

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）

既存添加物の品質確保のための評価手法に関する研究

(H29-食品-一般-007)

平成29年度研究分担報告書

既存添加物の含有成分の構造解析に関する研究

～ルチン（抽出物）の原料エンジュつぼみの成分解析～

研究分担者 天倉吉章 松山大学薬学部 教授

**研究要旨** 既存添加物ルチン（抽出物）は、「アズキの全草，エンジュのつぼみ若しくは花又はソバの全草から得られた，ルチンを主成分とするものをいう」と定義されている．本研究では，原料となるエンジュのつぼみ（カイカ）の成分精査を目的に，カイカの50%エタノール抽出物を調製し，各種カラムクロマトグラフィーによる成分の単離精製を行った．その結果，16種の化合物〔rutin, quercetin, gallic acid, protocatechuic acid, maltol, ethylrutinoside, 4-hydroxybenzoic acid, maltol-3-*O*-{4'-*O*-*p*-coumaroyl-6'-*O*-(3-hydroxyl-3-methylglutaryl)}glucoside, kaempferol-3-*O*-rutinoside, kaempferol, *trans-p*-hydroxycinnamic acid, *cis-p*-hydroxycinnamic acid, *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (**13**), *N,N'*-diferuloylputrescine (**14**), *N,N'*-dicoumaroylputrescine (**15**), isorhamnetin 3-*O*-rutinoside〕を単離，同定した．カイカ50%エタノール抽出物のHPLC成分プロファイリングの結果，主検出成分はルチンであり，その他の化合物はマイナー成分であった．これらのうち，**13**～**15**は天然に稀少な化合物であるため，特徴成分としてこれらを検出することで，その基原がエンジュ由来であることを示す指標となり得る可能性が考察された．

研究協力者

好村守生 松山大学薬学部 准教授

#### A. 研究目的

既存添加物ルチン（抽出物）は、「アズキの全草，エンジュのつぼみ若しくは花又はソバの全草から得られた，ルチンを主成分とするものをいう」と定義されており，アズキ，エンジュ，ソバの3原料由来のものが添加物とされる．一方，その原料由来のものを示す根拠となる化学的資料は乏しい．そこで，まず原料の含有成分の解析を行い，特徴づけできる成分の有無を確認することを目的に，検討を行うこととした．

本研究では，3原料のうち，エンジュのつぼみについて成分精査を実施した．

#### B. 研究方法

##### B-1) 試料及び試薬

原料はカイカ（栃本天海堂製 Lot No. 021611002）を用いた．分離，精製にはカラム充填剤として YMC GEL ODS-AQ (AQ12S50) (ワイエムシィ)，Chromatorex ODS（富士シリシア），MCI-gel CHP-20P（三菱化学），Sephadex LH-20（GE Healthcare），Develosil ODS（野村化学），Toyoparl HW-40F（東ソー）を用いた．その他の試薬はすべて特級又は高速液体クロマトグラフィー用を使用した．

##### B-2) 装置及び測定条件

逆相 HPLC（アイソクラティック溶出）は，以下の条件で測定した．カラム：YMC-pack ODS-AQ12S05-1502WT (2.0 i.d. × 150 mm) (YMC Co.,Ltd.)，検出器：SPD-20 A（島津製作所），ポンプ：LC-20 AT（島津製作所），カラム温

度: 40°C, 流速: 0.2 mL/min, 測定波長: 280 nm, 移動相: 0.01 M リン酸緩衝液: アセトニトリル混液 (75:25, 85:15, 9:1).

逆相 HPLC (グラジエント溶出) は, Shimadzu Prominence システム (島津製作所) を使用した.

測定条件を下記に記す. カラム: L-column ODS (2.1 i.d. × 150 mm) (化学物質評価研究機構), カラム温度: 40°C, 流速: 0.3 mL/min, 測定波長: 200~400 nm, 移動相: (A) 5%酢酸, 及び (B) アセトニトリル [濃度勾配条件 (B in A): 0→30 min (0→50%), 30→35 min (50→85%), 35→40 min (85%), 40→50 min (85→90%), 50→55 min (90→100%), 55→60 min (100%)].

