



# Agilent6460トリプル四重極型LC/MSを用いた 水道水中グリホシネート、グリホサートおよび アミノメチルリン酸 (AMPA) の一斉分析法



## <要旨>

水質管理設定項目の農薬類の検査法（別添方法 22）に基づき、Fmoc 誘導体化-LC/MS/MS 法を用いた水道水中グリホシネート、グリホサートおよび AMPA の一斉分析を行いました。いずれの農薬も 0.1 $\mu$ g/L で S/N 比が 100 以上で検出可能で、濃度範囲 0.1-3 $\mu$ g/L において良好な直線性（決定係数  $r^2 > 0.999$ ）を示しました。また、水道水中からの 3 農薬の回収率および併行精度はいずれも基準に適合しました。

**Key Words:** グリホシネート、グリホサート、AMPA、Fmoc 誘導体、LC/MS/MS

\*\*\*\*\*

## 1. はじめに

平成 27 年 4 月に改定された「水質管理目標設定項目の検査方法」において、新たに除草剤の一種であるグリホシネートの検査法が追加され、同系統の除草剤グリホサートおよびその代謝物である AMPA との LC/MS(MS) 一斉分析法が「別添方法 22」として通達されました。

本法では、農薬を Fmoc（クロロギ酸 9-フルオレニルメチル）誘導体化後、逆相系固相抽出カラムで 10 倍濃縮（検出感度に問題無ければ、省略可）した溶液を LC-MS(MS)法で測定する方法を採用しています。グリホシネートの目標値は 0.02mg/L 以下に設定され、定量下限値は目標値の 1/100（グリホサートの 1/10,000、AMPA の 1/1,000）、変動係数（CV 値）は 20%以下となることが求められています。

ここでは、水道水中グリホシネート、グリホサートおよび AMPA を「別添方法 22」に準じ、Fmoc 誘導体化処理後、Agilent6460 トリプル四重極型 LC/MS で一斉分析した例をご紹介します。

## 2. 実験条件

グリホシネート、グリホサートおよび AMPA の各標品を所定量添加した水道水は、「別添方法 22」に準じ

て、Fmoc 誘導体化後、固相カラムでの濃縮操作を行わずに反応液 20 $\mu$ L を直接 LC-MS/MS 測定に供しました（Fig.1 および Table I 参照）。

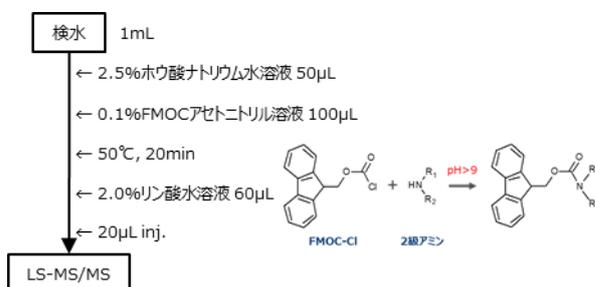


Fig.1 Fmoc誘導体化

Table I LC/MS/MS分析条件

Liquid Chromatography	
Instrument:	Agilent 1260 Infinity HPLC system (Binary Pump System)
Column:	ZORBAX Eclipse Plus C18 (Agilent Technologies, 2.1 mm i.d. x 150 mm, 3.5 $\mu$ m)
Mobile Phase A:	5mM Ammonium Acetate
Mobile Phase B:	Acetonitrile
Gradient Curve:	5%B(0min)→63%B(9.3min)→95%B(13min)
Flow Rate:	0.25mL/min
Column Temp.:	30 $^{\circ}$ C
Injection Vol.:	20 $\mu$ L
Mass Spectrometry	
Instrument:	Agilent 6460 Triple Quad LCMS System
Ionization:	Agilent Jet Stream Electrospray
Polarity:	Positive
Drying Gas:	N <sub>2</sub> (300 $^{\circ}$ C at 10 L/min)
Nebulizer Gas:	N <sub>2</sub> (50 psi)
Sheath Gas:	N <sub>2</sub> (400 $^{\circ}$ C at 11 L/min)
Nozzle Volt.:	0V
Capillary Volt.:	3,500V
MRM Transition:	Glufosinate ( $m/z$ 404.2→181.9, Frag 100V, CE 6eV) Glyphosate ( $m/z$ 392.1→88.1, Frag 100V, CE 12eV) AMPA ( $m/z$ 334.1→178.9, Frag 80V, CE 14eV)



