

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)

既存添加物の品質確保のための評価手法に関する研究

(H29-食品-一般-007)

平成29年度～平成31年度(令和元年度) 総合研究報告書(総括)

研究代表者 杉本直樹 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 室長

## 研究要旨

### 1) 既存添加物の成分規格試験法に関する研究

既存添加物の成分規格の整備のため、国の成分規格と日添協自主規格の整備状況、国内外の規格の有無等の調査及び厚生労働省による安全性評価の実施状況について公表されている内容を調査しまとめた。また、既存添加物に特有の基原製法本質及びこれに関連する酵素の基原微生物の確認等についても継続的に調査した。さらに、酵素品目については基原種の同定、分類の考え方について調査し、分類学及び同定技術の進歩により生じた呼称変更への対応及び基原の追加に関する検討事項等についてもまとめた。従来の分析手法では成分規格を設定できない問題を抱える品目について、新規分析法の開発、応用、導入によるこの問題を解決した試験法の設定を検討した。

### 2) 既存添加物の基原同定手法に関する研究

既存添加物の内、酵素品目について、その本質であるタンパク質からペプチドを生成し、Mascot searchで同定したペプチドが帰属するタンパク質の基原情報を得る方法を検討した。既存添加物酵素6品目41製品をモデルにして、製品に付帯する基原情報とMascot searchで同定した基原情報を比較・評価した。検討した方法は、データベースの充実化によって、既存添加物製品から精巧な基原同定が可能であることを示唆された。既存添加物名簿収載品目のひとつである「香辛料抽出物」について、今後の規格作成に当たり、定義に含まれる73種の基原生物の学名・和名について調査した。また、相当する基原生物について、海外や天然香料における規格の有無を調査した。得られた情報をもとに、基原種として相応しいと思われる和名や学名に修正し、必要に応じて、類似する品目であると予想される天然香料や海外規格と比較しながら基原種の取捨選択を行った。本研究により、「香辛料抽出物」成分規格のうちの定義原案を整備した。

### 3) 既存添加物の含有成分の構造解析に関する研究

既存添加物名簿に収載されているレイシ抽出物、カキ色素、ルチン(抽出物)の品質規格作成のための化学的検討として、レイシ抽出物から7種の化合物を同定し、薄層クロマトグラフィー(TLC)分析の指標候補成分を見出した。カキ色素については、既存添加物名簿に記載されているフラボノイドや含有が示唆される縮合型タンニンについては、それらの定性試験を実施したが呈色反応は認められなかった。ルチンについては、原料の一つとなるカイカ(エンジュのつぼみ)由来の成分を明らかにするため、50%エタノール抽出物から16種の化合物を単離、同定した。

#### 4) 既存添加物の含有成分解析に関する研究

既存添加物ベニコウジ色素，ベニコウジ黄色素，ゴマ油不けん化物，ベニバナ黄色素，チャ抽出物及びシタン色素について有効成分または指標成分について解析を行うと共にその定量法について検討した。これらの既存添加物に対して，シングルリファレンスHPLC定量法を構築した結果，分析対象物質の定量用標準品を用いなくても，相対モル感度を値付けすることで，簡便かつ再現性の高い定量法を適応することができた。

#### 5) qNMRを用いた既存添加物の成分規格試験法に関する研究

成分規格試験法が確立されていない既存添加物に対して， $^1\text{H}$ -qNMR法が試験法として適用可能であるか明らかにする目的で，「ベニバナ赤色素」，「香辛料抽出物」の規格試験法への適用の可能性を検討した。「ベニバナ赤色素」では，carthtaminの $^1\text{H}$ -qNMR法を用いた定量と，その値付けをした溶液を用いてのHPLC定量を用いた実際の製品試料中のcarthtaminの定量の条件の検討を行った。「香辛料抽出物」は実態がわからないものも多いが，「香辛料抽出物」の内，スターアニス，クミン及びフェヌグリークを基原とするものについてそれぞれ検討し，anisaldehyde, cuminaldehyde及びtrigonellineをそれぞれ指標成分として $^1\text{H}$ -qNMRの測定条件を確立し， $^1\text{H}$ -qNMR法を用いた定量が実施できることを確認した。また，コショウでのpiperineの $^1\text{H}$ -qNMR法での定量条件についても検討を行った。

#### 6) qNMRを用いた既存添加物の分析手法に関する研究

既存添加物の成分規格試験法の効率化及び精度の向上ならびに試験法が未設定である既存添加物の分析法の確立を目的に，ラカンカ抽出物及び酵素処理ナリンジンについて， $^1\text{H}$ -qNMRとLCを組み合わせた相対モル感度（RMS）法を有効成分の定量に応用した。その結果，RMS法により，それぞれの定量用標品を用いることなく，計量計測トレーサビリティを確保した試験法設定が可能であることがわかった。

#### 7) 既存添加物の定量用標品の合成に関する研究

既存添加物の品質確保のため，従来の分析化学の手法では含量規格の設定が困難な添加物について，指標成分と同一の若しくは代替物質の定性用又は定量用標品の全合成ルートの確立を検討した。クチナシ黄色素に含まれるクロセチン(croctin)，トウガラシ色素に含まれるカプサイシン(capsaicin)，カワラヨモギに含まれるカピリン(capillin)，トマト色素に含まれるリコペン(lycopene)，ウコン色素に含まれる色素であるクルクミン(curcumin)，クチナシ黄色素果に含まれるクロシン(crocin)，及びカロテノイド類縁化合物を対象とした合成ルートを確立させた。

## 研究分担者

杉本直樹	国立医薬品食品衛生研究所 室長
増本直子	国立医薬品食品衛生研究所 研究員
西崎雄三	国立医薬品食品衛生研究所 研究員
天倉吉章	松山大学薬学部 教授
井之上浩一	立命館大学薬学部 准教授
永津明人	金城学院大学薬学部 教授
大槻崇	日本大学生物資源学部 専任講師
出水庸介	国立医薬品食品衛生研究所 部長

## 研究協力者

上田要一	日本食品添加物協会 専務理事
樋口彰	日本食品添加物協会 常務理事
卯津羅健作	日本食品添加物協会 第7部会長
林 清	東洋大学 教授
石附京子	国立医薬品食品衛生研究所 研究員
中島 馨	国立医薬品食品衛生研究所 研究員
好村守生	松山大学薬学部 准教授
辻巖一郎	国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官

## A. 研究目的

既存添加物 365 品目(枝番込み 382 品目, 但し, 香辛料抽出物を 1 品目(74 基原)とする(令和 2 年 2 月 26 日以前の品目数))の内, 第 9 版食品添加物公定書には 217 品目の成分規格が収載される. すなわち, 既存添加物名簿に収載される全品目の内, 国の成分規格が設定されたものは実質的に未だ半数, 残り 164 品目(枝番込み)と香辛料抽出物 1 品目(74 基原)の成分規格が未設定である. また, 有効性と有効成分が解明できていない品目, 自主規格が設定されているが検証試験が不十分で信頼性が低い品目が残されている. 従って, 既存添加物の成分規格を成立させるためには, 基原及び有効成分の同定に必要な調査研究の継続が必要である. また, 従来 of 機器分析法では, 既存添加物の多くが天然由来の混合物であることから, 成分の解明だけでなく品質評価に適した実効性の高い試験法が設定できない場合が多く, この問題を抜本的に解決するためには, 新しい概念に基づく評価・分析手法の開発, 実用化を自ら行う必要がある.

