ACQUITY UPLC H-Class システムを用いた大豆抽出粉末中のイソフラボンの分析

目的

大豆抽出粉末中のイソフラボン分析において、データの質を維持した分析の高速化を目的として、従来のHPLCを用いた分析からUPLC®へ分析法を移管します。

背景

大豆イソフラボンはその生理活性から注目を集めている成分の一つです。大豆イソフラボンには、女性の更年期障害の緩和、男性の前立腺肥大/前立腺癌の抑制効果があると言われています。中でもフラボノイドの一種であるゲニステインは、エストロゲンアンタゴニスト作用による抗発癌作用が、科学的に示唆されています。

栄養補助食品メーカーでは、大豆や大豆抽出物中のイソフラボンの含有量を、一般的にHPLCを用いて分析しています。現在、米国薬局方 (USP) では、イソフラボンの分析に1分析74分という非常に長いグラジエント分析が採用されています。長い分析時間は製品の製造から出荷までの迅速化の制限要素となりえます。一般的な定量分析ではブランクサンプル、5濃度の標準試料と2種類の保持時間確認サンプルの分析をする必要があり、結果実サンプル分析の前に10時間以上の分析時間を要します。

イソフラボンの分析に、従来と同等のデータの品質－直線性、保持時間の再現性、目的成分と不純物分離能－を維持した高速分析を適用することは、生産性の向上、コスト削減、サンプルスループットの向上、分析者のトレーニングコストの削減につながります。

ACQUITY UPLC H-Class システムを用いてUSPに準拠したHPLCからUPLCへの分析法移管に成功しました。UPLC分析条件では従来のHPLCでの分析法と比較して約5倍のスループットを実現しました。その結果、1サンプルあたりの分析コストを抑え、且つ高品質の結果を迅速に得る事ができ、ラボの生産性の向上に大きく貢献します。

ソリューション

2種の大豆抽出粉体サンプル中のイソフラボンについて、USPに準拠したHPLC分析条件をそのまま使用し、ACQUITY UPLC® H-Class システムを用いて分析をしました。各定量化合物（ダイジン、グリシチン、ゲニスチン、ダイゼイン、グリシテイン、ゲニステイン）につき5点検量線を作成し、その結果全ての化合物において R^2が0.999 以上の良好な結果が得られました。保持時間の再現性も全ての化合物において、RSDが0.30%以内でした。分離度は、最もピークが近接するダイジンとグリシチンにおいて、5.6でした。また分析した2種のイソフラボン抽出粉体サンプル中のトータルのイソフラボン量は38.9 mg/g と 25.5 mg/gでした。

次にACQUITY UPLCカラムカリキュレータ（分析法移管ソフトウェア）を用いて、HPLC分析条件を UPLC HSS T3 カラム（2.1 x 100 mm、1.8 µm ）を使用したUPLC分析条件へ移行しました。カラムの粒子径を考慮に入れない場合は、カラムカリキュレータでのUPLCでの分析時間は24.7分、流速は0.319 mL/minでした。この流速は2 µm以下の粒子径において最適な線速度よりも低流速です。粒子径を考慮に入れた最適な流速である0.60 mL/minを適用した場合は更なる分析時間の短縮を図ることができます。

ACQUITY UPLC H-Classシステム特徴の一つである15,000 psi (1,000 bar)のシステム耐圧により、2 µm以下の粒子径のカラムを最適な流速で日常分析に用いることができます。この技術により分析時間の短縮と、高分離を同時に実現することが可能です。この最適な流速を今回の分析に適用し、分析時間を従来の分析時間のおよそ1/5の15.7分に短縮することができました。（図2）

