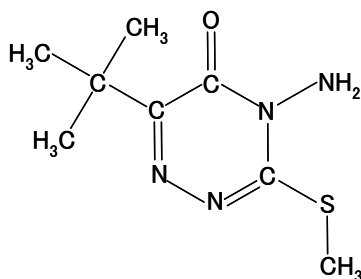


メトリブジン

Metribuzin

別名：4-アミノ-6-(1,1-ジメチルエチル)-3-(メチルチオ)-1,2,4-トリアジン-5(4H)-オン
Amino-6-(1,1-dimethylethyl)-3-(methylthio)-1,2,4-triazin-5(4H)-one

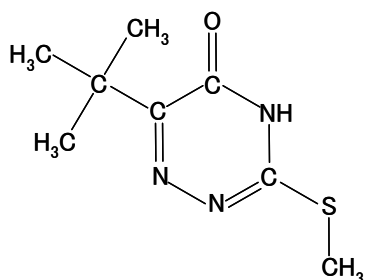
【対象物質の構造】



CAS 番号: 21087-64-9

分子式: $C_8H_{14}N_4OS$

【対象物質の分解化合物の構造】



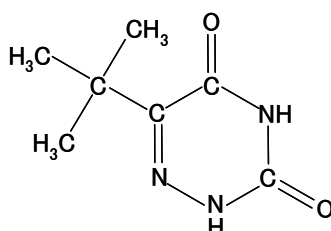
Metribuzin-desamino

(DA)

CAS 番号: 35045-02-4

分子式: $C_8H_{13}N_3OS$

分子量: 199.3



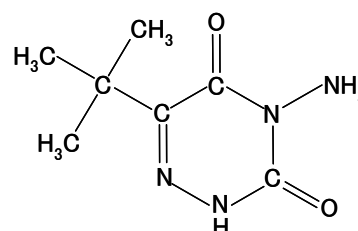
Metribuzin-desamino-diketo

(DADK)

CAS 番号: 52236-30-3

分子式: $C_7H_{11}N_3O_2$

分子量: 169.2



Metribuzin-diketo

(DK)

CAS 番号: 56507-37-0

分子式: $C_7H_{12}N_4O_2$

分子量: 184.2

【物理化学的性状】

分子量	融点 ()	蒸気圧 (mPa)	水溶解度	LogP _{ow}
214.3	126.2	0.058	1050 mg/L (20)	1.60(20)

(出典) The e-Pesticide Manual (Thirteenth Edition) Version 3.2

【毒性、用途】

毒性: 急性経口毒性 LD₅₀ ラット 2220 mg/kg、LC₅₀ コイ >100ppm

用途: 光合成阻害型除草剤

§ 1 分 析 法

(1) 分析法の概要

底質試料 5.00 g (乾泥換算) をメタノール溶媒抽出、ヘキサン洗浄後、水を加えスチレンジビニルベンゼン共重合体カラムで固相抽出し、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー及びシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製を行い、LC/MS/MS-SRM 法で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】(注 1)

メトリブジン	: 関東化学社製
メトリブジン-デスアミノ (DA)	: Dr.Ehrenstorfer GmbH
メトリブジン-デスアミノジケト (DADK)	: Dr.Ehrenstorfer GmbH
メトリブジン-ジケト (DK)	: Dr.Ehrenstorfer GmbH
内標準物質	: ジウロン- d_6 (99%) (Dr.Ehrenstorfer GmbH)
メタノール	: 残留農薬分析用
ヘキサン	: 残留農薬分析用
ジクロロメタン	: 残留農薬分析用
ギ酸	: 試薬特級
メタノール	: LC/MS 用
固相カートリッジ	: Sep-Pak Plus PS-2 (Waters) : Sep-Pak Vac CarbonNH ₂ 1 g/6 cc (Waters)
シリカゲルカラム	: シリカゲル 60 (0.063-0.200 mm) (Merck KGaA)

【試薬の安全性・毒性】

メトリブジンは無色の結晶。燃焼すると分解し、有毒なフューム (窒素酸化物、イオウ酸化物など) を生じる。20℃ ではほとんど気化しないが、浮遊粒子が急速に有害濃度に達することがある。水生生物に対して毒性がある。取り扱いに際しては適切な保護具を使用する。

(出典) 国際化学物質安全性カード

【器具】

遠心管、メスシリンダー、メスフラスコ、三角フラスコ、分液ロート、ホールピペット、駒込ピペット、パストゥールピペット、振とう機、超音波洗浄器、遠心分離機、吸引マニホールド、ロータリーエバポレーター、窒素吹き付け装置

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 18 年 3 月)に従う。前処理操作は試料採取後、速やかに行う。やむを得ず困難な場合は、密栓し冷凍庫内に保存し可能な限り速やかに行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

底質試料を乾泥換算試料量として 5.00 g-dry 相当となるよう 50 mL の遠心管にとり、メタノール(注 1) 30 mL を加え、振とう及び超音波抽出を各 10 分間行い溶媒抽出を行う。遠心分離(2500 r/min、10 分間)後、メタノールを分取し、再びメタノール 30 mL を加え同様の操作を行う。分取したメタノールを合わせ分液ロートに移し、メタノール飽和ヘキサン(注 2) 20 mL を加え 5 分間振とうする。メタノール層を分取し、再びメタノール飽和ヘキサン 20 mL を加え同様の操作を行う。分取したメタノール層を合わせ、ロータリーエバポレーター(40℃以下)を用いて 2 mL 程度まで濃縮後、精製水 200 mL を加えて溶解する。

コンディショニングした固相カートリッジ(Sep-Pak Plus PS-2)(注 3)に通水し、続いて精製水 10 mL で洗浄する。カートリッジに窒素ガスを通気して水分を除去し、メタノール 2 mL でバックフラッシュ溶出をする。

コンディショニングした固相カートリッジ(Sep-Pak Vac CarbonNH₂)(注 4)に溶出液を負荷し、続いてメタノール 30 mL で溶出する。溶出液をロータリーエバポレーター(40℃以下)を用いて 2 mL 程度まで濃縮後、ジクロロメタン 15 mL を加え、さらにロータリーエバポレーター(40℃以下)を用いて濃縮後、窒素気流下で緩やかに乾固し、ただちにジクロロメタン 5 mL を加えて溶解する。

シリカゲルカラム(シリカゲル 60)(注 5)にジクロロメタン溶液を負荷し、続いてジクロロメタン 45 mL で洗浄後、ジクロロメタン及びメタノールの混液(97:3) 50 mL を流して対象物質を溶出する。溶出液はロータリーエバポレーター(40℃以下)を用いて濃縮後、窒素気流下で緩やかに乾固し、ただちに内標準液で 1.00 mL に溶解し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料がない状態で、【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従って操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【標準液の調製】

メトリブジン、メトリブジン-デスアミノ(DA)、メトリブジン-デスアミノジケト(DADK)及びメトリブジン-ジケト(DK)は各 10.0 mg を正確に秤取り(有効数字 3 桁)、メタノールを用いて正確に 100 mL とし、100 µg/mL の標準原液を作製する。内

標準物質 5 mg を正確に秤取り、メタノールに溶解し正確に 20 mL とし、250 µg/mL の内標準原液を作成する。各標準原液はメタノールで希釈し、5 µg/mL 溶液を調製する。内標準原液はメタノールで希釈し、10 ng/mL の内標準液を作製する。

各溶液を適宜分取し、内標準物質のメタノール溶液で順次希釈し、メトリブジン及びメトリブジン-デスアミノ (DA) は 0.05 ~ 10 ng/mL、メトリブジン-デスアミノジケト (DADK) 及びメトリブジン-ジケト (DK) は 2.5 ~ 50 ng/mL の検量線用混合標準液 (内標準濃度 : 10 ng/mL) を作製する。

【測定】

〔LC/MS/MS 条件〕(注 6)

(LC 条件)

機種名 : Waters 社製 Alliance2795

カラム : Waters 社製 Atlantis T3 C18 (2.1 mm × 150 mm、3 µm)

移動相 : A ; 水

B ; メタノール

0 min A : B = 85 : 15

0 → 8 min A : 85 → 20 B : 15 → 80 linear gradient

8 → 13 min A : B = 20 : 80

13 → 16 min A : 20 → 0 B : 80 → 100 linear gradient

16 → 19 min A : B = 0 : 100

19 → 24 min A : B = 85 : 15

流量 : 0.2 mL/min

カラム温度 : 40 °C

注入量 : 10 µL

(MS 条件)

