

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

大豆のイソフラボン

作成者：近畿中国四国農業研究センター
大豆育種研究近中四サブチーム
主任研究員 高田吉丈
東北農業研究センター
大豆育種研究東北サブチーム
サブチーム長 菊池彰夫

1. 大豆について

1. 1 概要

大豆は「畑の肉」と呼ばれ、良質な蛋白質や脂質を豊富に含み、さらにイソフラボンやサポニン等の機能性成分を含んだ優れた食材である。大豆は豆腐、味噌、醤油等の原材料であり、国民の健康に対する関心の高まりから見直されている日本型食生活の中心的な役割を担っている。しかしながら、大豆の自給率は5%で、食用に限っても自給率は21%であり、日本の大豆需要量の大部分を輸入に頼っている。

四国4県の大豆作について見ると、2008年の作付面積は937haで、全国(14万7千ha)対比0.6%、収穫量は1,280t、10a当たり収量は137kgであった。栽培されている品種としては約8割が黄大豆で、そのうちの90%を豆腐加工適性に定評のある「フクユタカ」が占めている。それ以外は、黒大豆を中心に各地の在来種等が少量作付されている。例を挙げると、愛媛県で栽培されている在来種の「ういろう豆」は、小粒の黒大豆で、子葉部分(中身)が緑色という特徴を持ち、ご飯に混ぜて炊くと種皮のアントシアニンがご飯に移り、淡いピンク色を呈する。また、特産品的な育成品種の育成として、香川県の「香川黒1号」が挙げられる。本品種は、香川大、香川県、香川県農業協同組合が共同育成した大粒の黒大豆品種であり、2008年から県内で本格的な栽培が始まり、和三盆糖を使用した煮豆や黒大豆焼酎等の製品化が進められている。また、生産物を選別し、大粒で良質なものだけを「讃州大黒」(商標登録第5235274号)として売り出し、ブランド化が進められている。

1. 2 大豆の機能性成分

大豆種子に含まれる機能性成分として、大豆蛋白(血中コレステロール低下作用1)、2)、肥満予防3))、リン脂質大豆ペプチド(総コレステロール値低下4))、オリゴ糖

(ビフィズス菌増殖作用 5)6))、イソフラボン(後述)、サポニン(大腸ガン阻害 7)、AIDS ウイルス感染阻害 8)) 等が報告されている。

1. 3 近畿中国四国農業研究センターにおける大豆育種

当研究センターでは、近畿・中国・四国地域での栽培に適した大豆の基幹品種を育成するために、2001年に大豆育種研究室(大豆育種研究近中四サブチーム、香川県善通寺市)を新設し、大豆育種を開始した。主な育種目標を豆腐加工適性、機械化適性、ウイルス病抵抗性付与等とし、これまでに、豆腐加工適性の優れる「四国1号」、味噌加工適性の優れる「四国3号」、青臭みの少ないリポキシゲナーゼ欠失の「四国10号」等を育成している。研究面では、ウイルス病抵抗性選抜 DNA マーカーの開発、タンパク質組成の改良やイソフラボンやサポニンの含量や組成等の子実成分に関する研究に取り組んでいる。

<引用・参考文献>

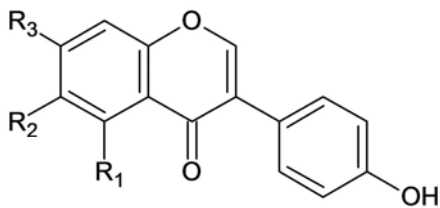
1. Anderson, J. W. *et al.* Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *New Engl. J. Med.* 333:276-282 (1995)
2. BaBa, N. *et al.* Effects of casein versus soyprotein diets on body composition and serum lipid levels in adult rats. *Nutr. Res.* 12:279-288 (1992)
3. Shinjo, S. *et al.* Comparative effect of casein and soybean protein isolate on body fat accumulation in adult rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 38:247-253 (1992)
4. Hori *et al.* Soy protein hydrolyzate with bound phospholipids reduces serum cholesterol levels in hypercholesterolemic adult male volunteers. *Biosci Biotechnol Biochem.* 65:72-78 (2001)
5. 和田ら. マンニトリオースのヒト腸内フローラに及ぼす影響. *日本栄養・食糧学会誌* 44:171-176 (1991)
6. 和田ら. 大豆オリゴ糖の各摂取量によるヒト腸内フローラに及ぼす影響. *ビフィズス* 5:51-54 (1991)
7. Ellington, A.A. *et al.* Induction of macroautophagy in human colon cancer cells by soybean B-group triterpenoid saponins. *Carcinogenesis* 26:159-167 (2005)
8. Nakashima, H. *et al.* Inhibitory effect of glycosides like saponin from soybean on the infectivity of HIV in vitro. *AIDS* 3: 655-658 (1989)

2. 大豆イソフラボンについての説明

2. 1 大豆イソフラボンの種類

イソフラボンはフラボノイドの1種で、大豆、クズ、カンゾウなどマメ科植物に多く含まれている。それらのうち日常の食生活でイソフラボンを摂取できる食品素材と考えられるのは、大豆だけである。大豆のイソフラボンには、ダイゼイン、ゲニステ

イン、グリシテインの 3 種類のアグリコンと各々の配糖体（グリコシド）であるダイジン、ゲニスチン、グリシチン、それら配糖体のマロニル化配糖体、アセチル化配糖体の合計 12 種類が存在する（図 2. 1）。



	R ₁	R ₂	R ₃
Daidzein	H	H	
Genistein	H	O-CH ₃	OH
Glycitein	OH	H	
Daidzin	H	H	
Genistin	H	O-CH ₃	
Glycitin	OH	H	
6''-O-Malonyldaidzin	H	H	
6''-O-Malonylgenistin	H	O-CH ₃	
6''-O-Malonylglycitin	OH	H	
6''-O-Acetyldaidzin	H	H	
6''-O-Acetylgenistin	H	O-CH ₃	
6''-O-Acetylglycitin	OH	H	

図 2. 1 大豆イソフラボンの化学構造式

2. 2 大豆イソフラボンの機能性

イソフラボンの機能性として、骨密度低下の防止 1)2)3)、ホットフラッシュ（ほてり）の防止 4)、発ガン・ガン細胞増殖抑制 5)6)7)、抗酸化作用 8)等が報告されている。

2. 3 大豆子実中のイソフラボン含量

ダイズ遺伝資源の子実中イソフラボン含量には10倍以上の差が認められ、非常に変異に富んでいる。また、イソフラボン含量と成熟期との間には正の相関関係が認められ、早生品種群よりも晩生品種群で高イソフラボン品種が多くみられる(9)。イソフラボン含量は栽培場所、栽培年次等の栽培環境により大きく影響を受けることが指摘されている(10)(11)。その詳細な要因は解明されていないが、登熟期間中の高温条件がイソフラボン含量の低下の要因であることが明らかにされている(12)。これまでにイソフラボン含量の遺伝様式は明らかにされていないが、最近、イソフラボン含量に関する複数のQTL(量的形質遺伝子座)の検出が報告されている(13)。

