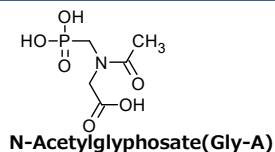
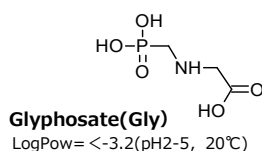


オンライン固相誘導体化-LC-MS/MSによる大豆中のグリホサート、グルホシネートおよびそれら代謝物の分析

はじめに

グリホサートやグルホシネートは、最も広く使用されている非選択的除草剤であり、遺伝子組換え作物の栽培拡大にともない、これらの代謝物も含めて規制対象物質に設定されています。本アプリケーションでは、固相抽出、*N*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-*N*-methyltrifluoroacetamide (MTBSTFA)による誘導体化、測定を全て自動で行う「オンライン固相誘導体化LC-MS/MSシステム」を用いた大豆中のグリホサート、グルホシネート及びそれら代謝物を同時定量する一斉分析法を紹介します。

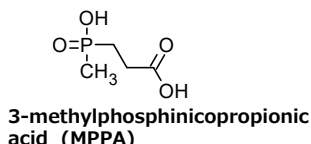
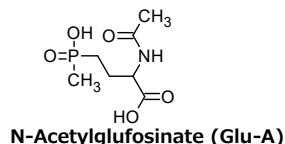
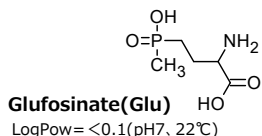
対象化合物



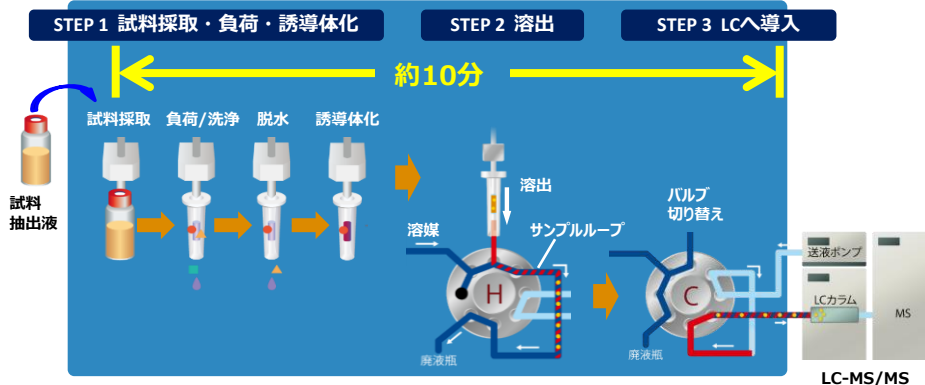
基準値

グリホサート(大豆) : 20 ppm

グルホシネート(大豆) : 2 ppm



オンライン固相誘導体化SPE-LC/MSシステムの概要

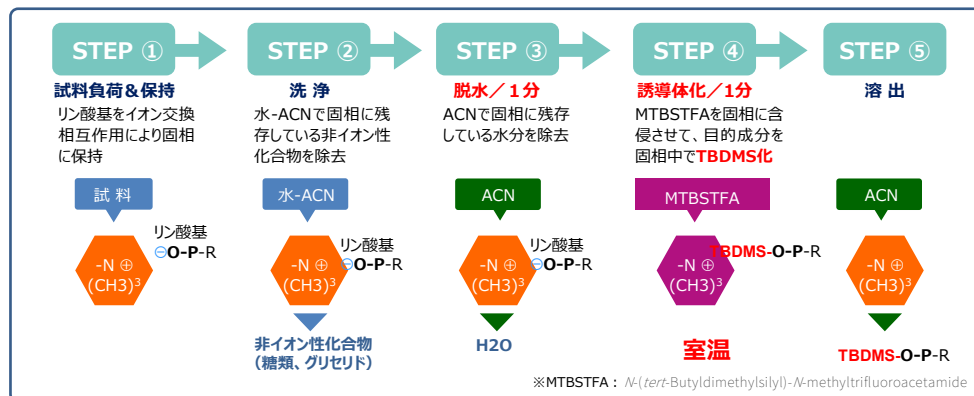


測定している間に次の検体の前処理を行うことで迅速分析を達成



固相脱水誘導体化

対象化合物を陰イオン交換カラムに保持させ、MTBSTFA※で誘導体化します。



SPL-W100
for SPE-LC system

Sample



Information

日本食品化学学会
第30回総会・学術大会
講演要旨集p.47

「オンライン固相誘導体化-LC-MS/MSによる大豆中のグリホサート、グルホシネートおよびそれら代謝物の分析法の開発」

佐々野 俊一^{1,2}, 滝山 浩^{1,3,4}, 関澤 純平¹, 原野 幹久⁴, 勝本 叶香¹, 斎藤 勉², 田口 貴章³, 堤智 昭³, 伊藤 里恵^{1,4}, 岩崎 雄介^{1,4}

¹星薬科大学大学院、²(株)アイステイサイエンス、³国立医薬品食品衛生研究所、⁴星薬科大学薬学部

Key Word

固相抽出
オンラインSPE-LC-MS/MS
固相誘導体化

AiSTI SCIENCE

Product

SPL-W100
Flash-SPE AXs
凍結粉碎機フレステント FST-4000

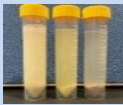
株式会社アイステイサイエンス
www.aisti.co.jp
お問い合わせ先
TEL. 073-475-0033
E-Mail: as@aisti.co.jp

