

(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
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7 g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)

4. 有効性及び必要性

1) 食品添加物としての有効性及び他の同種添加物との効果の比較

乳化剤は一つの分子に親水基と親油基を持つ物質で、水と油の間、水と空気の間などに配列することによって、乳化を容易にし、また安定化させる。乳化には、水の中に油滴があるO/W型(例:牛乳)と油の中に水滴があるW/O型(例:バター)があるが、ポリソルベート類乳化剤(以下、ポリソルベート)は親水性が強く、親水基と親油基のバランスの指標であるHLB(Hydrophilic Lipophilic Balance(文献4-1, 2, 3))が10・17のO/W型の乳化剤である。既存の乳化剤の多くは親油性が高い低HLB若しくは中HLBである。シヨ糖脂肪酸エステルとポリグリセリン脂肪酸エステルは、それぞれエステル化度やグリセリンの重合度、脂肪酸の種類を変えることによって広い範囲のHLBの乳化剤を作ることができるが、ポリソルベート程高いHLBを得ることは難しい。ポリソルベートは、O/W型の単純な組成液系における乳化・可溶化に低濃度で有効で少量の使用で済む特徴があり、スープ、ソース、飲料など水系食品の乳化、可溶化に適しているほか、分散、湿潤、等の機能を生かし、製パン、粉末食品などへの使用も有効である。

有効性に関する基本的な試験として、乳化力試験及び可溶化試験、及び、O/W型の乳化と可溶化に於ける既存乳化剤との比較試験、また、食品への利用試験として即席麺用スープへの利用試験の結果の概要を以下に示す。

(1) 基礎的試験

① 乳化力試験(文献4-4)

(試験方法)

大豆油10部、水道水90部の配合を対照区とし、これにポリソルベート80、1部を大豆油に添加した方を試験区とする。大豆油、水、乳化剤(試験区)をT.Kホモミキサー(特殊機化工業製)1万rpmで室温、5分乳化する。次いで、乳化試験管に移し、室温に放置して、経時的に混合液の状態を観察し、乳化力を試験する。

(結果)

対照区(乳化剤なし)は30分後に90%、1時間後に100%大豆油と水が分離したが、試験区はいずれも24時間後もエマルションは安定し、油や水の分離は見られない。

② 可溶化力試験(文献4-4)

a) ビタミンAパルミテートの可溶化

(試験方法)

ビタミンAパルミテート(5万IU/g)0.5gにポリソルベート80を、0(対照区)、2倍、6倍、10倍、14倍、18倍量(各々試験区)を各々混合し、これを50mlの水に加えてよく攪拌する。室温に放置して、経時的に混合液の状態を観察し、乳化能、可溶化能を

試験する。

(結果)

対照区は直ちに水層と油層に分離した。試験区はビタミンAパルミテートに対しポリソルベートが2倍の場合は、均一な乳化を示し、6倍の場合は可溶化型乳化、10倍以上の場合は可溶化を示した。

b) オレンジ油の乳化・可溶化

(試験方法)

オレンジ油 0.5g に、ポリソルベート 60 若しくは同 80 を、1、2、6、10 倍量を加え、30° C の水 50ml に入れて良く振とうし観察する。

(結果)

オレンジ油に対し、ポリソルベート 60 は1倍量から乳化、6倍量以上で可溶化、ポリソルベート 80 も1倍量から乳化、10倍量で可溶化する。

③ 既存乳化剤との比較試験 (文献 4-5)

O/W型の乳化と可溶化に於ける既存乳化剤との比較試験の結果を表 4-1 に示す：

表 4-1 ポリソルベートの有効性

名 称	HLB	乳化力(O/W)	水への溶解性
ポリソルベート類	10-17*	◎	◎
脂肪酸モノグリセリド	3-4	×	×
シヨ糖脂肪酸エステル	3-15	○	×-○
ソルビタン脂肪酸エステル	2-8	×	×
プロピレングリコール脂肪酸エステル	3-4	×	×
植物レシチン		×	×

