

< 散布直後 > (11:22~11:35散布、11:45~12:15捕集)			< 散布当日 午後 > (14:15~15:15捕集)			< 散布1日後 > (13:05~14:05捕集)		
時間帯	風向		時間帯	風向		時間帯	風向	
11:20~11:30	西北西	↘	14:10~14:20	西北西	↘	13:00~13:10	北東	↙
11:30~11:40	西	→	14:20~14:30	北北西	↙	13:10~13:20	東北東	↖
11:40~11:50	北西	↙	14:30~14:40	南	↑	13:20~13:30	北	↓
11:50~12:00	北西	↙	14:40~14:50	東南東	↖	13:30~13:40	北東	↙
12:00~12:10	西	→	14:50~15:00	西北西	↘	13:40~13:50	東北東	↖
12:10~12:20	西	→	15:00~15:10	西北西	↘	13:50~14:00	東北東	↖
			15:10~15:20	西北西	↘	14:00~14:10	東南東	↖

図6 気中濃度(グリホサート)の経時変化(続き)

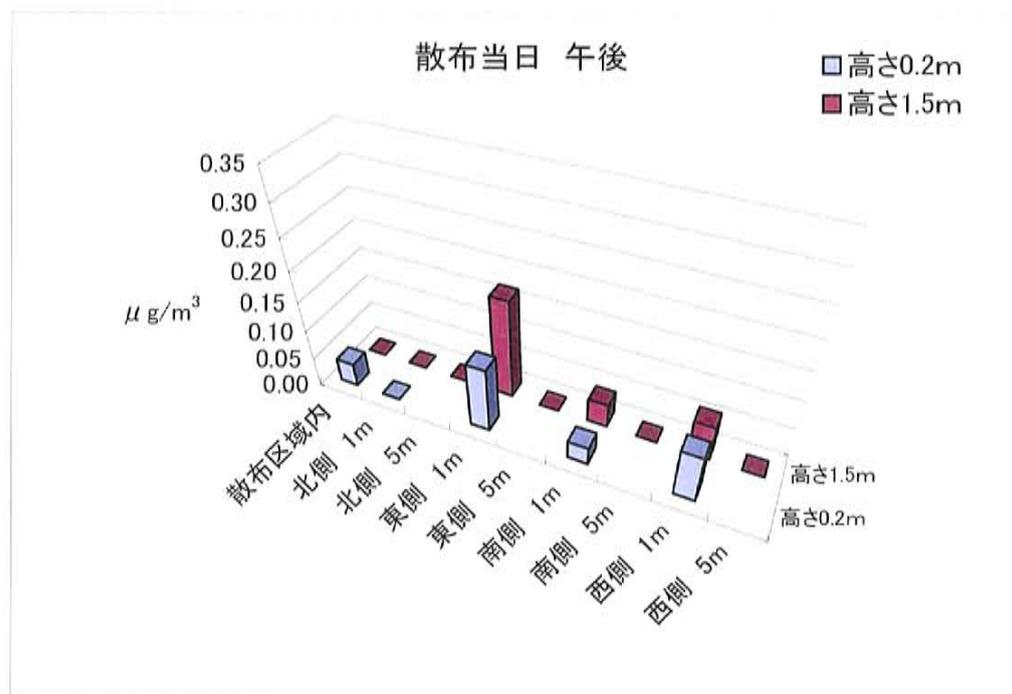
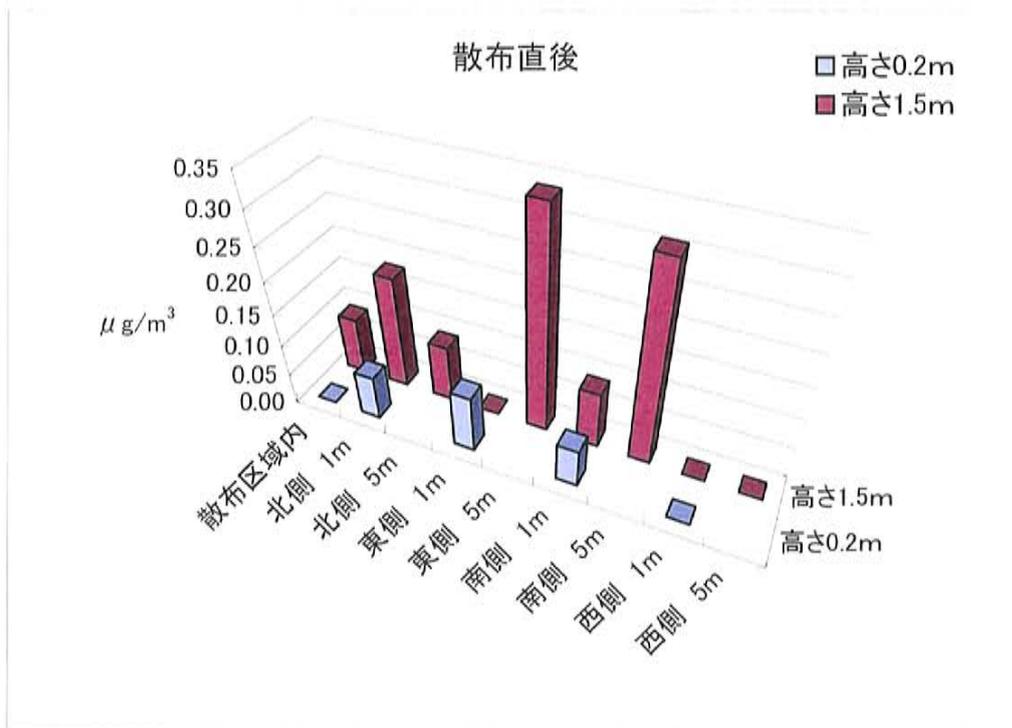


