

国産大豆の豆腐加工適性と大豆タンパク質の凝固特性*

吉田 誠 神山 かおる** 西成 勝好**

Quality for Tofu Processing of Japanese Domestic

Soybeans and Gelation Properties of Soybean Protein

Makoto YOSHIDA, Kaoru KOHYAMA and Katsuyoshi NISHINARI

緒 言

農林水産省が1978年から始めた水田利用再編対策実施以来、国内の大豆生産は増加し、1975年に125,600 tだったものが、1981年には211,700 t、1989年には271,700 tに増えている。このうち豆腐関係加工用としては50%強が消費されている¹⁾。国産大豆はこのような生産と需要の伸びから、高品質な用途別国産大豆の安定供給が望まれている。しかし、大豆の品質は生産年度、栽培条件等により大きく変化している。そこで、高品質安定生産と共に供給される大豆の品質評価、またその結果にもとづいた加工法の改善が重要になってきている。

従来から、豆腐加工適性はテクスチュロメータ²⁻³⁾やカードメータ⁴⁾による豆腐の破断強度測定により行われている。しかし、豆乳に凝固剤を加えた後凝固していく過程を測定した例は少ない。そこで著者らは、豆乳及び大豆タンパク質の凝固特性を調べ検討を行った。凝固特性は、豆腐の破断強度測定と豆乳の動的粘弾性測定により評価した。

大豆タンパク質は、大豆中30~40%程度含まれており

2 S (15%), 7 S (31%), 11 S (40%), 15 S (3%) の各タンパク質画分から成っていて、各画分はさらにいくつかのサブユニットから構成されている⁷⁾。本研究においては、このうち豆乳の凝固を主に支配していると考えられている11Sタンパク質画分⁸⁾を分離し、その凝固特性を動的粘弾性測定によりとらえ、11Sタンパク質の挙動を調べた。また、大豆タンパク質と分離した11Sタンパク質のサブユニット組成を電気泳動により調べ、凝固特性との関係について考察した。

本研究を実施するに当たり、農林水産省食品総合研究所河村幸雄室長、農林水産省農業研究センター喜多村啓介室長、神戸大学杉本敏男助教授、当研究所酒井豊技術連絡室長、原健次専門研究員、小清水正美主任研究員に多大なご教授をいただいた。また、全国農業協同組合連合会農産部特産課に供試材料の入手にあたり大変お世話になった。ここに記して感謝の意を表する。

試料及び方法

1. 供試材料

当所における現在までの試験結果⁹⁾から、1988年度産の加工適性の異なる5品種を選択し供試した。加工適性の良い品種として、“エンレイ” (長野県産)、中程度品種として“アキヨシ” (大分県産)、“オクシロメ” (青森県産)、劣る品種として“タマホマレ” (山口県産)、“津久井在来” (神奈川県産)を用いた。

* 本報告の一部は日本農芸化学会1989年大会、1991年大会で口頭発表した。

** 農林水産省食品総合研究所食品理化学部食品物性研究室

2. 試験方法

(1) 豆乳の調製

ア. 破断強度測定用豆乳の調製

実際の豆腐製造工程に沿って条件を設定した。丸大豆50gを200mlの水に18時間浸漬後、家庭用ミキサーで摩砕し、加水率が6倍となるように調製し、4分間沸騰させ、二重のガーゼでろ過し、ろ液を豆乳とした。

イ. 動的粘弾性測定用豆乳の調製

丸大豆5gを50mlの水に18時間浸漬後、ワーリングブレンダー及びポリトロンホモジナイザーで摩砕し、二重のガーゼでろ過し、ろ液を豆乳とした。

(2) 11Sタンパク質画分の調製

Thanhらの方法¹⁰⁾によって調製した。丸大豆をサンブルミルで28メッシュ以下に粉碎し、n-ヘキサンで脱脂した。この脱脂大豆粉をTris-HCl, pH7.8緩衝液で抽出し、遠心分離した。その上澄を塩酸でpH6.6に調節し、Tris-HCl, pH6.6緩衝液を外液として透析し、その後、遠心分離をした。ここで得られた沈澱物を凍結乾燥し、11Sタンパク質画分とした。

