

ChroZen高效液相色谱法 分析大豆提取物中的异黄酮

• HPLC 应用



描述

异黄酮是大豆中苯丙烷类化合物等生理活性代谢产物之一，是众所周知的具有有益作用的化合物，如降低心血管风险、预防骨质疏松症、治疗激素紊乱等。

韩国健康功能食品法典规定，含有大豆异黄酮的保健品中非糖苷的总量超过35mg/g。

非糖苷的总和是通过将糖苷含量转换为非糖苷含量并加上非糖苷含量来计算的。[非葡萄糖苷总量=葡萄糖苷含量/1.6+非葡萄糖苷含量]

原材料的含量必须超过规定量，成品的含量应在规定量的80%至120%之间。每天摄入大豆异黄酮糖苷作为食品补充剂需要24~27mg/天。

在本申请说明中，根据韩国健康功能食品规范，使用ChroZen HPLC-PDA对大豆提取物中的3种糖苷和3种非糖苷进行了分析。

仪器和软件

Item	Description	Part No.
Pump	ChroZen HPLC Quaternary Gradient Pump with Vacuum Degasser	9421011020
Autosampler	ChroZen HPLC Autosampler	5421011020
Column oven	ChroZen HPLC Column oven for Analytical scale	3421011020
Detector	ChroZen HPLC Photodiode Array detector	7421011020
Install. Kit	HPLC Performance Kit	1601011890
CDS	YL-Clarity software for single instrument of YL HPLC	5301011000
	Autosampler control of YL-Clarity	5301011040
Column	Fortis Universil C18 (4.6 mm x 250 mm, 5 μ m)	-

试剂和标准品

- 大豆苷 (标准)
- 甘氨酸 (标准)
- 染料木素 (标准)
- 大豆苷元 (标准)
- 甘氨酸 (标准)
- 染料木素 (标准)
- 醋酸
- 二甲亚砜
- HPLC级乙腈
- 甲醇, HPLC级
- 超纯水, 电阻率18.2 M Ω ·cm

标准溶液的制备

- ① 取每种异黄酮标准品50mg至50mL容量瓶中。
- ② 溶解每种葡萄糖苷标准品 (大豆苷、染料木素、甘氨酸) , 并用甲醇稀释至50毫升标记。对于非葡萄糖苷标准品 (大豆苷元、染料木素、甘氨酸) , 使用二甲亚砜进行相同的程序。(1000ppm储备溶液)
- ③ 取各②溶液, 用甲醇稀释制成标准混合物。

※ 在本应用说明中, 我们的一位客户提供了每种化合物在几个浓度水平下的单独标准。因此, 校准曲线是由每个人生成的。

样品溶液的制备

① 样品制备后，用0.45μm注射器过滤器过滤大豆提取物

(※ 请参阅功能性食品规范“大豆异黄酮检测方法”中的样品制备程序。

仪器条件

ChroZen HPLC system			
Mobile phase	A: 0.1% CH ₃ COOH (aqueous solution) B: 0.1% CH ₃ COOH (in Acetonitrile)		
	Time(min)	Mobile phase(%)	
		A	B
	0	80	20
	15	50	50
	25	30	70
	30	80	20
	37	80	20
Column	C18 (4.6 mm x 250 mm, 5 μm)		
Flow rate	1.0 mL/min		
Temperature	40°C		
Injection volume	5 μL		
Detection	Photodiode Array detector, 260 nm		

