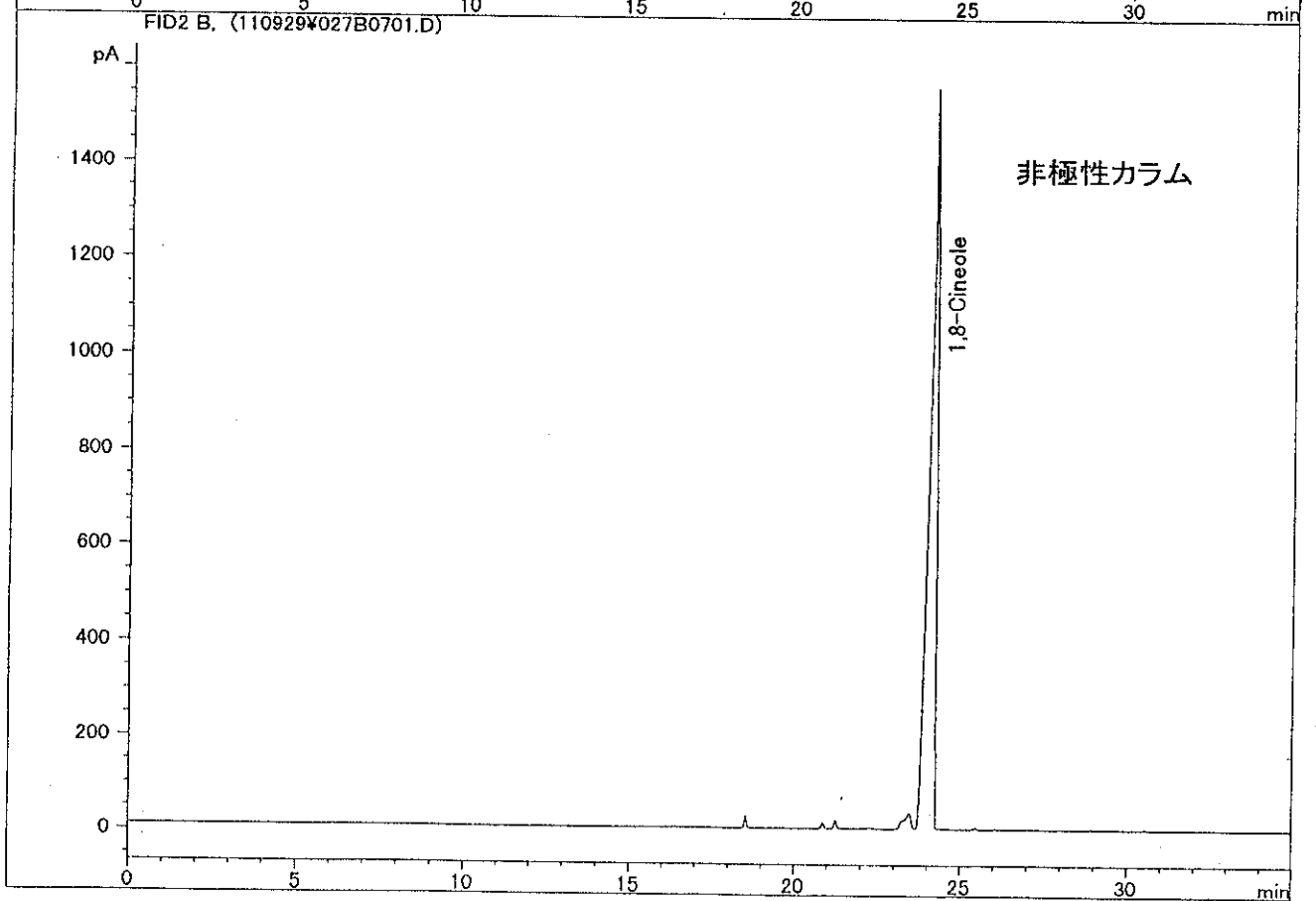
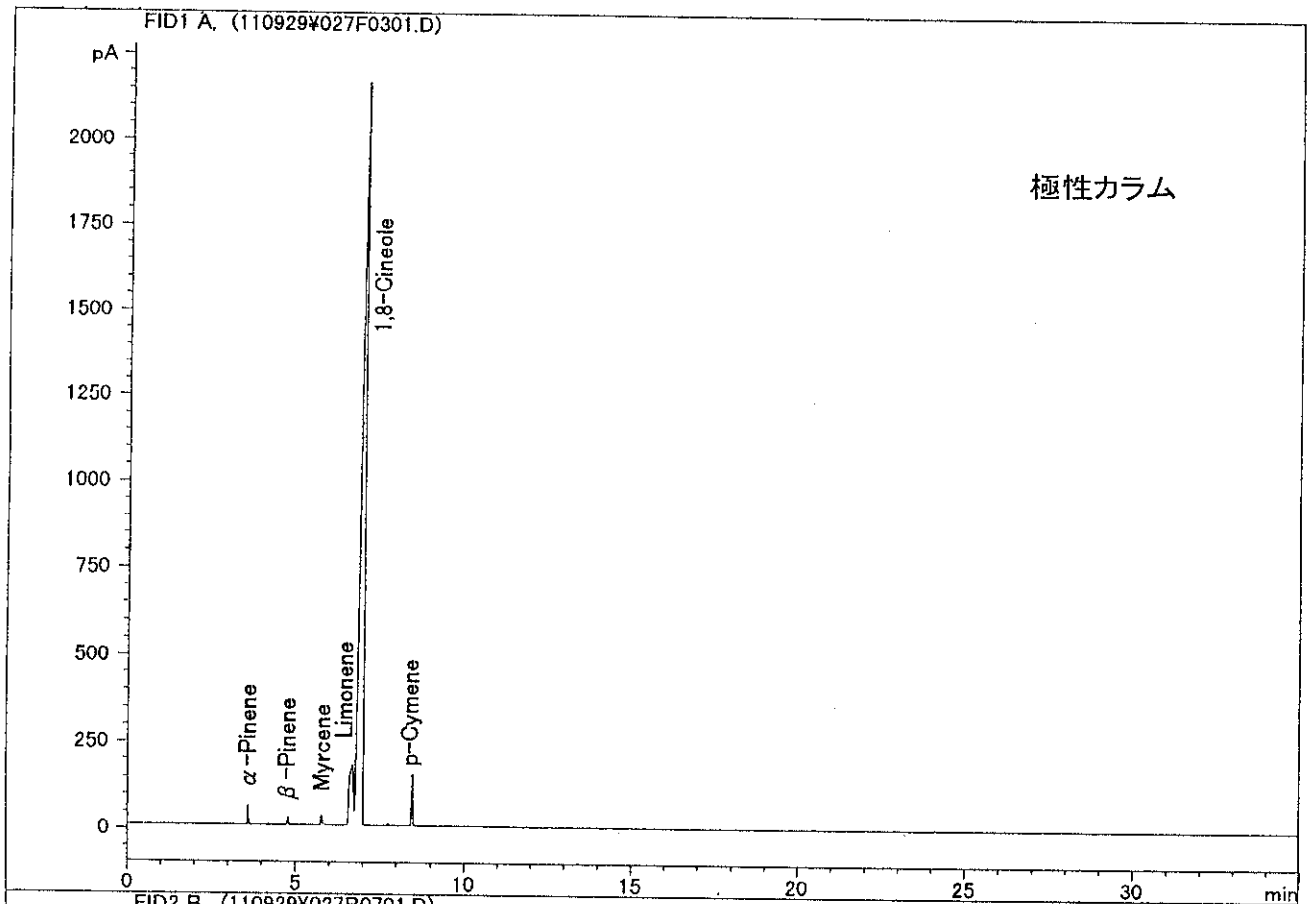


