大豆の成熟過程における種子の脂質, 脂肪酸, トコフェロール およびステロール量ならびに組成の変化について

梶 本 五 郎, 芝 原 章, 山 庄 司 志 朗

神戸学院大学栄養学部

Changes in the Contents and Compositions of Lipids, Fatty Acids, Tocopherols and Sterols in Soybean Seed during Maturation

Gorō KAJIMOTO, Akira SHIBAHARA, Shirō YAMASHŌJI

Faculty of Nutrition, Kobe Gakuin University, Nishi-ku, Kobe

J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci. 35, 345~350, (1982) The compositional and quantitative changes of fatty acids, tocopherols (Toc) and sterols in soybean seed lipids and/or seeds from 25 to 75 days after flowering were investigated. The fatty acid and Toc compositions of lipids were determined by gas and high-performance liquid chromatographies. Sterol compositions in unsaponifiable matter were determined by using preparative thin-layer chromatography followed by gas chromatography.

Weights of soybean seeds increased rapidly until 45 days after flowering, and the lipids accumulated at a steady rate up to 50 days after flowering. The highest concentration of unsaponifiable matter, sterols and chlorophyll in lipids were found at an early stage after flowering, and decreased steadily. The percentages of campe-, stigma- and β -sitosterol in 4-demethylsterol were 20.2, 13.6 and 66.1, respectively, in the immature seed lipids (25 days after flowering). But the percentage of β -sitosterol decreased markedly, whereas campe- and stigmasterol increased up to maturity. The main Toc in seed lipids were α -, γ - and δ -Toc, and α -, β - and δ -Toc showed marked increase up to maturity, whereas γ -Toc contents in lipids were almost constant during maturation of seed. Generally, the percentage of linoleic acid in total lipids and triacylglycerol increased up to maturity, but the percentages of linolenic and palmitic acids decreased. The percentage of oleic acid in lipids reached a maximum at 45 days after flowering, and decreased thereafter.

(Received April 7, 1982)

これまでに綿実^{1)~6)}, 大豆⁷⁾, トウモロコシ⁸⁾, 落花生⁹⁾¹⁰⁾などの種子について, 成熟過程におけるこれら種子脂質中の脂質成分, 脂肪酸およびトコフェロール(Toc)組成などの変化を調べ, 脂質の変動とTocの酸化防止作用との関連性を報告し, あわせ種子中でのTocの存在意義について若干の検討を加えてきた。ところで, 大豆を除いた他の種子では成熟期の早い時点で種子を採取し, ヒトが摂取することはほとんどない。これに対し大豆では比較的未熟期から収穫し, いわゆる枝豆として愛用している。したがって, 成熟過程における大豆種子の諸成分の変化は栄養面からも検討しなければならない。もっとも大豆の成熟過程の諸成分の変動, たとえば脂質成分¹¹⁾¹²⁾, 脂肪酸組成, ステロール組成^{13)~15)}については, それぞれ個々の立場からは検討されている。しかし, 諸成分の変化を総合的に調べ, 栄養的観点から

評価されたものは見当たらない。

そこで, 今回大豆の成熟過程における種子の脂質量, 脂肪酸, Tocおよびステロール組成, 不ケン化物およびクロロフィル含量などの変化を調べ, あわせ各成熟段階における大豆の栄養価を脂質の面から考察することにした。

実験方法

1. 試料

タキイ種苗(株)より購入した昭和55年度北海道産の大豆種子(奥原1号, 早生種)を本学農場に播種したところ昭和56年7月10日より開花した。開花後(開花後という表現は以後省略する), 25, 40, 45, 50および75日目の成熟過程にある種子を採取し, これを分析に供した。なお, 25日前の種子については実験しなかった。それは今回, 栄養学的観点からの実験であるので, 実用

上摂食可能な段階が 25 日目以降の種子であったからである。25 日目から 50 日目までの種子は枝豆として、75 日目は乾燥大豆として利用される状態であった。脂質の抽出は、成熟過程にある種子 50~200 粒を既報⁷⁾の方法に準じて行ない、総脂質を得た。

