

ミネラル補給用サプリメントの含有量調査 セレンの分析

権島順一郎, 植松洋子, 荻本真美, 鈴木公美, 鴻丸裕一,
齋藤哲夫, 中村理奈, 伊藤弘一, 中里光男

Determination of Mineral Contents in Commercial Mineral Supplements Measurement of Selenium

Junichiro KABASHIMA, Yoko UEMATSU, Mami OGIMOTO, Kumi SUZUKI, Yuich KOHMARU,
Tetsuo SAITOH, Rina NAKAMURA, Koichi ITO and Mitsuo NAKAZATO

ミネラル補給用サプリメントの含有量調査 セレンの分析

樺島順一郎*¹, 植松洋子*¹, 荻本真美*¹, 鈴木公美*¹, 鴻丸裕一*²,
齋藤哲夫*³, 中村理奈*⁴, 伊藤弘一*⁵, 中里光男*¹

Determination of Mineral Contents in Commercial Mineral Supplements Measurement of Selenium

Junichiro KABASHIMA*¹, Yoko UEMATSU*¹, Mami OGIMOTO*¹, Kumi SUZUKI*¹, Yuich KOHMARU*²,
Tetsuo SAITOH*³, Rina NAKAMURA*⁴, Koichi ITO*⁵ and Mitsuo NAKAZATO*¹

Keywords : ミネラルサプリメント mineral supplement, セレン selenium, 連続フロー方式水素化物発生装置 continuous-flow hydride generator, 原子吸光光度法 atomic absorption spectrophotometry, 灰化 digestion, 推奨量 recommended dietary allowance, 目安量 adequate intake

はじめに

近年微量ミネラルについての推奨量(ある性・年齢階級に属する人々のほとんど(97~98%)が1日の必要量を満たすと推定される1日の摂取量)や目安量(推奨量を算定するのに十分な科学的根拠が得られない場合に,ある性・年齢階級に属する人々が良好な栄養状態を維持するのに十分な量)が上限量とともに示され^{1, 2)}, その機能役割が再認識されたことから, これらを配合したサプリメントが数多く流通するようになった。このため安易に必要な以上のミネラルを摂取する可能性が高くなっていると考えられる。これまでに, ミネラルサプリメント71製品について, マイクロ波分解後, 誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP-AES)を用いた一斉分析法によりカルシウム, マグネシウム, 鉄, 銅, 亜鉛およびクロムの6元素について測定を行い, 報告した³⁾。

セレンについても, 平成17年に策定された「日本人の食事摂取基準(2005年版, 厚生労働省)²⁾」(「食事摂取基準」)中に推奨量(8~35 µg/日)や15歳以上の上限量(350~450 µg/日)が設定されている。しかし, セレンについて, 市販ミネラル補給用サプリメント中の含有量測定を試みたところ, 上限量が低いため, サプリメント中の含有量が他のミネラルに比べ少なかったこと, サプリメントには多くのミネラル成分が配合されることが多く濃縮が困難であったこと, マイクロ波分解法では分解できる試料量が少ないこと等の理由により, 高濃度の試験溶液を得ることが困難であった。さらに, ICPでの感度が低かったこと(定量限

界約0.1 µg/mL), 共存元素による干渉等が認められたこと等の理由により, ICP-AESでは分析不能の試料が多かった。

セレンの分析には, 試料の灰化法として, 従来硝酸-過塩素酸による湿式灰化法⁴⁾が繁用されているが, 近年過塩素酸を使用しない, 安全性と再現性の高い湿式乾式組み合わせ灰化法⁵⁾も報告されている。また測定法としては, 水素化物発生原子吸光光度法(HGAAS)も汎用される。萩原らは, この方法の改変法で魚のセレン分析について報告している⁶⁾。今回, 多くのミネラルを含むミネラル補給用サプリメント中の低濃度セレンの分析を行うに当たり, 萩原らの方法⁶⁾を一部変更して準用することで, 充分満足出来る結果が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料