2. 4 イソフラボン高含量の大豆育成品種

国内の大豆育成機関では、高イソフラボン含量化を目的とした育種が行われ、交雑育種から、栽培適地の普及品種よりもイソフラボン含量が約1.5倍高い「ふくいぶき」(農研機構・東北農業研究センター、2005年品種登録)、「ゆきびりか」(北海道、2006年出願公表)が育成されている。西日本では、純系育種から「三朝神倉」「鳥取大山2001」(鳥取県、2009年出願公表)が育成されている。また、愛媛県の大豆奨励品種「タマホマレ」(長野県、1982年品種登録)もイソフラボン含量の高い品種である。

<引用・参考文献>

1. Ishimi Y. et al. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinology*. 140(4):1893-900 (1999)
2. Potter, S. M. et al. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am. J. Clinical Nutrition*. 68:1375-1379 (1998)
3. Arjmandi, B. H. et al. Dietary Soybean Protein Prevents Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *J. Nutr.* 126:161-167 (1996)
4. Quella, S. K. et al. Evaluation of Soy Phytoestrogens for the Treatment of Hot Flashes in Breast Cancer Survivors: A North Central Cancer Treatment Group Trial. *J. Clinical Oncology*. 18(5):1068-1074 (2000)
5. Akiyama, T. et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 262:5592-5595 (1987)
6. Coward, L. et al. Genistein, daidzein, and their beta-glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.* 41 (11):1961- 1967 (1993)
7. Herman, C. et al. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J. Nutr.* 125:757-770 (1995)
8. Naim, M. et al. Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. *J. Agric. Food Chem.* 24 (6):1174- 1177 (1976)
9. 境哲文ら. ダイズ遺伝資源の子実中イソフラボン含量およびその組成. 東北農研

研報. 104:83-149 (2005)

10. Eldridge, A. C. and W. F. Kwolek. Soybean isoflavones: effect of the environment and variety on composition. J. Agric. Food Chem. 31 : 394-396 (1983)
11. Wang, H. and P. A. Murphy. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year, and location. J. Agric. Food Chem. 42 : 1674-1677 (1994)
12. Tsukamoto, C., et al., Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. J. Agric. Food Chem. 43, 1184-1192 (1995)
13. Primomo, V. S. *et al.* Mapping QTL for individual and total isoflavone content in soybean seeds. Crop Sci. 45:2454-5464 (2005)

3. 定量分析の方法について

ここでは、大豆子実（全粒）に含まれる大豆イソフラボンを高速液体クロマトグラフィーにより定量する方法を述べる。なお、分析対象とする大豆イソフラボンは、大豆子実中には極く僅かしか含まれないアセチル化配糖体 3 種類を除いた 9 種類とする。

3. 1 準備する器具等

1. 粉砕機（メーカー、粉砕方式は問わない）
2. 遠心機（12,000～15,000rpm、1.5ml マイクロチューブが使用可能なタイプ）
3. 1.5ml マイクロチューブ
4. 高速液体クロマトグラフ装置一式（2液グラジエント可能なポンプ、インジェクターまたはオートサンプラ、UV 検出器または PDA 検出器、カラムオーブン）
5. ODS カラム（YMC-Pack ODS-AM・粒子径 $5\mu\text{m}$ ・サイズ 250x4.6mm 等）

[試薬]

1. アセトニトリル (HPLC 用)
2. 蒸留水 (HPLC 用または超純水)
3. エタノール (試薬特級品)
4. 酢酸 (試薬特級品)
5. イソフラボン各種標品（和光あるいはフジッコ）

標品は約 10mg を精秤し、70%エタノール（含 0.1%酢酸）に溶解して標準原液とし、使用時に最終濃度が 10mg/1 となるように希釈する。標準原液は -20°C 以下で冷凍保存する。

3. 2 分析用試料の抽出方法

試料の抽出法は多検体を取り扱えるように、Tsukamoto *et al.* (1995)1) の抽出法をスケールダウンしたものに改変した。

1. 大豆粉体試料約 60mg を精秤し、1.5ml マイクロチューブに入れる。

2. 70%エタノール（含 0.1%酢酸）を 0.6ml 加え、ボルテックスで攪拌後、遠心機で壁面の水滴等を落とし、25℃で 48 時間静置する。
3. 抽出終了後は、分析時まで -20℃で保存する。
4. HPLC 分析には、12,000~15,000rpm で 10 分間遠心後の上澄みを使用する。必要に応じて抽出液をフィルター濾過する。

3. 3 HPLC による分析方法

使用した HPLC 装置構成は、ポンプ：日立 L-2130 形（低圧グラジエントユニット、デガッサ装着）、オートサンプラ：日立 L-2200 形、カラムオーブン：L-2300 形、UV 検出器：日立 L-2400 形、データ収集・解析：EZChrom Elite for Hitachi、である。

3. 3. 1 Kudo *et al.* (1991)2)の方法に準拠した分析条件の場合

(1) 移動相の調製

移動相 A 及び移動相 B をアセトニトリル(HPLC 用)、蒸留水 (HPLC 用) または超純水、酢酸 (HPLC 用が望ましいが特級でも可) を用いて以下のように調製する。

【A 液】水：酢酸(100：0.1、v/v)

【B 液】アセトニトリル：酢酸(100：0.1、v/v)

(2) 分析条件

① 検出器、恒温槽、溶媒の流量の条件

検出波長：260nm

カラム温度：35℃

流量：移動相 A、移動相 B の合計で毎分 1ml

② カラム

YMC-Pack ODS-AM・粒子径 5 μ m・サイズ 250x4.6mm (ワイエムシー)

③ 移動相溶媒の混合比(グラジエント)は以下のように調整する。

初期状態：A 液 85%、B 液 15%の状態を保持する（アセトニトリル濃度 15%）。

0 分から 50 分間：50 分の時点で B 液の割合が 35%になるように直線濃度グラジエントを行う（アセトニトリル濃度 15→35%）。

50 分から 55 分間：B 液 100%の状態を保持する（アセトニトリル濃度 100%）。

55 分から 70 分間：A 液 85%、B 液 15%の状態を保持する（アセトニトリル濃度 15%）。

70 分後に次の試料を注入し、分析を開始する。

(3) 定性及び定量

① 分離された物質の定性はイソフラボン標準試料の保持時間との比較により行う。

② 定量は検量線法により行う。検量線は標準試料の濃度と検出出力結果との関係を回帰分析して作成する。検出出力結果にはピーク面積を用いることが多い。

3. 3. 2 分析時間短縮のために移動相溶媒の混合比を変える場合

大豆のイソフラボン含量に関する育種では、多数の個体や系統を分析しなければならない。従って、短期間で効率よく選抜するためには、1 検体当たりの分析時間

を短縮する必要がある。ここでは、「3. 3. 1 (2) 分析条件③」の溶媒の混合比のみを変更して分析時間を短縮した。

(1) 移動相の調製

3. 3. 1 と同じ。

(2) 分析条件

① 検出器、恒温槽、溶媒の流量の条件は「3. 3. 1」に従う。

② カラムは「3. 3. 1」と同じ。

③ 移動相溶媒の混合比(グラジエント)は以下のように調整する。

初期状態：A液 85%、B液 15%の状態を保持する(アセトニトリル濃度 15%)。

0分から17分間：A液 85%、B液 15%の状態を保持する(アセトニトリル濃度 15%)。

17分から35分間：35分の時点でB液の割合が47%になるように直線濃度グラジエントを行う(アセトニトリル濃度 15→47%)。

35分から39分間：B液 100%の状態を保持する(アセトニトリル濃度 100%)。

39分から48分間：A液 85%、B液 15%の状態を保持する(アセトニトリル濃度 15%)。

48分後に次の試料を注入し、分析を開始する。

(3) 定性及び定量

3. 3. 1 と同じ。

3. 3. 3 分析時間短縮および溶媒使用量削減のためにカラムサイズを変えた場合

ここでは、既存の高速液体クロマトグラフ装置に、長さ、内径あるいは粒子径の異なるカラムを装着し、分析条件を検討した。

(1) 移動相の調製

3. 3. 1 と同じ。

(2) 分析条件

① 検出器、恒温槽、溶媒の流量の条件

検出波長：260nm

カラム温度：カラム1 (35℃)、カラム2と3 (40℃)

