シリーズ—研究小集会（第30回）大豆部会

解 説

豆腐および豆乳のための豆乳コロイドの生成

小 野 伴 忠

岩手大学名誉教授

Formation of Soymilk Colloid for Tofu or Drinks

Tomotada Ono

Iwate University, Honorary Professor, 4-6-11 Higashimatusono, Morioka, Iwate 020-0106

Soymilk specific for tofu is not used in drinks because of its bean-like flavor. Conversely, soymilk destined for drinks is not used for tofu production because it forms a soft curd. The difference in these soymilks is due to the milling temperature; room temperature is used for tofu, while high temperatures are used to inhibit the activity of oxidative enzymes in soymilk for drinks. The composition of these soymilks was discussed from the viewpoint of the previously described formation mechanism of soymilk and tofu, new data about the components, and recent soymilk composition data for drinks. The results showed that the composition of oil bodies was the same for both tofu and drinks, but the protein fraction for drinks contained a greater level of small particles compared to that for tofu. Thus, precise temperature regulation is important for soymilk processing. (Accepted Jun. 5, 2016)

Keywords : soymilk, colloid, protein particle, oil body

キーワード : 豆乳, コロイド, 粒子状タンパク質 (タンパク質粒子), オイルボディ

大豆は約40% (乾物割合) のタンパク質を含み、植物性のタンパク源として古くから重要視されてきた。それは現在でも変わりなく、日本大豆消費量 (300万t, 2013年) の30%は食用大豆で、豆腐、納豆、豆乳、味噌、醤油などの伝統食品として利用されている。残りの大部分は製油加工に用いられるが、そこで生産される脱脂大豆は、飼料として給され、畜肉や卵に変換後、動物性食品として利用されている。

食用大豆の約半分は豆腐用であるが、近年、豆腐の前段階である豆乳が飲用として消費を伸ばしている。豆腐は豆乳から作られる。豆乳は大豆を水で膨潤後磨砕し、加熱後ろ過、あるいはろ過後加熱して調製する。しかし、飲用豆乳の多くは、大豆をそのまま熱湯中で磨砕し、ろ過後調製されている。従来からの豆腐用豆乳は、磨砕中の油酸化による豆臭のため飲用には適さない。一方飲用豆乳からは、柔らかい豆腐しかできないため豆腐には適さない。両者は一見、白く濁った同様の豆乳であるが、調製法の違いで豆乳の構造が異なってくると考えられる。その違いについて論じる。

豆腐用豆乳および豆腐の生成については、多くの研究があり、すでに本誌総説¹⁾、「大豆から豆乳・豆腐が生成する機

構とそれに影響を与える諸因子」(2008)にまとめられている。今回の発表では、比較のために豆腐用豆乳および豆腐の生成について簡単に説明するとともに、総説以後の関連研究を紹介し、次に、飲用豆乳の研究について紹介する。

まず豆腐用豆乳の調製について述べる。大豆は、タンパク質、脂質、糖質を40:25:35の割合で含み、常温注水磨砕で、ほとんどのタンパク質は可溶化し、脂質はオイルボディとして分散し、可溶性糖質は可溶化する。不溶性糖質はオカラとして分散するが、ろ過により除かれ生豆乳となる。この生の状態から加熱により豆乳が生成する過程を図1に示す¹⁾。脂質は、生ではタンパク質が付着しているが、加熱により解離し、オイルボディとなる²⁾。タンパク質は、加熱変性するが凝集沈殿することなく、サブユニットどうしが相互に結合して安定な粒子を形成することが知られている³⁾。そのため豆乳中で、タンパク質は可溶性タンパク質や粒子状タンパク質として、脂質はオイルボディとして、糖質は可溶化して存在する。

豆乳の調製では、オカラを除いた後加熱する生しぼりと、磨砕したものをそのまま加熱後ろ過する加熱しぼりの方法がある。主成分であるタンパク質や脂質に大きな違いはないが、オカラから加熱抽出されるマイナー成分に若干の違

図 1 加熱により生豆乳から豆乳が生成する機構の概念図 (小野¹⁾, 2008)

Floating fraction, Supernatant, Precipitate は超遠心分離 (125 000 xg, 30 min) により分画される浮上, 上澄み, 沈殿画分である。

図 2 豆乳から豆腐の生成についての概念図 (小野¹⁾, 2008)

11S は glycinin ; A, B は 11S の acidic, basic polypeptide ; 7S は β -conglycinin ; α , α' , β は 7S のサブユニット。

