

## 食品中ポリソルベート類の比色定量法およびLC-MSによる確認法の改良

小林 千種<sup>a</sup>, 松本 ひろ子<sup>b</sup>, 粕谷 陽子<sup>b</sup>, 山嶋 裕季子<sup>a</sup>, 宮川 弘之<sup>a</sup>,  
新藤 哲也<sup>a</sup>, 貞升 友紀<sup>a</sup>, 田原 正一<sup>a</sup>, 植松 洋子<sup>a</sup>

乳化剤であるポリソルベート (PS) 類の食品中分析法が2008年に通知された。通知法は検査工程数が多く煩雑であることから、前処理法を改良して検査工程数を減らした食品中PS類の定量試験法を作成した。

PS類は、食品を脱水後抽出溶媒を用い、液々分配操作を省略した方法で抽出し、シリカゲルおよびアルミナ-Bの固相抽出カラムを用いて精製して試料液を作製し、比色法で定量試験を行った。確認試験は、通知法の条件に従ってLC-MSで分析を行った。添加回収試験については、指定添加物であるPS20, 60, 65, 80及び不許可添加物であるPS40, 85の合計6成分を個別に10種類の加工食品に添加して定量試験と確認試験を実施した。

その結果、PS80を食品に0.10 g/kgを添加したときの回収率は52~95%であり、通知法に示された回収率とほぼ同等の結果が得られた。また、各PS類を添加した10種類の食品から、添加されたPS類をLC-MSクロマトグラム上で確認することができた。

**キーワード:** 食品添加物, 加工食品, ポリソルベート類, 比色法, 液体クロマトグラフ質量分析計

### はじめに

乳化剤であるポリソルベート(以下、PSと略す)類4種類(PS20, PS60, PS65, PS80)は平成20年に厚生労働省が食品添加物として新たに許可し、幅広い加工食品に対して食品毎にPS類の使用基準を設定し、食品中PS類試験法を通知した(以下、通知法と略す)<sup>1)3)</sup>。しかし、通知法では抽出液の精製に液々抽出操作、オープンカラム法を使用するなど検査工程が煩雑で、検体を多数処理することが困難であった。そこで、検査業務の効率化を図る目的で、検査工程数を減らした前処理法を検討した。指定添加物である4種類のPS類に不許可添加物であるPS40, PS85を加えた食品中のPS類6種類の比色による定量法およびLC-MSを用いた確認試験法について検討したので報告する。

### 実験方法

#### 1. 試薬

##### 1) 標準品

PS80は日油(株)製(純度99%以上)、PS65は和光純薬工業(株)製、PS20, PS40, PS60, PS85は東京化成工業(株)製を用いた。

##### 2) 試薬

試薬は特級品を用いた。ただし、LC-MS用移動相の調製に用いたメタノールおよびギ酸はHPLC用、水は、比抵抗値 $>18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ の超純水を用いた。

ろ紙: 定量ろ紙(アドバンテック5A)

##### 3) 標準溶液

PS 100 mgを正確に量りジクロロメタンに溶かして正確

に100 mLとし定量用標準原液を調製した。これをジクロロメタンで希釈して、0, 10, 20, 50, 100, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の溶液を調製し、検量線用標準液とした。

PS 100 mgを正確に量りメタノールに溶かして正確に100 mLとしたものをLC-MS用標準原液とした。これをメタノールに溶かして0, 1, 5, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ のLC-MS用標準液を調製した。

#### 4) 試液

抽出溶媒: 酢酸エチル・メタノール (19:1)

発色試薬: 硝酸コバルト六水和物15 g, チオシアン酸アンモニウム50 g, 塩化ナトリウム10 gに水を加えて250 mLとした。

#### 5) 固相抽出カートリッジカラム

シリカゲルカラム: Sep-Pak<sup>®</sup>Vac Silica (充填量1000 mg, Waters社製)

アルミナカラム: Sep-Pak<sup>®</sup>Vac Alumina B (充填量1000 mg, Waters社製)

いずれも、使用前に酢酸エチル5 mLを用いてコンディショニングしたものを用いた。

#### 2. 試料

添加回収試験に、ホットケーキミックス粉、トマトケチャップ、粉末スープ、ピクルス、チョコレート、クリームサンドクッキー、フレンチドレッシング、コチュジャン、ココナッツミルク、氷菓の10食品を用いた。いずれも東京都内で購入した市販品である。

<sup>a</sup> 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科  
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>b</sup> 東京都健康安全研究センター多摩支所食品衛生研究科(当時)  
190-0023 東京都立川市柴崎町3-16-25

### 3. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

(水分がほとんど無い食品の場合)

均質化した試料10 gをステンレス製ホモジナイザーカップ(200 mL)に採り、これに無水硫酸ナトリウム20 gおよび抽出溶媒70 mLを加え、8000 rpm, 5分間ホモジナイズした。上清をろ紙ろ過しナス型フラスコ(300 mL)にとり、残渣に抽出溶媒70 mLを加え、8000 rpm, 5分間ホモジナイズした。内容物の全てをろ紙ろ過し、ろ紙上の残渣を抽出溶媒で洗い込み、先のナス型フラスコに全てのろ液を合わせたものを抽出液とした。

