ユバ状蛋白質皮膜の生成について

岡 本 奨*

ユバは現在では地方的にわずかに生産されているのみであるが、保存性、携帯性の高い濃厚な栄養食品であり、また大豆のいわゆるおから以外の全成分を風味のよい食品として利用できるという点でも、大豆加工食品のひとつとしてすぐれたものであると思う。しかしその生産、製品などに関する研究はほとんど見られず、もっぱら経験的技術により小規模に生産されているのみである。他方、大豆蛋白質の食品としての利用の増大に伴い、豆乳の殺菌、乾燥などの処理中にユバ膜がはり、これらの工程に著しい障害となっている。このような点からみて、ユバ生成の諸条件を検討し実験的に明確にしておく必要を感じ若干の実験を行なった。前報¹⁾では豆乳組成とユバ組成との関係についてのべたが、本報では主として蛋白質単独の膜の生成を中心とし、併せて油脂との関係についても2,3触れた。

実験方法および結果

1. 実験材料

大豆蛋白質としては市販大豆を粉碎しエーテルで脱脂後、水で抽出し pH 4.3 とし沈殿させ、沈殿物を pH 8.0 のアルカリ溶液にとかし再沈殿させて用いた。1部の実験には市販水溶性大豆蛋白質（味の素社・プロリッチ）より等電点沈殿を繰り返して精製した蛋白質を用いた。多くの場合、変性の恐れのある乾燥処理を行わず、ペースト状のまま試料とした。

油脂は粉碎した市販大豆よりソックスレー法によってエーテルで抽出したものを、とくに精製することなくそのまま用いた。油脂中のレシチン含量は比色法²⁾によって求めたリンの定量値より 2.68% と算出された。

豆乳は 30 g の大豆粉に水 80 ml を加え 1 夜放置して膨化させたのち、熱水を加えて全量を 300 ml とし、沸とう湯浴中で 45 分間加熱し、サラン巾着で濾過して得た乳液を用いた。

2. 皮膜生成のための濃度、温度、雰囲気などの諸条件 皮膜生成が蛋白質の界面変性にもとづくことが考えら

れるので、気-液界面、液-液界面における成膜状態を観察し、蛋白質の濃度、温度などの条件との関連をつぎの諸実験によって調べた。

(1) 無加熱蛋白質溶液の蒸発の際の皮膜生成

10% 蛋白質溶液を、あらかじめ固体パラフィンで熔融して平滑に流しこんで固めてあるシャーレ上にひろげ、シリカゲルを入れた真空デシケーター中に入れ、気泡が発生せぬよう注意しながら水流ポンプで引いて減圧とし、1 夜放置して成膜状態をみた。蛋白質溶液は全く加熱せぬものと、60°C、30 分処理したものを用いた。

いずれも肉眼的にはかなり強い膜様物が生成したように見えるが、両者の間には次の諸点に相異があった。

(i) 加熱処理を行なったほうは透明でベッコウ色を呈するのに対し、無加熱のものは半透明で不均一な感じである。

(ii) 無加熱のものも硬い膜であるが、加熱処理を行なったものと比べて脆く、弾性、可撓性の点で遙かに劣る。

(iii) pH 7.2 の緩衝液に浸漬後振盪すると、加熱処理をしたものはほとんど溶解の兆候がないが、無加熱膜は容易に分散溶解し去り元の蛋白質溶液に戻る。

したがって無加熱のものは蛋白質が無変性のまま乾いたという見掛け上の膜状態に過ぎず、膜の生成には少なくともこの程度の加熱履歴が成膜準備段階として必要と思われる。

(2) 完全密封器内での皮膜生成

ゴム栓で密封した容器内に 5% 蛋白質溶液を入れ加熱を続けた。

密封してないと 60°C 付近で成膜がはじまるが、密封してあると全く生成せず、溶液内で蛋白質の凝集が見えはじめる 75~80°C になっても、さらに 95°C 付近まで温度を上げて表面にはなんの変化も見られなかった。この際容器の栓を取り去ると直ちに皮膜生成が始まる現象が観察された。

栓をする代わりに、蛋白質溶液を流動パラフィンで蔽

* 東京農工大学農学部（東京都府中市幸町）

On the Formation of Yuba-like Film from Protein Sol. By SUSUMU OKAMOTO.

