

## 食品中ビオチン含量の地域差と栽培環境因子による変動

曾根英行<sup>1,2)</sup>, 安部 恵<sup>2)</sup>, 樋口 睦<sup>2)</sup>,  
 守木 葵<sup>2)</sup>, 小山田 絵美<sup>2)</sup>, 渡邊 敏明<sup>3)</sup>, 宮西 邦夫<sup>1,2)</sup>  
 (1)新潟県立大・健康栄養\*, (2)県立新潟女子短大\*\*, (3)兵庫県立大・環境人間\*\*\*)

## Regional Differences of Biotin Contents in Vegetables are Caused by Differences of Cultivation Conditions

Hideyuki SONE<sup>1,2)</sup>, Megumi ABE<sup>2)</sup>, Mutsumi HIGUCHI<sup>2)</sup>, Aoi MORIKI<sup>2)</sup>,  
 Emi OYAMADA<sup>2)</sup>, Toshiaki WATANABE<sup>3)</sup>, Kunio MIYANISHI<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Health and Nutrition, University of Niigata Prefecture,

<sup>2)</sup>Department of Human Life and Environmental Science, Niigata Woman's College,

<sup>3)</sup>School of Human Science and Environment, Himeji Institute of Technology, University of Hyogo

## Summary

The purpose of this study is to clarify the regional differences in biotin contents in foods between Japan, America, Canada, German, and Denmark by comparing the published data. There was a positive correlation in meat group and egg group between Japan and Western countries. But, in vegetable group a positive correlation was not observed. The possible reason might be that biotin biosynthesis in vegetables is different between Japan and Western countries due to differences of cultivation conditions. Then, to study the effect of cultivation conditions on biotin biosynthesis in plants, pea sprouts were hydroponically cultivated under 5 conditions (Control (C): 22°C, 10-h light/14-h dark, Negative control (NC): 22°C, 10-h light/14-h dark, addition of acidomycin, Short-time lighting (SL): 22°C, 5-h light/19-h dark, No lighting (NL): 22°C, 24-h dark, Low temperature (LT): 4°C, 10-h light / 22°C, 14-h dark). Biotin contents in NL and LT were remarkably lower than those in C ( $p < 0.05$ ). Moreover, biotin contents in SL also decreased to approximately 75 % of those in C, although statistical significance was not observed. These results strongly suggest that cultivation conditions of plants affect biotin biosynthesis, leading to the differences of biotin contents in vegetables among the regions for planting.

水溶性ビタミンの一種であるビオチンは、4種のカルボキシラーゼの補酵素として、糖新生、脂肪酸合成、アミノ酸代謝において重要な役割を果たしている。

食品中のビオチン含量は平成17年に改訂された「五訂増補日本食品標準成分表」には収載されておらず、ビオチンの摂取基準についても「日本人の食事摂取基準(2005年版)」で目安量45 µg/日(12歳以上)と公表されているが、科学的データの不足から推奨量を設定できずにいるのが現状である。それゆえに、ビオチン摂取量と生体内必要量に関する根拠のあるデータの集積が必要と考えられている。本研究室の小山田は、健康な女子大生(18~22歳)84人を対象として3日間の連続した食事調査を行い、ドイツの食品成分表を用いて食事由来のビオチン摂取量を算出し、ビオチンの栄養状態について検討した。しかし、ビオチン

摂取量と食事調査終了翌朝に採取した血清ビオチン濃度との間に相関性を見出すことができず、明確な結論を得ることができなかった<sup>1)</sup>。これらの原因として、腸内細菌から供給されるビオチンが血清ビオチン濃度に強く影響すると考察している。しかし、食品中のビオチン含量が生育環境の違いにより変動する可能性は否定できず、ドイツの食品成分表を用いたビオチン摂取量の算出法にも問題があったと考えられる。一般的に、植物はビタミンB<sub>1</sub>やB<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, 葉酸といったB群ビタミンを生合成している<sup>2)</sup>。植物中のビオチン生合成は、ミトコンドリアでの4段階の酵素反応によって行われており、3段階目の酵素反応ではATPを必要とする。4段階目の酵素反応はビオチンシンターゼで進行し、これらの反応はアシドマイシン(C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>S, 分子量217.28)によって阻害されることが報告されている<sup>3)</sup>(Fig. 1)。

