

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のための研究  
平成 28 年度分担研究報告書

赤外スペクトル測定法に関する調査研究

研究分担者 北村陽二 国立大学法人金沢大学学際科学実験センター准教授

研究要旨 食品添加物の規格基準の向上を目的として、食品添加物の確認試験に国際的に多用されている赤外スペクトル（IR）法について、近年普及著しい ATR 法の確認試験への利用の可能性を検討した。第 17 改正日本薬局方において ATR 法が採用されている品目について検討を行った。その結果、確認試験に ATR 法を取り入れる場合は、標準品との比較を行うか、プリズムの種類や補正の有無などの条件を規定した上で参照スペクトルとの比較を行うことが必要であると考えられた。

#### A. 研究目的

赤外スペクトル(以下 IR と略する)法は、その簡便性と確実性から、有機・無機化合物を問わず、国際的にも各種化合物の確認試験に汎用されている。また、IR 測定用機器の普及が進み、波数再現性のよいフーリエ変換型 (FT) 分光器なども安価に市販され、4000～600 あるいは 4000～400  $\text{cm}^{-1}$  の領域の IR を簡便に測定できるようになっている。さらに、IR 法はほとんど試薬を必要としないため、有機溶媒などを多用する化学的な確認試験法に比べ、有機溶媒などの廃棄量も少なく、自然環境に影響を与えない優れた確認試験法であると考えられる。このような背景のもと、IR 法が各種食品添加物の確認試験にも多用され、食の安全に寄与している。一方、減衰全反射法（Attenuated Total Reflection ; ATR 法）は、現在では公定書には規定されていないが、その測定の簡便さと再現性の良さから、近年急速に普及しつつある。そこで、本研究では、食品添加物等の国

内規格の向上などを目的にして、ATR 法による IR の確認試験への利用の可能性を検討した。測定試料として、第 17 改正日本薬局方において ATR 法が採用されているモンテルカストナトリウムを取り上げ、ATR 法による IR 測定法を検討した。

#### B. 研究方法

測定試料のモンテルカストナトリウムは、市販品（ナカライテスク社製）を用いた。この試料について、ATR 法により IR を測定した。測定に用いる装置による違いを検討するため、2 社（A 社、B 社）の機器メーカーの装置で測定し、また、プリズムの違いを検討する目的で、ダイヤモンドプリズム、ZnSe プリズム、Ge プリズムでの測定を行った。さらに、ATR 補正機能の違いについても検討を行った。

本研究での ATR 法の測定には、A、B 社ともに、一回反射 ATR 装置（入射角  $45^\circ$ ）を用い、分解能は  $4 \text{ cm}^{-1}$ 、測定領域は 4000～

600 cm<sup>-1</sup>(Geプリズムのみ 4000~700 cm<sup>-1</sup>)で測定を行なった。また、それぞれについて、解析ソフトで ATR 補正を行った。

(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

### 1. ATR 法に関する検討

#### 1) 測定装置による違いに関する検討

測定に用いる装置による違いを検討するため、2社(A社、B社)の機器メーカーの装置でダイヤモンドプリズムを用いて測定した。

その結果、A社のスペクトル(図1)とB社のスペクトル(図2)は、全体の強度は異なるものの、ピークの相対強度や波数はほぼ一致し、同じプリズムを用いた ATR 測定においては、機器メーカー間での差はほぼ無いものと考えられた。

#### 2) プリズムの違いに関する検討

次に、プリズムによる違いを検討するため、A社の装置において、ZnSeプリズム、Geプリズムでも測定を行った。その結果、ZnSeプリズム(図3)では、ダイヤモンドプリズムでのスペクトルとほぼ一致したが、Geプリズム(図4)では、全体にピーク強度が弱く(図4の縦軸は102.5~90%Tであることに注意)、特に高波数側では、他のプリズムでは観察されたピーク(2920 cm<sup>-1</sup>, 2970 cm<sup>-1</sup>付近)が、ピークとして認識できないほど小さかった。従って、ATR 測定においては、プリズムによって違いがあると考えた。

