

図1 微生物を用いる母乳中のビタミンB<sub>6</sub>の測定用試料溶液の調製方法  
\* (株)マルエム (大阪) のNR-10 ねじ口試験管。

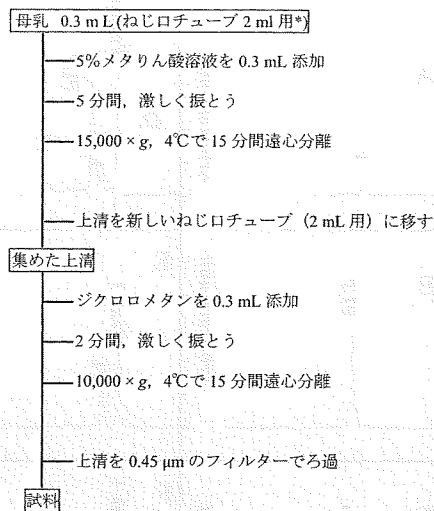


図2 HPLCを用いる母乳中のビタミンB<sub>6</sub>の測定用試料溶液の調製方法  
\* ビーエム機器(株) (東京) のサンプルストックチューブ T-203。

表1 PLおよびPLPの同時定量用HPLCの分析条件

分析カラム	Tosoh ODS 80Ts (平均粒子直径, 5 µm; 4.6 mm I.D. × 250 mm, 東ソー(株))
移動相と流速	5%アセトニトリルを含む 50 mM NaHPO <sub>4</sub> (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> の滴下により pH を 3.1 に調整), 0.7 mL/min
反応液と流速	22 mM 亜塩素酸ナトリウム, 0.1 mL/min
検出法 (蛍光)	励起波長 325 nm, 蛍光波長 425 nm
カラム温度	35°C
反応コイル温度	75°C
試料導入装置内温度	室温
試料注入量	20 µL
PLの溶出時間	約 8.7分
PLPの溶出時間	約 10.2分

間振とうさせた。振とう後、10,000×g、4°Cで15分間遠心し、上清を新しいねじ口チューブ (2 mL用) に移した。ジクロロメタン 0.3 mLを加え、2分間振とうさせた。10,000×g、4°Cで15分間遠心し、上清をマイクロフィルター (Millex-HV, 0.45 µm, 日本ミリポア(株), 東京) でろ過した。このろ液 20 µLをHPLCシステムに注入した。

4. 統計学的解析

数値はすべて平均値±標準偏差で表した。測定方法の違いによる母乳中ビタミンB<sub>6</sub>量の比較には、paired t-testを行い、p値が0.05以下のとき、統計的有意差があるものとした。計算にはGraphPad Software社 (San Diego, CA, USA) のGraphPad Prism 4を使用した。

結 果

1. HPLC法と微生物定量法による母乳中ビタミンB<sub>6</sub>の定量

母乳 81 検体を HPLC 法と微生物定量法で測定した結果を図3に示した。その結果、HPLC法では0.23±0.06 mg/Lであった。HPLC法では、母乳を除脂肪、除タンパクした試料をHPLCに注入し、PLとPLPを分離

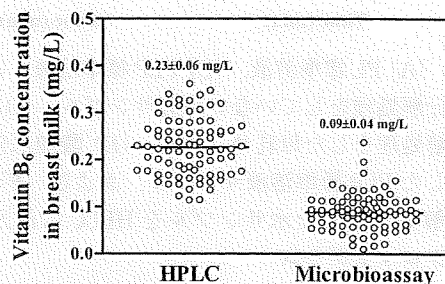


図3 HPLC法と微生物定量法による母乳中のビタミンB<sub>6</sub>値の比較  
\* 横線はおのこの測定方法の平均値を示す (各 n=81)。ビタミンB<sub>6</sub>量はピリドキシン量 (分子量=169.18) として示した。微生物定量法の前処理としては図1の加水分解操作を行った。

して測定した。そのときのPL標準液を注入したときのクロマトグラムを図4-Aに、PLP標準液を注入したときのクロマトグラムを図4-Bに示した。そして、母乳試料を注入した時のクロマトグラムを図4-Cに示した。上記のビタミンB<sub>6</sub>の値は、PLPとPLを合算したものである。

一方、微生物定量法では、0.09±0.04 mg/Lであった。すなわち、既報のように<sup>1)3)7-12)</sup>、HPLC法で測定した値は微生物定量法で測定した値の約2倍の値を示した。

2. HPLC法と微生物定量法による母乳中ビタミンB<sub>6</sub>量の違いの原因の解明

同一の母乳をHPLC法と微生物定量法で測定し、差異が認められたので、この原因を追及した。原因としては、微生物定量法で用いた酸加水分解処理によるPLP→PL変換反応が完全ではなかった可能性が高いと考えられたので、微生物定量法の処理 (図1) をした試料をHPLC

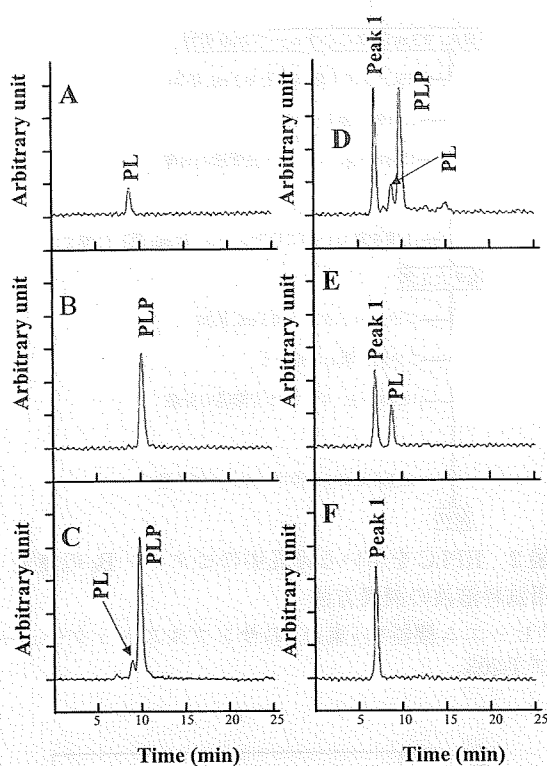


図4 (A) PL 標準溶液, (B) PLP 標準溶液, (C) 酸加水分解処理をしていない母乳サンプル, (D) 酸加水分解処理をした母乳サンプル, (E) 酸加水分解処理をした PLP 標準溶液サンプル, および (F) 酸加水分解処理をした水サンプルを HPLC に注入した時のクロマトグラム

\* クロマトグラム (A) : PL の溶出時間は約 8.7 分。9.95 nmol/L の PL 標準溶液を 20  $\mu$ L 注入した (絶対量は 0.20 pmol)。クロマトグラム (B) : PLP の溶出時間は約 10.2 分である。11.5 nmol/L の PLP 標準溶液を 20  $\mu$ L 注入した (絶対量は 0.23 pmol)。クロマトグラム (C) : 8.7 分のピークは PL と、9.7 分のピークは PLP と同定した。0.3 mL の母乳を図 2 の処理を行い、ろ液を適当に希釈 (この場合は、水で 30 倍希釈) した液を 20  $\mu$ L 注入した (PL の絶対量は 0.16 pmol, PLP の絶対量は 0.29 pmol)。クロマトグラム (D) : 6.8 分のピーク (Peak 1) は酸加水分解処理を行ったために出現したピークである。また、8.7 分のピークは PL と、9.7 分のピークは PLP と同定した。0.1 mL の母乳を図 1 の処理を行い、ろ液を 20  $\mu$ L 注入した (PL の絶対量は 0.26 pmol, PLP の絶対量は 0.26 pmol)。クロマトグラム (E) : 6.8 分のピークは酸加水分解処理を行ったために出現したピークである。また、8.7 分のピークは PL と同定した。1,100 nmol/L の PLP 標準溶液を 0.1 mL 取り、図 1 の処理を行い、ろ液を 20  $\mu$ L 注入した (PL として、0.34 pmol が検出された)。なお、理論値は 0.34 pmol である。クロマトグラム (F) : 6.8 分のピークは酸加水分解処理を行ったために出現したピークである。0.1 mL の水を図 1 の処理を行い、ろ液を 20  $\mu$ L 注入した。

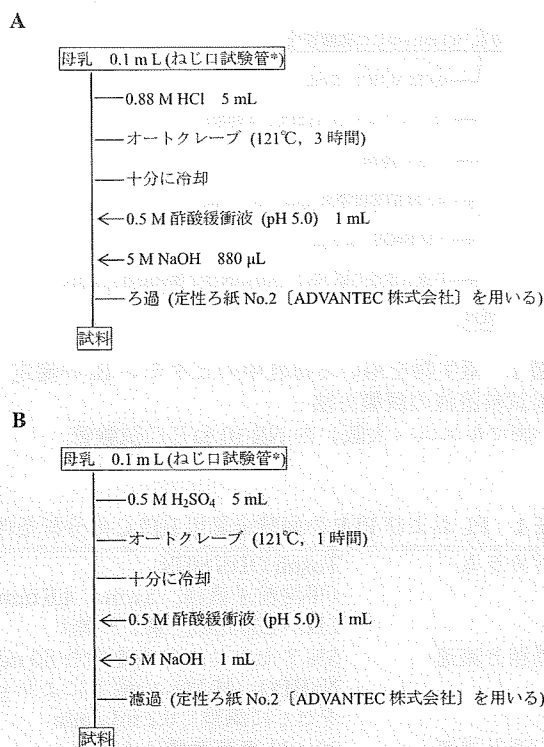


図5 微生物を用いる母乳中のビタミン B<sub>6</sub> の測定用試料溶液の調製方法の検討

(A) 0.88 M 塩酸; (B) 0.5 M 硫酸。\* (株)マルエム (大阪) の NR-10 ねじ口試験管

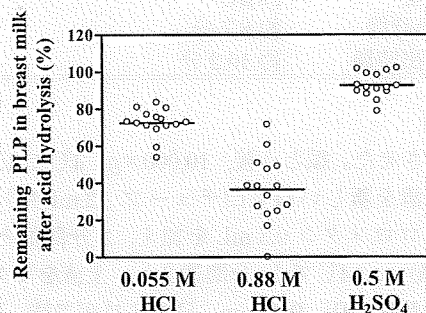


図6 酸加水分解処理後の母乳中 PLP 残存量の比較 横線は各処理の平均値を示す (各  $n=15$ )。酸加水分解処理を行わずに HPLC 法で測定した母乳中の PLP 量を 100% とした。

に注入した。そのときのクロマトグラムは図 4D に示したように、PLP のピークが認められた。すなわち、図 1 に示した酸加水分解処理では、母乳中の PLP は完全に PL に変換されていないことがはじめて明らかとなった。なお、PLP 標準液の場合は同様の処理により完全に PLP が PL に変換された (図 4E)。図 4E における一番はじめのピーク (6.8 分, peak 1 と表示) は、酸加水分解処理によって出現するピークである (参照, 図 4F)。

### 3. 酸加水分解による PLP → PL への変換条件の検討

そこで、微生物定量用の試料作成のための酸加水分解条件を、HPLC法を利用して検討した。

母乳 0.1 mL に 0.055 M HCl (参照, 図 1), 0.88 M HCl (参照, 図 5-A), 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (参照, 図 5-B) のいずれかを 5 mL 加えて 1~3 時間オートクレーブしたのち, 0.5 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) と水酸化ナトリウムで中和し, ミクロフィルター (Millex-HV, 0.45 μm, 日本ミリポア(株), 東京) を通してろ過した。ろ液 20 μL を HPLC システムに注入した。

そのときの結果を, 図 6 に示した。酸加水分解を行わずに測定した母乳中の PLP 量を 100% とすると, 0.055 M HCl 処理 (図 1 の処理) によって 72.4 ± 7.7% の PLP が分解されなかった。同様に, 0.88 M HCl 処理 (図 5-A の処理) では 36.5 ± 17.9% の, 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 処理 (図 5-B の処理) では 92.6 ± 6.7% の PLP が加水分解されなかった。母乳中の PLP を完全に PL に変換する酸加水分解法を見出すことは困難であった。

