

大豆のイソフラボン量について；産地による比較

扇谷陽子 相澤 博 大谷倫子 藤田晃三

要 旨

大豆のダイゼイン，ゲニステイン等イソフラボン量を把握することを目的として，道内で流通している乾燥大豆を中心にその測定を行った。

平成13年12月～平成14年5月に購入した道産大豆13検体，北海道以外で栽培された国産大豆4検体，輸入大豆3検体の計20検体中のイソフラボン類であるダイゼイン，ゲニステイン，グリシテイン及びこれらの配糖体計12種類を測定した。この結果，測定したイソフラボン類の総量は，道内で栽培された大豆13検体で2,200～5,400 $\mu\text{g/g}$ (アグリコン換算値：1,200～3,000 $\mu\text{g/g}$)の範囲であった。供試大豆中値が最も高かった音更大袖は，栽培年が異なる2検体を測定したが，5,400及び4,000 $\mu\text{g/g}$ といずれも高い値を示した。値が最も低かったスズマルについても，同様な2検体で2,200及び2,800 $\mu\text{g/g}$ と低い値を示した。北海道以外で栽培された国産大豆4検体は2,000～3,400 $\mu\text{g/g}$ (アグリコン換算値：1,100～2,000 $\mu\text{g/g}$)，輸入大豆3検体は4,000～4,900 $\mu\text{g/g}$ (アグリコン換算値：2,100～2,600 $\mu\text{g/g}$)であった。種類別では，いずれもゲニステインとその配糖体の割合が高く，その重量割合は52～71%であった。また，そのほとんどが配糖体として存在し，最も多いマロニル化配糖体の重量割合は，70～90%であった。アセチル化配糖体は，ほとんど検出されなかった。

音更大袖やスズマルは北海道の一般的な栽培品種であり，北海道産の大豆のイソフラボン量の範囲は幅広いと考えられた。また，他の地方産大豆との比較から，北海道で栽培されたことのみにより，イソフラボン量が増加するとは考えられない結果であった。

1. 緒 言

大豆中に存在するイソフラボン類であるダイゼイン，ゲニステイン，グリシテインは，エストロゲン受容体に親和性を有することや^{1), 2)}，乳がん等の発がん抑制や血中コレステロール値低下など様々な有用な作用に関連すること³⁾が知られている。乾燥大豆中においてはアグリコンの他，グリコシド，マロニル化配糖体及びアセチル化配糖体として存在することが確認されている⁴⁾。これらの含有量は，品種⁵⁾や生育時の温度⁶⁾により変動し，登熟中の温度が高いほど含有量が減少することが報告されている⁶⁾。そこで，国内で北部に位

置する北海道産大豆のイソフラボン量を把握することを目的として，道内に流通している乾燥大豆のダイゼイン，ゲニステイン，グリシテイン及びこれらの配糖体12種類（構造式：図1）を測定したので，その概要について報告する。

