

酸アンモニウム溶液（1：9）混液で希釈して0.0125～0.5mg/Lの標準溶液を数点調製する。それぞれHPLCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

## 6. 定量

試験溶液をHPLCに注入し、5の検量線で各物質の含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

## 8. 測定条件

### HPLC

検出器：VIS（測定波長：クリスタルバイオレット 590 nm、メチレンブルー 665 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.0～6.0 mm、長さ 100～250 mm、  
粒子径 2～5 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び0.01 mol/Lギ酸アンモニウム溶液の混液（1：9）から  
（1：0）までの濃度勾配を20分間で行い、（1：0）で10分間保持する。

保持時間の目安：12分（メチレンブルー）

## 9. 定量限界

クリスタルバイオレット 0.005 mg/kg

メチレンブルー 0.005 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

クリスタルバイオレット及びメチレンブルーを試料からアセトニトリル及びクエン酸・リン酸緩衝液（pH3.0）で抽出し、ジクロロメタンに転溶した後、HPLC-VISで測定し、LC/MSで確認する方法である。

### 2) 注意点

- ① ジクロロメタン転溶の際に溶媒が乳化する場合は、遠心分離等により層を完全に分離すること。
- ② HPLC-VIS 及び LC/MS における標準溶液及び試験溶液の標準的な注入量は、内径 3.0 mm のカラムにおいて 10 μL であるが、カラム及び装置により最適な注入量が異なる場合があるので、必要に応じて最適注入量を検討すること。
- ③ LC/MS における測定条件は用いる装置により、最適なイオン化方法、生成するイオンが異なる場合があるので、装置ごとに最適条件を検討すること。

## 11. 参考文献

春日ら、食品衛生学雑誌、32, 137（1991）

## 12. 類型

C