

小麦粉懸濁液の糊化過程におけるリン脂質の動態

誌名	日本食品科学工学会誌
ISSN	1341027X
著者	石永, 正隆 Tuohuti, R. 上田, 愛子 大濱, 恵 松田, 悠衣 杉山, 寿美
巻/号	57巻7号
掲載ページ	p. 288-295
発行年月	2010年7月

小麦粉懸濁液の糊化過程におけるリン脂質の動態

石永正隆[§], ルケアム・トヘティ, 上田愛子, 大濱 恵, 松田悠衣, 杉山寿美

公立大学法人県立広島大学健康科学科

Distribution of Phospholipid during Gelatinization Process of Wheat Flour Suspension

Masataka Ishinaga[§], Rukeyanmu Tuohuti, Aiko Ueda, Megumi Ohama,
Yui Matsuda and Sumi Sugiyama

Department of Health Sciences, Prefectural University of Hiroshima,
1-1-71 Ujina-Higashi Minami-ku, Hiroshima 734-8558

The distribution of phospholipids (PLs) during the gelatinization process of wheat flour suspension was investigated using a rapid visco analyzer. The amount of thermally extracted phospholipids (PLs) in boiling water with water-saturated *n*-butanol was higher than that extracted at room temperature and in the state of wheat flour suspension. Especially, the amount of thermally extracted lysolecithin (LPC) was 4 to 5 times higher than that extracted at room temperature. Conversely, using gelatinized liquid of wheat, the amount of LPC extracted at room temperature (RT-LPC) was higher than that of thermally extracted LPC (HOT-LPC), and the amount of thermally extracted LPC was almost constant. However, after the peak of viscosity, the amount of HOT-LPC was again higher than that of RT-LPC when the viscosity decreases. The distribution of other LysoPLs was similar to that of LPC. In the gelatinization state, the palmitic acid composition of HOT-LPC was 56.5% and that of RT-LPC was 37.2%. The linoleic acid composition of HOT-LPC was 28% and that of RT-LPC was 51.9%. On the other hand, although *n*-acyl phosphatidylethanolamine (AcylPE) and *n*-acyllysophosphatidylethanolamine (AcylLPE) were extracted only at RT in the flour and during the gelatinization process, after the peak viscosity, these phospholipids were extracted at both RT and HOT when the viscosity decreases. These results indicate that the distribution of LPC, AcylPE and AcylLPE change during the gelatinization process of wheat flour suspension.

(Received Oct. 16, 2009 ; Accepted Mar. 26, 2010)

Keywords : wheat flour, lysophospholipid, lysolecithin, acylphosphatidylethanolamine, pasting process

キーワード : 小麦粉, 糊化, リゾリン脂質, リゾレンチン, アシルホスファチジルエタノールアミン

小麦粉の脂質は重量当たり平均2.4%であり, 一般にアルコール-水系を用いて, 常温で抽出される non-starch lipids (NSL, 1.4%) と 90 から 95°C で抽出される starch lipids (SL, 1%) に分類される¹⁾. NSL は, 澱粉粒を除いた胚乳由来の脂質で, 中性脂質 (0.6%) や糖脂質およびリン脂質などの極性脂質 (0.8%) からなり, 極性脂質はスフェロゾームやアミロプラスト等の生体膜に由来する^{1)~3)}. *n*-アシルホスファチジルエタノールアミン (AcylPE) と *n*-アシルリゾPE (AcylLPE) は NSL に特有である⁴⁾. 一方, SL は 90% 以上がリゾリン脂質 (LPL) で, そのうち 75% 以上がリゾレンチン (LPC) である⁴⁾.

小麦粉澱粉の SL に関する研究は, 澱粉粒の膨潤や糊化の熱特性に対する影響について主になされてきている^{5)~9)}. また, 小麦粉の場合は, 生地 of 混捏中における脂質の動態,

あるいは乳化剤として添加した脂質の動態に関して研究がなされている¹⁰⁾¹¹⁾. しかしながら, 小麦粉の糊化過程における NSL および SL についての報告はほとんど見あたらない.

我々は, 小麦粉の糊化過程におけるタンパク質, 脂質, 澱粉の相互作用を解明するための一助として, 小麦粉の糊化過程における NSL および SL 中のリン脂質の動態について研究を行った.

実験方法

1. 材料と試薬

実験に使用した薄力粉は市販の日清フラワー薄力小麦粉 (日清製粉; 水分 14.3%, タンパク質 8%, 脂質 1.7%, 炭水化物 75.6%, 灰分 0.4%) を使用した. 購入後サンプル瓶に約 20 g ずつ小分けをして, 5°C の冷暗所に使用するまで保存した. PE, レシチン (PC), LPC は Sigma 社から, ホスファチジルセリン (PS), リゾ PS (LPS), リゾ PE (LPE)

〒734-8558 広島市南区宇品東一丁目 1-71

[§] 連絡先 (Corresponding author), isinaga@pu-hiroshima.ac.jp

は Serdary Res. 社からおよびホスファチジルグリセロール (PG), リゾ PG (LPG), ホスファチジリンシトール (PI), リゾ PI (LPI) は Avanti polar lipids 社から購入した. Sep-Pak シリカは Waters 社から購入した. また, 薄層クロマトグラフィー (TLC) 用プレートはメルク社の Silica gel 60 (1.05721.0009) を用いた. 脂肪酸の標準物質 (Grain fatty acid methyl ester mix) および脂肪酸のメチル化試薬 $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (14% 溶液) はスベルコジャパンより購入した.

