

図1. アンスラニル酸の UV スペクトラム

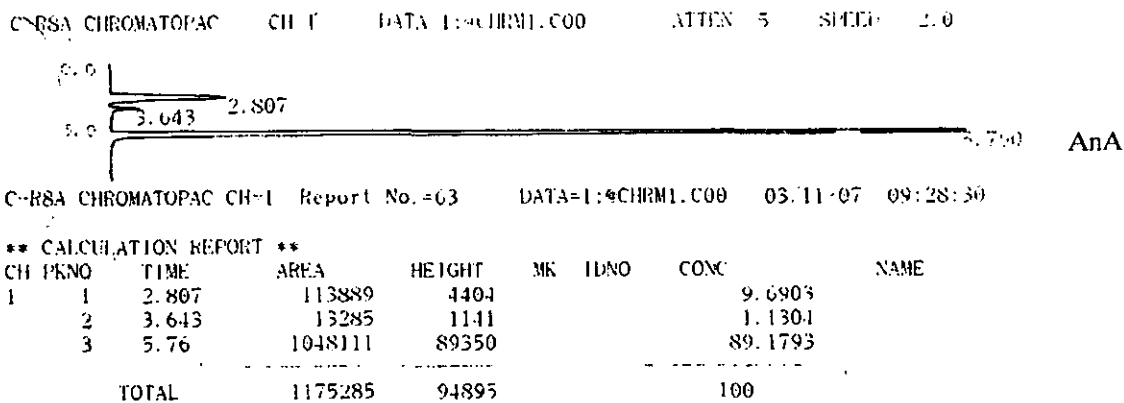
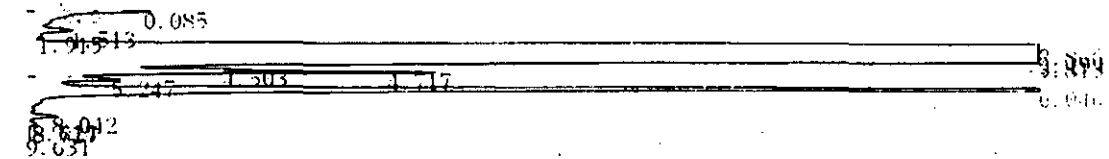


図2. 標準のアンスラニル酸の HPLC クロマトグラム の例



** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	0.085	9880	1346			0.0437	
	2	1.513	18938	1052			0.0837	
	4	2.866	7900321	461732			34.9101	
	5	3.499	9304880	905312	V		41.1166	
	6	3.813	1136632	402296	V		18.279	
	7	4.503	66039	6146	V		0.2918	
	8	4.717	173196	13213	V		0.7653	
	9	5.247	34544	2122	V		0.1526	
	10	6.046	965815	63725			4.2678	
	11	8.042	14203	925			0.0628	
	12	8.624	2905	259			0.0128	
	13	8.717	1491	228	V		0.0066	
	14	9.631	1621	104			0.0072	
		TOTAL	22630456	1858468			100	