(3) 豆乳凝固物(豆腐)の破断強度測定

原ら⁹⁾の方法によりカードメータ(飯尾電気(株))を用いて行った。破断強度は豆腐を破壊するのに必要な応力である。調製した豆腐を内径30mmの凝固管に25ml入れた。そこに凝固剤としてグルコノ- δ -ラクトン(以下GDLと略)を添加後の濃度が0.4%になるように1ml添加する。そして70°C, 1時間加熱凝固させ、その後水冷却し、流水中に放置し、さらに20°Cの室温に放置し豆腐の温度を20°Cとした。カードメータで直径8mmのプランジャーを用い、押し込み速度0.12mm/minで凝固管内の豆腐を破壊し破断強度を測定した。

(4) 動的粘弾性の測定

調製した豆乳及び11Sタンパク質の動的粘弾性をレオログラフゾル((株)東洋精機製作所)で測定した。動的粘弾性は凝固過程の豆乳に微小な振動を与え、それに対する応力を測定して求めるもので、貯蔵弾性率及び損失弾性率として表した。試料溶液を5分間、100°Cの湯浴上で加熱後、すぐに室温まで冷却した。その後測定セル及び試料溶液を80°Cまで加熱し、測定セルに試料溶液を注入し、添加後の濃度が目的の濃度になるようにGDLを加え、すばやく攪拌し、試料溶液中に測定ブレードを挿入した。測定セルの表面に水分蒸発を防ぐためにシリコンオイルを乗せ、測定を開始した。周波数2Hz, 正弦的振動125 μ mを与え、貯蔵弾性率と損失弾性率を求めた。測定セルの内寸法は2.6mm \times 15mm \times 45mmで、測定ブレードの寸法は0.6mm \times 10mm \times 25mmである。動的粘弾性測定装置レオログラフゾルの構造を第1図に示した。

(5) 動的粘弾性測定によるゲル化曲線の解析

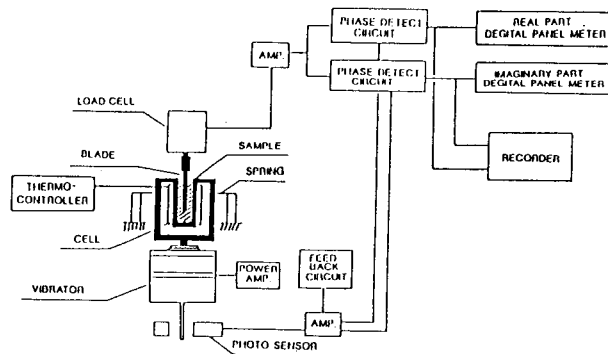
測定結果は凝固曲線の立ち上がりを時間 $t=0$ として1次反応近似式(1)を用いて最小二乗法によるあてはめを行った。これにより貯蔵弾性率(G')と損失弾性率(G'')の最終平衡値 G_{sat} と反応速度定数 k を求めた¹¹⁾。

$$G(t) = G_{sat} \{1 - e^{-kt}\} \dots (1)$$

(6) 電気泳動によるタンパク質サブユニット組成の分析

尿素5Mを含む、アクリルアミド13%のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によりタンパク質サブユニット組成を調べた¹²⁾。泳動、染色後デンストメータによりタンパク質サブユニットの含有割合をピーク面積より求めた。

(7) タンパク質含量の測定



第1図 レオログラフゾルの構造図

ケルダール法により窒素量を求め、タンパク質換算係数として5.71を乗じタンパク質含量(%)とした。

結果及び考察

1. 豆腐の破断強度と動的粘弾性

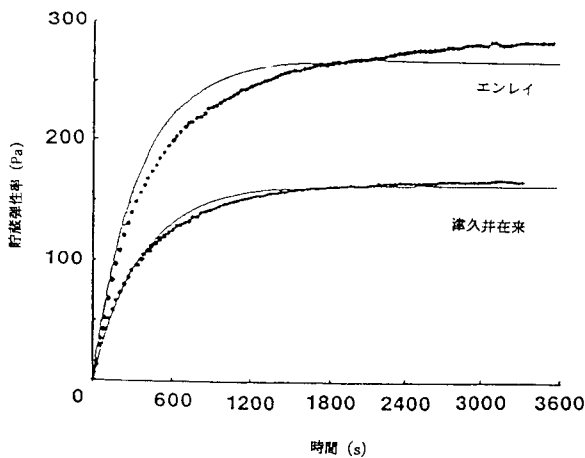
カードメータによる破断強度測定結果と、レオログラフゾルによる動的粘弾性測定結果を第1表に示した。両測定法とも同様な傾向を示し、品種間差が明らかになった。動的粘弾性測定では貯蔵弾性率(G')の品種間差は明確に認められたが、損失弾性率(G'')の差は明確に測定できなかった。

