

内閣府食品安全委員会事務局
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る
食品健康影響評価に関する調査報告書

マレイン酸ヒドラジド

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー

はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、マレイン酸ヒドラジドについて、国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(以下「JMPR」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクニサーチ

目 次

マレイン酸ヒドラジド

1. 調査の目的	5
2. 作業の概要	5
2.1. 調査対象物質	5
2.2. 評価書の翻訳	7
2.2.1. 評価書	7
2.3. 翻訳の整理	7
3. 評価書和訳	7
3.1 Jmpr(1976年)	9
3.2 Jmpr(1984年)	41
3.3 Jmpr(1996年)	57

海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

マレイン酸ヒドラジド

1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成18年5月29日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちマレイン酸ヒドラジドの調査について報告した。

表 1 調査対象の農薬等

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタミジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストール(DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗原虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤

番号	物質名	主な用途
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ビオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	プロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

2.2. 評価書の翻訳

2.2.1. 評価書

マレイン酸ヒドラジドに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JMPR における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JMPR	1976	369. Maleic hydrazide (Pesticide residues in food: 1976 evaluations)
JMPR	1984	674. Maleic hydrazide (Pesticide residues in food: 1984 evaluations)
JMPR	1996	918. Maleic hydrazide (Pesticide residues in food: 1996 evaluations Part II Toxicological)

2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- ・評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- ・翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- ・評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

3. 評価書訳

以下に評価書の指定箇所全訳を、評価書ごとに掲載した。

マレイン酸ヒドラジド 評価書和訳と情報整理

JMPR: 1976

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v076pr16.htm>

369. Maleic hydrazide (Pesticide residues in food: 1976 evaluations)

マレイン酸ヒドラジド 評価書和訳と情報整理 JMPR (1976) 目次

同一性 (原文 p.1)	16
化学名 (原文 p.1)	16
同義語 (原文 p.1)	16
構造式 (原文 p.1)	16
同一性及び特性に関するその他の情報 (原文 p.1)	16
工業製品の組成 (原文 p.1)	16
マレイン酸ヒドラジドの物理化学性状(原文 p.1)	16
一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)	17
生化学的特徴 (原文 p.1)	17
毒性試験(原文 p.2)	18
生殖に関する特殊試験 (原文 p.2)	18
変異原性に関する特殊試験 (原文 p.2)	18
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.2)	19
<i>in vitro</i> における哺乳類細胞に関する特殊試験(原文 p.3)	20
皮膚刺激性に関する特殊試験 (原文 p.3)	20
皮膚感作性に関する特殊試験 (原文 p.3)	20
眼刺激性に関する特殊試験 (原文 p.3)	21
呼吸器系に対する影響に関する特殊試験 (原文 p.3)	21
増強作用に関する特殊試験 (原文 p.3)	21
急性毒性試験 (原文 p.3)	21
短期試験 (原文 p.3)	22
ラット (原文 p.4)	22
犬 (原文 p.4)	22
長期試験 (原文 p.4)	23
ラット (原文 p.4)	23
コメント (原文 p.5)	23
毒性学的評価 (原文 p.5)	24
食品中の残留物及びその評価 (原文 p.5)	24
作物残留試験における残留物(原文 p.5)	25
残留物の運命 (原文 p.6)	25
土壌中(原文 p.6)	25
貯蔵、処理及び調理の場合(原文 p.9)	33
市場において、食品中に移動した残留物 (原文 p.9)	33
各国の許容値 (原文 p.10)	34
評価 (原文 p.11)	35
評価 (原文 p.11)	36

追加の作業又は情報(原文 p.11)	36
期待される検討 (原文 p.11)	37
文献	37
マレイン酸ヒドラジドの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1976)	38
略称	40

原文 目次

原文ページ

同一性	1
化学名	1
同義語	1
構造式	1
同一性及び特性に関するその他の情報	1
工業製品の組成	1
マレイン酸ヒドラジドの物理化学的性状	1
一日摂取許容量に関する評価	1
生化学的特徴	1
毒性試験	2
生殖に関する特殊試験	2
変異原性に関する特殊試験	2
発がん性に関する特殊試験	2
<i>in vitro</i> における哺乳類細胞に関する特殊試験	3
皮膚刺激性に関する特殊試験	3
皮膚感作性に関する特殊試験	3
眼刺激性に関する特殊試験	3
呼吸器系に対する影響に関する特殊試験	3
増強作用に関する特殊試験	3
急性毒性試験	3
短期試験	3
長期試験	4
コメント	5
毒性学的評価	5
食品中の残留物及びその評価	5
使用目的	5
作物残留試験における残留物	5
残留物の運命	6
土壌中	6
貯蔵、処理及び調理の場合	9
家庭における調理	9
たばこ及びたばこの煙への持ち込み	9
物市場において、食品中に移動した残留	9
残留物の分析方法	10
各国の許容値	10

評価	11
評価	11
追加の作業又は情報	11
必要	11
期待される検討	11
引用文献	11

原文ページ

IDENTITY	1
<u>Chemical name</u>	1
<u>Synonyms</u>	1
<u>Structural formula</u>	1
<u>Other information on identity and properties</u>	1
<u>Composition of the technical product</u>	1
<u>Physical and chemical properties of maleic hydrazide</u>	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE	1
<u>Biochemical Aspects</u>	1
TOXICOLOGICAL STUDIES	2
<u>Special Studies on reproduction</u>	2
<u>Special studies on mutagenicity</u>	2
<u>Special studies on carcinogenicity</u>	2
<u>Special studies on mammalian cells <i>in vitro</i></u>	3
<u>Special studies on dermal irritation</u>	3
<u>Special studies on dermal sensitization</u>	3
<u>Special studies on eye irritation</u>	3
<u>Special studies on respiratory effects</u>	3
<u>Special studies on potentiation</u>	3
Acute studies	3
<u>Short term studies</u>	3
Rat	4
Dog	4
<u>Long-term studies</u>	4
Rat	4
COMMENTS	5
TOXICOLOGICAL EVALUATION	5
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION	5

USE PATTERN	5
RESIDUES RESULTING FROM SUPERVISED TRIALS	5
FATE OF RESIDUES	6
<u>In soil</u>	6
<u>Mobility</u>	6
<u>Persistence</u>	6
<u>Biodegradation</u>	8
<u>In plants</u>	8
<u>Uptake from the soil</u>	8
<u>Fate in the plant</u>	8
<u>Effect of maleic hydrazide on biochemical processes in the plant</u>	9
<u>In storage, processing and cooking</u>	9
<u>Household cooking</u>	9
<u>Carry-over in cigarettes and cigarette-smoke</u>	9
<u>Residues in food moving in commerce</u>	9
METHODS OF RESIDUE ANALYSIS	10
NATIONAL TOLERANCES	10
APPRAISAL	11
EVALUATION	11
FURTHER WORK OR INFORMATION	11
<u>Required</u>	11
<u>Desirable</u>	11
REFERENCES	11

マレイン酸ヒドラジド FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議 (JMPR) 1976

同一性 (原文 p.1)

化学名 (原文 p.1)

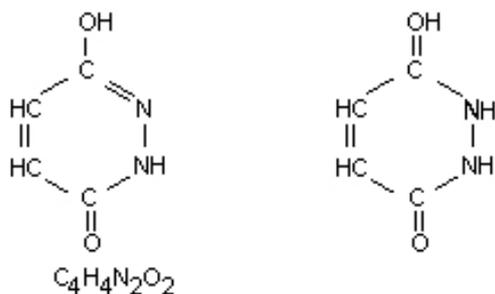
1,2-ジヒドロ-3,6-ピリダジンジオン(1,2-dihydro-3,6-pyridazinedione)

同義語 (原文 p.1)

MH

6-ヒドロキシ-3(2H)-ピリダゾン(6-hydroxy-3(2H)-pyridazone)

構造式 (原文 p.1)



同一性及び特性に関するその他の情報 (原文 p.1)

工業製品の組成 (原文 p.1)

工業用化学物質は、マレイン酸ヒドラジド 99%を含有する。不純物は、無機塩類である(例えば、硫酸ナトリウム (Na_2SO_4)、微量のマレイン酸(maleic acid)又はフマル酸(fumaric acid)を含む場合もある)。

マレイン酸ヒドラジドの物理化学性状(原文 p.1)

物理的性状 白色の結晶質粉末

分子量 112.1

比重(25°C) 1.60

融点 292°C (最小値)

臭気 弱い

揮発性 不揮発性

溶解度(近似値) g/100g 溶媒 (25°C)

蒸留水 0.6

アルコール	0.1
アセトン	0.1
ジメチルホルムアミド	2.4
キシレン	0.1 未満

25°C における 0.5%水溶液の pH*: 4

*原文の「Ph」は「pH」と訳した。

マレイン酸ヒドラジドは、弱一塩基酸として作用する。アルカノールアミン(alkanolamine)及びアルカリ金属塩は、水に適度に可溶。

使用された製剤:有効成分 30%及び 40%を含む液体; 水和剤 40%

一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)

生化学的特徴 (原文 p.1)

マレイン酸ヒドラジドは、哺乳類においては、広範囲に代謝されるようではない。すなわち、ウサギに、単回経口投与すると、投与量の 43-62%は 48 時間以内に未変化体のまま排泄された。マレイン酸ヒドラジドの 2 g を経口投与した後、排泄されたマレイン酸ヒドラジドの代謝物を単離して、その性質を調べると、ベンジルアミン塩 (benzylamine salt)であることが示された。それ以外の代謝物は、同定されなかった(Barnes et al, 1957)。マレイン酸ヒドラジドとフェノバルビタールで誘発されたラット肝ミクロソームをインキュベートしても、化合物の分解は全く起こらなかった(Nelson and Kearney, 1975)。

マレイン酸ヒドラジド-¹⁴C 標識体は、0.27、0.68 又は 2.72 mg/ラット(10, 25 又は 100 uc/ラット)の用量で、胃ゾンデを用いて、雌ラットに、経口投与された。投与された放射能は、低用量では、12 時間及び 6 日間以内に、それぞれ、65.4%及び 77.3%が尿中に排泄された。さらに、同期間に、投与された放射能の 12.4%が、糞中から検出された。投与用量が 2.5 uc/ラットの場合、72 時間にわたって、投与された放射能の 0.12-0.18%が呼気中に CO₂として排出された。放射能の組織濃度は、投与された放射能の 0.001%未満が検出された屠体を除いて、統計学的に有意でなかった。異なった 2 種類の溶媒系を用いたペーパークロマトグラフィーにより、100 uc を投与されたラットの尿を調べて見ると、マレイン酸ヒドラジドの未変化体(92-94%)及び抱合体(6-8%)が同定された(Mays et al, 1968)。

マレイン酸ヒドラジドは、4g/kg の用量で、胃ゾンデを用いて、ラット(16 匹)に、経口投与された。尿及び糞は、投与後、0-2、2-4、4-8 及び 8-16 日の間隔で採取された。ラット(雄雌各 2 匹)は、投与後、2、4、8 又は 16 日に屠殺された。雄ラットの場合、投与後、0-2 日間では、尿中の残留物(30,400 mg/kg)は、糞中(17,400 mg/kg)の約 2 倍であった。しかし、雌の場合、同期間では、尿中の残留物(1,330 mg/kg)は、糞中(12,700 mg/kg)に比べて、はるかに少なかった。

雄雌ともに、残留物濃度は急速に減少したが、投与後、8-16日に採取されたサンプル(尿及び糞)においても検出可能であった。雌の場合、排泄は、雄に比べてわずかに緩慢であった。しかしながら、残留物に関しては、投与後8日に屠殺された雄で微量が検出された場合を除いて、雌では、検出できなかった(Food Research Laboratories Inc. 1955)。

毒性試験(原文 p.2)

生殖に関する特殊試験(原文 p.2)

マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩として、0、0.5、1、2又は5%を含む飼料、又は、マレイン酸ヒドラジドのジエタノールアミン塩として、0又は0.1%を含む飼料を用いて、ラット(雄雌各10匹/群、7群)に、混餌投与された。動物は、2週間の交配期間、3週間の妊娠期間、3週間の授乳期間及び再交配まで、1又は2週間の休息期間を1サイクルとして、可能な限り長く、繰り返し交配された。また、試験は、12週間で開始された。第2回目の同腹児(F_{1b})は、二度交配したF₂世代を作出するために使用された。F_{2b}世代は、F_{3a}及びF_{3b}児動物のために、親動物として用いられた。F₀世代で、8回交配した集積データからは、マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩は、受胎能、1腹の産児数、出産率、生存率又は哺育率に関して、何ら影響を示さなかった。ナトリウム塩濃度が5%の場合、離乳時に児の体重がわずかに減少した。一方、ジエタノールアミン塩濃度が0.1%の場合、受胎能、1腹の産児数、生存率及び哺育率は減少した。そのため、ジエタノールアミン塩の投与群については、試験から除外され、F₂世代を作出する試みはなされなかった。

ナトリウム塩を混餌投与されたラットにおけるすべての世代に関するデータの平均値は、受胎能、出産率、生存率又は哺育率に関して、何ら生殖への影響を示さなかった。一方、ナトリウム塩濃度が5%の場合、1腹の産児数はF₃世代で減少し、すべての世代で、離乳時の児動物の体重は減少した(Food Research Laboratories, 1955)。

変異原性に関する特殊試験(原文 p.2)

マレイン酸ヒドラジドを0.4%含む0.7%塩化ナトリウムリンゲル溶液を、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)(雄、1-2日齢)の腹部に注射しても、突然変異率は増加しなかった。一方、マレイン酸ヒドラジドを0.4%含む培地で飼育されたキイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)(雄)の初回同腹児には、致死突然変異の発生率が増加したが、それ以後の同腹児には、影響は明らかでなかった(Nasrat, 1965)。

マウス優性致死試験においては、マレイン酸ヒドラジド500 mg/kgの投与量では、算出された突然変異指数に影響を与えなかった(Epstein & Shafner, 1968)。

ネズミチフス菌(*Salmonella typhimurium*)の変異株(8株)、バクテリオファージT₄(T₄ bacteriophage)及びバクテリオファージAP72(bacteriophage AP72)を用いて、マレイン酸ヒドラジド及びその他の化合物の影響が調べられた(Andersen et al., 1972)。これらの試験系においては、マレイン酸ヒドラジドに関する変異原性の証拠は認められなかった。

また、マレイン酸ヒドラジドは、幾つかのサルモネラ試験菌株を用いて試験された(McCann et al. 1975, 1976)。試験は、肝臓ミクロブーム活性化系の有無のもとで、広い濃度範囲を用いて行われた。この広範囲にわたった一連の試験では、マレイン酸ヒドラジドに関する変異原性の証拠はなかった。

発がん性に関する特殊試験 (原文 p.2)

生後 1, 7, 14 及び 21 日齢のスィスマウス(ICR/Ha)は、遊離酸としてのマレイン酸ヒドラジド水溶液(不純物として、0.4%ヒドラジン含有)又はトリカプリリン(tricaprylin) 懸濁液、又は溶媒のみ 0.1, 0.1, 0.2 及び 0.2 mL の容量で、皮下注射された。マウスに投与された総用量は、水溶液の場合、3 mg 及びトリカプリリン(tricaprylin) 懸濁液の場合、55 mg であった。一方、生後 1 日齢のマウス(11 匹)に、10 mg のマレイン酸ヒドラジドを投与した追加の試験群では、動物はすべて死亡した。マウスの離乳前死亡率は、対照群で 14%、3 mg 及び 55 mg を投与群では、それぞれ、5%及び 53%であった。また、雄の 49 週齢における離乳後死亡率は、すべての投与群で高く、0, 3 及び 55mg 投与群では、それぞれ、38, 57 及び 52%であった。高用量群では、体重増加抑制(約 5%)が認められた。雄の 49 週における肝臓がんの発生率は、0, 3 及び 55mg 投与群では、それぞれ、8%、18%及び 73%であった。また、転移は、認められなかった(Epstein et al, 1967)。

マレイン酸ヒドラジドは、1000 mg/kg 体重の用量で、毎日、3 週間の間、胃ゾンデにより、マウス(雄雌各 36 匹、7 日齢)に、経口投与された。その後、マレイン酸ヒドラジドを 3000 ppm 直接混合した飼料を用いて、約 18 ヶ月間混餌投与された。その結果、対照群と比較すると、投与群では、統計学的に有意な腫瘍発生率は観察されなかった(Innes et al., 1969)。

ジエタノールアミン塩溶液は、1 mL(5 mg)の用量で、毎週、14 ヶ月間、ラットの皮下に注射された。2 回の実験で、処置されたラット(52 匹)の内、3 例に肉腫が認められた。また、生理食塩水を投与された対照群には、肉腫は認められなかった (Barnes et al, 1957)。

ラット及びマウスは、100 週間、モノナトリウム塩を、500 mg/kg の用量で、毎週 1 回皮下注射、又はマレイン酸ヒドラジドを 1%混合した飼料を用いて投与された。

マレイン酸ヒドラジドは、ラット及びマウスのいずれの動物種及び用法、用量において、成長及び全身状態に影響は認められなかった。マレイン酸ヒドラジドを皮下注射されたラット 1 例(合計 29 匹)に肉腫の所見が見られた。対照群のラットには、肉腫は認められなかった。ラット及びマウスともに、全腫瘍発生率は、マレイン酸ヒドラジドを混餌投与された雌の試験群で増加し、影響はマウスにおいて、より明白であった(Barnes et al 1957)。

ラット(雄雌各 25 匹/群)は、毎週 2 回、65 週間、ラッカセイ油(arachis oil)、水、溶媒+マレイン酸ヒドラジド又は溶媒+ 2 mg マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩を注射された。その後、剖検の前に、39 週間の観察期間が設けられた。皮下腫瘍発生率は、ラッカセイ油+マレイン酸ヒドラジド群(4 例)では、ラッカセイ油対照群(1 例)に比較すると増加した。その他のすべての群では、皮下腫瘍発生率は、同程度であった。皮下腫瘍発生率の増加については、化学発がんの誘発よりは、むしろ結合組織における修復機構の損傷によるものであった。

(Hunter et al, 1973).

