

シフルフェナミド

(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、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

ギ酸：試薬特級

水：蒸留水又は精製水

C₁₈ シリカゲルミニカラム：テフロン繊維 (PTFE) に 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) を固定し膜状にしたものを、内径 10mm、長さ 65mm のカラムに詰めたもの又は同等の性能を有するもの

(3) 試験溶液の調製

試料 400mL を、あらかじめメタノール 5mL 次いで水 5mL で洗浄した C₁₈ シリカゲルミニカラムに毎分 10mL の流速で流し入れる。カラムを通気乾燥後、メタノール 5mL で展開し、溶出液を 50mL のナス型フラスコに取る。すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40℃以下で溶媒を留去し、残留物にアセトニトリル及び水の混液 (8:2) 20mL を加えて溶解し、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：シリカゲルにオクチルシランを化学的に結合させたものを内径 4.6mm、長さ 7.5cm のステンレス管に充填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：60℃

溶離液：0.1%ギ酸水溶液及び0.1%ギ酸アセトニトリル溶液の混液(8:2)を2分間保持し、(8:2)から(0:100)までの濃度勾配を4分間で行う。

流量：0.5mL/分

質量分析部

イオンモード：ESI (+)

測定質量数：413.0→295.2 (定量)、413.0→203.1 (確認)

感度：シフルフェナミドの 0.01 ng 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

シフルフェナミド標準品より 100mg/L 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 (8:2) で希釈し、0.001~0.02mg/L 溶液を数点調製する。それぞれを 10 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 10 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)の検量線によりシフルフェナミドの重量を求め、これに基づき、試料中のシフルフェナミドの濃度を算出する。