

技術論文

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
ジクワットの定量巻幡 希子^{®1}, 山崎 富夫¹, 英保 次郎¹

水試料中ジクワットの親水性相互作用液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析法 (HILIC/ESI/MS) による定量法を検討し, 水質管理目標設定項目 (水道水) としての目標値 5 $\mu\text{g/L}$ の 1/100 の濃度を定量可能とした. ジクワット- d_4 を添加した水試料を弱陽イオン交換と逆相分配の保持能を合わせ持つ固相に通し, 4% トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル・2-プロパノール (60:40) 混液で溶出・乾固し, 移動相溶媒で溶解, HILIC/ESI/MS 分析に供した. 移動相溶媒はアセトニトリル: 10 mM ギ酸アンモニウム (pH 3.7) = 50:50 で, ESI 正イオンモードで, m/z 183, m/z 184, m/z 157 (ジクワット), m/z 186 (ジクワット- d_4) で測定した. 0.05, 0.5, 5 $\mu\text{g/L}$ を添加した純水, 水道水及び河川水におけるジクワットの回収率は 88~105% であり, 変動係数は 1.7~15% であった. 本法を用いて 42 試料を分析した結果, 1 試料 (浅井戸原水) から 2.8 $\mu\text{g/L}$ のジクワットが検出された.

1 緒 言

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, CAS 番号 85-00-7) は畑, 水田, 公園, 駐車場などで使用されている非選択性接触性除草剤である. 日本では, 比較的使用量が多い農薬の一つであり, 2004 年度の PRTR データー¹⁾では, 環境中への排出量は約 230 トンであった. その使用量と毒性 (1 日許容摂取量: 0.0019 mg/kg/day) から, 2004 年 4 月 1 日付で施行された水道水質基準の改定に伴い, 水質管理目標設定項目の農薬類 101 種類にリストアップされ, ジクワットの目標値として 5 $\mu\text{g/L}$ が定められた²⁾. 同時に規制の評価方法として, 検出された農薬の濃度をその農薬の目標値で除した値の総和 (検出指標値) が 1 を超えないこととする「総農薬方式」が導入され, 各農薬ごとに設定された目標値の 1/100 の濃度を定量することが望ましいとされた. しかし, 厚生労働省が示したジクワットの分析方法是固相抽出-液体クロマトグラフィー/紫外吸収検出法 (LC/UV) であり, その定量下限値は 1 $\mu\text{g/L}$ ³⁾ であるため, 目標値の 1/100 の濃度を定量することができない. そこで, 近年開発された固相カートリッジ及び分析カラムを用い, LC/エレクトロスプレーイオン化 (ESI)/質量分析法 (MS) による高感度化を検討した.

ジクワットは四級アンモニウム基を持っている強塩基性物質であり, 水溶液中で 2 価の陽イオンとなるため, 水試料からの抽出法及び分析法に工夫が必要であり, 様々な方法が報告されてきた.

固相抽出法としては, C_8 ディスク^{4)~6)}, やシリカ⁷⁾⁸⁾, C_8 ⁴⁾, C_{18} ³⁾ 及びポリジビニルベンゼン⁹⁾ のカートリッジが用いられてきた. この抽出過程において, 固相の活性部位に対しジクワットとサンプルマトリックスとの間に競争的相互作用が生じたり, ジクワットがサンプルマトリックスへ吸着するために回収率が低下する. 近年では, この抽出過程を含まない LC への直接大量注入法¹⁰⁾¹¹⁾ も報告されている. また, 従来の固相抽出法^{3)~6)8)9)} においてはほとんどが試料水をアルカリ性とし, 固相に保持させる方法であった. しかし, ジクワットはアルカリ性下で分解し錯体を作る¹²⁾ ため, 酸性から中性で固相抽出することが望ましい. 今回, 弱陽イオン交換と逆相分配の保持能を合わせ持つ新しい固相カートリッジである WCX (Waters 製) の適用を試みた. WCX は疎水性のジビニルベンゼンと親水性の *N*-ビニルピロリドンを重ねさせたポリマーにカルボキシル基を導入したもの (pK_a 4.8) である. カルボキシル基は pH 6.8 以上で 100% 解離し, pH 2.8 以下で 100% 解離が抑制される¹³⁾. したがって, ジクワット (pK_a 10) は中性の試料水で WCX に保持され, pH 2.8 以下で溶出が可能である. また, 試料水中の溶存性有機物質のマイナスチャージサイトと結合したジクワットも逆相分配により保

