

食品中のコリン分析法について

はじめに

コリンは、生体内で多くの重要な役割を果たす栄養成分であり、人体の健康維持に欠かせない化合物です^{1), 2)}。コリンを構造の一部として含み、リン脂質(レシチン)であるホスファチジルコリンは、細胞膜の主要な構成成分であり、細胞の構造を正常に保つ役割を果たします。また、コリンは神経伝達物質であるアセチルコリンの前駆物質でもあります。アセチルコリンは、神経筋接合部での筋肉の収縮や、中枢神経系での記憶などの機能に関与しています。さらに、コリンは肝臓での脂質代謝にも重要です。コリンが不足すると、脂質の代謝が正常に行われず、肝臓に脂肪が蓄積して脂肪肝を引き起こす可能性があります。また、コリンは生合成される量が少ないため、食事から摂取する必要があります。アメリカでは日常摂取量の調査が進められており、食事摂取基準において1日当たりの適正摂取量(成人男性:550 mg, 成人女性:425 mg)が設定されています^{3), 4)}。日本でも同様に食事摂取基準の設定を行う場合、まずは日常摂取量の調査を行うことが望まれますが、日本の食品のコリン含量について、データベースがないため、日常摂取量の調査を行うことが難しいのが現状です。データベース化するためには、国内の多くの食品を簡便に正確に測定する分析法が必要です。

本稿では、食品中のコリンの形態と量について解説した後、一般的なコリンの分析法と、弊社財団が新たに開発した分析法についてご紹介します。

食品中のコリンの形態と量について

食品中のコリンは遊離のコリンと結合体であるコリンエステルの形で存在することが分かっています。コリンエステルとして、ホスホコリン、グリセロホスホコリン、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリンなどが挙げられます(図-1 参照)。アメリカ合衆国農務省(United States Department of Agriculture, USDA)では、一般的な食品中の遊離コリン、コリンエステルおよび総コリンの含有量についてデータベース化しています⁵⁾。基本的には動物性食品に総コリン量が多く、その中でも卵や鶏レバーはホスファチジルコリンの割合が多いことがUSDAの結果より確認されています。また、サーモンはホスファチジルコリンだけではなく、グリセロホスホコリンの割合が多いことが特徴的です。一方で、植物性食品のトマトは総コリン量が少ないですが、遊離のコリンやホスホコリンの割合が多いことが分かっています。紹介した食品の総コリン量および構成するコリンエステルの割合は以下の図-2の通りです。食事から摂取されたこれらのコリンエステルは胃での消化や膵液に含まれる酵素により分解され、遊離のコリンとして吸収されると考えられています⁶⁾。

