

表18 夕食からの摂取量 (ng)

Pesticide	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	mean	s. d.
trans-Chlordane	13	28	31	5	72	262	11	11	58	13	50	77
cis-Chlordane	9	29	26	0	56	174	10	10	92	0	40	55
trans-Nonachlor	13	29	25	0	56	264	15	18	128	14	56	82
cis-Nonachlor	0	23	11	0	68	112	0	0	24	0	24	38
Oxychlordane	0	0	0	0	59	35	0	0	0	0	9	21
total Chlordane	35	109	92	5	311	847	36	40	302	27	180	259
Heptachlor	0	0	0	0	43	45	0	0	0	0	9	19
Heptachlorepoxide	0	28	26	0	99	42	0	28	0	32	25	30
p,p'-DDE	71	867	444	83	109	770	63	43	279	114	284	308
p,p'-DDD	0	220	199	0	83	627	0	0	81	0	121	197
p,p'-DDT	—	419	227	46	112	490	55	39	200	0	177	176
o,p'-DDT	0	193	145	0	71	59	0	0	95	0	56	70
total DDT	71	1700	1015	129	375	1946	118	83	655	114	620	706
α-Endosulfan	0	578	0	277	0	0	0	0	0	0	86	194
β-Endosulfan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Endosulfan sulfate	0	1829	120	575	0	0	0	0	0	0	252	582
total Endosulfan	0	2407	120	852	0	0	0	0	0	0	338	774
α-BHC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β-BHC	0	137	0	0	0	0	0	0	0	0	14	43
γ-BHC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
δ-BHC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
total BHC	0	137	0	0	0	0	0	0	0	0	14	43
Aldrin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dieldrin	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0	0
Endrin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dicofol	0	0	0	0	62164	0	0	0	0	0	6216	19658
Methoxychlor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mirex	0	0	0	0	53	8	0	0	0	0	6	17
Hexachlorobenzene	19	25	30	0	27	237	13	0	71	10	43	71
Quintozene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chlorbenzilate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fthalide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Permethrin	49	111	1500	0	89	185	0	0	0	0	193	463
Cypermethrin	0	54400	0	6862	0	0	0	0	0	1131	6239	17057
Fenvalerate	0	4615	0	0	0	0	0	0	0	0	461	1459
Trifluralin	0	0	0	0	709	19	0	0	0	0	73	224
Vinclozolin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alachlor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nitrofen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Malathion	0	0	0	0	0	242	0	0	0	0	24	77
Parathion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Simazine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Atrazine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Metribuzin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbaryl	0	0	0	0	0	0	641	0	0	0	64	203
食事量実測(g)	766	939	939	445	692	766	770	753	934	954	796	157

注) 横線は妨害のため測定できなかったことを示す。

表19 1日当たりの摂取量 (ng)

Pesticide	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	mean	s. d.
trans-Chlordane	27	36	56	20	95	292	23	61	138	31	78	84
cis-Chlordane	13	33	44	0	76	188	20	46	168	4	59	67
trans-Nonachlor	20	34	67	14	87	287	21	56	209	22	82	93
cis-Nonachlor	0	23	22	0	75	112	0	15	92	9	35	42
Oxychlordane	0	0	0	0	59	35	0	0	76	0	17	29
total Chlordane	60	126	189	34	392	914	64	177	683	66	270	302
Heptachlor	0	0	0	0	43	45	0	0	65	0	15	25
Heptachlorepoxyde	5	41	44	5	115	42	15	73	139	40	52	45
p,p'-DDE	179	982	697	217	203	936	221	240	495	320	449	314
p,p'-DDD	0	220	278	0	83	627	0	0	147	0	136	201
p,p'-DDT	15	432	305	46	147	490	130	88	273	0	193	174
o,p'-DDT	0	193	171	0	103	59	0	0	170	0	70	82
total DDT	194	1828	1451	263	538	2112	351	328	1085	320	847	718
α-Endosulfan	0	578	0	277	0	0	0	0	0	0	86	194
β-Endosulfan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Endosulfan sulfate	0	1829	120	575	0	0	0	0	0	0	252	582
total Endosulfan	0	2407	120	852	0	0	0	0	0	0	338	774
α-BHC	0	42	0	0	0	0	0	0	0	0	4	13
β-BHC	72	223	0	0	0	139	0	0	0	0	43	78
γ-BHC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
δ-BHC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
total BHC	72	264	0	0	0	139	0	0	0	0	47	89
Aldrin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dieldrin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Endrin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dicofol	39	217	110	672	62424	664	0	0	0	0	6413	19682
Methoxychlor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mirex	11	0	0	0	53	8	0	0	48	0	12	21
Hexachlorobenzene	23	31	56	5	60	243	19	6	106	32	58	72
Quintozene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chlorbenzilate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fthalide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Permethrin	92	154	1500	91	89	185	190	0	0	0	230	452
Cypermethrin	0	55449	523	6862	0	0	0	0	0	1623	6446	17350
Fenvalerate	0	10485	0	0	742	0	0	0	0	0	1123	3298
Trifluralin	0	0	0	0	709	19	0	0	68	0	80	222
Vinclozolin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alachlor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nitrofen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Malathion	94	97	229	177	104	367	321	215	184	0	179	111
Parathion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Simazine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Atrazine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Metribuzin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbaryl	0	0	0	0	0	0	641	0	0	0	64	203
食事量実測(g)	1618	1760	1793	1635	1780	2116	2100	1853	2229	2350	1923	256

表20 1日当たりの平均摂取量 (μg)

Pesticide	S (普通食)		K (妊婦後期食)		全体平均		LOQ
	mean	±s.d.	mean	±s.d.	mean	±s.d.	
trans-Chlordane	Tr.		0.11 ±0.11		0.08 ±0.08		0.06
cis-Chlordane	Tr.		0.09 ±0.09		0.06 ±0.07		0.06
trans-Nonachlor	Tr.		0.12 ±0.12		0.08 ±0.09		0.06
cis-Nonachlor	Tr.		Tr.		Tr.		0.06
Oxychlordane	Tr.		Tr.		Tr.		0.19
total Chlordane	0.16 ±0.14		0.38 ±0.39		0.27 ±0.30		0.06
Heptachlor	Tr.		Tr.		Tr.		0.06
Heptachlorepoxide	Tr.		0.06 ±0.05		Tr.		0.06
p,p'-DDE	0.46 ±0.37		0.44 ±0.30		0.45 ±0.31		0.06
p,p'-DDD	Tr.		Tr.		Tr.		0.19
p,p'-DDT	0.19 ±0.18		0.20 ±0.19		0.19 ±0.17		0.19
o,p'-DDT	Tr.		Tr.		Tr.		0.19
total DDT	0.86 ±0.74		0.84 ±0.78		0.85 ±0.72		0.06
α-Endosulfan	Tr.		N. D.		Tr.		2.89
β-Endosulfan	N. D.		N. D.		N. D.		2.89
Endosulfan sulfate	Tr.		N. D.		Tr.		0.58
total Endosulfan	0.68 ±1.03		N. D.		Tr.		0.58
α-BHC	Tr.		N. D.		Tr.		0.58
β-BHC	Tr.		Tr.		Tr.		0.58
γ-BHC	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
δ-BHC	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
total BHC	Tr.		Tr.		Tr.		0.58
Aldrin	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Dieldrin	N. D.		N. D.		N. D.		1.15
Endrin	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Dicofol	12.69 ±27.80		Tr.		6.41 ±19.68		0.58
Methoxychlor	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Mirex	Tr.		Tr.		Tr.		0.06
Hexachlorobenzene	Tr.		0.08 ±0.10		0.06 ±0.07		0.06
Quintozene	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Chlorbenzilate	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Fthalide	N. D.		N. D.		N. D.		1.15
Permethrin	0.39 ±0.62		Tr.		Tr.		0.38
Cypermethrin	12.57 ±24.15		Tr.		6.45 ±17.35		1.92
Fenvalerate	Tr.		N. D.		Tr.		2.89
Trifluralin	0.14 ±0.32		Tr.		0.08 ±0.22		0.06
Vinclozolin	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Alachlor	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Nitrofen	N. D.		N. D.		N. D.		0.58
Malathion	Tr.		Tr.		Tr.		0.58
Parathion	N. D.		N. D.		N. D.		2.89
Simazine	N. D.		N. D.		N. D.		1.15
Atrazine	N. D.		N. D.		N. D.		1.15
Metribuzin	N. D.		N. D.		N. D.		1.15
Carbaryl	N. D.		Tr.		Tr.		2.89
平均食事量 (g)	1717 ±84		2130 ±184		1923 ±256		

1) 朝食中の残留濃度

クロルデン類 (N.D.~ Tr.)、ヘプタクロルエポキシサイド (N.D.~ 0.08ppb)、DDT 類 (N.D.~ 0.26ppb)、ヘキサクロルベンゼン (N.D.~ Tr.)、マラチオン (N.D.~ 0.7ppb) が朝食の大部分から検出された。特に、マラチオンは朝食から、ご飯食の 1 例を除いたパン食の全検体から検出されているのに対して、昼食、夕食からは夜食にアップルパイがついていた 1 例を除き全く検出されなかった。

2) 昼食中の残留濃度

クロルデン類 (N.D.~ 0.09ppb)、ヘプタクロルエポキシサイド (N.D.~ 0.15ppb)、DDT 類 (N.D.~ 0.33ppb)、ジコホール (N.D.~ 0.8ppb)、ヘキサクロルベンゼン (N.D.~ 0.04ppb)、ベルメトリン (N.D.~ 0.2ppb)、シベルメトリン (N.D.~ 2.4ppb)、フェンバレレート (N.D.~ 13.7ppb) が検出された。特に、ハンバーグがメニューの食事 (K-4) ではクロルデン類、DDT 類の濃度が高く、マイレックス、トリフルラリンも検出された。

3) 夕食中の残留濃度

クロルデン類 (N.D.~ 0.34ppb)、ヘプタクロルエポキシサイド (N.D.~ 0.14ppb)、DDT 類 (N.D.~ 1.01ppb)、エンドサルファン類 (N.D.~ 1.9ppb)、ジコホール (89.8ppb)、ヘキサクロルベンゼン (N.D.~ 0.31ppb)、ベルメトリン (N.D.~ 1.6ppb)、シベルメトリン (N.D.~ 57.9ppb)、フェンバレレート (4.9ppb)、トリフルラリン (N.D.~ 1.02ppb) が検出された。

4) 朝食からの摂取量

朝食から最も多く摂取している農薬はマラチオン (平均 155ng) で次いで p,p'-DDE (82ng)、その他は痕跡レベルであった。

ヘプタクロルを含むクロルデン類は合計でも 20ng であった。

5) 昼食、夕食からの摂取量

朝食に比べて魚介、肉類、野菜の摂取が多くなるため、クロルデン類、DDT 類等の有機塩素系農薬とベルメトリン等のピレスロイド系農薬の摂取量が増加した。朝食、昼食、夕食からの摂取量の一日摂取量に対する比率を図 7 に示した。

