報 文

豆乳のコロイド安定性に及ぼす pH の影響

大泉加奈子¹, 井戸川詩織^{1,2*}, 岩元 靖¹, 伊藤健介¹, 藤井智幸²

¹ 太子食品工業株式会社

² 東北大学大学院農学研究科

Influence of pH on the Colloidal Stability of Soymilk

Kanako Oizumi¹, Shiori Idogawa^{1,2*}, Yasushi Iwamoto¹, Kensuke Ito¹ and Tomoyuki Fujii²

¹ Taishi Food Inc., 68 Aza-Okinaka, Kawamorita, Sannohe-machi, Sannohe-gun, Aomori 039-0141

² Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 1-1 Amamiya-machi,
Tsutsumidori, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 981-8555

We focused on the colloidal contribution of lipid and protein in soymilk, and investigated the influence of pH on the stability of soymilk. The particle size distribution and viscosity were evaluated in relation to decreases in the pH of soymilk. By the addition of ascorbic acid, the average size of particles in soymilk was slightly increased at pH 6.0-5.8 and remarkably increased at pH 5.6. Moreover, the fluidity index was severely reduced from 1 at pH 5.8 or less. These results show that the viscosity of soymilk increased as a result of lipid and protein aggregation depending on the pH decrease. Then, soymilk colloidal stability was assessed using the centrifugal method. The state of soymilk changed in three steps as a function of decreasing pH. With respect to the viscosity and stability changes of soymilk, it was suggested that lipid-protein aggregates were generated, and the soymilk constituent content influenced the generation of lipid-protein aggregates. These results show that the pH-dependent stability of soymilk could be predicted from the constituent composition of soymilk.

(Received Oct. 2, 2014; Accepted Jan. 12, 2016)

Keywords : soymilk, pH, protein, lipid, stability

キーワード : 豆乳, pH, タンパク質, 脂質, 安定性

大豆は栄養価の高い作物であり、特に東アジアでは伝統的にタンパク質の主要な供給源として食されてきた。近年の健康志向の高まりを背景に、機能性成分を多く含む食材としての大豆に対する注目は更に高まっている¹⁾。大豆を豆乳へ加工することは、消化吸収を容易にするだけでなく、豆腐や油揚げ、ゆばなどの伝統的食品へと大豆の利用幅を広げることにつながっている。豆乳は大豆を浸漬して磨砕・加熱し、ろ過する工程を経て製造されている。加水と十分な加熱によりタンパク質が変性・可溶化し、脂質もまた抽出される。その結果豆乳中では、糖やミネラルとともに可溶性タンパク質が溶解した水溶液の連続相に、脂質と粒子状のタンパク質が分散しているコロイド分散系が形成されている。大豆中のタンパク質は、その多くが貯蔵タンパク質であるグロブリンタンパク質である。グロブリンタンパク質は主に、11S グロブリン (グリシニン) と 7S グロブリン (β -コングリシニン) から成っており、豆乳中では可溶性タンパク質とタンパク質粒子として存在している²⁾。脂質は、大豆中では平均サイズが約 0.4 μm であるオイル

ボディとして存在しており³⁾、豆乳中でも残存していると考えられている⁴⁾。トウモロコシ中のオイルボディは脂質のトリアシルグリセロールを核とし、その表面をリン脂質が覆い、その上から塩基性タンパク質のオレオシンが楔のように打ち込まれた構造をとっている⁵⁾。このような豆乳のコロイド状態は、豆乳はもとより、豆乳を原料とする食品の品質に影響を与えていることは明らかである。従って、豆乳をタンパク質と脂質からなるコロイド分散系として捉えて理解することが必要であると考えられる。

牛乳やマヨネーズをはじめとした食品のほか、化粧品や塗料など、コロイドを利用した工業分野は多岐にわたり、その分散系の制御および安定性の評価は製造上および品質管理上非常に重要であるため、多くの研究が行われてきた⁶⁾⁻¹¹⁾。豆乳中に分散しているオイルボディの表面は電荷を帯びており¹²⁾、表面電荷による静電的相互作用が豆乳コロイドの安定性に寄与していると考えられる。また豆乳中のオイルボディはコロイド粒子の構造的性質により、豆乳の安定性が高くなっている。すなわち、オレオシンによ

¹ 〒039-0141 青森県三戸郡三戸町大字川守田字沖中 68, ² 〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

