

表1. ポリイソブチレンの総不飽和物測定結果 (単位%)

I. イソブレンを含まない検体					II. イソブレンを含む検体				
検 体		繰返回数	測定結果		検 体		繰返回数	測定結果	
			加味法	シロヘキソ法				加味法	シロヘキソ法
A	ハイモール5 H 020929 日本石油化学 株式会社	1	0.28	0.24	F	PB - 101 - 3 020605-302 三洋貿易 株式会社	1	1.08	1.20
		2	0.24	0.24			2	1.15	1.20
		3	0.26	0.26			3	1.19	1.19
		4	0.25	0.25			4	1.15	1.23
		5	0.24	0.24			5	1.26	1.32
		6	0.23	0.23			6	1.17	1.27
	平均	0.25	0.24	平均	1.17	1.24			
B	ハイモール5 H 021001 日本石油化学 株式会社	1	0.25	0.26	G	PB - 101 - 3 020227-325 三洋貿易 株式会社	1	1.41	1.38
		2	0.28	0.25			2	1.33	1.26
		3	0.29	0.27			3	1.35	1.33
		4	0.24	0.26			4	1.44	1.32
		5	0.32	0.26			5	1.36	1.25
		6	0.29	0.27			6	1.47	1.39
	平均	0.28	0.26	平均	1.39	1.32			
C	ハイモール6 H 021031 日本石油化学 株式会社	1	0.23	0.23	H	イクソフ 7 S020215060 イクソモビル 化学有限会社	1	1.44	1.39
		2	0.32	0.24			2	1.53	1.30
		3	0.25	0.24			3	1.48	1.32
		4	0.28	0.24			4	1.48	1.40
		5	0.24	0.28			5	1.52	1.38
		6	0.28	0.23			6	1.47	1.35
	平均	0.27	0.24	平均	1.49	1.36			
D	B50 3057 BASFジャパン 株式会社	1	0.07	0.11	I	イクソフ 7 S020215050 イクソモビル 化学有限会社	1	1.52	1.47
		2	0.09	0.11			2	1.52	1.40
		3	0.06	0.07			3	1.55	1.35
		4	0.08	0.08			4	1.49	1.46
		5	0.11	0.10			5	1.52	1.38
		6	0.08	0.08			6	1.47	1.45
	平均	0.08	0.09	平均	1.51	1.42			
E	B50 3060 BASFジャパン 株式会社	1	0.09	0.04					
		2	0.06	0.09					
		3	0.11	0.06					
		4	0.08	0.06					
		5	0.07	0.10					
		6	0.08	0.08					
	平均	0.08	0.07						

【結 論】

第7版食品添加物公定書規格ポリイソブチレンの純度試験(5)総不飽和物の試験法は、
「本品約0.5gを精密に量り、あらかじめ四塩化炭素100mlを入れた500mlのフラスコに入れ、
フラスコを密栓し、一夜放置し、本品を完全に溶解する。この液にトリクロロ酢酸・四塩化炭素溶
液(1→5)5mlを加え、更にヨウ素・四塩化炭素試液20ml及び酢酸第二水銀・酢酸溶液(3→
100)20mlを加える。フラスコを密栓し、混合物を激しく振り混ぜ、十分に混和する。正確に

30分暗所に静置後、ヨウ化カリウム溶液（3→40）75 ml を加え、2分間激しく振り混ぜる。次に栓をはずし、蒸留水で器壁の液をフラスコ中に洗い込み、直ちに0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液）。別に空試験を行い補正し、次式により総不飽和物の含量を求める。

総不飽和物の含量 = $1.87 \times (a - b) \times 0.1 / \text{試料の採取量 (g)}$ (%)

ただし、 a : 空試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)

b : 本試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)

となっているが、本法に使用されている四塩化炭素および酢酸第二水銀の代替の方法としては、上記の実験結果から以下のように考えられる。

純度試験 : (5) 総不飽和物 2.0%以下

本品を切断して細片とし、その約0.5gを精密に量り、シクロヘキサン100mlを加え、密栓して一夜放置して溶かす。不溶物が残る場合は、約1時間振り混ぜ完全に溶解し、ガラス容器に入れる。この容器を500mlの共栓フラスコ中に入れ、正確にウィイス液15mlを加えよく混和する。溶液が澄明にならないときは、シクロヘキサンを添加して澄明にした後、密栓して遮光し、20～30℃で時々振り混ぜてに30分放置する。その後ヨウ化カリウム溶液（1→10）20ml及び水100mlを加え振り混ぜ、遊離したヨウ素を0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液1ml）。別に空試験を行い、次式により総不飽和物の含量を求める。

総不飽和物の含量 = $1.87 \times (a - b) \times 0.1 / \text{試料の採取量 (g)}$ (%)

ただし、 a : 空試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)

b : 本試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)

以上

(参考：平成13年度 食品添加物規格試験法の改善に関する試験検査)

1. ポリイソブチレン純度試験「総不飽和物」の試験用有害試薬代替について

1. 目的

食品添加物公定書規格ポリイソブチレンの純度試験(5)総不飽和物の試験法は、

「本品約0.5gを精密に量り、あらかじめ四塩化炭素100mlを入れた500mlのフラスコに入れ、フラスコを密栓し、一夜放置し、本品を完全に溶解する。この液にトリクロロ酢酸・四塩化炭素溶液(1→5)5mlを加え、更にヨウ素・四塩化炭素試液20ml及び酢酸第二水銀・酢酸溶液(3→100)20mlを加える。フラスコを密栓し、混合物を激しく振り混ぜ、十分に混和する。正確に30分暗所に静置後、ヨウ化カリウム溶液(3→40)75mlを加え、2分間激しく振り混ぜる。次に栓をはずし、蒸留水で器壁の液をフラスコ中に洗い込み、直ちに0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する(指示薬 デンプン試液)。別に空試験を行い補正し、次式により総不飽和物の含量を求める。

総不飽和物の含量 = $1.87 \times (a - b) \times 0.1 / \text{試料の採取量 (g)}$ (%)

ただし、 a: 空試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml)

b: 本試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml) 」

となっているが、本法には四塩化炭素および酢酸第二水銀が使用されている。よって、これを使用しない試験方法を検討した。

2. 結果

改正案については医薬品添加物規格1998を参考に、下記の試験法で進めることにした(クロロホルムを使用しているが、四塩化炭素よりベターと考える)。

改定案：「本品を切断して細片とし、その約0.5gを精密に量り、シクロヘキサン100mlを加え、密栓して一夜放置して溶かす。不溶物が残る場合は、約1時間振り混ぜ完全に溶解し、ガラス容器に入れる。この容器を500mlの共栓フラスコ中に入れクロロホルム10mlを加えて溶かし、正確にウィイス液15mlを加えよく混和する。溶液が澄明にならないときは、クロロホルムを更に追加して澄明にした後、密栓して遮光し、20～30℃で時々振り混ぜてに30分放置する。その後ヨウ化カリウム溶液(1→10)20ml及び水100mlを加え振り混ぜ、遊離したヨウ素を0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する(指示薬 デンプン試液1ml)。別に空試験を行い、次式により総不飽和物の含量を求める。

総不飽和物の含量 = $1.87 \times (a - b) \times 0.1 / \text{試料の採取量 (g)}$ (%)

ただし、 a: 空試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml)

b: 本試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量(ml) 」

この改正案に基づき、試験を実施した。なお使用した検体は、イソプレンを含まないポリイソブチレン3検体およびイソプレンを含むポリイソブチレン3検体を用い、従来試験法と改正案試験法について、各々同一ロット繰返し6回の測定を行った。その結果を表1に示す。

3. 考察

試験に使用したイソプレンを含まないポリイソブチレン3検体(検体A、B、C)については、改正案による測定結果は従来法と比較して、測定値に大きな差はみられなかった。またイソプレンを含むポリイソブチレン3検体(検体D、E、F)に関しては、改正案による測定結果は従来法と比較して、若干、測定値が低い傾向となった。

