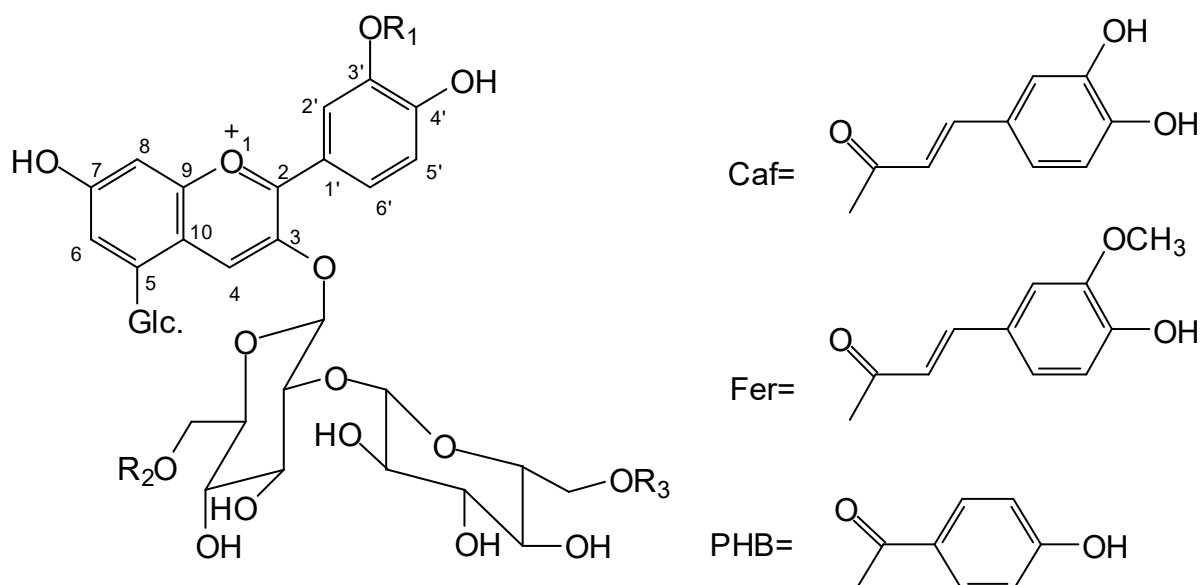


## 紫サツマイモのアントシアニン分析法

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構  
九州沖縄農業研究センター 沖 智之

### 【はじめに】

紫サツマイモには主要なアントシアニンとして、アグリコンがシアニジンもしくはペオニジンである 8 種のアシル化アントシアニンが存在する (図 1)。アントシアニンは総称であり、天然にはアグリコンの種類と結合している糖や有機酸の種類の違いにより化学構造が異なるアントシアニンが 500 種以上存在している。アントシアニンは酸性溶液中で可視光域の波長 (520 nm 近傍) において吸収極大を示すことから、標準物質で作成した検量線を用いてランベルト・ベールの法則に基づき、分析試料中のアントシアニンを総量として定量することができる。



略称	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	化学構造の略記号	分子量 <sup>1)</sup>	相対感度係数
YGM-1a	H	Caf	PHB	Cy-Caf·PHB·Sop-Glc	1055.92	0.999
YGM-1b	H	Caf	Caf	Cy-diCaf·Sop-Glc	1097.96	1.144
YGM-2	H	Caf	H	Cy-Caf·Sop-Glc	935.82	1.395
YGM-3	H	Caf	Fer	Cy-Caf·Fer·Sop-Glc	1111.99	0.990
YGM-4b	Me	Caf	Caf	Pn-diCaf·Sop-Glc	1111.99	1.115
YGM-5a	Me	Caf	PHB	Pn-Caf·PHB·Sop-Glc	1069.95	1.060
YGM-5b	Me	Caf	H	Pn-Caf·Sop-Glc	949.84	1.519
YGM-6	Me	Caf	Fer	Pn-Caf·Fer·Sop-Glc	1126.02	1.000

図 1 紫サツマイモに含まれる主要なアントシアニンの化学構造、分子量および相対感度係数

Me : メチル基、Cy : シアニジン、Pn : ペオニジン、Caf : カフェ酸、Fer : フェルラ酸、PHB : *p*-ヒドロキシ安息香酸、Sop : ソフロシド、Glc : グルコピラノシド

