

成分規格案設定の根拠

(ポリソルベート類規格の比較表参照)

1) ポリソルベート 20 規格設定の根拠

性状 純度の高い脂肪酸を使用すると、ほぼ無色のものが得られる事実から、無色からという記載とした。

確認試験 コバルトチオシアン酸アンモニウム試液 10 ml 及びクロロホルム 5 ml を加えて、オキシエチレン基の青色の発色を調べる呈色法があるが、定量でオキシエチレン基の定量を行っているため、規格として採用しなかった。

JECFA には、IR で partial fatty acid of polyoxyethylene があるが、IR では他の界面活性剤との区別はできないため、特に採用しなかった。

けん化により 100g から脂肪酸 16g とポリオール 81g が得られる JECFA 規格は、純度試験で脂肪酸量を測定するため、採用しなかった。

純度試験

- (1) **けん化価** 医薬品添加剤規格、医薬品原料基準のみが 43~55、その他の 5 公定書では 40~50 であった。純度の高いラウリン酸を使うほど、50 を超える可能性があるため、規格を 40~55 とした。
- (2) **酸価** 医薬品添加剤規格、医薬品原料基準のみが 4.0 以下、その他は 2.0 以下であった。製品の試験結果からも問題が無いと思われたので、2.0 以下とした。
- (3) **水酸基価** 日本の医薬品添加剤規格、医薬品原料基準では、規格化されていないが、その他の外国 5 公定書での値はすべて同じであり、そのまま採用した。
- (4) **脂肪酸** 脂肪酸重量は FCC 規格のみに採用されており、FCC 法を若干修正した。抽出した脂肪酸の酸価は、FCC、医薬品添加剤規格、医薬品原料基準、EU で採用され、脂肪酸の特定に有用であるため、採用した。脂肪酸の酸価は、4 公定書でまちまちであったが、純ラウリン酸では 280.7 で、脂肪酸の純度が高いと規格に合わなくなる危険性があることから、上限値を 285 とした。
- (5) **エチレンオキシド、ジオキサンの残留試験** ジオキサンの残留試験は FCC では 4 種のポリソルベート、JECFA では、ポリソルベート 60,65 のみに採用されている。また、EU では、エチレンオキシド、ジオキサン残留試験を設定している。エチレンオキシドの毒性が高いことから、EU と同等に、エチレンオキシド、ジオキサンの残留限度試験を設定した。試験方法は、EP 法が簡便で、完成度が高いために採用した。規格値としては、エチレンオキシドは EU の 1 $\mu\text{g/g}$ 以下とした。ジオキサンは FCC、JECFA の 10 $\mu\text{g/g}$ 以下、EU では 5 $\mu\text{g/g}$ 以下であったが、試験法を採用した EP でも 10 $\mu\text{g/g}$ 以下であり、試験法の精度から 10 $\mu\text{g/g}$ 以下とした。

(6) 重金属 すべての公定書に採用され、10ppm または 20ppm の値となっている。10ppm とした。

(7) ヒ素 FCC, EP, USP を除く 5 公定書に規格化され、2~4ppm の値となっている。医薬品添加剤規格、医薬品原料基準では 2 ppm であるが、JECFA で 4 ppm, EU で 3 ppm であることから 4 ppm とした。

水分 8 公定書すべてで、3%以下であったため、そのまま採用した。

強熱残分 規格のある 4 公定書で 0.25 以下であったため、そのまま採用した。

定量法 JECFA, FCC, EU で規格設定されており、JECFA, FCC 法を採用した。

以下では、ポリソルベート 20 と状況が同じ場合は、記載を省略した。

2) ポリソルベート 60 規格設定の根拠

JECFA では、ステアリン酸エステル、FCC はステアリン酸とパルミチン酸のエステルとなっているが、本規格での定義は、主としてステアリン酸のエステルとした。

確認試験

(2) FCC, JECFA で採用されているものを追加した。

純度試験

(1) けん化価 医薬品添加剤規格 43~53, 医薬品原料基準が 43~55, JECFA が 41~52, その他の 4 公定書では 45~55 であった。5 ロットの実測値はすべて 50 を超えていることから、規格を 45~55 とした

(3) 水酸基価 日本の医薬品添加剤規格、医薬品原料基準では、規格化されていない。JECFA のみが、90~107 であるが、その他の外国 4 公定書での値はすべて 81~96 であるためこの値を採用した。

(4) 脂肪酸 脂肪酸の酸価は、FCC で 200~212, EP で 190~220, 化粧品原料基準で 192~215 であった。ステアリン酸では、197 であることを考慮し、5 ロットの試験結果から、192~215 とした。

3) ポリソルベート 65 規格設定の根拠

JECFA 規格ではステアリン酸エステル、FCC はステアリン酸とパルミチン酸のエステルとなっている。本規格の定義では、主としてステアリン酸とした。

純度試験

(1) 凝固点 JECFA で凝固点の規定があり、採用した。

(2) けん化価 医薬品添加剤規格 85~95, 医薬品原料基準が 80~100, JECFA, FCC, EU が 88~98 あった。規格を 88~98 とした

- (4) 水酸基価 日本の医薬品添加剤規格, 医薬品原料基準では, 規格化されていない。JECFA のみが, 40~60 であるが, FCC, EU は 44~60 であるためこの値を採用した。
- (5) 脂肪酸 脂肪酸の酸価は, FCC のみで規定され, 200~212 であるが, ポリソルベート 60 と合わせ, 192~215 とした。