平成15, 16年に入手した市販セレン含有ミネラル補給用サプリメント錠剤27製品及びカプセル1製品計29試料(1製品はセレンのみを含有する錠剤と他のミネラルを含有する複合錠剤2種類のセット), セレン含有表示のある粉ミルク1製品, セレン含有料理用酵母粉末2製品, 酵母原末(市販セレン補給用サプリメント原料)1製品, 合計33試料について測定した。

2. 試薬

硝酸:特級(比重1.42), 塩酸:特級, 水酸化ナトリウム:特級, 硝酸マグネシウム:特級, 水素化ホウ素ナトリ

* 1 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* 1 Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

* 2 東京都市場衛生検査所足立出張所

* 3 東京都多摩立川保健所生活環境安全課

* 4 東京都福祉保健局健康安全室環境保健課

* 5 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科

ウム：化学分析用 以上和光純薬工業（株）製．セレン標準液：原子吸光分析用（1,000 mg/L），関東化学（株）製．水：超純水製造装置により精製したもの．

3. 装置

偏光ゼーマン原子吸光光度計（連続フロー方式水素化物発生装置 HFS-3 型付，HGAAS）：日立製作所製 Z-5300 型，超純水製造装置：Yamato Millipore 製 AutoPure WQ500．

4. 分析法

萩原らの方法⁶⁾に準じて試験溶液を調製した．すなわち，試料 0.5 g～1 g を精密に量りとり，硝酸 10 mL を加え，さらに塩酸 2 mL を加え時計皿でフタをして，一晚ホットプレート上 80℃で放置した．冷後硝酸マグネシウム溶液（40%水溶液）10 mL を加え，ホットプレート上で 200～300℃に保ち蒸発乾固した後，電気炉で 550℃ 6 時間灰化した．冷後水 10 mL と塩酸 10 mL を加え分散させ，時計皿でフタをし，約一時間おだやかに加熱煮沸し⁵⁾，冷後水を加えて正確に 100 mL とし試料液とした．試料液は測定時の濃度が検量線の範囲（2～8 ng/mL）となるよう水で希釈し，最終希釈時に最終試験液量の 1/10 容量の塩酸を加えて塩酸濃度の調整を行ったものを試験液とした．粉ミルクのみは 2 g を量りとり同様に操作し，試料液量を 50 mL として測定した．

セレン標準液は市販標準液（1000 µg/mL）を用時，50，100，200 ng/mL となるよう水で希釈した．それぞれを 2 mL ずつをとり塩酸 5 mL を加えて正確に 50 mL としたものを検量線作成用標準液とし，HGAAS で測定し，2～8 ng/mL の範囲で検量線を作成した．

5. HGAAS 条件

水素化ホウ素ナトリウム溶液：水素化ホウ素ナトリウム 10g 及び水酸化ナトリウム 4g を水に溶かして 1000 mL とした．1.2 N 塩酸：塩酸 100 mL を水で 1000 mL とした．

測定は，加熱石英セル（空気—アセチレン炎）使用，測定波長 196.0 nm で行った．

結果及び考察

1. 試験法についての検討

1) 前処理

HGAAS において水素化物に変換されるためには 4 価のセレンでなければならない．通常，灰化により 6 価のセレンとなるため，灰化後塩酸を加えて煮沸することにより，還元して 4 価のセレンにする必要がある⁵⁾．萩原ら⁶⁾は煮沸操作時に試料の濃縮も行っている．今回測定した試料は灰分が多く，濃縮すると乾固してセレンが揮散しまうおそれがあったが，試料中のセレン濃度が比較的高く濃縮する必要がなかったため，煮沸操作時に時計皿でフタをし，ほとんど濃縮されないようにした⁵⁾．またセレン濃度が高い場合に水で希釈したところ，測定値がばらついた．これは

希釈率が非常に大きくなったため，塩酸濃度が低くなり，水素化物の発生に影響を与えたためと考えられた．そこで，最終希釈時に最終試験液の 1/10 容量の塩酸を加えて塩酸濃度を 10%以上に調整し，測定を行ったところばらつきが解消された．

