小豆の加熱に関する研究（第6報）：フラバノール型タンニンの発現

北海道教育大学紀要（第２部Ｃ）第38巻　第１号　　昭和62年10月
Journal of Hokkaido University of Education (Section II C) Vol. 38, No. 1　　October, 1987

A Study on a Cookig Method of Azuki Beans (Part6)
—Formation of Flavanol tannin—

Yasuzo ITO, Emiko SAWAI and Tomoko MURAKAMI*

Chemical Laboratory, Kushiro College, Hokkaido, University of Education.
*Home Economics Laboratory, Kushiro College, Hokkaido, University of Education.

小豆の加熱に関する研究（第６報）
—フラバノール型タンニンの発現—

伊藤裕三・澤居恵美子・村上知子

北海道教育大学釧路分校化学教室
北海道教育大学釧路分校家庭科研究室

Abstract

We have examined tannins derived from the seed coat of azuki beans. We discuss here their formation during various growing stages.

A clear difference between the tannin of ripe azuki beans and unripe beans was observed.

That is, flavanol tannin was found in ripe beans but not in unripe beans.

緒　　言

前報[1)2)3)]で赤飯用小豆の加熱過程において渋切り時に捨てるゆで汁（以下，熱水抽出液とする）に含まれるタンニン類を検索し，熱水抽出液中にはフラバノール型タンニンが存在することを明らかにした．また，小豆熱水抽出液に含まれるフラバノール型タンニンの分別方法を確立し，小豆熱水抽出液には遊離カテキン類が含まれ，エステル型のカテキンガレート類は含まないことを報告した．[4)5)]

今回は，小豆の成熟過程のどの段階で，フラバノール型タンニン類が出現するか検索した．

即ち，十勝農業試験場で採培した小豆を完熟したもの，未熟のもの，その中間的なものとに分け実験試料とした．その各々について，当研究室で確立した分別方法に従ってフラバノール型タンニン類を分別調製（酢酸エチル層＝（Ｆ－１）区分以下この様に表わす）した．

得られたＦ－１区分を試料として，二次元ペーパークロマトグラフィー，カラムクロマトグラ

フィー（セファデックスＬH-20　1.7×40 cm）等に供した．カラムクロマトグラフィーから溶出分離した各区分をそれぞれ濃縮し，再び二次元ペーパークロマトグラフィーの試料とした．

これらの実験の結果，完熟した小豆からのF－1区分と未熟な小豆からのF－1区分との結果に顕著な差異を認めたので報告する．

試料および実験方法

試料；小豆（*Vigna angulasis Dainagon*　昭和59年北海道十勝農業試験場産）完熟したもの，未熟のもの，その中間のものを用いた．

試薬；D-カテキン，D-エピカテキン，エピガロカテキンはメルク製特級，セファデックスＬH-20はファルマシヤ製，その他の試薬類はすべて和光純薬製特級を用いた．

実験方法；完熟した小豆，中間の小豆，および未熟の小豆にそれぞれ10倍量の水を加え前報[1]の方法に従って熱水抽出を行った．熱水抽出は殆ど乾固するまで，35°C前後で減圧濃縮を行った．乾固物を少量の水に溶解し，不溶性物質をろ別した．ろ液に水を加え一定量とした．この水溶液にアセトンを60%濃度になるまで加え，低温で，直射日光の当らないところで一夜放置した．次に塩化ナトリウムを飽和になるまで加え，アセトン層と水層を分離した．アセトン層を分取し，これを減圧濃縮乾固した．乾固物を少量の水で溶かした．次に等量のエーテルを加え3回洗浄を繰り返した．洗浄後，等量の酢酸エチルを加えフラバノール型タンニン類を抽出した．この抽出操作は5回繰り返した．抽出液を減圧濃縮乾固した．この乾固物を少量の水で溶かし，直ちに凍結乾燥し酢酸エチル層-1（F－1）とした．

セファデックス**LH**-20カラムの調製；セファデックスLH-20をカラム（1.7×40 cm）に詰め，50%メタノール水溶液を流し，溶出液の280 nmにおける吸収が検出しなくなるまで洗浄した後，カラム分析に供した．