使用機種 : Waters 社製 Quattro Premier XE

キャピラリー電圧 : 3.5 kV [ESI(positive)] 4.0 kV [ESI(negative)]

イオン源温度 : 110 °C

デソルベーション温度 : 400 °C

コーンガス流量 : 50 L/hr

デソルベーションガス流量 : 800 L/hr

コリジョンガス流量 : 0.2 mL/min

モニターイオン等（注 7）

物質	イオン化法 ESI	コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)	プレカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダクト イオン (<i>m/z</i>)	溶出 時間 (分)
メトリブジン	positive	30	20	214.7	186.7	11.4
メトリブジン DA	positive	35	18	199.7	115.6	11.6
メトリブジン DADK	negative	30	15	167.7	41.9	10.7
メトリブジン DK	negative	35	20	182.7	41.9	10.1
ジウロン- <i>d</i> ₆	positive	30	20	238.7	77.8	12.4
	negative	40	20	236.7	185.5	12.4

〔検量線〕

5 種類以上の検量線用混合標準液 10 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。溶媒ブランク試料からは被検物質のピークが検出されないことを確認する。

得られる各クロマトグラムにおいて、標準物質のピーク面積を内標準物質のピーク面積で割って得られる比を計算し、検量線の縦軸とする。分析した検量線用混合標準液に含まれる各標準物質の濃度を内標準物質の濃度で割って得られる比を計算し、検量線の横軸とする。重み付けなしで、最小二乗法により検量線を作成し、関係式及び寄与率(r^2)を計算する。寄与率が 0.995 以上であることを確認する。各測定点における残さを計算し、測定誤差が ±15% 以下であることを確認する。

〔定量〕

試験液 10 μL を LC/MS/MS に注入し、得られた被検物質のピーク面積を内標準物質のピーク面積で割って得られる比から、検量線を基にして、被検物質濃度を内標準物質の濃度で割った比を求める。

〔濃度の算出〕

底質試料中の濃度 C (ng/g-dry)は次式より算出する。

$$C = R \times Q/V$$

R ：検量線から求めた検液中の被検物質濃度を内標準物質濃度で割った比

Q ：試料中に添加した内標準の量 (ng) [添加する内標準の濃度 (ng/mL) × 添加する内標準の容量 (mL)]

V ：試料量(g-dry)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

Q ：10.0 ng [添加する内標準の濃度 (10.0 ng/mL) × 添加する内標準の容量 (1.0 mL)]

V ：5.00 (g-dry)

即ち、

$$C = R \times 2.00 \text{ (ng/g-dry)}$$

である。

〔装置検出下限 (IDL) 〕

本分析に用いた LC/MS/MS-SRM (Waters 社製 Quattro Premier XE) の IDL を下表に示す (注 8)。

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/g-dry)
メトリブジン	0.0082	5.00	1.0	0.0016
メトリブジン DA	0.013			0.0025
メトリブジン DADK	0.92			0.18
メトリブジン DK	0.91			0.18

〔測定方法の検出下限(MDL)、定量下限(MQL)〕

本測定方法における MDL 及び MQL を下表に示す (注 9)。

物質名	試料量 (g-dry)	最終液量 (mL)	MDL (ng/g-dry)	MQL (ng/g-dry)
メトリブジン	5.00	1.0	0.0055	0.014
メトリブジン DA			0.0071	0.018
メトリブジン DADK			0.19	0.48
メトリブジン DK			0.19	0.48

注 解

(注1)

メトリブジンはケトン類と反応しやすいといわれている²⁾ので、抽出溶媒はアセトンを用いず、メタノールを使用する。ただし、試料によってはメタノールの抽出効率がアセトンより悪い可能性がある事に留意する必要がある。

(注2)

ヘキサン 500 mL 及びメタノール 100 mL を分液ロートに入れ、5 分間激しく振とうし、ヘキサン層を分取する。

(注3)

固相カートリッジ (Sep-Pak Plus PS-2) は、メタノール 10 mL 及び精製水 10 mL でコンディショニングしたものを使用する。

(注4)

固相カートリッジ (Sep-Pak Vac CarbonNH2) は、2%ギ酸/メタノール 10 mL 及びメタノール 10 mL でコンディショニングしたものを使用する。

(注5)

シリカゲル 60 (活性化不要) を 5 g 秤取り、φ1 cm カラム管にジクロロメタンで湿式充填し、無水硫酸ナトリウム 0.5 g を積層させたものを使用する。

(注6)

LC/MS/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Waters 社製 Quattro Premier XE) 特有のものである。LC 条件において、水：メタノール = 5：95 の gradient では次の測定サンプルにマトリックスの影響を与える可能性があるため、0：100 とする。

(注7)

メトリブジン DA は 199.7 → 171.6 では、マトリックスの影響を受けやすいので 199.7 > 115.6 を使用する。メトリブジン DADK は 167.7 → 96.7 を使用しても良いが、装置によってノイズが大きくなる場合があるため、167.7 → 41.9 を使用する。

ESI- positive と negative ではイオン化障害の影響の度合いが異なるため、内標準物質として、メトリブジン及びメトリブジン DA はジウロン - $-d_6$ の ESI- positive を、メトリブジン DK 及びメトリブジン DADK はジウロン - $-d_6$ の ESI- negative を使用する。表中のイオンでも妨害成分が多く定量できない場合は、各マススペクトルを参考にイオンを決定し、確認測定を行う。

(注 8)

装置検出下限(IDL)は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 18 年 3 月)に従って、表 1 のとおり算出した。また、IDL 算出時の代表的なクロマトグラムを図 1 に示す。

表 1 装置検出下限(IDL)の算出

物質名	メトリブジン	メトリブジン DA	メトリブジン DADK	メトリブジン DK
試料量 (g-dry)			5.00	
最終液量 (mL)			1.0	
注入液濃度 (ng/mL)	0.050	0.050	2.5	2.5
装置注入量 (μL)		10		
結果(ng/mL) test 1	0.0544	0.0528	2.86	2.82
test 2	0.0495	0.0487	2.96	2.34
test 3	0.0500	0.0506	3.05	3.07
test 4	0.0492	0.0537	2.79	2.68
test 5	0.0519	0.0482	2.37	2.91
test 6	0.0479	0.0528	2.95	2.72
test 7	0.0506	0.0576	2.59	2.92
平均値 (ng/mL)	0.0505	0.0521	2.80	2.78
標準偏差 (ng/mL)	0.00212	0.00322	0.238	0.233
c.v (%)	4.2	6.2	8.5	8.4
t(n-1, 0.05)		1.94		
S/N	15	26	10	10
IDL (ng/mL)	0.0082	0.013	0.92	0.91
IDL 試料換算値 (ng/g-dry)	0.0016	0.0025	0.18	0.18