2) 添加回収試験および定量限界

今回対象としたミネラルサプリメントはセレン以外に様々なミネラルを含有し，総含有量は多いものでは 40%近かった．HGAAS は，灰化物中のセレンやヒ素化合物から発生した気体のセレン化水素やヒ化水素を原子吸光光度計（AAS）に導入することにより，測定するものである．セレンやヒ素のみが水素化物として選択的に気化し，他の元素は気化しないため，セレンやヒ素以外の多量のミネラルを含有するミネラルサプリメント試料中の微量のセレンの分析について，ICP/AES と異なり他の元素の影響をほとんど受けなため，HGAAS への適用が可能と考えられた．しかし，灰化時に他のミネラル成分中へのセレンの取り込みがあると回収率が低下するおそれがある．そこで，試験対象とした製品の大半について回収実験を行った．今回対象とした試料は，すべてセレンを含有する製品であり，また含有量も広範にわたっていることから，回収実験は製品中の含有量とほぼ同レベルのセレンを添加して行った．結果を表 1 に示したが，回収率は平均 81～126%，変動係数（C.V.）も 0.8～12.5%と良好な結果が得られた．定量限界は，試験溶液中 2 ng/mL，ミネラルサプリメント試料では試料当たり 0.2 µg/g（粉ミルクでは濃度が低いため，2 g を量りとり試料液 50 mL として測定したため 0.05 µg/g）であり，マイクロ波分解/ICP-AES による一斉分析法^{3, 7)}（試料中約 40 µg/g が定量限界）と比較して，定量限界は約 200 分の 1 であった．

今回分析対象とした製品中，表示セレン含有量が最も低かったのはミネラルサプリメントでは 0.5 µg/g（粉ミルクでは 0.06 µg/g）であったが，本法で十分測定可能であった．また，今回調査した試料は，セレン含有量に非常に大きな違いがあったが，回収率と含有量や共存ミネラル量との間に相関がなくこれらによる影響は見られなかった．回収率や定量限界から，湿式乾式組み合わせ灰化/HGAAS は市販ミネラルサプリメント中のセレンの分析に十分適用できると考えられた．

2. 測定結果

1) 共存ミネラルによる製品の分類

測定結果及び測定結果から算出した，製品記載のとおり摂取した場合の一日最大摂取量（一日最大摂取量）及び共存ミネラルについて表 1 に示した．

セレン含有市販ミネラル補給用サプリメント 28 製品の内訳は共存ミネラルを含有しないもの 6 製品，1～2 の共存ミネラルを含有するもの 6 製品，5 種以上の共有ミネラルを含有するもの 16 製品である．セレンは，多くのミネラルを含有するマルチミネラル製品に含まれることが多かった

表1 セレン含有量測定結果および共存ミネラル含有量

種類	共存ミネラル数	試料番号	セレン含有量 μg/g	一日最大 摂取量 μg/日	添加回収試験結果 (n=3)			共存ミネラル含有量 (mg/g) ^{*1)}						合計		
					添加量 μg/g	回収率 % C.V.(%)	カルシウム	マグネシウム	亜鉛	鉄	マンガン	銅	クロム		モリブデン	
		1	227	193	200	108	4.4									0.0
		2	99	143	80	108	4.8									0.0
		3	61	61	60	126	5.5									0.0
	0	4	34	51	50	107	2.3									0.0
		5	62	48	70	106	3.2									0.0
		6	21	31	25	96	6.8									0.0
		7	102	122	100	84	12.5			14						14
		8	19	58						4.1						4.1
		9	26	38	30	103	1.0			10						10
	1~2	10	59	59	50	101	2.4			14			1.0			15
		11	51	51				29		16						45
		12	20	35				8.4		8.4						8.5
		13	123	111	20	98	7.9	0.12	0.61	0.1	0.01	0.01				0.9
		14	25	163	24	111	3.5	14	44	3.1	0.67	0.36				62
		15	51	69	100	110	0.8	72	24	4.7	2.2	0.05				103
		16	24	48	25	88	7.9	5.2	3.2	2.2	4.3	0.50				15
		17	3.3	6.6	3	101	3.5	10	6.9	2.6	1.2	0.5				22
		18	4.8	4.8	4	109	5.6	64	32	7.5	0.1	0.08				105
		19	49	117	70	110	3.1	83	2.8	8.0	0.001	0.003				102
		20	14	30				119	60	2.3	3.6	0.71				185
		21	11	23				123	61	1.9	2.0	0.66	0.29			189
	5以上	22	10	22	12	99	3.0	136	72	3.2	2.2	1.6				215
		23	3.7	14				29	3.1	1.0	0.1	0.006	0.002			34
		24	23	101	70	103	4.7	230	110	4.4	4.5	0.93	0.77			351
		25	24	53	20	81	12.2	260	105	4.6	4.4	0.93	0.78			376
		26	20	36	20	89	7.2	194	29	2.7	4.8	0.58	1.0			232
		27	4.4	9.7	5	106	5.2	41	23	2.5	3.4	0.82	0.15			70
		28		45												
		28-1 ^{*2)}	20		15	97	1.0	229	84	10	9.5	2.6	1.1			336
		28-2 ^{*3)}	13		15	101	1.6									0.0
料理用酵母 製剤			0.4	0.4				1.3	2.2	0.03	0.06					3.6
			1.0					2.5	2.5	0.06	0.06	0.01	0.003			5.1
粉ミルク			0.06	8.8	0.2	94	3.0									
酵母原体			2260		2000	109	7.8									

