

日本における母乳および調整粉乳中のモリブデン濃度と 乳児のモリブデン摂取量

吉田 宗弘¹⁾, 伊藤 智恵¹⁾, 服部 浩之¹⁾,
土田 博²⁾, 米久保 明得²⁾, 西牟田 守³⁾

(¹⁾関西大学工学部生物工学科食品工学研究室*, (²⁾明治乳業株式会社栄養科学研究所**

(³⁾独立行政法人国立健康・栄養研究所***)

Molybdenum Contents in Human Milk and Formula Milk, and Estimation of Molybdenum Intake of Infants in Japan

Munehiro YOSHIDA¹⁾, Chie ITÔ¹⁾, Hiroyuki HATTORI¹⁾,
Hiroshi TSUCHITA²⁾, Akie YONEKUBO²⁾ and Mamoru NISHIMUTA³⁾

¹⁾Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Department of
Biotechnology, Faculty of Engineering, Kansai University

²⁾Nutritional Science Institute, Meiji Dairies Co.

³⁾Division of Human Nutrition, The National Institute of Health and Nutrition

Abstract

To evaluate the molybdenum (Mo) status of infants in Japan, the Mo contents in human milk and formula milk were determined using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and the average Mo intake of infants in Japan was estimated. Seventy-eight human milk samples were randomly collected from all over the country. The median, arithmetical mean, geometrical mean and range of Mo in these human milk samples were 2.9 ng/ml, 4.5 ng/ml, 3.4 ng/ml and 0.8 to 34.7 ng/ml, respectively. Based on these results, a reference range of Mo concentration of human milk in Japan was estimated to be 0.8 to 14.0 ng/ml. Analysis of Mo in seventeen human milk samples collected from 3 healthy volunteer showed that intra-individual variation was comparable to inter-individual variation in the Mo concentration. Mo concentration in Japanese formula milk was ranged to 1.1 to 2.4 ng/ml. Based on the Mo levels in human milk and formula milk, the Mo intake of Japanese infants was estimated to be 1 to 4 $\mu\text{g/day/capita}$.

モリブデン (Mo) は、ヒトを含む哺乳動物において、キサンチンオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、亜硫酸オキシダーゼの補酵素 (Mo補欠因子) として機能しており、栄養上必須の微量元素と位置づけられている¹⁾。Mo補欠因子はモリブドプテリンと呼ばれる共通構造を有しており、これを合成できない遺伝的なMo補欠因子欠損症が知られている²⁾。この欠損症では、亜硫酸の蓄積による重度の脳障害や水晶体異常、およびキサンチン代謝異常による血清尿酸濃度の異常などが生じる。

Moをほとんど含まない高カロリー輸液を長期間投与した一例において、亜硫酸オキシダーゼ活性の低下に伴うと考

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

**所在地：小田原市成田540 (〒250-0862)

***所在地：新宿区戸山1-23-1 (〒162-8636)

えられる神経過敏、昏睡、頻脈、頻呼吸などの神経症状が出現している³⁾。これらの症状がモリブデン酸塩の投与により消失したことから、この症例はMo欠乏であると考えられている。しかし、ヒトにおけるMo欠乏は、この医原性ともいえる一例のみであり、食事性のものは知られていない。これは、Moが穀物や豆類に豊富に含有されるため、日本を含む多くの地域において、成人のMo摂取量が所要量(推奨量:成人男性25 $\mu\text{g}/\text{日}$, 成人女性20 $\mu\text{g}/\text{日}$)をはるかに超える150 $\mu\text{g}/\text{日}$ 以上であることに起因している^{4,5)}。

近年は必須元素を含有するサプリメント類が市販されており、Moに関してもその適切な摂取範囲を示すことが必要となっている。このため、わが国も第六次改定栄養所要量において、多くの必須微量元素の所要量と許容摂取上限値を新たに設定し、Moに関しても1歳以上の男女についての数値を示した⁶⁾。しかし、乳児に関しては、日本の乳児のMo摂取に関する情報がないため、第七次改定においても所要量の策定が見送られている。乳児はその栄養を全面的に母乳または調整粉乳に依存している。本研究では、調整粉乳および母乳を対象とした誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)によるMoの測定法を確立するとともに、日本国内において母乳および調整粉乳を収集してMo濃度を測定し、日本の乳児のMo摂取量を推定した。