流量：移動相A、移動相Bの合計で毎分0.5ml

② カラム

1：YMC-Pack ODS-AM・粒子径 5 μ m・サイズ 250x3mm (ワイエムシー)
[カラム内径・小]

2：Unison UK-C18・粒子径 3 μ m・サイズ 150x3mm (インタクト)
[カラム長さ・短、内径・小、粒子径・小]

3：Shim-pack VP-ODS・粒子径 5 μ m・サイズ 150x2mm (島津)
[カラム長さ・短、内径・小]

③ 移動相溶媒の混合比(グラジエント)は以下のように調整する。

カラム1：「3. 3. 2」に従う。

カラム2と3：

初期状態：A液 87%、B液 13%の状態を保持する（アセトニトリル濃度 13%）。
0分から9分間：A液 87%、B液 13%の状態を保持する（アセトニトリル濃度 13%）。

9分から19分間：19分の時点でB液の割合が48%になるように直線濃度グラジエントを行う（アセトニトリル濃度 13→48%）。

19分から20分間：20分の時点でB液の割合が100%になるように直線濃度グラジエントを行う（アセトニトリル濃度 48→100%）。

20分から30分間：A液 87%、B液 13%の状態を保持する（アセトニトリル濃度 13%）。

30分後に次の試料を注入し、分析を開始する。

(3) 定性及び定量

3. 3. 1と同じ。

4. 分析例

3. 3で述べた条件で分析した9種類のイソフラボン標準液のクロマトグラムを以下に示す。

4. 1 「Kudo *et al.* (1991)2)の方法に準拠した分析条件の場合」の分析例

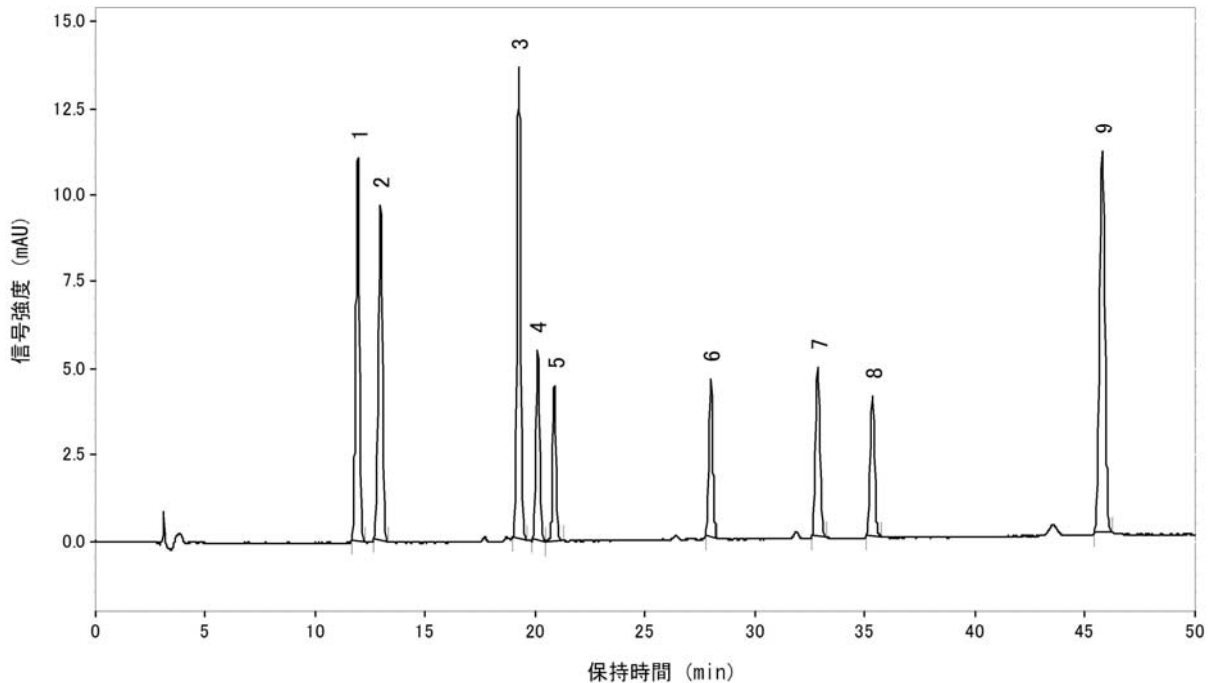


図 4. 1 イソフラボン標準液のクロマトグラム

1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6"-O-malonyldaidzin, 5: 6"-O-malonylglycitin, 6: 6"-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein

4. 2 「移動相溶媒の混合比を変えて分析時間を短縮する場合」の分析例

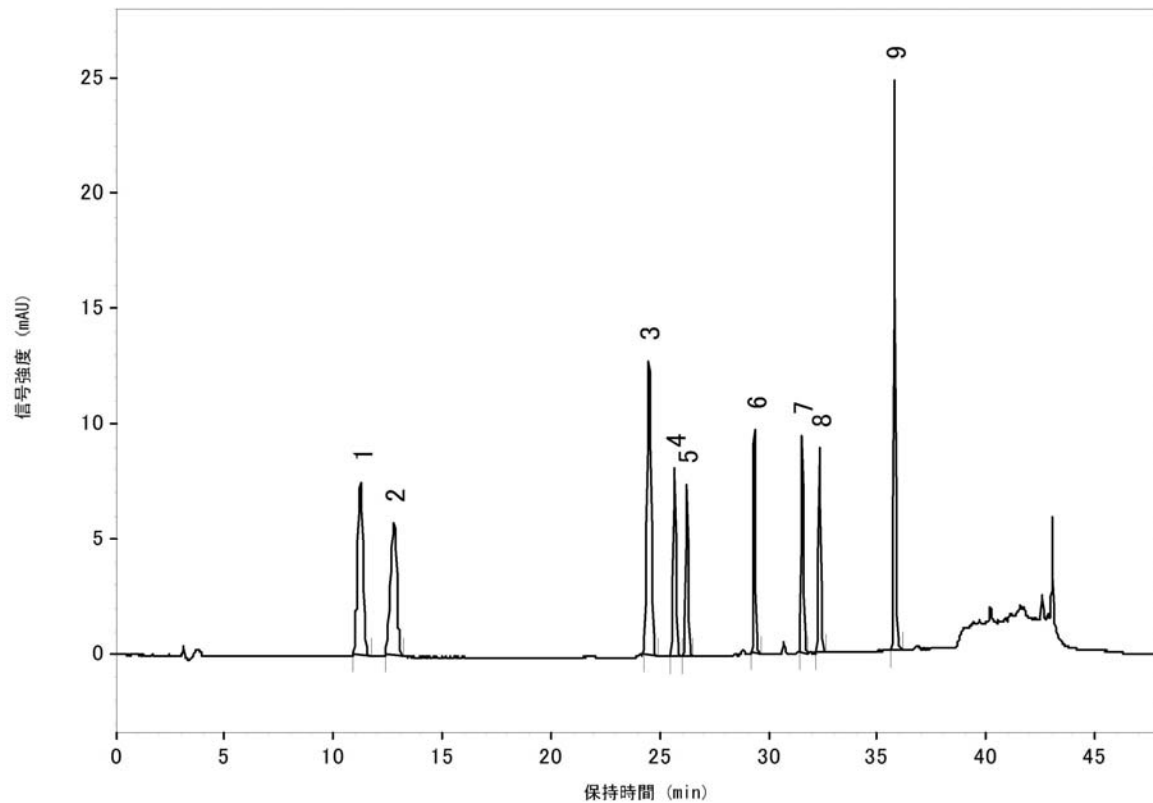


図 4. 2 イソフラボン標準液のクロマトグラム

1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6''-O-malonyldaidzin, 5: 6''-O-malonylglycitin, 6: 6''-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein

4. 3 「カラムサイズを変えた場合」の分析例

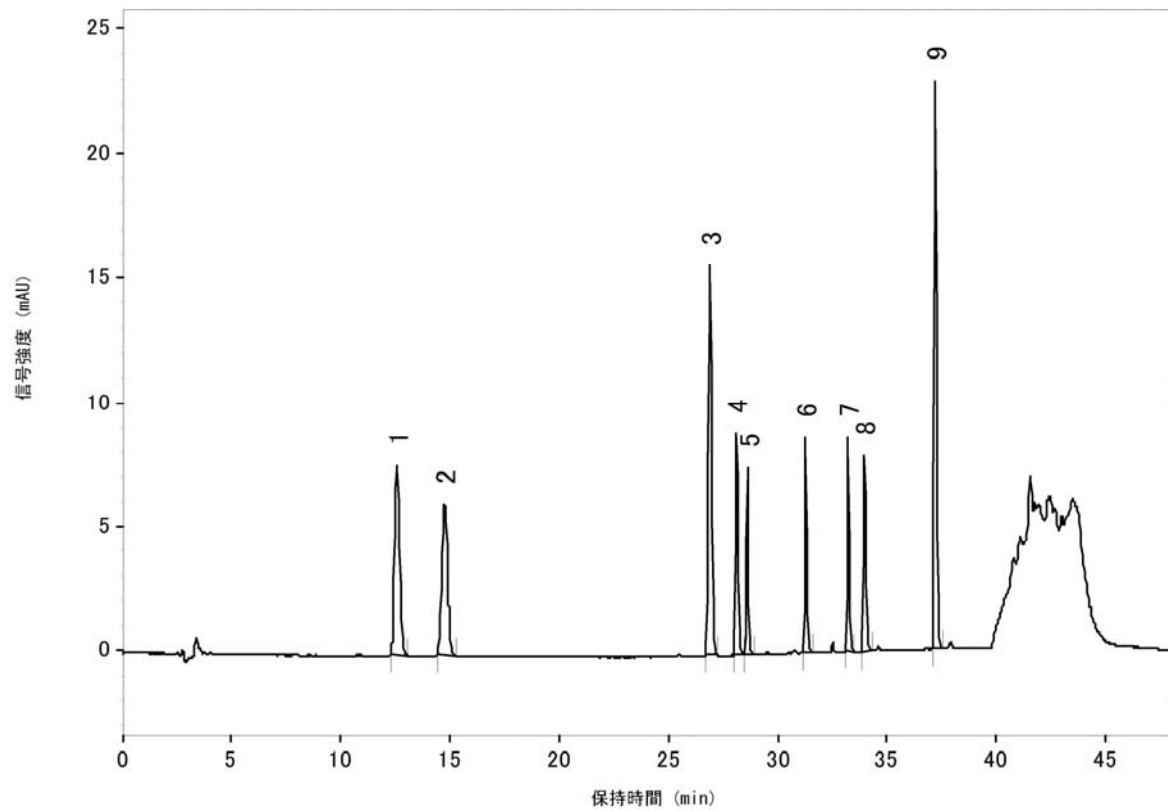


図4. 3-1 カラム1を使用した場合のイソフラボン標準液のクロマトグラム
1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6"-O-malonyldaidzin, 5: 6"-O-malonylglycitin,
6: 6"-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein
カラム1 : YMC-Pack ODS-AM・粒子径 5 μ m・サイズ 250x3mm (ワイエムシー)
[カラム内径・小]

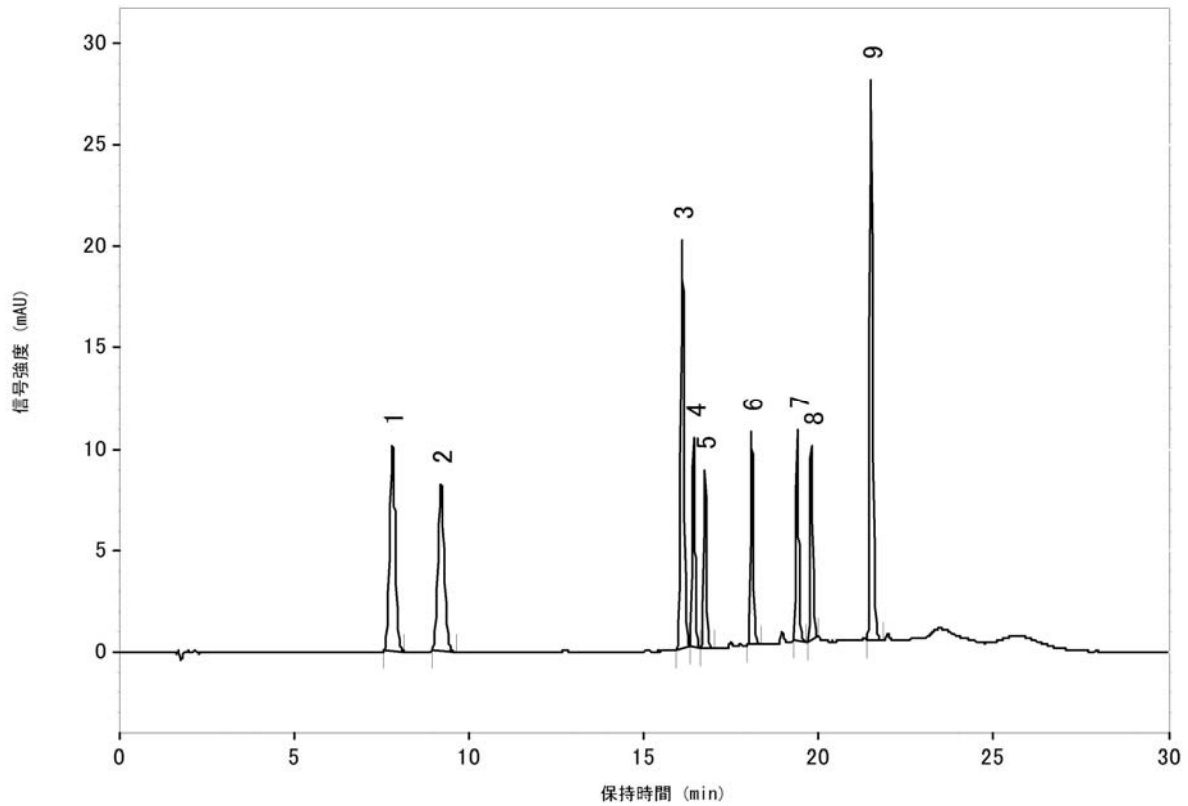


図 4. 3-2 カラム 2 を使用した場合のイソフラボン標準液のクロマトグラム
1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6''-O-malonyldaidzin, 5: 6''-O-malonylglycitin,
6: 6''-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein
カラム 2 : Unison UK-C18・粒子径 3 μ m・サイズ 150x3mm (インタクト)
[カラム長さ・短、内径・小、粒子径・小]

