

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（H22. 5. 20修正）
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

カツオのアンセリン、カルノシン

作成者：高知県工業技術センター 主任研究員 森山 洋憲

1. カツオについて

1. 1 概要

カツオ（鰹、*Katsuwonus pelamis*）はマグロ類とともにスズキ目サバ科に属する。海洋の高速遊泳に適した紡錘型の体形をしており、鱗は退化、横断面はほぼ円形、体側に黒い縦縞がある。暖海性の表層魚で回遊の範囲は広く、日本には黒潮に乗って北上し、水温が下がると南下する。4月から6月に北上するものを「上り鰹」と呼び、この頃のものは「初鰹」として食される。9月頃から南下し始めるものは「戻り鰹」と呼ばれ、「トロ鰹」とも呼ばれて一般的に「初鰹」よりも好まれる。肉は暗赤色で血合肉が多く、煮るとやや硬くなる。さしみ、たたき、照り焼きとして食される他、カツオ節や缶詰の原料に用いられる。高知県で好んで食べられるカツオのたたきは、カツオ節から派生したという説と、土佐藩主の山内一豊が生食を禁じたことに起因するという説がある。また、高知県には内蔵を塩辛にした「酒盗」という名物もある。



高知県ではマルソウダを原料として宗田節が生産されている。県西南端の土佐清水市が宗田節の主産地であり、全国シェアの約 80%を占めている¹⁾。高知県のカツオ節の起源については、安土桃山時代あるいは江戸時代初期に土佐清水沖にカツオ漁に来た紀州の漁師が地元漁民に伝授したという説がある。その後、土佐市宇佐の播磨屋亀蔵親子が製法を改良し、現在の製法に近づいたとされる。

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

カルノシン (β -alanyl-L-histidine) とアンセリン (β -alanyl-1-methyl-L-histidine) はヒスチジン含有のジペプチドである。両ペプチドは抗酸化を有し、ヒスチジン残基のイミダゾール環のラジカル補足作用と金属イオンキレート作用が示唆されている^{2) 3)}。緩衝作用による運動能力向上⁴⁾、血糖および血圧降下作用⁵⁾、抗疲労効果⁶⁾が報告されている。特にヒトの骨格筋に存在するカルノシンの生理作用が注目されている。

1. 2. 1 カツオペプチドを含む食品

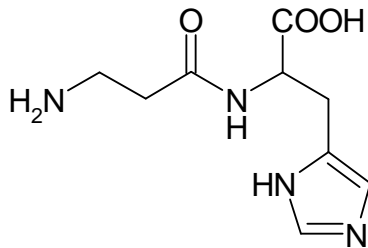
アンセリンとカルノシンは生体内の骨格筋などに高濃度にするるとともに、動物や筋繊維の種類によって濃度と組成が異なることが知られている⁷⁾。淡水産の魚肉からはアンセリンのみ、ウナギからはカルノシンのみ、海水域に生息するサケ、マスノスケ、カツオからは両成分が検出されている⁸⁾。

<引用・参考文献>

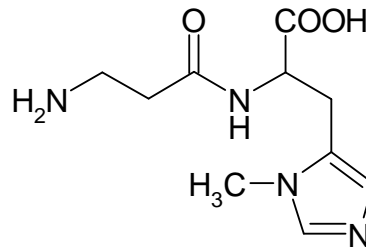
1. 野村明：日本の伝統食品事典，朝倉書店，1037-1044(2007)
2. E. A. Decker, A. D. Crum, J. T. Calvert: J. Agric. Food Chem., 40, 756-759(1992)
3. E. A. Decker, A. D. Crum: Meat Sci., 34, 245-253(1993)
4. Maemura H., Goto K., Yoshida T., Sato M., Takahata Y., Morimatsu F., Takamatsu K.: Int. J. Sport and Health Science, 4, 86-94(2006)
5. 永井克也：日本味と匂学会誌，13, 157-168(2006)
6. 前村公彦：食品と開発，42, 16-18(2007)
7. Crush, K.G.: Biochem. Physiol., 34, 3-30 (1970)
8. 西塔・國崎：女子栄養大紀要, 35, 57 (2004)

2. アンセリン、カルノシンの説明

カルノシン (β -alanyl-L-histidine) は β -アラニンとヒスチジンがペプチド結合したものの、アンセリン (β -alanyl-1-methyl-L-histidine) はカルノシンのメチル化物である。



カルノシン



アンセリン

3. 定量分析の方法について

カツオのアンセリン、カルノシンを高速液体クロマトグラフィーで分析する方法を紹介する。

3. 1 準備する器具など

1. ホモジナイザー
2. 遠心分離機
3. エバポレーター
4. 試料濾過用フィルター(親水性テフロン膜、ポアサイズ 0.45 μm 、13 mm 径)
5. グラジェント溶出(4 溶媒)の出来る高速液体クロマトグラフシステム(分析システム例:ウォーターズ製デルタ 600 マルチソルベントシステム、2998 フォトダイオードアレイ検出器、カラムヒーター、Empower2)
6. カラム(例:ウォーターズ製 Atlantis HILIC 3 μm 、150 \times 4.6mmI.D.)

[試薬]

1. エタノール(特級)
2. 酢酸(特級)
3. 酢酸アンモニウム(特級)
4. アンセリン、カルノシン(シグマ製)

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

カツオの前処理方法は次の手順である。

1. 骨・皮を除いたカツオを 1cm 幅に切る。
2. 切り身から約 100g サンプルングし、精秤する。
3. 冷水 200 mL を加えて氷温下でホモジナイズする。
4. 均質化した試料を 200 mL 量りとり、遠心分離後に上清を回収する。
5. 冷水を一定量加えて攪拌後、再び遠心分離し、上清を回収する(この操作を繰

- り返し 3 回行って上清を回収)。
6. 上清 3 回分をあわせたものから 50 mL を採取し、200 mL の冷エタノールを添加後、冷蔵庫内で 30 分間静置する。
 7. 静置後の試料を遠心分離し、上清中のエタノールをエバポレーターで除去する。
 8. 残さに MQ 水を加えて溶解し、12 mL にメスアップ後にろ紙ろ過する。
 9. ろ液をポアサイズ 0.45 μ m のフィルターを用いてろ過し、HPLC 試料とする。

3. 3 HPLC による分析方法

3. 3. 1 「HPLC 装置の場合」

(1) 移動相の調製

移動相として 0.65 mM、4.55 mM 酢酸アンモニウム (pH 5.5) を調製する。
MQ、アセトニトリルも準備する。

(2) 分析条件

- ① 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:214nm

恒温槽:40℃

流量:移動相 A、移動相 B の合計で毎分 1.4mL

試料注入量:5 μ L

- ② 移動相溶媒のグラジエント条件は以下のようにする。

0.65 mM 酢酸アンモニウム、4.55 mM 酢酸アンモニウム、MQ、アセトニトリルをグラジエントポンプの配管にそれぞれ接続する。初期条件 0.65 mM 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (25/75)、13 分後 4.55 mM 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (70/30) へ直線的に変化させる。また分析終了後のカラムは MQ、あるいは MQ とアセトニトリルの混合液で洗浄し、70%アセトニトリルで置換後に保管する。

(3) 定性及び定量

- ① 各標準品のピーク面積との比較によって定量する。

4. 分析例

4. 1 HPLC 装置による分析例

分離された物質は保持時間から(標準物質と比べ)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フを図に示す。

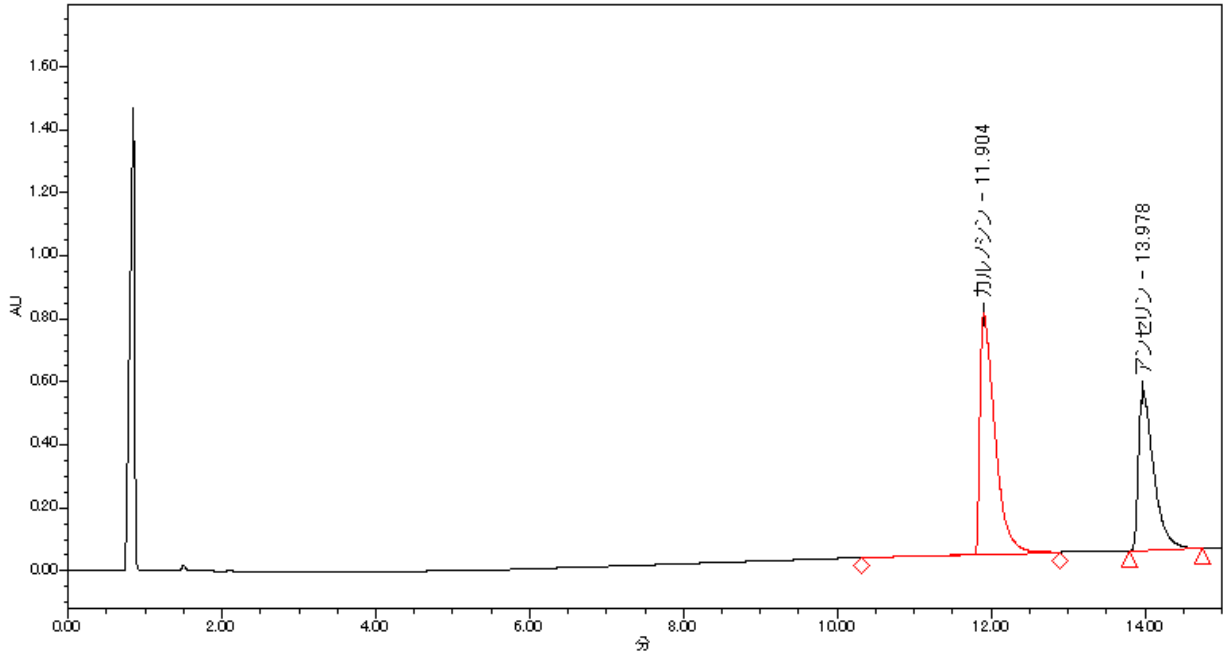


図 4. 1 - 1 標準物質の HPLC クロマトグラム

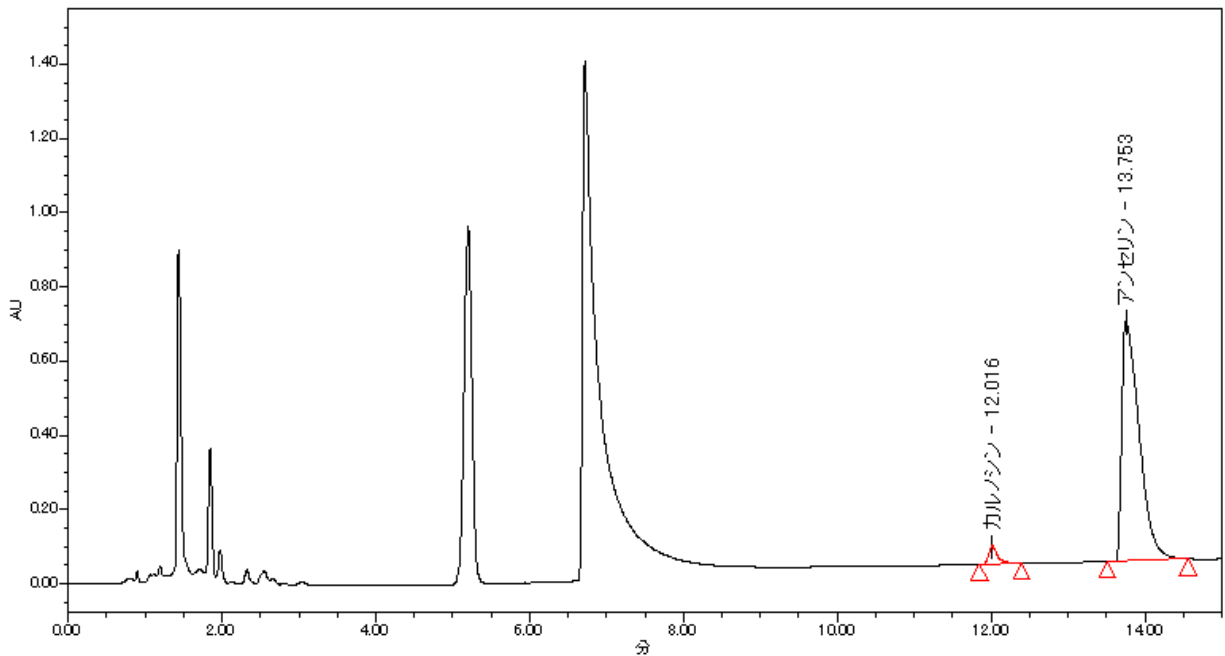


図 4. 1 - 2 カツオの HPLC クロマトグラム

5. 食品の分析結果例

上記手法を用いて定量分析を行った。

表 5 - 1 カツオのカルノシン、アンセリン

	カルノシン (mg/100g wet matter)	アンセリン (mg/100g wet matter)
カツオ 1	63.2	309
カツオ 2	25.8	893
カツオタタキ	6.1	224

(*注意) なおこの測定結果は一分析例であり、一般的なカツオやカツオタタキの分析結果ではない。

6. 分析上の留意、注意点

特になし。

7. その他

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. Mora et al., J. Agric. Food chem., 2007, 55, 4664

—以上—

[トップページに戻る](#)