しかしながら、アントシアニンはアグリコンの種類と結合している糖や有機酸の種類により、極大吸収波長やモル吸光係数が異なることから、多様なアントシアニン種が存在する場合は高速液体クロマトグラフ（HPLC）のような分離手段との組み合わせによりアントシアニンを個別に定量することが望ましい。寺原らは紫サツマイモに含まれる 8 種のアントシアニンを一斉定量する相対感度係数を用いた分析法を確立した<sup>1)</sup>。本分析法では標準物質として紫サツマイモの主要なアントシアニンの一種であるペオニジン-3-カフェオイルフェルロイルソホロシド-5-グルコシド（YGM-6、図 1 参照）を用いて、YGM-6 相当量で定量後、モル吸光係数と分子量から算出した相対感度係数を乗ずることにより、それぞれのアントシアニンを定量することを可能としている。本項では、紫サツマイモの凍結乾燥品や加工食品中のアシル化アントシアニンを個別に定量する分析法について述べる。

## 【準備するもの】

### 1. 実験器具・機器

- ・高速液体クロマトグラフ：インジェクター（マニュアルインジェクターもしくはオートインジェクター）、2液グラジェントが可能な送液ポンプ、オンライン脱気装置、カラムオープン、可視分光検出器（もしくはフォトダイオードアレイ検出器）、データ処理システムを備えたもの。
- ・超音波洗浄器：発振周波数  $40 \pm 5$  kHz。試料からアントシアニンを抽出するために使用。
- ・投込式恒温装置： $37^{\circ}\text{C}$  に加温できること。超音波洗浄器に取り付けることが可能なこと。超音波洗浄器に取り付けることができない場合は、 $37^{\circ}\text{C}$  に加温した水道水を超音波洗浄器に満たす。
- ・遠心分離機：遠心沈殿管とコニカルチューブが使用できるローターが装備されていること。最大回転半径において、遠心加速度が  $1870 \times g$  近傍で使用が可能なこと。
- ・天秤：最小表示値が  $0.01\text{mg}$  以下のもの。
- ・分光光度計：光路長  $1\text{cm}$  のセルで  $532\text{nm}$  の吸光度が測定できるもの。
- ・高速液体クロマトグラフ用カラム：Cadenza CD-C18（内径  $4.6\text{mm}$  × 長さ  $250\text{mm}$ 、粒子径  $3\mu\text{m}$ 、Imtakt 社製、Cat No. CD006）
- ・マグネットスターラー
- ・ボルテックスミキサー<sup>®</sup>：同等の機能を有する器具でも良い。
- ・タイマー
- ・遠心沈殿管（ $50\text{mL}$ ）：スクリーキャップ付の硬質ガラス製。 $1870 \times g$  の遠心加速度で破損しないこと。直径  $35\text{mm}$ 。推奨：旭ガラス社製 8422CTF50。
- ・全量フラスコ（ $20\text{mL}$ 、 $25\text{mL}$ ）：日本工業規格（JIS R3505:1994）で規定されているクラス A 又はそれ以上の規格のもの。
- ・メスシリンダー（ $5\text{mL}$ 、 $10\text{mL}$ 、 $20\text{mL}$ 、 $50\text{mL}$ 、 $100\text{mL}$ 、 $500\text{mL}$ 、 $1\text{L}$ ）：日本工業規格（JIS R3505:1994）に規定されているクラス A 又はそれ以上の規格のもの。
- ・メジューム瓶（ $50\text{mL}$ 、 $1\text{L}$ 、 $2\text{L}$ ）：硬質ガラス製のもの。
- ・プッシュボタン式液体用微量体積計（マイクロピペット）：エアーディスプレイ

スメント方式で容量は 100 $\mu$ L と 1000 $\mu$ L のもの。ポジティブディスプレイメント方式で容量は 250 $\mu$ L と 1mL のもの。耐有機溶媒マイクロピペットはトリフルオロ酢酸をメスシリンダーに分注するために使用。