なお、改正案による試験状況(操作、観察結果)について、特に問題となるような部分は見当たらなかった。

従来試験法では、試験に使用する試薬調整が4点必要になるが、改正案では試薬調整は1点ともう1点は市販品でまかなえるため、調整する手間と時間が軽減され、人体に対して悪影響な試薬にふれることも軽減されるため、試験結果も含め、今回の改正案は良好であるといえる。

表1. ポリイソブチレンの総不飽和物測定結果 (単位%)

I. イソブレンを含まない検体					II. イソブレンを含む検体				
検 体		繰返回数	測定結果		検 体		繰返回数	測定結果	
			従来法	改正案				従来法	改正案
A	ハイモール5H PC1J28 日本石油化学株式会社	1	0.17	0.21	D	PB-101-3 10105 三洋貿易株式会社	1	1.82	1.41
		2	0.22	0.17			2	1.72	1.49
		3	0.26	0.23			3	1.84	1.42
		4	0.25	0.21			4	1.75	1.53
		5	0.29	0.29			5	1.66	1.62
		6	0.19	0.27			6	1.77	1.47
	平均		0.23	0.23	平均		1.76	1.49	
B	ハイモール5H PC1J46 日本石油化学株式会社	1	0.21	0.13	E	イクソニール7 990519080 イクソニール化学有限公司	1	1.41	0.73
		2	0.28	0.16			2	1.49	0.88
		3	0.22	0.19			3	1.30	0.87
		4	0.24	0.33			4	1.55	1.12
		5	0.16	0.23			5	1.26	1.05
		6	0.29	0.21			6	1.47	1.09
	平均		0.23	0.21	平均		1.41	0.96	
C	B50 24-0529 BASFジャパン株式会社	1	0.03	0.04	F	イクソニール7 S10426021 イクソニール化学有限公司	1	1.52	0.87
		2	0.02	0.09			2	1.52	0.90
		3	0.05	0.06			3	1.58	0.92
		4	0.08	0.06			4	1.48	0.90
		5	0.04	0.05			5	1.52	1.08
		6	0.08	0.08			6	1.47	1.15
	平均		0.05	0.06	平均		1.52	0.97	

II. ポリイソブチレン純度試験「低重合物」の試験用有害試薬代替について

1. 目的

食品添加物公定書規格ポリイソブチレンの純度試験（6）低重合物の試験法は、

「本品約 10 g を精密に量り、ベンゼン 40 ml を加え、還流冷却器を付け、時々振り混ぜながら水浴上で加熱して溶かす。冷後、メタノール 40 ml を加え、よく振り混ぜた後、冷所に 1 時間静置する。上澄液をフラスコに移し、約 5 0℃で減圧留去し、減圧デシケーター中で 2 0 時間乾燥し、残留物の重量を精密に量る。」

となっているが、本法にはベンゼンが使用されている。よって、これを使用しない試験方法を検討した。

2. 結果

改正案については医薬品添加物規格 1 9 9 8 を参考に、ベンゼンをシクロヘキサンに単純に置換する下記の試験方法で検討した。

改定案：「本品約 10 g を精密に量り、シクロヘキサン 40 ml を加え、還流冷却器を付け、時々振り混ぜながら水浴上で加熱して溶かす。冷後、メタノール 40 ml を加え、よく振り混ぜた後、冷所に 1 時間静置する。上澄液をフラスコに移し、約 5 0℃で減圧留去し、減圧デシケーター中で 2 0 時間乾燥し、残留物の重量を精密に量る。」

この改正案に基づき、試験を実施した。なお使用した検体は、1. と同様にイソブレンを含まないポリイソブチレン 3 検体およびイソブレンを含むポリイソブチレン 3 検体を用い、従来試験法と改正案試験法について、各々同一ロット繰返し 6 回の測定を行った。その結果を表 2 に示す。

表2. ポリイソブチレンの低重合物測定結果 (単位%)

I. イソブレンを含まない検体					II. イソブレンを含む検体				
検 体		繰返回数	測定結果		検 体		繰返回数	測定結果	
			従来法	改正案				従来法	改正案
A	ハイモール5 H PC1J28 日本石油化学 株式会社	1	0.25	0.23	D	PB-101 -3 10105 三洋貿易 株式会社	1	0.13	0.02
		2	0.28	0.17			2	0.14	0.02
		3	0.25	0.35			3	0.08	0.03
		4	0.19	0.22			4	0.10	0.05
		5	0.22	0.13			5	0.09	0.04
		6	0.25	0.31			6	0.09	0.06
	平均		0.24	0.24	平均		0.11	0.04	
B	ハイモール5 H PC1J46 日本石油化学 株式会社	1	0.22	0.12	E	イクソニール 7 990519080 イクソニール 化学有限会社	1	0.07	0.04
		2	0.25	0.33			2	0.06	0.03
		3	0.20	0.15			3	0.07	0.02
		4	0.19	0.24			4	0.05	0.03
		5	0.26	0.19			5	0.04	0.07
		6	0.29	0.25			6	0.04	0.05
	平均		0.24	0.21	平均		0.06	0.04	
C	B50 24-0529 BASFジャパン 株式会社	1	0.04	0.02	F	イクソニール 7 S10426021 イクソニール 化学有限会社	1	0.09	0.07
		2	0.05	0.02			2	0.06	0.09
		3	0.07	0.09			3	0.05	0.05
		4	0.04	0.05			4	0.08	0.04
		5	0.05	0.06			5	0.07	0.06
		6	0.04	0.02			6	0.05	0.03
	平均		0.05	0.04	平均		0.07	0.06	

3. 考察

試験に使用した6検体ともに、改正案による測定結果は従来法と比較して、測定値(平均値)に大きな差はみられなかった。

ただし、低重合物測定試験の状況を観察したところ、表3にみられるような違いが明らかとなった。検体A、Bについては従来法と比較して、改正案の測定値のバラツキがやや大きかったが、その原因についてはメタノール処理後、シクロヘキサンでは検体が固まり切れなため上澄み液を分離する際、非常に分離しにくくなり、上澄み液を移す際に固形物が混入したり、反対に固形物を残す側に上澄み液が残ることにより生じるものである。この対策案としては、上澄み液を移す操作において、固形物が混入しないよう、ろ過する操作を行うことで測定精度を上げられる(バラツキを減らす)と考えられる。また、メタノールを加え攪拌後、温度の異なる冷所(5、10、15℃)にそれぞれ1時間放置することにより塊の成長を期待したが、変化がなかった。

なお、検体A、Bが他の検体C~Fよりも、測定値が従来法、改正案ともに若干高めになるのは、検体の重合度の違いによるものと考えられる。

表3. 低重合物測定試験の状況（観察結果）

操 作	従来法（ベンゼン）	改正案（シクロヘキサン）
1. 溶解時間 （還流冷却器）	1時間程度 （ベンゼン）	2～2.5時間程度 （シクロヘキサン）
2. メタノールを 加 えた後の固 形 物の状態	攪拌し回転させていると フラスコ下部に1個所の 塊ととなって析出する。	攪拌し回転させていても1個所の塊とはならず、内壁 に分散して付着する。従来法（ベンゼン）と比較する と塊が少ない。
3. 上澄み液の 移し易さ	分離し易い	シクロヘキサンは固まり切れないため上澄み液を分 離する際、非常に分離しにくい。この段階で固形物が 上澄み液を移す際に混入すると、測定値が大となる。 反対に固形物を残す側に上澄み液が残ると、測定値が 小となる。

4. 結 論

食品添加物公定書収載“ポリイソブチレン”の純度試験「総不飽和物」に使用されている四塩化炭素、酢酸第二水銀、ならびに「低重合物」に使用されているベンゼンの代替の方法としては、Ⅰ、及びⅡ. の実験結果から以下のように考えられる。