¹ 兵庫県立健康環境科学研究所: 652-0032 兵庫県神戸市
兵庫区荒田町 2-1-29

Table 1 Operating conditions of LC/MS

LC separation	
Instrument	Agilent 1100 series
Analytical column	Atlantis HILIC silica (2.1 × 150 mm, 3 μm)
Guard column	Atlantis HILIC silica (2.1 × 10 mm, 3 μm)
Mobile phase	A: acetonitrile B: 10 mM ammonium formate (pH 3.7) A : B = 50 : 50
Flow rate	0.2 mL min ⁻¹
Column temp.	30°C
Injection volume	10 μL
MS detection	
Instrument	Finnigan AQA
Ionization mode	ESI, positive mode
Probe temp.	200°C
Probe voltage	3.5 kV
Skimmer cone voltage	20 V
Monitor ion	Diquat: <i>m/z</i> 183, 184, 157 Diquat-d ₄ : <i>m/z</i> 186

持され、回収率の向上が可能である。更に、マトリックスの影響を補正し、良好な回収率を得るために、安定同位体標識化合物（ジクワット-d₄）を用いたサロゲート法⁵⁾⁹⁾を採用した。

LCにおける分離にはシリカ⁷⁾, C₁₈⁵⁾, C₈^{6)8)~10)} 及び C₁₈³⁾¹¹⁾ カラムが用いられ、移動相にはペンタンスルホン酸ナトリウムやヘプタフルオロ酪酸などのイオンペア剤が添加されていた。前者は不揮発性であるので LC/ESI/MS 法には適さず、揮発性であってもイオンペア剤が ESI でのイオン化を妨害する可能性がある。また、ジクワットは極性が高いため逆相クロマトグラフィーでは、水混合比の高い移動相が必要となり、ESI/MS 法のイオン化において高い感度が得にくい。近年、高極性物質の分離を目的とした親水性相互作用クロマトグラフィー (Hydrophilic interaction chromatography, HILIC)^{14)~17)} が報告されている。HILIC は順相クロマトグラフィーの一種であり、逆相カラムで保持できない高極性化合物をイオンペア剤なしに保持することが可能である。そこで、HILIC をジクワットの分析に適用した。

これらの固相抽出・LC 分離法が UV 又はフォトダイオードアレイ (PDA)³⁾⁴⁾⁷⁾, MS⁵⁾⁶⁾⁸⁾¹¹⁾ 及び MS/MS⁹⁾¹⁰⁾ などの検出法と組み合わせられ分析されている。厚生労働省が示した方法³⁾ 及び USEPA method⁴⁾ は UV 又は PDA を用いている。以上の報告の中で、厚生労働省により求められているジクワットの目標値 5 μg/L の 1/100 の濃度を定量出来たのは、MS/MS 法を用いた Nunez ら⁹⁾ の報告のみであった。

今回、WCX とジクワット-d₄ を用い、HILIC/ESI/MS 法を組み合わせることにより、ジクワットを低濃度まで良好な回収率で分析することが可能になった。

2 実 験

2.1 試 薬

2 臭化ジクワット 1 水和物（和光純薬製農薬標準品、99%）及び 2 臭化ジクワット-d₄（CDN Isotopes 製、98%）はそれぞれ純水に溶解して 1000 mg/L の標準原液を調製した。標準原液を純水で希釈し、100 mg/L 及び 10 mg/L の標準溶液を調製した。これらは、凍結保存し、必要に応じて適宜純水で希釈して用いた。アセトニトリル、2-プロパノール、トリフルオロ酢酸（TFA）は関東化学製高速液体クロマトグラフ用を、ギ酸及びギ酸アンモニウムは和光純薬製試薬特級を用いた。

2.2 試料水

3.3 及び 3.4.1 で用いた水道水は兵庫県立健康環境科学研究センターの給水栓より、河川水は神戸市兵庫区の烏原川より採水した。3.4.2 で用いた原水は兵庫県下の 14 地点の原水（河川水 5、湖沼水 1、浅井戸水 6、深井戸水 2）で、2006 年 6 月 20 日に採水したものである。以上の試料水はジクワットを含まないことを確認し、実験に用いた。3.5 で用いた試料水は、兵庫県下の水道水 12 試料及び水道原水 30 試料（河川水 14、湖沼水 5、浅井戸水 9、深井戸水 2）で、2006 年 10 月 17 日又は 11 月 15 日に採水したものである。試料水の pH は 6.7~7.7 であった。水道水には残留塩素除去の目的でアスコルビン酸ナトリウムを 10 mg/L となるように添加した。

