

たものである。両者のマススペクトルはほぼ一致していた。とくに、誘導体化 MeSec ($C_{12}H_{23}O_4NSe$) の分子イオンに由来する 323, 325, 327 m/z 、フラグメント CH_3SeCH_2 に由来する 107, 109, 111 m/z 、フラグメント $CH_3SeCH_2CH_2$ に由来する 121, 123, 125 m/z などのセレン化合物の特徴を示すイオンピークが共通して認められた。したがって、Fig. 3 (b) で認められた保持時間 3.23 分の化合物は誘導体化 SeM であり、セレン強化酵母中に MeSec の存在することも GC-MS を用いて証明できたといえる。

3. セレン強化リョクトウスプラウト

セレン強化リョクトウスプラウト中のセレンの分子種に

ついては報告例が存在しない。そこでまず、HPLC-ICPMS を用いて、セレン強化リョクトウスプラウト中のセレンの分子種を推定した。セレン強化リョクトウスプラウト抽出液を HPLC-ICPMS で分析したところ、ほとんどのセレンは SeHL と同じ保持時間 (5.1 分) に溶出され、セレン強化リョクトウスプラウトに SeHL の存在することが推察された (データ略)。次に、他の試料と同様に、標準 SeHL を誘導体化処理し、GC-MS で分析した。しかし、標準 SeHL の誘導体を検出することはできなかった。今回用いたアミノ酸分析用キット (EZ:faast™) は一般的なアミノ酸の中でアルギニンの分析ができない。これは本キットで誘導体化したアルギニンの沸点が高いためである。おそ

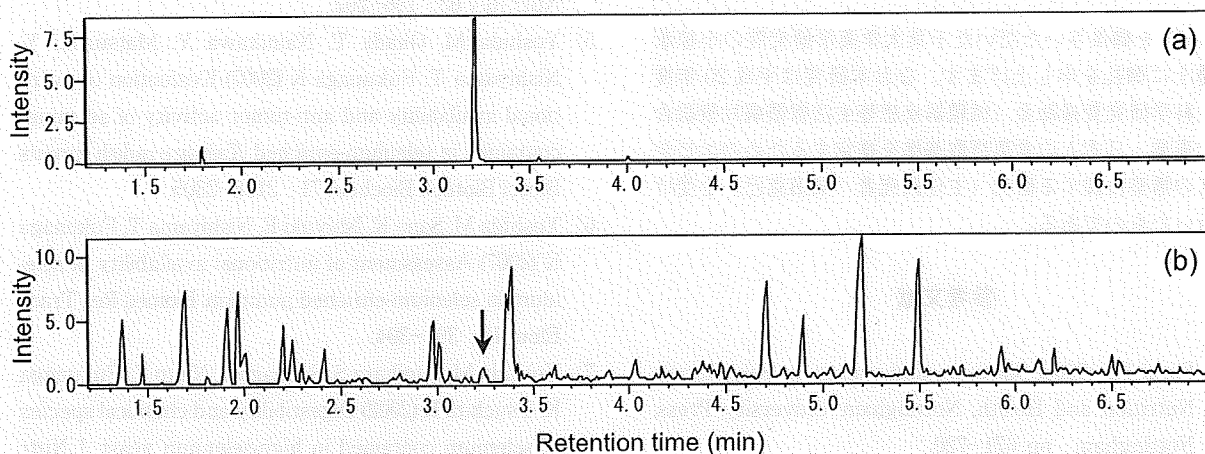


Fig. 3 Gas chromatograms of derivatized selenomethionine (a) and extract from selenium-enriched yeast (b).

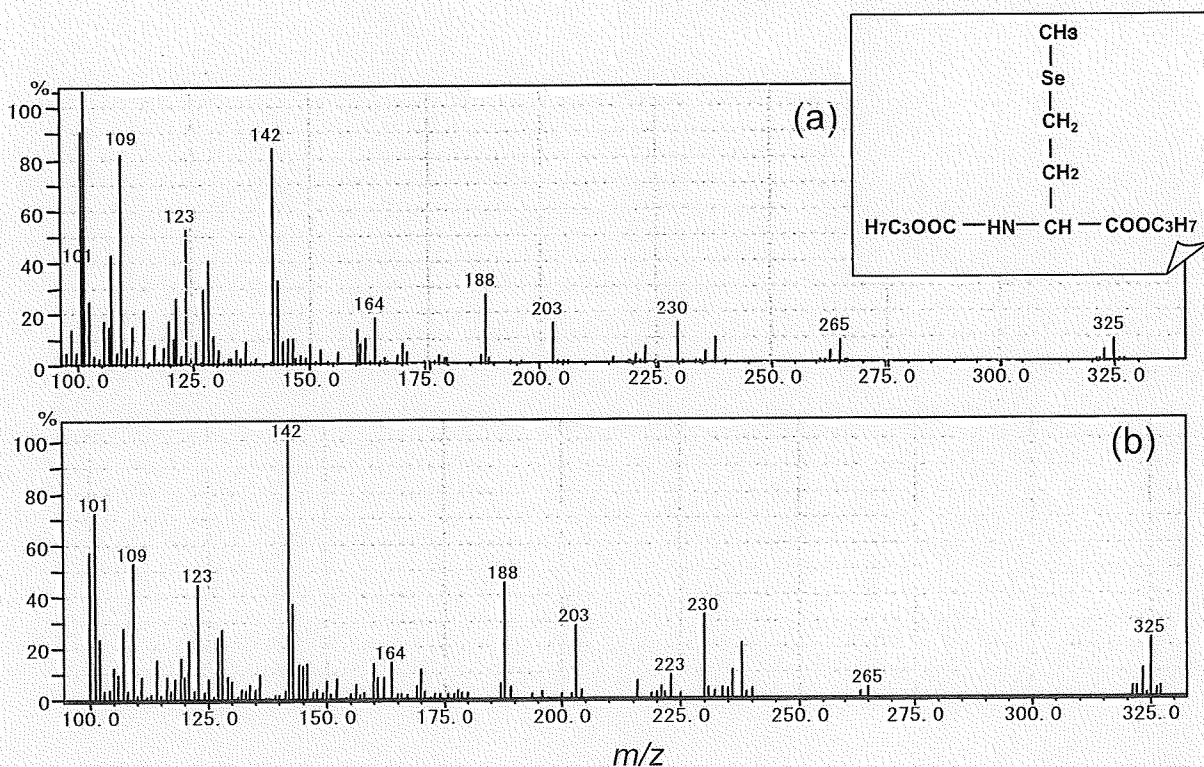


Fig. 4 Mass spectrometry of derivatized selenomethionine (a) and unknown compound contained in extract from selenium-enriched yeast (b).

らく SeHL の誘導体もアルギニンの誘導体と同様に高沸点であるため、分析ができなかったと考えられる。

今回、GC-MS 分析に用いたアミノ酸分析用キット (EZ: faast™) は、種々のアミノ酸を、誘導体化を含めて 30 分以内で定量分析できるようにしたものである。ただし、分析感度はあまり高くなく、含セレンアミノ酸を同定・定量するには、試料中セレン濃度が数 ppm 以上必要であった。したがって、一般の食品の含セレンアミノ酸の分析に用いる場合には、含セレンアミノ酸画分の濃縮操作が必要であり、さらに検討が必要と判断された。

謝 辞

SeHL を御供与いただいた千葉大学薬学研究院の小椋康光博士に御礼を申し上げます。なお本研究は平成 20 年度厚生科学研究費補助金 (循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業・日本人の食事摂取基準を推定するためのエビデンスの構築に関する研究 (主任研究者: 柴田克己) を受けて行ったものである。

参考文献

- 1) Surai PF (2006) Selenium and cancer. in Selenium in Nutrition and Health, Nottingham University Press, Nottingham: pp. 671-720.
- 2) Sugihara S, Kondo M, Chihara Y, Yuji M, Hattori H, Yoshida M (2004) Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. Biosci Biotech Biochem 68: 193-199.
- 3) Yoshida M, Sugihara S, Inoue Y, Chihara Y, Kondô M, Miyamoto S, Sukcharoen B (2005) Composition of chemical species of selenium contained in selenium-enriched shiitake mushroom and vegetables determined by high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. J Nutr Sci Vitaminol 51: 194-199.
- 4) Finley JW (2005) Selenium accumulation in plant foods. Nutr Rev 63: 196-202.
- 5) Yoshida M, Okada T, Namikawa Y, Matsuzaki Y, Nishiyama T, Fukunaga K (2007) Evaluation of nutritional availability and anti-tumor activity of selenium contained in selenium-enriched *Kaiware* radish sprouts. Biosci Biotech Biochem 71: 2198-2305.
- 6) Yoshida M, Sano K, Ishiyuki E, Nishiyama T, Fukunaga K (2007) Assessment of nutritional availability of selenium in selenium-enriched pumpkin. Biomed Res Trace Elem 18: 391-394.
- 7) Yoshida M, Sugihara S, Suenaga S, Naito C, Fukunaga K, Tsuchita H (2002) Digestibility and chemical species of selenium contained in high-selenium yeast. J Nutr Sci Vitaminol 48: 401-404.

食品中のセレンの分布と栄養有効性

吉田 宗弘

関西大学化学生命工学部食品工学研究室

Distribution and Nutritional Availability of Selenium Contained in Foods

Munehiro Yoshida

Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,
Materials and Bioengineering, Kansai University, Suita 564-8680, Japan.

Abstract

Selenium (Se) is an essential trace element in human nutrition. In this review, contents, chemical species and nutritional availability of Se in foods and Se intake in Japanese are discussed. Most fish meats showed high Se values ($> 0.3 \mu\text{g/g}$). Se contents in cereal and beans are varied dependently to soil Se contents; high Se contents are observed in wheat and soybeans grown on a central area of North American Continent. Since Japan imports a large amount of wheat and soybean, most of bread, pasta and natto sold in Japan show high Se contents ($> 0.1 \mu\text{g/g}$). In addition, north American cereals and beans are used as materials for feed of livestock, meats and eggs also show high Se ($> 0.1 \mu\text{g/g}$) in Japan. Se intake of Japanese is estimated to be about $100 \mu\text{g/d}$ which is comparatively high among the world. Se species in cereals and beans with a normal range of Se ($< 0.5 \mu\text{g/g}$) and that in Se-enriched yeast are protein-bound selenomethionine, while a part of Se species in fish meat is believed to be selenocysteine. Most Se-enriched vegetables contains Se-methylselenocysteine as a major Se species and a part of Se-enriched vegetables contain selenohomolanthionine and γ -glutamyl-Se-methylselenocysteine. Nutritional availability of Se in foods is able to be estimated by a slope ratio analysis. The availability of Se in Se-enriched yeast is high, but those in Se-enriched radish sprouts and in processed skipjack meats are low.

