

フルスルファミド試験法

1. 分析対象化合物

フルスルファミド

2. 装置

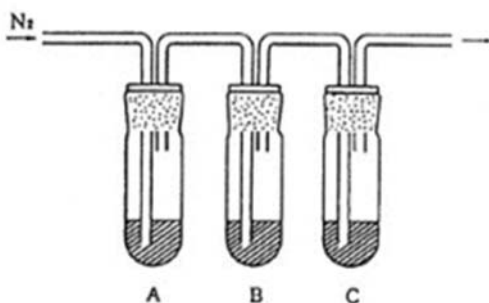
電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ、ガスクロマトグラフ・質量分析計及びメチル化装置を用いる。

メチル化装置の概略は、次の図による。

A：エーテル管

B：ジアゾメタン発生管

C：反応管



3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

ジアゾメタンエーテル溶液　メチル化装置のエーテル管にエーテル5 mLを入れる。メチル化装置のジアゾメタン発生管にジエチレングリコールモノエチルエーテル4 mL及び10 mol/L水酸化カリウム溶液2 mLを入れる。メチル化装置の反応管にエーテル50 mLを入れる。メチル化装置のジアゾメタン発生管に*N*-メチル-*N*-ニトロソ-*p*-トルエンスルホンアミド2 gをエーテル5 mLに溶かしたものを加えた後、窒素を5分間緩やかに通じて反応させ、反応管の溶液を採る。用時調製する。

4. 標準品

フルスルファミド　本品はフルスルファミド99%以上を含む。

融点　本品の融点は170～172℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を約1 kg精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

これにメタノール100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いた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、メタノール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20%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。ジクロロメタン50 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、ジクロロメタン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層にジクロロメタン50 mLを加え、上記と同様に操作して、ジクロロメタ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。次いでジクロロメタン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以下でジクロロメタンを除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液(1:4) 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シリカゲル(粒径63~200 μm) 10 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5g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、アセトン及び*n*-ヘキサンの混液(1:4) 80 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液(3:7) 140 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。

c メチル化

この残留物にジアゾメタンエーテル溶液をジアゾメタンの黄色が残るまで加え、密栓し、1時間放置した後、40°C以下でエーテルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

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10 g、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したものを、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。このカラムに上記の溶液を注入した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:19) 70 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:9) 150 mLを注入し、流出物をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C以下で酢酸エチル及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に5 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。試験結果は標準品について、5. 試験溶液の調製の c メチル化と同様に操作をして得られたものと一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径0.53 mm, 長さ15 mのケイ酸ガラス製の細管に, ガスクロマトグラフィー用5%フェニル-メチルシリコンを1.5 μmの厚さでコーティングしたもの又はガスクロマトグラフィー用メチルシリコンを1.5 μmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 180°Cで3分間保持し, その後毎分10°Cで昇温し, 250°Cに到達後2分間保持する。

試験溶液注入口温度 250°C

検出器 280°Cで操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。4-クロロ-*N*-(2-クロロ-4-ニトロフェニル) α, α, α-トリフルオロ-*N*-メチル-*m*-トルエンスルホンアミドが約10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。

c 確認試験

a 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品について, 5. 試験溶液の調製の c メチル化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。また, 必要に応じ, 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

0.005 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A