

## マグロ血合肉の希塩酸抽出物に含まれるセレンの栄養有効性

廣瀬 侑太郎, 崔 懿, 山川 裕久, 細見 亮太,  
福永 健治, 吉田 宗弘  
(関西大学化学生命工学部栄養化学・食品化学研究室\*)

### Nutritional Availability of Selenium Contained in Diluted HCl-extract of Dark Muscle of Tuna

Yûtarô HIROSE, Yi CUI, Hirohisa YAMAKAWA, Ryôta HOSOMI, Kenji FUKUNAGA and Munehiro YOSHIDA  
*Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry,  
Materials and Bioengineering, Kansai University*

#### Summary

To evaluate nutritional availability of selenium contained in a low-molecular weight fraction of dark muscle of tuna, selenium content and glutathione peroxidase (GPX) activity were measured in serum and liver of mice fed a casein-based low selenium basal diet or the basal diet supplemented with selenium as sodium selenite, dark muscle of tuna or diluted HCl-extract of the dark muscle. Male weanling A/J mice were fed the low selenium diet (selenium content, 32 ng/g) for 3 weeks. After then, the mice were divided into four groups; one group was fed the basal diet continuously and other 3 groups were fed the basal diet supplemented with selenium (100 ng/g) as sodium selenite, dried powder of dark muscle of tuna or dried powder of diluted HCl-extract of the dark muscle for 1 week. The serum and liver selenium content of the mice fed the selenium-supplemented diets were significantly higher than those of the mice fed the basal low selenium diet. A significant difference due to the selenium source was observed in the elevation of selenium content; the highest elevation was observed in the mice fed the selenite-supplemented diet and the lowest elevation was observed in the mice fed diet with the diluted HCl-extract. The serum and liver GPX activity were elevated only in the mice fed the selenite-supplemented diet. These results indicate that nutritional availability of selenium contained in a low-molecular weight fraction of dark muscle of tuna is low compared to selenite or selenium contained in a protein fraction of the dark muscle.

セレンはイオウの同族元素であり、多くのイオウ化合物において、イオウ原子がセレンに置換したセレンアナログが存在する。自然界に存在する代表的なセレン化合物は、セレン酸、亜セレン酸、セレノメチオニン、セレノシステインなどである。一方、食品のセレン含量に関連する多くの報告は、水産物、とくに魚が他の食品に比較して高い水準のセレンを含むことを示している。このため、魚の摂取の多い日本人では、魚が主要なセレン供給源となっている<sup>1)</sup>。

近年、食品中の様々な成分が、健康維持・増進効果のある機能性物質として着目されており、とくに食品廃棄物からこのような機能性物質を回収することが行われている。セレンが必須微量元素であり、かつ低セレン栄養状態ががんを始めとする慢性疾患発症のリスクを高めるという疫学研究が存在することを背景として、高セレン酵母や高セレ

ンブロッコリなどを素材としたセレンサプリメントが市販されている<sup>2)</sup>。魚の加工において廃棄されている内臓や血合肉は、筋肉よりも多くのセレンを含んでいることから、セレンサプリメントの素材として活用できる可能性がある。しかし、食品中のセレンは多様な化学形態であるため、食品ごとに異なる栄養有効性を持つことが知られており、魚に関しては、その有効性が低いとする報告がいくつか存在する<sup>3-5)</sup>。

魚、とくにマグロなどの大型回遊魚の可食部に含まれるセレンの化学形態のすべてを含セレンタンパク質のみで説明すること難しい。かつてはマグロ中のセレンの低有効性の説明に、セレンとメチル水銀の複合体の関与が提示されたが、現在では否定的な意見が多い。

本研究室では、マグロ血合肉をアセトンで処理して得られるタンパク質画分に含まれるセレンの有効性は亜セレン

\*所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

酸に匹敵すること<sup>6)</sup>、およびマグロの内臓や血合肉に構造未知の低分子化合物の存在することを示してきた<sup>7)</sup>。最近、Yamashita & Yamashita は、マグロ血合肉中の低分子セレン化合物が (2S)-2-(トリメチルアミノ)-3-[2-(ヒドロセレン)-1H-イミダゾール-5-イル] プロパン酸であることを同定し、エルゴチオネインの硫黄原子がセレンに置換したものであることから、セレノネインと命名した<sup>8)</sup>。このような低分子セレン化合物は、魚のセレンの低有効性と関わりがあるかもしれない。そこで、本研究では、魚肉の非タンパク質性低分子画分に含まれるセレンの栄養有効性を推定する目的で、マグロ血合肉の非タンパク質性低分子画分に相当する希塩酸抽出物に含まれるセレンの栄養有効性を検討した。

