

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

硒之每日攝取量與麩胱甘月太過氧化酵素、癌症發生率之相關性研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2320-B-038-024-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：臺北醫學大學公共衛生學系

計畫主持人：韓柏樑

計畫參與人員：簡伶朱，施伶穎

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 23 日

中文摘要

許多與老化相關的慢性疾病，如癌症、心血管疾病、白內障、關節炎及巴金森氏症等疾病，近幾年仍受到研究學者的重視。而導致這些疾病的因子稱為活性氧物質 (reactive oxygen species , ROS)，又稱為自由基，是生物體正常的有氧化代謝過程中所形成的物質，包括有 O₂⁻、H₂O₂、·OH、等，且諸多此類物質都是由於生活飲食習慣所造成，這些物質一旦在體內形成，便會侵害身體細胞，使身體機能逐漸退化。為了有效防治疾病的發生與發展，生物體必須抑制或清除這些活性氧物質，而在正常情況之下，生物體中具有抗氧化之防禦系統，這個系統由抗氧化酵素及非酵素性抗氧化物質兩大部分組成，一起作用來移除自由基，以避免生物體受到其傷害。抗氧化酵素防禦系統主要含有 superoxide dismutase (SOD) catalase (CAT) Se-dependent glutathione peroxidase (GSH-Px) 及 Total Antioxidants (TAS) 等。

硒是必須微量營養元素，與許多疾病皆有關係，當硒在正常濃度範圍時具有保護作用，可預防疾病及癌症的發生。由於硒位於穀胱甘月太過氧化酵素的活性位置，故扮演保護因脂質過氧化所引起之細胞膜傷害。故本研究目的除了探討飲食中硒濃度、每日總硒攝取量與血中 GPx、SOD、CAT、TAS 等活性之關係外，並探討飲食型態與體內抗氧化酵素活性之相關性。另外，由於台灣目前並未有食物中硒含量、硒的每日攝取量及血中穀胱甘月太過氧化酵素等抗氧化酵素活性分析之整體研究，故本研究可瞭解本國民眾飲食中的硒攝取量是否符合世界衛生組織之最低建議攝取量。食物中硒濃度分析是以 ICP-AES (Perkin Elmer) 檢測之，而抗氧化酵素活性則是以市售試劑組測得 (Randox Laboratories, U.K.)。

研究結果發現，受試者每日經由水產食品所獲得之硒攝取量較其他類食物來得多，雖然在平均每日總硒攝取量與體內抗氧化酵素活性並沒有顯著相關性，但其攝取量 (44 µg/day) 剛好符合世界衛生組織所建議之每日攝取量 (40 µg/day)。至於體內抗氧化酵素活性與一般範圍值比較後，發現 GPx 活性 (5539.965 U/L) 介於一般範圍值 (4171~10881 U/L) 之內，而 SOD (98.015 U/ml) 及 TAS (0.947 mmol/L) 之活性皆呈現偏低狀況，尤以 SOD 為最。且 SOD、TAS 與 CAT 濃度彼此之間呈現正相關，GPx、TAS 與 CAT 之間呈現負相關，但並沒有達到統計上的顯著相關性。在飲食型態方面，除了在飲酒與體內 GPx 量則呈現顯著正相關 ($r=0.457$, $p < 0.05$)，而枸杞的攝取與否亦和體內 SOD 量呈現顯著負相關 ($r=-0.432$, $p < 0.05$) 之外，其他飲食習慣皆與體內抗氧化酵素活性無顯著相關性。

關鍵字：抗氧化酵素、硒、每日總硒攝取量、飲食習慣

Abstract

Selenium (Se) is an essential trace element, plays a major part in many metabolic functions. Selenium-rich diets appear capable of protecting people against several cancers, based on its presence at active sites of glutathione peroxidase. The enzyme can protect against lipids peroxidation-induced cell membrane damage, and reducing the potential for oxidative damage to DNA, proteins. The aim of this research was to quantify total selenium content present in foods, and antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GSHPx), catalase, superoxide dismutase (SOD), and total antioxidant status in blood. The correlations between daily selenium intake and antioxidant enzymes were obtaining from healthy population. Quantitative analysis for selenium was performed using an ICP-AES (Perkin-Elmer). The antioxidants activities were measured by commercial kit (Randox Lab oratories, U.K.).

The results indicate that: (i) the daily selenium intake show no significant difference associated with GSHPx, (ii) the daily selenium intake (44 µg/day) in Taiwanese is confirm to the WHO normative requirement of 40 µg/day, (iii) the activity of GSHPx (5540 U/L) is in the normal range, but SOD (98.02 U/ml) and total antioxidant status (0.95 mmol/L) is below the normal range, (iv) the activities of catalase and total antioxidant status also correlates positively with SOD and negatively with GSHPx and (v) significant difference is found between the GPx activities and alcohol ($p < 0.05$), and SOD activities correlates negatively with whether consume *Lycii Fructus*.

Key word: antioxidant enzymes, selenium, daily selenium intake

前言

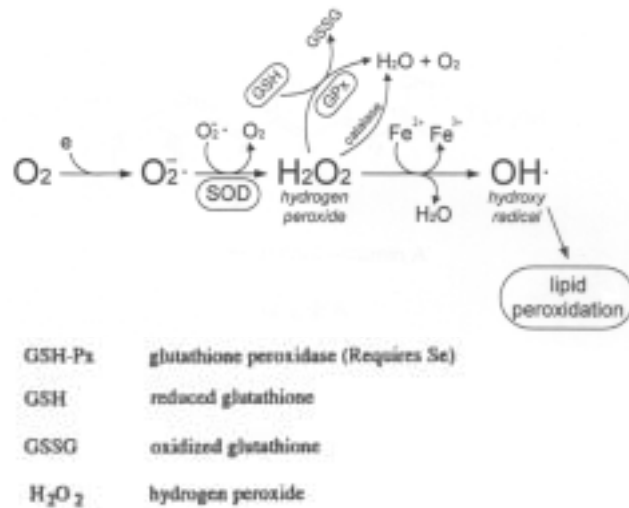
隨著經濟生活的富裕，人類的物質生活不再匱乏，壽命也隨之增長，但同時也出現了許多與老化相關的慢性疾病，如癌症、心血管疾病、白內障、關節炎及巴金森氏症等疾病（Matés et al., 1999）。導致這些疾病的因子稱為活性氧物質（reactive oxygen species, ROS），又稱為自由基，是生物體正常的有氧代謝過程中所形成的物質，包括有 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 、等。這些物質一旦形成，便會侵害身體細胞，使身體機能逐漸退化。

自由基的來源分為內在與外在：內在來源包括細胞中的活動，如粒腺體電子傳遞鏈、氧化反應、噬菌體細胞和自我氧化反應等；而外在來源則是飲食、離子輻射、空氣污染、抽煙與環境毒物等。

體內生成的自由基易引發細胞膜之不飽和脂肪酸進行脂質過氧化反應；與膜上酵素或接受體行共價結合，破壞細胞膜完整性，改變其結構功能及通透性；與細胞內之蛋白質行交錯連結反應，導致蛋白質變性或結構改變，使生物體內催化生化代謝反應進行所需之酵素活性喪失，細胞因此無法進行正常功能；攻擊 DNA 分子，破壞其鹼基結構，造成基因突變並產生毒性等，因而使身體細胞產生病變，造成許多無法復原的慢性傷害，傷害累積久了，就會發生疾病。

為了有效防治疾病的發生與發展，生物體必須抑制或清除這些活性氧物質，而在正常情況之下，生物體中具有抗氧化之防禦系統，這個系統由抗氧化酵素及非酵素性抗氧化物質兩大部分組成，一起作用來移除自由基，以避免生物體受到其傷害。

抗氧化酵素防禦系統主要含有 superoxide dismutase (SOD)、catalase (CAT)、Se-dependent glutathione peroxidase (GSH-Px) 及 Total Antioxidants (TAS) 等。SOD 的主要功能是使活性氧物質還原成過氧化氫 (H_2O_2)，是抗氧化反應中第一線的重要成員，若體內缺少 SOD，則會增加細胞產生突變的機率，也會造成心肌擴大及肺部的損傷，有致命的危險。CAT 的主要功能是將過氧化氫 (H_2O_2) 分解成水 (H_2O) 和氧氣 (O_2)，保護細胞免於過氧化的侵害，而 CAT 在細胞適應氧化反應的過程中扮演著重要的角色，富含有 CAT 的細胞可以預防藥物所導致的氧化反應。GPx 的主要功能是使過氧化氫 (H_2O_2) 分解，保護細胞免於氧化反應的傷害，是必要的抗氧化機制之一，GPx 常存在於紅血球、腎臟、肝臟等，可以降低脂肪酸、磷脂質和膽固醇再製造細胞膜和脂蛋白時所產生的過氧化氫化（Matés, 2000）。

