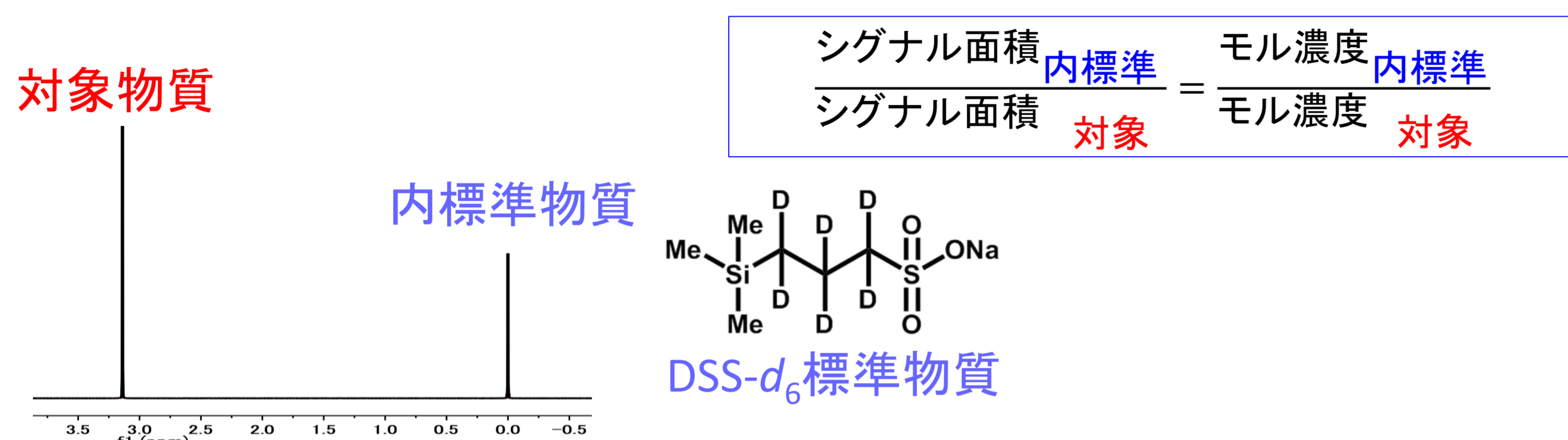


Introduction

- 機能性関与成分をはじめ、機能性成分の分析では、一般的にHPLCなどの機器分析法が用いられています。ただし、多種多様な機能性成分の中には、信頼性の高い定量用標準品の入手が難しいもの、機器分析法の適用そのものが難しい場合もあり、JFRLでもお客様のニーズに対応できないことがあります。
- 分析法の妥当性は適切な表示、製品・原料の品質保証の基本であり、機能性表示食品ではガイドラインの改正により、分析法の妥当性についてより具体的に示されました。
- JFRLでは10年以上に亘って、定量NMR法を検討・開発し、その発展に寄与するとともに、外部専門委員として定量NMR法のJIS及びJAS収載、ISO化への取り組みに携わることで、技術面のみならず、最新情報や専門家とのネットワーク構築などのナレッジを蓄積しております。それらの基盤を活かし、特にここ数年は、機能性成分への適用性について検討しています。