本研究では, 既存添加物の品質確保を目的に, (1) 成分規格が未設定である 164 品目及び香辛料抽出物(1 品目 74 基原)について, 流通実態や自主規格の有無を調査し, 得られた情報を成分規格設定に活用する. (2) 基原が明確でないものについては基原種の調査を行い, 既存添加物の定義設定の基礎資料として活用する. また, 含有成分や有効成分の解析を行い, 成分規格試験法の設定に必要な指標成分を明らかとする. (3) 従来の分析化学の手法では含量規格の設定が困難なものについては, 指標成分と同一の若しくは代替物質の定性用又は定量用標準品の全合成ルートを確立すると共に新規分析法の

開発を行い、計量計測トレーサビリティを確保した簡便且つ精確な規格試験法の設定を具現化する。(4) 分子生物学的手法を応用した酵素等の基原種の同定法を検討する。等、調査、基礎研究、実用化により、成分規格設定に資する具体的な評価手法の確立を検討した。以上、本研究では、既存添加物の品質確保のため、公的な成分規格設定の基礎資料を集積すると同時に、我が国の天然物化学分野の発展、厚生労働行政の推進に資する成果を得た。

## B. 研究方法

### 1. 既存添加物の成分規格試験法に関する研究

- 1) 既存添加物の公的な成分規格設定を目的に、第9版食品添加物公定書未収載品目について、検証用規格及び自主規格を含めた成分規格の整備状況、安全性試験実施状況、国内外規格の有無等を調査した。第10版収載既存添加物候補品目の基原・製法・本質に記載されている基原種について、削除、変更又は拡大の必要性の有無について調査した。また、酵素品目に対する基原種の同定法、分類、考え方について調査した。酵素基原生物の分類学及び同定技術の進歩により生じる呼称変更への対応及び学術情報に沿った確認、食品添加物公定書に収載された添加物酵素の定義への基原の追加を想定して調査した。
- 2) 定量用標品を得ることができない既存添加物について、定量用標品を用いない新規定量法の開発及び実用化のための基礎検討を行った。<sup>1</sup>H-qNMRの応用、<sup>13</sup>C-qNMRの実用化のための技術的基礎検討、相対モル感度(RMS: relative molar sensitivity)を応用した計量トレーサビリティを確保した定量分析法を検討した。

### 2. 既存添加物の基原同定手法に関する研究

- 1) 既存添加物の内、酵素品目の基原を同定するため、分子生物学的手法の応用を検討した。メタボローム解析などで多用される Mascot search を利用して既存添加物酵素の基原について、トレーサビリティ体系の構築を検討した。既存添加物酵素6品目41製品を試料とし、酵素の本質であるタンパク質から得たペプチドの質量情報と一致するものをデータベースから探索し、そのペプチドが帰属されるタンパク質の基原情報を確認した。
  - 2) 食品添加物の成分規格作成の解説([http://www.nihs.go.jp/dfa/\\_src/624/sakuseiforweb\\_191018.pdf](http://www.nihs.go.jp/dfa/_src/624/sakuseiforweb_191018.pdf))に従い、香辛料抽出物に含まれる73基原の基原生物の学名及び和名を提案した。原則、和名は Ylist (<http://ylist.info/index.html>)、学名は Tropicocos (<https://www.tropicocos.org>) のものを採用した。この際、海外の規格や天然香料の規格についても基原生物を調査し、提案時の参考とした。また、学名について、Ylist と Tropicocos が異なっている場合は、他規格も参考にしつつ、原則 Tropicocos のものを採用した。一方、和名については、Ylist に記載のない基原生物の和名は基原に記載しない案を提案した。
- ### 3. 既存添加物の含有成分の構造解析に関する研究
- 1) 既存添加物の内、有効成分又は成分組成が明らかとされておらず、成分規格設定が難航している品目について、成分分析を行った。レイシ抽出物、カキ色素の添加物製品及びルチン(抽出物)の原料となるカイカ(エンジュのつぼみ)について、それぞれ各種カラムクロ

マトグラフィーによる分離精製を繰り返し、化合物の単離を行った。単離した各化合物については各種機器分析データに基づく構造解析、標品との直接比較等により化合物の構造解析を行った。また、カキ色素についてはマグネシウム-塩酸反応(フラボノイドの定性試験)及び *n*-ブタノール-塩酸反応(縮合型タンニンの定性試験)を行った。

#### 4. 既存添加物の含有成分解析に関する研究

1) 既存添加物の内、有効成分又は成分組成が文献等によりある程度明らかであるが、従来の分析手法では成分規格試験法が設定できない品目、ベニコウジ色素、ベニコウジ黄色素、ゴマ油不けん化物、ベニバナ黄色素、チャ抽出物及びシタン色素について基礎検討した。

ベニコウジ色素、ベニコウジ黄色素及びシタン色素について HSCCC による色素成分の単離精製を検討した。ゴマ油不けん化物及びチャ抽出物について、RMS の算出を行った。また、RMS を利用したシングルリファレンス HPLC 定量法の妥当性評価を行った。

#### 5. qNMR を用いた既存添加物の成分規格試験法に関する研究

1) 定量用標品が入手できないため、既存添加物中の含量測定がこれまで実施できず、成分規格設定が困難とされてきた品目について、<sup>1</sup>H-qNMR を応用し、有効成分の絶対定量を行った。

ベニバナ赤色素の carthamin の定量では、単離した carthamin を <sup>1</sup>H-qNMR で純度を測定し、その溶液を希釈したものを標準液とし、HPLC で絶対検量線を作成して定量した。

香辛料抽出物については、<sup>1</sup>H-NMR で観測

されるそれぞれの基原に特徴的な各化合物のシグナルが独立したシグナルとして観測される条件を検討し、そのシグナルで <sup>1</sup>H-qNMR により直接定量が可能であるかどうか検討した。

#### 6. qNMR を用いた既存添加物の分析手法に関する研究

1) 既存添加物の品質確保のために成分規格試験法の効率化及び精度向上が必須である。この目的でラカンカ抽出物及び酵素処理ナリンジンの定量法について検討した。

ラカンカ抽出物については、入手できた 3 製品を用い、主成分モグロシド V の定量に <sup>1</sup>H-qNMR と LC を組み合わせた RMS 法により、カフェインを基準物質としてモグロシド V の含量が正確に定量できるかどうか検討した。

酵素処理ナリンジンについては、入手できた 2 製品を用い、製品中のナリンジンや糖転位ナリンジン (Naringin-G, Naringin-2G, Naringin-3G, Naringin-4G) が RMS 法により正確に定量できるかどうか検討した。また、グルコアミラーゼによる前処理を伴う方法により、ナリンジン及び Naringin-G の含量、 $\alpha$ -グルコシル残基量から正確な酵素処理ナリンジン製品中の総ナリンゲニン配糖体の含量の算出が可能であるかどうか検討した。

#### 7. 既存添加物の定量用標品の合成に関する研究

1) 定量用標品が入手不可能であるため成分規格設定が実現しない問題を有する既存添加物について検討した。クチナシ黄色素に含まれるクロセチン(croceatin), トウガラシ色素に

含まれるカプサイシン(capsaicin), カワラヨモギ抽出物に含まれるカピリン(capillin), トマト色素に含まれるリコペン(lycopene), ウコン色素に含まれるクルクミン(curcumin), クチナシ黄色素に含まれるクロシン(crocin)を対象とした合成ルートの実立を行った。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 既存添加物の成分規格試験法に関する研究