Keywords : nutritional availability of selenium, selenium-enriched foods, selenium intake, selenium species

連絡先：吉田 宗弘
〒564-8680
吹田市山手町 3-3-35
関西大学化学生命工学部生命・生物工学科食品
工学研究室
TEL : 06-6368-0970
FAX : 06-6388-8609
E-mail : hanmyou4@ipc.kansai-u.ac.jp

受付日：平成 20 年 9 月 30 日
受理日：平成 20 年 10 月 10 日

はじめに

ヒトを含む高等動物は食事から様々な化学形態のセレンを摂取し、グルタチオンペオキシダーゼ(GPX)をはじめとする含セレンタンパク質の合成を維持している。セレンの摂取量と含セレンタンパク質の合成量の間には明らかな相関性が存在しており、セレンの1日必要量も血漿GPX活性を適切な範囲に維持するのに必要な摂取量にもとづき設定されている。すなわち、米国食事摂取基準では、血漿GPX活性を飽和させるのに必要なセレンの最小摂取量(体重76kgの成人男性で $45 \mu\text{g/日}$)をセレンの推定平均必要量(EAR)として、成人男性(体重76kg)の推奨摂取量(RDA)を $55 \mu\text{g/日}$ としている[1]。これに対して、日本の食事摂取基準2005では、セレン欠乏症の予防には血漿GPX活性は飽和値の3分の2の値で十

分とする WHO の考えにもとづき[2]、セレンの必要量を体重 60 kg の成人男性で 24.3 $\mu\text{g}/\text{日}$ と算定し、EAR (成人男性で 25~30 $\mu\text{g}/\text{日}$) と RDA (成人男性で 30~35 $\mu\text{g}/\text{日}$) を設定している[3]。

一方、セレンの摂取上限量(UL)はヒトのセレン中毒に関する情報をもとに設定されている。たとえば、米国食事摂取基準は、セレンの有害作用非発現量(NOEL)を 800 $\mu\text{g}/\text{日}$ と見積もる中国のセレン汚染地域における研究[4]を採用し、これを不確定係数(UF)2 で除した 400 $\mu\text{g}/\text{日}$ を男女共通の成人のセレン摂取上限量(UL)としている[1]。これに対して、日本の食事摂取基準 2005 は、セレンの UL 策定において、上記 NOEL を体重補正した後に UF2 で除しているため、男女で異なる値(成人男性 450 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、成人女性 350 $\mu\text{g}/\text{日}$)を設定している[3]。

以上のことは、セレンの適切な日摂取量が、概ね 50~350 $\mu\text{g}/\text{日}$ の範囲と考えられていることを示している。本稿ではこの数値を念頭におきつつ、食品中のセレン含有量、日本人のセレン摂取量、食品中のセレンの化学形態、および食品中セレンの栄養有効性について述べる。

1. 食品中のセレン含有量

現在、日本で公刊されている五訂食品成分表にはセレンの項目が存在しない。近年中に公刊される六訂にはセレンの項目が採用されると聞いているが、現状では、せっかく食事摂取基準においてセレンの RDA や UL を策定しても、栄養管理の現場において適切な量のセレンを含有する献立を調製することは困難といわざるを得ない。このため、食事調査などにおいては、日本の食品のセレン含有量に関するいくつかの報告をもとに、おおよそのセレン摂取量を推定することが行われている[5]。

食品群別に見た場合、確実に 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ を超える高セレン含量が期待できるのは魚介類である。試料によっては 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ を超えるセレン含量を示すものもあるが、同一魚種でも部位、季節、捕獲地、加齢などによる変動が認められる。一方、土壌のセレン濃度に地球規模でばらつきが存在するため、植物性食品、とくに穀物や豆類のセレン含量には産地による違いが著しい。なかでも北米の中央大平原には Fig.1 に示すように世界有数の高セレン土壌地域が存在するため[6]、北米産の小麦や大豆の中には 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以上の高セレン含量を示すものが少なくない[7, 8]。北米産穀・豆類は世界中に輸出されており、その輸入量が一国のセレン栄養状態を左右することすら生じている[9]。北米産穀・豆類は家畜飼料にも転用されていることから、これを摂取した家畜に由来する肉類や卵類のセレン含量も 0.1~0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ の高値となる。

日本の土壌セレン含量は低値であり、国産穀・豆類のセレン含量も大半が 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ 未満である[7, 8, 10]。しかし、日本は大量の北米産穀・豆類を輸入しているため、これを使用した食品、すなわちパン、国産パスタ、

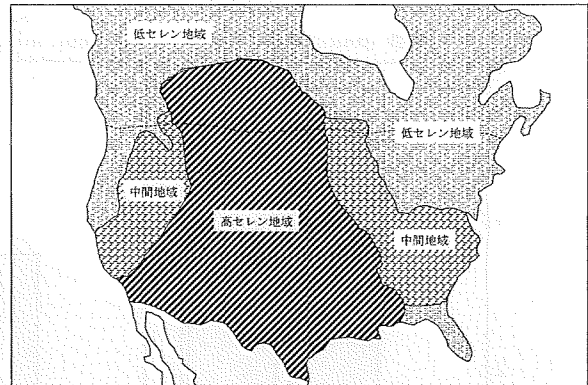


Fig.1 北米の高セレン地域と低セレン地域

および納豆の大半は 0.3 $\mu\text{g}/\text{g}$ 前後の高セレン含量を示す。また、畜産物も飼料の面での米国依存度が高いため、豪州産牛肉やニュージーランド産ヒツジ肉を除いた肉類と卵類のセレン含量も高い。以上をまとめると、日本において、セレン含量が高く、セレン供給源となっている食品は、魚介類、肉類、卵類、そしてパンと国産パスタとなる。

2. 日本人のセレン摂取量

上述のごとく、魚介類と北米産穀・豆類のセレン含量が高値であるため、国ごとのセレン摂取量は魚介類摂取量と飼料も含めた北米産穀・豆類の使用量に依存して変動することになる。日本人は魚介類摂取量が多く、かつ北米産穀・豆類への依存度も大きいいため、世界の中でもセレン摂取量の多い国民といえる。日本人を対象とした研究結果は、国民栄養調査などの食事調査と計算、モデル献立の分析、トータルダイエットの分析など方法は様々であるが、いずれも概ね 50~150 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、平均で約 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ という数値が日本人のセレン摂取量であることを示している[11]。セレンの分布が特定の食品群に偏っているため、献立の内容によるセレン摂取のばらつきは大きい、菜食主義者のような極端な偏食を継続しない限り、週単位で見ればほとんどの日本人のセレン摂取はきわめて適正な範囲にあると考えてよいだろう。なお、筆者らは、Fig.2 に示すように、週単位のセレン摂取が適正であれば、セレン栄養状態が維持できることを動物実験で確認している[12]。

3. 食品中のセレンの化学形態

分析技術の進歩により天然に存在する様々なセレンの分子種の同定が進んでいる。後述のセレンの栄養有効性がセレンの分子種ごとに異なることから、食品中セレンの分子種を把握することはきわめて重要である。しかし、意図的にセレンを強化した食品を除く、セレン濃度が 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 未満の一般の食品中のセレンの分子種を同定した事例はきわめて少ない。

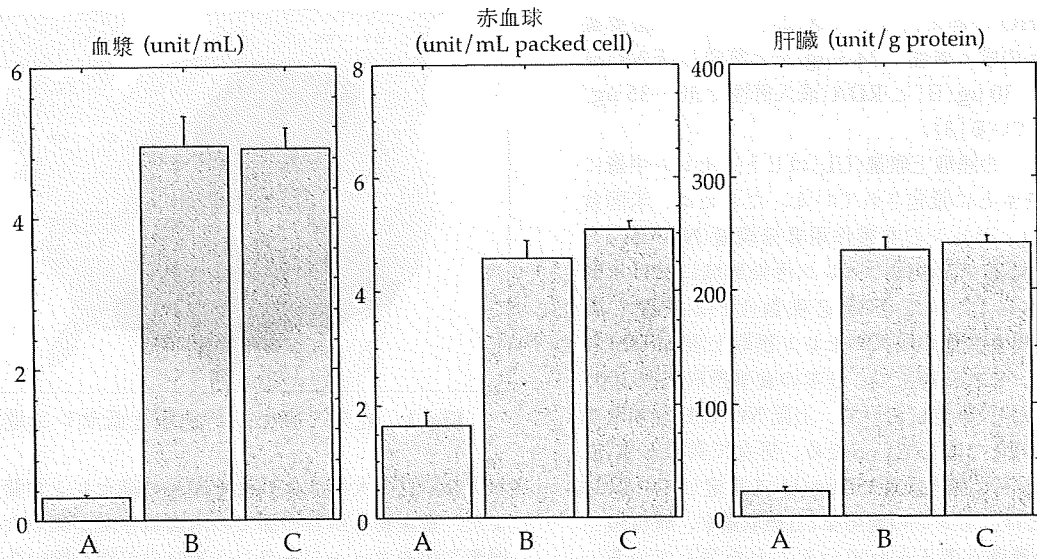


Fig. 2 適量の7倍量のセレンを週1回投与したラットのGPX活性
 4週齢のWistar系雄ラットを3群に分け、A群にはセレン欠乏飼料(セレン濃度、 $< 0.01 \mu\text{g/g}$)、B群には適量のセレンを含む飼料(セレン濃度、 $0.17 \mu\text{g/g}$)、C群にはセレン欠乏飼料を週6日、適量の7倍量のセレンを含む飼料(セレン濃度、 $1.19 \mu\text{g/g}$)を与え、4週間飼育後にGPX活性を測定した。

