

シロマジン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

シロマジン

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を充填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、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、リン酸を加えてpH 3.0に調整する。

4. 標準品

シロマジン 本品はシロマジン99%以上を含む。

融点 本品の融点は220～227℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

(1) 筋肉の場合

検体を細切均一化した後、その5.00 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、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) 乳の場合

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。

(3) 卵の場合

卵の殻を除き、十分均一化した後、その5.00 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、均一化した後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い、綿栓ろ過する。

b 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 a 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、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。

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を用いる。

カラム管 内径3.0～6.0 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 波長240 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（1：49）を用いる。シロマジンが約5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

0.005 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、溶出性能及び精製効果を確認すると共に、定量限界が0.005 mg/kg以下であることを確認すること。

また、シロマジン標準品を用いて添加・回収試験を行い、強酸性陽イオン交換体ミニカラムの精製効果、回収率（90～100%）を確認すること。

(2) 標準溶液の調製

- (1) シロマジン10.0 mgに相当する標準品をメタノールに溶解してシロマジン標準原液とすること（シロマジン100 mg/L）。本標準原液は、0～4℃保存で6か月間安定であること。
- (2) シロマジン標準原液を0.05 mol/Lリン酸二カリウム溶液で通減希釈し、検量線作成用標準溶液とすること。

(3) その他

- (1) 本試験法によりシロマジ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。
- (2) シロマジンについて、以下の試験法については本通知の試験法と同等以上の性能を有すると認められる試験法であるので留意されたい。

シロマジン試験法の5. 試験溶液の調製のb 精製法を次の方法によるもの

b. 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a 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（pH3.0）の混液（9：1）3 mL、水5 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徐去する。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。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A