図3. 尿を試料としたときのアンズラニル酸のHPLCクロマトグラムの例

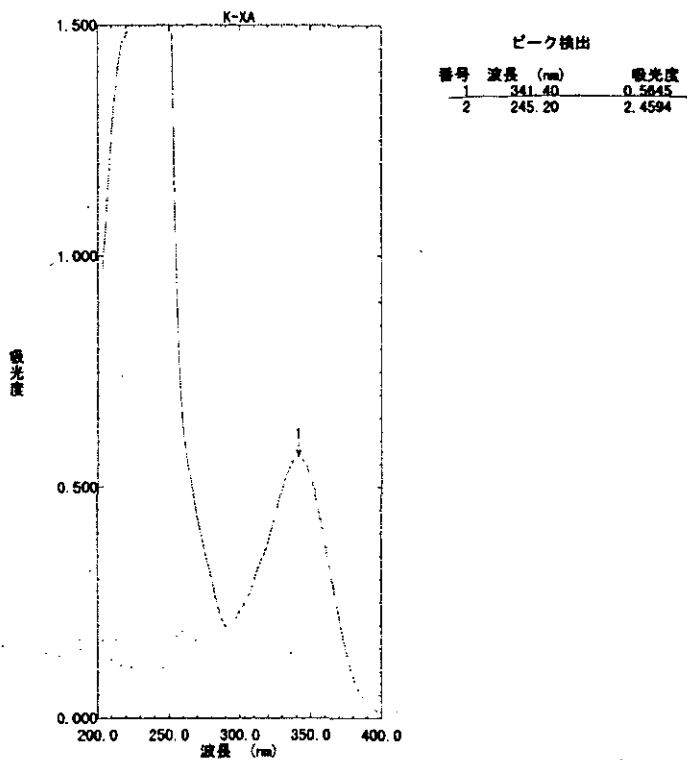


図4. キヌレン酸のUVスペクトラム

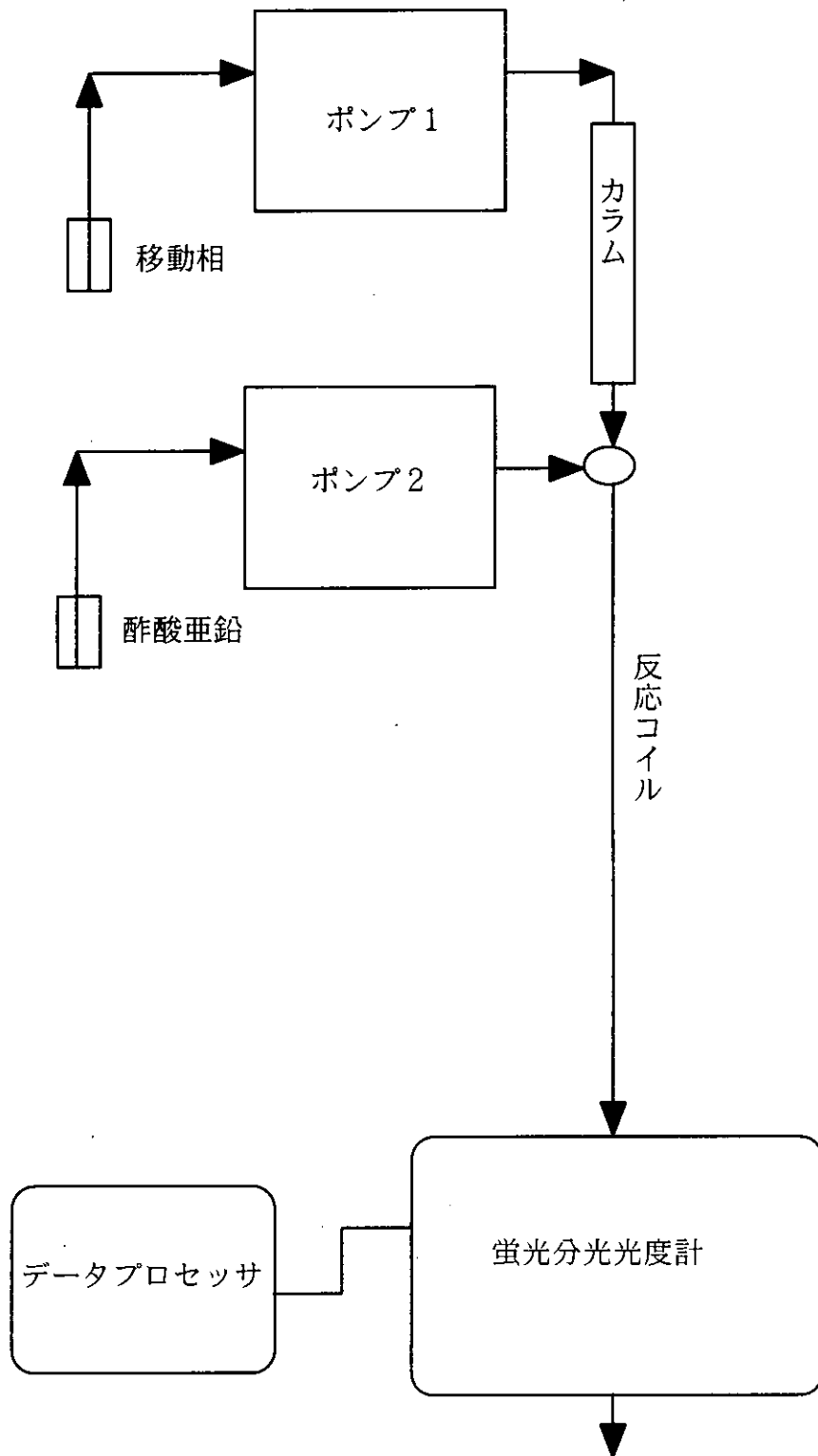
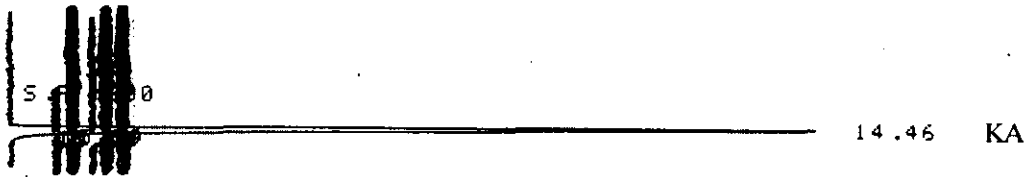


図5. キヌレン酸測定用 HPLC システムの概略図

CH. 1 C.S 1.25 ATT 6 OFFS 0 11/12/03 15:25



D-2500

11/12/03 15:25

METHOD: SHIBATA TAG: 2 CH: 1

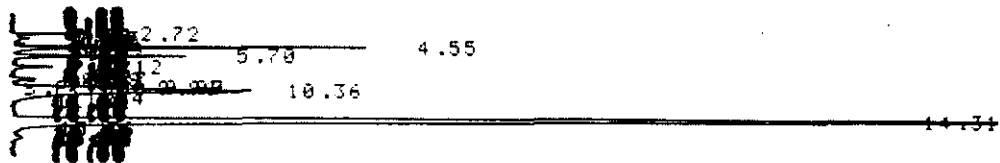
FILE: 0 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
228	14.46	1537325	100.000	UU
TOTAL		1537325	100.000	
PEAK REJ :		10000		

図6. 標準のキヌレン酸のHPLCクロマトグラムの例

RAW DATA STORAGE NO. 2

CH. 1 C.S 1.25 ATT 6 OFFS 0 11/12/03 15:46



D-2500

11/12/03 15:46

METHOD: SHIBATA TAG: 3 CH: 1

FILE: 0 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
44	2.72	46963	1.223	UU
49	3.35	17629	0.459	UU
61	4.55	304531	7.930	UU
67	5.70	181681	4.731	UU
88	7.12	55683	1.450	UU
108	8.77	18366	0.478	UU
110	8.88	13988	0.364	UU
117	9.87	75944	1.978	UU
118	9.89	34553	0.900	UU
119	9.96	15171	0.395	UU
120	10.36	635788	16.556	UU
146	14.31	2439925	63.536	UU
TOTAL		3840222	100.000	
PEAK REJ :		10000		

