

食品衛生基準科学研究費補助金(食品安全科学研究事業)
既存添加物の品質確保に資する分析法開発のための研究
(23KA1012)

令和6年度研究分担報告書
分析法及び試験法の開発に関する研究
カシアガム中のアントラキノン類の分析手法に関する研究
分担研究者 大槻 崇 日本大学 生物資源科学部 食品開発学科 准教授

研究要旨 本研究では、既存添加物の成分規格試験法の効率化及び精度向上を目指し、現在成分規格が未設定であるカシアガムを対象として、その成分規格における定量法の確立に関する検討を行った。今年度は、昨年度に引きつづき、前処理法の改良、HPLC条件の最適化及び¹H-qNMRに基づくRMSを用いたアントラキノン類分析法の確立について検討を実施した。JECFA規格の前処理法における課題であった液-液抽出時のエマルジョン形成による分離効率の低下については、遠心分離操作の導入が有効であることを明らかにした。また、HPLC条件においては、粒子径3 μmのカラムを採用し、グラジエント条件を最適化することで、高分離能を有する分析条件を確立した。さらに、改良したHPLC条件に基づき、基準物質3種に対するアントラキノン類5種の各RMSが明らかとなった。これらのRMSの正確性は、モデル溶液を用いた検討により実証され、¹H-qNMRに基づくRMSを用いたアントラキノン5種の効率的かつ信頼性の高い分析法が確立した。

A. 研究目的

カシアガムは既存添加物名簿収載品目リストに収載されている既存添加物の一つであり、増粘安定剤として広く食品産業で使用されている¹。本添加物は、食品衛生法第11条第1項の規定により告示される「食品、添加物等の規格基準」における成分規格が未制定であり、現在は日本食品添加物協会が作成した第5版既存添加物自主規格²に準拠して製造された製品が流通している。一方で、平成7年以降、既存添加物の安全性確保に関する国会の附帯決議も踏まえ、品質確保と食の安全性向上を目的として、個々の既存添加物の成分規格の設定及び食品添加物公定書への収載が進められている。カシアガムについても、現在、「食品、添加物等の規格基準」の策定及び次期食品添加物公定書への収載に向けた検討が行われている。

カシアガムの基原・製法・本質について、既存添加物名簿収載品目リストでは「マメ科エビスグサモドキ(*Cassia tora* LINNE)の種子の胚乳部を粉砕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¹。一方、エビスグサモドキの胚外皮には発がん性が懸念されるアントラキノン類が含まれており、カシアガム中にもアントラキノン類の残留が予想される。このような発がんなどの毒性を有する化合物を含有する食品添加物については、安全性確保の観点から適切な残留基準値の設定が不可欠である。FAO/WHO食品添加物専門家会議(JECFA)におけるカシアガムの規格³では、安全性の確保の観点から、アントラキノン類の含有量を0.5 mg/kg以下と規定している。また、この基準値における測定対象はエモジン、アロエエモジン、レイン、クリソファン酸、フィシオン(図1)の5種であり、これらの定量にはダントロン(1,8-DAQ)内標準物質として用いるHPLC法が採用されている。しかし、これら5種の測定対象について、認証標準物質のような正確な純度が保証された定量用標品の入手は困難であり、市販試薬を定量用標品として使用した場合、定量値の信頼性は担保できない。

このような定量用標品の入手及び定量値の正

確性の問題を解決する方法の1つとして、近年、¹H-qNMRに基づく相対モル感度(Relative Molar Sensitivity : RMS)を用いた HPLC 法が注目を集めている^{4,7}。本手法は、測定対象及び測定対象とは異なる基準物質(代替定量用標品)との正確な RMS を明らかにすることにより、「基準物質」、「RMS」及び「測定対象と基準物質の分子量比」から測定対象の定量を可能とする方法である。また、RMS は、計量学的に正確な定量が可能である定量¹H-NMR(¹H-qNMR)に基づき算出されているため、この方法により得られる定量値の信頼性も高い。

そこで、本研究では、昨年度の検討に続き、カシアガム中のアントラキノン類分析法の確立を目的として、JECFA で規定される分析法を基に、¹H-qNMR に基づく RMS を用いたアントラキノン類分析法の確立、JECFA 法の前処理法及び HPLC 条件の改良について検討を行った。

B. 研究方法

B-1) 試料及び試薬

カシアガム(①C2393, ②C2394, ③C2395), は国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部よりご供与いただいた。エモジン, アロエエモジン, レイン, クリソファン酸, フィシオンは, 東京化成工業(株)製を用いた。ダントロン(1,8-DAQ)は, 富士フイルム和光純薬(株)製を用いた。カフェイン(Product. No. 56396, 認証値: 99.9%, 拡張不確かさ: 0.4%)及びメチルパラベン(Product. No. 79721, 認証値: 99.8%, 拡張不確かさ: 0.3%)はシグマアルドリッチ(株)製の認証標準物質を使用した。その他の溶媒は高速液体クロマトグラフィー用または特級を用いた。

B-2) 装置

分析用 HPLC ポンプ: LC-20AD (高压グラジエント), オートサンブラ: SIL-20A, カラム恒温槽: CTO-20AC, 多波長検出器: SPD-M20A, 脱気装置: DGU-20A3R, システムコントローラ: CBM-20A, 分析データ処理システム: LabSolutions ((株)島津製作所製)。

マイクロ天秤: BM-20 ((株)エー・アンド・デイ製)

セミクロ天秤: AUW220D 及び AP125WD ((株)島津製作所製)

遠心分離機: 5220(久保田商事(株)製)及び MiniSpin (エッペンドルフ製)

B-3) JECFA 法における前処理法の改良

B-3-1) 試験溶液の調製

JECFA Monographs におけるカシアガム規格で規定されているアントラキノン類分析法の試験溶液の調製手順(Sample preparation)(図 2)の一部を変更した。すなわち、試料 4 g を正確に量りとり、2 mol/L 硫酸 100 mL を加え軽く振り混ぜた後、103℃で1時間加熱した。冷却後、分液ろう斗へ入れ、クロロホルム 100 mL を加え液-液抽出を行った。静置後、エマルジョンを低減するため、これら全量を 50 mL 容遠沈管に小分けし遠心分離(400×g, 5 分, 20℃)し下層(クロロホルム層)を採取した。上層にクロロホルムを加え、同様の抽出操作をさらに三回繰り返した後、採取したすべての下層(クロロホルム層)は減圧乾固した。メタノールを加え超音波処理し、不溶物を遠心分離(10000×g, 2 分, 20℃)により取り除いた後、2 mL に定容したものを試験溶液とした。

B-3-2) 試験溶液の HPLC 分析

実試料より調製した試験溶液について、次の測定条件 1 または 2 を用い分析を行った。

■ 測定条件 1(JECFA 規定の条件)