2. 材料と方法

2-1 試 料

平成13年12月～平成14年5月に道内で購入した乾燥大豆を使用した。

試料の詳細は表1に示すとおりであった。

2-2 試 薬

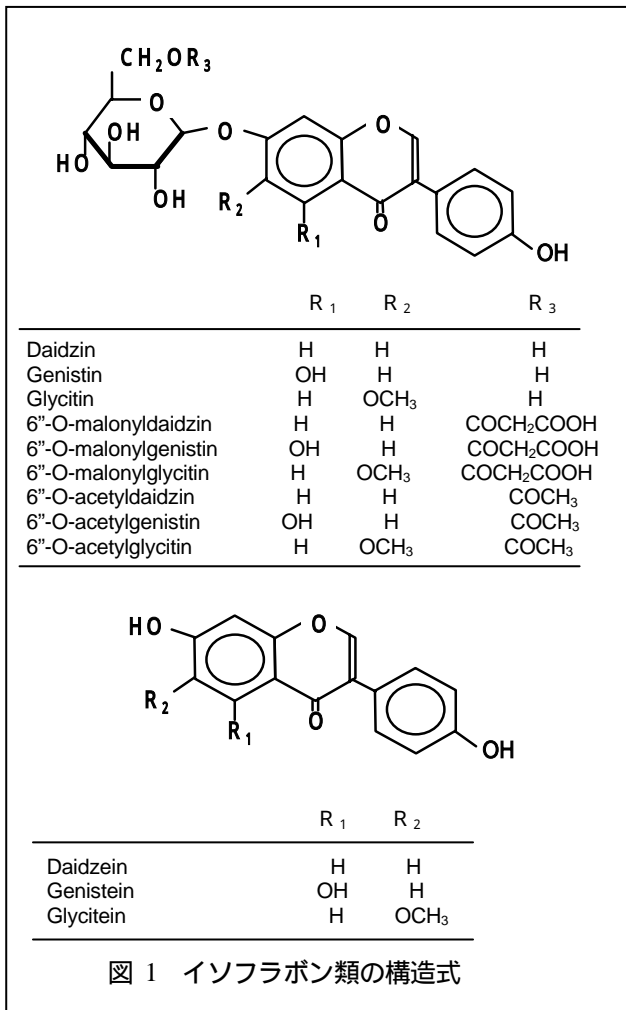


図 1 イソフラボン類の構造式

表 1 試料大豆の詳細

No	品種又は銘柄	生産年	産地	水分 (%)	種皮の色
1	音更大袖	2000	北海道(音更町)	11.5	緑
2	音更大袖	2001	北海道(新篠津村)	12.3	緑
3	大振袖 ¹	2001	北海道	12.3	緑
4	いわいくろ	2001	北海道(今金町)	13.9	黒
5	光黒 ¹	2000	北海道	12.3	黒
6	光黒 ¹	2001	北海道(石狩地方)	16.1	黒
7	とよまさり ¹	2000	北海道	12.6	黄
8	とよまさり ¹	2001	北海道(石狩地方)	15.3	黄
9	つるの子 ¹	2001	北海道(今金町)	14.3	黄
10	スズマル	2000	北海道(鶴川町)	12.6	黄
11	スズマル	2001	北海道(鶴川町)	11.8	黄
12	秋田 ¹	2000	北海道(京極町)	12.1	黄
13	ツルムスメ	2001	北海道	10.6	黄
14	不明	2003.2 ²	宮城県	12.3	緑
15	丹波黒	2003.3 ²	兵庫県(丹波)	12.8	黒
16	不明	2002.12 ²	栃木県	11.7	黄
17	不明	2001	鹿児島県	10.7	黄
18	不明	2001	アメリカ合衆国	10.1	黄
19	不明	2001	アメリカ合衆国	8.7	黄
20	不明	2000	カナダ	12.1	黄

1 : 銘柄 2 : 品質保持期限

(1)標準物質：ダイゼインはICNバイオメディカル製，ゲニステイン，グリシテイン，グリシチン，6''-O-マロニルダイジン，6''-O-マロニルゲニステイン，6''-O-マロニルグリシチンは和光純薬工業(株)製の生化学用，ダイジン，ゲニステイン，6''-O-アセチルダイジン，6''-O-アセチルゲニステイン，6''-O-アセチルグリシチンはフジッコ(株)製の試験研究用試薬を用いた。

(2)その他の試薬：抽出用エタノール，メタノール，アセトニトリルは残留農薬用，塩酸，酢酸は特級，移動層用メタノールはHPLC用を使用した。

2-3 装置

(1)粉碎機：オスターブレンダー ST-1

(2)遠心分離機：(株)久保田製作所製7930型

(3)HPLC：ウォータース社製717プラス型オートサンプラー，600型ポンプ，996型フォトダイオードアレイ検出器，ミレニアム32データ処理ソフトウェア

2-4 測定方法

抽出溶液は，70%エタノール，80%メタノールおよび塩酸 アセトニトリルを用い図2に示すとおり抽出し比較した。測定方法は，Kudouらの方法⁴⁾に準じた。(測定方法概略：図2，HPLCの条件：図3)

