

## 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3年度分担研究報告書

#### 残留溶媒試験法に関する調査研究

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

残留溶媒試験法において、海外で使用されているガスクロマトグラフィー質量分析（GC/MS）及び夾雑物の影響が少ないヘッドスペース（HS）法を用いて、メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び2-メチル-1-プロパノールのHS-GC/MSによる分析法の検討を行った。HS-GC/MSのSIMモードでメタノールは  $m/z$  32、2-プロパノールは  $m/z$  45、2-ブタノンは  $m/z$  43、酢酸エチルは  $m/z$  43 で定量が可能であった。10  $\mu\text{g/g}$  相当の各分析対象物質を添加したショ糖脂肪酸エステル1 gに水及び各分析対象物質の混合標準溶液(0.001~0.01 g/mL) 5  $\mu\text{L}$  をそれぞれ添加し、バイアル平衡化温度 80 $^{\circ}\text{C}$ 、バイアル平衡化時間 40 分で標準添加法により添加回収試験を行った。その結果、メタノールでは 100%、2-プロパノールで 78.7%、2-ブタノンでは 70.8%、酢酸エチルで 70.9%の回収率が得られた。2-メチル-1-プロパノールではショ糖脂肪酸エステルの影響でピーク形状が悪く定量が困難であった。以上の結果から、SIMモードを用いたHS-GC/MSはショ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エチルの定量法として有用な方法であることが明らかとなった。更に、これまでの調査及び結果を参考に一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。

#### A. 研究目的

ショ糖脂肪酸エステルは、ショ糖を親水基、脂肪酸を親油基とした非イオン界面活性剤であり、日本で古くから使用が認められている食品添加物である。第9版食品添加物公定書（公定書）成分規格・保存基準各条において、ショ糖脂肪酸エステルには純度試験としてジメチルスルホキシド（DMSO）2  $\mu\text{g/g}$  以下、ジメチルホルムアミド（DMF）1  $\mu\text{g/g}$  以下とい

う規格が設定されており、いずれも、ショ糖脂肪酸エステルをテトラヒドロフランに溶解し、ガラス製のパックドカラムを用いて、DMSOは蛍光光度検出器（硫黄フィルター装着）、DMFは窒素リン検出器により定量することとなっている。パックドカラムは分離も悪く、近年パックドカラムを装着できるGC装置も少なくなっていることから、昨年度は、キャピラリーカラムを用いたDMSO及

び DMF のヘッドスペースガスクロマトグラフィー質量分析 (HS-GC/MS) を用いた方法を検討した。公定書におけるシヨ糖脂肪酸エステルの特純度試験にはその他の溶媒として 2-ブタノン (10 µg/g 以下)、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%)、メタノール (10 µg/g 以下)、2-メチル-1-プロパノール (10 µg/g 以下) の規格が定められており、プロピレングリコールを除く各分析対象物質は標準添加法による水素炎イオン化検出器を用いたヘッドスペースガスクロマトグラフィー (HS-GC/FID) を用いて定量する方法が設定されている。本研究では昨年検討した方法を元に、HS-GC/MS を用いた各分析対象物質 (メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノール) の定量法について検討した。なお、プロピレングリコールについては、公定書においてもプロピレングリコールのみピリジンに溶解し直接注入法で GC/FID で別に分析することとなっており、今回検討する他の溶媒と沸点が大きく異なり、同一条件では分析が困難と判断し対象外とした。

更に、これまでの調査及び検討結果を参考に一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。

## B. 研究方法

### 1) 試薬・試液

#### 1)-1 試薬

シヨ糖脂肪酸エステル (東京化成製)、メタノール (シグマアルドリッチ製、HPLC 用、99.9%)、2-プロパノール (シ

グマアルドリッチ製、HPLC 用、99.5%)、2-ブタノン (シグマアルドリッチ製、HPLC 用、99.7%)、酢酸エチル (シグマアルドリッチ製、無水、99.8%) 及び 2-メチル-1-プロパノール (シグマアルドリッチ製、HPLC 用、99.9%)。

#### 1)-2 混合標準原液

メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールをそれぞれ 1.0 g 精密に量り取り、水で 20 mL とした (混合標準原液 (0.05 g/mL))。

#### 1)-3 混合標準液 A~F の調製

混合標準原液 4 mL、1.6 mL、0.8 mL 及び 0.4 mL をとり、水でそれぞれ 20 mL とし、それぞれ混合標準液 A (0.01 g/mL)、混合標準液 B (0.004 g/mL)、混合標準液 C (0.002 g/mL) 及び混合標準液 D (0.001 g/mL) とした。混合標準液 C を 2 mL 及び 0.5 mL とり、水でそれぞれ 20 mL とし、混合標準液 E (0.0002 g/mL) 及び F (0.00005 g/mL) とした。