1) 第9版食品添加物公定書未収載品目について, ①自主規格(案)及び第10版食品添加物公定書成分規格(案)の作成状況, ②試験法に関する第三者及び自社検証実施状況, ③国内外の規格, ④安全性評価の実施状況, 等について調査結果をまとめた。

酵素品目については, 酵素を食品添加物として使用する場合, 食品添加物公定書に規定された規格への適合が必要となり, 特にその基原は, 食品添加物公定書のD. 成分規格・保存基準各条にある各々の酵素の定義に記載されたものに限定される。一方, 生物種, 特に微生物においては, 分類学, 及び同定の技術・手法の進歩により, 基原の呼称が改正/変更されることが少なからず発生することがあり, これに伴い, 食品添加物公定書の各品目の定義の記載と齟齬が生じる可能性がある。すなわち, 実質的には定義を逸脱している原料を用いていなくても, 合否の判断基準がなければ, 原料の学名や名称が異なるために判断を誤る原因となる。この問題を避けるために, 基原の学名変更, 新しい知見による分類学上の種名変更等に対応した判断基準を具体的に検討した。

2) 既存添加物の内, 成分規格が未設定の品目について, 各種理化学分析によって得られたデ

ータに基づき, 順次, 妥当な成分規格を作成しているところであるが, 従来法では試験法が設定できない, あるいは従来法ではその品質を確保するには十分ではない品目が多くある。この問題を解決するためには, 従来法とは異なる新規分析法を開発し, それを実用化していく以外に方法が残されていない。そこで, これまでのNMR及びクロマトグラフイーに関する知見を生かし,  $^{13}\text{C}$ -qNMRの技術的開発及び相対モル感度(RMS: relative molar sensitivity)を利用した定量法の実用化を検討した。

$^{13}\text{C}$ -qNMRの基礎的検討では, 測定条件を最適化することによって, 5%程度のばらつきを伴った定量値を算出可能とした。天然物, 類似化合物等の混合物をそれぞれの定量用標品を必要とせず直接定量できることが示唆された。精度向上は今後の課題ではあるが, 既存添加物の有効成分を直接定量し, 含量に関する基礎情報を得ることが可能と考えられ, 本法の応用が今後期待できる。

RMSの応用では, トマト色素中のリコペン, アナトー色素中のビキシン及びノルビキシンが簡便且つ精確に定量可能であることが確認できた。リコペン, ビキシン及びノルビキシンの純度既知の定量用標品は流通しておらず, また将来流通が期待できない。通常のHPLC分析にRMSを利用することで, これらの定量用標品を必要としない定量法が公的な試験法として設定できると結論した。

### 2. 既存添加物の基原同定手法に関する研究

1) ペプチドを指標とした酵素製品の基原同定法について検討した。Mascot searchの結果は以下の6つのパターンに分類できた。①帰

属されたタンパク質の機能が酵素の品目名と一致し、かつその基原が付帯情報と一致した。また、帰属されたタンパク質の分子量が SDS-PAGE の結果と一致する(23/41 製品)。

②帰属されたタンパク質の機能が酵素の品目名と一致し、かつその基原が付帯情報と一致した。しかし、帰属されたタンパク質の分子量が SDS-PAGE の結果と一致しない(2/41 製品)。

③帰属されたタンパク質の機能が酵素の品目名と一致し、かつその基原が付帯情報と一致した。また、帰属されたタンパク質の分子量が SDS-PAGE の結果と一致する。

しかし、別の基原に由来する同一機能でアミノ酸配列の相同性が 100%のタンパク質が同じ順位でヒットしたため、基原を 1 つに絞り込めない(6/41 製品)。

④帰属されたタンパク質の機能が酵素の品目名と一致した。しかしデータベースの登録がなかったため、同定結果が基原と一致しなかった(3/41 製品)。

⑤データベースに登録がなかったため、なにもヒットしなかった(2/41 製品)。

⑥帰属されたタンパク質の機能が酵素の品目名と一致した。データベースに登録があるにもかかわらず、帰属されたタンパク質の基原が付帯情報と一致しない(6/41 製品)。

以上、本法は、Mascot Search の結果を十分吟味することが必須だが、販売業者の情報提供に依存することなく、科学的に基原を判断することが可能であった。データベースの充実化とともに、より精巧な解析が期待できる。一方、Mascot search の結果が付帯情報と一致しない事例が確認された(パターン⑥)。これらについては、寄託機関あるいは販売業者から菌株を入手し、遺伝子レベルでの解析を行い、そもそも販売業者の付帯情報が妥当であったのか再確認

する必要がある。

2) 植物由来の香辛料抽出物 73 基原について、基原植物の和名及び学名を調査検討したところ、多くの基原について、基原・製法・本質に記載されている学名がシノニムであることが確認され、また、誤記と推測されるものが散見された。原則和名は Ylist、学名は Tropicos で標準とされているものを採用したが、調査した海外の規格や天然香料の規格を考慮し、基原種の取捨選択を行いながら、基原種として相応しいと思われる和名や学名を整備した。香辛料抽出物の基原生物となっている種には日本に自生していないものも多く、そもそも和名が存在しない種が多く存在した。第 9 版公定書作成時には和名の代わりに学名のラテン語読みをカタカナ表記で記載していたが、今回の基原種名の提案では、和名のないものは学名のみを記載することも併せて提案した。今後、提案した定義案をもとに、流通実態などの情報を収集し、成分規格案として整備していく予定である。

3. 既存添加物の含有成分の構造解析に関する研究

1) レイシ抽出物について、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)及び薄層クロマトグラフィー(TLC)による分析を行った結果、逆相 HPLC では紫外線(UV)検出による主要なピークは認められなかった。一方、TLC 分析条件について、展開溶媒を検討した結果、酢酸エチル/メタノール/水/ぎ酸 (20 : 2 : 1 : 0.01) で展開し、UV (254 nm)照射することで  $R_f$  値 0.6 付近に数個のスポットを確認した。これらスポットについて各種カラムクロマトグラフィーによる分離精製を行い、各種機器分

析データに基づく成分解析の結果, TLC 分析における指標成分の候補として, *lucidenic acid A* 及び *D* の 2 成分が見出された.

カキ色素について, カラムクロマトグラフィーによる分離, 精製を繰り返し実施したが, いずれの充填剤を用いても, 単一の化合物は得られなかった. カキの果実には縮合型タンニンやフラボノイドの含有が知られているため, 本色素の構成成分としてそれらの存在を確認する目的でカキ色素自体の NMR 測定を行った. その結果, 縮合型タンニンに特徴的なシグナルは観察されなかった. 本製品について *n*-ブタノール-塩酸反応, マグネシウム-塩酸反応を試験した結果, いずれも呈色は観察されなかった. それゆえ, カキ色素の本質は既存添加物名簿に記載されているフラボノイドではなく, 別の化合物であることが示唆された.

ルチン(抽出物)の原料となるカイカの 50%EtOH 抽出物及びエタノール(EtOH)抽出物について, 各種カラムクロマトグラフィーによる分離精製を繰り返し, 成分精査を行った結果, 16 種の化合物を単離, 同定した. 単離した化合物を標品とし, カイカ 50%EtOH 抽出物の HPLC 成分プロファイリングの結果, 主検出成分は *rutin* であり, その他の化合物はマイナー成分であった. これらのうち, *N-p-coumaroyl-N'-feruloylputrescin* , *N,N'-diferuloylputrescine* , *N,N'-dicoumaroylputrescine* は天然に稀少な化合物であるため, 特徴成分としてこれらを検出することで, その基原がエンジュ由来であることを示す指標となり得る可能性が考察された.

