

4. 水中動態に関する試験

(1) 加水分解動態試験

標識グリホサート酸の pH5、7 および 9、25°Cでの加水分解試験 (資料 No.M25、PC04)

試験機関:

報告書作成年: 1996 年

[GLP 対応]

供試化合物:

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート酸			

緩衝液: 緩衝液および試験系は 25 分間オートクレーブ処理して滅菌した。

pH 5.0 緩衝液	フタル酸緩衝液	48.9mL の 0.0975N NaOH 溶液及び 100mL の 0.1M 重フタル酸カリウムを水で 200mL に希釈して調整。
pH 7.0 緩衝液	リン酸緩衝液	59.26mL の 0.0975N NaOH 溶液及び 100mL の 0.1M リン酸二水素カリウム (KH ₂ PO ₄) を水で 200mL に希釈して調整。
pH 9.0 緩衝液	ホウ酸緩衝液	42.6mL の 0.1N NaOH 溶液及び 100mL の 0.1M ホウ酸 (H ₂ BO ₃) を水で 200mL に希釈して調整。

試験濃度: 設定濃度 10ppm (実濃度 pH5;10.25ppm、pH7;10.11ppm、pH9;9.86ppm)

共存溶媒: 補助の溶媒は用いなかった。

試験温度: 25 ± 1°C

試料採取時期等: 遮光条件下に保ち、処理後 0、2、5、9、14、21 および 30 日に試料を採取した。

分析: 放射能は、液体シンチレーションカウンター (LSC) で計測した。

結果および考察

放射能の回収率： 試験期間中の回収率を次表に示す（2連の平均値）。試験期間中に放射能の揮発もしくは試料管壁への吸着の発生は示唆されなかった。

経過日数	回収率 (%)		
	pH 5	pH 7	pH 9
0	101.2	112.3	102.7
2	100.3	113.1	101.9
5	99.2	106.2	100.8
9	102.4	104.4	102.2
14	103.0	104.2	100.7
21	101.1	103.9	102.8
30	103.0	103.3	103.9

加水分解結果：グリホサート酸の消長を次表に示す（2連の平均値）。

HPLC および TLC 分析の結果、グリホサート酸がこの試験で用いた条件で何らかの有意な加水分解を受けたとは考えられなかった。

経過日数	処理量に対する割合 (%TAR)		
	pH 5	pH 7	pH 9
0	98.24	98.25	98.32
2	97.90	98.15	98.23
5	98.16	98.14	98.25
9	97.94	97.50	98.25
14	98.45	97.35	98.33
21	97.89	98.03	97.55
30	99.14	96.71	97.88

半減期：半減期の数値を各 pH について求めた。

条件	速度定数 k	R ²	半減期
pH5	0.000262	0.3932	PMG の測定可能な分解は認めらなかった
pH7	-0.00042	0.6111	1627 日。PMG の分解は無視できる程度であった。
pH9	-0.00020	0.5207	3448 日。PMG の分解は無視できる程度であった。

グリホサート酸は、pH5、7 および 9、遮光および 25°Cの加水分解条件下では安定であった（半減期>1年）。

(2) 水中光分解動態試験

(2-1) グリホサート酸の自然太陽光による pH 5 及び 7 の緩衝水溶液中における光分解試験
(資料 No.M26、PC05)

試験機関：

報告書作成年：1996 年

[GLP 対応]

供試化合物：

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート酸			

緩衝液および試験濃度： 緩衝液は 30 分間オートクレーブ処理して滅菌した。

緩衝液		試験濃度
pH 5 緩衝溶液 (酢酸緩衝液)	0.1M 酢酸 146mL を 0.1M NaOH 100mL と合わせ、水で希釈し 1L に調整した。	9.79 mg/L
pH 7 緩衝溶液 (リン酸緩衝液)	0.1M リン酸二水素カリウム (KH ₂ PO ₄) 22.4mL を 0.1M リン酸水素二ナトリウム (Na ₂ HPO ₄) 25.8mL を合わせ、水で希釈し 1L に調整した。	9.48 mg/L

共存溶媒：補助の溶媒は用いなかった。

平均試験温度：25.36 ± 0.04 °C

光源：カリフォルニアの太陽光（北緯 38°、西経 122°）。試料は、自然太陽光に最長 30 日間暴露した。一日の平均照射強度は、250～700nm で 55.9W/m² (8.05W min/cm²/day) であった。

照射期間：1995 年 10 月 04 日 - 11 月 03 日

処理：pH5.0 および 7.0 緩衝液に検体を添加し、太陽光に暴露した。暴露 0、2、6、12、20 及び 30 日後に試料を採取した。0 時点を除く各採取時に、揮発性化合物を回収した。揮発性物質補集にはエチレングリコール、NaOH 水溶液の 2 種類のトラップを用いた。試験区は、pH5.0 では、照射区と遮光区、pH7.0 では照射区を設けた。照射区の試験容器には石英管を用いた。

試料分析：各溶液の放射能については液体シンチレーションカウンターで測定し、親化合物および分解物については高速液体クロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーで分析した。

結果 : 結果は以下の通りであった

表 1 物質収支 (2連平均、数値は処理放射能に対する%)

pH	区	照射日数		0	2	6	12	20	30	
		東京の春換算照射日数*		0	1.4	4.2	8.4	14.0	20.9	
pH 5 緩衝液	照射区	緩衝液		102.60	100.74	101.94	100.54	101.19	100.46	
		揮発成分	エチレング*リコール	—	0.00	0.01	0.07	0.08	0.24	
			NaOH	—	0.00	0.01	0.03	0.03	0.05	
		合計 (回収率)		102.60	100.74	101.95	100.63	101.29	100.75	
	暗対照区	緩衝液		102.60	101.97	102.46	99.54	101.14	101.00	
		揮発成分	エチレング*リコール	—	0.00	0.00	0.01	0.12	0.15	
			NaOH	—	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	
		合計 (回収率)		102.60	101.97	102.46	99.55	101.29	101.17	
	pH 7 緩衝液	照射区	緩衝液		103.83	104.60	102.71	104.76	102.48	103.70
			揮発成分	エチレング*リコール	—	0.00	0.00	0.01	0.08	0.18
NaOH				—	0.00	0.00	0.01	0.02	0.03	
合計 (回収率)			103.83	104.60	102.71	104.78	102.58	103.91		

* : 申請者による算出

表 2 代謝物の変化 (2連平均、0時点の回収率を100%とした場合の割合、%)

pH	区	照射日数	照射日数*	計	PMG
pH 5 緩衝液	照射区	0	0	100.0	97.9
		2	1.4	98.2	94.3
		6	4.2	99.4	90.1
		12	8.4	98.0	82.9
		20	14.0	98.6	71.4
		30	20.9	97.9	61.8
	暗所対照区	2	-	99.4	96.8
		6	-	99.9	97.1
		12	-	97.0	94.6
		20	-	98.6	96.0
pH 7 緩衝液	照射区	0	0	100.0	97.7
		2	1.4	100.7	97.4
		6	4.2	98.9	93.7
		12	8.4	100.9	92.9
		20	14.0	98.7	89.5
		30	20.9	99.9	89.3

pH 5 及び 7 緩衝溶液中における グリホサート酸の半減期
(擬似一次カイネティクスを想定)

	半減期	
	光照射区	暗所対照区
pH 5	45 日 (東京の春換算で 31.4 日)	本試験条件下で安定 (> 2.7 年) (東京の春換算で > 1.9 年)
pH 7	> 200 日 (東京の春換算で > 140 日)	実施せず

東京春換算は申請者が算出 (次頁参照)

