



## FT-NIR分光法によるハーブの分類

### 著者

Martin Hollein, Nicolet CZ s.r.o.,  
Prague, Czech Republic, Todd  
Strother, Thermo Fisher Scientific,  
Madison, WI, USA

### イントロダクション

フーリエ変換近赤外分光法 (FT-NIR) は特定の化合物に起こる特徴的な分子振動に敏感な特性があり、化学物質や混合物を分類できるため、原材料の同定に適しています。多くの有機化合物は通常、近赤外領域で吸収の高い官能基 (アルキル基、フェニル基、アミン基、チオール基、ヒドロキシル基、酸、エステルなど) を含むため、数秒で明確な同定が可能で、製薬業界などで多く活用されています。Thermo Scientific™ Antaris™ II 近赤外アナライザー (図1) は、製薬、栄養補助食品、その他関連産業で使用される純粋な化学物質や複雑な生物学的サンプルの原料同定に最適です。

ハーブやその抽出物は化粧品や栄養補助食品によく使われますが、製薬産業でも原料として使用されることがあります。多くの場合、これらのハーブの有効成分やその中間体は、抽出やクロマトグラフィーの分析技術を用いて原料から単離されます。医薬品に使用されるハーブは、製造施設において他の原材料と同様に扱われ、同じ医薬品規制上の要求を全て満たさなければなりません。

IREL, spol. s.r.o. (チェコ共和国、ブルノ) の研究者たちは、栄養補助食品、化粧品、医薬品に含まれるエキスの製造に使用されるハーブを迅速に同定する手段として、FT-NIR法を研究しました。多くのハーブがセルロース、タンパク質、糖のような類似した成分を含むため、類似したスペクトルになる傾向があります。このアプリケーションノートでは、FT-NIR法を用いることで、複雑なハーブ原料を従来の技術よりもはるかに迅速に正しく分類できることを紹介します。



図1. Antaris II 近赤外アナライザー

## 実験

メソッドの開発に使用した標準ハーブは、IREL, spol s.r.o.から提供されたもので、液状抽出物の製造に利用されたものです。粉碎やふるい分けは実施していません。葉は一般的に薄く、サンプルサイズは6 × 6 mmのものを利用しました。また、根、果皮、オレンジの皮は、最大10 × 10 × 5 mmの粒子サイズに粉碎しました。データ測定に使用した14種のハーブのリストと説明を表1にまとめます。

表1. 分析に使用したハーブサンプルのリスト

ハーブ	英語名
アグリモニ	Agrimony
ソラマメの葉	Buckbean
カラマスの根	Calamus
カモミールの花	Chamomile
リンドウの根	Gentian
ホットペッパー	Hot pepper
ミルラ樹脂パウダー	Myrrh
オークアップル	Oak apple
オレンジピール	Orange peel
セージ	Sage
バレリアンの根	Valerian
クルミの葉	Walnut
マンサクの葉	Witch hazel
ヨモギ	Wormwood

Antaris II近赤外アナライザーを用いて、10,000~4,000  $\text{cm}^{-1}$ の範囲で各ハーブを3~4回繰り返し測定しました。試料は、ふた付きのサンプルカップに入れ、積分球の上に設置されたスピナーにセットしました(図2)。各近赤外スペクトルとその他のキャリブレーションデータは、Thermo Scientific™ RESULT™ソフトウェアを使用して収集されました。各サンプルのスペクトルは、4  $\text{cm}^{-1}$ の分解能で50回スキャンした結果です。試料カップの2回転分を1分未満でスキャンできました。



図2. ふた付きサンプルカップと回転スピナーを備えたAntaris II近赤外アナライザー

得られたスペクトルをThermo Scientific™ TQ Analyst™ ソフトウェアにより、Discriminant analysis (判別分析) アルゴリズムを用いて評価し、サンプルを分類しました。拡散反射のような、光路長が一定ではない場合、多重散乱補正 (MSC) タイプを選択し、散乱による影響を補正します。光散乱のため、光路長はスペクトルへの乗法的な寄与として扱われます。ソフトウェアは、標準試料と未知試料に対して同じ関数を適用します。キャリブレーションアルゴリズムには、9,900~4,100  $\text{cm}^{-1}$ の範囲のスペクトルを使用しました。ベースライン補正を使用しましたが、その他の数学的なスムージングや微分関数は適用しませんでした。

