

グリホサート・グルホシネート

(残留農薬用前処理装置ST-L400)



全自動固相抽出装置
ST-L400
For STQ Method

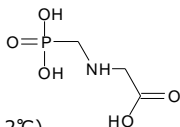
はじめに

グリホサートは非常に水溶性が高く、一斉分析には適していません。しかし個別分析では誘導体化など煩雑な操作があります。そこで本アプリケーションでは誘導体化を行わない簡便な方法を紹介します。添加回収試験はほうれんそう、大豆、及び小麦粉について実施しました。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

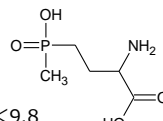
グリホサート

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= <math><0.1</math> (pH7, 22℃)
pKa1 <math><2</math>, pKa2 <math><2.9</math>, pKa3 <math><9.8</math>



対象試料

試料	可食部100gあたりに含まれる成分,g		
	水分	たんぱく質	でんぷん
ほうれんそう	92.4	2.2	0.0
大豆	12.4	33.8	0.6
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

※試料によりたんぱく質やでんぷんの含有量は異なります。でんぷんが含まれる試料の場合は【でんぷんを含む場合】の前処理フローで実施します。

※たんぱく質またはでんぷんを多く含む試料では採取した試料中のたんぱく質またはでんぷんがそれぞれが1g以下になるように採取量を調整します。

前処理<抽出>のポイント

- 水抽出した後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。
- 小麦粉ではでんぷ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。

前処理フロー <抽出>

【でんぷんを含まない場合】(ほうれんそう・大豆)

試料 10g 採取 (大豆 2g)

← 混合標準溶液 10ppm/水 100μL

← 水 15mL (大豆 25mL)
※試料に含まれる水分と合わせて
水が約25mLなるように調整

振とう抽出 10分間

← **除タンパク**
アセトニトリル 約25mL
※全量が50mLになるように添加

手で振とう 1分間

静置 (5分間)

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

抽出上澄液0.5mL分取

← 水1.5mL

試料液 2mL (ST-L400にセット)



除タンパク後の試料
(ほうれんそう)

【でんぷんを含む場合】(小麦粉)

試料 1g 採取

← 混合標準溶液 10ppm/水 50μL

← 水 25mL

手で振とう (1分間)

← **1N 水酸化ナトリウム水溶液 50μL**

振とう抽出 10分間

← **除タンパク**
アセトニトリル 約25mL
※全量が50mLになるように添加

手で振とう 1分間

静置 (5分間)

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

抽出上澄液0.75mL分取

← 水2.25mL

試料液 3mL (ST-L400にセット)

Sample



Information

残留基準値

【ほうれんそう】
0.2ppm

【大豆】
30ppm
※グリホサート及びN-アセチルグリホサートをグリホサートに換算したものの和

【小麦】
30ppm

Key Word

残留農薬分析
STQ法
自動前処理装置
固相抽出

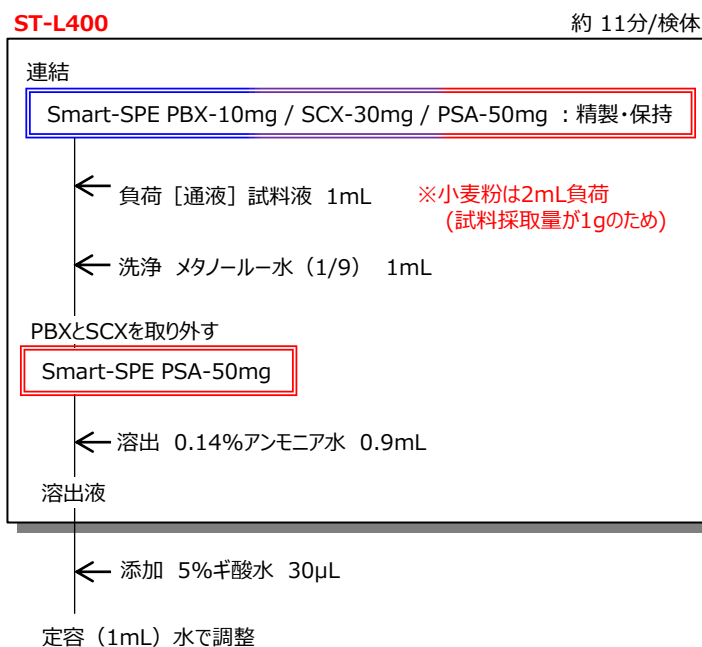
AiSTI SCIENCE

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

- 比較的低極性の夾雑物は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ギ酸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)

実験方法

- 粉砕方法：ほうれんそう：予冷式ドライアイス凍結粉砕法
大豆：ミル
- 標準溶液：グリホサート標準品
(富士フィルム和光純薬 製品コード：071-05951)
グルホシネートアンモニウム標準品
(富士フィルム和光純薬 製品コード：079-05371)
- 添加濃度（試料中）：ほうれんそう：0.1 ppm
大豆：0.5ppm
小麦粉：0.5ppm
- 最終バイアル中濃度：5 ppb
- 検量線：1点：5ppb 絶対検量線
- 検量線希釈溶媒：水

結果と考察

ほうれんそう、大豆、小麦粉において夾雑成分の影響もなく良好な回収率が得られました。

表1 添加回収試験結果 (単位：%)

	ほうれんそう	大豆	小麦粉
グリホサート	98	99	98
グルホシネート	95	95	92

測定条件

【LC条件】

分析カラム：TSKgel SuperIC-AP (4級アミン基)
(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



UHPLC(Nexera X2)
及びLCMS-8045
(島津製作所)

※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。

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