結論 :

pH 5 及び 7 緩衝液中における グリホサート酸の水中光分解試験を 30 日間実施した。

PMG は自然太陽光に暴露された場合、pH 7 緩衝溶液中では安定であり、試験期間終了時点の光照射試料中において、添加量の 89.3% を占めていた。pH 7 光照射試料の塩基性トラップから添加量の約 0.03% が回収された。pH 7 光照射試料中の PMG 半減期は、擬似一次カイネティクスを想定して > 200 日 (東京の春換算で > 140 日) であると算出された。

グリホサート酸は pH 5 光照射緩衝液中で光化学プロセスの結果として分解し、試験終了時点で添加量の 61.8% になっていた。2 種の光分解物が検出され、試験終了時点で

を占めていた。添加量の約 0.05% が pH 5 光照射試料の塩基性トラップ中に回収された。pH 5 光照射試料中の半減期は、擬似一次カイネティクスを想定して 45 日 (東京の春換算で 31.4 日) であると算出された。

PMG は暗所対照区 (pH5) で安定であり、さらに、試験系は全試験期間を通して無菌性が維持されていたことから、PMG の分解は、光分解によるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(2-2)

グリホサートトリメシウム塩の室内条件下の自然水中光分解試験

(資料 No.M27、PC06)

試験機関：

報告書作成年：2001年

[GLP 対応]

供試化合物：

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート トリメシウム塩			

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート トリメシウム塩			

自然水：英国ケンブリッジ州ハンティンドンの Ouse 川から採取した河川水を用いた。

試験系はオートクレープ処理され、試験期間中滅菌性を維持した。各試験液の pH は以下に示す通りである。

	処理後時間(日)	照射区	遮光区
グリホサートトリメシウム塩試験区	0	7.82	
	6	8.26	8.05
グリホサートトリメシウム塩試験区	0	7.84	
	3	8.15	8.23

試験濃度：設定濃度 2 mg/L (実際濃度 グリホサートトリメシウム塩 1.95mg/L、
グリホサートトリメシウム塩 2.0mg/L)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

試料採取および分析：

グリホサートトリメシウム塩試験区の試料採取は、処理直後、約1、2、3、4、5および6日後に実施した。TLCで代謝物を分析した。

グリホサートトリメシウム塩試験区の試料採取は、処理直後、約0.5、1、1.5、2、2.5および3日後に実施した。HPLCで代謝物を分析した。

いずれの試験区でも放射活性は、LSCで分析した。

試験条件 : 25 ± 2 °C

光源 : キセノンアーク灯による照射フィルターを用いて、290 nm以下の波長をカットした。

照射強度	グリホサートトリメシウム塩	43.6W/m ²	(300~400nm)
-------------	---------------	----------------------	-------------

	グリホサートトリメシウム塩	42.6W/m ²	(300~400nm)
--	---------------	----------------------	-------------

結果： 物質収支（回収率）と親化合物の変化を表1に示した。

グリホサートトリメシウム塩試験区では有意な分解は認められなかった。

グリホサートトリメシウム塩試験区では、照射条件下、分解が認められた。

本試験区での代謝物の変化を表2に示した

自然河川水中の PMG の光分解半減期は38.5時間で、これは、東京の春換算で8.8日に等しかった。データ相関係数性（ r^2 ）は0.98であった。暗所対照溶液中のグリホサートトリメシウム塩の有意な分解はなかった。又、試験期間中、滅菌性は保たれた。

表1 物質収支（回収率）および親化合物の変化（照射区2連平均、暗所対照区1連）

	設定照射時間 (日)	東京の春換算 照射期間(日)	照射区		暗所対照区	
			処理放射能に対する割合、%		処理放射能に対する割合、%	
			回収率 %	試験溶液中の親化合物の割合	回収率 %	試験溶液中の親化合物の割合
グリホサートトリメシウム塩処理	0	0	99.1	99.3	—	—
	1	5.6	99.4	98.0	98.8	98.9
	2	10.4	99.0	97.8	98.6	98.3
	3	16.0	96.9	97.4	96.7	98.9
	4	21.8	99.7	96.9	100	97.3
	5	27.7	99.2	96.3	99.4	97.3
	6	33.8	99.5	96.9	98.3	97.9
グリホサートトリメシウム塩処理	0	0	97.9	93.7	—	—
	0.5	2.6	99.8	67.8	100	92.9
	1	5.5	100	57.0	101	93.8
	1.5	8.1	99.4	42.5	99.8	90.9
	2	10.9	100	38.7	101	93.4
	2.5	13.8	100	29.7	101	93.0
	3	16.1	99.0	25.1	99.3	92.6

—：測定せず

表2 グリホサートトリメシウム塩試験区の照射条件下での代謝物の変化
(2連平均、処理放射能に対する割合、%)

照射時間 (hr)	東京の春換算照射時間 (日)	PMG	
0	0	91.3	
12	2.6	66.5	
24	5.5	52.1	
36	8.1	42.2	
48	10.9	35.0	
60	13.8	29.5	
72	16.1	24.6	

5. 土壌吸着及び脱着試験

(3-1)

グリホサートトリメシウム塩の4種の日本土壌における土壌吸脱着試験

(資料 No.M22、PC07)

試験機関:

報告書作成年: 2001年

[GLP 対応]

供試化合物:

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサートトリメシウム塩			

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサートトリメシウム塩			

供試土壌: 土壌の特性は下表に示した。

供試土壌名	鹿児島土壌 (火山灰土壌)	高知土壌	牛久土壌 (火山灰土壌)	筑波土壌
由来	鹿児島県農業試験場	高知県農業試験場	ゼネカ株式会社 日本農業研究所	国立農業研究センター
pH (H ₂ O)	6.4	6.4	6.4	6.9
pH (CaCl ₂)	5.8	5.6	5.9	6.5
砂%	57	31	55	48
シルト%	27	42	29	36
粘土%	16	27	16	16
有機炭素%	1.7	1.4	1.7	3.6
有機物%	2.9	2.4	3.0	6.2
陽イオン置換容量 (meq/100 g)	11.9	10.7	25.2	31.3
土性区分 (USDA)	砂壤土	壤土	砂壤土	壤土
OECD 土壌分類 (申請者が分類した)	3	4	3	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シンジェンタジャパン株式会社にある。

試験方法： グリホサートトリメシウム塩の吸着及び脱着特性を、4種の土壌で試験した。検体の微生物分解を抑えるために、土壌は全て使用前にガンマ線照射により滅菌した。土壌スラリーは、土壌：水(0.01 M CaCl₂水溶液)で調製し、グリホサートトリメシウム塩処理は1：20の比率に、グリホサートトリメシウム塩処理は4：20の比率とした。

本実験では、グリホサートトリメシウム塩高濃度水溶液を土壌スラリーに添加して、設定濃度を0.05、0.1、0.2、1.0及び2.0µg/mLとした。CaCl₂水溶液は、使用前にオートクレーブ処理して滅菌した。

予備試験：

本試験操作手順

処理前	土壌試料を0.01 M CaCl ₂ 水溶液と試験管中で一晩平衡にした。 平衡化は、振とう機上で、24時間、25°C、暗所で実施した。
検体処理	0.05、0.1、0.2、1.0及び2.0 µg/mLの設定濃度になるように検体を添加した。
吸着	吸着平衡化は、振とう機上で、24時間、25°C、暗所で実施した。 遠心分離により水相と土壌を分離した。
脱着	分離した土壌に、0.01 M CaCl ₂ 水溶液を、各試験管中に加えた。 脱着平衡化は、振とう機上で、24時間、25°C、暗所で実施した。 遠心分離により水相と土壌を分離した