“アキヨシ”に関しては以前は、加工適性が中間と報告されているが⁹⁾、1989年度産に関しては加工適性が良いという結果になった。これは、原料大豆の生産年次間差と思われる。

GDL濃度0.4%におけるレオログラフゾルの G' satとカードメータの硬さは、相関係数が $r=0.998$ となり、高い相関を示した。このことから、従来カードメータで行っていた豆腐の硬さによる加工適性の決定を動的粘弾性測定により行えることが明かとなった。

原らによるとカードメータ測定値が100g重/cm²以上が加工適性有りと報告されている⁷⁾。この相関関係を用いて計算すると、レオログラフゾルによる80℃での動的粘弾性測定における貯蔵弾性率の最終平衡値 G' satが170Pa以上を示す品種が加工適性有りと判断された。

また、動的粘弾性測定は第2図に示したように、凝固



第2図 エンレイと津久井在来の豆乳ゲル化曲線

●●●, 貯蔵弾性率の実測値
—, 最小二乗法による貯蔵弾性率計算値

第1表 GDL0.4%における豆腐の硬さ(Hardness)と豆乳凝固特性(G' sat)

品 種	G' sat (Pa)	Hardness (gf/cm ²)
エンレイ	270	120
アキヨシ	210	110
タマホマレ	190	104
オクシロメ	180	102
津久井在来	160	98

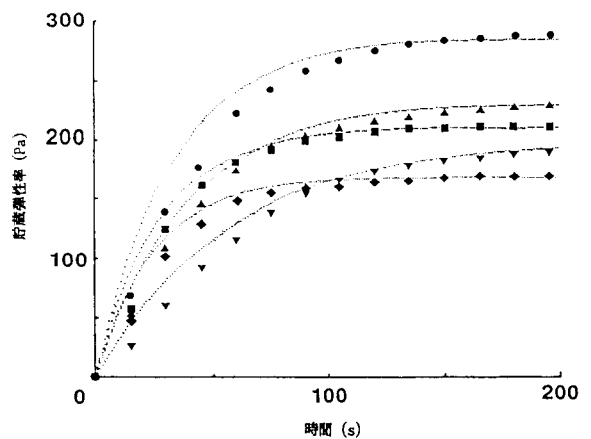
$$\text{Hardness(Pa)} = \text{Hardness(gf/cm}^2\text{)} \times 9.80(\text{m/s}^2) \times 10$$

過程を経時的に測定できるという特徴を持つ。そのため G' の飽和値に達する時間が容易にわかり、測定時間の短縮、さらには、製造現場での製造時間短縮を可能とするための諸条件の設定に応用できるものと思われる。

2. 11Sタンパク質の動的粘弾性

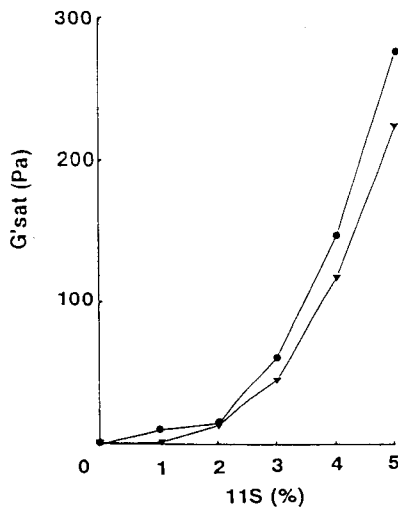
豆乳と同様に“エンレイ”、“オクシロメ”、“タマホマレ”、“アキヨシ”、“津久井在来”の5品種から11Sタンパク質を分離し、その凝固特性を動的粘弾性測定により調べた。その結果を第3図に示した。豆乳と同様に貯蔵弾性率については品種間差が明確に現れた。しかし、損失弾性率については豆乳の測定時と同様に差が明確に測定できなかった。