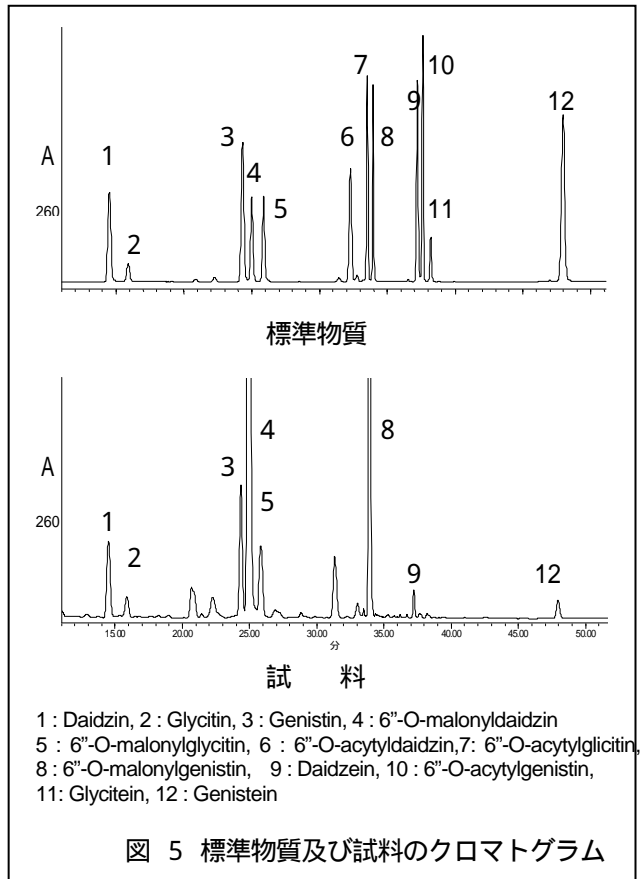
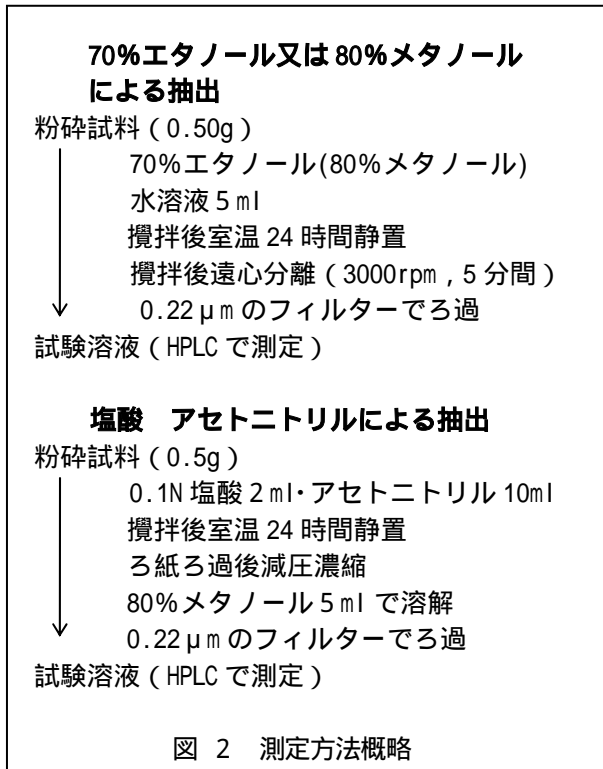
なお，Kudouらの方法のうち，HPLCの移動層組成のグラジエント条件を，図3に示すとおり変更した。定量は260nmの吸光度で行った。また，220～400nmの吸光度を測定し，このスペクトルを使用して，定性の確認を行った。

また，水分については，五訂日本食品標準成分表分析マニュアル(科学技術庁資源調査会)による常圧加熱乾燥法(直接法)で測定した。

3. 結果

3-1 抽出溶液の検討

3種類の抽出溶液を用いてイソフラボン類の抽出量を比較した。(n=3)この結果，面積の和が最も多く感度が良かったのは図4に示すとおり70%エ



カラム: YMC-Pack ODS-AM-303

移動層: A: 15%アセトニトリル水溶液(0.1%酢酸含有)
 B: 35%アセトニトリル水溶液(0.1%酢酸含有)

移動層のグラジエント条件:

A:B = 100:0 56:44 (開始から25分, 直線)
 A:B = 20:80 0:100 (25分から50分まで, 直線)

カラム温度: 25

流速: 1.0ml/min

検出: UV 260nm

図 3 HPLC の条件

タノールで抽出した場合であった。そこで抽出はこの溶液で行うこととした。

3-2 標準物質及び試料のクロマトグラム

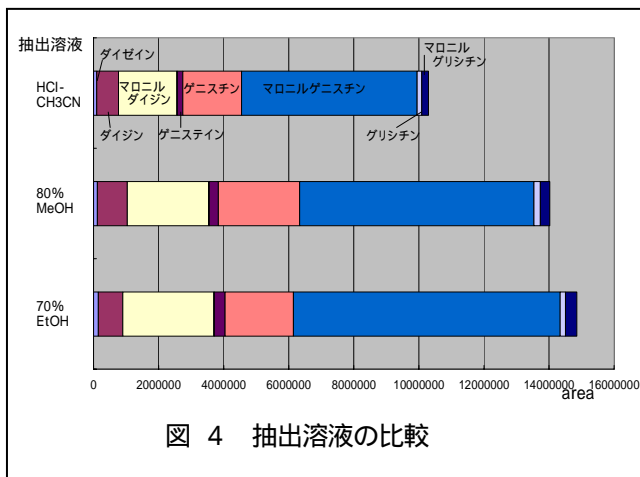
標準物質及び試料のクロマトグラムは図5に示すとおりで、各イソフラボンの分離、ベースラインの安定性、妨害物質等について特に問題はなかった。

3-3 検量線

検量線は、クロマトグラフのピーク面積から作成した。イソフラボン類の最高濃度は、それぞれの含有量に応じ、6"-0-マロニルダイジン、6"-0-マロニルゲニスチンは300 μg/ml、6"-0-マロニルグリシチン、ゲニスチンは100 μg/ml、ダイジン、グリシチン、ダイゼイン、ゲニステインは50 μg/ml、その他は10 μg/mlとした。検量線は、それぞれについて最高濃度まで原点を通る直線性を示した。定量下限は全て0.5 μg/mlであった。

3-4 添加回収

ダイジン、ゲニスチン、グリシチンが検出されな



い小豆0.50 gに、これらを各100 µg添加し回収試験を行なった。(n = 3)回収率は、それぞれ94, 95, 97%であった。

3-5 乾燥大豆のイソフラボン量

測定結果は表2～4および図6に示すとおりで、測定したイソフラボン類の総量は、2,000～5,400 µg/g(アグリコン換算値:1,100～3,000 µg/g)であった。

構成割合は図7に示すとおりで、ゲニステインとその配糖体の割合が52～71%と高く、ダイゼインとその配糖体が28～47%であった。化学形態では最も高いマロニル化配糖体の重量割合は70～90%であった。アセチル化配糖体はほとんど検出されなかった。

3-5(1) 北海道産大豆のイソフラボン量

北海道産の乾燥大豆13検体のイソフラボン量の測定結果は表2および図6, 7に示すとおりで、イソフラボンの総量は2,200～5,400 µg/g(アグリコン換算値:1,200～3,000 µg/g)であった。供試した大豆中で値が最も高かった音更大袖は、栽培年が異なる2検体を測定したが、5,400及び4,000 µg/gといずれも高い値を示した。値が最も低かったスズマルについても栽培年が異なる2検体を測定したが、2,200及び2,800 µg/gと低い値を示した。ゲニステインとその配糖体の重量割合は、52～71%であった。マロニル化配糖体の重量割合は、70～88%であった。

3-5(2) 北海道以外の国産大豆のイソフラボン量

北海道以外で栽培された国産乾燥大豆4検体のイソフラボン量の結果は表3および図6, 7に示すとおりで、その含有量の総量は、2,000～3,400 µg/g(アグリコン換算値:1,100～2,000 µg/g)であった。ゲニステインとその配糖体の重量割合は、57～67%であった。マロニル化配糖体の重量割合は、72～89%であった。