7) 職員用普通食と妊産婦後期食との比較

表 20 より妊産婦食事量 (2130g) は普通食 (1717g) より多い。クロルデン類の摂取量は食事量の多い妊産婦食の方が多くなっているが有意な差はなかった。ジコホール、シベルメトリン、トリフルラリンは普通食の方が多いが、ジコホールとシベルメトリンについては、普通食に高濃度残存例があったため、これらの平均摂取量が多くなった。

D. 結論

1) 内分泌かく乱物質の測定方法

本調査では、試料量を液卵、うなぎで 10g、バター、チーズで 5g、陰膳で 15g とし、ミニカラムによる精製を行った後、0.4mL まで濃縮し試料液とした。GC/MS 分析で低濃度レベルまで測定するために、濃縮率を高めたことで妨害成分も同時に濃縮され分析の障害になったため、通常使用している ODS、PSA ミニカラム以外にシリカゲルミニカラムによる精製を付け加えた。

試料のアセトニトリル抽出液の ODS 精製操作において、一定量の水を含む含水アセトニトリルでカラム負荷することによって、GC/MS 分析における高沸点成分の妨害除去に効果が認められた。

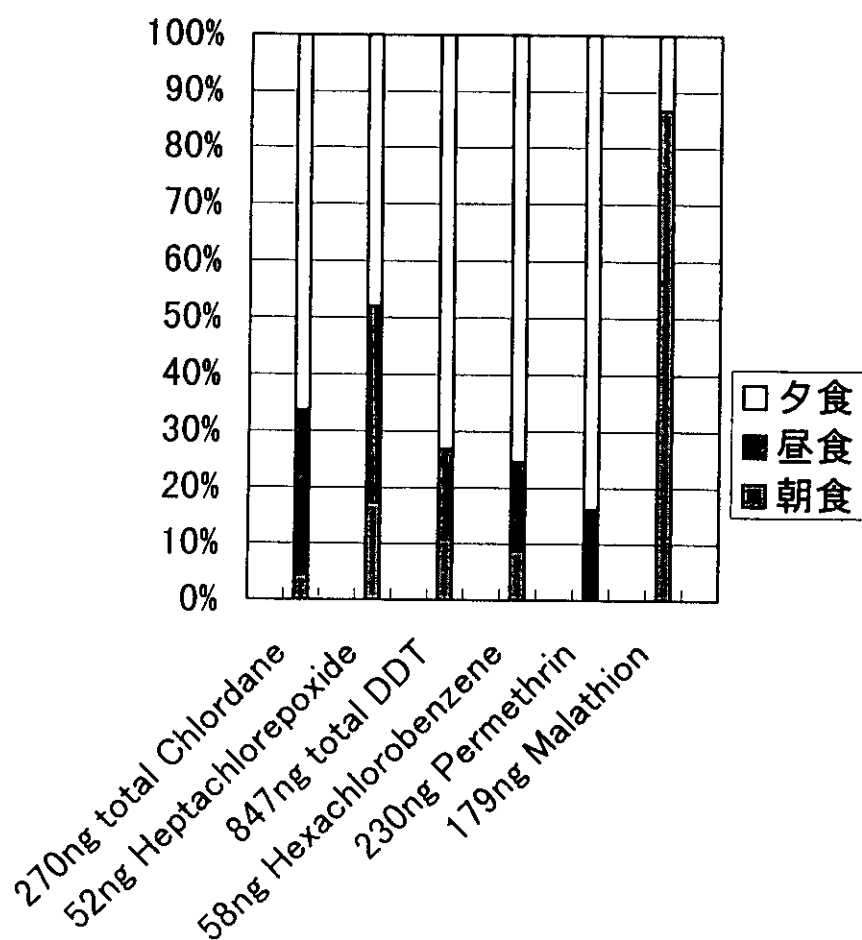


図7 1日摂取量と朝食、昼食、夕食からの摂取量の比率

GC/MS 分析で高質量のモニターイオンを設定できたクロルデン類、ヘプタクロルエポキシド、ヘキサクロルベンゼンは妨害が少なく 0.01ppb レベルの検出が可能となり、検出頻度が高くなった。

2) 畜水産食品中の残留濃度

液卵、うなぎの蒲焼、バター、チーズの4品目について調査した結果、クロルデン類、ヘプタクロルエポキシド、DDT 類、ヘキサクロルベンゼンは全ての検体から検出され、中でも p,p'-DDE (0.1 ~ 9.5ppb) が高濃度で検出された。うなぎの蒲焼から

は上記物質以外に、ジコホール (0.5 ~ 6.6ppb)、メトキシクロール (2.2, 16.9ppb)、マイレックス (0.07ppb) が検出され、バターからはベルメトリン (3.5, 12.7ppb) が高濃度で検出された。

3) 陰膳中の残留濃度

検出頻度の高い農薬は、p,p'-DDE が調査した全ての陰膳から検出されたほか、クロルデン類、ヘプタクロルエポキシド、ヘキサクロルベンゼンの検出頻度が高かった。

マラチオンは朝食から特異的に検出さ

れ、ジコホール及びシベルメトリン、フェンバレートが昼食、夕食の特定の食事から高濃度で検出された。

p,p'-DDE は p,p'-DDT、ヘプタクロルエポキシドはヘプタクロル及びクロルデンの代謝物であるが、畜水産食品中、陰膳中を問わず、いずれも元の農薬よりも高濃度で検出される傾向にあった。

4) 内分泌かく乱物質の摂取量

朝食、昼食、夕食のそれぞれの摂取量を求めた後、これらの値を合計して一日摂取量を求めた。パン食が主体の朝食と肉類、野菜を多く食する昼食、夕食とでは、有機塩素系農薬、ピレスロイド系農薬の摂取量は 朝食 < 昼食 < 夕食 の順に増加した。

マラチオンについては、パン食が主体の朝食から特異的に検出された。

妊産婦食と普通食との比較では、クロルデン類は食事量の多い妊産婦食の方が多くなっているが有意な差はなかった。ジコホール、シベルメトリン、トリフルラリンは普通食の方が多いが、ジコホールとシベルメトリンについては、普通食中の高濃度残

存例が影響している。

なお、今回の調査で得られた摂取量は、各農薬の ADI、ジコホール:25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{b.w.}$ 、DDT:5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{b.w.}$ 、マラチオン:20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{b.w.}$ 、ベルメトリン:48 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{b.w.}$ 、シベルメトリン:50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{b.w.}$ と比較してはるかに低い値であった。

参考文献

- 1) 豊田正武、松田りえ子、五十嵐敦子、齋藤行生：「日本における環境汚染物質の1日摂取量の推定およびその由来の解析」、食品衛生研究、Vol.48, No.9, 43-65(1998)。
- 2) 田中俊博、「食品残留農薬の集計結果について」、食品衛生研究、Vol.47, No.12, 7-13(1997)。
- 3) 前田浩一郎、村上保行、堀伸二郎ほか、「大阪地区の各種汚染物摂取量調査」、大阪府公衛研所報、食品衛生編 No.10, 83-89(1979)。
- 4) 牛尾房雄、坂牧成恵、高橋巖ほか、「日常食から HCH, DDT およびディルドリン1日摂取量の追跡調査」、東京衛研年報、No.44, 180-182(1993)。

分担研究報告書

- ・食品中の植物エストロゲンに関する調査研究

分担研究者

外海 泰秀

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究書

食品中の植物エストロゲンに関する調査研究

分担研究者 外海 泰秀 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所食品試験部部長
研究協力者 中村 優美子 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所食品試験部主任研究官

研究要旨 9 種植物エストロゲン (daidzin, daidzein, glycitin, glycitein, genistin, genistein, equol, formononetin, biochanin A) の含量の実態調査を、国産及び輸入大豆 11 検体及び大豆加工食品である水煮 3 検体、炒り豆 1 検体、黄粉 2 検体、豆腐 4 検体、凍り豆腐 1 検体、おから 1 検体、あげ 3 検体、納豆 2 検体、味噌 7 検体、醤油 8 検体、豆乳 2 検体、湯葉 2 検体について行った。さらに、平成 8 年度国民栄養調査成績に基づき日本人の植物エストロゲンの 1 日摂取量を算出した。Genuine の植物エストロゲンは、液体食品は Sep-pak^R C₁₈ に負荷して精製し、固体食品は必要に応じて n-ヘキサンで脱脂した後粉碎或いはホモジナイズした試料を 80%メタノールで抽出後遠心分離して得た上清を Sep-pak^R C₁₈ により精製 HPLC により測定した。植物エストロゲン総量は、各食品を 10 N 塩酸及び抗酸化剤として 0.05% BHT を含むエタノールで 100 °C、3 時間還流させながら加水分解を行い、遠心分離して得た上清を Sep-pak^R C₁₈ により精製し、遊離型として HPLC により測定した。分析は flavone を内部標準として用い、各検体につき 3 試行で行った。大豆及びその加工食品に含まれる主要な植物エストロゲンは daidzin, genistin, glycitin 及びそのアグリコン (遊離型) である daidzein, genistein, glycitein であり、equol, formononetin 及び biochanin A は検出されなかった。大豆は種類及び産地により植物エストロゲン含量及びその組成に差が見られた。加工食品中最も植物エストロゲン含量の高いものは黄粉であり、最も少ないものは醤油であった。植物エストロゲンの組成については殆どが配糖体として存在したが、醤油、味噌、揚げ、黄粉では遊離型の割合が高くなった。また、日本人の大豆及びその加工食品からの植物エストロゲンの摂取量は遊離型として算出すると daidzein 12.01 mg, glycitein 2.28 mg, genistein 13.46 mg, 合計 27.75 mg であった。

A. 研究目的

1940 年代にオーストラリアの牧場でクローバーを食べた羊に不妊症が見られる¹⁾ことから、ホルモン様作用を持つ天然由来の物質 (植物エストロゲン) が見いだされた。植物エストロゲンは大別すると、イソフラボノイド, coumestan 骨格を持つ coumestrol, lignan 骨格を持つ lignan の 3 種類がある²⁾。このうちイソフラボノイドは大豆をはじめとする豆類に多く含まれている²⁴⁾。日本人の植物エストロゲンの摂取は、主として大豆及びその加工食品から行われるものと考えられている³⁾。

イソフラボノイドの代謝については動物による種差があり、エストロゲン作用の発現は血中の遊離型イソフラボノイドの濃度に依存することが示唆されている⁵⁾。イソフラボノイドの生理機能については、癌、心臓血管系の病気や骨粗鬆症の予防効果のあることが報告されている⁶⁻¹¹⁾。イソフラボノイドのヒトに対する有害作用については、発生の初期に大量に暴露した場合の悪影響が心配されている¹²⁾ものの、実際にはよく知られていない。

