

— 論文 —

## ニンジンジュース連続飲用 によるカロテノイドの体内蓄積と排泄

清水 史子 小川 睦美 福場 博保

Accumulation and excretion of carotenoids  
after continual ingestion of carrot juice in human subjects

Fumiko Shimizu Mutsumi Ogawa Hiroyasu Fukuba

Dietary carotenoids are absorbed from the digestive tract and distributed in tissues and fluids in the body. However, little is yet known on their absorption and metabolism. The purpose of this study was to investigate the absorption and excretion of carotenoids in human after continual ingestion of carrot juice. In this study, we used carrot juice as sample because carrot juice is the best  $\beta$ -carotene source as human food. Seven healthy female subjects were ingested 2 cans of carrot juice per day for 2 weeks. The concentration of carotenoids ( $\beta$ -carotene, lycopene, xanthophyll) and retinol in human serum and feces were measured before and after continual ingestion. Serum  $\beta$ -carotene level after ingestion was very high level, but it decreased smoothly over 3 weeks. This suggests that continual ingestion of carrot juice was effective for the accumulation of serum  $\beta$ -carotene. In the case of fecal  $\beta$ -carotene level, the content was increased significantly and fecal lycopene level also increased a little. From this result, carotenoids interaction was observed between  $\beta$ -carotene and lycopene. Probably, because of the rapid increase internal  $\beta$ -carotene level when the subjects ingested carrot juice, accumulating lycopene would be squeezed out of the body.

### 緒言

カロテノイドは植物や微生物体内で合成され、フィトエンを代謝的出発物質とし、不飽和化、分子両端の環化、ヒドロキシル化などによって生じる約600種の誘導体が知られている<sup>1), 2)</sup>。近年、カロテノイドは、プロビタミン作用だけでなく、ガン細胞の増殖抑制作用やコレステロール生合成調節作用などを有することが認められ、カロテノイド自身の生理活性に注目が高まっている<sup>3)</sup>。ヒトはカロテノイドを合成することがで

きないため、緑黄色野菜をはじめとする様々な食品より摂取し、体内に蓄積している。現在までにカロテノイドの体内動態については多くの投与実験が行われ<sup>4)</sup>、特に体内吸収においては、摂取時の条件（タンパク質の存在、油脂の存在、存在形態）が大きく関与する<sup>5)</sup>ことが血液レベルで明らかにされている。 $\beta$ -カロテンの吸収に関しては、細片化したものは吸収がよいという報告<sup>6), 7), 8)</sup>や、 $\beta$ -カロテンを多く含むニンジンの加工食品であるニンジンジュースを飲用

したところ、血清中 $\beta$ -カロテンレベルを速やかに上昇させたという報告もある<sup>9),10)</sup>。ヒトにおけるカロテノイドの体内蓄積に関しては、日常生活でのカロテノイド摂取が大きく関係している。また、カロテノイドの摂取方法が、単独投与であるか、複数のカロテノイドを同時に投与するのにかにより、カロテノイド間の競合も起こることも考えられる。しかしこれまでの研究は、血液レベルでの報告が多くあるのに対し、消化吸収残渣である糞便に関しては研究がなされていない。

そこで、本研究では $\beta$ -カロテンを多く含有するニンジンジュースを飲むことで、 $\beta$ -カロテンの吸収と排泄状況、また $\beta$ -カロテン投与による他のカロテノイドへの影響を、血清中及び消化吸収残渣である糞便中より検討することを目的とした。併せて $\beta$ -カロテンが開裂して生じるビタミンA (レチノール) についても報告することとした。

## 試験方法

### 1. 飲用試験

#### 1.1 被験者

被験者は、S女子大に所属する学生、助手、教員合計7名とした。被験者の性別、年齢、身長、体重はTable 1に示した通りである。この被験者は全員喫煙、飲酒の習慣はなく、試験期間中も禁酒、喫煙とした。

#### 1.2 実施計画

飲用試験に用いたジュースは市販のカゴメ(株)製ニンジンジュース(商品名:キャロットジュース、内容量:160g)で、カロテノイド含有量は表示値(Table 2)では、1缶あたり4.6mgであった。HPLC分析による実測値は1缶あたり $4.7 \pm 0.1$ mgであった。被験者はこのジュースを朝夕食時に各1本ずつ、1日あたり計2本飲用し、14日間摂取した。 $\beta$ -カロテン量とし