放射能測定：放射能は、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。

水相及び土壌相分析：

結果及び考察

物質収支： グリホサートトリメシウム塩処理試料の回収率は、平均 99.1%であった。
 グリホサートトリメシウム塩処理試料の回収率は、平均 99.5%であった。

	土壌	設定濃度 µg/mL	水相からの 回収率 % (上清)		土壌からの 回収率 %		総回収率 %
			吸着	脱着	抽出	燃焼	
グリホサートトリメシウム塩	高知	0.2	1.5	0.6	92.5	1.1	95.7
	鹿児島	0.2	2.5	0.8	99.6	0.7	104
	牛久	0.2	0.7	0.1	97.3	4.4	103
	筑波	0.2	0.2	0.1	96.6	5.4	102
	鹿児島	0.05	2.6	0.8	99.8	0.6	104
	鹿児島	0.1	2.3	0.9	87.0	0.5	90.7
	鹿児島	1	2.2	0.9	95.3	0.6	99.0
	鹿児島	2	2.3	0.9	90.2	0.6	94.0
グリホサートトリメシウム塩	高知	0.2	40.1	22.1	27.3	11.2	101
	鹿児島	0.2	29.4	14.7	38.9	24.4	107
	牛久	0.2	22.4	13.4	39.8	24.6	100
	筑波	0.2	35.3	18.3	31.7	16.2	102
	筑波	0.05	30.9	16.0	32.0	18.1	97.0
	筑波	0.1	30.5	15.8	28.7	16.4	91.4
	筑波	1	39.8	17.6	26.6	14.4	98.4
	筑波	2	40.2	19.5	27.2	12.2	99.1

グリホサートトリメシウム塩の安定性：土壌抽出放射能の分析結果から
 試験条件下土壌では安定であった。

グリホサートトリメシウム塩：

吸着； 処理放射能の 97%以上が土壌に吸着された。平均吸着分配係数(K^{ads}_d)は、836 から 5010 の範囲にあった。フロインドリッヒ吸着係数(K_F^{ads})も同様のパターンを示し、848~7980 の範囲にあった。フロインドリッヒ式の直線回帰は、全土壌に良くフィットしていた。0.96~1.12 の範囲にある $1/n$ 値は、 K^{ads}_d の吸着が試験した濃度範囲にわたって完全に直線的ではなかったことを示した。 K^{ads}_{oc} 値は、49700 から 219000 の範囲にあった。 $K_F^{ads}_{oc}$ 値も同様のパターンに従い、60900 ~458000 の範囲にあった。McCall の分類基準から移動性は、全土壌で“非移動性”と分類された。

脱着； 平均 K^{des}_d 値は、2250~15900 の範囲にあった。 K^{des}_d 、 K^{des}_{oc} 、 K_F^{des} 、 $K_F^{des}_{oc}$ 値は、吸着段階で測定した値よりも全て大きかった。このことは吸着プロセスが物質的な可逆性に欠けることを示唆した。

グリホサートトリメシウム塩：

吸着； 処理放射能の 46.2~76.9%が土壌に吸着された。 K^{ads}_d は、5.46 から 12.8 の範囲にあった。 K_F^{ads} も同様のパターンを示し、4.17~8.75 の範囲にあった。フロインドリッヒ式の直線回帰は、全土壌に良くフィットした。0.86~0.88 の範囲にある $1/n$ 値は、 K^{ads}_d の吸着は試験濃度範囲にわたって完全に直線的ではなかったことを示した。 K^{ads}_{oc} 値は、159 から 734 の範囲にあった。 $K_F^{ads}_{oc}$ 値も同様なパターンに従い、117~503 の範囲にあった。McCall の分類基準から、 K^{ads}_d は牛久土壌では“低移動性”、鹿児島土壌及び高知土壌では“中程度移動性”と分類された。筑波土壌では、移動性分類は“高移動性”であった。

脱着； 平均 K^{des}_d 値は、8.95~17.4 の範囲にあった。 K^{des}_d 、 K^{des}_{oc} 、 K_F^{des} 、 $K_F^{des}_{oc}$ 値は、吸着段階で測定した値よりもそれぞれ大きかった。このことは吸着プロセスが物質的な可逆性に欠けることを示唆した。

吸着係数 (K^{ads}_d 、 K^{ads}_{oc} 、 K_F^{ads} 、 $K_F^{ads}_{oc}$ 及び $1/n$)

	土壌	K^{ads}_d	K^{ads}_{oc}	K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$	$1/n$
グリホサートトリメシウム塩	鹿児島	836	49700	1230	73100	1.08
	高知	1080	77300	848	60900	0.96
	牛久	3810	219000	7980	458000	1.12
	筑波	5010	139000	5830	162000	1.03
グリホサートトリメシウム塩	鹿児島	9.75	580	6.84	407	0.86
	高知	5.46	392	4.17	299	0.88
	牛久	12.8	734	8.75	503	0.86
	筑波	5.72	159	4.20	117	0.87

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

脱着係数(K_d^{des} 、 K_{oc}^{des} 、 K_F^{des} 、 $K_{F_{oc}}^{des}$ 及び $1/n$ 値)

	土壌	K_d^{des}	K_{oc}^{des}	K_F^{des}	$K_{F_{oc}}^{des}$	$1/n$
グリホサー トトリメシ ウム塩	鹿児島	2250	134000	1940	116000	0.98
	高知	2850	204000	1570	112000	0.91
	牛久	12600	723000	327000	18800000	1.47
	筑波	15900	443000	25300	704000	1.06
グリホサー トトリメシ ウム塩	鹿児島	15.8	939	9.44	561	0.84
	高知	9.17	658	5.79	416	0.86
	牛久	17.4	1000	10.7	613	0.85
	筑波	8.95	249	5.80	161	0.86

(3-2) グリホサート酸を用いた土壌吸着及び脱着試験 (資料 No.M23、PC08)

試験機関：

報告書作成年：1996年

[GLP 対応]

供試化合物：

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート酸			

供試土壌：土壌の特性は下表に示した。

供試土壌名および由来	Lilly Field	Visalia	Wisborough Green	Champaign	18 Acres
	英国	米国	英国	米国	英国
pH	5.7	8.4	5.7	6.2	7.4
砂% (2000~50 μ m)	92	69	8	12	58
シルト% (50~2 μ m)	4	18	60	52	23
粘土% (<2 μ m)	4	13	32	36	19
有機物%	0.5	1.0	3.9	3.7	3.1
陽イオン置換容量 (meq/100 g)	1.8	7.3	11.9	28.3	14.4
最大容水量-1/3bar (水分含有量%)	3.1	10.4	30.9	22.7	17.1
最大容水量-15bar (水分含有量%)	1.1	4.8	19.8	13.5	10.4
土性区分 (USDA 法)	砂土	砂壤土	微砂質埴壤土	微砂質埴壤土	砂壤土
OECD 土壌分類 (申請者が分類した)	7	5	2	2	3

試験方法： グリホサート酸の吸着及び脱着特性を、5種の土壌で試験した。検体の微生物分解を抑えるために、土壌は全て供試前にガンマ線照射により滅菌処理した。土壌スラリーを土壌：水 (0.01 M CaCl₂ 水溶液) の比率 1:20 で調製した。平衡化時間は 4 時間とした。4 時間の吸着段階、続いて一回の脱着段階 (一晚) を用いた本試験を実施した。スラリーに処理したグリホサート酸の濃度は、処理濃度で 1.0、2.0、4.0、20.0 及び 40 μ g/g に相当する 0.05、0.1、0.2、1.0 及び 2.0 μ g/mL とした。土壌は風乾し、次いで篩を通した。試験期間中のグリホサート酸の分解を抑えるために、供試前の土壌試料にガンマ線を照射した (線量は 25~40 kGy)。

