

ハロスルフロンメチル

(1) 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。

(2) 試薬試液

アセトニトリル、塩化ナトリウム、塩酸、ギ酸、酢酸エチル、ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、リン酸：試薬特級

水：蒸留水又は精製水

固相抽出カラム：内径 15mm、長さ 65mm のカラムにカラムクロマトグラフィー用 C₁₈ シリカゲル（シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたもの）1000mg を充てんしたものの又はこれと同等の性能を有するもの

NH₂シリカゲルミニカラム：内径 10mm、長さ 25mm のカラムにカラムクロマトグラフィー用アミノプロピル（NH₂）シリカゲル（シリカゲルにアミノプロピル基を化学的に結合させたもの）360mg を充てんしたものの又はこれと同等の性能を有するもの

ハロスルフロンメチル標準品

メチル 3 - クロロ - 5 - (4 , 6 - ジメトキシピリミジン - 2 - イルアミノ) - 1 - メチルピラゾール - 4 - カルボキシラート（以下「ハロスルフロンメチル転位体」という。）標準品

(3) 試験溶液の調製

A法 溶媒抽出法

ア 抽出

試料 200mL を 500mL の分液漏斗に量り取り、6mol/L 塩酸 2mL、塩化ナトリウム 10g 並びに酢酸エチル及びヘキサンの混液（1:1）100mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振とうし、暫時放置した後、有機溶媒層を分取する。残った水層についても、酢酸エチル及びヘキサンの混液（1:1）100mL を加え、同様の振とう及び分取の操作を繰り返す。全有機溶媒層を 300mL の三角フラスコに合わせる。

イ 脱水、濃縮

無水硫酸ナトリウム 20g を加え、時々振り混ぜながら 30 分間放置した後、300mL のナス型フラスコ中にろ過する。使用した三角フラスコを酢酸エチル及びヘキサンの混液（1:1）20mL で洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗い、その洗液をナス型フラスコに合わせ、すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40 以下で溶媒を留去する。

ウ カラムクロマトグラフィー

この残留物に酢酸エチル 5mL を加えて溶解する。

あらかじめ、NH₂シリカゲルミニカラムに酢酸エチル及びギ酸の混液（100:1）5mL を流し入れ、洗浄しておく。これにナス型フラスコ中の溶液を流し入れ、酢酸エチル及びギ酸の混液（100:1）10mL で展開し、溶出液を 50mL のナス型フラスコに取り、すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40 以下で溶媒を留去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液（1:1）1mL を加えて溶解し、試験溶液とする。

B法 固相抽出法

試料 200mL を 500mL の三角フラスコに量り取り、6mol/L 塩酸 2mL を加える。これを、あらかじめアセトニトリル 5mL、次いで水 5mL を流し入れ洗浄した固相抽出カラムに毎分 10~20mL の流速で流し入れ、次いで 0.1mol/L 塩酸及びアセトニトリルの混液（7:3）10mL 並びに水 10mL を流し入

れる。流出液を捨てた後、約 1 分間吸引を続け水分を除去する。アセトニトリル 10mL で展開し、溶出液を 50mL のナス型フラスコに取り、すり合わせ減圧濃縮器を用いて 40℃ 以下で溶媒を留去する。以下、この残留物について A 法のウと同様の操作を行う。

(4) 高速液体クロマトグラフの操作条件

充てん剤：シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたものを用いる。

カラム：内径 2～6mm、長さ 15～30cm のステンレス管を用いる。

カラム槽温度：40℃

溶離液：アセトニトリル、水及びリン酸の混液（60:40:0.1）を用い、ハロスルフロメチル及びハロスルフロメチル転位体がそれぞれ 10～15 分で流出するように流速を調整する。

検出器：波長 245nm で測定する。

感度：ハロスルフロメチル及びハロスルフロメチル転位体のそれぞれ 1ng が十分確認できるように感度を調整する。

(5) 検量線の作成

ハロスルフロメチル標準品及びハロスルフロメチル転位体標準品よりそれぞれ 500mg/L のアセトニトリル溶液を調製し、この溶液をアセトニトリル及び水の混液（1:1）で希釈して 0.05～1mg/L 溶液を数点調製し、それぞれを 20 μL ずつ高速液体クロマトグラフに注入し、ピーク高又はピーク面積を測定しハロスルフロメチル及びハロスルフロメチル転位体の検量線を作成する。

(6) 定量試験

試験溶液から 20 μL を取り、高速液体クロマトグラフに注入し、(5)の検量線によりハロスルフロメチル及びハロスルフロメチル転位体の重量を求める。このハロスルフロメチルの重量の値とハロスルフロメチル転位体の重量の値に係数 1.33 を乗じてハロスルフロメチルの重量に換算したものとを和し、これに基づき、試料中のハロスルフロメチルの濃度を算出する。