

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品添加物の安全性確保に資する研究

令和元年度分担研究報告書

残留溶媒試験に関する調査研究

研究分担者 建部千絵 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部主任研究官

研究要旨

海外規格の一般試験法及び各条ならびに公定書の各条における残留溶媒試験について調査を実施した。JECFA4 及び FCC11 それぞれで設定されている一般試験法における残留溶媒試験法の調査及び、海外規格及び公定書における各条での残留溶媒試験法について調査を行った。

その結果、いずれの方法も HS-GC-FID 法であるが、JECFA4 では残留溶媒をほとんど含まないブランク試料を使用し、内標準を用いる方法で、試料の性質により水を加える Method I とメタノールを加える Method II の 2 つの方法が設定されていた。一方 FCC11 では標準液、試料液、試料に標準液を添加した添加試料液を用いて、それぞれの HS から得られたピークを用いて、計算によって導かれる方法であった。また、それ以外の方法として、各条では蒸留-GC-FID 法や、HS-GC-FID 法等様々測定法が設定されていた。また定量法としては検量線から定量する方法、内標準を用いて定量する方法、標準添加法により定量する方法などが設定されていた。以上の結果から、国際規格や公定書で共通に使用される残留溶媒試験法としては、蒸留-GC-FID 法、HS-GC-FID 法などが多くあり、また、GC 法での定量では、標準液による定量法、内標準を用いた定量法、標準添加法による定量法などが多く設定されていたことから、一般試験法としてこれらの共通に使用されている試験法を設定することが必要であると考えられた。

A. 研究目的

食品添加物公定書（公定書）における一般試験法は、共通な試験法及びこれに関連する情報をまとめたものである。別に規定する場合を除き、それぞれの試験法よって行うこととなっている。添加物の成分規格の適否の判断に用いられる試験法については、可能な限り、「食品、添加物等の規格基準」（昭和 34 年厚生省告

示第 370 号（以下「告示」という。）に規定されている汎用性の高い一般試験法を用いることとしている。

他方、科学技術の進展等に伴い、我が国と同様に諸外国においても試験法の見直しが行われており、我が国においても諸外国の状況を鑑み、必要に応じて見直しを進めており、直近の事例では、鉛試験法に関して、米国の米国食品化学物質

規格集 (FCC11) を参考に改正したところである。

一方、国内規格である日本薬局方 (局方) や日本産業規格 (JIS) においても海外との整合性から試験法の見直しが行われている。一般試験法においても局方や JIS を参考にしている試験法については、順次比較を行い、見直しを行うことが必要と考えられる。

残留溶媒試験法は食品添加物中に残留する有機溶媒を試験する方法として、FCC11 の General Test and Assays や、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) の COMBINED COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS vol. 4 (JECFA4) に一般試験法として設定されているが、日本では食品添加物個別の成分規格において残留溶媒の規格が設定されているのみで、一般試験法としては設定されていない。本研究では、公定書における一般試験法としての残留溶媒試験法の設定を目的とし、海外規格における残留溶媒試験法について調査を行い、今後公定書において一般試験法として残留溶媒試験法を設定するための問題点等について考察した。

B. 研究方法

1) 国際規格における一般試験法の残留溶媒試験法の調査

FCC11 の General Test and Assays, Appendix VIII: Oleoresins, Residual Solvent (Oleoresins) 及び JECFA4, Organic Components, Residual solvents (Method I 及び Method II) の試験方法について調査した。

2) 公定書及び国際規格における成分規格各条の調査

FCC 11、JECFA 規格及び公定書において成分規格各条において残留溶媒または有機溶媒の残留規格が設定されているものについて調査を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は、倫理面にかかわる事項はない。

C. 研究結果及び考察

1) 国際規格における残留溶媒試験法

JECFA4 の方法、FCC11 Appendix XIII の方法いずれも HS-GC を用いる方法であるが、JECFA4 では残留溶媒をほとんど含まないブランク試料を使用し、内標準を用いる方法で、試料の性質により水を加える Method I とメタノールを加える Method II の 2 つの方法が設定されている。一方 FCC11 では標準液、試料液、試料に標準液を添加した添加試料液を用いて、それぞれの HS から得られた測定対象物質のピークを用いて、試料由来ピークの添加試料液から試料液由来のピークを差し引いたピーク面積を用いて、標準原液の濃度、試料採取量から計算によって導かれる。以下にそれぞれの詳細な方法について示す。

1)-1 JECFA4

JECFA4 ではヘッドスペース (HS) - ガスクロマトグラフィー (GC-FID 法) が設定されており、定量できる有機溶媒 (エタノール、メタノール、エタニトリル、プロパノン、2-プロパノール、エトキシエタン、2-メチル・2-プロパノール、ジクロロメタン、1-プロパノール、2-ブタノール、酢酸エチル、クロロホルム、2-

メチル-1-プロパノール、1-ブタノール、ヘキサメチルジシロキサン、酢酸プロピル、4-メチル-2-ペンタノン、ピリジン、3-メチル-2-ペンタノン、トルエン、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸メチル)を分析対象としている。その分析方法は3-メチル-2-ペンタノンを内標準とし、有機溶媒の残留が非常に低い試料をブランク試料として分析するものである。水を希釈溶媒として実施する方法 (Method I) とメタノールを希釈溶媒として実施する方法 (Method II) がある。いずれも、ブランク試料 0.20 g に、内標準液 1.0 mL 及び測定対象化合物が含まれた標準液 (水またはメタノールで調製したもの) 5.0 mL を加え、試料にも同様に内標準液 1.0 mL を加え、水またはメタノール 5.0 mL を加え密封した後、60°C で 10 分間加温した後、激しく振とうしたのち、DB-Wax (内径 0.53 mm、0.8 m+30 m、膜厚 5 mm) で分析することとなっている。条件は以下の通りである。

JECFA4 HS-GC-FID 条件

<GC 条件>

キャリアーガス：ヘリウム

流速：208 kPa、5 mL/min

検出器：FID

注入口温度：140°C

昇温条件 35°C (5 分保持) →5°C/分→90°C (6 分保持)

検出器温度：300°C

<HS サンプラー条件>

サンプル加温温度：60°C

サンプル加温時間：10 分

シリンジ温度：70°C

トランスファーライン温度：80°C

サンプルガス注入量：1.0 mL (スプリットモード)

<計算方法>

$A \times B \times C / 50 =$ バイアル当たりの測定対象化合物量 (mg)

A：測定対象化合物の相対的ピーク面積

B：内標準物質質量 (mg)

C：キャリブレーションファクター*

*キャリブレーションファクター計算方法

Method I

$$C = D \times 50 / (E \times (F - G))$$

Method II:

$$C = D / (E \times (F - G) \times 10)$$

Where:

D = 測定対象化合物量 (mg)

E = 内標準物質質量 (mg)

F = 標準液中の測定対象化合物の相対ピーク面積

G = ブランク試料中の測定対象化合物の相対ピーク面積

1)-2 FCC11 General Test and Assays, Appendix VIII: Oleoresins, Residual Solvent (Oleoresins)

FCC11 においても JECFA4 と同様に香辛料オレオレジン中に残存するアセトン、クロロメタン、ヘキサン、イソプロパノール、メタノール、ジクロロメタン、トリクロロエテンの定量のために使用されており、希釈溶媒としてジメチルアセトアミドを使用し、試料をジメチルアセトアミドで溶解したものを試料溶液とし (5.0 g/10 mL)、各化合物の標準液原液を以下のように調製する。

標準原液 A：メタノール 250 mg、アセトン、イソプロパノール、クロロメタン、ジクロロエタン、トリクロロエテン各 150 mg、ヘキサン 125 mg を 10 mL の希釈溶媒を入れた 50 mL メスフラスコに入れ、希釈溶媒で定容する。

標準原液 B：標準原液 A 250 μ L を 10 mL の希釈溶媒を入れた 50 mL メスフラスコに入れ、希釈溶媒で定容する。

標準原液 C：標準原液 A 500 μ L を 10 mL の希釈溶媒を入れた 50 mL メスフラスコに入れ、希釈溶媒で定容する。

以下のように 3 つの分析用バイアル（標準液バイアル：標準原液 B 1.0 mL + 希釈溶媒 1.0 mL、試料液バイアル：試料原液 1.0 mL + 希釈溶媒 1.0 mL、添加試料液を添加した添加試料液バイアル：試料溶液 1.0 mL + 標準原液 C (1.0 mL) を 20 mL HS バイアルに調製する。それぞれをシステム適合性が確認された GC システムで以下の条件で分析することとなっている。条件は以下の通りである。

FCC11 HS-GC-FID 条件

<GC 条件 (Appendix IIA) >

検出器：FID

ヘッドスペース法

カラム：内径 0.32 mm \times 30 m、膜厚 1.8 mm 6%シアノプロピルフェニル、94%ジメチルポリシロキサンで覆われたもの。

注入口：150°C

検出器温度：250°C

昇温条件：40°C (5 分保持) \rightarrow 10°C/分 \rightarrow 100°C \rightarrow 30°C/分 \rightarrow 250°C (9 分保持)

ガス流量：空気 400 mL/min

水素：40 mL/min

窒素 (カラム流量)：2 mL/min

メイクアップガス：20 mL/min (窒素)

注入量：1 mL

注入方法：スプリット (スプリット比 5 : 1)

<HS サンプラー条件>

温度

オープン：80°C

ループ：100°C

加圧平衡化時間：0.1 分

ループ平衡化時間：0.05 分

注入時間：0.5 分

バイアル圧力：15 psi

トランスファーライン：120°C

バイアル平衡化時間：20 分

<システム適合性>

試料：標準液

およその溶出時間以下の通り

メタノール：2.57 分、アセトン：4.08 分、イソプロパノール：4.33 分、クロロメタン：4.85 分、ジクロロエタン：8.56 分、トリクロロエテン：9.52 分、ジメチルアセトアミド：13.66 分

適合性要件 1：アセトンとイソプロパノールの分離度 (R) は 1.5 以上

適合性要件 2：各溶媒のテーリングファクターは 2 以下

適合性要件 3：各溶媒の繰り返し 6 回注入の相対標準偏差は 5.0% 以下

<分析>

希釈溶媒を注入し標準液からのキャリオオーバーを確かめる。別に標準液、試料液、添加試料液のヘッドスペースを同量ずつ注入し、クロマトグラムを記録し、ピーク面積を測定する。

<計算方法>

残留溶媒量 (%)

$$= \{(C/W)[r_U / (r_{SS} - r_U)]\} / 100$$

C = 標準原液 A 中の標準物質の濃度 (μg/mL)

W = 試料原液調製の際に採取した試料採取量 (mg)

r_U = 試料液から得られた各残留溶媒のピーク強度

r_{SS} = 添加試料液から得られた各残留溶媒ピーク強度

2) 各国際規格及び日本における各条での残留溶媒規格について

JECFA 規格及び FCC11 規格の各条では一般試験法の残留溶媒試験だけではなく、各条にのみ記載される残留溶媒試験法がある。そこで、JECFA 規格及び FCC11 規格の各条に記載されている残留溶媒試験法について調査した。更に FCC11 規格の各条では残留溶媒規格ではないが有機不純物規格 (Organic Impurities) として GC-FID 法や HS-GC-FID 法を用いた試験法が多く記載されていることから、これらの試験法についても調査した。

2)-1 JECFA 規格での各条の残留溶媒試験法

JECFA 規格各条において残留溶媒規格が設定されている 28 品目について Table 1-1~13 にまとめた。そのうち、JECFA4 の方法を引用している品目は 22 品目あるが、試験法に JECFA4 参照とだけ記載されているものが 11 品目 (Lycopene extract from blakeslea、Tagetes extracts 等)、Residual solvent の Method I が指定されているものが 6

品目 (Carrageenan、Lutein、Pectin、Steviol glycoside、Cassia gum 及び Carob bean gum)、それ以外のものは Method I や II の指定はなく、JECFA4 の Residual solvent の HS-GC 法の部分のみ引用され、詳細な条件が各条に記載されているものが 4 品目 (Annatto Extracts (SOLVENT- EXTRACTED NORBIXIN)、ANNATTO EXTRACTS (SOLVENT- EXTRACTED BIXIN)等)、蒸留後、GC-FID で分析し、JECFA4 の GC 法の部分のみ引用されているものが 1 品目 (Guar gum) あった。また、JECFA4 の方法が引用されていないものは、6 品目あり、GC-FID 法が設定されている品目が 1 品目 (Ethyl lactate)、HS-GC-FID 法が設定されている品目が 2 品目 (Lycopene extract from tomato 及び Gellan gum)、パーミアンドトラップ法によるもの 1 品目 (β-cyclodextrin) あった。また、Chlorophylls、copper complexes 及び Chlorophylls の 2 品目は試験法の部分に Determination of Residual Solvents の entrainment distillation または Limit Test for Solvent Residue の headspace analysis を用いると記載されているが、JECFA4 にはそれらの試験法記載がないため、詳細な方法が不明であった。

2)-2 FCC11 での各条の残留溶媒試験法

FCC11 各条で残留溶媒規格が設定されている品目について Table 2-1~12 にまとめた。その結果、FCC11 で残留溶媒規格が設定されているものは 16 品目あった。そのうち、一般試験法の Residual

Solvent Appendix VIII を引用しているものは 5 品目 (Annato Extracts、Tagetates Extract 等) あり、そのうち 1 品目はオレオレジンではなかった。その他の品目では、直接注入の GC-FID 法を用いるものが 1 品目 (Advantame)、蒸留後 HS-GC 法を用いるものが 1 品目 (Carrageenan)、Residual Solvent Appendix VIII を引用していないが、HS-GC-FID 法を用いるものが 8 品目ある。HS-GC-FID 法を用いるものは、内標準を用いて標準液で検量線を作成し定量するものや、内標準を用いて標準液の 1 点検量線から求める方法等が用いられ、試料を希釈するのに用いる溶媒はメタノール、10%食塩水、DMSO、ひまわり油、水など試料によってそれぞれ異なっている。また、HS-GC/MS が設定されているものも 1 品目 (β -Carotene from *Blakesiea trispora*) あった。

2)-3 FCC11 での各条の有機不純物試験法

FCC11 各条で有機不純物規格 (Organic impurities) が設定されている品目について方法を和訳したものを Table 3-1~10 にまとめた。その結果、17 品目について有機不純物規格が設定されており、そのうち 9 品目 (Polyvinyl acetate、5'-Adenylic Acid、Olestra 及び Rebaudioside A 等) では HS-GC-FID 法による標準液との比較、内標準を用いた標準液による検量線から定量する方法、内標準を用いた標準添加法、有機不純物がほとんどない USP 標準品をブランク試料として用いる方法などがそれぞれ設

定されている。その他の品目では、Sucrose Fatty acid の Organic impurities として、Dimethyl sulfoxide 規格が設定されており、ガラスカラムを用いた炎光光度検出器 (FPD) による GC 分析法が設定されている。また、Gellan gum では、Organic impurities として、Isopropyl alcohol 規格が設定されており、1.8 m \times 3.2 mm i.d. のステンレスカラムを用いた GC-FID 分析法が設定されている。Polysorbate 20、Plusorbate 60、Polysorbate 65、Polysorbate 80 で 1,4-Dioxane 規格があり、Stripped polysorbate を調製する操作があり、試料を用いて有機不純物が存在しない試料を作成し、そこへ測定対象有機化合物の標準液を加えたものを標準液とし、標準液と試料液を 6 m \times 3.2 mm i.d. のニッケル製パックドカラムを用いた HS-GC-FID 分析し、試料由来のマトリックスの影響を考慮した定量法となっている。例えば Stripped polysorbate の調製方法では polysorbate を減圧下 (10 mmHg) 130 $^{\circ}$ C で 4 時間加熱した後、1,4-Dioxane を分析し、1,4-Dioxane を含まない polysorbate を調製することとなっている。Poloxamer 331、Poloxamer 407 で Ethylene oxide、Propylene oxide 及び 1,4-Dioxane 規格、Polyethylene Glycol では Ethylene oxide 及び 1,4-Dioxane 規格があり、同様に Stripped ploxamer を調製し、標準液と試料液を 50 m \times 0.32 mm 膜厚 5 μ m のキャピラリーカラムを用いた HS-GC-FID 法で分析する方法が設定されている。

2)-4 公定書での各条の残留有機溶媒試験法

公定書において各条の純度試験で残留する有機溶媒の規格が設定されているものを Table 4-1~12 にまとめた。その結果、26 品目で純度試験において有機溶媒の残留規格が設定されていた。そのうち、2 品目（カカオ色素及びクチナシ青色素）では固相抽出後した液を、パックドカラムを用いた GC-FID 法で分析する方法、2 品目（スクラロース及びヘキサシ）では試料を直接希釈し、パックドカラムを用いた GC-FID 法で分析する方法が設定されている。また、蒸留装置により試料を水または適切な有機溶媒で蒸留し、得られた液を直接、パックドカラムを用いた GC-FID 法で分析する方法が 11 品目（加工ユーケマ藻類、エンジュ抽出物等）に設定されていた。また、その他の分析法としては、ショ糖脂肪酸エステルではキャピラリーカラムを用いた HS-GC-FID 法、ヒドロキシプロピルセルロースでは試料から抽出した液を、キャピラリーカラムを用いた GC-FID 法が、植物性ステロール（遊離体高濃度物及び遊離体低濃度品）では、蒸留装置で蒸留した液を、キャピラリーカラムを用いた蒸留-GC-FID 法が、ペクチンでは水で抽出した後、遠心式限外ろ過ユニットで遠心分離して得られた液を、パックドカラムを用いた GC-FID 法が設定されている。また、乳酸及び乳酸ナトリウムでは水で希釈または溶解した液を蒸留して得られた液を比色法で目視により判定する方法、ポリソルベート類 4 品目ではキャピラリーカラムを用いた HS-GC-FID 法が設定されて

いる。

2)-5 各条における海外規格と公定書規格の試験法の比較

海外規格では多くの試験法でキャピラリーカラムを用いた HS-GC-FID 法が用いられているのに対し、公定書各条では蒸留装置を用い、パックドカラムを用いた GC-FID 法が用いられていることが多いことが明らかとなった。また、公定書では多くの増粘安定剤やガム類において共通した蒸留装置を用い、パックドカラムを用いた GC-FID 法が用いられていることが明らかとなった。しかし、海外規格においては HS-GC-FID 法で分析しているものが多い。JECFA 規格では JECFA4 を引用しているものが 28 品目中 22 品目と多く、JECFA4 の方法を引用している品目においては、各条に詳細な方法を記載しているもの以外では、残留溶媒の少ないブランク試料をどのように入手するか、また、希釈溶媒であるメタノールや水のどちらを用いるか Method I または II のどちらを使うかなど、詳細が示されず不明な点が多いものが多い。一方、FCC11 では FCC11 の Appendix XIII の方法をそのまま引用しているものは 16 品目中 5 品目と少なかった。これは FCC11 の Appendix XIII がオレオレジンに対する残留溶媒試験法であるせいかもしれない。FCC11 の Appendix XIII を引用していない試験法では、残留溶媒を含まない USP 試料に標準液を添加して定量する方法、標準添加を行う方法、残留溶媒と取り除いた Stripped 試料を調製する方法など、マ

トリックスの影響を考慮するための、様々な試験方法の詳細が各条で設定されている。これらの方法は JECFA 規格各条で詳細な分析法が示されていない品目でも参考になる可能性があると言えるであろう。