動物の組織中でセレンの大半は含セレンタンパク質のセレノシステイン残基として存在している。魚肉や獣肉も動物組織であることから、動物性食品中のセレンの分子種は含セレンタンパク質中のセレノシステイン残基、もしくはその変性物と推定されるが、これらを直接同定した例はない。セレノシステイン残基は不安定であることから、加工・調理を経た後もセレノシステイン残基の状態が維持されているかを確認する必要がある。

高濃度にセレンを含む魚種、とくにマグロ類などの場合、すべてのセレンを含セレンタンパク質で説明することには無理がある。マグロ類の場合、メチル水銀を高濃度に含有することから、セレンとメチル水銀の複合体が存在する可能性が示されたこともあったが、現在では否定的な意見の方が多い。近年では、マグロ類の魚肉や内臓には構造未知の低分子セレン化合物の存在することが示されている[13]。著者らも Fig.3 に示すように、マグロ血合肉抽出物中に未知のセレン化合物の存在することを認めているが、同定には至っていない[14]。このような魚肉中の未知セレン化合物は後述の魚肉中セレンの低栄養有効性に関わりがあるかもしれない。

植物性食品、とくに通常レベルのセレンを含有する穀物や豆類に含有されるセレンは、タンパク質のペプチド鎖に取り込まれたセレノメチオニンであることが示されている[15]。このセレノメチオニン残基は比較的安定なので、加工・調理を経た後もそのままの形態で存在していると考えられる。

意図的にセレンを強化した酵母、キノコ、野菜類のセレンの分子種の同定は、高速液体クロマトグラフィーと

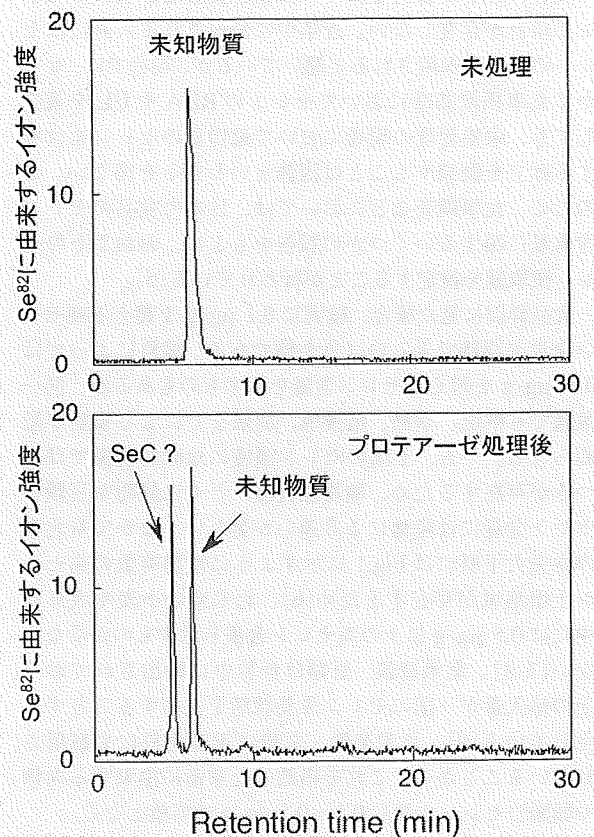


Fig. 3 マグロ血合肉 0.1M 塩酸抽出液中のセレンの形態

誘導結合プラズマ質量分析を連動させた分析系(HPLC-ICPMS)などの普及に伴い、近年飛躍的に進歩している。タンパク質に結合したセレンメチオニン(酵母、キノコ類)[16-19]、Se-メチルセレンシステイン(多くのセレン強化野菜類)[19, 20]、 γ -グルタミル-Se-メチルセレンシステイン(ニンニク、ニラなどの γ -グルタミルペプチドを合成できる植物)[19, 21]、セレンホモランチオニン(一部のセレン強化野菜類)[22, 23]などが同定されている。セレン化合物には抗腫瘍活性のあることが認められているが、セレン自身のもつ高毒性ゆえに、その医薬品への応用は進んでいない。植物が生産するこれらのセレン化合物中、Se-メチルセレンシステインと γ -グルタミル-Se-メチルセレンシステインは亜セレン酸よりも低毒性(これは後述の低栄養有効性と同義である)で、かつ抗腫瘍活性の高いセレン化合物として期待されており、これらを含むセレン強化野菜の開発・利用に関心が集まっている[24, 25]。

4. 食品中セレンの栄養有効性

食品中のセレンは多くの共存成分とともに摂取され、消化を受けた後、多くは消化管から吸収される。そして、Fig.4のような代謝過程を経て、含セレンタンパク質のセレンシステイン残基に取り込まれる。これらのプロセスにおいては様々な損失が生じるため、食品中セレンの含セレンタンパク質への転換利用率は100%とはならな

い。食品中セレンの栄養有効性とは、食品に含有されるセレンのうち、生体内において真に機能を発現するものの割合(すなわち含セレンタンパク質に取り込まれるものの割合)をさしており、消化吸収率と体内利用率をあわせた概念といえる。なお生物学的有効性、生理有効性、利用効率、栄養効率などの表現は栄養有効性と同義と考えてよい。また栄養有効性を意味する英語表現は bioavailability がもっとも一般的であるが、薬理効果を含まないことを強調する場合には nutritional availability や nutritional efficiency などの表現を用いる。

食品中セレンの栄養有効性に影響を及ぼす要因としては、食事中共存物と食品中セレンの化学形態が大きい。亜鉛などの微量元素では、摂取するヒト側の微量元素の栄養状態が腸管吸収率に影響を及ぼすことが知られているが、セレンの場合は、もともとの吸収率がきわめて高いため、セレン栄養状態と吸収率の間に関連は認められていない。

食品中セレンの栄養有効性は定量的な概念であるから数値化することが望ましい。セレンの場合は slope ratio 法を用いて栄養有効性を数値化することが提唱されている[26]。Slope ratio 法とは、Fig.5 に示すように、食品由来セレンを段階的に投与し、投与セレン量とセレン栄養状態の指標(組織中の GPX 活性あるいはセレン濃度)との間の回帰式の傾きを標準セレン化合物(多くは亜セレン酸ナトリウム)と比較し、その比をとるという方法である。

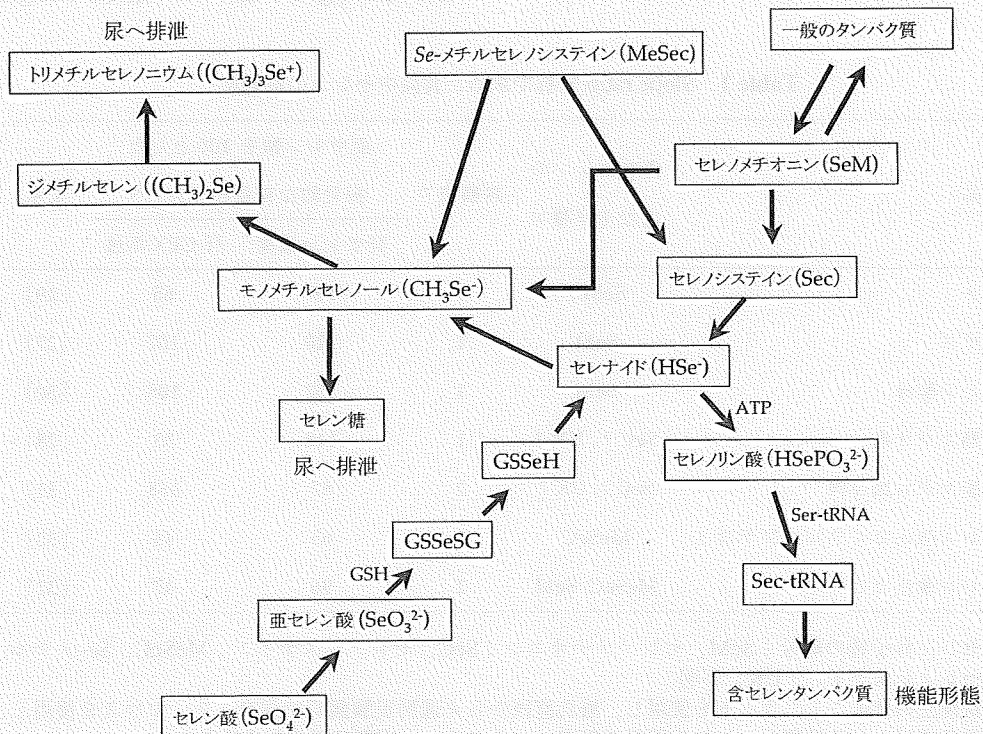


Fig. 4 動物におけるセレン代謝

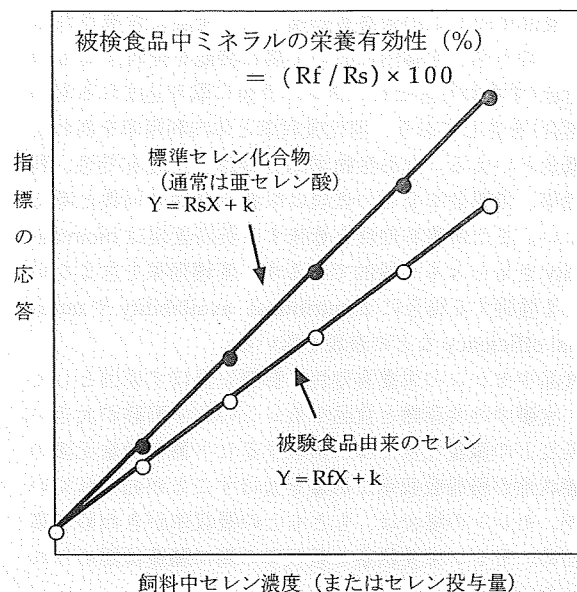


Fig. 5 食品中セレンの有効性評価の方法 (Slope ratio analysis)

