

## オルメトプリム、ジアベリジン、トリメトプリム及びピリメタミン試験法（畜水産物）

### 1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
オルメトプリム	オルメトプリム
ジアベリジン	ジアベリジン
トリメトプリム	トリメトプリム
ピリメタミン	ピリメタミン

### 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（HPLC-UV）又は多波長検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-DAD）

### 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。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

オルメトプリム標準品 本品はオルメトプリム99.2%以上含み、融点は231～235℃である。

ジアベリジン標準品 本品はジアベリジン98.0%以上を含み、融点は231～236℃である。

トリメトプリム標準品 本品はトリメトプリム99.9%以上を含み、融点は199～203℃である。

ピリメタミン標準品 本品はピリメタミン99.9%以上含み、融点は233～234℃である。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

試料10.0 gを量り採り、アセトニトリル50 mLを加えてホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離する。アセトニトリル層を分液ロートに採り、残留物にアセトニトリル20 mLを加えて激しく振り混ぜた後、上記と同様に遠心分離し、得られたアセトニトリル層を先の分液ロート中に合わせる。これに*n*-ヘキサン70 mLを加えて激しく振り混ぜた後、*n*-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層に*n*-プロパノール10 mLを加えて、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にクロロホルム10 mLを加えて溶解する。

#### 2) 精製

##### (1) 筋肉及び乳の場合

シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にクロロホルム10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、クロロホルム10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにクロロホルム及びメタノール (4 : 1) 混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール2.0 mLを加えて溶解し、これを試験溶液とする。

## (2) 肝臓及び魚類の場合

シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にクロロホルム10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、クロロホルム10 mL、クロロホルム及びメタノール (19 : 1) 混液10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにクロロホルム及びメタノール (9 : 1) 混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール2.0 mLを加えて溶解し、これを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

オルメトプリム、ジアベリジン及びトリメトプリム各標準品について、0.05～10 mg/Lのメタノール溶液を数点調製する。

ピリメタミン標準品について、0.05～10 mg/Lアセトニトリル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の検量線でオルメトプリム、ジアベリジン、トリメトプリム及びピリメタミンの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MS又はLC/MS/MSにより確認する。

## 8. 測定条件

### HPLC

検出器 : UV又はDAD (波長 230 nm付近の極大波長)

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 :

ジアベリジン、トリメトプリム及びオルメトプリム アセトニトリル及び0.025%リン酸溶液 (7 : 93) 混液

ピリメタミン アセトニトリル及び0.025%リン酸溶液 (17 : 83) 混液

保持時間の目安：ジアベリジン9分、トリメトプリム12分、オルメトプリム18分、ピリメタミン11分

## 9. 定量限界

オルメトプリム 0.02 mg/kg

ジアベリジン 0.02 mg/kg

トリメトプリム 0.02 mg/kg

ピリメタミン 0.02 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

オルメトプリム、ジアベリジン、トリメトプリム及びピリメタミンを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配により脱脂した後、シリカゲルミニカラムで精製して、それぞれHPLC-UV又はHPLC-DADにより測定する方法である。

## 11. 参考文献

なし

## 12. 類型

C