図7 地点別の空中濃度(グリホサート)

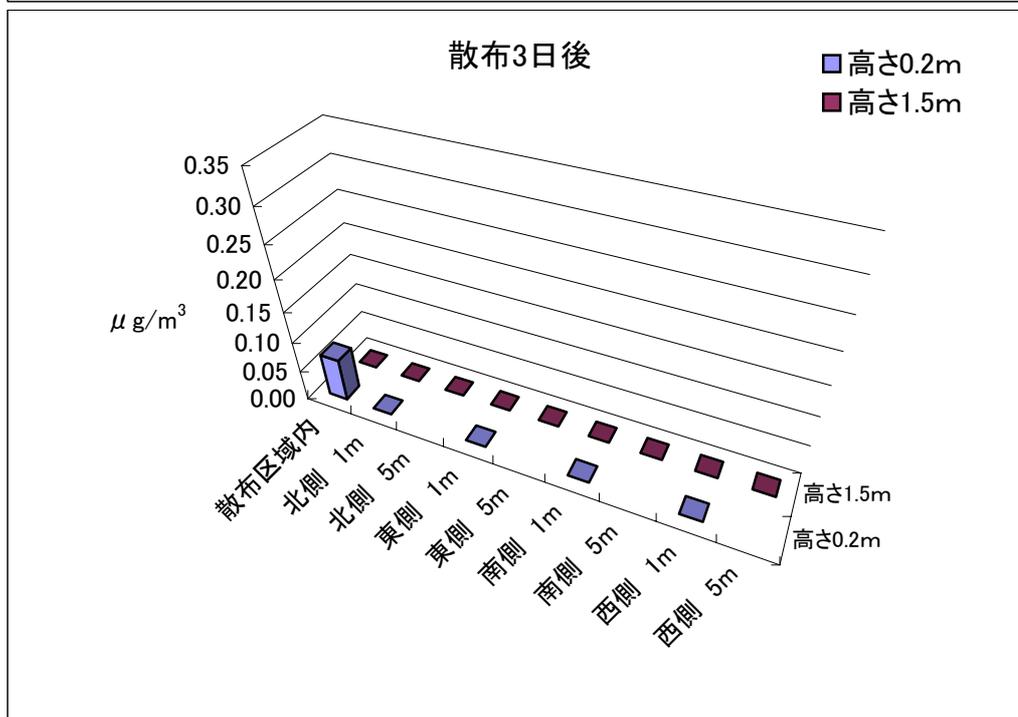
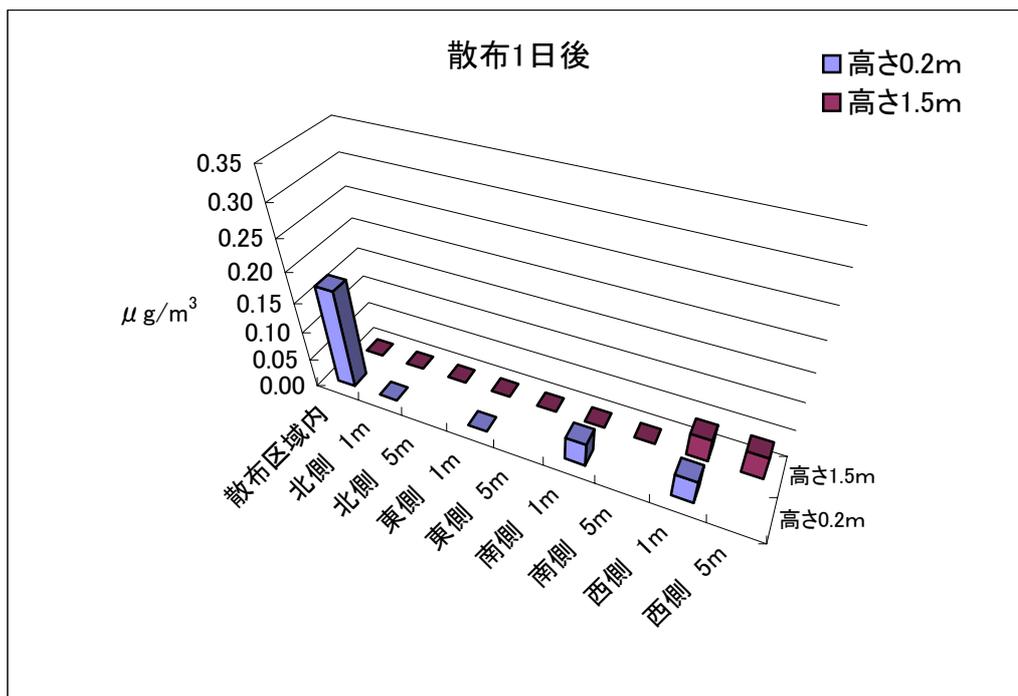


図7 地点別の空气中濃度(グリホサート)(続き)

6. 土壌中濃度調査

区域内における土壌の採取時刻を表9に、採取土壌の「その他土壌」、「植物体」、及び「小石等」の3分画の重量及び重量比率（いずれも湿重量ベース）を表10に、外観を写真4に示した。なお、採取した土壌試料を実験室にて2mmのふるいにかけて、ふるい上から小石等を除いたもの（根など）を「植物体」とし、ふるいを通過したものを「その他土壌」とした。「その他土壌」及び「植物体」を分析した。

