

茶葉および大麦に含まれるアントシアニンの定量分析

川嶋 美帆

ユーザーベネフィット

- ◆ アントシアニン4成分を25分で測定できます。
- ◆ アグリコン当量ではなく配糖体を定量するため、加水分解せず抽出のみの前処理で測定可能です。
- ◆ コンベンショナルHPLC条件のため、汎用HPLCシステムを用いて分析することが可能です。

はじめに

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、茶葉中および大麦中のアントシアニンの分析方法を検討し、茶葉2品種および大麦1品種について含有量を確認した結果を報告します。

アントシアニンは赤～紫～青色を呈する色素で、糖や糖鎖が結びついた配糖体の形で植物に含まれています。本稿では表1に示す4種のアントシアニンを測定対象としました。

表1 対象化合物の一覧

化合物名
デルフィニジン-3-ガラクトシド
デルフィニジン-3-グルコシド
シアニジン-3-ガラクトシド
シアニジン-3-グルコシド

分析条件

既存の分析法^{1), 2), 3)}を参考に決定しました。カラムには Shim-pack™ GIST HP (150 mm×4.6 mm I.D., 3 μm) を使用し、25分の分析時間で対象のアントシアニンを分離しました。分析条件を表2に示しました。

表2 分析条件

System	: Nexera X3
Column	: Shim-pack GIST-HP C18*1 (150 mm×4.6 mm I.D., 3 μm)
Mobile phases	: A) 2 % formic acid in H ₂ O B) 2 % formic acid in H ₂ O / Acetonitrile=1/1 (v/v)
Gradient Program	: B conc. 15 % (0.00-3.00 min) - 30 % (15.00 min) -100 % (15.01-20.00 min) - 15 % (20.01-25.00 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min (Maximum pressure: 16 MPa)
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μL
Detection	: 520 nm (タングステンランプ)

*1 P/N : 227-30041-05

試料の前処理

抽出条件は、既存の方法^{1), 2)}を参考に検討し、図1に示すワークフローで行いました。

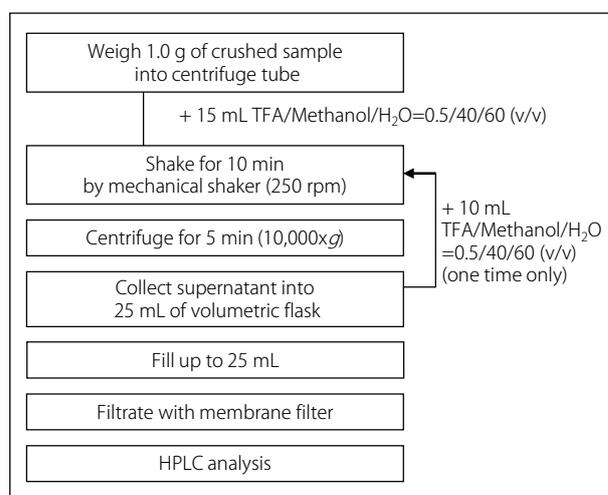


図1 前処理のワークフロー

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として10 μg/mL 標準試料のものを図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R²=0.999以上の良好な直線性が確認されました。

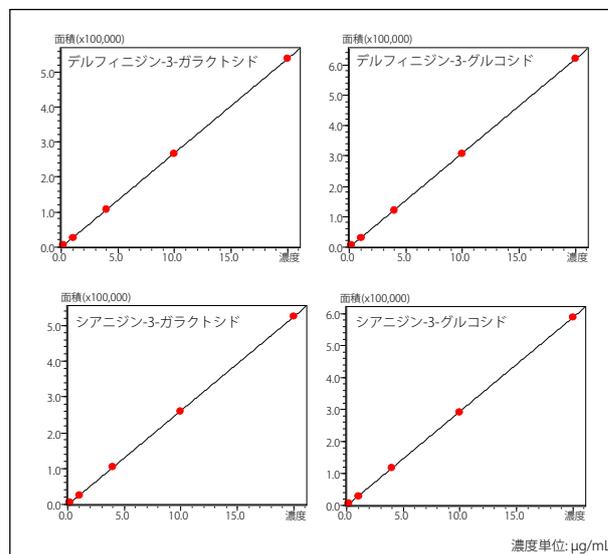


図2 各化合物の検量線

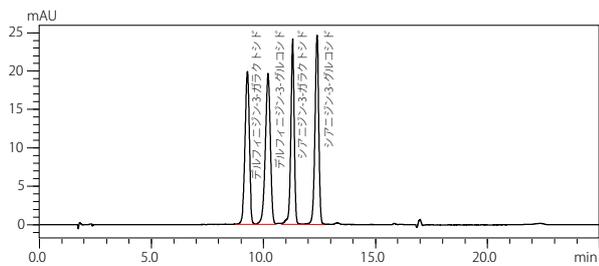


図3 10 µg/mL 標準試料のクロマトグラム

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
デルフィニジン-3-ガラクトシド	0.20 - 20	0.9999
デルフィニジン-3-グルコシド	0.20 - 20	0.9999
シアニジン-3-ガラクトシド	0.20 - 20	0.9999
シアニジン-3-グルコシド	0.20 - 20	0.9999