吸着及び脱着試験は、自閉式テフロン製遠心管に直接秤取した 1.0 g 相当風乾土壌について実施した。グリホサート酸処理前に、各土壌試料を 20 \pm 2 $^{\circ}$ C で 0.01 M CaCl₂ 水溶液中、回転式振とう機により約 1200rpm で一夜連続的に混合して平衡化した。本試験で用いた CaCl₂ 水溶液は、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

使用前にオートクレーブ処理して滅菌した。

予備試験：

本試験操作手順

処理前	土壌試料を 0.01 M CaCl ₂ 水溶液と試験管中で予め一晚平衡にした。 平衡化は、振とう機上で、20±2℃で実施した。
検体処理	0.05、0.1、0.2、1.0 及び 2.0µg/mL の設定濃度になるように検体を添加した。
吸着	吸着平衡化は、振とう機上で、4 時間、20±2℃で実施した。 遠心分離により水相と土壌を分離した。
脱着	分離した土壌に、0.01 M CaCl ₂ 水溶液を、各試験管中に加えた。 脱着平衡化は、振とう機上で、一晚、20±2℃で実施した。 遠心分離により水相と土壌を分離した

吸着段階の分析：

脱着段階の分析：

薄層クロマトグラフィー(TLC)：

結果及び考察

放射能の回収率： 各種試料の放射能回収率は 84～105%の範囲にあり、平均 96%であった。

試験系の グリホサート酸の安定性： 吸着及び脱着段階からの水性及び土壌抽出液の分析結果は、土壌及び水相をスラリー中で使用前に滅菌したにもかかわらず、グリホサート酸が平衡過程期間中にいくらか分解したことを示した。主要代謝物は、
と確認された。

土壌相抽出液のクロマトグラフィーには、リン酸塩緩衝液の存在下で逆相移動系及び固定相としてセルロースを用いる必要があるという困難があった。この方法では、時折平均 6%を超える添加放射能がプレートのベースラインに留まることがある。この物質の多くはグリホサート酸又は
と考えられた。吸着係数の計算においては、存在放射能の全てはグリホサート酸であると仮定した。

土壌吸着：グリホサート酸は、試験土壌全てに強く吸着した。土壌中の平均吸着分配係数(K_d^{ads} 値)は、低有機物及び低粘土含量の土壌で 18、高有機物及び高粘土含量の土壌で 1000 であった。フロインドリッヒ吸着係数(K_F^{ads})も同様のパターンを示し、9.4~700 の範囲にあった。フロインドリッヒ式の直線回帰から導いた r^2 (相関係数)及び $1/n$ (直線の傾き)の値を下表に示した。フロインドリッヒ式は、 r^2 の値が常に 0.98 以上で、試験した土壌全てに良くフィットした。0.72~0.94 の範囲にあった $1/n$ 値は、添加濃度が増大するにつれて吸着が減少することを示しているが、最大添加濃度においても吸着部位は飽和していなかった。これらのデータは、添加濃度の増大に伴う K_d^{ads} 値の減少傾向と一致している。大部分の土壌では、添加した化学物質は 85%(処理範囲を超えて平均した値)を超えて吸着した。例外は“Visalia”土壌であるが、その吸着は平均 44% が吸着した。

土壌の有機炭素含量をもとにした平均 $K_d^{ads_{oc}}$ 値は、“Visalia”の 3,100 から“Lilly Field”の 58,000 までの範囲にあった。フロインドリッヒ吸着係数から導いた相当する係数 ($K_F^{ads_{oc}}$ 値) も同様のパターンを示し、1,600~33,000 の範囲にあった。土壌中の化学物質移動性を評価する McCall の分類基準から、グリホサート酸は低移動性から非移動性の間にあると分類された。グリホサート酸の各土壌中における分類を以下に示した。

土壌	K_F^{ads}	$K_F^{ads_{oc}}$	McCall 分類	$1/n$	r^2
Lilly Field	64	22,000	非移動性	0.75	0.99
Visalia	9.4	1,600	低移動性	0.72	0.99
Wisborough Green	470	21,000	非移動性	0.93	1.00
Champaign	700	33,000	非移動性	0.94	0.98
18 Acres	90	5,000	非移動性	0.76	1.00

土壌脱着：脱着段階後に測定した吸着係数の要約を下表に示した。表には、吸着及び脱着段階の間の K_d の増加%も含めた。脱着段階後の平均 K_d^{des} 値は、低粘土及び低有機物含量土壌の 32 から高有機物及び高粘土含量土壌の 1,600 の範囲にあった。脱着段階後の K_d^{des} 、 $K_d^{des_{oc}}$ 及び $K_F^{des_{oc}}$ 値は全て吸着段階後のそれらより大きかった。その増加程度は大きく、全土壌及び添加濃度にまたがった平均値で 95% の増加であった。従って、これらのデータは、グリホサート酸の吸着はそれほど可逆的ではなく、検体の移動性をさらに減少させる結果になることを示唆している。僅かな移動性を有する“Visalia”土壌を除き、全土壌中のグリホサート酸の移動性は非移動性に分類された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

土壌	吸着段階の $K_{ads,d}$ 、 $K_{ads,oc}$ 、 K_F^{ads} 、 $K_F^{ads,oc}$ 値及び吸着放射能%					脱着段階の $K_{des,d}$ 、 $K_{des,oc}$ 及び $K_F^{des,oc}$ また脱 着段階後の脱着された吸着化学物質%			
	$K_{ads,d}$	$K_{ads,oc}$	K_F^{ads}	$K_F^{ads,oc}$	吸着放 射能%	$K_{des,d}$	$K_{des,oc}$	$K_F^{des,oc}$	吸着から脱着の K_d 増加%
Lilly Field	170	58,000	64	22,000	87	460	160,000	50,000	170
Visalia	18	3,100	9.4	1,600	44	32	5,600	3,000	96
Wisborough Green	680	30,000	470	21,000	97	1,300	55,000	21,000	80
Champaign	1,000	47,000	700	33,000	98	1,600	74,000	56,000	60
18 Acres	230	13,000	90	5,000	91	400	22,000	6,600	68

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(3-3)

(代謝物)の土壌吸着及び脱着特性

(資料 No.M24)

試験機関:

報告書作成年: 1996年

[GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

6. 代謝分解のまとめ

グリホサートカリウム塩は、水溶液中でアニオンとして生成するグリホサート酸イオンの動態に注目すれば、動植物体内あるいは環境中の動態について十分な検索が可能であると考えた。

従って、いずれの動態試験においても、標識
した グリホサート酸あるいは グリホサートトリメシウム塩 を供試し、標識されたグリホサート酸（イオン）の動態に注目した。

1. 動物代謝に関する試験

ラットを用いて吸収、分布、代謝および排泄に関する代謝試験を実施し、動物に摂取されたグリホサート酸の動態を調べた。グリホサート酸あるいは グリホサートトリメシウム塩 を供試し、標識されたグリホサート酸の動態に注目してその動態を調べた。