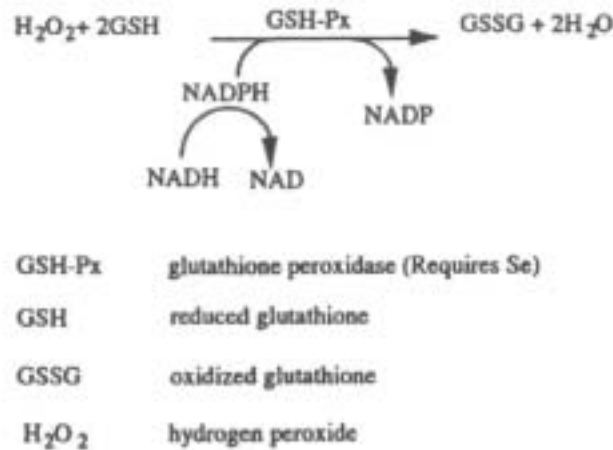


圖一 GSH 及 SOD 於生物體內之作用機制

硒被認為是人體的必需營養素，幾乎所有的器官中均含有微量的硒。目前已知硒會和 glutathione peroxidase (GPx)、selenoprotein-p 及 albumin 結合，約有一半以上為 selenoprotein-p 型式(Harrison et al., 1996)，人體紅血球中硒主要與血紅素結合，與 GPx 結合只佔 10-15 %。

硒的生化功能與其生物利用性(bioavailability)有關，而生物利用性由硒在組織中的化學型式決定。飲食中硒被吸收後，會在紅血球中與 GPx 和其他紅血球蛋白結合。GPx 中每一個酵素分子含有 4 個 Se 原子，並以 Se-cysteine 的型式存在，因硒位於 GPx 的活化位置(Clausen and Nielsen, 1988; Schukelt et al., 1991)，故扮演保護因脂質過氧化所引起之細胞膜傷害，硒化合物對砷、鎘、汞等重金屬，可催化其中間代謝產物的反應或抑制其毒性效應。在硒耗竭-再補充且維生素 E 攝取不足的研究模式下，各臟器 phGPx (phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase)活性衰退較慢且回升較快，可能顯示 phGPx 在大白鼠的生理重要性高於 cGPx (cellular glutathione peroxidase)，特別是心臟及睪丸，可能因為各臟器的生理保護機轉不同，導致蛋白質過氧化傷害程度不一(鄒氏, 1999)。即添加 Vit E 或抗氧化劑可減輕缺乏硒的動物所產生生理異常症狀，如體重減輕、倦怠、肝壞死、腎病變、出血、食道潰瘍、生長激素分泌降低、生殖能力降低及精子不正常(Rotruck, 1971)，所以硒可能扮演抗氧化的角色，且紅血球中缺乏硒的動物其組織中 GPx 的活性也較低。

硒在生化方面的角色包括增加組織對氧吸收和磷酸化作用(phosphorylation)，因而具有抗氧化效應。GPx 可降低大多數的有機過氧化物，甚至 H_2O_2 ，而 glutathione(GSH)是生理唯一的還原劑，其作用機制如圖 1，因此，血中 GPx 的分析常被作為硒缺乏的偵測指標。



圖二 GSH 於生物體內之作用機制

若長期給予大白鼠高硒飲食，會干擾 GSH 氧化還原代謝之平衡，進而可能提高細胞之氧化壓力(Chou, 2000)。

由於微量元素在生物體內可藉由 1.活化或抑制酵素反應、2.與其他元素競爭蛋白結合位置、3.影響細胞膜的通透性來達到其作用的目標(Drake and Sky-Peck, 1989; Sky-Peck, 1986)，可直接或間接影響癌化過程，故過去曾發現癌症病人體內鐵、銅、鋅與硒的分布與正常人不同(Trush and Kensler, 1991; Stevens and Nerishi, 1992)。10⁻⁷M 的硒對肝炎細胞株 HuH7 最有保護效果，硒在 HuH7 細胞存活的過程中扮演兩種重要的角色：抑制細胞凋亡及促進細胞生長。硒可以調控兩種抑制細胞凋亡的途徑；第一是硒可以透過 thioredoxin reductase 還原 thioredoxin，進而抑制 ASK 1 啟動細胞凋亡機制。第二個途徑則是硒活化 Akt 領導的抑制細胞死亡機制，阻斷 Caspases1 及 3 的活化(Tung, 1999)。

植物中硒的含量與土壤中硒含量的多寡有關，故容易造成地區性居民體內硒的缺乏。當硒缺乏時會導致心肌症(cardiomyopathy, Keshan disease)或增加致癌的危險性(Bonomin et al., 1996)，中國大陸某些地區，由於土壤中硒含量極少，導致當地心臟血管疾病高盛行率。類風溼性關節炎和酒精性肝硬化的患者血清硒較正常人低，而且在患者的組織中超氧自由基和過氧化物會增加(Aaseth et al., 1980; Neve, 1988)。在苯酮尿症以及一些缺乏自然供應的飲食治療而導致硒區乏的病人中發現無論全血中、血清、頭髮，甚至 RBC 中 GPx 都有較低的硒濃度(約為正常人的 10-20%)。Krsnjavi 及 Beker (1990)發現乳癌患者血清中硒濃度明顯降低，Piccinini (1996)等人則發現乳癌患者血清中硒濃度有稍微下降，由乳癌患者其甲狀腺荷爾蒙及硒在體內分布情形得知，指甲中硒的濃度有降低的趨勢，但不具統計上的意義(Strain et al., 1997)。此外，飲食中硒的缺乏也被認為是乳癌的危險因子之一(Garg et al., 1994)。而動物餵食硒的補充劑會刺激 GPx 的活性(Reiter and Wendel, 1985)，因此，硒的保護機轉主要是包含在抗氧化酵素 glutathione 中。

在動物和細胞研究中指出硒可降低許多癌症的發生率(Hocman, 1988; Ip and Lisk, 1995; Medina and Shepherd, 1980; Thompson et al., 1994), 人類血液中高濃度的硒與癌症低發生率具有相關性(Hocman, 1988)。硒補充劑宣稱具有預防心絞痛、關節炎、癌症、心血管疾病、老化、發炎、不孕等功效(Douillet et al., 1998)。硒補充劑已證實可預防慢性硒缺乏症狀, 如 Keshan disease (Yang et al., 1989)。醫學研究指出數個富含硒的生物性物質具有預防癌症的作用, 經試驗認為與 selenoamino acids 的生物作用有關(Clark et al., 1995, 1996, 1998; Ip et al., 1994)。

在一重疊病例對照研究(nested case-control study)中, 發現年齡約 45-68 歲夏威夷日裔美國人, 血清硒濃度 > 147.2 ng/ml 罹患攝護腺癌的比率較低(OR=0.5, 95% CI=0.3-0.9); 血清硒濃度 > 147.2 ng/ml 和 130.6 < 147.2 ng/ml 過去及現在有抽煙者較未抽煙者有較低罹患攝護腺癌的比率(Nomura et al., 2000)。分別於 1990 及 1994 年間進行橫斷面及世代研究, 探討煤礦工人血漿中硒濃度與穀胱氨酸過氧化酶(GPx)活性間之相關性, 發現調整粉塵及年齡因子後, 1994 年仍在工作的礦工其血漿中硒濃度、GPx 及紅血球中 Gpx 活性均較已退休的礦工低, 即是職業暴露會增加 ROS 的生成, 所以血漿中硒濃度與 GPx 的活性會降低, 研究中發現當血漿中硒濃度低於 73 ng/ml 時, 無足夠的硒去合成 GPx, 故血漿中 GPx 活性也會降低(Nadif et al., 2001)。國內目前對硒的相關研究甚少, 孕婦血清中硒元素濃度, 亦隨懷孕週數增加而趨下降, 在懷孕中期及後期硒元素濃度比懷孕初期與對照組呈現顯著意義的低(t-test, $p < 0.001$) (Lai, 2000)。口腔粘膜下纖維化(oral submucous fibrosis, OSF)及口腔癌患者體內維生素 E、B1、硒及鋅均有偏低的現象(Zhuang, 2000)。台灣地區血漿硒濃度與肝細胞癌發生的關係之重疊病例對照研究, 研究世代均為男性共計 4841 名 B 型肝炎帶原者和 2501 名非帶原者。研究結果顯示, B 型肝炎帶原者的血漿硒濃度略低於 B 型肝炎非帶原者, 但兩組的血漿硒濃度並沒有顯著差異, 肝細胞癌病例的血漿硒濃度顯著低於對照組。單變項分析結果顯示, 罹患肝細胞癌的相對危險性和血漿硒濃度呈顯著負相關(Hong, 1997)。