### 考 察

微生物定量法で測定した母乳中のビタミン B<sub>6</sub> 含量は HPLC 法で測定した値の 1/2 であった (図 3)。

五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル<sup>5)</sup>に記載の方法である 0.055 M HCl を用いた酸加水分解処理では, 母乳中の約 28% の PLP が PL に変換されたにすぎなかった (図 6)。この結果は, 従来の酸加水分解処理では母乳中の PLP の一部しか PL に変換することができず, その処理を行った母乳試料を微生物定量法に供しても, 母乳に元々含有されていた PL に, PLP 由来の若干の PL を合算しているにすぎないことが, はじめて明らかとなった。

母乳中の PLP を完全に酸加水分解できることを期待して 0.88 M HCl および 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を用いた酸加水分解処理を行ったが, 酸加水分解された母乳中の PLP はそれぞれ 64%, 8% に過ぎなかった。この結果は, 微生物定量法による母乳中のビタミン B<sub>6</sub> 量の場合, PLP の酸加水分解が十分に行えないために, 正確なビタミン B<sub>6</sub> 量を求めることはできないことを示している。このため, 母乳中のビタミン B<sub>6</sub> 量を測定するには, HPLC 法を用いるべきである。

本研究は, 平成 16-18 年度厚生労働科学研究費補助金循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業「日本人の食事摂取基準 (栄養所要量) の策定に関する研究」(主任研

究者, 柴田克己) の成果の一部である。関係各位に謝意を表す。特に, 母乳採取にあたりご協力いただいた長尾早枝子先生に感謝いたします。

### 文 献

- 1) 柴田克己, 遠藤美佳, 山内麻衣子, 廣瀬潤子, 福渡努 (2009) 日本人の母乳中 (1~5 か月) の水溶性ビタミン含量の分布 (資料). 日本栄養・食糧学会誌, 印刷中.
- 2) 厚生労働省 (2004) 日本人の食事摂取基準 (2005 年版): 日本人の栄養所要量—食事摂取基準—策定検討会報告書. 東京.
- 3) 伊佐保香, 垣内明子, 早川享志, 佐々木晶子, 新澤佳代, 戸谷誠之, 柘植治人 (2004) 日本人の母乳中ビタミン B<sub>6</sub> 含量. ビタミン 78, 437-40.
- 4) AOAC (2000) AOAC Official method 961.15. Vitamin B<sub>6</sub> (pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine) in food extracts. Microbiological methods. In: AOAC International, Official Methods of Analysis (Horwitz W, ed), 17th ed., Chapter 45, p. 55-7, AOAC International, Arlington, VA.
- 5) 文部科学省 (2005) 五訂増補 日本食品標準成分表分析マニュアル. 科学技術学術審議会資源調査分科会食品成分委員会資料. p.82-4.
- 6) Rybak ME, Pfeiffer CM (2004) Clinical analysis of vitamin B<sub>6</sub>: Determination of pyridoxal 5'-phosphate and 4-pyridoxic acid in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography with chlorite post column derivatization. *Anal Biochem* 333: 336-44.
- 7) West KD, Kirksey A (1976) Influence of vitamin B<sub>6</sub> intake on the content of the vitamin in human milk. *Am J Clin Nutr* 29: 961-9.
- 8) Sneed SM, Zane C, Thomas MR (1981) The effects of ascorbic acid, vitamin B<sub>6</sub>, vitamin B<sub>12</sub>, and folic acid supplementation on the breast milk and maternal nutritional status of low socioeconomic lactating women. *Am J Clin Nutr* 34: 1338-46.
- 9) Styslinger L, Kirksey A (1985) Effects of different levels of vitamin B<sub>6</sub> supplementation on vitamin B<sub>6</sub> concentrations in human milk and vitamin B<sub>6</sub> intakes of breastfed infants. *Am J Clin Nutr* 41: 21-31.
- 10) Reinken L, Dockx F (1985) Vitamin B<sub>6</sub> and protein concentrations in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Klin Padiatr* 197: 40-3.
- 11) Borschel MW, Kirksey A, Hannemann RE (1986) Effects of vitamin B<sub>6</sub> intake on nutrition and growth of young infants. *Am J Clin Nutr* 43: 7-15.
- 12) Sakurai T, Furukawa M, Asoh M, Kanno T, Kojima T, Yonekubo A (2005) Fat-soluble and water-soluble vitamin contents of breast milk from Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 239-47.

*J Jpn Soc Nutr Food Sci* 62: 131–135 (2009)

**Research Note**

Differences in Measured Amounts of Vitamin B<sub>6</sub> in Breast Milk  
according to Determination Method

Katsumi Shibata,\*<sup>1</sup> Ema Sugimoto,<sup>1</sup> Junko Hirose,<sup>1</sup>  
and Tsutomu Fukuwatari<sup>1</sup>

(Received April 3, 2008; Accepted December 11, 2008)

**Summary:** The content of vitamin B<sub>6</sub> in breast milk measured by the microbiological method has been reported to be 1/2 of the value measured by the HPLC method. In order to confirm this discrepancy, the present experiment was performed. *Saccharomyces carlsbergensis* is a vitamin B<sub>6</sub> auxotrophic yeast that cannot respond to the bound type of vitamin B<sub>6</sub>, such as pyridoxal 5'-phosphate, but only to the free form of vitamin B<sub>6</sub>. This discrepancy was found to be due to the fact that pyridoxal 5'-phosphate in breast milk had not been completely converted into the free type by the recommended acid hydrolysis.

**Key words:** breast milk, vitamin B<sub>6</sub>, quantity method, vitamin

\* Corresponding author (E-mail: kshibata@shc.usp.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Food Science and Nutrition, School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

## 日本人の母乳中 (1-5 か月) の水溶性ビタミン含量の分布 (資料)

柴田 克己<sup>\*1</sup>, 遠藤 美佳<sup>1</sup>, 山内 麻衣子<sup>1</sup>  
 廣瀬 潤子<sup>1</sup>, 福渡 努<sup>1</sup>

(2008年4月3日受付; 2009年1月26日受理)

**要旨:** 日本人母乳中の水溶性ビタミン含量に関する報告は、すでに多くあるが、食生活の変化により変動するものと思われるので定期的な測定が必要である。そこで、最近の日本人の母乳中のすべての水溶性ビタミン含量を測定し、各水溶性ビタミン含量の分布図をまとめたので資料として報告する。各ビタミンの平均値 $\pm$ SDは以下に示す値であった。ビタミンB<sub>1</sub>含量はチアミン塩酸塩として $0.12\pm 0.06$  mg/L, ビタミンB<sub>2</sub>はリボフラビンとして $0.39\pm 0.13$  mg/L, ビタミンB<sub>6</sub>はピリドキシンとして $0.10\pm 0.04$  mg/L, ビタミンB<sub>12</sub>はシアノコバラミンとして $0.68\pm 0.26$   $\mu$ g/L, ナイアシンはニコチンアミドとして $1.4\pm 0.47$  mg/L, パントテン酸は $7.0\pm 2.5$  mg/L, 葉酸はプテロイルモノグルタミン酸として $46\pm 22$   $\mu$ g/L, ビオチンは $4.6\pm 2.6$   $\mu$ g/L, ビタミンCはアスコルビン酸として $46\pm 11$  mg/Lであった。

**キーワード:** 日本人, 母乳, ビタミン, 乳児, 含量, 分布

乳児 (0-5 か月) は、母乳のみで正常に発育する。したがって、乳児 (0-5 か月) の栄養素の必要量は、母乳の栄養素濃度 $\times$ 哺乳量で求めることができる。母乳中の水溶性ビタミン含量に関して、すでに多く報告されているが<sup>1-22)</sup>、測定方法やサンプリングの違いなどによって数値が異なっているものもあるため、記載された方法論を検証し、精度の高い値を求めることが必要である。さらに、食生活の変化により変動するものと思われるので定期的な測定が必要であり、データを蓄積していくことは重要な意義をもつものと考えられる。また、5年ごとに行われている食事摂取基準の改定に必要なエビデンスの構築にも寄与するものである。

そこで、最近の日本人の母乳中のすべての水溶性ビタミン含量を測定し、各水溶性ビタミン含量の分布図をまとめた。本論文の主眼は、独創的な研究から新しい事実と価値ある結論を提示することではなく、食事摂取基準を始めとする研究・実践活動に有用な情報を提供することであるため、報文ではなく資料とした。

### 方 法

#### 1. 母乳の採取方法

**1.1 被験者** 本研究は滋賀県立大学倫理審査委員会の承認を得た上で、本研究の主旨について説明を行い、同意の得られた者から採取し、妊娠ならびに出産が正常な経過で満期出産し、満月齢で1-5か月の乳児を完全母

乳哺育している日本人の母乳を対象にした。

**1.2 母乳採取** 時間は指定せず、子どもに授乳後または助産院に診察に来た際、母乳パック (カネソン本舗社製) に採取して、ただちに家庭用冷凍庫にて凍結した。この冷凍母乳を、凍結状態のまま、滋賀県立大学に送付してもらった。到着後は、分析に使用するまで $-20^{\circ}\text{C}$ にて保存した。

#### 1.3 ビタミンの測定方法

**1.3.1 ビタミンB<sub>1</sub>の分析** 母乳1 mLを遠心分離した。その結果、生じた一番上のクリーム状の層を取り除き、その下の黄色い液を集めた (中間層という)。この中間層150  $\mu$ Lに5%トリクロロ酢酸 (TCA) 300  $\mu$ Lを加えたのち、遠心分離を行い、タンパク質を除去した。得られた上清をマイクロフィルター (ろ過精度、0.45  $\mu$ m) でろ過し、そのろ液を、HPLCに注入した。HPLCの分析条件は、文献23)に記載された方法に従った。

**1.3.2 ビタミンB<sub>2</sub>の分析** 母乳中のビタミンB<sub>2</sub>はルミフラビン法にて測定した<sup>24)</sup>。まず、氷冷水440  $\mu$ Lに母乳100  $\mu$ Lを加え、 $80^{\circ}\text{C}$ 、15分間加熱した。冷却後、10% TCA 200  $\mu$ Lを加え、遠心分離後、上清200  $\mu$ Lをとり、1 M NaOH 200  $\mu$ Lを加えアルカリ性にした後、ガラス製容器に入れた。光分解装置 (液面から20 cm離れた高さから、蛍光灯 (10W) の光が当たるように木の箱 (縦35 cm $\times$ 横25 cm $\times$ 高さ28 cm) を作り、内面をすべてアルミ箔で覆い、内部で蛍光灯の光が反射するようにした)

\* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: kshibata@shc.usp.ac.jp)

<sup>1</sup> 滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科 (522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500)

にいて、室温で30分間、光分解を行い、ビタミンB<sub>2</sub>をルミフラビンに変換した。光分解後、酢酸20 µLを加え安定化させた後、マイクロフィルター（ろ過精度、0.45 µm）でろ過し、そのろ液を、HPLCに注入した。HPLCの分析条件は、文献24)に記載の方法に従った。

**1.3.3 ビタミンB<sub>6</sub>の分析** *Sacharomyces cerevisiae* ATCC 9080を用いる微生物定量法で、総ビタミンB<sub>6</sub>量を測定した<sup>25)26)</sup>。母乳0.1 mLに0.055 M HCl 5 mLを加え、オートクレーブにて121°C、4時間処理を行った。この操作により、リン酸エステル型を含む母乳中の結合型誘導体を加水分解し、遊離型に変換した。その後、0.5 M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) を1 mL、1 M 水酸化ナトリウム 275 µLを加え中和し、測定用試料とした。

**1.3.4 ビタミンB<sub>12</sub>の分析** *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (*L. leichimannii*) ATCC 7830を用いた微生物定量法を用いて、ビタミンB<sub>12</sub>量を測定した<sup>27)</sup>。母乳を遠心分離して、クリーム状の上層を取り除き、その下の中間層を得た。この中間層50 µLに、0.05% KCN 10 µL、0.57 M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) 250 µL、水500 µLを加え、加熱抽出 (100°C、30分間) した。冷却後、10% メタリン酸 15 µLを加え、遠心分離後の上清を測定用試料とした。

