

## 酢酸メレンゲステロール試験法

### 1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

### 2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

### 3. 標準品

酢酸メレンゲステロール 本品は酢酸メレンゲステロール98%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

##### ① 筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓の場合

試料10.0 gを量り採る。これにn-ヘキサン飽和アセトニトリル50ml、n-ヘキサン50ml及び酢酸1 mlを加えて1分間細切均一化した後、無水硫酸ナトリウム20 gを加えて2分間細切均一化する。毎分3,000回転で5分間遠心分離した後、n-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を採る。残留物にアセトニトリル50mlを加えて2分間細切均一化した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層と合わせ、アセトニトリルで正確に100mlとする。この溶液から正確に5 mlを採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に0.1vol%ギ酸及びメタノールの混液(1:4) 1 mlを加えて溶かす。

##### ② ①に掲げる食品以外の場合

①の場合に準じて抽出を行う。

#### b 精製法

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000mg）にメタノール 5 ml並びに、0.1vol%ギ酸及びメタノールの混液（1：4） 5 mlを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに、a 抽出法で得られた溶液を注入した後、更に0.1vol%ギ酸及びメタノールの混液（1：4） 15mlを注入する。全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び0.1vol%ギ酸の混液（1：3）に溶かし、正確に 1 mlとしたものを試験溶液とする。

## 5. 操作法

### a 検量線の作成

酢酸メレンゲステロール標準品のアセトニトリル及び0.1vol%ギ酸の混液（1：3）の溶液を数点調製し、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、試料中0.0005mg/kgに相当する試験溶液中の濃度は0.00025mg/l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酢酸メレンゲステロールの定量を行う。

### 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 3 mm、長さ150mm、粒子径 3  $\mu$  m

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（1：3）から（1：9）までの濃度勾配を5分間で行い、その後（1：99）で5分間保持する。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ポジ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397、プロダクトイオン337、279

注入量：5  $\mu$  l

保持時間の目安：4分