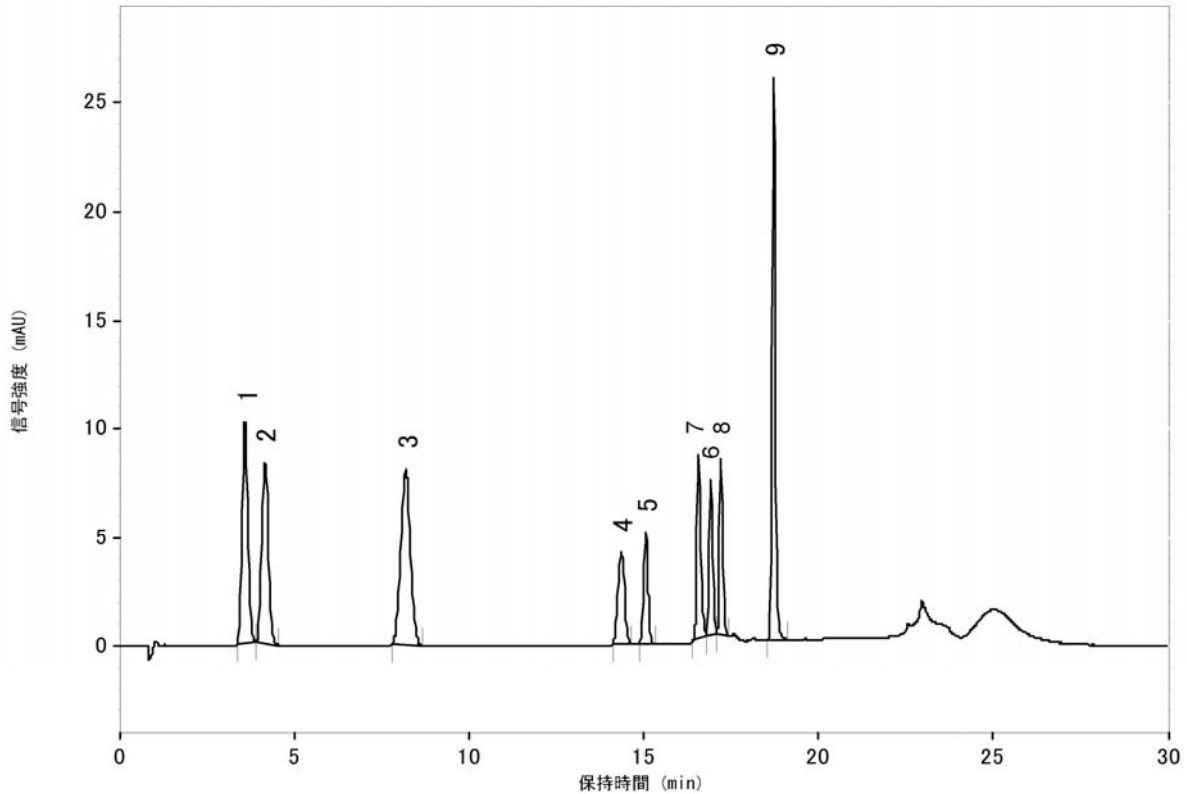


図4. 3-3 カラム3を使用した場合のイソフラボン標準液のクロマトグラム
1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6''-O-malonyldaidzin, 5: 6''-O-malonylglycitin,
6: 6''-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein

カラム3 : Shim-pack VP-ODS・粒子径 5 μ m・サイズ 150x2mm (島津)

[カラム長さ・短、内径・小]

他のカラムと異なり、daidzeinの溶出が6''-O-malonylgenistinより先になった。

5. 食品の分析結果例

大豆種子ならびに大豆加工食品に含まれるイソフラボンの分析結果を以下に示す。
なお、分析試料には、大豆種子からは「3. 3. 1」の通りに、大豆加工食品（豆腐、納豆、味噌）からは、約1gの食品に5mlの70%エタノール（含0.1%酢酸）を加えて、ホモジナイズ後、室温で24時間振とうし、12,000rpm、15分間遠心し、上澄みをフィルター濾過した抽出液を用いた。分析条件は、いずれも「3. 3. 2」の方法を用いた。