カラム: Develosil ODS-UG-5 (4.6 × 250 mm, 粒子径 5 μm, 野村化学(株)), カラム温度: 40℃, 検出波長: 435 nm (アントラキノン類), 流速: 1.0 mL/min, 移動相 A: 0.1 % トリフルオロ酢酸水溶液, 移動相 B: アセトニトリル, グラジエント条件: 0 min (14%B) → 10 min (14%B) → 15 min (20%B) → 25 min (20%B) → 55 min (80%B) → 60 min (100%B) → 65 min (100%B) → 65.01 min (14%B) → 75 min (14%B) 【60 min 以降はカラム洗浄及び平衡化】, 注入量: 20 μL

■ 測定条件 2

カラム: Unison UK-C18 (4.6 × 250 mm, 粒子径 3

μm, インタクト(株)), カラム温度: 40°C, 検出波長: 272 nm (カフェイン), 255 nm (MHB), 435 nm (アントラキノン類), 流速: 1.0 mL/min, 移動相 A: 0.1% トリフルオロ酢酸水溶液, 移動相 B: アセトニトリル, グラジエント条件: 0 min (10%B) → 60 min (100%B) → 65 min (100%B) → 65.01 min (10%B) → 75 min (10%B)

【60 min 以降はカラム洗浄及び平衡化】, 注入量: 20 μL

B-4) ¹H-qNMR に基づく RMS を用いたアントラキノン分析法の確立

B-4-1) 基準物質(カフェイン, MHB 及び 1,8-DAQ)に対する測定対象 5 種の RMS の算出
エモジン, アロエエモジン, クリソファン酸, レイン, フィシオン, 1,8-DAQ では, ¹H-qNMR により算出された純度値に基づき正確に量りとり, メタノールを加え調製したものを標準原液とした(濃度: 156 μmol/L). その後 1%DMSO 含有メタノールを用いて適宜希釈し, 各測定対象の標準溶液を調製した. 各標準溶液の濃度範囲は 0.5~15.6 μmol/L (6 点濃度, 公比 2) である.

カフェインでは, カフェイン標準物質(認証標準物質)を認証値に基づき正確に量りとりし, 10%アセトニトリルを用いて溶解し, 濃度 156 μmol/L の溶液を標準原液とした. この原液について 10%アセトニトリルを用いて適宜希釈を行い, カフェインの標準溶液を調製した. 各標準溶液の濃度範囲は 0.125~15.6 μmol/L (8 点濃度, 公比 2) である.

メチルパラベンでは, メチルパラベン標準物質(認証標準物質)を認証値に基づき精密に秤量し, メタノールを用いて溶解し, 濃度 156 μmol/L の溶液を標準原液とした. この原液についてメタノールを用いて適宜希釈を行い, MHB の標準溶液を調製した. 各標準溶液の濃度範囲は 0.25~15.6 μmol/L (7 点濃度, 公比 2) である.

これら各種濃度の標準溶液については, 各化合物 3 セットずつ調製し, B-3-2 に示した測定条件 2 によりそれぞれ分析した. 各溶液のモル濃度を X 軸に, 検出器の応答値(ピーク面積値)を Y 軸にプロットし, Excel を用いて原点を通る(X: 0, Y: 0)回帰直線を作成し, これを検量

線とした. なお, 各溶液におけるクロマトグラム上のピークの S/N が 10 以上となる濃度範囲で検量線を作成した. その後, 得られた測定対象及び基準物質の検量線の検量線式の傾きの比(測定対象/基準物質)から基準物質に対する測定対象の RMS を算出した.

B-4-2) RMS の正確性の評価

フィシオン以外の各アントラキノン類の標準原液(濃度: 156 μmol/L)及び別途調製したフィシオン溶液(濃度: 31.2 μmol/L)を用い, これらを適宜採取し, メタノールを用いて希釈したモデル溶液 A (各測定対象の濃度: 約 8~9 μmol/L)及びモデル溶液 B (各測定対象の濃度: 1.0 μmol/L)を調製し, RMS の正確性の評価に使用した.

C. 結果及び考察

C-1) JECFA 法における前処理法の改良

加熱時間の短縮(3.5 時間から 1 時間)及び抽出回数の増加(1 回から 3 回)の必要性が明らかとなった(図 2). 今年度は, 昨年度の検討において未解決であった液-液抽出時のエマルジョン形成という課題に着目した. このエマルジョン形成は, 上層と下層(クロロホルム層)の分離を著しく遅延させ, 分析効率を低下させる要因となっていた. 本検討を進めるにあたり, 試料に関して, 昨年度使用した 4 種(①A105, ②A951, ③A952, ④C2052)については, 本検討に必要な十分量が残存していなかったため, 新たに市場流通している 3 種の試料(①C2393, ②C2394, ③C2395)の供与を受け, 前処理法の改良に関する検討を実施することとした. これらの試料を用いて液-液抽出を行ったところ, 昨年度と同様に安定なエマルジョンが生成し, 24 時間の静置後も層分離は達成されなかった(図 3). この問題を解決するため, 遠心分離操作(400×g, 5 分, 20°C)を適用したところ, 上層と下層(クロロホルム層)の完全な二層分離が達成され, その有効性が実証された(図 3). 以上の結果から, JECFA 法における前処理法では, 昨年度明らかとなった改善点(加熱時間の短縮及び抽出回数の増加)に加え, 液-液抽出後の遠心分離操作の追加が必

要であることが判明した。これらの知見に基づき改良した前処理法の詳細を図 4 に示す。

C-2) JECFA 法による実試料の分析

今年度新たに供与を受けたカシアガム 3 種(①C2393, ②C2394, ③C2395)を用いて, JECFA で規定されている HPLC 条件(B-3-2 項, 測定条件 1)の実試料の分析に実試料分析における適用性を検証した。検証実験では, 図 4 に示す改良した前処理法により調製した各試料溶液に, 測定対象 5 種(エモジン, アロエエモジン, レイン, クリソファン酸, フィシオン)を終濃度 1 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加し, HPLC 分析を行った。その結果, 図 5 に示すように, すべての試料において, 測定対象の一部のピークの近傍に試料由来の内在性成分(夾雑成分)のピークが検出され, 十分なベースライン分離が得られないことが判明した。この分離不良を改善するため, ① カラムを粒子径が 3 μm である Unison UK-C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm)へ変更, ②グラジエント条件の変更など溶離条件の最適化を行った。最適化した条件下で, カシアガム 3 種(①C2393, ②C2394, ③C2395)の試験溶液及び測定対象 5 種の混合標準溶液を分析した。その結果, 図 6 に示すように, すべての試料において, 測定対象 5 種と夾雑成分との間のベースライン分離に問題がないことが確認された。以上より, 実試料における測定対象 5 種の分析において, JECFA 規格の HPLC 条件からの変更が必要であることが明らかとなった。