その他土壌及び植物体のグリホサート濃度を表11及び図8に示した。

その他土壌中濃度（乾重量ベース）は、散布前日に $0.081\mu\text{g/g-dry}$ であったのに対し散布1日後に $0.40\mu\text{g/g-dry}$ と増加し、散布3日後は $0.39\mu\text{g/g-dry}$ と同等であり、散布7日後に $1.9\mu\text{g/g-dry}$ と高い濃度を示した。その後は散布14日後に $0.86\mu\text{g/g-dry}$ 、散布32日後に $0.40\mu\text{g/g-dry}$ と濃度が減少した。散布7日後に濃度が増加した理由としては、採取当日（10月2日）の降雨（当日の、採取時までの降雨量は約20mm）により、地上の草に付着していたグリホサートが地表面に付着、及び表層土に浸透したことが考えられる。

植物体中濃度は、散布前日に $0.20\mu\text{g/g-dry}$ であったのに対し散布1日後に $3.2\mu\text{g/g-dry}$ と高い濃度を示し、その後は、散布3日目に $2.6\mu\text{g/g-dry}$ 、散布7日後に $2.8\mu\text{g/g-dry}$ 、散布14日後に $1.2\mu\text{g/g-dry}$ 、散布32日後に $0.82\mu\text{g/g-dry}$ と、概ね減少傾向にあった。なお、散布7日後に濃度が微増したのは、その他土壌と同様、降雨の影響と考えられる。

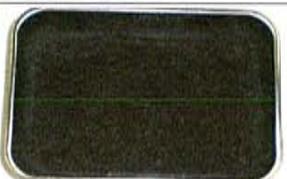
試料名	その他土壌	植物体	小石等
9/24 散布前日	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 前日 土壌	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 前日 植物体	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 前日 ふるい後残液
9/26 散布1日後	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 1日後 土壌	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 1日後 植物体	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 1日後 ふるい後残液
9/28 散布3日後	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 3日後 土壌	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 3日後 植物体	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 3日後 ふるい後残液
10/2 散布7日後	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 7日後 土壌	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 7日後 植物体	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 7日後 ふるい後残液
10/9 散布14日後	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 14日後 土壌	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 14日後 植物体	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 14日後 ふるい後残液
10/27 散布32日後	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 32日後 土壌	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 32日後 植物体	 162506 農薬飛散リスク調査 除草剤散布 32日後 ふるい後残液

写真4 土壌試料の3画分(その他土壌・植物体・小石等)の写真

表9 散布区域内における土壌の採取時刻

調査時期		土壌採取実施時刻
9/24	散布前日	14:15
9/26	散布1日後	14:40
9/28	散布3日後	14:20
10/2	散布7日後	14:10
10/9	散布14日後	14:25
10/27	散布32日後	15:00

表10 採取土壌試料の「その他土壌」、「植物体」及び「小石等」※の重量(g-wet)及び重量比率(%)

①重量(g-wet)

		採取重量(g-wet)			
		その他土壌	植物体	小石等	計
9/24	散布前日	325.3	20.9	51.8	397.9
9/26	散布1日後	412.8	13.6	106.4	532.7
9/28	散布3日後	382.1	32.3	85.4	499.7
10/2	散布7日後	391.7	32.5	84.6	508.8
10/9	散布14日後	299.1	11.6	40.3	351.0
10/27	散布32日後	571.6	17.3	161.2	750.1

②重量比率(%) (湿重量ベース)

		比率(「その他土壌」+「植物体」+「小石等」=100%)				比率(「その他土壌」+「植物体」=100%)		
		その他土壌	植物体	小石等	計	その他土壌	植物体	計
9/24	散布前日	81.8%	5.2%	13.0%	100%	94.0%	6.0%	100%
9/26	散布1日後	77.5%	2.6%	20.0%	100%	96.8%	3.2%	100%
9/28	散布3日後	76.5%	6.5%	17.1%	100%	92.2%	7.8%	100%
10/2	散布7日後	77.0%	6.4%	16.6%	100%	92.3%	7.7%	100%
10/9	散布14日後	85.2%	3.3%	11.5%	100%	96.3%	3.7%	100%
10/27	散布32日後	76.2%	2.3%	21.5%	100%	97.1%	2.9%	100%

※採取した土壌を2mm目のふるいにかけて、ふるい上に残ったものを、目視により根などの「植物体」と「小石等」に分けた。ふるいを通過したものを「その他土壌」とした。

表11 散布区域内におけるその他土壌中濃度及び植物体中濃度(グリホサート)

調査時期		濃度 ($\mu\text{g/g-wet}$)		濃度 ($\mu\text{g/g-dry}$)	
		その他土壌	植物体	その他土壌	植物体
9/24	散布前日	0.046	0.089	0.081	0.20
9/26	散布1日後	0.23	1.4	0.40	3.2
9/28	散布3日後	0.23	1.1	0.39	2.6
10/2	散布7日後	0.95	0.98	1.9	2.8
10/9	散布14日後	0.44	0.44	0.86	1.2
10/27	散布32日後	0.22	0.33	0.40	0.82

調査時期		水分含量(%)	
		その他土壌	植物体
9/24	散布前日	42.7	56.5
9/26	散布1日後	41.0	55.6
9/28	散布3日後	42.1	55.8
10/2	散布7日後	49.7	64.6
10/9	散布14日後	48.1	63.7
10/27	散布32日後	44.2	59.0

