

アゾキシストロピン

(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を用いる。

(2) 試薬試液

アセトニトリル、アセトン、塩化ナトリウム、酢酸エチル、ヘキサン、無水硫酸ナトリウム：試薬特級

水：蒸留水又は精製水

ケイ酸マグネシウムミニカラム：内径 10mm、長さ 25mm のカラムにカラムクロマトグラフィー用ケイ酸マグネシウム 900mg を充てんしたものの又はこれと同等の性能を有するもの

固相抽出カラム：内径 10mm、長さ 10mm のカラムにカラムクロマトグラフィー用スチレンジビニルベンゼン共重合体（ポリスチレン系ゲル、粒径 50 μ m）265mg を充てんしたものの又はこれと同等の性能を有するもの

アゾキシストロピン標準品

(3) 試験溶液の調製

A法 溶媒抽出法

ア 抽出

試料 200mL を 500mL の分液漏斗に量り取り、塩化ナトリウム 10g 及び酢酸エチル 50mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振とうし、暫時放置した後、酢酸エチル層を分取する。残った水層についても、酢酸エチル 50mL を加え、同様の振とう及び分取の操作を繰り返す。全酢酸エチル層を 300mL の三角フラスコに合わせる。

イ 脱水、濃縮

無水硫酸ナトリウム 20g を加え、時々振り混ぜながら 30 分間放置した後、300mL のナス型フラスコ中にろ過する。使用した三角フラスコを酢酸エチル 20mL で洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗い、その洗液をナス型フラスコに合わせ、すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40 以下で溶媒を留去する。この残留物にヘキサン及びアセトンの混液（9:1）5mL を加えて溶解する。

ウ カラムクロマトグラフィー

あらかじめ、ケイ酸マグネシウムミニカラムにヘキサン 5mL を流し入れ、洗浄しておく。これにナス型フラスコ中の溶液を流し入れ、ヘキサン及びアセトンの混液（9:1）30mL で展開し、流出液を捨てる。次いでヘキサン及びアセトンの混液（7:3）20mL で展開し、溶出液を 50mL のナス型フラスコに取り、すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40 以下で溶媒を留去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液（1:1）4mL を加えて溶解し、試験溶液とする。

B法 固相抽出法

試料 200mL を、あらかじめアセトン 5mL、次いで水 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、次いで水 10mL を流し、流出液を捨てた後、約 1 分間吸引を続け水分を除去する。アセトン 5mL で展開し、溶出液を 50mL のナス型フラスコに移し、すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40 以下で溶媒を留去する。以下、この残留物について A 法のウと同様の操作を行う。

(4) 高速液体クロマトグラフの操作条件

充てん剤：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用いる。

カラム：内径 2～6mm、長さ 15～30cm のステンレス管を用いる。

カラム槽温度：40

溶離液：アセトニトリル及び水の混液 (1:1) を用い、アゾキシストロピンが 15～20 分で流出するように流速を調整する。

検出器：波長 235nm で測定する。

感度：アゾキシストロピンの 1ng 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

アゾキシストロピン標準品より 500mg/L のアセトニトリル溶液を調製し、この溶液をアセトニトリル及び水の混液 (1:1) で希釈して 0.05～1 mg/L 溶液を数点調製し、それぞれを 20 μL ずつ高速液体クロマトグラフに注入し、ピーク高又はピーク面積を測定しアゾキシストロピンの検量線を作成する。

(6) 定量試験

試験溶液から 20 μL を取り、高速液体クロマトグラフに注入し、(5) の検量線によりアゾキシストロピンの重量を求め、これに基づき、試料中のアゾキシストロピンの濃度を算出する。