

UHPLC-ESI 精密質量 Q-TOF MS/MS アプローチを用いた ヒトにおけるケルセチンの代謝と バイオアベイラビリティの分析

アプリケーションノート

食品品質・薬理学

著者

Jihyun Lee and Alyson E. Mitchell
Department of Food Science and
Technology,
University of California, Davis
One Shields Avenue
Davis, CA 95616

Susan Ebeler
Department of Viticulture and Enology,
University of California, Davis
One Shields Avenue
Davis, CA 95616

Jerry Zweigenbaum
Agilent Technologies
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808

概要

バイオフィラボノイドのケルセチンは、食品中でさまざまなグリコシドとして存在しています。そうしたグリコシドの組成は、生物種や栽培品種に固有のもので、ヒトの場合、ケルセチンは幅広いフェーズ II 生体内変化を経て、複雑な一連の代謝物となります。各代謝物の生物活性は、生体内変化の際に生成される複合体の種類や位置により異なります。Agilent 1290 HPLC と Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS を用いて、微粉化アップルピール (AP) またはオニオンパウダー (OP) で濃縮したアップルソースの摂取後のヒト血漿における各ケルセチン代謝物の同定および相対量の測定をおこないました。AP と OP を標準化し、総ケルセチングリコシド量を 100 mg としました。代謝物の同定にあたっては、フェーズ II 生体内変化のケルセチン関連生成物について作成したカスタム Agilent Personal Compound Database Library (PCDL) と、Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアを使用しました。Q-TOF MS/MS フラグメンテーションデータと Agilent MassHunter Molecular Structure Correlator (MSC) ソフトウェアを用いて、同定した代謝物の構造確認をおこないました。



Agilent Technologies

はじめに

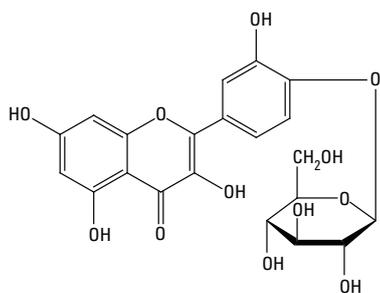
ここで紹介するケルセチン代謝物研究の補足レポートは、*Journal of Agriculture and Food Chemistry* に掲載されています [1]。この研究でケルセチンを選択したのは、疫学的研究により、フラボノイドが多く含まれる食物を摂取すると、循環器疾患、癌、その他の加齢に伴う疾患のリスクが低下する可能性があることが示されているためです [2,3,4]。図 1 に示すように、ケルセチンは食品中にグリコシドとして存在しています。グリコシドの形態により、バイオアベイラビリティ (吸収率) が異なります。食品中に存在するグリコシドの組成は、生物種や栽培品種によって異なります。タマネギに見られるおもなグリコシドは、ケルセチン 4'-*O*-グルコシドです。リンゴに見られるおもなグリコシド形態は、ケルセチン 3-*O*-ガラクトシドです。

ケルセチングリコシドは、腸内で吸収されます。グリコシドは、小腸刷子縁膜で β -グルコシダーゼとラクターゼフロリジンヒドロラーゼの作用により切断され、アグリコンが吸収されます。腸細胞内では、フェーズ II 生体内変化酵素により、さまざまなアグリコン代謝活動がおこなわれます。これにより、硫酸化、グルクロン酸化、メチル化などのさまざまな化合物種が生まれます。これらの代謝物は、肝門静脈経路で肝臓に運ばれ、さらなるフェーズ II 代謝を経たのち、全身に循環します。

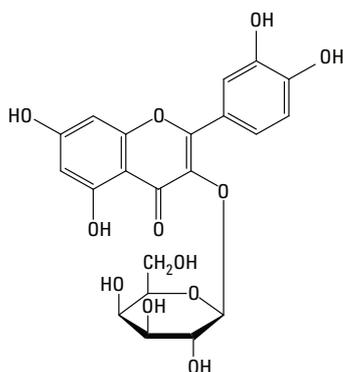
In vitro 研究では、ケルセチン代謝物の活性が、それぞれの複合体グループの種類や位置により異なることがわかっています。たとえば、Jansich らの研究では、ケルセチン-7-グルクロニドによ

り、*in vitro* 遅延型 LDL 酸化がケルセチンアグリコンの場合よりも増加するものの、同じ濃度のケルセチン-3'-スルフェートやイソラムネチン-3-グルクロニドの影響は受けなかったことがわかりました [5]。血漿中の各代謝物の作用や生体活性のメカニズムを理解するためには、それぞれの動的プロファイルを特定することが不可欠です [6]。

