



計畫編號：DOH94-TD-F-113-037

行政院衛生署九十四年度科技研究計畫

人體尿液中營養調查方法之建立—尿液中黃酮類
微營養素之分析

Urine analysis of flavonoid micronutrients

研究報告

執行機構：中國醫藥大學

計畫主持人：李珮端

研究人員：徐素蘭、侯鈺琪、王孟珠、姬盈璋、陳仁元

執行期間：九十四年一月一日至九十四年十二月卅一日

*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，依合約之規定：如
對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意*

目錄

附圖目錄.....	3
附表目錄.....	6
中文摘要.....	8
英文摘要.....	9
壹、前言.....	10
貳、材料與方法.....	12
參、結果與討論.....	25
肆、結論與建議.....	33
伍、參考文獻.....	34
陸、圖.....	38
柒、表.....	55
捌、九十四年度計畫重要研究成果及對本署之具體建議.....	64

附圖目錄

Fig. 1-1 Chromatogram of naringin, narirutin and internal standard in grapefruit juice.	36
Fig. 1-2 Chromatograms of naringenin and internal standard in human urine. (a): Blank urine, (b): urine spiked with 12.5 g/mL of naringenin and internal standard, (c): urine sample treated with glucuronidase, (d): urine sample treated with sulfatase.	36
Fig. 1-3 Individual cumulated urinary recoveries (% of dose) of naringenin glucuronides in nine volunteers after intake of grapefruit juice.	37
Fig. 1-4 Individual cumulated urinary recoveries (% of dose) of naringenin sulfates in nine volunteers after intake of grapefruit juice.	37
Fig.1-5 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of naringenin glucuronides and sulfates in nine volunteers after intake of grapefruit juice during each time interval, respectively.	38
Fig. 2-1 Chromatogram of hesperidin, narirutin and the internal standard in orange juice.....	39
Fig. 2-2 Chromatograms of hesperetin, naringenin and the internal standard in human urine.....	39
Fig. 2-3 Cumulated urinary excretion of (a): hesperetin sulfates and (b): hesperetin glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer).....	40
Fig. 2-4 Cumulated urinary excretion of (a): naringenin sulfates and (b): naringenin glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer).	41
Fig. 2-5 Cumulated mean urinary recoveries (% of dose) of hesperetin sulfates and glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice	

(1L/volunteer).	42
Fig. 2-6 Cumulated mean urinary recoveries (% of dose) of naringenin sulfates and glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer).	42
Fig. 2-7 Mean (\pm S.E.) urinary recovery (% dose /h) of sulfates and glucuronides of (a): hesperetin and (b): naringenin in each time interval after administration of orange juice (1L/volunteer) to eleven volunteers.	43
Fig. 3-1 Chromatograms of daidzin (1), genistin (2), daidzein (3), genistein (4) and 5,7-dimethoxycoumarin (internal standard) (5) in (A) standard solution, 3.1 μ g/mL for each standard,(B) soymilk.	44
Fig.3-2 Chromatograms of daidzein (1) ethylparaben (2) (internal standard), equol (3) and genistein (4).	45
Fig. 3-3 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of daidzein glucuronides in nine volunteers after intake of soymilk.	46
Fig. 3-4 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of daidzein sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.	46
Fig. 3-5 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of equol glucuronides in nine volunteers after intake of soymilk.	47
Fig. 3-6 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of equol sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.	47
Fig. 3-7 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of genistein glucuronides in nine volunteers after intake of soymilk.	48
Fig. 3-8 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of genistein sulfates in nine volunteers after intake of soy milk.	48
Fig. 3-9 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of daidzein glucuronides and daidzein sulfates in nine volunteers during each time interval after intake of soymilk.	49

Fig. 3-10 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of equol glucuronides and equol sulfates in nine volunteers after during each time interval intake of soymilk.	49
Fig. 3-11 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of genistein glucuronides and genistein sulfates in nine volunteers during each time interval after intake of soymilk.	50
Fig. 3-12 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of daidzein glucuronides and daidzein sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.	50
Fig. 3-13 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of equol glucuronides and equol sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.	51
Fig. 3-14 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of genistein glucuronides and genistein sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.	51
Fig. 3-15 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of glucuronides of equol, daidzein and genistein in nine volunteers after intake of soymilk.	52
Fig. 3-16 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of sulfates of equol, daidzein and genistein in nine volunteers after intake of soymilk.	52

附表目錄

Table 1-1. Intra-run and inter-run analytical precision and accuracy of naringin in grapefruit juice.	53
Table 1-2. Intra-run and inter-run analytical precision and accuracy of narirutin in grapefruit juice.	53
Table 1-3. Recovery (%) of naringin in grapefruit juice.	53
Table 1-4. Recovery (%) of narirutin in grapefruit juice.	53
Table 1-5. Intra-run and inter-run analytical precision and accuracy of naringenin in human urine.	54
Table 1-6. Recovery (%) of naringenin from human urine.	54
Table 2-1. Intraday and interday analytical precision and accuracy of hesperidin in orange juice.	55
Table 2-2. Intraday and interday analytical precision and accuracy of narirutin in orange juice.	55
Table 2-3. Recovery (%) of hesperidin from orange juice.	55
Table 2-4. Recovery (%) of narirutin from orange juice.	55
Table 2-5. Intraday and interday analytical precision and accuracy of hesperetin in human urine.	56
Table 2-6. Intraday and interday analytical precision and accuracy of naringenin in human urine.	56
Table 2-7. Recovery (%) of hesperetin from human urine.	56
Table 2-8. Recovery (%) of naringenin from human urine.	56
Table 3-1. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzin.	57

Table 3-2. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzein.....	57
Table 3-3. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistin	57
Table 3-4. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistein.....	58
Table 3-5. Recovery (%) of daidzin from soybean extract.	58
Table 3-6. Recovery (%) of daidzein from soybean extract.	58
Table 3-7. Recovery (%) of genistin from soybean extract.	58
Table 3-8. Recovery (%) of genistein from soybean extract.	58
Table 3-9. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzein after acid hydrolysis.	59
Table 3-10. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistein after acid hydrolysis.	59
Table 3-11. Recovery (%) of daidzein from soybean extract after acid hydrolysis.....	59
Table 3-12. Recovery (%) of genistein from soybean extract after acid hydrolysis.....	59
Table 3-13. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzein in human urine.	60
Table 3-14. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of equol in human urine.	60
Table 3-15. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistein in human urine.	60
Table.3-16. Recovery (%) of daidzein from human urine.	61
Table.3-17. Recovery (%) of equol from human urine.	61
Table.3-18. Recovery (%) of genistein from human urine.	61

中文摘要

許多跨國流行病學研究顯示，日常黃酮類之攝食量與心血管疾病、癌症、神經退化等慢性疾病之罹患率息息相關，因此黃酮類被認為是一類微營養素。

本計畫建立了精確簡便的 HPLC/UV 方法，分析尿液中之黃酮類微營養素。健康男性自願受試者飲用葡萄柚汁、柳橙汁、豆漿等本土飲料後，定量尿液中的 naringenin、hesperetin、genistein、daidzein、equol 等黃酮之配醣體、非醣體或其結合態代謝物 sulfates、glucuronides 等。

研究結果顯示，國人飲用三種富含黃酮的飲料後，從尿液排除之百分率為豆漿>葡萄柚汁>柳橙汁，排除半生期為豆漿>葡萄柚汁>柳橙汁，顯示豆漿中的黃酮吸收較佳，且其代謝物於體內滯留時間較長。葡萄柚汁、柳橙汁、豆漿中黃酮代謝物排出最多之時段分別為 8-10、4-6 及 8-10 小時。

本研究所建立之尿液分析方法，可提供國人未來進行營養流行病學調查研究之方法，並初步建立國人異黃酮相關微營養素吸收代謝之本土資料，應為日後以營養教育介入慢性病防治之重要實證依據。

關鍵詞：微營養素；黃酮類；代謝物；尿液分析

英文摘要

Many multi-national epidemiological studies revealed that daily intake of flavonoids was correlated with the incidences of cardiovascular diseases, cancers and neurodegenerative diseases. Therefore, flavonoids are considered as a group of micronutrients.

This study established simple and precise HPLC/UV methods to analyze flavonoids in human urine. After healthy volunteers received native beverages including grapefruit juice, orange juice and soymilk, glycosides and aglycones of flavonoids including naringenin, hesperetin, genistein, daidzein and equol as well as their glucuronides and sulfates in the urine samples were determined before and after hydrolysis with β -glucuronidase and sulfatase, respectively.

Our results showed that the decreasing order of urinary excretion percentages of flavonoids were soymilk > grapefruit juice > orange juice, indicating that soymilk isoflavones have the best absorption. Moreover, the decreasing order of half-lives were also soymilk > grapefruit juice > orange juice, indicating that soymilk isoflavones have residence time in the body. Given the bioactivities of the flavonoid conjugated metabolites from these three beverages were comparable, soymilk would be the best resource of micronutrients than grapefruit juice and orange juice. The highest excretion intervals of flavonoid sulfates/glucuronides after taking grapefruit juice, orange juice and soymilk were 8-10, 4-6 and 8-10 h, respectively.

This study could provide basic information for the data base of micronutrients. The analysis method established in this study could be applicable for the nutrition status survey in the future.

Key words : micronutrient; flavonoid; metabolites; urine

壹、前言

一件長達 25 年橫跨七國的流行病學研究顯示(1)，民眾心血管疾病之死亡率與其日常黃酮攝取量呈現負相關。隨後許多流行病學研究亦顯示日常黃酮攝取量與心血管疾病、癌症等慢性疾病息息相關 (2-5)，因此黃酮被認為是一類微營養素。反觀國人近年的十大死因，心血管疾病、腦血管疾病及癌症名列前三名，因此有關國人日常黃酮類之攝取及吸收情況，實為一極重要的營養問題。

黃酮類為一群多酚化合物，依化學結構可再分為 flavanol、flavonol、flavone、flavanone、isoflavone 及 anthocyanidin 等類。許多體外或動物研究顯示，黃酮類具多樣優越的生物活性，包括抗菌、抗病毒 (6, 7)、鎮痛 (8, 9)、抑制脂質過氧化 (10)、抗發炎、抗過敏 (11-13)、血管鬆弛 (14)、抗凝血 (15-20)、清除自由基 (21-23)、抗氧化 (24,25) 等作用。此外，又有研究指出，黃酮類亦具抗癌活性 (26-29)，其中 quercetin 已進入臨床抗癌試驗 (30)。根據一些比較研究顯示，被稱為“長壽村”的琉球居民，平均每天吃七份蔬果，七份穀類，二份大豆產品，與以肉類為主的美國人相比，其心臟病發生率為 1/5，乳癌、卵巢癌及攝護腺癌為 1/4，可能與其黃酮類攝食量較高有關 (31,32)。綜合所有有關黃酮類的研究，可以推論多攝食富含黃酮類蔬果、飲料對國民健康應有相當多的助益。

黃酮類主要以配糖體之形式廣泛地分布於植物界(33)，近年之研究發現，黃酮類配糖體攝食後，於腸道中必須受腸內酵素 (34,35) 或細菌水解成非醣體方能被腸細胞吸收 (36,37)。然而，此些非醣體旋又受到腸及肝之代謝，主要轉化成結合態代謝物如 sulfates、glucuronides 等，其中部分從尿液排出 (38-43)。有關蔬果中黃酮類之定量，已有些許研究報告 (43-45)。有關尿液中黃酮類微營養素之定量，雖然國外已有研究報導 (40-42)，然而各國民眾代謝基因可能不同、胃腸道之菌叢可能不同，因而對黃酮類配糖體的代謝動力學亦可能不同，因此有必要建立

國人自己的資料庫。本研究所建立之尿液分析方法，應可提供國人未來進行營養流行病學調查研究之工具，應為日後以營養教育介入慢性病防治之重要實證依據。

貳、材料與方法

第一節 實驗材料及儀器

一、實驗試藥

1. Hesperidin (97%)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, U.S.A.)
2. Hesperetin (95%)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
3. Naringin (95 %)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
4. (±)-Naringenin (95 %)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
5. Narirutin (95 %)	Extrasynthese (Genay, France)
6. Equol	Extrasynthese S.A. (Genay, France)
7. Genistin	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
8. Genistein	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
9. Daidzin	Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland)
10. Daidzein	Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland)
11. Polyethylene glycol 400	Merck, Germany
12. β-Glucuronidase (type B-1)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
13. Sulfatase (type H-1)	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)
14. Acetonitrile, LC Grade	J. T. Backer Inc. (Phillipsburg, NJ, U.S.A.)
15. Methyl alcohol, LC Grade	Mallinckrodt Baker, Inc. (Paris, KY, U.S.A.)
16. Ethyl acetate, LC Grade	J. T. Backer Inc. (NJ, U.S.A.)

- | | |
|---------------------------------|--|
| 17. Ortho-phosphoric acid (85%) | Riedel-deHaën AG (Seelze, Germany) |
| 18. L (+) - Ascorbic acid | Riedel-deHaën AG (Seelze, Germany) |
| 19. 6,7-Dimethoxycoumarin (98%) | Aldrich (Milwaukee, WI, U.S.A.) |
| 20. 5,7-Dimethoxycoumarin (99%) | Aldrich (Milwaukee, WI, U.S.A.) |
| 21. Ethylparaben | Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.) |
| 22. Hydrochloric acid | Wako Pure Chemical Industries. Ltd. (Osaka, Japan) |
| 23. Sodium acetate, anhydrous | Kohusan Chemical Works, Ltd. (Kyoto, Japan) |
| 24. Milli-Q | Millipore Co. (Bedford, MA, U.S.A.) |

二、儀器設備

高效液相層析儀包括:

幫浦

LC-10AT

Shimadzu (Japan)

層析管

Cosmosil (150 × 4.6 mm)

Waters (U.S.A.)

Apollo[®] (250 × 4.6 mm)

管柱前濾膜

LiChroCART[®] 4-4

Merck (Germany)

紫外光偵測器

SPD-10A

Shimadzu (Japan)

自動注射器

SIL-10AD

Shimadzu (Japan)

第二節 實驗方法

(一) 飲料之購買與製備

A. 葡萄柚汁與橙汁

購於台中市之水果店，為機器現榨整顆葡萄柚或柳橙所得之果汁，未加水、糖及任何添加物。

B. 豆漿

由本研究室自製，精確稱取大豆 1.25 kg，以 2.5 L 水浸泡八小時後，瀝乾水分，將大豆倒入果汁機，加入 10 L 水，打成泥狀濾取汁液，於瓦斯爐上加熱至沸騰，放冷並加入冷開水至 10 L。

(二) 飲料中黃酮類之定量

為進行黃酮類於人體吸收之實驗，須先瞭解飲料中之含量。

1. 三種飲料定量之前處理方法如下：

A. 葡萄柚汁與橙汁

檢品 300 μL ，加入 700 μL 甲醇，離心 15 min (9,860 g)，取上清液 100 μL ，加入 100 μL 甲醇溶液 (含 6,7-dimethoxycoumarin, 40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，混合均勻後離心 15 min (9,860 g) 取上清液用氮氣吹乾後，以 60 μL 甲醇溶解。取 20 μL 注入 HPLC 分析，以檢品中 naringin、narirutin 及 hesperidin 與內標準之波峰面積比值代入各成分之檢量線方程式，求出檢品中 naringin、narirutin 及 hesperidin 之含量。

B. 豆漿

(1) Daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之定量

檢品 100 μL ，加入 900 μL 甲醇溶液混合均勻後，離心 15 min (9,860 g)。取上清液 180 μL ，加入 20 μL 之內標準甲醇溶液 (5,7-dimethoxycoumarin, 20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 混合後，以微孔濾器 (0.45 μm) 過濾。取 20 μL 注入 HPLC 分析，以檢品中 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 與內標準之波峰面積比值代入各成分之檢量線方程式，求出檢品中 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之含量。

(2) 酸水解後 daidzein 及 genistein 之定量

檢品 1.0 mL，加入 1.0 mL 1.2N 鹽酸溶液，以 80°C 水浴加熱 4 小時後，定容至 2.0 mL，離心 15 min (9,860 g)，取上清液 100 μL ，加入 100 μL 乙酸乙酯 (含 5,7-dimethoxycoumarin, 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，混合均勻後離心 15 min (9,860 g) 取上清液用氮氣吹乾後，以 60 μL 甲醇溶解。取 20 μL 注入 HPLC 分析，以檢品中 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 與內標準之波峰面積比值代入各成分之檢量線方程式，求出檢品中 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之含量。

2. 高效液相層析儀 (HPLC) 之分析條件如下：

A. 葡萄柚汁中 naringin、narirutin 之定量

分析管柱：Apollo® C18 5 μm (250 × 4.6 mm)

移動相：水與氬甲烷 (78 : 22)

流速：1 mL/min

檢測波長：280 nm

內標準：6,7-dimethoxycoumarin (6,7-DMC, 40.0 μg/mL)

B. 柳橙汁中 hesperidin、narirutin 之定量

HPLC 條件與葡萄柚汁相同

C. 豆漿 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之定量

分析管柱：LiChrospher® 100 RP-18e (5 μm, 250 × 4.6 mm)

移動相：0.1 % 磷酸水與氬甲烷

磷酸水：氬甲烷	
酸水解前	89:11 (0 min), 82:18 (10 min), 50:50 (20 min), 89:11 (35 min)
酸水解後	83:17 (0 min), 83:17 (12 min), 80:20 (13 min), 80:20 (19 min), 69:31 (20 min), 69:31 (38 min), 40:60 (40 min), 40:60 (41 min), 83:17 (42 min)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：250 nm

內標準：5,7-dimethoxycoumarin (5,7-DMC, 20.0 μg/mL)

3. 檢量線之繪製

A. 葡萄柚汁

精確稱取 naringin、narirutin 各 10.0 mg，分別以少量甲醇

溶之，並定容至 5.0 mL 即為貯存溶液。取適量貯存溶液以甲醇稀釋，使 naringin 的標準溶液濃度為 15.6、31.3、62.5、125.0、250.0、500 及 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；narirutin 的標準溶液濃度為 0.8、1.6、3.1、6.3、12.5、25.0 及 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分別取標準溶液 200 μL ，加入等體積之內標準甲醇溶液 (6,7-DMC, 40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。取 20 μL 經 HPLC 分析後，所得之 naringin、narirutin 與內標準之波峰面積比值，與 naringin、narirutin 之各已知濃度進行直線迴歸，求得檢量線之方程式。

B. 柳橙汁

精確稱取 hesperidin、narirutin 各 10.0 mg，分別以少量甲醇溶之，並定容至 5.0 mL 即為貯存溶液。取適量貯存溶液以甲醇稀釋，使 hesperidin、narirutin 的標準溶液濃度為 0.8、1.6、3.1、6.3、12.5、25.0 及 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分別取標準溶液 200 μL ，加入等體積之內標準甲醇溶液 (6,7-DMC, 40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。取 20 μL 經 HPLC 分析後，所得之 hesperidin、narirutin 與內標準之波峰面積比值，與 hesperidin、narirutin 之各已知濃度進行直線迴歸，求得檢量線之方程式。