(その他の食品の場合)

均一化した試料10 gをステンレス製ホモジナイザーカップ(200 mL)に採り、無水硫酸ナトリウムを加えて固まらない状態を保つ程度の量(20~80 g程度)を加えた。抽出溶媒130 mLを加え、8,000 rpm, 5分間ホモジナイズし、上清をろ紙ろ過しナス型フラスコ(500 mL)にとった。残渣に抽出溶媒80 mLを加え、8,000 rpm, 5分間ホモジナイズして上清をろ紙ろ過する操作を2回行った。内容物の全てをろ紙ろ過し、ろ紙上の残渣を抽出溶媒で洗い込み、先のナス型フラスコに全てのろ液を合わせたもの抽出液とした。

#### 2) 精製

抽出液を40°Cで減圧乾固し、特に油脂が残留する場合は十分に溶媒を除いた。残渣に酢酸エチル10 mLを加えて溶解し、溶解が不十分な場合は超音波洗浄機を用いて内容物を分散させた。それをシリカゲルカラムに全量負荷し、流出液は捨てた。ナス型フラスコの洗浄を兼ねて酢酸エチル10 mLを加えてよく混合し、シリカゲルカラムに全量負荷し、流出液は捨てた。ジエチルエーテル・エタノール(9:1)20 mLをナス型フラスコに入れて共洗いしたものを全量用いて洗浄し、流出液は捨てた。ジクロロメタン・メタノール(2:1)10 mLをナス型フラスコに入れて共洗いしたものを全量用いて溶出し、溶出液を別のナスフラスコ(50 mL)にとり、40°Cで減圧乾固した。

残渣に酢酸エチル5 mL加えて溶解し、アルミナカラムに全量負荷し、流出液は捨てた。ナスフラスコの洗浄を兼ねて酢酸エチル10 mL加えてよく混合し、アルミナカラムに全量負荷し、流出液は捨てた。酢酸エチル・メタノール(4:1)20 mLをナスフラスコに入れ共洗いしたものをを用いて溶出し、溶出液を別のナスフラスコ(50 mL)にとり、40°Cで減圧乾固した。ジクロロメタン10 mLを正確に加えて溶解したものを試料液とした。

#### 3) 発色操作

10 mL容量のガラス製遠心管に試料液5 mLを正確にとり、発色試薬2 mLを加えて密栓し、5分間振とうした。3,000 rpmで5分間遠心し、上清を捨て、ジクロロメタン層を比色用試験溶液とし、620 nmの吸光度を測定した。なお、検量線用標準液の最高濃度の吸光度より高い場合は、検量線範囲内の濃度となるように試料液をジクロロメタンで希

釈後、同様に操作した。

#### 4) LC-MS用試験溶液の調製

試料液1~5 mLをとり、減圧濃縮後メタノールでPS濃度として10 µg/mL程度の濃度となるように溶かし、メンブランフィルターでろ過したものをLC-MS用試験溶液とした。

#### 4. 添加回収試験

外部の登録検査機関の2検査施設、3組の測定者により、試験法妥当性評価法に準じた方法で添加回収試験を実施した<sup>4)</sup>。すなわち、3組の異なる測定者が異なる器具を用いた試液の調製と分析操作を行い、異なる分析機器を用い、1日2回分析を5日間実施し、回収率、併行精度、室内精度を求めた。

PS類6種類を試験対象とし、10種類の加工食品にPS類6種類を別個に添加して定量試験と確認試験を実施した。食品への添加量は、0.02 g/kg, 0.10 g/kgの2濃度とした。検量線は、添加した同一種類のPSを標準液として作成した。

#### 5. 装置

分光光度計：日立U-2000A型、日立U-3310型、日立U-3210型を用いた。

LC/MS：Waters社製Quattro Premier XEを2台、Waters社製Xevoを1台用いた。

#### 6. LC/MS条件

カラム：YMC-Pack C8 (2.0 mm×150 mm, 5 µm, 30 nm)  
移動相：A液：0.1%ギ酸、B液：0.1%ギ酸メタノール  
濃度勾配：(A : B) : (50 : 50) → 5 min → (30 : 70) → 25 min → (1 : 99) → 10 min → (1 : 99)

カラム温度：40°C、流速：0.2 mL/min、注入量：5 µL  
イオン化法：ESI (+)

SIMターゲットイオン (*m/z*)

