

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
既存添加物の安全性確保のための規格基準設定に関する研究
（H26-食品-一般-001）

平成26～28年度分担総合研究報告書

研究分担課題：既存添加物の含有成分解析に関する研究

研究分担者：井之上 浩一

要旨 第8版食品添加物公定書または日本食品添加物協会「既存添加物自主規格（第4版）」に記載されている既存添加物について、成分規格作成を実施した。対象物質は、ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素、クチナシ黄色素、ゴマ油不けん化物、ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素である。結果として、ムラサキイモ色素、クチナシ黄色素、ゴマ油不けん化物、ベニコウジ黄色素については、本分析法により含有成分の評価が可能であると考えられる。その他については異なる分析法の再検討が必要であり、今後進めていくこととなる。

A. 研究目的

本研究では、既存添加物の含有成分解析に関する分析およびその化学物質の評価を実施した。具体的には、ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素、クチナシ黄色素、ゴマ油不けん化物、ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素についてである。

ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素

ムラサキイモ色素は、サツマイモ (*Ipomoea batatas* P.) の塊根から得られ、シアニジンアシルグルコシドおよびペオニジンアシルグルコシドを主成分とする。また、ムラサキヤマイモ色素は、ヤマノイモ科ヤマイモ (*Dioscorea alata* L.) の塊根より、水もしくは含有エタノールで抽出したものであり、ムラサキイモ色素と同じくシアニジンアシルグルコシドなどを主色素成分としている。いずれの色素も酸性溶液において、赤～暗赤紫色であり、アルカリ溶液では、暗緑色を呈する。これらの色素の確認試験は、第8版食品添加物公定書（以下、8版公定法）および日本食品添加物協会「第4版既存添加物自主規格」（以下、4版自主規格）に規格されている。ムラサキイモ色素は、8版公定法により、確認試験が記載され、ムラサキヤ

マイモ色素は、4版自主規格により確認試験がある。その一方で、ムラサキイモ色素およびムラサキヤマイモ色素の主成分は、シアニジンアシルグルコシドなどと示されているが、詳細な比較検討は実施されていない。つまり、今後の規格試験では、2種類の色素を比較しながら、指標となる成分の探索や試験法の検討を実施する必要がある。そこで、本研究では、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いた各成分比較を実施することとした。

クチナシ黄色素

クチナシ黄色素は、アカネ科クチナシ (*Garden augusta Merrill* もしくは *Gardenia jasminoides Ellis*) の果実を水または、エタノールで抽出、若しくは加水分解を経て得られる色素であり、クロシンおよびクロセチンを主成分とする。また、一般的には、クチナシ黄色素は非色素成分としてゲニポシドも含まれている。本着色料製剤は、黄～暗赤色の粉末、塊、ペースト又は液体で、わずかに特異なおいがある。現在、8版公定法では、クチナシ黄色素の確認試験、ゲニポシド純度試験、色価測定法が規定されている。特に、確認試験や色価測定法では、アルカリ条件下により、クロシンを加

水分解し、その殆どをクロセチンにしたものを分析対象としている。これは、クロセチン高含量（殆どクロシンを含有しない）製品が国内に流通していることから、本試験はクロシンおよびクロセチンのいずれかを主成分とする製品に対応するための規格としている。また、純度試験には、ゲニポシドを 0.5%以下（色価 100 に換算）として、HPLC による定量法が規格されている。さらに、サフラン色素（Saffron Color）は、欧米を中心に食品の着色に利用されており、クチナシ黄色素同様にクロシンおよびクロセチンを主成分としている。サフラン色素は、アヤメ科サフラン（*Crocus sativus* Line）の雌蕊頭から、エタノールで抽出され、ゲニポシドは含有していない。サフラン色素は、国内では一般飲食物添加物リストに記載されており、4 版自主規格に成分規格が示されている。クチナシ黄色素の分析については、色素成分（クロシン）またはゲニポシドを確認試験とする分析法が報告されている。しかしながら、クチナシ黄色素やサフラン色素製剤の成分は類似しており、色素成分およびゲニポシドのみの評価では限界があることが示唆されている。そこで、本研究では、8 版公定法に準じて、HPLC を用いた成分規格分析法の検討を実施した。また、その定量評価を目的として、クロセチンの単離精製を高速向流クロマトグラフィー（HSCCC）により実施し、その指標による製剤分析評価も行った。

ゴマ油不けん化物

ゴマ油不けん化物（Sesame Seed Oil Unsaponified Matter）は、ゴマ（*Sesamum indicum* Linné）の種子から得られた、セサモリンを主成分とするものである。4 版自主規格の確認試験では、本品を直接順相系 HPLC により測定し、保持時間 8~23 分の間に認められる 5 本以上のピーク評価を行っている。しかしながら、条件にはセサミンの保持時間を 12 分に流速を調整する以外は、具体的な主成分の同定や定量分析は実施されていない。その規格は、「5 本以上検出されるピークのうち、最大ピーク面積を 100 とするとき、その他の 4 本のピーク面積比はいずれも 30 以上である」としている。つまり、複数のピークは面積比で主成分（セサモリン）に対して、30%以上の異なる物質含有を認めている。本自主規格案では、正確なセサモリンの評価は実施されておらず、具体的な定量や純度確認ではない。さらに、順相系 HPLC として移動相にヘキサン/酢酸エチルを用いているため、廃液処理などの観点からも汎用性に欠け、さらなる改良が必要と考えられる。そこで、本研究では、セサモリンやセサミンの分析法を基盤に逆相系 LC の検討を実施することとした。また、各成分の単離精製には、HSCCC を用いることとした。

ク面積比はいずれも 30 以上である」としている。つまり、複数のピークは面積比で主成分（セサモリン）に対して、30%以上の異なる物質含有を認めている。本自主規格案では、正確なセサモリンの評価は実施されておらず、具体的な定量や純度確認ではない。さらに、順相系 HPLC として移動相にヘキサン/酢酸エチルを用いているため、廃液処理などの観点からも汎用性に欠け、さらなる改良が必要と考えられる。そこで、本研究では、セサモリンやセサミンの分析法を基盤に逆相系 LC の検討を実施することとした。また、各成分の単離精製には、HSCCC を用いることとした。

ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

ベニコウジ色素およびベニコウジ黄色素は、ベニコウジカビ（*Monascus purpureus*）から得られ、昔から沖縄などで、紅酒や豆腐のような発酵食品として利用されてきた。ベニコウジ色素は、培養した紅麹カビをプロピレングリコールやエタノールなど水溶性の溶剤で抽出し、一般的にはアンカフラビン、モナスコルブリンを色素の主成分としている。ベニコウジ黄色素は、同様のベニコウジカビを微温時弱塩酸性エタノールで抽出し、中和して得られたものとし、主色素はキサントモナシン類とされている。8 版公定法には、ベニコウジ色素（Monascus Color）が収載されている。確認試験では、主に色彩の評価のみであり、明確に主成分を定性し、分析するものとなっていない。また、純度試験では、シトリニンを 0.2 $\mu\text{g/g}$ 以下と定め、HPLC 法が規格化されている。主成分の定義は、アンカフラビン類およびモナスコルブリン類が記載されている。ベニコウジ黄色素（Monascus Yellow）は、4 版自主規格に規格されているが、確認試験では色彩の評価のみである。シトリニンの純度評価に関しては、示されていない。主成分では、キサントモナシン類と示されている。以上より、いずれも同じベニコウジカビから生成される色素成分であるが、培地条件や抽出方法により、異なる成分が含有することが考えられ、早急に主成分の規格などを示す必要がある。そこで、国内流通品であるベニコウジ色素および

ベニコウジ黄色素に関する色彩の成分規格および主成分の確定を検討することとした。

B. 研究方法

ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素

1. 試料

平成 26 年度内に国内入手可能な 4 種類のムラサキイモ色素（株式会社パイオニア企画：アヤ紫さつま芋，三笠産業株式会社：ムラサキイモファインパウダー，藤元商店：紫芋パウダー，サンレッド YM 粉末ムラサキイモ色素）を試料とした。また，ムラサキイモ（千葉県産）およびムラサキヤマイモ（沖縄県産および自家栽培[静岡県立大学薬草園]）塊根を用いた。