純度試験 : (5) 総不飽和物 2.0%以下

本品を切断して細片とし、その約0.5gを精密に量り、シクロヘキサン100mlを加え、密栓して一夜放置して溶かす。不溶物が残る場合は、約1時間振り混ぜ完全に溶解し、ガラス容器に入れる。この容器を500mlの共栓フラスコ中に入れクロロホルム10mlを加えて溶かし、正確にウィイス液15mlを加えよく混和する。溶液が澄明にならないときは、クロロホルムを更に追加して澄明にした後、密栓して遮光し、20～30℃で時々振り混ぜてに30分放置する。その後ヨウ化カリウム溶液（1→10）20ml及び水100mlを加え振り混ぜ、遊離したヨウ素を0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液 1ml）。別に空試験を行い、次式により総不飽和物の含量を求める。

総不飽和物の含量 = $1.87 \times (a - b) \times 0.1 / \text{試料の採取量 (g)}$ (%)

ただし、 a: 空試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)

b: 本試験における0.1mol/lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量 (ml)

純度試験 : (6) 低重合物 1.2%以下

本品約10gを精密に量り、シクロヘキサン40mlを加え、還流冷却器を付け、時々振り混ぜながら水浴上で加熱して溶かす。冷後、メタノール40mlを加え、よく振り混ぜた後、冷所に1時間静置する。上澄液を、固形物が混入しないようにろ過操作を行い、フラスコに移し、約50℃で減圧留去し、減圧デシケーター中で20時間乾燥し、残留物の重量を精密に量る。

以上

「グリセリン脂肪酸エステル」分析試験法の有害試液代替検討報告

日本食品添加物協会第十部会

研究者：理研ビタミン株式会社

1. 目的

第7版食品添加物公定書「グリセリン脂肪酸エステル」の純度試験（4）ポリオキシエチレンの試験に使用されるクロロホルムをより安全な溶媒に代替する検討を行う。本件については、平成13年度検討を行ったが代替可能な溶媒系を見出すことが出来なかった¹⁾。

本年度は、第7版食品添加物公定書「ソルビタン脂肪酸エステル」純度試験（4）ポリオキシエチレン試験法により呈色した青色の吸光スペクトルを測定することによる検出の可能性を検討した。ポリソルベートは320nm及び620nm付近に極大吸収部を有する（Fig. 1）²⁾。

2. 試験

(1) 供試試料

グリセリン脂肪酸エステルとして、デカグリセリンステアリン酸モノエステル（ポエム J-0081H：理研ビタミン）、トリグリセリンペンタベヘネート（ポエム TR-FB：理研ビタミン）、ジグリセリンモノオレート（リケマール O-71-DE：理研ビタミン）及びポリグリセリン縮合リシノール酸エステル（ポエム PR-300：理研ビタミン）を使用し、対照ポリオキシエチレン誘導体として、ポリオキシエチレン（5）アルキルエーテル（リケマール B-205：理研ビタミン）を使用した。

(2) 試験

第7版食品添加物公定書「ソルビタン脂肪酸エステル」純度試験（4）ポリオキシエチレン試験法により青色に呈色したクロロホルム層について次の操作法により吸収スペクトルを測定した。

分析機器と操作条件

分光光度計：HITACHI製 U-2000形ダブルビーム分光光度計

測定波長：700nm～250nm

波長移行速度：400nm/min

紫外光ランプ変更波長：340nm

(3) 結果

- ①ポエム J-0081H 及びリケマール B-205 の吸収スペクトルを Fig.2 及び Fig.3 に示した。いずれも 320nm 及び 620nm 付近に極大吸収部が認められた。
- ②ポエム J-0081H 以外のポリグリセリン脂肪酸エステル及びポリグリセリン縮合リシノール酸エステルでは青色呈色が認められなかった。

(4) 考察

- ①グリセリン脂肪酸エステルにおいては、第 7 版食品添加物公定書「ソルビタン脂肪酸エステル」純度試験 (4) ポリオキシエチレン試験法においても青色に呈色しないものが存在するが呈色する場合は 320nm 及び 620nm 付近に極大吸収部を有する。
- ②ポリソルベート 60 のエチレンオキサイドの重合モル数は 20 であるが、重合モル数 5 のリケマール b-205 においても同じ 320nm 及び 620nm 付近に極大吸収部を有する。
- ③従って、吸光スペクトルによるポリオキシエチレンの混入を評価することは困難である。

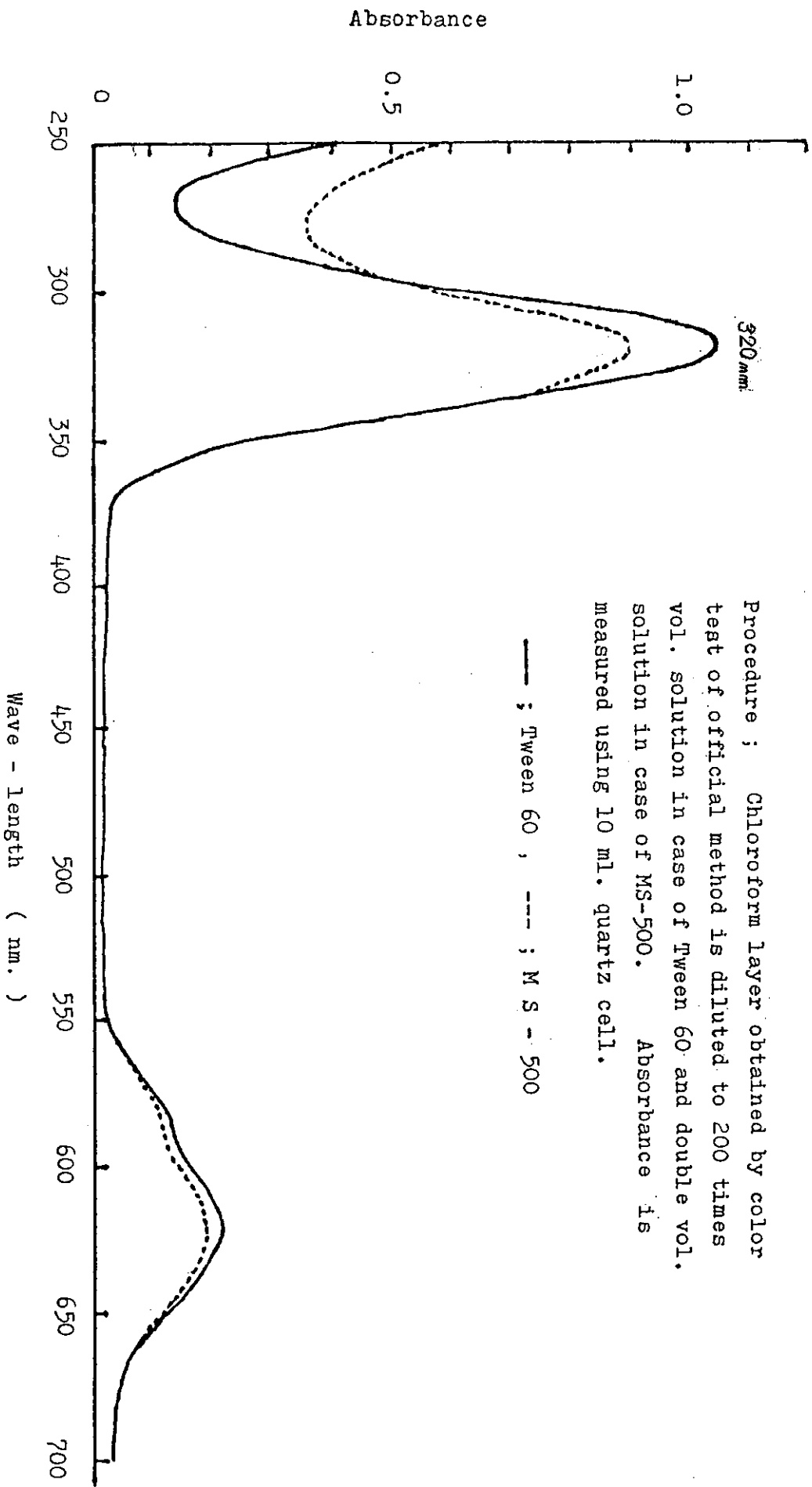
3. 結論

平成 13 年度及び平成 14 年度に行った試験では第 7 版食品添加物「グリセリン脂肪酸エステル」純度試験 (4) ポリオキシエチレン試験法のクロロホルム代替溶媒及び代替試験法は見出し得なかった。

