

水質汚濁に係る農薬の登録保留基準として 環境大臣の定める基準の設定に関する資料

(農薬取締法第 3 条第 1 項第 4 号から第 7 号までに掲げる場合に該当
するかどうかの基準を定める等の件第 4 号の環境大臣の定める基準)

分析法案

オリサストロピン

平成 1 8 年 4 月 2 6 日

() オリサストロピン試験法

ア 装置 紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフを用いる。

イ 試薬試液

アセトニトリル アセトニトリル(特級)

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)

酢酸エチル 酢酸エチル(特級)

ヘキサン ヘキサン(特級)

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)

固相抽出カラム 内径15mm、長さ65mmのカラムにカラムクロマトグラフィー用C₁₈シリカゲル(シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたもの)1000mgを充てんしたもの又はこれと同等の性能を有するもの

オリサストロピン標準品 本品は、オリサストロピン99.4%以上を含み、融点は98.4~99.0である。

(2E)-2-(メトキシミノ)-2-{2-[(3E,5Z,6E)-5-(メトキシミノ)-4,6-ジメチル-2,8-ジオキサ-3,7-ジアザノナ-3,6-ジエン-1-イル]フェニル}-N-メチルアセトアミド(以下、「5Z異性体」という。)標準品 本品は、5Z異性体99.7%以上を含み、融点は95.3である。

(2E)-2-(メトキシミノ)-2-{2-[(3E,5E,6Z)-5-(メトキシミノ)-4,6-ジメチル-2,8-ジオキサ-3,7-ジアザノナ-3,6-ジエン-1-イル]フェニル}-N-メチルアセトアミド(以下、「6Z異性体」という。)標準品 本品は、6Z異性体99.0%以上を含み、融点は115.6である。

ウ 試験溶液の調製

A法 溶媒抽出法

試料100mlを300mlの分液漏斗に量り取り、塩化ナトリウム5g並びにヘキサン及び酢酸エチルの混液(9:1)50mlを加え、振とう機を用いて5分間激しく振とうし、暫時放置した後、有機溶媒層を分取する。残った水層についても、ヘキサン及び酢酸エチルの混液(9:1)50mlを加え、同様の振とう及び分取の操作を繰り返す。全有機溶媒層を300mlの三角フラスコに合わせ、無水硫酸ナトリウム20gを加え、時々振り混ぜながら30分間放置した後、300mlのナス型フラスコ中に入過する。使用した三角フラスコをヘキサン及び酢酸エチルの混液(9:1)10mlで洗い、その洗液で紙上の残留物を洗い、その洗液をナス型フラスコに合わせ、すり合わせ減圧濃縮器を用いて40以下で溶媒を留去する。この残留物にアセトニトリル及び蒸留水の混液(1:1)を加えて溶かし、4mlとして試験溶液とする。

B法 固相抽出法

試料100mlを、あらかじめアセトニトリル5ml、次いで蒸留水5mlを流し入れ洗浄した固相抽出カラムに毎分10~20mlの流速で流し入れ、次いで蒸留水10mlを流し、流出液を捨てた後、約1分間通気又は遠心分離を行い水分を除去する。アセトニトリル5mlで展開し、溶出液を50mlのナス型フラスコに取り、すり合わせ減圧濃縮器を用いて40以下で溶媒を留去する。この残留物にアセトニトリル及び蒸留水の混液(1:

1)を加えて溶かし、4 mlとして試験溶液とする。

エ 高速液体クロマトグラフの操作条件

充てん剤 シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたものを用いる。

分離管 内径2～6 mm、長さ15～30 cmのステンレス管を用いる。

分離管槽温度 40

溶離液 アセトニトリル及び蒸留水の混液(1:1)を用い、オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体がそれぞれ11～17分で流出するように流速を調整する。

検出器 波長250 nmで測定する。

感度 オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体のそれぞれ1 ngが十分確認できるように感度を調整する。

オ 検量線の作成

オリサストロピン標準品並びに5 Z異性体標準品及び6 Z異性体標準品のそれぞれ500 mg/lアセトニトリル溶液を調製し、各溶液を等量ずつ合わせ取ったものをアセトニトリル及び蒸留水の混液(1:1)で希釈し、オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体の0.025～0.5 mg/l混合溶液を数点調製し、それぞれを40 µlずつ高速液体クロマトグラフに注入し、縦軸にピーク高又はピーク面積、横軸に重量を取ってオリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体の検量線を作成する。

カ 定量試験

A法又はB法の試験溶液から40 µlを取り、高速液体クロマトグラフに注入し、オの検量線によりオリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体のそれぞれの重量を求める。このオリサストロピンの重量の値並びに5 Z異性体の重量の値及び6 Z異性体の重量の値を和し、これに基づき、試料中のオリサストロピンの濃度を算出する。

水質汚濁に係る農薬の登録保留基準として 環境大臣の定める基準の設定に関する資料

(農薬取締法第3条第1項第4号から第7号までに掲げる場合に該当
するかどうかの基準を定める等の件第4号の環境大臣の定める基準)