\*所在地：新潟県新潟市海老ヶ瀬471(〒950-8680)

\*\*所在地：新潟県新潟市海老ヶ瀬471(〒950-8680)

\*\*\*所在地：姫路市新在家本町1-1-12(〒670-0092)

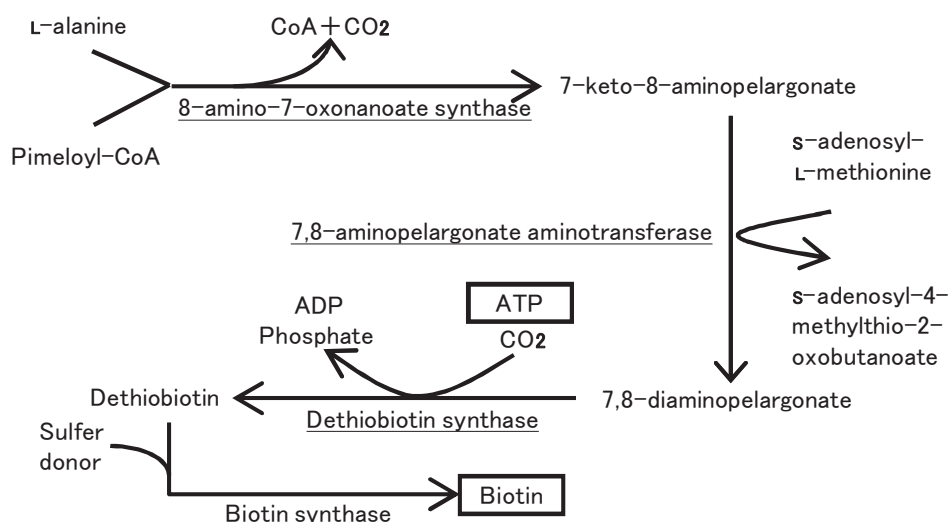


Fig. 1 Biotin biosynthesis pathway in plants.

本研究では、これまでに報告されている日本<sup>4)</sup>と欧米諸国の食品中ビオチン含量のデータを用い、食品中ビオチン含量の地域差について食品群別に比較・検討した。次に、小山田の研究を再解析するために、乳酸菌(ATCC8014)を利用した微生物定量法-比濁法で植物性食品である野菜類を中心とした国内産の食品中ビオチン含量を測定し、既に報告されている日本の食品中ビオチン含量の結果と併用して新たにビオチン摂取量を算出し、血清ビオチン濃度との相関性を検討した。また、植物中でのビオチン生合成経路は詳細に解明されているが、環境因子によるビオチン生合成への関与の有無については報告がない。ビオチンと同様に水溶性ビタミンに分類されるビタミンCでは、食品中含量の季節変動が広く知られている<sup>5)</sup>。そこで本研究では、土壌を必要とせず、蒸留水のみで栽培が可能であり、比較的栽培期間の短い豆苗を用いて、植物中のビオチン含量に及ぼす環境因子(日照量や栽培温度)の影響について検討した。

## 実験方法

### 1. 食品中ビオチン含量の地域差の検討

欧米諸国の食品中ビオチン含量のデータには、ドイツおよびデンマークの食品成分表と比較的多くの食品中含量を測定しているカナダ<sup>6)</sup>およびアメリカ<sup>7)</sup>での報告を用いた。また、日本の食品中ビオチン含量のデータには、谷口等<sup>4)</sup>による報告を用いた。これらのデータを穀類、豆類、種実類、野菜類、果実類、魚介類、肉類、乳類に分類し、各食品群別に日本対諸外国の散布図を作成し、それぞれの相関性について解析を行った。

