

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）の策定に関する基礎的研究
平成 16 年度～18 年度 総合研究報告書

主任研究者 柴田 克己

I. 総合研究報告

4. ビタミン B₁₂（シアノコバラミン）の食事摂取基準の資料

分担研究者 渡辺 文雄 鳥取大学 教授
研究協力者 宮本 恵美 長崎国際大学 講師

要旨

ビタミン B₁₂ の食事摂取基準の策定に関連する事項の概略をまとめ今後の食事摂取基準の策定に向けての意見を総括報告書としてまとめた。

1. ビタミン B₁₂ 必要量を評価するための指標の検討

1. 血液学的検査

平均赤血球容積 (MCV) は正確に測定できるが、赤血球の長命が 120 日であるために B₁₂ 摂取に対するレスポンスに長時間を要するので、MCV の有効性は限定されている。また、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値も同様である。

2. 血清 B₁₂ 量

血清 B₁₂ 濃度は B₁₂ 摂取と貯蔵の両方を反映している。その最低限界は成人でおよそ 120~180 pmol/L (170 ~250 pg/mL) 程度¹⁻³⁾ と考えられているが、分析に用いる方法や機器により一定でない⁴⁾。日本ビタミン学会において臨床応用で推奨される血清 B₁₂ 量定量法が報告されているが⁴²⁾、分析機種間の定量値に相違があり²⁾、標準化へ向けて現在検討されている⁴⁾。欠乏症が進行するとき、組織に貯蔵された B₁₂ が血中に供給されることで血清 B₁₂ 値は一定に保たれると考えられる。そのため、カットオフ値以上の血清 B₁₂ 値が必ずしも適切な B₁₂ 状態を示しているとは限らない。

3. 血清 (血漿) メチルマロン酸量

血清メチルマロン酸 (MMA) に関する基準値は 73 から 271 nmol/L である⁵⁾。B₁₂ が不足するとき血清中の MMA 濃度は上昇する。血清 MMA 濃度は B₁₂ 欠乏症に非常に特異的であるので、B₁₂ の栄養状態を示すよりよい指標となる。しかし、平均必要量の基礎となるような B₁₂ 摂取と MMA 濃度の

関係を直接に調べた研究がない。また、測定法の改良が顕著であるので古い研究からの血清 MMA 値は最近得られた MMA 値と比較できない可能性もある。現在、最も信頼される血清 MMA 定量法は、安定同位体 d₃-MMA を内部標準として用いたガスクロマトグラフィーマススペクトロメトリー法であるが、本法により同一血清サンプル中の MMA 量を各分析機関で定量・比較分析した結果、その定量値に大きな違いのあることが報告されており⁶⁾、検討課題を含んでいる。

4. 血清 (血漿) ホモシステイン量

血清 (血漿) ホモシステイン定量法は種々開発されているが⁷⁾、葉酸あるいは B₆ (あるいは両方) の不足もまた血清 (血漿) ホモシステイン濃度を上昇させることから、この指標は特異性が低く、平均必要量を策定するのに有効な指標とならない。

5. 血清ホロトランスコバラミン II 量

3種の血清 B₁₂ 結合タンパク質の中で TCII は標的細胞へ受容体を介しての B₁₂ の取込みに関与している。しかし、血清 B₁₂ の 10~20%のみが TCII-B₁₂ 複合体として存在しており、この画分をホロ TCII と呼び、最も感度のよい体内 B₁₂ 状態の指標であることが認識されつつある^{8,9)}。最近、ホロ TCII 量の信頼できる測定法が開発された^{10,11)}。ホロ TCII は、腸管より吸収された B₁₂ を体細胞へ輸送する生理作用を有し、且つ、代謝回転が非常に速いので日内変動を示すことが期待されたため、Hvas らは¹²⁾ 食事後

B₁₂の短時間の吸収変化を測定するために標準的な食事を摂取している健常人から20分ごとに24時間血液サンプルを採取し、血漿ホロTCII量、全TCII量、B₁₂量を測定し、日内変動について検討した。その結果、食事摂取後、血漿ホロTC量の増加は認められず、一日中安定していた。“ホロTCII量は、食事より腸管吸収されたB₁₂よりもむしろB₁₂の栄養状態を反映する”という結果を強く支持するものであった。生体がホロTCII量へ及ぼす影響は複雑であり、注意深い解析を必要とするようである。

また、その他の指標においても顕著な日内変動は認められなかった。また、これまでの日本人の食事摂取基準のための基礎研究¹³⁾でB₁₂推奨量(2.4 µg/日)を摂取した成人男女の尿中B₁₂排泄量の日内変動を調べた結果においても尿中B₁₂排泄量に有意な変化は認められず、体内B₁₂および関連物質の顕著な日内変動は存在しないという上述の結果と一致した。

6. B₁₂栄養状態の新規な指標として血球中のB₁₂依存性酵素活性

ヒトを含む高等動物において2種類のB₁₂依存性酵素の存在が知られている。生体内で奇数鎖脂肪酸やアミノ酸(バリン、イソロイシン、スレオニン)の代謝に関与するAdoB₁₂依存性メチルマロニルCoAムターゼ(EC5.4.99.2)と5-メチルテトラヒドロ葉酸とホモシステインからメチオニンの合成に関与するMeB₁₂依存性メチオニンシンターゼ(EC2.1.1.13)である。B₁₂栄養状態の新規な指標として血球中のB₁₂依存性酵素

活性が活用できるかどうかを検討した¹⁴⁾。

その結果、血球中のメチルマロニルCoAムターゼ活性は、B₁₂欠乏により、約9倍の活性上昇が観察され、血球サンプルの数ヶ月間の冷凍保存(-80℃)による活性の消失は検出されなかった。一方、メチオニン合成酵素活性は、コントロールのB₁₂給与ラットにおいても非常に低値を示し、冷蔵保存中に顕著な活性低下が観察された。