- ・分注器：抽出溶媒を分注するために使用。同等の機能を有する器具やプッシュボタン式液体用微量体積計で代替可能。
- ・分光光度計用セル：光路長 1cm。材質はガラス、石英、プラスチック(ディスプレイポザブル)のいずれでも可能。
- ・攪拌子：PTFE(ポリテトラフルオロエチレン)製のもの。
- ・メンブレンフィルター：PVDF(ポリフッ化ビニリデン)製(孔径：0.45 $\mu$ m、フィルター直径：13mm)。メンブレンフィルターとハウジングが一体で、シリンジが装着可能なもの。例：Millipore 社製 Millex<sup>®</sup>-HV、SLHV013NL。GE ヘルスケア(旧 Whatman) 社製 ミニユニ(PVDF、0.45 $\mu$ m)、UN203NPUAQU。
- ・シリンジ：メンブレンフィルターが装着可能なもの。望ましくはディスプレイポザブルのプラスチック製。
- ・バイアル：オートインジェクターに適合したバイアル。
- ・葉さじ
- ・試験管立て：遠心沈殿管が立てられるもの。
- ・硬質ガラス製バイアル：容量 5mL 程度のもの。
- ・マイクロチューブ：1.5mL、2.0mL。
- ・コンカルチューブ(50mL)：同等の機能を有する器具で代替可能。
- ・ディスプレイポザブルスポイド：試料の調製において、遠心分離後の上清を全量フラスコに移すために用いる。同等の機能を有する器具で代替可能。
- ・耐酸性手袋
- ・ゴーグル
- ・ドラフトチャンバー：トリフルオロ酢酸を取り扱う際に使用。

## 2. 試薬

### 1) 水

- ・日本工業規格(JIS K0557:1998)で規定されているクラス A4 のもの。

### 2) メタノール

- ・日本工業規格(JIS K8891:2006)以上のもの。CAS 登録番号 67-56-1。医薬外用劇物に指定。

### 3) トリフルオロ酢酸

- ・CAS 登録番号 76-05-1。

### 4) アセトニトリル

- ・高速液体クロマトグラフ用。CAS 登録番号 75-05-8。医薬外用劇物に指定。

### 5) ギ酸

- ・日本工業規格(JIS K8264:2011)以上のもの。CAS 登録番号 64-18-6。医薬外用劇物に指定。

### 6) アントシアニン標準品

- ・ペオニジン-3-カフェオイルフェルロイルソホロシド-5-グルコシド(YGM-6)はトリフルオロ酢酸塩として単離・精製したもの。純度 97%以上(HPLC)。現在は市販さ

れていないので Terahara らの論文<sup>2)</sup>を参考に紫サツマイモから単離・精製する。方法の概略は紫サツマイモから得た抽出液から吸着クロマトグラフィー (Diaion HP-20 樹脂)、ゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex LH-20 樹脂)、分取ペーパークロマトグラフィー、分取薄層クロマトグラフィー、分取高速液体クロマトグラフィーの順に精製を行った後に、エーテルで沈殿させ、高純度の YGM-6 を得る。得られたアントシアニンは質量分析計や核磁気共鳴分光計などを用いて分子量や化学構造の確認を行うとともに、HPLC で純度の検定を行う。YGM-6 は -20°C で保管する。

### 3. 調合・調整

#### 1) 抽出溶媒 (メタノール : 水 : トリフルオロ酢酸 = 40 : 60 : 0.5) の調製

- ① 500mL メスシリンダーで水 (360mL) を量り取る。
- ② 1L メジューム瓶に①の水を移す。
- ③ 500mL メスシリンダーでメタノール (240mL) を量り取る。
- ④ ②のメジューム瓶に③のメタノールを移す。
- ⑤ 5mL メスシリンダーでトリフルオロ酢酸 (3mL) を量り取る。  
注釈：トリフルオロ酢酸を扱う際は必ずドラフトチャンバー内で行い、耐酸性手袋とゴーグルを着用し、メスシリンダーに移す時は、耐有機溶媒プッシュボタン式マイクロピペッターを用いること。
- ⑥ ④のメジューム瓶に⑤のトリフルオロ酢酸を移す。
- ⑦ ⑥のメジューム瓶に攪拌子を入れ、マグネットスターラーを用いて攪拌、混和する。
- ⑧ ⑦のメジューム瓶から攪拌子を取り出し、蓋をする。  
注釈：抽出溶媒は遮光下、冷蔵庫 (4°C) で 1 ヶ月は保管可能。冷蔵庫で保管した抽出溶媒を試料の調製に用いる場合は、必ず室温に戻すこと。