NMR は Bruker AVANCE500 (ブルカー・バイオスピン社製) ( $^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz,  $^{13}\text{C-NMR}$ : 126 MHz) を使用し, 測定溶媒としてメタノール- $d_4$ を用いた. ケミカルシフトはそれぞれの溶媒由来ピーク [メタノール- $d_4$  ( $^1\text{H}$ : 3.30 ppm,  $^{13}\text{C}$ : 49.0 ppm)] を基準とした. 高分解能 (HR) ESI-MS は micrOTOF-Q (ブルカー・ダルトニクス社製) を使用した. 分光光度計は Shimadzu UV mini-1240 (島津製作所製) を使用した.

### B-3) 抽出物の調製及び化合物の単離

カイカ 50%エタノール (EtOH) 抽出物について, 各種カラムクロマトグラフィー (YMC gel ODS-AQ, Sephadex LH-20 他) による分離精製を繰り返し, 化合物の単離を行った. 単離した化合物については標品の分析データとの直接比較, あるいは文献値と比較することにより同定した.

## C. 結果及び考察

### C-1) 化合物の単離

カイカ (50 g) を 50%EtOH (500 mL) 中でホモジナイズし, ろ過, 濃縮後, 酢酸エチル (EtOAc) (300 mL) で分配を行った. この操作を 4 回繰り返し (計 200 g のカイカを使用), 得られた酢酸エチル分画物 (計 10.7 g) について各種カラムクロマトグラフィーにより分離精製を行った. また, 別途カイカ EtOH 抽出物についても調製し, 同様にカラムクロマトグラフィーによる分離精製を行い, 得られた各化合物について各種

機器分析データに基づいた構造解析を行った.

酢酸エチル分画物 (1.9 g) を EtOH に溶解させ, EtOH 不溶部に 50%メタノール (MeOH) を加えて遠心分離し, その沈殿部に更に MeOH を加え, 遠心分離を行った可溶部から単一の化合物が得られ, rutin (**1**) (71.7 mg) と同定した. また, 酢酸エチル分画物 (2.7 g) を EtOH に溶解させ, EtOH 可溶部を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーに付し, EtOH 溶出部から quercetin (**2**) (90 mg) を得た. 次に酢酸エチル分画物 (10.7 g) の EtOH 溶出部で得られたフラクションについて各種カラムクロマトグラフィーを繰り返し, gallic acid (**3**), protocatechuic acid (**4**), maltol (**5**), ethylrutinoside (**6**), 4-hydroxybenzoic acid (**7**), maltol-3-*O*-[4'-*O*-*p*-coumaroyl-6'-*O*-(3-hydroxyl-3-methylglutaryl)] glucoside (**8**), kaempferol-3-*O*-rutinoside (**9**), kaempferol (**10**), *trans-p*-hydroxycinnamic acid (**11**), *cis-p*-hydroxycinnamic acid (**12**) を単離, 同定した.

カイカ EtOH 抽出物 (10.0 g) に EtOH を加え, 遠心分離を行った. この可溶部を各種カラムクロマトグラフィーに付し, *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (**13**), *N,N'*-diferuloyl-putrescine (**14**), *N,N'*-dicoumaroylputrescine (**15**), isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (**16**) を単離, 同定した.

化合物の NMR データを以下に記す. 各化合物の構造を図 1 に示す.

Rutin (**1**):  $^1\text{H-NMR}$  (500 Mz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.66 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd,  $J=2.5, 8.5$  Hz, H-6'), 6.86 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-5'), 6.37 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6, 8), 6.19 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6, 8), 5.08 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-1''), 4.52 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-1'''), 3.54 (1H, dd,  $J=2.0, 9.5$  Hz, H-6''), 3.48 (1H, m, H-3'''), 3.40 (4H, m, H-2'', 3'', 6'', 5'''), 3.28 (1H, m, H-4'''), 1.11 (1H, d,  $J=6.5$  Hz, H-6''').  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  179.3 (C-4), 165.4 (C-7), 162.9 (C-5), 159.3 (C-2), 158.4 (C-8a), 149.8 (C-4'), 145.8 (C-3'), 135.7 (C-3), 123.6 (C-6'), 123.1 (C-1'), 117.7 (C-2'), 116.0 (C-5'), 105.6 (C-4a), 104.9 (C-1''), 102.4 (C-1'''), 10.0 (C-6, 8), 94.9 (C-6, 8), 78.2 (C-3''), 77.1 (C-5''), 75.7 (C-2''), 74.0 (C-4'''), 72.2

(C-3'''), 71.3 (C-4''), 69.7 (C-5'''), 68.5 (C-6'').