#### 1)-4 添加用混合標準液

混合標準液 C (0.002 g/mL) を添加用混合標準液とした。

### 2) 器具及び装置

ガスクロマトグラフ質量分析計 : 7980B、5977B GC/MSD (アジレントテクノロジー製)、ヘッドスペースサンプラー : 7697A Headspace Sampler (アジレントテクノロジー製)。

カラム : DB-624 UI (30 m、φ 0.25 mm、1.4 µm、アジレントテクノロジー製)

### 3) HS-GC/MS 条件

#### 3)-1 GC/MS 条件

カラム温度 : 40°C (20 min 保持) →

25°C/min→200°C (3.6 min 保持)、注入口温度：220°C、キャリアーガス：ヘリウム、キャリアーガス流量：1 mL/min、スプリット比：10：1、スプリット流量：10 mL/min、トータルフロー：34 mL/min、セプタムパージフロー：3 mL/min、コラム流量：1 mL/min、イオン源：EI、イオン源温度：230°C、四重極温度：150°C、電子エネルギー：70.0 eV、測定モード：スキャン及びSIM、スキャン範囲 (*m/z*)：30～150、選択イオン (*m/z*)：32 (メタノール)、43 (2-ブタノン、酢酸エチル、2-メチル-1-プロパノール)、45 (2-プロパノール)。

### 3)-2 HS サンプラー条件

バイアル平衡化温度：80°C、バイアル平衡化時間：40 分、トランスファーライン温度：150°C、注入時間：0.5 min、バイアルサイズ：20 mL、バイアル攪拌：レベル 4、充填圧力：15 psi

## 4) HS 条件の最適化

### 4)-1 標準液の添加容量の検討

9 本のバイアルに各分析対象物質が同じ量添加されるようにバイアルに混合標準液 C (0.002 g/mL) 5 µL、混合標準液 E (0.0002 g/mL) 50 µL、混合標準液 F (0.00005 g/mL) 200 µL をそれぞれ 3 本ずつ添加し、PTFE セプタム付きアルミシールで密閉し、バイアル C、E 及び F とした (各 n=3)。各バイアルについて 3)-2 HS サンプラー条件において、バイアル平衡化温度 80°C、平衡化時間 40 分でそれぞれ加熱し、GC/MS を行い、メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積値を測定した。

### 4)-2 平衡化温度の検討

12 本のバイアルに混合標準液 B (0.004 g/mL) 5 µL を添加し、PTFE セプタム付きアルミシールで密閉し、バイアル 1～4 をそれぞれ 3 本ずつ調製した (各 n=3)。バイアル 1～4 について 3)-2 HS サンプラー条件において、バイアル平衡化温度 50、60、70 又は 80°C、平衡化時間 10 分でそれぞれ加熱し、GC/MS を行い、メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積値を測定した。

### 4)-3 平衡化時間の検討

18 本のバイアルに混合標準液 B (0.004 g/mL) 5 µL を添加し、PTFE セプタム付きアルミシールで密閉し、バイアル 1～6 をそれぞれ 3 本ずつ調製した (各 n=3)。バイアル 1～6 については 3)-2 HS サンプラー条件において、平衡化温度 80°C で、平衡化時間を 10、20、30、40、50 及び 60 分でそれぞれ加熱し、GC/MS を行い、メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積値を測定した。

## 5) 添加回収試験

### 5)-1 添加試料液及びブランク試料液の調製

15 本のバイアルにショ糖脂肪酸エステル 1.00 g を量り取り、それぞれ添加用混合標準液 5 µL を添加し、添加試料とした。添加試料に水 5 µL 及び混合標準液 A～D 5 µL をそれぞれ加え、PTFE セプタム付きアルミシールで密閉し、添加試料液バイアル 1～5 をそれぞれ 3 本ずつ調製した (各 n=3)。別に、同様に 5 本

のバイアルにシヨ糖脂肪酸エステル 1.00g を量り取り、添加用混合標準液を加えず同様に調製しブランク試料液バイアル 1~5 とした。

#### 5)-2 標準添加法による各分析対象物質の定量及び添加回収率

ブランク試料液及び添加試料液 1~6 について HS-GC/MS 条件でメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積値を測定 (SIM モード) し、得られたクロマトグラムから、メタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールのピーク面積を求めた。横軸に各溶媒の濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )、縦軸に各分析対象物質のピーク面積をとり、グラフにそれぞれの値をプロットし、関係線を作成し、関係線の横軸との交点と原点との距離から、添加試料中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノールの濃度を求めた ( $\mu\text{g/g}$ )。ブランク試料液から各分析対象物質が検出された場合は、得られた濃度から試料由来の濃度を差し引き、添加回収率 (%) を求めた。

#### 6) 一般試験法 (残留溶媒試験法) 案の作成

公定書において残留溶媒の規格が設定されている成分規格を元に、共通の器具、操作を用いる試験について、一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。

