

氏 名 (本籍)	き 木 村 繁 昭 (北海道)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 7 3 号
学位授与年月日	昭和 4 5 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 食糧化学専攻
学位論文題目	大豆リン脂質の食品化学的研究

(主 査)

論文審査委員	教授 柴 崎 一 雄	教授 中 西 武 雄
		教授 金 田 尚 志

# 論文内容要旨

食品の主成分の1つである脂質は酸敗など悪変現象に関与することが古くから知られているが、最近脂質のなかでもリン脂質が食品化学の面から注目をあびている。すなわちリン脂質の構成脂肪酸は他の脂質と比較して特に不飽和脂肪酸が多く、酸素、光の存在下で容易に酸化を受けるものと考えられる。またリン脂質はリン酸基などの極性基、4個のエステル結合が分子内に存在する。したがってこのエステル結合が加水分解などを受ける機会がきわめて多く、不安定なものと考えられる。

大豆リン脂質は3-*sn*-phosphatidylcholine, 3-*sn*-phosphatidylethanolamineなどよりなり、そしてこれらは多種類の脂肪酸よりなるという。リン脂質は1位と2位に1分子づつ脂肪酸がはいるが、数多くの脂肪酸が含まれていることより混合物と考えられ、さらに1位と2位にどのような脂肪酸が、いかなる割合ではいるのか、すなわちMolecular Speciesが考えられる。リン脂質のMolecular Speciesは極く最近MABAI, GOLDBERGERらにより、人間、ウサギの血液について報告されたが、植物種子のものについては知られていない。

本研究は大豆リン脂質の主成分である3-*sn*-phosphatidylcholine, 3-*sn*-phosphatidylethanolamineの分画を硝酸銀薄層クロマトグラフィーおよび硝酸銀カラムクロマトグラフィーでこころみ、分画された構成脂肪酸を異にする各フラクションの1位および2位の構成脂肪酸を明らかにし、さらに両者のMolecular Speciesについて詳細な研究を行ない、これを明らかにした。次に保蔵時のリン脂質の変化、この分解を明らかにするため、長期保蔵後の凍豆腐脂質成分の変化を追求後、大豆全リン脂質および主成分である3-*sn*-phosphatidylcholineの自動酸化生成物を種々検討した。さらに加工処理によってリン脂質が変化、分解するものと考えられるので、大豆利用食品中のリン脂質について検討した。

本論文の大要は以下に記すとおりであります。

## 1. 大豆リン脂質の化学

大豆には約2~4%のリン脂質が含まれ、このリン脂質は少くとも6種類よりなり、3-*sn*-phosphatidylcholine, 3-*sn*-phosphatidylethanolamineが各40%・20%づつ占め、他は3-*sn*-phosphatidylinositol, 3-*sn*-phosphatidic acid等であった。リン脂質は1位と2位に1分子づつ脂肪酸がはいるが、その80%はリール酸をはじめとする不飽和脂肪酸であった。そして種々検討した結果、数多くの脂肪酸が検出されて混合物と考えられたので、硝酸銀薄層クロマトグラフィーさらに硝酸銀カラムクロマトグラフィーを用い、分画を試みた。その結果、3-*sn*-phosphatidylcholineは硝酸銀薄層クロマトグラフィーで構成脂肪酸を異にする7バンド、同カラムクロマトグラフィーでは14フラクションに、3-*sn*-phosphatidylethanolamineでは4バンド、15フラクションに分画された。

(第1.2表) (第1編, 第1.2.3章)

次に分画された3-*sn*-phosphatidylcholine各フラクションの1位と2位の構成脂肪酸を検討した結果, 1位は飽和脂肪酸, 2位は不飽和脂肪酸が多かったが, なお1位にも比較的多くの炭素数18の不飽和脂肪酸が含まれていることが明らかにされた。(第3表) (第1編, 第4章)

