５．操作法

ａ　検量線の作成

２，４，５－Ｔ標準品のメタノール溶液を数点調製し，それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。なお、４．試験溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合には、試料中0.01mg／kgに相当する試験溶液中の濃度は0.005mg／１である。

ｂ　定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、ａ　検量線の作成により２，４，５－Ｔの含量を求める。

ｃ　確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

ｄ　測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル　内径2.1㎜、長さ150㎜、粒子径３μm

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：５㎜ol／１酢酸アンモニウム溶液及び５㎜ol／１酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液（７：３）から（１：９）までの濃度勾配を20分間で行う。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法　ネガティブイオンモード

主なイオン（ｍ／ｚ）：

プリカーサーイオン253、プロダクトイオン195

プリカーサーイオン255、プロダクトイオン197

注入量：５μl

保持時間の目安：12分

分液漏斗に合わせる。これにエーテル50ml及び10％塩化ナトリウム溶液100mlを加え，振とう機を用いて５分間激しく振り混ぜた後，静置し，水層を300mlの分液漏斗(Ⅱ)に移す。これに４mol／１塩酸を加えてpH１以下に調整し，酢酸エチル50mlを加え，振とう機を用いて５分間激しく振り混ぜた後，静置し，酢酸エチル層を300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50mlを加え，上記と同様に操作して，酢酸エチル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20ml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。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ，40℃以下で約１mlに濃縮する。

ｃ　ブチルエステル化

ｂ　加水分解で得られた溶液を20mlのナス型フラスコに移し，更に室温で窒素気流下で乾固した後，ブチルエステル化剤１mlを加える。上記のナス型フラスコに還流冷却器を取り付けて，90℃の水浴中で30分間加熱した後，放冷する。これをあらかじめ10％塩化ナトリウム溶液50ml及びｎ－ヘキサン50mlを入れた200mlの分液漏斗に移し，振とう機を用いて５分間激しく振り混ぜた後，静置し，ｎ－ヘキサン層を200mlの三角フラスコに移す。水層にｎ－ヘキサン50mlを加え，上記と同様に操作して，ｎ－ヘキサン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ｎ－ヘキサン10ml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。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ，40℃以下で約２mlに濃縮する。

ｄ　精製法

内径15㎜，長さ300㎜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５ｇ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５ｇ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ｃ　ブチルエステル化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（１：19）50mlを注入し，流出液は捨てる。次いでエーテル及びｎ－ヘキサンの混液（３：17）150mlを注入し，溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り，40℃以下で約１mlに濃縮し，更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にｎ－ヘキサンを加えて溶かし，正確に10mlとして，これを試験溶液とする。

５．操作法

ａ　定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品について，４．試験溶液の調製のｃ　ブチルエステル化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。

操作条件

カラム　内径0.25㎜，長さ30ｍのケイ酸ガラス製の細管に，ガスクロマトグラフィー用５％フェニル－メチルシリコンを0.25μmの厚さでコーティングしたものを用いる。

カラム温度　50℃で１分間保持し，その後毎分25℃で昇温する。125℃に到達後，毎分10℃で昇温し，300℃に到達後５分間保持する。

試験溶液注入口温度　260℃

検出器　300℃で操作する。

ガス流量　キャリヤーガスとして窒素又はヘリウムを用いる。ｎ－ブチル（２，４，５－トリクロロフェノキシ）アセテートが約15分で流出する流速に調整する。