C. 豆漿

因為有多種 daidzein 及 genistein 之配醣體標準品無法購得，因此於酸水解前、後分別定量其異黃酮。

(1) 酸水解前 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之定量

精確稱取 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 各 1.0 mg，分別以甲醇溶之，並定容至 1.0 mL 為貯存溶液。取適量貯存溶液以甲醇等量稀釋，使 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 標準溶液濃度為 0.8、1.6、3.1、6.3、12.5、25.0、50.0 及 100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

將標準溶液混合後取混合標準溶液 180 μL ，加入 20 μL 之內標準甲醇溶液 (5,7-DMC, 0.20 mg/mL) 後，取 20 μL 經 HPLC 分析後，所得各標準品與內標準之波峰面積比值，與其各標準品之濃度進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式。

(2) 酸水解後 daidzein 及 genistein 之定量

精確稱取 daidzein 及 genistein 各 1.0 mg，分別以甲醇溶之，並定容至 1.0 mL 為貯存溶液。取適量貯存溶液以甲醇等量稀釋，使 daidzein 及 genistein 為 0.8、1.6、3.1、6.3、12.5、25.0、50.0 及 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 。將標準溶液混合後取混合標準溶液 180 μL ，加入 20 μL 之內標準甲醇溶液 (5,7-DMC, 0.20 mg/mL) 後，取 20 μL 經 HPLC 分析後，所得之標準品與內標準之波峰面積比值，與其各標準品之濃度進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式。

4. 分析系統及方法之確效

(1) 精密度 (Precision)

將不同濃度之標準溶液，於同日內晨、午、晚及連續三日之異日間各進行一次層析，然後將所得波峰面積比值代入先前獲得的迴歸直線方程式，求得每次的實驗濃度值，再分別求其平均值 (mean)、標準偏差 (standard deviation, S.D.) 及變異係數 (coefficient of variation, C.V.)。

(2) 靈敏度 (Sensitivity)

將標準品濃度一再稀釋，直至其波峰與雜訊之比值為 3 時之濃度為其偵測極限。

(3) 準確度 (Accuracy)

三次同日內及三次異日間實驗所得平均濃度與理論濃度間之相對誤差(relative error)表示之。

(4) 回收率 (Recovery)

A. 葡萄柚汁

取已測定 naringin 及 narirutin 含量之葡萄柚汁檢品 300 μL 各三份，分別加入已知濃度的 naringin (15.6、125.0 及 1000.0 $\mu\text{g/mL}$) 及 narirutin (0.8、6.3 及 50.0 $\mu\text{g/mL}$) 標準品溶液 700 μL 振盪混合，離心 15 min (9860 g)後，取上清液 100 μL ，以 900 μL 甲醇稀釋，振盪混合後，取 200 μL 各加入等體積內標準甲醇溶液 (6,7-DMC, 40.0 $\mu\text{g/mL}$)混合後，振盪混合 1 分鐘，並高速離心 15 min (9860 g)，然後分別層析定量，將換算所得之 naringin 及 narirutin 之增加量除以已知的標準品添加量即為回收率。

B. 柳橙汁

與上述葡萄柚汁回收率之測定相同，僅將葡萄柚汁改為橙汁，加入之標準品改為已知濃度 (0.8、6.3 及 50.0 $\mu\text{g/mL}$) 的 hesperidin 及 narirutin 標準品溶液。

C. 豆漿

取已測定 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 含量之豆漿之萃取液檢品 300 μL 各三份，分別加入三種已知濃度的標準品溶液 700 μL 振盪混合，離心 15 min (9,860 g) 後，取上清液 180 μL ，加入 20 μL 內標準甲醇溶液 (5,7-DMC, 0.20 mg/mL) 振盪混合 1 min，高速離心 15 min (9,860 g)，然後分別層析定量。將計算所得之增加量除以已知標準品之添加量即為回收率。

(三) 服用方法與尿液收集

健康的自願受試者(葡萄柚汁組：男性 7 名、女性 2 名；柳橙汁組：男性 6 名、女性 5 名；豆漿組：男性 6 名、女性 3 名)，年齡介於 20~30 歲、體重介於 52~78 公斤，經一般之血液生化檢查，GOT、GPT、BUN 及 creatinine 數值均在正常範圍內，實驗前一週，葡萄柚汁組、柳橙汁組禁食柑橘屬類的水果與飲品，豆漿組禁食豆類食品。所有受試者禁止吸菸、喝酒。實驗前一天晚上十點開始禁食，實驗當天未服用前先排空尿液，並採空白尿液 5 mL。受試者空腹飲用，並於 20 分鐘內喝完(葡萄柚汁組：800 mL；柳橙汁組：1000 mL；豆漿組：800 mL，相當於 100 g 大豆)，4 小時後方可進食。

服藥後於 0-2、2-4、4-6、6-8、8-10、10-12、12-24、24-36 及 36-48 小時，共收集九個時段之尿液，每段尿液分別測量並記錄其體積後，各取 20 mL 之尿液，置於-30°C 之冷凍櫃中貯存，俟後分析。

(四) 尿液中黃酮類及其結合態代謝物之分析

1. 檢量線繪製

A. 葡萄柚汁中 naringenin 之定量

精確稱取 naringenin 5.0 mg，以少量甲醇溶之，定容至 10.0 mL 為貯存溶液。將貯存溶液以甲醇稀釋成一系列濃度 (0.39、1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0、100.0 及 200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，取各濃度之標準溶液 100 μL 加空白尿 900 μL ，製備 naringenin 之尿標準溶液，濃度分別為 0.04、0.2、0.3、0.6、1.3、2.5、5.0、10.0 及 20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。取尿標準溶液 300 μL 加 100 μL 緩衝溶液 (pH = 5.0) 及抗壞血酸 50 μL (150.0 mg/mL)，再於試管振盪器上充分混合，加 50 μL 0.1 N 鹽酸及 500 μL 乙酸乙酯 (含 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 5,7-DMC)，用試管振盪器振盪 20 秒後高速離心

(9860 g) 15 min, 取乙酸乙酯層, 用氮氣吹乾後, 以 50 μL 移動相溶解, 取 20 μL 供 HPLC 分析。所得 naringenin 與內標準之波峰面積比值與 naringenin 已知濃度進行直線迴歸。

B. 柳橙汁組 hesperetin 及 naringenin 之定量

與上述葡萄柚汁組相同, 標準溶液為 0.95、1.9、3.9、7.8、15.6、31.3、125.0、250.0 及 500.0 $\mu\text{g/mL}$ 之 hesperetin 及 naringenin。

C. 豆漿組中 daidzein、equol 及 genistein 之定量

精確稱取 daidzein、equol 及 genistein 各 1.0 mg, 以甲醇溶之, 並定容至 5.0 mL 為貯存溶液。將貯存溶液以甲醇稀釋成系列濃度 (3.2、6.3、12.5、25.0、50.0、100.0 及 200.0 $\mu\text{g/mL}$)。取各濃度之標準溶液 100 μL 加空白尿液 900 μL , 製備 daidzein、equol 及 genistein 之尿標準溶液, 濃度分別為 0.3、0.6、1.3、2.5、5.0、10.0 及 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 。取尿標準溶液 400 μL 加 100 μL 緩衝溶液 (pH = 5.0) 及抗壞血酸 100 μL (100 mg/mL), 再於試管振盪器上充分混合, 加 600 μL 乙酸乙酯 (含 5.0 $\mu\text{g/mL}$ ethylparaben), 用試管振盪器振盪 20 秒後高速離心 (9,860 g) 15 min。取乙酸乙酯層, 用氮氣吹乾後, 以 120 μL 甲醇溶解, 取 20 μL 供 HPLC 分析。所得之 daidzein、equol 及 genistein 與內標準之波峰面積比值與 daidzein、equol 及 genistein 之濃度進行直線迴歸。

2. 尿液中黃酮類苷元之定量

A. 葡萄柚汁組與柳橙汁組

取各時段收集之尿液 300 μL , 加入 buffer (pH 5.0 之緩衝溶液) 100 μL 及抗壞血酸 50 μL (150 mg/mL), 於試管振盪器上充分混合後, 加 50 μL 0.1 N 鹽酸及 500 μL 乙酸乙酯 (含 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 5,7-DMC), 用試管振盪器振盪 20 秒後高速離心 15 min (9860 g), 取乙酸乙酯層, 用氮氣吹

乾後，以 50 μL 移動相溶解，取 20 μL 供 HPLC 分析。

B. 豆漿組

取各時段收集之尿液 400 μL ，加 100 μL 緩衝溶液 (pH = 5.0) 及抗壞血酸 100 μL (100 mg/mL)，再於試管振盪器上充分混合，加 600 μL 乙酸乙酯 (含 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ethylparaben 為內標準)，用試管振盪器振盪 20 秒後高速離心 (9860 g) 15 min，取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，以 100 μL 甲醇溶解，取 20 μL 供 HPLC 分析。

3. 尿液中黃酮類結合態代謝物之定量

A. 葡萄柚汁組與柳橙汁組

取尿液 300 μL ，加入 pH 5.0 之緩衝溶液 (分別含 1000.0 units/mL 之 sulfatase、glucuronidase) 100 μL 及抗壞血酸 50 μL (150 mg/mL)，於試管振盪器上充分混合後，於 37°C 之恆溫水槽振盪 1 小時，之後加 50 μL 0.1 N 鹽酸及 500 μL 乙酸乙酯 (含 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 5,7-DMC 為內標準)，用試管振盪器振盪 20 秒後，高速離心 15 min (9860 g)，取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，以 50 μL 移動相溶解，取 20 μL 供 HPLC 分析。

B. 豆漿組

取尿液 400 μL ，分別加 sulfatase、glucuronidase (溶於 pH 5.0 之緩衝溶液，分別含 1000.0 units/mL 之 sulfatase、glucuronidase) 150 μL 及抗壞血酸 100 μL (200 mg/mL)，於試管振盪器上充分混合後，於 37°C 之恆溫水槽振盪 (sulfatase：1 小時、glucuronidase：2 小時)，之後加 100 μL 0.1 N 鹽酸及 600 μL 乙酸乙酯 (含 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ethylparaben 為內標準)，用試管振盪器振盪 20 秒後高速離心 15 min (9860 g)，取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，以 100 μL 移動相溶解，取 20 μL 供 HPLC 分析。

4. 高效液相層析分析條件

A. 葡萄柚汁組

層析管：Apollo[®] C18 5 μm (250 \times 4.6 mm)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：288 nm

內標準：5,7-dimethoxycoumarin

移動相：氬甲烷：0.1 % 磷酸 (36 : 64 , v/v)

B. 柳橙汁組

層析管：Apollo[®] C18 5 μm (250 \times 4.6 mm)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：287 nm

內標準：5,7-dimethoxycoumarin

移動相：甲醇：氬甲烷：0.1 % 磷酸 (17 : 26 : 57 , v/v)

C. 豆漿組

分析管柱：LiChrospher[®] 100 RP-18 e (5 μm , 250 \times 4 mm)

移動相：0.1 % 磷酸水、氬甲烷、甲醇 (64 : 26 : 10)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：230 nm

內標準：ethylparaben (5.0 $\mu\text{g/mL}$)

5. 分析方法之確效

(1) 精密度、靈敏度、準確度

(2) 回收率

A. 葡萄柚汁組

將 naringenin (溶於甲醇)標準溶液，分別加入空白尿 300 μL 及水中，製備 0.04, 1.25 及 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 等三種濃度各三份，所測得之尿標準溶液之波峰面積比值除以等濃度之水標準溶液之波峰面積比值，即為回收率。

B. 橙汁組

與葡萄柚汁相同僅將標準品改為 0.8, 6.3 及 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之 hesperetin 及 naringenin。

C. 豆漿組

與葡萄柚汁相同僅將標準品改為 3.1, 12.5 及 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之 daidzein、equol 及 genistein。

6. 數據處理及統計分析

受試者每段尿液中之各黃酮結合態代謝物 sulfates 與 glucuronides 之排出量，利用 Sigma-minus 方法，以殘餘量之自然對數值(Y)與時間(X)作直線迴歸，得斜率(k)，再代入 $t_{1/2} = 0.693/k$ ，即得排除半衰期($t_{1/2}$)。

參、結果與討論

(一) 飲料中黃酮類之定量

1. 葡萄柚汁中 naringin、narirutin 之定量

本研究開發了 HPLC 方法分析葡萄柚汁中之 naringin、narirutin、naringenin、quercetin 之含量，以水與氬甲烷 (78:22) 混合液為移動相，以 6,7-DMC 為內標，每一檢品可於 25 分鐘內完成分析。結果發現葡萄柚汁中未含 naringenin、quercetin，僅有 naringin 與 narirutin 存在。分析葡萄柚汁檢品之 naringin 檢量線方程式為 $y = 0.032x + 0.3240$ ($r = 0.999$)、narirutin 檢量線方程式為 $y = 0.0690x - 0.0010$ ($r = 0.999$)，顯示 naringin 標準品濃度在 15.6 $\mu\text{g/mL}$ 至 1000.0 $\mu\text{g/mL}$ 、narirutin 標準品濃度在 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 至 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍內皆有良好線性關係。分析方法之確效顯示精密度及準確度皆佳，如 Table 1-1~1-2 所示。Naringin 同日內和異日間之變異係數分別小於 1.9% 及 1.8%；narirutin 同日內和異日間之變異係數分別小於 4.0% 及 4.4%。葡萄柚汁中 naringin 及 narirutin 回收率分別為 94.6~101.5% 及 93.7~102.3%，如 Table 1-3~1-4 所示。結果顯示分析系統之回收率良好。另外，naringin 之 LOQ 為 15.6 $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 為 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ；narirutin 之 LOQ 為 0.8 $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 為 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。

定量結果顯示葡萄柚汁中 naringin 含量為 $59.3 \pm 7.6 \mu\text{g/mL}$ ，narirutin 含量為 $32.3 \pm 4.8 \mu\text{g/mL}$ 。

2. 柳橙汁中 hesperidin、narirutin 之定量

本研究開發 HPLC 方法分析橙汁中之 hesperidin、narirutin、naringin、naringenin、hesperetin 之含量，以氬甲烷與水 (22:78) 混合液為移動相，以 6,7-DMC 為內標，每一檢品可於 25 分鐘內完成分析。結果發現橙汁中未含 naringin、naringenin、hesperetin，僅有 hesperidin 與

narinrutin 存在，層析圖如 Fig.2-1 所示。分析柳橙汁檢品之 hesperidin 檢量線方程式為 $y = 0.140x - 0.047$ ($r = 0.999$)、narinrutin 檢量線方程式為 $y = 0.069x - 0.001$ ($r = 0.999$)，顯示 hesperidin、narinrutin 兩者濃度在 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 至 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍內皆有良好線性關係。分析方法之確效顯示精密度及準確度皆佳，如 Table 2-1~2-2 所示。Hesperidin 同日內和異日間之變異係數分別小於 1.9% 及 1.8%；narinrutin 同日內和異日間之變異係數分別小於 4.0% 及 4.4%。橙汁中 hesperidin 及 narinrutin 回收率分別為 94.3~97.2% 及 98.2~104.3%，如 Table 2-3、2-4 所示，結果顯示分析系統之回收率良好。另外，LOQ 為 0.8 $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ 。

定量結果顯示橙汁中 hesperidin 含量為 28.5 $\mu\text{g/mL}$ ，narinrutin 含量為 6.1 $\mu\text{g/mL}$ 。

3. 豆漿中 daidzin、daidzein、genistin 與 genistein 之定量

利用 HPLC 方法定量豆漿中 daidzin、daidzein、genistin 與 genistein 之含量及酸水解後 daidzein 與 genistein 之含量。由於定量成分之極性相差頗大，所以採用梯度沖提的方式，波峰分離效果良好，daidzin、daidzein、genistin 與 genistein 之定量可於 35 分鐘內完成分析，層析圖如 Fig. 3-1 所示。酸水解後 daidzein 與 genistein 之定量可於 46 分鐘內完成分析，層析圖如 Fig. 3-2 所示。以各標準品與內標準之波峰面積比值為 Y 軸，各標準品之濃度為 X 軸進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式及相關係數：

A. 酸水解前 daidzin、daidzein、genistin 與 genistein 之定量

Daidzin 之檢量線為 $Y = 0.208 X + 0.032$ ($r = 0.999$)；daidzein 之檢量線為 $Y = 0.330 X + 0.017$ ($r = 0.999$)；genistin 之檢量線為 $Y = 0.233 X - 0.022$ ($r = 0.999$)；genistein 之檢量線為 $Y = 0.388 X - 0.017$ ($r = 0.999$)；其濃度皆在 1.6 至 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍有良好線性關係。分析方法之精密度及準確度，如 Table 3-1、Table 3-2、Table 3-3 及 Table 3-4 所示。Daidzin、daidzein、genistin 與 genistein 之同日內和異日間之變異係數皆小於 10%。大豆萃

取物中 daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之回收率分別為 89.1~97.2 %、84.2~93.5 %、81.9~90.4 % 及 81.9~87.1 %，如 Table.3-5、Table.3-6、Table.3-7 及 Table 3-8 所示。此外，daidzin、daidzein、genistin 及 genistein 之 LLOQ 皆為 0.6 µg/mL，LOD 分別為 0.02、0.01、0.02 及 0.01 µg/mL。確效結果顯示本分析系統之精密度、準確度及回收率皆良好。

B. 酸水解後 daidzein 與 genistein 之定量

Daidzein 的許多配醣體如 acetyl daidzin、malonyl daidzin 於體內亦能水解成 daidzein 而經腸吸收，但因未購得其標準品，因此採酸水解間接定量此些配醣體。Daidzein 之檢量線為 $Y = 0.221X - 0.019$ ($r=0.999$)；genistein 之檢量線為 $Y = 0.240X + 0.016$ ($r=0.999$)；其濃度皆在 1.6 至 100.0 µg/mL 之範圍有良好線性關係。分析方法之精密度及準確度，如 Table 3-9 及 Table 3-10 所示。daidzein 與 genistein 之同日內和異日間之變異係數皆小於 10 %。從大豆萃取液中 daidzein 及 genistein 之回收率分別為 81.2~90.5 % 及 78.9~81.1 %，如 Table.1-11~1-12 所示。此外，daidzein 及 genistein 之 LLOQ 皆為 0.6 µg/mL，LOD 皆為 0.01 µg/mL。確效結果顯示本分析系統之精密度、準確度及回收率皆良好。

豆漿定量結果顯示，酸水解前 daidzin、genistin、daidzein、genistein 之含量分別為 124.8、356.4、31.8 及 134.8 µg/mL，而酸水解後 daidzein、genistein 含量分別為 365.2 及 351.0 µg/mL。顯示 daidzein 酸水解後總量明顯增加，顯示除了 daidzin 外，尚有可觀的其他 daidzein 之配醣體存在，而 genistein 水解後總量未見增加，顯示無 genistin 以外的配醣體存在，水解時反而有些遭破壞。因此，食品營養專家對於大豆異黃酮之定量分析，應一併定量 daidzein 之其他配醣體，方能準確評估可吸收之異黃酮總量。