(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) SIM 条件の検討

混合標準液 B 5  $\mu\text{L}$  をバイアルに添加し、PTFE セプタム付きアルミシールで密閉したバイアルについて測定 (スキャンモード) を行った。Fig. 1 (A) に示すように、2.4 分にメタノール、4.0 分に 2-プロパノール、7.2 分に 2-ブタノン、7.4 分に酢酸エチル、10.2 分に 2-メチル-1-プロパノールが確認でき、各ピークの MS シグナルから、メタノール  $m/z$  32、2-プロパノール  $m/z$  45、2-ブタノン  $m/z$  45、酢酸エチル  $m/z$  45、2-メチル-1-プロパノール  $m/z$  45 が確認できたことから、各分析対象物質の測定 (SIM モード) における選択  $m/z$  とし、測定を行ったところ Fig. 1 (B) に示すように、各分析対象物質のピークが確認できた。また、シヨ糖脂肪酸エステル 1 g に同様に混合標準液 B 5  $\mu\text{L}$  をバイアルに添加し、PTFE セプタム付きアルミシールで密閉したバイアルについて測定 (スキャンモード) を行ったところ、2.4 分にメタノール、4.0 分に 2-プロパノール、7.2 分に 2-ブタノン、7.4 分に酢酸エチル、10.2 分に 2-メチル-1-プロパノールが確認できたが、2-メチル-1-プロパノールのピークが非常に小さかった (Fig. 2(A))。更に SIM 測定を行ったところ、各分析対象物質の SIM クロマトグラムは確認できたが、2-メチル-1-プロパノールのピークはブロードでピーク形状も悪く混合標準溶液だけの時よりも感度も低かった (Fig. 2 (B))。また、メタノールでは、混合標準液のみでもシヨ糖脂肪酸エステルに混合標準液を添加した場合でもはピーク形状

が悪かったが、ピークの感度は大きく変わらなかった。

## 2) HS 条件の最適化

### 2)-1 標準液の添加容量の検討

標準添加法における試料に添加する標準液の添加量について検討するため、混合標準液 C (0.002 g/mL)、混合標準液 E (0.0002 g/mL) 及び混合標準液 F (0.00005 g/mL) をそれぞれ 5 µL、50 µL 及び 200 µL を添加し (いずれも各分析対象物質として 10 µg 相当)、バイアル平衡化温度 80°C、バイアル平衡化時間 40 分で、その他の条件は 3) HS-GC/MS 条件に従い、測定 (SIM モード) を行った。その結果、Fig. 3 のように混合標準液の添加容量を増やすと感度が低くなり、5 µL 添加が最も感度が高かったため、以後 5 µL を添加することとした。

### 2)-2 平衡化温度の検討

バイアル 1~4 について平衡化温度を 50、60、70 及び 80°C で変化させ、各分析対象物質のシグナル面積を測定した。その結果、Fig. 4 に示すように、いずれも加熱温度が高くなるにつれて各分析対象物質のシグナル面積値が大きくなる傾向が見られた。以上の結果から、面積値のばらつきも小さく、ある程度の感度が得られる温度として、平衡化温度は 80°C とすることとした。

### 2)-3 平衡化時間の検討

バイアル 1~6 について、バイアル平衡化温度を 80°C で、バイアル平衡化時間を 10、20、30、40、50 及び 60 分間とし、各分析対象物質のシグナル面積を測定した。その結果、Fig. 5 に示すように、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エ

チルは 20 分での感度が高かったが、メタノールでは 40 分の感度が最も高く、ばらつきが小さかった (相対標準偏差 (RSD) < 0.4%)。その他の分析対象物質でも 40 分でのばらつきが小さい傾向が見られた (RSD < 2.1%)。以上の結果から、平衡化時間は現在の公定書でのバイアル平衡化時間と同じ 40 分とした。

## 3) 検量線

標準添加法を行うにあたり、HS-GC/MS 法で各分析対象物質の検量線が作成出来るかを確かめるために、混合標準液 A~D 用いて、各分析対象物質の SIM クロマトグラムで直線性が得られるか確認した。その結果、Fig. 6 に示すように、混合標準液 (0.0001~0.001 g/mL) では決定係数 ( $R^2$ ) = 0.99 以上の良好な結果が得られた。

## 4) 添加回収試験

公定書におけるショ糖脂肪酸エステルの各分析対象物質の規格値は 2-ブタノンで 10 µg/g 以下、酢酸エチル、2-プロパノール及びプロピレングリコールで合計量として 0.035% 以下、メタノールで 10 µg/g 以下、2-メチル-1-プロパノールで 10 µg/g 以下と設定されている。そこで各分析対象物質を 10 µg/g 相当となるように添加して添加回収試験を実施した。添加用標準液をショ糖脂肪酸エステル 1 g に添加し、水及び混合標準液 A~D を添加し標準添加法により、各分析対象物質の含量を求め、回収率を求めた。ブランク試料液からはいずれの分析対象物質も検出されず、回収率は、Table 1 に示すように、メタノールでは 100%、2-プロパノールで 78.7%、2-ブタノンでは 70.8%、

酢酸エチルで 70.9%、2-メチル-1-プロパノールでは 24.8%となった。シヨ糖脂肪酸エステルを加熱した場合、2-メチル-1-プロパノールはピーク形状が非常に悪くなることから (Fig.2 (B))、標準添加法で定量値が正しく得られていない可能性が考えられ、GC 条件などさらなる検討が必要と考えられた。その他の分析対象物質では 70~100%の概ね良好な回収率が得られたことから HS-GC/MS を用いたメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エチルの分析法として有用な方法であると考えられた。

#### 5) 一般試験法 (残留溶媒試験法) 案の作成

公定書において残留溶媒規格が設定されている添加物としてはウェランガム、ルチン (抽出物)、加工ユーケマ藻類、カロブبینガム、キサントガム、グアーガム、ジェランガム、植物性ステロール (遊離体高濃度品)、植物性ステロール (遊離体低濃度品)、精製カラギナン、ナリンジン、マクロホモプシスガム、ヤマモモ抽出物、ラムザンガム、カカオ色素、シヨ糖脂肪酸エステル、ヒドロキシプロピルセルロース、ペクチン、クチナシ青色色素、スクラロース、乳酸などがある。そのうち、共通の器具、操作方法を用いている試験法について一般試験法を作成することとした。多くの添加物で共通の操作方法として使用されているものとしては、蒸留法と水素炎イオン化検出器を用いた GC 法 (GC-FID 法) であったため、器具の種類により装置 A~C、操作方法として、装置 A~C を用いる場合としてそれぞれ試験法案を作成した。更に、公

定書では未だにガラス管を用いたパックドカラムを用いる方法が設定されているものも多いが、近年パックドカラムが取り付けられない GC 装置も多くなってきていることから、キャピラリーカラムを用いた試験法が代用できるよう一般的なキャピラリーカラムを用いた条件を参考にできるように記載した。

HS-GC 法を用いた試験法が設定されている添加物もいくつかあるが、いずれも各添加物の性質に応じた溶媒や操作法が設定されており、共通の条件で分析することは困難であることから、現段階では一般試験法として提示せず、限外ろ過法と共に、残留溶媒試験法の説明文に HS-GC 法や遠心式限外ろ過ユニットを用いた方法について説明を加え、詳細な試験法としては今後設定することとした。残留溶媒試験法案は別紙に示した。

#### D. 結論

HS-GC/MS を用いたシヨ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン、酢酸エチル及び 2-メチル-1-プロパノール分析法の検討を行った。HS-GC/MS の SIM モードでメタノールは  $m/z$  32、2-プロパノールは  $m/z$  45、2-ブタノンは  $m/z$  43、酢酸エチルは  $m/z$  43、で定量が可能であった。10  $\mu\text{g/g}$  相当の各分析対象物質を添加したシヨ糖脂肪酸エステル 1 g に水及び各分析対象物質の混合標準溶液 (0.001~0.01 g/mL) を 5  $\mu\text{L}$  をそれぞれ添加しバイアル平衡化温度 80°C、バイアル平衡化時間 40 分で標準添加法により添加回収試験を行った。その結果、メタノールでは 100%、2-プロ

パノールで 78.7%、2-ブタノンでは 70.8%、酢酸エチルで 70.9%の回収率が得られた。2-メチル-1-プロパノールではシヨ糖脂肪酸エステルの影響でピーク形状が悪く定量が困難であった。以上の結果から、SIM モードを用いた HS-GC/MS はシヨ糖脂肪酸エステル中のメタノール、2-プロパノール、2-ブタノン及び酢酸エチルの定量法として有用な方法であることが明らかとなった。公定書において残留溶媒の規格が設定されている成分規格を元に、共通の器具、操作を用いる試験について、一般試験法として残留溶媒試験法案を作成した。この残留溶媒試験法案は、第 10 版食品添加物公定書検討会において議論され、合意が得られた。

## E. 研究発表

学会発表

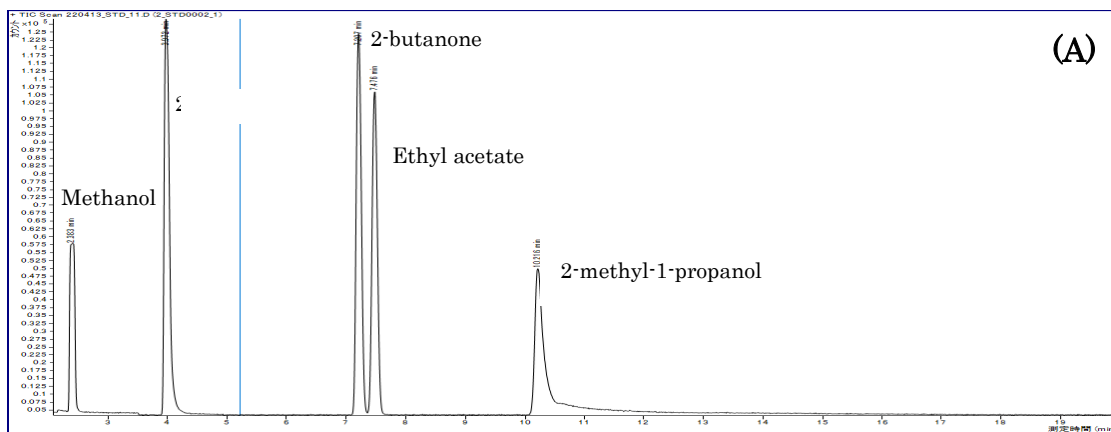
- 1) 建部千絵、久保田浩樹、多田敦子、佐藤恭子、HS-GC/MS を用いたシヨ糖脂肪酸エステル中の DMSO 及び DMF 同時分析法の検討、日本食品衛生学会第 118 回学術講演会、Web 開催 (2021.11)

