

# CCTを搭載したHPLC-ICP-MSによる 栄養補助食品中に含まれるセレノメチオニンの測定

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 エレメンタル営業部

EL09004

## Key Words

- HPLC
- ICP-MS
- セレン
- 栄養補助食品
- スペシエーション

## はじめに

セレン(Se)は抗酸化特性を有する必須微量元素であり、摂取量が不足しても過剰でも人体に障害が生じます。セレンは生理的および環境的酸化ストレスと関連する多くの疾患を予防します。体内にセレンが貯蔵されると、セレン酵素が発現、機能して、特にアミノ酸の一種であるセレノシステインを取り込みます。セレン酵素には、グルタチオンペルオキシダーゼ、ヨードチロニン-5'-脱ヨード酵素、チオレドキシン還元酵素などがあります。しかし、食事から摂取するセレン量が低いと、標準的な人では酵素活性が低くなります。通常の食事では、穀物、肉、魚がセレンの主要な供給源となります。しかし、土壌のセレン含有量が低いと、最終的にセレン含有量の低い食物が生産されることとなります。地理的にみると、セレンが著しく欠乏しているのはアジア、ロシア、アフリカの一部の地域に限られますが、それ以外の国でも、通常の食事から1日当たりの推奨量を摂取しないと、セレンが欠乏するリスクを抱えます。セレン値が低下すると、フリーラジカルの細胞攻撃を受けて免疫機能が低下するほか、克山病、カシン-ベック病などの欠乏症に陥ります。土壌中のセレン濃度が低い地域では、セレンの欠乏を予防するためにセレンを補助食品等の形で補給することが一般的となっています。家畜飼料へのセレン添加は栄養性筋ジストロフィーなどの欠乏症予防を目的に数十年前から行われていました。また、セレンの補給は一部のがんの化学的予防、アンチエイジング、ウイルスに対する免疫改善とも関連しています。

米国科学アカデミー医学研究所の食品栄養委員会 (Food and Nutrition Board of the National Academy's Institute of Medicine) は1日当たりのSe推奨摂取量を55  $\mu\text{g}$  としています。日本では2005年版日本人の食事摂取基準において、日本人18~29歳男性の推定平均必要量は25  $\mu\text{g}$ /日が設定されています。しかし、有効摂取量(セレン酵素発現に必要な量を超えるレベルで、がんリスクを低下させるという報告もあります)は、300  $\mu\text{g}$ /日に近いレベルです。Seの摂取量に加え、Seの補給方法も栄養学的有効性に影響します。L-セレノメチオニン(SeMet)は多くの食品に自然に含まれている主要な化学種で、通常、最もバイオアベイラビリティ:生物学的利用能および生物活性を有するSeと考えられています。酵母はセレン培地で培養するとL-セレノメチオニンの他にも微量のSe含有化合物を生成するため、生物活性Seを生成する最も経済的な方法として利用されています。図1(複数の情報源より作成)は、酵母による無機セレンの取り込みと代謝の概略図です。

セレン酵母はSeの生物活性体として栄養補助食品によく使用されています。しかし、補助食品によっては、無機セレンが代謝されて生物活性体になった酵母を添加しないで、無機セレンを混入した酵母が添加されることもあるため、その質に対する懸念があります。「有機セレン」あるいは「セレン酵母」などの表示の中には、その補助食品に含まれるセレンの形態に関して不明瞭な場合もあります。抗がん特性を有すると報告されているのはセレン酵母の生物活性体であるため、補助食品のSeスペシエーションおよびSe含有量を分析する品質管理手法を構築することが必要です。

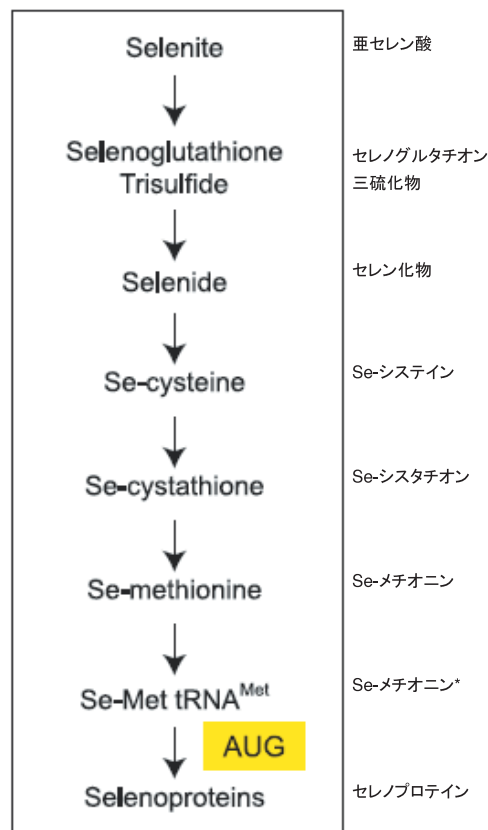


図1:酵母による無機セレンの代謝を示す概略図  
最後の矢印はSeMetの最終構造の  
プロテオームへの取り込みを示します。

このアプリケーションノートでは、HPLC-ICP-MSを用いた、Seを含有する栄養補助食品の分析方法およびSeMetの測定メソッドについてご紹介します。Seは複数の同位体を持つ元素で、 $m/z$  80の主要な同位体はアルゴン二量体( $^{80}\text{Ar}^{2+}$ )による妨害干渉を受けます。ここでは、この妨害干渉を除去し、クロマトグラムを取得するため、Thermo Scientific Xシリーズ2 ICP-MSのコリジョンセルテクノロジー(CCT)を使用しました。認証標準物質(CRM)はまだ市販されていませんが、現時点で認証手続きを受けているセレン酵母をメソッドの評価に使用しました。