4. 資料

- 1) 平成 13 年度厚生労働省生活安全総合研究事業「食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究」天然添加物規格設定及び有害試薬使用の排除のための研究－食品添加物規格試験法の改善に関する試験検査－（有害試薬使用の排除のための研究）
- 2) E.G. Brown, T.H. Hayes ; Analyst, 80, 755-767 (1955)
註) ポリソルベート 60 : ポリオキシエチレン (20) ソルビタンモノステアレート
MS-50 : ポリグリセリンモノステアレート

以上



Procedure ; Chloroform layer obtained by color test of official method is diluted to 200 times vol. solution in case of Tween 60 and double vol. solution in case of MS-500. Absorbance is measured using 10 ml. quartz cell.

— ; Tween 60 , - - - ; M S - 500

Fig. 1. Absorption Spectrum of Chloroform Solution

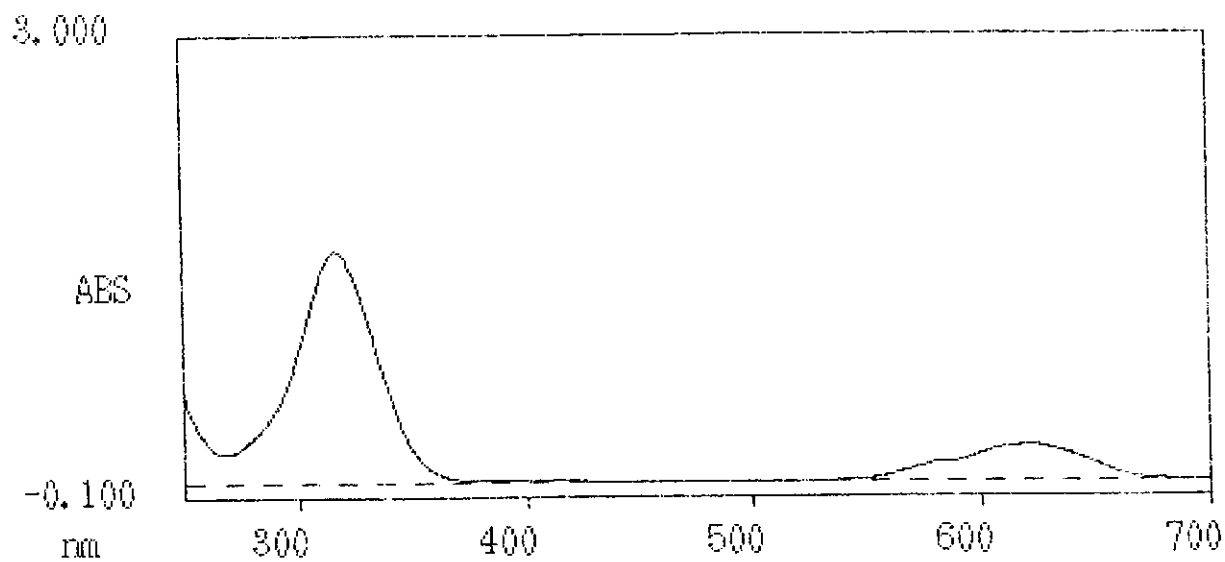


Fig.2 リケマール B-205 の吸収スペクトル

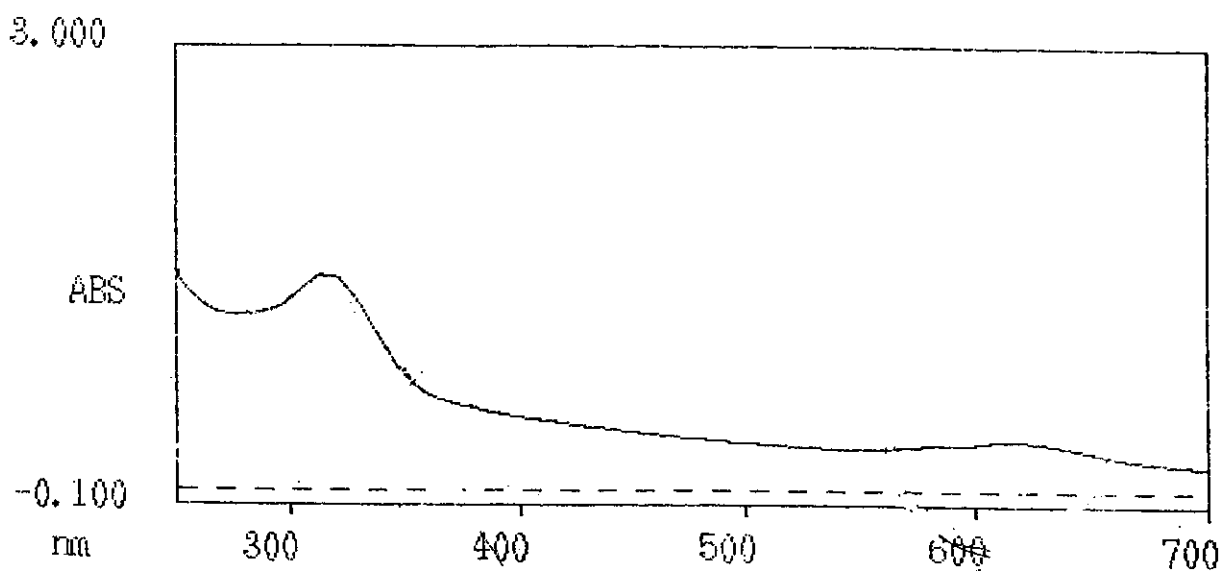


Fig.2 ポエム J-0081H の吸収スペクトル

「シヨ糖脂肪酸エステル」純度試験（2）ジメチルホルムアミドの 有害試験代替試験法の検討（その2）

日本食品添加物協会第十部会

研究者：三菱化学株式会社

第一工業製薬株式会社

1. 目的

食品添加物公定書（第7版 1999年刊）におけるシヨ糖脂肪酸エステル（以下、SEと略記）の純度試験(2)ジメチルホルムアミド（以下、DMFと略記）は、DMFをアルカリで加水分解してジメチルアミンとし、クロロホルム/二硫化炭素混液を用いた系で発色させる比色限度試験法となっている。このことより、クロロホルム/二硫化炭素を使用しない試験法として、試料をテトラヒドロフラン（以下、THFと略記）に溶解し直接ガスクロマトグラフィー（以下、GCと略記）にて測定する代替試験法を策定した。

尚、平成13年度の同目的での検討では、DMFをジメチルアミンに加水分解しGCにて測定する代替試験法を策定したが、この方法は前処理操作が煩雑で、且つDMFを直接測定していない方法である為、今年度、更に簡便な代替試験法を検討し策定したものである。

2. 検討

2.1 供試試料

検討に使用した市販のSE及びシヨ糖酢酸イソ酪酸エステル(sucrose acetate isobutyrate、以下SAIBと略記)は下記のとおりである。

- | | | |
|----------------------------|-----------------------------|---------|
| 1) SE: リョートーシュガーエステルS-1670 | (三菱化学(株)製 | HLB=16) |
| DKエステルF-110 | (第一工業製薬(株)製 | HLB=11) |
| リョートーシュガーエステルS-570 | (三菱化学(株)製 | HLB=5) |
| DKエステルF-10 | (第一工業製薬(株)製 | HLB=1) |
| 2) SAIB: Eastman SAIB | (Eastman Chemical Company製) | |

