

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：82601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K18906

研究課題名(和文) 蛍光指紋を利用した非破壊的な生薬品質評価法の確立

研究課題名(英文) Study on quality evaluation of natural products using fluorescence fingerprint

研究代表者

増本 直子(佐藤)(Masumoto, Naoko)

国立医薬品食品衛生研究所・食品添加物部・研究員

研究者番号：70754034

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、熟練者の五官や経験により評価されている天然物や生薬を対象とし、五官鑑別と品質との関係を科学的に見出すとともに、誰にでも品質を評価できる客観的な評価法の確立を試みた。五官鑑別により品質評価されている天然物としては沈香を、経験により使い分けられている天然物としてはローズマリー抽出物とシソ抽出物を対象とし、GC/MS、LC/MSおよび分光蛍光光度計により分析を行った。分析の結果、それぞれの品質評価に寄与していると思われる成分を見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

天然物の中には、時代や環境の変化とともに高品質の天然物の入手が困難になったり熟練者の数の減少により評価が困難になったりするものも少なくない。このような天然物について科学的な分析を行い、成分組成の情報を蓄積すること、および、五官・経験による品質評価との関連を調査することは学術的に意義がある。また、今回調査した天然物には食品添加物等として摂取するものも含まれており、人々の健康を守るという観点から規格化の必要があるが、本成果はその根拠データにもなり得るものである。

研究成果の概要(英文)：In order to establish objective evaluation methods for natural products qualified by experts using their five sensory organs and experiences, relationships between results of quality evaluation by experts and analytical results by instruments were investigated. In this study, jinko was selected as a natural product which is qualified by experts using their five sensory organs, and rosemary extract and perilla extract were selected as natural products which is used properly according to experiences. Analysis of GC/MS, LC/MS and spectrofluorometer revealed some components that are thought to contribute to differences of their quality.

研究分野：天然物化学

キーワード：LC/MS GC/MS 蛍光分光光度計 品質確保 成分分析 沈香 ローズマリー シソ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現代でも多くの天然物や生薬の品質が、熟練者の五官によって鑑別されているが、五官鑑別は主観的なうえ数値化も困難なため、その評価基準は科学的に曖昧である。また、試料の温度変化などによって生成する香りや味を鑑別対象とする天然物は、鑑別に時間を要するうえ試料を消費してしまう。天然物を原料とした生薬や食品添加物は、その安全性や有効性などの品質が人々の健康に影響するため科学的データを元に規格化する必要があるが、「熟練者による五官鑑別」などの経験による品質評価法がその妨げとなる場合も少なくない。

本研究では、誰にでも品質を評価できる客観的な評価法の確立を試みる。とくに、熟練者の五官鑑別により品質評価された天然物に対し網羅的成分分析を行い、五官鑑別と品質との関係を科学的に見出す。可能であれば、これを分光蛍光光度計による蛍光指紋データと紐付けすることで、ロスのない、天然物の品質評価法を試みる。

2. 研究の目的

五官鑑別により品質評価されている天然物・生薬をはじめ、経験により異なる品質のものとは判断されて使い分けられている天然物製品について、主に GC-MS や LC-MS による成分分析を行い、評価された品質と成分の違いの紐付けを試みる。五官鑑別により品質評価されている天然物としては沈香を、経験により使い分けられている天然物としてはローズマリー抽出物とシソ抽出物を対象とする。加熱により初めて香氣成分を発する沈香については、非破壊での品質評価が可能かを探索するため、分光蛍光光度計による蛍光指紋測定も試みる。

3. 研究の方法

(1) 沈香

薬用沈香 2 種 (薬用 a, b)、間香用沈香 2 種 (間香用 a, b) 及び沈香の偽物 (木材に香料を染ませて沈香に似せたもの) 1 種をサンプルとした。

GC-MS および LC-MS 測定: 低分子揮発性成分を確認するため、サンプルをジエチルエーテルにて抽出し試料溶液とし、GC-MS で測定した。また、加熱により構造が変化し芳香を発すると考えられる成分を確認するため、サンプルをメタノールで抽出し試料溶液とし、LC-MS で測定した。抽出にあたり、板状のサンプルは剪定ばさみで細断した。得られたデータについて主成分分析を行った。

