

<0.01)。

4. 母体末梢血、腹水、さい帯血からも CLDs、HCB が検出され、*trans*-ノナクロル (0.03~0.39 ppb) は腹水一試料を除く全検体 (95.8%、23/24) から、HCB (0.05~0.18 ppb) は 83.3% (20/24) からと高頻度に検出され、また、*cis*-ノナクロル (0.03~0.09 ppb) も主として母体末梢血 (3/9) を含む 4 試料から (16.7%) から検出された。

謝辞

本研究にあたり、統計的解析法についてご指導頂いた愛知県衛生研究所企画情報部の加藤恵一主任研究員に深謝致します。

血清 (50ml 共栓付き遠沈管)	約 3 g
エタノール	5 ml
エーテル	2.5 ml
ヘキサン	10 ml
振とう (10分)	
遠心分離 (3000 rpm、10分)	
ヘキサン層	
脱水	
濃縮乾固 (30 mlナス型フラスコ)	
セップパックプラス フロリジル (15%エーテル/ヘキサン 10 ml予洗)	
アプライ 15%エーテル/ヘキサン	1 ml
洗浄 15%エーテル/ヘキサン	10 ml
溶出液 (25 mlナス型フラスコ)	
濃縮乾固	
内標準液*	0.5 ml
試験溶液	

* : 1-クロロテトラデカン 25 ppbヘキサン溶液

スキーム 1 . 人血清の分析法

表-1 一般成人血清測定結果

	性別	試料数	年齢	ヘプタクロル エポキシサイド	オキシ クロルデン	trans - ロルデン	cis - クロルデン	trans - ナクロル	cis - ノナクロル	ヘキサクロロ ベンゼン
平均	男	84	40	N.D	0.40	0.04	N.D	0.23	0.06	0.28
最小	男		18	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大	男		56	N.D	0.56	0.04	N.D	1.65	0.16	2.20
検出頻度	男			0/84	2/84	1/84	0/84	79/84	42/84	76/84
平均	女	70	38	N.D	N.D	N.D	N.D	0.15	0.07	0.18
最小	女		20	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大	女		64	N.D	N.D	N.D	N.D	0.72	0.44	0.82
検出頻度	女			0/70	0/70	0/70	0/70	65/70	26/70	62/70
平均	-	154	39	N.D	0.40	0.04	N.D	0.20	0.07	0.23
最小	-		18	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大	-		64	N.D	0.56	0.04	N.D	1.65	0.44	2.20
検出頻度	-			0/154	2/154	1/154	0/154	144/154	68/154	138/154

平均；検出された試料の平均値

単位；ppb

N.D；検出せず

検出限界；ヘプタクロルエポキシサイド、オキシクロルデン；0.2 ppb

trans -, cis -クロルデン、trans -, cis -ノナクロル；0.03 ppb

ヘキサクロロベンゼン；0.02 ppb

表-7 母体末梢血、腹水、さい帯血の分析

	試料種別	試料数	ヘプタクロル エポキシイド	オキシ クロルデン	trans - ロルデン	cis - ク ロルデン	trans - ナク ロル	cis - ノ ナク ロル	ヘキサクロ ベンゼン
平均	母体末梢血	9	N.D	N.D	N.D	N.D	0.17	0.07	0.13
最小			N.D	N.D	N.D	0.04	N.D	N.D	N.D
最大			N.D	N.D	N.D	0.39	0.09	0.18	0.18
検出頻度			0/9	0/9	0/9	9/9	3/9	5/9	5/9
平均	腹水	5	N.D	N.D	N.D	N.D	0.04	0.02	0.09
最小			N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.08
最大			N.D	N.D	N.D	0.07	0.02	0.15	0.15
検出頻度			0/5	0/5	0/5	4/5	1/5	5/5	5/5
平均	さい帯血	10	N.D	N.D	N.D	N.D	0.09	N.D	0.10
最小			N.D	N.D	N.D	0.04	N.D	N.D	0.07
最大			N.D	N.D	N.D	0.18	N.D	0.18	0.18
検出頻度			0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	10/10	10/10
平均	-	24	N.D	N.D	N.D	N.D	0.11	0.06	0.10
最小			N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大			N.D	N.D	N.D	0.39	0.09	0.18	0.18
検出頻度			0/24	0/24	0/24	23/24	4/24	20/24	20/24

平均；検出された試料の平均値

単位；ppb

N.D；検出せず

検出限界；ヘプタクロルエポキシイド、オキシクロルデン；0.2 ppb

trans -, cis -クロルデン、trans -, cis -ノナクロル；0.03 ppb

ヘキサクロベンゼン；0.02 ppb

表-2 trans-ノナクロル濃度と年齢の関係

年齢階層	平均値以下 頻度(%) (例数)	平均値超 頻度(%) (例数)	計 頻度(%) (例数)
30才未満	87.0 (40)	13.0 (6)	30.1 (46)
30代	75.0 (21)	25.0 (7)	18.3 (28)
40代	60.4 (29)	39.6 (19)	31.4 (48)
50才以上	38.7 (12)	61.3 (19)	20.3 (31)
計	66.7 (102)	33.1 (51)	100.0 (153)

p=0.000<0.01
平均値 : 0.20 ppb

表-3 ヘキサクロロベンゼン濃度と年齢の関係

年齢階層	中央値以上 頻度(%) (例数)	中央値超 頻度(%) (例数)	計 頻度(%) (例数)
30才未満	69.6 (32)	30.4 (14)	30.1 (46)
30代	53.6 (15)	46.4 (13)	18.3 (28)
40代	37.5 (18)	62.5 (30)	31.4 (48)
50才以上	19.4 (6)	80.6 (25)	20.3 (31)
計	46.4 (71)	53.6 (82)	100.0 (153)