品名 1, 8 - シネオール

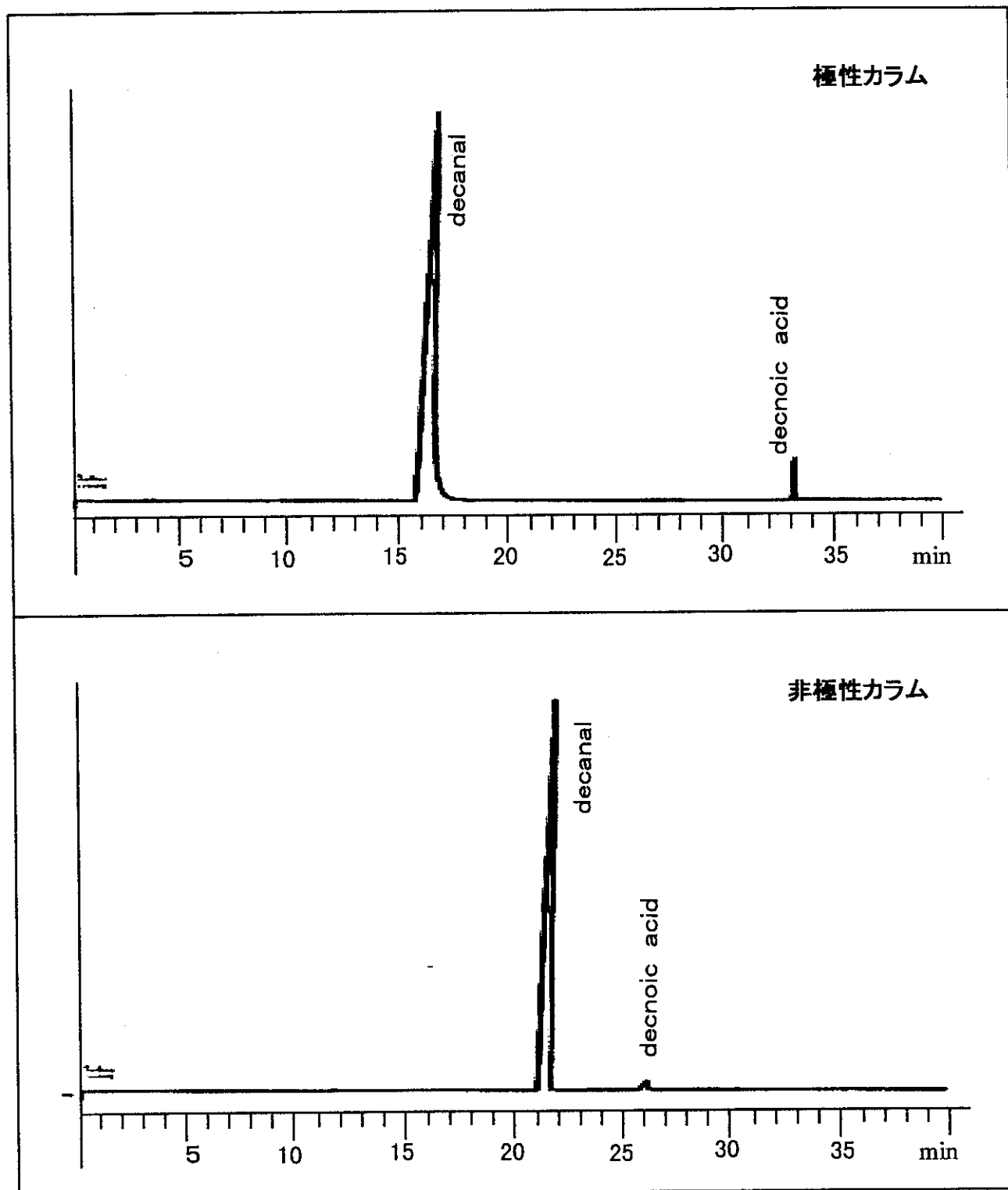
測定条件 : 4

1, 8 - Cineole