#### 2) 溶離液 A (水 : ギ酸 = 100 : 0.6) の調製

- ① 1L メスシリンダーで水 (1L) を量り取る。
- ② 2L メジューム瓶に①の水を移す。
- ③ ①から②の操作を繰り返す。  
注釈：水は 2L 量り取ることになる。
- ④ 20mL メスシリンダーでギ酸 (12mL) を量り取る。
- ⑤ ③のメジューム瓶に④のギ酸を移す。
- ⑥ ⑤のメジューム瓶に攪拌子を入れ、マグネットスターラーを用いて攪拌、混和する。
- ⑦ ⑥のメジューム瓶から攪拌子を取り出し、蓋をする。  
注釈：溶離液 A は用時調製する。

#### 3) 溶離液 B (アセトニトリル : 水 : ギ酸 = 50 : 50 : 0.6) の調製

- ① 500mL メスシリンダーで水 (500mL) を量り取る。
- ② 1L メジューム瓶に①の水を移す。
- ③ 500mL メスシリンダーでアセトニトリル (500mL) を量り取る。

- ④ ②のメジューム瓶に③のアセトニトリルを移す。
- ⑤ 20mL メスシリンダーでギ酸 (6mL) を量り取る。
- ⑥ ④のメジューム瓶に⑤のギ酸を移す。
- ⑦ ⑥のメジューム瓶に攪拌子を入れ、マグネットスターラーを用いて攪拌、混和する。
- ⑧ 超音波洗浄器に⑦のメジューム瓶を入れた後、超音波を発生させ、5 分間脱気する。  
注釈：脱気中、メジューム瓶の蓋は緩める。
- ⑨ 脱気後、⑧のメジューム瓶を超音波洗浄器から取り出す。
- ⑩ ⑨のメジューム瓶から PTFE 製攪拌子を取り出し、蓋をする。  
注釈：溶離液 B は用時調製する。

4) FAW 溶液 (アセトニトリル：水：ギ酸=10：90：0.4) の調製

- ① 50mL メスシリンダーで水 (45mL) を量り取る。
- ② 50mL メジューム瓶に①の水を移す。
- ③ 10mL メスシリンダーでアセトニトリル (5mL) を量り取る。
- ④ ②のメジューム瓶に③のアセトニトリルを移す。
- ⑤ マイクロピペッター (ポジティブディスプレイメント方式、250 $\mu$ L) でギ酸 (200 $\mu$ L) を量り取る。
- ⑥ ④のメジューム瓶に⑤のギ酸を移す。
- ⑦ ⑥のメジューム瓶に攪拌子を入れ、マグネットスターラーを用いて攪拌、混和する。
- ⑧ ⑦のメジューム瓶から攪拌子を取り出し、蓋をする。

5) YGM-6 の Stock Solution の調製

- ① 標準品 (YGM-6) を冷凍庫から取り出し、常温に戻す。
- ② 薬さじで YGM-6 (1.24mg) を硬質ガラス製バイアルへ量り取る。量り込み量は 0.01mg 単位で記録する。
- ③ マイクロピペッターで FAW 溶液 (1mL) を量り取る。
- ④ ②のバイアルに③の FAW 溶液を添加し、ボルテックスミキサーで攪拌、溶解する。
- ⑤ 20mL 全量フラスコに④の溶液をマイクロピペッターで移す。
- ⑥ ④のバイアルを FAW 溶液で共洗いし、洗液を⑤の全量フラスコに移す。  
注釈：バイアルに標準品が残らないように、バイアルに FAW 溶液を加えて 3 回程度共洗いし、洗液を全量フラスコに移す。
- ⑦ FAW 溶液で⑥の全量フラスコを 20mL に定容する。
- ⑧ ⑦の全量フラスコに蓋をして、転倒混和により均一な溶液にする。
- ⑨ ⑧の溶液全量をコニカルチューブに移す。
- ⑩ マイクロピペッターで⑨のコニカルチューブから YGM-6 溶液 (Stock Solution) を分光光度計用セルに移す。
- ⑪ 水をブランクとしてゼロ調整を行った分光光度計に⑩のセルを設置し、532nm の吸光度を測定する。吸光度値は小数点以下 3 桁まで記録する。

