

食品の抗酸化力評価手法の開発を中心とした、 エネ研における化合物測定事例や科学機器の紹介

公益財団法人 若狭湾エネルギー研究センター
研究開発部 生物資源研究室
主任研究員 遠藤 伸之

若狭湾エネルギー研究センターの科学機器



誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICPMS)



ガスクロマトグラフ質量分析計 (GCMS)



ラマン分光光度計



核磁気共鳴装置 (NMR)



二次イオン質量分析装置 (SIMS)



微小領域X線分析装置



走査型電子顕微鏡 (SEM)



透過型電子顕微鏡 (TEM)

赤外分光光度計 (FTIR)

電子スピン共鳴装置 (ESR)

固体用核磁気共鳴装置 (固体用NMR)

プロテインシーケンサー (アミノ酸配列解析)

DNAシーケンサー (核酸塩基配列解析)

遺伝子解析装置

バイオイメージングアナライザ

電子プローブマイクロアナライザー (EPMA)

オージェ電子分光装置 (AES) など

約50種類の先端科学機器が設置

○エネルギー分野を中心とした研究開発

○分析手法の検討と分析支援

製品開発

(合成品の構造解析、純度測定など)

品質管理のための分析

(製品純度測定、異物成分の同定など)

○高度分析機器装置の技術研修

若狭湾エネルギー研究センターの科学機器

- 所内での研究で使用
- 共同研究で使用（企業・大学・研究機関）
- 外部利用で使用（だれでも）
 - ・ 1時間あたり 100～1,230円で利用可能（加速器は除く）
 - ・ 申込者自身が操作

どうやって測定できるのか
サンプルをどのように処理すればよいか？
どの機器を使用すればよいか？



研究員・科学機器オペレーターによる
県内企業・団体への技術支援を実施

紹介する分析事例と科学機器

科学機器を活用した研究紹介

・食品の抗酸化力評価手法の開発

電子スピン共鳴装置 (ESR)

分析支援事例の紹介

①環境水に浮かんだ油膜成分の分析

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)

②バイオマス分解生成物の分析

液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC-MS)

③潤滑油中の塩分定量分析

高速液体クロマトグラフ装置 (HPLC)

④合成薬剤の分子構造確認

フーリエ変換核磁気共鳴装置 (FT-NMR)

⑤プラスチック中異物の同定分析

電子プローブマイクロアナライザー装置 (EPMA)

⑥木質廃材中の含有成分分析

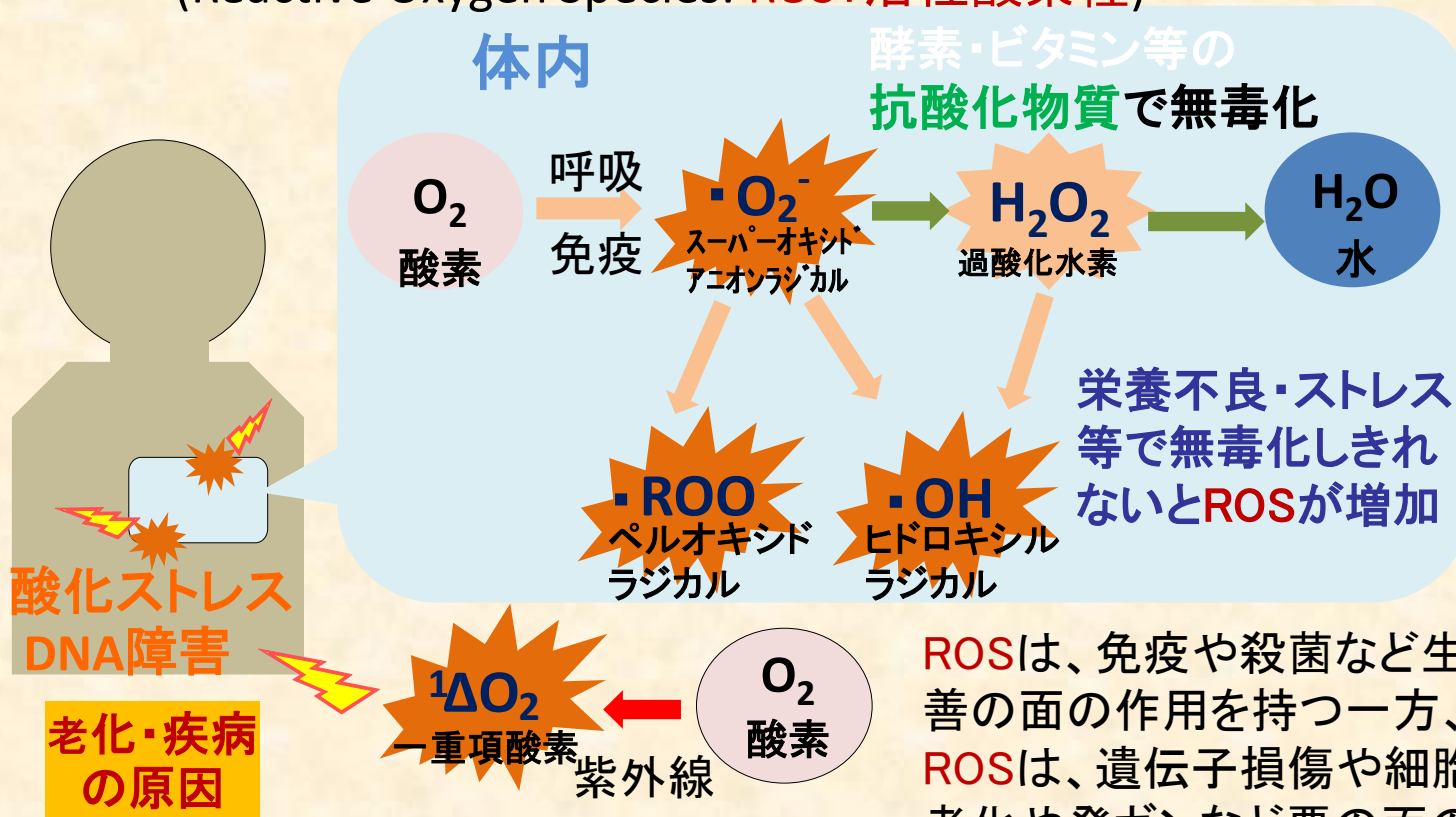
CHN分析装置 (CHN Analyzer、ICP-MS、HPLC)

科学機器を活用した研究紹介

食品の抗酸化力評価手法の開発
電子スピン共鳴装置 (ESR)

研究の背景 活性酸素と抗酸化力

体内では、酸素から種々の反応性の高い分子が生成している。
(Reactive Oxygen Species: ROS: 活性酸素種)



ROSは、免疫や殺菌など生体防御に関与し、善の面の作用を持つ一方、余剰に発生したROSは、遺伝子損傷や細胞障害を引き起こし、老化や発ガンなど悪の面の作用をもつ **諸刃の剣** である。

生体は余剰なROSを消去する機構を備える = **抗酸化物質**
抗酸化物質の持つ、ROSを消去する能力 = **抗酸化力**

研究の背景 食品の抗酸化力

抗酸化力は、生活習慣病や老化、発がんとの関連性が示唆される酸化ストレスを抑制する能力として注目されている

近年、抗酸化成分は五大栄養素、食物繊維に次いで「第七の栄養素」と呼ばれ注目されており、抗酸化力の高い食品は付加価値が高まる例が多い。

抗酸化力の
高い食品
(抗酸化活性を
有する食品)