いがあり、豆腐形成にも影響することが知られている⁴⁾。これらの豆乳は豆腐形成のための豆乳であり、豆臭や渋味等のため飲用には向かない。しかしこれらの嫌み成分は、豆腐になると不溶性となり豆腐に固定されるため問題にならない⁵⁾。

ここでは豆乳について述べるため、豆乳から豆腐生成についての詳細は小野の総説¹⁾ (本誌, 2008) を参照された。しかし総説後、豆腐生成について若干の進展が見られたので、簡単に紹介しておく。豆乳から豆腐の生成についての概念図 (図 2) が示されている¹⁾ が、豆腐を液体窒素で瞬間凍結後、凍結乾燥し、劈開面を電界放出形走査電子顕微鏡で観察すると、概念図に示されたタンパク質に被われたオイルボディブロックが小胞の壁面を構成する図が、写真からも確認された (図 3)。

また、豆乳中 7S, 11S タンパク質の比と凝固剤濃度の関係についても明らかにされている。11S の多い豆乳では粒

図 3 豆腐の電界放出形走査電子顕微鏡写真

豆腐を液体窒素で瞬間凍結後凍結乾燥し、劈開面をオスミウムコーティング後、JEOL の JSM-7100F を用いて 10000 倍で観察した。

図4 豆腐の構造と凝固剤量との関係 (Onodera ら⁸⁾, 2009)

凝固剤量の増加で豆腐の硬さが増加し、一定の硬さが得られる前と寸前およびその後の豆腐の写真。

子状タンパク質が多くなり、豆腐もより硬くなることが知られ⁶⁾、豆腐形成において粒子状タンパク質は重要な役割を演じている。しかし、11S含量が多くなっても凝固剤濃度を高めれば硬い豆腐ができる⁷⁾。そこで11S/7S比の異なる豆乳を調製し、凝固剤濃度を変えて豆腐を作り、その硬さや豆腐構造を調べたところ、11Sの多いものでは低凝固剤濃度で硬くなり、11Sの少ないものでは凝固剤を多く入れることで硬さが得られた⁸⁾。いずれも一定の硬さが得られる変曲点での豆腐では、緻密で壁(膜)が均一な厚さの小胞構造が得られた(図4)。凝固剤濃度がその点より低いと胞が大きく、薄い滑らかな膜構造となり、凝固剤濃度がその点より高いと胞が大きく、膜はごつごつした瘤のあるものとなった。豆腐の保水率は凝固剤量が増加するほど減少するため、低凝固剤濃度で硬くなる11Sの多い豆乳では、豆腐そのものを味わう保水率の良い絹豆腐などに向き、高凝固剤濃度で硬くなる11S少なめの豆乳では、豆腐のゆをある程度抜いてしっかりと固めて作る料理や加工に適した木綿豆腐や中国で作られている干豆腐などに向くと考えられる。

11S/7S比の異なる豆乳の簡便な新調製法についての報告⁹⁾もあった。生豆乳を凍結後解凍すると11S画分が沈殿することから、上澄みと沈殿部を適度に混合し、11S含量の異なる豆乳が調製可能である。

豆腐の硬さは、11S含量、凝固剤量、さらに豆乳の温度履歴も重要であることが示されている。Liu ら¹⁰⁾は7Sと11Sの変性温度(75, 95℃)で5分ずつ加熱する2段階加熱で、通常の95℃・5分加熱よりもきめ細かい構造の豆腐ができ、硬くなることを示した。最近、カロリーを抑えた豆腐の調製が脱脂豆乳を用いて試みられているが、腰の弱い

柔らかな豆腐しかできない。そこで、この2段階加熱を行ったところ豆腐の硬さが通常の豆乳からの豆腐と同等にまで回復したと報告している¹¹⁾。豆乳に対する熱処理の影響も各種温度で検討されている。70-80℃加熱のものでは100℃以上加熱よりも長期貯蔵で沈殿が多くなるが、それをさらに高温加熱(115℃)すると沈殿は少なくなった。しかし、逆に高温加熱後70-80℃で再加熱すると沈殿量が増加することが明らかになった¹²⁾。これは製品の最終加熱温度が7Sの変性温度近傍であると、タンパク質が不安定化することを暗示している。変性タンパク質のさらなる温度変化は追跡手段が難しく、研究は少ない。しかし、製品の生産では濃縮、殺菌、分散など温度設定が重要であり、製品の安定化のためさらなる研究が期待される。

