

## 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に資する研究

#### 令和2年度分担研究報告書

#### 赤外スペクトル測定法に関する研究

研究分担者 北村 陽二 国立大学法人金沢大学疾患モデル総合研究センター准教授

#### 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法について、普及著しい減衰全反射法（ATR法）も含め、規格設定に関わる調査、検討を行った。その結果、異性体が存在するものに関して、異性体混合物として規定する場合には、各異性体の含有率なども規定することが必要であると考えられた。また、確認試験にATR法を取り入れる場合は、同一条件での測定を前提とした標準品との比較を行う必要があると考えられた。

#### 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。また、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、我が国での食品添加物等の規格基準の向上を目的として、ATR法も含め、規格設定に関わる調査、検討を行った。

#### B. 研究方法

測定試料は、市販品を用いた。本研究で測定に用いた装置は、JASCO FT/IR-4100（日本分光社製）である。測定は、分解能4  $\text{cm}^{-1}$ （32回繰り返り）、測定領域4000～600  $\text{cm}^{-1}$ で行った。液膜法、ペースト法の測定には、原則として、大き

さ 30~35 mm×30~35 mm、厚さ 5 mm の KBr 板を窓板として使用した。なお、対照にはこの KBr 板を使用した。また、流動パラフィン、メルク社製の赤外用 Nujol を使用した。ATR 法の測定には、前述の赤外分光光度計に、ダイヤモンドプリズム一回反射 ATR 装置（日本分光社製）を装着した装置を用い、分解能 4  $\text{cm}^{-1}$ （積算回数 96 回）、測定領域 4000~600  $\text{cm}^{-1}$  で測定を行った。

（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. 研究結果及び考察

参考となる規格基準を調査した結果、透過法である既存の測定法と、反射法である ATR 法を特に区別せずに規定しているものがある一方で、欧州薬局方（European Pharmacopoeia : EP）では、両者を明確に区別していた。ATR 法は、原理的に波長依存性があり、基本的に透過法によるスペクトルとは異なるため、透過法によるスペクトルとの比較による確認は問題がある。実際に、試料としてバニリン、ケイ皮酸を用いて検討したところ、従来の測定法（透過法）であるペースト法と ATR 法とを比較（流動パラフィンに由来するピーク領域を除いて比較）すると、ATR 法で得られたスペクトルは、ペースト法によるスペクトルと相対強度が異なる箇所が認められるなど（図 1、2）、両者のスペクトルは異なっていた。また、酢酸テルピニルについて、液膜法と ATR 法とを比較すると、ATR 法で得られたスペクトルは、液膜法によるスペクトルと相対強度が異なる箇所が

認められるなど（図 3、4、5）、両者のスペクトルは異なっていた。従って、確認試験において ATR 法で得られたスペクトルと、透過法で得られたスペクトルの比較による確認は問題があると考えられた。

一方で、食品添加物（香料）には、異性体混合物が規定される場合がある。異性体混合物の場合には、異性体の混合比率によって、スペクトルが異なってくるのが考えられる。そこで、異性体を有する酢酸テルピニルを取り上げ、複数のメーカー品に関して比較検討を行った。A 社は  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  の異性体を含む、とされ、純度 97%（以上）であり、B 社は異性体混合物とされ、純度 85%（以上）であり、C 社は  $\alpha$  体含有とされ、純度 98%（以上）である。液膜法で測定した結果、A、B 社はほぼ一致したが、異性体の混合率の異なる C 社では、A、B 社では認められなかった 2836  $\text{cm}^{-1}$  のピークが認められるが、A、B 社では認められた 833  $\text{cm}^{-1}$  のピークが認められないなど、A、B 社と C 社の間では、スペクトルに差が認められた（図 6）。ATR 法で測定した場合でも、同様の傾向を示した（図 7）。従って、異性体混合物として規定する場合には、各異性体の含有率なども規定することが必要であると考えられた。