2. RVA による試料調製

小麦粉懸濁液の糊化過程における脂質の分析のために, 一定温度で上昇し, かつ一定速度で攪拌できるラピッドビスコアライザー-3D (RVA: フォス・エレクトリック・ジャパン製) を用い, 試料濃度は 18.3% とし, 専用のアルミ製サンプル容器に水 24.5 g と小麦粉 5.5 g を加えて混合し, 以下の測定条件下で 9 試料を調製した. サンプルングは経時的に取り出すのではなく, その都度, 小麦粉懸濁液を調製し, RVA にセットし, それぞれ適当な時間に粘度測定が停止するように温度プログラムを設定して行った. ただし, すべての場合, 40°C で 5 分間保持後, 昇温は $4^\circ\text{C}/\text{min}$ に設定し, パドル回転数は, 開始後 10 秒間は 960 rpm とし, それ以降は 160 rpm とした. 試料の種類は以下の通りである. 40°C で 5 分間保持したもの, 60°C , 70°C , 80°C および 90°C でそれぞれ 0 分と 5 分間保持したものである. それぞれサンプル容器から 5.45 g を遠沈管に取り, 脂質分析の試料とした.

3. 脂質の分析

(1) 脂質の抽出

脂質の抽出は基本的には Morrison らの方法に従って抽出を行った¹²⁾. 上述の試料を採取した遠沈管に 8 ml の水飽和ブタノール (WSB) と 1% ブチルヒドロキシトルエン溶液 (BHT) 0.05 ml を加え, 常温 (約 25°C) で 30 分間激しく振盪した後, 20 分間 2500 xg で遠心分離を行い, 上層を採取した. 沈殿物に再度 WSB を 8 ml 加え, 同様の抽出操作を行った. 合計 3 回抽出し, 次に, その残渣に WSB 8 ml と 1% BHT 0.05 ml を加え, 沸騰浴水中で 30 分間 (10 分おきに 10 回ほど手で激しく振盪した) 抽出した後, 上記と同様の操作を行った. 熱抽出も合計 3 回行った. それぞれ, WSB 抽出液は減圧下で濃縮乾固後, クロロホルム/メタノール (1:1, v/v) 30 ml に溶解し, 12 ml の 2% NaCl で洗浄し, 下層のクロロホルム層を再び濃縮乾固後, 7 ml のクロロホルムに溶解し, -80°C で保存した. 抽出試料は 4 連で行った. 小麦粉の場合は 1 g を取り, 上記と同様に抽出を行った.

(2) リン脂質の薄層クロマトグラフィーによる分離と定量

抽出液中のリン脂質は展開剤クロロホルム:メタノール:酢酸:水 (180:150:30:10, v/v/v/v.) を用い, TLC によって分離した¹³⁾. 展開されたスポットのリン脂質の同定

は, ヨウ素蒸気, ニンヒドリン試薬並びに Dittmer 試薬によって可視化し, AcylPE と AcylLPE を除いて標準物質と比較して行った. また, 小麦粉から WSB を用いて常温抽出された脂質試料を Sep-Pak シリカを用いて Juaneda and Rocquelin の方法¹⁴⁾に従って極性脂質画分 (MeOH Fr.) を得, 同定用の試料とした. なお, Dittmer 試薬による発色で, TLC 上でリン脂質以外に発色する部分は見られなかった.

抽出液中のリン脂質リン (PL-Pi) 量は Bartlett 法¹⁵⁾で, TLC によって分離されたそれぞれの PL-Pi 量はかき取った後, Keenan 等の方法¹⁶⁾でそれぞれ測定した. PE と PG は一緒にしてかき取った. なお, 値は小麦粉 1 g (湿重量) 当たりの PL-Pi 量とした.

(3) LPC の脂肪酸分析¹³⁾¹⁷⁾

脂質試料 7 ml のうち 3~4 ml を TLC プレートに 4 cm 巾にスポットし, 展開後, TLC プレートから溶媒を除去するために, デシケーター中で 5 時間減圧乾固した. その後, LPC 相当部分をかき取り, バイアル管に入れ, ベンゼン 0.2 ml および, $\text{BF}_3/\text{メタノール}$ を 1 ml 加え, 沸騰水中で 40 分間反応させた. 反応後, ヘキサン 3 ml, 水 2 ml を加え, 激しく振盪し, 脂肪酸メチルエステルをヘキサン抽出した. ヘキサン層を別の試験管に取り, 水層に再度ヘキサンを 3 ml 加え激しく振盪し, ヘキサン層を取り, 1 回目と一緒にした. これに水を 3 ml 加え, 激しく振盪し, ヘキサン層を取り, 窒素気流下で蒸発乾固し, 適量のヘキサンを加え, ガスクロマトグラフィーの分析に供した.

脂肪酸のメチルエステルの分析には, Shimadzu GC14 を用いた. カラムは DB-225 (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 液相膜 0.25 μm ; J & W Scientific) を使用しキャリアガスは He (15 ml/min) を用い, 設定温度 180°C で 1 分間保持後 220°C まで $3^\circ\text{C}/\text{min}$ で昇温させ, 220°C で 25 分間保持し, 分析を行った. 各ピークの同定は標準の脂肪酸メチルエステルの保持時間との比較による.

4. 統計処理

統計処理は Stat View 5.0 (Windows 版, SAS Institute) を用いて行った. 値は平均値±標準偏差で表し, RVA 測定における最終温度間の有意差検定は一元配置分散分析後, Post-hoc テストを Tukey-Kramer 法で行った. また, 同一温度における常温抽出と熱抽出間の有意差検定は Student *t*-test で行った. 統計的有意差水準は $p < 0.05$ とした.

