大豆乳蛋白質の理化学的性質に及ぼす 大豆乳の調製法と pH の影響

Effect of Preparation Methods and pH Values on the Physicochemical Properties of Proteins in Soybean Milk

(昭和 43 年 3 月 26 日 受 理)

川 口 豊* 津 郷 友 吉*
(Yutaka Kawaguchi) (Tomokichi Tsugo)

The changes of physicochemical properties of protein in soybean milk affected by the preparation techniques and by the pH values were examined comparing with the results obtained from cow's milk. Results were as follows:

1. The contents of total solids, protein, ash, fat, nitrogen free extracts and minerals in the heat-extracted soybean milk were higher than those in the unheated one. In heat-extracted soybean milk the increase in nitrogen content was noted in the acid-insoluble fraction.
2. The shape of protein particle of unheated soybean milk was spherical under an electron microscope, having the diameter of about 50 m μ .
3. The shape of protein particle of heat-extracted soybean milk was associated to form larger particles.
4. With decreasing of pH values of soybean milk protein particles tended to form larger particles, and at pH 2.4 they were present in somewhat swollen shape.
5. When the pH values of acidified soybean milks were readjusted to the original pH (6.6), it was found that the protein particles lost the original shape, showing that irreversible transformation had occurred during the pH adjustments.

大豆乳は豆腐を製造するときの中間産物であるが化学的組成が牛乳にかなり類似している。大豆乳の化学的組成や、物理的性状は大豆乳の製造条件、たとえば浸漬大豆を磨砕して大豆乳を抽出するときの加水量、加熱温度、時間および加熱とろ過の順序¹⁾により当然異なってくる。したがって大豆乳の調製方法を変え、それに伴う化学的組成、物理的性状の変化を知ることは大豆乳を利用する上に重要な意義を有するものと考えられる。大豆乳の浸出時の pH を変えた場合の蛋白質の浸出性²⁾、また温度、浸出液量を変えた場合の浸出状況を pH 0.5~12 の間についてしらべた結果³⁾の報告はあるが、大豆乳の調製方法の相違や、pH の変化に伴う蛋白質粒子の形態変化については明らかにされていない。本実験は大豆乳の調製方法、調製後に pH を変化させた場合の蛋白質粒子の形態および変化を牛乳中の蛋白質と比較検討することによって大豆乳の特徴を知ることとする。

実 験 方 法

1. 大豆乳の調製

大豆乳の調製方法は乳鉢で磨砕し、布でろ過する方法と、実験室用ホモジナイザーで磨砕し、遠心ろ過する方法とにし、大豆乳の浸出は常温 (15°C) と、加熱浸出 (100°C) の 2 種類で合計 4 種類とした。

(1) 供試大豆：山梨県産銀白

(2) 大豆の浸漬：精選された大豆 50 g に重量比で 2.5 倍量の水を加えて室温で一晩浸漬した。

(3) 大豆乳の磨砕

a 乳鉢磨砕：浸漬した大豆を乳鉢に入れ、十分にすりつぶした。

b ホモジナイザーによる磨砕：実験室用ホモジナイザーに浸漬した大豆を入れ水 60 ml を加えてホモジナイズした。

(4) 大豆乳の浸出

a 常温浸出：試料の蛋白質含量を脱脂乳と同一程度と

* 東京大学農学部

するために乾燥大豆に対して、浸漬時の加水量、ホモジナイザーによる磨砕時の加水量をも含めて全体として重量比で8.5倍量の水を加えて、1 l ビーカー中で十分攪拌した。

b 加熱浸出：常温浸出に相当する水を2 l ビーカーに入れ直火で加熱し、煮沸しはじめたら磨砕した大豆を少量ずつ入れ攪拌し泡立ったら東芝消泡シリコーン TSA 737を添加して泡を消し、10分間加熱し蒸発した水を補ってaの水浸出と同等の容積とした。

