

ベンジルアデニン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ベンジルアデニン（ベンジルアミノプリンをいう。）

2. 適用食品

野菜及び果実

3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

4. 試薬、試液

以下に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）

第1液：リン酸二水素カリウム68.0 gを量り、水を加えて溶かし、1,000 mLとする。

第2液：リン酸水素二カリウム87.1 gを量り、水を加えて溶かし、1,000 mLとする。

第1液1容量と第2液2容量を混和し、両液を用いてpH 7.0に調整する。

ベンジルアデニン標準品 本品はベンジルアデニン98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料20.0 gにアセトン100 mLを加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に10 mLを分取し、0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）40 mLを加え、酢酸エチル40 mL及び20 mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で約2 mLまで濃縮する。

2) 精製

ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール及び酢酸エチル各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及びメタノール各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アンモニア水、水及びメタノール（1：30：20）混液5 mLを注入して溶出液を採り、メタノールを加えて正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ベンジルアデニン標準品のメタノール溶液を数点調製し、LC-MS/MSに注入してピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.005 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でベンジルアデニンの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

（例）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3.5 μm

カラム温度：40°C

移動相：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液（4：1）から（1：19）までの濃度勾配を15分間で行う。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 226、プロダクトイオン 91、65

注入量：2 μ L

保持時間の目安：9分

10. 定量限界

0.005 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ベンジルアデニンを試料からアセトンで抽出し、中性条件下で酢酸エチルに転溶する。ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① アセトンを用いてベンジルアデニンの標準原液を調製する場合は、溶解度に注意する。ベンジルアデニンの1,000 mg/Lアセトン溶液を4°Cで保存した場合、析出が見られる。メタノールを用いれば1,000 mg/L溶液を調製可能である。

② ベンジルアデニンのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 226、プロダクトイオン 91
定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 226、プロダクトイオン 65

③ 試験法開発時に検討した食品：アスパラガス、かぼちゃ、すいか、りんご、ぶどう

12. 参考文献

多田 裕之ら、農産物中ベンジルアミノプリン分析法、食衛誌、**49**、136-140（2008）

13. 類型

C