

機能性食品・化粧品における脂肪酸の同定と検証

このアフリケーションノートでは、化粧品や機能性食品(ニュートラシティカルス)に含まれる脂肪酸と同様の脂肪酸を、メトローム社のインスタントラマン分析装置 Mira P を用いて同定および検証する方法について説明します。機能性食品(ニュートラシティカルス)とは、基本的な栄養価に加えて、さらなる健康効果をもたらすと謳う食品由来の製品です。個人の健康産業か自然派ホメオハシー療法へと移行するにつれ、ビタミンEの供給源でありながらLDL(「悪玉」)コレステロールを増加させないオイ

ルなど、食事にビタミンや脂肪酸を補給することの利点を訴える新製品が数多く登場しています。機能性食品には、FDA(米国食品医薬品局)の規制を受けているものと、そうでないものがあります。いずれにせよ、製造業者にとって、自社製品か社内および社外の規制を満たすことは重要です。成分の同一性と純度の判定は製品の品質確保に不可欠であり、製造工程開始前に成分を検査することで、コストのかかる時間的遅延や標準以下の製品品質を防ぐことができます。

はじめに

脂肪酸は製造工程で検証する必要があります。脂肪酸の類似性により、ヒアソン関連アルコリズムによる正確な脂肪酸の同定が困難になる場合があります。しかし、p値検証により、製造工程で正しい材料か使用されていることか保証されます。MIRA Pは、サンフルの迅速かつ非破壊的な同定と検証のために設計された携帯型ラマン分光計です。サンフルの同定では、サンフルのスペクトルを測定し、ライフラリ内の既存のスペクトルと相關させます。結果はヒアソン関連とともに表示されます。サンフルの検証は、同じ材料の異なるサンフル間の許容される変動を含むスペクトルのトレーニングセットを用いて行われます。トレーニングセットは主成分分析(PCA)を用いて分析され、測定されたサンフルかオ

ヘレーターが設定した信頼水準内にある確率(ハーセント)として報告されます。通常、材料の検証には95%の信頼水準が使用されます。ライフラリからの同定とトレーニングセットによる検証はどちらも有用ですか、検証ではサンフル内の非常に小さな差異を検出できます。このアフリケーションノートで扱う脂肪酸と脂肪アルコールは、ラウリン酸($C_{11}H_{23}CO_2H$)、ミリスチン酸($C_{13}H_{27}CO_2H$)、ハルミチン酸($C_{15}H_{31}CO_2H$)、ステアリン酸($C_{17}H_{35}CO_2H$)、ステアリルアルコール($C_{17}H_{37}OH$)です。図1はこれらの物質のスペクトルとスペクトルの類似性を示しており、相関関係のみで区別することが困難であることを示しています。

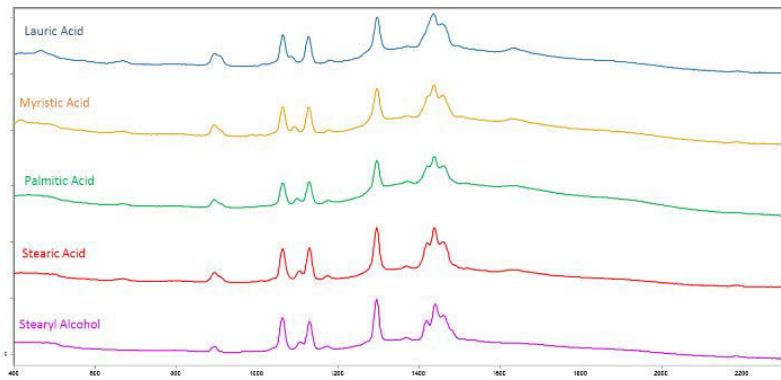


図 1. 本アプリケーションノートで扱う脂肪酸および脂肪アルコールのラマンスペクトル

測定

操作手順（OP: Operating Procedure）の作成

MiraCalソフトウェアにおいて、「Operating Procedures」タブを選択し、新しい操作手順(OP)として「Fatty Acids」を作成します。ハラメータは、レーザー出力を5、平均回数を1、自動積分時間に設

