

設において、通常食1日分と介護食1日分を、朝、昼、夕食別に収集した。収集時期は2010年1月である。介護食については別に昼食1回分を2009年11月にも収集した(合計で、 $1 \times 2 \times 3 + 1 = 7$ 試料)。これらのうち、介護食とは、咀嚼または嚥下が困難な要介護者に対するもので、加水もしくはとろみづけを行い、ミキサーなどによって均一後、裏ごしなどによって堅い固形物を除去した半流動食である。各食事は、朝、昼、夕食別に凍結乾燥した後、細粉化し、分析用試料とした。朝、昼、夕食に分けたため、食事試料は総計で25種類となった。

2. 微量ミネラルの分析

1) 鉄、亜鉛、銅、マンガン、セレン、モリブデンの定量：粉末試料1gをケルダールフラスコに入れ、硝酸10mLと沸騰石を加えて約30分加熱後、過塩素酸2mLを加え、過塩素酸の白煙が生じるまで加熱して完全に灰化した。そして灰化液に標準ロジウムとテルルを終濃度20ng/mLとなるように加え、純水で10mLにメスアップしたものを測定用試料とした。この試料中の鉄、亜鉛、銅、マンガンをフレーム式原子吸光度計、セレンとモリブデンを誘導結合プラズマ質量分析器(ICPMS)、を用いて定量した。ICPMSの測定において、セレンに対してはテルル、モリブデンに対してはロジウムを内部標準とした。

2) ヨウ素の定量：粉末試料200mgに20ng/mLのテルルを含む0.5%テトラメチルアンモニウムヒドロキシド溶液40mLを加え、室温で一晩放置した。さらに、60℃で4時間加熱後、遠心および濾過を行い、抽出液を得た。抽出液中のヨウ素を、テルルを内部標準として、ICPMSを用いて定量した。

3) クロムの定量：粉末試料500mgを磁製るつぽに入れ、550℃で16時間加熱した。灰化後の残渣を20ng/mLのロジウムを含む0.1M硝酸に溶解し、含有されるクロムを、ロジウムを内部標準として、ICPMSを用いて定量した。

3. 成分表からの微量ミネラル摂取量の算定

1) 鉄、亜鉛、銅、マンガンの摂取量の算定：鉄、亜鉛、銅、マンガン摂取量の成分表からの計算値は各施設において五訂食品成分表にもとづき算定された数値を使用した。

2) 「日本食品標準成分表2010」を用いたヨウ素、セレン、クロム、モリブデン摂取量の算定：「日本食品標準成分表2010」においてヨウ素、セレン、クロム、モリブデン含有量の記載があるのは全体の約3分の1である。実際、今回の収集献立で使用されていた138食品中で、成分表にこれら4元素の含有量記載があったのは49%だった。記載のない食品に関しては、①近縁のもので代用(ロース肉→牛肉の平均値、ロールパン→パンの平均値、魚種の細かな違いを同属のもので代用(例、サワラ→同じアジ科のサバで代用)など)、②ミックスベジタブルなどのように加工食品において、複数の食品を組み合わせていることが明

らかな場合は、構成食品の平均値を使用、③その食品が属する食品群ごとの平均値で代用、のいずれかの方式で数値をあて、摂取量の算定を行った。結果として、①は138食品中の17%、②は7%、③は27%だった。

結果

Fig. 1に、朝、昼、夕食別の25試料に関して、鉄、亜鉛、銅、マンガンの摂取量の計算値を独立変数(X)、分析値を従属変数(Y)とした回帰分析の結果をまとめた。なお、鉄に関しては、計算値(7.1mg)と実測値(0.65mg)との乖離が著しい1試料を除外して関連を検討した。4種の微量ミネラル摂取量の計算値と実測値との相関は強く($r = 0.6 \sim 0.9$)、その回帰式は、Y切片の95%信頼区間(鉄、 $-0.53 \sim 1.12$; 亜鉛、 $-0.16 \sim 0.79$; 銅、 $-0.08 \sim 0.03$; マンガン、 $-0.01 \sim 0.25$)がゼロを含み、傾き(回帰係数)が0.5~0.7の範囲だった。

Table 1は、病院と介護施設の食事8日分について、ヨウ素、セレン、クロム、モリブデンの1日摂取量の計算値と分析値を一覧にしたものである。なお、ヨウ素とクロムに関しては、介護施設の食事が分析できなかったため、病院食6日分のみでの比較である。対応のあるt検定では、クロムのみ計算値と実測値に有意な差があり、他の3元素は有意差なしだった。

ヨウ素摂取量において、分析値/計算値の比は0.85~5.85だった。すなわち、計算値は6日中2日が100μg/d未満、残り4日が250~420μg/dだったのに対して、分析値は6日すべてが290~420μg/dであり、3分の1において計算値と分析値との乖離が認められた。一方、クロムの摂取量においては、計算値と分析値の相関は大きかったが、分析値/計算値の比は4.64~6.85であり、いずれの日も分析値が計算値を大きく上回っていた。

これに対して、セレンとモリブデンの摂取量では、分析値/計算値の比がそれぞれ0.78~1.84と0.98~1.80であり、計算値と分析値がおおむね一致する傾向にあった。そこでこの2元素については、朝、昼、夕食別に分けた24試料(別途収集した介護施設の介護食昼食は、献立についての詳細な情報が得られず、摂取量の計算値がもとめられなかったため検討から除外した)を対象として、計算値と分析値との関連を検討し、Fig. 2に示した。相関係数は、セレンが0.67、モリブデンが0.78であり、比較的大きかった。回帰式を求めたところ、セレンにおいてはY切片が比較的大きく(95%信頼区間11.4~32.0)、傾きは0.74となった。これに対してモリブデンの回帰式では、Y切片の95%信頼区間(-43.7~30.7)がゼロを含み、傾きは1.39だった。

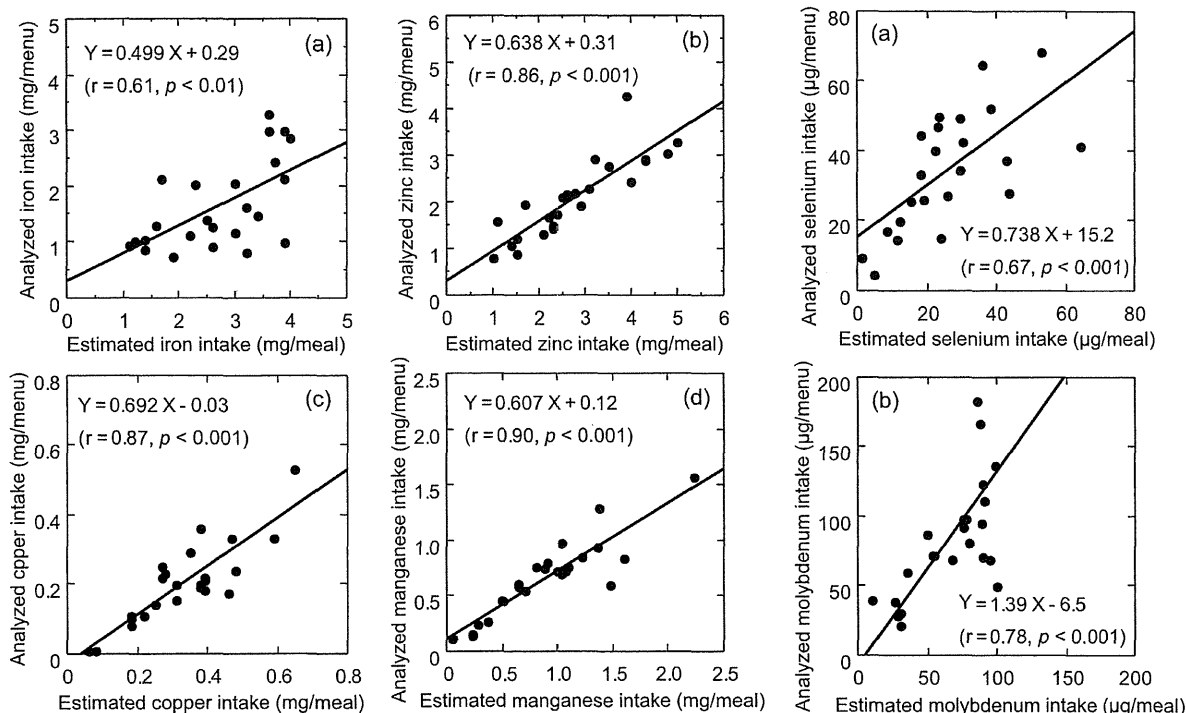


Fig. 1 Relation between estimated and analyzed values in intakes of iron (a), zinc (b), copper (c) and manganese (d)

Fig. 2 Relation between estimated and analyzed values in intakes of selenium (a) and molybdenum (b)

Table 1 Comparison of estimated values with analyzed values in intakes of iodine, selenium, chromium and molybdenum from diets in hospital and nursing home

Diets	Iodine ($\mu\text{g}/\text{d}$)		Selenium ($\mu\text{g}/\text{d}$)		Chromium ($\mu\text{g}/\text{d}$)		Molybdenum ($\mu\text{g}/\text{d}$)	
	Estimated	Analyzed	Estimated	Analyzed	Estimated	Analyzed	Estimated	Analyzed
Hospital								
Usual diet A1	347	411	108	101	7	48	242	302
Usual diet A2	80	340	146	114	5	22	269	289
Usual diet A3	52	304	73	90	5	25	253	247
Usual diet B1	246	332	120	125	9	28	223	177
Usual diet B2	345	292	82	151	13	67	218	333
Usual diet B3	419	415	86	146	14	65	267	480
Nursing home								
Usual diet	-	-	58	59	-	-	157	230
Soft semi-liquid diet	-	-	17	24	-	-	65	106
Mean	248	349	86	101	9	43	212	271
Paired t-test	NS		NS		p=0.005		NS	
Correlation coefficient	0.56 (NS)		0.67 (NS)		0.88 (p=0.017)		0.71 (p=0.049)	