さらにこの脂肪酸の種類, 割合すなわちMolecular Speciesを詳細に検討した結果, 3-*sn*-phosphatidylcholine, 3-*sn*-phosphatidylethanolamineともに1位と2位の総脂肪酸総炭素数28 (14+14, 16+12), 36 (18+18, 16+20), 38 (18+20) のものが多いことがはじめて明らかにされ, これは両者の脂肪酸がラウリン酸 (12), ミリスチン酸 (14), パルミチン酸 (16), ステアリン酸, オレイン酸, リノール酸, リノレン酸 (18) が多いためと考えられた。そして TATTRIE の報告のように1位 S (飽和), 2位 U (不飽和) のみでなく S+S, U+Uを含むことがMolecular Speciesレベルより明らかにされた。またエイコサジ, トリエン酸 (20) を比較的多く含むものにもかかわらず総炭素数40のものはほとんどなく, 1位と2位の両者に炭素数20の脂肪酸がはいらず, (12+20), (14+20), (16+20), (18+20) の組み合わせになることが明らかにされた。(第4表) (第1編, 第5.6章)

## 2. 大豆リン脂質の分解

以上のようにリン脂質は極めて多くの不飽和脂肪酸を含み, さらに極性基, エステル結合を含むため, リン脂質を含む食品の加工処理, 保蔵中に変化しさらに分解することが考えられる。凍豆腐は変化しやすく夏季をすぎると褐変, 悪臭を放つことはよく知られているが, 長期保蔵後の脂肪成分の変化を検討した結果, リン脂質は殆んど分解していた。(第2編, 第1章, 第1節)

この生成物が悪臭の原因とも考えられるので, 次にリン脂質自動酸化生成物を明らかにするため, リン脂質を自動酸化させ, 種々検討した結果, カルボニル化合物としてアセトアルデヒド, クロトンアルデヒド, 2-ノナン, 2-オクタノン等, アルコール類としてメタノール, エタノール, プロパノール, イソブタノール, ブタノール, イソペンタノール, ペンタノール, 揮発性脂肪酸として酢酸, プロピオン酸, 酪酸, バレリアン酸等, アミンとしてトリメチルアミンが同定された。これらのうちアセトアルデヒド, 酢酸, エタノールが圧倒的に多かった。アセトアルデヒドは自動酸化大豆油では微量であるが, 自動酸化リン脂質では多く, 自動酸化リン脂質分解生成物の特長と考えられた。(第2編, 第1章, 第3.4節)

前述のように大豆リン脂質は多くの成分よりなり, 生成機構等の研究には単一物質からの生成物

を明らかにすることも必要なので、主成分である 3-*sn*-phosphatidylcholine の自動酸化生成物についても検討した結果、カルボニル化合物としてエタナル（アセトアルデヒド）が最も多く 36.0% で、他にプロパナル、ブタナル、ヘキサナル、2-ペンタノン、2-ノノン等、揮発性脂肪酸として酢酸、イソ-酪酸、酪酸、アルコール類としてメタノール、エタノール、ブタノール、イソ-アミルアルコール、アミルアルコール、アミン類としてトリメチルアミンが同定された。そしてリン脂質自動酸化生成物中のトリメチルアミンはこのコリンより生成されたものと考えられた。（第2編，第1章，第5節）

次に加工処理によりリン脂質の変化、分解することが考えられるので、大豆利用食品の代表として味噌中のリン脂質を検討した結果、原料として用いる大豆中には6種類もあるのにくらべて、1種類が残存しているのにすぎなかった。そしてこのものは種々の展開剤、標準物質を用いて TLC で検討を行なった結果、エステル型ステリン配糖体、またはステリン配糖体と推定された。

1個のスポット以外は検出されなかったが、この原因は大豆の熱処理によるより、むしろ使用する微生物により分解されたものと考えられたので、醸造の際使用する米麴から抽出した麴液を粗酵素として大豆レチニンに作用させ、味噌にみられるリン脂質組成を示すか否か TLC で検討した。その結果味噌スポットと完全に一致するもの以外は検出されなかった。またレチニンが分解した場合水溶性リンおよび脂肪酸を遊離する筈なので検討した結果、何れも増加しており、分解されることが確認された。麴抽出液を粗酵素として用いたが、対照とした抽出液中にも味噌のリン脂質とほぼ一致するスポットの存在が認められた。このため麴の原料である米中のリン脂質についても検討した。この結果少くとも5種類存在し、そのうちの1つは大豆レチニンおよび味噌中のものとの混合 TLC より、同一成分と考えられ、味噌のリン脂質は大豆或は米のいずれか、または両者に由来するものと考えられた。