また、ヒト組換えメチルマロニルCoAムターゼ抗体を用いたウェスタン・ブロット分析の結果、B₁₂給与ラットの血球抽出液において抗体と反応するものは観察されなかったが、B₁₂欠乏ラットにおいて免疫反応物を観察することができた¹⁴⁾。以上の結果から、酵素の保蔵安定性、活性測定法の簡便さなどから血球メチルマロニルCoAムターゼがB₁₂の栄養状態の指標の1つとして利用できる可能性が示唆された。今後、B₁₂欠乏ラットを用いて体内B₁₂貯蔵・蓄積量と血球中酵素活性の相関について詳細な検討が必要である。

II. ビタミン B₁₂ 必要量に及ぼす因子

1. 加齢

年齢が増加するとともに胃酸の減少、萎縮性胃炎の発症、細菌の異常繁殖、B₁₂ 結合タンパク質の機能的・構造的損傷、肝臓 B₁₂ 貯蔵量の不足のため生体内の B₁₂ レベルが低下する¹⁵⁾。高齢者において重症の萎縮性胃炎に患っている者ほど血清 B₁₂ 量は低値を示す傾向である¹⁶⁾。加齢により胃酸の減少を示す血清ガストリン値が上昇すると食事由来の B₁₂ の吸収量が減少することも報告されている¹⁷⁾。健康な高齢者の結晶 B₁₂ の吸収量は健康な若者に匹敵しており、結晶 B₁₂ の吸収率は加齢により減少しないと考えられる¹⁸⁾。

2. 食事由来の B₁₂ 吸収不全

悪性貧血症でなく低血清 B₁₂ 値を示すほとんどの者や神経障害を呈する者の 60%は、食品タンパク質へ結合した B₁₂ の吸収不全である¹⁹⁾。食品タンパク質結合 B₁₂ 吸収不全は胃の機能障害（減酸症や無塩酸症、胃の外科処置後、幽門形成術による迷走神経切断術後）を有する者や原因不明の低血清 B₁₂ 値を持った者に観察される^{19,20)}。正常血清ガストリン値の者と比べて血清ガストリン値が上昇している者は、食品タンパク質結合 B₁₂ の吸収量が減少している²¹⁾。

3. 萎縮性胃炎

高齢者のおよそ 10~30%が萎縮性胃炎であると報告されているが^{16,20-23)}、高齢者において萎縮性胃炎の多くは診断されずに放置されている可能性がある。ヘリコバク

ター・ピロリの感染により誘導される萎縮性胃炎と食事由来 B₁₂ 吸収不全の関係も報告され、²⁴⁾ 胃粘膜からのピロリ菌の除去だけでは不十分で、口腔内を衛生的にし、歯垢中のピロリ菌も除去する必要性が示された²⁵⁾。

我が国において胃酸分泌の減少が B₁₂ 栄養状態に及ぼす影響について調査した報告がない。そこで、本研究課題として日本人の 70 歳代成人男女の B₁₂ の栄養状態（血清 B₁₂ 量）と胃酸分泌の減少（血清ガストリン量）の関係を検討した¹⁴⁾。

日本人の 70 歳代成人男女の血清サンプル（99 名分）の血清 B₁₂ 含量を分析した結果、B₁₂ 欠乏群に 4 名、B₁₂ 低値群に 22 名となり、70 歳代成人の約 25%が血清 B₁₂ 含量の低い状態であることがわかった。また、胃酸分泌減少との関係を調べるために血清ガストリン含量を測定した結果、B₁₂ 欠乏群および低値群で増加傾向を示したが、有意差は認められなかった（調査 I・表 1）。

上述の調査 I において B₁₂ 欠乏群が非常に少なかったため、調査 II（表 2）においては、すでに血清 B₁₂ 含量測定済みの約 400 名の血清サンプルの中から B₁₂ 含量を指標に 3 群にわけ、B₁₂ 含量と胃酸分泌減少との関係を調べるために血清ガストリン含量を測定した。その結果、B₁₂ 欠乏群と正常群の間で血清ガストリン含量の差がより明確になったが、有意な結果は得られなかった。

今後、さらに詳細に萎縮性胃炎と食事由来 B₁₂ 吸収不全の関係について調査研究の必要性がある。

4. 性差

多数の若い男性・女性を対象とした研究においても血清 B₁₂ 値は男性で 477 pmol/L (647 pg/mL) 女性で 604 pmol/L (819 pg/mL) であった²⁶⁾。渡辺らも日本人の成人で同様な結果 (男性 : 684 pg/mL, 女性 : 827 pg/mL) を報告している²⁷⁾。所要量 (2.4μg/日) 摂取時の日本人の若い成人男性・女性 (各 10 名) の血清 B₁₂ 濃度は, 男性で 323 pmol/L (447 pg/mL), 女性で 664 pmol/L (900 pg/mL) であり, 十分にカットオフ値以上であり適正であったが,²⁸⁾ この性差による血清 B₁₂ 含有量の相違をどのように定量し, B₁₂ の必要量に反映しうるか不明であり, 今後検討が必要である。

Ⅲ. ライフステージと性差による知見

1. 0歳から6ヶ月の乳児

健康で食生活の良好な成人母親からの母乳で育てられた乳児には B₁₂ 欠乏症は起こらないと考えられ、一般的に 0歳から6ヶ月の乳児の B₁₂ 所要量は、母乳栄養児の B₁₂ 摂取量を基礎した適正摂取量から策定されている。

井戸田ら²⁹⁾は日本人の健康な母親の母乳中の B₁₂ 含量を *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ATCC7830 を用いた微生物学的定量法で測定したところ、母乳中の B₁₂ 含量は初乳または移行乳 (0.4 μg/L) から成熟乳 (0.2 μg/L) になるに従い減少し、その平均値は 0.2 μg/L であることを報告している。また、Trugoら³⁰⁾も初乳から成熟乳にかけ B₁₂ 含量が減少することを見出している。