(二) 尿液中黃酮類苷元及其結合態代謝物之分析

1. 檢量線繪製

A. 葡萄柚汁組

本研究先將尿液檢品分別以 sulfatase 與 glucuronidase 水解，將其中之 naringenin sulfates 及 naringenin glucuronides 酶解成 naringenin，水解物以鹽酸酸化後，再利用分配原理，用乙酸乙酯萃取 naringenin。再用本研究室開發的 HPLC 方法定量尿液中之 naringenin，以 0.1 % 磷酸：氬甲烷 (36：64) 為移動相。每一尿液檢品可於 15 分鐘內完成，方法簡易快速。

分析尿液檢品之 naringenin 檢量線方程式為 $y = 1.1567x + 0.3141$ ($r=0.999$)，結果顯示 naringenin 濃度在 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 至 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍內有良好線性關係。分析方法之確效結果顯示，精密度及準確度，如 Table 1-5 所示。Naringenin 同日內和異日間之變異係數分別小於 6.5 % 及 5.5 %。尿液中 naringenin 回收率為 92.6~103.7 %，如 Table 1-6 所示。此結果顯示分析系統之精密度、準確度及回收率皆良好。另外，naringenin 之 LOQ 為 0.04 $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 為 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 。

本研究所用之 HPLC 方法相較於先前的研究^[46]更為簡便、迅速，水解時間由 17 小時縮短為 1 小時，而且本實驗尿液分別使用 sulfatase 及 glucuronidase 水解，比起前人以單一酶水解，可進一步了解 sulfates 與 glucuronides 二種結合態代謝物之存在比例及個別之體內動態。在收集尿液方面，與先前研究相較，時間分段更細，可詳細觀察體內各時段的吸收、代謝與排泄。

B. 柳橙汁組

本研究先將尿液檢品分別以 sulfatase 與 glucuronidase 水解，將其中之 hesperetin sulfates 及 hesperetin glucuronides 酶解成 hesperetin；同時亦將 naringenin sulfates 及 naringenin glucuronides 酶解成 naringenin，水解物以鹽酸酸化後，再利用分配原理，用乙酸乙酯分別萃取 hesperetin 及 naringenin。再用本研究室開發的 HPLC 方法定量尿液中之 hesperetin 與 naringenin 以 0.1 % 磷酸/氬甲烷/甲醇 (17：26：57) 之混合液為移動

相。移動相採用三種溶媒混合的原因，乃因為 hesperetin 與 naringenin 之滯留時間極相近，若只用 0.1 % 磷酸與氬甲烷或甲醇，皆無法將 hesperetin 和 naringenin 成功分離，因此採用 0.1 % 磷酸/氬甲烷/甲醇之混合液為移動相。每一尿液檢品可於 25 分鐘內完成，方法簡易快速，層析圖如 Fig. 2-2 所示。

分析尿液檢品之 hesperetin 檢量線方程式為 $y = 0.715 x + 0.186$ ($r=0.999$)、naringenin 檢量線方程式為 $y = 0.617 x + 0.043$ ($r=0.999$)，結果顯示 hesperetin、naringenin 濃度皆在 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 至 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍內有良好線性關係。分析方法之確效結果顯示，精密度及準確度，如 Table 2-5、Table 2-6 所示。Hesperetin 同日內和異日間之變異係數分別小於 9.3 % 及 9.1 %；naringenin 同日內和異日間之變異係數分別小於 9.4 % 及 8.6 %。尿液中 hesperetin 及 naringenin 回收率分別為 94.2~101.4 %；95.5~100.8 % 如 Table 2-7、Table 2-8 所示。此結果顯示分析系統之精密度、準確度及回收率皆良好。另外，hesperetin、naringenin 之 LOQ 皆為 0.8 $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 分別為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ 及 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。

本研究所用之 HPLC 方法相較於先前的研究^[46]更為簡便、迅速，水解時間由 17 小時縮短為 2 小時，而且本實驗尿液分別使用 sulfatase 及 glucuronidase 水解，比起前人以單一酶水解，可進一步了解 sulfates 與 glucuronides 二種結合態代謝物之存在比例及個別之體內動態。在收集尿液方面，與先前研究相較，時間分段更細，可詳細觀察體內各時段的吸收、代謝與排泄。

C. 豆漿組

分析尿液檢品之檢量線，顯示 daidzein、equol、genistein 濃度在 3.2 $\mu\text{g/mL}$ 至 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 範圍間有良好線性關係，方程式分別為 $Y = 0.335 X - 0.055$ ($r = 0.999$)、 $Y = 0.306 X - 0.029$ ($r = 0.999$)、 $Y = 0.325 X + 0.007$ ($r = 0.999$)。分析方法之確效顯示精密度及準確度，如 Table 3-13、

Table 3-14、Table 3-15 所示。Daidzein、equol、genistein 在同日內之變異係數小於 4.7 %、2.5 %、4.3 %，異日間之變異係數小於 8.0 %、9.6 %、9.0 %。尿液中 daidzein、equol、genistein 回收率分別為 97.1~100.5 %、94.7~95.4 %、94.3~96.5 %，如 Table 3-16、Table 3-17、Table 3-18 所示。LOQ 為 0.1、0.2、0.2 $\mu\text{g/mL}$ ，LLOD 為 0.02、0.03、0.03 $\mu\text{g/mL}$ 。結果顯示分析系統之精密度、準確度及分析方法之回收率皆良好。

2. 尿液中黃酮類苷元之定量

A. 葡萄柚汁組

葡萄柚中富含 naringin、narirutin 等黃酮類配醣體。本研究之尿藥動力學發現葡萄柚汁黃酮於體內分別轉化成 naringenin 之結合態代謝物，不但無配醣體之原形，亦無苷元出現於尿中，此與兔子口服 naringenin^[47]後血中代謝物之現象一致。

B. 柳橙汁組

柳橙中富含 hesperidin、narirutin 等黃酮類配醣體。本研究之尿中動力學發現橙汁黃酮於體內分別轉化成 hesperetin 與 naringenin 之結合態代謝物，不但無配醣體之原形，亦無苷元出現於尿中，此與大鼠口服 hesperetin^[48]與兔子口服 naringenin^[47]後血中代謝物之現象一致。

C. 豆漿組

豆漿含 daidzin、genistin、daidzein、genistein 等異黃酮。尿液檢品經 HPLC 分析，有大半無法檢出異黃酮苷元，若有檢出者，其濃度均極低。

3. 尿液中黃酮類結合態代謝物之定量

A. 葡萄柚汁組

九位受試者飲用葡萄柚汁後之 naringenin sulfates、glucuronides 之個別累積排出量佔劑量之百分比 (% of dose)，分別如 Fig. 1-3、Fig. 1-4 所示。各時段平均每小時之排出量佔劑量之百分比 (% of dose/h)，如 Fig. 1-5 所示。

Naringeninsulfates 及 glucuronides 之半生期各為 3.5 及 3.7 小時，排除率各為 10.0 % 及 3.8 %，飲用後 8-10 小時間排出量最高。這對國人飲用葡萄柚汁後黃酮成分於體內動態可提供重要的參考資訊。整體而言，naringenin 於人體之動力學，個體間的差異相當大，但與高加索人之種族差異不大。

B. 柳橙汁組

十一位受試者飲用柳橙汁後之 hesperetin sulfates、glucuronides 及 naringenin sulfates、glucuronides 之累積排出量 (μmol)，如 Fig. 2-3、Fig. 2-4 及 Fig. 2-5、Fig. 2-6 所示。平均累積排出量佔劑量之百分比 (% of dose)，如 Fig. 2-5 及 Fig. 2-6 所示。各時段平均每小時之排出量佔劑量之百分比 (% of dose/h)，如 Fig. 2-7 所示。

Hesperetin sulfates 及 glucuronides 之半生期皆為 2.9 小時，排除率各為 3.0 % 及 0.9 %；naringenin sulfates 及 glucuronides 之半生期皆為 1.8 小時，排除率分別為 2.2 % 及 0.3 %。飲用後 4-6 小時間排出量最高。此結果與本實驗室先前所得陳皮水煎劑中 hesperetin 結合態代謝物之排除率 (4.5%)，差異不大。國人飲用柳橙汁之排除率 (3.9%) 與西方人 (5.3%) 相比，相去不遠。柳橙汁中的 narirutin 比起葡萄柚汁中 naringin 的吸收明顯較低 (2.5% vs. 13.8 %)。

C. 豆漿組

九位受試者口服豆漿後，依收集時段分析各檢品之異黃酮濃度。由

於尿液檢品經 HPLC 分析後發現，尿中自由態之 daidzein、equol、genistein 的濃度極微，因此將尿液分別以 glucuronidase 及 sulfatase 水解，獲得每段尿液中 daidzein、equol、genistein 之 glucuronides 及 sulfates 之濃度。將尿藥濃度乘以該時段之尿量，即為排出量(μmol)。劑量係依酸水解後所得 daidzein、genistein 之量計算。每位受試者代謝物之累積排出量佔劑量之百分比 (% of dose)，如 Fig. 3-3、Fig. 3-4、Fig. 3-5、Fig. 3-6、Fig. 3-7 及 Fig. 3-8 所示。受試者各時段平均每小時之排出量佔劑量之百分比 (% of dose/h)，如 Fig.3-9、Fig.3-10 及 Fig.3-11 所示，比較 daidzein、equol、genistein 之 glucuronides 與 sulfates 之排出量，顯示 sulfates 明顯高於 glucuronides。

Daidzein、equol 與 genistein 三成分的 glucuronides 及 sulfates 之平均累積排出率分別如 Fig.3-12、Fig.3-13 及 Fig.3-14 所示。三成分代謝物排出率總和之比較如 Fig.3-15 所示。Daidzein、equol、genistein 之 sulfates 累積排出量分別占劑量之 25.5 %、11.0 %及 8.9 %，而 glucuronides 累積排出量分別占劑量之 17.4 %、6.0 %及 6.5 %。

本研究亦發現，人尿中之異黃酮結合態代謝物，係以 sulfates 為主，而 glucuronides 較少，此現象與本研究大白鼠體中之結果相仿。Patricia^[48]之研究報導中指出，自願者口服大豆異黃酮後，於尿中之 daidzein、genistein 自由態小於 1 %，此現象與本研究結果一致；但在結合態代謝物方面，其 glucuronides 佔 72 %，而 sulfates 只佔 24 %，卻與本研究之結果不符。在此文獻中以 sulfatase 100 unit/mL 水解 3 h 以定量 sulfates，推測可能因使用之 sulfatase 濃度過低，而導致低估了代謝物 sulfates 之總量。本研究利用較高單位的 sulfatase 及 β -glucuronidase，分別以最適時間進行水解反應，所得結果應較為準確。

此外，本研究同樣發現人尿中有 equol 之 sulfates、glucuronides 存在，應由 daidzein 代謝而來^[48]。有研究指出大約只有 30~50 %的人能把 daidzein 代謝成 equol^[49]，且在尿中較易發現^[50]，然而本研究所有受試者皆有 equol 結合態代謝物出現於尿中，此歧異或與人種不同有關。文

獻中報導 equol 在人類血循環中很少^[51,52]，可用高效液相層析串聯質譜 (HPLC-MS/MS) 分析定量，且證實長期服用大豆製品有累積作用^[53]。文獻曾報導 equol 的抗氧化與雌激素作用比 daidzein、genistein 還強^[54]，然而體內存在的主要是 equol 的結合態代謝物，目前尚無有關 equol 結合態代謝物活性之報導。在本研究中，飲用豆漿之 daidzein、genistein 的總莫耳數比值約為 1.1 : 0.9，但於尿液中 genistein 代謝物排出總量卻比 daidzein 低了 76.7 %。反觀逆向層析圖中，genistein 滯留時間晚於 daidzein，顯示 genistein 極性較低，應比 daidzein 容易被腸細胞吸收，然而其吸收卻遠低於 daidzein。本實驗室過去對黃酮類受鼠糞便細菌降解的研究發現，genistein 於 24 h 後降解了 94.1 %，而 daidzein 則降解了 76.3 %^[55]，因此推論可能因 genistein 在腸道中比 daidzein 較易降解，造成 genistein 吸收較差。Daidzein sulfates、daidzein glucuronides、genistein sulfates 及 genistein glucuronides 的排除半衰期分別為 7.3、7.8、10.3、9.7 小時，而在文獻報導中，高加索人為 5.5、3.8、6.0 及 6.0 小時^[49]，equol 代謝物的排除半衰期無法估算。本研究因人數不多，無法推論至整個族群。

肆、結論與建議

國人飲用三種富含黃酮的飲料後，從尿液排除之百分率為豆漿>葡萄柚汁>柳橙汁，排除半生期為豆漿>葡萄柚汁>柳橙汁，顯示豆漿中的黃酮吸收較佳，且其代謝物於體內滯留時間較長，柳橙汁吸收最差。假設三種飲料的黃酮代謝物之生物活性相當，那麼豆漿則是優於葡萄柚汁、柳橙汁之微營養素來源。葡萄柚汁、柳橙汁、豆漿中黃酮排出之最高時段分別為 8-10、4-6、8-10 小時，可提供未來營養調查時收集尿液之參考。

伍、参考文献

- 1.Hertog MCL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Gian Paoli SG, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M, Simic BS, Toshima H, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med* 1995;155:381-386.
- 2.Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993; 342:1007-1011.
- 3.Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Estimation of daily intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutr Cancer*. 1993;20:21-29.
- 4.Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Br Med J* 1996;312:478-481.
- 5.Yochum L, Kushi LH, Meyer K, Folsom AR. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1999;149:943-949.
- 6.Li BQ, Fu T, Yan YD, Baylor NW, Ruscetti FW, Kung HF. Inhibition of HIV by baicalin. *Cell Mol Biol* 1997;39:119-124.
- 7.Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Fre Rad Biol Med* 1994;16:845-850.
- 8.Ratty AK, Das NP. Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation: Structure activity relationship. *Biochem Med Metab Biol* 1988;39:69-79.
- 9.Galati EM, Monforte MT, Kirjavainen S, Forestieri AM, Trovato A, Tripodo MM. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco* 1994;40:709-712
- 10.Salvayre R, Negre A, Affany A, Lenoble M, Douste-Blazy L. Protective effect of plant flavonoids, analogs and vitamin E against lipid peroxidation of membranes. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, Alan R Liss, New York. NY USA. 1988;313-316.
- 11.Middleton E, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer. In *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. (J.B. Harborne, ed.) Chapman and Hall, London, UK. 1993;619-652.
- 12.Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Fre Rad Biol Med* 1994;16:845-850.
- 13.Hope WC, Welton AF, Fielder-Nagy C, Batula-Bernardo C, Coffey JW. In vitro inhibition of the biosynthesis of slow reacting substances of anaphylaxis (SRS-A) and lipoxygenase activity of quercetin. *Biochem Pharmacol* 1983;32:367-371.
- 14.Duarte J, Vizcaino FP, Utrilla P, Jimenez J, Tamargo J, Zarzuelo A. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure activity relations, *Biochem Pharmacol* 1993;24:857-862.
- 15.Landofl R, Mower RL, Steiner M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by

- bioflavonoids. Structure activity relations, *Biochem Pharmacol* 1984;33:1525-1530.
16. Middleton E, Kandaswami C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochem Pharmacol* 1992;43:1157-1179.
 17. Chung MI, Gan KH, Lin CN, Ko FN, Teng CM. Antiplatelet effects and vasorelaxing action of some constituents of Formosan plants. *J Nat Prod* 1993;56:929-934.
 18. Gryglewski RJ, Korbut R, Robak J, Swies J. On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochem Pharmacol* 1987;36:317-322.
 19. Tzeng SH, Ko WC, Ko FN, Teng CM. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb Res* 1991;64:91-100.
 20. Robak J, Korbut R, Shridi F, Swies J, Rzadzewska-Bodalska H. On the mechanism of antiaggregatory effect of myricetin. *Pol J Pharmacol Pharm* 1988;40:337-340.
 21. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Fre Rad Biol Med* 1994;16:845-850.
 22. Pignol B, Etienne A, Crastes de Paulet A, Deby C, Mencia-Huerta JM, Braquet P. Role of flavonoids in the oxygen-free radical modulation of the immune response. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, Alan R Liss, New York, NY USA. 1988;173-182.
 23. Cavallini L, Bindoli A, Siliprandi N. comparative evaluation of antiperoxidative action of silymarin and other flavonoids. *Pharmacol Res Commun* 1978;10:133-136.
 24. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. *Methods Enzymol* 1990;186:343-355.
 25. Wolfe K, Wu X, Liu RH. Antioxidant activity of apple peels. *J of Agric Food Chem* 2003;51:609-614.
 26. Lopez-Lazaro M, Akiyama M. Flavonoids as anticancer agents: structure-activity relationship study. *Current Medicinal Chemistry - Anti-cancer Agents*. 2002;2:691-714.
 27. Manthey JA, Guthrie N. Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. *J of Agric Food Chem* 2002;50:5837-5843.
 28. Colic M, Pavelic K. Molecular mechanisms of anticancer activity of natural dietetic products. *J Mol Med* 2000;78:333-336.
 29. Wenzel U, Kuntz S, Brendel MD, Daniel H. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. *Cancer Res* 2000;60:3823-3831.
 30. Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DR. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res* 1996; 2:659-68.
 31. Adlercreutz H. Western diet and Western diseases : some hormonal and biochemical mechanisms and association. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1990 ; 201 : pp. 3-23.
 32. Adlercreutz H, Honjo H, Higashi A, Fotsis T, Hamalainen E, Hasegawa T, Okada H. Urinary excretion of ligans and isoflavonoid phytoestrogen in Japanese men and women consuming a traditional Japanese diet. *Am J Clin Nutr*. 1991 ; 54 : pp. 1093-100.
 33. Victor D, Winter J. Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal bacteroides from humans. *Biochem. J*. 1987, 248: 953-956.