PS20 : 1249.74, PS40 : 1305.81, PS60 : 1333.84

PS65 : 1866.36, PS80 : 1331.82, PS85 : 1860.31

#### 結果及び考察

PSは、ソルビトールの脱水縮合物であるソルビタンに脂肪酸が1, 3分子エステル結合して得られるソルビタン脂肪酸エステルに、エチレンオキドが約20分子付加重合して得られる。エステル結合する脂肪酸の種類と数により、PS20 (ラウリン酸, 1分子), PS40 (パルミチン酸, 1分子), PS60 (ステアリン酸, 1分子), PS65 (ステアリン酸, 3分子), PS80 (オレイン酸, 1分子), PS85 (オレイン酸, 3分子)がある。いずれも、上記を主とする混合物であり、PS20が最も極性が高く、PS65が最も低極性である。既報<sup>1)-3),5)</sup>での添加回収実験は、純度の高い標準品が得られるPS80を用いて行われているが、今回、上記の6種類のPSを対象として試験法を検討し、添加回収実験を行った。

## 1. 抽出法の検討

通知法の抽出操作は、はじめに水とヘキサンを加えて混和後、アセトニトリル・ヘキサン・メタノール混液を用いてホモジナイズし、遠心分離後のヘキサン層と残渣の間の中間層全体を分取する操作を2回行い、中間層を合わせたものをヘキサンで洗浄し、酢酸エチルと混合後に飽和食塩水で洗浄する方法である。

即席麺貼付の粉末スープを通知法で処理したとき、中間層が3層になった場合や、ゲル状になった場合があったため、中間層の採取が困難であった。また、分液ロートを用いた飽和食塩水での洗浄時にエマルジョンを形成して液々分離が困難な食品もあった。

抽出操作の簡便化のため、粕谷らの方法を用いた<sup>5)</sup>。すなわち、食品を無水硫酸ナトリウムで脱水後、酢酸エチル・メタノール混液で抽出する方法とし、中間層採取と液々分配の操作を採用しないことで、工程数の減少と操作性が向上し、分析時間の短縮が可能となった。

## 2. 精製法の検討

通知法では、塩基性アルミナのオープンカラムとシリカゲルの固相抽出カートリッジカラムを用いた抽出液の精製法を採用している。オープンカラムは準備に時間を要し、有機溶媒の使用量が多くなる欠点がある。また、操作中にカラムが目詰まりする例もあった。一方、カラムによる精製を行わずに発色反応操作を行ったとき、食品成分由来物質と反応してPS類無添加試料でも強い発色が認められたため、精製操作は不可欠であった。そこで、有機溶媒使用量の削減とオープンカラムの作製時間の省略を目的とし、シリカゲルと塩基性アルミナの市販の2種の固相抽出カートリッジカラムを用いる方法をPS80および最も極性の低いPS65の2成分を用いて検討した。

粕谷らのHPLC法は、シリカゲルカートリッジカラムを用いて、ジエチルエーテルおよびジエチルエーテル・エタノール (2 : 1) 混液で洗浄後、アセトニトリル・エタノール (1 : 2) 混液でPS類を溶出する条件である。

PS65, PS80の酢酸エチル溶液を個別にシリカゲルカラムに負荷して、洗浄溶媒および溶出溶媒を検討した結果を図1に示した。PS65を負荷し、酢酸エチルで洗浄後、ジエチルエーテル・エタノール (2 : 1) 混液を通過させたところほとんどのPS65がカラムから流出した。(8 : 2) 混液の場合にはカラムに負荷した34%が流出し、(9 : 1) 混液の場合にはPS65, PS80の両方がほぼ全量保持されたので (9 : 1) 混液を採用した。

しかし、この条件で洗浄後、アセトニトリル・エタノール (1 : 2) 混液を溶出溶媒として用いたところ、PS類無添加の粉末スープ試験溶液で発色が見られた。そこで、夾雑物質のカラムからの溶出を減らすために、より低極性の溶出溶媒の使用を検討した。ジクロロメタン・メタノール混液を用いて条件を検討した結果、極性の低いジクロロメタンの割合が多く、かつPS80およびPS65標準品の回収率が95%以上となる (2 : 1) 混液を採用した。

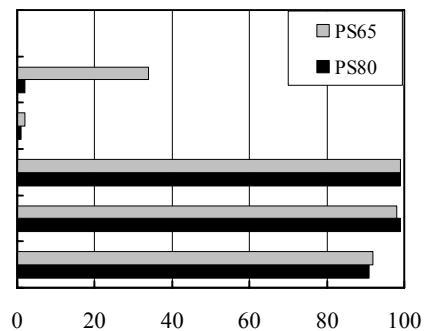
しかし、クリームサンドクッキーを試料として用いた場合、シリカゲルカラム単独による精製では試験溶液に濁りが生じたため、アルミナカラムによる精製の追加を検討した。アルミナカラムの検討結果を図2に示した。酢酸エチルに溶かしたPS80をアルミナカラムに負荷後、溶出溶媒として、酢酸エチル・メタノールの各 (2 : 1), (3 : 1), (4 : 1) 混液を用いたとき、いずれも回収率は80%以上得られた。しかし、PS類無添加のクリームサンドクッキー抽出液にPS80を添加したものを負荷した場合、(2 : 1), (3 : 1) 混液では100%を超える回収率となり、擬似発色物質が十分除去できていないと考えられた。一方、(4 : 1) 混液を用いたとき、回収率が85%であり、標準品のみを用いた場合とほぼ同程度であった。また、PS65を用いたときも同様の結果が得られたので、溶出溶媒の比率は (4 : 1) とした。