2.3 装置及び器具

LC/MS 装置は LC 部が Agilent 製の HP1100（PDA 検出器付き）、MS 部が Thermo Quest 製の Finnigan AQA で構成されたものを用いた。分析カラムは Waters 製 Atlantis HILIC silica (2.1 × 150 mm, 3 μm) 及びガードカラム (2.1 × 10 mm, 3 μm) を用いた。固相カートリッジは Waters 製 Oasis WCX Plus（充填剤量 225 mg）を、固相抽出装置は Varian 製 VAC ELUT SPS24 を用いた。また、ジクワットはガラスに吸着するため、採水容器及び実験器具はポリプロピレン製、又はポリエチレン製等樹脂製のものを用いた。

2.4 測定条件

測定条件を Table 1 に示す。LC における移動相はアセトニトリル : 10 mM ギ酸アンモニウム (pH 3.7) = 50 : 50 のアイソクラティック法で、0.2 mL/min で送液した。カラム温度は 30°C、注入量は 10 μL、313 nm (PDA) で測定した。MS は ESI ポジティブモードでイオン化、プローブ温度 200°C、プローブ電圧 3.5 kV、スキマーコーン電圧 20 V、選択イオンモニタリングイオン *m/z* 183, *m/z* 184,

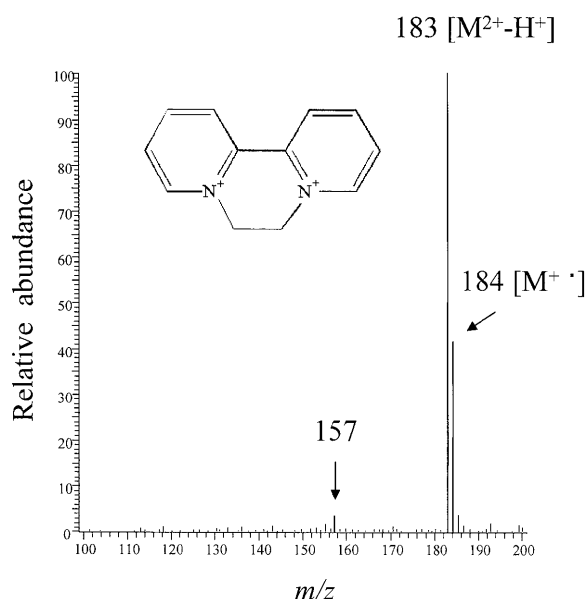


Fig. 1 HILIC/ESI/MS spectrum of diquat

The spectrum was taken at skimmer cone voltage of 20 V.

m/z 157 (ジクワット), m/z 186 (ジクワット- d_4) とした。

2.5 定量操作

2.5.1 試料溶液の調製 WCX をアセトニトリル 5 mL, 純水 5 mL でコンディショニングした。試料水 50 mL を WCX 上部に装着したリザーバーに注ぎジクワット- d_4 0.25 μ g を添加し, 吸引により流量 5 mL/min 以下で通水した。流量の調整は WCX の下部に装着したルアーコックを用いて行った。通水終了後, 純水 10 mL で WCX を洗浄し, 30 分間吸引することによりカラム内の水分を除去し, 4% TFA アセトニトリル・2-プロパノール (60:40) 混液 4 mL を通水時と逆方向から通液して溶出した。溶出液を窒素気流下 40 $^{\circ}$ C で乾固するまで濃縮し, 残渣を 100 μ L の移動相溶媒で溶解後, 0.45 μ m のフィルター (Millipore 製 Millex-FH) で汙過したものを, サンプルバイアルにポリプロピレンインサート (Agilent 製, 100 μ L) を装着したものに注入し LC/MS 分析に供した。但し, 一部の試験で PDA (313 nm) のみで測定した場合はジクワット- d_4 を添加せず, 上記と同様に操作した。

2.5.2 検量線 ジクワット- d_4 を 2.5 mg/L の濃度となるように添加したジクワット標準溶液を 25 μ g/L から 2.5 mg/L の範囲で移動相を用いて調製した。ジクワット- d_4 に対するジクワットのピーク面積比から検量線を作成した。