Quercetin (**2**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.71 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H-2'), 7.61 (1H, dd, *J*=2.5, 8.5 Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-5'), 6.37 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H-6, 8), 6.16 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H-6, 8)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 177.2(C-4), 165.5 (C-7), 162.5 (C-5), 158.2 (C-8a), 148.7 (C-4'), 148.0 (C-2), 146.2 (C-3'), 137.2 (C-3), 124.1 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.2 (C-5'), 116.0 (C-2'), 104.5 (C-4), 99.2 (C-6, 8), 94.4 (C-6, 8).

Maltol (**5**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.92 (1H, brs, H-2), 6.39 (1H, brs, H-3), 2.33 (3H, s, H-7).

Ethylrutinoside (**6**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 4.74 (1H, d, *J*=1.5 Hz, H-1'), 4.24 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1), 3.97 (1H, dd, *J*=2.0, 11.5 Hz, H-6), 3.89 (1H, m, H-1''), 3.82 (1H, dd, *J*=2.0, 3.5 Hz, H-2'), 3.65 (2H, m, H-3', 5'), 3.60 (2H, m, H-6, 1''), 3.38 (1H, m, H-5), 3.34 (2H, m, H-3, 4'), 3.26 (1H, m, H-4), 3.15 (1H, dd, *J*=8.0, 9.0 Hz, H-2), 1.25 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-6'), 1.22 (1H, t, *J*=7.0 Hz, H-2'').

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 104.0 (C-1), 102.2 (C-1'), 77.8 (C-3), 76.8 (C-5), 74.9 (C-2), 73.8 (C-4'), 72.1 (C-3'), 72.0 (C-2'), 71.6 (C-4), 69.7 (C-5'), 68.2 (C-6), 66.1 (C-1''), 18.0 (C-6'), 15.6 (C-2'').

4-Hydroxybenzoic acid (**7**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.86 (1H, d, *J*=9.0 Hz, H-2, 6), 6.80 (1H, d, *J*=9.0 Hz, H-3, 5). <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 163.3 (C-7), 133.0 (C-2, 6), 116.0 (C-3, 5).

Maltol-3-*O*-[4'-*O*-*p*-coumaroyl-6'-*O*-(3-hydroxyl-3-methylglutaryl)]glucoside (**8**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.02 (1H, d, *J*=5.5 Hz, H-2'''), 7.66 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-7'''), 7.46 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-2'', 6''), 6.79 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-3'', 5''), 6.45 (1H, d, *J*=5.5 Hz, H-3'''), 6.35 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-8'''), 4.92 (2H, m, H-1, 4), 4.12 (1H, m, H-6), 3.75 (1H, m, H-5), 3.70 (1H, m, H-3), 3.51 (1H, dd, *J*=8.0, 9.5 Hz, H-2), 2.52 (1H, m, H-2'), 1.22 (1H, m, H-4'), 1.24 (1H, s, H-3').

Kaempferol-3-*O*-rutinoside (**9**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.98 (1H, d, *J*=9.0 Hz, H-2', 6'), 6.70 (1H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5'), 6.09 (1H, d, *J*=2 Hz,

H-6), 5.96 (1H, d, *J*=2 Hz, H-8), 4.81 (1H, m, H-1''), 4.50 (1H, d, *J*=16.0 Hz, H-1'''), 3.81 (1H, m, H-5'''), 3.63 (1H, m, H-2'''), 3.52 (1H, m, H-3'''), 3.49 (2H, m, H-2'', 5''), 3.39 (1H, m, H-3''), 3.25 (1H, m, H-4''), 1.16 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-6''').

*trans-p*-Hydroxycinnamic acid (**11**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.53 (1H, d, *J*=16 Hz, H-7), 7.42 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-2, 6), 6.79 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-3, 5), 6.29 (1H, d, *J*=16 Hz, H-8).

*cis-p*-Hydroxycinnamic acid (**12**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.43 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-2, 6), 6.67 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-3, 5), 6.25 (1H, d, *J*=13 Hz, H-7), 5.86 (1H, d, *J*=13 Hz, H-8).

*N-p*-Coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (**13**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.435 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-7), 7.428 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-7'), 7.387 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-2, 6'), 7.106 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-2), 7.017 (1H, dd, *J*=2.0 Hz, 8.0 Hz, H-6), 6.786 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5), 6.777 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-3', 5'), 6.416 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-8), 6.396 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-8'), 3.873 (3H, s, -OMe), 3.324 (4H, m, H-10, 10'), 1.617 (4H, m, H-11, 11').