3-5(3) 輸入大豆のイソフラボン量

アメリカ合衆国およびカナダから輸入された乾燥

表2 北海道産大豆のイソフラボン含量

	No1	No2	No3	No4	No5	No6	No7
Daidzein	54	50	42	51	55	74	57
Genistein	59	52	39	47	56	75	99
Glycitein	-	-	-	-	-	-	-
Daidzin	290	280	210	280	250	190	210
Genistin	430	350	250	290	320	230	470
Glycitin	-	-	28	-	79	-	82
6"-O-malonyldaizin	1200	2000	1200	1400	950	820	630
6"-O-malonylgenistin	1900	2600	1500	1600	1400	1200	1600
6"-O-malonylglycitin	70	110	59	74	120	44	78
6"-O-acetyldaizin	-	-	-	-	-	-	-
6"-O-acetylgenistin	9	-	-	-	-	-	7
6"-O-acetylglycitin	-	-	-	-	-	-	-
Total	4000	5400	3300	3700	3200	2600	3200
Total(アグリコン換算)	2200	3000	1800	2000	1800	1500	1800

	No8	No9	No10	No11	No12	No13
Daidzein	59	65	46	21	72	37
Genistein	85	59	56	24	120	36
Glycitein	-	-	6	-	-	-
Daidzin	180	280	170	89	230	190
Genistin	350	310	270	130	530	210
Glycitin	38	-	72	33	-	70
6"-O-malonyldaizin	770	1400	510	980	600	1500
6"-O-malonylgenistin	1600	1600	950	1400	1600	1800
6"-O-malonylglycitin	55	71	85	91	45	91
6"-O-acetyldaizin	-	-	-	-	-	-
6"-O-acetylgenistin	-	-	-	-	6	-
6"-O-acetylglycitin	-	-	-	-	-	-
Total	3100	3800	2200	2800	3200	3900
Total(アグリコン換算)	1800	2000	1200	1500	1800	2100

単位: µg / g n=2

表3 北海道以外の国産大豆のイソフラボン含量

	No14	No15	No16	No17
Daidzein	66	11	27	23
Genistein	100	16	32	24
Glycitein	-	-	-	-
Daidzin	260	57	130	110
Genistin	500	120	190	140
Glycitin	76	-	48	48
6"-O-malonyldaizin	740	540	990	720
6"-O-malonylgenistin	1600	1200	1700	1200
6"-O-malonylglycitin	97	45	110	94
6"-O-acetyldaizin	-	-	-	-
6"-O-acetylgenistin	8	-	-	6
6"-O-acetylglycitin	-	-	-	-
Total	3400	2000	3200	2400
Total(アグリコン換算)	2000	1100	1800	1300

単位: µg / g n=2

表4 輸入大豆のイソフラボン含量

	No18	No19	No20
Daidzein	36	23	73
Genistein	37	21	92
Glycitein	-	-	7
Daidzin	250	140	330
Genistin	290	150	480
Glycitin	58	57	68
6"-O-malonyldaizin	1800	1500	1100
6"-O-malonylgenistin	2300	1900	1700
6"-O-malonylglycitin	140	170	97
6"-O-acetyldaizin	-	-	-
6"-O-acetylgenistin	10	-	9
6"-O-acetylglycitin	-	-	-
Total	4900	4000	4000
Total(アグリコン換算)	2600	2100	2200

単位: µg / g n=2

大豆3検体のイソフラボン量の結果は表4および図6に示すとおりで、その含有量の総量は4,000～4,900 µg/g(アグリコン換算値:2,100～2,600 µg/g)であった。ゲニステインとその配糖体の重量割合