- ⑫ ⑨の YGM-6 溶液をマイクロチューブに小分けにする。Working Solution の調製に記載してある希釈系列の場合、1.5mL マイクロチューブにマイクロピペッターで 400 $\mu$ L ずつ分注する。

注釈：YGM-6 溶液 (Stock Solution) は密栓、-40 $^{\circ}$ C で 1 年間は保管可能。

6) HPLC 分析条件

- ・カラム：Cadenza CD-C18 (内径 4.6mm×長さ 250mm、粒子径 3 $\mu$ m、Imtakt 社製)
- ・カラム温度：30 $^{\circ}$ C
- ・グラジェント条件：

時間 (分)	組成 (%)	
	溶離液 A (%)	溶離液 B (%)
0	80	20
50	50	50
55	80	20

注釈：カラム内の溶離液の組成が初期状態に戻り、平衡状態になった後に次の試料を分析する。例：日本分光製 LC-2000Plus シリーズでは平衡状態になるまで 15 分間を要する。

- ・移動相流速：0.6mL/min
- ・カラム温度：30 $^{\circ}$ C
- ・検出波長：520nm
- ・注入量：10 $\mu$ L

【プロトコール】

1. 測定試料の調製

- 1) 葉さじで試料 0.5g を遠心沈殿管へ量り取る。量り込み量は 1mg 単位で記録する。  
注釈：試料は冷蔵庫から取り出した後、遮光下で室温に戻してから試験に用いる。  
注釈：アントシアニン量が少ない加工食品の場合、試料 1g に変更可能。
- 2) 1)の試料を入れた遠心沈殿管へ分注器で抽出溶媒 (9mL) を加えて、スクリーキャップを締める。  
注釈：試料が液体の場合、抽出溶媒は 8mL に変更。
- 3) 2)の遠心沈殿管をボルテックスミキサーで 30 秒間、激しく攪拌する。
- 4) 3)の遠心沈殿管を 37 $^{\circ}$ C に加温した水道水を満たした超音波洗浄器に入れた後、超音波を発生させ、5 分間超音波発生下で抽出を行う。超音波処理の間、超音波処理 1 分後と 3 分後を目処にして遠心沈殿管を振り、2 回懸濁させる。  
注釈：超音波洗浄器に入れる水道水の液面は、遠心沈殿管に入れた溶媒の液面より高くなるようにする。
- 5) 超音波の発生を止め、さらに静置状態で 10 分間、37 $^{\circ}$ C で抽出を行う。5 分間経過後を目処に、ボルテックスミキサーで 30 秒間、激しく攪拌する。
- 6) 超音波洗浄器から遠心沈殿管を取り出し、遠心分離機で遠心分離 (遠心加速度は最大回転半径において 1870 $\times g$  近傍、25 $^{\circ}$ C、15 分間) する。
- 7) 遠心分離後、遠心沈殿管を傾けないで、垂直に保ったまま、ディスプレイで、沈殿を乱さないように注意しながら、遠心沈殿管内の固形部以外の上清を

