クチナシ果実から抽出される黄色天然色素の 品質及び市販品の実態^{*1}

—主として高速液体クロマトグラフィーによる分析—

(昭和 59 年 9 月 7 日受理)

神蔵美枝子^{*2} 中里圭子^{*2}

Natural Yellow Colors Extracted from Gardenia Fruit (*Gardenia jasminoides* ELLIS) and Colors Found in Commercial Gardenia Fruit Extract Color —Analysis of Natural Yellow Colors by High Performance Liquid Chromatography—

(Studies on the Quality of Natural Coloring Matters. II)

Mieko KAMIKURA and Keiko NAKAZATO

(National Institute of Hygienic Sciences: 18-1, Kamiyoga 1-chome,
Setagaya-ku, Tokyo, Japan)

In the previous paper, thin layer and high performance liquid chromatographic methods for the determination of geniposide were reported. In this work, separation and determination of natural colors in gardenia fruit extracts were investigated.

Natural colors, crocin and crocetin, and geniposide (which is a contaminant) could be simultaneously separated by reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC) on a Nucleosil 7 C₁₈ column with methyl alcohol-water as the eluant (Fig. 1).

The natural yellow colors in gardenia fruit could be extracted with methyl alcohol, 50 v/v% aqueous methyl and ethyl alcohols or water. The color intensities (absorbances at 438 nm, as crocin) of the extracts became maximum after about 24 hours. Some of the extracts showed a slight loss of colors on subsequent extraction (Fig. 2). The color intensity of the extract with methyl alcohol or 50 v/v% aqueous methyl and ethyl alcohols was higher than that of the extract with water, and the ratio of geniposide/color intensity (G/C) in the former extract was 0.4, less than that in the latter extract (Table 2).

The color intensity of commercial gardenia fruit extract color was expressed as $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ value at 438 nm, as crocin. The values obtained for eighteen samples from different companies were in the range of 4.9 to 175, and the ratios of G/C in 12 of the 18 samples were 0.4~1.6 (Table 3). These results suggested that the samples may have been manufactured by extraction with the above solvents or water.

The natural colors in the extract and the samples were analyzed by HPLC. Several peaks (2-4 peaks) besides crocin were detected on the chromatograms, but crocetin was not detected (except in sample Nos. 2 and 11). In sample Nos. 2 and 11, crocin was converted into crocetin during alkaline hydrolysis [Fig. 6 (Sample 2) and Fig. 7 (Sample 2)].

The peak which appeared at the retention time of about 20 min on HPLC was observed on all the chromatograms (Figs. 3, 4 and 7). The color corresponding to this peak may occur together with crocin in gardenia fruit; its structure might be analogous to those of crocin and crocetin.

*1 天然着色料の品質に関する研究 (第2報)

*2 国立衛生試験所: 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

(Received September 7, 1984)

Key words: クロシン crocin; クロセチン crocetin; 天然色素 natural colors; クチナシ *gardenia jasminoides*; クチナシ色素 gardenia fruit extract colors; ジェニボサイド geniposide; 高速液体クロマトグラフィー high performance liquid chromatography; 薄層クロマトグラフィー thin layer chromatography

クチナシ果実は日本薬局方にサンシシとして収載されており¹⁾, 漢方では消炎, 利尿などの目的で使われ, また, 黄色の天然色素クロシンを含むため, 古くから着色料としても用いられてきた²⁾. 前報³⁾では, クチナシ果実中に含まれる色素成分以外の物質で生理活性のある geniposide を薄層クロマトグラフィー (TLC) 及び高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分離, 定量する方法を述べた.

本研究においては, 色素成分クロシン, クロセチン並びに geniposide の同時分析, クチナシ果実から抽出される黄色天然色素の HPLC による分析及び色素と geniposide の関係, さらに市販クチナシ色素製品につき併せてこれらの検討を行い, 品質に関する実態を明らかにしたので報告する.

実験方法

1. 試料

前報³⁾に準じた.

2. 試薬, 試液

クロセチンの調製: 前報³⁾に準じてエチルエーテル処理後のクチナシ果実水抽出液に 50% 水酸化ナトリウム溶液を加え, 水酸化ナトリウム濃度を約 2% とし, 1 夜放置した. ついで, この液に塩酸を加えて酸性とした後, 放置し, 析出した沈殿をろ別し, 水洗後, 遮光して乾燥した.