健康志向が高まっている
中で人気が集まり、値段
も高く同種の商品でも差
別化が可能。

このため、抗酸化成分を多く含む食品の検索が進められている。
しかし抗酸化力を簡便かつ確実に評価する方法は確立されていない。

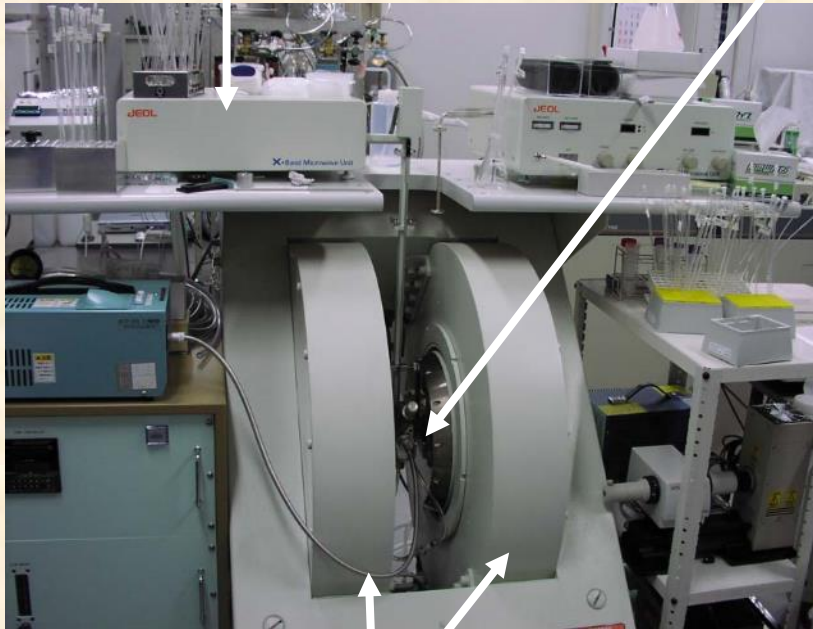
食品の抗酸化力は

- ・共通の指標がなく、それぞれが独自に評価 …… 他者との比較が困難
- ・測定法が容易なものは、科学的根拠が低い …… 疑似科学に近いものも多い

若狭湾エネルギー研究センターでは、電子スピン共鳴装置を生体内で発生する活性酸素種を測定する手法として活用した研究を行い、医学、科学の分野で成果を上げてきた。

マイクロ波(約9GHz)発振器

空洞共振器
(測定部分)



電磁石(約330mT)

信号形状で同定
信号強度で定量が可能

生体内で実際に発生している
活性酸素種を測定できる。

測定方法や結果解析が難しい。

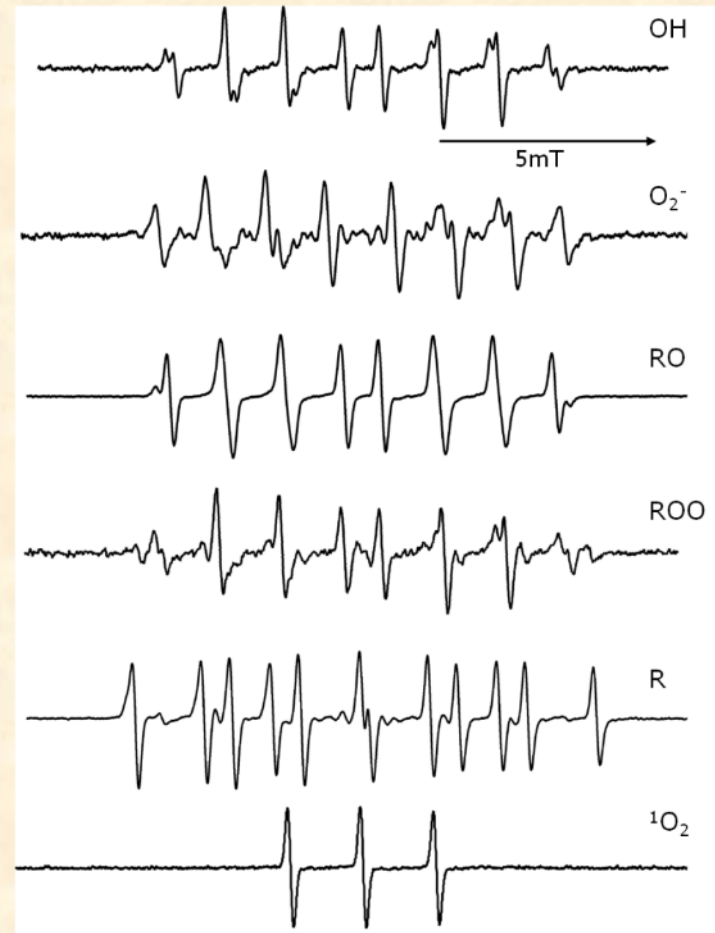


科学的根拠の提供に優れるものの、測定及び結果の解析が難しい、電子スピン共鳴装置を用いる方法を、目的に合わせて簡便化する。

研究の成果 複数の活性酸素種の安定な発生系の開発

- $\cdot\text{OH}$ (ヒドロキシルラジカル)
- $\cdot\text{O}_2^-$ (スーパーオキシドアニオンラジカル)
- $\text{RO}\cdot$ (アルコキシルラジカル)
- $\text{ROO}\cdot$ (アルキルペルオキシラジカル)
- $\text{R}\cdot$ (アルキルラジカル)
- $^1\text{O}_2$ (一重項酸素)

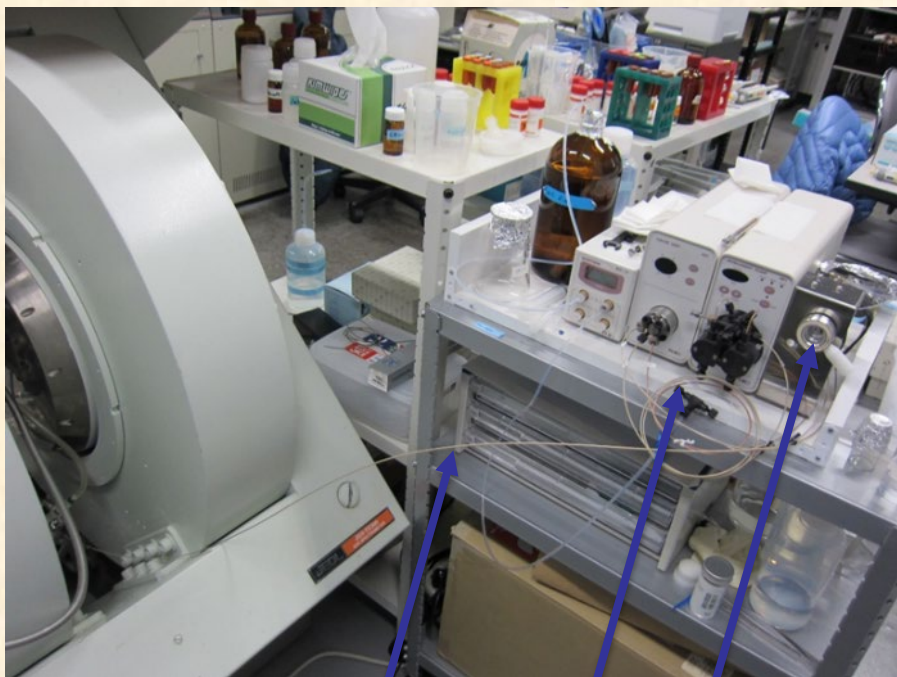
発生剤・検出試薬の組み合わせを変え、6種のフリーラジカルを同じ装置を用いた光照射で安定に発生させ、消去活性を評価する手法を開発した。



