

エトベンザニド試験法

1. 分析対象化合物

エトベンザニド

2. 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。

3. 試薬, 試液

総則の3に示すものを用いる。

4. 標準品

エトベンザニド 本品はエトベンザニド99%以上を含む。

融点 本品の融点は92~93°Cである。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を420 μm の標準網ふるいを通るように粉碎した後, その10.0 gを量り採り, 水20 mLを加え, 2時間放置する。

これにアセトン100 mLを加え, 3分間細砕した後, ろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り, アセトン50 mLを加え, 3分間細砕した後, 上記と同様に操作して, ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ, 40°C以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。

n-ヘキサン100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い, 洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後, 静置し, *n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え, 上記と同様に操作して, *n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え, 時々振り混ぜながら15分間放置した後, すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い, その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ, 40°C以下で*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

b 精製法

内径15 mm, 長さ300 mmのクロマトグラフ管に, カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの, 次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ, カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させ

る。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、エーテル及び n -ヘキサン
の混液 (1 : 9) 50 mL を注入し、流出液は捨てる。次いでエーテル及び n -ヘキサンの混液
(3 : 2) 60 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器 (I) 中に採り、40°C 以下で
エーテル及び n -ヘキサンを除去する。この残留物に水及びメタノールの混液 (1 : 4) 5
mL を加え、すり合わせ減圧濃縮器 (I) のナス型フラスコに栓をして激しく振り混ぜ
る。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (850 mg) にメタノール 10 mL を注入し、
流出液は捨てる。次いで水及びメタノールの混液 (1 : 4) 10 mL を注入し、流出液は捨
てる。このカラムに上記の溶液を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器 (II) 中に採
る。すり合わせ減圧濃縮器 (I) のナス型フラスコ中の残留物に、水及びメタノールの
混液 (1 : 4) 5 mL を加え、上記と同様の操作を 3 回繰り返し、流出液をすり合わせ減圧
濃縮器 (II) 中に合わせ、50°C 以下で水及びメタノールを除去する。この残留物にアセ
トニトリル及び水の混液 (3 : 2) を加えて溶かし、正確に 2 mL としてこれを試験溶液と
する。

6. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 μm) を用いる。

クロマトグラフ管 内径 4.6 mm, 長さ 150 mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

検出器 波長 267 nm で操作する。

移動相 アセトニトリル及び水の混液 (3 : 2) を用いる。エトベンザニドが約 9 分で流
出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク
面積法により定量を行う。

7. 定量限界

0.01 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A