ラット(雄 24 匹/群、3 群)は、基礎飼料、基礎飼料+2%マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩又は基礎飼料+0.06% p-ジメチルアミノアゾベンゼン(p-dimethylaminoazobenzene)を、26 週間、混餌投与された。マレイン酸ヒドラジド投与群では、体重、DNA 含量/肝細胞核、平均的な肝臓細胞の大きさ、肝臓重量、細胞数/肝臓、又は DNA /肝臓に関して、有意な変化は観察されなかった。一方、p-ジメチルアミノアゾベンゼン投与群では、これらすべてのパラメータに影響した。マレイン酸ヒドラジドを混餌投与された動物に関する病理学的検査では、腫瘍は認められなかった。一方、p-ジメチルアミノアゾベンゼンを混餌投与された動物では、10 週間を超えると、すべてのラットに、腫瘍が認められた(Mannell&Grice, 1957)。

in vitro における哺乳類細胞に関する特殊試験(原文 p.3)

マウスの耳の表皮断片における有糸分裂の進行を研究することで、哺乳類細胞への影響が調べられた。マレイン酸ヒドラジドの濃度が 0.0001-0.001 M では、有糸分裂又は細胞分裂に、影響しなかった。同様に、モルモットの耳の皮膚片を、組織培養で増殖させた皮膚細胞に対するマレイン酸ヒドラジドの影響が調べられた。濃度が 0.01 M まで、肉眼的又は顕微鏡的に、培養組織への影響は認められなかった。同様に、マレイン酸ヒドラジドを添加した後、2 及び 22 時間では、皮膚細胞の呼吸に対しても影響は認められなかった(Barnes et al.,1957)。

マウス胸腺の培養細胞を用いた *in vitro* 試験では、マレイン酸ヒドラジドの濃度が、0.001M 又はこの濃度以上で、増殖を阻害した。細胞分裂は、0.0001M 及びこの濃度以上で阻害された。その結果、DNA 含量に対する乾燥質量の割合が増加したが、このことは、蛋白質合成ではなく、DNA 合成が阻害されたことを示している(McCarthy and Epstein, 1968)。同様に、細胞分裂阻害は、0.001-0.01 M の存在下で培養したヒトリンパ球細胞を用いて示された。細胞分裂阻害は、新鮮培養細胞よりも 72 時間培養細胞で、さらに顕著であった。おそらく、新鮮培養細胞においては、より活性の高い状態であることがその理由として考えられる(Timson, 1968)

皮膚刺激性に関する特殊試験 (原文 p.3)

マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩は、ウサギの背中の皮膚(約 10cm² の擦り傷のある皮膚及び約 10cm² の無傷の皮膚)に、適用された。連続した 5 日間、1 日 6 時間の間、反復適用された。この処置は、10 日間の休息期間をはさんで、2 回繰り返された。試験期間の間、刺激性の所見は認められなかった(Food Research Laboratories, 1955)。

皮膚感作性に関する特殊試験 (原文 p.3)

マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の 0.1%水溶液は、0.5 mL の用量で 1 回、その後、0.1 mL の用量で 9 回、1 日おきに、モルモット(10 匹)の皮下投与された。最終投与の 2 週間後に、惹起用に 0.5 mL の用量で、別の場所に皮下投与された。皮膚感作に関する所見は認められなかった(Food Research Laboratories, 1955)

眼刺激性に関する特殊試験（原文 p.3）

マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の 5%溶液(5%食塩水)は、ウサギ(6 匹)の右眼に 2 滴適用された。刺激性の所見は、処置後 14 日間の観察期間の間、認められなかった(Food Research Laboratories, 1955)。

呼吸器系に対する影響に関する特殊試験（原文 p.3）

深麻酔(エチルエーテル)されたラットは、マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩を各種の濃度に調製した小滴を、動物の副鼻孔に、吸入時に注入することによって、投与された。マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩は、50-400 mg(マレイン酸ヒドラジドとして、15-120 mg)の用量で、投与された。用量が 400 mg の場合、10 日後に、ラットの死亡(2/10)が観察された。肉眼的病理所見(400 mg)では、肺の出血が 1 例、帯黄色の滲出液、胸部の癒着及び努力性呼吸(7/10)(2 週間では、5/7)のラットに観察された(Food Research Laboratories, 1955)。

増強作用に関する特殊試験（原文 p.3）

他の農薬と併用された場合のマレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の急性毒性が決定された。半数致死量の 10%(0.1 LD₅₀)の用量で、予め処置すると、雄雌におけるディルドリン(dieldrin)及び DDT の毒性を増強させたが、ダイアジノン(diazinon)の毒性は減少した。これとは反対に、DDT 及びディルドリンにより予め処置すると、マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の毒性が、ファクター2 まで減少した。一方、ダイアジノンにより予め処置すると、異なった作用を示し、雌では毒性が減少したが、雄では増加した(Luckens and Wattimena, 1968)。

急性毒性試験（原文 p.3）

種	経路	LD ₅₀ mg/kg 体重*	文献
ジエタノールアミン塩 ラット(絶食)	経口	1180	Food Research Laboratories, 1955
ナトリウム塩 ラット(絶食)	経口	5800	同上

*マレイン酸ヒドラジド残基で示した。

短期試験 (原文 p.3)

ラット (原文 p.4)

マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩は、0、0.5、1、2 又は 5%の用量で、12 週間、ラット(12 匹/群)に、混餌投与された。詳細なデータは、入手できなかった。データから、平均体重は、雄では、マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩のすべての投与群で、わずかに減少したが、雌では、飼料中の濃度が 5%の場合、同様に体重減少が生じた。観察された体重減少には、統計学的に有意差がなかった。摂餌効率、血色素量、赤血球数、白血球数、白血球百分率は、すべての試験群で、同程度であった。血糖値は、用量が5.0%の場合、減少した。一方、非蛋白性窒素は、同程度、上昇した。メトヘモグロビン(もし、存在したとしても)は、検出限界以下(0.2g/100 mL)であった。尿糖、アルブミン及び顕微鏡で観察された封入体には、特に、変化はなかった。肉眼的病理所見(雄雌各 2、12 週間)は、正常であり、組織学的にも、異常は認められなかった(Food Research Laboratories, 1955)。

ラット(雄雌各 12/群)は、1.0%のマレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩を含有した飼料により、混餌投与された。また、同時期でない追加の試験として、ラット(雄雌各 12/群)は、0%又は 0.1%のマレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩を、さらに、最後の試験群のラット(雄雌各 10/群)には、1%ジエタノールアミンを含有した飼料を、混餌投与された。すべての試験群は、12 週間、混餌投与された。すべての試験群で、体重は減少した。動物の死亡率は、1.0%ジエタノールアミン投与群及び 1%マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩投与群で顕著に増加した。1%ジエタノールアミン群については、これ以上のデータは、入手できていない。摂餌効率は、1.0%マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩投与群では、顕著に減少したが、その他のすべての投与群では同程度であった。血色素量及び赤血球数は、顕著に減少した。また、1.0%のマレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩投与群では、多核白血球リンパ球比(polymorph/lymphocyte ratio)は増加した。血色素量及び赤血球数の平均値については、0.1%マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩投与群は、減少傾向を示しているが、入手できたデータからは、統計学的に有意かどうかは評価できない。また、1.0%のマレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩投与群では、死亡に先行して、飢餓を伴った運動協調性及び筋制御が消失した。病理検査により、充血性又は出血性肺及び貧血の証拠が認められた。同様に、脳の組織学的病理検査では、脳浮腫が認められた。試験群における代表的なラット(4 匹/群)には、肝臓、腎臓及び肺に、顕微鏡的病変は認められなかった(Food Research Laboratories, 1955)。

犬 (原文 p.4)

マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩は、1 g/kg の用量で、5 回/週、5 週間、イヌ(3 頭)に強制経口投与された。血色素量、赤血球数、白血球数及び白血球百分率については、5 日おきに、測定された。メトヘモグロビン、血糖値、非蛋白性窒素については、屠殺時に測定された、肝臓、腎臓、脾臓及び骨髄については、組織病理学的に検査された。データは示されていないが、上述されたパラメータに関する影響は無視できるとされた。しかしながら、一過性の好酸球増加症、貧血、白血球増加症が認められた(Food Research Laboratories, 1955)。

イヌ(3 匹/群、5 群、4ヶ月齢・2歳までの雑種)は、マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩の0% (雄1、雌2)、0.5% (雄

2、雌 1)、1.0% (雄 1、雌 2)、2.0% (雄 2、雌 1)又はマレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の 1.0% (雄 2、雌 1)を含む飼料を用いて、1年間、混餌投与された。ナトリウム塩投与群では、体重及び死亡率に、影響が見られなかった。一方、ジエタノールアミン塩投与群では、試験 30 日までに、体重減少及び死亡(2/3)が認められ、試験 37 日までに、試験を中止した。ナトリウム塩投与群では、摂餌量に影響はなかった。血色素量、赤血球数、白血球数及び白血球百分率については、すべての試験群で同程度であった。血糖値及び非蛋白性窒素には、整合性のとれた影響は見られなかった。肉眼的病理検査では、すべてのイヌにおいて、変化は同程度であった。骨髄、肝臓、腎臓、脾臓及び消化管に関する組織病理学的検査では、正常の範囲内であった。ジエタノールアミン塩投与群のイヌの脳では、中度に水腫状であり、脊髄は、初期の神経変性及びミエリン鞘の腫大を呈した(Food Research Laboratories, 1955)。

長期試験 (原文 p.4)

ラット (原文 p.4)

ラット(雄雌各 10 匹/群、5 群)は、マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩の 0、0.5、1.0、2.0 又は 5.0%を含む飼料を用いて、2 年間、混餌投与された。同様に、同時期でない試験(2 群)が追加された。すなわち、ジエタノールアミン塩として、0%又は 0.1%のマレイン酸ヒドラジドを含む飼料を用いて、2 年間、混餌投与された。試験開始の 12 週間後、ラットは、それぞれ、各試験群内において、雄雌 1 対 1 で、交配された。交配期間、妊娠期間、授乳期間及び休息期間のサイクルは、試験期間中、それぞれ、2 週間、3 週間、3 週間及び 1 週間であった(報告書では、別のセクションで、授乳休息期間を 1 週間又は 2 週間と記載している)。すべての試験群において、雄の体重は、1 年間までは、わずかに減少したが、2 年間では、対照群を上回った。雌の体重は、5.0%ナトリウム塩群において、12 週間のみ、減少した。死亡率については、0.1%ジエタノールアミン塩群を除き、すべての試験群において、概ね、同程度であった。ジエタノールアミン塩群の場合、試験 52 週間及び 96 週間の間で、死亡率は上昇し、寿命は短くなった。血色素量及び赤血球数については、0.1%ジエタノールアミン塩群の場合、報告された測定時間 (52、78 及び 104 週間)のすべてで、減少した。それ以外のすべての試験群では、値は同程度であった。白血球数及び白血球百分率については、すべての試験群で、同程度であった。血糖値及び非蛋白性窒素については、12 カ月及び 24 カ月におけるナトリウム塩のすべての試験群で、同程度であった。また、非蛋白性窒素については、0.1%ジエタノールアミン塩群で唯一生存している雄及び雌についての測定値(24 カ月)についてのみ上昇した。メトヘモグロビンは、いずれの試験群でも検出されなかった。尿検査については、すべての試験群で、正常であった。肝臓、腎臓又は脾臓の相対重量には、整合性のある変化は見られなかった。腫瘍発生率は、すべての試験群で同程度であった。病理学的所見については、感染、寄生虫又は年齢によるものであるとされている(Food Research Laboratories, 1955)。

コメント (原文 p.5)

マレイン酸ヒドラジドは、1974 年に国際癌研究機構(IARC)によって評価された。すなわち、マウス及びラットの成獣に、マレイン酸ヒドラジドを経口及び皮下投与した場合、発がん性はないと結論された。マウスの新生児で見られた肝臓癌の意義については、無水マレイン酸(maleic anhydride)及びヒドラジン(hydrazine)による汚染

の理由から、評価できなかつた。哺乳類を用いた優性致死試験では、陰性の結果であった。

生殖試験の結果からは、マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩は、飼料中濃度が 2% の場合、毒性影響はないことが示唆されている。一方、飼料中濃度が 5% の場合、新生児における生後の体重増加は抑制される。マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の場合、飼料中濃度が 0.1% であっても、受胎能、一腹産児数、生存率及び哺育率は減少した。短期試験からは、体重及び死亡率への影響は、ジエタノールアミン残基によるものであることが示唆されている。同様に、生殖への影響についても、同一の原因に帰することができると考えられる。しかしながら、この仮説を裏付けるデータは入手できていない。催奇形性試験は、実施されていない。

短期及び長期の混餌試験において、生殖に関するジエタノールアミン塩の無作用量は、実証されていない。ジエタノールアミン塩に関する完全な毒性データがない状態のために、マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩の利用可能性に関して、懸念が表明されている。ナトリウム塩については、ラットにおける生殖試験、ラット及びイヌにおける短期試験及び少数のラットを用いた長期試験のデータは、入手可能である。これらの試験における無作用量は、飼料中の濃度で 2% であると考えられる。

作物における残留物としてのヒドラジンの発生又は使用条件のもとで生成する可能性に関する情報は、入手できていない。マレイン酸ヒドラジド及びそのベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)は、植物に認められる主要な残留物であることが知られている。哺乳類におけるベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)に関する代謝的運命に関するデータは、入手できていない。発がんの可能性を、適切に評価することができないこと及びラットを用いた長期混餌試験では、供試動物数が少ないことなどの理由から、マレイン酸ヒドラジドに関する毒性評価は、試みられていない。ジエタノールアミン塩の毒性評価に関しては、データは全く不適當である。

毒性学的評価 (原文 p.5)

一日摂取許容量は、割り当てられなかつた。

食品中の残留物及びその評価 (原文 p.5)

使用目的(原文 p.5)

マレイン酸ヒドラジドは、発芽抑制剤として、じゃがいもについては、収穫前日数(PHI)を 4-6 週間として、使用量 2-3 kg/ha で及びタマネギについては、収穫前日数を 2-4 週間として、使用量 2-2.5 kg/ha で使用される。

同様に、この化合物は、じゃがいもの植え付けの約 10 日前に、柑橘類の若い未結果樹に休眠(dormancy)を誘導するために、及びたばこの全盛期における吸枝抑制(sucker control)のために使用される(3 kg a.i./ha)。

さらに、小規模ではあるが、道路境界の草の成長抑制剤としても使用される。

作物残留試験における残留物(原文 p.5)

作物残留試験から、タマネギ及びじゃがいもに関する広範囲にわたる残留物データは、入手可能であり、表 1 に纏められている。後述されるように、限定的ではあるが、リンゴ、人参及びたばこに関するデータとともに、幾つかの補足的な結果についても、入手可能である。

リンゴ リンゴの収穫前に、1000 及び 2500 mg/kg a.i.(有効成分)の使用量で散布する場合、残留物は、リンゴ総重量では、それぞれ、1.5 及び 3.4 mg/kg の結果であった。残留物のかなりの部分は、皮に残った。すなわち、皮に含まれた残留物濃度は、それぞれ、4.1 及び 10 mg/kg であった(Hoffman and Carson 1962)。

人参 収穫前に異なった時間に散布された畑から採取されたサンプルに関しては、収穫直前の散布では、残留物は、5.1 mg/kg であり、収穫 3 週間前の散布では、遥かに低く 0.36 mg/kg であった (Hoffman and Carson 1962)。

タマネギ ポーランドにおける作物残留試験では、タマネギは、収穫 21 週間前に、マレイン酸ヒドラジドの散布量を 12-2.3kg/ha で処理された。貯蔵期間が 7-32 週間後の残留物は、2.5-23 mg/kg の範囲であった(表 1)。最も高い残留物濃度は、貯蔵期間が 28 週間後(すなわち、処理後 30 週間)であり、散布量が最も高い場合に認められた(Drygus et al 1968)。

じゃがいも 収穫 5 週間前に、0.1、0.25、0.5 及び 0.75% a.i.(有効成分)の濃度で葉面散布された場合、塊茎の残留物は、それぞれ、3.1、15.6、37.9 及び 92.6 mg/kg であった。皮の残留物濃度は、じゃがいもの残りの部分より高い傾向にあった(Hoffman and Carson 1962)。米国では、主として、1950-1960 の期間に、マレイン酸ヒドラジドの 3 kg a.i. (有効成分)で処理された畑から、144 サンプルが採取された。その内、8%のサンプルでは、残留物は、30 mg/kg を超えており、約 5%は 40 mg/kg を超える残留物を含有していた(Uniroyal 1976)。Drygas らは、通常の収穫 8 週間前に、マレイン酸ヒドラジドの散布量 1.4 - 2.7 kg/ha で、じゃがいもを処理した。その結果、貯蔵期間が 3-24 週間では、残留物は、4-30 mg/kg(表 1)の範囲であった。最高値は、最高散布量で及び貯蔵期間が 24 週間後に認められた(Drygas et al. 1968)。

たばこ マレイン酸ヒドラジドの散布量 2.25 kg a.i./ha で、たばこを処理した後、新鮮葉では、37 mg/kg の残留物を含有していた。一方、未熟の吸枝葉では、482 mg/kg の残留物を含有していた。(Hoffman et al., 1962)。

残留物の運命 (原文 p.6)

土壌中(原文 p.6)

移動性 Helweg-Andersen は、マレイン酸ヒドラジド及びその分解生成物は、代表的な土壌では、中度移動性を示した。デンマークの農地の条件のもとで、マレイン酸ヒドラジドを 5 及び 10.1 kg/ha で適用すると、マレイン酸ヒドラジドのすべては、0-129 日間(調べられた最新の間隔)では、土壌表面から 10 cm の間に認められた

(Helweg-Andersen 1971)。

Uniroyal (1973-75)は、砂質土壌における屋外試験において、4-6ヶ月経過後では、適用された¹⁴C-MHのわずかに2.5 - 3.1%の¹⁴Cが15cmより深い土壌で認められた。

一方、マレイン酸ヒドラジドのジエタノールアミン塩は、むしろ、土壌中で移動性がある。ジエタノールアミン塩の水溶液を、1 mの土壌を充填したカラムの頂上に添加すると、24時間以内に、カラム全体に分配された。また、初期水量に関しては、カラムから水が流れ出さないような水量が選択された。その後、カラムに水を追加すると、相当量のマレイン酸ヒドラジドがカラムから除去された(Levi and Crafts 1952)。

残留性 Uniroyal (1973-1975)は、農地の条件のもとで、マレイン酸ヒドラジドで処理された土地の土壌を調査した。農地は、4年間継続的に、3.4 kg a.i./haで処理され、最終処理の10カ月後に採取されたサンプルには、残留物は検出できなかった。また、別の場所で、同一量のマレイン酸ヒドラジドで農地を処理し、4ヶ月後にサンプルを採取したが、再び、残留物は、検出されなかった(検出限界:0.5 mg/kg)。この実験で使用された分析技術については、土壌のアルカリ処理が用いられていたため、結合体の加水分解によって、遊離体及び結合体の両方を測定している可能性がある。

表 1. 作物残留試験における残留物

作物	国	年	散布			残留物: 平均及び範囲 mg/kg*, 散布後の期間(収穫前+貯蔵期間)							文献	
			No.	kg/a.i./ha	製剤	2.0 月	2 月	2.5 月	2 3/4 月	3.0 月	4-4.5 月	7.0 月		
タマネギ	米国	1951	1	1.0	wp 40%								1	
		1951	1	2.0	wp 40%	7.3	9.8	4.2	7.0			2.8	1	
						12.5	11.5	(2.7 11.7)			5.7 3.9			
			1	2.4									2.7	1
		1952	1	2.0	wp 40%								2.5	1
1952	1	2.5	wp 40%								10.0	1		
1952	1	3.2	wp 40%			3.0	2.2					2.3	1	

文献

1. Uniroyal 1973-1975.
2. R.I.V. 1955.
3. R.I.V. 1964.
4. Naugatuck Chem. Comp. 1956.
5. Drygas et al. 1968.

有機溶媒を用いて抽出可能である残留物に関するデータから、散布された薬剤の半量は、異なった種類の土壌型の中では、1 週間未満から 6 週間の様々な期間で、消失することが示されている。通常は、2-10 週間で、90%を超える量が消失した。散布の後、3 ヶ月を超えた場合、土壌から抽出可能な残留物を分析すると、マレイン酸ヒドラジドは検出されたとしても微量である。土壌中の結合性残留物は、より緩慢に分解される。散布されたマレイン酸ヒドラジドの半量は、1-14 週間の期間にわたって消失する。Helweg (1975b)は、モデル吸収剤として活性炭を用いて、マレイン酸ヒドラジドの分解速度に対する吸収の影響について調べた。3, 6-¹⁴C-MH から ¹⁴C の発生に関して、吸収は、初期遅延を引き起こすが、4 ヶ月後では、対照群及び活性炭を含む土壌とでは、ほとんど同量の ¹⁴CO₂ が発生した。ドイツ連邦共和国において、溶出実験のために推奨されている標準土壌の土壌型 1 及び土壌型 2(特徴:それぞれ、有機体炭素、2.58 及び 1.0%、20 μ 未満のヒドラジド粒子、10.1 及び 19.1%)を用いた実験では、初期残留物が 30.5 及び 36.1 mg/kg の場合、8 週間後では、それぞれ、0.76 mg/kg(2.5%)及び 0.44 mg/kg(1.2%)に減少した(BASF 1975)。一方、滅菌された土壌の場合、6 週間後では、残留物はほとんど減少しなかった。同一土壌型の非滅菌土壌の場合は、100 mg/kg の初期残留物は、主として、微生物分解の結果として、3 週間で 5 mg/kg に減少した。

生分解 Helweg (1975a , 1975b)は、CO₂ がマレイン酸ヒドラジドの主な分解生成物であることを見出した。すなわち、実験室の条件下で、20 mg/kg を含む砂壤土(sandy loam soil)を維持すると、2 週間以内に、約 50%の ¹⁴C が CO₂ として発生した。

Uniroyal (1973-1975)は、3, 6-¹⁴C-MH*の散布量を 55 mg/kg(通常の慣行に比べると過剰量)で、2種類の土壌型を処理した。コネチカット砂壤土(Connecticut sandy loam)及びミシシッピシルト質壤土(Mississippi silt loam)の場合、2 週間後における ¹⁴C の放出量は、それぞれ、散布された ¹⁴C の 34%及び 57%に達した。

* 原文では 3,6-¹⁴C となっているが、3,6-¹⁴C MH として訳した。

Kaufman and Kalayanova(1975)は、実験室の条件下で、2 種類の土壌を用いて、MH-¹⁴C の分解を調べた。結果を、表 2 に示す。

表 2. 実験室におけるマレイン酸ヒドラジドの好氣的代謝

23 日間における累積 $^{14}\text{CO}_2$ 発生量

土壌	散布量(kg/ha)	散布量に対する ^{14}C 発生量(%)	
		MH-3,6- ^{14}C	MH-4,5- ^{14}C
砂壤土	0.56	67.8	43.5
(Sandy loam)	5.6	57.0	40.5
沈泥質粘土	0.56	47.8	17.7
(Silty clay)	5.6	48.0	18.3