34. Mackey AD, Henderson GN, Gregory JF. Enzymatic hydrolysis of pyridoxine-5'-beta-D-glucoside is catalyzed by intestinal lactase-phlorizin hydrolase. *J Biol Chem* 2002, 277: 26858-64.
35. Wilkinson AP, Gee JM, Dupont MS, Needs PW, Mellon FA, Williamson G, Johnson IT. Hydrolysis by lactase phlorizin hydrolase is the first step in the uptake of daidzein glucosides by rat small intestine in vitro. *Xenobiotica* 2003, 33: 255-64.
36. Bokkenheuser VD, Shackleton CH and Winter LJ. Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal bacteroides from humans. *Biochem J* 1987, 248 : 953-956.
37. Kim DH, Jung EA, Sohng IS, Han JA, Kim TH and Han MJ. Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch Pharm Res* 1998, 21 : 1-23.7
38. Hou YC, Hsiu SL, Yen HF, Chen CC and Chao PDL, Effect of honey on naringin absorption from a decoction of the pericarps of *Citrus grandis*, *Planta Med* 2000, 66: 439-443
39. Lai MY, Hsiu SL, Chen CC, Hou YC and Chao PDL. Urinary pharmacokinetics of baicalein, wogonin and their glycosides after oral administration of *Scutellariae Radix* in humans. *Biol Pharm Bull* 2003, 26: 79-83.
40. Erlund I, Meririnne E, Alftan G, Aro A. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. [Journal Article] *J Nutr* 131(2):235-41, 2001
41. Yang B, Arai K and Kusu F. Determination of catechins in Human urine subsequent to tea ingestion by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Biochem* 2000, 283: 77-83.
42. Shelnett SR, Cimino CO, Wiggins PA, Ronis MJJ and Badger TM. Pharmacokinetic of the glucuronide and sulfate conjugates of genistein and daidzein in men and women after consumption of a soy beverage. *Am J Clin Nutr* 2002, 76:588-594.
43. Aherne SA and O'Brien NM. Dietary flavonols: chemistry, food content and metabolism. *Nutrition* 2002, 18: 75-81.
44. Hertog MG, Hollman PC, Katan MB. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric and Food Chem* 1992; 40:2379-2383.
45. Justesen U, Knuthsen P, Leth T. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *J Chromatogr A* 1998;101-110.
46. Iris Erlund, Esa Meririnne, Georg Alftan and Antti Aro. Plasma Kinetics and Urinary Excretion of the Flavanones Naringenin and Hesperetin in Humans after Ingestion of Orange Juice and Grapefruit Juice. *Am Soc Nutri Sci* 131. 2001; 235-41.
47. Hsiu S.L., Huang T.Y., Hou Y.C., Chin D.H. and Chao P.D.L., Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life Sci* 2002; 70, 1481-89.
48. Mariusz KP. Soy Isoflavone Conjugation Differs in Fed and Food-Deprived Rats. *J Nutr* 130: 1766-1771, 2000.
49. Yan Z, Suzanne HH, Patricia A. Glucuronides are main isoflavone metabolites in women. *J Nutr* 133:

- 309–404, 2003.
50. Steffansen B, Nielsen CU, Brodin B, Eriksson AH, Andersen R, Frokjaer S. Intestinal solute carriers: an overview of trends and strategies for improving oral drug absorption. *Eur J Pharm Sci* 21: 3–16, 2004.
 51. Atkinson C, Frankenfeld C, LAMPE JW. Gut bacterial metabolism of the soy isoflavone daidzein: exploring the relevance to human health. *Exp biol med* 230: 155–170, 2005.
 52. Grace PB, Taylor JI, Low YL, Luben RN, Mulligan AA, Botting NP, Dowsett M, Welch AA, Khaw KT, Wareham NJ, Day NE, Binghaml SE, Phytoestrogen concentrations in serum and spot urine as biomarkers for dietary phytoestrogen intake and their relation to breast cancer risk in european prospective investigation of cancer and nutrition-norfolk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13(5): 698–708, 2004.
 53. Brown NM, Setchell KDR. Animal models impacted by phytoestrogens in commercial chow: implications for pathways influenced by hormones. *Lab invest* 81:735–747, 2001.
 54. Elen W, Karen C, Elizabeth A B, Rosanna D, Margaret D, Ian R R, Antony S L, Alistair M, Richard T, Don B C. Influence of 10 wk of soy consumption on plasma concentrations and excretion of isoflavonoids and on gut microflora metabolism in healthy adults. *Am JI Clin Nutri* 80: 692–9, 2004.
 55. Kenneth D R S, Nadine M B, Eva L O. The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavone. *J Nutri* 132: 3577–3584, 2002.

A. 葡萄柚

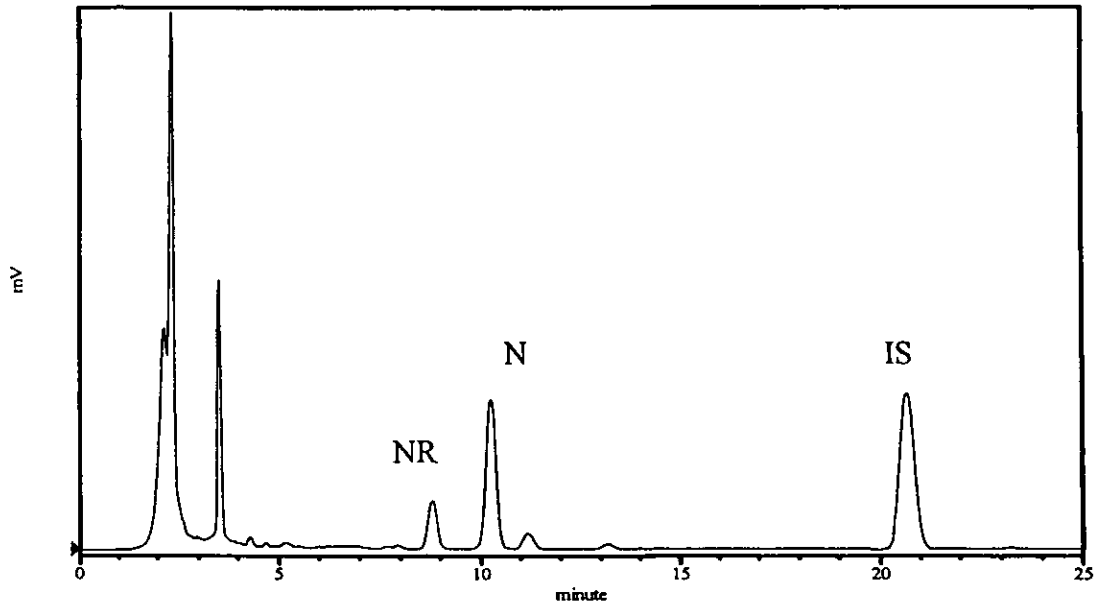


Fig. 1-1 Chromatogram of naringin, narirutin and internal standard in grapefruit juice. N: naringin, NR: narirutin, IS: 6,7-dimethoxycoumarin.

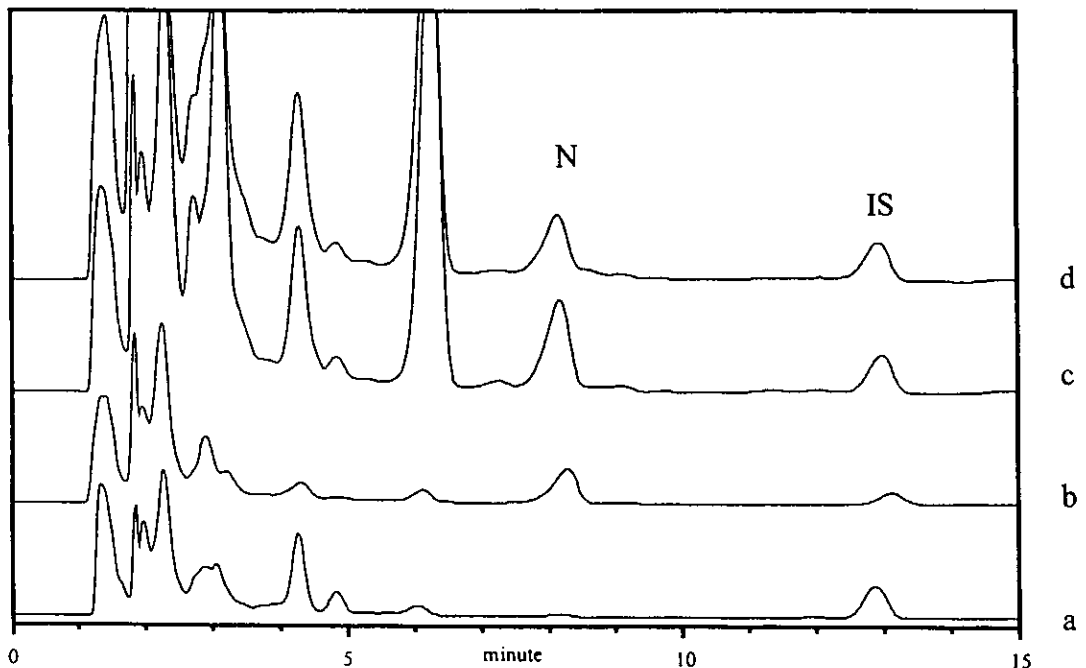


Fig. 1-2 Chromatograms of naringenin and internal standard in human urine. (a): Blank urine, (b): urine spiked with 12.5 g/mL of naringenin and internal standard, (c): urine sample treated with glucuronidase, (d): urine sample treated with sulfatase. N: naringenin, IS: 5,7-dimethoxycoumarin.

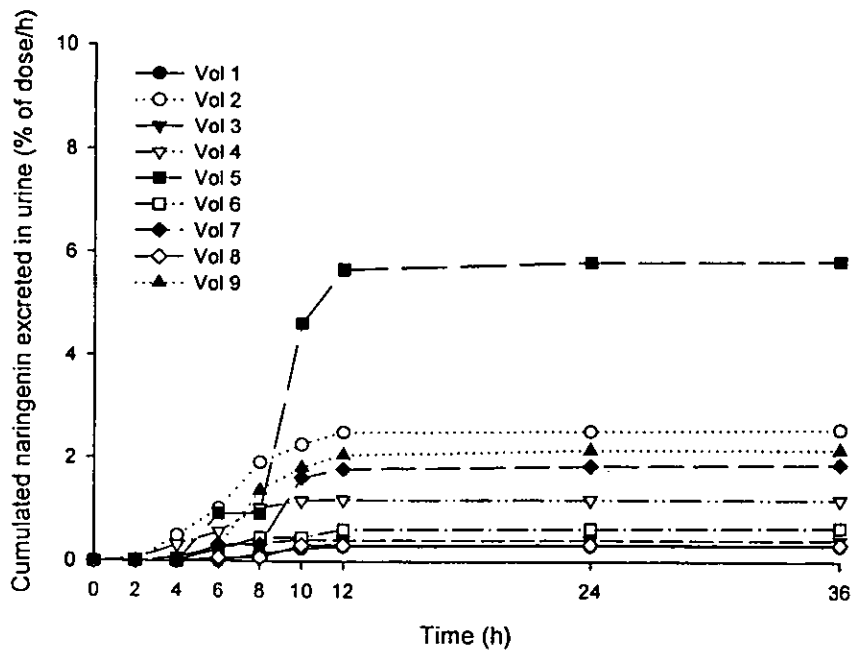


Fig. 1-3 Individual cumulated urinary recoveries (% of dose) of naringenin glucuronides in nine volunteers after intake of grapefruit juice

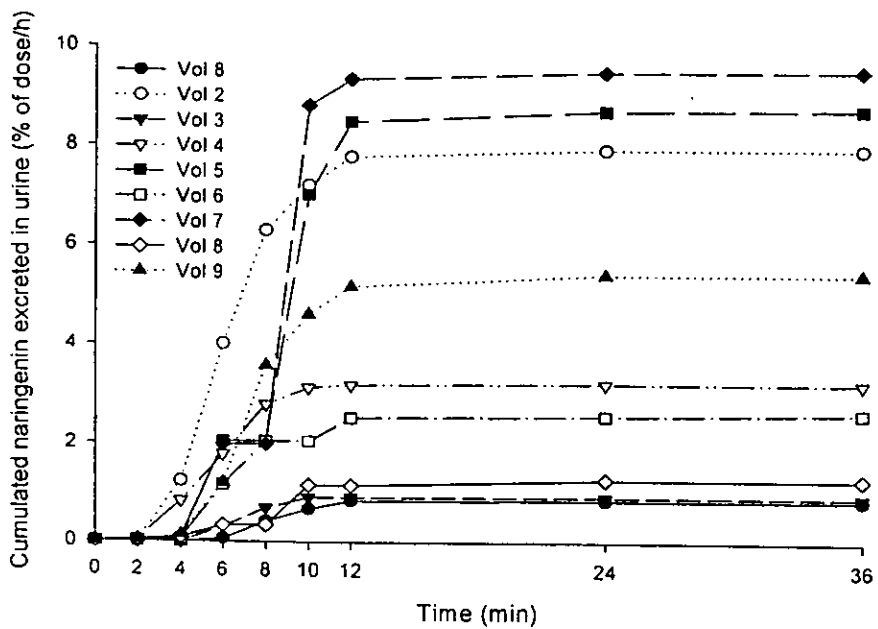


Fig. 1-4 Individual cumulated urinary recoveries (% of dose) of naringenin sulfates in nine volunteers after intake of grapefruit juice

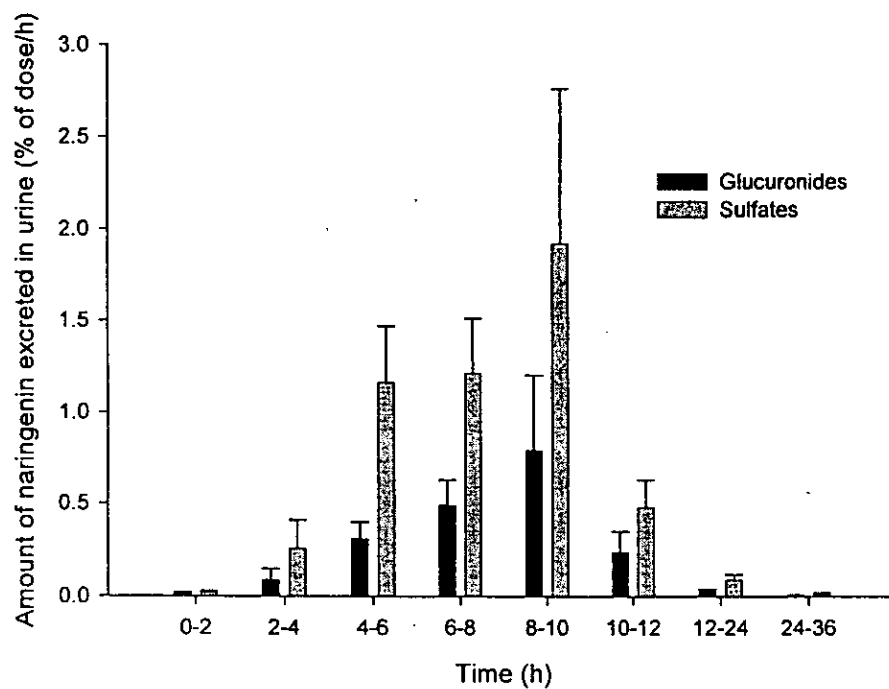


Fig.1-5 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of naringenin glucuronides and sulfates in nine volunteers after intake of grapefruit juice during each time interval, respectively.

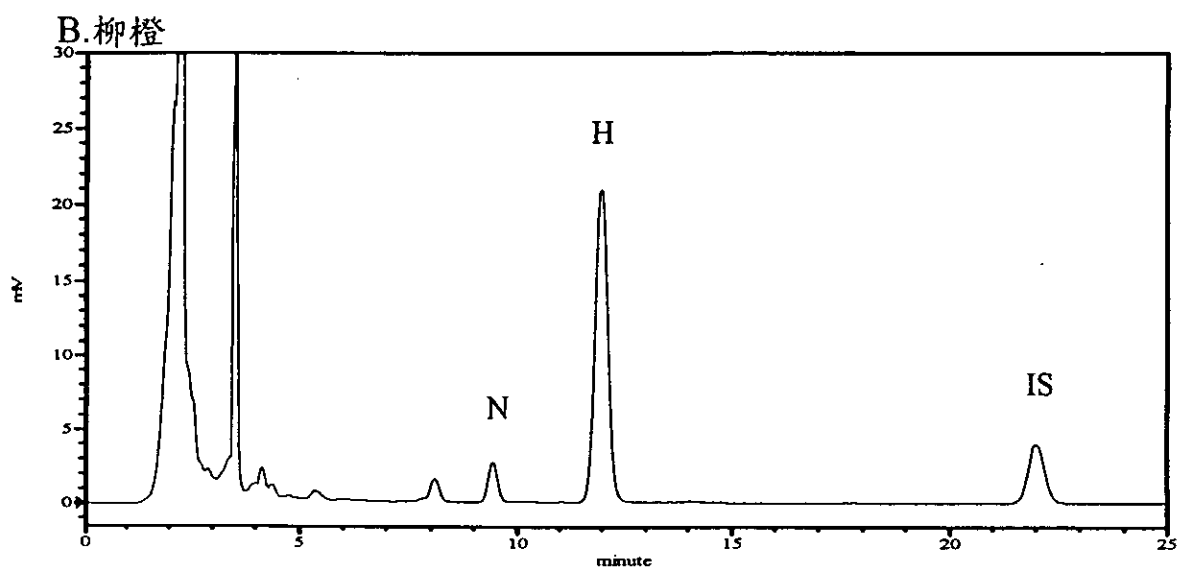


Fig. 2-1 Chromatogram of hesperidin, narirutin and the internal standard in orange juice.
(H: hesperidin, N: narirutin, IS: 6,7-dimethoxycoumarin.)

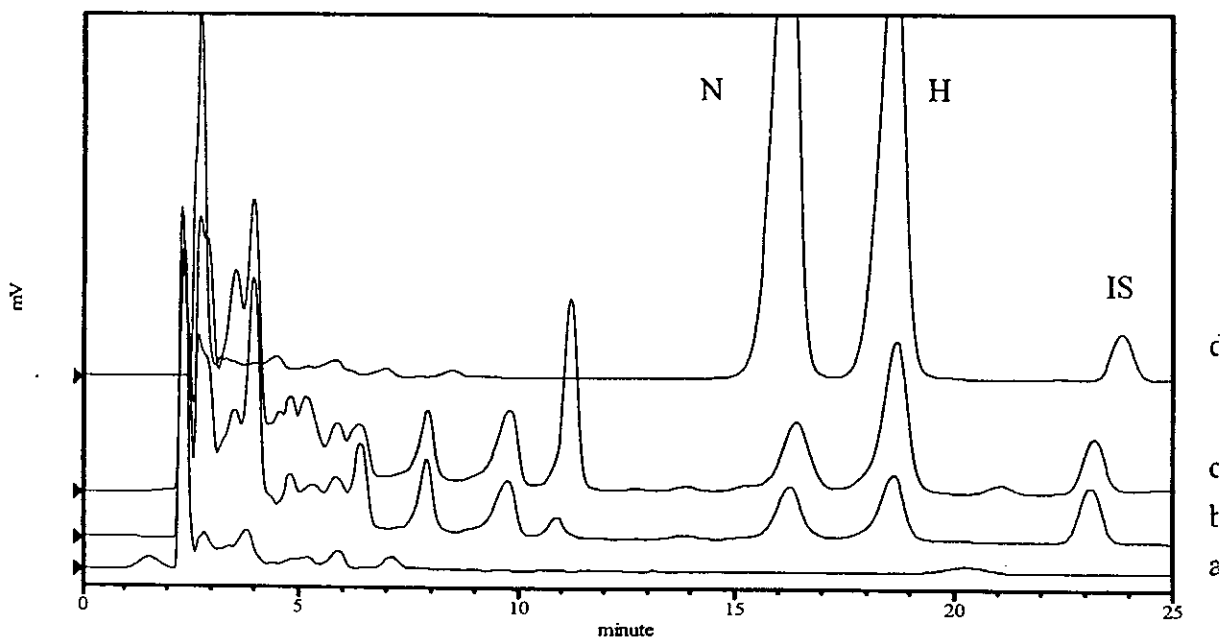


Fig. 2-2 Chromatograms of hesperetin, naringenin and the internal standard in human urine.

- (a): blank urine,
 - (b): an urine sample hydrolyzed with glucuronidase,
 - (c): an urine sample hydrolyzed with sulfatase,
 - (d): urine spiked with hesperetin (10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$), naringenin (10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and the internal standard.
- (H: hesperetin, N: naringenin, IS: 5,7- dimethoxycoumarin.)