また、井戸田らが用いた定量菌は、B₁₂ の構造に対してかなり特異性は高いが、B₁₂ 以外にアルカリ耐性因子 (ヌクレオチドやデオキシリボヌクレオチド) にも B₁₂ 活性を示す。そのため見かけの B₁₂ 含量からアルカリ耐性因子含量を差し引き、正確な B₁₂ 含量を算出する必要があるが、井戸田ら²⁹⁾が用いた方法にはアルカリ耐性因子を補正したとする記載がない。そこで、本研究では五訂日本食品標準成分表で採用されている分析マニュアル³¹⁾に準じた微生物学的定量法を用いてアルカリ耐性因子を補正した母乳中の B₁₂ 含量を算出した結果、前回の調査した日本人の健康な母親 25 名の母乳に含まれる B₁₂ 含量の平均値は 0.28 ± 0.14 μg/L となった³²⁾。今回、平成 17 年度に採取された母乳 126 サンプルの B₁₂ 含量の平

均値は 0.943 ± 0.531 μg/L と顕著に増大した¹⁴⁾。また、Sakurai らは³³⁾、日本人の母乳 691 サンプル中の B₁₂ 含量を 0.4 ± 0.2 μg/L であると報告している。

これまでに報告されている母乳中の平均的な B₁₂ 含量を表 3 に示す。母乳中に含まれる B₁₂ の定量法に関して、我国では微生物学定量法が用いられているが、欧米では放射性同位体希釈法が主流である。血清 B₁₂ 含量の測定において放射性同位体希釈法は微生物学的定量法より若干高い値 (約 1.3 倍) を示すことが報告されており³⁷⁾、単純に数値を比較することはできない。井戸田ら²⁹⁾および前回測定した日本人の母乳中の B₁₂ 含量は、他のものに比べ低値を示したが、平成 17 年度の母乳サンプル中には多量の B₁₂ が含まれていた。この母乳 B₁₂ 含の相違が何に由来するのか現在のところ不明である。

第六次改定食事摂取基準では、平均的な日本人の母乳中の B₁₂ 含量を 0.2 μg/L、泌乳量 0.75 L/日を用いて摂取量 (0.15 μg/日) を計算し、0~5 ヶ月の乳児の所要量を 0.2 μg/日と策定された³⁸⁾。食事摂取基準 (2005 年度版) では平均的な日本人の母乳中の B₁₂ 含量を 0.2 μg/L、泌乳量 0.78 L/日を用いて摂取量 (0.156 μg/日) を計算し、目安量を 0.2 μg/日と策定されている³⁹⁾。一方、米国の食事摂取基準において母乳中の B₁₂ 含量は我国より高い値 (0.42 μg/L) が採用され、泌乳量 0.78L/日を用いて摂取量 (0.33 μg/日) が計算され、所要量を 0.4 μg/日としている⁴⁰⁾。いずれも WHO の所要量

(FAO/WHO1988) の 0.1 μg/日を上回ってい

るが、その理由は WHO の所要量が B₁₂ 欠乏症の乳児の臨床症状の回復を指標として策定されているためである⁴¹⁾。

ベジタリアンの母親とその乳児の研究において、母乳の B₁₂ 含量が 0.49 µg/L 以下のとき、母乳栄養乳児の尿中メチルマロン酸排泄量 (B₁₂ 欠乏の指標) が増加した⁴²⁾。これらの乳児は体内に十分な B₁₂ を貯蔵することなしに生まれてくるが、平均摂取量 0.24 µg/日は乳児の B₁₂ バランスを維持するのに不十分であると報告されている⁴²⁾。また、母乳の B₁₂ 含量が 0.49 µg/L 以下のとき乳児の尿中メチルマロン酸排泄量が増加傾向を示す報告もある³⁵⁾。米国の食事摂取基準では乳児の B₁₂ 欠乏症を予防するだけでなく、疾病予防のため B₁₂ の体内バランスを正常に維持するためには少なくとも 0.3 µg/日以上 の摂取量が必要であることを指摘している⁴⁰⁾。

平成 16～18 年度の本研究調査により日本人の泌乳量 0.8 L/日となった。そこで、これまで報告されている日本人の母乳中の B₁₂ 含量に関する 4 論文の平均値を算出すると 0.46 µg/L となり、泌乳量 0.8 L/日で計算すると 0～5 ヶ月の乳児の食事摂取基準は 0.36 µg/日となる。

妊娠中から 2～4 µg/日の B₁₂ サプリメントを摂取すると母乳中の B₁₂ 含量を高値 (平均値 0.91 µg/L) に維持することができた⁴³⁾。母親の体内 B₁₂ 貯蔵量よりも食事から毎日摂取される B₁₂ の方が母乳への B₁₂ 分泌量に重要な影響を与えると考えられるので⁴⁴⁾、母親が厳格なベジタリアンである場合はもとより、動物性食品の摂取が低く B₁₂ 摂取

量が不十分な場合は母乳中の B₁₂ 含量が低下する可能性があるので注意する必要がある。

2. 成人 (19 歳から 50 歳)

成人のための平均必要量を導き出すための単一の指標はない。一般的に次のような方法 [①適正な血清学的状態 (正常なヘモグロビン値, 正常な MCV, 正常な網状赤血球反応) を維持するために必要な B₁₂ 量を決定する方法, ②適正な血清 B₁₂ 値と MMA 値を維持するために必要な食事の B₁₂ 摂取量を評価する方法, ③体内貯蔵を維持するのに必要な B₁₂ 量を評価する方法] などが考えられる。米国の食事摂取基準では理想的でないかもしれないが、信頼できるデータが唯一存在する①の方法が平均必要量を導き出す方法に選ばれた¹⁾。米国食事摂取基準の算定方法と結果が第六次改定食事摂取基準³⁸⁾と日本人の食事摂取基準 (2005 年版)³⁹⁾で採用されている。

①血清学的状態と血清 B₁₂ 値の維持

悪性貧血患者に B₁₂ を 0.25～10 µg/日で筋肉内投与した結果、0.5～2.0 µg/日の B₁₂ 投与量で血清学的回復が最大値を示すことが報告されている⁴⁵⁾。米国食事摂取基準では適正な血清 B₁₂ 量を 150 pmol/L (200 pg/mL) 以上とし、このデータと他の悪性貧血患者への B₁₂ の投与実験の結果から 1.5 µg/日が悪性貧血症患者の血清学的状態を適正に維持するために必要とされる B₁₂ 量であると推定している。しかし、数週間ごと (あるいは数ヶ月ごと) の B₁₂ の単一投与量から 1 日あたりの投与量を補正・算出することは