2. Toc の定量

総脂質中の Toc の定量は既報¹⁶⁾同様、高速液体クロマトグラフィーで求めた。すなわち、島津 LC-3A を用い、カラムは Zorbax SIL (4.6 mm×25 cm)、移動相はヘキサン-ジオキサン-エタノール (490:10:1 v/v/v)、流速 2.0 ml/分、検出波長 295 nm、チャートスピード 2.5 mm/分で行なった。各 Toc 含量はクロマトグラムピークの面積の重量を計り、各 Toc の検量線から算出した。各 Toc の標品はエーザイ[®]からの提供品で、いずれもこれらの純度はガスクロマトグラフィーにより 97% 以上であった。

3. 脂質クラスの分別と脂肪酸組成の測定

脂質クラスの分別は既報¹⁰⁾同様、薄層クロマトグラフィーでトリアシルグリセロール画分 (TG) と薄層板上の原点に残ったものを複合脂質画分 (CL) とした。なお、本報告でいう CL は、正確にはエステル型複合脂質のことである。総脂質、TG および CL のガスクロマトグラフィー用試料の調製およびその分析条件は既報⁴⁾の方法に準じて行なった。

4. ケン化油量、ステロール含量およびその組成の測定

試料油のケン化とそのケン化物およびステロール含量、その組成は基準油脂分析試験法¹⁷⁾によって求めた。すなわち、ステロール含量および組成の測定は薄層クロマト用シリカゲル (Wakogel B10) の薄層板原点にケン化物を塗布し、ヘキサン-エタノール (70:30 v/v) で展開した。同薄層板につき層間操作を 4 回繰り返した後、薄層板を風乾して 0.01% ローダミン 6G-エタノール

発色剤を噴霧し、紫外線を照射してステロール区分を確認する。文献¹⁷⁾を参照して R_f 値 0.35~0.42 のバンドを 4-デメチルステロール区分 (以後 ステロールと称する) として薄層板からはく離した。ステロールはコレステロールを内部標準としてガスクロマトグラフィー (GC) でステロール量と組成を求めた。GC の測定条件は、島津 GC-7A 型を用い、3 mm×1 m のガラス分離管で、担体に 2% OV-101 Chromosorb WHP, 100~120 mesh, 注入口温度 280°C, 分離管温度 260°C, 検出器は水素炎イオン化検出器、キャリアーガスは N_2 である。

ステロールの標準としてコレステロール (標準品, 純度 99+%), β -シトステロール (純度 80%), ステリグマステール (純度 80%) を用い、いずれもこれらは半井薬品[®]より購入した。

5. クロロフィルの定量

総脂質中のクロロフィルの定量は基準油脂分析試験法¹⁸⁾によって求めた。すなわち、液層の厚さ 50 mm のセルに総脂質を入れ、630, 670 および 710 nm の吸光度を測定し、計算式にしたがって算出した。

実験結果と考察

1. 成熟度と種子の大きさおよび脂質量

大豆の成熟度と種子の大きさ、脂質量の変化を Table 1 に示す。なお、種子の大きさ、重量はそれぞれ 100 粒の種子について湿重量を測定し、1 粒平均として示した。そのバラツキは平均種子の大きさおよび重量の $\pm 6\%$ であった。脂質量は 50~100 粒の種子について、それぞれ 2 回ずつ脂質量を求め、その平均値を示した (バラツキ $\pm 5\%$)。種子の大きさ、重量は成熟に伴い増加し、50 日目を最高に以後減少した (50 日目すぎから 75 日目までの結果は省略した)。50 日目以後は水分減少に伴う重量減と考えられ、その水分量は、成熟初期には

Table 1. Changes in weight of seed, water and lipid contents, and weight of total lipids in soybean seed during maturation.

Days after flowering	25	40	45	50	75	
Length ^{a)} (mm/seed)	9.0	12.0	15.0	14.0	8.5	
Width ^{b)} (mm/seed)	7.0	8.0	8.5	9.5	7.5	
Weight ^{c)} (mg/seed)	150.6	366.8	577.0	693.4	294.3	
Water contents (%)	79.6	75.2	70.3	69.5	11.9	
Lipid contents	% of wet weight	3.2	2.3	3.5	4.5	16.7
	% of dry weight	15.7	9.3	11.7	14.7	18.7
Weight of total lipids (mg/seed)	4.8	8.3	20.1	31.2	49.1	

a), b), c) Average of 100 seeds.

種子重量の 80.0% 近くを占めていたが、成熟に伴い漸次減少し、75 日目では 11.9% になった。脂質量は種子の成熟に伴い漸次増加するが、75 日目の種子で 16.7% に比べ、通常、枝豆として食している 25~50 日目の期間内では、2.0~5.0% の脂質量で比較的小さい。しかし、種子乾物当たりでみれば 50 日目では 14.7%, 75 日目では 18.7% と脂質量に大差はなかった。なお、25 日目の種子は 40 日目の種子に比べ脂質量がわずかに多いのは、総脂質中には中性脂質以外に不ケン化物（色素、ステロール、炭化水素など）が 25 日目に多かったためと思われる。種子 1 粒中には、40、50 および 75 日目の種子で、それぞれ 8.3、31.2 および 49.1 mg/粒の脂質が蓄積されていた。

2. 成熟度と種子脂質中の不ケン化物およびクロロフィルの含有割合

大豆の成熟度と種子および種子脂質中の不ケン化物量、ならびにクロロフィル量とその割合の変化を Table 2 に示す。総脂質中の不ケン化物の占める割合は、未熟種子ほど高く、25 日目では 1.0%, 75 日目の種子脂質で 0.5% であった。1 粒中の不ケン化物量は成熟に伴い増加し、25 日目では 0.05 mg/粒、75 日目の種子で 0.25 mg/

粒であった。種子 1 粒中の不ケン化物の増加傾向は、Table 1 に示した脂質の増加傾向に類似しており、脂質量の増加に伴う不ケン化物の増加と考えられる。

脂質抽出時に脂質とともに種子中のクロロフィルが溶出されてくる。その総脂質中のクロロフィルの割合は、25 日目の種子脂質で 37.5 ppm で、それが成熟に伴いクロロフィルの割合は減少し、75 日目の種子脂質で 3.2 ppm になった。したがって、未熟種子ほど濃緑色で枝豆としての色彩感を高めていることになり、75 日目の種子にクロロフィルの割合が少ないことは、その粗原油の精製を容易にし、かつ得られた油脂の酸化安定性の面からも望ましいといえる。

3. 成熟度と種子脂質の脂肪酸組成

大豆の成熟度と種子中の総脂質、TG および CL 画分の脂肪酸組成の変化を Table 3 に示す。種子の成熟に伴い総脂質および TG ではともにパルミチン酸 (16:0) の割合が減少したが、CL については成熟期間中 16:0 の割合には大きな変動はみられなかった。オレイン酸 (18:1) の割合は、総脂質、TG および CL ともに 45 日目までは増加し、その後急減した。ことに CL では 45 日目に 46.1% であったものが、75 日目には 4.8%

Table 2. Changes in unsaponifiable matter and chlorophyll contents in total lipids and/or soybean seed during maturation.

Days after flowering		25	40	45	50	75
Unsaponifiable matter contents	in lipid (%)	1.0	0.9	0.7	0.6	0.5
	in seed (mg)	0.05	0.08	0.14	0.19	0.25
Chlorophyll contents (ppm/lipid)		37.5	10.5	6.5	4.0	3.2

Table 3. Changes in fatty acid compositions of total lipids, triacylglycerols and compound lipids in soybean seed during maturation.

Days after flowering	25			40			45			50			75		
Lipid groups	Total lipid	TG	CL	Total lipid	TG	CL	Total lipid	TG	CL	Total lipid	TG	CL	Total lipid	TG	CL
Fatty acid (%)															
14 : 0	0.9	trace	2.4	—	—	—	—	—	1.8	—	—	1.4	—	—	2.5
16 : 0	16.3	15.8	23.5	11.1	11.3	15.8	8.7	9.3	16.0	9.2	12.5	29.2	10.0	9.3	21.3
18 : 0	3.5	3.1	6.2	2.3	1.6	3.1	1.9	1.5	3.8	1.8	0.7	3.2	2.3	2.3	3.0
18 : 1	35.8	42.5	34.5	51.0	51.0	46.8	57.2	61.3	46.1	42.5	52.9	12.2	21.9	25.2	4.8
18 : 2	32.1	31.6	21.2	29.4	31.9	23.6	27.6	24.4	25.1	41.1	31.6	45.6	58.2	54.4	61.8
18 : 3	11.4	7.0	12.0	6.2	4.3	9.1	4.6	3.5	6.2	5.5	2.3	8.2	7.5	8.8	6.0
Total USFA	79.3	81.1	67.7	86.6	87.2	79.5	89.4	89.2	77.4	89.1	86.8	66.0	87.6	88.4	72.6

TG: Triacylglycerol, CL: Compound lipid, USFA: Unsaturated fatty acid.

に急減していた。総脂質、TG、CL 中のリノール酸 (18:2) の割合は、45 日目までは大きな変動はみられないが、45 日目すぎからその割合は急増し、75 日目ですでに 57% 前後が 18:2 で占められていた。成熟に伴う脂質中の 18:2 の割合が増加する傾向は、綿実²³⁾、トウモロコシ²⁾、落花生種子¹⁰⁾にも認められ、種子中に総脂質の急増しはじめた頃は TG の蓄積が主因で、おもに 18:2 を取り込んだ TG がこの頃から多量生成されていることを示唆するものである。種子の総脂質および CL 中のリノレン酸 (18:3) の割合は、25 日目の種子で 11.4 および 12.0% であったが、その後わずかに減少し、75 日目でそれぞれ 7.5 および 6.0% になった。

脂質の栄養面からみた場合、総脂質の構成脂肪酸のうち、18:2 および 18:3 などが生理活性が高いとした場合、完熟種子ほど 18:2 の割合が多いことから脂質の栄養価は高いと考えられ、逆に未熟種子ほど、いわゆる枝豆として食しているときは脂質栄養面ではやや低いことになる。

4. 成熟度と種子および種子脂質中の Toc 組成の変化

大豆の成熟度と種子および種子脂質中の Toc 組成の変化を Table 4 に示す。総脂質中の全 Toc (α -, β -, γ - および δ -Toc 量の合算したもの) は、25 日目で 1,218 $\mu\text{g/g}$ 脂質で、その後、成熟に伴い Toc 量は増加し、50 日目でいったん減少し、75 日目で再び増加して 1,682 $\mu\text{g/g}$ 脂質になった。各 Toc では、25 日目以後、 α -, β - および δ -Toc などの割合は著増した。一方、 γ -Toc の割合は種子の成熟期間を通じほぼ一定であった。種子中の Toc 量は 25 日目で 6 $\mu\text{g/g}$ 粒、その後増加し完熟種子 (75 日目) では 83 $\mu\text{g/g}$ 粒量になった。おそらく成熟に伴う種子脂質の蓄積に伴う Toc の増加と思われる。

通常、Toc 同族体の脂質に対する抗酸化力は生理作用

とは逆に δ -> γ -> β -> α -Toc の順であり、もし Toc が脂質の抗酸化成分と考えると、25 日目の未熟種子脂質では全 Toc 中 δ -Toc の占める重量割合が 12.2% に対し、75 日目の種子脂質では δ -Toc の占める割合が 23.9% と高いことは、完熟種子としての貯蔵脂質保護の目的に合っているといえる。一方、脂質の栄養面からみた場合、脂質中の必要脂肪酸である 18:2 と 18:3、あるいは α -Toc 含有割合などが問題になる。とくに α -Toc とポリエン酸 (PUFA) 量との比率が動物の発育に大きく影響するといわれている¹⁹⁾²⁰⁾。Harris²¹⁾によれば、 α -Toc (mg)/PUFA (g) 比は 0.6 以上が望ましいと報告されている。そこで、大豆の成熟度と種子脂質中の α -Toc (mg) 量と PUFA (18:2 と 18:3 の合算したもの) 量との比を Table 5 に示す。なお、成熟過程にある大豆脂質中には TG のみでなく、ジー、モノアシルグリセロール、遊離脂肪酸、その他不ケン化物も含まれ、かつ、これらの含有割合も多少異なるものと思われるが、総脂質中の大部分は TG で占められている。そこで、18:2 の分子量を基準してと総脂質中の総脂肪酸量を求め、ついで総脂肪酸中の PUFA 量を算出した。

α -Toc (mg)/PUFA (g) 比は、種子の成熟とともに大きくなり、最大比は 50 日目の 0.34 で、75 日目では 0.19 と小さくなった。1 粒中の比も同様、50 日目の 0.34 が最大であった。したがって、Harris が掲げた 0.6 の比には達していないが、45~50 日目の大豆種子が上記の比から見る限りでは栄養的に望ましいといえる。

5. 成熟度と種子脂質中のステロール量および組成の変化

大豆の成熟度と種子脂質中のステロール量および組成割合の変化を Table 6 に示す。未熟種子脂質ほどステロールの割合が高く、種子の成熟が進むにしたがいステロール量の割合は減少し、75 日目で 321 mg/100 g 脂質になった。成熟に伴う種子脂質中のステロール比の減少傾向は、Table 2 に示した不ケン化物の減少傾向と一致

Table 4. Changes in tocopherol contents in total lipids and seed during maturation.

Days after flowering	25	40	45	50	75
α -Toc	32	44	85	145	109
β -Toc	trace	2	6	46	62
γ -Toc	1,038	1,124	1,186	918	1,109
δ -Toc	148	306	340	336	402
Total Toc	1,212	1,476	1,617	1,445	1,682
Tocopherol contents ($\mu\text{g/g}$ lipid)					
Tocopherol contents ($\mu\text{g/seed}$)	6	12	33	45	83

Toc: Tocopherol.

Table 5. Relationship between the amounts of α -tocopherol and polyunsaturated fatty acids in total lipids and seed during maturation.

Days after flowering	α -Toc (mg)/PUFA (g)
25	0.08
40	0.13
45	0.29
50	0.34
75	0.19

α -Toc: α -tocopherol, PUFA: polyunsaturated fatty acid (sum of 18:2 and 18:3).

していた。また、未熟種子ほど脂質中のステロール量の割合が多く、完熟種子脂質にステロール量の割合が少ないことは、種子によって同一視できないと思われるが、綿実⁶⁾、カカオ種子²²⁾についても同現象が認められている。種子脂質中のステロール組成の変化では、成熟に伴いカンベおよびスチグマステロールの割合が増加し、逆に β -シトステロールは 25 日目まで 66.1% であったものが漸次減少し、75 日目まで 46.2% になった。イソフコおよび 7-スチグマステロールの割合は微少で、かつ成熟全期を通じほとんど変化なかった。

ところで、高等植物中に含まれるステロール類の生理的役割についてはほとんどわかっていないので、大豆のどれほどの成熟度がヒトの生理作用上望ましいかについては不明である。今後は油脂食品についてもたん白質の生物価があるように、油脂の生物価があってもよいと思う。もっとも今回は大豆の成熟度と脂質成分の変化、ならびにその栄養価について脂質面のみで考察してきたが、当然ながらたん白質、ビタミン類、無機成分などを含め総合的に大豆種子の成熟度と栄養価を評価しなければならぬことはいうまでもない。

要 約

大豆の成熟度と種子の大きさ、脂質量、脂質中の Toc、脂肪酸およびステロール組成の変化を調べ、あわせ、成熟過程にある各大豆種子の栄養価を脂質の面から考察した。

1) 種子の大きさ、重量は成熟に伴い増加し、開花後、50 日目を最高に以後減少した。

2) 種子の成熟に伴い脂質量は漸次増加するが、75 日目の完熟種子の脂質量が 16.7% に比べ、通常、枝豆として食している 25~50 日目の期間内では、2.0~5.0% の脂質量であった。総脂質中の不ケン化物の占める割合は未熟種子ほど高く、25 日目まで 1.0%、75 日目では 0.5% であった。

3) 種子の成熟度と総脂質および TG 中の脂肪酸組成の変化は、成熟に伴い 16:0 の割合が減少し、逆に 18:2 の割合が増加し、75 日目まで 57.0% が 18:2 で占められていた。したがって、完熟種子脂質は 18:2 の割合が多く、未熟種子脂質、いわゆる枝豆として食しているときは 18:2 の占める割合が少ない。

4) 種子脂質中の全 Toc (α -, β -, γ - および δ -Toc の合算したもの) 量は、25 日目まで 1,218 μ g/g 脂質で、それが成熟に伴い漸次増加し、75 日目まで 1,682 μ g/g 脂質になった。各 Toc では 25 日目以後、 α -, β - および δ -Toc の割合が著増した。一方、 γ -Toc 量比は、成熟全期を通じほぼ一定であった。

大豆の成熟度と種子脂質中の α -Toc (mg)/ポリエン酸 (g) 量比は、種子の成熟に伴い比は大きくなり、最大は 50 日目の 0.34 で、75 日目では比は 0.19 になった。 α -Toc (mg)/ポリエン酸 (g) の比が大きいほど脂質栄養面でよいとすれば、45~50 日目のいわゆる枝豆として食している大豆中の脂質が最もよいことになる。

5) 25 日目の未熟種子脂質中のステロール量は 677.0

Table 6. Contents of 4-demethylsterol and compositions of sterol in total lipids of soybean seed during maturation.

Days after flowering		25	40	45	50	75
4-demethylsterol contents (mg/100 g lipid)		677.0	535.0	464.0	392.0	321.0
Compositions of sterol (%)	Campe-	20.2	21.3	20.8	21.3	28.3
	Stigma-	13.6	17.2	20.8	26.4	25.0
	β -sito-	66.1	59.9	58.2	52.3	46.3
	Isofuco-	trace	1.3	0.2	0.1	0.3
	7-stigma-	0.1	1.2	trace	trace	0.1

Campe-: Campesterol, Stigma-: Stigmasterol, β -sito-: β -sitosterol, Isofuco-: Isofucosterol, 7-stigma-: 7-stigmasterol.

mg/100 g 脂質であったが、種子の成熟に伴いその割合は減少し、75 日目の完熟種子脂質で 321.0 mg/100 g 脂質であった。

種子脂質中のステロール組成の変化は、種子の成熟に伴いカンベおよびスチグマステロールの割合が増加し、逆に β -シトステロールは 25 日目で 66.1% であったものが、75 日目で 46.2% にまで減少した。

文 献

- 1) 梶本五郎, 吉田弘美, 芝原 章, 山庄司志朗: 農化, **52**, 293 (1978)
- 2) 梶本五郎, 吉田弘美, 芝原 章, 山庄司志朗: 農化, **53**, 317 (1979)
- 3) 梶本五郎, 吉田弘美, 芝原 章, 山庄司志朗: 農化, **54**, 353 (1980)
- 4) 梶本五郎, 筒井芳樹, 吉田弘美: 農化, **55**, 31 (1981)
- 5) 梶本五郎, 吉田弘美, 芝原 章, 山庄司志朗: 農化, **56**, 445 (1982)
- 6) 梶本五郎: 農化, **56**, 765 (1982)
- 7) 吉田弘美, 梶本五郎: 農化, **46**, 355 (1972)
- 8) 吉田弘美, 梶本五郎: 農化, **46**, 625 (1972)
- 9) 芝原 章, 福水 誠, 山庄司志朗, 吉田弘美, 梶本五郎: 農化, **51**, 61 (1977)
- 10) 芝原 章, 福水 誠, 山庄司志朗, 吉田弘美, 梶本五郎: 農化, **51**, 575 (1977)
- 11) Roehm, J.N.: *Lipids*, **5**, 353 (1970)
- 12) Privett, O.S., Dougherty, K.A., Erdahl, W.L. and Stolyhwo, A.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 516 (1973)
- 13) Katayama, M.: *Plant Cell Physiol.*, **14**, 681 (1973)
- 14) 片山眞之: 脂質生化学研究, **11**, 1 (1969)
- 15) 片山眞之: 農化, **48**, 45, 221 (1974)
- 16) 梶本五郎, 吉田弘美, 芝原 章, 山庄司志朗: 栄養と食糧, **34**, 349 (1981)
- 17) 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法, **2.4**, 10-71, **2.4.23**, 1-77
- 18) 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法, **2.4**, 17-71
- 19) Harris, P.L., Quaife, M.L. and Swanson, W.J.: *J. Nutr.*, **40**, 367 (1950)
- 20) Howitt, M.L.: *J. Clin. Nutr.*, **8**, 451 (1960)
- 21) Howitt, M.K.: *J. Clin. Nutr.*, **27**, 1182 (1972)
- 22) Lehrian, D.W. and Keeney, P.G.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 61 (1980)

(昭和 57 年 4 月 7 日受理)