

# 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

### 資 料 目 次

農薬名	基準設定	ページ
1 オキサジアルギル	新規	1
(別添) 分析法参考資料		

平成20年1月10日

環境省 水・大気環境局 土壌環境課 農薬環境管理室

(144) オキサジアルギル試験法(案)

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)

アセトン アセトン(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)

リン酸 リン酸(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C<sub>18</sub>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

シリカゲルミニカラム 内径10mm、長さ25mmのカラムにカラムクロマトグラフィー用シリカゲル690mgを充てんしたもの又はこれと同等の性能を有するもの

オキサジアルギル標準品 本品は、オキサジアルギル99.9%以上を含み、融点は131である。

ウ 試験溶液の調製

A法 溶媒抽出法

1) 試料200mlを500mlの分液漏斗に量り取り、ヘキサン100ml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、ヘキサン層を分取する。残った水層についても、ヘキサン100mlを加え、同様の振とう及び分取の操作を繰り返す。全ヘキサン層を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、500mlのナス型フラスコ中にろ過する。使用した三角フラスコをヘキサン20mlで洗い、その洗液でろ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。

2) この残留物にヘキサン5mlを加えて溶かす。あらかじめ、シリカゲルミニカラムにヘキサン5mlを流し入れ、洗浄しておく。これにナス型フラスコ中の溶液を流し入れ、ヘキサン5mlで展開し、流出液を捨てる。次いでヘキサン及びアセトンの混液(7:3)10ml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(6:4)を加えて溶かし、2mlとして試験溶液とする。

B法 固相抽出法

試料200mlを、あらかじめアセトニトリル5ml及び蒸留水5mlを順に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5mlを流し、流出液を捨てた後、約1分間吸引を続け水分を除去する。アセトニトリル10ml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。以下、この残留物についてA法の2)と同様の操作を行う。

#### 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 ~ 30cm 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、蒸留水及びリン酸の混液 ( 60 : 40 : 0.1 ) を用い、オキサジアルギルが 13 ~ 18 分で流出するように流速を調整する。

検出器 波長 230nm で測定する。

感度 オキサジアルギルの 2 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

オキサジアルギル標準品の 500mg / 1 アセトニトリル溶液を調製し、この溶液を蒸留水及びアセトニトリルの混液 ( 6 : 4 ) で希釈して 0.1 ~ 2 mg / 1 溶液を数点調製し、それぞれを 20 $\mu$ l 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キサジアルギルの検量線を作成する。

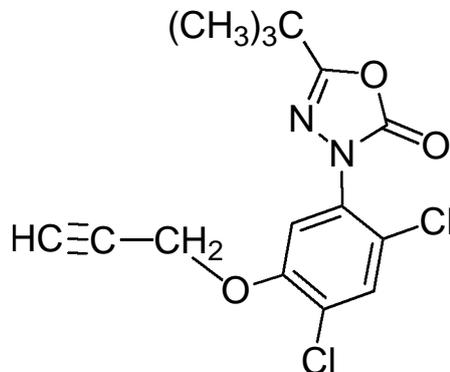
#### カ 定量試験

試験溶液から 20 $\mu$ l 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キサジアルギルの重量を求め、これに基づき、試料中のオキサジアルギルの濃度を算出する。

## 農薬登録保留基準公定分析法検討会資料(水質汚濁)

## オキサジアルギル(oxadiargyl)

構造式



種類名	オキサジアルギル
商品名	フェナックス
用途	除草剤
分子式	$C_{15}H_{14}Cl_2N_2O_3$
分子量	341.2
化学名(IUPAC)	5- <i>tert</i> -butyl-3-[2,4-dichloro-5-(prop-2-ynloxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazol-2(3 <i>H</i> )-one
外観	茶白色粉末
融点	131
蒸気圧	$2.5 \times 10^{-3}$ mPa(25 )
溶解性	水 0.37 mg/l(20 ) アセトン 250、アセトニトリル 94.6、ジクロロメタン >500、 酢酸エチル 121.6、メタノール 14.7、1-ヘプタン 0.9、 1-オクタノール 3.5、トルエン 77.6 (以上 g/l、20 )
1-オクタノール/水分配係数	$\log P = 3.95$
安定性	熱に15日間安定(54 ) 水中光分解に対して安定 加水分解に対して安定(pH4、5、7)、pH9での半減期 ; 7.3日