図7. 尿を試料としたときのキヌレン酸のHPLCクロマトグラムの例

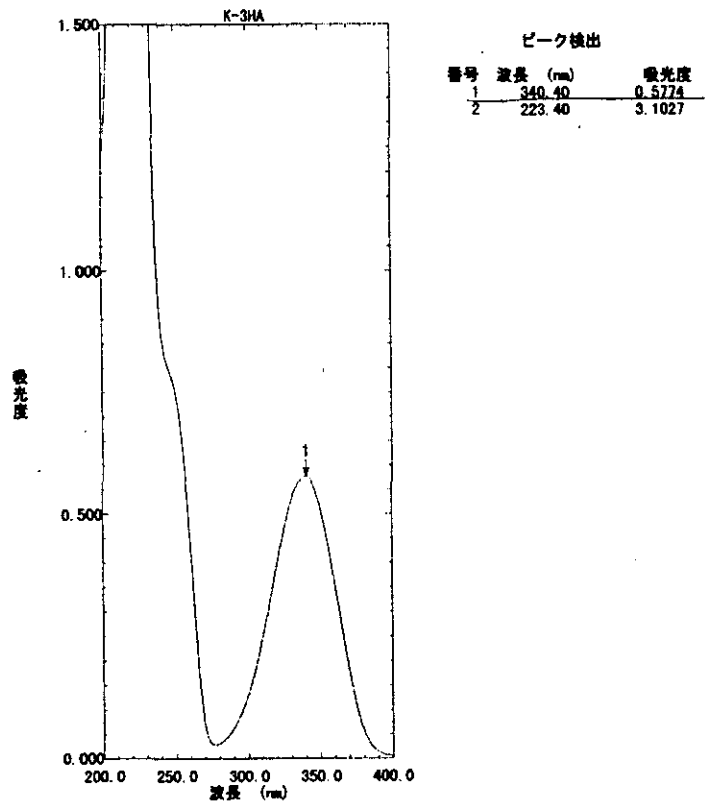


図8. 3-ヒドロキシアンスラニル酸のUVスペクトラム

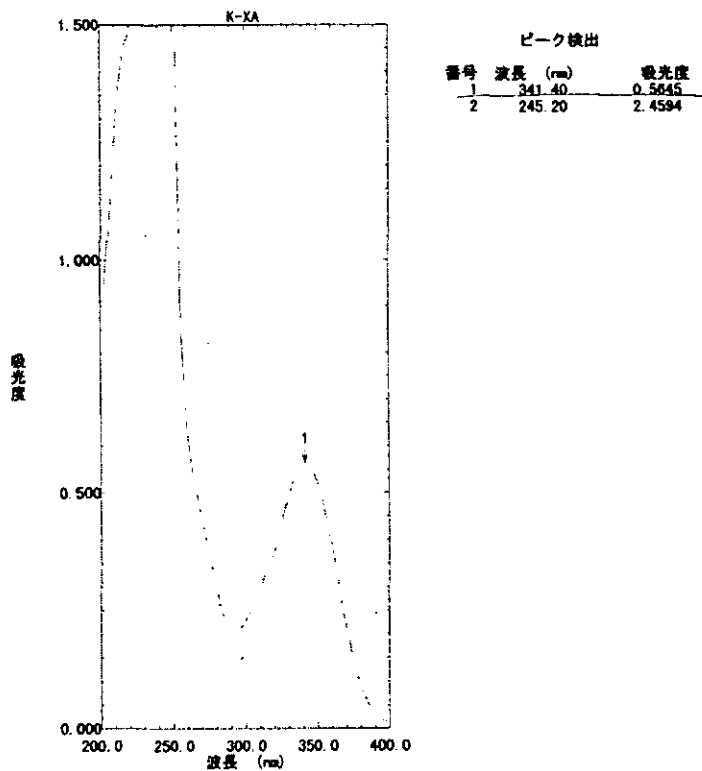


図9. キサンツレン酸のUVスペクトラム

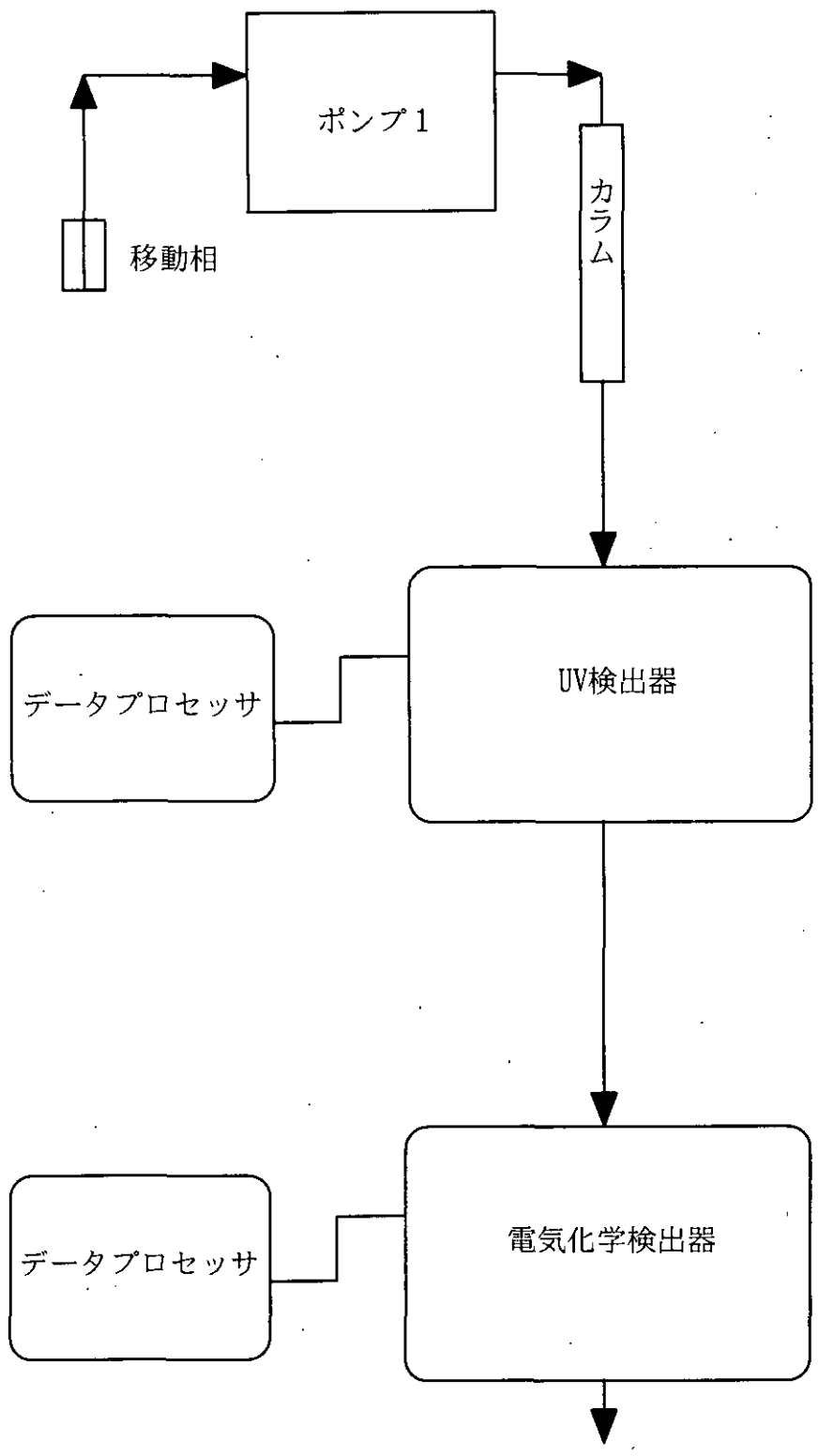
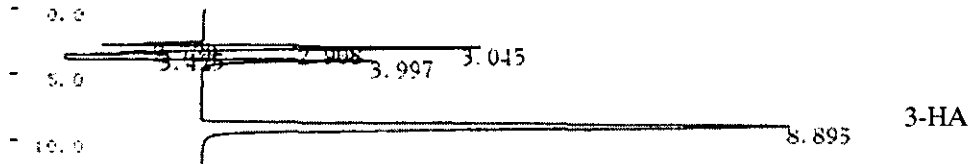


図 10. 3-HA と XA の同時定量用 HPLC のシステムの概略図

C-RSA CHROMATOPAC CH=1 DATA=1:CHRMI.C03 ATTEN= 5 SPEED= 2.0



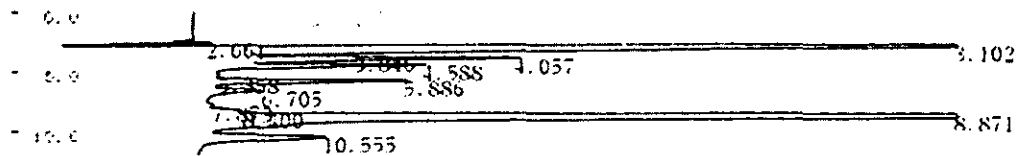
C-RSA CHROMATOPAC CH=1 Report No.=4 DATA=1:CHRMI.C03 03/11/10 15:53:26

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
I	2	2.908	55888	7721			5.4089	
	3	3.045	189742	13641	V		18.3633	
	4	3.425	23247	3377	VE		2.2498	
	5	3.997	174528	9835	E		16.8909	
	6	8.895	589861	20606			57.087	
TOTAL			1033266	55180			100	

図 11. 標準の 3-ヒドロキシアンスラニル酸の HPLC クロマトグラム の例

C-RSA CHROMATOPAC CH=1 DATA=1:CHRMI.C05 ATTEN= 5 SPEED= 2.0



C-RSA CHROMATOPAC CH=1 Report No.=6 DATA=1:CHRMI.C05 03/11/10 17:23:18

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
I	1	2.661	27772	3707	E		0.5978	
	2	3.102	1186430	45675	E		25.5375	
	3	3.846	91670	10345	V		1.9732	
	4	4.057	328049	16302	V		7.0612	
	5	4.588	365584	12451	V		7.8691	
	6	5.358	101231	4315	V		2.179	
	7	5.886	308444	10981	V		6.0392	
	8	6.705	257084	5138	V		5.5336	
	9	7.873	64151	2557	V		1.3808	
	10	8.4	72360	3276	V		1.5575	
	11	8.871	1489526	50835	V		32.0616	
	12	10.555	164562	5124	V		3.5422	
	13	13.179	188966	5342			4.0674	
TOTAL			4645827	176049			100	

