

令和 6 年度仙台市 NanoTerasu トライアルユース事業 事例報告書

1 課題名

琥珀の有機成分の構造解析と成分分析

2 測定にあたっての体制（社外委託先を含め記載）

事業提案者 久慈琥珀株式会社

・・・琥珀の放射光測定に適した形態の加工

研究の統括 木村賢一（岩手大学農学部）

・・・久慈産琥珀を中心とした世界の琥珀の中の生物活性物質（有機物）の研究経験（17 年間）

ナノテラス放射光測定の実施・解析

原田昌彦（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）

村松淳司（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）

高山裕貴（東北大学国際放射光イノベーション・スマート研究センター）

日高將文（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）

尾間由佳子（東北大学大学院農学研究科）

NanoTerasu のスタッフのみなさま

・・・琥珀の放射光測定と解析

3 背景と測定目的

琥珀は、主に装飾品などとして実用化されている太古の植物の樹脂の化石であり、有機物であると共に天然物でもある。久慈琥珀株式会社（以下、弊社）は、久慈産琥珀を採掘し、海外産琥珀は輸入して各種商品として販売する企業であり、琥珀の基礎から応用におよぶ幅広い研究を、岩手大学の協力を得て取り組んでいる。

岩手大学農学部の木村賢一教授との共同研究では、2006 年から岩手県久慈市周辺の玉川層に眠る久慈産琥珀の生物活性物質の探索を開始し、そのメタノール抽出エキスに、カルシウムシグナル伝達の異常で生育できなくなった病気の酵母を、元気にさせる活性（ヒトの病気の予防と治療効果が期待できる）を見出した。引き続き生物活性物質を単離精製して構造を決めたところ、新規構造であったため kujigamberol (図 1) と命名し、特許を申請し 2014 年に取得した。その生物活性として、抗アレルギー活性、抗 2 型糖尿病活性、及び抗シワ・美白作用などを見出し、品質管理法を決めた後、2015 年に（株）実正様と化粧品として実用化して、地域創生や震災復興に貢献している。

木村教授は、久慈産琥珀中の主要な生物活性物質 kujigamberol をはじめ、バルト海産、ドミニカ産、ミャンマー産、スペイン産など世界の琥珀の生物活性物質を明らかにしている。これまでに明らかにした琥珀に含まれる天然有機化合物と、放射光による分析結果とを繋げられれば、基礎研究（新規物質の生成過程の解明）と開発研究（琥珀の加工や生産性の向上）において、世界に先駆けたオリジナルの高い内容になる。

そこで、今回は琥珀を用いた初めての測定のため、新規物質の宝庫であり、他国産とは大きく異なる久慈産琥珀を用いた検討を中心に行い、その結果を踏まえて残り4ヶ国の琥珀についても行うこととした。原子は特定のエネルギー（吸収端）より高い光で励起され、特定のエネルギーの蛍光を生じる。吸収端と蛍光のエネルギーは元素ごとに決まっています、ナノテラス（NanoTerasu）では13 keVのX線を照射したときに生じる蛍光X線のエネルギー値と強度を測定して、物質に含まれる元素の種類を調べることができる。

申請書には、本研究全体のいくつかの目的を記載したが、本年度は「久慈産琥珀で、炭素（C）と酸素（O）のスペクトルが測定できるかどうか？」を一番の目的で行った。

具体的には、久慈産琥珀に含まれるC（炭素）とO（酸素）の元素について蛍光スペクトルを測定する。CとOのスペクトルが得られた場合に、そのスペクトルは他の産地の琥珀と違いあるのかを調べた。