分析法参考資料

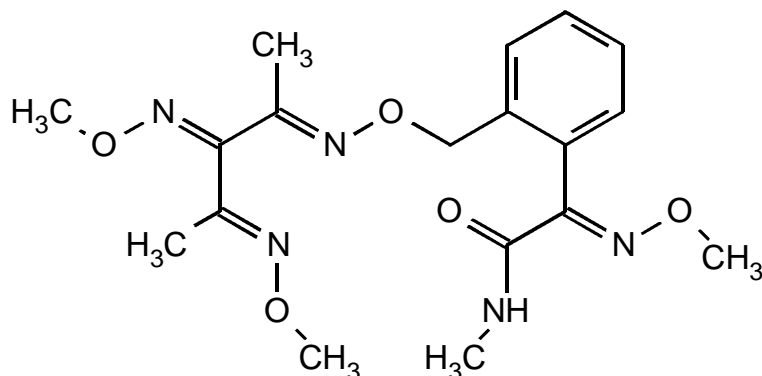
オリサストロビン

平成18年4月26日

農薬登録保留基準設定技術検討会資料(水質汚濁)

オリサストロビン(orysastrobin)

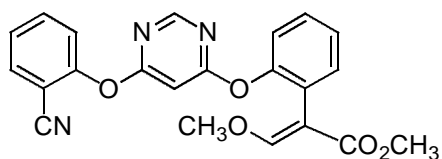
構造式



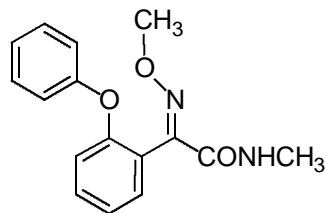
種類名	オリサストロビン
試験名	BJL-002(7.0 %粒剤)、BJL-003(3.3 %粒剤)、334 904
用途	殺菌剤
分子式	C ₁₈ H ₂₅ N ₅ O ₅
分子量	391.4
化学名(IUPAC)	(2E)-2-(methoxyimino)-2-{2-[(3E,5E,6E)-5-(methoxyimino)-4,6-dimethyl-2,8-dioxa-3,7-diazanona-3,6-dien-1-yl]phenyl}-N-methylacetamide
外観	白色固体(粉末)
融点	98.4 ~ 99.0
蒸気圧	7 × 10 ⁻⁹ kPa(20)、2 × 10 ⁻⁸ kPa(25)
溶解性	水 80.6 mg/l(20) アセトン、アセトニトリル、メタノール >250、 酢酸エチル 167 ~ 200 (以上 g/l)
オクタノール/水分配係数	logPow = 2.36(20)

類似構造を有する農薬

アゾキシストロビン

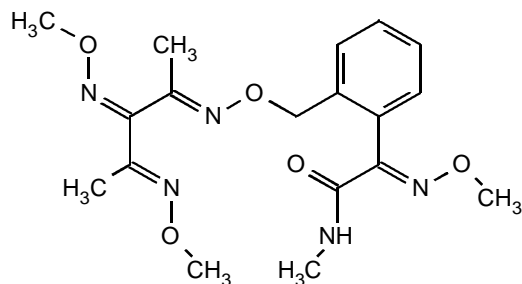


メトミノストロビン



幾何異性体 5 Z異性体

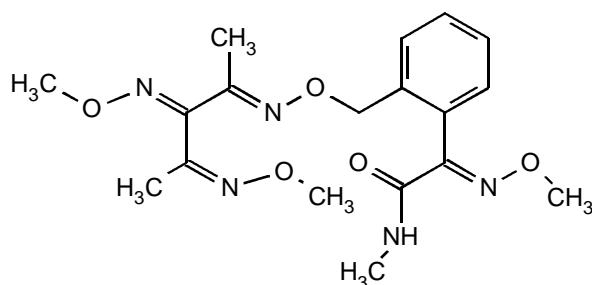
構造式



試験名	F001、334 963
分子式	C ₁₈ H ₂₅ N ₅ O ₅
分子量	391.4
化学名	(2E)-2-(methoxyimino)-2-{2-[(3E,5Z,6E)-5-(methoxyimino)-4,6-dimethyl-2,8-dioxa-3,7-diazanona-3,6-dien-1-yl]phenyl}-N-methylacetamide
外観	白色固体(粉末)
融点	95.3
溶解性	水 104 mg/l(20)

幾何異性体 6 Z異性体

構造式



試験名	F033、365 127
分子式	C ₁₈ H ₂₅ N ₅ O ₅
分子量	391.4
化学名	(2E)-2-(methoxyimino)-2-{2-[(3E,5E,6Z)-5-(methoxyimino)-4,6-dimethyl-2,8-dioxa-3,7-diazanona-3,6-dien-1-yl]phenyl}-N-methylacetamide
外観	白色固体(粉末)
融点	115.6
溶解性	水 74 mg/l(20)