2. 装置

電子天秤：メトラー製 METTLER AE 100
遠心分離：クボタ製 KUBOTA 2410 および日立製作所製 HITACHI CF16RX2
恒温振盪水槽：NTS-400A，HU-M，東京理化工機（株）製
紫外可視分光光度計：日立製作所製 U-2010
HPLC 装置：Waters 社製 Waters Acquity H Class
MS 装置：Thermo Fisher Scientific 社製 Accela/Q-Exactive

3. 塊根からの色素成分の抽出

対象試料を水/エタノールによるミキサーで粉碎し，超音波抽出を行う。その後，遠心分離を行い，上清を 1 mL 採取し，精製水で 10 倍希釈する。本試料を固相抽出 Sep-Pak で精製したものを試料とした。

4. HPLC による分離分析

対象色素および塊根から抽出物は水/アセトニトリル混液（50/50，V/V）により調製した。移動相には，1.0% ギ酸水溶液/アセトニトリルを使用し，0分から30分かけて組成比 90/10 から 75/25 まで，グラジュエントを行い，その後，10/90 で 5 分間送液した。

カラム：TSKgel ODS column (2.0×150 mm，3 μm，東ソー社製)

カラム温度：40

移動相：1.0%ギ酸水溶液/1.0%ギ酸アセトニトリル(A/B:90/10(0-1 min) 40/60%(40 min))

流速：0.2 mL/min

検出波長：210-600 nm

注入量：5 μL

5. LC-MS による構造解析

測定条件は，エレクトロスプレーイオン化法（ESI：ポジティブモード）で行った。

MS 条件

Scan range: m/z 200–2000

Resolution: 70,000

Sheath gas flow rate: 40

Aux gas flow rate: 10

Spray voltage 3.80 kV

Capillary temperature: 350°C

Heater temperature: 300°C

MS/MS 条件

Scan range: m/z 150–150

Resolution: 70,000

Polarity: Positive

Sheath gas flow rate: 40

Aux gas flow rate: 10

Spray voltage 3.80 kV

Capillary temperature: 350°C

Heater temperature: 300°C

NCE: 15 eV

クチナシ黄色素

1. 試料

平成 26 年度内に国内入手可能なクチナシ黄色素製品（A694：水もしくは，エタノールで抽出，A12：加水分解を経て得られる色素）およびサフラン色素を試料とした。

2. 装置

電子天秤：メトラー製 METTLER AE 100

遠心分離：クボタ製 KUBOTA 2410 および日立製

作所社製 HITACHI CF16RX2

恒温振盪水槽：NTS-400A，HU-M，東京理化学器械(株)製

紫外可視分光光度計：日立製作所社製 U-2010

HPLC 装置：Waters 社製 Waters Acquity H Class

MS 装置：Waters 社製 LCT Premier XE time-of-flight mass spectrometer (TOF-MS)

HSCCC 装置：クツワ産業社製 Easy-Prep CCC (multi-layer coil planet centrifuge)，GL サイ

エンス社製 PU714M LC/UV702/SC762/PLC761 システム

3. HPLC によるクロシン，クロセチンおよびゲニポシドの一斉分析

対象試料及びゲニポシド溶液は水/メタノール混液 (50/50，V/V) により調製した。分析装置は上記のものを使用した。移動相には，0.1% ギ酸水溶液/メタノールを使用し，5 分間まで 80/20 で送液し，その後，15 分間で 10/90 にグラジュエントした。その後，17 分まで 10/90 とした後，初期条件で安定化を行った。

カラム：Acquity UPLC BEH C18 column (2.1 × 100 mm，1.7 μm，Waters 社製)

カラム温度：40

移動相：0.1% ギ酸水溶液/0.1% ギ酸メタノール

流速：0.3 mL/min

検出波長：210-500 nm

注入量：10 μL

4. クロセチンの単離精製

クロセチンの単離精製には，HSCCC を用いた。2 相溶媒系には，ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/0.1% ギ酸水溶液 (7/3/5/5，V/V/V/V) を用いた。HSCCC 用試料は，8 版公定法に従い，加水分解したクチナシ黄色素溶液を固相抽出 (Waters 社製 OASIS-HLB，200 mg/6 mL) により，精製したものをを用いた。固相抽出カートリッジの洗浄には，メタノールおよび精製水 5 mL で行い，試料を精製水で 2 倍希釈したものを負荷した。その後，精製水 1 mL で洗浄後，メタノール 1 mL で溶出し，濃縮乾固したもの (8.4 mg) を 2 相溶媒 1 mL にて，再溶解したものを

用いた。カラム回転数は，1000 rpm として，2 相溶媒の上層を固定相として，下層を移動相とした。流速は，1.2 mL/min とした。本条件により，得られた分画は，それぞれ HPLC により純度など測定を行った。

5. 質量分析による構造解析

測定条件は，エレクトロスプレーイオン化法 (ESI：ポジティブモード) で行った。

Capillary voltage：3.0 kV，

Cone voltage：50V，

Source temperature：120，

Desolvation temperature：350，

Cone/desolvation gas flows：50/650 L/hr

Scan ranges：m/z 100 to 1000

ゴマ油不けん化物

1. 試料

ゴマ油不けん化物は長岡香料社製 (B478) を用いた。セサモールおよびセサミンは，和光純薬社製を用いた。セサモリンは，長良サイエンス社製を使用した。

2. 装置

電子天秤：メトラー製 METTLER ML303/52

LC 装置：Waters 社製 Acquity H Class/PDAe

MS 装置：Waters 社製 Xevo TQD

HSCCC 装置：クツワ産業社製 Easy-Prep CCC (multi-layer coil planet centrifuge)，GL サイ

エンス社製 PU714M LC/UV702/SC762/PLC761 システム

3. LC による分離分析

対象試料はアセトニトリル/メタノール混液 (50/50，V/V) により調製した。移動相には，0.1% ギ酸水溶液 (A) /アセトニトリル (B) を使用し，A/B：80/20 を 1 分間維持し，その後，15 分にて A/B：2/98 のグラジュエント分析を行った。

カラム：TSKgel ODS-100V column (2.0 × 150 mm，3 μm，東ソー社製)

カラム温度：40

流速：0.2 mL/min
検出波長：200-400 nm (定量：290 nm)
注入量：5 μ L

MS 装置

測定条件は、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI：ポジティブモード) で行った。

Capillary voltage: 2.0 kV
Extractor voltage: 3 V
RF lens voltage: 2.5 V
Source temperature: 150°C
Desolvation temperature: 400°C
Cone/desolvation gas flows: 50/800 L/hr
MS/daughter scan ranges: m/z 50 to 400
Cone voltage: 15-20 V
Collision energy: 15-25 eV

4. HSCCC の分離条件

対象試料は、0.5 g を 2 相溶媒それぞれ 1 mL に溶解し、0.8 μ m の LC 用フィルターを通し、試料溶液とした。2 相溶媒には、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/水(7:3:7:3, V/V/V/V) を利用し、上層を固定相として、テフロンチューブ内(350 mL)に充填し、その後、遠心回転(1000 rpm)を行った。下層は、流速 2.0 mL/min において送液し、安定後、試料溶液を注入した。モニタリングには、290 nm を用いて、セサミンおよびセサモリンと想定されるピークをフラクションコレクターにより単離精製した。その後、エバポレータにより、濃縮乾固したものを、秤量した。秤量後、LC による分離分析に準じて、純度評価を行った。

ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

1. 試料

ベニコウジ色素は、ヤエガキ発酵技研社製、グリコ栄養食品社製、三栄源エフエフアイ社製を用いた。ベニコウジ黄色素は、三栄源エフエフアイ社製を用いた。

2. 装置

電子天秤：メトラー製 METTLER ML303/52
LC 装置：島津製作所社製

LC-20AD/SIL-20AC/CBM-20A/SPD-M20A/CTO-10A
S システム

HSCCC 装置：クツワ産業社製 Easy-Prep CCC (multi-layer coil planet centrifuge), GL サイエンス社製 PU714M LC/UV702/SC762/PLC761 システム