必ずしも適切であるとは考えられない。

米国食事摂取基準ではこの B₁₂ 量 (1.5 µg/日) から悪性貧血患者は胆汁中に含まれる多量の B₁₂ 量を再吸収することができないため、その損失量 (0.5 µg/日) を差し引き、正常な腸管吸収能力を有した健康な成人における生体利用率 (50%) で補正することで平均必要量を算定している¹⁾。一方、同一の研究結果から WHO の所要量 (FAO/WHO1988) では、悪性貧血症患者の血清学的状態を適正に維持するために必要とされる B₁₂ 量を 1.0 µg/日と評価している⁴⁶⁾。

一部の食用藻類を除き植物性食品に B₁₂ は含まれていないと一般的に考えられている。完全に動物性食品を含まない食事 (ベジタリアン食) の長期の摂取は B₁₂ 欠乏症を導く可能性があるが、胆汁中に排泄される多量の B₁₂ が再吸収されるため欠乏症はゆっくりと進行する。ベジタリアン (低 B₁₂ 摂取者) の研究から平均必要量を検討した結果、研究データが不十分であるが、B₁₂ の平均必要量は少なくとも 1.5 µg/日以上であるかもしれないことが示唆された。

②血清 MMA 値の維持

機能的な体内 B₁₂ 状態の指標として血清 MMA 量は、上述①の指標よりも敏感である。しかし、B₁₂ 摂取量と血清 MMA 量に関する研究が不足しているため平均必要量の策定には利用できない。

③体内 B₁₂ 貯蔵量の維持

ホール・ボディ・カウント法を用いた研究⁴⁷⁻⁴⁹⁾から体内 B₁₂ 貯蔵量の量にかかわらず、1 日あたりその B₁₂ 貯蔵量の 0.1 から 0.2% が消失することを示している。すな

わち、B₁₂ 貯蔵量 3.0 mg の人は 3~6 µg を毎日排泄することになり、B₁₂ はかなり多量に体外に排泄させる。健康な成人の平均の B₁₂ 貯蔵量は約 2~3 mg と報告されているが⁵⁰⁻⁵²⁾、健康を維持するためにどれほどの体内 B₁₂ 貯蔵量が必要なのか詳細な知見はない。もし健康を維持できる最低体内 B₁₂ 貯蔵量を 300 µg⁴⁹⁾ (あるいは 500 µg とする報告もある)⁴⁶⁾ と見積もると、0.3~0.6 (0.5~1.0) µg/日を摂取すればよいことになる。米国食事摂取基準では長期的に不十分な B₁₂ の摂取や吸収があっても体内に多量に貯蔵された B₁₂ から補充することができるとしている。しかし、一般的に正常状態で 1 日あたりの B₁₂ の出納が負になることは好ましいことではないと考えられる。体内 B₁₂ 貯蔵量を 3.0 mg とし、その 0.1~0.2% が代謝・排泄され、さらに腸管循環や消化吸収率などを考慮すると B₁₂ の出納バランスを保つためには、約 4.8 µg/日の B₁₂ を食物から摂取する必要があると推定される (図 4)。奥田は正常状態において出納は正のバランスを保つので、B₁₂ の排泄量から吸収率を考慮し、約 5 µg/日を食物から摂取する必要があると試算している⁵³⁾。

④B₁₂ 適正摂取量

通常の食生活をしている人では、B₁₂ の欠乏症は認められていない。これまでの報告から、日本人の若い成人女性における B₁₂ 摂取量は平均 3.5~4.8 µg/日と報告されている⁵⁴⁾。また、平成 13 年度国民栄養調査では男性 7.7~8.5 µg/日、女性 5.9~6.9 µg/日と報告され、⁵⁵⁾ 第六次改定食事摂取基準の所要量 (2.4 µg/日) の 2~3 倍を摂取量している。

食事1回あたりIFのB₁₂飽和量は、およそ1.5~2.0 μgと推定されており、⁵⁶⁾1日3回の食事からおおよそ4.5~6.0 μg/日のB₁₂を吸収することができる。

最近Borらは⁵⁷⁾B₁₂の食事摂取量と体内B₁₂状態の指標として血清B₁₂量、ホロTCII量、MMA量、ホモシステイン量を測定して適正なB₁₂摂取量の評価を検討した。その結果、すべての体内B₁₂状態の指標を適正に導くためには、毎日6 μgのB₁₂の摂取が必要であることが明らかとなった。また、その他いくつかの研究⁵⁸⁻⁶¹⁾においても体内循環B₁₂量を一定濃度に維持するためには6-10 μg/日のB₁₂の摂取が必要であると報告されている。

⑤その他

DNAの損傷率の増加は発癌の危険性の増加と老化の促進に関係が深いことが示されているためゲノムの損傷や異数性を防ぐことは微量栄養素の新しい所要量を策定するための1つの重要なパラメーターであるとしてFenechらは、ゲノム安定性を指標としたB₁₂所要量の策定方法を提唱している⁶¹⁻⁶³⁾。彼らの研究では米国食事摂取基準で用いている悪性貧血症予防のための最低血清中B₁₂レベル[150 pmol/L(203 pg/mL)]は、ゲノム安定性の指標(リンパ球の微小核インデックス)の最低レベル[300 pmol/L(406 pg/mL)]のおよそ半分であり、ゲノム安定性を指標とすると最低7 μg/日のB₁₂摂取が必要であると報告している⁶⁴⁾。

⑥総合評価

血清学的指標や血清MMA量は、生体のB₁₂状態の変化に対して相対的に感度が低

いことが知られている⁸⁾。最近、生体のB₁₂状態の最も感度のよい指標が血清ホロTCII量であると報告されたが⁹⁻¹¹⁾、生体がホロTCII量へ及ぼす影響は複雑であり、注意深い解析を必要とするようである。