い、同様に加熱しながら両液の界面の変化を観察したが、やはり全く皮膜の生成はなかった。

これらの現象は気-液あるいは液-液界面の存在というだけでは変化が起こらず、蒸発面の存在が必要であることを示している。

(3) 豆乳濃度、蒸発面の有無と皮膜生成の関係

前記のように製した豆乳を希釈して 5.0, 3.8, 2.7, 1.9% の固形分を含む 4 種の豆乳液をつくった。第 1 図 (I), (II) のような 2 種の装置を用いこれら各種濃度の豆乳を入れて約 70°C で加熱を続けた。(II) の場合は蒸発減量分の水をときどき補給しつつ加熱した。

(I) の装置では水蒸気がほぼ飽和の状態であるが、4 時間以上の加熱にもかかわらず、濃度 5% でも皮膜は全く生成せぬのに反し、水蒸気を吸引排気する (II) の装置では、濃度 1.9% の豆乳からでも 20~30 分後に連続的な薄いユバ状皮膜が明らかに生成した。したがって (2) で述べたような厳密な密封状況下でなくても、水蒸気が飽和状態になっている気-液界面ではユバは全く生成しないことは明らから、豆乳濃度の大小は皮膜生成自体にはほとんど関係しないと考えられる。

(4) 窒素ガス充填容器中の皮膜生成

空気中の酸素または炭酸ガスが成膜になんらかの関係があるのではないかという疑いがあるので、密封ゴム栓付き三頸フラスコに温度計、窒素導入管、水蒸気および窒素排気管を付し、5% 蛋白質溶液を入れ、加熱前に完全にガス置換を行ってから、窒素ガスの流速、流量を加減しながら、液面が動揺せぬよう注意しつつ加熱を続けた。

62°C 付近から皮膜は生成しはじめ、空気中の場合と

第 1 図 水蒸気飽和と水蒸気排除の場合の豆乳からの皮膜生成

なんら異なる現象は認められなかった。

3. 加熱温度と液面粘度との関係

豆乳または蛋白質溶液を加熱していくと、皮膜生成直前に液の表面粘度が増大することは触感的にもわかるが、普通の回転粘度計を用いてもその変化が測定できない。むしろ液全体としては 100°C 以下の温度範囲では温度上昇とともに粘度が低下するというニュートン流体の通性に従う。液表面の粘度測定には第 2, 3 図のごとく、金属製リングに弾性による回転力を与え、これと液面との摩擦による回転度の減衰をガルバノミラーとランプスケールの組合せによって知る減衰振動法¹⁾を採用した。

装置の 1 部は手製したものもあり、絶対粘度を求めるには各種ファクターを厳密に決定しておく必要があるのですが、絶対値を求めることはできなかったが、この場合は加熱時における表面粘度の相対的な増減の傾向を回転減衰から知るにとどめた。すなわちリングが完全に水平面をつくって液面に接し、しかもリングが決して液中に埋

第 2 図 減衰振動実験装置

A: 鉄線 (径 1 mm) B: ガルバノミラー (凹面鏡) C: ランプスケール D: 金属リング
E: 光源 F: 試料液面 G: 恒温湯煎, 蒸発皿 H: ラボラトリージャッキ

第 3 図 減衰振動法の原理

没せぬように留意し、微風によって回転力を与え、液温を一定に保ちつつ減衰の経時の変化を測定した。蛋白質濃度が高いと測定は困難であるので 1.25%, 2.5% の 2 種類の溶液について行なった。

反覆実験の結果はいずれも同一の傾向を示したので、ここでは 2.5% 溶液の場合の減衰振動図の 1 例を第 4 図に示した。

液面の粘度は加熱時間の経過とともに急昇してくることがわかる。ただ 60°C の場合の減衰が 50°, 39°C の場合よりおそいのは、60°C の場合は既に表面に薄膜が生じた段階であり、リング回転によりこれがこわれ新たな液面が生じてくるためである。このことは明らかに界面のみでの粘度上昇であることを示す。液温 40°C 付近からの粘度増大が目立つが、皮膜生成は 60°C 以上にならぬと起こらない。液面粘度の増大は界面における蛋白質密度の増加と界面変性による高次構造の変化を示すものであろうが、液面粘度増大ということだけでは皮膜生成の条件として不十分であり、60°C 以上の加熱が必須条件である。

4. 種々の pH における皮膜生成

上記皮膜生成の諸実験では、蛋白質溶液の pH はすべて 6.8~7.2 の間で行なっているが、pH と皮膜生成の難易との関係を見るため、種々の pH の 5% 蛋白質溶液を調製し 60°C に加温して皮膜の生成状態を観察した。その結果は第 1 表のとおりである。

第 1 表 pH の成膜に及ぼす影響 (60°C)

pH	8.10	9.20	10.25	11.30	12.00
成膜状態	30 分後ほぼ同様に成膜	60 分で弱な薄膜	120 分加熱しても変化なし		

第 2 表 尿素添加の成膜に及ぼす影響 (60°C)

尿素濃度	pH	30 分後	60 分後	90 分後
0 M	7.0	◎		
0.1	7.0	◎		
1.0	7.2		○	○
5.0	7.3		△	△
10.0	7.5			×
15.0	7.5			×

注: ◎ 完全な膜生成, ○ 普通膜に準じた膜, △ 生成したがきわめて不完全, × 全く生成せず

pH 11.3 以上で加温した場合は皮膜は生成せぬが、この場合は蛋白質自体の分解が考えられる。それを除けば成膜可能な pH 範囲はかなり広いといえる。もっとも pH 10.25 までも pH 上昇とともに膜生成時間はやや長くなる傾向がある。

5. 尿素添加の影響

5% 蛋白質溶液に 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 モル濃度となるように尿素を添加した。尿素を添加しても pH はほとんど不変であり、これを 60°C に加熱しても同様である。蛋白質-尿素溶液それぞれ 100 ml を定温湯煎で 60°C に保ち成膜状態を観察した結果は第 2 表のとおりである。

尿素濃度 1.0 モルで既に明らかに成膜阻止作用が現われる。尿素を高濃度に添加した場合でも、液面粘度の上昇は顕著である。それでも皮膜の生成が行なわれないのは、成膜には蛋白質分子間の水素結合が関係するものと思われる。

6. 豆乳中油脂の皮膜生成、蛋白質変性に及ぼす影響

前記のように調製した大豆蛋白質および大豆油を、既報¹⁾の方法によって 2:1 の組成に混合し、固形物濃度 5% の人工豆乳をつくり、これを 65°C および 85°C に加温し、大豆蛋白質のみの場合と比較しながら、膜の生成速度や状態を観察し併せて油脂共存の場合の蛋白質の変性などについて調べた。試料液 1,200 ml より 85°C の場合はユバ膜 13 枚、蛋白質膜 11 枚、65°C の場合はユバ膜 16 枚、蛋白質膜 13 枚採取できたが、それぞれは

第 4 図 2.5% 蛋白質溶液液面の減衰振動図
(I) 7°C の場合 (II) 50°C の場合 (III) 各温度の比較(片側)

第3表 ユバおよび蛋白質膜の生成経過 (試料液 1,200 ml 固形物濃度 5%)