実験結果

1. 小麦粉懸濁液の糊化過程における粘度変化

水分含量等の条件にもよると思われるが, 一般的に小麦澱粉の糊化開始温度は 53°C から 64°C であり¹⁸⁾, 澱粉粒からのアミロースの浸出は 50°C から起きる⁹⁾. 従って, RVA の初期温度を, この現象が生じないと考えられる 40°C に設定し, 均一な小麦粉懸濁液を得るためにこの温度で 5 分

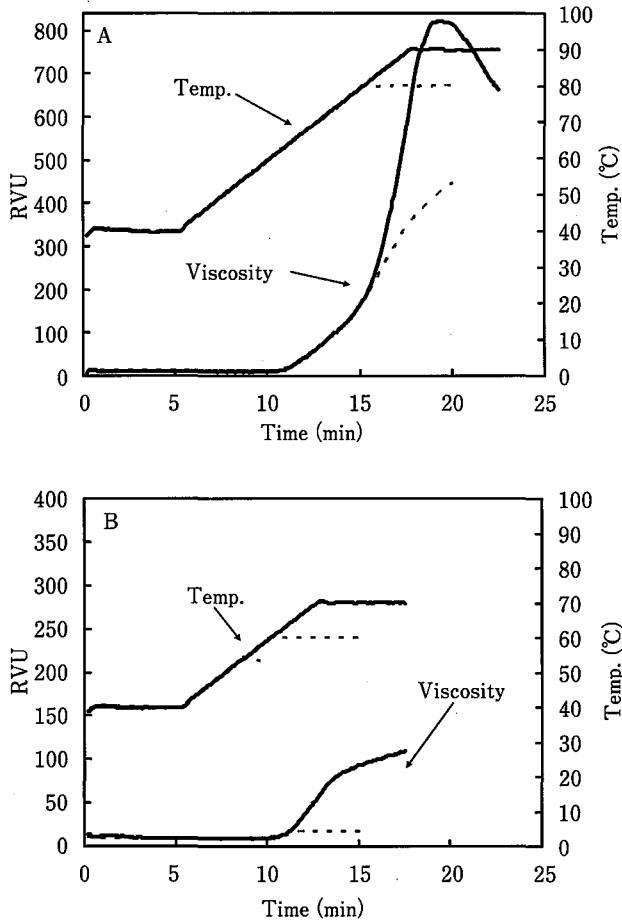


Fig. 1 RVA viscomograms of a wheat flour suspension heated to 60°C, 70°C, 80°C, and 90°C

A wheat flour suspension was 5.5 g of flour and 24.5 g of water. The flour suspension was stirred at 40°C for 5 min, and then heated to 60, 70, 80 or 90°C at a heating rate of 4°C/min. The RVA analysis was stopped at each temperature, or after holding further for 5 min each.

A. straight line : 90°C, dotted line : 80°C. B. straight line : 70°C, dotted line : 60°C.

間保持した。続いて、60°Cから90°Cまで温度を変えて、糊化過程における粘度変化を調べた (Fig. 1)。この Fig. 1 から我々の場合、小麦粉懸濁液の粘度上昇温度は約 62°C と判断した。このことから、62°C以下で澱粉の規則構造の転移が起こり、糊化が開始していることがわかった。70, 80°Cと温度が上昇するにつれて、粘度も上昇したが、5分間の保持では粘度上昇速度は低下した。90°Cで1~2分保持した時点で最高粘度に達し、90°C5分は粘度低下中の状態であった。

2. 小麦粉懸濁液の糊化過程におけるリン脂質量の変化

小麦粉および小麦粉懸濁液の糊化過程における PL-Pi 量を測定した (Fig. 2)。その結果、小麦粉の場合は、熱抽出すなわち SL の PL-Pi 量は 0.28 (mg/g 小麦粉) で、常温抽出すなわち NSL の 0.10 (mg/g 小麦粉) より高い値を示した。小麦粉懸濁液の場合、40°Cでは、NSL および SL の

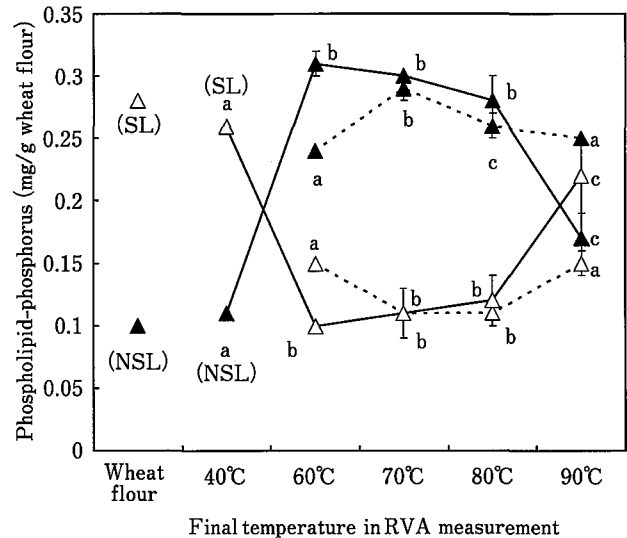


Fig. 2 The amounts of phospholipid-phosphorus extracted from the wheat flour pastes prepared by RVA (mg/g wheat flour)

Values are means \pm SD ($n=4$). \blacktriangle , RT; \triangle , HOT. ---: held for 0 min; — held for 5 min. Error bars express the standard deviation. Different letters show significant difference ($p<0.05$). NSL, non-starch lipid; SL, starch lipid.