現在では、B₁₂の食事摂取基準は欠乏症の予防から、健康維持・増進や種々の疾病予防を考慮して策定する必要がある。加齢や萎縮性胃炎による食品タンパク質結合B₁₂吸収不全の危険性が増加するとき、体内B₁₂貯蔵量がB₁₂欠乏症発症を遅らせる重要な因子となる。例えば、健康を維持できる最低体内B₁₂貯蔵量を300 μg⁴⁹⁾(あるいは軽度のB₁₂欠乏症で250 μgとする報告もある)⁴⁶⁾とすると、食事からのB₁₂摂取・吸収が全く無くなった場合、正常な腸肝循環を有する成人がこの最低B₁₂貯蔵量に到達するのに要する期間は1日あたりの排泄量を0.15%と見積もると、体内B₁₂貯蔵量が1 mgの時2.0年、体内B₁₂貯蔵量が3 mgの時4.2年、体内B₁₂貯蔵量が9 mgの時6.2年となり¹⁾、50歳までにできるだけ体内B₁₂貯蔵量を高く維持しておく必要がある。そのため所要量は最低でもB₁₂の出納バランスを維持でき、且つ、通常の食事から摂取・吸収可能な量である必要がある。以上のことを考慮すると第六次改定食事摂取基準ならびに日本人の食事摂取基準(2005年版)の所要量(あるいは推奨量)の2.4 μg/日は、B₁₂欠乏症発症の予防には適切な量であるが、疾病の予防や食品タンパク質結合性B₁₂吸収不全によるB₁₂欠乏症の発症遅延などの観点からは不十分であると考えられる。

米国においても推奨所要量2.4 μg/日は、

低いのではないかという議論がある。現在の数値は、 B_{12} 欠乏症を予防するための最小量であり、現在世界的に広がりを見せる潜在性 B_{12} 欠乏症に対応できているかどうかは不明である。

適正な B_{12} の出納バランスを保つためには、最低約 $5 \mu\text{g}/\text{日}$ の B_{12} を食物から摂取する必要があると推定され (表 4)、また B_{12} の適正摂取量から体内 B_{12} 状態を示す各種指標を適正レベルに導く B_{12} 摂取量は $6\sim 10 \mu\text{g}/\text{日}$ であると報告されている⁵⁷⁾。また疾病予防の観点からゲノム安定性を指標とした場合には最低 $7 \mu\text{g}/\text{日}$ の B_{12} 摂取が必要であると報告されている⁶⁴⁾。これらの情報を総合的に判断すると B_{12} の食事摂取基準は、適正摂取量 (AI) 策定で目安量 $6 \mu\text{g}/\text{日}$ 程度が適切と考えられる。

3. 51 歳以上の成人

50 歳以上の人の $10\sim 30\%$ は胃酸分泌の低い萎縮性胃炎を患っており^{16, 22-23)}、食品からの B_{12} の生体利用率 (吸収率) が減少していると推測される。食事中的 B_{12} の吸収率 50% はこの年齢集団には適応できないので、平均必要量は食事摂取基準 (2005 年版) で策定された $2.0 \mu\text{g}/\text{日}$ よりも高くなると思われる。しかし、萎縮性胃炎を患っている集団の B_{12} の吸収率をどのように補正し、平均必要量に反映しうるかについての情報がない。

米国食事摂取基準では、結晶 B_{12} の吸収率は萎縮性胃炎患者においても減少しないので¹⁸⁾、 B_{12} の食事起原として B_{12} 強化食品や B_{12} を含むサプリメント (およびその両方) を利用すれば若い成人集団と同じ平均

必要量と所要量にすることができるため、所要量のほとんどを B_{12} 強化食品あるいは B_{12} を含むサプリメントから摂取することを推奨している¹⁾。

我国は米国と異なる食文化を有しており、日常摂取している食品の中に豊富に遊離型 B_{12} を含むものが存在する可能性がある。また、伝統的あるいは新しい調理方法により胃酸分泌減少下でも食品タンパク質から遊離しやすくなる調理・加工法が存在する可能性もあり、今後詳細に検討する必要がある。

V. ビタミン B_{12} の摂取

1. 多く含む食品

他の B 群ビタミンと異なり、 B_{12} は一部の食用藻類を除き植物性食品には含まれないと考えられており、通常、動物性食品から B_{12} を摂取している。5 訂標準食品成分表において牛肉、豚肉、鳥肉などの肉類 (内臓肉を含む) 特に、レバーは B_{12} 含有量が高い⁶⁵⁾。また、魚介類、藻類の一部 (アオノリ・アマノリ) に多く含まれている。その他、鶏卵や牛乳にも含まれ、特に牛乳は B_{12} 含有量がそれほど高くないが、摂取しやすさから重要な供給源の 1 つである⁶⁶⁾。

食用藻類に含まれる B_{12} の生体利用率については古くから議論になっている。⁶⁷⁾ 栄養補助食品として流通しているスピルリナなど藍藻由来食品にはすべてヒトの生理的に不活性なシェード B_{12} が含まれていたが⁶⁹⁻⁷¹⁾、クロレラ⁷²⁾、アマノリ⁷³⁾、アオノリ⁷⁴⁾ は真の B_{12} を豊富に含んでいた。動物実験においてアマノリの摂取が B_{12} 欠乏症を完全に回復させたと報告されている⁷⁵⁾。

2. 調理・加工処理における損失

焼く・ゆでる・揚げるなどの加熱調理による B₁₂ 残存率は牛肉各部位で 61~88%, 牛肉蔵肉で 54~98%, 豚肉各部位で 76~90%, 豚肉蔵肉で 68~100% である⁷⁶⁾。一方, 魚肉に含まれる B₁₂ はいずれの調理方法においても保持率が高かった⁷⁷⁾。また, 調理に伴う食品の重量変化による B₁₂ 含有量の変化は少ないことが報告されている⁷⁸⁾。その他, 牛乳中の B₁₂ は加熱調理により顕著に減少し, 電子レンジ 3 分加熱および直火 30 分の加熱で約 50% の B₁₂ が消失する⁷⁹⁾。また, 光照射による牛乳中のビタミン B₂ 光分解に伴う B₁₂ の分解も報告されている⁸⁰⁾。B₁₂ の加熱分解物が単離され, 実験動物に静脈内に投与されたが B₁₂ の代謝系を阻害する作用はなかった⁸¹⁾。