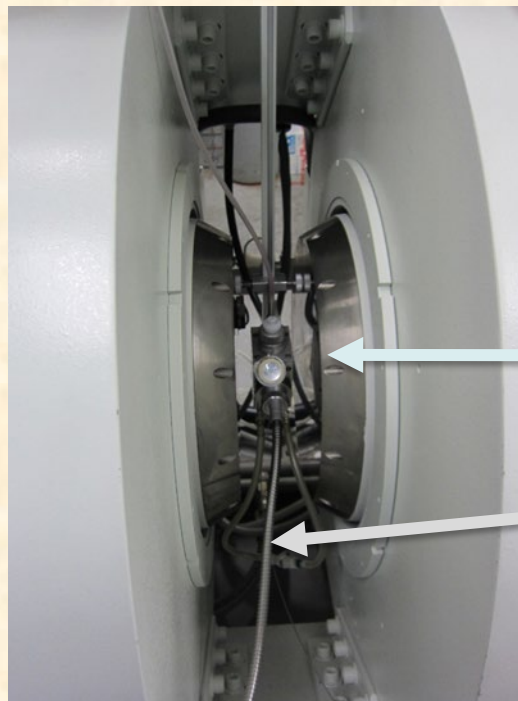
J. Clin. Biochem. Nutr. 2012 September; 51(2): 117–121.
 Multiple free-radical scavenging capacity in serum
 Shigeru Oowada, Nobuyuki Endo, Hiromi Kameya, Masashi Shimmei,
 and Yashige Kotake

研究成果 フロー光照射装置の導入による測定の簡便化

フロー光照射装置の導入



送液チューブ
送液ポンプ
試料注入口



測定部
光ファイバー

測定は試料溶液をシリンジで注入するだけとなり、測定者の技術によらない簡便かつ安定した評価測定が可能になった

研究の成果 加工食品の試料前処理法

食品にはさまざまな形態（液体、固体、粉末、脂溶性、水溶液など）があり、それらに対応する試料の前処理法、測定法の探索を実施した。



→ 攪拌・粉碎
凍結乾燥



→

粉末化の後
抽出して測定

様々な形態の試料に対して、安定した測定・評価が可能になった

研究の成果 福井県産農産品と類似品目の比較測定の実例

福井県の特産品であるミディマト「越のルビー」と市販の類似他品種について、一重項酸素の消去力を比較測定した。

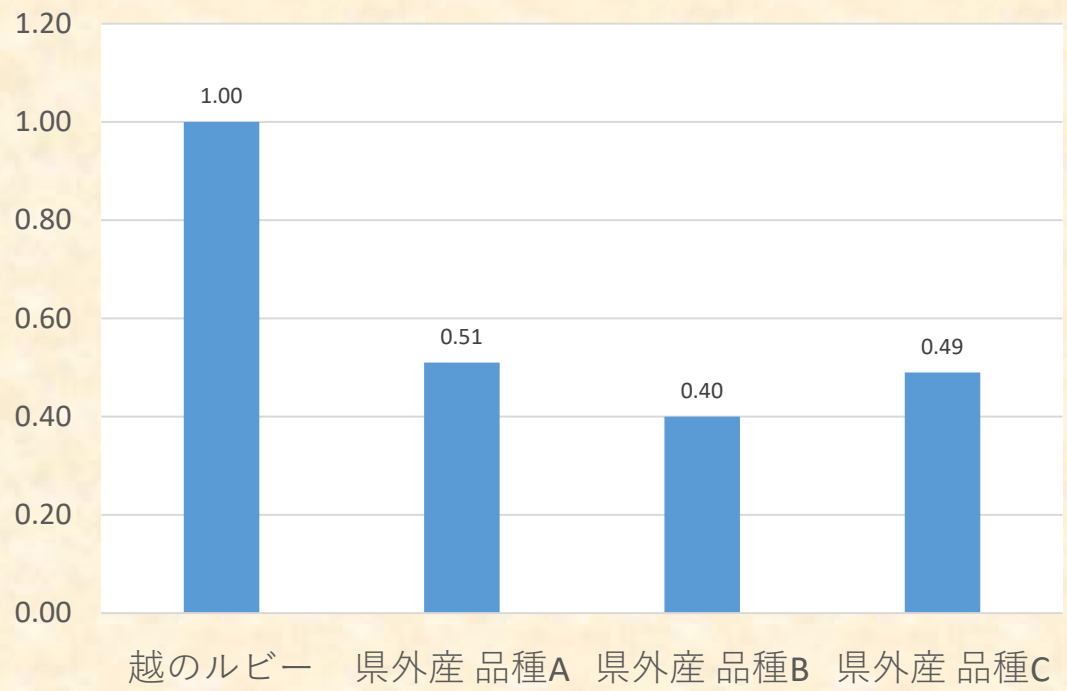
試料

福井県産
越のルビー



県外産ミディマト
他品種3種(品種A,B,C)

破碎果汁の一重項酸素消去力比較(相対値)



越のルビーが類似品4種の中で、最も高い一重項酸素の消去力を持つ結果となった。

まとめと今後の課題

<成果>

- ・ 生体で実際に作用する活性酸素種を安定に発生させ、消去力を評価する系を確立した。
- ・ フロー光照射測定法により、測定者の技術によらない簡便かつ安定した抗酸化力の評価測定が可能になった。
- ・ 食品の抗酸化力評価に適した前処理法や測定条件を確立した。

<課題>

広範囲の食品を正しく評価できるか

→ 多種の食品を試料に用い、可否を検証する。

生産者や企業等と連携し、広範囲に試料を集めて評価を実施し検証に用いる

分析支援事例の紹介

①環境水に浮かんだ油膜成分の分析

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)

②バイオマス分解生成物の分析

液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC-MS)

③潤滑油中の塩分定量分析

高速液体クロマトグラフ装置 (HPLC)

④合成薬剤の分子構造確認

フーリエ変換核磁気共鳴装置 (FT-NMR)

⑤プラスチック中異物の同定分析

電子プローブマイクロアナライザー装置 (EPMA)

⑥木質廃材中の含有成分分析

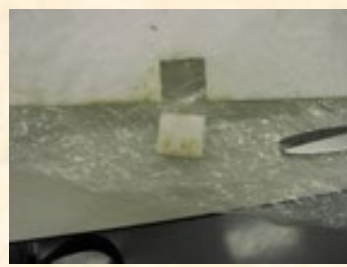
CHN分析装置 (CHN Analyzer、ICP-MS、HPLC)

分析支援事例 1 環境水に浮かんだ油膜成分の分析

水路に浮いている油膜成分が何かを知りたい。
どこから流出しているかを知る情報が欲しい。



マットを水面に浮かべ、油膜を吸着



一部を切断、取り出し



酢酸エチルで油成分を抽出



ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) による有機成分分析

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)



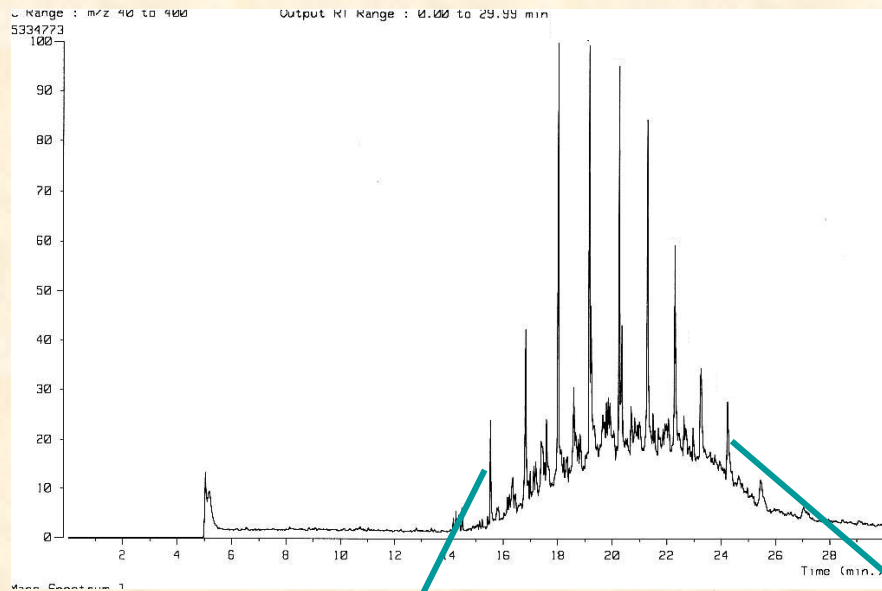
有機化合物をカラムで分離し、それぞれの質量を精密に測定し、物質を同定・定量する分析装置