3. ベニコウジ色素の LC 分離分析

対象試料はアセトニトリル/メタノール混液 (50/50, V/V) により調製した。移動相には、0.1% ギ酸水溶液(A)/0.1%ギ酸メタノール(B) を使用し、A/B: 45/55 を 1.5 分間維持し、その後、15 分にて A/B: 2/98 のグラジエント分析を行った。

カラム：TSKgel ODS-100V column (4.6 \times 150 mm, 3 μ m, 東ソー社製)

カラム温度：40

流速：1.0 mL/min

検出波長：200-550 nm (定量：500 nm)

注入量：10 μ L

4. ベニコウジ黄色素の LC 分離分析

対象試料は水/メタノール混液(30/70, V/V) により調製した。移動相には、0.1% ギ酸水溶液(A)/0.1%ギ酸メタノール(B) を使用し、A/B: 70/30 をアイソクラティックにより、10 分間の分析を行った。

カラム：TSKgel ODS-100V column (4.6 \times 150 mm, 3 μ m, 東ソー社製)

カラム温度：40

流速：1.0 mL/min

検出波長：200-500 nm (定量：460 nm)

注入量：10 μ L

5. ベニコウジ色素の HSCCC の分離分析

対象試料を上層および下層混合溶液(50/50, V/V) に溶解した。二相溶媒系は、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/0.1%ギ酸水溶液(4/5/4/5, V/V/V) を用いた。分離部は、Type-J コイルを用い、遠心スピードを 1000 rpm とした。また、コイル容量は、350 mL であり、固定相には、上層を充填した。移動相には下層を用い、流速 2.0 mL/min で送液した。

6. ベニコウジ黄色素の HSCCC の分離分析

対象試料を上層および下層混合溶液 (50/50, V/V) に溶解した。二相溶媒系は、酢酸エチル/n-ブタノール/水(V/V/V)を用いた。分離部は、Type-J コイルを用い、遠心スピードを 1000 rpm とした。また、コイル容量は、350 mL であり、固定相には、上層を充填した。移動相には下層を用い、流速 2.0 mL/min で送液した。

C. 研究結果

ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素

1. HPLC による分離分析

8 版公定法 (515 ~ 535 nm) および 4 版自主規格 (525 ~ 545 nm) に検出波長を設定し、逆相分配モードによる成分分析を実施した。移動相の条件を検討した結果、ギ酸濃度を 1.0% 以上でないと良好な分離が達成できなかった。また、トリフルオロ酢酸では、0.5% でも十分に良好な分離ができた。そのような結果より、LC-MS への連結を想定して、1.0% ギ酸水溶液/アセトニトリル系を用いることにした。ムラサキイモに関するクロマトグラムは、既報のピークパターンと類似しており、ほぼ良好な分離分析が達成できたと推定される。一方で、ムラサキヤマイモでは、ムラサキイモとは全く異なるピークパターンを示した。本クロマトグラムと比較検討できる研究報告はなく、各成分の比較同定などが必要と考えられる。これらのピークはいずれも 8 版公定法 (515 ~ 535 nm) および 4 版自主規格 (525 ~ 545 nm) の確認試験を示す由来成分である。そのため、これらの比較を行うことで、今後の規格試験へ応用できるものとする。そこで、各成分の LC-MS 分析を行うこととした。

2. LC-MS による同定分析

HPLC の分離条件を利用して、LC-MS による同定分析を実施した。ムラサキイモの LC-MS クロマトグラムを Fig. 1 に示す。検出波長 513 ~ 535 nm による主な検出は、14 ピーク観察され、いずれも ESI-Positive モード (m/z 200 ~ 2000)

でマススペクトルを得ることができた。また、いずれも既報とのピークパターン、質量数 (理論値)、フラグメントイオンより、同定することが可能であった。ピーク 1 は、 $[M+H]^+$ m/z 773.212 (理論値: m/z 773.2135, $C_{33}H_{41}O_{21}$) となり、MS/MS では、 m/z 611, 499, 287 が検出され、cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 2 は、 $[M+H]^+$ m/z 787.229 (理論値: m/z 787.2291, $C_{34}H_{43}O_{21}$) となり、MS/MS では、 m/z 625, 436, 301 が検出され、peonidin 3-sophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 3 は、 $[M+H]^+$ m/z 893.234 (理論値: m/z 893.2346, $C_{40}H_{45}O_{23}$) となり、MS/MS では、 m/z 731, 449, 287 が検出され、cyanidin 3-p-hydroxybenzoylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 4 は、 $[M+H]^+$ m/z 935.244 (理論値: m/z 935.2452, $C_{42}H_{47}O_{24}$) となり、MS/MS では、 m/z 773, 449, 287 が検出され、cyanidin 3-(6''-caffeoylsophoroside)-5-glucoside と同定できた。ピーク 5 は、 $[M+H]^+$ m/z 907.249 (理論値: m/z 907.2503, $C_{41}H_{47}O_{23}$) となり、MS/MS では、 m/z 745, 463, 301 が検出され、peonidin 3-p-hydroxybenzoylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 6 は、 $[M+H]^+$ m/z 949.260 (理論値: m/z 949.2608, $C_{43}H_{49}O_{24}$) となり、MS/MS では、 m/z 787, 463, 301 が検出され、peonidin 3-(6'''-caffeoylsophoroside)-5-glucoside と同定できた。ピーク 7 は、 $[M+H]^+$ m/z 949.260 (理論値: m/z 949.2608, $C_{43}H_{49}O_{24}$) となり、MS/MS では、 m/z 787, 449, 287 が検出され、cyanidin 3-feruloylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 8 は、 $[M+H]^+$ m/z 963.275 (理論値: m/z 963.2765, $C_{44}H_{51}O_{24}$) となり、MS/MS では、 m/z 801, 463, 301 が検出され、peonidin 3-feruloylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 9 は、 $[M+H]^+$ m/z 933.264 (理論値: m/z 933.2659, $C_{43}H_{49}O_{23}$) となり、MS/MS では、 m/z 771, 433, 271 が検出され、pelargonidin 3-feruloylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 10 は、 $[M+H]^+$ m/z 1097.275 (理論値: m/z 1097.2769, $C_{51}H_{53}O_{27}$) となり、MS/MS では、 m/z 935, 499, 287 が検出され、cyanidin 3-(6'',6'''-dicaffeoylsophoroside)-5-gluc

oside と同定できた。ピーク 11 は, $[M+H]^+$ m/z 949.260 (理論値: m/z 949.2608, $C_{43}H_{49}O_{24}$) となり, MS/MS では, m/z 787, 463, 301 が検出され, peonidin 3-caffeoylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 12 は, $[M+H]^+$ m/z 1111.290 (理論値: m/z 1111.2925, $C_{52}H_{55}O_{27}$) となり, MS/MS では, m/z 949, 463, 301 が検出され, peonidin 3-dicaffeoylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 13 は, $[M+H]^+$ m/z 1125.306 (理論値: m/z 1125.3082, $C_{53}H_{57}O_{27}$) となり, MS/MS では, m/z 963, 463, 301 が検出され, peonidin 3-caffeoyl-feruloylsophoroside-5-glucoside と同定できた。ピーク 14 は, $[M+H]^+$ m/z 1095.297 (理論値: m/z 1095.2976, $C_{52}H_{55}O_{26}$) となり, MS/MS では, m/z 933, 583, 433 が検出され, pelargonidin 3-caffeoyl-p-coumaroylsophoroside-5-glucoside と同定できた。

一方で, ムラサキヤマモの LC-MS クロマトグラムより, 検出波長 523~545 nm における主な検出は, 8 ピーク観察され, いずれも ESI-Positive モード (m/z 200~2000) でマススペクトルを得ることができた。しかしながら, ムラサキイモのような報告例がなく, 同定することはできなかった。しかしながら, いずれの MS スペクトルは良好に取得することができ, 今後, 本ピークを同定することが必要と思われる。