p=0.000<0.01
中央値 : 0.70 ppb

表-4 性別と年齢の関係

年齢階層	男性 頻度(%) (例数)	女性 頻度(%) (例数)	計 頻度(%) (例数)
30才未満	39.1 (18)	60.9 (28)	30.1 (46)
30代	71.4 (20)	28.6 (8)	18.3 (28)
40代	56.3 (27)	43.8 (21)	31.4 (48)
50才以上	58.1 (18)	41.9 (13)	20.3 (31)
計	54.2 (83)	45.8 (70)	100.0 (153)

p=0.049<0.05

表-5 *trans*-ノナクロル濃度と魚介類摂取頻度との関連

1週間に 摂食する日数	平均値以下 頻度(%) (例数)	平均値超 頻度(%) (例数)	計 頻度(%) (例数)
2日以内	82.7 (43)	17.3 (9)	33.8 (52)
3~4日	63.0 (51)	37.0 (30)	52.6 (81)
5日以上	42.9 (9)	57.1 (12)	13.6 (21)
計	66.9 (103)	33.1 (51)	100.0 (154)

p=0.003<0.01

平均値：0.20 ppb

表-6 30才未満成人における血清中*trans*-ノナクロル濃度と魚介類摂取頻度の関係

1週間に 摂食する日数	平均値以下 頻度(%) (例数)	平均値超 頻度(%) (例数)	計 頻度(%) (例数)
4日以内	92.5 (37)	7.5 (3)	87.0 (40)
5日以上	50.0 (3)	50.0 (3)	13.0 (6)
計	87.0 (40)	13.0 (6)	100.0 (46)

$p=0.022 < 0.05$
 平均値：0.20 ppb

厚生科学研究補助金（生活安全総合研究事業）

協力研究報告書

内分泌かく乱化学物質に関する生体試料（臍帯血等）分析法の開発とその実試料分析結果に基づくヒト健康影響についての研究

LC/MSによる食品及び生体試料中の植物エストロゲンの分析

主任研究者 牧野恒久（東海大学医学部 産婦人科学教室 教授）

分担研究者 織田 肇（大阪府立公衆衛生研究所 副所長）

協力研究者 小林 進（埼玉県衛生研究所 所長）

大豆中に多く含まれるDaidzein, Genistein, Glycitein等のイソフラボンのヒトへの影響を解明するために、LC/MSを用いた高感度且つ特異的な分析法の開発を検討した。構築した方法を用いて日本人が摂取する上記イソフラボンの一日量を求めた結果、約35 mgと推定された。更に、イソフラボンの体内動態を把握するために尿及び血清中の分析を試みた結果、尿中からDaidzein, Genistein, Glyciteinが比較的高い濃度で検出された。一方、血清中からは10例中3例からDaidzein及びGenisteinが極微量検出（1ppb以下）された。

A. 研究目的

大豆中に多く含まれるDaidzein, Genistein, Glycitein等のイソフラボン（図1）は、*in vitro*において女性ホルモン様作用を示す植物エストロゲンとして、その作用が注目されている。一方、日本人の乳癌、前立腺癌の発生率は欧米人に比較して低く、逆に大豆中のこれらの成分がこれらの発癌に対して予防的に作用していると考えられている。更に最近の研究では、骨粗鬆症についても上記のイソフラボンが有効に働いていることが示唆されている。

そこで、上記イソフラボンのヒトへの影響を解明するために、高速液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)を用いた高感度且つ特異的な分析法を構築し、構築した方法を用いて日本人が摂取する上記イソフラボンの一日量を調査した。更に、これらイソフラボンの体内動態を把握するために尿及び血液中の分析を試みた。

B. 研究方法

1. 試料及び試薬

試料には、市販の大豆類、黄粉・豆

腐等の大豆加工品、その他の豆類及びトータルダイエット試料を用いた。トータルダイエット試料は、厚生省国民栄養調査による食品群別摂取量表を基にして、小売店から購入した約150品目の食料品を、実際の食事形態に従い、そのままあるいは調理した後、13群（1群：米・米加工品、2群：米以外の穀類・種実類・芋類、3群：砂糖類・菓子類、4群：油脂類、5群：豆類、6群：果実類、7群：緑黄色野菜、8群：その他野菜類・きのこ類・海草類、9群：調味・嗜好飲料、10群：魚介類、11群：肉類・卵類、12群：乳・乳製品、13群：その他の食品）に大別し、十分混合して調製した。なお、平成8、9及び10年度トータルダイエット試料は、-20℃で冷凍保存されていたものを使用した。

標準品：Daidzein, Genistein, Glycitein及びイソフラボン配糖体、Malonyl体、Acetyl体は和光純薬工業^(株)あるいはナカライ化学^(株)製の生化学用試薬を用いた。

標準溶液：各標準品 10mgを精秤し、メタノール 100mlに溶解して標準原液を調製し、適宜 80% メタノールに溶解して標準溶液とした。

Isolute Multimodeカートリッジ (500mg) : International Sorbent Technology Ltd. 製、カートリッジは予めメタノール5ml、蒸留水5mlでコンディショニングした後使用した。その他の試薬は全てHPLC用あるいは特級品を用いた。