#### 4. 既存添加物の含有成分解析に関する研究

1) ベニコウジ色素, ベニコウジ黄色素, ベニバナ黄色素及びシタン色素に関して, HSCCC を用いて主成分の単離精製を行った結果, これらの主成分と報告されている化合物を高純度で獲得することができた. しかしながら, ベニコウジ色素, ベニバナ黄色素及びシタン色素に関して, 主色素成分とは別の大きなピークが検出された. このピークを HPLC で分析すると, 全くピークが検出されず, HPLC では検出できない未知の色素成分の存在が示唆された. よって, これらの品目については, さらに成分組成を分析する必要があると考えられた. 一方, ベニコウジ黄色素に関して, キサントモナシン A 及びキサントモナシン B が大きなピークとして確認され, これらが主色素成分であることが確認できた.

ゴマ油不けん化物, ベニコウジ黄色素及びチャ抽出物に関して, 主成分の市販標品及び HSCCC で単離した化合物を標品として用いたシングルリファレンス HPLC 定量法を構築した. 得られた標品の純度評価を  $^1\text{H-qNMR}$  により行い, 化合物の絶対純度を決定した. 純度決定した分析対象物質及び分析対象とは異なる単一定量用基準物質(シングルリファレンス)を用いて絶対検量線を作成し, その傾きの比により, RMS を算出した. 得られた RMS 及びシングルリファレンスを用いた定量分析を実施した結果, 従来の絶対検量線法による定量値とほぼ同じであり, 分析カラムや移動相など分析条件を変更しても再現性に影響しないことが確認できた. 以上より, シングルリファレンス HPLC 定量法を用いることによ



り、分析対象物質の定量用標品を入手できない品目についても簡便且つ迅速に定量可能であると考えられた。

## 5. qNMR を用いた既存添加物の成分規格試験法に関する研究

- 1) ベニバナ赤色素中の carthamin の定量では、<sup>1</sup>H-qNMR で値付けした carthamin の標準液を用いて絶対検量線を作成し、微量に含有される carthamin を HPLC により正確に定量する方法を確立した。<sup>1</sup>H-qNMR による carthamin の直接定量は、認証標準物質の 1,4-BTMSB-d<sub>4</sub> を内部標準として使い、pyridine-d<sub>5</sub> 溶液と carthamin の溶液を混合して <sup>1</sup>H-qNMR を測定することによって可能となった。また、<sup>1</sup>H-qNMR で値付けされた carthamin の各種溶媒での吸光係数の検証し、それぞれのモル吸光係数は DMF : 1.21 x 10<sup>5</sup> (λ<sub>max</sub> = 530), EtOH : 1.19 x 10<sup>5</sup> (λ<sub>max</sub> = 513), Pyridine : 1.48 x 10<sup>5</sup> (λ<sub>max</sub> = 540) と算出された。この値はいずれも文献値よりも大きく、<sup>1</sup>H-qNMR が確立されていなかった当時では吸光係数の算出に用いた carthamin の純度が高く見積もられていたと考えられた。

香辛料抽出物の内、スターアニスを主な基原とするもの、あるいは生薬であるスターアニス種子の anisaldehyde の <sup>1</sup>H-qNMR による直接定量条件を確立した。その結果、香辛料抽出物中の含有率は 0.24~1.4%、生薬粉末も 0.32~0.62% の含有率で、<sup>1</sup>H-qNMR が適用できる定量下限付近であることがわかった。揮発性の成分でもあることからあまり工程数を増やすことができないが、試料液の濃度を高める工夫の余地があると考えられた。

香辛料抽出物の内、クミンを基原とするも

の成分規格を作成するための基礎研究として、クミン粉末中の cuminaldehyde の <sup>1</sup>H-qNMR による定量条件を確立した。その結果、クミン粉末中の含有率は 0.36±0.02% ~ 1.84±0.06% と求められたことから、<sup>1</sup>H-qNMR はクミンを基原とする香辛料抽出物にも十分適用可能であると考えられた。

また、フェネグreekを基原とする香辛料抽出物の成分規格作成に資する情報を得る目的で、フェネグreek種子粉末中の trigonelline の <sup>1</sup>H-qNMR による定量条件を確立した。その結果、フェネグreek種子中ではロットにより 0.36~0.38%、合わせて測定を行ってみたコーヒー種子中では 0.29~0.39% という数値が得られた。

同様にして、コショウなどの辛味成分である piperine の直接定量が <sup>1</sup>H-qNMR により可能であるか検討した。その結果、コショウを基原とする香辛料抽出物の成分規格設定に応用可能であることが確認できた。

## 6. qNMR を用いた既存添加物の分析手法に関する研究

- 1) ラカンカ抽出物 3 製品について、<sup>1</sup>H-qNMR により直接定量したところ、製品中のモグロシド V の含量値は、LC で得られた含量値と比較して 6~13% 程度高い結果を示した。直接定量に用いた 6 位の水素に由来するシグナルがモグロシド V の類縁物質に由来するシグナルと分離が不十分であることに起因すると考えられた。他のモグロシド V 由来のシグナルについても、分子内の他のシグナルや夾雑成分に由来するシグナルとの重なりが観察されたことから、前処理を一切伴わない <sup>1</sup>H-qNMR によるモグロシド V の直接定

量は困難であると結論した。一方、RMS 法では、カフェインを定量用標品として、カフェインに対するモグロシド V の RMS (0.122) より算出されたモグロシド V の含量は、従来法(モグロシド V を定量用標品として用いた方法)より得られた含量と有意な差は認められなかった。従って、RMS 法を用いることにより、ラカンカ抽出物中のモグロシド V の含量を正確且つ安価に定量できることが判明した。

酵素処理ナリンジンでは、RMS 法において、測定対象とは異なる定量用標品(4-ヒドロキシ安息香酸メチル)に対するナリンジン及び糖転位ナリンジンの RMS (1.23~1.24)により算出された各測定対象の含量は、従来法(各測定対象を標品とした絶対検量線法)より得られた含量と有意な差は認められなかった。同様に、ナリンジンに対する糖転位ナリンジンの RMS (0.994~1.00)により算出された糖転位ナリンジン含量は従来法より得られた含量と有意な差は認められなかった。従って、本法により、酵素処理ナリンジン製品中のナリンジンや糖転位ナリンジン(Naringin-G, Naringin-2G, Naringin-3G, Naringin-4G)の含量を正確かつ安価に定量できることが判明した。一方、酵素処理ナリンジン製品中の糖転位ナリンジンについては、Naringin-4G にさらに様々な鎖長のポリマルトースが付加した化合物が存在していることが明白であることから、どのくらいの糖鎖長をもつ糖転位ナリンジンまでを定量の対象とするかを明確にすることで、酵素処理ナリンジン製品中の総ナリンゲニン配糖体含量の算出における RMS 法の有効性が高まるものと考えられた。また、酵素処理ヘスペリジンの成分規

格において規定されているグルコアミラーゼを用いた方法を参考として検討した提案法(A 法)は、酵素処理ナリンジン製品中の総ナリンゲニン配糖体の定量法として有用であることが判明した。また、この方法では Naringin-G の定量を行う必要があるが、含量の算出において Naringin-G とナリンジンの分子量比を計算式に代入することにより、ナリンジンを定量用標品として Naringin-G の定量が可能となることが明らかとなった。これは、ナリンジンに対する Naringin-G の RMS がほぼ 1 であることからも妥当な結論と言える。なお、今回の提案法(A 法)におけるグルコアミラーゼによる前処理は、酵素処理ヘスペリジンの他に糖転位ルチン(抽出物)においても成分規格の定量法で採用されており、汎用性の点においても優れていると言え、本法の公的な規格試験法としての採用が期待される。