4) ポリソルベート 80 の規格設定の根拠

確認試験

- (3) オレイン酸の二重結合の確認試験として, 臭素試液の色を採用した。

純度試験

- (1) けん化価 医薬品原料基準のみが 40~55, その他の 7 公定書では 45~55 であり, 45~55 とした。
- (3) 水酸基価 日本の医薬品添加剤規格, 医薬品原料基準では, 規格化されていないが, その他の外国 5 公定書での値はすべて同じであり, そのまま採用した。
- (4) 脂肪酸 脂肪酸の酸価は, 規格は FCC の 193~206 のみであるが, 純オレイン酸では 198.6 でほぼ中間値となり妥当と考えられるためこのまま採用した。ヨウ素価については, FCC の 80~92 のみであるが, オレイン酸のヨウ素価としてしばしば 80~95 が規定されていることから, 80~95 とした。

(7) 食品中からの分析法

文献3-5) ドレッシング, ショートニング, 油中のポリソルベート60の分析

①ショートニングと食用油

ポリソルベート60を10-40mg含む試料を300 mlのフラスコに量り, 1mol/lエタノール製水酸化カリウム50 mlを加え, 45分間加熱還流する。水10mlを加え, さらに45分間加熱還流する。終了後, 内容物を約60℃の水50mlで定量的に250 mlの分液漏斗に移す。塩酸4.5mlを加え, 回転しながら混合する。冷後, 再蒸留したヘキサン50mlを加え激しく振とう後, 分液する。下層を別の250mlの分液漏斗に移し, さらにヘキサン50mlを用いて抽出する。ヘキサン層を合し, アルコール(1:1)20 mlで2回洗う。水エタノール抽出液を別の分液漏斗に移し室温まで冷却する。

ミックスベッドレジンの水懸濁液をカラムに入れ, 30 cmの高さとする。ポリオール溶液をカラムに注ぎ, 流速2 ml/分に調節する。溶出液を600mlのビーカーに入れ, カラムの壁及びレジンを水200 mlで洗う(洗うときは流速を3-4 ml/分にする)。洗液を合し, 約300 mlまで濃縮し, 直ちに3 mol/l塩酸20 ml, 10%塩化バリウム液4.0 ml, 10%リンモリブデン酸溶液を加え, バリウムリンモリブデン-ポリオール複合物を沈殿させる。溶液をかく拌し, 一夜放置する。沈殿を集め, 水50 mlで洗い, 110℃で1時間乾燥後デシケーター中で冷却し重

量を量る。重量既知のポリソルベート60で同様に操作してファクターを求める。

$$\text{ポリソルベート60含量 (\%)} = (C \times 100) / (F \times W)$$

C：沈殿の重量

W：試料の重量 (g)

F：ファクター

②ドレッシング

ポリソルベート60を10-40 mg含む試料を150 mlのビーカーに量り、ハイフロスーパーセル7gと完全に混ぜ合わせる。この混合物をソックスレー抽出器に入れ、クロロホルム/エタノール混合液 (93 : 7) 150~200 mlで16時間抽出する。抽出液を定量的に300 mlのビーカーに移し、溶媒を留去する。クロロホルムを完全に除くため、無水エタノール50 mlを加え乾固する。以後、(A)の場合と同様に300 mlのフラスコに入れ、「1mol/lエタノール製水酸化カリウム50 mlを加え、」の以後の操作を行う。

③粉末スープからのポリソルベート分析 文献 3-6)

試料10 gを50 mlの共栓遠心管に取り、水、10 ml及びヘキサン20 mlを加えて激しく振とう後遠心してヘキサン層を捨てる。さらにヘキサン10mlを加えて同様に操作した後水層と沈殿物にアセトニトリル30 mlを加えて振とう後遠心し、上澄液を取る。さらにアセトニトリル15 mlを加えて同様に操作し上澄液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧乾固する。残留物に酢酸エチル4 mlを加えて溶解し、ボンドエルトシリカゲルカートリッジに負荷する。酢酸エチルで洗浄後、アセトニトリル/メタノール混液 (1 : 2) で溶出し、減圧乾固後ジクロロメタン2 mlに溶解し、試料液とする。試料液にチオシアン酸コバルト試液0.5 mlを加えて混和し、ジクロロメタン層を分取後蒸発乾固した。残留物をアセトニトリルに溶解し、HPLCで定量した。ポリソルベート80を用いて検量線を作成し定量する。ポリソルベート、20、60でも、ほぼ吸光度は同じである。

チオシアン酸コバルト試液：20%水溶液

HPLC条件：カラム：Asahipack GF-310 HQ 7.6 x 300 mm.

移動相：アセトニトリル/水混液 (95 : 5)

検出波長：620 nm

(参考文献)

3-1) 第14改正 日本薬局方解説書 廣川書店 D-1081 (2001)

3-2) AOAC Official Methods of Analysis 16th Edition

3-3) Food Chemicals Codex(U. S. A)

3-4) ポリオキシエチレン(20)ソルビタン脂肪酸エステルについての成績 花王株式会社
動物用飼料添加物要請書 昭和57年11月

3-5) DANIEL H. DANIELS et al , Determination of Polysorbate 60 in Salad Dressings by
Colorimetric and Thin Layer Chromatographic, J. Assoc. off. ANAL. CHEM. Vol. 65, NO. 1
(1982)

3-6) HPLC による粉末スープ中のポリソルベートの分析法 武田由比子他 食品衛生学雑
誌 42 91-95 (2001)