

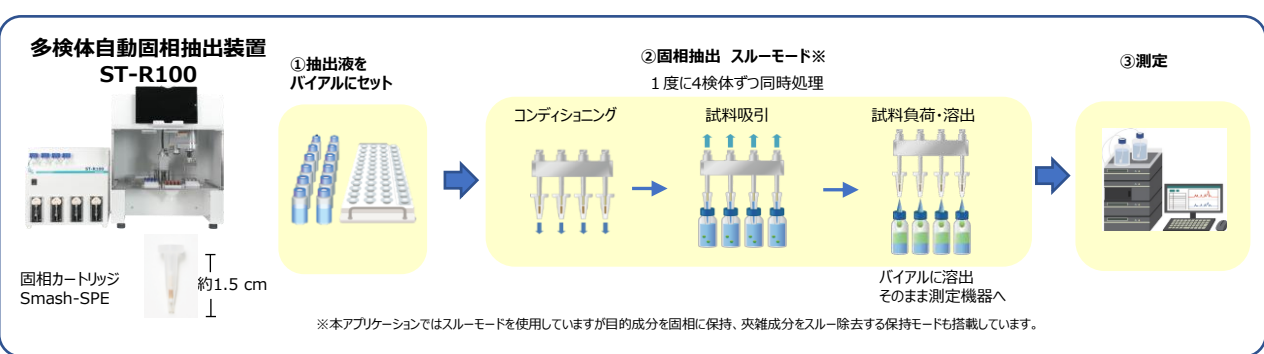
# 多検体自動固相抽出装置を用いた STQ-LC積層法

本アプリケーションは和歌山県農業協同組合様との共同研究によるものです。

## はじめに

本アプリケーションでは従来のSTQ法を更に小スケール化を行った方法をご紹介します。充填量数mgの小型固相Smash-SPEを用いて4検体同時に処理可能な多検体自動固相抽出装置ST-R100により多検体を短時間で効率的に精製することができます。

## ST-R100のシステム概要



## 前処理フロー

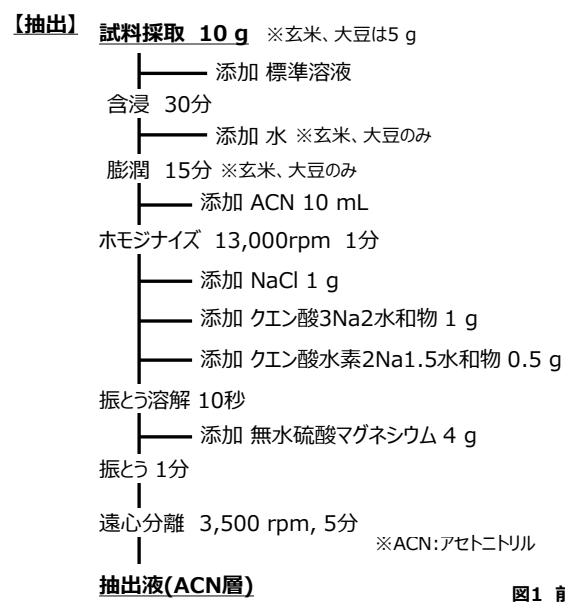
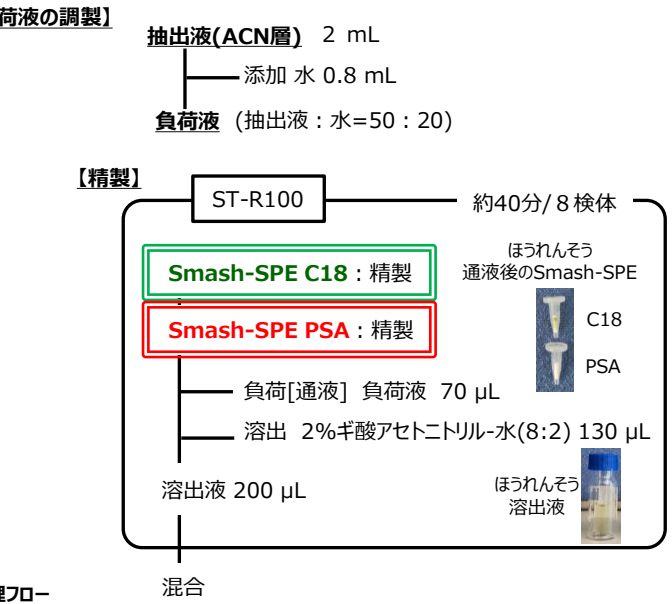


