

プロヒドロジャスモン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

プロヒドロジャスモン

2. 適用食品

農産物

3. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-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。

プロヒドロジャスモン標準品 本品はプロヒドロジャスモンを97%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、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、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせて、40°C以下で約 20 mL に濃縮する。これに 10%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 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°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 20mL を加え *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 40 mL ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせて、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 20 mL とする。

2) 精製

クロマトグラフ管（内径 15 mm）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 10 g を *n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに、1) で得られた溶液から正確に 4 mL を分取して注入した後、*n*-ヘキサン 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン混液（1 : 19）200 mL を注入し、溶出液を 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を *n*-ヘキサンに溶解し、正確に 4 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

プロヒドロジャスモン標準品をアセトンに溶解して標準原液とする。*n*-ヘキサンで希釈し

た溶液を数点調製し、それぞれ GC/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、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の濃度は 0.005 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を GC/MS に注入し、6. の検量線でプロヒドロジャスモンの含量を求める。

8. 確認試験

GC/MS により確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：5%フェニルメチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：80℃（1分）－15℃/分－280℃（10分）

注入口温度：250℃

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（イオン化エネルギー）：EI（70 eV）

主なイオン（m/z）：184、153

注入量：2 μL

保持時間の目安：約 10.4 分及び約 10.6 分

10. 定量限界

0.005 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

プロヒドロジャスモンを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニリル/*n*-ヘキサン分配及び合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、GC/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① プロヒドロジャスモン標準品は、ヘキサンよりもアセトンに溶解性が高いため、標準原液をアセトンで調製した後、測定用標準溶液をヘキサンで調製する。なお、プロヒドロジャスモン標準品は *trans* 体 87%以上及び *epi* 体 12 %以下の混合物であり、クロマトグラム上は *trans* 体及び *epi* 体の順に溶出する。プロヒドロジャスモンは *trans* 体と *epi* 体の和を分析値とする。GC/MS の測定において、プロヒドロジャスモンの感

度が試験溶液の注入前後で大幅に変動する可能性があるため、あらかじめ試験溶液を数回注入して、感度を十分に安定させた後、測定を行う等の措置が必要である。また、試験溶液の夾雑物が次のクロマトグラムに影響を及ぼす可能性があるため、測定終了後カラムの焼き出しを十分に行う必要がある。

② 精製が不十分な場合は、以下のカラムを用いて精製を追加することができる。

a) シリカゲルミニカラム (690 mg)

シリカゲルミニカラム (690 mg) にエーテル及び *n*-ヘキサン各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに試料液をエーテル及び *n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 10 mL で負荷し、流出液は捨てる。次いで、エーテル及び *n*-ヘキサン混液 (3 : 17) 20 mL を注入し溶出液を採る。

b) グラファイトカーボンミニカラム (500 mg)

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに試料液を *n*-ヘキサン 10 mL で負荷し、さらに *n*-ヘキサン 10 mL を注入して全溶出液を採る。

12. 参考文献

環境省告示第 60 号「プロヒドロジャスモン試験法」(平成 15 年 4 月 10 日)

13. 類型

C