カラムクロマトグラフィー；洗浄済みのカラムにF－1凍結乾燥物100 mgを1 mℓの50%メタノール水溶液に溶かした試料を供した．溶出は50%メタノール水溶液で行った．溶出速度は10 mℓ／30 min.で行い，各溶出液の280 nmの吸光度を測定して分画した．溶出の早い順に画分Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ，Ⅴとした．

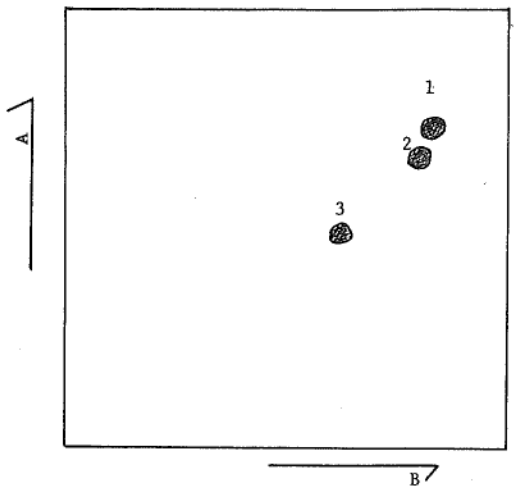
各画分はそれぞれ減圧濃縮乾固し，ペーパークロマトグラフィーの試料とした．

ペーパークロマトグラフィー；ペーパークロマトグラフィーは各試料のF－1をカラム分析する前と分画後の各画分について行った．ペーパークロマトグラフィーの条件は，東洋ろ紙NO.50，20×20 cmを用い，二次元上昇法によって行った．展開溶媒は（A）n-ブタノール：酢酸：アセトニトリル：水（8：1：4：4.4 v／v），（B）iso-プロパノール：アセトニトリル：水（15：1：4 v／v）を用いた．検出はバニリン-塩酸，およびスルファニル酸を用いた．

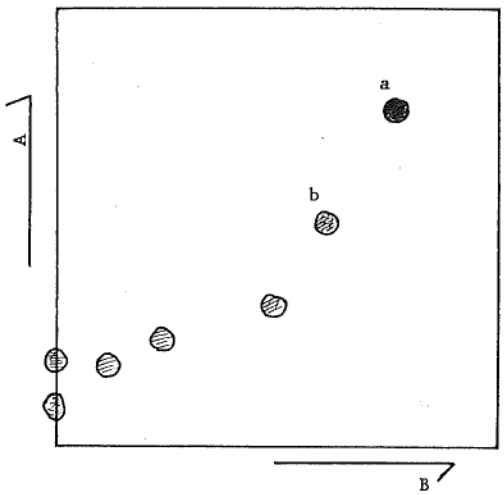
カラム分析前のペーパークロマトグラフィーをペーパークロマトグラフィー1，後をペーパークロマトグラフィー2とした．

実験結果および考察

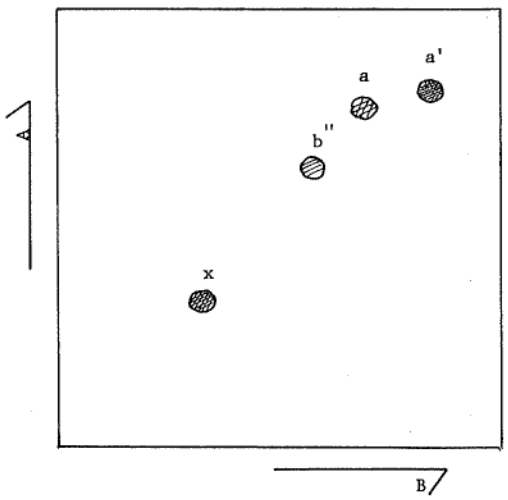
ペーパークロマトグラフィー1の結果は図1－1，1－2，1－3，1－4に示した．図1－1は標準品についての結果である．図1－2は完熟した小豆からのF－1区分，図1－3は中間の小豆からのF－1区分，図1－4は未熟小豆からのF－1区分の結果である．