2)-6 公定書で一般試験法として残留溶媒試験法を設定するための考慮すべき点について

海外規格や公定書での試験法をまとめた結果、残留溶媒試験法としては、蒸留-GC-FID 法、HS-GC-FID 法が多いことが分かった。また、GC 法での定量では、標準液による定量法、内標準を用いた定量法、標準添加法による定量法などがあり、一般試験法として設定するためにはこれらの共通に使用されている試験法を設定することが必要であると考えられた。

また、公定書ではパックドカラムを用いた GC-FID 法が多く設定されているが、ピーク感度が悪いことや、キャリアガスが多量に必要であること、近年パックドカラムを設置することができない GC 装置も多いこと、また海外規格の試験法との整合性の点からも、キャピラリーカラムへの変更が必要と考えられる。

製造基準で残留溶媒規格が設けられている天然香料等の品目については、有機溶媒等で抽出された抽出物やそれらに油などが混合されたものも多く、増粘安定剤等と同様に蒸留法で残留溶媒を分析するためには、有機溶媒を用いて蒸留-GC-FID 法で分析しなければならないため、環境への影響も考慮すると HS-GC-FID 法が望ましいと考えられる。しかし、HS-

GC-FID 法で精度よく分析するためには HS サンプラーの設置や、希釈するための溶媒の選択が重要である。JECFA4 のように希釈溶媒がメタノールや水だけでは試料を完全に溶解できず、精度よく分析できない可能性もあるため、FCC11 の方法や JECFA 規格各条で使用された希釈溶媒などを参考に、汎用性の高い希釈溶媒を選択する必要があるであろう。

D. 結論

海外規格の一般試験法及び各条ならびに公定書の各条における残留溶媒試験について調査を実施した。JECFA4 及び FCC11 それぞれで設定されている一般試験法における残留溶媒試験法の調査及び、海外規格及び公定書における各条での残留溶媒試験法について調査を行った。

その結果、いずれの方法も HS-GC-FID 法であるが、JECFA4 では残留溶媒をほとんど含まないブランク試料を使用し、内標準を用いる方法で、試料の性質により水を加える Method I とメタノールを加える Method II の 2 つの方法が設定されていた。一方 FCC11 では標準液、試料液、試料に標準液を添加した添加試料液を用いて、それぞれの HS から得られたピークを用いて、計算によって導かれる方法であった。また、それ以外の方法として、各条では蒸留-GC-FID 法や、HS-GC-FID 法等様々測定法が設定されていた。また定量法としては検量線から定量する方法、内標準を用いて定量する方法、標準添加法により定量する方法などが設定されていた。

以上の結果から、国際規格や公定書で

共通に使用される残留溶媒試験法としては、蒸留-GC-FID 法、HS-GC-FID 法などが多くあり、また、GC 法での定量では、標準液による定量法、内標準を用いた定量法、標準添加法による定量法などが多く設定されていたことから、一般試験法としてこれらの共通に使用されている試験法を設定することが必要であると考えられた。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 参考論文

- 1) 第9版食品添加物公定書
- 2) COMBINED COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS, Volume 4, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2006.
- 3) Food Chemicals Codex, 11th Edition, USP, 2018

Table 1-1 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance	Method
1	Annatto Extracts (SOLVENT-EXTRACTED NORBIXIN)	160b(ii)	cis-Norbixin: 542-40-5 cis-Norbixin dipotassium salt: 33261-80-2 cis-Norbixin disodium salt: 33261-81-3	Acetone: Not more than 30 mg/kg Methanol: Not more than 50 mg/kg Hexane: Not more than 25 mg/kg Ethanol, Isopropyl alcohol, Ethyl acetate: Not more than 50 mg/kg, singly or in combination	Proceed as directed in Residual Solvents by Headspace Gas Chromatography (Vol. 4) using the following: Stock standard solution Add 10 ml dimethylformamide to a 20 ml volumetric flask. Accurately weigh, to within 0.01 mg, each flask. Pipet 250 µl each of chromatography grade methanol, ethanol, isopropanol, and ethyl acetate, and 150 µl each of acetone and hexane into each of the flask. Reweigh accurately and then fill the flask with dimethylformamide. Mix well. Standard mixture solution A: Pipet each 3.0 ml of stock standard solution into a 20 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide. Standard mixture solution B: Pipet 4.0 ml solution A into a 10 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide. Standard mixture solution C: Pipet 2.0 ml solution A into a 20 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide. Standard mixture solution D: Pipet 1.0 ml solution A into a 20 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide. Samples: Weigh accurately 0.2 g sample into a 20 ml injection vial. Add 2.5 ml dimethylformamide and seal. Standard solutions: Introduce 0.1 ml of the each standard mixture solution (A, B, C and D) into each 20 ml injection vial. Add 2.4 ml dimethylformamide and seal. Standard curves: Place the four standard solutions in the sample tray on head-space gas chromatography. Heat vials at 60° for 20 min with continuous agitation. Analyze using the analytical condition as described above. Measure the peak area for each solvent. Construct the standard curves by plotting the ratios of the peak areas of each solvent against the concentrations of each solvent (mg/ml) in the standards solutions. Procedure: Place the sample solution in the sample tray on head-space gas chromatograph. Heat vials at 60° for 20 min with continuous agitation. Analyze using the analytical conditions for Residual Solvents by Headspace Gas Chromatography as described in Vol. 4. Measure the peak area for each solvent and obtain the concentration of each solvent (C, mg/ml) from the standard curves. Calculation: Calculate the concentration of each residual solvent in samples from; Residual solvent (mg/kg) = C × 2.5/W × 1000 Where: W is weight of sample (g)

Table 1-2 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance	Method
2	ANNATTO EXTRACTS (SOLVENT-EXTRACTED BIXIN)	160b(i)	cis-Bixin: 6983-79-5	Acetone: Not more than 30 mg/kg Methanol: Not more than 50 mg/kg Hexane: Not more than 25 mg/kg Ethanol, Isopropyl alcohol, Ethyl acetate Not more than 50 mg/kg, singly or in combination	<p>Proceed as directed in Residual Solvents by Headspace Gas Chromatography (Vol. 4) using the following:</p> <p>Stock standard solutions</p> <p>Add 10 ml dimethylformamide to a 20 ml volumetric flask. Accurately weigh, to within 0.01 mg, each flask. Pipet 250 µl each of chromatography grade methanol, ethanol, isopropanol, and ethyl acetate, and 150 µl each of acetone and hexane into each of the flask. Reweigh accurately and then fill the flask with dimethylformamide. Mix well.</p> <p>Standard mixture solution A: Pipet each 3.0 ml of stock standard solution into a 20 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide. Standard mixture solution B: Pipet 4.0 ml solution A into a 10 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide.</p> <p>Standard mixture solution C: Pipet 2.0 ml solution A into a 20 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide. Standard mixture solution D: Pipet 1.0 ml solution A into a 20 ml volumetric flask and fill the flask with dimethylformamide.</p> <p>Samples: Weigh accurately 0.2 g sample into a 20 ml injection vial. Add 2.5 ml dimethylformamide and seal.</p> <p>Standard solutions: Introduce 0.1 ml of the each standard mixture solution (A, B, C and D) into each 20 ml injection vial. Add 2.4 ml dimethylformamide and seal. Standard curves: Place the four standard solutions in the sample tray on head-space gas chromatography. Heat vials at 60° for 20 min with continuous agitation.</p> <p>Analyze using the analytical condition as described above. Measure the peak area for each solvent. Construct the standard curves by plotting the ratios of the peak areas of each solvent against the concentrations of each solvent (mg/ml) in the standards solutions.</p> <p>Procedure: Place the sample solution in the sample tray on head-space gas chromatograph. Heat vials at 60° for 20 min with continuous agitation. Analyze using the analytical conditions for Residual Solvents by Headspace Gas Chromatography as described in Vol. 4.</p> <p>Measure the peak area for each solvent and obtain the concentration of each solvent (C, mg/ml) from the standard curves.</p> <p>Calculation: Calculate the concentration of each residual solvent in samples from; Residual solvent (mg/kg) = $C \times 2.5/W \times 1000$ where: W is weight of sample (g).</p>

Table 1-3 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance	Method
3	ADVANTAME	969	714229-20-6	Methanol: Not more than 500 mg/kg Ethyl acetate: Not more than 500 mg/kg	<p>Proceed as directed in Residual Solvents by Headspace Gas Chromatography (Vol. 4) using the following: Sample solution</p> <p>Accurately weigh about 0.08 g of advantame to an appropriate headspace vial, and add 2 ml of DMF, apply the stopper, cap, and mix.</p> <p>Standard Solution Accurately weigh 0.1 g methanol, and add DMF to make exactly 10 ml (stock solution 1). Accurately weigh 0.1 g of ethyl acetate, and add DMF to make exactly 20 ml (stock solution 2).</p> <p>Transfer 1 ml of stock solution 1 and 1 ml of stock solution 2 into a 10-ml volumetric flask, and add DMF to make exactly 10 ml. Transfer 1 ml of this solution into a 10 ml volumetric flask, and add DMF to make exactly 10 ml (mixture stock solution).</p> <p>Transfer 1 ml of mixture stock solution into a 25 ml volumetric flask, and add DMF to make exactly 25ml. Transfer 2 ml of this solution to an appropriate headspace vial, apply the stopper, cap, and mix. Procedure</p> <p>Analyse using the analytical conditions for Residual Solvents by Headspace Gas Chromatography as described in Vol. 4.</p> <p>Calculation</p> <p>Calculate the content (mg/kg) of each residual solvent using the following formulae:</p> <p>Content of methanol (mg/kg) = $W_{SA} / W_T \times A_{TA} / A_{SA} \times 80$</p> <p>Content of ethyl acetate (mg/kg) = $W_{SB} / W_T \times A_{TB} / A_{SB} \times 40$ where</p> <p>A_{TA} is the peak area of methanol from the Sample solution; A_{TB} is the peak area of ethyl acetate from the Sample solution A_{SA} is the peak area of methanol from the Standard solution;</p> <p>A_{SB} is the peak area of ethyl acetate from the Standard solution; W_T is the weight (g) of Advantame in the Sample solution;</p> <p>W_{SA} is the weight (g) of methanol in the Standard solution; and W_{SB} is the weight (g) of ethyl acetate in the Standard solution</p>
4	CARRAGEENAN	407	9000-07-1	Not more than 0.1% of ethanol, isopropanol, or methanol, singly or in combination	<p>See Method 1 under Vol. 4. General Methods, Organic Components, Residual Solvents.</p> <p>Prepare standard, blank, and calibration solutions as directed under Method 1.</p> <p>Sample Preparation</p> <p>Disperse 1 ml of a suitable antifoam emulsion, such as Dow-Corning G-10 or equivalent, in 200 ml of water contained in a 1000-ml 24/40 roundbottom distilling flask. Add about 5 g of the sample, accurately weighed, and shake for 1 h on a wrist-action mechanical shaker. Connect the flask to a fractionating column and distil about 100 ml, adjusting the heat so that the foam does not enter the column.</p> <p>Quantitatively transfer the distillate to a 200-ml volumetric flask, fill to the mark with water and shake the flask to mix. Weigh accurately 8.0 g of this solution into an injection vial. Add 1.0 ml of the internal standard solution. Heat at 60° for 10 min and shake vigorously for 10 sec.</p>

Table 1-4 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
5	LYCOPENE EXTRACT FROM TOMATO	160d(ii)	502-65-8 (lycopene)	Ethyl acetate: Not more than 50 mg/kg	<p>Ethyl acetate is determined by headspace gas chromatography. Chromatographic system</p> <ul style="list-style-type: none"> - Detector: flame ionization - Column: Megabore fused silica (30 m x 0.53 mm I.D), coated with a 3 µm-film of 5% diphenyl-95% dimethyl polysiloxane - Carrier gas: nitrogen - Flow rate: 4 ml/min, Injector temperature: 180°, Detector temperature: 230° - Oven temperature: 5 min at 73°; to 160° at 25°/min; then 1 min at 160° - Injection mode: splitless 1:6, Run time: 9.5 min <p>Ethyl acetate stock solutions</p> <ul style="list-style-type: none"> - Solution A (10,000 mg/kg): Accurately weigh 500 mg of ethyl acetate to a flask, and bring accurately to 50.00 g with diethylphthalate (use an ultrasonic bath to dissolve). The solution is stable at least for two months at room temperature. - Solution B (100 mg/kg): Accurately weigh 500 mg of Solution A to a flask, and bring accurately to 50.00 g with diethylphthalate (use an ultrasonic bath to dissolve). The solution is stable at least for two months at room temperature. <p>Ethyl acetate standard solutions</p> <ul style="list-style-type: none"> - Solution C (5 mg/kg): Accurately weigh 500 mg of Solution B into a 20-mm headspace vial and bring accurately to 10.00 g (total weight), to within 0.1 mg, with diethylphthalate. Insert a 12-15 mm magnetic stirrer and seal the vial. - Solution D (10 mg/kg): Accurately weigh 1000 mg of Solution B, into a 20-mm headspace vial and bring accurately to 10.00 g (total weight), to within 0.1 mg, with diethylphthalate. Insert a 12-15 mm magnetic stirrer and seal the vial. - Solution E (17.5 mg/kg): Accurately weigh 1750 mg of Solution B into a 20-mm headspace vial and bring accurately to 10.00 g (total weight), to within 0.1 mg, with diethylphthalate. Insert a 12-15 mm magnetic stirrer and seal the vial. - Solution F (25 mg/kg): Accurately weigh 2500 mg of Solution B into a 20 mm headspace vial and bring accurately to 10.00 g (total weight), to within 0.1 mg, with diethylphthalate. Insert a 12-15 mm magnetic stirrer and seal the vial. <p>NOTE: The vials are pre-weighed. Sample solution</p> <p>Select a representative sample of 30 g sample from the lot. The sampling should be done after heating the sample lot to 40-50° and extensive mechanical stirring. Warm the sample to 50° in a waterbath, mix well with a glass rod or a spatula and weigh accurately 5000 mg of the sample into a 20-mm headspace vial. Bring the weight of the sample accurately to 10.00 g (total weight), to within 0.1 mg, with diethylphthalate. Insert a 12-15 mm magnetic stirrer and seal the vial. Mix well using a magnetic stirrer.</p> <p>Procedure</p> <p>Place the four standard solutions (C, D, E and F) and the sample solution in a thermostatic water bath (70°) for exactly 2 h, stirring each one for 1 min every 30 min. Inject 1000 µl of each standard solution into the head-space gas chromatograph-FID system.</p> <p>Record the peak area and calculate the mean ratio of the standard concentration to peak area based on concentrations and peak areas of standard solutions C, D, E, and F. Inject 1000 µl of each sample solution, record the peak area and calculate the concentration of the ethyl acetate (mg/kg), using the equation:</p> $\text{Ethyl acetate (mg/kg)} = A_s \times \left(\frac{C_{ST}}{A_{ST}} \right) \times \frac{W_{TW}}{W_s}$ <p>where</p> <ul style="list-style-type: none"> A_s is the measured peak area of the sample solution; (C_{ST}/A_{ST}) is the mean ratio of the standard concentration to peak area based on concentrations and peak areas of standard solutions C, D, E, and F (mg/kg); W_{TW} is the total weight of the sample solution (g); and W_s is the sample weight (g).

Table 1-5 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
6	LYCOPENE FROM BLAKESLEA	160d(iii)	502-65-8	Isopropanol: Not more than 0.1% Isobutyl acetate: Not more than 1.0%	Vol.4
7	TAGETES	161b(ii)	127-40-2	Hexane: not more than 50 mg/kg	Vol.4
8	TURMERIC OLEORESIN			Acetone : Not more than 30 mg/kg Methanol: Not more than 50 mg/kg Ethanol: Not more than 50 mg/kg Isopropanol: Not more than 50 mg/kg Dichloromethane and 1,2-dichloroethane: Not more than 30 mg/kg, singly or in combination Light petroleum (hexanes): Not more than 25 mg/kg	Vol.4
9	β -CAROTENE from BLAKESLEA TRISPORA	160a(iii)	7235-40-7	Ethanol: Ethyl acetate: Not more than 0.8% singly or in combination Isopropanol: Not more than 0.1% Isobutyl acetate: Not more than 1.0%	See description in Volume 4
10	PAPRIKA OLEORESIN	160c	68917-78-2	Dichloromethane and trichloroethylene: Not more than 30/mg/kg, singly or in combination Acetone: Not more than 30 mg/kg Propan-2-ol: Not more than 50 mg/kg Methanol: Not more than 50 mg/kg Ethanol: Not more than 50 mg/kg Hexane: Not more than 25 mg/kg	Volume 4
11	PAPRIKA EXTRACT (Capsanthin)	160c(ii)	Capsanthin: 465-42-9	Acetone Ethanol Ethyl acetate Hexane Isopropanol Methanol Not more than 50 mg/kg, singly or in combination	Water and methanol are not suitable for the head-space gas chromatographic analysis of solvent-extracted paprika extracts as given in Method I and Method II for the method for residual solvent determination by head-space gas chromatography in Vol.4. A refined vegetable oil (e.g. soybean oil) is the preferred solvent for sample dissolution. Weigh accurately 1.0 g sample into a headspace vial and add 10 ml soybean oil. Cap and seal immediately. Prepare blanks, standard solutions and calibration samples in a similar fashion. Use the same soybean oil to determine residual solvents in the blank. Determine residual solvents following the Procedure given in Vol. 4.

