

トリホリンの測定方法

(1) 装置

高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いる。

(2) 試薬

アセトニリル、メタノール：高速液体クロマトグラフ用またはこれと同等のもの

酢酸、蒸留水：LC/MS用

トリホン標準品

(3) 試験溶液の調製

試料4 mLを10 mL容メスフラスコにとり、アセトニリル4 mLを加えて混合したのち、アセトニリル/精製水 (1/1,v/v) で定容して試験溶液とする。この容量比は試験溶液の状況、分析目的に応じて調整する。

(4) 高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) 操作条件

高速液体クロマトグラフ部

装置：Waters 製 Acquity UPLC H-Class

カラム：GL Science 製 InertSustain C8 (内径 2.1 mm × 長さ 150mm、粒径 3 μm)

またはこれと同等の分離能を有するもの

移動相：

時間 (分)	溶液組成 (v/v, %)	
	0.1%酢酸	0.1%酢酸アセト ニリル
0	80	20
1	80	20
9	2	98
17	2	98
18	80	20
26	80	20

注入量：4 μL

流速：0.25 mL/min

カラム温度：40°C

質量分析部

装置：Waters 製 Acquity TQD

イオン化モード：ESI

極性モード：負イオンモード

脱溶媒ガス温度：350°C

脱溶媒ガス流量：600 L/h

キャピラリー電圧：3 kV

イオン検出法：MRM

測定イオン：プリカーサーイオン m/z 431

プロダクトイオン m/z 313

(5) 検量線の作成

トリホン分析用標準品 25.1 mg をメタノールで 50 mL に定容して 500 mg/L 溶液を調製した後、メタノールで希釈して 50 mg/L 溶液を調製する。この溶液をアセトニリル/精製水 (1/1, v/v) 混液で希釈して 0.2, 0.15, 0.1, 0.04, 0.02, 0.01 mg/L の標準溶液を調製する。この 4 μ L を上記の高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、得られたピーク面積を縦軸に、標準溶液の濃度を横軸に取り、最小二乗法により検量線を作成する。

(6) 定量試験

(3)で調製した試験溶液 4 μ L を(4)の条件の高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、得られたピーク面積から(5)の検量線によりトリホリンの重量を求め、試験溶液中のトリホリンの濃度を算出する。

(7) 備考

本方法では定量限界を0.08 ng (50 μ g /L) まで確保できるが、分析目的に応じて調整を行う。それ に伴い検量線濃度範囲も調整する。