**1.3.5 ナイアシンの分析** 母乳1.5 mLを遠心分離し、クリーム状の上層を取り除き、その下の中間層を得た。この中間層0.75 mLに、1 µg/mLのイソニコチンアミドを0.75 mL加え、混和後、121°C、10分間オートクレーブを行った。これは、NADなどの補酵素型を遊離型のニコチンアミドにするために行う操作である。

オートクレーブ終了後、水冷し、完全に除タンパクするために70%過塩素酸を0.1 mL加え、よく攪拌し、室温に10分間放置した。そして、遠心分離を行い、上清を得た。

この上清1 mL中に含まれるニコチンアミドを、アルカリ性ジエチルエーテルで選択抽出・乾固した。その乾固物を0.5 mLの水にて溶解した。その溶解液をマイクロフィルター（ろ過精度、0.45 µm）でろ過し、そのろ液をHPLCに注入した。HPLCの分析は、文献28)に記載の方法に従った。

**1.3.6 パントテン酸の分析** *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014を用いた微生物定量法を用いてパントテン酸量を測定した<sup>29)</sup>。まず母乳中の補酵素型のパントテン酸を遊離型にするために、ハト肝抽出アミダーゼ溶液50 µL、10 U/mL腸ホスファターゼ50 µL、15 µg/mL還元型グルタチオン50 µLを加え、37°Cで16時間インキュベーションした。そこへ、50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>緩衝液 (pH 7.0) 1,300 µLを加え、100°C、5分間加熱し、水冷後、遠心分離した。上層にクリーム層があるので、その中間層を測定用試料とした。

**1.3.7 葉酸の分析** 乳酸菌 *Lactobacillus casei* ATCC 2773を用いた微生物定量法を用いて、葉酸量を測定し

た<sup>30)</sup>。母乳500 µLに200 U/mLプロテアーゼ溶液250 µL、コンジュガーゼ溶液25 µL、125 mg/mLのL-システイン塩酸塩一水和物5 µLを加え、37°Cで20時間反応させた。酵素を100°Cで10分間処理することにより失活させた後、水冷し、遠心分離して中間層をとった。それに0.114 M アスコルビン酸を含む0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>緩衝液 (pH 4.1) を加えたものを測定用試料とした。

**1.3.8 ビオチンの分析** 乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014を用いた微生物定量法を用いてビオチン量を分析した<sup>31)</sup>。母乳200 µLに、2.25 M 硫酸溶液200 µLを加え、オートクレーブにて120°Cで1時間処理を行った。冷却後、遠心分離し、上清を測定用試料とした。

**1.3.9 ビタミンCの分析** 母乳150 µLに10% メタリン酸150 µLを加え、よく攪拌した。これを遠心分離し、上層のクリーム層を除去した中間層を試料とした。この中間層100 µLに0.2% 2,6-Dichloroindophenol 100 µL、1% SnCl<sub>2</sub>/5% HPO<sub>3</sub> 50 µL、2% 2,4-Dinitrophenylhydrazine 120 µLを順に加え、よく攪拌した後、37°Cで3時間インキュベーションした。そして、反応液に水を1.5 mL、酢酸エチルを1.5 mL加え、5分間激しく振とうした後、遠心分離し、酢酸エチル層600 µLを採った。採取した酢酸エチル層を遠心エバポレーターで乾固させた。この乾固物にアセトニトリル200 µLを加え溶解させ、この溶液をマイクロフィルター（ろ過精度、0.45 µm）でろ過し、そのろ液を、HPLCに注入した。HPLCの分析条件は、文献32)に記載の方法に従った。

## 結 果

### 1. 母乳中の水溶性ビタミン含量の分布図

**1.1 ビタミンB<sub>1</sub>含量** 日本人の母乳中に含まれるビタミンB<sub>1</sub>含量の分布を図1-Aに示した。分布はほぼ正規型を示した。平均値は0.12 mg/Lであった。

**1.2 ビタミンB<sub>2</sub>含量** 日本人の母乳中に含まれるビタミンB<sub>2</sub>含量の分布を図1-Bに示した。分布はほぼ正規型を示した。平均値は0.39 mg/Lであった。

**1.3 ビタミンB<sub>6</sub>含量** 日本人の母乳中に含まれるビタミンB<sub>6</sub>含量の分布を図1-Cに示した。分布は、0.04-0.12 mg/Lの間でなだらかな形を示した。平均含量は0.10 mg/Lであった。

われわれの分析結果と検索されたビタミンB<sub>6</sub>の値<sup>3)6-11)33)</sup>をみると0.23 mg/L (Reinken)<sup>9)</sup>と0.25 mg/L (伊佐)<sup>11)</sup>という値があるが、これらはともにHPLC法で測定した値である。他の報告値<sup>3)6-8)10)</sup>と本資料は微生物法である。HPLC法と微生物法では約2倍の開きが認められた。そこで、われわれは、同じ母乳試料を微生物法とHPLC法の二つの方法で測定し、値を比較した結果、HPLC測定法の方が、微生物法よりも、2倍程度高い値を示したことを報告した<sup>33)</sup>。微生物法で測定した値が低かった原因はピリドキサルリン酸→ピリドキサールの加水分解が完全ではなかったことであった<sup>33)</sup>。したがっ

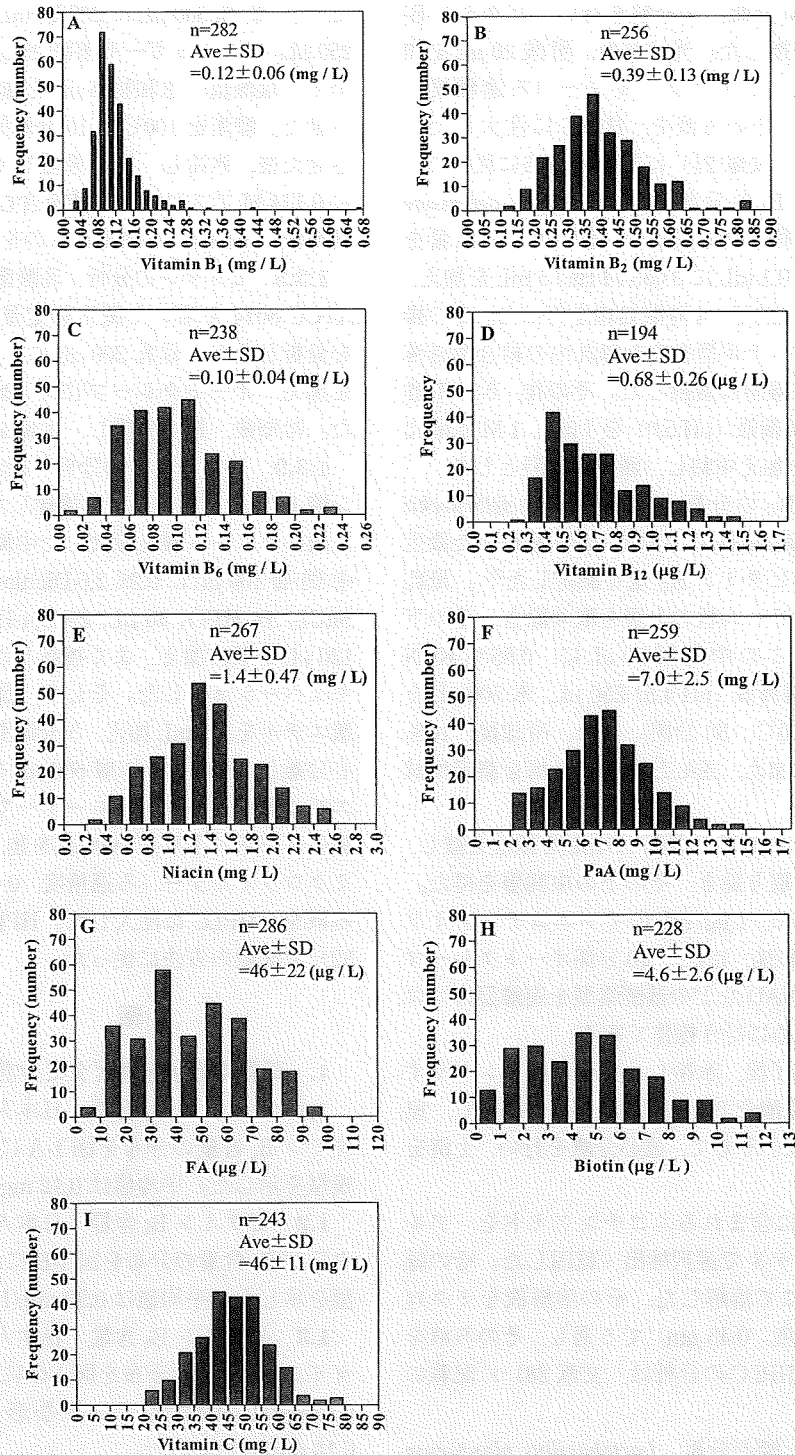


図1 母乳中の水溶性ビタミンの分布図

(A) ビタミン B<sub>1</sub> 含量の分布図。値は、チアミン塩酸塩相当量 (分子量 337.25) として示した。(B) ビタミン B<sub>2</sub> 含量の分布図。値は、リボフラビン相当量 (分子量 376.4) として示した。(C) ビタミン B<sub>6</sub> 含量の分布図。値は、ピリドキシン相当量 (分子量 169.1) として示した。(D) ビタミン B<sub>12</sub> 含量の分布図。値は、シアノコバラミン相当量 (分子量 1355.4) として示した。(E) ナイアシン含量の分布図。値は、ニコチンアミド相当量 (分子量 122.13) として示した。(F) パントテン酸含量の分布図。値は、パントテン酸相当量 (分子量 219.2) として示した。(G) 葉酸含量の分布図。値は、プテロイルモノグルタミン酸相当量 (分子量 441.4) として示した。(H) ビオチン含量の分布図。値は、ビオチン相当量 (分子量 244.3) として示した。(I) ビタミン C 含量の分布図。値は、アスコルビン酸相当量 (分子量 176.1) として示した。

て、これらのデータから判断すると、日本人の母乳中に含まれるビタミンB<sub>6</sub> (ピリドキシン) 含量は、0.25mg/Lと結論づけられた。

**1.4 ビタミンB<sub>12</sub> 含量** 日本人の母乳中に含まれるビタミンB<sub>12</sub> 含量の分布を図1-Dに示した。分布は対数型を示した。平均含量は0.68μg/Lであった。

**1.5 ナイアシン含量** 日本人の母乳中に含まれるナイアシン含量の分布を図1-Eに示した。分布はきれいな正規型を示した。平均含量は1.4mg/Lであった。

われわれの結果と検索されたナイアシンの値<sup>2)3)15)</sup>を比較すると、Sakurai *et al.*<sup>3)</sup> の報告のみが、低い値であった。この原因は、この論文の著者らが記載しているように、遊離のナイアシンしか測定していないからである。

**1.6 パントテン酸含量** 日本人の母乳中に含まれるパントテン酸含量の分布を図1-Fに示した。分布はきれいな正規型を示した。平均含量は7.0mg/Lであった。われわれの結果と検索されたパントテン酸の値<sup>2)3)15)</sup>を比較すると、井戸田<sup>2)</sup>とSakurai *et al.*<sup>3)</sup> の報告値が、低い値であった。この原因は、母乳に含まれる結合型のパントテン酸を遊離型にするときに使用する酵素の違いに起因するものと考えられる。低い値はパパンを使用し、高い値(渡邊<sup>15)</sup>、Johnston *et al.*<sup>16)</sup> および本資料のデータ)は、ハト肝アセトンパウダー抽出液(パンテインをパントテン酸に加水分解するアミダーゼを含む)を使用したものである。つまり、低い値は結合型が完全に遊離型に変換されていない可能性が高い。したがって、最も高い値が得られたデータが、より完全に結合型→遊離型の反応が達成されたものと考え、日本人の母乳中に含まれるパントテン酸含量は、7.0mg/Lと結論づけられる。