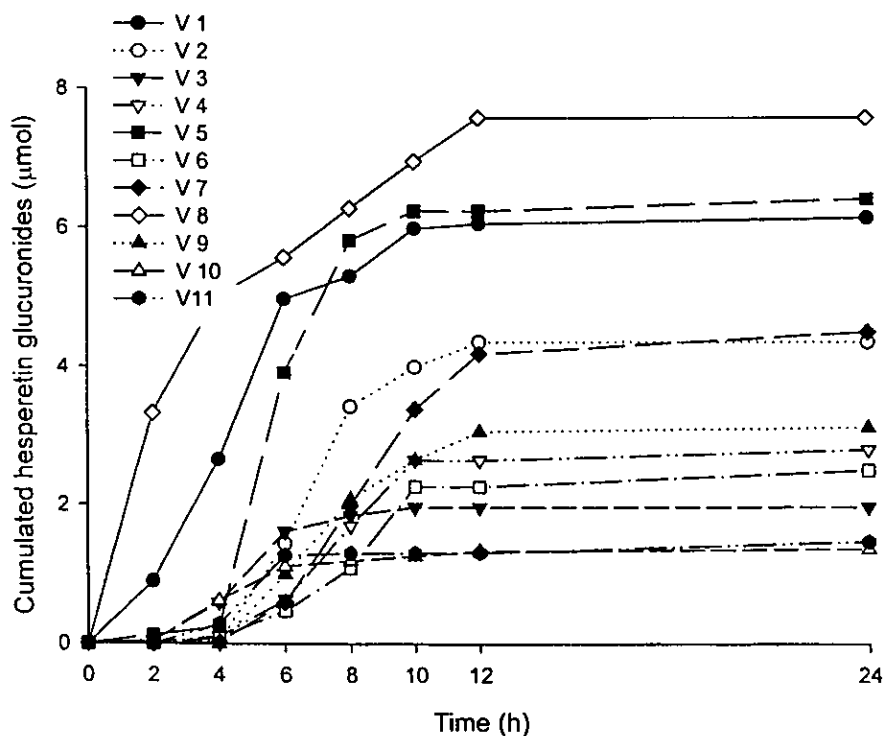
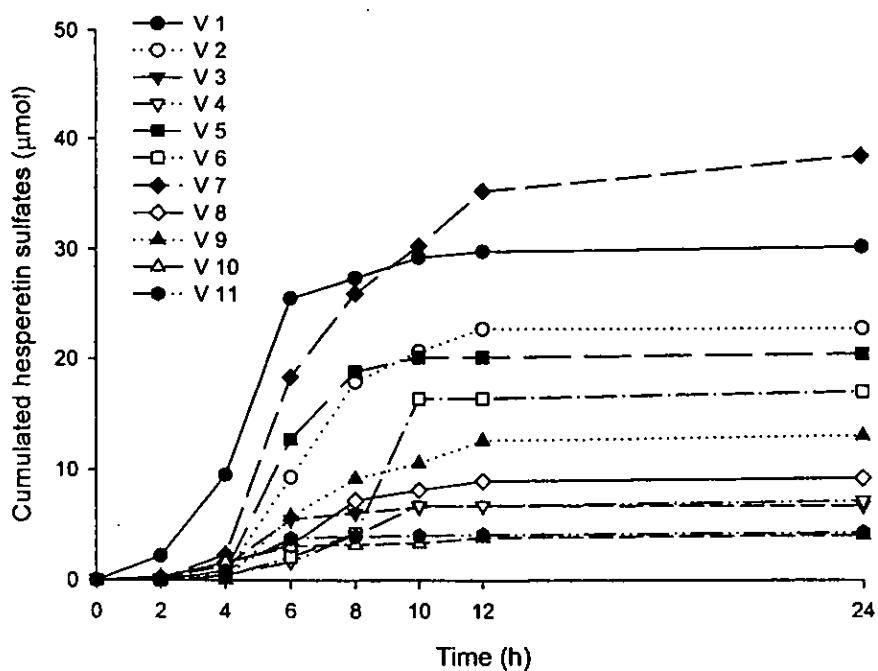


Fig. 2-3 Cumulated urinary excretion of (a): hesperetin sulfates and (b): hesperetin glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer).

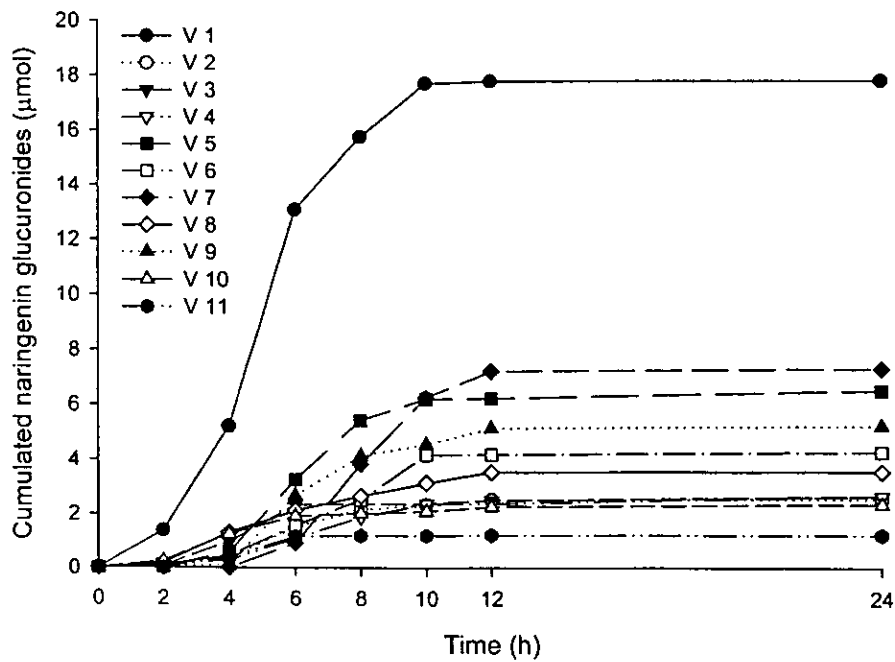
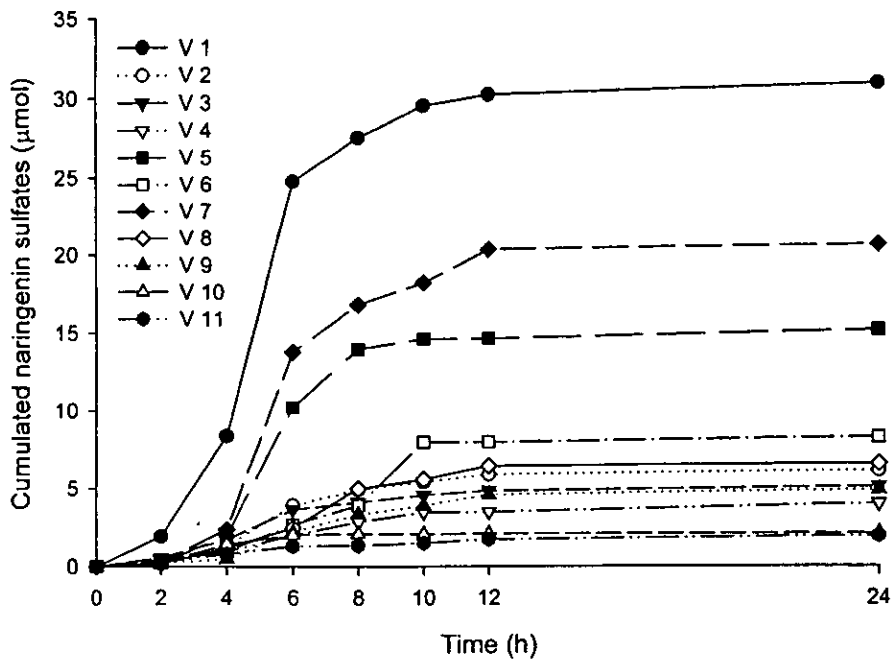


Fig. 2-4 Cumulated urinary excretion of (a): naringenin sulfates and (b): naringenin glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer)..

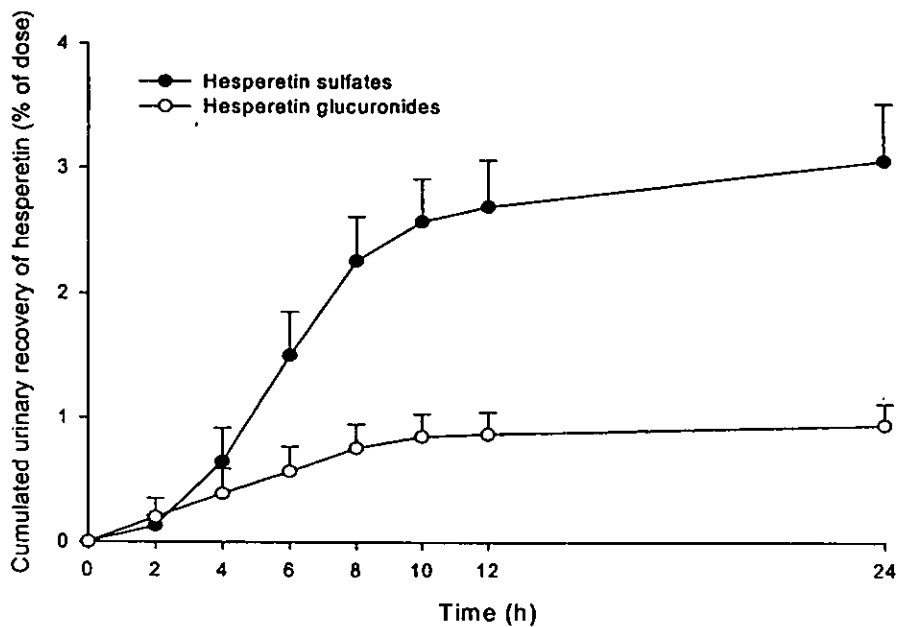


Fig. 2-5 Cumulated mean urinary recoveries (% of dose) of hesperetin sulfates and glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer).

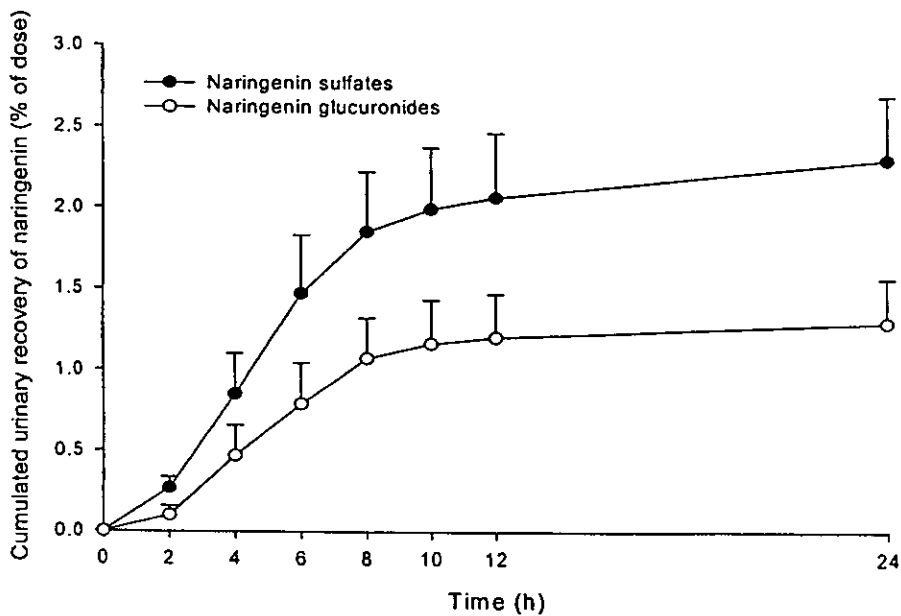
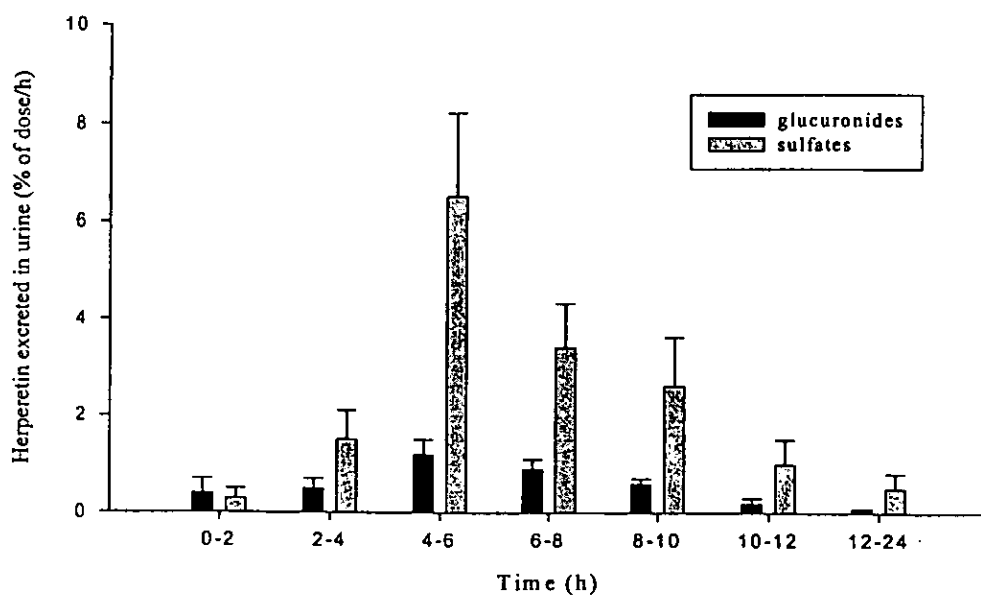


Fig. 2-6 Cumulated mean urinary recoveries (% of dose) of naringenin sulfates and glucuronides in eleven volunteers after oral intake of orange juice (1L/volunteer).

(a): hesperetin



(b): naringenin

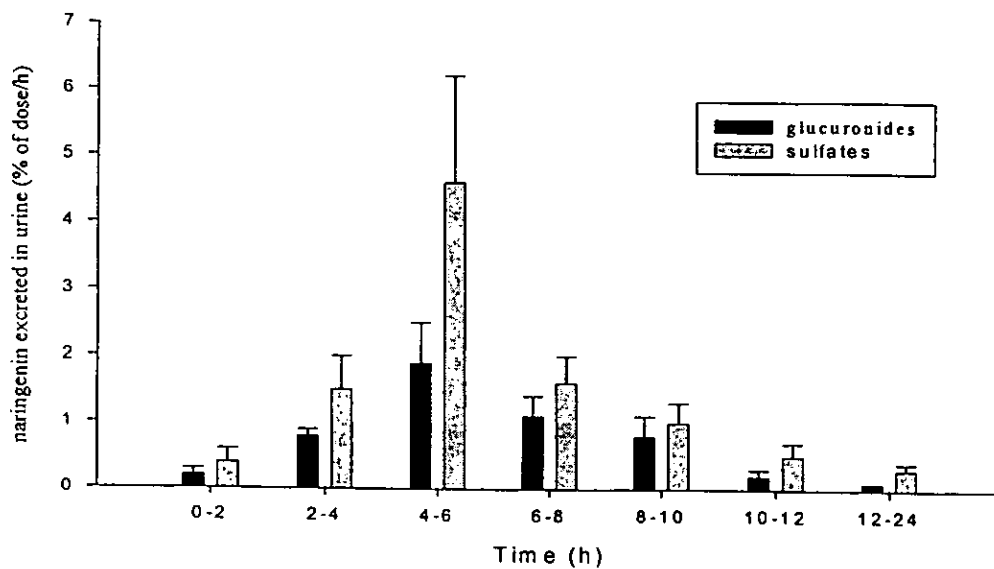
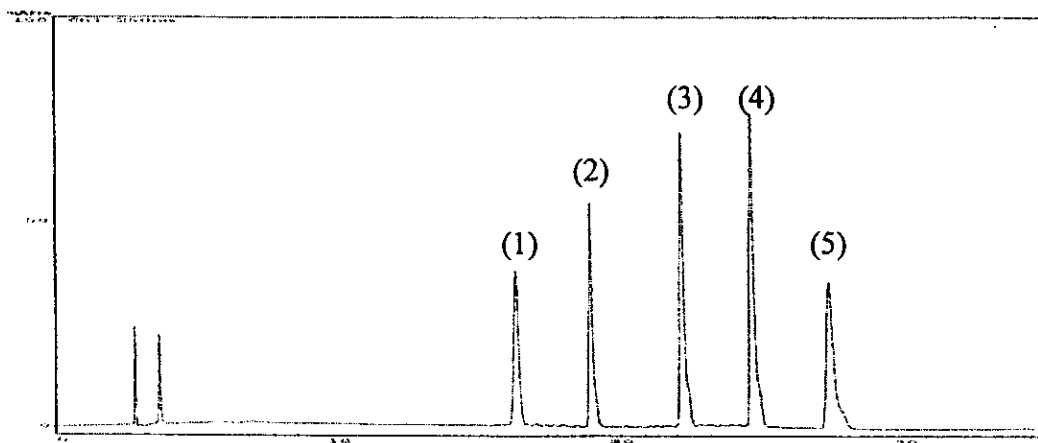


Fig. 2-7 Mean (\pm S.E.) urinary recovery (% dose /h) of sulfates and glucuronides of (a): hesperetin and (b): naringenin in each time interval after administration of orange juice (1L/volunteer) to eleven volunteers.

