50000及び10000ppm群で軽度の増加がみられた。血液学的検査ではラット雄において50000ppm群では赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数の、また、10000ppm群で赤血球数、ヘモグロビン量の有意な減少がみられた。ラット雌では50000ppm群のヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数の有意な減少がみられた。白血球百分率ではラット雄の50000ppm群、10000ppm群、雌の50000ppm群で好中球の減少傾向がみられた。マウスにおいては、雌の10000ppm群で白血球百分率における好中球比率の減少があった以外に異常は認められなかった。血液生化学検査ではラットの雌において50000ppm群でGPT値及び血清コリンエステラーゼ値の減少、アルカリフォスファターゼ値、総蛋白、総コレステロール値の上昇が、また10000ppm群で総蛋白及び総コレステロール値の上昇が認められた。尿検査ではラットの雄において糖陽性例が、50000ppm群で8例中1例、10000ppm群で5例中3例、2000ppm群で10例中1例、400ppm群で10例中3例あった。雌では検尿不能のものが多かったが、潜血反応陽性例が50000ppm群で5例中2例、疑陽性例が1例見られた。マウス雄では潜血反応疑陽性例が10000ppm群で10例中2例、2000ppm群で10例中1例、400ppm群で10例中2例認められた。臓器重量ではラット雄の50000ppm群において甲状腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、腓腹筋、雌の同群では脳下垂体、甲状腺、心臓、肝臓、腎臓、副腎、卵巣、子宮、腓腹筋の重量が減少した。対体重比は、雌雄とも50000ppm群の肝臓及び腎臓の軽微な増加が認められたのみであった。マウスにおいては雄で胸腺の重量減少、腎臓の重量増加及び10000、2000、400ppm群の副腎重量の軽度増加がみられた。雌では心臓の重量増加のみで他に変化のある臓器はなかった。対体重比では、雄10000ppm群の胸腺の軽度減少、腎臓の増加、副腎の増加傾向が認められた。剖検に関して、ラットでは死亡例は

なかったが、マウスでは50000ppm投与群は全例死亡したので死後に解剖し病理検査を行った。死亡例はいずれも著しく消瘦し、腹腔内及び皮下の脂肪は消失していた。内臓は肝臓、脾臓、胸腺、生殖器が萎縮を示し、副腎は充血肥大し、飢餓による死亡所見と同様であった。組織病理学的検査においてラットでは投与量に関連して全体的に認められた変化はなかった。マウスでは雌雄とも10000ppm群、2000ppm群、400ppm群で各組織に何らの変化も認めなかった。

以上の結果から、ラット、マウスとも最大無作用量は2000ppm（ラット雄118mg/kg/日、雌119mg/kg/日、マウス雄221mg/kg/日、雌248mg/kg/日）と考えられた。

（残留農薬研究所 1973年）

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性試験

1群25匹の雌ラット（Sprague-Dawley系）に塩素酸塩を脱イオン水に溶解し、100、300及び1000mg/kgの用量で妊娠6日から15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には脱イオン水のみを検体投与群と同様に投与した。交尾は膣栓または膣スミア中の精子の存在により確認し、確認された日を妊娠0日とした。母動物については、一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、16及び20日に体重及び飼料摂取量を測定した。妊娠20日に帝王切開し、黄体数、着床数、早期吸収数、後期吸収数、生存及び死亡胎仔数等を調べた。胎仔については、体重測定、性別の確認及び外表異常の観察を行った。各同腹仔群の約半数については骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎仔については内臓異常の有無を検査した。

1000、300及び100mg/kg群でそれぞれ12、3、1匹に観察された軟便が唯一の顕著な臨床所見であった。胎仔の奇形は、300及び100mg/kg群及び対照群でそれぞれ2胎仔ずつ認められたが、明らかに自然発生的なものであった。投与群でみられた胎仔の発育変異の数と種類は、投与とは無関係であると考えられた。

以上の結果より、塩素酸塩はラットに対し催奇形性を有しないものと考えられた。

（WIL Research Laboratories, Inc. 1990年）

2. ウサギにおける催奇形性試験

1群20匹の雌ウサギ（New Zealand White種）に塩

素酸塩を脱イオン水に溶解し、50、150及び500mg/kgの用量で妊娠7日から19日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には脱イオン水のみを検体投与群と同様に投与した。授精は人工的に行い、実施当日を妊娠0日とした。母動物については、一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、7、10、13、20、24及び29日に体重及び飼料摂取量を測定した。妊娠29日に帝王切開し、黄体数、着床数、早期吸収数、後期吸収数、生存及び死亡胎仔数等を調べた。胎仔については、体重測定、性別の確認の後、全胎仔についてそれぞれ外表、内臓、骨格の異常検査を実施した。