(5) 搾汁の調製法

a 布ろ過：水浸出、加熱浸出をおこなった大豆乳を布で圧搾ろ過した。搾汁は1回とした。

b 遠心ろ過：水浸出、加熱浸出をおこなった大豆乳をバスケット型の遠心分離機（富士ジャーサー：JC-300 D型連続式。容器内にある分離かごと、おろし金のかたちをした円板形のカッターが7,000 r. p. m. の割合で回転し、投入口から試料を入れたら残渣だけがフィルターにさえぎられ遠心力で乳汁と残渣を連続して分離する）で残渣と分けて大豆乳を得た。ろ過は1回とした。

2. 脱脂乳の調製

数頭のホルスタイン種混合乳をクリーム分離機にかけて脱脂乳を得た。

(1) 非加熱：2 l ビーカー中で十分攪拌してのち実験に供した。

(2) 加熱処理：2 l ビーカーに脱脂乳をとり直火で煮沸しはじめてから10分間加熱し蒸発した水を補って非加熱のものと同じ容積とした。

3. 大豆乳および脱脂乳の化学分析

(1) 比重：牛乳比重計⁴⁾を用いた。

(2) pH：ガラス電極 pH メーターで測定した⁵⁾。

(3) 酸度：アルカリ滴定法⁶⁾により、試料 10 ml 当たり 0.1 N アルカリの ml 数で示した。

(4) 水分：精製けい砂を用いる混砂法⁷⁾によった。

(5) 灰分：加熱温度 550°C の電気炉法⁸⁾を用いた。

(6) 蛋白質：ケルダール法により全窒素を測定し、大豆乳には5.71、脱脂乳には6.38を乗じて蛋白質量を算出した。

(7) 脂肪：レーゼゴットリーブ法⁹⁾によった。

(8) 繊維：脂肪を定量したあとの脱脂試料について、実験農芸化学¹⁰⁾記載の方法によった。

(9) りん：中村の改良法¹¹⁾によった。すなわち10倍に希釈した試料 2 ml をマイクロケルダール分解瓶 (15 ml 標線のもの) にとり、中村の改良法により測定した。

(10) 塩素：試料を灰化してのち1:1の硝酸2~3 ml でうろし熱水を加えて 200 ml ビーカーにうつしてのち、チオシアン酸カリウムによる直接滴定法¹²⁾によ

り測定した。

(11) カリウム：試料に 1 N HCl を加えて蛋白質を沈澱させ、1N NH₄OH を用いて pH 4.1 にしこれをろ過し、ろ液を Dowex 50 のカチオン交換樹脂(水素型)を通してのちに樹脂を水で洗ひろ液が中性になってから 3.5 N の HCl 75 ml で吸着させたカチオンを溶出させ 50 ml 容量として、ベックマン型炎光分光光度計で波長 767 mμ を用い炎光光度分析法¹³⁾により測定した。

(12) ナトリウム：(11)の方法により波長 588 mμ で測定した。

(13) カルシウム：(11)の方法により波長 423 mμ で測定した。

(14) マグネシウム：(11)の方法により波長 371 mμ で測定した。

(15) 蛋白質の分画と分別定量：Rowland の方法¹⁴⁾によった。

a 酸可溶区分の窒素：試料を 40°C に保って水70~80 ml, 10% 酢酸溶液 1.0 ml, 1 N 酢酸ナトリウム溶液 1.0 ml を加えて混和し冷却後 100 ml としたのちろ過し、ろ液 20 ml をとり全窒素と同じ方法で窒素を測定した。

b 酸不溶区分の窒素：全窒素より酸可溶区分の窒素を差引いて求めた。

c トリクロル酢酸可溶区分の窒素：試料に15%トリクロル酢酸溶液を加えて 50 ml としたのちろ過し、ろ液20ml をとり全窒素と同じ方法で窒素を測定した。

d pH 4.8 煮沸ろ液・トリクロル酢酸可溶区分の窒素：a のろ液 25 ml をとり N/10 水酸化ナトリウム溶液で pH を 4.8 としたのち10分間煮沸し、冷却後水を加えて、25 ml とした。これをろ過しろ液 20 ml を全窒素と同じ方法で窒素を測定し、この窒素量から、トリクロル酢酸可溶区分の窒素量を差引いて求めた。