## F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

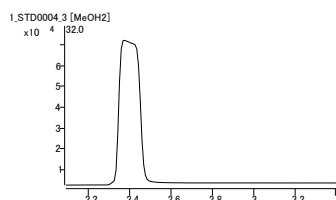
## G. 参考文献

- 1) 第 9 版食品添加物公定書, 2018, 厚生労働省.

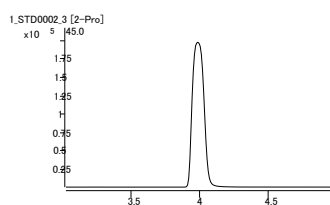


(B)

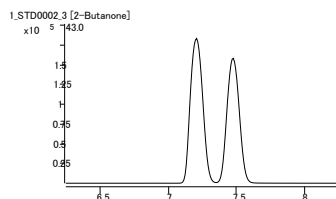
Methanol Rt: 2.4 min,  $m/z$  32



2-propanol 4.0 min,  $m/z$  45



2-butanone 7.2 min,  $m/z$  43  
Ethyl acetate 7.5 min,  $m/z$  43



2-methyl-1-propanol Rt: 10.2,  $m/z$  43

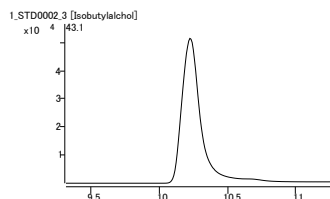
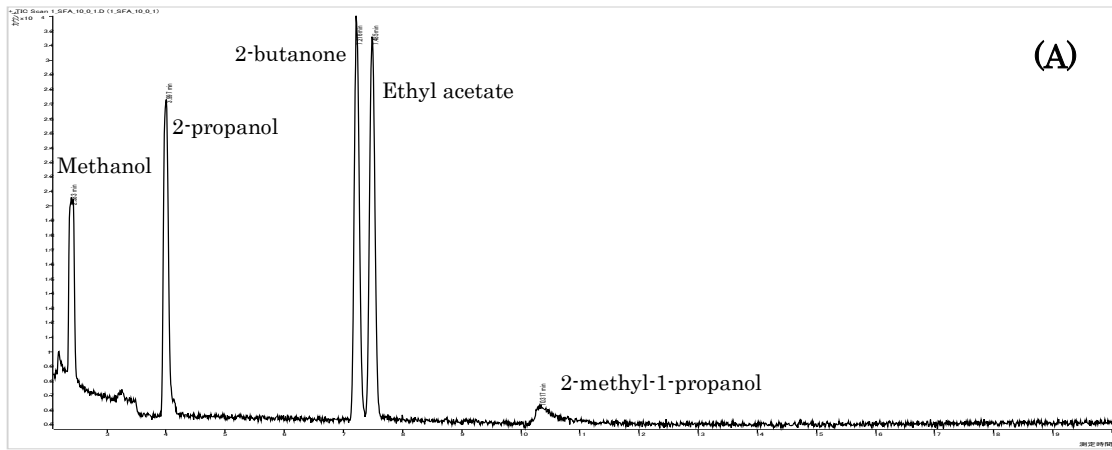
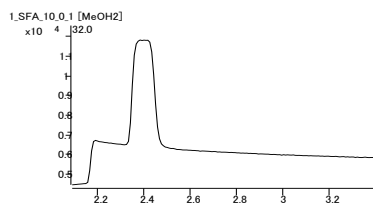


Fig. 1 混合標準液 B (0.002 g/mL) 5  $\mu$ L のトータルイオンカレント (TIC)  
クロマトグラム(A)及び SIM クロマトグラム(B)  
(バイアル平衡化温度 80°C、バイアル平衡化時間 40 分)