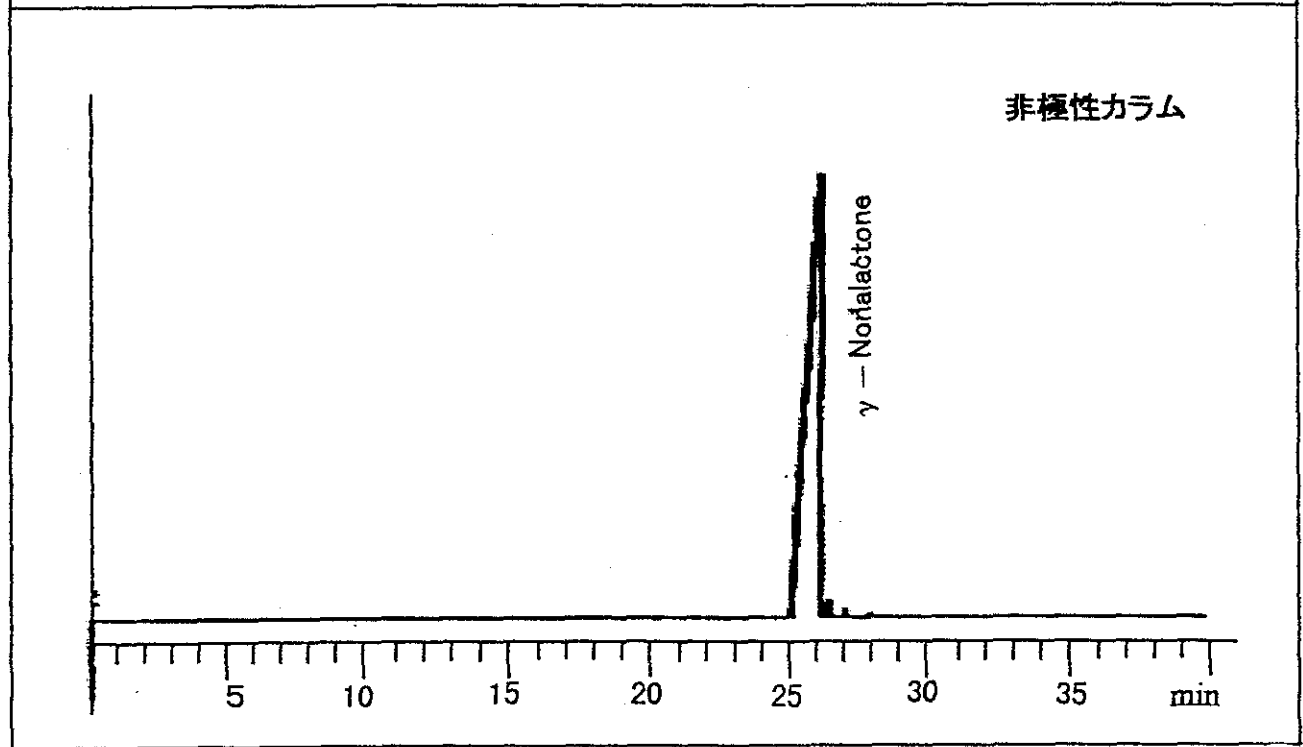
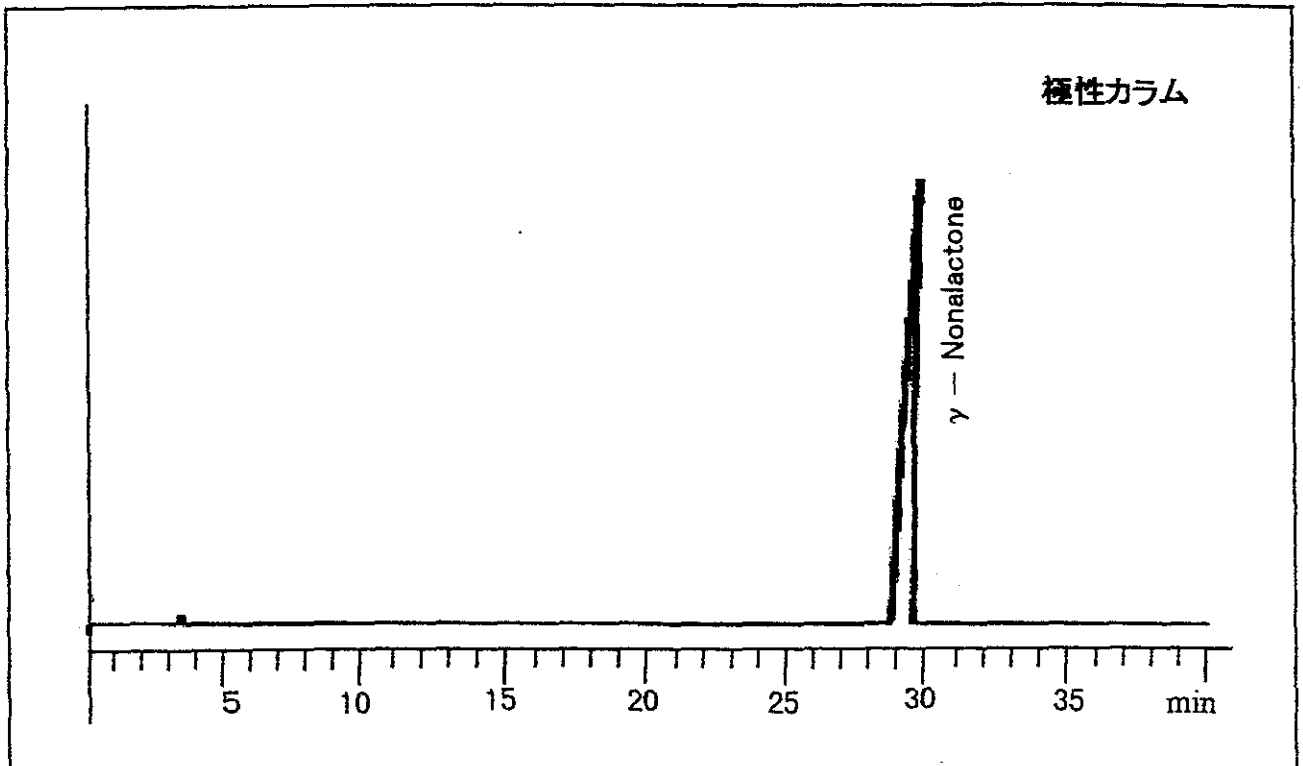
品名 デカナール  
Decanal

