⑤　メラミン　本品0.100ｇ（0.0995～0.1004ｇ）を量り、50mLのホモジナイザー用容器に入れ、内部標準液50μLをマイクロピペットを用いて加え、更に水・アセトニトリル混液（１：１）25mL及びｎ－ヘキサン10mLを加え、ホモジナイザーで30秒間かき混ぜた後、900×ｇで５分間遠心分離し、下層を抽出液とする。

抽出液１mLをマイクロピペットを用いて量り、あらかじめメタノール５mL及び水・アセトニトリル混液（１：１）５mLで順次洗浄したエチレンジアミン－Ｎ－プロピルシリル化シリカゲルミニカートリッジカラムに入れた後、水・アセトニトリル混液（１：１）３mLを加えて溶出液を集める。

この溶出液に１mol／L塩酸試液130μLをマイクロピペットを用いて加えたものを、あらかじめアンモニア水・メタノール混液（１：19）５mL、メタノール５mL及び水５mLで順次洗浄した強酸性陽イオン交換体ミニカートリッジカラムに入れ、0.1mol／L塩酸試液２mL及びメタノール１mLを順次加え、流出液は捨てる。次にアンモニア水・メタノール混液（１：19）５mLで溶出し、45℃、窒素気流中で溶媒を留去した後、残留物にギ酸（１→1,000）・アセトニトリル混液（１：１）２mLを加えて５秒間超音波処理し試料溶液とする。

別に、メラミン標準品0.01ｇ（0.0095～0.0104ｇ）を量り、水・アセトニトリル混液（１：１）を加えて溶かし、100mLの全量フラスコに入れ、更に水・アセトニトリル混液（１：１）を標線まで加えて100mLとし、標準原液とする。

標準原液の一定量にギ酸（１→1,000）・アセトニトリル混液（１：１）を加え、１mL中に0.0025μg、0.005μg、0.01μg、0.025μg及び0.05μgを含有するように正確に希釈する。各溶液１mL当たり、内部標準液を１μLの割合で加え、標準液とする。

試料溶液及び標準液１μLにつき、次の条件で液体クロマトグラフィー質量分析法によりメラミンの試験を行うとき、その量は、20μg／ｇ以下でなければならない。

操作条件

検出器：質量分析計（２つの質量分析部が直列に結合され、その間に衝突活性化室を有するものであること）

カラム：内径２㎜、長さ150㎜のステンレス管に粒径３μmのシリカゲルを基材とし、表面にカルバモイル基を導入した充填剤を充填する。

移動相：酢酸アンモニウム0.77ｇ（0.765～0.774ｇ）に水1,000mLを加えて溶かし、Ａ液とする。アセトニトリルをＢ液とし、以下の条件で送液する。

０－５分	95％Ｂ液
５－10分	95％Ｂ液→90％Ｂ液
10－20分	90％Ｂ液

流量：毎分0.2mL

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法（陽イオン検出モード）