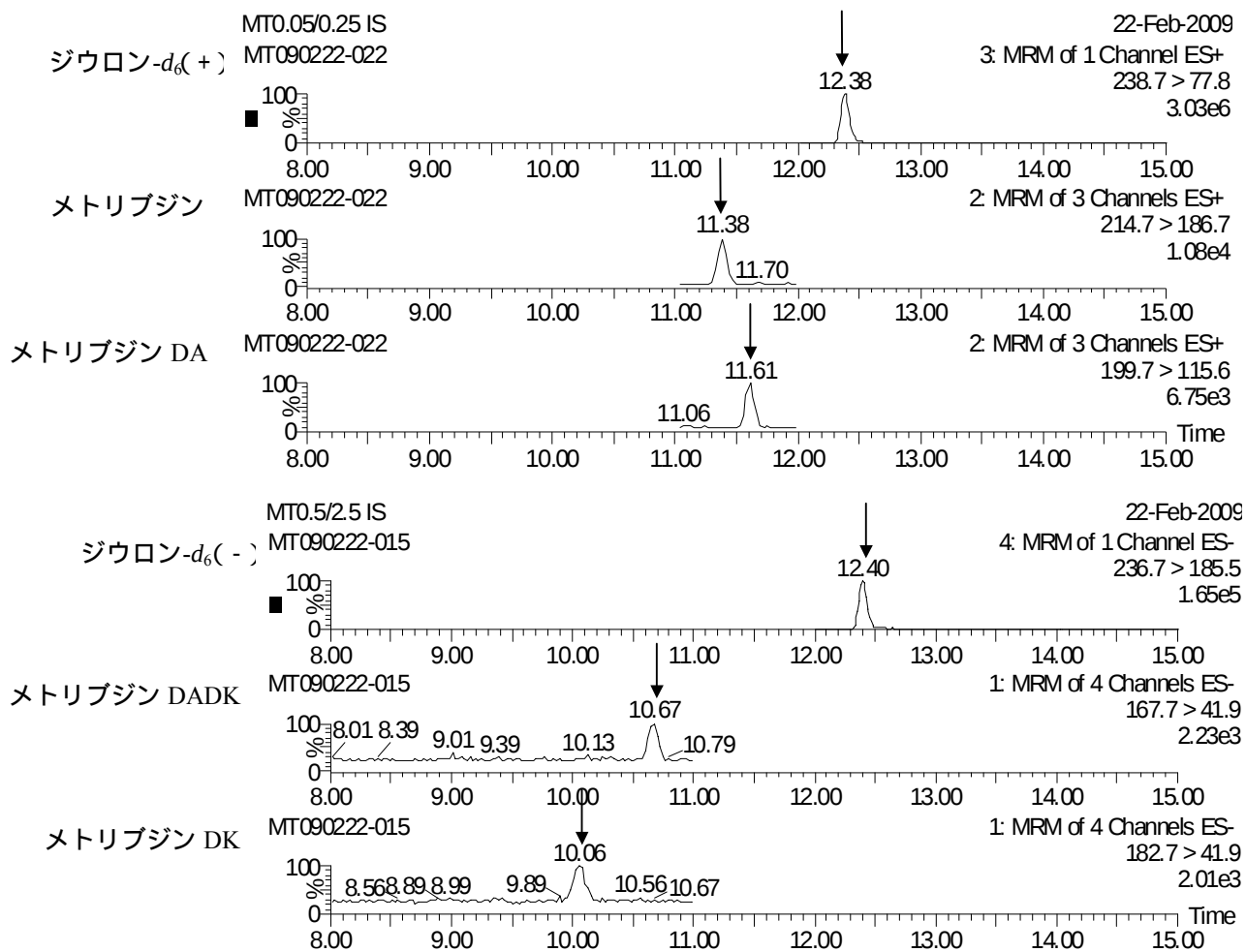


図 1 IDL 算出時の代表的なクロマトグラム

[ジウロン- d_6 (内標準物質) 10 ng/mL、
メトリブジン及びメトリブジン DA 0.05 ng/mL
メトリブジン DADK 及びメトリブジン DK 2.5 ng/mL]

(注 9)

測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 18 年 3 月)により、表 2 のとおり算出した。

表 2 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

物質名	メトリブジン	メトリブジン DA	メトリブジン DADK	メトリブジン DK
試料量 (g-dry)		5.00		
標準物質添加量(ng)	0.10	0.10	2.5	2.5
試料換算濃度 (ng/g-dry)	0.020	0.020	0.50	0.50
最終液量 (mL)		1.0		
注入液濃度 (ng/mL)	0.10	0.10	2.5	2.5
装置注入量 (μ L)		10		
操作ブランク平均 (ng/g-dry)	< 0.00545	< 0.00712	< 0.187	< 0.186
無添加平均 (ng/g-dry)	< 0.00545	< 0.00712	< 0.187	< 0.186
結果(ng/g-dry) test 1	0.02061	0.02600	0.5727	0.6017
test 2	0.02028	0.02325	0.6430	0.7082
test 3	0.01876	0.02327	0.5271	0.6815
test 4	0.01861	0.02350	0.6432	0.6324
test 5	0.02022	0.02310	0.6671	0.7190
test 6	0.01909	0.02241	0.5963	0.7100
test 7	0.01653	0.01977	0.6180	0.7269
平均値 (ng/g-dry)	0.01916	0.02304	0.6096	0.6828
標準偏差 (ng/g-dry)	0.001404	0.001833	0.04823	0.04788
MDL (ng/g-dry)	0.00545	0.00712	0.187	0.186
MQL (ng/g-dry)	0.0140	0.0183	0.482	0.478
S/N	11	18	11	10
c.v (%)	7.3	8.0	7.9	7.0

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$$

$$MQL = \sigma_{n-1} \times 10$$

操作ブランク平均：試料マトリクスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値

無添加平均：MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

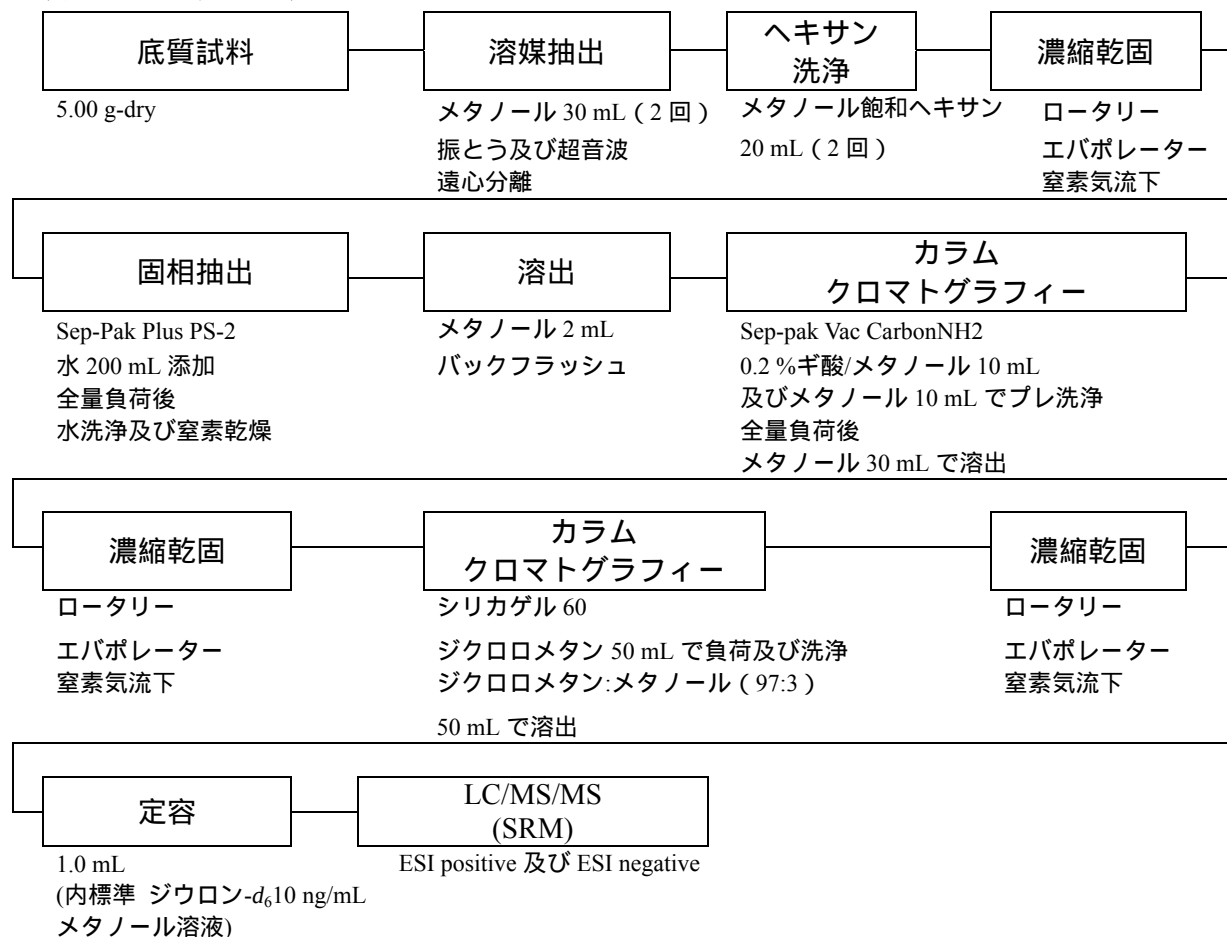


図2 分析法フローチャート

〔検量線及びマススペクトル〕

検量線の一例を図3～図6に示す。

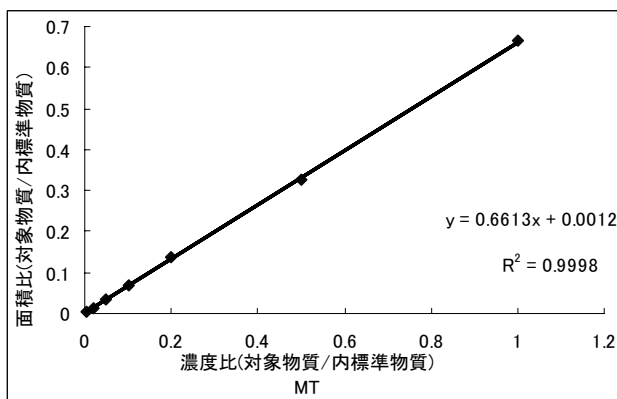


図3 メトリブジンの検量線例

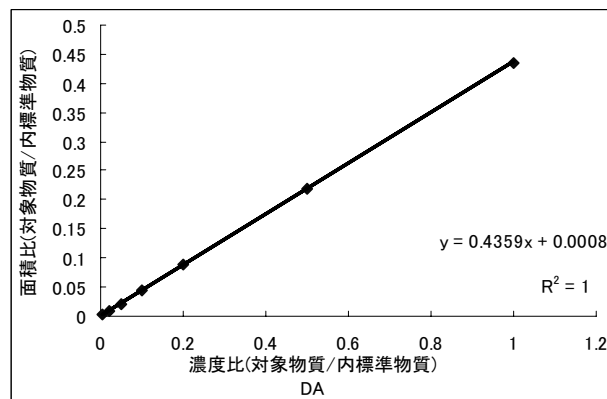


図4 メトリブジン DA の検量線例

(内標準物質 10 ng/mL , 対象物質濃度範囲 0.05 ~ 10 ng/mL)