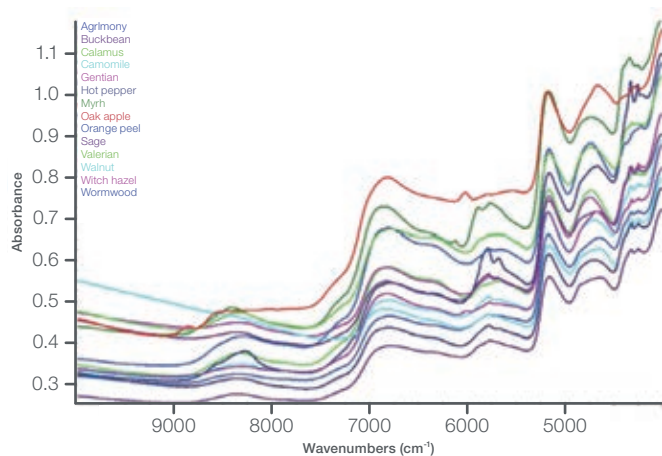


図3. 分析に使用した14サンプルの代表的なスペクトル



## 結果

図3は、14種類のハーブの平均拡散反射スペクトルを示しています。それぞれのスペクトルは、分類モデルを構築するために利用できる実質的なスペクトルの変動を示しています。ケモメトリックス法として判別分析を行ったところ、スペクトル変動の99.5%が5つの主成分で表現されました。主成分は、直行ベクトルのことであり、標準試料データセットのスペクトルの変動を表しています。第1主成分がスペクトル変動の大部分を占め、第2主成分以降で残りの変動を表します。一般的に、全ての変動を示すのに必要な主成分数が少なければ少ないほど、よりの確なモデルということが言えます。

この手法により、全ての標準試料と、各クラスから無作為に選んだ検証用スペクトルを正しく分類できました。ケモメトリックス法のメソッドの質を決定する1つの手段はマハラノビス距離を利用した解釈です。マハラノビス距離は、特定のサンプルの評価をグループの「重心」からのスペクトル距離として示すことができます。特定のクラスまたはグループどうしのスペクトルが類似している場合、マハラノビス距離は比較的小さくなります。クラスどうしのスペクトルが大きく異なる場合は、マハラノビス距離が大きくなります。今回の検討において、次点のクラスのマハラノビス距離は、正しいクラスまでの距離の少なくとも2倍の値が示されました。これは良好なスペクトル分離と分類ができていていることを示しています。最も近いクラスと次に近いクラスの距離を表2に示します。

表2. 各サンプルの識別されたクラスに対するマハラノビス距離を示す表

次に近いクラスまでの距離は、次点のクラスに対して、どれだけ近いかを定量的に表すものとして示されます。数字が小さいほどクラスに対するスペクトルの類似性を示し、数字が大きいほどスペクトルの違いを示しています。この結果、全てのサンプルが正しく同定されました。

クラスID	距離	次点の距離	次のクラス
アグリモニー	0.5	4.0	カモミール
アグリモニー	0.7	3.6	カモミール
アグリモニー	1.0	3.5	ソラマメ
ソラマメ	0.2	3.3	カモミール
ソラマメ	0.2	3.3	カモミール
ソラマメ	0.4	3.1	カモミール
カラマス	0.7	2.8	オレンジピール
カラマス	0.7	3.7	オレンジピール
カラマス	0.4	3.0	オレンジピール
カモミール	1.0	2.1	ヨモギ
カモミール	0.9	2.1	ヨモギ
カモミール	0.6	2.2	ヨモギ
リンドウ	0.2	5.0	カラマス
リンドウ	0.4	5.0	カラマス
リンドウ	0.4	4.8	カラマス
ホットペッパー	0.1	13.2	ヨモギ
ホットペッパー	0.1	13.3	ヨモギ
ホットペッパー	0.1	13.2	ヨモギ
ミルラ	0.3	7.4	セージ
ミルラ	0.4	7.3	セージ
ミルラ	0.5	7.3	ヨモギ
オークアップル	0.5	5.5	マンサク
オークアップル	0.9	5.0	マンサク

