

グリホサート・グルホシネート（食パン）

（残留農薬用前処理装置ST-L400）

はじめに

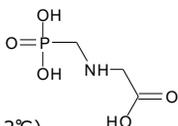
昨今輸入小麦におけるグリホサートの検出がニュースになっています。そこで本アプリケーションでは小麦粉製品の一例として食パンを用いて添加回収試験を行いました。グルホシネートの結果と合わせて紹介します。

対象化合物

グリホサート

LogPow = < -3.2 (pH2-5, 20℃)

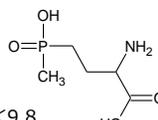
pKa = 5.77 ± 0.03, 2.18 ± 0.02 (20 ± 0.2℃)



グルホシネート

LogPow = < 0.1 (pH7, 22℃)

pKa1 < 2, pKa2 < 2.9, pKa3 < 9.8



対象試料

食パンは小麦粉に比べ、でんぶんの比率が少ないため試料採取量は2gとします。

	可食部100gあたりに含まれる成分.g		
	水分	タンパク質	でんぶん
食パン	39.2	8.9	38.9
【参考】小麦粉	14.0	8.3	72.7

文部科学省食品成分データベースより

実験方法

- 粉碎方法：予冷式ドライアイス凍結粉碎法
- 標準溶液：いずれも標準品富士フィルム和光純薬製
 - ・グリホサート（製品コード：071-05951）
 - ・グルホシネートアンモニウム標準品（製品コード：079-05371）
- 添加濃度（試料中）：0.5ppm
- 最終バイアル中濃度：5 ppb
- 定量用検量線：1点：5ppb 絶対検量線
- 検量線希釈溶媒：水

前処理フロー <抽出>

予冷式ドライアイス凍結粉碎

試料採取 2g

添加 混合標準溶液 10ppm/水 100μL

添加 水 25 mL

手で振とう 1分

添加 1 mol/L NaOH水溶液 50 μL

振とう抽出 10分

添加 アセトニトリル 約25 mL

★ 全量が50 mLになるように調整

振とう 1分

静置 5分

★ タンパク質を変性、除タンパク

遠心分離 3,500 rpm, 5分

抽出上澄液

抽出上澄液 0.5 mL 分取

添加 水 1.5 mL

試験溶液① 2 mL (抽出上澄液：水 = 1:3)

前処理<抽出>のポイント

- 水抽出した後にアセトニトリルを添加することでたんぱく質を変性させ除タンパクを行います。たんぱく質を変性を促すために5分間静置します。
- でんぶんへのグリホサートの移行を低減するため採取量を減らし、水酸化ナトリウム水溶液を添加しアルカリ状態にします。



除タンパク後の試料



全自動固相抽出装置
ST-L400
For STQ Method

Sample



Information

食パン

水分：39.2%
脂質：4.1%
脂肪酸：3.57%
たんぱく質：8.9%

出典：日本食品標準成分2015年版(七訂)