3 結果と考察

3.1 LC/MS 条件の検討

3.1.1 HILIC 高極性化合物をイオンペア剤なしに保持することが可能である HILIC カラムをジクワットの分析に適用した。HILIC カラムを用いたジクワットの分析例として Young ら¹⁷⁾の報告があるが, 移動相にアセトニトリルと 250 mM ギ酸アンモニウムを用いている。しかし, ESI/MS 分析においては, 緩衝液がイオン化効率に影響を及ぼすため低濃度 (10 mM 程度) での使用が適当¹⁸⁾とされている。また, カラム寿命等を考慮した推奨緩衝液濃度は 1~10 mM¹⁹⁾とされている。そこで, アセトニトリル:10 mM ギ酸アンモニウム (pH 3.7) = 50:50 のアイソクラティック法を適用したところ, 標準溶液で 9.4 分にジクワットの良好なピークが検出された。ところが, その後の実験においてジクワット添加原水からの試料溶液では標準溶液に比べ保持時間が短くなる傾向が認められ, 原水の種類の違いによっても, 1 分程度の変動があることが分かった。そこで, ギ酸アンモニウムの濃度を 25, 50 及び 100 mM として比較したところ, 濃度の上昇につれて標準溶液と原水からの試料溶液の保持時間は近づいた。Young ら¹⁷⁾は移動相にアセトニトリルと 250 mM ギ酸アンモニウムを用い, 更に標準溶液としてマトリックススタンダードを用いていた。このことから, 本カラムでジクワットを分析する場合, 試料溶液中のマトリックスの影響を受けやすく, 外部標準法で定量するためには高濃度の緩衝液を必要とすると考えられた。今回, 著者らは, ジクワット- d_4 を用いることで, 保持時間の確認が試料溶液ごとに可能であるので, イオン化効率とカラム寿命を優先させ, 10 mM ギ酸アンモニウムを用いることとした。

3.1.2 コーン電圧と測定イオン マススペクトルの情報を得るため, 10 mg/L のジクワット標準溶液及びジクワット- d_4 について LC/ESI/MS スキャンモードでスキマーコーン電圧を 10, 20, 30, 40, 50 及び 60 V の 6 段階で分析した。スキマーコーン電圧 20 V におけるジクワットのマススペクトルを Fig. 1 に示す。ジクワットでは $[M^{2+}-H^+]$ の m/z 183 がもっともイオン強度が高く, 次いで, $[M^{+·}]$ の m/z 184 であった。スキマーコーン電圧が 30 V 及び 40 V の場合に相対強度が高く観察された m/z 157 は $[M^{2+}-H^+-C_2H_2]$ とする報告¹⁰⁾と $[M^{2+}-H^+-CN]$ であるとする報告¹¹⁾があるが, MS/MS 法におけるプロダクトイオンとして分析されている⁹⁾¹⁰⁾。ジクワット- d_4 では $[M^{2+}-D^+]$ の m/z 186 が最もイオン強度が高かった。これらの結果は過去の報告^{5)9)~11)}とよく一致していた。以上のことから, モニターイオンを m/z 183 (ジクワットの定量), m/z 184 と m/z 157 (ジクワットの確認) 及び m/z 186 (ジクワット- d_4) とした。また, m/z 183 及び m/z

186 のイオン強度が最も高かった 20 V をスキマーコーン電圧の最適電圧として選択した。

3・2 検量線

ジクワット-d₄ を 2.5 mg/L の濃度となるように添加したジクワット標準溶液を 25 µg/L から 2.5 mg/L の 7 段階

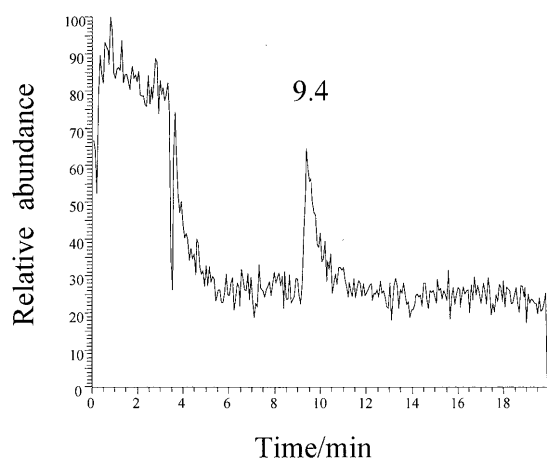


Fig. 2 Chromatogram of diquat at m/z 183

The chromatogram was obtained from a standard solution (25 µg L⁻¹).