さらに麴には多くの酵母や細菌が繁殖しており、これらの微生物の生産する酵素によるとも考えられるので、麴かびの CZAPK - DOX 氏純粋培養菌蓋および濾液を大豆レチニンに作用させた結果、味噌と一致するスポットが得られた。これらの結果より味噌のリン脂質は原料の大豆および米中のものが麴かびの酵素により分解されずに残存したものであると考えられた。

さらに大豆レチニン8種類のリン脂質組成のうち 3-*sn*-phosphatidylcholine, 3-*sn*-phosphatidylethanolamine を含む、少くとも6成分が麴かびの生産する酵素によって分解され、かつ水溶性リンが経時的に増加することより、CONTARDI らが麴かびの生産するリン脂質分解酵素は lysophospholipase のみであると報告しているが、本実験からは lysophospholipase 以外に phospholipase A, B, C, D, の各酵素を、あるいは全部の作用をもつ酵素を生産することが考えられた。（第2編，第2章）

Table 1. Fatty acid composition of the fractionated diglycerides (SBLDGA1~7) derived from soybean 3-sn-phosphatidylcholine

fraction fatty acids	SBLDGA-1	SBLDGA-2	SBLDGA-3	SBLDGA-4	SBLDGA-5	SBLDGA-6	SBLDGA-7
12:0	6.5	T	11.7	7.0	15.2	1.8	T
14:0	52.0	10.6	1.9	17.4	5.8	1.3	5.8
unknown	T	T	T			T	2.4
16:0	26.1	14.9	10.8	34.0	12.8	6.6	3.9
16:1	T	T	T	T	T	T	T
18:0	5.4	T	3.0	8.6		1.5	0.5
18:1	1.3	T	11.6	1.4	15.7	3.1	1.6
18:2	7.2	T	T	23.6	24.3	72.6	19.8
18:3		74.5	60.9		22.3	7.0	52.0
20:2				2.7	T		12.6
20:3				2.3	4.3	5.1	0.6
unknown				2.7		0.7	1.5

Table 2. fatty acid composition of the fractionated diglycerdes (DGAL-A~K) derived from soybean 3-sn-phosphatidylcholine

fatty acids S. S.	1 2	1 4	unknown	1 6	1 6	1 8	1 8	1 8	1 8	2 0	2 0	2 0	unkn- own	FRAC- TION
	:	:		:	:	:	:	:	:	:	:	:		
	0	0	unknown	0	1	0	1	2	3	1	2	3		
PE	21.4	35.7									21.4	21.4		A
3E:PE		T		T	T				T		7.1	36.1	51.2	B
10 "		T		T					15.7		10.6	39.3	55.0	C
15 "	5.5	3.3		36.3		11.2	3.6	43.2			2.3			D
20 "	T	1.4	T	31.3	T	4.0	14.0	9.2	40.1					E
25 "	T	T		12.1		T	3.5	7.5	79.2		2.4			F
30 "	T	T		8.4	T	2.5	5.1	79.7		4.2				G
40 "	4.6	4.6	T	5.2	T		6.2	61.9	14.4	3.1				E
50 "				T		T		63.9	2.4		3.4	11.4	18.9	H
60 "	T	T		T		T	T	91.2	8.8					I
70 "	5.2			8.6				30.1	T		4.6	21.3	30.1	H
80 "	11	T		T	T	T	0.8	40.1	8.8	30.1	1.8	9.5	9.2	J
90 "	27.3	16.4		19.1		T				16.4	27.3			K
E		T		T	T				9.9					K
20 C:E	4.8	7.2		2.4	2.4				56.2		10.0	16.9		L
40 "									9.9					K
80 "	3.4	2.6	T	6.8	T	T			87.8					K
C	T	4.8	4.8	14.3	4.8				71.4					K
5M:C	8.8	2.9	T	7.6	T	2.4			78.4					K
10 "	8.8	1.0		1.7					88.4					K