標識グリホサート酸を用いたラットにおける排泄分布については、経口経路において 10 mg/kg（資料 No.M01）および 1000 mg/kg の単回投与（資料 No.M-03）、および 10mg/kg/day 反復投与（資料 No.M04、非標識検体 14 日間連投後、標識検体を単回投与）を実施した。結果として、いずれの場合も投与放射能の主要排泄経路は、糞経路であり、雌雄とも排泄は速く、72 時間以内にほとんどの放射能が排泄された。排泄に関して性差は認められなかった。組織内分布については、極少量の 1%以下の放射能が低濃度で各組織全体に分布して残留した。その中で比較的高い分布が骨に認められた。また、ラットにおける排泄分布については、さらに 10 mg/kg の単回静脈内投与試験（資料 No.M02）を実施した。結果として、投与放射能は投与後 6 時間以内に約 50%以上が尿中に排泄され、主要排泄経路は、尿経路であった。経口経路と同様に静脈内投与でも、雌雄とも排泄は速く、72 時間以内に約 90%以上の放射能が排泄された。組織内分布については、経口投与と同様の傾向を呈し、比較的高い分布が骨に認められた。さらに、胆管排泄試験（資料 No.M05）を実施し、胆管にカニューレを挿管したラットに 1000 mg/kg 単回強制経口投与し、48 時間後まで胆汁を採取した。胆汁排泄で回収された胆汁中の放射能は雌雄とも投与放射能の 0.1%以下であり、胆汁排泄は主要な排泄経路ではないことが確認された。

経口投与試験、資料 No.M01、03 および 04 の尿糞試料を用いて代謝物同定を行った。なお資料 No.M05 の胆汁排泄で回収された胆汁中代謝物は量的に放射能が少ないため実施しなかった。尿中放射能は、が確認された。 糞中には PMG のみ検出された。このことから、吸収された検体は、として尿中排泄され、吸収されなかった検体は未変化のまま糞経路で排泄されることが考えられた。

標識グリホサートトリメシウム塩 を用いたラットにおける代謝試験（資料 No.M06）を実施した。本試験では 25 あるいは 250 mg/kg の投与量で雌雄ラットに単回経口投与および、25 mg/kg

の投与量で雄のラットに腹腔内投与を実施した。いずれの投与群においても呼気中へのCO₂の排泄は認められなかった。経口投与では25および250 mg/kg群の雌雄いずれにおいても、放射能は尿および糞を介して急速に体外に排出され、48時間後までの総排泄率はいずれも90%以上であった。放射能の尿および糞中への排泄の割合は同程度であった。腹腔内投与の場合は、経口投与よりも放射能の排泄速度は速く、主排泄経路は尿であった。腹腔内投与動物においては、投与された放射能は24時間後までに90%以上が尿中に排泄された。各臓器組織の放射能分布は、投与群のいずれにおいても、骨に最も高い放射能の残留が認められた。また、消化器系臓器、泌尿器系臓器および肝で比較的高い放射能の残留が認められた。尿および糞中代謝物として、いずれも が同定された。尿および糞のいずれにおいても90%以上がPMGであった。以上のように、本化合物は経口投与後48時間以内にそのほとんどが未変化のまま尿および糞中に排泄された。さらに、標識グリホサートトリメシウム塩を用いて、ラットにおける経口投与試験を行った(資料No.M07)。25および250 mg/kgを単回強制経口投与した。平均血中濃度は、低用量群、高用量群の雌雄共に4時間後に最高血中濃度(C_{max})に達し、血中濃度半減期(T_{1/2})は、低用量群雄で18時間、雌で12時間、高用量群では雌雄共に8時間であった。組織中残留は、骨と腎で最高値が認められ、骨以外の各組織中の放射能濃度は漸減し、96時間後には低値を示していた。

以上の結果から、グリホサート酸をラットに経口投与すると、糞中排泄が主であった。尚、胆汁からの排泄放射能がほとんどなかったことから、糞中の放射能は吸収されずに排泄されたグリホサート酸であると考えられた。グリホサート酸を静脈内投与すると、尿中に速やかに排泄されたことから、体内に吸収されたグリホサート酸は尿経路で速やかに排泄されることが確認された。代謝物として尿から が同定された 。従って、吸収されたグ

リホサート酸は動物体内ではほとんど代謝分解されず尿中排泄されることが考えられた。また、グリホサート酸トリメシウム塩をラットに経口投与すると、糞尿中に速やかに排泄され、糞尿への排泄の割合は同等であった。腹腔内投与では殆どが尿中排泄であったことから、吸収されたグリホサート酸トリメシウム塩はグリホサート酸と同様に尿経路で速やかに排泄される事が確認された。代謝物として、糞尿中から が同定された 。従って、グリホサート酸の場合と同様にグリホサート酸トリメシウム塩は動物体内ではほとんど代謝分解されずに排泄されることが考えられた。

2. 植物代謝に関する試験

稲、ぶどう、トウモロコシ、だいず、レモンおよび小麦、かぶを用いて植物代謝試験を実施した。
グリホサート酸あるいは グリホサート酸トリメシウム塩を供試し、グリホサート酸の動態を中心に調べた。

水稻を用いた代謝試験（資料 No.M08）では、水田における実際の使用法を極めて忠実に再現した処理方法により、水稻における代謝を再現した。すなわち、土壤に標識グリホサート酸 2.5 kg/ha 相当量を処理し、処理後 5 日に耕起、さらに 7 日後に湛水を行い、処理後 17 日に稲を移植した。処理後 31 日及び 47 日の未成熟植物体、さらに出穂期の 73 日、並びに成熟期の 122 日に稲体内のグリホサート酸及びその代謝物を分析及び同定した。グリホサート酸は、31 日の未成熟植物体内から検出されたのみで、検出された放射能は 3.5% と少量であった。主要な代謝物である は、31 日（ ）及び 47 日（ ）の未成熟植物体から、73 日の穂部（ ）、処理 122 日の穀粒部（ ）からそれぞれ検出されたが、
であった。

トウモロコシを用いた代謝試験（資料 No.M09）では、標識グリホサートトリメシウム塩 5.13 kg/ha を発芽前に処理し、その代謝を調べた。成熟期の葉では、非抽出物はアミノ酸、ペプチド、リグニンあるいはセルロース等の植物構成組織に同化されていた。尚、抽出相からは PMG あるいは は痕跡程度検出されたのみに過ぎず、定量できなかった。従って、土壤に散布された PMG は、土壤により速やかに代謝され、トウモロコシから検出された放射能は
と考えられた。

小麦を用いた代謝試験（資料 No.M10）では、標識グリホサートトリメシウム塩 5.64 kg/ha を収穫前 7 日に小麦に直接散布し、その代謝を調べた。穀粒、籾殻及び茎の各部位から PMG 及び が検出され、いずれの部位でも PMG は 80% 以上の効率で検出された。総放射能残留は、穀粒では籾殻の 100 分の 1 以下しか検出されなかった。

ぶどうを用いた代謝試験（資料 No.M11 及び M12）では、いずれも標識グリホサートトリメシウム塩を用いた。

5.64 kg/ha を収穫前 7 日にぶどうの周囲に土壤処理し、その移行を調べた実験（資料 No.M11）では、放射能はぶどう植物体内からほとんど検出されなかった。従って、土壤からのグリホサート酸の吸収移行はほとんど認められなかった。

土壤散布後、ぶどう子実における残留を 2 年間調べた実験（資料 No.M12）でも、2 年間ともに子実中から検出された放射能は非常に低値であった。無処置対照区のぶどう子実からも放射能が同レベルで検出されたことから、処置区で検出された放射能の大部分は、土壤あるいは植物体の代謝により生じた であると考えられた。従って、土壤に散布してもグリホサート酸はぶどう子実にほとんど残留しないと考えられた。この試験では同時に収穫前 14 日にぶどう子実への直接散布を実施した。その結果、PMG および のみが検出されたが、AMPA の検出量は 3.1% と少なかった。

だいずを用いた代謝試験（資料 No.M13）では、種子播種後 2 時間以内に、8.4 kg/ha 相当の標識グリホサートトリメシウム塩を散布した。その結果、97 日後の成熟植物体の各部位から PMG および がそれぞれ少量検出された。種子中からも検出されたが、最高でも PMG 0.034 ppm であった。対照区の

