

平成 16 年度厚生労働科学研究費（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 滋賀県立大学 教授

Ⅲ. 分担研究者・研究協力者の報告書

13. ビタミン E 測定法に関する検討

分担研究者 玉井 浩 大阪医科大学 教授

研究要旨

生体試料中のビタミン E の測定方法を検討し、精度の高い方法に改良することができた.

A. 目的

食事摂取基準を設定するには、現代の日本人が摂取している食事のビタミン量を性格に測定する必要がある。これまで、種々検討されてきた方法を再度検討し、今後の検体測定を信頼あるものにすることが今年度の目的である。

B. 方法

(1) ビタミン E 測定方法

測定には HPLC を用いるが、検出には電気化学検出(ECD 法)、蛍光検出(蛍光法)、紫外外部吸光検出(UV 法)などが存在するため、それぞれ検討した。

血清からの抽出方法は、これまでの研究ではほぼ確立されていると考えられるため、代表的なものを図 1 に示した。また、HPLC による測定条件を表 1 に示し、細部の相違点を示している。

今回は測定項目として α -tocopherol を検査対象とした。

(2) 血清中の α -トコフェロール含量

ボランティア女性 54 名から空腹時に採血し、遠心分離後測定まで、血清を -20°C 以下で保存した。

上記の方法に従って、血清から α -tocopherol 抽出し、それぞれの方法に従って HPLC にて測定した。

C. 結果

表 2 に示すように、外部標準法では数値がやや高くなり、内部標準法を採用しているその他の方法では比較的近似する数値であった。

D. 考察

1 つのサンプルを 5 本に分け、別々に抽出し HPLC で測定した場合の再現性は 5 % 以内、1 つの抽出サンプルから 5 回 HPLC で測定した場合の再現性は 2 % 以内であった(データ省略)。

この条件のもとで行った結果、検出器として蛍光検出器を用いる方法と電気化学検出器を用いる方法との間の差は小さくなく、どちらを用いても問題はないと考えられた。

今後は、多数の母乳サンプルを入手する予定であり、上記方法を応用し、正確に抽出及び測定する予定である。これらから食事摂取基準策定のための乳児のビタミン E 摂取量を推測できると考えている。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

なし

表 1. 各施設のビタミン E 測定方法

方法	検出方法	内部標準物質	カラム	移動相	流速 ml/min
A	ECD 法	tocol	Capcell pak C18 (4.6 x 250 mm)	メタノール /H ₂ O-NaClO ₄ =1000/2/7 (v,v,w)	1.0
B	蛍光法 (Ex 298 nm, Em 325 nm)	PMC*	Unisil Q NH ₂ (4.6 x 250 mm)	n-ヘキサン/ イソプロパノール =98/2	1.0
C	蛍光法 (Ex 290 nm, Em 325 nm)	tocol	YMC-GEL A-600(NH ₂) (4.6 x 50 mm)	n-ヘキサン/ イソプロパノール =98/2	0.6
D	UV 法	-**			

*抽出後に PMC を添加

**絶対検量線法により計算

表 2. 血中ビタミン E 濃度

方法	血中濃度(n=54) (Mean±SD, µg/ml)
A	8.48±2.38
B	8.17±1.66
C	9.28±1.90
D	10.12±1.91

図 1.
ビタミン E 測定法

