

## チルミコシン試験法

### 1. 分析対象化合物

チルミコシン

### 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

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

強酸性陽イオン交換体ミニカラム (500 mg) 内径8~9 mmのポリエチレン製のカラム管にプロピルベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲル500 mg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。

リン酸緩衝液 (pH 2.5) リン酸一ナトリウム7.80 gを水に溶かして1,000 mLとし、これにリン酸を加えてpH 2.5に調整する。

リン酸緩衝液 (pH 3.0) リン酸一ナトリウム7.80 gを水に溶かして1,000 mLとし、これにリン酸を加えてpH 3.0に調整する。

### 4. 標準品

チルミコシン 本品はチルミコシン99%以上を含む。

### 5. 試験溶液の調製

#### a 筋肉、肝臓及び腎臓の場合

##### (1) 抽出法

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。

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。

これにメタノール及び1.2%メタリン酸溶液の混液 (1:1) 35 mLを加え、細砕した後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い、綿栓ろ過する。

##### (2) 精製法

強酸性陽イオン交換体ミニカラム (500 mg) に、メタノール3 mL及び水3 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに(1) 抽出法で得られた溶液を注入した後、メタノール及びリン酸緩衝液 (pH 3.0) の混液 (9:1) 3 mL、水5 mL及び0.1 mol/Lリン酸二カリウム溶液3 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにメタノール及び0.1 mol/Lリン酸二カリウム溶液の混液 (9:1) 10 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でメタノール及び水を除去する。この残留物にアセトニトリル

及び0.05 mol/Lリン酸二カリウム溶液の混液（3：7）1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

b 脂肪の場合

(1) 抽出法

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。

これにメタノール及び0.4%メタリン酸溶液の混液（1：1）35 mLを加え、細砕した後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い、綿栓ろ過する。

(2) 精製法

a 筋肉、肝臓及び腎臓の場合の(2) 精製法を準用する。

c 乳の場合

(1) 抽出法

試料10.0 gを量り採り、メタノール及び1.2%メタリン酸溶液の混液（1：1）35 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10分間遠心分離を行い、綿栓ろ過する。

(2) 精製法

a 筋肉、肝臓及び腎臓の場合の(2) 精製法を準用する。

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。

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290 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及びリン酸緩衝液（pH 2.5）の混液（1：3）を用いる。チルミコシンが約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。

7. 定量限界

筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓 0.05 mg/kg

乳 0.01 mg/kg

## 8. 留意事項

### (1) 試験溶液の調製

精製法において用いる強酸性陽イオン交換体ミニカラムは、予め標準品を用いて、その保持及び溶出性能を確認すること。

### (2) 標準溶液の調製

(1) チルミコシン10.0 mgに相当する標準品をメタノールに溶解してチルミコシン標準原液とすること（チルミコシン100 mg/L）。本標準原液は、0～4℃保存で3か月間安定であること。

(2) チルミコシン標準原液を0.05 mol/L リン酸二カリウム溶液で逡減希釈し、検量線作成用標準溶液とすること。

### (3) その他

本試験法によりチルミコシン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