### D. 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、普及著しい減衰全反射法（ATR 法）も含め、規格設定に関わる調

査、検討を行った。参考となる規格基準を調査した結果、透過法である既存の測定法と、反射法である ATR 法を特に区別せずに規定してものがある一方で、EP では、両者を明確に区別していた。ATR 法は、原理的に波長依存性があり、基本的に透過法によるスペクトルとは異なるため、透過法によるスペクトルとの比較による確認は問題がある。実際に、試料としてバニリン、ケイ皮酸、酢酸テルピニルを用いた場合、従来の測定（透過）法であるペースト法、液膜法と ATR 法とを比較すると、ATR 法で得られたスペクトルは、ペースト法、液膜法によるスペクトルとは異なっていたことから、確認試験において ATR 法で得られたスペクトルと、透過法で得られたスペクトルの比較による確認は問題があると考えられた。また、酢酸テルピニルを用いて異

性体混合物に関して検討した結果、液膜法、ATR 法いずれで測定した場合でも、異性体の混合比率の異なる試料間では、スペクトルに差が認められた。従って、異性体が存在するものに関して、異性体混合物として規定する場合には、各異性体の含有率なども規定することが必要であると考えられた。今後、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り、確認試験に ATR 法を取り入れる場合、同一条件での測定を前提とした標準品との比較を行う必要があると考えられた。