考 察

鉄において、計算値と分析値との間で著しい乖離を示したのは、水戻しされた状態で販売されているヒジキを用いた献立だった。このようなヒジキでは、水戻し操作の過程において大部分の鉄が流出していると思われる。

鉄、亜鉛、銅、マンガン摂取量において、五訂成分表にもとづく計算値と実測値との間の関連を検討したところ、相関係数は比較的大きく、回帰式の Y 切片はいずれもゼロを含み、その傾き（回帰係数）は 0.5~0.7 の範囲だっ

た。すべての食品に関して成分表記載の数値が実際のものよりも小さいということは考えにくい。したがって、高い相関係数と 0.5~0.7 の傾きは、これらの微量ミネラルでは調理中の損失が 30~50%であることを示している。調理によるミネラルの損失はミネラルの種類に関わらず 25%程度といわれているが⁹⁾、今回の結果はこれよりも明らかに大きい。今回の病院食では煮物のように損失が大きい調理法のものが多かったことが関係しているのかもしれない。なお介護食では、通常の調理に裏ごしなどの操作が加わっており、栄養素の損失はさらに大きくなる可能性が

高いが、今回は確認できなかった。

2010年秋に公表された「日本食品標準成分表2010」においては、ヨウ素、セレン、クロム、モリブデンの含有量が初めて示されたが、含有量記載の対象となった食品は全体の約3分の1に過ぎなかった⁵⁾。このため、これら4元素の摂取量計算においては、使用食品の約半分に関して数値のあてはめ作業を行う必要があった。収載されていない食品に関して、その食品が含まれる食品群の平均値を使用することは、あてはめのルールとして単純で好ましいといえる。しかし、現実には、全体の約4分の1近くが、パンの種類や肉の部位、魚種の細かな違いなど、明らかに近縁の食品が利用可能なケース、または調理済み食品などで食材が特定できるケースであったため、食品群の平均値使用のケースは全体の27%にとどまった。あてはめ作業は恣意的に陥る危険性もあるので、今後、4元素含有量を記載した食品数の増加が期待される。

「日本食品標準成分表2010」を利用したヨウ素、セレン、クロム、モリブデン摂取量の計算値と実測値との関連を検討したところ、ヨウ素では両者の乖離が著しいケースが認められた。ただし、ヨウ素摂取量の把握では、まず低ヨウ素の献立と摂取量が数mgにも達する高ヨウ素の献立の区別が期待されるが、今回の献立はいずれも1日500μgまでの低ヨウ素の献立であったため、今回の結果からは成分表を用いた計算値によってこの区別を行えるかという判断はできない。ヨウ素濃度の高い食品は水産物、とくに海藻類であり、なかでも昆布製品のヨウ素摂取への寄与は著しいことが知られている⁶⁾。しかし、昆布製品、とくに「だし」として使用される場合、これを定量的に把握することは難しい。すなわち一般論としては、ヨウ素摂取量を計算によって把握する場合、布施らが提案しているように特別な調査票を使用するか⁷⁾、あるいは食事記録をとるさいに昆布製品の使用量をできるかぎり詳細に記載することを心がけることが必要であろう。

クロムでは計算値と分析値との相関係数は高かったが、分析値は計算値の数倍となった。分析値が高くなった理由としては、調理加工段階でのクロムの汚染、および分析段階でのクロムの汚染が考えられる。今回の分析ではステンレス製の実験器具を100%回避することができていないので、分析中の汚染は否定できない。ただし、今回の実測によるクロム摂取量の数値は、国内外における陰膳収集献立のクロム分析値とほぼ等しい⁸⁻¹⁰⁾。したがって、分析での汚染よりも調理加工の段階でのクロム汚染が寄与している可能性が高い。かりに調理加工における汚染の寄与が大きいとすれば、実測値の意義が大きく、成分表からの計算値は実態を反映していないことになる。この点を解明するには、厳格に汚染をコントロールした分析を前提として、調理加工に伴うクロム含有量の変化を追跡する必要がある。ただし、成分表においても高クロム濃度の食品は、各食品群に散見され、一定の傾向が認められない。このことは調理前の食品においても、高クロムが汚染によって引き起

されていることを意味している。以上より、現状では、成分表からのクロム摂取量の算定は困難であり、かつその意義も小さいといわざるを得ない。

ヨウ素、クロムとは異なり、セレンとモリブデンでは、計算値と分析値がおおむね一致しており、「日本食品標準成分表2010」を用いた計算による摂取量把握は可能と判断できる。これは、セレンが魚介類や小麦製品、モリブデンが穀類と豆類といった主要食品が供給源であり^{11,12)}、これらの食品は食事記録において定量的把握が容易であるためと思われる。セレンに関しては、両者の回帰式が原点からやや離れ、傾きが0.74となった。しかし、献立の数値自体は近似しているケースが多かった。したがって、傾きの数値から、ただちにセレンに関して25%程度の調理損失があると結論することはできない。検討例が増加すれば、回帰式が原点に近づき、傾きも大きくなる可能性も考えられる。一方、モリブデンでは、回帰式が原点付近を通過するものの、傾きが1.4となっており、分析値が計算値よりもやや高い値となる傾向にあった。しかし、これも検討例を増加することにより、1に近い傾きとなる可能性も考えられる。今後より多くの献立について検討し、計算値と実測値との正確な関連を明らかにする必要があるだろう。

本研究は、平成23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の改定と活用に関する総合的研究）により行われたものである。

参考文献

- 1) 菅原和夫, 熊江 隆, 町田和彦, 島岡 章, 大下喜子, 鈴木継美 (1983) “秤量法”, “買上げ計算法”, “思い出し法”によるタンパク質, およびナトリウム摂取量と実測値との比較. 栄食誌 36: 15-20.
- 2) Fraser GE, Shavlik DJ (2004) Correlations between estimated and true dietary intakes. *Ann Epidemiol* 14: 287-295.
- 3) 富永直美, 今井美子, 保元美保子, 池田康子, 猪口尚子, 後藤智美, 横田美菜子, 文 燦錫, 渡辺孝男, 池田正之, 新保慎一郎 (1994) 食事中からの鉄摂取量について—計算値と実測値の比較—. 京都女子大学食物学会誌 49: 35-43.
- 4) 木村美恵子, 糸川嘉則 (1990) 食事中ミネラルの調理損失の実態と基礎実験. 栄食誌 43: 31-42.
- 5) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会 (2010) 日本食品標準成分表2010. 全国官報販売協同組合, 東京.
- 6) Nagataki S (2008) The average of dietary iodine intake due to the ingestion of seaweed is 1.2 mg/day in Japan. *Thyroid* 18: 667-668.
- 7) 布施養善, 山口 暁, 山口 稔, 岡安香織, 植松裕子,

- 大橋俊則, 紫芝良昌, 入江 實 (2011) 食物からのヨウ素摂取量を推定するための食物摂取頻度調査票作成の試み. 日臨栄会誌 32 : 147-158.
- 8) 池辺克彦, 田中之雄, 田中涼一 (1988) 陰膳方式による15金属元素の一日摂取量について. 食衛誌 29 : 52-57.
- 9) Van Cauwenbergh R, Hendrix P, Robberecht H, Deelstra HA (2003) Daily dietary chromium intake in Belgium, using duplicate portion sampling. *Z Lebensm Unters Forsch* 203: 203-206.
- 10) Marzec Z (2004) Alimentary chromium, nickel, and selenium intake of adults in Poland estimated by analysis and calculations using the duplicate portion technique. *Nahrung* 48: 47-52.
- 11) 吉田宗弘 (2007) 日本人はセレン摂取を増やすべきか. 臨床栄養 111 : 598-599.
- 12) 吉田宗弘 (2007) 日本人におけるモリブデン栄養の現状. 臨床栄養 111 : 286-287.
- 13) Hattori H, Ashida A, Itô C, Yoshida M (2004) Determination of molybdenum in foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese population. *J Nutr Sci Vitaminol* 50: 404-409.

市販離乳食からのヨウ素とクロムの摂取量の推定

吉田 宗弘, 野崎 詩乃, 乾 由衣子
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室*)

Estimation of Iodine and Chromium Intakes from Commercial Baby Foods

Munehiro YOSHIDA, Shino NOZAKI and Yuiko INUI
Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,
Materials and Bioengineering, Kansai University

Summary

To estimate iodine and chromium intake in Japanese infants dependent on commercial baby food and human milk, 53 commercial baby food samples (24 samples for ≥ 7 -month-old baby and 29 samples for ≥ 9 -month-old baby) were collected and their iodine and chromium concentrations were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry. The iodine concentrations were markedly elevated by the use of *kombu* or *hijiki* and their medians (25-75 percentile) in baby food for a ≥ 7 -month-old baby and a ≥ 9 -month-old baby were 30 (21-103) and 42 (27-1045) ng/g wet weight, respectively. Mean iodine intake by 6 to 8-month-old babies and 9 to 11-month-babies was estimated to be 144 and 691 $\mu\text{g}/\text{d}$, respectively although their medians were estimated to be 89 and 84 $\mu\text{g}/\text{d}$, respectively. On the other hand, chromium concentrations (median (25-75 percentile)) in baby foods for a ≥ 7 -month-old baby and a ≥ 9 -month-old baby were 12 (7-12) and 10 (7-16) ng/g wet weight, respectively. Mean chromium intake by 6 to 8-month-old babies and 9 to 11-month-babies was estimated to be 8 and 10 $\mu\text{g}/\text{d}$, which were about 10 times higher than the value shown as the Adequate Intake in the Dietary Reference Intakes for Japanese. These results indicate that intermittent high-iodine baby food ensures sufficient iodine intake, and chromium intake is increased in Japanese infants after beginning to eat baby food.