引用文献

- 1) Vitamin B₁₂ (1998) In: Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC, p 306-356.
- 2) Klee, G. G. (2000) Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B₁₂ and folate. Clin. Chem., 46, 1277-1283.
- 3) Green, R., Kinsella, L. J. (1995) Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency. Neurology, 45, 1435-1440.
- 4) 橋詰直孝 (2002) 葉酸とビタミン B₁₂ の測定方法と基準値. 日本人の水溶性ビタミン

ン必要量に関する基礎的研究 平成 13 年度総括・分担研究報告書 (厚生科学研究費補助金 21 世紀型医療開拓推進研究事業) 68-71.

- 5) Pennypacker, L. C., Allen, R. H., Kelly, J. P., Matthews, L. M., Grigsby, J., Kaye, K., Lindenbaum, J., Stabler, S. P. (1992) High prevalence of cobalamin deficiency in elderly out-patients. J. Am. Geriatr. Soc., 40, 1197-1204.
- 6) Pfeiffer, C. M., Smith, S. J., Miller, D. T., Gunter, E. W. (1999) Comparison of serum and plasma methylmalonic acid measurements in 13 laboratories: an international study. Clin. Chem., 45, 2236-2242.
- 7) Moller, J., Rasmussen, K., Christensen, L. (1999) External quality assessment of methylmalonic acid and total homocysteine. Clin. Chem., 45, 1536-1542.
- 8) Herbert, V. (1990) Vitamin B₁₂. In: Present knowledge in Nutrition (Ed. by Brown, M. L.), International Life Science Institute-Nutrition Foundation, Washington, 170-178.
- 9) Carmerl, R. (2002) Measuring and interpreting holo-transcobalamin (Holo-transcobalamin II). Clin. Chem., 48, 407-409.
- 10) Ulleland, M., Eilertsen, I., Quadros, E., Rothenberg, S. P., Fedosov, S. N., Sundrehagen, E., Orning, L. (2002) Direct assay for cobalamin bound to transcobalamin (holo-transcobalamin) in serum. Clin. Chem., 48, 526-532.
- 11) Nexø, E., Christensen, A. L., Hvas, A. M.,

- Petersen, T. E., Fedosov, S. (2002) Quantification of holo-transcobalamin, a marker of vitamin B₁₂ deficiency. *Clin. Chem.*, 48, 561-562.
- 12) Hvas AM, Gravholt CH, Nexø E. (2005) Circadian variation of holo-transcobalamin (holo-TC) and related markers. *Clin Chem Lab Med* 43, 760-764.
- 13) 渡辺文雄, 宮本恵美 (2003) 水溶性ビタミンの食事摂取基準の妥当性の検討—ビタミン B₁₂— 厚生労働科学研究費補助金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」平成 14 年度総括・分担研究報告書 66-84.
- 14) 渡辺文雄, 宮本恵美 (2006) - ビタミン B₁₂ の栄養評価に関する基礎的研究—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」平成 17 年度総括・分担研究報告書 255-276.
- 15) Van Asselt, D. Z., van den Broek, W. J., Lamers, C. B., Corstens, F. H., Hoefnagels, W. H. (1996) Free and protein-bound cobalamin absorption in healthy middle-aged and older subjects. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 44, 949-953.
- 16) Krasinski, S. D., Russell, R. M., Samloff, I. M., Jacob, R. A., Dallal, G. E., McGrandy, R. B., Hartz, S. C. (1986) Fundic atrophic gastritis in an elderly population: Effect on hemoglobin and several serum nutritional indicators. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 34, 800-806.
- 17) Scarlett, J. D., Read, H., O'Dea, K. (1992) Protein-bound cobalamin absorption declines in the elderly. *Am. J. Hematol.*, 39, 79-83.
- 18) McEvoy, A. W., Fenwick, J. D., Boddy, K., James, O. F. (1982) Vitamin B₁₂ absorption from the gut does not decline with age in normal elderly humans. *Age Ageing*, 11, 180-183.
- 19) Carmel, R., Sinow, R. M., Siegel, M. E., Samloff, I. M. (1988) Food cobalamin malabsorption occurs frequently in patients with unexplained low serum cobalamin levels. *Arch. Inter. Med.*, 148, 1715-1719.
- 20) Doscherholmen, A., Silvis, S., McMahon, J. (1983) Dual isotope Schilling test for measuring absorption of food-bound and free vitamin B₁₂ simultaneously. *Am. J. Clin. Pathol.*, 80, 490-495.
- 21) Hurwitz, A., Brady, D. A., Schaal, S. E., Samloff, I. M., Dedon, J., Ruhl, C. E. (1997) Gastric acidity in older adults. *J. Am. Med. Assoc.*, 278, 659-662.
- 22) Andrews, G. R., Haneman, B., Arnold, B. J., Booth, J. C., Taylor, K. (1967) Atrophic gastritis in the aged. *Australas Ann. Med.*, 16, 230-235.
- 23) Johnsen, R., Bernersen, B., Straume, B., Forde, O. H., Bostad, L., Burhol, P. G. (1991) Prevalences of endoscopic and histological findings in subjects with and without dyspepsia. *Br. Med. J.*, 302, 749-752.
- 24) Carmel, R., Aurangzeb, I., Qian, D. (2001) Associations of food-cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, *Helicobacter pylori* infection, and serum markers of gastritis. *Am. J. Gastroenterol.*, 96, 63-70.