## 7. 既存添加物の定量用標品の合成に関する研究

- 1) 従来の分析化学の手法では含量規格の設定が困難な既存添加物について、指標成分と同一の若しくは代替物質の定性用又は定量用標準品の全合成ルートを確認することで新たな分析法の開発を行い、簡便且つ精確な規格試験法の設定を具現化することを目的とした。クロセチン、カプサイシン、カピリン、リコペン、クルクミンについては合成が完了し、クロシンについては、モデル反応用化合物を合成し、反応の検討を行なった。また、クロシン合成のための別の方法として、クロセチンの部分構造を有するジカルボン酸化合物に対して、縮合剤を用いたカップリング

反応による種々のカロテノイド誘導体の合成も検討した。検討した方法を利用することで、クロシンの前駆体としての類縁体を合成することができた。以上、代替物質の定性用又は定量用標品における品質の向上及び安定供給が期待できる。

#### D. 健康危機情報

なし

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表.

- 1) Tanaka R, Inagaki R, Sugimoto N, Akiyama H, Nagatsu A: Application of a quantitative <sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-qNMR) method for the determination of geniposidic acid and acteoside in Plantaginis semen. *J. Nat. Med.* **2017**; *71(1)*: 315-320.
- 2) Zaima K, Fukamachi A, Yagi R, Ito Y, Sugimoto N, Akiyama H, Shinomiya K, Harikai N: Kinetic Study of the Equilibration between Carminic Acid and Its Two Isomers Isolated from Cochineal Dye. *Chem. Pharm. Bull.*, **2017**; *65*: 306-310.
- 3) 島村智子, 伊藤裕才, 久保勇人, 柏木丈拵, 石川洋哉, 松井利郎, 山崎壮, 多田敦子, 杉本直樹, 穂山浩, 受田浩之: 既存添加物チャ抽出物中のカテキン類含量と抗酸化力価の関係. *日食化誌*, **2017**; *24*:10-15.
- 4) Yoshimura M, Ochi K, Sekiya H, Tamai E, Maki J, Tada A, Sugimoto N, Akiyama H, Amakura Y: Identification of Characteristic Phenolic Constituents in Mousouchiku Extract Used as Food Additives. *Chem Pharm Bull.*, **2017**; *65*: 878-882.
- 5) Ito Y, Harikai N, Ishizuki K, Shinomiya K, Sugimoto N, Akiyama H: Spiroketalcarminic Acid, a Novel Minor Anthraquinone Pigment in Cochineal Extract Used in Food Additives. *Chem. Pharm. Bull.*, **2017**; *65*: 883-887.
- 6) Kitamaki Y, Saito N, Yamazaki T, Otsuka S, Nakamura S, Nishizaki Y, Sugimoto N, Numata M, Ihara T. Determination of PAHs in Solution with a Single Reference Standard by a Combination of <sup>1</sup>H Quantitative NMR Spectroscopy and Chromatography. *Anal. Chem.*, **2017**; *89(13)*: 6963–6968.
- 7) 佐藤(増本)直子, 西崎雄三, 斎藤直樹, 山崎太一, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子: qNMR および HPLC による機能性表示食品中の機能性関与成分ルテインの定量. *日食化誌*, **2017**; *24(2)*:75-81.
- 8) 西崎雄三, 佐藤(増本)直子, 中西章仁, 橋爪雄志, タンジャマハマドウ, 山崎太一, 黒江美穂, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子: 定量 NMR に基づく相対モル感度を利用した加工食品中のヘスペリジンおよびモノグルコシルヘスペリジンの定量. *食衛誌*, **2018**; *59(1)*: 1-10.
- 9) Akiyama H, Nose M, Ohtsuki N, Hisaka S, Takiguchi H, Tada A, Sugimoto N, Fuchino H, Inui T, Kawano N, Hayashi S, Hishida A, Kudo T, Sugiyama K, Abe Y, Mutsuga M, Kawahara N, Yoshimatsu K: Evaluation of the safety and efficacy of Glycyrrhiza uralensis root extracts produced using artificial hydroponic and artificial hydroponic-field hybrid cultivation systems. *J. Nat. Med.*, **2017**; *71*: 265-271.
- 10) Tatebe C, Ohtsuki T, Fujita T, Nishiyama K, Itoh S, Sugimoto N, Kubota H,

- Tada A, Sato K, Akiyama, H: Determination of Starting Materials, Intermediates, and Subsidiary Colors in the Color Additive Food Red No. 106 (Sulforhodamine B) using High-Performance Liquid Chromatography. *Food Chem.* **2017**; *237*: 733-742.
- 11) 三浦 亨, 杉本 直樹, 渡邊 龍一, 末松 孝子, 高柳 庸一郎, 伊藤 喜之, 斎藤 直樹, 澤 竜一, 加藤 毅, 藤峰 慶徳, 小池 亮, 大福 裕 子, 山田 裕子, 内海 博明, 鈴木 敏之:  $^1\text{H}$  核 定量核磁気共鳴分光法の標準化のためのラ ウンドロビン試験による評価. *薬学雑誌*, **2017**; *137*: 1543-1553.
- 12) Fukaya S, Yoshioka H, Nagatsu, A: The Kampo formula “Juzen-taiho-to” exerts protective effects on ethanol-induced liver injury in mice. *Fundam. Toxicol. Sci.*, **2018**; *5*(3): 105-112.
- 13) 田原麻衣子, 杉本直樹, 香川(田中) 聡子, 坂井信夫, 五十嵐良明, 神野透人: ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒドの 定量分析における qNMR を用いたトレーサ ビリティの確保. *薬学雑誌*, **2018**; *138*: 551-557.
- 14) Nishizaki Y, Masumoto N, Yokota A, Mikawa T, Nakashima K, Yamazaki T, Kuroe M, Numata M, Ihara T, Ito Y, Sugimoto N, Sato K.: HPLC/PDA determination of carminic acid and 4-aminocarminic acid using relative molar sensitivities with respect to caffeine. *Food Addit. Contam., A*, **2018**; *35*: 838–847.
- 15) Saito N, Kitamaki Y, Otsuka S, Yamanaka N, Nishizaki Y, Sugimoto N, Numata H, Ihara T.: Extended internal standard method for quantitative  $^1\text{H}$  NMR assisted by chromatography (EIC) for analyte overlapping impurity on  $^1\text{H}$  NMR spectra. *Talanta*, **2018**; *184*: 484-490.
- 16) Takahashi M, Nishizaki Y, Morimoto K, Sugimoto N, Sato K, Inoue K: Design of synthetic single reference standards for the simultaneous determination of sesamin, sesamol, episesamin, and sesamol by HPLC using relative molar sensitivity. *Sep. Sci. plus*, **2018**; *1*(7): 498-505.
- 17) Takahashi M, Nishizaki Y, Sugimoto N, Sato K, Inoue K: Single reference quantitative analysis of xanthomonasin A and B in *Monascus* yellow colorant using high-performance liquid chromatography with relative molar sensitivity based on high-speed countercurrent chromatography. *J. Chromatogr. A*, **2018**; *1555*: 45-52.
- 18) Masumoto N, Nishizaki Y, Sugimoto N, Sato, K: Phytochemical profiling of rosemary extract products distributed as food additives in the Japanese market. *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **2018**; *25*: 105-113.
- 19) 黒江美穂, 斎藤直樹, 山崎太一, 西 崎雄三, 杉本直樹, 沼田雅彦, 井原俊英:  $^1\text{H}$  核 定量核磁気共鳴分光法と HPLC の組合 せによるヘプタオキシエチレンデシルエー テル標準液の値付け. *分析化学*, **2018**; *67*: 541-549.
- 20) 増本直子, 西崎雄三, 石附京子, 中島 馨, 杉本直樹, 多田敦子, 曹永晩, 小川久美 子, 佐藤恭子: 香料 2,4-ジメチル-4-フェニル テトラヒドロフランの異性体存在比の決定. *食品化学学会誌*, **2019**; *26*: 63-67.
- 21) Masumoto N, Nishizaki Y, Maruyama T,