著者らは slope ratio 法を用いていくつかの食品中のセレンの栄養有効性を評価してきた。Table 1 はその結果をまとめたものである [27-32]。亜セレン酸を基準にした場合、高い栄養有効性を示したのは、セレン酵母、脱脂脱水処理したマグロ血合肉であり、逆に低い有効性であったのは加熱カツオ肉、セレン強化カイワレダイコンであった。このことは、セレンをセレンメチオニンの形

態で含有する食品のセレンの栄養有効性が高く、セレンを Se-メチルセレンシステインの形態で含有するセレン強化野菜類のセレンの栄養有効性が低いこと、そして魚肉のセレンは有効性が低い場合のあることを示している。

なお、分子種という視点から見た場合、セレンの栄養有効性を決めるのは Fig.4 から明らかなようにセレナイドへの変換効率である。セレナイドは生理的にきわめて活性が高く、毒性も強い。したがってセレンの栄養有効性と毒性は比例していると考えるのが妥当である。Se-メチルセレンシステインはセレナイドへの変換率が低いゆえに栄養有効性と毒性の双方が低い。この化合物が亜セレン酸を上回る抗腫瘍活性を持つという事実は、セレン化合物の持つ抗腫瘍作用がセレン化合物の毒性発現作用とは異なることを意味しているといえるだろう。

食品中セレンの栄養有効性はセレンの必要量を判断する場合の要因のひとつとして第六次改定栄養所要量では考慮されていたが [33]、現在の食事摂取基準 2005 では考慮の対象になってはいない。その背景には、食品中セレンの栄養有効性が現実の食生活において実質的にどの程度影響しているか判断できないことがある。したがって、今後、ヒト(とくに日本人)を対象にして、食品中セレンの栄養有効性を判定する研究が実施されることが望まれる。

おわりに

多くの疫学研究において、低セレン栄養状態(セレン摂取量が約 30 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、血清セレン濃度が 50 ng/ml 未満)は

Table 1 Slope ratio 分析で求めた食品中セレンの有効性

食品	含有セレンの 主な分子種 ¹⁾	試験法 ²⁾	亜セレン酸を 100 とした		文献
			相対的な有効性 (%) ³⁾		
			肝セレン濃度	肝 GPX 活性	
コメ	SeM?	1	107	65	[29]
ダイズ	SeM	1	120	107	[27]
セレン酵母	SeM	1	157	108	[30]
加熱カツオ肉	SeC?, UK?	1	148	33	[28]
脱脂マグロ血合肉	SeC?, UK?	2	87	168	[31]
セレン強化カイワレスプラウト	MeSeC	2	65	44	[32]
セレン強化カボチャ	MeSeC, SeM	2	96	47	[32]

¹⁾ セレン分子種の略号: SeM、セレンメチオニン; SeC、セレンシステイン; MeSeC、Se-メチルセレンシステイン; UK、不明

²⁾ 試験法の意味: 1、ラットを使用し、離乳直後から 4 週間実験飼料で飼育; 2、マウスを使用し、離乳直後から 3 週間セレン欠乏飼料で飼育し、その後、1 週間実験飼料を投与。

³⁾ セレン栄養状態の指標別に表示した。

がん発生の危険因子と同定されており、日常的なセレン摂取を増やすためのところみが各国で行われている。しかし、日本人は平均セレン摂取量が約 100 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、血清セレン濃度が 110~130 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり[34]、セレン摂取を増やすこと的前提条件は成立していない。近年、米国において、皮膚がん既往者に 200 $\mu\text{g}/\text{日}$ のセレン(セレン酵母)を 4.5 年間投与したところ、全がんの発生率と死亡率が 50% 近く低下したという研究が報告された[35]。この研究は、RDA を大幅にこえるセレンの摂取ががん予防に繋がることを暗示するとして、セレンの積極摂取を勧める根拠にされている。しかし、この研究の最終報告では、セレン投与効果が明らかだったのは、研究開始時に低血清セレン濃度の集団であり、日本人並みの血清セレン濃度の集団ではセレン投与は無効だったことが示されている[36]。さらに最近では、この 200 $\mu\text{g}/\text{日}$ のセレン投与が糖尿病発生率を上昇させたという報告も提出されている[37]。したがって、日本人のように食事から RDA をこえるセレン摂取が容易に達成できている集団の場合は、セレン酵母を原料としたサプリメントを利用することは控えるのが賢明だと思われる。セレン化合物の持つ抗腫瘍効果は魅力的であるが、それを実際のがん予防に応用するには、セレンの抗腫瘍作用メカニズムの解明と Se-メチルセレンシステインを上回る低毒性かつ高抗腫瘍活性のセレン化合物の探索を待つ必要がある。

文 献

- 1) Institute of Medicine: Selenium: Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. National Academy Press, Washington DC, 2000, pp. 284-324.
- 2) WHO/FAO/IAEA: Selenium: Trace Elements in Human Nutrition and Health. WHO, Geneva, 1996, pp. 105-122.
- 3) 厚生労働省策定: 日本人の食事摂取基準 [2005 年版]. 第一出版, 東京, 2005, pp. 184-188.
- 4) Yang G, Zhou R: Further observations on the human maximum safe dietary selenium intake in a seleniferous area of China. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 8: 159-165, 1994.
- 5) Miyazaki Y, Koyama H, Sasada Y, Satoh H, Nojiri M, Suzuki S: Dietary habits and selenium intake of residents in mountain and coastal communities in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol* 50: 309-319, 2004.
- 6) Kubota J, Allaway WH, Carter DL, Cary EE, Lazar VA: Selenium in crops in the United States in relation to selenium-responsive diseases of animals. *J Agric Food Chem* 15: 448-453, 1967.
- 7) Yoshida M, Yasumoto K: Selenium contents of rice grown at various sites in Japan. *J Food Com Anal* 1: 71-75, 1987.
- 8) 吉田宗弘, 安本教博: 日本人の消費するコムギ, およびダイズ製品のセレン含量. *栄食誌* 41: 320-323, 1988.
- 9) Alfthan G: Longitudinal study on the selenium status of healthy adults in Finland during 1975-1984. *Nutr Res* 8: 467-476, 1988.
- 10) 吉田宗弘, 安藤達彦, 館 博: 輸入米および輸入大豆のセレン含量. *栄食誌* 48: 152-155, 1995.
- 11) 吉田宗弘: 日本人のセレン摂取と血中セレン濃度. *栄食誌* 45: 485-494, 1992.
- 12) Sugihara S, Fukunaga K, Nishiyama T, Yoshida M: Effect of intermittent supplementation with selenate on selenium status of rats fed selenium-deficient diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 478-481, 2005.
- 13) Quijano MA, Moreno P, Gutiérrez AM, Perez-Conde M, Cámara C: Selenium speciation in animal tissues after enzymatic digestion by high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 35: 878-884, 2000.
- 14) 吉田宗弘, 杉原 悟, 千原優子, 近藤真理子: マグロ血合肉に含有されるセレンの化学種の同定. *微量栄養素研究* 20: 117-120, 2003.
- 15) Yasumoto K, Suzuki T, Yoshida M: Identification of selenomethionine in soybean protein. *J Agric Food Chem* 36: 463-467, 1988.
- 16) Méndez SP, González EB, Sanz-Medel A: Hybridation of different chiral separation techniques with ICP-MS detection for the separation and determination of selenomethionine enantiomers: chiral speciation of selenized yeast. *Biomed Chromatogr* 15: 181-188, 2001.
- 17) Yoshida M, Sugihara S, Suenaga T, Naito C, Fukunaga K, Tsuchita H: Digestibility and chemical species of selenium contained in high-selenium yeast. *J Nutr Sci Vitaminol* 48: 401-404, 2002.
- 18) Ogra Y, Ishiwata K, Ruiz Encinar J, Lobinski R, Suzuki KT: Speciation of selenium in selenium-enriched shiitake mushroom, *Lentinula edodes*. *Anal Bioanal Chem* 379: 861-866, 2004.
- 19) Yoshida M, Sugihara S, Inoue Y, Chihara Y, Kondo M, Miyamoto S, Sukcharoen B: Composition of chemical species of selenium contained in selenium-enriched shiitake mushroom and vegetables determined by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 194-199, 2005.
- 20) Sugihara S, Kondo M, Chihara Y, Yûji M, Hattori

- H, Yoshida M : Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Biosci Biotechnol Biochem.* 68 : 193-199, 2004.
- 21) Dong Y, Lisk D, Block E, Ip C : Characterization of the biological activity of gamma-glutamyl-Semethylselenocysteine : a novel, naturally occurring anticancer agent from garlic. *Cancer Res* 61 : 2923-2928, 2001.
- 22) Ogra Y, Kitaguchi T, Ishiwata K, Suzuki N, Iwashita Y, Suzuki KT : Identification of selenohomolanthionine in selenium-enriched Japanese pungent radish. *J Anal At Spectrom* 22 : 1390-1396, 2007.
- 23) 塩川真人, 水谷泰輔, 吉田宗弘 : アミノ酸誘導体化キットとガスクロマトグラフィー質量分析を用いたセレン強化食品中の含セレンアミノ酸の同定. *微量栄養素研究* 25 : 147-151, 2008.
- 24) Finley JW : Selenium accumulation in plant foods. *Nutr Rev* 63 : 196-202, 2005.
- 25) 吉田宗弘 : 植物に存在する含セレンアミノ酸の同定と生理機能. *化学と生物* 46 : 564-570, 2008.
- 26) Combs GF Jr and Combs SB : *The Role of Selenium in Nutrition.* Academic Press, Orland, 1986, pp. 127-177.
- 27) 吉田宗弘, 岩見公和, 安本教博, 岩井和夫 : ミルクカゼイン, 大豆タンパク質およびカツオ節に含まれるセレンの有効性. *農化* 55 : 689-693, 1981.
- 28) Yoshida M, Iwami K, Yasumoto K : Determination of nutritional efficiency of selenium contained in processed skipjack meat by comparison with selenite. *J Nutr Sci Vitaminol* 30 : 395-400, 1984.
- 29) 吉田宗弘 : コメに含まれるセレンの栄養有効性. *日衛誌* 42 : 989-993, 1987.
- 30) Yoshida M, Fukunaga K, Tsuchita H, Yasumoto K : An evaluation of the bioavailability of selenium in high-selenium yeast. *J Nutr Sci Vitaminol* 45 : 119-128, 1999.
- 31) Yoshida M, Abe M, Fukunaga K, Kikuchi K : Bioavailability of selenium in the defatted dark muscle of tuna. *Food Addit Contam* 19 : 990-995, 2002.
- 32) Yoshida M, Sano K, Ishiyuki E, Nishiyama T, Fukunaga K : Assessment of nutritional availability of selenium in selenium-enriched pumpkin. *Biomed Res Trace Elem* 18 : 391-394, 2007.
- 33) 健康・情報研究会編 : 第六次改定日本人の栄養所要量. 第一出版, 東京, 1999, pp. 160-163.
- 34) 姫野誠一郎 : セレン. *日本臨牀*, 62(増刊号 12) : 315-318, 2004.
- 35) Clark LC, Combs GF Jr, Turnbull BW, Slate EH, Chalker DK, Chow J, Davis LS, Glover RA, Graham GF, Gross EG, Krongrad A, Lesher JL Jr, Park HK, Sanders BB Jr, Smith CL, Taylor JR : Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. *Nutritional Prevention of Cancer Study Group. JAMA* 276 : 1957-1963, 1996.
- 36) Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr, Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC : Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial : a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11 : 630-609, 2002.
- 37) Stranges S, Marshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Combs GF, Cappuccio FP, Ceriello A, Reid ME : Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 147 : 217-223, 2007.

