穀類の高度利用に関する研究

—HPLC による大豆サポニンの分析—

橋本 俊郎*

1. はじめに

大豆はタンパク質や脂質の豊富な栄養価の高い素朴であるにもかかわらず、豆臭やエグ味のため利用分野が限定されたものとなっている¹⁾。エグ味などの不快味は、サポニンやイソフラボンに起因するといわれており²⁾、これらの処理を考慮した加工技術によって品質の優れた大豆加工品が得られると考えられている³⁾。

HPLC によるサポニンの分析法として、ODS系カラムを用い、メタノールを移動相とした実験例が多いが、この場合、紫外外部吸収を検出に利用することは困難で、感度の劣る示差屈折計に頼ることが多い。また、分析例の中に配当体とアグリコンを同時に分析した報告はみあたらない。これらの点について分析法を検討したので報告する。

2. 試験方法

2.1 試薬及び材料

標準サポニンとして和光純薬の大豆製サポニン(一級)及びソヤサポゲノール B(食品分析用)を用いた。大豆試料として、平成二年度産大豆3品種及び味噌・納豆製造工程のなかで副生する大豆粕3種を用いた。

2.2 カラム及び装置

YMCA-312 (ODS, 6mm ID × 150mm) カラムを用いた。装置は島津 LC-6A システムを使用し、210nm の吸光度を測定してサポニンを検出した。

カラム恒温槽の温度は 40℃、サンプルの注入量は 5 µl とした。

3. 試験結果

3.1 移動相及び溶出条件

移動相として、メタノール:プロパノール:1%酢酸水溶液(600 : 50 : 300)を用いた場合、溶媒による紫外外部の吸収が高く、サポニンの検出に UV 検出器を利用することはできなかった。移動相をアセトニトリルに換え、次の条件でサポニン I とソヤサポゲノール B の同時分析ができた。

溶媒Aとしてアセトニトリル40部とリン酸緩衝液(5mM-KH₂PO₄水溶液11に1m1のリン酸を添加したものの。)60部を混和したものを、溶媒Bとしてアセトニトリル60部とリン酸緩衝液40部を混和したものを

*食品加工部

を用意した。移動相の流速を 1.0/min とし、始めの 5 分間を溶媒 A のみとし、その後の 20 分間で溶媒 B を 100%とするリニアグラジエント条件とし、その後の 20 分間を溶媒 B のみを流した。サポニン I の溶出時間は 10~11 分で、ソヤサボゲノール B は 34~35 分であり、同時分析が可能となった。

3.2 サポニン I の確認

実験に用いた大豆サポニン試薬は、前記の分析条件でクロマトグラム上にいくつかのピークを示し、不純物を多く含むものと考えられた。そこで各ピークについて FPLC システム (PepRPCHR5/5 カラム) を用い、分画を行った。メタノール: 1%酢酸 (70 : 30) の溶媒にサポニン試薬を 1%となるように溶解し、同溶媒で平衡化しておいたカラムに 0.5ml を添加し、移動相流量 0.8ml/min で溶出させた。示差屈折計検出器でピーク成分を分取し、HPLC 分析で溶出時間 10~11 分の成分について、メタノリシスを行った。即ち、分取画分をロータリーエバポレーターで濃縮、乾固後、3ml のメタノールと 1ml の濃塩酸を加え、80℃の油浴中で 30 分間、還流した。30ml の水と酢酸エチルを加え、酢酸エチル層に分配し、酢酸エチルを除去後、メタノールに溶かして HPLC 分析した。その結果、溶出時間 10-11 分のピークは消失し、代わりに溶出時間 34-35 分のソヤサボゲノール B に一致するピークが出現した。

3.3 大豆試料のサポニン含量

平工式振動ミルで粉碎したダイズ試料を 2g 秤取し、円筒濾紙に移し、ソックスレー抽出器を用い、エーテル脱脂した。続けてメタノールで 24 時間連続抽出し、メタノール可溶部を集めた。濃縮後、メタノールで 10ml 容とし、不溶物をろ過して除き、ろ液をそのまま HPLC 分析した。標準濃度溶液はサポニン試薬で調製した。

分析結果を表 1 に示した。旺軸部分の多い大豆粕の方が多くのサポニン I 含量を示した。

表 1 各種大豆試料のサポニン含量

試料a)	サポニン量 (%W/W)
生大豆 1	0.52
生大豆 2	0.79
生大豆 3	0.67
大豆粕 1	0.82
大豆粕 2	0.91
大豆粕 3	1.27

a) 生大豆 1,エンレイ; 2, タチナガハ; 3, 関東 101 号;

大豆粕 1, 味噌副産物; 2 と 3, 納豆副産物"

4. 要 約

- (1) サポニンのHPLC分析条件として,ODSカラムを用い,移動相をアセトニトリル-リン酸緩衝液とし,リニアグラジエントで溶出させて210nmの吸光度を測定することによりサポニンIとソヤソポゲノールBを同時に分析することができた。
- (2) PepRPCHR5/5カラムを使用したFPLCシステムを用い,試薬サポニンからサポニンIを分画した。
- (3) 各種大豆試料のサポニンを分析し,胚軸部分を多く含む大豆粕に多くのサポニンが検出された。

参考文献

- 1) 橋本俊郎:当所報告 第19号(1991)
- 2) 大久保一良・高橋勝美:食品開発 17,39 (1982)
- 3) S.KUDOU,T.UCHIDA and K.OKUBO:日本食品工業学会誌 38,835 (1991)