#### 3) ATR 補正機能の違いに関する検討

ATR 法は原理的に、ピーク強度が波数に依存し、低波数側ほどピーク強度が大きくなるため、一般に、機器メーカーの解析ソフトには、ATR 補正機能が備わっている。そこで、機器メーカー間での ATR 補正機能の違いについて比較検討を行った。今回は、ダイヤモンドプリズムでのスペクトルについて ATR 補正を行った。その結果、A社の ATR 補正後のスペクトル(図5)に比べ、B社の ATR 補正後のスペクトル(図6)では高波数側(3000 cm<sup>-1</sup>以上)が低くなるなど、両者は一致しなかった。従って、ATR 補正機能は機器メーカーにより違いがあるものと考えた。

## D. 考察

本研究では、食品添加物等の国内規格基準の向上などを目的にして、ATR 法による IR の確認試験への利用の可能性を検討した。測定試料として、第17改正日本薬局方において ATR 法が採用されているモンテルカストナトリウムを取り上げ、ATR 法による IR 測定法を検討した。

まず、測定に用いる装置による違いを検討するため、2社の機器メーカーの装置でダイヤモンドプリズムを用いて測定した。その結果、A社のスペクトルとB社のスペクトルは、全体の強度は異なるものの、ピークの相対強度や波数はほぼ一致し、ダイヤモンドプリズムを用いた ATR 測定においては、機器メーカー間での差はほぼ無いものと考えられた。

次に、プリズムの違いに関する検討を行った。ATR 法は、プリズムと試料の境界面で入射光が全反射する際に、試料への光のもぐり込みが生じ、その時の光の吸収を測定して

いる。もぐり込み深さはプリズム、試料の屈折率に依存するため、プリズムによってもぐり込み深さが異なり、スペクトルが異なる可能性が考えられる。

そこで、プリズムによる違いを検討するため、A社の装置において、ZnSeプリズム、Geプリズムでも測定を行った。その結果、ZnSeプリズムでは、ダイヤモンドプリズムでのスペクトルとほぼ一致したが、Geプリズムでは、全体にピーク強度が弱く、特に高波数側では、他のプリズムでは観察されたピークが、ピークとして認識できないほど小さかった。従って、ATR測定においては、プリズムによって違いが有ると考えた。

さらに、ATR補正機能の違いに関する検討を行った。ATR法は前述の原理に基づいており、もぐり込み深さは波数に依存する。もぐり込み深さは試料の光路長に相当し、吸光度(ピーク強度)は光路長に比例するため、ATR法ではピーク強度が波数に依存し、低波数側ほどピーク強度が大きくなる。そのため、一般に、機器メーカーの解析ソフトには、ATR補正機能が備わっている。そこで、機器メーカー間でのATR補正機能の違いについて比較検討を行った。今回は、ダイヤモンドプリズムでのスペクトルについてATR補正を行った。その結果、A社のATR補正後のスペクトルに比べ、B社のATR補正後のスペクトルでは高波数側が高くなるなど、両者は一致しなかった。従って、ATR補正機能は機器メーカーにより違いがあるものと考えた。

第17改正日本薬局方において、ATR法の測定法としては「ATR(減衰全反射)プリズム面に試料を密着させ、その反射スペクトルを測定する。」とあり、今回扱ったモンテルカ

ストナトリウムのATR法での確認法は、標準品との比較となっている。本研究で得られた結果より、食品添加物の測定法をATR法で規定する場合は、ATR補正を行わない、生スペクトルの測定結果を用いる必要があり、確認法として参照スペクトルとの比較、或いは波数規定を行う場合は、プリズムの種類や補正の有無などの条件を規定する必要があると考えられた。条件の既定を行わない場合は、同一条件で測定することを前提として標準品との比較が妥当であると考えられた。なお、今回は、入射角45°の一回反射の条件でしか検討できなかったが、ATRモジュールとして、多重反射型や入射角可変型の製品も市販されており、今後、これらのモジュールの可否も含め、規定を検討する必要があると考えられた。

## E. 結論

食品添加物の規格基準の向上を目的として、食品添加物の確認試験に国際的に多用されている赤外スペクトル(IR)法について、近年普及しつつあるATR法の確認試験への利用の可能性を検討した。その結果、同一の条件で、ATR補正を行わなければ、機器メーカーによるスペクトルの違いは無いことが確認できた。一方、同一の装置でも、プリズムの種類によりスペクトルが異なる可能性があること、ATR補正機能は機器メーカーにより違いがある可能性があることを示した。以上より、食品添加物の確認試験に、ATR法を積極的に取り入れていくべきであるが、確認試験にATR法を取り入れる場合は、標準品との比較を行うか、プリズムの種類や補正の有無などの条件を規定した上で参照スペクトルとの比較、或いは波数規定を

行うことが必要であると考えられた.