図1 前処理フロー

## 前処理ポイント

- 本方法ではSTQ-LC法に比べ使用固相が2個と一つ少なくなります。そこでC18の無極性相互作用による精製効果を高めるため、負荷液と溶出液に水を添加しました。検討の結果、負荷液は抽出液：水=50：20、溶出液はアセトニトリル：水=8：2としました。
- 本方法は固相への負荷量が数十μLと小スケール化となっておりますが最終検液の希釈倍率はSTQ-LC法と同様になります。



## 測定条件

和歌山県農業協同組合様にて測定

LC：ACQUITY UPLC H-Class PLUS System (Waters社製)  
MS：Xevo TQ-S micro System(Waters社製)  
カラム：ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm i.d×100 mm、粒子径1.8 μm) (Waters社製)  
カラム温度：40℃  
移動相：<A液> 0.5 mM酢酸アンモニウム-20%メタノール水 <B液> 0.5 mM酢酸アンモニウム-メタノール  
グラジエント条件：B液(%)：0%→10% (2.5 min)→100% (15-17 min)→0% (17.5-22.5 min)  
注入量：2.5 μL  
流量：0.4 mL/min  
測定モード：SRM

## 精製条件の検討

葉緑素を多く含むほうれんそうとタンパク質・脂質を多く含む大豆を用いて負荷液と溶出液の検討を行いました。

### 【検討1】精製後添加における負荷液と溶出液の比較

測定時のマトリックスの影響を調べるため、図2に示す負荷液と溶出液の組み合わせで精製した試料に精製後添加を行いました(添加濃度：試料中0.01ppm)。

その結果、ほうれんそうでは負荷液、溶出液ともに水を含まない場合は比較的極性が低い成分で回収率が低い傾向が見られました(図4)。これらは負荷液、溶出液ともに水の比率を増やすことで改善傾向がみられました。またメタノールよりアセトニトリルの方がその効果が大きくみられました。これらの結果よりC18での精製効果を高めるため負荷液は抽出液：水=50：20、溶出液は溶媒：水=8：2を選択しました。

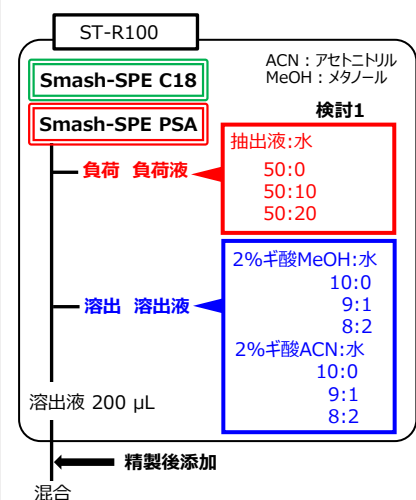


図2 検討1の精製フロー

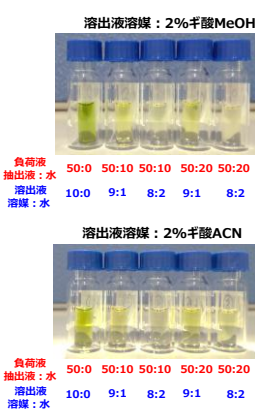


図3 ほうれんそうの溶出液

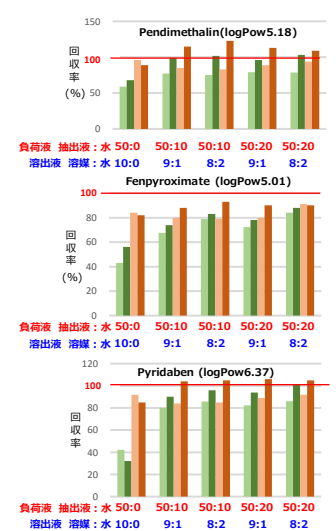


図4 精製後添加の回収率の比較

### 【検討2】抽出後添加における溶出液の比較

固相からの回収率を調べるため抽出後添加を行いました(添加濃度：試料中0.01ppm)。【検討1】で選択した条件のもと、溶出液の溶媒の種類をメタノールとアセトニトリルで比較しました(図5)。概ね同等の結果でしたが、ほうれんそう、大豆ともに比較的低極性の成分ではアセトニトリルの方が良好な回収率が得られました(図6)。以上の結果から負荷液は抽出液：水=50：20、溶出液は2%ギ酸アセトニトリル：水=8：2を選択しました。