C-3) ^1H -qNMR に基づく RMS を用いたアントラキノン分析法の確立

C-3-1) 基準物質(カフェイン, MHB 及び 1,8-DAQ)に対する測定対象 5 種の RMS の算出

昨年度確立した ^1H -qNMR に基づく RMS を用いたアントラキノン分析法について, 前項で示したとおり JECFA 規格の HPLC 条件の変更が必要となったことを受け, 改良条件下での分析法の確立について検討した。正確な RMS の算出にあたり, 測定対象の市販試薬の正確な純度を明らかにすることは非常に重要である。そこで, これらの純度を明らかにするため, 表 1 に

示す測定条件による ^1H -qNMR 測定を実施した。なお, エモジン, アロエエモジン, レイン及び 1-8 DAQ では, 3 種の外部標準を用いた外部標準法, クリソファン酸及びフィシオンでは, 1,4-BTMSB- d_4 を用いた内標準法により, 各試薬の純度をそれぞれ算出した。その結果, エモジン, アロエエモジン, クリソファン酸, レイン, 1-8 DAQ の純度は, それぞれ, 99.9%, 97.2%, 98.3%, 85.8%, 95.5%と判明した。また, フィシオンは 98.1%であることが明らかとなった。

次に, 基準物質に対する測定対象 5 種の RMS を算出するため, 各検体の ^1H -qNMR による純度に基づいて調製された測定対象 5 種及び 1,8-DAQ並びに認証書に記載の認証値(純度値)に基づき調製されたカフェイン及び MHB 標準溶液を用いて, 改良した HPLC 条件(B-3-2 項, 測定条件 2)より多波長検出器が接続された HPLC で分析した(図 6-9)。その後, 得られたデータに基づき原点を通る各検量線を作成し, その検量線式の傾きの比(測定対象/基準物質)から基準物質に対する測定対象の RMS を算出した。まず, 各検量線の直線性を評価したところ, 測定対象 5 種及び基準物質 3 種の全ての検体の検量線の決定係数は 0.999~1.000 と良好であることが確認された。各測定対象及び基準物質の代表的な検量線を図 10 及び図 11 に示す。化合物ごとに 3 併行の検量線の傾きの平均値を算出したところ, エモジンは 13026 (検出波長: 435 nm), アロエエモジンは 13521 (検出波長: 435 nm), レインは 15669 (検出波長: 435 nm), クリソファン酸は 13260 (検出波長: 435 nm), フィシオンは 14254 (検出波長: 435 nm), カフェインは 11808 (検出波長: 272 nm), メチルパラベン は 18511 (検出波長: 255 nm), 1,8-DAQ は 12296 (検出波長: 435 nm)であることが判明した。これらの検量線の傾きの相対標準偏差は 0.1~2.4%であり, 検量線の決定係数(直線性)とあわせて評価すると, これらの検量線の傾きは RMS の算出に適用可能であることが明らかとなった。そこで, 得られたこれらのデータより, 基準物質に対する測定対象の RMS を算出したところ, 表 2 に示す値であることが明らかとなった。

C-3-2)RMS の正確性の評価

得られた RMS の正確性を評価するため、測定対象 5 種(エモジン, アロエエモジン, レイン, クリソファン酸, フィシオン)をそれぞれ約 8~9 $\mu\text{mol/L}$ を含むモデル溶液 A 及びそれぞれ約 1 $\mu\text{mol/L}$ を含むモデル溶液 B を各 3 セットずつ調製し, HPLC に供し(図 12), RMS 法及び従来定量法の 1 つである絶対検量線法により得られる定量値と比較した。その結果, 表 3 及び表 4 に示すように, 基準物質の異なる RMS 法と絶対検量線法にて得られた定量値はほぼ同等であった。また RSD は最大で 5.5%と精度も良好であった。以上の結果より, 基準物質及びそれに対応する RMS は正確であり, RMS 法から測定対象 5 種の精確な定量が可能であることが明らかとなった。

D. 結論

本研究では, カシアガム中のアントラキノン分析法の確立を目的に, JECFA で規定される分析法を基に, 前処理法の改良, HPLC 条件の最適化及び $^1\text{H-qNMR}$ に基づく RMS を用いたアントラキノン類分析法に確立について検討した。

前処理法の改良においては, 液-液抽出における二層分離の遅延という課題に着目した。特に, エマルジョン形成による分離効率の低下に関する問題に対し, 遠心分離操作の導入が有効であることを実証した。また, JECFA 規格の HPLC 条件では測定対象と夾雑成分の分離が不十分であることが判明したため, 粒子径 3 μm のカラムを採用し, グラジエント条件を最適化することで, 高分離能を有する分析条件を確立した。

$^1\text{H-qNMR}$ に基づく RMS を用いたアントラキノン類分析法に確立では, 正確な標準溶液の濃度に基づいて作成した各検量線式の傾きの比(測定対象の傾き/基準物質の傾き)より, 基準物質 3 種に対する測定対象 5 種の各 RMS を明らかにした。これらの RMS の正確性はモデル溶液を用いた検証により実証され, 本手法が測定対象 5 種の効率的かつ高精度な定量を可能とすることが示された。

一方で, 前処理におけるクロロホルムの使用は, 環境負荷及び作業者の安全性の観点か

ら重要な課題として残されている。今後は, より安全な代替溶媒の探索を含めた前処理法の改良が必要である。この課題に対応するため, 今後は環境負荷が少なく, かつ分析担当者の安全性に配慮した代替溶媒の探索を含めた前処理法の改良が必要である。このような検討を進めることで, 本研究で確立した分析法は, カシアガムの規格試験における実用的な手法として活用が可能となることが期待される。

E. 文献

- 1) 既存添加物名簿収載品目リスト注解書, 日本食品添加物協会技術委員会編. 東京, 日本食品添加物協会(1999).
- 2) 第 5 版 既存添加物自主規格, 日本食品添加物協会技術委員会編. 東京, 日本食品添加物協会(2021).
- 3) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), “Combined Compendium of Food Additive Specifications”, FAO JECFA Monographs 22, 15-21 (2018).
- 4) Iwasaki D, Kanazawa M, Kawamoto F, Araho D, Murakami T, Nishizaki Y, Masumoto N, Sugimoto N: A new single-reference quantitative method using liquid chromatography with relative molar sensitivity based on $^1\text{H-qNMR}$ for khellactone esters from *Peucedanum japonicum* root extract. Food Chem., 427, 136647 (2023)
- 5) Takahashi M, Morimoto K, Nishizaki Y, Masumoto N, Sugimoto N, Sato K, Inoue K: Study on the Synthesis of methylated reference and their application in the quantity of curcuminoids using single reference liquid chromatography based on relative molar sensitivity. Chem. Pharm. Bull., 70, 25-31 (2022)
- 6) Koyama K, Hiroshi Sasako, Higashi Y, Ichikawa H, Nagoya A, Hirao T: Quantitative analysis of bisacurone in turmeric by HPLC using relative molar sensitivity. Shokuhin Eiseigaku Zasshi 63, 202-209 (2022).
- 7) Masumoto N, Ishizuki K, Nishizaki Y, Ohtsuki T,

Kuroe M, Yamazaki T, Numata M, Matsufuji H, Sugimoto N, Sato K: Determination of mogroside V in luohanguo extract for daily quality control operation using relative molar sensitivity to single-reference caffeine. *Chem. Pharm. Bull.*, 69, 18-25 (2021).