e pH 7.0 飽和 MgSO₄ 不溶区分の窒素：a のろ液25ml を N/10 水酸化ナトリウムで pH 7.0 とし、これに結晶硫酸マグネシウムの粉末を 22.5 g 加え飽和するまで攪拌し放置後ろ過し、飽和硫酸マグネシウム溶液で洗滌し、沈澱物を全窒素と同じ方法で窒素を測定した。

f pH 7.0 飽和 MgSO₄ 可溶区分の窒素：a の窒素量から d と e の両者の窒素量を差引いて求めた。

4. pH の調整

(1) 試料の pH 調整と希釈

大豆乳はホモジナイザーによる磨砕、遠心ろ過の方法で調製したものについて試料を1,600~2,000倍に希釈したのちに N/10 酢酸溶液で pH を 5.6, 4.7, 2.4 に調整した。脱脂乳も同様に pH を 5.6, 4.6, 2.4 に調整した。

(2) 試料の pH の規正

pH を 5.6, 4.7 または 4.6, 2.4 にしたものを N/10 水酸化ナトリウム溶液でもとの状態の pH に規正した。

5. 電子顕微鏡による蛋白質粒子の観察

電子顕微鏡は日立製大型 HU-11-S, 加速電圧 75kV, 分解能 7.5 Å, 金網は 200メッシュで支持膜の厚さは 50 ~ 100 mμ のコロジオン膜を用いゲルマニウムシャドーイングをおこない直接倍率 20,000 倍で観察した。

実験結果並びに考察

1. 調製方法の異なる大豆乳および脱脂乳の化学的組成

調製方法の異なる大豆乳および脱脂乳の化学的組成は第 1 表のとおりである。

調製された大豆乳の化学組成は磨砕方法, ろ過方法に

よる差は少ないが, 加熱処理することにより全固形分は多く, 蛋白質, 灰分, 脂肪, 可溶性無窒素物および無機成分も多くなっていることが認められる。大豆乳と脱脂乳を比較すると大豆乳は脱脂乳に比べ繊維が多く, 灰分, 可溶性無窒素物が少ない傾向にあり, 無機成分のうちカリウムだけは特に多く, マグネシウムがいくらか多いほかは他の無機成分は少ないことが認められる。

2. 蛋白質の性状に及ぼす大豆乳調製法の影響

調製方法の異なる大豆乳, および脱脂乳の蛋白質の性状は第 2 表のとおりである。加熱することによって酸沈澱区分が 79% から 86 ~ 89% とかなり多くなり酸可溶区分は少なくなっている。このことは当然 pH 7.0 硫酸マグネシウム飽和ろ液区分の減少となってあらわれている。そして, トリクロル酢酸可溶区分, すなわち非蛋白態窒素と pH 4.8 の煮沸ろ液区分 (プロテオース・ペプトン

第 1 表 調製方法の異なる大豆乳および脱脂乳の化学的組成

乳別	調製方法	項目 大豆乳の 浸出温度	収量 (ml)	比重 (15°C)	pH	酸度	水分 (%)	全固形分 (%)	蛋白質 (%)	灰分 (%)	繊維 (%)	脂肪 (%)	可溶性 無窒素物 (%)	無機成分 mg/100g					
														P	Cl	K	Na	Ca	Mg
大豆乳	乳鉢磨砕 布ろ過	非加熱 (15°C)	315.0	1.015	6.60	1.42	94.84	5.16	2.54	0.33	0.08	0.82	1.39	29.8	2.7	202.7	1.25	14.2	15.0
		加熱 (100°C)	250.0	1.024	6.61	1.40	92.94	7.06	3.57	0.50	0.07	1.21	1.71	41.8	3.0	284.5	1.28	18.7	18.0
	ホモジナイザーによる磨砕 遠心ろ過	非加熱 (15°C)	250.0	1.016	6.60	1.40	94.41	5.59	2.79	0.35	0.07	1.05	1.33	29.9	3.0	202.4	1.32	13.7	15.6
		加熱 (100°C)	230.0	1.022	6.60	1.40	92.79	7.21	3.46	0.44	0.08	1.22	2.01	37.2	3.0	254.4	1.32	17.4	18.0
脱脂乳		非加熱 (15°C)	—	1.032	6.60	1.35	91.19	8.81	3.35	0.77	—	0.10	4.59	87.2	91.8	146.3	41.0	108.2	10.2
		加熱 (100°C)	—	1.032	6.60	1.35	91.07	8.93	3.44	0.78	—	0.10	4.61	90.6	94.5	146.4	43.4	100.9	11.3