**1.7 葉酸含量** 日本人の母乳中に含まれる葉酸含量の分布を図1-Gに示した。分布は、10-70μg/Lの間でなだらかな形を示した。平均含量は46μg/Lであった。

**1.8 ビオチン含量** 日本人の母乳中に含まれるビオチン含量の分布を図1-Hに示した。分布は、1-8μg/Lの間でなだらかな形を示した。平均含量は4.6μg/Lであった。

**1.9 ビタミンC含量** 日本人の母乳中に含まれるビタミンC含量の分布を図1-Iに示した。分布は、ほぼ正規型を示した。平均含量は46mg/Lであった。

本研究は、平成16-18年度厚生労働科学研究費補助金循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業「日本人の食事摂取基準(栄養所要量)の策定に関する研究」(主任研究者、柴田克己)の成果の一部である。関係各位に謝意を表す。特に、母乳採取にあたりご協力いただいた、阿賀野多恵子先生、斉藤美恵子先生、長尾早枝子先生、野中裕子先生、福田良子先生、吉岡由紀子先生に感謝する。

## 文 献

- 1) Nail PA, Thomas MR, Eakin R (1980) The effect of thiamin and riboflavin supplementation on the level of those vitamins in human breast milk and urine. *Am J Clin Nutr* **33**: 198-204.
- 2) 井戸田正, 菅原牧裕, 矢賀部隆史, 佐藤則文, 前田忠夫 (1996) 最近の日本人乳組成に関する全国調査(第十報), 水溶性ビタミン含量について. 日本小児栄養消化器病学会雑誌 **10**, 11-20.
- 3) Sakurai T, Furukawa M, Asoh M, Kanno T, Kojima T, Yonekubo A (2005) Fat-soluble and water-soluble vitamin contents of breast milk from Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* **51**: 239-47.
- 4) Roughead ZK, McCormick DB (1990) Flavin Composition of Human Milk. *Am J Clin Nutr* **52**: 854-7.
- 5) Ortega RM, Quintas ME, Martínez RM, Andrés P, López-Sobaler AM, Requejo AM (1999) Riboflavin levels in maternal milk: The influence of vitamin B<sub>2</sub> status during the third trimester of pregnancy. *J Am Coll Nutr* **18**: 324-9.
- 6) West KD, Kirksey A (1976) Influence of vitamin B<sub>6</sub> intake on the content of the vitamin in human milk. *Am J Clin Nutr* **29**: 961-9.
- 7) Sneed SM, Zane C, Thomas MR (1981) The effects of ascorbic acid, vitamin B<sub>6</sub>, vitamin B<sub>12</sub>, and folic acid supplementation on the breast milk and maternal nutritional status of low socioeconomic lactating women. *Am J Clin Nutr* **34**: 1338-46.
- 8) Styslinger L, Kirksey A (1985) Effects of different levels of vitamin B<sub>6</sub> supplementation on vitamin B<sub>6</sub> concentrations in human milk and vitamin B<sub>6</sub> intakes of breastfed infants. *Am J Clin Nutr* **41**: 21-31.
- 9) Reinken L, Dockx F (1985) Vitamin B<sub>6</sub> and protein concentrations in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Klin Pediatr* **197**: 40-3.
- 10) Borschel MW, Kirksey A, Hannemann RE (1986) Effects of vitamin B<sub>6</sub> intake on nutrition and growth of young infants. *Am J Clin Nutr* **43**: 7-15.
- 11) 伊佐保香, 垣内明子, 早川享志, 佐々木晶子, 新澤佳代, 戸谷誠之, 柘植治人 (2004) 日本人の母乳中ビタミンB<sub>6</sub>含量. ビタミン **78**, 437-40.
- 12) Sandberg DP, Begley JA, Hall CA (1981) The content, binding, and forms of vitamin B<sub>12</sub> in milk. *Am J Clin Nutr* **34**: 1717-24.
- 13) Casterline JE, Allen LH, Ruel MT (1997) Vitamin B-12 deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum. *J Nutr* **127**: 1966-72.
- 14) 渡邊敏明, 谷口歩美, 庄子佳文子, 稲熊隆博, 福井徹, 渡邊文雄, 宮本恵美, 橋詰直孝, 佐々木晶子, 戸谷誠之, 西牟田守, 柴田克己 (2005) 日本人の水溶性ビタミン含量についての検討. ビタミン **79**, 573-81.
- 15) 渡邊敏明, 谷口歩美, 福井徹, 太田万理, 福渡努, 米久保明得, 西牟田守, 柴田克己 (2004) 日本人女性の母乳中ビオチン, パントテン酸, およびナイアシンの含量. ビタミン **78**, 399-407.



- 16) Johnston L, Vaughan L, Fox HM (1981) Pantothenic acid content of human milk. *Am J Clin Nutr* **34**: 2205-9.
- 17) Bank MR, Kirksey A, West K, Giacoia G (1985) Effect of storage time and temperature on folacin and vitamin C levels in term and preterm human milk. *Am J Clin Nutr* **41**: 235-42.
- 18) Ford JE, Zechalko A, Murphy J, Brooke OG (1983) Comparison of the B vitamin composition of milk from mothers of preterm and term babies. *Arch Dis Child* **58**: 367-72.
- 19) Hirano M, Honma K, Daimatsu T, Hayakawa K, Oizumi J, Zaima K, Kanke Y (1992) Longitudinal variations of biotin content in human milk. *Int J Vitam Nutr Res* **62**: 281-2.
- 20) Mock DM, Mock NI, Langbehn SE (1992) Biotin in human milk. Methods, location, and chemical form. *J Nutr* **122**: 535-45.
- 21) Moran JR, Vaughan R, Stroop S, Coy S, Johnston H, Greene HL (1983) Concentrations and total output of micronutrients in breast milk of mothers delivering preterm: A longitudinal study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2**: 629-34.
- 22) Anderson DM, Pittard WB 3rd (1985) Vitamin E and C concentrations in human milk with maternal mega dosing. A case report. *J Am Diet Assoc* **85**: 715-7.
- 23) 福渡 努, 鳥落 舞, 太田万理, 佐々木隆造, 柴田克己 (2004) 内分泌攪乱物質候補ビスフェノール A, スチレンモノマーによるトリプトファン-ニコチンアミド転換経路攪乱作用. *食品衛生学会誌* **45**: 1-7.
- 24) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1982) A simple method for micro-determination of flavin in human serum and whole blood by high-performance liquid chromatography. *Biochem Int* **4**: 187-94.
- 25) 岩井和夫 (1965) マイクロバイオアッセイ, 基礎分析化学講座 29, (日本分析化学会編), p.1-101. 共立出版, 東京.
- 26) Association of Official Analytical Chemists (1990) Official Methods of Analysis, 15th ed (Helrich K, ed), p.1089. AOAC, Inc., Arlington, VA, USA.
- 27) Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder ZH, Yamaji R, Ebara S, Fujita T, Tanimori S, Kirihata M, Nakano Y (1998) Biological activity of hydroxy-vitamin B<sub>12</sub> degradation product formed during microwave heating. *J Agric Food Chem* **46**: 5177-80.
- 28) Shibata K, Kawada T, Iwai K (1988) Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N<sup>1</sup>-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N<sup>1</sup>-methyl-3-pyridone-4-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* **424**: 23-8.
- 29) Skeggs HR, Wright LD (1944) The use of *Lactobacillus arabinosus* in the microbiological determination of pantothenic acid. *J Biol Chem* **156**: 21-6.
- 30) Tamura T (1990) Microbiological assay of folates. In: Folic Acid Metabolism in Health and Disease. Contemporary Issues in Clinical Nutrition (Picciano MF, Stolstad ELR, Gregory JF, III, eds), Vol 13, p. 121-37. Wiley-Liss, New York, USA.
- 31) Fukui T, Iinuma K, Oizumi J, Izumi Y (1994) Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine. *J Nutr Sci Vitaminol* **40**: 491-8.
- 32) Kishida K, Nishimoto Y, Kojo S (1992) Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* **64**: 1505-7.
- 33) 柴田克己, 杉本恵麻, 廣瀬潤子, 福渡 努 (2009) 定量法の違いによる母乳中のビタミン B<sub>6</sub> 量の変動. *日本栄養・食糧学会誌* **62**, 131-5.

*J Jpn Soc Nutr Food Sci* 62: 179–184 (2009)

## Data

### Distribution of the Water-soluble Vitamin Content of Japanese Breast Milk

Katsumi Shibata<sup>\*1</sup>, Mika Endo<sup>1</sup>, Maiko Yamauchi<sup>1</sup>,  
Junko Hirose<sup>1</sup>, and Tsutomu Fukuwatari<sup>1</sup>

(Received April 3, 2008; Accepted January 26, 2009)

**Summary:** Many previous studies have investigated the water-soluble vitamin content of Japanese breast milk. However, regular measurement is necessary because these components appear to change as a result of alterations in dietary habits. This paper reports the distribution of the water-soluble vitamin content of Japanese breast milk and the respective mean values  $\pm$  SD. These were as follows: vitamin B<sub>1</sub>  $0.12 \pm 0.06$  mg/L as thiamine hydrochloride; vitamin B<sub>2</sub>  $0.39 \pm 0.13$  mg/L as riboflavin; vitamin B<sub>6</sub>  $0.10 \pm 0.04$  mg/L as pyridoxine; vitamin B<sub>12</sub>  $0.68 \pm 0.26$   $\mu$ g/L as cyanocobalamin; niacin  $1.4 \pm 0.47$  mg/L as nicotinamide; pantothenic acid  $7.0 \pm 2.5$  mg/L; folic acid  $4.6 \pm 2.6$   $\mu$ g/L as pteroylmonoglutamic acid; biotin  $46 \pm 22$   $\mu$ g/L; vitamin C  $46 \pm 11$  mg/L as ascorbic acid.

**Key words:** Japanese, breast milk, vitamin, infant, content, distribution

\* Corresponding author (E-mail: kshiabta@shc.usp.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Food Science and Nutrition, School of Human Culture, The University of Shiga Prefecture, 2500 Yasaka, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

書

評

改定増補 トウガラシ 辛味の科学

岩井和夫・渡辺達夫編

幸書房, 2008年, 325頁, 6,000円(税別)

わが国においては、食べ物のアクセントをつけるためには、香辛料の王様であるトウガラシは欠くことのできない食材である。また、近年、トウガラシなどにおけるカプサイシンなどの辛味成分が、生活習慣病の予防には有用であることが判明するのに伴って、ますますトウガラシは人々の注目を集めている。

このような状況下で、岩井・渡辺はトウガラシに関して生物学的、化学的、生化学的および生理学的に明らかにされている情報を網羅し、辛味の科学とし、「トウガラシ 辛味の科学」を1999年12月に刊行している。本書1冊あればトウガラシのすべてがわかり、しかも読み物としても奥行きがあって大変面白いということから好評を博してきた。

しかしながら、本書を刊行してからはや10年過ぎようとしており、その間、トウガラシの分野では、飛躍的な進展があった。レセプターの研究を通して痛覚・温覚と辛味の関係の分子レベルの解明、辛味成分カプサイシンのレセプターであるTRPV1と呼ばれるパニロイドレセプターの働き、ならびに低辛味カプサイシン類縁化合物であるカプシエイトの種類・生理機能が明らかにされている。このように、トウガラシを取り巻く研究の進展に併せて、本書を全面的に検討し直し、今回、改定増補版が出版された。

旧版は緒言と8章から構成されていたが、その第6章「食生活と辛味」が新版では第8章に移動した点と最後に特別寄稿として「日本産トウガラシの生産事情」を掲載した点を除けば、新版は基本的には旧版と同じ構成になっているが、第6章、第7章および第8章の各章は内容的に大幅に充実している。また、末尾にトウガラシの小図鑑が掲載されているので、読者にとっては見て楽しむことができる。