*連絡先 (Corresponding author), s-ito@taishi-food.co.jp

表 1 各種豆乳の成分含量と物性値

試料	水分 [%]	タンパク質含量 [%]	脂質含量 [%]	pH	見かけの粘度 [mPa・s] (3.83 s ⁻¹)
カナダ産 A	89.2	4.89	3.0	6.57	11.0
カナダ産 B (手試作)	89.5	4.88	2.5	6.63	14.5
宮城県産 A	88.7	4.95	2.8	6.75	12.2
宮城県産 B (手試作, 種皮含む)	89.1	4.99	2.7	6.62	53.5
宮城県産 C (手試作, 種皮無し)	88.9	5.09	2.8	6.63	11.5
中国産	88.1	4.85	3.3	6.50	20.7

てオイルボディ表面を覆われているため、オイルボディ同士の合一が抑制されていると考えられている¹³⁾。加えて、コロイド安定性が関わる現象は平均粒子径に依存することが知られている。数 μm ～数十 μm の脂肪球が分散している牛乳では、コロイド安定性が低く、クリーミング、転相などが起こるのに対し、豆乳のコロイド粒子の平均粒子径は牛乳より小さいため、コロイド安定性が高い。また、豆乳中に含まれている多糖類のペクチンもその安定に寄与する可能性が示唆されている¹⁴⁾。このように、豆乳の安定性には静電的な要因以外の影響も重要であり、豆乳中に存在するコロイドに関する理解は充分とはいえない。

豆乳の特性の pH 依存性に関する研究においても、これまで大豆タンパク質の理解を通して進められてきた¹⁵⁾¹⁶⁾。pH 7.6 で滑らかなゲルを形成する大豆タンパク質が pH 3.8 の条件下でざらついたゲルを形成すること¹⁷⁾や pH 5-13 の範囲に調整した大豆タンパク質分散液の粘弾性が pH 9 前後で最大となること¹⁸⁾、また溶解度の pH 依存性¹⁹⁾²⁰⁾など、大豆タンパク質あるいはその溶液に関わる研究が代表例である。豆乳を用いた研究としては、酸凝固剤による豆腐製造の研究の一部として進展してきた。酸凝固剤添加により豆乳の pH が低下し、大豆タンパク質が等電点沈殿することで豆乳がゲル化することが知られており、一般的に豆腐製造で使用する酸凝固剤グルコノデルタラクトンの適正濃度²¹⁾や、スダチなどの柑橘生鮮果汁有機酸を用いた豆腐調製の検討²²⁾などが研究されている。しかし、豆乳は脂質を含んだコロイド分散系であるにも関わらず、そのような観点からの研究はほとんどない。豆腐や油揚げといった大豆加工品は、原料が全粒大豆であることが多く、その製造過程で豆乳を得るため、脂質を含んだ豆乳に関する理解が製造過程の最適化には欠かせない²³⁾。そのため、食品コロイドの観点から豆乳を捉え、性状の把握や安定性の評価を行う必要がある。

そこで本研究では、コロイド分散系の安定性に及ぼす pH の影響について、まず pH 低下に伴う豆乳の脂質およびタンパク質成分の寄与に着目し、粒子径、粘度を評価し

た。次に、コロイド分散系の不安定化を遠心操作によって促進させコロイド安定性を評価し、豆乳コロイド中の状態変化について考察を加えた。

実 験 方 法

1. 豆乳試料

豆乳は、カナダ産、宮城県産および中国産丸大豆より製造したもの（太子食品工業株式会社製）を使用した。またカナダ産丸大豆と宮城県産丸大豆から手試作豆乳を調製した。カナダ産丸大豆からは種皮を残して、宮城県丸大豆からは種皮を残したものと除去したものの 2 種類調製した。丸大豆を 20 時間脱塩水に浸漬した後、浸漬前的大豆量に対して 6 倍量となるよう水を加えてミキサーで磨砕して生呉とした。ここで、種皮を除去する試料は浸漬後に種皮を除いた。生呉に消泡剤を加え、沸騰した湯で加熱しながら蒸気を吹き込んで得た煮呉から、小型遠心分離機（H-112, コクサン）を用いてオカラを除去し、氷水で冷やして手試作豆乳として実験に用いた。

以上のカナダ産（手試作含む）、宮城県産（手試作 2 種類含む）、中国産の丸大豆を用いて製造された豆乳について、成分、pH およびすり速度 3.83 s⁻¹ の際の見かけの粘度を表 1 に示す。カナダ産の手試作試料をカナダ産 B とし、宮城県産の手試作試料のうち、種皮を含むものを宮城県産 B、種皮を除いたものを宮城県産 C とした。