#### **E. 研究発表**

なし

#### **F. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

## 赤外スペクトル

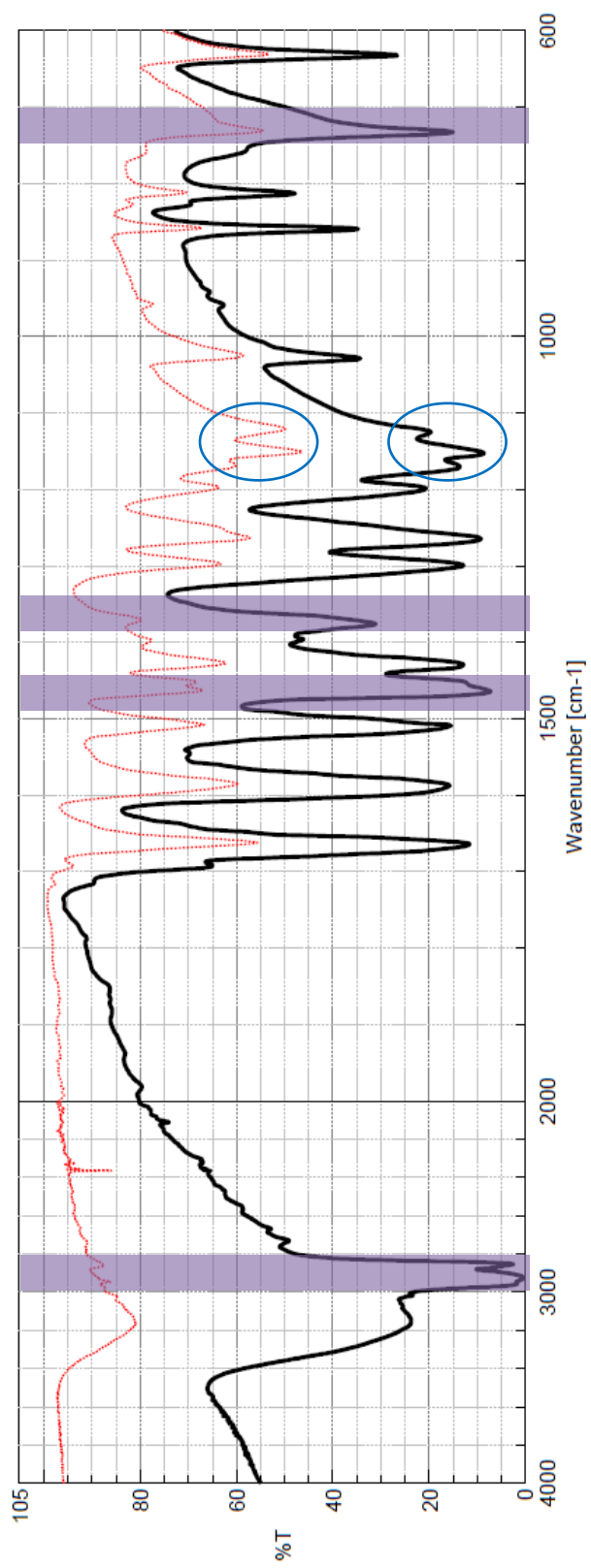


図 1. バニリン (直線：ペースト法、破線：ATR)  
 流動パラフィンのピーク領域