わが国の食事摂取基準では、現在の日本の乳児において、栄養素の不足・過剰に起因する顕著な健康障害が認められないという事実をふまえ、各栄養素の母乳中濃度にもとづいて、生後6か月未満乳児の栄養素摂取の目安量を設定している。一方、生後5か月を経過すると、多くの乳児は母乳とともに離乳食を摂取し始める。したがって、生後6か月以降に関しては、母乳と離乳食からの栄養素摂取量にもとづいた目安量の策定、もしくは1歳以降と同様に、推定平均必要量にもとづいて摂取の推奨量を設定するのが妥当である。しかし、微量ミネラルの場合、2010年版食事摂取基準では、6か月以降乳児に対して、鉄が推定平均必要量と推奨量、銅とマンガンが離乳食摂取を考慮した目安量が設定され、その他に関しては生後6か月未満乳児に対する目安量を体重にもとづいて外挿した値を目安量としている¹⁾。これは、6か月以降乳児を対象とした、栄養素必要量に関する研究や栄養素摂取量調査が不十分であることに起因している。

われわれは、市販離乳食の利用頻度が増加していることから、市販離乳食を収集して、その鉄、亜鉛、銅、マンガ

ン、セレン、モリブデン濃度を測定し、市販離乳食と母乳に依存した場合の6か月以降乳児におけるそれらの摂取量を推定し、報告した²⁾。今回、同じ収集試料について、ヨウ素とクロム濃度を測定し、前報と同様に、市販離乳食と母乳に依存した場合の6か月以降乳児におけるこれらの摂取量を推定したので報告する。

実験方法

1. 試料の収集

2008年の6月から10月にかけて、5つの国内メーカーより、レトルト、もしくは瓶詰め状態で販売されていた離乳食53食を購入し、微量ミネラル測定用の試料とした。収集した離乳食は「7か月頃より」の表示のあるのが24食、「9か月頃より」の表示のあるのが29食であった。

2. 分析

収集した離乳食は、1食ごとにすべてを凍結乾燥後、ミル(Retsch GM200)で均一・細粉化した。細粉化した試料

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

200 mg に 20 ng/mL のテルルを含む 0.5 % テトラメチルアンモニウムヒドロキッド溶液 40 mL を加え、室温で一晩放置した。さらに、60°C で 4 時間加熱後、遠心および濾過を行い、抽出液を得た。抽出液中のヨウ素を、テルルを内部標準として、誘導結合プラズマ質量分析器（島津 ICPM-8500）を用いて定量した。一方、これとは別に、細粉化試料 500 mg を磁製のつばに入れ、550°C で 16 時間加熱した。灰化後の残渣を 20 ng/mL のロジウムを含む 0.1 M 硝酸に溶解し、含有されるクロムを、ロジウムを内部標準として、誘導結合プラズマ質量分析器を用いて定量した。分析に用いた質量数は以下のとおりである。クロム、52；ロジウム、103；ヨウ素、127；テルル、126, 128, 130。

3. 市販離乳食からのヨウ素とクロムの摂取量の推定

分析結果をもとに、各離乳食について、離乳食湿重量 (g) あたりとエネルギー (kcal) あたりのヨウ素とクロムの濃度を求めた。本研究で収集した離乳食は「7 か月頃より」、および「9 か月頃より」の表示があったことから、1 日の離乳食をすべて単一の製品に依存したと仮定し、6~8 か月児が前者、9~11 か月児が後者を摂取した場合のヨウ素とクロムの摂取量を以下の式にもとづいて算定した。

[ヨウ素またはクロム摂取量]

= [各離乳食のエネルギーあたりのヨウ素またはクロム濃度] × [6~8 か月児、または 9~11 か月児の離乳食からのエネルギー摂取量の報告値の平均値 (6~8 か月児 171 kcal/d, 9~11 か月児 452 kcal/d)³⁾]

さらに、この算定した市販離乳食からのヨウ素またはクロム摂取量に、日本人の食事摂取基準 2010 年版で採用されている母乳中ヨウ素またはクロム濃度 (ヨウ素, 133 ng/mL; クロム, 1.0 ng/mL)¹⁾ と乳児の母乳摂取量 (6~8 か月児, 600 mL/d; 9~11 か月児, 450 mL/d)^{4, 5)} から算定される母乳由来のヨウ素またはクロム摂取量を加え、市販離乳食と母乳を摂取した場合のヨウ素またはクロム摂取量をもとめた。

結果

離乳食のヨウ素濃度の測定結果を Fig. 1 と Table 1 にまとめた。離乳食のヨウ素濃度は試料ごとの変動が大きく、最小値と最大値との間に約 100 倍の差を認めた。すなわち、約半数は湿重量あたり 50 ng/g 未満であり、日本人の母乳中ヨウ素濃度 (133 ng/mL) よりも低かったが、湿重量あたり 1 μg/g を超える離乳食も 10 試料近くあった。7 か月以降用と 9 か月以降用を比較した場合、中央値には大きな差がなかったが、湿重量あたり 1 μg/g を超えるものがいずれも 9 か月以降用であったため、75 パーセンタイル値においては 9 か月以降用が大きく上回っていた。

今回収集した 53 種の市販離乳食中、15 の試料については、「昆布だし」、「昆布エキス」などのように、食材に昆布の使用が明記されていた。そこで、市販離乳食の湿重量あたりヨウ素濃度を、昆布使用表示の有無別に比較し、Table 2 にまとめた。両者のヨウ素濃度には極端な違いが

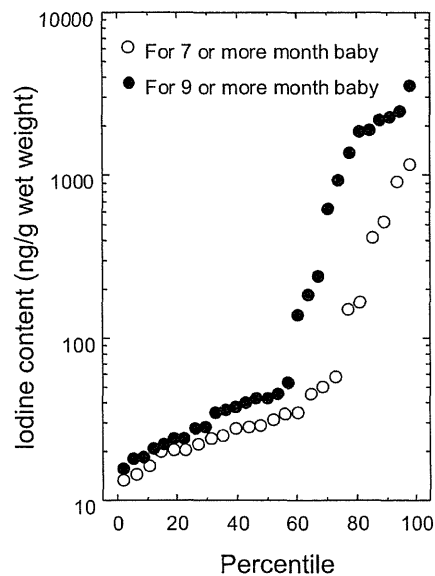


Fig. 1 Percentile curve of iodine content of commercial baby foods.

Table 1 Iodine concentrations in commercial baby foods

	For 7 or more month baby (n=24)		For 9 or more month baby (n=29)	
	ng/g wet weight	ng/kcal	ng/g wet weight	ng/kcal
Minimum	13	29	16	28
25 percentile	21	41	27	41
Median	30	51	42	54
75 percentile	103	174	1045	432
Maximum	1152	2818	3558	9489
Mean	159	378	629	1396
Geometrical mean	53	99	125	205

Table 2 Effect of use of kombu on iodine concentration of commercial baby foods

Use of kombu	Iodine concentration (ng/g wet weight)				
	Mean	Geometric mean	Median	Minimum	Maximum
+ (n=15)	1340	920	1151	149	3558
- (n=38)	51	33	37	13	614

The Mann-Whitney test showed that difference between "+" and "-" in iodine concentration was significant ($p < 0.05$).

認められ、昆布使用明記の離乳食はいずれも明らかに高いヨウ素濃度を示した。昆布使用が明記されていない離乳食の中で、一部の昆布使用離乳食よりも高いヨウ素濃度示したのが3試料あったが、これらは、「鰹とヒジキの煮つけ」、「とりヒジキごはん」などであり、相当量のヒジキが使用されたものだった。

離乳食のクロム濃度の測定結果を Fig. 2 と Table 3 にまとめた。離乳食のクロム濃度は試料ごとの変動が小さく、そのほとんどが湿重量あたり 20 ng/g 未満であり、100 ng/g を超えたのは 53 試料中 1 試料のみだった。また、7 か月以降用と 9 か月以降用との間に差は認められなかった。

1 日の離乳食をすべて単一の製品に依存すると仮定した上で、6~8 か月児または 9~11 か月児が、今回測定対象とした離乳食と母乳を摂取した場合のヨウ素またはクロムの摂取量を算定し、Table 3 と Fig. 3 にまとめた。ヨウ素摂取量の中央値は、6~8 か月児が 89 $\mu\text{g}/\text{d}$ 、9~11 か月児が 84 $\mu\text{g}/\text{d}$ であり、母乳のみの摂取を想定して策定されている食事摂取基準 2010 年版における 6 か月以降乳児のヨウ素の目安量 (130 $\mu\text{g}/\text{d}$) を下回った。しかし、平均値は、高ヨウ素濃度の試料が散見されたことを反映し、

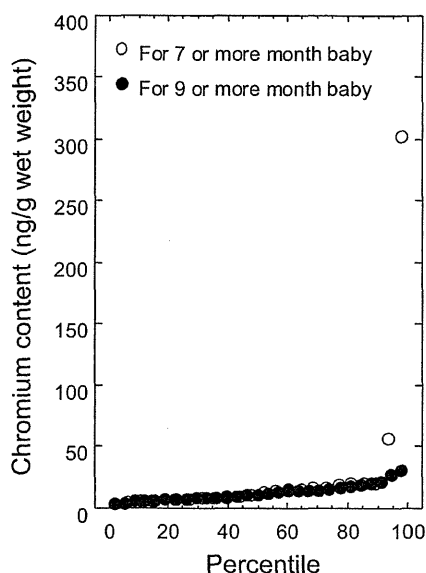


Fig. 2 Percentile curve of chromium content of commercial baby foods.

