

Fig. 6 Compounds isolated from logwood color

厚生科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
分担研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究
分担研究課題：増粘安定剤、ガムベース等の成分研究

分担研究者 山崎 壮 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第2室長

研究要旨

本研究班では、既存添加物の安全性確保を目的に、既存添加物の成分・品質に関する研究と生物学的安全性に関する試験を連携して行うことをめざし、平成14年度には、成分研究と90日間反復毒性試験を連携して行った。筆者らは、90日間反復毒性試験に供する試験検体の成分を明らかにするとともに研究成果を成分規格へ反映させることを目的に、試験品目のうち、増粘安定剤2品目（キダチアロエ抽出物、アグロバクテリウムスクシノグリカン）、ガムベース1品目（サンダラック樹脂）、乳化剤1品目（スフィンゴ脂質）の成分研究および分析法に関する検討を行った。

(1) キダチアロエ抽出物：キダチアロエ抽出物よりガラクトン酸、アラビノース、ラムノース、ガラクトース、およびグルコースで構成される多糖体を単離した。本多糖体はペクチン型糖鎖、アラビノガラクトン型糖鎖、ラムノガラクトン型糖鎖などで構成される多糖体であると推測された。また、キダチアロエ抽出物中の特有成分であるアロエニンの定量を行った。また、局方アロエとの比較を行い、キダチアロエにはアロエニンが含まれていることで、局方アロエとの区別ができることを確認した。

(2) アグロバクテリウムスクシノグリカン：本製品中の多糖体の単糖組成は Glc:Gal:Man = 10:1:0.8 であった。糖の結合様式としては $\rightarrow 3$ -Glc-(1 \rightarrow), $\rightarrow 4$ -Glc-(1 \rightarrow), $\rightarrow 6$ -Glc-(1 \rightarrow), $\rightarrow 4,6$ -Glc-(1 \rightarrow), $\rightarrow 3$ -Gal-(1 \rightarrow) で構成されるスクシノグリカンであることがわかった。

(3) サンダラック樹脂：クロマトグラフィーで主要成分の分離を行った。それらはジテルペンのカルボン酸誘導体の可能性が示唆された。そのうち単離できた化合物の化学構造決定を現在進めている。

(4) スフィンゴ脂質：スフィンゴ脂質には極性の大きく異なる同類の脂質が多種含まれていることが NMR スペクトルから推定された。それらの構造については現在検討中である。また、現在使用が禁止されているウシ脳を原料にしたスフィンゴ脂質製品を判別する確認試験法について文献的検討を行った。

協力研究者

- ・杉本直樹（国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部）
増粘安定剤 キダチアロエ抽出物の分析法の研究
- ・李 貞範（富山医科薬科大学薬学部助手）
増粘安定剤 キダチアロエ抽出物およびアグロバクテリウムスクシノグリカンの成分研究
- ・黒柳正典（広島県立大学生物資源学部教授）
ガムベース サンダラック樹脂の成分研究
- ・永津明人（名古屋市立大学大学院薬学研究科講師）
乳化剤 スフィンゴ脂質の成分研究
- ・楠 泰典（帯広畜産大学畜産科学科教授）
乳化剤 スフィンゴ脂質の分析法の検討

A. 研究目的

既存添加物は、平成7年5月の食品衛生法の改正にともない、従来から使用されていた天然添加物に対する経過措置として使用が認められているものである。既存添加物（489品目）の多くは、それ自体もしくはその基原が、長年食用に供されていたなどの経験はあるものの、安全性の面から見れば動物実験などによる毒性試験などの科学的な安全性データに欠けるものが少なくない。また、既存添加物の多くは天然物からの抽出物であり、それらのほとんどは多成分からなることから、含有成分が未解明である品目が多い。そのため、ほとんどの品目で公的な品質規格が未設定である。食品添加物の業界団体である日本食品添加物協会が品質規格の自主規格策定を進めているが、公的品質規格のない既存添加物420品目のうち業界自

主規格が設定されているのは約 135 品目にとどまっている。このような背景のもと、本研究班では対象とする既存添加物の成分・品質に関する研究を行いながら、生物学的安全性に関する試験を行い、両方の結果の関連を検討した上で、成分規格へ反映させることにより既存添加物の安全性確保をめざす。研究班では、平成 14 年度（初年度）の研究として、反復投与毒性試験などの動物試験による科学的な安全性データに欠ける既存添加物のうちから、業界自主規格のない品目を中心に、基原動植物の特性、規格基準設定の必要性、製品の用途などを考慮して検討品目の選定を行った。我々は、90 日間反復毒性試験に供する試験品目のうち、増粘安定剤 2 品目、ガムベース 1 品目、乳化剤 1 品目の成分研究および分析法に関する検討を分担した。

B. 研究方法

90 日間反復投与毒性試験の試験品目のうち、増粘安定剤 2 品目（キダチアロエ抽出物、アグロバクテリウムスクシノグリカン）、ガムベース 1 品目（サンダラック樹脂）、乳化剤 1 品目（スフィンゴ脂質）の成分研究および分析法に関する検討を行った。成分・品質に関する研究では、対象品目の主有効成分や副成分を単離精製し、機器分析等により化学構造の解明を行った。試験検体はいずれも日本食品添加物協会より供与していただいた。

また、既存添加物名簿には、スフィンゴ脂質として米ぬか由来製品とウシ脳由来製品が記載されている。そこで、現在使用が禁止されているウシ脳を原料にしたスフィンゴ脂質製品を判別する確認試験法について文献的検討を行った。

なお、研究結果の詳細は別添の報告書に記載したので、ここでは研究結果概要と考察を述べる。

C. 研究結果および考察

1. キダチアロエ（増粘安定剤）

(1) 成分研究：

キダチアロエ抽出物の主要成分は多糖類と考えられるが、その化学構造や組成は不明確である。そこで、含有多糖体を同定することを目的に以下の実験を行った。

キダチアロエ抽出物粉末より収率 9.1%で多糖体を単離した。ガラクトン酸、アラビノース、ラムノース、ガラクトース、およびグルコースで構成される多糖体であった。この多糖体はウロン酸を多量に含むものであったが、このウロン酸はすべてガラクトン酸であったことから、ペクチンのようなポリガラクトン酸であることが示唆

された。また、中性糖としてアラビノースとガラクトースが存在することからアラビノガラクトン型糖鎖が、ラムノースの存在からラムノガラクトン型糖鎖の存在も示唆された。従って、本抽出物中に存在する多糖体はペクチン型糖鎖、アラビノガラクトン型糖鎖、ラムノガラクトン型糖鎖などで構成される多糖体であると推測された。

アロエベラに含まれている多糖体としてマンナン（アロエマンナン、アセマンナン）がよく知られている。しかしながら、今回単離した高分子多糖体にはマンノースが存在しないことから、アロエマンナンは含まれていないと推測される。

(2) 分析法研究：

既存添加物「キダチアロエ抽出物」と、局方に収載され、医薬品として用いられる「アロエ」とは、基原植物が異なる。したがって、両者を混同しないために完全に区別可能な分析法を確立する必要がある。そこで、キダチアロエ抽出物製品の確認試験法を開発する目的で、本抽出物中の低分子成分について TLC および LC/MS を用いて検討した。その結果、aloenin および barbaloin を共に含有するキダチアロエ抽出物は、局方アロエおよびアロインと TLC により区別可能であることがわかった。さらに、LC/MS により、キダチアロエ抽出物、局方アロエおよびアロインの成分組成が異なることを明らかとした。また、キダチアロエ抽出物製品中の aloenin、barbaloin、isobarbaloin を絶対検量線法により定量し、aloenin が 1.9%、barbaloin が 0.7%、isobarbaloin が 0.7%含まれることがわかった。