クエン酸-リン酸塩緩衝液: 0.1 M クエン酸溶液 7.37 容と 0.2 M リン酸二ナトリウム溶液 12.63 容を混和し, pH 6.0 に調整した.

その他は前報³⁾に準じた.

3. 装置

前報³⁾に準じた.

4. 吸収スペクトル法

前報³⁾に準じた.

5. TLC

試料の 30 v/v% メタノール溶液及びクチナシ果実の各種抽出液につき, シリカゲル薄層を用い, 展開溶媒 (I) *n*-ブタノール-酢酸-水 (4:1:5 の上層), 展開溶媒 (II) 酢酸メチル-メタノール-強アンモニア水 (2:1:1) により TLC を行った.

6. HPLC

前報³⁾に準じた.

7. 種々の条件によるクチナシ果実から色素及びイリド化合物の抽出

前報³⁾に準じた.

実験結果及び考察

1. HPLC によるクロシン, クロセチン及び geniposide の同時分析

クロシン, クロセチンは TLC によって分離できる⁴⁾. しかし, クチナシ果実の抽出液中にはクロシン, クロセチンのほかに geniposide も混入してくるため, これらの分離を目的として HPLC による分析条件を検討した. その結果, geniposide の分析条件⁵⁾でそれぞれの成分を抽出分離することなく分離できたが, 分析時間を短縮するには, 溶離液の第 1 液を 50 v/v% メタノール, 第 2 液をメタノールとし, メタノール濃度を 50→100% に変化させることにより良好な分離を示した. 検出波長はクロシン, クロセチンでは波長 438nm を用いたが, このとき geniposide の検出波長である 254nm を用いると, これらの色素の検出感度は 438 nm の場合の数分の 1 にとどまった. 保持時間 (Rt) は geniposide 約 7 分, クロシン約 10 分, クロセチン約 24 分であった (Fig. 1).

2. クチナシ果実から抽出される色素及びイリド化合物

クチナシ果実に含まれる色素成分はクロシン, クロセチンであり^{6)~7)}, Table 1 に示す構造式並びに吸収極大波長を有する.

市販クチナシ色素は, 前報³⁾で述べたように原料クチナシ果実を水, エタノールなどの有機溶媒で処理して色素を抽出する製法がとられている. そこで, 実験方法 7. に従って, それぞれ 24, 48, 72, 96, 144 及び 168 時間抽出後の抽出液につき吸光度を測定して, 色素とイリド化合物の抽出状態を調べた. 一般にクチナシ果実からクロシン及びイリド化合物の抽出液中への移行は 24 時間後にはほぼ平衡状態となり, その後の抽出はわずかな退色, 及びイリド化合物の減少が認められるほか, 特に目立った経時の変化は観察されなかった (Fig. 2).

さらに色素主成分であるクロシンの抽出状態につき, 抽出用溶媒による差を検討した. すなわち, 抽出液のクロシンとしての色素濃度は抽出液量を 100 ml とし, 波長 438 nm で測定して得た吸光度で表わすと, メタノール, 50 v/v% メタノール及びエタノール, 50 v/v% アセトンで 22~26.5 であった. 本来, 色素含量はパーセントとして表わすべきであるが, 現在純クロシンの $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値の正確な値は得られていない. そのため, 抽出液の色素濃度は吸光度で示した. また, 抽出液中の色素

Fig. 1. Separation of crocin, crocetin and geniposide by high performance liquid chromatography

Chromatographic condition: Column; Nucleosil 7 C₁₈, 4.6 mm i.d. × 250 mm Eluant; primary, H₂O, secondary, methanol Gradient; 3%/min linear, secondary 50–100% Pressure; 100 kg/cm² Injection; 5 μl

Liquid chromatograph: Shimadzu Dupont Model 830, detector SPD-1

濃度 (C) と geniposide (%) (G) の比 G/C は 24 時間後の抽出液で水 1.8, エタノール 0.8, メタノール, 50 v/v% メタノール及びエタノール, 50v/v% アセトンで 0.4 を示した (Table 2).

