

## クロサンテル試験法

### 1. 分析対象化合物

クロサンテル

### 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。

リン酸緩衝液 (pH 3.3) リン酸一ナトリウム3.12 gを水に溶かして1,000 mLとし、リン酸を加えてpH 3.3に調整する。

### 4. 標準品

クロサンテル 本品はクロサンテル99%以上を含む。

融点 本品の融点は218°Cである。

### 5. 試験溶液の調製

#### a 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。

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70 mL及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン70 mLを加え、細砕した後、毎分2,600回転で5分間遠心分離を行い、アセトニトリル層を200 mLの分液漏斗 (I) 中に移し、*n*-ヘキサン層を200 mLの分液漏斗 (II) 中に移す。分液漏斗 (I) 中にアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン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し、*n*-ヘキサン層を分液漏斗 (II) 中に合わせる。分液漏斗 (II) 中にアセトニトリル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、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、*n*-プロパノール10 mLを加え、40°C以下でアセトニトリル及び*n*-プロパノールを除去する。この残留物にアセトニトリル5 mLを加えて溶かす。

#### b 精製法

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) に、アセトニトリル10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル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°C以下でアセトニト

リルを除去する。この残留物に水及びメタノールの混液（2：7）2.0 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

カラム充填剤 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 50℃

検出器 吸光波長369 nmで操作する。

移動相 メタノール及びリン酸緩衝液（pH 3.3）の混液（7：2）を用いる。クロサンテルが約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

筋肉及び肝臓 0.1 mg/kg，腎臓及び脂肪 0.3 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) 操作法

(1) 検体が腎臓又は脂肪の場合は，試験溶液を水及びメタノールの混液（2：7）で3倍に希釈した溶液で実施すること。

(2) 羊の組織が検体の場合には，保持時間約60分のところに検体に由来するピークが認められることがあるので，2回目以降に注入する試験溶液中のクロサンテルの位置に重ならないように配慮すること。

### (3) その他

本試験法によりクロサンテルが検出された場合には，紫外可視多波長検出器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