2. 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ/質量分析

計(LC/MS)には Hewlett Packard製、HP1100 シリーズLC/MSDを用いた。測定条件は表1に示した。

3. 検量線の作成

各イソフラボン標準の濃度が0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1及び2µg/mlとなる標準溶液を調製し、その10µlをLC/MSに注入した。検出には選択イオン検出 (selected ion monitoring, SIM)法を採用し、得られたSIMクロマトグラムよりピーク面積を求め、絶対検量線法により検量線を作成した。

4. 試験溶液の調製

食品：試料 0.5～2gを採り、80%メタノールを加えてホモジナイズ抽出後、遠心分離してその上清を試験溶液とした。

尿・血清：尿にあっては試料5mlを、血清にあっては試料2mlをIsolute Multimodeカートリッジに負荷し、蒸留水 10mlで洗浄後、メタノール 10mlで溶出した。溶出液を45℃の水浴中で減圧乾固後、80%メタノール 1mlに溶解して試験溶液とした。

C. 結果及び考察

1. LC/MS測定条件の検討

分析対象として、Daidzein, Genistein, Glycitein, その配糖体であるDaidzin, Genistin, Glycitin及び各Malonyl体, Acetyl体, Succinyl体, 計15成分(図1)を選んだ。イオン化モードを検討した結果、いずれもフェノール性水酸基を有していることから Negative mode

が適していた。また、移動相に微量の酢酸を加えることにより、各成分ともより高感度に検出された。一例として図2にDaizeinの例を示す。移動相に微量の酢酸を加えることにより、Daizeinはより感度良く検出された。しかし、酢酸の濃度が高くなるに従い検出感度は逆に低下することから、酢酸濃度は0.003%とした。

次にイオン強度に及ぼすフラグメンター電圧の影響を検討した。各成分の擬分子イオン[M-H]⁻、あるいは糖脱離イオン[M-glucose-H]⁻を効率良く生成する120Vに設定した。更に、他のパラメーターの最適測定条件を検討し、表1に示す条件を設定した。本条件によって得られた各イソフラボンの検出限界は、SIMモードでモニターイオンを各イソフラボンの擬分子イオンあるいは糖脱離イオンとした場合、概ね10ng/ml(絶対量として50 pg)であった。本法により得られたイソフラボン混合標準溶液のLC/MSクロマトグラムを図3に示す。

2. SIMの分析精度

各イソフラボンの擬分子イオン[M-H]⁻あるいは糖脱離イオン[M-glucose-H]⁻を選んだSIMにより各イソフラボンの検量線を作成した。検量線は0.25~10 ngの範囲で良好な直線性($r=0.998$)を示した。また、各注入量(0.5, 2.5, 10ng)における測定を5回行い、ピーク面積の変動係数を求めたところ、いずれの注入量においても5%以内であり、満足できる分析精度を得

ることができた。

3. 前処理法の検討

食品からの抽出には、アグリコン(Daidzein, Genistein, Glycitein)及び配糖体(Daidzin, Genistin, Glycitin)とも良好に回収される80% MeOHを用いた。LC/MSは選択性に優れており、クリーンアップ操作なしに食品分析への応用が可能であった。

食事から摂取されたイソフラボン配糖体、Acetyl体、Malonyl体は、腸管内において加水分解を受けてフリーのアグリコンとして体内に吸収されることが知られている。また、イソフラボン配糖体、Acetyl体、Malonyl体にはエストロゲン作用が認められないとされている。そこで、尿及び血清に関してはアグリコン(Daidzein, Genistein, Glycitein)のみを分析対象とした。尿、血清中のこれら化合物のレベルは微量であることから、簡便で再現性に優れている固相抽出法を前処理に採用することとした。Daidzein, Genistein, Glyciteinは疎水性が高いこと、及び尿・血清は殆どが水分であることから、抽出用カートリッジには逆相系を中心に検討した。検討したカートリッジの中では、無極性のODS(C18)と強陽イオン(benzenesulphonic acid)及び強陰イオン(quaternary amine)交換樹脂の3種類がミックスして充填されているISOLUTE Multimode がクリーンアップ効果に最も優れていた。表2に尿及び血清における添加回収実験結果を示す。本法を用いることにより、血清中に存

在する0.1ppbレベルのDaidzein, Genistein, Glyciteinを検出することが可能であった。

4. 大豆及び大豆加工品中の含有量調査

市販されている乾燥大豆、大豆加工食品を中心にイソフラボン含有量調査を行った(表3)。大豆及び大豆加工食品のいずれからもイソフラボン化合物が検出されたが、今回分析を行った他の豆類(小豆、金時豆、とら豆、うずら豆、大福豆、えんどう豆、赤えんどう豆、ヒヨコ豆)からはイソフラボン化合物は検出されなかった。本調査と平成9年国民栄養調査を組み合わせると日本人のイソフラボン類の一日摂取量を推定すると34.7mg(アグリコンとして)となる。

大豆及び大豆加工品中のイソフラボンの成分組成をみると、乾燥大豆ではMalonyl体が最も多く含まれていた。しかし、乾燥大豆を加熱加工処理した黄粉では、Malonyl体は全く含まれておらず、その代わりにAcetyl体の含量が多くなっている。味噌、醤油などの発酵食品はアグリコンの割合が高く、醤油ではアグリコンのみであった。今回調査した大豆加工食品の中で納豆からのみSuccinyl体が検出された(図4)。同じ発酵食品でも納豆の発酵期間は約1日と短く、且つ発酵菌種が味噌・醤油と異なっており、これらのことが要因と考えられるが、今後詳細に検討したい。なお、Succinyl体については、標準品が市販されていないことから、ピ