豆乳中各成分についても新たな知見が得られている。豆乳中の脂質(オイルボディ)について、Chen と Ono¹³⁾は生豆乳と加熱後の状態変化について報告している。生豆乳のpH7付近では、大量の11S、7Sタンパク質がオイルボディに結合しているが、pH8以上ではほとんどが解離する。しかし、アレルギータンパク質であるGlymBd30Kは結合していて、pH11で解離することが分かった。また生と加熱でオイルボディのpH凝集性、カルシウム凝集性、表面疎水性が変化せず、粒度分布にも変化が見られなかった。大豆のオイルボディは、加熱による影響をほとんど受けないことが明らかになった。

豆乳中の粒子状タンパク質は加熱により11SのBasic peptideと7Sのβ-サブユニットが主体となり形成することが知られている³⁾。この形成にどのような結合が関与しているかが調べられている。Ren ら¹⁴⁾は、水素結合切断剤の尿素、疎水結合切断剤のドデシル硫酸ナトリウム、S-S

図 5 豆乳タンパク質画分の電界放出形走査電子顕微鏡写真 (Chen と Ono¹⁷⁾, 2014)

100nm 前後の大粒子, 40nm 前後の中粒子, 20nm 以下の小粒子 (タンパク質分子) が見える。50000 倍。詳細は文献の図を参照下さい。

結合を切るメルカプトエタノールなどを豆乳に添加し、ゲルろ過による分別と各画分の組成変化から、粒子形成への S-S 結合の寄与は小さく、むしろ疎水結合や水素結合が重要であることを示した。また、生豆乳中で溶解しているホエータンパク質 (トリプシンインヒビター, リボキシゲナーゼ, β -アミラーゼ, レクチンなど) は加熱により凝集するが、7S タンパク質と結合して粒子状タンパク質を形成することを明らかにした¹⁵⁾。一方、豆乳にジチオスレイトールを加え、粒子画分と上澄みのタンパク質組成の変化を調べたところ、粒子形成に S-S 結合の寄与は少ないこと¹⁶⁾ がしめされ、Ren らの結果¹⁴⁾ が指示された。さらに、S-S 結合により粒子表面に結合した 11S の Acidic peptide や 7S の α , α' -サブユニットがさらなる巨大粒子の形成を阻止していることが明らかにされた¹⁶⁾。

それではタンパク質粒子はどのようにして形成されるのだろうか。Chen と Ono¹⁷⁾ は、ショ糖添加豆乳を遠心分離し、オイルボディを除いたタンパク質溶液を得、それを固定後、電界放出形走査電子顕微鏡により観察した。図 5 がその電顕写真である。100nm 前後の大粒子、20-40nm の中粒子、20nm> の小粒子が確認できた。20nm> は可溶性のタンパク質分子である。

11S, 7S 比の異なる大豆から調製した豆乳を用いて、タンパク質の粒度分布を測定したところ、7S の多いものでは 40-100nm の画分が多くなり、11S の多いものでは 100-200nm の画分が多くなった¹⁷⁾。11S が大粒子形成に寄与し、糖鎖を持つ 7S の α , α' -サブユニットなどはタンパク質の凝集を抑えることが示された。また、豆乳の pH を 6.5, 9.4, 12.0 に調整し、可溶化してくるタンパク質を確認したところ、Acidic peptide, α , α' -サブユニットなどであ

り、これらのタンパク質が粒子の外側にあると考えられた。これらのことから、粒子タンパク質がどのようなサブユニット構成なのか推定し、推定図 (図 6) が示されている。

7S タンパク質は加熱により変性するが α , α' -サブユニットは 2 つの糖鎖や電荷により安定で、可溶性タンパク質になり易い。 β -サブユニットは糖鎖が 1 つで電荷も少ないため凝集し易い側面を持っている。11S タンパク質は加熱により疎水性の強い Basic と親水性の Acidic peptide に解離する。Basic は、そのままでは凝集沈殿するので、 α , α' , β -サブユニットと結合し安定化しようとするが、Basic- β 結合体は疎水性が強く更に結合して大粒子を形成する。粒子形成を阻むのは、可溶性タンパク質としても安定化できる Acidic や α , α' -サブユニットで、凝集体の表面に結合し、さらなる結合を阻止する。これらのことから 11S/7S 比が粒子タンパク質の大きさを制御し、11S が多いほど粒子量 (量は粒径の 3 乗) が多くなる事が説明できる。これらを図解したのが図 6 である。