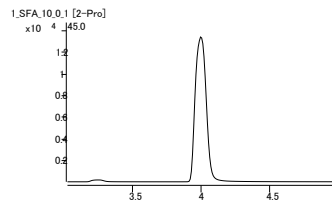




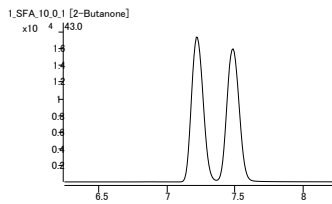
Methanol Rt: 2.4 min,  $m/z$  32



2-Propanol 4.0 min,  $m/z$  45



2-butanone 7.2 min,  $m/z$  43  
Ethyl acetate 7.5 min,  $m/z$  43



2-methyl-1-propanol Rt: 10.2,  $m/z$  43

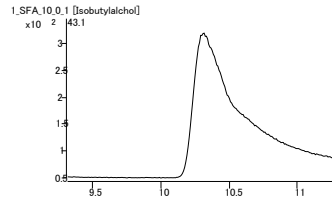


Fig. 2 ショ糖脂肪酸エステル 1 g に 混合標準液 B (0.002 g/mL) 5  $\mu$ L 添加の TIC クロマトグラム(A) 及び SIM クロマトグラム(B) (バイアル平衡化温度 80 $^{\circ}$ C、バイアル平衡化時間 40 分)

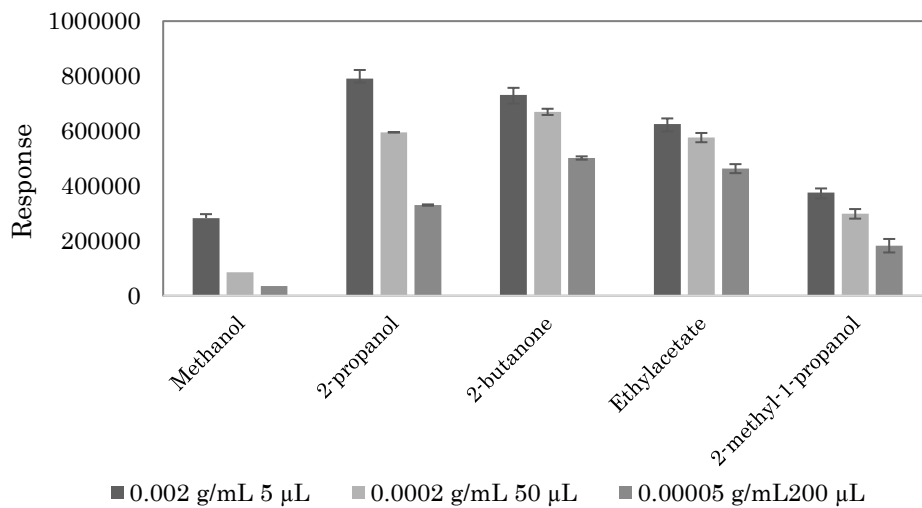


Fig. 3 混合標準液の添加容量と感度の比較  
(バイアル平衡化温度80℃、バイアル平衡化時間40分)

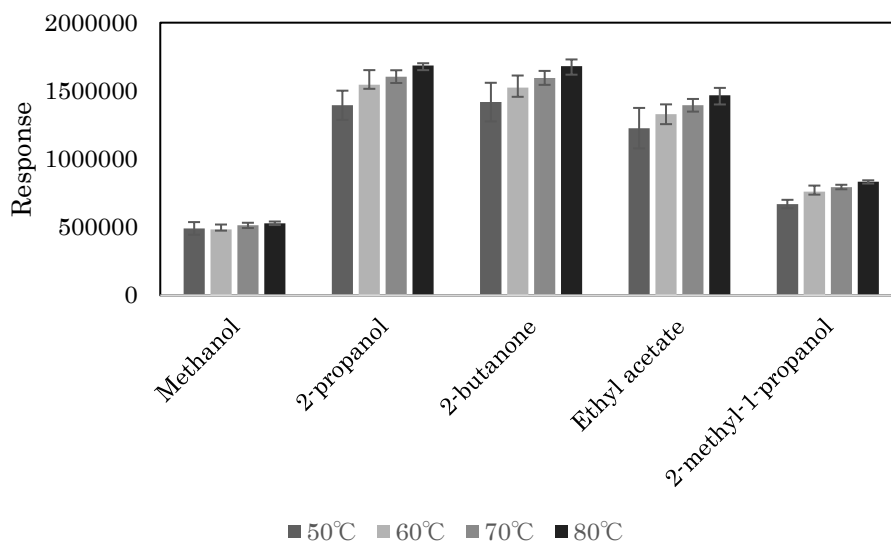


Fig. 4 バイアル平衡化温度と各分析対象物質感度の比較  
(バイアル平衡化温度 50~80℃、バイアル平衡化時間 10 分)