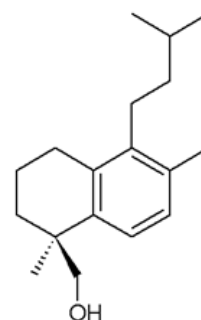


図1. Kujigamberolの構造

4 測定方法（測定手法、測定セットアップ、使用ビームラインなど）

（1）測定用琥珀の加工

これまでの形状が不均一の琥珀固体を用いた測定結果から、試料の形状に依存している可能性が出てきた。そこで、木村教授が選別した5種の琥珀塊（久慈産、バルト海産、ドミニカ産、ミャンマー産、スペイン産）を弊社が受け取り、これまで培ってきた琥珀の加工技術を駆使して精密な試料の形状（5 mm（縦）x 5 mm（横）x 1 mm（厚さ））に加工し、その後表面を均一に研磨した（図2）。

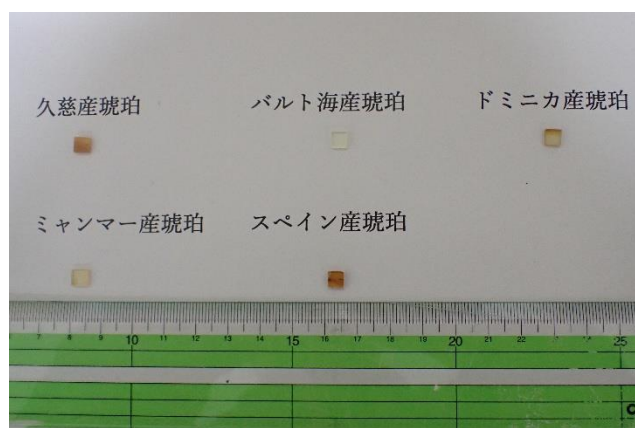


図2. 測定に用いる5ヶ国の琥珀の加工品

（2）琥珀のセットアップ

加工した琥珀を、ナノテラスのビームラインBL08Uにある金属製のプレートに両面テープで固定した（図3）。成分を分析するのに、乾燥、抽出、精製などの操作は不要なため、他の測定法に比べ驚くほど簡単に試料のセットが完了した。

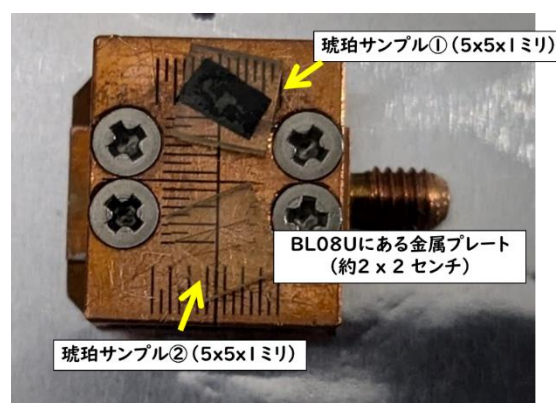


図3. 金属製プレート上に固定された琥珀のサンプル

(3) 装置へのサンプルの挿入

金属プレートは同時に 5 つまで装置にセットでき (図 4 左)、装置へのセットはナノテラスのスタッフをお願いした (図 4 右)。高い真空度で測定するために、試料をセットしてから測定できるようにするために、1~1.5 時間の真空排気が必要だった。試料を取り出す際も、大気圧に戻すために 30 分程度を要した。試料のセット、真空排気、試料取り出しなどの時間を考慮すると、実際に測定できたのは 1 シフト 8 時間中 5 時間程度であった。試料を交換して測定するとなると、その都度、真空排気と取り出しの時間が必要になるため、測定試料は測定の最初にまとめてセットできるように準備するのがよい。