1980 年美國國家科學委員會的食品營養委員估算成人硒每日安全攝取量為 50-200 μg (NRC, 1980), 根據中國、紐西蘭和美國的飲食調查顯示, 若達到代謝平衡可獲得一相當大的攝取量範圍 9-80 $\mu\text{g}/\text{day}$ (Levander, 1986), 人體硒平衡是藉由降低尿及糞便硒的排除量, 達到低量硒的攝取。中國科學家發現成人男性及女性每日飲食硒攝取量分別為 19 及 14 $\mu\text{g}/\text{day}$ 可以預防 Keshan 病(Yang et al., 1987)。1989 年食品營養委員會以上述實驗為基準訂出硒每日建議攝取量(recommended dietary allowance, RDA) (NRC, 1989)。以中國人的數值特別根據體重訂出一個安全建議攝取量, 男人與女人硒每日建議攝取量分別為 70 及 55 $\mu\text{g}/\text{day}$ (Levander, 1991), 年輕人硒每日建議攝取量根據身體代謝率再做調整。世界衛生組織建議攝取量在男性及女性均為 40 $\mu\text{g}/\text{day}$ (WHO/FAO/IAEA, 1996)。

硒有四種型式(-2、0、+4 和+6)的氧化狀態, 而總硒的測量需先將有機硒轉換成無機硒, 大部分以強酸(如硝酸、過氯酸、硫酸、氫氟酸)或 UV 照射後加入

過氧化氫消化，但消化時避免加入鹽酸防止硒形成揮發性的氯化物。硒元素為易揮發之元素，一般以微波消化進行生物樣品之前處理，此外，亦可用高壓灰化(HPA, high pressure ashing)的技術進行前處理(Krushevska et al., 1996)。近來常用於總硒量測量的方法包括：GC、HG-AAS、HG-ETAAS、ICP-MS 和 HG-ICP-MS，一般而言，很難直接有效的量測樣本中的硒濃度，故上機分析前須前濃縮。此外，1970 年代開始，毒理學、臨床化學及營養學界開始測量樣品中的元素，以鐵的每日攝取量建議容許量為例，若只攝取一種形式的鐵，則較難被人體所吸收(Raptis et al., 1983)。雖然富含硒的飲食可以預防某些癌症，但有研究指出只攝取單一形式的硒化合物並無法獲得一致的結果，換言之，攝取全食物才具有硒抗癌的成份(Janet R, 2001)。人類硒的攝取主要是經由食物鏈而來，其中肝臟、腎臟、水產食品的濃度較高：0.4-1.5 mg/kg Se，穀類及其製品：0.1-0.8 mg/kg Se，水果和蔬菜大多低於 0.1 mg/kg Se (WHO, 1987)。而食物中硒在腸胃道的吸收可達 90% (50-100%)，其中硒的化學形態會明顯影響其吸收速率，例如元素硒幾乎不被吸收、無機形式則是硒酸鹽的吸收率比亞硒酸鹽大；selenoamino acids 較無機物種易被吸收，Selenomethionine 的吸收率為 75-100% (Fairweather-Tait, 1992)。

研究目的

1. 探討飲食中硒濃度、每日攝取量與血中 GPx、SOD、CAT、TAS 等活性之關係。
2. 與各國建議值間作一比較，端視台灣居民飲食中硒的每日攝取量是否有不足或過高之情形。
3. 由於台灣目前並未有食物中硒含量、硒的每日攝取量及血中巰胱甘月太過氧化酵素活性分析之整體研究，故本研究可瞭解本國民眾飲食中的硒攝取量是否符合世界衛生組織之最低建議攝取量。

研究方法

(一) 個案收集初步針對台北市一般民眾進行研究調查，共計 22 位。

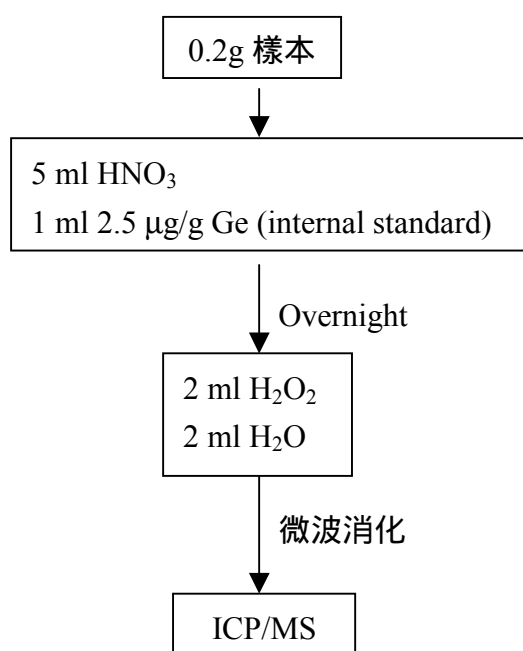
(二) 問卷訪視：

以結構式問卷填寫蒐集其基本資料，並進行飲食頻率問卷調查及 24 小時飲食回憶紀錄，內容包括：年齡、性別、身高體重、酒精消費量、居住地區、過去 24 小時之所有飲食消費攝取量，其後並將問卷結果歸類為奶類、五穀根莖類、肉豆蛋類、水產食品類、蔬菜類、水果類、飲料類及油類等，並推算其攝取量。

(三) 樣品總硒量之分析

* 水產食品：隨機選取 2-3 個傳統市場及超級市場或大賣場，以及到台灣沿海海港採集魚類、甲殼類及貝類等樣本，共計魚類 18 種、甲殼類 5 種以及貝類 6 種。樣本採集後迅速保存於攜帶式冰箱中，

當日送回實驗室冷藏，以供後續處理。



檢測出魚類、甲殼類及貝類之總硒濃度後，取其幾何平均數（Geometric mean）帶入每日總硒攝取量之估算公式。

* 其他食物樣品：就飲食問卷中之食物，參考各國相關研究之資料，蒐集各種食物之硒濃度分布情形後，將之歸類為奶類、五穀根莖類、肉豆蛋類、水產食品類、蔬菜類、水果類、飲料類及油類等，取其所有值的幾何平均數。

（四）每日總硒攝取量之估算

將取得之奶類、五穀根莖類、肉豆蛋類、水產食品類、蔬菜類、水果類、飲料類及油類等總硒濃度（幾何平均數），帶入各食物的飲食攝取量公式中，推算出每日總硒攝取量。以主食類為例，推算公式如下：

$$\begin{aligned} & \text{主食類食物之每日攝取量 (g/day)} \times \text{主食類食物中所含總硒濃度 (}\mu\text{g/g)} \\ & = \text{主食類食物的每日硒攝取量 (}\mu\text{g/day)} \end{aligned}$$

推算出每一大類食物之每日硒攝取量（ $\mu\text{g/day}$ ），取總和後即為每日的總硒攝取量（ $\mu\text{g/day}$ ）。

（五）血中 GPx、SOD、CAT、TAS 等抗氧化酶活性之測定

一、血中抗氧化酶 GPx 活性：

使用市售試劑組(Cat RS 504, RANDOX)測得。血液樣本以含抗凝血劑（Heparin）試管收集，取 25 μl 全血進行試驗。

試劑製備：

- * Diluting agent : 1 瓶加入 200 ml 的去離子水 (在 2~8 ℃ 下可存放 4 週)
- * Drabkin's reagents : 1 瓶加入 480 ml 的去離子水 , 比例為 1 : 24 即可 (在 2~8 ℃ 下可存放 6 個月以上)
- * Reagent : 1 瓶加入 6.5 ml 的 phosphate buffer (試劑 1) , 在 2~8 ℃ 下可存放 48 hrs。
- * Cumene hydroperoxide : 取 10 μl 加入 10 ml 去離子水

檢測 GPx 流程 :

Heparinized whole blood 25 μl

- ↓ 加入 0.5 ml Diluting agent , 放置 5 min
- ↓ 加入 0.5 ml Drabkin's reagents (作為稀釋液) , mix well
- ↓ 取 20 μl 至另一 ependorf
- ↓ 加入 1 ml reagent , mix well , 以水浴方式保持 37 ℃ 的溫度狀態
- ↓ 加入 40 μl cumene hydroperoxide , mix well (測之前再加 , 加之後須馬上測)
- ↓ 於 37 ℃ 、 波長 340 nm 下測第 0 秒 (A1) 及第 3 分鐘 (A2) 的吸光值 (使用石英管)