F. 研究発表

F-1) 学会発表

F-1-1) 学会等

- 1) 大槻崇, 神谷彩音, 中山優希, 黄奕, 松下美由紀, 森川悟, 松藤寛: TDM 対象薬など医薬品 6 種の血中濃度測定における相対モル感度に基づくシングルリファレンス HPLC 法の応用. 第 6 回日本定量 NMR 研究会年会(2024.12).
- 2) 大槻崇, 馬場萌加, 二見櫻子, 黄奕, 遠藤悠平, 金子剣伸, 松藤寛: ^1H -qNMR に基づく相対モル感度(RMS)を用いた大豆イソフラボン類分析法の確立. 日本食品化学学会第 30 回総会・学術大会(2024.5).

F-2) 論文発表

F-2-1) 論文等

- 1) Ohtsuki T, Huang Y, Kamiya A, Nakayama Y, Matsushita M, Morikawa S, Matsufuji H: Development of an HPLC method using relative molar sensitivity for the measurement of blood concentrations of nine pharmaceutical compounds. *J. Pharm. Health Care Sci.*, 2024; 10: 35.

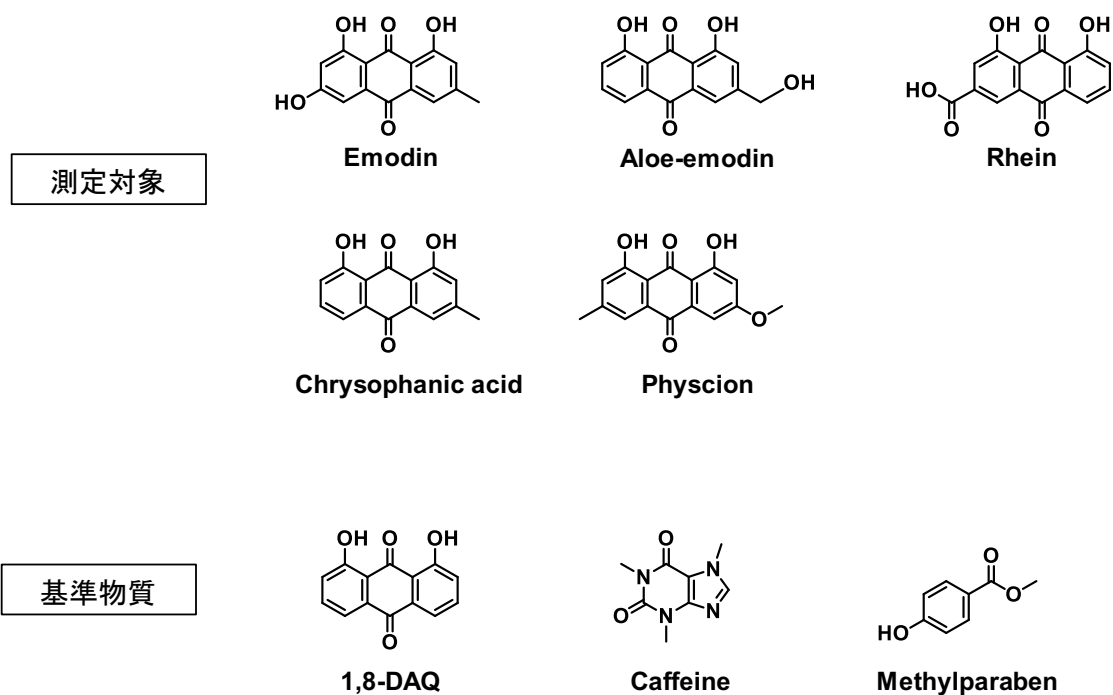


図1 測定対象及び基準物質の化学構造

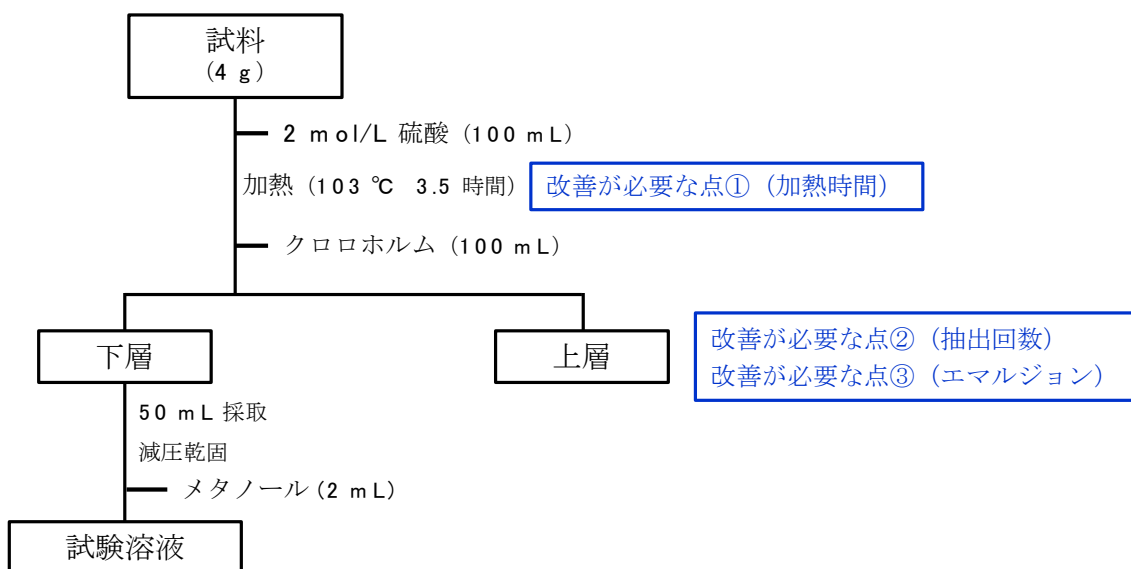


図2 JECFA Monographs におけるカシアガム規格で規定されているアントラキノン類分析法の試験溶液の調製法並びに改善が必要な点

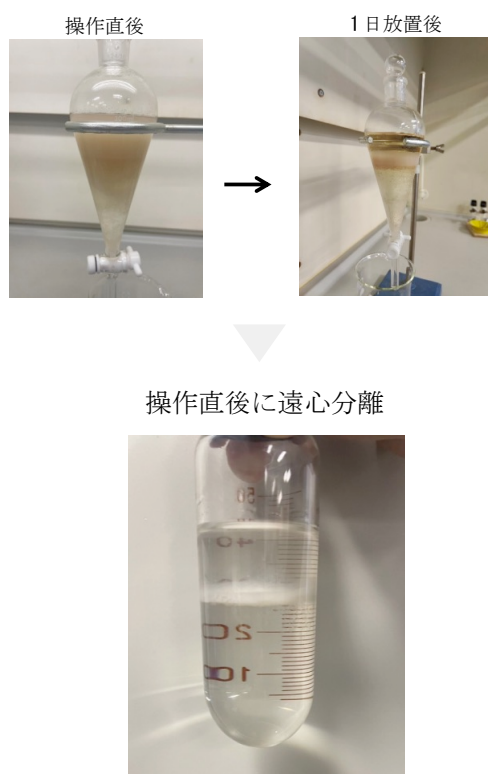