第 2 表 蛋白質の性状におよぼす大豆乳調製法の影響

乳別	調製方法	項目 大豆乳の浸出温度	状態による区分 *1 T. N	酸可溶区分 (10% 酢酸・1N 酢酸ナトリウム)											
				酸沈澱区分			ろ液								
				沈澱			ろ液			*2 トリクロル酢酸可溶区分		*3 pH 4.8 煮沸ろ液・トリクロル酢酸可溶区分		pH 7.0 飽和 MgSO ₄ 不溶区分	pH 7.0 飽和 MgSO ₄ 可溶区分
			mg / 100g	mg / 100g	T. N 中の %	mg / 100g	T. N 中の %	mg / 100g	T. N 中の %	mg / 100g	T. N 中の %	mg / 100g	T. N 中の %	mg / 100g	T. N 中の %
大豆乳	乳鉢磨砕 布ろ過	非加熱 (15°C)	521.7	406.5	77.9	115.2	22.1	47.5	9.1	20.5	3.9	16.2	3.1	31.0	5.9
		加熱 (100°C)	587.6	504.6	85.9	83.0	14.1	48.0	8.2	28.5	4.9	6.0	1.0	0.5	0.1
	ホモジナイザーによる磨砕 遠心ろ過	非加熱 (15°C)	528.5	420.1	79.5	108.4	20.5	44.6	8.4	17.8	3.4	10.7	2.0	35.3	6.7
		加熱 (100°C)	574.5	509.9	88.8	64.6	11.2	41.2	7.2	21.3	3.7	2.1	0.4	0	0
脱脂乳		非加熱 (15°C)	525.0	409.9	78.0	115.1	22.0	36.0	6.9	32.5	6.2	15.9	3.0	30.7	5.8
		加熱 (100°C)	539.0	458.1	85.0	80.9	15.0	38.0	7.1	37.2	6.9	5.7	0.9	0	0

*1 全窒素

*2 非蛋白態窒素

*3 熱およびトリクロル酢酸で凝固しないもの

態窒素に相当)は変化が少ないことがみられる。したがって大豆乳の加熱により飽和硫酸マグネシウム(pH 7.0)不溶区分と、可溶区分の両者が熱凝固して酸可溶区分が減少したものと考えられる。

3. 電子顕微鏡による蛋白質粒子の観察結果

(1) 検鏡試料の希釈度の影響

試料がそのままでは蛋白質粒子が重なりあって検鏡ができないので、400倍、800倍、1,000倍に希釈して観察した結果800~1,000倍程度が蛋白質粒子の分散性がよいようであった。pHの影響を観察する場合は、希酸、希アルカリの結晶が検鏡を妨害することがあるので1,600~2,000倍程度が適当であった。

(2) 蛋白質粒子の形状

大豆乳の蛋白質粒子は、第1図のNo. 1で観察されるように細かい球状でNo. 2の脱脂乳のそれと比べると、はるかに小さく35~70m μ の範囲で50m μ 程度と判断される。加熱した場合はNo. 3のように粒子は大きくなり、不規則な集団を作ることが観察される。脱脂乳については遊佐¹³⁾の報告によると100°C 30分の加熱では形態的には常乳と変わらないが超遠心分離法による実験である程度の変性を認めている。本実験においては加熱することによってある程度変性を受け凝集しつづあることが認められ、不安定な蛋白質粒子を形成することが推定される。