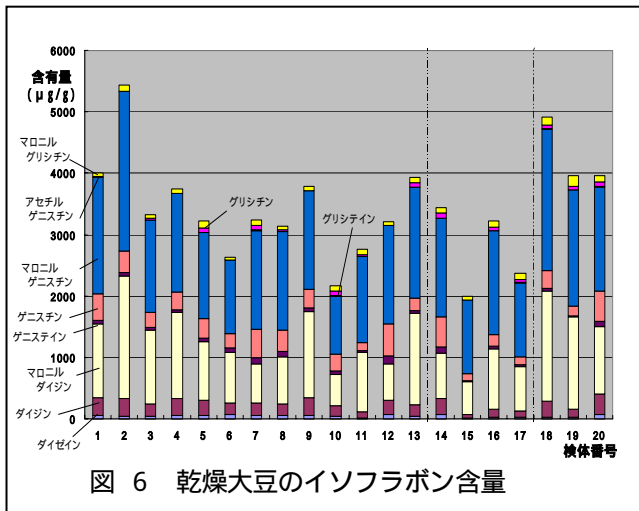


図 6 乾燥大豆のイソフラボン含量

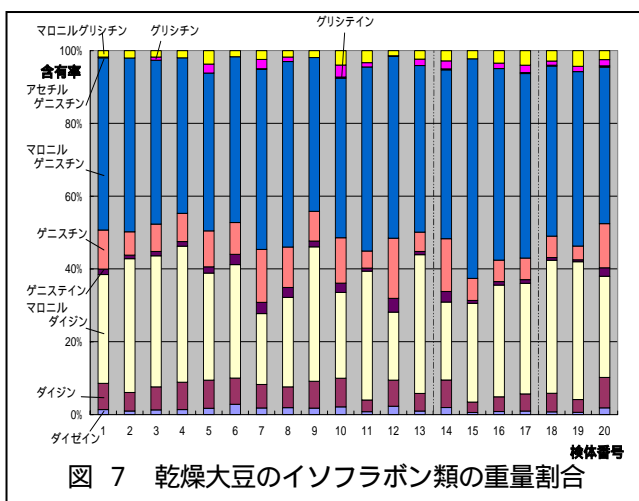


図 7 乾燥大豆のイソフラボン類の重量割合

は、52～58%であった。マロニル化配糖体の重量割合は、74～90%であった。なお、No18とNo19は生産年は同一であるが、輸入日が異なる大豆である。また、いずれも非遺伝子組換え体として流通している大豆である。

4. 考 察

大豆イソフラボン類の測定方法については多くの報告^{4), 7)-10)}がある。抽出溶液については、アルコール^{4), 7)-9)}や塩酸 アセトニトリル¹⁰⁾などが用いられている。今回、70%エタノール、80%メタノール、塩酸 アセトニトリルで抽出を比較した結果、70%エタノールで抽出した場合に最も感度が良かったため、これを用いて抽出することとした。抽出温度については、高温で行うとマロニル体が分解されるこ

とが報告⁴⁾されているため室温とした。

イソフラボン類の総量については、音更大袖のように含有量が多い品種が存在する一方でスズマルのように少ない品種も存在し、今回供試した大豆の最大と最小では2.5倍以上の差があった。音更大袖が平成12年度の北海道での品種別作付面積では5番目で809ha(5.0%)、スズマルは3番目が2,071ha(12.8%) (都道府県別品種別作付面積 農林水産省生産局農産振興課調べ)であるから、どちらも一般的な栽培品種である。そこで、北海道で栽培された大豆のイソフラボン量は広い範囲にあると考えられた。

北海道以外で栽培された国産大豆や輸入品は品種や産地の詳細が不明のものがあ、さらに検体数が少ないが、イソフラボン量が道内産の一部の検体より多いものがあったことから、今回の調査では寒冷地である北海道で栽培されたことのみにより、イソフラボン量が増加するとは考えられない結果であった。

それぞれのイソフラボンの構成割合については、栽培地や総量が異なっても比較的類似し、種類としてはゲニステイン類が、化学形態としてはマロニル化配糖体が多かった。

種皮の色と量や構成割合には、今回測定した範囲では関連は認められなかった。

イソフラボン類の有用な作用は、前述のとおり多数報告されているが、一方で乳幼児用食品中のイソフラボン類の摂取による甲状腺機能への影響¹¹⁾など、望ましくない作用が発現した事例の報告もある。イソフラボン類の有用性を享受し、望ましくない作用の発現を起こさないためには、今後さらに作用と量・共存物質の影響・摂取者の年齢と作用など様々な点についての解明が進むことが必要と考えられる。今後これらの研究が進み、イソフラボン量について広い範囲にある北海道大豆が有効に活用されることを期待したい。