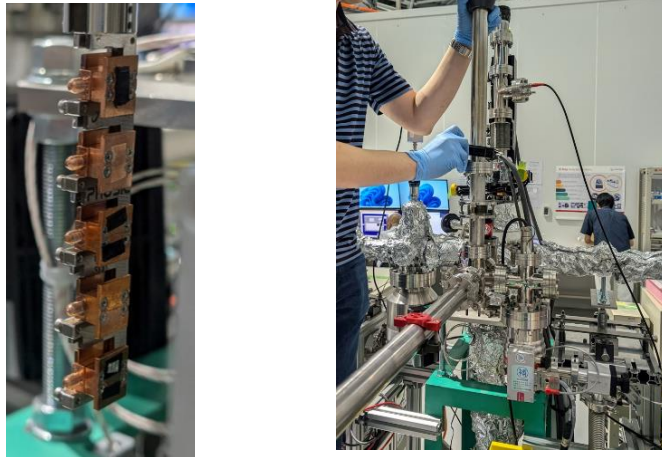


図 4. 金属製プレート 5 つ (左) と装置へのセットアップ (右)

(4) 測定方法

測定試料の琥珀には、少しずつエネルギーを変化させて X 線を照射した。その時に生じた蛍光 X 線の強度を蛍光 X 線のエネルギーごとに検出した (図 5)。

具体的な測定条件と測定時間は以下の通りである。

- ① C (炭素) 分析 : 275→305eV、0.2eV 刻み、
各エネルギーで 1 秒間の X 線照射、測定時間 : 約 5 分。
- ② O (酸素) 分析 : 520→560eV、0.2eV 刻み、
各エネルギーで 1 秒間の X 線照射、測定時間 : 約 5 分。

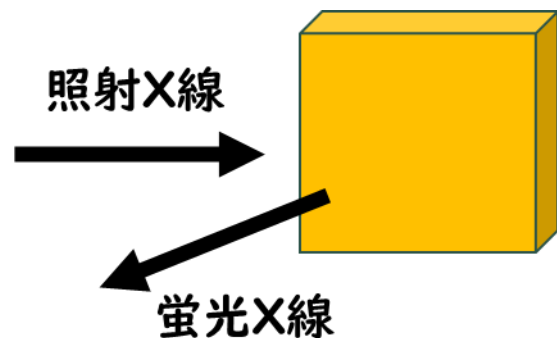


図 5. 琥珀片を用いた測定のイメージ図

5 結果及び考察（代表的なグラフや図を用いて分かりやすく説明すること）

(1) 琥珀の炭素の放射光による分析結果

久慈産琥珀を用いて炭素 (C) を分析した結果、蛍光の変化は小さかった (図 6 左)。同じ条件で、久慈産琥珀と起源樹が一部共通で、約 900 万年古いミャンマー産琥珀の場合と比較したところ、大きな違いは認められなかった (図 6 右)。

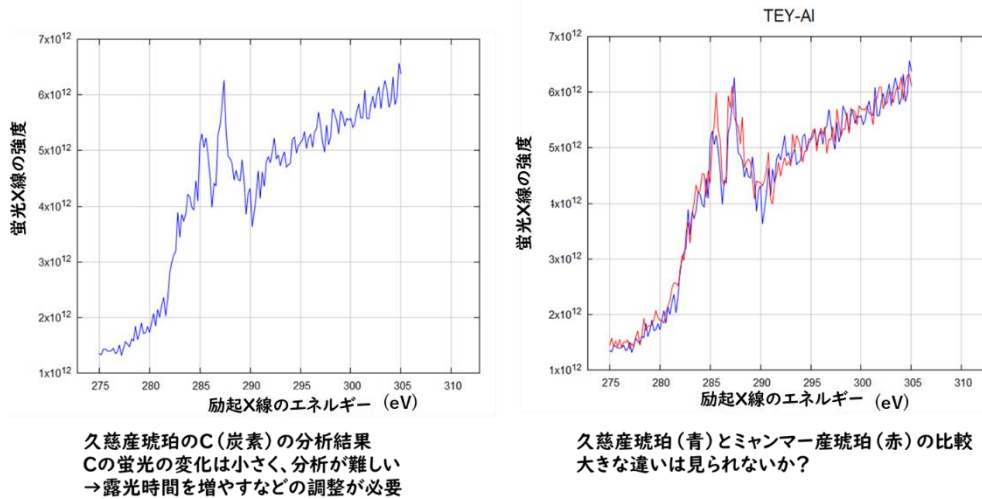
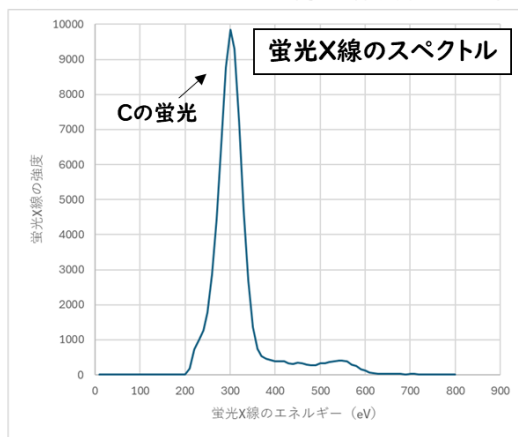