出典 : The e-Pesticide Manual ver.4.0

## 1. 概要

オキサジアルギルを規制対象成分とする。試料からヘキサンで抽出、もしくは固相抽出カラムで抽出後、シリカゲルミニカラムで精製し、HPLC-UVで定量する方法を提案する。

基準値案	0.2 mg/l
目標検出限界	0.001 mg/l

## 2. 提案法

### 2.1. 分析対象成分

オキサジアルギル

### 2.2. 装置

HPLC-UV

### 2.3. 分析操作

#### 2.3.1. 溶媒抽出法

##### 秤 取

試料 200 ml

##### ヘキサン抽出

ヘキサン 100 ml + 100 ml

脱水ろ過

濃縮、乾固

##### シリカゲルミニカラム精製(充てん量 800 mg)

ヘキサン 5 mlで予備洗浄

ヘキサン 5 ml × 2で負荷、洗浄

ヘキサン - アセトン(7:3) 10 mlで溶出

濃縮、乾固

##### H P L C - U V

アセトニトリル - 水(6:4) 2 ml定容、20 µl注入

#### 2.3.2. 固相抽出法

##### 秤 取

試料 200 ml

##### 固相抽出

C<sub>18</sub>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

負荷

洗浄：水 5 ml

溶出：アセトニトリル 10 ml

濃縮、乾固

##### シリカゲルミニカラム精製

2.3.1.に同じ

## HPLC - UV

2.3.1.と同じ

### 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

溶離液 : アセトニトリル - 水 - リン酸(60:40:0.1)

分離管槽温度 : 40

測定波長 : 230 nm

保持時間 : 13~18分

### 2.5. 検量線の作成

オキサジアルギルの0.1~2 mg/lアセトニトリル - 水(6:4)溶液を調製。各溶液の 20  $\mu$ lを注入し、ピーク高又はピーク面積とオキサジアルギル重量から検量線を作成。

### 2.6. 検出限界

検出限界 : 0.001 mg/l

最小検出量 2 ng、最終液量 2 ml、注入量 20  $\mu$ l、試料 200 ml

## 3. 提案法の根拠

水田水中残留試験実施例及び基礎データから提案法を作成した。

### 3.1. 水田水中残留試験実施例(平成9年度、残留農薬研究所)

分析対象成分 : オキサジアルギル

定量限界 : 0.001 mg/l

分析法概要 :

ヘキサン抽出

シリカゲルミニカラム精製

HPLC-UV

### 3.2. 作物残留試験実施例

玄米(平成10年度、残留農薬研究所)

分析対象成分 : オキサジアルギル、変化生成物RP017272

定量限界 : 各0.01 ppm

分析法概要 :

含水アセトニトリル抽出

多孔性ケイソウ土カラム精製(ケムエルト20 ml用)

C<sub>18</sub>ミニカラム精製(Bond Elut C<sub>18</sub>)

フロリジルミニカラム精製(Sep-Pak Plusフロリジル)

GC-NPD

#### 4. 検討事項

##### 4.1. 溶媒抽出について

オキサジアルギルの試験水からの抽出率の調査を行い、その結果を下表に示した。オキサジアルギルは水層からヘキサン100 mlへ2回の抽出操作で、ほぼ100 %移行した。

溶媒への抽出率

水層：水200 ml	NaCl	pH調整	溶出率(%)			合計
			1回目	2回目	3回目	
ヘキサン 50 ml	-	-	75	31	0	106
ヘキサン 50 ml	10 g	-	75	26	2	103
ヘキサン 50 ml	-	pH3	67	33	5	105
ヘキサン 50 ml	10 g	pH3	70	31	3	104
ヘキサン100 ml	-	-	91	14	0	105

\* 1 mol/l塩酸 0.3 mlで調整、供試量：4 µg

##### 4.2. 固相抽出について

オキサジアルギルのC<sub>18</sub>ミニカラム及びポリマー系ミニカラムでの抽出を検討した。蒸留水200 mlに4 mg/lアセトニトリル溶液1 mlを添加した試料をミニカラムに負荷、その溶出状況を以下に示した。

オキサジアルギルはいずれの条件でも良好に保持、溶出された。本提案法では固相抽出カラムにC<sub>18</sub>ミニカラムを採用、水5 mlで洗浄、溶出溶媒にはアセトニトリルを選択した。