5. 1 大豆種子

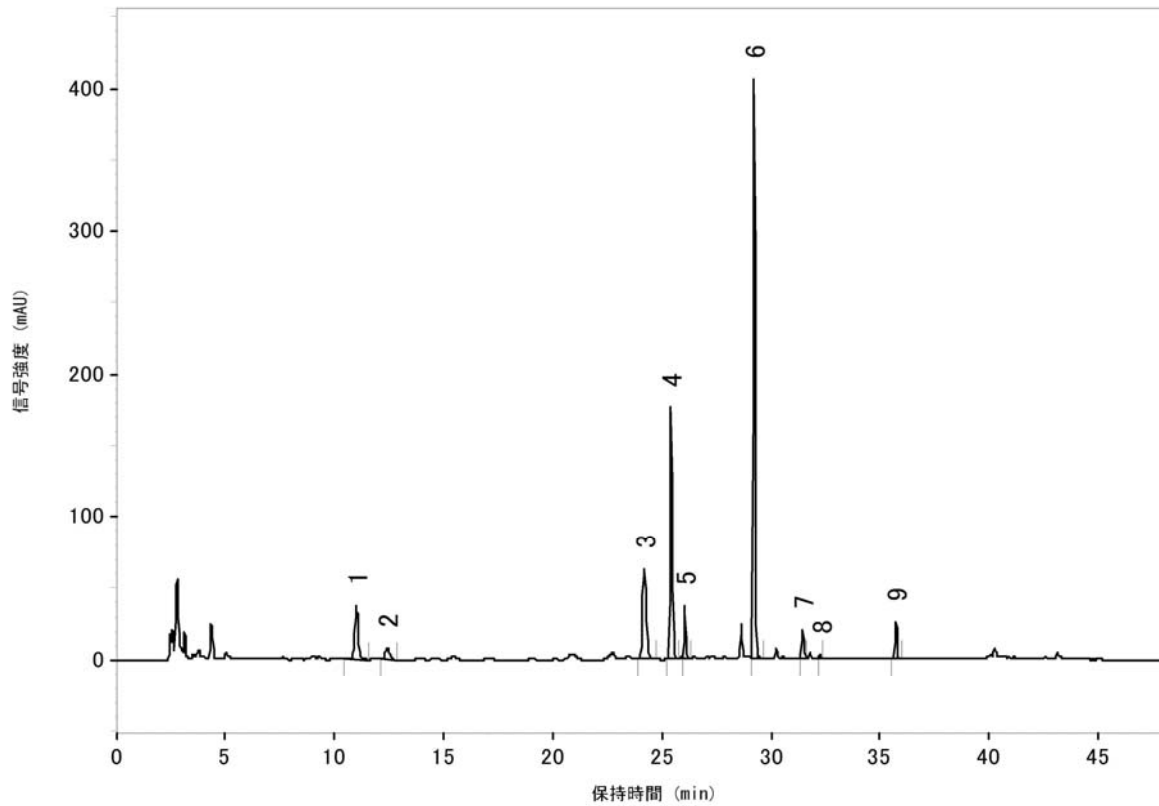


図 5. 1 - 1 大豆全粒種子中に含まれるイソフラボンのクロマトグラム
1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6''-O-malonyldaidzin, 5: 6''-O-malonylglycitin,
6: 6''-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein

供試品種はイソフラボン高含量の「ふくいぶき」（2006年近中四農研センター産）。全粒種子中ではマロニル化配糖体が多く含まれる。胚軸にのみ含まれるグリシテインをアグリコンとするイソフラボンの含量は少ない。

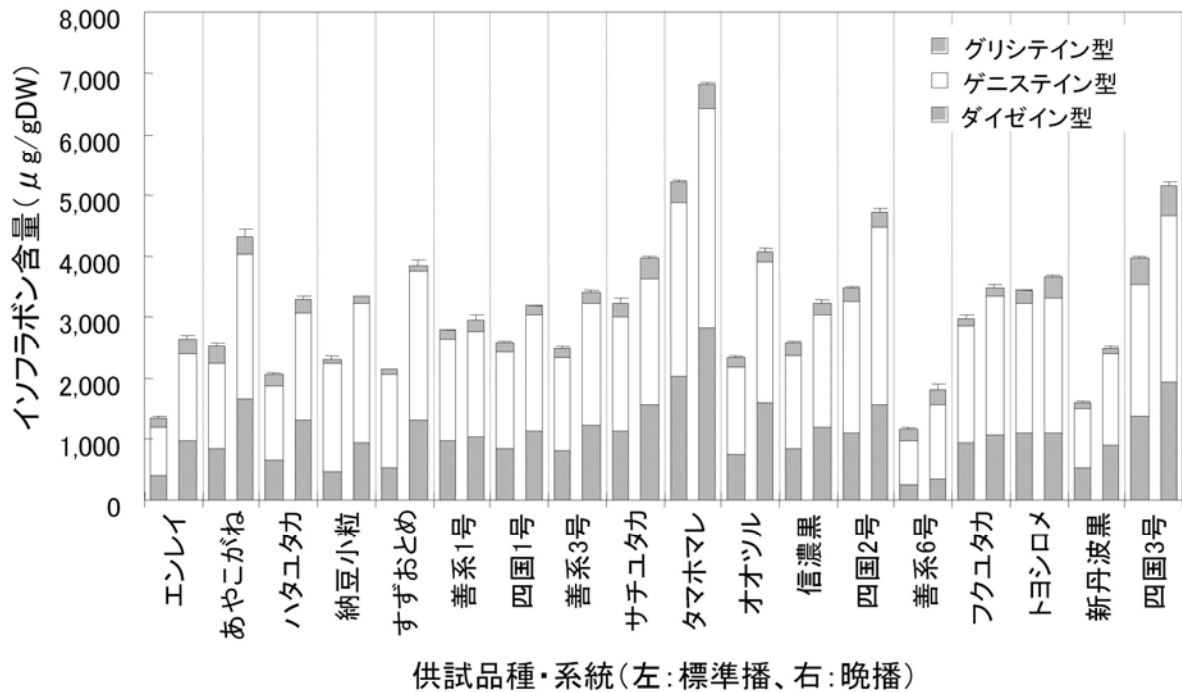


図5. 1-2 異なる播種期で栽培されたダイズ品種・系統の全粒種子中イソフラボン含量

2003年近中四農研センター産（香川県善通寺市）、18点、2播種期

図中の積み重ね棒およびバーは、各イソフラボン型の平均値および総含量の標準偏差を示す。

標準播種栽培されたダイズ品種・系統の総イソフラボン含量は116~579mg/100g・乾物重の範囲に分布し、平均値は297mg/100g・乾物重であった。最高はタマホマレ、最低は善系6号であった。