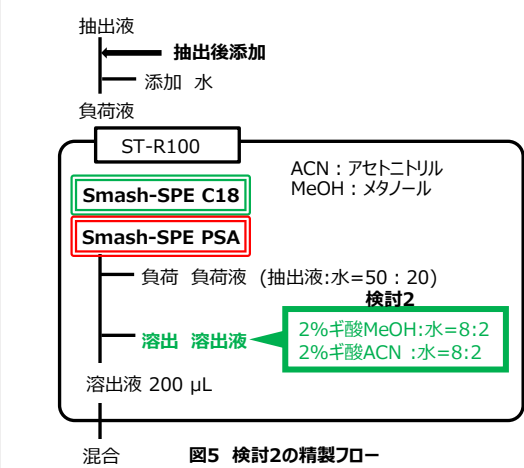


図5 検討2の精製フロー

## 結果

ほうれんそう、玄米、大豆、いずれの試料も対象成分の約9割で回収率70～120%、RSD20%未満の良好な結果が得られました。回収率が70%未満または120%以上となった成分の半数以上はマトリックス検量線の定量値が良好なことから測定時のマトリックスの影響によるものと推測されました(図7)。

すべての試料でピリダリルが低回収率となりましたが、これはピリダリルのLogPowが8.1と極性が低いことから今回の条件ではC18から溶出されなかったと推測されます。

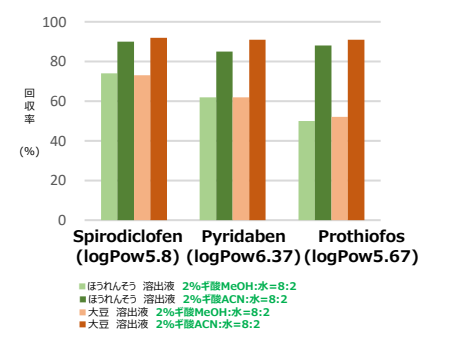


図6 抽出後添加の回収率の比較

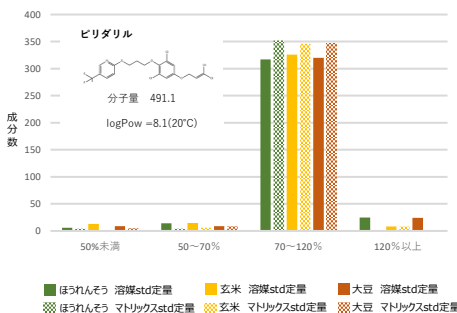


図7 回収率分布 (併行数n=5、添加濃度：試料中0.01ppm)



多検体自動固相抽出装置  
ST-R100  
For Smash SPE



Information  
第48回 農業残留分析研究会 講演要旨集 (p.154-163)

「多検体自動固相抽出装置を用いた残留農薬簡易・迅速分析法の検討」

島三記絵<sup>1)</sup>、西岡紀子<sup>2)</sup>、川上正美<sup>1)</sup>、小西賢治<sup>1)</sup>、黒田愛子<sup>2)</sup>、松尾俊介<sup>1)</sup>、森口仁文<sup>2)</sup>、齋藤勲<sup>1)</sup>、佐々野僚一<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>株式会社アイステイサイエンス、<sup>2)</sup>和歌山県農業協同組合)

Key Word  
残留農薬分析  
自動前処理装置  
固相抽出

AiSTI SCIENCE

Product  
ST-R100  
Smash-SPE C18  
Smash-SPE PSA  
凍結粉砕機フレステント 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

Table with columns for chemical name (化合物名), concentration (0.01ppm, 0.1ppm), and various performance metrics (回収率, RSD, etc.) for 大豆 (Soybean) and ほうれんそう (Spinach).

Table with columns for chemical name (化合物名), concentration (0.01ppm, 0.1ppm), and various performance metrics (回収率, RSD, etc.) for 大豆 (Soybean) and ほうれんそう (Spinach).

1) 添加サンプル+溶媒std x 100
2) 添加サンプル+マトリクスstd x 100
3) Smart-SPEを使用したSTQ-LC法の回収率
4) データなし
5) 未知試料からピークが検出されたため評価不可
6) ThiodicarbからMeyhomylへの分解の可能性あり