2.2 直接GCで分析する方法の検討

SEを前処理なしで、直接GC分析することを前提に下記3条件について検討した。

- 2.2.1 キャピラリーカラム-水素炎イオン化検出器(FID)へのスプリットレス注入
- 2.2.2 充填カラム-窒素・リン検出器(NPD)へのオンカラム注入
- 2.2.3 キャピラリーカラム-NPDへのスプリットレス注入

その結果、2.2.3の方法により、SEの直接注入法で、1mg/kgレベルのDMFが容易に定量できることが確認できた。以下に検討した3法の概要について説明する。

2. 2. 1 キャピラリーカラム-FID へのスプリットレス注入

通常の GC で、キャピラリーカラムにスプリットレス注入する場合、溶媒がテトラヒドロフラン (以下 THF と略記) であると $2\mu\text{l}$ 程度は注入できる。SE の 10% THF 溶液を $2\mu\text{l}$ 注入すると、SE の絶対量は $200\mu\text{g}$ となり、従って SE 中に $1\text{mg}/\text{kg}$ の DMF を含む場合、DMF の絶対量は 0.2ng である。FID で DMF 0.2ng は十分定量可能な量である。

しかし実際に分析すると、DMF の THF 溶液 (標準液) は分析可能であるが、SE 溶液を注入するとベースラインの乱れが非常に大きくなり、分析は不可能であった。

[GC 条件]

カラム	フューズドシリカキャピラリーカラム 内径: 0.32mm 長さ: 30m 液相: ポリシランリコーン 膜厚: $0.5\mu\text{m}$ (使用したカラムは J&W 社製 DB-WAX)
検出器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カラム温度	40°C (2分) — $10^\circ\text{C}/\text{min}$ — 100°C (5分)
注入口温度	180°C
検出器温度	200°C
キャリアガス	ヘリウム 63kPa (at 40°C)
試料注入量	$2.0\mu\text{l}$ をスプリットレス注入、1.5 分後バース開始

2. 2. 2 充填カラム-NPD へのオンカラム注入

充填カラムでの DMF の微量分析はかなり難しい。図-1 にクロマトグラムを示すが、ピークのテーリングを抑えることが難しくブロードなピークとなり、検出感度も悪く実用的ではなかった。

[GC 条件]

カラム	PEG20M 10% / クロマトグラフ WAW-DMCS 60/80mesh 内径: 3.2mm 長さ: 2m
検出器	窒素・リン検出器 (NPD)
カラム温度	100°C 定温
注入口温度	180°C
検出器温度	180°C
キャリアーガス	ヘリウム $50\text{ml}/\text{min}$
試料注入量	$2.0\mu\text{l}$ をオンカラム注入

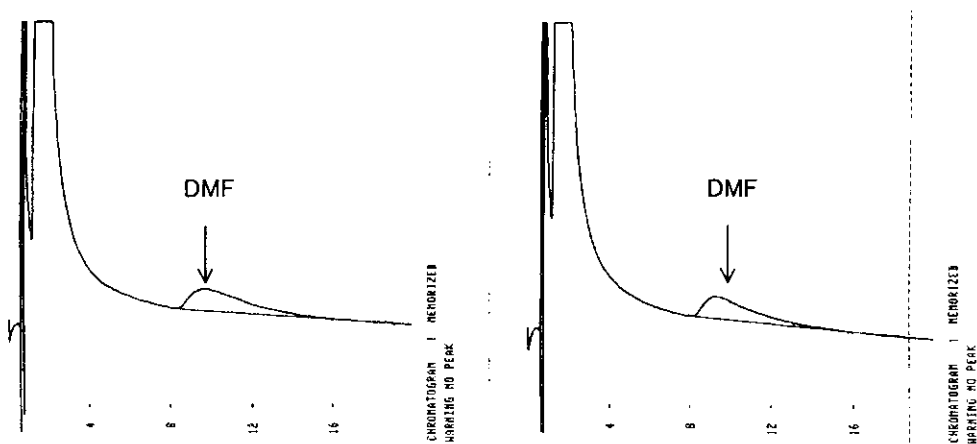


図-1 DMF $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準液 $2\mu\text{l}$ のガスクロマトグラム

2. 2. 3 キャピラリーカラム-NPD へのスプリットレス注入

NPD は窒素原子を含まない成分に対する感度が極めて悪いので、DMF 以外のピークはほとんど現れない。したがって、安定したベースラインでより微量な DMF の定量が可能となる。この方法での試料濃度は 10wt/vol%THF 溶液を 1.0 μ l 注入することとし、キャピラリーカラムへの負荷を軽減して検討した。

〔GC 条件〕

カラム フューズドシリカキャピラリーカラム 内径：0.32mm 長さ：30m
液相：ポリリンガリコール 膜厚：0.5 μ m (使用したカラムは J&W 社製 DB-WAX)
検出器 窒素・リン検出器 (NPD)
カラム温度 40°C (2分) — 20°C/min — 160°C (2分)
注入口温度 180°C
検出器温度 325°C
キャリアーガス ヘリウム 150kPa (コンスタントプレッシャー)
試料注入量 1.0 μ l をオートインジェクターでスプリットレス注入、1.0 分後パージ開始
上記条件で測定したときのジメチルホルムアミドの保持時間は約 6.4 分である。

SE (DK イスタ F-110) に 1mg/kg の DMF を添加した時のガスクロマトグラムは図-2 のとおりであり、十分定量可能なピーク強度を得ることができる。

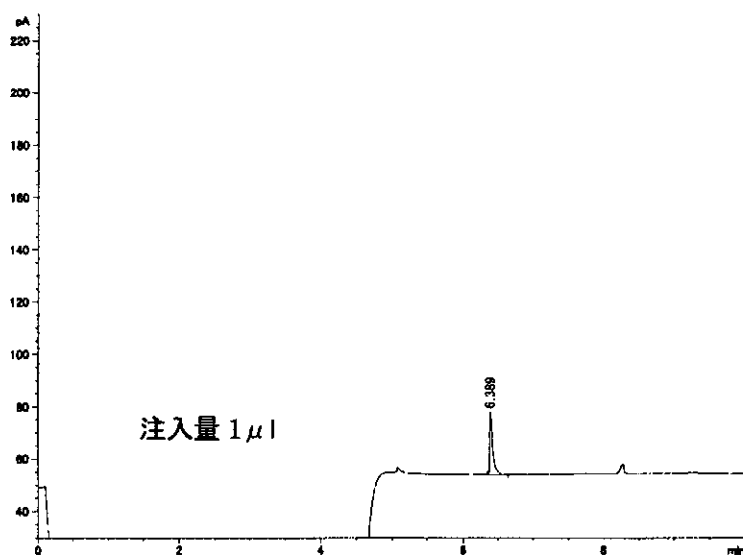


図-2 DMF 1mg/kg を含有させた SE 10wt/vol%THF 溶液のガスクロマトグラム

以上 3 方法について検討した結果、上記 2. 2. 3 のキャピラリーカラム-NPD による方法のみが実用的な感度と分離能を有していた。よって以降の検討は全て 2. 2. 3 の方法とした。

2. 3 キャピラリーカラム-NPD 分析法の詳細な検討

2. 3. 1 DMF 標準液

100ml の全量フラスコに DMF 100mg を量り取り、THF で正確に 100ml とする (DMF 1,000 μ g/ml 溶液)。これの 1ml を 100ml の全量フラスコに取り、THF で正確に 100ml とする (DMF

10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液)。更にこれの 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 および 5.0ml を 100ml の全量フラスコに取り、THFで正確に 100ml とする (DMF 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 および 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液)。