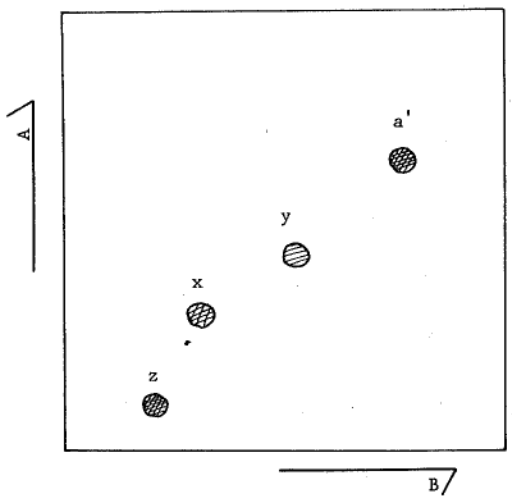
図Ⅰ－1　ペーパークロマトグラム－1（標準品）
1；カテキン，2；エピカテキン，
3；エピガロカテキン



図Ⅰ－2　完熟小豆（F－1）区分



図Ⅰ－3　中間小豆（F－1）区分



図Ⅰ－4　未熟小豆（F－1）区分

完熟した小豆のF-1区分には明らかにカテキン（エピカテキン）のスポット(a)とやや不明瞭であるがエピガロカテキン（b,±）の存在が認められた．また，バニリン-塩酸，及びスルファニル酸で発色する2～3の成分も検出した．しかしまだ同定していない．中間の小豆のF-1区分ははっきり呈色した4つのスポットを得た．そのうち1つはカテキン（エピカテキン）（a）と考えるが，他の3つの成分（a′，b′，x）はまだ同定してしていない．未熟の小豆のF-1区分からは4つのスポット（a′，x，y，z）を検出した．これらのスポットはRf値からカテキン類とはまったく異っていた．

標準品のペーパークロマトグラフィーの結果はRf値で示すとカテキンのRf 0.73(A)，0.84(B)，エピカテキンRf 0.66(A)，0.81(B)，エピガロカテキンRf 0.49(A)，0.63(B)であった．(A)はn-ブタノール系溶媒，(B)はiso-プロパノール系溶媒である．

カラムクロマトグラフィーの結果は図2－1，2－2，2－3に示した．図2－1は完熟した小豆からのF-1区分の結果で5つに画分された．各画分をそれぞれ集め減圧濃縮乾固しペーパークロマトグラフィー2の試料とした．図2－1の画分を基準とし図2－2，2－3の画分に番号を附した．即ち，試験管番号4～10の範囲をF-I画分，11～21の範囲をF-II画分，22～29の範囲をF-III画分，30～46の範囲をF-IV画分，及び80～107の範囲をF-V画分とした．この分け方に従うと中間のものの結果はF-I＋II画分，F-III画分，及びF-IV画分，に区分され，未熟のものの結果はF-I＋II画分，F-IV画分，F-V画分に区分された．

カラムクロマトグラフィーの結果から，完熟した小豆F-1の結果に比し中間の小豆のF-1では画分IとIIの分離が不十分であった．また画分F-IV画分のピークが小さかった．未熟の小豆のF-1では画分F-IとIIは分離しなかった．また画分F-IVのピークは現

