

## Agilent 1290 Infinity II Bio LC による 高極性農薬の一斉分析



### Authors

安田 恭子

澤田 浩和

アジレント・テクノロジー  
株式会社

### 要旨

Agilent 1290 Infinity II Bio LC と Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS を用いて、高極性農薬 10 種の定量メソッドを開発しました。極性の高い農薬の分析は、逆相カラムへの保持が弱い事、またカラムやシステムとの可逆吸着が生じることから困難です。このアプリケーションノートでは、1290 Infinity II Bio LC を用いることで、高極性農薬を高感度に分析した例を紹介しています。

Key words: 1290 Infinity II Bio LC、高極性農薬、高感度分析

## 目的

有機リン系農薬とその代謝物(グリホサート、グルホシネート、エテホン、ホセチル、AMPA、MPPA)、グアニジン系殺菌剤(イミノクタジン)、ピリジウム系除草剤(パラコート、ジクワット)およびグリコシド系殺菌剤(バリダマイシン)の一斉分析を行いました。これら農薬はリン酸基や4級アンモニウム基を有していることから、一般的なHPLCでは良好なピーク形状を得ることが難しく、アミノ基を特異的に保護したり、蛍光標識化して高感度分析を行う手法がよく用いられています。しかしながら、保護基の導入や蛍光標識化はコストと手間がかかります。そこでこのアプリケーションノートでは、MP35N®を材質として用いたHPLCである Agilent 1290 Infinity II Bio LCと逆相・イオン交換のミックスモードカラムを用い、高極性農薬を定量分析する手法の開発を試みました。MP35N®は優れた耐薬品性を持ち、幅広いpH範囲や塩濃度で使用できる素材で、一般的なLCで用いられるステンレススチール(SUS)よりも不活性です。検出には、Agilent 6470トリプル四重極LC/MSを用いました。

## 分析条件

測定対象とした農薬を図1に示しました。すべての標準品は富士フィルム和光純薬株式会社から購入しました。ホセチル、エテホン、バリダマイシンは、超純水で溶解し1000 mg/L濃度の標準液を調製し、それをストックソリューションとし冷蔵庫に保管しました。グリホサート、グルホシネート、AMPAおよびパラコート、ジクワット、イミノクタジンは20 mg/L濃度に調製された標準混合溶液を購入しストックソリューションとしました。分析時には、これらストックソリューションを50%アセトニトリル水溶液で適宜濃度調製を行いました。吸着を抑える目的で、サンプル調製に使用する器具やバイアルはすべてポリプロピレン製のものを使用しました。

使用した機器一覧を表1に、また主な分析条件を表2に、MRM条件を表3に示しました。分離に使用したカラムは材質がPEEK製のものを使用しました。MSはイオン源にAJS (Agilent Jet Stream、ESI) を用いて測定しました。

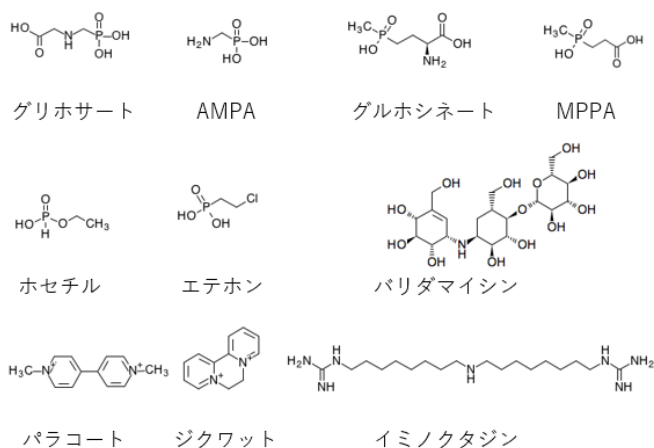


図1 測定に使用した高極性農薬

表1 機器一覧

型番	装置名
G6470A	6470 トリプル四重極 MS
G7131A	1290 Infinity II Bio フレキシブルポンプ
G7137A	1290 Infinity II Bio マルチサンブラ
G7116B	1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット

表2 分析条件

パラメータ	値												
乾燥ガス	N <sub>2</sub> 、300 °C、10 L/min												
シースガス	N <sub>2</sub> 、350 °C、11 L/min												
極性	ポジティブ/ネガティブ												
イオンソース	AJS (Agilent Jet Stream、ESI)												
ネブライザ	N <sub>2</sub> 、50 psi												
ノズル電圧	0 V												
キャピラリー電圧	3000 V												
測定モード	Dynamic MRM												
カラム	Scherzo SM-C18 MF 2×100 mm (Imtakt 社)												
移動相	A : 5 mM ギ酸アンモニウム水溶液 B : 100 mM ギ酸アンモニウムを含む 60 %アセトニトリル水溶液												
流速	0.2 mL/min												
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time [min]</th> <th>A [%]</th> <th>B [%]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>100.00</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>7.00</td> <td>0.00</td> <td>100.00</td> </tr> <tr> <td>15.00</td> <td>0.00</td> <td>100.00</td> </tr> </tbody> </table>	Time [min]	A [%]	B [%]	0.00	100.00	0.00	7.00	0.00	100.00	15.00	0.00	100.00
Time [min]	A [%]	B [%]											
0.00	100.00	0.00											
7.00	0.00	100.00											
15.00	0.00	100.00											
ポストタイム	8 min												
カラム温度	40 °C												
注入量	2 μL												
希釈溶媒	50%アセトニトリル水溶液												

表3 MRM条件

化合物名	極性	フラグメント 電圧	定量トランジション	コリジョン エネルギー	確認トランジション	コリジョン エネルギー
AMPA	ポジティブ	60	112.0 -> 30.0	10	110.0 -> 79.0	30
Diquat	ポジティブ	100	183.0 -> 157.0	22	184.0 -> 183.0	4
Ethephon	ポジティブ	100	145.0 -> 91.0	16	145.0 -> 63.0	16
Fosetyl	ネガティブ	100	109.0 -> 81.0	10	111.0 -> 83.0	10
Glufosinate	ポジティブ	100	182.0 -> 56.0	10	182.0 -> 136.0	10
Glyphosate	ポジティブ	70	170.0 -> 88.0	10	170.0 -> 60.0	10
Iminocytidine	ポジティブ	100	179.0 -> 100.0	12	179.0 -> 69.2	18
MPPA	ポジティブ	70	153.0 -> 135.0	10	153.0 -> 79.0	10
Paraquat	ポジティブ	100	93.0 -> 171.0	15	186.0 -> 171.0	20
Validamycin	ポジティブ	130	498.3 -> 178.2	30	498.3 -> 336.2	24