Table 1-6 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
12	β-CYCLODEXTRIN		7585-39-9	Not more than 1 mg/kg of each of toluene and trichloroethylene	<p>A dynamic-headspace gas chromatographic technique is used for the following procedure. The organic volatile impurities are trapped on an adsorbent trap and the purge gas is vented. The trapped organic volatile impurities are desorbed from the trap by heating the trap, and carried into the gas chromatograph by back flushing the trap with the carrier gas. Quantitate each solvent by the technique of standard additions. Purge and Trap Apparatus (The apparatus is based on that described in the US Environmental Protection Agency Test Method for Purgeable Halocarbons - Method 601): The apparatus consists of three separate sections: the sample purge; the trap; and the desorber. The sample purge is designed to accept 5 ml samples with a water column at least 3 cm deep. The gaseous headspace between the water column and the trap has a total volume of less than 15 ml. The purge gas is passed through the water column as finely-divided bubbles with a diameter of less than 3 mm at the origin. The purge gas is introduced not more than 5 mm from the base of the water column.</p> <p>The trap is not less than 25 cm long and has an inside diameter of not less than 2.67 mm. The trap is packed to contain the indicated minimum lengths of adsorbents in the following order, beginning at the trap inlet: 7.7 cm of 2,6-diphenylene oxide polymer (the 2,6-diphenylene oxide polymer is commercially available as TENAX TA), 7.7 cm of silica gel, and 7.7 cm of coconut charcoal. The desorber is capable of rapidly heating the trap at 2500. The trap should not be heated higher than 2500. Condition the assembled trap, prior to initial use, at 2250 overnight with an inert gas at a flow rate of not less than 20 ml per min. Prior to use daily, condition the trap for 15 min at 2250.</p> <p>Standard Solution: Accurately weigh 50 mg of trichloroethylene and 50 mg of toluene in a 50 ml volumetric flask. Dilute with methanol. Calibration Solutions :Into five 50 ml volumetric flasks, accurately add 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, and 5.0 ml of the Standard Solution and dilute with water. These calibration solutions correspond to the concentrations 10.2, 20.4, 40.8, 61.2 and 102 ng per for each solvent.</p> <p>Chromatographic system: The purge and trap apparatus is connected to a gas chromatograph with a flame-ionisation detector. Column: capillary column, 30 m, 0.32 mm diameter, 1 micron film thickness of dimethylpolysiloxane oil (such as DB-1, OV-1). Temperature programme: 40° for 3 min, then raise to 220° at 40 per min. Detector: 280°, Carrier gas: Helium, Purge gas: Nitrogen, Flow rate: 40 ml/min</p> <p>Calibration: Introduce precisely 20 µl of each calibration solution on the wall (inner side) of the sample purge.</p> <p>Desorb according to equipment instructions. Record the peak areas. Prepare calibration graphs of peak areas versus weight of each solvent introduced into the purge.</p> <p>Procedure: Introduce on the fritted sparger of the sample purge an accurately weighed amount of sample (W), about 250 mg. Purge and desorb according to equipment instructions. Record the peak area of each solvent and read the corresponding weight (X) from the respective calibration curve. Calculation: Calculate the amount of each residual solvent by the formula:</p> $\text{Residual solvent (mg / kg)} = \frac{X \text{ (ng)}}{W \text{ (mg)}}$
13	LUTEIN ESTERS FROM TAGETES ERECTA			Hexane Methanol Ethanol 2-propanol Acetone Methyl ethyl ketone Not more than 50 mg/kg, singly or in combination	Determine using method (I)

Table 1-7 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
14	TANNIC ACID	181		Not more than 25 mg/kg acetone or ethyl acetate, singly or in combination	<p>Standard solutions Place 1 g of acetone and 1 g of ethyl acetate in a volumetric flask and add water to total volume of 100 ml, and prepare 0.02 - 0.4 g/100 ml solutions by dilution of this solution.</p> <p>Procedure Place 1 g (1.0±0.1 g) of powdered sample in a sample vial. Add 5 µl of water to the sample vial and seal it quickly with a septum. Set the sample vial in a pre-conditioned gas chromatograph and start the analysis under the below-mentioned conditions.</p> <p>Standard Take 1 g of tannic acid free of solvent or with known residual solvent content in a sample vial, add 5 µl of the standard solution and seal it quickly with a septum. Set the sample vial in a preconditioned gas chromatograph and start the analysis under the following conditions and obtain standard curves for each solvent.</p> <p>Determine by Gas chromatography, using a head space sampler under the following conditions:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Column: 100% methyl polysiloxane 30 m x 0.53 mm id, 1 µm film thickness - Column conditioning: Heat to 60° for 2-3 h with approximately 10 ml/min of nitrogen - Carrier gas: Nitrogen - Flow rate: 5 ml/min - Detector: Flame ionization - Temperatures - injection port: 110° - column: 40° - detector: 110° <p>Head space sampler</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sample heating temp.: 80° - Sample heating time: 40 min - Syringe temperature: 85° - Sample gas injection: 0.4 ml <p>Calculation</p> $C_i \text{ (mg/kg)} = \left(\frac{A_i \times f_i}{W} \right)$ <p>where Ci is the concentration of solvent (mg/kg); Ai is peak are of solvent (Area units); fi is the slope of the standard curve (µg/Area units); and W is weight of sample in g.</p>

Table 1-8 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
15	COCHINEAL EXTRACT	120	1343-78-8 (cochineal) 1260-17-9 (carminic acid)	Ethanol Not more than 150 mg/kg Proceed as directed under Residual solvent Methanol Not more than 150 mg/kg	Vol.4 Proceed as directed under Residual solvent
16	MIXED CAROTENOIDS		Lutein: 127-40-2	Acetone, methanol, ethanol, propan-2-ol, and hexane, not more than 50 mg/kg, singly or in combination. Dichloromethane and methyl ethyl ketone, not more than 10 mg/kg, individually.	Vol. 4
17	Ethyl lactate		97-64-3	Not more than 1% ethanol and not more than 0.01% carbon tetrachloride	Determined using gas-liquid chromatography under the following conditions: Column: - length: 1.5 m, - diameter: 4 mm, - material: glass, - packing: 20% PEG on Chromosorb W, Temperatures - injection: 110°, - column: 110°, isothermal, - detector: 300°, Detector: FID Carrier gas: nitrogen, Flow rate: 3.5 L/h, Sample size: 1 µl Ethanol: The sample containing 0.5% added ethanol is injected into the column. The peak produced by the ethanol is compared with the ethanol peak from the sample without added ethanol. The ethanol content of the sample is estimated from the comparison. Carbon tetrachloride: The same procedure as for ethanol is used except that 0.01% carbon tetrachloride is added to the sample instead of ethanol.

Table 1-9 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
18	PECTINS	440	9000-69-5	Not more than 1% methanol, ethanol and 2-propanol, singly or in combination	<p>Apply Method I in Volume 4, General Methods, Organic Components.</p> <p>Standard stock solution: To 500 ml of water in a 1000-ml volumetric flask, add about 5 g each of methanol, ethanol and 2-propanol, accurately weighed. Make up to the mark with water. Internal standard solution: To 500 ml of water in a 1000-ml volumetric flask, add about 5 g of 2-butanol (W_{standard}), accurately weighed. Make up to the mark with water.</p> <p>Blank Solution: Omit the blank determination Samples: Store the sample in a cool, dry place. Mix the sample thoroughly before analysis.</p> <p>Weigh accurately about 1 g of sample (W_{sample}) in a 100 ml beaker and mix with about 5 g of sucrose. Into a 100-ml Erlenmeyer flask with magnetic stirrer bar, add 95 ml water and 1.0 ml internal standard solution. While stirring fast, slowly add the pectin-sucrose mixture. Stopper the flask and stir for 2 h. The pectin must be completely dissolved. Accurately weigh about 1 g of this solution (M_{sample}) into a headspace vial for GC analysis.</p> <p>Calibration solution: Pipette 2.0 ml of standard stock solution and 2.0 ml of internal standard solution into a 200-ml volumetric flask and make up to the mark with water. Accurately weigh about 1 g of this solution (M_{standard}) is filled into a head space vial and used for GC analysis.</p> <p>Procedure</p> <p>Continue the analysis as described in Vol.4 'Residual solvents', using the given conditions except for the sample heating temperature, which should be 70°, and syringe temperature, which should be 80°. Calculation</p> <p>Calculate the concentration of each residual solvent using the following equation:</p> $\% \text{ of solvent} = \frac{R_{\text{sample}} \times W_{\text{standard}} \times M_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}} \times W_{\text{sample}} \times M_{\text{sample}} \times 1000} \times 100$ <p>where</p> <p>R_{sample} is the relative peak area of the sample;</p> <p>R_{standard} is the relative peak area of the standard;</p> <p>W_{sample} is the weight of sample (g);</p> <p>W_{standard} is the weight of solvent used for the standard stock solution;</p> <p>M_{sample} is the weight of sample solution used for the GC analysis; and</p> <p>M_{standard} is the weight of Calibration solution used for the GC analysis.</p>

Table 1-10 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
19	GUAR GUM	412	9000-30-0	Not more than 1% of ethanol or isopropanol, singly or in combination	<p>Determine by gas chromatography in Volume 4 (under "Analytical Techniques, Chromatography"). Chromatography conditions</p> <p>Column: 25% Diphenyl-75% dimethylpolysiloxane (60 m x 0.25 mm i.d., 0.25 µm film) [Aquatic-2 (GL-Sciences Inc.) or equivalent]</p> <p>Carrier gas: Helium Flow rate: 1.5 ml/min</p> <p>Detector: Flame-ionization detector (FID) Temperatures:</p> <ul style="list-style-type: none"> - injector: 280° - column: Hold for 6 min at 40°, then 40-110° at 4°/min, 110-250° at 25°/min, hold for 10 min at 250° - detector: 250° <p>Standard solutions</p> <p>Solvent standard solution: Transfer 100 mg each of chromatography grade ethanol and isopropanol into a 100-ml volumetric flask containing about 90 ml water and dilute to 100 ml with water.</p> <p>TBA standard solution: Transfer 100 mg of chromatography grade tertiary-butyl alcohol (TBA) into a 100-ml volumetric flask containing about 90 ml water and dilute to 100 ml with water.</p> <p>Mixed standard solutions: Transfer 1, 2, 3, 4 and 5 ml of Solvent standard solution into each of five 100-ml volumetric flasks. Add 4 ml of TBA standard solution to each flask and dilute to volume with water. Sample preparation</p> <p>Disperse 1 ml of a suitable antifoam emulsion, such as Dow-Corning G-10 or equivalent, in 200 ml of water contained in a 1000-ml 24/40 round-bottom distilling flask. Add about 4 g of the sample, accurately weighed, and shake for 1 h on a wrist-action mechanical shaker. Connect the flask to a fractionating column, and distil about 95 ml, adjusting the heat so that foam does not enter the column. Add 4 ml of TBA standard solution to the distillate and make up to 100 ml with water to obtain the Sample solution.</p> <p>Standard curves</p> <p>Inject 1 µl of each Mixed standard solution into the chromatograph. Measure the peak areas for each solvent and TBA. Construct the standard curves by plotting the ratios of the peak areas of each of the solvents/TBA against the concentrations of each solvent (mg/ml) in the Mixed standard solutions. Procedure</p> <p>Inject 1 µl of the Sample solution into the chromatograph. Measure the peak areas for each solvent and TBA. Calculate the ratios of the peak areas of each solvent/TBA, and obtain the concentration of each solvent from the standard curves.</p> <p>Calculate the percentage of each solvent from:</p> $\% \text{ Solvent} = (C \times 100/W \times 1000) \times 100$ <p>where C is the concentration of solvent (mg/ml) W is weight of sample (g)</p>
20	CURCUMIN	100(i)	I. 458-37-7 II. 33171-16-3 III. 33171-05-0	Acetone: Not more than 30 mg/kg Hexane: Not more than 25 mg/kg Methanol: Ethanol: Isopropanol: Ethyl acetate: Not more than 50 mg/kg	See description in Volume 4

Table 1-11 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
21	CHLOROPHYLLS, COPPER COMPLEXES	141(i)	65963-40-8	Acetone, methanol, ethanol, propan-2-ol hexane: Not more than 50 mg/kg, singly or in combination Dichloromethane: Not more than 10 mg/kg Determine gas chromatographically using either the method of entrainment distillation (Determination of Residual Solvents) or headspace analysis (Limit Test for Solvent Residues).	Determine gas chromatographically using either the method of entrainment distillation (Determination of Residual Solvents) or headspace analysis (Limit Test for Solvent Residues).
22	GELLAN GUM	418	71010-52-1	Not more than 50 mg/kg of ethanol not more than 750 mg/kg of 2-propanol	Standard solutions Transfer 100.0 mg of chromatographic quality ethanol into a 200-ml volumetric flask and 150.0 mg of 2-propanol into a 20-ml volumetric flask, then dilute to volume with water. Pipet each 1 ml of solutions into a 100-ml volumetric flask and dilute to volume with water as standard solution A. Pipet 10 and 5 ml of standard A into two separate 20-ml volumetric flasks and dilute to volume with water as standard solution B and standard solution C. Chromatography conditions Column: 25% diphenyl-75% dimethylpolysiloxane (60 m x 0.25 mm i.d. with 1.4 µm-film) [Aquatic-2 (GL-Sciences Inc.) or equivalent] Carrier gas: Helium, Flow rate: 1.8 ml/min, Detector: Flame ionization detector (FID) Temperatures: Injection port: 250°, Oven: Hold for 5 min at 40°, then 40° to 92° at 4°/min, Detector: 260° The retention times of ethanol and 2-propanol are about 6.5 and 7.5 min, respectively. Samples Weigh accurately 0.10 g of the sample into each of four 20 ml headspace vials. Add a magnetic stirring bar and 10 ml of either water, standard solution A, B or C into each vial and seal. After standing vials overnight at room temperature, stir the solution in the vials for 1 min. Procedure Place the sample vial in the sample tray on head-space gas chromatograph. Heat vials at 60° for 40 min with continuous agitation. Inject 1.0 ml of the head space gas (Syringe temperature: 100°, FAO JECFA Monographs 16 2 Transfer temperature: 120°) in the vial into the chromatograph and measure the peak area for ethanol and 2-propanol. Plot the relationship between the added amount against the peak area for ethanol or 2-propanol. Extrapolate the x-intercept for ethanol and 2-propanol (w_e and w_p). Calculate the concentration of ethanol and 2-propanol from; Ethanol (mg/kg) = w_e / W 2-Propanol (mg/kg) = w_p / W Where W is weight of sample (g).
23	CAROTENES (Algae)	160a(ii)	7235-40-7	Not more than 50 mg/kg, singly or in combination, of acetone, hexane, methanol, ethanol and propan-2-ol	vol.4

Table 1-12 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
24	CHLOROPHYLLS	140	Phaeophytin a, Magnesium complex: 479-61-8 Phaeophytin b, Magnesium complex: 519-62-0	Acetone, methanol, ethanol, propan-2-ol, hexane: Not more than 50 mg/kg, singly or in combination Dichloromethane: Not more than 10 mg/kg	Determine by gas chromatographically using either the method of entrainment distillation (Determination of Residual Solvents) or headspace analysis (Limit Test for Solvent Residues).
25	STEVIOL GLYCOSIDES	960	Stevioside: 57817-89- 7 Rebaudioside A: 58543-16-1	Not more than 200 mg/kg methanol and not more than 5000 mg/kg Ethanol	Method I in Volume 4, General Methods, Organic Components, Residual Solvents
26	CAROB BEAN GUM	410	9000-40-2	Not more than 1% of ethanol or isopropanol, singly or in combination	Determine residual solvents using headspace gas chromatography (Method I) Internal standard solution: Add 50.0 ml water to a 50 ml vial and seal. Accurately weigh and inject 15 µl of 3-methyl-2-pentanone through the septum and reweigh to within 0.01 mg. Standard solution: Add 50.0 ml water to a 50 ml vial and seal. Accurately weigh and inject 15 µl ethanol and weigh to within 0.01mg. Inject 15 µl isopropanol through the septum and reweigh the vial. Blank solution: Add 5.0 ml of water and pipette 1.0 ml of the internal standard solution into a headspace vial. Seal the vial and mix the contents using a vortex mixer. Calibration solution: Add 4.0 ml of water into the headspace vial. Pipette 1.0 ml each of the internal standard solution and the standard solution. Seal the vial and mix the contents using a vortex mixer. Preparation of sample: Accurately weigh 0.500±0.001 g of sample in a small weighing boat. Pipette 5 ml of water and 1 ml internal standard solution into a headspace vial. Add the sample carefully to prevent clumping of sample at the bottom of the vial. Seal the vial and mix the contents using a vortex mixer. Do not shake the sample vial. Follow the procedure described in Vol. 4.

Table 1-13 JECFA 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
27	MIXED CAROTENOIDS		Lutein: 127-40-2	Acetone, methanol, ethanol, propan-2-ol, and hexane, not more than 50 mg/kg, singly or in combination. Dichloromethane and methyl ethyl ketone, not more than 10 mg/kg, individually.	vol.4
28	CASSIA GUM	427		Isopropanol: Not more than 1.0%	Determine residual solvents using headspace gas chromatography (Vol. 4; Method I) under the following conditions. Internal standard solution Add 50.0 ml water to a 50 ml vial and seal. Accurately weigh and inject 15 µl of 3-methyl-2-pentanone through the septum and reweigh the vial to within 0.01 mg. Standard solution Add 50.0 ml water to a 50 ml vial and seal weigh accurately. Inject 15 µl isopropanol and reweigh the vial. Blank solution: Add 5.0 ml of water and pipette 1.0 ml of the internal standard solution into a headspace vial. Seal the vial and mix the contents using a vortex mixer. Calibration solution: Add 4.0 ml of water into the headspace vial. Pipette 1.0 ml each of the internal standard solution and the standard solution. Seal the vial and mix the contents using a vortex mixer. Preparation of sample: Pipette 5 ml of water and 1 ml internal standard solution into a headspace vial. Accurately weigh 0.500 ± 0.001 g of sample in a small weighing boat and add the sample carefully to prevent clumping of sample at the bottom of the vial. Seal the vial and mix the contents using a vortex mixer. Do not shake the sample vial. Follow the procedure described in Vol. 4 for the determination of residual solvents.

Table 2-1 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
1	Annatto Extracts		1393-63-1	RESIDUAL SOLVENTS, Appendix VIII アセトン：0.003%以下 ヘキサン：0.0025%以下 イソプロピルアルコール：0.005%以下 メチルアルコール：0.005%以下 トリクロロエチレン及びジクロロメタン 0.003%以下, 単独または合わせて	RESIDUAL SOLVENTS, Appendix VIII
2	Advantame	969	714229-20-6	Organic Impurities Residual Solvents 酢酸メチル：500 µg/g 以下 酢酸イソプロピル：2000 µg/g 以下 メタノール：500 µg/g 以下 2-プロパノール：500 g/g 以下	標準原液：酢酸メチル, 酢酸イソプロピル, メタノール, 2-プロパノールをアセトニトリルに加え、それぞれ 500 µg/mL となるように調製する。 これらの溶液には USP Reference standards が使用できる。 標準溶液：酢酸メチル, 酢酸イソプロピル, メタノール, 2-プロパノールがそれぞれ 1.0µg/mL となるように標準原液をアセトニトリルで希釈する。 試料溶液：1.0 mg/mL アセトニトリル溶液 ガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炎イオン化検出器 カラム：0.53-mm x 30-m; 1-µm 膜厚高分子ポリエチレングリコールとニトロテレフタル酸でエステル化したジエポキシド 温度：注入口：130°、検出器：200°、カラム：以下の温度プログラムを見よ キャリアーガス：ヘリウム、流速：キャリアーガス 4.5 mL/min, メークアップガス：40 mL/min, パージガス：5 mL/min 注入量：1.0 µL, スプリット比：10:1 システム適合性 適合性要求 1：標準液の酢酸イソプロピル、メタノールの分離度は 1.0 以上 適合性要求 2：試料液 3 回の繰り返し注入における 2-プロパノールの面積の相対標準偏差は 5.0% 以下であること。[注意：およその相対溶出時間は、酢酸メチル 1.0、メタノール 1.25、2-プロパノール 1.25 である] 分析：標準液及び試料液をそれぞれ注入し、それぞれ（酢酸メチル, 酢酸イソプロピル, メタノール, 2-プロパノール）のピーク面積を記録する。 計算 試料中の各化合物の濃度 (µg/g) = (r _U /r _S) × (C _S /C _U) r _U = 試料溶液クロマトグラムから得られた分析対象のピーク面積 r _S = 標準溶液クロマトグラムから得られた分析対象のピーク面積 C _S = 標準溶液の濃度(µg/mL) C _U = 標準溶液の濃度(g/mL)