まず、緒言では、トウガラシは今でこそ世界中で栽培されているが、もともとは、南米が原産であり、ヨーロッパを経て世界中に普及したこと、辛味成分の発見、構造決定、その生理作用、分子レベルでの作用機序の解明などの概略が述べられており、トウガラシに関する全体像がわかる。次いで、第1章で、トウガラシの植物学的な位置付け、トウガラシの東アジアへの伝播の検証、トウガラシの品種の分類、その生理、辛味成分の局在および成長に伴う消長などについて説明している。第2章では、コショウのピペリン類、ショウガのジンゲロン類を含め、トウガラシにおける辛味成分がまとめられているので、

これをみれば、辛味成分についてすべてがわかる。また、辛味成分の抽出、分離、定量に関する方法を詳しく述べられているので、これらの化合物を取り扱ったことのない初心者でも、速やかに取り扱うことが可能になる。第3章では、辛味成分であるカプサイシンの化学構造と辛味の関連性、カプサイシンに対するレセプターであるパニロイドレセプター (TRPV1) cDNAのクローニング、ならびに辛味成分による辛味の発現の仕組みが分子レベルで説明されている。また、アリルイソチオシアネートやシンナムアルデヒドに対するもう一つの辛味レセプターであるTRPA1の発見および性質についても触れられている。第4章では、トウガラシにおけるカプサイシンの生合成経路、その生合成の遺伝子レベルでの制御、植物体における代謝について説明されている。また、第5章では、動物に摂取したときの吸収、体内での代謝、およびその分解酵素について詳述されている。第6章では、近年、トウガラシの辛味成分の機能性に注目されているが、それらの機能性をうまくまとめている。低濃度のときは辛味と熱感の知覚、高濃度での知覚神経の麻痺、脂質代謝の亢進およびエネルギー代謝の亢進はアドレナリン分泌の促進によることが詳述され、辛味成分を用いた肥満防止に役立つなどの食品の開発における理論的根拠を示している。この他、減塩効果、抗酸化作用など多様な作用が紹介されている。さらに、第7章では、カプサイシン関連合成化合物の構造と辛味度、鎮痛、抗炎症またはアドレナリン分泌との関連性が詳しく説明されるとともに、辛味をもたないカプサイシン類縁化合物であるカプシエイトの化学およびカプサイシンと同様にTRPV1へ働くことが説明されている。最終章には、食生活における食材(カレー、ウースターソース、キムチなど)の製造や調理に使用されるトウガラシおよびその辛味成分の使用方法などがうまくまとめられている。最後に、特別寄稿として、わが国におけるトウガラシ生産の変遷、昭和20年代から40年ごろまではトウガラシを輸出していたこと、45年以降は輸入するようになった事情を説明している。

以上のように、本書は、トウガラシに関するすべての事柄を取り上げているため、いろんな分野から利用価値がある。食品学、栄養学の教育者、研究者をはじめ、食に関係する企業の技術者・研究者、食に興味をもつ人々や医学・薬学の分野の人たちにも、極めて有用な書物となることが強く期待される。また、辛味成分はトウガラシにおける一成分に過ぎないが、本書はその成分の単離・同定から始まり、最新の遺伝子工学およびタンパク質工学の技術を用いた摂取後の生体側への働きの解明までを取り扱っており、本書は若手の研究者にとり極めて興味ある読み物となるものと思われる。

辻 英明

(岡山県立大学保健福祉学部栄養学科)

### 栄養学原論—Principles of Nutriology—

渡邊 昌著

南江堂, 2009年, 312頁, 2,500円(税別)

渡邊 昌氏の渾身の書と言ったらいいだろうか。

「Nutriology」という見慣れない言葉が登場することからも推測されるように、この本は型破りの栄養学の書物である。最初の章にざっと目を通して見て、これは栄養学の専門書・教科書というよりも哲学書のように感じた。著者の哲学が、栄養学に対する熱い思いがこの書には密度濃く書き込まれている印象をもったからである。その後、端書きを読んで、私の感覚は間違っていなかったことを知った。栄養学は、食べた栄養素が体内でどのように変化し、生体の健康維持にどのように関わるのかを調べる学問ではなく、疾病予防、疾病治療、食教育、食文化、食糧の確保、環境問題、さらには死生観にも関わる、自然科学から社会科学にまたがる広大な領域を含む学問であること。一言でいえば「人生そのもの」の指針であること、それを多くの人々に伝えたいという著者の情熱がこの書を生んだということが本書を紐解けばお分かりになるであろう。

栄養学原論と名付けられた本書では、栄養学にまつわる様々な歴史が登場する。第1章「栄養学原論の位置付け」と第2章「栄養学の成立」は、栄養学がだれによってどのようにして構築されたかという歴史物語ともいえよう。イタリアルネッサンスに生まれた生理学を基盤とした栄養学の成立の流れが、それに関わったキーパーソン達の肖像画や写真とともに示されており、大変面白い。三大栄養素の発見、ビタミンの発見、ミネラルの作用、さらには最近の話題である遺伝子多型の話なども登場するが、このような栄養学の歴史という視点は栄養学を学ぶ者には必要なものであり、栄養教育に携わる方もぜひ読まれて、講義の資料などに利用されてはどうだろうか。

第3章「食糧の確保と安全」では、栄養の基盤となる食糧問題が論じられている。世界的な食糧の効率的利用、水の確保、遺伝子組み換え作物、食品添加物、食中毒などの問題点が記述されている。著者個人の哲学に基づいて書かれているので、内容的には必ずしも賛同できない部分もあるが、それこそがこの本の面白いところであろう。読んでいて頭を刺激されるのである。

翻って第4章は「栄養素摂取基準と食事ガイドライン」となる。ここでも、中心となるのは「なぜどのように摂

取基準やガイドラインが決められたか」という本質的な話である。栄養士にとっては必読の章と言えよう。私自身、歴史を知らないと物事の本質はわからないということを変えて認識し、反省した次第である。

第5章「機能栄養学」は、特定保健用食品に代表されるような健康機能食品に含まれる生理活性成分の作用についてまとめたものである。いわゆる古典的栄養学では脇役でしかないポリフェノール、含硫化合物などの「非栄養素」や、ペプチド、乳酸菌など話題の機能性成分を取り上げ、その研究の経緯と現状、そして未来展望が語られている。

第6章「栄養療法」、第7章「栄養疫学」には、医学者であり、疫学研究にも実際に携わってきた著者ならではの内容が詰まっている。他の章にならい、ここでも栄養療法が生まれた経緯、輸血や輸液の歴史、疫学の発展の歴史などが記述されている。また、糖尿病、肝炎、腎炎をはじめ多数の病気に対する栄養療法のポイントが整理されて記述されており、実際に治療に携わっておられる方々にとっても得るところは多いであろう。疫学に関しては、栄養疫学で使われる代表的な手法の解説のみならず、データの解析手順に関する記述があるのも有難い。この部分は栄養学に携わるものにとって役に立つ実用編と言えよう。

そして最終章「健康長寿への道、栄養学とこころ」では健康長寿、ついには涅槃にまで話が及ぶ。ここで筆者の「生きること」に関する哲学が語られるのだが、こんな栄養学の本がこれまでにあっただろうか。いわゆる専門書というのは客観的な事実のみによって構成されるのが普通である。そんな中で、筆者は個人的な経験や主観に基づいて栄養学の多様な側面を描き上げ、一つの栄養哲学をこの書に盛り込んだ。このような専門書もあってよい。これが評者の正直な読後感である。

残念なことが一つある。本書には栄養学に関わってきた多くの研究者たちの名前が登場するが、その中に名前、大学名、事実関係の誤記等が散見される。増刷、改定の際にはぜひ修正をお願いしたい。しかし、そのような瑕疵を補って有り余る有意義な内容が本書には満載されている。多忙な職にある筆者がいつどのようにしてこのような大部の書物を執筆されたのか、その熱意と実行力に脱帽である。

清水 誠

(東京大学大学院農学生命科学研究科)

## 自由食摂取時における日本人学生の 血中水溶性ビタミン値の男女差について

福井 富穂<sup>1)</sup>, 廣瀬 潤子<sup>1)</sup>, 福渡 努<sup>1)</sup>  
木村 尚子<sup>1)</sup>, 佐々木 敏<sup>2)</sup>, 柴田 克己<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 滋賀県立大学 人間文化学部 生活栄養学科

<sup>2)</sup> 東京大学大学院 医学系研究科 公共健康医学専攻

### Sex Difference of Blood Levels of Water-soluble Vitamins of Japanese College Students Taking Self-selected Food

Tomihiko Fukui<sup>1</sup>, Junko Hirose<sup>1</sup>, Tsutomu Fukuwatari<sup>1</sup>,  
Naoko Kimura<sup>1</sup>, Satoshi Sasaki<sup>2</sup>, and Katsumi Shibata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture

<sup>2</sup>Department of Social and Preventive Epidemiology, School of Public Health, The University of Tokyo

The blood levels of water-soluble vitamins were examined to identify a possible difference between male ( $n = 23$ ) and female ( $n = 32$ ) Japanese college students with free intake of food. The following values (mean  $\pm$  SD) were obtained. Whole blood vitamin B<sub>1</sub>: male,  $100 \pm 27$  pmol/ml; female,  $102 \pm 23$  pmol/ml. Whole blood vitamin B<sub>2</sub>: male,  $137 \pm 45$  pmol/ml; female,  $137 \pm 39$  pmol/ml. Whole blood NAD: male,  $30 \pm 5$  nmol/ml; female,  $32 \pm 5$  nmol/ml. Serum vitamin C: male,  $42 \pm 16$  nmol/ml; female,  $52 \pm 14$  nmol/ml. Serum folates: male,  $15.0 \pm 5.8$  pmol/ml; female,  $17.7 \pm 5.9$  pmol/ml. Serum vitamin B<sub>12</sub>: male,  $0.31 \pm 0.08$  pmol/ml; female,  $0.38 \pm 0.11$  pmol/ml. Serum biotin: male,  $9.4 \pm 1.8$  pmol/ml; female,  $7.4 \pm 1.9$  pmol/ml. The only significant difference between sexes was thus found for the vitamin B<sub>12</sub> and vitamin C contents.

Jpn. J. Nutr. Diet., 67 (5) 284~290 (2009)

**Key words:** water-soluble vitamin, blood, serum, human, Japanese

#### 緒 言

我々は、男女学生を被験者としたビタミン必要量に関する介入試験を今までに2回行った<sup>1)</sup>。その際の食事は半合成食を投与し、ビタミン類はすべて合成の遊離型を与えた。本資料で焦点となる葉酸はプテロイルモノグルタミン酸を、ビタミン B<sub>12</sub> はシアノコバラミンを投与した。その結果、血清中の葉酸濃度と血清中のビタミン B<sub>12</sub> 濃度において、著しい男女差が認められた。冬季に行った女子学生を被験者 (10名) とする介入試験では、血清中の葉酸濃度は  $30.2 \pm 8.6$  pmol/ml (平均値  $\pm$  SD) であった。一方、夏季に行った男子学生を被験者 (10名) とする介入試験では  $15.6 \pm 4.6$  pmol/ml であり、顕著な有意差が認められた。また、血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度においても、女子学生が  $0.67 \pm 0.20$  pmol/ml、男子学生が  $0.34 \pm 0.05$  pmol/ml と顕著な差異が認められた。

一般的に、葉酸もビタミン B<sub>12</sub> も光に対して不安定な化合物であるといわれている。実際に、葉酸は血管中で UVA (Ultraviolet A : 320~400 nm の長波長紫外線) を浴びることで破壊される危険性があるという報告がある<sup>2,3)</sup>。つまり、夏季の強い日射しの下にいと、血液中の葉酸が破壊される危険性がある、という情報である。この点を考慮すると、夏季に行った実験では被験者がランニング、短パンという姿で、太陽を一杯浴びていたことの影響が危惧された。

そこで、今回、冬季に、自由に生活している男女学生の血清中の葉酸濃度を測定し、比較した。同時に男女差が認められたビタミン B<sub>12</sub> 濃度についても比較し、併せて他の水溶性ビタミン濃度についても測定したので、資料として報告する。

