

テフルベンズロン

(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ィーを用いる。

(2) 試薬試液

アセトニトリル、メタノール、シクロヘキサン及び酢酸エチル：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：Isolute Silica SPE カートリッジ 5 g/25 mL 又はこれと同等の性能を有するもの

テフルベンズロン標準品

(3) 試験溶液の調製

ア 抽出

試料 500 mL をメスシリンダーに量りとり、1000 mL のフラスコに移す。50 mL のシクロヘキサンを加え混合した後、2-3 分間振とうする。有機層を硫酸ナトリウムを含む濾紙で濾過して 250 mL のフラスコに移す。同様の操作を繰り返し、2 回分のシクロヘキサン抽出液を合わせる。

イ 濃縮、精製

得られた約 100 mL の抽出液を、ロータリーエバポレーター(<40°C)3-5 mL まで濃縮する。あらかじめ、C₁₈シリカゲルミニカラムに、シクロヘキサン 10 mL を流し入れ、洗浄しておく。これに、濃縮液全量を通液し、シクロヘキサン：酢酸エチル(70:30、v/v)30 mL で溶出し、50 mL のフラスコに回収し、ロータリーエバポレーター(<40°C)で濃縮乾固する。この残留物にアセトニトリル：水：メタノール(70：20：10、v/v/v)を加えて溶解し、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 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm のオクタデシル化シリカゲル充填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：水：メタノール = 70：20：10 (v/v/v)

カラム温度 : 40°C

流速 : 1.0 mL/min

注入量 : 100 μL

検出波長 : 254 nm

感度 : テフルベンズロンの 0.088 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

テフルベンズロン標準品より 0.005~10 μg/mL のアセトニトリル溶液を数点調製し、そ

れぞれ 100 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 100 μL ずつ取り、液体クロマトグラフに注入し、(5)の検量線によりテフルベンズロンの重量を求め、これに基づき試料中のテフルベンズロン濃度を算出する。