追記

本原稿の校正中に、200 µg/d のセレン付加的投与の前立腺がん予防効果を検討する米国の The Selenium and Vitamin E Prevention Trial (SELECT) から中間報告が発表された (Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers, *JAMA*, online December 9, 2008)。研究対象者の血清セレン濃度は 122~152 ng/ml であり、セレンのがん予防効果はまったく認められないという結果が示されている。

飼料中モリブデン濃度がラット臓器および血清モリブデン濃度に及ぼす影響

吉原花織, 福永健治, 吉田宗弘

(関西大学化学生命工学部食品工学研究室*)

Effect of Dietary Molybdenum Level on Tissue and Serum Molybdenum Concentrations in Rats

Kaori YOSHIHARA, Kenji FUKUNAGA and Munehiro YOSHIDA

Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering,

Kansai University, Yamate 3-3-35, Suita, Osaka 564-8680, Japan

Summary

Molybdenum status was examined in rats fed experimental diets containing graded level of molybdenum. Male 5-week Wistar rats were divided into three groups. One group was fed a basal AIN93G diet without ammonium molybdate (molybdenum content, 0.08 $\mu\text{g/g}$) and other groups were fed the basal diet supplemented with 0.1 or 0.5 $\mu\text{g/g}$ of molybdenum as ammonium molybdate for 4 weeks. Molybdenum concentrations in liver and kidney of the rats were not varied with dietary molybdenum intake level but the serum molybdenum concentration was gradually increased with an increase of dietary molybdenum level. Dietary molybdenum level did not effect on copper concentrations in the liver, kidney and serum as well as xanthine oxidase activity in the liver and the serum uric acid level. These results indicate that variation of dietary molybdenum level in the present study (0.08 to 0.58 $\mu\text{g/g}$) did not effect on molybdenum status other than serum molybdenum concentration.

モリブデンはキサンチンオキシダーゼなどの補酵素として機能し、必須微量元素と位置づけられている¹⁾。しかしヒトのモリブデン欠乏は、モリブデンをほとんど含まない高カロリー輸液の長期投与に伴って発生した一例のみであり²⁾、食事性欠乏は知られていない。これは、モリブデンが穀物や豆類に豊富に含まれるため、1日摂取量が所要量(25~30 $\mu\text{g/日}$)³⁾をはるかに超える150 μg 以上であることに起因している⁴⁾。ヒトを対象にした出納試験では、モリブデン摂取量の広範囲にわたって平衡状態が維持されることが示されている^{5, 6)}。このことは、モリブデン摂取量の変動しても組織中モリブデン濃度に変化がなく、体内のモリブデン状態が一定に維持されることを意味する。一方、日本人の血清や母乳のモリブデン濃度は欧米人よりもやや高い^{7, 8)}。これは日本人のモリブデン摂取が欧米人よりも多いためと思われる。しかし、ヒトや実験動物を対象にして、モリブデン摂取量と組織および血清モリブデン濃度との関係を検討した報告は少ない⁹⁻¹¹⁾。本報告は、モリブデン濃度を段階的に変化させた飼料でラットを飼育し、組織および血清のモリブデン濃度を測定した結果を述べるものである。

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

実験方法

1. 実験動物と飼料

5週齢のWistar系雄ラット24匹を6匹ずつ3群に分け、1群にはAIN93G飼料からモリブデン酸アンモニウムを除いた低モリブデン飼料、他の2群にはこの低モリブデン飼料に0.1または0.5 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンをモリブデン酸アンモニウムの形態で添加した飼料を投与し、4週間飼育した。なお低モリブデン飼料のモリブデン含量の実測値は0.08 $\mu\text{g/g}$ であった。

飼育期間終了後、すべてのラットをエーテル麻酔下で解剖し、肝臓、腎臓および血清を得た。

2. 分析

(1) モリブデンの定量

約0.5 gの肝臓または腎臓に5 mLの濃硝酸を加え、100°Cで不溶物がなくなるまで加熱した。分解液を蒸留水を用いて50 mLにメスアップ後、含有されるモリブデンを誘導結合プラズマ質量分析(ICPMS)により定量した⁴⁾。

血清2 mLをろつぽに入れ、80°Cで乾燥させた後、電気炉中550°Cで16時間灰化した。灰化した血清を5 mLの2%硝酸に溶解後、含有されるモリブデンをICPMSにより定量した⁷⁾。

(2) 銅の定量

上記の調製試料を蒸留水で8~20倍に希釈後、ICPMSを用いて銅を定量した。

(3) 肝臓キサンチンオキシダーゼ活性の測定

肝臓約1 gに9倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズし、10%ホモジネートを調製した。得られたホモジネートを8,000 x gで15分間遠心した。遠心後の上清0.2 mLに、0.3 mMキサンチン溶液0.6 mL、0.136 Mトリス塩酸緩衝液(pH 7.4) 2.2 mLを混合し、37°Cで10分間反応させた。反応終了後、20%過塩素酸1 mLを加えて遠心し、上清を得た。上清中に存在する尿酸を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で定量することにより、肝臓中のキサンチンオキシダーゼ活性を求めた。HPLCの条件は以下のとおりである。カラム、CAPCELL PAK C18 (4.6 mm ϕ x 150 mm, 資生堂); 移動相, 25 mM NaH_2PO_4 (pH 3.0)/アセトニトリル=1/99 (v/v); 流速, 1.0 mL/min; 検出, UV 292 nm。

(4) 血清尿酸の定量

血清尿酸濃度はキット(尿酸C-テストワコー, 和光純薬)を用いて測定した。

結 果

Table 1に肝臓、腎臓および血清のモリブデン濃度をまとめた。肝臓と腎臓のモリブデン濃度は、飼料からのモリブデン摂取量の増減の影響をまったく受けず、一定範囲に維持された。これに対して血清モリブデン濃度はモリブデン摂取量の増減に対応して変動し、基本食群に比較してモリブデン添加食投与群において有意に高い値を示した。

Table 2に臓器と血清の銅濃度、Table 3に肝臓のキサンチンオキシダーゼ活性と血清尿酸濃度をまとめた。いずれの測定項目も、飼料からのモリブデン摂取量の増減の影響をまったく受けず、各群間に有意な差は認められなかった。

Table 1 Tissue and serum molybdenum levels in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Molybdenum level		
	Liver (ng/g)	Kidney (ng/g)	Serum (ng/mL)
0	839 \pm 24 ^a	478 \pm 9 ^a	5.7 \pm 0.8 ^a
0.1	949 \pm 32 ^a	508 \pm 24 ^a	6.5 \pm 1.1 ^{ab}
0.5	893 \pm 44 ^a	496 \pm 17 ^a	12.4 \pm 2.1 ^b

Values are means \pm SEM (n = 6).

Means in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2 Tissue and serum copper levels in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Copper level		
	Liver ($\mu\text{g/g}$)	Kidney ($\mu\text{g/g}$)	Serum ($\mu\text{g/mL}$)
0	3.41 \pm 0.26	7.46 \pm 0.98	0.13 \pm 0.03
0.1	4.00 \pm 0.87	9.23 \pm 0.86	0.14 \pm 0.02
0.5	3.69 \pm 0.18	9.45 \pm 0.87	0.17 \pm 0.02

Values are means \pm SEM (n = 6).

Table 3 Liver xanthine oxidase activity and serum uric acid level in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Liver xanthine oxidase (unit/g protein)	Serum uric acid ($\mu\text{g/mL}$)
0	0.16 \pm 0.01	128 \pm 1.7
0.1	0.13 \pm 0.02	12.2 \pm 0.8
0.5	0.12 \pm 0.02	13.3 \pm 0.8

Values are means \pm SEM (n = 6). A unit of xanthine oxidase activity is expressed as μmol uric acid formed per minute.