定量NMRとは

NMR信号(シグナル)の面積はモル濃度に比例する。
対象物質の量は、標準物質との比例式から直接求められる。



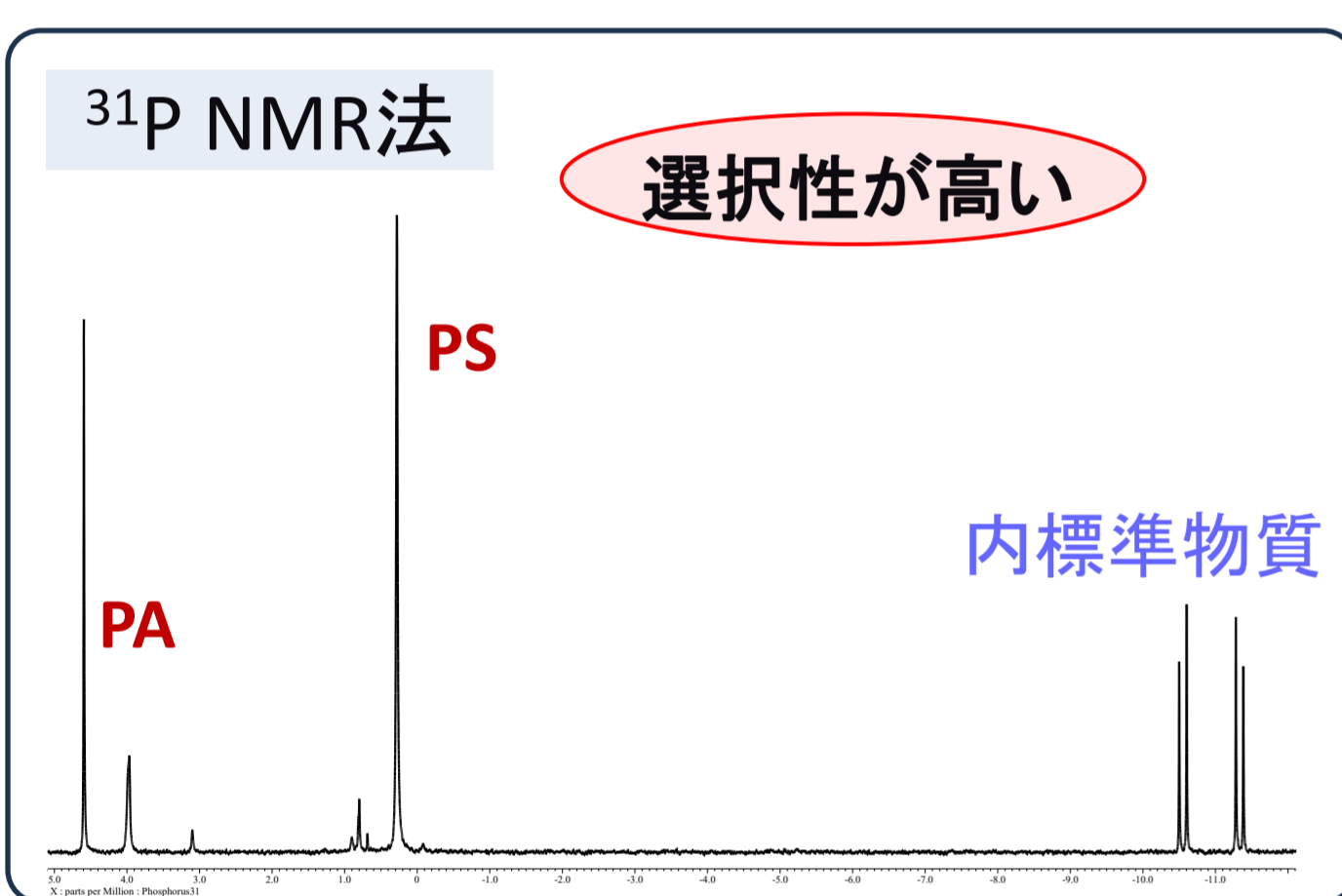
- 長所**
- 標準品が不要(絶対定量法)
 - 有機化合物全般が測定対象
 - 高分子化合物でも測定可能
 - 簡便・迅速

- 短所**
- 高含量でないと測定できない
 - 特異的なシグナルが必要
 - 装置が高価
 - 熟練した技術者が必要

サプリメントは濃度が高いこと、機能性成分は多種あり、特殊なシグナルを持つ可能性があること、プラセボ試料の入手が可能なこと等から、定量NMRの対象として適している。

事例①ホスファチジルセリン(PS)サプリメントの定量

リン脂質の定量



HPLC法

検出: RI検出 or ELSD検出
あらゆる有機成分が反応するため、妨害成分の影響を受けやすい(選択性が低い)。

測定方法例

サンプル
+ 界面活性剤溶液
+ 内標準溶液

振とう抽出(50°C, 1時間)

