

経皮窒素採集法に関する検討

村松成司¹ 鈴木正敏² 高橋徹三³

¹ 千葉大学教養部

² 九州工業大学体育科

³ 筑波大学体育科学系

Studies on the collection method of dermal nitrogen loss

Shigeji MURAMATSU¹, Masatoshi SUZUKI² and Tetsuzo TAKAHASHI³

¹ College of Arts and Sciences, Chiba University.

² Faculty of Physical Education, Kyushu Institute of Technology.

³ Institute of Health and Sports Sciences, University of Tsukuba.

The present study was carried out to examine about a few problems on the collection method of dermal nitrogen loss(DN). In the first experiment, the recovery of DN was determined with the two ways, one was to extract from cloth and the other was to wash away from whole body with shower instrument. In the second experiment, the ratio of extraction of DN was determined with towels.

The results were as follows;

- 1) The dermal nitrogen washed away from whole body with shower instrument was 259mg on average, in which 104mg was found in distilled water fraction and 155mg was found in soap fraction.
- 2) The dermal nitrogen extracted from cloth was 577mg on average, in which 414mg was found in the first distilled water fraction by washing with well rubbing. After repeating six times to wash with well rubbing by using distilled water, 92.7% of DN from cloth was recovered. With soap after extraction with distilled water, only 7.3% of DN was recovered.
- 3) The sum of DN was 853mg, in which 30.9% of DN was recovered from shower fraction and 69.1% of DN was recovered by extraction from cloth.
- 4) The ratio of recovery of DN from towel was 97.7% on average.

経皮窒素損失量とは皮膚を通じて失われる窒素量をさし、汗、剥離した表皮中の窒素の他、毛髪、爪として失われる窒素も含まれる。しかし、毛髪、爪については省略することが多い。従来、経皮窒素損失量は比較的快適な環境条件下あるいは安静時には尿、糞中の窒素排泄量に比較してかなり少ないことから生

体からのタンパク質損失経路としては無視されがちであった。しかし、高温環境下あるいは運動負荷時にはかなりの量の経皮窒素損失がみられることから経皮窒素損失量の取扱いについてはかなりの議論がある。これまでに報告された経皮窒素損失量について特に一日量について表1に示した(1-22)。日本人の場合は体重1kgあたりで示してある。これら経皮窒素損失量は研究者により異なり、非常に範囲の広いものになっている。これは経皮窒素損失量が身体活動(1、14、19、23)、タンパク質摂取量(1、2、4、10、14、19)、環境温度(5、8、13、17、20)など数々の条件により大きく影響を受けるためであるが、加えて経皮窒素の採集法の違いによってもたらされる影響も考えられる。表1に示したようにConsolazioらの一連の報告(17-19)

Table 1. Dermal nitrogen loss reported in some papers(g/day, *mg/kg/day)

Investigators	Dermal N loss	Ref.
Sirbu et al.	0.12	1)
Cuthbertson et al.	0.125-0.412	2)
Darke et al.	0.254	3)
Calloway et al.	0.149-0.514	4)
Collins et al.	0.2-0.7	5)
Costa et al.	0.106-0.122	6)
Bass et al.	0.27-0.64	7)
Mitchell et al.	0.360	8)
Freyberg et al.	0.372	9)
Howat et al.	0.201-0.319	10)
Ashworth et al.	0.488	11)
Holmes et al.	0.50	12)
Huang et al.	0.65-0.75	13)
Weiner et al.	0.71	14)
Wallace et al.	0.80	15)
Isaksson et al.	0.90	16)
Consolazio et al.	2.63	17)
Consolazio et al.	3.75	18)
Consolazio et al.	1.78-2.67	19)
Cuthbertson et al.	5.28	2)

Inoue et al.	3.6-12.7*	20)
Yoshimura et al.	9.26*	21)
Yamada et al.	5.67*	22)

では他の報告に比べかなり高い経皮窒素損失量を観察している。これは彼らがアームバッグ法を用いていたことが原因の一つであると考えられる。つまりアームバッグ法は局部的に採集して得た値を利用して全身からの窒素損失量を推し量るためその測定値にかなりの誤差を伴う危険性がある。この問題はAshworthらによってすでに指摘されており(11)、Consolazioらもその後全身の経皮窒素採集にあたってはできる限り全身法を用いるべきであろうと述べている(19)。