測定条件:3



品名  $\gamma$ -ノナラクトン  
 $\gamma$ -Nonalactone

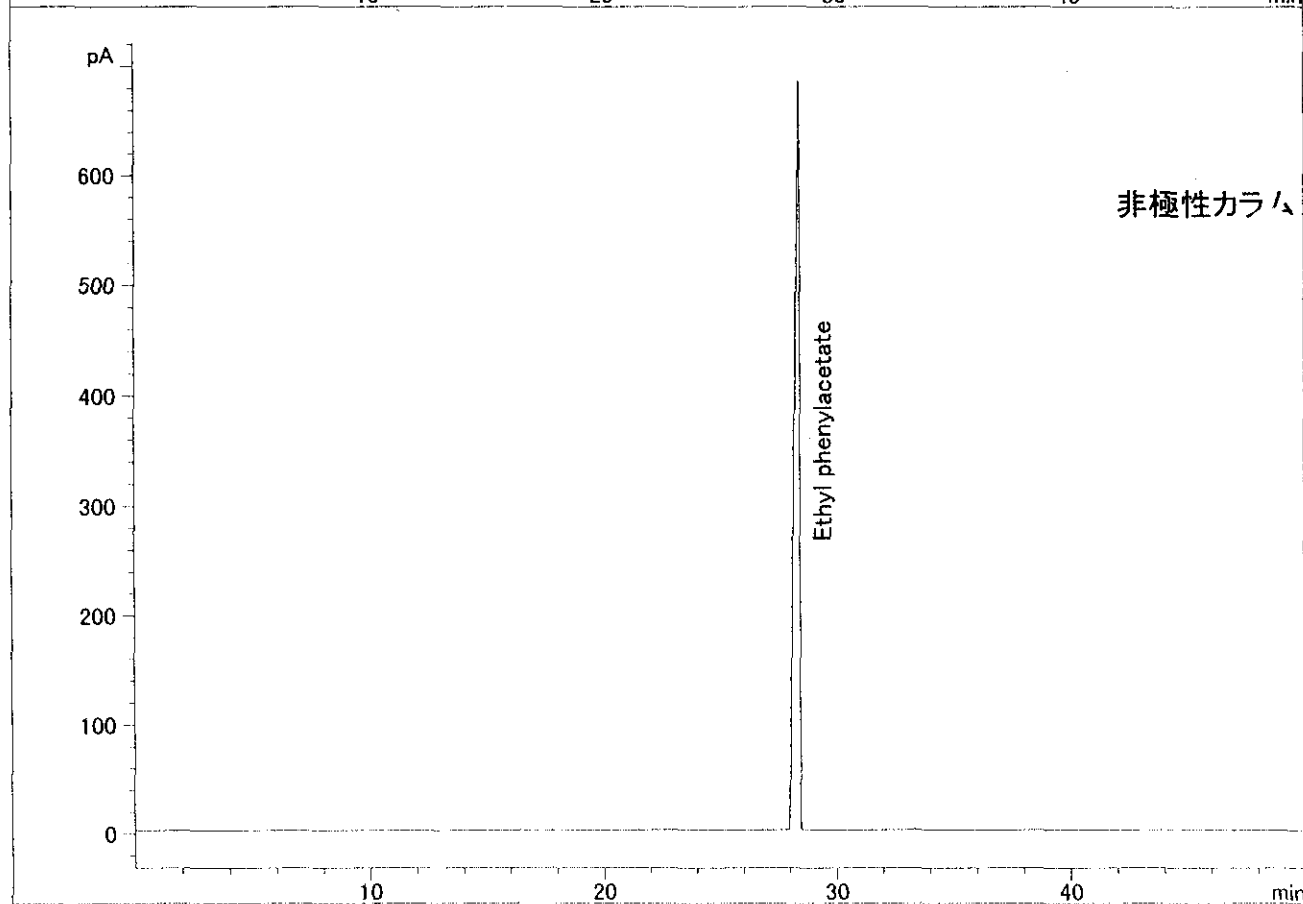
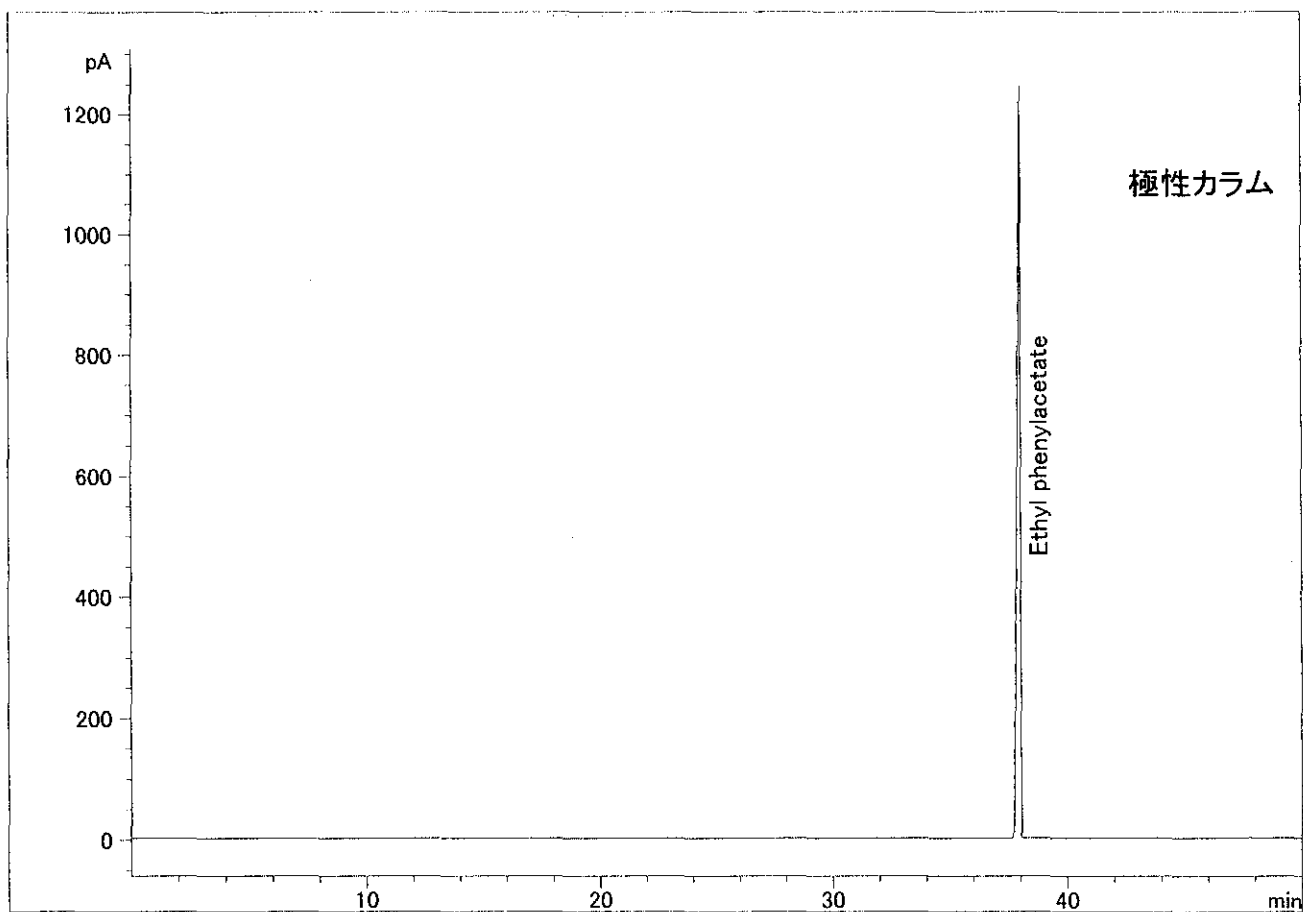
測定条件:3