次に飲用豆乳について述べる。飲用豆乳では、脂質酸化によるヘキサナールなどの生成を抑えるために、酸化触媒酵素 (リボキシゲナーゼ) 失活のため、磨砕 (細胞破壊) と同時に加熱し、豆乳を調製している。Wilkins ら¹⁸⁾ (1967 年) が、乾燥大豆の熱湯磨砕で豆臭成分が減少することを示して以来、飲用豆乳には熱湯磨砕が取り入れられてきた。この方法を改良したコーネル法 (コーネル大学で開発) では、弱アルカリ水に温水浸漬後、熱湯磨砕し、ろ過して調製している。更に、脱皮全粒をエクストルーダーにより加圧・加熱粉碎し、それを強力に分散させ豆乳を作る USDA 法 (アメリカ農務省で開発) や微アルカリ水でブランチング後熱湯磨砕し、全粒豆乳を作るイリノイ法 (イリノイ大学で開発) などが提案されている。

熱湯磨砕だけでなく、冷水磨砕などとの比較実験も行われている¹⁹⁾。4, 20, 80.5℃ で磨砕し、豆臭の発生を比較したところ、80.5℃ が最も少なく、さらに二重殺菌 (120℃/80s, 140℃/4s) で検知不可まで減少した。

Wilkins ら¹⁸⁾ は無浸漬大豆の磨砕で豆乳を調製したが、Shimoyamada ら²⁰⁾ は無浸漬大豆と浸漬大豆の比較を行っている。無浸漬大豆は浸漬大豆と比較して磨砕度合いによっては収量が僅かに低い、粒度分布等はほとんど同じで性質に大きな違いは見られなかった。

さらに、無浸漬大豆で温度を変えて豆乳を作ったところ、50℃ のものよりも 90℃ ではタンパク質収量が 70% ほどに減少し、豆乳の SH 含量の減少と表面疎水性の増加が起こった²¹⁾。タンパク質粒子の大きさも大きく変化した (図 7)。温度増加で巨大粒子は減少し、40nm 以下の小粒子 (可溶性画分) が増加した。豆腐用豆乳では常温で可溶化したものが、70℃ 付近でまず 7S 変性体を生成し、次に 11S が 90℃ 付近で変性解離し、より疎水性の高い Basic peptide (BP) を生成する。図 6 に示すように BP は 7S 変性体と

図6 豆乳タンパク質粒子のサブユニット構成推定図 (Chen と Ono¹⁷⁾, 2014)

7S の α, α', β-サブユニット, 11S の Acidic (A), Basic (B) peptide, 親水性: α, α', A, 疎水性: B, β

図7 各種温度で磨砕調製した豆乳の粒子状タンパク質のサイズ分布 (Shimoyamada ら²⁰⁾, 2014)

斜線: 大粒子 (100 nm <), 点々: 中粒子 (100-40 nm), 空白: 小粒子 (40 nm >)

結合し安定化するが, β-サブユニットと結合したものは更に凝集し, 大きな粒子を形成し, α, α' や Acidic 変性体との結合により安定化する¹⁷⁾。一方, 飲用豆乳では, 7S, 11S が同時に 90℃ 付近で変性するため, 生じた BP は同時変性した 7S や Acidic と開いた疎水面を封鎖するように結合するため, 巨大化せずに安定化し, 小さな凝集体ができると考えられる。

豆腐形成においては, 大きな粒子状タンパク質が多いと, pH 低下の少ない低凝固剤濃度でそれらは水を含んだままオイルボディに結合する。次にそれらが水塊を包み込むように壁を作り, 豆腐カードができるため (図3), より水を安定に抱えた弾力性のある豆腐ができる。一方, 大きな粒子状タンパク質の少ない飲用豆乳では, 滑らかで飲み口の

軽い, より安定した豆乳が得られるものと考えられる。しかし, 豆腐形成には向かない。

今後の課題としては, 豆腐用豆乳および飲用豆乳中タンパク質粒子の電界放出形走査電子顕微鏡等による比較観察や各粒子画分組成の比較検討が行われ, 豆腐用豆乳, 飲用豆乳の構造が明らかにされることを期待する。