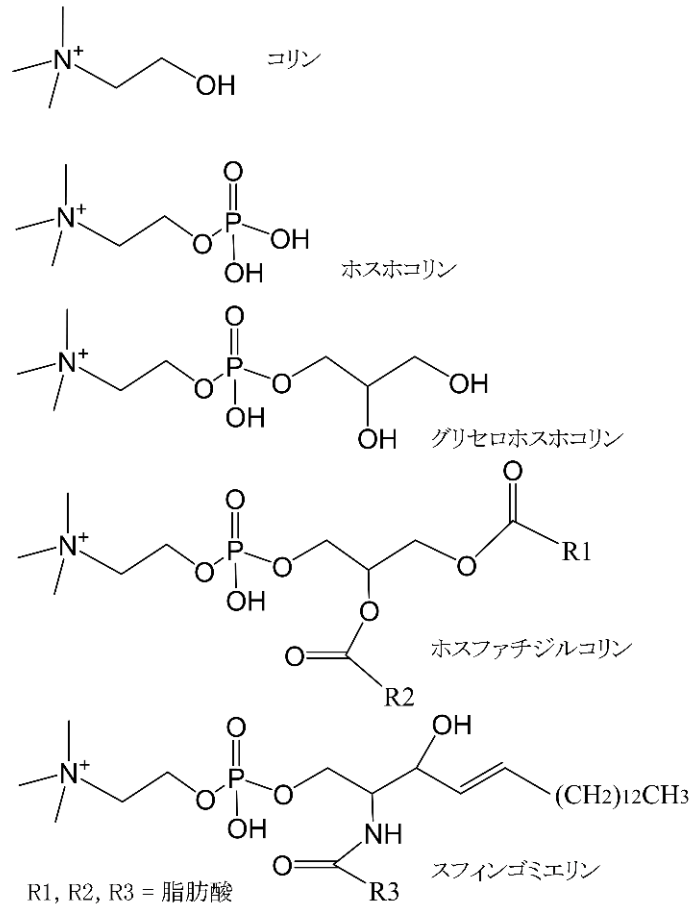


図-1 食品中に含まれるコリンの主な形態

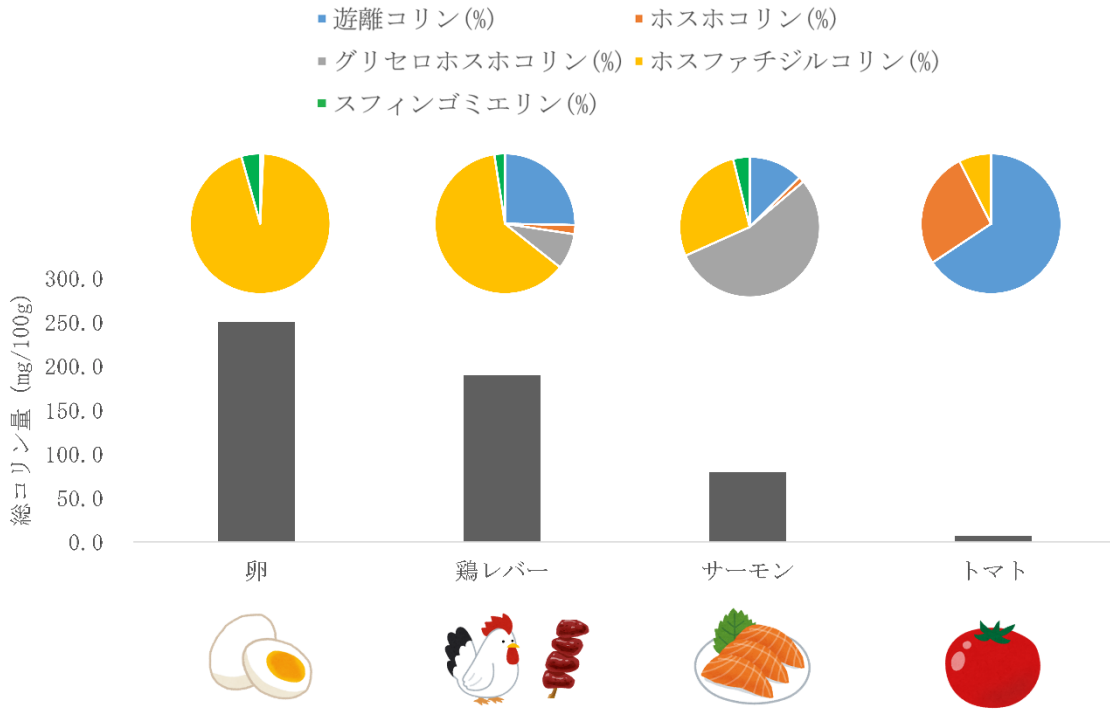


図-2 代表的な食品の総コリン量および構成するコリンエステルの割合⁵⁾

食品中の一般的なコリンの分析法について

食品中の総コリン量の分析は主に 2 つのアプローチが取られます(表-1 参照)。アプローチ①は、総コリン量に対して各コリンエステルの割合を確認することができますが、各化合物の標準品および内標準物質を用意する必要があり、コストがかかります。また、それぞれの化合物を分別して測定する必要があるため、作業が煩雑になります。一方、アプローチ②は各コリンエステルの割合を知ることはできませんが、酸加水分解のステップが完了すれば遊離コリンを測るだけなので、コストを削減し、簡便な作業で総コリン量を測定できます。しかし、現状の酸加水分解条件では、ホスホコリンなどの一部のコリンエステルの分解が不十分であることが分かっており、この方法は粉乳などの一部の食品に限られています。

