

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成22年3月作成

四国地域イノベーション創出協議会

地域食品・健康分科会 編

s-food@m.aist.go.jp

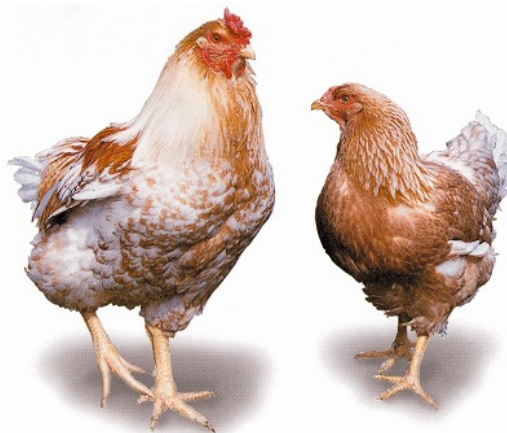
鶏肉のアンセリン・カルノシン

作成者：徳島県立工業技術センター 研究員 岡久 修己

1. 鶏肉について：

1.1 概要

鶏は、キジ目キジ科の鳥で、原種は東南アジアに広く分布している赤色野鶏（セキショクヤケイ）であり、インドやインドネシア等で家禽化されたといわれている。現在、鶏肉は宗教的禁忌がないことから、世界の多くの国で生産消費されている。2008年の日本国内での食鳥の処理羽数は約7億3000万羽、処理重量は約199万トンである。この内、肉用若鶏の処理羽数は約6億3000万羽、処理重量は約178万トンであり、鹿児島、宮崎、岩手の3県が出荷羽数の5割を占めている。四国は、食鳥処理羽数が約4200万羽、処理重量は約12万トンであり、その内の約半分が徳島県となっている。徳島県は、古くから大阪への食鶏供給地として有名で、こうした伝統から、ブロイラーの生産にも先発し、2008年は、食鳥処理羽数が約2100万羽で、全国6位である。また、徳島産の地鶏「阿波尾鶏」は、2008年の生産量が約230万羽で、地鶏等のその他の肉用鶏としては全国1位の生産量である。阿波尾鶏は、徳島県畜産試験場（現在、農林水産総合技術支援センター畜産研究所）が、徳島県内の在来種を改良育種して作出された軍鶏（阿波地鶏）の雄と、ホワイトプリマスロック種鶏雌を交配して作出した肉用鶏で、1990年から本格的に生産が行われ、1998年度には、出荷数が名古屋コーチンを抜いてブランド地鶏日本一となった。また、2001年度には、地鶏肉の特定JAS規格の第1号に認定されている。



阿波尾鶏

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

鶏肉に含まれる機能性成分としてアンセリン・カルノシンが知られている。アンセリン・カルノシンは β -アラニンと L-ヒスチジンが結合して出来たジペプチドで、抗酸化作用¹⁾や、血糖値を調節する作用²⁾などの生理活性が認められている。また、アンセリンおよびカルノシンを豊富に含むチキンエキスを動物に摂取させることにより、持久力が向上することが報告されている³⁾。

1. 2. 1 アンセリン・カルノシンを含む食品

アンセリン・カルノシンは脊椎動物の筋肉に広く分布しており、特に回遊魚や渡り鳥などのなど持久力を必要とする生物の骨格筋中に多く含まれていることが知られている。

<引用・参考文献>

1. Kohen, R., Yamamoto, Y., K. C. and Ames, B. N. : Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 85, 3175-3179 (1988)
2. Nagai, K., Niiijima, A., Yamano, T., Otani, H., Okumura, N., Tsuruoka, N., Nakai, M. and Kiso, Y. : Exp. Biol. Med., 228, 1138-1145 (2003)
3. 原田理恵, 田口靖希, 浦島浩司, 佐藤三佳子, 大森 丘, 松森文毅 : 栄食誌, 55, 73-78 (2002)

2. アンセリン・カルノシンについての説明 :

アンセリン、カルノシン共に β -アラニンと 1-メチル-L-ヒスチジンが結合したジペプチドであり、分子式はアンセリンが $C_{10}H_{16}N_4O_3$ カルノシンは $C_9H_{14}N_4O_3$ である。