Table 2-2 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
3	Carrageenan	407	9000-07-1	Organic Impurities - RESIDUAL SOLVENTS エタノール、メタノール、イソプロパノール単独または合わせて 0.1%以下	<p>内標準液：50 mL バイアルに水 50 mL を加え封をする。重さを量り、セプタムを通して 3-メチル-2-ペンタノン 15 μL を加え、再度重さを量る。(0.01 mg まで量る)</p> <p>ブランク試料：溶媒量が非常に少ない試料 [注意：精製に使用した溶媒や試料の回収による。場合によっては 1 つ以上の溶媒が存在する]</p> <p>ブランク溶液：ブランク試料 0.20 g を量り、水 5.0 mL 及び内標準液 1.0 mL を加える。</p> <p>10 分間 60°C で加温し、10 秒間激しく攪拌する。</p> <p>標準溶液：ブランク試料 0.20 g をバイアルに量り、水 5.0 mL 及び内標準液 1.0 mL を加え、重さを量る。(0.01 mg まで量る)</p> <p>エタノール、イソプロパノール及びメタノールそれぞれ 4 μL を、セプタムを通して加え、再度重さを量る。10 分間 60°C で加温し、10 秒間激しく攪拌する。</p> <p>試料：5 g</p> <p>試料液：1000 mL 24/40 丸型蒸留フラスコに水 200 mL と Dow-Corning G-10 のような分散剤 1 mL を加え、試料を加え、1 時間振とう機で振とうする。分画カラムをフラスコに接続し、100 mL 蒸留する。内容物がカラムに入らないように加熱温度を調節する。蒸留液を 200 mL フラスコに入れ、水で定容する。この液 8 g を量り、バイアルに入れ、内標準液 1.0 mL を加える。10 分間 60°C で加温し、10 秒間激しく攪拌する。</p> <p>クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA に従う。</p> <p>モード：ヘッドスペースガスクロマトグラフィー、</p> <p>検出器：水素化炎イオン化検出器</p> <p>カラム：DB-wax (1-μm thickness) で被覆したフューズドシリカ内径 0.53 mm \times 0.8 m 及び被覆したフューズドシリカ内径 0.53 mm \times 30 m のカラム</p> <p>温度：オープン：35°C (5 分保持) \rightarrow 5°C/min \rightarrow 90°C (6 分保持)</p> <p>注入口温度：140°C、検出器温度：300°C</p> <p>ヘッドスペースサンプラー：試料加熱温度：60°C、試料加熱時間：10 分、シリンジ温度：70°C、</p> <p>トランスファーライン温度：80°C、キャリアーガス：ヘリウム、流速：5 mL/min (208 kPa)、注入量：1 mL</p> <p>分析：試料液、ブランク溶液、標準溶液から同じ容量をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを記録し、ピーク面積を求める。[注意：エタノール、メタノール、イソプロパノール、3-メチル-2-ペンタノンのおよその溶出時間はそれぞれ、2.81 分、2.93 分、5.23 分、16.9 分である]</p> <p>計算：それぞれの分析対象に対して、以下の式に従ってキャリブレーションファクター (C) を求める。</p> <p>$C = 50D/(E(F - G))$</p> <p>D = 標準溶液中の分析対象溶媒の重量 (mg)</p> <p>E = 標準溶液中の内標準の重量 (mg)</p> <p>F = 標準溶液中の分析対象溶媒に対する相対ピーク面積</p> <p>G = ブランク溶液中の同じ分析対象溶媒に対する相対ピーク面積</p> <p>分析対象溶媒の試料溶液中の重量 (mg) を以下の式に従って求める。</p> <p>分析対象溶媒の試料溶液中の重量 (mg) = ABC/50</p> <p>A = 試料溶液中の分析対象溶媒の相対ピーク面積、B = 内標準の重量 (mg)</p> <p>C = 分析対象溶媒のキャリブレーションファクター</p> <p>Result = 0.1 w/W</p> <p>w = 試料溶液中の分析対象溶媒重量 (mg)</p> <p>W = 試料採取量 (g)</p>

Table 2-3 FCC11 各条における残留溶媒規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
Lycopene Extract from Tomato	160d(ii)	502-65-8	Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS 酢酸イソブチル 1.0%以下 イソプロパノール 0.1%以下	<p>標準原液：酢酸エチル 10 mg/g ジエチルフタル酸溶液 [注意：溶解するために超音波を使用する。この溶液は室温で2か月安定である]</p> <p>標準溶液1：標準原液 500 mg にジエチルフタル酸を加え 50 g とする。(100 µg/g) [溶解するために超音波を使用する。この溶液は室温で2か月安定である]</p> <p>標準溶液2：あらかじめ重さを量った 20 mm-ヘッドスペースバイアルに標準溶液 1 500 mg にジエチルフタル酸を加え 10.00 g (±0.1 mg) とする。(5 µg/g).12-15 mm のマグネチックスターラーを入れ、バイアルに封をする。</p> <p>標準溶液3：あらかじめ重さを量った 20 mm-ヘッドスペースバイアルに標準溶液 1 1000 mg にジエチルフタル酸を加え 10.00 g (±0.1 mg) とする。(10 µg/g).12-15 mm のマグネチックスターラーを入れ、バイアルに封をする。</p> <p>標準溶液4：あらかじめ重さを量った 20 mm-ヘッドスペースバイアルに標準溶液 1 1750 mg にジエチルフタル酸を加え 10.00 g (±0.1 mg) とする。(10 µg/g).12-15 mm のマグネチックスターラーを入れ、バイアルに封をする。</p> <p>標準溶液5：あらかじめ重さを量った 20 mm-ヘッドスペースバイアルに標準溶液 2500 mg にジエチルフタル酸を加え 10.00 g (±0.1 mg) とする。(10 µg/g).12-15 mm のマグネチックスターラーを入れ、バイアルに封をする。</p> <p>試料溶液：試料の一部を 40～50°C の水浴で攪拌しながら加熱し、そのうち 30 g を取り出し、50 度の水浴で加熱する。ガラス棒や薬さじで良くかき混ぜ、あらかじめ重さを量った 20 mm-ヘッドスペースバイアルに 5000 mg 量り取る。ジエチルフタル酸を加えて 10.00 g (total weight; ±0.1 mg) とする。12-15 mm のマグネチックスターラーを入れ、バイアルに封をし、スターラーで攪拌する。</p> <p>分析：標準溶液 2、3、4 及び 5 並びに試料溶液を 70°C に保った水浴に置き、30 分ごとに 1 分間攪拌し、2 時間加温する。標準溶液をそれぞれヘッドスペースガスクロマトグラフィーに注入し、ピーク面積を記録する。濃度に基づいたピーク面積に対する標準の濃度と標準溶液 2、3、4 及び 5 のピーク面積の平均比を計算し、</p> <p>Result = $A_U \times F \times (W_{TU} / W_U)$ A_U = 試料液中のピーク面積 peak area from the Sample solution F = 標準溶液のピーク面積に対する標準溶液 2、3、4 及び 5 の濃度の平均比 W_{TU} = 調製した試料溶液の重さ (g) W_U = 試料溶液を調製するのに採取した試料量 (g)</p>

Table 2-4 FCC11 各条における残留溶媒規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
5 Lycopene from Blakeslea trispora	160d(iii)	502-65-8	Organic Impurities 酢酸イソブチル 1.0%以下 イソプロパノール 0.1%以下 • RESIDUAL SOLVENTS [注意：この試験はイソプロパノール及酢酸イソブチルの量を定量するために行う]	<p>内標準：3-Methyl-2-pentanone 内標準液：50 mL ヘッドスペースバイアルにメタノール 50 mL を加え、封をして重さを量る。内標準 15 μL をセプタムを、通して加え、再びバイアルの重さ 0.01 mg まで量る。 ブランク試料：溶媒量が非常に少ないサンプルの一部を使用する。 ブランク溶液：ブランク試料 0.2g を 50 mL ヘッドスペースバイアルに量り、メタノール 5 mL 及び内標準 1.0 mL を加え、60°C で 10 分間加温し、10 秒間激しく攪拌する。 標準原液：50 mL ヘッドスペースバイアルにメタノール 50 mL を加え封をする。バイアルの重さを量り、分析対象物質 50 μL を、セプタムを通して加え、再度バイアルの重さを量り、よく混合する。 標準溶液：ブランク試料 0.20 g を 50 mL ヘッドスペースバイアルに量り、メタノール 4.9 mL 及び内標準 1.0 mL を加える。標準原液 0.1 mL を加え、よく混ぜる。60°C で 10 分間加温し、10 秒間激しく攪拌する。 試料溶液：ブランク試料 0.20 g を 50 mL ヘッドスペースバイアルに量り、メタノール 5.0 mL 及び内標準 1.0 mL を加える。60°C で 10 分間加温し、10 秒間激しく攪拌する。 クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA 参照 モード：ヘッドスペース GC 検出器：水素化炎イオン化検出器 カラム：内径 0.53-mm、長さ 0.8 m のメガボアフェーズドシリカ管の内面に、ポリエチレングリコール（平均分子量約 15000）1-μm の厚さで被覆したものに内径 0.53-mm、長さ 30 m のフェーズドシリカ管の内面に、ジメチルポリシロキサンガム 5-μm の厚さで被覆したもの キャリアーガス：ヘリウム、流速：5 mL/min (209 kPa) 温度：注入口：140°C、検出器：300°C、オープン：35°C（5分保持）→5°C/min→90°C（6分保持）、シリンジ温度：70°C、トランスファーライン：80°C ヘッドスペースサンプラー：サンプル加温温度 60°C、サンプル加温時間：注入量：1000 μL、 注入モード：スプリット [およその溶出時間はイソプロパノール 5.23 分、酢酸イソブチルについては示していないが、実際に確認すること] 分析：試料溶液、ブランク溶液、標準溶液をサンプルトレイに置き、クロマトグラムから結果を記録し、キャリブレーションファクター (C) を求める。 $C = W_s / [W_{ISS} \times (r_s - r_{SB}) \times F_1]$ C = キャリブレーションファクター W_s = 標準原液中の分析対象物質の量 (mg) W_{ISS} = 標準溶液を調製するのに使用した内標準液 1 mL 中の内標準の量(mg) r_s = 標準液中の分析対象化合物の相対ピーク面積 r_{SB} = ブランク溶液中の分析対象化合物の相対ピーク面積 F_1 = 標準原液の希釈ファクター、10 試料中の各分析対象化合物の量 (mg/headspace vial) を計算する $Result = (r_U \times W_{ISU} \times C) / F_2$ r_U = 試料溶液中の分析対象化合物の相対ピーク面積 W_{ISU} = 試料溶液を調製するのに使用した内標準液 1 mL 中の内標準の量(mg) amount of Internal F_2 = ファクター、50 計算式から、試料中の分析対象化合物%を求める。</p>

Table 2-5 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
6	Tagetes Extract			Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS, Appendix VIII ヘキサン 50 ppm 以下	RESIDUAL SOLVENTS, Appendix VIII
7	Turmeric Oleoresin			Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS (Oleoresines), Appendix VIII 塩素系炭化水素、合計 0.003%以下 アセトン：0.003%以下 イソプロピルアルコール：0.005%以下 メタノール：0.005% ヘキサン：0.0025%	RESIDUAL SOLVENTS (Oleoresines), Appendix VIII

Table 2-6 FCC11 各条における残留溶媒規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria		Method																																				
<p>β-Carotene from Blakeslea trispora</p> <p>8</p>			<p>Organic Impurities . RESIDUAL SOLVENTS [ニトロベンゼンは最低99%の純度のものを用いる.]</p>	<p>エタノール及び酢酸エチル 0.8%以下 (単独または合計で) 酢酸イソブチル : 1.0%以下 イソプロパノール : 0.1%以下</p>	<p>エタノール標準溶液 : 2.00 mg/mL エタノール、ニトロベンゼン溶液 酢酸エチル標準溶液 : 2.00 mg/mL 酢酸エチル、ニトロベンゼン溶液 酢酸イソプロピル標準溶液 : 40µg/mL 酢酸イソプロピル、ニトロベンゼン溶液 酢酸イソブチル標準溶液 : 2.00 mg/mL 酢酸イソブチル、ニトロベンゼン溶液 内標準液 : 1.00 mg/mL プロパノール、ニトロベンゼン溶液 検量線溶液 : エタノール標準溶液、酢酸エチル標準溶液、酢酸イソプロピル標準溶液、酢酸イソブチル標準溶液内標準液を用いて、5つの検量線溶液を 50 mL メスフラスコに調製する (Table 1 を見よ)。すべての検量線溶液はニトロベンゼンで希釈する。検量線溶液 10.0 mL を 30 mL ヘッドスペースバイアルに入れ、封をする。</p> <table border="1" data-bbox="1115 467 1563 687"> <caption>Table 1</caption> <thead> <tr> <th>Calibration solution</th> <th>Ethanol standard solution (mL)</th> <th>Ethyl acetate standard solution (mL)</th> <th>Isopropyl acetate standard solution (mL)</th> <th>Isobutyl acetate standard solution (mL)</th> <th>Internal standard solution (mL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.250</td> <td>0.250</td> <td>0.625</td> <td>0.625</td> <td>1.000</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.500</td> <td>0.500</td> <td>1.25</td> <td>1.25</td> <td>1.000</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>0.750</td> <td>0.750</td> <td>2.50</td> <td>2.50</td> <td>1.000</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>1.000</td> <td>1.000</td> <td>3.75</td> <td>3.75</td> <td>1.000</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>1.25</td> <td>1.25</td> <td>5.00</td> <td>5.00</td> <td>1.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>試料溶液 : 30 mL ヘッドスペースバイアルに試料 50 mg を量り取り、ニトロベンゼン 10 mL を加え、混合し、封をする。試料が完全に溶解するまで激しく振とうする。 クロマトグラフィックシステム : Appendix IIA を参照。 モード : ヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析 検出器 : 質量分析計 (四重極) イオン化法 : 電子衝撃イオン化法 70 eV カラム : 内径 0.25mm、長さ 30 m6%シアノプロピル 94%ジメチルポリシロキサンをフェーズドシリカ管の内面に 1.4 µm の厚さで被覆したもの 温度 : 注入口 : 200°C、インターフェイス : 25°C, オープン : 40°C (10 分保持) →5°C/min→100°C→20°C/min→225°C ヘッドスペースサンプラー : サンプル加熱温度 : 70°C、サンプル加熱時間 : 1 時間、キャリアガス : ヘリウム (50 KPa)、注入量 : 1.0 mL、注入方式 : スプリット (スプリット比 5 : 1) システム適合性 適合性要件 1 : 検量線溶液 5 の区トロのグラムにおいて、2つの化合物の間の分離度が 1.5 以上 適合性要件 2 : 検量線溶液 5 の繰り返し注入において、各面積の相対標準偏差が 10.0%以下 分析 : 検量線溶液及び試料溶液が入ったヘッドスペースバイアルを GC のサンプルトレイに置き、クロマトグラムから得られたピーク面積を求める。検量線溶液及び試料溶液中の分析対象のピーク面積を測定する [注意 : およその溶出時間はエタノール 3.1 分、酢酸イソプロピル 4.0 分、内標準 6.3 分、酢酸エチル 7.5 分、酢酸イソブチル 17.8 分である] Result = $C_U / (V/W) \times F$ C_U = 検量線から求めた試料溶液中の分析対象化合物の濃度 (µg/mL) V = 試料溶液を調製するのに使用したニトロベンゼンの量 (10 mL) W = 試料溶液を調製するためにヘッドスペースバイアルに加えた試料の精密な質量(mg) F = 補正率、(µg から mg への変換、及び パーセンテージ, 0.1)</p>	Calibration solution	Ethanol standard solution (mL)	Ethyl acetate standard solution (mL)	Isopropyl acetate standard solution (mL)	Isobutyl acetate standard solution (mL)	Internal standard solution (mL)	1	0.250	0.250	0.625	0.625	1.000	2	0.500	0.500	1.25	1.25	1.000	3	0.750	0.750	2.50	2.50	1.000	4	1.000	1.000	3.75	3.75	1.000	5	1.25	1.25	5.00	5.00	1.000
	Calibration solution	Ethanol standard solution (mL)	Ethyl acetate standard solution (mL)	Isopropyl acetate standard solution (mL)	Isobutyl acetate standard solution (mL)	Internal standard solution (mL)																																			
1	0.250	0.250	0.625	0.625	1.000																																				
2	0.500	0.500	1.25	1.25	1.000																																				
3	0.750	0.750	2.50	2.50	1.000																																				
4	1.000	1.000	3.75	3.75	1.000																																				
5	1.25	1.25	5.00	5.00	1.000																																				

Table 2-7 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
9	Quercetin		anhydrous [117-39-5] dihydrate [6151-25-3]	Organic Impurities ・RESIDUAL SOLVENTS エタノール： 3000 ppm 以下	<p>溶液 A : 10%(w/w)塩化ナトリウム溶液、内標準液： 160 µg/g 1-プロパノール溶液、標準原液： 260 µg/g エタノール溶液</p> <p>標準溶液 1 : 20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 50 mg、溶液 A 2700 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 2 : 20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 100 mg、溶液 A 2650 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 3 : 20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 200 mg、溶液 A 2550 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 4 : 20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 500 mg、溶液 A 2250 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 5 : 20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 1000 mg、溶液 A 1750 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>試料溶液： 20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにクエルセチン 40 mg、溶液 A を 2960 mg を量り、内標準 1000 mg を量る。</p> <p>クロマトグラフィックシステム： Appendix IIA 参照 モード：ヘッドスペースガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炎イオン化検出器 カラム：内径 0.15mm、長さ 15 m のフューズドシリカ管の内面に、6%シアノプロピルフェニル、94%ジメチルポリシロキサンを 0.84-µm の厚さで被覆したもの キャリアーガス：ヘリウム 流速：0.8 mL/min 温度：注入口：250°C、シリンジヘッドスペース：120°C、検出器：300°C、オープン 40°C (5分保持) →25°C/min→250°C (合計分析時間 13・4分)、ヘッドスペースサンプラー：サンプル加熱温度：90°C、加熱時間：10分間、試料攪拌速度：400 rpm、注入量：1000 mL 注入モード：スプリット (1 : 50) 注入ライナー：外径 6.3 mm×78.5 mm、リセスグースネック石英ウール充填スプリット/スプリットレスライナー (内径 4.0 mm)</p> <p>分析：試料溶液、5つの標準溶液をサンプルトレイに置き、クロマトグラムから得られる結果を記録し、標準溶液から得られた結果から、5つの標準溶液中のエタノールに対するレスポンスファクター (F) を計算する。 $F = (C_s / C_{IS}) \times (R_{IS} / R_s)$ $C_s = \text{分析した標準溶液中のエタノール濃度 (µg/g)}$ $C_{IS} = \text{分析した標準溶液中の 1-プロパノールの濃度 (µg/g)}$ $R_{IS} = \text{標準溶液のクロマトグラムから得られた 1-プロパノールのピーク面積}$ $R_s = \text{標準溶液のクロマトグラムから得られたエタノールのピーク面積}$ エタノールに対する平均レスポンスファクター (F_x) を計算する。 $F_x = \Sigma(F)/5$ 最終的に、試料中のエタノール濃度を計算する。 $\text{Result} = F_x \times (R_U / R_{IS}) \times (C_{IS} / C_U) \times 1000$ $F_x = \text{エタノールに対する平均レスポンスファクター}$ $R_U = \text{試料溶液から得られるエタノールのピーク面積}$ $R_{IS} = \text{試料溶液から得られる 1-プロパノールのピーク面積}$ $C_{IS} = \text{試料溶液から得られる 1-プロパノール濃度 (µg/g)}$ $C_U = \text{試料溶液から得られるクエルセチン濃度(mg/g)}$ </p>