の濃度 ($n = 3$) で分析した。Fig. 2 に 25 µg/L における m/z 183 のマスクロマトグラムを示す。シグナル・ノイズ比は 15 であり、この感度は、以前著者らが報告したイオンペア剤を用いた逆相クロマトグラフィー/ESI/MS 法²⁰⁾における感度の約 3 倍であった。試料水を 500 倍濃縮すれば目標値 5 µg/L の 1/100 を十分定量できる感度であった。ジクワット濃度を x 軸、ジクワット-d₄ に対するジクワットのピーク面積比を y 軸にプロットした時の直線性は $r = 0.9997$ と非常に良好であった。ジクワット濃度とジクワットの面積値の直線性も $r = 0.9996$ と良好であったが、各濃度における面積比の変動係数 (CV) が 2.7~12% であったのに比べ、ジクワットの面積値の CV は 3.9~14% であり、ジクワット-d₄ を用いることで、データのばらつきが改善された。

3・3 固相からの溶出溶媒

WCX からの溶出溶媒の酸濃度及び有機溶媒の混合割合について検討した。予備実験において、回収率は、酸濃度では 5% ギ酸 < 2% TFA < 4% TFA ≒ 10% TFA の傾向が認められ、有機溶媒はアセトニトリルのみよりもアセトニトリルと 2-プロパノールを混合したものの方が良好であった。そこで、4% TFA 濃度におけるアセトニトリルに対する 2-プロパノールの割合を、0, 20, 40, 60% 及び

Table 2 Recovery of diquat added to water samples

Concentration	Calibration curve	Distilled water R, % (CV, %)	Tap water R, % (CV, %)	River water R, % (CV, %)
5 µg L ⁻¹	A	96 (1.7)	97 (8.4)	96 (4.4)
	B	91 (3.4)	87 (5.2)	60 (13)
0.5 µg L ⁻¹	A	98 (6.1)	92 (2.7)	98 (11)
	B	85 (2.7)	85 (4.7)	57 (1.2)
0.05 µg L ⁻¹	A	105 (11)	101 (15)	88 (6.7)
	B	84 (7.6)	90 (12)	49 (7.0)

R: recovery; CV: coefficient of variation; $n = 3$; A: Surrogate method based on the peak area ratio (diquat/diquat-d₄); B: External standard method based on the peak area of diquat

Table 3 Correlation coefficients between recovery of diquat and quality of water samples

Items	Unit	min - max	r	Regression equation
Recovery	%	35 - 87	—	—
Total residue on evaporation	mg L ⁻¹	59.6 - 231.9	0.8550 ^{c)}	$y = -0.224x + 91.5$
Hardness	mg L ⁻¹	11.3 - 76.9	0.6971 ^{b)}	$y = -0.461x + 84.1$
Sodium	mg L ⁻¹	2.9 - 21.5	0.6263 ^{a)}	$y = -1.38x + 81.5$
Chloride ion	mg L ⁻¹	5.3 - 36.7	0.4944	$y = -0.774x + 77.3$
KMnO ₄ consumption	mg L ⁻¹	0.8 - 5.9	0.3817	$y = -3.30x + 73.8$
Free carbonate	mg L ⁻¹	1.5 - 14.6	0.3571	$y = -1.15x + 73.6$
Total organic carbon	mg L ⁻¹	0.1 - 3.3	0.3228	$y = -4.65x + 71.1$
Nitrogen (NO ₂ &NO ₃)	mg L ⁻¹	0.01 - 3.06	0.3100	$y = -5.04x + 73.2$
Fluorine	mg L ⁻¹	0.04 - 0.56	0.2929	$y = -24.5x + 70.6$
Suspended solids	mg L ⁻¹	0.00 - 8.66	0.1688	$y = -0.718x + 68.9$

a), b), c): Significant level ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$; $n = 14$); y : Recovery; x : Quality of water