血漿中代謝物の同定には、四重極 ESI LC/MS によるスキャンメソッドが用いられていますが、そうしたメソッドの感度では、6 時間以上にわたって血漿中の各代謝物をモニタリングすることはできません [7,8,9]。ケルセチン代謝物の ESI LC/MS/MS 定量の際には、グルクロニドおよびスルフェート複合体の酵素的切断と、ケルセチンアグリコンおよびイソラムネチン (メチルケルセチンアグリコン) の同時測定がおこなわれます。このアプローチは、薬物動態研究には有効ですが、循環している代謝物に関する情報は得られません。複雑な混合物中の代謝物構造の解析は、精密質量 MS/MS を用いれば、大幅に効率化します。特に、標準試料が市販されていない、ケルセチンなどのフラボノイド代謝物の複雑な混合物には有効です。精密質量四重極飛行時間型 (Q-TOF) MS メソッドは、同重体イオンの識別や分子式の解明に必要な感度と選択性を備えており、非ターゲット未知化合物の同定にも対応することができます。Q-TOF LC/MS モードで生成されるプロダクトイオンの精密質量分析をおこなえば、構造解明が円滑化し、化合物同定のさらなる向上が可能で



Q 4'-*O*-グルコシド：タマネギでおもに見られる形態



Q 3-*O*-ガラクトシド：リンゴでおもに見られる形態

図 1. タマネギおよびリンゴで見られるおもなケルセチン (Q) グリコシド

このアプリケーションノートでは、ケルセチンのバイオアベイラビリティの違いを分析するためのツールを紹介します。Agilent Personal Compound Database Library (PCDL) マネージャと Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアを組み合わせ、UHPLC-ESI Accurate-Mass Q-TOF LC/MS 分析をおこないました。具体的には、ケルセチンの総量が同じで、ケルセチングリコシドの組成が異なる 2 種類の食品 (アップルピールとオニオンパウダー) の摂取後に、血漿中に存在するケルセチン代謝物を分析しました。分析の目的は、グリコシド形態が吸収や代謝などに与える影響を調べることです。標準試料は入手できないため、代謝物のレスポンスと参照標準のレスポンスを比較し、半定量分析をおこないました。

実験手法

実験設計および手順の詳細な説明は、*Journal of Agriculture and Food Chemistry* の補足レポートに記載されています [1]。

実験設計

カリフォルニア大学デービス校の施設内治験審査委員会に承認されたランダム化クロスオーバー摂食試験プロトコルを用いて、濃縮アップルソースにおけるケルセチングリコシドの吸収および代謝を調べました。試験には 16 人の被験者が参加しました。8 人が女性、8 人が男性です。参加者はすべての試験手順を完了しました。いずれもみずからの意志で行動し、順不同で研究に参加しました。参加者は試験前と試験日の 2 日にわたって、低フラボノイド (ケルセチンフリー) 食を摂取しました。一晩の絶食後、アップルピールパウダー (AP) 濃縮アップルソースか、オニオンパウダー (OP) 濃縮アップルソースを朝食として提供しました。いずれの食事も、総ケルセチン量は 100 mg です。

表 1 に示す濃縮アップルソースのケルセチングリコシド組成については、あらかじめトリプル四重極液体クロマトグラフィ質量分析 (LC/MS/MS) により同定し、高圧液体クロマトグラフィ (HPLC) により定量しました [6]。AP で濃縮したアップルソースでは、おもなケルセチン形態は 3-ガラクトシド、3-グルコシド、3-ラムノシドなどです。OP で濃縮したアップルソースでは、おもなケルセチン形態はケルセチン 3,4'-ジグルコシドとケルセチン 4'-グルコシドです。

濃縮アップルソース摂取後、0、0.5、1、2、4、6、8、24 時間後に被験者の血液サンプルを採取しました。採取したサンプルを遠心分離し、血漿を血球から分離しました。

サンプル前処理：ケルセチン代謝物の抽出

抽出メソッドとしては、Mullen らのメソッドを修正したものを使用しました [8,10]。ベースライン血漿に添加したケルセチン 4'-0-グルコシド (最終濃度は血漿 1 mL 中 10 および 1,000 ng) を参照標準 (RS) として、回収率を測定しました。過去の研究では、ケルセチングリコシドまたはケルセチングリコシドを豊富に含む食品の摂取後に、ケルセチン 4'-0-グルコシドは検出されていません [11,12]。

表 1. 濃縮アップルソースのケルセチングリコシドプロフィール (単位 mg)