(3) pHの変化に伴う蛋白質粒子の形態変化

大豆乳蛋白質は牛乳と同様に浸出および加工の段階においてpHの変化をともなう場合が多く、これをもとの状態にもどした場合の蛋白質粒子の状態を知ることは大切であり、また牛乳などが放射能に汚染されたときこれを除去する場合の変化にも関連するので重要である。たとえばストロンチウム90(⁹⁰Sr)で汚染された場合酸添加によりpH 5.45付近として結合のSrを遊離剤にして、混合塩型陽イオン交換樹脂処理により除去率を高め、処理後水酸化カリウムで中和してpHをもとにもどす試みがおこなわれている¹⁴⁾。このようにpHをもとにもどした場合の蛋白質粒子の形態がどのように変化しているかということは重要な意義があると考え、pHの変化に伴う蛋白質粒子の形態を観察した。pH 5.6における形態を非加熱浸出大豆乳ではNo. 5に、非加熱脱脂乳をNo. 6、加熱浸出大豆乳をNo. 7に示す。これによると大豆乳蛋白質粒子の一部は会合をおこしているように観察される。脱脂乳は大豆乳ほどではなく、常乳にやや近い形態を示している。このことは大豆乳が酸によって沈澱しやすく酸敗による凝固がはやいことを示していると考えられる。さらに大豆乳のpHを4.7にした場合の形態の変化をNo. 8とNo. 9に、脱脂乳の

pHを4.6にした場合の変化をNo. 10に示す。これらは一部は会合してもとの液の蛋白質粒子とは形態を異にしていることがうかがわれる。さらにpHがさがりpH 2.4の強酸性下の形態は大豆乳をNo. 11(加熱浸出大豆乳も同様の形態を示したので省く)、脱脂乳をNo. 12に示す。強酸性中においてはもとの液の蛋白質粒子が三次結合に変化を生じ、粒子が分散してきたことを示していると考えられる。また分散した粒子は直径が幾分大になっていることにより膨潤していることが推定される。これらのことは前野、遊佐¹⁵⁾の報告とよく一致している。

以上の実験で酸変性した大豆乳および脱脂乳の蛋白質粒子の各状態をもとの液のpHである6.6に規正した場合どのような形態変化がみられるかを調べた結果はNo. 13からNo. 18に示すとおりである。これらの結果は大豆乳、脱脂乳ともに酸で変性された蛋白質粒子はいずれも形態的に変化し、もとの液の蛋白質粒子の状態にもどらないことと、その粒子が小さくなっていることが観察される。また大豆乳においては浸出時の加熱の影響も大きいとさらに酸およびアルカリの添加も蛋白質粒子の状態に影響を及ぼすことが認められた。

要 約

大豆乳の蛋白質の特徴を知る目的で調製方法を変えた場合の蛋白質の組成、蛋白質粒子の形態、pHの変化に伴う蛋白質粒子の変化を脱脂乳と比較してしらべた。

(1) 大豆乳は浸出のさい加熱すると、全固形物、蛋白質その他の成分含量は多くなり、窒素化合物は酸沈澱区分が多く、酸可溶区分は少なくなった。

(2) 大豆乳蛋白質粒子は電子顕微鏡による観察によれば球状であり、50m μ 程度で牛乳のそれよりはるかに小さい。

(3) 加熱浸出した大豆乳の蛋白質粒子は会合して巨大粒子を形成することが観察された。

(4) 大豆乳、脱脂乳ともpHが酸性になると蛋白質粒子は会合して大きくなるがこの傾向は大豆乳が顕著であった。またpHが2.4の強酸性液中の蛋白質粒子は膨潤していることが観察された。

