報 文

大豆子実の発芽に伴う油脂変化

岩 間 文 男・丸田銓二朗・大 平 裕 子

山梨大学教育学部化学教室 (甲府市武田 4-4-37)

Changes of Lipid Composition during Germination of Soybean Seeds

Fumio IWAMA, Senjirō MARUTA and Yūko OOHIRA

Department of Chemistry, Faculty of Education, Yamanashi University (4-4-37, Takeda, Kōfu)

Soybean seeds were germinated in the laboratory at $23 \pm 2^\circ\text{C}$ for 7 days and the weight of total dry matter and of lipid were measured at every 24hr-interval.

Lipid from germinated soybean seeds was fractionated by using acetone into phosphatides and fatty oil.

The fatty acid composition was measured by gas-liquid chromatography.

The unsaponifiable matter was analysed by infrared spectrophotometry and thin-layer chromatography by routine methods. There was a continuous decrease in the weight of dry matter and lipid of the whole seedlings of soybean for 7 days germination.

The weight of free fatty acids and unsaponifiable matter increased greatly during germination.

A marked decrease in Iodine Value (from 135.8 to 117.1) of the lipid was observed during the first 24 hours of germination.

In the germination period, the percentage of octadecadienoic and octadecatrienoic acid in the soybean oil decreased, but that of saturated fatty acids increased.

The percentage of octadecenoic acid in the fatty oil decreased as germination progressed, except for the first one day after germination.

As the germination progressed, the weight of glycerides remaining in the soybeans varied a great deal, but only a little change was observed in the fatty acid composition of the reserved glycerides.

The percentage of conjugated dienoic acids increased with the progress of germination.

1 結 言

大豆子実の発芽に伴い、発芽後の経過日数が長くなるにつれて子葉の乾燥重量は増加するが含有粗脂肪の量は減少する。また不飽和脂肪酸の組成に多少の変化があるという報告¹⁾があるがまだ不明の点が多い。

著者らは、大豆種子を砂床にまいて発芽させ、発芽に伴う脂質の量的変化、油脂の性状とその脂肪酸組成の変化、不ケン化物の含有率およびその構成成分の変化、共役脂肪酸の含有率の変化などを明らかにした。以下それらの結果について報告する。

2 実験および結果の考察

2・1 試 料

試料の大豆種子は昭和 46 年 11 月秋田県において採

取した“つるの子”という品種を用いた。精選した種子の 100 g 当たりの平均粒数は 247 粒、1 粒の平均重量は 365 mg であった。

面積 22.5 cm×14.5 cm のビニル製カゴにロ紙を 1 枚敷き、粒度を揃えたじゃり (200°C で加熱殺菌したもの) を 1 cm の厚さに入れて、その中に精選した種子 100 g を並べた。種子の上よりじゃりを 1 cm の厚さにつけて、噴霧器で水約 200 ml を噴霧した。同様の発芽床を 7 個つくって $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ の室に放置して発芽させた (2 日目より毎日水約 200 ml を追加噴霧した)。

発芽試験開始後 1 日目で種皮が破れて下ハイ軸が約 10 mm、上ハイ軸が約 2 mm 認められた。4 日目には下ハイ軸が約 75 mm になり根毛が出始めた。また上ハイ軸は約 5 mm にのびた。7 日目には下ハイ軸は約 300 mm、上ハイ軸は約 25 mm となり第一葉、第二葉の区別

がはっきり認められた。

処理した時の重量は 1 日目には 213 g, 4 日目には 290 g, 7 日目には 463 g と増加した。

種子をまいた翌日より毎日一定時間に一つずつの発芽床の大豆を取り出し, 60°C の恒温器に入れ 48 hr 乾燥した。乾燥した子葉を含む全量をミキサーで細粉してソックスレー抽出器に入れて水浴上で加熱し, エチルエーテルにより 24 hr 脂質を抽出した。脂質の含有量, 乾燥重量の変化を Fig-1 に示した。

Fig-1 Changes in lipid contents and dry matters of soybean seeds germination.

発芽試験開始後の経過日数が増加するにつれて, 発芽した大豆の乾燥重量は減少するが, 4 日目ごろよりその程度が大きくなった。脂質含有量の減少程度は乾燥重量の減少程度より著しく, 特に 4 日目より急激になった。発芽による貯蔵脂質の消耗が活発になるためと考えられる。

2.2 脂質の性状

エーテル抽出した油脂の性状を Table-1 に示した。

Table-1 Chemical and physical properties of the soybean oil.

Days after germination	A.V.	I.V.	S.V.	d_{40}^{20}	n_D^{25}	Unsaponifiable matter (%)	Color (gardner)
0	0.6	135.8	199.4	0.92081	1.4737	0.18	1
1	2.2	117.1	200.7	0.92681	1.4712	0.24	1
2	2.6	118.3	200.9	0.93021	1.4718	0.36	1
3	3.7	119.7	201.4	0.92989	1.4722	0.44	2
4	4.6	128.9	202.3	0.92211	1.4733	0.53	3
5	5.2	127.0	203.6	0.92465	1.4735	1.02	3
6	6.0	116.2	205.1	0.92645	1.4738	1.17	4
7	7.2	119.1	205.8	0.93225	1.4740	1.57	8

日数の経過するにしたがって酸価, ケン化価が増加した。これは油脂が加水分解し, さらに脂肪酸が分解されて分子量の小さな脂肪酸が生じたことを示すものと推察する。ヨウ素価は発芽開始時に急激に減少し, 以後 4 日目迄はわずかずつ増加し, 4, 5 日目はかなり増加した。また 6, 7 日目に減少した。このことより発芽の初期に急激な油脂の分解が起こり, 以後は分解, 合成などの変化が繰り返されて行われていくであろうと考えられる。また不ケン化物も日数の経過にしたがって増加した。

エーテルで抽出した脂質はエーテルを留去した後, 脂質の 20 倍容のアセトンに溶解し, 氷水中で充分冷却した後吸引ろ過して可溶部と難溶部に分けた²⁾。

アセトン可溶部として分離した油脂は常法によりケン化してセッケンとした後, 15 倍容の水を加えて均一な液にしてソックスレー液-液抽出器に入れて水浴上で加熱し, エチルエーテルにより 24 hr 不ケン化物を抽出した。不ケン化物を除いたセッケンは常法により 6 N-塩酸で加水分解して脂肪酸 (I) を得た。

アセトン難溶部として分離した脂質はいずれの場合もわずかで今回は検索することができなかった。

2.3 脂肪酸

脂肪酸 (I) をジアゾメタンを用いメチルエステルとして, ガスクロマトグラフィーを行い脂肪酸組成を明らかにした。

装置は柳本 GCG-5 DH に自動昇温装置 (GT-100), 水素炎イオン化検出器をつけたものを使用した。

直径 3 mm, 長さ 150 cm のステンレスカラムにポリエチレングリコールサクシネート (PEGS) 30% をセライト 545 (80~100 mesh) に付着させたものを充てんして, カラム温度 110°C~180°C, 昇温速度 4°C/min にセットして, 窒素ガス 30 ml/min をキャリアーガスとして, 水素 30 ml/min, 空気 900 ml/min, チャートスピード 10 mm/min の条件で行った。

標準物質 (Applied Science 社製, 純度 99% 以上) を用いてあらかじめ保持時間, 保持容積, 面積感度を求めておき, 試料のピーク位置により脂肪酸の種類をきめ, チャート上に現れたピーク面積の合計を 100% とし, 得られたガスクロマトグラムより各成分のピーク面積を半値幅法により計算して, 脂肪酸構成成分の百分率

Fig-2 Changes in fatty acid composition of the soybean oil.

を求めた。その結果を **Fig.-2** に示した。ただし共役脂肪酸エステルピークの無視し得る程度の僅少のものであった。

各試料とも C_{16} , C_{18} の飽和酸と $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$ の不飽和酸を検出した。またその主要成分はいずれも $C_{18:1}$ (オレイン酸), $C_{18:2}$ (リノール酸) であった。不飽和脂肪酸の含有割合は日数が経過するにしたがって, $C_{18:1}$ (オレイン酸) は減少するが $C_{18:2}$ (リノール酸) は増加する。しかし $C_{18:3}$ (リノレン酸) はほとんど変化を示さなかった。また飽和脂肪酸においても多少の変化が認められた。

2.4 共役酸

油脂および脂肪酸について共役酸の定量を行った。

装置は島津製 QV-50 型光電分光光度計を使用した。試料約 20 mg を 10 ml のメスフラスコに精ひょうし, 精製 n -ヘキサンを加えて標線に合わせる。これより 1 ml のホールピペットで 1 ml を別の 10 ml のメスフラスコに分取し, 精製 n -ヘキサンを標線迄加える。最終濃度は約 200 mg/l となる。

これを光路長 1 cm の水晶セルに入れ, 精製 n -ヘキサンを補償液として 232, 262, 268, 274, 308, 315, 322 nm における吸光度を測定した。吸光度をそれぞれの計算式³⁾により計算して共役脂肪酸の含有率を算出した。その結果を **Table-2** に示した。

共役脂肪酸の含有率は発芽開始後の日数が進むにした

Table-2 Changes in conjugated unsaturated fatty acid content^{a)} of the oil from soybean seed germination.

Days after germination	0	1	2	3	4	5	6	7
Conjugated diene fatty acids (%)	0.49 0.62	0.51 0.81	0.73 1.05	0.95 1.28	1.11 1.33	1.37 1.52	1.56 1.74	1.78 1.91
Conjugated triene fatty acids (%)	0 0	0 0	0 0	0 0.01	0.01 0.01	0.01 0.02	0.01 0.02	0.01 0.03
Conjugated tetraene fatty acids (%)	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0.01	0.01 0.01

a) Upper values were obtained on oil and lower values were obtained on the fractions of fatty acids

がってわずかながらはあるが増加していくことがわかった。

2.5 不ケン化物

セッケン液よりエチルエーテルで抽出した不ケン化物の赤外線吸収スペクトルを測定した。

装置は島津製自記式 IR-27 C 型で NaCl プリズムを付したものを使用し, KBr 錠剤法により $2.5\mu\sim 15\mu$ の波長範囲で測定した。その結果の一例を **Fig.-3** に示した。

いずれの場合も 3400, 2920, 2850, 2300, 1630, 1460 1380, 1050, 1020, 955, 880, 840, 790, 720 cm^{-1} 付近に吸収が認められた。この吸収より炭化水素 (2900, 2840, 1470, 1460, 1370, 730, 720 cm^{-1}), 直鎖アルコ

Fig.-3 IR spectra of unsaponifiable matter of soybean oil.

ール (3320, 1450, 1050, 1020, 720 cm^{-1}), また 1630 cm^{-1} 付近に $\text{C}=\text{C}$ の, 840, 790 cm^{-1} 付近に三置換オレフィンの吸収が認められた。これらの吸収より不ケン化物中には炭化水素, 直鎖アルコール, ステリンなどが存在するものと考えられるので, 薄層クロマトグラフィーを行ってそれらの検索をこころみた。

ワコーゲル B-5, 30 g に水 60 ml を加えてペースト状に練り, アプリケーターを使用して 20 cm × 20 cm のガラス板上に厚さ 0.25 mm になるように均一に塗布する。20~30 min 室温で風乾した後, 乾燥器中で 105°C ~110°C に 2 hr 乾燥して活性化する。室温に冷却した後このプレートをを用い, 下端より約 4 cm の所に試料約 1.0 mg をエチルエーテルに溶解して直径約 5 mm にスポットして, n -ヘキサン:エチルエーテル (3:1) (vol/vol) を展開剤として一次元展開を行った。標準物質 (炭化水素およびアルコールは東京化成工業株式会社製, β -シトステリンは東京学芸大学, 三橋達雄教授より寄贈されたものも同一プレート上で同時に展開して R_f 値を比較した)。

展開後風乾して 50% 硫酸を噴霧した後, 乾

1. Hydrocarbon. 2. Alcohol. 3. Sterol
4. Days after germination 0.
5. " 1.
6. " 2.
7. " 3.
8. " 4.
9. " 5.
10. " 6.
11. " 7.

Solvent: n -hexane: ethyl ether=3:1 (vol/vol)
Indicator: 50% H_2SO_4 , 30 min at 110°C.

Fig.-4 Separation of the unsaponifiable matter of soybean oil by TLC.

燥器中で 110°C で 30 min 加熱して呈色させた。

その結果を Fig. 4 に示した。

Fig. 4 より明らかなように、それぞれ炭化水素、アルコール、ステリンが検出された。これは赤外線吸収スペクトル測定結果の考えとよく一致した。

つぎに Capella の方法⁴⁾を参考にしてカラムクロマトグラフィーを行ってそれらの分離を試みた。

不ケン化物を *n*-ヘキサンに溶解し、シリカゲルを充てんしたカラムに注ぎ、*n*-ヘキサン、*n*-ヘキサン：ベンゼン、*n*-ヘキサン：エチルエーテルで逐次展開してそれぞれの区分を得た。各区分について薄層クロマトグラフィー、赤外線吸収スペクトル測定を行って炭化水素、アルコール、ステリンであることを確認した後ガスクロマトグラフィーを行って各構成成分を検索した。

炭化水素については微量のため検索はできなかった。

アルコール、ステリンについてはともにトリメチルシリルエーテル (TMS) として分析を行った。

装置は脂肪酸の場合と同じものを使用した。カラムは SE-52 をクロモソルブ W (80~100 mesh) に 3% 附着させたものを内径 3 mm、長さ 75 cm のステンレスカラムに充てんしたものを使用した。カラム温度 180°C~300°C、昇温速度 6°C/min にセットし、その他の条件は脂肪酸の場合と同じ条件で行った。

その結果アルコールは C₁₆~C₂₄ の偶数の炭素数を有

する飽和アルコールと、C₁₇~C₂₃ の奇数の炭素数を有する飽和アルコールが検出された。なおアルコール部分の赤外線吸収スペクトル測定の結果 1680 cm⁻¹~1620 cm⁻¹ 付近に ν C=C の吸収が認められなかったことおよびガスクロマトグラフィーの結果などより不飽和アルコールは含有されていないものと思われる。

ステリンについては少量の スチグマスチリンを含む β -シトステリンが検出された。なおアルコールおよびステリンの定量については引き続き検討中である。

しかし赤外線吸収スペクトル測定による各特性吸収波長の透過率および薄層クロマトグラフィーによる *R_f* 値、スポットの大小、スポットの濃淡などより考え合わせると、不ケン化物の構成成分および構成成分の含有割合は、発芽開始後の経過日数に関係なくほとんど変化していないものと思われる。

(昭和 49 年 1 月 14 日受理)

文 献

- 1) B.E. Brown *et al.*, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **39**, 327 (1962)
- 2) 日本油化学協会編“基準油脂分析試験法”, p. 75 (1966) 朝倉書店
- 3) R.T. O'Connor *et al.*, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **24**, 212 (1947)
- 4) P. Capella *et al.*, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **37**, 564 (1960)