シリカゲルカラムとアルミナカラムの併用により、PS類無添加試料の測定液の擬似発色物質による発色は大きく低減することができた。

- 洗浄①：酢酸エチル10 mL  
 洗浄②\*：ジエチルエーテル・エタノール (8 : 2) 20 mL  
 洗浄②\*：ジエチルエーテル・エタノール (9 : 1) 20 mL  
 溶出\*\*：ジクロロメタン・メタノール (1 : 1) 10 mL  
 溶出\*\*：ジクロロメタン・メタノール (2 : 1) 10 mL  
 溶出\*\*：ジクロロメタン・メタノール (3 : 1) 10 mL

\*：酢酸エチル10 mL洗浄後に実施

\*\*：洗浄は、酢酸エチル10 mLおよびジエチルエーテル・エタノール (9 : 1) としたとき



カラム洗浄流出液および溶出液のPS回収率 (%)

図1. Sep-Pak® Vac Silicaの洗浄液および溶出液組成の条件検討  
 負荷：各PS 5,000 µg

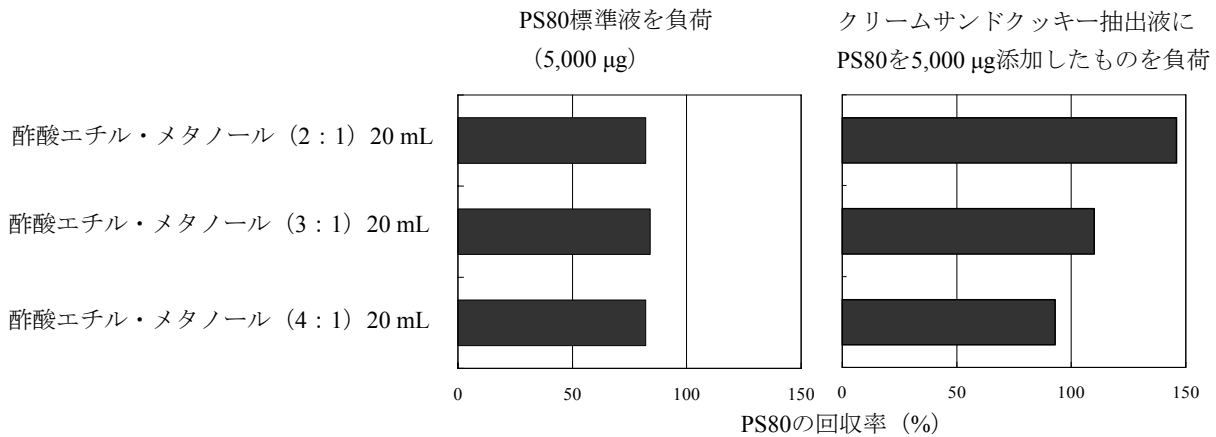


図2. Sep-Pak®Vac Alumina Bの条件検討：溶出液組成が食品抽出液精製時の回収率へ及ぼす影響

### 3. 添加回収試験

2施設3組の測定者が同一日内2回繰り返し測定を5日間実施した結果について、食品、添加したPS類の種類およびその濃度別に回収率、併行精度および室内精度を測定者ごとに求め、表1-1, 1-2に示した。

0.02 g/kgおよび0.10 g/kg添加の場合、10食品全てについて、併行精度は10%未満かつ室内精度15%未満の結果が、ほぼ得られた。

10食品における添加量0.10 g/kgの場合のPS80の回収率は51.5~94.6%、6種のPS類の回収率は50.8~103%であった。この結果は、PS80を0.10 g/kg添加したときの通知法に示された回収率である52.8~76.2%とほぼ同等と考えられた。ホットケーキミックス粉、粉末スープ、チョコレートにおいては回収率が低めの傾向であった。

通知法の定量限界に相当する添加量0.02 g/kgの場合のPS類6種類の回収率は61.9~150%であった。コチュジャンの回収率が120%を超えた場合があった。

また、すべての無添加試料の吸光度の値は、検出限界値である0.02 g/kg相当の吸光度の半分以下であることを確認した。

### 4. LC-MSを用いた確認法の検討

各食品試料にPS類6種類1種類ずつ添加したときの試験溶液および無添加試料の試験溶液をLC-MSを用いて分析した。その結果の一部であるコチュジャンのLC-MSクロマトグラムを図3に示した。

PS類6種類を各々0.02 g/kgおよび0.10 g/kgを添加した10種類の食品について、PS添加試料の試験溶液からクロマトグラム上で添加したPS標準品の保持時間と一致するピークを確認することができた。また、無添加試料からは各PS標準品と一致するピークを検出しなかった。