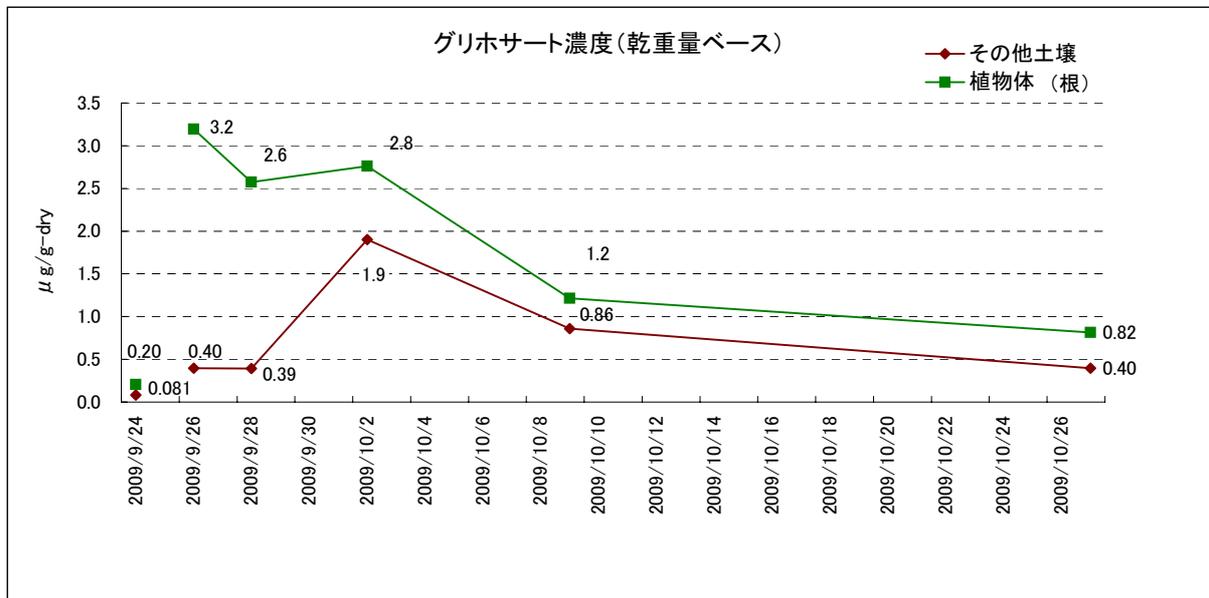
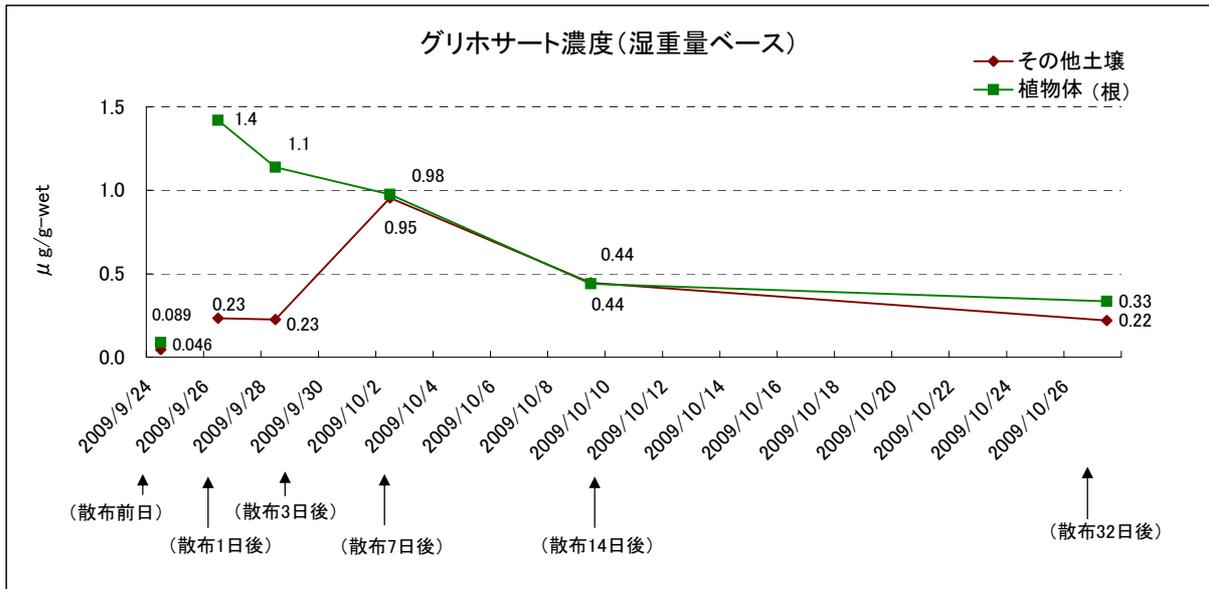
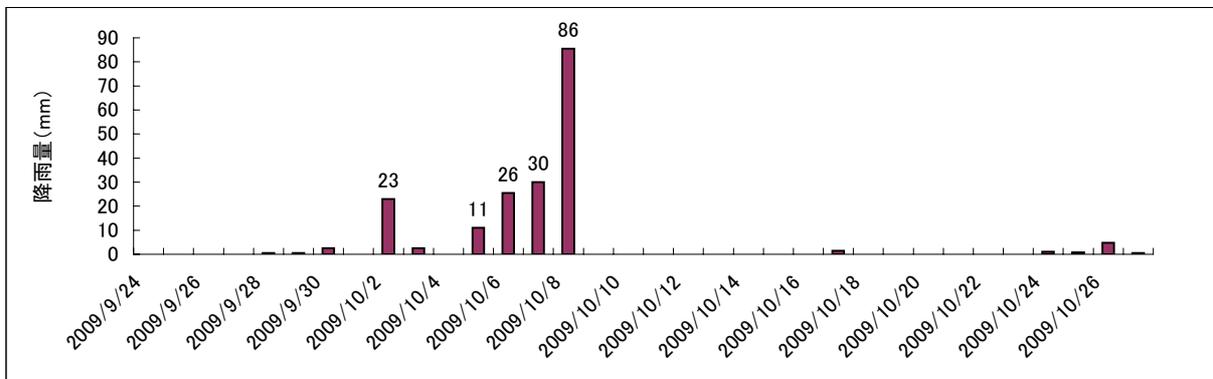