なお、このような日本人の血中・尿中ビタミンの値が

キーワード：水溶性ビタミン、血液、血清、人、日本人

(連絡先：柴田克己 〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町2500 滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科  
電話 0749-28-8449 FAX 0749-28-8499 E-mail kshibata@shc.usp.ac.jp)

集積すれば、食品中の栄養素含量を主とした栄養指導に加えて、摂取した栄養素の代謝を反映する生体指標を利用した栄養指導も行うことができるものと考ええる。

## 方 法

### 1. 対象者

今回の実験の趣旨を理解し、問診票に答えてくれた学生の中で健常と判断された学生について、本人の同意を得た。そして、ビタミン剤摂取が少なくとも1週間以上ないことおよびビタミンの含まれている飲料等を摂取していないことを再度口頭で確認後、昼食前（朝食後4～5時間後）の12時～13時にかけて採血を行った。

対象者の男子（24名）の年齢は $22 \pm 1.4$ 歳、身長は $173 \pm 6$  cm、体重は $65.9 \pm 9.81$  kg、BMI（ボディマスインデックス：体重/身長（m）<sup>2</sup>）は $21.9 \pm 2.5$  kg/m<sup>2</sup>であった。女子（33名）の年齢は $21.0 \pm 2.6$ 歳、身長は $158 \pm 6$  cm、体重は $50.9 \pm 5.9$  kg、BMIは $20.3 \pm 1.9$  kg/m<sup>2</sup>であった。

なお、本研究は、独立行政法人国立健康・栄養研究所倫理審査委員会において承認を受け、ヘルシンキ宣言の精神に則って行ったものである。

### 2. ビタミンの測定方法

#### 2-1. 全血中のビタミン B<sub>1</sub> の測定方法

Kimura ら<sup>4)</sup>が開発したポストカラム法を改良した福渡法<sup>5)</sup>で行った。

#### 2-2. 全血中のビタミン B<sub>2</sub> の測定方法

ビタミン B<sub>2</sub> (Riboflavin, FMN, FAD) 量測定は、Ohkawa ら<sup>6)</sup>が開発したルミフラビン-HPLC法にて行った。

#### 2-3. 血清中のビタミン B<sub>6</sub> の測定方法

ビタミン B<sub>6</sub> の測定は、*Saccharomyces carlsbergensis* strain 4228 ATCC 9080 を用いる微生物定量方法で行った<sup>7)</sup>。

#### 2-4. 全血中の NAD の測定方法

Shibata ら<sup>8)</sup>が開発した酵素サイクリング法を用いた。

#### 2-5. 血清中のビタミン C の測定方法

ビタミン C を酸化型アスコルビン酸に変換し、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) を反応させて生成するオサゾン（デヒドロアスコルビン酸ビス-ジニトロフェニルヒドラゾン）を HPLC で特異的に定量した<sup>9)</sup>。

#### 2-6. 血清中の葉酸とビタミン B<sub>12</sub> の測定方法

分析は、三菱ビーシーエルに依頼した。その方法は、CLIA法 (competitive protein binding assay) である<sup>10)</sup>。

#### 2-8. 血清中のビオチンの測定方法

ビオチンの測定は、*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 を用いる微生物定量方法で行った<sup>11)</sup>。

### 3. 統計処理

結果はすべて平均値 ± 標準偏差 (SD) であらわし、

Unpaired の Student *t*-test により危険率 5% にて有意性を判定した。なお、検定は、生データを対数化したのち行った。血清葉酸とビタミン B<sub>12</sub> 濃度との関係についてはピアソンの積率相関係数を求め検討した。また、検定は、統計ソフト InStat (Version 2.0; GraphPad より購入。San Diego, CA, USA) を使用して行った。

## 結 果

### 1. 全血中の総ビタミン B<sub>1</sub> 濃度

全血ビタミン B<sub>1</sub> 濃度は男子学生 (Table 1) で  $100 \pm 27$  pmol/ml ( $n=23$ )、最小値は 67 pmol/ml、最大値は 142 pmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $102 \pm 23$  pmol/ml ( $n=32$ )、最小値は 71 pmol/ml、最大値は 162 pmol/ml であり、性差は認められなかった。

全血中のビタミン B<sub>1</sub> 値に関しては、普通食摂取時の日本人のデータが報告されており、中年男子で  $119 \pm 33$  pmol/ml ( $n=524$ )、中年女子で  $104 \pm 27$  pmol/ml ( $n=345$ ) と報告されている<sup>12)</sup>。前回の実験研究においても、男子学生が  $104 \pm 17$  pmol/ml、女子学生が  $90 \pm 23$  pmol/ml であり<sup>1)</sup>、今回の値とほぼ同じであった。つまり、血液中のビタミン B<sub>1</sub> 値は男女差もなく、年齢による差異（中年と若年成人）もないことが明らかとなった。Hiraoka<sup>13)</sup> は女子学生の全血中のビタミン B<sub>1</sub> 濃度を  $120 \pm 34$  pmol/ml と報告している。

### 2. 全血中の総ビタミン B<sub>2</sub> 濃度

ビタミン B<sub>2</sub> 値は男子学生 (Table 1) で  $137 \pm 45$  pmol/ml ( $n=23$ )、最小値は 73 pmol/ml、最大値は 243 pmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $137 \pm 39$  pmol/ml ( $n=32$ )、最小値は 69 pmol/ml、最大値は 229 pmol/ml であり、性差は認められなかった。

日本人の全血中のビタミン B<sub>2</sub> 濃度に関しては、Hiraoka<sup>13)</sup> の報告した女子学生においては  $202 \pm 37$  pmol/ml とされている。前回の報告<sup>1)</sup> においても、全血中のビタミン B<sub>2</sub> 濃度は男子学生で  $216 \pm 25$  pmol/ml、女子学生で  $234 \pm 18$  pmol/ml であった。ところが、今回の平均値は、報告平均値<sup>1,13)</sup> の 6 割程度であった。

### 3. 血清中の総ビタミン B<sub>6</sub> 濃度

ビタミン B<sub>6</sub> 値は男子学生 (Table 1) で  $66 \pm 21$  pmol/ml ( $n=23$ )、最小値は 16 pmol/ml、最大値は 103 pmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $67 \pm 22$  pmol/ml ( $n=32$ )、最小値は 31 pmol/ml、最大値は 120 pmol/ml であり、性差は認められなかった。

日本人の血清中の総ビタミン B<sub>6</sub> 濃度に関する報告としては、安田ら<sup>14)</sup> のものがあり、男子学生で  $60 \pm 20$  pmol/ml としている。また、Hiraoka<sup>13)</sup> も報告しており、女子学生で  $70 \pm 58$  pmol/ml としている。今回、得られた我々の値も男女差がなく、概ね 65 pmol/ml 程度であった。

Table 1 Blood water-soluble vitamin contents in 23 male college students.

Subject	VB <sub>1</sub> (pmol/ml)	VB <sub>2</sub> (pmol/ml)	VB <sub>6</sub> (pmol/ml)	NAD (nmol/ml)	VC (nmol/ml)	Folates (nmol/ml)	VB <sub>12</sub> (pmol/ml)	Biotin (pmol/ml)
M01	92	228	77	31	78	7.5	0.37	8.7
M02	107	186	67	34	45	9.7	0.24	6.3
M03	81	108	57	30	34	10.0	0.21	11.1
M04	76	142	103	27	53	23.1	0.27	8.1
M05	67	112	58	33	45	17.4	0.40	7.2
M06	125	189	86	33	51	7.2	0.34	9.3
M07	103	142	16	24	26	10.9	0.15	8.7
M08	95	118	42	27	44	19.9	0.26	10.5
M09	73	160	39	23	84	9.7	0.34	13.5
M10	73	79	77	26	34	20.2	0.40	9.3
M11	142	248	78	35	63	13.8	0.35	11.7
M12	93	158	64	26	34	12.7	0.19	9.6
M13	113	110	84	37	29	29.2	0.46	9.0
M14	122	149	80	35	49	13.1	0.32	11.1
M15	188	132	54	31	36	15.2	0.29	9.3
M16	78	116	99	36	41	12.0	0.40	9.6
M17	105	158	47	26	44	25.1	0.30	10.8
M18	85	81	78	36	43	19.0	0.30	9.3
M19	81	89	44	33	26	11.3	0.21	9.3
M20	80	83	42	23	17	14.7	0.30	7.2
M21	114	116	54	29	21	9.5	0.41	6.6
M22	118	143	78	25	48	17.9	0.22	7.5
M23	97	106	87	32	31	16.8	0.33	11.7
Mean	100	137	66	30	42	15.0	0.31	9.4
SD	27	45	22	5	16	5.8	0.08	1.8

#### 4. 全血中の NAD 濃度

NAD 値は男子学生 (Table 1) で  $30 \pm 5$  nmol/ml ( $n = 23$ ), 最小値は 23 nmol/ml, 最大値は 37 nmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $32 \pm 5$  nmol/ml ( $n = 32$ ), 最小値は 19 nmol/ml, 最大値は 41 nmol/ml であり, 性差は認められなかった。

日本人の全血中の NAD 濃度に関する報告はすでに, 我々のものが数多くある。いずれの値も 30 nmol/ml 程度である<sup>15)</sup>。今回の値も, 男女ともに 30 nmol/ml 程度であり, 男女差は認められなかった。

#### 5. 血清中のビタミン C 濃度

血清ビタミン C 濃度は男子学生 (Table 1) で  $42 \pm 16$  nmol/ml ( $n = 23$ ), 最小値は 17 nmol/ml, 最大値は 78 nmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $52 \pm 14$  nmol/ml ( $n = 32$ ), 最小値は 73 nmol/ml, 最大値は 243 nmol/ml と, 女子学生の方が有意に高い値であった。

血清中のビタミン C 濃度に関しては, Levine ら<sup>16)</sup> は,  $62 \pm 10$  nmol/ml ( $n = 15$ , 女子) と報告している。古旗ら<sup>17)</sup> は, 7人の女子に111 mg のビタミン C を投与した時の血清ビタミン C 濃度は  $57 \pm 11$  nmol/ml であったと報告している。Hiraoka の報告<sup>13)</sup> では, 女子では  $66 \pm 15$  nmol/ml としている。村田ら<sup>18)</sup> は, 男子学生の血清

中のビタミン C 濃度は  $40 \pm 5$  nmol/ml と報告している。

#### 6. 血清中の葉酸濃度

血清葉酸濃度は男子学生 (Table 1) で  $15.0 \pm 5.8$  pmol/ml ( $n = 23$ ), 最小値は 7.5 pmol/ml, 最大値は 29.2 pmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $17.7 \pm 5.9$  pmol/ml ( $n = 32$ ) 最小値は 9.5 pmol/ml, 最大値は 31.5 pmol/ml であり, 性差は認められなかった。

#### 7. 血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度

ビタミン B<sub>12</sub> 値は男子学生 (Table 1) で  $0.31 \pm 0.08$  pmol/ml ( $n = 23$ ), 最小値は 0.19 pmol/ml, 最大値は 0.46 pmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $0.38 \pm 0.11$  pmol/ml ( $n = 32$ ), 最小値は 0.26 pmol/ml, 最大値は 0.65 pmol/ml と, 女子学生の方が有意に高い値を示した。

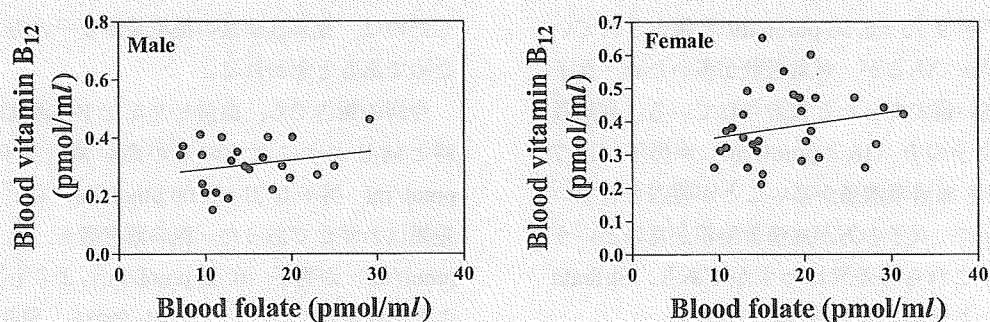
#### 8. 血清中のビオチン濃度

ビオチン値は男子学生 (Table 1) で  $9.4 \pm 1.8$  pmol/ml ( $n = 24$ ), 最小値は 6.5 pmol/ml, 最大値は 13.5 pmol/ml であった。女子学生 (Table 2) では  $7.4 \pm 1.9$  pmol/ml ( $n = 33$ ), 最小値は 3.9 pmol/ml, 最大値は 13.2 pmol/ml と, 男子学生の方が有意に高い値を示した。

血清ビオチン濃度については, すでに Fukui ら<sup>11)</sup> の報告がある ( $10.9 \pm 2.2$  pmol/ml)。前回の介入試験<sup>1)</sup> で

Table 2 Blood water-soluble vitamin contents in 32 female college students.

