

エンドタール個別分析法

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC/MS/MS) : LCMS-8050
(島津製作所製)

2. 試薬試液

メタノール、ぎ酸 : 試薬特級

メタノール、アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフィー用

水 : 純水製造装置で製造した水 (オルガノ製 Analytic ,PRA-0015-0V0)

エンドタール標準品 : 純度 100.2% (和光純薬工業製)

C18 ミニカラム : InertSep C18 1000mg (ジーエルサイエンス製)

SAX ミニカラム : InertSep Slim-J SAX 1000mg (ジーエルサイエンス製)

3. 試験溶液の調製

(1) 固相抽出

C18 ミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、メタノール 5mL 及び水 5mL を流下させてカラムを洗浄し、ここに試料 50mL を 5~10mL/分の流速で流下させて流出液は捨てた。次にメタノール/水 (50 : 50 v/v) 混液 10mL を流下させて流出液を捨てた後、メタノール 20mL を流下させてエンドタールを溶出し、溶出液は減圧濃縮器を用いて 40℃以下で濃縮した後、通風で乾固した。残留物にメタノール 5mL を加えて溶解した。

(2) カラムクロマトグラフィー

SAX ミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、メタノール 10mL を流下させてカラムを洗浄し、先の溶解液を 5~10mL/分の流速で流下させて流出液は捨てた。次にメタノール 20mL を流下させて流出液を捨てた後、1%ぎ酸含有メタノール 30mL を流下させてエンドタールを溶出し、溶出液は減圧濃縮器を用いて 40℃以下で濃縮した後、通風で乾固した。残留物にメタノール/水(50 : 50 v/v)5mL を加えて溶解し、試験溶液とした。

4. 測定機器の操作条件

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC/MS/MS)の操作条件

充填剤 : Mightysil RP-18 GP、粒径 5μm

カラム : 内径 2.0mm、長さ 15cm、ステンレス製

カラム温度 : 40℃

溶離液 : 0.1%ぎ酸水溶液/アセトニトリル (90 : 10 v/v) 混液

流速 : 0.2mL/分

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法 (Negative)

ネブライザーガス流量：3L/分

ヒーティングガス流量：10L/分

ドライイングガス流量：10L/分

インターフェイス温度：300℃

DL 温度：250℃

ヒートブロック温度：400℃

CID ガス圧力：270kPa

インターフェイス電圧：-3kV

Q1 PreBias：19.0V

コリジョン電圧：16.0V

Q3 PreBias：26.0V

イオン化検出法：MRM 法

選択イオン：m/z 185.2 (Q1)

m/z 141.0 (Q3)

注入量：1μL

保持時間：約 3.6 分

5. 検量線の作成

エンドタール標準品 20mg (純度換算相当量) を正確に量り取り、メタノールに溶解して 100mL に定容し、200mg/L 標準原液を調製した。この原液をメタノール/水 (50 : 50 v/v) 混液で希釈して 0.01、0.02、0.05、0.1、0.15 及び 0.2mg/L の標準溶液を調製した。この 1μL を前記条件の液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、データ処理装置を用いてピーク高さを測定し、検量線を作成した。

6. 定量試験

試験溶液から 1μL を前記の液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、検量線よりエンドタールの重量を求め、試料中のエンドタールの濃度を算出した。

定量限界

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (mL)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	定量限界 (μg/L)
0.01	50	5	1	1

7. 回収試験

分析法確認のため、10 μ g/L 添加濃度における回収試験を 3 連で実施した。回収試験の結果を示す。

添加濃度 (μ g/L)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
10	92, 90, 86	89