2. 3. 2 検量線の作成

検量線-1：2. 3. 1で調製したDMF標準液をそれぞれ 1.0 μl ずつGCに注入して検量線を作成した (図-3の実線で示すグラフ)。

検量線-2：SE (DK イソル F-110) の 10wt/vol% THF 溶液に、SE に対して 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 および 5.0 $\mu\text{g}/\text{g}$ 相当のDMFを添加した溶液を作り、それぞれ 1.0 μl をGCに注入して検量線を作成した (図-3の破線で示すグラフ)。

検量線-1と検量線-2はほぼ同じ傾きであり、通常の実験では検量線-1を使って濃度を算出しても差し支えないと考えられる。それぞれの回帰式は以下のとおり。

$$\text{検量線-1の回帰式} \quad Y=0.014614X-0.004717$$

$$\text{検量線-2の回帰式} \quad Y=0.014819X-0.018142$$

ここに Y : DMF濃度 mg/kg - SE

X : DMFのピーク面積

因みに、検量線-1を使って、検量線-2の溶液系列の濃度を求めると表-1のようになり、0.5 mg/kg 以下では回収率が 104~108%でやや高い値を示したが、実用域濃度では問題ない。

表-1 ショ糖脂肪酸エステル (DK イソル F-110) 中のジメチルアミンの定量性

実験 No	試料調製			GC 分析値		
	ショ糖脂肪酸エステル 採取量 (g)	全量フラスコ (ml)	ジメチルアミン濃度 (mg/kg - SE)	GCピーク面積 ($\text{pA} \cdot \text{s}$)	検量線から求めたジメチルアミン濃度 (mg/kg - SE)	回収率 (%)
1	2.5	25	0.1	7.74	0.108	108
2	2.5	25	0.2	14.60	0.208	104
3	2.5	25	0.5	35.99	0.521	104
4	2.5	25	1.0	69.11	1.010	101
5	2.5	25	2.0	134.70	1.960	98
6	2.5	25	5.0	339.04	4.950	99

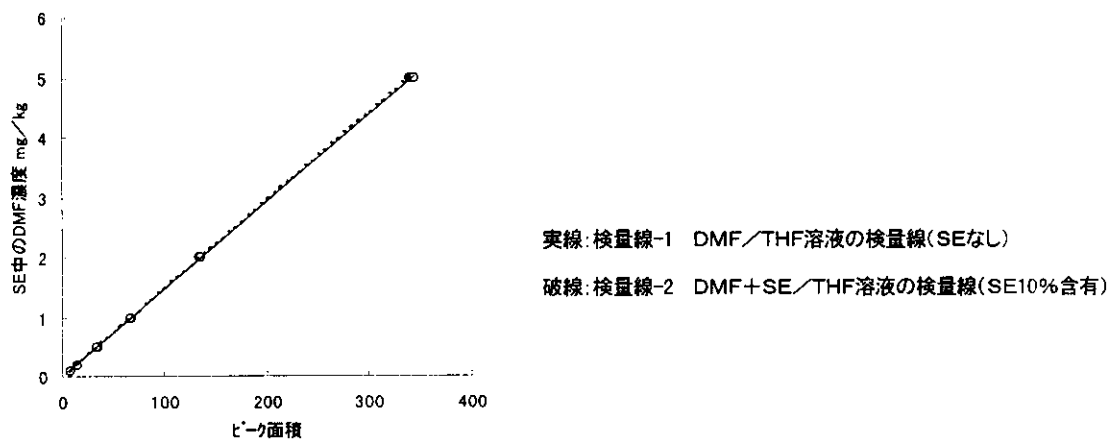


図-3 DMFの検量線 (SE中のDMF濃度として 0.1~5.0 $\mu\text{g}/\text{g}$)

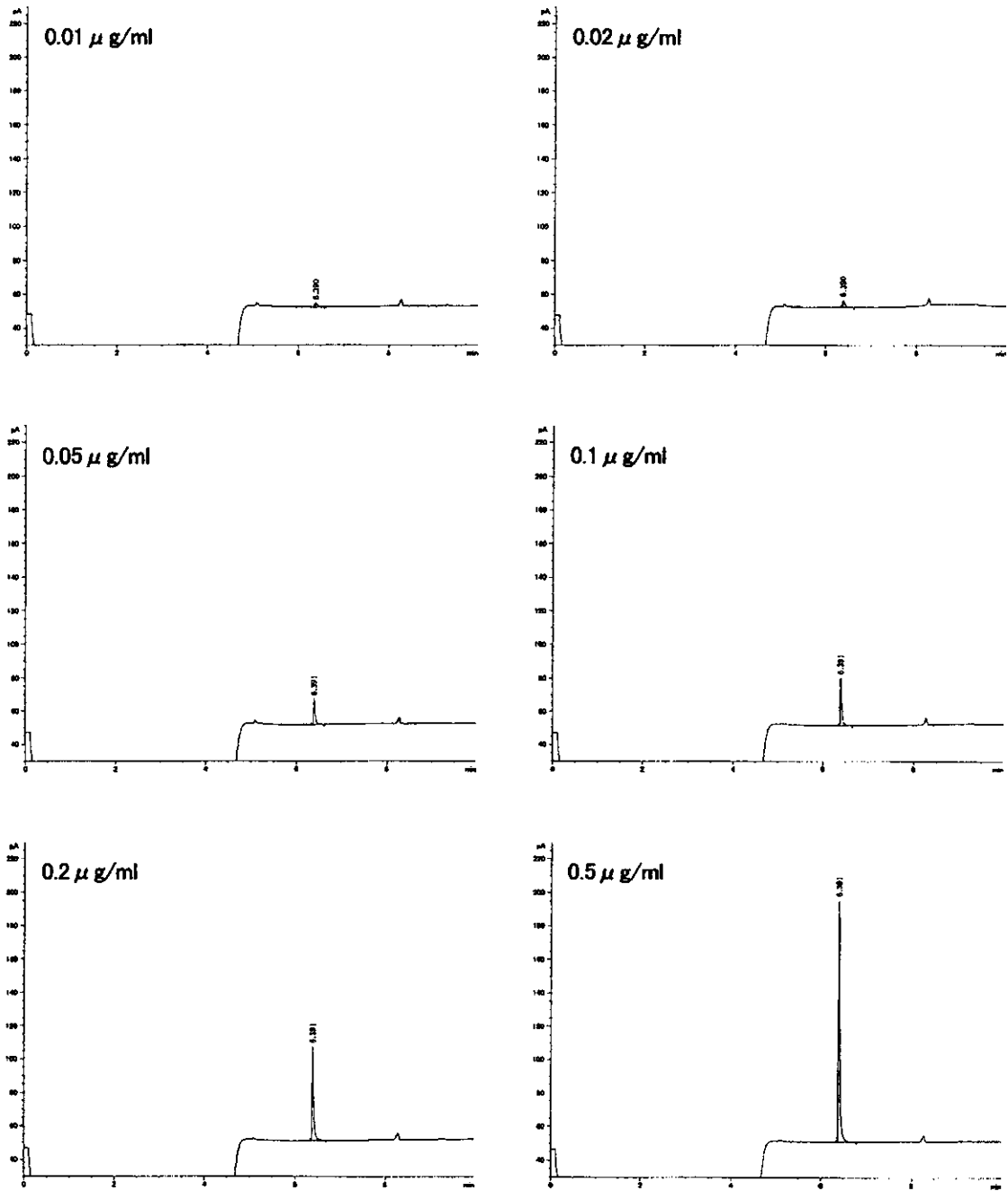


図-4 検量線-1 作成時のガス chromatogram (DMF/THF溶液 (SEなし))