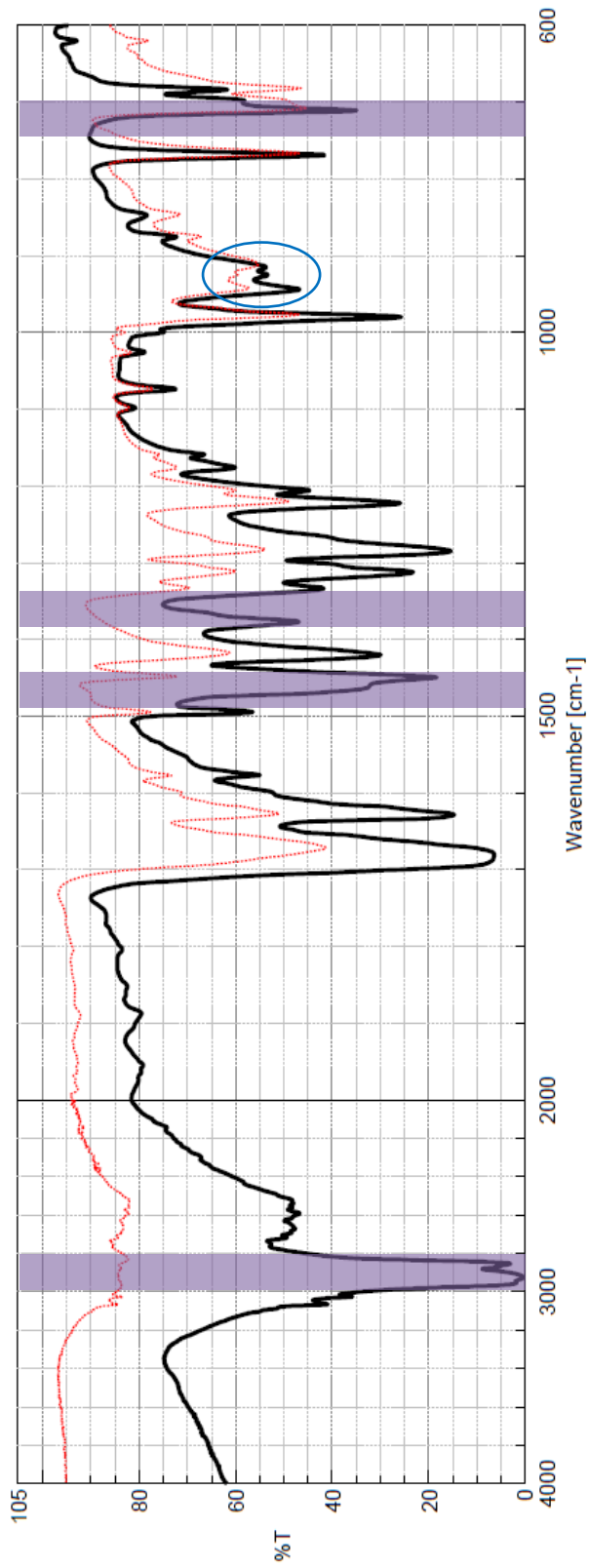


図 2. ケイ皮酸 (直線：ペースト法、破線：ATR)  
 流動パラフィンのピーク領域

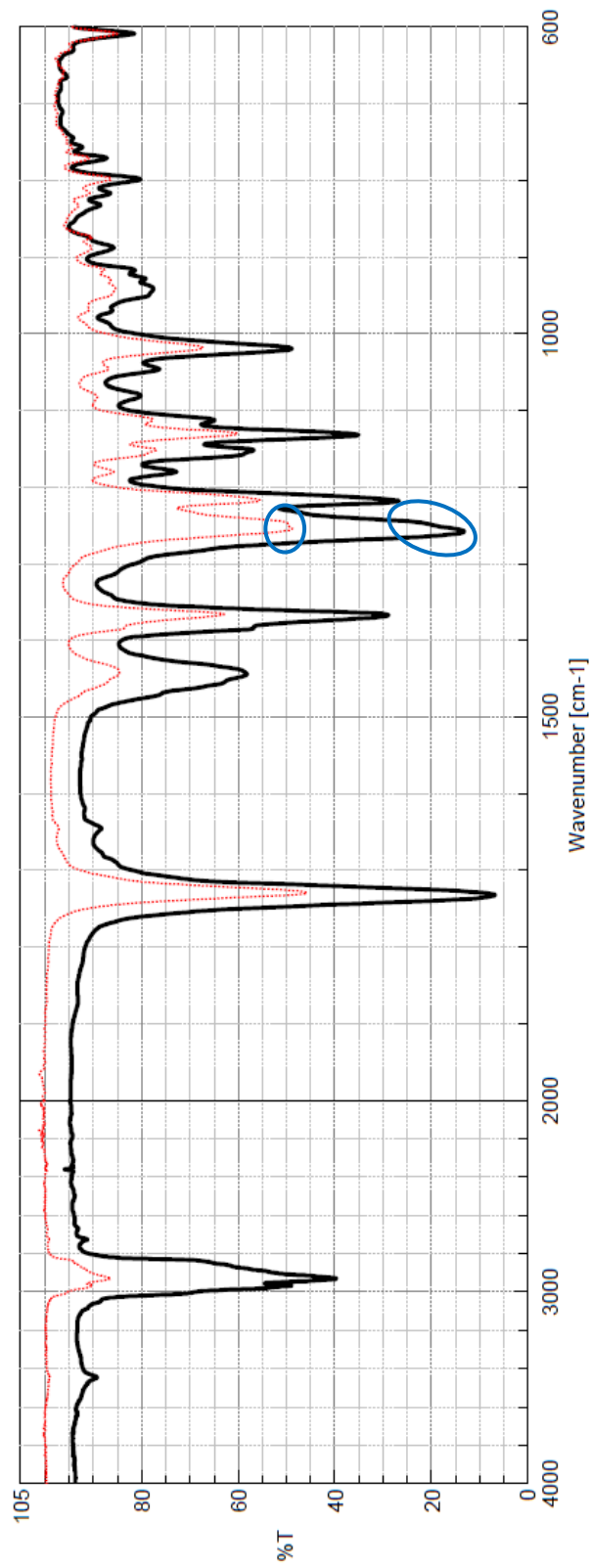


図 3. 酢酸テルピニル A 社(α,β,γ 異性体含有) (直線：液膜法、破線：ATR)