文 献

- 1) Ono, T. (2008). The Mechanism of Soymilk and Tofu Formation from Soybean, and the Factors Affecting the Formation. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **55**, 39-48 (小野伴忠, 大豆から豆乳・豆腐が生成する機構とそれに影響を与える諸因子, 日本食品科学工学会誌)。
- 2) Guo, S.T., Ono, T., and Mikami, M. (1997). Interaction between protein and lipid in soymilk at elevated temperature. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4601-4605.
- 3) Ono, T., Choi, M.R., Ikeda, A., and Odagiri, S. (1991). Changes in the composition and size distribution of soymilk protein particles by heating. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2291-2297.
- 4) Toda, K., Chiba, K., and Ono, T. (2007). Effect of components extracted from okara on the physicochemical properties of soymilk and tofu texture. *J. Food Sci.*, **72**, C108-113.
- 5) Mahfuz, A., al, Tsukamoto, C., Kudo, S., and Ono, T. (2004). Changes of astringent sensation of soy milk during tofu curd formation. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 7070-7074.
- 6) Guo, S.T. and Ono, T. (2005). The role of composition and content of protein particles in soymilk on tofu curdling by glucono- δ -lactone or calcium sulfate. *J. Food Sci.*, **70**, C258-262.
- 7) Toda, K., Ono, T., Kitamura, K., Hajika, M., Takahashi, K., and Nakamura, Y. (2003). Seed protein content and consistency of tofu prepared with different magnesium chloride concentration in six Japanese soybean varieties. *Breeding Science*, **53**, 217-223.
- 8) Onodera, Y., Ono, T., Nakasato, K., and Toda, K. (2009). Homogeneity and microstructure of Tofu dependents on 11S/7S globulin ratio in soymilk and coagulant concentration. *Food Sci. Technol. Res.*, **15**, 265-274.
- 9) Morita, K. and Shimoyamada, M. (2014). Proposal of mechanism of freeze-thaw fractionation of 7S and 11S globulins in soymilk. *Food Chemistry*, **140**, 39-43.
- 10) Liu, Z.S., Chang, S.K.C., Li, L.T., and Tatsumi, E. (2004). Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. *Food Res. Int.*, **37**, 815-822.
- 11) Shin, W.K., Yokoyama, W.H., Kim, W., Wicker, L., and Kim, Y. (2015). Change in texture improvement of low-fat tofu by means of low-fat soymilk protein denaturation. *J. Sci. Food Agric.*, **95**, 1000-1007.
- 12) Shimoyamada, M., Tsushima, N., Tsuzuki, K., Asao, H., and Yamauchi, R. (2008). Effect of treatment on dispersion stability of soymilk and heat denaturation of soymilk protein. *Food Sci. Technol. Res.*, **14**, 32-38.
- 13) Chen, Y. and Ono, T. (2010). Simple extraction method of non-allergenic intact soybean oil bodies that are thermally stable in an aqueous medium. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 7402-7407.
- 14) Ren, C., Tang, L., Zhang, M., and Guo, S. (2009). Structural characterization of heat-induced protein particles in soy milk. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 1921-1926.
- 15) Ren, C., Tang, L., Zhang, M., and Guo, S. (2009). Interactions between whey soybean protein and beta-conglycinin during the formation of protein particles at elevated temperatures. *Food Hydrocolloids*, **23**, 936-941.
- 16) Ruan, Q., Chen, Y., Kong, X., and Hua, Y. (2014). Heat-induced aggregation and sulphhydryl/disulphide reaction products of soy protein with different sulphhydryl contents. *Food Chemistry*, **156**, 14-22.
- 17) Chen, Y. and Ono, T. (2014). Protein particle and soluble protein structure in prepared soymilk. *Food Hydrocolloids*, **39**, 120-126.
- 18) Wilkens, W.F., Mattick, L.R., and Hand D.B. (1967). Effect of processing method on oxidative off-flavors of soybean milk. *Food Technology*, **21**, 1630-1633.
- 19) Zhan, Y., Guo, S., Liu, Z., and Chang, S.K.C. (2012). Off-flavor related volatiles in soymilk as affected by soybean variety, grinding and heat-processing methods. *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 7457-7462.
- 20) Shimoyamada, M., Kusaka, K., Mogami, S., Tsuzuki, K., Honda, Y., and Asao, H. (2010). Characterization of soymilk prepared from non-imbibed soybean seeds. *Food Sci. Technol. Res.*, **16**, 505-508.
- 21) Shimoyamada, M., Mogami, S., Tsuzuki, K., and Honda, Y. (2014). Characterization of soymilk prepared by milling and pressing at high temperature. *J. Food Processing Preservation*, **38**, 830-836.

(平成 28 年 6 月 5 日受理)