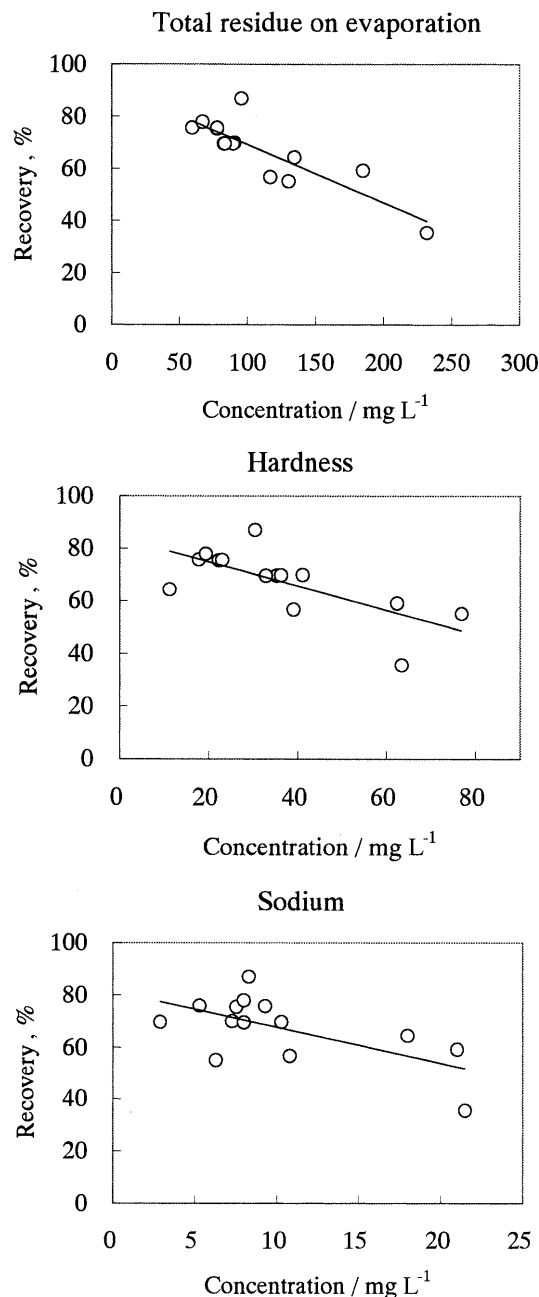


Fig. 3 Scatter diagrams of total residue on evaporation, hardness, and sodium with recovery of diquat
The correlation coefficients were significant as shown in Table 3.

80% とし, 回収率を比較した. 50 mL の河川水に 0.25 μg のジクワットを添加し, 2・5 に示した方法で HPLC/PDA (313 nm) で分析した. その結果, 2-プロパノールの割合 0, 20, 40, 60% 及び 80% におけるジクワットの回収率はそれぞれ 47, 59, 60, 55% 及び 54% であった. 最も回収率が高かった 2-プロパノールの割合 40% でも回収率は 60% と低かったが, 純水への添加実験では 90% 以上の回収率が得られていたので, 4% TFA アセトニトリル・2-プロパノール (60:40) を溶出溶媒とした.

3・4 回収率

3・4・1 添加回収率 純水, 水道水及び河川水各 50 mL にジクワットを 0.05, 0.5, 及び 5 $\mu\text{g/L}$ となるように添加, ジクワット-d₄ を 5 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し, 各 3 検体を分析し回収率を求めた (Table 2). ジクワット-d₄ 比による回収率は, 純水で 96~105%, 水道水で 92~101%, また, 河川水で 88~98% であった. 目標値の 1/100 濃度である 0.05 $\mu\text{g/L}$ における CV は 6.7~15% と, 厚生労働省が求める精度 (定量下限値付近の CV 20% 以下) を満たしていた. また, 外部標準法による回収率は純水で 84~91%, 水道水で 85~90%, 河川水で 49~60% であり, ジクワット-d₄ を用いることによって, 低回収率の試料水においても測定値が補正され, 良好な回収率を得ることが出来ることが分かった.

3・4・2 様々な原水における回収率 固相抽出法においてカルシウムイオン等の 2 価イオンが妨害することや⁴⁾, ジクワットが水中のフミン物質などの粒子に吸着する⁷⁾ことが報告されており, それが, 外部標準法による原水における低回収率の要因の一つと考えられた. そこで, 兵庫県下の 14 種類の原水に 5 $\mu\text{g/L}$ となるようにジクワットを添加し, 外部標準法による回収率と 10 種類の水質成分 (蒸発残留物, 硬度, ナトリウム, 塩化物イオン, 過マンガン酸カリウム消費量, 遊離炭酸, 全有機炭素, 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素, フッ素, 浮遊物質) との相関関係を検討した. 14 種類の原水中ジクワットの回収率は 35~87% であった. 回収率を y 軸に水質成分濃度を x 軸にとった時の回帰式及び相関係数を Table 3 に示す. 回収率と有意の相関が認められたのは蒸発残留物 ($p < 0.001$), 硬度 ($p < 0.01$), 及びナトリウム ($p < 0.05$) であった. これら 3 種類の水質成分の濃度とジクワット回収率の散布図を Fig. 3 に示す. 10 種類の水質成分すべてにおいて回帰式の傾きは負であり, これらの水質成分の濃度の上昇は種類を問わず回収率の低下へと影響することが推察された. また, 浮遊物質 (SS) への吸着の影響が予測されたが, 今回の実験では SS と回収率に有意の相関は認められなかった. 田辺ら²¹⁾は log Kow が高く水溶解度が低い農薬ほど粒子状物質への分配率が高いと報告している. ジクワットの log Kow は -4.6, 水溶解度は 700 g/L である¹²⁾ことから, 粒子状物質への分配率は低いため SS と回収率に有意の相関が認められなかったと考えられた.