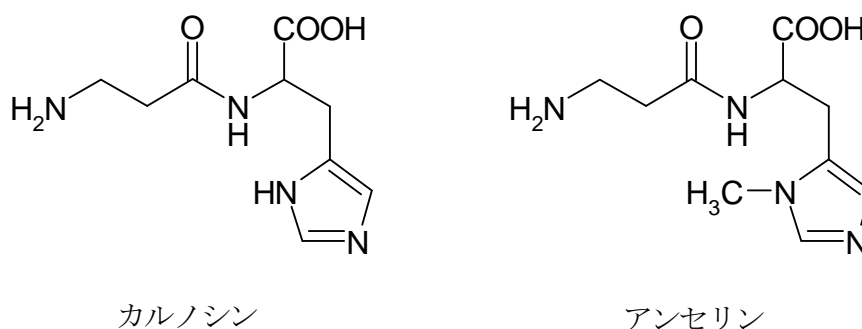


図 2-1 アンセリン・カルノシンの構造式

3. アンセリン・カルノシン分析の方法について :

鶏肉の機能性を知る上で必要なアンセリン・カルノシンを、アミノ酸分析計および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により定量する方法を述べる。

3. 1 準備する器具など

(共通)

1. フードプロセッサー
2. ホモジナイザー
3. 遠心分離器
4. 試料濾過用フィルター(ポアサイズ 0.45 μm)

(アミノ酸分析計使用時)

5. 全自動アミノ酸分析計

(HPLC 使用時)

6. 高速液体クロマトグラフシステム紫外検出器、カラム恒温槽
7. C18 逆相カラム(4.6 \times 150mm 資生堂 Capcell Pak C18 ODS)

[試薬]

(共通)

1. スルホサリチル酸(試薬特級)
2. L-アンセリン硝酸塩 (和光純薬製)
3. L-カルノシン (和光純薬製)

(アミノ酸分析計使用時)

4. 標準アミノ酸混合液 ANⅡ型 (和光純薬製)
5. 標準アミノ酸混合液 B 型 (和光純薬製)
6. L-アスパラギン標準液 (和光純薬製 アミノ酸自動分析用)
7. L(+)-グルタミン (試薬特級)
8. L-トリプトファン (試薬特級)

(HPLC 使用時)

9. りん酸二水素アンモニウム(試薬特級)
10. ペンタンスルホン酸ナトリウム (イオンペアクロマトグラフ用)
11. アセトニトリル (HPLC 用)
12. 塩酸

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

1. 鶏肉の皮を除去し、2cm 角に切り、フードプロセッサーでミンチ状に加工する。
2. 5g をカップにとり、2%スルホサリチル酸を 20ml 加え、冷却しながらホモジナイザーで 1 分間処理する。
3. 遠心分離を行い、上清を回収後、0.45 μm のフィルターで濾過したものを全自動アミノ酸分析計用試料とする。また、上清を 50 倍希釈し、0.45 μm のフィルターで濾過したものを HPLC 用試料とする。

3. 3 全自動アミノ酸分析計による分析方法

(1) アミノ酸標準溶液の調製

- ・標準アミノ酸混合液 AN II 型
- ・標準アミノ酸混合液 B 型（和光純薬製）
- ・L-アスパラギン標準液（ $1.25 \mu\text{mol/ml}$ ）
- ・ 2.5mmol/l グルタミン溶液
- ・ 2.5mmol/l トリプトファン溶液

上記試料を各 1ml 秤量し、アミノ酸自動分析計のサンプル希釈液で希釈し、全量を 25ml にする。

(2) 全自動アミノ酸分析計による分析

分析用試料を専用のバイアル瓶に 1ml とり、全自動アミノ酸分析計を用いて生体アミノ酸分析モードで分析する。（注入量は $50 \mu\text{l}$ ）

(3) 定性および定量

- ① 分離されたアンセリン・カルノシンの定性は保持時間により行う。
- ② 定量は標準溶液を用いた、内標を用いない絶対検量線法による。

3. 4 HPLC による分析方法

(1) 移動相の調製

移動相を以下のように調製する。

200mM リン酸二水素アンモニウム、100mM ペンタンスルホン酸ナトリウム、4%(v/v)アセトニトリル、pH2.0(塩酸で調整)

(2) 分析条件

検出器、恒温槽、溶媒の流量等の条件は以下の通りとする。

検出波長： 220nm

恒温槽： 30°C

流量：毎分 0.8ml

注入量： $20 \mu\text{l}$

(3) 定性および定量

- ① 分離されたアンセリン・カルノシンの定性は保持時間により行う。
- ② 定量は標準試料を用いた、内標を用いない絶対検量線法による。

4. 分析例：

4. 1 全自動アミノ酸分析計による分析例

分離された物質は保持時間から特定する。定量には生体アミノ酸分析用標準試薬を用い、クロマトグラムのピーク面積から濃度を算出する。以下に生体アミノ酸分析用標準試薬を測定した際のクロマトグラムを示す。

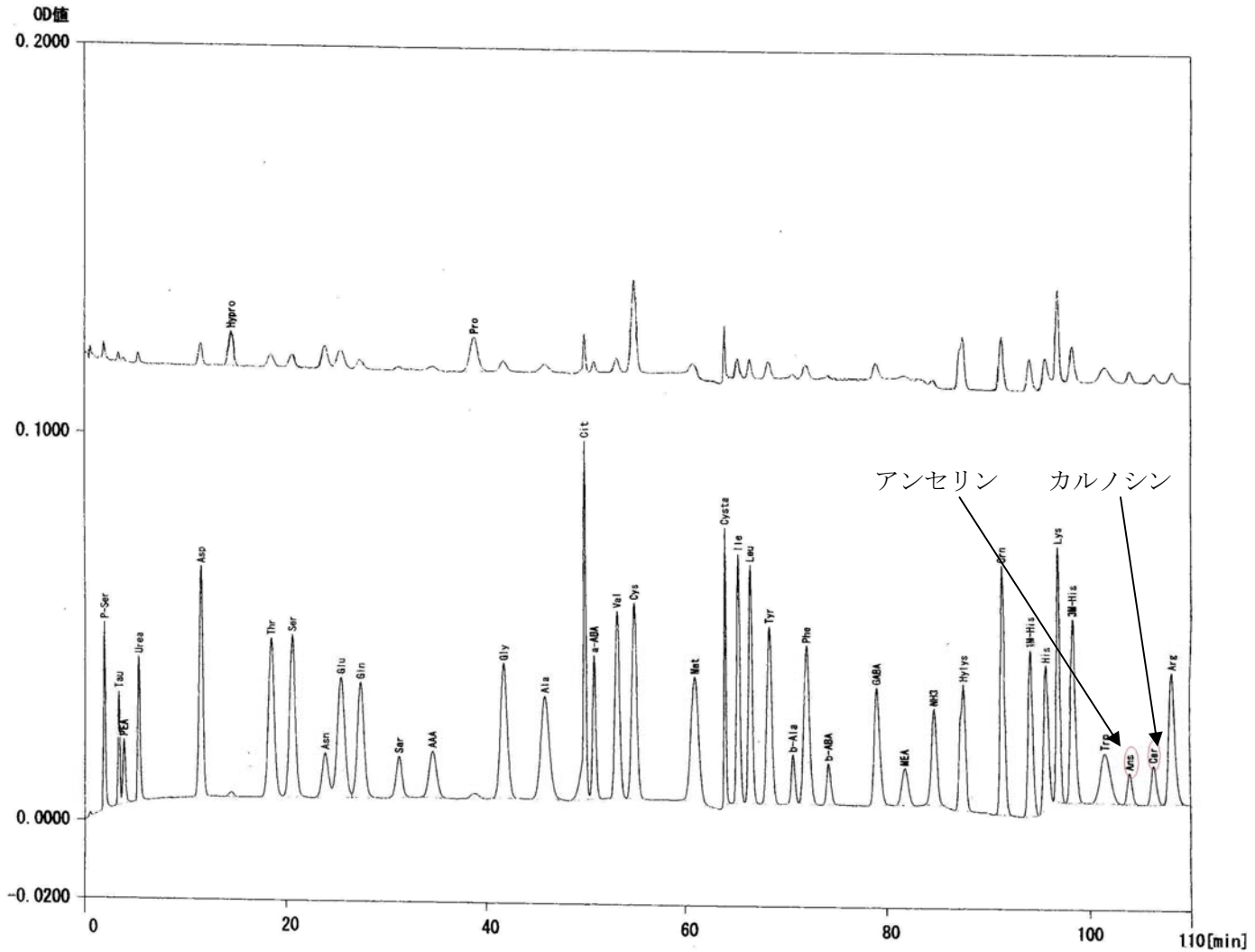


図 4-1 アミノ酸標準溶液のクロマトグラム

4. 2 HPLC 装置による分析例

分離された物質は保持時間から特定する。定量には標準試料を用い、クロマトグラムのピーク面積から濃度を算出する。以下に典型的なクロマトグラムを示す。

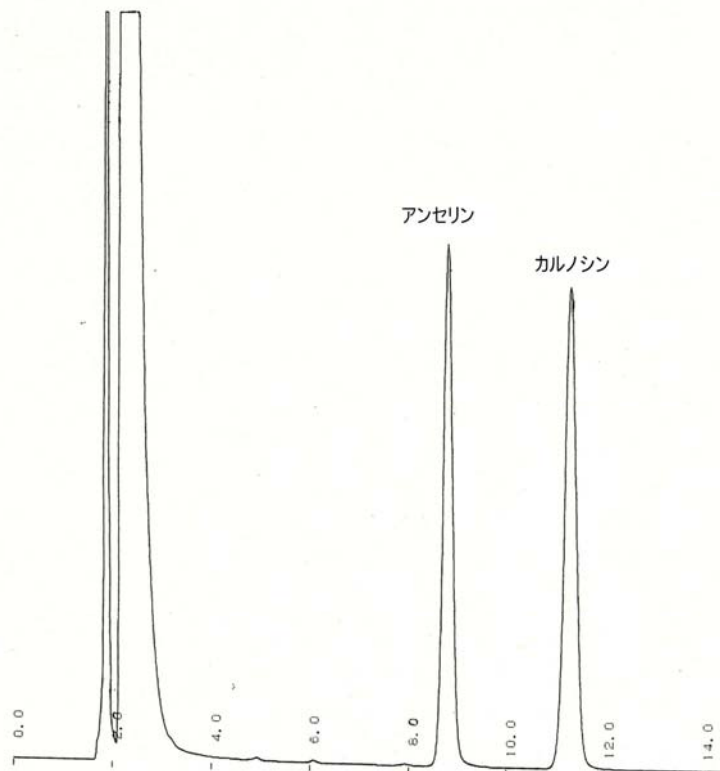


図 4-2 アンセリン・カルノシンのクロマトグラム

5. 食品の分析結果例：

徳島県産ブロイラーと阿波尾鶏のモモ肉およびムネ肉のアンセリン・カルノシン含量をそれぞれの方法で測定した結果を以下に示す。全自動アミノ酸分析計の測定結果と HPLC の測定結果はほぼ一致した。

表 1 全自動アミノ酸分析計を用いた際の鶏肉中のアンセリン・カルノシン含量

試料	アンセリン含量 (mg/100g)	カルノシン含量 (mg/100g)
ブロイラーモモ肉	357	130
阿波尾鶏モモ肉	460	116
ブロイラームネ肉	1153	347
阿波尾鶏ムネ肉	1333	409

表2 HPLC を用いた際の鶏肉中のアンセリン・カルノシン含量

試料	アンセリン含量 (mg/100g)	カルノシン含量 (mg/100g)
ブロイラーモモ肉	346	135
阿波尾鶏モモ肉	441	115
ブロイラームネ肉	1126	352
阿波尾鶏ムネ肉	1302	422

6. 分析上の留意、注意点：

抽出操作に用いる試料、試薬および器具類はできる限り氷冷する。

7. その他：

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. Mark Dunnet and Roger C.Harris. : J. of Chromatography, 579, 45-53 (1992)

—以上—

[トップページに戻る](#)