Table 2 にみられるように, エタノール, アセトンを除き geniposide の溶出量はすべてほぼ一定であるのに反し, 色素濃度は 4~4.8 倍の差がみられたので, 色素濃度と geniposide 量との比を求めた. これらの結果は, 抽出液をただ単に濃縮あるいは希釈するのみの操作によって製品化した場合における G/C 比は, 抽出溶媒特有の値を示すことが推定され, この値からクチナシ

色素製品の抽出方法の推測が可能になると考える. ただし, 市販クチナシ製品についてのこの値は, 原料クチナシ果実の収穫時期, 保管の状態及び製品の保管状態, 製造からの経過日数等により, 色素の退色が考えられることから若干数値の変動があると思われる. なお, 色素濃度を吸光度で示して, これと geniposide 量 (%) を比較することは一般的でないが, geniposide を吸光度で表わすことは前報³⁾でも述べたように分析上種々な問題があり, また, 波長 238 nm で測定して得られる吸光度は他のイリド化合物, 及びその領域で吸収のあるすべての物質を測定する結果となり, 得られた値の信頼性は geniposide 量 (%) として示す場合よりも低いと考える. そのため, geniposide (%) / 色素濃度 (吸光度) を採用した.

以上の結果はメタノール, 50 v/v% メタノール及びエタノールが水の約 4 倍の色素抽出能力を有し, かつ抽出液中の G/C 比が他の溶媒に比し小さく, そのためクチナシ色素製品中へのイリド化合物の混入が低く押えられることを示唆している (Table 2).

抽出原液の HPLC の結果は Figs. 3 及び 4 に示すように, クロシンのほかに数種の色素の存在が認められた. 水抽出液ではクロシンのほかに Rt 20 分近辺に現われる色素があり, メタノール, エタノール, 50 v/v% メタノール及びエタノールではクロシンと Rt 20 分近辺に現われる色素の間に 2~4 種の色素の存在が認められ, なかでも, エタノールの場合は Rt 約 17 分に現われる色素の溶出が多い傾向がみられた. アセトンの場合は Fig. 4 中の可視吸収スペクトルにみられるように, クロシンの吸収極大波長である 438 nm に吸収の極大は認められず, 吸収極大波長は 422, 453 nm にシフトした. この原因は HPLC においても明瞭に現われ, 特にクロシンのアセトンによる溶出量は他の抽出溶媒の溶出量と比較して極めて少なく, さらに Rt 約 17 分に現われる色素が他の溶媒に比し多く認められた. しかし, 水を添加したアセトンの場合にはエタノール等と同様の傾向を示した (Fig. 3).

クロセチンは, 以上の抽出条件で HPLC によって抽出液からほとんど検出されなかった.

Table 1. Structures and Physical Properties of Crocin and Crocetin

Substance	Structure	M.W.	mp °C	λ _{max} nm
Crocin		C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄ MW=976.98	186 (decomp.)	438, 463 (50 v/v% EtOH)
Crocetin		C ₂₀ H ₂₄ O ₄ MW=328.41	285 (decomp.)	418, 443 (pH 10)
C.I. 75100 ⁷⁾ C.I. Natural Yellow 6 ⁷⁾

Fig. 2. Time courses of the absorbance of natural colors (as crocin) and iridoid compounds (as geniposide) extracted from gardenia fruit with various solvents

Extraction condition: Refer to Table 2

Sample solution: Each 1 ml of extracts was diluted to 100 ml with 50 v/v% ethanol, but the 50 v/v% acetone extract was evaporated to remove acetone.

Table 2. Color Intensity (as Crocin) and the Ratio of Geniposide/Color Intensity (G/C) of Various Extracts of Gardenia Fruit

No.	Solvent	Fruit	Volume	Extraction time	Extracts			
					Geniposide ³⁾ found by HPLC (G)		Color intensity* ¹ as crocin (C)	Ratio G/C
					(mg)	(%)		
1	Water	1	50	24	96	10	5.5	1.8
2	Methanol	1	50	24	90	9	26	0.4
3	50 v/v% Methanol	1	50	24	102	10	26.5	0.4
4	Ethanol	1	50	24	56	6	8	0.8
5	50 v/v% Ethanol	1	50	24	86	9	22	0.4
6	Acetone* ²	1	50	24	53	5	2.5	2.0
7	50 v/v% Acetone* ¹	1	50	24	98	10	25	0.4

*¹ The values are absorbances of the extracts, whose volumes are assumed to be 100 ml. The absorbances (averages of triplicate data) were determined at 438 nm.

*² These extracts were evaporated to remove acetone, and residues were redissolved with 50 v/v% ethanol.