このようなことから、経皮窒素採集には全身法が良いことは明らかであるが、全身採集法には身体や衣類、タオル、シーツ等に付着した汗、あか(剥離した表皮)などを完全に採集し、これらに含まれる窒素を完全に回収しなければならないという問題がある。そこで経皮窒素採集法について検討した。

実験方法

〔実験1〕 この実験は経皮窒素損失量の程度、身体および衣類からの窒素採集の程度、石鹸及び洗剤利用の効果、すすぎのための蒸留水の量などについて検討した。被験者は男子大学生(20-22才)6名を用いた。まず、経皮窒素採集のために作成したシャワー装置内で市販の石鹸を用いて身体を十分に洗浄し、更に蒸留水ですすいだ。そして予め洗剤および蒸留水にて洗濯すすぎ処理をし乾燥させたタオルでよく水を拭き取った。ついで、同様に洗浄処理をした下着類(長袖のシャツ、ステテコ、靴下)を身に付けさせた。また顔および手よりにじみ出る汗を拭うために洗浄処理をしたタオルを携行させた。実験期間中の被験者の食事および生活様式については特に規定しなかった。翌日の同時刻に同じシャワー装置にて身体を洗浄し、洗浄液を集めた。まず蒸留水約6-7リットルを用いて身体の表面を十分にこすりながら洗いがした(蒸留水分画)。ついで市販の石鹸を用いて身体を洗いがした(石鹸分画)。蒸留水分画と石鹸分画は別にして集めた。身に付けた衣類およびタオルは蒸留水に24時間浸した後更にその中で十分にもみ洗いをした。衣類は脱水機にかけ絞らされた液とを一緒にして、衣類抽出分画1とした。更に新たに蒸留水3リットルを用いて衣類をもみ洗いして同様に脱水機にかけ衣類抽出分画2とした。蒸留水によるこの操作をさらに繰り返し衣類抽出分画6まで採集した。その後、市販の洗剤を用いて更にもみ洗いをし同

様な操作で洗剤分画1-3を採取した。そして各分画中の窒素量を測定した。窒素定量は分画中より一定量(約1リットル前後)をとり、分解ビン中で濃縮させながら、最終的に硫酸分解し、セミマイクロケルダール法により測定した。

〔実験2〕 実験1における衣類、タオルからの窒素成分の抽出についてさらに検討する必要があると考え、タオルを用いて抽出率を求めてみた。蒸留水で洗浄乾燥した同じ質のタオル(87cm×35cm, 重さ平均60.5g)6枚を用いた。タオルは重量で二等分し、一方は未使用のまま、他方は先の被験者に2日間自由に使用させた後実験1と同様に十分もみ洗いをして窒素を定量した。そして未使用タオル中の窒素量、使用後のタオルを抽出の処理して得られた窒素量そして抽出処理した後のタオル中の窒素量を比較して窒素の抽出率を検討した。

実験結果

シャワー装置を用いて全身を洗浄した際の蒸留水分画と石鹼分画中に含まれる窒素量を表2に示した。蒸留水分画中には平均104mgの窒素が含まれていたが、その後石鹼を用いて更に全身を洗浄すると平均155mgの窒素が洗い落とされた。これは蒸留水分画の約1.5倍である。

衣類、タオル等から抽出された窒素量を表3に示した。まず衣類を一昼夜浸しておいた蒸留水中でさらにもみ洗いをして得た第1分画中には平均414mgの窒素が抽出された。以下蒸留水を用いて抽出した分画中ではいずれも第1分画に見られた窒素量よりも著しく低い値を示し、第6分画中では平均8.31mgであった。蒸留水による抽出が終了した後更に市販の洗剤を用いて同様な抽出操作を行った結果第7分画から第8分画では第6分画よりも増加するもののその窒素量は平均26.79mg、11.52mgとなり、第9分画では3.81mgと更に低い値であった。抽出された全窒素量の対する各分画中の窒素量の割合は第1分画が71.83%を占め、その後の分画ではいずれも10%以下であった。また、蒸留水分画と洗剤分画と区別した場合、蒸留水のみで全体の92.69%の窒素量が認められた。

表4に衣類から抽出された窒素、シャワ

Table 2. Nitrogen content in distilled water fraction and in soap fraction.