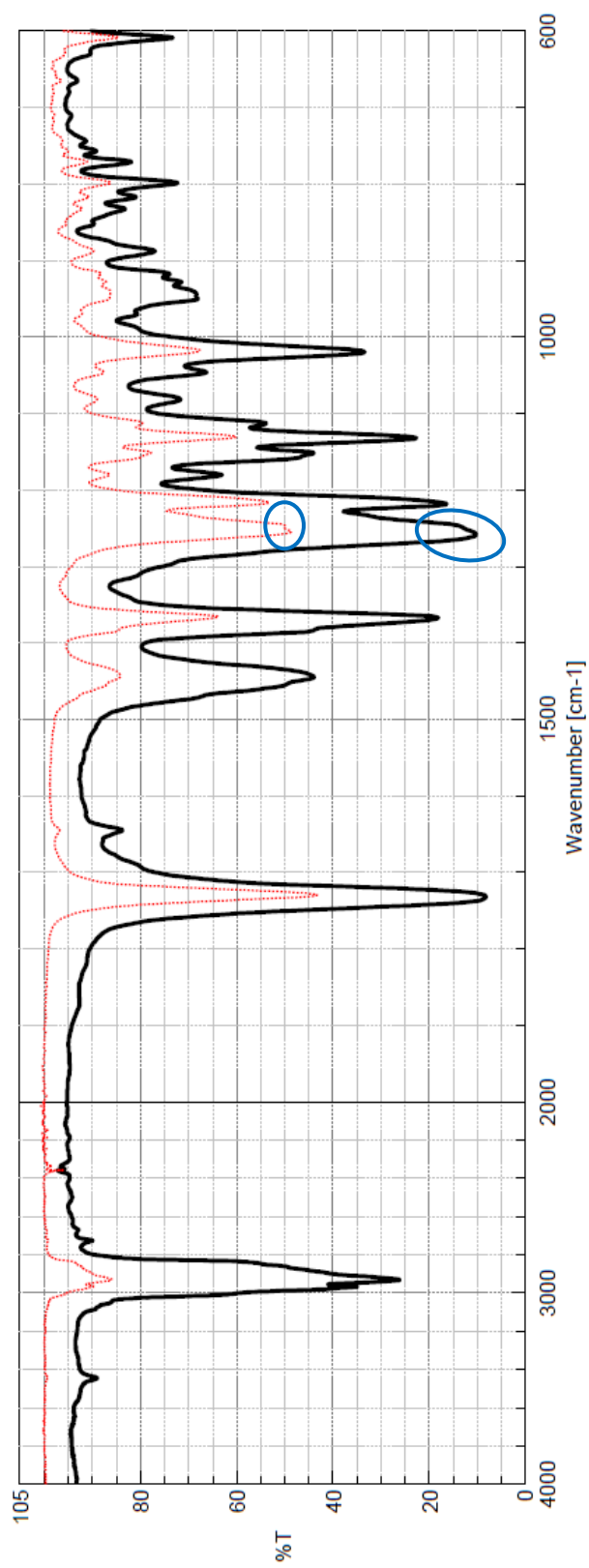


図 4. 酢酸デルピニル B 社(異性体混合物) (直線：液膜法、破線：ATR)