ーク成分のマススペクトル及びUVスペクトルで確認し、定量は、イソフラボン化合物の分子吸光係数はほぼ同等と考えられることから、UV吸収を利用して行った。

5. トータルダイエツト方式による日本人のイソフラボン類の一日摂取量

トータルダイエツト方式により調製した4ヶ年(1996,1997,1998,1999年)試料を本法を用いて分析し(図5)、日本人が摂取するイソフラボン化合物の一日量を求めた。表4に示した通り、イソフラボン化合物の95%以上が第5群、豆類由来であった。トータルダイエツト(マーケットバスケット)方式による日本人(埼玉県：関東I地域の栄養摂取量による)のイソフラボンの一日摂取量は35mg(アグリコンとして)と推定された。

6. 尿及び血清中のDaidzein, Genistein, Glycitein濃度

尿及び血清を分析した結果、尿中から遊離Daidzein, Genistein, Glyciteinが比較的高い濃度で検出された(図6)。一方、血清中からは10例中3例から遊離のDaidzein及びGenisteinが極微量検出(1ppb以下)された(図7)。

ラット等を用いた動物実験において、Daidzein, Genisteinは腸管から速やかに吸収され、肝臓でその多くはグルクロン酸抱合体あるいは硫酸抱合体に代謝されることが知られている。今回は、アグリコンのみ分析対象としたが、今後の課題として抱合体も含めた分析法

を構築し、イソフラボンの体内動態を把握して行くことが重要と考える。

D. 結論

大豆中に多く含まれるDaidzein, Genistein, Glycitein等のイソフラボンのヒトへの影響を解明するために、LC/MSを用いた高感度且つ特異的な分析法の開発を検討した。構築した方法を用いて日本人が摂取する上記イソフラボンの一日量を求めた結果、約35mgと推定された。更に、イソフラボンの体内動態を把握するために尿及び血清中の分析を試みた結果、尿中からDaidzein, Genistein, Glyciteinが比較的高い濃度で検出された。一方、血清中からは10例中3例からDaidzein及びGenisteinが極微量検出（1ppb以下）された。

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 「LC/MSによる食品及び生体試料中の植物イソフラボンの分析」：第2回日本内分泌攪乱化学物質学会（神戸）1999.12.9-10
- 2) 「LC/MSによるヒト血液中のビスフェノールAの分析」：日本薬学会第120年会（岐阜）2000.3.29-31

2. 論文発表

- 1) 「液体クロマトグラフィー/質量分析法による缶飲料中のビスフェノールAの定量」：分析化学, 48, 579 (1999)

表1 LC/MS 測定条件

Apparatus: HP1100 Series LC/MSD (Hewlett Packard)			
MS Conditions		HPLC Conditions	
Ionization Mode	ESI, Negative Mode	Column	Zorbax XDB-C18 (150 x 2.1 mm)
Fragmentor	120V	Eluent	gradient (containing 0.003% AcOH)
Nebulizer	N ₂ (40 psi)	Flow rate	0.2 ml/min
Drying gas	N ₂ (10 l/min, 350°C)	Oven temp.	40°C
V-cap	4500V	Injection size	5 µl
SIM ion	(M-H) ⁻ (M-glucose-H) ⁻		

gradient	(min)	A	B
A= 10% MeCN (containing 0.003% acetic acid)	0	100	0
B= 50% MeCN (containing 0.003% acetic acid)	20	25	75
	25	0	100

表2 尿及び血清からのイソフラボンの添加回収率

Sample	Added/ng ml	Recovery (%)		
		Daidzein	Glycitein	Genistein
Urine	40	92.1±2.7	93.6±3.5	91.8±1.8
Plasma	4	77.3±4.5	72.1±4.7	67.6±6.8

Values are mean ± S.D. (n=3)

表3 大豆及び大豆加工品中のイソフラボン類の含有量 (μg/g)

試料	n	daidzin	malonyl- -daidzin	succinyl- daidzin	acetyl- daidzin	daidzein	glycitin	m- glycitin	s- glycitin	a- glycitin	glycitein	genistin	m- genistin	s- genistin	a- genistin	genistei n.	total	一日 取量 (mg)
大豆	5	134-296	295-378	N.D.	16-18	29-85	54-101	14-64	N.D.	tr.	tr.-19	275-310	709-1431	N.D.	3.4-6.7	32-53		
	AV.	231	321		17	66	58	28			6.3	277	1051		5.1	47	2107	17.5
黄粉	3	278-352	N.D.	N.D.	200-292	51-140	17-51	N.D.	N.D.	14-25	28-62	595-664	N.D.	N.D.	450-711	67-142		
	AV.	316			235	91	36			20	43	623			541	114	2019	
納豆	3	85-368	tr.	39-186	3.8-25	21-70	99-135	tr.	9.3-14	tr.	4.2-6.1	262-1132	tr.	70-124	11-54	13-26		
	AV.	270		130	17	50	120		12		5.3	835		104	39	21	1603	
油揚げ	3	24-28	19-23	N.D.	11-15	10-32	4.2-5.6	3.6-4.7	N.D.	1.1-1.8	2.6-3.1	46-55	86-96	N.D.	24-32	13-40		
	AV.	27	22		14	25	5.1	4.1		1.6	3	53	92		30	31	308	2.6
豆腐	3	14-22	24-36	N.D.	tr.	7.2-17	4.9-6.7	6.0-8.8	N.D.	tr.	1.1-1.3	31-33	120-121	N.D.	tr.	8.6-16		
	AV.	18	30			12	5.8	7.4			1.2	32	121			12	239	9.2
味噌	3	45-57	7.4-10	N.D.	4.6-5.5	43-59	13-14	tr.-3.3	N.D.	tr.	6.0-10	105-155	28-44	N.D.	11~18	55-76		
	AV.	55	9.1		5.1	54	14	1.7			7.7	141	36		13	64	401	5.4
醤油	5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.7-17.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	tr.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.7-4.6		
	AV.					9.7										2.9	13	
																	total	34.7