11Sタンパク質の凝固特性を調べるために、“エンレイ”と“津久井在来”の11Sタンパク質について、タンパク質濃度を变化させた場合(第4図)と、凝固剤濃度を变化させた場合(第5図)の動的粘弾性を測定した。



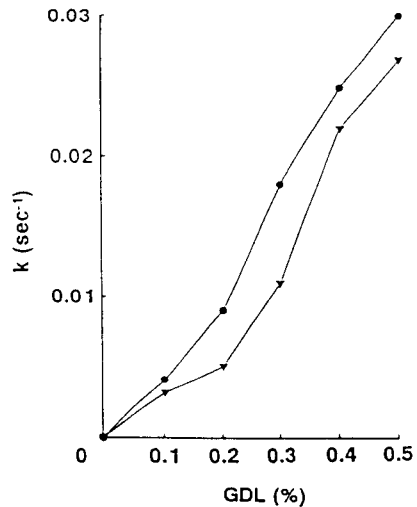
第3図 大豆から分離した11Sタンパク質のゲル化曲線

●: エンレイ, ▲: アキヨシ, ■: タマホマレ,
▼: 津久井在来, ◆: オクシロメ
....., 最小二乗法による貯蔵弾性率計算値



第4図 貯蔵弾性率最終平衡値 (G'sat) の11Sタンパク質濃度依存性 (GDL0.4%)

●; エンレイ, ▼; 津久井在来



第5図 反応速度定数(k)のGDL濃度依存性 (11Sタンパク質5%)

●; エンレイ, ▼; 津久井在来

貯蔵弾性率はタンパク質濃度の増加に伴い増加し、反応速度定数 k は凝固剤 (GDL) 濃度の増加に伴い増加した。

一般に生体高分子ゲルの貯蔵弾性率の濃度依存性は指数関数で表され、弾性率は高分子濃度 (C) の n 乗に比例する (第2式)。

$$G' \propto C^n \dots \dots (2)$$

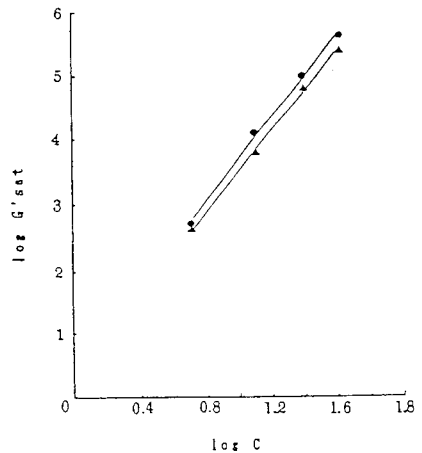
鶴田ら¹³⁾によるとレンネットを凝固剤として用いたカゼインのゲルでは n = 2, Bikbowら¹⁴⁾によると濃度7.5~58.4%の加熱大豆ゲルでは n = 5 と報告されている。本実験の場合 GDL を用いた濃度 2~5% における大豆ゲルで、2品種ともおよそ n = 3 となった (第6図)。この違いは、粗11Sタンパク質と、大豆タンパク質またはカゼインという高分子の差、また温度や凝固剤の有無という凝固条件の違いによるものと思われる。

3. 大豆タンパク質及び11Sタンパク質のサブユニット組成

第7, 8図に大豆タンパク質及び11Sタンパク質を電気泳動させ、デンストメータにより読みとった結果のうち、加工適性の良い“エンレイ”と、それが劣る“津久井在来”のものを示した。また、デンストメータによる各ピークの含量割合を第2表に示した。なお、各サブユニットの命名は喜多村らの方法¹⁵⁾によった。

