

<報文>

岡山県内の河川におけるグリホサート及びグルホシネートの調査*

小林隆太**・橋本清美**・吉岡敏行**・浦山豊弘**

キーワード ①除草剤 ②グリホサート ③グルホシネート ④HPLC ⑤水質環境調査

要 旨

蛍光誘導体化-HPLC法を用いて岡山県内の河川におけるグリホサート及びグルホシネートの水質環境調査を実施した。定量下限値は、要調査項目等調査マニュアルに示された目標定量下限値 (0.3µg/L) の約1/7であり、1µg/Lの濃度の試験液を用いた保存性試験では、冷蔵保存状態で6日間経過後も分解はほとんど認められなかった。水質環境調査における検出率は、グリホサートが50%、グルホシネートが17%であり、春季及び夏季に高かった。検出濃度を生物影響等の指標と比較した結果、生物への影響はほとんどないものであると考えられた。また、検出濃度に計画高水流量当たりの流域耕地面積の広さが影響している可能性が示唆された。

1. はじめに

グリホサート及びグルホシネートは、多くの植物に対して殺草性を示す非選択性のアミノ酸系除草剤である。国内ではそれぞれ1980年及び1984年に農薬登録がなされ、水溶性が高く、土壌吸着性を有し、低毒性である等の特徴を有している。特にグリホサートの販売量は年々増加しており、2021年度には過去最高を記録している¹⁾。

水質環境中の存在状況については、過去に環境省が実施した化学物質環境実態調査^{2), 3)}でいずれの地点からも検出されなかったが、岡山県では当該物質の調査事例がないことや販売量が年々増加していることから、県内の河川における水質環境調査を実施した。

2. 調査方法

2.1 試料採取方法及び採取地点

試料採取は、令和4年7月から令和5年6月までの夏季、秋季、冬季及び春季に各1回実施した。調査地点は一級河川である高梁川水系、旭川水系及び吉井川水系の各2地点、二級河川である伊里川水系、笹ヶ瀬川水系及び倉敷川水系の各1地点の合計9地点で実施した。

2.2 分析方法

分析は、要調査項目等調査マニュアル⁴⁾に準拠して、蛍光誘導体化-HPLC法で実施した。測定条件を表1、分析フローを図1に示す。グリホサート標準品は、富士フィルム和光純薬(株)製農薬混合標準液水質-8 (グリホサート、グルホシネート及びグリホサートの主な分解物であるアミノメチルホスホン酸 (AMPA) 各20µg/mL水溶液) を使用した。検量線は、4mLの溶媒に標準液を1ng~400ngの範囲で添加し、9点 (1, 2, 4, 10, 20, 40, 100, 200, 400ng) 作成した。分析方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL) は、河川水50mLに農薬混合標準液5ngを添加して調製した7試料を測定し、その標準偏差から求めた⁵⁾。

表1 測定条件

カラム	COSMOSIL 5NH2-MS (4.6×150mm)
移動相	0.1mol/L リン酸二水素カリウム緩衝液:アセトニトリル (7:3)
カラム温度	40℃
流速	0.5mL/min
蛍光検出器	励起波長270nm, 測定波長315nm
注入量	20µL

*The research of the amount of Glyphosate and Glufosinate in Rivers in Okayama Prefecture

**Ryuta KOBAYASHI, Kiyomi HASHIMOTO, Toshiyuki YOSHIOKA, Toyohiro URAYAMA (岡山県環境保健センター) Okayama Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health

試料水 50mL : NaCl 2.5g+ほう酸緩衝液5mL+0.01M FMOC-C1 10mL
 ↓
 振とう, 30分静置 (誘導体化)
 ↓
 硫酸 (1+2) 0.5mL+酢酸エチル 40mL
 ↓
 振とう10分, 静置
 ↓
 水層(下層)を廃棄, ほう酸緩衝液 4mL添加
 ↓
 振とう 10分, 静置
 ↓
 水層(下層)1mLを分取, 0.45μm のフィルターでろ過
 ↓
 HPLCで測定