また pH の調整は、豆乳を 25℃ に加温したのち、5% アスコルビン酸溶液を添加して pH が 6.0, 5.8, 5.6 となるよう行った。

2. 平均粒子径の測定

pH 調整豆乳と同じ pH の 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液を用いて、レーザー回折/散乱式の粒度分布測定装置（LA750, 堀場製作所製）を用い、透過率が 90～93% となるようにサンプル量を調整して粒度分布を測定した。さらに粒度分布から個数分布における算術平均径を算出した。これらの操作を独立して 3 回行い、それぞれの pH における平均値を平均粒子径とした。

図 1 pH 低下に伴う豆乳平均粒子径の変化

図中のバーは標準誤差を示す ($n=3$)。

3. 粘度の測定

pH 調整豆乳の粘度測定には、円錐平板型回転粘度計 (TPE-100, 東機産業製) を用いた。1° 34' xR24 の測定ローターを使用して、測定温度は 25℃ とし、ずり速度 3.83, 7.66, 19.15, 38.3, 76.6, 191.5, 383 s⁻¹ で各 2 回測定を行って流動曲線を得た。

流動曲線の解析には、Herschel-Bulkley の式²⁴⁾

$$\tau = \tau_0 + \mu \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

を用いた。ここで、 τ はずり応力、 τ_0 は降伏値、 μ は粘弾性係数、 $\dot{\gamma}$ はずり速度、 n は流動性指数である。

4. 遠心操作

pH 調整豆乳を約 30 g 遠心チューブへ注ぎ、12000×g, 10 分、25℃ の条件で遠心分離機 (18PR-52, 日立製) にかけて、コロイド安定性の促進試験を行った。遠心分離後、浮上相、液相、沈殿相の重量を測定し、液相重量を遠心前の豆乳重量で除した値をコロイド安定度として安定性評価の指標とした。これらの操作を独立して 7 回行い、遠心画分の割合およびコロイド安定度を得た。

5. 成分測定

マイクロ波乾燥により水分 (SMART TURBO, CEM 製)、NMR 法により脂質 (SMART TRAC, CEM 製) および燃焼法によってタンパク質 (スミグラフ NC-220F, 住化分析センター製) を測定した。7S グロブリン (β -コングリシニン) および 11S グロブリン (グリシニン) は、SDS-PAGE 法²⁵⁾ により 15% アクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、画像解析ソフト (Lane & Spot Analyzer, アト製) を用いたデンシトメトリーにより数値化し、タンパク質含量からそれぞれの含量を求めた。またマッフル炉 (ESF 3, Carbolite 製) にて試料を 550℃ で灰化し、灰分を測定した。炭水化物は差引法により算出した。

図 2 豆乳の流動曲線の pH 依存性

6. 統計分析

豆乳コロイドの状態変化に及ぼす原料豆乳成分の影響について検討するため、各豆乳試料の成分と豆乳 pH について、マイクロソフト社製 Office Excel 2002 により重回帰分析および F 検定を行った。

実験結果および考察

カナダ産丸大豆から調製した豆乳を選び、コロイド状態について検討を加えた。

1. 豆乳 pH と平均粒子径

アスコルビン酸の添加によって pH を変化させた際の豆乳コロイド粒子の平均粒子径の結果を図 1 に示す。豆乳の脂質含量は 3.0% とした。pH 調整前の豆乳コロイド粒子の平均粒子径は 0.50 μm であり、pH 6.0, 5.8 と低下するとそれぞれ 0.51 μm, 0.52 μm とわずかに粒子径の増加が認められた。そして、pH 5.6 になると 3.9 μm と急激に大きくなった。pH 6.6 から 5.8 の範囲で観測された粒子ピークは粒子径の大きさからオイルボディと考えられるが、オイルボディは表面がオレオシンで覆われており安定であるため¹³⁾、pH 6.6 から 5.8 までは平均粒子径がそれほど増加しなかったものと考えられる。また pH 5.6 より低い pH では、タンパク質粒子およびオイルボディ表面の電荷が減少して凝集体が形成されたと考えられた。

2. pH 調整豆乳の粘性挙動

pH を調整した豆乳の流動曲線を図 2 に示す。pH が 5.9 から 6.6 と高い時は、ずり速度とずり応力が比例するニュートン流体に近い挙動を示した。一方、pH 5.8 以下ではずり速度が増加するほどずり応力の増加割合が減少する、ずり流動化流動を示した。

流動曲線から求めた粘弾性係数、流動性指数および降伏値の pH 依存性を図 3 に示す。粘弾性係数は pH が 6.6 から低下するに従ってわずかに上昇し、pH 5.83 で立ち上がり始め、さらに pH が低下すると急激な粘性増加が認めら