- Igarashi Y, Nakajima K, Yamazaki T, Kuroe M, Numata M, Ihara T, Sugimoto N, Sato K: Determination of perillaldehyde in perilla herbs using relative molar sensitivity to single-reference diphenyl sulfone. *J. Nat. Med.*, **2019**; *73*: 566-576.
- 22) Suwannarach N, Kumla J, Nishizaki Y, Sugimoto N, Meerak J, Matsui K, Lumyong S: Optimization and characterization of red pigment production from an endophytic fungus, *Nigrospora aurantiaca* CMU-ZY2045, and its potential source of natural dye for use in textile dyeing. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2019**; *103*: 6973-6987.
- 23) Nishizaki Y, Masumoto N, Nakajima K, Ishizuki K, Yamazaki T, Kuroe M, Numata M, Ihara T, Sugimoto N, Sato K.: Relative molar sensitivities of carnosol and carnosic acid with respect to diphenylamine allow accurate quantification of antioxidants in rosemary extract. *Food Addit. Contam., A*. **2019**; *36*: 203-211.
- 24) 水本俊行, 中野扶佐子, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹: 相対モル感度を利用したヒハツ抽出物中のピペリン類の HPLC 定量分析. *食衛誌*, **2019**; *60*: 134-144.
- 25) 政田さやか, 水野沙稀, 小谷彩加, 藤原裕未, 内山奈穂子, 袴塚高志, 永津明人: ピペリン及びモノグルコシルヘスヘペリジンを機能性関与成分とする機能性表示食品の製剤学的品質評価と溶出試験法の検討. *日食化誌*, **2019**; *26*: 147-152.
- 2) 杉本直樹, 西崎雄三, 佐藤(増本)直子, 村島健司, 北牧祐子, 沼田雅彦, 井原俊英, 佐藤恭子: カワラヨモギ抽出物の成分規格試験法の検討: 抗菌成分カピリンの定量法. 食品化学学会第 23 回総会・学術大会(2017.6)(志摩市).
- 3) 大槻崇, 鈴木一平, 建部千絵, 久保田浩樹, 西崎雄三, 杉本直樹, 多田敦子, 佐藤恭子: <sup>1</sup>H-qNMR を用いた食品中のサッカリンナトリウムの分析法の確立. 食品化学学会第 23 回総会・学術大会(2017.6)(志摩市).
- 4) 佐藤(増本)直子, 西崎雄三, 斎藤直樹, 山崎太一, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子: qNMR および HPLC による機能性関与成分ルテインの定量. 食品化学学会第 23 回総会・学術大会(2017.6.2)(志摩市).
- 5) 高橋未来, 西崎雄三, 多田敦子, 山崎太一, 黒江美穂, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 穂山浩, 佐藤恭子, 井之上浩一: 相対モル感度係数を利用したベニコウジ黄色素中のキサントモナシン類の定量法の確立. 食品化学学会第 23 回総会・学術大会(2017.6)(志摩市).
- 6) 障子詩織, 高橋未来, 多田敦子, 西崎雄三, 杉本直樹, 穂山浩, 佐藤恭子, 井之上浩一: ベニコウジ色素の成分規格を目指した高速向流クロマトグラフィーによる解析法の検討. 食品化学学会第 23 回総会・学術大会(2017.6)(志摩市).
- 7) 箕川剛, 中島光一, 武川泰哲, 西崎雄三, 杉本直樹: オービトラップ LC/MS の AIF 測定による既存添加物スピルリナ青色素中の総

- ミクロシスチン定量法の検討. 食品化学学会 第 23 回総会・学術大会(2017.6)(志摩市).
- 8) Nishizaki Y, Sugimoto N, Sato K: Development of a HPLC/PDA method for quantitative analysis of food components without the need for analytical standards. 254th ACS National Meeting & Exposition. (2017.8)(Washington, DC).
- 9) 北牧祐子, 斎藤直樹, 西崎雄三, 杉本直樹, 沼田雅彦, 井原俊英: ガスクロマトグラフィーの新たな展開 -定量 NMR から求めたモル比を用いる一対多型の定量法の紹介-. 日本分析化学会シンポジウム(2017.9)(東京).
- 10) 杉本直樹: 定量 NMR の公的な分析法への適用とその応用, NMR による新しい定量技術~その基礎と食品, 化学品分析への応用, 第 64 回日本食品科学工学会シンポジウム B3 (2017.8)(藤沢市).
- 11) 杉本直樹: qNMR/Chromatography の開発と規格試験への応用. 日本分析化学会第 66 年会シンポジウム 2 (2017.9)(東京).
- 12) Kuroe M, Yamazaki T, Saito N, Numata M, Ihara T, Nishizaki Y, Sugimoto N: Determination of a non-ionic surfactant without its own calibration standard by qNMR/chromatography. Asian Conference on Oleo Science 2017 (ACOS2017), (2017.9)(Tokyo).
- 13) Sugimoto N, Nishizaki Y, Ishizuki K, Suematsu T, Miura T, Yamazaki T, Kuroe M, Numata M, Ihara T, Yoshida Y, Sato K: Determination of relative molar sensitivity (RMS) by combination of qNMR and chromatography: Application of RMS for quantification of lycopene in tomato colorant. 131st AOAC Annual Meeting (2017.9)(Atranta).
- 14) 深谷栞, 吉岡弘毅, 市丸嘉, 三浦伸彦, 永津明人, 野々垣常正: アセトアミノフェンと四塩化炭素の併用による複合毒性の影響. フォーラム 2017: 衛生薬学・環境トキシコロジー(2017.9)(仙台市).
- 15) 高橋未来, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤恭子, 井之上浩一: HSCCC/qNMR-HPLC による相対モル感度係数を利用した天然色素中キサントモナシンの定量法の開発. 第 28 回クロマトグラフィー科学会議(2017.11)(東京).
- 16) 西崎雄三, 佐藤(増本)直子, 山崎太一, 黒江美穂, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子: 相対モル感度を利用した天然添加物ローズマリー抽出物中のカルノソールおよびカルノシン酸の定量分析. 日本食品衛生学会第 113 回学術講演会(2017.11)(東京).
- 17) Takahashi M, Nishizaki Y, Sugimoto N, Sato K, Inoue K: Development of quantitative analysis of main components in natural products by liquid chromatography with molar absorption coefficient ratio and high-speed countercurrent chromatography. Pittcon (2018.2)(Orlando).
- 18) Sugimoto, N: qNMR in Japan's Specification and standards for food additives. International qNMR forum in qNMR summit 2018 (2018.1)(Tokyo).
- 19) Sugimoto, N: Overview of the Introductory Meeting on qNMR. International qNMR forum in qNMR summit 2018 (2018.1)(Tokyo).
- 20) 森美保菜, 寺倉理央奈, 間瀬貴巳, 藤原裕未, 永津明人, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐

- 藤恭子：定量 NMR(<sup>1</sup>H-qNMR)を応用した生薬コウカ中の carthamin の定量. 日本薬学会第 138 年会(2018.3)(金沢市).
- 21) 藤原裕未, 三輪真子, 本間篤, 永津明人: カエデ属植物に含まれるアントシアニン化合物とその機能性. 日本薬学会第 138 年会(2018.3)(金沢市).
- 22) 神谷万里子, 木村匡男, 森健, 山岸由佳, 三嶋廣繁, 永津明人, 野々垣常正, 池田義明: Tradescantia 属植物抽出液による pseudomonas aeruginosa 標準株の増殖とバイオフィーム形成に及ぼす影響. 日本薬学会第 138 年会(2018.3)(金沢市).
- 23)
- 24) 高橋未来, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤直子, 石附京子, 中島馨, 佐藤恭子, 井之上浩一: 既存添加物の規格設定を目指したシングルリファレンス HPLC 定量法の開発 日本食品衛生学会 近畿地区勉強会(2018.3)(大坂市).
- 25) 高橋未来, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤恭子, 井之上浩一: シングルリファレンス定量分析: 相対モル感度に基づく新たな HPLC 定量法の開発とゴマリグナンへの応用. 日本薬学会第 138 回年会(2018.3)(金沢市).
- 26) 杉本直樹: 天然由来の食品添加物の利用と規制. 一般シンポジウム S26 食品にかかわる天然成分の安全性とその活用. 日本薬学会第 138 回年会(2018.3)(金沢市).
- 27) 西崎雄三, 鈴木綾乃, 良永裕子, 増本直子, 石附京子, 中島馨, 原園景, 木吉真人, 石井明子, 杉本直樹, 佐藤恭子: ペプチドを指標にした既存添加物の基原同定法の検討(1) ~酵素製品について~. 日本食品化学学会第 24 回総会・学術大会(2018.4)(東京).
- 28) 鈴木綾乃, 西崎雄三, 良永裕子, 増本直子, 石附京子, 中島馨, 原園景, 木吉真人, 石井明子, 杉本直樹, 佐藤恭子: ペプチドを指標にした既存添加物の基原同定法の検討(2) ~酵素製品について~. 日本食品化学学会第 24 回総会・学術大会(2018.4)(東京).
- 29) 高橋未来, 西崎雄三, 増本直子, 石附京子, 中島馨, 杉本直樹, 佐藤恭子, 井之上浩一: Single Reference HPLC 法によるセサモール, セサミン, エピセサミン, セサモリンの一斉分析法の構築. 日本食品化学学会第 24 回総会・学術大会(2018.4)(東京).
- 30) 高橋未来, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤直子, 石附京子, 中島馨, 佐藤恭子, 井之上浩一: シングルリファレンス HPLC 法によるゴマリグナン類の相対感度定量法の開発と食品応用. 第 78 回分析化学討論会(2018.5)(宇部市).
- 31) 森美保菜, 寺倉理央奈, 間瀬貴巳, 藤原裕未, 永津明人, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子: 定量 NMR (<sup>1</sup>H-qNMR)を応用したベニバナ赤色素・carthamin の定量. 第 17 回新規素材探索研究会セミナー(2018.6)(横浜市).
- 32) 森美保菜, 寺倉理央奈, 間瀬貴巳, 藤原裕未, 永津明人, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子: 定量 NMR 法を応用したベニバナ赤色素 carthamin の吸光係数の検証. 第 64 回日本薬学会東海支部大会(2018.6)(名古屋市).
- 33) Sugimoto N, Nishizaki Y, Masumoto N, Sato K, Suematsu T, Miura T, Yamada Y, Kitawaki Y, Yamazaki T, Kuroe M, Numata M, Ihara T: Development of single reference liquid chromatography quantitative analysis based on

- relative molar sensitivity. AOAC 132nd Annual Meeting (2018.8)(Toronto).
- 34) Miura T, Sugimoto N: Quantitation paradigm and preparation of quantitative reference standards. AOAC 132nd Annual Meeting, Symposium: Practicality of quantitative NMR in quality control (2018.8)(Toronto).
- 35) Sugimoto N: Development of single-reference HPLC quantitative analysis for chemical compounds derived from natural sources based on relative molar sensitivity. 2018 APEC workshop on food safety and food adulterated with drugs (2018.9.13)(Taipei)
- 36) Sugimoto N, Saito T, Miura T: New Proposal regarding “Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy — Quantification of reference compounds used for foods and food products — General requirements” ISO/TC34 plenary meeting (2018.10)(Washington DC).
- 37) Sugimoto N: Overview of food additive regulation in Japan. 1st TISTR and JAIMA conjoint conference (2018.11)(Bangkok).
- 38) 杉本直樹：天然添加物の品質保証：qNMR の応用と展開。第 55 回植物化学シンポジウム(2018.11)(東京)。
- 39) 石附京子, 杉本直樹, 佐藤恭子：既存添加物・シタン色素の成分解析。日本食品衛生学会第 114 回学術講演会(2018.11)(広島市)。
- 40) 辻巖一郎, 杉本直樹, 出水庸介：化学合成による既存添加物の定量用標品の供給に関する研究。日本食品衛生学会第 114 回学術講演会(2018.11)(広島市)。
- 41) 中島馨, 西崎雄三, 増本直子, 石附京子, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子：既存添加物トウガラシ水性抽出物中の抗菌成分の特定。第 55 回全国衛生化学技術協議会 (2018.11)(横浜市)。
- 42) 増本直子, 西崎雄三, 中島馨, 石附京子, 杉本直樹, 佐藤恭子：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要因。第 55 回全国衛生化学技術協議会 (2018.11)(横浜市)。
- 43) 増本直子：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。第 55 回全国衛生化学技術協議会，部門別研究会食品部門(2018.11.29)(横浜市)。
- 44) 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：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。定量 NMR クラブ第 7 回会合 (2018.12)(東京)。
- 45) 藤原裕未, 本間篤史, 永津明人：カエデ属植物の遺伝子鑑別法の開発。日本生薬学会第 65 年会(2018.9)(広島市)。
- 46) Takahashi M, Nishizaki Y, Sugimoto N, Sato K, Inoue K: Single-reference HPLC analysis for natural components based on relative molar sensitivity. PITTCON 2019 (2019.3) (Philadelphia).
- 47) 大槻崇, 松田美優, 松下明里, 小島豪, 松岡聖朗, 西崎雄三, 増本直子, 山崎太一, 黒江美穂, 沼田雅彦, 井原俊英, 杉本直樹, 佐藤恭子, 松藤寛：<sup>1</sup>H-qNMR に基づく相対モル感度を用いたラカンカ抽出物中のモグロシド V 分析法の確立。日本薬学会第 139 年会(2019.3)(千葉市)。
- 48) 末松孝子, 小松孝典, 細江潤子, 内山奈穂子, 三浦亨, 鈴木裕樹, 山田裕子, 五十