図 12. 尿を試料としたときの 3-ヒドロキシアンスラニル酸の HPLC クロマトグラム の例

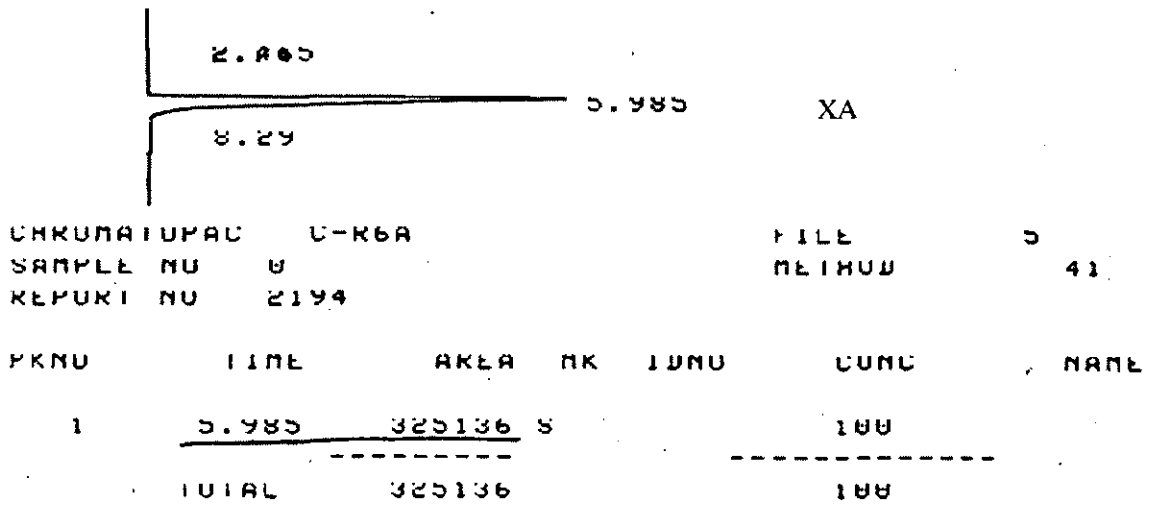


図 13. 標準のキサントレン酸の HPLC クロマトグラム の例

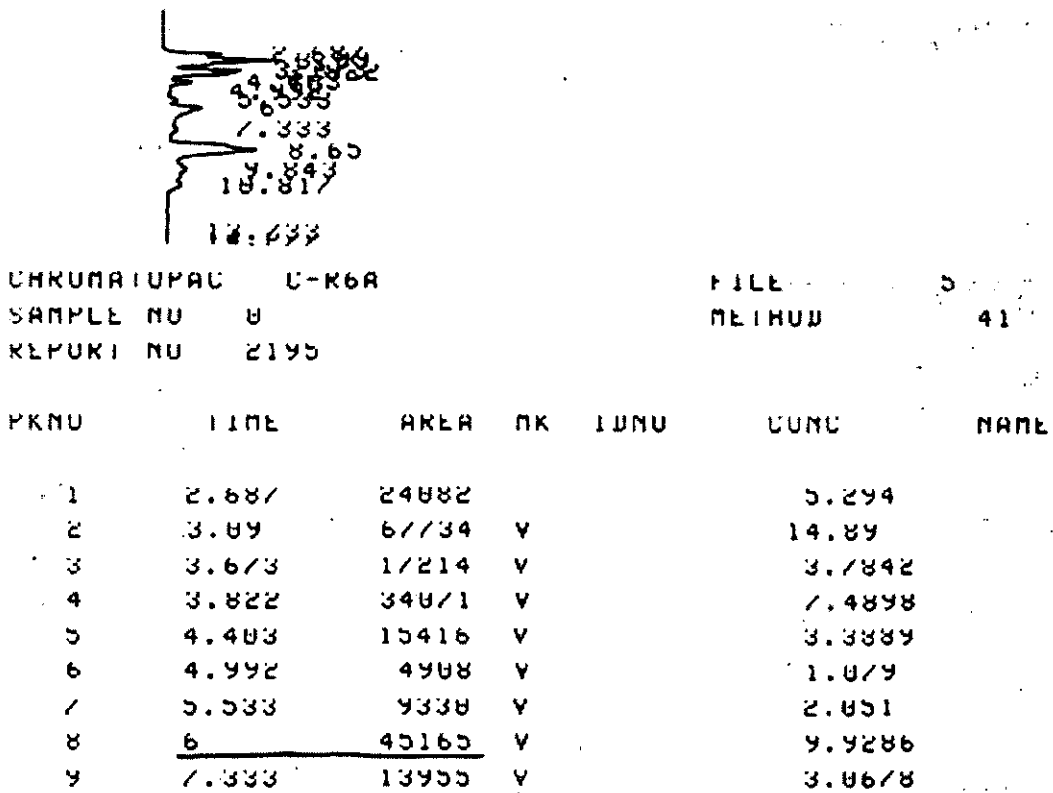


図 14. 尿を試料としたときのキサントレン酸の HPLC クロマトグラム の例

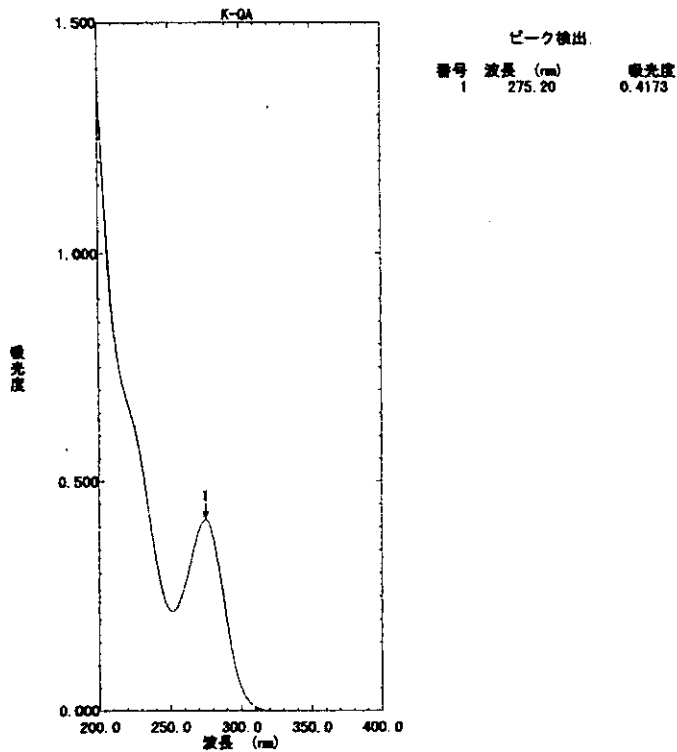


図 15. キノリン酸の UV スペクトラム

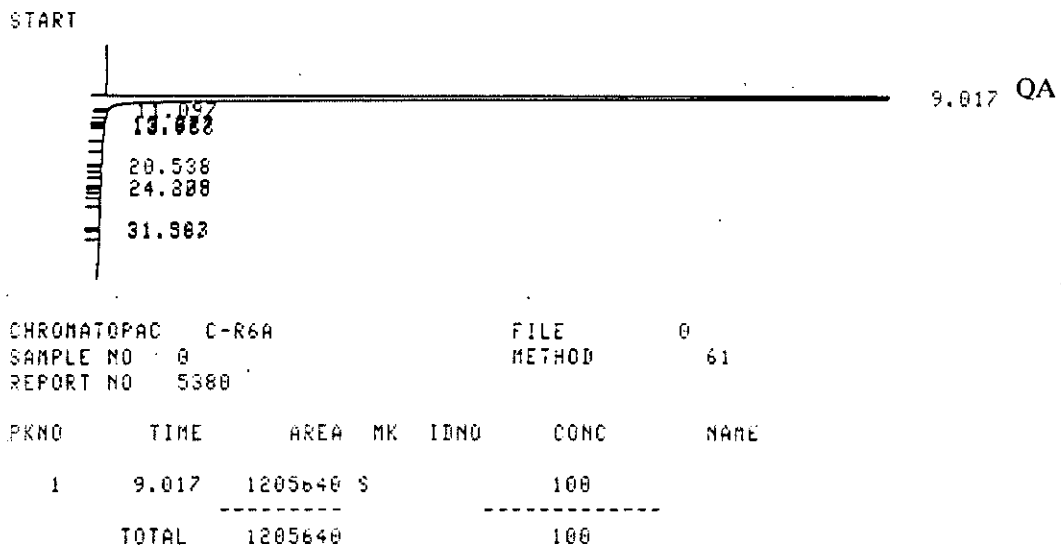
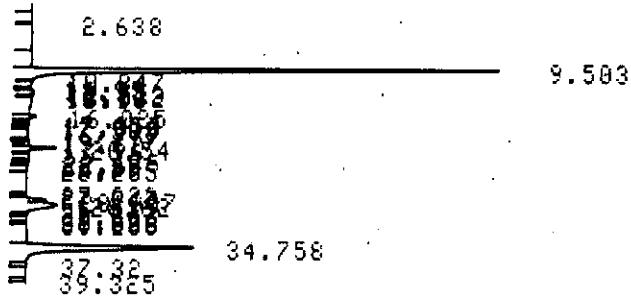


図 16. 標準のキノリン酸の HPLC クロマトグラム の例

START



CHROMATOPAC C-R6A
SAMPLE NO 0
REPORT NO 5381

FILE 0
METHOD 61

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	9.503	191815	S		52.7954	
2	12.613	2590	V		0.7128	
3	16.025	1995			0.549	
4	20.54	8707			2.3966	
5	28.007	10663	V		2.935	
6	28.62	28317	SV		7.7941	
7	34.758	119230	S		32.8171	
TOTAL		363318			100	

図 17. 尿を試料としたときのキノリン酸の HPLC クロマトグラム の例

III. ヒトを用いた水溶性ビタミン食事摂取基準の検討

1. 尿中への排泄量からみた水溶性ビタミンの栄養評価（女子学生）

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

女子学生が選択する一般的な食事メニューを、4日間摂取させ、実験開始4日の24時間尿を採取し、水溶性ビタミン量を測定した。その結果、尿中ビタミン B₁ 排泄量は 283 ± 68.9 nmol/day (mean \pm SD)、ビタミン B₂ は 248 ± 102 nmol/日、ビタミン B₆ の異化代謝産物である 4-ピリドキシン酸は 3.44 ± 0.73 μ mol/日、ナイアシン異化代謝産物は 83.6 ± 12.0 μ mol/日、パントテン酸は 15.0 ± 3.16 μ mol/日、ビタミン C は 239 ± 53.0 μ mol/日であった。基準値と比較して、ビタミン B₁ は被験者7名中5名が、ビタミン B₂ は7名中6名が、ビタミン B₆ は6名中1名が、基準値よりも低い値を示した。