

## トリクラベンダゾール試験法

### 1. 分析対象化合物

トリクラベンダゾール, 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン

### 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

総則の3に示すものを用いる。

### 4. 標準品

トリクラベンダゾール 本品はトリクラベンダゾール99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は176°Cである。

5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン

本品は5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン98%以上を含む。

### 5. 標準溶液の調製

#### a 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン化法

標準品に無水エタノール1 mL及び酢酸1 mLを加えて溶かし、過酸化水素1 mLを加えて密栓し、よく振り混ぜた後、100°Cで2時間加熱し、室温になるまで放置する。これに水7 mLを加え、よく振り混ぜる。

#### 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、メタノール10 mL及び水10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン化法で得られた溶液を注入した後、水10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにメタノール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以下でメタノールを除去する。この残留物にメタノール1.0 mLを加えて溶かし、これを標準溶液とする。

### 6. 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25 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行い、アセトニトリル層を100 mLの分液漏斗中に移す。これにアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン25 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。遠心分離管の残留物にアセトニトリル25 mLを加え、1分間激しく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、アセトニトリル層をその分液漏斗中のアセトニトリル飽和*n*-ヘキサンに加える。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℃以下でアセトニトリル及び*n*-プロパノールを除去する。

b 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン化法

a 抽出法で得られたものに4. 標準溶液の調製の a 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン化法と同様の操作を行う。

c 精製法

b 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン化法で得られた溶液に5. 標準溶液の調製の b 精製法と同様の操作を行い、これを試験溶液とする。

## 7. 操作法

### a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準溶液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295 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び0.025 mol/lリン酸—ナトリウム溶液の混液(1:1)を用いる。5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンが約6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。

## 8. 定量限界

0.01 mg/kg (5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンとして)

## 9. 留意事項

(1) 標準溶液の調製

- (1) トリクラベンダゾール標準品をメタノールに溶解してトリクラベンダゾール標準原液とすること（トリクラベンダゾール109 mg/l, 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンとして100 mg/l）。本標準原液は、0～4℃保存で6ヶ月間安定であること。
- (2) 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン標準品をメタノールに溶解して5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン標準原液とすること（5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン100 mg/l）。本標準原液は、0～4℃保存で6ヶ月間安定であること。
- (3) トリクラベンダゾール標準原液をエタノールで逡減希釈し、試験溶液と同様の方法により酢酸及び過酸化水素で誘導体化し、精製したものをトリクラベンダゾール検量線作成用標準溶液とすること。
- (4) 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン標準原液をメタノールで逡減希釈し、5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オン標準溶液とする。本標準溶液は、高速液体クロマトグラフィーにおけるトリクラベンダゾール誘導体の保持時間の確認、紫外可視吸収スペクトル及び質量スペクトルの確認のために用いること。

(2) その他

本試験法によりトリクラベンダゾール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。

10. 参考文献

なし

11. 類型

A