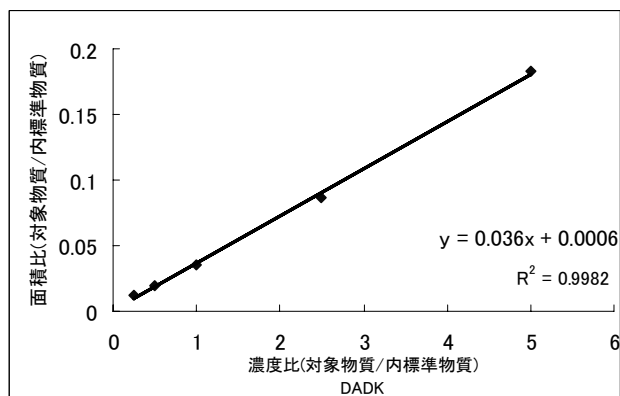


図5 メトリブジン DADK の検量線例

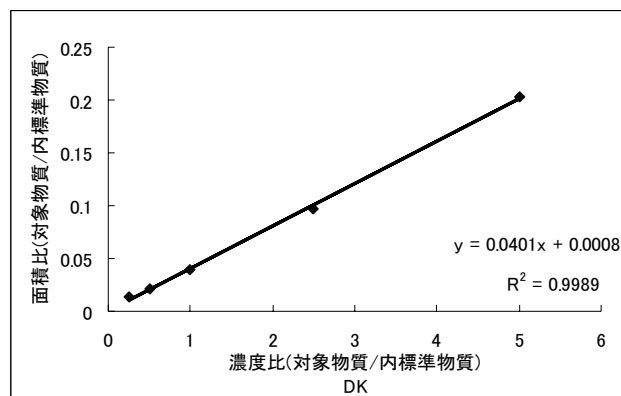


図6 メトリブジン DK の検量線例

(内標準物質 10 ng/mL , 対象物質濃度範囲 2.5 ~ 50 ng/mL)

マススペクトル(プレカーサーイオン及びプロダクトイオン)を図7~18に示す。

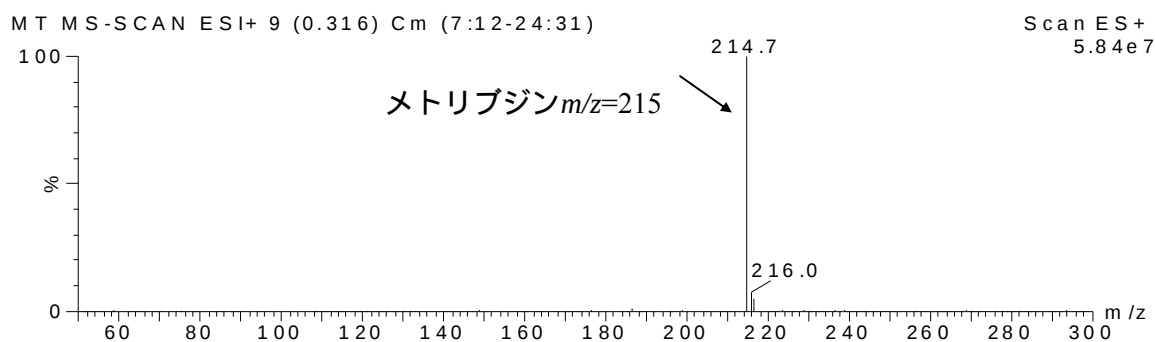


図7 メトリブジンのプレカーサーイオン

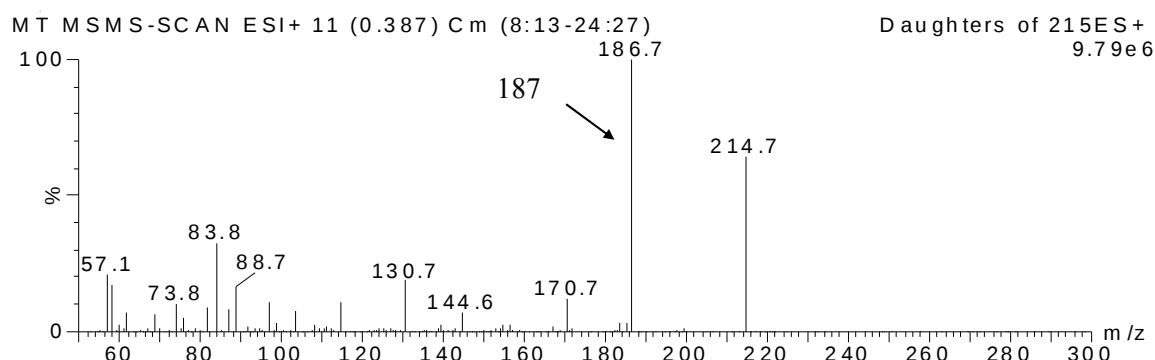


図8 メトリブジンのプレカーサーイオン 215 に対するプロダクトイオン
(コリジョンエネルギー20 eV)

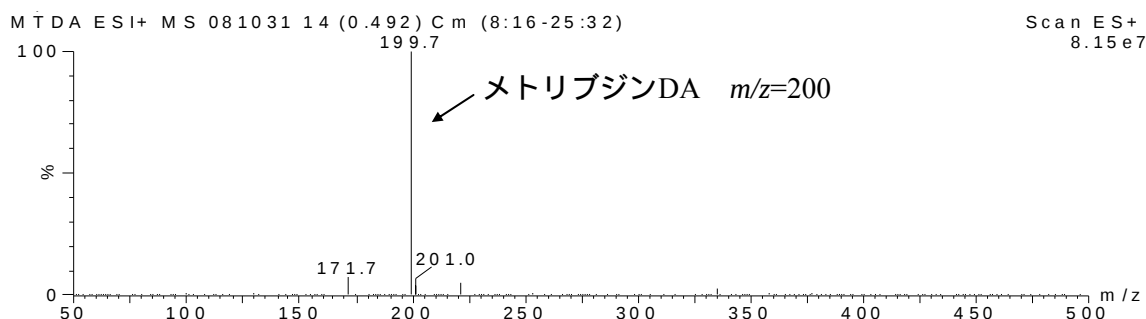


図9 メトリブジン DA のプレカーサーイオン

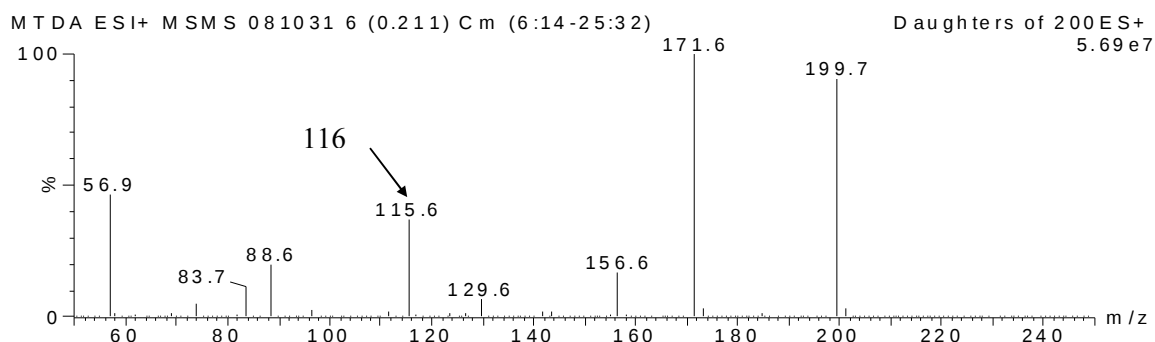


図10 メトリブジン DA のプレカーサーイオン 200 に対するプロダクトイオン
(コリジョンエネルギー18 eV)