検討した10食品、添加濃度2濃度の添加回収試験結果において、本試験法は、通知法とほぼ同等と考えられた。

### ま と め

食品中PS類試験法について、通知法の前処理操作を改良し検査工程数を減らした定量試験法を作成した。

10食品、添加量2濃度による本試験法の添加回収試験を実施した結果、各PS類の添加量0.10 g/kgの場合の回収率は52~95%であった。通知法に示されたPS80を0.10 g/kg添加したときの回収率は53~76%であり、作成した試験法は、通知法に示された回収率とほぼ同等の結果が得られた。また、各PS類を添加した10種類の食品から、添加されたPS類をLC-MSのクロマトグラム上で検出することができた。

本研究の概要は、第48回全国衛生化学技術協議会年会(2011年11月)で発表した。

また、本研究の一部は、平成22年度東京都福祉保健局「食の安全・安心確保緊急対策事業中の、食品中の農薬・食品添加物等の定量試験法開発に係る添加回収実験委託」により実施した。

### 文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知「食品中の食品添加物分析法」の改正について”平成20年4月30日食安基発第0430001号(2008)。
- 2) 河崎裕美, 建部千絵, 高木繁行, 他: 日本食品化学学会誌, **15**, 122-128, 2008。
- 3) 建部千絵, 河崎裕美, 杉本直樹, 他: 日本食品化学学会誌, **15**, 129-134, 2008。
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて”平成19年11月15日食安発第1115001号(2007)。
- 5) 粕谷陽子, 中里光男, 天川映子, 他: 東京健安研七周年報, **59**, 137-142, 2008。

表1-1. PS類の回収率, 併行精度, 室内精度および室内精度

試料	添加量 (g/kg)	測定者	PS20			PS40			PS60			PS65			PS80			PS85		
			回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
ホットミックスケーキ	0.02	1	64.8	4.1	7.2	73.0	3.1	5.9	68.2	4.3	11.7	76.5	6.1	13.0	81.3	3.7	8.0	85.3	3.4	9.9
		2	62.8	2.8	12.0	77.2	2.2	8.6	77.3	1.7	11.5	78.9	6.3	9.8	72.2	2.3	4.2	82.8	3.9	10.6
		3	88.8	4.4	9.8	95.8	4.9	7.4	83.6	7.2	6.1	95.4	8.0	9.8	79.6	6.7	13.1	112.9	11.2	9.9
ケチャップ	0.10	1	53.9	3.3	5.7	57.0	3.6	15.4	59.0	3.3	8.2	56.3	5.6	6.6	58.6	4.3	10.5	65.8	3.9	11.4
		2	58.9	3.0	7.4	64.2	1.1	8.4	65.2	1.5	9.3	53.8	2.7	2.5	59.8	2.2	10.8	65.7	1.6	4.3
		3	63.1	10.4	11.4	60.5	6.4	6.3	59.5	8.0	6.2	58.4	7.4	13.5	54.7	9.9	8.7	74.0	9.6	10.9
粉末スープ	0.02	1	94.5	3.0	8.8	105.0	2.2	7.4	98.7	4.4	7.5	121.6	2.4	5.4	104.9	1.9	7.8	115.4	5.6	7.4
		2	91.2	1.6	5.7	100.5	2.8	4.6	93.5	4.0	5.2	112.4	7.7	9.1	95.6	3.3	3.5	107.9	3.8	8.2
		3	91.3	6.2	10.6	88.8	4.9	5.5	97.5	7.3	7.2	96.2	4.7	7.4	105.3	8.0	8.6	106.2	4.8	9.1