図 6. 久慈産琥珀 (左) と、久慈産琥珀の結果にミャンマー産琥珀の結果を重ねた図 (右)

(2) 琥珀の酸素 (O) の放射光による分析条件の検討

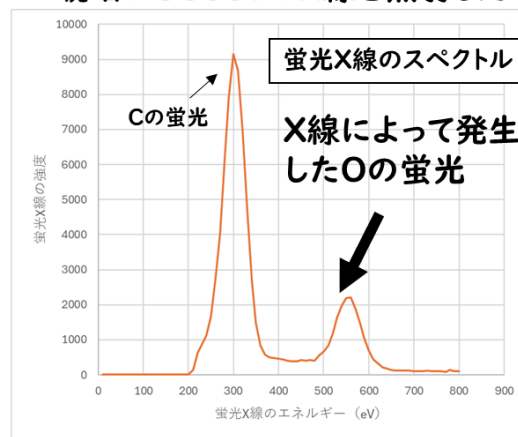
久慈産琥珀のサンプルに、X 線の照射エネルギー変えて測定したところ、560eV で酸素 (O) の発光スペクトルが認められた (図 7)。

<琥珀に520eVのX線を照射した時>



蛍光X線が出るよりも低いエネルギーのX線を照射しても、蛍光は出てこない。

<琥珀に560eVのX線を照射した時>



蛍光X線が出るよりも高いエネルギーのX線を照射すると蛍光が出てくる。

図 7. 久慈産琥珀に異なるエネルギーの X 線を照射した場合の酸素 (O) の発光

(3) 琥珀の酸素 (O) の放射光による分析結果

久慈産琥珀のサンプルに、520～560eV の X 線を照射した場合の久慈産琥珀スペクトル (図 8 左) と、久慈産琥珀とミャンマー産琥珀にスペクトルを重ねて記載した (図 8 右)。その結果、両スペクトルは重ならず、両方で酸素 (O) の状態が異なる結果が得られた (図 8 右)。