ケルセチングリコシド	濃縮アップルソース 100 g :	
	アップルピール パウダー	オニオン パウダー
ケルセチン 3,4'-0-ジグルコシド	0 mg	44.9 mg
ケルセチン n 3-0-ルチノシド (ルチン)	6.5	0
ケルセチン 3-0-ガラクトシド	16.8	0
ケルセチン 3-0-グルコシド	16.1	4.9
ケルセチン -0-キシロシド	9.3	0
ケルセチン -0-アラビノフラノース	3.0	0
ケルセチン -0-アラビノピラノース	17.6	0
ケルセチン 3-0-ラムノシド	30.6	0
ケルセチン 4'-0-グルコシド	0	48.7
総量	99.9 ± 2.3 mg	98.5 ± 2.1 mg

使用機器

抽出したケルセチン代謝物の分析にあたっては、Agilent 1290 Infinity バイナリ LC システムと、エレクトロスプレーイオン化に対応する Agilent Jet Stream 技術を備えた Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS システムを組み合わせ使用しました。UHPLC システムは、一体型真空デガッサ搭載バイナリポンプ (G4220A)、オートサンブラ (G4226A) とサーモスタット (G1330B)、カラムコンパートメント (G1316C) を搭載しています。UHPLC パラメータを表 2 に示しています。

存在する可能性のあるすべてのケルセチン代謝物を同定するために、抽出した血漿サンプルの Q-TOF MS¹ 分析をおこないました。*m/z* 100~1,000 の質量範囲において、ネガティブモードとポジティブモードの両方でトータルイオンスペクトルを採取しました。Q-TOF MS パラメータを表 3 に示しています。

必要な質量精度を得るために、分析中は常に校正物質によるリアルタイム質量補正をおこないました。

ケルセチン 4'-*O*-グリコシドを RS として用いて、Q-TOF MS¹ モードにより各ケルセチン代謝物の相対定量をおこないました。キャリブレーションにあたっては、ブールした血漿に既知量の標準原液を添加する標準添加メソッドを使用しました。RS 検出の検出下限は、血漿 1mL 中 1 ng でした。直線ダイナミックレンジは 3 桁でした。MS/MS ネガティブ ESI モードの Q-TOF を用いて、存在する可能性のあるケルセチン代謝物に対応する溶出ピークをさらに調査しました。

表 2. UHPLC パラメータ

装置	Agilent 1290 Infinity バイナリ LC	
移動相	A) 0.1 % ギ酸を含む水 B) 0.1 % ギ酸を含むアセトニトリル 初期 5 % B	
グラジエント	直線	
	時間 (分)	%B
	0-5	5-10
	5-8	10-12
	8-10	12-15
	10-15	15
	15-18	15-55
	18-20	55-90
流量	0.4 mL/min	
カラム	Agilent Poroshell EC18 HPLC カラム 2.1 × 100 mm、2.7 μm (p/n 695775-902)、 Agilent 2.1 mm × 5 mm ガードカラム (p/n 821725-911)	
ポストランタイム	4 分、初期移動相	
温度	30 °C	
注入量	5 μL	

表 3. Q-TOF LC/MS パラメータ

機器	Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS
イオン化モード	ポジティブおよびネガティブエレクトロスプレー、 Agilent Jet Stream 技術
採取レート	1.0 スペクトル/秒
質量範囲	100-1,000 <i>m/z</i>
乾燥ガス温度	225 °C
乾燥ガス流量	8.0 L/min
シースガス温度	300 °C
シースガス流量	10.0 L/min
ネプライザガス	45 psi
スキマー電圧	65 V
オクタポール RF	750 V
フラグメンタ	125 V
キャピラリ	2.5 kV (ネガティブモード) または 3.5 kV (ポジティブモード)

データ解析

以下の手順を用いて、ケルセチン代謝物を同定しました。

1. すでに報告されている代謝物と、既知のフェーズ II 生体内変化経路にもとづいて算出した質量を用いて、代謝物のデータベースを作成しました。ケルセチン代謝物候補の正確な質量を PCDL マネージャにコンパイルしました (図 2)。その後、このデータベースを MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアにインポートしました。
2. MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアを用いて、Q-TOF MS¹ 分析で得られたデータを、上述の手順 1 で述べた PCDL に照らして検索しました。精密質量、同位体アバンドンス、同位体間隔をもとに、検索で得られたケルセチン関連代謝物候補を特定しました。この手順により、化合物候補のリストが得られました。