Subject	VB <sub>1</sub> (pmol/ml)	VB <sub>2</sub> (pmol/ml)	VB <sub>6</sub> (pmol/ml)	NAD (nmol/ml)	VC (nmol/ml)	Folates (nmol/ml)	VB <sub>12</sub> (pmol/ml)	Biotin (pmol/ml)
F01	99	230	81	31	63	14.5	0.31	8.7
F02	98	170	45	29	33	13.4	0.26	7.8
F03	121	84	56	30	48	28.3	0.33	7.5
F04	134	134	51	30	30	21.7	0.29	9.6
F05	99	99	41	32	54	25.8	0.47	5.7
F06	96	156	72	33	43	20.2	0.34	6.3
F07	109	108	62	39	50	17.7	0.55	11.1
F08	89	118	41	29	38	15.2	0.24	6.6
F09	99	153	68	33	61	15.2	0.65	5.1
F10	116	89	86	36	34	12.9	0.42	8.1
F11	97	161	64	37	91	19.7	0.28	7.8
F12	113	86	63	38	49	10.2	0.31	6.0
F13	101	134	92	30	32	15.0	0.21	5.7
F14	71	205	110	19	68	16.1	0.50	5.4
F15	166	190	50	38	39	9.5	0.26	7.8
F16	86	105	58	30	62	11.6	0.38	9.0
F17	144	120	120	32	63	20.8	0.37	6.3
F18	85	95	85	30	45	14.0	0.33	10.2
F19	89	145	53	32	40	20.8	0.60	7.2
F20	88	154	52	26	57	12.9	0.35	5.7
F21	101	136	42	28	43	19.5	0.47	7.2
F22	128	172	71	33	47	14.7	0.34	6.9
F23	163	96	59	29	50	10.9	0.37	6.9
F24	77	69	68	28	51	29.2	0.44	7.5
F25	100	170	91	29	58	18.8	0.48	9.3
F26	91	104	68	37	61	31.5	0.42	6.3
F27	86	119	31	39	74	21.3	0.47	13.2
F28	82	124	66	26	63	10.9	0.32	7.5
F29	77	144	117	24	60	13.4	0.26	6.3
F30	105	156	45	28	63	19.7	0.43	3.9
F31	91	158	54	41	60	13.4	0.49	7.8
F32	78	199	74	33	44	27.0	0.26	5.4
Mean	102	137	67	32	52	17.7	0.38	7.4
SD	23	39	22	5	13	5.9	0.11	1.9

Fig. 1 Relation between Blood Folates and Blood Vitamin B<sub>12</sub> Levels in Male and Female.

In male,  $r$  (correlation coefficient) is 0.228 and  $p$  is 0.295. In female,  $r$  is 0.201 and  $p$  is 0.269.

は、男女差がなく約8 pmol/mlであったが、今回の実験結果では、男子学生の方が有意に高い値を示した。

#### 9. 血清葉酸とビタミン B<sub>12</sub> 濃度との関係

葉酸とビタミン B<sub>12</sub> の欠乏症はともに大赤血球性貧血

である。これは、葉酸補酵素代謝の中心的な位置を占める反応、5-メチルテトラヒドロ葉酸→テトラヒドロ葉酸の反応を触媒するメチオニンシンターゼが補酵素としてビタミン B<sub>12</sub> を必要とするためである。そこで、血液中



の葉酸濃度とビタミン B<sub>12</sub> 濃度との関係を調べたが、Fig. 1 に示したように、有意な相関関係は得られなかった。

## 考 察

大きな男女差が報告された介入試験<sup>1)</sup>では、葉酸をプテロイルモノグルタミン酸として 200  $\mu$ g/日摂取させた。食事性葉酸としては 340  $\mu$ g (サプリメント型の葉酸は食事性葉酸の1.7倍の生体利用率を有するため)<sup>19)</sup>に相当する量であった。また、採血は、介入試験<sup>1)</sup>では、今回のような昼食前の空腹時ではなく、朝食前の空腹時に行った。その時の値は、男子学生が 15.6  $\pm$  4.6 pmol/ml、女子学生が 30.2  $\pm$  8.6 pmol/ml であった<sup>1)</sup>。今回のように自由に生活をしている男子学生の値とほぼ同じ値であった。しかしながら、女子学生においては、今回のように自由に生活を送っているときの値は、約半分の 18 pmol/ml であった。ちなみに、食事摂取基準 (2005年版)<sup>20)</sup>においては、血清葉酸濃度が 7 pmol/ml 以上、赤血球葉酸濃度が 300 pmol/ml 以上、血清ホモシステイン濃度が 14 nmol/ml 未満に50%の人が維持できる食事性葉酸の摂取量を 200  $\mu$ g/日としている。今回の男子学生において、血清中の葉酸濃度が 7 pmol/ml 未満の数は1名であり、その値は 5.7 pmol/ml であった。女子学生は、全員が 7 pmol/ml 以上の値であった。したがって、食事摂取基準 (2005年版)<sup>20)</sup>の策定に使用された判断基準を活用すれば、食事調査はしていないが、今回対象者となった学生の葉酸栄養状態は良好であることも明らかとなった。

血清葉酸濃度が、男子の方が女子よりも低いことは、韓国人においても報告されている<sup>21)</sup>。この報告<sup>21)</sup>によれば、韓国人の血清葉酸値は、男子が 14.7  $\pm$  6.9 pmol/ml、女子が 18.0  $\pm$  8.0 pmol/ml である。カナダからの研究報告においても<sup>22)</sup>、男子の血漿葉酸濃度が 8.55  $\pm$  5.19 pmol/ml、女子が 9.75  $\pm$  6.56 pmol/ml と報告されている。差異はわずかであるが、対象者数が多いため、女子の方が有意に高い値であったと報告されている。高齢者においても、女子の方 (16.3 pmol/ml) が男子 (12.7 pmol/ml) よりも血清葉酸値が高いことが報告されている<sup>23)</sup>。このように、女子の方が血清葉酸値が高いという報告があるが、これらの差異はわずかであり、Shibata ら<sup>1)</sup>が報告したような2倍もの差異ではない。

Shibata ら<sup>1)</sup>の報告と今回得られた値との顕著な違いの原因を考えると、合成葉酸であるプテロイルモノグルタミン酸を投与したことに加え、女子の介入試験では定期運動を室内で行い、太陽光線を浴びさせなかったためであると考えられた。このように考えるようになった経緯を説明する。事実として、生物系食料中の葉酸の形は5-メチルテトラヒドロ葉酸のポリグルタミン酸であ

り、血清中にあらわれる形は5-メチルテトラヒドロ葉酸のモノグルタミン酸である<sup>24)</sup>。5-メチルテトラヒドロ葉酸はUVAに対して安定であるが<sup>25)</sup>、介入試験で投与したプテロイルモノグルタミン酸はUVAを照射されると破壊される<sup>26)</sup>。経口摂取されたプテロイルモノグルタミン酸は、一部は小腸細胞内でジヒドロ葉酸 $\rightarrow$ テトラヒドロ葉酸 $\rightarrow$ 5-メチルテトラヒドロ葉酸に変換されたのち、血清中にあらわれる。一方、残りは、代謝をうけずに、そのままの形であるプテロイルモノグルタミン酸として血清中にあらわれる。男子においては、定期運動時に上半身はだかの短パン姿で、太陽を一杯浴びていたために、プテロイルモノグルタミン酸の形の葉酸のみが破壊されてしまったものと考えられる。一方、女子は、太陽をほとんど浴びなかったために、血清中にプテロイルモノグルタミン酸として存在していた葉酸がUVAによって破壊されなかったため、顕著に高い値を示したと思われる。以上のことから、葉酸として、習慣的に合成葉酸であるプテロイルモノグルタミン酸のみを1日に200  $\mu$ g 摂取させると、血清中の葉酸の値は 30 nmol/ml 程度となる<sup>1)</sup>。このうちの半分は5-メチルテトラヒドロ葉酸、残りの半分はプテロイルモノグルタミン酸である。大胆な推測ではあるが、このような状態で、UVAをたっぷり(夏期では、露出度の高い服装で、1日に数時間太陽を浴びる)浴びると、プテロイルモノグルタミン酸のみが破壊されてしまうものと思われる。その結果、男子被験者は 15 nmol/ml 程度の値を、女子被験者は 30 nmol/ml 程度の値を示したものと思われる。一方、自由に生活をしており、合成葉酸の摂取がないヒトの血清葉酸の形は5-メチルテトラヒドロ葉酸である。この形であれば、UVAによる破壊はない。したがって、今回のように自由に生活をしている男女間では差異が認められなかったものと思われた。他の研究者で<sup>21-23)</sup>、女子の方が、若干高い値を示したのは、食事性葉酸の摂取量が女子の方が、高かったためであると思われる。

今回の報告でも、血清ビタミン B<sub>12</sub> 濃度は、介入試験時と同じように女子の方が高い値 (女子 0.38  $\pm$  0.11 pmol/ml、男子 0.31  $\pm$  0.08 pmol/ml) を示したが、その差異はわずかであった。他の研究者も、女子の方 (0.60 pmol/ml) が男子 (0.48 pmol/ml) よりも高い値を示すことを報告している<sup>27)</sup>。しかしながら、Shibata ら<sup>1)</sup>の報告のように、女子が 0.67  $\pm$  0.20 pmol/ml、男子が 0.34  $\pm$  0.05 pmol/ml というような顕著な差異ではなかった。この原因に関しては、葉酸のような考察を加える背景が整っていないが、男女間における太陽光の浴びた量による違いに起因するものではないかと考えている。以上のことから、プテロイルモノグルタミン酸やシアノコバラミンを摂取しても、太陽を浴びすぎると、これらのビタ

ミンの補足が十分に達成されなくなるので、注意が必要である。不足の危険性を回避するには、定期的に血清中のビタミンの測定が必要である。

自由に生活している男女学生の血液中の水溶性ビタミン濃度を測定し、比較した結果、血清中のビタミン B<sub>12</sub> とビタミン C 濃度においては女子の方が、血清ピオチン濃度においては男子の方が高い値を示した。わずかな差異ではあったが、原因については、食事調査や生活活動調査などを行っていないので不明である。本報告は、資料であることでもあり、これらは今後の課題としたい。

しかしながら、本資料の主題ではないが強調しておきたいことが一つだけある。今回の対象者は自由に生活している大学生である。この集団における特徴は、ビタミン C の血漿中の濃度が、食事摂取基準 (2005年版)<sup>20)</sup> に記載されているカットオフ値である 50 nmol/ml よりも低い対象者が男子で18名、女子で14名いたことであった。したがって、この集団はビタミン C の摂取量が低い集団であった可能性が強いと思われた。食事摂取基準 (2005年版)<sup>20)</sup> のビタミン C の食事摂取基準の指標は壊血病という欠乏症ではなく、抗酸化、心臓血管系の疾病予防が期待できる血漿中のビタミン C 濃度を50%の人が維持できる量として策定されている。では、壊血病を指標にすると血漿中のビタミン C 濃度のカットオフ値はどれくらいであるかというはっきりとしたデータはないが、10 mg で壊血病が予防できるという情報<sup>28)</sup> と文献16を利用すると、約 15 nmol/ml と読み取れる。この値をカットオフ値にすると、男女ともに、この値以下の対象者は一人もいなかったが、現在の国民の食生活の改善では、壊血病という絶対的欠乏症ではなく、潜在的欠乏症による抗酸化、心臓血管系の疾病予防が重要であり、自由に生活をしている健全な大学生で56% (32名/57名) が、潜在的欠乏状態であったことは、ビタミン C の主要な供給源となっている食品である野菜や果物<sup>29)</sup> の摂取量不足が予測された。

