

オキシポコナゾールフマル酸塩試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

オキシポコナゾールフマル酸塩

2. 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（HPLC-UV）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

0.2 mol/Lリン酸緩衝液 0.2 mol/Lリン酸水素二ナトリウム溶液に0.2 mol/Lリン酸二水素カリウム溶液を加えてpH 7.5に調整したもの

オキシポコナゾールフマル酸塩標準品 本品はオキシポコナゾールフマル酸塩99%以上を含み、融点は124℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料20.0 gに0.2 mol/Lリン酸緩衝液（みかん以外のかんきつ類の場合は、0.1 mol/Lリン酸水素二ナトリウム溶液）10 mL及びアセトン100 mLを加え、30分間振とうした後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加え、上記と同様に操作する。ろ液を合わせて40℃以下で30 mLに濃縮する。

2) 精製

(1) オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にメタノール5 mL及び水5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、水及びメタノール（1：1）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、メタノール10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン（1：19）混液10 mL（みかん以外のかんきつ類の場合は正確に10 mL）に溶かす。

(2) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム（690 mg）に*n*-ヘキサン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに(1)で得られた溶液（みかん以外のかんきつ類の場合は、その1 mL）を注入し、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：9）混液15 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン

及び*n*-ヘキサン（1：4）混液25 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン（1：9）混液5 mLに溶かす。

(3) 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）に*n*-ヘキサン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに(2)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：9）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液20 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かし正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

オキシポコナゾールフマル酸塩標準品の0.1～2 mg/Lメタノール溶液を数点調製し、それぞれ20 µLをHPLCに注入してピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液20 µLをHPLCに注入し、5の検量線でオキシポコナゾールフマル酸塩の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

8. 操作条件

HPLC

検出器：UV（波長220 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径2～6 mm、長さ150～300 mm

カラム温度：40℃

移動相：水及びメタノール（7：13）

保持時間の目安：15分

9. 定量限界

0.01 mg/kg（みかん以外のかんきつ類の場合は0.1 mg/kg）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

オキシポコナゾールフマル酸塩を試料からリン酸緩衝液添加アセトンで抽出し、オク

タデシルシリル化シリカゲルミニカラム、シリカゲルミニカラム及び合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製する。HPLC-UVで測定し、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

(1) 本法は果実類を対象とした環境省の告示試験法に基づく。ただし、同試験法では代謝物も分析対象としているため、一部修正した。

11. 参考文献

1) 上路雅子ら、「2002年版残留農薬分析法」、393頁、ソフトサイエンス社

12. 類型

A (環境省告示第32号「オキシポコナゾールフマル酸塩試験法」平成12年4月28日)