Sub.	DWF# (mg)	SF# (mg)	Total (mg)
A	124.87	128.62	253.49
B	99.71	146.60	246.31
C	81.73	133.99	215.71
D	82.83	134.37	217.20
E	112.00	173.95	285.95
F	121.59	210.91	332.50
Mean	103.79	154.74	258.53
± SD	18.82	31.99	44.59

DWF; Distilled water fraction, SF; Soap fraction.

Table 3. Changes in nitrogen extracted from cloth with or without soap.

Fraction No.	Nitrogen(mg)		N in EF* Total N ×100
	Mean	± SD	
(Without soap)			
1	414.2	± 69.80	71.83
2	57.16	± 9.83	9.91
3	29.30	± 10.96	5.08
4	14.89	± 3.43	2.58
5	10.69	± 2.50	1.85
6	8.31	± 2.79	1.44
Subtotal	535.55	± 84.97	92.69
(With soap)			
7	26.79	± 5.78	4.65
8	11.52	± 4.61	2.00
9	3.81	± 2.37	0.66
Subtotal	42.12	± 10.33	7.31
Total	576.67	± 93.33	100.00

Data was represented as the mean ± SD for six subjects in each fraction.
(* EF; Each fraction)

一装置によって身体から洗い落とされた窒素、および両者を合わせたものを個人的に示した。シャワー装置の場合にはすでに表2で示した通りで、全体に対して蒸留水のみでは平均40.25%(36.57-49.26)、その後のせっけんの使用により59.74%(50.74-63.43)となっていた。一方、衣類については蒸留水分画のみでは全体(平均576.79mg)に対して92.75%の534.67mgの窒素が抽出されており、その後の洗剤使用の場合には7.29%と少なくなっていた。全体的にみると、まず蒸留水による抽出によって76.51%が、ついで石鹸あるいは洗剤を用いることによりさらに23.49%が抽出された。今回得られた全窒素量の内、シャワー装置による身体からが30.98%、衣類からが69.02%を占めていた。

実験2の結果を表5に示した。使用したタオルから抽出された窒素量は被験者により異なるが平均して59.79mg(42.18-72.46mg)であった。それに対して抽出処理後のタオルに含まれている窒素量は平均7.8mg(7.21-8.53mg)であった。それぞれのタオルの対となる未使用タオル中の窒素量は平均6.37mg(5.87-6.81mg)であり、抽出処理後のタオルに含まれていた窒素量との差は平均1.43mg(0.96-2.09mg)であった。これらの数値より抽出された窒素量および未抽出窒素量の割合を求めると、それぞれ平均97.68%(96.93-98.38%)、2.32%(1.62-3.07%)であった。

考 察

本実験に用いた石鹸は予め数種の市販石鹸の窒素含量を分析し、最も窒素含量の少ないものを用いた。この石鹸の窒素

Table 4. Nitrogen extracted from cloth and washed away from whole body by showering, with or without soap in each subject.

Subject (Shower)	Nitrogen		Total mg
	Without soap**	With soap**	
	mg (%)	mg (%)	
A	124.87(49.26)*	128.62(50.74)*	253.49
B	99.71(40.48)	146.60(59.52)	246.31
C	81.72(37.88)	133.99(61.12)	215.71
D	82.83(38.14)	134.37(61.86)	217.20
E	112.00(39.17)	173.95(60.83)	285.95
F	121.59(36.57)	210.91(63.43)	332.50
Mean	103.79(40.25)	154.74(59.75)	258.53
± SD	18.82(4.60)	31.99(4.60)	44.59

Subject (Cloth)#	Nitrogen		Total mg
	Without soap**	With soap**	
	mg (%)	mg (%)	
A	451.54(91.31)	42.96(8.79)	494.50
B	619.86(91.94)	54.37(8.06)	674.23
C	483.53(93.34)	34.50(6.66)	518.03
D	468.59(93.10)	34.74(6.90)	503.33
E	527.76(94.47)	31.49(5.63)	559.25
F	656.76(92.32)	54.66(7.68)	711.42
Mean	534.67(92.75)	42.12(7.29)	576.79
± SD	84.97(1.13)	10.33(1.12)	93.33

Subject (Shower+Cloth)	Nitrogen		Total mg
	Without soap**	With soap**	
	mg (%)	mg (%)	
A	576.41(77.06)	171.58(22.94)	747.99
B	719.57(78.17)	200.97(21.83)	920.54
C	565.25(77.04)	168.49(22.96)	733.74
D	551.42(76.53)	169.11(23.47)	720.53
E	639.76(75.69)	205.44(24.31)	845.20
F	778.35(74.56)	265.57(25.44)	1043.92
Mean	638.46(76.51)	196.86(23.49)	835.32
± SD	92.67(1.25)	37.48(1.25)	128.06

#; Nitrogen extracted from underwear, socks and towels.

