

## フェノブカルブ (BPMC)

### (1) 装置

高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) を用いる。

### (2) 試薬試液

アセトン：試薬特級

ヘキサン：試薬特級

塩化ナトリウム：試薬特級

酢酸アンモニウム：試薬特級

無水硫酸ナトリウム：試薬特級

ジエチレングリコール：試薬特級

メタノール：高速液体クロマトグラフィー用

フロリジル (60~100mesh)：和光純薬工業(株)製 (130℃、15 時間活性化)

BPMC 標準品

### (3) 試験溶液の調製

- ① ヘキサン抽出： 試料 1L を 1.3L 容分液ロートに量りとり、アセトン 25mL、塩化ナトリウム 25 g、ヘキサン 100mL を加えて 10 分間振とう抽出する。静置分離後、ヘキサン層は無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙 (No.5) を通過させ脱水しながら 300mL 容ナス型フラスコにうける。水層には新たにヘキサン 100mL を加えて同様の操作を繰り返す。ヘキサン層を合せ、1%ジエチレングリコールアセトン溶液 0.5mL を加え、ロータリーエバポレーター (水浴 40℃以下) を用いて約 5mL まで減圧濃縮する。
- ② フロリジルカラムクロマトグラフィーによる精製： 少量のヘキサンを入れたクロマトグラム管の底部に無水硫酸ナトリウム約 5g を敷いた後、フロリジル 5g をヘキサンを用いて湿式充填する。更にその上に無水硫酸ナトリウム約 5g を積層した後、先の濃縮液をヘキサン 20mL を用いてナス型フラスコを洗いながらカラムに移し入れ、流速 2~3mL/分でカラムの上端まで流下させた後、ヘキサン 50mL を同様に流下させ流出液は棄てる。受器を 200mL 容ナス型フラスコに替え、アセトン/ヘキサン (10:90,v/v) 70mL を同様に流下させ、フェノブカルブを溶出する。溶出液は 1%ジエチレングリコールアセトン溶液 0.5mL を加え、ロータリーエバポレーター (水浴 40℃以下) を用いて約 2mL まで減圧濃縮後、アセトンを用いて 5mL 容試験管に移し入れ窒素気流下で乾固する。残留物は直ちにメタノール 5mL に溶解し測定溶液とする。

(4) 高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) 操作条件

カラム : TSK gel ODS-80Ts, 粒径  $5\mu\text{m}$ , 内径  $2.0\text{mm}$ , 長さ  $15\text{m}$   
移動相 :  $0.01\text{M}$  酢酸アンモニウム : メタノール =  $45 : 55$  (v/v)  
カラム温度 :  $40^\circ\text{C}$   
流速 :  $0.2\text{mL/min}$   
イオン化法 : API-ES (Positive)  
選択イオン :  $m/z$  208.1  
フラグメンター電圧 :  $40\text{V}$   
ドラインガス :  $10\text{L/min}$  ( $350^\circ\text{C}$ )  
ネブライザーガス :  $35\text{psi}$   
キャピラリー電圧 :  $4000\text{V}$

(5) 検量線の作成

フェノバルブ標準品  $10.0\text{mg}$  (純度換算相当量) を正確に量りとり、メタノールに溶解し、 $100\text{mL}$  に定容して  $100\text{ppm}$  標準原液とする。この原液をメタノールで希釈し、 $0.01, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2\text{ppm}$  標準溶液を調製する。この各  $2\mu\text{L}$  を前記 (4) の操作条件に設定した LC-MS に注入し、ピーク面積を測定し検量線を作成する。

定量限界濃度の回収試験用の検量線は  $0.005, 0.01, 0.1\text{ppm}$  標準溶液を調製して検量線を同様に作成する。

(6) 定量試験

測定溶液は残留量に応じてメタノールで希釈して、その各  $2\mu\text{L}$  を上記 (4) の操作条件に設定した LC-MS に注入してピーク高さを測定し、あらかじめ作成した検量線よりフェノバルブ量を求め濃度を算出する。