実験方法

1. 試薬と試料

1) 試薬: Moとロジウム(Rh)の標準液は和光純薬(大阪)より購入した。硝酸は有害金属測定用、蒸留水はHPLC用のものを使用し、いずれも和光純薬より購入した。NISTの標準参照試料(non-fat milk powder (SRM 1549))は、西進商事(名古屋)が輸入したものを購入した。

2) 母乳の収集: 明治乳業(株)が、ヘルシンキ宣言に則り、1998年7~9月と1998年12月~1999年3月に、全国47都道府県に在住する女性から収集した4243試料の母乳から、分娩後21~89日のもの43試料、90~179日のもの35試料をランダムに選択し、測定試料とした。これらの母乳を提供した女性は、喫煙習慣がなく、ビタミン剤の服用がなく、母乳採取時の年齢は40歳未満であった。また女性が出産した乳児は、出生時体重が2,500g以上で、アレルギーはなかった。なお、対象者には、あらかじめ研究の趣旨を説明し、協力を依頼、口頭で同意を得た。

一方、これとは別に、大阪府枚方市に在住する健康な20歳代の授乳中の女性3名について、分娩後96~327日の間に1~2回/月の頻度で母乳を採取し、合計17試料の母乳を収集した。これらの女性の職業はいずれも看護師であるが、母乳収集時は育児のために休業中であった。出産した乳児はいずれも健常であり、正常な発育をしていた。これらの対象者に関しても、あらかじめ研究の趣旨を説明し、協力を依頼、口頭で同意を得た。

なお、いずれの女性においても、母乳の採取は本人の自由意志にもとづくものであり、採取時間、前乳・後乳の指定などは行わなかった。

3) 調整乳と牛乳の収集: 異なるメーカーが製造した国内で流通している代表的な調整粉乳6銘柄を、明治乳業(株)より提供を受け、測定用試料とした。また、明治乳業(株)の国内15工場で製造されている市販牛乳(市乳)も同時に提供を受け、測定用試料とした。

2. Moの分析

母乳または市乳2mlを磁製るつぽに入れ、オープン中80℃で予備乾燥後、電気炉を用いて550℃で約20時間加熱灰化した。調整粉乳の場合は、その1gを同様に灰化した。加熱後の残渣は、内部標準として5(母乳の場合)または50ppb(調整粉乳と市乳の場合)のRhを含む2%硝酸10mlに溶解した。調製した試料溶液をマイクロフィルター(0.45 μm)でろ過後、直接ICP-MS(ICPM-8500, 島津, 京都)に噴霧し、質量数95, 97, 98のイオン粒子の強度を測定した。3種のMoの同位体から得られた定量値を平均し、試料のMo濃度を求めた。

結果と考察

1. ICP-MSによるMo測定の精度

Table 1に、今回用いたMo分析法によるNIST標準参照試料 (non-fat milk powder (SRM1549)) の測定結果と、プールした母乳、牛乳、および調整粉乳に既知濃度の標準Moを添加した場合の回収率をまとめた。NIST標準参照試料のMo測定値は、添付文書に非保証値として記載された値とよく一致した。また、プールした母乳、牛乳、および調整粉乳に種々の水準で添加した標準Moはいずれもほぼ100%回収された。これらの結果は、今回用いた電気炉灰化による前処理とICP-MSによる測定が、母乳、牛乳、および調整粉乳中のMoの定量に十分適用できることを示している。

Table 1 Recovery test for Mo determination using ICP-MS

Samples	Mo content** (ng/ml or g)	Recovery (%)
NIST not-fat milk powder (SRM1549)*	342.5 ± 17.3	—
Pooled human milk A	5.3 ± 0.1	—
Pooled human milk A + Mo 5 ng/ml	10.6 ± 0.2	106.0
Pooled human milk B	7.5 ± 0.2	—
Pooled human milk B + Mo 20 ng/ml	28.1 ± 0.8	103.0
Pooled formula milk powder	9.5 ± 0.1	—
Pooled formula milk powder + Mo 5 ng/g	15.2 ± 0.4	114.0
Pooled cow milk	43.2 ± 2.8	—
Pooled cow milk + Mo 100 ng/ml	144.0 ± 4.6	100.8

* A value of 0.34 $\mu\text{g/g}$ is described as a non-certified value of Mo content.