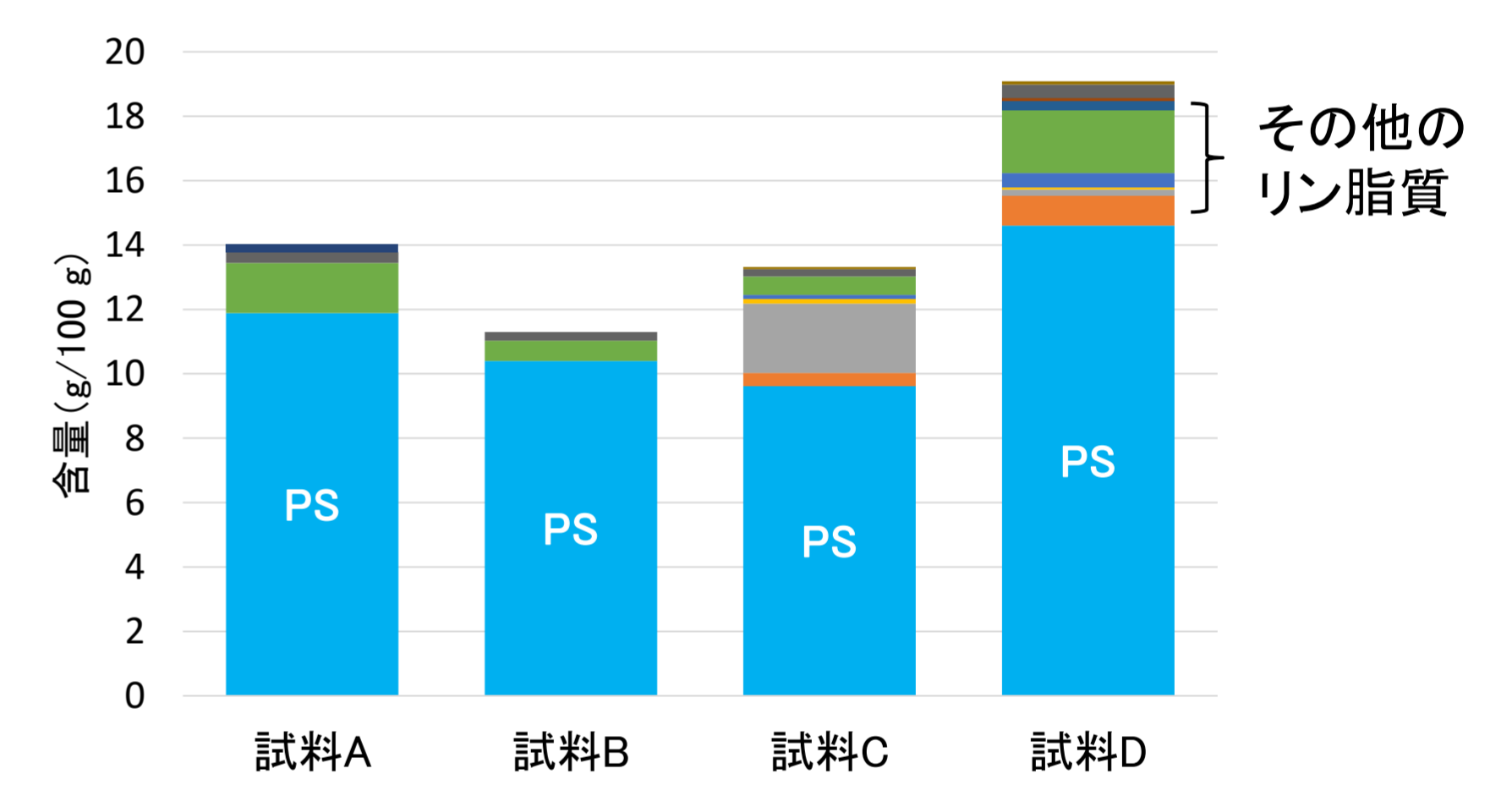
遠心分離

水層

pH補正 (6.90 ± 0.04)

