

メチダチオンの測定方法

(1) 装置

高速液体クロマトグラフ及びタンデム型質量分析計(LC/MS)を用いる。

(2) 試薬

アセトン: 高速液体クロマトグラフ用

アセトニトリル: 高速液体クロマトグラフ用

ギ酸: 試薬特級又はこれと同等以上のもの

精製水: 高速液体クロマトグラフ用

固相抽出カラム: GL-Science製 RP-1 plus又はこれと同等のもの

メチダチオン(DMTP)標準品

(3) 試験溶液の調製

試料をガラスフィルター(日本理化学器械 GF-3またはこれと同等のもの)でろ過し、ろ紙上の残渣は少量のアセトンで洗浄し、試料に合わせる。

アセトン5 mL次いで精製水10 mLでコンディショニングした固相抽出カラム(GL Science製 RP-1 plus又はこれと同等のもの)に、流速10 mL/分で試料400 mLを通過する。通過後、精製水1 mLで洗浄し、アセトン10 mLで溶出させる。

アセトン溶出液を、40°C以下の水浴中でロータリーエバポレーターで濃縮し、窒素気流下で乾固させる。

2 mLのアセトニトリルに溶解させ、シリンジフィルター(Millipore Millex-LG φ0.2 μm又はこれと同等のもの)を通し試験溶液とする。

(4) 液体クロマトグラフ及びタンデム型質量分析計操作条件

液体クロマトグラフ部

カラム: オクタデシルシランを化学的に結合させたシリカゲル(SUPELCO製Ascentis Express C18又はこれと同等のもの)を内径2 mm前後、長さ10 cm前後のステンレス管に充てんしたカラムを用いる。

移動相流速: 200 μL/分

カラム温度: 温度40°C

溶離液: 0.1%ギ酸(移動相A)及び0.1%ギ酸アセトニトリル(移動相B)を以下の通り配合したもの。

0.00分(A/B=70/30)→15.00分(A/B=5/95)→20.00分(A/B=5/95)→20.50分(A/B=70/30)

→30.00分(A/B=70/30)

質量分析部

イオン化モード: ESI(+)

イオン検出法: MRM

スプレーガス圧: 50 psi

スプレー電圧: 5500 V

脱溶媒ガス: 80 psi, 400°C

スキマー電圧: 41 V

プリカーサーイオン: m/z 303.1

プロダクトイオン: m/z 145.0

メチダチオンの0.008 ng(0.01 μg/L)が十分確認できるよう感度を調製する。

(5) 検量線の作成

0.2 mg/Lのメチダチオン標準溶液を調製し、これを原液として、0.001, 0.002, 0.01, 0.02及び0.1 mg/L標準溶液を調製した。それぞれ4 μLずつ液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、ピーク面積とメチダチオン重量(ng)から検量線を作成する。

(6) 定量試験

試験溶液4 μLを取り、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、(5)の検量線によりメチダチオンの重量を求め、次式により試料中のメチダチオン濃度を算出する。

$$\text{メチダチオン濃度}(\mu\text{g/L}) = \text{メチダチオン重量}(\text{ng}) \times 2(\text{mL}) \div 4(\mu\text{L}) \div 0.4(\text{L})$$