Table 3 Chromium concentrations in commercial baby foods

	For 7 or more month baby (n=24)		For 9 or more month baby (n=29)	
	ng/g wet weight	ng/kcal	ng/g wet weight	ng/kcal
Minimum	4	7	4	6
25 percentile	7	15	7	11
Median	12	20	10	18
75 percentile	18	29	16	25
Maximum	303	397	31	63
Mean	26	45	12	21
Geometrical mean	13	24	11	18

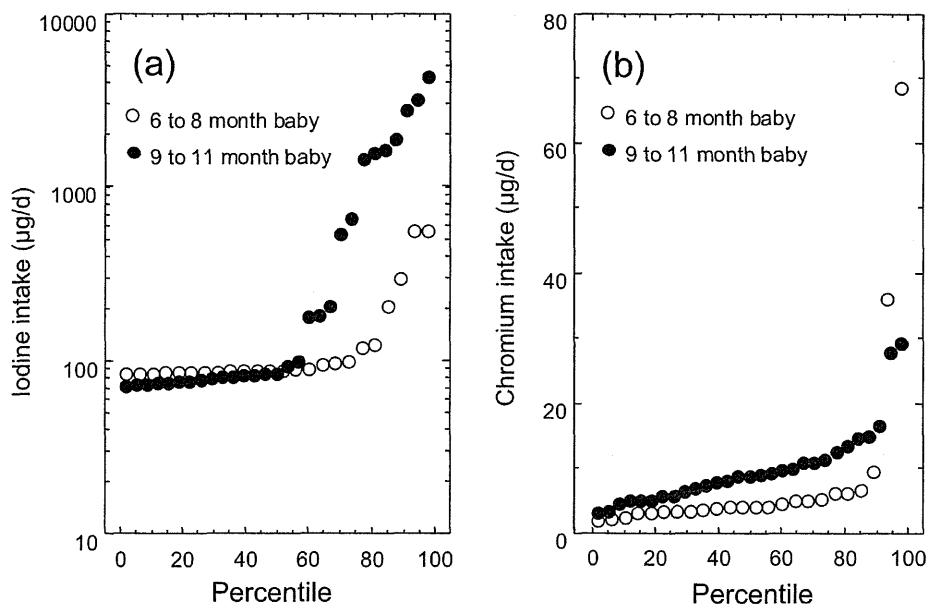


Fig. 3 Percentile curve of estimated iodine (a) or chromium (b) intake from breast milk and commercial baby foods.

6～8 か月児が144 µg/d, 9～11 か月児が691 µg/dであった。とくに9～11 か月児では, 9 か月児以降用離乳食のいくつかが湿重量あたり1 µg/g以上であったことを反映し, 食事摂取基準2010年版の耐容上限量である250 µg/dを上回っていた。

一方, クロムの摂取量は, 試料間の変動の小ささを反映し, 6～8 か月児, 9～11 か月児にかかわりなく, 平均値, 幾何平均値, 中央値のいずれもが4～10 µg/dの範囲であった。

考 察

Table 1に示したように, 9 か月以降用市販離乳食の湿重量あたりヨウ素濃度の75パーセンタイル値は1 µg/gを超えていた。このことは9 か月以降用市販離乳食の約4分の1が高ヨウ素濃度であることを意味している。昆布をはじめとする海藻類, および昆布を原料とした調味料には高濃度のヨウ素が含まれることがよく知られている^{6,7)}。今回, Table 2に示したように, 高ヨウ素濃度の離乳食がいずれも昆布だしまはヒジキを使用したものであったことは, 昆布だしやヒジキの摂取が多量のヨウ素摂取につながることを明確に示すものといえる。

今回測定した市販離乳食の中で, レトルトタイプのは, ほとんどが1袋あたりの湿重量が80 g (エネルギー量が30～80 kcal), 瓶詰めタイプのは, ほとんどが1瓶あたりの湿重量が130 g (エネルギー量が約100 kcal)だった。この量は1日の離乳食全体の数分の1未満に過ぎない。それでも湿重量当たりで1 µg/gを超える高ヨウ素濃度の製品の場合, 1袋または1瓶を食べきった場合のヨウ素摂取量は100～350 µgとなる。1日の離乳食をすべてこのような高ヨウ素濃度の製品に依存することは考えにくい, 1回利用すれば母乳や他の離乳食からの摂取分が加わることで容易に500 µg/d近い摂取量となる。したがって, 4分の1の確率で高ヨウ素の離乳食を利用することを考えれば, Table 3に示した離乳食と母乳を摂取した場合の9～

11 か月児のヨウ素摂取量の平均値691 µg/dは, 間欠的に生じる高ヨウ素摂取を含めた平均的な値に位置づけられるだろう。

このように市販離乳食を利用する乳児においては, 間欠的に高ヨウ素濃度の製品を摂取する機会があるため, 平均的に食事摂取基準におけるヨウ素の耐容上限量を超える摂取が生じている可能性が高い。乳児のヨウ素摂取量の耐容上限量は, 高ヨウ素摂取の母親から出生し, 甲状腺機能低下を示した母乳哺育児のヨウ素摂取量にもとづき策定されている¹⁾。したがって, 間欠的と考えられる離乳食からの高ヨウ素摂取が, 母乳からの連続的摂取と同様に, ただちに甲状腺機能低下を起こすとは考えにくい。しかし, 離乳食開始月齢が以前よりも相当早期となっていること, および以前の離乳食は重湯などのように味付けをほとんど行っていないことを考慮すると, このような高ヨウ素離乳食の1歳未満乳児への投与の歴史は新しいと考えられる。体質的にヨウ素の影響を受けやすい乳児が存在するという指摘もあることから⁸⁾, とくに昆布だしを使用した離乳食の摂取がもたらす高ヨウ素摂取の影響については注視することが必要だろう。

一方, ヨウ素摂取量推定値の中央値は, 6～8 か月児が89 µg/d, 9～11 か月児が84 µg/dであった。平均的なヨウ素濃度の母乳からのヨウ素摂取を6～8 か月児で約80 µg/d (133 ng/mL × 600 mL/d), 9～11 か月児で約60 µg/d (133 ng/mL × 450 mL/d) と見積もっていることから, この中央値は, 離乳食の半数以上が20 µg/d未満のヨウ素しか供給できないことを意味している。つまり, 母乳と合わせて目安量相当のヨウ素摂取を実現できる離乳食はきわめて少なく, 現実には間欠的に摂取する高ヨウ素濃度の離乳食によって必要なヨウ素量を確保しているともいえる。さらに, 乳幼児期に昆布だしを摂取させることは, 日本人としての健全な味覚の発達にとっては必要と思われる。したがって, 市販離乳食においては, 昆布だしの使用を控えるのではなく, 昆布だしやヒジキなど海藻類を使用している場合は, ヨウ素濃度を明記し, 適切な利用回数を示すな

Table 4 Estimation of iodine and chromium intake from commercial baby foods and breast milk in 6 to 8 or 9 to 11 month infants

	Iodine (µg/d)		Chromium (µg/d)	
	6 to 8 months (n=24)	9 to 11 months (n=29)	6 to 8 months (n=24)	9 to 11 months (n=29)
Minimum	85	72	2	3
25 percentile	87	77	3	6
Median	89	84	4	9
75 percentile	110	858	6	12
Maximum	562	4349	68	29
Mean	144	691	8	10
Geometrical mean	116	224	5	9
Criteria in DRI-J 2010*				
Adequate intake		130		1
Tolerable upper intake level		250		-

* Dietary Reference Intakes for Japanese, 2010.

どの対応を行うべきだと考える。同様に、家庭における離乳食に対しても、昆布だしの適切な使用頻度について一定の目安を示すことが必要であろう。

なお、繰り返しになるが、乳幼児も含めて日本人は昆布を利用することによって適切なヨウ素摂取を確保している。前段とはやや矛盾した表現にはなるが、現実にヨウ素過剰障害の報告がほとんどない事実をふまれば、おそらく現在の日本人の昆布の利用と摂取頻度に大きな問題はないものと判断できる。ただし、このような経験的事実を数値によって裏付け、そして高摂取にも関わらず過剰障害が生じない理由を解明することが研究者に課せられた使命であると思う。

他方、市販離乳食のクロム濃度は試料間の差が小さく、大半が湿重量あたり 20 ng/g 未満だった。唯一 100 ng/g を超えたのは「豆腐と野菜とひき肉のあんかけ」だったが、他の豆腐や肉類を使用した離乳食のクロム濃度が低値であることを考慮すると、この高クロム濃度は離乳食製造過程、もしくは分析中の汚染である可能性が高い。母乳と市販離乳食を摂取した場合のクロム摂取量推定値は、平均で約 10 µg/d であり、75 パーセントイル値もこれに近い値だった。病院普通食の分析結果⁹⁾ や一般家庭食事の分析例¹⁰⁾ からは、成人のクロム摂取量が 20~70 µg/d と考えられることから、今回の市販離乳食を利用する乳児のクロム摂取量の推定値 (約 10 µg/d) はほぼ妥当なものと判断できる。この値は、母乳のみの摂取を想定して策定されている食事摂取基準における 6 か月以降乳児に対するクロムの目安量 (1 µg/d) の約 10 倍である。したがって、マンガンやモリブデンと同様に²⁾、クロムは離乳食を開始することによってその摂取量が急激に増加するといえるだろう。ただしクロムに関しては、必須元素ではないという報告も提出されている¹¹⁾。したがって、離乳食からのクロム摂取量については、極端な高摂取が生じる可能性がないことを確認するだけで十分かもしれない。