図 3 粘稠性係数，流動性指数および降伏値の pH 依存性

◆，粘稠性係数 μ ；○，流動性指数 n ；×，降伏値 τ_0 。

れた。流動性指数は pH 5.83 以下になると 1 より顕著に減少し，pH の低下に伴って下がり続けた。粘稠性係数の増大は系が流動しにくく粘稠になったことを示し，流動性指数の減少は系の多分散性が増加したことを示す²⁶⁾。従って，豆乳の pH が低下するに伴って凝集が起り，粘度が上昇したと考えられた。また降伏値は，pH 5.83 より大きい条件では認められなかったが，pH 5.83 から 5.80 にかけて確認され，さらに pH が低下すると消失した。

3. コロイド安定性の評価

pH を調整した豆乳コロイド分散系に対して経時的变化を促進させて安定性を評価するため，遠心操作を行って，遠心前の豆乳量を 100 とした時の，遠心分離した画分の重量割合を求めた。結果を図 4 に示す。表 1 のカナダ産豆乳およびカナダ産大豆から手試作した豆乳を用いて，独立して 7 回試験を実施したところ，調整前の豆乳成分が異なると反応が生じる pH に相違が認められた。ここでは典型的な例として，脂質含量が 3.0% のサンプルと 2.5% のサンプルの結果を示した。

脂質含量 3.0% のサンプルにおいては，およそ pH 5.9 以上の条件では，浮上相と豆乳様の液相に分離され，沈殿相は殆ど認められなかった。この結果から，この pH 領域の豆乳中にはタンパク質からなる凝集体は生成していないことが示された。pH 5.83 の条件で液相の下部に沈殿相が現れ，浮上相が消失したことから，この条件ではオイルボディは単独では存在せずタンパク質と相互作用していると思われる。更に pH 5.80 以下になると，液相量がおおよそ 80% から 50% に，沈殿相量がおおよそ 15% から 50% に急激に変化した。遠心画分量の割合が急激に変化する pH は，脂質含量が低いほど高 pH 側にシフトし，脂質含量が 2.5% のサンプルについては，pH 5.90 で液相量と沈殿相量に急激な変化が認められた。

豆乳はタンパク質を主成分とする連続相に脂質粒子が分

図 4 pH 調整豆乳の遠心画分割

●，浮上相；◆，液相；■，沈殿相。

黒，脂質含量 3.0% のサンプル；白，脂質含量 2.5% のサンプル。遠心前の豆乳重量を 100 とする。

図 5 コロイド安定度の pH 依存性

コロイド安定度 = 遠心後の液相画分量/遠心前の豆乳量。

◆，脂質含量 3.0% のサンプル；◇，脂質含量 2.5% のサンプル。3 段階の変化は，脂質含量 3.0% のサンプルから示した。

散した安定なコロイド分散系であり，分散状態が崩れて，浮上相や沈殿相が生じた状態が不安定であるといえる。そのため，遠心前の豆乳量に対する遠心後の液相量の比をコロイド安定度とし，コロイド安定性の指標とした。図 5 にコロイド安定度の結果を示す。脂質含量が 3.0% のサンプルにおいて，コロイド安定度はおよそ pH 5.9 以上では 1 に近く，豆乳コロイド系は安定していると考えられた。しかしおよそ pH 5.8 以下の条件では，コロイド安定度が急激に低下し，pH 5.80 でコロイド安定度は 0.4 以下になった。そして，pH 5.78 以下で約 0.5 となった。pH 5.78 以下では，コロイド安定度は約 0.5 のままで，液相に残存するタンパク質が安定して存在していると考えられた。一方，脂質含量が 2.5% のサンプルにおいては，不安定化する pH が 5.90 と 3.0% のサンプルのそれと比べて 0.1 高くなったが

図6 浮上相, 液相, 沈殿相における各成分割合のpH依存性 a) 水分, b) 脂質, c) タンパク質, d) β -コングリシニン, e) グリシニン, f) 炭水化物, g) 灰分

○, 浮上相; ◆, 液相; □, 沈殿相.

遠心前の豆乳中の各成分の総重量を100%とした際の各成分量の割合.

同様の挙動を示した. このようにコロイド安定度を指標とすることで, 遠心操作を用いた簡便な操作により迅速に豆乳のコロイド安定性が評価可能であることが示された. また, 図5の結果から, pH低下に伴う豆乳コロイドの状態が, 安定な高pH領域(第一段階), 急激に変化する領域(第二段階)そしてやや安定な低pH領域(第三段階)の3つに分かれることが示された.