- * 空白試驗 : 取 20 μl 去離子水 + 1 ml reagent + 40 μl cumene hydroperoxide

計算 :

- blank 的 $\Delta A_{\text{blank}}/\text{min} = (A1-A2)/3$
- sample 的 $\Delta A_{\text{sample}}/\text{min} = (A1-A2)/3$
- $\Delta A_{\text{sample}}/\text{min} - \Delta A_{\text{blank}}/\text{min} = \Delta A/\text{min}$
- GPx conc. = $8412 \times \Delta A/\text{min} \times \text{稀釋倍數}$ (U/L)
- 將 GPx conc. (U/ml) 再除以 Haemoglobin (g/ml) = GPx conc. (U/g Hb)

二、血中抗氧化酵素 SOD 活性

使用市售試劑組 (Cat SD 125, RANDOX) 測得。血液樣本以含抗凝血劑 (Heparin) 試管收集 , 取 200 μl 紅血球進行試驗。

試劑製備 :

- * phosphate buffer : 將 0.1 M 的 phosphate buffer 稀釋 10 倍 (50 個 sample 約需 50 ml , 取 5 ml → 50 ml)
- * Mixed substrate : 1 瓶加入 20 ml 的 buffer (試劑 2) , 在 2~8 ℃ 下可存放 10 天。
- * Xanthine Oxidase : 1 瓶加入 10 ml 的去離子水 (在 2~8 ℃ 下可存放 2 weeks)
- * Standards :
 - S6 : 將 Standard (試劑 4) 加入 10 ml 的去離子水 , mix well → 5 U/ml ;
 - S5 : 從 S6 取 0.5 ml 至另一 ependorf , 加入 0.5 ml 的去離子水 , mix well →

2.5 U/ml，以此類推。S1 為去離子水。

檢測 SOD 流程：

取 Heparinized RBC 250 μ l，以 cold redistilled water 加至 2 ml，mix well，置於 4 $^{\circ}$ C，15min，以 phosphate buffer 稀釋至抑制百分率為 30~60 % 間。samples 及 standards 皆各取 25 μ l 至另一 ependorf，加入 850 μ l Mixed substrate，mix well，以水浴方式保持 37 $^{\circ}$ C 的溫度狀態，加入 125 μ l Xanthine oxidase，mix well（測之前再加，加之後須馬上測）。於 37 $^{\circ}$ C、波長 505 nm 下測第 30 秒（A1）及第 210 秒（A2）的吸光值（使用玻璃或石英管皆可）。

計算：

Std 部分

- std 的 $\Delta A/\text{min}$ ： $\Delta A_{\text{std}}/\text{min} = (A2-A1)/3$
- std 的 % inhibition = $100 - [(\Delta A_{\text{std}}/\text{min} \times 100) / (\Delta A_{S1}/\text{min})]$
- std 的 % inhibition 取 \log_{10} ，所得的值為 B
- 以 std conc.（橫座標）vs. 各 std conc. 所推估出的 B 值（縱座標）推算出 std curve 的 R 值

Sample 部分

- sample 的 $\Delta A/\text{min} = (A2-A1)/3$
- sample 的 % inhibition = $100 - [(\Delta A_{\text{sample}}/\text{min} \times 100) / (\Delta A_{S1}/\text{min})]$
- sample 的 % inhibition 取 \log_{10} 之後帶入 std curve，所求得值再乘以稀釋倍數（此為 100 倍），而得全血的 SOD conc. (U/ml)

* 將全血的 SOD conc. (U/ml) 再除以 Haemoglobin (g/ml) = 全血的 SOD conc. (U/g Hb)

三、血中抗氧化酵素 CAT 活性

採用 Luck (1963) 之方法測得，血液樣本以含抗凝血劑 (Heparin) 試管收集，取 100 μ l 紅血球進行試驗。

試劑製備：

* Potassium-phosphate buffer (67mM, pH7.0)：取 K_2HPO_4 (MW174.2) 4.486g 與 KH_2PO_4 (MW136.1) 5.566g 溶於去離子水中，調 pH 值至 7.0，定量到 1L，存放在 4 $^{\circ}$ C 中（先加至 900ml \rightarrow 調 pH 值 \rightarrow 再加至 1 L）。

* H_2O_2 -potassium-phosphate buffer：取 30% 的 H_2O_2 143 μ l 溶於 1/15M 的 potassium-phosphate buffer 中，定量至 100ml（當日配製 0.04% H_2O_2 in 67mM potassium phosphate buffer, pH7.0）（需冰浴）。

* Chloroform-absolute ethano 40ml：取 15ml chloroform 與 25ml absolute ethanol 混合。

檢測 CAT 之樣品前處理流程：

↓取 RBC 100 μ l

- ↓加入 400μl 的 potassium-phosphate buffer (成為 10%RBC)
- 【↓加入 400μl 的 chloroform-ethanol (此時總體積為 900μl)
- ↓冰浴 15 分鐘】此步驟可省略
- ↓離心 3000rpm , 5 分鐘
- ↓取上清液 , 並以 potassium-phosphate buffer 稀釋 10 倍 (10μl 上清液 + 90μl potassium-phosphate buffer)
- ↓取稀釋後的上清液 10 μl 進行下面測 catalase 之流程步驟
(剩餘之稀釋液需留存 , 以檢測蛋白量)

檢測 CAT 之流程 :

(溫度 25 , 室溫即可 , 不需溫控)

- ↓以二次水作歸零動作
- ↓取 sample 10μl , 加入 H₂O₂-potassium-phosphate buffer 990μl , 混勻後放進 spectrometer (240nm) 中測 (共 3 分鐘 , 每 15 秒讀一次吸光值)
- * sample 在加入 buffer 後要馬上測
- * 使用石英管 , UV 光測

計算 :

unit k/l= 【(total assay volume)/(sample volume used)】× 【2.3/ t(sec)】×log(A1/A2)

A1 : 0 秒時的吸光值

A2 : 第 3 分鐘的吸光值

四、血中抗氧化酵素 TAS 活性

使用市售試劑組(Cat NX 2332, RANDOX)測得。血液樣本以含抗凝血劑 (Heparin) 試管收集 , 取 20μl 血漿進行試驗。

試劑製備 :

- * Buffer : 商用 kit 組已含 , 使用前需存放在 2~8 中。
- * Chromogen : 1 瓶加入 10 ml 的 buffer (試劑 1) , 可在 2~8 下可存放 2 天 (或在 15~25 中存放 8 小時) 。
- * Substrate : 1 ml 的 substrate 用 1.5 ml 的 buffer (試劑 1) 稀釋 , 可在 2~8 下可存放 24 小時。
- * Standards: 一瓶加入 1 ml 的去離子水 , 可在 2~8 下可存放 2 天 (或在 -20 中存放 1 個月) 。

檢測 TAS 流程 :

- ↓取 Heparinized plasma 20μl 和 Standards 20μl
- ↓加入 Chromogen 1ml , mix well , 並水浴於 37
- ↓於 37 , 波長 600nm 下測第 0 秒 (A1) 的吸光值
- ↓直接在石英管中加入 Substrate 200μl (測之前再加 , 加之後馬上測) , 手搖 mix well
- ↓於 37 , 波長 600nm 下測第 3 分鐘 (A2) 的吸光值

* 空白試驗：取 20 μ l 去離子水 + 1 ml Chromogen + 200 μ l Substrate

計算：

TAS (Total antioxidant status):

Factor = (Standards 濃度) / (ΔA blank - ΔA standard)

TAS (mmol/l) = Factor \times (ΔA blank - ΔA sample)

(六) 測量分析之品質管制

1. 空白分析：每一批樣品進行前處理時，需同時置備空白樣品，以檢測分析時樣品是否遭受污染。
2. 重複分析：每一批樣品至少做一個樣品三重複，以便檢測精密度。
3. 方法偵測極限：取樣品以添加內標準品方式定量，重複分析三次，將三次所得結果分別計算錫之標準偏差，再乘上三倍，即定義為方法偵測極限。

(七) 統計方法

以 SPSS 11.5 統計軟體分析之，使用 Pearson Correlation analysis 進行相關性分析之， $p < 0.05$ 為統計上達顯著差異。

結果與討論

(一) 個案基本資料

所有族群年齡分布是 18~31 歲，平均年齡為 22.86 歲，男性平均為 21.71 歲，女性為 23.40 歲。其 BMI 值男性平均為 22.13，女性為 21.37，平均的 BMI 值為 21.61 (表一)。

(二) 食物中錫含量分析

各大類食物之總錫濃度已呈現於表二中 (表二)，並取其幾何平均數作為推算每日總錫攝取量依據，奶類、五穀根莖類、蔬菜類、水產食品類 (又分為魚類、甲殼類、貝類)、肉豆蛋類、水果類、油類、飲料類、點心類及巧克力之幾何平均濃度依序為 0.33、1.10、0.90、1389.62、1206.54、776.84、37.13、0.04、239.66、0.73、0.24 及 0.41 μ g/kg (表三)。

(三) 受試者每日錫攝取量

將每位受試者之各大類食物攝取量乘以各大類食物之總錫濃度，並加總之後即得受試者每日總錫攝取量。所有族群中平均每日經由攝取奶類及其製品所獲得之錫攝入量為 0.028 μ g/day，主食類、蔬菜類、魚類、甲殼類、貝類、肉豆蛋類、水果類、油類、飲料類及點心類依序為 0.294、5.993、26.568、7.90、2.708、0.105、0.007、0.085、0.799 及 0.002 μ g/day，其平均總錫攝取量則為 44.489 μ g/day (表

四)。至於受試者之每日總硒攝取量與取自各大類硒攝取量之相關性研究，其結果指出每日總硒攝取量與取自魚類、甲殼類、貝類及總水產食品等硒攝取量有顯著相關性 ($r=0.954$, $r=0.890$, $r=0.890$, $r=0.998$; $p < 0.05$) (表五)，換言之，尤於魚類、甲殼類及貝類中含有豐富的硒含量，故受試者每日經由此類食物所獲得之硒攝取量較為其他類食物多，所以為主要硒含量提供之食物來源。

若將本研究受試者之平均每日總硒攝取量 ($44\mu\text{g}/\text{day}$) 與其他國家相關研究比較之 (表六)，得知與 Belgium、France、Germany、Sweden、Italy 與 UK 等國家相仿，但較 Canada、USA、Greece、Finland、Netherlands、Mexico、Japan、India、South Dakota 及 Venezuela 低出許多。不過據參考文獻指出，硒攝取量過高亦會在體內呈現毒性反應，故與世界衛生組織對於成年男女性所建議攝取量 $40\text{ g}/\text{day}$ (WHO/FAO/IAEA, 1996) 比較之，得知此研究受試者之每日總硒攝取量 ($44\mu\text{g}/\text{day}$) 是符合所建議值的。

(四) 受試者之體內抗氧化酵素活性

此次研究共檢測了四種人體內抗氧化酵素活性，GPx、SOD、TAS 及 CAT 等，幾何平均濃度依序為 $5539.965\text{ U}/\text{L}$ 、 $98.015\text{ U}/\text{ml}$ 、 $0.947\text{ mmol}/\text{L}$ 及 9.528 unit 。與一般範圍值比較後，可發現此次研究之受試者其體內 GPx 活性介於一般範圍值 ($4171\sim 10881\text{ U}/\text{L}$) 之內，而 SOD 及 TAS 之活性皆呈現偏低狀況，尤以 SOD 為最，但根據參考資料顯示，所提供之一般範圍值皆以歐洲人種為受試對象，故會有所差異性 (表七)。

比較受試者體內此四種抗氧化酵素活性之關係，結果發現 SOD、TAS 與 CAT 彼此之間呈現正相關，而 GPx、TAS 與 CAT 之間呈現負相關，但並沒有達到統計上的顯著相關性 (表八)。

(五) 飲食型態與體內抗氧化酵素活性之相關性

若將受試者體內抗氧化酵素活性與其他飲食習慣、每日總硒攝取量等因子進行相關性分析 (表九)，結果發現每日總硒攝取量與 GPx、SOD、CAT 呈現正相關 ($r=0.249$, $r=0.089$, $r=0.115$)，而與 TAS 呈現負相關 ($r=-0.363$)，但都無顯著相關 (表九及圖三)。至於經由攝取水產食品而獲得之硒攝入量，不論是魚類、甲殼類、貝類或者是總水產食品與其體內抗氧化酵素活性亦無統計上顯著相關性。而是否飲用咖啡、攝取紅棗、人蔘、營養補充劑與否，皆與體內抗氧化酵素活性顯著相關性。當中飲食型態與體內抗氧化酵素活性具有顯著相關性的變項為：飲酒與體內 GPx 量則呈現顯著正相關 ($r=0.457$, $p < 0.05$)，而枸杞的攝取與否亦和體內 SOD 量呈現顯著負相關 ($r=-0.432$, $p < 0.05$) (表九)。

結論與建議

1. 由於水產食品含有豐富的硒，且含量較其他食物種類高出許多，故建議可攝取水產食品來取得每日所需之硒需要量。
2. 此次研究中，受試者之平均每日總硒攝取量（44 $\mu\text{g}/\text{day}$ ）剛好符合世界衛生組織所建議之每日攝取量（40 $\mu\text{g}/\text{day}$ ），故建議平日多方面均衡攝取各大類食物便可獲得足夠的硒攝取量。
3. 受試者體內抗氧化狀態 SOD 及 TAS 之活性明顯呈現偏低情形，尤以 SOD 活性最為不足。
4. 飲酒與體內 GPx 量則呈現顯著正相關（ $r=0.457$ ， $p < 0.05$ ），而枸杞的攝取與否亦和體內 SOD 量呈現顯著負相關（ $r=-0.432$ ， $p < 0.05$ ）。

參考文獻

- Alfthan G., Bogye G., Aro A. & Feher J. (1992) The human selenium status in Hungary. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 6: 233-238.
- Allegrini M.E., Lanzola E. & Gallorini M. (1985) Dietary selenium intake in a coronary heart disease study in Northern Italy. *Nutr Res Suppl* 1: 398-402.
- Arthur D. (1982) Selenium contents of Canadian foods. *Can. Inst. Food Scil. Technol. J.* 5: 165-169.
- Barclay M.N.I., MacPherson A. & Dixon J. (1995) Selenium content of a range of UK foods. *J Food Compos Anal.* 8: 307-318.
- Beker W. & Kumpulainen J. (1991) Contents of essential and toxic mineral elements in Swedish market-basket diets in 1987. *Br J Nutr* 66: 151-160.
- Bonomin, M., Forster, S. & Manfrin, V. (1996) Geographic factors and plasma selenium in uremia and dialysis. *Nephron* 72:197-204.
- Bratakos M.S. & Ioannou P.V. (1991) Selenium in human milk and dietary selenium intake by Greeks. *Sci Total Environ* 105: 101-107.
- Brown K.M., Pickard K., Nicol F., Beckett G.J., Duthie G.G. & Arthur J.R. (2000) Effects of organic and inorganic selenium supplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelets and erythrocytes. *Clin Sci Colch* 89: 593-599.
- Chien L.C., Yeh C.Y., Huang S.Y., Shieh M.J. & Han B.C. (2003) Pharmacokinetic model of daily selenium intake from contaminated seafood in Taiwan. *Sci. Total Environ.* 311: 57-64.
- Chou, Y.R. (2000) Effects of dietary vitamin B2 levels on the metabolism of

- glutathione during long-term excessive selenium consumption in rats. Master Thesis. FuJen Catholic University, Taipei, Taiwan.
- Clark, L.C. & Alberts, D.S. (1995) Selenium and cancer: risk or protection? *J Natl Cancer Inst* 87:473-475.
- Clark, L.C. & Jacobs, E.T. (1998) Environmental selenium and cancer: risk or protection? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7:847-848.
- Clark, L.C., Combs, G.F., Turnbull, B.W.J., Slate, E.H., Chalker, D.K., Chow, J., Davis, L.S., Glover, R.A., Graham, G.F., Gross, E.G., Krongrad, A., Leshner, J.L. J., Park, H.K., Sanders, B.B, Smith, C.L. & Taylor, J.R. (1996) Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *J of Amer Med Assoc* 276:1957-1963.
- Clausen, J., Jensen, G.E. & Nielsen, S.A. (1988) Selenium in chronic neurologic diseases. Multiple sclerosis and Batten's disease. *Biol Trace Elem Res* 15:179-203.
- Combs G.F. & Combs S.B. (1986) *The Role of selenium in nutrition*. Academic Press, New York, NY, p.127-177.
- Díaz-Alarcón J.P., Navarro-Alarcón M., López-Ga de la Serrana H. & López-Martínez M.C. (1996) Determination of selenium in meat products by hydride generation atomic absorption spectrometry- selenium levels in meat, organ meats, and sausages in Spain. *J Agric Food Chem.* 44: 1494-1497.
- Douillet, C., Bost, M., Accominotti, M., Borson-Chazot, F. & Ciavatti, M. (1998) Effect of selenium and vitamin E supplements on tissue lipids, peroxides, and fatty acid distribution in experimental diabetes. *Lipids* 33:393-399.
- Drake, E.N. & Sky-Peck, H.H.(1989) Discriminant analysis of trace element distribution in normal and malignant human tissues. *Cancer Res* 49:4210-4215.
- Duffield A.J., Thomson C.D., Hill K.E. & Williams S. (1999) An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr* 70: 896–903.
- Dugo G., Pear L.L., Pollicino D. & Saitta M. (2003) Determination of Selenium content in different types of seed oils by Cathodic Stripping Potentiometry (CSP). *J Agric. Food Chem.* 51: 5598-5601.
- Garg, A.N., Singh, V., Weginwar, R.G. & Sagdeo, V.N. (1994) An elemental correlation study in cancerous and normal breast tissue with successive clinical stages by neutron activation analysis. *Biol Trace Elem Res* 46:185-202.
- Gissel-Nielsen G. (1998) Effects of selenium supplementation of field crops. In: Frankenberger, W.T., Jr, Engberg, R.A. (Eds.), *Environmental chemistry of selenium*. Marcel Dekker, New York, p.99-112.
- Golubkina N.A. & Khotimchenko S.A. (1994) Selenium in the food products of Ural economic region. *Git Sanit* 7: 12-14.

