

分離大豆たん白質の脂質の貯蔵中の変化

CHANGES IN LIPIDS DURING SPI STORAGE

藤巻正生・本間清一・中山玲子・相田 浩（お茶の水女子大学家政学部）

Masao FUJIMAKI, Seiichi HOMMA, Reiko NAKAYAMA and Ko AIDA

Department of Nutrition and Food Science, Ochanomizu University, Tokyo 112

ABSTRACT

Trace amounts of lipids in defatted soy bean and soy protein isolate were extracted with 86% ethanol. The work was focused on the polar lipids such as glycolipid and phospholipid. The extracted lipids were applied on a silicic acid column, and then successively eluted with chloroform (simple lipid), acetone (glycolipid) and methanol (phospholipid). The simple lipid fraction was subjected to HPLC with a reverse phase column of Lichrosorb RP-18 to determine triglyceride composition. The significant difference was not found among the chromatograms of soy bean oil, defatted soy meal and soy protein isolate. The amount of glycolipid fraction of soy protein isolate was almost similar to that of defatted soy meal. This fraction was analyzed by TLC on silica gel, and four spots were detected with α -naphthol reagent. These soy products were allowed to stand at 40°C for one month under RH 30 or 70%. The storage resulted in the decrease in the amounts of glycolipid fraction of the soy protein isolate under both RH 30 and 70% storages, and these fractions gave similar four spots positive with α -naphthol reagent to those of the 4°C storage sample. A little increase was found in the amount of glycolipid fraction of the defatted soy meal stored under RH 70% in which only one spot was detected with α -naphthol reagent. The phospholipid fraction was analyzed by TLC and detected with Dittmer's reagent. The four phospholipids were found in both samples. Their amounts were large in phosphatidylcholine and phosphatidylinositol, followed phosphatidylethanolamine and phosphatidic acid. The amounts of phospholipid fraction of defatted soy meal and soy protein isolate were reduced by the storages of both RH 30 and 70%. The distinct degradation was found in the phospholipid fraction of soy protein isolate stored under RH 70% among the three fractions separated, and phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine were remarkably reduced. The apparent increase in the simple lipid and glycolipid fractions of the defatted soy meal stored under RH 70% seems to be caused by the formation of oxidized products from phospholipid, which in turn were eluted into these two fractions of silicic acid column chromatography according to their polarity. The degradation of lipid was more remarkable in defatted soy meal than in soy protein isolate, and it is due to enzymes, as lipoxygenase still active in the defatted soy meal, which would catalyze the oxidation of lipid under high RH. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 7, 5-8, 1986.

分離大豆たん白質には微量ではあるが脂質が残存しており¹⁾、貯蔵中に酸化され豆臭を生ずる原因^{2,3)}とな

る。豆臭を生ずる脂質組成を明らかにし、その貯蔵中の変化を調べることを目的とした。

実 験 方 法

実験材料

同じ原料大豆から調製した脱脂大豆粉、分離大豆たん白質、大豆油を不二製油株式会社より入手した。

脂質の抽出

分離大豆たん白質について(1)たん白質分解酵素、モルシンにより加水分解したのち、ブタノールあるいはクロロホルム-メタノール(2:1)で抽出。(2)たん白質を直接86%エタノールあるいはクロロホルム-メタノール(2:1)により抽出した。とくに、クロロホルム-メタノール抽出の場合、食塩水を加えて分離するクロロホルム層を分けとり脱水した。何れの抽出法も抽出液を減圧濃縮してからエーテルを加え可溶化した物質を脂質画分とした。各脂質をシリカゲル TLC で展開し、硫酸、Dittmer 試薬、ローダミン 6 G、ジクロロフルオレッセインの各検出試薬で発色したスポット数を比較検討した。

脂質の分画

脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィー⁴⁾にかけ、クロロホルム溶出物を単純脂質、アセトン溶出物を糖脂質、メタノール溶出物をリン脂質画分とした。

(1) 単純脂質

主要脂質はトリグリセリドであるから Lichrosorb RP-18 逆相系カラムを用いた HPLC によりトリグリ

セリドの分子種のパターンを比較した⁵⁾。検出は RI によった。

(2) 糖脂質

シリカゲル TLC により展開し、 α -ナフトール硫酸で発色した。

(3) リン脂質⁶⁾

シリカゲル TLC をもちい一次元展開をクロロホルム-メタノール-28%アンモニア水(65:30:4)、二次元展開をクロロホルム-メタノール-酢酸-水(170:25:25:4)でおこなった。