3. 色素主成分クロシンの溶媒によるスペクトルの変化

現在, クチナシ色素のスペクトルはクエン酸-リン酸塩緩衝液 (pH 6.0) に溶かして測定しているが⁴⁾, geniposide の測定には 50 v/v% エタノールを用いたため³⁾, 両溶媒によるスペクトル並びに吸光度の差を調べた。

Table 3 の試料 7 を用いて検討した結果は, Fig. 5 に示すようにクエン酸-リン酸塩緩衝液では吸収極大波長

が 443 nm に, 465 nm に肩があり, 50 v/v% エタノールでは波長 438 nm に吸収の極大が, 463 nm にも副ピークが明らかに認められた。両溶媒による吸光度はクエン酸-リン酸塩緩衝液 (443 nm): 50 v/v% エタノール (438 nm)=1:1.08 と, 50 v/v% エタノールの方がわずかに高い吸光度を示すことがわかった。

4. 市販クチナシ色素製品中の色素の分析

現在, 天然着色料, クチナシ色素として流通している 18 試料についての分析結果は Table 3 に, 代表的な試

Fig. 3. High performance liquid chromatograms of various extracts of gardenia fruit
Chromatographic condition: Refer to Fig. 1, injection; 5 μ l, original solution
Extraction condition: Refer to Table 2

料の吸収スペクトルを Fig. 6 に, HPLC の結果を Fig. 7 に示す. なお, 18試料のうち12試料が粉末状, 6試料が液状で, 前者は乳糖, デンプンなどが希釈剤として, 後者はプロピレングリコールが色素の安定剤を兼ねた溶剤として用いられている.

色素の測定については 2. で述べたように, 現在, 色素含量をパーセントとして表わすことができない. そのため試料の色素濃度はクロシンとして波長 438 nm で測定して得た吸光度, $E_{1cm}^{1\%}$ 値で表わした. すなわち, 試料の 50 v/v% エタノール溶液の $E_{1cm}^{1\%}$ 値は 4.9~9.0, 14.2~31 と, 高濃度の 62.0~135 とがあった. 最高値

を示す $E_{1cm}^{1\%}$ 値 175 の試料は特に精製された製品であると考えられる. Table 3 の試料 10 は色素の $E_{1cm}^{1\%}$ 値 4.9, geniposide 量 7.86%, G/C 比 1.6 で, これらの値はグチナン果実を水抽出したときの値に近く, この試料は水抽出によって得られた製品と思われる. また, G/C 比 0.4~0.8 の製品はメタノール, エタノールあるいはそれらの含水溶媒等を用いて製造された製品であることが推定された. G/C 比 0.1 以下の試料 2, 6, 8, 9, 13 及び 16 は geniposide の除去が行われたものとする. 試料 2 は 50 v/v% エタノールに溶けにくく, 0.1 N 炭酸ナトリウム溶液 2 ml を加えて調製した液の吸収極大波

Fig. 4. High performance liquid chromatogram and ultraviolet visible absorption spectra of acetone extract of gardenia fruit
 Chromatographic condition, Refer to Fig. 1
 Extraction condition, Refer to Table 2
 Sample solution, 1 ml of extract was evaporated to dryness, and residue was redissolved in 1 ml of ethanol.

Fig. 5. Ultraviolet visible absorption spectra of commercial gardenia fruit extract color in citric acid-phosphate buffer and 50 v/v% ethanol alcohol solutions
 Sample, No. 7, Refer to Table 3
 Curve, — citric acid-phosphate buffer solution, pH 6.0
 --- 50 v/v% ethanol solution
 Concentration, 40 ppm

長は 418 nm, 443 nm にあり (Fig. 6, Sample 2), これらはクロセチンのそれと一致した。HPLC の結果はクロシンの存在は認められず, クロセチンと他の色素がわずかに認められた (Fig. 7, Sample 2)。以上の結果から試料 2 は, 色素成分の加水分解が行われていることが確認された。なお, G/C 比が小さい製品は, 食品に使用し