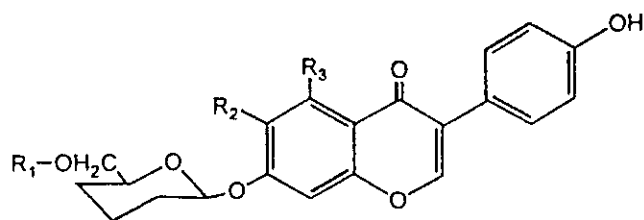
含有量：アグリコンとして

表4 トータルダイエット試料中のイソフラボン濃度 (μg/g)と推定一日摂取量 (mg/day)

分析試料数 4 (1996年, 1997年, 1998年, 1999年調製試料)

試料	daidzin	malonyl- daidzin	succinyl- daidzin	acetyl- daidzin	daidzein	glycitin	m- glycitin	s- glycitin	a- glycitin	glycitein	genistin	m- genistin	s- genistin	a- genistin	genistein	total	食品摂取 量(g)	一日摂取 量(mg)
1群 穀類															tr.		174.5	
2群 穀類・芋類					ND.-0.03 0.02										0.04-0.07 0.06	0.08	162.0	0.01
3群 砂糖・菓子類					ND.-0.07 0.05										0.03-0.05 0.04	0.09	31.1	0.00
4群 油脂類					tr.-2.1 1.30										0.03-0.14 0.07	1.37	19.8	0.03
5群 豆類	55-94 75.3	16-37 30.1	1.0-11 6.3	1.4-17 10.5	20-27 25.0	11~16 15.0	3.9-6.6 3.9	tr.-3.8 1.7	1.2-6.0 3.6	3.4-6.4 5.5	91-162 132.7	65-151 132.0	2.4-38 13.3	4.8-40 24.9	21-31 27.6	507.4	88.9	35.0
6群 果実類																	116.0	
7群 緑黄色野菜類															0.03-0.31 0.14	0.14	86.4	0.01
8群 その他の野菜類					tr.-0.05 0.04										0.03-0.04 0.03	0.07	177.3	0.01
9群 調味・嗜好飲料					0.45-0.87 0.82										0.24-0.36 0.31	0.93	147.4	0.05
10群 魚介類	tr.	tr.			0.02-0.03 0.02						tr.-0.05 0.02	N.D.-0.04 0.02		tr.	0.04-0.07 0.05		94.1	0.06
11群 肉類	0.07-0.30 0.17	0.05-0.25 0.17			0.24-0.55 0.37						tr.-1.1 0.51	0.49-0.95 0.71		tr.-0.11 0.04	0.47-1.3 0.92	2.89	121.5	0.28
12群 乳類																	139.1	
13群 その他の食品					0.07-0.21 0.15										0.79-1.7 1.11	1.26	6.0	0.01
																		35.4

(含有量: アグリコンとして)



化合物	R ₁	R ₂	R ₃	糖	mol. Wt
Daidzein	H	H	H	—	254.24
Daidzin	H	H	H	+	416.38
6''-O-Acetyldaidzin	COCH ₃	H	H	+	458.42
6''-O-Malonyldaidzin	COCH ₂ COOH	H	H	+	502.43
6''-O-Succinyldaidzin	COCH ₂ CH ₂ COOH	H	H	+	516.46
Genistein	H	H	OH	—	270.24
Genistin	H	H	OH	+	432.38
6''-O-Acetylgenistin	COCH ₃	H	OH	+	474.42
6''-O-Malonylgenistin	COCH ₂ COOH	H	OH	+	518.43
6''-O-Succinylgenistin	COCH ₂ CH ₂ COOH	H	OH	+	532.46
Glycitein	H	OCH ₃	H	—	284.26
Glycitin	H	OCH ₃	H	+	446.40
6''-O-Acetylglycitin	COCH ₃	OCH ₃	H	+	488.45
6''-O-Malonylglycitin	COCH ₂ COOH	OCH ₃	H	+	532.46
6''-O-Succinylglycitin	COCH ₂ CH ₂ COOH	OCH ₃	H	+	546.48