ナイアシン異化代謝産物量、パントテン酸、ビタミン C は、全員が基準値以上の値であった。この実験期間4日間の平均ビタミン B₁ 摂取量は 0.53mg/日、ビタミン B₂ は 0.87mg/日、ビタミン B₆ は 0.40mg/日、ナイアシン当量は 27.6mg/日、パントテン酸は 9.29mg/日、ビタミン C は 115mg/日であった。つまり、女子学生が一般的に摂取している食事では、ビタミン B₁ と B₂ が摂取しにくいことが明らかとなった。以上のことより、尿中の値から判定された結果と食事摂取量での判定とほぼ同じ判定が得られた。このことは、精度が低く、面倒で、ストレスのかかる食事記録を行わなくても、尿中のビタミン量を測定すれば、精度高くビタミンの栄養状態を判定できることが、初めて明確に示すことができた。

A. 目的

第六次改定日本人の栄養所要量に従った半合成食（ビタミンはすべて化学的合成品なる混合物）を日本人成人男女に投与した時の血液中、尿中の値を測定し、臨床検査領域において欠乏と診断される基準値と比較した。その結果、すべての水溶性ビタミンで欠乏と診断される基準値以上の値を示し、第六改定日本人の栄養所要量の値は、欠乏を予防するための数値としては、完全であることをはじめ科学的に明らかにした（平成 13 年度～14 年度の成果、1）。さらに、Table 1 に示したように、欠乏の診断においては、血液中のビタミン含量を測定する方がよいが、栄養状態の指標とするには尿の方が適していることを示した。臨床指標は血液の値しか示されていなかったため、我々の研究班がはじめて、水溶性ビタミンの栄養状態の指標として、尿中の値の基準値を示すことができた。そこで、この値を使用して、次世代の子供を産み、育て、かつ食育の中心的な役割を果たす管理栄養士施設の女子学生が普段食しているものを摂取した時の、水溶性ビタミンの尿中排泄量を測定し、栄養評価の例を示したので、報

告する。

B. 実験方法

被験者

女子学生を被験者とした。被験者の身体的特徴を Table 2 に示した。

食事

2 種類の食事を摂取させた。その栄養素成分は Table 3 と Table 4 に示した。ビタミン B₁₂ を除く 7 種類の水溶性ビタミンは実測値である。他は五訂日本食品標準成分表を用いて、計算した。

実験計画

概略を Fig. 1 に示した。

採尿は、day 4 に行った。蓄尿中の尿は氷中に保存し、24 時間尿の採取後、直ちに容量を測定した。水溶性ビタミンは化学構造上の違いから、安定化条件が異なる。ビタミン B₁、B₂ とナイアシンとその異化代謝産物測定のためには、尿 9 ml に 1 mol/L HCl を添加した後、 -20°C で保存した。ビタミン C は、尿 5 ml に 10%メタリン酸 5 ml を加え、 -20°C で保存した。ビタミン B₆、パントテン酸、葉酸は尿をそのまま凍結して保存した。