量は小麦粉と同様の結果が得られた。60~90°Cまで、保持時間が0分の時、熱抽出は0.11~0.15 (mg/g小麦粉)で、常温抽出の0.24~0.29 (mg/g小麦粉)より低い値を示し、保持時間が5分の際は60°Cから80°Cまでは0分の時と同様に熱抽出は常温抽出より低い値を示した。しかし、90°C5分処理では逆転し、小麦粉と懸濁液40°C5分処理の場合と同様の傾向だった。

このように、小麦粉や40°Cの小麦粉懸濁液では、NSLよりSLのPL-Pi量が多かったが、糊化が進行する60°Cから90°Cまでは、熱抽出のPL-Pi量が減少し、常温抽出のPL-Pi量の方が高くなった。しかも、60°C5分処理から80°C5分処理までは熱抽出PL-Pi量はほぼ一定であった。しかしながら、90°Cになると熱抽出のPL-Piは増加し始め、最高粘度に達した後の粘度低下中の90°C5分では再び常温抽出より熱抽出でPL-Pi量が高くなった。

本論文では上述のように、糊化過程でリン脂質量が常温抽出画分と熱抽出画分で変動するので、小麦粉と小麦粉懸濁液の40°C処理の場合は、常温抽出の脂質をNSL、熱抽出の脂質をSLとみなし、60°C以上で処理した場合は、基本的には常温抽出脂質および熱抽出脂質とした。

3. 小麦粉懸濁液の糊化過程におけるリン脂質組成の変動

小麦粉のリン脂質組成を調べるためにリン脂質の同定を行った。標準物質と小麦粉脂質由来の極性脂質をTLCで分離した後、Dittmer試薬によって発色したスポットのリン脂質を示す (Fig. 3A)。その結果、小麦粉の極性脂質にPGより高いRf値を有する2つのリン脂質XとYが検出

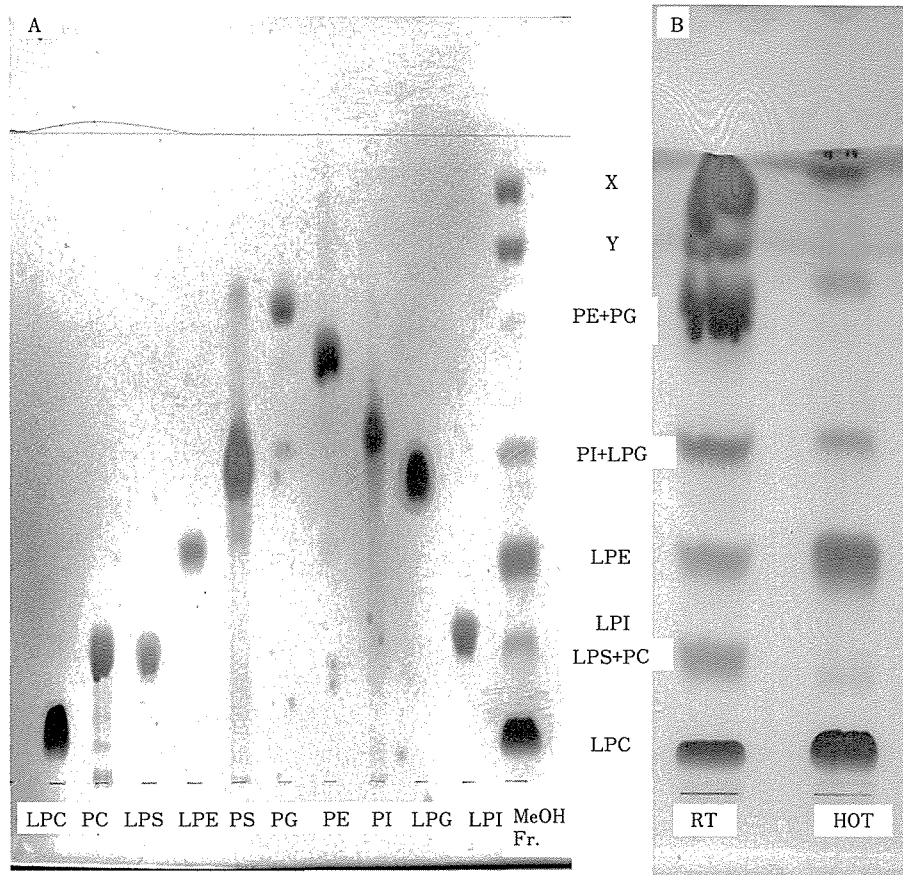


Fig. 3 TLC chromatograms of phospholipids that were extracted from wheat flour with WSB at room temperature (RT) and from its residue with WSB in boiling water (HOT)

Phospholipids were developed TLC with chloroform/methanol/acetic acid/water (180 : 150 : 30 : 10, v/v/v/v) as the developing solvent. After developing, individual phospholipid was detected by the Dittmer reagent (A) or exposure to iodine vapor (B). A, authentic phospholipids, and phospholipid fraction (MeOH Fr.) from wheat flour obtained by using Sep-Pak silica cartridge. B, extract with WSB at room temperature (RT, NSL), extract with WSB in the boiling water from the residue (HOT, SL). PC, phosphatidylcholine; LPC, lysoPC; PS, phosphatidylserine; LPS, lysoPS; PE, phosphatidylethanolamine; LPE, lysoPE; PG, phosphatidylglycerol; LPG, lysoPG; PI, phosphatidylinositol; LPI, lysoPI. X and Y were identified as *n*-acylPE and *n*-acylLPE as described in the text.