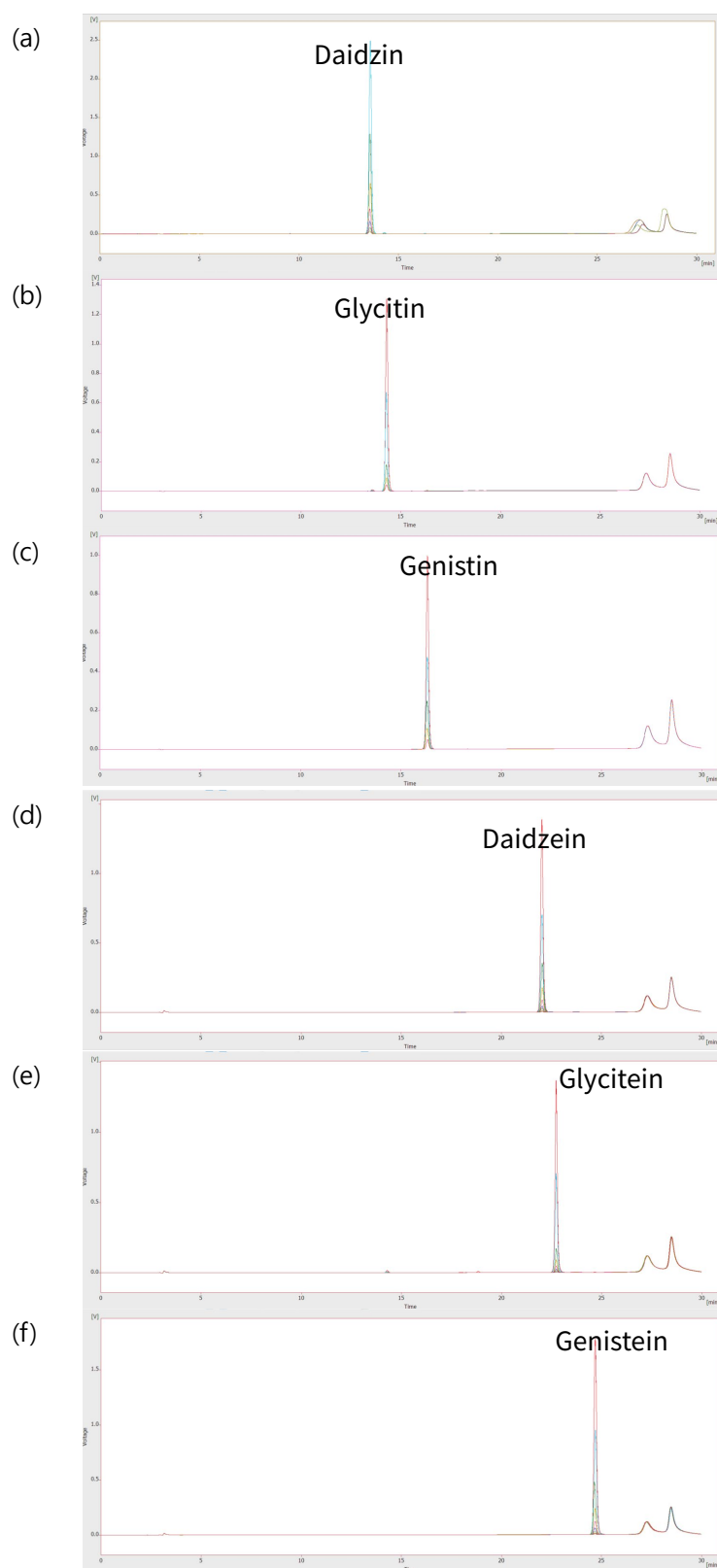


图 1.异黄酮标准品色谱图

(a) 大豆苷, (b) 甘氨酸, (c) 染料木素, (d) 大豆苷元, (e) 甘氨酸, (f) 染料木素

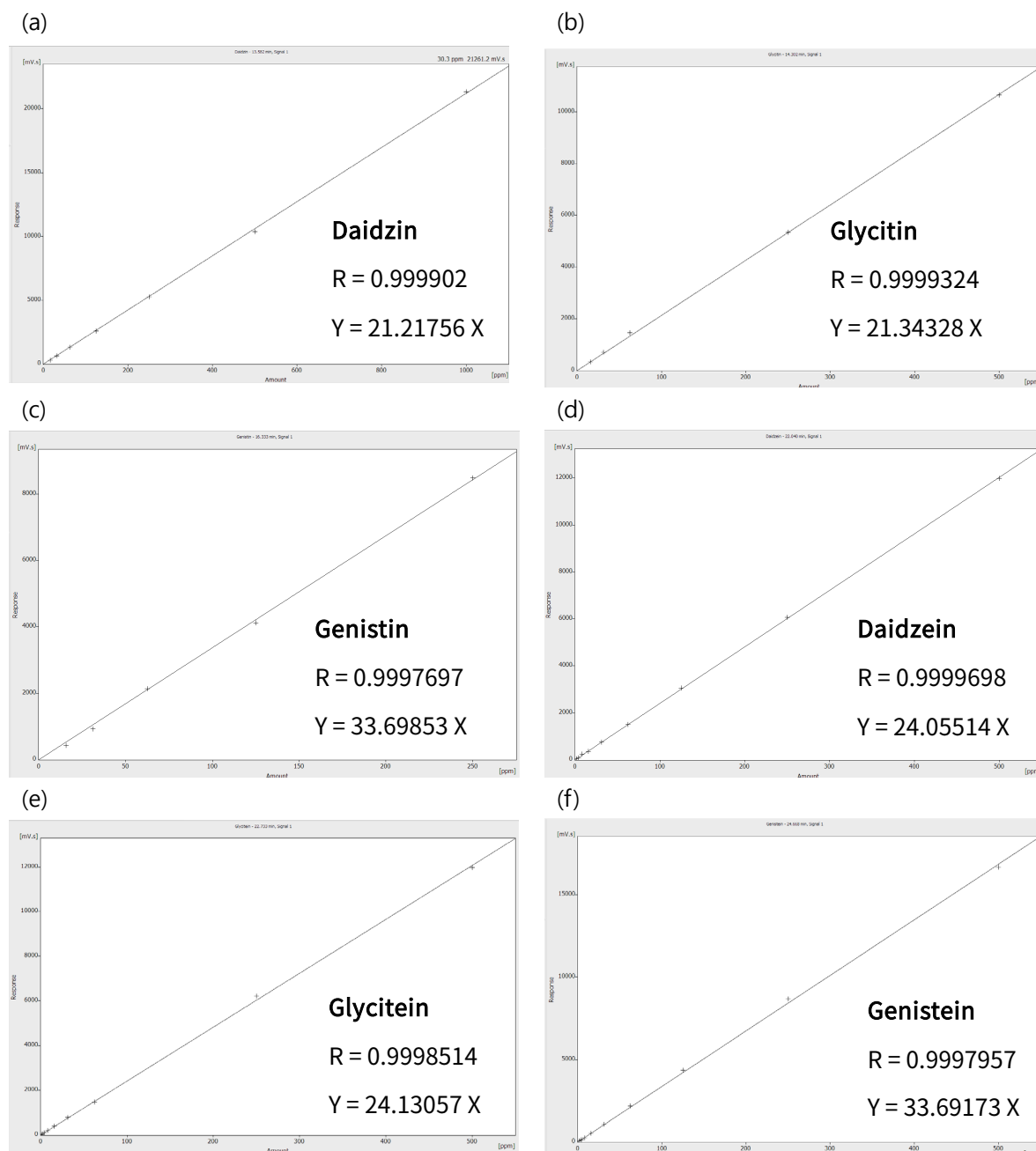


图 2. 校准曲线的验证

(a) 大豆苷，(b) 甘氨酸，(c) 染料木素，(d) 大豆苷元，(e) 甘氨酸，(f) 染料木素

Level \ Component	Amount (µg/mL)					
	(a) Daidzin	(b) Glycitin	(c) Genistin	(d) Daidzein	(e) Glycitein	(f) Genistein
1	15.625	15.625	15.625	1.9531	0.9766	1.9531
2	31.25	31.25	31.25	3.9063	1.9531	3.9063
3	62.5	62.5	62.5	7.8125	3.9063	7.8125
4	125	125	125	15.625	7.8125	15.625
5	250	250	250	31.25	15.625	31.25
6	500	500	-	62.5	31.25	62.5
7	1000	-	-	125	62.5	125
8	-	-	-	250	250	250
9	-	-	-	500	500	500