クラスID	距離	次点の距離	次のクラス
オークアップル	0.8	6.2	マンサク
オークアップル	0.9	6.4	マンサク
オレンジピール	1.3	3.1	カラマス
オレンジピール	0.8	2.8	カラマス
オレンジピール	0.7	3.6	カラマス
オレンジピール	1.2	3.6	カラマス
セージ	1.0	4.6	ヨモギ
セージ	1.0	6.2	ヨモギ
セージ	0.8	5.0	ヨモギ
バレリアン	1.1	7.0	リンドウ
バレリアン	0.9	6.6	リンドウ
バレリアン	0.7	6.6	リンドウ
クルミ	1.6	10.6	アグリモニー
クルミ	2.0	13.0	アグリモニー
クルミ	1.1	10.2	アグリモニー
クルミ	1.7	11.3	アグリモニー
マンサク	0.8	5.9	アグリモニー
マンサク	0.9	5.7	オークアップル
マンサク	0.6	5.5	オークアップル
ヨモギ	0.6	2.2	カモミール
ヨモギ	0.7	1.8	カモミール
ヨモギ	0.2	2.1	カモミール

主成分スコアプロットは、サンプルのスペクトル変動を2次元で示します。図4は、第1主成分と第2主成分によって記述される、各クラスのクラスターを示す主成分スコアプロットです。おのおのクラスそれぞれは、互いに近い標準であることから、クラスターは密に形成されています。また、極めて均質性の高いサンプルは、最も強固にクラスター化されていることがわかります(例: ホットペッパー)。クラスターが分散しているサンプルは、不規則な形状や不均質なサンプルを含むクラスです(例: クルミの葉、粉碎したオークアップル)。主成分スコアプロットは、多次元空間で見たとときに、異なるクラス間の重複がないことを示し、サンプルを適切かつ簡単に分類できることを示しています。

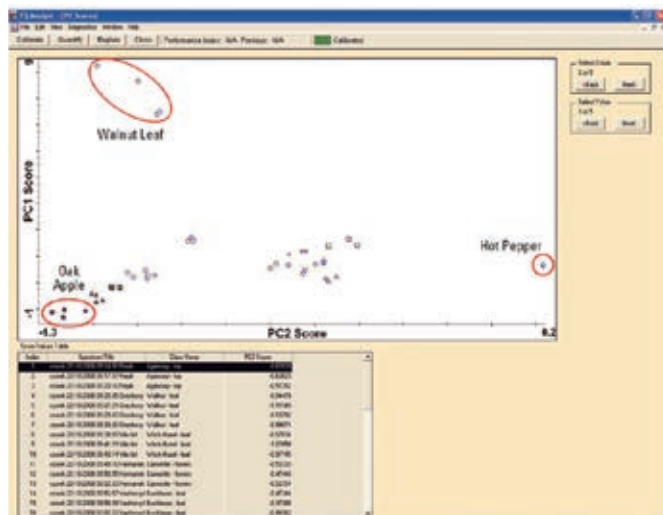


図4. 第1主成分と第2主成分の関数としてのクラスタリングを示す主成分スコアプロット

不均質なサンプルはクラスターが広く散在する傾向があり(クルミの葉、オークアップル)、同質なサンプルは密にクラスター化されていました(ホットペッパー)。5次元主成分空間で見えた場合、クラスターは明確に定義されており、クラスに重複するクラスターはありませんでした。

## まとめ

Antaris II 近赤外アナライザーは、栄養補助食品、化粧品、医薬品に使用されるハーブエキスの従来の同定・分類法(形状分析、TLC、HPLCなど)に代わる優れた代替法を提供します。試料の粉碎、切断、ふるい分け、その他の前処理は必要ありません。これにより、さまざまな産業で使用される原料を適切に分類するために必要な時間と労力が大幅に削減されます。さらに、ふた付きサンプルカップを付属したサンプルカップスピナーは、不均質なサンプルのスペクトルを再現性良く取得できます。14種類のハーブを分析するために開発された判別分析法は、堅牢かつ信頼性が高く、数秒以内で結果が得られることが示されました。

詳細はこちらをご覧ください [thermofisher.com/nirfood](https://thermofisher.com/nirfood)

研究用에만使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2023 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/jp-tc](https://thermofisher.com/jp-tc) FTIR205-A2309OB

## サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

[thermofisher.com](https://thermofisher.com)