## 結果および考察

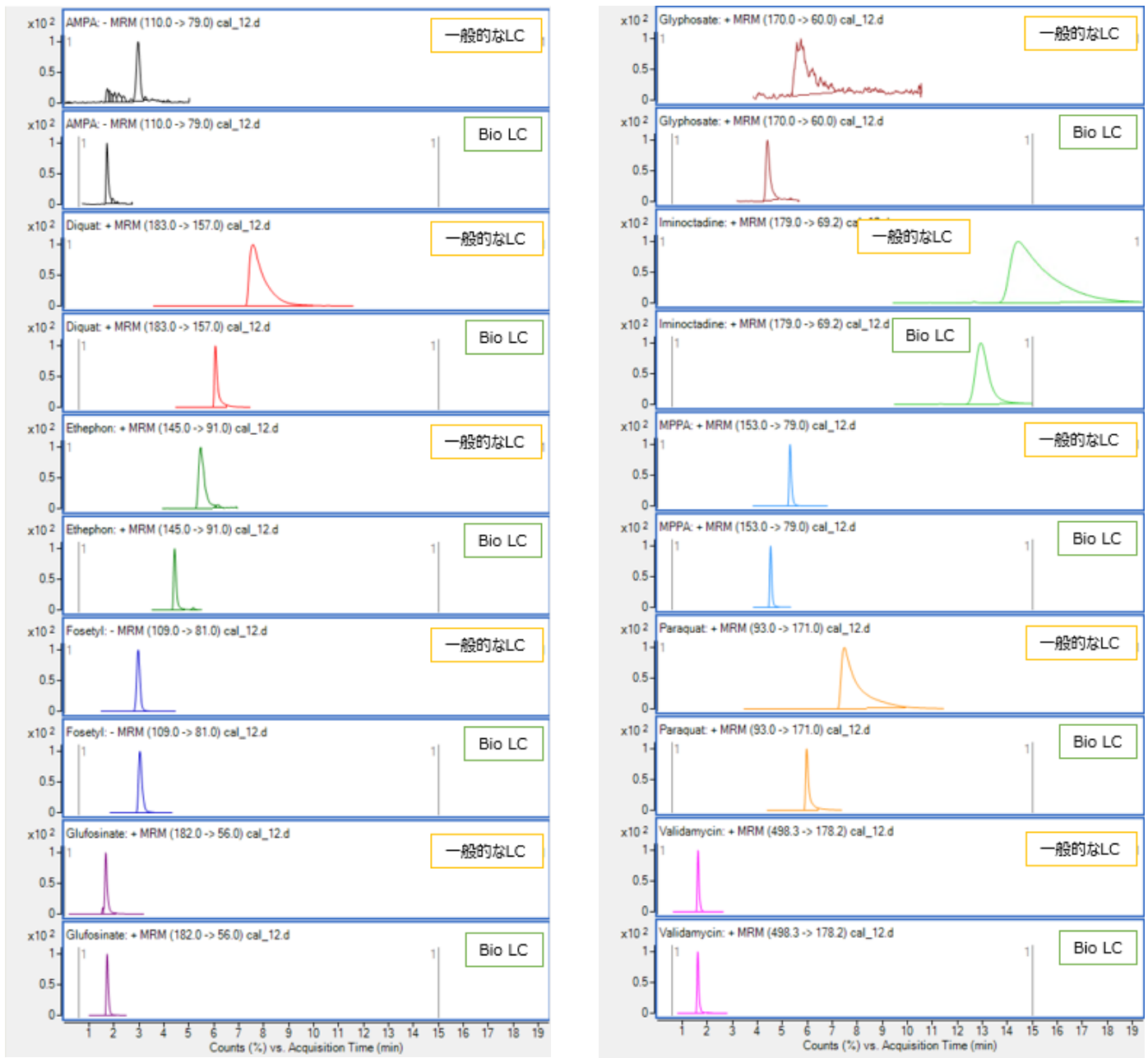


図2 100ng/mL 標準品のMRMクロマトグラム

はじめにSUSを使用した一般的なLCとの比較を行いました。LCシステム以外のカラム、バイアル、検出器はすべて同じものを使用しました。ただし一般的なLCを用いた分析ではイミノクタジンはテーリングし、保持時間も大きく後ろにシフトしたことから、7~20分間100 %Bの条件で測定を行いました。

図2は、100 ng/mL濃度における各標準品のMRMクロマトグラムを示しています。一般的なLCを用いた分析ではパラコート、ジクワット、イミノクタジンの4級アミンはピーク形状がテーリングしていることがわかりました。特にイミノクタジンのピーク幅は2.621分から5.827分と2倍以上になっていることが示されました。

また、有機リン系農薬のグリホサートとエテホンも、一般的LCよりもBio LCを用いた方がピーク形状が改善されました。これによりピーク高さが改善し、質量分析計の検出感度が向上することが期待できます。一方 ホセチル、MPPA、バリダマイシンおよびグルホシネートは一般的なLCを用いた場合でも良好なピーク形状を示しました。