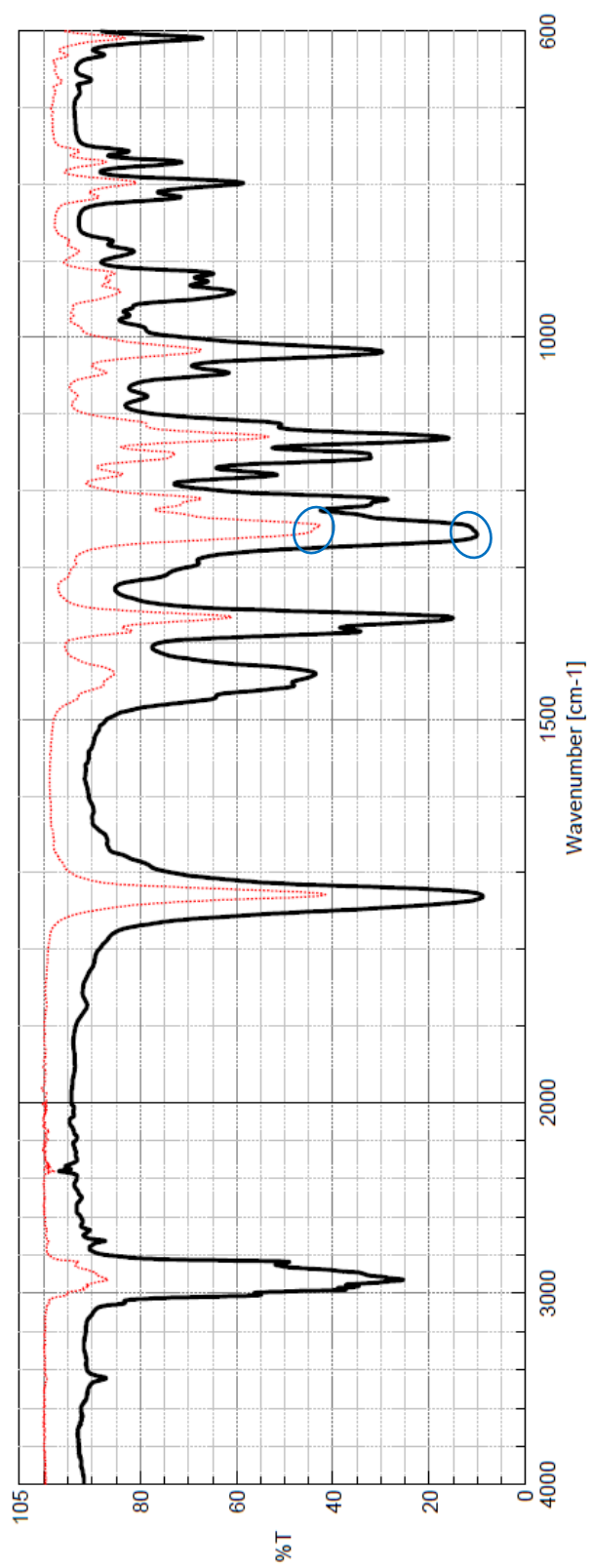


図 5. 酢酸テルピニル C 社(α 体含有) (直線：液膜法、破線：ATR)

