

シメコナゾール個別分析法

1. 装置

高速液体クロマトグラフ：6A（島津製作所製）

2. 試薬試液

アセトニトリル、酢酸エチル、ヘキサン、アセトン：試薬特級

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）

シメコナゾール標準品：純度 99.4%（和光純薬工業製）

PLS-2 ミニカラム：InertSep PLS-2 1000mg（ジールサイエンス製）

中性アルミナミニカラム：InertSep Slim-J AL-N 1000mg（ジールサイエンス製）

3. 試験溶液の調製

(1) 固相抽出

PLS-2 ミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、アセトニトリル 5mL 及び水 5mL を流下させてカラムを洗浄し、ここに試料 100mL を 5~10mL/分の流速で流下させて流出液は捨てた。次に水/アセトニトリル（80：20 v/v）混液 10mL を流下させて流出液を捨てた後、アセトニトリル 10mL を流下させてシメコナゾールを溶出し、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。残留物にヘキサン/酢酸エチル（95：5 v/v）5mL を加えて溶解した。

(2) カラムクロマトグラフィー

中性アルミナミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、アセトン/水（95：5 v/v）混液 5mL 及びヘキサン 5mL を流下させてカラムを洗浄し、ここに先の溶解液を 5~10mL/分の流速で流下させて流出液は捨てた。次にヘキサン/酢酸エチル（95：5 v/v）混液 15mL を流下させて流出液を捨てた後、ヘキサン/酢酸エチル（70：30 v/v）混液 20mL を流下させてシメコナゾールを溶出し、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。残留物にアセトニトリル/水（50：50 v/v）混液 2mL を加えて溶解し、試験溶液とした。

4. 測定機器の操作条件

高速液体クロマトグラフの操作条件

充填剤：Inertsil ODS-3、粒径 5 μ m

カラム：内径 4.6mm、長さ 15cm、ステンレス製

カラム温度：40℃

溶離液：アセトニトリル/水（50：50 v/v）混液

流速：1.0mL/分

検出器：SPD-10A（紫外吸光光度計）

検出波長：210nm

注入量：40 μ L

保持時間：約 9.3 分

5. 検量線の作成

シメコナゾール標準品 20mg（純度換算相当量）を正確に量り取り、アセトニトリルに溶解して 100mL に定容し、200mg/L 標準原液を調製した。この原液をアセトニトリル／水（50:50 v/v）混液で希釈して 0.05、0.1、0.25、0.5、0.75 及び 1 mg/L の標準溶液を調製した。この 40 μ L を前記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、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 40 μ L を前記の高速液体クロマトグラフに注入し、検量線よりシメコナゾールの重量を求め、試料中のシメコナゾ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 (μ L)	定量限界 (μ g/L)
2	100	2	40	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	93, 87, 83	88