本研究は、平成 23 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の改定と活用に関する総合的研究) により行われたものである。

参考文献

- 1) 厚生労働省 (2009) 日本人の食事摂取基準 [2010 年版], 第一出版, 東京, pp. 218-275.
- 2) 吉田宗弘, 乾 由衣子, 福永健治 (2009) 乳児における市販離乳食からの微量ミネラルの摂取. 微量栄養素研究 26 : 41-45.
- 3) 中埜 拓, 加藤 健, 小林直道, 島谷雅治, 石井恵子, 瀧本秀美, 戸谷誠之 (2003) 乳幼児の食生活に関する全国実態調査. 離乳食および乳汁からの栄養素等の摂取状況について, 小児保健研究 62 : 630-639.
- 4) 米山京子, 後藤いずみ, 永田久紀 (1995) 母乳の栄養成分の授乳月数に伴う変動, 日公衛誌 42 : 472-481.
- 5) 米山京子 (1998) 母乳栄養児の発育と母乳からの栄養素摂取量, 小児保健研究 57 : 49-57.
- 6) 菊池有利子, 武林 亨, 佐々木 敏 (2008) 日本で市販されている食品中のヨウ素含有量. 日衛誌 63 : 724-734.
- 7) 布施養善, 大橋俊則, 紫芝良昌, 入江 實 (2010) 日本人のヨウ素摂取量推定のための加工食品類のヨウ素含有量についての研究. 日臨栄会誌 32 : 26-51.
- 8) Nishiyama S, Mikeda T, Okada T, Nakamura K, Kotani T, Hishinuma A (2004) Transient hypothyroidism or persistent hyperthyrotropinemia in neonates born to mothers with excessive iodine intake. *Thyroid* 14: 1077-1083.
- 9) 吉田宗弘, 児島未希奈, 三由亜耶, 森田明美 (2011) 病院および介護施設の食事からの微量ミネラル摂取量の計算値と実測値との比較. 微量栄養素研究 28 : 27-31.
- 10) 池辺克彦, 田中之雄, 田中涼一 (1988) 陰膳方式による 15 金属元素の一日摂取量について. 食衛誌 29 : 52-57.
- 11) Di Bona KR, Love S, Rhodes NR, McAdory D, Sinha SH, Kern N, Kent J, Strickland J, Wilson A, Beaird J, Ramage J, Rasco JF, Vincent JB (2011) Chromium is not an essential trace element for mammals: effects of a "low-chromium" diet. *J Biol Inorg Chem* 16: 381-390.

日本人の食事摂取基準における目安量は健康人の摂取の中央値でよいのか？ Adequate intake (AI) for vitamin D; how is it to be determined?

本稿はトピックスの原稿として書いたものであるが、最近の話題を取り上げて概説するという本来のトピックスではない。著者らがふだん疑問に感じている点を述べて、ビタミン学会会員諸先生のご意見を承りたいという意図で書いたものであり、いわば著者らの個人的見解を述べたものであることを、最初におことわりしておく。

ビタミンの欠乏により、古典的欠乏症が起こる。ビタミンB₁欠乏による脚気・ウェルニッケ脳症、ナイアシン欠乏によるペラグラ、ビタミンC欠乏による壊血病、ビタミンK欠乏による出血傾向など、多数の有名な例がある。少なくともわが国においては、これらの多くはほぼ克服されたといつてよいが、近年ビタミンの新たな意義が注目されている。

古典的な欠乏症を起こすほどのビタミン欠乏 (deficiency) より軽度のビタミン不足 (insufficiency) であっても、疾患のリスクが増加する。

ビタミンDを例に述べると、骨はタンパク質(主にコラーゲン)の枠組みの上に、リン酸カルシウムが沈着して(石灰化)形成される。ビタミンDの最も基本的な作用は、腸管からのカルシウム・リン吸収促進なので、ビタミンD欠乏の結果、石灰化障害が起こるのがクル病・骨軟化症である。

一方、より軽度の不足の場合、石灰化障害は起こらないが、骨粗鬆症・骨折のリスク増加が起こる。副甲状腺ホルモン(PTH)とビタミンDは血清カルシウム濃度を維持するのが重要な役割であり、PTHはビタミンDの活性化を促進し、活性型ビタミンDはPTH分泌を抑制するという形で、両者は協調して、血清カルシウム濃度を維持するのに作用するが、作用が過剰となって、高カルシウム血症を起こさないように、フィードバック調節を受けている。したがって、ビタミンD不足状態においては、PTH分泌が亢進し、それによって骨吸収が亢進して、骨粗鬆症をきたす。なお、ビタミンD栄養状態の最もよい指標は、血中25-ヒドロキシビタミンD(25OHD)濃度である。

わが国において、残念ながらまだまだ、ビタミン不足の重要性が十分認識されているとはいいがたい状況であるが、その重要性がわかりにくいのも事実である。脚気・クル病・壊血病と列挙すれば明らかのように、古典的欠乏症は外見上の異常を伴うので、個々の人ごとにその有無が判定できる。しかし、ビタミンD不足の場合、外見上は何の異常もなく、疫学調査により初めて疾患リスクが増加していることが明らかになる。

食事摂取基準においても、改訂の度に徐々にビタミン

D不足の意義が考慮されるようになってきたと思われる。例えば、第六次改訂日本人の栄養所要量においては、「20～46歳の人で、1.7 μ g(68 IU)/日以下のビタミンD摂取を数年間続けると骨軟化症が認められるようになり、2.5 μ g(100 IU)/日では発生はみられなかったとの報告があるので、2.5 μ g(100 IU)/日とした」と述べられており、この記述はクル病・骨軟化症防止を念頭においた、欠乏症対策と理解される。しかし、現行の2010年版においては、「成人、とくに高齢者において、ビタミンD欠乏とはいえないもののビタミンD不足の状態が長期にわたって続くと、血中副甲状腺ホルモン濃度が上昇し、骨密度が低下する。したがって、正常なカルシウム利用能が保持され、血中副甲状腺ホルモン濃度が上昇しない血中25-ヒドロキシビタミンD濃度を維持するのに必要な量のビタミンDを摂取することが、骨折や骨粗鬆症などの予防の観点から重要と考えられる。しかし、その血中濃度を与えるビタミンD摂取量に関する根拠は乏しいため、その血中濃度を維持していると考えられる集団のビタミンD摂取量の中央値を目安量とした」との記述がみられ、これは明らかに、ビタミンD不足による骨折リスク増加対策をも意識したものである。このように、不足をも考慮する時代になると、目安量の策定において、欠乏対策だけを考えていた時代にはなかった、新たな問題点を生じてきたのではないかというのが、著者らが最近考えていることである。

目安量の策定理論に関して、2010年版の記述を引用すると、「特定の集団において、生体指標等を用いた健康状態の確認と当該栄養素摂取量の調査を同時に行い、その結果から不足状態を示す者がほとんど存在しない摂取量を推測し、その値を用いる。対象集団で不足状態を示す者がほとんど存在しない場合には栄養素摂取量の中央値を用いる。」とされている。

ビタミンDに関する具体的な数字として、「成人において血中副甲状腺ホルモン濃度の上昇を抑制し、骨密度の低下を予防するのに最低限必要な血中25-ヒドロキシビタミンD濃度は50 nmol/L前後であると考えられる」と書かれている。

表1は、食事摂取基準2010年版のビタミンDの項に示されている表を改変引用したものである。確かにここで引用されている論文において、50～69歳の集団における平均25OHD濃度は50 nmol/L(20 ng/mL)を越えているが、平均値が50 nmol/L(20 ng/mL)を越えているからといって、「特定の集団において不足状態を示す人がほとん

表1 日本人女性を対象として血清25-ヒドロキシビタミンD濃度を測定した報告

文献	人数	調査地域	血清25ヒドロキシビタミンD濃度 (nmol/L)	50 nmol/L 未満者の割合	対応する年齢階級のビタミンD 摂取量中央値(μg/日)
49	24	新潟(9月)	83±22	6.7%	5.7
48	7	新潟(2月)	54.7±9.4	30.9%	
54	244	長野(限定せず)	50.1±13.6	49.7%	
49	70	新潟(9月)	80±16	3.0%	
50	122	新潟(9月)	78.6±18.2	5.8%	
50	122	新潟(2月)	59.7±17.1	28.5%	
51	151	新潟(2月)	59.9±17.0	28.0%	
52	117	新潟(2月)	59.1±16.1	28.6%	
53	600	新潟(11月)	55.6±14.6	35.1%	

日本人の食事摂取基準2010年版¹より改変引用した。「50 nmol/L未満者の割合」は、正規分布するものと仮定して、平均値・標準偏差に基づき、著者らが計算したものである。

ど観察されない」と言えるのであろうか。仮に25OHD濃度が正規分布するものとして、摂取基準の表に示されている平均±標準偏差の値に基づき、50 nmol/Lを下回る対象者の割合を概算した結果を、「50 nmol/L未満者の割合」として加筆した。一見して明らかに、多くの文献において、50 nmol/L未満者の割合はかなり高い値であった。するとこれらの集団はビタミンDが充足している集団であるから、それに対応する性・年齢階級における摂取の中央値をもって目安量としてもよいのだろうかという疑問が生じてくる。

