

## フロクマリン類の分析

フロクマリン(またはフラノクマリン)類はクマリン骨格にフラン環が結合したいわゆる、ソラレン誘導体である(図1)。ソラレン類のような不飽和結合を有する多環式分子は、紫外線エネルギーを分子内に蓄積し放出する性質、すなわち光感作作用をもつ(図2)。このため、表皮にソラレン類が存在する状態で紫外線を浴びると、発生するエネルギーをソラレン類が吸収し、真皮と表皮下部に蓄積されたエネルギーが放出され、皮膚に痒み、紅斑、炎症、色素沈着などの症状を起こすことが知られている<sup>1)</sup>。私たちはこれまでフラノクマリン類の分析法について研究を行ってきた<sup>2,4)</sup>。今回開発した GCMS 分析法により、ソラレン(Pso)、キサントトキシン(Xan)、ベルガプテン(Ber)、イソピムピネリン(Iso)の分析を行う。

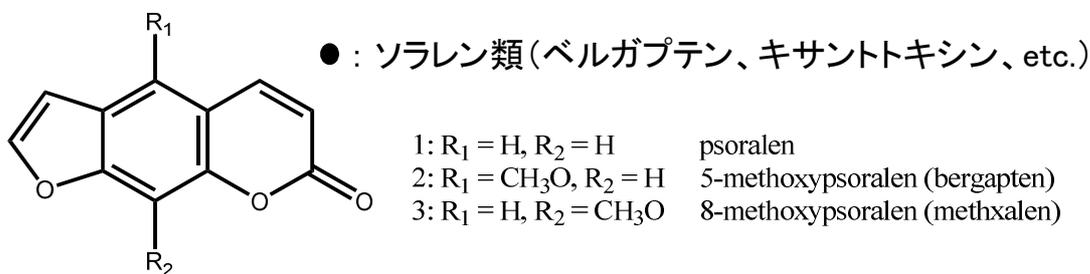


図1 ソラレン類の化学構造

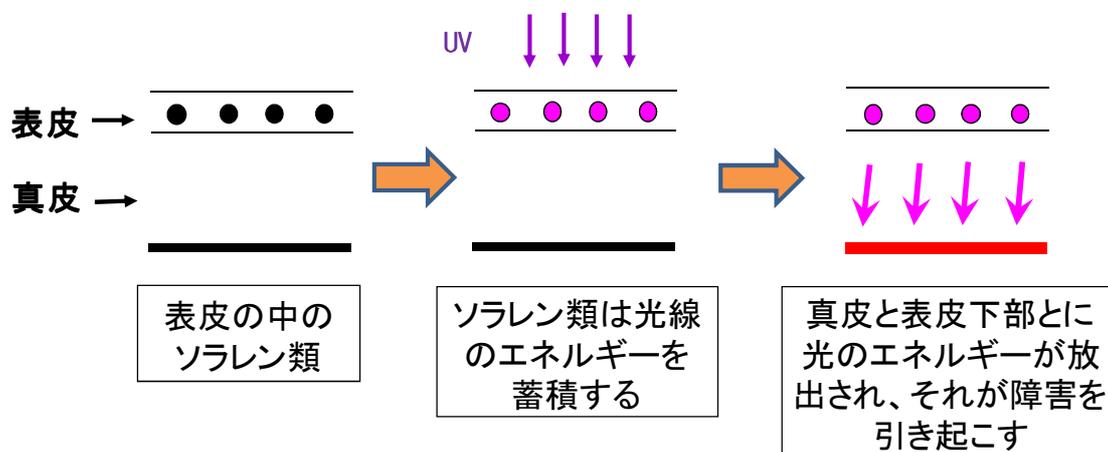


図2 ソラレン類による光感作作用

## 実験方法

### 内標準液の調製

*p*-chlorobenzophenone (CBP)を10.0 mgを秤取し、酢酸エチルで10 mLに定容する(992 ppm)。得られたCBP 酢酸エチル溶液を1.00 mL取り、10 mLに酢酸エチルで定容し、99.2 ppmのCBP内標準液を調製。