された (Fig. 3A, MeOH Fr.). これまで報告されているリン脂質の種類からは、ホスファチジン酸やカルジオリピンが考えられるが、これらのリン脂質はほとんど含まれていないかごく僅かである⁴⁾¹²⁾。さらに、常温抽出つまり NSL だけに検出され、量的には PC や LPC に匹敵することなどから、X と Y はそれぞれ AcylPE と AcylLPE であると判断した⁴⁾¹²⁾。PC とオーバーラップして LPS が存在することは、その都度該当試料を同定用にも展開し、ニンヒドリン試薬によって確認した。リン脂質組成を求めるときは、試料は Sep-Pak で精製することなくそのまま TLC にスポットし、ヨウ素蒸気でリン脂質の位置を確認した (Fig. 3B)。また、AcylPE 付近には中性脂質も存在した。PI 近傍にニンヒドリン試薬によって発色するリン脂質はほとんど検出されなかったため、PS は小麦粉にはほとんど存在しないか、するとしても極微量であった。

小麦粉懸濁液の糊化過程における常温抽出画分と熱抽出画分の各 PL-Pi 量を調べた (Table 1)。特に主要成分である LPC 量の変動については Fig. 4 に示した。

小麦粉と 40°C の懸濁状態の場合は、LPC の量は NSL では 50~60 (μg/g 小麦粉) であったが、SL では 223~238 (μg/g 小麦粉) と 4 倍高かった。SL の LPC 量は、小麦粉と懸濁液 40°C 5 分では 200 (μg/g 小麦粉) 以上だったが、60°C から 80°C まで各 5 分間処理した場合は熱抽出 LPC 量が約 100 (μg/g 小麦粉) 以下に減少し、ほぼ一定であった (Fig. 4)。しかし、90°C になると LPC 量は増大し始め、最高粘度に達した後粘度が低下する状態の 90°C で 5 分間処理では、再び熱抽出 LPC 量が常温抽出 LPC 量を上回った。また、LPE についても、LPC と同様に変動した。すなわち、60°C から 80°C まで各 5 分間処理した場合は、熱抽出 LPE 量よりも 2~3 倍ほど常温抽出 LPE 量が高かった

Table 1 Composition of phospholipid extracted from the wheat flour pastes prepared by RVA
(phosphorus $\mu\text{g/g}$ wheat flour).

Final Temp. Holding Time	Wheat Flour		40°C		60°C		70°C		80°C		90°C									
	RT (NSL)	HOT (SL)	RT (NSL)	HOT (SL)	RT (NSL)	HOT (SL)	RT (NSL)	HOT (SL)	RT (NSL)	HOT (SL)	RT (NSL)	HOT (SL)								
													5 min	0 min	5 min	0 min	5 min	0 min	5 min	0 min
LPC	48.9	238.4	60.7	223.5	169.2	128.8	219.9	85.1	210.3	95.7	215.8	93.9	188.8	93.0	206.9	101.2	169.6	122.7	117.0	173.2
PC+LPS	5.7	1.4	5.3	2.6	6.5	T	9.4	1.2	6.2	T	7.8	T	11.6	1.1	8.6	2.8	9.5	3.2	4.7	5.0
LPE	4.7	32.6	6.1	25.6	21.5	15.3	27.7	9.4	26.8	10.0	26.3	9.7	13.0	9.7	19.4	7.0	22.2	12.5	16.8	18.4
PI+LPG	2.5	5.6	2.9	5.7	4.5	4.4	5.9	3.2	4.5	3.0	5.2	4.1	6.3	4.5	7.4	6.2	6.5	6.0	3.9	7.9
PE+PG	2.4	T	2.4	1.1	1.4	T	2.9	T	1.6	T	2.1	T	3.8	T	2.6	T	4.8	T	1.2	T
Acyl LPE	16.4	T	14.4	T	12.3	T	24.5	T	22.8	T	15.7	T	18.7	1.1	17.2	1.8	16.6	2.6	9.9	7.3
Acyl PE	19.3	T	18.2	1.1	24.7	T	21.6	T	17.7	1.2	23.0	T	17.8	T	23.0	T	20.8	2.2	16.4	7.6

Values are means. ($n=3-4$)

T : less than $1\mu\text{g}$

See legends of Figs. 2 and 3. After developing of TLC, individual phospholipid was identified by exposure to iodine vapor, scraped, and phosphorus was determined using the method of Keenan *et al.*¹⁶⁾

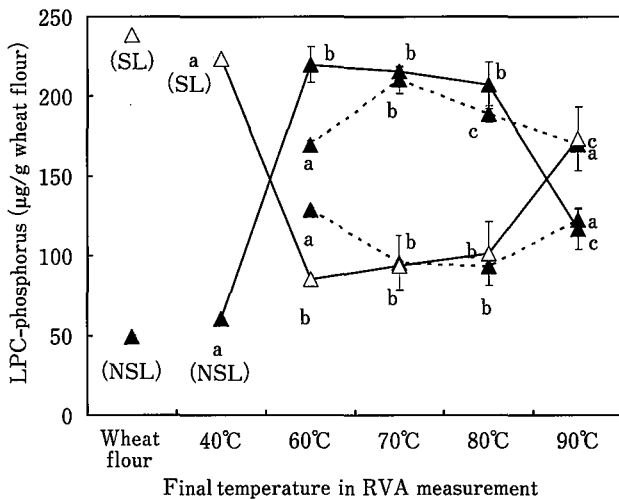


Fig. 4 Change in LPC extracted from wheat flour pastes prepared by RVA ($\mu\text{g/g}$ wheat flour)

These data are from the data of Table 1. See legend of Fig. 2.