大豆及びその加工食品中の植物エストロゲン含量についてはいくつかの報告がある^{3, 13-20)}が、必ずしも日本人が摂取しているすべての大豆及びその加工食品を網羅しているわけではない。そこで、我々は大豆及びその加

工食品中の植物エストロゲン含量の実態調査を行い、平成 8 年度国民栄養調査成績²¹⁾に基づき日本人の植物エストロゲンの 1 日摂取量を算出した。

B. 研究方法

[試薬・機器]

Genistein (MW270.24), equol (MW242.27), formononetin (MW268.27) 及び biochanin A (MW284.27) は Extrasynthèse (Genay, France) より、daidzein (MW254.24), daidzin (MW416.38), genistin (MW432.38), glycitein (MW284.27) 及び glycitin (MW446.41) はフジッコ (神戸) より、flavone (MW222.24) 及び BHT (2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenol) は和光純薬 (神戸) より購入した。これらの試薬の純度はすべて HPLC, TLC 或いは GC で 95% 以上であった。flavone 及び 9 種植物エストロゲンの化学構造式を Figure 1 に示す。

メタノール, エタノール, アセトニトリルは HPLC 測定用を用いた。水は純水を用いた。その他の試薬は特級を用いた。

Daidzein, daidzein, genistein, genistin, glycitein, glycitin, equol, formononetin 及び biochanin A は少量の DMSO に溶解した後、メタノールで希釈し、500-1000 µg/mL の標準原液を調製した。使用時に適宜メタノール

で希釈し、標準混液(192.4-944.9 nmol/mL 或いは 7.70-16.28 nmol/mL)とした。0.05% BHT 含有エタノールは用時調製した。

ミニカートリッジ Sep-pak® plus C₁₈ は Waters 社より購入した。HPLC 用カラム STR ODS II (φ 4.6 mm × 250 mm) は信和加工 株式会社より購入した。高速液体クロマトグラフは HP1100 series (Hewlett Packard 社) を用いた。

[検体]

国産及び輸入大豆は、大阪府及び兵庫県で入手した。大豆加工食品(大豆水煮、炒り豆、黄粉、豆腐、凍り豆腐、おから、厚揚げ、薄揚げ、がんもどき、納豆、味噌、醤油、豆乳、湯葉)は大阪府下の小売店で購入した。大豆は分析時まで -20 °C 以下で冷凍保存、大豆加工食品は 4 °C 以下で冷蔵保存した。

国産及び輸入大豆、炒り豆、凍り豆腐は分析時にホモジナイザーで粉砕した。厚揚げ、薄揚げ、がんもどきは分析前に 20 倍量の n-ヘキサンで 24 時間室温にて脱脂した後風乾し、ホモジナイザーでホモジナイズした。大豆水煮、豆腐、納豆、金山寺味噌及び生湯葉は分析時にホモジナイザーで均等にホモジナイズした。黄粉、おから、金山寺味噌以外の味噌、醤油及び豆乳は分析時によく混和して用いた。

[分析方法]

加水分解を行わずに溶媒抽出することにより genuine 植物エストロゲンを、また同一検体について酸加水分解を行うことにより総植物エストロゲンを測定した。

1. Genuine 植物エストロゲンの測定

1-1. 固体食品

粉砕した大豆、炒り豆、凍り豆腐、乾燥湯葉、脱脂後ホモジナイズした厚揚げ、薄揚げ、がんもどき、ホモジナイズした大豆水煮、豆腐、納豆、金山寺味噌、生湯葉、よく混和した黄粉、おから、金山寺味噌以外の味噌は 1 g を採取し、内部標準として flavone 945 nmol を添加し、80%メタノール 50 mL を加え、30 分間 sonication した後室温で 24 時間抽出した。800 g で 15 分間遠心分離した後、上清をとり、メタノールで 50 mL に定容した。

そのうち 1 mL をとり水で 10 倍希釈し、予めメタノール 10 mL 及び水 10 mL で洗浄した Sep-pak® plus C₁₈ に負荷した。水 10 mL 及び 20%メタノール 2 mL で洗浄¹⁴⁾した後、メタノールで溶出量が 2 mL になるように溶出したものを HPLC 用試験液とした。

1-2. 液体食品

よく混和した醤油 1 mL 或いは豆乳 0.5 mL に内部標準として flavone 94.5 nmol を添加し、予めメタノール 10 mL 及び水 10 mL で洗浄した Sep-pak® plus C₁₈ に負荷した。水 10 mL 及び 20%メタノール 2 mL で洗浄¹⁴⁾した後、メタノールで溶出量が 2 mL になるように溶出したものを HPLC 用試験液とした。

2. 総植物エストロゲンの測定

Franke ら¹⁷⁾の方法に基づき酸加水分解を行い植物エストロゲンをすべて遊離型にした後、ミニカートリッジで精製を行い¹⁴⁾、総植物エストロゲン量を測定した。

1 検体につき 3 試行で分析を行った。

2-1. 固体食品

粉砕した大豆、炒り豆、凍り豆腐、乾燥湯葉、脱脂後ホモジナイズした厚揚げ、薄揚げ、がんもどき、ホモジナイズした大豆水煮、豆腐、納豆、金山寺味噌、生湯葉、よく混和した黄粉、おから、金山寺味噌以外の味噌は 1 g を採取し、内部標準として flavone 945 nmol を添加し、10 N HCl 及び 0.05% BHT 含有エタノール 40 mL を加え、30 分間 sonication した後、100 °C にて 3 時間還流して加水分解を行った¹⁷⁾。室温まで冷却した後、800 g で 15 分間遠心分離して上清をとり、エタノールで 50 mL に定容した。

そのうち 1 mL をとり水で 10 倍希釈し、予めメタノール 10 mL 及び水 10 mL で洗浄した Sep-pak® plus C₁₈ に負荷した。水 10 mL 及び 20%メタノール 2 mL で洗浄¹⁴⁾した後、メタノールで溶出量が 2 mL になるように溶出したものを HPLC 用試験液とした。

2-2. 液体食品

よく混和した醤油或いは豆乳 5 mL に内部標準として flavone 94.5 nmol を添加し、10 N HCl 及び 0.05% BHT 含有エタノール 40 mL を加え、30 分間 sonication した後、100 °C にて 3 時間還流して加水分解を行った¹⁷⁾。室温まで冷却した後、800 g で 15 分間遠心分離して上清をとり、エタノールで 50 mL に定容した。

そのうち 10 mL をとり 40 °C 以下で減圧濃縮してエタノールを除去したものを水で 10 倍希釈し、予めメタノール 10 mL 及び水 10 mL で洗浄した Sep-pak® plus C₁₈ に負荷した。水 10 mL 及び 20%メタノール 2 mL で洗浄¹⁴⁾した後、メタノールで溶出量が 2 mL になるように溶出したものを HPLC 用試験液とした。

3. HPLC 条件

上述の方法で調製した HPLC 用試験液を HPLC で分析し、flavone を内部標準とする内部標準法¹⁷⁾で 9 種植物エストロゲンを定量した。即ち、Genuine 植物エストロゲンとして daidzein, daidzin, genistein, genistin, glycitein, glycitin, equol, formononetin, biochanin A を、総植物エストロゲンとして daidzein, genistein, glycitein, equol, formononetin, biochanin A を定量した。

HPLC 条件は以下の通りである。

機器：HP1100 series

カラム：STR ODS II

カラム温度：35 °C

移動相：

(A 液) 水：リン酸 1000:1 (v/v)

(B 液) 水：アセトニトリル：リン酸

200:800:1 (v/v/v)

グラジエントプログラム：

B液% 10-80 (50 min, linear gradient)
流速: 1 mL
検出: DAD (210-370 nm)
モニター波長: 320 nm, 260 nm, 280 nm
注入量: 10 μ L

Daidzein, daidzin, genistein, genistin, glycitein, glycitin, formononetin 及び biochanin A は波長 260 nm で, equol 及び flavone は波長 280 nm で定量した。

ピークの同定は内部標準との保持時間比及び植物エストロゲン標準液とのスペクトル (210-370 nm) 比較により行った。

4. 添加回収試験

大豆, 豆腐, 味噌, 豆乳, 醤油について添加回収試験を行った。各検体につき3試行で添加回収率を求めた。

固体食品 1 g に植物エストロゲン標準混液 192.4-814.1 nmol/mL を 1 mL 添加し, 液体食品 0.5-1 mL には植物エストロゲン標準混液 7.70-16.28 nmol/mL を 1 mL 添加し, 上記の方法で分析した。

[1日摂取量の算出]

平成8年度国民栄養調査成績²¹⁾によると, 日本人の大豆及び大豆製品の1人1日あたりの摂取量は70.4 g であり, そのうち味噌(甘味噌, 淡色辛味噌, 赤色辛味噌, 豆味噌, 粉味噌, 金山寺味噌, たい味噌, 鉄火味噌)は13.9 g, 豆腐(豆腐普通, 絹こし豆腐, 袋入り豆腐, 焼き豆腐)は40.0 g, 豆腐加工品(油揚げ, 生揚げ, がんもどき)は7.8 g, 大豆, その他の大豆製品(大豆乾燥, 凍り豆腐, 湯葉, おから, 豆乳, 脱脂大豆, 黄粉, ぶどう豆, 納豆, はま納豆)は8.8 g である。

実態調査成績に基づき, 日本人の植物エストロゲン1日摂取量を算出した。

C. 研究結果

1. 分析条件の検討

植物エストロゲン標準混液のHPLCクロマトグラムをFigure 2に示す。9種植物エストロゲン及び内部標準のflavoneは分別定量可能であった。

標準混液を用いた9種植物エストロゲン及びflavoneデータのばらつき(n=10)をTable 1に示す。変動係数は3.29%以下で, HPLCでの再現性は良好と考えられた。

9種植物エストロゲン及びflavoneの検出限界をTable 2に示す。検出限界は0.0763-0.1478 pmol であった。

検量線の直線性は, flavoneを内部標準とした内部標準法でdaidzeinは0.00798-797.6 nmol/mL, daidzinは0.02173-434.6 nmol/mL, genisteinは0.00814-814.1 nmol/mL, genistinは0.0524-523.6 nmol/mL, glyciteinは0.00385-192.4 nmol/mL, glycitinは0.02955-295.5 nmol/mL, equolは0.05664-283.2 nmol/mL, formononetinは0.03854-385.4 nmol/mL, biochanin Aは