* ポリソルベート 20: 16.7; ポリソルベート 60: 14.9; ポリソルベート 65: 10.5; ポリソルベート 80: 15.0

上記のようにポリソルベートはO/W型の乳化及び可溶化において低濃度で有効である。但し、乳化剤は液-液系の乳化・可溶化機能の他、固-液系であるけん濁液の分散や、起泡、消泡、湿潤、でん粉の老化防止、たん白質の改質、などの効果を合わせ持つものが多い。また、シヨ糖脂肪酸エステルにあつては静菌効果もあり、それぞれの物質の特徴を生かして様々な食品用途 (例えば、パン・ドーナツの湿潤剤、ケーキ・ケーキミックスの起泡剤、粉末食品の分散剤) に使用されている。たとえば、食品中のでん粉は加熱、調理により膨潤・糊化して食事に適するようになるが、放冷化すると保水性を失い水溶性が失われ、食味も低下する (老化現

象)。ポリソルベートなど乳化剤はでん粉分子と複合体を形成し水の離脱を阻止することによって考えられている。また、乳化剤は小麦たん白中のグルテンを改質し、伸張性にすぐれた網状のグルテン膜も形成に役立つことからパンの素材としても用いられる。(文献 4-6)

(2) 食品への使用試験： 即席麺用スープ (文献 4-7)

(試験の目的)

即席麺用スープへの使用に係る有効性及び安定性をポリソルベート類と他の乳化剤と比較検討する。

(材料および方法)

材料： 試験に用いたポリソルベート類は、韓国において食品添加物規格に合致し、市場で流通しているポリソルベート 20 及び同 80 (日新乳化(株)、韓国)である。ポリソルベート 60, 同 65 は乳化等の有用性が同 20 と 80 の中間に位置すると考えられ、試験は省略された。パプリカオレオレジン (以下単にパプリカという) は色価 102,000 の Synthrite Industrial Chemical, Ltd, India 製品を用いた。このパプリカは現在韓国で最も多く使用されている。比較対照の乳化剤は乳化剤としての性質がポリソルベートと類似するシヨ糖脂肪酸エステルとポリグリセリン脂肪酸エステルを用いた。

(乳化の方法)

パプリカの乳化製剤として上記乳化剤を表 4-2 の混合比で組合せた。乳化は次の方法で行った。

- ① 表 4-2 の混合比で試料を秤量する。
- ② パプリカを一般的な乳化方法に従い 3500rpm で攪拌しながら徐々に乳化剤製剤を加える。
- ③ 攪拌時間は 10 分、乳化液の温度は 40~50°C に維持する。
- ④ 乳化度は水相に乳化液を落とした後、肉眼で観察する。

乳化液の調製にあたり、ポリソルベートとパプリカの基準配合比率を 50:50 にした理由は、実際の即席麺でこれらの成分が添加される代表的な配合比率の為である。他の試料での混合比率は事前に予備試験を行って選定した。シヨ糖脂肪酸エステルは粉末状なので乳化のためにプロピレングリコールで事前に溶解して使用した。

表 4-2 試料番号および乳化剤の比率

- 1 PS20 : PA=50 : 50
- 2 PS80 : PA=50 : 50
- 3 SE : PG : PA=25 : 25 : 50
- 4 SE : PG : PA =17 : 33 : 50
- 5 PS20 : PA=40 : 60
- 6 PS80 : PA=40 : 60
- 7 PS20 : PA=60 : 40

8 PS80:PA=60:40

9 PE:PA=60:40

略号

PS:ポリソルベート、 PA:パブリカ、 SE:ショ糖脂肪酸エステル

PG:プロピレングリコール、 PE:ポリグリセリン脂肪酸エステル

(有用性の評価)

ポリソルベート類の有用性の評価は次の項目について行った。

- ① 肉眼観察: 表 4-2 の混合比率にしたがって、各乳化液を調製し、これらの液が 1% の濃度になるように水に滴下し、一定の時間まで振った後、肉眼で乳化度を観察した。
- ② 容器附着性: ポリスチレンのプラスチック容器に 1% 希釈乳化液を入れて一定時間を放置し、容器の内壁に附着する程度を観察した。
- ③ 静置試験: 1% に希釈された乳化液を 10ml ガラス管に入れて攪拌した後、室温で 3 日程度静置して分離する油層を観察した。
- ④ 顕微鏡検査: 各試料を顕微鏡 (x 800、MEIJI, EM-TR, Japan) を用いて分散粒子を観察した。
- ⑤ 粒度分布検査: Mastersizer (Malmem, Co., USA) を利用して粒度分布幅を測定した。
- ⑥ 色価測定: 試料を測定しようとする吸光度が 0.2-0.7 の範囲になるように精密に取って 100ml メスフラスコに入れてアセトンを加えて溶解した後、アセトンで 100ml とする。約 2 分間定置させた後、この液 1ml を取ってアセトンを加えて 100ml とする。これを試験溶液として幅 1cm のセルを使って 460nm でアセトンを対照液として吸光度を測定して、 A_s とした。同じ方法で NBS (National Bureau of Standard) 標準色ガラス板 2030 の吸光度を測定して A_f とする。