て1日あたり9.2mgの摂取であった。被験者は飲用試験開始前日と、飲用終了翌日及び飲用終了3週間を経た日の計3回、採血と糞便の採取、提出の協力を求められた。なお採血は医師により行われた。

### 1.3 倫理的原則の遵守

飲用試験の実施にあたり、被験者には実験の趣旨を十分に説明し、またいつでも試験の参加を取りやめる、または中止することができることを説明したうえで、本人から文書による同意を得た。本研究はヘルシンキ宣言の倫理的原則に則って実施した。この試験は昭和女子大学倫理委員会で承認を得て実施した(承認番号:昭和女子大98-03)。

Table 1 Characteristics of the subjects.

Sex	Female
Number	7
Age (years)	24.6 $\pm$ 5.7
Weight (kg)	47.2 $\pm$ 5.7
Height (cm)	154.7 $\pm$ 5.9

The values are mean $\pm$ SD.

Table 2 Nutrients content of test juice.

Nutrients	Carrot juice	
	1can (160 g)	100 g
Energy (kcal)	78	30
Protein (g)	1	0.6
Crude fat (g)	trace	trace
Carbohydrate (g)	11	6.9
Calcium (mg)	24	15
Sodium (mg)	29	18
Potassium (mg)	460	288
Dietary fiber (g)	0.3	0.2
$\beta$ -Carotene (mg)	4.6	2.9
Lycopene (mg)	N.D.	N.D.

## 2. 血清の測定

### 2.1 血清の調製

採血後の全血は室温にて、1時間放置後、遠心分離(3000rpm×10分)により上清として血清を得た。血清は直ちに分取し、遮光下、-80℃で急速凍結させた後、分析するまで-20℃で保存した。

### 2.2 血清中のカロテノイドおよびレチノール分析

ヒト血清からのカロテノイド抽出はFig. 1に示すとおり行った<sup>11)</sup>。分析はHPLC法(島津製作所製、送液ユニットLC-6A, システムコントローラーSCL-6B, 紫外-可視分光光度計検出器SPD-6AV, クロマトパックCR-3A, 分光蛍光HPLCモニターRF-535, クロマトパックC-R1A)を用いた。分析カラムはInertsil ODS-2(φ6.0×150mm GLサイエンス社製), 展開溶液にはアセトニトリル:エタノール=3:2(v/v)を用い, 流速2 mL/min, 温度20℃にて分析を行った。カロテノイドの検出には450nmの可視吸収を用い, レチノールの検出は蛍光(Ex 340 nm, Em 460nm)にて行った。

検出されたピークは, 標品の標準保持時間と

の比較により同定を行った。また, 定量計算には外部標準法を用いた。標品はキサントフィル, β-カロテン, リコペン(SIGMA社製), β-アポ-8'-カロテナール(Fluka Biochemika社製)を用いた。血清中の各濃度はそれぞれ標品を用いて作成した検量線に従って求めた。

なお, すべての操作はカロテノイドの変化を避けるため, 照明を暗くした室温20℃, 湿度55%の恒温恒湿室で行った。

## 3. 糞便の測定

### 3.1 糞便の採取

糞便はポリ袋に採取し, 直ちに脱酸素剤を入れたジッパー付ラミネート袋に入れ, 嫌気冷蔵の状態にて採取後24時間以内に提出してもらった。提出された糞便は直ちに全重量とpHを測定し, 5gずつ水分測定用, カロテノイド測定用に分取し, 窒素充填後, 遮光下-80℃で急速凍結させた後, 分析するまで-20℃で保存した。

### 3.2 糞便中カロテノイドおよびレチノール分析

冷凍保存しておいた糞便を室温で解冻し, Fig. 2に示す方法でカロテノイド抽出を行った。抽出乾固物に窒素を充填し, HPLC法による分

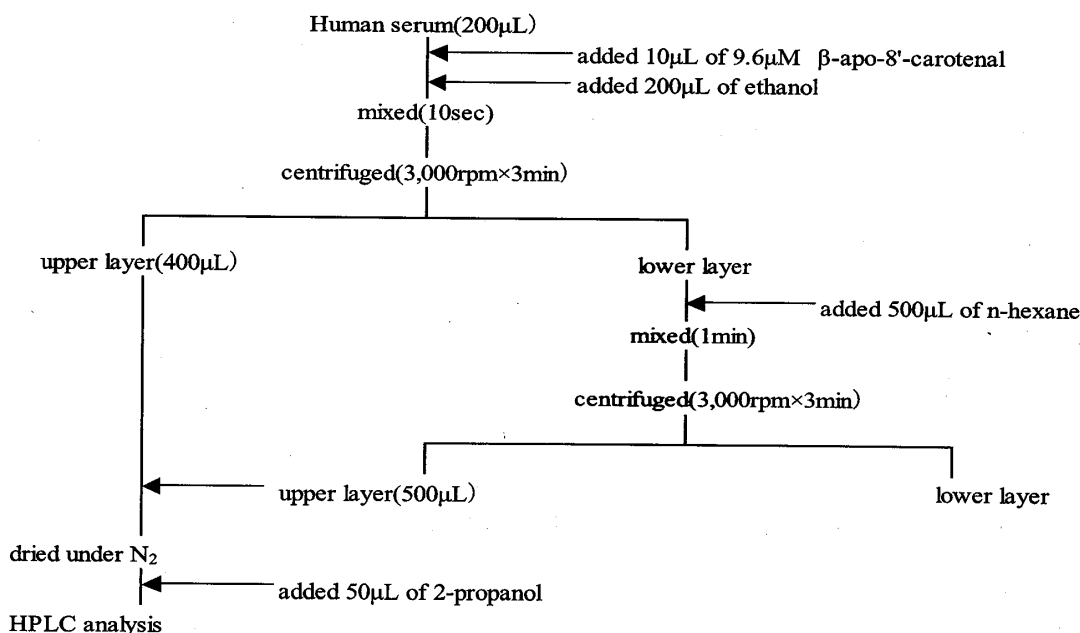


Figure 1 Extraction procedure of carotenoids and retinoids from human serum.

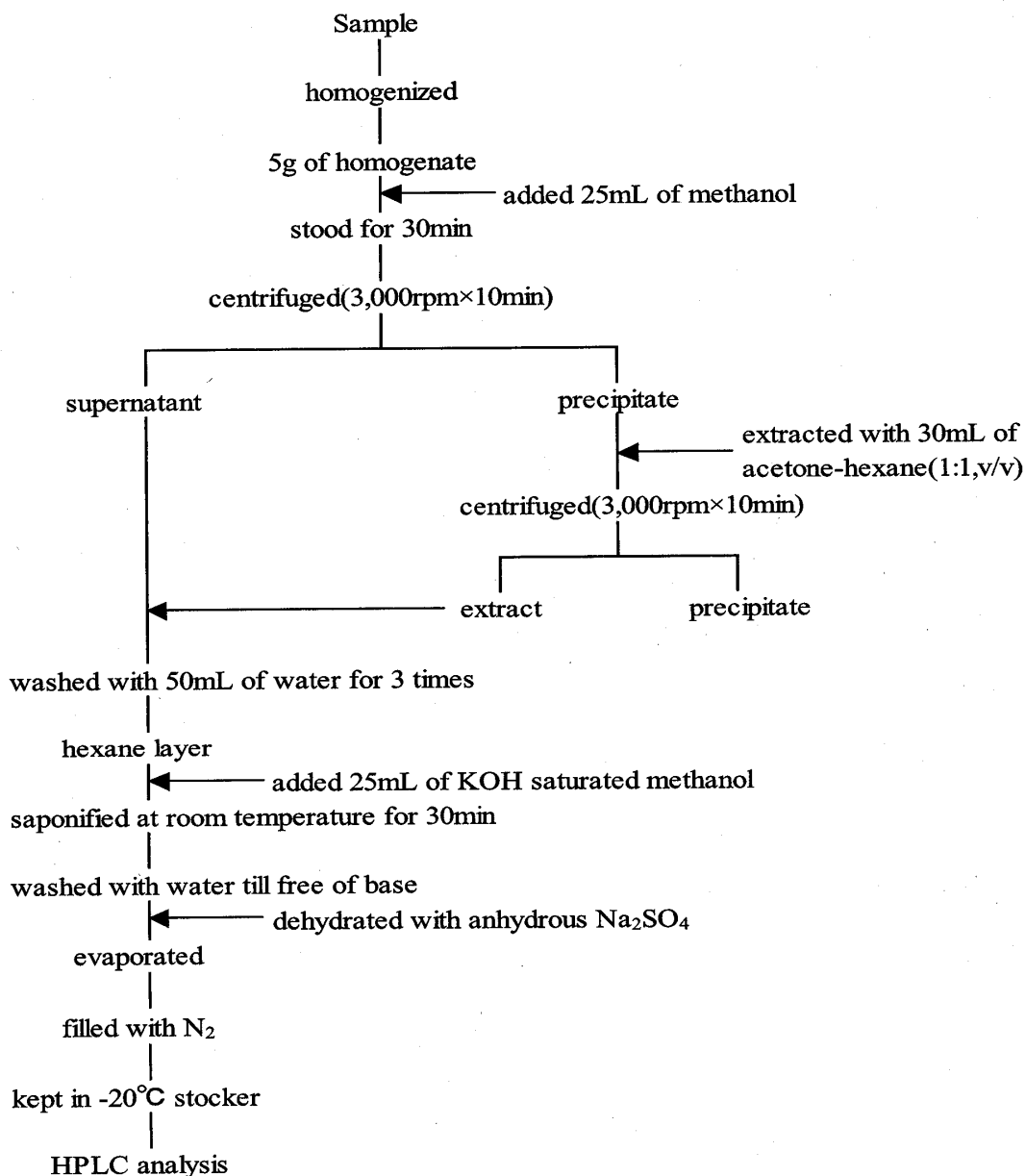


Figure 2 Extraction procedure of carotenoids and retinoids from feces.

析時まで、 $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。分析は2.2同様の条件下で行った。

### 3.3 糞便中水分含有量測定

糞便中の水分含有量(%)は、減圧乾燥法を用いて測定した。

## 4. 統計処理

データはすべて平均値±標準偏差で示した。各測定項目の統計処理は、ジュース連続飲用前に対する飲用終了直後、および飲用終了3週間後の差の検定、さらにジュース飲用終了直後と

飲用終了3週間後の差の検定を、ウィルコクソン符号付順位和検定により行った。統計処理は5%を有意水準とし、統計処理ソフトとしてStat View(5.0)を使用した。

## 実験結果

### 1. 血清分析

ジュース連続飲用前、飲用終了直後、飲用終了3週間後の血清中カロテノイド及びレチノール濃度の変化をTable 3に示した。 $\beta$ -カロテ

Table 3 Change of serum carotenoids and retinol levels before and after carrot juice ingestion. ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )

	I	II	III
$\beta$ -carotene	43.70 $\pm$ 28.53	142.12 $\pm$ 41.30*	89.15 $\pm$ 32.44* <sup>a</sup>
lycopene	65.83 $\pm$ 33.68	97.98 $\pm$ 41.93*	93.89 $\pm$ 39.13
xanthophyll	66.89 $\pm$ 36.62	66.31 $\pm$ 12.25	69.28 $\pm$ 12.89
retinol	60.65 $\pm$ 39.76	63.69 $\pm$ 21.56	22.37 $\pm$ 56.71* <sup>a</sup>

The values are mean  $\pm$ SD. I: before ingestion. II: after ingestion. III: 3weeks after ingestion.

\*: Significantly difference from before ingestion ( $p < 0.05$ ).

a: Significantly difference from after ingestion ( $p < 0.05$ ).

Table 4 Changes of fecal condition before and after carrot juice ingestion

	I	II	III
facal weight (g)	93.60 $\pm$ 91.13	103.50 $\pm$ 43.62	108.05 $\pm$ 40.63
facal moisture (%)	58.89 $\pm$ 23.92	68.79 $\pm$ 8.17	74.03 $\pm$ 6.52
facal pH	6.80 $\pm$ 0.08	6.59 $\pm$ 0.12	6.81 $\pm$ 0.45

The values are mean  $\pm$ SD. I: before ingestion. II: after ingestion. III: 3weeks after ingestion.

ンは飲用前に43.70 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であるのに対し、飲用終了直後では142.12 $\mu\text{g}/\text{dL}$ と3倍以上有意に上昇した。飲用終了3週間後には、速やかに減少した。リコペンは飲用終了直後に、有意に上昇し、さらに飲用終了3週間後では、飲用終了直後と比較しても有意差はなく、高い値を保っていた。キサントフィルは試験期間中を通して大きな変動は見られなかった。レチノールは飲用前、飲用終了直後では変化が見られなかったが、飲用終了3週間後では、有意に減少した。