たとき, 食品への geniposide の混入が G/C 比の大きい製品よりも少ないということがいえる。

Table 3 の試料 11 は吸収極大波長がクロシンのそれと比べて若干短波長側にシフトし, 波長 430 nm にあり, 463 nm に副ピークが認められない (Fig. 6, Sample 11)。また, HPLC の結果は極めて複雑なパターンを示し (Fig. 7, Sample 11), 通常のクチナシ抽出液の HPLC パターンと全く異なった。すなわち, クロシン, クロセチンの存在は認められるものの, その他の種々の色素が存在し, この製品についての抽出方法, 抽出溶媒等を推定することはむずかしく, 特別な操作法が加えられていると考えるべきであろう。さらに, シリカゲル薄層を用い, 展開溶媒 (I) による TLC においても, 原点からテーリングを伴う数個のはん点が認められた。

その他の試料の吸収スペクトル及び HPLC の結果は Table 3 の試料 3 のそれらに代表されるが, 特に HPLC では Rt 20 分付近に色素のピークが検出された。

5. HPLC において Rt 20 分付近に現われる色素について

2. 並びに 4 の項における検討で, HPLC によってクロセチンより少し速く, Rt 約 20 分に現われる色素の存在を指摘した。クチナシ果実中にはクロシンとともにクロセチンが存在するといわれるため, このピークの色素はクロセチンと誤認しやすい。しかし, クロセチンとは明瞭に分離した (Fig. 8)。そこで, さらに次のような検討を行った。

すなわち, クチナシ果実のメタノール抽出液 1 ml をとり, これに 10% アンモニア水 1 ml を加え, 沸騰水

Table 3. $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ Value as Crocin and the Ratio of Geniposide/Color Intensity (G/C) of Commercial Gardenia Fruit Extract Color

			Geniposide (%) ^{*)} found by HPLC (G)	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$ Value* ¹ (color intensity) as crocin (C)	Ratio G/C
Gardenia Fruit Extract color	1	Powder	26.50	71.0	0.4
	2	Powder	0.90	36.8* ²	0.0
	3	Powder	14.41	31.4	0.5
	4	Powder	23.05	31.0	0.7
	5	Powder	8.50	14.2	0.6
	6	Powder	0.00	15.0	0.0
	7	Powder	35.90	62.0	0.6
	8	Powder	18.29	175.0	0.1
	9	Powder	0.00	17.2	0.0
	10	Liquid	7.86	4.9	1.6
	11	Liquid	11.08	17.9	0.6
	12	Powder	7.00	17.5	0.4
	13	Liquid	0.02	7.6	0.0
	14	Liquid	9.70	20.0	0.5
	15	Liquid	8.31	20.5	0.4
	16	Powder	14.00	135.0	0.1
	17	Powder	6.86	9.0	0.8
	18	Liquid	4.84	8.7	0.6

*¹ The values (averages of triplicate data) were determined at 438 nm.*² The value was determined at 418 nm as crocetin.

Fig. 6. Ultraviolet visible absorption spectra of commercial gardenia fruit extract color
 Sample: Refer to Table 3, sample 3 and 9 were shown in Fig. 7 of this Journal
 25, 517~524 (1984).
 Solvent, 50 v/v% ethanol

Fig. 7. High performance liquid chromatograms of commercial gardenia fruit extract color
Sample, Refer to Table 3
Chromatographic condition, Refer to Fig. 1

浴中で1時間加熱した後, 反応液を水浴上で蒸発乾固した。残留物は帯赤褐色を呈し, 50 v/v% メタノールには溶けないが, 少量の 10% アンモニア水を含む 50 v/v% メタノールに黄色に溶けた。この液は波長 430 nm と 457 nm に吸収極大があるものの, スペクトルの形態は反応前のそれと大きく変り, また, 紫外部の吸収が強く現われた (Fig. 9)。HPLC ではクロシンのピークは消失し, Rt 約 20 分, 約 29 分及び約 33.6 分にピークが出現した (Fig. 8)。これらのことは, クロシンがメタノールの存在下アンモニアアルカリ性条件下で徐々に変化し, gentiobiose の脱離 (Table 1 参照) と共にメチル

化反応が起こることが予想される⁸⁾。また, カロチノイド色素は種々の立体異性の存在することが知られており⁹⁾, これらのことからクチナシ果実抽出液の HPLC で Rt 約 20 分に認められる色素は, クチナシ果実中でクロシンとともに存在するものと思われ, その構造はクロシン, クロセチンと極めて類似するものと考えられる。なお, この色素の検討結果は次報で述べる。

