

ピリベンカルブの測定方法

(1) 装置

高速液体クロマトグラフ及びタンデム型質量分析計(LC/MS/MS)を用いる。

(2) 試薬

アセトニトリル: 特級又はこれと同等以上のもの

メタノール: LC/MS用

精製水: 脱イオン水をMilli Q Systemで精製したもの 又はこれと同等以上に精製された水

酢酸アンモニウム: 試薬特級

HPLC用前処理フィルター: Millipore Millex-LG φ0.2 μm又はこれと同等のもの

ピリベンカルブ標準品

メチル=[2-クロロ-5-[(Z)-1-(6-メチル-2-ピリジルメトキシイミノ)エチル]ベンジル]カルバマート標準品(以下、異性体)

(3) 試験溶液の調製

試料1 mLをHPLC用前処理フィルターでろ過し、必要に応じて精製水で希釈する。

(4) 液体クロマトグラフ及びタンデム型質量分析計操作条件

液体クロマトグラフ部

カラム: オクタデシルシランを化学的に結合させたシリカゲル(クロマニックテクノロジーズ製Sunniest RP-AQUA又はこれと同等のもの、粒径5 μm)を内径2 mm前後、長さ15 cm前後のステンレス管に充填したカラムを用いる。

移動相流速: 200 μL/分

カラム温度: 温度40°C

溶離液: 精製水(移動相A)、メタノール(移動相B)、0.2 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液(移動相C)を以下の通り配合したもの。

0.00分(A/B/C=90/5/5)→10.00分(A/B/C=5/90/5)→18.00分(A/B/C=5/90/5)

質量分析部

イオン化モード: ESI(+)

イオン検出法: MRM

コーンガス流量: 50 L/h

キャピラリー電圧: 3500 V

脱溶媒ガス: 800 L/h, 350°C

ソースブロック温度: 120°C

コーン電圧: 30 V

コリジョン電圧: 20 V

プリカーサーイオン: m/z 362.4

プロダクトイオン: m/z 239.0

ピリベンカルブ、異性体いずれも、0.02 ng(0.001 mg/L)が十分確認できるよう感度を調製する。

(5) 検量線の作成

400 mg/Lのピリベンカルブ標準溶液、及び、400 mg/Lの異性体標準溶液を調製し、これらを等量ずつ採取しメスフラスコに添加、精製水で希釈する。ピリベンカルブ、異性体それぞれが0.0005, 0.001, 0.005, 0.02及び0.04 mg/Lとなるよう標準溶液を調製する。これらを20 μLずつ液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、ピリベンカルブのピーク面積とピリベンカルブ重量(ng)、異性体のピーク面積と異性体重量(ng)から検量線を作成する。

(6) 定量試験

試験溶液20 μLを取り、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、(5)の検量線によりピリベンカルブ及び異性体の重量を求め、(3)の操作時の希釈倍率からピリベンカルブと異性体の濃度を算出する。両者の濃度を合算して総ピリベンカルブ濃度とする。