³¹P NMR測定

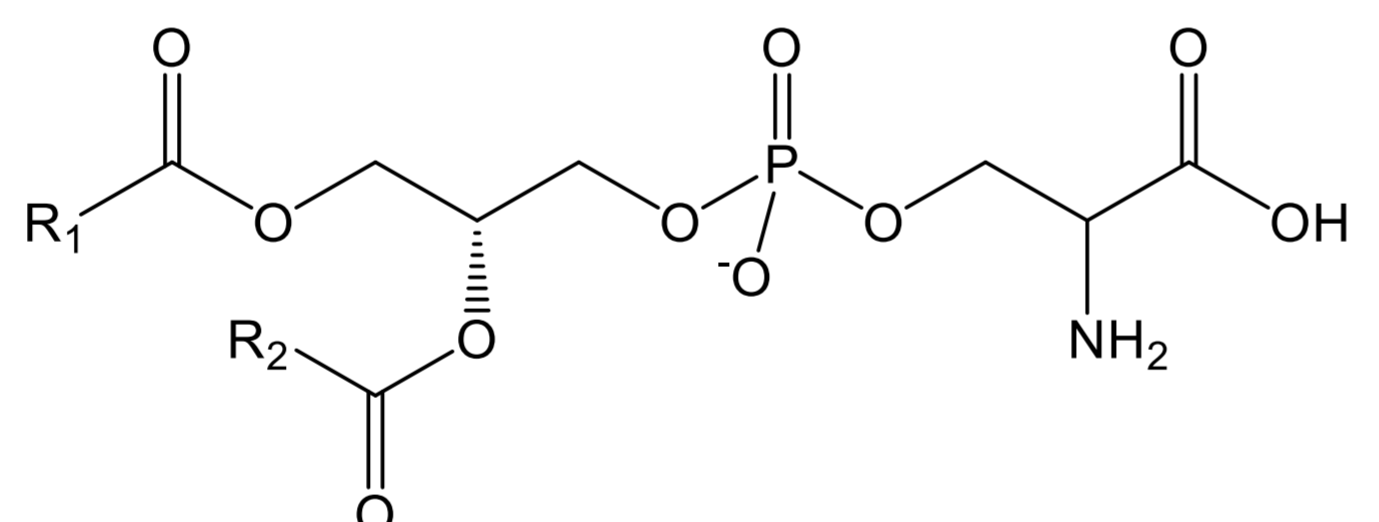
PS含有機能性表示食品の測定結果



定量値	11.9	10.4	9.62	14.6
表示値	11.6	8.30	7.40	13.0

リン脂質

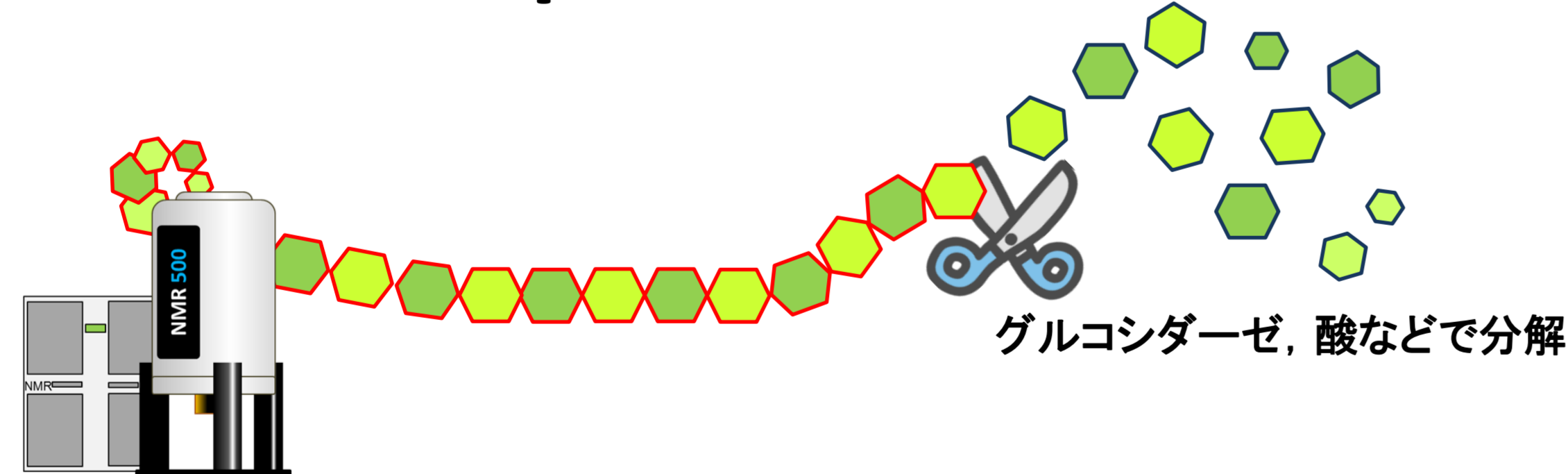
- ・ホスファチジルコリン(PC)
- ・ホスファチジルセリン(PS)
- ・ホスファチジルエタノールアミン(PE)
- ・ホスファチジルイノシトール(PI)
- ・ホスファチジルグリセロール(PG)
- ・ホスファチジン酸(PA)



Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 70 (1), 33-41, 2023

表示値を上回る定量値が得られた。良好な真度、精度、選択性、特異性を確認した。

事例②(1→3)-β-グルカン及び(1→6)-β-グルカンの定量



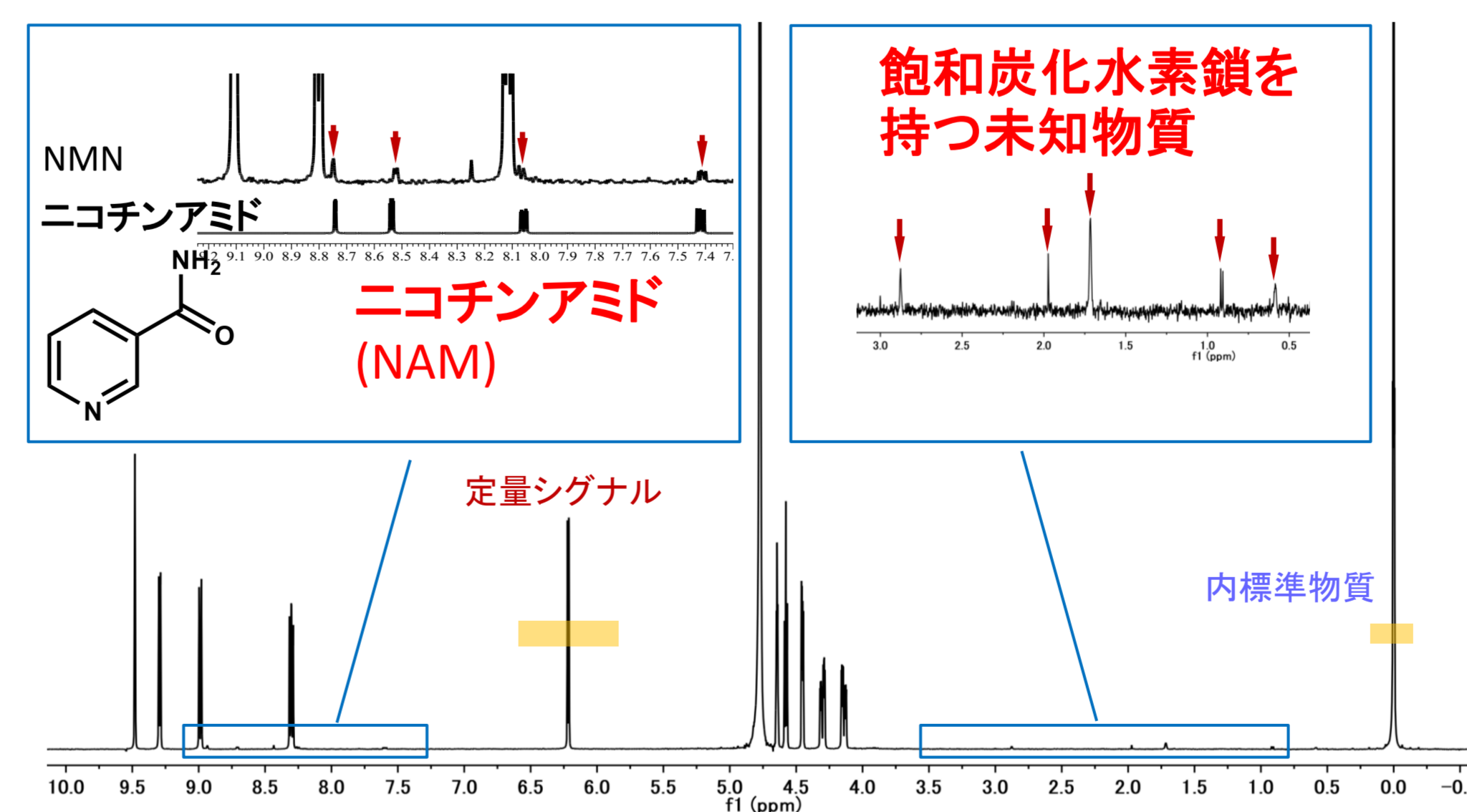
定量NMR法
抽出液をそのまま測定
β-グルカンのタイプごとに定量が可能

既存法
グルコースに分解した後、
ポストカラム誘導体化HPLCで測定

サンプル	β-グルカンの結合タイプ	定量NMR	既存法
サプリメント	(1→3)-β-グルカン	75.0%	72.8%
	(1→6)-β-グルカン	0.0%	(グルコース量として80.9%)

Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 67(11), 430-441, 2020

事例③β-ニコチンアミドモノヌクレオチド(NMN)標準品の純度測定



NMN標準品の純度

物質	含量(%)
NMN	98.1
NAM	0.3
未知物質	0.3

未知物質はアセトンと仮定して計算した。
残り1%程度は水分と推察。

純度が不確かな成分を定量NMRによって値付けすることが可能。

まとめ

- 定量NMRは、真度・精度・選択性に優れ、目的成分の標準品が不要な絶対定量法です。
- リン核や水素核で特異的なシグナルを持つ機能性(関与)成分の場合、高含量のサプリメントについて適用可能です。
- 純度が不確かな機能性成分の標準品を、定量NMRにより値付けをすることで、HPLC等クロマトグラフ法による定量分析をサポート出来ます。

当財団ではHPLC, LC-MS/MS, NMR等、様々な分析機器・手法を用いて、原料から製品まで多様な試料中の機能性成分の分析を実施してまいります。