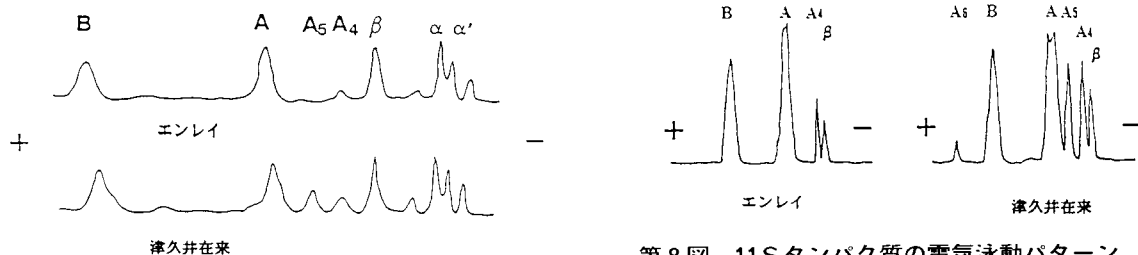
脱脂大豆粉を電気泳動させた結果 (第7図) では、右からリポキシゲナーゼ, 7Sサブユニットの α' , α , β , 11S酸性サブユニットの A_4 , A_5 , その他酸性サブユニッ

ト A, 11S塩基性サブユニットのBが現れた。特に品種の違いにより A_5 の有無が特徴的に現れた。11Sのタンパク質を泳動させた結果 (第8図) では、酸性サブユニットの A_4 , A_5 , A, A_6 , 塩基性サブユニットのBが現れた。ここでは精製が不十分のために7Sの β サブユニットも含まれていた。これは、カラム処理等の手法で十分に精製されるが、本実験では動的粘弾性測定のために、充分なサンプル量を得るためカラム処理を行わず、この画分を11Sタンパク質として実験を行った。ここで特徴的な



第6図 貯蔵弾性率最終平衡値 (G'sat) の11Sタンパク質濃度依存性 (GDL0.4%)

●; エンレイ, ▲; 津久井在来



第7図 大豆タンパク質の電気泳動パターン

α' , α , β は7Sタンパク質のサブユニット
 A_4 , A_5 , A は11Sタンパク質の酸性サブユニット
 B は11Sタンパク質の塩基性サブユニット
 電気泳動は右(-)から左(+)へ泳動した

第8図 11Sタンパク質の電気泳動パターン

A_4 , A_5 , A は11Sタンパク質の酸性サブユニット
 B は11Sタンパク質の塩基性サブユニット
 電気泳動は右(-)から左(+)へ泳動した
 分離が不完全なために7Sサブユニットの β が約10%
 混在している

第2表 大豆タンパク質のサブユニット組成

品 種	α' (%)	α (%)	β (%)	A_4 (%)	A_5 (%)	A (%)	B (%)
エンレイ	8.8	13.2	15.4	3.3	0	26.4	22.5
オクシロメ	10.5	16.3	13.7	5.3	0	21.1	17.9
タマホマレ	8.2	10.3	12.9	3.4	0.9	24.1	22.4
アキヨシ	7.3	9.9	12.8	4.7	4.4	20.4	19.0
津久井在来	7.9	12.4	15.5	5.0	6.7	20.9	16.3

は A_5 , A_6 サブユニットであった。

これまでの報告^{6,9,16)}では、大豆タンパク質の加熱凝固ゲルで A_4 含量の多いものが、また A_5 を含まない物が凝固性が良いとされているが、ここではその傾向ははっきりと見られなかった。再度11Sを精製して確認する必要がある。

第3表にタンパク質含量、11Sタンパク質含量と $G'sat$ を示した。 G' の測定において、豆乳製造時に同一加水率で行ったので、豆乳中のタンパク質含量を揃えていないが、原料大豆中のタンパク質含量と $G'sat$ の相関係数は $r=0.70$ と低かった。そこで原料大豆中のおおよその11Sタンパク質含量を電気泳動による11Sタンパク質の割合から求めた結果、この数値と $G'sat$ の相関係数は $r=0.87$ と比較的高い値が得られた。このことから11Sタンパク質が大豆ゲル化の主要因であることが確認さ

れた。

国産大豆の需要がさらに高まることが予想されることから、豆腐加工適性の評価手法のさらなる開発のため、また用途別大豆の改良に資するために、大豆タンパク質サブユニット組成と豆腐凝固特性の関係を検討する必要がある。