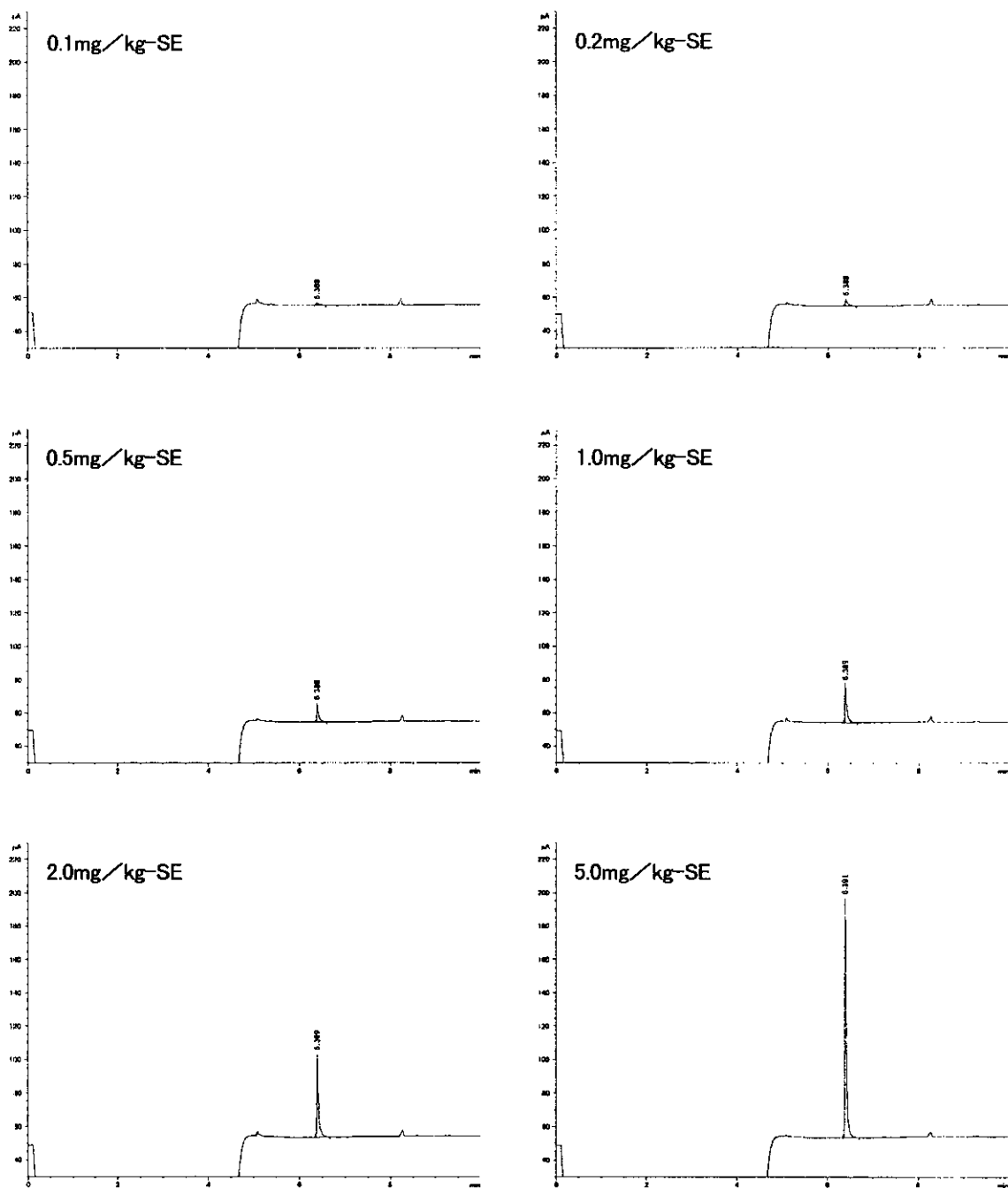


図-5 検量線-2 作成時のガスクロマトグラム (DMF+10%SE/THF溶液)

2. 3. 3 DMFの添加回収試験

DMFを含有しないSEとSAIBの3品種に1mg/kg相当量のDMFを添加して、DMFの含有量を測定し、回収率を求めた結果を表-2に示す。回収率は98%~103%で、この濃度での定量性は良いことが確認できた。

表-2 1 $\mu\text{g/g}$ のDMFを添加したSEを分析したときの回収率

実験 No	試料名	DMF測定濃度(mg/kg)	DMF回収率(%)
7	リョート-エステル S-1670 (Lot 16138101)	1.01	101
8		1.03	103
9		1.02	102
10	DK エステル F-110 (Lot 848X71)	0.99	99
11		0.99	99
12		0.99	99
13	リョート-シュガ-エステル S-570 (Lot 1Y018201)	1.00	100
14		0.99	99
15		0.98	98
16	DK エステル F-10 (Lot 848X72)	1.02	102
17		1.00	100
18		1.01	101
19	Eastman SA IB (Lot 0015355)	0.99	99
20		0.99	99
21		0.99	99

図-6から図-8には、表-2の回収率を求めたときのガスクロマトグラム(例)を示す。

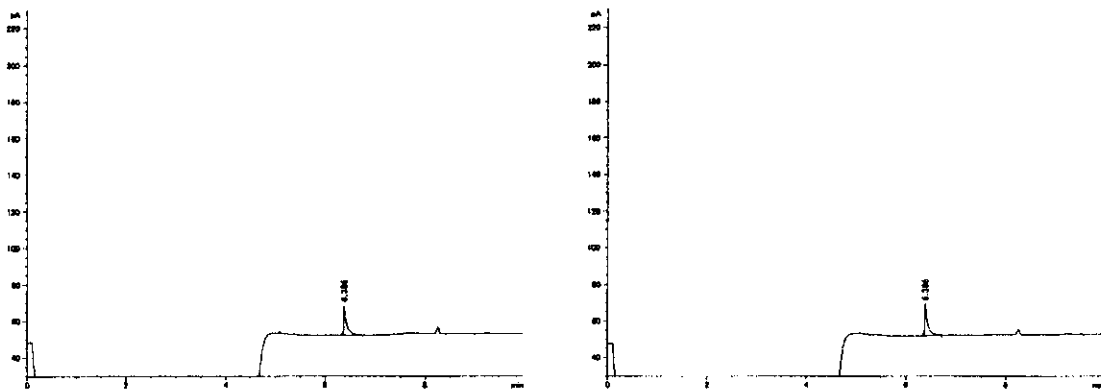


図-6 リョート-エステル S-1670 に1mg/kgのDMFを添加したときのガスクロマトグラム(実験 No. 7, 8)

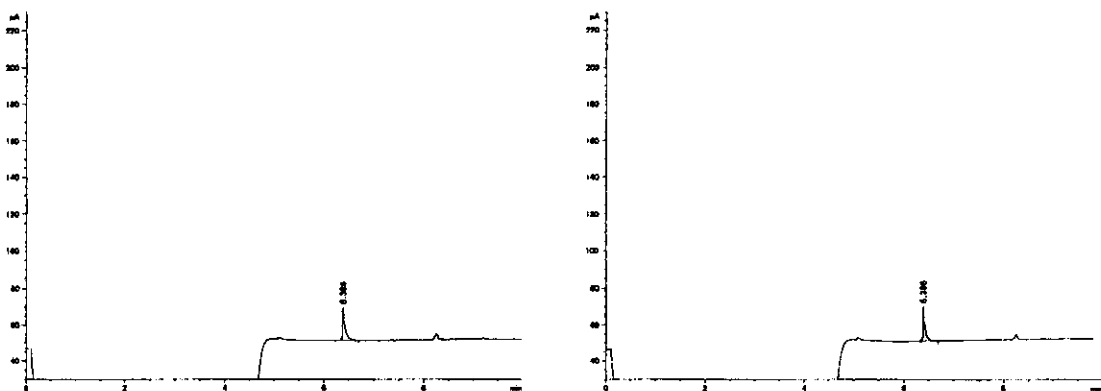


図-7 DK エステル F-110 に1mg/kgのDMFを添加したときのガスクロマトグラム(実験 No. 10, 11)