クチナシ黄色素

1. HPLC によるクロシン, クロセチンおよびゲニポシドの一斉分析

8 版公定法により, 評価したクロシン, クロセチンおよびゲニポシドの一斉分析法を検討した。その際のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。A694 からは, 各種クロシンの異性体が検出され, 一部にクロセチンも確認された。一方で, A694 のアルカリ加水分解および A12 では, クロセチンのみが観察された。Fig. 2-[A] に示す主な 3 つのピークは, *trans*-crocetin di(\square -D-gentiobiosyl) ester (ピーク 1; 最大吸収波長: 442 nm, 保持時間: 7.8 min), *trans*-crocetin \square -D-gentiobiosyl ester (ピ

ーク 2; 最大吸収波長: 434 nm, 保持時間: 11.2 min) および *cis*-crocetin di(\square -D-gentiobiosyl) ester (ピーク 3; 最大吸収波長: 442 nm, 保持時間 11.7 min) であった。それらの TOF/MS スペクトルでは, ピーク 1 は, m/z 999.283 $[M+Na]^+$, ピーク 2 は, m/z 837.522 $[M+Na]^+$ そして, ピーク 3 は, m/z 999.282 $[M+Na]^+$ が検出され, いずれも既報を参考として確認できた。アルカリ加水分解およびクチナシ黄色素 A12 製品におけるクロマトグラムでは, 主に 2 つのピーク 4 および 5 が検出された。それらの 2 つのピークは, *trans* および *cis*-crocetin (ピーク 4; 最大吸収波長: 422 nm, 保持時間: 14.4 min) および (ピーク 5; 最大吸収波長: 422 nm, 保持時間: 15.9 min) であった。本ピークは, いずれも TOF/MS において, m/z 329.441 $[M+H]^+$ が検出されている。

同一条件において, ゲニポシドおよびその分解物であるゲニピン (m/z 226.929, $[M+H]^+$) も測定することができた。

本手法を用いて, 8 版公定法で用いるアルカリ加水分解の条件検討を実施した。0.02 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 (50°C) において, クチナシ黄色素 A694 を用いて, 加水分解した結果, ピーク 1 (保持時間: 7.8 min) および 4 (保持時間: 14.4 min) の経時変化を示すことができた。その結果, クロシンは, 5 分程度で加水分解され, クロセチンは, 20~30 分程度で一定量を示すことが分かった。その一方で, 不純物質であるゲニポシドは, 120 分程度の経時により, ゲニピンへ分解することも判明した。

2. クロセチンの単離精製

クロセチンを指標としたクチナシ黄色素の定量評価を行うため, アルカリ分解試料より, クロセチンの単離精製を行った。まずは, 固相抽出法により抽出を行った。クチナシ黄色素製剤 0.1 g から, 加水分解および固相抽出による濃縮精製により, 得られた成分 8.4 mg を HSCCC に注入することとした。また, 同時に HSCCC の 2 相溶媒系を検討することとした結果, ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/0.1% ギ酸水溶液 (7/3/5/5) を最適として利用することとし

た．本条件により，固定相の保持率は 88%となり，単離精製には，8 時間を費やした．その際のクロマトグラムを Fig. 3 に示す．クロマトグラムより，Fraction A および B をそれぞれ 2.0 および 1.2 mg 得ることができた．Fraction A を HPLC で測定した結果，クロセチン標準試料として利用できる成分が単離できた．しかしながら，*trans* 型クロセチンに対して，*cis* 型が 15%の割合で，異性化反応が生じることが分かった．いずれも HPLC で単離精製を行っても同様の反応（変換効率）が起こり，常に 15%程度の混合物となってしまった．しかしながら，他の不純物なども観察されず，安定なクロマトグラムを示したため，本試料を指標として，クチナシ黄色素の定量評価に用いることとした．

3．クロセチン指標によるクチナシ黄色素の定量評価

2 で開発した HPLC 法を用いて，3 で得た標準試料により，検量線を作成した結果，*trans* 型クロセチンにおいて， $y=549.7x+7374.6$ （相関係数 $r^2=0.998$ ）の検量線を得ることができた．本検量線を利用して，アルカリ分解後のクロセチン含有量は，A694 では 67.6%，A12 では 45.5% およびサフラン色素では 42.3%となった．

ゴマ油不けん化物

ゴマ油不けん化物中のセサモール，セサミン，セサモリンの紫外可視吸光光度における極大吸収波長を調べた．いずれも，290 nm 付近で吸収極大波長（セサモール $\lambda_{\max}=296$ nm，セサミン $\lambda_{\max}=286$ nm，セサモリン $\lambda_{\max}=289$ nm）が観察され，定量などの評価に用いることとした．本設定波長により，逆相系 LC の各種パラメータを用いて，条件検討を実施した．その結果，セサモールのシンメトリー係数は僅かに低値を示し，他の値は殆ど同等であった．その際の逆相系 LC のクロマトグラムを Fig. 4 に示す．いずれも，15 分以内に良好なピークを得ることができた．そのため，移動相には汎用性などを考慮して，0.1% ギ酸水/アセトニトリル混合液を用いることとした．本最適条件において，検出限界（LOD）および定量限界（LOQ）は，セサ

モール（LOD:0.04 ppm，LOQ: 0.15 ppm），セサミン（LOD: 0.02 ppm，LOQ: 0.08 ppm）およびセサモリン（LOD: 0.04 ppm，LOQ: 0.15 ppm）となった．各検量線においても，LOQ~5 ppm の範囲において，相関係数（ r ）0.999 以上を示した．本手法を用いて，ゴマ油不けん化物の 50 倍希釈（希釈溶媒：アセトニトリル/メタノール 50/50）のクロマトグラムを Fig. 4 に示す．その際の定量値は，セサモール：不検出（7.5 mg/kg 以下），セサミン（12.8 g/kg）およびセサモリン（9.4 g/kg）となった．本結果は，既報にあるゴマ油中の濃度よりも高含有存在していることが判明した．

本分析法は，逆相系 LC を用いているため，直接 MS に導入することも可能である．MS によるスペクトル情報があることで，飛躍的に同定能が向上する．そのため，本研究では，ESI-ポジティブモードを採用して，スペクトル解析を実施した．LC/MS には，逆相系 LC 条件をそのまま利用した．ESI-ポジティブモードにおいて，セサモール m/z 139，セサミン m/z 337 およびセサモリン m/z 233 が最も強度が高く検出された．それらをプレカーサーイオンとして採用し，プロダクトイオンスキャンにより，MS スペクトルを得た．いずれも，特異的なスペクトルを得ることができ，化合物同定に有益な情報を得ることができた．本手法を用いて，実際に検出されたゴマ油不けん化物からのピーク同定を試みた．その結果，標準溶液と同じスペクトルが検出され，確実な化合物の同定が達成できた．本結果より，順相系 LC では実施することができなかった MS による情報も同時に入手できる逆相系 LC の構築が達成できたものと判断できる．

LC 法を用いて，セサミンおよびセサモリンの HSCCC 用 2 相溶媒の分配係数および分離度の検討を行った．セサミンの分配係数 0.84 ± 0.18 およびセサモリンの分配係数 1.36 ± 0.34 であり，分離度 1.61 ± 0.05 の条件，ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/水(7:3:7:3, V/V/V/V)を採用することとした．

本条件を用いて，HSCCC による単離精製の分

析を行った際のクロマトグラムを Fig. 5 に示す。HSCCC クロマトグラムより、Fraction A および Fraction B を単離精製することができた。いずれも、絶対検量線法により定量した結果、Fraction A において、7.37 mg および Fraction B において、5.17 mg となった。また、MS/MS スペクトルにより、Fraction A および Fraction B は、セサミンおよびセサモリンであると同定できた。本試料を LC-フォトダイオードアレー分析（検出波長 200-400 nm）した結果、それぞれの純度が 99%以上となり、良好に単離精製できたものと考えられる。

ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

ベニコウジ色素およびベニコウジ黄色素は、いずれも国内で流通している試料を用いた。

次に、HPLC による分離分析を実施した。規格における色価では、ベニコウジ色素で波長 480 ~ 520 nm、ベニコウジ黄色素では、458 ~ 468 nm とされている。そこで、各モニタリングをいずれも規格基準内波長である 500 nm（ベニコウジ色素）および 460 nm（ベニコウジ黄色素）を含むフォトダイオードアレーにて検出した。ベニコウジ色素は、各検体により、全く異なるクロマトグラムパターンを示し、いずれも培養技術やベニコウジカビの種類などが異なり、得られている成分が異なることが疑われた。また、種別により HPLC による分離分析は非常に困難であるとも判断された。そのなかでも、試料 119 において、比較的明確な 4 つピークが観察された（Fig. 6）。それぞれの吸光光度スペクトルを測定した結果、いずれも 500 nm 付近に吸収極大波長をもつため、いずれもベニコウジ色素の成分であることが判明した。一方で、ベニコウジ黄色素は、明確な 2 つのピークが観察され、いずれも色素成分である可能性が示唆された（Fig. 7）。それらの吸光光度スペクトルにおいても、吸収極大波長が 400 nm 付近であり、ベニコウジ黄色の色素成分であることが示唆された。

HPLC 法では、ベニコウジ色素の成分などが固定相カラムに吸着してしまい、良好な分離分析達成できなかったと推定される。また、ベニコウジ黄色素も同様に吸着成分が存在している可能性も否定できない。そこで、吸着などの影響を受けず、回収率が 100%の分離手法である高速向流クロマトグラフィー（HSCCC）を用いて、成分解析を実施することとした。HSCCC による分離検討を実施するためには、2 相溶媒系を決定しなければならない。そこで、ベニコウジ色素では、試料 119 のクロマトグラムで示される 4 ピーク（A~D）を用いて、分配係数を算出し、2 相溶媒を検討した。また、ベニコウジ黄色素では、明確に検出されている 2 ピークを用いて実施した。いずれも、分配係数 0.2~1.5 の間であり、分離度も 1.0 以上のものを選択し、各分離の 2 相溶媒として決定した。

2 相溶媒系の検討条件を用いて、HSCCC の分離分析を実施した。その結果、Fig. 8（ベニコウジ色素）および Fig.9（ベニコウジ黄色素）にそれぞれのクロマトグラムを示す。ベニコウジ色素については、主な色素成分（赤色素）が、ソルベント付近に検出され、色彩より主成分である可能性が示された（Fig. 8：色彩成分 X）。また、その後、色彩のある成分が溶出し、それをまとめて獲得した（Fig. 8：色彩成分 Y）。色彩成分 X および Y を HPLC で分析した結果、色彩成分 X では、試料 119 のクロマトグラムで観察されたピーク A および B が検出されているが、明らかに大きなブロードの溶出成分が存在し、良好に評価できないことが判明した。また、色彩成分 Y では、試料 119 で観察されたピーク C および D が観察された。一方で、ベニコウジ黄色素は、我々の既報⁵⁾において、良好に各成分を単離精製することができた。各成分を ¹H-NMR および LC-MS/MS（エレクトロスプレーイオン化法、ポジティブモードを採用した）を用いて、解析した結果、Fraction A が、キサントモナシン A および Fraction B がキサントモナシン B であることが判明した。

D. 考察

ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素

本研究では、8 版公定法および 4 版自主規格にて、ムラサキイモおよびムラサキヤマイモの区別は不可能であったため、HPLC によるクロマ

トグラムパターンを比較した。その結果、最大吸収波長（ムラサキイモ：515～535 nm，ムラサキヤマイモ：525～545 nm）によるピークが全く異なっていた。つまり、各規格基準に準じるが、その由来成分は全く異なることが分かった。ゆえに、各ピークの成分を同定し、新たな規格基準指標をタンクする必要がある。そのため、LC-MS によって、各ピークの同定を実施することとした。Table 1 にムラサキイモ色素の吸収極大波長および同定された物質名をまとめた。いずれも報告されている既知の物質であり、いずれも有効な指標物質になりえると考えられる。一方で、ムラサキヤマイモに関しては、いずれも良好な MS スペクトルを取得することができたが、各ピークから物質を同定することができなかった。今後の比較検討で各成分の同定は重要な情報となるため、早急に NMR などを利用して、確認する必要がある。

クチナシ黄色素

本研究では、8 版公定法を基盤に国内で流通するクチナシ黄色素 2 製品およびサフラン色素 1 製品の評価および新たな HPLC による一斉分析法の検討を実施し、試験法の妥当性および新たな問題点を検証した。8 版公定法に基づく評価では、サフラン色素とクチナシ黄色素を区別することが不可能であった。

そこで、HPLC によるクロシン、クロセチンおよびゲニポシドの一斉分析法を開発し、アルカリ加水分解前後の評価を行った。逆相系グラジエントモードおよび DAD 検出法を利用することで、各成分の分離分析が達成できた。本試験法を用いて、クチナシ黄色素 A694 製品を分析した結果、様々なクロシン異性体が検出された。そのため、クロシン異性体を用いたクチナシ黄色素の指標とすることは、複数存在するため困難であると判断した。そこで、アルカリ分解後の A694 および A12 製品を測定した結果、ほぼ同様のクロマトグラムを得ることができ、*trans* 型クロセチンが最も有効に検出することができ、本化合物を指標とすることとした。そこで、HSCCC による *trans* 型クロセチンの単離精製を試みた。その結果、Fraction A として、

trans 型クロセチンを得ることができた。しかしながら、*trans* 型クロセチンは、容易に *cis* 型へ 15%程度変換してしまうことが判明した。その一方で、HSCCC を利用することで、他の不純物質なども含まず、*trans* 型 85%純度で定量を行うこととした。その結果、アルカリ分解後のクロセチン含有量は、A694 では 67.6%、A12 では 45.5%およびサフラン色素では 42.3%となった。いずれにおいても、殆どその差は、見出すことができなかった。つまり、アルカリ分解の製剤に存在するクロセチン含量だけでは、クチナシ黄色素とサフラン色素を識別することが不可能であった。

また、ゲニポシドにおいては、クチナシ黄色素から僅かであるが検出することができた。その一方で、アルカリ加水分解すると、ゲニポシドのピークは減少し、新たにゲニピンのピークが検出された。つまり、加水分解過程において、ゲニポシドは、ゲニピンに変化することが判明した。ゲニピンは、アポトーシスの誘導や免疫系への影響など薬理活性を有しており、安全性からもモニタリングが必要な物質である。8 版公定法では、不純物質として、ゲニポシドのみ規格となっている。その一方で、加水分解処理されているクチナシ黄色素製品では、ゲニポシドが適合（0.5%以下）であったとしても、そのすべてもしくは一部がゲニピンに分解されている可能性が予想される。しかし、現在の 8 版公定法では、その点について、判断することはできない。今後、ゲニピンを含めた不純物質試験が要求されるものと思われる。本研究より、以下の新たな問題点および提案ができると思われる。

ゴマ油不けん化物

本研究では、ゴマ油不けん化物の新たな確認試験法の基礎的な検討を実施した。試験法としては、逆相系 LC により、検出波長を 290 nm に設定して、セサモール、セサミンおよびセサモリンを分析するものである。本結果より、いずれもゴマ油不けん化物からの測定が可能であり、定量も達成できた。また、確実な同定を目指して直接 MS 分析することもでき、有効な MS

スペクトルを得ることができた。以上より、今後は本手法と自主規格案を比較する必要もあり、様々な流通品や製品にも汎用できることを示す必要がある。

また、HSCCC によるセサミンおよびセサモリンの効率的な単離精製法の検討を行った。今回、HSCCC を用いて、ゴマ油不けん化物からセサミンおよびセサモリンを単離精製するため、2 相溶媒系の比較した結果、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/水(7:3:7:3, V/V/V/V)が最適であるとの判断になった。本溶媒系を用いて、HSCCC による分離を行った結果 (Fig. 5), 主に 2 つの Fraction を得ることができ LC 分析の結果、Fraction A においてセサミン、Fraction B においてセサモリンが高純度 (LC 評価: 99%以上) の標準品を得ることができた。いずれも、セミ分取スケールで 1 回の操作で 数 mg から数十 mg 程度は同時に単離精製できることが判明した。しかしながら、ゴマ油不けん化物含有濃度が低いため、今回では、数 mg 程度の単離精製となった。

