

ペンフルフェンの測定方法

(1) 装置

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計を用いる。

(2) 試薬試液

アセトニトリル、蒸留水：高速液体クロマトグラフ用又はこれと同等のもの

ギ酸：試薬特級

ペンフルフェン標準品

固相抽出カラム：内径15mm、長さ65mmのカラムにカラムクロマトグラフィー用C18シリカゲル（シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたもの）1000mgを充てんしたもの又はこれと同等の性能を有するもの

(3) 試験溶液の調製

試料10mLにギ酸10 μ Lを加え、あらかじめ0.1%ギ酸含有アセトニトリル5mL、次いで0.1%ギ酸5mLを流し入れ洗浄した固相抽出カラムに毎分10～20mLの流速で流し入れる。次に0.1%ギ酸5mL及び水/アセトニトリル/ギ酸（80:20:0.1, v/v/v）混液10mLで容器内を洗浄し、これを固相抽出カラムに同様に流し入れ、その流出液を捨てる。次に水/アセトニトリル/ギ酸（40:60:0.1, v/v/v）混液10mLで展開し、溶出液を20mLのメスフラスコに分取する。溶出液に水/アセトニトリル/ギ酸（40:60:0.1, v/v/v）混液で定容として、試験溶液とする。

(4) 液体クロマトグラフ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：シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたものを内径2～2.1 mm、長さ7.5～15 cmのステンレス管に充てんしたもの又はこれと同等の分離性能を有するものを用いる。

カラム槽温度：温度40 $^{\circ}$ C

溶離液：

水/アセトニトリル/5%ギ酸 の混液（60:30:10）から（10:80:10）までの濃度勾配を5分間で行い、（10:80:10）で7分間保持する。

質量分析部

イオンモード：ESI（+）

測定質量数：318/234（定量イオン）、318/141（確認イオン）

感度：ペンフルフェンの0.005ngが十分確認できるように感度を調整する。

(5) 検量線の作成

ペンフルフェン標準品より水/アセトニトリル/ギ酸（90:10:0.5, v/v/v）混液で0.005～0.02 mg/Lの溶液を数点調製し、それぞれ1 μ L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、ピーク高又はピーク面積を測定し検量線を作成する。

(6) 定量試験

試験溶液から1 μ L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)の検量線によりペンフルフェンの重量を求め、これに基づき、試料中のペンフルフェン濃度を算出する。