- Harrison, I. Littlejohn, D. & Fell, G.S. (1996) Distribution of selenium in human blood plasma and serum. *Analyst* 121:189-194.
- Hocman, G. (1988) Chemoprevention of cancer: selenium. *Int J Biochem* 20:123-132.
- Hoekstra, W.G. (1975) Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Fed Proc* 34:2083-2089.
- Hong I.S. (1997) Plasma selenium levels and subsequent risk of hepatocellular carcinoma. Master Thesis. National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
- Ip, C. & Lisk, D.J. (1995) Efficacy of cancer prevention by high-selenium garlic is primarily dependent on the action of selenium. *Carcinogenesis* 16:2649-2652.
- Ip, C., el-Bayoumy, K., Upadhyaya, P., Ganther, H., Vadhanavikit, S. & Thompson, H. (1994) Comparative effect of inorganic and organic selenocyanate derivatives in mammary cancer chemoprevention. *Carcinogenesis* 15:187-192.
- Janet R. (2001) Anticancer mineral works best in food. *Science News*; Washington.
- Krushevska, A., Kotrebai, M., Lasztity, A., Barnes, R.M. & Amarasiriwardena, D. (1996) Application of tertiary amines for arsenic and selenium signal enhancement and polyatomic interference reduction in ICP-MS analysis of biological samples. *J Anal Chem* 355:793-800.
- Lai, J.C. (2000) Changes in serum concentrations of essential trace elements during pregnancy. Master Thesis. Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan.
- Levander, O.A. (1986) Selenium. In Mertz W (ed), *Trace elements in human and animal nutrition*, 5th ed. Academic Press, Orlando, FL, 209-279.
- Levander, O.A. (1991) Scientific rationale for the 1989 recommended dietary allowance for selenium. *J Am Diet Assc* 91:1572-1576.
- MAFF. (1997) Dietary intake of selenium. *Food Surveillance Information Sheet* 126. London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Mahapatra S., Tripathi R.M., Raghunath R. & Sadasivan S. (2001) Daily intake of Se by adult population of Mumbai, India. *Sci Total Environ* 277: 217–223.
- Matés J.M. (2000) Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 153: 83-104.
- Matés J.M., Pérez-Gómez C., Ignacio Núñez de Castro. (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*. 32: 595-603.
- Medina, D. & Shepherd, F. (1980) Selenium-mediated inhibition of mouse mammary tumorigenesis. *Cancer Lett* 8:241-245.
- Mejuto Martí M.C., Bollain M.H. & Bermejo F. (1987) Contenido de selenio en carnes, vísceras y embutidos de Galicia (Selenium in meats, organ meats, and sausages of Galicia (Spain)). *Agroquim. Tecnol. Aliment.* 27: 451-456.
- Moxon A.L. & Palmquist D.L. (1980) Selenium content of foods grown on soil in Ohio. *Ohio Rep. Res. Dev.* No.13.

- Nadif R., Oryszczyn, M.P., Fradier, D.M., Hellier, G., Bertrand, J.P., Pham, Q.T. & Kauffmann, F. (2001) Cross sectional and longitudinal study on selenium, glutathione peroxidase, smoking, and occupational exposure in coal miners. *Occup Environ Med* 58:239-245.
- National Research Council (1980) Recommended dietary allowances, 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- National Research Council (1989) Recommended dietary allowances, 10th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Nomura, A.M.Y., Lee, J., Stemmermann, G.N. & Combs, G.F. (2000) Serum selenium and subsequent risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev* 9:883-887.
- Olson O.E. & Palmer I.S. (1984) Selenium in foods purchased or produced in South Dakota. *J. Food Sci.* 49: 446-452.
- Oster O. & Prellwitz W. (1989) The daily dietary selenium intake of West German adults. *Biol Trace Elem Res* 20: 1–14.
- Pelus E., Arnaud J., Ducros V., Faure H., Favier A. & Roussel AM. (1994) Trace element (Cu, Zn, Fe, Mn, Se) intakes of a group of French men using the duplicate diet technique. *Int J Food Sci Nutr* 45: 63–70.
- Raptis, S.E., Kaiser, G., Tolg, G. & Fresenius, Z. (1983) *Anal Chem* 316: 105-123.
- Reis M.F., Holzbecher J., Martinho E. & Chatt A. (1990) Determination of selenium in duplicate diets of residents of Pinhel, Portugal, by neutron activation. In: Schrauzer GN, editor. *Biological trace element research*, Humana Press Inc. p.629–635.
- Reiter, R. & Wendel, A. (1985) Selenium and drugs metabolism. Relation of glutathione peroxidase and other hepatic enzyme modulations to dietary supplements. *Biochem Pharmacol* 34:2287-2290.
- Robberecht H.J. & Deelstra H.A. (1994) Factors influencing blood selenium concentration values; a literature review. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 8: 129–143.
- Roychowdhury T., Tokunaga H. & Ando M. (2003) Survey of arsenic and other heavy metals in food composites and drinking water and estimation of dietary intake by the villagers from an arsenic-affected area of West Bengal, India. *Sci. Total Environ.* 308: 15-35.
- Schuckelt, R., Brigelius-Flohe, R., Maiorino, M., Roveri, A., Reumkens, J., Strassburger, W., Ursini, F., Wolf, B. & Flohe, L. (1991) Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a selenoenzyme distinct from the classical glutathione peroxidase as evident from cDNA and amino acid sequencing. *Free Radic Res Commun* 14:343-361.

- Sky-peck, H.H. (1986) Trace metals and neoplasia. *Clin Physiol Biochem* 4:99-111.
- Stevens, R.G. & Nerishi, K. (1992) Iron and oxidative damage in human cancer. In *Biological Consequences of Oxidative Stress: Implications for Cardiovascular Disease and Carcinogenesis* (Spartz, L. & Bloom, A.D. eds). New York: Oxford University Press 138-161.
- Strain, J.J., Bokji, E., Veer, P.V., Coulter, J., Stewart, C., Cogan, H., Odling-smee, W., Spence, R.A.J. & Steele, K. (1997) Thyroid hormones and selenium status in breast cancer. *Nutr Cancer* 27:48-52.
- Suzuki T., Imai H., Kobayashi K., Hongo T., Kashiwazaki H., Ohtsuka R., Suzuki H. & Ishida H. (1988) Dietary intake of selenium in foodstuffs and cooked dishes. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 41: 91–102.
- Swanson C.A., Longnecker M.P., McAdam P.A., Brown C., Stampfer M.J. & Wilet W.C. (1990) Selenium status of adults residing in a seleniferous area. *Am J. Clin. Nutr.* 52: 852-862.
- Thompson, H.J., Wilson, A., Lu, J., Singh, M., Jiang, C., Upadhyaya, P., el-Bayoumy, K. & Ip, C. (1994) Comparison of the effects of an organic and an inorganic form of selenium on a mammary carcinoma cell line. *Carcinogenesis* 15:183-186.
- Trush, M.A. & Kensler, T.W. (1991) An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 10:201-209.
- Tung Y.C. (1999) Studies on the selenium-induced survival pathway in a human hepatocellular carcinoma cell line, HuH7. Master Thesis. National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan.
- Valentine J.L., Cebrian M.E., Garcia-Vargas G.G. et al. (1994) Daily selenium intake estimates for residents of arsenic-endemic areas. *Environ Res* 64: 1–9.
- Van Dokkum W., De Vos R.H., Muys T. & Wesstra J.A.. (1989) Minerals and trace elements in total diets in the Netherlands. *Br J Nutr* 61: 7–15.
- Varo P. (1993) Selenium fertilisation in Finland. Selenium content in feed and foods. *Norw J Agric Sci* 11: 151–158.
- WHO/FAO/IAEA. (1996) Trace elements in human nutrition. Geneva: WHO/FAO/IAEA.
- Yang G., Ge K., Chen J. & Chen X. (1988) Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. *World Rev Nutr Diet* 55: 98–152.
- Yang G., Wang S., Zhon R. & Sun S. (1983) Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am J Clin Nutr* 37: 872–881.
- Yang, G., Zhou, R., Yin, S., Gu, L., Yan, B., Liu, Y., Liu, Y. & Li, X. (1989) Studies of safe maximal daily dietary selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 3:77-87.

