

ペンチオピラド個別分析法

1. 装置

液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS) : 6120

(アジレント・テクノロジー製)

2. 試薬試液

メタノール、アセトン、ヘキサン、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)

ペンチオピラド標準品 : 純度 99.9% (関東化学製)

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

NH₂ ミニカラム : InertSep Slim-J NH₂ 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 100mL 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 10mL を流下させてペンチオピラドを溶出し、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。残留物はヘキサン 5mL で溶解した。

(2) カラムクロマトグラフィー

NH₂ ミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、アセトン 5mL 及びヘキサン 10mL 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/アセトン (90 : 10 v/v) 混液 20mL を流下させて流出液を捨てた後、ヘキサン/アセトン (80 : 20 v/v) 混液 20mL を流下させてペンチオピラドを溶出し、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) 混液 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質量分析計(LC/MS)の操作条件

充填剤 : Inertsil ODS-3、粒径 4µm

カラム : 内径 2.1mm、長さ 10cm、ステンレス製

カラム温度 : 40℃

溶離液 : アセトニトリル/0.1%ぎ酸溶液 (70 : 30 v/v) 混液

流速：0.2mL/分
イオン化法：API-ES (Positive)
乾燥ガス温度：350℃
乾燥ガス流量：12L/分
ネブライザーガス：35psi
フラグメンター電圧：70V
キャピラリー電圧：4000V
イオン化検出法：SIM 法
選択イオン：m/z 360.0
注入量：2μL
保持時間：約 3.7 分

5. 検量線の作成

ペンチオピラド標準品 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 0.002、0.004、0.01、0.02、0.03 及び 0.04mg/L の標準溶液を調製した。この 2μL を前記条件の液体クロマトグラフ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 2μL を前記の液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、検量線よりペンチオピラドの重量を求め、試料中のペンチオピラドの濃度を算出した。

(1) 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)
0.004	100	5	2	0.1

7. 回収試験

分析法確認のため、1 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 (%)
1	99, 98, 97	98