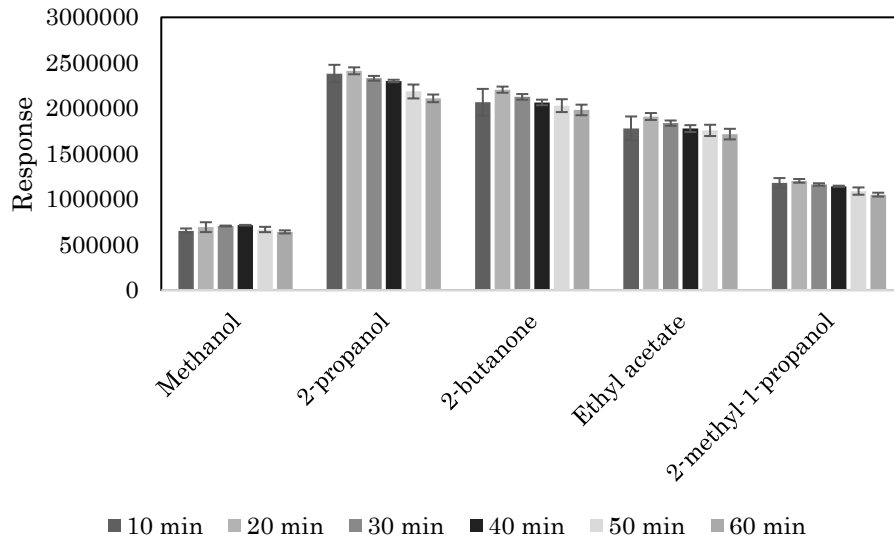


Fig. 5 バイアル平衡化時間と各分析対象物質感度の比較  
(バイアル平衡化温度 80°C、バイアル平衡化時間 10 ~ 40 分)

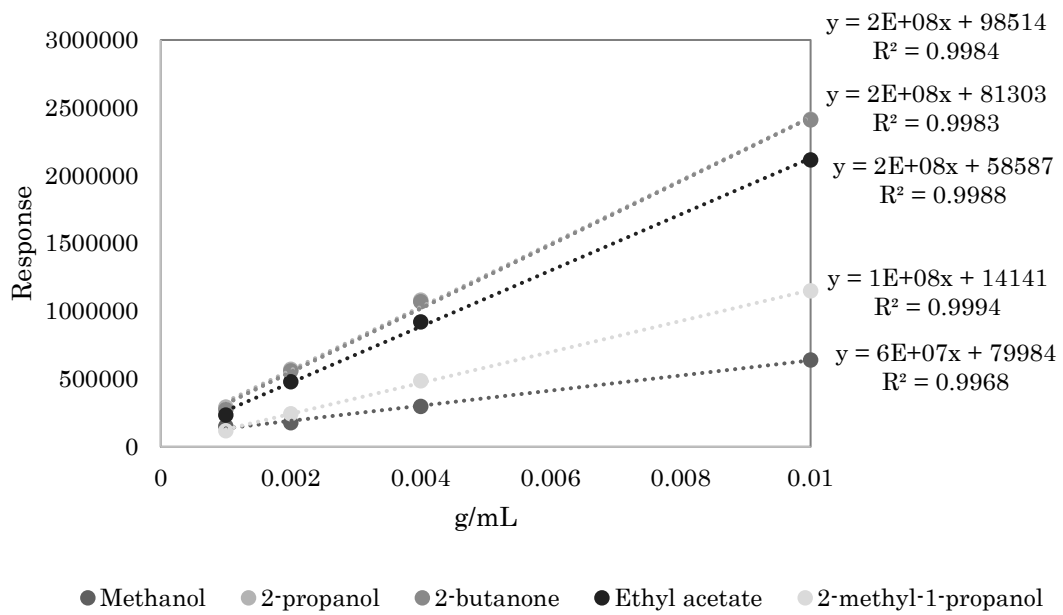


Fig. 6 混合標準液の検量線  
(バイアル平衡化温度 80°C、バイアル平衡化時間 40 分)