### 試料調製法

グアバ茶葉から、図4に示す方法でヘキサン抽出を行う。すなわち、茶葉20.0 g、ヘキサン100 mLおよびCBP内標準液1.00 mL添加した後、ホモジナイザー(IKA製)で25,000 rpmで3分間攪拌する。攪拌後に10分間そのまま静置しデカンテーションを行う。残った沈殿物にヘキサンを80 mL添加し、よく攪拌した後に10分間静置しデカンテーションを行う。この操作をさらにもう一度繰り返す。残渣は定性ろ紙(No. 2)でろ過し、これまでの抽出液に合わせる。少量のヘキサンで容器内面を洗浄する。以上のヘキサン抽出液をロータリーエバポレーター(Tokyo Rikakikai)で5 mL程度まで濃縮し分析試料とする。

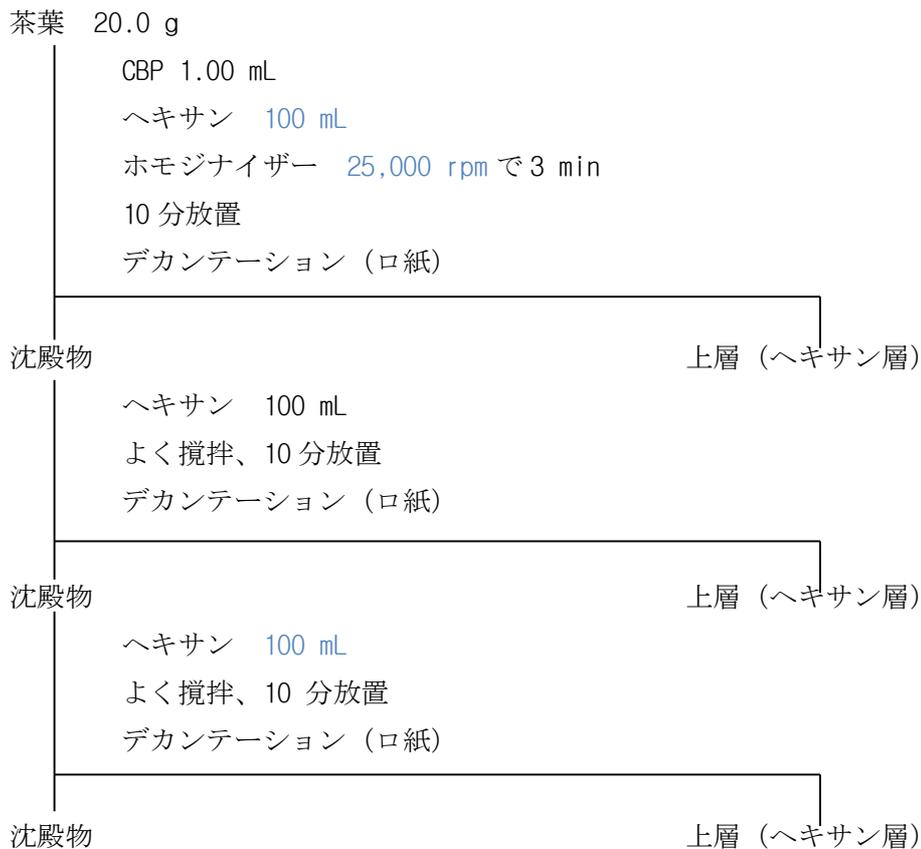


図3 試料調製法

## GC-MS 分析条件

フロクマリン類の分析は GCMS の SIM (selected ion monitoring)モードで行う。

GCMS : Shimadzu GCMS QP-2010Plus

カラム : DB-1 (15 m×0.25 mm ID, J & W Scientific, USA)

測定質量と追跡成分 :  $m/z$  186 (ソラレン)、201, 216 (CBP、キサントトキシシ、ベルガプテン)、246 (イソピムピネリン)、162, 298 (オーラプテン、**注1**)

注1. フロクマリン類ではないが、カンキツをはじめとする植物に存在する場合が多い。発ガン抑制効果が報告されている。本 GCMS 法では、存在すれば同時分析が可能であるので、併せて確認する。