品名 フェニル酢酸エチル

測定条件: 5

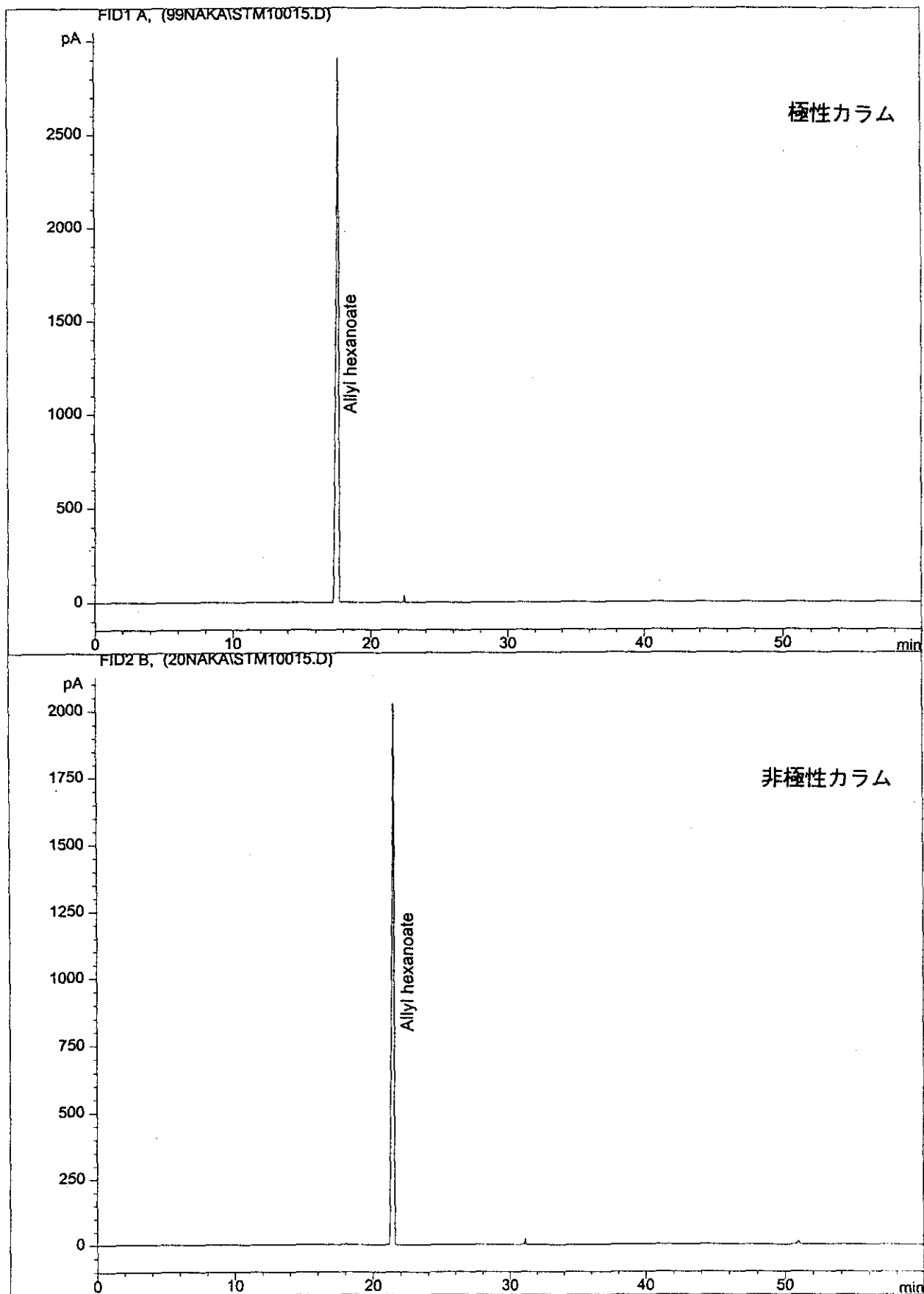
Ethyl phenylacetate



品名 ヘキサン酸アリル

測定条件：6

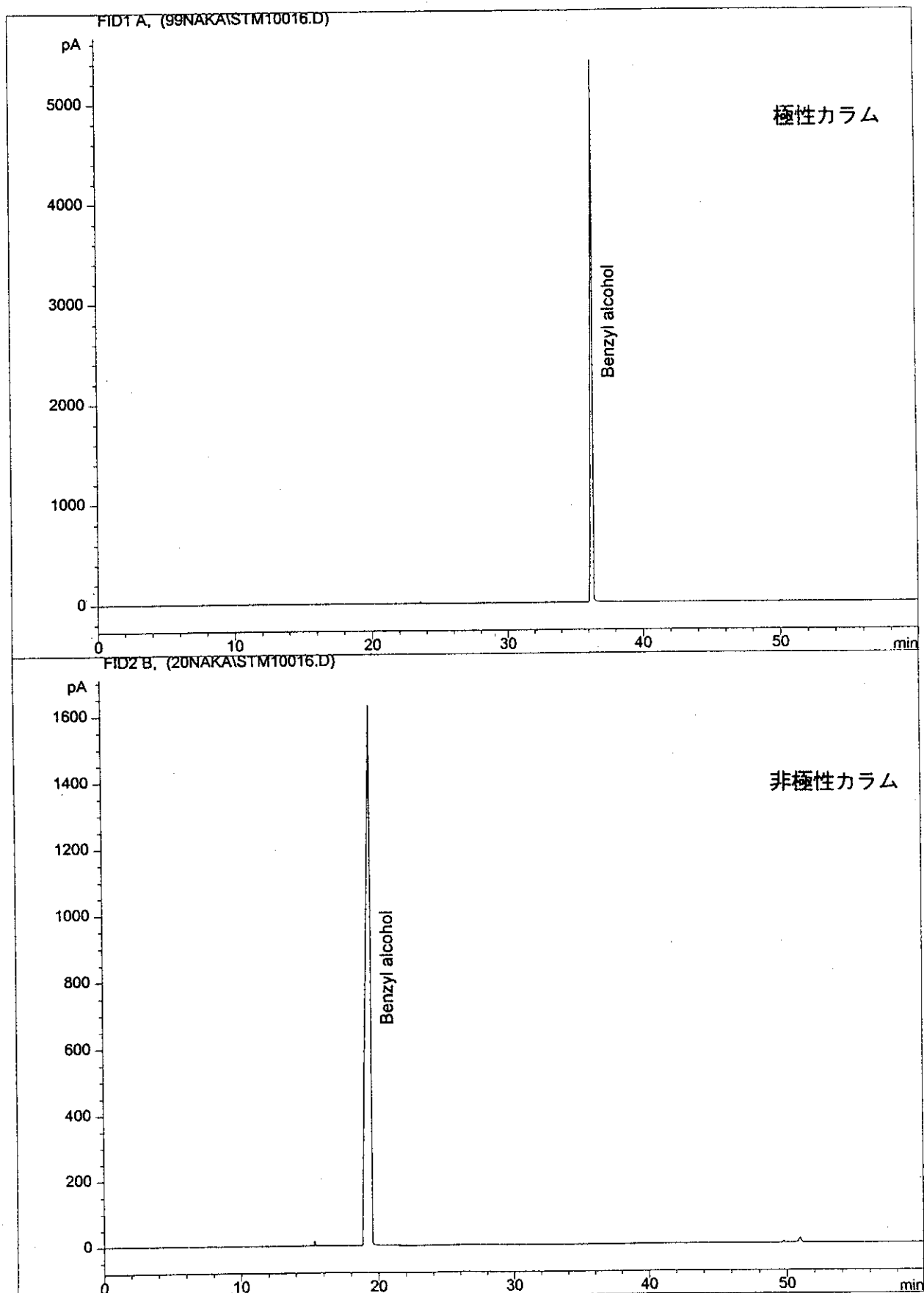
Allyl hexanoate



品名 ベンジルアルコール

測定条件：6

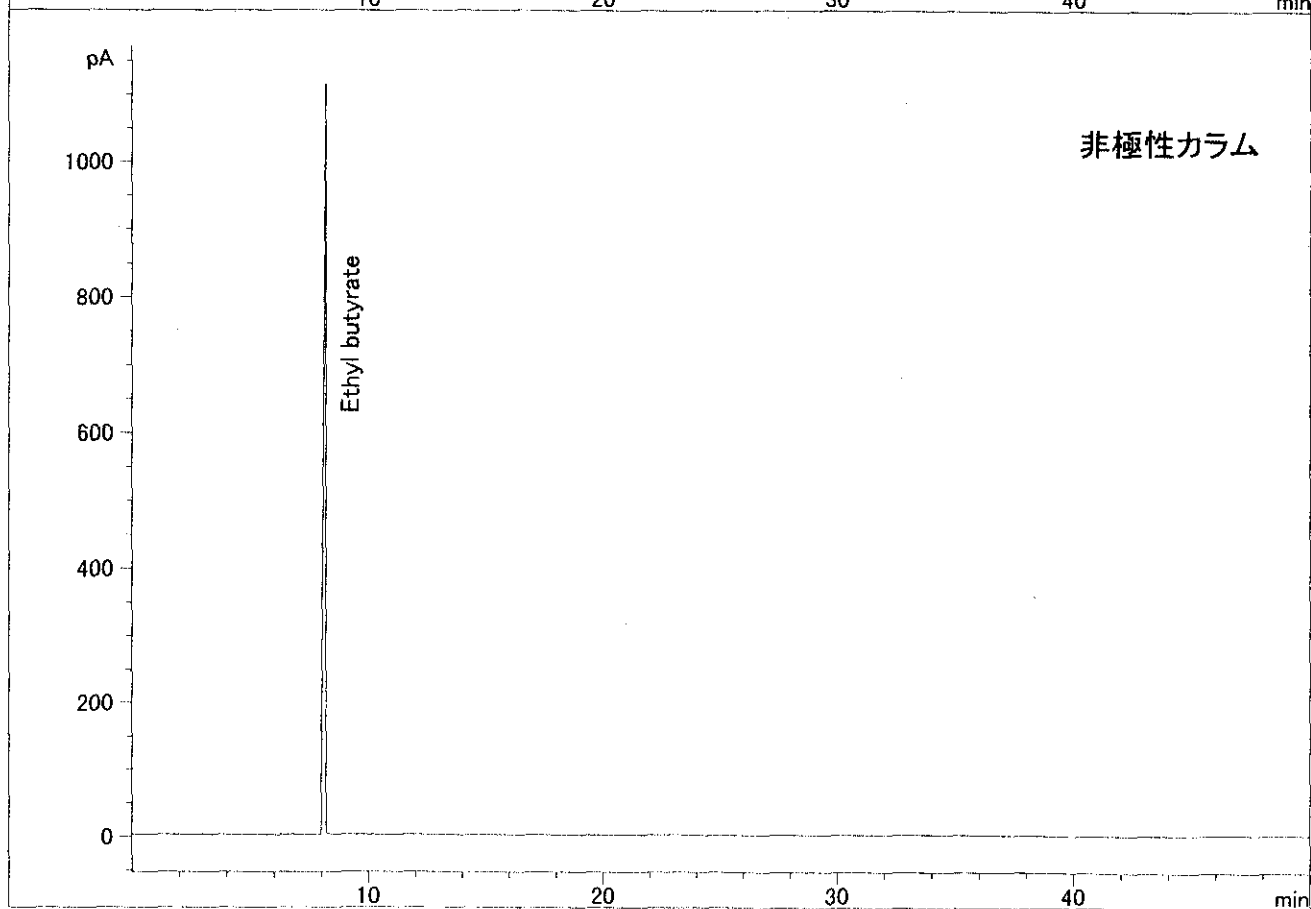
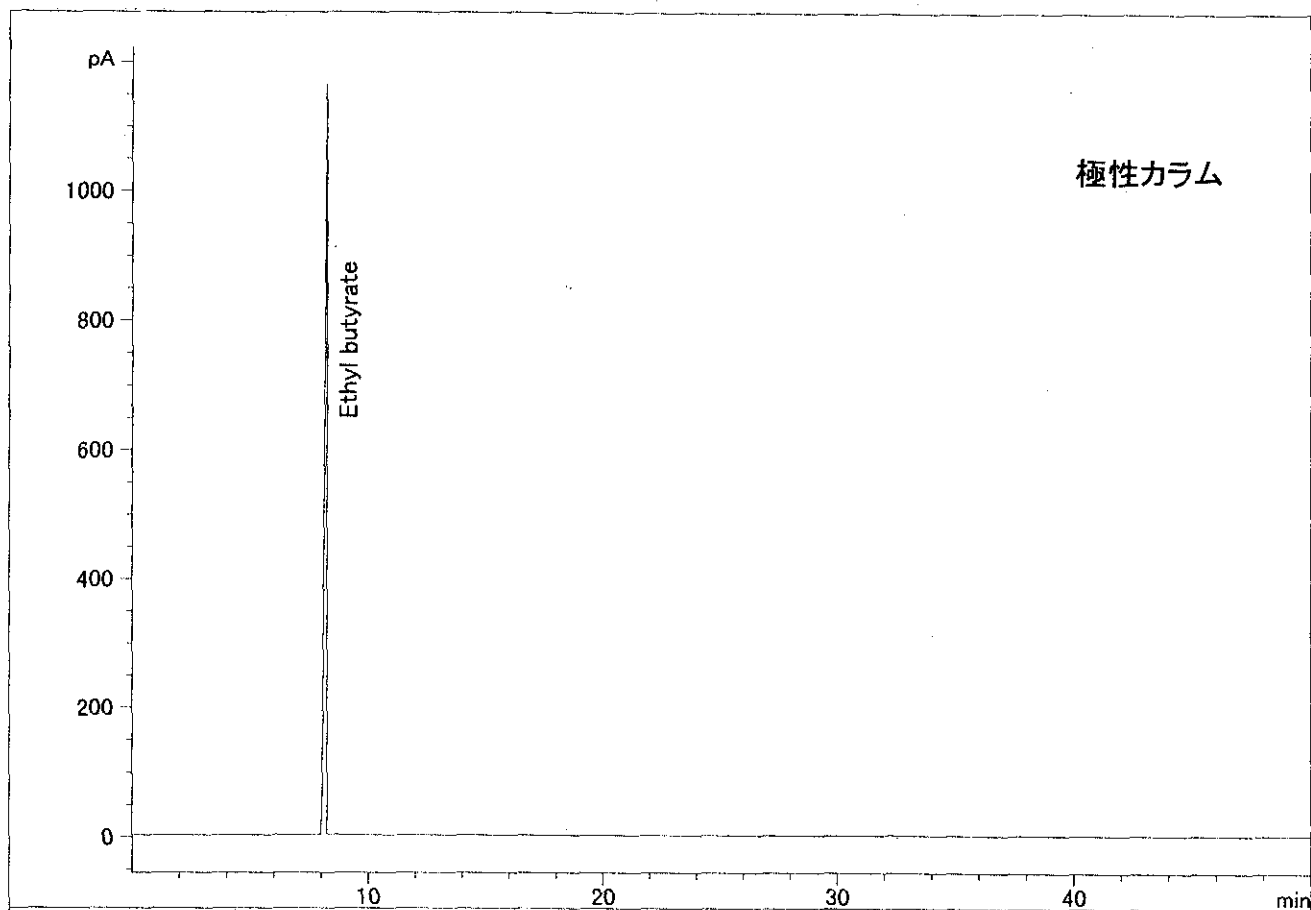
Benzyl alcohol



品名 酪酸エチル

測定条件: 5

Ethyl butyrate



## GAS CHROMATOGRAPHIC (GC) ASSAY OF FLAVOUR CHEMICALS

This procedure applies both to the assay of flavour chemicals and to the quantitation of minor components in flavour chemicals. Analysts following this procedure and performing the test, should obtain sufficient resolution of major and even trace components of a mixture to calculate accurately the concentration of the desired component. They should be familiar with the general principles, usual techniques, and instrumental variables normally met in gas chromatographic analysis. They should pay particular attention to the following:

1. Stability of baseline, return to baseline before and after each peak of interest, and minimum use of recorder attenuation.
2. Any incompatibility between a sensitive sample component and column support, liquid substrate, or construction material.
3. The response to different components of the same or different detectors. Since sizeable errors may be encountered in correlating area percent directly to weight percent, the methods for calculating response factors should be known.
4. Where limits for minor components are specified in the column entitled *Other Requirements* in the above particular specifications for flavour chemicals, analysts should use authentic materials to confirm the retention times of minor components. Determine the quantity of components following the instructions below under *Calculations and Methods*.