- 混合物を高感度 (ppb~ppm) に測定できる
- 試料：気体・液体 (気化できるもの)

【使用例】

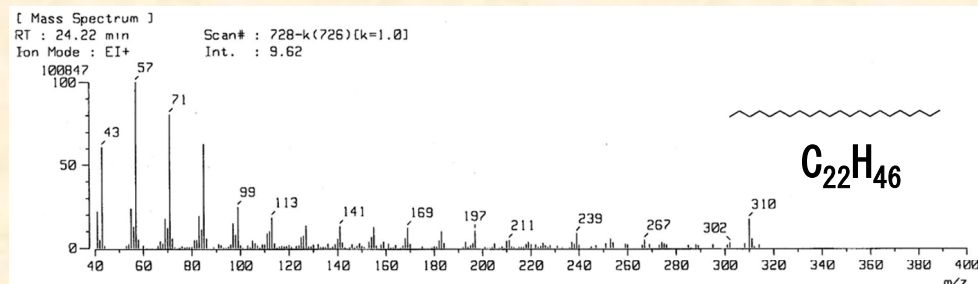
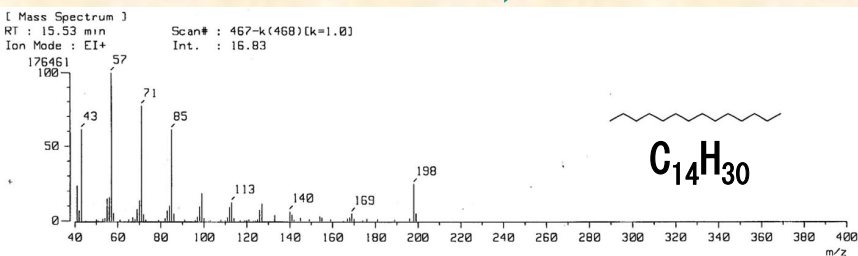
- 品質管理 (純度検定)
- 新規合成薬剤の同定
- 環境分析

油膜成分の分析結果 (1)



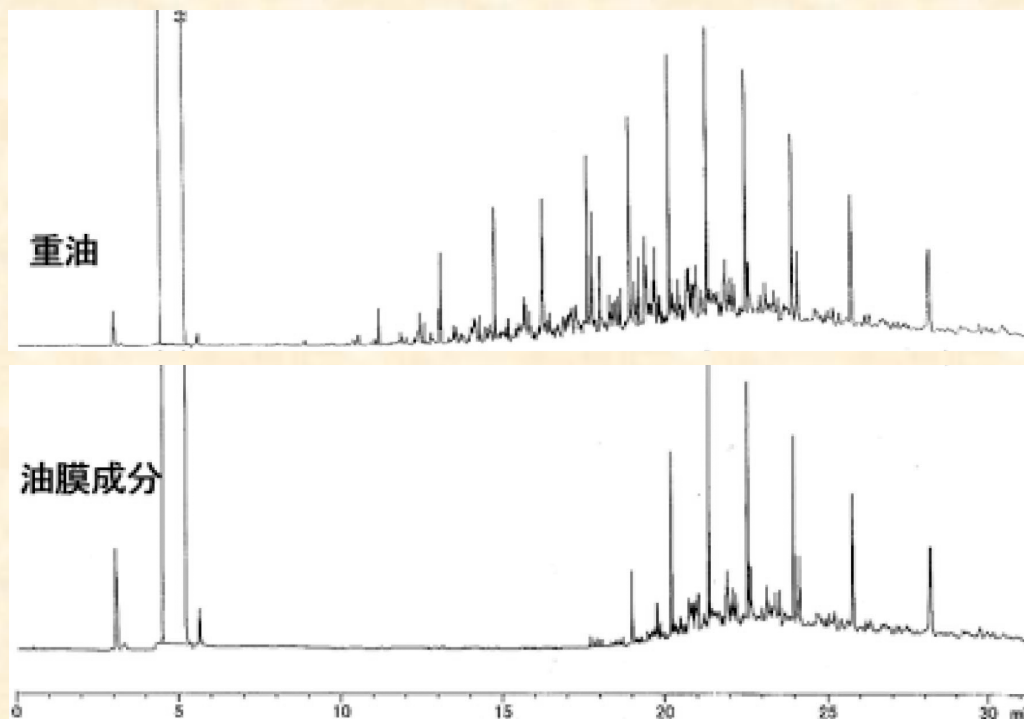
多数の成分からなる混合物

高沸点



炭素数 14~22の炭化水素が主成分

油膜成分の分析結果 (2)



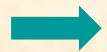
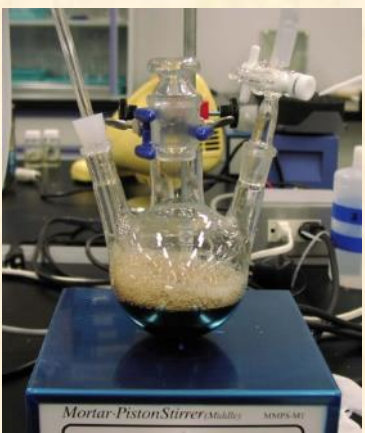
近傍に存在した重油

低沸点成分が失われている
以外は同じ

油膜成分は重油である可能性が高く、
流出減の特定に寄与した。

分析支援事例 2 バイオマス分解生成物の分析

木材等の未利用バイオマスを分解処理し、高い効率で糖が回収できる条件を知りたい。



種々の条件(加熱、酵素処理、薬剤処理等)で分解処理した反応溶液を、糖分析用カラム(糖を吸着し、成分ごとに分離する素材を充填した筒)を用いた液体クロマトグラフ質量分析装置(LC-MS)を用い、糖の生成量を測定した。

液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC-MS)