蛍光指紋測定: 粉末にしたサンプルを、粉末用セル (より少量のサンプルは石英板 2 枚で挟む) に入れ、非破壊での蛍光指紋を測定した。あわせて、サンプルのメタノール抽出液についても蛍光指紋を測定した。

(2) ローズマリー抽出物

「ローズマリー抽出物」市場品 8 製品 (3 製品は非水溶性、3 製品は水溶性、2 製品は表記なし) について、LC-MS および GC-MS にて分析を行い、含有成分を推定した。

(3) シソ抽出物

「シソ抽出物」市場品 1 製品 2 ロットおよび、同じくシソを基原とし使用用途の異なる「シソ色素」1 製品について、LC-MS および GC-MS にて分析を行い、含有成分を比較した。また、ソヨウ (シソを乾燥した生薬) を原料とし、含水アルコール、アセトン、ヘキサンなどの様々な溶媒でシソ抽出物を再現し、その成分分析も行った。

4. 研究成果

(1) 沈香

沈香は、加熱により芳香を発する天然物であり、その品質は発せられた芳香を熟練者が五官により鑑別することにより評価されている。低分子揮発性成分と加熱により構造が変化し芳香を発すると考えられる成分の検出のため、GC-MS および LC-MS にて成分分析を行い、得られたデータについて主成分分析を実施したところ、沈香とその偽物は明らかに異なるグループとして分けられた (図 1)。沈香グループへの寄与が大きい化合物の中には、加熱により構造が変化し芳香が発せられると考えられているクロモン類と推定される精密質量をもつもの (m/z 297.113, $C_{18}H_{16}O_4$ など) も存在した。また、沈香で報告されている低分子揮発性成分も良好に分離・検出された。

一方、蛍光分光光度計にて同サンプルの直接測定を試みたところ、蛍光指紋の検出はできたもののシグナル強度が低かった (図 2)。サンプルの溶媒抽出試料を測定したところよりはっきりとした蛍光指紋が得られたが (図 2)、現状では蛍光指紋で得られるデータからは、今回用いたサンプルの品質を判別することは困難であった。

以上より、LC-MS などでの判別は可能であるが、蛍光分光光度計による非破壊での品質評価は現状では困難であると思われる。

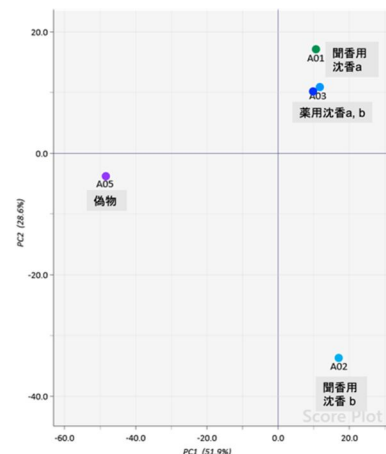


図 1 沈香サンプル 4 種の主成分結果

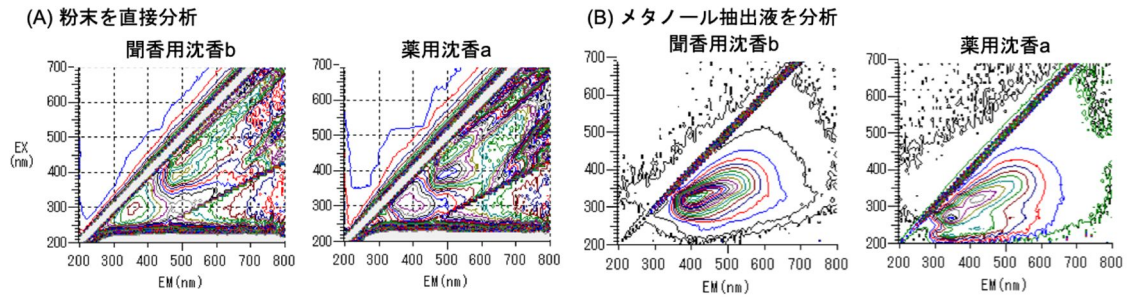


図2 沈香サンプルの蛍光指紋測定結果

(2) ローズマリー抽出物

「ローズマリー抽出物」はローズマリーから抽出された天然物由来の既存添加物であり、溶解性の異なる2種の製品（非水溶性、水溶性）が市場に流通している。これらについてGC-MSおよびLC-MS分析を行ったところ、非水溶性品はカルノシン酸などを主成分とし、ローズマリーに特徴的な精油成分を多く含んでいた。一方、水溶性品はロスマリン酸が主成分として検出されたが、精油成分は検出されなかった。同一種を基原とした同一名称物でも、成分組成が大きく異なる場合があり、成分の特徴を把握することが天然物製品の品質確保に重要であることが示唆された。