3. MassHunter MSC ソフトウェアによる Q-TOF MS/MS フラグメンテーションデータの化学式マッチングにより、手順 2 で特定したケルセチン代謝物の構造確認をおこないました。

薬物動態分析

測定した薬物動態変数は、血漿ケルセチンのピーク濃度 (C_{max})、 C_{max} に達するまでの時間 (t_{max})、0~24 時間 (AUC₀₋₂₄ 時間) の血漿濃度-時間曲線における面積です。P < 0.05 で対応のある t-検定を用いて、各摂食試験間での血漿薬物動態パラメータの有意な変化を測定しました。P < 0.05 で対応のない t-検定を用いて、血漿薬物動態パラメータの性差を評価しました。

Compound Name	Formula	Mass	Anion	Cation	RT (min)	CAS	ChemSpider	METLIN	HMP	KEGG	LMP	IUPAC
Methyl quercetin diglucuronide	C28H28O13	668.12248	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10.700							
Quercetin diglucuronide	C27H26O13	654.10683	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.100							
Methyl quercetin diglucuronide	C28H28O13	668.12248	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.220							
Quercetin diglucuronide	C27H26O13	654.10683	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	12.180							
Quercetin diglucuronide	C27H26O13	654.10683	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	12.320							
Quercetin glucuronide	C21H18O13	478.07474	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	13.100							
Quercetin glucuronide	C21H18O13	478.07474	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	16.800							

図 2. MassHunter PCDL マネージャを用いて、フラボノイド代謝物の精密質量ライブラリを作成しました。化合物の構造と名前を入力すると、ソフトウェアが自動的に質量と化学式を計算します。

結果と考察

ケルセチン代謝物の同定と確認

濃縮アップルソース摂取後 2 時間の被験者の血漿サンプルで同定されたケルセチン代謝物の抽出イオンクロマトグラム例を図 3 に示しています。同定にあたっては、MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアを用いて、既知代謝物の PDCL ライブラリからインポートした値をもとにデータ検索をおこないました。精密質量と同位体強度比をもとに同定しました。

表 4 に、ケルセチン代謝物候補のピーク番号と、それぞれのリテンションタイム、分子イオンの種類、観察質量と予測質量、質量誤差をまとめました。実測および理論 m/z 間の誤差は、一貫して 2.5 ppm 未満でした。

構造確認のために、同定された 15 種類のケルセチン代謝物について、Q-TOF MS/MS 分析をおこないました。ケルセチンのモノアイソトピック質量は 302.0427 Da と算出されています。すべてのケルセチン関連代謝物は、ケルセチンアグリコン (複合体のな

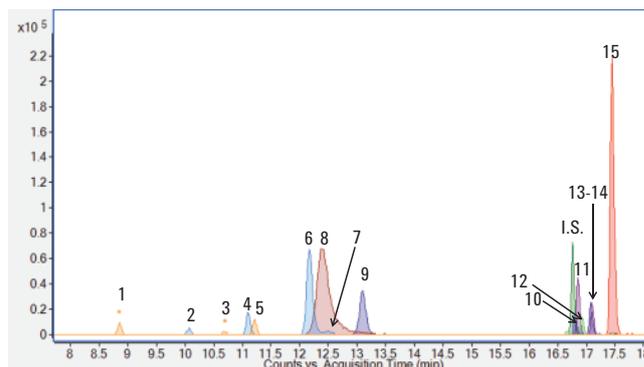


図 3. 濃縮アップルソース摂取後 2 時間における血漿中ケルセチン代謝物の抽出イオンクロマトグラム。同定には MassHunter ソフトウェアとカスタム PDCL ライブラリを使用しました。

いケルセチン) に対応する m/z 301.0354 の陰イオンフラグメントイオンを生成しました。例外はメチル化ケルセチン代謝物で、これは複合体のないメチル化ケルセチンイオンに対応する m/z 315.0510 のフラグメントイオンを生成します。

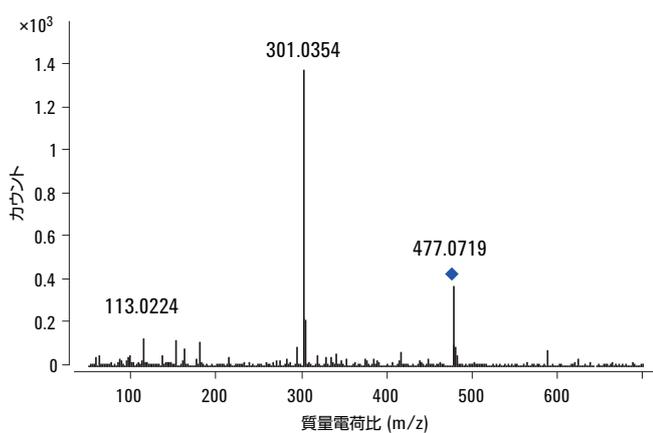
表 4. ケルセチン代謝物候補のピーク番号、リテンションタイム、分子イオンの種類、実測質量および理論質量、質量誤差

