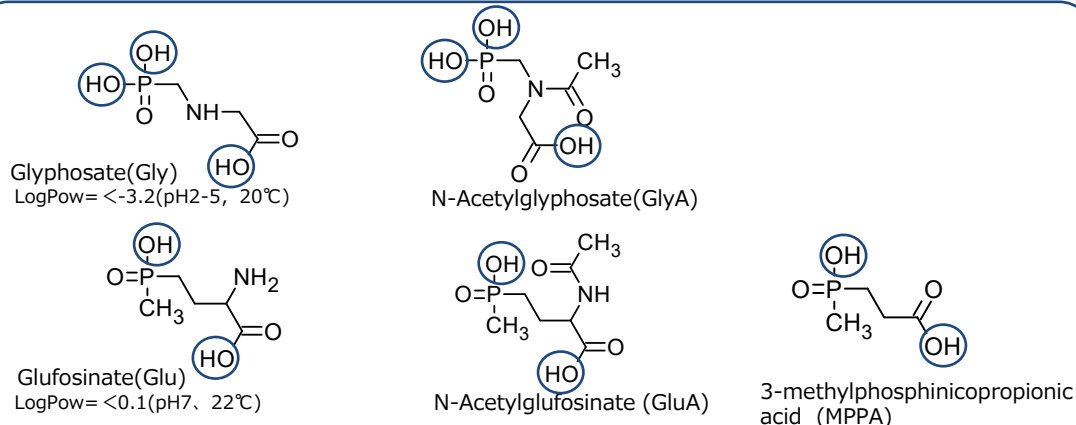


固相脱水誘導体化法 (SPDhD) による グリホサート類およびその代謝物を含めた一斉分析法 はちみつ

はじめに

グリホサートとグルホシネートは世界で最も広く使用されている除草剤です。近年、その農薬に耐性のある遺伝子組換え作物が開発され、より多く散布されるようになりました。そのため、日本を含む各国ではその代謝物を含む基準値が設定されています。しかし極性が極めて高いため分析時には誘導体化するのが一般的ですが煩雑さも伴います。そこで本アプリケーションでは固相誘導体化法を用いて簡便・迅速に代謝物を含む5成分の一斉分析法をご紹介します。

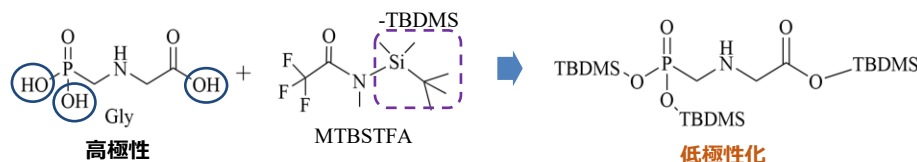
対象化合物



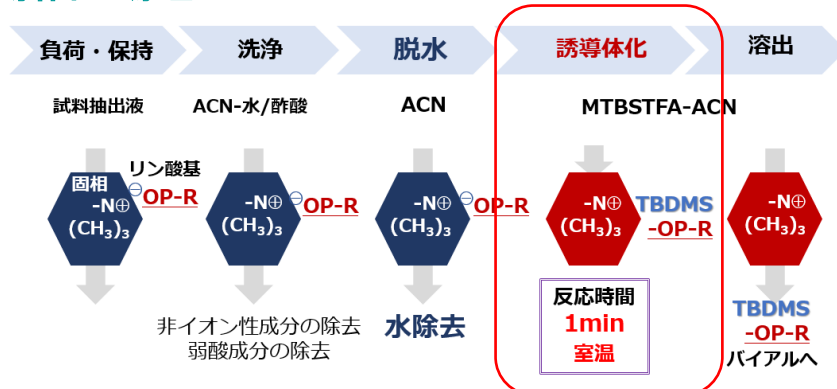
グリホサート類とTBDMS誘導体化

TBDMS (t-Butyldimethylsilyl) 化により、リン酸基やカルボキシ基を誘導体化することでグリホサート類を低極性化し、LCカラムや配管などへの吸着を抑え、測定しやすい物質に変換します。

TBDMS (t-Butyldimethylsilyl) 化による誘導体化
シリル化試薬の中で反応性と安定性のバランスが良い。
しかし、水があると分解するため、**水分に注意**。



固相誘導体化の原理



固相カートリッジ中で精製及び誘導体化を可能にした。



グリホサート類 分析キット

Sample



Information

残留農薬基準値

はちみつ

グリホサート 0.05 ppm

グルホシネート 0.01 ppm

グルホシネート (D体及びL体)(代謝物Z [N-アセチルグルホシネート]を含む。) 及び代謝物B [3-メチルホスフィニコプロピオン酸]