*; Percentage of nitrogen content in water fraction or in soap fraction to total nitrogen content in each subject.

**; Recovery test was made using distilled water without soap at first, and then using distilled water and soap.

Table 5. Recovery of nitrogen from towel.

Sub.	(A)*	(B)*	(C)*	(D)*	(E)*	(F)*
A	56.20	7.28	6.23	1.05	98.17	1.83
B	70.12	8.12	6.62	1.50	97.91	2.09
C	58.40	7.21	6.25	0.96	98.38	1.62
D	42.18	7.90	6.81	1.09	97.48	2.52
E	59.40	7.75	5.87	1.88	96.93	3.07
F	72.46	8.53	6.33	2.20	97.05	2.95
Mean	59.79	7.80	6.37	1.45	97.65	2.35
± SD	10.88	0.50	0.33	0.51	0.60	0.60

*(A); Nitrogen (mg) extracted from towels.

(B); Nitrogen (mg) in towels after six times-extraction with distilled water and soap.

(C); Nitrogen (mg) in unused towels.

(D); Un-extracted nitrogen (B)-(C) (mg).

(E); Percentage of extracted nitrogen to total nitrogen (%).

$$(E) = \frac{(A)}{(A) + (D)} \times 100$$

(F); Percentage of un-extracted nitrogen to total nitrogen (%).

$$(F) = \frac{(D)}{(A) + (D)} \times 100$$

含量は100g中に約40mgであり、シャワーおよび衣類の抽出の際の使用料はともに約2g前後であるので石鹼に含まれる窒素量は0.8mg前後で、無視しうる量と考えられるので計算には含めなかった。

衣類からの抽出では蒸留水を用いた第6分画までに全量の92%の窒素を抽出することが可能で、あえて洗剤を用いて抽出する必要はないと思われる。しかしながら、シャワー装置による洗浄では蒸留水分画中の窒素量の約1.5倍もの窒素量が洗剤を用いることにより洗い落とされることから洗剤の使用は避けられない。はじめの蒸留水のみでの全身洗浄および衣類の抽出からは全体の75%の窒素量しか採集できず、特にシャワーによる全身洗浄の影響が大きく、正確な経皮窒素損失量を定量するためには可能なかぎり洗剤を用いて洗浄ならびに抽出をするべきであろう。

衣類からの窒素抽出を行う場合にこれまでもいろいろな工夫が報告されている。Huangら(13)は0.4%硫酸溶液4リットル中に24時間衣類を浸すことにより衣類に吸着した窒素の90%以上を回収できたとした。またCalloway(4)は約4リットルの0.3%酢酸溶液、Margen(25)は0.1Nの塩酸または1%Brij(洗剤)と0.4%EDTA-diNaを用いて衣類からの窒素の完全抽出を試みているが現在でもその方法は統一されていない。

本実験においては洗剤を用いてもなお抽出されてこない窒素があるか否かを確認するため、さらにテストをした。タオルに吸着された窒素含量は被験者の生活および食事に一切制限をしなかったので当然各被験者により値がかなりバラついたが、洗剤を用いてまた十分にもみ洗いをするにより抽出率はいずれの被験者ともに97%を越えており、窒素の回収において大きな影響をもたらすほどの抽出ロスはないと考えられる。しかし、タオルはもみ洗いという操作を含め比較的抽出処理がしやすいのに対して、衣類などの場合にはタオルに比べて抽出処理がしにくく、衣類においてもタオルと同じ抽出率であると考えするには多少問題があるかもしれないが、本実験の結果から実験1に用いた方法で大きな影響をもたらすような抽出誤差はないものと考えられる。

ま と め

経皮窒素損失量については研究者によりかなり異なった値が報告されているが、その理由の一つとして経皮窒素の採集法のちがいが考えられる。したがって、まず経皮窒素損失量の回収法について検討することが必要であると考え、本実験において2、3の検討を試みた。第1実験は実際に衣類に吸着した窒素の回収、およびシャワー装置を用いた他意表の窒素の回収の2つに分けて検討した。第2実験ではタオルを用いて衣類からの窒素の回収率についてさらに検討した。