表-1 食品中の総コリン量の分析に用いられる主なアプローチと特徴について

アプローチ	総コリン量の求め方	メリット	デメリット
① (USDA)	遊離コリンおよび個別コリンエステルをそれぞれ測定し、計算値として総コリン量を算出する	コリンエステルの割合が分かる	高コスト・煩雑
② (AOAC)	コリンエステルを酸加水分解し、遊離コリンに変換して測定し、総コリン量とする	低コスト・簡便	コリンエステルの分解不足により食品群が限定的

コリンエステルの酸加水分解に焦点を当てた新規分析法の開発について

これまでに AOAC において採用されている酸加水分解条件として、硝酸とマイクロウェーブを用いた方法や、塩酸とウォーターバスを用いた方法があります^{7), 8)}。弊財団では、食品に含まれる主要なコリンエステルを十分に分解するための酸加水分解条件の最適化を目指し、幅広い食品に適用できるように検討を行いました。その結果、薄い濃度の塩酸(0.055 mol/L)とオートクレーブを用いた長時間(8 時間)の酸加水分解処理で、ホスホコリン及びそれ以外のコリンエステルを完全に加水分解する条件を見出し、液体クロマトグラフ-質量分析計(LC-MS)で測定する新規分析法を開発いたしました⁹⁾。この分析法は、従来の方法に比べて用いる酸の濃度が薄く、酸加水分解時の作業安全性に優れます。また、遊離となったコリンを感度や選択性に優れた LC-MS を用いて測定することにより、低含量の食品でも簡便かつ正確に測定することができるようになりました(表-2 参照)。

表-2 開発した新規分析法の特徴及び AOAC の方法と比較した利点

方法	酸加水分解条件	安全性	適用範囲
AOAC	硝酸とマイクロウェーブまたは、塩酸とウォーターバスを用いて加水分解	△	△ (食品群が粉乳など限定的)
新規分析法	塩酸とオートクレーブを用いて加水分解	○	◎ (様々な食品に適用可能)

おわりに

将来、日本において食事からのコリンの摂取量調査や食事摂取基準を設定することになれば、多くの食品の総コリン量を正確に効率よく測定する必要があります。開発した新規分析法は、幅広い食品を簡便に正確に測定することができるため、データベース化にも最適です。

本法での食品中のコリンの分析は2023年の11月から受託を行っております。ご興味のある方はお気軽にご連絡いただくと幸いです。

参考文献(参考資料)

- 1) Zeisel, S. H., & Blusztajn, J. K. Choline and human nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* 1994, **14**, 269-296.
- 2) Zeisel, S. H., & da Costa, K. A. Choline: An essential nutrient for public health. *Nutr. Rev.* 2009, **67**(11), 615-623.
- 3) Blusztajn, J. K. Choline, a vital amine. *Science*. 1998, **281**(5378), 794-795.
- 4) Institute of Medicine. Dietary reference intakes for thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK114310/>, (参照 2024-08-01).
- 5) Patterson, K. K. et al. USDA database for the choline content of common foods, release two. <https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400525/data/choline/choln02.pdf>. (参照 2024-08-01)
- 6) Rudd, J. A., & Taylor, J. C. The digestion of lecithin and other phosphoglycerides by pancreatic enzymes. *Biochim. biophys. acta*. 1987, **920**(3), 254-265.
- 7) Martin, F. et al. Choline in infant formula and adult/pediatric nutritional formula by ultra high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 2013, **96**(6), 1396-1399.
- 8) Shippar, J. et al. Determination of free and total choline and free and total carnitine in infant formula and adult/pediatric nutritional formula by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS): A multi-laboratory testing study. *J. AOAC Int.* 2020, **103**(6), 1560-1567.
- 9) Hirakawa, Y., Fujita, K., Katayama, M., Yokozeki, T., Takahashi, Y., Yoshida, I., & Nakagawa, K. Optimisation of acid hydrolysis conditions of choline esters and mass spectrometric determination of total choline in various foods. *Sci. Rep.* 2024, **14**, 17960.