#### **G. 研究発表**

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

北村 陽二, 佐藤 恭子, 小川 数馬, 小阪 孝史, 中島 美由紀, 茂野 泰貴, 高橋 茉衣夏,

小澤 梓, 斎藤 寛, 柴 和弘:食品添加物確認試験の赤外スペクトル測定における ATR 法の適用に関する検討, 日本薬学会 第 137 年会, (仙台国際センター, 宮城県), 2017 年 3 月 26 日

#### **H. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

## 赤外吸収スペクトル

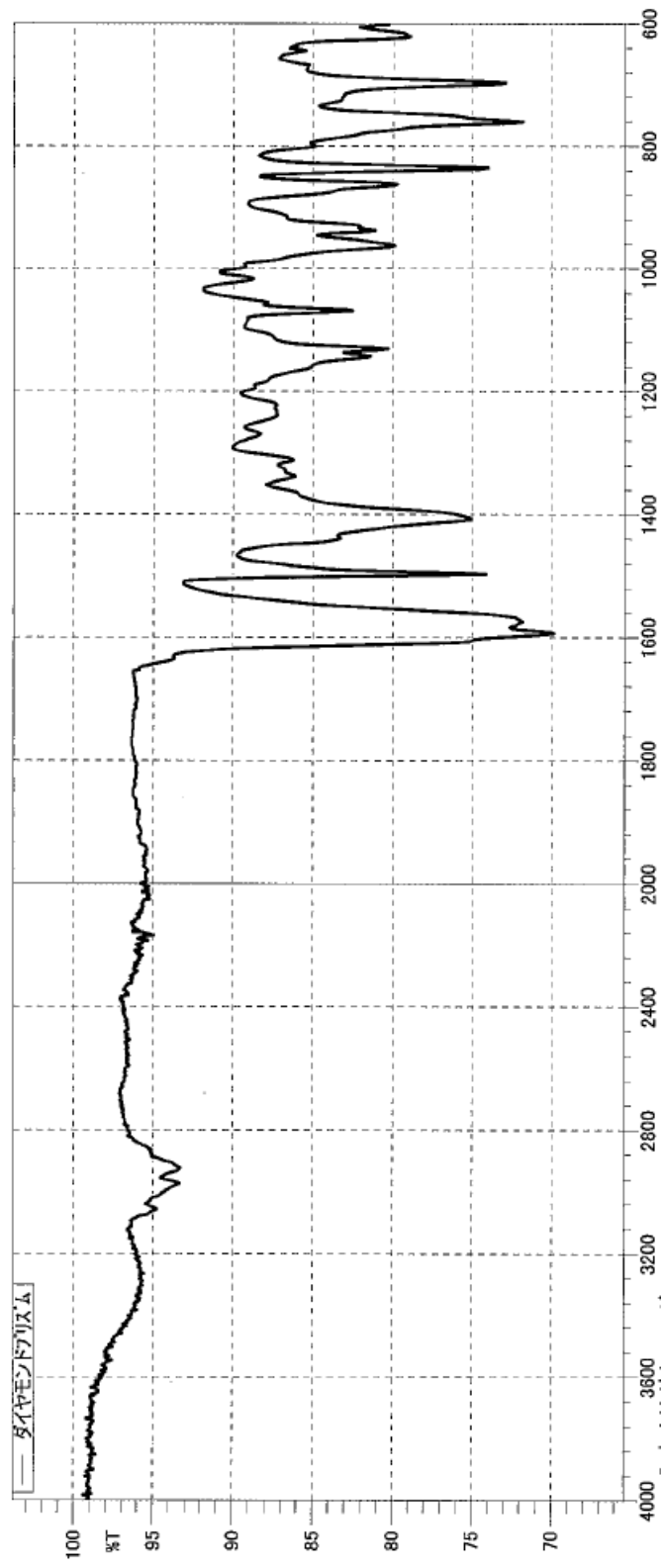


図 1. A 社 ATR スペクトル (ダイヤモンドプリズム)