Zhuang, S.R. (2000) Studies on the life style, diet behavior, nutrition assessment and immune function of patients with oral submucous fibrosis or oral cancer. Master Thesis. Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan.

鄒素珍 (1999) Effects of long term inadequate selenium and vitamin E consumption and selenium repletion on selenoproteins and indices of oxidative damage of rats. Master Thesis. FuJen Catholic University, Taipei, Taiwan.

表一、受試者基本資料

	Age (years)			BMI (kg/m ²)		
	Total (n=22)	Male (n=7)	Female (n=15)	Total (n=22)	Male (n=7)	Female (n=15)
Mean	22.86	21.71	23.40	21.61	22.13	21.37
SD	4.11	2.56	4.64	2.94	2.27	3.25
Range	18-31	19-26	18-31	17.94-30.22	20.11-26.53	17.94-30.22

表二、各大類食物之總硒濃度

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Milk and cheese whole	0.15	UK	Barclay et al., 1995
skim	0.1		
Brie	0.36		
Camembert	0.68		
Cheddar	0.74		
Cheddar	1.1		
Cottage	0.37		
Cottage	0.41		
Cream	0.35		
Danish Blue	0.64		
Edam	0.64		
Feta	0.5		
Fromage Frais	0.22		
Fromage Frais	0.19		

Gouda	0.8
Parmesan	1.1
Processed cheese	0.67
Spread	0.25
Spread	0.38
Stilton	0.8
full fat	0.14
low fat	0.15
imitation (full fat)	0.11
(low fat)	0.1
(very low fat)	0.15
luxury	0.17
Total Mean	0.43346
Total GM	0.33215

Sample	Se ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Country	Reference
Cereals			
Rice	52.3	India	Roychowdhury et al., 2003
Wheat	157		
Lentil	223		
Pulse, others	484		
Rice	66.2	India	Roychowdhury et al., 2003
Wheat	218		
Lentil	272		
Pulse, others	168		
barley	0.13	UK	Barclay et al., 1995
cornflour	0.04		
rye flour	0.25		
sago	0.01		
tapioca	0.03		
white	0.48		
wholewheat	0.55		
brown	1		
long grain	1.3		
wheat flour-brown	0.44		
wheat flour-white	0.23		
wheat flour-strong	0.25		
white			

wheat	0.59		
flour-wholemeal			
brown bread	0.48		
currant bread	0.35		
granary bread	0.39		
Hovis (wheatgerm)			
bread	0.49		
white-unsliced			
bread	0.44		
white-sliced bread	0.43		
French stick	0.45		
weetabix	0.23	UK	Barclay et al., 1995
oatmeal	0.31		
cornflakes	0.47		
museli	0.42		
shredded wheat	0.31		
oat flake	0.2		
bran based	0.36		
added sugar	0.22		
rice based	0.17		
Total Mean	44.63568		
Total GM	1.102914		

Sample	Se ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Country	Reference
Vegetables			
Potato-flesh	0.28	India	Roychowdhury et al., 2003
Potato-skin	1.64		
Onion	5.2		
Garlic	4.8		
Green Chili	6.16		
Arum leaf	0.2		
Beans	8.36		
Spinach	0.2		
Leaf of vegetables	0.72		
Radish	6		
Green Banana	3.68		
Papaya (with peel)	0.2		
Brinjal	7.28	India	Roychowdhury et al., 2003

Turmeric, green	1.92		
Potato-flesh	1.76		
Potato-skin	4.32		
Onion	11		
Garlic	10		
Green Chili	4.72		
Beans	6.2		
Leaf of vegetables	6.44		
potatoes	0.16	UK	Barclay et al., 1995
peas fresh	0.02		
peas dried	0.3		
peas-canned	0.04		
peas-canned, processed	0.19		
peas-frozen	0.03		
beansprouts	0.14		
beans-broad	0.06		
beans-butter	1.1		
beans-French	0.03		
hummus	3.5		
Total Mean	3.020313		
Total GM	0.900635		

Sample	Se ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Country	Reference
Fish	Salmo salar	2010	Taiwan
	Linnaeus		Chien et al., 2003
	Scomberomorus commersoni	1750	
	Sebastiscus albofasciatus	1550	
	Eleutheronma tetradactylum Show	1550	
	Liza macrolepis	1550	
	Lateolabrax japonicus Cuvier	1540	
	Acanthopagrus latus	1510	
	Theragra chalcogramma	1390	

Psenopsis anomale	
Temminck and Schlegel	1360
Plecoglossus altirelis	
Temminck and Schlegel	1350
Oncorhynchus mykiss	
	1350
Oreochromis sp.	
	1340
Larimichthys polyactis	
	1340
Taius tumifrons	
	1330
Priacanthus macranthus	
Cuvier	1310
Trichiuruslepturus	
	1200
Epinephelus mystacinus	
	1170
Mola mola	
Linnaeus	810
Total Mean	1411.6667
Total GM	1389.6207

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Crustaceans			
Panulirus longipes	1300	Taiwan	Chien et al., 2003
Ovalipes punctatus	1280		
Metapenaeus ensis	1270		
Aristeus viritidis	1110		
Portunus sanguinolentus	1090		
Total Mean	1210		
Total GM	1206.5388		

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Bivalve molluscs			
Crassostrea gigas	1180	Taiwan	Chien et al., 2003
Raphia amabilis	1330		
Ruditapes variegates	870		
Meretrix lusoria	730		
Amusium pleuronectes	630		

Haliotis	
diversicoloraquatilis	350
Reeve	
Total Mean	848.3333
Total GM	776.8385

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
meat			
beef	0.76	UK	Barclay et al., 1995
pork	1.4		
lamb	0.38		
white meat	1		
dark meat	1.5		
duck	2.2		
pheasant	1.4		
grouse	2		
venison	0.89		
chicken breast	73	Spain	Díaz-Alarcón et al., 1996
veal	45		
lamb	28		
pork chop	81		
pork chine	383		
rabbit	90		
veal	20	U.S.A	Moxon et al., 1980
lamb	50		
pork chop	40		
chicken breast	160	Canada	Arthur, 1982
veal	20		
pork chop	300		
chicken breast	200		
veal	10		
lamb	50		
pork chop	60		
veal	290	U.S.A	Olson and Palmer, 1984
lamb	310		
pork chop	310		
chicken breast	160	Spain	Díaz-Alarcón et al., 1996

veal	80		
lamb	40		
pork chop	40		
rabbit	30		
chicken breast	54	France	Simonoff and Simonoff, 1983
veal	80		
lamb	67		
pork chop	107		
rabbit	167		
veal	165	Russia	Golubkina and Khotimchencko, 1994
pork chop	129		
chorizo	355	Spain	Díaz-Alarcón et al., 1996
sausage	128		
ham	87		
chopped	87		
mortadella	71		
cured ham	179		
Total Mean	99.07674		
Total GM	37.13453		

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Selected fruits	0.04	UK	Barclay et al., 1995

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Oil			
peanut	313	Italy	Dugo et al., 2003
soybean	458		
sunflower	225		
rice	99.5		
corn	332		
grapestone	144		
seeds	296		
Total Mean	266.78571		
Total GM	239.6631		

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Nuts			
almonds	0.15	UK	Barclay et al., 1995
brazils	25.4		

cashew	2.7
coconut	0.65
hazelnut	0.2
macademia	0.66
walnut	0.31
Total Mean	4.295714
Total GM	0.830981

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Beverages	tea	0.59	UK
	coffee	0.87	Barclay et al., 1995
	Total Mean	0.73	

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Savoury snacks	potato based	0.11	UK
	maize based	0.33	Barclay et al., 1995
	wheat based	0.36	
	Total Mean	0.266667	
Total GM	0.235543		