結果は以下のとおりである。

1. シャワー装置による全身からの窒素の回収は全体で258.53mgであった。この内、初めに洗浄した蒸留水分画は103.79mg、続いて石鹼を用いて洗浄した石鹼分画は154.74mgであり、石鹼分画中に蒸留水分画中の約1.5倍の窒素が回収された。
2. 衣類から抽出された窒素量は576.67mgであった。この内、24時間蒸留水中に浸した後、さらにもみ洗いをした後絞って得られた蒸留水第1分画中には72%の414.20mgが抽出された。その後、蒸留水を加えてもみ洗いをして絞るという操作を5回繰り返すことにより全体の93%の窒素の回収が可能であった。その後の洗剤の使用では全体の7%であった。
3. 今回回収された全窒素量は853.32mgであり、シャワーにより30.9%、衣類からの抽出により69.1%が回収された。

4. タオルを用いての回収率の実験ではタオルに付着した全窒素量の97.7%が回収された。

参考文献

- 1) Sirbu, E.R., Margen, S. and Calloway, D.H. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 20, 1158 (1967)
- 2) Cuthbertson, D.P. and Guthrie, W. S. S. : *Biochem. J.*, 28, 1444 (1934)
- 3) Darke, S. J. : *Brit. J. Nutr.*, 14, 115 (1960)
- 4) Calloway, D. H., Odell, A. C. F. and Margen, S. : *J. Nutr.*, 101, 775 (1971)
- 5) Collins, K. J., Eddy, T. P., Hibbs, A., Stock, A. L. AND Wheeler, E. F. : *Brit. J. Ind. Med.*, 28, 246 (1971)
- 6) Costa, F., Calloway, D. H. AND Margen, S. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 21, 52 (1969)
- 7) Bass, D. E., Kleeman, C. F., Quinn, M., Henschell, A. and Hegnauer, A. H. : *Medicine*, 34, 323 (1955)
- 8) Mitchell, H. H. and Edman, M. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 10, 163 (1962)
- 9) Freyberg, R. H. and Grant, R. L. : *J. Clin. Invest.*, 16, 729 (1937)
- 10) Howat, P. M., Korslind, M. K., Abernathy, R. P. and Ritchey, S. J. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 879 (1975)
- 11) Ashworth, A. AND Harrower, A. D. : *Brit. J. Nutr.*, 21, 833 (1967)
- 12) Holmes, E. G., Johnes, E. R. and Stanier, M. W. : *Brit. J. Nutr.*, 8, 173 (1954)
- 13) Huang, P.-C., Lo, C.-C. and Ho, W.-T. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 494 (1975)
- 14) Weiner, J. S., Willson, J. O. C., Nell, H. E. and Wheeler, E. F. : *Brit. J. Nutr.*, 27, 543 (1972)
- 15) Wallace, W. M. : *Fed. Proc.*, 18, 125 (1959)
- 16) Isaksson, B., Lindholm, B. and Sjogren, S. : *Acta. Med. Scand. Suppl.*, 445, 26 (1966)
- 17) Consolazio, C. F., Nelson, R. A., Matoush, L., Harding, R. S. and Canham, J. E. : *J. Nutr.*, 79, 399 (1963)
- 18) Consolazio, C. F., Matoush, L., Nelson, R. A., Harding, R. S. and Canham, J. E. : *J. Nutr.*, 79, 407 (1963)
- 19) Consolazio, C. F., Johnson, H. L., Nelson, R. A., Dramise, J. G. and Skala, J. H. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 29 (1975)
- 20) Inoue, G., Yamamoto, T. and Kishi, K. : *Results of International Research, The United Nations University, Tokyo*, 37 (1984)
- 21) Yoshimura, H. and Yamada, T. : *Rep. Res. Committee of Essential Amino Acids*, 76, 18 (1977)
- 22) Yamada, T. and Yoshimura, *Rep. Res. Committee of Essential Amino Acids*, 77, 48 (1978)
- 23) Bost, W. R. and Borgstrom, P. : *Am. J. Physiol.*, 79, 242 (1926)
- 24) Michell, H. H. and Hamilton, T. S. : *J. Biol. Chem.*, 178, 345 (1949)
- 25) Unpublish data.

(昭和60年12月20日受付)