セレン酵母と栄養補助食品の酸加水分解試料の定量結果を表2に示します。セレン酵母については3連の分解の平均値、栄養補助食品A、B、Cそれぞれについては1回の分解の結果です。

表2 標準添加法によるセレン酵母と栄養補助食品中のSeMetの定量値と未知化学種の半定量値

試料	1	2	3	4	SeMet	5	6
酵母	μg Se/g						
(n=3)	57.6	289.4	38.9	12.0	1209	-	-
	±	±	±	±	±		
	9.0	82.5	4.3	3.2	77		
栄養補助食品	μg Se/1カプセルまたは錠剤あたり						
A	1.68	8.02	0.64	0.59	23.1	0.39	0.3
B	1.02	5.35	0.56	0.63	24.3	-	-
C	2.13	10.1	0.15	0.08	23	-	-

標準添加法により測定したセレン酵母中のSeMetの濃度はSeとして1209 μg/gでした。これは、SeMetとして3003 μg/gに当たり、セレン酵母中のSe総含有量の約60%に相当します。このセレン酵母サンプルにはまだ認証値はないものの、この値は、標準物質の供給業者が実施したLC-MS、HPLC-ICP-MSおよびGC-MSによる同位体希釈分析で得られた値と一致します。したがって、本メソッドは、栄養補助食品中のSeMetの測定法として適切であることがバリデートされました。酸加水分解した栄養補助食品についてもセレン酵母と同様のクロマトグラムが得られたことから、栄養補助食品のセレンの供給源はセレン酵母であったと推定することができます。

さらに、栄養補助食品に使用されるセレン供給源に関するデータは、栄養補助食品の水溶性抽出物試料からも得ることができます。図5に栄養補助食品Aの水溶性抽出物のクロマトグラムを示します。多くのピークがみられますが、これは水溶性セレンペプチドと低分子セレンプロテインによるもの(無機セレンのピークは認められなかった)と考えられます。このデータから、セレン酵母が栄養補助食品の生産に使用されたという証拠も得られます。

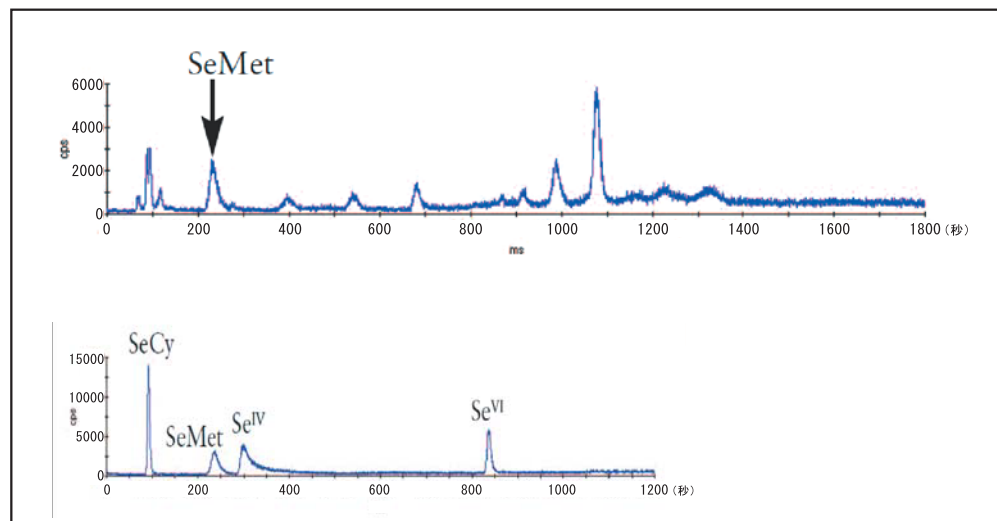


図5 栄養補助食品Aの水溶性抽出物(上)と標準溶液(下)のクロマトグラム

4つのセレン種の装置検出限界を検量線ブランク(n=3)の3σより求め、表3に示しました。

表3 セレン含有化学種の検出限界

	SeCy	SeMet	Se <sup>IV</sup>	Se <sup>III</sup>
装置検出限界 (3σ) ng Se/g	0.07	0.19	0.48	0.84

## まとめ

Thermo Scientific HPLC-ICP-MSパッケージは、栄養補助食品中のセレン含有化学種を高感度かつ正確に測定できる完全なソリューションを提供します。PlasmaLabソフトウェア機能により迅速な自動積分が可能で、生産性を高めるとともに、外部トリガーカードを組み合わせることで、ルーチンのスペシエーション分析において失敗のない自動分析操作を可能にします。

## 参考文献

1. Wrobel et al. Anal. Bioanal. Chem 2003, 375, p13-138

EL09004

サーモフィッシャー  
サイエンティフィック株式会社

フリーダイヤル  
0120-753-670

FAX  
0120-753-671

E-mail  
info-jp@thermofisher.com

www.thermoscientific.jp  
(日本)  
www.thermo.com  
(グローバル)

©2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

Specification, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.