一方, 14 原水のジクワット-d₄ を用いたサロゲート法による回収率は 90~107% と良好であり, 本法が様々な原水に適用可能であることが明らかとなった.

3・5 実試料への適用

本分析法を実試料に適用した. 兵庫県下の水道水 12 試料及び水道原水 30 試料を分析した結果, 1 試料 (浅井戸

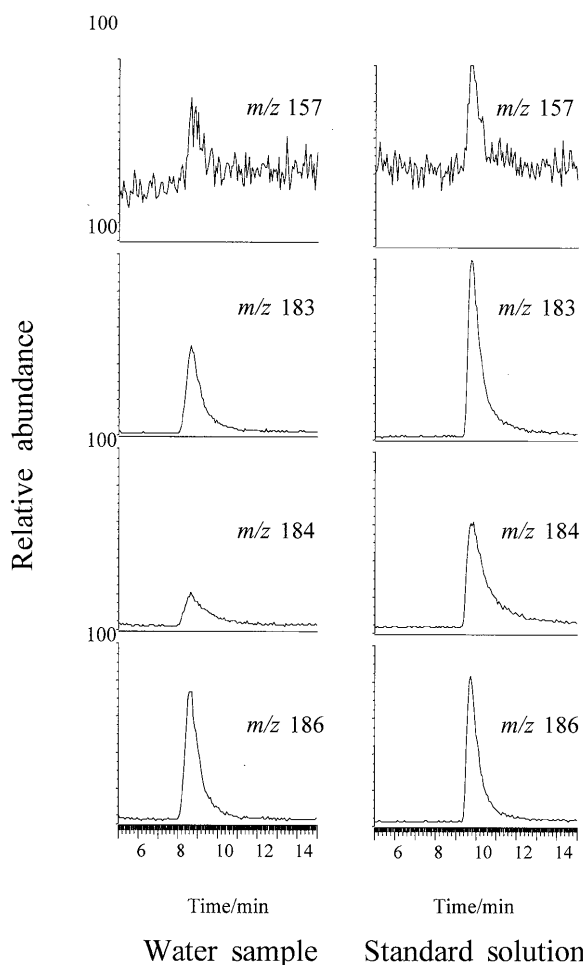


Fig. 4 An example of detection of diquat in a water sample by the HILIC/ESI/MS method

The concentration of diquat in the water sample was $2.8 \mu\text{g L}^{-1}$. The concentration of standard solution was 2.5 mg L^{-1} , and this concentration corresponds to $5.0 \mu\text{g L}^{-1}$ in water. The water sample was a raw water from shallow well. The scale of y axis of m/z 157 is 30 times the scale of m/z 183, m/z 184, and m/z 186.

原水) から $2.8 \mu\text{g/L}$ のジクワットが検出された。Fig. 4 に試料溶液及び標準溶液 (水中濃度として $5.0 \mu\text{g/L}$) のマスプロトグラムを示す。試料溶液において m/z 184 のピークが認められ、また非常に弱い m/z 157 のピークも認められ、標準溶液におけるピークとよく対応していた。この濃度は水道水における目標値 $5 \mu\text{g/L}$ の 0.56 に相当するものである。実試料からの検出例はスペインの環境水から最大 $3.10 \mu\text{g/L}$ の報告²²⁾、新潟県の土壌溶出液から $0.05 \sim 0.08 \text{ mg/L}$ の報告²³⁾があるが、まだ少ないのが現状である。

4 結 言

従来、低濃度までの分析が困難であったジクワットにつ

いて、ジクワット- d_4 を用い、WCXによる固相抽出法とHILIC/ESI/MS法の分析条件を検討し、低濃度まで良好な回収率で分析できる方法を確認した。本方法は、水質管理目標設定項目としての目標値の1/100の濃度 ($0.05 \mu\text{g/L}$) を定量することができ、水道原水及び水道水の分析に適用可能であることが明らかとなった。