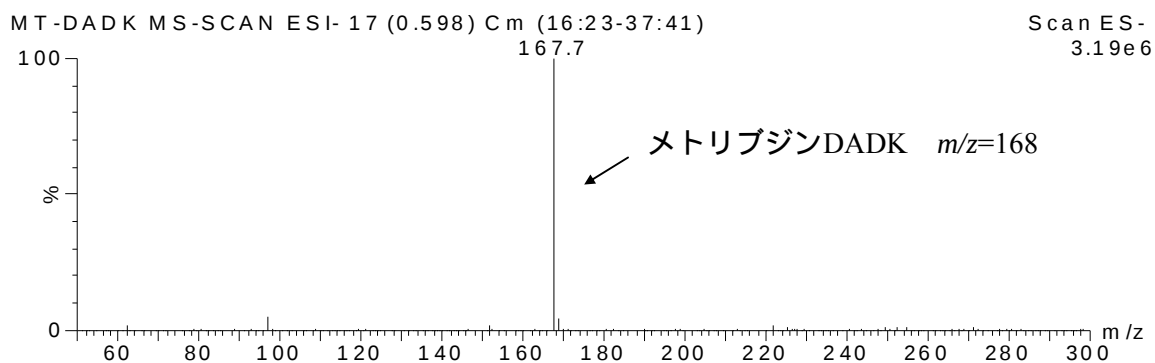


図 11 メトリブジン DADK のプレカーサーイオン

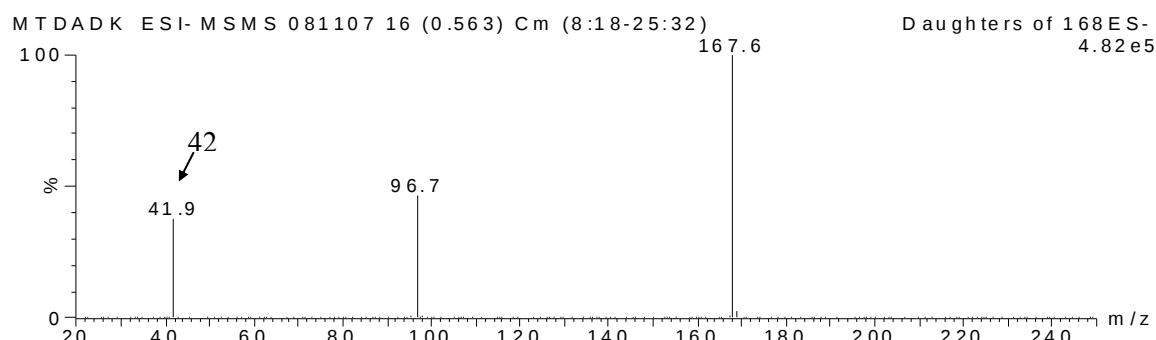


図 12 メトリブジン DADK のプレカーサーイオン 168 に対するプロダクトイオン
(コリジョンエネルギー15 eV)

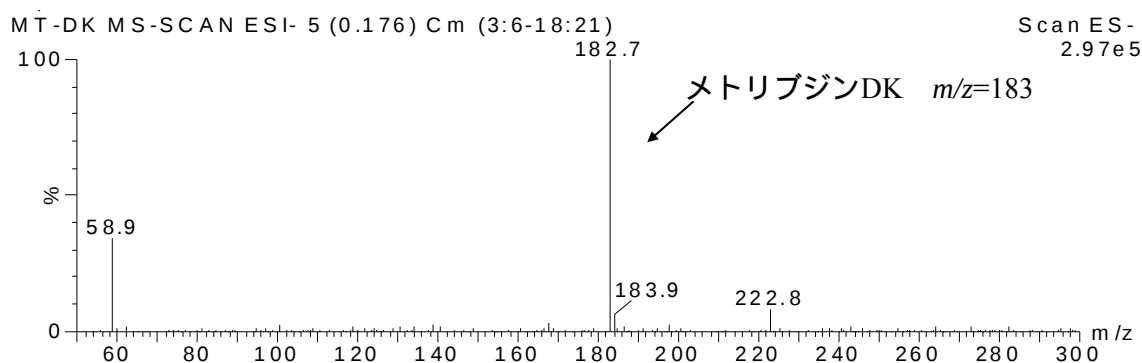


図 13 メトリブジン DK のプレカーサーイオン

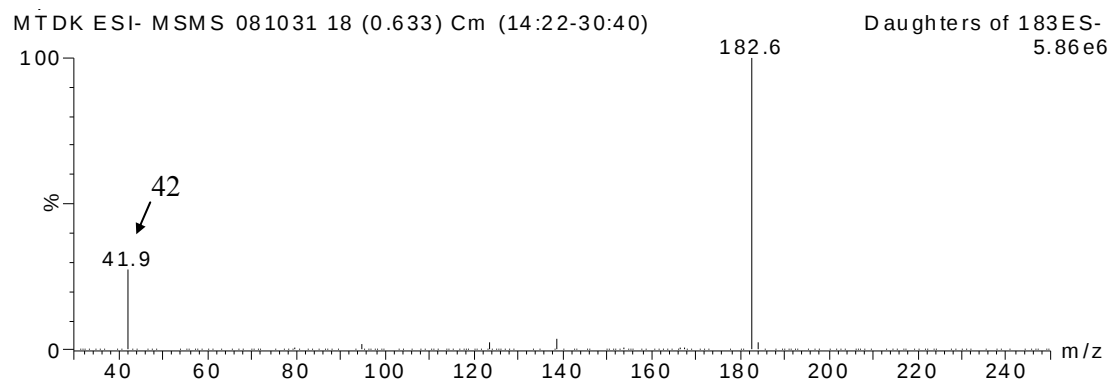


図 14 メトリブジン DK のプレカーサーイオン 183 に対するプロダクトイオン
(コリジョンエネルギー20 eV)

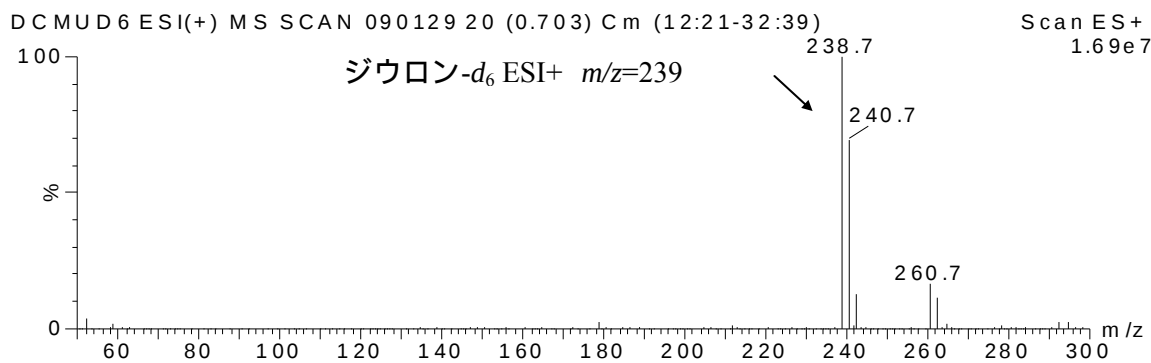


図 15 ジウロン- d_6 ESI-positive のプレカーサーイオン

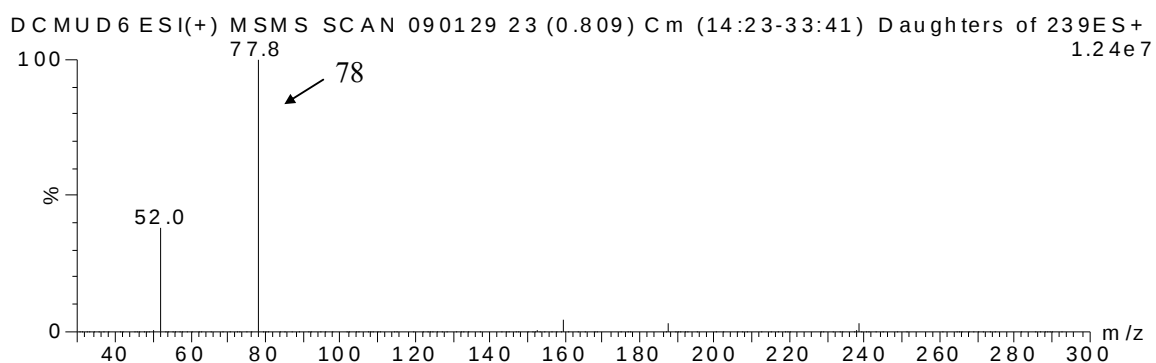


図 16 ジウロン- d_6 ESI-positive のプレカーサーイオン 239 に対するプロダクトイオン
(コリジョンエネルギー 20 eV)