### GC CONDITIONS FOR ANALYSIS

**Column:** open tubular capillary column of fused silica or deactivated glass 30 m long x 0.25 to 0.53 mm id

#### Stationary phase:

1. For a non-polar column: methyl silicone gum, or equivalent (preferably a bonded and cross-linked dimethyl polysiloxane)
2. For a polar column: polyethylene glycol, or equivalent (preferably a bonded and cross-linked polyethylene glycol)
3. The stationary phase coating should have a thickness of 1 to 3  $\mu\text{m}$

**Carrier gas:** helium flowing at a linear velocity of 20 to 40 ml/s

**Sample size:** 0.1 to 1.0  $\mu\text{l}$

**Split ratio:** (for 0.25 mm to 0.35 mm id columns only) 50:1 to 200:1, typically. Make sure that no individual component exceeds the capacity of the column

**Inlet temperature:** 225 to 275°

**Detector temperature:** 250 to 300°

**Detectors:** use either a thermal conductivity or flame ionization detector operating both as recommended by the manufacturer

**Oven program:** 50 to 240°, increasing the temperature by 5°/min, hold at 240° for 5 min

Analysts can also use any GC conditions providing separations equal to (or better than) those obtained with the above method, but in the case of a dispute, the above method must stand.

### CALCULATIONS AND METHODS

A. Peak area integration with total area detected normalized to 100%, using electronic integrators: Use an electronic peak integrator in accordance with the manufacture's recommendations. Ensure that the integration parameters permit proper integration of the peaks of a variety of shapes and magnitudes and do not interpret baseline shifts and noise spikes as area



contributed by the sample. Use internal or external standards as needed to confirm that the total GC peak area corresponds to 100% of the components present in the sample.

B. Results obtained as described above are based on the assumption that the entire sample has eluted and the peaks of all of the components have been included in the calculation. They will be incorrect if any part of the sample does not elute or if all the peaks are not measured. In such cases, and in all methods described above, the internal standard method may be used to determine percentages based on the total sample. For this method, measurements are required of the peaks of the component(s) being assayed and of the internal standard.

An accurately weighed mixture of the internal standard and the sample is prepared and chromatographed, the area ratio(s) of the component(s) to the standard is computed, and the percentage(s) of the component(s) is calculated.

If this calculation is to be applied, the substance used as the standard should be one that meets the following criteria:

- a. Its detector response is similar to that of the component(s) to be determined. In general, the more nearly the chemical structure of the component resembles that of the standard, the closer the response will be.
- b. Its retention time is close to, but not identical with, that of the component(s).
- c. Its elution time is different from that of any other component in the sample so that its peak does not superimpose on any other.

The weight ratio of the internal standard to the sample should be such that the internal standard and the component sought produce approximately equal peaks. This is not possible, of course, if several components of interest are at different levels of concentration.

If the internal standard method is applied properly, it may be assumed that the ratio of the weight of component to the weight of internal standard is exactly proportional to the peak area ratio, and under these conditions no correction factor is needed. The sample is first run by itself to determine whether the internal standard would mask any component by peak superimposition. If there is no interference, a mixture is prepared of the sample and of the internal standard in the specified weight ratio, and the percentages of the internal standard and of the sample in the mixture are calculated. The mixture is chromatographed, and the areas of the component peak and the internal standard peak are calculated by one of the methods described above.

The calculations are as follows:

1.1.  $\% \text{ Component in Mixture} / \% \text{ Internal Standard in Mixture} = \text{Component Area} / \text{Internal Standard Area}$ , or

1.2.  $\% \text{ Component in Mixture} = \% \text{ Internal Standard in Mixture} \times (\text{Component Area} / \text{Internal Standard Area})$

2.  $\% \text{ Component in Sample} = (\% \text{ Component in Mixture} \times 100) / \% \text{ Sample in Mixture}$

Should calibration be necessary, mixtures should be prepared of internal standard and component, of either 100% or of known purity. The number of mixtures and the weight ratios to be used depend on the component being analyzed. Usually, three mixtures will be required. The weight ratio of one is chosen so that the heights of component and standard are equal. The ratios of the other two may be two-thirds and four-thirds of their value. Each mixture should be chromatographed at least three times, and areas calculated. The factor for each chromatograph should be calculated as specified below, and the averages taken for each mixture. An overall average factor is calculated from them. The calibration should be performed periodically.

1.  $\text{Factor} = [(\text{Weight of Component} \times \% \text{ Purity}) / (\text{Weight of Internal Standard} \times \% \text{ Purity})] \times [(\text{Internal Standard Area}) / \text{Component Area}]$

2.  $\% \text{ Component in Sample Mixture} = (\text{Component Area} \times \text{Factor} \times \% \text{ Internal Standard in Sample Mixture}) / \text{Internal Standard Area}$

3.  $\% \text{ Component in Sample} = (\% \text{ Component in Sample Mixture} \times 100) / \text{Sample in Sample Mixture}$

### GC SYSTEM SUITABILITY TEST SAMPLE

The GC system suitability test sample consists of an equal-weight mixture of food-quality acetophenone, benzyl alcohol, benzyl acetate, linalool, and hydroxycitronellal.

Using the test sample described below, periodically test the performance of and resolution provided by the gas chromatograph employed. The test sample must display results comparable in quantitative composition, peak shape, and elution order to those specified below. The quantitative composition should not deviate from the results listed below by more than 10%. Analyze the GC test sample using the *GC Conditions for Analysis* given above.

Component in Test Sample	Order of Elution		Normalized % Non-polar	Area (FID) Polar
	Non-polar	Polar		
Benzyl alcohol	1	4	22.0	21.3
Acetophenone	2	2	21.1	21.4
Linalool	3	1	20.8	21.0
Benzyl acetate	4	3	18.6	19.1
Hydroxycitronellal	5	5	16.7	16.7

## 仮訳「フレーバーケミカルのガスクロマトグラフィー定量法」

出典：「JECFA ; Compendium of food additive specifications, Addendum 7」  
(GAS CHROMATOGRAPHIC (GC) ASSAY OF FLAVOUR CHEMICALS)

この方法はフレーバー化合物の定量とフレーバー化合物中の主成分以外の成分の定量に用いる。本方法に準拠して試験を実施するにあたり、分析者は被検成分の正確な濃度を算出するために、混合物中の主成分と微量成分を十分に分離する必要がある。また、一般的原理、通常利用する分析技術およびGC分析で遭遇する機器の変化について熟知している必要がある。

さらに、下記の点に特に留意することが必要である。

1. ベースラインが安定であること、対象となる各々のピークの前後でベースラインを安定させること、およびレコーダー感度の調整は最小限にすること。
2. 不安定な組成物とカラム固定相、固定相液体あるいはカラム材質との相性。
3. 同じ検出器或いは別の検出器を使った場合、種々の成分の応答状況を確認：重量%に関係しているエリア%に著しい誤差が生じる可能性もあるため、レスポンスファクターを算出する方法を把握しておく必要がある。
4. 主成分以外の成分の限度値がフレーバー化合物に関する規格表の「Other Requirements」欄で規定されている場合は、主成分以外の成分の保持時間を確認するため、標準物質を使って分析すること。  
下記の「計算および方法」(Calculations and Methods)に記載された方法に準じ、成分量を測定する。