(3) 考察：

キダチアロエは既存添加物原料ではあるが、むしろアロエベラとともに健康食品素材として多用されている。また、化粧品成分としても広く使われている。健康食品業界の自主規格として、日本健康・栄養食品協会から「キダチアロエ食品規格基準」および「アロエベラ食品規格基準」が公表されている。有効成分の規格としては、キダチアロエ食品では、aloenin の含有量試験法（HPLC 法）が収載されている。また、アロエベラ食品では、マンノースとグルコースの定量法（酵素法）、アロエ属特有の成分である β -sitosterol glucosides の確認試験法（TLC 法）、aloenin の確認試験法（TLC 法）、barbaloin の確認試験法（TLC 法）が収載されている。しかし、健康食品業界の自主規格では、局方アロエも含めたアロエ類を比較して基原を区別する観点が不十分である。また、定量はキダチアロエ食品の aloenin の含有量試験法だけである。既存添加物「アロエベラ抽出物」には日本食品添加物協会の自主規格があるが、アロエ中の主要低分子成分である anthrone 誘導体の確認試験はあるが、アロエ成分の定量規格はな

い。今年度日本食品添加物協会からキダチアロエ抽出物の自主規格案が提案されたが、確認試験としてアロエベラ抽出物の方法に準拠した方法を採用している。したがって、今回我々が作成した既存添加物「キダチアロエ抽出物」の分析法は、アロエ特有低分子成分の確認と定量を可能とする有効な方法として利用できると思われる。

キダチアロエ抽出物はアロエベラ抽出物とともに既存添加物の増粘安定剤に区分されており、既存添加物名簿では多糖類を主成分とすると記載されているにもかかわらず、多糖類としての品質規格がない。成分規格策定に利用できるようなキダチアロエ抽出物中の多糖類の成分研究がこれまで報告されていないので、今後も研究を継続する必要がある。

2. アグロバクテリウムスクシノグリカン（増粘安定剤）

(1) 成分研究：

アグロバクテリウムスクシノグリカンの主要成分は多糖類と考えられるが、その化学構造や組成は不明確である。そこで、含有多糖体を同定することを目的に以下の実験を行った。

スクシノグリカンは *Pseudomonas*、*Rhizobium*、*Agrobacterium* などのバクテリアが産生する菌体外多糖であり、食品添加物など広く利用されている。その構造は、グルコースとガラクトースからなる 8 糖単位の繰り返し構造を有し、コハク酸やピルビン酸などの置換基を有するとされている。本研究では、市販のスクシノグリカンに含まれる多糖体の構造を組成分析やメチル化分析により検討した。本研究で検体としたスクシノグリカンは *Agrobacterium* 由来であり、文献で報告されている *Sinorhizobium meliloti* 由来スクシノグリカンなどとは単糖組成が異なることが明らかとなった。すなわち、文献で報告されているスクシノグリカンの単糖組成は Glc:Gal = 7:1 であるのに対し、本試料に含まれる多糖体の構成糖はグルコース、ガラクトース、マンノースであり、Glc:Gal:Man = 10:1:0.8 であった。それらの結合様式は、 $\rightarrow 3$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 4$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 6$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 4,6$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 3$ -Gal-(1 \rightarrow で構成され、非還元末端位にピルビン酸が結合していることが示唆された。

(2) 考察：

既存添加物名簿収載品リストでは、アグロバクテリウムスクシノグリカンは *Agrobacterium tumefaciens* の培養液から分離して得られた多糖類であると記載されているが、*Agrobacterium* 由来スクシノグリカンの構造研究報告がほとんどない。*Agrobacterium radiobacter* 由来スクシノグリカンの構造研究がわずかにある程度である。

本品目の確認試験を策定するには、多糖類の構造情報が必要であり、*Agrobacterium* 由来スクシノグリカンに特徴的な成分または構造を明らかにする基礎的研究を継続することが必要である。

今年度日本食品添加物協会からアグロバクテリウムスクシノグリカンの自主規格案が提案されたが、含有成分の確認試験は含まれていない。スクシノグリカンに結合するコハク酸の分析を試みたがさらに条件検討が必要であり、採用するまでには至っていないと報告している。

3. サンドラック樹脂（ガムベース）

(1) 成分研究：

サンドラック樹脂の主構成成分は、既存添加物名簿収載品目リストではサンダラコピマール (sandarakopimar) 酸であると記載されており、主要成分はテルペノイドと考えられるが、その含有成分組成は不明確である。そこで、サンドラック樹脂の主要成分を分離しその構造を明らかにすることを目的に以下の実験を行った。

試料を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離を行い、得られた画分をさらに分取薄層クロマトグラフィー (PLC) を繰り返し行うことによりそれぞれの成分を分離した。それらの化合物は、TLC においてスポットのテーリングが強いことと発色状況と、ヒノキ科の植物を起源としていることを考えると、ジテルペンのカルボン酸誘導体の可能性が示唆される。現在、それらのうち単離できた 4 種類の化合物について NMR の測定を行っている。今後他の画分についても分離を進め、得られた化合物について NMR 等の分光手法を用いて化学構造を決定する予定である。

(2) 考察：

サンドラック樹脂は、既存添加物名簿収載品目リストでは、ガムベースに分類されているが、日本食品添加物協会の調査ではガムベースとしての出荷実績は報告されていない。食品用途では香料成分として利用されているという。国内で流通しているサンドラック樹脂の主な用途は、油性塗料ワニスの原料または接着剤として使用されているといわれている。

成分規格策定に利用できるようなサンドラック樹脂中の成分研究がこれまで報告されていないので、今後も研究を継続する必要がある。

4. スフィンゴ脂質（乳化剤）

スフィンゴ脂質の主構成成分は、既存添加物名簿収載品目リストでは、ウシの脳または米・小麦のぬかから得られたスフィンゴシン誘導体であると記載されており、主要成分はスフィンゴ糖脂質と考えられる。ウシ脳に含まれるスフィンゴ糖脂質および米ぬかに含まれるスフィンゴ糖脂質の化学構造や組成については既にいくつかの研究報告

があるが、既存添加物製品はそれらの研究報告とは成分の抽出・精製方法が異なると思われる。既存添加物としての「スフィンゴ脂質」の含有成分組成は不明確である。その場合でも、その有効主成分としてのスフィンゴ糖脂質は分析が比較的容易であると推測される。一方、製品中の微量成分に関しては解明されていないので、分析法の策定ができない。そこで今回、スフィンゴ脂質の微量成分を明らかとすることを目的に研究を行った。

また、BSE 病原体が食品中に混入する危険を避けるために、現在、ウシ脳を食品、医薬品、化粧品などの原材料に使用することが禁止されている。そこで、ウシ脳を原料にしたスフィンゴ脂質製品を判別する確認試験法について文献的検討を行った。

(1) 成分研究：

スフィンゴ脂質を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いた分離を行った結果、主成分の化合物のほかに極性の大きく異なる化合物が多種単離された。それら微量の化合物の NMR スペクトルをそれぞれ測定したところ、いずれもよく似たスペクトルを示したことから同類の脂質が多く含まれていることが推定された。しかし、NMR によるそれ以上の構造解析は困難であることから、構造決定には MS/MS が有効と考え、現在 ESI-FT-MS/MS あるいは LC-ESI-四重極 MS/MS での分析条件を検討中である。

(2) ウシ脳由来スフィンゴ脂質製品の確認試験法に関する文献的検討：

動物と植物のスフィンゴ脂質では、化学構造に大きく異なる点がいくつか存在することを利用して、ウシ脳由来と米ぬか由来を識別できる可能性を検討した結果、次の点が検討候補となり得ると思われる。

1) スフィンゴシン塩基の分析：植物由来の化合物群には phytosphingosine 中に二重結合（特に 8 位に相当する部分）が存在するものが確認されている。そこで質量分析法で二重結合の数をチェックすることにより、区別が可能になると考えられる。

2) セレブロシドの分析：アセチル化されたガラクトセレブロシド（特にガラクトース 6 位）がウシ脳に存在することが知られているので、質量分析法あるいは *O*-アシル化合物がアルカリ条件に対し不安定であることを利用した 2 次元 TLC 法で *O*-アシル化ガラクトセレブロシドの存在を確認することが可能と考えられる。