図3は検量線を示しました。検量線の詳細な情報は表4にまとめました。すべての農薬で良好な直線性をもつ検量線を取得できました。また、バイアルや測定システムへの吸着も観測されないことがわかりました。

## まとめ

Agilent 1290 Infinity II Bio LCを用いて高極性農薬10種の一斉分析を検討しました。その結果、検討したすべての農薬を良好なピーク形状で検出できることがわかりました。また検討したすべての農薬で良好な直線性をもつ検量線を取得できました。Agilent 1290 Infinity II Bio LCシステムは、SUSを使用している一般的なLCシステムよりも、低濃度の農薬を検出できることも示されました。Agilent 1290 Infinity II Bio LCは質量分析計の性能を最大に引き出せるHPLCとして、非常に有効であることが示唆されました。

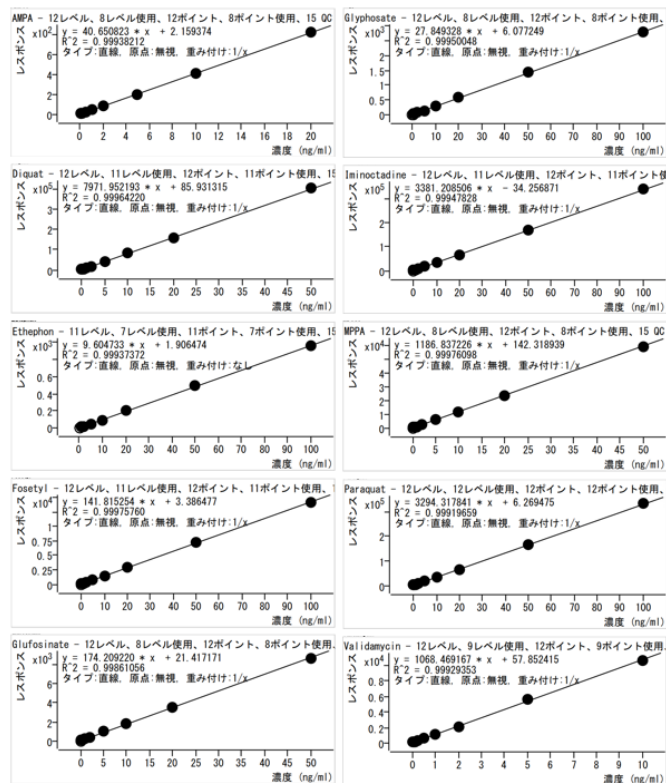


図3 高極性農薬の検量線

表4 検量線のまとめ

化合物名	回帰式	決定係数	濃度範囲 ng/mL
AMPA	$y = 40.650823 * x + 2.159374$	0.999382	0.1 ~ 20
ジクワット	$y = 7971.952193 * x + 85.931315$	0.999642	0.02 ~ 50
エテホン	$y = 9.604733 * x + 1.906474$	0.999374	1.0 ~ 100
ホセチル	$y = 143.772075 * x + 2.926596$	0.999838	0.05 ~ 100
グルホシネート	$y = 40.650823 * x + 2.159374$	0.998611	0.2 ~ 50
グリホサート	$y = 27.849328 * x + 6.077249$	0.999500	0.5 ~ 100
イミノクタジン	$y = 3381.208506 * x - 34.256871$	0.999478	0.05 ~ 100
MPPA	$y = 1186.837226 * x + 142.318939$	0.999761	0.2 ~ 50
パラコート	$y = 3294.317841 * x + 6.269475$	0.999197	0.05 ~ 100
バリダマイシン	$y = 1068.469167 * x + 57.852415$	0.999294	0.02 ~ 10

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, November 10, 2021

5994-4452JAJP

DE44508.6773726852