ピクルス	0.10	1	92.3	3.0	7.1	96.2	2.1	8.3	98.4	2.4	5.1	84.2	2.2	6.9	87.8	1.8	5.7	102.9	2.4	5.7
		2	83.6	2.3	7.3	82.7	1.4	5.3	86.1	1.1	9.1	80.2	2.4	5.7	78.4	2.1	3.0	83.3	4.3	3.8
		3	81.9	6.8	7.6	79.7	2.0	7.9	83.6	2.9	5.7	89.1	7.9	12.3	79.9	3.5	8.9	82.9	7.5	7.5
チョコレート	0.02	1	64.4	3.0	8.6	83.0	4.2	3.3	87.1	4.9	5.2	91.3	4.3	7.2	79.5	2.8	7.8	102.5	5.6	8.2
		2	74.2	4.0	12.5	87.0	3.1	5.5	87.5	4.6	4.8	84.6	2.9	8.5	76.6	2.2	7.6	91.4	4.7	4.8
		3	77.1	3.4	5.2	80.0	5.9	7.0	76.7	7.7	11.4	77.3	8.3	7.8	68.4	4.1	6.5	81.5	2.7	7.4
ピクルス	0.10	1	65.0	1.6	5.7	71.3	1.6	6.0	70.8	1.3	5.8	64.4	1.4	4.1	73.1	2.2	7.5	68.5	2.7	8.1
		2	69.5	2.0	13.6	74.8	2.1	7.2	72.9	1.6	10.1	63.4	1.7	13.5	71.6	2.2	7.6	68.1	3.0	5.0
		3	69.0	5.7	4.8	62.5	4.2	4.1	65.0	1.8	11.3	58.8	5.4	5.2	59.2	1.5	2.2	66.0	1.9	3.4
チョコレート	0.02	1	95.0	2.2	5.4	103.0	2.8	4.1	104.2	2.0	4.1	101.4	4.3	9.6	96.6	2.4	5.1	102.3	3.1	6.2
		2	96.8	2.1	9.7	97.5	3.2	5.2	105.7	5.5	9.2	110.4	4.1	9.1	94.1	2.0	6.4	98.4	5.5	5.6
		3	98.6	5.5	9.8	97.4	2.0	3.6	99.7	3.6	5.0	117.0	6.2	6.9	81.5	7.7	9.4	114.8	5.2	4.1
チョコレート	0.10	1	85.9	1.2	10.5	89.8	1.9	5.7	94.5	3.6	6.4	81.5	3.2	3.0	82.4	1.8	5.4	82.9	3.1	5.1
		2	78.4	1.9	3.9	78.9	0.7	1.8	78.5	0.5	4.4	78.0	1.0	2.1	76.4	0.8	5.0	75.3	1.3	5.1
		3	83.3	9.2	9.0	78.5	3.1	6.4	77.9	1.5	7.3	77.3	8.2	10.8	74.9	11.0	11.2	79.2	5.8	10.2
チョコレート	0.02	1	71.9	2.8	5.2	81.2	4.9	7.2	77.6	2.9	6.3	92.3	4.5	8.9	68.7	2.9	4.7	84.3	4.2	10.7
		2	67.4	3.4	13.7	79.6	2.0	11.8	79.8	1.8	10.9	73.6	3.1	13.6	62.0	6.1	18.2	75.1	4.7	11.1
		3	62.1	8.8	8.5	71.8	3.8	7.2	74.1	3.1	5.2	92.6	3.7	5.5	61.9	6.5	6.9	84.9	4.2	3.3
チョコレート	0.10	1	68.6	3.0	5.8	66.8	1.7	9.3	70.3	2.5	9.8	67.0	3.2	11.7	62.7	1.7	11.6	70.2	3.1	12.0
		2	61.4	1.5	4.9	64.7	1.8	11.3	70.0	1.9	10.9	64.5	1.6	6.1	62.0	1.6	5.1	70.2	4.0	9.0
		3	53.7	5.3	4.9	58.5	0.8	1.5	61.8	3.4	4.4	65.6	5.2	4.6	54.7	3.7	3.5	64.7	4.0	3.9