## 2. 糞便分析

試験期間中の糞便重量、水分含有量、pHは試験期間中を通して変化がなかった (Table 4)。糞便中のカロテノイドおよびレチノール測定の結果をTable 5に示した。飲用前に対し飲用直後は、 $\beta$ -カロテンは15.86 $\mu\text{g}/\text{g}$ から57.83 $\mu\text{g}/\text{g}$ と有意に増加し、リコペンは、13.55 $\mu\text{g}/\text{g}$ から29.15 $\mu\text{g}/\text{g}$ と上昇傾向を示した。 $\beta$ -カロテン、

リコペンとも飲用終了3週間後では、飲用前のレベルまで減少した。キサントフィルは、試験期間中、多くとも0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ と非常に少ない排泄量であり、変動も見られなかった。レチノールの排泄量は、ニンジンジュース飲用によって増加することはなかった。

## 考 察

カロテノイドは今日、プロビタミンAとしての機能ばかりでなく抗酸化機能<sup>12)</sup>が注目され、生体内のカロテノイド分布と疾病への影響など様々な研究が行われている<sup>13)</sup>。哺乳動物体内に見られるカロテノイドは、食物連鎖による植物および微生物体内のカロテノイドに由来している。しかしカロテノイドの体内蓄積および生理活性に関しては不明な点が多く、ヒト血中カロテノイドについての検討は多くなされているが、消化吸収および腸内微生物の代謝をうけている

Table 5 Change of feces carotenoids and retinol levels before and after carrot juice ingestion. ( $\mu\text{g/g}$ )

	I	II	III
$\beta$ -carotene	15.86 $\pm$ 3.36	57.83 $\pm$ 26.83*	16.55 $\pm$ 12.08*
lycopene	13.55 $\pm$ 9.56	29.15 $\pm$ 18.48*	19.82 $\pm$ 23.77*
xanthophyll	0.04 $\pm$ 0.09	0.05 $\pm$ 0.14	N.D.
retinol	4.43 $\pm$ 3.18	1.82 $\pm$ 1.76	0.41 $\pm$ 1.00

The values are mean  $\pm$ SD. I :before ingestion. II :after ingestion. III:3weeks after ingestion.

\* : Significantly difference from before ingestion ( $p < 0.05$ ).

a: Significantly difference from after ingestion ( $p < 0.05$ ).

糞便に関する報告はほとんどない。そこで今回我々は日常生活において、 $\beta$ -カロテンを手軽に摂取することが可能なニンジンジュースを14日間飲用し、飲用前後の血清中および糞便中より、体内に存在する主なカロテノイドの体内蓄積と排泄状況を調査した。

血清分析において、 $\beta$ -カロテンの摂取量は9.2mgと許容上限程度の摂取であったにもかかわらず、ジュース飲用終了直後の血清中 $\beta$ -カロテン値は飲用前の3倍以上、有意に上昇した。この結果はKimら<sup>9)</sup>、坂本ら<sup>10)</sup>の報告と同様の結果を得、ニンジンジュース飲用により $\beta$ -カロテンの体内蓄積が上昇したことが示唆された。その理由として、ジュース形態が大きく関係していると思われる。ジュースの製造工程において、野菜組織の機械的破壊により、クロロプラストやクロモプラストなどの細胞内器官に存在する $\beta$ -カロテンが液部へ露呈し、摂取後の小腸内での複合ミセルへの組み込みが容易になり、小腸粘膜上皮細胞内への取り込みが向上<sup>6), 7), 8)</sup>したためと考えられた。また食事と一緒に摂取したため、食事の油脂の存在によって、吸収率が向上<sup>5)</sup>したと考えられた。ジュース飲用を終了し、通常生活に戻ってから3週間経過すると、飲用終了直後と比較して数値は低下し、血清中 $\beta$ -カロテンは日頃の食生活や食習慣が反映するものと考えられた。

ニンジンジュース中のカロテノイドを測定し

たところ、 $\alpha$ -カロテン、 $\beta$ -カロテンは含有されているものの、リコペンは検出限界以下であった。従って、飲用終了直後の血清中リコペン上昇は、試験中の厳密な食事制限を行わなかったため、食事に含まれるリコペンが吸収され、血清中濃度に反映したと考えられた。リコペンを含有する食品は、トマト、トマト加工食品、スイカ、グレープフルーツ(ルビー)などと限られているが、特にトマトピューレやケチャップ、ピザソースなどのトマト加工食品は、日常の食事度々使用されることがあり、使用量が20~30gの少量でも、約3~10mgのリコペンを含む<sup>14)</sup>ため、被験者の食事にリコペンが存在していることを否定できない。さらに $\beta$ -カロテンはリコペンの吸収を促進する<sup>15)</sup>という報告もあることから、ニンジンジュース中の $\beta$ -カロテンが食事由来リコペンの吸収を促進したと考察した。