MH- ^{14}C で土壌を処理し、29 日後にメタノール抽出を行うと、散布された ^{14}C 量の 1-3%のみが回収された。マレイン酸ヒドラジドに加えて、マレイミド(maleimide)が、分解生成物として同定された。マレイミドの生成は、分解過程の初期において、N-N 結合の開裂の可能性を示している。

これらの土壌からの抽出物には、ヒドラジンの生成は検出できなかったばかりでなく、ワールブルグフラスコ(Warburg flask)の中の CO_2 捕捉液を、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド-硫酸溶液(p-dimethylaminobenzaldehyde-sulphuric acid solutions)に置換した場合でも、ヒドラジンの発生はなかった。メタノールでは、土壌から抽出されない ^{14}C の幾らかは、アルカリ水溶液によって除去できる場合がある。フミン(humin)及びそれよりも少量ではあるが、フミン酸(humic acid)及びフルボ酸(fulvic acid)は、 ^{14}C を含有していた。著者らは、これらの分画にある放射能は、吸着した未変化のマレイン酸ヒドラジドとして、及び/又は、土壌中にある天然の有機物質に取り込まれた分解生成物として、存在している可能性を示唆している。収着と化学反応の両方が起こるという一定の証拠がある。Uniroyal (1973-1975)は、塩基性水溶液により、温和な方法では抽出されない土壌に結合した残留物から未変化の MH- ^{14}C を放出できることを見出した。

Helweg, (1975^a)は、土壌のアミノ酸分画への ^{14}C の取り込みに関する一定の証拠を見出した。マレイン酸ヒドラジドの微生物分解では、 CO_2 が発生することから、マレイン酸ヒドラジドの分解により生じた CO_2 が天然物に取り込まれる可能性は非常に高い。

マレイン酸ヒドラジドの分解における主要な代謝物である CO_2 、及び代謝経路の中間段階として、少量のマレイミド及び天然物が、検出されたことは明白である。しかしながら、土壌から抽出された少量の ^{14}C 生成物を振りどころとして、代謝経路の全体像を提案することは困難である。フリーラジカルを発生する酸化系のモデルとして、フェントン試薬(Fenton's reagent)を使用した実験との一定の類似性に基づいて、Kaufman 及び Kalayanova (1975)は、図 1 に示されるように、土壌中のマレイン酸ヒドラジドに関する暫定的分解経路を提案した。

Stoessl (1964)は、マレイン酸ヒドラジドの希薄水溶液を酸素の存在下で光酸化すると、類似した生成物(フマル酸、マレイン酸、コハク酸、ギ酸、硝酸)が生成することを報告した。また、他の著者、例えば、Andreae (1955)、Winder 及び Denny (1959) 及び Povolotskaya (1961)らは、マレイン酸ヒドラジドの光酸化反応を確認した。

Frear (1975)は、たばこの根の中にある ^{14}C -MH の結合性残留物は、 $^{14}\text{CO}_2$ に分解され、放出されることを示した。土壌をインキュベートすると、微生物活性により、タバコの根の組織から、43 日間で、約 ^{14}C -MH 及び $3,6\text{-}^{14}\text{C}\text{-MH}^*$ の 18%、 $4,5\text{-}^{14}\text{C}\text{-MH}^{**}$ の 0.5%を $^{14}\text{CO}_2$ として放出した。

* 原文では、 $3,6\text{-}^{14}\text{C}\text{-MH}$ のところ $3,6\text{-}^{14}\text{C}\text{-MH}$ として訳した。

**原文では、 $4,5\text{-}^{14}\text{C}$ のところ、 $^{14}\text{C}\text{-MH}$ として訳した。

その後、引き続き行われた実験では、メタノール抽出の後に、タバコの根に残っている結合性残留物は、4 日間、 80°C のアンモニア水処理によって、部分的に、放出されることが示された。また、この方法によって抽出された ^{14}C は、未変化のマレイン酸ヒドラジドであることが示された。Noodén (1970)は、他の植物におけるマレイン酸ヒドラジドの結合性残留物は、主に、未変化のマレイン酸ヒドラジドで構成されていることを見出した。

植物体内

土壌からの取り込み カナダでは、砂壤土(sandy loam soil) を、マレイン酸ヒドラジドの 0.2、0.5、1 及び 5 mg/kg で処理した。タバコの苗は処理された土壌が入っている植木鉢に植えられ、温室の条件下で育てられた。その後、8 週間では、土壌に加えられた元の量の 10%が残存していた。

マレイン酸ヒドラジドは、最高濃度の 5 mg/kg*で処理された土壌で育成された植物を除き、たばこの青葉からは、検出できなかった。これらの植物の葉における残留物の平均は、0.9 mg/kg であった(Hoffman et al, 1962)。

*原文では、5 mg/kg のところ f 、5 mg/kg として訳した。

Haeberer ら(1974) は、過剰量のマレイン酸ヒドラジドで土壌を処理した後、直ちにたばこを植え付けた (Haeberer et al.,1974)。収穫されたたばこには、残留物は認められなかった。これらの実験から、マレイン酸ヒドラジドは、次年度の作物には移動しないと結論することが可能かも知れない。

植物体における運命 Frear and Swanson (1975)は、温室の条件下で成長したそれぞれ 2 種類の黄色種 (flue-cured)及びバーレー種(Burley)のたばこにおける ^{14}C -MH の取り込みと運命について、調べた。その結果、葉で吸収されたマレイン酸ヒドラジドは、根を含むたばこの植物体において、求頂的及び求基的の両方向に、活発に成長している組織に急速に移動することが示された。すなわち、葉で吸収されたマレイン酸ヒドラジドの大部分は、根に輸送されて、外部媒体に排泄される。しかしながら、大部分がマレイン酸ヒドラジドの未変化代謝物からなるメタノール不溶性残留物として、かなりの割合で、根及びその他の組織に残留する。たばこにおいては、マレイン酸ヒドラジドのメタノール可溶性代謝物は、6-ハイドロキシ-3-(2H)-ピリダゾン (6-hydroxy-3-(2H)-pyridazone)のフェノール性互変異性体(phenolic tautomer)のベータ-D-グルコシド

(β -D-glucoside)である。

同様に、Towers ら(1958)は、このベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)を、たばこの葉から見出した (Towers et al. 1958)。Towers らは、たばこの葉にあるマレイン酸ヒドラジドの 15%は、そのベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)に変換されることを報告した。この代謝物は、リンゴ及び柳にも認められた。

Callaghan (1961)は、アリウム・ケルヌーム(*Allium cernuum*)、ソラマメ(*Vicia faba*)及びヌママラサキツユクサ(*Tradescantia palludosa*)の根端細胞*のヘテロクロマチンにマレイン酸ヒドラジドが取り込まれることを報告した。

* 原文では、colls のところ、cells として訳した。

Biswas らは、 ^{14}C -MH を含む栄養溶液で育成した茶の木から 2 種類の未知の変換生成物を単離した。彼らは、様々な開環モデルについて、仮説を立てたが、それらに関する実験的な証拠を提供しなかった(Biswas et al. 1967)。

Nooden(1970)は、根を用いた ^{14}C -MH の取り込み実験から、マレイン酸ヒドラジドは、80%エタノールに不溶な安定な複合体として、細胞壁断片に結合していると結論した。結合型のマレイン酸ヒドラジドは、アミノエタノールで組織を加熱することによって放出することができた。この方法によって放出された ^{14}C -標識物質について、クロマトグラフィーを行うと、マレイン酸ヒドラジドの分解を示唆する結果はなく、未変化体のまま細胞壁に結合していることが示された。

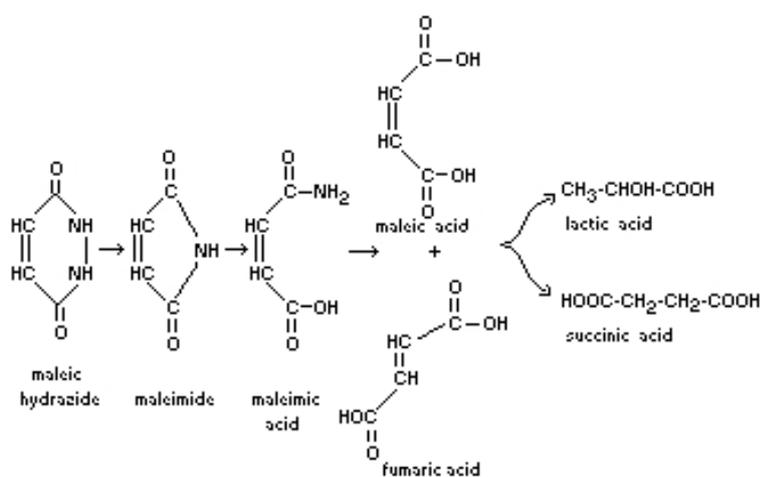


Figure 1. Suggested degradation pathway of maleic hydrazide in soil.

図 1. 示唆されたマレイン酸ヒドラジドの土壌中における分解経路

たばこ及びその他の植物に関する実験から、主要な残留物は、未変化のマレインヒドラジド(遊離体又は結合体)及びそのベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)であると結論づけられる。たばこ及び調べられたたばこ以外の作物において、N-N 結合の開裂及び環状構造の開環は、重要な代謝経路であるとは考えにくい。

植物の生化学プロセスに対するマレイン酸ヒドラジドの影響.

Pattersonらは、収穫の約6週間前に、2500 mg/Lで葉面散布するとき、7°Cで7ヶ月、貯蔵された塊茎の還元糖及び非還元糖が減少することを明らかにした。塊茎が13°Cで貯蔵された場合は、同様な作用がみられるものの顕著ではなかった(Patterson et al. 1952)。

また、別の実験では、じゃがいもを収穫前に葉面処理に続いて低温状態(0.5 - 4°C)で貯蔵された場合、還元糖又は蔗糖の蓄積に対する作用は、認められなかった(Gooding and Hubbard, 1956)。

貯蔵、処理及び調理の場合(原文 p.9)

家庭における調理 マレイン酸ヒドラジドは、家庭における調理の間は、かなり安定である。タマネギを1時間30分調理した後では、元の残留物の80%は、まだ、検出可能であった。この内、約25%はタマネギに残留し、約75%は煮汁の中に認められた(R.I.V. Netherlands, 1964)。

たばこ及びたばこの煙への持ち込み マレイン酸ヒドラジド(2.25 kg a.i./h)で処理されたたばこから作られた紙巻きたばこは、10-30 mg/kgのマレイン酸ヒドラジドを含有していた。自動喫煙機を用いて、30 mg/kgのマレイン酸ヒドラジドを含有する紙巻きたばこを喫煙させると、元の残留物の93%は分解したか、又は、副流煙に移動した。一方、同様に、10 mg/kgのマレイン酸ヒドラジドを含有する紙巻きたばこを喫煙させると、主流煙には、マレイン酸ヒドラジドは検出できなかった。¹⁴C-MHの105 mg/kgを含有する紙巻きたばこを用いた第3の実験では、放射能の25%が主流煙に認められた。この実験(Stone, 1957)は、未発表であるが、Guthrie and Bowery, 1967によって、引用された。

市場において、食品中に移動した残留物(原文 p.9)

本会議は、当該情報を入手できなかった。

残留物の分析方法(原文 p.10)

植物組織におけるマレイン酸ヒドラジド残留物を分析する分光学的方法は、当初、Wood (1953)によって開発され、Laneらによって改良された(Lane et al. 1958)。サンプルをアルカリ性溶液中で沸騰させ、測定を妨害する揮発性塩基を除去した後、窒素雰囲気下で、亜鉛とともに蒸留すると、ヒドラジンが放出される。放出されたヒドラジンを、p-ジメチルアミノベンズアルデヒドを含有する酸性溶液中で反応させる。黄色の反応生成物は、分光光

度計で測定される。この方法は、高感度(定量限界は 0.5-1mg/kg)ではないが、行政目的には適合可能である。

分光光度計を用いたマレイン酸ヒドラジド残留物の定量に関する Wood 法の改良法が紹介されている (Hoffman 1961 and Hoffman et al. 1962)。

非結合性マレイン酸ヒドラジド残留物に関して、GLC を用いた迅速定量法が開発された (Haeberer et al. 1974) 及び (Haeberer and Chortyk 1974)。植物体にある物質は、ジメチルホルムアミド (dimethylformamide) 又は、直接的に N, O-ビス(トリメチルシリル)アセトアミド(N,O-bis (trimethylsilyl) acetamide)を用いて、抽出される。

加熱処理(100°C、30 分間)によって生成したビス(トリメチルシリル)誘導体は、水素炎イオンガスクロマトグラフィー(flame ionization gas chromatography)を用いて測定される。植物に由来する干渉物質は、酢酸エチルを展開溶媒としたアルミナ薄層クロマトグラフィー(TLC)によって、除去される。タバコ粉末に 0.5-10 mg/kg の割合で添加されたマレイン酸ヒドラジドの回収率は、94-108%であった。

各国の許容値 (原文 p.10)

本会議に報告された各国における許容値について、表 3 に示す。

表 3. 本会議に報告された各国におけるマレイン酸ヒドラジドに関する許容値

国	生産物	許容値(mg/kg)
アルゼンチン	じゃがいも	50
	レタス	0.1
カナダ	じゃがいも	50
	甜菜、ニンジン、カブカンラン(swedes) (ルタバガ、rutabagas)	30
	タマネギ	15
オランダ	タマネギ	15
	その他の野菜、果物、その他の農業生産物	0*
米国	ポテトチップ	160**
	じゃがいも	50
	タマネギ (乾球)	15

* 定量限界 = 1 mg/kg

** 最終製品の重量に基づく

評価（原文 p.11）

マレイン酸ヒドラジドは、タマネギの発芽抑制剤として、各国で、大々的に使用されている。また、少数の国においては、マレイン酸ヒドラジドは、じゃがいもには、同様の目的で、たばこについては、吸枝の成長抑制のために使用されている。タマネギ及びじゃがいもの両方について、作物の地上部における生物過程がまだ非常に活発である場合に、マレイン酸ヒドラジドは、収穫前に散布剤として用いられる。マレイン酸ヒドラジドは、植物体に広範に浸透して、師管部を通じて、球根及び塊茎を含む活発に成長している組織に輸送される。残留物は、かなり長期間、これらの組織に十分に残留する結果、休眠を誘導し、発芽を抑制する。タマネギの残留物に関しては、作物残留試験による結果が各国から、及びじゃがいもの残留物に関しては、2 カ国から、広範な情報が提供された。一方、紙巻きたばこ及びたばこの煙に関するデータも含めて、リンゴ、人参及びたばこの残留物に関しては、データは限定的であった。

土壌及び植物体における代謝経路に関しては、かなりの情報が入手できる。マレイン酸ヒドラジドの生分解には、一定の証拠が得られている。すなわち、土壌中におけるマレイン酸ヒドラジドの生分解は、バクテリア及びその他の微生物によって引き起こされ、マレイミド(maleimide)及びマレイミン酸(maleimic acid)を経由して、例えば、マレイン酸(maleic acid)及びフマル酸(fumaric acid)*のような天然の有機酸に導かれる。これらの有機酸は、乳酸(lactic acid)及びコハク酸(succinic acid)に、そして、最終的に炭酸ガスに変換される。

*原文では、fumaric acid となっているが、fumaric acid として訳した。

たばこ及びその他の植物に関する実験から、植物体における主要な残留物は、遊離型であったり又は細胞壁断片に強く結合している未変化のマレイン酸ヒドラジド及びフェノール性互変異性体(phenolic tautomer)の 6-ヒドロキシ-3-(2H)-ピリダゾン(6-hydroxy-3-(2H)-pyridazone)の β-D-グルコシド*(β-D-glucoside)から構成されていると考えられる。N-N 結合の開裂及び開環は、調べられた作物における重要な代謝経路であるようには考えられない。

* 原文では、β-D-glucoside となっているところ、β-D-glucoside として訳した。

残留しているマレイン酸ヒドラジドは、調理の時間中は、かなり安定である。タマネギを家庭で、普通に調理した場合、タマネギ及び煮汁に、それぞれ、約 20%及び 60%が残留していた。

ポテトチップスの製造においては、乾燥及び油で揚げる工程では、マレイン酸ヒドラジドは、ほとんど消失しない*ことが示された。

*原文では、lose となっているが、loss として訳した。

ポテトチップスの製造工程では、水分が失われるために、工業製品中に残留しているマレイン酸ヒドラジドの濃度は、新鮮なじゃがいもよりも高い。

圃場で処理されたたばこから作られた紙巻きたばこ及び 30 及び 10 mg/kg のマレイン酸ヒドラジドを含んでいる紙巻きたばこを喫煙機を用いて喫煙させると、30 mg/kg の場合、もとの残留物の 93%は分解したり、又は副流煙に移動したが、10 mg/kg の場合は、主流煙には、マレイン酸ヒドラジドは、検出できなかった。

かなり特異的な分光学的分析法は、入手可能である。この方法は高感度(定量限界:0.5-1 mg/kg)ではないが、行政目的には適合可能である。

最近、水素炎イオンガスクロマトグラフィー(flame ionization gas chromatography)によりビス(トリメチルシリル)誘導体を測定する高速定量的 GLC 法が開発された。本法が、遊離型の残留マレイン酸ヒドラジドのみならず結合型の未変化体マレイン酸ヒドラジド及びそのベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)にも適合できるかどうか、そして、たばこ以外の農作物にも使用できるかどうかについては、確かではない。

評価 (原文 p.11)

一日摂取許容量(ADI)を、割り当てられなかったため、最大残留許容量については、勧告できなかった。タマネギ及びじゃがいもに関する指針値を記録するために、データは十分であった。

以下の指針値が、勧告される。すなわち、これらの値は、遊離及び結合している未変化のマレイン酸ヒドラジド及びそのベータ-D-グルコシド(β -D-glucoside)の総計である。

生産物	mg/kg
じゃがいも	50
タマネギ	15

追加の作業又は情報(原文 p.11)

必要 (一日摂取許容量が割り当てられ、最大残留許容量が勧告される前に)。

1. 現在、進行中であるラットを用いた発がん性試験の結果。
2. ナトリウム塩又は遊離酸に関する催奇形性試験。
3. 作物の中及び表面に存在している可能性があるヒドラジンに関する状況を明らかにする追加試験。

4. タバコ、ニンジン及びカブカンラン(swedes)及び類似した作物のために作成された使用上の勧告に関連して、これら以外の作物に関する残留物データ。
5. 畜産用動物におけるマレイン酸ヒドラジド及びその代謝物の運命に関するデータ、及びマレイン酸ヒドラジド残留物を含む農産物(例えば、じゃがいも)を飼料として与えた後、動物由来の生産物における残留物の運命に関するデータ。
6. じゃがいもの残留物に対する調理の影響及び多様なじゃがいも製品(例えば、ポテトチップス、乾燥じゃがいも及びじゃがいも澱粉)の製造工程で使用される各種の方法が残留物に与える影響に関するデータ。
7. 行政目的に適合するガスクロマトグラフィー法に関する一層の開発。
8. 生のたばこから乾燥加工したたばこ及び紙巻きたばこの煙に持ち込まれるマレイン酸ヒドラジドに関する追加の情報。

期待される検討 (原文 p.11)

