

## ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法

ニトロフラントインは1-アミノヒダントインを、フラゾリドンは3-アミノ-2-オキサゾリドン、フラルタドンは3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドンを分析対象とする。

### 1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

### 2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本産業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

多孔性ケイソウ土カラム(20mL保持用) 内径20~30mmのポリエチレン製のカラム管に、20mLを保持することができる量のカラムクロマトグラフィー用に製造した顆粒状多孔性ケイソウ土を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

o-ニトロベンズアルデヒド o-ニトロベンズアルデヒド(特級)

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

### 3. 標準品

3-アミノ-2-オキサゾリドン 本品は3-アミノ-2-オキサゾリドン 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は65~67°Cである。

1-アミノヒダントイン塩酸塩 本品は1-アミノヒダントイン塩酸塩 90%以上を含む。

分解点 本品の分解点は201~205°Cである。

3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン 本品は3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は115~120°Cである。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

検体を細切均一化した後、その5.00gを量り採り、0.1mol/L塩酸70mLを加えて細砕した後、毎分2,500回転で5分間遠心分離する。上澄液を採り、0.1mol/L塩酸を加えて100mLとする。

b 誘導体化

a 抽出法で得られた溶液 10mL を採り、0.05mol/L *o*-ニトロベンズアルデヒド・ジメチルスルホキシド溶液 0.4mL を加えて 37°C で 16 時間放置する。これに 0.1mol/L リン酸水素二カリウム溶液 5 mL を加え、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液約 0.8mL を加えて pH 7~8 に調整する。この溶液中に残留物が認められる場合には、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。

c 精製法

多孔性ケイソウ土カラム (20mL 保持用) に、b 誘導体化で得られた溶液を注入する。このカラムを 5 分間放置した後、酢酸エチル 100mL を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C 以下で酢酸エチルを除去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液 (1 : 1) 1.0mL を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 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 4. 試験溶液の調製の b 誘導体化及び c 精製法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。

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 2~5  $\mu$ m) を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0mm, 長さ 100~250mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

移動相 アセトニトリル及び 0.1% 酢酸溶液の混液 (1 : 4) から (4 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行う。3-アミノ-2-オキサゾリドンの誘導体が約 12 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。