** Values are means $\pm$ SD for quadruplicate assays.

2. 日本国内で収集した母乳のMo濃度

Fig. 1とTable 2に、全国各地の女性から収集した母乳のMo濃度をまとめた。母乳Mo濃度の範囲は広く、最大値は34.7 ng/ml、最小値は0.8 ng/mlだった。しかし、全78試料中、10 ng/mlをこえる試料は6試料 (7.7%) に過ぎず、

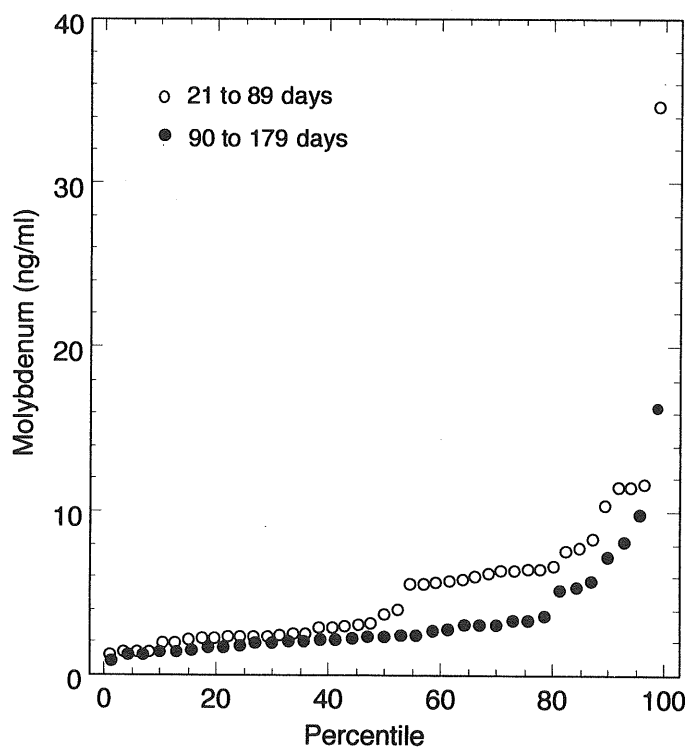


Fig. 1 Percentile graph of Mo concentration in 78 human milk samples in Japan collected on 21 to 179 days after delivery

60%以上の試料は5 ng/ml未満の低Mo濃度だった。また、全体の算術平均値は4.5 ng/ml、幾何平均値は3.4 ng/ml、中央値は2.9 ng/mlだった。

78試料を、提供した女性の分娩後日数(21~89日と90~179日)にもとづき2群に分けて比較すると、分娩後日数の短い女性から得た母乳のMo濃度がやや高くなる傾向(Mann-WhitneyのU検定において $p=0.0079$)を認めた。すなわち、分娩後日数の短い女性から得た母乳には5 ng/mlをこえる高Mo濃度のものが多く(21~89日, 46.8%; 90~179日, 20.0%; $\chi^2=5.99$, $p=0.0144$)、中央値にも若干の差が認められた。

Fig. 2に、大阪府枚方市に在住する3名の女性から分娩後96~327日の期間に継続的に提供された17試料の母乳のMo濃度をまとめた。17試料中、5 ng/mlをこえる高Mo濃度のものは5試料(29.4%)であり、全国から収集した母乳とはほぼ同じ割合であった。しかし、分娩後90日以上を経過しているにもかかわらず、いずれの女性の母乳においても高Mo濃度を示す試料が存在した。今回は3名のみの追跡調査であるため、断定的なことはいえないが、母乳Mo濃度には、個人間変動に匹敵する大きな個人内変動が存在する可能性が高い。実験的には、血漿Mo濃度はMo投与後速やかに上昇することが知られている⁷⁾。一方、われわれは食事Moの吸収率が70%以上であることを認めている⁸⁾。母乳と血漿のMo濃度には強い関連があると予想されることから、母乳Mo濃度の変化には、分娩後日数の経過よりも、食事よりのMo摂取が大きく関与している可能性が高いと思われる。なお、食事内容によって母乳中濃度が著しく変動するミネラ