【特徴】

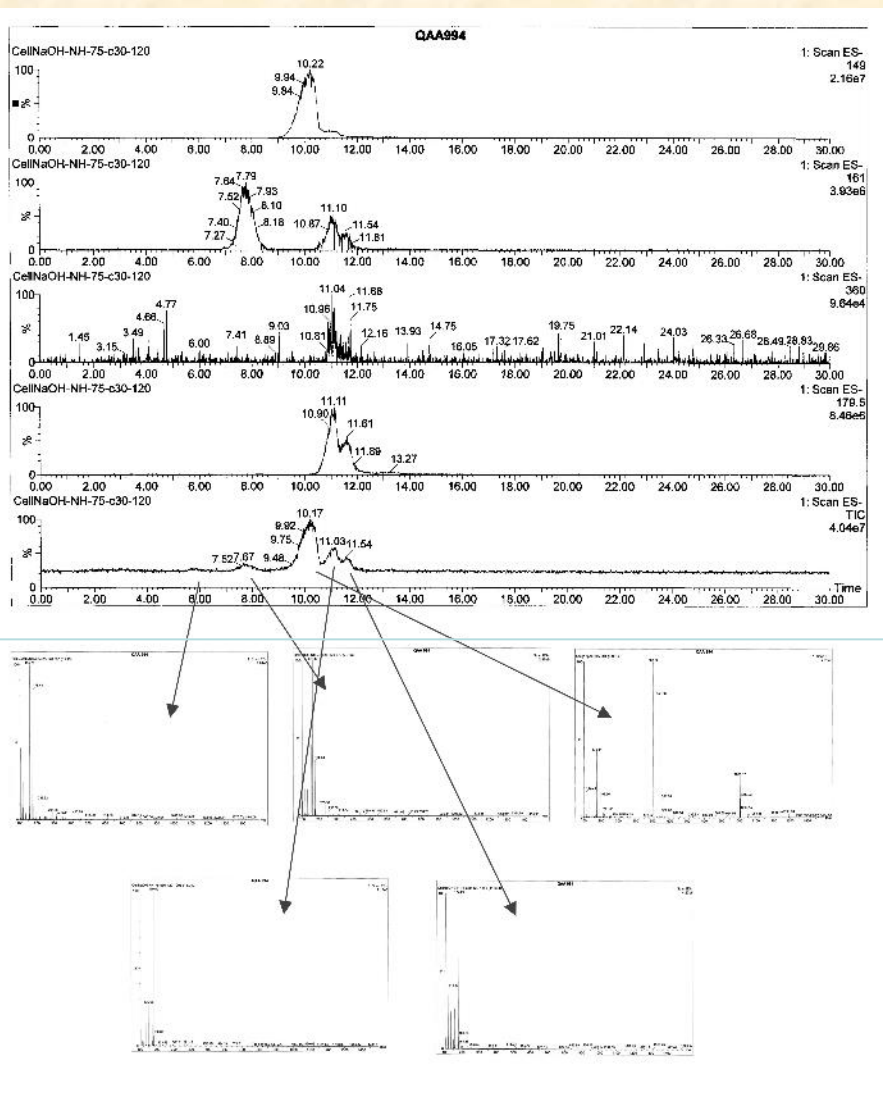
化合物の質量を精密に測定し、
物質を同定する分析装置

- 混合物を高感度 (ppm~ppb) に同定できる
- 試料：液体中の有機物

【使用例】

- 環境水中の農薬分析
- 排水中の有害物質測定
- 食品中の機能性成分分析

バイオマス分解処理反応液の分析 (LC-MS分析結果)



分子量150の糖 (五炭糖 キシロースなど)

分子量162の糖 (多糖の1単位)

分子量180の糖 (六炭糖 グルコースなど)

全質量範囲(100~1000)のクロマトグラム

成分毎にピークが現れ、量が多いと面積が広がる。

異なる条件で分解処理した試料を分析し、糖を多く生成する条件の探索に活用できた。

木粉を1N水酸化ナトリウム中で12時間処理した溶液のLC-MS測定結果

分析支援事例 3 潤滑油中の塩分定量分析

屋外使用の機械製品に故障が発生
塩害が予想され、腐食・故障の原因が塩分の混入
であるのか、判定したい。



ベアリング部分の腐食が著しく、ベアリンググリース
中の塩分が測定可能か？

前処理操作で塩分を水溶液として抽出し、塩化物イオンを
高速液体クロマトグラフ分析装置(HPLC)で分析

高速液体クロマトグラフ分析装置 (HPLC)



【特徴】

溶液中に含まれる無機物、
有機物を分離・定量できる

- ・ 試料：液体
数ppmで0.1～1ml

【使用例】

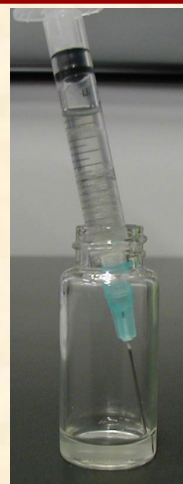
- ・ 環境水中の成分分析
- ・ 排水中の有害物質測定
- ・ 食品中の機能性成分分析

測定感度はLC-MSに劣るが、広範囲の試料に対応できる。

前処理（潤滑油からの塩化物抽出）



ベアリング部のグリスを採集



トルエンに溶解させ、水で分液抽出

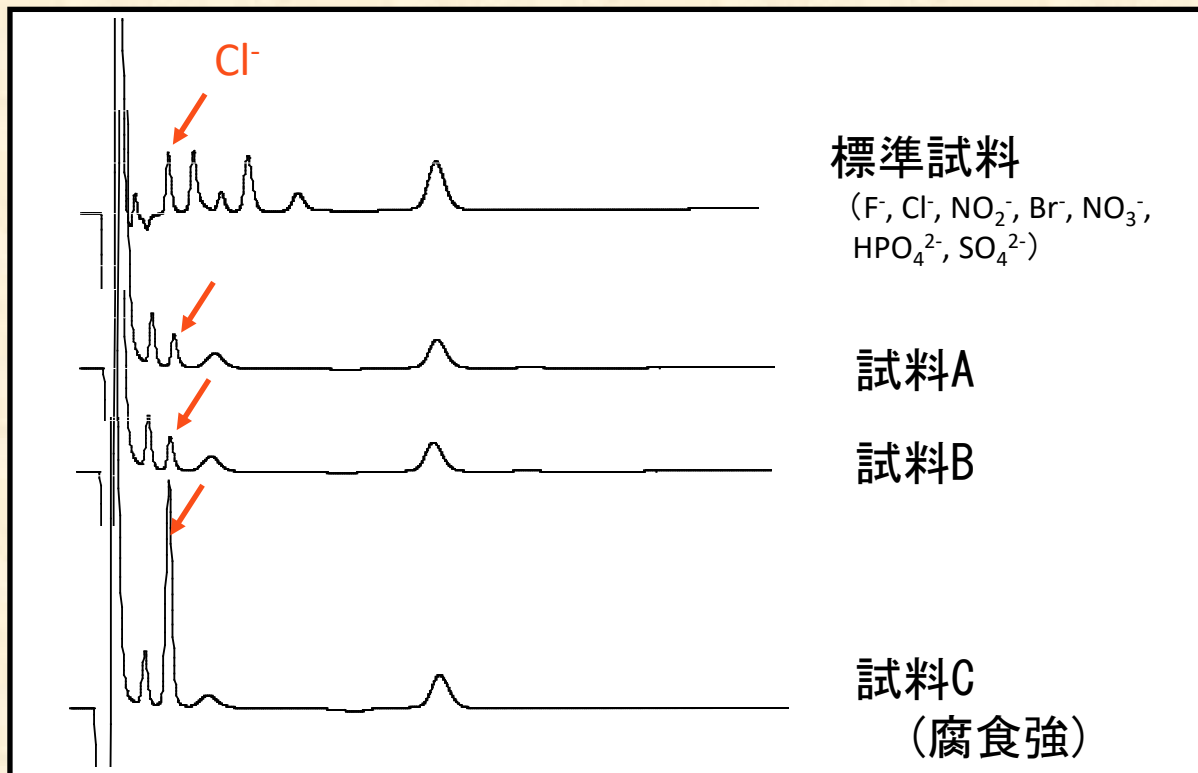


イオンクロマト測定

未使用グリスへのNaCl
添加実験で、再現よく定量可能
であることを確認した。

遠心分離で水相のみ回収

分析結果

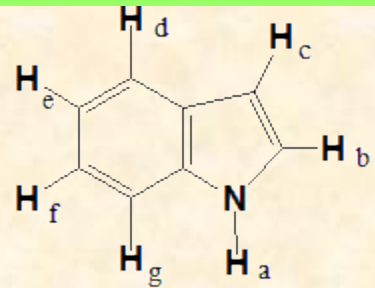


見かけの腐食が強いものほどCl濃度は高く、塩分が混入している可能性が高い。

分析支援事例 4

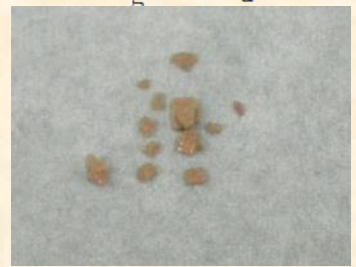
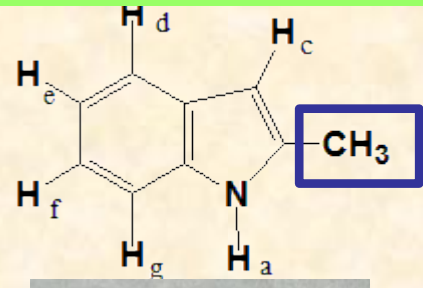
合成薬剤の分子構造確認

