

(8-25) 直接大容量導入HPLC法を用いたジクワットの定量

- 固相抽出による濃縮操作省略の試み -

○吉川 循江(横浜市衛生研究所) 堀切 佳代(横浜市衛生研究所)  
前沢 仁(横浜市衛生研究所) 日高 利夫(横浜市衛生研究所)

[はじめに] 田畑に限らず公園や駐車場などに除草剤として使用されているジクワット(1, 1'-エチレン-2, 2'-ビピリジニウム=ジプロミド, Mw=344.05)はパラコートとの混合剤として販売されている。ジクワットは日本では使用量が多い農薬のひとつであり、2006年度のPRTRデータ<sup>1)</sup>によると1年間に210tあまりが環境中に排出されたと見積もられている。検査方法は固相抽出-HPLC法<sup>2)</sup>が示されているが、水質管理目標値が0.005mg/Lであるのに対して定量下限値の目安は0.001mg/Lで、目標値の1/100まで測定することが困難である。そのため、高感度なLC-MS法<sup>3)</sup>やLC-MS/MS法<sup>4)</sup>が検討されてきた。また、ジクワット標準溶液における回収率の改善を目的として固相抽出カラムの種類や溶出溶媒<sup>5)</sup>が検討されているが十分ではない。このため、厚生労働省健康局水道課長が設置する水道水質検査法検討会<sup>6)</sup>(平成21年7月21日)において検討を継続することとなった。今回、ジクワットの試料マトリックスへの吸着を防ぐと共により簡便で迅速に測定することを目的に、固相抽出による100倍濃縮操作を省略して大容量試料を直接HPLC法<sup>2)</sup>に導入する方法を検討したので報告する。

[方法] HPLCの分析条件を表1に示した。シリンジ容量は1000μL、試料注入量を500μL、試料吸引速度を10μL/秒、オートサンプラー温度を4℃とした。通知同様<sup>2)</sup>揮発性イオンペア剤(ペンタンスルホン酸Na)を使用した。

[容器・器具] ポリテトラフルオロエチレン製、ポリプロピレン製を使用した。

[試薬] ジクワット標準原液50mg/Lは和光純薬製ジクワットジプロミド一水和物標準品4.92mgをメスフラスコに採り、精製水に溶かして50mLとした。検量線は0.00005~0.005mg/Lの範囲で7点検量線を作成した(図1)。(ジクワットの目標値は厚生労働省によるとジクワットジプロミド(Mw=344)ではなくジクワット(Mw=184)の設定値である)。1-ペンタンスルホン酸ナトリウム:和光純薬製イオンクロマトグラフ用、ジエチルアミン:和光純薬製試薬特級、リン酸:関東化学製試薬特級、EDTA溶液:EDTA・2Na同仁化学製試験研究用10gを精製水に溶かし、水酸化ナトリウム溶液(20g/L)を数滴加え100mLとした。

[試料] ①ボトルドウォーターA(硬度30)及びB(硬度62)、水道水(硬度54~62、当所給水栓水)、②2009年6月~2009年8月に横浜市内の地下水を水源とする自己水源型専用水道水9施設から原水及び浄水処理水(浄水)。①及び②をポリテトラフルオロエチレン製容器に採水した。添加回収試験用試料はポリプロピレン製サンプルカップ(2mL)にジクワット標準溶液を添加して混和した。ろ過は濁度1以上の試料について行った。

[結果] ジクワットの管理目標値の1/100に相当する0.05μg/L標準溶液のクロマトグラフから得られた、S/N比の平均は10で十分な測定感度が得られた。再現性については表2に示したとおり、0.5μg/L及び0.05μg/Lの濃度の5回繰り返し精度CV(%)が1.0及び6.7であった。次に試料①及び②を固相抽出せずにHPLCに200μL或は500μL注入したところ、いずれの試料にも妨害ピークは認められなかった。また、浄水8、原水9では0.05μg/L未満の濃度であるがジクワットと思われるピークが検出された。その同定にあたっては標準溶液を添加して確認した。そこで、試料①にジクワットを添加して5μg/L、0.5μg/L及び0.1μg/L濃度の回収率を求め、結果を表3に示した。5μg/L、0.5μg/L濃度の回収率はいずれの試料もほぼ100%を示した。次に、試料②にジクワットを添加して回収率を求め、結果を表4に示した。また、各試料の回

表1 ジクワットのHPLC測定条件

装置	DIONEX社製 UltiMate3000
移動相	1-ペンタンスルホン酸ナトリウム3.0g、ジエチルアミン10mL、リン酸13.5mLを全量1Lの水に溶解
流量	1.0mL/min
カラム	Mightysil RP-18PA, 5μm, 4.6mmID×150mm, 40℃
注入量	500μL, 吸引速度10μL/秒
シリンジ容量	1000μL, 洗浄量1000μL, 洗浄速度40μL/秒
検出器	UV検出器;313nm
装置構成	HPG-3400, TCC-3200, WPS-3000TSL, VWD-3400

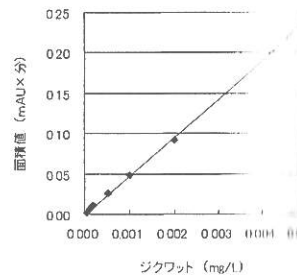


図1 ジクワットの検量線

表2 繰り返し再現精度

	標準溶液濃度(μg/L)	
	0.5	0.05
1	0.5453	0.0504
2	0.5466	0.0436
3	0.5413	0.0431
4	0.5324	0.0443
5	0.5424	0.0439
平均	0.542	0.045
STDEV	0.005569	0.003017
CV(%)	1.0	6.7