4. 各成分の分離相毎の分配割合とそのpH依存性

遠心操作で分離された浮上相, 液相, 沈殿相について成

分分析を行った. カナダ産大豆を用いて調製した脂質含量3.0%のサンプルについて, 豆乳の水分, 脂質分, タンパク質分, β -コングリシニン, グリシニン, 炭水化物, 灰分を定量し, それぞれ遠心前の重量を100%として各分離相に分配された割合を図6に示す. pH変化に対する水分の分配割合の変化は, 画分量の変化(図4)と同様の挙動となった. 脂質は, pH5.8より高pH領域では70~80%が液相中に存在し, オイルボディが安定に液相に存在していることが示された(第一段階). pH5.80になる(第二段階)と脂

質は急激に沈降し、さらに pH が低い領域（第三段階）では脂質の液相濃度がゼロとなった。タンパク質、およびタンパク質中の β -コングリシニンとグリシニンは、pH5.8 より高い pH 領域ではおよそ 80% が液相中に存在していたが、pH5.80 で急激に減少した。ここで脂質は液相中の分配割合が 0% になったのに対し、タンパク質、 β -コングリシニンおよびグリシニンは液相中に約 20% 残存し、更に pH が低下すると徐々に液相中の割合が減少し、その変化と対応して、沈殿相の分配割合が徐々に増加した。また、炭水化物および灰分は pH5.8 以下で液相と沈殿相への分配に偏りがなかった。

各成分の分配割合の変化から pH 低下に伴う凝集について考えてみると、第一段階（pH6.0）では脂質およびタンパク質の 80% が液相に分散していて、浮上相は主成分が脂質であり、豆乳中のオイルボディが比重差によって浮上したと考えられた。オイルボディはオレオシンによって表面を覆われている⁵⁾ ため、浮上相のタンパク質はオレオシンが大半と考えられた。第二段階では、液相中に分散していた各成分が pH5.8 で凝集し、生成したタンパク質と脂質を含む凝集体の密度が、液相の密度よりも高くなったため沈殿したものと考えられた。また pH5.80 の条件で沈殿が生成した際、脂質は全量が凝集して沈殿したのに対し、タンパク質については一部が未凝集で液相に存在していた。第三段階において脂質は液相にないのに対し、タンパク質の液相への分配割合は、pH の更なる低下に伴って徐々に減少した。同様に、 β -コングリシニンとグリシニンの液相割合も減少した。 β -コングリシニンの等電点が pH5.6 から 4.7 までの間をとり、グリシニンの等電点は pH6.06 から 5.11 であることから²⁷⁾、凝集が進んだと考えられた。

5. pH 低下に伴う豆乳コロイドの 3 段階の変化

pH 低下に伴う豆乳コロイドの状態は、比較的タンパク質粒子や脂質粒子が安定に分散している第一段階（中性領域）、急激な粘性上昇や凝集体生成が起こる第二段階（微酸性領域）、粒子の平均径が急速に増大する第三段階（酸性領域）に分けられた。

第一段階の範囲は、原料豆乳の pH 領域から粘性やコロイド安定度が急激に変化する直前であり、脂質含量 3.0% のサンプルでは pH5.9~6.6、脂質含量 2.5% のサンプルでは pH6.0~6.6 となった。本範囲においては、コロイド粒子の平均径はほぼ 0.5 μm であった。また粘性については、値は低いものの、pH の低下に伴い緩やかに上昇した。しかし、pH 調整豆乳を遠心するとわずかに浮上相が確認されたが、コロイド安定度は 1 に近く安定していることが示された。pH が高い条件では溶解度に応じてタンパク質同士の凝集が起こりえるが、巨大な凝集体が生成するには至っていないと考えられた。

第二段階はコロイド安定度に急激な変化が見られる領域であり、脂質含量 3.0% のサンプルでは pH5.8 付近、脂質

含量 2.5% のサンプルでは pH5.9 付近となった。この前後で、粘稠性係数の急増、流動性指数の低下および降伏値の極大が認められた。このことから、pH の低下に伴ってタンパク質と脂質を含む凝集体が形成されたことでレオロジー特性が変化することが示された。オイルボディのゼータ電位については pH6 において pH7-8 での値とそれほど変わらないため¹³⁾、pH5.8 付近での脂質の荷電状態の変化は緩やかであると考えられた。しかしタンパク質については、グリシニンの等電点が pH5.11 から 6.06 であるため²⁷⁾、pH が低下するにつれてタンパク質が不溶化していくと考えられる。pH が低い条件では、不溶化したタンパク質がタンパク質同士で会合したりオイルボディに吸着したりする可能性が考えられる。オイルボディとタンパク質が関わる凝集の詳細についてはこれまでのところ明らかとなっていない。本研究では、オイルボディの共存によってタンパク質の凝集が抑制される可能性が認められたことから粒子表面荷電の関与以外のメカニズムの存在が示唆された。オレオシンの N 末端および C 末端の塩基性アミノ酸は、オイルボディ表面のリン脂質と塩架橋しており、酸性アミノ酸が外側に出ていると考えられている²⁸⁾。そして、パパイン処理によってオレオシンが分解されると豆乳中のオイルボディが浮上することから、オイルボディの安定性にはその表面を覆うオレオシンが重要な役割を果たしている可能性が示唆されている²⁹⁾。従って、オレオシンに何らかの安定化機能があるとすれば、オイルボディが不溶化したタンパク質に被覆されることでオレオシンによる安定化効果が失われると系が不安定化すると考えられる。