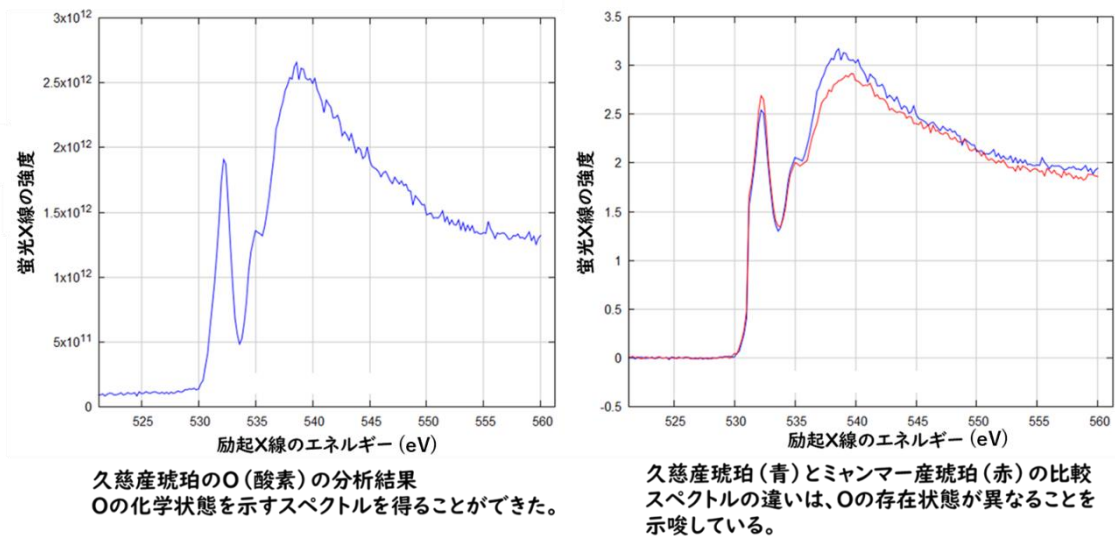


図 8. 久慈産琥珀 (左) と久慈産琥珀とミャンマー産琥珀とのスペクトルを重ねた結果 (右)

6 今後の課題

今回、初めて放射光による分析の材料として、久慈産琥珀を中心とした琥珀を用いて行った。初めての試みのため、サンプルの形状も X 線の条件も試行錯誤で検討しながら進めたところ、他の食材や植物などに比べて、形状の加工は統一した物の試料の準備が簡単で、非破壊の測定であるためその後の再利用や他の測定も可能であった。

本事業の測定で、ナノテラスの BL08U の軟 X 線 XAFS のビームラインを利用することで、琥珀の分析が可能であることがわかった。

久慈産琥珀とミャンマー産琥珀との比較において、琥珀の産地が違えば生物活性物質も異なるため、炭素 (C) と酸素 (O) の分析を行ったところ、特に酸素 (O) の化学状態が異なった結果が得られた。その結果、放射光を用いるという既存の手法とは異なるアプローチで、琥珀の真偽の識別、産地や起源樹の同定などの琥珀の科学の新展開が期待できる。

今回の仙台市トライアルユースのお蔭で、琥珀の分析に有効で興味深い結果につながりそうな条件が明らかになったため、他の手法で調べた 5 種の琥珀の情報との対比を試みていきたい。

また、木村教授が琥珀の成分として同定している単一の標準試料を有していることから、それらと琥珀片との比較についても試みたい。

7 参考文献

<ナノテラスに関わる総説>

- 1) 日高將文、原田昌彦、食品研究における放射光のポテンシャル 次世代放射光施設活用に向けた取り組み、化学と生物、60、499-591 (2022)

<琥珀の分析に放射光が用いられた論文（琥珀中の生物体の解析論文は除く）>

- 1) J. W. Fronzel, X-Ray diffraction study of some fossil and modern resins, Science, 155, 1412-1413 (1967)
- 2) I. Pakutinskiene, J. Kiuberis, P. Bezdicka, J. Senvaitiene, A. Kareiva, Analytical characterization of Baltic amber by FTIR, XRD and SEM, Can. J. Anal. Sci. Spectrosc., 52, 297-304(2007)

<世界の琥珀をまとめた総説>

- 1) J. Pańczak, P. Kosakowski, P. Drzewicz, A. Zakrzewski, Fossil resins – A chemotaxonomical overview, Earth-Science Reviews, 252, 104734 (2024)

<久慈産琥珀の生物活性物質などの研究をまとめた総説>

- 1) 木村賢一，越野広雪 (2016)
世界の琥珀から酵母を用いて単離したバイオプローブ -久慈産琥珀に含まれる新規抗アレルギー物質 kujigamberol-, 化学と生物,, 56, 537-539.
- 2) K. Kimura (2019)
Studies of novel bioprobes isolated from rare natural sources using mutant yeasts. J. Antibiot. (Review), 72:579-589.