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 2005 年度版”, < <http://www.env.go.jp/chemi/communication/factsheet.html> >.
- 2) 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等について: 厚生労働省健康局長通知, 健発 1010004 号, 平成 15 年 10 月.
- 3) 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について: 厚生労働省健康局水道課長通知, 健水発第 1010001 号, 平成 15 年 10 月.
- 4) J. W. Munch, W. J. Bashe: *J. Method* 549. 2 (1997), (USEPA, Cincinnati).
- 5) V. Y. Taguchi, S. W. D. Jenkins, P. W. Crozier, D. T. Wang: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 8, 830 (1998).
- 6) R. Castro, E. Moyano, M. T. Galceran: *J. Chromatogr. A*, **869**, 441 (2000).
- 7) M. Ibáñez, Y. Picó, J. Mañes: *J. Chromatogr. A*, **727**, 245 (1996).
- 8) R. Castro, E. Moyano, M. T. Galceran: *J. Chromatogr. A*, **830**, 145 (1999).
- 9) O. Núñez, E. Moyano, M. T. Galceran: *Analytica Chimica Acta*, **525**, 183 (2004).
- 10) J. C. Marr, J. B. King: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 479 (1997).
- 11) M. Takino, S. Daishima, K. Yamaguchi: *Anal. Sci.*, **16**, 707 (2000).
- 12) T. Roberts, D. H. Hutson: “*Metabolic Pathways of Agrochemicals Part I*”, p. 159 (1999), (Royal Society of Chemistry, UK).
- 13) 佐藤至朗訳: “最新固相抽出法ガイドブック”, p. 148 (1996), (ジューエルサイエンス).
- 14) A. J. Alpert: *J. Chromatogr.*, **499**, 177 (1990).
- 15) B. A. Olsen: *J. Chromatogr. A*, **913**, 113 (2001).
- 16) 岩崎雄介, 井之上浩一, 伊藤里恵, 吉村吉博, 齊藤貢一, 中澤裕之: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **54**, 135 (2005).
- 17) M. S. Young, K. M. Jenkins: *LC GC EUROPE*, **17**, 51 (2004).
- 18) 環境庁環境安全課: LC/MS を用いた化学物質分析マニュアル (2002), < <http://www.env.go.jp/chemi/anzen/lcms/index.html> >.
- 19) Waters Corporation: カラム使用説明書, p. 8 (2004).
- 20) 巻幡希子, 矢野美穂, 川元達彦: 日本分析化学会第 53 年会講演要旨集, p. 286 (2004).
- 21) 田辺顕子, 水戸部英子, 川田邦明, 坂井正昭: 環境化学, **8**, 227 (1998).
- 22) M. Fernández, M. Ibáñez, Y. Picó, J. Mañes: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **35**, 377 (1998).
- 23) 大野勝之, 結城 修, 川口 哲, 森山 登: 新潟理化学, **23**, 66 (1997).

Determination of Diquat in Water Samples by
Hydrophilic Interaction Chromatography/Electrospray Ionization/
Mass Spectrometry Coupled with Solid-Phase Extraction
Using a Stable Isotope Labeled Compound

Nobuko MAKIHATA¹, Tomio YAMASAKI¹ and Jirou EIHO¹

¹ Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe-shi, Hyogo 652-0032

(Received 8 February 2007, Accepted 20 April 2007)

A target value for diquat residues in tap water is set at 5 µg/L in Japan. We succeeded in the quantitative analysis of diquat in water samples at 1/100 of the target value by hydrophilic interaction chromatography/electrospray ionization/mass spectrometry (HILIC/ESI/MS). For solid-phase extraction we used a new mixed-mode cartridge comprising a weak cation exchange and reversed-phase retention. A 50 mL of water sample spiked diquat-d₄ was passed through the cartridge. Diquat was eluted with 4 mL of acetonitrile and 2-propanol (60 : 40) containing 4% trifluoroacetic acid. The elute was evaporated to dryness at 40°C under nitrogen gas. The test sample was dissolved in 100 µL of the mobile phase for analysis by HILIC/ESI/MS. The mobile phase consisted of acetonitrile and 10 mM ammonium formate (pH 3.7) = 50 : 50. In the ESI positive-ion mode, m/z 183, m/z 184, and m/z 157 were measured for diquat, and m/z 186 for diquat-d₄. The recovery rates at concentrations of 0.05, 0.5, and 5 µg/L in distilled water, tap water, and river water were 88~105%, and the CV values were 1.7~15%. The concentrations of diquat in water were determined using the proposed method. These were 12 tap water samples and 30 raw water samples (river, 14; lake, 5; shallow well, 9; deep well, 2) collected from Hyogo prefecture. As a result, diquat was detected in one raw water sample (shallow well, 2.8 µg/L).

Keywords : diquat; diquat-d₄; HILIC/ESI/MS; water sample; solid phase extraction.