3) スフィンゴ糖脂質の分析：動物脳のスフィンゴ糖脂質と植物由来スフィンゴ糖脂質とでは糖鎖構造に違いがある。脳にはシアル酸を含むガングリオシドが含まれている。構成糖はグルコース、ガラクトース、シアル酸、フコースなどである。

また、ウシ脳のガングリオシドには構成糖であるシアル酸の 7、8、9 位がアセチル化されているものが知られている。一方、米ぬかのスフィンゴ糖脂質の構成糖はグルコース、マンノースなどである。そこで、糖組成および糖鎖構造により、区別が可能になると考えられる。

(3) 考察：

日本食品添加物協会の調査によると、市場に流通しているスフィンゴ脂質製品は健康食品素材用途であり、乳化剤用途の食品添加物として出荷された実績の報告はないという。今回提供を受けた製品も健康食品素材製品である。今回提供を受けた製品の製造企業の製品品質規格では、製品中のスフィンゴ糖脂質含量が約 90% であり、不純物としてのステロール配糖体は 5% 以下としている。精製スフィンゴ糖脂質の分析法は生化学研究法としてほぼ確立しているので、今回試料とした製品のような純度であれば、主成分であるスフィンゴ糖脂質の確認試験および定量法は TLC 法および GC 法（または GC-MS 法）を採用することで比較的容易に策定できると思われる。

なお、上述の企業自主規格では、スフィンゴ糖脂質とステロール配糖体の定量法として GC 法を採用しているが、その測定条件ではスフィンゴ糖脂質については monoglycosyl-ceramide のみが測定対象となると思われる。米ぬかには 2 糖以上のスフィンゴ糖脂質も含まれていることが報告されており、製品の製造過程における精製法によって最終製品のスフィンゴ糖脂質組成が影響を受けると推測される。したがって、スフィンゴ糖脂質の確認試験（TLC 法）で、製品中のスフィンゴ糖脂質が実質的に monoglycosylceramide のみであることを確認できていることが前提となる。

製造企業は微量不純物としてステロール配糖体を想定しているが、微量成分によっては、上述の GC 法による定量では不純物である微量成分を検出できていない可能性もあり得る。今後の検討課題として、スフィンゴ脂質の微量成分を明らかとすることが必要と思われる。

ウシ脳を原料にしたスフィンゴ脂質を判別する確認試験法について文献的検討を行ったが、米または小麦のぬか由来製品とウシ脳由来製品とを区別することは原理的には可能と判断される。しかし、ぬか由来製品中にウシ脳由来の物を混在させた場合には混入を検出することは機器分析法では困難と思われる。ELISA など免疫化学的手法が必要と思われる。

D. 結論

1. キダチアロエ抽出物：

キダチアロエ抽出物よりガラクトツロン酸、アラビノース、ラムノース、ガラクトース、

およびグルコースで構成される多糖体を単離した。本多糖体はペクチン型糖鎖、アラビノガラクトン型糖鎖、ラムノガラクトロン型糖鎖などで構成される多糖体であると推測された。

キダチアロエ抽出物、局方アロエおよびアロインの成分組成が異なることを明らかとした。aloenin および barbaloin を共に含有するキダチアロエ抽出物は、局方アロエおよびアロインと TLC により区別可能であることがわかった。

2. アグロバクテリウムスクシノグリカン：

本製品中の多糖体の単糖組成は Glc:Gal:Man = 10:1:0.8 であった。それらの多糖体は、 $\rightarrow 3$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 4$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 6$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 4,6$ -Glc-(1 \rightarrow 、 $\rightarrow 3$ -Gal-(1 \rightarrow で構成されるスクシノグリカンであることがわかった。

3. サンダラック樹脂：

クロマトグラフィー で主要成分の分離を行った。それらはジテルペンのカルボン酸誘導

体の可能性が示唆された。単離した化合物の化学構造決定を進めている。

4. スフィンゴ脂質：

米ぬか由来スフィンゴ脂質の主成分と思われる脂質部分の他、数多くのスポットが TLC 上に観察されることから、これらマイナー部分の化合物の解明を目標とした。現在、これらの画分の精製を進めている。

現在使用が禁止されているウシ脳を原料にしたスフィンゴ脂質を判別する確認試験法について文献的検討を行った。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成14年度厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
分担研究報告

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

増粘安定剤キダチアロエ抽出物の確認試験法の開発

分担研究者 山崎 壮 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第2室長
協力研究者 杉本直樹 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部研究員

研究要旨

天然増粘安定剤キダチアロエ抽出物製品の確認試験法を開発する目的で、本抽出物中の低分子成分について TLC 及び LC/MS を用いて検討した。その結果、aloenin 及び barbaloin を共に含有するキダチアロエ抽出物は、局方アロエ及びアロインと TLC により区別可能であることがわかった。更に、LC/MS により、キダチアロエ抽出物、局方アロエ及びアロインの成分組成が異なることを明らかとした。また、キダチアロエ抽出物製品中の aloenin, barbaloin, isobarbaloin を絶対検量線法により定量し、aloenin が 1.9%, barbaloin が 0.7%, isobarbaloin が 0.7%含まれることがわかった。

A. 研究目的

天然増粘安定剤キダチアロエ抽出物は、既存添加物名簿記載品目リスト¹⁾に、その基原・製法・本質として、「ユリ科キダチアロエ(*Aloe arborescens* MILL.)の葉より、搾汁して得られたものである。主成分は多糖類である。」と記載されている。キダチアロエは、民間薬として古くより用いられ、このことから、本抽出物は、添加物用途以外に健康食品素材としても用いられる。主成分の多糖類以外に有機酸、アミノ酸、アンスロン配糖体、アントラキノン類等を含有することが知られている(Fig. 1)^{2,3)}。一方、局方に記載され、医薬品として用いられるアロエは、基原植物 *Aloe ferox* Miller 又はこれと *Aloe africana* Miller 又は *Aloe spicata* Baker との雑種(Liliaceae)の葉から得た液汁を乾燥したものであり、日本市場ではケープアロエ(Cape Aloe)のみが取り引きされている。また、これからカルシウム塩を経て得られる黄色粉末は、アロイン(aloin)と呼ばれる。即ち、局方アロエ及びアロインは、天然添加物キダチアロエ抽出物とは全く別のものであり、その成分組成も異なると考えられる。従って、両者を混同しないために完全に区別可能な分析法を確立する必要がある。そこで、キダチアロエ抽出物、局方アロエ及びアロインの成分組成の差違について、数種の低分子の化合物を指標とし、LC/MS により検討した。更に、キダチアロエ抽出物中の生理活性成分とされるアロエニン(aloenin)、バルバロイン(barbaloin)及びイソバルバロイン(isobarbaloin)の定量を行うと共に、TLC による確認試験法を開発した。

B. 研究方法

1) 試料

キダチアロエ抽出物(Aloe extract)製品は、日本食品添加物協会を通じて入手した。キダチアロエ(*Aloe arborescens* MILL.)は、名古屋市立大学薬学部薬用植物園より分与していただいたものを用いた。局方アロエ(アロエ末)は、鈴粉末薬品(株)より購入したものを用いた。アロイン(aloin)は、和光純薬工業(株)、ナカライテスク(株)、Sigma より購入したものを用いた。アロエニン(aloenin)は、アロエ製薬(株)より分与していただいたものを用いた。バルバロイン(barbaloin)は、Sigma より購入したものを用いた。その他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

2) 装置

各種機器データは、次の機器を用いた。

高速液体クロマトグラフィー(HPLC): LC-10Avp system (島津製作所(株)製)

液体クロマトグラフ/質量分析装置(LC/MS): Waters LC/MS system (Waters 社製) (LC: 2525 binary high-pressure LC pump, 2767 one-bed injection-collection sample manager. PDA: 2996 photodiode array detector. MS: ZQ-2000 single quadrupole mass spectrometer.)