*N,N'*-Diferuloylputrescine (**14**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.43 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-7, 7'), 7.11 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2, 2'), 7.02 (1H, dd, *J*=2.0 Hz, 8.0 Hz, H-6, 6'), 6.79 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5, 5'), 6.42 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-8, 8'), 3.87 (3H, s, -OMe), 3.32 (4H, m, H-10, 10'), 1.62 (4H, m, H-11, 11').

*N,N'*-Dicoumaroylputrescine (**15**): <sup>1</sup>H-NMR (500 Mz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.44 (2H, d, *J*=16.0 Hz, H-7, 7'), 7.39 (4H, d, *J*=8.5 Hz, H-2, 2', 6, 6'), 6.78 (4H, d, *J*=8.5 Hz, H-3, 3', 5, 5'), 6.40 (2H, d, *J*=16.0 Hz, 8, 8'), 3.32 (4H, m, 10, 10'), 1.62 (4H, m, 11, 11').

## C-2) カイカ抽出物の HPLC 分析

単離した各化合物を標品とし、カイカ抽出物の HPLC 分析を行った。HPLC 成分プロファイルングデータを図 2 に示す。主検出成分は rutin (**1**)であった。

## D. 結論

ルチン (抽出物) の原料となるエンジュのつ

ぼみ（カイカ）の成分精査を行った結果，16種の化合物〔rutin (1), quercetin (2), gallic acid (3), protocatechuic acid (4), maltol (5), ethylrutinoside (6), 4-hydroxybenzoic acid (7), maltol-3-*O*-{4'-*O*-*p*-coumaroyl-6'-*O*-(3-hydroxyl-3-methylglutaryl)} glucoside (8), kaempferol-3-*O*-rutinoside (9), kaempferol (10), *trans-p*-hydroxycinnamic acid (11), *cis-p*-hydroxycinnamic acid (12), *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (13), *N,N'*-diferuloylputrescine (14), *N,N'*-dicoumaroylputrescine (15), isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (16)] を単離，同定した．カイカ50%EtOH抽出物のHPLC成分プロファイリングの結果，主検出成分はrutin (1)であり，その他の化合物はマイナー成分であった．これらのうち，13～15は天然に稀少な化合物であるため，特徴成分としてこれらを検出することで，その基原がエンジュ由来であることを示す指標となり得る可能性が考察された．

#### E. 参考文献

- 1)厚生労働省告示第120号（1996）“既存添加物名簿”平成8年4月16日
- 2)Choi SW., Lee SK., Kim EO., Oh JH., Yoon KS., Parris N., Hicks KB., Moreau RA.; *J. Agric. Food Chem.* 55, 3920–3925 (2007)

