

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

(H31-食品-一般-007)

平成29年度～平成31年度(令和元年度) 総合分担研究報告書

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 立命館大学薬学部 准教授

**研究要旨** 「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、成分規格を作成した。対象の既存添加物はベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素、ゴマ油不けん化物、ベニバナ黄色素、チャ抽出物およびシタン色素である。これらの既存添加物に関して、シングルリファレンスHPLC定量法を構築することとした。その結果、分析対象物質の定量用標準品を用いなくても、相対モル感度を値付けすることで、簡便かつ再現性の高い定量法を適応することができた。

## 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、ベニコウジ色素、ゴマ油不けん化物、ベニバナ黄色素、チャ抽出物およびシタン色素についてである。これらは第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)」に規定されている。その確認試験は色価、薄層クロマトグラフィーや吸光度法などであり、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)が用いられていなかった。そこで、本研究では、既存添加物の主成分の成分規格を検討し、簡便かつ高精度なHPLC分析法を構築することとした。

### ゴマ油不けん化物

ゴマ油不けん化物(Sesame Seed Oil Unsaponified Matter)は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)に規定されている。ゴマ油不けん化物の定義は、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。

本年度では、相対モル感度係数(Relative Molar Sensitivity, RMS)を用いたシングルリファレンス HPLC 定量法を構築することとした。

さらに、本手法をゴマ油不けん化物だけでなく、様々なゴマ関連食品への応用も検討した。なお、本研究における分析対象は、ゴマリグナン類のセサモール、セサミン、エピセサミンおよびセサモリンとした。さらに、ゴマリグナン類と同等の極大吸収波長を持つ化合物をシングルリファレンスとして採用するため、ゴマリグナン類と共通構造を持つ類似化合物を有機合成にてデザインし、その定量値の妥当性を評価することとした。

### ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

ベニコウジ色素(Monascus Color)は、第8版食品添加物公定書に記載されており、主成分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。一方、ベニコウジ黄色素(Monascus Yellow)は、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。しかしながら、HPLCを用いて、ベニコウジ色素の主成分を分析することは、ピークが検出されず困難であった。そのため、液-液抽出を原理とする高速向流クロマトグラフィー(High-speed Countercurrent Chromatography, HSCCC)にて主成分解析をすることとした。一方で、ベニコウジ黄色素の主成分であるキサントモナシンAおよびキサントモナシンBでは、いずれも標準品が入手困難であった。そこで、RMSによるシングルリファレンス HPLC 定量法を

構築・検討することとした<sup>4)</sup>。

### ベニバナ黄色素

ベニバナ黄色素 (Carthamus Yellow) は、ベニバナ (*Carthamus tinctorius* Linné) の花から得られたものであると第4版既存添加物自主規格にて定義づけられている。ベニバナの主成分はサフラノイエロー類のサフロミン A (SF-A) およびサフロミン B (SF-B) である。現在、ベニバナ黄色素の確認試験は、薄層クロマトグラフィーや色価により評価されている。これまで、学術論文にてベニバナ黄色素の解明はされてきつつあるが、主成分であるサフロミン A およびサフロミン B の定量分析は困難である。この理由は、それらの定量用標準品が入手不可能であるためである。そこで、本研究では、高速向流クロマトグラフィーを用いてベニバナ黄色素からサフロミン A およびサフロミン B を単離精製し、定量用標準品が不必要である RMS によるシングルリファレンス HPLC 定量法を構築することとした。

### チャ抽出物

チャ抽出物 (Tea Extract) は、第4版既存添加物において、ツバキ科チャ (*Camellia sinensis* O. Kze.) の葉より、室温時、温時又は熱時、水、酸性水溶液、含水エタノール、エタノール、含水メタノール、アセトン、酢酸エチル又はグリセリン水溶液で抽出したものより得られたものと定義されている。チャ抽出物は、茶葉の処理方法により、緑茶の抽出物またはウーロン茶またはウーロン茶及び紅茶の抽出物に分類される<sup>1)</sup>。しかしながら、これらの具体的な区別方法は記載されておらず、主要成分のまたチャ抽出物の主成分はカテキン類と記載されている。カテキン類はカテキン、エピカテキンやガロカテキンなど主に8種が存在している。なお、定量法では、吸光度法 (540 nm) を用いてカテキン類の含量を算出する方法を採用している<sup>1)</sup>。しかしながら、カテキン類のチャ抽出物の製造工程において、抽出条件や精製条件により、成分組

成が異なると言われている。これまでのカテキン類の分析方法は、HPLC、キャピラリー電気泳動、薄層クロマトグラフィーなどが挙げられる。しかし、既存添加物であるチャ抽出物を対象とした各カテキン類の成分評価法は未だ存在していない。そこで、チャ抽出物における各カテキン類のシングルリファレンス HPLC 定量法を開発することとした。

### シタン色素

シタン色素 (Sandalwood Red) は「第4版既存添加物自主規格」において、シタン (*Pterocarpus santalinus* Linné) の幹枝から得られたサンタリンを主成分とするものと定義されている。シタンは樹木の芯材が赤紫褐色と美しく、とても固い木であり、お餅の着色や染料、楽器に用いられている。シタン色素の主成分はサンタリン A (SA) およびサンタリン B (SB) であるが、確認試験では、色価や極大吸収波長により評価されている。しかし、主成分である SA 及び SB の定量用標準品が存在しておらず、入手不可能であるため、SA 及び SB の定量分析は困難である。そこで本研究では、色素中成分の単離精製が可能である、HSCCC を用いてシタン色素から SA 及び SB を単離精製することとした。ゆえに、シタン色素を HSCCC により主成分の評価を行い、規格検討をすることとした。

### **B. 研究方法**

電子天秤：メトラ製 METTLER ML303/52  
HPLC 装置：島津製作所社製 LC-20AD/SIL-20AC/CBM-20A/SPD-M20A/CTO-10AS  
MS 装置：Xevo TQD  
HSCCC 装置：クツワ産業社製 Easy-Prep CCC, GLサイエンス社製 PU714M LC/UV702/SC762/PLC761 システム

### ゴマ油不けん化物

ゴマリグナン類のおよびシングルリファレンス 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%

ギ酸アセトニトリル (B) を使用し, A/B : 55/45 のアイソクラティック分析を行った.  
カラム : TSKgel ODS-100V column (4.6×150 mm, 3 μm, 東ソー社製)  
カラム温度 : 40°C  
流速 : 1.0 mL/min  
検出波長 : 190-800 nm (定量 : 290 nm)  
注入量 : 10 μL

ゴマリグナン類に対するシングルリファレンスのデザイン : セサモールにジプロモメタン, 1-ブロモブタン, 1-ブロモヘキサンを反応させ, メチル誘導体, ブチル誘導体およびヘキシル誘導体を合成した.