Table 2-8 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
10	Rosemary Extract			Organic Impurities - RESIDUAL SOLVENTS アセトン：500 ppm 以下 エタノール：500 ppm 以下	<p>溶液 A：10%(w/w)塩化ナトリウム溶液、内標準液：160 µg/g 1-プロパノール溶液、標準原液：260 µg/g エタノール及びアセトン溶液</p> <p>標準溶液 1：20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 50 mg、溶液 A 2700 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 2：20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 100 mg、溶液 A 2650 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 3：20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 200 mg、溶液 A 2550 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 4：20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 500 mg、溶液 A 2250 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>標準溶液 5：20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにひまわり油 250 mg、標準原液 1000 mg、溶液 A 1750 mg 及び内標準液 1000 mg を量る。</p> <p>試料溶液：20 mL ガラス製オートサンプラーバイアルにローズマリー抽出物 250 mg、溶液 A を 2750 mg を量り、内標準 1000 mg を量る。</p> <p>クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA 参照 モード：ヘッドスペースガスクロマトグラフィー、検出器：水素化炭イオン化検出器 カラム：内径 0.15mm、長さ 15 m のフューズドシリカ管の内面に、6%シアノプロピルフェニル、94%ジメチルポリシロキサンを 0.84-µm の厚さで被覆したもの キャリアーガス：ヘリウム、流速：0.8 mL/min 温度：注入口：250°C、シリンジヘッドスペース：120°C、検出器：300°C、オープン 40°C (5分保持) →25°C/min→250°C (合計分析時間 13・4分)、ヘッドスペースサンプラー：サンプル加熱温度：90°C、加熱時間：10分間、試料攪拌速度：400 rpm、注入量：1000 mL 注入モード：スプリット (1：50)、注入速度：1 mL/s、注入ライナー：外径 6.3 mm×78.5 mm、リセスグースネック石英ウール充填スプリット/スプリットレスライナー (内径 4.0 mm) 分析：試料溶液、5つの標準溶液をサンプルトレイに置き、クロマトグラムから得られる結果を記録し、標準溶液から得られた結果から、5つの標準溶液中のエタノール及びアセトンに対するそれぞれのレスポンスファクター (F) を計算する。 $F = (C_s / C_{is}) \times (R_{is} / R_s)$ C_s = 分析した標準溶液中の分析対象物質の濃度 (µg/g) C_{is} = 分析した標準溶液中の 1-プロパノールの濃度 (µg/g) R_{is} = 標準溶液のクロマトグラムから得られた 1-プロパノールのピーク面積 R_s = 標準溶液のクロマトグラムから得られたエタノールのピーク面積 エタノールに対する平均レスポンスファクター (F_X) を計算する。F_X = Σ(F)/5 最終的に、試料中のエタノール及びアセトンの濃度をそれぞれ計算する。 Result = F_X × (R_U/R_{is}) × (C_{is}/C_U) × 1000 F_X = 分析対象物質に対する平均レスポンスファクター R_U = 試料溶液から得られる分析対象物質のピーク面積 R_{is} = 試料溶液から得られる 1-プロパノールのピーク面積 C_{is} = 試料溶液から得られる 1-プロパノール濃度 (µg/g) C_U = 試料溶液から得られるローズマリー抽出物濃度(mg/g)</p>

Table 2-9 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
11	Spice Oleoresins			Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS (Oleoresines), Appendix VIII 塩素系炭化水素(合計) : 0.003%以下 アセトン : 0.003%以下 イソプロパノール : 0.003%以下 メタノール : 0.005%以下 ヘキサン : 0.0025%以下	RESIDUAL SOLVENTS (Oleoresines), Appendix VIII
12	trans-Resveratrol, Fermentation (Saccharomyces cerevisiae)		501-36-0	Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS Ethanol: NMT 0.500% Toluene: NMT 0.089%	<p>内標準液 : 3 µL/mL of 2-ヘキサノン DMSO 溶液</p> <p>ブランク溶液 : 22 mL ヘッドスペースバイアルに無水硫酸ナトリウム 200 mg を加え、DMSO 1.9 mL 及び内標準液 0.1 mL を加える。テフロンセブラムとアルミクリンピキャップできつくふたを閉める。</p> <p>標準原液 : エタノール 237 mg とトルエン 43.5 mg を 50-mL メスフラスコに加え、DMSO で定容する。(エタノール 4.74 mg/mL、トルエン .87 mg/mL)</p> <p>標準溶液 : エタノール 0.237 mg/mL、トルエン 0.044 mg/mL となるように (=標準原液を 100 µL) 無水硫酸ナトリウム 200 mg を加えた 22-mL ヘッドスペースバイアル に入れ、DMSO 1.8 mL を加え、内標準液 0.1 mL を加える、テフロンセブラムとアルミクリンピキャップできつく蓋を閉める。</p> <p>試料溶液 : 試料 100 mg、無水硫酸ナトリウム 200 mg を加えた 22-mL ヘッドスペースバイアル に入れ、DMSO 1.9 mL を加え、内標準液 0.1 mL を加える、テフロンセブラムとアルミクリンピキャップできつく蓋を閉める。試料が良く溶けるようにヴォルテックスする。</p> <p>クロマトグラフィックシステム : Appendix IIA 参照</p> <p>モード : ヘッドスペースサンプラー付きガスクロマトグラフィー</p> <p>検出器 : 水素化炎イオン化検出器</p> <p>カラム : 内径 0.53mm、長さ 30 m のフューズドシリカ管の内面に、5%フェニルポリメチルシロキサンを 0.5 µm の厚さで被覆したもの</p> <p>温度 : カラム : Table 3 を見よ。 注入口 : 220°C、検出器 : 260°C、流速 : 空気 : 60 psi、300 ± 10 mL/min、水素 : 40 psi、32 ± 1 mL/min。ヘリウム : 80 psi、カラム流量 : 3 ± 1 mL/min (ヘリウム)、メークアップ流量 : 26 ± 1 mL/min (ヘリウム)。[合計分析時間 : 22.93 min.]</p> <p>ヘッドスペースサンプラー条件 ;</p> <p>温度 : バイアル加熱 温度 50°C、ループ温度 : 110°C、トランスファーライン : 110°C、GC サイクル時間 : 45 分、バイアル平衡時間 : 35 分、加圧時間 : 0.25 分、加圧平衡化時間 : 0.1 分、フープフィル時間 : 0.5 分、ループ平衡化時間 : 0.25 分、注入時間 : 1 分間、注入法 : 直接、バイアル加圧 : 3.5 ± 1 psi、トランスファーライン : 110°C、GC サイクル時間 : 45 分、バイアル平衡化時間 : 35 分</p> <p>システム適合性</p> <p>試料 : 標準溶液[注意 : 内標準に対する相対溶出時間はおよそエタノール 0.27、トルエン 0.98]</p> <p>適合性要件 1 : 内標準ピークのテーリング係数 (T) は 2.0 以下</p> <p>適合性要件 2 : カラム性能 (N) は リファレンスピークを内標準として 10,000 以上</p> <p>適合性要件 3 : エタノールとトルエンのピーク面積の内標に対するピーク面積比の相対標準偏差は 5%以下 (6 回注入)。</p> <p>分析 : ブランク溶液を注入し、標準溶液中のキャリオーバーや夾雑物を確認する。別に、同量のブランク溶液、標準溶液、試料溶液を注入し、ピーク面積を測定し、試料中のそれぞれの分析対象物質 (エタノール及びトルエン) の量を求める。</p> <p>結果 = $(R_U - R_B) / (R_S - R_B) \times (C_S / C_U) \times 100$</p> <p>$R_U$ = 試料溶液中の内標準に対する残留溶媒ピーク比</p> <p>R_B = ブランク溶液中の内標準に対する残留溶媒ピーク比</p> <p>R_S = 標準溶液中の内標準に対する残留溶媒ピーク比</p> <p>C_S = 標準溶液中の残留溶媒濃度 (mg/mL)</p> <p>C_U = 試料溶液中の試料濃度 (mg/mL)</p>

Temperature (°C)	Rate (°/min)	Hold Time (min)
32	—	2
32 - 40	1	—
40 - 55	2	—
55 - 140	35	—
140 - 160	10	3

Table 2-10 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
13	Plant Stanol Esters			Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS, Appendix VIII n-プロパノール : 50 µg/g 以下	RESIDUAL SOLVENTS, Appendix VIII
14	Cetylpyridinium Chloride		[6004-24-6] (monohydrate) [123-03-5] (anhydrous)	Organic Impurities RESIDUAL SOLVENTS, アセトン : 200 mg/kg 以下 酢酸エチル : 5000 mg/kg 以下 メチルエチルケトン : 600 mg/kg	標準原液 : アセトン 1.25 mg/mL、酢酸エチル 1.25 mg/mL、メチルエチルケトン 1.25 mg/mL DMSO 溶液 ブランク試料溶液 : ヘッドスペースバイアルに DMSO 2 mL を加え、蓋をきつく締める。 標準溶液 : ヘッドスペースバイアルに標準原液 2.0 mL を加え、テフロンシールで蓋を閉め、溶液をよく混合する。 試料溶液 : 試料 500 mg をヘッドスペースバイアルに移し、DMSO 2.0 mL を加え、テフロンシールで蓋を閉め、溶液をよく混合する。 クロマトグラフィックシステム : Appendix IIA モード : ヘッドスペースサンプラー付きガスクロマトグラフィー 検出器 : 水素化炎イオン化検出器 カラム : 内径 0.32mm、長さ 30 m の中極性キャピラリーカラムの内面に、14%シアノプロピルフェニル 86%メチルポリシロキサン 1 µm の厚さで被覆したもの カラム温度 : 以下の表を参照 GC 条件 温度 : 注入口温度 : 220°C、検出器 : 280°C キャリアーガス : ヘリウム/窒素、流速 : 1.5 mL/min、スプリット比 : 5:1、メイクアップ流速 (窒素) : 20 mL/min、平衡化 : 85°C、25 分間、注入シリンジ : ガスタイト、加熱温度 90°C ヘッドスペース条件 温度 : オープン 85°C、ループ : 90°C、トランスファーライン : 95°C、バイアル振とう : 低、バイアル平衡化時間 : 25 分間、加圧時間 : 1.0 分間、ループフィル時間 : 0.5 分間、フープ平衡化時間 : 1.0 分間 温度 : 注入口 : 220°C、注入時間 : 1.0 分、トランスファーライン圧力 : 15 psi、バイアル圧力 : 15 psi システム適合性 試料 : 標準溶液 適合性要件 1 : 酢酸エチルとメチルエチルケトンの分離度 (R) は 2.0 以上 適合性要件 2 : アセトン、酢酸エチル及びメチルエチルケトンの繰り返し注入での各ピーク面積の相対標準偏差は 10%以下 適合性要件 3 : アセトンピークの理論段数は 10,000 以上 分析 [カラムは 220°C、30 分でコンディショニングを行う、45°C でベースラインが安定してから分析を開始する] ブランク試料溶液、標準溶液、試料溶液を同量注入し、クロマトグラムを記録し、ピーク面積を測定する。 [およその溶出時間はアセトン 3.8 分、メチルエチルケトン 5.9 分、酢酸エチル 6.1 分であり、DMSO は 12.5 分に溶出する] 試料中の各分析対象化合物 (アセトン、メチルエチルケトン、酢酸エチル) の濃度 (mg/kg) を求める。 結果 = $[(A_U \times C_S) / (A_S \times C_U)] \times F$ A_U = 試料溶液中の分析対象化合物のピーク面積 peak area of the analyte from the Sample solution C_S = 標準溶液中の分析対象化合物の重さ (mg) A_S = 標準溶液中の分析対象化合物のピーク面積 C_U = 試料溶液中の試料の重さ (mg) F = 変換ファクター (mg/mg から mg/kg) 1×10^6

Temperature (°)	Rate (°/min)	Hold Time (min)
45	—	5
45–70	10	—
70–220	20	5

Table 2-11 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
15	ARA from Fungal (Mortierella alpina) Oil			Organic Impurities HEXANE RESIDUES ヘキサン： 1.0 mg/kg 以下	<p>植物油：試料中の油と似た、有機溶媒が入っていない油 実験室では油の脱臭を行うことで油中の有機溶媒量を減らせるかもしれない。 内標準：n-ヘキタン</p> <p>検量線溶液：植物油 25 g に別々に n-ヘキサン 0 μL, 20 μL, 40 μL, 60 μL, 80 μL, 及び 100 μL を加え、バイアルの蓋を閉じ、室温で機械的に激しく振とうする。バイアルを振とうした後、内標準 5 μL をシリンジでそれぞれバイアルに入れる。 [n-ヘキサンを 0 μL 加えるものはブランクとする]</p> <p>試料溶液：試料 25 g をバイアルに入れ、バイアルの蓋を閉じ、室温で機械的に激しく振とうする。分析前にバイアルを 1 分間振とうした後、内標準 5 μL をシリンジでそれぞれバイアルに入れる。</p> <p>クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA モード：ヘッドスペースガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炎イオン化検出器 カラム：内径 0.3mm、長さ 30 m のフェーズドシリカの内面に、メチルポリシロキサン 0.2 μm の厚さで被覆したもの 温度：オープン 40℃、注入口：120℃、検出器：120℃ ヘッドスペースサンプラー条件：試料加熱温度：60℃、試料加熱時間：30 分、シリンジ温度：60℃、キャリアーガス：ヘリウム、流速：適宜最適化した流速 注入量：1000 μL</p> <p>キャリブレーションファクターの決定：1000-μL のガスタイトシリンジを 60℃ に温め、各検量線溶液を正確に 30 分間 60℃ の水浴で温め、水浴から取り出さずにガスタイトシリンジを使って油上のヘッドスペースを 1000 μL 取り、素早くガスクロマトグラフに注入する。検量線から得られたクロマトグラムを記録し、ピーク面積を求める。n-ヘキサンを含む検量線溶液からキャリブレーションファクター (F) を求める。 $F = (C_S \times A_1) / [(A_H - A_B - A_1) \times C_1]$ C_S = 検量線溶液中の n-ヘキサンの濃度 (mg/kg) A₁ = 検量線溶液のクロマトグラム中の内標準のピーク面積 A_H = 検量線溶液のクロマトグラムの中の内標準を含み、酸化物に起因するピークは含まない溶媒炭化水素のピーク面積 A_B = ブランク溶液中の内標準のピークを除いた溶媒炭化水素のピーク面積 C₁ = 検量線溶液に加えた内標準の量 (mg/kg 油) (680 mg)</p> <p>[キャリブレーションファクターは小数点第 3 桁まで計算する。キャリブレーションファクターの平均を分析に用いる] 分析：1000-μL のガスタイトシリンジを 60℃ に温め、試料溶液を正確に 30 分間 60℃ の水浴で温め、水浴から取り出さずにガスタイトシリンジを使って油上のヘッドスペースを 1000 μL 取り、素早くガスクロマトグラフに注入する。クロマトグラムを記録し、ピーク面積を求める。 残留溶媒量 (ヘキサン mg/kg) を求める。 結果 = (A_H - A₁) × F × C₁ × (1 / A₁) A_H = 試料溶液のクロマトグラムの中の内標準を含み、酸化物に起因するピークは含まない溶媒炭化水素のピーク面積 A₁ = 試料溶液のクロマトグラム中の内標準のピーク面積 F = キャリブレーションファクター C₁ = 試料溶液に加えた内標準の量 (mg/kg 油) (680 mg)</p>

Table 2-12 FCC11 各条における残留溶媒規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
16	Locust (Carob) Bean Gum	410	9000-40-2	Organic Impurities -RESIDUAL SOLVENTS エタノール、イソプロピルアルコール、単独または合計で1% 以下	<p>内標準溶液：50-mL のヘッドスペースバイアルに水 50.0 mL を加え、封をする。正確に重さを量り、セプタムを通して、3-メチル-2-ペンタノン 15 µL を注入し、再度重さを 0.01 mg まで量る。</p> <p>標準溶液：50-mL ヘッドスペースバイアルに水 50.0 mL を加え、封をする。正確に重さを量り、セプタムを通して、エタノール 15 µL 及びイソプロピルアルコール 15 µL を注入し、再度重さを 0.01 mg まで量る。</p> <p>試料溶液：試料 0.500 ± 0.001 g を小さい秤量皿に量る。ヘッドスペースバイアルに水 5 mL 及び内標準 1 mL を加え、バイアルの底に試料が塊とならないよう注意深く試料を加える。バイアルの封をし、内容物を、ボルテックスミキサーを用いて混合する。振とうしないように。</p> <p>ブランク試料溶液：水 5.0 mL をヘッドスペースバイアルに加え、内標準液 1.0 mL を加える。封をして内容物を、ボルテックスミキサーを用いて混合する。</p> <p>検量線溶液：ヘッドスペースバイアルに水 4.0 mL を加え、内標準 1.0 mL を加えて、封をして、内容物を、ボルテックスミキサーを用いて混合する。</p> <p>クロマトグラフィックシステム： Appendix IIA 参照</p> <p>モード：ガスクロマトグラフィー</p> <p>検出器：水素化炭イオン化検出器</p> <p>カラム 1：内径 0.53 mm、長さ 0.8 m のフューズドシリカの内面に、DB-Wax 1 mm の厚さで被覆したもの、または同等品。</p> <p>カラム 2：内径 0.53mm、長さ 30 m のフューズドシリカの内面に、DB-1 を 1 mm の厚さで被覆したもの [カラム 1 の後ろにカラム 2 をつなげる]</p> <p>温度：注入口：140°C、カラム 35°C (5 分保持) →5 min/min→90°C (6 分保持)、検出器：300°C、キャリアガス：ヘリウム、流速：208 kPa、5 mL/min</p> <p>ヘッドスペースサンプラー：</p> <p>試料加熱温度：60°C、試料加熱時間：10 分間、シリンジ温度：70°C、トランスファー温度：80°C、試料ガス注入量：1.0 mL (スプリットモード)</p> <p>分析：試料溶液、ブランク溶液、検量線溶液をサンプルトレイに置き、クロマトグラムを記録する。ブランク試料溶液のクロマトグラムから必要な補正を行う。</p> <p>試料中のエタノール及びイソプロピルアルコールの量 (%) を計算する。(およその溶出時間は 4.09 分、5.23 分である。)</p> <p>Result = $(R_U / R_S) \times (C_S / C_U) \times 100$</p> <p>$R_U$ = 試料溶液の内標準比 (溶媒ピーク面積/内標準のピーク面積)</p> <p>R_S = 標準溶液の内標準比 (溶媒ピーク面積/内標準のピーク面積)</p> <p>C_S = 標準溶液中の溶媒濃度 (mg/mL)</p> <p>C_U = 試料溶液中の溶媒濃度 (mg/mL)</p>

Table 3-1 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria		Method
1	Polysorbate 20	432	9005-64-5	ORGANIC IMPURITIES	1,4-ジオキサン 検液のピーク面積は、標準溶液のピーク面積を超えない。 (NMT 10 mg/kg)	Stripped polysorbate : 130°C、4 時間窒素を吹き付けながら 10 mmHg で 1,4-ジオキサンを取り除いた、1,4-ジオキサンを含まない 1,4-ジオキサンを検出しない 1,4-ジオキサンフリー試料 標準溶液 : 1,4 dioxane 10 µg/mL HPLC グレード (99.8%) の 1,4-ジオキサンを Stripped polysorbate 及び水で希釈し調製する。 試料: 5 g クロマトグラフィックシステム : Appendix IIA を参照 操作条件
2	Polysorbate 60	435	9005-67-8	ORGANIC IMPURITIES	1,4-ジオキサン 検液のピーク面積は、標準溶液のピーク面積を超えない。 (NMT 10 mg/kg)	装置: ガスクロマトグラフィー (注釈: ヘッドスペースサンプラー、backflush valve、1mL サンプルループが装備されている装置を使用すること) 検出器:水素炎イオン化検出器 カラム: 60~80-mesh TENAX TA support 又は同等品を内径 3.2 mm、長さ 1 m のニッケル製プレカラム及び内径 3.2 mm、長さ 6 m のニッケル製プレカラムに詰めたもの、または同等品。 温度: カラム温度: 190°C 検出器温度: 250°C 注入口温度: 250°C 流速: 約 30 mL/min 注入量: 1 mL (サンプルループを使用する) キャリアーガス: ヘリウム (注意— 1,4-ジオキサンが分析カラムから溶出した後、バックフラッシュバルブを用いて初期化する) 分析: 22-mL ヘッドスペースバイアルに標準溶液 5.0 g をとり、シリコーンセプタムを用いて、アルミキャップでキャップシーリング道具を用いて封をする。試料を用いても同様の操作を行う。標準溶液を含むバイアルを、オートサンプラーに置き、バイアルを 90°C、30 分間加熱し、分析を開始する。適切なヘッドスペースサンプラーを使用する。標準溶液を注入し、1,4-ジオキサンのピーク面積を測定し、同様に試料を含むバイアルでも操作し、1,4-ジオキサンのピーク面積を測定する。
3	Polysorbate 65	436		ORGANIC IMPURITIES	1,4-ジオキサン 検液のピーク面積は、標準溶液のピーク面積を超えない。 (NMT 10 mg/kg)	
4	Polysorbate 80	433	9005-65-6	ORGANIC IMPURITIES	1,4-ジオキサン 検液のピーク面積は、標準溶液のピーク面積を超えない。 (NMT 10 mg/kg)	