分析方法

ビタミン B₁

尿中のビタミン B₁ 定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミン B₂

尿中のビタミン B₂ 定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミン B₆ の異化代謝産物 4-ピリドキシン酸

尿中の 4-ピリドキシン酸定量方法に記した方法に従って行った。

ナイアシンの異化代謝産物 MNA, 2-Py, 4-Py

尿中の MNA, 2-Py, 4-Py 定量方法に記した方法に従って行った。

パントテン酸

尿中のパントテン酸定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミン C

尿中のビタミン C 定量方法に記した方法に従って行った。

C. 結果

女子学生が選択する一般的な食事メニューを、4日間摂取させ、実験開始4日目の24時間尿を採取し、水溶性ビタミン量を測定し、前年度の成果で報告した第六次改定日本人の栄養所要量に従った半合成食を投与した時の値を対照値（平成14年度の成果報告書）として、女子学生が通常摂取する食事の水溶性ビタミン評価を行った。その結果を Table 4 と Fig. 2 に示した。

ビタミン B₁

4日間の平均ビタミン B₁ 摂取量は 0.53mg/日であった。五訂日本人の食品標準成分表に基づいた計算値は、0.76 mg/日であった。実際に摂取したビタミン B₁ 量が必要量に比して少なかったため、基準値と比較して、ビタミン B₁ は被験者 7名中 5名が低値を示した。

ビタミン B₂

4日間の平均ビタミン B₂ 摂取量は 0.87mg/日であった。五訂日本人の食品標準成分表に基づいた計算値は、1.1 mg/日であったが、食品中の実測値は上述のように、約 80% 値であった。ビタミン B₂ は 7名中 6名が、対照値よりも低値を示した。

ビタミン B₆

4日間の平均ビタミン B₆ 摂取量は、五訂日本人の食品標準成分表に基づいた計算値は 1.0 mg/日であったが、食品中の実測値もほとんど同じで 1.1mg であった。ビタミン B₆ は 6名中 1名が、対照値よりも低値を示した。

ナイアシン

4日間の五訂日本人の食品標準成分表に基づいた計算値は 27.1 mg/日であったが、食品

中の実測値もほとんど同じで 27.6mg/日であった。ナイアシン異化代謝産物量の合計値は全員が対照値以上の値を示した。

パントテン酸

4日間の五訂日本人の食品標準成分表に基づいた計算値は、5.0 mg/日であったが、食品中の実測値は 9.3 mg/日であった。パントテン酸排泄量は全員が対照値以上の値を示した。

ビタミン C

4日間の五訂日本人の食品標準成分表に基づいた計算値は 115 mg/日であったが、食品中の実測値は 105 mg/日であった。ビタミン C 排泄量は全員が対照値以上の値を示した。

D. 考察

実測したビタミン B₁ と B₂ の摂取量は、食品成分表を基に計算した値より低く、60~70%の値であった。ほとんど場合、栄養士は食品成分表からビタミンの摂取量を計算するため、この差異は重要な問題である。日本での多くの食事調査では、ビタミン B₁ も B₂ も摂取量が食事摂取基準を満たしているのに、逆に尿中の値が対照値よりも低値を示す場合が多いのは、実際に摂取した量が少ないためであるということが推測された。

以上のことより、尿中の値から判定された結果と食事摂取量での判定とほぼ同じ判定が得られた。このことは、精度が低く、面倒で、ストレスのかかる食事記録を行わなくても、尿中のビタミン量を測定すれば、精度高くビタミンの栄養状態を判定できることが、初めて明確に示すことができた。

E. 健康危険情報

特記する情報はない。

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 口頭発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許予定

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

1. Shibata K, Fukuwatari T, Ohta M, Okamoto H, Watanabe T, Fukui T, Nishimuta M, Totani M, Kimura M, Ohishi N, Tsuge H, Isa Y, Watanabe F, Miyamoto E, Shigeoka S, Takeda T, Murakami M,

Ihara H, Hashizume N (2004) The values of water-soluble vitamins in blood and urine of Japanese young men and women fed on a semi-purified diet followed by the

Japanese Dietary Reference Intakes. J Nutr Sci Vitaminol 50: in press.

Table 1. 栄養状態の指標

血液	<ul style="list-style-type: none"> ● 一定値以上にはならない(体内には飽和量がある)。健常者では一定の値を示す。 ● 必要量以下の摂取日が続き、欠乏症が顕在化する直前で、はじめて低下してくる。 ● 欠乏の診断には適している。
尿	<ul style="list-style-type: none"> ● 摂取量の低下がすぐに反映される。欠乏の予防には適している。 ● 排泄量は代謝量を反映しているので、基準値を示すことで、基準値に達した時の摂取量が適正必要量であると考えられる。

Table 2. Characteristics of the Subjects.

Subjects	Age (Yr)	Height (cm)	Body weight (kg)	BMI
Female 1	21	161.0	50.0	19.29
Female 2	21	161.0	52.5	20.25
Female 3	21	162.0	46.0	17.53
Female 4	28	168.0	55.0	19.49
Female 5	22	154.0	48.0	20.24
Female 6	21	160.5	53.0	20.57
Female 7	21	165.0	52.5	19.28
Mean	22.14	161.3	51.0	19.52
SD	2.61	4.3	3.2	1.02

Table 3. The Composition of the Diet 1.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	402	689	617	1784
Protein (g)	19.5	23.8	25.2	68.6
Fat (g)	15.7	25.5	9.6	50.8
carbohydrates (g)	46.0	85.8	104.4	248.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (μg)	150	309	419	878
Vitamin D (μg)	1	0	2	3
Vitamin E (mg)	1.1	2.1	2.4	5.6
Vitamin K (μg)	8	204	98	311
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.17	0.07	0.59
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.20	0.25	0.92
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.36	0.68	1.24
Niacin equivalent ² (mg)	3.45	8.42	18.48	30.35
Pantothenic acid (mg)	1.97	4.21	3.14	9.32
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	34	50	118
Minerals				
Na (mg)	794	1175	850	2845
K (mg)	592	601	625	1993
Ca (mg)	249	142	85	479
Mg (mg)	47	71	74	192
P (mg)	380	293	317	1071
Fe (mg)	0.8	3.4	2.6	6.7
Zn (mg)	1.8	3.7	2.5	8.0
Cu (mg)	0.15	0.44	0.43	1.02

¹Water-soluble vitamins are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.

Table 4. The Composition of the Diet 2.