0.3817-381.7 nmol/mL とそれぞれ広範囲で成立した。9種植物エストロゲンの検量線をFigure 3に示す。

2. 添加回収試験

標準液を用いた場合のSep-pak® plus C₁₈からの回収率をTable 3に示す。内部標準法では99.6-106%と良好な回収率を示した。

醤油, 豆乳, 大豆, 豆腐, 味噌での全行程における添加回収試験の結果をTables 4-8に示す。表中の空欄はデータの欠けている部分である。醤油ではSep-pak® plus C₁₈のみでは精製不十分のためか妨害ピークが多かったが, その他の試料については定量を妨害するピークは存在しなかった。

9種植物エストロゲンの回収率は, 醤油ではgenuineで81.2-108%, 加水分解時に66.2-102% (Table 4), 豆乳ではgenuineで79.7-90.6%, 加水分解時に66.7-110% (Table 5), 大豆ではgenuineで94.3-113%, 加水分解時に90.4-114% (Table 6), 豆腐ではgenuineで94.1-111% (Table 7), 味噌ではgenuineで101-110%, 加水分解時に63.5-104% (Table 8) であり, ほぼ良好であった。

3. 大豆及びその加工食品中の9種植物エストロゲン含量の実態調査

国産及び輸入大豆11検体, 大豆水煮3検体, 炒り豆1検体, 黄粉2検体, 豆腐4検体, 凍り豆腐1検体, おから1検体, 豆腐加工品(厚揚げ, 薄揚げ, がんもどき)3検体, 納豆2検体, 味噌7検体, 醤油8検体, 豆乳3検体, 湯葉2検体の計48検体の3試行での9種植物エストロゲンの含量をTable 9に, 各化合物の存在比をTable 10に示す。また, 各検体のHPLCクロマトグラムをFigures 4-19に示す。

醤油ではSep-pak® plus C₁₈のみでは精製不十分のためか妨害ピークが多かった(Figure 16)が, その他の試料については定量を妨害するピークは存在しなかった。検出されたのはgenuineではdaidzein, daidzin, glycitein, glycitin, genistein, genistinの6種, 加水分解時ではdaidzein, glycitein, genisteinの3種であり, equol, formononetin及びbiochanin Aはいずれの検体からも検出されなかった。

各検体中の植物エストロゲン含量を遊離型で示すと, 大豆11検体でdaidzein 1669-4476 nmol/g, glycitein 136-511 nmol/g, genistein 1239-3310 nmol/g, 大豆水煮3検体でdaidzein 1063-1452 nmol/g, glycitein 30-83 nmol/g, genistein 1311-1582 nmol/g, 炒り豆1検体でdaidzein 3817 nmol/g, glycitein 507 nmol/g, genistein 3301 nmol/g, 黄粉2検体でdaidzein 4646-7254 nmol/g, glycitein 35-282 nmol/g, genistein 3071-4770 nmol/g, 豆腐4検体でdaidzein 249-415 nmol/g, glycitein 83-101 nmol/g, genistein 297-415 nmol/g, 凍り豆腐1検体でdaidzein 1220 nmol/g, glycitein 121 nmol/g, genistein 1999 nmol/g, おから1検体

で daidzein 176.1 nmol/g, glycitein 43 nmol/g, genistein 178 nmol/g, 揚げ及びがんもどき 3 検体で daidzein 422-752 nmol/g, glycitein 125-138 nmol/g, genistein 534-1124 nmol/g, 納豆 2 検体で daidzein 1272-1344 nmol/g, glycitein 129-238 nmol/g, genistein 1095-1494 nmol/g, 味噌 7 検体で daidzein 184-1359 nmol/g, glycitein 42-171 nmol/g, genistein 231-1315 nmol/g, 醤油 8 検体で daidzein 21-36 nmol/mL, glycitein 2.9-9.2 nmol/mL, genistein 3.7-12.3 nmol/mL, 豆乳 3 検体で daidzein 132-1053 nmol/mL, glycitein 5.3-59 nmol/mL, genistein 138-1040 nmol/mL, 湯葉 2 検体で daidzein 635-2985 nmol/g, glycitein 144-619 nmol/g, genistein 872-4285 nmol/g であった (Table 9).

各検体中の植物エストロゲンのうち遊離型 (アグリコン) の割合は, 大豆 11 検体で 2.72-22.4%, 大豆水煮 3 検体で 7.67-19.7%, 炒り豆 1 検体で 37.1%, 黄粉 2 検体で 32.3-41.7%, 豆腐 4 検体で 11.2-17.9%, 凍り豆腐 1 検体で 66.6%, おから 1 検体で 35.2%, 揚げ及びがんもどき 3 検体で 16.3-32.8%, 納豆 2 検体で 14.7-20.3%, 味噌 7 検体で 40.9-91.6%, 醤油 8 検体で 62.7-100%, 豆乳 3 検体で 2.52-3.93%, 湯葉 2 検体で 13.7-24.9% であった (Table 10).

4. 日本人の大豆及びその加工食品からの植物エストロゲン 1 日摂取量

本研究での総植物エストロゲン含量 (遊離型として算出) (Table 9) を平成 8 年度国民栄養調査成績²¹⁾に当てはめ, 日本人の大豆及び大豆製品の 1 人 1 日あたりの摂取量を算出した結果を Table 11 に示す. 日本人の大豆及び大豆製品の 1 人 1 日あたりの摂取量は, 味噌からは daidzein 2.537 mg, glycitein 0.403 mg, genistein 3.197 mg, 豆腐からは daidzein 3.264 mg, glycitein 1.040 mg, genistein 3.800 mg, 豆腐加工品からは daidzein 1.162 mg, glycitein 0.296 mg, genistein 1.661 mg, 大豆, その他の大豆製品からは daidzein 5.051 mg, glycitein 0.537 mg, genistein 4.805 mg であった (Table 11). 全体では daidzein 12.01 mg, glycitein 2.28 mg, genistein 13.46 mg, 合計 27.75 mg と算出された.

D. 考察

食品中の植物エストロゲン含量については, 有害作用 (ホルモン様作用) 及び有用作用 (抗癌作用, 骨粗鬆症予防作用等) の 2 つの観点より, これまでにいくつか報告がある^{2,3,12-19)}.

抽出方法についてはそのまま溶媒抽出を行うか加水分解する方法に大別され, 遠心分離或いは濾過後 HPLC で定量する方法が一般的である²²⁾. 本研究ではそのまま溶媒抽出を行い genuine 植物エストロゲンを測定し, 酸加水分解を行い総植物エストロゲンを遊離型

として測定する方法の両方を併用した. さらに Sep-pak® plus C₁₈ による精製¹⁴⁾を行うことにより, 黒大豆の果皮に含まれるアントシアニン系色素や脂肪などの不純物を除去することができた.

大豆及びその加工食品からはこれまで daidzein, daizin, glycitein, glycitin, genistein, genistin, 6"-O-acetyldaidzin, 6"-O-acetylgenistin, 6"-O-acetylglycitin, 6"-O-malonyldaidzin, 6"-O-malonylgenistin, 6"-O-malonylglycitin, 6"-O-succinyldaidzin, 6"-O-succinylgenistin 及び 6"-O-succinylglycitin の 15 種の化合物の存在が報告されている^{3,13)}. 本研究では標準品が市販されており入手可能であった daidzein, daidzin, glycitein, glycitin, genistein, genistin 及びその類縁化合物である equol, formononetin, biochanin A を flavone を内部標準とする¹⁷⁾内部標準法で測定した. このうち glycitein 及び glycitin については, ホルモン様作用はこれまで報告されていない. 本研究ではもっとも強いエストロゲン様作用を示す coumestrol を入手することができなかったため測定していないが, 大豆及びその加工食品からは coumestrol, formononetin, biochanin A はいずれも検出されていない^{17,19)}.

本研究の結果をこれまでの報告^{3,12-20)}と比較して Table 12 に示した. 本研究では, これまでの報告よりも多種の食品にわたり含量の実態調査を行ったが, 一部の食品についてはこれまで報告されている値とほぼ合致するものであった.

大豆中の植物エストロゲン含量は daidzein 1669-4476 nmol/g, glycitein 136-511 nmol/g, genistein 1239-3310 nmol/g, 遊離型 (アグリコン) の割合が 2.72-22.4% と種類及び産地によるばらつきが認められた (Tables 9-10). また味噌の中でも製法により含量及び組成の違いが認められた. 植物エストロゲン含量の最も高いものは黄粉であり, 最も低いのは醤油であった (Table 9). Genuine 植物エストロゲン中遊離型の割合は大豆, 大豆水煮, 豆腐, 納豆, 豆乳, 湯葉では 25% 以下であったが, 炒り豆, 黄粉, おから, 薄揚げ, 凍り豆腐, 味噌, 醤油では 32.3-100% と高い傾向にあり (Table 10), 製造工程で加熱或いは発酵により配糖体が遊離型に変化することが強く示唆された.

我々は遊離型としての, 日本人 1 人あたりの大豆及び大豆加工食品からの植物エストロゲン 1 日摂取量 daidzein 12.01 mg/g, glycitein 2.28 mg/g, genistein 13.46 mg/g, 合計 27.75 mg/g と算出した. 戸田ら¹⁵⁾は大豆加工食品からの日本人のイソフラボノイドの 1 日摂取量を 17 mg と算出している. また, Kimira ら²³⁾は日本人のイソフラボノイドの 1 日摂取量を daidzein 16.2 mg/d, genistein 23.27 mg/d, 合計 39.46 mg/d と報告している. 本研究で試算した 27.75 mg/g という値は戸田ら¹⁵⁾の値より若干高く, Kimira ら²³⁾の値より若干低い. これは, イソフラボノイド分析法及び 1

日摂取量の算出法の違い、の2点によると考えられる。

植物エストロゲンのヒトにたいする毒性は現在の時点では明らかではない。しかし、日本人をはじめとする東アジア諸国では古来より大豆及びその加工食品を重要な蛋白源として利用してきた経緯があり、通常の摂取量では毒性はないと結論するのが妥当ではないか、と考えられる。

[引用文献]

- 1) D. M. Sheehan (1995): The case for expanded phytoestrogen research. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208: 3-5.
- 2) K. R. Price and G. R. Fenwick (1985): Naturally occurring oestrogens in foods -- a review. *Food Add. Contam.* 2: 73-106.
- 3) 高松清治(1997) イソフラボンの生理機能. 食品健康科学シンポジウム'97. p.10-20.
- 4) M. S. Kurzer and X. Xu (1997): Dietary phytoestrogens. *Annu. Rev. Nutr.* 17: 353-381.
- 5) T. Lundh (1995): Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208: 33-39.
- 6) 植杉岳彦, 戸田登志也, 石田均司, 辻邦郎(1997)大豆中に含まれるイソフラボンの骨量低下抑制作用について. *食品と工業.* 1997-11.30, 24-30.
- 7) 石見佳子, 池上幸江(1998)大豆イソフラボンの有効性とリスク. *日本栄養・食料学会誌.* 51: 294-298.
- 8) M. Messina and V. Messina (1991): Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. *Perspec. Prac.* 91: 836-840.
- 9) H. Adlercreutz, B. R. Goldin and S. L. Gorbach (1995): Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J. Nutr.* 125: 757S-770S.
- 10) D. C. Knight and J. A. Eden (1995): Phytoestrogens -- a short review. *Maturitas* 22: 167-175.
- 11) K. D. R. Setchell, S. P. Borriello, P. Hulme, D. N. Kirk and M. Axelson (1984): Nonsteroidal estrogens of dietary origin: possible roles in hormone-dependent disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 40: 569-578.
- 12) T. Colborn, D. Dumanoski and J. P. Myers (1996) *Our stolen future.* Plume, New York.
- 13) 戸田登志也, 田村淳子, 奥平武則(1997)市販大豆食品のイソフラボン含量について. *FFI Journal* 172: 83-88.
- 14) H. Pettersson and K.-H. Kiessling (1984): Liquid chromatographic determination of the plant estrogens coumestrol and isoflavones in animal feed. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67: 503-506.
- 15) J. T. Dwyer, B. R. Goldin, N. Saul, L. Gualtieri, S. Barakat and H. Adlercreutz (1994):

Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. *J. Am. Diet. Assoc.* 94: 739-743.