#### F. 研究業績

なし

#### G. 知的財産権の出願．登録状況

なし

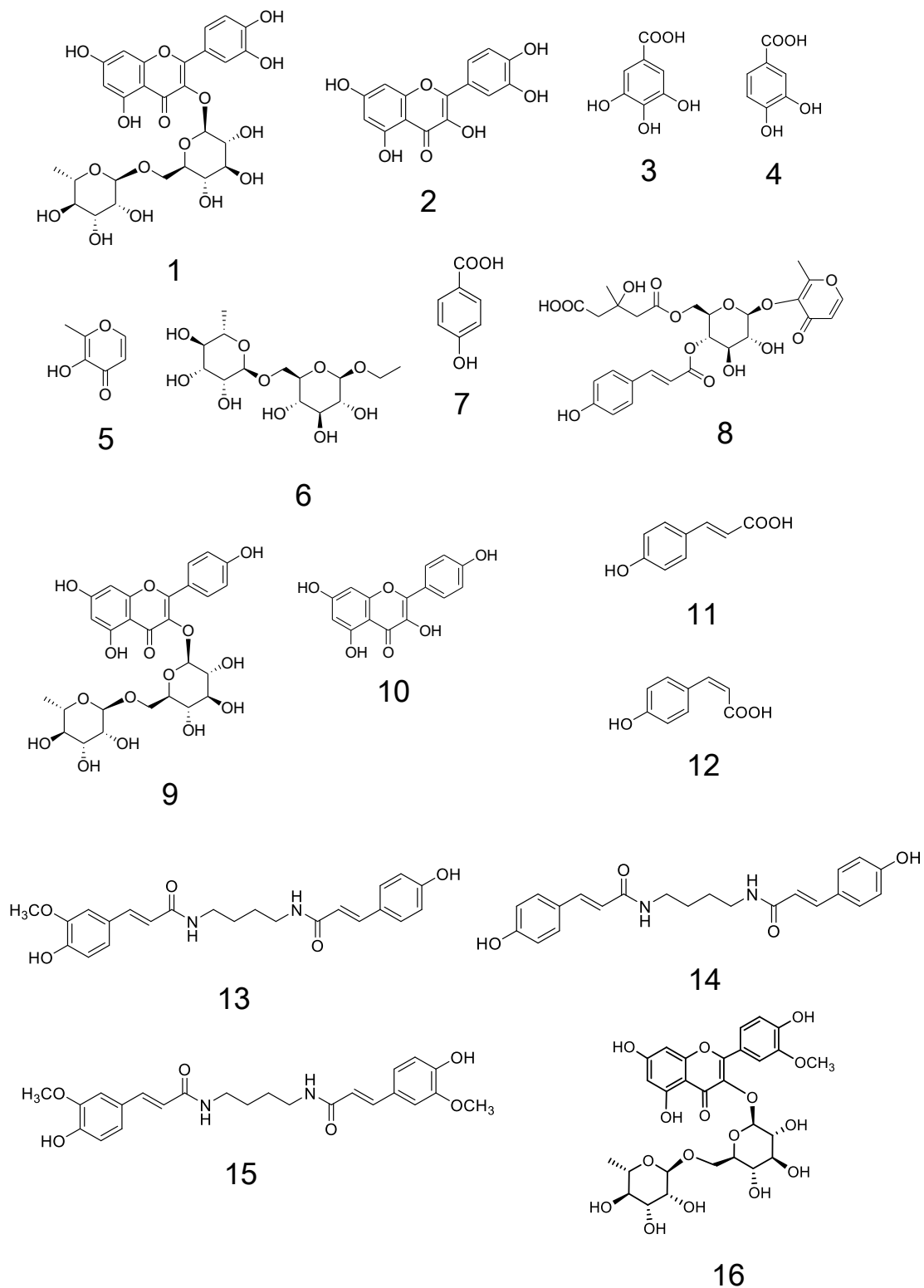


図1. 化合物の化学構造

1: rutin, 2: quercetin, 3: gallic acid, 4: protocatechuic acid, 5: maltol, 6: ethylrutinoside, 7: 4-hydroxybenzoic acid, 8: maltol-3-O-{4'-O-p-coumaroyl-6'-O-(3-hydroxyl-3-methylglutaryl)}glucoside, 9: kaempferol-3-O-rutinoside, 10: kaempferol, 11: *trans-p*-hydroxycinnamic acid, 12: *cis-p*-hydroxycinnamic acid, 13: *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine, 14: *N,N'*-diferuloylputrescine, 15: *N,N'*-dicoumaroylputrescine, 16: isorhamnetin 3-O-rutinoside