摘 要

豆腐加工適性を大豆タンパク質の凝固特性としてとらえ、凝固特性とタンパク質サブユニット組成の関係を調べた。

1. 豆乳の動的粘弾性測定は、破断強度による豆腐加工適性評価に代わり得ることを明らかにした。即ち、破断強度測定による評価基準100g重/cm²は動的粘弾性測定における貯蔵弾性率最終平衡値で170Paに相当する。また、凝固過程を経時的に測定できるという特徴を持つ。
2. 大豆から抽出した11Sタンパク質では、動的粘弾性測定における貯蔵弾性率の最終平衡値 $G'sat$ は11Sタンパク質濃度の増加に伴って増加し、反応速度定数も凝固剤(GDL)の濃度の増加に伴って増加した。
3. GDLを用いて凝固させた11Sタンパク質ゲルの $G'sat$ は、高濃度の加熱ゲルとは異なり、11Sタンパク

第3表 大豆タンパク質含量と豆乳凝固特性

品 種	タンパク質		豆 乳	
	11Sタンパク質 (%)	タンパク質 (%)	$G'sat$ (Pa)	11Sタンパク質 $G'sat$ (Pa)
エンレイ	33.7	17.6	270	290
アキヨシ	33.8	16.4	210	230
タマホマレ	31.9	16.2	190	210
オクシロメ	32.8	14.5	180	170
津久井在来	31.4	15.4	160	200

濃度 2～5% で 11S タンパク質濃度の 3 乗に比例することを明らかにした。

4. タンパク質サブユニット組成と凝固特性の関係はこれまで報告された A₁, A₂ の有無, 及びそれらの, 多少によるゲル破断強度の大小とは必ずしも一致しなかったが, 11S タンパク質含量が主として G'sat を決めていることが確認された。

引用文献

- 1) 農林水産省農蚕園芸局畑作振興課 (1989) 大豆に関する資料 : 32～33
- 2) K. Saio, M. Kamiya and T. Watanabe (1969) *Agric. Biol. Chem.*, 33:1301
- 3) K. Saio, T. Watanabe (1978) *J. Texture Stud.*, 9:135
- 4) 橋詰和宗, G. Ka (1978) 日本食工学会誌, 25 : 383
- 5) 橋詰和宗, 前田正道, 渡辺篤二 (1978) 日本食工学会誌, 25:387
- 6) 原健次, 根岸正好 (1987) 神奈川農総研研報, 129 : 58～68
- 7) 山内文男 (1979) 日本食工学会誌, 26 : 267～268
- 8) K. Saio, T. Watanabe (1973) *J. Food Sci.*, 38:1139～1144
- 9) 森友彦 (1983) 京都大学食糧科学研究所報告, 46:45～47
- 10) V. H. Thanh, K. Okubo and K. Shibasaki (1975) *Plant Physiol.*, 56:19～22
- 11) 西成勝好 (1988) 食品物性 (レオロジー), 食品学総論 (舩重正一・野口忠 編集), 朝倉書店, PP.120～138
- 12) K. Sugimoto, M. Momma, K. Hashizume and K. Saio (1987) *Agric. Biol. Chem.*, 51:1231～1238
- 13) M. Tokita, K. Hikichi, R. Niki and S. Arima (1982) *Biorheology*, 19:209～219
- 14) T. M. Bikbow, V. Ya. Grinberg, Yu. A. Antonov, V. B. Tolstoguzov and H. Schmandke (1979) *Polymer Bulletin*, 1:865～869
- 15) K. Kitamura, T. Toyonaka and K. Harada (1980) *Phytochem.*, 19:1841
- 16) T. Mori, T. Nakamura and S. Utsumi (1982) *J. Agric. Food Chem.*, 30:828～831

SUMMARY

In recent years, soybeans are recognised as an important crop as well as rice in Japan. Under the circumstances, soybean quality and its properties for tofu processing have been attracted more attention from many investigators. In previous studies they were evaluated as a hardness by a texturometer or a curd meter. Since there have been very few studies on gelation of soymilk, dynamic viscoelasticity measurement of the gelation process of soymilk was performed in the present work. It is known that 11S globulin mainly governs the hardness of tofu gel. We also examined the gelation of 11S globulin-glucono- δ -lactone (GDL) system.

The storage and loss moduli were observed as a function of time after the addition of GDL. Gelation curves well approximated by first order reaction equation. The saturated value of the storage modulus correlated well with the gel hardness by a curd meter. The saturated value of the storage modulus was mainly dependent on concentration of 11S globulin. The rate constant was an increasing function of the concentration of GDL. The relationship between subunit composition of 11S globulin and gelation properties is not clarified yet.