薄層クロマトグラフィー(TLC): HPTLC-RP-18 WF^{254s} plates (10 x 10 cm, No. 1.13124, Merck 社製)

3) HPLC 条件

Column, Inertsil ODS-2 (4.6 x 150 mm); column temp., 40°C; solvent, water : MeOH 0 min = 75 : 25 → 5 min = 75 : 25 → 20 min = 60 : 40 → 30 min = 60 : 40 → 50 min = 0 : 100; rate, 1.0 mL/min; inject., 10 µL; detect., PDA 190-600 nm, 293 nm.

3) LC/MS 条件

Analytical LC conditions: column, Inertsil ODS-2 (4.6 x 150 mm); column temp., r.t.; solvent, water : MeOH 0 min = 75 : 25 → 5 min = 75 : 25 → 20 min = 60 : 40 → 30 min = 60 : 40 → 50 min = 0 : 100; rate, 1.0 mL/min; inject., 10 μ L; detect., PDA 190-600 nm, 293 nm; split, PDA:MS = 4:1.

MS conditions: source temperature, 120°C; desolvation temperature, 350°C; desolvation gas, 350 L/h; cone gas, 60 L/h, capillary, 3.0 kV; cone, 10 V (ESI pos.), -25 V (ESI neg.); scan range, m/z 100-1000.

4) HPLC, LC/MS 分析用試料溶液の調製

キダチアロエ抽出物製品 300 mg を精密に量りとり、50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、MeOH 50 mL を正確に加え、30 分間振とう抽出した後遠心分離(3000 rpm, 10 min)し、上澄液を試料溶液とした。別に同様な操作で局方アロエより試料溶液を作成した。

アロイン(各社製) 5.0 mg を精密に量りとり、MeOH 2.0 mL に溶解し、0.45 μ m フィルター(Millipore, Millex-LH)を通した後、ろ液を試料溶液とした。

別に aloenin 1.0 mg を精密に量りとり、MeOH 2.0 mL に溶解した。これを 1/2 希釈を繰り返して、濃度 500, 250, 125, 62.5 μ g/mL の aloenin 標準溶液を調製した。別に同様な操作で 125, 62.5, 31.25, 15.635 μ g/mL の barbaloin 標準溶液を調製した。

検出波長 293 nm において、各濃度の標準溶液 10 μ L のピーク面積より作成した絶対検量線より、キダチアロエ抽出物中の aloenin, barbaloin 及び isobarbaloin を定量した。

5) TLC 用試料溶液の調製

キダチアロエ抽出物製品を 0.170 mg を量りとり、10 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、Et₂O 6.7 mL を加えて分散し、水 1.7 mL を加えた後 15 分間振とう抽出し遠心分離(3000 rpm, 10 min)した。上層 (Et₂O 層) を除き、下層 (水層) に、AcOEt 6.7 mL を加え、15 分振とう抽出し遠心分離(3000 rpm, 10 min)した。上層 (AcOEt) を分取し、50 mL のナスフラスコに入れ、この液を、50°C以下の水浴中で減圧濃縮乾固した。残留物に、

acetone 1 mL を加えて溶かした液を、試料溶液とした。また、同様な操作で局方アロエより試料溶液を作成した。

別にキダチアロエの葉 2.5 g を量りとり、50 mL のナスフラスコに入れ、水 25 mL を加えた後、1 時間還留抽出した。温時、抽出液を綿栓ろ過し、ろ液を減圧濃縮乾固した。残留物に、水 5 mL を加えて溶かし、この液を、50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、Et₂O 16 mL を加えて、以下試験溶液と同様に操作して得た液を、試料溶液とした。アロイン(各社製) 5.0 mg を量りとり、MeOH 2.0 mL に溶解し、0.45 μ m フィルター(Millipore, Millex-LH)を通した後、ろ液を試料溶液とした。また、aloenin 及び barbaloin 各 1.0 mg を量りとり、MeOH 1.0 mL に溶解し、標準溶液とした。

試料溶液及び標準溶液をそれぞれ 5 μ L を、ODS-TLC にスポットし。次に水/MeOH 混液(4 : 6)を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、風乾して UV 254 nm 照射下のスポットを観察した。

C. 結果及び考察

1. TLC 分析

食品及び食品添加物の簡易分析法として、多数の試料の同時分析が可能である TLC が優れている。また、TLC は、試料の R_f 値、自然光又は紫外線照射時の色調、試液噴霧後の試料の色調変化等の多くの化合物情報が得られることから、行政試験等に適している。そこで、キダチアロエ抽出物、局方アロエ、市販のアロイン及びキダチアロエの葉より抽出したものを aloenin 標品と barbaloin 標品と共に ODS-TLC により展開し、その差違について検討した(Fig. 2)。キダチアロエ抽出物及びキダチアロエの葉より抽出したものは、UV 254 nm 照射下において、共に R_f 値 0.68, 0.49 に二つのスポットが観察された。両スポットは、標品との比較からそれぞれ aloenin 及び barbaloin によるものと判断された。一方、局方アロエは、barbaloin に相当する R_f 値 0.49 のスポット以外に 4 つのスポットが観察されたが、aloenin に相当する R_f 値 0.68 にスポットは観察されなかった。また同様に、各社市販のアロインは barbaloin に相当する R_f 値 0.49 のスポットが観察されたが、aloenin に相当するスポットは観

察されなかった。なお、各社製アロインは、すべてほぼ同様なパターンを示した。従って、aloenin 及び barbaloin を共に含有するキダチアロエ抽出物は、局方アロエ及びアロインと TLC により区別可能であることがわかった。しかし、標品として用いた aloenin は、一般に流通しておらず、入手が困難である。よって、一般にこれを標品として使用することが不可能であるが、入手可能な局方アロエまたはアロインと比較することで、barbaloin と局方アロエ及びアロインに含有されていない aloenin のスポットをのみを示すキダチアロエ抽出物を TLC により確認することが可能であると考えられた。

2. LC/MS 分析

Aloe 属植物の葉の低分子成分として Fig. 1 にしめす成分が報告されているが、基原植物によってその成分組成は異なると予想される。そこでキダチアロエ抽出物、局方アロエ及びアロイン中の成分組成の差違を明らかにするために LC/MS 分析を行った。Fig. 3 にキダチアロエ抽出物、局方アロエ及びアロインのクロマトグラムを示した。なお、キダチアロエ抽出物製品と葉より抽出し調製したものと各社製アロインは、それぞれほぼ等しいパターンを示したので省略した。キダチアロエ抽出物製品は、保持時間 17.4 (ピーク 2), 33.7 (ピーク 5), 35.6 (ピーク 6) 分に主にピークが観察された。Aloenin 及び barbaloin 標品との比較により、ピーク 2 が aloenin, ピーク 6 が barbaloin であることを確認した。また、ピーク 5 は、ピーク 6 と完全に等しい PDA 及び MS スペクトルを与えたことから、barbaloin の 10 位のエピマーの isobarbaloin と決定した。一方、局方アロエのクロマトグラムはキダチアロエ抽出物製品とは異なり、保持時間 5.0 (ピーク 1), 18.9 (ピーク 3) 分にピークが観察されたが、aloenin (ピーク 2) は検出されなかった。また、同様に、アロインからも、aloenin (ピーク 2) は検出されず、更に保持時間 27.7 (ピーク 4) 分にピークが観察された。ピーク 1 は、ESI-MS (neg. and pos.) において、 m/z 393 [M-H], 395 [M+H]⁺ を与え、aloesin (MW394) と決定した。ピーク 3 は、ESI-MS (neg. and pos.) において、 m/z 539 [M-H], 541 [M+H]⁺ を与え、aloeresin A または aloeresin E のいずれかと推定されたが、PDA ス

ペクトルが aloeresin A の文献値と完全に一致することから、ピーク 3 を aloeresin A と決定した。ピーク 4 は、ESI-MS (neg. and pos.) において、 m/z 555 [M-H], 557 [M+H]⁺ を与え、isoaloeresin D と決定した。従って、キダチアロエ抽出物は、aloenin, aloesin, aloeresin A, isoaloeresin D の有無で局方アロエ及びアロインと区別可能であると考えられた。