図3 液-液抽出によるエマルジョンの生成並びに遠心分離の効果

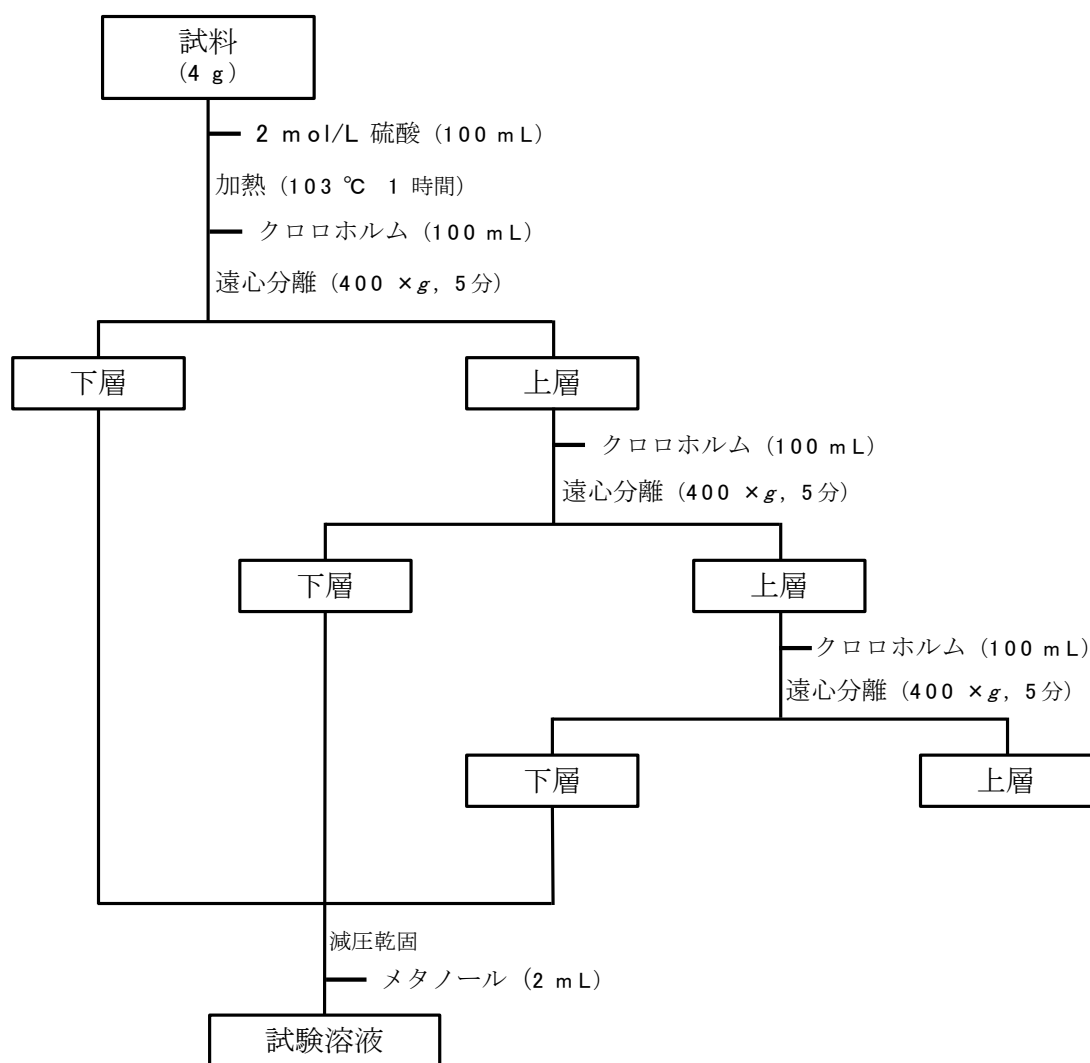


図 4 改良した試験溶液の調製法

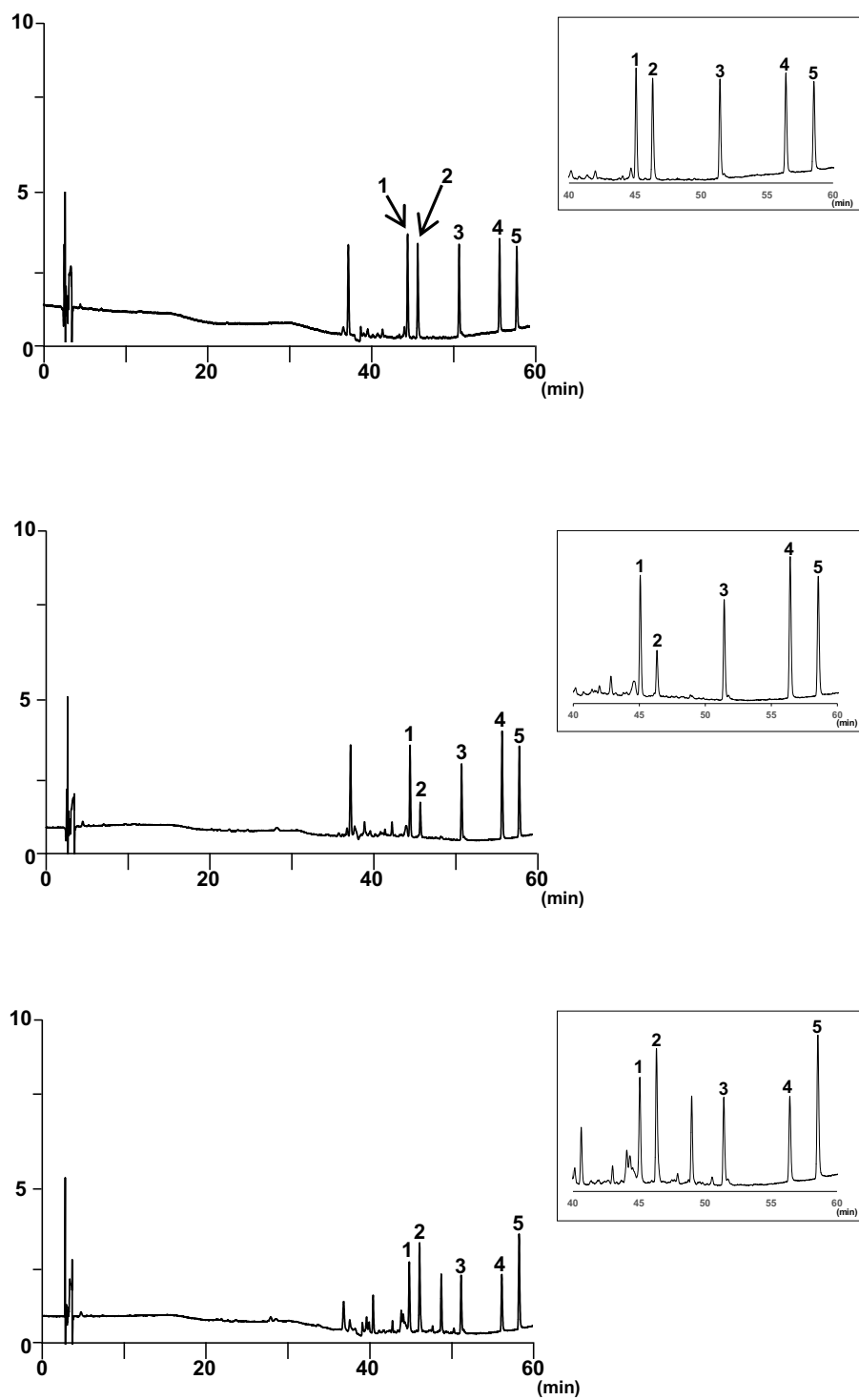


図5 測定対象5種を添加した各カシアガム試験溶液のクロマトグラム(測定条件1)

1. Aloe-emodin, 2. Rhein, 3. Emodin, 4. Chrysophanic acid, 5. Physcion

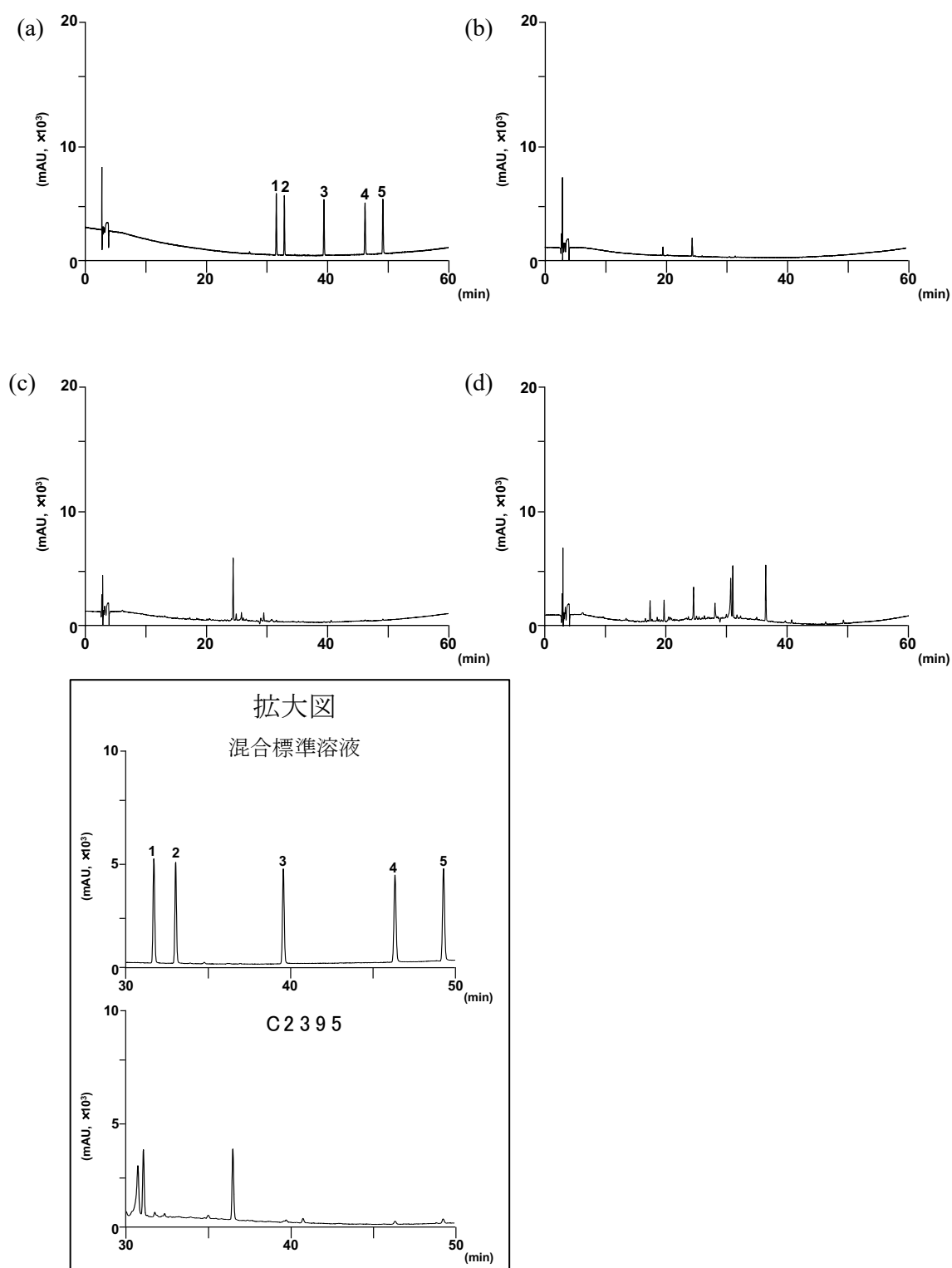


図 6 測定対象 5 種の混合標準溶液，各カシアガム試験溶液及び測定対象 5 種を添加したカシアガム(C2395)試験溶液のクロマトグラム(測定条件 2)