本研究においては, 天然着色料として流通しているクチナシ色素製品につき, 色素濃度 ($E_{1\%}^{1cm}$ 値) 並びに色素成分の分析, さらに, 食品へ適用する場合の不純物混入の問題を考慮して色素濃度と不純物である genipo-

Fig. 8. High performance liquid chromatograms of alkaline degradation products of methanolic extract from gardenia fruit

Chromatographic condition: Refer to Fig. 1

Sample: Refer to Table 2, methanolic extract; --- original solution+crocetin, — degradation products; one milliliter of 10% ammonium hydroxide solution was added to 1 ml of methanolic extract, heated for 1 hour, evaporated to dryness, and residue was redissolved in 5 ml of methanol containing 0.1 ml of 1% ammonium hydroxide solution.

Fig. 9. Ultraviolet visible absorption spectra of methanolic extract and its alkaline degradation products

Sample, Refer to Fig. 8; --- original solution; — degradation products; Concentration, unknown

side の関係を G/C 比として求めることを試み、市販製品についてのこれらの実態を知り得た。ここに得られた結果は、クチナン色素の品質規格を設定する上での指標として役立つものとする。

まとめ

クチナン色素中の色素成分、クロシン、クロセチン並びに混在成分の geniposide は Nucleosil 7 C₁₈ のカラムを用い、溶離液のメタノール濃度を 50→100% とする HPLC において、Rt 約 7 分に geniposide, 約 10 分にクロシン及び約 24 分にクロセチンの順に分離し、いずれも良好なピークが得られ、試料からこれらを抽出分離することなく、直接に同時分析することができた。検出波長 geniposide 254 nm, クロシン及びクロセチン 438 nm.

クチナン果実から抽出される色素成分及びイリドイド化合物は抽出 24 時間ではほぼ平衡状態となった。抽出液中の色素濃度 (438 nm における吸光度) (C) はメタノール, 50 v/v% メタノール及びエタノールが水の約 4 倍を示し, geniposide (%) (G) との比 G/C が他の溶媒に比し小さく, これらの抽出液を用いた場合には, クチナン色素製品中へのイリドイド化合物の混入を低く押えられることが示唆された。また, クロセチンは本抽出条件で抽出液からほとんど検出されなかった。

市販クチナン色素製品中の色素濃度は, クロシンとして波長 438 nm で測定して得られる吸光度, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値で表わすとき, 4.9~175 の値が得られた。さらに, G/C 比, 吸収スペクトル及び HPLC の結果から, 市販製品の大部分は水あるいはメタノール及びエタノール, それらの含水液が抽出用溶媒として使用されていることが推定された。しかし, 色素成分をクロセチンに変えた製品, 吸収スペクトル, HPLC の結果がクロシン, クロセチンのそれと異なる製品も流通していることが判明し, 市販製品についての実態を把握し得た。

また, クチナン果実抽出液, 市販クチナン色素製品についての HPLC で, Rt 20 分付近に常に出現するピークが検出された。このピークはクロセチンのそれと誤認され易いが, クロセチンとは明瞭に分離できた。

本研究において得られた結果は, クチナン色素の品質規格を設定する上での有益な示唆を与え得るものとする。

終りに, 本研究に際し, 種々御指導いただきました谷村頭雄副所長に厚く御礼を申し上げます。また, 試料の入手に御協力いただきました日本食品添加物協会担当部の各位に厚く御礼を申し上げます。

なお, 本研究の要旨は日本食品衛生学会第 44 回学術講演会 (1982 年 11 月, 福岡) において発表した。

文 献

- 1) 日本公定書協会: “第 10 改正日本薬局方解説書” D-373~376 (1981) 広川書店。

- 2) 宗定哲二：薬誌. **42**, 666～671 (1922).
- 3) 神蔵美枝子，中里圭子：食衛誌. **25**, 517～524 (1984).
- 4) 日本食品添加物団体連合会：“天然食品添加物規格総集”第2版 p. 24～27 (昭和 56 年 3 月).
- 5) 稲垣 勲：“植物化学” p. 220 (昭和 47 年) 医歯薬出版.
- 6) 服部静夫：“植物色素” p. 57～64, 600 (昭和 11 年) 岩波書店.
- 7) “Colour Index” 3rd Ed. (1971) Society of Dyers and Colourists and American Association of Textile Chemists and Colorists.
- 8) Isler, O.: “Carotenoids” p. 267 (1971) Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart.