

原 著

## エリソルビン酸とアスコルビン酸摂取後の尿中排泄経過

藤井俊子<sup>1)</sup> 緒方正名<sup>2)</sup>

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科<sup>1)</sup>

川崎医療福祉大学 医療福祉学部 医療福祉学科<sup>2)</sup>

(平成4年10月21日受理)

### Urinary Excretion of Erythorbic Acid and Ascorbic Acid After Administration of the Solution

**Toshiko FUJII<sup>1)</sup> and Masana OGATA<sup>2)</sup>**

*Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medical Professions*

*Kawasaki University of Medical Welfare<sup>1)</sup>*

*Kurasiki, 701-01, Japan*

*Department of Medical Welfare, Faculty of Medical Welfare*

*Kawasaki University of Medical Welfare<sup>2)</sup>*

*Kurasiki, 701-01, Japan*

*(Accepted Oct. 21, 1992)*

**Key words :** erythorbic acid (ErA), ascorbic acid (AsA), oral administration,  
urinary excretion, human subject

#### Abstract

There have been few papers reported on the determination of erythorbic acid (d-iso ascorbic acid, one of stereo isomers of L-ascorbic acid, ErA) excreted in human urine. In this paper, the urinary excretion rate of ErA and ascorbic acid (AsA) after the oral administration of both acids to human subjects was determined.

Six female volunteers were orally given ErA and AsA solutions simultaneously following two different doses of the acids, i. e., each 2 mg per kilogram body weight and 3 mg per kilogram body weight, respectively. Urinary excretion rate of ErA, AsA and creatinine was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) from the end of the administration until 10 hours later, at 2 hour intervals.

Results were obtained as follows :

1) The concentration of both acids attained a maximum in the 2~4 hours urine of the subjects and did not recover the predose level within 10 hours after administration following each dose.

2) At a dosage of 2 mg per kilogram body weight, the percentage of total dose recovered

of ErA and AsA excreted in the 0~8 hours urine of the subjects to the administered dose was computed to be 57% and 50%, respectively.

3) At a dosage of 3 mg per kilogram body weight, the percentage of total dose recovered of ErA and AsA excreted in the 0~8 hours urine of the subjects to the administered dose was computed to be 45% and 71%, respectively. The concentration and excretion rate of ErA in the 2~4 and 4~6 hours urine samples were significantly smaller than those of AsA ( $p<0.05$ ).

Based upon these findings, it is supposed that absorption and/or excretion of ErA is less than those of AsA.

## 要 約

エリソルビン酸 (ErA) とアスコルビン酸 (AsA) を女性ボランティア 6 人に体重 1 kg あたり各 2 mg ずつと各 3 mg ずつを水溶液にして同時に経口摂取させ、摂取後 2 時間おきに 10 時間後まで尿中の ErA と AsA の排泄速度を調べた。尿中の ErA と AsA およびクレアチニンは高速液体クロマトグラフィーにより測定し、以下の結果を得た。

①尿中の ErA と AsA の濃度は、2 mg 群、3 mg 群のいずれでも 2~4 時間尿で最大となり、その後徐々に減少するが 10 時間後も排泄は継続していた。

②2 mg 群における 0~8 時間尿の ErA と AsA の総排泄量を摂取量との比率で見ると、ErA が 57%、AsA が 50% で、両者に有意の差は認められなかった。

③3 mg 群における 0~8 時間尿の ErA と AsA の総排泄量を摂取量との比率で見ると、ErA が 45%、AsA が 71% で、ErA は AsA より有意に小さいことが認められた ( $p<0.01$ )。また、2~4 および 4~6 時間尿における ErA と AsA の濃度および排泄速度は、ErA は AsA に比して有意に小さかった ( $p<0.05$ )。

これらの結果から、ErA の吸収および/または排泄は AsA より遅延するものと思われた。

## 緒 言

エリソルビン酸 (Erythorbic acid, D-isoascorbic Acid, 以後、ErA と略す) は食品の酸化防止剤として使用が認められ、そのナトリウム塩はハムやソーセージなど種々の食品に比較的多く使用されている。ErA はアスコルビン酸 (L-Ascorbic acid, 以後、AsA と略す) の C 5 位のエピマーで、両者の物理的、化学的性質はよく似ているが、立体構造が異なることにより両者は生理的に差があると考えられている。これまでは ErA のビタミン C 効力はモルモットで AsA の約 1/20 程度<sup>1)</sup> といわれ、最近では、1/20 よりかなり高いという報告<sup>2)</sup> もある。しかしながら、両者の生理的な差異、たとえば、ヒトでの体内動態などは不明である。今回は、ErA の体内動態調査の手はじめとして、健康な

20 代の女性ボランティアに ErA と AsA を同時に水溶液にして摂取させ、摂取後一定時間ごとに尿中への排泄量を測定した。

## 方 法

### 1. 摂取実験

(1) 対象：被験者は健康な 20 代の女性ボランティア 6 人である。ErA および AsA を体重 1 kg あたり 2 mg および 3 mg ずつ摂取することについて説明し、同意 (Informed consent) を得た後、研究を行う。実験群は、2 mg 群：体重 1 kg あたり ErA, AsA 各 2 mg ずつを同時に摂取する、3 mg 群：体重 1 kg あたり ErA, AsA 各 3 mg ずつを同時に摂取する、の 2 群とする。

(2) 摂取方法：各摂取群ごとに実験日を定め、実験日の朝、所定量の ErA および AsA の粉末を約 200 ml の水に溶解して摂取する。摂取前日の

午後からは ErA や AsA を含むと記載された食品を食べないように、また、実験当日の昼食と夕食も ErA や AsA を含むものを食べないように注意する。

(3) 採尿方法：摂取時から2時間おきに10時間まで採尿する。採尿時には、尿の量と尿比重を記録する。

(4) 尿試料：尿は採尿後ただちに5%メタリン酸溶液で20~100倍に希釈し、これを5℃で遠心分離(3,000 r. p. m.)後、上清を分析用試料とする。

## 2. 試薬

エリソルビン酸(D-isoascorbic acid)、アスコルビン酸(L(+)-Ascorbic acid)、クレアチニン、メタリン酸、リン酸、トリエタノールアンモニウムは試薬特級を、アセトニトリルはHPLC用を使用する。

## 3. 高速液体クロマトグラフ法(以後、HPLCと略す)

分析装置およびHPLCの条件は前報<sup>3)</sup>に準じ、以下のとおりである。

高速液体クロマトグラフ：島津LC-9A、検出器：島津SPD-6A、記録計：島津Chromatopac C-R4A、脱気装置：島津DGU-4A、カラム：ポリマー系アミノカラム(Asahipak NH2P-50, 4.6mm I.D.×250mm L., 旭化成工業株式会社製)、流速：1.0ml/min、測定波長：245nm、移動相：[100mMリン酸緩衝液(pH2.2)：アセトニトリル=1：4]、試料注入量：20  $\mu$ l、カラム温度：40℃

## 4. 排泄経過の測定法

ErA, AsA およびクレアチニンの標準溶液を用いて検量線を作成し、尿中の ErA, AsA およびクレアチニン量を各検量線により定量する。尿中 ErA と AsA の排泄経過は、(1) 排泄濃度(mg/l, 実測値)、(2) 排泄量(mg, 排泄濃度×尿量)、(3) 排泄速度(mg/hr, 排泄量/経過時間)、(4) 排泄比率(%、排泄量/摂取量×100)、(5) 比重補正濃度[排泄濃度を尿比重(1.020)で補正]、(6) クレアチニン補正濃度[排泄濃度をクレアチニン量で補正(g/g creatinine)]、ErA, AsA の排泄量/クレアチニンの排泄量の6つの指標を用いる。

ErA と AsA の尿中排泄の差の検定は、二標本の平均値の差異についてt検定により行う。

## 結 果

### 1. HPLC クロマトグラム

Fig. 1(a)に ErA, AsA 摂取後の尿、(b)に ErA, AsA, クレアチニンの標準溶液の HPLC クロマトグラムを示す。この条件では、標準溶液のリテンションタイムは、ErA が7.5分、AsA が9.1分、クレアチニンが18.8分であった。ErA と AsA を摂取後の尿には ErA と AsA のピークが認められた。

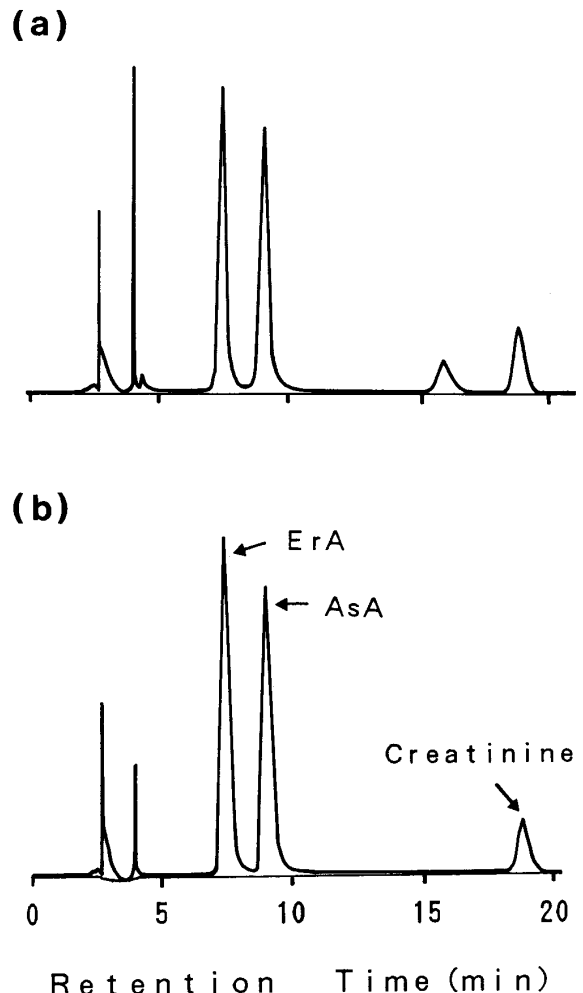


Fig. 1 High performance liquid chromatograms

(a) The urine of a subject given a solution containing erythorbic acid (ErA) and ascorbic acid (AsA). (b) A standard solution of authentic ErA, AsA and creatinine.

## 2. 尿中の ErA, AsA の排泄経過

Table 1 に尿中の ErA, AsA の排泄濃度(実測値, 比重補正值), 排泄速度および摂取量に対する尿中総排泄比率〔被験者ごとに摂取後 8 時間までの尿中の ErA と AsA の総排泄量を摂取量で除したもの〕を示し, Fig. 2 に排泄濃度をクレアチニン補正濃度で示した. ErA, AsA の尿中排泄は 2 mg 群, 3 mg 群ともに, 2~4 時間尿が最大となり, その後徐々に減少するが摂取 10 時間後も排泄が継続していた. また, ErA と AsA の排泄濃度および速度について平均値の差の検定を行った結果, 2 mg 群では差がほとんど認められないが, 3 mg 群では ErA の排泄が AsA よりも少なく, とくに 2~4, および 4~6 時間尿では有意に少ないことが認められた. 摂取量に対する尿中総排泄比率についても, 摂取後 8 時間の範囲で 3 mg 群では ErA は AsA よりも有意に少なく, 2 mg 群では両者の差がほとんどないことが認められた. クレアチニン補正濃度

の場合も上記と同様の傾向が認められた. また, 比重補正およびクレアチニン補正では実測濃度より標準偏差が小さい傾向が認められた.

## 考 察

現在, ErA は人体に比較的毒性の少ない化学物質であるとされ, ひろく酸化防止剤(食品添加物)として用いられているため, ヒトにおける代謝等を究明することが必要である. 一方, AsA は酸化防止剤として用いられているほか, ビタミン C 強化剤としてもひろく利用されている<sup>4)</sup>. これまでヒトにおける AsA の尿中への排泄についてはしばしば報告されているが, S. YUNG ら<sup>5)</sup> は AsA の粉末 1 g を水溶液やカプセル等数種の形態でヒトに摂取させた実験で, 水溶液の場合には AsA の尿中排泄率は摂取量の  $32.1 \pm 16.6\%$  と報告している. この値に比べて本結果の AsA の値は若干高い. これは本研究では AsA の摂取量が S. YUNG らの摂取量 (1,000mg)

Table 1 Urinary Excretion of Erythorbic acid and Ascorbic acid from Subjects

Urine sample	Observed concentration* <sup>1</sup> (mg/ℓ)		Concentration adjusted for specific gravity* <sup>2</sup> (mg/ℓ)		Excretion rate* <sup>3</sup> (mg/hr)			Percentage of dose recovered* <sup>4</sup> (%)		
	ErA	t* <sup>5</sup> AsA	ErA	t AsA	ErA	t	AsA	ErA	t	AsA
(a)										
0~2 (hrs)	162±125	100±66	143±69	96±44	4.7±1.9	3.7±2.7		56.6±19.8	50.0±27.9	
2~4 (hrs)	349±228	302±175	256±118	234±90	9.7±3.3	9.2±3.3				
4~6 (hrs)	292±175	176±91	240±90	150±48	9.3±1.8	5.9±1.2				
6~8 (hrs)	198±137	233±181	163±87	178±101	7.0±4.1	8.2±7.1				
8~10 (hrs)	136±67	99±68	110±33	76±33	5.2±2.0	3.7±2.0				
(b)										
0~2 (hrs)	157±95	206±139	126±75	194±128	5.6±4.0	8.3±6.1		44.8±21.1	71.2±24.4	
2~4 (hrs)	273±158 *	480±290	274±145 **	534±304	13.6±7.9 **	24.8±13.2				
4~6 (hrs)	193±101 **	309±161	187±44 **	316±73	7.6±1.4 **	12.3±2.9				
6~8 (hrs)	126±83	184±183	143±63	200±113	5.9±2.5	8.1±4.0				
8~10 (hrs)* <sup>6</sup>	111±119	155±151	105±64	155±66	3.7±1.1	5.7±0.5				

(a) A dosage of the solution containing each 2 mg per kilogram body weight of both erythorbic acid (ErA) and ascorbic acid (AsA).

(b) A dosage of the solution containing each 3 mg per kilogram body weight of both erythorbic acid (ErA) and ascorbic acid (AsA). The number of subjects was six. Urinary excretion of ErA and AsA is expressed as mean ± SD.

The urine samples are collected for 10 hrs after administration, and figures of the left side of parentheses ( ) indicate the period of collection of individual samples.

\*<sup>1</sup>: The measured concentration of urinary ErA and AsA (mg/ℓ)

\*<sup>2</sup>: The concentration of urinary ErA and AsA adjusted for specific gravity (g/ℓ)

$$= \text{The measured concentration of urinary ErA and AsA} \times \frac{1.020-1}{d-1}$$

[where: d = the measured specific gravity, 1.020 = the mean level of specific gravity in urine of adults<sup>8),9)</sup>]

\*<sup>3</sup>: Excretion rate (mg/hr) =  $\frac{\text{The volume of urine (mℓ)} \times \text{The measured concentration of urinary ErA and AsA (mg/mℓ)}}{\text{The elapsed time during which the urine was collected (hrs)}}$

\*<sup>4</sup>: The percentage of the dose recovered in the 0~8 hours urine.

\*<sup>5</sup>: t test between urinary excretion of ErA and AsA. \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01

\*<sup>6</sup>: n = 2

よりかなり少ないためであろうと思われるが摂取量の差により尿中排泄率に差があるかどうかについては、今後さらに調べる必要があると思われる。

ErA の体内動態については、Hornig ら<sup>6)</sup> はモルモットに ErA と AsA を同時に投与した場合、AsA のビタミン C としての能力が減少したと報告し、鈴木ら<sup>7)</sup> はモルモットの小腸灌流法を用いた吸収実験で小腸での ErA と AsA の吸収は相互に阻害すると報告している。これらは動物実験の成績であるが、ヒトによる本研究成績では、3 mg 群の ErA の尿中排泄は AsA よりも有意に少ないことなどから、摂取量によっては ErA の尿中排泄は AsA より遅れることがあるものと考

えられ、ヒトにおいても ErA と AsA の吸収および/または排泄は、相互に阻害する可能性が推測された。

つぎに、ErA および AsA の尿中排泄濃度は、尿比重および尿中クレアチニン量で補正すると、実測濃度に比べて標準偏差が小さくなる傾向が見られたが、産業衛生分野における生物学的モニタリング用の尿試料の場合においてもクレアチニン補正が有効であると報告<sup>8),9)</sup> されているので、尿中 ErA, AsA およびクレアチニンの同時測定を能率化するためにクレアチニンのリテンションタイムをさらに早めるように HPLC の条件を検討したい。