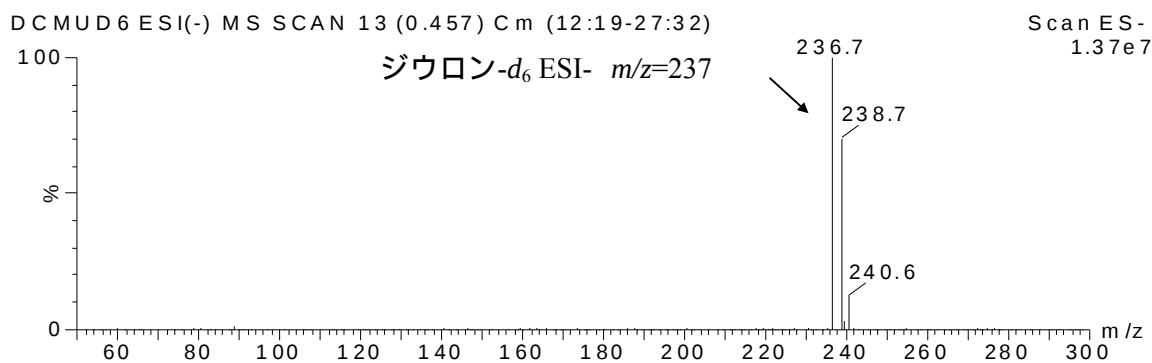


図 17 ジウロン- d_6 ESI-negative のプレカーサーイオン

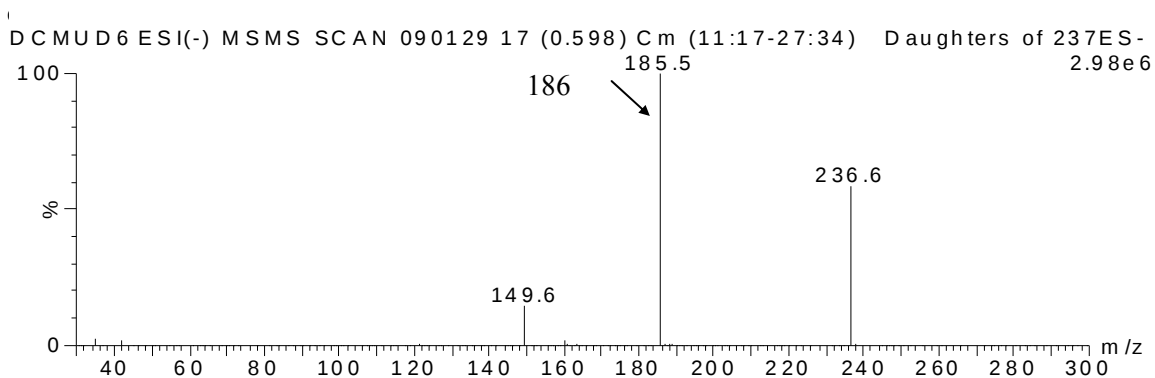
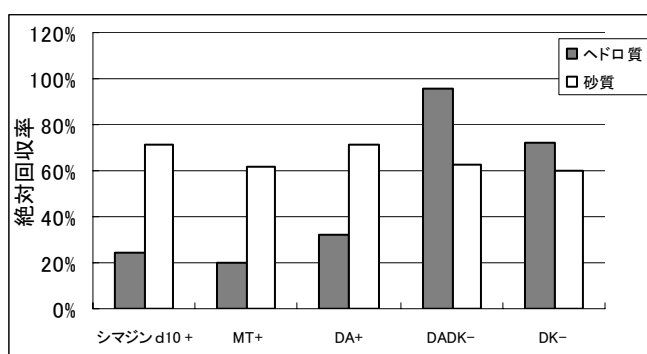


図 18 ジウロン- d_6 ESI-negative のプレカーサーイオン 237 に対するプロダクトイオン
(コリジョンエネルギー 20 eV)

〔夾雑物の影響について〕

底質試料の夾雑物の影響は既報¹⁾のとおりであるが、試料によって更に精製が必要な場合があったため、前処理方法および使用する内標の検討を行った。

ヘドロ質及び砂質底質試料にメトリブジン及びメトリブジン DA を 10 ng、メトリブジン DADK 及びメトリブジン DK を 50 ng 添加し、既報および本分析法により分析を行った。図 19 および図 20 にそれぞれの試料における添加試験結果を示した。なお、内標としてシマジン- d_{10} を用い、シマジン- d_{10} についても絶対回収率を求めた。



グラフ中の物質略称

MT+：メトリブジン

DA+：メトリブジン DA

DADK-：メトリブジン DADK

DK-：メトリブジン DK

(+ 及び - はイオン化法の ESI positive 及び ESI negative を表す。)

図 19 既報による添加試験結果

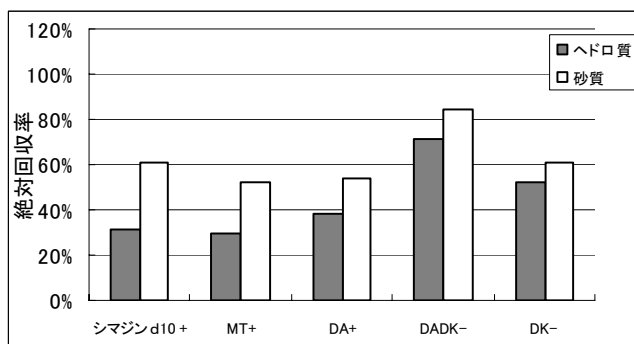


図 20 本分析法（内標シマジン- d_{10} ）による添加試験結果

ヘドロ質底質試料において、ESI positive で測定する物質（シマジン- d_{10} 、MT 及び DA）の絶対回収率が低い傾向が見られるが、本分析法では既報よりやや改善が見られた。

また、ESI positive で測定する物質では 30～40%、ESI negative で測定する物質（DADK 及び DK）では 50～60%と、シマジン- d_{10} で DADK と DK を補正するには絶対回収率に大きな差異があったため、使用する内標について追加検討を行った。

内標として ESI positive と ESI negative で使用できるジウロン- d_6 を用いて、本分析法により同様の添加試験を行った結果を図 21 に示した。なお、ジウロン- d_6 についても絶対回収率を求めた。

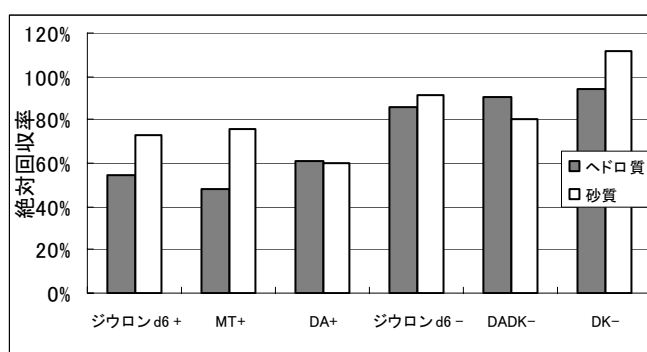


図 21 本分析法（内標ジウロン- d_6 ）による添加試験結果

ESI positive で測定する物質および ESI negative で測定する物質において測定対象物質と内標（ジウロン- d_6 ）の絶対回収率がほぼ一致し、補正回収率は良好となった。よって本分析法は、ジウロン- d_6 を内標として各イオン化法の物質の定量に使用することとした。ただし、ESI positive で測定する物質についてはシマジン- d_{10} を内標に使用することも可能である。

〔添加回収実験結果〕

試料に測定対象物質を添加し、【試料の前処理及び試験液の調製】の操作に従い、添加回収実験を試行数 5 回で行った。その結果を表 3 に示した。なお、無添加試料では MDL 以下であった。

表 3 添加回収実験結果(底質：多摩川)

物質名	試料量 (g-dry)	添加量 (ng)	測定回数 (回)	検出濃度 (ng/g-dry)	回収率 (%)	変動係数 (%)
メトリブジン	5.00	0	1	ND	NA	NA
	5.00	1.00	5	0.17(0.12)	87(62)	5.2(7.0)
メトリブジン DA	5.00	0	1	ND	NA	NA
	5.00	1.00	5	0.22(0.16)	108(79)	5.7(7.6)
メトリブジン DADK	5.00	0	1	ND	NA	NA
	5.00	25.0	5	4.7(4.3)	95(86)	9.4(10.6)
メトリブジン DK	5.00	0	1	ND	NA	NA
	5.00	25.0	5	5.7(5.0)	113(100)	7.9(7.2)