そうすると、ビタミンDの摂取基準策定にどのような方法論を用いることができるのであろうか。2010年カルシウム・ビタミンDについて、アメリカ・カナダの食事摂取基準が全面改訂された。方法論からみると、目安量ではなく、推定平均必要量(EAR)・推奨量(RDA)に変わったのが大きな変化である。これらは欠乏・充足実験によって定められるのが原則であり、EARは当該集団において50%の人が必要量を満たす量、RDAはほとんどの人(97~98%)が満たす量として定められる。このアメリカ・カナダの食事摂取基準においては、骨の健康を維持するための血中25OHD濃度(50 nmol/L)を基に、ビタミンDの摂取量が算定されており、RDAは、血中25OHD濃度と摂取量の容量依存性試験の結果から定められている。アメリカ・カナダの食事摂取基準におけるRDAは、1歳から70歳まで600 IU/日となっている²⁾。一方わが国の平成19年国民健康栄養調査の結果を見ると、成人で600 IU/日摂取できているのは、集団の上位10%に限られているのが実際であり³⁾、この数字を日本に適用できるのかどうかについては、多くの議論が必要であるが、ビタミン不足をも考慮した場合、この策定の方法論は注目すべきものと思われる。

誤解のないように一言述べておくと、著者らは2010年版に定められた目安量の値が不適切であると述べている

のではなく、従来の目安量の概念に従って策定するならば、現行の摂取基準のような定め方にならざるを得ないであろう。しかし、栄養素の不足をも考慮した場合の摂取基準策定において、その摂取の中央値をもって目安量とすることができるような健常人というものはそもそも存在するのであろうか。一見して外見上の異常を伴わない対象者であっても、不足のリスクの低い人から高い人まで連続的に分布すると考える方がより摂取基準の精神に合致するように思われてならない。

ビタミン不足をも考慮しなければならない時代においては、目安量策定の方法論に関して、再検討の時期が来ているのではないだろうか。

Key Words : Dietary reference intakes, adequate intake, vitamin D, median, osteoporosis

¹Department of Food and Nutrition Kyoto Women's University

²Department of Health and Nutrition, Osaka Shoin Women's University

Kiyoshi Tanaka¹ Akiko Kuwabara²

¹京都女子大学家政学部食物栄養学科

²大阪樟蔭女子大学学芸学部人間栄養学科

田中 清¹, 栗原 晶子²

参考文献

- 1) 第一出版編集部編：厚生労働省策定日本人の食事摂取基準(2010年版)。第一出版、東京、2009。
- 2) Institute of Medicine 2011 Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press
- 3) 健康・栄養情報研究会：国民健康・栄養の現状—平成19年厚生労働省国民健康・栄養調査報告—。第一出版、東京、2009

Article

Fractional Absorption of Active Absorbable Algal Calcium (AAACa) and Calcium Carbonate Measured by a Dual Stable-Isotope Method

Kazuhiro Uenishi ^{1,*}, Takuo Fujita ², Hiromi Ishida ³, Yoshio Fujii ⁴, Mutsumi Ohue ², Hiroshi Kaji ⁵, Midori Hirai ⁶, Mikio Kakumoto ⁶ and Steven A. Abrams ⁷

¹ Laboratory of Physiological Nutrition, Kagawa Nutrition University. 3-9-21 Chiyoda, Sakado, Saitama 350-0288, Japan

² Katsuragi Hospital, 250-1 Makamicho, Kishiwada, Osaka 596-0842, Japan; E-Mail: fujita@katsuragi-hosp.or.jp (T.F.)

³ Laboratory of Administrative Dietetics, Kagawa Nutrition University. 3-9-21 Chiyoda, Sakado, Saitama 350-0288, Japan; E-Mail: ishida@eiyo.ac.jp

⁴ Fujii Clinic, 4-18-1 Tsutsujigaoka, Tarumi-ku, Kobe, Hyogo 650-0853, Japan; E-Mail: fujii-naika-clinic@crocus.ocn.ne.jp

⁵ Division of Diabetes, Metabolism and Endocrinology, Department of Internal Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunokichou, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0017, Japan; E-Mail: hiros hik@med.kobe-u.ac.jp

⁶ Department of Hospital Pharmacy and Pharmacodynamics, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunokichou, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0017, Japan; E-Mail: midorih@med.kobe-u.ac.jp (M.K.)

⁷ Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Children's Nutrition Research Center, Department of Pediatrics, Baylor College of Medicine and Texas Children's Hospital, Houston, Texas 77030, USA; E-Mail: sabrams@bcm.tmc.edu

* Author to whom correspondence should be addressed: E-Mail: uenishi@eiyo.ac.jp; Tel.: 81-492-843-895; Fax: 81-492-843-895.

Received: 10 June 2010; in revised form: 2 July 2010 / Accepted: 8 July 2010 /

Published: 12 July 2010

Abstract: With the use of stable isotopes, this study aimed to compare the bioavailability of active absorbable algal calcium (AAACa), obtained from oyster shell powder heated to a high temperature, with an additional heated seaweed component (Heated Algal Ingredient,

HAI), with that of calcium carbonate. In 10 postmenopausal women volunteers aged 59 to 77 years (mean \pm S.D., 67 ± 5.3), the fractional calcium absorption of AAACa and CaCO_3 was measured by a dual stable isotope method. ^{44}Ca -enriched CaCO_3 and AAACa were administered in all subjects one month apart. After a fixed-menu breakfast and pre-test urine collection (Urine 0), ^{42}Ca -enriched CaCl_2 was intravenously injected, followed by oral administration of ^{44}Ca -enriched CaCO_3 without carrier 15 minutes later, and complete urine collection for the next 24 hours (Urine 24). The fractional calcium absorption was calculated as the ratio of Augmentation of ^{44}Ca from Urine 0 to Urine 24/ augmentation of ^{42}Ca from Urine 0 to Urine 24. Differences and changes of ^{44}Ca and ^{42}Ca were corrected by comparing each with ^{43}Ca . Fractional absorption of AAACa (mean \pm S.D., 23.1 ± 6.4), was distinctly and significantly higher than that of CaCO_3 (14.7 ± 6.4 ; $p = 0.0060$ by paired t-test). The mean fractional absorption was approximately 1.57-times higher for AAACa than for CaCO_3 . The serum 25(OH) vitamin D level was low (mean \pm S.D., 14.2 ± 4.95 ng/ml), as is common in this age group in Japan. Among the parameters of the bone and mineral metabolism measured, none displayed a significant correlation with the fractional absorption of CaCO_3 and AAACa. Higher fractional absorption of AAACa compared with CaCO_3 supports previous reports on the more beneficial effect of AAACa than CaCO_3 for osteoporosis.

Keywords: active absorbable algal calcium (AAACa); calcium carbonate; dual stable Ca isotope method; fractional absorption (FA); parathyroid hormone (PTH)

1. Introduction

Active absorbable algal calcium (AAACa) prepared from heated oyster shell and seaweed is a unique calcium supplement with high bioavailability, with a characteristic lamellar crystalline structure quite unlike that of calcium oxide and calcium carbonate (CaCO_3) [1]. In the Katsuragi Calcium study, a prospective, randomized, double blind and placebo-controlled study compared the effect of AAACa on osteoporosis with that of CaCO_3 in hospitalized women with a mean age of 80 years. It was found that AAACa alone increased spinal bone mineral density significantly over the level in subjects given a placebo, whereas CaCO_3 did not [2,3]. Fracture occurrence over the two year test period from among 58 subjects was 0 of 5 in the AAACa Group, 2 of 7 in the CaCO_3 Group and 3 of 5 in the Placebo Group, on evaluation of all X-rays available at the beginning and end of the test period. The AAACa Group exhibited a significantly lower rate of fracture occurrence than the placebo group, but the CaCO_3 Group showed no significant difference from placebo group. Serum parathyroid hormone (PTH) was also suppressed more efficiently by AAACa than CaCO_3 .

Despite all these indirect lines of evidence indicating a high bioavailability of AAACa, a direct absorption test by a dual isotope method has not been conducted to date. We have therefore attempted to measure the fractional absorption of AAACa by using the dual stable-isotope method [4,5] to

compare it with CaCO₃ in subjects in the age group most likely to need effective calcium supplementation to maintain their bone health: postmenopausal women.

2. Experimental Section

2.1. Subjects

Ten postmenopausal women between 59 and 77 years of age (mean \pm SD, 67 \pm 5.3 years) leading a normal healthy daily life without any known disease possibly affecting bone and mineral metabolism volunteered to participate as test subjects in the present study by providing written consent (Table 1). One subject, shown in parenthesis in Tables 1 and 2, was dropped from analysis because of a measured fractional absorption (FA) value of 0% on giving CaCO₃. The Institutional Review Board of the Fujii Medical Clinic approved the study.

Table 1. Background of the test subjects.

No.	Age	Years after menopause	Height (cm)	Weight (kg)	Systolic blood pressure (mmHg)	Diastolic blood pressure (mmHg)
1	68	19	154	54	138	80
2	72	23	147	50	142	62
3	65	15	157	63	148	70
4	65	13	148	43	125	70
(5) *	(59)	(9)	(153)	(60)	(133)	(88)
6	59	8	152	58	152	85
7	65	13	151	56	150	85
8	77	28	150	48	142	80
9	64	15	145	50	140	90
10	71	19	148	48	122	70
Mean	67	17	150	52	139	76
SD	5.3	6.0	3.7	6.1	10.4	9.3

* Case No. 5 was not included in the statistical analysis.