1. マレイン酸ヒドラジドのベータ-D-グルコシド(beta-D-glucoside)の代謝に関する実験。

文献

マレイン酸ヒドラジドの毒性試験と結果の概要（評価書:JMPR 1976）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性(経口)	ラット	(ジエタノールアミン塩)	LD ₅₀ *:1180 mg/kg 体重
急性毒性(経口)	ラット	(ナトリウム塩)	LD ₅₀ *:5800 mg/kg 体重
短期毒性(混餌・12週間)	ラット (雄/雌)	0, 0.5, 1, 2, 5%(ナトリウム塩)	毒性影響なし NOAEL=5%
短期毒性(混餌・12週間)	ラット (雄/雌)	0, 0.1, 1.0%(ジエタノールアミン塩)	1.0%:死亡, 摂餌効率減少, 多核白血球/リンパ球比増加, 運動協調性, 筋制御の消失, 脳浮腫 0.1:血色素量, 赤血球数減少傾向
短期毒性(強制経口・5週間)	イヌ	1000 mg/kg 体重(ナトリウム塩)	毒性影響なし NOAEL=1000 mg/kg 体重
短期毒性(混餌・1年間)	イヌ (雄/雌)	0, 0.5, 1.0 %, 2.0 % (ナトリウム塩) 1.0%(ジエタノールアミン塩)	(ナトリウム塩) 毒性影響なし NOAEL=2 % (ジエタノールアミン塩) 1.0%:死亡, 脳の水腫状変化, 脊髄神経変性, ミエリン鞘腫大(37日までに試験中止)
短期毒性(呼吸器系・経鼻)	ラット	50-400 mg/kg 体重(ジエタノールアミン塩)	400:死亡(2/10), 肺の出血, 帯黄色の滲出液, 胸部の癒着, 努力性呼吸(7/10)
長期毒性(混餌・2年間)	ラット (雄/雌)	0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 %(ナトリウム塩) 0, 0.1%(ジエタノールアミン塩)	(ナトリウム塩) 毒性影響なし NOAEL=5 % (ジエタノールアミン塩) 0.1%:死亡率増加, 血色素量, 赤血球数減少, 非蛋白性窒素増加
皮膚刺激性(反復投与・5日間)	ウサギ	擦り傷/無傷	皮膚刺激性なし
眼刺激性	ウサギ	5%溶液(ジエタノールアミン塩)	眼刺激性なし
皮膚感作性	モルモット	0.1%溶液(ジエタノールアミン塩)	皮膚感作性なし
発がん性(皮下・49週間)	マウス (雄)	0, 3, 55 mg	肝臓がんの発生率 55:73% 3:18% 0:8% 転移なし
発がん性(強制経口・混餌・19ヶ月)	マウス (雄/雌)	1000 mg/kg 体重(強制経口) 3000 ppm(混餌)	毒性影響なし
発がん性(皮下・14ヶ月間)	ラット	0, 5 mg(ジエタノールアミン塩)	肉腫の発生率 5:3/55例 0:肉腫の発生なし

発がん性(皮下・100週間)	ラット	0, 500 mg(1回/週)(モノナトリウム塩)	肉腫の発生率: 1/29例 0:肉腫の発生なし
発がん性(混餌・100週間)	ラット	0, 1%	(雌) 全腫瘍発生率の増加
発がん性(皮下・100週間)	マウス	0, 500 mg(1回/週)(モノナトリウム塩)	毒性影響なし
発がん性(混餌・100週間)	マウス	0, 1%	(雌) 全腫瘍発生率の増加
発がん性(皮下・65週間)	ラット(雄/雌)	0, 2 mg	皮下腫瘍発生率 2:4例 0:1例
発がん性(混餌・26週間)	ラット(雄)	0, 1%	毒性影響なし
多世代生殖発生毒性(混餌)	ラット(雄/雌)	(ナトリウム塩) 0, 0.5, 1, 2, 5% (ジエタノールアミン塩) 0, 0.1%	(ナトリウム塩) 5%:(親動物) 1腹の産児数減少(F3世代) (児動物) 離乳時の体重減少(すべての世代) (母動物・児動物) NOAEL=2% (ジエタノールアミン塩) 0.1%:(母動物) 受胎能, 1腹の産児数減少 (児動物) 生存率, 哺育率減少
変異原性(突然変異, <i>in vitro</i>)	ネズミチフス菌(8株), バクテリオファージ (T ₄ , AP72)		陰性
変異原性(復帰突然変異, <i>in vitro</i>)	ネズミチフス菌		陰性
細胞分裂阻害(<i>in vitro</i>)	マウス, モルモットの耳の皮膚	0.0001-0.001M(マウス) -0.01M(モルモット)	毒性影響なし
細胞増殖阻害(<i>in vitro</i>)	マウス胸腺細胞, ヒトリンパ球		>=0.001M:細胞増殖阻害(マウス胸腺細胞) >=0.0001M:細胞分裂阻害(マウス胸腺細胞) 0.001-0.01M:細胞分裂阻害(ヒトリンパ球)
変異原性(致死突然変異, <i>in vivo, ip</i>)	キイロショウジョウバエ(雄)	0.4%(0.7%塩化ナトリウムリンゲル溶液)(投与量不明)	陰性
変異原性(致死突然変異, <i>in vivo</i>)	キイロショウジョウバエ(雄)	0.4%(0.7%塩化ナトリウムリンゲル溶液)(培地)	陽性(初回同腹児)
変異原性(優性致死, <i>in vivo</i>)	マウス	500 mg/kg	陰性
その他			該当する試験なし
一日摂取許容量(ADI)			割り当てられていない

*マレイン酸ヒドラジド残基として。

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
a. i.(AI)	Active Ingredient	有効成分
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
GLC	Gas-Liquid Chromatography	ガス液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際癌がん研究機構
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD ₅₀	50% Lethal Dose	半数致死量
MH	maleic hydrazide	マレイン酸ヒドラジド
PHI	Pre-Harvest Interval	(当該成分含有農薬の最終使用時期の) 収穫前日数
TLC	Thin-Layer Chromatography	薄層クロマトグラフィー
WHO	World Health Organization	世界保健機関

マレイン酸ヒドラジド 評価書和訳と情報整理

JMPR: 1984

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v84pr28.htm>

674. Maleic hydrazide (Pesticide residues in food: 1984 evaluations)

マレイン酸ヒドラジド 評価書和訳と情報整理 JMPR(1984) 目次

説明 (原文 p.1)	45
同一性 (原文 p.1)	45
工業製品の純度 (原文 p.1)	45
食品中の残留物及びそれらの評価(原文 p.2)	46
使用目的 (原文 p.2)	46
じゃがいもへの使用 (原文 p.2)	47
タマネギへの使用 (原文 p.3)	48
残留物の運命(原文 p.3)	48
植物体中(原文 p.3)	48
土壌中 (原文 p.4)	50
商業及び消費における食品中の残留物(原文 p.5)	51
じゃがいも (原文 p.5)	51
タマネギ (原文 p.6)	51
残留物の分析法 (原文 p.6)	52
評価 (原文 p.6)	53
勧告 (原文 p.7)	54
引用文献	54
マレイン酸ヒドラジドの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1984)	55
略称	55

説明	1
同一性	1
工業製品の純度	1
食品中の残留物及びそれらの評価	2
使用目的	2
じゃがいもへの使用	2
タマネギへの使用	3
残留物の運命	3
植物体中	3
土壌中	4
商業及び消費における食品中の残留物	5
じゃがいも	5
タマネギ	6
残留物の分析法	6
評価	6
勧告	7
引用文献	7
Explanation	1
IDENTITY	1
Purity of the Technical Product	1
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION	2
USE PATTERN	2
Use on potatoes	2
Use on onions	3
FATE OF RESIDUES	3
In plants	3
In soil	4
RESIDUES IN FOOD IN COMMERCE OR AT CONSUMPTION	5
Potatoes	5
Onions	6
METHODS OF RESIDUE ANALYSIS	6
APPRAISAL	6
RECOMMENDATIONS	7
REFERENCES	7

食品における残留農薬-1984

国際連合食糧農協機関(FAO)及び世界保健機関(WHO)による共催。

評価 1984

モノグラフ

食品及び環境中の残留農薬に関するFAO/WHO合同残留農薬専門家会議FAOパネル及び残留農薬に関するWHO専門家グループの勧告及びデータ

ローマ、1984年9月24日- 10月3日

国際連合食糧農業機関

ローマ、1985年

マレイン酸ヒドラジド

説明 (原文 p.1)

マレイン酸ヒドラジドは、1976年、1977年及び1980¹⁾年に評価された。ナトリウム及びカリウム塩に関する暫定一日摂取許容量(ADI)は、1980年に、見積もられた。また、以前に記録された指針値は、暫定最大残留許容量に変更された。

米国におけるマレイン酸ヒドラジドの生物学的及び経済的特徴に関する広範囲にわたる審議については、その他の情報とともに、入手可能である。また、この審議によって、本会議では、1976年及び1980年FAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)によって提起された質問に答えることできた。(米国農務省、1979年)。

同一性 (原文 p.1)

工業製品の純度 (原文 p.1)

1980年の評価では、そこで見積もられた暫定一日摂取許容量(ADI) は、15 mg/kgまでのヒドラジンを含んでいるマレイン酸ヒドラジドに言及していることが記載された。しかし、これは、印刷上の間違いであった。この値は、動物を用いた摂餌投与試験で使用されたマレイン酸ヒドラジド中に存在するヒドラジン濃度の上限値であり、この濃度では、実験動物にがんを発生させなかった。この数値は、1.5 mg/kgのはずであった。1980年の会議では、1.5 mg/kgとして、正しく記載された。

Liuらは、市販のマレイン酸ヒドラジド製剤は、0.14-870 mg/kgまでの間で変動するヒドラジンを含有していることを報告した(Liu et al., 1974)。また、Bakkerらは、マレイン酸ヒドラジド製剤に関する調査結果を報告した。その内、幾つかの製剤については、10週間、50°Cで貯蔵されたものを含んでいた(Bakker et al., 1983)。マレイン酸ヒドラジドの濃度が180-360g/Lである市販の14製剤について、調査された。これらの製剤では、マレイン酸ヒドラジドに含まれるヒドラジン含有量は、0.05未満から53 mg/kgまで多岐にわたった。10週間、50°Cで貯蔵された2サンプルの場合、ヒドラジン含有量は、それぞれ2.2から120 mg/L及び0.4から54 mg/Lまで増加した。製剤の内、13サンプルはジエタノールアミン塩であり、その他は、カリウム塩であった。カリウム塩のヒドラジン含有量は、0.05 mg/kg未満であった。その後の調査(私信)では、すべてのカリウム塩サンプルのヒドラジン含有量は、1 mg/kg未満であり、50°Cにおける貯蔵では安定であることが分かった。

^{1/} 国際連合食糧農協機関(FAO)及び世界保健機関(WHO)文書に関する付属書2を参照。

米国における主要な製造業者は、1980年に撤退したことから、市販の製剤に不純物として含まれる可能性のあるヒドラジンの存在に関する懸念は減少した。会議では、ヨーロッパ市場から、ジエタノールアミン塩の供給がすべてなくなったとは確信されなかったが、国際連合食糧農協機関(FAO)の規格が採択されて、実行されるべきであることが勧告された。このことにより、マレイン酸ヒドラジドに含まれる不純物のヒドラジンについて、1 mg/kgの限度値を盛り込むことになった。

食品中の残留物及びそれらの評価(原文 p.2)

使用目的(原文 p.2)

マレイン酸ヒドラジド(MH)、ジエタノールアミン塩(DEA-MH)及びカリウム(K-MH)塩について、それぞれ2製剤が、長年、市場で販売された。しかし、K-MH製剤の効果を増大させる方法が見いだされたときに、主要な製造業者が、1980年に、DEA-MH製剤の製造を中止した。

その時以来、K-MH製剤が主に使用されてきた。散布量は、3.3kg/haである。マレイン酸ヒドラジド(MH)は、植物体全体に作用を及ぼすため、たばこの吸枝管理及び貯蔵しているじゃがいもやタマネギの発芽管理に重要になっている。

米国で販売されている全MHの約80%(1,450,000 kg a.i.)が、たばこの吸枝管理に使用されている。また、貯蔵じゃがいも及びタマネギの発芽抑制には、それぞれ16.3% (300,000 kg)及び約1.5% (30,000 kg)を占めている。とりわけ、オーストラリア、カナダ、チェコスロバキア、イタリア、ケニア、オランダ及び台湾では、同様に、K-MH製剤は、たばこ、じゃがいも及びタマネギに使用するために、登録されている。また、ブルガリア、コロンビア及びメキシコでは、タバコのみに関して、登録されている。MH製剤は、カナダでは、その他の根菜類について、使用されている。

じゃがいもへの使用（原文 p.2）

貯蔵じゃがいもは、発芽が抑制されていない限り、5°Cを超える温度で発芽する。しかしながら、温度が7°Cを下ると、じゃがいもの中にある澱粉は、糖に変換されるが、この変化により、ポテトチップス及びフレンチフライのような調理したじゃがいも製品に見られるような容認できない暗褐色を生じさせる。それ故、抑制剤の使用は、必須である。

米国では、毎年、秋作物のじゃがいも、約137万トンを生産する。その内、120万トンは1ヶ月間又はそれより長期間貯蔵される。米国におけるじゃがいもの全生産量の半分以上は、太平洋側の北東の3州が栽培している。すなわち、アイダホ州、ワシントン及びオレゴン州である。同様に、この3州は、じゃがいもの加工が行われる主要な州でもある。食品に使用されるじゃがいもの全生産量の31%は、ある種の冷凍じゃがいも製品に加工される。また、13%はポテトチップスに加工、7%は脱水、2%は缶詰にされて、残り47%はそのまま生鮮じゃがいもとして販売される。ある種の発芽抑制剤は、秋作物のじゃがいもの約60%に使用される。

MHは、貯蔵することになっている秋作物のじゃがいもの緑色の蔓に対して、圃場に散布される。この処置により、発芽が抑制され、本来の高品質が維持される。入手できた最も信頼できる数値では、27.2万-32万kgのMHを用いて、毎年、22万トンのじゃがいもが処理されている。すなわち、じゃがいも圃場の8万-10万ヘクタールに散布される。散布1回について、推奨量3.3kg a.i./haが、満開後2-3週間の蔓に散布される場合、収量は低下しない。生育期に、あまり早期にMHを散布したり、推奨量の2倍を超えて散布すると、芽の先端部のひび割れや、幾つかの例では、じゃがいもの塊茎の頂端部内部に斑点状の褐斑を生ずる可能性がある。MHは、葉から吸収され、塊茎に移行し、そこで、外部及び内部の発芽を抑制する。

MHは、植物体の内部に働く作用様式のために、収穫時に圃場に残存した塊茎の成長を妨げて、次年度に自生植物(volunteer plants)に成長することを妨げる唯一の化合物である。これらの自生植物(volunteer plants)は、もしも、成長することができると、葉捲ウイルス(leaf roll virus)の温床となって、収量を低下させ、多くの品種で"網状壊死(net necrosis)"と呼ばれる内部の変色を引き起こす。これにより、しばしば、塊茎は、生鮮じゃがいもとして利用できなくなったり、多くの加工様式に適さなくなってしまう。自生じゃがいも(volunteer potatoes)の成長を抑制することは、葉捲ウイルスの接種の発生源の可能性を98%ほども減らすことになる(Sparks, 1978)。同様に、自生じゃがいもは、収穫している機械を妨害し、他の植物と競合したり、又は、汚染する可能性がある。自生じゃがいもを抑制する発芽抑制剤に関する代替物は、知られていない。なぜなら、他のすべての抑制剤は、塊茎が収穫されて、圃場から除去された後に、散布されるからである。自生植物の管理に関する他の方法については、より高価で部分的にのみ有効である。

MHは、じゃがいも塊茎の発芽を管理することに加えて、塊茎の品質及び価値を増加させることが、一部の研究者によって見いだされた。Wittwer and Patterson (1951)は、MH-処理されて、低温で維持された塊茎では、糖の蓄積がより少なく、未処理の対照よりも明るい色のポテトチップスが生産されると記載している。Pattersonらは、MHで処理することにより、結果として、還元糖の含有量がより減少することを示唆した(Patterson et al., 1952) (1976年評価書を参照)。

タマネギへの使用 (原文 p.3)

マレイン酸ヒドラジドは、貯蔵されたタマネギの発芽を抑制するために使用される。MHは、鱗茎が成熟したとき、2.2kg/haで圃場に散布される。化合物が十分に吸収するためには、5-7枚の緑色の葉が必須である。作物は、散布の2-4週間後に収穫され、先端部は除去される。その後、タマネギは、貯蔵に先立って保存処理がなされる。

MH処理は、その直接作用に加えて、間接的な便益があり、それは、しばしば次の季節に病気の原因となる自生タマネギ(volunteer onions)を排除することにある。

残留物の運命(原文 p.3)

植物体中(原文 p.3)

MHは、植物の葉に吸収され、容易に別の場所に移行する。木質部から師管部に移動するが、その逆もまた起こって、化学物質は、葉に適用した後、植物体中に分配される(Crafts, 1959, 1967; Crafts and Yamaguchi, 1958)。移行に関する初期の研究では、14C-MHから導かれた14Cを含んでいる移行化合物は同定されなかったが、おおむねMHであると推測された。たばこを用いたより新しい研究では、14C-標識MHは、そのままの分子として、葉から葉へ移動することが示された(Frear & Swanson, 1978)。

管理された条件のもとで、バーレー種たばこは、14C-標識MHを用いて処理され栽培された(Davis and Grunwald, 1974)。相対湿度が75%より100%の場合、より多くの14C-MHが吸収された。光は、ディスク状にした葉にMHの取り込みを促進したが、これは、蒸散の増加によるものではなかった。14C-MHは、処置された場所から移動して、移行した放射能の大部分は、先端の葉から回収された。

Davis and Atkinson (1976)による他の研究では、たばこの上部の葉をMHで処理すると、24時間以内に、未処理の下部の葉の濃度は、約100 mg/kgに達した。上部の葉の濃度は、MHで処理された場所から搬送されるにつれて、初期濃度の300 mg/kgから急激に減少した。ノースカロライナで行われた試験では、黄色種たばこの中間の茎の中にある残留物は、適用直後には平均して514 mg/kgであったが、日照りの10日間の収穫期間では344 mg/kgにまで減少した。残留物濃度の減少は、統計学的に有意ではなかったが、残留物が経時的に減少することが示唆された。さらに、処置後3日目に5.7 cmの降雨があった別の場所における姉妹実験では、処置後4日目までに、残留物は66%まで減少した。

Pendergrass (1969)は、成熟間際のタマネギ22株に、14C-MHを茎葉散布した。適用した14C-MHの比活性は、0.3 MCi/mmolであり、湿潤剤のDupanol WAQ 1.000 mg/Lと混合した。総投与量をタマネギあたり10uCiにするため、この溶液の0.1 mLをタマネギあたり4葉の内部の空洞に注射した。非標識MHを用いた別の実験では、タマネギの発芽抑制のために、通常の散布量を用いて、MHが散布された。その結果、MHの分布はかなり均一で、適用したMHの69%が鱗茎に移動することが示された。タマネギの成長において、この時点で

は、植物体の全重量の約30-35%が茎葉である。総MHの内、49%は、外側の鱗茎葉(outer bulb leaves)に、16%は内部のシュート葉(inner shoot leaves)に、4%は板根(root plate)に存在した。しかしながら、板根(root plate)では、外側の鱗茎葉(outer bulb leaves)で見いだされた6倍の濃度であった。調理の場合は、タマネギの鱗茎の大部分の板根(root plate)は、変色していたり、汚れているように見えるために、廃棄される。たとえば、凍結したオニオンリングのフライのような調理した製品には含まれていない。

Crafts (1959)の実験結果から、MHは、じゃがいもの切断面に適用した後、2日以内に容易に塊茎組織に拡散することが示された。カナダで実施された試験では、満開の3週間後に、MH 2500 mg/Lの濃度でじゃがいも茎葉に散布され、発芽を抑制する十分量が、24時間で吸収された(Franklin, 1959)。塊茎の残留物は、6 mg/kgであった。吸収時間が48時間の場合、発芽は完全に抑制された。塊茎中の残留物は、適用後1週間では、最大36 mg/kgまで増加した。

移行に関する初期の研究では、MHは、移行経路に沿った貯蔵組織には、容易に留まらないことが示された(Crafts, 1959)。しかしながら、同一時期に行われた他の研究では、MHのベータ-D-グルコシド(beta-D-glucoside)は、たばこのニコチアナ・ルスチカ(Nicotiana rustica)、ニコチアナ・サンデラエ(N. sanderae)及び他の代表的な3種類の植物で生成されることが示された(Towers et al., 1958)。葉の組織には、MHの約15%が、グルコシドとして存在していた。たばこにおけるMHの運命に関する最近の研究では、ニコチアナ・タバカム(Nicotiana tabacum)においても、ベータ-D-グルコシド(beta-D-glucoside)の生成が確認された(Frear & Swanson, 1978)。

MH残留物は、時間とともに減少するけれども、この成長調整剤は、植物組織内で、ただ緩慢に分解し、残留物は、長期間、持続する可能性がある。たばこの葉に適用後4週間では、MHの17-22%は、未変化のまま残存し、メタノールで抽出可能であった(Frear & Swanson, 1978)。メタノールに可溶である代謝物は、適用された14Cの14-18%の範囲で存在していた。適用後、短期間の新鮮組織では、14C-標識の99%がトリクロロ酢酸-アセトン及び過塩素酸で抽出可能であった。しかしながら、乾燥加工したたばこでは、放射能のすべては、RNA, DNA及び蛋白質から回復された(Davis & Grunwald, 1974)。同様に、Frear and Swanson (1978)は、適用した14Cの27-33%は、葉の処理の4週間後では、メタノール不溶性分画に存在していたことを報告した。この分画の大部分は、根から見いだされた。また、葉に適用したMHの30-40%は、栽培用の媒体に未変化体として排泄された。Davis and Grunwald (1974)は、MHの茎及び根への移行には、相対湿度が影響することを示した。移行、排泄及び配糖体(glucoside)の生成に関しては、選択されたたばこの品種である黄色種及びバーリー種ともに同様であった(Frear & Swanson, 1978)。