	Breakfast	Lunch	Dinner	Total
Energy (kcal)	463	549	606	1693
Protein (g)	19.6	21.4	20.5	61.5
Fat (g)	22.3	12.8	10.0	45.0
carbohydrates (g)	46.1	85.6	105.5	249.8
Fat-soluble vitamins				
Vitamin A (µg)	294	144	444	882
Vitamin D (µg)	1	0	0	1
Vitamin E (mg)	2.7	0.6	2.9	6.2
Vitamin K (µg)	12	98	100	210
Water-soluble vitamins ¹				
Vitamin B ₁ (mg as thiamin)	0.35	0.09	0.02	0.46
Vitamin B ₂ (mg as riboflavin)	0.47	0.18	0.17	0.81
Vitamin B ₆ (mg as pyridoxine)	0.20	0.35	0.31	0.86
Niacin equivalent ² (mg)	7.04	8.08	9.67	24.79
Pantothenic acid (mg)	1.97	3.73	3.55	9.25
Vitamin C (mg as L-ascorbic acid)	34	25	53	112
Minerals				
Na (mg)	833	1237	1080	3177
K (mg)	594	851	615	2235
Ca (mg)	250	173	96	523
Mg (mg)	47	113	96	257
P (mg)	381	253	317	1032
Fe (mg)	0.8	6.2	3.2	10.2
Zn (mg)	1.9	2.8	4.2	8.9
Cu (mg)	0.15	0.33	0.47	0.95

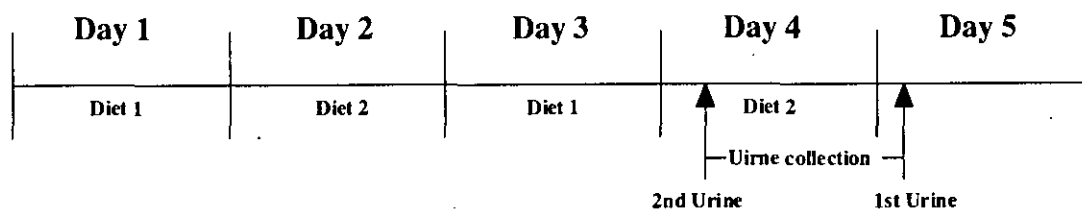
¹Water-soluble vitamins are measured. Other nutrients are calculated by using the Standard Tables of Food Composition in Japan, Fifth revised edition -2000-, Resources Council, Science and Technology Agency, Japan.

²The niacin equivalent intake was calculated as follows: The average tryptophan content in food protein is 1.1 % and the 1/60 (in weight basis) of tryptophan taken was converted into niacin in the body.

Table 5. The Values of Mean, SD, SEM, and CV of Water-soluble Vitamins in Urine of Japanese College Women Students Fed on an Ordinary Diet.

	Mean	SD	SEM	CV ¹
Total thiamin (nmol/day)	283	68.9	26.1	24.4
Total riboflavin (nmol/day)	248	102	38.5	41.0
Pyridoxic acid (μmol/day)	3.44	0.73	0.28	21.3
Sum (MNA+2-Py;4-Py) (μmol/day)	83.6	12.0	4.53	14.3
Total PaA (μmol/day)	15.0	3.16	1.19	21.0
Ascorbic acid (μmol/day)	239	53.0	20.0	22.2

¹CV is expressed as %.



Subjects: college students (7 women, aged from 21-28 years olds)
 Diet: Normal diets were fed on the subjects
 Collected materials: urine
 Analyzed compounds: water-soluble vitamins .
 Experimental days: 5 days, the day begins 07:00 and ends the next 07:00.

Fig. 1. The Scheme of the Experimental Design.

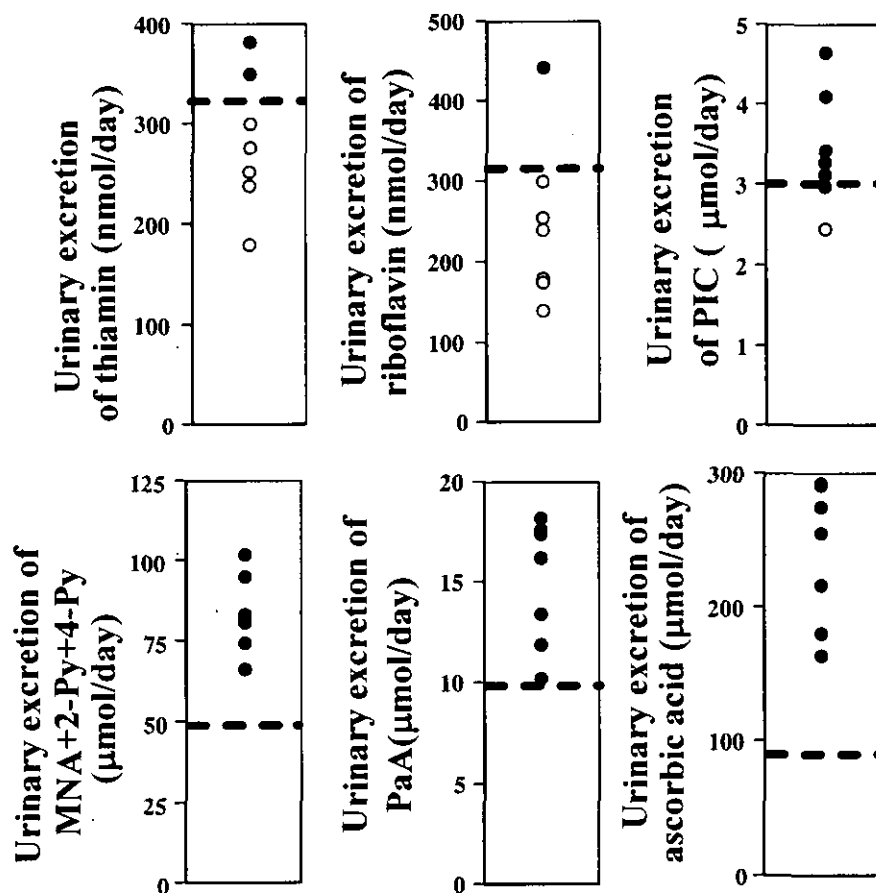


Fig. 2. Urinary Excretions of Thiamin, Riboflavin, PIC, Sum of the niacin catabolites, Pantothenic Acid, and Ascorbic Acid in Japanese Females.

The heavy line in each graph indicates the reference value. Thiamin, >333 nmol/day; riboflavin, >319 nmol/day; PIC, >3.0 μmol/day; Sum of the niacin catabolites, >50 μmol/day; ascorbic acid, >90 μmol/day. Closed circles are above the reference value and open circles are below the reference value.