薬剤を合成したが、狙い通りの分子構造となっているか確認したい。(下記の物質と構造は、相談内容とは異なります。)



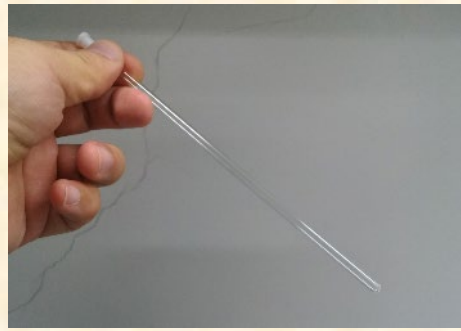
原料粉末

メチル化



合成品(精製後)

メチル基が目的の位置に置換されているか?



NMR試料管

粉末 15mgを600μLの重水素化クロロホルム(CDCl₃)に溶解し、フーリエ変換核磁気共鳴装置 (FT-NMR)を用いた¹H-NMR測定を行った。

フーリエ変換核磁気共鳴装置 (FT-NMR)

【特徴】

- 磁場中に置かれた原子核が、外部からの電磁波によって共鳴現象を起こし、固有の電磁波を吸収する性質を利用して、分子中の原子核のわずかな違いを分析する。
- 有機化合物の分子構造解析が可能。
- 水素、炭素の他、リン、フッ素などの測定も可能。
- 重水・重水素化有機溶媒に試料を溶かして測定する。

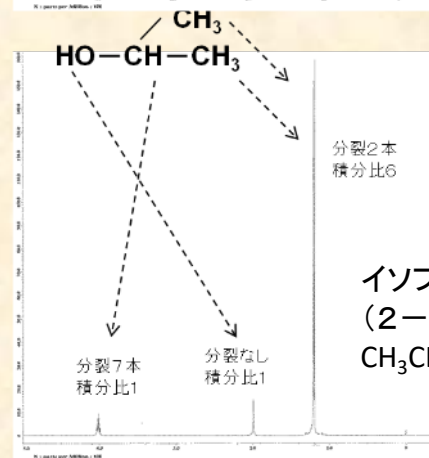
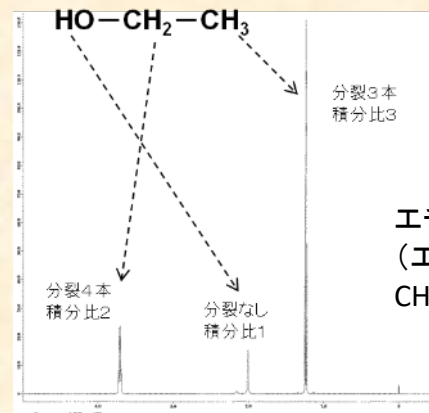
【使用例】

- 合成薬品の分子構造確認、天然物由来抽出成分の同定、反応生成物の同定



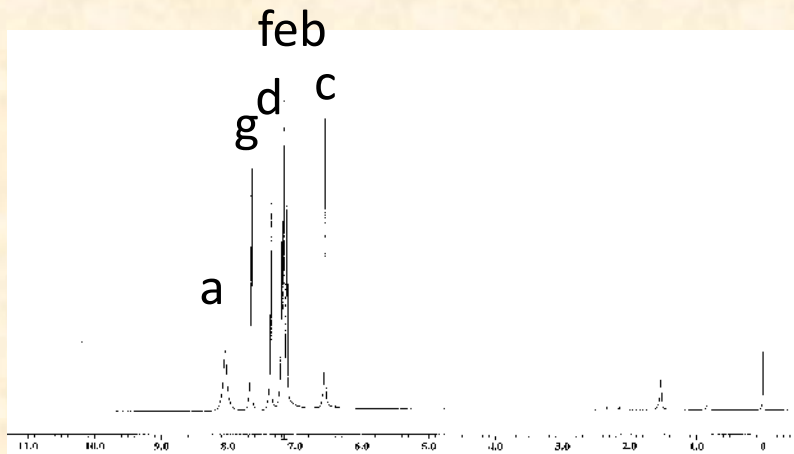
【観察事例】

□ アルコールの¹H-NMRスペクトル



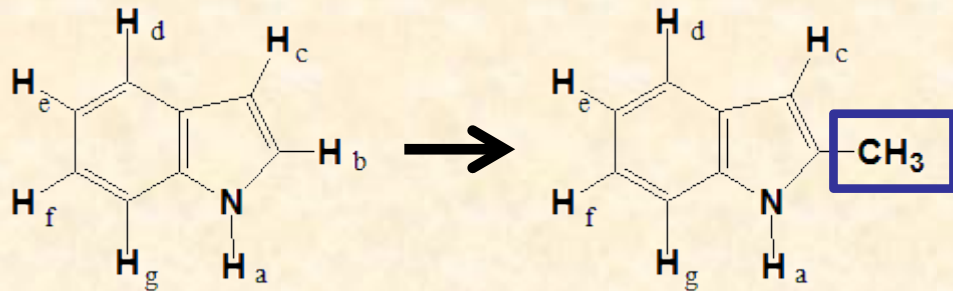
NMR測定結果

(この結果は模擬で相談があった化合物とは別のものです)