図1 分析フロー

2.3 保存性試験

河川水1Lに農薬混合標準液1μgを添加した1μg/L試験液を調製し, ポリプロピレン製容器に入れて冷蔵庫に保管した。保存性試験として, 添加直後, 3日後及び6日後の試験液を図1の分析フローに従い分析を実施した。

3. 結果及び考察

3.1 検量線

グリホサート, グルホシネート及びAMPAの検量線を図2~4に示す。絶対検量線と直線近似としたが, いずれの物質もR²≥0.999と良好であった。また, 検量線最低濃度のクロマトグラムを図5に示す。蛍光検出器であることから高感度で選択性が高く, 1ng/4mL (試料換算値0.02μg/L) まで検出することができた。

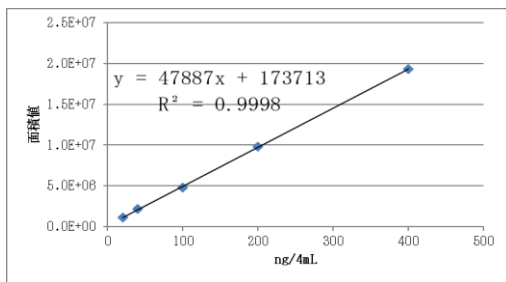


図2 グリホサート検量線 (1ng~400ng/4mL)

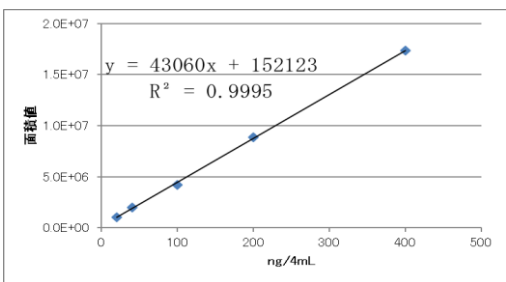


図3 グルホシネート検量線 (1ng~400ng/4mL)

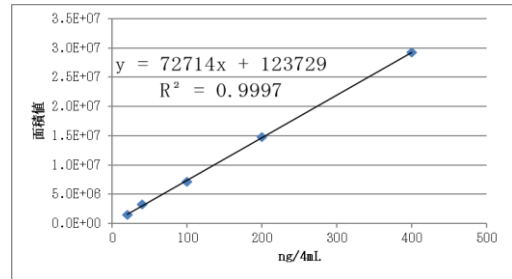


図4 AMPA検量線 (1ng~400ng/4mL)

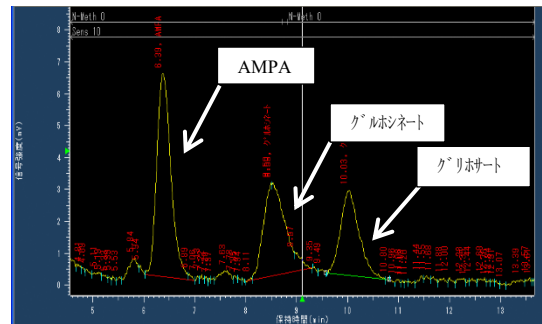


図5 検量線最低濃度のクロマトグラム

3.2 MDL及びMQL

MDL及びMQLを表2に示す。MQLは, 要調査項目等調査マニュアルに示された目標定量下限値 (0.3μg/L) の約1/7であった。なお, 変動係数 (CV) は, グリホサート及びAMPAで2~3%とばらつきが小さかったが, グルホシネートでは11.5%とばらつきが若干大きかった。

表2 MDL及びMQL

	グリホサート	グルホシネート	AMPA
MDL (μg/L)	0.01	0.02	0.008
MQL (μg/L)	0.04	0.05	0.02

3.3 保存性試験結果

保存性試験の結果を図6に示す。いずれの物質も冷蔵状態であれば6日後も80%以上残存しており, 分解はほとんど認められなかった。

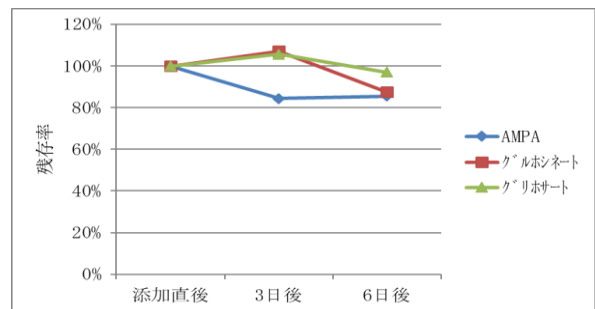


図6 保存性試験結果

3.4 水質環境調査結果

調査結果を表3、図7及び図8に示す。なお、AMPAについては、水質環境調査の中でHPLCカラムの劣化による保持能力の低下によって、妨害成分とピークが重なったため、定量値の算出は行っていない。

