

## ハロスルフロンメチル試験法（畜水産物）

### 1. 分析対象化合物

ハロスルフロンメチル

### 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。

ハロスルフロンメチル標準品 本品はハロスルフロンメチル 97%以上を含む。

### 4. 試験溶液調製法

#### 1) 抽出

試料 10.0 g（脂肪の場合は試料 5.00 g）を量り採り、アセトン及び *n*-ヘキサン（1 : 2）混液 50 mL、0.1 mol/L 塩酸 6 mL 及び塩化ナトリウム 8 g を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上層のアセトン及び *n*-ヘキサン層を採る。下層のアセトン及び水層に *n*-ヘキサン 50 mL 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。上層のアセトン及び *n*-ヘキサン層を先のアセトン及び *n*-ヘキサン層に合わせ、正確に 100 mL とする。この 10 mL（脂肪の場合は 20 mL）を採り、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 20 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 20 mL で振とう抽出する。アセトニトリル層を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（3 : 1）混液 5 mL を加えて溶解する。

#### 2) 精製

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にアセトン及びメタノール（1 : 1）混液及びアセトン及び *n*-ヘキサン（3 : 1）混液各 10 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン（3 : 1）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及びメタノール（1 : 1）混液 10 mL を注入し、溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

ハロスルフロンメチル標準品のメタノール溶液を数点調製し、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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.002 mg/L である。

## 6. 定量

試験溶液を LC-MS 又は LC-MS/MS に注入し、5 の検量線でハロスルフロンメチルの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC-MS 又は LC-MS/MS により確認する。

## 8. 測定条件

(例)

### 1) LC-MS の場合

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 3  $\mu$ m

カラム温度：40°C

移動相：0.01 vol% 酢酸及び 0.01 vol% 酢酸・メタノール溶液 (1:4) 混液

イオン化モード：ESI (-)

主なイオン ( $m/z$ )：433、254、252

注入量：10  $\mu$ L

保持時間の目安：5 分

### 2) LC-MS/MS の場合

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 3  $\mu$ m

カラム温度：40°C

移動相：0.01 vol% 酢酸及び 0.01 vol% 酢酸・メタノール溶液 (17:3) 混液で 0.5 分間

保持した後、(1:9) までの濃度勾配を 3.5 分間で行い、5 分間保持する。

イオン化モード：ESI (-)

主なイオン ( $m/z$ )：プリカーサーイオン 435、プロダクトイオン 254

プリカーサーイオン 433、プロダクトイオン 252

注入量：2  $\mu$ L

保持時間の目安：8 分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

ハロスルフロンメチルを試料から塩酸酸性下アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 2) 混液で抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS 又は LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

### 2) 注意点

- ① ハロスルフロンメチルの測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

#### LC-MS 測定

定量イオン ( $m/z$ ) : 252

定性イオン ( $m/z$ ) : 433、254

#### LC-MS/MS 測定

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 433、プロダクトイオン 252

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 435、プロダクトイオン 254

- ② 抽出時に試料に塩酸を先に添加すると、鶏卵及び乳でゲル化することがあるので、アセトン及び *n*-ヘキサン混液を塩酸よりも先に試料に添加する。
- ③ はちみつ試料では、脂質をほとんど含有しないことから、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂操作を省略することが可能である。

## 11. 参考文献

なし

## 12. 類型

C