クランベリー果実のアントシアニン，カロテノイド色素

渡辺慶一*・土屋正邦**・立石 亮**・井上弘明**

(*日本大学短期大学部, **日本大学生物資源科学部)

(平成26年2月7日受付, 平成26年6月30日受理)

Determination of anthocyanin and carotenoid pigments in cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon* Ait.)

Keiichi Watanabe*, Masakuni Tsuchiya**, Akira Tateishi**, Hiroaki Inoue**

*Junior College, Nihon University, 1866, Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa, 252-0880

**College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866, Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa, 252-0880

*, **〒252-0880 神奈川県藤沢市亀井野1866

Anthocyanin and carotenoid pigments in cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) were determined using high-performance liquid chromatography. The following anthocyanin pigments were detected: cyaniding 3-galactoside, cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3-arabinoside, peonidin 3-galactoside, peonidin 3-glucoside and peonidin 3-arabinoside were detected. Peonidin 3-galactoside and cyanidin 3-alactoside were found predominantly. The following carotenoid pigments were detected: violaxanthin, lutein, and β -carotene were detected. Lutien were found predominantly.

1. 緒 言

クランベリー (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) は、ツツジ科スノキ属の常緑低木で、北半球寒帯の沼地に分布し、ジャム、ジュース、クランベリーソースなどの加工用として利用されている。繁殖は挿し木や株分けで行われ、わが国では家庭用小果樹として栽培され、大規模な経済栽培はなく加工品等の輸入が多い。果実は小さく、中が数室に分かれた空洞になっており、成熟するとピンク色から深紅に色づく。この果色はアントシアニン色素であることはよく知られている¹⁻⁵⁾。また、この果実の健康機能性について、抗酸化作用、血圧降下作用、視覚最善作用、尿路感染予防効果、肝機能障害軽減効果や心血管症予防作用等が明らかにされ、生活習慣病予防食材としての利用も考えられている⁶⁻⁹⁾。一方、カロテノイド色素も分布していると考えられるが、その組成については不明な点が多い。

今回、わが国で栽培されているクランベリー果実の色素組成を明らかにするために、アントシアニンとカロテノイド色素について調査したので報告する。

2. 実験方法

(1) 材 料

供試材料は、日本大学藤沢農場の実験圃場で栽培されているクランベリー ‘バークマン’ の成熟果を用いた。

(2) 分析方法

1) アントシアニン

アントシアニンは、試料1.0~1.3 g 程度の果実を刻み、50%酢酸で48時間、4℃暗黒下で抽出し、フィルターろ過後、HPLC 分析を行った。Inertsil ODS-2 (4.6 × 150 mm) のカラムを用い、移動相は A: 1.5%リン酸, B: 1.5%リン酸, 20%酢酸, 25%アセトニトリルを用いたグラジエント法で行った。流量0.8 mL/min, カラム温度40℃, 試料注入量10 μ L の条件で分析した。

アントシアニンの含量は、標準シアニジン 3-ガラクトシド (フナコシ) を用いて、吸光係数 $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ 920 (535 nm)⁵⁾ から検量線を作成し、 $\mu\text{g/g}$ (新鮮重) として算出した。

2) カロテノイド

カロテノイドは、試料をアセトンで抽出し、ジエチル

Fig. 1 HPLC chromatogram of the anthocyanins in cranberry fruit

エーテルに移行し、等量の5% KOHメタノールを加えて、4℃で18時間ケン化処理を行った。脱水、減圧乾固した後、少量のメタノール：アセトン（2：1）に溶かし、HPLC分析を行った。Develosil C30-UG-5（4.6 × 250 mm）のカラムを用い、移動相はアセトニトリル（A）、メタノール（B）、ブチルメチルエーテル（C）、水（D）を用いたグラジエント法で行った。初期設定をA：B：C：D（71：24：0：5 V/V）とし、20分（65：21：14：0）、30分（57：18：25：0）、55分（38：12：50：0）、70分（20：6：74：0）に設定した。流量1.0 mL/min、カラム温度25℃、試料注入量20 µLの条件で分析した。検出は、フォトダイオードアレイ検出器（検出波長300～600 nm）で行った。

カロテノイド含量は、標準ルテインを用いて、吸光係数 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 2550（440 nm）から検量線を作成し、µg/g（新鮮重）として算出した。他のカロテノイドはそれぞれの吸光係数を用いて換算した。

3. 実験結果および考察

（1）アントシアニン

クランベリー果実の赤い着色は果皮にみられた。果実のアントシアニン色素のHPLCクロマトグラムをFig. 1に示した。

これまで、クランベリー果実のアントシアニンについて、Brownら^{1,3)}はC18カラムを用い、移動相はリン酸、アセトニトリル、酢酸を、流量0.9 mL/minの条件で分析している。その結果、大きなピークを2つ（ペオニジン3-ガラクトシド、シアニジン3-ガラクトシド）、中程度の大きさのピークを2つ（シアニジン3-アラビノシド、ペオニジン3-アラビノシド）、小さなピーク（シアニジン3-グルコシド）、計5つのピークを検出してい

る。

また、Polashockraら⁶⁾もC18カラムを用い、移動相はリン酸、アセトニトリル、酢酸を、流量1.0 mL/minの条件で分析している。その結果、大きなピークを2つ（ペオニジン3-ガラクトシド、シアニジン3-ガラクトシド）、中程度の大きさのピークを2つ（シアニジン3-アラビノシド、ペオニジン3-アラビノシド）、小さなピークを2つ（シアニジン3-グルコシド、ペオニジン3-グルコシド）、計6つのピークを検出している。

本実験ではC18カラム、リン酸、酢酸、アセトニトリルを用いた移動相で分析した。その結果、大きなピークを2つ、中程度の大きさのピークを2つ、小さなピークを2つ、計6つのピークを検出した。上記の報告と比較すると、本実験では流量0.8 mL/minで行ったため、保持時間はやや遅れた。しかし、各アントシアニンの溶出パターンは類似していた。リンゴ果皮の主要なアントシアニンであるシアニジン3-ガラクトシドとの比較、また、ブルーベリー果皮の色素は、5つのアントシアニン（デルフィニジン、シアニジン、マルビジン、ペツニジン、ペオニジン）に3つの糖（グルコース、ガラクトース、アラビノース）がそれぞれ1つずつ結合した配糖体の形をし、全部で15種類存在するが、シアニジン3-ガラクトシド、シアニジン3-グルコシド、シアニジン3-アラビノシド、ペオニジン3-ガラクトシド、ペオニジン3-グルコシド、ペオニジン3-アラビノシド^{11,12)}および標準シアニジン3-ガラクトシドとの比較を行った。

以上の比較の結果から、ピークNo.1はシアニジン3-ガラクトシド、No.2はシアニジン3-グルコシド、No.3はシアニジン3-アラビノシド、No.4はペオニジン3-ガラクトシド、No.5はペオニジン3-グルコシド、No.6はペオニジン3-アラビノシドと推定された。

Fig. 2 HPLC chromatogram of carotenoids in cranberry fruit

推定したアントシアニン含量を Table 1 に示した。ペオニジン 3-ガラクトシドが多く、74 $\mu\text{g/g}$ 程度含有した。次いで、シアニジン 3-ガラクトシド (61 $\mu\text{g/g}$)、シアニジン 3-アラビノシド (35 $\mu\text{g/g}$)、ペオニジン 3-アラビノシド (35 $\mu\text{g/g}$) の順に多く、これらの色素が赤色発現に大きく寄与していると思われる。また、ペオニジン 3-グルコシドは 7 $\mu\text{g/g}$ 、シアニジン 3-グルコシドは 3 $\mu\text{g/g}$ 程度含有した。

(2) カロテノイド

クランベリー果実のカロテノイド色素の HPLC クロマトグラムを Fig. 2 に示した。

Agocs ら¹³⁾ は、カンキツのカロテノイド色素を C18 カラムおよび C30 カラムを用いて、オーロキササンチン、ルテオキササンチン、ルテイン、 β -クリプトキササンチン、 α -カロテン、 β -カロテンを分析している。また、カラーピーマン¹⁴⁾ の黄色系果実を C30 カラム、同じ移動相で分析した結果、ネオキササンチン、ビオラキササンチン、アンテラキササンチン、ルテイン、ゼアキササンチン、 β -クリプトキササンチン、 α -カロテン、 β -カロテンを検出している。

これらの結果と各ピークの吸収スペクトル測定値および標準 β -カロテン (和光純薬)、標準ルテイン (和光純薬) と比較した結果、ピーク No. 1 はビオラキササンチン、No. 5 はルテイン、No. 8 は β -カロテンと推定された。

推定したカロテノイド含量を Table 2 に示した。主要な色素はルテインで、全カロテノイドの約 52~56% を占めた。 β -カロテン含量は非常に少なかった。

以上のように、クランベリー果実は、アントシアニン色素のほかにカロテノイドも含有した。このことはアントシアニンの機能性にカロテノイドの機能性も付加され、

その効果はさらに高まるものと思われる。

4. 要 約

わが国で栽培されたクランベリー果実のアントシアニンとカロテノイド色素について、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて測定した。

アントシアニン色素は、シアニジン 3-ガラクトシド、

Table 1 Anthocyanins contents of cranberry fruit

Peak No.	Anthocyanins	($\mu\text{g/g}$)
1	Cyanidin 3-galactoside	60.9 $\pm$ 7.5 ^z
2	Cyanidin 3-glucoside	2.5 $\pm$ 1.1
3	Cyanidin 3-arabinoside	35.4 $\pm$ 5.2
4	Peonidin 3-galactoside	74.2 $\pm$ 8.2
5	Peonidin 3-glucoside	6.7 $\pm$ 2.3
6	Peonidin 3-arabinoside	34.9 $\pm$ 6.1

^z Values are the mean $\pm$ SE ($n=3$).

Table 2 Carotenoids contents of cranberry fruit

Peak No.	Carotenoids	($\mu\text{g}/100\text{g}$)
1	Violaxanthin	63.5 $\pm$ 15.0 ^z
2	Unknown	36.9 $\pm$ 10.0
3	Unknown	14.2 $\pm$ 6.0
4	Unknown	36.2 $\pm$ 12.0
5	Lutein	202.9 $\pm$ 62.0
6	Unknown	15.8 $\pm$ 5.6
7	Unknown	8.3 $\pm$ 2.1
8	β -Carotene	8.7 $\pm$ 2.0

^z Values are the mean $\pm$ SE ($n=3$).

シアニジン 3-グルコシド, シアニジン 3-アラビノシド, ペオニジン 3-ガラクトシド, ペオニジン 3-グルコシド, ペオニジン 3-アラビノシドが検出された。ペオニジン 3-ガラクトシド, シアニジン 3-ガラクトシドの含量が多かった。

カロテノイド色素は, ビオラキサンチン, ルテイン, β -カロテンが検出された。主要な色素はルテインで, 全カロテノイドの約52~56%を占めた。

文 献

- 1) Brown PN, Shipley PR: Determination of anthocyanins in cranberry fruit and cranberry fruit products by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *J AOAC Int*, **94**, 459-466 (2011)
- 2) 大庭理一郎, 五十嵐喜治, 津久井亜紀夫: アントシアニン, 建帛社, 東京, p.245 (2000)
- 3) Brown PN, Murch SJ, Shipley P: Phytochemical diversity of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) cultivars by anthocyanin in determination and metabolomic profiling with chemometric analysis, *J Agric Food Chem*, **60**, 261-271 (2012)
- 4) Vvedenskaya IO, Vorsa N: Flavonoid composition over fruit development and maturation in American cranberry, *Vaccinium macrocarpon* Ait., *Plant Science*, **167**, 1043-1054 (2004)
- 5) Zapsalis C, Francis FJ: Cranberry anthocyanins, *J Food Sci*, **30**, 369-399 (1965)
- 6) Polashock JJ, Griesbach RJ, Sullivan RF, Vorsa N: Cloning of a cDNA encoding the cranberry dihydroflavonol-4-reductase (DFR) and expression in transgenic tobacco, *Plant Science*, **163**, 241-251 (2002)
- 7) 中島康彦: クランベリー, 保健同人社, 東京, p.117 (2003)
- 8) 田中敬一: 実践くだもの健康学 (47) クランベリーの利用と健康機能性, 果実日本, **63** (9), 49-51 (2007)
- 9) Milbury PE, Blumberg JB: Anthocyanins are bioavailable in humans following an acute dose of cranberry juice, *J Nutr*, **140**, 1099-1104 (2010)
- 10) Ohnishi R, Ito H, Hatano T, Kasajima N, Kaneda M, Kariyama R, Kumon H, Yoshida T: Urinary excretion of anthocyanins in humans after cranberry juice ingestion, *Biosci Biotechnol Biochem*, **70**, 1681-1687 (2006)
- 11) 渡辺慶一, Lawes GS, Woolley DJ: リンゴ果実の着色細胞の分布およびクロロフィル, カロテノイド, アントシアニン色素, 園学雑, **74** (別2), 96 (1998)
- 12) Watanabe, K: Comparison of chlorophyll carotenoid and anthocyanin pigment of blueberry fruits, *Carotenoid Science*, **6**, 9-10 (2003)
- 13) Agocs A, Nagy V, Szabo Z, Mark L, Ohmachi R, Deli J: Comparative study on the carotenoid composition of the peel and the pulp of different citrus species, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **8**, 390-394 (2007)
- 14) 渡辺慶一: C30カラムを用いたカラーピーマン果実のカロテノイド色素分析, 園学雑, **75** (別2), 529 (2006)