Key Word

残留農薬分析
STQ法
自動前処理装置
固相抽出

AiSTI SCIENCE

Product

ST-L400
Smart-SPE PBX-10
Smart-SPE SCX-30
Smart-SPE PSA-50
予冷式ドライアイス
凍結粉碎キット

株式会社アイスティサイエンス

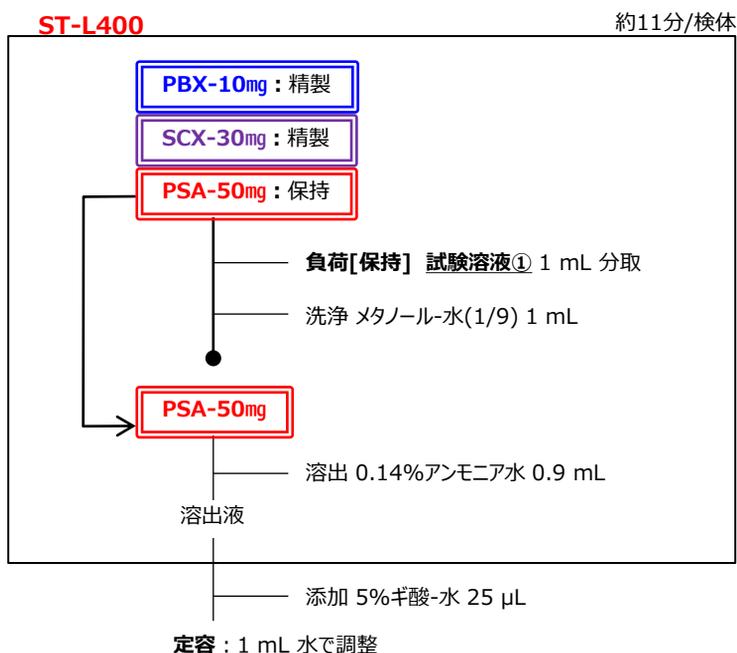
www.aisti.co.jp

お問い合わせ先

TEL. 073-475-0033

E-Mail; as@aisti.co.jp

前処理フロー <精製>



前処理<精製>のポイント

- 比較的極性の低い夾雑物はPBXで、陽イオン性の夾雑物はSCXで除去し、グリホサート、グルホシネートはPSAに保持させた後、アルカリ状態で解離して溶出します。
- 溶出液はアルカリ性のため0.5%ギ酸水で中性付近になるよう調整します。試料及び状況により添加量が異なる場合があります。



全自動固相抽出装置 ST-L400
(アイステイサイエンス)

測定条件

【LC条件】

分析カラム : TSKgel SuperIC-AP (4級アミノ基)
(4.6 mmID × 75 mm)

移動相 A液 : 0.1 mM ギ酸アンモニウム-水
B液 : 0.5 % ギ酸-水

流速 : 0.8 mL/min

グラジエント : B.Conc 5%(0-0.5 min)→98%(2-11 min)→
5%(12-14 min)

注入量 : 5 µL

カラム温度 : 40 °C

【MS条件】

イオン化モード : ESI positive

ネブライザーガス流量 : 3 L/min

ヒートアップガス流量 : 10 L/min

インターフェース温度 : 400 °C

DL温度 : 150 °C

ヒートブロック温度 : 350 °C

ドライビングガス流量 : 10 L/min

測定モード : MRM

※LC及びESIキャピラリーのリン酸コーティングは行っておりません。



UHPLC(Nexera X2)
及びLCMS-8045
(島津製作所)

結果と考察

グリホサートはやや低めですが、グルホシネートともに夾雑成分の影響もなく70%以上の良好な回収率が得られました。

表1 添加回収試験結果

	(n=3)		
	保持時間 ¹⁾ (分)	添加回収率 (%)	RSD(参考値) (%)
グルホシネート	3.41	102	3.4
グリホサート ²⁾	5.05	78	2.0

1)保持時間は弊社実測値

2)未知試料から0.08ppm検出されたため差し引いて算出

検量線

0.5、1、2.5、5、10、25ng/µLの6点で作成したところグリホサート、グルホシネートともに $R^2=0.999$ 以上の良好な直線性が得られました。

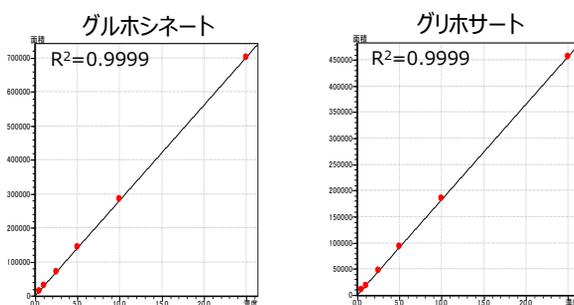


図1 検量線

参考文献

- 1)小西賢治、栢木春奈、佐々野僚一 第36回農薬残留分析研究会講演要旨集、119-124
- 2)佐々野僚一、島三記絵、小西賢治、斎藤勲 第42回農薬残留分析研究会講演要旨集、117-124