E:Ether PE:Petroleum Ether C:CHCl<sub>3</sub> M:CH<sub>3</sub>OH

T:Trace S S.: solvent System

Table 3. Positional distribution of the fatty acids in the SBL-1~4

fractional position of fatty acids	SBL-1		SBL-2		SBL-3		SBL-4	
	1-C	2-C	1-C	2-C	1-C	2-C	1-C	2-C
12:0	T		1.8	T		12.0		
14:0	3.1		6.0	T	5.7	21.5	7.7	
unknown	T		T		T			
15:0			T		3.5	T		
16:0	27.5		10.0	T	5.5	4.8		4.2
16:1	T	4.7	T		T	T	1.9	
17:0			1.2		4.4			
17:1			T					
18:0	12.7		6.0		4.2	4.8	T	2.1
18:1	13.3		9.4		2.2			2.8
18:2	25.5	15.6	25.5	45.9	T		1.8	17.0
18:3	4.5		34.5		52.8		66.2	
20:0					3.8			0.6
20:2		7.6	5.8	4.3	4.8	8.6	15.5	6.6
20:3	11.6	27.6		18.5	5.1	26.8		26.4
unknown		42.5		37.3	5.8	21.5	6.8	40.4

Table 4. Molecular species of soybean

3-sn-phosphatidylethanolamine

Frac tion	R <sub>1</sub> +R <sub>2</sub>										
	2 0	2 2	2 4	2 6	2 8	3 0	3 2	3 4	3 6	3 8	4 0
EDGA-											
1	20.8	16.4	23.8	23.8	8.3	3.9	3.0	T			
2	65.5	T	6.8	9.1	3.6	11	1.1	8.2	4.5		
3	93.2								4.2	2.6	
4	T	6.8	54.1		21.6				6.8	10.8	
5									78.3	21.7	
4'	T	T	9.4	T	T	2.2	T		80.8	8.3	2.7
6		26.1	18.6	18.6	17.1	5.6	5.4		11.2	9.3	T
4''	T	38.7	T	T	12.9	T	T	T	19.4	29.0	
4'''	T	T	T	T	17.8	T			26.7	37.0	2.1
6'	T				over 99	T				T	T
7					over 99						
7'					over 99						
1'	35.7	6.2	3.7	1.8	T				18.5	33.2	T
8	64.3	21.4	T	T	T				3.6	5.5	



## 審 査 結 果 の 要 旨

大豆には約2～4%のリン脂質が含まれ、少なくとも6種類よりなるが、1及び2位に1分子ずつ脂肪酸がはいるので種々検討した結果、数多くのものが検出されて混合物と考えられたので、これら構成脂肪酸組成を明らかにして第一編にまとめてある。次にリン脂質は多くの不飽和脂肪酸を含むばかりでなく、その構造上分解されやすいので、自動酸化させた場合の生成物を明らかにし、また加工処理、保蔵中の分解について味噌、凍豆腐を用い研究して第二編にまとめたものである。

著者は第一編で硝酸銀薄層クロマトグラフィーさらに硝酸銀カラムクロマトグラフィーで分画を行ない、大豆リン脂質中、古くからレシチンと呼ばれ量的にも多いホスファチジルコリンを前法で構成脂肪酸を異にする7バンド、後法で14フラクションに、またケファリンと呼ばれているホスファチジルエタノールアミンを4バンド、15フラクションに分画した。この分画されたものの構成脂肪酸を検討した結果、1位は飽和、2位は不飽和のものが多かったが、なお1位にも比較的多くの炭素数18の不飽和脂肪酸が含まれていることを明らかにした。

さらに脂肪酸の種類、割合を詳細に検討し、両者共に1、2位の総脂肪酸総炭素数28(14+14, 16+12), 36(18+18, 16+20), 38(18+20)のものが多いことをはじめ明らかにした。

つぎに第二編で全リン脂質およびホスファチジルコリンを自動酸化させて多くのカルボニル化合物、アルコール類、揮発性脂肪酸等の分解生成物を同定した。大豆利用食品の代表として味噌中のリン脂質を調べ、エステル型ステリン配糖体またはステリン配糖体と推定されるものが残存するに過ぎないことを見出し、この理由を種々検討し使用する麴中の酵素作用により分解した結果であることを明らかにした。

以上のように本研究は大豆リン脂質主成分の脂肪酸組成、また加工処理、保蔵中の分解を明らかにしたもので、食品化学および保蔵学に多くの新知見を加え、貢献する所が大きい。よって審査員一同は農学博士の学位を授与する価値があるものと判定した。