3. aloenin, barbaloin, isobarbaloin の定量

キダチアロエ抽出物製品中の aloenin, barbaloin, isobarbaloin を定量するために、aloenin, barbaloin を標品にその濃度と検出波長 293 nm におけるピーク面積より絶対検量線を作成した (Fig. 4)。なお、barbaloin と isobarbaloin は、極大波長 293 nm において同一のモル吸光係数をもつことから、isobarbaloin の定量には barbaloin より作成した検量線を用いた。その結果、キダチアロエ抽出物製品 300 mg 中に、aloenin が 5.8 mg (1.9%), barbaloin が 2.2 mg (0.7%), isobarbaloin が 2.1 mg (0.7%) 含まれることがわかった。

D. 結論

天然増粘安定剤キダチアロエ抽出物製品の低分子成分について TLC 及び LC/MS を用いて検討した。その結果、aloenin 及び barbaloin を共に含有するキダチアロエ抽出物は、局方アロエ及びアロインと TLC により区別可能であることがわかった。更に、LC/MS により、キダチアロエ抽出物、局方アロエ及びアロインの成分組成が異なることを明らかにした。また、キダチアロエ抽出物製品中の aloenin, barbaloin, isobarbaloin を絶対検量線法により定量し、aloenin が 1.9%, barbaloin が 0.7%, isobarbaloin が 0.7% 含まれることがわかった。

E. 参考文献

1. 厚生省生活衛生局長通知 “別添 1 既存添加物名簿収載品目リスト” (平成 8 年 5 月 23 日) 衛化第 56 号 (1996)。
2. Okumura, N., Asai, M., Hine, N., Yagi, A., High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in Aloe species, *J. Chromatogr. A*, 746, 225-231 (1996)。
3. Kuzuya, H., Tamai, I., Beppu, H., Shimpo, K., Chihara, T., Determination of aloenin, barbaloin and isobarbaloin in Aloe species by micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. B*, 752, 91-97 (2001)。

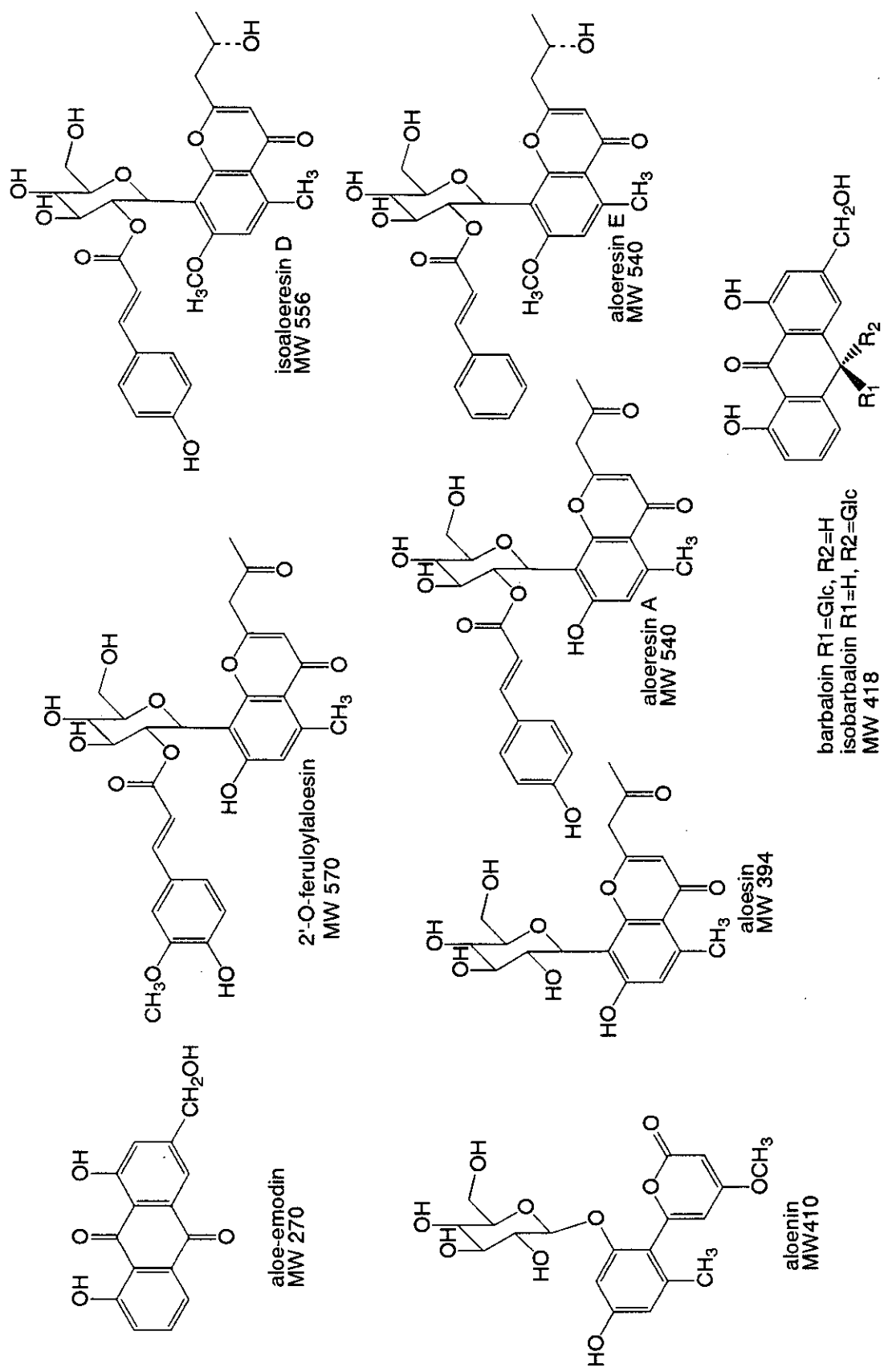


Fig. 1 Structures of constituents in plant of the genus Aloe

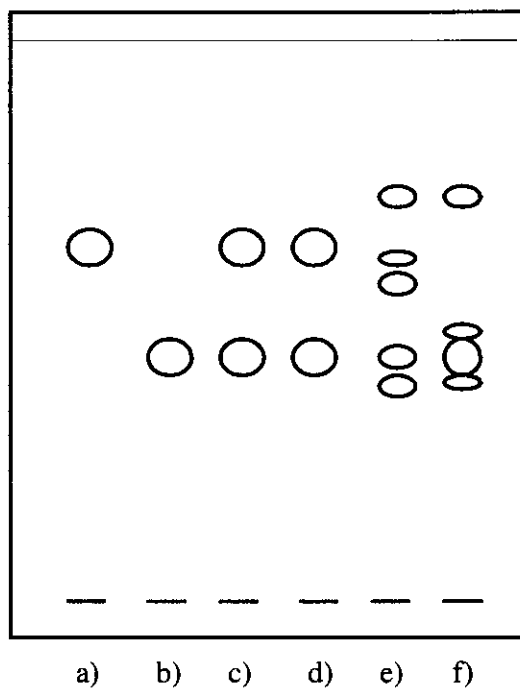


Fig. 2 ODS-TLC profiles of aloe extract, JP aloe, aloin, aloenin, and barbaloin
a) aloenin (std). b) barbaloin (std). c) aloe extract (prepared from leaves of *Aloe arborescens*)
d) aloe extract. e) JP aloe. f) aloin (Sigma). Solvent: MeOH : water = 2 : 3. Spots visualized
with ○= UV 254 nm.