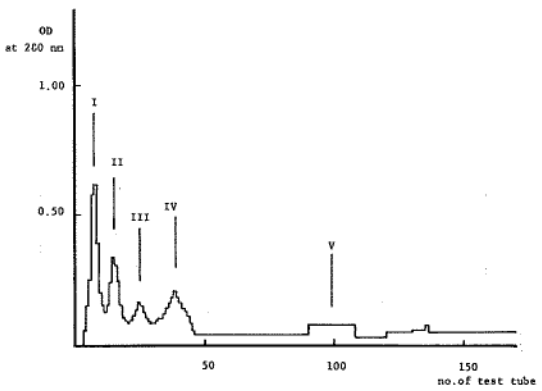


図2－1　完熟小豆（F－1）区分のカラムクロマトグラム―溶出図

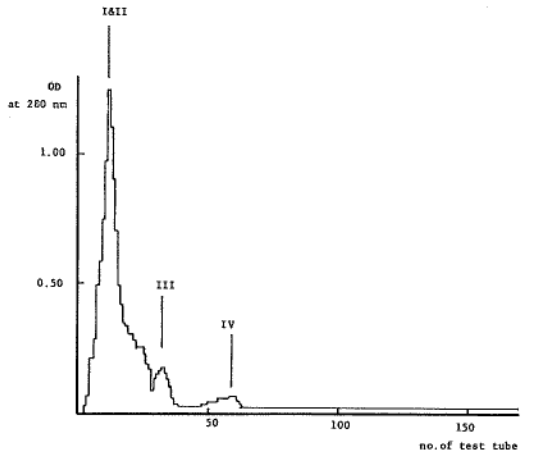


図2－2　中間小豆（F－1）区分のカラムクロマトグラム―溶出図

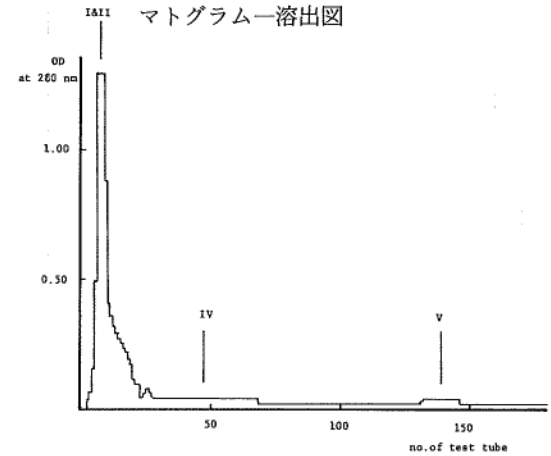


図2－3　未熟小豆（F－1）区分のカラムクロマトグラム―溶出図

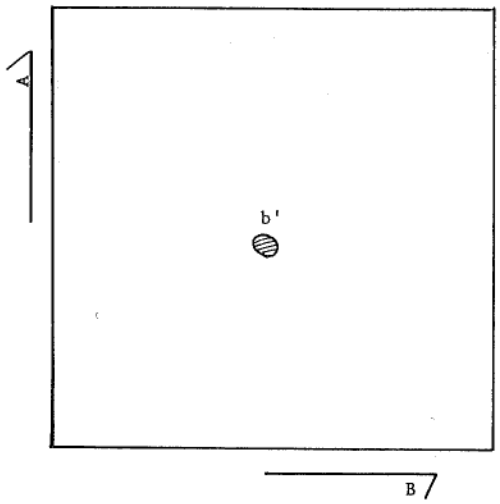


図３－１　ペーパークロマトグラム－２
完熟小豆Ｆ－II画分

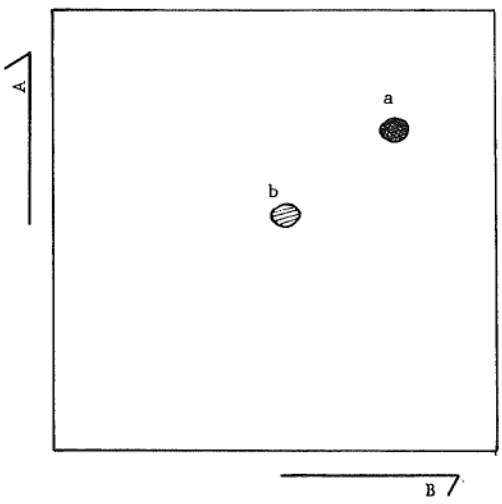


図３－２　完熟小豆Ｆ－IV画分

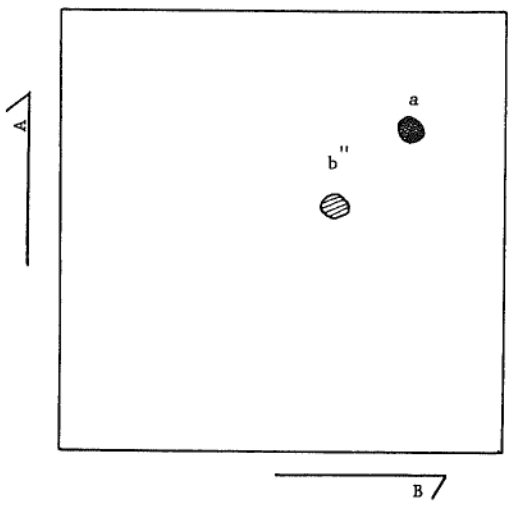


図３－３　中間小豆Ｆ－IV画分

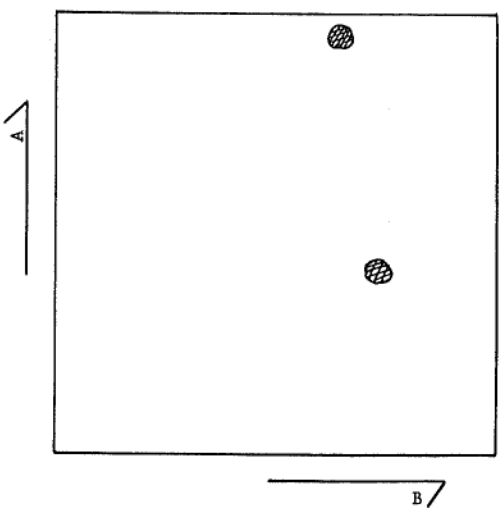


図３－４　末熟小豆Ｆ－Ｉ＋II画分

われなかった．

カラムクロマトグラフィーで得られた画分のパターンは岡本等[6]の類似の実験結果と相違した．

ペーパークロマトグラフィー2の結果は図3－1，3－2，3－3，3－4に示した．図3－1は完熟した小豆のF-II画分であって，Rf値からエピガロカテキンに近いスポット(b′)を検出した．図3－2は同じく完熟した小豆のF-IV画分であって，Rf値からカテキン(エピカテキン)(a)と判断した．またスポット(b)はかすかに呈色しRf値からエピガロカテキンと推定した．図3－3は中間の小豆のF-IV画分である．Rf値からカテキン(エピカテキン)(a)と判断した．また呈色の度合はかすかであったが未知のスポット(b″)も検出した．図3－4は未熟の小豆のF-I＋II画分であって，バニリン-塩酸，及びスルファニル酸によって2つのスポットが検出された．しかしこの2つのスポットについてはまだ同定していない．図に示した以外のそれぞれの画分ではいかなるスポットも検出しなかった．