## 実験方法

### 1. マグロ血合肉

大阪市内の卸売り業者より入手した新鮮なメバチマグロ (*Thunnus obesus* (Bonnaterre)) の血合肉 (新鮮重量当たりのセレン濃度, 9.67  $\mu\text{g/g}$ ) を研究試料とした。血合肉を 20 倍量のアセトン, エタノール, または 0.1 M 塩酸でホモジナイズした場合に抽出されるセレンの割合は, それぞれ 3.4%, 7.0%, 29.8% であり, 0.1 M 塩酸がもっとも多量のセレンを抽出できた。このことからマグロ血合肉中の非タンパク質性の低分子セレンを 0.1 M 塩酸で抽出することにした。

血合肉を 20 倍量の 0.1 M 塩酸中でホモジナイズし, 遠心して上清 (血合肉希塩酸抽出液) を得た。抽出液を炭酸水素ナトリウムで中和後, 凍結乾燥し, 細粉化した。得られたマグロ血合肉希塩酸抽出物粉末のセレン濃度は 110  $\mu\text{g/g}$  だった。

また上記とは別に血合肉全体を凍結乾燥してミルで細粉化し, 血合肉乾燥粉末 (セレン濃度, 36  $\mu\text{g/g}$ ) を調製した。

### 2. 動物実験

食品中のセレンの栄養有効性は, 組織中のセレン濃度および含セレン酵素であるグルタチオンオンペルオキシダーゼ (GPX) 活性と飼料中セレン濃度との間に直線の関係があり, 動物実験によって定量化できることに基づき<sup>9)</sup>, 以下の動物実験を実施した。なお, 本動物実験は関西大学化学生命工学部動物実験委員会の承認を得て実施した。

3 週齢 (体重 9 ~ 14 g) の A/J 雄マウス 24 匹に AIN93G 飼料からセレン酸を除去した低セレン基本飼料 (セレン濃度, 32 ng/g) を 3 週間与えた。その後, 6 匹ずつ 4 群に分け, 1 群にはそのまま低セレン基本飼料, 残りの 3 群には基本飼料に 100 ng/g に相当するセレンを亜セレン酸ナトリウム, 乾燥血合肉粉末, または血合肉希塩酸抽出物粉末の形態で添加したセレン添加食を与え, さらに 1 週間飼育した。飼育期間終了後, イソフルラン麻酔下で肝臓と血

液を採取し, 肝臓と血清の GPX 活性とセレン濃度の測定に供した。

### 3. 測定

セレンの定量: 血合肉と肝臓は硝酸で灰化した。灰化試料と血清を純水で適宜希釈し, 含有されるセレンを誘導結合プラズマ質量分析 (ICPMS) により定量した。内部標準元素にはテルルを用いた。

GPX 活性の測定: 血清と 10% 肝臓ホモジネート中の GPX 活性は, 過酸化物の基質として tert-ブチルヒドロペルオキシドを用い, 生成した酸化型グルタチオンをグルタチオンレダクターゼで還元する際に消費される NADPH 量を追跡する方法で測定した<sup>10)</sup>。

### 4. 統計解析

測定項目ごとに分散分析を行い, 有意 ( $p < 0.05$ ) であった場合には群間の差を Turkey の多重比較により検定した。

## 結果と考察

低セレン飼料で 3 週間, セレン添加飼料で 1 週間飼育した各群マウスの体重 (平均値  $\pm$  標準偏差) は, 低セレン飼料を投与し続けた対照群が  $23.0 \pm 2.2$ , 亜セレン酸ナトリウムを与えた群が  $23.5 \pm 2.0$ , 血合肉粉末を与えた群が  $22.4 \pm 1.5$ , 血合肉希塩酸抽出物を与えた群が  $23.5 \pm 1.7$  g であり, 群間に差を認めなかった。また, 肝臓などの主要臓器の重量にも群間の差はなかった。

Table 1 は各群の血清および肝臓のセレン濃度と GPX 活性の測定結果をまとめたものである。血清と肝臓のセレン濃度は, いずれも対照群に比較して, セレン源を添加した 3 群において上昇が認められた。しかし, 上昇の程度にはセレン源の違いの影響が認められ, 亜セレン酸がもっとも効果が大きく, 次いで血合肉粉末であり, 血合肉希塩酸抽出物の効果がもっとも小さかった。

一方, 亜セレン酸添加飼料を与えたマウスの肝臓 GPX 活性は, 低セレン飼料を継続して投与した対照群に比較して有意に上昇したが, 血合肉または血合肉希塩酸抽出物粉末をセレン源として与えた 2 群の GPX にはほとんど上昇が認められなかった。また, 血清 GPX 活性においても, 有意ではないが ( $p = 0.092$ ), 同様の傾向を認めた。

血合肉または血合肉抽出物による血清と肝臓のセレン濃度, および肝臓 GPX 活性の増加量を, 亜セレン酸による増加量を 100 とした相対的な数値で示すと, 肝臓セレン濃度では血合肉粉末が 86.9, 血合肉希塩酸抽出物が 63.4, 血清セレン濃度では血合肉粉末が 64.1, 血合肉希塩酸抽出物が 34.1, 肝臓 GPX 活性では血合肉粉末が 15.5, 血合肉希塩酸抽出物が 26.1 となった。

以上のことは, 血合肉に含まれるセレンの栄養有効性が亜セレン酸に比較して低く, 血合肉希塩酸抽出物の有効性

**Table 1** Selenium contents and glutathione peroxidase activities in serum and liver of mice fed selenium-supplemented diets for 1 week.