### 3. 結果および考察

Fig.2 にグリホシネート、グリホサートおよび AMPA の FMOC 反応溶液 (各 0.1 $\mu$ g/L) の MRM クロマトグラムを示しました。

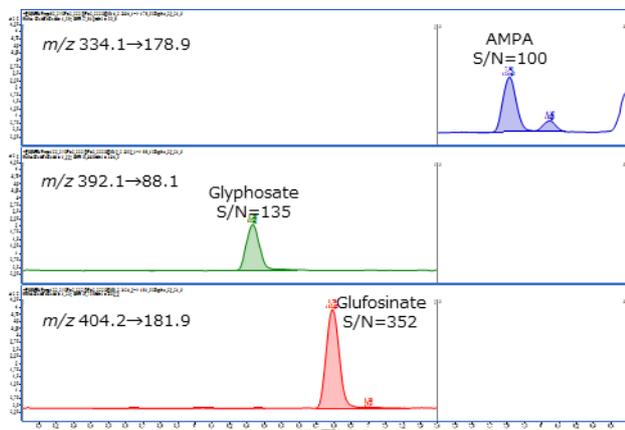


Fig.2 グリホシネート、グリホサートおよびAMPAのMRMクロマトグラム (各0.1 $\mu$ g/L)

本検討では、固相カラムでの濃縮操作をすることなく、いずれの化合物も目標値の 1/200 で、S/N 比 100 以上で検出可能でした。また、各化合物の濃度範囲 0.1-3 $\mu$ g/L において、いずれも決定係数 ( $r^2$ ) は 0.999 以上と良好な直線性を示しました。検量線の各ポイントで繰り返し 5 回測定した結果、いずれの化合物、濃度ポイントでも相対標準偏差 (RSD) は 4%以下と良好な再現性が得られました (Fig.3 参照)。

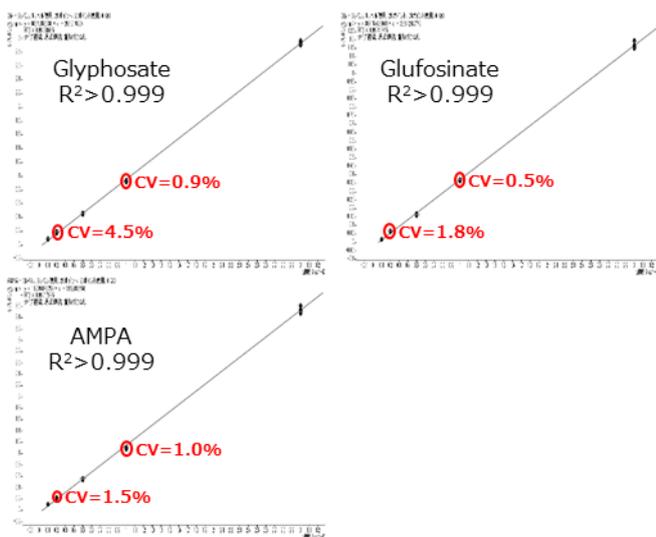


Fig.3 グリホシネート、グリホサートおよびAMPAの検量線 (0.1-3 $\mu$ g/L)

超純水およびアスコルビン酸ナトリウム処理済み水道水に各農薬標品を最終濃度 0.2 $\mu$ g/L になるよう

に調製した検水を FMOC 誘導体化後、その反応溶液 20 $\mu$ L を直接 LC-MS/MS に注入した際に得られた MRM クロマトグラムを Fig.4 に示しました。

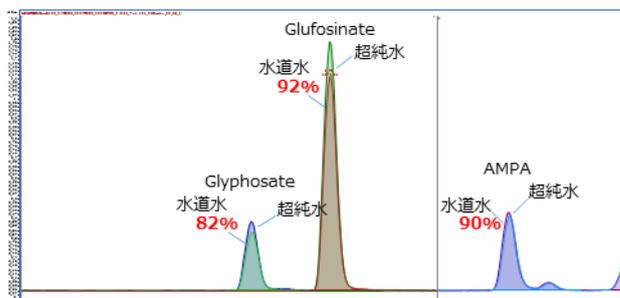


Fig.4 標準添加 (0.2 $\mu$ g/L相当) 超純水およびアスコルビン酸ナトリウム処理水道水の MRM クロマトグラム

添加回収試験の結果、いずれの化合物も 80% 以上の回収率が得られました。また、標品添加水道水を前処理・測定を繰り返し 5 回行い、併行精度を求めたところ、いずれの化合物も CV 値は 2%以下となりました。以上の結果より、添加回収、併行精度はいずれも基準 (それぞれ 70~120%、20%以下) に適合することが確認されました (Table II 参照)。

Table II 水道水からのグリホシネート、グリホサートおよびAMPAの添加回収率 (n=5)

Conc. ( $\mu$ g/L)	Compound	Recovery (%)	RSD (%)
0.2	Glyphosate	81	1.8
	Glufosinate	92	1.4
	AMPA	91	1.5
2	Glyphosate	84	1.2
	Glufosinate	84	1.0
	AMPA	93	1.7

### 4. まとめ

水質管理設定項目の農薬類の検査法 (別添方法 21) に基づき、FMOC 誘導体化-LC/MS/MS 法を用いた水道水中グリホシネート、グリホサートおよび AMPA の一斉分析を行った結果、管理目標値の 1/100 の濃度において定量性が確保されることが確認されました。また、添加回収および併行精度いずれも基準に適合し、本検査の妥当性が確保されました。

#### 【LC-MS-201510KY-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1  
<http://www.agilent.com/chem/jp>



Agilent Technologies