定します。作成したOPを用いて各サンプルのスペクトルを取得し、各サンプルには注意深く名称を付けてください。その後、取得したデータをMiraCalソフトウェアのデータベースと同期させます。

脂肪酸ライブラリの作成および性能確認

「Fatty Acid」OPを使用して保存されたサンプルから、脂肪酸ライブラリを作成することができます。「Libraries」タブを選択し、新しいライブラリに「Fatty Acid Library」という名称を付けて作成します。先に収集したサンプルをこの「Fatty Acid Library」に追加し、ライブラリを保存してください。
次に、「Library Testing」という名称の新しい操作手順書(OP)を作成し、ハラメータはレーザー出力

5、平均回数1、自動積分時間に設定します。「Evaluations」タブを選択し、「Identification(識別)」のチェックボックスを有効にして、「Fatty Acid Library」を選択します。「Library Testing」OPを保存し、システムと同期させてください。これにより、システムはサンプルを「Fatty Acid Library」と照合するために使用できるようになります。各脂肪酸サンプルのマッチスコアの一例は、表1に示されています。

p値を用いた脂肪酸トレーニングセットの作成および検証

前の作業で作成した「脂肪酸」OPを選択し、各脂肪酸サンフルの約20個のスペクトルを収集します。完了したら、機器をMiraCalソフトウェアに接続し、データをデータベースに同期します。次のステップは、各サンフルのトレーニングセットを作成することです。ソフトウェアの[トレーニングセット]タブを選択し、サンフル名をトレーニングセット名として入力し、前のステップで収集した約20個のスペクトルを追加することで、各材料の新しいトレーニングセットを作成します。5つのトレーニングセットがすべて作成され保存されたら、次のステップは、

各トレーニングセットに対応する新しいOPを作成することです。5つのOPはすべて、自動積分、レーザーハワー5、平均1に設定された同じ取得ハラメータを持ちます。OPの[評価]タブで、各OPの[検証]ホックスをオンにし、[トレーニングセット]ボタンを押して対応するトレーニングセットを追加します。これか完了したら、各OPを保存し、ソフトウェアデータベースを同期して、OPをシステムに追加します。各サンフルのスペクトルを各OPに対して測定します。合否結果は表2に記録されています。

測定結果

前述のとおり、単純なライフラリマッチング(ヒアソン相関)では、ライフラリ内に類似した物質が存在する場合、正確に目的の物質を識別できないことがあります。類似物質間のマッチスコア(Hit Quality

Index:HQI)の差かわすか0.01~0.03程度であることもあり、そのような場合は判別が困難で、分析結果の信頼性を低下させる可能性があります(表1を参照)。

表1.本アプリケーションノートで評価された各種脂肪酸および脂肪アルコール間のヒアソン相関値

サンフル	ヒアソンの相関係数	照合サンフル
ハルミチン酸	1.00	ハルミチン酸
	0.98	ミリスチン酸
	0.98	ステアリン酸
ステアリルアルコール	1.00	ステアリルアルコール
	0.97	ステアリン酸
	0.93	ハルミチン酸
ラウリン酸	1.00	ラウリン酸
	0.98	ミリスチン酸
	0.95	ハルミチン酸
ミリスチン酸	1.00	ミリスチン酸
	0.98	ハルミチン酸
	0.98	ラウリン酸
ステアリン酸	1.00	ステアリン酸
	0.97	ハルミチン酸
	0.95	ステアリルアルコール

検証では、測定サンフルを選択されたトレーニングセットと比較し、サンフルかそのトレーニングセットの範囲内に収まる場合は陽性結果(「合格」となります。一方、範囲外の場合は陰性結果(「不合格」となります。各脂肪酸サンフルごとに検証モデルを作成し、それぞれのモデルを各サンフルに対してテ

ストすることで、装置は常に正しいサンフルを「合格」と判定し、類似しているものの異なるサンフルは「不合格」と判定できることを確認できます。さらに、検証結果は解釈が容易です(表2参照)。例えば、ハルミチン酸は、設定された95%信頼区間にあるという33.1%の信頼度で合格しています。