植物からも、放射能が検出されたことから、植物体内の放射能のほとんどは、と考えられた。

だいずを用いたもう一つの代謝試験（資料 No.M14）では、グリホサートトリメシウム塩標識化合物を用い葉面処理試験、発芽前土壌処理試験および根部処理試験を実施した。

葉面処理試験は、水耕栽培しただいずの本葉 標識化合物原液 4 mL を処理し、14 日間栽培した。その結果、処理葉の放射能は 7 日後で 80.1% に減少し、22.5% の放射能が非処理部（根、茎および他の葉部）に移行した。オートラジオグラムから、その大部分が処理後成長した部位への移行が確認された。

発芽前土壌処理試験では、ポットにだいずを播種し、 標識化合物溶液 0.581 mL を約 4L/10a になるように噴霧処理した。植物体内への吸収は、土壌処理された 標識化合物の PMG 部位は根部から吸収され、茎葉部を経て種子中にまで移行した。移行量の最も多かった部位は莢部（1.4%）であった。土壌中分布として収穫期における土壌中放射能は、ほとんどが表層 2.5cm までの部分に局在し、PMG は比較的移動し難いことが確認された。

根部処理試験は、だいずを水耕栽培し、2 週間生育の後、 標識化合物溶液 110mL を水耕液に加えた。処理濃度は 4.4 ppm 相当とした。水耕液中の 標識化合物は、根部から吸収され、植物体内に移行した。処理 9 日目で茎葉部には処理量の 1.7%、根部には 5.6% の放射能が検出された。代謝物として茎葉部抽出液の TLC 分析の結果、 が同定された。 の量は茎葉部では抽出液中の であり、 であった。

以上のように、本化合物は葉面あるいは根部から吸収され、ある程度は植物体内へ移行する。代謝物として が存在するが、 と考えられた。

レモン樹を用いた代謝試験（資料 No.M15）では、グリホサートトリメシウム塩標識化合物を用いた。ポット栽培のレモン樹周囲の土壌表面に標識化合物溶液を処理した（処理量は約 0.4g/m²）。処理 3 日後の果実中の親化合物換算量としての残留量は 0.016 ppm、収穫期（136 日後）における残留量は果皮で平均 0.013 ppm、果肉で 0.015 ppm、そして果汁で 0.002 ppm であり、土壌から植物体への吸収移行は認められるものの、移行量は少なかった。土壌中残留濃度は経時的に急速に減少し、収穫期には処理量の 1/6 ~ 1/7 に減少した。本化合物土壌処理におけるレモン果実中の残留濃度は低く、蓄積性は認められなかった

後作物小麦およびかぶにおける残留試験（資料 No.M16）では、グリホサートトリメシウム塩標識化合物を用いた。土壌に 標識化合物溶液を土壌に 6 kg/ha 相当処理した。処理 35、90 および 370 日後にかぶおよび小麦をそれぞれ移植し、収穫期まで栽培した。土壌中の残留には本化合物当量としての移植時の土壌中平均残留量は、作物移植時で濃度の 84%（35 日後）、83%（90 日後）および 51%（370 日後）に減少し、さらに作物収穫時ではそれぞれ 47、55 および 34% に減少した。土壌中代謝物は、抽出物精製後、TLC による代謝物の分析を行ったが、 であった。他に PMG および のスポットが検出された。作物中残留量は、小麦の種子に 0.28 ppm、茎葉部に 0.51 ppm、かぶの根部に 0.03 ppm、茎葉部に 0.09 ppm が検出された。（申請者注：

)

本化合物を処理した土壌で後作物を栽培しても、作物中への本化合物およびその代謝物の移行は少ないと考えられる。

作物に直接散布した実験から、グリホサート酸は、植物茎葉表面から吸収され植物体内を移行し、少量ながら代謝物として 〃 が検出された。一方、土壌に処理した場合あるいは前作物時の処理により土壌中に残留した場合、PMG 並びに 〃 の植物体への移行は極めて少なかった。また、処理後 50 日以上経過した場合、植物体から検出された C はほとんどが植物体構成成分であった。従って、植物体に同化された C の大部分は、グリホサート酸が土壌中で二酸化炭素まで代謝分解された後、植物に取り込まれ同化されたものであると考えられた。

3. 土壌中動態に関する試験

土壌中動態試験も 〃 グリホサート酸あるいは 〃 グリホサート酸トリメシウム塩を供試し、グリホサート酸の動態に着目した。

好氣的湛水土壌（河川水/底質）試験（資料 No.M17）では、2 箇所から採取した河川底質土壌にその河川水を湛水して、グリホサート酸トリメシウム塩標識化合物を、3.3 ppm（Cache 系には 0.396mg、Putah 系には 0.429mg）の濃度で添加して実施した。

結果として、グリホサート酸（PMG）の急速な水相から底質土壌相への移行が認められ、水相及び土壌相ともに主要代謝物は 〃 のみであった。半減期は、採取試料によって顕著な差が認められ、有機物含量が少ない試料では、水相の半減期は 5.3 日、また、水及び土壌相全体の半減期は 7.2 日であった。一方、有機物含量が多い試料では、水相の半減期は 9.9 日、また、水及び土壌相全体の推定半減期は 186 日であった。この試験の結果、PMG は好氣的湛水土壌において分解され、土壌の性質によりその代謝速度が大きく異なることが判明した。PMG は土壌の有機物に極めて吸着されやすく脱着しにくい性質があるため、分解速度は土壌の有機物含量に依存している可能性が示唆された。

好氣的土壌代謝試験（資料 No.M18）は、グリホサート酸標識化合物を、砂壤土の畑地土壌に、4.48kg/ha 相当添加して実施した。結果として供試物質は急速に分解され、その半減期は 5.4 日であった。主要代謝物は 〃 で、

〃 は試験終了時点で 64.3%を占め、PMG は、
無機化される事が示された。

グリホサート酸トリメシウム塩標識化合物を用いた好氣的土壌における代謝分解試験（資料 No.M19）では、土壌をフラスコに入れ、 〃 標識化合物溶液を 30 ppm の濃度になるように処理し、酸素通気下に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

昼間 26.7℃、夜間 18℃でインキュベートした。結果として土壌抽出画分中の放射能は経時的に減少し、それにもなって CO₂の発生量が増加した。抽出画分の TLC 分析の結果、
が同定された。

PMG の半減期は約 3 日であった。PMG は土壌微生物により急速に代謝され、最終的には
を生成すると考えられた。

嫌氣的土壌代謝試験（資料 No.M20）は、グリホサートトリメシウム塩標識化合物を用いて実施した。本試験では土壌に、
標識化合物を 30 ppm となるように遮光条件で土壌表面全体に処理した。処理後、試験容器は最初の 3 日間、一定流量の酸素を通気し好氣的条件でインキュベート後、水を加え、さらに窒素を通気して嫌氣条件としインキュベートした。結果としては土壌中放射能抽出画分中の放射能は経時的に減少（0 日後で処理量の 67%、3 日後で 38%、66 日後で 16%）し、それに伴い
の発生量が増加した（66 日後で 43%）。

PMG の半減期は 3 日であった。
水相中の代謝物も土壌と同様であり、代謝物として
が同定された。以上のように、本化合物は本試験における嫌氣的条件土壌においても代謝され、好氣的条件と同様、
最終的には
を生成する。