- 25) Avcu, N., Avcu, F., Beyan, C., Ural, A. U., Kaptan, K., Ozyurt, M., Nevruz, O., Yalcin, A. (2001) *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 92, 166-169
- 26) Fernandes-Costa, F., van Tonder, S., Metz, J. (1985) A sex difference in serum cobalamin and transcobalamin levels. *Am. J. Clin. Nutr.*, 41, 784-786.
- 27) 渡辺敏明 (2002) ビオチン, ビタミン B₁₂, 葉酸の必要量. 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成 13 年度総括・分担研究報告書 (厚生科学研究費補助金 21 世紀型医療開拓推進研究事業) 72-76.
- 28) 渡辺文雄, 宮本恵美 (2003) 水溶性ビタミンの食事摂取基準の妥当性の検討ービタミン B₁₂ー, 日本人の水溶性ビタミン必要量に関する基礎的研究 平成 14 年度総括・分担研究報告書 (厚生科学研究費補助金 21 世紀型医療開拓推進研究事業), 66-84.
- 29) 井戸田正, 菅原牧裕, 矢賀部隆史, 佐藤則文, 前田忠男 (1996) 最近の日本人乳組成に関する全国調査 (第十報) ー水溶性ビタミン含量についてー日本小児栄養消化器病学会誌, 10, 11-20.
- 30) Trugo, N. M., Sardinha, F. (1994) Cobalamin and cobalamin-binding capacity in human milk. *Nutr. Res.*, 14, 22-33.
- 31) 財団法人日本食品分析センター編集 (2002) 分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説. pp.178-183, 中央法規, 東京
- 32) 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) 日本人の母乳中の水溶性ビタミン含量についての検討, ビタミン, 79, 573-581.
- 33) 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 womens. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 51, 239-247.
- 34) Areekul, S., Oumaum, K., Dougarn, J. (1977) Determination of vitamin B₁₂ and vitamin B₁₂-binding protein in human and cow's milk. *Mod. Med. Asia*, 13, 17-23.
- 35) Casterline, J. E., Allen, L. H., Ruel, M. T. (1997) Vitamin B₁₂ deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum. *J. Nutr.*, 127, 1966-1972.
- 36) Sandberg, D. P., Begley, J. A., Hall, C. A. (1981) The content, binding, and forms of vitamin B₁₂ in milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 1711-1724.
- 37) Arnaud, J., Cotisson, A., Meffre, G., Bourgeay-cause, M., Augert, C., Favier, A., Vuillez, J. P., Ville, G. (1994) Comparison of three commercial kits and a microbiological assay for the determination of vitamin B₁₂ in serum. *Scand. J. Clin. Invest.*, 54, 235-240.
- 38) 健康・栄養情報研究会 (1999) 第六次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準 第一出版社, 96-98.
- 39) 厚生労働省策定日本人の食事摂取基準 (2005 年版) (2005) 第一出版編集部, 96-99.
- 40) Vitamin B₁₂ (1998) In: *Dietary Reference*

- Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC, p 306-356.
- 41) Food and agriculture organization/world health organization (1988) Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B₁₂. FAO food and nutrition series No23, pp62-73.
- 42) Specker, B. L., Miller, D., Norman, E. J., Greene, H., Hayes, K. C. (1988) Increased urinary methylmalonic acid excretion in breast-fed infants of vegetarian mothers and identification of an acceptable dietary source of vitamin B₁₂. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, 89-92.
- 43) Donangelo, C. M., Trugo, N. M., Koury, J. C., Barreto Silva, M. I., Fretias, L. A., Feldheim, W., Barth, C. (1989) Iron, zinc, folate and vitamin B₁₂ nutritional status and milk composition of low-income Brazilian mothers. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 43, 253-266.
- 44) Luhby, A. L., Cooperman, J. M., Donnenfeld, A. M., Herrero, J. M., Teller, D. N., Wenig, J. B. (1958) Observations on transfer of vitamin B₁₂ from mother to fetus and newborn. *Am. J. Dis. Child*, 96, 532-533.
- 45) Darby, W. J., Bridgforth, E. B., Le Brocqy, J., Clark, S. L., De Oliviera, J. D., Kevany, J., McGanity, W. J., Perez, C. (1958) Vitamin B₁₂ requirement of adult man. *Am. J. Med.*, 25, 726-732.
- 46) Food and agriculture organization/world health organization (1988) Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B₁₂. FAO food and nutrition series No23, pp62-73
- 47) Amin, S., Spinks, T., Ranicar, A., Short, M. D., Hoffbrand, A. V. (1980) Long-term clearance of [57Co]cyanocobalamin in vegans and pernicious anaemia. *Clin. Sci.*, 58, 101-103.
- 48) Boddy, K., Adams, J. F. (1972) The long-term relationship between serum vitamin B₁₂ and total body vitamin B₁₂. *Am. J. Clin. Nutr.*, 25, 395-400.
- 49) Bozian, R. C., Ferguson, J. L., Heyssel, R. M., Meneely, G. R., Darby, W. J. (1963) Evidence concerning the human requirement for vitamin B₁₂. Use of the whole body counter for determination of absorption of vitamin B₁₂. *Am. J. Clin. Nutr.*, 12, 117-129.
- 50) Reizenstein, P., Ek, G., Matthews, C. M. (1966) Vitamin B₁₂ kinetics in man. Implications on total-body B₁₂ determinations, human requirements, and normal and pathological cellular B₁₂ uptake. *Phys. Med. Biol.*, 11, 295-306.
- 51) Adams, J. F., Tankel, H. I., MacEwan, F. (1970) Estimation of the total body vitamin B₁₂ in the live subject. *Clin. Sci.*, 39, 107-113.
- 52) Adams, J. F. (1962) The measurement of the total assayable vitamin B₁₂ in the body. In: *Vitamin B₁₂ and Intrinsic Factor* (Ed. by Heinrich, H. C.), pp397-403, Enke, Stuttgart.
- 53) 奥田邦雄 (1973) ビタミン B₁₂, 葉酸の腸肝循環. *代謝*, 10, 830-838.
- 54) 平岡真美, 安田和人 (2000) 女子大学生のビタミン B₁₂, 葉酸栄養状態について—血清ビタミン B₁₂, 葉酸濃度の分布範囲—. *ビ*

