

クミルロン試験法

1. 分析対象化合物

クミルロン

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。

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル（粒径150～450 μm）を130℃で12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷し、これに対して水5%加える。

4. 標準品

クミルロン 本品はクミルロン99%以上を含む。

融点 本品の融点は167～168℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を420 μmの標準網ふるいを通して粉砕した後、その10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン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、アセトン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℃以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%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。酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：4）100 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、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液（1：4）50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無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*n*-ヘキサン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に合わせ、40℃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30 mLを加え、100 mLの分液漏斗に移す。これに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 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、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。*n*-ヘキサン層に*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、上記と同様の操作を2回繰り返し、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

b 精製法

(1) 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

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*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5 gを入れ、カラム上端に少量の*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(1:19) 100 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) 100 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。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

(2) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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5 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5 gを入れ、カラム上端に少量の*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(1)合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー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(3:7) 100 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以下で酢酸エチル及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトニトリルを加えて溶かし、正確に2 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。

クロマトグラフ管 内径4.6 mm、長さ150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

検出器 波長215 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び20 mmol/Lリン酸水素二ナトリウム水溶液の混液(9:11)を用いる。クミルロンが約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。

7. 定量限界

0.02 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A