前処理フロー

■ 試料抽出

ドライアイス凍結粉砕
大豆 2 g

水抽出



添加 水 40 mL

振とう: 10分

遠心分離: 5分

20倍希釈

上澄み液: 分取 50 μ L

除タンパク



添加 MeOH 950 μ L

攪拌: タッチミキサー

遠心分離: 3分

400倍希釈

上澄み液: 分取 10 μ L

希釈

添加 ACN-水(1/1) 980 μ L

リン酸10ppm/クエン酸400ppm 10 μ L

試料抽出液

40000倍希釈

■ オンライン固相誘導体化SPE-LC/MS

オンライン前処理装置: SPL-W100



試料抽出液をシステムに
セットするだけ!

コンディショニング
ACN-水 (1/1)

固相: Flash-SPE AXs:保持

負荷[保持] 試料抽出液 50 μ L

洗液 ACN-水 (1/1)

脱水 ACN

含浸 1% MTBSTFA-ACN
誘導体化反応_2 min 室温

溶出 MeOH-ACN(1/9)

混合 MeOH-ACN(5/95)

LC-MS

測定条件

【装置】

SPL-W100(アイスティサイエンス社)
LC-MS-8045(島津製作所社)



【LC条件】

分析カラム: InertSustain C18 GL Sciences社
(100 mm $\times$ 2.1 mm i.d., 3 μ m)

移動相 A液: THF-ACN(5/95)

B液: 0.2mM酢酸アンモニウム-MeOH

流速: 0.2 mL/min

グラジエント: B: 10%(4min)-90%(4.5min-6.5min)
-5%(7min)

カラム温度: 40 $^{\circ}$ C

【MS条件】

イオン化モード: ESI Positive

ポイント!

【従来の誘導体化法】

- ・ 反応時間が長い。
- ・ 温度を上げなければならない。(加熱が必要)
- ・ リン酸基を誘導体化できない。
- ・ 誘導体化してからLC注入までの時間が
検体により異なる。



【オンライン固相脱水誘導体化法 (SPDhd)】

- ・ 反応時間が短い。(数分)
- ・ 常温で反応。
- ・ リン酸基を誘導体化できる。
- ・ 1 検体ずつ誘導体化して測定するため誘導体化
してからLC注入までの時間がどの検体も同じ。

誘導体化により超高感度で分析可能

結果

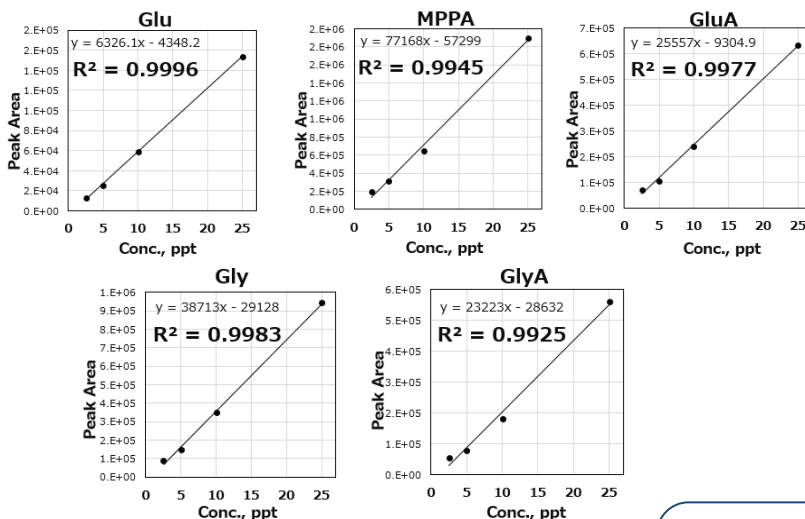


図1 本システムによる検量線

表1 添加回収試験結果

添加濃度: 試料中 1 ppm 併行数: n = 6

	Glu	MPPA	GluA	Gly	GlyA
回収率(%)	105	92	107	105	112
RSD(%)	4.3	1.6	1.9	7.8	3.6

まとめ

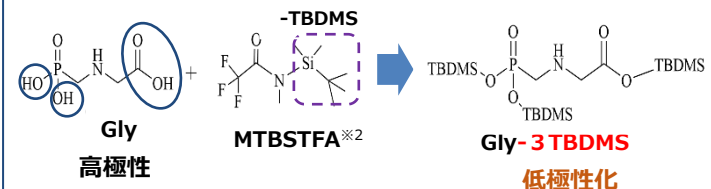
本システムによりいずれの成分も回収率90%以上、RSD10%未満の良好な結果が得られました。本システムはGly, Gluおよびそれらの代謝物の一斉分析法として有効であることが示されました。

参考文献

R. Sasano, J. Sekizawa, I. Saito, M. Harano, K. Katsumoto, R. Ito, Y. Iwasaki, T. Taguchi, T. Tsutsumi, and H. Akiyama; Simultaneous determination of glyphosate, glufosinate and their metabolites in soybeans using solid-phase analytical derivatization and LC-MS/MS determination. Food chemistry: X, 24, 101806 (2024)
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101806>

誘導体化反応

TBDMS^{※1}化により、リン酸基やカルボキシ基を誘導体化



※1: TBDMS (t-Butyldimethylsilyl)

※2: MTBSTFA: N-(tert-Butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide