

トルトラズリル試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

トルトラズリル
トルトラズリルスルホキシド
トルトラズリルスルホン

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

アセトニトリル 高速液体クロマトグラフ用に製造されたものを用いる。

水 高速液体クロマトグラフ用に製造されたものを用いる。

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム（150 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に強塩基性陰イオン交換樹脂150 mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

トルトラズリル標準品 純度が明らかなもの。

トルトラズリルスルホキシド標準品 純度が明らかなもの。

トルトラズリルスルホン標準品 純度が明らかなもの。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出法

(1) 脂肪の場合

試料5.00 gを量り採り、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、ホモジナイズした後、アセトニトリル20 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル及び*n*-ヘキサン層を採り、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採る。遠心分離した残留物にアセトニトリル20 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先に分離した*n*-ヘキサン層を加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を、先に分離したアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて50 mLとする。この溶液10 mLを、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に1 mol/Lアンモニア水及びメタノールの混液（1：1）10 mLを加えて溶かす。

(2) 脂肪以外の場合

試料5.00 gを量り採り、アセトニトリル20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル層にアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採る。遠心分離した残留物にアセトニトリル20 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先に分離した*n*-ヘキサン層を加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を、先に分離したアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて50 mLとする。この溶液10 mLを、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に1 mol/Lアンモニア水及びメタノールの混液（1：1）10 mLを加えて溶かす。

2) 精製法

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム（150 mg）に、メタノール5 mL及び水5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) 抽出法で得られた溶液を注入した後、メタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに2 vol%ギ酸・メタノール溶液10 mLを注入し、溶出液を採り、40°C以下でギ酸及びメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各標準品のトルトラズリルとして10 mg/100 mLアセトニトリル溶液を調製し、さらにアセトニトリルで希釈してトルトラズリルとして0.001～0.1 mg/Lの溶液を数点調製する。それぞれLC/MS又はLC/MS/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液をLC/MS又はLC/MS/MSに注入し、5. の検量線で各化合物のトルトラズリルとしての含量を求め、その和を求める。

7. 確認試験

LC/MS又はLC/MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.0～6.0 mm、長さ100～250 mm、粒子径2～5 µm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び0.1%ギ酸溶液混液（1：99）から（1：0）までの濃度勾配を35分間で行い、（1：0）で10分間保持する。

イオン化モード：ESI（－）

主なイオン (m/z) : 424 (トルトラズリル)
440 (トルトラズリルスルホキシド)
456 (トルトラズリルスルホン)

保持時間の目安 : 35分 (トルトラズリル)
30分 (トルトラズリルスルホキシド)
33分 (トルトラズリルスルホン)

9. 定量限界

各化合物もトルトラズリルとして0.001 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

トルトラズリル、トルトラズリルスルホキシド及びトルトラズリルスルホンを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配後、強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムにより精製後、LC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

- (1) トルトラズリルスルホキシド10.38 mg、トルトラズリルスルホン10.75 mgが、トルトラズリル10.0 mgに相当する。
- (2) 試験溶液の調製中に、トルトラズリルスルホキシドの一部がトルトラズリルスルホンに酸化されることがある。
- (3) LC/MSにおける標準溶液及び試験溶液の標準的な注入量は、内径3.0 mmのカラムにおいて10 μ Lであるが、カラム及び装置により最適な注入量が異なる場合があるので、必要に応じて最適注入量、移動相条件等を検討すること。
- (4) LC/MSにおける測定条件は用いる装置により、最適なイオン化方法、生成するイオンが異なる場合があるので、装置ごとに最適条件を検討すること。
- (5) 測定値が検量線の上限を超える場合は、試験溶液をアセトニトリルで適宜希釈して、検量線の範囲内で定量すること。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C