

分離大豆たん白質の貯蔵中における脂質成分の変化

CHANGES IN LIPIDS OF SOY PROTEIN ISOLATE DURING STORAGE

藤巻正生・本間清一（お茶の水女子大学家政学部）

Masao FUJIMAKI and Seiichi HOMMA

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

ABSTRACT

Soy products, defatted soy meal and soy protein isolate, were allowed to stand at 40°C for 1 and 3 months under relative humidity (RH) 30 and 70%. Trace amounts of lipids in these soy products were extracted with 86% ethanol. The extracted lipids were applied on a silicic acid column, and then successively eluted with chloroform (simple lipid), acetone (glycolipid) and methanol (phospholipid). 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 7 spots were detected with alpha-naphthol reagent. The storage condition of RH 70% resulted in the increase of the amount of glycolipid fraction of the defatted soy meal. The amounts of glucose and galactose in this fraction were found to be slightly reduced compared to the control. It follows that the increased amount of this fraction was due to the oxidized products eluted in the glycolipid fraction and that glycolipid stored was rather stable against autooxidation. The phospholipid fraction was analyzed by TLC and detected with Dittmer's reagent. Four phospholipids, namely phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl inositol and phosphatidic acid were found in both samples. Their amounts were large in phosphatidyl-choline. The amount of phospholipid fraction of defatted soy meal was reduced by storage at 70% RH. Distinct degradation was found in the phospholipids of defatted soy meal and soy protein isolate stored under 70% RH. The degradation of lipids was more remarkable in defatted soy meal than in soy protein isolate, and it is due to lipoxygenase which would catalyze the oxidation of lipids under high RH. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 5-8, 1987.

分離大豆たん白質には約2%の脂質が含まれ、貯蔵中に酸化され豆臭を生成する原因になる¹⁻³⁾。本研究は昨年と同様に分離大豆たん白質の貯蔵中における脂質の酸化に対処することを目的としてその脂質組成をしらべた。そして、分離大豆たん白質の貯蔵試験を行い、実際に減少しやすい脂質成分をしらべ、原料である脱脂大豆粉と比較した。

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と分離大豆たん白質（フジプロR）を不二製油株式会社より入手した。

貯蔵試験

試験は40°Cで飽和NaNO₃（RH 70%）、あるいはMgCl₂（RH 30%）溶液によりRHを一定に保ったデ

シケーターに入れた。

脂質の抽出

昨年度の研究⁴⁾において、たん白質をモルシンにより加水分解してからクロロホルム-メタノール (2:1) またはブタノールで抽出すると、エマルジョンを形成し、その層を分離するため時間を費し、その間に酸化も徐々に進行するようであった。そこで本年度は、分離大豆たん白質、脱脂大豆粉とも100gを400 mlの86%エタノールと5分間ホモジナイズした。遠心分離により上澄をとり、残渣をさらに2回同様に抽出し、全抽出液をあつめて減圧濃縮した。これにエーテルと水を等量ずつ加えて濃縮残渣を溶かし、エーテル層をとった。水層部にはエーテル200 mlを加え振湯しエーテル層をとり、さらにもう1回同様に抽出した。分離したエーテル層を集め、食塩水で洗い、無水硫酸ナトリウムで1晩脱水した。

脂質の分画

脂質をケイ酸カラム (2×20 cm) クロマトグラフィーにかけ、クロロホルム溶出部を単純脂質画分、アセトン溶出部を糖脂質画分、メタノール溶出部をリン脂質画分とした。

(1) リン脂質の分離と定量

シリカゲル TLC (Merck G-60) で二次元展開した。一次元はクロロホルム-メタノール-28%アンモニア水 (65:30:4)、二次元はクロロホルム-メタノール-酢酸-水 (170:25:25:4) で展開した。

各試料について2枚のTLC板を同時に二次元展開したあと溶媒を十分揮散させた。1枚はDittmer試薬を噴霧してリン脂質を検出、他の1枚はヨードでリン脂質相当の部分を検出した。標準のリン脂質に相当する部位のシリカゲルを剝離し、過酸化水素とともに加熱灰化し、生じた無機リンを比色定量した⁴⁾。

(2) 糖脂質の検索

a. 糖脂質の分離

糖脂質画分をシリカゲル TLC でクロロホルム-メタノール-水 (65:25:4) により展開した。検出は α -ナフトール硫酸を噴霧し青〜赤紫色に発色するものを糖脂質とした。分析用の試料調製は糖脂質画分2~7 mgをシリカゲル TLC (20×20 cm) に細い带状に塗布し上と同様に展開した。展開後検出用の部分のみを α -ナフトール硫酸で発色させ、剝離するシリカゲルの位置を決めた。

b. アセチル化

剝離したシリカゲルをネジ栓付試験管にとり、5% HCl-メタノールを1 ml加え密栓して100℃、4時間ブロックヒーターで加熱した。冷却後遠心分離し上澄を

とり、さらにメタノール0.5 ml加え超音波洗浄器で5分間抽出した。このメタノール溶液をあつめ、水1 ml、クロロホルム2 ml加え、よく振湯し静置した。水層を減圧濃縮し十分乾燥させてからピリジン50 μ lと無水酢酸50 μ lを加え、95℃、1時間加熱した。放冷後Advance-DS on 80/100 Chromosorb Wカラム (2m×3 mm)を用いて225℃定温、N₂ 60 ml/minでガスクロマトグラフィーにより糖を定量した。

c. 糖脂質の脂肪酸組成

5% HCl-メタノールで分解したあとのクロロホルム抽出液を濃縮乾固した。試料をネジ栓付試験管にとり、BF₃/MeOHを0.3 ml、メタノール0.2 mlを加え密栓して30分間、100℃で加熱した。放冷後0.5 ml水、ヘキサン1 ml、内部標準物質としてmethyl margarateを加え、よく振りヘキサン層を分けとり脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフで分析した。

結果と考察

脂質含量の変化

豆臭と褐変は両試料ともRH 70%、3ヶ月間貯蔵のときに強くみとめられた。とくに、脱脂大豆の方が豆臭も褐変も著しいのは低温脱脂大豆粉であるためにリポキシゲナーゼ活性が残存していることに由来すると思われる。

RH 30%貯蔵の試料は外観上の変化はない。

抽出される脂質量は試料の貯蔵にともない減少したが、脱脂大豆粉のリン脂質の減少が著しい (Table 1)。減少した脂質は酸化分解物となりたん白質等と反応し褐変したり、一部は糖脂質画分に溶出されていると推定される。

リン脂質含量の変化

脱脂大豆粉ではRH 70%に貯蔵するとホスファチジン酸 (PA)、ホスファチジルイノシトール (PI)、ホスファチジルコリン (PC)、ホスファチジルエタノールアミン (PE)とも顕著に減少した。RH 30%の貯蔵は脂質の酸化分解を抑制した。4種のリン脂質の中ではホスファチジルコリンの分解が速い (Table 2)。

分離大豆たん白質においてもRH 70%貯蔵で分解が速いが、脱脂大豆粉と比較すると分解速度はおそく、貯蔵1ヶ月では50%以上が残存した。リン脂質の中では、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジン酸の分解が速いのは脱脂大豆粉とは異なる現象であった。

リン脂質画分をTLCで二次元展開し、Dittmer試薬で検出すると4種のリン脂質以外に、R_fの低い未知のスポットが多数検出されたことからリン脂質の分

Table 1. Lipid composition of soy products stored at 40°C

	(g/control 100 g)			
Storage condition	Total lipids	Neutral lipids	Glyco-lipids	Phospho-lipids
Defatted soymeal				
Control	2.65	0.25	0.28	1.77
RH 30%-1M	(1.87)	0.19	0.23	1.26
RH 30%-3M	2.68	0.15	0.29	1.73
RH 70%-1M	1.47	0.45	0.65	0.33
RH 70%-3M	1.32	0.24	0.79	0.16
Soyprotein isolate				
Control	2.07	0.21	0.27	1.02
RH 30%-1M	1.64	0.23	0.41	0.98
RH 30%-3M	1.77	0.19	0.26	1.00
RH 70%-1M	1.69	0.23	0.27	0.92
RH 70%-3M	1.96	0.25	0.26	0.88

Table 2. Phospholipid composition of soy products stored at 40°C

	(mg/100 g control)			
	PA	PI	PC	PE
Defatted soymeal				
Control	21.4	33.3	120.1	12.6
RH 30%-1M	5.4	21.6	64.9	10.2
RH 30%-3M	8.6	20.6	62.5	10.2
RH 70%-1M	3.4	4.0	10.8	0.5
RH 70%-3M	0.9	0.3	1.2	0.3
Soyprotein isolate				
Control	24.3	18.3	83.4	23.4
RH 30%-1M	21.1	14.5	87.6	16.4
RH 30%-3M	20.9	15.7	75.9	15.7
RH 70%-1M	11.2	19.0	60.0	10.3
RH 70%-3M	4.6	4.0	20.9	1.6

PA : Phosphatidic acid

PI : Phosphatidyl inositol

PC : Phosphatidyl choline

PE : Phosphatidyl ethanolamine

解をみとめることができる。

糖脂質の変化

糖脂質画分を TLC で展開すると主要な 4 成分と微量な 3 成分が検出された。その中でジガラクトシルグリセリド標本と一致する成分をみとめた。

a. 糖含量の測定

構成糖としてグルコースとガラクトースが検出され、糖含量は脱脂大豆粉も分離大豆たん白質もほぼ同程度とみとめられる (Table 3)。貯蔵にともなう糖の変化

も少ない。RH 70%貯蔵したときに糖脂質画分が増えるのは他の脂質が酸化され、ケイ酸カラムクロマトグラフィーの糖脂質画分に溶出されたのであろう。

b. 脂肪酸組成

主要な糖脂質成分で単離された 3 成分、即ちジガラクトシルグリセリド、X₁、X₂の脂肪酸組成をしらべた。その結果、ジガラクトシルグリセリドはリノール酸とパルミチン酸が主要であり、その他ステアリン酸とオレイン酸であった。未知成分 X₁、X₂はリノール酸含量が少なく、飽和脂肪酸が多い傾向を示した (Table 4)。

以上の結果から、分離大豆たん白質や脱脂大豆粉を貯蔵した場合、脂質成分の変化はリン脂質において顕著であり、糖脂質は酸化に対して比較的安定であると思われる。脱脂大豆粉ではリボキシゲナーゼの関与がある。

Table 3. Sugar content of glycolipid fraction of soy products stored at 40°C

	(μmol/100 g control)	
	Glucose	Galactose
Defatted soymeal		
Control	100.4	15.6
RH 30%-1M	81.2	11.9
RH 30%-3M	62.5	12.4
RH 70%-1M	87.8	14.5
RH 70%-3M	71.7	-
Soyprotein isolate		
Control	92.9	14.7
RH 30%-1M	52.7	-
RH 30%-3M	90.2	12.6
RH 70%-1M	103.0	13.1
RH 70%-3M	89.0	11.0

Table 4. Major fatty acids in glycolipids of soy products

	C ₁₆₋₀	C ₁₈₋₀	C ₁₈₋₁	C ₁₈₋₂
Digalactocyl diglyceride				
Defatted soy meal	27.8	20.5	15.5	36.1
Soy protein isolate	37.3	10.2	16.9	35.6
X ₁				
Defatted soy meal	25.6	37.2	17.4	19.8
Soy protein isolate	31.8	11.4	25.0	31.8
X ₂				
Defatted soy meal	21.8	29.9	25.3	23.0
Soy protein isolate	42.1	-	31.6	26.3

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) 藤巻正生, 本間清一, 中山玲子, 相田 浩 (1986) : 分離大豆たん白質の脂質の貯蔵中の変化. 大豆たん白質栄養研究会会誌, 7, 5-8.