血清中キサントフィルは試験期間中を通して大きな変動を示さなかったことから、 $\beta$ -カロテン投与はキサントフィルの体内蓄積への影響がないことを示唆していると判断した。

プロビタミンAである $\beta$ -カロテンを多く含むニンジンジュースを摂取することによる、体内蓄積レチノールへの影響も同時に観察したが、坂本ら<sup>10)</sup>の報告と同様、血清中レチノール値は大きな変動を示さなかった。小腸粘膜上皮細胞内に存在する $\beta$ -カロテン中央開裂酵素は細胞

内に取り込まれた $\beta$ -カロテン量が増加するに伴い、その活性を低下させること、さらに血中レチノールはレチノール結合タンパク(以下RBP)を中心とする輸送系によりほぼ一定の値を維持されている<sup>13)</sup>ことが考えられた。しかし、飲用終了3週間後において血清中レチノールが減少しており、ジュース飲用に伴う体内蓄積 $\beta$ -カロテン量の増加が血清中レチノールに負の影響を及ぼしたのか、またはRBPの低下による、レチノールの血中輸送が障害されたことによるものなのか検討するまでにいたらなかった。飲用終了3週間後までの血清カロテノイドおよびレチノールの経時変化も観察する必要があった。

糞便分析において、ニンジンジュース飲用前と比較し、ジュース飲用終了直後において $\beta$ -カロテン、リコペンが有意な増加を示した。被験者に試験期間中の排泄について尋ねたところ、ほぼ1日に1回、あるいは2日に1回程度の排泄があったという回答を得た。さらに食物摂取から排泄までの消化管通過時間は約24~72時間<sup>16)</sup>であることから、ジュース飲用終了直後の糞便中 $\beta$ -カロテンの増加は、ジュース中に含まれる $\beta$ -カロテンのうち、小腸より吸収されなかった残渣が糞便中に排泄されたものと示唆された。またニンジンジュース飲用終了直後のリコペンの増加は、ニンジンジュース中にはリコペンが含有されていないため、ニンジンジュース由来でないことが明らかであった。Duringら<sup>17)</sup>は、ヒト結腸ガン由来Caco-2細胞によるカロテノイドの吸収取り込み試験において、 $\beta$ -カロテンとリコペンはそれぞれの吸収において負の相互作用を見出している。一方で $\beta$ -カロテンはリコペンの吸収を改善する<sup>15)</sup>、またリコペンは $\beta$ -カロテンの吸収に明白な影響を与えない<sup>18)</sup>という矛盾した報告もある。このように $\beta$ -カロテンとリコペンの体内吸収、蓄積に関しては、現段階では不明な点が多い。今回我々の試験に

においてニンジンジュース飲用終了直後の糞便中にリコペンが排泄されたのは、単純に食事由来のリコペンが排泄されたと考えられる。しかし、飲用終了3週間経過時では糞便中リコペン排泄量が高くないにもかかわらず、血清中リコペン濃度は高い値を維持していることから、ニンジンジュースの飲用がリコペン代謝に何らかの影響を及ぼしたと考えられた。一仮説として以下のことが考えられる。 $\beta$ -カロテンとリコペンは構造上では類似しているが、 $\beta$ -カロテンはプロビタミン活性を有するのに対し、リコペンはその活性を有さない。よってプロビタミン活性を有する $\beta$ -カロテンを優先的に体内へ取り込もうとする働きにより、体内に蓄積されていたリコペンが押し出され、糞便中に排泄されたのではないか。今後、摂取 $\beta$ -カロテンおよびリコペンを制限した食事管理下での検討が必要である。

糞便中キサントフィルは血清分析同様、試験中を通して変化が見られなかったことから、 $\beta$ -カロテンとの直接的な相互作用はなかったと考えられた。糞便中レチノールは排泄量が微量であったため、 $\beta$ -カロテン投与によるレチノールの体内蓄積と排泄について検討することができなかった。しかし食品中に存在するビタミンAはレチニルエステル(その多くはパルミチン酸エステル)として存在し、吸収されなかったレチニルエステルはそのままの形態で排泄される<sup>13)</sup>ことから、今後レチニルエステルについても検討する必要がある。