MHの成長調節作用が最初に認識されて以来、研究者は、MHに対する植物の形態学的及び生理学的応答に関する研究を行ってきた。MHに関する文献の纏めには、引用された主要な観察結果の概要と同様に多数の引用文献及び抄録を含んでいる(Zukel, 1957, 1963)。Crafts (1953)、Woodford et al. (1958)及びShaw et al. (1960)によるレビューでは、MHは、簡潔に考察された。

MHは、非常に低い蒸気圧(50°Cでは基本的に0)であるため、土壌及び植物体表面から蒸発によって、失

われることは無視できると結論された。この結論は、葉の表面からのMHの損失率に関する観察結果からも、支持されている(Smith et al., 1959)。

土壌中 (原文 p.4)

土壌からの損失率に関する公表データにおいては、MHは急速に消失することが示されている。Levi and Crafts (1952)によって報告された実験では、土壌処理の2ヶ月後に、11種類のカリフォルニア土壌に植えられたカラスムギは、MHが80 mg/kgでは、いずれの土壌でも、障害を受けなかった。しかしながら、処理後すぐに植えられたカラスムギでは、土壌中のMHが5 mg/kgでも障害を受けた。ある種の土壌中では、初期濃度が490 mg/kgのような高濃度であっても、適用の2ヶ月後に植えられたカラスムギには毒性を示さなかった。その後、より精密な検出法を用いた実験室条件下での研究では、土壌中のMH濃度は、3週間で、100 mg/kgから5 mg/kgまで減少した(Helweg-Anderson, 1971)。同一著者による別の実験では、4.5及び9 kg/haで適用した場合、12日間で、約90%が消失することが示された。適用80日後では、痕跡量のみが存在した。また、Hoffman らによって報告された実験では、散布量が2.25 kg a.i./haの場合、適用直後では、土の表面から15cmにおける残留物は1mg/kgであった (Hoffman et al., 1962)。MHの消失は、砂及び泥では非常に速く、粘土質土壌では速くはなかった。一方、農家がバーレー種たばこに15 kg a.i./ha でMHを散布した場合では、12ヶ月後の土壌に残留物を検知することはできなかった。同様に、前年度に推奨量(170 mg/植物)で作物が処理された土壌で栽培されたたばこの葉には、MHの残留物は、検出されなかった(Davis & Massie, 1977)。

その後に行われた試験では、20 mg/kgあるいはそれ以下の濃度においては、MHの分解は1次速度式に従ったが、120 mg/kgでは、より正確に消失を説明しているゼロ次速度式に従うことが示された(Helweg 1975a, 1975b)。また、活性炭を土壌に添加すると、分解を遅らせた。土壌中では、時間とともに活性炭の分解を遅延させる能力は減少した。土壌中では、MHの植物に対する毒性作用が急速に減少するが、この現象には、微生物が関与していることが強く示唆された(Levi and Crafts 1952)。一方、MHのジエタノールアミン塩をエネルギー源として利用することができる2種類の土壌細菌(*Alcaligenes faecalis*及び*Flavobacterium diffusum*) の分離が報告された(Lembeck and Colmer, 1957)。さらに、MHの植物に対する毒性作用は、バクテリアの作用によって減少することが、同著者らによって示された。

Helweg-Anderson(1971)は、オートクレーブ処理又はガンマ線照射によって、土壌を滅菌すると、MHの分解が妨げられることを示したが、この結果から、Lembeck and Colmer (1957)の初期の報告が確認された。土壌の滅菌剤としてカリウムアジド(potassium azide)を用いた場合も、同様な結果が得られた(Kaufman and Kalayanova, 1977)。MHの分解に関するもう一つの文献では、26 mg/kgで処理された土壌に添加された14Cは、培養20日で45%が、255日で56%が放出された(Helweg 1975b)。しかしながら、唯一の炭素源としてMHを利用することができる微生物は、分離されなかった。従って、もし、微生物が関与するならば、初期分解は、共代謝(co-metabolism)によってであると結論された。最近の研究から、化学的なメカニズムによって、まず、MH環の開裂がおこり、その後、土壌微生物によって分解することが示唆された(Kaufman and Kalayanova, 1977)。この研究によって、土壌中のMHの分解経路が確立したが、ヒドラジンの生成についての証拠は得られ

なかった。

MHの土壌への移動に関する情報は、限定的である。バイオアッセイを用いた溶出実験では、土壌カラムの表面に、相対的に大量の水が添加されたとき、MHは、下方に置換されることが示された(Levi and Crafts, 1952)。MHは、急速に分解されると云う事実から、散布量が過剰であったり、散布の後すぐに降雨があったときを除き、一般的には、土壌中で数センチメートル下への移動は除外される。推奨散布量では、通常の15cmプラウ層の下に、相当量が移動することは、あったとしても、まれである。

商業及び消費における食品中の残留物(原文 p.5)

じゃがいも (原文 p.5)

じゃがいもに関するMH残留物の最大残留基準値(MRL)は、50 mg/kgである。平均的な残留物は、15-25 mg/kgであり、ほとんどの残留物は、10-40 mg/kgの範囲になると想定される(Sparks, 1978)。じゃがいもに関するMHの定期モニタリングが、残留物の分析に関わるいかなる機関で実施されるかは知られていない。しかしながら、じゃがいも自体は、最大残留基準値(MRL)又は、それを超える濃度におけるMH残留物に関する有効なバイオアッセイとして役だっている。すなわち、45-50 mg/kgの濃度で、塊茎の障害が発生するからである(Sparks, 1978)。

MHによって障害を受けたじゃがいもは、総生産量に対しては、極めて小さな割合を占め、通常の食品用途としては使用されない。

じゃがいも及びポテトチップスに関する推定消費量に基づくと、体重60 kgのヒトにおけるMHの平均暴露量は、一日あたり約0.019 mg/kgである。

タマネギ (原文 p.6)

タマネギ鱗茎におけるMHの最大残留基準値(MRL)は15 mg/kgである*。これまでの経験から、完全に発芽を抑制するための必要量は、5-7 mg/kgであることが示されている。推奨された散布量では、吸収されたMH量は、通常、この範囲内にある。

* 原文、The MRL for MH in onion bulbs ~~is~~ is 15 mg/kg.の「in」を「is」として訳した。

異なった成熟度の段階にあるタマネギに、MHが適用されたとき、1962年にニューヨークで、2-7 mg/kgの残留物が発見された(Isenberg, 1977)。また、英国では、1968年に4.1-11 mg/kgの残留物が、1969年に2.8-3.1 mg/kgの残留物が発見された(Whitewell, 1977)。

主要なMHの製造業者は、USA及びカナダの至るところで調査を実施した(Uniroyal, 1984)。タマネギ*を栽培している主要な産地から集められたタマネギ*の39サンプルは、Laneらの方法(Lane et al., 1958)に従って、MH残留物の分析がなされた。表1にその結果を示す。

*原文では、potatoesとなっているが、onionsとして訳した(原文確認の必要があると思われる。)

表1. タマネギの中にあるマレイン酸ヒドラジド残留物(調査データ)

場所	残留物 (mg/kg)
ニューヨーク州	2, 6, 10
オハイオ州	5, 3, 4, 7
ミシガン州	3, 2, 2
ワシントン州	2, 2, 3, 3, 12, 5, 15, 7, 12, 5, 3, 3, 6
カナダ	9, 10, 11, 8, 8, 10, 10, 6, 10, 9, 4, 10, 7, 10, 5, 6
結果(39)の平均値	6.5 mg/kg

散布量に関する推奨値(2.2kg/ha)では、残留物は、一般に5-7 mg/kgの範囲内である。1976年における一人当たりの処理タマネギの消費量は、約2 kgであった。一人当たりの消費量の2 kg及び残留物の濃度6 mg/kgに基づくと、体重が60kgのヒトは、一日あたり約0.00055 mg/kgに等しい量を摂取することになる。

残留物の分析法 (原文 p.6)

1976年の会議では、行政目的に適合するために、GLC法は、一層、開発される必要があることが求められた。

この課題を達成するためかなりの時間及び努力が傾倒されたが、成果は未だ満足すべきものでないことが、本会議に報告された。Wood (1953)の原法は、Lane et al., (1958)によって改良された。その後、United States Rubber CompanyのNaugatuck化学部門によって開発されたが、これは、共同研究 (Lane, 1963, 1965)によって行われた。この結果、広い濃度範囲にあるマレイン酸ヒドラジドは、想定されたどのような基質であっても、正確に測定されることが示された。この方法は、遊離及び抱合型のマレイン酸ヒドラジド化合物の両方を対象にしている。

* 原文では、recovers となっているが、coversとして訳した。

評価（原文 p.6）

本会議では、農業におけるマレイン酸ヒドラジドの使用に関する生物学的、農業及び経済的影響について広範囲に見直しを行った。また、1976年のJMPRで要求された情報の幾つかについても提供している。本会議の内容は、入手可能である。さらに、追加情報については、主要な製造業者から提供を受けた。ジエタノールアミン塩は、もはや入手可能ではなく、現在使用されている形態は、カリウム塩のみである。

マレイン酸ヒドラジドは、じゃがいも及びタマネギの両方に関して、生産、貯蔵及び販売にとって、必須である。すなわち、マレイン酸ヒドラジドは、じゃがいも及びタマネギの発芽を抑制し、作物の受容性及び食品の価値が後になって低下することを防ぐからである。マレイン酸ヒドラジドは、成長している作物に適用されると、組織的な移行により、塊茎又は鱗茎に均一に分配される。そのため、最小量を全作物に適用することによって、長期間（9 -12ヶ月）、その作用を継続させることが可能である。このため、販売に先立って、等級付けの必要がなくなり、幾ばくかの作物が規格外となることを避けることができる。

作物であるじゃがいもにマレイン酸ヒドラジドを散布することで生ずる付加的な利点は、圃場に残された塊茎からの自生植物の成長を抑制することであり、これにより、今期の収穫から次の収穫にじゃがいもウイルス病を持ち越すことが妨げられる。

環境中の様々な構成要素におけるマレイン酸ヒドラジドの運命に関する重要な情報は、入手可能であった。この情報から、次期の輪作作物への持ち込みのリスクがないことが確認された。

承認されている処理をじゃがいもに適用すると、塊茎中の残留物は、ある条件下では、45-50 mg/kgの範囲にある可能性がある。しかしながら、平均値は、15-25 mg/kgであり、大部分の残留物は、10-40 mg/kgの範囲内にある。じゃがいも自体は、最大残留基準値(MRL)、又は、それを超える濃度におけるマレイン酸ヒドラジド残留物に関する有効なバイオアッセイとして役だっている。すなわち、45-50 mg/kgの濃度で、塊茎の障害が起こるからである。このようにして障害を受けたじゃがいもは、総生産量に対しては、極めて小さな割合を占め、通常の食品用途としては使用されない。

タマネギ鱗茎におけるマレイン酸ヒドラジドの最大残留基準値(MRL)は15 mg/kgである。これまでの経験から、完全に発芽を抑制するための必要量は、5-7 mg/kgである。承認された散布量でマレイン酸ヒドラジドを使用すると、通常、この範囲内である。モニタリングの実験から、じゃがいもとタマネギの両方において、残留物の濃度範囲は2-11 mg/kgであることが示された。

タマネギ鱗茎におけるマレイン酸ヒドラジドの分布については、標識化合物を用いて調べられた。承認された処置を行うと、適用されたマレイン酸ヒドラジドの約70%が鱗茎に移行する。タマネギの場合、鱗茎は、タマネギ全重量の約65-70%に相当する。鱗茎に存在する70%のマレイン酸ヒドラジドの内、48%は、外側の部分に、16%は内部のシュート葉(inner shoot leaves)に、そして、4%は板根(root plate)に存在した。調理の際に、板根(root plate)は廃棄される。

ジエタノールアミン塩は不安定であり、ヒドラジンを生ずることについての確証が得られた。入手できた情報からは、市販されているカリウム塩製剤には、1 mg/kgに満たない量のヒドラジンしか含まれていないことが確認された。植物、動物又は土壌中では、代謝物としてのヒドラジンは生成しない。すなわち、マレイン酸ヒドラジドをヒドラジンに変換するためには、強い還元条件が必要であるからである(例えば、水酸化ナトリウム及び亜鉛粉)。

マレイン酸ヒドラジド残留物は、親化合物及び各種の抱合体の混合物として存在する。水酸化ナトリウムの溶液(600g/L)を160°Cで加熱する分析法では、これらの抱合体を効率よく遊離マレイン酸ヒドラジドに変換する。それ故、残留物は"遊離マレイン酸ヒドラジド及びその抱合体の合計"として定義されるべきであることを、本会議は合意した。

GLC法に基づく分析の代替法を開発する試みは、これまでのところ部分的にのみ成功している。

信頼できる情報からは、たばこ、じゃがいも及びタマネギ以外の作物には、重要な用途がないことが示された。すなわち、木、草及びその他の観賞用植物に対する用途は少なく、食品中に残留物をもたらすことはない。

じゃがいも皮のような廃棄物資源が、動物飼料として用いられたとき、廃棄物にあるマレイン酸ヒドラジド残留物が動物に由来する食品中に残留物を発生させるいかなる可能性もないように見える。

勧告 (原文 p.7)

現在、1976年にリスト化されて要求された追加試験が提供されたこと及び追求されるはずである残留物に関する追加の疑問がなくなったこと及びすべての情報に、本会議は、十分納得した。農業で使用されるマレイン酸ヒドラジドは、カリウム塩に限定されるべきであり、その純度は、99.9%で且つヒドラジンの含有量は1 mg/kgを越えるべきではないことが勧告される。

本会議は、以前に勧告された暫定最大残留許容量(TMRLs)は、適切であることに合意した。一日摂取許容量(ADD)が推定されたように、制限値は、最大残留許容量に変換された。

引用文献

マレイン酸ヒドラジドの毒性試験と結果の概要（評価書：JMPR 1984）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性試験			該当する試験なし
皮膚刺激性試験			該当する試験なし
眼刺激性試験			
皮膚感作性試験			該当する試験なし
亜急性毒性試験			該当する試験なし
慢性毒性			該当する試験なし
発がん性試験			該当する試験なし
生殖発生毒性			該当する試験なし
遺伝毒性試験			該当する試験なし
その他			該当する試験なし
ADI			1.5 mg/kg(JMPR, 1980)

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ai (a.i.)	active ingredient	有効成分
DEA-MH	Diethanolamine salt-Maleic hydrazide	マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
K-MH	Potassium salt-Maleic hydrazide	マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩
MH	Maleic hydrazide	マレイン酸ヒドラジド
MRL	Maximum Residue Limit	最大残留基準値
TMRL	Temporary Maximum Residue Limit	暫定最大残留基準値
WHO	World Health Organization	世界保健機関

マレイン酸ヒドラジド 評価書和訳と情報整理

JMPR: 1996

ウェブサイト: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v96pr08.htm>

918. Maleic hydrazide (Pesticide residues in food: 1996 evaluations Part II Toxicological)

マレイン酸ヒドラジド 評価書和訳と情報整理 JMPR(1996) 目次

説明 (原文 p.1)	62
(a) 吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)	62
(b) 生体内変換 (原文 p.2)	64
2. 毒性試験 (原文 p.3)	66
(a) 急性毒性 (原文 p.3)	66
(b) 短期毒性 (原文 p.3)	67
ラット (原文 p.3)	67
イヌ (原文 p.4)	68
(c) 長期毒性及び発がん性 (原文 p.4)	69
マウス (原文 p.4)	69
ラット (原文 p.5)	70
ラット (原文 p.6)	72
(e)発生毒性 (原文 p.6)	73
ラット (原文 p.6)	73
ウサギ (原文 p.7)	73
(g) 特殊試験:皮膚及び眼刺激性及び皮膚感作性(原文 p.8)	77
コメント (原文 p.8)	78
マレイン酸ヒドラジドの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1996)	82
略称	85

原文 目次

原文ページ

マレイン酸ヒドラジド	1
説明	1
一日摂取許容量に関する評価	1
1. 生化学的特徴	1
(a) 吸収、分布及び排泄	1
(b) 生体内変換	2
2. 毒性試験	3
(a) 急性毒性	3
(b) 短期毒性	3
ラット	3
イヌ	4
(c) 長期毒性及び発がん性	4
マウス	4
ラット	5
(d) 生殖毒性	6
ラット	6
(e) 発生毒性	6
ラット	6
ウサギ	7
(f) 遺伝毒性	
(g) 特殊試験:皮膚及び眼刺激性及び皮膚感作性	8
コメント	8
毒性学的評価	9
文献	10

Content	Page
MALEIC HYDRAZIDE	1
Explanation	1
Evaluation for acceptable daily intake	1
1. Biochemical aspects	1
(a) Absorption, distribution, and excretion	1
(b) Biotransformation	2
2. Toxicological studies	3
(a) Acute toxicity	3
(b) Short-term toxicity	3
Rats	3
Dogs	4
(c) Long-term toxicity and carcinogenicity	4
Mice	4
Rats	5
(d) Reproductive toxicity	6
Rats	6
(e) Developmental toxicity	6
Rats	6
Rabbits	7
(f) Genotoxicity	7
(g) Special studies: Dermal and ocular irritation and dermal sensitization	8
Comments	8
Toxicological evaluation	9
Levels that cause no toxicological effect	9
Mouse	9
Rats	9
Rabbit	9
Dogs	9
Estimate of acceptable daily intake for humans	9
REFERENCES	10

マレイン酸ヒドラジド

初稿は、I.C. Dewhurst及びM. Watsonにより作成された。

病虫害安全局、農漁食糧省

マラードハウス(Mallard House)、キングスプール(Kings Pool)、ヨーク(York)、英国

説明

一日摂取許容量に関する評価

生化学的特徴

吸収,分布, 及び排泄

生体内変換

毒性試験

急性毒性

短期毒性

長期毒性及び発がん性

生殖毒性

発生毒性

遺伝毒性

特殊試験: 皮膚及び眼刺激性及び皮膚感作性

コメント

毒性学的評価

引用文献

説明 (原文 p.1)

マレイン酸ヒドラジドは、これまでに、1976年、1980年及び1984年に開催された合同会議において、毒性学的影響に関する評価が行われた(付属文書1,文献26、34、及び42)。1984年に、マレイン酸ヒドラジドの一日摂取許容量(ADI)については、純度が99.9%、ヒドラジン<1 ppmを含有する場合、0.5 mg/kg 体重として定められた。本化合物は、(FAO/WHO)国際残留農薬部会(CCPR)の定期的見直し計画の中で、本会議によって見直しが行われた。このモノグラフは、これまで、レビューされていなかったマレイン酸ヒドラジドに関する新規データ及びこの農薬に関する以前のモノグラフ(付属文書1、文献27、35、及び43)から、関連するデータについて、纏めている。

一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)

1. 生化学的特徴 (原文 p.1)

(a) 吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)

吸収、分布及び排泄については、3,6-ジオン-標識 ^{14}C -マレイン酸ヒドラジドを用いて、経口投与によって調べられた。すなわち、ラット(雄雌各 5 匹/群、Sprague-Dawley)は、非標識体を 2 又は 100 mg/kg 体重の用量で単回、又は、非標識体を 2 mg/kg 体重の用量で 14 日間、毎日、反復投与の後、標識体を 2 mg/kg 体重の用量で単回、水を用いて強制経口投与された。その結果、90%を超える放射能が、回収された。また、動物の性、投与量又は、動物があらかじめ処置されたかどうかによっては、結果に顕著な差は観察されなかった。呼吸には、投与量の 1%未満が存在していた。吸収は、迅速で良好であった。すなわち、投与後、0-4時間の尿には、投与量の半分が回収された。投与後、最初の 24 時間では、投与量の約 85%が尿中に、そして 9-13%が糞中に排泄され、次の 6 日間では、排泄は、ほとんど見られなかった。静脈内投与の結果から、糞中にある残留物の半分は、胆汁排泄と関係する可能性が示唆された。投与後、7 日間では、組織及び屠体の残留物は、投与量の <1%であり、すべての組織内濃度は、低用量では、<0.01 ug/g 等量及び高用量では、<0.15 ug/g 等量であった。脂肪、骨及び肺に最大濃度が観察されたが、血中濃度についての報告はなかった(Caley & Cameron, 1989)。