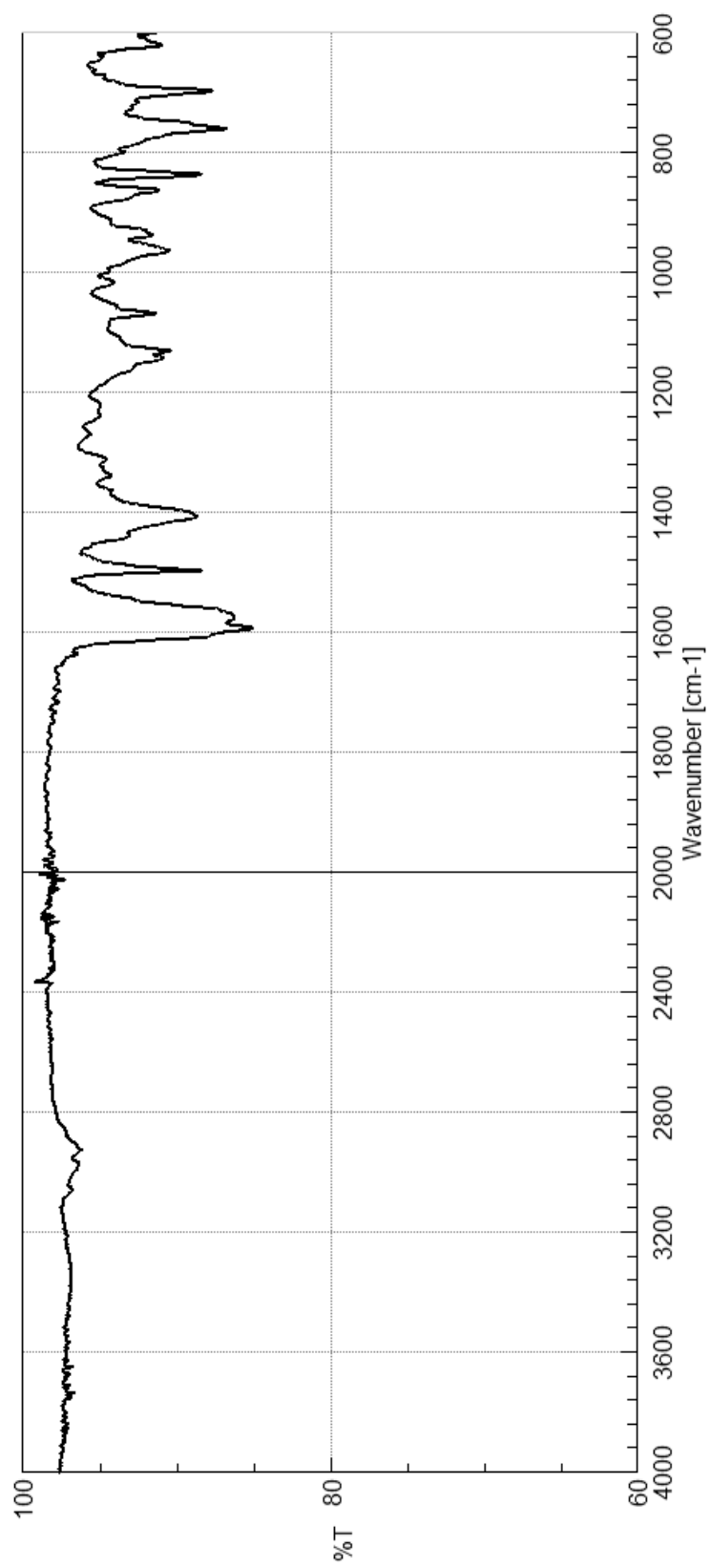


図 2. B 社 ATR スペクトル (ダイヤモンド粉末)