以上のことからニンジンジュースを1日2本摂取することにより、血清中 $\beta$ -カロテンの有意な上昇が認められ、抗酸化物質としてカロテノイドの体内蓄積量を容易に向上させる手軽な手段であることが示唆された。また、ジュース飲用直後の糞便中リコペンが増加したことから、ニンジンジュース中の $\beta$ -カロテンの体内への

蓄積増加と蓄積リコペンとの間に何らかの相互作用があることが示唆された。

#### 引用文献

- 1) O'Neil CA, Schwartz SJ (1992) Chromatographic analysis of *cis/trans* carotenoid isomers. *J Chromatogr* **624** : 235-252.
- 2) 近雅代, 廣田才之 (1994) 野菜・果実中のカロテノイド異性体. *栄養学雑誌* **52**, 283-293.
- 3) 寺尾純二, 長尾昭彦 (1999) カロテノイドの吸収代謝と生理活性. *日本油化学会誌* **48**, 1075-1085.
- 4) van den Berg H (1999) Carotenoid interactions. *Nutr Rev* **57** : 1-10.
- 5) Erdman JW Jr, Poor CL, Dietz JM (1988) Factor affecting the bioavailability of vitamin A, carotenoids, and vitamin E. *Food Technol* **42** : 214-221.
- 6) Castenmiller JJM, West CE, Linssen JPH, van het Hof KH, Voragen AGJ (1998) The food matrix of spinach is a limiting factor in determining the bioavailability of  $\beta$ -carotene and to a lesser extent of lutein in humans. *J Nutr* **129** : 349-355.
- 7) Boehm V, Bitsch R (1999) Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr* **38** : 118-125.
- 8) Livny O, Reifen R, Madar Z, Schwartz B (2003)  $\beta$ -Carotene bioavailability from differently processed carrot meals in human ileostomy volunteers. *Eur J Nutr* **42** : 338-345.
- 9) Kim HJ, Simpson KL, Gerber LE (1988) Serum carotenoids and retinol of human subjects consuming carrot juice. *Nutr Res* **8** : 1119-1127.
- 10) 坂本秀樹, 大嶋俊二, 小嶋文博, 石黒幸雄, 小川睦美, 福場博保 (1997) ニンジンジュースおよびトマトジュースの連続摂取による血清中カロテノイド, レチノール濃度の変化. *日本栄養・食糧学会誌* **50**, 21-24.
- 11) 坂本秀樹, 森啓信, 小嶋文博, 石黒幸雄, 有本祥三, 今江祐美子, 難波経篤, 小川睦美, 福場博保 (1994) トマトジュースの連続飲用による血清中のカロテノイドの濃度の上昇. *日本栄養・食糧学会誌* **47**, 93-99.
- 11) 吉川敏一 (1998) 抗酸化物質のすべて, p.66-73. 先端医学社, 東京.
- 13) 武藤泰敏 (1997) レチノイド・カロテノイドー体内代謝と発癌予防-, p.45-94. 南山堂, 東京.
- 14) Nguyen ML, Schwartz SJ (1999) Lycopene : Chemical and biological properties. *Food Technol* **53** : 38-45.
- 15) Russell RM (1997)  $\beta$ -Carotene isomers in human serum, breast and buccal mucosa cell after continuous oral doses of all-trans and 9-cis  $\beta$ -carotene. *J Nutr* **127** : 1833-1837.
- 16) 武藤泰敏 (2002) 改訂新版消化・吸収ー基礎と臨床ー, p.148-151. 第一出版, 東京.
- 17) During A, Harrison EH, Hussain MM, Morel DW (2002) Carotenoid uptake and secretion by CaCo-2 cells :  $\beta$ -carotene isomer selectivity and carotenoid interactions. *J Lipid Res* **43** : 1086-1095.
- 18) van den Berg H, van Vliet T (1998) Effect of simultaneous, single oral doses of  $\beta$ -carotene and lutein or lycopene on the  $\beta$ -carotene and retinyl ester responses in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction of men. *Am J Clin Nutr* **68** : 82-89.

(しみず ふみこ 昭和女子大学大学院生活機構研究科生活機構学専攻 院生)  
 (おがわ むつみ 昭和女子大学生活科学部生活科学科 助教授)  
 (ふくば ひろやす 昭和女子大学 名誉教授)

受理年月日 平成16年9月30日  
 審査終了日 平成16年11月30日