これらの所見は、1976年のJMPR(付属文書 1, 文献 26)で審議されたMaysらが報告した結果と一致している(Mays et al., 1968)。すなわち、マレイン酸ヒドラジドは、低用量(< 10 mg/kg 体重)では、代謝されることなく、尿中に、迅速に排泄されることが示された。1976年のJMPRで審議されたもう一つの実験では、非常に高い用量(4000 mg/kg 体重)においては、吸収及び排泄のメカニズムは、特に、雌において飽和する可能性があることが示唆されている(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

産卵鶏(群)は、3,6-ジオン-標識 ^{14}C -マレイン酸ヒドラジドを、1日当たり7回、15 mg/kg 体重(飼料中 200 ppm 相当)の用量で、3.5 日間、強制経口投与された。そして、最終投与の 24 時間後に、動物は、屠殺された。卵白、卵黄、主要組織、筋肉、血液及び排泄物の総放射能は、液体シンチレーションカウンターによって、計測された。次に、代謝物を同定するために、各組織の抽出物は、薄層クロマトグラフィー(TLC)及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、分析された。試験終了までに集められた排泄物及びケージ洗浄液には、投与量の約 98%が存在した。また、各々 24 時間以内に、毎日の投与量の約 96%が排泄された。卵中の残留物は、投与量の<0.01%を示した。卵白中の濃度は、1 日目に 0.02 ug/g 当量、4 日目に 0.33 ug/g 当量に増加し、5 日目に 0.02 ug/g 当量に減少した。一方、卵黄中の濃度は、5 日目に、最大値 0.23 ug/g 当量に達した。試験終了時における組織内当量濃度は、肝臓(0.13 ug/g)及び腎臓(0.20 ug/g)を除き、概ね、血漿中濃度(0.13 ug/g)よりも低かった(Johnston et al., 1993)。

妊娠していない泌乳中のヤギ(1 頭、British Saanen)は、3,6-ジオン-標識 ^{14}C -マレイン酸ヒドラジドを、1日当たり7回、15 mg/kg 体重(飼料中 441 ppm 相当)の用量で、3.5 日間、午前及び午後後の搾乳の後に、強制経口投与された。そして、最終投与の 24 時間後に、動物は、屠殺された。可食組織、胆汁及び血液は、分析された。乳、尿及び糞は、試験期間中採取された。最終投与の後、24 時間以内に、分析されなかった屠体及び消化管を除いて、投与量の 86%を超える放射能が回収された。すなわち、尿、糞及び乳汁に、それぞれ、63%、23%及び 0.13%が回収された。最初の 24 時間の遅滞期後の糞排泄及び尿排泄は、各々 24 時間の期間では一致していた。乳汁中の残留物は、各投与のたびに増加したが、投与が終了すると減少した。最大値は、0.88 ppm であり、限定的な証拠ではあるが、1 ppm 前後で水平状態(plateau)に達した。肝臓(1.2 ug/g 等量)及び

腎臓(3.3 ug/g 等量)のみが、血漿中の濃度(0.7 ug/g 等量)を超えていた。筋肉中の濃度は、0.44 ug/g 等量であった(Cameron et al., 1992)。

3,6-ジオン-標識 ¹⁴C-マレイン酸ヒドラジドの分布及び排泄については、ラット(雄雌各 5 匹/群、Sprague-Dawley)に、水を用いて、2 mg/kg 体重の用量で、単回、静脈内投与により調べられた。その結果、90%を超える放射能が回収された。分布及び排泄パターンには、顕著な性差は観察されなかった。投与量の 1%未満が呼気中に存在した。尿中への排泄は、迅速で、投与後、0-4時間の尿には、投与量の 60%が回収された。0-24時間では、> 80%が回収された。投与後、24 時間以内に、投与量の約 5%が糞中に排泄され、次の 6 日間では、排泄は、ほとんど見られなかった。試験終了日の 7 日目では、組織及び屠体内の総残留物は、投与量の 1%未満であった。(Caley & Cameron, 1989)。

(b) 生体内変換 (原文 p.2)

上記の研究(Caley & Cameron, 1989; Cameron et al., 1992; Johnston et al., 1993)では、マレイン酸ヒドラジド及び代謝物の濃度を決定するために、ラット、雌鶏及びヤギから得られたサンプルを用いて調べられた。3種類の動物種に関する結果は、概ね、一致しており、マレイン酸ヒドラジドは、限定的な代謝のみを受け、組織内の主要な残留物は、酸に不安定な抱合体であることが示された。

ラットでは、尿及び糞から得られたサンプルは、2 峰性を示した。糞からのサンプルは、クロマトグラフィーによる分離が悪く、また、放射能も低いために、信頼性のある同定はできなかった。しかし、マレイン酸ヒドラジド及びフマル酸(fumaric acid)を示すピークではないかと考えられた。尿における主要なピークは、雄及び雌では、尿中の放射能のそれぞれ、60%及び 80%を示し、コクロマトグラフィー(co-chromatography)では、マレイン酸ヒドラジドと同一の挙動を示した。尿からのサンプルに見られた小ピークは、当初、溶媒系によっては、マレイミド(maleimide)、フマル酸(fumaric acid)又はマレイン酸ヒドラジドとコクロマトグラフィー(co-chromatography)をすることが分かった。しかし、その後の研究(Caley et al., 1990)から、サルファターゼ活性(sulfatase activity)を含むベータ-グルクロニダーゼ(beta-glucuronidase)による脱抱合化処理及び HPLC により、この小ピークは、マレイン酸抱合体(おそらく硫酸抱合体)であることが示された。

雌鶏の場合、胸肉、卵白及び卵黄、腎臓、肝臓及び排泄物は、TLC 及び HPLC によって分析された。排泄物は、投与量の 98%を含み、主要な 2 ピークが観察された。最初のピークは、尿中の放射能の約 80%を示し、マレイン酸ヒドラジドとコクロマトグラフィー(co-chromatography)をすることが分かった。一方、2 番目のピークは、用いられた標準のいずれとも一致することはなかったが、その後の研究から、おそらく N-アセチルマレイン酸ヒドラジド(N-acetylmaleic hydrazide)であることが示唆された。組織及び卵サンプルからは、3 ピークまでが明確に検出された(表 1)。これらの内、最も極性の高いピークは、酸に不安定なマレイン酸誘導体であったが、その構造は、明らかにされなかった。分取液体クロマトグラフィー(preparative HPLC)及び質量分析を用いた代謝物 1 の構造研究から、この物質は、マレイン酸ヒドラジドの O-メチル抱合体(O-methyl conjugate)であることが示された。卵黄の場合のみ、相当量の残留物が非抱合型マレイン酸ヒドラジドとして存在していた。残留物

のプロファイルは、-20°C で 20 ヶ月までの保存期間中に、著しく変化することはなかった(Johnston et al., 1993)。

表 1. 雌鶏から得られたサンプルにおけるマレイン酸ヒドラジド代謝物

組織	代謝物 2 (極性)	マレイン酸ヒドラジド	代謝物 1 (非極性)
肝臓	4.8	ND	50.9
酸加水分解処理	1.5	7.0	44.0
腎臓	30.8	2.3	28.1
酸加水分解処理	2.9	26.9	31.7
胸肉	8.5	4.0	60.1
酸加水分解処理	ND	9.0	48.9
卵白	30.9	ND	31.8
酸加水分解処理	ND	31.1	33.7
卵黄	12.0	68.6	7.3
酸加水分解処理	ND	71.0	17.7

全残留物の 12-33% は、抽出不可であった。

ND: 検出可能なピークはなかった。

ヤギの脂肪、腎臓、筋肉、肝臓及び乳汁から得られたサンプルは、HPLC 及び TLC によって調べられ、代謝プロファイルが決定された。一方、投与された標識放射能の >86% (回収された標識放射能の約 99%相当量)を含有していた尿及び糞については、分析されなかった。肝臓のサンプルでは、抽出操作では、残留物の>40%が結合したままであり、遊離するために、酸加水分解及びペプシン処理が必要であった。次に示すように、4 ピークが明確に認められ、決定された (表 2)。すなわち、(i) マレイン酸ヒドラジド、(ii) 主要な残留物成分であり、部分的に酸に不安定なマレイン酸ヒドラジド硫酸抱合体、(iii) マレイン酸ヒドラジドと密接に関係があるように見える非極性の代謝物であり、酸加水分解及び酵素加水分解の両方によって、生成するが、用いられた標準物質のいずれとも関係がなく、雌鶏には認められない、そして、(iv) フマル酸と同様な溶出特性を有するピーク(Cameron et al., 1992)。

表 2. ヤギから得られたサンプルにおけるマレイン酸ヒドラジド代謝物(サンプルの標識放射能のパーセンテージとして)

組織	抱合体	マレイン酸ヒドラジド	フマル酸?	非極性代謝物
肝臓	39.4	ND	ND	2.9
酸加水分解処理	12.1	12.0	7.4	10.3
ペプシン処理	32.7	19.5	ND	6.7
ペプシン及び酸加水分解処理	21.5	23.3	ND	21.0
腎臓	83.4	ND	ND	ND
酸加水分解処理	53.8	28.8	ND	3.8
筋肉	60.7	5.8	ND	11.3
酸加水分解処理	12.5	34.6		10.5
35.1				
脂肪	83.2	ND	ND	5.7
酸加水分解処理	35.8	25.6		6.3
14.5				
乳汁	45.4	12.9	6.8	16.6
グルクロニダーゼ処理	6.0	44.8	6.4	29.1

結合性の残留物は、肝臓の $\leq 43\%$ を除き $< 4\%$ である。

ND:未検出ピーク。

代謝に関して、非常に限られた情報しか入手できなかったため、代謝経路は、作成されなかった。

2. 毒性試験 (原文 p.3)

1976年のJMPPR (付属文書1, 文献 26)では、マレイン酸ヒドラジドのナトリウム塩又はジエタノールアミン塩に関する幾つかの反復投与試験について、審議された。幾つかのナトリウム塩に関する試験については、以下に纏めている。構成成分であるジエタノールアミンは、顕著な毒性作用を示すことが分かった。このことから、ジエタノールアミン塩に関する試験結果については、マレイン酸ヒドラジドの金属性単塩として検討することは、適当でないことが示唆された。

(a) 急性毒性 (原文 p.3)

マレイン酸ヒドラジドの急性毒性に関する試験結果は、表 3に纏められている。経口毒性及び経皮毒性に関する試験結果は、最小限の臨床所見、肉眼的又は組織病理学的所見を含んでいた(Shapiro, 1977a,

b)。これらの所見から、工業用マレインヒドラジド(純度不詳)は、ほとんど毒性を有していない。擦過皮膚に適用しても、非擦過皮膚に適用した場合より多くの死亡例を生ずることはなかった(Shapiro, 1977b)。

ラット(雄雌、Sprague-Dawley)を、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩に大気中で4時間、4 mg/ L(達成可能な最大値)まで、鼻部吸入暴露(純度:96.5%、最大平均空気動力学的直径:<6.6 um)をすると、死亡又はその他の顕著な毒性影響を誘発しなかった(McDonald&Oshodi, 1989)。これらの所見は、1時間暴露のLC₅₀が>20mg/L(Shapiro, 1977c)であった初期の試験結果と一致している。

1976年のJMPR (付属書 1, 文献 26)によって審議された試験から、マレイン酸ヒドラジド・ジエタノールアミン塩及びナトリウム塩のラットにおけるLD₅₀は、それぞれ、1180 mg/kg 体重及び5800 mg/kg体重であることが確認された(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

(b) 短期毒性 (原文 p.3)

ラット (原文 p.3)

長期試験のための用量設定試験として用いられた 13 週間試験では、ラット(雄雌各 10 匹/群、Sprague-Dawley)に、飼料中のマレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度:97.8%)の濃度を 1 週間ごとに変えながら、0、30、100、300 又は 1000 mg/kg 体重/日の用量になるように混餌投与された。組織学的検索については、肉眼的異常所見及び最大 7 種類の主要組織に限定された。血液及び尿は分析されなかった。死亡率、臨床所見、体重増加、飲水量又は肉眼的病理所見において、影響は認められなかった。最高用量群では、動物の摂餌量が微増した。雌の 30 又は 1000 mg/kg 体重/日群における脾臓重量の減少及び雄のすべての用量群における好塩基性尿細管の発生頻度の増加については、軽微な影響であり、用量依存性を示さなかった。それ故、これらの影響については、生物学的重要性は最小限であると見なされた。有害作用は、報告されなかったが、この試験で実施された限定的な評価のために、信頼性のある無毒性量(NOAEL)を同定するには至らなかった(Perry et al., 1990)。

表 3. マレイン酸ヒドラジドに関する急性毒性 (純度不詳)

化合物	動物種	経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重) 又は LC ₅₀ (mg/L)	文献
マレイン酸ヒドラジド(工業用)	ラット	経口	> 5 000	Shapiro (1977a)
マレイン酸ヒドラジド(工業用)	ウサギ	経皮	> 20 000	Shapiro (1977b)
マレイン酸ヒドラジド(工業用)	ラット	吸入	> 20 (1 時間)	Shapiro (1977c)
マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩	ラット	吸入	> 4 (4 時間)	McDonald & Oshodi (1989)

1976年のJMPR (付属文書1, 文献 26)では、マレイン酸ヒドラジド・ナトリウム塩(純度不詳)を、0、0.5、1、2又は5%の濃度で混合した飼料を用いた12週間の混餌投与試験が審議された。その結果、最高用量群では、血糖の減少及び非蛋白性窒素の増加が見られた。血液学的又は尿パラメータ、飼料利用率、又は限定的ではあるが肉眼的及び組織学的病理検査には、有意な変化は認められなかった。無毒性量(NOEL)は、2%(1000mg/kg 体重/日相当)であった。しかしながら、病理学的検査(雄雌各2匹/群)が、限定的であったことから、この値は、妥当であるとは認められない可能性が示唆されている(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

ラット(雄雌各 5 匹/群、Sprague-Dawley)は、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度:97.8%)を、0、100、500 又は 1000 mg/kg 体重/日の用量で、水を用いて、1 日当たり 6 時間、非閉塞的に経皮投与された。すべての動物は、以下の項目、すなわち、臨床所見、体重、脳を除く組織重量及び臨床化学、血液学及び脳を除く主要器官に関する肉眼的病理所見及び最高用量群における組織学的所見について、対照群からの変化が観察された。雌の処置群及び対照群において、適用局所の皮膚に、ある程度の乾燥又は痂皮形成が見られた。雄の 500 又は 1000 mg/kg 体重/日用量群では、リンパ球数が、それぞれ、21%及び 39%まで増加したが、雌では、同様の変化は見られなかったことから、生物学的意義については不明と見なされた。雌の低用量群及び中間用量群では、赤血球パラメータが増加したが、最高用量群では、このような所見がなかったことから、処置に関連した変化であるとは見なされなかった。雄の 500 又は 1000 mg/kg 体重/日用量群では、肝臓の絶対重量の増加が見られたが、部分的には、体重増加によるものであり、いかなる組織学的変化と関連してはいなかった。肉眼的及び組織病理学的検査では、有意な所見は認められなかった。無毒性量(NOEL)は、明確な毒性所見が認められなかったことに基づいて、1000 mg/kg 体重/日であった(Perry et al., 1989)。

イヌ (原文 p.4)

13週間用量設定試験では、ビーグル犬に、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度:97.8%)の0、750、2500 又は25000 ppm(18、63又は620 mg/kg 体重/日相当)を含む飼料を用いて、混餌投与された。対象とする評価項目に関するすべての値は、期待値の範囲内であると報告されたが、各用量群当たり1頭の動物のみが用いられたことから、信頼性のある結論は引き出せなかった(Goburdhun, 1990)。

ビーグル犬(雄雌各 6 頭/群)を用いた 1 年間の試験では、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度:99.8%; 0.04 ppm のヒドラジン)の 0、750、2500 又は 25000 ppm(29、87 又は 970mg/kg 体重/日相当)を含む飼料を用いて、混餌投与された。動物は、臨床所見、体重、摂餌量、血液学、臨床化学、尿、眼科学的パラメータ及び臓器重量における変化、並びに肉眼的及び病理組織学的病変について、調べられた。また、最高用量群における雄 1 頭は、投与後 28 週間で、瀕死状態で、屠殺された。剖検所見では、拡張し液体で満たされた腹部、膀胱結石、膵臓の分葉肥大、並びに肝臓及び腎臓肥大が認められた。高用量群の 2500 ppm 及び 25000 ppm における体重増加は、雄雌ともに、それぞれ、>20%及び>35%減少したが、摂餌量への影響はなかった。最高

用量群では、肝臓の病理学的変化に一致して、血清酵素活性の増加及びアルブミンの減少が認められた。一方、2500 ppm 又は 25000 ppm では、血清クロライドの減少が見られたが、飼料中の高カリウム含量に由来した二次的現象の可能性がある。最高用量群の動物の尿 pH は、常に、上昇した。2500 ppm 群の雄及び 25000 ppm 群の雄雌では、心臓の絶対及び相対重量の減少が見られたが、組織学的有害作用に関連してはいなかった。最高用量群の雄雌では、甲状腺の絶対及び相対重量の増加が見られたが、これらの群における相当数の動物の上皮細胞が肥大した病巣所見と一致していた。25000 ppm 群の動物では、肝臓及び食道の炎症性病変の発生頻度の増加が見られた。無毒性量(NOEL)は、2500 ppm における顕著な体重増加抑制及び 25000 ppm における体重、肝臓、甲状腺及び尿における影響に基づいて、750 ppm(29 mg/kg 体重/日相当)であった(Anderson & McDonald, 1991)。

イヌを用いたマレインヒドラジド・ナトリウム塩の反復投与による 2 試験については、1976 年の JMPR において、審議された(付属書 1、文献 26)。どちらの試験でも、現在の基準に基づいて実施されてはいなかったが、5 週間、1000 mg/kg 体重/日、又は、飼料中に < 20000 ppm(500 mg/kg 体重/日相当)の用量では、顕著な毒性影響は、報告されなかった。

(c) 長期毒性及び発がん性 (原文 p.4)

マウス (原文 p.4)

マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度: 97.6%; 1.63 ppm ヒドラジン)の長期毒性及び発がん性は、マウス(雄雌各 50 匹/群、CD-1)に、0、1000、3200 又は 10000 ppm のマレイン酸ヒドラジドを含む飼料を、23 ヶ月間、混餌投与することにより調べられた。飼料からの取込率は、通常値の 82-129%であり、全試験期間を通じて、平均 95-102%であった。これらの値から、雄及び雌では、それぞれ、160、510 及び 1500 mg/kg 体重/日及び 190、600 及び 1800 mg/kg 体重/日相当の投与量であった。試験開始後、82 週間の生存率は、60-78%であった。臨床所見、体重増加及び摂餌量は、マレイン酸ヒドラジドの投与によって、影響を受けなかった。また、6、12、18 及び 23 ヶ月に採取された血液サンプルでは、処置の影響は見られなかった。肉眼的病理検査から、10000 ppm では、動物の肺に病変頻度の増加が見られ、雄では、鬱血、発赤、結節及び腫瘤、雌では、鬱血及び発赤が見られた。また、雌における肺病変は、組織学的結果によっても、確認された。アミロイドーシス(amyloidosis)は、様々な臓器(特に、空腸、腎臓及び肝臓)で増加した。すなわち、この病変は、雄では、用量依存的に、試験期間中に死亡、屠殺及び試験終了日に屠殺されたすべての投与群で、雌では、試験終了日に屠殺された最高用量群で、認められた。雌の 3200 又は 10000 ppm 群では、用量に依存した副腎皮質過形成が見られた。また、雌の 3200 又は 10000 ppm 群では、心臓炎及び心筋炎の発生率が、最高用量群では、肺の鬱血及び卵巣嚢胞が増加した。雌の最高用量群では、胞状腺腫(7/50)及び子宮血管腫(2/50)の発生頻度になぜかな増加が認められ、統計学的にも有意であることが著者によって確認された。一方、同時対照群(concurrent controls)の発生頻度は、それぞれ、3/50 及び 0/50 であり、試験実施施設の過去のデータ(historical controls)に関する背景値は、それぞれ、3-30%及び 0-2%であった。これらの腫瘍の発生頻度は、フィッシャーの正確確率検定(もしくは、直接確率検定)(Fisher's exact test)(片側検定、 $p > 0.05$)では、統計学的に有意ではなく、明確に発がん性の可能性を示唆するものとは見なされなかった。アミロイドーシスは、生