ピーク	RT (分)	化合物候補	分子イオンの種類	理論 m/z	実測 m/z	質量誤差 (ppm)
1	8.86	メチル Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	667.1152	667.1146	0.9
2	10.07	Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	653.0996	653.0987	1.4
3	10.70	メチル Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	667.1152	667.1136	2.4
4	11.10	Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	653.0996	653.0986	1.5
5	11.22	メチル Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	667.1152	667.1147	0.6
6	12.18	Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	653.0996	653.0989	1.1
7	12.32	Q ジグルクロニド	[M-H] ⁻	653.0996	653.0989	1.1
8	13.38	Q グルクロニドスルフェート	[M-H] ⁻	557.0243	557.0240	0.5
9	13.10	Q-3-グルクロニド	[M-H] ⁻	477.0675	477.0671	0.8
10	16.80	Q-3'-グルクロニド	[M-H] ⁻	477.0675	477.0673	0.4
11	16.85	メチル Q 3 グルクロニド	[M-H] ⁻	491.0831	491.0832	-0.2
12	16.90	Q グルタチオン	[M+HCOO] ⁻	651.1012	651.0998	2.2
13	17.07	Q グルクロニド	[M-H] ⁻	477.0675	477.0672	0.6
14	17.10	メチル Q グルクロニド	[M-H] ⁻	491.0831	491.0831	0.0
15	17.45	Q-3-スルフェート	[M-H] ⁻	380.9922	380.9925	-0.8

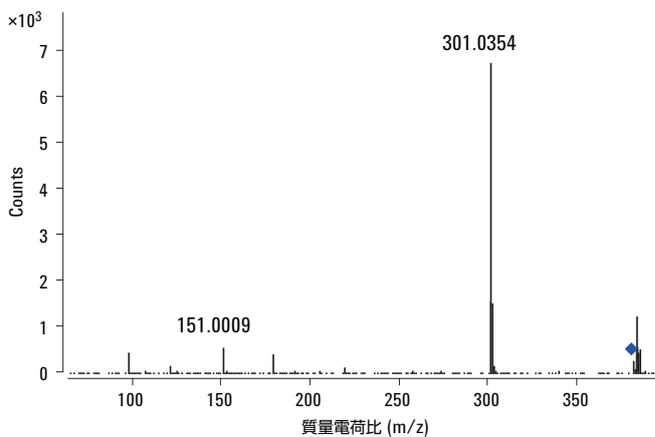
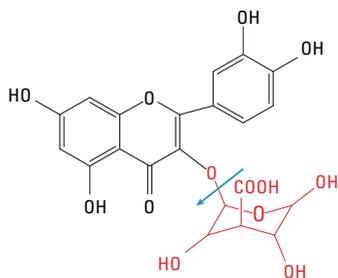
図4は、ケルセチングルクロニドおよびケルセチンスルフェートのQ-TOF MS/MS スペクトルを示しています。477.0673 の分子イオンからのグルクロニドの脱離、および 380.9925 の分子イオンからのスルフェート基の脱離に対応する m/z 301.0354 の特徴的なフラグメントイオンが見られました。 m/z 113.0244 は、グルクロニド部に対応しています。

測定された MS/MS フラグメントと、推定構造およびそのフラグメントをマッチングさせることで、同定結果の信頼性がさらに高

まります。MassHunter MSC ソフトウェアを用いて、化学式マッチングにより、同定された代謝物の構造確認をおこないました。MassHunter MSC ソフトウェアでは、体系的な結合切断アプローチにより、測定された MS/MS フラグメントイオンと推定構造が比較されます。図5は、 m/z 301.0354 におけるケルセチングルクロニドフラグメントイオンの MS/MS 確認例を示しています。図6は、MassHunter MSC ソフトウェアにより提示された予想されるケルセチングルクロニドのフラグメントを示しています。