本標準試料は、ゴマ油不けん化物の確認試験のみならず、様々なゴマ油由来の製品に関する定量評価へ応用できるものと思われる。また、定量 NMR/LC 分析法との組み合わせにより、今後は、モル吸光度係数比による定量評価へ応用できるものと考えている。

ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

本研究では、ベニコウジカビ (*Monascus purpureus*) から生成されるベニコウジ色素およびベニコウジ黄色素について、成分規格に伴う解析を実施した。ベニコウジカビは、育成する培地条件により様々な色彩成分を生成することや抽出条件により成分が異なることなどが報告されているため、国内流通品に関して、成分規格を定める必要がある。そこで、一般的に入手可能なベニコウジ色素およびベニコウジ黄色素の解析することとした。第 8 版食品添加物公定書および 4 版自主規格の確認試験では、主に色彩を評価するものであり、流通品ではすべて規格内であった。それらの製品を用い

て、HPLC による色彩成分の評価を実施した。その結果、ベニコウジ色素の製品間において異なるクロマトグラムパターンを示し、色彩成分の違いなどが示唆された。そのうえ、様々な分離条件を検討したが、すべてに対して、良好なピーク分離が得られず、HPLC による評価は難しいことが判明した。一方で、ベニコウジ黄色素では、明確な 2 本のピークが観察された。しかしながら、それ自体が色彩の主成分とは断定することは難しく、色彩成分の回収率が 100%である HSCCC による分離評価が必要であることが分かった。HSCCC では、分配係数を算出しなければならず、ベニコウジ色素 (ピーク A~D) およびベニコウジ黄色素 (ピーク E, F) の HPLC 分析によるピークを基準に 2 相溶媒系を決定した。その結果、HSCCC の評価により、ベニコウジ色素において、色彩成分はフロント付近に大きく検出され、分配係数から想定される色彩ピークは後ろに溶出してきた。しかしながら、それを HPLC により評価した結果、主な色彩成分のピークを定めることができなかった。一方で、ベニコウジ黄色素は、HSCCC により、良好に単離精製することで、それぞれをキサントモナシン A およびキサントモナシン B と同定することができた。

E. 結論

ムラサキイモ色素・ムラサキヤマイモ色素

国内流通のムラサキイモ色素、ムラサキイモ、ムラサキヤマイモの判断について、以下に示す。

・ムラサキイモとムラサキヤマイモの識別

HPLC 法による規格基準の波長領域において、各ピークパターンが全く異なり、識別は可能であった。

・各成分の同定

HPLC 法に準じ、検出されたピークの同定を試みた。その結果、ムラサキヤマイモについては、すべて同定することができた。一方で、ムラサキヤマイモについては、全く同定することができなかった。

・今後の検討

ムラサキヤマイモの成分を同定し、両色素の識別に有用な成分を探索することが必要である。また、加水分解法なども利用して、アグリコンによる簡便な分離分析なども検討する必要がある。

クチナシ黄色素

国内流通のクチナシ黄色素製品の判断について、以下に示す。

8 版公定法の確認試験において、両製品（水もしくはエタノール抽出製品および加水分解製品）を同一条件において、判断可能である。

・クチナシ黄色素とサフラン色素の識別

8 版公定法の確認試験およびクロセチン指標による HPLC 法では識別不可能である。今後、クロシンもしくはクロセチン以外の成分を用いるなど、他の試験法が必要と判断できる。

・純度試験（ゲニポシド）の試験

8 版公定法の純度評価としては、クチナシ黄色素およびサフラン色素では適合と判断できた（0.5%以下）。しかし、加水分解の過程でゲニポシドから薬理活性を有するゲニピンへ変化することが判明した。今後、ゲニピンに対する純度試験および国内流通製品での含有調査が必要だと考えられる。

ゴマ油不けん化物

本結果より、既存添加物ゴマ油不けん化物の自主規格案について、主成分も含めて再検討する必要性が挙げられる。そのためには、今後、他の流通品も含めて、自主規格案との比較検討を進める必要があると結論付けた。本結果からの改善点は下記に示す。

定義：本品は、ゴマ（*Sesamum indicum* Linné）の種子から得られた、セサミンおよびセサモリンを主成分とするものである。

確認試験：逆相系 LC によるセサモール、セサ

ミンおよびセサモリンの同時定量法（試料は適時、アセトニトリル/メタノール混合液（50/50, V/V）にて希釈して注入する）

規格基準：セサミンおよびセサモリンの含有率を提示する。さらに、セサモールは含まれない（もしくは規定の含有率以下とする）。

本結果より、既存添加物ゴマ油不けん化物の定量分析用セサミンおよびセサモリンは、HSCCC により簡便かつ安価に単離精製できることが判明した。本標準品は、ゴマ油不けん化物の確認試験のみならず、様々なゴマ油由来の製品に応用可能と考えられる。

ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

本結果より、既存添加物ベニコウジ色素とベニコウジ黄色素の成分規格案について、主成分も含めて再検討する必要性が挙げられた。そのためには、今後、他の流通品も含めて、自主規格案との比較検討を進める必要があると結論付けた。本研究からの結論は下記に示す。

ベニコウジ色素およびベニコウジ黄色素は、培地条件や抽出条件により、全く色彩成分が異なり、明確な主成分を同定し、それに基づく規格基準が必要と考えられた。

ベニコウジ色素：赤色の主な成分は、HPLC による評価は困難であり、今後、HSCCC などを利用した主成分の同定が必要であり、それに基づく、試験の提案も求められる。

ベニコウジ黄色素：主にキサントモナシン A およびキサントモナシン B が主成分と想定される。しかしながら、いずれの標準品も入手困難であるため、今後、その含量分析に関して、検討する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Inoue, K., Tanada, C., Nishikawa, H., Matsuda, S., Tada, A., Ito, Y., Min, J. Z., Todoroki, K., Sugimoto, N., Toyooka, T., Akiyama, H. "Evaluation of Gardenia Yellow using crocetin from alkaline hydrolysis based on ultra high-performance liquid chromatography and high-speed countercurrent chromatography." *J. Sep. Sci.*, **37**, 3619-3624 (2014)

Takahashi, M., Nishizaki, Y., Sugimoto, N., Takeuchi, H., Nakagawa, K., Akiyama, H., Sato, K., Inoue, K. Determination and purification of sesamin and sesamol in sesame seed oil unsaponified matter using reversed-phase liquid chromatography coupled with photodiode array and tandem mass spectrometry and high-speed countercurrent chromatography. *J. Sep. Sci.* **39**, 3898-3905 (2016)

2. 学会発表

棚田千尋, 井之上浩一, 杉本直樹, 関俊哲, 轟木堅一郎, 豊岡利正, 穠山 浩「UPLCによるクチナシ黄色素の成分分析に関する検討」日本食品化学学会 第20回総会・学術大会, 2013年8月(名古屋)

井之上浩一「LC/MSを基盤とする天然添加物および含有成分の食品分析技術に関する研究」日本食品化学学会 第20回総会・学術大会, 2014年5月(東京)

西川弘晃, 井之上浩一, 棚田千尋, 杉本直樹, 関俊哲, 轟木堅一郎, 穠山 浩, 豊岡利正「高速向流クロマトグラフィーによる加水分解クチナシ黄色素クロセチンの単離精製」日本食品化学学会 第20回総会・学術大会, 2014年5月(東京)

高橋未来, 井之上浩一, 西崎雄三, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 穠山 浩; 逆相系 HPLC に

よる既存添加物・ゴマ油不けん化物の成分規格の検討. 日本薬学会第136年会(横浜)2016年3月26日~29日

高橋未来, 多田敦子, 西崎雄三, 杉本直樹, 竹内弘明, 中川一弥, 穠山 浩, 井之上浩一: 高速向流クロマトグラフィーによるゴマ油不けん化物からの高純度セサミンおよびセサモリンの単離精製 日本食品化学学会第22回総会・学術大会(高知), 2016年6月