### 2. ビオチン摂取量と血清ビオチン濃度の相関性の再検討

健康な女子大学生(18~22歳)84人を対象とした3日間の連続した食事調査の結果から、日本の食品中ビオチン含量のデータを用いて新たにビオチン摂取量を算出し、血

清ビオチン濃度との散布図を作成し、それらの相関性について再検討した。日本の食品中ビオチン含量のデータには、谷口等の報告と本研究において新たに測定した食品中ビオチン含量の結果を併用した。食事調査および血清ビオチン濃度は、小山田の結果<sup>1)</sup>を使用した。

食品中ビオチン含量の測定では、小山田の調査で対象者のおもなビオチン供給源となっている食品を中心に、穀類(こめ・玄米、こめ・精白米、食パン)、いも類(さつまいも)、豆類(木綿豆腐、糸引き納豆、生揚げ)、野菜類(たまねぎ、にんじん、トマト、ほうれんそう、キャベツ)、果実類(かき、バナナ、りんご)、きのこ類(えのきたけ、しいたけ、ぶなしめじ)、卵類(卵黄)、乳類(ヨーグルト、普通牛乳、加工乳・低脂肪)の計23品目を選出した。これらの食品をリン酸緩衝液中で粉碎し、加熱酸加水分解による前処理を施した後、先に報告したマイクロプレートを用いた微生物学的定量法<sup>1)</sup>で食品中ビオチン含量を測定した。

### 3. 植物中でのビオチン生合成の検討

試料には、栽培条件を変えて栽培した豆苗を用いた。豆苗は蒸留水のみで栽培が可能のため、外因性のビオチン(土壌や微生物由来)の混入を避けることができる。豆苗の種を24時間浸水した後、種が浸らない程度の滅菌蒸留水中で発芽させた。発芽したものを対照群(室温栽培、日照時間10時間/日)、ネガティブ対照群(室温栽培、日照時間10時間/日、アシドマイシン溶液添加)、非緑化群(室温栽培、日照時間0時間/日)、弱緑化群(室温栽培、日照時間5時間/日)、低温栽培群(日照時に4℃の低温栽培、消灯後に室温栽培、日照時間10時間/日)の5群に選別し、17日間栽培した。室温は22℃とし、日照は27Wの蛍光灯で行なった。アシドマイシンの添加量は、文献値<sup>8)</sup>を参考に400μMに設定した。

栽培後、豆苗は2~3個体分の茎と葉をまとめて粉碎し、上記方法によりビオチン含量を測定した。

## 結果と考察

### 1. 食品中ビオチン含量の地域差の検討

日本と諸外国の食品中ビオチン含量の比較を各食品群別に行った。ドイツとの比較では、卵類で強い正の相関 ( $r = 0.9874$ ) が見られたが、魚介類 ( $r = 0.1463$ ) と野菜類 ( $r = 0.0325$ ) では、相関性は認められなかった。デンマークとの比較では、穀類 ( $r = 0.7005$ )、肉類 ( $r = 0.9964$ )、果実類 ( $r = 0.7999$ ) に強い正の相関が観察されたが、野菜類 ( $r = 0.066$ ) と乳類 ( $r = 0.0056$ ) では、相関性は認められなかった。カナダとの比較では、肉類 ( $r = 0.9825$ ) で強い相関を示したのに対し、乳類 ( $r = 0.340$ ) と野菜類 ( $r = 0.4908$ ) では、肉類のような強い相関性は認められなかった。アメリカとの比較では、豆類 ( $r = 0.9511$ )、肉類 ( $r = 0.9793$ )、卵類 ( $r = 0.9964$ ) で強い相関が観察されたが、野菜類 ( $r = 0.3193$ ) では、他の食品群のような強い相関性は認められなかった。肉類と卵類では母集団が少ないため明確な結論を述べることはできないが、日本と諸外国における食品中ビオチン含量は、肉類、卵類、穀類、豆類で強い相関を認めるが、野菜類、乳類では弱い傾向にあることが示唆された。とくに、野菜類は諸外国との相関が弱く、その原因として植物におけるビオチンの生合成が考えられる。ビオチン生合成は酵素反応で進行し、その反応過程で光合成由来の ATP を必要とする。そのため、その合成量は各国の気候に左右されると推察される。一方、肉類や卵類では、ビオチン含量は諸外国と強い相関が認められた。これらの食品は、ビオチンを必須栄養素として他の生物から摂取し、生体内に貯蔵している。水溶性ビタミンの生体外排出率は比較的高く、保有量にも一定の上限があるため