() 内は絶対検量線法の結果

〔環境試料分析例〕

底質試料（多摩川）からは、対象物質は検出されなかった。

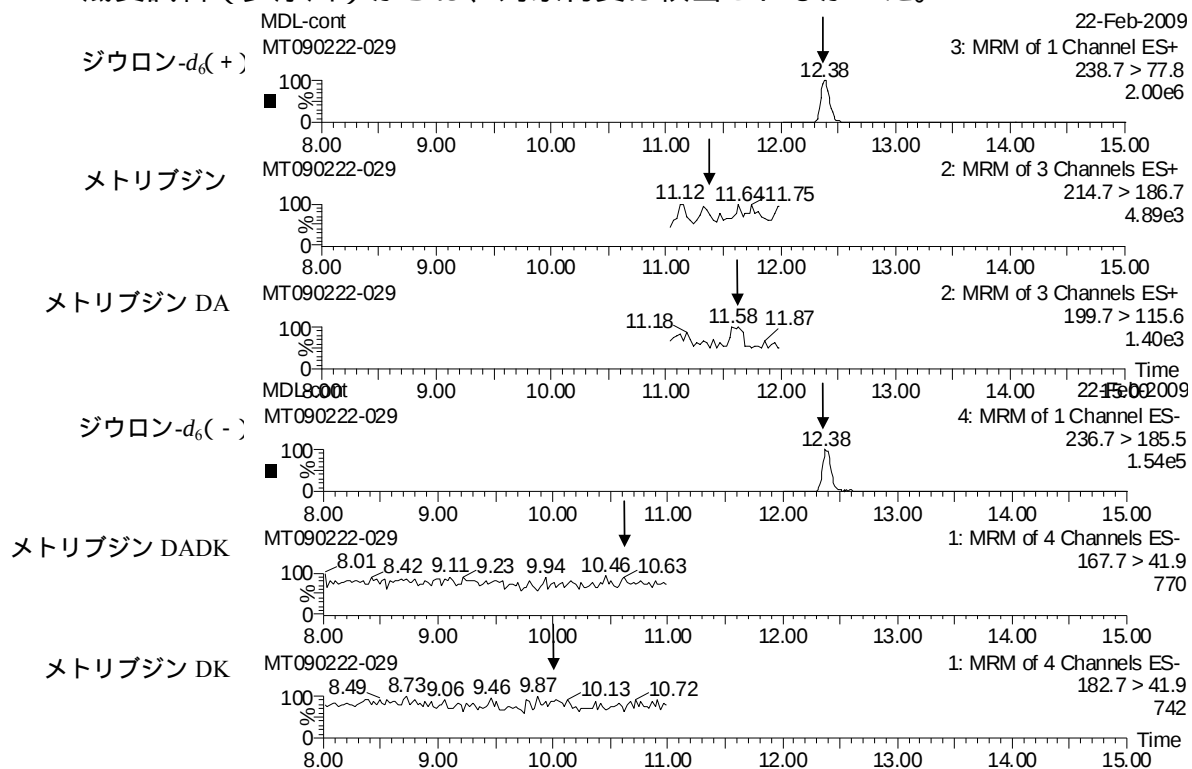


図 22 無添加試料のクロマトグラム

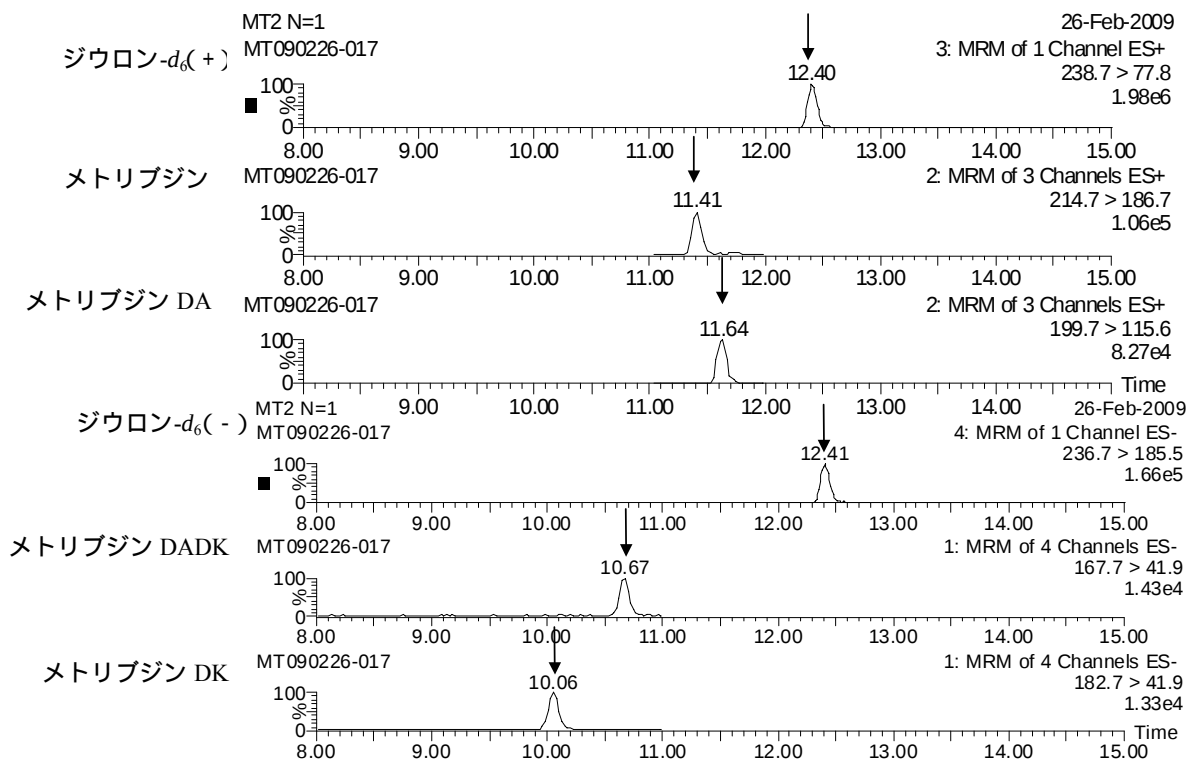


図 23 添加試料のクロマトグラム

（メトリブジン及びメトリブジン DA 1.00 ng、
メトリブジン DADK 及びメトリブジン DK 25.0 ng 添加）

〔保存性試験結果〕

底質試料に測定対象物質を添加し、添加直後（0 日）及び-20 の冷凍条件下で保存した試料について分析し、保存性を確認した。測定結果を表 4 に示した。

表 4 保存性試験結果

物質名	メトリブジン	メトリブジン DA	メトリブジン DADK	メトリブジン DK
試料量（g-dry）	5.00			
添加量（ng）	10	10	50	50
残 存 率 （％）	0 日	100	93	73
	11 日後	98	93	92
	23 日後	115	75	101
	47 日後	81	96	90
	90 日後	109	75	93

【評価】

底質中に含まれるメトリブジンの定量分析法を開発した。本分析法で用いた LC-(タンデム四重極型)MS/MS での IDL はメトリブジンが 0.0082 ng/mL 及びメトリブジン分解化合物が 0.013 ~ 1.9 ng/mL（試料換算濃度 0.0016 ng/g-dry 及び 0.0025 ~ 0.18 ng/g-dry）であった。メトリブジン及びメトリブジン DA は 0.1 ~ 10 ng/mL の濃度範囲、メトリブジン DADK 及びメトリブジン DK は 2.5 ~ 50 ng/mL の濃度範囲で直線性（ $R^2 > 0.995$ ）が確認された。本分析法の MDL はメトリブジンが 0.0055 ng/g-dry、メトリブジン分解化合物が 0.0071 ~ 0.19 ng/g-dry であった。底質試料 5.00 g-dry（n = 5）に対象物質（メトリブジン及びメトリブジン DA を 1.0 ng、メトリブジン DADK 及びメトリブジン DK を 25 ng）を添加した時の回収率は 82 ~ 120%、変動係数は 5.2 ~ 9.4% であった。本法で全国 25 地点（75 検体）の測定を行ったところ、対象物質は検出されなかった。以上の結果から、本法が底質中に含まれる 0.01 ng/g-dry オーダーのメトリブジン及び 0.25 ng/g-dry オーダーのメトリブジン分解化合物の分析に適用できるものと判断される。