G. 知的財産権の出願, 登録状況
特になし

H. 健康危機情報
特になし

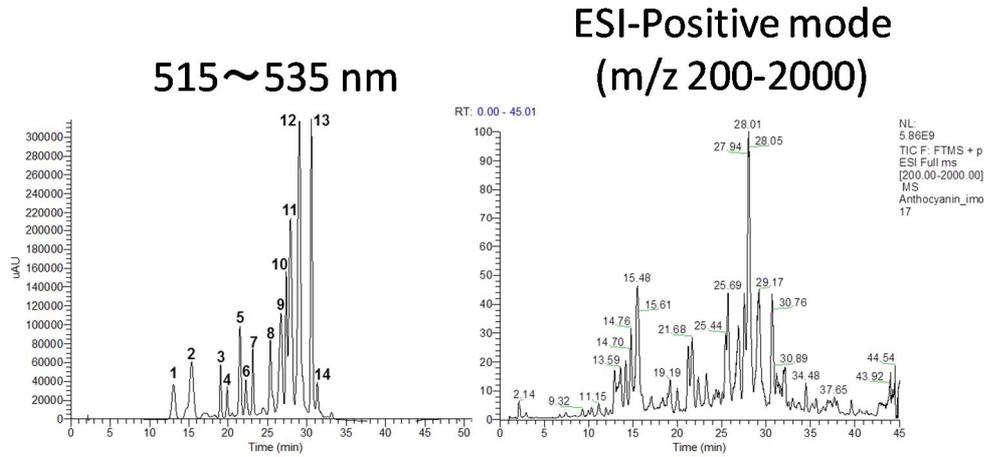


Fig. 1 ムラサキイモのLC-MSクロマトグラム

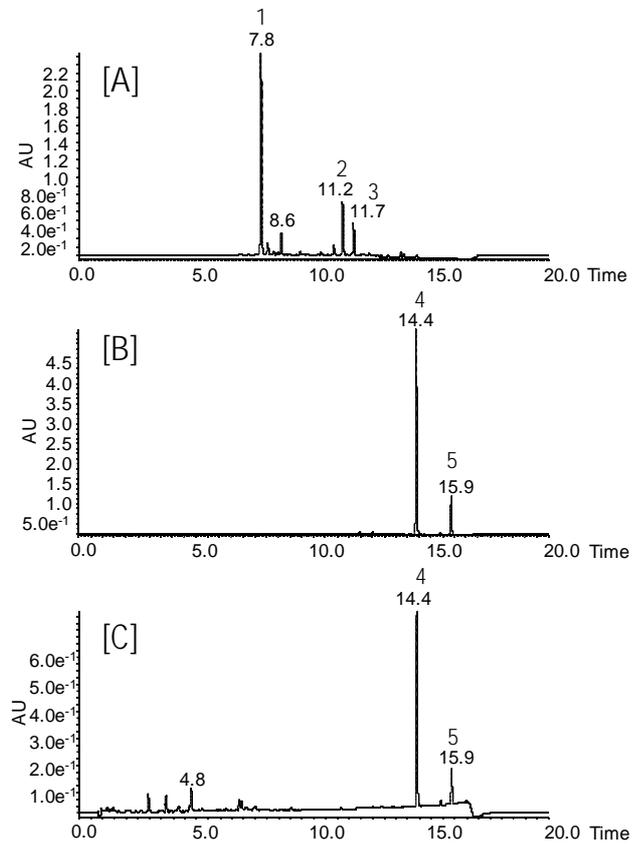


Fig. 2 クチナシ黄色素のHPLCクロマトグラム

- [A] クチナシ黄色素 (A694 : 加水分解なし)
- [B] クチナシ黄色素 (A12 : 加水分解なし)
- [C] クチナシ黄色素 (A694 : 加水分解あり)