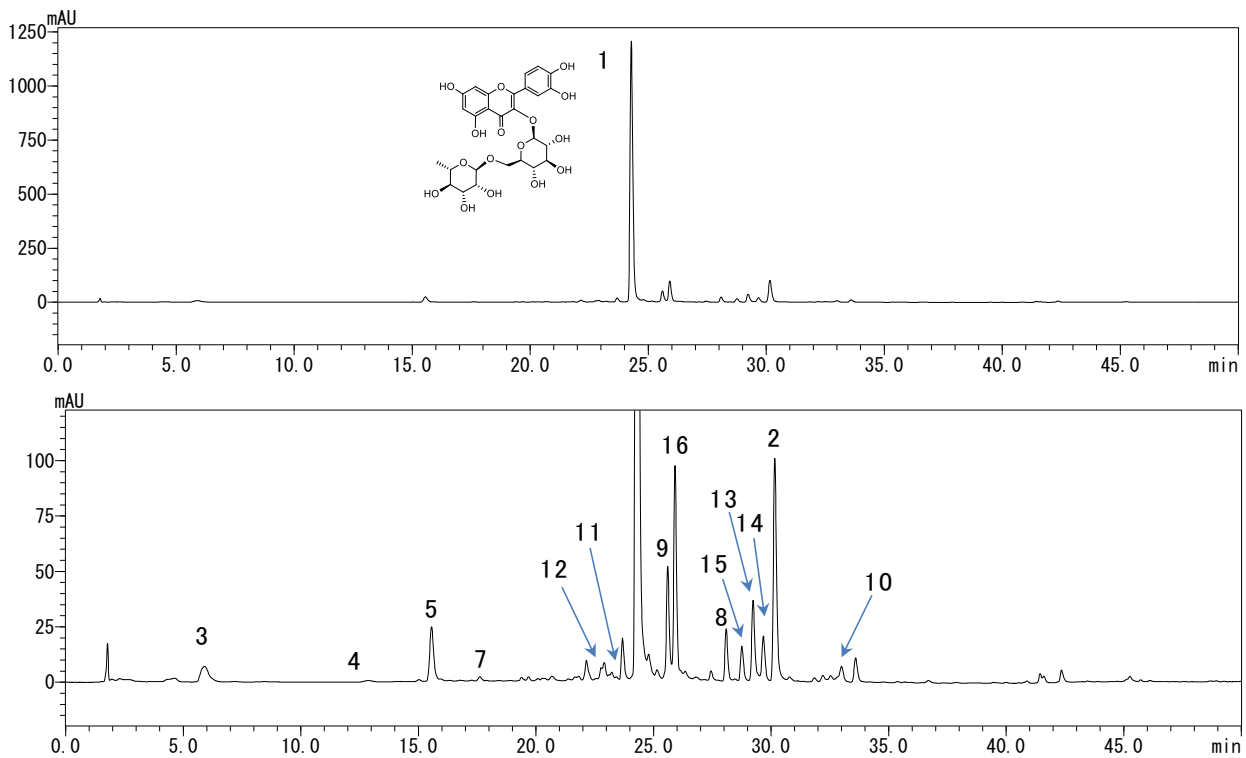


図 2. カイカ抽出物の HPLC 成分プロファイリング (at 280 nm)

1: rutin, 2: quercetin, 3: gallic acid, 4: protocatechuic acid, 5: maltol, 6: ethylrutinoside, 7: 4-hydroxybenzoic acid, 8: maltol-3-*O*-{4'-*O*-*p*-coumaroyl-6'-*O*-(3-hydroxyl-3-methylglutaryl)}glucoside, 9: kaempferol-3-*O*-rutinoside, 10: kaempferol, 11: *trans-p*-hydroxycinnamic acid, 12: *cis-p*-hydroxycinnamic acid, 13: *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine, 14: *N,N'*-diferuloylputrescine, 15: *N,N'*-dicoumaroylputrescine, 16: isorhamnetin 3-*O*-rutinoside

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）

既存添加物の品質確保のための評価手法に関する研究

(H29-食品-一般-007)

平成29年度研究分担報告書

既存添加物の含有成分の構造解析に関する研究

～レイシ抽出物の成分解析～

研究分担者 天倉吉章 松山大学薬学部 教授

**研究要旨** レイシ抽出物は既存添加物名簿に記載され、「レイシ抽出物（マンネンタケ（*Ganoderma lucidum* Karst.）の菌糸体若しくは子実体又はその培養液から抽出して得られたものをいう）のうち、子実体から得られたものである」と定義される苦味料である。本添加物に関する化学的データは乏しく、品質規格作成のための化学的検討として、HPLC及びTLCによる予備的分析を行った。逆相HPLC分析の結果、UV検出による主要なピークは認められなかった。一方、TLC分析の結果、酢酸エチル/メタノール/水系溶媒で展開し、UV照射による検出で、 $R_f$ 0.6付近に明瞭な数個のスポットが確認された。今後、このスポットについて分離精製を行い、化合物の同定を試みる予定である。

研究協力者

好村 守生 松山大学薬学部 准教授

#### A. 研究目的

レイシ抽出物は既存添加物名簿に記載され、「レイシ抽出物（マンネンタケ（*Ganoderma lucidum* Karst.）の菌糸体若しくは子実体又はその培養液から抽出して得られたものをいう）のうち、子実体から得られたものである」と定義されている。基原・製法・本質は、サルノコシカケ目マンネンタケ（*Ganoderma lucidum* KARST.）の菌糸体若しくは子実体、又はその培養液より、水、エタノール又は二酸化炭素で抽出して得た苦味料とされる。本添加物については、日本食品添加物協会発行の第4版既存添加物自主規格に確認試験が記載されているが、化学的データは乏しく、検討課題の一つとしてあげられる。そこで本研究では、本添加物の品質規格作成に向けたデータの集積を目的に、本添加物についてHPLC及びTLC分析による予備検討を行った。