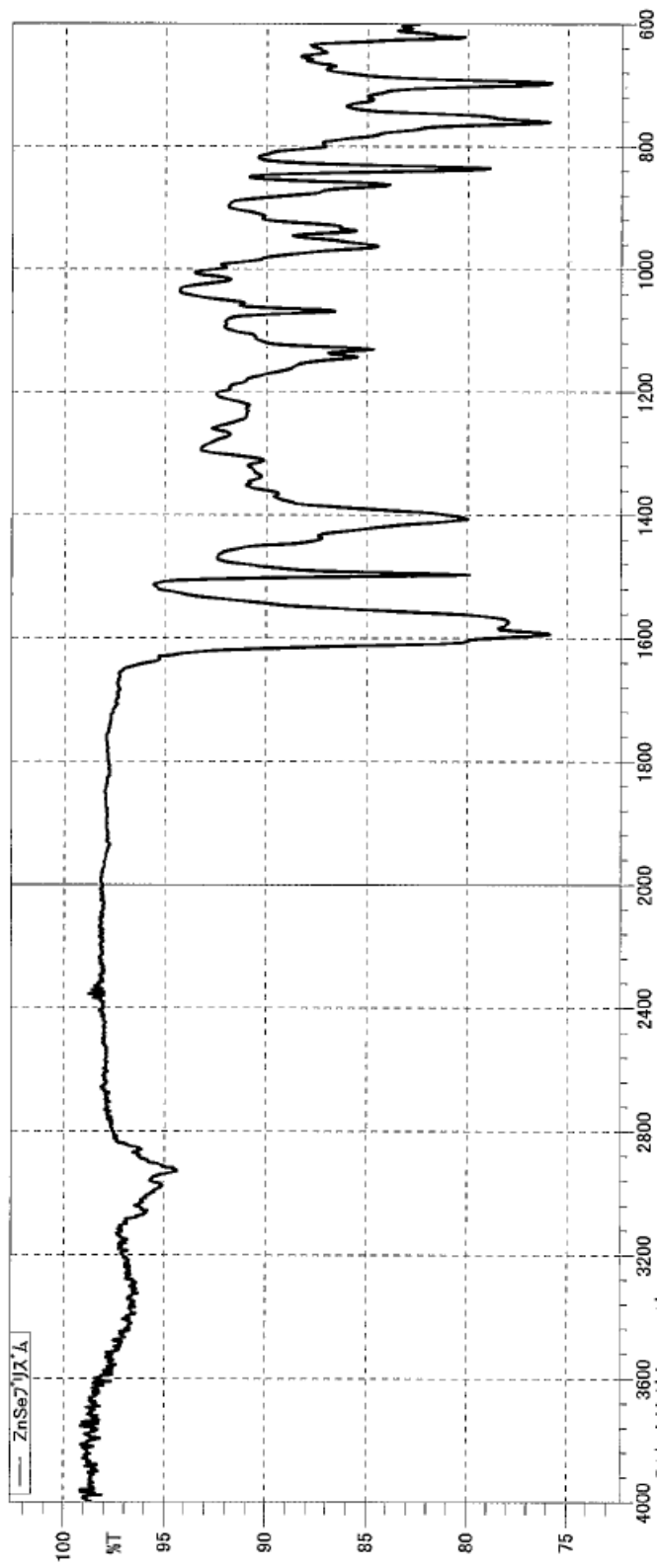


図 3. A 社 ATR スペクトル (ZnSe プリズム)