地域差が少なかったと考えられる。なお、日本産の各食品群別食品中ビオチン含量 ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) の範囲は、穀類 (0.6~16.8)、豆類 (0.5~32.4)、種実類 (11.4~81.0)、野菜類 (0.3~10.0)、果実類 (0.2~4.5)、魚介類 (0.7~16.3)、肉類 (0.9~54.5)、乳類 (1.6~4.3) であった。

### 2. ビオチン摂取量と血清ビオチン濃度の相関性の再検討

小山田の調査では、ドイツの食品成分表を用いてビオチン摂取量を算出し、血清ビオチン濃度との関連性を検討したが、両者の間に相関性は認められなかった ( $y = 0.0119x + 1.4186$ ,  $r = 0.056$ )。本研究において、日本の食品中ビオチン含量のデータでビオチン摂取量を算出し再解析をおこなった (Fig. 2)。しかし、ドイツの結果と同様に、ビオチン摂取量と血清ビオチン濃度の散布図に規則性を見出すことができず、相関性は認められなかった ( $y = 0.008x + 1.6408$ ,  $r = 0.028$ )。これらの結果は、血清ビオチン濃度が食事由来のビオチンだけではなく、それ以外の要因 (腸内細菌叢からのビオチンの供給) から強く影響を受けることを示している。

しかし、ビオチン摂取量の平均値を比較すると、ドイツの成分表を用いて算出した結果が  $47.850 \pm 18.143\ \mu\text{g}/\text{日}$  であったのに対し、日本の食品中ビオチン含量のデータを用いて算出した値では  $43.356 \pm 19.112\ \mu\text{g}/\text{日}$  と統計的に有意な差が認められた ( $p < 0.01$ : Paired Student's t-test) (Fig. 2)。この結果は、食品中ビオチン含量の地域差が、食品成分値を用いて算出されるビオチン摂取量に大きく反映されることを意味している。そのため、正確なビオチン摂取量の算出には、その国独自の食品成分表を作成することが必要と考える。