* 1) : 共存ミネラル含有量のうち、は製品の表示量, その他は測定値³⁾

* 2) : ミネラル複合錠剤

* 3) : セレンのみを含有する錠剤

ものの、セレンのみを単独で含有する製品が6製品あったことは、セレンに何らかの作用を求めて購入する消費者の存在をうかがわせた。

共存ミネラルを含有する製品はすべて亜鉛を含有していた。2種の共存ミネラルを含有する製品では、他にクロム、銅それぞれ各1種を共存していた。5種以上共存ミネラルを含有する製品には、すべてカルシウム、マグネシウム、亜鉛が含有され、その他マンガン、鉄、銅、クロム、モリブデンが含有されていた。共存ミネラルとしては、亜鉛が最も多く22製品、次いでカルシウム、マグネシウム各16製品、マンガン15製品、鉄、銅各14製品、モリブデン6製品であった。

2) 含有量と一日最大摂取量の関係

製品中のセレン含有量と、測定結果から算出した一日最大摂取量との関係について、図1に示した。含有量と一日最大摂取量の間には相関が見られた ($r=0.7723$)。また、セレン以外に5種類以上のミネラルを含有する製品で、含有量に比べ、一日最大摂取量が多い製品がいくつかみられた。セレン含有量が多いため一日摂取量が多くなる製品と、含有量は少ないが錠剤数を多く摂取するよう記載があるため摂取量が多くなる製品とがあった。

なおサプリメント原料の酵母原末はセレン含有量が約2000 $\mu\text{g/g}$ であったので、サプリメント調製時に、10倍から600~700倍に希釈して使用していると考えられる。

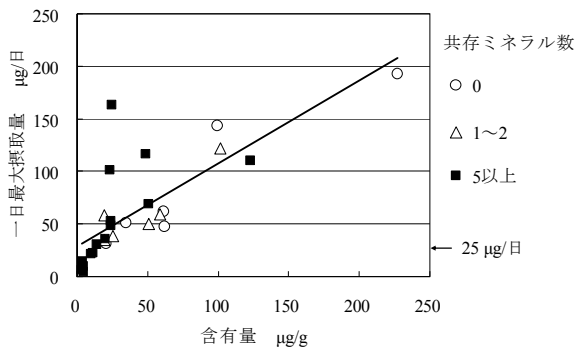


図1. ミネラルサプリメント製品中のセレン含有量と一日最大摂取量

図中の直線は、回帰直線 ($r=0.7723$)

25 $\mu\text{g/日}$ は、「食事摂取基準」中の30~49歳女性の推奨量

3) 推奨量との関係

一日最大摂取量について、「食事摂取基準」に設定された「推奨量」(今回は「食事摂取基準」中の30~49歳女性の値25 $\mu\text{g/日}$ 、図中に示した)との比較検討を行った。セレンの一日最大摂取量が推奨量の6倍を超すもの2製品、5倍以上1製品、4倍以上4製品、2倍以上7製品、推奨量以上8製品と、2/3以上の22製品の一日摂取量が、推奨量を超えていた。昨年の報告³⁾では、セレン以外のミネラル(カルシ