Selenium source	Selenium content		Glutathione peroxidase activity	
	Serum (ng/mL)	Liver (ng/g)	Serum (Unit/mL)	Liver (Unit/g protein)
None	29 ± 2 <sup>a</sup>	56 ± 2 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.04 <sup>a</sup>	44 ± 2 <sup>a</sup>
Selenite	47 ± 2 <sup>c</sup>	87 ± 2 <sup>c</sup>	0.43 ± 0.07 <sup>a</sup>	60 ± 3 <sup>b</sup>
Dark muscle	41 ± 1 <sup>b</sup>	83 ± 1 <sup>c</sup>	0.25 ± 0.04 <sup>a</sup>	47 ± 2 <sup>a</sup>
Diluted HCl-extract of dark muscle	36 ± 1 <sup>b</sup>	76 ± 2 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.05 <sup>a</sup>	49 ± 3 <sup>a</sup>

Values are means ± SEM (n = 6). Means in the same column not sharing a common superscript differ significantly ( $p < 0.05$ ).

が血合肉全体よりもさらに低いこと示している。血合肉から希塩酸で抽出される成分は低分子化合物であると推定できる。セレノネインは構造的に極性が高く、エタノールやアセトンには可溶であると考えられる。アセトン処理によって低分子成分を除去してタンパク質画分のみとした脱脂血合肉の栄養有効性が亜セレン酸に匹敵したという過去の研究結果<sup>6)</sup>と今回の結果をあわせると、血合肉全体のセレンの低有効性の原因は希塩酸によって抽出されるセレノネインをはじめとする低分子性のセレンにあると推定できる。

希塩酸を用いるとアセトンやエタノールを用いた場合よりもはるかに多くのセレンが抽出できた。血合肉の低分子セレンの大半はセレノネインであるといわれていること<sup>8)</sup>、セレノネインがアセトンやエタノールに可溶である可能性が高いことを合わせると、希塩酸抽出物中にはセレノネインもしくはその分解物よりも、抽出操作中含セレンタンパク質のセレノシステイン残基から遊離したセレンが多く含まれている可能性が高い。希塩酸抽出物にはこのような人工的なセレンの分子種も多く含まれることから、実態以上に低い有効性を観察しているかもしれない。したがって厳密に解釈すると、今回の結果は、このような雑多な低分子性セレンが含セレンタンパク質のセレノシステイン残基に変換されにくい物質であることを意味すると思われる。ただし、セレノシステイン残基が不安定であり、食品の調理加工中におけるセレンの遊離が想像されることから、今回の結果は調理加工後の動物性食品中のセレンの有効性について検討が必要であることも示している。

本研究は日本学術振興会科学研究費（基盤研究C）「血合肉含有低分子セレン化合物の栄養有効性と抗がん活性の評価、課題番号 15K07589」により行われたものである。

### 参考文献

1) 吉田宗弘 (2007) 微量元素 (2). 日本人はセレン摂取

を増やすべきか. 臨床栄養 111 : 598-599.

- 2) 吉田宗弘 (2013) ミネラル. サプリメントのほんとうとウソ (下村吉治編), ナップ, 東京 : pp.39-64.
- 3) Cantor AH, Scott ML, Noguchi T (1975) Biological availability of selenium in feedstuffs and selenium compounds for prevention of exudative diathesis in chicks. J Nutr 105: 96-105.
- 4) Alexander AR, Whanger PD, Miller LT (1983) Bioavailability to rats of selenium in various tuna and wheat products. J Nutr 113: 196-204.
- 5) Yoshida M, Iwami K, Yasumoto K (1984) Determination of nutritional efficiency of selenium contained in processed skipjack meat by comparison with selenite. J Nutr Sci Vitaminol 30: 395-400.
- 6) Yoshida M, Abe M, Fukunaga K, Kikuchi K (2002) Bioavailability of selenium in the defatted dark muscle of tuna. Food Add Contam 19: 990-995.
- 7) 吉田宗弘, 杉原 悟, 千原優子, 近藤真理子, 老川典夫 (2003) 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.
- 8) Yamashita Y, Yamashita M (2010) Identification of a novel selenium-containing compound, selenoneine, as the predominant chemical form of organic selenium in the blood of bluefin tuna. J Biol Chem 285: 18134-18138.
- 9) Combs GF Jr, Combs SB (1986) The Role of Selenium in Nutrition, Academic Press, New York: pp.127-178.
- 10) Yoshida M, Iwami K, Yasumoto K, Tashiro H (1981) Distribution of selenium in bovine milk and selenium deficiency in rats fed casein-based diet, monitored by lipid peroxide level and glutathione peroxidase activity. Agric Biol Chem 45: 1681-1688.