色価計算

$$\text{色価(ASTA)} = \frac{A_s \times 164 \times F}{W} \times 10$$

W: 検体の採取量(g); ASTA: American Spice Trade Association

F: A_n/A_f で A_n は NBS によって決められたガラス透過器の値、即ち F は機器の補正係数

- ⑦ 表面張力: 乳化液に封する表面張力は ring method (Fisher Scientific, surface tensiometer, USA) を利用した。
- ⑧ 粘度測定: 原液を容器に入れて回転粘度計である Model Brookfield DV-I を用いて $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ の恒温水浴槽で 25°C に維持した後、これに当たるスピンドルと速度を選択して 30 秒間スピンドルを廻す。この時示された CP (centipois) 値を試験液の粘度とした。

⑨ 経済性の検討： 各乳化剤の購入単価から経済性を比較検討した。

(結果)

- ① 肉眼観察： 乳化力、分散性の点で、ポリソルベート80とポリグリセリン脂肪酸は最もすぐれ、次はポリソルベート20、最後がショ糖脂肪酸エステルであった。
- ② 容器附着性： 上記乳化力、分散性の結果と同様、ポリソルベート80は最も附着性が小さかった。
- ③ 静置試験： ポリソルベート80とポリグリセリン脂肪酸は乳化安定性が最も高かった。3日間以上静置するとポリグリセリン脂肪酸では油層分離が若干認められた。
- ④ 顕微鏡検査： ポリソルベート80ではポリソルベート量に比例して大粒子の比率が減って、小粒子が多くなり、乳化が安定していた。ポリソルベート20では大粒子と小粒子が混在し、乳化が安定していなかった。ポリグリセリン脂肪酸エステルでは同等の大きさの粒子が分布し乳化が安定していた。
- ⑤ 粒度分布： ポリソルベート80とポリグリセリン脂肪酸エステルは粒径分布幅がせまく、前記の乳化安定性の傾向と一致した。
- ⑥ 色 価： パプリカの濃度が大きい程色価は高かったが乳化剤の種類による差は認められなかった。
- ⑦ 表面張力： 乳化剤の添加は表面張力を低下せしめたが、乳化剤の種類による差は認められなかった。
- ⑧ 粘度： ショ糖脂肪酸エステル群は粘度が高く加工適性が劣っていた。
- ⑨ 経済性： ポリソルベートが最も経済的であった。

(結論)

以上の結果をまとめると、分散性はポリソルベート80が最も優れ、また、乳化力はポリソルベート80とポリグリセリン脂肪酸エステルが優れていた。次はポリソルベート20、ショ糖脂肪酸エステルは分散性、乳化力ともこの系での評価は低かった。ラーメンのスープの製造においてポリソルベート類の使用は多くの長所をもっていると考えられる。

2) 食品中での安定性

ポリソルベートは化学物質として安定であり、広範囲な食品に使用しうる。このことは、第2章で述べた外国における使用状況からも推定できる。

3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

前記のように乳化剤として用いられる物質はでん粉の老化を防止し、小麦のグルテン蛋白の改質作用が知られているが、これらの栄養効果を減じる等の報告は特にない。

参考文献・資料

- 4-1) 食品用乳化剤、『乳化・分散技術応用ハンドブック』刈米孝夫、小石眞純、日高徹、252-259
頁、昭和62年、サイエンスフォーラム社
- 4-2) 乳化とLHB値、製パン技術資料 No. 511、p11、日本パン技術研究所、2000
- 4-3) 界面活性剤について、花王株式会社技術資料、p. 8 - 10、2001
- 4-4) ポリオキシエチレン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；同添付資料 ポリオキシ
エチレンソルビタン脂肪酸エステルの乳化力試験
- 4-5) ポリソルベートのO/W系での乳化力試験、花王株式会社、2003. 4
- 4-6) ポリソルベート類の食品への利用に係る文献検索
- 4-7) ポリソルベート新規指定要請書、韓国大使館、韓国食品工業協会、