図8 散布区域内におけるその他土壌中濃度及び植物体中濃度(グリホサート)
(上:湿重量ベース、下:乾重量ベース)



参考図 調査期間中の降雨量(mm)

[まとめ]

1. 飛散量調査

飛散量は、ライン北側では 1m 地点で、東側及び南側は 1m 地点及び 5m 地点で、西側は 1m 地点、5m 地点、及び 10m 地点でミストの飛散が確認された。

散布区域外で飛散が確認された理由は、以下の①、②が考えられる。

- ① 散布時 (11:20~11:40) に風が比較的強かった (平均風速 0.9~1.8m/s、最大瞬間風速 4.5~5.4m/s)。
- ② 通常ノズルを使用したため、粒子径 (1.5MPa 時の平均粒子径 $40 \mu\text{m}^{\text{d}}$) が飛散低減ノズルと比較して小さく、飛散が起りやすかった。

2. 気中濃度 (グリホサート) 調査

気中濃度は散布直後が最も高く、その後、経時的に減少した。

気中濃度は、風況の影響を受けている可能性がある。特に散布直後は、風下側で濃度が高かったことから、その可能性が高いと考えられる。

なお、感水紙調査結果 (表 4) によれば、散布区域外にも飛散がみられるものの、散布区域外の被覆面積率 (0~14.4%) は、散布区域内の被覆面積率 (35.7~40.1%) よりも明らかに低かった。また、写真 3 によれば、散布 14 日後には散布区域内の草が全面的に枯れた状態になっていた。

これらのことから、面積当たりの散布農薬の落下量は散布区域内の方が多かったが、散布終了直後 (気中濃度調査の採取時) に空気中に滞留していた粒子については、風の影響を受け、散布区域外で散布区域内よりも多く捕集された地点があったものと考えられる。

一方、経時的な気中濃度は、散布区域外において散布区域内よりも顕著に減少し、採取高さ 1.5m において採取高さ 0.2m よりも顕著に減少する傾向があった。また、気中濃度測定時の気温は、散布 1 日後が約 28~29°C、散布 3 日後が 27°C であり、天候はいずれも晴れであった。このことから、散布 1 日後及び散布 3 日後には、一度草や土壤に付着し、その後揮散したグリホサートを捕集していることが考えられる。

なお、揮散については、蒸気圧が大きく影響すると考えられる。理想気体の状態方程式により、グリホサートの蒸気圧を濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) 換算すると下記ようになる。

理想気体の状態方程式より、

$$PV = (w/M) RT \cdots \text{①}$$

P: 気体の圧力、V: 気体の占める体積、w: 気体の質量、M: 気体の分子量、

R: 気体定数、T: 気体の温度

①式を変形して、

$$w/V = MP / (RT) \cdots \text{②}$$

②の左辺をグリホサートの濃度 C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) とし、

右辺に以下の値を代入すると、

M (グリホサートの分子量): $169.1 \text{ (g/mol)}^{\text{1)}$ = $169.1 \times 10^6 \text{ (}\mu\text{g/mol)}$

P (グリホサートの蒸気圧): $1.31 \times 10^{-5} \text{ (Pa)}$ (25°C)¹⁾

R (気体定数) : $8.31 \times 10^3 \text{ (Pa} \cdot \text{L/ (K} \cdot \text{mol))}$ = $8.31 \text{ (Pa} \cdot \text{m}^3 / \text{(K} \cdot \text{mol))}$

T (温度) : 298 (K)

$$C=169.1 \times 10^6 \times 1.31 \times 10^{-5} / (8.31 \times 298)$$

≒0.89 (μg/m³) となる。

これにより、散布1日後及び3日後の気中濃度 (0.17 μg/m³以下) は、揮散が要因であると考え得る濃度であると言える。

<平成20年度調査結果との違いについて>

平成20年度農薬飛散リスク評価手法確立調査(モニタリング調査)結果と相違が生じた要因として、以下の点が考えられる。

散布方法の違い

本調査においては、散布時に通常ノズル(液圧1.5MPa、平均粒子径40 μm^{*})を使用しているのに対し、平成20年度調査においては、飛散低減ノズル(液圧0.3MPa、平均粒子径805 μm^{*})及び飛散防止カバーを使用している(写真5)。このため、本調査においては平成20年度調査よりもミストが多く発生し、その結果、散布直後及び散布当日午後に気中濃度の検出が多かったことが考えられる。

*ノズルの平均粒子径：下記のメーカー資料による。

本調査：株式会社 ヤマホ工業株式会社 総合カタログ (No.16) p.12

(<http://www.yamaha-k.co.jp/04/>)

平成20年度調査：株式会社 麻場 ホームページ

(<http://www.asaba-mfg.co.jp/jpn/product/GRAPPER.html>)



写真5 平成20年度調査 グリホサート散布状況

風速の違い

本調査の散布時及び散布直後には、風速が比較的高く、11時20分～12時20分の最大瞬間風速は4.5～8.5m/s(平成20年度の散布時及び散布直後の最大瞬間風速は1.0～2.2m/s)であった。