(3) シソ抽出物

「シソ抽出物」はシソから抽出された天然物由来の既存添加物であり、製造用剤として用いられている。同じシソを原料とする添加物として「シソ色素」も使用されており用途が異なるが、どちらも明確な成分規格がない。両製品についてGC-MSおよびLC-MS分析を行ったところ、シソ抽出物、シソ色素ともに、赤じそで報告のあるアントシアニン類やロスマリン酸が検出された。揮発性成分として、シソ抽出物からは、ベンズアルデヒド、リモネン、*trans*-シソオールなどシソに含まれていると報告されている成分が検出されたが、主成分と考えられていたペリラルデヒドは検出されなかった。シソ色素では、シソ抽出物と比較して香りに寄与するような成分の検出数は少なかった。また、得られた揮発性成分のデータから、今回調査したシソ抽出物とシソ色素とでは、製造方法の違いのほか、用いたシソの精油成分のタイプ（ケモタイプ）が異なる可能性も示唆された。

一方、ペリラルデヒドを含んでいることが明らかなソヨウを原料として、様々な溶媒で抽出したシソ抽出物を再現したところ、溶媒を変えることによりアントシアニン類やロスマリン酸の増減はあったものの、どの抽出物からもペリラルデヒドが検出された。

以上の結果より、同一の基原種を用いて製造したと考えていても、もとの基原種に成分組成の違いが大きくある場合、その品質は異なる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Naoko Masumoto, Yuzo Nishizaki, Naoki Sugimoto, Kyoko Sato	4. 巻 25
2. 論文標題 Phytochemical profiling of rosemary extract products distributed as food additives in the Japanese market	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Food Chemistry and Safety	6. 最初と最後の頁 105 ~ 113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18891/jjfc.25.2_105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masumoto Naoko, Nishizaki Yuzo, Maruyama Takeshi, Igarashi Yasushi, Nakajima Kaori, Yamazaki Taichi, Kuroe Miho, Numata Masahiko, Ihara Toshihide, Sugimoto Naoki, Sato Kyoko	4. 巻 73
2. 論文標題 Determination of perillaldehyde in perilla herbs using relative molar sensitivity to single-reference diphenyl sulfone	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 566 ~ 576
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11418-019-01306-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 増本直子, 西崎雄三, 中島馨, 石附京子, 杉本直樹, 佐藤恭子
2. 発表標題 フォトダイオードアレイ検出器による測定値のばらつきの原因
3. 学会等名 第55回全国衛生科学技術協議会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増本直子
2. 発表標題 相対モル感度を利用したシングルリファレンスHPLC分析法の応用
3. 学会等名 第55回全国衛生科学技術協議会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増本直子, 西崎雄三, 丸山剛史, 五十嵐靖, 中島馨, 山崎太一, 黒江美穂, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子
2. 発表標題 相対モル感度を利用したペリルアルデヒド定量法の検討
3. 学会等名 第7回定量NMRクラブ
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増本直子, 西崎雄三, 丸山剛史, 五十嵐靖, 中島馨, 細江潤子, 内山奈穂子, 高岡真也, 吉田佐奈枝, 三浦亨, 山田裕子, 日向野太郎, 末松孝子, 小松功典, 嶋田典基, 山崎太一, 黒江美穂, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子, 合田幸広
2. 発表標題 指標成分ペリルアルデヒドの易分解性を考慮した局方生薬ソヨウの新しい分析法
3. 学会等名 第36回合同シンポジウム(第86回日本分析化学学会有機微量分析研究懇談会及び第110回計測自動制御学会力学量計測部会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増本直子, 中島馨, 小泉茉友, 大内政輝, 西崎雄三, 石附京子, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 杉本直樹, 佐藤恭子
2. 発表標題 Single-reference HPLC法によるステビオール配糖体の一斉定量
3. 学会等名 第1回定量NMR研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増本直子
2. 発表標題 健康食品及びその素材の品質確保に関する研究
3. 学会等名 日本食品化学学会第25回 総会・学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----