ウム、マグネシウム、鉄、銅、亜鉛およびクロム)について、推奨量や目安量を超す製品が数多くあることを報告しているが、セレンについても同様の傾向が認められた。

なお乳児用粉ミルクと調理用酵母は、セレン含有量が少なかった。乳児が粉ミルクのみでセレンを摂取した場合の摂取量は目安量の1/3から1/2程度であった。また調理用酵母を、一日一回調理に使用した場合のセレンの摂取量は3~10 $\mu\text{g/日}$ であり、セレンの過剰摂取が問題になることはないと思われる。

4) サプリメントとしてのセレン摂取

日本人の平均的なセレンの摂取量100 $\mu\text{g/日}$ ⁸⁾は推奨量をすでに超えており、通常はサプリメントとして摂取する必要はほとんど無い。一方、「食事摂取基準」中の15歳以上の上限量の値は350~450 $\mu\text{g/日}$ ^{1, 2)}である。今回の調査ではサプリメントからの摂取のみで上限量を超えるものはなかったが、日本人の平均的なセレンの摂取量を加えると上限量に近いものもあった。

セレンはヒトの栄養生理的に重要な元素であるが、欠乏レベル(20 $\mu\text{g/日}$ 以下)と中毒レベル(800 $\mu\text{g/日}$ 以上)の範囲が狭く⁸⁾推奨量と上限量の幅も狭い。欠乏症については、性差や個人差が大きいとされている⁸⁾。また、成長阻害や肝臓障害等の慢性毒性があるとされるが、最大無作用量ははっきりしていない⁸⁾。このような物質を、サプリメントとして摂取する場合、欠乏レベルをわずかに上回る程度に設定した方が適当である。一日の摂取量が推奨量を超える製品の摂取は望ましいものではなく、これらの推奨量を超える製品は、一日摂取量を変更した方がよいものと考えられる。また一日許摂取量が上限量に近い製品は、上限量を超える可能性もあり、サプリメントとして販売されることが問題である。

セレンの生理作用の多くは、セレン含有タンパク質に起因している。細胞の過酸化障害の防御、精子の形態維持、重金属毒性の軽減、一次免疫応答の顕著な促進、がん細胞に対する細胞増殖抑制効果など多岐にわたる生理作用が認められている⁸⁾。セレンの一日摂取量が推奨量よりはるかに多い製品では、これらの生理作用を期待していることが示唆されるが、本来これらの効能は医薬品に期待されるべきものである。

まとめ

今回用いた湿式乾式組み合わせ灰化/HGAAS法により、セレン含有量に非常に大きな違いがある試料や、他の共存ミネラルの多い試料中のセレンについて測定することができた。ICP-AESでは分析不能な試料中のセレン分析に有用な方法であると考えられる。

ミネラル補給用サプリメントによるセレンの一日最大摂取量は、2/3以上の製品で推奨量を超えており、最高6倍を超える製品もあった。また、日本人の平均的なセレンの摂取量を加えると、上取量に近い製品もあった。セレンのように推奨量と上限量の範囲が狭い物質をミネラル補給用サ

プリメントから摂取する場合は、摂取量が欠乏レベルをわずかに上回る程度に表示設定した方が適当である。

文 献

- 1) 健康・栄養情報研究会編：第6次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準，1999，第一出版，東京。
- 2) 厚生労働省策定：日本人の食事摂取基準（2005年版），2005，第一出版，東京。
- 3) 荻本真美，植松洋子，権島順一郎他：東京衛研年報，**57**，267-271，2006
- 4) 山野辺秀夫，雨宮敬，竹内正博他：東京衛研年報，**37**，149-153，1986
- 5) Brumbaugh, W. G. and Walter, M. J. : J. Assoc. Off. Anal. Chem., **72**, 484-486, 1989,
- 6) 萩原輝彦，雨宮敬，水石和子他：東京衛研年報，**56**，239-241，2005
- 7) 安野哲子，植松洋子，萩原輝彦他：東京衛研年報，**56**，149-153，1986
- 8) 中室克彦：日添協会報，**23**，32-35，2004