土壌表面光分解試験（資料 No.M21）にはグリホサートトリメシウム塩を用いて試験を実施した。土壌に本化合物水溶液を、土壌中濃度が 30 ppm になるように土壌表面に処理し戸外で太陽光に暴露した。結果として、光照射群では、土壌中の PMG 濃度は経時的に減少し、
認められた。暗所対照群では PMG の減少はみられず、
であった。光照射による PMG の減少の半減期は 92.6 時間と考えられた。結論として、本化合物の光分解試験において、PMG は、光によって分解され
が生成した。

以上の結果から、グリホサート酸は、好氣的湛水、好氣的及び嫌氣的条件下のいずれの土壌においても、比較的速やかに代謝分解され
が生成された。
最終的には CO₂ が生成されると考えられた。

4. 環境中動態に関する試験

環境中動態試験も、
グリホサート酸あるいは
グリホサートトリメシウム塩を
供試して行い、グリホサート酸の動態に注目して調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

pH5、7および9の加水分解試験（資料 No.M25、PC04）は、グリホサート酸標識化合物を用いた。緩衝液中に検体を 10 ppm を設定添加濃度として添加し遮光条件で試験を実施した。PH5、7 および 9 の加水分解条件下では安定であった（半減期：1年以上）。

PH 5 及び 7 の緩衝水溶液中光分解試験（資料 No.M26、PC05）は、グリホサート酸標識化合物をもちいた。緩衝液中に検体を 9.79 $\mu\text{g/mL}$ 添加した。PH 5 緩衝液では擬似一次反応機構を仮定して、半減期は 45 日であった。これは、東京の春の自然太陽光に換算して 31.4 日に相当する。また、PH 7 緩衝液中では安定であった。PH 5 光照射緩衝液中では、
の光分解物が検出され、試験終了時点で
を占めていた。

自然水中光分解試験（資料 No.M27、PC06）は、グリホサートトリメシウム塩標識化合物を用いて実施した。試験濃度は 2 mg/L とし、290 nm 以下の波長をカットしたキセノンアーク灯を用いた。自然河川水中の PMG 光分解半減期は 38.5 時間で、これは、東京の春の自然太陽光に換算して 8.8 日に相当する。代謝分解物に
が確認された。

グリホサートトリメシウム塩標識化合物を用いた土壌吸着脱着試験（資料 No.M22、PC07）では、吸着及び脱着特性を 4 種の日本土壌で試験した。 K_F^{ads} 値は、848~7980 の範囲にあり、 $K_F^{\text{ads}}_{\infty}$ 値は、60900~458000 の範囲にあった。従って、McCall の分類基準から PMG の移動性は、全土壌で“非移動性”と分類された。また、脱着試験の結果から、吸着が可逆性でない事が示された。

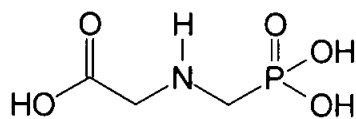
グリホサート酸標識化合物を用いた土壌吸着脱着試験（資料 No.M23、PC08）では、吸着及び脱着特性を 5 種（英国土壌 3 種、米国土壌 2 種）の土壌で試験した。 K_F^{ads} 値は、9.4~700 の範囲にあり、 $K_F^{\text{ads}}_{\infty}$ 値は、1600~33000 の範囲にあった。McCall の分類基準から PMG の移動性は、低移動性~非移動性と分類された。また、脱着試験の結果から、吸着が可逆性でない事が示された。

代謝分解物
についても吸着試験を実施しており（資料 No.M24）、
あった。

以上の結果から、環境中では、グリホサート酸
は土壌に強く吸着すること
から移動性は低いこと、河川湖沼等に流入しても、グリホサート酸は水中では光により分解されることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

7. 動植物などにおける推定代謝分解経路



グリホサート酸

8 代謝分解の概要

8 代謝分解の概要（続き）

8 代謝分解の概要（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

[附] グリホサートカリウム塩開発年表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

グリホサート耐性作物における植物代謝試験

平成 21 年 03 月 26 日作成

シンジェンタ ジャパン株式会社
研究開発本部 農薬レギュラトリー部

<代謝試験一覧表>

資料 No.	試験 種類	供試生物	投与方法 処理量 検体	試験概要および結果	試験機関 報告年
参考 資料 1 (GLP)	植物 代謝	とうもろこし (グリホサート 耐性)	グリホサート酸 発芽前(播種 1 日) : 4.20 kg/ha 散布 発芽後(播種 14、55 および 124 日) : 各 0.84kg/ha 散布	[試料] 播種後 65、96、131 日に地上 部を採取。総残留放射能及び代謝物を 分析 [残留及び植物体内分布] 残留は葉 で多く、直接散布されない穀粒、穂軸 では少なかった。残留の多くは PMG であった。 穀粒の抽出残渣は多くが糖類に同化 されていた。葉では一部が糖類、セル ロース、リグニン等の植物構成成分に 同化されていた。無処理区でも残留が 認められる事から、土壌分解された CO ₂ を吸収したものと考えられた。	(2007 年)
参考 資料 2 (GLP)	植物 代謝	大豆 (グリホサート 耐性)	グリホサートトリ メシウム塩 播種日 : 5.6kg/ha 土壌処理 播種 58 日 : 2.24kg/ha 散布 播種 127 日 : 1.12kg/ha 散布	[試料] 播種 134 日に採取分析。 [残留及び植物体内分布] 大豆種子に おける総残留放射能は、約 10ppm で あった。 PMG、 が各 26、 検出された。タンパク 7%TRR、トリ グリセライド 5%TRR、モノサッカラ イド 2%TRR が検出され、一部は植物 体構成成分に同化されていた。	(1997 年)

グリホサート酸のグリホサート耐性とうもろこしにおける代謝試験

(参考資料1)

試験機関：

報告書作成年：2007年

[GLP 対応]

供試化合物：

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート酸			

処 理：播種日、14日後、55日後および124日後の4回、下表の通り散布した。尚、市販の36%w/v液剤を模した製剤を用いた。

散布回数 (散布時期)	散布時期	散布量 (kg/ha 相当)	
		設定	実測
1回目 (発芽前)	播種後1日	4.20	4.23
2回目 (第2~3葉期)	播種後14日	0.84	0.85
3回目 (第11~13葉期)	播種後55日	0.84	0.87
4回目 (収穫前7日)	播種後124日	0.84	0.88
計		6.72	6.83

供試植物：グリホサート耐性とうもろこし (*Zea mays*)、(非感受性 EPSPS 遺伝子導入)

方 法：

処理土壌； 用いた土壌の特性を下表に示す。尚、各ポットは温室内で管理した。

土壌 pH	6.6 (0.01M CaCl ₂)
有機物含量	1.9 % w/w
容水量	12.6 % w/w (0.33 Bar)
	6.2 % w/w (15 Bar)
陽イオン置換容量	9.0 (meq/100g)
利用可能栄養物	P (56mg/L) K (159mg/L) Mg (61mg/L)
総窒素含量	0.108 % w/w
土性区分 (USDA)	砂壤土
砂質	70 % w/w
シルト質	14 % w/w
粘土質	16 % w/w

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

試料の採取； 播種後の試料採取時期及び採取部位は以下の表に示した。

播種後日数 (試料採取時期)	農業用用途	部位
65 日 (3 回散布後 10 日)	早期飼料用	植物の地上部全体 (全植物)
96 日 (3 回散布後 41 日)	食用	穀粒
	—	葉、穂軸
	飼料用	植物の地上部全体 (全植物)
131 日 (4 回散布後 7 日)	成熟飼料用	穀粒
	—	葉、穂軸

—：該当せず

抽出及び分析； ホモジナイズした各植物試料は、ジエチルエーテル（穀粒のみ）、アセトニトリル及び水で順次抽出した。抽出物の分離/同定は陰イオン交換 TLC を含む TLC 分析で行い、各領域の放射活性を測定して定量した。