(5) 酸変性した蛋白質粒子をもとの液のpHの状態に規正した乳汁中の蛋白質粒子は形状を異にし、もとの形状にもどらないことが観察された。

終わりにのぞみ電子顕微鏡撮影の便宜を与えられた雪印乳業株式会社技術研究所の曾根敏磨氏、撮影に種々援助下さった岡田正和氏に感謝の意を表する。

本報の要は日本農芸化学会関東支部大会(昭和42年10月6日)において発表した。

第 1 図 大豆乳および脱脂乳の蛋白質粒子

直接倍率 20,000×

No. 1 大豆乳の蛋白質粒子

No. 2 脱脂乳の蛋白質粒子

No. 3 加熱浸出大豆乳の蛋白質粒子

No. 4 加熱脱脂乳の蛋白質粒子

No. 5 pH 5.6 における大豆乳の蛋白質粒子

No. 6 pH 5.6 における脱脂乳の蛋白質粒子

No. 7 pH 5.6 における加熱浸出大豆乳の蛋白質粒子

No. 8 pH 4.7 における加熱浸出大豆乳の蛋白質粒子

No. 9 pH 4.7 における大豆乳の蛋白質粒子

No. 10 pH 4.6 における脱脂乳の蛋白質粒子

No. 11 pH 2.4 における大豆乳の蛋白質粒子

No. 12 pH 2.4 における脱脂乳の蛋白質粒子

No. 13 pH 5.6から pH 6.6 に規正した大豆乳の蛋白質粒子

No. 14 pH 5.6から pH 6.6 に規正した脱脂乳の蛋白質粒子

No. 15 pH 5.6から pH 6.6 に規正した大豆乳の蛋白質粒子

No. 16 pH 4.6から pH 6.6 に規正した脱脂乳の蛋白質粒子

No. 17 pH 2.4から pH 6.6 に規正した大豆乳の蛋白質粒子

No. 18 pH 2.4から pH 6.6 に規正した脱脂乳の蛋白質粒子

文 献

- 1) 中山 修, 渡辺篤二: 栄養と食糧, 15, 39(1962)
- 2) A. K. Smith, S. J. Circle: *Ind. Eng. Chem.*, 30, 1414 (1938)
- 3) 渡辺篤二, 中山 修, 岩崎典子: 食品工誌, 10, 504 (1963)
- 4) 東大農化教室編: 実験農芸化学, 下巻, 朝倉書店 p. 643 (1960)
- 5) 乳業技術講座編集委員会編: 牛乳・乳製品検査, 朝倉書店, p. 21 (1964)
- 6) 同上, p. 32 (1964)
- 7) 同上, p. 34 (1964)
- 8) 同上, p. 60 (1964)
- 9) 同上, p. 36 (1964)
- 10) 東大農化教室編: 実験農芸化学, 上巻, 朝倉書店, p. 124 (1960)
- 11) 中村道徳: 農化, 24, 1 (1950)
- 12) 乳業技術講座編集委員会編: 牛乳・乳製品検査, 朝倉書店, p. 81 (1964)
- 13) V. R. Wenner: *J. Dairy Sci.*, 41, 761 (1958)
- 14) 東大農化教室編: 実験農芸化学, 下巻, 朝倉書店, p. 646 (1960)
- 15) 遊佐孝五: 日畜会報, 27, 197 (1956)
- 16) 乳業科学新説編集委員会編: 乳業科学新説, 朝倉書店, p. 110 (1966)
- 17) 前野正久, 遊佐孝五: 日畜会報, 27, 39 (1956)

グリシンおよびセリンのシロネズミ成長阻害とグルタミンの効果

離乳雄シロネズミを用い, 飼料中のアミノ酸組成とグルタミン要求との関係を検討した。試料として必須アミノ酸混合物 2 種と非必須アミノ酸混合物 6 種を用意し, それぞれを組み合わせるタンパク源とした飼料を, 3 週間ネズミに与えて飼育試験を行なった。それぞれの試験区ごとにグルタミンを 4 % 加えた区と加えない区とを設けた。その結果, グルタミンの要求量には非必須アミノ酸の組成ごとに Gly と Ser の割合が重要な関係をもつことがわかった。Gly と Ser を最適と思われる量より過剰に加えると体重増加量は直線的に抑制される。その

際グルタミンがあればこの成長阻害作用は著しくおさえられ体重増加は回復する。尿中排泄アミノ酸は, Gly, Ser を過剰に加えた区では Gly, Ser, Thr, タウリンなどが多く排泄され, 飼料へのグルタミン添加によってこれらは減少した。また, グルタミンを加えた区では尿素とアンモニアの排泄の増加が顕著であった。

Effect of Glutamine on Inhibition of Rat Growth by Glycine and Serine. Hepburn, F.N. and Bradley, W.B.: *J. Nutr.* 94, (4), 504~510 (1968)

(堀井)