

## 飲料中フェトエストロゲンの微量定量法の開発とその応用

理学部 臨床生命科学科 工藤研究室

奥田薫、大西庫志、工藤芳子

宮下酒造株式会社

多田隈圭、宮下晃一

Keywords : 機能性食品、更年期医療、HPLC-ECD、美味しさと健康

### 1. 研究目的

フェトエストロゲンは、女性ホルモンに類似した構造を持ち活性を示す非ステロイドの物質を指し「植物性エストロゲン」ともよばれる。そのフェトエストロゲンの1種として、ビール醸造に使われるホップ(*Humulus lupulus* L.)に含まれる8-prenylnaringenin(8-PN)のエストロゲン様活性は近年注目されている。8-PNはフェトエストロゲンの1種である大豆 isoflavones を構成する coumestrol、genistein、daizein よりも $\alpha$ -エストロゲンレセプターにおいて高い活性を示し、ヒトを対象とした検討では、更年期症状の1つであるホットフラッシュの改善効果が報告されている。しかし、本邦における既存販売のビール・発泡酒に含まれる8-PN濃度・作用に関する検討はなされていない。今回我々は、国内で販売されているビール・発泡酒に含まれている8-PN濃度を検討するため、HPLC-ECDを用いた分析法を確立し検討を行った。

### 2. HPLC-ECDを用いた8-PNの微量定量法の開発

ビール中の8-PNは低濃度であるため高感度で選択的な系であり、日常汎用するには安価な系が求められる。これらを考慮し、電気化学検出器(ECD)を用いたHPLC測定系を確立した。HPLCシステムは、PU-1580ポンプ、CO-1560カラムオーブン(日本分光社)、7125インジェクタ(Rheodyne社)、D-2500インテグレーター(日立社)、MCMカラムC18、4.6 $\phi$ x250mm(MCメディカル社)、クーロケムIII+5020Ce11, 5010Ce11(ESA社)で構成した。試薬にはHPLC用アセトニトリル、メタノール、特級リン酸(和光)を、8-PNの標準物質はSIGMA社を用いた。最適分離条件は、リン酸バッファ：アセトニトリル：メタノール=4:3:2、pH3.0、流速0.8ml/min、カラム温度40度で良好な分離が得られた。ECD電圧設定には、ガードセル=750mv、アナリティカルセルE1=300mv、E2=700mvで検出が得られた。検出感度は500pg/ml、500pg/ml~500ng/mlの範囲で $r^2=0.99$ の良好な直線性が得られた。再現性(CV%)は100ng/ml濃度において1.5~2.0%であった。

### 3. HPLC-ECDを用いたビール中8-PNの定量とその評価

本研究では、ビール8種類と発泡酒4種類を対象として測定を行った。その結果、ビール中8-PN濃度は、9.8~42.6 ng/mlで、最も8-PN濃度が高かったのは、独歩(ボックタイプ)であった。発泡酒は低濃度のため、2種類は8-PN検出が出来なかった。Heyerick. A.らは、8-PN 100 $\mu$ g/day濃度における生体影響を報告しており、この濃度はisoflavonesよりも低濃度での効果を示している。しかしながら、本検討で測定したビールを対象とするのであれば、一日2.3lのビール摂取が必要であり、現在市販されているビール摂取でエストロゲン様効果を得るには、かなりの量を摂取しなければならないことが明らかとなった。

### 4. 応用の可能性飲料中フェトエストロゲンの微量定量の開発とその応用

8-PNの経口摂取後の体内動態や効果的に作用を発揮する8-PN濃度に関する検討を継続し、「美味しく健康に影響できる」新規ビールや健康食品の開発を目指す。