## ま と め

自由食摂取時の日本人男女学生の血液中の水溶性ビタミン濃度を測定した結果、以下の値が得られた。全血中のビタミン B<sub>1</sub> 値：男子=100±27 pmol/ml (n=23), 女子=102±25 pmol/ml (n=32)。全血中のビタミン B<sub>2</sub> 値：男子=137±45 pmol/ml, 女子=137±39 pmol/ml。血清中の総ビタミン B<sub>6</sub> 値：男子=66±21 pmol/ml, 女子=67±22 pmol/ml。全血中の NAD 値：男子=30±5 nmol/ml, 女子=32±5 nmol/ml。血清中のビタミン B<sub>12</sub> 値：男子=0.31±0.08 pmol/ml, 女子=0.38±0.11 pmol/ml。血清中の葉酸値：男子=15.0±5.8 pmol/ml, 女子=17.7±5.9 pmol/ml。血清中のピオチン値：男子

=9.4±1.8 pmol/ml, 女子=7.4±1.9 pmol/ml。血清中のビタミン C 値：男子=42±16 nmol/ml, 女子=54±14 nmol/ml。ビタミン B<sub>12</sub>、ピオチンとビタミン C 濃度のみに男女差が認められた。

## 謝 辞

本研究は、平成16～18年度厚生労働科学研究費補助金・循環器疾患等総合研究事業・日本人の食事摂取基準 (栄養所要量) の策定に関する研究 (主任研究者 柴田克己) を受けて行ったものである。関係各位に謝意を表する。

## 文 献

- 1) Shibata, K., Fukuwatari, T., Ohta, M., Okamoto, H., Watanabe, T., Fukui, T., Nishimuta, M., Totani, M., Kimura, M., Ohishi, N., Nakashima, M., Watanabe, F., Miyamoto, E., Shigeoka, S., Takeda, T., Murakami, M., Ihara, H. and Hashizume, N.: Values of water-soluble vitamins in blood and urine of Japanese young men and women consuming a semi-purified diet based on the Japanese Dietary Reference Intakes, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 319-328 (2005)
- 2) Branda, R.F. and Eaton, J.W.: Skin color and nutrient photolysis: an evolutionary hypothesis, *Science*, **201**, 625-626 (1978)
- 3) Gambichler, T., Bader, A., Saueremann, K., Altmeyer, P. and Hoffmann, K.: Serum folate levels after UVA exposure: a two-group parallel randomized controlled trial, *BMC Dermatol.*, **1**, 8-11 (2001)
- 4) Kimura, M., Fujita, T. and Itokawa, Y.: Liquid chromatographic determination of the total thiamin content of blood, *Clin. Chem.*, **28**, 29-31 (1982)
- 5) 福渡 努, 鈴浦千絵, 佐々木隆造, 柴田克己: 代謝攪乱物質ビスフェノール A のトリプトファン-ニコチンアミド転換経路の攪乱作用部位: 食品衛生学雑誌, **45**, 231-238 (2004)
- 6) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: A simple method for micro-determination of flavin in human serum and whole blood by high-performance liquid chromatography, *Biochem. Int.*, **4**, 187-194 (1982)
- 7) (社) 日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編, 新・食品分析法, pp. 394-406 (1996), 光琳, 東京
- 8) Shibata, K. and Murata, K.: Blood NAD as an index of niacin nutrition, *Nutr. Int.*, **2**, 177-181 (1986)
- 9) Kishida, K., Nishimoto, Y. and Kojo, S.: Specific determination of ascorbic acid with chemical derivatization and high-performance liquid chromatography, *Anal. Chem.*, **64**, 1501-1507 (1992)
- 10) 石渡幸久, 遠藤紀子, 津田律子, 安田和人: 全自動化学発光免疫測定装置 ACS-180を用いた化学発光による血清ビタミン B<sub>12</sub>・葉酸の測定: *JJCLA*, **20**, 29-37 (1995)
- 11) Fukui, T., Iinuma, K., Oizumi, J. and Izumi, Y.: Agar plate method using *Lactobacillus plantarum* for biotin determination in serum and urine, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 491-498 (1994)
- 12) 武田厚子, 須山哲次, 水口善夫, 鈴木千夏, 今西雅代,

- 武田隆久, 武田隆司, 北村李軒, 玉井 浩, 木村美恵子: 日本人中年男女の血中ビタミン B<sub>1</sub> 値からみたビタミン B<sub>1</sub> 栄養状態: ビタミン, **76**, 349-353 (2002)
- 13) Hiraoka, M.: Nutritional status of vitamin A, E, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, nicotinic acid, B<sub>12</sub>, folate, and  $\beta$ -carotene in young women, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **47**, 20-27 (2001)
- 14) 安田和人, 島田俊一, 美濃 真, 北川 真, 糸川嘉則, 木村美恵子, 松岡昌義, 大塚紘司: 総合ビタミン剤長期服用による健康成人の全血総ビタミン B<sub>6</sub>, ニコチン酸濃度及び尿中 B<sub>6</sub>, ニコチン酸代謝産物排泄量の変動: ビタミン, **65**, 545-556 (1991)
- 15) Shibata, K.: Blood pyridine nucleotide levels reflect niacin equivalent intake in humans, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 3:493-499 (1987)
- 16) Levine, E., Wang, Y., Padayatty, S.J. and Morrow, J.: A new recommended dietary allowance of vitamin C for healthy young women, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **98**, 9842-9846 (2001)
- 17) 古旗照美, 井上喜久子, 石井恵子, 樋口 満: 身体活動水準の異なる若年成人女性のビタミン栄養状態: ビタミン, **72**, 363-371 (1998)
- 18) 村田 晃, 小林知恵, 松岡昌義, 大塚紘司, 北川 真, 美濃 真, 木村美恵子, 糸川嘉則: 総合ビタミン剤を健康成人男子に長期服用させたときのビタミン C の血漿濃度及び尿中排泄の変動: ビタミン, **65**, 557-565 (1991)
- 19) Pfeiffer, C.M., Rogers, L.M., Bailey, L.B. and Gregory, J.F.3<sup>rd</sup>: Absorption of folate from fortified cereal-grain products and supplemental folate consumed with or without food determined by using a dual-label stable-isotope protocol, *Am. J. Clin. Nutr.*, **66**, 1388-1397 (1997)
- 20) 厚生労働省: 日本人の食事摂取基準 (2005年版), 日本人の栄養所要量—食事摂取基準—策定検討会報告書, pp. 92-95 (2004), 東京
- 21) Kim, H-S. and Heo, Y-R.: Plasma total homocysteine, folate, and vitamin B<sub>12</sub> status in Korean adults, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **48**, 290-297 (2002)
- 22) Lussier-Cacan, S., Xhingesse, M., Piolot, A., Selhub, J. and Davignon, J.: Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits, *Am. J. Clin. Nutr.*, **64**, 587-593 (1996)
- 23) Tucker, K.L., Selhub, J., Wilson, P.W. and Rosenberg, I.H.: Dietary intake pattern relates to plasma folate and homocysteine concentrations in the Framingham Heart Study, *J. Nutr.*, **126**, 3025-2031 (1996)
- 24) Pfeiffer, C.M., Fazili, Z., McCoy, L., Zhang, M. and Gunter, E.W.: Determination of folate vitamers in human serum by stable-isotope-dilution tandem mass spectrometry and comparison with radioassay and microbiologic assay, *Clin. Chem.*, **50**, 423-432 (2004)
- 25) Steindal, A.H., Juzenniene, A., Johnsson, A. and Moan, J.: Photodegradation of 5-methyltetrahydrofolate: Biophysical aspects, *Photochem. Photobiol.*, **82**, 1651-1655 (2006)
- 26) Akhtar, M.J., Khan, M.A. and Ahmad, I.: Photodegradation of folic acid in aqueous solution, *J. Pharmaceu. Biomed. Anal.*, **25**, 269-275 (1999)
- 27) Fernandes-Costa, F., van Tonder, S. and Metz, J.: A sex difference in serum cobalamin and transcobalamin levels, *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**, 784-786 (1985)
- 28) Hodges, R.E., Hood, J., Canham, J.E., Sauberlich, H.E. and Baker, E.M.: Clinical manifestations of ascorbic acid deficiency in man, *Am. J. Clin. Nutr.*, **24**, 432-443 (1971)
- 29) Kimura, N., Fukuwatari, T., Sasaki, R., Hayakawa, F. and Shibata, K.: Vitamin intakes in Japanese women college students, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 149-155 (2003)

(受付:平成20年2月15日, 受理:平成21年6月20日)

## 資料

## 精製飼料を投与した Wistar 系ラットの栄養パラメーター

<sup>1</sup> 滋賀県立大学大学院\* 人間文化学研究科 生活文化学専攻 健康栄養部門<sup>2</sup> 滋賀県立大学 人間文化学部 生活栄養学科守谷 彩<sup>1</sup>, 福渡 努<sup>1,2</sup>, 柴田 克己<sup>1,2</sup>

Vitamins (Japan), 83 (11), 612-617 (2009)

## Nutrition parameters in Wistar rats fed on a purified diet

Aya Moriya<sup>1</sup>, Tsutomu Fukuwatari<sup>1,2</sup>, Katsumi Shibata<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Section of Nutritional Sciences, Division of Life Style Studies, Graduated School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture.<sup>2</sup> Department of Food Science and Nutrition, School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture.

2500 Hassaka, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

To establish reference values for nutrition parameters for experimental animals, it is important to check the validity of results. Thus, we gathered observed values for Wistar rats fed on an ordinary purified diet. We showed typical curves related to growth, food intake, and water intake, along with the concentration of each B-group vitamin in urine and blood of male rats. We also showed the concentration of B-group vitamins in the milk of female Wistar rats.

**Key words:** rat, vitamins, urine, blood, milk

(Received May 11, 2009)

## 緒言

我々はビタミンの必要量に影響を与える因子の解明に際し、Wistar 系ラットを用いた先行研究を行ってきた。各種条件による結果の妥当性を評価するために、参考値を知ることは重要である。日本生化学会編の生化学データブック<sup>1)</sup>にて、ほ乳動物、魚類、植物性食品中のビタミン濃度が報告されているが、発表から 40 年以上経過しているデータもあり、現在とは測定法も異なる。そこで、過去 5 年間の本研究室での研究で蓄積した対照群 (20% カゼイン-1% ビタミン混合食) の Wistar 系雄ラットにおける体重増加量、飼料摂取量、飲水量および尿中 B 群ビタミン排泄量、血中 B 群ビタミン濃度の測定値をまとめた。また、Wistar 系雌ラットにおける母乳中 B 群ビタミン濃度についてもまとめたので資料として報告する。実験動

物にラットを用いる際のビタミン栄養状態の判断基準として、本資料が活用されることを期待する。

## 実験方法の概略

## 1. 動物飼育

各実験に用いた Wistar 系雄性ラットは日本クレア(株)より購入し、1 匹ずつ代謝ケージに入れて飼育した。飼育室の温度は  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度は  $50 \pm 10\%$  に維持し、12 時間の明暗サイクル (午前 6 時～午後 6 時を明) とした。精製飼料の組成は Table 1 に示した通りである。飼料に用いたビタミンフリーカゼイン、 $\alpha$ -コーンスターチ、ビタミン混合、ミネラル混合はオリエンタル酵母工業株式会社より、L-メチオニン<sup>2)</sup>は和光純薬工業株式会社より購入した。なお、ビタミン混合中の各ビタミン含量を Table 2 に示した。飼料および水は自由摂取とし、毎日午前 9 時～10 時に新し

\* 〒 522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500