- タミン学会誌, 74, 271-280.
- 55) 健康・栄養情報研究会(2003)国民栄養の現状 平成13年度厚生労働省国民栄養調査結果, 第一出版, 68-82.
- 56) Scott, J. M. (1997) Bioavailability of vitamin B₁₂. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51 Suppl 1:S49-S53.
- 57) Bor, M. V., Olsen, E. L., Moller, J., Nexø, E. (2006) *Am. J. Clin. Nutr.*, 83, 52-58.
- 58) Howard JM, Azen C, Jacobsen DW, Green R, Carmel R. Dietary intake of cobalamin in elderly people who have abnormal serum cobalamin, methylmalonic acid and homocysteine levels. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:582-7.
- 59) Tucker KL, Rich S, Rosenberg I, et al. Plasma vitamin B-12 concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring study. *Am J Clin Nutr* 2000;71:514-22.
- 60) van Asselt DZ, de Groot LC, van Staveren WA, et al. Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr* 1998;68:328-34.
- 61) Fenech, M., Dreosti, I. E., Rinaldi, J. R. (1997) Folate, vitamin B₁₂, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men. *Carcinogenesis*, 18, 1329-1336.
- 62) Fenech, M. (2001) Recommended dietary allowance (RDAs) for genomic stability. *Mutation Res*, 480-481, 51-54.
- 63) Fenech, M. (2001) The role of folic acid and vitamin B₁₂ in genomic stability of human cells. *Mutation Res*, 475, 57-67.
- 64) Fenech, M., Aitken, C., Rinaldi, J. (1998) Folate, vitamin B₁₂, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis*, 19, 1163-1171.
- 65) 5訂日本食品標準成分表, 科学技術庁資源調査会編, 2000.
- 66) 安田和人 (2003) B群ビタミンの供給源とサプリメント. *ビタミン学会誌*, 77, 196-197.
- 67) Watanabe, F., Takenaka, S., Kittaka-Katsura, H., Ebara, S., Nakano, Y. (2002) Characterization and bioavailability of vitamin B₁₂-compounds from edible alga. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 48, 352-331.
- 68) Watanabe, F., Katsura, H., Takenaka, S., Fujita, T., Abe, K., Tamura, Y., Nakatsuka, T., Nakano, Y. (1999) Pseudovitamin B₁₂ is the predominate cobamide of an algal health food, spirulina tablets. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4736-4741.
- 69) E. Miyamoto, Y. Tanioka, T. Nakao, F. Barla, H. Inui, T. Fujita, F. Watanabe, Y. Nakano. (2006) Purification and characterization of a corrinoid-compound in an edible cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* as a nutritional supplementary food. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 9604-9607.
- 70) F. Watanabe, E. Miyamoto, T. Fujita, Y. Tanioka, Y. Nakano. (2006) Characterization of a corrinoid compound in the edible (blue-green) algae, *suizenji-nori*. (2006) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 3066-3068.
- 71) F. Watanabe, Y. Tanioka, E. Miyamoto, T. Fujita, H. Takenaka, Y. Nakano. Purification

- and characterization of corrinoid-compounds from the dried powder of an edible cyanobacterium, *Nostoc commune* (Ishikurage). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* in press.
- 72) Kittaka-Katsura, H., Fujita, T., Watanabe, F., Nakano, Y. (2002) Purification and characterization of a corrinoid-compound from chlorella tablets as an Algal Health Food. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4994-4997.
- 73) Watanabe, F., Takenaka, S., Katsura, H., Miyamoto, E., Abe, K., Tamura, Y., Nakatsuka, T., Nakano, Y. (2000) Characterization of a vitamin B₁₂ compound in the edible purple laver, *Porphyra yezoensis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64, 2712-2715.
- 74) Watanabe, F., Katsura, H., Miyamoto, E., Takenaka, S., Abe, K., Yamasaki, Y., Nakano, Y. (1999) Characterization of vitamin B₁₂ in an edible green laver (*Entromopha prolifera*). *Appl. Biol. Sci.*, 5, 99-107.
- 75) Takenaka S, Sugiyama S, Ebara S, Miyamoto E, Abe K, Tamura Y, Watanabe F, Tsuyama S, Nakano Y. (2001) Feeding dried purple laver (nori) to vitamin B₁₂-deficient rats significantly improves vitamin B₁₂ status. *Brit. J. Nutr.*, 85, 699-703.
- 76) 食肉の栄養成分と調理による変化 2 (牛・豚 6 部位+内臓の微量成分) 財団法人 日本食肉消費総合センター (平成 3 年度食肉消費改善総合対策事業)
- 77)西岡道子, 彼末富貴, 谷岡由梨, 宮本恵美, 渡辺文雄 (2006) カツオ魚肉のビタミン B₁₂ 含量と各種加熱調理が魚肉ビタミン B₁₂ 含量に及ぼす影響. *ビタミン*, 80, 507-511.
- 78) 渡邊智子, 鈴木亜夕帆, 荻原清和, 見目明継 (2002) 調理による成分変化を考慮した栄養価計算のための成分表. *日本栄養・食糧学会誌*, 55, 165-176.
- 79) Watanabe, F., Abe, K., Fujita, T., Goto, M., Hiemori, M., Nakano, Y. (1998) Effects of microwave heating on the loss of vitamin B₁₂ in foods. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 206-210.
- 80) Watanabe, F., Katsura, H., Abe, K., Nakano, Y. (2000) Effect of light-induced riboflavin degradation on the loss of cobalamin in milk. *J. Home Econ. Jpn.*, 51, 231-234.
- 81) Watanabe, F, Abe, K., Katsura, H., Takenaka, S., Zakir Hussain Mazumder, Yamaji, R., Ebara, S., Fujita, T., Tanimori, S., Kirihata, M., Nakano, Y. (1998) Biological activity of hydroxo-vitamin B₁₂ degradation product formed during microwave heating. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 5177-5180.