## 文 献

- 1) ロバート・ティスランド、トニー・バラッシュ : 皮膚, “精油の安全性ガイド, 上巻”, 高山林太郎訳, pp.125-145(1996).
- 2) 沢村正義, 長谷川香織, 柏木丈拈, Nguyen Thi Lan Phi, 和田真理, 熊谷千津, 和カンキツ精油中のベルガプテン. アロマセラピー学雑誌, **9** (1), 30-37 (2009).
- 3) 柏木丈拈, 沢村正義 : 柑橘精油中に含まれるフラノクマリン類の新規分析法の開発. 第53回 TEAC 討論会講演要旨集, 奈良 (2009.11.8).
- 4) 浅井孝則, 柏木丈拈, 吉金 優, 東谷望史, 沢村正義 : ユズ精油中のフラノクマリン類の GC-MS による分析. 第54回 TEAC 討論会講演要旨集, 山梨 (2010.10.24).

## グアバ茶葉中のフロクマリン分析

2014.7.15-16

### 1. 分析方法

フロクマリン類の分析は GCMS の SIM (selected ion monitoring) モードで行う。

GCMS : Shimadzu GCMS QP-2010Plus

カラム : DB-1 (15 m×0.25 mm ID, J & W Scientific, USA)

測定質量と追跡成分 :  $m/z$  186 (ソラレン)、216 (CBP、キサントトキシシ、ベルガプテン)、246 (イソピムピネリン)、162 (オーラプテン)

カラム温度 : 120°C (5 min) ---- 4°C/min, 20 min ---- 200°C ---- 10°C/min, 10 min ---- 300°C

試料気化室温度 : 300°C

イオン源温度・エネルギー : 200°C, 70 eV

その他、詳細な分析条件は表2に示す。

### 2. 分析結果

図1: 標準フロクマリンの TIC および SIM のクロマトグラム

表1: 標準フロクマリンの保持時間、観測質量、面積

図2: グアバ茶葉の TIC および SIM のクロマトグラム

表3: グアバ茶葉の保持時間、観測質量、面積

図1と図2、および表1と表3の結果を表4にまとめた。

表4 フロクマリン類の GCMS 分析

化合物	標準試料			グアバ茶葉		
	保持時間, Rt	面積	濃度	保持時間, Rt	面積	
	min		ppm	min	$\Delta$ Rt	
ソラレン	9.048	240700	50.0	9.092	+0.044	575
CBP	9.090	143270	50.0	9.089	-0.001	53972
キサントトキシシ	13.276	259604	54.0	13.282	+0.006	51
ベルガプテン	13.847	239064	52.5	13.880	+0.033	74
イソピムピネリン	17.461	178554	51.0	17.425	-0.036	50
オーラプテン	23.730	162.00	51.5	23.685	-0.045	253

最小検出濃度 : 0.1 ppm

### 3. 解析

表4の標準試料のソラレンとCBPは保持時間がきわめて近く、図1のクロマトグラム上では、一見、ピークが重なっている。通常の TIC クロマトグラムでは定量不可能である。しかし、沢村らの開発し

た SIM モード分析法では、 $m/z$  186 と  $m/z$  216 で別々のピークとして独立しており、その面積もそれぞれ干渉されることなく定量的に計算可能である。

グアバ茶葉試料の  $R_t$  9.089 は、標準 CBP に対する  $\Delta R_t$  が -0.001 min であり、ほぼ完全に一致している。したがって、試料調製で添加した CBP の存在を確認することができた。

グアバ茶葉中の他の化合物については、 $\Delta R_t$  が大きいので、フロクマリン類ではないと判断される。それらのうち、グアバ茶葉の  $R_t$  13.282 については  $\Delta R_t$  +0.006 と比較的小さいので、キサントキシンである可能性については否定できない。しかし、面積が 51 と小さく、最小検出濃度の 0.1 ppm 未満であったことから、ノイズの可能性も高いことなどの理由で、最終的には、キサントキシンは不検出と判断した。

#### 4. 結論

グアバ茶葉試料中には、フロクマリン類は不検出であった。