食品工業で利用可能な酵素および水代替物を利用した 機能性脂肪酸含有リン脂質の調製

県立広島大学生命環境学部生命科学科・准教授 山本 幸弘

■ 目的

リン脂質は優れた生体親和性と乳化特性を有するため、食品乳化剤としての利用が期待できるが、構成脂肪酸として高度不飽和脂肪酸や中鎖脂肪酸といった機能性脂肪酸を増やすことで、栄養機能向上も期待される。リン脂質の機能改善の手段としては温和な環境で特異的な反応を進めることが出来る酵素を触媒として用いた例が多くあるが、食品工業での利用が難しい酵素を用いた例や毒性の強い有機溶媒中での検討例が多く、実用化に至っていないのが現状である。申請者は先行研究にて食品工業での応用が可能なリパーゼを用いた高度不飽和脂肪酸含有リン脂質の調製について報告しているが、系中の水分量の調節や反応溶媒に問題点があった。本研究では食品工業での利用が可能な酵素や水代替物を利用した機能性脂肪酸含有リン脂質の調製条件の確立を主な目的とした。

■ 方法

アシル基交換反応:大豆由来ホスファチジルコリン(PC)0.5mmol とステアリン酸エチル(St-Et)をアシル基比(St-Et/PC)が 7 となるように加え、3.25mL のヘキサンに溶解した。さらに水あるいは水代替物としてホルムアミドを所定量添加し、リパーゼ OF(Candida cylindracea 由来) 0.55×10^5 U を加え、 37° C、900rpm で 24h 撹拌した。得られた反応混合物はイアトロスキャンを用いた TLC-FID 分析により脂質組成を調べ、さらに分画したリン脂質区分の St 導入率をガスクロマトフラフィーにより算出した。

■ 結果および考察

まず、アシル基交換反応における水添加量の影響を調べた。各水添加量において、PL区分の脂質組成を調べたところ、添加量 0.4%までは PC100%であり、0.5%以上で急激に PC 量が減少した。それに伴って、加水分解生成物であるリゾ PC (LPC)およびグリセロホスホコリン (GPC)の生成が確認された。一方、St の導入は、水添加量 0.5%以上で確認され、その後添加量に伴い上昇し、1.0%において導入率は 25.3%となった。これらの結果から、水添加量 0.5%未満では酵素は十分に活性化されず、0.5%以上で活性化して交換反応が起こることがわかった。ただし導入の確認された条件では加水分解反応が優位であり、水添加量 1.0%のときの PC 量は 8.4%であった。そこで、水の代わりにホルムアミドを水 1%添加量と等モル量 (eq.mol)添加したところ、加水分解反応は抑えられたが、導入が確認されなかった。従って、ホルムアミドだけでは酵素の活性化が不十分と考え、水 1.0%を添加した反応系に対して最大で 1.0eq.mol まで添加した。その結果、添加量 0.25eq.mol のとき PC 量 23.6%で 38.2%の St 導入率を得た。ここで、水 1.0%添加系と水 1.0%+ホルムアミド 0.25eq.mol 添加系の反応初期における加水分解速度とアシル基交換速度を比較したところ、両系で交換速度はほとんど変わらないが、水 1.0%+ホルムアミド 0.25eq.mol 添加系の加水分解速度が水 1.0%添加系に比べ約半分に低下していることがわかった。つまりホルムアミドは、加水分解速度を抑える一方、アシル基交換速度に影響を与えないことが示された。

■ 結 語

本研究では、酵素を用いたアシル基交換反応における水代替物の作用を一部明らかにした。しかし収率は低く、またホルムアミドは食品工業での使用が難しいため、グリセリンやプロピレングリコールなどの工業的に利用可能な化合物を用いた詳細な検討が今後の研究課題と考える。