Sample	Se (µg/kg)	Country	Reference
Chocolate	0.41	UK	Barclay et al., 1995

表三、各大類食物之平均總硒濃度

Sample	Se (µg/kg)
milk and cheese	Total Mean
	Total GM
Cereals	Total Mean
	Total GM
Vegetables	Total Mean
	Total GM

Fish	Total Mean	1411.67
	Total GM	1389.62
Crustaceans	Total Mean	1210.00
	Total GM	1206.54
Bivalve molluscs	Total Mean	848.33
	Total GM	776.84
meat	Total Mean	99.08
	Total GM	37.13
Selected fruits		0.04
Oil	Total Mean	266.79
	Total GM	239.66
Nuts	Total Mean	4.30
	Total GM	0.83
Beverages	Total Mean	0.73
Savoury snacks	Total Mean	0.27
	Total GM	0.24
Chocolate		0.41

表四、受試者每日硒攝取量 (µg/day)

編號	性別	奶類 Se intake (µg/d)	主食類 Se intake (µg/d)	肉豆蛋類 Se intake (µg/d)	魚類 Se intake (µg/d)	甲殼類 Se intake (µg/d)	貝類 Se intake (µg/d)	蔬菜類 Se intake (µg/d)	水果類 Se intake (µg/d)	飲料類 Se intake (µg/d)	油 Se intake (µg/d)	巧克力 Se intake (µg/d)	點心 Se intake (µg/d)	Total Se intake (µg/d)
1	男	0	0.416	7.838	0	0	0	0.118	0.017	0	0	0	0	8.389
2	男	0	0.311	5.570	0	0	0	0	0	0	1.198	0	0	7.079
3	男	0	0.583	0.743	48.637	60.327	31.540	0.023	0	0	7.190	0	0	149.041
4	男	0	0.319	5.941	34.741	0	0	0	0	0	1.198	0	0	42.199
5	男	0	0.209	3.342	0	0	0	0.207	0.015	0	0	0	0	3.773
6	男	0.165	0.468	3.713	31.266	0	0	0.119	0.024	0	1.198	0	0	36.953
7	男	0	0.550	2.599	0	0	0	0.009	0	0	0	0	0	3.158
8	女	0	0.234	16.857	0	0	0	0.169	0.012	0.511	0	0	0	17.783
9	女	0	0.077	6.126	0	0	0	0.397	0.012	0	0	0	0	6.613
10	女	0.083	0.435	10.749	76.429	0	0	0.061	0.025	0.402	0	0	0	88.182
11	女	0	0.082	1.559	145.910	0	0	0.104	0	0.256	0	0.004	0.001	147.916
12	女	0	0.253	9.431	0	0	0	0.072	0	0	0	0	0	9.756
13	女	0	0.252	5.384	0	0	0	0.009	0	0	0	0	0.001	5.646
14	女	0.007	0.462	3.899	0	0	10.565	0.117	0.014	0	0	0	0	15.063
15	女	0.079	0.165	5.112	4.169	0	0	0	0	0.256	0	0	0	9.780
16	女	0.059	0.308	13.552	0	0	0	0.122	0.003	0	0	0	0	14.044

17	女	0	0.187	0.854	0	0	0	0.014	0	0	0	0.045	0	1.100
18	女	0.099	0.270	14.221	0	0	0	0.297	0.014	0.029	5.992	0	0.002	20.923
19	女	0.090	0.303	2.970	0	0	0	0.054	0	0.329	0	0	0	3.745
20	女	0	0.113	2.228	216.781	105.572	0	0.153	0.004	0	0	0	0	324.850
21	女	0.015	0.187	3.156	0	0	14.760	0.154	0.006	0	0	0	0	18.278
Total Mean		0.028	0.294	5.993	26.568	7.900	2.708	0.105	0.007	0.085	0.799	0.002	0.000	44.489

表五、每日總硒攝取量與取自各類食物硒攝入量之相關性研究

	Se intake from Fish ($\mu\text{g/day}$) (r)	Se intake from Crustaceans ($\mu\text{g/day}$) (r)	Se intake from Bivalve mollusks ($\mu\text{g/day}$) (r)	Se intake from Total seafood ($\mu\text{g/day}$) (r)
sex	0.131	0.068	-0.020	--
Total Se intake ($\mu\text{g/day}$)	0.954*	0.890*	0.890*	0.998*

* : $p < 0.05$

表六、本研究受試者之每日總硒攝取量與其他國家相關研究比較之

Country	Daily selenium intake ($\mu\text{g/day}$)	Reference
Canada	98-224	Gissel-Nielsen, 1998
USA	60-150	Oster and Prellwitz, 1989
China	11-116	Yang et al., 1983,1988
Greece	110	Bratakos and Ioannou, 1991
Finland	90	Varo, 1993
Netherlands	72	Van Dokkum et al., 1989
Mexico	60.6-72.9	Valentine et al., 1994
Japan	69	Suzuki et al., 2001
India	61.9	Mahapatra et al., 2001
Belgium	28.4-61.1	Robberecht and Deelstra, 1994
France	48	Pelus et al., 1994
Germany	38-48	Oster and Prellwitz, 1989
Sweden	44	Beker and Kumpulainen, 1991
Italy	43	Allegrini et al., 1985
UK	29-39	MAFF, 1997; Church et al, 1998
Portugal	37	Reis et al., 1990
Spain	35	Díaz-Alarcón et al., 1996
England	35	Brown et al., 2000
New Zealand	29	Duffield et al., 1999
Hungary	41-90	Alfthan et al., 1992

South Dakota	68-444	Swanson et al., 1990
Venezuela	200-350	Combs and Combs, 1986
Mexica	61-73	Valentine et al., 1994
Taiwan	44	This study

表七、受試者體內抗氧化酵素之活性

編號	性別	GPx conc. (U/L)	SOD conc. (U/ml)	TAS conc. (mmol/L)	CAT conc. (unit)
1	男	5047	107.42	1.152	15.897
2	男	6393	166.91	0.933	30.442
3	男	6393	82.02	0.954	3.467
4	男	5159	143.19	0.871	7.272
5	男	4935	107.42	1.116	9.646
6	男	4711	134.73	1.100	0.001
7	男	5159	82.02	1.074	8.767
8	女	9646	97.58	1.033	6.227
9	女	5720	151.36	1.121	10.204
10	女	5271	134.73	1.022	25.676
11	女	6842	174.33	0.829	21.669
12	女	4935	92.50	1.090	11.850
13	女	4711	116.87	1.001	21.384
14	女	5272	112.19	1.043	32.863
15	女	5383	82.02	0.996	13.090
16	女	4711	112.19	0.954	46.269
17	女	5047	47.54	0.730	7.463
18	女	5832	47.54	0.819	30.170
19	女	5047	87.32	0.887	22.059
20	女	6169	92.50	0.819	27.321
21	女	5720	76.61	0.860	9.633

22	女	5496	47.54	0.652	14.367
Total GM		5540	98.02	0.947	9.528
SD		1078	36.02	0.135	11.457
Normal range*		4171-10881	164-240	1.30-1.77	-

* : normal range 參考於 RANDOX 公司所提供之資料

表八、受試者體內此四種抗氧化酵素活性之關係性

	GPx conc. (U/L)	SOD conc. (U/ml)	TAS conc. (mmol/L)	CAT conc. (unit)
GPx conc. (U/L)	-		-0.103	-0.128
SOD conc. (U/ml)		-	0.397	0.144
TAS conc. (mmol/L)	-0.103	0.397	-	-0.168
CAT conc. (unit)	-0.128	0.144	-0.168	-

表九、飲食型態與體內抗氧化酵素活性之相關性

	GPx conc. (U/L)	SOD conc. (U/ml)	TAS conc. (mmol/L)	CAT conc. (unit)
sex	0.081	-0.258	-0.370	0.384
Total Se intake ($\mu\text{g}/\text{day}$)	0.249	0.089	-0.363	0.115
Se intake from fish ($\mu\text{g}/\text{day}$)	0.209	0.245	-0.372	0.145

Se intake from Crustaceans Crustaceans (µg/day)	0.154	-0.140	-0.294	0.120
Se intake from Bivalve mollusks (µg/day)	0.181	-0.170	-0.276	0.039
Se intake from Total seafood (µg/day)	0.222	0.098	-0.365	0.096
Coffee	0.306	0.010	0.033	-0.310
Drinking	0.457*	-0.003	0.245	-0.239
Smoking	0.047	-0.201	0.136	-0.310
枸杞	-0.121	-0.432*	-0.152	0.164
紅棗	-0.086	-0.218	-0.050	0.136
人蔘	-0.032	-0.121	-0.103	-0.161
營養補充劑	-0.307	0.066	-0.081	-0.047

* : p < 0.05