表1-2. PS類の回収率，併行精度，室内精度および室内精度

試料	添加量 (g/kg)	測定者	PS20			PS40			PS60			PS65			PS80			PS85		
			回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
クリート クッキー	0.02	1	88.3	3.7	7.3	94.4	3.0	6.3	92.9	3.0	5.9	94.9	6.0	6.0	85.9	4.6	6.6	94.8	4.8	6.9
		2	84.9	3.1	5.3	90.5	3.6	12.2	98.2	5.1	9.6	88.4	5.6	10.0	81.3	3.4	5.0	80.5	3.4	8.1
		3	83.0	6.4	7.5	101.7	4.1	6.4	87.8	9.9	11.4	135.8	7.9	6.6	79.6	6.5	5.9	128.6	7.7	11.5
ドレッシング	0.10	1	74.2	3.1	6.8	78.6	1.0	4.1	74.3	1.5	5.9	73.8	3.2	7.7	71.5	1.1	8.7	77.4	2.9	5.5
		2	68.2	1.2	5.4	77.3	2.3	12.4	74.6	1.5	8.2	73.6	1.7	6.1	68.7	3.2	7.3	66.5	2.8	5.0
		3	50.8	5.2	4.4	59.2	5.9	7.5	54.5	6.6	6.5	66.5	11.9	12.4	51.5	10.0	9.3	77.6	6.7	6.5
コチエ ジュン	0.02	1	94.7	3.0	6.2	94.2	5.8	6.8	97.1	3.0	4.6	109.6	5.4	9.8	94.1	2.3	4.2	104.3	3.4	8.4
		2	91.2	2.0	3.0	93.2	2.6	8.5	101.4	1.3	5.3	116.3	3.6	6.8	97.7	1.4	5.1	108.4	3.4	7.4
		3	90.0	3.8	3.0	100.4	2.9	4.5	98.3	2.7	4.2	93.3	4.5	6.0	99.8	5.0	4.8	105.4	5.2	4.3
コチエ ジュン	0.10	1	87.8	1.8	9.4	90.7	2.0	6.3	83.8	0.6	7.7	81.2	1.3	5.0	78.3	1.7	5.4	80.3	1.6	6.9
		2	87.5	1.6	3.9	79.1	1.3	2.7	83.9	1.6	5.4	78.3	1.8	3.0	87.8	1.9	5.9	77.8	1.6	3.5
		3	74.3	7.0	8.8	79.1	2.2	3.2	75.0	2.7	2.3	75.2	3.6	9.7	79.5	5.3	4.9	81.8	6.6	6.7
コチエ ジュン	0.02	1	106.0	2.0	5.8	111.7	1.3	2.1	115.6	1.1	4.8	129.6	5.0	8.9	103.8	2.2	6.2	139.7	5.7	4.5
		2	111.5	0.9	7.4	113.1	1.9	9.2	120.4	1.6	10.8	122.5	5.3	9.4	107.9	1.1	7.0	126.0	5.0	9.2
		3	110.1	6.2	6.1	124.5	3.8	5.3	123.2	4.6	5.1	129.4	2.7	2.3	99.6	8.9	7.6	150.9	8.2	6.6
コチエ ジュン	0.10	1	83.7	2.0	8.8	86.9	2.4	4.0	86.4	3.1	5.3	82.4	1.0	2.7	94.6	0.6	6.9	84.0	3.4	3.2
		2	85.6	1.9	4.5	89.7	1.5	10.5	91.2	0.9	12.6	83.2	2.8	8.8	86.4	0.6	5.2	85.8	3.9	5.0
		3	80.2	6.1	5.6	83.6	4.1	5.1	84.2	2.9	2.8	73.3	3.7	3.0	82.0	6.4	6.1	88.7	5.9	7.6
コチエ ジュン	0.02	1	107.4	1.8	6.3	105.1	1.1	7.1	106.0	2.2	5.9	110.3	4.7	11.1	95.9	3.0	7.4	113.5	4.2	6.2
		2	102.9	2.7	5.9	98.7	1.8	4.9	98.7	1.4	8.5	102.8	3.9	8.0	100.2	2.3	7.7	118.1	0.0	8.6
		3	94.8	5.2	4.5	93.9	4.6	5.3	93.4	7.9	10.4	94.2	4.6	9.3	81.5	2.1	4.7	107.2	3.0	3.3
氷菓	0.10	1	87.4	1.5	8.8	82.0	1.4	5.1	82.2	2.0	3.0	78.6	1.5	5.4	75.3	2.1	6.9	79.4	1.2	6.2
		2	80.2	1.2	5.9	76.5	1.8	8.4	78.5	0.5	5.1	79.3	1.9	2.6	77.9	2.5	6.8	78.0	3.5	7.2
		3	77.8	5.3	9.3	76.2	8.7	10.0	79.0	6.8	9.6	75.4	6.6	6.9	64.1	2.3	1.9	67.8	2.3	4.6
氷菓	0.02	1	88.7	1.3	8.3	85.4	2.3	7.4	89.8	2.4	12.1	98.9	4.5	8.0	97.9	1.3	4.0	95.6	5.3	13.2
		2	89.1	1.8	4.4	85.1	2.9	4.2	90.0	2.0	6.3	99.3	3.0	4.5	93.4	3.0	6.6	107.0	2.1	7.7
		3	86.0	7.7	9.3	88.7	4.5	6.5	85.6	2.7	3.4	90.9	6.8	6.9	69.9	3.9	3.3	95.0	4.8	4.4
氷菓	0.10	1	81.6	1.7	5.2	77.4	4.8	4.7	78.9	4.4	3.7	77.2	2.6	5.3	79.8	0.6	5.1	74.8	2.3	6.1
		2	88.7	2.5	6.9	80.7	1.3	5.4	83.4	0.5	4.7	73.6	1.1	5.5	82.7	1.8	7.5	81.6	1.3	6.6
		3	76.9	6.8	6.4	72.8	6.4	6.2	71.7	2.6	2.5	71.4	5.3	7.0	72.9	6.5	6.5	70.2	4.0	3.9