25mL 全量フラスコに移す。

- 8) 7)の試料残渣が残った遠心沈殿管へ分注器で抽出溶媒 (8mL) を加えて、スクリーキャップを締める。
- 9) 3)から 6)の操作を繰り返す。
- 10) 遠心分離機で遠心分離を行った後、7)と同様に、遠心沈殿管内の上清をディスプレイスポイドで 7)の全量フラスコに移す。
- 11) 8)から 10)の操作を繰り返す。  
注釈：試料からのアントシアニンの抽出操作は合計で 3 回行うことになる。
- 12) 11)の試料抽出液が入った全量フラスコに抽出溶媒を加えて、25mL に定容する。
- 13) 12)の全量フラスコに蓋をして、転倒混和により均一な溶液にする。
- 14) 13)の試料抽出液を全量、コニカルチューブに移す。  
注釈：試料を分析せずに一時保管する場合は、遮光下において-20℃で保管する。
- 15) 試料抽出液を希釈するため、14)のコニカルチューブから試料抽出液をマイクロピペットでマイクロチューブに移す。  
注釈：マイクロチューブに移す試料抽出液量は 200μL 以上とする。  
注釈：試料抽出液の希釈しない場合は、15)と 16)の操作は不要。
- 16) 15)のマイクロチューブに抽出溶媒をマイクロピペットで移して、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。  
注釈：4 倍希釈の場合、試料抽出液 200μL に抽出溶媒 600μL を加える。
- 17) メンブレンフィルターを装着したシリンジにマイクロピペットで試料抽出液もしくは希釈した試料抽出液を移し、濾過を行う。  
注釈：濾液はマイクロチューブやバイアルに採取する。
- 18) 17)の濾液は HPLC 分析まで 4℃で保管する。  
注釈：濾過した試料は 4℃で 1 週間は保管可能。  
注釈：オートインジェクターを使用する場合は、濾液を採取したバイアルにセプタムとキャップを取り付け、4℃に設定しオートインジェクター内のラックに設置する。

## 2. YGM-6 の Working Solution の調製

- 1) YGM-6 の Stock Solution を冷凍庫から取り出し、融解させる。
- 2) Stock Solution を FAW 溶液で、3/4、1/2、1/4、1/40、1/80 に希釈する。希釈の一例を表 1 に示す。Working Solution における YGM-6 の名目上の濃度を表 2 に示す。  
注釈：Stock Solution の希釈には、マイクロピペットやマイクロチューブを用いて行う。また、1/40 希釈と 1/80 希釈の Working Solution は、それぞれ 1/4 希釈と 1/40 希釈の Working Solution から調製する。

表 1 YGM-6 の Working Solution の調製方法

添加量 (μL)	Std1	Std2	Std3	Std4
Stock Solution	100	75	50	50
FAW 溶液	0	25	50	150

添加量 (μL)	Std5
Std4	20
FAW 溶液	180

添加量 (μL)	Std6
Std5	50
FAW 溶液	50

表 2 Working Solution での YGM-6 の名目上の濃度

	名目上の濃度 (μM)					
	Std1	Std2	Std3	Std4	Std5	Std6
YGM-6	50.0	37.5	25.0	12.5	1.25	0.625

3. HPLC システムの安定化

- 1) 用時調製した溶離液 A と溶離液 B で、HPLC システムの送液ラインを置換する。
- 2) HPLC 分析条件の初期の状態（溶離液 A：溶離液 B=75：25）で溶離液を 10 分間程度、送液した後に、試料を注入せずに、グラジェント溶出を 2 回行い、HPLC システムを安定化させる。

4. YGM-6 標準溶液と試料の分析

- 1) 分析は、YGM-6 の Working Solution を各 2 回測定した後、試料の順で行う。  
注釈：必要がある場合は、ピーク同定用の試料を測定する。  
注釈：精度の確認のため、30 検体程度の試料を測定する毎に YGM-6 溶液（名目上の濃度：25μM）の分析を行う。
- 2) 試料を測定した時のピーク面積が、Std6 のピーク面積より小さい場合は、測定試料の希釈倍率を変更して、再測定を行う。

5. ピークの同定

- 1) 紫サツマイモ中の主要な 8 種のアントシアニンは市販されていないため、ピークの同定は、紫サツマイモ品種「アヤマラサキ」もしくは「ムラサキマサリ」を原材料としていることが明確な市販の色素や飲料におけるクロマトグラムで各 YGM に相当するピークが検出されていることを確認した後、保持時間を比較することにより行う。
- 2) 図 2 は紫サツマイモ「アヤマラサキ」濃縮汁を分析した例である。アントシアニンは、YGM-2、-1b、-1a、-5b、-3、-4b、-5a、-6 の順で溶出するが、保持時間は使用する HPLC システムやカラムのロットにより異なる。