ケルセチングルクロニド



ケルセチンスルフェート

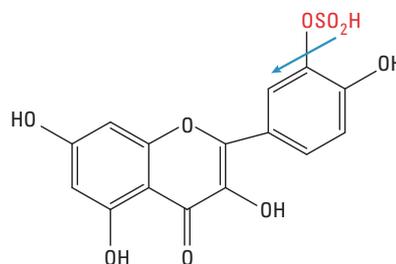


図4. 特徴的なフラグメントイオンを示すケルセチングルクロニドおよびケルセチンスルフェートのQ-TOF MS/MS スペクトル

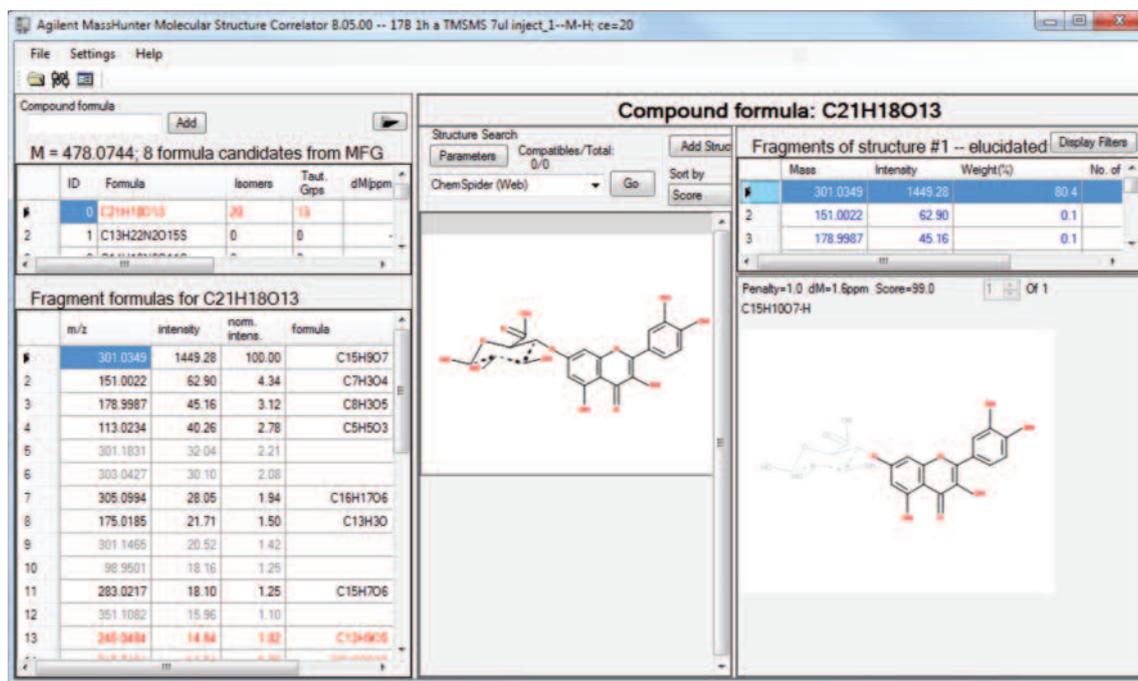


図 5. MassHunter MSC ソフトウェアによる m/z 301.0354 におけるケルセチングルクロニドフラグメントイオンの MS/MS 確認。ソフトウェアでは、親化学式およびフラグメント化学式が表示されます。化学式をハイライトすると、構造が表示されます。