Table 2 Summary of Mo concentration in 78 human milk samples randomly collected in Japan *

	Days after delivery		
	21 to 89 (n=43)	90 to 179 (n=35)	21 to 179 (n=78)
Mean	5.4	3.4	4.5
SD	5.4	3.0	4.6
Minimum	1.2	0.8	0.8
Maximum	34.7	16.4	34.7
Median	3.7	2.3	2.9
Geometrical mean	4.0	2.7	3.4
Range of geometrical SD**	1.9 - 8.8	1.4 - 5.1	1.6 - 6.8

* Unit of Mo concentration is ng/ml.

** Antilogarithm conversion value for mean of $\log(\text{Mo}) \pm \text{SD of } \log(\text{Mo})$.

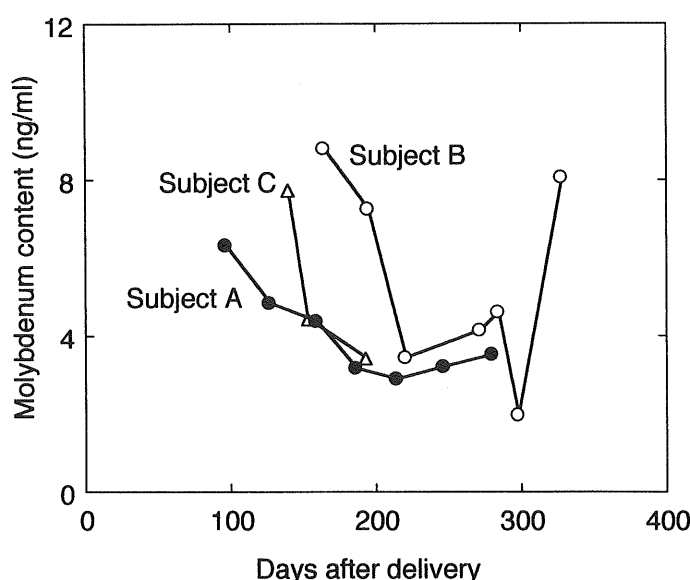


Fig. 2 Intra-individual variation of Mo concentration in human milk of 3 volunteers in Osaka Prefecture

ルとしてはヨウ素が知られている⁹⁾。母乳中のMoの変動はこれに類似したものと考えられる。

以上のことより、現状では、分娩後21日目以降に採取した母乳について、分娩後日数の経過とMo濃度の関連を論じることが困難であると判断する。したがって、日本で採取される母乳のMo濃度の基準値を考察するにあたって、分娩後日数は考慮しないことにする。Table 2に示したように、日本各地から収集された78試料の母乳のMo濃度の中央値(2.9 ng/ml)は、算術平均値(4.5 ng/ml)よりも幾何平均値(3.4 ng/ml)に近接していた。また標準偏差は4.6であり、変動係数は100%をこえていた。これらのことは、母乳Mo濃度の分布が、正規分布よりも、対数正規分布に近いことを意味している。母乳Mo濃度の対数変換値について、平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差の範囲を算定し、真数に変換すると0.8~14.0 ng/mlとなる。この範囲が、日本における母乳のMo濃度の基準値と考えられる。

3. 調整粉乳と市乳のMo濃度

Table 3に、日本国内で一般に消費されている代表的な調整粉乳と市乳のMo濃度を示した。調整粉乳のMo濃度には銘柄ごとの変動が比較的小さく、調乳後の濃度は、最小値1.4 ng/ml、最大値3.2 ng/ml、平均値は2.4 ng/mlだった。一方、市乳のMo濃度は母乳や調整乳に比較して明らかに高く、いずれの試料も40 ng/ml以上の値を示した。

Table 3 Mo content in formula milk and cow milk

Samples	Mo content
Formula milk (n=6)	
Powder (ng/g)	18.0 $\pm$ 5.9 (10.5 - 24.3)
After preparation (ng/ml)	2.4 $\pm$ 0.8 (1.4 - 3.2)
Cow milk (n=15, ng/ml)	44.4 $\pm$ 2.7 (40.6 - 50.0)

Values are means $\pm$ SD with range in parenthesis.