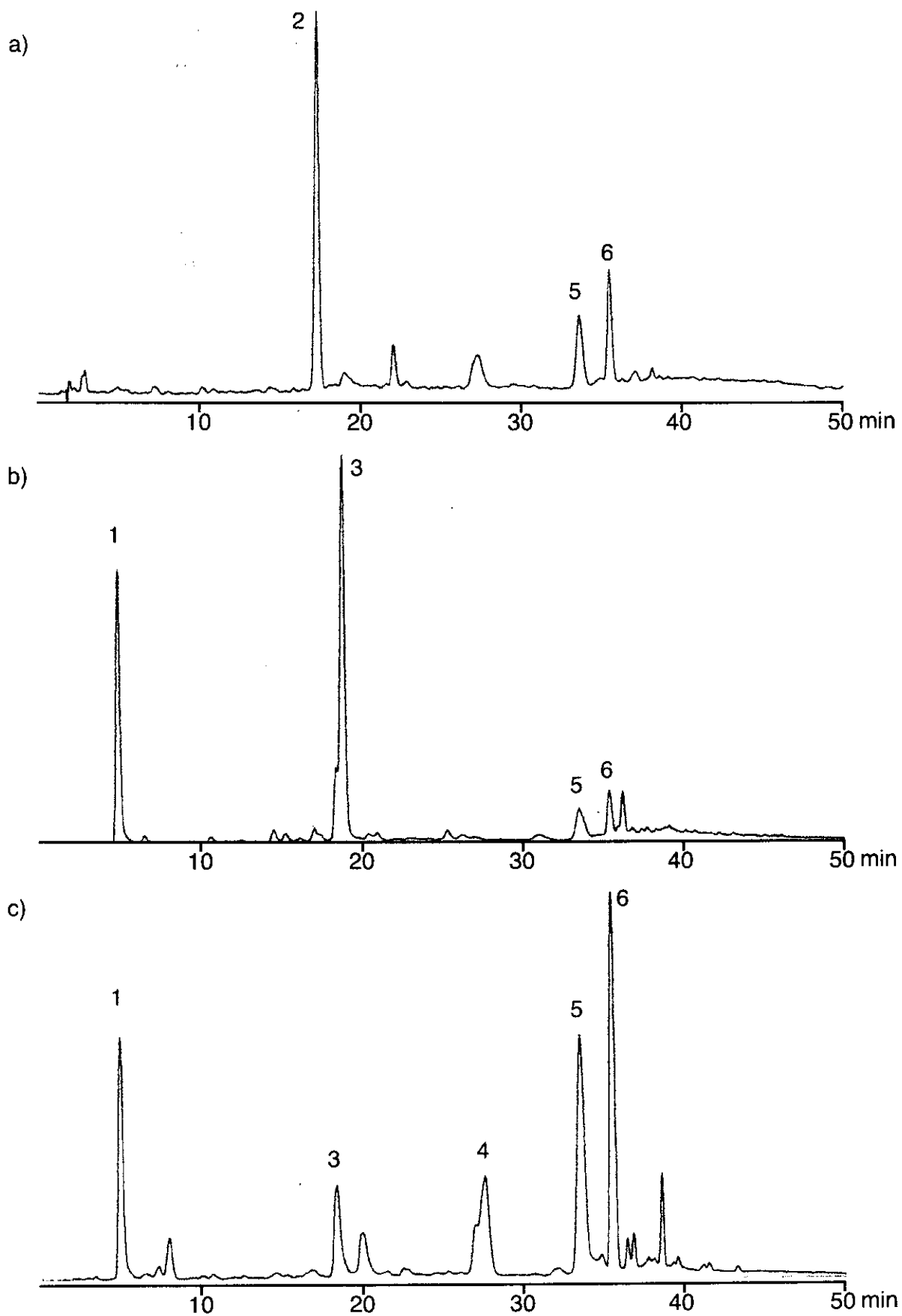


Fig. 3 LC/MS profiles of aloe extract, JP aloe, and aloin
a) aloe extract. b) JP aloe. c) aloin (Sigma). See experimental section.
1: aloesin (m/z 393 [M-H]⁻, 395 [M+H]⁺). 2: aloenin (m/z 409 [M-H]⁻, 411 [M+H]⁺). 3: aloeresin A (m/z 539 [M-H]⁻, 541 [M+H]⁺). 4: isoaloesin D (m/z 555 [M-H]⁻, 557 [M+H]⁺). 5: isobarbaloin (m/z 417 [M-H]⁻, 419 [M+H]⁺). 6: barbaloin (m/z 417 [M-H]⁻, 419 [M+H]⁺).

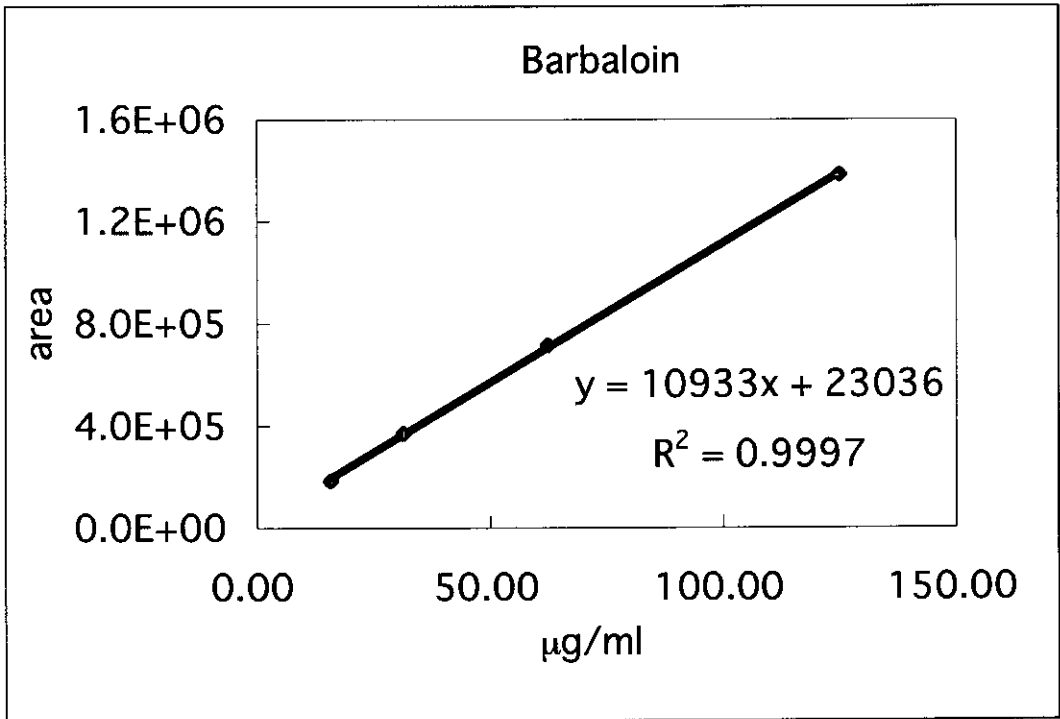
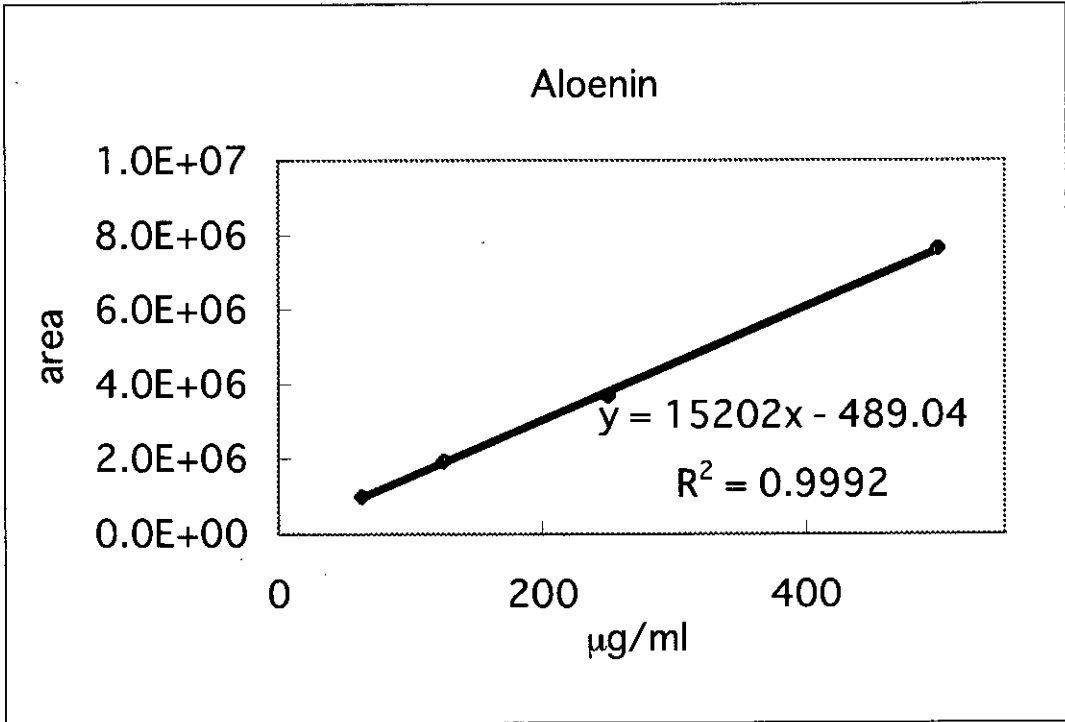