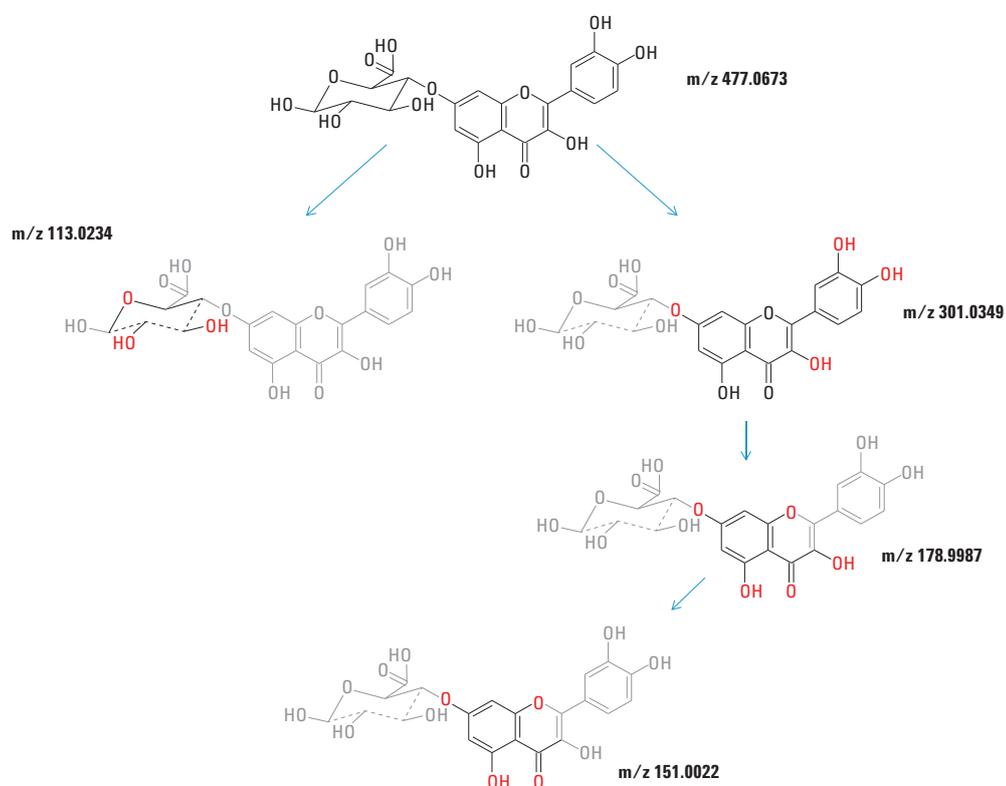


図 6. MassHunter MSC ソフトウェアにより提示された予想されるケルセチングルクロニドのフラグメント

薬物動態分析

長時間 (24 時間) にわたる Q-TOF LC/MS の高感度検出により、各代謝物の薬物動態パラメータを高精度・簡便に算出することができます。このアプリケーションノートの研究では、使用したどちらの食品の摂取後についても、血漿におけるケルセチン代謝物のプロフィールは基本的に同じであることがわかりました。ただし、それぞれのバイオアベイラビリティは異なります (図 7)。各ケルセチン代謝物の血漿濃度は、AP 濃縮アップルソースに比べて、OP 濃縮アップルソースの摂取後のほうが大幅に高くなりました。純正な標準試料を使用しなかったため、図 7 に示す定量結果は、絶対値ではなく相対値となります。

結論

精密質量 Q-TOF LC/MS を使えば、ヒト血漿中のケルセチン代謝物の検出、同定、相対的定量、薬物動態モニタリングを、高い感度と選択性でおこなうことが可能です。総ケルセチン 100 mg を含む微粉化アップルピールまたはオニオンパウダーで濃縮したアップルソースの摂取後 24 時間について、各 8 人の女性および男性の血漿中の各ケルセチン代謝物を経時的に同定しました。

フラボノイド代謝物のカスタム PCDL を MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアにインポートすることで、スクリーニングと同定が迅速化されました。Q-TOF MS/MS フラグメンテーションデータと MassHunter MSC ソフトウェアにより、同定した代謝物の構造確認をおこないました。ESI の極性は、ケルセチン代謝物のイオン化効率に影響を与えます。たとえば、ケルセチングルタチオンはネガティブ ESI モードでは検出されましたが、ポジティブ ESI モードでは検出されませんでした。

検出されたおもな代謝物は、ケルセチンスルフェート、ケルセチングルクロニド、ケルセチンジグルクロニドで、いずれの食品でも同じでした。ただし、薬物動態パラメータ AUC_{0-24 h} および C_{max} については、2 種類の食品で違いが見られました。ケルセチン代謝物の血漿濃度は、オニオンパウダー摂取後のほうが大幅に高くなりました。ケルセチンスルフェートおよびケルセチンスルフェートグルクロニド代謝物の AUC_{0-24 h} については、性別による違いも見られました。