- 16) H.-j. Wang and P. A. Murphy (1994): Isoflavone content in commercial soybean foods. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1666-1673.
- 17) A. A. Franke, L. J. Custer, C. M. Cerna and K. K. Narala (1994): Quantitation of phytoestrogens in legumes by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1905-1913.
- 18) T. Nguyenle, E. Wang and A. P. Cheung (1995): An investigation on the extraction and concentration of isoflavones in soy-based products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14: 221-232.
- 19) A. A. Franke, L. J. Custer, C. M. Cerna and K. Narala (1995): Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208: 18-26.
- 20) A. A. Franke, L. J. Custer, W. Wang and C. Y. Shi (1998): HPLC analysis of isoflavonoids and other phenolic agents from foods and from human fluids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217: 263-273.
- 21) 厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課生活習慣病対策室監修: 平成10年版 国民栄養の現状(1998). 第一出版. 東京.
- 22) K. Reinli and G. Block (1996): Phytoestrogen content of foods -- A compendium of literature values. *Nutr. Cancer* 26: 123-148.
- 23) M. Kimira, Y. Arai, K. Shimoi and S. Watanabe (1998): Japanese intake of flavonoids and isoflavonoids from foods. *J. Epidemiol.* 8: 168-175.

E. 結論

1) 国産及び輸入大豆 11 検体及び大豆加工食品である水煮3検体, 炒り豆1検体, 黄粉2検体, 豆腐4検体, 凍り豆腐1検体, おから1検体, あげ3検体, 納豆2検体, 味噌7検体, 醤油8検体, 豆乳2検体, 湯葉2検体中の9種植物エストロゲン (daidzin, daidzein, glycitin, glycitein, genistin, genistein, equol, formononetin, biochanin A) の実態調査を行った。さらに, 平成8年度国民栄養調査成績に基づき日本人の植物エストロゲンの1日摂取量を算出した。

2) Genuine 植物エストロゲンは, 液体食品は Sep-pak^R C₁₈ に負荷して精製し, 固体食品は必要に応じて n-ヘキサンで脱脂した後粉碎或いはホモジナイズした試料を 80%メタノールで抽出後遠心分離して得た上清を Sep-pak^R C₁₈ により精製し, HPLC により測定した。植物エストロゲン総量は, 同一食品について, 10 N 塩酸及び抗酸化剤として 0.05% BHT を含むエタノールで 100 °C, 3 時間還流させながら加水分解を行い, 遠心分離して得た上清を Sep-pak^R C₁₈ により精製

し、遊離型としてHPLCにより測定した。分析はいずれも flavone を内部標準として用い、各検体につきすべて3試行で行った。

3) 本法による9種植物エストロゲンの検出限界は0.0385-0.5664 pmol (S/N=3)であった。また、添加回収実験を大豆、豆腐、醤油、豆乳、味噌について行ったところ、63.5-114.1%とほぼ良好な回収率を得た。

4) 大豆及びその加工食品に含まれる主要な植物エストロゲンは daidzin, genistin, glycitin 及びそのアグリコン (遊離型) である daidzein, genistein, glycitein であり、equol, formononetin 及び biochanin A は検出されなかった。大豆は種類及び産地により植物エストロゲン含量及びその組成に差が見られた。加工食品中最も植物エストロゲン含量の高いものは黄粉であり、最も少ないものは醤油であった。植物エストロゲンの組成については殆どが配糖体として存在したが、醤油、味噌、揚げ、黄粉では遊離型の割合が高くなった。

5) 日本人の大豆及びその加工食品からの植物エストロゲンの摂取量は、遊離型として算出すると daidzein 12.01 mg, glycitein 2.28 mg, genistein 13.46 mg, 合計 27.75 mg であった。

F. 研究発表

1. 論文発表
(なし)
2. 学会発表
(なし)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
(なし)
2. 実用新案登録
(なし)
3. その他
(なし)

