

トリクラミド試験法

1. 分析対象化合物

トリクラミド

2. 装置

電子捕獲型検出器付きガス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。

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム カラムクロマトグラフィー用に製造した合成ケイ酸マグネシウム（粒径150～250 μm）を130℃で12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。これに対して水を5%加える。

凝固液 塩化アンモニウム2 g及びリン酸4 mLに水を加えて400 mLとする。

4. 標準品

トリクラミド 本品はトリクラミド99%以上を含む。

融点 本品の融点は73～74℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体約1 kgを精密に量り、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。

これにアセトニトリル及びメタノールの混液（1：1）100 mLを加え、振とう機を用いて30分間激しく振り混ぜた後、静置し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトニトリル及びメタノールの混液（1：1）50 mLを加え、振とう機を用いて30分間激しく振り混ぜた後、上記と同様に操作して、ろ液を1,000 mLの分液漏斗に合わせる。これに5%塩化ナトリウム溶液300 mL及びジクロロメタン100 mLを加え、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100 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。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃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20 mLを加えて溶かし、凝固液50 mL及びケイソウ土2 gを加え、緩やかに振り混ぜた後、5分間放置し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸

引ろ過し、ろ液を300 mLの分液漏斗に移す。次いでアセトン及び凝固液の混液(2:5) 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、その洗液でろ紙上の残留物を洗い、吸引ろ過し、ろ液を上記の分液漏斗に合わせる。これにジクロロメタン50 mLを加え、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。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。この残留物にベンゼン5 mLを加えて溶かす。

b アセチル化

上記の溶液にピリジン1 mL及び無水酢酸1 mLを加え、密栓し、時々振り混ぜながら80°Cで30分間加熱し、冷後5%塩化ナトリウム溶液50 mL及び酢酸エチル50 mLを加え、300 mLの分液漏斗(Ⅰ)に移す。これに1 mol/L塩酸10 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300 mLの分液漏斗(Ⅱ)に移す。これに水50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を200 mLの三角フラスコに移す。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。次いで酢酸エチル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。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、2%ジエチレングリコールアセトン溶液0.1 mLを加え、40°C以下で酢酸エチルを除去する。

この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:24) 10 mLを加えて溶かす。

c 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10 gを酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:24)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酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:24)が残る程度まで酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:24)を流出させる。このカラムにb アセチル化で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液(1:24) 80 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) 80 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、2%ジエチレングリコールアセトン溶液0.1 mLを加え、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10 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 b アセ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。

操作条件

カラム充填剤 カラム担体に対してガスクロマトグラフィー用シリコンを5%含ませる。

クロマトグラフ管 内径3 mm、長さ1 mのガラス管を用いる。

カラム温度 190～220℃

試験溶液注入口温度 240～280℃

検出器 260～280℃で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとして高純度窒素を用いる。N-(1-ブトキシ-2, 2, 2-トリクロロエチル)-2-アセトキシベンズアミドが約3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

0.1 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A