### GC分析条件

カラム：長さ 30m×内径 0.25mm～0.53mm のフューズドシリカ（熔融シリカ）  
または不活性ガラスのキャピラリーカラム

固定相：

1. 非極性カラム： methyl silicone gum または同等品（望ましくは架橋および交差結合した dimethylpolysiloxane）。
2. 極性カラム： polyethylene glycol または同等品（望ましくは架橋および交差結合した polyethylene glycol）。
3. 固定相の厚膜は 1～3 μm。

キャリアーガス： 線速度 20～40ml/s のヘリウム。

サンプル量： 0.1～1.0  $\mu$ l。

スプリット比： (内径 0.25mm～0.35mm カラムの場合) 50:1～200:1、ただし、  
いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。

注入口温度： 225～275℃。

検出器温度： 250～300℃。

検出器： メーカーの推奨する使用条件で熱伝導度検出器または水素炎イオン化  
検出器の何れかを使用する。

オーブンプログラム： 50～240℃、5℃/min 昇温、240℃で 5min 保持。

上述の方法と同一（または、それ以上）のGC分離条件であれば利用できる。  
しかし、問題が生じる場合は上記分析条件で行うこと。

## 計算と方法

A. 電子積分計(インテグレーター)を利用して、検出されたピーク総面積が 100%  
になるようにする。製造メーカーの推奨する条件に従い、インテグレーターを  
使用する。即ち、使用するインテグレータは、検体試料に無関係なノイズピー  
クやベースラインのズレなどは計算対象とせず、検体試料に係わる種々のピー  
ク形状やピーク強度を計算対象とするような積分パラメーターを設定すること。  
検体試料の成分が総て 100%のGCピーク面積となっていることを確認する必  
要がある場合は、内部標準物質あるいは外部標準物質を用いる。

B. 上記による測定結果は検体試料成分の総てが溶出し、成分の全ピークが計  
算の中に含まれているという仮定の下に得られるものであるから、もし検体試  
料成分のある部分が溶出しない場合、あるいはピークは全て計算されねばなら  
ないが、いずれかのピークがその計算の中に含まれていない場合は、その結果  
は正しいものとはならない。このような場合には、本試験法で定めた測定条件  
下において、総成分に基づくパーセントを測定するには内部標準法で行う。こ  
の内部標準法には、含量を測定しようとしている成分のピークと内部標準物質  
のピークの両者を測定する必要がある。

正確に秤量した内部標準物質および検体試料からなる混合物を調製し、クロ  
マト分析を行い、内部標準物質と成分のコンピューターで計算した面積比から  
成分の含量%の計算を行う。

この方法を行う場合の内部標準物質は、下記の基準に合致しているものを使用  
する。

a. 内部標準物質と成分の検出応答が類似していること。一般的には、内部標準

物質と成分の化学構造が類似していればいるほど、その面積応答はより近似してくる。

- b. 内部標準物質の保持時間は成分のそれと一致しない範囲で近くであること。
- c. 内部標準物質の溶出時間は検体中のどの成分とも異なり、内部標準物質のピークはいずれのピークとも重ならないこと。

検体試料と内部標準物質の重量割合は、それぞれのピークがほぼ等しくなるように調製する。求める成分が多く、それぞれの含量が異なっている場合は、この方法で測定することはできない。

この内部標準法が正しく適用されている場合は、成分と内部標準物質との間の重量比がピーク面積比と正確に整合していると想定されるので、補正ファクターを使用する必要はない。

まず、はじめに、内部標準物質と検体のどの成分ともピーク上の重なりがないかを見極めるために検体自体を測定する。干渉が無い場合は、決めた通りの重量比で内部標準物質と検体との混合物を調製し、混合物中の内部標準物質と検体試料の重量%を計算する。次いで本試験法で定めた分析条件下で混合物をクロマト測定し、内部標準物質と成分ピークそれぞれの面積を求める。

以下の通りで計算を行う。

1.1.  $\text{混合物中の成分\%} / \text{混合物中の内標準\%} = \text{成分面積} / \text{内標準面積}$

または、

1.2.  $\text{混合物中の成分\%} = \text{混合物中の内標準\%} \times (\text{成分面積} / \text{内標準面積})$

2.  $\text{検体中の成分\%} = (\text{混合物中の成分\%} \times 100) / \text{混合物中の検体\%}$

内部標準法をより正確に行う場合は、純度 100%か又は純度が判っている内部標準物質と成分物質を使って混合物を調製する。分析対象の成分によって混合物の数とその重量比が異なってくる。

一般に3種類の混合物を調製する。即ち、3種類の混合物のうち一つは、重量比が成分と内部標準物質の各ピーク高が等しくなるようにし、他の二つは最初の混合物の重量比の2/3および4/3となるように調製する。

調製した各混合物は最低3回のクロマト測定によって面積計算を行う。それぞれのクロマトグラフから下記式よりファクター計算を行い、その平均値をそれぞれ混合物のファクターとする。ファクター値は3種類の混合物のファクターの平均値をもって総平均ファクターとする。

なお、このような調整は定期的に行わねばならない。

1. ファクター (F) =  $\left[ \frac{(\text{成分重量} \times \text{純度}\%) }{(\text{内標準重量} \times \text{純度}\%)} \right] \times \left[ \frac{(\text{内標準面積} / \text{成分面積})}{(\text{内標準面積} / \text{成分面積})} \right]$
2. 検体混合物中の成分% =  $\frac{(\text{成分面積} \times F \times \text{検体混合物中の内標準重量}\%)}{\text{内標準面積}}$
3. 検体中の成分% =  $\frac{(\text{検体混合物中の成分}\% \times 100)}{\text{検体混合物中の検体重量}}$

### GCテストサンプル

このGC装置の適性試験は、テストサンプルに食品品質規格のアセトフェノン、ベンジルアルコール、ベンジルアセテート、リナロール、ヒドロキシシトロネロールの等量混合物を使用して行う。

下記のテストサンプルを用いて、採用するガスクロマトグラフから得られる分離能および性能を定期的に試験する。

このテストサンプルが、組成比率、ピーク形状および溶出順序がここに示された通りであることを確認する。試験結果は、組成比率が下記数値から±10%以上ズレてはならない。なお、テストサンプルの分析には前述の「GC 分析条件」の項で定めた分析条件に従う。

適性試験用サンプル中の成分	溶出順序		標準化された面積百分率(%) [FIDによる]	
	非極性カラム	極性カラム	非極性カラム	極性カラム
Benzyl Alcohol	1	4	22.0	21.3
Acetophenone	2	2	21.1	21.4
Linalool	3	1	20.8	21.0
Benzyl Acetate	4	3	18.6	19.1
Hydroxycitronellal	5	5	16.7	16.7