【参考文献】

- 1) 環境省環境保健部環境安全課: 化学物質と環境 平成 19 年度 化学物質分析法開発調査報告書, 1227-1249 (2008)
- 2) 農薬残留分析法研究班 武田明治,小田中芳次,小松一裕,前川吉明: 最新 農薬の残留分析法 改訂版, 624-626 (2006)

【担当者名・連絡先】

担当: 財団法人 日本食品分析センター

住所: 〒206-0025 東京都多摩市永山 6-11-10

TEL: 042-372-6936 FAX: 042-372-6717

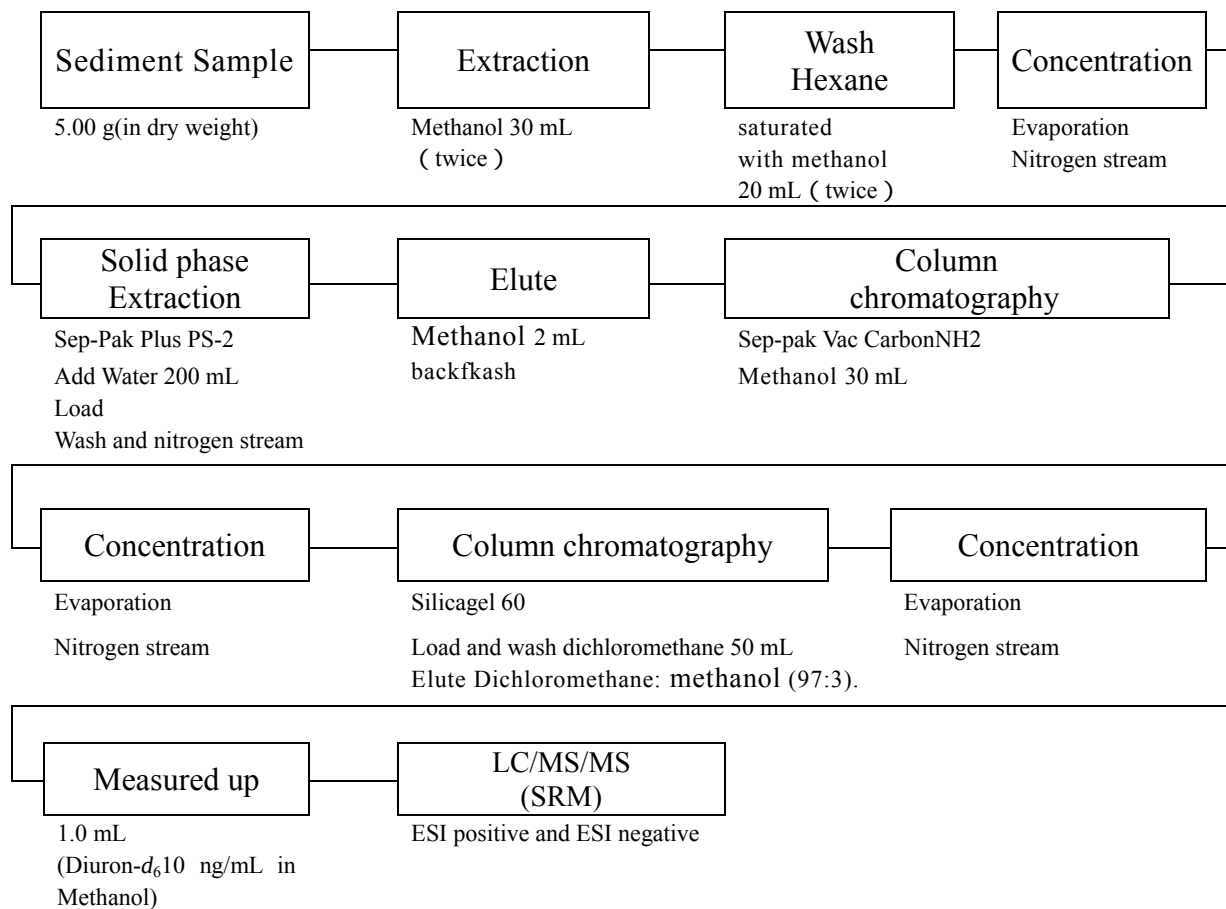
担当者: 宮脇栄子、野村孝一

E-mail: miyawakie@jfri.or.jp

Metribuzin

This method provides procedures for the determination of metribuzin and the decomposed compounds of metribuzin in sediment samples by liquid chromatography/tandem quadrupole mass spectrometry (LC/MS/MS).

The target compounds in 5.00 g-dry of sediment sample are extracted twice with methanol using ultrasonic bath and shaking machine for each 10 minutes. The methanol extract is isolated by centrifugal separation (5 minutes, 2500 rpm). The extracted solution is washed twice with hexane (saturated with methanol) using a separatory funnel. The methanol phase is evaporated to about 2 mL under reduced pressure, and then 200 mL of water is added to the methanol phase. The target compounds are extracted by a solid phase cartridge (Sep-Pak Plus PS-2). The methanol solution apply on the cartridge, and the cartridge is washed with 10 mL of distilled water. The cartridge is dried under a nitrogen flow and eluted (backflash) with 2 mL of methanol. The eluted solution is cleaned up by the cartridge column (Sep-pak Vac CarbonNH₂) and eluted with 30 mL of methanol. After the eluted solution is concentrated and dried under gentle nitrogen flow, 5 mL of dichloromethane is added to dissolve it. This solution is loaded on the silicagel column (Silicagel 60), washed with 45 mL of dichloromethane, and then eluted with 50 mL of dichloromethane/methanol (97:3). The eluted solution is concentrated and dried under gentle nitrogen flow, then measured up to 1.0 mL of Diuron-*d*₆ as an internal standard solution. The analyte is analyzed by positive and negative electrospray ionization (ESI) LC/MS/MS-SRM. The method detection limit (MDL) of metribuzin is 0.0055 ng/g-dry, and the decomposed compounds of metribuzin is 0.0071 - 0.19 ng/g-dry. The average of recoveries (n=5) from target compounds added (metribuzin and metribuzin-desamino were 1.0 ng, metribuzin –desamino-diketo and metribuzin-diketo are 25 ng) to sediment sample was 82 - 120% and the relative standard deviation was 5.2 to 9.4%. Using this method, the concentrations of metribuzin and the decomposed compounds in sediment sampled at 25 sites in Japan were below the MDL.



物質名	分析法フローチャート	備 考
[1] メトリフジン* [2] メトリフジン DA [3] メトリフジン DADK [4] メトリフジン DK * 別 名 : 4-アミノ-6-(1,1-ジメチルエチル)-3-(メチルチオ)-1,2,4-トリアジン-5(4H)-オン	【底質】 <pre> graph LR A[底質試料 5.00 g-dry] --> B[溶媒抽出 メタノール 30 mL 振とう,超音波及び遠心分離 (2回)] B --> C[ヘキサン洗浄 メタノール飽和ヘキサン 20 mL (2回)] C --> D[濃縮乾固 ロータリー エバポレーター 窒素気流下 水 200 ml 添加] D --> E[固相抽出 Sep-Pak PS-2 全量負荷後 水洗浄及び窒素乾燥] E --> F[溶出 メタノール 2 mL バックフラッシュ] F --> G[カラムクロマトグラフィー Sep-pak Vac CarbonNH2 0.2%ギ酸/メタノール 10 mL 及びメタノール 10 mL でプレ洗浄 全量負荷後 メタノール 30 mL で溶出] G --> H[濃縮乾固 ロータリー エバポレーター 窒素気流下] H --> I[カラムクロマトグラフィー シリカゲル 60 ジクロロメタン 50 mL で負荷及び洗浄 メタノール : ジクロロメタン (97:3) 50 mL で溶出] I --> J[濃縮乾固 ロータリー エバポレーター 窒素気流下] J --> K[定容 1.0 mL (内標準 ジウロン-d6 10 ng/mL メタノール溶液)] K --> L[LC/MS/MS (SRM) ESI positive 及び ESI negative] </pre>	分析原理 : LC/MS/MS-SRM [1] ESI positive [2] ESI positive [3] ESI negative [4] ESI negative 検出下限値 : 【底質】(ng/g-dry) [1] 0.055 [2] 0.0071 [3] 0.19 [4] 0.19 分析条件 : 機器 LC: Waters Alliance2795 MS: Waters Quattro Premier XE カラム Atlantis T3 C18 2.1 mm×150 mm、 3 µm