そのため、オイルボディとタンパク質が関わる凝集において、豆乳中の脂質含量が高ければオイルボディの被覆に多くのタンパク質を要しオイルボディの被覆に関与しないタンパク質は脂質含量が高くなるにつれて相対的に少なくなるため、より低い pH 条件にならないと巨大な凝集体が形成されないと考えられ、結果として脂質含量が低いと比較的高い pH で第二段階を示すようになると考えられる。

第三段階は、pH の低下とともにタンパク質が不溶化し沈降していく領域であり、脂質含量 3.0% のサンプルでは pH5.8 より低い pH 領域、脂質含量 2.5% のサンプルでは pH5.9 より低い pH 領域となった。この領域では顕著な粘性の上昇が確認され、またコロイド粒子の平均径の増加が認められた。これは、図 6 e) にて pH5.80 の条件で未凝集であったグリシニンが状態変化を起こして凝集したことで粘性が上昇したものと考えられた。また凝集可能なグリシニンの増加によって、凝集体生成が促進され平均粒子径の増大が観測されたと考えられた。更に第三段階では、コロイド安定度が第二段階よりも高くなり約 0.5 となった。コロイド安定度の変化は、水分の分配割合と同様の挙動を示した（図 6）ことから、沈殿した凝集物が密になり水分が排出されたと考えられた。大豆タンパク質エマルションにお

いて塩濃度の増加により、凝集物構造が均質化し構造が密になることが示されている³⁰⁾ことから、アスコルビン酸溶液を添加し pH がより低くなる第三段階では、凝集物構造が密になっている可能性が考えられた。また、豆腐ゲルにおいてカルシウムイオンの増加により凝集性が増して保持水分量が減少することから³¹⁾、豆乳コロイド系の第三段階において凝集体の構造が密になることによって凝集物中の水分が排出されたと考えられる。その結果、水分含量の低下により第二段階で凝集物に分配されていた水分が液相に戻ることで沈殿相の重量が減少し、見かけ上コロイド安定度が増加した可能性が示唆された。また、豆乳中にはタンパク質や脂質の他にも、多糖類³²⁾やミネラル³³⁾などゲル形成に関わる成分が多数含まれている。本研究においては、炭水化物や灰分はコロイド安定性に及ぼす影響は顕著ではなかったが、今後、豆乳コロイド系の凝集様式を明らかにしていく上で検討していく必要があるものと考えられた。

6. 粘度および安定度の変化に及ぼす原料豆乳成分の影響

豆乳コロイドの状態変化に及ぼす原料豆乳成分の影響について検討するために、表1で示した6種類の豆乳を選んだ。連続相の粘度の高い豆乳を得るために、手試作（種皮含む）の豆乳を加えることとした。

それぞれの pH 未調整豆乳を基準とした粘稠性係数に着目し、粘稠性係数増加率 10% となる pH を目的変数 Y とし、pH 低下に伴う凝集に関わる脂質とタンパク質の各含量を説明変数として重回帰分析を行った。その結果、成分組成による粘度変化の挙動を記述する重回帰式として

$$Y=4.08-0.15X_1+0.59X_2 \quad (2)$$

が得られた。ここで、 X_1 は原料豆乳の脂質含量、 X_2 は原料豆乳のタンパク質含量である。それぞれの標準化偏回帰係数は、脂質含量が -0.387、タンパク質含量が 0.502 であった。重相関係数は 0.56 となり、F 検定で有意性が得られなかったが、脂質含量が高くタンパク質含量が低いほど連続相の見かけの粘度が 10mPa・s から 50mPa・s の範囲において粘稠性係数増加率 10% となる pH は低くなる傾向が示唆された。

次に、安定度について豆乳の成分組成の影響を検討した。豆乳の脂質含量が高い系では、脂質含量が低い系と比較して、より低い pH でコロイド安定度の顕著な低下が認められた。そこで、コロイド安定度が急激に低下し、極小となる pH を安定度変化の指標として評価した。

