

Application News

No. L582A

高速液体クロマトグラフィー

茶葉に含まれるカロテノイド類の定量分析

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構と島津製作所は、



「食」の機能性成分解析を目的とした共同研究により、農産物や食品に含まれる機能性成分の簡便で迅速かつ正確な分析手法の開発を行っています。

本報では、茶葉中のカロテノイド類の分析方法を検討し、茶葉2種について含有量を確認した結果を報告します。カロテノイドは炭素が40個繋がった脂肪族炭化水素に分類される化合物で、これまでに自然界で700種類以上のカロテノイドが見つかっています。代表的なものとして、トマトに含まれるリコペンやホウレンソウに含まれるルテイン等が挙げられます。ポリフェノールと同様に全ての化合物が抗酸化性を示すことなどから、機能性成分として注目されています。本報では表1に示すカロテノイド類を測定対象としました。

M. Kawashima

表1 対象化合物の一覧

化合物名
アスタキサンチン
α -カロテン
β -カロテン
β -クリプトキサンチン
ゼアキサンチン
ネオキサンチン
ルテイン

試料の前処理

抽出条件は、JASのルテイン分析法等^{1),2),3),4)}を参考に検討し、図1に示すワークフローで行いました。ただし、この手法ではけん化の工程でアスタキサンチンが分解するため、茶葉中のアスタキサンチンの定量を行うことはできません。アスタキサンチンを定量する場合は酵素による加水分解が必要になります。

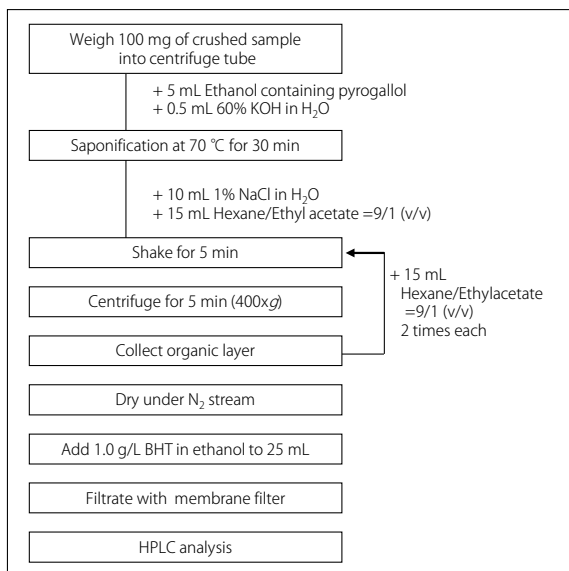


図1 前処理のワークフロー

分析条件

JASのルテイン分析法¹⁾を参考に分析条件を決定しました。分析条件を表2に示しました。

表2 分析条件

System	: Nexera™ X3
Column	: YMC Carotenoid (150 mm x 4.6 mm I.D., 3 μ m)
Mobile phases	: A) 5 g/L Ammonium acetate in Methanol / Acetonitrile=4/15 (v/v) B) Ethanol
Gradient Program	: B conc. 5% (0-1.00 min) - 50% (20.00 min) - 95% (20.01-25.00 min) - 5% (25.01-30.00 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μ L
Detection	: PDA 438 nm (Neoxanthin), 445 nm (α -carotene, Lutein), 450 nm (β -carotene, β -cryptoxanthin, Zeaxanthin), 470 nm (Astaxanthin)

標準試料の分析結果

標準試料の分析結果から、各化合物の直線性を確認しました。各成分の検量線を図2に、代表的なクロマトグラムを図3に示しました。また、各化合物の検量線範囲および寄与率を表3に示しました。いずれの成分も、寄与率 $R^2=0.999$ 以上の良好な直線性が確認されました。