(a) 混合標準溶液，(b) カシアガム(C2393)，(c) カシアガム(C2394)，(d) カシアガム(C2395)，

1. Aloe-emodin，2. Rhein，3. Emodin，4. Chrysophanic acid，5. Physcion

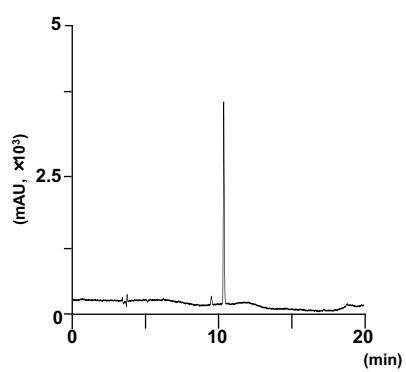


図 7 カフェインのクロマトグラム

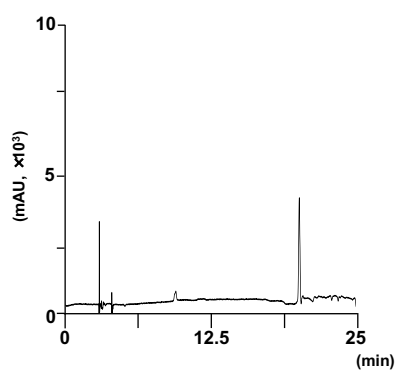


図 8 メチルパラベン(MHB)のクロマトグラム

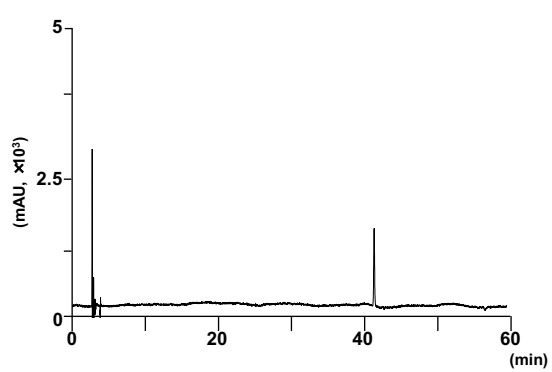


図 9 ダントロン(1,8-DAQ)のクロマトグラム

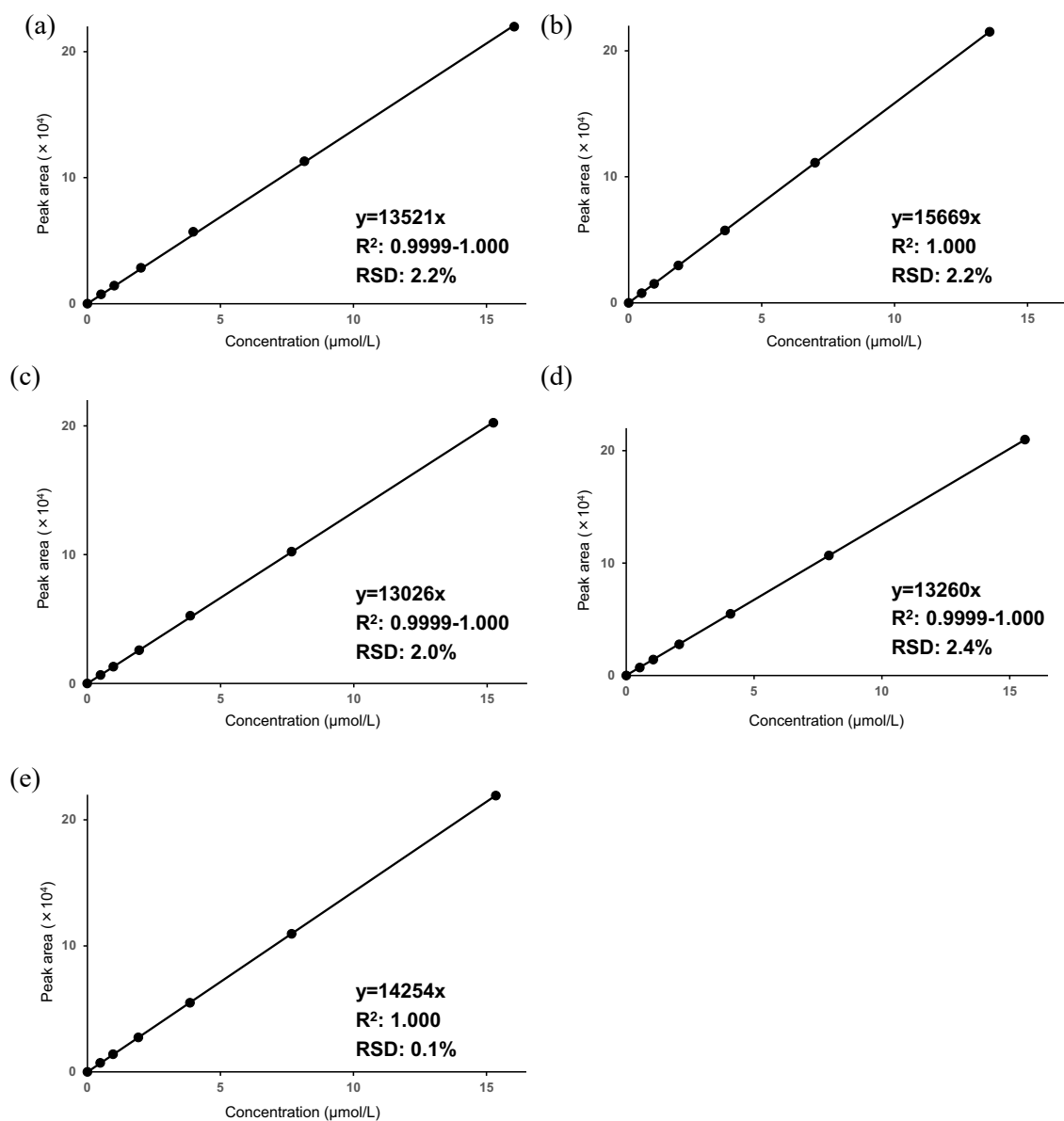


図 10 測定対象 5 種の検量線

(a) Aloe-emodin, (b) Rhein, (c) Emodin, (d) Chrysophanic acid, (e) Physcion

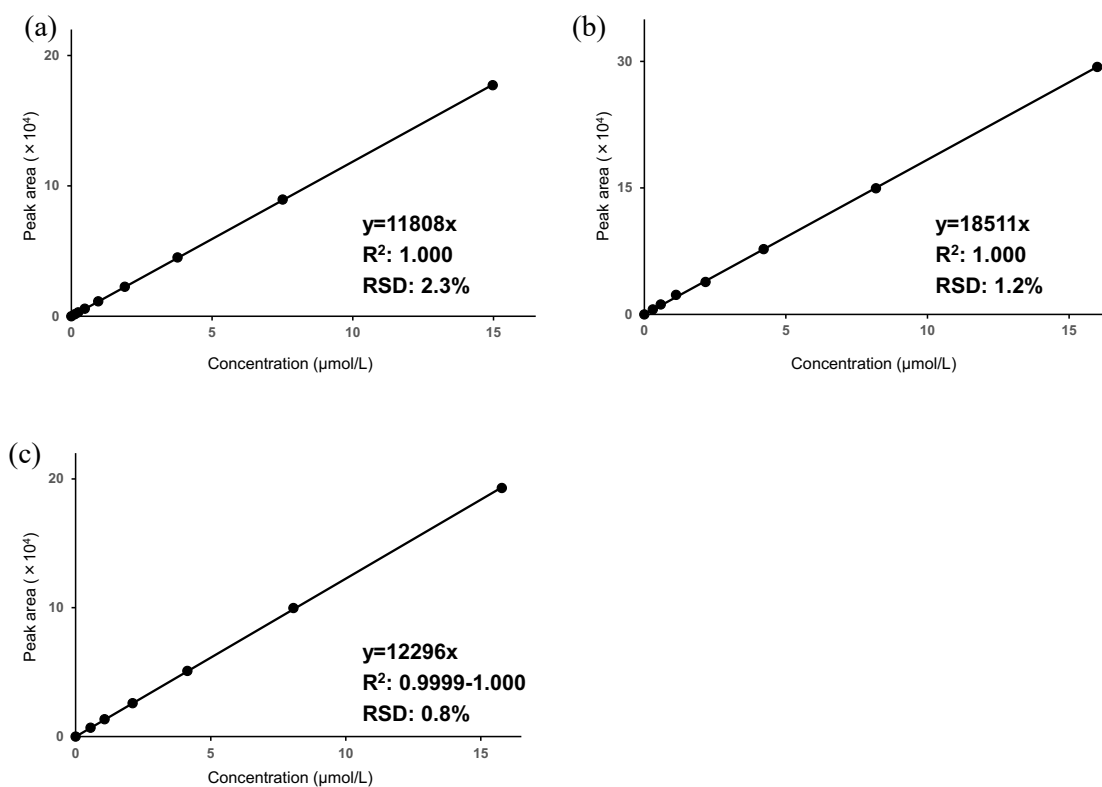


図 11 基準物質 3 種の検量線

(a) Caffeine, (b) Methylparaben, (c) 1,8-DAQ

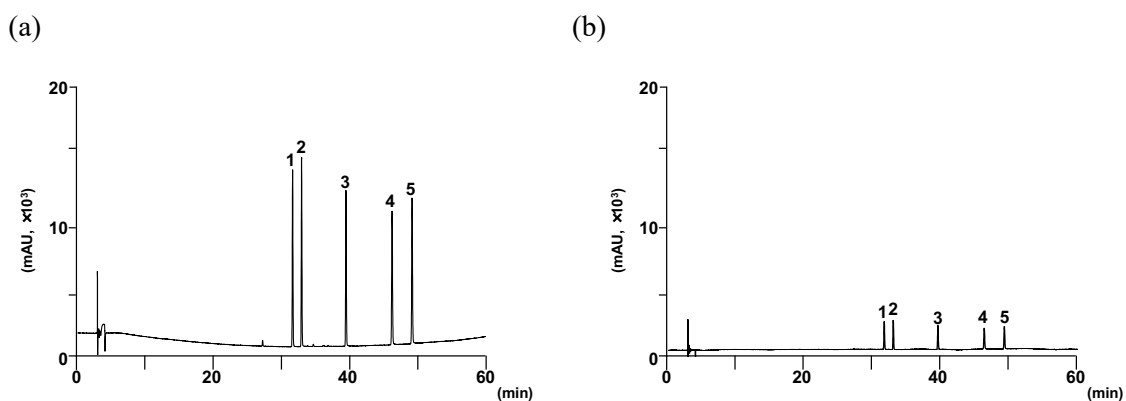


図 12 モデル溶液のクロマトグラム

(a) モデル溶液 A, (b) モデル溶液 B

1. Aloe-emodin, 2. Rhein, 3. Emodin, 4. Chrysophanic acid, 5. Physcion

表 1 ^1H -qNMR 測定条件

装置	JEOL ECA 500 spectrometer
スペクトル幅	20 ppm(-5 – 15 ppm)
データポイント数	65536
オートフィルター	on(eight times)
取り込み期間	6.55 秒
フリップ角	90°
取り込み待ち時間	60 秒
スキャン回数	8
スピニング	off
^{13}C デカップリング	Multi-pulse decoupling with phase and frequency switching(MPF-8)

表 2 各基準物質に対する測定対象の相対モル感度(RMS)

		Calibrant		
		Caffeine (y=11808x)	Methylparaben (y=18511x)	1,8-DAQ (y=12296x)