が、最高粘度に達した後の粘度低下中では熱抽出 LPE 量が増加し、常温抽出 LPE 量とほぼ同じになった (Table 1).

LPS と PC 画分および PI と LPG 画分は、量的にはいずれも $10 (\mu\text{g/g}$ 小麦粉) 以下と少ない (Table 1). 熱抽出では、Dittmer 試薬による発色は LPG 相当部分が、また、ニンヒドリン試薬による発色では LPS 相当部分が常温抽出の場合に比べて相対的に濃かった。恐らく、先に述べた LPC や LPE と基本的には同じ変動をしていると推測された。

一方、Acyl タイプの PE は、常温では小麦粉から 90°C 0 分まで約 $40 (\mu\text{g/g}$ 小麦粉) で、 90°C 5 分処理試料では約 $25 (\mu\text{g/g}$ 小麦粉) であった。熱抽出では、 90°C 0 分で約 $5 (\mu\text{g/g}$ 小麦粉) および 5 分処理試料では約 $15 (\mu\text{g/g}$ 小麦

粉) であった。これら常温抽出と熱抽出を合計すると約 $40 (\mu\text{g/g}$ 小麦粉) であった。従って、この Acyl タイプの PE は最高粘度に達する前後の糊で初めて熱抽出画分に存在し、上述した LPL とは違った動態を示した。

4. 小麦粉懸濁液の糊化過程における LPC の脂肪酸組成の変化

Table 1 の結果から LPC が糊化過程で大きく変動しているの、LPC の脂肪酸組成を調べた (Table 2).

その結果、主に飽和脂肪酸のパルミチン酸、ステアリン酸、モノ不飽和脂肪酸のオレイン酸、多価不飽和脂肪酸のリノール酸と α -リノレン酸から構成されていた。小麦粉の場合は、NSL と SL の間で大きな差はなかった。パルミチン酸は約 42% (wt%) と約 43%、リノール酸は NSL でやや高く約 48%、SL で約 44% であった。小麦粉懸濁液が最高粘度に達した後の粘度低下中の 90°C 5 分処理では、常温抽出および熱抽出 LPC の脂肪酸組成は、小麦粉の場合と大体同じであった。ところが、常温抽出で LPC 量が高く、熱抽出で低い 80°C 5 分の条件下では (Fig. 4), 熱抽出 LPC のパルミチン酸の割合は、小麦粉や 90°C 5 分の場合より高く約 56% であり、リノール酸は約 28% であった。常温抽出 LPC のリノール酸は約 53% と熱抽出の 2 倍近く高く、パルミチン酸は約 37% であった。

考 察

小麦粉脂質の動態に関しては、Chung らが生地の混捏中の変動について研究しているが⁴⁾¹⁰⁾、糊化した小麦粉について、NSL と SL の比較を行った報告はほとんどない。NSL と SL の動態を調べることは、小麦粉懸濁液の糊化過程における澱粉、タンパク質および脂質の相互作用の解明の一助になるものと思われる。

小麦粉の NSL において、PC, LPC の割合は、それぞれ

Table 2 Fatty acid composition of lysophosphatidylcholine extracted from wheat flour and its paste prepared by RVA (wt%)

Fatty acid	Wheat Flour		Held at 80°C for 5 min		Held at 90°C for 5 min	
	RT (NSL)	HOT (SL)	RT	HOT	RT	HOT
Palmitic	42.2±1.6	43.1±0.2	37.2±0.7	56.5±0.4*	36.6±0.3	46.6±1.9*
Stearic	1.2±0.0	1.4±0.0	0.7±0.1	3.2±0.2*	0.8±0.0	2.0±0.2
Oleic	5.8±0.2	8.4±0.1*	6.9±0.3	11.1±0.3*	6.8±0.1	9.4±0.3*
Linoleic	48.1±1.5	44.4±0.2*	51.9±0.7	28.0±0.1*	52.6±0.4	40.0±2.1
α-Linolenic	2.6±0.1	2.7±0.0	3.3±0.1	1.2±0.1*	3.3±0.0	2.0±0.3*

Values are means ±SD. (n=3-4)

*: There are significant different between RT and HOT. (p<0.05)

See legends of Fig. 3 and Table 1. After separating phospholipids by TLC, the TLC plate was placed for 5 h to remove the developing solvent. The part assigned to be LPC was scraped. The fatty acid of the LPC in the silica gel powder was methylated using the methods of Ishinaga *et al.*¹³⁾ and Dougherty *et al.*¹⁷⁾.

約6%と約49%で (Table 1), 報告されている平均的な値約29%と約12% (文献4の表59から算出) とかなり異なり, LPCの割合が高くなっている. ClaytonとMorrisonらは, 小麦粉の保存状態が悪いとPCの割合は減少し, LPCの割合は増加することを報告し, その要因としてホスホリパーゼA2の作用を推測した¹⁹⁾. NSLに特徴的なAcylタイプPEは約36%でやや文献値より低い値を示した. NSLのリン脂質組成は小麦粉の品種によっても違っている^{21,19)}. 本研究の小麦粉試料は, 劣化を避けるために購入後サンプル瓶に小分けをして5°Cの冷暗所に保存して使用した. 従って, 購入時点で既にLPCの割合がPCより高かったものと考えられる. 一方, SLの場合は, 95%以上がLPLであり, LPCが約86%を占めており (Table 1), 文献値と類似していた⁴⁾. LPC-Pi量からLPC量への換算係数を16.5¹²⁾, 小麦粉の水分含量を14.3%とした場合, LPCの量は乾燥重量1g当たり約5.5mgになるので, 文献値5.0から8.6mgの範囲であった⁴⁾.