Key Word

残留農薬分析

固相抽出

固相誘導体化

AiSTI SCIENCE

Product

Presh-SPE AXs



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

【試料抽出】

はちみつ：10 g
 添加水 40 mL
 手で激しく振とう
 全容を50 mLに水で調製
 振とう：10分
 静置：5分
 遠心分離：5分

上澄み液：分取 100 μ L

添加 ACN-水(4/1) 890 μ L
 添加 疑似マトリックス水溶液 10 μ L
 リン酸 20 ppm/クエン酸 400 ppm

撈拌
 静置：5分
 遠心分離：1分
 試料抽出液(1mL)

50倍希釈

【固相誘導体化】

コンディショニング
 ACN-水(3/1) 100 μ L
 Presh-SPE AXs：保持

負荷[保持] 試料抽出液 100 μ L

洗浄 ACN-水(3/1) 100 μ L

【固相脱水誘導体化(SPDhD)】

脱水 ACN 100 μ L x2
 誘導体化/溶出
 1% MTBSTFA-ACN 50 μ L

混合 ACN-MeOH(9/1) 950 μ L

最終検液

500倍希釈

前処理ポイント

- ・はちみつはタンパク質がほとんど含まれないため抽出時にACNを添加していません。
- ・リン酸/クエン酸を添加することで疑似マトリックスの効果があると推測されます。

測定条件

【測定装置】

LC-MS 8045 (島津製作所社)

【LC条件】

分析カラム：InertSustain C18

(100 mm \times 2.1 mm i.d., 3 μ m, GL Sciences社)カラム温度：40 $^{\circ}$ C

流速：0.2 mL/min

移動相 A; ACN

B; 1mM酢酸アンモニウム-MeOH

グラジエント

B; 30%(0-4min)-80%(4.5min-6.5min)

-30%(7-10min)

注入量：5 μ Lサンプルクーラー温度：15 $^{\circ}$ C

(バイアル内の結露を防ぐため)

【MS条件】

イオン化モード：ESI Positive

ネブライザーガス：3 L/min

ドラインガス流量：10 L/min

ヒーティングガス流量：10 L/min

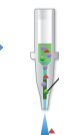
インターフェイス温度：300 $^{\circ}$ CDL温度：150 $^{\circ}$ Cヒートブロック温度：350 $^{\circ}$ C

Presh-SPE AXs を用いた固相抽出

コンディ
 ACN-水
 (3/1)
 100 μ L



抽出液負荷
 100 μ L



目的成分

夾雑成分

夾雑成分

水分

ここで固相カートリッジの内壁面を綿棒でふき取るとよい。

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

水分

洗浄
 ACN-水
 (3/1)
 100 μ L



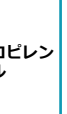
脱水
 ACN
 100 μ L x2



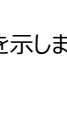
誘導体化/溶出
 1%MTBSTFA
 -ACN
 50 μ L



溶媒添加
 MeOH-ACN
 (1/9)
 950 μ L



ポリプロピレン
 バイアル
 1000 μ L



結果と考察

グリホサート、グルホシネートおよびこれらの代謝物を含む5成分の検量線、回収率を示します(図1、表1)。いずれの成分も相関係数(R^2)、回収率、RSDともに良好な結果が得られました。

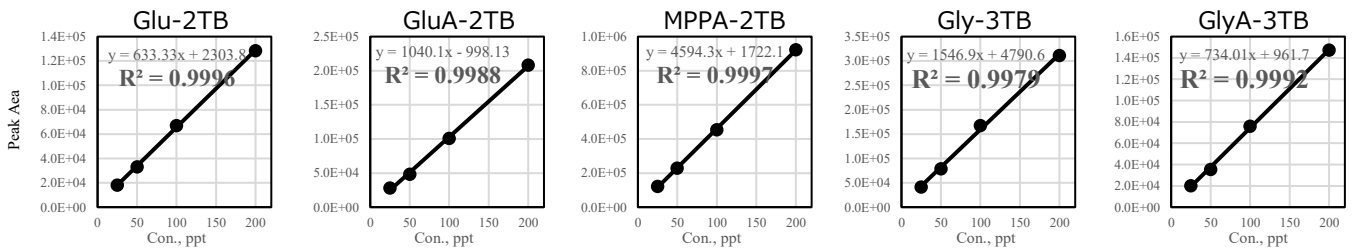


図1 検量線

TB：TBDMS (t-Butyldimethylsilyl)

表1 はちみつの添加回収試験結果

n=5

	Glu-2TB	GluA-2TB	MPPA-2TB	Gly-3TB	GlyA-3TB
RSD(%)	3	6	8	9	12
回収率(%)	122	104	115	130	125

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>