Table 3-2 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
5	Sucrose Fatty Acid Esters	473		ORGANIC IMPURITIES	ジメチルスフホキシド 2 mg/kg 標準原液： 0.25 mg/mL DMSO テトラヒドロフラン溶液 標準溶液： 標準原液を用いて、0.005 mg/mL, 0.001 mg/mL, 及び 0.0005 mg/mL DMSO テトラヒドロフラン溶液をそれぞれ調製する。 試料： 5 g 試料溶液： 25-mL メスフラスコに、試料を入れ、テトラヒドロフランで定容し、混合する。 クロマトグラフィックシステム： Appendix IIA 参照 モード： ガスクロマトグラフィー、 検出器： 炎光光度検出器 (394 nm 硫酸フィルター)、 カラム： Gas Chrom Z に PEG 20M 10% 及び 3% 水酸化カリウムをコーティングした 3 mm、長さ 2 m のガラス製カラム又は、同等品。 カラム温度： 160°C、 注入口： 210°C、キャリアーガス： 窒素 流速： 50 mL/min, 注入量： 3 µL 分析： [カラムは窒素を 30~40 mL/min で流し、使用前に 1°C/min で 180°C まで昇温し、24~48 時間コンディショニングを行う] 標準溶液をそれぞれ分析し得られたクロマトグラムを記録し、濃度 (mg/mL) ごとピーク面積をプロットし検量線を作成する。 試料溶液を注入し、クロマトグラムの DMSO のピークを記録し、検量線からその濃度を求め、試料中の濃度を以下の式によって求める (mg/kg) Result = 2500C/W C = 検量線から求めた 試料溶液中の DMSO の濃度 (mg/mL) W = 試料採取量 (g)
				酢酸エチル： 350 mg/kg 以下 イソブタノール： 10 mg/kg 以下 メタノール： 10 mg/kg 以下 メチルエチルケトン： 10 mg/kg 以下	標準原液： 酢酸エチル、イソブタノール、メタノール、メチルエチルケトンをそれぞれ 10 mg/mL 含む溶液を調製する。 標準溶液： 標準原液を水で希釈し、酢酸エチル、イソブタノール、メタノール、メチルエチルケトンをそれぞれ 200 µg/mL, 300 µg/mL, and 400 µg/mL となるように調製する。 試料溶液： 試料 1 g をサンプルバイアルに入れ、水 5 µL を加え、直ちにセプタムでバイアルに封をする。 クロマトグラフィックシステム： Appendix IIA モード： ヘッドスペースサンプラーを装備したガスクロマトグラフィー 検出器： 水素化炎イオン化検出器 カラム： 内径 0.53 mm、長さ 30 m のシリカキャピラリーカラムを 100%メチルポリシロキサンでコーティングしたもの (又は同等品) 温度： カラム： 40°C、注入口： 110°C、検出器： 110°C、ヘッドスペースサンプラー： 80°C、シリンジ： 85°C、キャリアーガス： 窒素、流速： 5 mL/min 注入量： 各溶液の上部 400 µL 分析： [注意： カラムは使用前に 60°C で 2~3 時間窒素を約 10 mL/min で流しながらコンディショニングする] 試料 1 g を別々のサンプルバイアルにとり、それぞれ標準溶液 5 µL を加え、直ちにセプタムでバイアルに封をする。ヘッドスペースサンプラーにバイアルを置き、それぞれ 80°C で 40 分間加熱する。各バイアルの上部の 400 µL をガスクロマトグラフに注入する。検出器から得られた面積を記録し、各溶媒の濃度 (C _s , mg/mL) に対するピーク面積 (r _s) をプロットし、検量線を作成する。 同様に、試料溶液を含むバイアルをヘッドスペースサンプラーに置き、80°C、40 分間加熱し、バイアルの上部 400 µL をガスクロマトグラフに注入する。検出器から得られた標準溶液中の溶媒の溶出時間に対応する各溶媒のピーク面積(r ₀)を求める。各溶媒の検量線と試料溶液から得られたピーク面積を用いて、試料中の各溶媒の濃度 (mg/kg) を以下の式より求める。 Result = 1000C _s C _s = 検量線から得られた試料溶液中のそれぞれの溶媒濃度 (mg/kg)

Table 3-3 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
6 Poloxamer 331			ORGANIC IMPURITIES 酸化エチレン：5 mg/kg 以下 酸化プロピレン：5 mg/kg 以下 1,4-ジオキサン：5 mg/kg 以下	Stripped poloxamer：試料 100～300 g を適当な 4 口丸底フラスコにとり、スターラー、温度計、ガス注入チューブ、冷却管、吸引装置、マントルヒーターを設置する・室温でフラスコ内の圧力が 1 mm Hg 以下となるように注意深く圧力をかけ、過度の発砲が引き起こされるまでガスを吸引する。フラスコを 130℃まで加熱し、圧力が約 60 mm Hg となるまで、加圧し、4 時間続け、室温まで冷却する。 吸引ポンプを切って、フラスコ内の圧力が大気圧となるまで窒素を吹き付け、ガスを流しながらチューブを取り除く。Stripped poloxamer は適切な窒素充填容器に入れる。 標準溶液[注意：酸化エチレン、酸化プロピレン、1,4-ジオキサンは毒性及び可燃性がある。これらの溶液は、排気が整ったドラフトで調製する] [注意：酸化エチレンは室温では気体である。通常金属製の圧力容器（レクチャータイプガスシリンダー）に保存されている。使用前に、冷蔵庫で冷やす] Stripped poloxamer 50 g をバイアルに入れ、適当な量の酸化プロピレン及び 1,4-ジオキサンを加え、封をする。それぞれ加えた前後の重さを量り、添加量を求める。酸化エチレン 5 mL を氷冷した 100 mL ビーカーにいれ、冷蔵庫で冷やしたガスタイトシリンジを用いて、適当な量の酸化エチレンをとり、加える。直ちにバイアルの封をし、振とうする。添加前後の重さを量り添加量を求める。 Stripped poloxamer で適当な希釈を行うことで、3 つの化合物濃度が 1～20 mg/kg の範囲となるように 4 つの溶液を調製する（例えば、5, 10, 15, 及び 20 mg/kg）これらの溶液を 22-mL ヘッドスペースバイアルにそれぞれ 1 ± 0.01 g 量り取り、封をし標準溶液とする。 クロマトグラフィックシステム： Appendix IIA を参照 操作条件 装置：ガスクロマトグラフィー（注釈：圧力の調整が可能なオートヘッドスペースサンプラーが付属した装置を使用する） 検出器：水素炎イオン化検出器 （注意：1,4-ジオキサンが分析カラムから溶出した後、バックフラッシュバルブを用いて初期化する） 分析：22-mL ヘッドスペースバイアルに標準溶液 5.0 g をとり、シリコーンセブタムを用いて、アルミキャップでキャップシーリング道具を用いて封をする。試料を用いても同様の操作を行う。標準溶液を含むバイアルを、オートサンプラーに置き、バイアルを 90℃、30 分間加熱し、分析を開始する。適切なヘッドスペースサンプラーを使用する。標準溶液を注入し、1,4-ジオキサンのピーク面積を測定し、同様に試料を含むバイアルでも操作し、1,4-ジオキサンのピーク面積を測定する。 カラム：内径 0.32 mm、長さ 50 m のフューズドシリカキャピラリーカラムに 5%フェニル、95%メチルシロキサンを被覆したもの 温度：カラム温度：70℃→10℃/min→250℃、トランスファーライン：140° 検出器温度：250℃、流速：約 0.8 mL/min、キャリアーガス：ヘリウム システム適合性 試料：標準溶液 適合性要件 1:酸化エチレン及び酸化プロピレンの分離度は 2.0 以上 適合性要件 2：3 つの検量線プロットにおいて、10%以上外れる点がないこと。 分析：標準溶液を含むバイアルをサンプラーに置き、そのヘッドスペースを採取する前に、各バイアルを 110℃、30 分間加熱する。オートサンプラーのニードル引き上げ速度：0.3 分、加圧時間：1 分間、注入時間：0.08 分、注入圧：22 psi、エチレンオキシド、プロピレンオキシド及び 1, 4-ジオキサンのピークを得る。[注意：酸化エチレン、酸化プロピレン、1, 4-ジオキサンの相対保持時間はそれぞれ 1.0, 1.3, 及び 3.1] 濃度 (mg/kg) に対応する面積をプロットし、直線を書く。 試料溶液を含むバイアルをオートサンプラーに置き、標準溶液と同様にヘッドスペースから得られたクロマトグラムから、各化合物のピークを求め、検量線プロットから直接濃度を求める。
7 Poloxamer 407			ORGANIC IMPURITIES 酸化エチレン：5 mg/kg 以下 酸化プロピレン：5 mg/kg 以下 1,4-ジオキサン：5 mg/kg 以下	

Table 3-4 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method															
8 Sucralose	955	56038-13-2	ORGANIC IMPURITIES メタノール 0.1%以下	<p>標準原液：1000 µg/mL メタノール 標準溶液：メタノール 1000 µg/g スクラロース を以下の通り調製する。 USP スクラロー標準品 1.000 g を 22-mL ヘッドスペースバイアルに入れる。 [NOTE— USP スクラロース標準品は測定できるメタノールは含まれていない。なので、マトリックスマッチ標準溶液を調製するために使用する] 10%(w/v)塩化ナトリウム溶液 4.0 mL を加え、標準原液 1.00 mL を加え、テフロンシールをし、クリンプキャップできつく蓋をし、よく混合する。 試料溶液：試料 1.000 g を 22-mL ヘッドスペースバイアルに入れ、10%(w/v)塩化ナトリウム溶液 4.0 mL を加え、テフロンシールをし、クリンプキャップできつく蓋をし、よく混合する。 クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA モード：圧力バランスヘッドスペースサンプラー付きガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炭イオン化検出器 カラム：内径 0.32-mm、長さ 30 m のキャピラリーカラムをプロピレングリコール 1.0 µm の厚さで被覆したもの。 [注意： キャピラリーカラムへの注入はトランスファーライン、GC 注入口を通して注入する] 注入口温度：110°C カラム温度：以下の温度プログラムを見よ。： See the temperature program table below. 検出器パラメーター 検出器温度：250°C 水素流速：40 mL/min、空気流速：400 mL/min、フローモード：メークアップを一定にする、メークアップガス：30 mL/min ヘッドスペースサンプラーパラメーター トランスファーライン温度：110°C、ニードル温度：100°C、オープン温度：90°C、バイアル平衡化時間：10 分、サイクル時間：25 分、バイアル加圧時間：3 分、ニードル引き抜き時間：0.5 分 注入時間：0.15 分、サンプラーデリバリーシステム：ヘリウム 90 psi (100 psi は超えない) システム適合性 試料：標準溶液 適合性要件：繰り返し注入の相対標準偏差は 10%以下 分析：標準溶液と試料溶液を別々に注入し、クロマトグラムからピーク面積を測定する。 [NOTE—メタノールの洋酒地時間は 4.4 分] 以下の式に従い、試料中のメタノールの濃度 (%) を計算する。 Result = [(A_U × C_S)/(A_S × C_U)] × F A_U = 試料溶液中のメタノールピーク面積 C_S = 標準溶液中のメタノールの重さ (µg) A_S = 標準溶液中のメタノールピーク面積 C_U = 試料溶液に使用された試料の重さ (g) F = 換算係数 (µg/g から g/g 及び %, 1/10,000)</p> <table border="1" data-bbox="1512 710 2083 869"> <thead> <tr> <th>Temperature (°)</th> <th>Rate (°/min)</th> <th>Hold Time (min)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>50</td> <td>—</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>50–80</td> <td>10</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>80–230</td> <td>50</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>230</td> <td>—</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Temperature (°)	Rate (°/min)	Hold Time (min)	50	—	3	50–80	10	—	80–230	50	—	230	—	10
Temperature (°)	Rate (°/min)	Hold Time (min)																	
50	—	3																	
50–80	10	—																	
80–230	50	—																	
230	—	10																	

Table 3-5 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
9 Polyvinyl Acetate		9003-20-7	ORGANIC IMPURITIES 遊離酢酸ビニル：5 mg/kg 以下	<p>試料溶液：333.3 mg/g N,N-ジメチルアセトアミド 標準溶液：少なくとも4つの酢酸ビニル標準溶液 (0.25~5 mg/kg)、ジエチルエーテルを内標とし、N,N-ジメチルアセトアミドで調製する。</p> <p>クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA モード：圧力バランスヘッドスペースオートサンプラー付ガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炭イオン化検出器 内径 0.54 mm、長さ 30mのフューズドシリカ管の内面に、ジビニルベンゼンポリマーを被覆したもの カラム温度：50℃ (6分保持) →12℃/min→110℃ (9分保持) 注入口温度：200℃、検出器温度：200℃、 試料パラメーター トランスファーライン温度：110℃、ニードル温度：110℃、温度：70℃、時間：50分、加圧時間：1分、注入時間：0.2分、保持時間：0.2分、サイクル時間：29分、キャリアーガス：ヘリウム、流速：10 mL/min、 システム適合性 試料：5.0 mg/kg 標準溶液 適合性要件 1:繰り返し注入の酢酸ビニルの相対標準偏差は5%以下 適合性要件 2:酢酸ビニルとその他のピークの分離度は1.0以上[Note— N,N-ジメチルアセトアミドは酢酸ビニルの妨害をするピークを含むかもしれない] 分析: 標準溶液、試料溶液と標準溶液の同じ量を注入し、クロマトグラムを記録し、ピーク面積を測定する。[Note— 酢酸ビニルのおよその溶出時間は14.6分] 内標準に対する酢酸ビニルの標準溶液の酢酸ビニル面積比をY軸にプロットし、酢酸ビニル濃度(mg/kg)をX軸にプロットする。[注意：標準溶液の決定係数は0.99以上] 検量線を用いて、試料溶液中の内標のピーク面積に対する酢酸ビニル面積比から酢酸ビニルの濃度(mg/kg C_U)を求め、以下の式に従って試料中の酢酸ビニル濃度(mg/kg)を求める。 Result = C_U/C_{SMP} × F C_U= 検量線から求めた試料中の酢酸ビニルの濃度 (mg/kg) C_{SMP} = 試料溶液中の試料濃度(mg/g) F =補正係数 (g/kg t から mg/kg、1000)</p>

Table 3-6 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
10 5'-Adenylic Acid		61-19-8	ORGANIC IMPURITIES エタノール 試料溶液のピーク面積は標準溶液のピーク面積を超えない (100 mg/kg 以下).	標準溶液：10 mg/kg エタノール 1 N 水酸化ナトリウム溶液を調製する。この液 10 mL を 20-mL ヘッドスペースバイアルに入れ、蓋をきつく締める。 試料溶液：100 mg/g 1 N 水酸化ナトリウム溶液となるように調製する。この液 10 mL を 20-mL ヘッドスペースバイアルに入れ、蓋をきつく締める。 クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA 参照 モード：圧カールヘッドスペースオートランプラー付ガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炎イオン化検出器 カラム：内径 0.53mm、長さ 30m のフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用 6% シアノプロピルフェニル-94% ジメチルポリシロキサンを 3 μm の厚さで被覆したもの カラム温度：40°C (20 分保持) →10°C/min→240°C (10 分保持) 注入口温度：140°C、検出器温度：250°C、キャリアーガス：窒素、流速：2.5 mL/min、ヘッドスペース部：2.5 mL/min、平衡化時間：60 分、ループ温度：85°C、トランスファー温度：90°C、加圧時間：0.5 分、フープ重点時間：.1 分 注入時間：1 分、注入量：ヘッドスペース 1 mL システム適合性 試料：標準溶液 適合性要件：繰り返し注入の相対標準偏差が 5.0% 以下 分析：標準溶液及び試料溶液それぞれを同じ量注入し、クロマトグラムを記録し、ピーク面積を求める。[注意：エタノールの溶出時間はおよそ 11 分]
11 Disodium 5'-Uridylate		3387-36-8	ORGANIC IMPURITIES エタノール 試料溶液のピーク面積は標準溶液のピーク面積を超えない (1000 mg/kg 以下).	
12 5'-Cytidylic Acid		25332-68-3	ORGANIC IMPURITIES エタノール 試料溶液のピーク面積は標準溶液のピーク面積を超えない (200 mg/kg 以下).	

Table 3-7 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
13	Olestra			ORGANIC IMPURITIES メタノール：300 mg/kg 以下	<p>アルカリ性アルミナ：中性アルミナ（60-200 メッシュ、Brockman Activity 1）500 g と 40%水酸化カリウム溶液 166.5 g を 1 L 広口ポリプロピレン製瓶の中で激しく均一になるまで混ぜ、使用するまで 16 時間平衡化させる。</p> <p>内標準溶液：1 mg/mL USP ステアリン酸ブチル標準品ヘキサン溶液。</p> <p>標準溶液：40 mg/mL USP オレイン酸メチル標準品ヘキサン溶液</p> <p>試料溶液：4 つの 50 mL 瓶に内標準液 1 mL、標準溶液を 3 つの瓶にそれぞれ 5.0, 10.0, and 20.0 µL 加える。それらはメタノール約 21.6, 43.2 及び 86.3 µg に相当する。溶媒を揮発させ室温で窒素をパージする。</p> <p>試料 300 mg を 4 つの瓶にそれぞれ入れ、90°C で 5 分加熱する。素早くアルカリ性アルミナを加える。よく混合し、テフロン/ゴムセプラムで蓋をする。70°C で 3 時間保持する。</p> <p>クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA を参照</p> <p>モード：ガスクロマトグラフィー [注意：ヘッドスペース分析に合ったシステムを使用する]</p> <p>検出器：水素化炭イオン化検出器</p> <p>カラム：内径 2mm、長さ 1.8 m のカラムに 100-120 メッシュのステレンジビニル共重合体を詰めたもの (Chromosorb 101, 又は同等品)</p> <p>温度：カラム：100°C (2 分保持) →10°C/min→195°C</p> <p>注入口：225°C、検出器：225°C、注入量：3 mL</p> <p>分析：ガスタイトシリンジ 5 mL を使用して、標準溶液、4 つの試料溶液からヘッドスペース 3 mL を取り、注入しクロマトグラムを得る。メタノール及びブタノールのピーク面積を測定する。 [注意：メタノール及びブタノールは 3 分と 10 分に溶出する]</p> <p>試料溶液中のメタノール (µg) 対、内標準溶液に対するメタノールのピーク面積比から標準添加プロットを作成する。採取した試料中のメタノールの量 (mg/kg) の計算をする。</p> <p>Result = 3.3 × A</p> <p>A = 標準添加プロットから求めたメタノール量 (µg)</p>

Table 3-8 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
14	Polyethylene Glycols	1521	25332-68-3	ORGANIC IMPURITIES 酸化エチレン：10 mg/kg 以下 1,4-ジオキサン：10 mg/kg 以下	<p>Stripped polyethylene 400：試料 3000 g を 5000 mL の 4 口丸底フラスコにとり、スターラー、温度計、ガス注入チューブ、冷却管、吸引装置、マントルヒーターを設置する。室温でフラスコ内の圧力が 1 mm Hg 以下となるように注意深く圧力をかけ、過度の発砲が引き起こされるまでガスを吸引する。泡が立ち始めたら、窒素をバージしながら、圧力を 10 mHg まで下げる。フラスコを 60℃まで加熱し、圧力が約 60 mm Hg となるまで、加圧し、4 時間続け、室温まで冷却する。</p> <p>吸引ポンプを切って、フラスコ内の圧力が大気圧となるまで窒素を吹き付け、ガスを流しながらチューブを取り除く。Stripped polyethylene 400r は適切な窒素充填容器に入れる。</p> <p>標準溶液 [注意：酸化エチレン、1,4-ジオキサンは毒性及び可燃性がある。これらの溶液は、排気が整ったドラフトで調製する]量が分かった有機物フリーの水が入ったバイアルに 1,4-ジオキサンの適量を加える。酸化エチレン 5 mL は氷冷した 100 mL ビーカーに入れる。[注意：酸化エチレンは室温では気体である。通常金属製の圧力容器（レクチャータイプガスシリンダー）に保存されている。使用前に、冷蔵庫で冷やす]使用するガスタイトシリンジは冷蔵庫で冷やし、適当量の酸化エチレンをその混合物へ移し、直ちにバイアル封をし、振とうする。加えた量を重さの違いで確認する。</p> <p>Stripped polyethylene 400 で適当な希釈を行うことで、2つの化合物濃度が 1～20 mg/kg の範囲となるように4つの溶液を調製する（例えば、5, 10, 15, 及び 20 mg/kg）これらの溶液 10 mL を 22-mL ヘッドスペースバイアルにそれぞれ入れ、封をし、2分間振とうする。標準溶液とする。</p> <p>試料溶液：試料 10 ± 0.01 g を 22-mL ヘッドスペースバイアルにいれ標準溶液で指示されたように封をする。</p> <p>クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA を参照</p> <p>操作条件</p> <p>装置：ガスクロマトグラフィー（注釈：圧力の調整が可能なオートヘッドスペースサンプラーが付属した装置を使用する）</p> <p>検出器：水素炎イオン化検出器</p> <p>（注意：1,4-ジオキサンが分析カラムから溶出した後、バックフラッシュバルブを用いて初期化する）</p> <p>カラム：内径 0.32-mm、長さ 50 m のフェーズドシリカキャピラリーカラムの内側を 5%フェニル 95%メチルシロキサンで被覆したもの。または同等品。</p> <p>温度：カラム 70℃→10℃/min→205℃</p> <p>トランスファーライン温度：140℃</p> <p>検出器：250℃、流速 0.8 ml/min、キャリアーガス：ヘリウム</p> <p>システム適合性</p> <p>適合性要件：分析によって得られた 2つの最適化された検量線から 10%外れる点がないこと</p> <p>分析：標準溶液を含むバイアルをオートサンプラーに置き、それぞれのヘッドスペースをクロマトグラフに注入する前に、バイアルを 50℃で 30 分間加熱する。オートサンプラーのニードル取り出し時間は 0.3 分、加圧時間は 1 分、注入時間は 0.08 分、バイアル加圧は 22 psi で、酸化エチレンと 1, 4 ジオキサンのピーク面積を得る。[注意：酸化エチレン及び 1,4-ジオキサンの相対保持時間はそれぞれ約 1.0 及び 3.1 である。] 濃度 (mg/kg) に対するピーク面積をプロットし、検量線を作成する。試料溶液を含むバイアルをオートサンプラーに置き、標準溶液でしたようにヘッドスペースを注入し、酸化エチレンと 1,4-ジオキサンのピーク面積を得る。対応する検量線からそれらの濃度を求める。</p>

Table 3-9 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

	Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
15	Rebaudioside A		58543-16-1	ORGANIC IMPURITIES エタノール：0.50%以下 メタノール：0.020%以下	内標準液：10 µg/mL 1-ブタノール水溶液 標準原液：12.5 mg/mL エタノール及び12.5 mg/mL メタノール水溶液 [NOTE—有機物フリーの水を用いる。毎日要時採取する。] 標準溶液：標準原液を段階希釈し、エタノール及びメタノールの濃度が1250 µg/mL、625 µg/mL、125 µg/mL、62.5 µg/mL、12.5 µg/mL、及び1.25 µg/mLとなるように調製する。 ヘッドスペースバイアルにそれぞれ、エタノール・メタノール溶液 4.0 mL に、内標準液 1.0 mL を加え、蓋をきつく締める。 試料：100 mg 試料溶液：ヘッドスペースバイアルに試料を入れ、水 4.0 mL、内標準液 1.0 mL を加え、蓋をきつく締める。 ブランク溶液：ヘッドスペースバイアルに水 4.0 mL、内標準液 1.0 mL を加え、蓋をきつく締める。 クロマトグラフィックシステム：Appendix IIA 参照 モード：ヘッドスペースサンプラー付きガスクロマトグラフィー 検出器：水素化炭イオン化検出器 カラム：内径 0.32 mm、長さ 30 m、ポリエチレングリコール固定相を 1 µM の厚さで架橋、結合させた高極性キャピラリーカラム カラム温度：35°C (3分保持) →10°C/min→180°C (1分保持) 注入口温度：250°C、キャリアーガス：ヘリウム、流速：35 cm/s 線速度、平衡化：80°C、20分間、注入シリンジ：ガスタイトシリンジ、85°C加熱、注入量：ヘッドスペース システム適合性： 試料：標準溶液 適合性要件 1：二つの化合物の分離度は3以上 適合性要件 2：繰り返し注入のピーク面積の相対標準偏差は15%以下 分析：標準溶液及び試料溶液をそれぞれ同量クロマトグラフへ注入し、クロマトグラムを記録し、ピーク面積を測定す。[注意：エタノール及びメタノールの溶出時間はおよそ7.4分及び8.1分] 内標に対する分析対象の面積比をY軸とし、分析対象の濃度(µg/mL)をx軸とし、エタノール及びメタノールの検量線を作成する。 [注意：それぞれの検量線の決定係数は0.995以上] 検量線及び内標に対する各分析対象の面積比から、試料溶液中の各分析対象の濃度(C, µg/mL)を求める。試料中の各分析対象(エタノール及びメタノール)の量%を求める。 Result = $C_u \times 4/S \times 0.1$ C_u = 検量線から導かれた試料溶液中の分析対象の濃度 (µg/mL) 4 = 試料溶液で試料を溶かすのに使用した水の量 (mL) S = 試料採取量 t (mg) 0.1 = 換算係数 (µg/mg から µg/µg、%)
16	Steviol Glycosides	960	Stevioside: 57817-89-7 Rebaudioside A: 58543-16	ORGANIC IMPURITIES エタノール：0.50%以下 メタノール：0.020%以下	

Table 3-10 FCC11 各条における有機不純物 (Organic Impurities) 規格

Food additive	INS	CAS	Acceptance criteria	Method
17 Gellan Gum	418	71010-52-1	ORGANIC IMPURITIES イソプロピルアルコール : 0.075%以下	<p>IPA 標準溶液 : 1 mg/mL イソプロピルアルコール (クロマトグラフィーグレード)水溶液 TBA 標準溶液 : 1 mg/mL tert-ブチルアルコール (クロマトグラフィーグレード)水溶液 混合標準溶液 : IPA 標準溶液 4 mL 及び TBA 標準溶液を 125mL 三角フラスコに入れ、水で約 100 mL とする。この溶液にはイソプロピルアルコール及び tert-ブタノールが 40 µg/mL 含まれる。</p> <p>試料 : 5 g 試料溶液 : 1000 mL 24/40 丸底蒸留フラスコに水 200 mL を入れ、Dow-Corning G-10 のような分散剤を 1 mL 加える。試料を加え、1 時間振とう器で振とうする。フラスコに分画カラムを接続し、カラムに泡が入らないように調整しながら加熱し、留液が約 100 mL となるまで蒸留する。TBA 標準溶液 4 mL を加え、水で 100 mL とし、試料液とする。</p> <p>クロマトグラフィックシステム : Appendix IIA 参照 モード : ガスクロマトグラフィー 検出器 : 水素化炎イオン化検出器 カラム : 内径 3.2 mm、長さ 1.8 m、80-100 メッシュの Porapax QS を充填したステンレスカラム、または同等品。 温度 : カラム 165°C、注入口 : 200°C、キャリアーガス : ヘリウム、流速 : 80 mL/min、注入量 : 約 5 µL 分析 : 混合標準溶液と試料溶液同量を注入し、混合標準溶液からのクロマトグラムから、イソプロピルアルコールと tert-ブチルアルコールのピーク面積を求め、レスポンスファクター (F) を以下の式から求める。 $F = A_{IPA} / A_{TBA}$ $A_{IPA} = \text{イソプロピルアルコールの面積}$ $A_{TBA} = \text{tert-ブチルアルコールの面積}$ [注意 : イソプロピルアルコールと tert-ブチルアルコールの溶出時間はそれぞれ 2 分及び 3 分である] 試料溶液のクロマトグラムから、試料中のイソプロピルアルコール量 (mg/kg) を計算する。 $\text{Result} = (S_{IPA} \times 4000) / (F \times S_{TBA} \times W)$ $S_{IPA} = \text{試料溶液クロマトグラム中のイソプロピルアルコールの面積}$ $S_{TBA} = \text{試料溶液クロマトグラム中の tert-ブチルアルコールの面積}$ $W = \text{試料採取量 (g)}$</p>

Table 4-1 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
1	カカオ色素		アセトン 30 µg/g 以下	<p>本品の表示量から、色価 50 に換算して 1.00 g に相当する量を 10mL のメスフラスコに入れ、水を加えて溶かす。内標準液 2 mL を正確に量り、メスフラスコに入れ、水を加えて 10mL とし、試料液とする。グラファイトカーボンミニカラム (500mg) にメタノール 4 mL、続いて水 10mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに正確に 1 mL の試料液を注入し、流出液を 5 mL のメスフラスコに入れる。次に、カラムに水を注ぎ、流出液の総量が 5 mL になるまでカカオ色素が溶出しないような速さで流し、得られた流出液を検液とする。別にアセトン 0.15 g を量り、水を加えて正確に 100 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、水を加えて 100mL とする。さらに、この液 2 mL を正確に量り、内標準液 2 mL を正確に加えた後、水を加えて正確に 50mL とし、比較液とする。ただし、エタノール (99.5) 2.5 g を量り、水を加えて 100mL とし、更にこの液 1 mL を量り、水を加えて 100mL とし、内標準液とする。検液及び比較液をそれぞれ 10µL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき、検液のエタノールのピーク面積に対するアセトンのピーク面積の比は、比較液のエタノールのピーク面積に対するアセトンのピーク面積の比を超えない。</p> <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 180~250µm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管内径 3~4 mm、長さ 2~3 m のガラス管又はステンレス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近 キャリアーガス窒素 流量アセトンの保持時間が 9~11 分になるように調整する。</p>

Table 4-2 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
2	シヨ糖脂肪酸エステル		<p>2-ブタノン 10 µg/g 以下</p> <p>酢酸エチル、2-プロパノール及びプロピレングリコール 合計量として 0.035% 以下</p> <p>メタノール 10 µg/g 以下</p> <p>2-メチル-1-プロパノール 10 µg/g 以下</p>	<p>(i) 2-ブタノン、酢酸エチル、2-プロパノール、メタノール及び2-メチル-1-プロパノール2-ブタノン、酢酸エチル、2-プロパノール、メタノール及び2-メチル-1-プロパノールをそれぞれ約0.2gずつ精密に量り、混合し、水を加えて正確に50mLとし、標準液Aとする。標準液A 5mL及び10mLを正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に20mLとし、それぞれを標準液B及び標準液Cとする。専用バイアル瓶に本品1.00gを量り、水5µLを正確に加え、検液とする。同様に、別の3本の専用バイアル瓶に本品1.00gずつを量り、それぞれに標準液A、標準液B及び標準液Cを5µLずつ正確に加え、標準検液とする。検液及び3濃度の標準検液につき、次の操作条件でヘッドスペースガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準検液の各溶媒成分のピーク面積を測定し、検液及び各標準検液中の各溶媒添加量を横軸に、そのピーク面積を縦軸にとり、関係線を作成する。関係線の横軸との交点と原点との距離から、試料中の各溶媒の量を求める。</p> <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム 内径0.53mm、長さ30mのフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサンを1.5µmの厚さで被覆したもの カラム温度 40℃ 注入口温度 110℃ キャリヤーガス 窒素 流量 2-メチル-1-プロパノールのピークが約5分後に現れるように調整する。 注入方式 スプリットレス ヘッドスペースサンプラーの操作条件 バイアル内平衡温度 80℃ バイアル内平衡時間 40分間 注入量 1.0mL</p> <p>(ii) プロピレングリコール 本品約1gを精密に量り、内標準液0.1mLを添加し、ピリジンに溶かして正確に10mLとする。この液0.5mLを正確に量り、1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサメチルジシラザン0.25mL、トリメチルクロロシラン0.1mLを加えて激しく振り混ぜ、室温で30分放置した後、遠心分離し、その上層を検液とする。ただし、内標準液は、エチレングリコール25mgを量り、ピリジンを加えて正確に50mLとする。別にプロピレングリコール約25mgを精密に量り、ピリジンを加えて正確に50mLとする。この液40µL、0.2mL、0.5mL及び1mLを正確に量り、それぞれに内標準液0.1mLを添加し、更にピリジンを加えて正確に10mLとし、以下検液の調製と同様に操作し、標準液とする。検液及び4濃度の標準液をそれぞれ1µLずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。内標準法により、検量線からプロピレングリコールの量を求める。</p> <p>操作条件 検出器水素炎イオン化検出器 カラム 内径0.32mm、長さ30mのフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサンを0.25µmの厚さで被覆したもの カラム温度 60℃で5分間保持した後、毎分20℃で250℃まで昇温し、250℃を5分間保持する。 注入口温度 230℃ キャリヤーガス ヘリウム 流量 プロピレングリコールの誘導体のピークが約8分後に現れるように調整する。</p>

Table 4-3 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
3	ヒドロキシプロピルセルロース	9004-64-2	プロピレンクロロヒドリン 1.0 µg/g 以下	<p>本品 1.0 g を量り、ジエチルエーテル 5 mL を正確に加えて栓をし、10 分間超音波抽出する。この液を遠心分離し、上澄液を検液とする。別にプロピレンクロロヒドリン 30mg を量り、ジエチルエーテルを加えて正確に 100mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジエチルエーテルを加えて正確に 50mL とする。さらに、この液 1 mL を正確に量り、ジエチルエーテルを加えて正確に 20mL とし、標準液とする。 検液及び標準液をそれぞれ 1 µL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行い、プロピレンクロロヒドリンのピーク面積を測定する。検液のピーク面積は、標準液のピーク面積を超えない。</p> <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 検出器温度 230℃ カラム 内径 0.25mm、長さ 30m のフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコールを 0.25µm の厚さで被覆したもの カラム温度 40℃で 2 分間保持した後、毎分 5℃で 80℃まで昇温し、80℃を 8 分間保持する。その後、毎分 25℃で 230℃まで昇温し、230℃を 5 分間保持する。 注入口温度 150℃ キャリヤーガス窒素 流量 プロピレンクロロヒドリンのピークが約 15 分後に現れるように調整する。 注入方式スプリットレス</p>

Table 4-4 公定書における残留有機溶媒規格

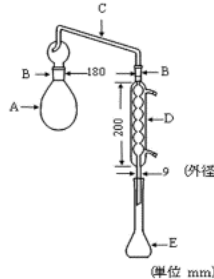
	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
4	ウェランガム		2-プロパノール 0.50% 以下	<p>(i) 装置概略は次の図による。 A：ナス型フラスコ (300mL) B：すり合わせ連結部 C：しぶき止め付き蒸留管 D：冷却器 E：メスフラスコ (100mL)</p>  <p>(ii) 操作法 本品約 2 g を A に精密に量り、水 200mL、数個の沸騰石及びシリコーン樹脂約 1 mL を入れ、よく混和する。内標準液 4 mL を正確に量り、E に入れ、装置を組み立てる。B を水で濡らし、泡が C に入らないように調整しながら 1 分間に 2～3 mL の留出速度で蒸留し、留液約 90mL を採り、水を加えて正確に 100mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチル-2-プロパノール溶液 (1→1000) とする。別に、2-プロパノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 10mL 及び内標準液 4 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対する 2-プロパノールのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求め、次式により 2-プロパノールの量を求める。</p> $2\text{-プロパノールの量 (\%)} = \frac{2\text{-プロパノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 2$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 180～250μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管内径 3 mm、長さ 2 m のガラス管 カラム温度 120℃付近の一定温度 注入口温度 200℃付近の一定温度 キャリヤーガス 窒素又はヘリウム 流量 2-プロパノールの保持時間が約 10 分になるように調整する。</p>

Table 4-5 公定書における残留有機溶媒規格

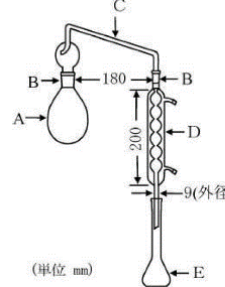
	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
5	加工ユーケマ藻類		2-プロパノールとメタノールの合計量 0.10%以下	<p>純度試験(7)(i) 装置概略は次の図による。</p> <p>A : ナス型フラスコ (300mL) B : すり合わせ連結部 C : しぶき止め付き蒸留管 D : 冷却器 E : メスフラスコ (100mL)</p>  <p>(ii) 操作法 本品約 2 g を A に精密に量り、水 200mL、数個の沸騰石及びシリコーン樹脂約 1 mL を入れ、よく混和する。内標準液 4 mL を正確に量り、E に入れ、装置を組み立てる。B を水で濡らす。泡が C に入らないように調整しながら 1 分間に 2 ~ 3 mL の留出速度で、留分が約 90mL になるまで蒸留する。この留分に水を加えて正確に 100mL とし、検液とする。ただし、内標準液は 2-メチル-2-プロパノール溶液 (1 → 1000) とする。別に 2-プロパノール及びメタノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 2 mL 及び内標準液 4 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0 μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対する 2-プロパノール及びメタノールのピーク面積の比 Q_{T1} 及び Q_{T2} 並びに Q_{S1} 及び Q_{S2} を求め、以下の式により、2-プロパノール及びメタノールの量を求める。</p> $\text{2-プロパノールの量} = \frac{\text{2-プロパノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_{T1}}{Q_{S1}} \times 0.4 (\%)$ $\text{メタノールの量} = \frac{\text{メタノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_{T2}}{Q_{S2}} \times 0.4 (\%)$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム 充填剤 180~250 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管内径 3 mm、長さ 2 m のガラス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近の一定温度</p>

Table 4-6 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
6	カロブیینガム		2-プロパノール 1.0%以下	(i) 装置「加工ユーケマ藻類」の純度試験(7)を準用する。 (ii) 操作法 本品約 2 g を A に精密に量り、水 200mL、数個の沸騰石及びシリコーン樹脂約 1 mL を入れ、よく混和する。内標準液 4 mL を正確に量り、E に入れ、装置を組み立てる。B を水で濡らし、泡が C に入らないように調整しながら 1 分間に 2~3 mL の留出速度で、留分が約 90mL になるまで蒸留する。この留分に水を加えて正確に 100mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチル-2-プロパノール溶液 (1→1000) とする。別に 2-プロパノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 20mL 及び内標準液 4 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0 μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対する 2-プロパノールのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求め、次式により 2-プロパノールの量を求める。
7	キサントガム		2-プロパノール 0.50%以下	
8	グァーガム		2-プロパノール 1.0%以下	
9	ジェランガム	71010-52-1	2-プロパノール 0.075%以下	
10	精製カラギナン		2-プロパノールとメタノールの合計量 0.10%以下	$2\text{-プロパノールの量 (\%)} = \frac{2\text{-プロパノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 4$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 180~250 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管内径 3 mm、長さ 2 m のガラス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近の一定温度 キャリヤーガス窒素又はヘリウム 流量 2-プロパノールの保持時間が約 10 分になるように調整する。</p>

Table 4-7 公定書における残留有機溶媒規格

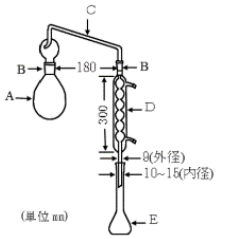
	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
11	植物性ステロール（遊離体高濃度品）		1-プロパノール、ヘキサン及びメタノールの合計量 50 µg/g 以下	<p>(i) 装置概略は右の図による。 A：ナス型フラスコ（100mL） B：すり合わせ連結部 C：しぶき止め付き蒸留管 D：冷却器 E：広口メスフラスコ（25mL）</p>  <p>(ii) 操作法 本品約 10 g を A に精密に量り、1-ブタノール 10mL を入れ、よく混和し、沸騰石を加える。内標準液 2 mL を正確に量り、E に入れ、装置を組み立てる。B を 1-ブタノールで濡らす。A を 180°C に加熱して約 1 時間かけ、留分が約 9 mL になるまで蒸留する。留分を集めた E に 1-ブタノールを加えて 25mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-ブタノール・1-ブタノール溶液（3→10000）とする。別に 1-プロパノール、ヘキサン及びメタノール約 0.5 g を精密に量り、1-ブタノールを加えて正確に 100mL とする。この液 1 mL を正確に量り、1-ブタノールを加えて正確に 100mL とする。この液 10mL 及び内標準液 2 mL を正確に量り、1-ブタノールを加えて 25mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2 µL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液の 2-ブタノールのピーク面積に対する 1-プロパノール、ヘキサン及びメタノールのピーク面積の比 Q_{T1}、Q_{T2} 及び Q_{T3} 並びに標準液の 2-ブタノールのピーク面積に対する 1-プロパノール、ヘキサン及びメタノールのピーク面積の比 Q_{S1}、Q_{S2} 及び Q_{S3} を求め、次式により 1-プロパノール、ヘキサン及びメタノールの量を求める。</p> <p>操作条件 検出器水素炎イオン化検出器 カラム 内径 0.25mm、長さ 60m のフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用 25%フェニル 75%メチルポリシロキサンを 1.40 µm の厚さで被覆したもの カラム温度 50°C で注入し、3 分間保持した後、毎分 5°C で 110°C まで昇温し、更に毎分 15°C で 200°C まで昇温し、200°C を 4 分間保持する。 注入口温度 150°C 付近の一定温度 検出器温度 150°C 付近の一定温度 キャリアーガス 窒素又はヘリウム 流量 2-ブタノールの保持時間が約 12 分になるように調整する。 注入方式 スプリット スプリット比 1 : 20</p>
12	植物性ステロール（遊離体低濃度品）		1-プロパノール、ヘキサン及びメタノールの合計量 50 µg/g 以下	<p>操作条件 検出器水素炎イオン化検出器 カラム 内径 0.25mm、長さ 60m のフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用 25%フェニル 75%メチルポリシロキサンを 1.40 µm の厚さで被覆したもの カラム温度 50°C で注入し、3 分間保持した後、毎分 5°C で 110°C まで昇温し、更に毎分 15°C で 200°C まで昇温し、200°C を 4 分間保持する。 注入口温度 150°C 付近の一定温度 検出器温度 150°C 付近の一定温度 キャリアーガス 窒素又はヘリウム 流量 2-ブタノールの保持時間が約 12 分になるように調整する。 注入方式 スプリット スプリット比 1 : 20</p>

Table 4-8 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
13	ペクチン		2-プロパノールとメタノールの合計量 1.0%以下	<p>本品約 0.1 g を精密に量り、内標準液（1→25）10mL を正確に加え、密栓し、均一に分散する までかき混ぜる。この液を遠心式限外ろ過ユニットに移し、毎分 5000 回転で 30 分間遠心ろ過し、ろ液を検液とする。ただし、内標準液は 2-メチル-2-プロパノール溶液（1→1000）とする。</p> <p>別に 2-プロパノール及びメタノールをそれぞれ約0.1gずつ精密に量り、水を加えて正確に100mLとする。この液10mL及び内標準液 4 mL を正確に量り、水を加えて正確に100mLとし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ2.0 μLずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液 及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対する 2-プロパノール及びメタノールのピーク面積比 Q_{T1} 及び Q_{T2} 並びに Q_{S1} 及び Q_{S2} を求め、次式により 2-プロパノール及びメタノールの量を求める。</p> $2\text{-プロパノールの量 (\%)} = \frac{\text{2-プロパノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_{T1}}{Q_{S1}}$ $\text{メタノールの量 (\%)} = \frac{\text{メタノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_{T2}}{Q_{S2}}$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン検出器 カラム充填剤 180~250 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニル系多孔性樹脂 カラム管 内径 3 mm、長さ 2 m のガラス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近の一定温度 キャリヤーガス窒素又はヘリウム 流量 メタノールの保持時間が約 2 分、2-プロパノールの保持時間が約 10 分になるように調整する。</p>
14	マクロホモプシスガム		2-プロパノール 0.50%以下	<p>(i) 装置 「加工ユーケマ藻類」の純度試験(7)の装置を準用する。(ii) 操作法 「加工ユーケマ藻類」の純度試験(7)の操作法を準用して検液及び内標準液を調製する。別に 2-プロパノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50mL とする。この液 10mL 及び内標準液 4 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL と し、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0 μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対する 2-プロパノールのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求め、次式により 2-プロパノールの量を求める。</p> $2\text{-プロパノールの量 (\%)} = \left(\frac{\text{2-プロパノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \right) \times \left(\frac{Q_T}{Q_S} \right) \times 2$ <p>操作条件 検出器水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 180~250 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管内径 3 mm、長さ 2 m のガラス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近の一定温度 キャリヤーガス窒素又はヘリウム 流量 2-プロパノールの保持時間が約 10 分になるように調整する。</p>

Table 4-9 公定書における残留有機溶媒規格

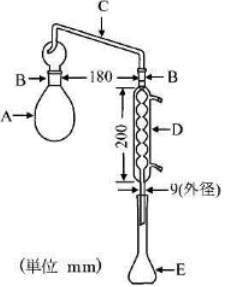
	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
15	ラムザンガム		2-プロパノール 0.10%以下	「加工ユーケマ藻類」の純度試験(7)の試験法を準用する。ただし、メタノールに関する試験は行わない。
16	エンジュ抽出物	250249-75-3	メタノール 0.015%以下	<p>純度試験(3)(i) 装置概略は次の図による。</p> <p>A：ナス型フラスコ（200mL） B：すり合わせ連結部 C：しぶき止め付き蒸留管 D：冷却器 E：メスフラスコ（50mL）</p>  <p>(単位 mm)</p> <p>(ii) 操作法本品約 5 g を A に精密に量り、ホウ酸・水酸化ナトリウム緩衝液 100mL を入れ、よく混和し、沸騰石を加える。内標準液 2 mL を正確に量り、E に入れ、装置を組み立てる。B を水で濡らし、1 分間に 2～3 mL の留出速度で、留分が約 45mL になるまで蒸留する。この留分 に水を加えて正確に 50mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチル-2-プロパノール溶液（1→1000）とする。別にメタノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 100mL とし、この液 5 mL を正確に量り、水を加えて 100mL とする。この液 3 mL 及び内標準液 2 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0 μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求め、次式によりメタノールの量を求める。</p> $\text{メタノールの量 (\%)} = \frac{\text{メタノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 0.15$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 180～250 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管 内径 3 mm、長さ 2 m のガラス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近の一定温度 注入方式 全量注入法 キャリヤーガス 窒素又はヘリウム 流量 メタノールの保持時間が約 2 分になるように調整する。</p>

Table 4-10 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
17	クチナシ青色素		メタノール 0.10%以下	<p>本品の表示量から、色価 50 に換算して 1.00 g に相当する量を 10mL のメスフラスコに正確に量り、水を加えて溶かし、内標準液 2 mL を正確に加えた後、更に水を加えて 10mL とし、試料液とする。グラファイトカーボンミニカラム (500mg) にエタノール (95) 4 mL、続いて水 10mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに正確に 1 mL の試料液を注入し、流出液を 5 mL のメスフラスコにとる。次に、水を注ぎ、流出液の総量が 5 mL になるまで青色素が溶出しないような速さで流し、得られた 流出液を検液とする。別にメタノール 0.50 g を量り、水を加えて正確に 100mL とする。この液 10mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とする。さらに、この液 2 mL を正確に量り、内 標準液 2 mL を正確に加えた後、水を加えて正確に 50mL とし、比較液とする。ただし、2-プロパノール 0.50 g を量り、水を加えて 100mL とし、更にこの液 10mL を量り、水を加えて 100mL とし、内 標準液とする。検液及び比較液をそれぞれ 2.0 μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき、検液の 2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比は、比較液の 2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比を超えない。</p> <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 180~250 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管 内径 3~4 mm、長さ 1~2 m のガラス管又はステンレス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 160~200°C キャリヤーガス窒素又はヘリウム 流量 メタノールの保持時間が 2~4 分になるように調整する。</p>
18	スクラロース	56038-13-2	メタノール 0.10%以下	<p>本品約 2 g を精密に量り、水を加えて正確に 10mL とし、混和し、検液とする。別にメタノール 2.0 g を量り、水を加えて正確に 100mL とし、混和する。この液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とし、混和し、比較液とする。検液及び比較液を 1 μL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマト グラフィーを行う。検液及び比較液のメタノールのピーク面積 A_T 及び A_S を求め、次式によりメタノールの量を求める。</p> $\text{メタノールの量 (\%)} = \frac{2.0}{\text{試料の採取量 (g)} \times 1000} \times \frac{A_T}{A_S} \times 100$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 150~180 μm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管 内径 2~4 mm、長さ約 2 m のガラス管 カラム温度 140~160°C の一定温度 注入口温度 200°C キャリヤーガス窒素又はヘリウム 流量 メタノールのピークが約 4 分後に現れるように調整する。</p>

Table 4-11 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
19	ナリンジン	10236-47-2	メタノール 50 µg/g 以下	<p>(i) 装置「エンジュ抽出物」の純度試験(3)の装置を準用する。</p> <p>(ii) 操作法本品約 5 g を A に精密に量り、水 100mL、数個の沸騰石及びシリコーン樹脂 3～4 滴を入れ、よく混和する。内標準液 2 mL を正確に量り、E に入れ、装置を組み立てる。B を水で濡らす。泡が C に入らないように調整しながら 1 分間に 2～3 mL の留出速度で留分が約 45mL になるまで蒸留する。この留分に水を加えて正確に 50mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチル-2-プロパノール溶液 (1→1000) とする。別に、メタノール約 0.5 g を精密に量り、水を加えて正確に 100mL とする。この液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とする。この液 2 mL 及び内標準液 4 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 2.0 µL ずつ量り、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の 2-メチル-2-プロパノールのピーク面積に対するメタノールのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求め、次式によりメタノールの量を求める。</p> $\text{メタノールの量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{\text{メタノールの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times 500$ <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム 充填剤 180～250 µm のガスクロマトグラフィー用スチレン-ジビニルベンゼン系多孔性樹脂 カラム管 内径 3mm、長さ 2m のガラス管 カラム温度 120°C 付近の一定温度 注入口温度 200°C 付近の一定温度 キャリアーガス 窒素又はヘリウム 流量 メタノールの保持時間が約 2 分になるように調整する。</p>
20	乳酸		メタノール 80% 乳酸に対し、CH ₃ OH として 0.20v/w% 以下	<p>純度試験(9)A 液 10 g を量り、水 8 mL 及び炭酸カルシウム 5 g を加え、これを蒸留して初留分約 5 mL を量り、水を加えて 100mL とし、検液とする。検液 1.0mL を量り、リン酸 (1→20) 0.1mL 及び過マンガン酸カリウム溶液 (1→300) 0.2mL を加え、10 分間放置した後、亜硫酸ナトリウム溶液 (1→5) 0.4mL 及び硫酸 3 mL を加え、更にクロモトローブ酸試液 0.2mL を加えるとき、液の色は、比較液を検液と同様に操作した液の色より濃くない。比較液は、メタノール 1.0mL を量り、水を加えて 100mL とし、この液 1.0mL を量り、水を加えて 100mL とする。</p>
21	乳酸ナトリウム	72-17-3	メタノール 60% 乳酸ナトリウムに対し、CH ₃ OH として 0.20v/w% 以下	<p>本品の乳酸ナトリウム 3.0 g に対応する量を量り、水 8 mL を加え、これを蒸留して初留液約 5 mL を量り、水を加えて 100mL とする。この液 1.0mL を量り、以下「乳酸」の純度試験(9)を準用する。</p>

Table 4-12 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
22	ヘキサン		ベンゼンとして 0.25vol%以下	<p>本品 50mL を正確に量り、内標準液 50mL を正確に量って加えて混和し、検液とする。ただし、内標準液は、4-メチル-2-ペンタノン 0.5mL を量り、紫外吸収スペクトル測定用ヘキサンを加えて 100mL とする。別にベンゼン 0.25mL を正確に量り、紫外吸収スペクトル測定用ヘキサンを加えて正確に 100mL とする。この液 50mL を正確に量り、内標準液 50mL を正確に量って加えて混和し、比較液とする。検液及び比較液につき、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき、検液中のベンゼンに相当するピークの示すピーク高さQ_Tと4-メチル-2-ペンタノンの示すピーク高さの比Q_Tは、比較液中のベンゼンの示すピーク高さQ_Sと4-メチル-2-ペンタノンの示すピーク高さの比Q_Sを超えない。</p> <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム充填剤 液相 担体に対して 10%のポリエチレングリコール 6000 担体 177~250μm のガスクロマトグラフィー用ケイソウ土 カラム管内径 3~4 mm、長さ 2~3 m のガラス管又はステンレス管 カラム温度 50~70°C の一定温度 キャリヤーガス 窒素 流量 ベンゼンのピークが約 5 分後に現れるように調整する。</p>

Table 4-14 公定書における残留有機溶媒規格

	Food additive	CAS	Acceptance criteria	Method
23	ポリソルベート 20	9005-64-5	酸化エチレン 1.0 µg/g 以下、 1,4-ジオキサン 10 µg/g 以下	酸化エチレン 1.0 µg/g 以下、1, 4-ジオキサン 10 µg/g 以下 本品約 1 g を専用バイアル瓶に精密に量り、水 1 mL を正確に加え、検液とする。別に、ポリソルベート用酸化エチレン・テトラヒドロフラン試液 2.5mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とする。さらに、この液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100mL とし、酸化エチレン標準原液とする。また、1, 4-ジオキサン約 1 g を精密に量り、水を加えて正確に 100mL とする。この液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 200mL とし、1, 4-ジオキサン標準原液とする。酸化エチレン標準原液 5 mL 及び 1, 4-ジオキサン標準原液 10mL を正確に量り、水を加えて正確に 50mL とし、標準液とする。本品約 1 g を専用バイアル瓶に精密に量り、標準液 1 mL を正確に加え、比較液とする。検液及び比較液を密栓し、加温しながら均一となるまでかくはんし、次の条件でヘッドスペースガスクロマトグラフィーを行う。検液の酸化エチレンのピーク面積 A_{Te} 及び 1, 4-ジオキサンのピーク面積 A_{Td} 並びに比較液の酸化エチレンのピーク面積 A_{Re} 及び 1, 4-ジオキサンのピーク面積 A_{Rd} をそれぞれ測定し、次式により試料中の酸化エチレン及び 1, 4-ジオキサンの量を求める。
24	ポリソルベート 60	9005-67-8	酸化エチレン 1.0 µg/g 以下、 1,4-ジオキサン 10 µg/g 以下	$\text{酸化エチレンの量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{A_{Te} \times C_e}{(A_{Re} \times M_T) - (A_{Te} \times M_R)}$ <p>ただし、M_T : 検液中の試料の量 (g) M_R : 比較液中の試料の量 (g) C_e : 比較液に添加された酸化エチレンの量 (µg)</p> $1, 4\text{-ジオキサンの量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{A_{Td} \times C_d}{(A_{Rd} \times M_T) - (A_{Td} \times M_R)}$ <p>ただし、M_T : 検液中の試料の量 (g) M_R : 比較液中の試料の量 (g) C_d : 比較液に添加された 1, 4-ジオキサンの量 (µg)</p> <p>操作条件 検出器 水素炎イオン化検出器 カラム内径 0.25mm、長さ 60m のフューズドシリカ管の内面に、ガスクロマトグラフィー用 25%-ジフェニル-75%-ジメチルポリシロキサンを 1.4 µm の厚さで被覆したもの カラム温度 40°C で 10 分間保持した後、毎分 10°C で 100°C まで昇温し、100°C を 10 分間保持する。その後、毎分 20°C で 230°C まで昇温する。 注入口温度 150°C 付近の一定温度 検出器温度 250°C 付近の一定温度 キャリヤーガス ヘリウム又は窒素 流量 1, 4-ジオキサンのピークが約 22 分後に現れるように調整する。 注入方式 スプリット スプリット比 1 : 20 で混和し、上記の条件で試験するとき、アセトアルデヒド、酸化エチレン、1, 4-ジオキサンの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。</p>
25	ポリソルベート 65	9005-71-4	酸化エチレン 1.0 µg/g 以下、 1,4-ジオキサン 10 µg/g 以下	<p>ただし、M_T : 検液中の試料の量 (g) M_R : 比較液中の試料の量 (g) C_d : 比較液に添加された 1, 4-ジオキサンの量 (µg)</p> <p>操作条件 ヘッドスペースサンプラーの操作条件 バイアル内平衡温度 70°C バイアル内平衡時間 45 分 注入ライン温度 80°C 注入量 1.0mL カラム選定標準液 1.0mL を専用バイアル瓶に量り、用時調製したアセトアルデヒド (1→500000) 0.10mL を加える。密栓して混和し、上記の条件で試験するとき、アセトアルデヒド、酸化エチレン、1, 4-ジオキサンの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。</p>
26	ポリソルベート 80	9005-65-6	酸化エチレン 1.0 µg/g 以下、 1,4-ジオキサン 10 µg/g 以下	<p>ただし、M_T : 検液中の試料の量 (g) M_R : 比較液中の試料の量 (g) C_d : 比較液に添加された 1, 4-ジオキサンの量 (µg)</p> <p>操作条件 ヘッドスペースサンプラーの操作条件 バイアル内平衡温度 70°C バイアル内平衡時間 45 分 注入ライン温度 80°C 注入量 1.0mL カラム選定標準液 1.0mL を専用バイアル瓶に量り、用時調製したアセトアルデヒド (1→500000) 0.10mL を加える。密栓して混和し、上記の条件で試験するとき、アセトアルデヒド、酸化エチレン、1, 4-ジオキサンの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。</p>

