

ピラフルフェンエチルの測定方法

(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

水:蒸留水又は精製水

アセトニトリル:高速液体クロマトグラフ用又はこれと同等のもの

濃塩酸:試薬特級

ピラフルフェンエチル標準品

C₁₈シリカゲルミニカラム: Bond Elut™ C18 500 mg/3 mL又はこれと同等の性能を有するもの

(3) 試験溶液の調製

あらかじめ、C₁₈シリカゲルミニカラムにアセトニトリル10 mL、次いで水10 mLを流し入れ、洗浄しておく。これに、試料200 mLに、アセトニトリル10 mL、更に濃塩酸2 mLを加え、混合した溶液を流し入れ、流出液を捨てる。更に水10 mLで洗浄し、次いでアセトニトリル10 mLで展開し、溶出液を取る。溶出液をすり合わせ減圧濃縮器を用いて40°C以下で溶媒を留去する。この残留物に水及びアセトニトリルの混液(1:1)4 mLを加えて溶解し、試験溶液とする。

(4) 測定機器の操作条件

液体クロマトグラフ部

カラム:内径2.0 mm、長さ50 mm、粒径3 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。

カラム槽温度:温度40°C

注入量:20 µL

流速:0.2 mL/min.

溶離液: A: 0.1%ギ酸水溶液(v/v)、B: 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液(v/v)

溶離液A及びBの混液(60:40)から(10:90)までの濃度勾配を最初の3分間で行い、更に4分間保持する。

質量検出部

イオンモード:ESI(+)

測定質量数:413→339(定量)、413→289(確認)

感度:0.002 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

ピラフルフェンエチル標準品の1~100 µg/Lアセトニトリル溶液を数点調製し、それぞれを20 µL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ピラフルフェンエチル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、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、(5)の検量線によりピラフルフェンエチルの重量を求める。これに基づき、試料中のピラフルフェンエチルの濃度を算出する。