C<sub>18</sub>ミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	水200 ml	水	アセトニトリル			合計
			5 ml	0-5 ml	5-10 ml	
溶出率(%)	-	-	96	1	0	97

Inertsep C18(1 g)使用、Lot.7D010419、供試量：4 µg

C<sub>18</sub>ミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	水200 ml	水	メタノール			合計
			5 ml	0-5 ml	5-10 ml	
溶出率(%)	-	-	90	4	2	96

Inertsep C18(1 g)使用、Lot.7D010419、供試量：4 µg

ポリマー系ミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	水200 ml	水	アセトニトリル			合計
			5 ml	0-5 ml	5-10 ml	
溶出率(%)	-	-	90	7	0	97

Oasis HLB(500 mg)使用、Lot.55A637057、供試量：4 µg

ポリマー系ミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	水200 ml	水	メタノール			合計
			5 ml	0-5 ml	5-10 ml	
溶出率(%)	-	-	70	23	0	93

Oasis HLB(500 mg)使用、Lot.55A637057、供試量：4 µg

4.3. 精製について

シリカゲルミニカラムからの溶出状況

展開溶媒	ヘキサン	ヘキサン - アセトン(7:3)		合計
		10 ml	0-10 ml	
溶出率(%)	-	101	tr	101

Presep-Cシリカゲル(800 mg)使用、Lot.5007、供試量：4 µg

4.4. 濃縮乾固時の損失について

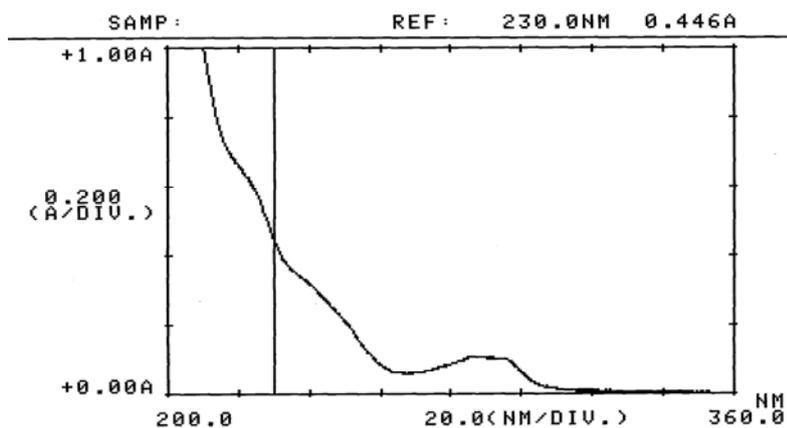
オキサジアルギルの濃縮乾固操作中における損失について調査した。オキサジアルギル 2 mg/lアセトニトリル溶液5 mlを40℃で減圧濃縮し、乾固後10分間そのまま濃縮を続けた。その結果、損失は認められなかった。

4.5. 定量法について

水田水中残留試験実施例により、HPLC-UVを用いてオキサジアルギルを定量した。以下に紫外吸収スペクトル及び測定条件例を記載した。

4.5.1. 紫外吸収スペクトル

濃度：10 µg/ml、溶媒：水 - アセトニトリル - リン酸(60:40:0.1)  
230 nmでのモル吸光係数： $1.52 \times 10^4$



4.5.2. 高速液体クロマトグラフ測定条件例

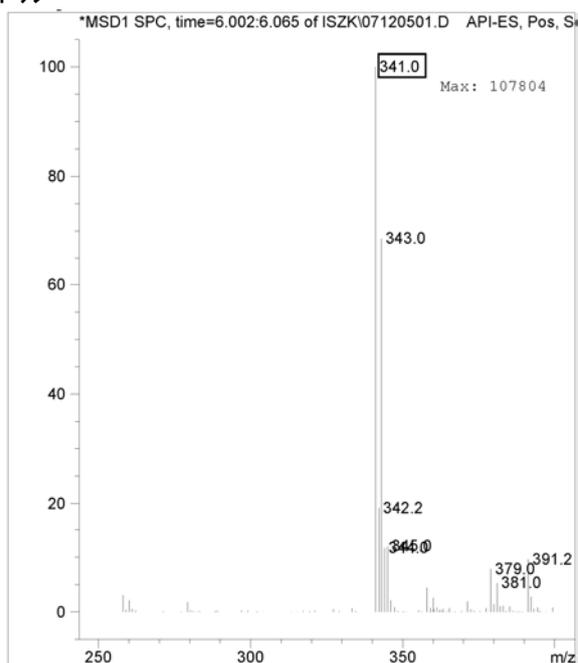
分離管：L-column ODS(シリカ-ODS、粒径 5 µm)、内径 4.6 mm×長さ 25 cm  
溶離液：アセトニトリル - 水 - リン酸(60:40:0.1)  
流速：1.0 ml/分