物学的意義のはっきりしない、CD-1 マウスに見られる一般的な所見である。従って、最小用量(160 mg/kg 体重/日相当)では、空腸及び腎臓のアミロイドーシス(amyloidosis)の増加が見られたが、無毒性量(NOAEL)の算定には用いられなかった。従って、無毒性量(NOAEL)は、高用量群における心臓及び副腎病変の出現に基づいて、160 mg/kg 体重/日相当であった(Jessup, 1981)。

1984年のJMPR(付属書I、文献42)では、マレイン酸ヒドラジド(純度:遊離酸として98.5%、0.6 ppmのヒドラジン含有)をC57B1/B6マウスに経口投与又は皮下注射した試験について審議された。マウス(雄40匹/群、雌42匹/群)は、オリーブ油を用いて、マレイン酸ヒドラジドを510 mg/kg 体重/週の用量で、4週齢の離乳から生涯、経口投与された。また、別に、オリーブ油を投与する溶媒対照群(雄雌各13匹/群)及び無処置対照群(雄51匹/群、雌49匹/群)が設けられた。一方、マウス(性、動物数/群など不詳)は、トリカプリリン(tricaprylin)に懸濁されたマレイン酸ヒドラジドを、生後1日、7日、14日及び21日の4回、マウスあたり、5、10、20又は30 mgの用量で、皮下投与された。対照群(新生児61匹/群)には、試験群と等量の溶媒が投与された。最初の腫瘍が検出された時点では、マレイン酸ヒドラジド投与群では、雌36例及び雄41例、対照群では、雌22例及び雄41例のマウスがまだ生存していた。

すべての生存マウスは、120週間で剖検された。主要器官及び肉眼的に異常所見を示す器官については、組織学的に調べられた。経口投与されたマウスでは、腫瘍を有する動物数に差異は見られなかった。皮下投与群では、処置群と溶媒対照群のマウスでは、腫瘍の数に有意な差は認められなかった。しかしながら、処置群及び無処置群を同様に比較すると、高用量群では、統計学的に有意に、肝細胞がんの発生頻度の増加が認められた。その他の腫瘍の発生頻度については、処置群、溶媒対照群及び無処置対照群の間では、同様であった(Cabral & Ponomarkov, 1982)。

ラット (原文 p.5)

マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度: 97.8%; < 0.05 ppm ヒドラジン)の長期毒性及び発がん性では、ラット(雄雌各50匹/群、Sprague-Dawley)は、0、25、500又は1000 mg/kg 体重/日の用量で、混餌投与された。また、雄雌各20匹/群は、試験期間の中間、52週間で屠殺された。飼料中の濃度は、体重増加及び摂餌量を説明するために、ある幅をもって変化し、低用量、中間用量及び高用量では、それぞれ、262-1023 ppm、5144-16700 ppm 及び10214-31325 ppm の範囲であった。動物は、5匹/群で飼育されたことから、各動物個体で達成された用量は、ケージごとに異なったが、試験期間全体を通じて、設定値の10%以内であった。しかし、実験上の手違いから、対照群、低用量及び中間用量の雌5匹は、38週間の間、誤って投与された。これらの動物は、試験全体の結果から除外された。試験終了時における生存率は、すべての群で38%以上であり、最高用量群では、>50%であった。投与に関連した影響は、見られなかった。臨床所見(すべての群)及び検眼鏡検査結果(対照群及び最高用量群のみ)では、処置による影響は認められなかった。摂餌量は、500又は1000 mg/kg 体重/日投与群で、約10%増加した。これとは対照的に、同群では、10週間から、体重増加が減少した(> 10%)。同様な影響は、中間屠殺においても見られたが、統計学的有意差はなかった。

雄の51週間では、用量依存的に白血球数が減少したが、104週間までに逆転した。すなわち、104週間では、雄雌いずれの動物においても、用量依存的な白血球数の増加が見られた。これらの変化は、個々には、統計学的に有意ではなかったが、すべて、好中球:リンパ球比率の増加に関係していた。ラットの白血球像におけるこのような変化とヒトとの生物学的意義については不明である。雄では、最高用量群で、25及び51週間に、及び中間用量群で、51週間に、血中尿素窒素の減少が見られた。同様に、雌の51週間では、軽微な影響に関する証拠が認められた。血清リン酸塩濃度は、雄では、最高用量群の25週間で、中間及び最高用量群の51週間で増加した。同様に、血清カルシウムは、雄では、中間及び最高用量群の51週間で増加した。雌の500 mg/kg 体重/日投与群では、25週間に、アラニンアミノトランスフェラーゼ及び乳酸脱水素酵素活性は増加し、血清クロライドは減少したが、その後、同様な変化は記録されなかった。また、最高用量群の動物では、51週間で、尿 pH の低下に関する証拠が認められた。統計学的に有意な肝臓の絶対重量の減少(約 20%)が見られ、試験途中の剖検では、最高用量群の雄で、試験終了時では、最高用量群の雄及び雌で、並びに、中間用量群の雌で、認められた。しかし、肝臓の絶対重量の減少は、少なくとも、部分的には、これらの試験群における体重減少に関連していた。一方、これらの試験群においては、肝臓の相対重量は減少したが、統計学的に有意な変化ではなく、また、明白な病理学的病変についても認められなかった。試験途中の剖検、試験期間を通じて又は試験終了時の肉眼的病理検査では、処置に関係した影響は認められなかった。対照群のすべての動物、最高用量群の動物、及び試験期間を通じて死亡した動物について、顕微鏡による詳細な病理学的検査が行われた。試験途中及び試験終了時の剖検では、低用量群及び中間用量群の動物について、肝臓、腎臓、肺及び心臓(104週間のみ)のみ検査された。線維性又は慢性として記載された心室心筋炎の発生頻度は、試験途中の剖検では、最高用量群及び試験期間を通じて、雄で増加した。しかしながら、用量依存性がないことから、この変化は、偶発的所見の可能性がある。肝臓の腺房周囲空胞化の発生頻度は、最高用量群及び試験期間を通じて雄で増加した。腎臓病変の形態変化は、104週間の雌で認められた。すなわち、すべての群の雌において、用量に非依存的な進行性腎症の発生頻度の増加及び最高用量群における腎盂上皮過形成の発生頻度の減少が見られた。一方、最高用量群の雄では、水腎症及び膀胱の蛋白様栓の発生頻度が増加した。同様に、最高用量群の雄では、副腎髓質過形成及び嚢胞性変性が増加した。一方、104週間における最高用量群の雌では、統計学的に有意でない副腎皮質過形成の増加及び嚢胞性変性の減少が見られた。また、最高用量群の雄では、下垂体におけるコレステロール裂の頻度及び甲状腺における濾胞傍細胞の過形成が増加した。腎臓が標的臓器である可能性については、一定の証拠があったが、病変に関する発生頻度については、雌雄間で一致しなかった。それ故、病変がマレイン酸ヒドラジドによるものかどうかは、不明確であった。腫瘍発生頻度については、偶発的な増加が見られたが、雌雄間で一致しなかったこと及び統計学的に有意でなかったことから、これらの病変は、直接的にマレイン酸ヒドラジドに原因があるとは見なされなかった。無毒性量(NOEL)は、高用量における臨床化学パラメータにおける変化とともに、摂餌量が増加している状況下での体重増加に対する顕著な影響に基づき、25 mg/kg 体重/日であった(Perry et al., 1991)。

1980年のJMPPR(附属文書1, 文献 34)では、0又は1%マレイン酸ヒドラジド(< 1.5 ppmヒドラジン含有)を含む飼料をラットに用いた混餌投与試験(雄雌各 50 匹)及び2%マレイン酸ヒドラジドを含む飼料をラットに用いた混餌投与試験(雄雌各 65 匹)について、審議された。ラットは、それぞれの飼料を用いて、離乳後 28ヶ月間、飼育された。死亡率、摂餌量、血液学的パラメータ又は臓器重量に関して、対照群及び試験群との間に、明白な差異は、認められなかった。雌の投与群では、特に、試験前半の期間中、体重増加が抑制された。雄の2%

マレイン酸ヒドラジド投与群では、低成長率の傾向を示した。この用量群のすべての動物では、測定された飲水量は、18及び25週間では、有意に増加したが、1%マレイン酸ヒドラジド投与群では、飲水量の増加傾向が見られた。尿検査では、1及び2%マレイン酸ヒドラジド用量群の動物は、6及び12ヶ月の後の雄雌で、蛋白尿を引き起こし、蛋白質:クレアチニン比が増加した。しかしながら、腎臓又は他の組織において、組織病理学的病変は観察されなかった。また、腫瘍の発生頻度には、投与に関連した変化は認められなかった(van der Heijden et al., 1979)。これらの結果から、1980年のJMPRでは、無毒性量(NOEL)は、2%マレイン酸ヒドラジド(1000 mg/kg 体重/日相当)と結論した。

1976年のJMPR(付属文書1, 文献 26)では、マレイン酸ヒドラジドの濃度が0、0.5、1、2又は5%の飼料によるラットを用いた混餌投与による連続交配試験(雄雌各10匹/群、8回交配)について、審議された。しかし、現在の試験法の基準に照らすと、この実験で使用された1群当たりの動物数は、少なかった。親動物では、試験群のどの用量においても、顕著な影響は報告されなかった(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。それ故、慢性毒性及び発がん性に関する無毒性量(NOEL)は、この試験の制約の範囲内で、マレイン酸ヒドラジドの飼料中濃度が5%、すなわち、2500mg/kg 体重/日相当であった。

(d) 生殖毒性 (原文 p.6)

ラット (原文 p.6)

マレイン酸ヒドラジドの潜在的な生殖影響については、世代当たり2同腹子を用いたラットの2世代繁殖試験で調べられた。ラット(雄 15 匹/群、雌 30 匹/群、CD(SD)BR)は、マレイン酸ヒドラジド(純度:99%; < 2 ppm ヒドラジン)を0、1000、10000、30000又は50000 ppmを含有する飼料を用いて、F_{1a}世代の交配前からF_{1b}同腹子の離乳までの105日間、混餌投与された。一方、F_{1b}同腹子は、離乳から第2世代を供給する交配期間を経て、F_{2b}世代の離乳後の試験終了まで、混餌投与された。結局、達成された混餌投与の用量は、0、80、770、2350及び3940 mg/kg 体重/日となった。授乳4日目に、同腹子は、最大10匹に間引きされ、間引かれた児動物は、肉眼的の外部検査により調べられた。すべての親動物及び選別されたF_{1b}及びF_{2b}児動物は、肉眼的の剖検及び特定の組織については、組織病理学的検査により調べられた。

飼料の取込率及び安定性は、許容範囲にあり、試験期間を通じて、平均値は、設定値の5%以内であった。親動物(F₀)及び児動物(F_{1a}及びF_{1b})の50000 ppm用量群における有意な体重減少(児動物では、生後21日で約20%まで)のために、この用量は、F_{1b}世代には、混餌投与されなかった。すべての用量又は交配において、生殖成績又は測定されたパラメータに対して、有害な影響は見られなかった。一方、30000 ppmを混餌投与された親動物(F₀)の雌では、8週間以降から、体重増加が抑制された。また、マレイン酸ヒドラジドのこの用量を混餌投与されたF_{1b}雌では、わずかに、体重増加が抑制されたが、統計学的には有意となることはなかった。さらに、30000 ppmの用量では、F_{1b}、F_{2a}及びF_{2b}児動物の体重は、経時的にたびたび減少したが、出生時の体重に、影響は見られなかった。児動物の行動及び発達にも、影響は認められなかった。試験期間中には、主として、体重の変化に関連した臓器重量に、多くの変化が認められた。すなわち、30000 ppm用量群のF_{1b}雌における腎臓の絶対及び相対重量の増加のみが、生物学的に有意な変化と見なされた。また、腎盂拡張の発生頻度がわずかに増加(試験群:5/28、対照群:2/29)したことに関連して、腎臓重量が増加したが、このことは、

腎臓への毒性影響を示唆する可能性がある。尿検査では、かなりの変化が見られたが、明白な影響は認められなかった。肉眼的及び顕微鏡的検査からは、病変の発生頻度に有意な変化は認められなかった。生殖毒性は、報告されなかった。無毒性量(NOAEL)は、30000 ppm 以上の用量における母動物及び児動物における体重減少に基づいて、10000 ppm(770 mg/kg 体重/日相当)であった(Mackenzie, 1983)。

1976年のJMPR(附属文書1, 文献 26)で審議された多世代試験では、マレイン酸ヒドラジドを5%含む飼料を用いて混餌投与された動物では、F_{3b}同腹児数が減少したが、マレイン酸ヒドラジドの2%では、影響は認められなかった(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

(e)発生毒性 (原文 p.6)

ラット (原文 p.6)

ラット(既交尾雌23-25匹/群、Sprague-Dawley)は、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度:97.8%、0.048 ppmヒドラジン)の蒸留水溶液を、マレイン酸ヒドラジドとして、0、30、300又は1000 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠6-16日に、強制経口投与された。最高用量は、OECDガイドライン414に従って実施された試験における限界値であった。すべての母動物は、妊娠20日目に屠殺され、生殖器官は検査された。また、除去されたすべての胎児は、外表奇形について、検査された。次に、胎児の半数は、ウィルソン切片法(Wilson sectioning)によって、調べられた。残りの胎児は、解剖され、内臓異常が調べられた。その後、骨格の検査のためにアリザリンレッドS(alizarin red S)で染色された。その結果、マレイン酸ヒドラジドの用量が1000 mg/kg 体重/日以下では、母動物の体重、臨床所見、摂餌量、妊娠率、着床率又は胎児重量について、有害作用は認められなかった。また、同時対照群と比較すると、最高用量群の動物では、膀胱の上に置換された精巣、痕跡第14肋骨及び骨盤の骨化遅延に関する発生頻度が、用量-反応関係を示す証拠を伴って、増加した。しかしながら、これらの発生率については、試験施設における過去のデータ(historical controls)の範囲内であった。一方、最高用量群では、別の同腹児の胎児4例は、同時対照群には見られない重篤な奇形を有した。また、300 mg/kg 体重/日用量群では、同一の母動物からの胎児3例に、小顎症及び口蓋裂が見られた。最高用量群及び30 mg/kg 体重/日用量群では、それぞれ、胎児1例が口蓋裂及び口蓋弓の奇形を有したが、これらの奇形は、同時対照群は認められなかった。また、フィッシャーの正確確率検定(Fisher's exact test)によっても、いずれの所見についても、統計学的に、有意差は認められなかった。従って、母動物及び胎児に関する無毒性量(NOAEL)は、1000 mg/kg 体重/日であった(Wilson & Hazelden, 1989)。

ウサギ (原文 p.7)

人工授精されたウサギ(16 把、belted Dutch rabbits)は、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度:99.8%; 1 ppm ヒドラジン)の脱イオン水溶液を、マレイン酸ヒドラジドとして、0、100、300、あるいは1000mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 7-27 日に、強制経口投与された。投与用量は、2500 mg/kg 体重/日で全死亡が認められた用量設定試験の結果に基づいて選択された。母動物は、妊娠 28 日に屠殺され、生殖器官は検査された。

また、胎児は、生存率、性、外表奇形及び変異について、検査された。そして、胎児は、内臓異常検査のために解剖された後、骨格検査のためにアリザリンレッド S(alizarin red S)で染色された。最高用量群では、脱毛の発生頻度が増加が、投与に関係した唯一の臨床所見であった。また、1000 mg/kg 体重/日用量群では、妊娠 7-13 日目に、母動物の体重増加が抑制された。おそらく、投与の際の事故の結果と考えられるが、300 mg/kg 体重/日用量群で、母動物に 1 例の死亡が見られた。流産数、着床率、妊娠率、胎児重量、同腹児数又は胎児生存率に関して、投与に関係した有意な影響はなかった。最高用量群では、5 同腹児から後期吸収 8 例が認められた。一方、対照群、低用量群及び中間用量群では、それぞれ、0、1 及び 2 例の後期吸収が認められた。明確に投与に関係している唯一の奇形又は異常は、中間用量群における胎児 4 例に見られた肩甲骨の欠陥(フォーク状肩甲骨 3 例、屈曲 1 例;4%)及び最高用量群における胎児 2 例(フォーク状肩甲骨 2 例;2%)であった。対照群及び低用量群では、これらの異常は、見られなかった。試験施設における対照群の背景データでは、そのような異常の発生頻度は、1536 分の 1 例(0.065%)であった。しかしながら、これらの異常は同一ではなかったため、一緒に合わせるべきではなく、結局のところ、他の試験施設で見られた発生率の範囲内であった。胎児に対する影響に関しては、明確な用量・反応関係が欠如しており、また、その低い発生頻度を考慮すると、無毒性量(NOEL)は、胚・胎児毒性及び催奇形性に関しては、1000 mg/kg 体重/日であり、母動物毒性に関しては、吸収の増加及び投与開始時における体重増加抑制に基づいて、300 mg/kg 体重/日であった(Miller, 1983)。

表4.* マレイン酸ヒドラジドの遺伝毒性に関する試験結果

* 原文では、Table 2 とされているが、Table 4 とした。

評価項目	試験系	濃度	純度(%)	結果	文献
<i>in vitro</i>					
復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	625, 1250, 2500, 5000, 10 000 ug/プレート (蒸留水)	88.7 ^a + 10.5%	陰性+/- S9 水	Foyster (1988)
DNA 修復	枯草菌 H17, M45 (rec ^{+/+})	1, 10, 100, 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ug/プレート(DMSO)	97	陰性-S9; 陽性(10000 ug/プレート+S9)	Hoorn (1988)
DNA 修復 (1981)	大腸菌 polA ^{+/+}	0.01, 0.1, 1, 5, 10, 25, 50 uL/プレート(水)	NR	陰性+/- S9	Jagannath
前進突然変異	マウスリンフォーマ L5178Y tk ^{+/+} 細胞	0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 uL/mL(水)	NR アッセイ繰返しなし	陰性+/- S9;	Cifone (1981)
染色体異常	チャイニーズ ハムスター卵巣細胞	1000, 2150, 4640 ug/mL - S9 2150, 4640, 10000 ug/mL + S9 (Hams F10)	88.7 ^a + 10.5% 水	弱い陽性 4640 ug/mL 陽性 10000 ug/mL	Mosesso (1988)
姉妹染色分体 交換	チャイニーズ ハムスター卵巣細胞	100, 1000, 10000 ug/mL - S9 (Hams F10) 32, 320, 3200, 10000 ug/mL + S9	88.7 ^a + 10.5% 水	弱い陽性 10000 ug/mL 陽性, 3200, 10000 ug/mL	Mosesso (1989)

表4.* つづき

評価項目	試験系	濃度	純度(%)	結果	文献
<i>in vivo</i>					
姉妹染色分体 (1990)	B6C3F1 マウス	110, 551, 1100	約 96 ^b	陰性;	Putman
交換	(雄雌)	mg/kg 体重, i.p.雄雌; 800 mg/kg 体重 i.p. 雄 (水)		雄の死亡率 80% 1100 mg/kg 体重	
染色体異常	CD1 マウス,雄, 脛骨骨髓 6-, 24-, 48-時間 サンプリング	500, 1000, 5000 mg/kg 体重 単回又は 5 日連続経口投与(水)	99	陰性(構造異常); 高 2 倍体(hyperdiploid)細胞増加 500 mg/kg 体重/日及び 1000 mg/kg 体重/日	Matheson (1978)
小核形成	CD1 マウス, 雄雌 72-時間 大腿骨 サンプル	2500, 5000, mg/kg 体重 強制経口(水)	約 96 ^b	陰性(雄雌)	Putman & Morris (1990)
劣性致死 突然変異	ショウジョウバエ <i>Drosophila melanogaster</i> Base)	0.4, 1% w/v (水)	NR	陰性; 1%で毒性	Jagannath (1978)
スポットテスト	ショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>)	1, 2, 5, 10 mmol/L (1% Tween 80/5% ethanol)	100	陽性 (> 2 mmol/L) 濃度-依存性	Torres et al. (1992)
劣性致死	ショウジョウバエ Zimmering et al. (<i>Drosophila melanogaster</i> larvae)		820, 2500 ug/mL(水)	99	陽性 (1989)