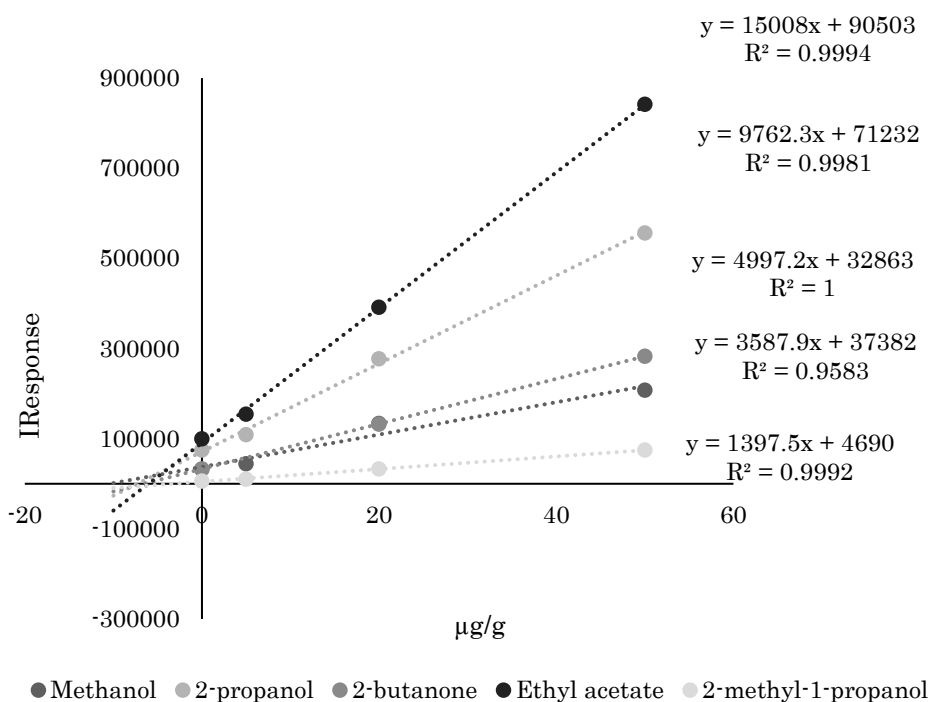


Fig. 7 標準添加法による関係線  
 (シヨ糖脂肪酸エステル 1 g、各分析対象物質添加濃度10 µg/g相当添加、  
 バイアル平衡化温度80°C、バイアル平衡化時間40分)

Table 1 シヨ糖脂肪酸エステルに対する添加回収試験  
 (添加濃度 10 µg/g、n=3)

	Methanol	2-propanol	2-butanol	Ethyl acetate	2-methyl-1-propanol
1	10.4	7.3	6.6	6.0	3.4
2	10.9	8.6	7.7	7.8	2.0
3	8.9	7.7	7.0	7.4	2.1
Average	10.1	7.9	7.1	7.1	2.5
Recovery (%)	100.7	78.7	70.9	70.9	24.8

## 残留溶媒試験法

残留溶媒試験法は、食品添加物の製造工程で使用される揮発性有機化学物質の食品添加物中の残留量を測定する方法である。蒸留法、ヘッドスペース法または限外ろ過法が用いられ、検液中の各揮発性有機化学物質はガスクロマトグラフィーにより測定される。

以下、本試験法を用いる場合において、例えば、「残留溶媒 2-プロパノールとメタノールの合計量 0.10%以下（2g、第1法、装置A）」とあるのは、本品約2gを精密に量って試料とし、第1法により装置Aを用いて検液を調製し、試験を行うとき、2-プロパノールとメタノールの合計量 0.10%以下であることを示す。

通例、蒸留装置を用いて蒸留し回収した液について、ガスクロマトグラフィーにより試験を行う。また、専用バイアル瓶に試料を精密に量り、溶媒を加えて密栓し、加温及び必要に応じてかくはん子を加えかくはんし、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーにより試験を行うことができる。加熱により分解物が生成する試料にあっては、試料に溶媒を加えて溶解し、遠心式限外ろ過ユニットを用いて、ろ液をガスクロマトグラフィーにより試験を行うこともできる。

## 第1法 蒸留法

別に規定するもののほか、以下の装置を用いる。

## 装置A

概略は、図1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（冷却部長さ：200mm）
- E：メスフラスコ（100mL）

## 装置B

概略は、図1による。

- 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（冷却部長さ：200mm）
- E：メスフラスコ（50mL）

## 装置C

概略は、図1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（冷却部長さ：300mm）
- E：メスフラスコ（25mL）

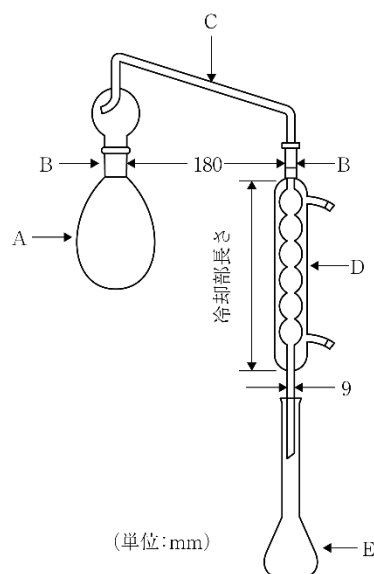


図1

## 操作法

### (1) 検液の調製

別に規定するもののほか、次の方法による。

#### (1) 装置Aを用いる方法

別に規定する量の試料をAに精密に量り、水 200mL を加え、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、Bを水で濡らす。Aを加熱し、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 100 mL とし、検液とする。ただし、内標準液は、2-メチルー2-プロパノール溶液（1→1000）とする。

#### (2) 装置Bを用いる方法

別に規定する量の試料を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、Bを水で濡らす。Aを加熱し、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-メチルー2-プロパノール溶液（1→1000）とする。

#### (3) 装置Cを用いる方法

別に規定する量の試料を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、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。

### (2) 試験

別に規定するもののほか、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。

#### 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 $\mu$ m の厚さで被覆したもの

カラム温度 40°C で注入し、6 分間保持した後、毎分 4°C で 110°C まで昇温し、更に毎分 25°C で 250°C まで昇温し、250°C を 10 分間保持する。

注入口温度 200°C 付近の一定温度

検出器温度 250°C

キャリアーガス 窒素又はヘリウム

流量 被検成分のピークが 4～20 分間に現れるように調整する。

スプリット比 1:30～1:250 (いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。)