小麦粉懸濁液の粘度上昇温度が62°Cで (Fig. 1), 粘度が急激に上昇している70°Cから80°Cの状態では, 熱抽出のPL-Piが著しく減少し, 逆に常温抽出のPL-Piが増加し, 小麦粉の場合とは逆転した (Fig. 3). Table 1とFig. 4に示したように, LPL特にLPCの抽出状態が特に大きく変動し, 100 (µg/g小麦粉) 以上の熱抽出LPCが常温抽出画分に移動し, 80°C 0分の熱抽出画分にLPC等のリン脂質の増加は観察されていない. それゆえ, 小麦粉から80°C 0分までの熱抽出のリン脂質は全てSLと見なすことができる. SLであるLPLが減少し, 常温抽出画分で増加した理由として, 次の様に推論した.

生澱粉の場合は, 糊化・膨潤した澱粉に比較してかなり緻密な構造をもって組織化されており²⁰⁾, その中にアミロースと複合体を形成していないLPC (Table 1から約145µgすなわち約60%と算出された) が存在していると考えられる. このLPCが, 澱粉粒の水和・膨潤により組織

化されていた構造が崩れ, 常温で抽出されやすくなったと思われる. 今までの概念から言えば, この場合のLPCも粉の場合には熱抽出されるので, SLと見なされる. 他方, 70°C~80°C処理試料中のSL中のLPCは大体100 (µg/g小麦粉) で, 粘度の急激な上昇中はほぼ一定であった (Fig. 4). このLPCが既に知られているアミロースと複合体を形成していると推測されたが, このアミロース-LPC複合体とは異なった澱粉脂質複合体も存在している可能性がある. つまり, Eliassonら²¹⁾やVillwockら²²⁾が見いだしているアミロペクチン脂質複合体と同様にアミロペクチン-LPC複合体が小麦澱粉にも存在している可能性も考えられる.

一方, この熱抽出のLPCの脂肪酸組成は, これまで報告されているリノール酸45~50%およびパルミチン酸34-45%とは著しく異なり⁴⁾, Table 2に示したようにリノール酸が約28%, パルミチン酸が約54%で飽和脂肪酸が著しく高かった. このことは, これまで報告されていたLPCの脂肪酸組成は, 澱粉粒中の澱粉-LPC複合体のLPCと複合体を形成していないLPCの混合物の脂肪酸組成だと思われる. 一方, アミロースと脂質との複合体を用いた実験では, 熱安定性やアミロースによる分解性の点から飽和脂肪酸からなるモノアシルグリセリドが, 不飽和脂肪酸からなるモノアシルグリセリドより熱に対して安定で酵素の分解を受けにくい複合体を形成することが示されているので²³⁾, 70°C~80°C処理試料中のSL中のLPCが本来のアミロースLPC複合体か, あるいはアミロペクチン-LPC複合体も含んだ澱粉脂質複合体ではないかと推測された.

最高粘度に達する前後に再びPL-Pi量に変化が見られた. すなわち, 常温抽出画分のPL-Pi量が減少し, 逆に熱抽出画分のPL-Pi量が増大し始め, 最高粘度に達した後逆転した (Fig. 3). これは主としてLPCが常温抽出画分から熱抽出画分に移動したためであり (Fig. 4), 他のLPLの場合も同様であった (Table 1). 粘度急上昇中の糊液の

熱抽出画分には混入程度しか存在していなかった NSL である Acyl タイプ PE が常温抽出画分から熱抽出画分に移動した (Table 1)。

最高粘度に達する前後に上記のような現象が観察されたが、この時糊液中にはアミロペクチン、アミロース、アミロース脂質複合体、解離した LPL や崩壊澱粉粒および崩壊していない僅かの澱粉粒が混在している。同時にスフェロゾームやアミロプラスト等の膜断片、更には小麦タンパク質も共存している。90°C 付近でこれらの全ての物質が、あるいはいくつかの物質が複合体や凝集体を形成し、その中に LPL や AcylPE あるいはこれらの脂質を含む膜断片が取り込まれて、常温では抽出されにくい状態になったと推測される。

今回得られた現象が、NSL である糖脂質にも観察されるのか、あるいは小麦粉の他の種類や小麦粉澱粉にも同様の現象が観察されるかどうか今後検討する予定であり、タンパク質の関わりについても明らかにできるものと思われる。

要 約

小麦粉懸濁液の糊化過程におけるリン脂質の動態について、ラピッドビスコアナライザーを用いて調べた。小麦粉や懸濁状態では、水飽和 *n*-ブタノールによる熱 (沸騰水) 抽出リン脂質量が常温抽出量を上回っていた。特にリゾレンチン (LPC) 量は常温抽出より熱抽出の方が 4 から 5 倍高かった。しかし、小麦粉糊液では、逆に常温抽出 LPC 量が熱抽出より高くなり、熱抽出の LPC 量は粘度上昇中ほぼ一定であった。しかし、最高粘度に達した後、粘度が低下する段階では再び熱抽出量が常温抽出量より高くなった。他のリゾリン脂質も似たような変動を示した。