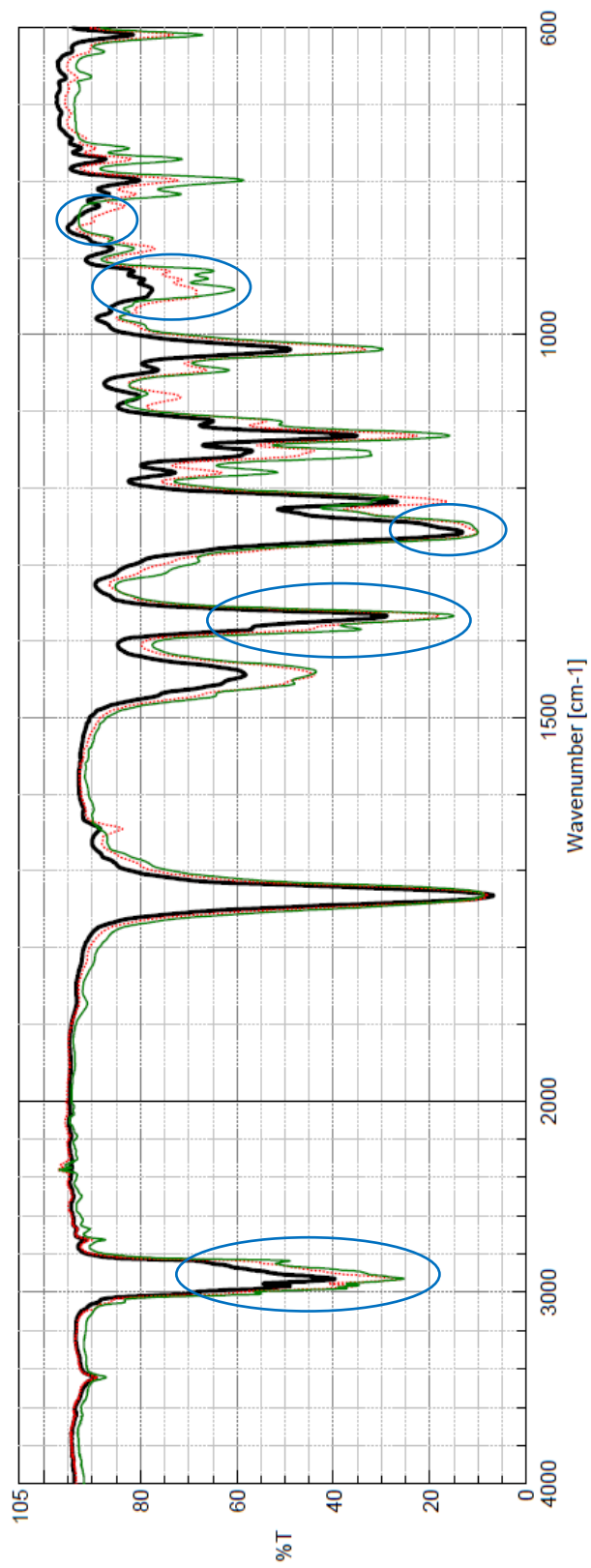


図 6. 酢酸テラルピニル液膜法 (黒線 : A 社( $\alpha, \beta, \gamma$  異性体含有)、破線 : B 社(異性体混合物)、  
 緑線 : C 社( $\alpha$  体含有))

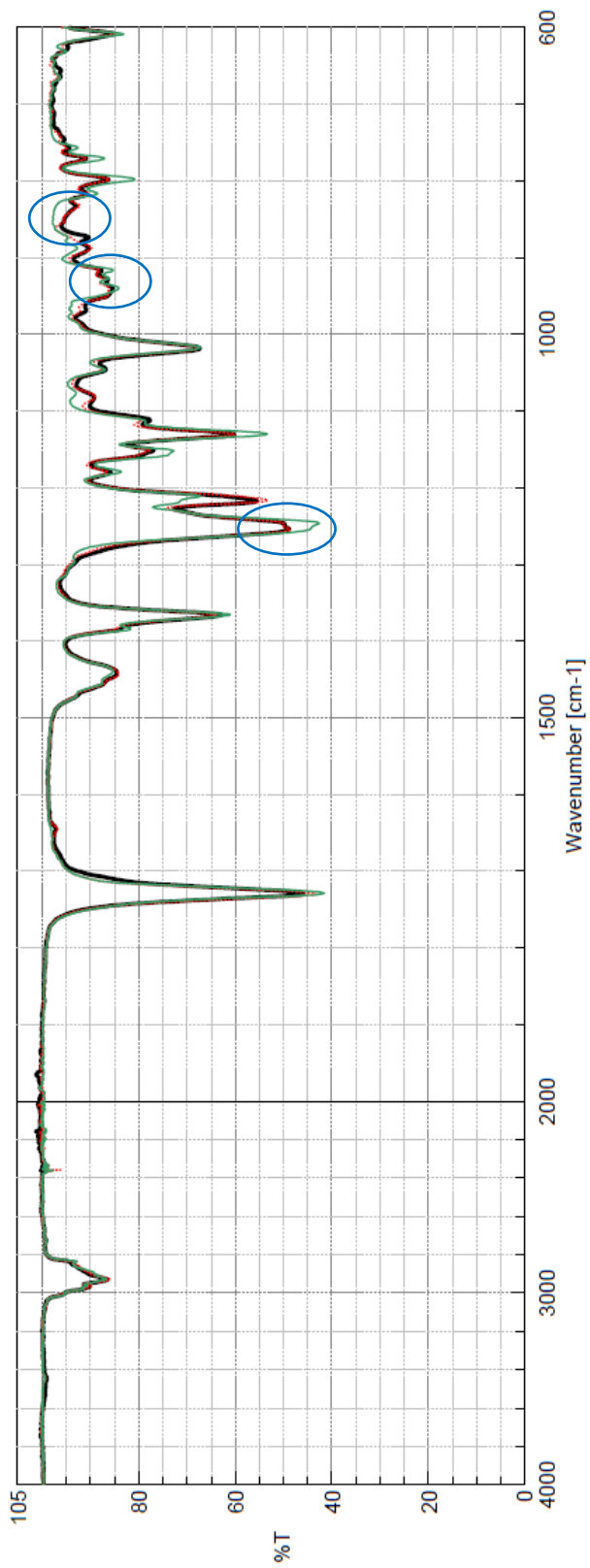


図 7. 酢酸デルピニル ATR 法 (黒線 : A 社( $\alpha,\beta,\gamma$  異性体含有)、破線 : B 社(異性体混合物)、  
 緑線 : C 社( $\alpha$  体含有))