注入量500μL

収率はマトリックス(蒸発残留物、硬度、Na)に影響される<sup>3)</sup>ことから、性状を示す指標も表4に示した。5μg/L、0.5μg/L濃度の回収率は原水1, 2を除き約80~120%を示した。原水1, 2で認められた低い回収率は濁質への吸着<sup>4)</sup>が一因とも考えられる。0.1μg/L濃度では、施設3は硬度160mg/Lであるが回収率は100%前後であり、施設5, 7, 8, 9、浄水2, 4についても80~110%を示した。一方、施設6は硬度84mg/Lで回収率が35%に、

浄水1はイオン交換をされていて硬度0.13mg/Lであるが65%にまで低下した。これらのことから、回収率の低下は硬度の影響だけではないと考えられた。これまで、固相抽出操作で回収率の低い試料には安定同位体標識化合物サロゲートを用いた補正<sup>5)</sup>が必要とされているが、HPLC法ではサロゲート法は使用できない。このため、回収率の低い試料の定量値は標準添加法で求める必要があると考えられる。以上の結果、従来指摘<sup>5)</sup>されてきた固相抽出操作による回収率の低下については、今回検討した大容量試料を直接HPLC法に導入する方法で一定の改善が認められた。また、EDTA溶液(試料1mLに対して20μL)の添加は、原水1, 2について回収率の上昇傾向が認められた。

なお、残留塩素の検出された浄水1~9、原水1, 2についてもアスコルビン酸無添加で試験を実施した結果を示したが、残留塩素が含まれることによる回収率の低下は認められなかった。

[まとめ] ジクワットにおける回収率の低下は試料マトリックスの影響だけではなく、固相抽出操作による回収率の低下と考えられ、大容量試料を直接HPLC法に導入する方法で一定の改善が認められた。検査方法として示されている固相抽出-HPLC法<sup>2)</sup>を軽微に変更するだけで、既存の機器が使用できる。また、水道水に添加したジクワットは冷蔵保存でも消失する<sup>4)</sup>ことが指摘されているため、速やかに測定を行う必要があり、固相抽出操作を省略することにより室温で操作する時間を短縮でき、この点でも回収率の改善が期待できる。

表4 地下水を水源とする自己水源型専用水道水の原水及び浄水における添加回収試験結果並びにその水質

施設	ジクワット標準溶液濃度(μg/L)				蒸発残留物 mg/L	濁度 度	硬度 mg/L	Na mg/L	残留塩素 mg/L	pH
	5	0.5	0.1	0.5+EDTA						
1 原水1(前塩素後)	51.8	42.2	58.5	47.3	312	0.9	93	71.3	6.0以上	7.0
浄水1	91.5	119.9	65.2	98.2	26	0.2	0.13	17.8	0.7	7.5
2 原水2(前塩素後)	86.6	74.0	75.6	89.7	243	0.6	88	32.9	0.7	7.4
浄水2	96.5	102.6	98.2	101.0	214	0.2	89	32.3	1.0	7.5
3 原水3	96.4	105.7	89.0	101.5	226	0.1未満	160	9.4	0.0	7.8
浄水3	95.8	101.4	106.6	98.9	229	0.1未満	160	9.9	0.7	7.9
4 原水4	98.6	100.4	70.4	103.7	161	0.1未満	83	8.9	0.0	7.4
浄水4	97.4	124.3	84.1	106.8	166	0.1未満	83	12.6	0.7	7.5
5 原水5	93.1	105.7	81.6	103.0	148	0.1未満	80	7.8	不明	7.6
浄水5	98.6	103.5	85.8	101.8	146	0.1未満	80	9.8	0.6	7.6
6 原水6	97.7	112.6	36.4	109.2	158	0.1未満	84	8.7	0.0	8.0
浄水6	96.6	113.6	33.0	101.7	155	0.1未満	84	9.4	0.4	8.0
7 原水7	96.7	111.3	103.1	101.9	131	0.1未満	70	9.7	0.0	7.9
浄水7	97.6	110.4	101.6	98.6	162	0.1未満	70	18.4	0.7	7.8
8 原水8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
浄水8	-	86.2	92.4	84.4	177	0.1未満	92	11.3	0.5	7.6
9 原水9	-	96.4	103.4	95.4	142	0.1未満	66	11.3	0.0	8.2
浄水9	-	92.0	90.7	94.3	159	0.1未満	66	14.4	0.7	8.0
試料注入量(μL)	200	500	500	500						

文献

- 1) 環境省: リスクコミュニケーションのための化学物質ファクトシート 2007年度版 p p 179-181 <http://www.env.go.jp/chemi/communication/factsheet.html>
- 2) 水質管理目標設定項目の検査方法 厚生労働省健康局水道課長通知 健発第1010001号 最終改正 平成21年3月6日 別添方法11 固相抽出高速液体クロマトグラフ法
- 3) 巻幡希子, 他; 安定同位体標識化合物を用いる固相抽出/親水性相互作用液体クロマトグラフィー/質量分析法による水試料中ジクワットの定量. 分析化学 Vol.56, No.7, pp579-585(2007).
- 4) 齋藤真; LC/MS/MSによるジクワット分析法の検討. 第58回全国水道研究発表会(平成19.5) pp580-581.
- 5) 鈴木俊也, 他; 地下水を原水とする専用水道における管理目標設定項目の調査. 東京都健康安全研究センター年報. 56, pp299-303, 2005.
- 6) 厚生労働省健康局水道課長設置 水道水質検査法検討会平成21年度第1回(平成21年7月21日)議事要旨.