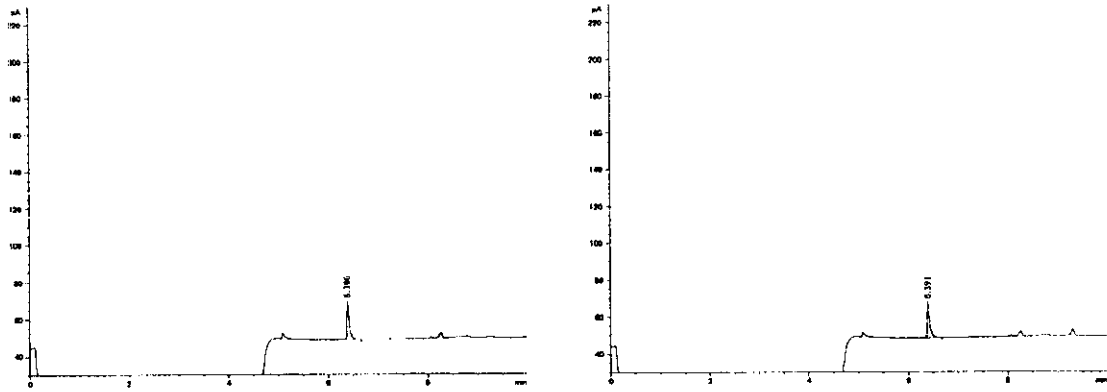


図-8 Eastman SAIBに1mg/kgのDMFを添加したときのガスクロマトグラム (実験 No. 19、20)

2. 3. 4 試料のDMF測定結果

SEとSAIBの5種の試料について、6回ずつ繰り返し測定を行なった結果を表-3に示す。その結果、全ての試料からジメチルホルムアミドは検出されなかった。

表-3 試料のDMF測定結果

実験 No	試料名	DMF濃度 (mg/kg)	実験 No	試料名	DMF濃度 (mg/kg)
22	リョート-エステル S-1670 (Lot 16138101)	検出されず	40	DK エステル F-10 (Lot 1848 X72)	検出されず
23		検出されず	41		検出されず
24		検出されず	42		検出されず
25		検出されず	43		検出されず
26		検出されず	44		検出されず
27		検出されず	45		検出されず
28	DK エステル F-110 (Lot 848X71)	検出されず	46	Eastman SAIB (Lot 0015355)	検出されず
29		検出されず	47		検出されず
30		検出されず	48		検出されず
31		検出されず	49		検出されず
32		検出されず	50		検出されず
33		検出されず	51		検出されず
34	リョート-シガ-エステル S-570 (Lot 1Y018201)	検出されず			
35		検出されず			
36		検出されず			
37		検出されず			
38		検出されず			
39		検出されず			

検出限界 0.1mg/kg

図-10から図-12には、表-3の測定を行なったときのガスクロマトグラム (例) を示す。

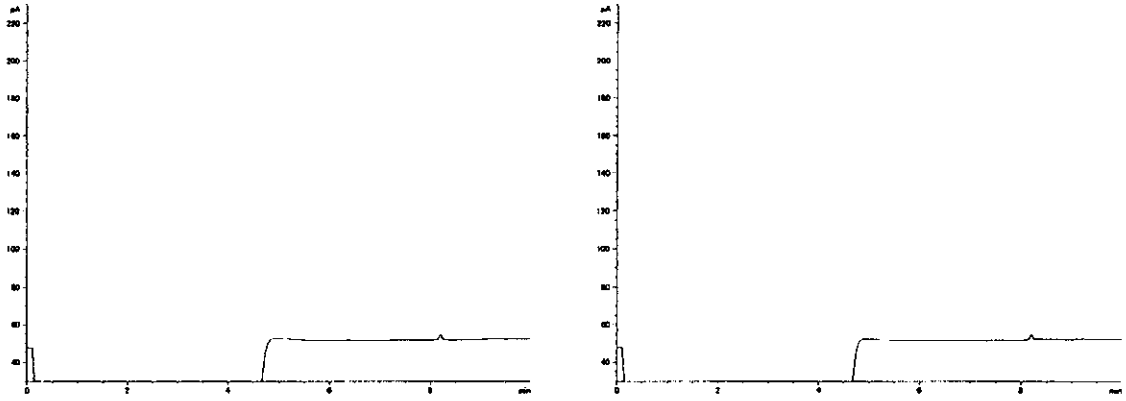


図-10 リョートエステルS-1670のガスクロマトグラム(実験No. 22、23)

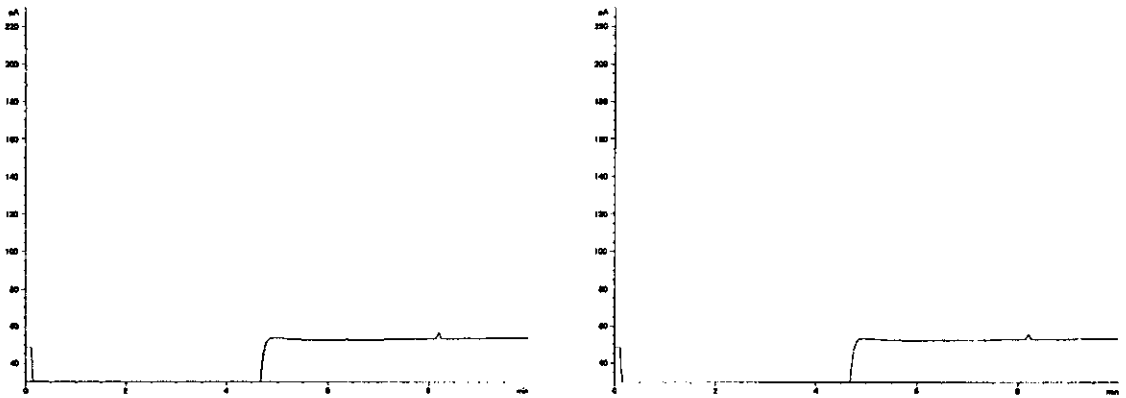


図-11 DKエステルF-110のガスクロマトグラム(実験No. 28、29)

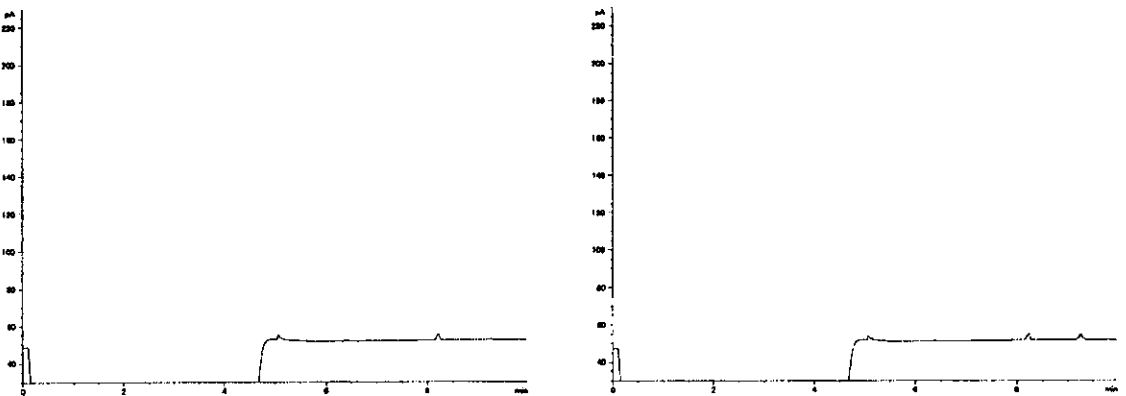


図-12 Eastman SAIBのガスクロマトグラム(実験No. 46、47)

3. 提案するジメチルホルムアミド試験法

純度試験

(2) ジメチルホルムアミド ジメチルホルムアミドとして $1.0 \mu\text{g/g}$ 以下

本品 2.00 gを 20ml の全量フラスコに量り取り、テトラヒドロフランを加えて溶かし、正確に 20ml