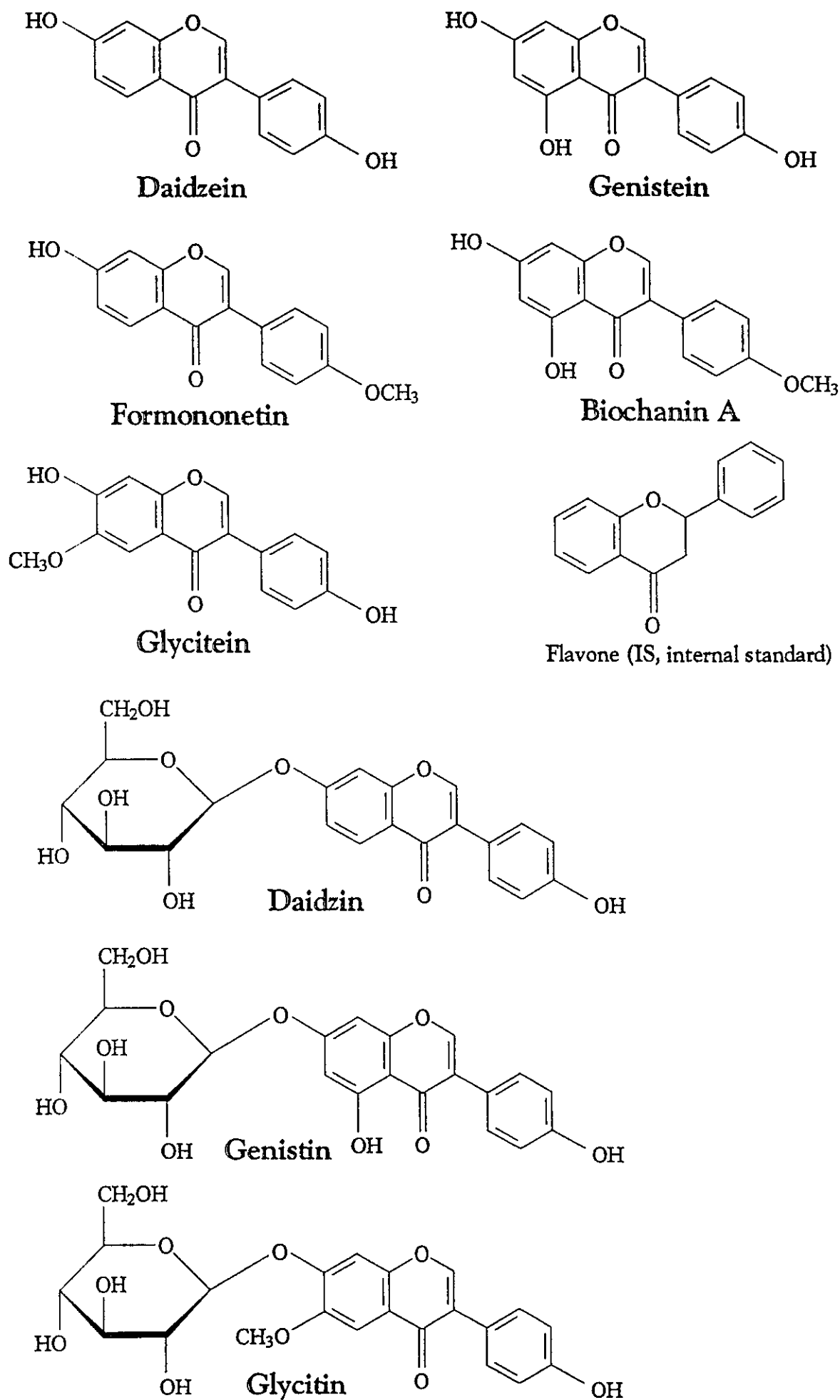


Figure 1 Chemical structures of phytoestrogens

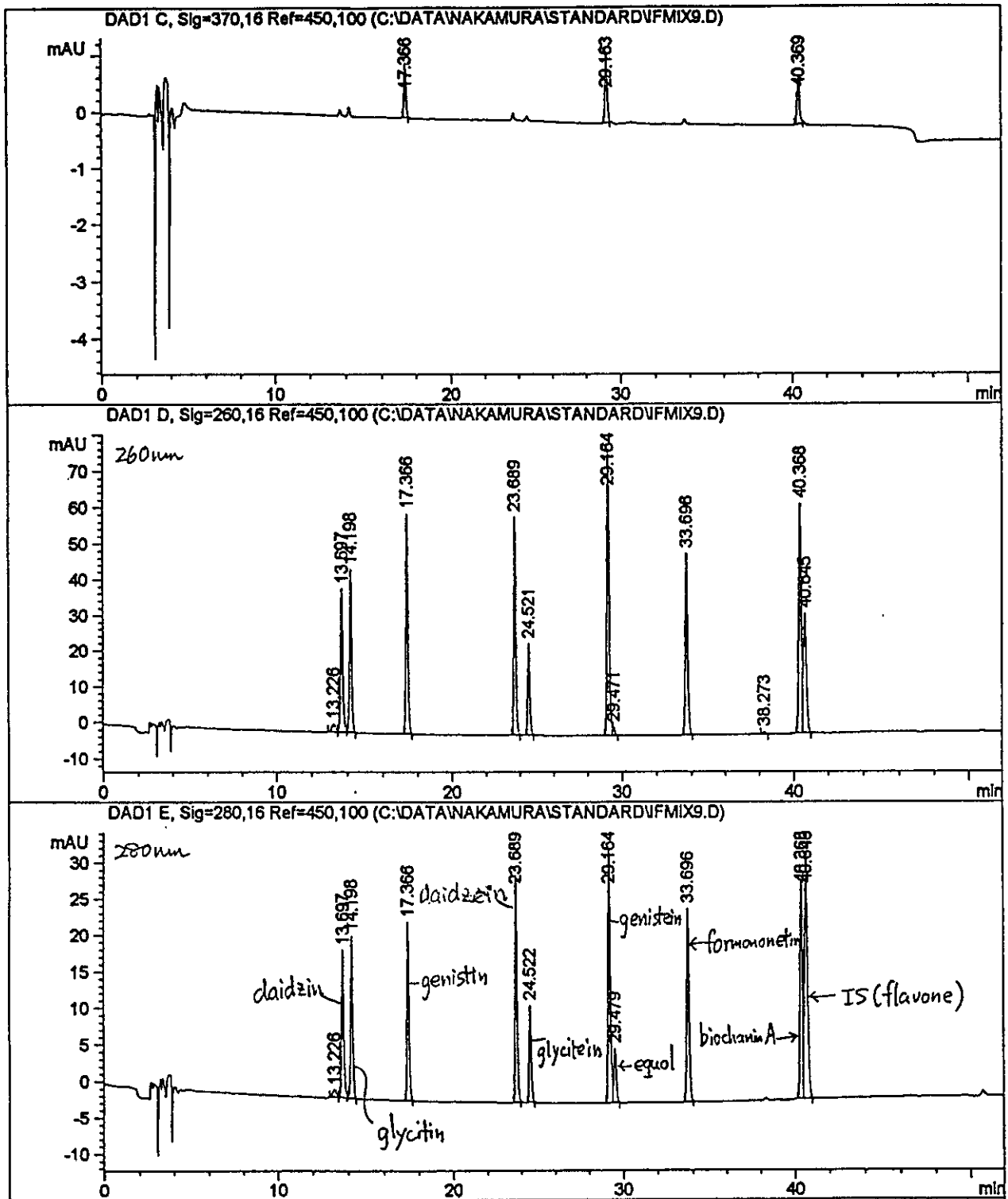


Figure 2 HPLC chromatograms of 9 phytoestrogens

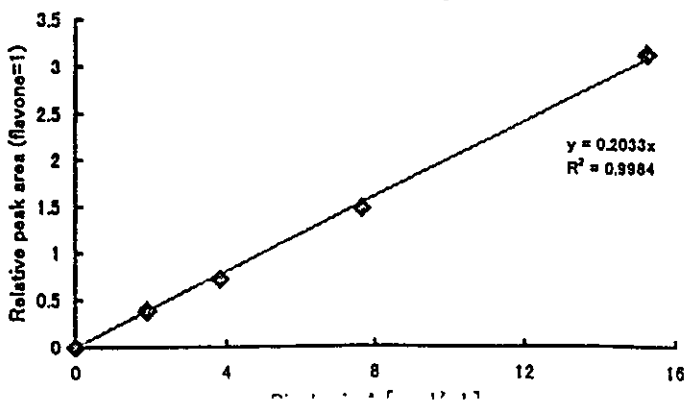
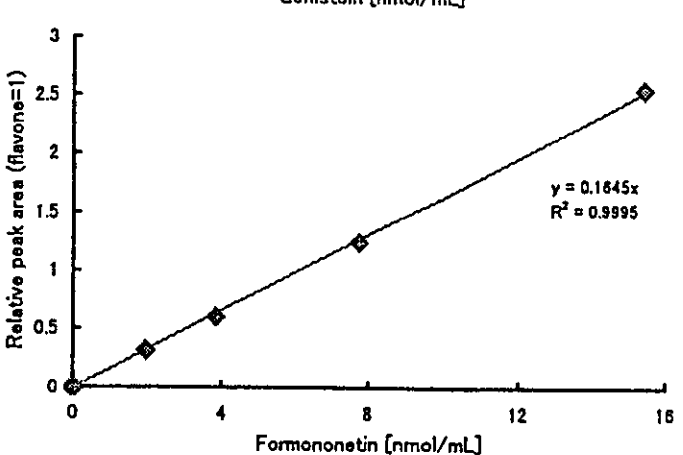
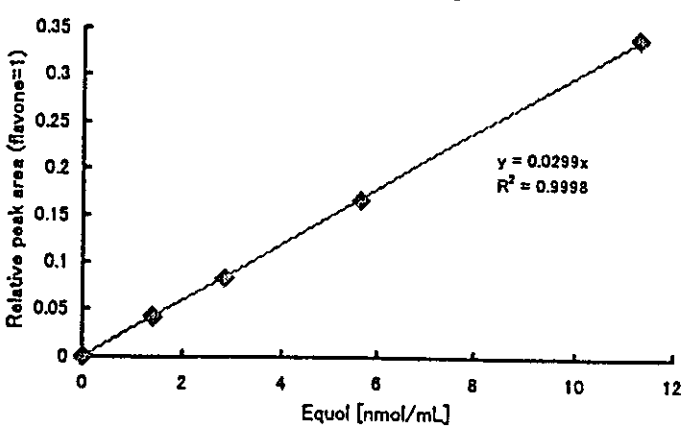
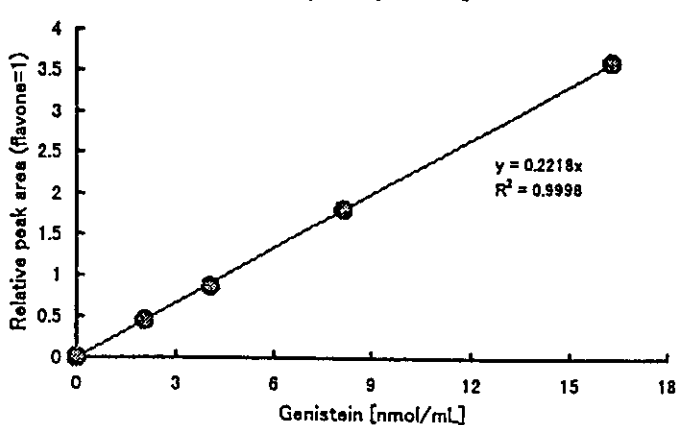
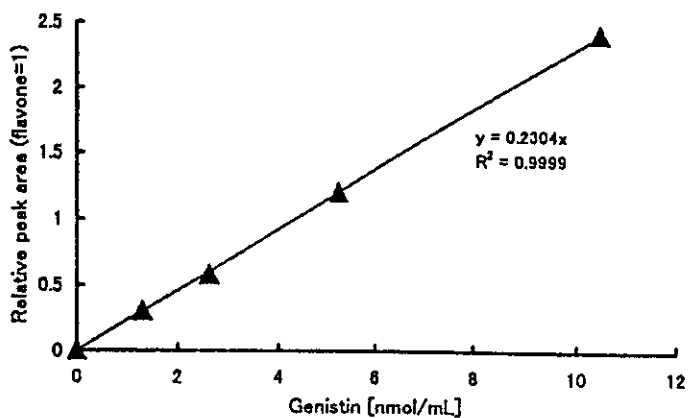
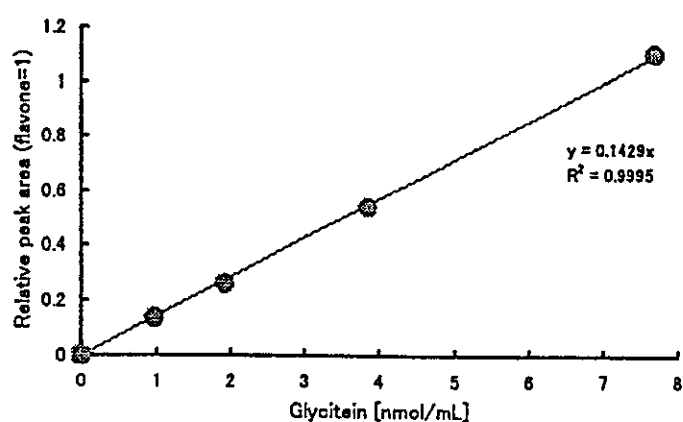
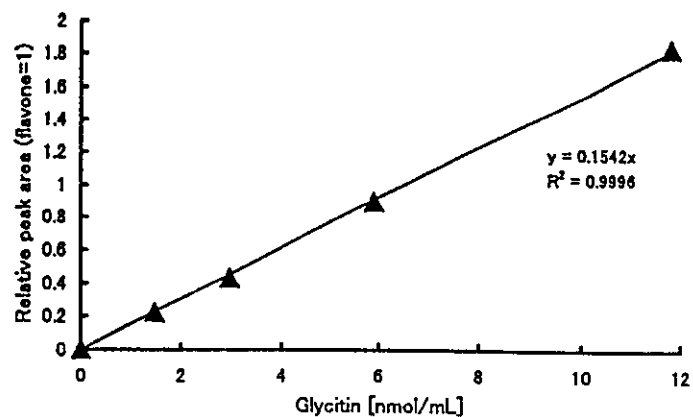
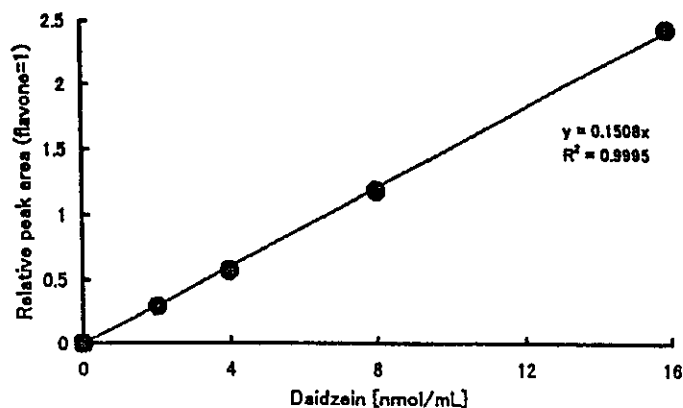
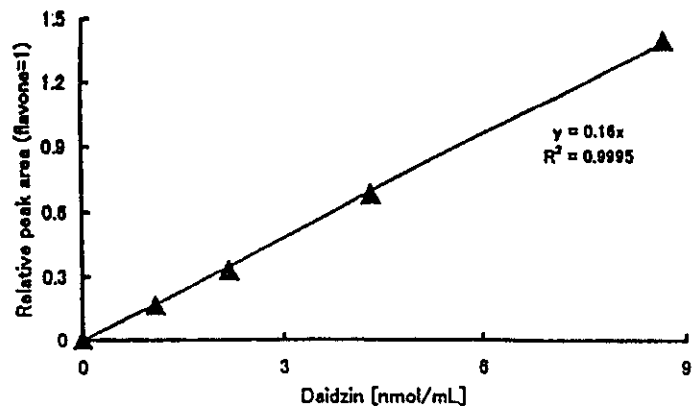


