

大豆加工食品の風味（香りと色）に及ぼすDDMP サポニンの影響

EFFECT OF DDMP SAPONIN ON THE FLAVOR AND COLOR OF SOYBEAN FOODS

大久保一良・吉城由美子(東北大学農学部)

Kazuyoshi OKUBO and Yumiko YOSHIKI

Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 981

ABSTRACT

Group B(Ba, Bb, Bb', Bc, Bc') and group E(Bd, Be) saponins of soybean have been made clear to be artifact components produced from DDMP(2, 3-dihydro-2, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one)-conjugated saponins. In this report, it has been definitely shown that DDMP saponins were comparatively stable in acid solution, but easily hydrolyzed in alkaline solution into group B saponins and DDMP derivatives which have an effect on the flavor of soybean foods. Also the DDMP saponins were decomposed by addition of ferric ion into groups B and E(ratio 3: 2) and brown insoluble complex which has an effect on the color of soybean foods. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* 15, 36-40, 1994.

大豆の真正サポニンはグループAと DDMP (2, 3-dihydro-2, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one)で、最近その種類と構造を明らかにすることができた^{1,2)}。さらにマメ類を検索した結果、SOD (Superoxide dismutase) 様活性の高い新規 DDMP サポニンの構造をも明らかにすることができた³⁾。反応性の高いエノン、エノール構造である DDMP 部位から加熱によるマルトールの生成¹⁾および鉄イオンによる褐変も明らかにすることができた⁴⁾。サポニン成分はたん白質等の高分子に随伴することから食品加工上考慮しなければならない重要な成分であると判断される。従って、本研究では大豆食品加工の立場からこの DDMP サポニン成分に焦点をしばり、原料大豆、加工の各工程および製品における DDMP サポニンの分布と挙動から、風味（香りと色）に及ぼすその影響を考察した。

実験方法

DDMP サポニンの単離と分析

既報^{1,2)}に従い、DDMP サポニンの単離と分析を行った。DDMP サポニンは熱、pH、金属イオンにより

不安定なことから溶媒である70%エタノール、水、ブタノール、HPLC 溶媒は全て脱気し、0.01% EDTAを含み、室温以下で操作した。単離標品は-80℃で保存した。また、DDMP サポニンは維管束と発芽部位に存在することから、種子の胚軸と子葉部を微粉碎する必要はなく、そのまま、あるいは粗く砕く程度で室温抽出した。

構造解析

既報^{1,2)}に従い、¹³C-NMR、¹H-NMR、MS、MS-MS および IR による機器分析で構造を解析した。

味噌の配糖体成分分析と官能検査

既報⁵⁾での結果を DDMP サポニンの観点から見直した。用いた味噌は甘米味噌7点、甘口米味噌4点、辛口米味噌202点、麦味噌22点および豆味噌4点の合計239点であった。大豆サポニン Bb の分析を既報⁶⁾に従って行った。

酸素ラジカル・アルデヒド系における微弱発光

既知の活性酸素ラジカル消去物質(スカベンジャー)であるフラボノイド類で明らかにした酸素ラジカル・アルデヒド系における微弱発光法⁷⁾により、大豆食品

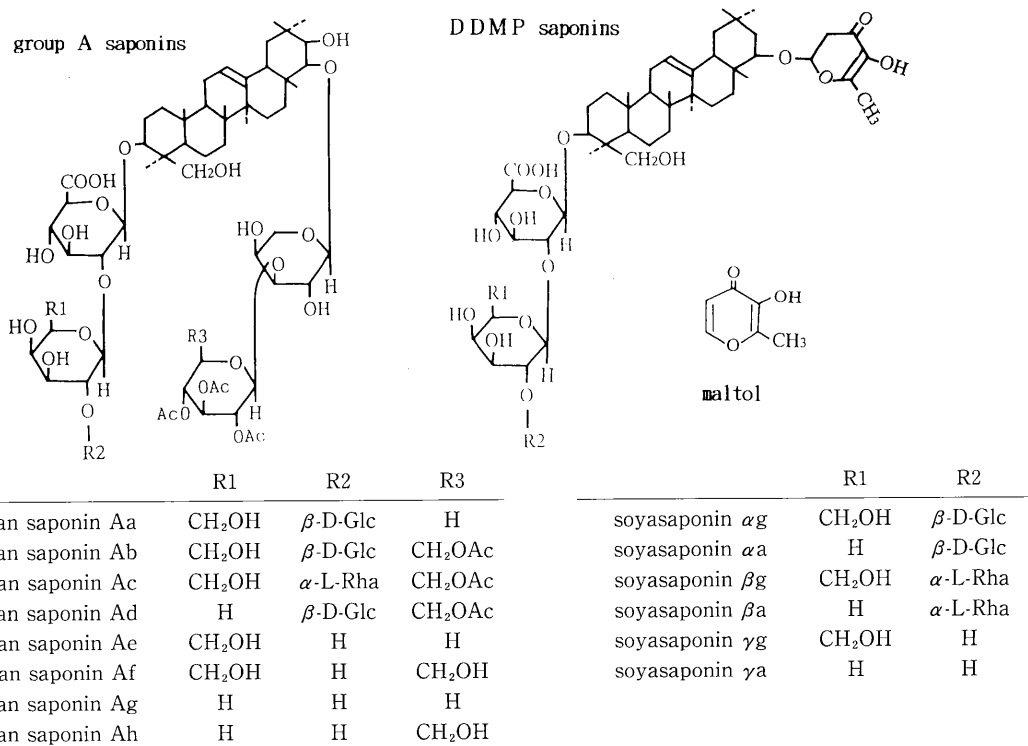


Fig. 1. Structures of saponins isolated from soybean seeds.

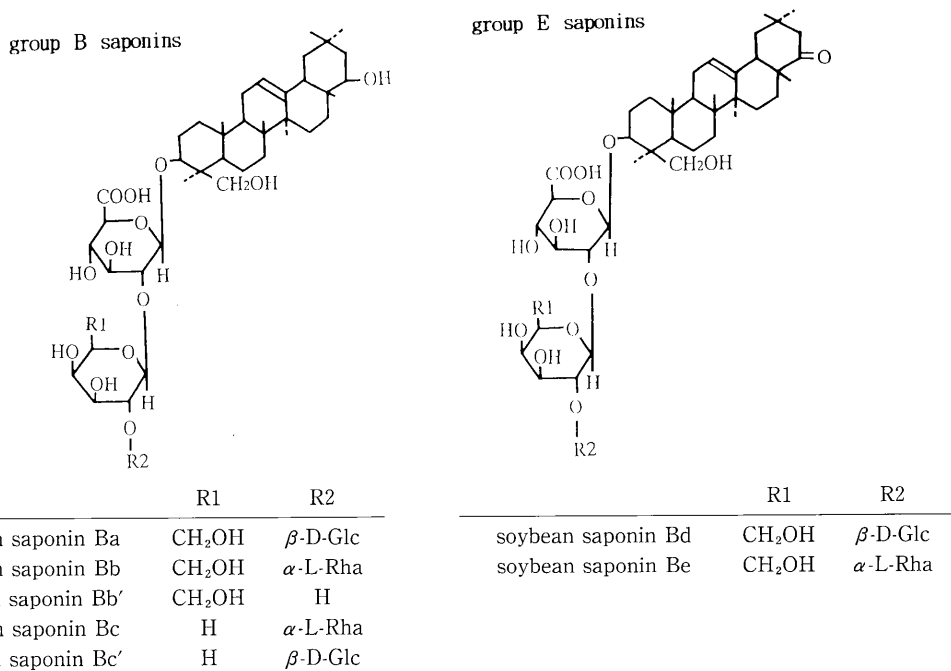


Fig. 2. Structures of group B and E saponins.

およびその加工工程画分から酸素ラジカスカベンジャーを検索した。

結果と考察

DDMP サポニンの安定性

既知の大豆の主サポニンであるグループ B (Ba, Bb, Bb', Bc, Bc') と E (Bd, Be) サポニンはアテファクト成分で、その真正サポニンは DDMP が結合したサポニン (ソヤサポニン $\alpha g, \alpha a, \beta g, \beta a, \gamma g, \gamma a$) であることを明らかにした^{1,2)} (Figs. 1, 2)。DDMP サポニンは酸性側では比較的安定であるが、アルカリ側、温度および微量金属イオンの存在で不安定であることが実験操作の経験から推測された。そこで、主 DDMP サポニンであるソヤサポニン βg 標品を用い、水酸化ナトリウム、塩酸および過酸化水素の影響を調べた。その結果 (Fig. 3)、0.01 M HCl と 1.8 M HOOH 溶液では室温に 4 日放置してもほとんど分解しなかったが、稀薄アルカリ溶液で容易に分解し、アグリコンの C-22 位が $-OH$ である Bb に変化することがわかった。すなわち瞬間的に必要なアルカリを消費して分解し、0.001 M NaOH ではソヤサポニン βg の 1 mM を 82.3% 分解した。HPLC で調べた結果、Bb と DDMP 由来と思われるピークが検出され、アグリコンの C-22

位が $=O$ であるグループ E サポニンは検出されなかった。従って、等モル加水分解であることが示唆され、DDMP 由来物質が注目された。熱を加えることにより、マルトールの香りが生じた。

DDMP サポニンの鉄イオンによるグループ E サポニンへの変化と褐変

DDMP 部位がエノン、エノール構造であることから鉄イオンとの反応が容易に推察される。そこで、ソヤサポニン βg の 1 mM 溶液に及ぼす 2.5 mM 塩化第三鉄溶液の影響を調べた。その結果 (Fig. 4)、室温に 1 日放置することにより、溶液中に褐変物質の沈殿がみられ、DDMP サポニンは検出されず、代わりに Bb と Be が 3 : 2 の割合で検出された。これまで不明であったアグリコン C-22 位の $=O$ の生成は鉄イオンとの反応の結果であることが明らかになった。褐変物質の沈殿現象がみられたことから、濾紙に DDMP サポニン溶液をスポットし、塩化第三鉄溶液を噴霧した結果、そのスポットが瞬間に褐変することがわかった。この褐変現象を利用し、DDMP サポニンは大豆種子の維管束と発芽部位であるエピコチルに局在していることを明らかにすることができた。

各種味噌の官能検査とサポニン含量

既報⁵⁾でサポニンが味噌の色と香りに影響している

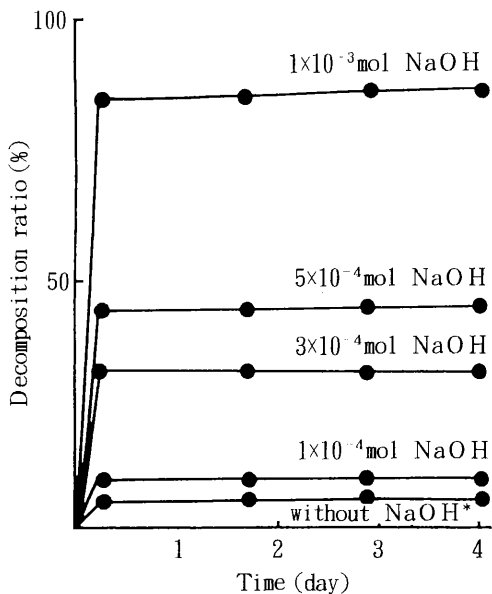


Fig. 3. Decomposition of soyasaponin βg . Effect of NaOH, HCl (1×10^{-2} mol)* and H_2O_2 (1.8 mol)*.

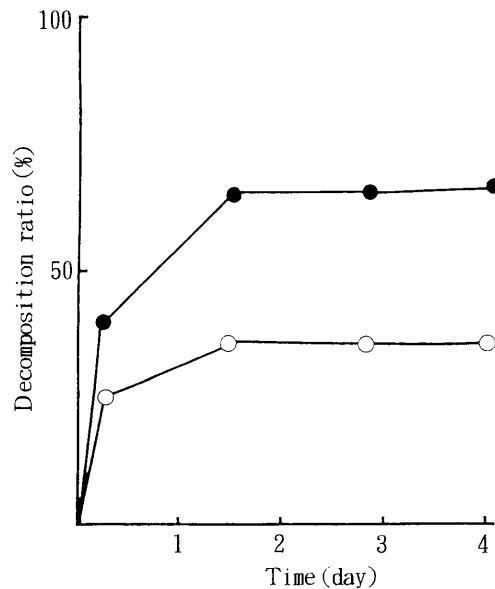


Fig. 4. Decomposition of soyasaponin βg . Effect of $FeCl_3$ (2.5 mmol) soybean saponin Bb (●), soybean saponin Be (○).

ことを報告した (Table 1) が、その原因を考察することができなかった。しかし DDMP 部位からのマルチール等香り成分の生成と鉄イオンによる褐変現象から

現在ではその考察が可能となった。

大豆食品等からの微弱発光物質の検索

DDMP 部位に由来する活性酸素ラジカル消去能が

Table 1. Correlation coefficients between sensory scores and the soybean saponin Bb content of salty rice miso

	Sensory score					Bb content
	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall	
Sensory score						
Color	1.000	0.752**	0.756**	0.807**	0.864**	0.150*
Flavor		1.000	0.820**	0.758**	0.822**	0.205**
Taste			1.000	0.791**	0.854**	0.106
Texture				1.000	0.873**	0.125
Overall					1.000	0.108
Bb content						1.000

*p<0.05, **p<0.01, n=202.

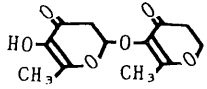
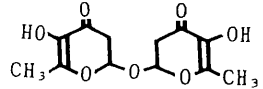
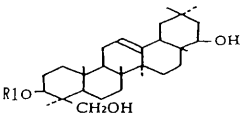
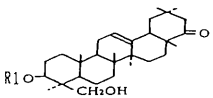
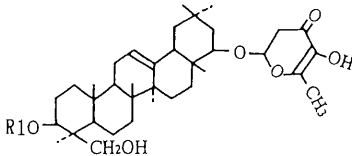
Peak	Structure	M. W.	Sugar chain
1		M=254	—————
2		M=660	—————
3		M=270	—————
4		Bb M=942	R1=GluA-Gal-Rha
5		Bc M=912	R1=GluA-Ara-Rha
6		Be M=940	R1=GluA-Gal-Rha
7		β g M=1068	R1=GluA-Gal-Rha
8		β g M=1068	R1=GluA-Gal-Rha
9		β a M=1038	R1=GluA-Ara-Rha
10		γ g M=922	R1=GluA-Gal
11		γ a M=892	R1=GluA-Ara

Fig. 5. Structures and molecular weight of each peak by LC/MS from soybean cotyledon.

Sample	Intensity
1. Glutathione (5 mM, 100 μ L)	1.00
2. Maltol (50 mM, 50 μ L)	0.23
3. Soyasaponin α g (5 mM, 100 μ L)	1.19
4. Soyasaponin β g (5 mM, 100 μ L)	1.75
5. Lablab saponin (5 mM, 100 μ L)	3.81
6. CL compound of soyo (2 mg/1 mL, 10 μ L)	30.24

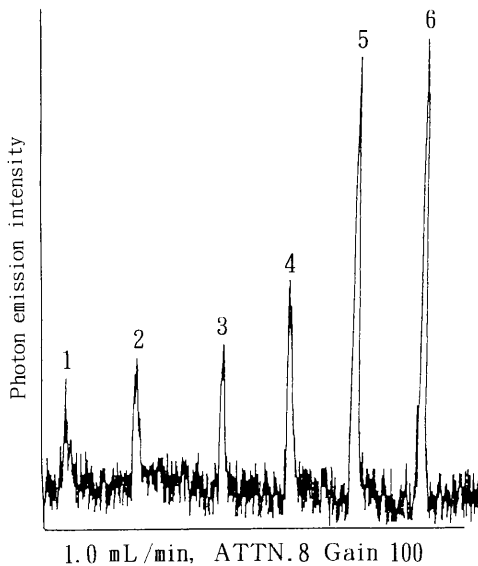


Fig. 6. Chemiluminescence reaction on the superoxide anion formation by the hypoxanthine-XOD system. Chemiluminescence was measured by CLD-110 Chemiluminescence Detector. Solvent, 50 mM phosphate buffer; pH, 7.0; temp., 23°C; flow rate, 1.0 mL/min; hypoxanthine, 5 mM (10 μ L); XOD, 100 mg/mL (1 μ L).

明らかになった³⁾ことから、マルトールを初めとした DDMP 部位由来物質が注目される。そこで、サポニン画分を放置し、LC-MS 分析を試みた。その結果(Fig. 5), 明らかに分子量から DDMP 部位由来と思われる 2 種類の DDMP 2 量体を検出することができた。さ

らにアルデヒド・過酸化水素系における微弱発光によるラジカルスカベンジャーの検索を試みた結果 (Fig. 6), 大豆発酵食品より DDMP サポニンより30倍も強い物質を検出することができた。

文 献

- 1) Kudou S, Tonomura M, Tsukamoto C, Uchida T and Okubo K (1993): Isolation and structural elucidation of DDMP-conjugated soyasaponins as genuine saponins from soybean seeds. *Biosci Biotech Biochem*, **57**, 546-550.
- 2) Yoshiki Y, Kim JH and Okubo K (1994): Saponins conjugated with 2, 3-dihydro-2, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one from *Phaseolus coccineus*. *Phytochem*, **36**, 1009-1012.
- 3) Yoshiki Y, Kim JH, Okubo K, Nagoya I, Sakabe T and Tamura T (1994): Saponin conjugated with 2, 3-dihydro-2, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one from *Dolichos lablab*. *Phytochem*, **36**, in press.
- 4) Okubo K, Yoshiki Y, Okuda K, Sugihara T, Tsukamoto C and Hoshikawa (1994): DDMP-conjugated saponins isolated from groundnut (*Apios Americana*). *Biosci Biotech Biochem*, **58**, accepted.
- 5) 工藤重光, 打田悌治, 尾島 聡, 大久保一良, 藤波博子, 海老根英雄 (1990): 各種味噌の大豆配糖体成分組成および味噌の品質に及ぼす大豆サポニンの影響. *日食工誌*, **37**, 786-792.
- 6) Shiraiwa M, Harada K and Okubo K (1991): Composition and structure of "group B saponin" in soybean seed. *Agric Biol Chem*, **55**, 911-917.
- 7) Yoshiki Y, Okubo K, Onuma S and Igarashi K (1994): Chemiluminescence of flavonoids in the presence of aldehyde and hydrogen peroxide or hydroxyl radical by Fenton reaction. *Phytochem*, **36**, in contribution.