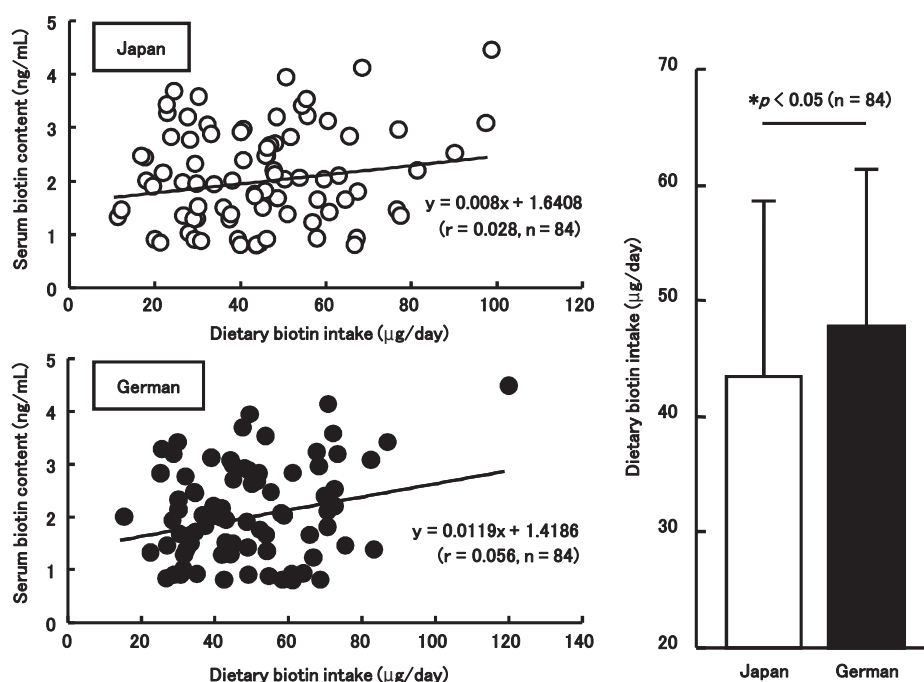


Fig. 2 Dietary biotin intake and serum biotin content in young Japanese women.

Left panels: Correlations between serum biotin content and dietary biotin intake calculated with published data of Japanese foods (Japan) or food composition table in German (German). Right panel: Dietary biotin intakes. Data are expressed as mean  $\pm$  SD ( $n = 84$ ).

### 3. 植物中でのビオチン生合成の検討

豆苗を栽培温度と日照量を変えて栽培し、生育環境の違いが植物中のビオチン合成量に与える影響について検討した (Fig. 3)。ビオチン含量は、対照群  $10.914 \pm 2.520 \mu\text{g}/100 \text{g}$ 、ネガティブ対照群  $5.823 \pm 1.819 \mu\text{g}/100 \text{g}$ 、非緑化群  $3.430 \pm 2.186 \mu\text{g}/100 \text{g}$ 、弱緑化群  $8.185 \pm 4.016 \mu\text{g}/100 \text{g}$ 、低温栽培群  $1.446 \pm 1.842 \mu\text{g}/100 \text{g}$  であった。5群間の分散分析を行い、平均値の差を検定 (Bonferroni post hoc test) した結果、対照群に対しネガティブ対照群、低温栽培群、非緑化群で有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。弱緑化群では、対照群に対し統計的に有意な差は認められなかったが ( $p = 0.1679$ )、ビオチン含量はおよそ 25% 減少しており、低い傾向を示した。

植物中のビオチンは、植物が根から吸収する外来性のビオチンと自身によって生合成する内因性のビオチンの総和と考えられる。ネガティブ対照群の結果が対照群のおよそ 60% 弱であったことから、植物中では比較的多くのビオチンが生合成されると言える。また、低温栽培群ではビオチン含量はもっとも低値を示した。これは、ビオチン生合成酵素の活性が低温により抑制されたからと考えられる。このことから、栽培時の気温はビオチン生合成に大きく影響することが示唆された。しかし、低温栽培群では豆苗の生育は極端に悪化しており、光合成に利用できなかった余剰の光エネルギーによる光ストレスの影響が推察される。今後、弱低温環境下 ( $10^\circ\text{C}$  前後) での更なる検討が必要と考える。また、弱緑化群、非緑化群ではビオチン含量が緑化の程度に従い低下したことから、ビオチン合成量は日照量にも依存することが示された。植物では、ATP は主に葉緑体での光合成で産生されることから、ビオチン合成量の日照量依存性は植物中で産生される ATP 量に起因すると考えられる。以上の結果から、植物性食品中のビオチン含量は、気温や日照量など栽培環境の変化に強く影響を

受けることが示された。これらの違いがビオチン含量に地域差を生み出す要因と考えられる。

本研究では、植物性食品のビオチン含量には栽培環境の違いにより地域差が存在することを明らかにした。植物の栽培環境は、ビオチン生合成に強く影響することが示唆され、この環境差がビオチン含量の地域差を生み出す要因と推察される。正確なビオチン栄養状態を把握するためには、日本においてもビオチンに関する食品成分表を作成することが不可欠と言える。そのためには、季節別、品種別の食品中ビオチン含量を詳細に検討することが必要と考える。

