

1290 Infinity III LC で  
同等の結果を得られます

## Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS を用いたプベルル酸の分析

### 著者

安田 恭子  
野田 莉帆  
林 明生

アジレント・テクノロジー  
株式会社

### 要旨

プベルル酸は 7 員環芳香族化合物の 1 つですが、青カビから発生することもあり食中毒が報告されています。しかしながらその毒性の検証や、評価、そしてメカニズムについてはまだ解明されていません。そこで、このアプリケーションノートでは、プベルル酸を高感度で分析する手法を紹介します。今回開発した測定法により、プベルル酸の発生機構や毒性の研究が進むことが期待できます。

## 測定システム

Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム

- G7131A バイオフィレキシブルポンプ
- G7137A バイオマルチサンプラ
- G7116B マルチカラムサーモスタット

Agilent 1260 Infinity II Prime LC システム

- G7104C フレキシブルポンプ
- G7167A マルチサンプラ
- G7116B マルチカラムサーモスタット

Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS

Agilent 1290 Infinity II Bio LC は、生体適合仕様の UHPLC で、鉄との金属吸着が生じやすい化合物の分析に適しています。<sup>1)</sup>

## 試料調製

標準物質は研究用試薬 プベルル酸 (長良サイエンス) を用いました。1000 mg/L の濃度となるように 0.1 % ギ酸を含む 50 % アセトニトリル水溶液で溶解し、ストックソリューションとしました。その後 0.1 mol/L HCl で 3、10、30、100、300 および 1000 µg/L まで希釈しました。

## カラム温度の効果

300 µg/L 濃度におけるカラム温度 10 °C と 40 °C のクロマトグラムを図 1 に示しました。カラム温度 40 °C ではピーク形状が悪く MS 検出感度が得られませんでした。カラム温度 10 °C ではピーク形状は良好でした。カラム温度を低くすることで プベルル酸中のカルボン酸の解離が抑えられ、非特異的吸着を抑えることができピーク形状が良くなったと考えられます。

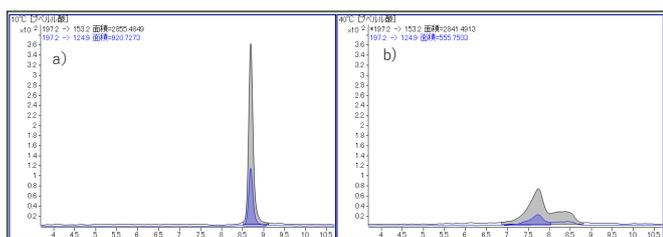


図 1. カラム温度 a) 10 °C と b) 40 °C におけるピーク形状の比較。測定は 1290 Infinity II Bio LC を使用。

## Bio LC の効果

プベルル酸は複数の水酸基やカルボン酸を持つ構造をしているため、金属と配位結合を形成しやすいことが予測されます。そのため金属吸着を抑えることが期待できる Bio LC の効果を検証しました。図 2 には 1290 Infinity II Bio LC と 1260 Infinity II Prime LC で測定したデータを示しました。1260 Infinity II Prime LC システムでは、10 µg/L でプベルル酸のピークが観測されませんでした。1290 Infinity II Bio LC では十分な感度を得ることができました。図 3 には検量線データを示しました。1260 Infinity II Prime LC システムの検量線範囲は、30 ~ 1000 µg/L であったのに対し、1290 Infinity II Bio LC では 3 ~ 1000 µg/L でした。両システムとも良好な検量線が取得できましたが、1290 Infinity II Bio LC の方が高感度分析には適していることが示されました。

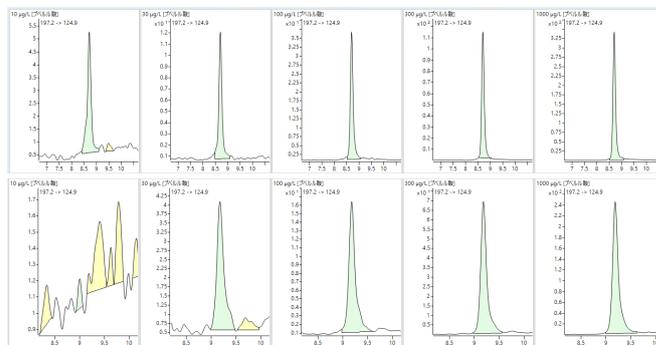


図 2. 1290 Infinity II Bio LC (上段) と 1260 Infinity II Prime LC (下段) を用いたときの比較

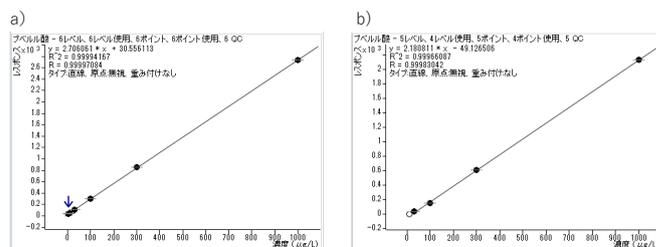


図 3. a) 1290 Infinity II Bio LC および b) 1260 Infinity II Prime LC システムを用いたときのプベルル酸の検量線

## 分析条件

最終的な分析条件を表 1 に示しました。移動相は 0.1 % ギ酸水溶液と、0.1 % ギ酸を含むアセトニトリル溶液を用いました。MS はイオン源に ESI を用いた負イオンモードで測定しました。MRM 条件は、Method Optimizer を用い、最適化を効率的に行いました。

表 1. 分析条件

| パラメータ    | 値  |
|----------|--|
| 乾燥ガス     | N <sub>2</sub> , 250 °C、10 L/min                       |
| シースガス    | N <sub>2</sub> , 350 °C、12 L/min                       |
| 極性       | 負イオンモード  |
| イオンソース   | Agilent Jet Stream (ESI)                               |
| ネブライザ    | N <sub>2</sub> , 40 psi                                |
| ノズル電圧    | 0 V  |
| キャピラリ電圧  | 2500 V   |
| フラグメンタ電圧 | 70 V   |
| 測定モード    | MRM 【197.2 > 124.9 (CV=18eV)、197.2 > 153.2 (CV=10 eV)】 |
| カラム      | Poroshell 120 Aq—C18 (2.1×100mm、2.7µm、695775-742)      |
| 移動相      | A : 0.1% ギ酸を含む水  |
|          | B : 0.1% ギ酸を含むアセトニトリル                                  |
|          | 2% B (5分) -- 100% B (10分) -- 100% B (15分)              |
| 流量       | 0.40 mL/min  |
| カラム温度    | 10 °C  |
| 注入量      | 2.0 µL   |

## まとめ

Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS を用いて、プベルル酸の分析条件検討を行いました。その結果、カラム温度を下げ酸性移動相を用いることで高感度に分析できることが示されました。また Bio LC を用いることで非特異的吸着を効果的に抑えることができました。

## 参考文献

1) Agilent 1290 Infinity II Bio LC による高極性農薬の一斉分析, Agilent Technologies, 5994-4452JAJP, 2021

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**

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。

DE-002409

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, November 12, 2024

5994-7943JAJP