

# 紅芋由来アントシアニンの保存性に関する研究

上野 義 栄\*  
浅田 聡\*

## [要 旨]

紅芋由来アントシアニンの減少機構の解明と、分析方法の検討を行った。紅芋酢から、オープンカラムによりアントシアニンを精製し、HPLCにより、YGM-1a、YGM-1b、YGM-4b、YGM-5a、YGM-5b及びYGM-6の6種類の主要アントシアニンを検出した。

長期保存した紅芋酢からは、HPLCによりYGM-5bの分解産物 6-O-caffeoylsophoroseの存在が推定され、LC/MS分析によってその存在が確認できた。また、6-O-caffeoylsophorose以外に、YGM-1a、YGM-5a及びYGM-6の分解産物の存在が示唆され、紅芋酢の保存中に、主要アントシアニンが分解していることが予想された。

## 1 はじめに

紅芋は、アントシアニンを多く含むサツマイモで、アヤマラサキ等アントシアニン含量を高めた紅芋が育種改良され、様々な加工食品にも利用されている。また、紅芋由来のアントシアニンは、比較的安定なアシル化アントシアニンで、主要なアントシアニンとして8種類報告されており<sup>1,2)</sup>、一般的に熱や紫外線に対して不安定と言われるアントシアニンの中で、比較的安定なため、近年食品加工分野への利用が進んでいる。

また、他のアントシアニン同様、抗酸化能<sup>3,4,5)</sup>、肝機能改善、血圧上昇抑制作用<sup>6)</sup>、抗変異原性<sup>7,8)</sup>等の機能性が報告されている。

一方、醸造酢も様々な機能性が報告されているが、紅芋を原料とした「紅芋酢」は、これらの機能性以外に、HDL（善玉）コレステロールの増加作用等が確認されている。

しかし、紅芋酢の保存中に、アントシアニン量が減少することが、当センターの液体クロマトグラフ（HPLC）分析結果より明らかと

なったため、本研究では、アントシアニンの減少機構の解明を行うと共に、紅芋由来アントシアニンの分析方法について検討を行った。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

紅芋酢は、株式会社飯尾醸造で製造されたもろみ搾汁液及び市販品を使用した。紅芋由来アントシアニン（YGM-6）は、紅芋より精製されたものを標準として使用した。

### 2.2 紅芋由来アントシアニンの調製

三菱化学製ダイヤイオンHP-20を充填したオープンカラムに紅芋酢をアプライし、H<sub>2</sub>Oで洗浄後、80%エタノールで溶出した。アントシアニン溶出画分は、必要に応じてエバポレーター、又は凍結乾燥機で濃縮、又は乾燥を行った。

### 2.3 アントシアニンのHPLCによる分析

紅芋酢から精製した紅芋由来アントシアニンのHPLCによる分析は、寺原ら<sup>9)</sup>の分析法を

\* 応用技術課 主任研究員

参考にして、以下の条件で行った。

島津製作所製HPLC LC-10

カラム：RPAQUEOUS-AR-5、4.6 × 250 mm  
(野村化学)

移動相：12 - 80% アセトニトリル (0.08%  
TFA)

流量：1 ml / min

カラム温度：35°C

検出波長：520 nm

## 2. 4 アントシアニンのLC/MSIによる分析

紅芋酢から精製した、紅芋由来アントシアニンの液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) による分析は、以下の条件で行った。

(HPLC)

島津製作所 UFLC XR

Cadenza CD-C18 2 × 150 mm (Imtakt)

移動相：0 - 50 % アセトニトリル (0.4%  
ギ酸)

流量：0.2 ml / min

カラム温度：35°C

検出器：PDA

(MS)

Bruker Daltonics

LC-TOF/MS システム

micrO TOF II

Source Tipe ESI

Ion Polavity Negative

Capillary 4500V

Nebulizer 1.6 Bar

Dry Heater Temp 180°C

Dry Gas 8.0 liter / min

## 3 結果及び考察

### 3. 1 紅芋由来アントシアニンの調製

紅芋酢に含まれる紅芋由来アントシアニンをHPLCで分析するために、紅芋酢からの精製法について検討を行った結果、福井ら<sup>10)</sup>の報告で使用されているダイヤイオンHP-20を担体に用いたオープンカラムを使用し、80 %エタノールでアントシアニンを溶出させることにより、効率的に紅芋由来アントシアニンを精製・濃縮することができた。また、本精製溶液中のアントシアニンの吸収極大は520nmであり、溶液のpHを酸性からアルカリ性に変化させると、溶液の色がアントシアニンの特徴である赤色から緑色に変化した。

### 3. 2 紅芋由来アントシアニンのHPLC分析

紅芋酢に含まれる紅芋由来アントシアニンについて、HPLCで分析を行い、標準アントシアニン (YGM-6) のリテンションタイムを参考に、寺原ら<sup>9)</sup>が報告しているクロマトグラムと比較を行った。図1に示すとおり、YGM-1a、YGM-1b、YGM-4b、YGM-5a、YGM-5b及びYGM-6の6種類の主要アントシアニンが確認できた。

しかし、保存期間の長い紅芋酢から抽出・精製した試料を、同様にHPLC分析を行ったところ、調整試料がアントシアニンの特徴である酸性条件下の赤色を呈しているにもかかわらず、紅芋由来アントシアニンの吸収極大波長である520nmの吸収をもつピークが、ほとんど見られなかった (データ省略)。

沖ら<sup>2)</sup>は、紅芋酢が、赤紫色を示しているにもかかわらず、アントシアニンが減少していると報告している。また、その原因については、YGM-5bの分解産物である6-O-caffeoyl-sophoroseが検出されたことにより、主要アン

トシアニンが分解されたためであると推定している。

福井ら<sup>10)</sup>は、6-O-caffeoylsophoroseの検出には、310nmの吸収を測定し、HPLCでの測定が可能であることを報告している。本研究に供試した紅芋酢でも、保存期間の長い紅芋酢から、6-O-caffeoylsophoroseと推定される310nmの吸収が確認され(図2、A部分)、アントシアニンが分解されていることが予想された。

### 3. 3 紅芋由来アントシアニンのLC/MS分析

HPLCによる分析により、紅芋酢中に、6-O-

caffeoylsophoroseの存在が推定されたため、LC/MSにより、更に詳細な分析を試みた。

HPLCの分析結果より確認された主要アントシアニンのピークは、LC/MSによる吸光度測定(図3、①)においても、HPLC同様アントシアニンの吸収波長である520nm付近に吸収を持つ複数のピークが確認されたが、MS検出部におけるTIC強度が低いものが多かった。

TICにおけるそれぞれのピークのMS解析の結果(図4)、B1(1067 m/z)はYGM-5aの分子量(1070)と、B2(1123 m/z)はYGM-6の分子量(1126)とほぼ一致することから、B1及びB2は、YGM-5aとYGM-6から、H<sup>+</sup>がそれぞれ3個脱

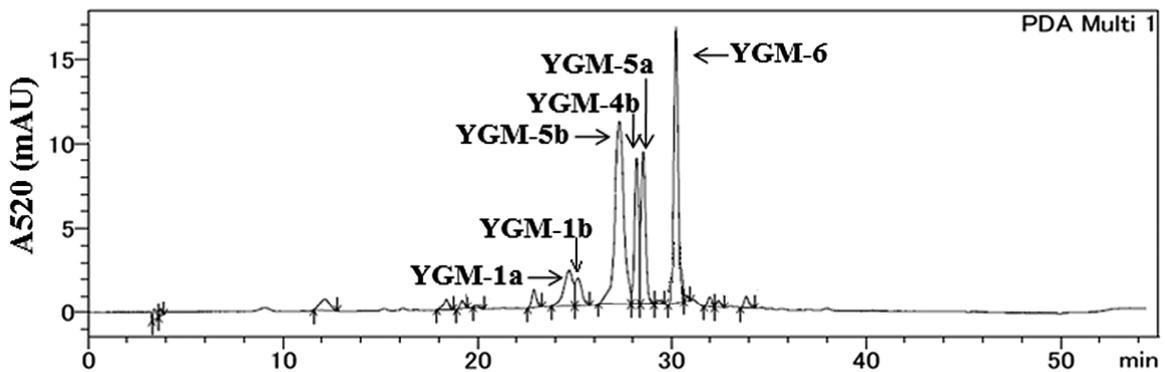


図1 紅芋酢抽出アントシアニンのHPLC分析

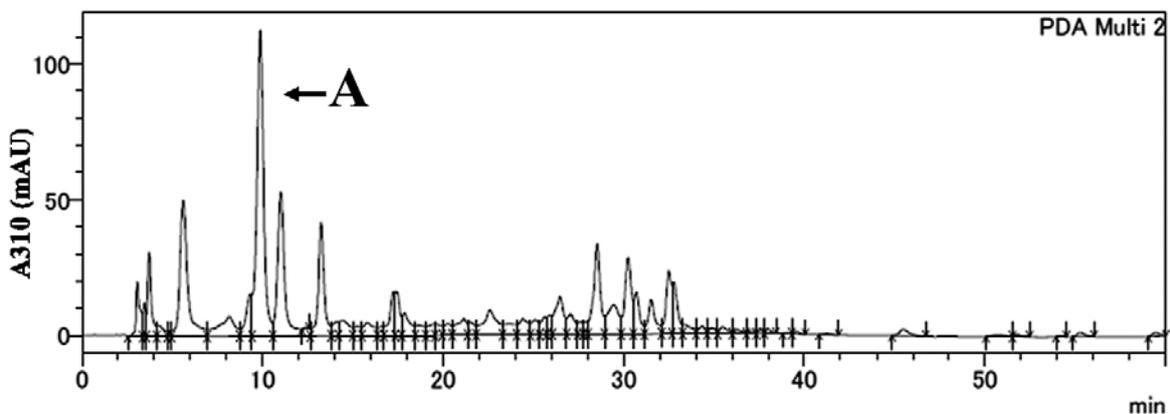


図2 長期保存紅芋酢抽出アントシアニンのHPLC分析

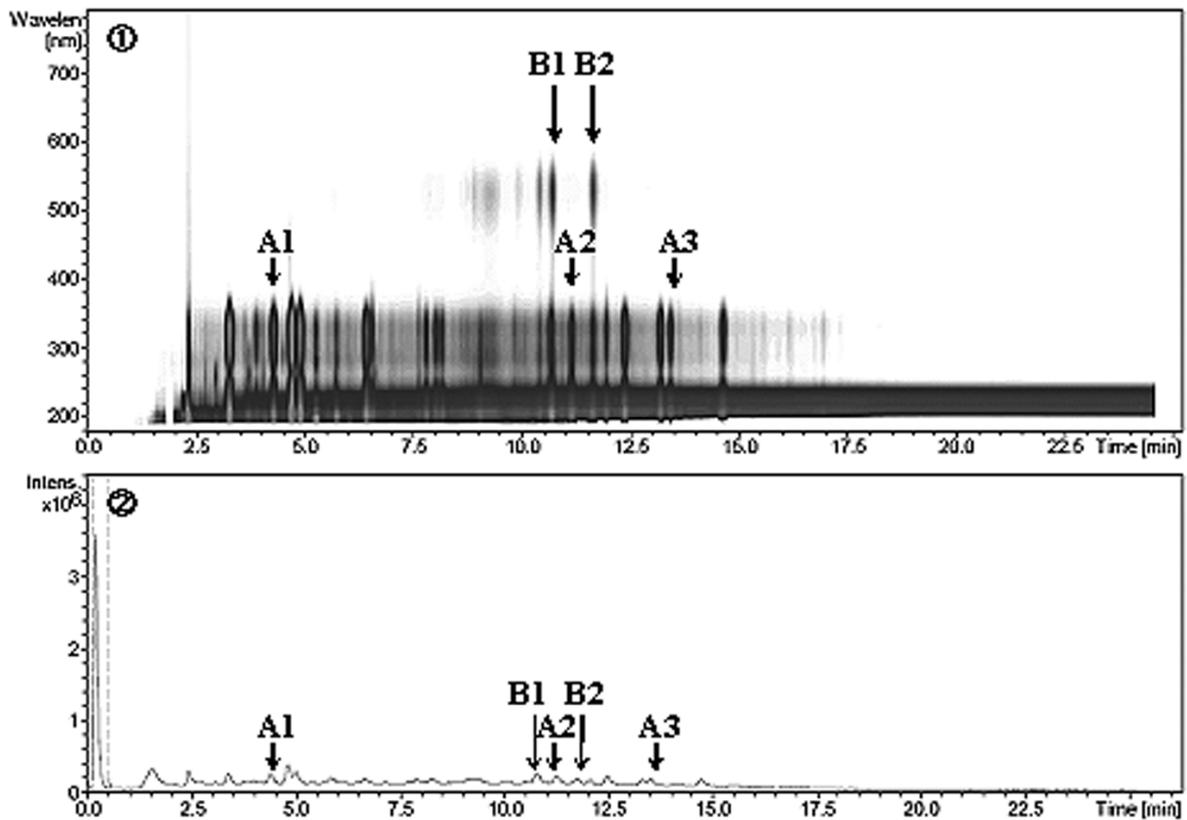


図3 長期保存紅芋酢抽出アントシアニンのLC/MS分析

- ① : PDA (200-800nm)
- ② : TIC

離したイオン化物であると推測される。また、A1 (503 m/z) は、6-O-caffeoylsophorose (分子量 504) のイオン化物と推測され、HPLCの測定 (310nm) 結果から予想された 6-O-caffeoylsophoroseの存在が示唆された。さらに、A2 (623 m/z) はYGM-1a及びYGM-5aの分子量と一致し、A3 (679 m/z) はYGM-6の分解産物の分子量と一致していた。

このことから、紅芋酢の保存中に、多くの紅芋由来主要アントシアニンが分解されていることが予想される。

また、LC/MSの分析において、移動相をHPLCで使用した0.08 % TFA添加アセトニトリルか

ら、0.4 % ギ酸添加アセトニトリルに変更したところ、LC部の分離能が向上した。紅芋由来アントシアニンのHPLC分析に使用する移動相については、TFA又はギ酸を添加したアセトニトリルの使用例が報告されていることから、本研究に使用した試料のように、紅芋由来アントシアニンの分解産物が含まれる試料では、ギ酸を添加したアセトニトリルの使用が有効であることが示唆される。

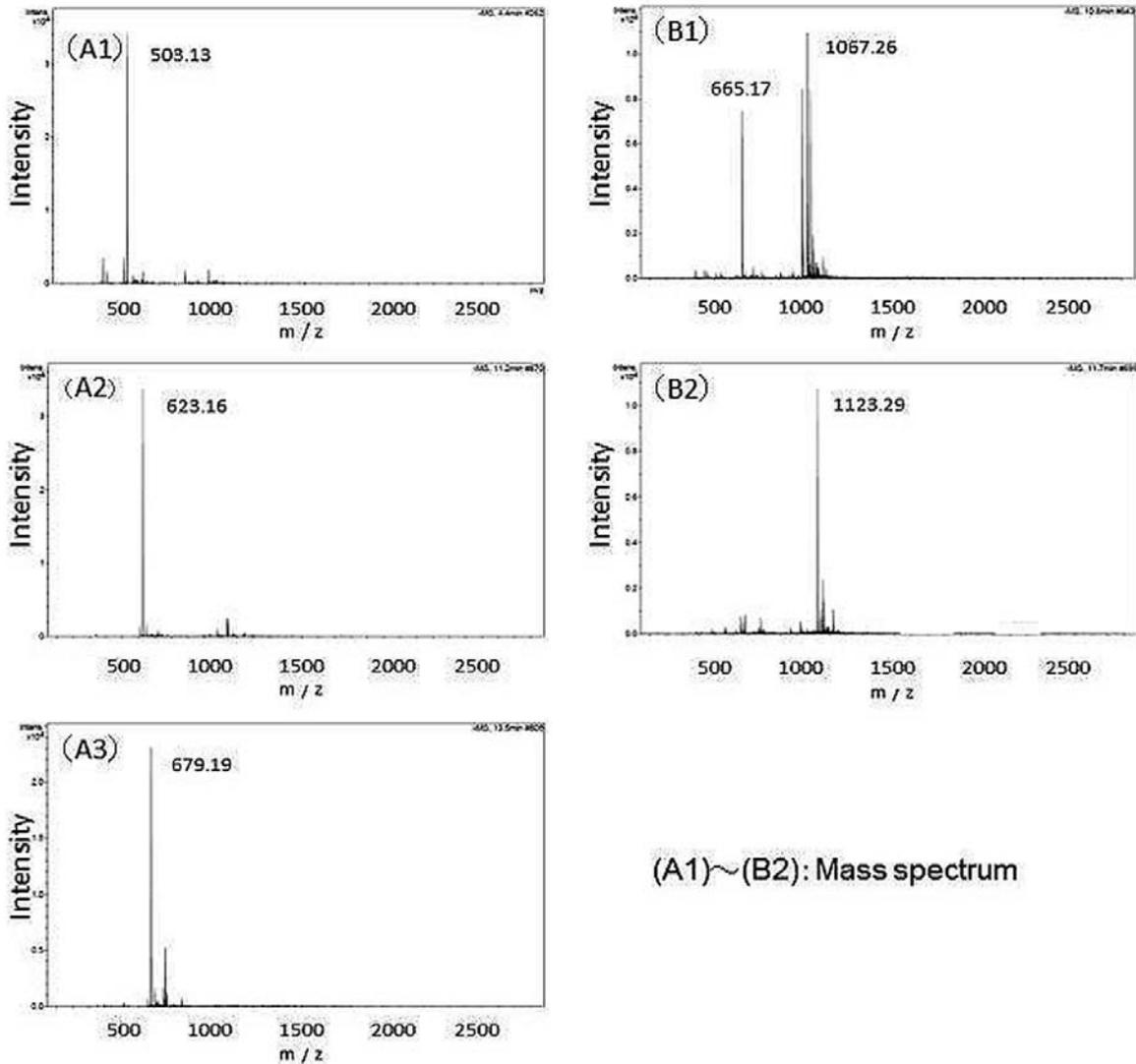


図4 図3② (TIC) における各ピークのマススペクトル

#### 4 まとめ

紅芋酢における紅芋由来アントシアニンの減少機構の解明と分析方法の検討を行った。

紅芋酢から、オープンカラムによりアントシアニンを精製した。

HPLCにより、YGM-1a、YGM-1b、YGM-4b、YGM-5a、YGM-5b及びYGM-6の6種類の主要アントシアニンが確認できた。

LC/MS分析によって、長期保存した紅芋酢か

らは、YGM-5bの分解産物である6-O-caffeoylsophoroseの存在が推測された。

6-O-caffeoylsophorose以外にも、YGM-1a、YGM-5a及びYGM-6の分解産物の存在が、LC/MS分析によって示唆された。

#### (参考文献)

- 1) 津久井亜紀夫他：食科工，46，p148-154

(1999)

- 2) 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 : 食科工, 57, p128-133 (2010)
- 3) Philpott M, Gould KS, Lim C, Ferguson LR. : *J Agric Food Chem.*, 52, p1511-1513 (2004)
- 4) Terahara N, Matsui T, Fukui K, Matsugano K, Sugita K, Matsumoto K., : *J Agric Food Chem.*, 51, p2539-2543 (2003)
- 5) Kano M, Takayanagi T, Harada K, Maki no K, Ishikawa F. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69, p979-988 (2005)
- 6) 小林 美緒他 : 日食科工, 52, p41-44 (2005)
- 7) Yoshimoto M, Okuno S, Yamaguchi M, Yamakawa O. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, p1652-1655 (2001)
- 8) Yoshimoto M, Okuno S, Yoshinaga M, Yamakawa O, Yamaguchi M, Yamada J. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63, p537-541 (1999)
- 9) 寺原 典彦他 : 食科工, 54, p33-38 (2007)
- 10) 福井 敬一他 : 食科工, 52, p306-310 (2005)