RMS の算出 : 4 種のゴマリグナン類および 4 種のデザインしたシングルリファレンスについて, 0~100 μM で絶対検量線を作成した. 各シングルリファレンスに対するゴマリグナン類の検量線の傾きの比より, RMS を算出した.

シングルリファレンス HPLC 定量法の妥当性評価 : 求めた RMS を用いて, 絶対検量線法との定量値を比較した. なお, 絶対検量線法で用いた標準品には, また, 異なる分析条件 (カラムや移動相) や添加するシングルリファレンスの異なる濃度において定量値の再現性を確認した.

### ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

ベニコウジ色素の LC 分離分析 : 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 15 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 (4.6×150 mm, 3 μm, 東ソー社製)  
カラム温度 : 40°C  
流速 : 1.0 mL/min  
検出波長 : 200-550 nm (定量 : 500 nm)  
注入量 : 10 μL

ベニコウジ黄色素の LC 分離分析 : 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 (4.6×150 mm, 3 μm, 東ソー社製)  
カラム温度 : 40°C  
流速 : 1.0 mL/min  
検出波長 : 200-500 nm (定量 : 460 nm)  
注入量 : 10 μL

ベニコウジ色素の HSCCC の分離分析 : 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. 遠心スピードを 1000 rpm とし, コイル容量は 350 mL であり, 流速 2.0 mL/min で送液した. なお, 分析パターンを検討する際は, コイル容量は 75 mL, 流速は 1.0 mL/min で送液した.

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, ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/0.1%ギ酸水溶液 (1/5/1/5, V/V/V) を用いた. 遠心スピードを 1000 rpm とし, コイル容量は 350 mL であり, 流速 1.5 mL/min で送液した.

RMS の算出 : キサントモナシン A および B カルバゾクロムスルホン酸 (シングルリファレンス) について, 絶対検量線を作成し, RMS を算出した.

シングルリファレンス HPLC 定量法の妥当性評価 : 求めた RMS を用いて, 絶対検量線法との定量値を比較した. なお, 絶対検量線法で用いた標準品には, また, 異なる分析条件 (カラムや移動相) や添加するシングルリファレンスの異なる濃度において, 定量値の再現性を確認した.

### ベニバナ色素

ベニバナ黄色素の LC 分離分析 : 対象試料は水/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 : 87/13 を Gradient により、20 分間の分析を行った。

カラム : TSKgel ODS-100Z column (4.6×150 mm, 3 μm, 東ソー社製)  
流速 : 1.0 mL/min  
検出波長 : 200-500 nm (定量 : 405 nm)  
注入量 : 10 μL  
移動相 : 0.1% ギ酸水溶液 (A) /0.1%ギ酸メタノール (B)

ベニバナ黄色素の 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、n-ブタノール/水溶液 (50/50, 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。

### チャ抽出物

チャ抽出物の LC 分離分析 : 対象試料は水/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 : 80/20 をグラジエントにより、40 分間の分析を行った。

カラム : TSKgel ODS-100Z column (4.6×150 mm, 5 μm, 東ソー社製)  
流速 : 1.0 mL/min  
UV 検出波長 : 200-500 nm (定量 : 280 nm)  
FL 検出波長 : 励起波長 280 nm, 蛍光波長 310 nm  
注入量 : 10 μL  
移動相 : 0.1% ギ酸水溶液 (A) /0.1%ギ酸メタノール (B)

カテキン類に対するシングルリファレンスのデザイン : カテキンにヨードメタンを反応させ、カテキンのメチル誘導体を合成した。ま

た、カテキン類の部分骨格に注目し、シングルリファレンス、DMP および DMB をシングルリファレンス候補化合物とした。

RMS の算出 : 8 種のカテキン類および 3 種のシングルリファレンス候補化合物について、0 ~100 μM で絶対検量線を作成した。各シングルリファレンスに対するカテキン類の検量線の傾きの比より、RMS を算出した。

シングルリファレンス-HPLC 定量法の妥当性評価 : 本分析法を用いて、チャ抽出物中における各カテキン類の定量を実施した。なお、それと同時に絶対検量線法による定量分析も行い、その定量値を比較した。さらに、異なる測定環境および HPLC 装置間において定量値の再現性を確認した。

### シタン色素

HPLC 装置 : 日立ハイテクサイエンス社製  
Chromaster 5160 / 5280 / 5310 / 5430

シタン色素の LC 分離分析 : 対象試料はメタノールで調製した。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 Isocratic により、30 分間の分析を行った。

カラム : X Bridge C18 (5 μm, 4.6×150 mm, Waters 社製)  
流速 : 1.0 mL/min  
検出波長 : 200-510 nm (定量 : 500 nm, 480 nm)  
注入量 : 10 μL  
移動相 : 0.1% ギ酸水溶液 (A) /0.1%ギ酸メタノール (B)

シタン色素の HSCCC の分離分析 : 二相溶媒系は、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/水溶液 (3/5/3/5, 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、75 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 1.0 mL/min で送液した。

## C. 結果及び考察

### ゴマ油不けん化物

ゴマリグナン類に類似構造をもつシングルリファレンスを得るために、セサモールのアルキル化によりメチル誘導体、ブチル誘導体、ヘキシル誘導体およびピペロナル（セサモールの類似化合物）を有機合成し、ゴマリグナン類および4種のシングルリファレンスのHPLCクロマトグラムを得た。絶対検量線の傾きの比よりRMSを求めた結果、どの濃度幅においても再現性の高いRMSが得られた（表1）。算出したRMSを用いて絶対検量線法と比較した結果、ヘキシル誘導体での定量値におきてばらつきが大きく、ピペロナルは最も定量性が高いことが確認された（表2）。また、カラムや移動相の条件を変更し、シングルリファレンスHPLC定量法を検討した結果、いずれもRSD 5%以下のゴマリグナン類の定量値が得られ、その中でセサモールのブチル誘導体が最もRSDの低い定量値を示した（図1）。ゆえに、本手法により、シングルリファレンスを用いることで、4種類のゴマリグナン類を標準品なしで一斉定量することができた。

### ベニコウジ色素・ベニコウジ黄色素

ベニコウジ色素はHPLCでの分析は困難であったため、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/v）の二相溶媒系を用いてHSCCCにて単離精製をした。その結果、3つのFractionに分取できた（図2）。分取したFractionをHPLC分析した結果、Fraction Iは明確なピークが得られなかったが、Fraction II～IIIにおいて、ピークが観察された。以上のことから、HSCCCによりベニコウジ色素の主成分を単離精製が達成することができたと見える。また、高極性物質を容易に分配させることができると考えられる二相溶媒系であるブタノール：酢酸エチル：水（4/1/5, v/v/v）に変更し、HSCCCでの分析を行った結果、国内流通品のベニコウジ色素にてHSCCC分離パターンがわずかに異なった。

ベニコウジ黄色素の主成分であるキサントモナシンAおよびBの標準品が入手不可能であるため、HSCCCにて単離精製を実施した。二相溶媒系の検討をした結果、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/0.1%ギ酸水溶液（1/5/1/5, v/v/v/v）が最適であると判断した。その条件により主に2つのFractionを得ることができ、LC分析の結果、それらはキサントモナシンAおよびキサントモナシンBであると同定できた（図3）。それぞれ単離したキサントモナシン類を用いて、定量NMRにて純度評価を実施し、RMSを算出した。その結果、キサントモナシンAのRMSは8.75、キサントモナシンBのRMSは14.8であった。これらのRMSを用いて、ベニコウジ黄色素中のキサントモナシン類の定量した結果、従来の絶対検量線法から得られる定量値と同等の値を示し、さらにHPLCの分析条件（カラムや移動相）を変更しても高い再現性が確認された（表3および図4）。

### ベニバナ黄色素

HPLCによりサフロミンAおよびサフロミンBの分配係数と分離係数をそれぞれ算出し、最適な二相溶媒系を検討した。その結果をTable 1に示す。その結果、n-ブタノール/水溶液（50/50, v/v）を採用した。他の二相溶媒系は分配係数の値が1より大きく、HSCCCの分析時間が超過する可能性があり、それらは除外した。

ベニバナ黄色素は我々の既報において、HSCCCによる単離を実施した。なお、固定相の保持率は76%であり、分析時間は450分であった。HSCCCのクロマトグラムより明確な2つのピーク（Fraction AおよびB）が検出され、単離精製することができた（図6）。しかしながら、それらよりもピーク強度が大きい未知ピークが観察された。それらも黄色素成分であるため、主成分の1つであると考えられる。

### チャ抽出物

まず、8種のカテキン類の分離分析を検討し

た結果、TSKgel ODS-100Z カラムを用いて、40 分以内で全ての化合物が良好な分離で分析することができた。さらに、カテキンおよびエピカテキンにおいて、それぞれ蛍光検出器を用いてもピークが確認された。次いで、シングルリファレンス候補化合物の選定を検討した。本研究では、カテキンの全体構造ではなく、部分構造に着目し、セサモール

(SM)、ジメトキシフェノール (DMP) およびジメトキシベンゼン (DMB) をシングルリファレンス候補化合物として選定した。これらを HPLC で分析した結果、どれもカテキン類の UV 検出波長 (280 nm) かつ分析時間以内にピークが検出された (図 7)。

次に、カテキン類およびシングルリファレンス候補化合物の純度評価を、定量 NMR ( $^1\text{H}$ -qNMR) により実施した。その結果、どの化合物も純度が 85% 以上であり、その RSD% も 3% 以下であった。そして、LC 用原液を用いて作成した絶対検量線により、各シングルリファレンス候補化合物に対するカテキン類の RMS を求めた。

次に、算出した RMS を用いて、チャ抽出物中におけるカテキン類のシングルリファレンス HPLC 定量法を実施した。3 種類のシングルリファレンス候補化合物をそれぞれ用いてカテキン類を定量し、従来の絶対検量線法による定量値と比較してみた。その結果、UV 検出器を用いたエピカテキンガレートおよびエピガロカテキンガレートの定量値は、絶対検量線法と同等であり、シングルリファレンスの添加濃度を変更しても定量値の変化はごく僅かであった。FL 検出器を用いた EC の定量値を絶対検量線法と比較すると、DMB ではほぼ同等の定量値であったが、SM では大きく異なっていた (表 4)。以上の結果より、UV 検出器かつ FL 検出器を用いて、8 種類のカテキン類のシングルリファレンス HPLC 法を構築した結果、カテキン類のシングルリファレンスは DMB が最適であり、その精度や再現性は絶対検量線法による定量値とほぼ同等であった。

## シタン色素

シタン色素の HPLC 分離分析について検討した。まずは、ODS カラムの検討を行った。同じ粒径や長さである東ソー社製の TSKgel ODS-100V と TSKgel ODS-100Z、Waters 社製の X Bridge を用いて、分離やピーク形状を比較した。その結果の HPLC クロマトグラムを Fig. 6 に示した。ゆえに、保持時間やピーク形状が良好な X Bridge を用いることとした。

HPLC によりサンタリン A およびサンタリン B の分配係数と分離係数をそれぞれ算出し、最適な二相溶媒系を検討した結果、ヘキサン/酢酸エチル/メタノール/水溶液 (3/5/3/5, V/V) を採用した。

シタン色素の HSCCC による単離を実施した。なお、固定相の保持率は 53% であり、分析時間は 150 分であった。HSCCC クロマトグラムより、明確な 3 つのピークが検出された (図 8)。また 270 mg のシタン色素から、サンタリン A 1.3 mg 及びサンタリン B 0.3 g を単離精製することができた。そして HPLC で純度評価した結果、高純度のサンタリン A およびサンタリン B であった。しかし、それらよりもピーク強度が大きく最も濃い赤色であった未知ピークが観察された。それらも赤色素成分であるため、主成分の 1 つであると考えられる。

## D. 研究発表

(1) 高橋未来, 西崎雄三, 増本直子, 石附京子, 中島馨, 杉本直樹, 佐藤恭子, 井之上浩一: Single Reference HPLC 法によるセサモール, セサミン, エピセサミン, セサモリンの一斉分析法の構築 日本食品化学学会第 24 回総会・学術大会 (東京都江東区) 5 月 (2018 年)

(2) 高橋未来, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤直子, 石附京子, 中島馨, 佐藤恭子, 井之上浩一: シングルリファレンス HPLC 法によるゴマリグナン類の相対感度定量法の開発と食品応用 第 78 回分析化学討論会 (山口県宇部市) 5 月 (2018 年度)

(3) 高橋未来, 西崎雄三, 杉本直樹, 佐藤直子, 石附京子, 中島馨, 佐藤恭子, 井之上浩一: 既存添加物の規格設定を目指したシングルリファレンス HPLC 定量法の開発 日本食品衛生学会 近畿地区勉強会 (大阪) 3月 (2018 年度)

(4) Miki Takahashi, Yuzo Nishizaki, Naoki Sugimoto, Kyoko Sato, Koichi Inoue : Single-reference HPLC analysis for natural components based on relative molar sensitivity PITTCON 2019 (Philadelphia) (2019. 3)

(5) 高橋未来, 高木映里, 西崎雄三, 増本直子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 井之上浩一: カテキン類の一斉分析を目指したシングルリファレンス HPLC 定量法の開発 日本食品化学学会第 25 回総会・学術大会 (長野県松本市) (2019. 6)

#### **E. 知的財産権の出願・登録状況**

該当無

表 1. 各シングルリファレンスに対するセサミン類の RMS

シングルリファレンス	分析対象物質	1.25-12.5 μ M	20-100 μ M	0-100 μ M	平均±SD
ピペロナール	セサモール	0.74	0.73	0.73	0.73±0.01
	セサミン	1.55	1.54	1.54	1.54±0.01
	エピセサミン	1.54	1.52	1.52	1.53±0.01
	セサモリン	1.56	1.54	1.54	1.55±0.01
メチル誘導体	セサモール	0.94	0.92	0.92	0.93±0.01
	セサミン	1.97	1.94	1.94	1.95±0.02
	エピセサミン	1.97	1.92	1.92	1.94±0.03
	セサモリン	1.99	1.95	1.95	1.96±0.02
ブチル誘導体	セサモール	1.06	1.07	1.07	1.07±0.01
	セサミン	2.23	2.25	2.25	2.25±0.01
	エピセサミン	2.23	2.23	2.23	2.23±0.00
	セサモリン	2.25	2.26	2.26	2.26±0.01
ヘキシル誘導体	セサモール	N.D.	0.47	N.D.	N.D.
	セサミン	N.D.	1.00	N.D.	N.D.
	エピセサミン	N.D.	0.99	N.D.	N.D.
	セサモリン	N.D.	1.00	N.D.	N.D.

表 2. ゴマ油、セサミン EX およびゴマ油不けん化物における各セサミン類の定量値

		絶対検量線法 定量値 m M ±SD	RMS法 定量値			
			ピペロナール m M ±SD	メチル誘導体 m M ±SD	ブチル誘導体 m M ±SD	ヘキシル誘導体 m M ±SD
ゴマ油	セサミン	15.7±0.12	15.9±0.21	16.9±0.28	14.7±0.16	30.7±0.67
	セサモリン	5.7±0.14	5.9±0.15	6.3±0.18	5.5±0.16	11.5±0.47
セサミンEX	セサミン	21.4±0.03	21.9±0.31	22.5±0.42	21.1±0.23	44.6±0.23
	エピセサミン	21.0±0.07	21.8±0.32	22.3±0.45	20.9±0.26	44.8±0.29
ゴマ油 不けん化物	セサミン	42.7±1.05	42.2±0.55	44.1±0.77	44.9±0.88	91.0±1.91
	セサモリン	17.6±0.15	17.7±0.29	18.5±0.25	18.9±0.22	38.5±1.47



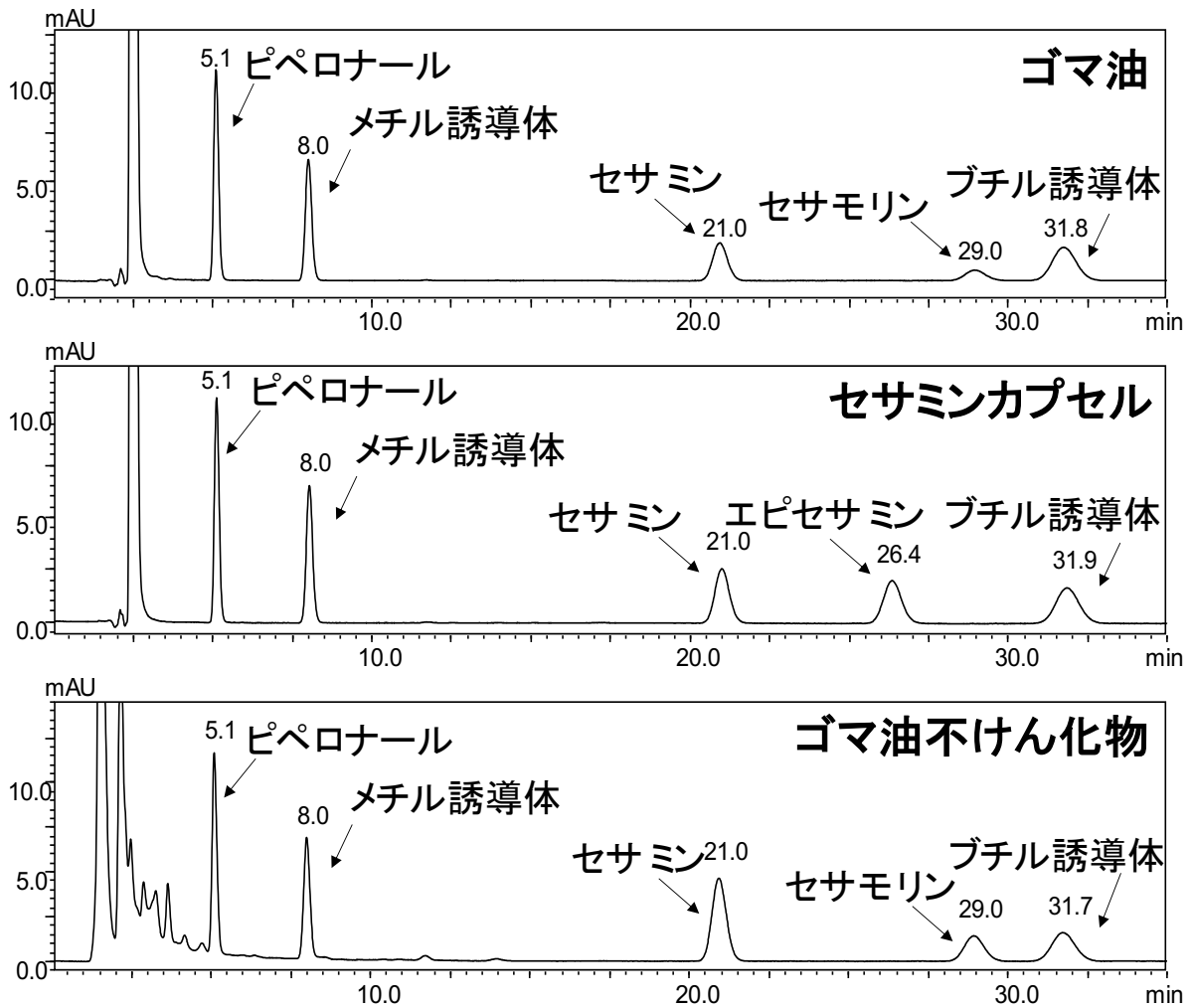


図 1. ゴマ油、セサミン EX およびゴマ油不けん化物の HPLC クロマトグラム

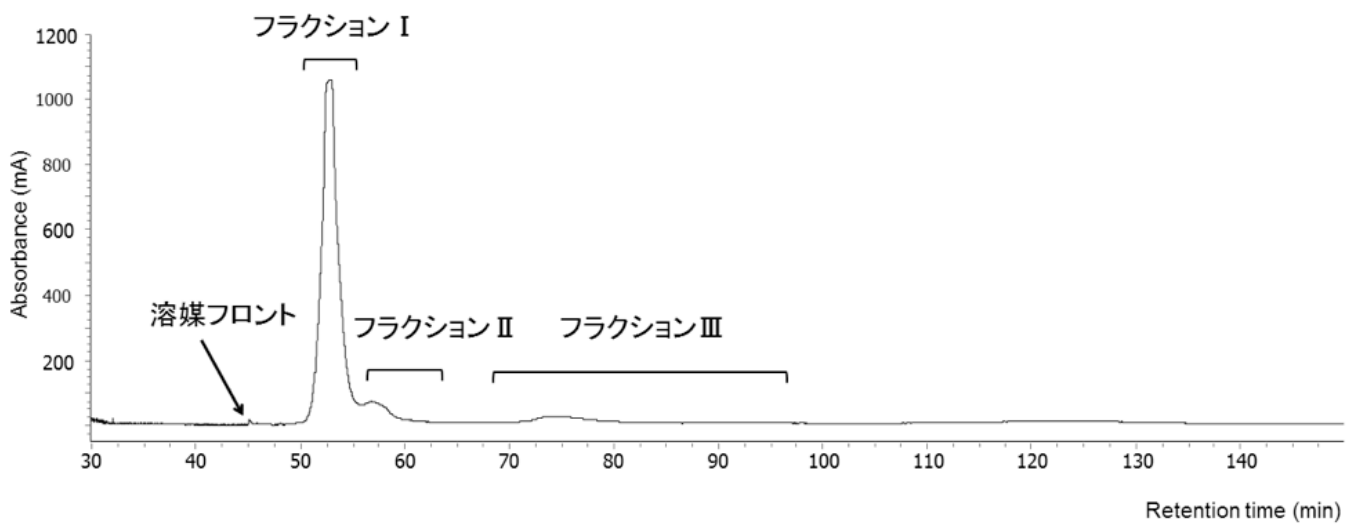


図 2. ベニコウジ色素の HSCCC クロマトグラム

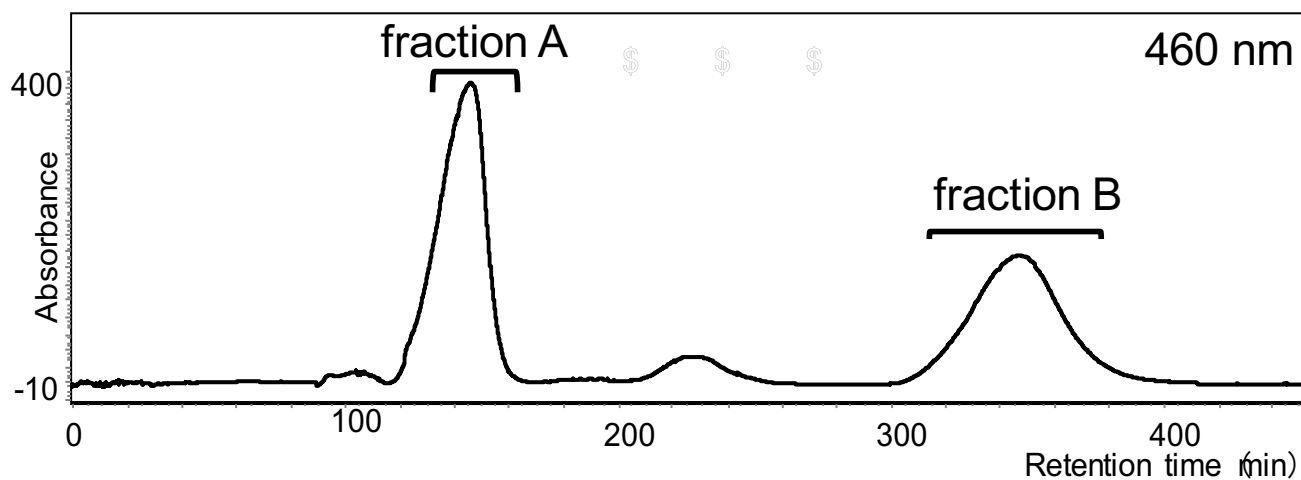


図 3.ベニコウジ黄色素の HSCCC クロマトグラム

表 3.ベニコウジ黄色素中のキサントモナシン類の定量値

ベニコウジ黄色素 サンプル	シングルリファレンスHPLC定量法		絶対検量線法	
	XA 定量値 ( $\mu\text{mol/g}$ ) $\pm$ SD	XB 定量値 ( $\mu\text{mol/g}$ ) $\pm$ SD	XA 定量値 ( $\mu\text{mol/g}$ ) $\pm$ SD	XB 定量値 ( $\mu\text{mol/g}$ ) $\pm$ SD
1	9.7 $\pm$ 0.02	3.4 $\pm$ 0.01	9.7 $\pm$ 0.04	3.3 $\pm$ 0.02
2	19.9 $\pm$ 0.10	6.9 $\pm$ 0.03	20.4 $\pm$ 0.03	6.9 $\pm$ 0.01
3	9.5 $\pm$ 0.05	3.1 $\pm$ 0.04	9.9 $\pm$ 0.02	3.2 $\pm$ 0.01
4	10.0 $\pm$ 0.09	3.3 $\pm$ 0.04	10.3 $\pm$ 0.08	3.3 $\pm$ 0.01

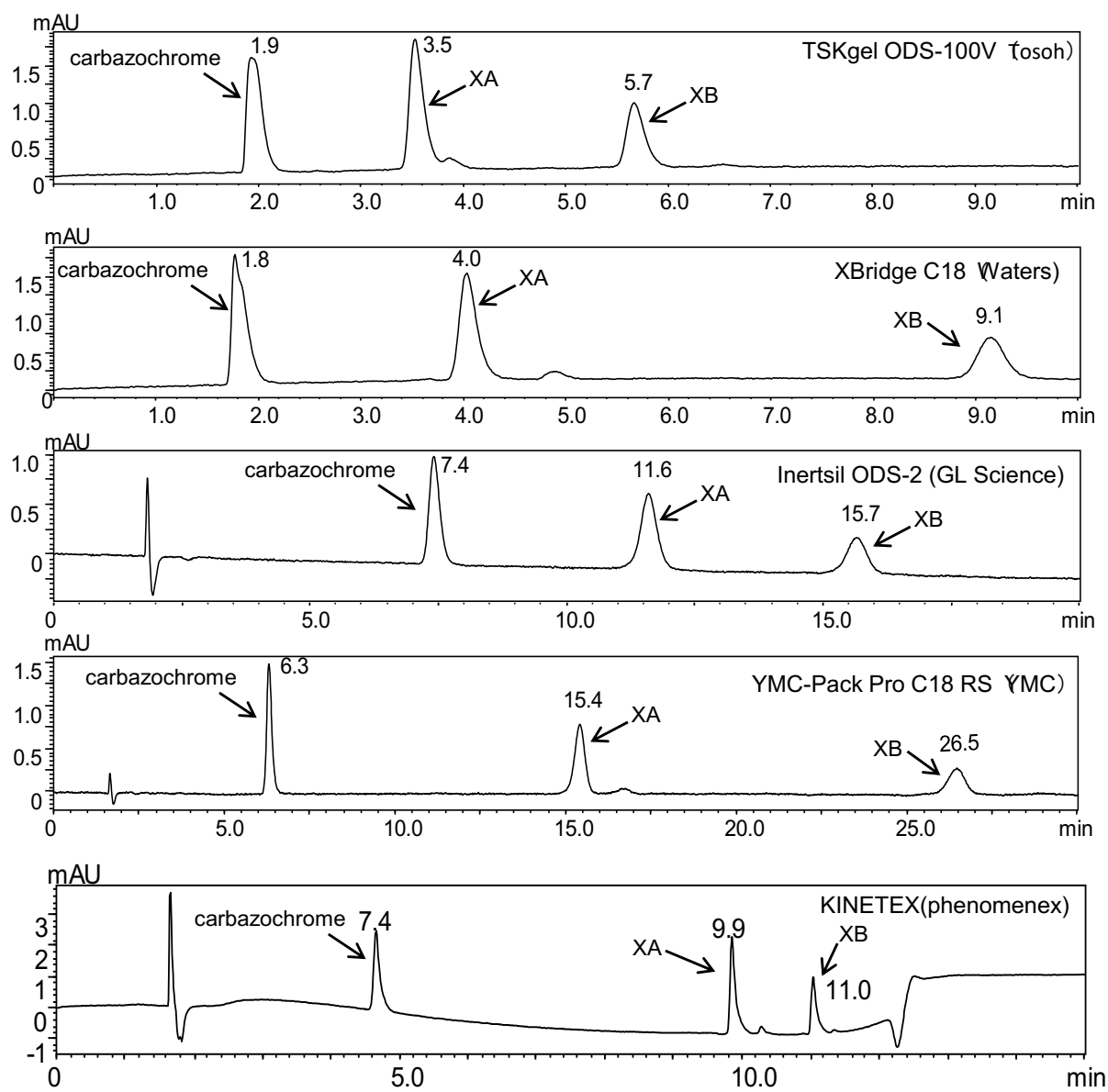


図 4.各分析カラムにおけるベニコウジ黄色素の HPLC クロマトグラム

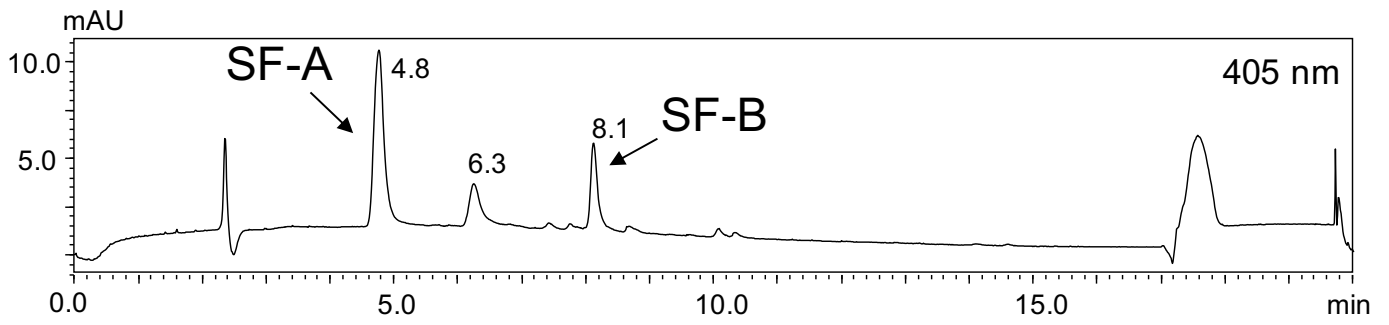


図 5. ベニバナ黄色素の HPLC クロマトグラム

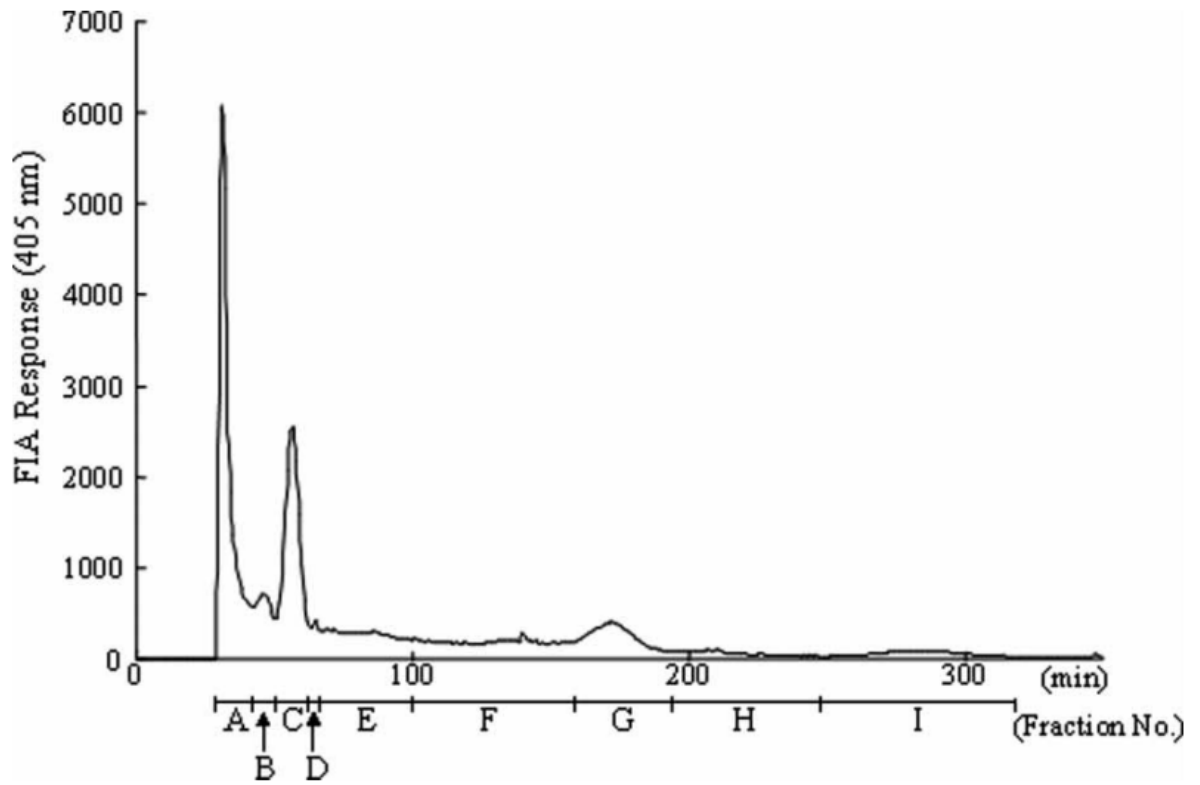


図 6. ベニバナ黄色素の HSCCC クロマトグラム

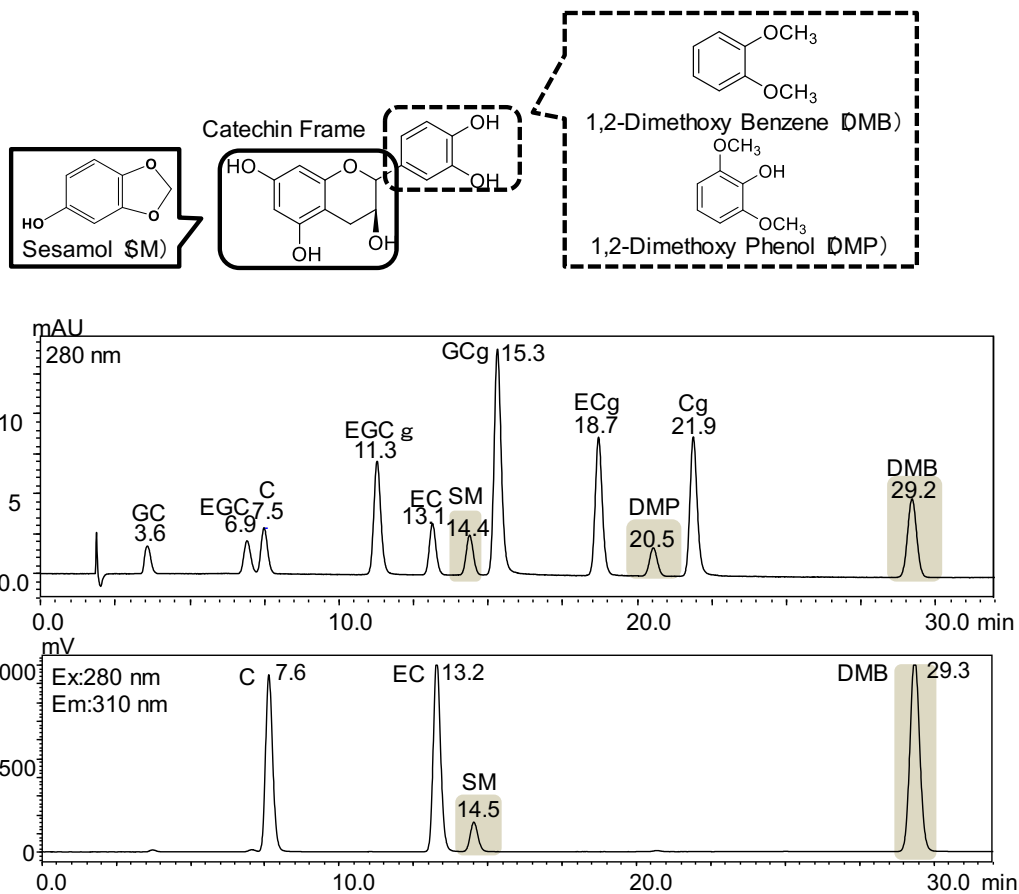


図 7. カテキン類の HPLC クロマトグラム

表 4. チャ抽出物におけるカテキン類の定量値

UV検出器	RMS法, 定量値 (ng/g)			絶対検量線法 定量値 (ng/g)	
	SM	DMP	DMB		
SR 2.0 ppm	22	27	24		
ECg	SR 4.0 ppm	22	26	24	24
	SR 8.0 ppm	22	25	24	
EGCg	SR 2.0 ppm	740	860	800	
	SR 4.0 ppm	740	880	860	920
	SR 8.0 ppm	760	900	760	
FL検出器	RMS法, 定量値 (mg/g)		絶対検量線法 定量値 (mg/g)		
	SM	DMB			
SR 2.0 ppm	0.0030	8.6			
EC	SR 4.0 ppm	0.0030	8.7	9.1	
	SR 8.0 ppm	0.0027	9.0		

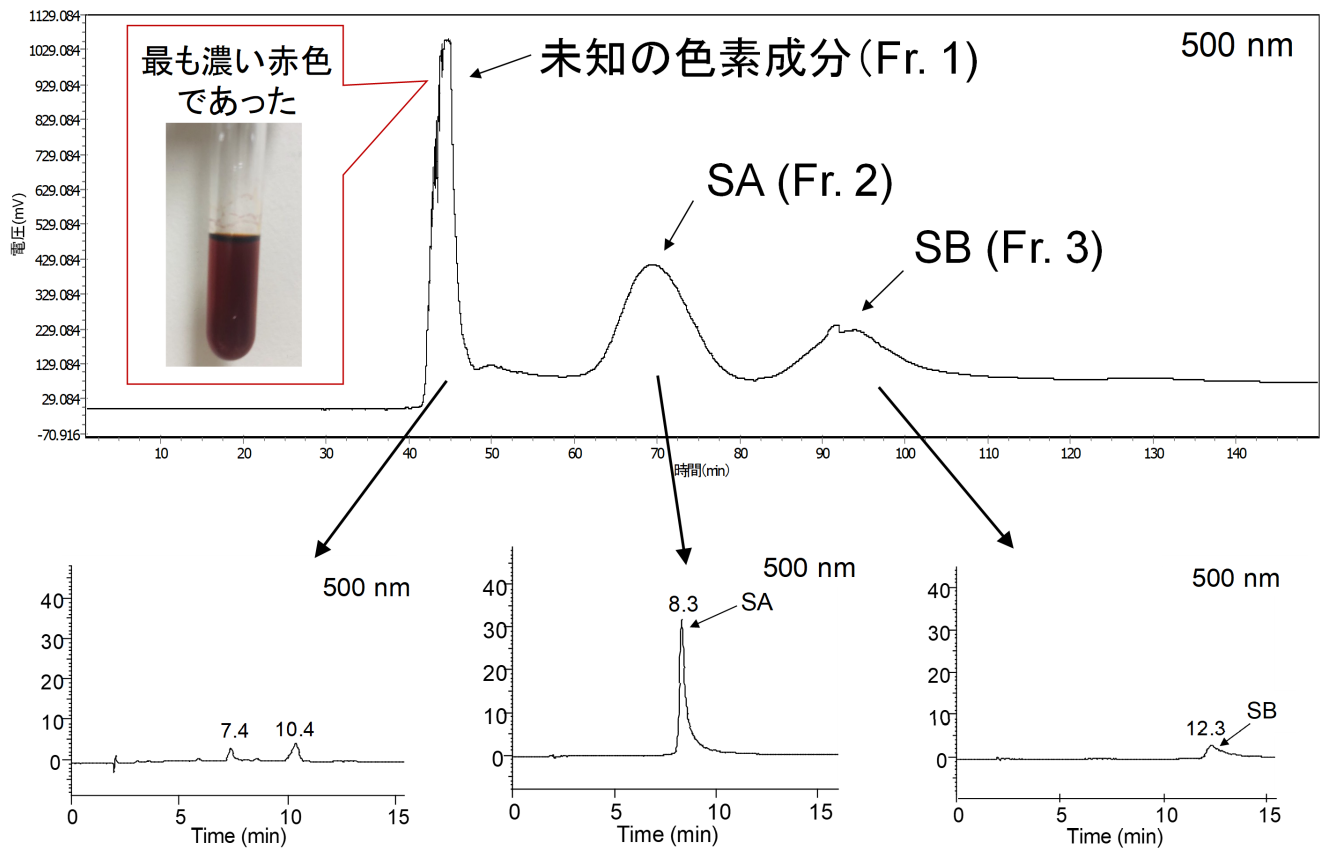


図 8. シタン色素の HSCCC クロマトグラム(上)と HPLC クロマトグラム(下)