考 察

モリブデンの過剰摂取は、血清尿酸濃度の上昇や銅欠乏を招くことが知られているが^{12, 13)}、今回の実験では、血清尿酸や組織中銅濃度の数値に各群間に差がなかった。モリブデン中毒を起こした家畜が摂取していた飼料のモリブデン濃度は20~100 $\mu\text{g/g}$ であったと報告されていることから¹⁴⁾、今回のモリブデン投与量の範囲は過剰域にはるかに及ばなかったといえる。今後、より高濃度のモリブデンを含有した飼料を用いて、モリブデン投与の影響を検討する必要があると思われる。

Table 1に示したように、今回のモリブデンの投与範囲においては、血清モリブデン濃度は摂取量に応じて変動したのに対して、肝臓と腎臓のモリブデン濃度は一定範囲に維持されていた。またモリブデン含有酵素であるキサンチンオキシダーゼ活性にも各群間に差はなかった。Wangらも飼料中モリブデン濃度0.1~0.8 $\mu\text{g/g}$ の範囲では、臓器中のモリブデン濃度とモリブデン酵素の活性はほぼ一定値に維持されることを観察している(ただし、この研究では飼料のモリブデン濃度は実測されていない)⁹⁾。このことから、今回のモリブデン摂取の範囲(0.08~0.58 $\mu\text{g/g}$)であれば、血清のモリブデン濃度は変動するが組織中のモリブデン濃度は一定範囲に維持されており、モリブデンを必要とする生理機能も維持されることを意味している。

今回の実験において、低モリブデン飼料として用いたAIN93Gをベースとした低モリブデン飼料には0.08 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンが含まれていた。これはAIN93Gを構成するミルクカゼインとコーンスターチにモリブデンが混入していたためである。ヒトの食事摂取量(乾燥重量)を約500 g/日と仮定して、飼料中濃度0.08 $\mu\text{g/g}$ をヒトの摂取量に換算すると40 $\mu\text{g/日}$ になる。日本人を対象にした食事摂取基準では、モリブデンの摂取推奨量(RDA)を20~25 $\mu\text{g/日}$ としていることから³⁾、今回の実験では基本食を投与したラットにおいてもモリブデンが充足していた可能性は高い。一方、モリブデン添加食のモリブデン含有量(0.18, および0.58 $\mu\text{g/g}$)を同様にヒトの摂取量に換算すると、それぞれ90, および290 $\mu\text{g/日}$ となる。食事摂取基準におけるモリブデンの摂取上限値(UL)が230~320 $\mu\text{g/日}$ であることから³⁾、0.5 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンを添加した群は食事摂取基準のUL相当量のモリブデンを摂取したとみなせる。以上のこと、および日本人のモリブデン摂取量は150~320 $\mu\text{g/日}$ の範囲にあると推定されていることをあわせると⁴⁾、今回のモリブデンの投与量はRDAをやや上回る摂取量から日本人のモリブデン摂取量の上限をカバーしているといえるだろう。

以上のことから、今回の実験結果は、モリブデン摂取が食事摂取基準のRDA~ULの範囲、あるいは現在の日本人の範囲であれば、血清のモリブデン濃度は変動するが、モリブデンの恒常性は維持されることを示すといえるだろう。

このことは、日本人を対象にした調査研究において、血清モリブデン濃度に個人差が大きいこと⁷⁾、モリブデン出納値がほぼゼロに維持されていること⁶⁾、とよく一致している。

今回の実験では低モリブデン飼料自体に相当量のモリブデンが混入していたために、モリブデン不足の状態を引き起こすことが不可能であった。今後、モリブデンの生理機能を検討し、モリブデンの必要量を推定するには、モリブデン混入の確率が低い素材によって調製された、カゼインやコーンスターチを使用しない飼料を用いることが必要といえる。

参考文献

- 1) Rajagopalan KV (1987) Molybdenum-An essential trace element. *Nutr Rev* 45: 321-328.
- 2) Abumrad NN, Schneider AJ, Steel D, Rogers LS (1981) Amino acid intolerance during prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy. *Am J Clin Nutr* 34: 2551-2559.
- 3) 厚生労働省策定 (2005) 日本人の食事摂取基準 [2005年版], 第一出版, 東京: pp. 152-155.
- 4) Hattori H, Ashida A, Itô C, Yoshida M (2004) Determination of molybdenum on foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese Population. *J Nutr Sci Vitaminol* 50: 404-409.
- 5) Turnland JR, Keyes WR, Peiffer GL (1995) Molybdenum absorption, excretion and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr* 62: 790-796.
- 6) Yoshida M, Hattori H, Ôta S, Yoshihara K, Kodama N, Yoshitake Y, Nishimuta M (2006) Molybdenum balance in healthy young Japanese women. *J Trace Elem med Biol* 20: 245-252.
- 7) Yoshida M, Ôta S, Fukunaga K, Nishiyama T (2006) Serum molybdenum concentration in healthy Japanese adults determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J Trace Elem Med Biol* 20: 19-23.
- 8) 吉田宗弘, 伊藤智恵, 服部浩之, 土田 博, 米久保明得, 西牟田 守 (2004) 日本における母乳および調製粉乳中のモリブデン濃度と乳児のモリブデン摂取量. *微量栄養素研究* 21: 59-64.
- 9) Wang X, Oberleas D, Yang MT, Yang SP (1992) Molybdenum requirement of female rats. *J Nutr* 122: 1036-1041.
- 10) Pandey R, Kumar R, Singh SP, Srivastava SP (2002) Molybdenum in rat tissue. *Human Exp Toxicol* 21: 33-35.
- 11) Turnlund JR, Keyes WR (2004) Plasma molybdenum reflects dietary molybdenum intake. *J Nutr Biochem* 15: 90-95.
- 12) Walravens PA, Moure-Eraso R, Solomons CC, Chappell WR, Bentley G (1979) Biochemical abnormalities in workers exposed to molybdenum dust. *Arch Environ Health* 34: 302-308.
- 13) Vyskocil A, Viau C (1999) Assessment of molybdenum toxicity in humans. *J Appl Toxicol* 19: 185-192.
- 14) Mills CF, Davis GK (1987) Molybdenum, In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 5th ed. (ed by Mertz W), Academic Press, New York, pp. 429-463.

食品および飲料水中のバナジウム含量と日本人のバナジウム摂取量 (予報)

吉田 宗 弘, 生 田 剛
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室*)

Vanadium Contents in Foods and Drinking Water, and Estimation of Vanadium Intake in Japanese. A Preliminary Report

Munehiro YOSHIDA and Tsuyoshi IKUTA
*Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,
Materials and Bioengineering, Kansai University.
Yamate 3-3-35, Suita, Osaka 564-8680, Japan*

Summary

To estimate the vanadium intake in the Japanese population, the vanadium content in various food and drinking water samples (3 Japanese tap water samples, 19 Japanese mineral water samples, 21 European mineral water samples and 6 North American mineral water samples) was determined using inductively coupled plasma mass spectrometry. All the tap water samples showed values of less than 5 ng/mL as vanadium concentration. Among 46 mineral water samples, 31 samples (67.4 %) showed less than 5 ng/mL and only 3 samples showed more than 50 ng/mL. Among the food samples analyzed, the highest vanadium content (> 1000 ng/g dry weight basis) was observed in several algae and shellfish samples. The moderate vanadium content (100-1000 ng/g dry weight basis) was observed in leaf vegetables, dairy products and white table bread while the low vanadium content (< 50 ng/g) was observed in cereals, soybean, potatoes, fruits, meats, eggs and fishes. Based on the present quantification of vanadium in foods and drinking water and the recent National Nutrition Survey in Japan, the average vanadium intake of Japanese population was preliminarily estimated as about 30 µg/d/capita. The principal vanadium source in the Japanese diet was thought to be wheat products, vegetables and dairy products.

バナジウムは古くから動物栄養上必須の元素ではないかといわれてきた。とくに1970年代には、バナジウム欠乏食(バナジウム濃度0.1 µg/g未満)を投与したラットやヒナは、バナジウム添加食(バナジウム濃度0.25~0.5 µg/g)を投与したものに比較して、成長遅延、羽毛形成不全、骨の形態異常、繁殖力の低下、ヘマトクリット値の低下、血清コレステロール濃度の低下などを生じることが相次いで報告された。しかし、これらの実験は再現性が乏しく、現在でもバナジウムの必須性は確定されていない¹⁾。超微量元素栄養学の権威であるNielsenは、バナジウムが、リン酸転移酵素やリン酸エステル分解酵素の制御に関わっており、動物栄養上必須である可能性があるため、今後、必須性確定のための研究が必要であると述べている²⁾。しかし、最近20年間、非反芻動物でバナジウムの必須性を検討した報告は認められない。

一方、1980年代後半以降、バナジウム化合物にインスリン様作用のあることが認められたことから³⁾、米国などでは、メタバナジン酸塩(VO³⁻, 5価バナジウム)、またはバナジル硫酸(VOSO₄)などのバナジル化合物(4価バナジウム)を

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

含有するバナジウムサプリメントが開発され、糖尿病患者への投与が行われるようになった⁴⁾。しかし、この場合の投与量は、100 mg/日をこえる薬理レベルであり、米国の食事摂取基準が定める上限値 (1.8 mg/日) を大幅にこえるものであった。

このようにバナジウムは生体内において一定の生理機能を持つことは明らかであるが、日常の食生活におけるバナジウム摂取についての情報はきわめて少ない。わが国の食品に関して公刊されている「食品の微量元素含量表」においては、バナジウムは対象元素になっているが、ほとんどの食品が0 (1 µg/100 g = 10 ng/g未満) と記載されている⁵⁾。食品のバナジウム濃度を測定し、バナジウム摂取量を推定することは、バナジウムの必須性を検討する実験におけるバナジウム欠乏食を作成するために必須の情報と思われる。そこで本研究では、代表的な食品、および飲料水のバナジウム濃度を測定し、日本人のバナジウム摂取量の推定を試みた。

実験方法

1. バナジウム測定用の試料

1) 飲料水の収集

2006年8月に大阪、和歌山、および沖縄県下において、水道水をポリエチレン製の広口びんに採取し、バナジウム測定用試料とした。一方、2006年8～11月にかけて、採水地が明らかな国産ミネラルウォーター19試料および外国産ミネラルウォーター27試料を大阪市内の複数の小売店、または複数の通信販売から購入し、測定用試料とした。収集した飲料水試料は、測定までの間、4℃で保存した。

2) 食品試料の収集

2006年8～11月にかけて、大阪市内の複数の小売店から、種々の生鮮および加工食品を購入し、測定用試料とした。また、2004年に東京農業大学短期大学の館 博教授から供与を受けた玄麦も測定用試料とした。収集した食品試料は、すみやかにそのバナジウム含量を測定した。

