

## メトスルフロンの測定方法

### (1) 装置

紫外分光光度検出器付き高速液体クロマトグラフを用いる。

### (2) 試薬試液

アセトン、ヘキサン、酢酸エチル、アセトニトリル、塩酸、リン酸、塩化ナトリウム：特級またはこれと同等のもの

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフィ用

メトスルフロンの標準品

### (3) 試験溶液の調製

#### ア ヘキサン洗浄

試料1000mLに1N塩酸2mL、アセトン25mL、塩化ナトリウム約25g及びヘキサン100mLを順次添加し10分間振とうする。静置分離後、ヘキサン層は棄てる。

#### イ 抽出

水層に酢酸エチル150mLを添加し10分間振とう抽出する。静置分離後、酢酸エチル層は液相分離ろ紙（IPS）を用いて脱水ろ過し、ナス型フラスコに受ける。水層には新たに酢酸エチル100mLを添加、振とうし、同様の操作を繰り返す。あわせた酢酸エチル層を40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、通風で乾固する。残留物はアセトニトリル5mLに溶解する。

#### ウ カラムクロマトグラフィ

アセトニトリル10mLでアルミナミニカラムを洗浄後、イで得られた溶解液をアセトニトリル5mLを用いてカラムに移し流量2～3mL/minで流下させる。続いてアセトニトリル10mLを流下させ、流出液を棄てる。受器をナス型フラスコに変え、アセトニトリル/水（95:5, v/v）30mLを同様に流下させ、溶出液を40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、通風で乾固する。残留物をアセトニトリル/水（50:50, v/v）4mLに溶解し試料とする。

### (4) 測定機器の操作条件

カラム：内径4.6mm、長さ250mm

移動相：アセトニトリル/水/リン酸（300:700:1 v/v/v）

流量：1.1mL/min

測定波長：245nm

カラム温度：40℃

保持時間：13.7min

感度：メトスルフロンの2.0ng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

メトスルフロンの標準品の0.025～0.5mg/Lアセトニトリル溶液を数点調製し、それぞれ40μLずつ高速液体クロマトグラフに注入し、データ処理装置を用いてピーク高を測定し検量線を作成する。

### (6) 定量試験

試料から40μLを取り、高速液体クロマトグラフに注入し、(5)の検量線によりメトスルフロンの重量を求め、これに基づき、試料中のメトスルフロンの濃度を算出する。