また、糊化状態では、熱抽出 LPC のパルミチン酸の割合は 56.5%、常温抽出では 37.2% だったが、リノール酸の割合は熱抽出で 28%、常温抽出で 51.9% であった。一方、*n*-acylphosphatidylethanolamine (AcylPE) と *n*-acyllyso-phosphatidylethanolamine (AcylLPE) は小麦粉や糊化過程では、常温抽出でしか抽出されなかったが、最高粘度に達した後、粘度が低下する段階では、常温抽出と熱抽出で抽出された。

以上のことから、小麦粉懸濁液の糊化過程において、LPC 等のリゾリン脂質と AcylPE および AcylLPE が変動することが明らかとなった。この結果は、小麦粉の糊化のメカニズムについて新たな情報を提供するものである。

文 献

- 1) Chung, O.K., Ohm, J.-B., Ram, M.S., Park, S.-H. and Howitt, C.A., Wheat lipids. In "Wheat-Chemistry and Technology, 4th ed.", eds. Khan, K. and Shewry, P.R. AACC International, pp. 363-399 (2009).
- 2) Morrison, W.R. and Hargin K.D., Distribution of soft

- wheat kernel lipids into flour milling fractions. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 579-587 (1981).
- 3) Konopka, I., Czaplicki, S. and Rotkiewicz D., Differences in content and composition of free lipids and carotenoids in flour of spring and winter wheat cultivated in Poland. *Food Chem.*, **95**, 290-300 (2006).
- 4) Chung, O.K. and Ohm, J.-B., Cereal Lipids. In "Handbook of cereal science and technology, 2nd ed.", eds. Kulp, K. and Ponte, J.G. Marcel Dekker, pp. 417-477 (2000).
- 5) Takahashi, S. and Seib, P.A., Paste and gel properties of prime corn and wheat starches with and without native lipids. *Cereal Chem.*, **65**, 474-483 (1988).
- 6) Morrison, W.R., Starch lipids and how they related to starch granule structure and functionality. *Cereal Foods World*, **40**, 437-446 (1995).
- 7) Siswoyo, T.A. and Morita, N., Thermal properties of partially hydrolyzed starch- glycerophosphatidylcholine complexes with various acyl chains. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3162-3167 (2003).
- 8) Eliasson, A.C. and Wahgren, M., Starch-lipid interactions and their relevance in food products. In "Starch in Food : Structure, Function and Applications," edit. Eliasson, A.-C., CRC Press, pp. 441-460 (2004).
- 9) Gelders, G.G., Goesaert, H. and Decour, J.A., Amylose-lipid complexes as controlled lipid release agents during starch gelatinization and pasting. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 1493-1499 (2006).
- 10) Chung, O.K. and Tsen, C.C., Changes in lipid binding and distribution during dough mixing. *Cereal Chem.*, **52**, 533-548 (1975).
- 11) Chung, O.K. and Tsen, C.C., Changes in lipid binding and protein extractability during dough mixing in presence of surfactants. *Cereal Chem.*, **52**, 549-560 (1975).
- 12) Morrison, W.R., Mann, D.L., Soon, W. and Coventy, A.M., Selective extraction and quantitative analysis of non-starch and starch lipids from wheat flour. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 507-521 (1975).
- 13) Ishinaga, M., Sato, J., Kitagawa, Y., Sugimoto, E. and Kito, M., Perturbation of phospholipid metabolism by erucic acid in male Sprague-Dawley rat heart. *J. Biochem.*, **92**, 253-263 (1982).
- 14) Juaneda, P. and Rocquelin, G., Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. *Lipids*, **20**, 40-41 (1985).
- 15) Bartlett, G.R., Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, **34**, 466-468 (1959).
- 16) Keenan, R.W., Schmidt, G. and Tanaka, T., Quantitative determination of phosphatidyl ethanolamine and other phosphatides in various tissues of the rat. *Anal. Biochem.*, **23**, 555-566 (1968).
- 17) Dougherty, R.M., Galli, C., Ferro-Luzzi, A. and Iacono, J. M., Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells, and platelets and how they are affected by dietary lipids : a study of normal subjects from Italy, Finland, and the USA. *Am. J. Clinical Nutrition*, **45**, 443-455 (1987).
- 18) Cornell, H., The functionality of wheat. In "Starch in Food : Structure, Function and Applications," edit. Eliasson, A.-C. CRC Press, pp. 211-240 (2004).
- 19) Clayton, T.A. and Morrison, W.R., Changes in flour lipids during the storage of wheat flour. *J. Sci. Food Agric.*, **23**, 721-736 (1972).

- 20) 不破英次, 澱粉の生合成と分解澱, 「澱粉科学の事典」, 不破英次ら編, (朝倉書店, 東京), pp. 75-80 (2003).
- 21) Eliasson, A.-C., Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica acta.*, **246**, 343-356 (1994).
- 22) Villwock, V.K., Eliasson, A.-C., Silverio, J. and BeMiller, J.N., Starch-lipid interactions in common, waxy, ae du, and ae su2 maize starches examined by differential scanning calorimetry. *Cereal Chem.*, **76**, 292-298 (1999).
- 23) Eliasson, A.-C. and Krog, N., Physical properties of amylose-monoglyceride complexes. *J. Cereal Sci.*, **3**, 239-248 (1985).

(平成 21 年 10 月 16 日受付, 平成 22 年 3 月 26 日受理)