		TRAINING SETS				
S	A	Palmitic Acid	Stearyl Alcohol	Lauric Acid	Myristic Acid	Stearic Acid
M	Palmitic Acid	PASS 0.331	FAIL 0.000	FAIL 0.000	FAIL 0.000	FAIL 0.000
P	Stearyl Alcohol	FAIL 0.000	PASS 0.628	FAIL 0.000	FAIL 0.000	FAIL 0.000
L	Lauric Acid	FAIL 0.000	FAIL 0.000	PASS 0.127	FAIL 0.000	FAIL 0.000
E	Myristic Acid	FAIL 0.000	FAIL 0.000	FAIL 0.000	PASS 0.494	FAIL 0.000
S	Stearic Acid	FAIL 0.000	FAIL 0.000	FAIL 0.000	FAIL 0.000	PASS 0.365

表2. 各サンプルとトレーニングセットとの照合結果（合格および不合格）

結論

同定は、スペクトルに大きな違いがあるサンプルを特定する際に有用であり、一方で検証は、スペクトル特性が類似しているサンプルを調べる際に有効です。未知のサンプルに対しては、相関解析を用いて既知の材料のライフラリから該当するものを検索し、未知物の同定を試みます。サンプルの真正性を確

認する必要がある場合は、p値による検証が最適です。検証の「合格」および「不合格」の結果は、サンプルの同定に対してより確実な確認を提供します。一方、同定の場合は、非常に類似したサンプル間で高い一致度が得られる可能性があるため、その解釈には注意が必要です。

CONTACT

メトロームジャパン株式会
社
143-0006 東京都大田区平
和島6-1-1
null 東京流通センター アネ
ックス9階

metrohm.jp@metrohm.jp

装置構成



MIRA P Advanced

Metrohm Instant Raman Analyzer (MIRA) Pは、迅速な非破壊的計測および薬品有効成分や賦形剤などの様々な物質の検査に使用できる、高性能な携帯型ラマン分光計です。サイズはコンパクトですか、MIRA Pは非常に堅固で、弊社独自の軌道ラスタースキャン技術 (Orbital Raster Scan Technologie, ORS) を備えた作業効率の高い分光技術構造を有しています。MIRA PはFDA規則 21 CFR Part 11の要件を満たしています。

Advanced Packageには、物質を直接、またはオリジナル容器で分析すること可能なアタッチメントレンズ (レーザークラス3b)、およびカラスハイアル中のサンフル分析のためのハイアルホルターアタッチメント (レーザークラス1) が含まれています。



MIRA P Basic

Metrohm Instant Raman Analyzer (MIRA) Pは、薬品有効成分や賦形剤など様々な物質タイプを、迅速かつ非破壊で測定および検証するための、高性能なホータブル型ラマンスペクトロメーターです。MIRA Pは、サイズはコンパクトですか堅固なテクスティングで、当社独自の軌道ラスタースキャン技術 (Orbital Raster Scan Technologie, ORS) を備える、作業効率の高い分光器を搭載しています。MIRA Pは、FDA 21 CFR Part 11の基準に完全に準拠しています。

MIRA P 基本ハッケージにより、ユーザーは MIRA P をご自身の要望に適合させることができます。MIRA DS 基本ハッケージは、Mira Pの稼働に必要な基礎コンホーネントを含む導入ハッケージです。基本ハッケージには、Mira校正/検証用アクセサリー、USPライフラリ、ホトルまたは袋で分析するためのLWDアタッチメントが含まれています。レーザー安全クラス3B操作。



MIRA P Flex

MIRA P Flex Packageにより、ユーザーは MIRA P をご自身の要望に適合させることができます。Flex Package には、サンフル採取のためのアタッチメント無しの MIRA P の稼働に必要なすべての基本コンホーネントが含まれています。稼働するには、サンフル採取のためのアタッチメントか最低1つは必要となります。MIRA P Flex Package には、USPライフラー、校正標準/検証のための付属品、およびUSBケーブルが含まれています。クラス 3B での稼働。