今後は今回検査しなかった品種、特に最近道内でも遺伝子組換え大豆が試験的に栽培されていること

から，遺伝子組換え大豆についてもイソフラボン類の量を調査したいと考えている。

5. 結 語

大豆のイソフラボン類の量を調査した結果，その範囲が幅広いこと，種類としてゲニステインとその配糖体が多く，その多くがマロニル配糖体として存在することが判った。また，産地による違いは明確ではなかった。

今後は，今回検査しなかった品種，特に遺伝子組換え大豆についても調査したい。

6. 文 献

- 1) Kuiper, G. G. ; Lemmen, J. G. ; Carlsson, B. et al. : Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor . *Endocrinol.***139**, 4252-63, 1998.
- 2) Song, T. T. ; Hendrich, S. ; Murphy, P. A. : Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1607-10, 1999.
- 3) Ren, M. Q. ; Kuhn, G. ; Wegner, J. et al. : Isoflavones, substances with multi-biological and clinical properties. *Eur. J. Nutr.* **40**, 135-46, 2001.
- 4) Kudou, S. ; Fleury, Y. ; Welti, D. et al. : Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds (*Glycine max* MERILL). *Agric. Biol. Chem.* **55(9)**, 2227-33, 1991.

5) 遠藤浩志, 大野正博, 金子憲太郎 他 : 県産農産物を利用した機能性食品の開発(第2報), 平成12年度福島県ハイテクプラザ試験研究報告, 10-13, 2000.

6) Tukamoto, C. ; Shimada, S. ; Igita, K. 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**, 1184-92, 1995.

7) Franke, A. A. ; Custer, L. J. ; Cerna, C. M. ; et al. : Quantitation of phytoestrogens in legumes by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1905-12, 1994.

8) Coward, L. ; Smith, M. ; Kirk, M. et al. : Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 1486S-91S, 1998.

9) 菊地洋子, 島村保洋, 広門雅子 他 : HPLCによる食品中のDaidzin, Daidzein, Genistin及びGenisteinの分別定量, *食衛誌*, **40(6)**, 444-54, 1999.

10) Wang, H. ; Murphy, P. A. : Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa : Effect of variety, crop year, and location. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1674-7, 1994.

11) Divi, R.L. ; Chang, H. C. ; Doerge, D. R. : Anti-thyroid isoflavones from the soybean. *Biochem. Pharmacol.* **54**, 1087-96, 1997.

Amounts of Isoflavones in Soybeans ; Comparison among Those from producing District

Yoko Ogiya, Hiromu Aizawa, Tomoko Otani and Kozo Fujita

Isoflavones in soybeans are known to have such useful effects as reducing cancer risk and lowering concentration of blood cholesterol. Isoflavon amounts in soybeans vary depending on temperatures at which their seeds have been developed. In this report, we determined the amount of three kinds of isoflavon and their derivatives in 20 soybeans harvested in Hokkaido prefecture, a relatively cool area, and other prefectures. We determined the amount of Daidzein, Genistein, Glycitein, their 7-O- -glycosides, their 6''-O-malonyl- -glycosides, and their 6''-O-acetyl- -glycosides by an HPLC technique. In soybeans from Hokkaido prefecture, total amounts of isoflavon ranged from 2,200 to 5,400 μ g/g (n=13). The highest levels of isoflavon were found in Otohukeosode (4,000, 5,400 μ g/g), whereas the lowest levels of isoflavon were found in Suzumaruru (2,200, 2,800 μ g/g). On the other hand, total amounts of isoflavon in soybeans from other prefectures ranged from 2,000 to 3,400 μ g/g (n=4) and in the imported soybeans they ranged from 4,000 to 4,900 μ g/g (n=3). Concerning the chemical structures of isoflavones in soybeans, genistein and its conjugates were major isoflavones (52~71%), and most of conjugates were malonylated (70~90%). As Otohukeosode and Suzumaruru are popular soybeans in Hokkaido prefecture, the total amounts of isoflavones in soybeans from this area seemed to be widely distributed. From these results, we concluded that the amounts of isoflavones in soybeans from Hokkaido prefecture are not significantly higher than those in products from other prefectures and imported.