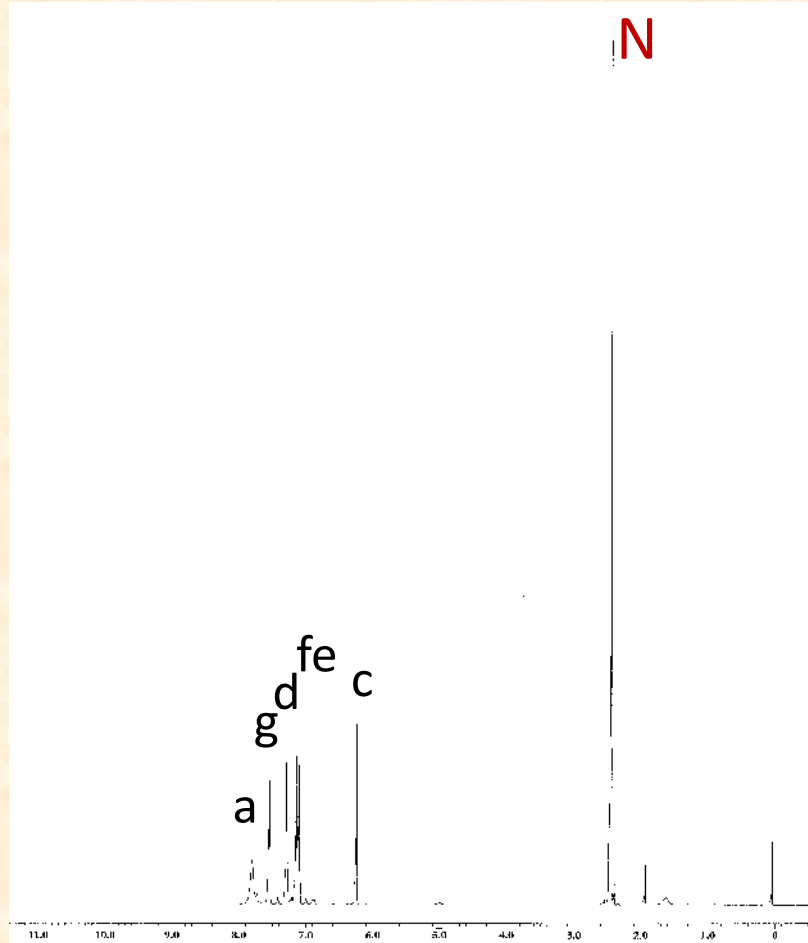


原料(イミダゾール)溶液のNMRスペクトル

7種類の水素核に由来する信号が同じ面積で確認できる。



目標とした化合物が合成できていた。

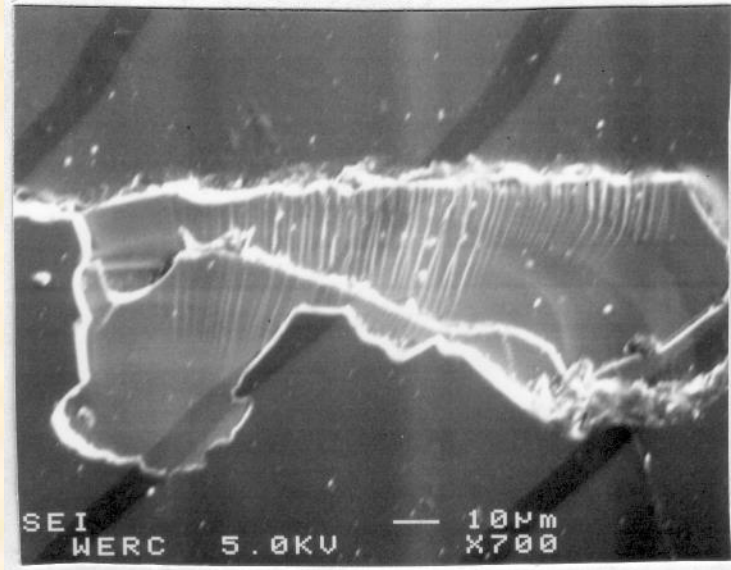


合成物溶液のNMRスペクトル

7種類の水素核に由来する信号が確認できる。原料でのbの信号が消え、面積3倍の新しい信号Nが現れている。

分析支援事例 5 プラスチック中異物の同定分析

透明なプラスチック中に μm サイズの混入物があるが、異物が小さく埋没しており取り出しての判定が困難だった。
異物の物質特定は可能か？



異物の二次電子像

非破壊で微小領域の元素分布が分析可能な**電子プローブマイクロアナライザー装置 (EPMA)** を使用し異物付近の元素の面分析を試みた。

電子プローブマイクロアナライザー装置 (EPMA)



試料サイズ：
5cm ϕ x 1cm厚未満の
ガス放出のない固体

細く絞った電子線を試料に照射して発生した特性X線を検出することで、元素の種類、分布状態などを調べる装置

特性X線：測定試料に含まれる各元素に固有の波長をもつX線

【特徴】

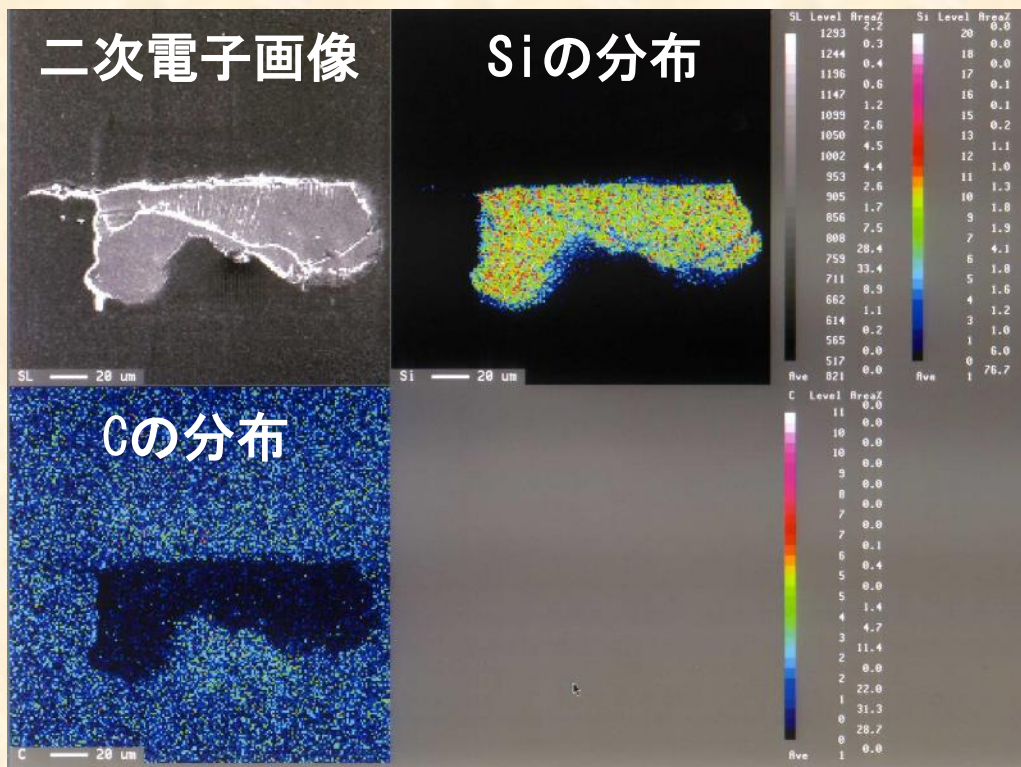
- ・ 非破壊分析が可能
- ・ 元素マッピング
- ・ 二次電子像による形態観察

【使用例】

- ・ 電子部品の解析
- ・ 異物解析等の品質保証評価

分析結果

EPMAを用いた異物付近の元素の面分析

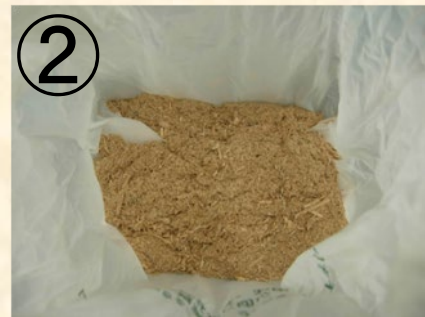


- 異物領域以外はC(炭素)が検出された。
→プラスチック由来の炭素
- 異物領域にのみSiが存在した。

異物はガラス (SiO₂) である可能性が高い

分析支援事例 6 木質廃材中の含有成分分析

木質廃材を燃料ペレットとしてリサイクル可能か？
(環境基準に適合するか)



分析支援事例 6 木質廃材中の含有成分分析

試料に含まれる、硫黄(S)、窒素(N)、塩素(Cl)、砒素(As)、カドミウム(Cd)、クロム(Cr)、銅(Cu)、水銀(Hg)、ニッケル(Ni)、鉛(Pb)、亜鉛(Zn) 以上11種各元素の量を分析し、基準値内にあるかを判定する。

硫黄(S)、塩素(Cl)

紹介機器-3 HPLCを用いて測定

(試料を燃焼し、発生ガスを水に吸収させてイオン分析)

砒素(As)、カドミウム(Cd)、クロム(Cr)、銅(Cu)、水銀(Hg)、ニッケル(Ni)、鉛(Pb)、亜鉛(Zn)

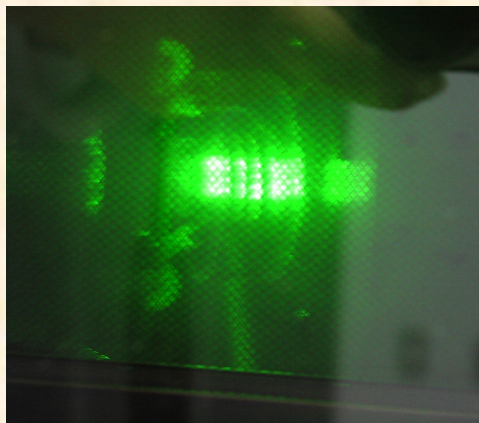
誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) を用いて測定