#### B. 研究方法

##### B-1) 試料及び試薬

レイシ抽出物は日本食品添加物協会を通じて入手した。試薬はすべて特級または高速液体クロマトグラフィー（HPLC）用を用いた。

##### B-2) 装置及び測定条件

逆相 HPLC は、Shimadzu Prominence システム（島津製作所）を使用した。測定条件を下記に記す。カラム：L-column ODS (2.1 i.d. × 150 mm)（化学物質評価研究機構）、カラム温度：40°C、流速：0.3 mL/min、測定波長：200～400 nm、移動相：(A) 5%酢酸、及び (B) アセトニトリル〔濃度勾配条件 (B in A)：0→30 min (0→50%)、30→35 min (50→85%)、35→40 min (85%)、40→50 min (85→90%)、50→55 min (90→100%)、55→60 min (100%)〕。薄層クロマトグラフィー（TLC）は、TLC Silica gel 60F<sub>254</sub> plate（Merck 社製）を用いた。展開溶媒は酢酸エチル/メタノール/水混液（7：2：1）、注入量は 1 μL。

### B-3) 試料調製

試料約 0.1 g をメタノール 10 mL に加え超音波処理後、遠心分離して得られた上澄みを試料溶液 1 とした。また、日本食品添加物協会発行の第 4 版既存添加物自主規格記載の確認試験に準じて試料溶液 2 を調製した。

## C. 結果及び考察

### C-1) HPLC 分析

レイシ抽出物の試料溶液 1 について逆相 HPLC 分析を行った結果、254 (or 280) nm 検出で保持時間がほぼ同じ範囲に 10 数ピークが観察され、主たる検出ピークは認められなかった (図 1)。よって、本結果のみで判断すると HPLC による主成分分析は困難であることが示唆された。

第 4 版既存添加物自主規格記載の確認試験は HPLC でガノデリン酸 A を検出することが採用されている。本試験法記載に従って調製した試料溶液 2 について HPLC 分析した結果、同じように 10 数ピークが観察され、特にガノデリン酸 A を明瞭に分析できるものではなかった (図 2)。

### C-2) TLC 分析

レイシ抽出物の試料溶液 1 について、TLC 分析を行った結果、 $R_f$ 0.6 付近に明瞭な数個のスポットが確認された (図 3)。今後、このスポットについて分離精製を行い、化合物の同定を試みる予定である。

## D. 結論

レイシ抽出物の化学的検討として、HPLC 及び TLC による予備的分析を行った。逆相 HPLC 分析の結果、UV 検出による主要なピークは認められなかった。一方、TLC 分析の結果、酢酸エチル/メタノール/水系溶媒で展開し、UV 照射による検出で、 $R_f$ 0.6 付近に明瞭な数個のスポットが確認された。今後、このスポットについて分離精製を行い、化合物の同定を試みる予定である。

