

## ポリカーバメート

### (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、アセトン、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、塩酸、ジクロロメタン、L-システイン塩酸塩、水酸化ナトリウム、ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、ヨウ化メチル：試薬特級

ポリエチレングリコール：平均分子量 400 のもの

硫酸水素テトラブチルアンモニウム：純度 98% 以上のもの

アルミナミニカラム：内径 10mm、長さ 25mm のカラムにカラムクロマトグラフィー用中性アルミナ 1710mg 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

C<sub>18</sub>シリカゲルミニカラム：内径 15mm、長さ 65mm のカラムにカラムクロマトグラフィー用 C<sub>18</sub>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）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

水：蒸留水又は精製水

ポリカーバメート標準品

### (3) 試験溶液の調製

#### ア 抽出、メチル化

試料 200mL を 500mL の分液漏斗に量り取り、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 15g 及び L-システイン塩酸塩 15g を加えた後、12mol/L 水酸化ナトリウムを加えて pH を 9.6~10 に調整する。60 分間放置後、0.4mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 5mL を加えた後、2mol/L 塩酸を加えて pH を 7.5~7.8 に調整し、0.05mol/L ヨウ化メチル含有ジクロロメタン及びヘキサンの混液（3:1）70mL 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、同混液 70mL 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ジクロロメタン及びヘキサンの混液（3:1）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、L-システイン塩酸塩 0.1g 及び 1% ポリエチレングリコールアセトン溶液 0.5mL を加え、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。この残留物に水 5mL を加えて溶解する。

#### ウ カラムクロマトグラフィー

あらかじめ、C<sub>18</sub>シリカゲルミニカラムにアセトニトリル 5mL、次いで水 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、水 5mL で展開し、流出液を捨てる。次いでアセトニトリル 5mL で展開し、溶出液を 50mL の三角フラスコに取る。

あらかじめ、アルミナミニカラムにアセトニトリル 5mL を流し入れ、洗浄しておく。これに三角フラスコ中の溶液を流し入れ、アセトニトリル 30mL で展開し、溶出液を 100mL のナス型フラスコに取り、L-システイン塩酸塩 0.1g 及び 1% ポリエチレングリコールアセトン溶液 0.5mL を加え、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。この残留物に水及びアセトニトリルの混液（7:3）2mL を加えて溶解し、試験溶液とする。

(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：水及びアセトニトリルの混液（7:3）を用い、ポリカーバメートから誘導されるジメチルジチオカルバミン酸メチル（以下「DMDC メチル」という）が 10～15 分で流出するように流速を調整する。

検出器：波長 270nm で測定する。

感度：ポリカーバメートの 1ng から誘導される DMDC メチル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

ポリカーバメート標準品より 2mg/L の水懸濁液を調製し、この 5mL を 300mL の分液漏斗に取り、水 200mL、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 15g 及び L-システイン塩酸塩 15g を加えた後、1.2mol/L 水酸化ナトリウムを加えて pH を 9.6～10 に調整する。60 分間放置した後、0.4mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 5mL を加えた後、2mol/L 塩酸を加えて pH を 7.5～7.8 に調整し、0.05mol/L ヨウ化メチル含有ジクロロメタン及びヘキサンの混液（3:1）70mL 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、同混液 70mL 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、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入過する。使用した三角フラスコをジクロロメタン及びヘキサンの混液（3:1）20mL で洗い、その洗液で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、L-システイン塩酸塩 0.1g 及び 1% ポリエチレングリコールアセトン溶液 0.5mL を加え、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。

この残留物を水及びアセトニトリルの混液（7:3）に溶解、希釈して、0.05～1 mg/L 溶液を数点調製し、それぞれ 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)の検量線によりポリカーバメートの重量を求め、これに基づき、試料中のポリカーバメートの濃度を算出する