### 謝 辞

本研究で使用したアシドマイシンは、田辺三菱製薬株式会社先端医療研究所櫻井直樹先生から分与いただいたものである。深く感謝申し上げます。

### 参考文献

- 1) 小山田恵美, 曾根英行, 平岡真美, 宮西邦夫, 谷口敏明, 安田和人 (2007) マイクロバイオアッセイによるビオチン定量法の確立とビオチンの栄養状態について. 微量栄養素研究 24: 157-162.
- 2) Roje S (2007) Vitamin B biosynthesis in plants. Phytochemistry 68: 1904-1921.
- 3) Patton DA, Schetter AL, Franzmann LH, Nelson K, Ward ER, Meinke DW (1998) An embryo-defective mutant of arabidopsis disrupted in the final step of biotin synthesis. Plant Physiol 116: 935-946.
- 4) 谷口歩美, 武智隆祐, 福嶋 厚, 渡邊敏明 (2008) わが国の食品中ビオチン含量の分析. 日本栄養・食糧学会誌 61: 27-36.

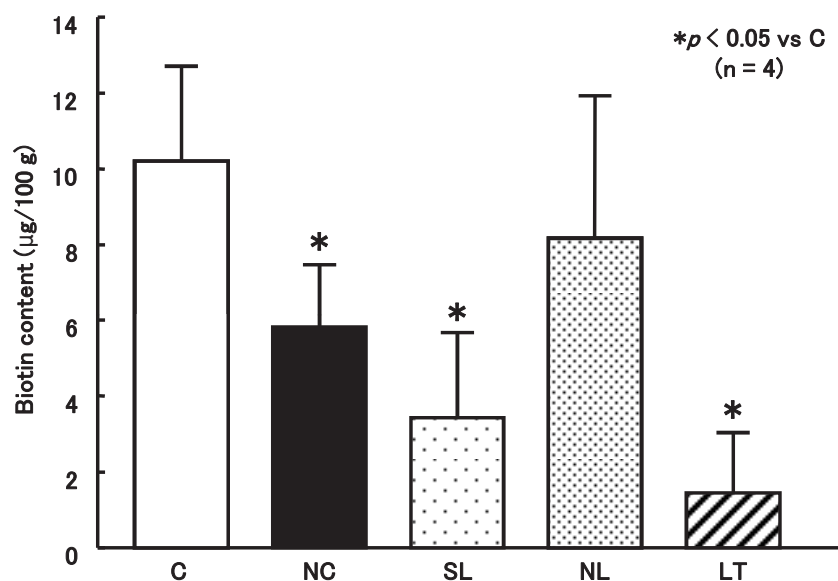


Fig. 3 Effect of cultivation conditions on biotin contents in pea sprout. Data are expressed as mean  $\pm$  SE (n = 4).

- 5) 辻村 卓, 小松原晴美, 荒井京子, 福田知子 (1997) 出回り期が長い食用植物のビタミンおよびミネラル含有量の通年成分変化. ビタミン 71 : 67-74.
- 6) Hoppner K, Lampi B, Smith DC (1978) An appraisal of the daily intakes of vitamin B<sub>12</sub>, pantothenic acid and biotin from a composite Canadian diet. Can Inst Food Sci Technol 11 : 71-74.
- 7) Staggs CG, Sealey WM, McCabe BJ, Teague AM, Mock DM (2004) Determination of the biotin content of select foods using accurate and sensitive HPLC/avidin binding. J Food Compos Anal 17 : 767-776.
- 8) Picciocchi A, Douce R, Alban C (2001) Biochemical characterization of the arabidopsis biotin synthase reaction. The importance of mitochondria in biotin synthesis. Plant Physiology 127 : 1224-1233.