出典：BASFアグロ株式会社資料

1. 概要

オリサストロピン並びにその幾何異性体である5 Z異性体及び6 Z異性体を規制対象成分とする。試料からヘキサン - 酢酸エチル混液で抽出、もしくは固相抽出カラムで抽出を行った後、HPLC-UVで定量する方法を提案する。

基準値案	1 mg/ l
目標検出限界	各 0.001 mg/ l

2. 提案法

2.1. 分析対象成分

オリサストロピン、5 Z異性体及び6 Z異性体

2.2. 装置

HPLC-UV

2.3. 分析操作

2.3.1. 溶媒抽出法

秤 取

試料 100 ml

ヘキサン - 酢酸エチル抽出

塩化ナトリウム 5 g

ヘキサン - 酢酸エチル(9:1) 50 ml + 50 ml

脱水ろ過

濃縮、乾固

H P L C - U V

アセトニトリル - 水(1:1) 4 ml定容、40 µl注入

2.3.2. 固相抽出法

秤 取

試料 100 ml

固相抽出

C₁₈ミニカラム(充てん量 1 g)

予備洗浄：アセトニトリル 5 ml、水 5 ml

溶液負荷

洗浄：水 10 ml

溶出：アセトニトリル 5 ml

濃縮、乾固

H P L C - U V

アセトニトリル - 水(1:1) 4 ml定容、40 µl注入

2.4. HPLC-UV操作条件

分離管 : シリカ - ODS、内径 2~6 mm、長さ 15~30 cm
分離管槽温度 : 40
溶離液 : アセトニトリル - 水(1:1)
測定波長 : 250 nm
保持時間 : 11~17分

2.5. 検量線の作成

オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体の0.025~0.5 mg/l アセトニトリル - 水(1:1)混合溶液を調製。各溶液の40 µlを注入し、ピーク高とオリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体重量から検量線を作成。

2.6. 検出限界

検出限界 : 各 0.001 mg/l
最小検出量 1 ng、最終液量 4 ml、注入量 40 µl、試料 100 ml

3. 提案法の根拠

水中残留分析実施例及び基礎データから提案法を作成した。

3.1. 水中残留分析実施例(平成14年度、残留農薬研究所)

C₁₈ C C 抽出
HPLC-UV

3.2. 作物残留分析実施例(平成15年度、残留農薬研究所)

水稲

メタノール抽出
ケイソウ土カラム
シリカゲルミニカラム
NH₂ミニカラム
NPD-GC

3.3. 類似化合物メトミノストロピン水質汚濁告示試験法(参考)

溶媒抽出法

ヘキサン抽出
HPLC-UV

固相抽出法

PSミニカラム抽出
HPLC-UV

4. 検討事項

4.1. 溶媒抽出について

オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体の溶媒抽出率を調べた。

ヘキサンでの抽出率(単位：%)

水層 蒸留水 100 ml + 塩化ナトリウム 5 g	ヘキサン 50 ml		合計
	1回目	2回目	
オリサストロピン	53	8	61
5 Z異性体	54	7	61

供試量：各2 µg

ヘキサン - 酢酸エチル混液での抽出率(単位：%)

水層 蒸留水 100 ml + 塩化ナトリウム 5 g	ヘキサン - 酢酸エチル(9:1) 50 ml		合計
	1回目	2回目	
オリサストロピン	95	5	100
5 Z異性体	96	4	100
6 Z異性体	80	18	98

供試量：各2 µg

4.2. 固相抽出について

オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体のC₁₈ミニカラムからの溶出状況を以下に示した。

C₁₈ミニカラムからの溶出状況(単位：%)

展開溶媒	水 100 ml	アセトニトリル			合計
		0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
オリサストロピン	-	100	1	0	101
5 Z異性体	-	100	1	0	101
6 Z異性体	-	98	0	0	98

Mega Bond Elute C₁₈(充てん量1 g)使用、Lot.0723505

供試量：各2 µg

C₁₈ミニカラムからの溶出状況(単位：%)

展開溶媒	水 100 ml	メタノール			合計
		0-5 ml	5-10 ml	10-15 ml	
オリサストロピン	-	97	0	0	97
5 Z異性体	-	97	0	0	97

Mega Bond Elute C₁₈(充てん量1 g)使用、Lot.0715205

供試量：各2 µg

4.3. 追加精製について

追加精製が必要な場合、分析実施例によりNH₂ミニカラムを用いることができる。オリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体のNH₂ミニカラムからの溶出状況を以下に示した。

NH₂ミニカラムからの溶出状況(単位：%)

展開溶媒	ヘキサン	ヘキサン - 酢酸エチル(8:2)		合計
	5 ml × 2	0-10 ml	10-15 ml	
オリサストロピン	0	96	2	98
5 Z異性体	0	92	6	98
6 Z異性体	0	88	7	95

Sep-Pak Plus NH₂使用、Lot.004034089A

供試量：各2 µg

4.4. 定量法について

水中残留分析実施例により、HPLC-UVを用いてオリサストロピン並びに5 Z異性体及び6 Z異性体を定量した。

