

テブフェンピラド

(1) 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフィーを用いる。

(2) 試薬試液

アセトン及びアセトニトリル：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：Waters Sep Pak® cartridge 500 mg/C18 又はこれと同等の性能を有するもの

テブフェンピラド標準品

(3) 試験溶液の調製

ア 抽出

試料 250 mL をメスシリンダーに量りとり、500 mL のフラスコに移す。50 mL のアセトニトリルを加え混合した後、WatmanGF/A 濾紙で濾過し、濾液を新しい 500 mL のフラスコに回収する。最初の 500 mL のフラスコは水で洗いこみ、先のフラスコに合わせる。

イ 精製、濃縮

試料全量を、あらかじめ、アセトニトリル 10 mL、アセトニトリル水溶液（アセトニトリル/水 (40/60, v/v)）でコンディショニングした C₁₈シリカゲルミニカラムに通液する。次いで、カラムに水 5 mL を 2 回流して洗浄した後吸引して水分を除去する。さらに、カラムにアセトニトリル水溶液（アセトニトリル/水 (40/60, v/v)）5 mL、空気 5 mL を流して洗浄した後、カラムを新しいガラス製シリンジ（10 cc）に付け替え、アセトニトリル 4 mL、空気 6 mL を流して溶出する。アセトニトリル溶出液を濃縮乾固する（窒素吹き付け）。この残留物にメタノール/水（50/50, v/v）を検量線に乗る濃度になるよう加えて溶解し、試験溶液とする。

(4) 高速液体クロマトグラフ操作条件

カラム : 内径 2.6 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm の Supelcosil LC-8-DB カラム又はこれと同等の分離性能を有するものを用いる。

移動相 : アセトニトリル：イオン交換水 = 68：32 (v/v)

流速 : 2.0 mL/min

注入量 : 50 μL

検出波長 : 240 nm

感度 : テブフェンピラドの 0.39 ng が十分確認できるよう感度を調整する。

(5) 検量線の作成

テブフェンピラド標準品より 100~1400 μg/L のアセトニトリル溶液を数点調製し、そ

れぞれ 50 μL ずつ液体クロマトグラフに注入し、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 50 μL ずつ取り、液体クロマトグラフに注入し、(5)の検量線によりテブフェンピラドの重量を求め、これに基づき試料中のテブフェンピラド濃度を算出する。