4. 日本の乳児のMo摂取量の推定

今回の分析値をもとに、日本の乳児のMo摂取量の算定を試みる。先に、母乳のMo濃度の基準値は0.8~14.0 ng/mlであると設定したが、Fig. 2にも示したように、母乳のMo濃度は、同一女性であっても採取日または採取時間によって著しく変動する可能性が高い。すなわち、日本の女性の母乳Mo濃度は、食事からのMo摂取量の増減、あるいは食事時間に対応して、同一人内で、今回設定した基準値の範囲程度の増減を繰り返していると判断できる。ゆえに、乳児が、低または高Mo濃度の母乳を摂取し続けるとは考え難く、日あるいは週単位でみれば平均的なMo濃度の母乳を摂取していると見なすのが妥当であろう。Table 2に示したように、日本各地から収集した母乳78試料のMo濃度の算術平均値は4.5 ng/ml、幾何平均値は3.4 ng/ml、中央値は2.9 ng/mlであった。第6次改定栄養所要量と同様に6ヶ月未満の乳児の1日あたりの乳汁摂取量を750 mlと仮定したとき⁶⁾、日本の6ヶ月未満の母乳栄養児の1日あたりのMo摂取量は、もっとも低値の中央値を用いると2.2 μ g、もっとも高値の算術平均値を用いると3.4 μ gとなる。

一方、調整乳を利用する人工栄養児の場合は、同一銘柄の調整乳を摂取し続ける可能性が高い。調整乳のMo濃度は、最小値が1.4 ng/ml、最大値が3.2 ng/mlであった。今回収集した調整乳の1日あたりの標準的な飲用量は6ヶ月未満乳児に対しては約1ℓである。したがって、6ヶ月未満の人工栄養児のMo摂取量は1日あたり1.4~3.2 μ gの範囲にあると算定できる。

以上より、日本の6ヶ月未満乳児のMo摂取量は1日あたり1~4 μ gの範囲にあると考えられる。米国の食事摂取基準では、乳児のMoの適正摂取量(Adequate intake: AI)を0.3 μ g/kg/日(6ヶ月児までが2 μ g/日、7ヶ月児以降が3 μ g/日)と設定している¹⁰⁾。日本の乳児のMo摂取量は、この米国のAIにおおむね一致している。米国の乳児に対するAIが日本の乳児にそのまま適用できるかは不明であるが、少なくとも調整乳にMoをあえて添加する必要はないといえるだろう。

本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業「日本人の無機質必要量に関する基礎的研究」）によるものである。

文 献

- 1) Mills CF, Davis GK (1987) Molybdenum. In Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 5th Ed. ed by Mertz W, vol 1, Academic Press, New York: pp.429-463.
- 2) Mudd HS, Irreverre F, Laster L (1967) Sulfite oxidase deficiency in man: demonstration of the enzymatic defect. Science 156: 1599-1602.
- 3) Abumrad NN, Schneider AJ, Steel D, Rogers LS (1981) Amino acid intolerance during prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy. Am J Clin Nutr 34: 2551-2559.
- 4) Holzinger S, Anke M, Röhrig B, Gonzalez D (1998) Molybdenum intake of adults in Germany and Mexico. Analyst 123: 447-450.
- 5) 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: in press.
- 6) 健康・栄養情報研究会, 第六次改定日本人の栄養所要量. 食事摂取基準, 第一出版, 東京: pp.169-170.
- 7) Turnlund JR, Keyes WR (2004) Plasma molybdenum reflects dietary molybdenum intake. J Nutr Biochem 15: 90-95.
- 8) 吉田宗弘, 服部浩之, 西牟田守, 児玉直子, 吉武 裕 (2004) 成人女性のモリブデン出納, 第58回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, p.103.
- 9) 村松康行, 湯川雅枝, 西牟田守, 米久保明得 (2003) 母乳中のヨウ素及び臭素濃度, 厚生労働科学補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）「日本人の無機質必要量に関する基礎的研究 主任研究者 佐々木敏」平成14年度総括・分担研究報告書, p.16-21.
- 10) Institute of Medicine (2001) Molybdenum. In Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc, National Academy Press, Washington DC: pp.420-441.