C. 豆漿

(A)



(B)

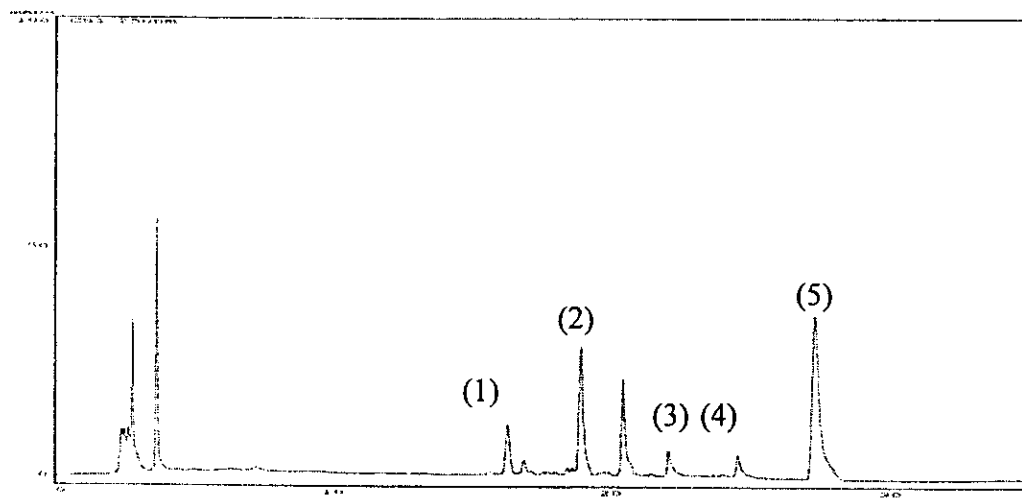
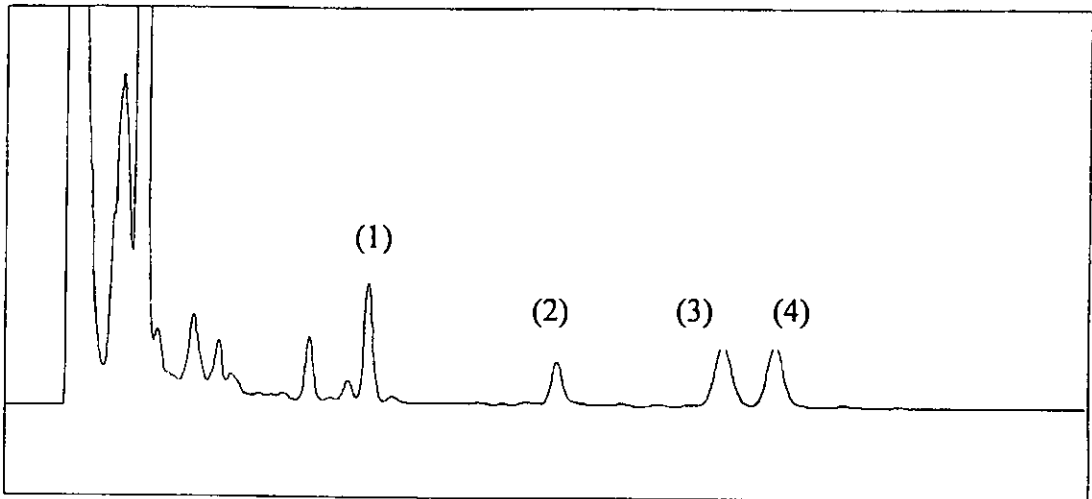


Fig. 3-1 Chromatograms of daidzin (1), genistin (2), daidzein (3), genistein (4) and 5,7-dimethoxycoumarin (internal standard) (5) in (A) standard solution, 3.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for each standard, (B) soy milk

(a)



(b)

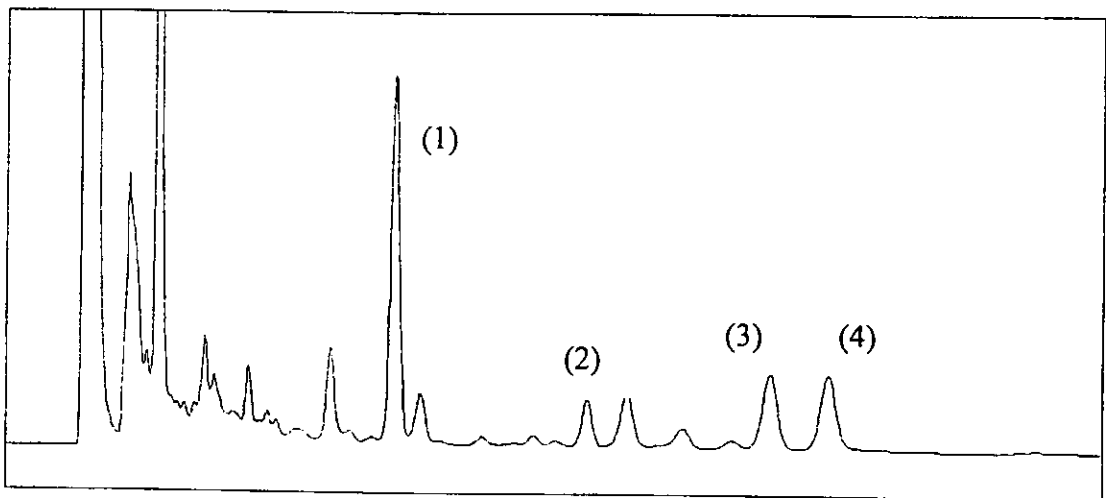


Fig. 3-2 Chromatograms of daidzein (1) ethylparaben (2) (internal standard), equol (3) and genistein (4).

(a) standard solution; (b) human urine after hydrolysis with sulfatase

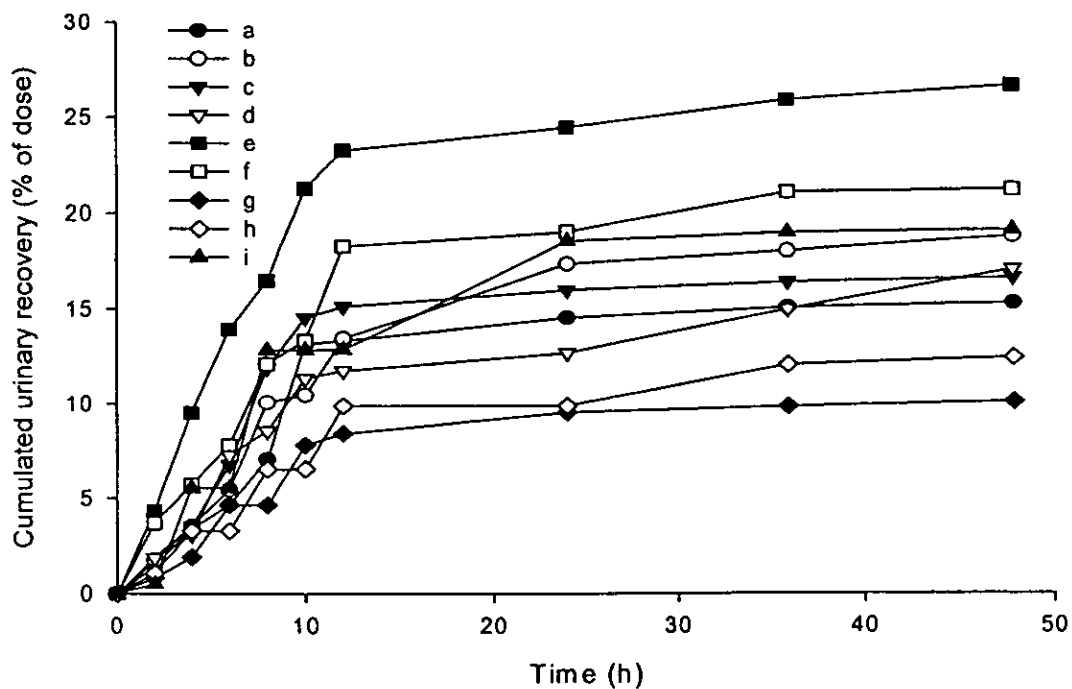


Fig. 3-3 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of daidzein glucuronides in nine volunteers after intake of soy milk.

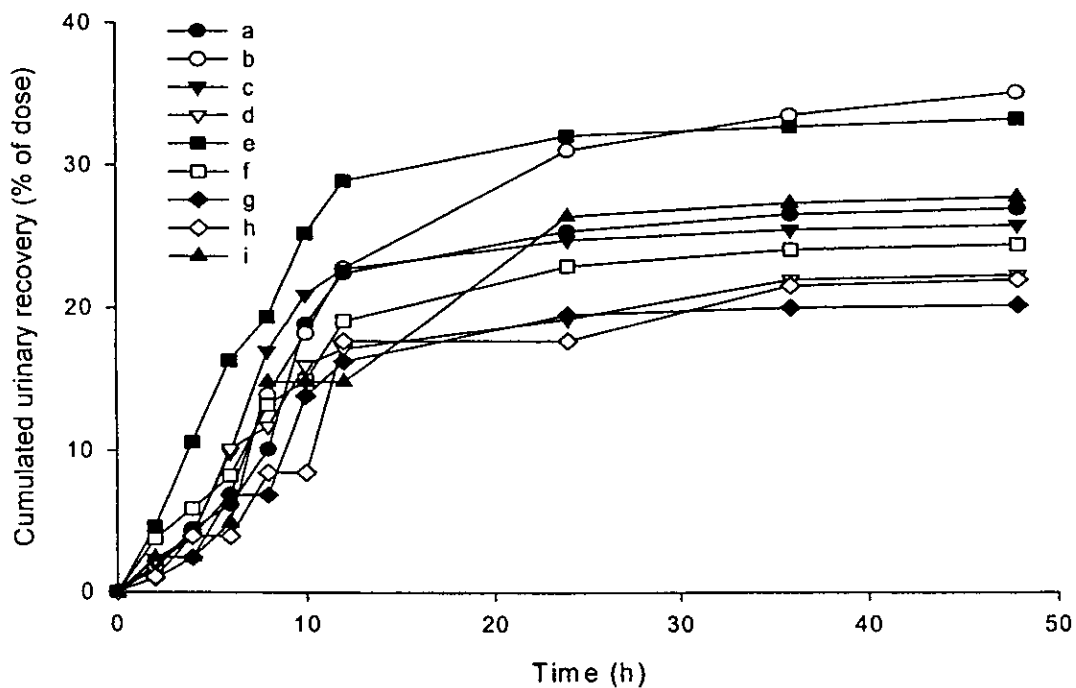


Fig. 3-4 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of daidzein sulfates in nine volunteers after intake of soy milk.

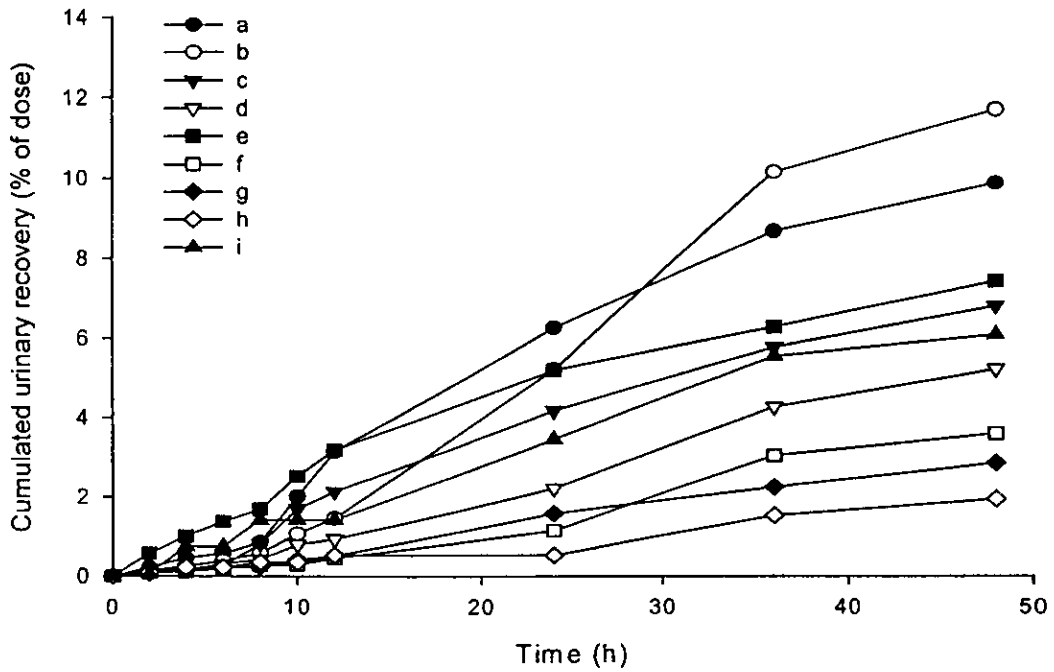


Fig. 3-5 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of equol glucuronides in nine volunteers after intake of soy milk.

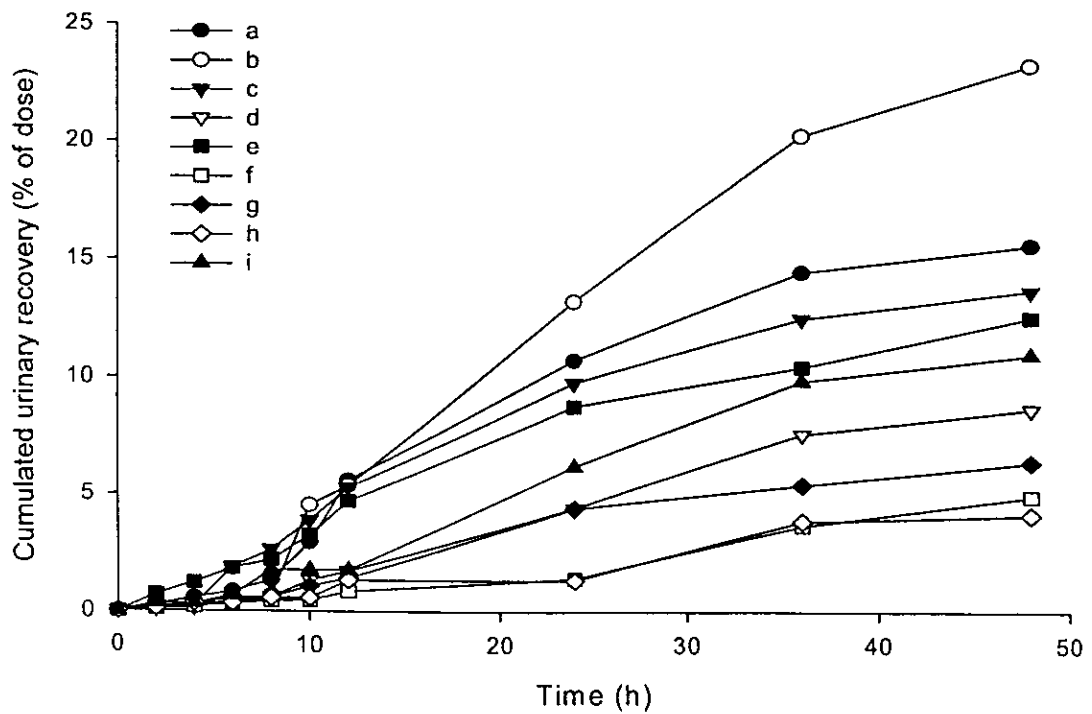


Fig. 3-6 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of equol sulfates in nine volunteers after intake of soy milk.

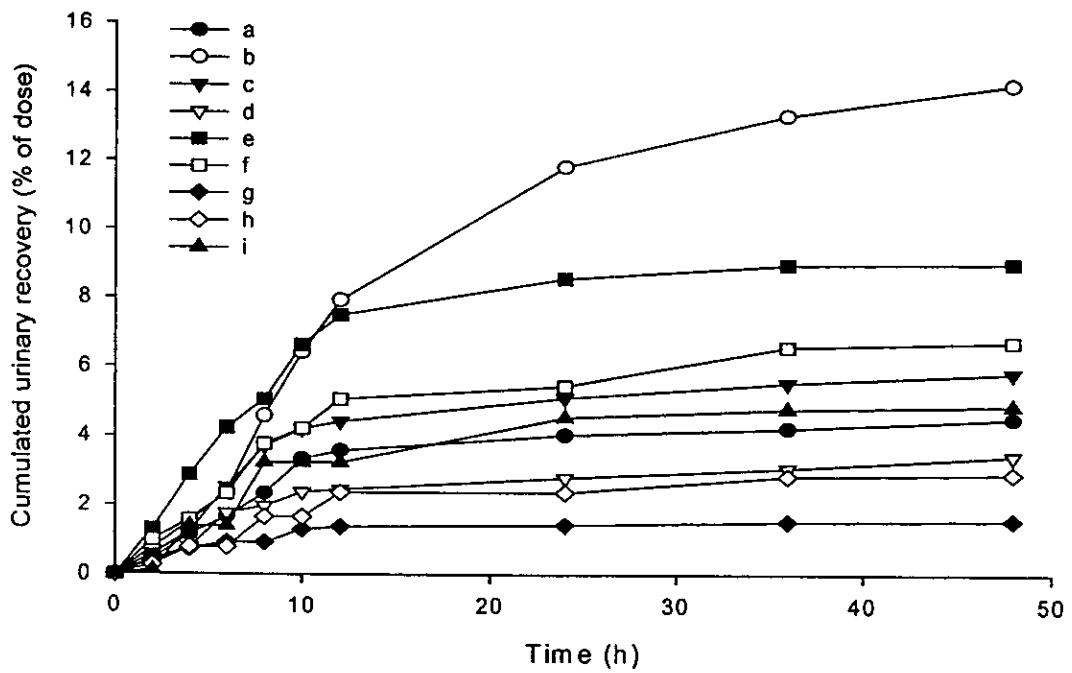


Fig. 3-7 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of genistein glucuronides in nine volunteers after intake of soy milk.

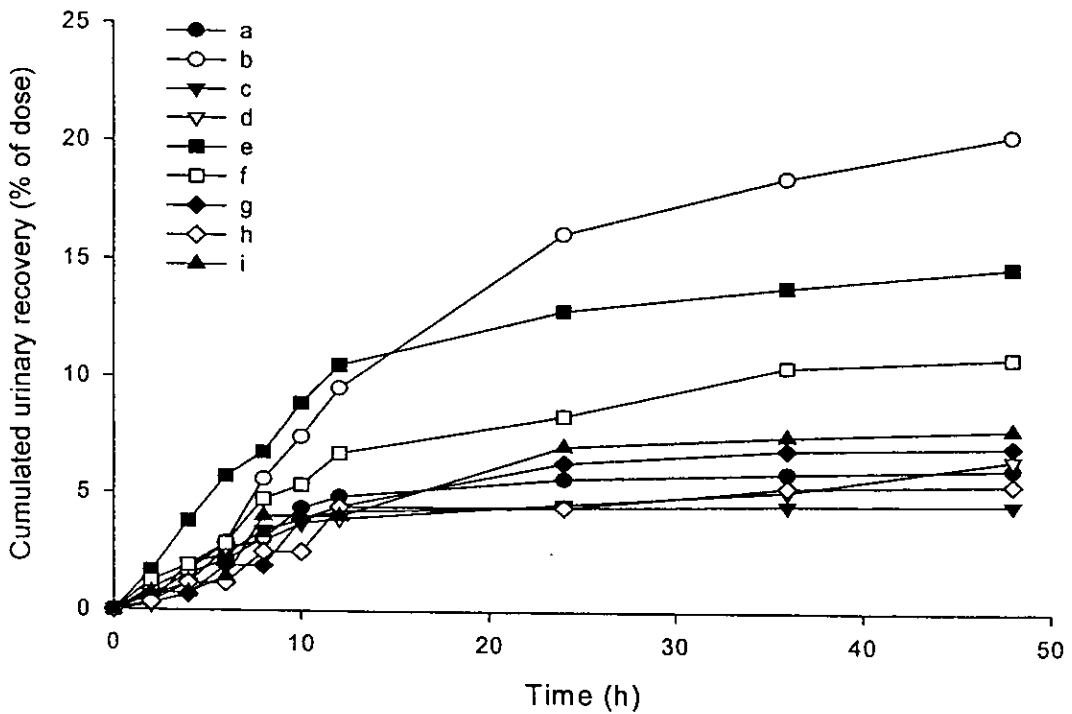


Fig. 3-8 Cumulated urinary recoveries (% of dose) of genistein sulfates in nine volunteers after intake of soy milk.