Figure 3 Calibration curves of 9 phytoestrogens

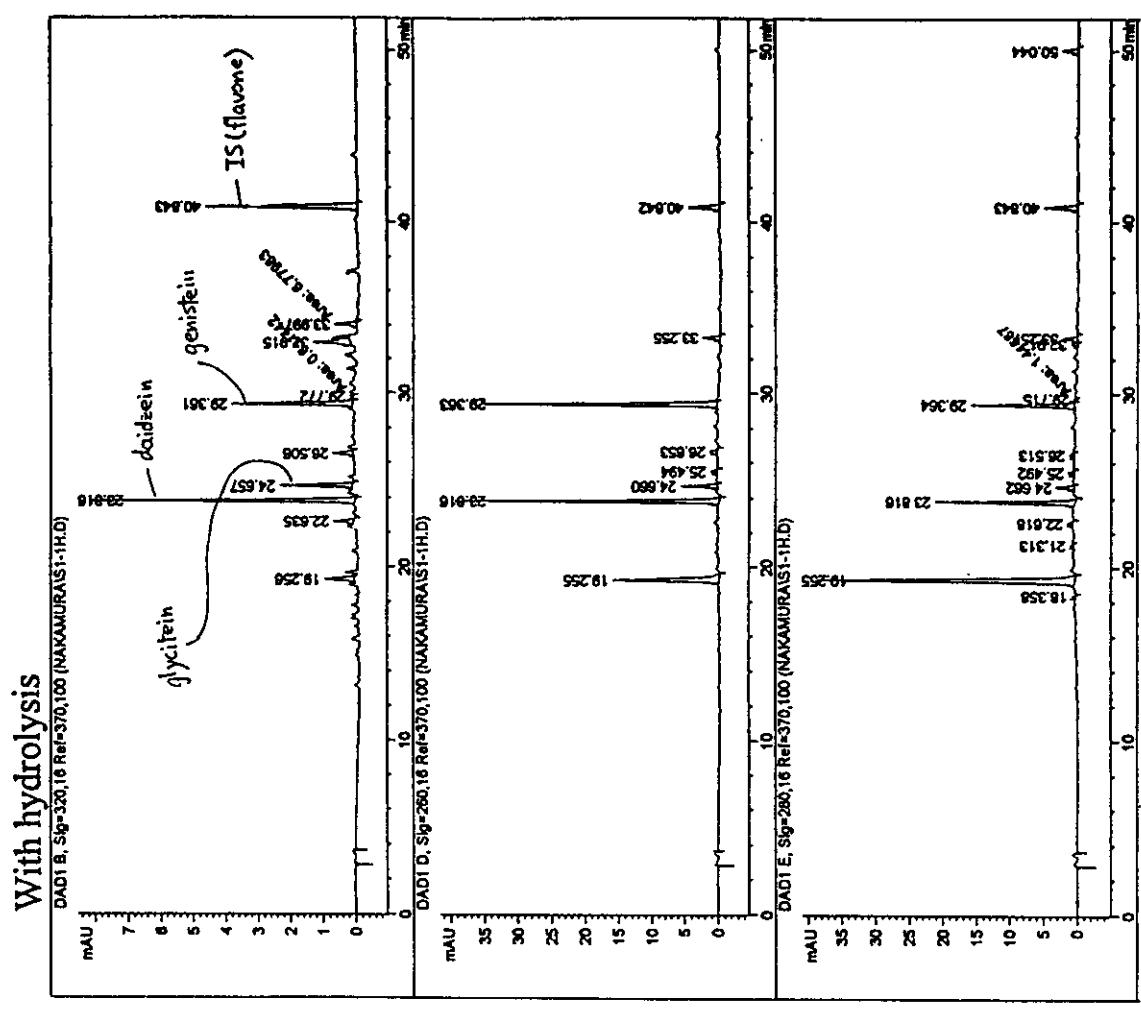
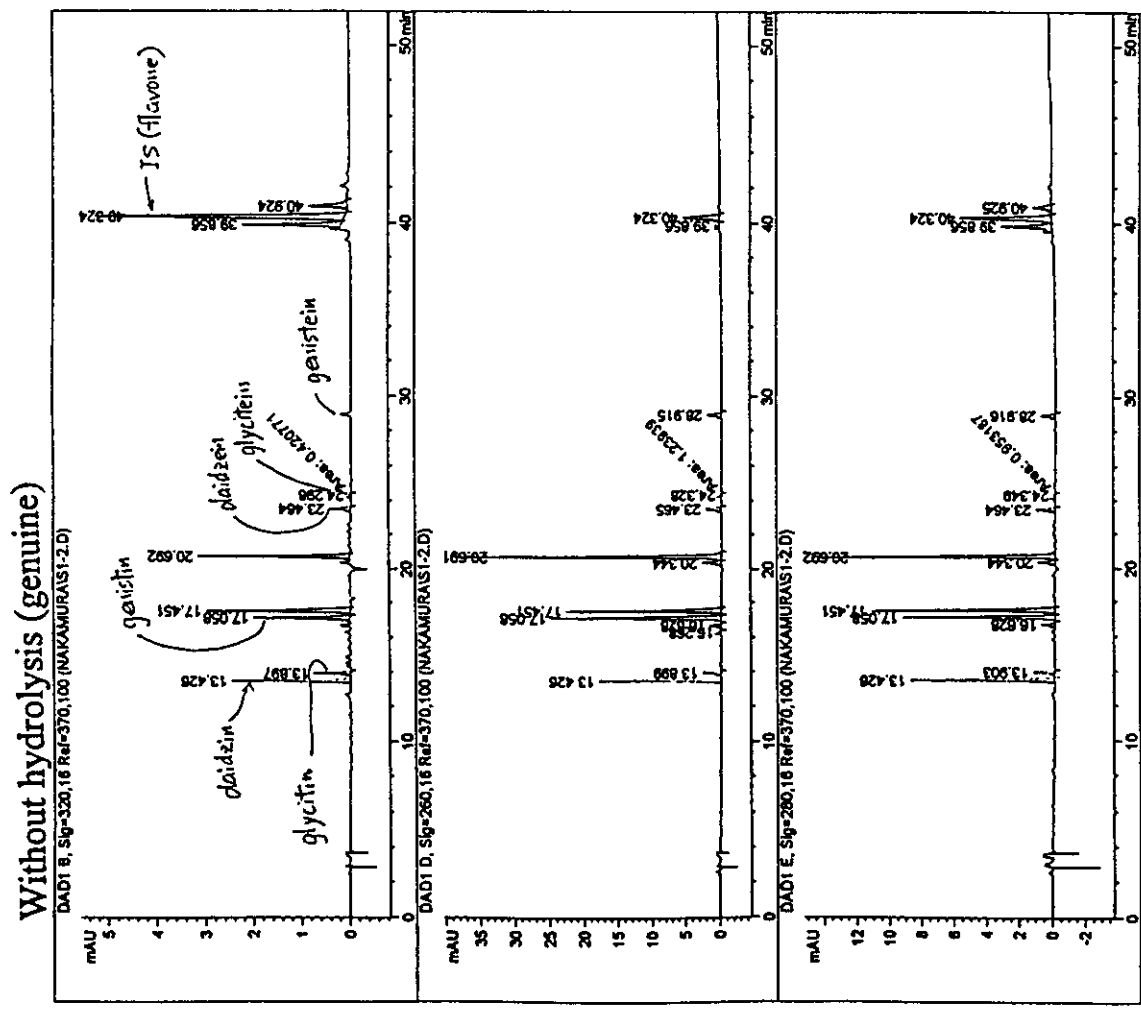
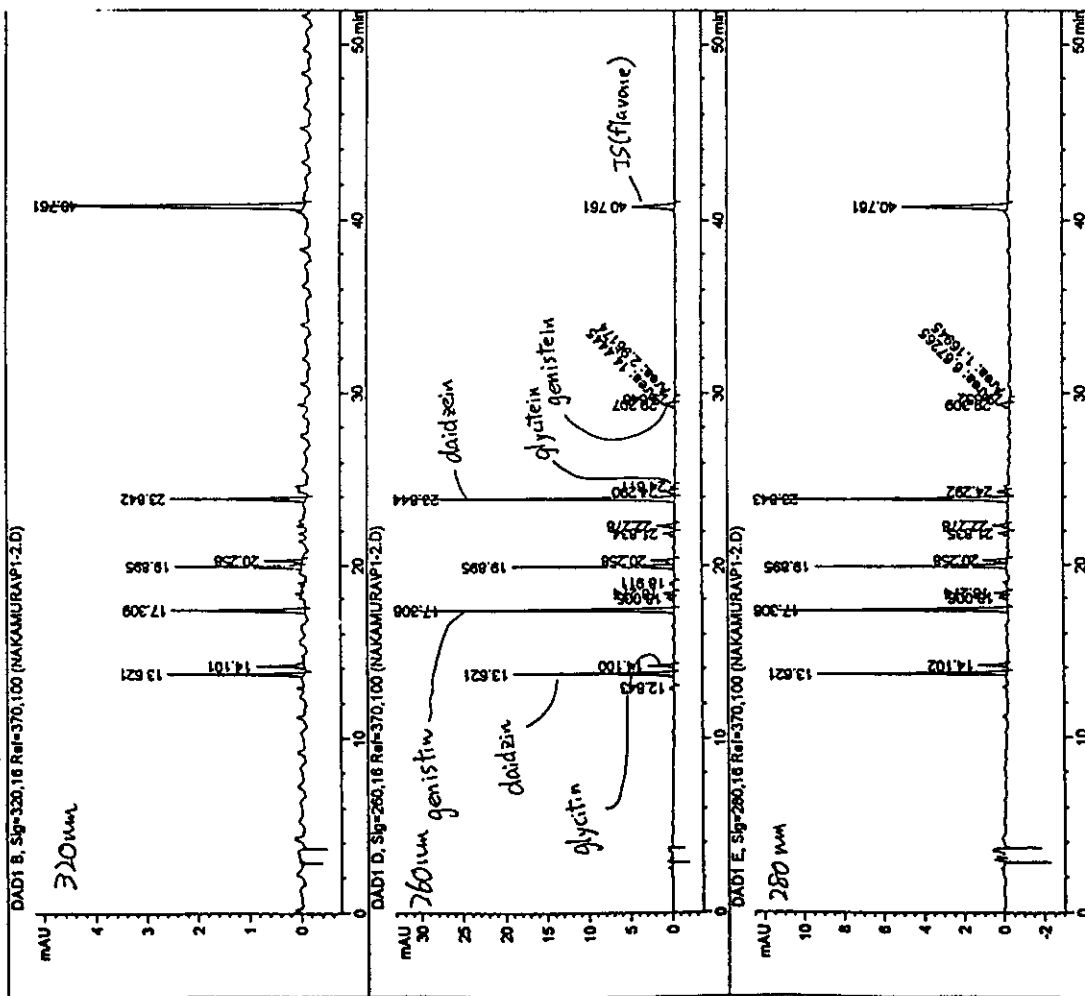


