

野菜に含まれるフラボノイドを抽出し、C₁₈ カラムで UV 検出器および MS 検出器を用いて分析しましたので紹介します。

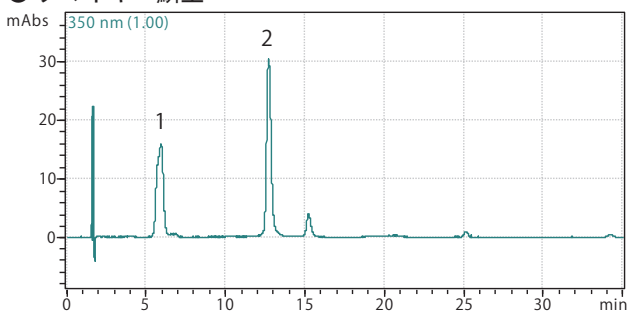
■ はじめに

● 注目成分フラボノイドについて

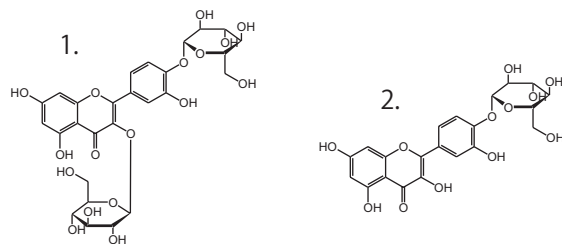
フラボノイドはポリフェノール的一种で、フラボノイド分子に含まれるフェノール性 OH 基による抗酸化作用があり、生活習慣病が防げるなどと言われています¹。茶カテキン、タマネギのケルセチン² や大豆イソフラボン、柑橘類のヘスペリジン³ が有名ですが、ソバに含まれるルチン、そのほかマメ科植物、ハウレンソウ^{4,5}、パセリ⁶ などセリ科の野菜、またアブラナ科の野菜にも含まれています。茶カテキンなどの一部を除き、野菜フラボノイドはほとんど配糖体として存在しているといわれています。

■ 野菜フラボノイドの HPLC-UV 分析

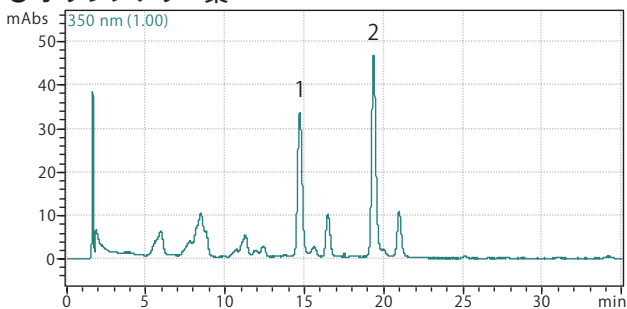
● タマネギ 鱗茎



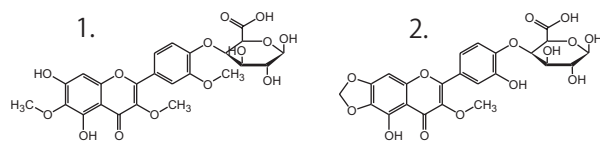
サンプル：タマネギ鱗茎抽出液
ピーク：1. ケルセチン 3,4'-ジグルコシド
2. ケルセチン 4'-グルコシド(スピラエオシド)



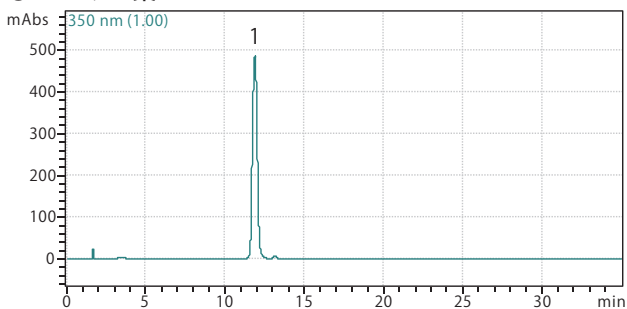
● ハウレンソウ 葉



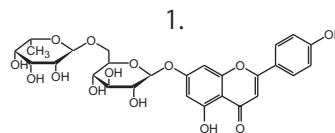
サンプル：ハウレンソウ葉抽出液
ピーク：1. スピナトシド-4'-グルクロニド
2. 5,3',4'-トリヒドロキシ-3-メトキシ-6:7-メチレン-ジオキシフラボン-4'-グルクロニド



● パセリ 葉



サンプル：パセリ葉抽出液
ピーク：1. イソロイホリン(アビゲニン7-ルチノシド)



カラム：COSMOSIL 2.5C₁₈-MS-II, 2.0 mmI.D.-150 mm
移動相：A 液；0.1%-ギ酸(メタノール/水 = 10/90)
B 液；0.1%-ギ酸(メタノール/水 = 90/10)
B conc. 30%→60%(0分→25分)、60%(25分→30分)、
60%→30%(30分→30.1分)、30%(30.1分
→35分)

流速：0.2 mL/min
温度：40°C
検出：UV 350 nm
注入量：5 μL

LC-MS 分析と文献値^{2,4,5,6}より、
各ピークの成分を推定しました。

抽出方法

(1) 野菜サンプルの細切

- ・タマネギ 鱗茎
タマネギの茶色い皮をむき、白い可食部(鱗茎)を包丁で細かく刻む。
- ・ハウレンソウ 葉
ハウレンソウの葉を包丁で細かく刻む。
- ・パセリ 葉
パセリの葉を茎からちぎり、包丁で細かく刻む。

