

## アザペロン試験法（畜水産物）

### 1. 分析対象化合物

アザペロン  
アザペロール

### 2. 適用食品

畜水産物

### 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

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

アザペロン標準品 本品はアザペロン 98%以上を含む。

アザペロール標準品 本品はアザペロール 98%以上を含む。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム（特級）

50 mmol/Lギ酸アンモニウム緩衝液（pH 4.5） ギ酸アンモニウム3.15 gを量り、水990 mLを加えて溶かし、ギ酸でpH 4.5に調整した後、水を加えて1,000 mLとする。

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

##### ① はちみつ以外の場合

試料10.0 gにアセトン100 mLを加え、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、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に5 mLを分取し、40°C以下で約1 mLまで濃縮した後、*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、水10 mLを加えて40°C以下で約10 mLまで濃縮する。

##### ② はちみつの場合

試料10.0 gに水20 mLを加え溶解する。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水10 mL及びアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に5 mLを分取し、40°C以下で約1 mLまで濃縮した後水10 mLを加える。

#### 2) 精製

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）に、アセトニトリル及び水各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、アセトニトリル10 mLを注入し、流出液を捨てる。次いでアセトニトリル、アンモニア水及び水（70：1：30）混液10 mLを注入し、溶出液にアセトニトリル、アンモニア水及び水（70：1：30）混液を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

## 6. 検量線の作成

アザペロン及びアザペロール標準品をそれぞれアセトンに溶かして500 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜希釈してアセトニトリル、アンモニア水及び水（70：1：30）混液で希釈した溶液を数点調製し、それぞれLC-MS/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、5. 試料溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.00025 mg/Lである。

## 7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でアザペロン及びアザペロールの含量を求める。

## 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4 µm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び50 mmol/Lギ酸アンモニウム緩衝液（pH 4.5）混液（1：9）から（2：3）までの濃度勾配を10分間で行い、（2：3）で6分間保持した後、（19：1）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

アザペロン：プリカーサーイオン 328、プロダクトイオン 165、123

アザペロール：プリカーサーイオン 330、プロダクトイオン 149、121

注入量：10 µL

保持時間の目安

アザペロン：14分

アザペロール：13分

## 10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg

## 11. 留意事項

1) 試験法の概要

アザペロン及びアザペロールを試料からアセトン抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する（はちみつの場合は省略）。シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、アザペロンの分析値については、アザペロン及びアザペロールのそれぞれについて定量を行い、両者の含量の和を分析値とする。

## 2) 注意点

- ① アザペロン及びアザペロールは濃縮乾固した後再溶解操作を行うと回収率の低下がみられることがあるため、抽出液を濃縮する際には乾固させないように注意する。
- ② アザペロン及びアザペロールの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。

アザペロン

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 328、プロダクトイオン 165

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 328、プロダクトイオン 123

アザペロール

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 330、プロダクトイオン 121

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 330、プロダクトイオン 149

- ③ 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉・脂肪・肝臓、鶏の卵、牛の乳、はちみつ、うなぎ及びしじみ

## 12. 参考文献

なし

## 13. 類型

C