4匹の母動物が500mg/kg群で死亡したが、剖検所見から、胃ゾンデ挿入時の外傷の結果であることが示された。この他には死亡例は認められなかった。母動物に500、150mg/kg群で認められた橙色尿は投与に関連があると考えられ、加えて、500mg/kg群では体重の減少及び摂餌量の抑制が、150mg/kg群では体重増加抑制及び飼料摂取量の軽度の抑制が認められた。しかし50mg/kg群ではこれらの症状等は認められなかった。一方胎仔の発育においては各投与群で影響は認められず、いずれの奇形、変異においても発生頻度は対照群もしくは背景データの範囲内であった。

以上の結果より、塩素酸塩はウサギに対し催奇形性を有しないものと考えられた。

（WIL Research Laboratories, Inc. 1991年）

変異原性試験

1. 細菌を用いた復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *hcr* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下 (代謝活性化法) 及び非存在下 (非代謝活性化法) で Ames らの方法を用いて変異原性を検討した。最高用量は5000µg/プレートとした。また陽性対照として、代謝活性化法では2-aminoanthracene、非代謝活性化法では、AF-2、β-propiolactone、9-aminoacridine、2-nitro-fluorene を用いた。

塩素酸塩は S-9mix の有無にかかわらず、またいずれの濃度においても対照と比べ復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照ではすべての検定菌

株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、塩素酸塩の復帰変異誘発性は陰性と判断された。(残留農薬研究所 1979年)

2. チャイニーズハムスター肺細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺細胞(CHL細胞)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下(代謝活性化法)及び非存在下(非代謝活性化法)で塩素酸塩の染色体異常試験を行った。濃度設定は細胞毒性がほとんどなかったためS-9mixの存在下及び非存在下とも625、1250、2500、5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で試験を実施した。試験は各濃度2連で行い、1プレートにつき100個の中期分裂像を観察した。陽性対照として代謝活性化法ではシクロホスファミド(CP)、非代謝活性化法ではマイトマイシンC(MMC)を、陰性対照として蒸留水を用いた。

塩素酸塩はいずれの処理条件下においても染色体異常を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたCP及びMMCは顕著な染色体異常を誘発した。

以上の結果から、塩素酸塩はCHL培養細胞に対して染色体異常誘発性を示さないと判断された。

(Safepfarm Laboratories Ltd. 1989年)

3. 細菌を用いた DNA 修復試験

枯草菌 *Bacillus subtilis* の組み換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いて賀田らのRec-assay法でDNA損傷の誘発性の有無を検索した。

塩素酸塩は両株で全く生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いたMitomycin Cでは、H-17に比べM-45に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いたKanamycinでは両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の結果から、塩素酸塩のDNA損傷誘発性は陰性と判断された。(残留農薬研究所 1979年)

また皮膚に対する刺激性は、60%水溶剤及び50%粉粒剤では無く、50%粒剤では軽度と判定された。60%水溶剤、50%粒剤及び50%粉粒剤の皮膚感作性は共に陰性と判定された。ラット及びマウスを用いた亜急性経口毒性試験における最大無作用量はラット及びマウスとも2000ppmであった。ラット及びウサギを用いた催奇形性試験における結果、及び、細菌を用いた復帰変異試験、CHL細胞を用いた*in vitro*染色体異常試験及びDNA修復試験による変異原性試験の結果はいずれも陰性であった。

本剤は昭和20年代後半に農薬登録され、林地、非農耕地等における有用な除草剤として使用されている。

問合せ

株式会社 エイ・ディー・エス バイオテック
農薬対策室
〒105 東京都港区東新橋二丁目12番7号

保土谷化学工業株式会社
農薬事業部
〒105 東京都港区虎ノ門一丁目4番2号

日本カーリット株式会社
ファインケミカル部
〒100 東京都千代田区丸の内一丁目2番1号

要約

塩素酸塩の安全性評価のため各種毒性試験を実施した。本剤の急性毒性は弱い、消防法では危険物に分類されており、毒物及び劇物取締法では劇物に指定されている。眼に対する刺激性は、60%水溶剤、50%粒剤及び50%粉粒剤とも軽度から中等度と判定された。