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

この新しいUPLC分析条件を適用し、同様に大豆イソフラボンの分析を行いました。その結果、全ての化合物のR^2が0.999 以上、保持時間の再現性も全ての化合物において、RSD 0.20%以下という、従来の分析法と同等もしくはそれ以上の良好な結果が得られました。分離度は、最もピークが近接するダイジンとグリシチンにおいて、6.4と更に良好な結果となりました。また2種の大豆抽出粉体サンプルにおけるトータルのイソフラボン量は38.8 mg/g と 25.1 mg/gとなり、従来の分析法と非常に良好な相関性が得られました。

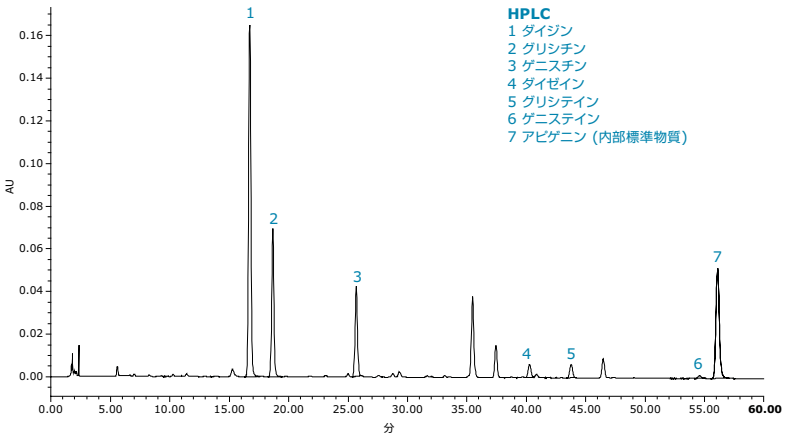

図1. 大豆抽出粉末中のイソフラボンのHPLCクロマトグラム

まとめ

従来のHPLC分析法からACQUITY UPLC H-Classを用いたUPLC法への分析法移管に成功しました。分析法移管にACQUITY UPLCカラムカリキュレータを用いることで、簡単にHPLCからUPLCへ分析法を移管することができます。新たなUPLC分析条件は従来法に比べおよそ1/5に分析時間を短縮でき、更にデータは従来法と同等もしくはそれ以上の結果が得られました。従来と同等もしくはそれ以上の高品質の結果を迅速に取得できれば、1サンプルあたりの分析コストの大幅な削減が可能です。現在HPLC分析法を採用されていて、UPLC分析法へ移管による分析の効率化や低コスト化を検討されているお客様に、ACQUITY UPLC H-Class システムは最適なソリューションを提供することができます。

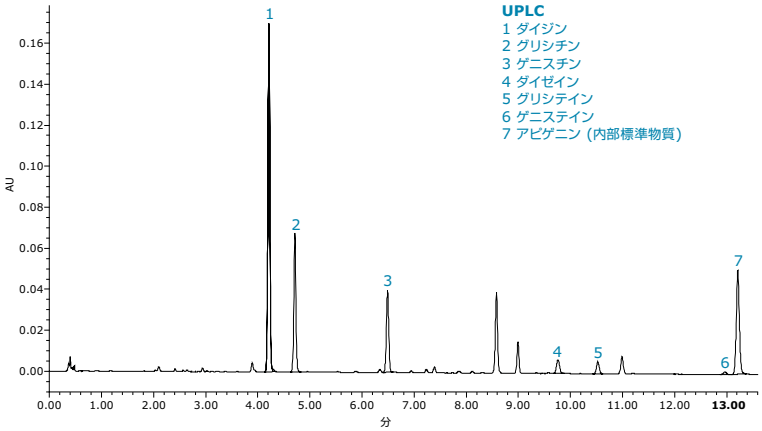

図2. 大豆抽出粉末中のイソフラボンのUPLCクロマトグラム

適用規格：JISQ9001:2008
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・ データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters、ACQUITY UPLC および UPLC は Waters Corporation の登録商標です。The Science of What's Possible は Waters Corporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第 5 小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡

©2010 Waters Corporation. Produced in Japan.
2010年11月 720003284JA PDF