分離管槽温度：40  
測定波長：230 nm  
保持時間：約16.3分

## 5. 確認法について

妨害ピークが重なる等、HPLC-UVでは測定が困難な場合、LC/MSを用いてオキサジア  
ルギルの確認を行うこととする。以下にMSスペクトル及び測定条件例を記載した。

### 5.1. MSスペクトル



### 5.2. 液体クロマトグラフ・質量分析計測定条件例

機種：Agilent1100シリーズLC/MSD SL(Agilent Technologies製)

#### ・液体クロマトグラフ部

分離管：L-column ODS(シリカ-ODS、粒径 5  $\mu$ m)、内径 2.0 mm×長さ 15 cm

溶離液：アセトニトリル - 2 mmol/l酢酸アンモニウム(65:35 V/V)

流速：0.2 ml/分

分離管槽温度：40

保持時間：約8.2分

#### ・質量分析計部

イオン化法：ESI(正イオンモード)

ドラインガス：窒素(10 l/分, 350 )

ネブライザー：窒素(35 psig)

フラグメンター電圧：140 V

キャピラリー電圧：3000 V

設定質量数：m/z = 341.0

## 6. 添加回収試験

2.3.の提案法による添加回収試験を行った。供試試料には多摩川中流の稲城大橋付近で採水した水を用いた。

試験法	試料採取量	添加濃度	回収率			平均回収率	変動係数
溶媒	200 ml	0.02 mg/l	99 %	97 %	94 %	97 %	2.6 %
抽出法		0.001 mg/l	107 %	100 %	97 %	101 %	5.1 %
固相	200 ml	0.02 mg/l	95 %	93 %	93 %	94 %	1.2 %
抽出法		0.001 mg/l	95 %	95 %	88 %	93 %	4.3 %

## 7. 保存中の安定性試験

オキサジアルギルの河川水中での、4 保存安定性を調査した。

1 mol/l塩酸を用いてpH3に調整した河川水及びpH未調整の河川水200 mlをそれぞれ三角フラスコにはかりとり、オキサジアルギルの500 mg/lアセトニトリル溶液400 μlを添加し、4 に保存した。

これを2.3.1.の提案法に従って操作し、次の結果を得た。

試料	添加濃度	保存期間	回収率		平均回収率
河川水(pH未調整)	1 mg/l	13日('07/11/20 ~ 12/ 3)	88 %	82 %	85 %
河川水(pH3に調整)	1 mg/l	13日('07/11/20 ~ 12/ 3)	108 %	106 %	107 %