コロイド安定度が極小となる pH を目的変数、原料豆乳の脂質含量とタンパク質含量を説明変数として重回帰分析を行った。その結果、得られた重回帰式を次に示す。

$$Y=6.34-0.28X_1+0.05X_2 \quad (3)$$

ここで、Y はコロイド安定度が極小となる pH、 X_1 は原料豆乳の脂質含量、 X_2 は原料豆乳のタンパク質含量であ

る。それぞれの標準化偏回帰係数は、脂質含量が -0.958、タンパク質含量が 0.092 であった。また重相関係数は 0.90 となり、F 検定にて有意性が見られた。この結果は、脂質含量が高くタンパク質含量が低いほどコロイド安定度が極小となる pH は低くなることを示している。また、その寄与はタンパク質含量よりも脂質含量のほうが大きいことが標準化偏回帰係数より定量的に示された。つまり、豆乳コロイドは、タンパク質含量が低いほど、また脂質含量が高いほど安定となった。

これらの結果より、pH 低下に伴う豆乳コロイド系の安定度変化を、原料豆乳の成分組成から予測することが可能となった。本研究では脂質含量に着目したが、脂質粒子の表面はオレオシンに覆われているためリン脂質二重膜と比較して安定であること³⁴⁾や、豆乳の脂質に含まれるトリアシルグリセロールやフォスファチジルコリンといったリン脂質の違いに影響を与えている可能性など、今後更なるデータの蓄積により、各領域における凝集様式が解明され、原料豆乳による豆乳コロイド系の安定性制御が可能となると期待される。

要 約

本研究では、豆乳コロイド分散系の不安定化に及ぼす pH の影響について、まず pH 低下に伴う豆乳の脂質およびタンパク質成分の寄与に着目し、粒子径分布、粘度を評価した。アスコルビン酸の添加によって、粒子径は pH がおよそ 6 から 5.8 までそれほど増加しなかったが、pH 5.6 になると急激に大きくなった。また、流動性指数は pH 5.8 以下で 1 より顕著に低値であった。このことから、豆乳の pH が低下するに伴って凝集が起り、粘度が上昇したと考えられた。次に、コロイド分散系の不安定化を遠心操作によって促進させコロイド安定性を評価し、豆乳コロイド中の状態変化について3段階に分けて考察を加えた。豆乳の粘度変化および安定度変化には、タンパク質と脂質の凝集体生成が寄与していることが示唆され、その生成には原料豆乳成分の影響が認められた。本研究の結果から、pH 低下に伴う豆乳コロイド系の安定性を、原料豆乳の成分組成から予測することが可能となった。

本研究は、復興庁・農林水産省委託事業「食料生産地域再生のための先端技術展開事業」および農研機構生研センター「革新的技術創造促進事業（事業化促進）」の一環として実施された。深甚より謝意を表します。

文 献

- 1) Kushwaha, K., O'Bryan, C.A., Babu, D., Crandall, P.G., Chen, P. and Lee, S.-O., Human health benefits of isoflavones from soybeans. *Agric. Food Biotechnol.*, **4**, 122-142 (2014).
- 2) Ono, T., Choi, M.R., Ikeda, A. and Odagiri, S., Changes in the composition and size distribution of soymilk protein

