

ジメトモルフ試験法

1. 分析対象化合物

ジメトモルフ (*E*体)、ジメトモルフ (*Z*体)

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及び液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

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。

硝酸銀ケイ酸マグネシウム 水を5 w/w%含ませたカラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウムに粉碎した硝酸銀を5 w/w%となるように加えて十分混ぜ合わせたもの。用時調製する。

4. 標準品

ジメトモルフ (*E*体及び*Z*体) 本品はジメトモルフ (*E*体及び*Z*体) 98%以上を含む。

融点 本品の融点は127~148°Cである。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

(1) 果実及び野菜 (たまねぎを除く。) の場合

果実及び野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:1) 100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:1) 50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:1) 20 mLを用いて三角フラスコを洗い、そ

の洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で酢酸エチル及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：17）10 mLを加えて溶かす。

(2) たまねぎの場合

(1)と同様の操作を行い、その残留物にエーテル及び*n*-ヘキサンの混液（1：1）10 mLを加えて溶かす。

b 精製法

(1) 果実及び野菜（たまねぎを除く。）の場合

イ 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ、カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムにa 抽出法の(1)で得られた溶液を注入した後、アセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：17）90 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：7）100 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にメタノール1.5 mLを加えて溶かし、水3.5 mLを加える。

ロ オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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を注入し、流出液は捨てる。次いで水10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにb 精製法の(1)のイで得られた溶液を注入した後、水及びメタノールの混液（7：3）15 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水の混液（1：1）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℃以下でアセトニトリル及び水を除去する。この残留物に水及びメタノールの混液（1：1）を加えて溶かし、正確に5 mLとして、これを試験溶液とする。

(2) たまねぎの場合

イ 硝酸銀ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、硝酸銀ケイ酸マグネシウム5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ、カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムにa 抽出法の(2)で得られた溶液を注入した後、エーテル及び*n*-ヘキサンの混液（1：1）90 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：7）100 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（1：19）2 mLを加えて溶かす。

ロ アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液 (1 : 19) 10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで*n*-ヘキサン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにb 精製法の(2)のイで得られた溶液を注入した後、アセトン及び*n*-ヘキサンの混液 (1 : 19) 8 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液 (1 : 9) 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以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にメタノール1.5 mLを加えて溶かし、水3.5 mLを加える。

ハ オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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を注入し、流出液は捨てる。次いで水10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにb 精製法の(2)のロで得られた溶液を注入した後、水及びメタノールの混液 (7 : 3) 15 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水の混液 (1 : 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°C以下でアセトニトリル及び水を除去する。この残留物に水及びメタノールの混液 (1 : 1) を加えて溶かし、正確に5 mLとして、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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径5 µm) を用いる。

クロマトグラフ管 内径4.6 mm、長さ250 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

検出器 波長250 nmで操作する。

移動相 水及びメタノールの混液 (2 : 3) を用いる。ジメトモルフ (E体) が約10分、ジメトモルフ (Z体) が約12分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

標準品に記載された組成比のもとにジメトモルフ (E体) 及びジメトモルフ (Z体) の検量線を作成し、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。

c 確認試験

a 定性試験と同様の操作条件で液体クロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、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

0.01 mg/kg

8. 留意事項

1) 分析値

ジメトモルフは、ジメトモルフ (*E*体) 及びジメトモルフ (*Z*体) の和を分析値とすること。

2) ジメトモルフの標準品としては、*E*体及び*Z*体の混合物を使用すること。*E*体及び*Z*体それぞれのピーク面積 (又はピーク高さ) の和を用いて検量線を作成してもよいこと。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A