貯蔵の脂質組成に及ぼす影響

脱脂大豆粉と分離大豆たん白質を40℃にて、RH 30%、70% 下に1ヶ月間貯蔵した。対照として0℃に貯蔵した試料をもちいた。

結果および考察

脂質の抽出方法の検討

分離大豆たん白質について、(1)たん白質分解酵素、モルシンにより加水分解したのち、ブタノールあるいはクロロホルム-メタノール(2:1)で抽出。(2)たん白質を直接86%エタノールあるいはクロロホルム-メタノール(2:1)により抽出した。それぞれの脂質をシリカゲル TLC で展開し、硫酸、Dittmer 試薬、ローダミン 6 G、ジクロロフルオレッセインの各検出試薬で発色したスポット数を比較検討したところ、86

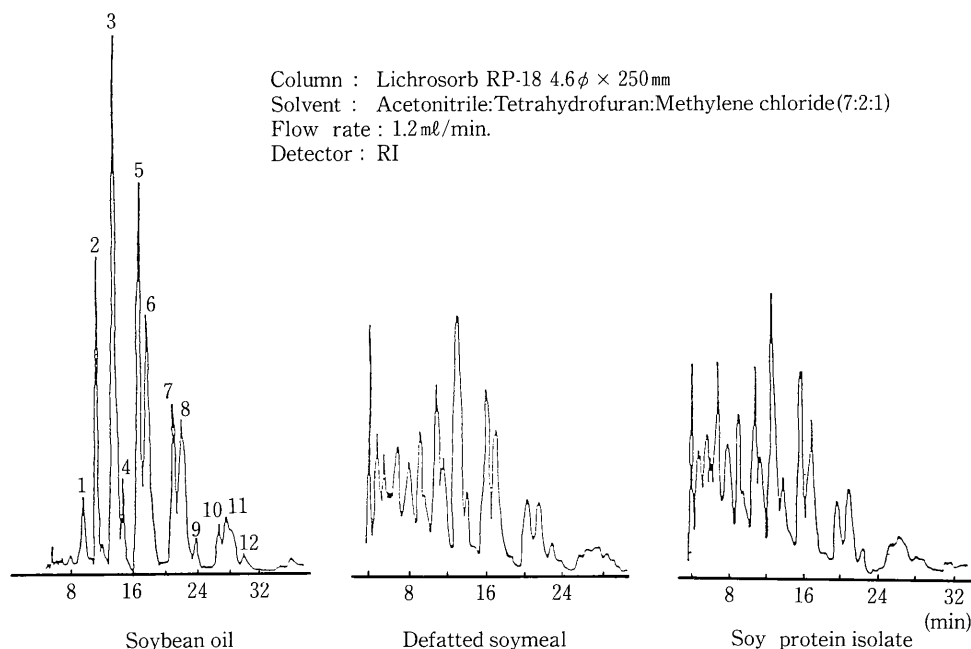


Fig. 1. HPLC profiles of triglyceride in soy products.

%エタノール抽出物が最も適していることをみとめた。今回の結果は86%エタノール抽出により得た脂質の分析結果である。100 gあたりの脂質含量は、脱脂大豆では2.653 g, 分離大豆たん白質では2.068 gであった。

脂質の分画

脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィー⁴⁾にかけ、単純脂質, 糖脂質, リン脂質に分画した。

(1) 単純脂質

主要脂質はトリグリセリドであるから, HPLC によりトリグリセリドの分子種のパターンを比較した⁵⁾。検出は RI によった。その結果, Fig. 1 に示したように, ピーク 1 (Dilinoleoylmonolinolenoylglyceride) より早く溶出される極性の高い成分が脱脂大豆粉, 分離大豆たん白質にみとめられるが, それ以降のトリグリセリドの分子種を示すパターンは大豆油, 脱脂大豆粉, 分離たん白質とも殆ど同じであるから, 微量に残存しているトリグリセリド成分と大豆油の間に相違は

認められない。

(2) 糖脂質

シリカゲル TLC により展開し, α -ナフトール硫酸で発色すると 4 成分の糖のスポットを認めた。糖の種類は NaBH_4 による還元後アセチル化し GLC により目下検討中である。

(3) リン脂質⁶⁾

シリカゲル TLC をもちい二次元展開し, Dittmer 試薬を噴霧すると, ホスファチジン酸, ホスファチジルイノシトール, ホスファチジルコリン, ホスファチジルエタノールアミンの 4 スポットが明瞭に分離し, 未同定の 2 スポットを認めた。Table 1 にリン脂質の含量を示した。これら 4 種類のリン脂質の含量を総計しても, リン脂質画分の 10—20% を占めるにすぎない。これは又, リン脂質画分を発色させた場合 Dittmer 試薬に陰性であるが, 硫酸で発色する成分が多量に存在することと一致する。

Table 1. Effect of storage on lipid composition of soy products

Soy products	Storage condition*	Simple lipid	Glycolipid	Phospholipid	(g/100 g) **
Defatted soy meal	4 °C	0.24	0.28	1.77	
	40°C, RH 30%	0.19	0.24	1.29	
	40°C, RH 70%	0.45	0.36	0.34	
Soy protein isolate	4 °C	0.29	0.36	1.37	
	40°C, RH 30%	0.20	0.35	0.85	
	40°C, RH 70%	0.18	0.22	0.73	

*Soy products were allowed to stand at 40°C, RH 30 or 70% for 1 month.

**The amount of lipid is shown by gram per 100 g soy product.

貯蔵の脂質組成に及ぼす影響

脱脂大豆粉と分離大豆たん白質を40°Cにて, RH 30 %, 70%下に1ヶ月間貯蔵した。糖脂質は分離大豆たん白質がやや多く, リン脂質は脱脂大豆粉がやや多い傾向を示した。貯蔵に伴いリン脂質画分は脱脂大豆粉, 分離大豆たん白質いずれにおいても顕著に減少した。

脱脂大豆粉では RH 30 %では脂質組成の変化は少なく酸化臭の発生も少ない。対照 (4 °C) と比較すると, RH 30%貯蔵は各脂質成分の量的変化も少ない。RH 70%貯蔵では単純脂質, 糖脂質とも僅かに増加する。その糖脂質画分の内容を TLC でしらべると, α -ナフトール硫酸で検出されるスポットは1個に減少している。したがってこの画分の量的変化は糖脂質そのものの量を反映せず脂質の酸化生成物に由来する。貯蔵に伴うリン脂質の減少は著しい。ホスファチジルコリン, ホスファチジルエタノールアミンが著しく減少し, ホ

スファチジルイノシトールが半減した。

一方, 分離大豆たん白質においては, RH 30%の貯蔵では, リン脂質を除いた各脂質画分の量的変化は少ない。RH 70%の貯蔵では各脂質画分の量は対照より減少した。糖脂質の TLC パターンをみると, α -ナフトール硫酸に陽性のスポットは4個であり, 相当量の糖脂質が未変化のままであるから, 脱脂大豆粉とは明らかに異なった要因が関与している。また, リン脂質の組成を見ると (Table 2), ホスファチジルエタノールアミンが38 mg %から17.5 mg %へと最も減少した。次いで, ホスファチジン酸, ホスファチジルコリン, ホスファチジルイノシトールの順である。脱脂大豆粉の変化⁷⁾と比較するとホスファチジルエタノールアミン, ホスファチジルコリンの減少量も少なく, TLC により分画して定量したリン脂質総量も多い。

このように, RH70 %の貯蔵試験において脱脂大豆

Table 2. Effect of storage on phospholipid composition of soy products

Soy products	Storage condition*	Phosphatidyl ethanolamine	Phosphatidyl choline	Phosphatidic acid	Phosphatidyl inositol	Total (mg/100 g)**
Defatted soy meal	4 °C	15.6	86.0	20.0	41.5	163.1
	40°C, R H 30%	15.3	63.7	18.3	35.5	132.8
	40°C, R H 70%	2.8	3.2	16.1	21.8	43.9
Soy protein isolate	4 °C	38.0	84.1	29.8	37.6	189.5
	40°C, R H 30%	22.1	60.1	22.5	39.6	144.3
	40°C, R H 70%	17.5	64.9	20.4	27.9	131.0

*Soy products were allowed to stand at 40°C, R H 30 or 70% for 1 month.

**The amount of phospholipid is shown by mg per 100 g soy product.

粉と分離大豆たん白質の脂質画分に顕著な差がでる原因の一つに、脱脂大豆粉中ではリポキシゲナーゼなどの脂質の分解に与る酵素が酸化を触媒するからであり、R Hが高い時に顕著にその触媒効果が発揮される。リン脂質および糖脂質の分解が著しいにかかわらず、単純脂質と糖脂質の収量が増加するのはリン脂質の分解物の極性の程度に応じてケイ酸カラムクロマトグラフィーに際して単純脂質あるいは糖脂質画分に混入し、これらの画分の収量が多くなったためである。

文 献

- 1) Maga, J. A. and Johnson, J. A.(1972) : Effect of processing and storage conditions on lipid composition of soy products. *Cereal Chem.*, **49**, 79-85.
- 2) Smouse, T. H.(1979) : A Review of Soybean Oil Reversion Flavour. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 747A-751A.
- 3) 本間清一, 相田 浩, 藤巻正生(1985) : 分離大豆たん白質中の脂質成分と豆臭との関係. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **6**, 7-10.
- 4) Kates, M.(1975) : Techniques of Lipidology. (North-Holland Publiscing Company) pp. 398-401.
- 5) 無類井建夫, 渡辺 等(1979) : 高速液体クロマトグラフィーの油脂分析への応用. 油化学, **28**, 461-467.
- 6) Rouser, S. A. N. and Fleischer, S.(1966) : Quantitative analysis of phospholipids by thin layer chromatography and phosphorus analysis of spots. *Lipid* **1**, 85-86.
- 7) Chapman, G. W. Jr., and Robertson, J. A. (1979) : Changes in phospholipid levels during high moisture storage of soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**, 195-198.