- particles by heating. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2291-2297 (1991).
- 3) Chen, Y. and Ono, T., The mechanisms for yuba formation and its stable lipid. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 6485-6489 (2010).
 - 4) Chen, Y., Yamaguchi, S. and Ono, T., The mechanism of the chemical composition changes of yuba prepared by a laboratory processing method. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 3831-3836 (2009).
 - 5) Huang, A.H. C., Oil bodies and oleosins in seeds. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **43**, 177-200 (1992).
 - 6) Tuinier, R. and Kruif, C.G., Stability of casein micelles in milk. *J. Chem. Physics*, **117**, 1290-1295 (2002).
 - 7) 金谷昭子, レシチンで乳化したエマルションの安定性におよぼす水相の pH とイオン強度の影響, 日本農芸化学会誌, **53**, 401-406 (1979).
 - 8) 酒向史代, 森 悦子, 榎 賢治, 勝田啓子, エゴマ油で調製したフレンチドレッシングの保存安定性, 日本調理科学会誌, **30**, 206-212 (1997).
 - 9) 中鉢良治, 中塚勝人, 下飯坂潤三, 水ベース磁性流体の安定性に対する温度, pH の影響, 粉体および粉末冶金, **23**, 211-215 (1976).
 - 10) 小澤祐子, 紺野義一, 内藤 昇, 電解質を配合した超低粘性 O/W エマルション製剤の開発, 日本化粧品技術者会誌, **44**, 34-40 (2010).
 - 11) 中垣正幸, 半田哲郎, 赤対茂子, 中山守雄, レシチンリボソームのコロイド的安定性に対する pH, 電解質, および電荷の効果, 薬学雑誌, **102**, 17-22 (1982).
 - 12) Murphy, D.J., Storage lipid bodies in plants and other organisms. *Prog. Lipid Res.*, **29**, 299-324 (1990).
 - 13) Iwanaga, D., Gray, D.A., Fisk, I.D., Decker, E.A., Weiss, J. and McClements, D.J., Extraction and characterization of oil bodies from soy beans: A natural source of pre-emulsified soybean oil. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 8711-8716 (2007).
 - 14) Iwanaga, D., Gray, D.A., Decker, E., Weiss, J. and McClements, D.J., Stabilization of soybean oil bodies using protective pectin coatings formed by electrostatic deposition. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 2240-2245 (2008).
 - 15) Kinsella, J.E., Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 242-258 (1979).
 - 16) Malhotra, A. and Coupland, J.N., The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. *Food Hydrocol.*, **18**, 101-108 (2004).
 - 17) Renkema, J., Lakemond, C., Jongh, H., Gruppen, H. and Vilet, T., The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. *J. Biotechnol.*, **79**, 223-230 (2000).
 - 18) 添田孝彦, 大豆タンパク質分散液の粘弾性挙動に及ぼす測定周波数, pH およびタンパク質濃度の影響, 日本食品科学工学会誌, **52**, 429-433 (2005).
 - 19) Shen, J.L., Solubility profile, intrinsic viscosity, and optical rotation studies of acid precipitated soy protein and of commercial soy isolate. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 784-788 (1976).
 - 20) Sato, W., Kamata, Y., Fukuda, M. and Yamauchi, F., Improved isolation method and some properties of soybean gamma-conglycinin. *Phytochemistry*, **23**, 1523-1526 (1984).
 - 21) 岑友里恵, 村上香織, 東 敬子, 吉原志保, 福永公寿, 佐伯隆, 澤野悦雄, 豆腐製造における各種凝固剤の特性の比較, 日本食品科学工学会誌, **52**, 114-119 (2005).
 - 22) 田尻尚士, 柑橘生鮮果汁を凝固剤とする豆腐の製造と物性, 日本食品工業学会誌, **40**, 814-823 (1993).
 - 23) Idogawa, S., Ito, K. and Fujii, T., Filtration behavior during soymilk separation process. *Food Sci. Technol. Res.*, **19**, 1071-1075 (2013).
 - 24) de Waele, A., Die aenderung der viskosität mit der scheer-geschwindigkeit disperser systeme. *Colloid Polym. Sci.*, **36**, 332-333 (1925).
 - 25) Leammli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685 (1970).
 - 26) 三浦 靖, 山内文男, 大豆タンパク質の加熱ゲル化に及ぼす大豆レシチン共存の影響, 日本食品工業学会誌, **31**, 636-641 (1984).
 - 27) 森田雄平, タイズ種子貯蔵蛋白質の性質, 「大豆蛋白質」.(光琳, 東京), pp. 67-70 (2000).
 - 28) Tzen, J.T. C., Integral proteins in plant oil bodies. *Int. Sch. Res. Netw. Botany*, **2012**, 1-16 (2012).
 - 29) Abe, N., Wu, C., Kim, Y., Fujii, T. and Abe, K., Development of an efficient soymilk cream production method by papain digestion, heat treatment, and low-speed centrifugation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 1890-1892 (2015).
 - 30) Tang, C. and Liu, F., Cold, gel-like soy protein emulsions by microfluidization: Emulsion characteristics, rheological and microstructural properties, and gelling mechanism. *Food Hydrocolloids*, **30**, 61-72 (2013).
 - 31) Saio, K., Kamiya, M. and Watanabe, T., Food processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 1301-1308 (1969).
 - 32) 菊池忠昭, 石井茂孝, 福島男児, 横塚 保, 大豆多糖類に関する食品化学的研究, 日本農芸化学会誌, **45**, 228-234 (1971).
 - 33) 勝田啓子, 食品素材および食品の調理・加工特性とレオロジー的性質に関する研究, 日本レオロジー学会誌, **30**, 237-245 (2002).
 - 34) Peng, C.C., Lee, V.S., Lin, M.Y., Huang, H.Y. and Tzen, J.T. C., Minimizing the central hydrophobic domain in oleosin for the constitution of artificial oil bodies. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 5604-5610 (2007).

(平成 26 年 10 月 2 日受付, 平成 28 年 1 月 12 日受理)