

イソメタミジウム試験法

1. 分析対象化合物

イソメタミジウム

2. 装置

可視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

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム (特級)

ヘプタンスルホン酸ナトリウム 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム (特級)

4. 標準品

塩化イソメタミジウム 本品は塩化イソメタミジウム99%以上を含む。

融点 本品の融点は224~245°Cである。

5. 試験溶液の調製

(1) 筋肉, 脂肪, 肝臓及び腎臓の場合

筋肉の場合は, 可能な限り脂肪層を除き, 細切均一化した後, その5.00 gを量り採る。

脂肪の場合は, 可能な限り筋肉層を除き, 細切均一化した後, その5.00 gを量り採る。

肝臓及び腎臓の場合は, 細切均一化した後, その5.00 gを量り採る。

これにアセトニトリル15 mL及び0.25 mol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液15 mLを加え, 細砕した後, 毎分3,000回転で5分間遠心分離を行い, アセトニトリル・メタノール層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。沈殿にアセトニトリル15 mL及び0.25 mol/Lギ酸アンモニウムメタノール溶液15 mLを加え, 振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後, 上記と同様の条件で遠心分離を行い, アセトニトリル・メタノール層をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ, 30°C以下でアセトニトリル及びメタノールを除去する。

この残留物に酢酸エチル15 mL及び水15 mLを加え, 振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後, 酢酸エチル層を捨て, 水層に酢酸エチル15 mLを加え, 振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜる。酢酸エチル層を捨て, 水層に塩化ナトリウム1 gを加えて溶かし, アセトニトリル15 mLを加え, 振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後, アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。水層にアセトニトリル15 mLを加え, 振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後, アセトニトリル層をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ, 30°C以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に0.25 mol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液1.0 mLを加えて溶かし, これを試験溶液とする。

(2) 乳の場合

試料5.00 gを量り採り、アセトニトリル15 mL及び0.25 mol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行い、アセトニトリル・メタノール層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。沈殿にアセトニトリル15 mL及び0.25 mol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、前記と同様の条件で遠心分離を行い、アセトニトリル・メタノール層をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ、30℃以下でアセトニトリル及びメタノールを除去する。この残留物に酢酸エチル15 mL及び水15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、酢酸エチル層を捨て、水層に酢酸エチル15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜる。酢酸エチル層を捨て、水層に塩化ナトリウム1 gを加えて溶かし、アセトニトリル15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。水層にアセトニトリル15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、アセトニトリル層をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ、30℃以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に0.25 mol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性

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 オクチルシリル化シリカゲル（粒径5 μm）を用いる。

カラム管 内径4.0～6.0 mm，長さ150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

検出器 吸光波長380 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び0.005 mol/Lヘプタンスルホン酸ナトリウム含有0.03 mol/Lクエン酸溶液の混液（3：7）を用いる。イソメタミジウムが約10分で流出する流速に調整する。

b 定量

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

(1) 試験溶液の調製

抽出及び精製に用いるガラス器具は全て褐色のものを用いること。

(2) 標準溶液の調製

(1) 標準品をメタノールに溶解して標準原液とすること（塩化イソメタミジウム108 mg/L, イソメタミジウム100 mg/L）。本標準原液は, 0~4°C保存で1週間安定であること。

(2) 標準原液を0.25 mol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液で逡減希釈し, 検量線作成用標準溶液とすること。

(3) その他

本試験法によりイソメタミジウムが検出された場合には, 紫外可視多波長検出器及び質量検出器付き高速液体クロマトグラフを用いて確認することが望ましいこと。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A