■ 茶葉および大麦の繰り返し分析結果

茶葉および大麦について、抽出液をそれぞれ7点ずつ調製して繰り返し試験を行い、妥当性を確認しました。茶葉についてはアントシアニンを多く含有する品種（サンルージュ）を用いました。大麦については複数の品種を混合した試料に、アントシアニンを0.01 mg/g相当量となるように添加したものをを用いました。定量値の相対標準偏差（%RSD）を表4、5に示します。

表4 茶葉の繰り返し分析結果 (n=7)

化合物名	相対標準偏差 RSD (%)
デルフィニジン-3-ガラクトシド	1.52 %
デルフィニジン-3-グルコシド	2.03 %
シアニジン-3-ガラクトシド	1.10 %
シアニジン-3-グルコシド	1.08 %

表5 大麦の繰り返し分析結果 (n=7)

化合物名	相対標準偏差 RSD (%)
デルフィニジン-3-ガラクトシド	3.40 %
デルフィニジン-3-グルコシド	3.77 %
シアニジン-3-ガラクトシド	4.72 %
シアニジン-3-グルコシド	3.34 %

■ 茶葉および大麦の定量結果

茶葉2品種（やぶきた、サンルージュ）および大麦1品種（ダイシモチ）の抽出液を分析し、試料中のアントシアニンを定量しました。アントシアニンの定量値を試料100 g中の含有量に換算した結果を表6に、茶葉（サンルージュ）および大麦（ダイシモチ）のクロマトグラムを図4に示しました。

表6 茶葉および大麦に含まれるアントシアニンの含有量

化合物名	含有量 (mg/100g)		
	茶葉 (やぶきた)	茶葉 (サンルージュ)	大麦 (ダイシモチ)
デルフィニジン-3-ガラクトシド	< 定量下限	0.18758	n.d.
デルフィニジン-3-グルコシド	n.d.	0.07461	n.d.
シアニジン-3-ガラクトシド	< 定量下限	0.09776	n.d.
シアニジン-3-グルコシド	n.d.	0.03070	0.00865

n.d.: 不検出

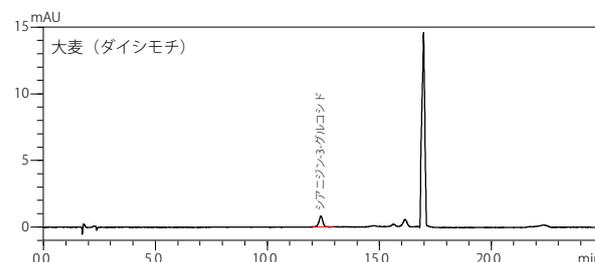
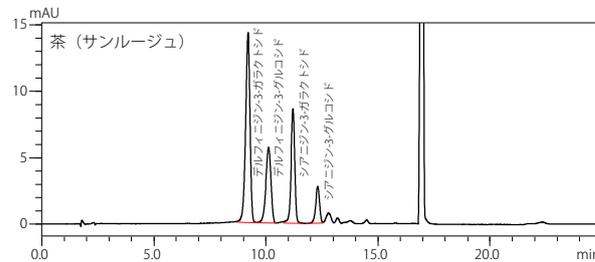
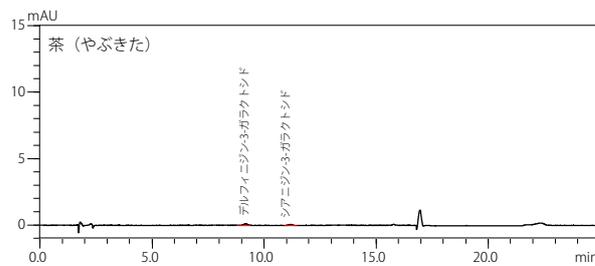


図4 茶葉および大麦抽出液のクロマトグラム

■ 結論

- Nexeraシリーズを用いて、アントシアニン4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品種および大麦1品種のアントシアニンの定量を行い、含有量の差異を確認しました。

<参考文献>

- 1) 沖智之、紫サツマイモのアントシアニン分析、食品機能性評価マニュアル集 第1集 (改訂2版) (<http://fmric.or.jp/ffd/kinousei-hyoka.html>)
- 2) 沖智之、紫サツマイモのアントシアニン分析、食品機能性評価マニュアル集 第IV集 (<http://fmric.or.jp/ffd/kinousei-hyoka4.html>)
- 3) 政田さやか、内山奈穂子、合田幸広、袴塚高志、ビルベリー由来アントシアニンを機能性関与成分とする 機能性表示食品の分析、日本食品化学学会誌、Vol. 24(1), 32-38(2017)

<謝辞>

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 弥生様よりご提供いただきました。

NexeraおよびShim-packは、株式会社 島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

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

01-00185-JP 初版発行：2021年 7月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

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。

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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員情報サービス Shim-Solutions Club に登録いただきますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2021