いずれの調査対象物質も春季及び夏季に多く検出され、検出率はグリホサートが50%、グルホシネートが17%であった。笹ヶ瀬橋や倉敷川橋で比較的高い濃度で検出され、検出最高濃度は、グリホサートが0.72µg/L（春季・倉敷川橋）、グルホシネートが0.34µg/L（夏季・倉敷川橋）であった。

その理由として、いずれの調査対象物質も春季から夏季にかけて散布量が増えること、笹ヶ瀬川及び倉敷川は一級河川に比べて計画高水流量当たりの流域の耕作面積が広く（表4）、河川中の農薬の濃度が相対的に高いことなどが考えられたが、いずれの調査対象物質も検出濃度が非常に低く、調査検体数も少ないことから、明確な理由の特定までには至らなかった。

また、グリホサートの検出濃度がグルホシネートと比べて高い理由は、グリホサートの県内出荷量がグルホシネートより約12倍多いためと推測された⁶⁾。

グリホサート及びグルホシネートに係る生物影響等の指標を表5に示す。予測無影響濃度については、水生生物（魚類、甲殻類及び藻類）への急性毒性値を安全係数（100）で除した値とした。各調査対象物質における最も低い指標については、グリホサートでは藻類への予測無影響濃度（0.18mg/L）、グルホシネートでは水質汚濁に係る登録基準（0.024mg/L）であり、本調査結果（最高検出濃度）をこれらの指標と比較したところ、グリホサートが1/250未満、グルホシネートが1/70未満と十分低い濃度であり、生物への影響はほとんどないと考えられた。

グリホサートは、1993年（平成5年）の化学物質環境実態調査で全国11地点のいずれからも検出されておらず（<0.2µg/L）、グルホシネートは、2006年（平成18年）の調査で全国10地点のいずれからも検出されていない（<0.67µg/L）。検出率の違いについて、化学物質環境実態調査では定量下限値が高いことに加え調査時期及び調査水域の違いによるものと考えられた。

表3 測定結果一覧

調査年月日	調査地点名		グリホサート濃度 (µg/L)	グルホシネート濃度 (µg/L)	
夏季	R4. 7. 25	高梁川	中井橋	0.11	<0.05
	R4. 8. 1		霞橋	0.25	<0.05
	R4. 7. 25	旭川	落合大橋	0.11	<0.05
	R4. 8. 1		乙井手堰	0.10	<0.05
	R4. 7. 25	吉井川	周匝大橋	0.17	<0.05
	R4. 8. 1		鴨越堰	0.09	<0.05
	R4. 7. 25	伊里川	浜の川橋	0.32	0.06
	R4. 8. 1	笹ヶ瀬川	笹ヶ瀬橋	0.46	0.25
	R4. 8. 1	倉敷川	倉敷川橋	0.31	0.34
秋季	R4. 10. 11	高梁川	中井橋	<0.04	<0.05
	R4. 10. 25		霞橋	<0.04	<0.05
	R4. 10. 11	旭川	落合大橋	<0.04	<0.05
	R4. 10. 25		乙井手堰	<0.04	<0.05
	R4. 10. 11	吉井川	周匝大橋	0.06	<0.05
	R4. 10. 25		鴨越堰	<0.04	<0.05
	R4. 10. 11	伊里川	浜の川橋	<0.04	<0.05
	R4. 10. 25	笹ヶ瀬川	笹ヶ瀬橋	<0.04	<0.05
	R4. 10. 25	倉敷川	倉敷川橋	<0.04	<0.05
冬季	R5. 2. 14	高梁川	中井橋	<0.04	<0.05
	R4. 12. 19		霞橋	<0.04	<0.05
	R5. 2. 14	旭川	落合大橋	<0.04	<0.05
	R4. 12. 19		乙井手堰	<0.04	<0.05
	R5. 2. 14	吉井川	周匝大橋	<0.04	<0.05
	R4. 12. 19		鴨越堰	<0.04	<0.05
	R5. 2. 14	伊里川	浜の川橋	<0.04	<0.05
	R4. 12. 19	笹ヶ瀬川	笹ヶ瀬橋	<0.04	0.10
	R4. 12. 19	倉敷川	倉敷川橋	0.60	<0.05
春季	R5. 4. 24	高梁川	中井橋	<0.04	<0.05
	R5. 5. 22		霞橋	<0.04	<0.05
	R5. 4. 24	旭川	落合大橋	0.05	<0.05
	R5. 5. 22		乙井手堰	0.06	<0.05
	R5. 4. 24	吉井川	周匝大橋	0.08	<0.05
	R5. 5. 22		鴨越堰	0.06	<0.05
	R5. 4. 24	伊里川	浜の川橋	0.09	<0.05
	R5. 5. 22	笹ヶ瀬川	笹ヶ瀬橋	0.46	0.14
	R5. 5. 22	倉敷川	倉敷川橋	0.72	0.16