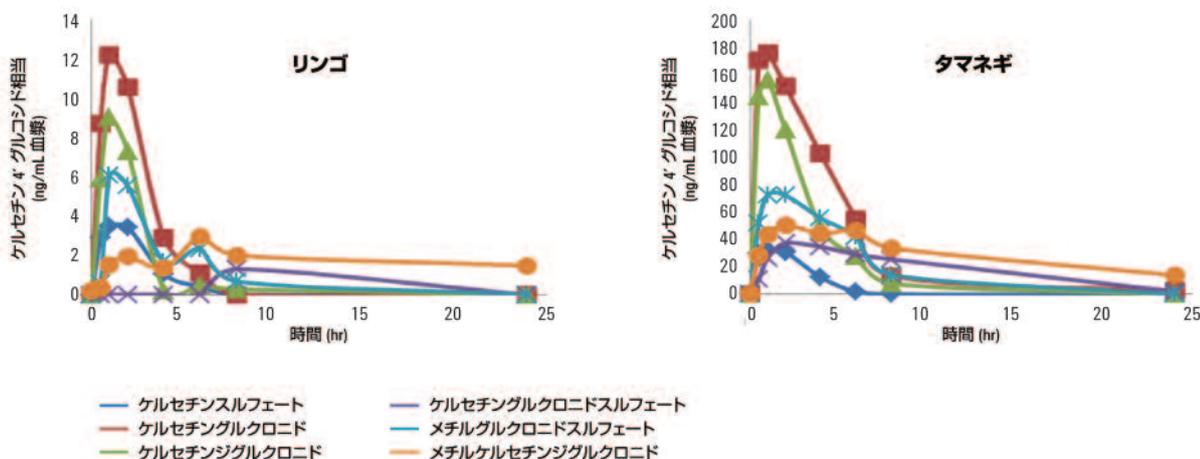


図 7. ポジティブエレクトロスプレーイオン化モードで検出された血漿中ケルセチン代謝物

謝辞

資金援助をしてくださった Patrick Dunn 博士と Center for Advanced Processing and Packaging Studies (CAPPS) に感謝します。食品栄養・健康科 John E. Kinsella 寄付講座教授の Ellen Bonnel 博士と Western Human Nutrition Research Center (WHNRC) の Leslie Woodhouse 博士、Danielle Robertson 氏には、臨床試験の実施にあたって助力をいただきました。Henry A. Jastro and Peter J. Shields Research Award (UC デービス校)、Kwanjeong Educational Foundation Scholarships (韓国)、Oregon Freeze Dry, Inc.、Gills Onions, LLC、Cadbury Schweppes にも協力していただきました。

参考文献

1. J. Lee, S.E.Ebeler, J.A.Zweigenbaum, A. E. Mitchell, "UHPLC-(ESI)QTOF MS/MS Profiling of Quercetin Metabolites in Human Plasma Postconsumption of Applesauce Enriched with Apple Peel and Onion," *J. Agric.Food Chem.*60, 8510-8520, **2012**.
2. L. Hooper, P.A.Kroon, E.B.Rimm, J.S.Cohn, I. Harvey, K.A. Le Cornu, J.J.Ryder, W.L.Hall, A. Cassidy, "Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials," *The American Journal of Clinical Nutrition*.88, 38-50, **2008**.
3. H. Yao, W. Xu, X. Shi, Z. Zhang, "Dietary flavonoids as cancer prevention agents" , *Journal of environmental science and health.Part C, Environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews*.29, 1-31, **2011**.
4. C. Hui, X. Qi, Z. Qianrong, P. Xiaoli, Z. Jundong, *et al.*Flavonoids, Flavonoid Subclasses and Breast Cancer Risk:A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies.PLoS ONE 8(1): e54318. doi:10.1371/journal.pone.0054318, **2013**.
5. Janisch, *et al.*, "Properties of quercetin conjugates: modulation of LDL oxidation and binding to human serum albumin," *Free Radical.Res.*38(8):877-884, **2004**.
6. J. Lee, A.E Mitchell, "Pharmacokinetics of quercetin absorption from apples and onions in healthy humans," *J. Agric.Food Chem.*60, 3874-3881, **2012**.
7. Y.J.Hong, A.E.Mitchell, "Metabolic profiling of flavonol metabolites in human urine by liquid chromatography and tandem mass spectrometry," *J. Agric.Food Chem.*52, 6794-6801, **2004**.
8. W. Mullen, C.A.Edwards, A. Crozier, "Absorption, excretion and metabolite profiling of methyl-, glucuronyl-, glucosyl- and sulphoconjugates of quercetin in human plasma and urine after ingestion of onions," *Br. J. Nutr.*96, 107-116, **2006**.
9. L. Wang, M.E.Morris, "Liquid chromatography-tandem mass spectroscopy assay for quercetin and conjugated quercetin metabolites in human plasma and urine," *J. Chromatogr., B:Anal.Technol.Biomed.Life Sci.*821, 194-201, **2005**.
10. W. Mullen, A. Boitier, A.J.Stewart, A. Crozier, "Flavonoid metabolites in human plasma and urine after the consumption of red onions: analysis by liquid chromatography with photodiode array and full scan tandem mass spectrometric detection," *J. Chromatogr., A* 1058, 163-168, **2004**.
11. J. Wittig, M. Herderich, E.U.Graefe, M. Veit, "Identification of quercetin glucuronides in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *J. Chromatogr., B:Biomed.Sci.Appl.*753, 237-243, **2001**.
12. A.L.Sesink, K.A. O' Leary, P.C.Hollman, "Quercetin glucuronides but not glucosides are present in human plasma after consumption of quercetin-3-glucoside or quercetin-4' - glucoside," *J. Nutr.*131, 1938-1941, **2001**.

詳細情報

これらのデータは一般的な結果を示したものです。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントの Web サイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2013

Published in Japan

September 5, 2013

5991-3076JAJP



Agilent Technologies