図3－1，3－2，3－3，3－4から明らかなように，未熟の小豆のF-1区分にはカテキン(a)に相当するスポットは検出しなかった．また中間の小豆のF-1区分には完熟した小豆のF-1区分と同じようにF-IV画分が現われた．このF-IV画分にはカテキン（エピカテキン）とRfの近いスポット(a)を検出した．この事は小豆の熟成に伴って小豆の表皮にカテキン類が生成することを示すものと考える．

以上の結果はペーパークロマトグラムの上での定性的な結果であり，カテキンとエピカテキンの判別，エピガロカテキンの存在の有無を決めるには更に実験を繰り返す必要がある．今回の実験ではカラムクロマトグラフィーからの各画分の濃縮乾固物はその全量をペーパークロマトグラフィーに供したので，各画分に含まれる物質をそれぞれ結晶として取り出すことができなかった．目下結晶を生成し，融点，IR等でその物質を同定すべく実験を継続しているので，後日詳細に報告する．

なお，完熟，中間，未熟の小豆の判定の一助として，各小豆の水分を測定した．水分の測定は常法通り行った．その結果，水分は完熟で23.88%，中間で57.13%，未熟で68.36%，であった．この結果は上の実験を補完するものと考える．

要　　約

小豆の熱水抽出液にはフラバノール型タンニンが含まれることは第1報から第5報までで明らかにした．小豆の生成過程でどの段階で小豆にフラバノール型タンニンが発現するか検討した．

1）未熟小豆の熱水抽出液にはフラバノール型タンニンは含まれなかった．
2）中間の小豆の熱水抽出液にはペーパークロマトグラフィーでフラバノール型タンニンの存在を確認した．
3）ペーパークロマトグラフィーとカラムクロマトグラフィーを組み合わせ，各段階の小豆熱水抽出液のF-1区分に含まれるフラバノール型タンニンの分離と同定を行った．

謝　　辞

本実験を行うに当り，試料の小豆を御恵与下さった，道立十勝農業試験場村田吉平氏に深謝する．

文　　献

1）村上知子，北教大紀要（第II部C）25，47（1974）．
2）村上知子，　同上　　28，31（1978）．
3）村上知子，武井美智子，中村一十三，伊藤裕三，同上（第II部A）31，55（1980）．
4）村上知子，伊藤裕三，同上（第II部C）33，33（1983）．
5）伊藤裕三，川原範之，村上知子，同上（第II部A）35，53（1984）．
6）岡本章子，小沢哲夫，今川弘，新井勇治，農化　59，1257（1985）．