DMSO, ジメチルスルホキシド(dimethyl sulfoxide); - S9, 代謝活性化なし; + S9, 代謝活性化の存在下; i.p., 腹腔内

a 0.31 ppm ヒドラジン

b 0.041 ppm ヒドラジン

*表 4. マレイン酸ヒドラジドの遺伝毒性に関する試験結果を(g) 特殊試験:皮膚及び眼刺激性及び皮膚感作性の直前に移動した。

(f) 遺伝毒性

マレイン酸ヒドラジドに関する遺伝毒性の可能性については、*in vitro* 及び *in vivo* の範囲の試験系で調べられた。その結果は、表 4 に纏められている。既存のデータベースは、広範囲の評価項目を対象とすることから、通常の試験系ではない幾つかの試験(例えば、ネギ属の根の細胞) (allium root cells) 又はヒドラジン含有量が不明のマレイン酸ヒドラジドを用いた試験も検索されたが、これらの試験は、表 4 には、含まれていない。代謝活性化系の存在下及び非存在下の両方において、高濃度では、*in vitro* 試験で、幾つかの陽性結果が報告された。適切な基準のもとで、*in vivo* で実施された試験では、陰性の結果であった。しかしながら、マウス骨髄における用量に依存しない高 2 倍体細胞の増加が見られたことから、マレイン酸ヒドラジドは、特定の条件のもとでは、細胞分裂に影響を及ぼす可能性があることを示唆している。マレイン酸ヒドラジドを含有する培地の浸透ポテンシャルは、染色体構造に干渉する濃度範囲内にあることが報告されていることから、*in vitro* における哺乳類細胞での陽性結果に関する生物学的重要性は、不明である。哺乳類を用いた *in vivo* における試験結果は、マレイン酸ヒドラジドはヒトに遺伝毒性を与えないことを示していると考えられた。

(g) 特殊試験: 皮膚及び眼刺激性及び皮膚感作性(原文 p.8)

ウサギ(雄雌各3把、New Zealand white)に、工業用マレイン酸ヒドラジド(純度不詳)の0.5 mLを適用することにより、閉塞暴露の条件下で、皮膚刺激性が調べられた。軽度の浮腫が、雄1例に見られた。また、軽度の紅斑は、適用部位に、24時間ではすべての雄に見られたが、72時間では、完全に回復した。擦過部位では、より長時間、紅斑性反応を示したが、再び、雄に限定された。従って、マレイン酸ヒドラジドは、ウサギ皮膚に対して、軽度刺激性であった(Shapiro, 1977d)。

1976年のJMPR (付属文書 1、文献 26)で審議された試験では、マレイン酸ヒドラジドの20%溶液は、ウサギ皮膚に対して、刺激性を有さないことが示された(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

ウサギ(雄雌各3把、New Zealand white)に、工業用マレイン酸ヒドラジド(純度不詳)の0.1 gを適用することにより、眼刺激性が調べられた。軽度で一過性の結膜反応が、数例の動物で見られたが、72時間では完全に回復した。従って、マレイン酸ヒドラジドは、ウサギの眼に対して、軽度刺激性である(Shapiro, 1977e)。

1976年のJMPR (付属文書 1、文献 26)で審議された試験では、マレイン酸ヒドラジドの5%溶液は、ウサギの眼に対して、刺激性を有さないことが示された(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

モルモット(雌20匹/群、アルビノ、Dunkin-Hartley)は、マレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(純度: 97.8%)の25%w/v水溶液を用いて処置され、ビューラー法(Buehler epicutaneous test)によって皮膚感作性が調べられた。惹起又は誘発の後、皮膚反応は、記録されなかった。従って、皮膚刺激性を示さない最大濃度のマレイン酸ヒドラジド・カリウム塩(25%)は、モルモットに対して、皮膚感作性の可能性を有さなかった(Cuthbert &

Jackson, 1989)。

1976年のJMPPR (付属文書 1、文献 26)で審議された試験では、マレイン酸ヒドラジドの0.1%溶液は、モルモットに対して、皮膚感作性を有さないことが示された(Food & Drug Research Laboratory, Inc., 1955)。

コメント (原文 p.8)

マレイン酸ヒドラジドを、2 又は 100 mg/kg 体重の用量で、単回経口投与すると、又は、2 mg/kg 体重/日の用量で 15 日間、反復経口投与すると、吸収は迅速で良好である。経口又は静脈内投与の後、排泄は、迅速(24 時間で>80%)で、尿中排泄(> 80%)が主体である。マレイン酸ヒドラジドの代謝は、僅かであり、親化合物の尿中標識放射能は、雄及び雌では、それぞれ、60%及び 80%を超える。すなわち、硫酸抱合は、唯一の重要な反応である。ラットにおいて、吸収又は代謝が、用量又は反復投与によって、影響を受けた証拠はなかった。ラットにおける総組織内残留物は、投与 7 日後では、投与量の<1%を示した。

マレイン酸ヒドラジドを、経口、経皮又は吸入経路により投与すると、急性毒性は弱く、そのLD₅₀値及び LC₅₀値は、限界用量(経口:5 g/kg 体重、経皮: 20 g/kg 体重、吸入:20mg/L)より大きい。標的臓器は、特定されなかった。マレイン酸ヒドラジドは、皮膚と眼に対して、ごく軽度な刺激性を有し、皮膚感作性物質ではない。本化合物は、WHOによって、通常の使用では、急性有害性示す可能性は低い物質として分類されている(WHO, 1996)。

マレイン酸ヒドラジドを、ラット(0、30、100、300又は1000 mg/kg 体重/日又は飼料中、0、0.5、1、2又は 5%)及びイヌ(0、750、2500又は25000 ppm)に、12-13週間、反復経口投与すると、<1000 mg/kg 体重/日では、顕著な毒性影響は、認められなかった。しかしながら、これらの試験で実施された検査の範囲は、信頼性のある無毒性量(NOAEL)を決定することを可能にするには、不適當であった。

ラットに3週間、経皮適用すると、<1000 mg/kg 体重/日の用量では、肉眼的及び組織病理学的検査において、有意な影響は見られなかった。雄の500又は1000 mg/kg 体重/日の用量で、リンパ球数が増加したが、他の試験では、同様な所見がないことから、生物学的意義は不明と見なされた。無毒性量(NOAEL)は、1000 mg/kg 体重/日であった。

イヌに、0、750、2500、又は 25000 ppm の用量で、1 年間、混餌投与した試験では、25000 ppm (970 mg/kg 体重/日相当)で、尿 pH、血清酵素活性及びアルブミン値の変化とともに、体重増加抑制、甲状腺肥大及び肝臓の炎症病変が認められた。体重増加は、25000 ppm (35%)及び 2500 ppm (20%)で有意に低下したことから、無毒性量(NOAEL)は、750 ppm (29 mg/kg 体重/日相当)であった。制限のあるプロトコールを用い

た初期の試験では、信頼性のある無毒性量を導き出すことに関しては不適當であったが、2年間、<500 mg/kg 体重/日の投与量では、顕著な影響を示さなかった。

マウスに、0、1000、3200 又は 10000 ppm の用量で、混餌投与した 23 ヶ月間の試験では、雄に、アミロイドーシス(amyloidosis)の用量依存的な増加が、雌には、最高用量群で見られた。また、雌の 2 高用量群に、副腎皮質過形成、心臓炎及び心筋炎の発生率が増加した。雌の最高用量群では、胞状腺腫及び子宮血管腫の発生頻度が増加したが、統計学的に有意ではなく、発がん性の可能性を示す明白な証拠にはならなかった。無毒性量(NOEL)は、3200 ppm 以上の用量群における雌の心臓及び副腎の変化に基づいて、1000 ppm (160 mg/kg 体重/日相当)であった。雄の 1000 ppm 用量群では、アミロイドーシス(amyloidosis)のわずかな増加が見られたが、有意とは見なされなかった。マウスを用いた経口又は皮下投与による長期試験からは、発がん性に関する証拠は得られなかった。

ラットを用いて、0、25、500 又は 1000 mg/kg 体重/日の様々な用量で混餌投与した2年間の毒性及び発がん性試験では、腫瘍の発生頻度の増加に関する証拠はなかった。摂餌量の増加にもかかわらず、体重増加の抑制が、500 及び 1000 mg/kg mg/kg 体重/日用量群に認められた。また、腎臓障害、心筋炎、副腎皮質過形成及び甲状腺過形成に関するパターンの変化は、1000 mg/kg 体重/日の用量で認められた。無毒性量(NOEL)は、500 mg/kg 体重/日以上用量における体重増加に対する明白な影響に基づいて、25 mg/kg 体重/日であった。ラットを用いた初期の長期試験では、飼料中の濃度が 2%(1000 mg/kg 体重/日相当)以下の用量では、発がん性の証拠は得られなかった。

ラットを用いた2世代生殖毒性試験において、飼料中の濃度が、0、1000、10000、30000又は50000 ppm では、親動物及び児動物の体重増加に対する影響は、2高用量群で明白であった。そのため、50000 ppm 用量は、第1世代の後、中止された。生殖パラメータには、有害作用は認められなかった。臓器重量の増加及び組織学的所見は、30000 ppmでは、腎臓に対する軽微な影響が示唆された。無毒性量(NOEL)は、10000 ppm(770 mg/kg 体重/日相当)であった。

発生毒性試験においては、ラットは、妊娠6-16日に、マレイン酸ヒドラジドを0、30、300又は1000 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与された。試験された最高用量群においてさえ、胎児又は母動物*には、明白な影響を示す証拠は得られなかった。

* 原文では、mammalとなっているが、maternal として訳した。

ウサギを用いた同様な試験においては、妊娠7-27日に、0、100、300又は1000 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与された。胎児毒性又は催奇形性に関する明白な証拠はなかった。母動物における体重増加抑制及び後期吸収の発生頻度の増加は、1000 mg/kg 体重/日の用量で認められた。無毒性量(NOEL)は、300 mg/kg 体重/日であった。

マレイン酸ヒドランジドの高濃度域を含む多種類の *in vitro* 遺伝毒性試験においては、幾つかの陽性所見が得られた。一方、*in vivo* における 4 試験では、陽性の報告はなかった。よって、本会議は、マレイン酸ヒドランジドは遺伝毒性を有しないと結論した。

ラットにおける 2 年間の毒性及び発がん性試験及びイヌにおける 1 年間の毒性試験における無毒性量 (NOAEL) である 25 mg/kg 体重/日及び 100 倍の安全係数を用いることにより、一日摂取許容量 (ADI) として、0-0.3 mg/kg 体重が確定した。

毒性学的評価 (原文 p.9)

毒性学的影響を引き起こさない用量

マウス: 1000 ppm、160 mg/kg 体重/日 (23ヶ月間毒性及び発がん性試験における毒性)

ラット: 25 mg/kg 体重/日 (2 年間毒性及び発がん性試験における毒性)

1000 mg/kg 体重/日 (発生毒性試験で試験された最高用量)

10000 ppm、770 mg/kg 体重/日相当 (2 世代生殖毒性試験における毒性)

ウサギ: 300 mg/kg 体重/日 (発生毒性試験における母動物の毒性)

イヌ: 750 ppm、29 mg/kg 体重/日相当 (1 年間毒性試験)

ヒトに関する一日摂取許容量の推定

0-0.3 mg/kg 体重

マレイン酸ヒドラジドへの食物性及び非食物性暴露に関する指針値を設定するための毒性学的基準

暴露	関連する経路, 試験系, 動物種	結果,	備考
短期 (1-7 日)	経口, 毒性, ラット	LD ₅₀ > 5000 mg/kg	体重
	皮膚, 毒性, ウサギ	LD ₅₀ > 20000 mg/kg	体重
	吸入, 1 時間毒性, ラット	LC ₅₀ > 20 mg/L	
	皮膚, 刺激性, ウサギ	軽度刺激性	
	眼, 刺激性, ウサギ	軽度刺激性	
	皮膚, 感作性, モルモット	感作性なし	
中期 (1-26 週間) 日(試験の最高用量)	反復経皮, 21 日, 毒性, ラット	NOAEL = 1000 mg/kg	体重/
	反復経口, 生殖毒性, ラット	NOAEL = 750 mg/kg	体重/日, 体重増加抑制; 生殖に影響なし
	反復経口, 発生毒性, ラット	NOAEL = 1000 mg/kg	体重/日(試験の最高用量)
反復経口, 発生毒性, ウサギ	NOAEL = 1000 mg/kg	体重/日(試験の最高用量), 胚・胎児毒性及び催奇形性 NOAEL = 300 mg/kg	体重/日, 母動物毒性 (吸収増加及び体重増加抑制)
長期 (≥ 1 年)	反復経口, 2 年, 毒性及び 発がん性, ラット	NOAEL = 25 mg/kg	体重/日, 体重増加抑制, 摂餌量増加, 臨床化学所見の変化
	反復経口, 1 年, 毒性, イヌ	NOAEL = 25 mg/kg	体重/日, 体重増加抑制

*原文の embrotoxicity は、embryotoxicity として訳した。

文献

マレイン酸ヒドラジドの毒性試験と結果の概要（評価書: JMPR 1996）

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
急性毒性(経口)	ラット	-	LD ₅₀ : > 5000 mg/kg 体重
急性毒性(経口)	ラット	-	JMPR 1976 (ジエタノールアミン塩) LD ₅₀ : 1180 mg/kg 体重
急性毒性(経口)	ラット	-	JMPR 1976 (ナトリウム塩) LD ₅₀ : 5800 mg/kg 体重
急性毒性(経皮)	ウサギ	-	LD ₅₀ : > 20 000 mg/kg 体重
急性毒性(吸入)	ラット	-	LC ₅₀ : > 20 (1 時間) mg/L
急性毒性(吸入)	ラット	-	(カリウム塩) LC ₅₀ : > 4 (4 時間) mg/L
皮膚刺激性	ウサギ(雄雌)	0.5 mL(閉塞暴露)	軽度刺激性
皮膚刺激性	ウサギ	20%溶液	JMPR 1976 刺激性なし
眼刺激性	ウサギ	0.1 g	軽度刺激性
眼刺激性	ウサギ	5%溶液	JMPR 1976 刺激性なし
皮膚感作性(ビューラー法)	モルモット	25%w/v 水溶液	(カリウム塩) 皮膚感作性なし
皮膚感作性	モルモット	0.1%溶液	皮膚感作性なし
13 週間短期毒性(経口, 混餌)	ラット(雄雌)	0, 30, 100, 300, 1000 mg/kg 体重/日	(カリウム塩) 毒性影響なし
短期毒性(経皮)	ラット(雄雌)	0, 100, 500, 1000 mg/kg 体重/日(6 時間/日)	(カリウム塩) 毒性影響なし NOAEL= 1000
13 週間短期毒性(経口, 混餌)	イヌ	0, 18, 6, 620 mg/kg 体重/日	(カリウム塩) 毒性影響なし
1 年間短期毒性(経口, 混餌)	イヌ(雄雌)	0, 750, 2500, 25 000 ppm	(カリウム塩) 25000: 体重増加減少, 尿 pH 増加, 血清酵素活性増加, アルブミン減少, 甲状腺の絶対, 相対重量増加, 肝臓, 食道の炎症性病変 2500: 体重増加減少 NOAEL= 750(29 mg/kg 体重/日)
5 週間短期毒性(強制経口)	イヌ	-	JMPR 1976 (ナトリウム塩) 1000 mg/kg 体重/日: 毒性影響なし
5 週間短期毒性(経口, 混餌)	イヌ	-	JMPR 1976 (ナトリウム塩) < 20000 ppm(500 mg/kg 体重/日): 毒性影響なし

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
12週間短期毒性(経口, 混餌)	ラット(雄雌)	0, 0.5, 1, 2, 5%	JMPR 1976 (ナトリウム塩) 毒性影響なし NOAEL=5%
長期毒性・発がん性(経口, 混餌, 23ヶ月)	マウス(雄雌)	0, 1000, 3200, 10000 ppm	(カリウム塩) 10000:肺の病変(鬱血, 発赤, 結節, 腫瘍) 3200:副腎皮質過形成(雌), 心臓炎(雌), 筋炎(雌) NOAEL= 1000(160 mg/kg 体重/日)
長期毒性・発がん性(経口, 混餌, 120週間)	マウス(雄雌)	510 mg/kg 体重/週	腫瘍発生に影響なし
長期毒性・発がん性(皮下, 120週間)	マウス(雄雌)	5, 10, 20, 30 mg/マウス(生後 1, 7, 14, 21 日)	30:肝細胞がんの発生頻度増加(処置群と無処置群)
長期毒性・発がん性(経口, 混餌, 104週間)	ラット(雄雌)	0, 25, 500, 1000 mg/kg 体重/日	(カリウム塩) 1000:摂餌量増加, 体重増加減少 500:摂餌量増加, 体重増加減少 NOAEL= 25
長期毒性・発がん性(経口, 混餌, 28ヶ月)	ラット(雄雌)	0, 1%, 2%	JMPR 1980 毒性影響なし NOAEL= 2 (1000 mg/kg 体重/日)
長期毒性・発がん性(経口, 混餌, 連続交配試験)	ラット(雄雌)	0, 0.5, 1, 2, 5%	JMPR 1976 毒性影響なし NOAEL= 5 (2500 mg/kg 体重/日)
2世代繁殖	ラット(雄雌)	0, 1000, 10000, 30000, 50000 ppm	>=30000:(親動物)体重増加が抑制 (児動物) 体重増加が抑制 生殖に毒性影響なし NOAEL=10000
多世代生殖発生(経口, 混餌)	ラット(雄雌)	0, 0.5, 1, 2, 5%	JMPR 1976 (ナトリウム塩) 5%:(母動物)産児数減少 NOAEL(母動物・児動物)=2%
発生毒性(強制経口, 妊娠 6-16日)	ラット(雌)	0, 30, 300, 1000 mg/kg 体重/日	(カリウム塩) 毒性影響なし NOAEL(母動物・胎児)=1000
発生毒性(強制経口, 妊娠 7-27日)	ウサギ(雌)	0, 100, 300, 1000 mg/kg 体重/日(マレイン酸ヒドラジドとして)	(カリウム塩) 1000:(母動物) 脱毛, 吸収の増加, 体重増加抑制 (胎児) 毒性影響なし NOAEL(母動物)=300 NOAEL(胎児)=1000
変異原性:復帰突然変異(<i>in vitro</i>)	ネズミチフス菌	625, 1250, 2500, 5000, 10000 ug/プレート	陰性+/- S9
変異原性:DNA修復(<i>in vitro</i>)	枯草菌	1, 10, 100, 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ug/プレート	陰性-S9 陽性(10000 ug/プレート+S9)

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
変異原性: DNA 修復(<i>in vitro</i>)	大腸菌	0.01, 0.1, 1, 5, 10, 25, 50 uL/プ レート	陰性+/- S9
変異原性:前進 突然変異(<i>in vitro</i>)	マウスリンフ オーマ	0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 uL/mL	陰性+/- S9
変異原性:染色 体異常(<i>in vitro</i>)	チャイニー ズハムスタ ー卵巣細胞	1000, 2150, 4640 ug/mL(- S9) 2150, 4640, 10000 ug/mL (+ S9)	4640:弱い陽性(- S9) 10000:陽性(+ S9)
変異原性:姉妹 染色分体交換 (<i>in vitro</i>)	チャイニー ズハムスタ ー卵巣細胞	100, 1000, 10000 ug/mL(- S9) 32, 320, 3200, 10000 ug/mL(+ S9)	10000:弱い陽性(- S9) >=3200:陽性(+ S9)
変異原性:姉妹 染色分体交換	マウス(雄 雌)	110, 551, 1100 mg/kg 体重(雄雌, i.p.) 800 mg/kg 体重 (雄, i.p.)	陰性
変異原性:染色 体異常(<i>in vivo</i>)	マウス(雄)	500, 1000, 5000 mg/kg 体重(単回又は5 日連続経口投与)	(脛骨骨髓) 陰性(構造異常) 500, 1000:高2倍体細胞増加
変異原性:小核 形成(<i>in vivo</i>)	マウス(雄 雌)	2500, 5000 mg/kg 体重 (強制経 口)	(大腿骨骨髓) 陰性(72-時間)
変異原性:劣性 致死突然変異 (<i>in vivo</i>)	シ ョウジョウバ エ	0.4, 1% w/v	陰性
変異原性:スポ ットテスト(<i>in vivo</i>)	シ ョウジョウバ エ	1, 2, 5, 10 mmol/L	> 2:陽性
変異原性:劣性 致死突然変異 (<i>in vivo</i>)	ショウジョウ バエ	820, 2500 ug/mL	陽性
その他			該当する試験なし
一日摂取許容 量(推定値)			0-0.3 mg/kg 体重

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
CCPR	Codex Committee of Pesticides Residues	(FAO/WHO) 国際残留 農薬部会
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専 門家会議
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
i.p.	intraperitoneal	腹腔内
LC ₅₀	50% Lethal Concentration	半数致死濃度
LD ₅₀	50% Lethal Dose	半数致死量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
S9	9000×g Supernatant	9000xg, (10分)遠沈上清
TLC	Thin-Layer Chromatography	薄層クロマトグラフィー
WHO	World Health Organization	世界保健機関