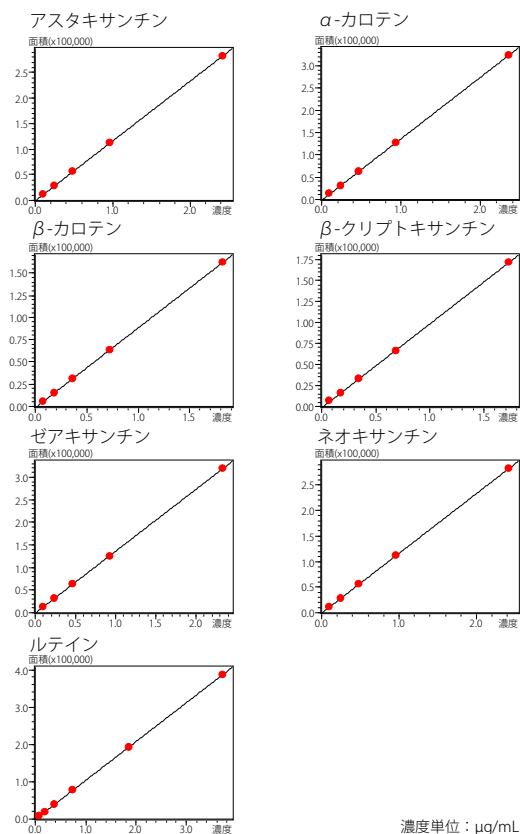


図2 各化合物の検量線

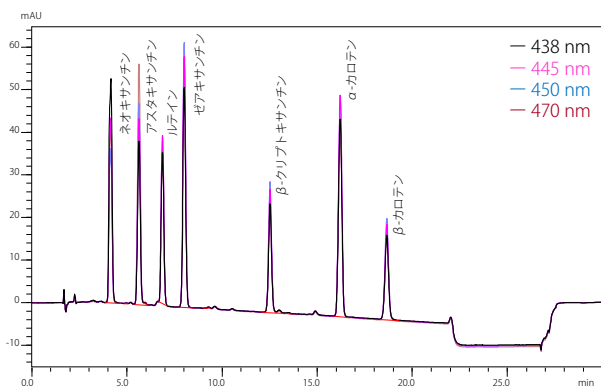


図3 標準試料のクロマトグラム

表3 各化合物の検量線範囲

化合物名	検量線範囲 (µg/mL)	寄与率 R ²
アスタキサンチン	0.094 — 2.357	0.9999
α-カロテン	0.094 — 2.353	0.9999
β-カロテン	0.073 — 1.818	0.9999
β-クリプトキサンチン	0.069 — 1.728	0.9997
ゼアキサンチン	0.093 — 2.329	0.9999
ネオキサンチン	0.097 — 2.417	0.9999
ルテイン	0.074 — 3.716	0.9999

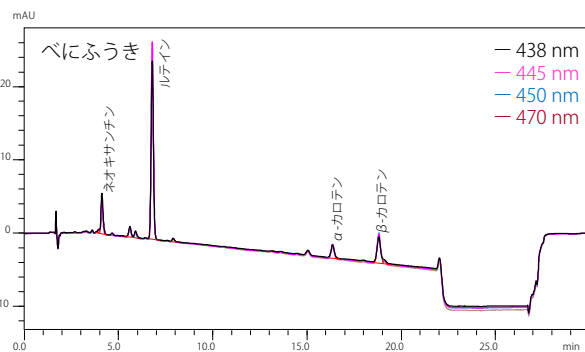
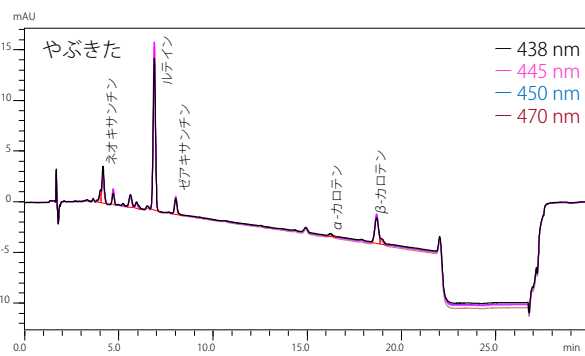


図4 茶葉抽出液のクロマトグラム

茶葉の繰り返し分析結果

茶葉（やぶきた）の抽出液を7点調製して繰り返し試験を行い、妥当性を確認しました。その結果を表4に示します。

表4 繰り返し分析結果 (n=7)

化合物名	相対標準偏差 RSD (%)
α-カロテン	2.87
β-カロテン	7.99
β-クリプトキサンチン	- (検出下限以下)
ゼアキサンチン	6.03
ネオキサンチン	9.29
ルテイン	4.04

茶葉の定量結果

茶葉（やぶきた、べにふうき）の抽出液を分析し、試料中のカロテノイド類を定量しました。それぞれの茶葉のクロマトグラムを図4に、カロテノイド類の定量値を茶葉中の濃度に換算した結果を表5に示しました。

表5 茶葉に含まれるカロテノイド類の含有量

化合物名	含有量 (mg/g)	
	やぶきた	べにふうき
α-カロテン	0.92	4.7
β-カロテン	11.3	16.3
β-クリプトキサンチン	<検出下限	<検出下限
ゼアキサンチン	3.19	<検出下限
ネオキサンチン	6.41	9.5
ルテイン	34.0	53.7

結論

- Nexera シリーズを用いて、カロテノイド類7成分の一斉分析を行いました。
- 開発した分析方法によって茶葉2品種の定量を行い、品種によるカロテノイド類の含有量の違いを確認できました。

<参考文献>

- 1) 日本農林規格 ほうれんそう中のルテインの定量 ー高速液体クロマトグラフ法 (JAS 0008)
- 2) 食品表示基準について (平成 27 年 3 月 30 日消費表第 139 号消費者庁次長通知) 別添 栄養成分等の分析方法等
- 3) 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂) 分析マニュアル、第 3 章 ビタミン (https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1368931.htm)
- 4) 日本農林規格 ウンシュウミカン中のβ-クリプトキサンチンの定量 ー高速液体クロマトグラフ法 (JAS 0003)

本分析手法の開発は、島津製作所 ヘルスケア R&D センター内 食品機能性解析共同研究ラボにて国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構様との共同研究 (2019 年 4 月~2022 年 3 月予定) により行い、ご紹介した分析手法および測定データは、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の十一 浩典様、市来 弥生様より提供いただきました。

Nexera は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

A改訂版発行：2021年3月
初版発行：2020年9月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075)813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。