Analyte	Emojin (y=13026x)	1.10	0.70	1.06
	Aloe-emojin (y=13521x)	1.15	0.73	1.10
	Rein (y=15669x)	1.33	0.85	1.27
	Chrysophanic acid (y=13260x)	1.12	0.72	1.08
	Phycion (y=14254x)	1.21	0.77	1.16

表 3 RMS 法と従来法(絶対検量線法)によるモデル溶液 A の各測定対象の
含量の比較(n=3)

	RMS method						Conventional method	
	Calibrant (Caffeine)		Calibrant (Methylparaben)		Calibrant (1,8-DAQ)			
	Content (μmol/L)	RSD (%)	Content (μmol/L)	RSD (%)	Content (μmol/L)	RSD (%)	Content (μmol/L)	RSD (%)
Emodin	8.7	2.2	8.6	2.2	8.4	2.2	8.5	2.2
Aloe-emodin	8.6	5.0	8.5	5.0	8.4	5.0	8.4	5.0
Rein	7.7	5.5	7.6	5.5	7.5	5.5	7.7	5.5
Chrysophanic acid	8.7	2.4	8.6	2.4	8.5	2.4	8.8	2.4
Physcion	8.5	1.0	8.3	1.0	8.2	1.0	8.3	1.0

表 4 RMS 法と従来法(絶対検量線法)によるモデル溶液 B の各測定対象の
含量の比較(n=3)

	RMS method						Conventional method	
	Calibrant (Caffeine)		Calibrant (Methylparaben)		Calibrant (1,8-DAQ)			
	Content (μmol/L)	RSD (%)	Content (μmol/L)	RSD (%)	Content (μmol/L)	RSD (%)	Content (μmol/L)	RSD (%)
Emodin	1.2	2.0	1.1	2.0	1.1	2.0	1.1	2.0
Aloe-emodin	1.1	3.4	1.1	3.4	1.1	3.4	1.1	3.4
Rein	1.0	2.6	1.0	2.7	1.0	2.6	1.0	2.7
Chrysophanic acid	1.2	2.1	1.1	2.1	1.1	2.1	1.2	2.1
Physcion	1.1	2.5	1.1	2.5	1.1	2.5	1.1	2.5