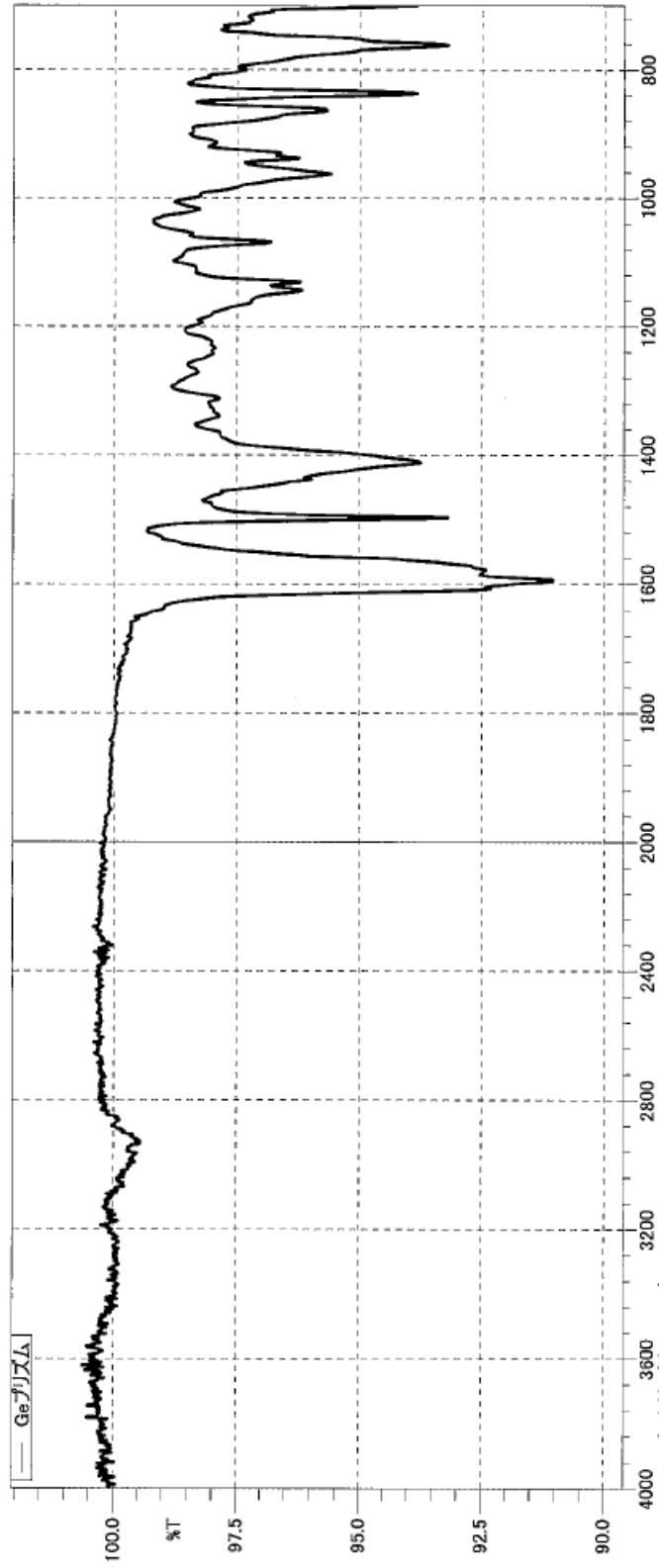


図4. A社 ATR スペクトル (Geポリマー)

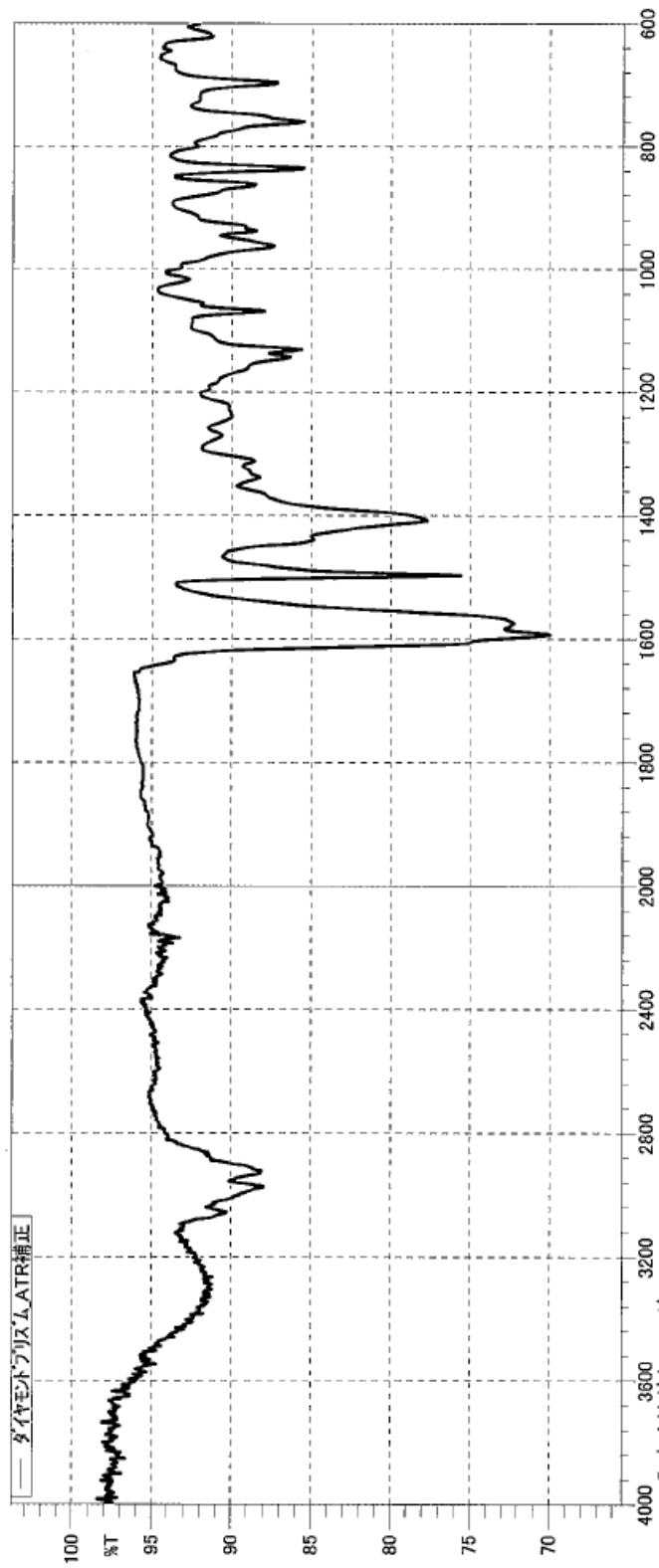


図 5. A 社 ATR スペクトル ATR 補正 (ダイヤモンドプリズム)