図1 植物エストロゲンの化学構造

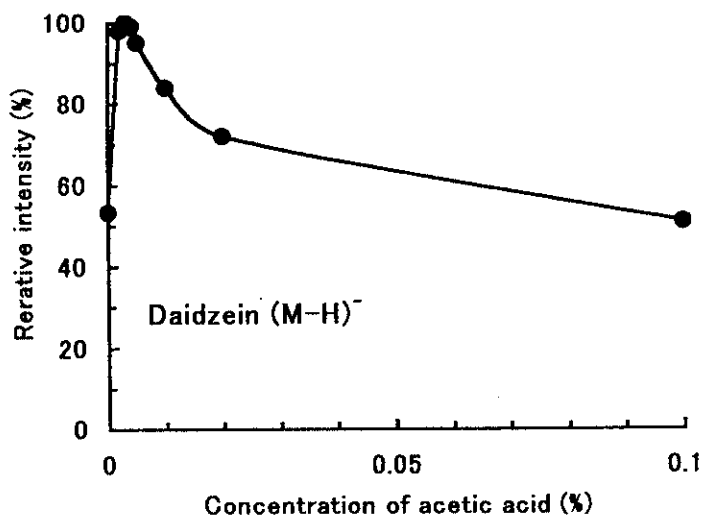


図2 イオン強度に及ぼす移動相中の酢酸濃度の影響

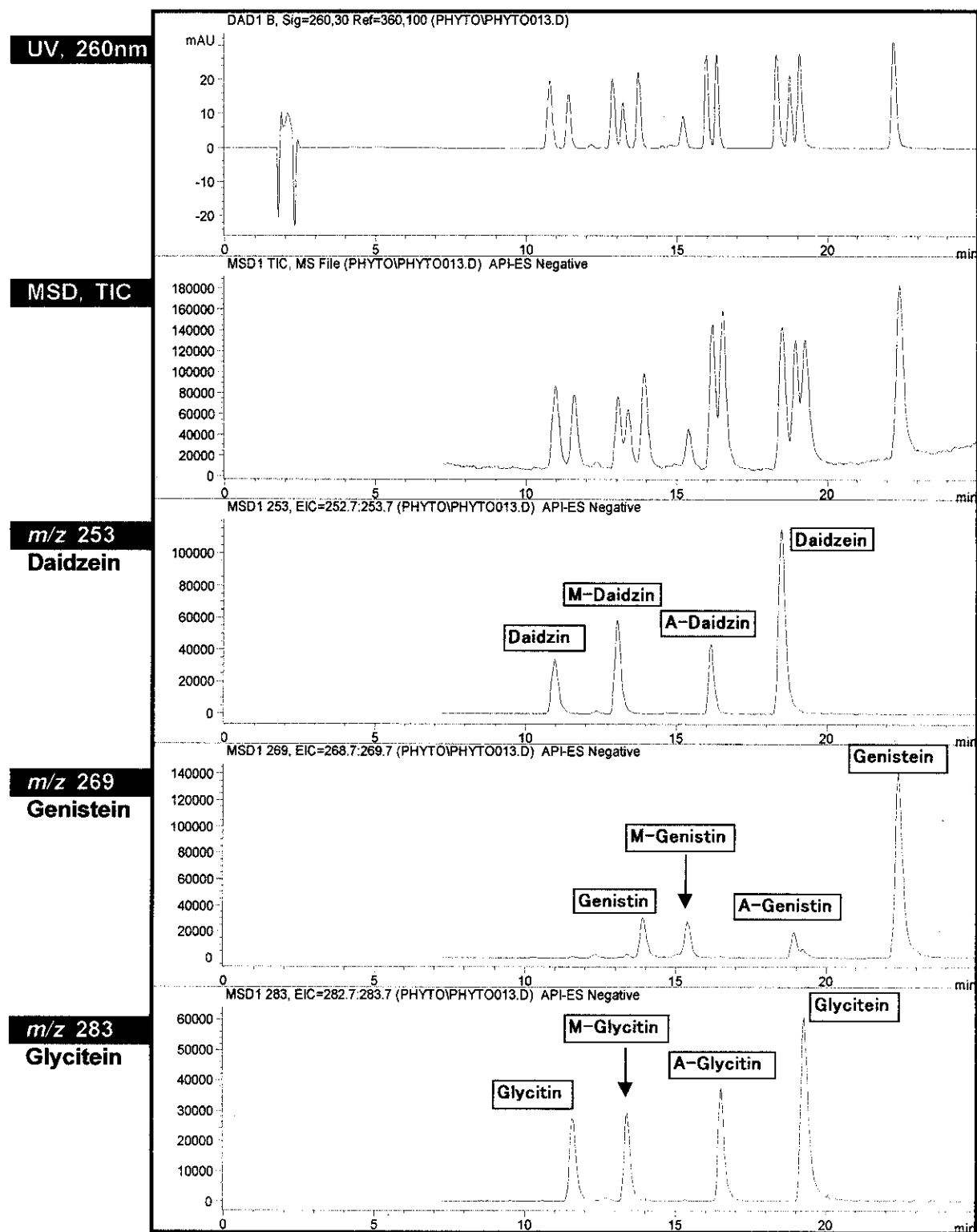


図3 イソフラボン混合標準溶液のLC/MSクロマトグラム (2ppm, 5 μ L)