2. バナジウムの分析

飲料水は、内部標準として最終濃度50 ng/mLのスカンジウム (Sc) を添加後、直接、誘導結合プラズマ質量分析器 (ICPMS) に噴霧し、質量数51の強度を測定することによって、バナジウムを定量した。

各食品1～9 gを精秤し、電気炉中550℃で16時間灰化した。灰化試料は1 Mの硝酸に溶解後、飲料水と同様に、Scを内部標準として、ICPMSでバナジウムを定量した。

結 果

1. 分析精度の確認

NIST標準試料のrice flour (SRM 1568a, バナジウム濃度7 ng/g), wheat flour (SRM 1567a, 同11 ng/g), apple leaves (SRM 1515, 同 0.26 ± 0.03 µg/g), whole egg powder (RM 8415, 同 0.459 ± 0.081 µg/g) をそれぞれ0.9～1.1 gを精秤して、550℃で灰化後、1 M硝酸に溶解し、ICPMSでバナジウム濃度を測定した結果 (平均±SD, n = 4, ng/g) は、以下のとおりであった。Rice flour, 9 ± 2 ; wheat flour, 14 ± 4 ; apple leaves, 204 ± 45 ; whole egg powder, 441 ± 65 。

一方、大阪府下の水道水 (バナジウム濃度の実測値, 3 ± 1 ng/mL) に1 ng/mLの標準バナジウムを添加した試料のバナジウム濃度の実測値は 4 ± 1 ng/mL (平均±SD, n = 4) であった。

2. 飲料水中のバナジウム濃度

Table 1に飲料水のバナジウム濃度の測定結果をまとめた。水道水3試料はいずれも5 ng/mL未満のバナジウム濃度であった。ミネラルウォーターの場合も、国産と外国産をあわせて46試料中31試料 (67.4%) は5 ng/mL未満の低バナジウム濃度であった。これに対して、10 ng/mL以上のバナジウム濃度を示したのは、国産ミネラルウォーター19試料中6試料、欧州産ミネラルウォーター21試料中1試料、北米産ミネラルウォーター6試料中1試料に過ぎなかった。また、

Table 1 Vanadium contents in drinking water

Samples	Number of samples	Vanadium content (ng/mL)				Distribution of vanadium content ^{a)} (number of samples)				
		Mean	GM ^{b)}	Median	Range	< 5	5-10	10-20	20-50	≥ 50
Japanese tap water ^{c)}	3	3	3	3	3-4	3	0	0	0	0
Japanese mineral water	19	15	6	5	< 1-92	8	5	2	2	2
European mineral water	21	4	3	3	1-12	15	5	1	0	0
North American mineral water	6	11	2	2	1-57	5	0	0	0	1

^{a)} A unit of vanadium content is ng/mL.

^{b)} Geometrical mean.

^{c)} Samples of Japanese tap water were collected in Osaka, Wakayama and Okinawa Prefectures.

50 ng/mLをこえる高バナジウム濃度を示したのは、国産ミネラルウォーターでは富士山麓産「朝霧の水」と「バナジウム天然水」の2試料、外国産ミネラルウォーターでは米国カリフォルニア州北端のシャスタ山麓産「Crystal Gyzar」の1試料であった。

3. 食品中のバナジウム濃度

Table 2に、測定した食品のバナジウム濃度をまとめた。なお、測定は食パンを除き、1食品1試料に対して実施した。乾燥重量当たりで比較した場合、1000 ng/gをこえるバナジウムが検出されたのは、海藻類（コンブとヒジキ）と貝類（アサリとシジミ）であった。しかし、魚肉のバナジウム濃度はあまり高くなかった。畜産物の中では、牛乳のバナジウム濃度が比較的高かったが、卵や肉類のバナジウム濃度は乾燥重量当たりでも100 ng/g未満だった。植物食品の中では、レタスなどの葉野菜に比較的高濃度のバナジウムが検出されたが、果実、イモ、豆、および穀物類のバナジウム濃度は乾燥重量当たりでも50 ng/g未満の低値だった。ただし穀物製品の中で、食パンには、玄麦や小麦粉のバナジウム濃度が精白米や大豆と同様に低値であるにもかかわらず、比較的高濃度のバナジウムが検出された。

4. 日本人のバナジウム摂取量の推定

食品中バナジウム濃度の測定結果と平成12年厚生労働省国民栄養調査結果⁶⁾をもとに、日本人の食品からのバナジウム摂取量を算定したところ、日本人1人当たりのバナジウム摂取量は27 µg/日であると推定された。Fig. 1に、日本

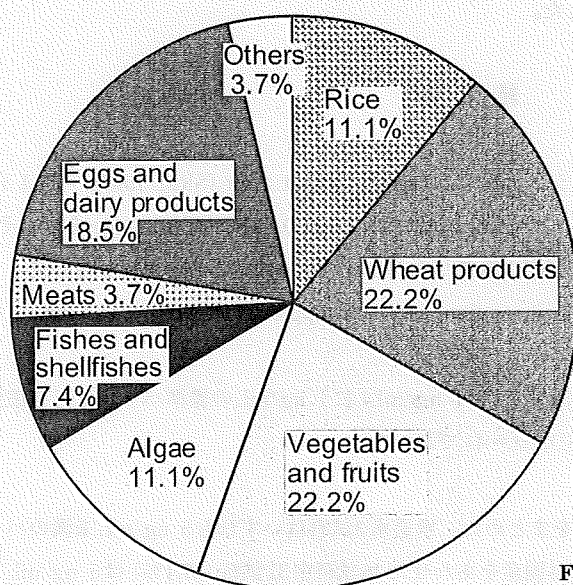


Fig. 1 Contribution of each food group to vanadium intake in Japanese.

Total intake: 27 µg/d/capita

Table 2 Vanadium contents in various foods

Foods	Vanadium content (ng/g)	
	Fresh basis	Dry basis
Cereals		
Polished rice	16	19
Whole wheat, hard, domestic	15	17
Whole wheat, hard, USA ^{a)}	20	20
Wheat flour, hard	< 1	< 1
White table bread	132 ^{b)}	212 ^{b)}
Potatoes		
Sweet potato	13	37
Potato	4	21
Soybean, dried, domestic	1	2
Vegetables		
Japanese radish (<i>Daikon</i>)	7	128
Carrot	10	93
Cabbage	17	236
Lettuce	37	902
Spinach	25	329
Fruits		
Apple	< 1	< 1
Satsuma mandarin	< 1	< 1
Banana	5	22
Algae		
<i>Hijiki</i> , boiled and dried (<i>Hizikia fusiformis</i>)	1061	1228
<i>Kombu</i> , dried (<i>Laminaria</i> spp.)	1157	1278
<i>Mozuku</i> , salted, desalted (<i>Nemacystus decipiens</i>)	30	904
<i>Wakame</i> , blanched, salted, desalted (<i>Undaria pinnatifida</i>)	21	240
Fishes and shellfishes		
Mackerel	11	31
Horse mackerel	15	47
Salmon	30	105
Squid	22	135
Short-necked clams	148	1526
Freshwater clams	194	1659
Meats		
Beef, lean	8	22
Pork, lean	21	74
Chicken, breast without skin	17	61
Hen's egg, whole	10	42
Dairy products		
Cow's milk	33	260
Skin milk, dried	392	407

^{a)} Dark northern spring (DNS).

^{b)} Mean value of 3 samples.

人のバナジウム摂取に及ぼす各食品群の寄与を表した。バナジウム摂取への寄与が比較的大きい食品群は、小麦製品、野菜、および乳製品であると考えられた。海藻や貝類は、バナジウム含量は高いが、摂取量が少ないため、バナジウム供給源としての地位は高くなかった。

考 察

ICPMSによって標準参照試料を分析したところ、いずれの試料の測定値も保証値の範囲内であった。また、飲料水を対象としたバナジウムの添加回収試験結果も満足の数であった。以上のことから、本実験におけるバナジウムの測定値は、十分に信頼できるものと判断できる。

水道水とミネラルウォーターを分析したところ、3分の2の試料が5 ng/mL未満のバナジウム濃度を示した。とくに水道水3試料のバナジウム濃度はいずれも5 ng/mL未満であった。以上のことから、特殊なミネラルウォーターを飲用し続けられない限り、飲料水からのバナジウム摂取はきわめて微量であると判断できる。

特異的に50 ng/mLをこえる高バナジウム濃度を示したミネラルウォーターは富士山麓および、米国のシャスタ山山

麓で採取されたものであった。また、これら以外に20 ng/mL前後の比較的高いバナジウム濃度を示したのは、大分県日田市、および北海道黒松内で採取されたミネラルウォーターであった。これらの高バナジウム濃度のミネラルウォーターが採取された地域は、いずれも火成岩からなる地質の地域である。一方、ほとんどの試料が5 ng/mL未満の低バナジウム濃度を示した欧州産ミネラルウォーターは、産地国は様々であるが、そのほとんどがアルプス山脈内の湧水に起源を持つものであった。また、石灰岩の鍾乳洞である岩手県龍泉洞で採取されたミネラルウォーターは、全試料中最低の1 ng/mL未満のバナジウム濃度だった。これらのことから、火山地帯で採取されるミネラルウォーターは、堆積岩地質に比較して、高バナジウム濃度を示す可能性が考えられた。しかし、火山地帯で採取されたものであっても、バナジウム濃度が低い試料も多いことから、火成岩地質であることだけで高バナジウム濃度になるとはいきれないと思われる。

コンブなどの海藻類には、乾燥重量当たり1000 ng/gをこえる高バナジウム濃度を認めた。また、植物食品の中で、レタスなどの葉野菜には、果実や穀物に比較してかなり高濃度のバナジウムが検出された。これらのことから、海水や土壌中に含有されるバナジウムは、海藻や陸上植物に容易に吸収され、海藻本体や葉に蓄積すると思われる。しかし、果実、いも、穀物のバナジウム濃度が低いことから、葉にとりこまれたバナジウムは、それ以上、植物体内を移動しないと考えられる。また、貝類は、海藻類と同程度の高バナジウム濃度を示した。貝類が高バナジウム濃度の藻類や植物プランクトンを摂取後、中腸腺などの消化器官にバナジウムを蓄積した可能性は高いと思われる。ただし、同じ水産物でも魚肉やイカ肉にはバナジウムの蓄積が認められなかったことから、消化器官から可食部である筋肉へのバナジウムの移行はわずかと考えられる。一方、畜産物では、畜肉や鶏卵のバナジウム濃度が低かったのに対して、牛乳には高濃度のバナジウムが認められた。以上のことから、牧草などの動物飼料に含まれるバナジウムは、吸収後、血漿を介して乳汁には移行するが、筋肉をはじめとする臓器には蓄積しないと推定できる。