Fig. 4 Calibration Curves of aloenin and barbaloin

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
協力研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

増粘安定剤キダチアロエ抽出物の成分研究

協力研究者 李 貞範 富山医科薬科大学薬学部 助手

研究要旨

キダチアロエ抽出物より多糖体を単離し、その糖組成を検討した。この結果、収率 9.1% で得られた多糖体はガラクトuron酸、アラビノース、ラムノース、ガラクトース、及びグルコースで構成されることが明らかになった。

A. 研究目的

既存添加物の多くは天然抽出物であり、その成分は多成分である。本研究では添加物（製品）の成分研究を実施し、その実際の成分を明らかにする必要がある

キダチアロエ抽出物に含まれる多糖体を同定することを目的に以下の実験を行った。

B. 研究方法

キダチアロエ抽出物 2 g を 0.1 M NaCl に溶解後、2 倍量のエタノールを攪拌しながら加え、エタノール沈殿画分を回収した。

得られたエタノール不溶部 55 mg を 0.1 M NaCl (2 ml) に溶解し、トヨパール HW-65(S) ゲルろ過カラムクロマトグラフィ（2.2 x 100 cm）に供した。カラムの溶出は 0.1 M NaCl を溶離液に用い、流速 0.5 ml/min で行った。各フラクション（7 ml）についてフェノール硫酸法を行い、480 nm における呈色を測定し、溶出曲線を作成した。

得られた多糖画分について、フェノール硫酸法により糖量を、m-ヒドロキシジフェニル法によりウロン酸量を定量した。また、メタノリシス後にトリメチルシリル化を行い、GC-MS により構成糖の同定を行った。

C. 研究結果

アロエ抽出物 2 g をエタノール沈殿処理に供した結果、エタノール不溶部 718.9 mg を得た。

トヨパール HW-65(S)ゲルろ過クロマトグラフィにより、フェノール硫酸法陽性の多糖画分を得た結果、高分子画分 55 mg より 13.9 mg の多糖体を単離した。本多糖体の収率は抽出物粉末より 9.1%であった。

得られた多糖体についてフェノール硫酸法、及び m-ヒドロキシジフェニル法により糖量とウロン酸量を定量した結果、それぞれ 17.5% と 80.7%という結果であった。

次に構成糖について検討した結果、中性糖とし

てアラビノース、ラムノース、ガラクトース、グルコースを約 1.8 : 1 : 2 : 3 の比で含み、ウロン酸は全てガラクトuron酸であることが認められた。

D. 考察

キダチアロエ抽出物粉末より収率 9.1% で多糖体を単離した。この多糖体はウロン酸を多量に含むものであった。このウロン酸は全てガラクトuron酸であったことから、ペクチンのようなポリガラクトuron酸であることが示唆された。また、中性糖としてアラビノースとガラクトースが存在することからアラビノガラクトン型糖鎖が、ラムノースの存在からラムノガラクトuron型糖鎖の存在も示唆された。従って、本抽出物中に存在する多糖体はペクチンやアラビノガラクトン、ラムノガラクトuron型糖鎖構造を含むものであると推定された。

アロエペラに含まれている多糖体としてマンナン（アロエマンナン、アセマンナン）がよく知られている。しかしながら、今回単離した高分子多糖体にはマンノースが存在しないことから、アロエマンナンは含まれていないと推測される。

E. 結論

キダチアロエ抽出物よりガラクトuron酸、アラビノース、ラムノース、ガラクトース、及びグルコースで構成される多糖体を単離した。本多糖体はペクチン型糖鎖、アラビノガラクトン型糖鎖、ラムノガラクトuron型糖鎖などで構成される多糖体であると推測された。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録

- なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
協力研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

増粘安定剤アグロバクテリウムスクシノグリカンの成分研究

協力研究者 李 貞範 富山医科薬科大学薬学部 助手

研究要旨

市販のアグロバクテリウムスクシノグリカン製品に含まれる多糖体の構造を組成分析やメチル化分析により検討した。この結果、本試料に含まれる多糖体は→3)-Glc-(1→、→4)-Glc-(1→、→6)-Glc-(1→、→4,6)-Glc-(1→、→3)-Gal-(1→で構成され、非還元末端位にピルビン酸が結合していることが示唆された。

A. 研究目的

既存添加物の多くは天然抽出物であり、その成分は多成分である。本研究では添加物（製品）の成分研究を実施し、その実際の成分を明らかにする必要がある。

本研究では、市販のアグロバクテリウムスクシノグリカン製品に含まれる多糖体の構造について検討した。

B. 研究方法

日本食品添加物協会から供与された市販アグロバクテリウムスクシノグリカン製品 (Lot: 0133153) を蒸留水に溶解後、Dowex 50W x 8 イオン交換樹脂 (H⁺ form) によりスクシノグリカンを H⁺ form にした。得られた多糖水溶液に 10% 塩化セチルピリジニウム水溶液を攪拌しながら加え、スクシノグリカンを沈殿させた。沈殿を 10% NaCl 溶液で溶解し 3 倍量の EtOH を加えスクシノグリカンを沈殿させた。沈殿をエタノールで洗浄後、蒸留水に溶解し凍結乾燥し、スクシノグリカン Na 塩 (SG-Na) を得た。

SG-Na を 2 N TFA で酸加水分解後、常法に従いアルジトールアセテート誘導体にして GC により構成糖を、SG-Na、及び脱ピルビン酸化 SG (DP-SG) について箱守法によるメチル化分析を実施した。

C. 研究結果

単離操作の結果、市販製品よりスクシノグリカン Na 塩 (SG-Na) を 77.6% の収率で得ることが出来た。

SG-Na を 2 N TFA、121 °C、3 h の条件で完全酸加水分解し、還元後、アセチル化によってアルジトールアセテート誘導体にしてから分析した

結果、SG-Na の構成糖はグルコース、ガラクトース、マンノースであり、それぞれが 10:1:0.8 の比で存在することがわかった。

次いで、それぞれの構成糖の結合様式、及び置換基の結合位置を推定するために、脱ピルビン酸化体 (DP-SG) を調製し、箱守法によるメチル化分析を実施した。これらの結果より、構成糖残基として→3)-Glc-(1→、→4)-Glc-(1→、→6)-Glc-(1→、→4,6)-Glc-(1→、→3)-Gal-(1→ を主として含み、非還元末端位にピルビン酸が置換した Glc 残基の存在が示唆された (Table 1)。さらに、少量の Man が非還元末端位にピルビン酸が置換していることも示唆された。

D. 考察

スクシノグリカンは *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* などのバクテリアが産生する菌体外多糖であり、食品添加物など広く利用されている。その構造は、Glc と Gal からなる 8 糖単位の繰り返し構造を有し、スクシニル基やピルビン酸基などの置換基を有するとされている。

本研究ではローディア日華株式会社の RHEOZAN のスクシノグリカンは *Agrobacterium* 由来であり、文献で報告されている *Sinorhizobium melitoli* 由来スクシノグリカンなどとは単糖組成が異なることが明らかとなった。すなわち、文献で報告されているスクシノグリカンの単糖組成は Glc:Gal=7:1 であるのに対し、本研究で得られた結果は Glc:Gal:Man=10:1:0.8 であった。