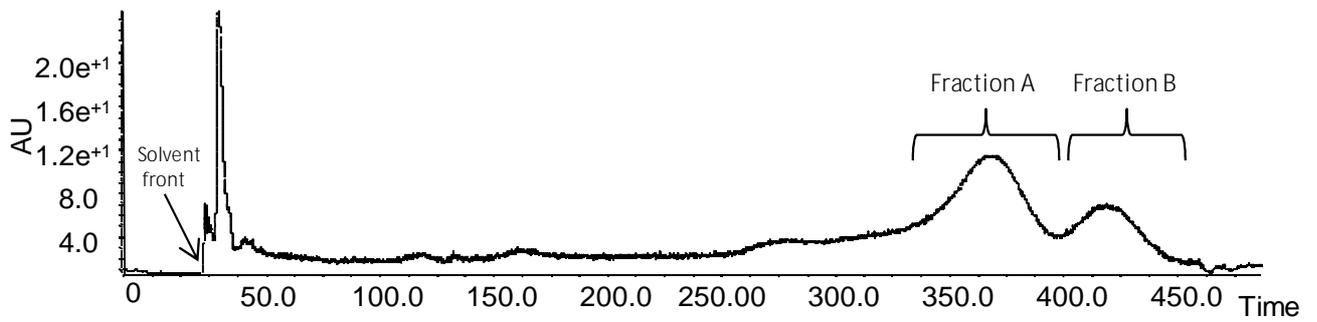


Fig. 3 加水分解クチナシ黄色素のHSCCCクロマトグラム

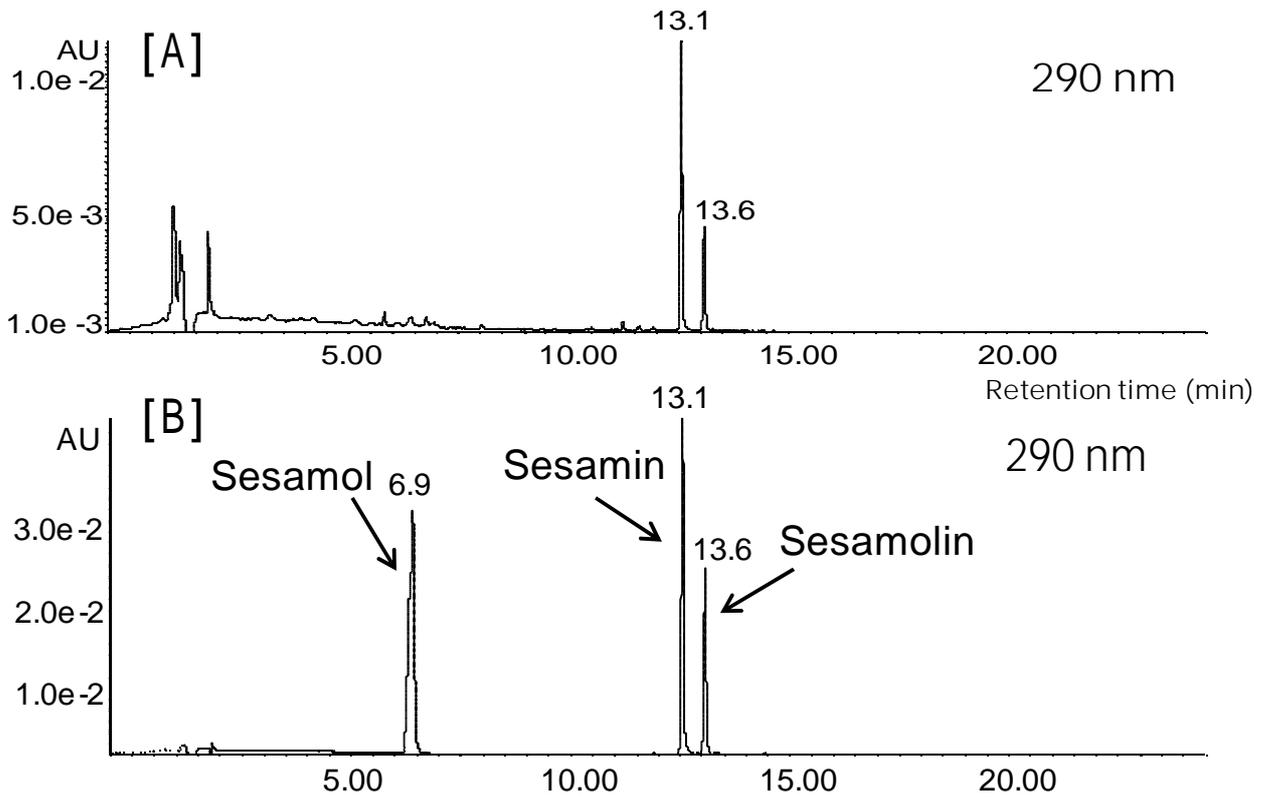


Fig. 4 LCクロマトグラム

[A]セサモール，セサミン，セサモリン，[B]ゴマ油不けん化物

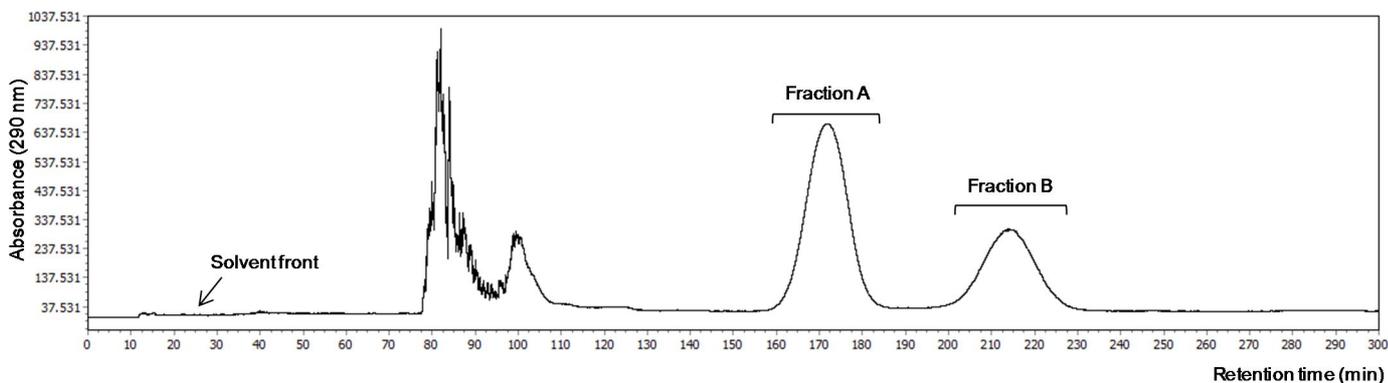


Fig. 5 ゴマ油不けん化物における HSCCC クロマトグラム
 Fraction A (40-90 min) および Fraction B (400-450 min)

119 ベニコウジ色素(粉末タイプ) 三栄源FFI(株)

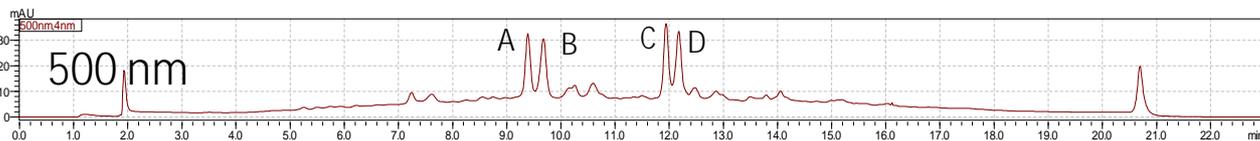


Fig. 6 ベニコウジ色素の HPLC クロマトグラム

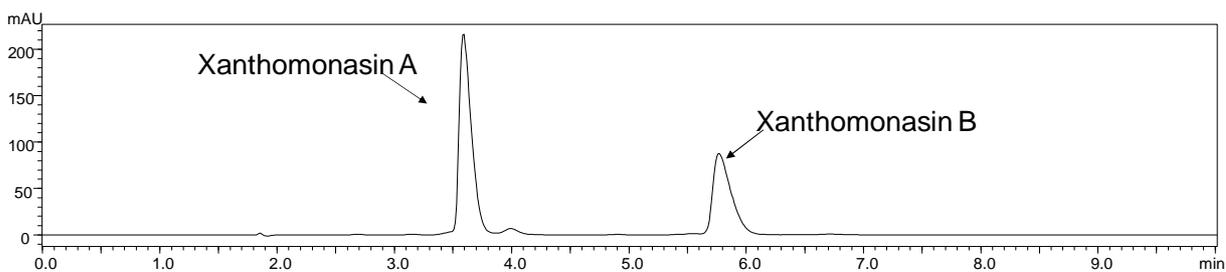


Fig. 7 ベニコウジ黄色素の HPLC クロマトグラム

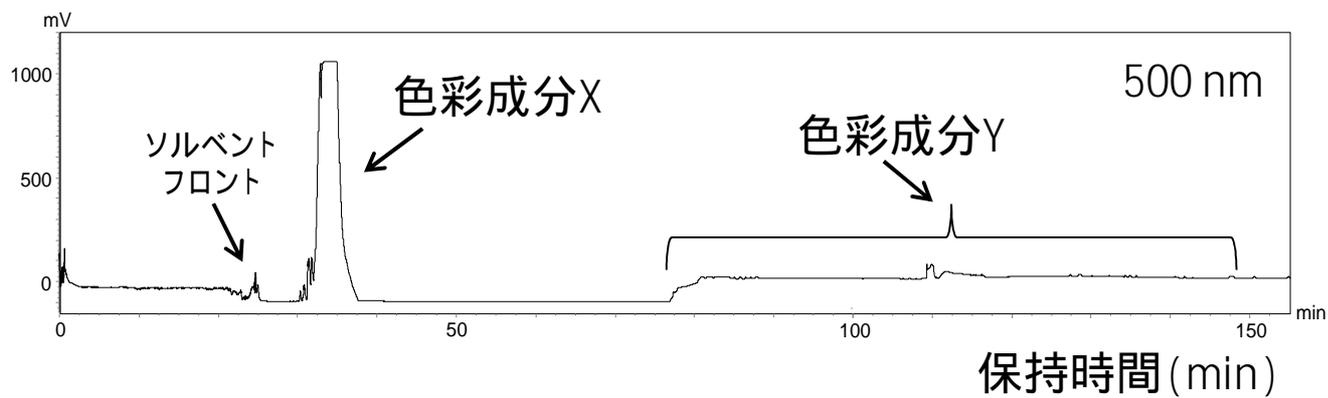


Fig. 8 ベニコウジ色素 (試料 119) の HSCCC クロマトグラム

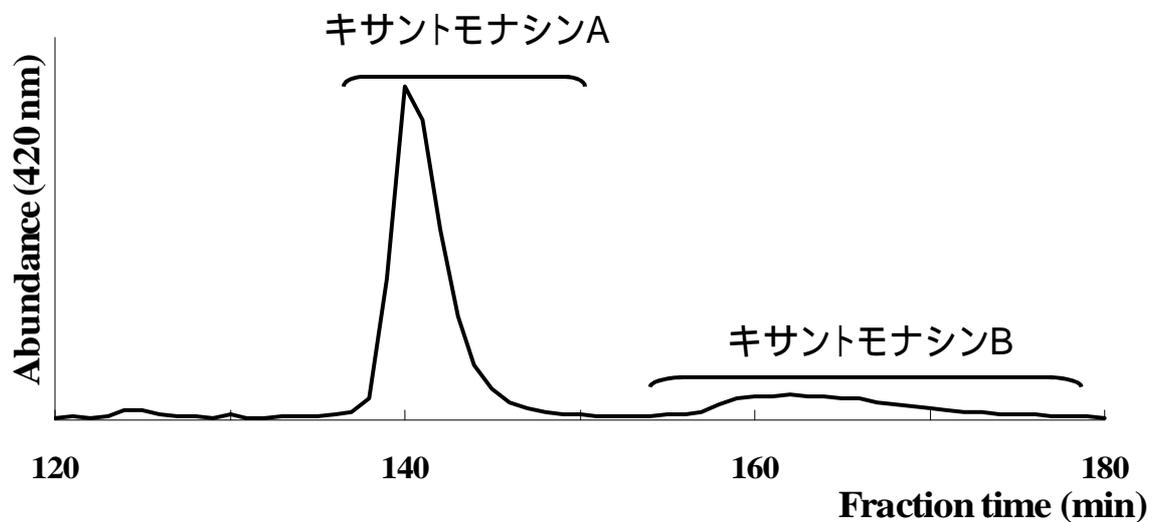


Fig. 9 ベニコウジ黄色素の HSCCC クロマトグラム