そのため、散布されたミストの風による移動が起こりやすく、その結果、散布直後に散布区域外で気中濃度の最高値が検出されたことが考えられる。

降雨の影響

平成 20 年度の調査では、散布 1 日後の午前中 (7:00~11:00) に断続的に計 0.8mm、その後も散布 6 日後まで連日降雨 (1 日当たり 0.2~13.8mm) があつた。地上部植物体表面に付着していたグリホサート (アンモニウム塩) は、高い親水性 ($-3.7 > \log P_{ow}^{5)}$) のため、雨水により表層土へ移行し、散布 1 日後以降も気中濃度として検出されなかつたのではないかと考えられる。

なお、本調査期間中 (散布前日~散布 3 日後) において、降雨は観測されなかつた。

3. 土壌中濃度 (グリホサート) 調査

土壌中濃度調査 (乾重量ベース) は、その他土壌 (土壌試料のうち、2mm のふるいを通したもの) については、散布 7 日後の濃度が最も高かつた。これは、散布 7 日後の降雨 (当日の、採取時までの降雨量は約 20mm) により、地上の草に付着していたグリホサートが地表面に付着、及び表層土に浸透したためであると考えられる。なお、その後の濃度は経時的に減少した。一方、植物体 (土壌試料のうち、2mm のふるい上から小石等を除いたもの) については、散布 1 日後の濃度が最も高く、その後、散布 7 日後に微増した以外は経時的に減少した。なお、散布 13 日後の降雨量は調査期間中で最多 (約 85mm) であつたが、翌日 (散布 14 日後) の土壌中グリホサート濃度には、この降雨による濃度の増減は認められなかつた。この理由として、グリホサートは高い親水性及び強い土壌吸着性を有することから、散布 7 日後までに地上部分から表層へのグリホサートの移行はほぼ終了し、土壌に強く吸着されていることが考えられる。

なお、その他土壌中濃度 (グリホサート) が最も高かつた散布 7 日後から 14 日後までの 7 日間に濃度はほぼ半減 ($1.9 \mu\text{g/g-dry}$ (散布 7 日後) $\rightarrow 0.86 \mu\text{g/g-dry}$ (散布 14 日後)) しており、散布 14 日後から 32 日後までの 18 日間にさらにほぼ半減 ($0.86 \mu\text{g/g-dry}$ (散布 14 日後) $\rightarrow 0.40 \mu\text{g/g-dry}$ (散布 32 日後)) していた。これは、いずれも文献²⁾³⁾に記載されているグリホサート土壌中半減期の範囲 (2~3 日²⁾及び 16~17 日³⁾) にほぼあてはまるものであつた。

参考文献

- 1) 農薬ハンドブック 2005 年版 (改訂新版) 社団法人日本植物防疫協会 p. 631
- 2) IPCS : GLYPHOSATE, ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 159 (1994)
(<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm>)
- 3) 鍬塚昭三、山本広基 : 土と農薬、社団法人日本植物防疫協会 (1998) p. 177
- 4) ヤマホ工業株式会社 総合カタログ (No. 16) p. 12
(<http://www.yamaha-k.co.jp/04/>)
- 5) The Pesticide Manual 12th Edition, BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL (2000) p. 488

別添

参考資料1：気中濃度（グリホサート）の分析方法

参考資料2：TENAX-TAによる添加回収試験

参考資料3：土壌中濃度（グリホサート）の分析方法

【参考資料1】 気中濃度（グリホサート）の分析方法

1-1 試薬及び機器

大気捕集ポンプ : 柴田科学 MP-Σ300N、Σ500N
大気捕集管 : 13 mm (内径)
捕集管充填材 : GL Science TENAX TA (60/80mesh)

グリホサート標準品 : 和光純薬 残留農薬試験用 (純度99.9%)
アセトン : 和光純薬 残留農薬試験用
メタノール : 和光純薬 高速液体クロマトグラフ用
酢酸エチル : 関東化学 残留農薬試験用
四ホウ酸ナトリウム、リン酸二水素カリウム : 和光純薬 特級
クロロギ酸9-フルオレニルメチル : 東京化成工業
ロータリーエバポレーター : IWAKI REN-1000

高速液体クロマトグラフシステム

高速液体クロマトポンプ : 島津製作所 LC-10AD
高速液体クロマトシステムコントローラー : 島津製作所 SCL-10A
高速液体クロマトグラフオートサンプラー : 島津製作所 SIL-10AXL
高速液体クロマトグラフカラムオープン : 島津製作所 CTO-10AC
高速液体クロマトグラフ蛍光検出器 : 島津製作所 RF-10AXL

1-2 高速液体クロマトグラフ条件

分離カラム : GL-Science Inertsil C8-3 φ4.6 mm×150 mm (5 μm)
移動相 : A ; 0.1Mリン酸二水素カリウム緩衝液 (pH2.5)/アセトニトリル (7:3)
B ; 水/アセトニトリル (2:8)

グラジエント :

時間 (分)	0	8	13	32
A (%)	100	100	0	0
B (%)	0	0	100	100

注入量 : 20 μL
移動相流速 : 10 mL/min
カラムオープン温度 : 40℃
検出器 : 蛍光検出器
励起波長 : 270 nm
測定波長 : 315 nm

1-3 検量線の作成

グリホサート標準品10 mg (純度100%として) を10 mL容のメスフラスコにとり、精製水で定容して1 mg/mL溶液とする。これを精製水で希釈して1、5、10、20及び50 ng/mL溶液を調製する。

それぞれを共栓付試験管に5 mLとり、1 mol/L 四ホウ酸ナトリウム溶液0.5 mLを加えて振り混ぜる。これに1% クロロギ酸9-フルオレニルメチル/アセトン溶液2.6 mLを加えた後振り混ぜ、栓をして室温で30分間静置する (誘導体化)。この溶液に酢酸エチル5 mLを加え、1分間激しく振とうし、暫時静置した後、水層を分取して試験溶液とする。

この試験溶液20 μLを前記条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入し、縦軸にピーク面積、横軸に濃度を取り最小自乗法により検量線 (図1-1) を作成する。

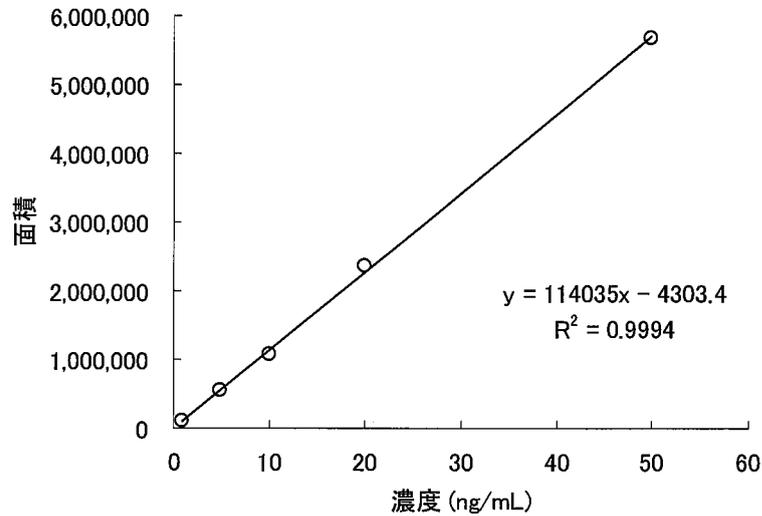


図1-1 グリホサート検量線の一例

1-4 分析操作

① 溶出

捕集管の上部から精製水1 mLを加え、約1分間充填材 (TENAX-TA) となじませる。続いて精製水4 mLを加え、気泡を抜いた後に自然落下で溶出させ、共栓付試験管にうける。

② 誘導体化

精製水を加えて5 mLとした後、1 mol/L 四ホウ酸ナトリウム 0.25 mL 及び1% クロロギ酸9-フルオレニルメチル/アセトン溶液 1.3 mLを加えて10分間振とうし、室温で30分間静置する (誘導体化)。この溶液に酢酸エチル2.5 mLを加え、5分間振とうし、暫時静置した後、水層を分取して試験溶液とする。

③ 定量

この試験溶液20 μ Lを前記条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積から検量線よりグリホサートの量を求め、濃度を算出する。

1-5 定量下限値

次の計算式をもとに定量下限値を算出する。

$$\frac{\text{定量最小量} (\mu\text{g})}{\text{LC注入量} (\text{mL})} \times \frac{\text{試料液量} (\text{mL})}{\text{大気捕集量} (\text{m}^3)} = \text{定量下限値} (\mu\text{g}/\text{m}^3)$$

試料ごとに大気捕集量が異なるため定量限界値は試料により若干異なるが、各測定物質について90Lもしくは180L吸引した場合の例を示す。

i) 大気捕集量90Lの場合

$$\frac{0.02}{1000} \mu\text{g} (\text{定量最小量}) \times 5 \text{ mL} (\text{最終液量})$$

$$\frac{20}{1000} \text{ mL} (\text{注入量}) \times \frac{90}{1000} \text{ m}^3 (\text{大気捕集量}) = 0.056 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

$$\approx 0.06 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

ii) 大気捕集量180Lの場合

$$\frac{\frac{0.02}{1000} \mu\text{g (定量最小量)} \times 5 \text{ mL (最終液量)}}{\frac{20}{1000} \text{ mL (注入量)} \times \frac{180}{1000} \text{ m}^3 \text{ (大気捕集量)}} = 0.028 \mu\text{g/m}^3$$
$$\approx 0.03 \mu\text{g/m}^3$$

【参考資料2】 TENAX-TAによる添加回収試験

大気中のグリホサートの捕集方法については、「平成20年度農薬飛散リスク評価手法確立調査モニタリング調査結果報告書」において検討を行っており、以下の結果が得られている。

- ・ TENAX-TAにより大気中のグリホサートが捕集可能であること。
- ・ TENAX-TAにより捕集されたグリホサートの回収に問題がないこと。

そこで、本年度の調査では、平成20年度調査と同様の方法にて大気中のグリホサートの捕集及び分析を実施した。ただし捕集法の同等性の確認のため、実試料の分析に先立ってTENAX-TAによる添加回収試験を実施した。

TENAX-TAによる添加回収試験

ポリプロピレン製シリンジにTENAX-TA (60/80mesh) 0.5 gを充填し、ポリエチレン製フリットで固定した後、グリホサート標準溶液 (10 μ g/mL) 10 μ Lを負荷した。次に、柴田科学製ミニポンプ (MP- Σ 500N) を用いて毎分2 Lの速度で30分吸引した後、グリホサートを抽出し、高速液体クロマトグラフにて分析した。

分析の結果、添加量に対する回収率は113%であり、平成20年度試験の回収率 (109%) とほぼ同程度の回収率が得られた。

【参考資料3】 土壤中濃度（グリホサート）の分析方法

3-1 試薬及び機器

グリホサート標準品 : 和光純薬 残留農薬試験用 (純度99.9%)
アセトン : 和光純薬 残留農薬試験用
アンモニア水 : 和光純薬 特級
アセトニトリル : 和光純薬 高速液体クロマトグラフ用
酢酸エチル : 関東化学 残留農薬試験用
四ホウ酸ナトリウム、リン酸二水素カリウム : 和光純薬 特級
クロロギ酸9-フルオレニルメチル : 東京化成工業
前処理用フィルタ : GLサイエンス クロマトディスク25A (0.45 μm)
ロータリーエバポレーター : IWAKI REN-1000