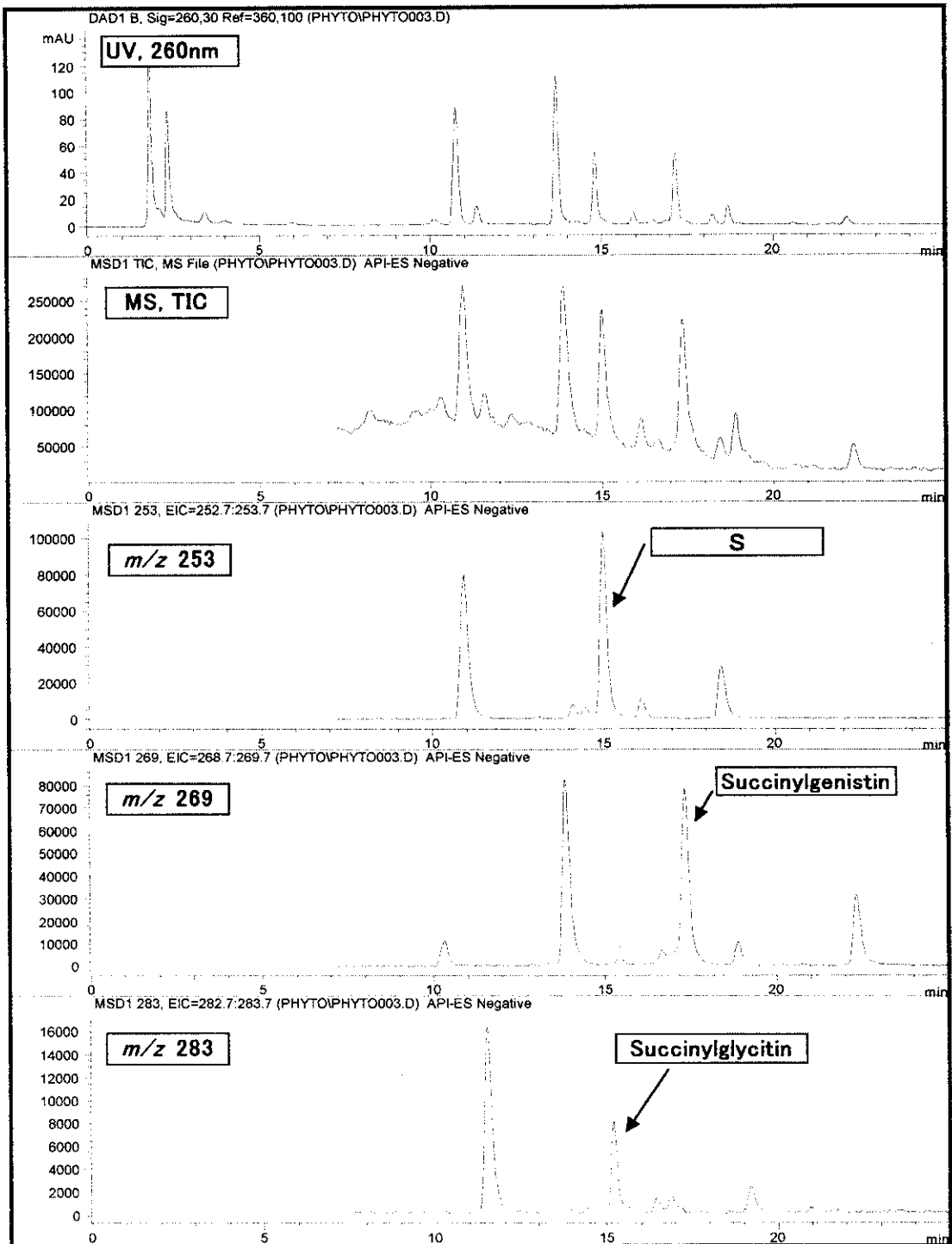


図4 大豆製品（納豆）のLC/MSによる分析例

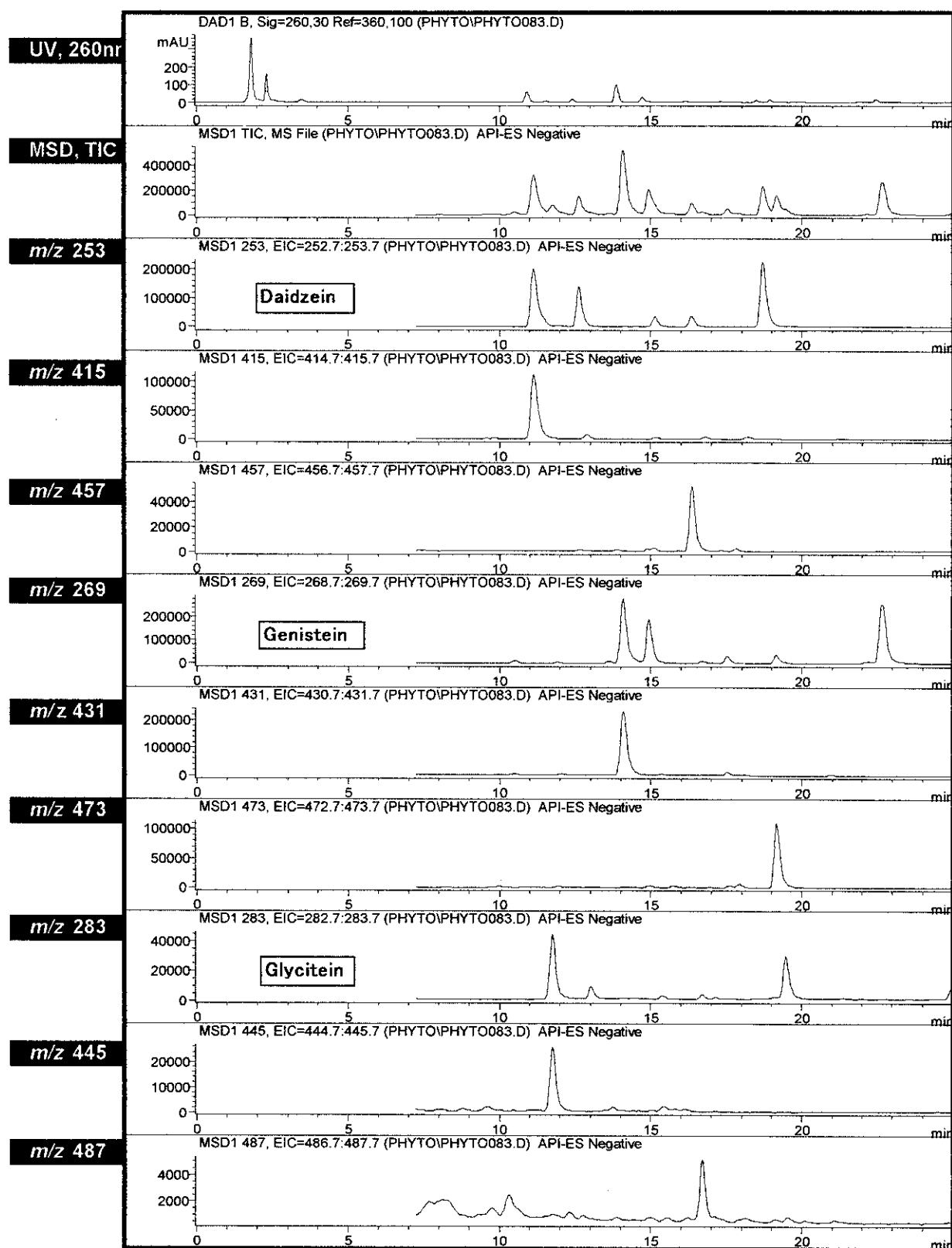