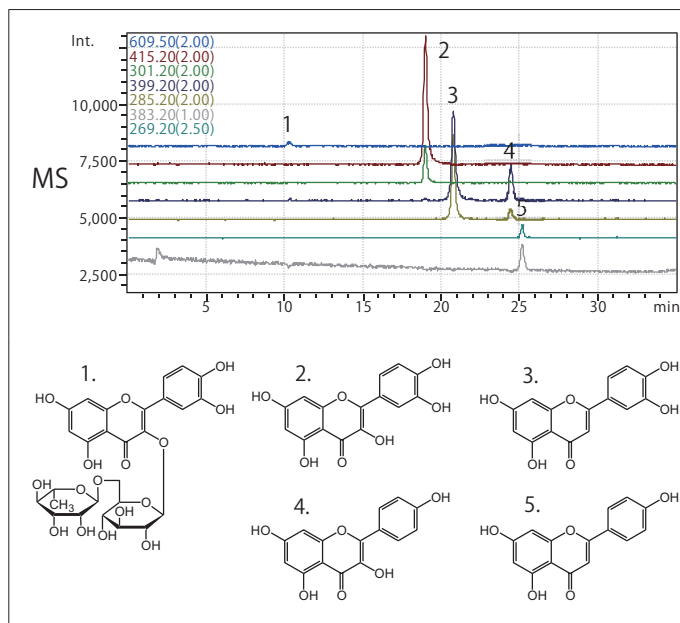
(2) フラボノイドの抽出

- ① 細切サンプルをよく混合し、10 g を量り取る。
- ② 抽出溶媒(メタノール / 水 = 80 / 20) 80 mL を加えて振り混ぜる。

- ③ ときどき振り混ぜたりガラス棒で突き混ぜたりしながら、密栓して室温で一晩放置する。
- ④ Whatman グレード2 ろ紙でろ過し、ろ液を取り分ける。
- ⑤ ろ過残渣に抽出溶媒を加え、洗浄する。
- ⑥ Whatman グレード2 ろ紙でろ過し、ろ液を④のろ液と混合する。
- ⑦ ⑥の液に抽出溶媒を加えて全量を 100 mL にする。
- ⑧ 一部をコスモナイスフィルター(W)でろ過し、ろ液をHPLC サンプルとする。

Whatman は、Whatman International Ltd. の登録商標です。

標準品の HPLC-MS 分析



カラム : COSMOSIL 2.5C₁₈-MS-II, 2.0 mmI.D.-150 mm
 移動相 : A 液 ; 0.1%- ぎ酸(メタノール / 水 = 10 / 90)
 B 液 ; 0.1%- ぎ酸(メタノール / 水 = 90 / 10)
 B conc. 30% → 60%(0 分→ 25 分)、
 60% (25 分→ 30 分)、
 60% → 30%(30 分→ 30.1 分)、
 30%(30.1 分→ 35 分)

流速 : 0.2 mL/min

温度 : 40°C

検出 : MS (ESI probe, MIC(-), 各分子量)

サンプル : 1. ルチン(1 mg/mL) (MW. 610.5, m/z 609)
 2. ケルセチン(1 mg/mL) (MW. 302.2, m/z 415*, 301)
 3. ルテオリン(1 mg/mL) (MW. 286.2, m/z 399*, 285)
 4. ケンフェロール(1 mg/mL) (MW. 286.2, m/z 399*, 285)
 5. アピゲニン(1 mg/mL) (MW. 270.2, m/z 269, 383*)

* トリフルオロ酢酸の付加体を検出しました。

注入量 : 0.25 μL each

参考文献

1. 井上順, 佐藤隆一郎. 化学と生物. 2016, vol. 54, no. 6, p. 416-420.
2. 岡本大作ほか. 園芸学会雑誌. 2006, vol. 75, no. 1, p. 100-108.
3. 野方洋一. 近中四農研報. 2005, vol. 5, p. 19-84.
4. Watanabe, M.; Ayugase, J. J. Sci. Food Agr. 2015, vol. 95, no. 10, p. 2095-2104.
5. 渡辺満, 鮎瀬淳. 日本食品化学工学会誌. 2015, vol. 62, no. 10, p. 501-507.
6. Plazonić, A. et al. Molecules. 2009, vol. 14, no. 7, p. 2466-2490.

分析に用いた製品

分類	用途	製品名	メーカー / 規格	製品番号	サイズ 内径×長さ (mm) / 容量	価格	
カラム	分析	コスモシール 2.5C ₁₈ -MS-II パックドカラム	SP (高速液体クロマトグラフ用)	XXXXX-XX	2.0 mmI.D.-150 mm	ご照会	
試薬	移動相	メタノール		劇	21929-81	1 L	1,550
		蒸留水			14029-91	1 L	1,500
		ぎ酸	劇	08965-82	25 mL	5,000	
前処理	サンプルろ過	Whatman 定性ろ紙(グレード2 90 mm)	Cytiva	1002-090	100 枚	ご照会	
		コスモナイスフィルター(水系)(0.45 μm, 4 mm)	ナカライテスク	06543-04	100 pkg	12,000	

COSMOSIL
 コスモシール、COSMONICE、コスモナイスは、ナカライテスク株式会社の登録商標です。

ご注意 試験・研究用以外には使用しないでください。

※記載の内容は、'19年5月現在の情報に基づいております。
 ※価格に消費税は含まれておりません。

nacalai tesque
 The quality for certainty.



● Web site
<https://www.nacalai.co.jp/cosmosil/>

● 価格・納期のご照会
 試薬はご照会
 0120-489-552

ナカライテスク株式会社

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町498

● 製品に関する技術的なご照会
<https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/>
 TEL:075-211-2703

■ 販売取扱店