高速液体クロマトグラフシステム

高速液体クロマトポンプ : 島津製作所 LC-10AD
高速液体クロマトシステムコントローラー : 島津製作所 SCL-10A
高速液体クロマトグラフオートサンプラー : 島津製作所 SIL-10AXL
高速液体クロマトグラフカラムオープン : 島津製作所 CTO-10AC
高速液体クロマトグラフ蛍光検出器 : 島津製作所 RF-10AXL

3-2 高速液体クロマトグラフ条件

分離カラム : GL-Science Inertsil C8-3 φ4.6 mm×150 mm (5 μm)
移動相 : A ; 0.1Mリン酸二水素カリウム緩衝液 (pH2.5)/アセトニトリル (7:3)
B ; 水/アセトニトリル (2:8)
グラジエント :

時間 (分)	0	8	13	21
A (%)	100	100	0	0
B (%)	0	0	100	100

注入量 : 20 μL
移動相流速 : 1.0 mL/min
カラムオープン温度 : 40℃
検出器 : 蛍光検出器
励起波長 : 270 nm
測定波長 : 315 nm

3-3 検量線の作成

グリホサート標準品10 mg (純度100%として) を10 mL容のメスフラスコにとり、精製水で定容して1 mg/mL溶液とする。これを精製水で希釈して0.5、1、5、10、20及び50 ng/mL溶液を調製する。

それぞれを共栓付試験管に5 mLとり、1 mol/L 四ホウ酸ナトリウム溶液0.5 mLを加えて振り混ぜる。これに1% クロロギ酸9-フルオレニルメチル/アセトン溶液2.6 mLを加えた後振り混ぜ、栓をして室温で30分間静置する (誘導体化)。この溶液に酢酸エチル5 mLを加え、1分間激しく振とうし、暫時静置した後、水層を分取して試験溶液とする。

この試験溶液20 μLを前記条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入し、縦軸にピーク面積、横軸に濃度を取り最小自乗法により検量線 (図3-1) を作成する。

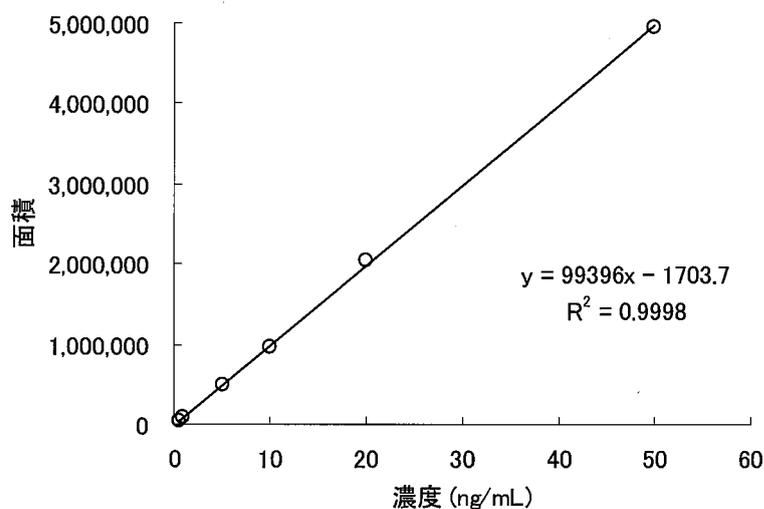


図3-1 グリホサート検量線の一例

3-4 分析操作

① 前処理

実験室で、採取試料を2 mm目のふるいにかけて、ふるい上に残ったものの中から小石などを除き、これを「植物体」試料とする。ふるいを通過したものを「その他土壌」試料とする。

② 抽出

試料4 g-wet及び1% アンモニア水10 mLを抽出容器に入れ、30分間超音波抽出する。洗液を遠心分離した後上澄み液を別容器に移す。残さに1% アンモニア水10 mLを加えたのち同様の操作を繰り返し、抽出液と合わせる。この抽出液に1% アンモニア水を加えて40 mLとする。

③ 誘導体化

抽出液を前処理用フィルタでろ過後、5 mLを分取し、50℃以下でロータリーエバポレーターを用いてアンモニア水を留去する。

残液を共栓付試験管に洗い移し、精製水を加えて5 mLとする。1 mol/L 四ホウ酸ナトリウム 0.25 mL、1% クロロギ酸 9-フルオレニルメチルアセトン溶液 1.3 mL及びNaCl 0.25gを加えて10分間振とうし、室温で30分間静置する（誘導体化）。

誘導体化後の溶液に硫酸を加えてpH 1とし、酢酸エチル4 mLを加え、振とう抽出を行う。酢酸エチル層に5% NaCl水溶液 1 mLを加え、硫酸を加えてpH 1とし、振とう抽出を行う。酢酸エチル層に同様の振とう抽出をさらに4回行う。酢酸エチル層に1 mol/L 四ホウ酸ナトリウム 5 mLを加えて振とうを行う。水層を分取して試験溶液とする。

④ 定量

この試験溶液20 μLを前記条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積から検量線よりグリホサートの量を求め、濃度を算出する。

3-5 定量下限値

以下の計算式により、定量下限値を算出する。

$$\frac{\frac{0.01}{1000} \mu\text{g} \quad (\text{定量最小量}) \times 40 \text{ mL (抽出液量)} \times 5 \text{ mL (最終液量)}}{\frac{20}{1000} \text{ mL (注入量)} \times 5 \text{ mL (分取液量)} \times 4 \text{ g-wet (採取試料量)}} = 0.005 \mu\text{g/g-wet}$$