食パンにも高濃度のバナジウムが検出された。原料のDNS小麦や強力粉のバナジウム濃度はきわめて低いことから、食パン製造工程において、バナジウムの混入が生じていると判断できる。ただし現段階では、バナジウム混入プロセスの特定にはいたっていない。

公刊されている「食品の微量元素含量表」⁵⁾と比較すると、今回の測定値は、海藻類と貝類の数値においてはオーダ一的にほぼ等しいものであった。しかし、葉野菜、乳製品、食パンなど「含量表」においてゼロ表示(10 ng/g未満)の食品に関しても、今回の測定は一定の数値を与えることができた。「含量表」の数値は、ICPMSの多元素同時測定によって得られたものであるが、標準参照試料による測定法の精度確認が行われていないことから、目安程度のもものと認識すべきであろう。

今回の食品のバナジウム分析値と国民栄養調査成績⁶⁾をもとに、日本人1人当たりの平均的なバナジウム摂取量を算定すると27 µg/日という数値が得られた。水道水に3 ng/mL程度のバナジウムが含有されることを考慮すると、日本人のバナジウム摂取量は約30 µg/日と見積もるのが適切と判断できる。高バナジウム濃度の食品は海藻類と貝類であるが、これらは日常的に摂取するものではないため、バナジウム供給源としては大きくない。実際にバナジウム供給源として寄与が大きいのは、小麦製品、野菜および乳製品であると推定できた。試算したバナジウム摂取量の数値は、米国で報告されている数値(6~18 µg/日)⁷⁾よりもやや高い。日本人のバナジウム摂取量が米国人に比較して高いのは、日本人の海藻、貝類、葉野菜の摂取が米国人よりも多いためと考えられる。バナジウムは必須ミネラルではないため、わが国の食事摂取基準には取り上げられていない。一方、米国の食事摂取基準では、成人に対する摂取上限値のみが1.8 mg/日に設定されている⁴⁾。今回推定した日本人の摂取量はこれを大幅に下回っており、現在の日本人のバナジウム摂取量は適正な範囲にあると推定できる。ただし、今回の推定は、食品の分析数が少ないので、あくまでも予備的なものと位置付ける必要がある。今後、食品の分析例を増やし、より厳密な摂取量の推定を行う予定である。

なお、ミネラルウォーター中で、「朝霧の水」はバナジウム濃度が最大(92 ng/mL)であった。しかし、このミネラルウォーターを1日に2 L飲用したとしても、バナジウム摂取量は200 µg/日であり、米国食事摂取基準の上限値を大幅に下回る。したがって、高バナジウム濃度のミネラルウォーターを日常的に飲用しても、健康上問題は生じないと判断

できる。

最後に、今回の摂取量推定をもとに、動物実験におけるバナジウム欠乏食について考察をこころみる。今回算定した日本人の平均的なバナジウム摂取量は約30 µg/日であった。成人1人が摂取する食事量を乾燥重量に換算して約500 g/日とすれば、食事中バナジウムの平均濃度は約0.06 µg/gということになる。したがって、ラットなどのげっ歯類を用いる場合のバナジウム欠乏食は、これよりも相当低いバナジウム濃度に設定する必要がある。

Nielsenはバナジウムなどの超微量元素の関する栄養実験を行う場合には慎重な飼料設計が必要であると述べている⁸⁾。したがって、バナジウム欠乏食の調製にあたっては、バナジウム混入の確率が低い原料を選択しなければならない。カゼインは、動物栄養実験においてもっとも汎用されるタンパク質源であるが、牛乳中のバナジウム濃度が乾燥重量あたりで0.2 µg/gをこえる高値であることから、バナジウム欠乏食を作成する場合には不適切である可能性が高い。これに対して、穀物や豆類のバナジウム濃度は乾燥重量当たりでも50 ng/g未満の低値である。したがって、今回はバナジウム濃度を測定していないが、大豆分離タンパク質や小麦グルテンは、バナジウムをほとんど含まないタンパク質源として、バナジウム欠乏食の調製に利用できると思われる。

本研究は、平成19年度厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業・日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究(主任研究者 柴田克己))を受けて行ったものである。

参考文献

- 1) Nielsen FH (1987) Vanadium. in Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 5th ed. vol. 1, ed. by Mertz W, Academic Press, New York: pp. 275-300.
- 2) Nielsen FH (1984) Ultratrace elements in nutrition. Ann Rev Nutr 4: 21-41.
- 3) Heyliger CE, Tahiliani AG, McNeill JH (1985) Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. Science 227: 1474-1477.
- 4) Institute of Medicine (2002) Arsenic, boron, nickel, silicon and vanadium. in Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, arsenic, Boron, Chromium, copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc, National Academy Press, Washington DC: pp. 502-553.
- 5) 鈴木泰夫(1993) 食品の微量元素含量表, 第一出版, 東京.
- 6) 健康・栄養情報研究会編(2003) 平成12年厚生労働省国民栄養調査結果, 第一出版, 東京.
- 7) Pennington JA, Jones JW (1987) Molybdenum, nickel, cobalt, vanadium, and strontium in total diet. J Am Diet Assoc 87: 1644-1650.
- 8) Nielsen FH (1985) The importance of diet composition in ultratrace element research. J Nutr 115: 1239-1247.



Communication

Molybdenum and Chromium Concentrations in Breast Milk from Japanese Women

Munehiro YOSHIDA,^{1,†} Akiko TAKADA,¹ Junko HIROSE,² Mika ENDÔ,²
Tsutomu FUKUWATARI,² and Katsumi SHIBATA²

¹Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Department of Life Science and Biotechnology, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University, Suita, Osaka 564-8680, Japan
²Laboratory of Food Science and Nutrition, Department of Lifestyle Studies, School of Human Cultures, The University of Shiga Prefecture, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

Received April 24, 2008; Accepted July 8, 2008; Online Publication, August 7, 2008
[doi:10.1271/bbb.80283]

Molybdenum (Mo) and chromium (Cr) in 79 Japanese breast milk samples were measured by inductively coupled plasma-mass spectrometry. For Mo, 51 samples (64.6%) showed less than 5 ng/ml and only 12 samples (15.2%) showed more than 10 ng/ml. The range and median were <0.1 to 25.91 and 3.18 ng/ml respectively. For Cr, 38 samples (48.1%) showed less than 1 ng/ml, 20 samples (25.3%) showed 1 to 2 ng/ml, and only six samples (7.6%) showed more than 5 ng/ml. The range and median were <0.1 to 18.67 and 1.00 ng/ml respectively.

Key words: molybdenum; chromium; breast milk; dietary reference intake; inductively coupled plasma-mass spectrometry

Mo and Cr are essential trace elements in human nutrition, and deficiencies of them have been observed in patients with long-term total parenteral nutrition.^{1,2)} In Dietary Reference Intakes for Japanese in 2005 (DRI-J 2005), the recommended dietary allowances of Mo and Cr for adults were set at 20 to 25 µg/d and 25 to 40 µg/d respectively.³⁾

Information on the secretion of trace elements in human milk is needed in order to estimate intake by breast-fed infants and, to establish the recommended intake for infants. In fact, adequate intake (AI) levels of several trace elements for infants (0 to 5 months) were set on the basis of the concentrations of those trace elements in breast milk of Japanese women in DRI-J 2005,³⁾ but, AI levels for Mo and Cr were not set in DRI-J 2005 because there was no available information on the concentration of these two trace elements in breast milk from Japanese women. In the present study, we measured Mo and Cr concentrations of breast milk

samples from 79 Japanese women by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICPMS), and attempted to estimate AI levels for these two trace elements in Japanese infants.

The study was reviewed and approved by the Ethics Committee of the University of Shiga Prefecture, and it followed the Declaration of Helsinki. Seventy-nine healthy Japanese mothers who were breast-feeding exclusively and not taking vitamin or mineral supplements were recruited in several midwife clinics in Hokkaido, Chiba, Kanagawa, Kyoto, Hiroshima, and Nagasaki Prefectures in Japan from March 2005 to December 2006. The numbers of subjects recruited in the various prefectures were as follows: Hokkaido, 12; Chiba, 10; Kanagawa, 15; Kyoto, 30; Hiroshima, 2; and Nagasaki, 10. All the subjects had given birth to infants at term (gestational age 38 to 41 weeks). The mothers were 32.0 ± 4.1 years old (mean ± SD), with a range of 19 to 39 years. There were no health problems in their babies.

Breast milk was obtained from the subjects at an intermediate time during breast-feeding, placed in a nylon bag (Kaneson, Osaka, Japan) or a polypropylene centrifuge tube (Sumitomo Bakelite, Tokyo, Japan) and stored in a freezer at -20°C until analysis. The postpartum day on which the sample was collected was 95.5 ± 46.8 d (mean ± SD) with a range of 5 to 191 d.

Two to 5 milliliters of breast milk was transferred to a ceramic melting pot (32φ × 24 mm), dried at 90°C for 1 h in an electric oven, and then heated in an electric furnace (As One F-B1414M, Osaka, Japan) at 550°C for 16 h. After dry incineration, the remaining ash was dissolved in 5 ml of 2% HNO₃. Mo and Cr in the sample solutions thus prepared were measured by ICPMS with

[†] To whom correspondence should be addressed. Fax: +81-6-6388-8609; E-mail: hanmyou4@ipcku.kansai-u.ac.jp

Abbreviations: Mo, molybdenum; Cr, chromium; DRI-J 2005, Dietary Reference Intakes for Japanese in 2005; AI, adequate intake; ICPMS, inductively coupled plasma-mass spectrometry; Rh, rhodium; WHO, World Health Organization