- 嵐靖, 丸山剛史, 嶋田典基, 日向野太郎, 杉本直樹, 合田幸広: 定量 NMR 法における試料調製条件の一考察: 吸湿性試薬の場合. 第 86 回日本分析化学会有機微量分析研究懇談会, 第 110 回計測自動制御学会力学量計測部会, 第 36 回合同シンポジウム(2019.6)(京都市).
- 49) 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: 指標成分ペリラ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. 第 86 回日本分析化学会有機微量分析研究懇談会, 第 110 回計測自動制御学会力学量計測部会, 第 36 回合同シンポジウム(2019.6)(京都市).
- 50) 合田幸広, 小出達夫, 細江潤子, 内山奈穂子, 杉本直樹, 村林美香, 小野誠, 小林謙吾, 藤峰慶徳, 横瀬俊幸, 清水仁, 大藤克也, 長谷部隆, 浅井由美, 江奈英里, 菊池純子, 清田浩平, 藤田和弘, 牧野吉伸, 八十歩直子, 小幡泰子, 山田裕子, 鈴木裕樹, 三浦亨, 水井浩司, 朝倉克夫, 末松孝子: 定量 NMR は, マスバランス法より標準物質の定量においてより経済的である. 第 86 回日本分析化学会有機微量分析研究懇談会, 第 110 回計測自動制御学会力学量計測部会, 第 36 回合同シンポジウム(2019.6)(京都市).
- 51) 高橋未来, 高木映里, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 井之上浩一: カテキン類の一斉分析を目指したシングルリファレンス HPLC 定量法の開発. 日本食品化学学会第 25 回総会・学術大会(2019.6)(松本市).
- 52) 松岡聖朗, 大槻崇, 藤裕志郎, 松下明里, 松田美優, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 松藤寛:  $^1\text{H-qNMR}$  に基づく相対モル感度を用いたゴマ若葉抽出物等に含まれるアクテオシドの定量について. 食品化学学会第 25 回総会・学術大会(2019.6)(松山市).
- 53) 松岡聖朗, 大槻崇, 石附京子, 藤佑志郎, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 松藤寛: フラバノン配糖体定量分析への  $^1\text{H-qNMR}$  に基づく相対モル感度法の応用. 日本食品科学工学会第 65 回大会(2019.8)(札幌市).
- 54) 小泉茉友, 中島馨, 増本直子, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 杉本直樹, 佐藤恭子: 標品不要! ステビオール配糖体の一斉定量分析. 第 5 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム(2019.9)(東京).
- 55) 酒井有希, 増本直子, 大槻崇, 松藤寛, 杉本直樹, 佐藤恭子: 機能性表示食品中のルテインの SI トレサブルな定量分析法の検討. 第 5 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム(2019.9)(東京).
- 56) 長久保直也, 建部千絵, 石附京子, 増本直子, 大槻崇, 松藤寛, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子: Single Reference HPLC 法を用いた食用タール色素中の不純物の定量. 第 5 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム(2019.9)(東京).
- 57) 内山奈穂子, 細江潤子, 杉本直樹, 五十嵐靖, 丸山剛史, 三浦亨, 水井浩司, 山田裕子, 末松孝子, 小松功典, 日向野太郎, 嶋

- 田典基, 合田幸広: 日本薬局方・定量用試薬の規格化を目的とした定量NMRを用いたエボジアミン及びマンギフェリンの絶対純度の測定. 日本生薬学会第66回年会(2019.9)(東京).
- 58) Uchiyama N, Masumoto N, Hosoe J, Sugimoto N, Maruyama T, Igarashi Y, Suematsu T, Komatsu T, Yamada Y, Takaoka S, Miura T, Mizui K, Higano T, Shimada N, Goda Y: Determination of perillaldehyde in perilla herbs based on relative molar sensitivity (RMS) using a combination of <sup>1</sup>H-quantitative NMR and HPLC/UV. GA2019 (67th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research) (2019.9) (Innsbruck).
- 59) Miura T, Sugimoto N, Suematsu T: General rules for quantitative NMR spectroscopy (JIS K0138:2018). qNMR summit 2019 (2019.10) (Rockville).
- 60) Saito T, Suematsu T, Sugimoto N: Progress in proposal of an ISO standard for purity assessment by qNMR. qNMR summit 2019 (2019.10) (Rockville).
- 61) Nishizaki Y: External Standardization in qNMR. qNMR summit 2019 (2019.10) (Rockville).
- 62) 水野沙稀, 藤原裕未, 内山奈穂子, 袴塚高志, 永津明人, 政田さやか: 機能性表示食品の品質評価に関する研究(5): イチョウ葉エキスに由来する機能性表示食品の崩壊性と溶出性について. 第8回食品薬学シンポジウム(2019.10)(静岡市).
- 63) 石附京子, 増本直子, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤恭子: 食品添加物規格基準データベースの作成と公開. 第56回全国衛生化学技術協議会年会(2019.12)(広島市).
- 64) 多田敦子, 堀江正一, 関戸晴子, 橋口成喜, 小林千種, 杉浦潤, 大槻崇, 中島安基江, 濟田清隆, 久保田浩樹, 建部千絵, 柳本登紀子, 寺見祥子, 杉本直樹, 佐藤恭子: 食品中の食品添加物分析法改正に向けた検討(平成30年度). 第56回全国衛生化学技術協議会年会(2019.12)(広島市).
- 65) 内山奈穂子, 細江潤子, 石附京子, 杉本直樹, 小出達夫, 村林美香, 小野誠, 小林謙吾, 藤峰慶徳, 横瀬俊幸, 大藤克也, 清水仁, 長谷部隆, 浅井由美, 江奈英里, 菊池純子, 清田浩平, 藤田和弘, 牧野吉伸, 八十歩直子, 大原拓郎, 山田裕子, 鈴木裕樹, 三浦亨, 水井浩司, 朝倉克夫, 末松孝子, 小浜亜以, 合田幸広 日本薬局方外標準品インドシアニングリーンの恒温恒湿下における定量 NMR (qNMR) を用いた絶対純度. 日本定量 NMR 研究会 (2019.12)(東京).
- 66) 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: Single-reference HPLC 法によるステビオール配糖体の一斉定量. 日本定量 NMR 研究会(2019.12)(東京).
- 67) 西崎雄三: NMR 分析における外部標準法の有効性と分析値にバラつきを与える要因の整理. 日本定量 NMR 研究会 (2019.12)(東京).
- 68) 内山奈穂子, 細江潤子, 杉本直樹, 石附京子, 丸山剛史, 五十嵐靖, 三浦亨, 山田裕子, 水井浩司, 高岡伸也, 末松孝子, 小松功典, 日向野太郎, 嶋田典基, 合田幸広: 日本薬局方・定量用試薬の規格化を目的とした定量NMRを用いた吸湿性化合物の絶対純度

の測定. 日本薬学会第 140 年会 (2020.3) (京都市).

- 69) 天倉吉章, 好村守生, 村井望, 重松優里, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子: 既存添加物レイシ抽出物及びカキ色素の成分解析. 日本薬学会第 140 年会(2020.3)(日本薬学会第 140 年会 Web 要旨集).

### 3. 総説・単行本

- 1) 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹: 食品分析の信頼性確保における定量 NMR に基づく相対モル感度の役割—分析種の定量用標品不要なクロマトグラフィーの開発—. FFI ジャーナル, **2019**; 224: 123-130.
- 2) Nishizaki Y, Masumoto N, Sugimoto N: Application of <sup>1</sup>H-Quantitative NMR From the Viewpoint of Regulatory Science. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier, **2019**, (DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14681-5)

### E. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

なし