2.2. Background Data of the Test Subjects

In order to assess the metabolic background of the test subjects, serum Ca, P, albumin, creatinine, BUN, 25(OH)vitamin D, intact parathyroid hormone (PTH), bone specific alkaline phosphatase (BAP), urinary N-terminal type I collagen fragments (NTx) and urinary calcium/ creatinine ratio (UCa/ Cr) were measured prior to the test. The laboratory tests related to bone and calcium metabolism gave results approximately within the normal range, as shown in Table 2, except for one subject, who had a serum 25(OH) vitamin D level in the insufficiency range (7.6 ng/mL). This subject was without symptoms and signs of vitamin D insufficiency such as hypocalcemia, hypophosphatemia, high alkaline phosphatase, muscle weakness and bone pain.

Table 2. Parameters of mineral and bone metabolism of the test subjects.

No.	Serum Ca	Serum P	Serum albumin	Serum creatinine	BUN	25(OH) vitamin D	Intact PTH	BAP	Urine NTx/Cr	Urine Ca/Cr
	mg/dL	mg/dL	g/dL	mg/dL	mg/dL	ng/dL	pg/dL	U/L	nMBCE/ mMCR	mg/mg
1	9.7	3.9	4.4	0.83	11.0	16.8	48	15.2	32.2	0.03
2	9.5	4.5	4.0	0.80	21.9	16.9	31	15.1	16.0	0.06
3	9.7	3.1	4.6	0.71	12.1	11.6	40	35.8	31.1	0.45
4	10.3	3.5	5.1	0.49	12.5	11.7	44	32.4	35.9	0.36
5 *	(9.5)	(3.4)	(4.5)	(0.74)	(14.2)	(21.8)	(61)	(21.6)	(29.0)	(0.08)
6	9.8	3.5	4.7	0.74	17.8	15.4	44	19.1	23.0	0.12
7	9.3	4.4	4.4	0.60	17.8	24.7	42	17.0	42.2	0.22
8	9.9	2.9	4.6	0.59	13.5	7.6	50	34.9	34.5	0.17
9	9.8	3.7	4.4	0.74	13.7	12.7	34	27.5	16.3	0.20
10	9.5	3.3	4.2	0.54	13.6	10.8	34	45.9	21.9	0.30
Mean	9.7	3.6	4.5	0.67	14.9	14.2	41	27.0	28.1	0.21
SD	0.29	0.55	0.31	0.119	3.53	4.95	6.59	11.02	9.20	0.138

Ca: calcium; P: phosphorus; BUN: Blood urea nitrogen; PTH: parathyroid hormone; BAP: Bone specific alkaline phosphatase; BCE: Bone collagen equivalent.

* Case No. 5 was not included in the statistical analysis

2.3. Materials

The first part of the test was performed on March 9, 2009, using ^{44}Ca -enriched CaCO_3 for oral load and ^{42}Ca in the form of CaCl_2 for intravenous injection (Table 3). On April 13, 2009, after one month, exactly the same procedure was repeated on the same test subjects, except for the use of ^{44}Ca -enriched AAACa in the place of CaCO_3 to ensure the stable isotope constituent of the body reached equilibrium. Intrinsic labeling is no doubt ideal, but it is impossible to label the shell of oysters abiding in the ocean, so an extrinsic labeling was adopted as the best substitute for it. The material for AAACa was obtained by heating oyster shell to 1,000 °C, resulting mostly in CaO powder after losing much of the organic components. To 5,082 mg of this CaO powder, 450.4 mg CaO Ca fraction was added that consisted of $95.9 \pm 0.3\%$ ^{44}Ca supplied by TRACE SCIENCES INTERNATIONAL (Ontario, Canada), and was thoroughly mixed in a melting pot. Aqueous solution of a small amount of algal component was pre-heated at a high temperature in a manner similar to the oyster shell to start a chemical reaction lasting for about 10 minutes. After sufficient stirring, it was divided into small portions for actual use and preserved in vacuum. The final product mostly consisted of $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

CaCO₃ labeled with ⁴⁴Ca was also obtained from the same source (the Ca fraction consisting of 95.9 ± 0.3% ⁴⁴Ca). To 781.6 mg of this material, 9,075 mg CaCO₃ (Japanese Pharmacopeia) was added, thoroughly mixed, and divided into small proportions and stored.

AAACa particle mean size was 5.8 microns; maximum size was 75 microns and CaCO₃ particle size ranged from 10 to 20 microns. As these values are based on different occasions of measurements they may not be directly comparable, but appears to lie over a similar range. If anything, a larger size is compatible with slower absorption.

For two subjects, part of the first urine sample was lost; in these cases, both parts of the test were repeated on July 30 and August 27, and the data from the uneventfully performed second set of tests were used to replace those of the first set.

The safety of the intravenous injection of CaCl₂ was verified before the study by the absence of any signs of toxicity such as chills, fever, neuromuscular irritability, skin eruptions, disturbance of consciousness, *etc.*

Table 3. Amount of isotope Ca (mg) per subject in 1 study.

Isotope	Oral						IV
	CaX			CaY			Total
	Supplied	Added	Total	Supplied	Added	Total	
⁴² Ca	0.01	1.79	1.80	0.00	1.79	1.79	3.192
⁴³ Ca	0.01	0.39	0.40	0.00	0.39	0.39	0.0037
⁴⁴ Ca	25.38	5.52	30.90	25.38	5.53	30.91	0.0334

The contents of Ca isotopes in the material used for the preparation of CaX and CaY on arrival from the supplier (Supplied), their contents in the material added to prepare samples for administration (Added) and the final total (Total) are indicated in Table 3.

A total of approximately 300 mg of Ca containing approximately 30 mg ⁴⁴Ca isotope (25 + 5) was orally administered to each subject and about 3 mg ⁴²Ca isotope was injected before the study and no symptoms and signs of toxicity were reported.

2.4. Test Procedure

After taking a fixed menu breakfast consisting of fruit juice, toast, eggs and coffee, a pre-test urine sample was collected (Urine 0) and ⁴⁴Ca-enriched CaCO₃ was orally administered followed by the intravenous injection of ⁴²Ca-enriched CaCl₂ 15 minutes later. A complete collection of 24 h urine followed (Urine 24). After one month to ensure clearance of the enriched isotope, exactly the same procedure, except for the use of ⁴⁴Ca-enriched AAACa instead of ⁴⁴Ca-enriched CaCO₃, was repeated.

2.4.1. Measurement of the Stable Isotope

Sample preparation for isotope enrichment measurement was conducted according to the method of Patterson *et al.* [6]. By using the inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, Agilent 7500 cs, Agilent Technologies, Inc., Tokyo), ⁴²Ca, ⁴³Ca, ⁴⁴Ca and other measurable stable Ca isotopes were measured in both Urine 0 and Urine 24. Utilizing ⁴³Ca as an internal standard of the stable Ca

isotopes, the ratio of each stable Ca isotope to ^{43}Ca was calculated. The increase of the $^{42}\text{Ca}/^{43}\text{Ca}$ and $^{44}\text{Ca}/^{43}\text{Ca}$ in Urine 24 above the pretest natural abundance level for each test subject over the corresponding value in Urine 0 was then obtained. By dividing the ratio of the actual amount of the enrichment of ^{44}Ca by the corresponding amount of the enrichment of ^{42}Ca from Urine 0 to Urine 24, the FA of the ^{44}Ca -enriched material was obtained; for CaCO_3 in the first part of the test and AAACa in the second part (Table 3).

2.5. Statistical Analysis

The Excel Statistical Package was used to compare the FA of CaCO_3 and AAACa by paired t-test. A correlation matrix among the FA data, age and parameters of bone and mineral metabolism was constructed and evaluated by the Spearman method in view of the inclusion of variables with uncertain distribution. The p values < 0.05 were considered significant.

3. Results and Discussion

As shown in Table 4, the mean Fractional absorption (FA) of AAACa, $23.1 \pm 6.4\%$, was 1.57-times higher than the corresponding value of CaCO_3 , $14.7 \pm 6.4\%$, with a significant difference at $p = 0.0060$ determined using paired t-test.

Table 4. Fractional absorption (FA) of CaCO_3 and AAACa by dual stable isotope method.

Subject	FA CaCO_3	FA AAACa
1	7.5	21.1
2	20.0	29.7
3	21.9	34.7
4	19.6	20.4
(5) *	(0.0)	(18.8)
6	6.1	22.7
7	14.3	24.9
8	11.7	11.9
9	8.7	22.1
10	22.2	20.4
Mean	14.7	23.1
SD	6.4	6.4

Paired comparison between FA CaCO_3 and FA AAACa

$p = 0.0060$, $t = 3.708$ (paired t-Test)

* Subject 5 was not included in the statistical analysis.

According to the evaluation by means of the correlation coefficient matrix (Spearman) (Table 5) among the parameters of bone and mineral metabolism summarized in Table 2, no significant correlation was found between the FA of either calcium carbonate or AAACa and each parameter. In the subject with the lowest serum 25(OH) vitamin D of 7.6 ng/mL, the FA of CaCO_3 value was medium in the group, *i.e.*, 11.7%, fifth from the lowest, and the FA of AAACa, 11.9%, was the lowest in the group.

Until the advent of the dual isotope method, the true FA of calcium was extremely difficult to measure due to the complex behavior of calcium in living organisms, such as the rapid exchange through multiple Ca pools and various pathways of exit and reentrance [7,8]. Utilizing the presence of multiple stable isotopes in nature, the dual stable isotope method was developed to circumvent this complexity, and it is the only method of directly measuring the fractional intestinal Ca absorption.

Abrams and coworkers as well as other investigators [12-23] have used this method extensively to estimate calcium absorption, establishing it as the gold standard for calcium absorption. Since calcium absorption is influenced by age and the state of bone, as well as mineral metabolism, a correlation matrix was constructed and evaluated by Spearman’s method (Table 5). None of the metabolic parameters tested exhibited significant correlation with FA of the calcium compounds. Absence of significant correlation between FA of calcium compound and age was expected because of the narrow age range of this group.

