

グリホサート個別分析法

1. 装置

高速液体クロマトグラフ : LC-20AD (島津製作所製)

2. 試薬試液

メタノール、りん酸、りん酸二水素カリウム、四ホウ酸ナトリウム、
9-フルオレニルメチルクロロホルマート : 試薬特級
酢酸エチル、アセトン : 残留農薬試験用
アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフィー用
水 : 純水製造装置で製造した水 (オルガノ製 Analytic ,PRA-0015-0V0)
グリホサート標準品 : 純度 98% (和光純薬工業製)
PLS-2 ミニカラム : InertSep PLS-2 500mg (ジーエルサイエンス製)

3. 試験溶液の調製

PLS-2 ミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、メタノール 5mL 及び水 5mL を流下させてカラムを洗浄し、試料 5mL を 5~10mL/分の流速で流下し、次に水 5mL を流下させてグリホサートを溶出した。溶出液は減圧濃縮器を用いて 50°C以下で水を留去した。残留物に 0.05mol/L 四ホウ酸ナトリウム水溶液 5mL を加えて溶解し、0.1%9-フルオレニルメチルクロロホルマート含有アセトン溶液 5mL を加えて 2 分間振とう後、室温で 20 分間放置した。この溶液に酢酸エチル 10mL を加えて 1 分間振とうし、暫時放置した後、水層を分取して試験溶液とした。

4. 測定機器の操作条件

高速液体クロマトグラフの操作条件

検出器 : RF-20A (蛍光分光光度計)

波長 : 励起 270nm、蛍光 310nm

充填剤 : TSKgel DEAE 2SW、粒径 5μm

カラム : 内径 4.6mm、長さ 25cm、ステンレス製

カラム温度 : 40°C

溶離液 : 6mmol/L アセトニトリル／りん酸二水素カリウム水溶液／りん酸
(85 : 15 : 0.5 v/v/v)

流速 : 1.0mL/分

注入量 : 20μL

保持時間 : 約 23.7 分

5. 検量線の作成

グリホサート標準品 20mg (純度換算相当量) を正確に量り取り、水に溶解して 100mL に定容し、200mg/L 標準原液を調製した。この原液 1mL を減圧濃縮器を用いて 50°C 以下で水を留去し、残留物に 0.05mol/L 四ホウ酸ナトリウム水溶液 5mL を加えて溶解し、0.1% 9-フルオレニルメチルクロロホルマート含有アセトン溶液 5mL を加え、室温で 20 分間放置した。この溶液に酢酸エチル 10mL を加え、1 分間激しく振とうし暫時放置して 40mg/L 標準溶液を調製した。この溶液を 0.05mol/L 四ホウ酸ナトリウム水溶液で希釈し、0.01、0.02、0.05、0.1、0.15 及び 0.2mg/L の標準溶液を調製した。この 20μL を前記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、データ処理装置を用いてピーク高さを測定して検量線を作成した。

6. 定量試験

試験溶液から 20μL を前記の高速液体クロマトグラフに注入し、検量線よりグリホサートの重量を求め、試料中のグリホサートの濃度を算出した。

定量限界

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (mL)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	定量限界 (μg/L)
0.2	5	5	20	10

7. 回収試験

分析法確認のため、100μg/L 添加濃度における回収試験を 3 連で実施した。回収試験の結果を示す。

添加濃度 (μg/L)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
100	90, 90, 88	89