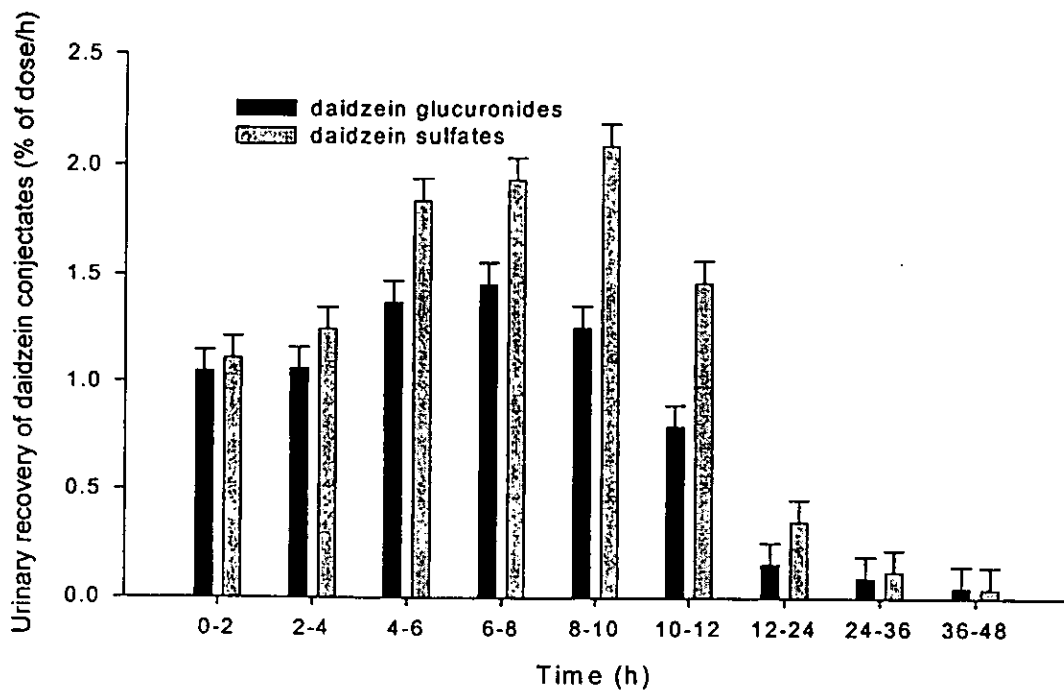


Fig. 3-9 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of daidzein glucuronides and daidzein sulfates in nine volunteers during each time interval after intake of soy milk.

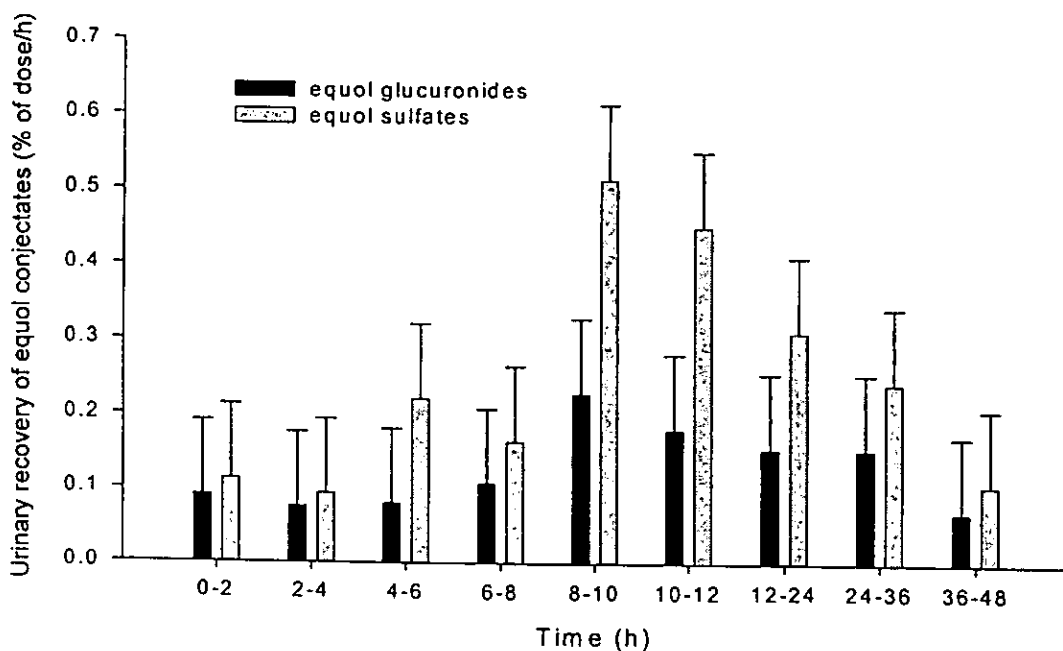


Fig. 3-10 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of equol glucuronides and equol sulfates in nine volunteers after during each time interval intake of soy milk.

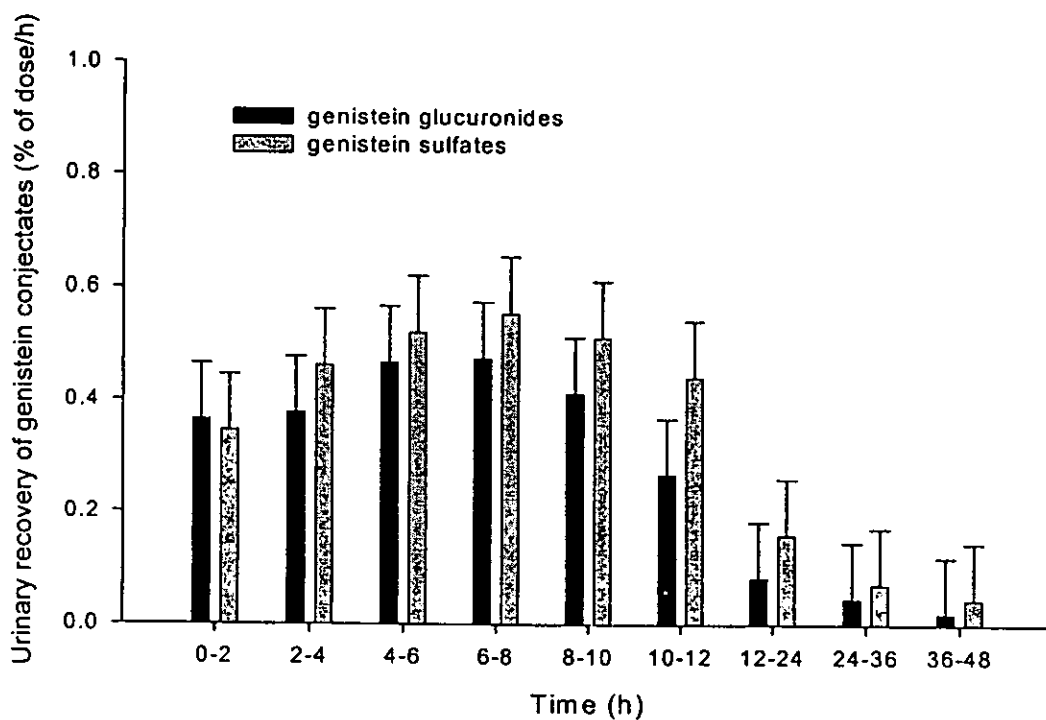


Fig. 3-11 Mean (\pm S.E.) urinary recoveries (% of dose/h) of genistein glucuronides and genistein sulfates in nine volunteers during each time interval after intake of soymilk.

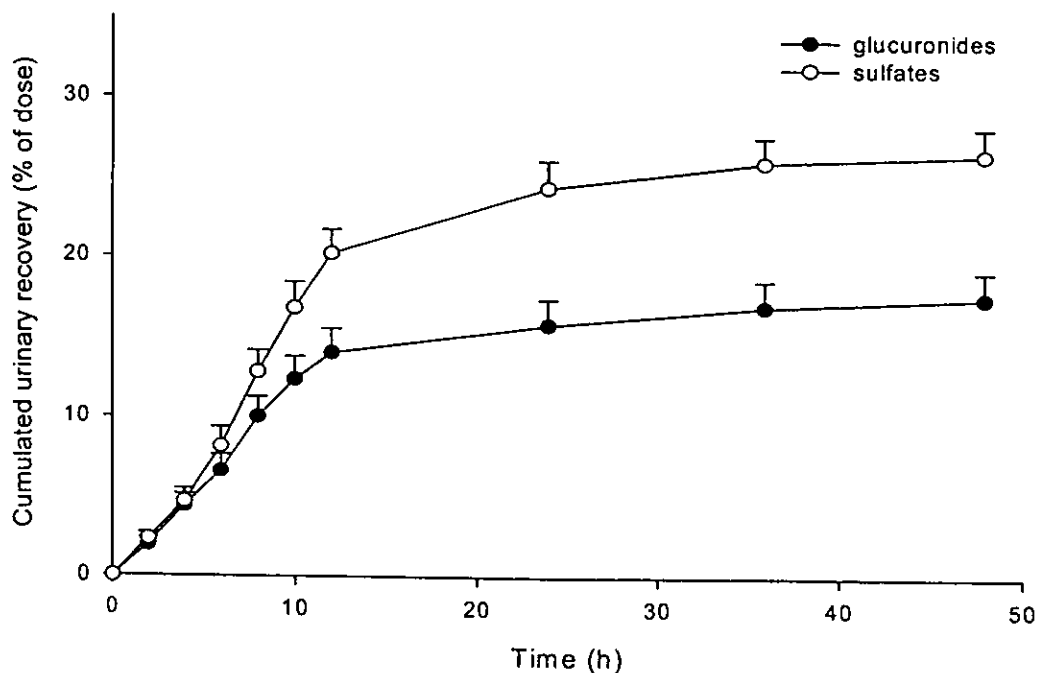


Fig. 3-12 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of daidzein glucuronides and daidzein sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.

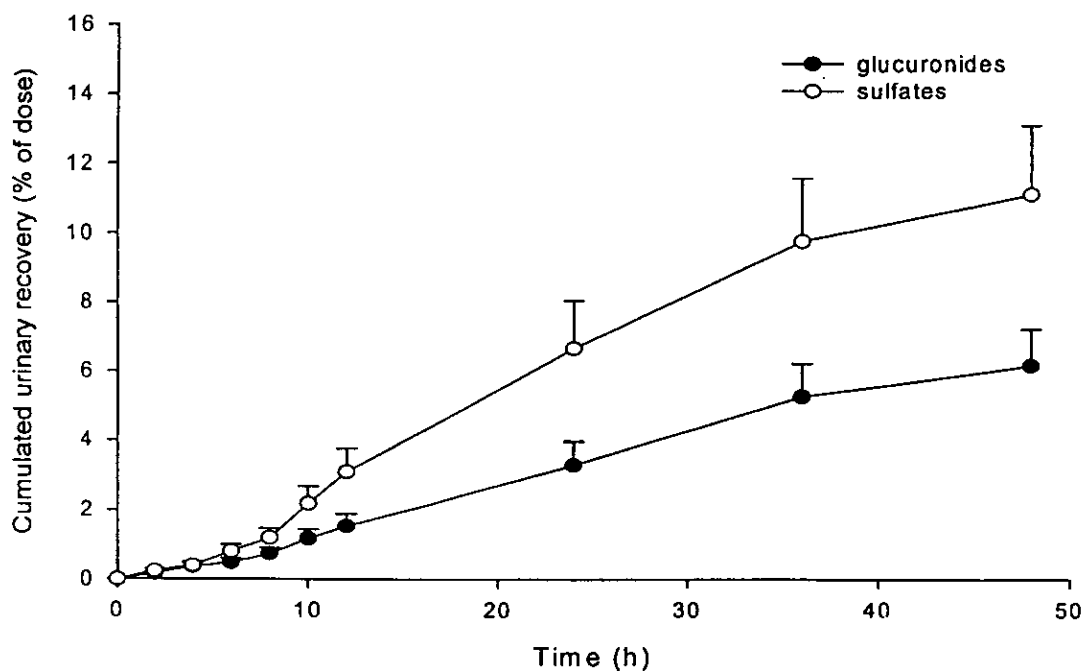


Fig. 3-13 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of equol glucuronides and equol sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.

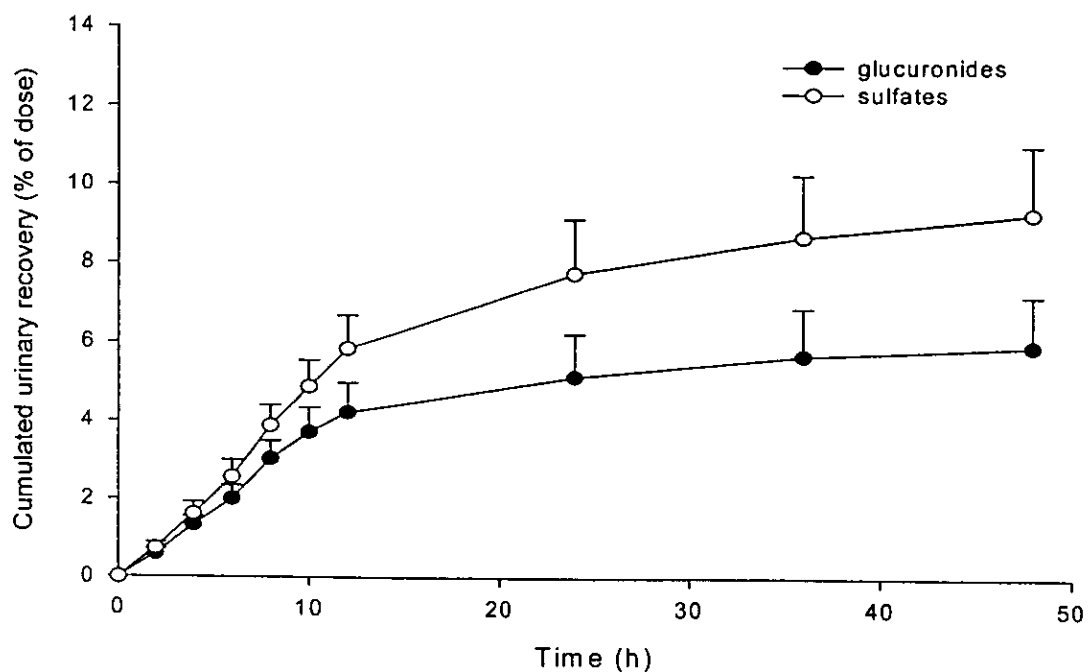


Fig. 3-14 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of genistein glucuronides and genistein sulfates in nine volunteers after intake of soymilk.

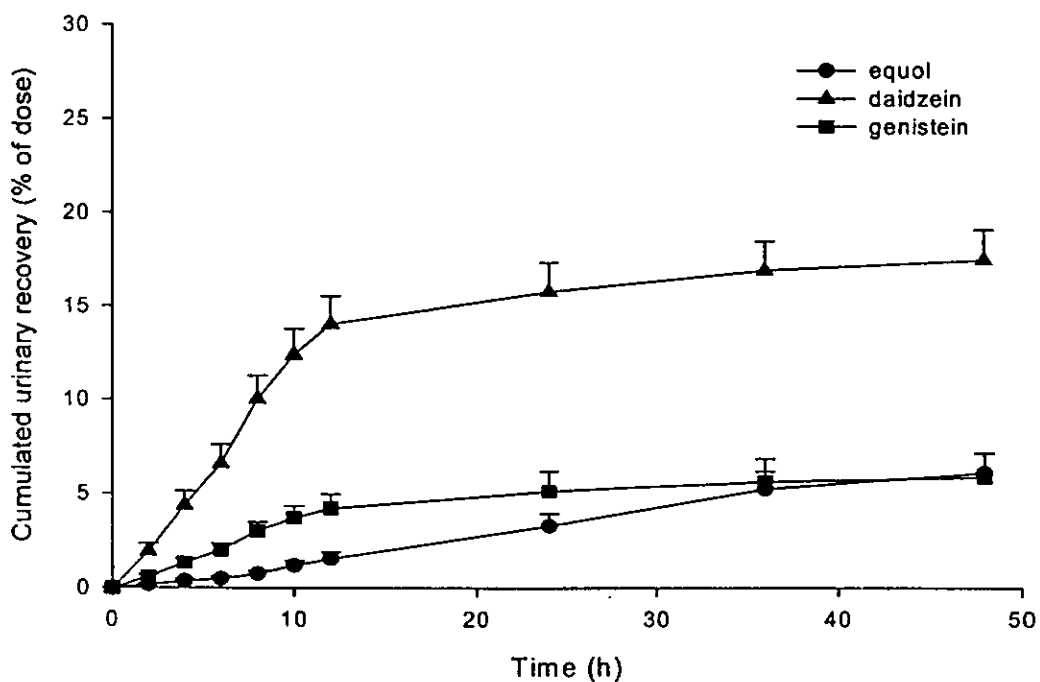


Fig. 3-15 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of glucuronides of equol, daidzein and genistein in nine volunteers after intake of soymilk.

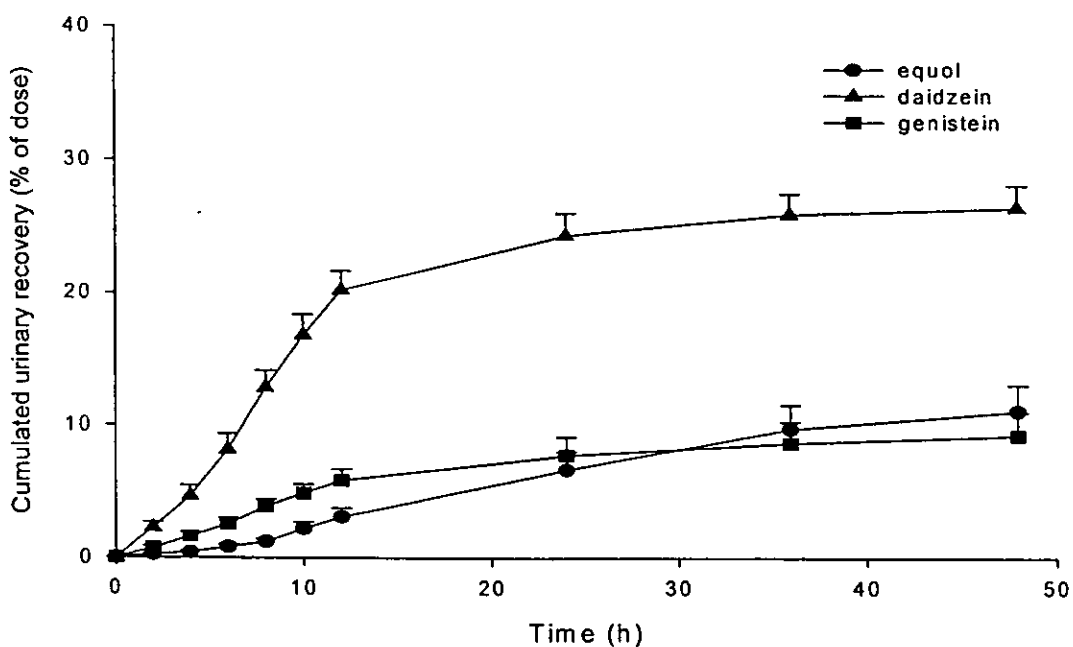


Fig. 3-16 Cumulated (mean \pm S.E.) urinary recoveries (% of dose) of sulfates of equol, daidzein and genistein in nine volunteers after intake of soy milk.