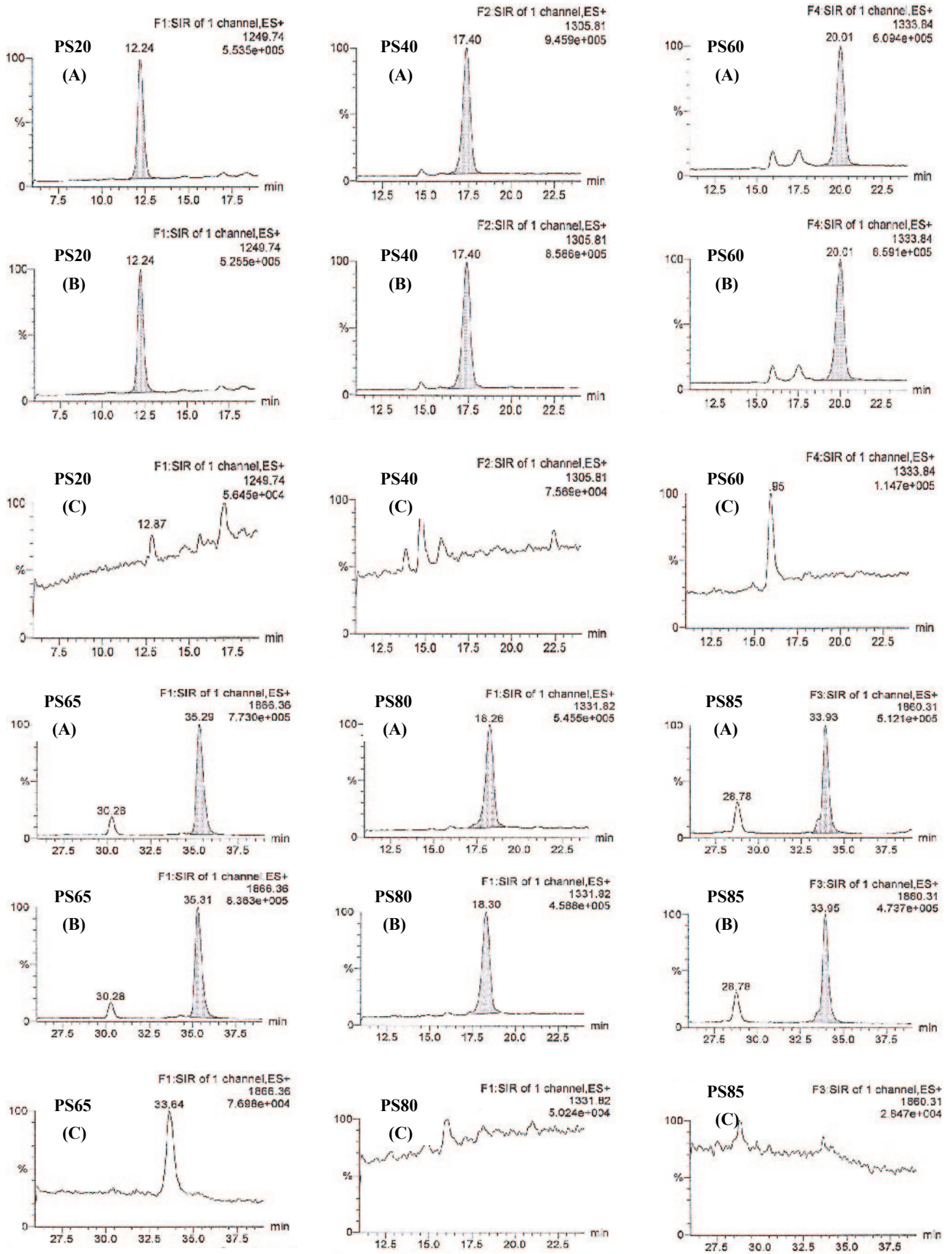


図3. ポリソルベート類のLC-MSクロマトグラム

(A) 標準溶液 (5 µg/mL), (B) コチュジャン試験溶液 (添加量 0.10 g/kg), (C) コチュジャン試験溶液 (無添加)  
 装置: Waters Quattro Premier XE

**Improvement of Detection of Polysorbates in Food by Spectrophotometric Quantification and Confirmation with LC/MS**

Chigusa KOBAYASHI<sup>a</sup>, Hiroko MATSUMOTO<sup>b</sup>, Yoko KASUYA<sup>b</sup>, Yukiko YAMAJIMA<sup>a</sup>,  
Hiroyuki MIYAKAWA<sup>a</sup>, Tetsuya SHINDO<sup>a</sup>, Yuki SADAMASU<sup>a</sup>, Shoichi TAHARA<sup>a</sup> and Yoko UEMATSU<sup>a</sup>

We developed and validated a method for spectrophotometric quantification and confirmation of dominant molecular species of polysorbates (PSs) in various foods. The method for detecting PSs in food was notified in 2008. We improved this notified method with the intention to reduce the processing time. The alumina open column specified in the 2008 report was substituted with a solid-phase extraction (SPE) column, and 2 types of SPE columns (silica gel and alumina B) were employed in series. The targeted analytes were 4 kinds of permitted PSs: PS20, PS60, PS65, and PS80, which are used as food additive emulsifiers, together with 2 unpermitted PSs: PS40 and PS85. We skipped the liquid/liquid extraction process by dehydrating the sample prior to the solvent extraction. Since PS65 and PS85 are less polar than the other PSs, extraction and cleanup solvents were investigated in order to extract both polar and less polar PSs. Each PS was spiked to 10 kinds of foods separately, and a recovery test was performed and confirmed by liquid chromatography–mass spectrometry. PS recoveries from foods spiked with 0.10 g/kg PS were in the 52–95% range. This was similar to that indicated in the 2008 notification.

**Keywords:** food additive, processed food, polysorbate, colorimetric method, LC/MS

---

<sup>a</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

<sup>b</sup> Tama Branch Institute, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out,  
3-16-25, Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023, Japan