\* pH=7.5

4.5.2.のHPLC-UV測定条件でのクロマトグラム例を次頁に示した。

クロマトグラム例

標準溶液 40 ng

2 ng

溶媒抽出法

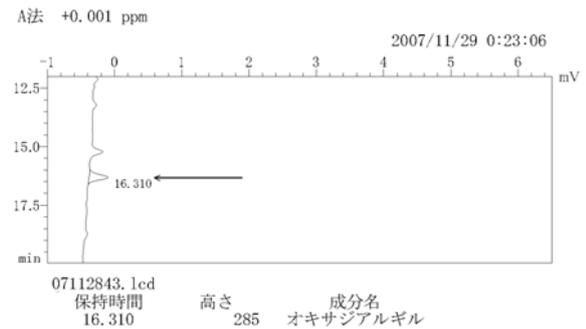
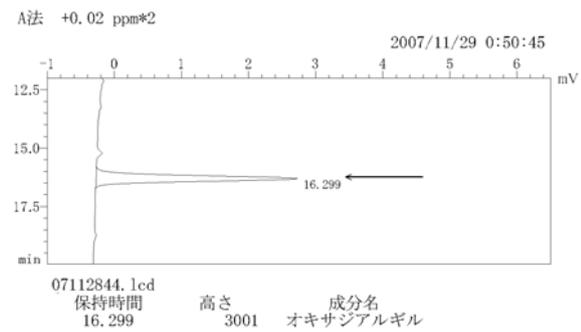
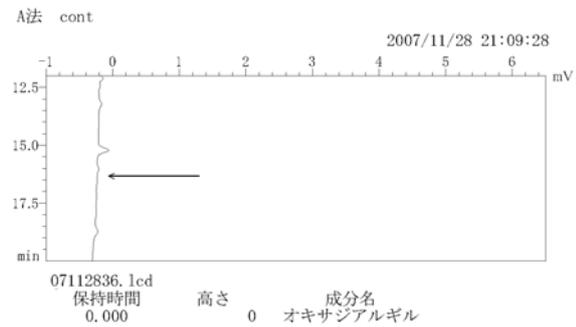
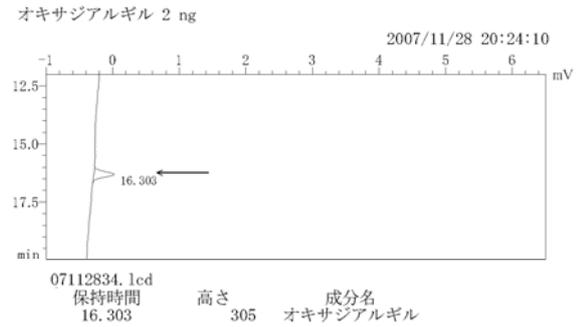
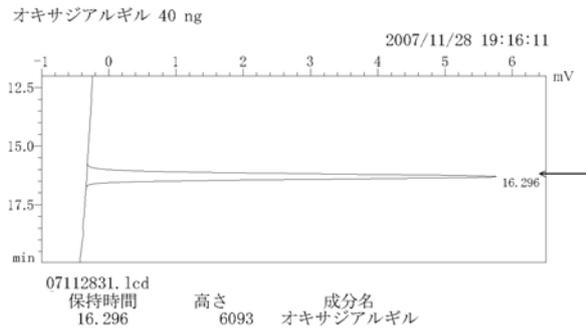
無添加(河川水)

河川水0.02 mg/l添加  
(2倍希釈)

回収率 99 %

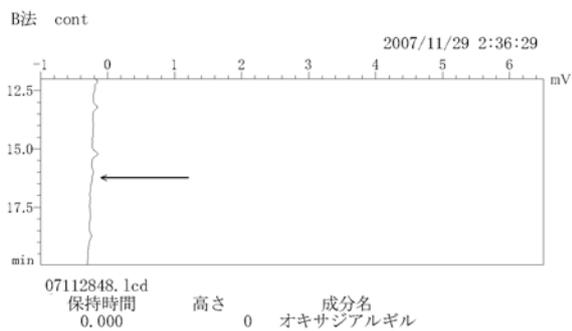
河川水0.001 mg/l添加

回収率 97 %

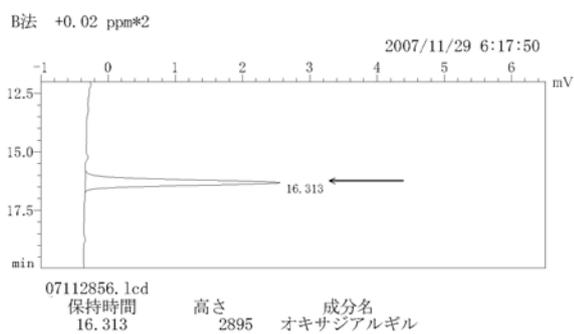


固相抽出法

無添加(河川水)

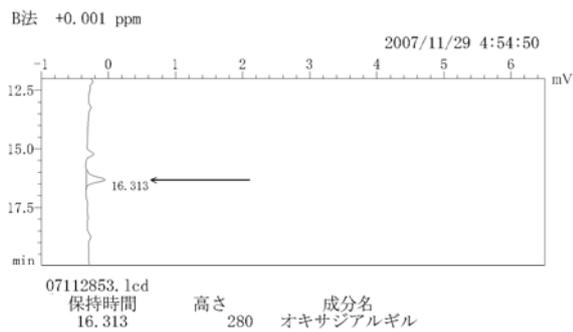


河川水0.02 mg/l添加  
(2倍希釈)



回収率95 %

河川水0.001 mg/l添加



回収率 95 %