糖鎖の結合様式はメチル化分析により推定することが可能であり、本研究でも同様に実施した。メチル化分析を行うに当たり、ピルビン酸エステルの結合位置も同時に推定するために、希酸処理

により調製した脱ピルビン酸化体 (DP-SG) についても併せて実施した。この結果、構成糖残基はこれまでに報告されているスクシノグリカンの特徴とよく一致していた。また DP-SG の解析結果より、ピルビン酸エステルは非還元末端に結合した Glc と Man 残基に 4,6-ケタール結合により置換していることが示唆された。

E. 結論

本製品中の多糖体は $\rightarrow 3$ -Glc-(1 \rightarrow , $\rightarrow 4$)-Glc-(1 \rightarrow , $\rightarrow 6$)-Glc-(1 \rightarrow , $\rightarrow 4,6$)-Glc-(1 \rightarrow , $\rightarrow 3$)-Gal-(1 \rightarrow で構成されるスクシノグリカンであることがわかった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
協力研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

ガムベース サンダラック樹脂の成分研究

協力研究者 黒柳 正典 広島県立大学生物資源学部 教授

研究概要

天然添加物として用いられているサンダラック樹脂の主成分を各種分離法を用い抽出分離を行い、その構造を分光学的手法を中心に解析した。

A. 研究目的

天然添加物の安全性評価および規格基準を設定するためには天然添加物中の主要成分を明らかにし、生理活性や毒性等を評価し、分析法の確立が必要である。そこで、既に用いられているにもかかわらずその成分の詳細な情報のない天然添加物のうち、サンダラック樹脂の主要成分の分離および化学構造決定の研究を行う。その結果、安全性評価および規格基準設定のための基礎資料を提供する。

B. 研究方法

サンダラック樹脂については供給された樹脂（固形物）をは、TLC の結果特に極性の高い成分の存在が認められなかったので、溶媒による分配は行わず直接シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。得られた多くのフラクションを TLC を比較することにより最終的に7つのフラクションに纏めた。サンダラック樹脂の各フラクションは含有するスポットの数が比較的少なく主要成分のスポットが明確であったが、TLC 上でのテーリングが甚だしく、また、HPLC による分離では、分析レベルでは比較的良好な分離が観察されたが、分取のレベルにスケールアップするとカラムの詰まり等のトラブルが多く、ひとまず HPLC による分取は断念せざるを得なかった。そこで PLC によって分取を行ったが、この場合も高濃度のサンプルを適用するとテーリングやスポットの重なりがおこり良好な分離が出来なかったが、PLC を繰り返すことにより4種類の化合物を分離した。

なお、試料とした天然添加物の分離のスキームを Fig. 1 に示す。

C. 研究結果

サンダラック樹脂について、カラムクロマトグラフィーによる分離を行い各フラクションの

TLC の様子から7つのフラクションに纏めた。これらのフラクションのうち Fr. 2, Fr.3 は TLC から比較的単純な分離パターンが認められたので、これらについて PLC による分離を行い、4種類の化合物を得ている。これらの化合物の構造を決めるべく NMR の測定中を行っているところである。

D. 考察

サンダラック樹脂のカラムクロマトグラフィーのフラクションの TLC において、極性の低いフラクションに主成分と考えられるスポットが認められ、含まれる成分の数は比較的少ないのではないと思われる。得られたフラクションの一部について分離を行い4つの化合物を分離している。極性の高いフラクションは全体的にテーリングが激しく明確なスポットが認められない。実際、サンダラック樹脂から得られた化合物は TLC において、スポットのテーリングが強いことと発色状況と、ヒノキ科の植物を起源としていることを考えると、ジテルペンのカルボン酸誘導体の可能性が示唆される。現在、分離した4種類の化合物について NMR の測定を行っているところである。

E 結論

サンダラック樹脂からも5種類余りの化合物が分離され構造を検討中である。サンダラック樹脂の場合、主成分が比較的明確でしかも含有化合物の数が少ないことが分かる。

F 研究発表

無し

G 知的所有権の取得状況

無し

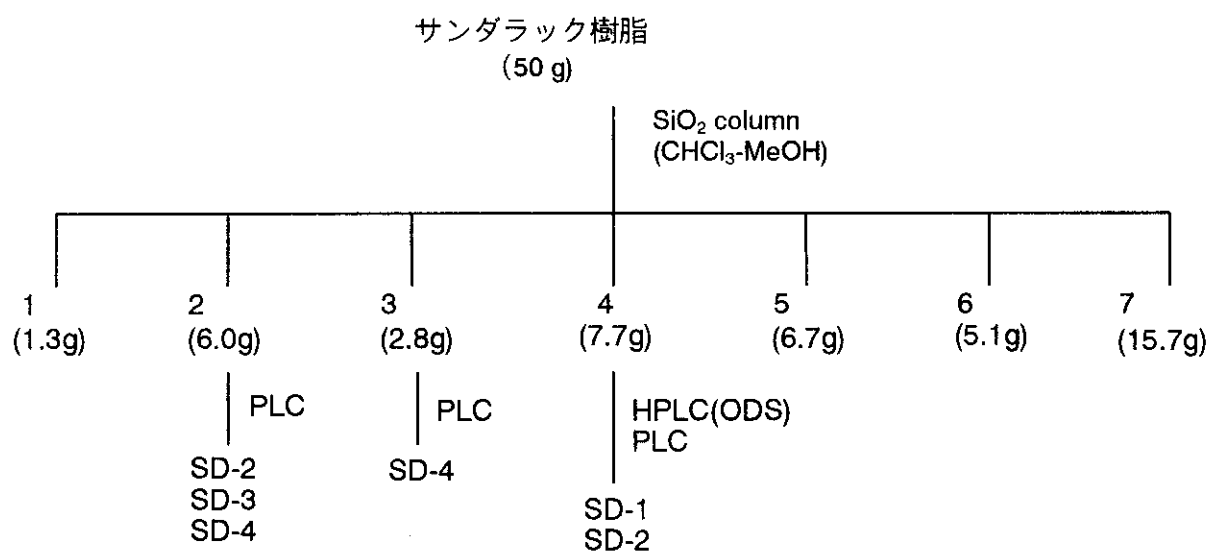


Fig.1 サンダラック樹脂の分離スキーム

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
協力研究報告書

既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

乳化剤スフィンゴ脂質の成分研究

協力研究者 永津 明人 名古屋市立大学大学院薬学研究科 講師

研究要旨

スフィンゴ糖脂質には極性の大きく異なる同類の脂質が多種含まれていることが NMR スペクトルから推定された。それら構造については現在検討中である。

A. 研究目的

天然食品添加物はもともと食用だったものの一部あるいは一部を濃縮したものを用いることが多いことから、安全性が確立されていると多くの場合考えられている。しかしながら、その効果を期待する主成分が明らかになっても微量成分に関しては多くの場合解明されていない。そこで今回、我々は、乳化剤として利用されているスフィンゴ糖脂質について主成分以外の微量成分を明らかとすることを目的に、研究を行った。

B. 研究方法

スフィンゴ糖脂質の微量成分を、シリカゲル、ODS など各種担体と HPLC などを駆使した各種クロマトグラフィーを用いて分離し、単離された化合物の各種 NMR、MS などのスペクトル測定を行ってその構造を明らかとする。構造の確認のため必要に応じて誘導化なども行った。

C. 研究結果および考察

シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いた分離を行った結果、メインの化合物のほか極性の大きく異なる化合物が多種単離された。それら微量の化合物の NMR スペクトルをそれぞれ測定し

たところ、いずれもよく似たスペクトルを示したことから同類の脂質が多く含まれていることが推定された。

NMR 的に構造解析は困難であることから、現在 ESI-FT-MS/MS あるいは LC-ESI-四重極 MS/MS での条件を検討中である。

スフィンゴ糖脂質は各化合物の分離は可能だが構造決定には MS/MS が有効と考えている。

D. 結論

スフィンゴ糖脂質には極性の大きく異なる同類の脂質が多種含まれていることが NMR スペクトルから推定された。

E. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし