

大豆イソフラボンの定量分析

川嶋 美帆

ユーザーベネフィット

- ◆ 大豆イソフラボン8成分を30分で測定できます。
- ◆ コンベンショナルHPLC条件のため、汎用HPLCシステムを用いて分析することが可能です。

はじめに

国立研究開発法人
農業・食品産業技術
総合研究機構と島津



製作所は、「食」の機能性成分解析を目的とした共同研究により、農産物や食品に含まれる機能性成分の簡便で迅速かつ正確な分析手法の開発を行っています。本報では、大豆中のイソフラボンの分析方法を検討し、大豆1品種について含有量を確認した結果を報告します。

大豆イソフラボンは、大豆、特に大豆胚芽に多く含まれる成分です。大豆イソフラボンは通常は糖が結合した構造をしています。アグリコンは分子構造がヒトのエストロゲン（女性ホルモン）に似ているため、エストロゲンに似た作用を生じることが知られています。そのため、大豆イソフラボンの1日上限摂取目安量は75 mgとされています。本稿では表1に示す大豆イソフラボンを測定対象としました。

表1 対象化合物の一覧

化合物名
ゲニステイン
ダイゼイン
グリシテイン
ゲニスチン
ダイジン
6'-O-マロニルゲニスチン
6'-O-マロニルダイジン
6'-O-マロニルグリシチン

分析条件

既存の分析法¹⁾を参考に決定しました。既存の分析法では移動相A液およびB液に水とアセトニトリルの混合液を使用していますが、A液を酢酸を含む超純水、B液を酢酸を含むアセトニトリルに変更することにより、移動相調製を簡易化しました。カラムにはShim-pack™ GIST HP (150 mm × 4.6 mm I.D., 3 μm) を使用し、30分の分析時間で対象のイソフラボンを分離しました。分析条件を表2に示しました。

表2 分析条件

System	: Nexera X3
Column	: Shim-pack GIST-HP C18*1 (150 mm × 4.6 mm I.D., 3 μm)
Mobile phases	: A) 0.1 % acetic acid in H ₂ O B) 0.1 % acetic acid in Acetonitrile
Gradient Program	: B conc. 15 % (0.00 min) - 25 % (5.00 min) - 35 % (20.00 min) - 100 % (20.01-25.00 min) - 15 % (25.01-30.00 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min (Maximum pressure: 16.5 MPa)
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
Detection	: 254 nm

*1 P/N : 227-30041-05

試料の前処理

抽出条件は、既存の方法¹⁾を参考に検討し、図1に示すワークフローで行いました。

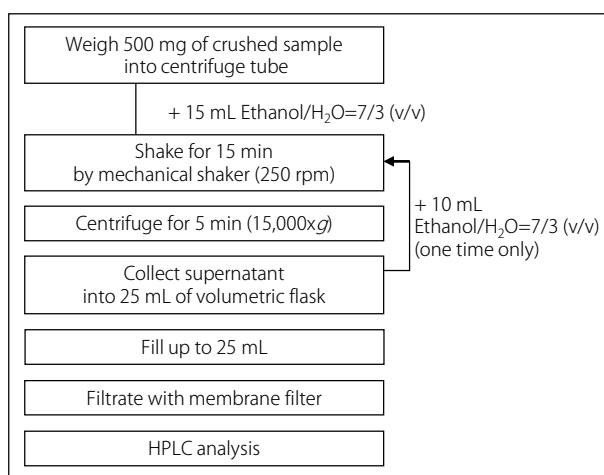


図1 前処理のワークフロー

標準試料の分析結果

標準試料の分析結果から、各化合物の直線性を確認しました。代表的なクロマトグラムを図2に、各成分の検量線を図3に示しました。また、各化合物の検量線範囲および寄与率を表3に示しました。いずれの成分も、寄与率 $R^2=0.999$ 以上の良好な直線性が確認されました。

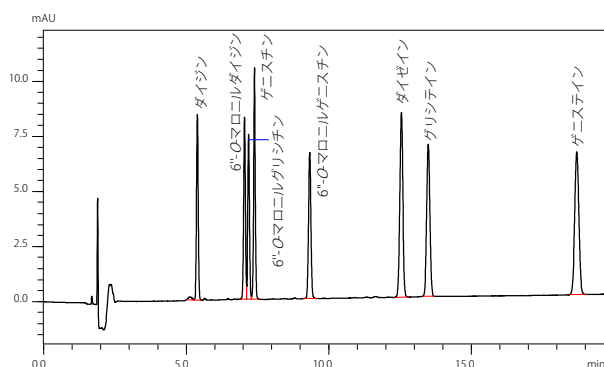


図2 2 μg/mL 標準試料のクロマトグラム

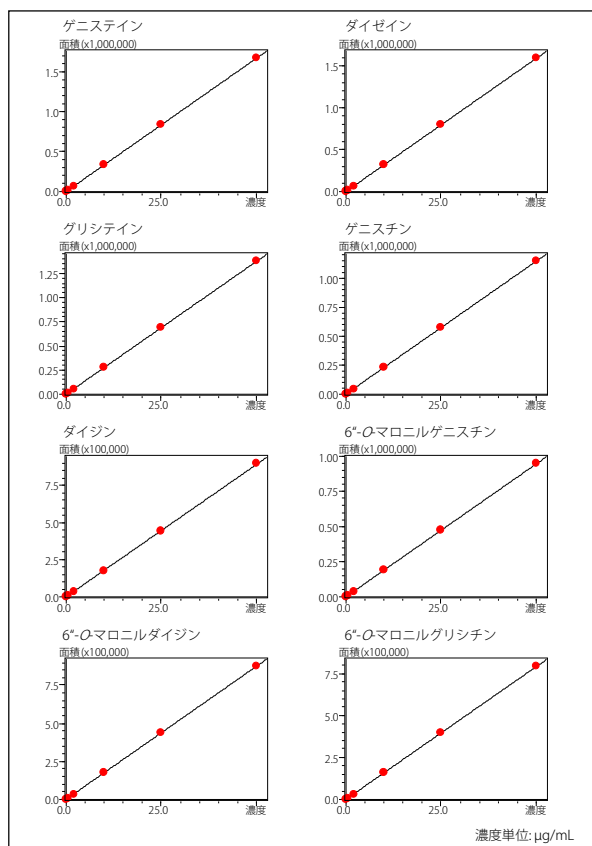


図3 測定対象化合物の検量線

表3 測定対象化合物の検量線範囲

化合物名	検量線範囲 (µg/mL)		寄与率 R ²
ゲニステイン	0.10	- 50	0.9999
ダイゼイン	0.10	- 50	0.9999
グリシテイン	0.10	- 50	0.9999
ゲニスチン	0.10	- 50	0.9999
ダイジン	0.10	- 50	0.9998
6'-O-メロニルゲニスチン	0.10	- 50	0.9999
6'-O-メロニルダイジン	0.10	- 50	0.9999
6'-O-メロニルグリシチン	0.10	- 50	0.9999

大豆の定量結果

大豆（ふくゆたか）の抽出液を分析し、試料中のイソフラボンを定量しました。クロマトグラムを図4に、イソフラボンの定量値を大豆中の濃度に換算した結果を表4に示しました。

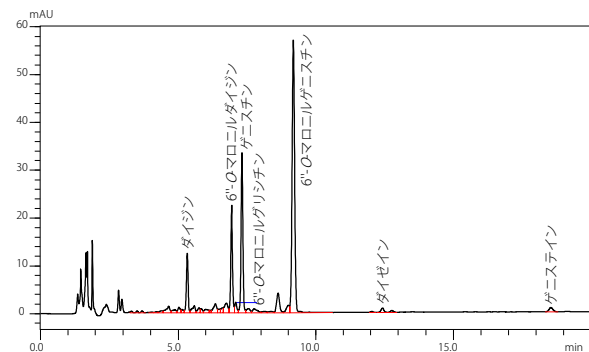


図4 大豆（ふくゆたか）抽出液のクロマトグラム

表4 大豆（ふくゆたか）に含まれるイソフラボンの含有量

化合物名	含有量 (mg/100g)
ゲニステイン	1.30
ダイゼイン	1.00
グリシテイン	<検出下限
ゲニスチン	32.05
ダイジン	13.99
6'-O-メロニルゲニスチン	85.35
6'-O-メロニルダイジン	28.31
6'-O-メロニルグリシチン	3.35

大豆の繰り返し分析結果

大豆（ふくゆたか）の抽出液を7点調製して繰り返し試験を行い、妥当性を確認しました。その結果を表5に示します。検出された全ての成分について、相対標準偏差3%以下の良好な再現性が得られました。

表5 繰り返し分析結果 (n=7)

化合物名	相対標準偏差 RSD (%)
ゲニステイン	1.19 %
ダイゼイン	1.32 %
グリシテイン	- (検出下限以下)
ゲニスチン	1.41 %
ダイジン	1.13 %
6'-O-メロニルゲニスチン	1.21 %
6'-O-メロニルダイジン	1.49 %
6'-O-メロニルグリシチン	2.56 %

結論

- Nexeraシリーズを用いて、イソフラボン8成分の一斉分析を行いました。
- 開発した分析方法によって、大豆（ふくゆたか）の定量を行い、含有量を確認しました。

<参考文献>

- 1) 厚生労働省医薬食品局、「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品等の取扱いに関する指針について」（食薬発第号）0823001

<謝辞>

本分析手法の開発は、島津製作所ヘルスケアR&Dセンター内 食品機能性解析共同研究ラボにて国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構との共同研究（2019年4月～2022年3月予定）により行いました。実験を進めるにあたり国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の山本万里先生、十一浩典研究員、市来弥生研究員から多大な助言を賜りました。厚く感謝を申し上げます。

NexeraおよびShim-packは、株式会社 島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00165-JP 初版発行：2021年 7月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている製品は、医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証等を受けた機器ではありません。本文中に記載されている分析手法を診断目的で使用することはできません。

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。

<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。

新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2021

＞ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ Nexera™シリーズ
超高速液体クロマトグラフ

関連分野

＞ 食品・飲料

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