Figure 4 HPLC chromatograms of soybean

Without hydrolysis (genuine)



With hydrolysis

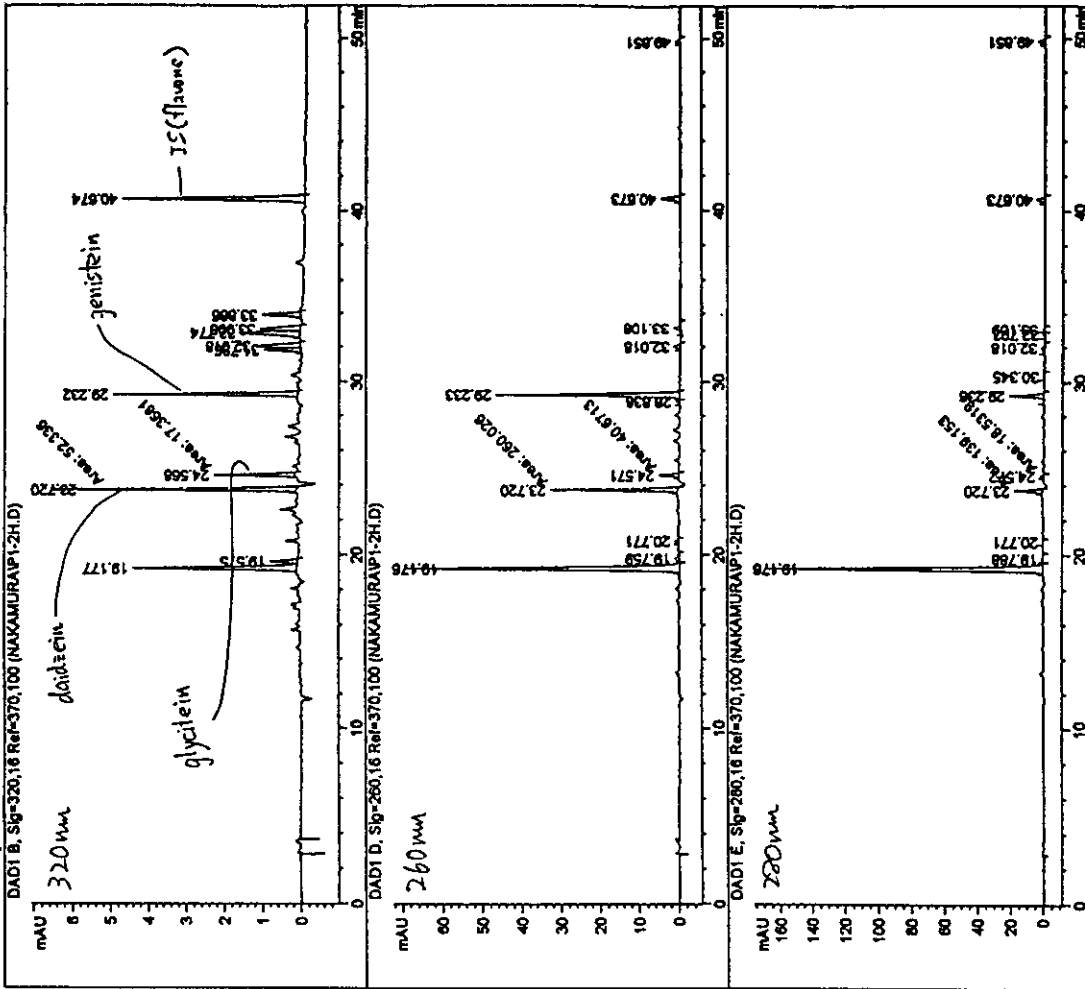
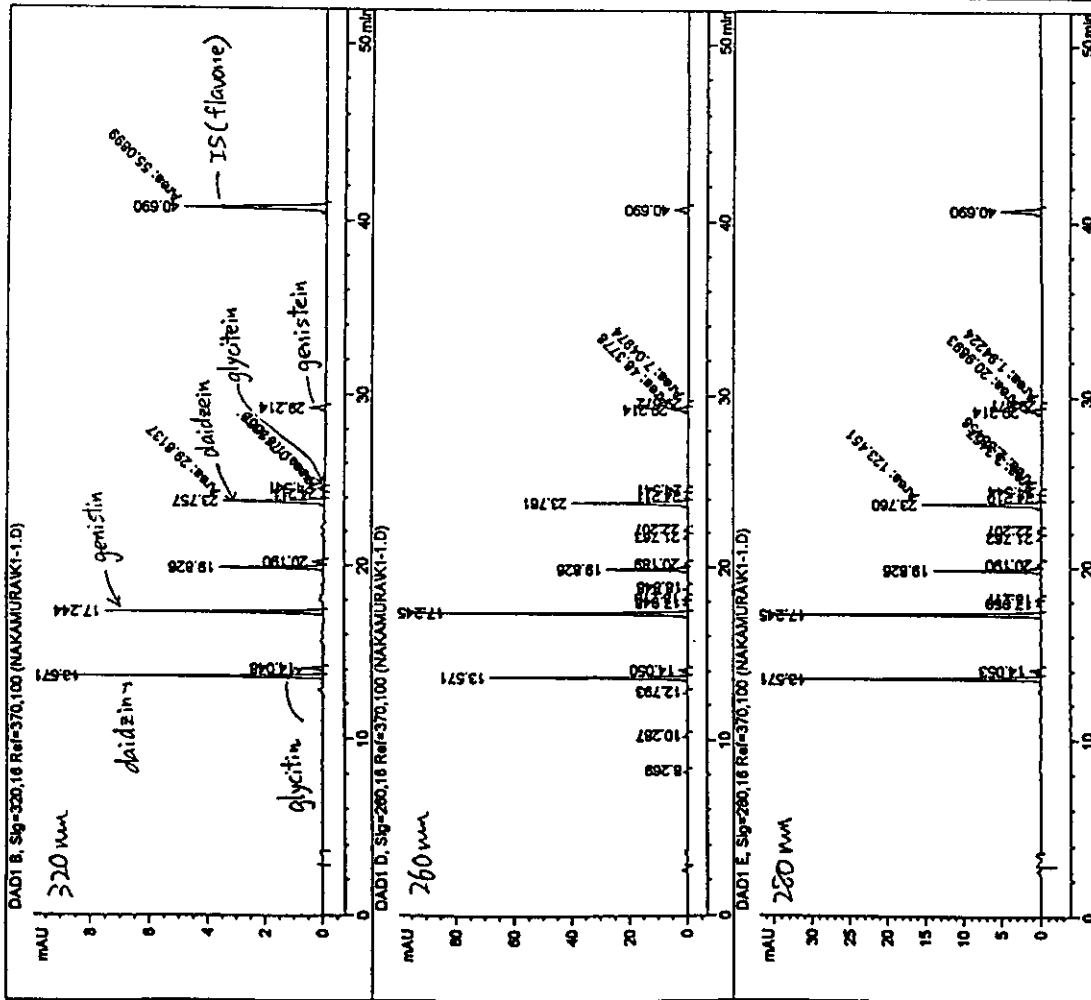


Figure 6 HPLC chromatograms of roasted soybean

Without hydrolysis (genuine)



With hydrolysis

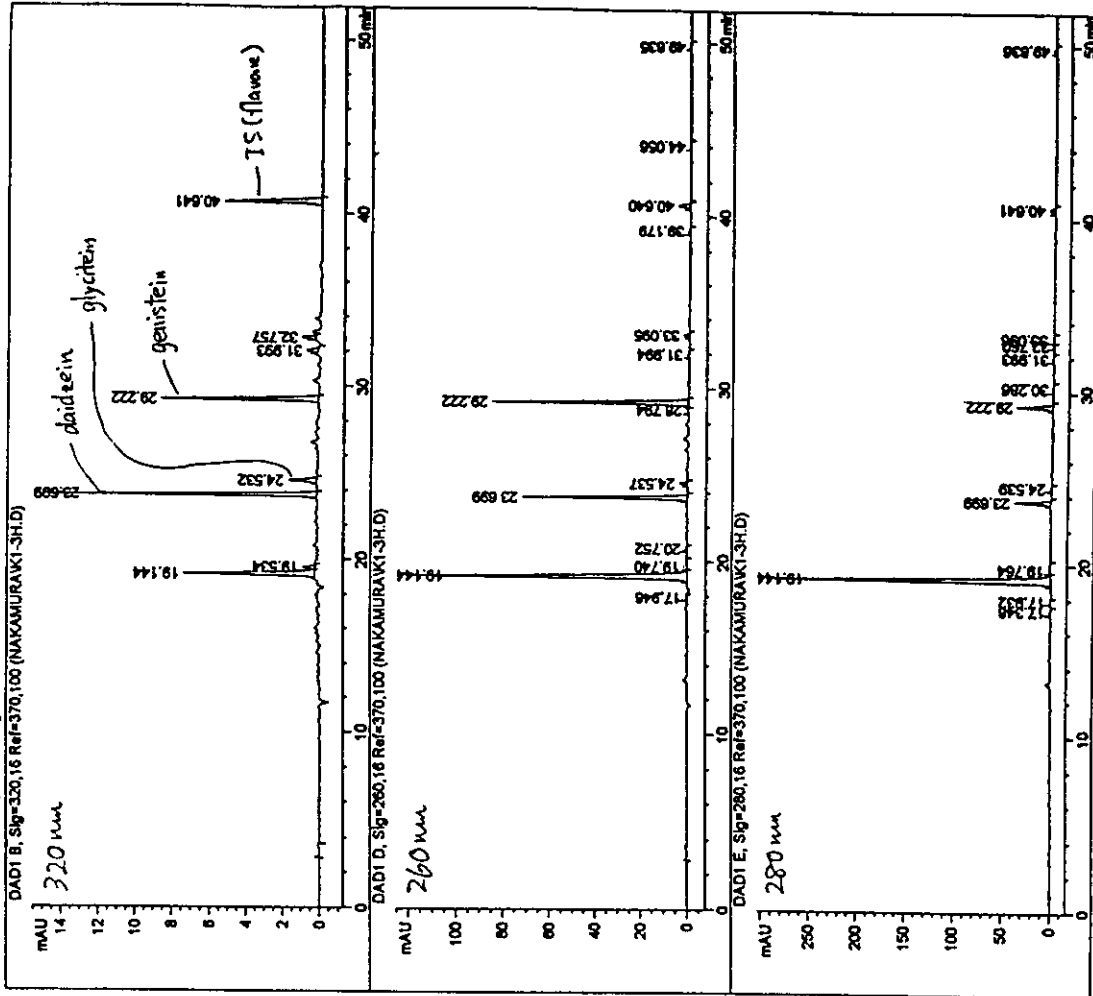


Figure 7 HPLC chromatograms of kinako