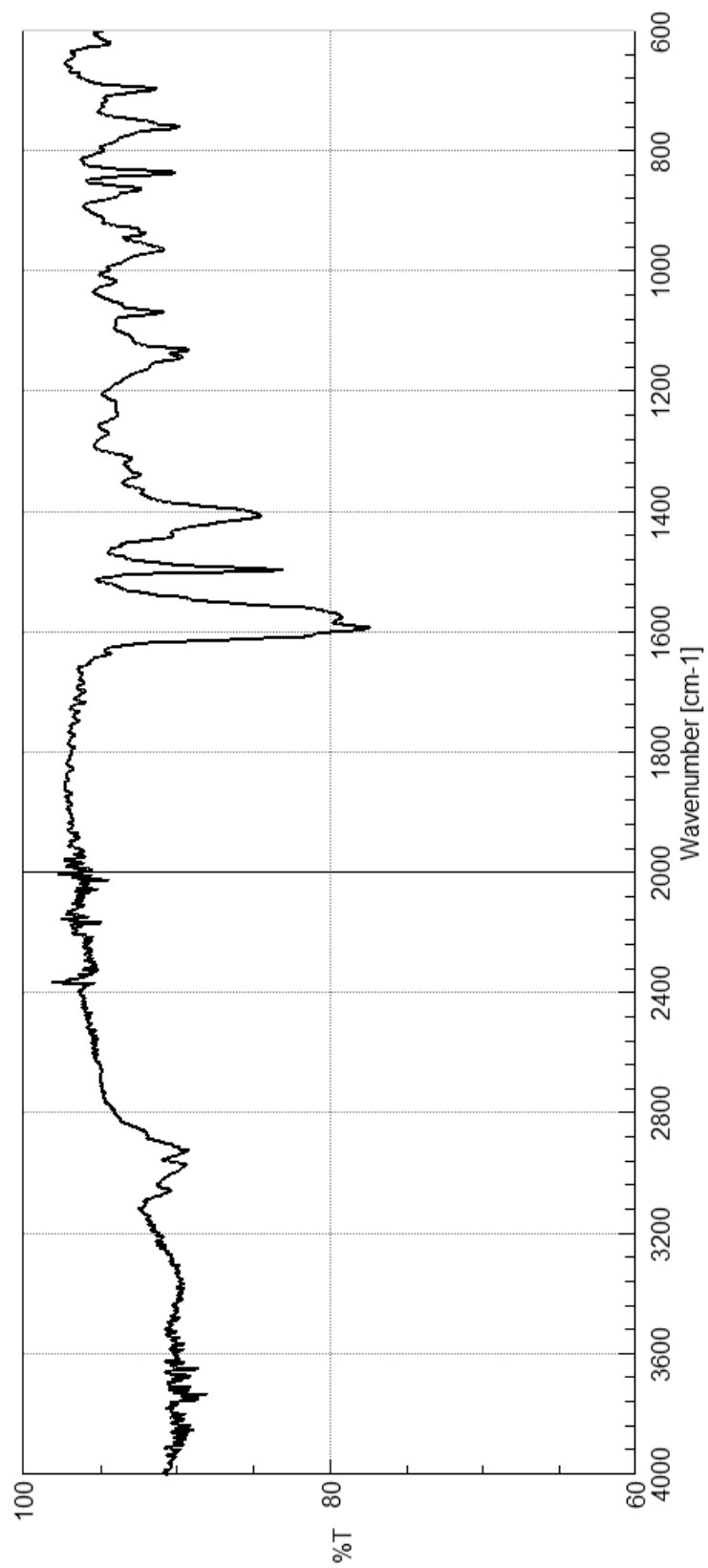


図 6. B 社 ATR スペクトル ATR 補正 (ダイヤモンドプリズム)

