

メタフルミゾン

(1) 装置

高速液体クロマトグラフィータンデム型質量分析計(HPLC/MS/MS)を用いる。

(2) 試薬試液

ヘキサン、メタノール：高速液体クロマトグラフ用又はこれと同等のもの

水：蒸留水又は精製水

C₁₈ シリカゲルミニカラム：Empore High Performance Extraction Disc Cartridge

C18-SD Standard Density カラム(3M Company)又はこれと同等の性能を有するもの

メタフルミゾン *E*-異性体および *Z*-異性体標準品

(3) 試験溶液の調製

試料 10 mL を、あらかじめアセトニトリル及び蒸留水各 2 mL で平行化した C₁₈ カラムに負荷する。カラムをアセトニトリル/蒸留水 (4/6, v/v) 2 mL で洗浄した後、アセトニトリル 5 mL で溶出する。溶出液を窒素気流下、40°C で乾固し、等量のメタノール/蒸留水 (1/1, v/v) に溶解したものを、試験溶液とする。

(4) 分析条件

HPLC/MS/MS 条件

分析対象化合物：メタフルミゾン *E*-異性体および *Z*-異性体

HPLC システム：Agilent1200High Performance Liquid

Chromatograph(Aglient technologies GmbH)

質量分析計：API3200Q trap triple quadrupole mass spectrometer

(Applied Biosystems/MSD Sciex)

カラム：CadenzaCD-C18(φ 2.0×50 mm、3 μm ODS、インタクト株式会社)

移動相 A：0.1% (v/v) 蟻酸含有蒸留水

移動相 B：0.1% (v/v) 蟻酸含有メタノール

流速：0.20ml/min

カラム温度：40°C

グラジエント：0-5.5min 50-100%移動相 B

5.5-7.5min 100%移送相 B 保持

7.5-12min 50%移動相 B 保持

注入時：10 μL

イオン化：ESI

スキャン法：多反応モニタリング (MRM)

極性：ネガティブ

ニードル電圧：-4.5kV

ガーテンガス (CUR) : 10psi

ネブライザガス圧 (GS1) : 80psi

ターボガス温度 (TEM) : 600°C

コリジョンガス圧 (CAD) : 3psi

トランジェントおよび各部電圧は以下のとおり

Q1 ^A (amu)	Q3 ^B (amu)	Dwell Time (msec)	DP ^C (V)	EP ^C (V)	CEP ^C (V)	CE ^C (V)	CEP ^C (V)	備考
505.0	302.0	500	-4.5	-6.5	-22	-22	-4	定量イオン
505.0	285.1	500	-4.5	-6.5	-22	-58	-2	定量イオン

A : 第一四重極における質量電荷比 (疑分子イオン)

B : 第三四重極における質量電荷比 (生成イオン)

C : 四重極各部の電圧を表し、本機特有の値と考えられる。

(5) 検量線の作成

精秤したメタフルミゾン *E*-異性体および *Z*-異性体の分析標品 (約 10mg) をメタノール溶解、10mL に定容した。こうして得られた各ストック液 (約 1000mg/L) をメタノール/蒸留水 (1/1, v/v) にて希釈し、100 μg/L 液を得た。これをさらにメタノール/蒸留水 (1/1, v/v) にて希釈し、*E*-異性体および *Z*-異性体の各 10, 3.0, 1.0, 0.30 および 0.10 μg/L 標準溶液を得た。検量線の作成にあたって、上記の標準溶液を HPLC/MS/MS 分析に供した。注入濃度およびピーク面積の各対数値間の線形回帰により検量線を作成した。

(6) 定量

試験溶液から 10 μL ずつ取り、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、(5) の検量線によりメタフルミゾン *E*-異性体および *Z*-異性体の重量を求め、これに基づき試料中のメタフルミゾン *E*-異性体および *Z*-異性体濃度を算出する。