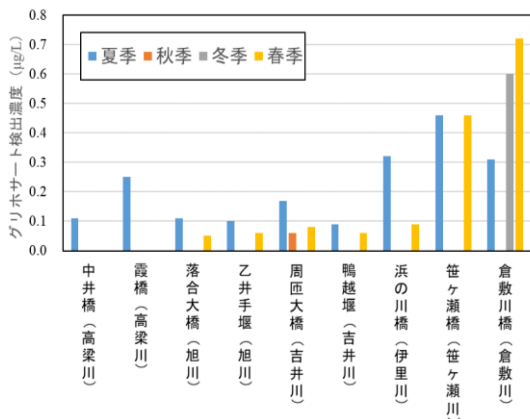


図7 グリホサートの季節別検出率

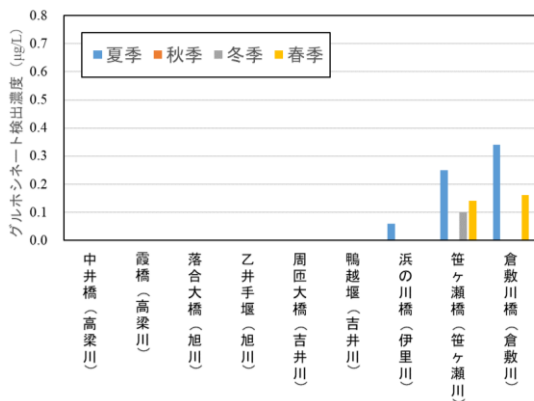


図8 グルホシネートの季節別検出率

表4 河川の流域耕地面積及び計画高水流量^{7)~13)}

河川名	吉井川	旭川	高梁川	倉敷川	笹ヶ瀬川
流域の耕作面積 a (ha)	20, 588	16, 064	19, 277	4, 696	4, 981
計画高水流量 b (m ³ /s)	8, 600	6, 000	13, 400	500	1, 100
地点	河口	下牧	船穂	河口	当新田
a/b	2.4	2.7	1.4	9.4	4.5

※注：計画高水流量：堤防が耐えられる最高の水位（計画高水位）における河川の流量のことで、河川の堤防工事などで基準となる。

表5 生物影響等の指標^{14)~15)}

名称	グリホサート (mg/L)	グルホシネート (mg/L)
水質汚濁に係る農薬登録基準	2.66	0.024
水産動植物の被害防止に係る農薬登録基準	6.2	10
魚類への予測無影響濃度 コイ96hrLC ₅₀ /安全係数100	1.18	9.37
甲殻類への予測無影響濃度 オオミジンコ48hrEC ₅₀ /安全係数100	0.643	5.43
藻類への予測無影響濃度 藻類72hrEC ₅₀ /安全係数100	0.18	0.8