表1. 校准曲线中各组分的浓度

结果

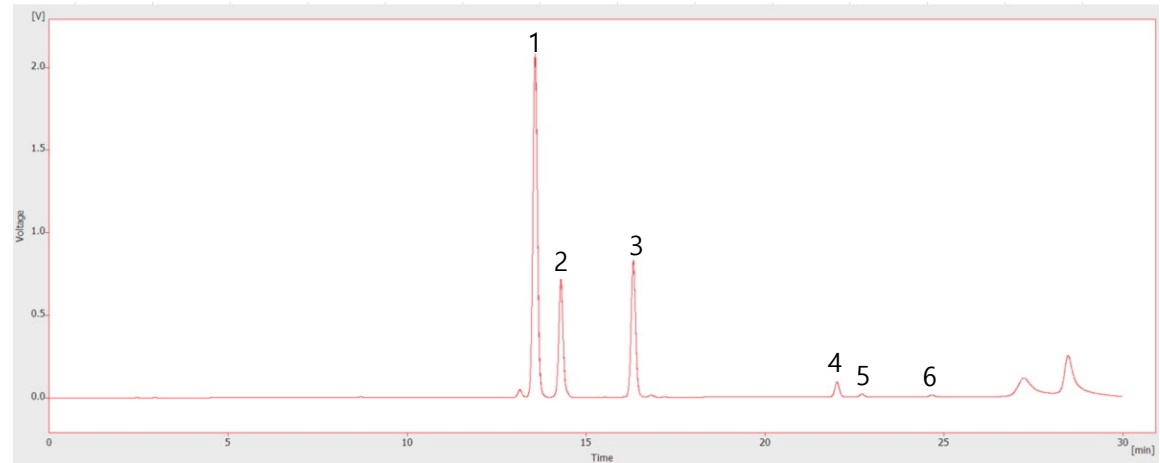


图 3. 样品色谱图 (大豆提取物)

	Component	R.T. (min)	Amount (µg/mL)
1	Daidzin	13.6	862.8
2	Glycitin	14.3	286.3
3	Genistin	16.3	216.6
4	Daidzein	22.0	33.0
5	Glycitein	22.7	7.1
6	Genistein	24.7	3.2

表 2. 样品结果表

结论

本研究采用ChroZen HPLC-PDA法测定大豆提取物中的异黄酮非糖苷和糖苷。

为了验证分析结果的有效性，对每种标准品的线性进行了评估，发现糖苷（大豆苷元、甘氨酸、染料木素）的相关系数分别为0.9999、0.9999和0.9997，非糖苷（大豆黄酮、甘氨酸、金雀异黄素）的相关系数分别为0.999、0.9998和0.9997。每种化合物的色谱结果和校准曲线如[图1]和[图2]所示。

大豆提取物样品的结果如[图3]和[表2]所示。大豆苷和甘氨酸的分离度为3.228，足以进行定量测定。

这确保了ChroZen HPLC是一个经过验证的异黄酮含量分析系统。

参考

- Health Funcional Food Code, Chapter 3, Standards and specifications for each functional ingredient, 2. Functional Ingredients, 2-10, Soybean Isoflavones
- Health Funcional Food Code, Chapter 4. Standard for Health Funcional Food, 3. Standard for Each Ingredient, 3-53. Soybean Isoflavones



60, Anyangcheondong-ro, Dongan-gu,
Anyang-si, Gyeonggi-do, 14042, Korea
TEL: +82-31-428-8700
FAX: +82-31-428-8787
E-mail: export@youngincm.com
Homepage: www.youngincm.com