## E. 参考文献

第 4 版既存添加物自主規格，平成 20 年 10 月，  
日本食品添加物協会

## F. 研究業績

なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



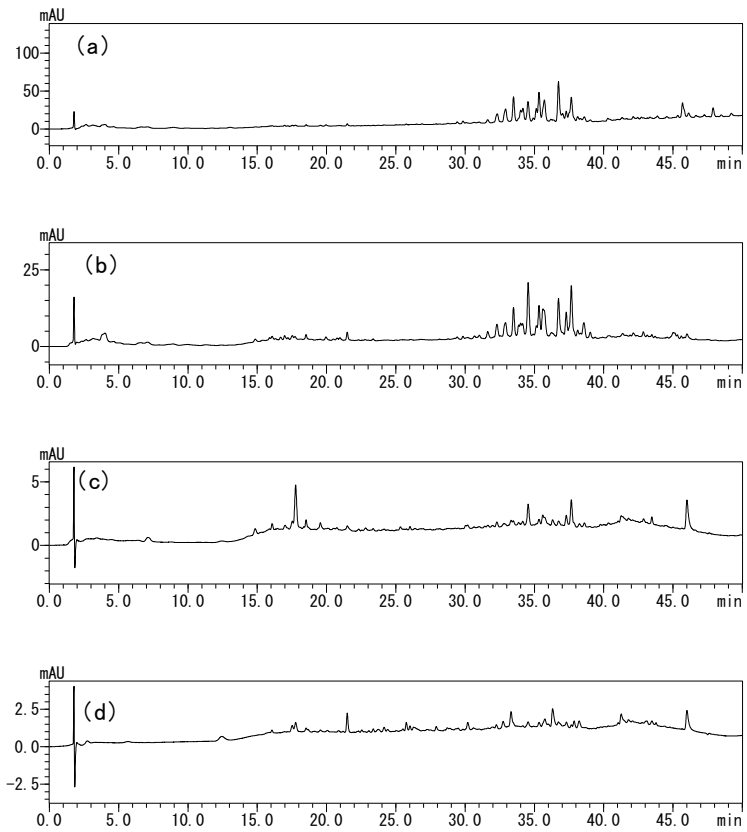


図 1. 試料溶液 1 の HPLC 分析

(a) 254 nm, (b) 280 nm, (c) 320 nm, (d) 360 nm 検出

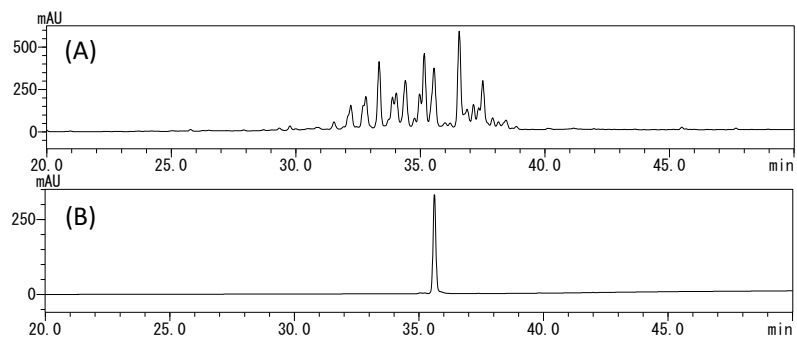


図 2. 試料溶液 2 の HPLC 分析 (at 254 nm)

(A) 試料溶液, (B) Ganoderic acid A

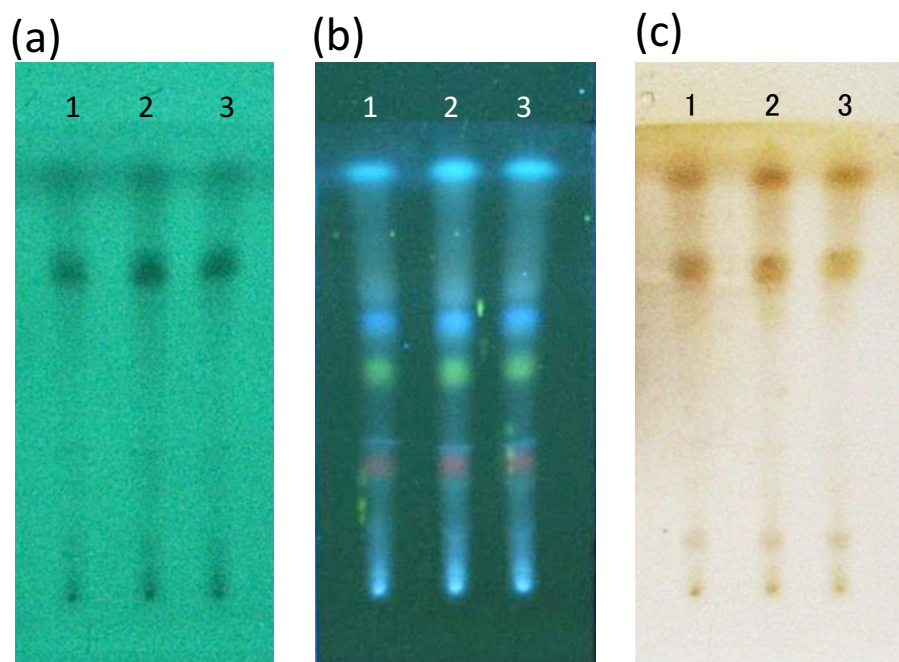


図 3. 試料溶液 1 の TLC 分析

1～3 は同じもの (3 回分析)

(a) 254 nm, (b) 366 nm, (c) 希硫酸試液噴霧後加熱