放射能の測定； 放射能は、直接または燃焼法により液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

結 果： 各採取時期/部位の残留量を表 1、水相抽出中各成分の割合を表 2、さらに無処理区における残留量を表 3 に示した。

表 1 各採取時期/部位の総残留放射能（TRR）

播種後 日数	農業用用途	部位	TRR (mg/kg)	%TRR	
				抽出（水相）	抽出残渣
65	早期飼料用とうもろこし	全植物	15.897	94.5 (93.0)	5.4
96	食用とうもろこし	穀粒	0.754	80.4 (78.2)	19.5
	—	葉	19.146	91.1 (88.7)	8.9
		穂軸	2.344	92.1 (90.1)	8.0
	飼料用とうもろこし	全植物	13.383	90.4 (88.1)	9.6
131	成熟飼料用とうもろこし	穀粒	0.532	57.9 (53.4)	42.0 ¹⁾
	—	葉	52.169	96.2 (95.2)	3.8 ²⁾
		穂軸	1.484	83.4 (81.5)	16.7

—：該当せず ¹⁾： 多くが、穀粒糖質に組み込まれている事が確認された

²⁾： 内、PMG[A]1.3、 、オリゴ糖あるいは多糖類 0.6、セルロース 0.1、リグニン 0.1%TRR

表 2 水相抽出中の各成分の割合 (%TRR)

播種後日数	部位	%TRR		
		PMG[A]		合計
65	全植物	83.5		92.8
96	穀粒	62.5		74.8
	葉	79.7		89.1
	穂軸	76.1		89.3
	全植物	79.1		88.6
131	穀粒	36.7		50.5
	葉	86.7		96.2
	穂軸	69.2		81.2

— : 該当せず

表 3 無処理区における残留放射能*

播種後日数	部位	残留量	
		TRR (mg/kg)	処理区比 (%)
65	葉	0.033	0.2
96	穀粒	0.075	10.2
	葉	0.046	0.2
	穂軸	0.081	3.7
131	穀粒	0.116	22.1
	葉	0.089	0.1
	穂軸	0.101	6.7

* : 燃焼法による LSC 分析に基づく、 — : 該当せず

残留は直接散布を受ける葉で多く、散布回数が増えると残留量も増加した。直接散布を受けない穀粒、穂軸では、葉からの移行と土壌分解による CO₂ の吸収による残留と考えられた。なお、無処理区の穀粒で処理区の 10.2~22.1%、穂軸で 3.7~6.7%の残留が認められることから、CO₂ の吸収による残留が確認できる。

親化合物 PMG[A]は、葉および全植物で 79.1~86.7%TRR に対して、穂軸で 69.2~76.1%TRR とやや低く、穀粒では 36.7~62.5%TRR とさらに低かった。

であった。

播種後 131 日の穀粒の抽出残渣を糖分解酵素で分解し得られた極性の高い水溶性物質を、

陽イオン交換クロマトグラフィー分析すると、多くが糖類と一致した。さらにフェニルヒドラジンによるオサゾン誘導試験から、代謝物の多くが糖類に組み込まれたと考えられた。なお、糖類以外の天然物（アミノ酸、タンパク、脂質）に組み込まれている可能性もあるが、確認しなかった。

播種後 131 日の葉の抽出残渣を熱湯抽出、水酸化ナトリウム熱湯溶液抽出、濾液の酸化により、PMG が 1.3%TRR、
、オリゴ糖あるいは多糖類が 0.6%TRR、セルロースが 0.1%TRR、リグニンが 0.1%TRR がそれぞれ確認された。代謝物の一部は植物構成成分に同化されていた。

各時期/部位における残留の多くは未変化の PMG で、主要な代謝物は
であったが、いずれの試料でも 5.5%TRR 以下であった。代謝物の一部は、糖類、セルロース、リグニン等の植物構成成分に同化されているのが確認された。無処理区でも残留が認められることから、土壌で分解された CO_2 が吸収されて植物構成成分に同化されるものと考えられた。その他、
の代謝物が天然成分に組み込まれる可能性もあるが、確認出来なかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

グリホサートトリメシウム塩のグリホサート耐性だいずにおける代謝試験
(参考資料 2)

試験機関：

報告書作成年：1997年

[GLP 対応]

供試化合物：

略称	構造式	比放射能	放射化学的純度
グリホサート トリメシウム塩			

処理溶液の調製： 標識グリホサートトリメシウム塩を、水に溶解させ処理溶液を調製した。

(発芽後処理では 0.12%v/v の非イオン性界面活性剤加用)

処理量： 播種日に 5.6kg/ha 相当土壌表面均一処理、 播種後 58 日（開花期）に 2.24kg/ha 相当散布、播種後 127 日（収穫 7 日前）に 1.12kg/ha 相当散布（計 3 回）

供試植物： グリホサート耐性だいず

方法：

土壌； 用いた Visalia 土壌の特性を下表に示す。

土壌 pH	8.4
有機物含量	0.85%
容水量 (1/3bar)	9.7%
陽イオン置換容量	6.3meq/100g
比重	1.5g/cm ³
土性区分 (USDA)	砂壤土
砂質	69.2 %
シルト質	22.1 %
粘土質	8.8 %

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

栽培；ポットは収穫するまで温室内に置いた。施肥、水/温度管理を行った。ダニ防除の為にピレトリン加用界面活性剤を散布した。

試料の採取；播種 134 日後に植物を収穫した。収穫 20 日後に種子を採取し、コーヒー粉砕機で粉にした。

抽出・分画・同定；ホモジナイズした粉砕種子をヘキサン抽出した。残渣を 0.1N 塩酸で抽出後ジクロロメタンで分配し、ヘキサン相とジクロロメタン相を合わせて有機抽出相とした。残渣は再度 0.1N 塩酸で抽出し、合わせて水抽出相とした。

水抽出相は TLC と HPLC、有機抽出相は TLC で分析（同定）を行った。残渣は 6N 塩酸（100℃、6 時間）で加水分解後 TLC で分析した。

放射能の測定；放射能は、直接または燃焼法により液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

結 果：

本試験条件下でのだいち種子における残留量は約 10ppm であった。粉砕種子の各抽出相、残渣および同定化合物の放射活性は表 1 に示す通りであった。

表 1 だいち種子における残留と代謝

相	残留量	同定された化合物
水相	83%TRR (8.3ppm)	PMG[A] (グリホサート酸) : 26%TRR (2.6ppm)
有機相	5%TRR (0.5ppm)	
残渣	11%TRR (1.1ppm)	
合計	100%TRR (10.0ppm)	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

する領域が検出された。

水相から 26%TRR の PMG と 38%TRR の が検出され、さらに 7%TRR が TLC 原点に留まり、タンパクと一致した。その他、PMG から と TLC 上一致する領域 (2.3%TRR) が検出され、 が微量検出された。

有機相はその殆ど (5%TRR) が で、鹼化 (加水分解) により一部がだ
いずの主要脂質であるオレイン酸/リノール酸に変化した。

残渣の加水分解後 TLC 分析すると、約 2%TRR の と約 1%TRR の
が認められた。

以上の事から、グリホサート耐性だいでずでは、非耐性だいでずと同様に、土壤中あるいは植物体上で PMG が に代謝され、さらに二酸化炭素に分解された後に脂質、タンパク質、炭水化物等の植物構成成分に同化されると考えられた。(又、PMG からホスホン酸が解離したサルコシンと一致する領域も検出され、サルコシンは自然物のアミノ酸であることから、サルコシンを経由して植物体に組み込まれる可能性も示唆された。)