The FA of Ca compounds obtained in this study of postmenopausal women, with a mean age of 66 years and with a tendency of low 25(OH) vitamin D, appears to be much lower than those observed in children and younger subjects: FA; 54.8–63.1% [21], 58.2–64.3% [22], and also younger postmenopausal women with mean age of 56: FA; 34.6–39.1% [23]. In healthy volunteers between 25 to 45 years much lower values, yet still higher than the results in the present study, were reported: FA; 26–31% [24]. The reduced FA in the current study subjects could also be due to reduced estrogen level after menopause. FA is, thus, markedly influenced by age. The age range of the test subjects was quite narrow in this group of subjects, unsuitable for the assessment of the age-FA correlation. Statistically, the tendency of age-FA correlation was non-significant.

Table 5. Spearman’s correlation matrix and correlation coefficients among fractional absorption (FA) and parameters of bone and mineral metabolism.

	FA CaCO3	FA AAACa	Age	SCa	SP	Salb	Cre	BUN	25D	PTH	BAP	UNTx	UCa/Cr
FA CaCO3	1.0000	0.1423	0.4238	-0.388	-0.192	-0.340	-0.485	-0.0335	-0.3167	-0.5630	-0.4833	-0.1333	0.6333
FA AAACa		1.0000	-0.349	-0.529	0.4328	-0.213	0.5042	0.3445	0.5690	-0.5232	-0.3766	-0.2762	0.0418

SCa: serum calcium; SP: serum phosphate; Salb: serum albumin; Cre: creatinine; BUN: blood urea nitrogen; 25D: 25(OH)vitaminD; PTH: parathyroid hormone; BAP: bone specific alkaline phosphatase; UNtx: urine N-terminal type I collagen fragments; UCa/Cr: urinary Ca/creatinine ratio

Although these subjects are reasonably homogeneous and apparently free of any comorbidity, which could potentially influence the test results, the present study is limited by the small number of test subjects. Unlike similar studies conducted in this field in the past, post-menopausal women – who need calcium supplementation most because of high risk of osteoporosis – were asked to participate. A rather low intra-group variation was encouraging, and a clear-cut difference in FA between the two test materials may also add to the credibility of the conclusion.

It is possible that the difference in molecular weight and physicochemical properties of the ⁴⁴Ca-enriched CaCO₃ and AAACa, mostly consisting of Ca(OH)₂ as the result of oxidation of CaCO₃

obtained from oyster shell, cannot be completely ruled out. The similar molecular size and comparable particle size actually measured as 5.8 to 75 for AAACa and 10 to 20 for CaCO₃ and this is a limitation of the result but should not have affected the primary outcome. In view of the similar molecular size and physicochemical properties between CaCO₃ and AAACa, both much smaller than organic Ca salts, however, confounding effect exerted on the calculation of the absorptive rate is rather unlikely and the conclusion of difference in the absorption rate between the two compounds should be reasonably supported.

4. Conclusions

This study aimed to compare the bioavailability of active absorbable algal calcium (AAACa), oyster shell powder heated to a high temperature, with an additional heated seaweed component (Heated Algal Ingredient, HAI), with that of calcium carbonate. The Fractional absorption of AAACa, (mean ± S.D.; 23.1 ± 6.4) was distinctly and significantly higher than that of CaCO₃ (14.7 ± 6.4; p = 0.0060 by paired t-test). The mean was approximately 1.57-times higher for AAACa than CaCO₃. Higher fractional absorption of AAACa compared with CaCO₃ supports previous reports on the more beneficial effect of AAACa than CaCO₃ on osteoporosis.

Acknowledgements

Kazuo Chihara MD, former Dean, Kobe University School of Medicine, encouraged and supported the study. Fujix Corporation provided ⁴²Ca and ⁴⁴Ca enriched compounds, imported by Taiyo Nippon Sanso Corporation and Kawaguchi Liquefaction Chemical Corporation, clearing up all the difficult official procedures.

The authors have no conflict of interest.

References

1. Fujita, T.; Fukase, M.; Nakada, M.; Koishi, M. Intestinal absorption of oyster shell electrolysate. *Bone Miner.* **1988**, *4*, 321-327.
2. Fujita, T.; Ohue, T.; Fujii, Y.; Miyauchi, Y.; Takagi, Y. Heated oyster shell-seaweed calcium (AAA-Ca) on osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* **1996**, *58*, 226-230.
3. Fujita, T.; Ohue, M.; Fujii, Y.; Miyauchi, A.; Takagi, Y. Reappraisal of Katsuragi Calcium Study, a prospective, double-blind, placebo-controlled study on vertebral deformity and fracture. *J. Bone Miner. Metab.* **2004**, *22*, 32-38.
4. Abrams, S.A.; Esteban, N.V.; Vieila, N.V.; Yergey, A.L. Dual tracer stable isotopic assessment of calcium absorption and endogenous fecal excretion in low birth weight infants. *Pediatr. Res.* **1991**, *29*, 615-618.
5. Abrams, S.A. Using stable isotopes to assess mineral absorption and utilization by children. *Am. J. Clin. Nutr.* **1999**, *70*, 955-964.
6. Patterson, K.Y.; Veillon, C.; Hill, A.D.; Moser-Veillon, P.B.; O'Haver, T.C. Measurement of calcium stable isotope tracers using cool plasma ICP-MS. *J. Anal. At. Spectr.* **1999**, *14*, 1673-1677.

7. Yergey, A.L.; Vieira, N.E.; Couell, D.G. Direct measurement of dietary fractional absorption using calcium isotopic tracers. *Biomed. Environ. Mass. Spectr.* **1987**, *14*, 603-607.
8. Hillman, L.S.; Tack, E.; Covell, D.G.; Vieina, N.E.; Yergey, A.L. Measurement of true calcium absorption in premature infants using intravenous ⁴⁶Ca and oral ⁴⁴Ca. *Pediatr. Res.* **1988**, *23*, 589-594.
9. Abrams, S.A. Assessing mineral metabolism in children using stable isotopes. *Pediatr. Blood Cancer* **2008**, *50*, 438-441.
10. Abrams, S.A.; Griffin, I.J.; Hawthorne, K.M. Chen, Z.; Gunn, S.K. Wilde, M.; Darlington, G.; Shypailo, R.J.; Ellis, K.J. Vitamin D receptor Fok1 polymorphisms affect calcium absorption, kinetics, and bone mineralization rates during puberty. *J. Bone. Miner. Res.* **2005**, *20*, 945-953.
11. Abrams, S.A. Using stable isotopes to assess the bioavailability of minerals in food-fortification programs. *Forum Nutr.* **2003**, *56*, 312-313.
12. Vargas Zapata, C.L.; Donangelo, C.M.; Woodhouse, L.R.; Abrams, S.A.; Spencer, E.M. King, J.C. Calcium homeostasis during pregnancy and lactation in Brazilian women with low calcium intakes: a longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *80*, 417-422.
13. Abrams, S.A.; Griffine, I.J. Hicks, P.D. Gunn, S.K. Pubertal girls only partially adapt to low dietary calcium intakes. *J. Bone Miner. Res.* **2004**, *19*, 757-763.
14. Abrams, S.A. Griffin, I.J.; Herman, S. Using stable isotopes to assess the bioavailability of mineral in food fortification programs. *Food Nutr. Bull.* **2002**, *23*, 158-165.
15. Abrams, S.A. Calcium turnover and nutrition through the life cycle. *Proc. Nutr. Soc.* **2001**, *60*, 283-289.
16. Abrams, S.A. Using stable isotope to assess mineral absorption and utilization by children. *Am. J. Clin. Nutr.* **1999**, *70*, 955-964.
17. Miller, J.Z.; Smith, D.L.; Flora, L.; Peacock, M.; Johnston, C.C., Jr. Calcium absorption in children estimated from single and double stable calcium isotope techniques. *Clin. Chim. Acta.* **1989**, *183*, 107-113.
18. Ames, S.K.; Ellis, K.J.; Gunn, S.K.; Copeland, K.C.; Abrams, S.A. Vitamin D receptor gene Fok1 polymorphism predicts calcium absorption and bone mineral density in children. *Bone Miner. Res.* **1999**, *14*, 740-746.
19. Eastell, R.; Vieira, N.E.; Yergey, A.L.; Riggs, B.L. One day test using stable isotopes to measure true fractional calcium absorption. *J. Bone Miner. Res.* **1989**, *4*, 463-468.
20. Fairweather – Tait, S.; Johnson, A.; Eagles, J.; Ganatra, S.; Kennedy, H.; Gurr, MI. Studies on calcium absorption from milk using a double label stable isotope technic. *Br. J. Nutr.* **1998**, *62*, 379-388.
21. Lee, W.T.; Leung, S.S.; Fairweather-Tait, S.J.; Leung, D.M.; Tsang, H.S.; Eagles, J.; Fox, T.; Wang, S.H.; Xu, Y.C.; Zeng, W.P. True fractional calcium absorption in Chinese children measured with stable isotope(⁴²Ca and ⁴⁴Ca). *Br. J. Nutr.* **1994**, *72*, 883-897.
22. Lee, W.; Leung, S.S.; Xu, Y.C.; Wang, S.H.; Zeng, W.P.; Lau, J.; Fairweather-Tait, S.J. Effects of double-blind controlled calcium supplementation on calcium absorption in Chinese children measured with stable isotopes (⁴²Ca and ⁴⁴Ca). *Br. J. Nutr.* **1995**, *73*, 311-321.