



報道関係各位

2019年3月27日

第3回全国母乳調査

母乳に含まれる機能性成分 ピロロキノリンキノン (PQQ) の測定方法を開発

《日本農芸化学会 2019 年度大会》で発表しました。

雪印ビーンスターク株式会社（本社：東京都新宿区 代表取締役社長：稲葉 聡）は雪印メグミルク株式会社と共同で第3回全国母乳調査を実施しております。

これらの調査の一環として、東北大学との共同研究により母乳に含まれる機能性成分のひとつであるピロロキノリンキノン (PQQ) の測定方法を開発しました。

この研究成果につきまして、3月24日より東京農業大学世田谷キャンパスほかで開催された「日本農芸化学会 2019 年度大会」において、下記のとおり口頭発表いたしましたので、ご案内申し上げます。

記

◆発表内容サマリー

- ・ピロロキノリンキノン (PQQ) は、酸化還元酵素の補酵素の一つとして発見され、ビタミン B 様物質として注目を集めている水溶性キノン化合物です。PQQ に関する近年の研究では、脳機能改善、抗酸化作用、抗糖尿病作用などの機能が報告されており、健康食品素材として注目されている機能性成分です。
- ・PQQ は、牛乳やヒト母乳に含まれることが報告されていますが、その分析例は少なく、抽出法や測定原理が異なることから、定量的な議論は難しい状態でした。
- ・東北大学と雪印ビーンスタークの共同研究として、内部標準物質を用いた抽出法と、高感度かつ高選択的な LC-MS/MS 法を組み合わせ、母乳中の PQQ を分析する新たな方法を開発しました。
- ・測定結果から、牛乳にはほとんど含まれない PQQ がヒト母乳にはあり、かつ一部は PQQ のアミノ酸付加体として存在することが分かりました。
- ・今後はヒト母乳中での生理的意義の解明に向けて泌乳期の異なる様々なヒト母乳の分析を実施する予定です。

◆日本農芸化学会2019 発表概要

| | |
|------|---|
| 演題名 | ピロロキノリンキノン (PQQ) のLC-MS/MS分析：牛乳およびヒト母乳の測定 |
| 発表者 | ○加藤主税 ¹ ，河合笑子 ¹ ，小林俊二郎 ² ，伊藤隼哉 ¹ ，永塚貴弘 ¹ ，仲川清隆 ¹ ¹ 東北大院農・機能分子解析 ² 雪印ビーンスターク（株）商品開発部 |
| 発表日時 | 2019年3月26日（火）（口頭発表） |
| 会場 | 東京農業大学 世田谷キャンパス（東京都世田谷区桜丘 1-1-1） |

◆研究発表内容の要約**【目的】**

ピロロキノリンキノン (PQQ) は、バクテリア由来の補酵素として知られる水溶性キノン物質であり、マウスを用いた試験で PQQ 欠乏症状 (成長障害や出生率の低下) や PQQ を補酵素とする酵素の存在が報告されたことから、新規ビタミン B 様物質と考えられるようになった。さらに、PQQ が牛乳やヒト母乳に少なからず含まれていることが報告され、その生理的意義に注目が集まっている。但し、牛乳や母乳の PQQ 分析例は未だ数法に限られ、抽出法や測定原理が異なることから、定量的な議論は難しい状態にある。加えて、PQQ と各種アミノ酸の付加体 (IPQ-R: R=アミノ酸側鎖) については、ヒト母乳中の存在が示唆されているが、牛乳の解析例はない。そこで、本研究では内部標準物質を用いた抽出法と、高感度かつ高選択的な LC-MS/MS 法を組み合わせ、PQQ と IPQ-R の定量法を構築し、牛乳およびヒト母乳を分析して PQQ や IPQ-R の存在有無や量を明らかにしようとした。

【方法と結果】

PQQ2Na 標品および IPQ (PQQ2Na と各種アミノ酸の混合物をインキュベートして調製) をリファレンス化合物として、MS/MS のイオン化条件を最適化した。MS/MS に LC を付し、イオンペア剤を使用した逆相系で分離を行い、選択的分析が可能な Multiple Reaction Monitoring (MRM) モードで検出を行った。その結果、PQQ と IPQ-R (Cys、Pro、Trp 由来の IPQ を除く 17 種) の検出に成功し、外部標準法による ng/mL レベルの PQQ 定量、および IPQ-R の定性分析が可能となった。本法で PQQ を確実に含むサンプル (PQQ 生産菌培地上清; 三菱ガス化学から恵与) を分析したところ、PQQ と数種類の IPQ-R のピークを検出でき、本法の有用性が確認された。そこで、製造工程の異なる数種類の牛乳、および泌乳期 1 カ月目のヒト母乳の分析に取り組むこととした。これら試料に内部標準物質[U-13]C-PQQ (三菱ガス化学) を添加して Oasis WAX に供し、得られた溶出物を強酸性条件下で酢酸エチル/アセトニトリル抽出して、LC-MS/MS 分析に供した。結果、牛乳中の PQQ や IPQ-R はほとんど検出限界以下であり、他方、ヒト母乳には PQQ が含まれ、その濃度は 1-3 ng/mL であった。さらに、少なからずグリシン由来の IPQ を含むヒト母乳も確認された。以上の結果から、牛乳にはほとんど含まれない PQQ がヒト母乳にはあり、かつその一部は IPQ として存在していると推測される。今後は PQQ と IPQ-R の一斉定量とともに、これらのヒト母乳中での意義の解明に向けて泌乳期の異なる様々なヒト母乳の分析を実施する予定である。

以上