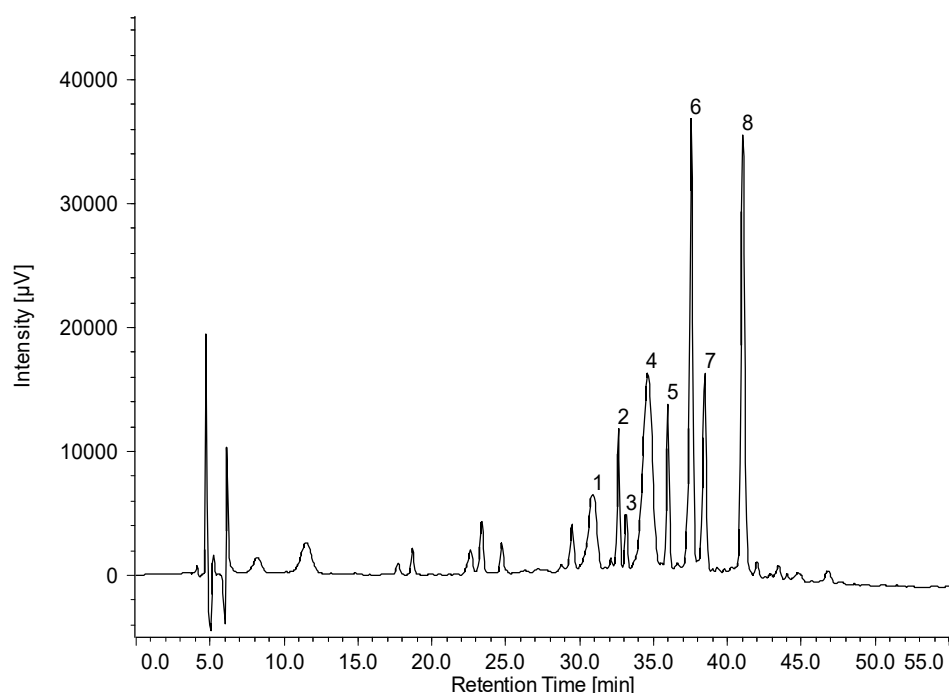


図2 紫サツマイモ「アヤマラサキ」濃縮汁の典型的な HPLC クロマトグラム.

ピーク 1: YGM-2 (シアニジン-3-カフェオイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 2: YGM-1b (シアニジン-3-ジカフェオイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 3: YGM-1a (シアニジン-3-カフェオイル p-ヒドロキシベンゾイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 4: YGM-5b (ペオニジン-3-カフェオイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 5: YGM-3 (シアニジン-3-カフェオイルフェルロイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 6: YGM-4b (ペオニジン-3-ジカフェオイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 7: YGM-5a (ペオニジン-3-カフェオイル p-ヒドロキシベンゾイルソホロシド-5-グルコシド)、ピーク 8: YGM-6 (ペオニジン-3-カフェオイルフェルロイルソホロシド-5-グルコシド)。

#### 【計算方法】

##### 1. Stock Solution の YGM-6 濃度の算出

YGM-6 の Stock Solution の吸光度値を用いて、下記の式により濃度を算出する。

$$C_{\text{Std}} = \frac{D}{24800} \times 10^6$$

$C_{\text{Std}}$ : YGM-6 の Stock Solution の濃度 ( $\mu\text{M}$ )

D: YGM-6 の Stock Solution の 532nm における吸光度

24800: YGM-6 の 532nm におけるモル吸光係数

$10^6$ : 濃度単位 “M” を “ $\mu\text{M}$ ” に換算する係数

注釈: YGM-6 の Stock Solution (50 $\mu\text{M}$ ) の理論上の吸光度は 1.24 である。

##### 2. 試料中のアントシアニン量の計算方法

1) YGM-6 の各濃度の Working Solution を HPLC で 2 回ずつ分析する。

2) YGM-6 の濃度 ( $\mu\text{M}$ ) を X 軸に、HPLC での応答値 (ピーク面積) を Y 軸にプロットしたグラフを作成し、検量線の傾きと切片を求める。

3) 試料中のそれぞれのアントシアニン量 (W) は以下の式に従い算出する。

$$W = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{intercept}}) \times V_{\text{sample}} \times d \times \text{RRF} \times \text{MW}}{S_{\text{std}} \times M_{\text{sample}}}$$

W : 試料中のアントシアニン量 (μg/g)

A<sub>sample</sub> : 試料測定における各アントシアニンのピーク面積

A<sub>intercept</sub> : 検量線 Y 軸切片のピーク面積

S<sub>std</sub> : 検量線の傾き

M<sub>sample</sub> : 試料量 (g)

V<sub>sample</sub> : 試料抽出量 (L)

d : 分析時における試料希釈倍率

RRF : 各アントシアニンの相対感度係数 (図 1 に記載)

MW : 各アントシアニンの分子量

#### 【プロトコールのポイント・注意点】

1. メタノール、アセトニトリル、ギ酸は毒物及び劇物取締法における劇物に指定されているため所属機関の規定に準じて適切に管理する。
2. 測定の際、排出される実験廃液や廃棄物は、所属機関の規定に準じて処理する。

#### 【おわりに】

紫サツマイモを原材料に用いた飲料は、日本人を被験者とするオープン試験<sup>3)</sup>や二重盲検プラセボ対照試験<sup>4)</sup>、また白人を被験者とする二重盲検プラセボ対照試験<sup>5)</sup>において肝機能マーカーの値が低下することが報告されている。また、試験管内や実験動物レベルでの生理機能性もいくつか知られている<sup>6)</sup>。これらは紫サツマイモに含まれる特異的な構造を有するアントシアニンに起因すると考えられている。本分析法は紫サツマイモの一次加工食品（濃縮汁、ペースト、パウダー）やそれらを原材料に用いた二次加工食品へも適用可能である<sup>7, 8)</sup>。今後、本定量法は紫サツマイモの生理機能性を享受するための摂取量を規定する場面などでも活用されることが期待される。

#### 【参考文献】

- 1) 寺原典彦, 沖智之, 松井利郎, 福井敬一, 杉田浩一, 松本清, 須田郁夫, 紫甘しょに含まれる主要アントシアニンの一斉定量, 日本食品科学工学会誌, 54(1), 33-38 (2007) .
- 2) Terahara, N., Kato, Y., Nakamura, M., Maitani, T., Yamaguchi, M. and Goda, Y., Six diacylated anthocyanins from purple sweet potato., *Ipomoea batatas* cv Yamagawamurasaki. Biosci. Biotech. Biochem., 63, 1420-1424 (1999).
- 3) 須田郁夫, 山川理, 松ヶ野一郷, 杉田浩一, 竹熊宣孝, 入佐孝三, 徳丸文康, 高アントシアニンカンショジュース飲用による血清γ-GTP, GOT, GPT値の変動, 日本食品科学工学会誌, 45, 611-617 (1998).
- 4) Suda, I., Ishikawa, F., Hatakeyama, M., Miyawaki, M., Kudo, T., Hirano, K., Ito, A., Yamakawa, O., Horiuchi, S., Intake of purple sweet potato beverage affects on serum hepatic biomarker levels of healthy adult men with borderline

- hepatitis, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 62, 60-67 (2008).
- 5) Oki, T., Kano, M., Ishikawa, F., Goto, K., Watanabe, O., Suda, I., Double-blind, placebo-controlled pilot trial of anthocyanin-rich purple sweet potato beverage on serum hepatic biomarker levels in healthy Caucasians with borderline hepatitis, *Eur. J. Clin. Nutr.*, doi:10.1038/ejen.2016.153 (2016).
  - 6) Suda, I., Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., and Furuta, S., Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods, *JARQ*, 37(3), 167-173 (2003).
  - 7) 沖智之, 三好絢子, 後藤一寿, 佐藤麻紀, 白土英樹, 寺原典彦, 須田郁夫, 紫サツマイモの加工食品に含まれる主要アントシアニンの定量, *日本食品科学工学会誌*, 57(3), 128-133 (2007) .
  - 8) 沖智之, 古川(佐藤)麻紀, 紫サツマイモ濃縮汁のアントシアニン量を測定する分析法の比較, *日本作物学会九州支部会報*, 83 (2017) 印刷中.