図5 トータルダイエツト試料, 第5群 (豆類) 調製食品のLC/MSクロマトグラム

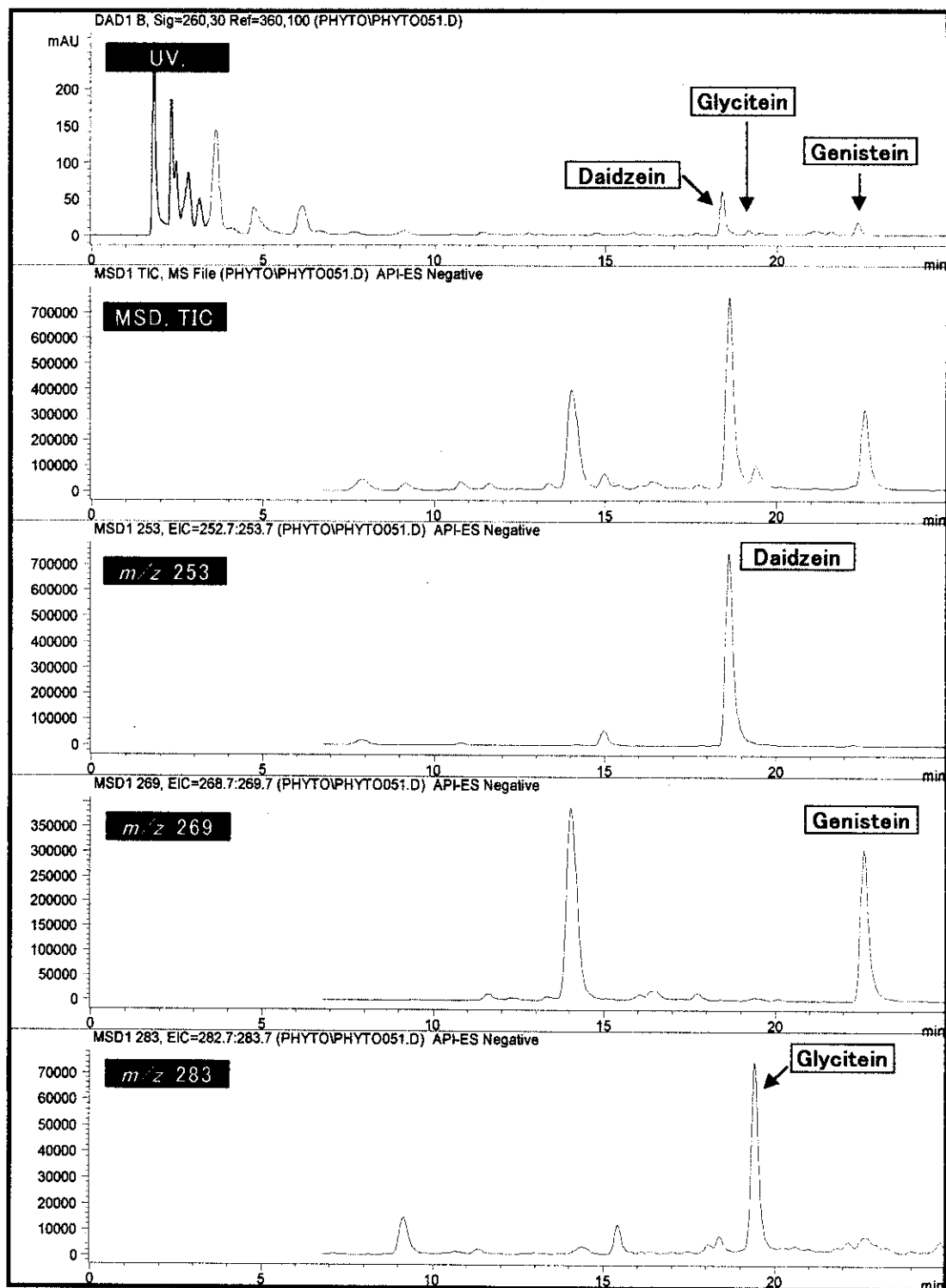


図6 LC/MSによる尿中のDaidzein, Genistein, Glycitein の分析例