3.5 分析上の注意点

今回使用したHPLCカラムは、カラム寿命が短いため、使用後はメタノール又はアセトニトリルで十分にカラム内部を洗浄する必要がある。HPLCカラムが劣化すると、特にAMPAの保持能力が低下し、AMPAのリテンションタイムが早くなり、妨害成分と重なるおそれがあるため、注意が必要である。

4. まとめ

グリホサート、グルホシネートについて蛍光誘導体化-HPLC法を用いて水質環境調査を実施し以下の結果を得た。

- (1) MQLは、グリホサートで0.04µg/L、グルホシネートで0.05µg/Lであった。
- (2) 河川水1Lに標準液1µgを添加し、保存性を確認したところ、6日後でも分解はほとんど認められなかった。
- (3) 水質環境調査における検出率は、グリホサートが50%、グルホシネートが17%であり、春季及び夏季に検出率が高かった。
- (4) 検出濃度と生物影響等の指標を比較した結果、生物への影響はほとんどないと考えられた。
- (5) 検出濃度に計画高水流量当たりの流域耕地面積の広さが影響している可能性が示唆された。

5. 引用文献

- 1) 有機農業ニュースクリップ：21年度グリホサート出荷量 過去最高を更新, <http://organic-newsclip.info/log/2022/22121152-1.html> (2023.10.3アクセス)
- 2) 環境庁環境保健部環境安全課：平成6年度版「化学物質と環境」, 45, 1996
- 3) 環境省環境保健部環境安全課：平成19年度版「化学物質と環境」, <https://www.env.go.jp/chemi/kurohon/>

- 2007/index.html (2023. 10. 3アクセス)
- 4) 環境省水環境部企画課：要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)(平成14年3月), <https://www.env.go.jp/water/chosa/h14-03/full.pdf> (2023. 10. 3アクセス)
 - 5) 環境省大臣官房環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査の手引き(令和2年度版), https://www.env.go.jp/chemi/mat_tebikir02.pdf (2023. 10. 3アクセス)
 - 6) 厚生労働省：令和3年度(令和2年10月～令和3年9月)農薬出荷量等について, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/to_pics/bukyoku/kenkou/suido/suishitsu/05_00003.html (2023. 10. 3アクセス)
 - 7) 国土交通省：一級河川における流域等の面積、総人口、一般資産額等について, <https://www.mlit.go.jp/common/001184133.pdf> (2023. 10. 3アクセス)
 - 8) 国土交通省：主な二級河川における流域等の面積、総人口、一般資産額等について, <https://www.mlit.go.jp/common/001184135.pdf> (2023. 10. 3アクセス)
 - 9) 国土交通省中国地方整備局：吉井川水系河川整備計画【国管理区間】, <https://www.cgr.mlit.go.jp/okakawa/kouhou/seibi/yoshii/pdf/seibikeikaku/hyoushi.pdf> (2023. 10. 3アクセス)
 - 10) 国土交通省中国地方整備局：旭川水系河川整備計画【国管理区間】, <http://www.cgr.mlit.go.jp/okakawa/kouhou/seibi/asahi/asahi/asahomepe.html> (2023. 10. 3アクセス)
 - 11) 国土交通省中国地方整備局：高梁川水系河川整備計画【大臣管理区間】(変更), https://www.cgr.mlit.go.jp/okakawa/kouhou/seibi/takahasi/files/plan_henkou04/plan_all.pdf (2023. 10. 3アクセス)
 - 12) 岡山県：倉敷川水系河川整備基本計画, https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/879682_8371006_misc.pdf (2023. 10. 3アクセス)
 - 13) 岡山県：笹ヶ瀬川水系河川整備基本計画, https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/879682_8370995_misc.pdf (2023. 10. 3アクセス)
 - 14) 一般社団法人日本植物防疫協会：農薬ハンドブック 2021年版, 914-916・920-922, 東京, 2021
 - 15) 畠山成久, 日本環境毒性学会監修:化学物質の生態リスク評価と規制-農薬編-, 291-292, 株式会社アイピーシー, 東京, 2006