供試した全品種・系統において、晩播栽培により総イソフラボン含量が高まる傾向が認められた。

総イソフラボン含量に対するダイゼイン型（あるいはゲニステイン型）イソフラボンの比率は品種・系統により異なった。

5. 2 豆腐（絹）

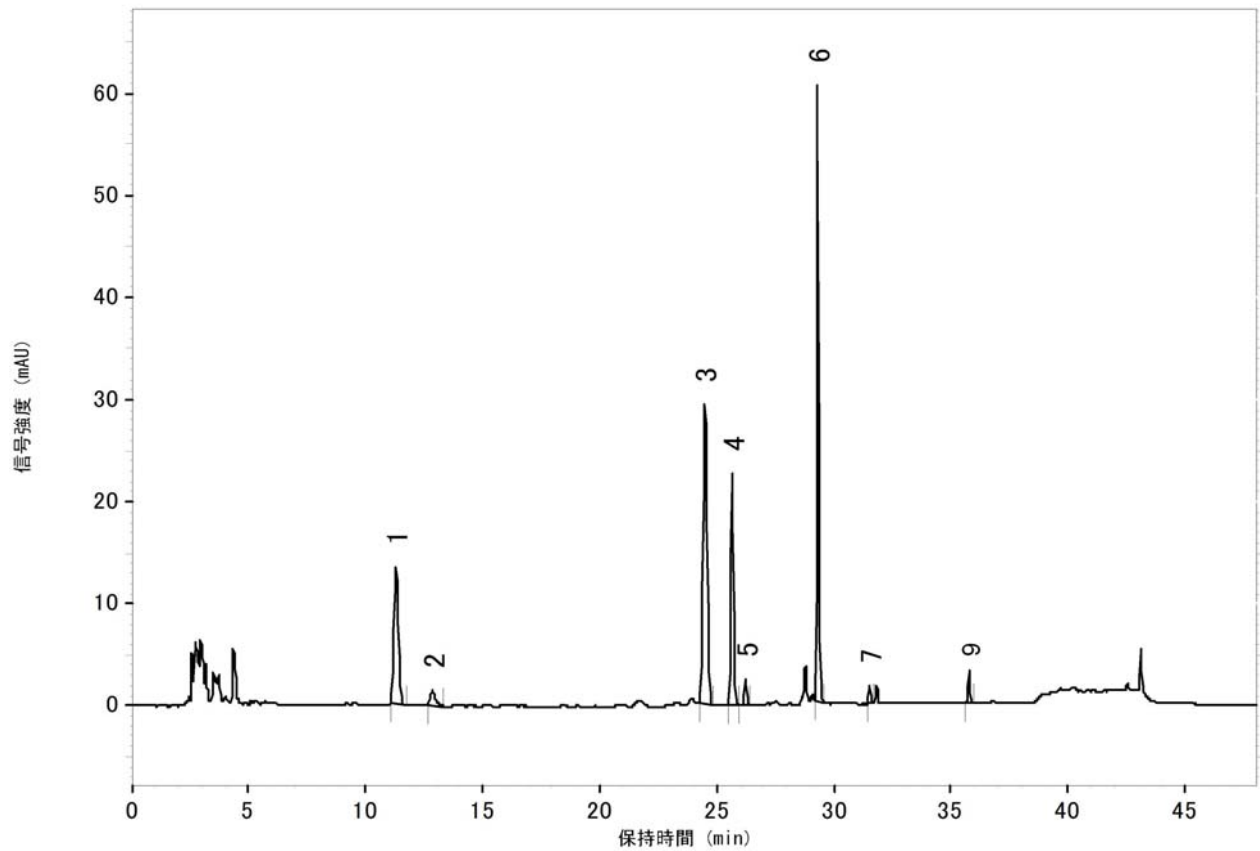


図 5. 2 豆腐（絹）に含まれるイソフラボンのクロマトグラム

1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 4: 6''-O-malonyldaidzin, 5: 6''-O-malonylglycitin, 6: 6''-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 9: genistein

供試した豆腐（絹）は市販品。

豆腐ではマロニル化配糖体が他の大豆加工製品に比べ多く含まれていた。glycitein は検出限界以下であった。

5. 3 納豆

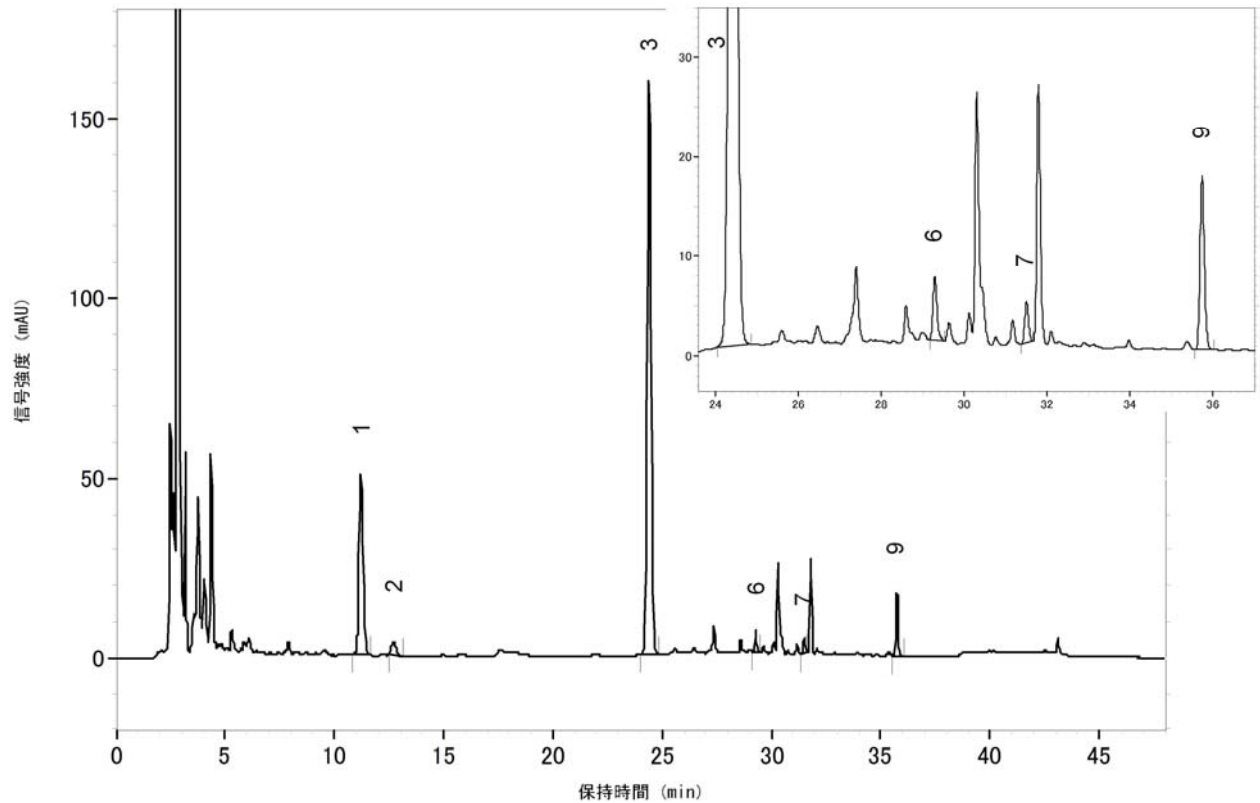


図 5. 3 納豆に含まれるイソフラボンのクロマトグラム

1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 6: 6''-O-malonylgenistin, 7: daidzein, 9: genistein
供試した納豆（中粒）は市販品。

今回分析した納豆では、全粒種子と比較してマロニル化配糖体含量が顕著に減少していた。なお、納豆に特有のイソフラボンとして、サクシニル化配糖体が報告されている 3) が、標準品を入手できなかったため、本分析では確認できなかった。

5. 4 味噌

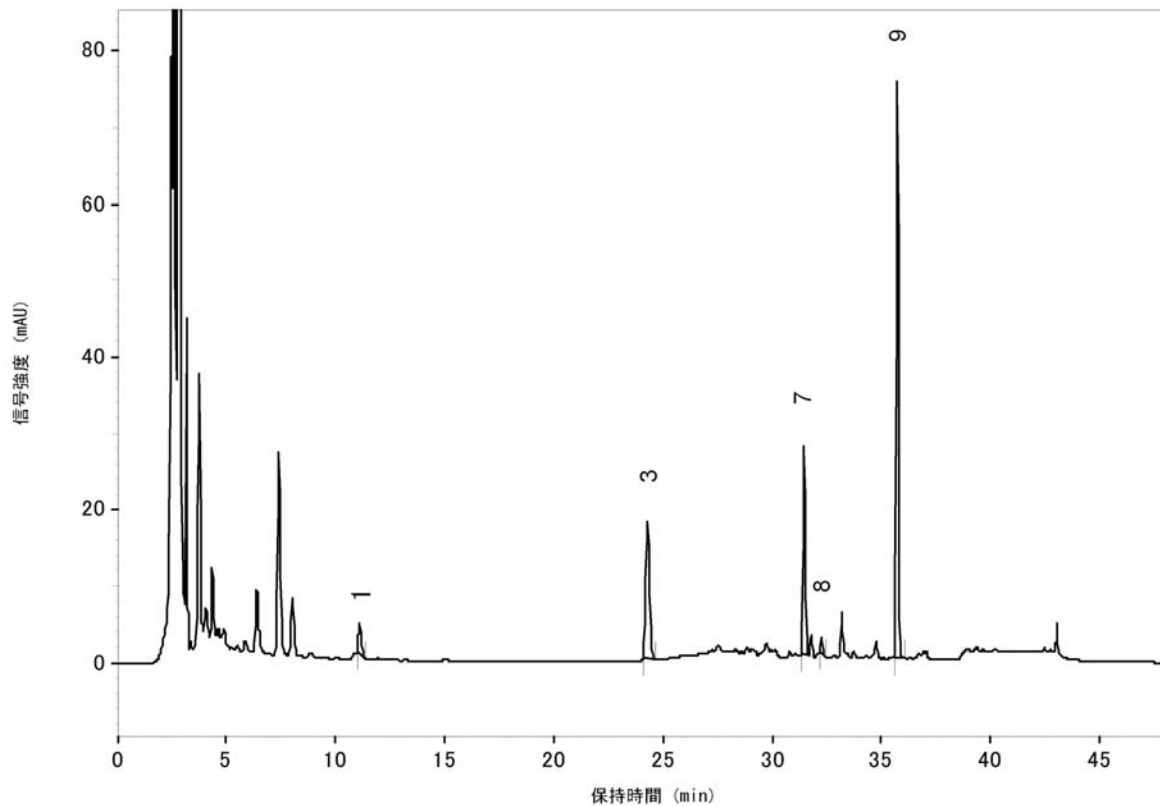


図 5. 4 - 1 白味噌に含まれるイソフラボンのクロマトグラム

1: daidzin, 3: genistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein

供試した味噌は、四国 6 号（2007 年近中四農研センター産）を原料に、中央味噌研究所において 2008 年に試作（国産大豆協議会品質評価分科会）。冷蔵保存。

マロニル化配糖体は検出限界以下であった。味噌醸造過程で分解されたためと考えられる。他方、アグリコンの量が顕著に増加した。

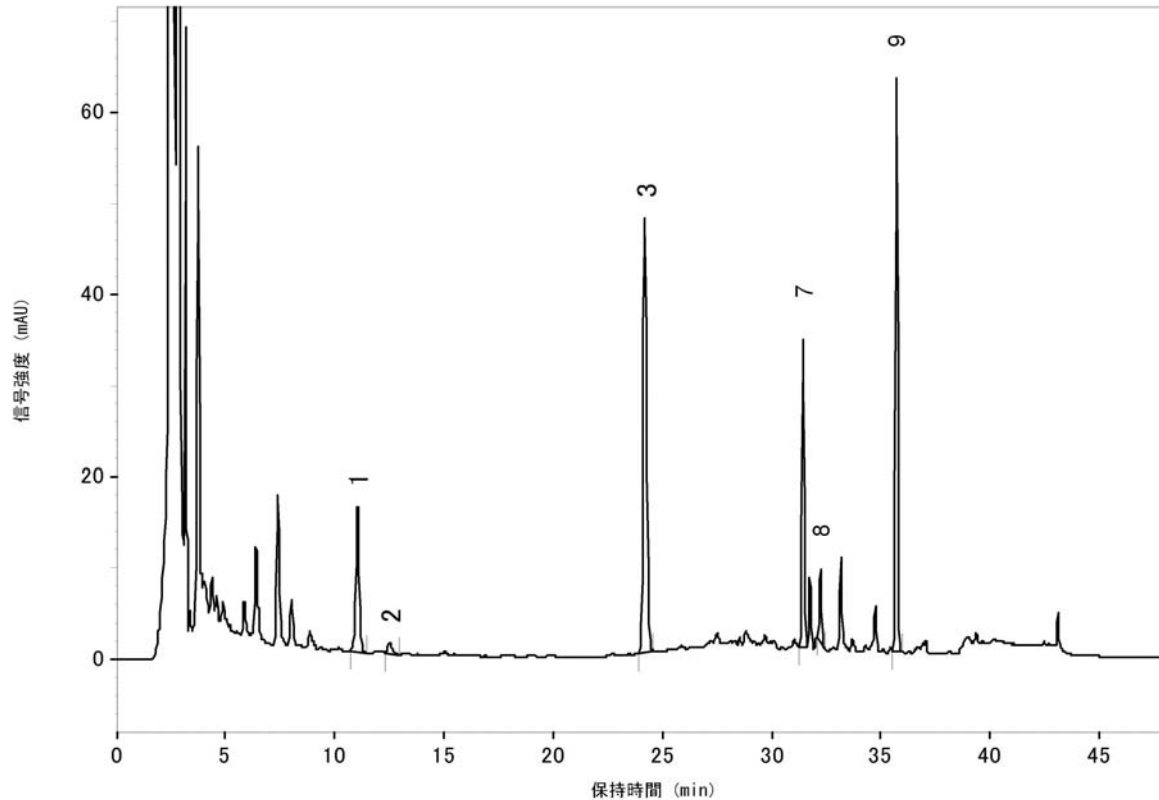


図5. 4-2 赤味噌に含まれるイソフラボンのクロマトグラム

1: daidzin, 2: glycitin, 3: genistin, 7: daidzein, 8: glycitein, 9: genistein

供試した味噌は、四国6号（2007年近中四農研センター産）を原料に、中央味噌研究所において2008年に試作（国産大豆協議会品質評価分科会）。冷蔵保存。

白味噌と同様に、マロニル化配糖体は検出限界以下であった。他方、アグリコンの量が顕著に増加した。

表 5 大豆食品中のイソフラボン含量 (図 5. 1 ~ 図 5. 4 - 2)

	イソフラボン含量 (mg/100g)				
	大豆全粒種子	豆腐 (絹)	納豆	白味噌	赤味噌
daidzin	32.8	22.3	6.3	1.6	7.2
glycitin	9.1	2.1	0.9	nd	0.6
genistin	47.2	50.5	10.0	6.3	17.2
6"-O-malonyldaidzin	155.6	nd	9.3	nd	nd
6"-O-malonylglycitin	26.8	nd	0.9	nd	nd
6"-O-malonylgenistin	216.7	1.6	16.0	nd	nd
daidzein	6.0	0.5	0.3	4.2	5.0
glycitein	0.8	nd	nd	0.4	1.4
genistein	1.0	2.3	0.4	10.8	8.8
合計	496.1	79.3	44.1	23.3	40.2

注1)各クロマトグラムのパーク面積から算出した。

注2)イソフラボン含量は生重100g当たりの量で示した。

注3)「nd」は、検出限界以下を意味する。

6. 分析上の留意、注意点

○カラム内径を小さくしたとき、抽出液の溶出力が強いとピークのリーディングが起る場合がある。抽出液を移動相と同じ溶媒に変えるか、希釈して溶出力を弱めるとリーディング現象を回避できる。

○アセトニトリル、蒸留水は HPLC グレードであれば、製造メーカー間の差はない。

7. その他

本報では、筆者らが行っているイソフラボン分析方法を述べたが、「健康補助食品規格基準集 (その 2)」(財団法人 日本健康・栄養食品協会)に大豆イソフラボンの試験方法が示されているので、そちらも参照していただきたい。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. Tsukamoto, C. *et al.* Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at

- different temperatures during seed development. J. Agric. Food Chem. 43:1184-1192 (1995)
2. Kudou, S. *et al.* Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds. Agric. Biol. Chem. 55:2227-2233 (1991)
 3. Toda, T. *et al.* New 6-O-acyl isoflavone glycosides from soybeans fermented with *Bacillus subtilis* (*natto*). I. 6-O-succinylated isoflavone glycosides and their preventive effects on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. Biol. Pharm. Bull. 22:1193-1201 (1999)

－以上－

[トップページに戻る](#)