平成15年度厚生労働科学研究費（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）

日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

III. ヒトを用いた水溶性ビタミン食事摂取基準の検討

2. ヒトにおける水溶性ビタミンの摂取量と尿中への排泄量との関係

-体内飽和量を求めるための研究-

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ある種の疾病がビタミン欠乏に起因することが20世紀初頭から半世紀をかけて明らかにされてきた。20世紀の後半は、ビタミン欠乏症を予防するにはどの程度のビタミン摂取が必要であるかが明らかにされた。20世紀末には、ビタミンCに欠乏症である壊血病を予防する生理機能だけではなく、あらたに抗酸化作用と疾病予防が期待できることが明らかにされ、ビタミンの機能が新たに注目されてきた。ビタミンCは、血漿中の濃度が200 mg/日の投与で飽和するという報告がある。しかしながら、他の水溶性ビタミンに関する報告はない。そこで、体内飽和量を示す値を求めるために、ヒトを使用して、実験を行った。被験者には第1週目には通常食（ほぼ第六次改定日本人の栄養所要量にしたがった食事組成）、2週目には通常食+1倍量のビタミン混合（水溶性ビタミン所要量）、3週目には通常食+3倍量のビタミン混合、4週目には通常食+6倍量のビタミン混合を投与した。各週の4日の24時間尿を採取し、水溶性ビタミン含量を測定した。その結果、ビタミンB₁の飽和量は1.2 mg/1000 kcalで所要量の2.9倍であった。ビタミンB₂は2.2 mg/1000 kcalで4.6倍、ビタミンB₆は0.066 mg/gたんぱく質で3.7倍、ナイアシンは34.5 mg/1000 kcalで5.5倍、パントテン酸は24 mg/日で4.8倍、葉酸は0.78 mg/日で3.9倍、ビオチンは0.10 mg/日で3.3倍、ビタミンCは190 mg/日で1.9倍であった。

A. 研究目的

日本では、江戸から明治、大正にかけて国民を悩ましたビタミンB₁欠乏症の脚気があった。この脚気の原因については、ビタミンB₁欠乏に起因することが19世紀末から半世紀をかけて明らかにされてきた。このビタミンB₁欠乏症の取り組みがきっかけとなり、20世紀前半はビタミンの発見ラッシュの時代であった。20世紀の後半は、ビタミン欠乏症を予防するにはどの程度のビタミン摂取が必要であるかが明らかにされ、必要量の普及活動などにより、日本ではビタミン欠乏症は、姿を消した。そのため、国民の多くから、ビタミン欠乏に対する恐怖心は消え去り、ビタミンに対する関心も薄れてきた。その様な時、20世紀末には、ビタミンCに欠乏症である壊血病を予防する生理機能だけではなく、あらたに抗酸化作用と疾病予防が期待できることが明らかにされ、ビタミンの機能があらたに注目されてきた。すなわち、ビタミンには健康の増進や種々の疾病予防に効果があることがわかってきた。ビタミンCは、血漿中の濃度が200 mg/日の投与で飽和するという報告がある¹⁾。しかしながら、他の水溶性ビタミンに関する報告はない。そこで、体内飽和量を示す値を求めるために、ヒトを使用して、実験を行った。

B. 実験方法

被験者

女子学生を被験者とした。被験者の身体的特徴をTable 1に示した。

食事

2種類の食事を摂取させた。その栄養成分はTable 2とTable 3に示した。ビタミンB₁₂を除く7種類の水溶性ビタミンは実測値である。他は五訂日本食品標準成分表を用いて、計算した。

実験計画

概略をFig. 1に示した。実験期間は4週間であり、第1週はTables 2と3に示した食事のみを与えた。第2週は食事+1日当たり第六次改定日本人の栄養所要量で示された量の水溶性ビタミン混合を与えた。第3週は食事+1日当たり所要量の2倍量の水溶性ビタミン混合を与えた。第4週は食事+1日当たり所要量の6倍の水溶性ビタミン混合を与えた。服用させたビタミン混合は朝食：昼食：夕食=3：4：3の割合で、食後すぐに摂取させた。

採尿は、いずれの週もday 4に行った。蓄

尿中の尿は水中に保存し、24時間尿の採取後、直ちに容量を測定した。水溶性ビタミンは化学構造上の違いから、安定化条件が異なる。ビタミンB₁、B₂とナイアシンとその異化代謝産物測定のためには、尿9 mlに1 mol/L HClを添加した後、-20°Cで保存した。ビタミンCは、尿5 mlに10%メタリン酸5 mlを加え、-20°Cで保存した。ビタミンB₆、パントテン酸、葉酸、ビオチンは、尿をそのまま-20°Cで保存した。

分析方法

ビタミンB₁

尿中のビタミンB₁定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミンB₂

尿中のビタミンB₂定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミンB₆の異化代謝産物4-ピリドキシン酸

尿中の4-ピリドキシン酸定量方法に記した方法に従って行った。

ナイアシンの異化代謝産物MNA, 2-Py, 4-Py

尿中のMNA, 2-Py, 4-Py定量方法に記した方法に従って行った。

パントテン酸

尿中のパントテン酸定量方法に記した方法に従って行った。

葉酸

尿中の葉酸定量方法に記した方法に従って行った。

ビオチン

尿中のビオチン定量方法に記した方法に従って行った。

ビタミンC

尿中のビタミンC定量方法に記した方法に従って行った。

C. 結果

ビタミンB₁

Fig. 2に示したように、ビタミンB₁の飽和量は1.2 mg/1000 kcalで所要量の2.9倍であった。

ビタミンB₂

Fig. 3に示したように、ビタミンB₂は2.2 mg/1000 kcalで所要量の4.6倍であった。

ビタミンB₆

Fig. 4に示したように、ビタミンB₆は0.066 mg/g たんぱく質で所要量の3.7倍であった。

ナイアシン

Fig. 5に示したように、ナイアシンは34.5 mg/1000 kcalで所要量の5.5倍であった。

パントテン酸

Fig. 6に示したように、パントテン酸は24 mg/日で所要量の4.8倍であった。

葉酸

Fig. 7 に示したように、葉酸は 0.78 mg/日で所要量の 3.9 倍であった。

ビオチン

Fig. 8 に示したように、ビオチンは 0.10 mg/日で所要量の 3.3 倍であった。

ビタミン C

Fig. 9 に示したように、ビタミン C は 190 mg/日で所要量の 1.9 倍であった。

D. 考察

Table 4 に得られた結果をまとめた。ビタミン C の飽和量は、米国で行われた既報¹⁾の値とほぼ同じで 190 mg/日であった。したがって、ビタミン C の飽和値は民族が異なっても同じであると思われる。ビタミン B₁₂ に関しては、測定上の問題で今回は飽和点を求めることができなかったため、今後検討したい。他の水溶性ビタミンの飽和点は、大雑把に言えば、第六次改定日本人の栄養所要量の 3 倍程度であった。これらの飽和点の摂取量を続けた場合に、生活習慣病と関係の深い代謝性疾患である糖尿病、循環器系の疾病、痛風などに関連する臨床指標との関係を今後明らかにし、今回得られた飽和点での水溶性ビタミンの摂取の継続が、生活習慣病のリスクファクター軽減となるか否かを検討したい。

E. 健康危険情報

特記する情報はない。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 口頭発表

食事摂取基準公開講演会 (平成 16 年 1 月 22 日, 国立健康・栄養研究所)。

主催: 日本栄養・食糧学会食事摂取基準検討委員会

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許予定

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

1. Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR (1996) Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Sci USA* 93:3704-9.

Table 1. Characteristics of the Subjects.

Subjects	Age (Yr)	Height (cm)	Body weight (kg)	BMI
Female 1	21	161.0	50.0	19.29
Female 2	21	161.0	52.5	20.25
Female 3	21	162.0	46.0	17.53
Female 4	21	160.7	53.0	20.52
Female 5	21	160.5	53.0	20.57
Female 6	21	165.0	52.5	19.28
Mean	21.0	161.7	51.2	19.57
SEM	0.0	0.6	1.1	0.46