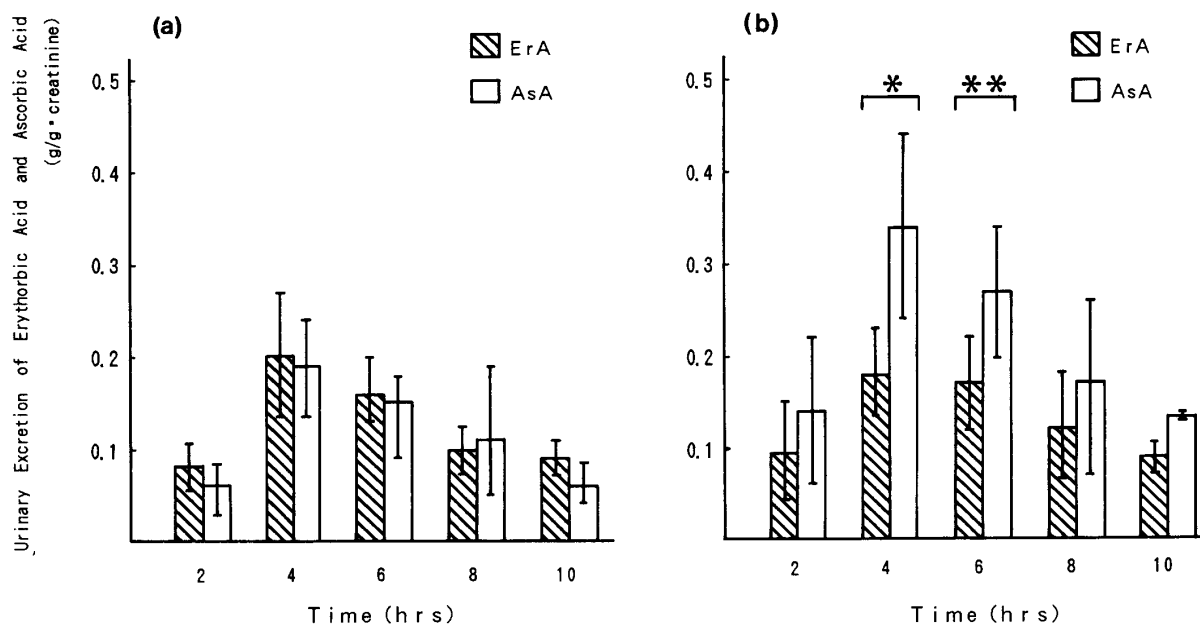


Fig. 2 Time course of urinary erythorbic acid (ErA) and ascorbic acid (AsA) excretion  
(a) A dosage of the solution containing each 2 mg per kilogram body weight of ErA and AsA.  
(b) A dosage of the solution containing each 3 mg per kilogram body weight of ErA and AsA.  
The concentration <sup>\*1</sup> of urinary erythorbic acid (ErA) and ascorbic acid (AsA) normalized with respect to creatinine following two different doses of the acids was determined (mean value and standard deviation represented by vertical bars).

<sup>\*1</sup>: The concentration of urinary ErA and AsA normalized with respect to creatinine (g/g · creatinine) = The measured concentration of urinary ErA or AsA (g/ℓ) / The measured concentration of urinary creatinine (g/ℓ)

\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01

## 文 献

- 1) Fabianek J and Herp A (1967) Antiscorbutic Activity of D-Araboascorbic Acid. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **125**(2), 462—465.
- 2) 鈴木恵美子 (1991) 食品添加物エリソルビン酸のビタミン C 効果と体内動態に関する研究. 第45回日本栄養・

食糧学会総会講演要旨集, 10.

- 3) 藤井俊子, 武政睦子 (1991) 食品中のアスコルビン酸とエリスルビン酸の高速液体クロマトグラフ法による分離定量. 川崎医療短期大学紀要, **11**, 25—30.
- 4) 谷村顕雄編 (1992) 食品中の食品添加物分析法解説書, 初版, 講談社, 東京, pp77.
- 5) Yung S, Mayersohn M and Robinson JB (1982) Ascorbic Acid Absorption in Humans : A Comparison Among Several Dosage Forms. *Journal Pharmaceutical Science*, **71**(3), 282—285.
- 6) Hornig D, Weber F and Wiss O (1974), Influence of Erythorbic Acid on the Vitamin C Status in Guinea-Pigs. *Experientia*, **30**(2), 173—174.
- 7) Suzuki E, Kurata T, Koda M and Arakawa N (1988) Effect of Graded Doses of Erythorbic Acid on Activities of Drug Metabolic Enzyme and Phosphatases in Guinea Pigs. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, **34**, 439—447.
- 8) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1989) Documentation of the Biological Exposure Indices for 1987—1989, pp. 11~13, 29~33, 35~39, 47~49, ACGIH Inc., Ohio.
- 9) Ogata M and Taguchi T (1988) Simultaneous Determination of Urinary Creatinine and Metabolites of Toluene, Xylene, Styrene, Ethylbenzene and Phenol by Automated High Performance Liquid Chromatography. *International Arcives of Occupational and Environmental Health*, **11**, 131—140.