Table 1-1. Intra-run and inter-run analytical precision and accuracy of naringin in grapefruit juice.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-run			Inter-run		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
15.6	14.03 \pm 0.04	5.48	-10.22	14.41 \pm 0.03	4.90	-7.75
31.3	29.15 \pm 0.01	2.48	-6.72	29.80 \pm 0.00 ₃	2.24	-4.65
62.5	59.27 \pm 0.00 ₄	0.20	-5.17	59.69 \pm 0.01	0.62	-4.49
125.0	127.77 \pm 0.02	0.49	2.22	127.02 \pm 0.01	0.34	1.62
250.0	254.80 \pm 0.07	0.84	1.92	254.42 \pm 0.09	1.01	1.77
500.0	509.08 \pm 0.14	0.85	1.82	508.16 \pm 0.09	0.52	1.63
1000.0	994.25 \pm 0.92	0.88	-0.57	994.87 \pm 0.72	0.29	-0.51

Table 1-2. Intra-run and inter-run analytical precision and accuracy of narirutin in grapefruit juice.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-run			Inter-run		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
0.8	0.74 \pm 0.03	3.98	-5.66	0.73 \pm 0.03	4.42	-6.08
1.6	1.60 \pm 0.02	1.52	2.75	1.62 \pm 0.01	0.77	4.06
3.1	3.07 \pm 0.08	2.70	-1.64	3.16 \pm 0.0 ⁴	1.32	1.20
6.3	6.27 \pm 0.05	0.84	0.35	6.25 \pm 0.09	1.50	-0.05
12.5	12.70 \pm 0.04	0.31	1.62	12.72 \pm 0.21	1.63	1.74
25.0	24.6 \pm 0.74	2.98	-0.97	24.58 \pm 0.42	1.70	-1.68
50.0	50.07 \pm 0.12	0.24	0.14	50.15 \pm 0.60	1.19	0.31

Table 1-3. Recovery (%) of naringin in grapefruit juice.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
15.6	101.5	97.8	99.4	99.6 \pm 1.8
125	96.6	97.3	95.7	96.5 \pm 0.8
1000	96.5	94.6	95.5	95.5 \pm 0.9

Table 1-4. Recovery (%) of narirutin in grapefruit juice.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
0.8	98.9	102.3	100.9	100.7 \pm 1.7
6.3	97.8	96.5	97.5	97.3 \pm 0.7
50	96.8	94.4	93.7	95.0 \pm 1.6

Table 1-5. Intra-run and inter-run analytical precision and accuracy of naringenin in human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-run			Inter-run		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
0.04	0.04 \pm 0.00 ₂	6.54	-14.60	0.04 \pm 0.00 ₁	5.33	11.61
0.16	0.13 \pm 0.01	2.75	-10.15	0.14 \pm 0.01	1.76	-9.21
0.31	0.33 \pm 0.01	2.01	5.18	0.33 \pm 0.02	2.45	5.18
0.63	0.60 \pm 0.04	3.72	-4.39	0.59 \pm 0.03	3.01	-5.93
1.25	1.37 \pm 0.01	2.35	9.23	1.36 \pm 0.03	1.58	8.80
2.50	2.52 \pm 0.01	0.88	0.80	2.51 \pm 0.03	1.06	0.49
5.00	5.03 \pm 0.09	1.40	0.62	5.02 \pm 0.07	1.09	0.40
10.00	9.89 \pm 0.16	1.34	-1.06	9.91 \pm 0.11	0.97	-0.90
20.00	20.04 \pm 0.29	1.22	0.18	20.03 \pm 0.23	0.98	0.16

Table 1-6. Recovery (%) of naringenin from human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
0.04	100.7	92.6	94.2	95.8 \pm 4.3
1.25	103.7	97.9	97.5	99.7 \pm 3.4
20.00	95.4	95.5	97.1	96.0 \pm 1.0

Table 2-1. Intraday and interday analytical precision and accuracy of hesperidin in orange juice.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision Mean \pm S.D. (C.V.%)	Accuracy Relative error (%)		Precision Mean \pm S.D. (C.V.%)	Accuracy Relative error (%)	
50.0	50.5 \pm 0.4 (0.7)	1.1		50.4 \pm 0.4 (0.7)	0.9	
25.0	24.0 \pm 0.1 (0.6)	-4.0		24.3 \pm 0.2 (1.0)	-3.0	
12.5	12.0 \pm 0.1 (0.5)	-4.3		12.0 \pm 0.2 (1.8)	-4.2	
6.3	7.0 \pm 0.1 (1.9)	11.2		6.9 \pm 0.0 (0.6)	10.3	
3.1	3.2 \pm 0.0 (1.9)	0.8		3.2 \pm 0.0 (0.8)	1.2	
1.6	1.6 \pm 0.0 (1.4)	5.0		1.6 \pm 0.0 (1.0)	3.5	
0.8	0.9 \pm 0.0 (1.4)	19.1		0.9 \pm 0.0 (1.8)	16.1	

Table 2-2. Intraday and interday analytical precision and accuracy of narirutin in orange juice.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision Mean \pm S.D. (C.V.%)	Accuracy Relative error (%)		Precision Mean \pm S.D. (C.V.%)	Accuracy Relative error (%)	
50.0	50.1 \pm 0.1 (0.2)	0.1		50.2 \pm 0.6 (1.2)	0.3	
25.0	24.6 \pm 0.7 (3.0)	-1.0		24.6 \pm 0.4 (1.7)	-1.7	
12.5	12.7 \pm 0.0 (0.3)	1.6		12.7 \pm 0.2 (1.6)	1.7	
6.3	6.2 \pm 0.1 (0.8)	0.4		6.3 \pm 0.1 (1.5)	-0.1	
3.1	3.1 \pm 0.1 (2.7)	-1.6		3.2 \pm 0.0 (1.3)	1.2	
1.6	1.6 \pm 0.0 (1.5)	2.8		1.6 \pm 0.0 (0.8)	4.1	
0.8	0.7 \pm 0.0 (4.0)	-5.7		0.7 \pm 0.0 (4.4)	-6.1	

Table 2-3 Recovery (%) of hesperidin from orange juice

Conc. Spiked ($\mu\text{g/mL}$)	a	b	c	Mean \pm S.D.
50.0	90.5	98.4	96.1	95.0 \pm 4.1
6.3	98.3	101.8	91.7	97.2 \pm 5.1
0.8	103.0	93.7	86.3	94.3 \pm 8.3

Table 2-4 Recovery (%) of narirutin from orange juice.

Conc. Spiked ($\mu\text{g/mL}$)	a	b	c	Mean \pm S.D.
50.0	98.6	97.0	99.1	98.2 \pm 1.1
6.3	101.5	104.5	106.8	104.3 \pm 2.7
0.8	104.6	102.4	91.6	99.5 \pm 7.0

Table 2-5. Intraday and interday analytical precision and accuracy of hesperetin in human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
50.0	49.5 \pm 0.4	(0.7)	-1.0	49.6 \pm 0.3	(0.6)	-0.8
25.0	26.0 \pm 0.7	(2.8)	4.1	25.8 \pm 0.6	(2.3)	3.4
12.5	12.6 \pm 0.1	(0.7)	1.0	12.5 \pm 0.0	(0.3)	0.4
6.3	6.1 \pm 0.1	(1.6)	-2.2	6.2 \pm 0.0	(0.1)	-0.1
3.1	2.8 \pm 0.2	(7.5)	-9.6	3.0 \pm 0.1	(4.0)	-5.3
1.6	1.3 \pm 0.2	(8.4)	-13.8	1.4 \pm 0.1	(8.1)	-11.3
0.8	0.6 \pm 0.1	(9.3)	-17.2	0.7 \pm 0.1	(9.1)	-16.0

Table 2-6. Intraday and interday analytical precision and accuracy of naringenin in human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
50.0	49.8 \pm 0.2	(0.3)	-0.4	49.9 \pm 0.1	(0.2)	-0.2
25.0	25.4 \pm 0.3	(1.1)	1.6	25.2 \pm 0.1	(0.4)	0.6
12.5	12.6 \pm 0.0	(0.3)	0.5	12.6 \pm 0.1	(0.6)	0.9
6.3	6.3 \pm 0.0	(0.4)	0.6	6.3 \pm 0.0	(0.7)	1.0
3.1	3.1 \pm 0.0	(1.3)	-1.9	3.1 \pm 0.0	(0.3)	-0.4
1.6	1.5 \pm 0.1	(3.9)	-5.3	1.5 \pm 0.0	(1.5)	-2.1
0.8	0.6 \pm 0.1	(9.4)	-17.8	0.7 \pm 0.1	(8.6)	-10.8

Table 2-7. Recovery (%) of hesperetin from human urine.

Conc. spiked ($\mu\text{g/mL}$)	a	b	c	Mean \pm S.D.
50.0	88.2	97.3	97.2	94.2 \pm 5.3
6.3	97.1	95.1	98.5	96.9 \pm 1.6
0.8	97.5	97.2	109.6	101.4 \pm 7.1

Table 2-8. Recovery (%) of naringenin from human urine.

Conc. spiked ($\mu\text{g/mL}$)	a	b	c	Mean \pm S.D.
50.0	97.1	101.2	103.9	100.8 \pm 3.4
6.3	96.2	91.3	103.9	97.1 \pm 6.4
0.8	97.8	103.1	85.5	95.5 \pm 9.0

Table 3-1. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzin.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
100.0	99.9 \pm 2.6	0.5	-0.1	99.9 \pm 3.0	0.8	-0.1
50.0	49.8 \pm 0.4	0.8	-0.4	50.0 \pm 0.6	0.7	-0.1
25.0	24.8 \pm 0.5	0.7	-0.8	25.1 \pm 0.3	0.8	0.3
12.5	12.0 \pm 0.2	4.4	-4.2	12.7 \pm 0.3	2.6	1.6
6.2	6.6 \pm 0.2	4.8	5.2	6.2 \pm 0.2	0.6	-1.4
3.1	3.4 \pm 0.1	2.3	8.6	3.1 \pm 0.0	0.4	-1.8
1.6	1.6 \pm 0.1	5.0	1.3	1.5 \pm 0.1	1.3	-4.8

Table 3-2. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzein.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
100.0	99.9 \pm 2.8	0.3	-0.1	99.7 \pm 2.6	0.4	-0.3
50.0	49.8 \pm 0.6	0.9	-0.3	50.7 \pm 1.4	0.6	-1.3
25.0	24.9 \pm 0.3	0.8	-0.5	25.1 \pm 0.1	1.8	0.3
12.5	12.4 \pm 0.1	0.3	-1.0	12.4 \pm 0.0	3.5	-1.2
6.2	6.3 \pm 0.1	1.5	0.7	6.1 \pm 0.1	0.4	-2.0
3.1	3.2 \pm 0.0	3.3	3.1	3.1 \pm 0.1	2.9	-0.9
1.6	1.6 \pm 0.0	3.9	3.8	1.5 \pm 0.0	2.7	-0.3

Table 3-3. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistin.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
100.0	99.8 \pm 1.8	0.7	-0.2	99.7 \pm 2.6	0.4	-0.3
50.0	49.3 \pm 0.6	0.2	-1.4	50.7 \pm 2.4	0.6	1.3
25.0	25.1 \pm 0.3	1.7	0.4	25.1 \pm 0.1	1.8	0.3
12.5	12.9 \pm 0.2	1.8	2.9	12.4 \pm 0.1	3.5	-1.2
6.2	6.4 \pm 0.1	1.8	2.0	6.1 \pm 0.1	0.4	-2.0
3.1	3.2 \pm 0.0	1.3	2.9	3.1 \pm 0.2	2.9	-0.9
1.6	1.6 \pm 0.1	0.5	5.1	1.5 \pm 0.0	2.7	-5.4

Table 3-4. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistein.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision Mean \pm S.D. (C.V.%)	Accuracy Relative error (%)		Precision Mean \pm S.D. (C.V.%)	Accuracy Relative error (%)	
100.0	99.9 \pm 1.8	0.4	-0.1	100.1 \pm 2.6	0.4	0.1
50.0	50.0 \pm 0.6	0.4	0.1	49.4 \pm 1.4	2.5	-1.2
25.0	25.1 \pm 0.3	0.5	0.2	25.1 \pm 0.1	1.3	0.3
12.5	12.5 \pm 0.2	0.6	0.3	12.7 \pm 0.1	1.4	1.6
6.2	6.2 \pm 0.1	1.5	-1.2	6.3 \pm 0.2	1.2	0.7
3.1	3.1 \pm 0.0	2.2	-0.9	3.1 \pm 0.1	1.7	-0.2
1.6	1.5 \pm 0.0	1.7	-1.3	1.5 \pm 0.0	3.8	-2.5

Table 3-5. Recovery (%) of daidzin from soybean extract.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
50.0	93.6	83.2	90.6	89.1 \pm 5.4
12.5	98.8	96.9	83.4	93.0 \pm 8.4
3.1	100.5	93.6	97.4	97.2 \pm 3.5

Table 3-6. Recovery (%) of daidzein from soybean extract.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
50.0	88.2	96.3	98.0	94.2 \pm 5.2
12.5	87.7	83.7	89.7	87.0 \pm 3.1
3.1	95.0	92.2	93.3	93.5 \pm 1.4

Table 3-7. Recovery (%) of genistin from soybean extract.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
50.0	81.6	79.5	84.5	81.9 \pm 2.5
12.5	90.8	87.6	84.9	87.8 \pm 3.0
3.1	86.1	89.4	95.7	90.4 \pm 4.9

Table 3-8. Recovery (%) of genistein from soybean extract

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
50.0	81.6	79.5	84.5	81.9 \pm 2.5
12.5	80.8	87.6	84.9	84.4 \pm 3.4
3.1	86.1	89.4	85.7	87.1 \pm 2.0

Table 3-9. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzein after acid hydrolysis.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
100.0	100.4 \pm 2.1	0.4	0.4	99.5 \pm 1.6	-0.5	1.6
50.0	48.9 \pm 0.5	-2.2	1.0	50.7 \pm 1.1	1.4	2.2
25.0	25.2 \pm 0.2	0.7	0.8	24.8 \pm 0.2	-0.7	0.8
12.5	12.2 \pm 0.1	-2.5	0.8	12.2 \pm 0.1	-2.0	0.8
6.2	6.5 \pm 0.2	4.6	3.1	5.9 \pm 0.2	-5.0	3.4
3.1	3.4 \pm 0.1	9.5	2.9	2.8 \pm 0.1	-9.2	3.6

Table 3-10 Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistein after acid hydrolysis.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
100.0	100.3 \pm 0.1	0.3	0.1	99.9 \pm 0.1	-0.1	0.1
50.0	48.6 \pm 0.7	-2.7	5.5	50.3 \pm 0.5	0.6	4.1
25.0	25.8 \pm 0.3	3.1	4.5	25.8 \pm 0.5	1.2	8.2
12.5	12.7 \pm 0.1	1.6	2.5	12.4 \pm 0.3	-1.0	9.7
6.2	6.3 \pm 0.1	1.1	2.7	6.1 \pm 0.1	-3.0	6.8
3.1	2.9 \pm 0.1	-6.8	8.9	3.1 \pm 0.1	-1.2	3.3

Table 3-11. Recovery (%) of daidzein from soybean extract after acid hydrolysis.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
50.0	86.1	79.3	78.0	81.2 \pm 4.4
12.5	89.1	84.3	87.7	87.0 \pm 2.5
3.1	92.8	88.2	90.3	90.5 \pm 2.3

Table 3-12 Recovery (%) of genistein from soybean extract after acid hydrolysis.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
50.0	79.9	79.5	77.5	78.9 \pm 1.3
12.5	80.8	80.6	79.6	80.4 \pm 0.6
3.1	82.0	79.4	81.7	81.1 \pm 1.4

Table 3-13. Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of daidzein in human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
20.0	20.0 \pm 0.1	1.3	-0.1	20.1 \pm 0.1	2.0	0.3
10.0	10.0 \pm 0.7	1.9	-0.3	10.0 \pm 0.1	4.4	0.1
5.0	5.0 \pm 0.3	0.2	0.2	4.9 \pm 0.0 ₄	2.2	-2.0
2.5	2.5 \pm 0.0 ₄	1.5	-0.7	2.4 \pm 0.3	3.3	-2.3
1.3	1.3 \pm 0.01	0.9	1.0	1.2 \pm 0.0 ₃	8.0	-1.0
0.6	0.6 \pm 0.0 ₂	3.9	0.1	0.7 \pm 0.0 ₁	7.0	9.6

Table 3-14 Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of equol in human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
20.0	20.0 \pm 0.4	2.2	-0.1	20.1 \pm 0.1	1.8	0.3
10.0	10.1 \pm 0.2	2.0	0.8	10.0 \pm 0.1	3.4	-0.4
5.0	5.1 \pm 0.0	0.4	2.0	5.0 \pm 0.0	2.4	-0.9
2.5	2.5 \pm 0.0	0.7	0.1	2.4 \pm 0.0	3.4	-2.9
1.3	1.2 \pm 0.01	9.3	-0.7	1.2 \pm 0.0	9.0	-2.6
0.6	0.6 \pm 0.0	3.9	-6.7	0.6 \pm 0.0	7.3	-4.7

Table 3-15 Intra-day and inter-day analytical precision and accuracy of genistein in human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	Relative error (%)
20.0	19.5 \pm 0.4	1.8	-2.5	20.0 \pm 0.1	1.8	0.2
10.0	9.6 \pm 0.2	1.8	-3.6	9.9 \pm 0.1	3.7	-1.3
5.0	4.7 \pm 0.0	0.1	-5.4	5.0 \pm 0.0	2.2	0.7
2.5	2.4 \pm 0.1	0.3	-3.9	2.6 \pm 0.0	2.7	2.7
1.3	1.3 \pm 0.0	2.5	1.4	1.3 \pm 0.0	3.6	0.1
0.6	0.7 \pm 0.1	1.3	8.9	0.6 \pm 0.0	4.3	-3.8

Table.3-16 Recovery (%) of daidzein from human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
20.0	99.7	100.2	101.6	100.5 \pm 1.0
5.0	98.4	98.5	101.4	99.4 \pm 1.7
1.3	96.1	96.4	98.7	97.1 \pm 1.4

Table.3-17 Recovery (%) of equol from human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
20.0	96.7	93.2	94.6	94.8 \pm 1.8
5.0	95.4	97.5	93.4	95.4 \pm 2.1
1.3	95.1	94.4	94.7	94.7 \pm 0.4

Table.3-18 Recovery (%) of genistein from human urine.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	Mean \pm S.D.
20.0	96.7	97.2	95.6	96.5 \pm 0.8
5.0	95.4	95.5	98.4	94.3 \pm 1.7
1.3	93.1	95.4	95.7	94.7 \pm 1.4

九十四年度計畫重要研究成果及對本署之具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：人體尿液中營養調查方法之建立—尿液中黃酮類微營養素之分析

主持人：李珮端 計畫編號：DOH94-TD-F-113-037

1.本計畫之新發現或新發明

1. 釐清國人飲用葡萄柚汁、柳橙汁、豆漿後，黃酮類之尿中動力學，提供營養調查方法之參考。
2. 建議藥理學家體外活性研究之正確標的分子。

2.本計畫對民眾具教育宣導之成果

3.本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

所建立的方法可提供國人未來進行營養流行病學調查研究之工具。