窒素(N)は**CHN分析装置**で測定

誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS)



アジレントテクノロジー Agilent7500c



測定部分のプラズマ

特徴

- 高分解能
- 高感度 (pg/ml = pptの測定が可能)
pg: ピコグラム = 1兆分の1グラム
- 全ての金属元素を測定可能
- 試料は希薄水溶液でなければならない
固体試料 (農水産物、樹脂、繊維、酸で可溶な金属) は酸分解で測定可能

CHN分析装置 (CHN Analyzer)



試料を酸素中で燃焼させ、発生するガスを分析することで、試料中の炭素 (C)、水素 (H)、窒素 (N) 含有量を算出する装置

試料：固体、液体

分析結果は数値 (%) で出力される

分析結果（1：試料1）

試料1 市販燃料ペレット

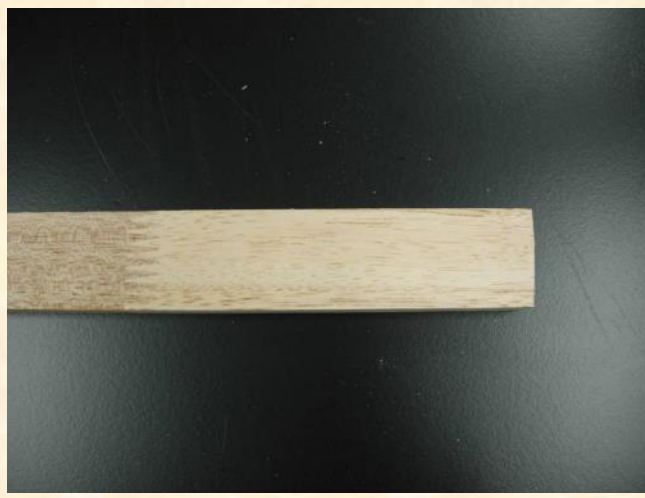


項目	単位	測定値	基準	判定
硫黄 S	%	0.003	0.03 以下	○
窒素 N	%	<0.02	0.5 以下	○
塩素 Cl	%	0.002	0.02 以下	○
砒素 As	mg/kg	0.01	1 以下	○
カドミウム Cd	mg/kg	0.03	0.5 以下	○
全クロム Cr	mg/kg	0.42	10 以下	○
銅 Cu	mg/kg	0.82	10 以下	○
水銀 Hg	mg/kg	<0.01	0.1 以下	○
ニッケル Ni	mg/kg	0.20	10 以下	○
鉛 Pb	mg/kg	0.02	10 以下	○
亜鉛 Zn	mg/kg	6.42	100 以下	○
参考値				
炭素 C	%	47.9		
水素 H	%	7.2		
臭素 Br	%	<0.001		

市販品はすべての項目で基準に適合していた。

分析結果（2：試料5）

試料5
合板（継ぎ板）



項目	単位	測定値	基準	判定
硫黄 S	%	0.012	0.03 以下	○
窒素 N	%	0.05	0.5 以下	○
塩素 Cl	%	0.001	0.02 以下	○
砒素 As	mg/kg	0.02	1 以下	○
カドミウム Cd	mg/kg	0.02	0.5 以下	○
全クロム Cr	mg/kg	4.87	10 以下	○
銅 Cu	mg/kg	2.18	10 以下	○
水銀 Hg	mg/kg	<0.01	0.1 以下	○
ニッケル Ni	mg/kg	1.98	10 以下	○
鉛 Pb	mg/kg	0.49	10 以下	○
亜鉛 Zn	mg/kg	2.14	100 以下	○
参考値				
炭素 C	%	46.6		
水素 H	%	6.7		
臭素 Br	%	0.003		

すべての項目で基準内
だった。

分析結果（3：試料9）

試料9 化粧板



項目	単位	測定値	基準	判定
硫黄 S	%	0.007	0.03 以下	○
窒素 N	%	6.03	0.5 以下	××
塩素 Cl	%	0.119	0.02 以下	×
砒素 As	mg/kg	0.23	1 以下	○
カドミウム Cd	mg/kg	0.01	0.5 以下	○
全クロム Cr	mg/kg	15.82	10 以下	×
銅 Cu	mg/kg	1.56	10 以下	○
水銀 Hg	mg/kg	<0.01	0.1 以下	○
ニッケル Ni	mg/kg	6.37	10 以下	△
鉛 Pb	mg/kg	0.32	10 以下	○
亜鉛 Zn	mg/kg	12.80	100 以下	○
参考値				
炭素 C	%	45.4		
水素 H	%	6.5		
臭素 Br	%	<0.001		

窒素、塩素、クロムの含有量が基準を超過、鉛が基準内だが50%を超えた。

分析結果（４：まとめ）

項目	単位	基準	試料1 ペレット	試料2 木粉	試料3 木片	試料4 合板1	試料5 合板2	試料6 合板3	試料7 合板4	試料8 化粧板1	試料9 化粧板2	試料10 化粧板3	試料11 樹脂1	試料12 樹脂2
硫黄 S	[%]	0.03 以下	0.003	0.009	0.004	0.007	0.012	0.003	0.003	0.009	0.007	0.017	0.014	0.003
窒素 N	[%]	0.5 以下	<0.02	3.90	<0.02	2.66	0.05	1.91	2.67	4.82	6.03	4.46	1.78	<0.02
塩素 Cl	[%]	0.02 以下	0.002	0.094	0.005	0.075	0.001	0.067	0.083	0.011	0.119	0.234	0.083	25.764
砒素 As	[mg/kg]	1 以下	0.01	0.26	0.01	0.01	0.02	0.29	0.72	0.15	0.23	0.04	0.06	0.19
カドミウム Cd	[mg/kg]	0.5 以下	0.03	0.22	0.02	0.01	0.02	0.04	0.04	0.16	0.01	0.01	0.03	0.21
クロム Cr	[mg/kg]	10 以下	0.42	7.60	1.91	1.57	4.87	2.47	23.30	13.20	15.82	3.55	2.69	1.74
銅 Cu	[mg/kg]	10 以下	0.82	2.25	0.73	3.89	2.18	4.22	3.97	6.15	1.56	1.39	0.11	1.12
水銀 Hg	[mg/kg]	0.1 以下	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
ニッケル Ni	[mg/kg]	10 以下	0.20	1.35	0.78	0.73	1.98	0.47	5.41	1.88	6.37	1.31	0.98	0.47
鉛 Pb	[mg/kg]	10 以下	0.02	5.61	<0.01	0.40	0.49	0.20	0.25	4.81	0.32	0.40	0.13	6.08
亜鉛 Zn	[mg/kg]	100 以下	6.42	29.21	1.10	1.38	2.14	2.90	2.47	34.78	12.80	32.80	2.90	751.04
C(参考)	[%]		47.9	44.8	47.5	46.0	46.6	46.9	46.8	45.6	45.4	44.3	68.4	38.9
H(参考)	[%]		7.2	6.7	7.0	6.9	6.7	7.1	7.0	7.0	6.5	6.5	9.5	5.2
Br(参考)	[%]		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

青色塗部分は基準値を超えたもの

廃材のうち、環境基準に適合しないため
ペレット燃料としてリサイクルできないもの
を判別できた。

- 若狭湾エネルギー研究センターには多くの公開科学機器があり、安価でご利用いただけます。
- 「分析方法が分からない」「どの装置を使えば良いか判らない」「サンプルの処理方法が判らない」など、技術支援が求められる場合も多くあり、
『地域に根ざした研究・研修・交流の拠点として活動し、地域産業等に貢献する』という当財団の設立趣旨に沿い、分析作業の支援を実施しています。