			第1区分	第2区分	第3区分	計
85°C	ユバ膜	枚 数	3	4	6	13
		平均成膜時間 (分)	45	30	22	—
		経過時間 (分)	135	255	380	380
	蛋白質膜	枚 数	3	4	4	11
		平均成膜時間 (分)	45	30	22	—
		経過時間 (分)	135	255	340	340
65°C	ユバ膜	枚 数	5	5	6	16
		平均成膜時間 (分)	50	32	35	—
		経過時間 (分)	250	410	620	620
	蛋白質膜	枚 数	5	5	3	13
		平均成膜時間 (分)	50	32	30	—
		経過時間 (分)	250	410	500	500

じめに生成した数枚を第1区分、中頃の数枚を第2区分、終りにできる数枚を第3区分とした。第1区分の数枚は液温が所定の温度まで上昇するのに時間がかかり、成膜が始まってから完了するまでに比較的長時間を要し、第2、3区分になるほど成膜時間が短縮される。本工程で成膜に要した平均時間、全工程に要した時間を第3表に示した。

一般に油脂共存のユバ膜のほうが蛋白質単独膜より成膜が早く、膜質もシワのより方が深く多く豊かな感じがする。第5図は8枚目の皮膜を同時に採取してから9分後の両者の成膜状態を示したもので、このようにユバ膜のほうが蛋白質膜より成膜がすみやかである。ただしユバ膜と蛋白質膜との条件を揃えるため、ユバ膜の成膜完了しても蛋白質膜の成膜完了を待って採取したので第3表では差違が出ていない。

各区分は集めて風乾後、微粉砕してエーテルで十分脱脂してから、蛋白溶解率 NSI (nitrogen solubility in-

dex)⁴⁾の測定に供した。すなわち試料約2gをpH 6.98のリン酸緩衝液 50 ml 中に 30°C、2 時間処理し遠心分離し上澄液の全窒素と試料の全窒素をケルダール法で定量して溶解率を求めた。蛋白質単独の膜についても同一の操作を行なった。その結果を第6図に示す。

いずれの場合も第1区分の溶解率は小さいが、第2、3区分になるほどかえって溶解率が大きくなる傾向がある。これは第1区分は成膜完了までかなり長時間液面にさらされているので、その間に変性が進行するが、第2、3区分では液中で加熱されている時間ははるかに長いにもかかわらず、液面にある時間が短いために変性度が小さくなるものと解される。すなわち蛋白質の変性度は豆乳加熱時間の長短よりも液面に接している時間のほうに大きく支配される。

またいずれにしても蛋白質のみの場合より、油脂と共存した場合の蛋白質のほうが溶解率が小さくなる。この

第5図 ユバと蛋白質膜との生成速度の差異
(I) 蛋白質膜 (II) ユバ膜

第6図 生成皮膜の蛋白溶解率

原因については不明確であるが、前報¹⁾のごとくユバ膜にはエーテルで抽出しがたい微量の油脂分が存在しており、蛋白質となんらかの不溶性コンプレックスを形成しているためではないかと考えられる。

考察および要約

蛋白質および油脂を主成分とするエマルジョンの加熱によって、表面に皮膜を生成する現象は豆乳以外に牛乳でも日常見られる現象である。しかし筆者らの実験によるとどの蛋白質にも共通する現象とはいいがたい。たとえばカゼインは皮膜を生成するが、大豆蛋白質の場合と比べてはるかに水に分散溶解しやすい。また卵白アルブミンはこのような条件で皮膜を生成させることは困難である。ゼラチンは全く生成しない。このように蛋白質の種類により成膜可能のものとそうでないものがあり、また成膜しても膜質に大きな差異がある。大豆蛋白質について試みた上記実験結果を要約するとつぎのようになる。

(1) 豆乳あるいは蛋白質溶液を加温し皮膜の生成が始まる温度は 60°C 付近であり、また 60°C、30 分加温した蛋白質溶液からはその後加温をつづけなくても、蒸発だけによりユバ状皮膜を生成させることができる。

(2) 皮膜生成には液面での蒸発が行なわれていることが必要で、液面が水蒸気飽和その他の理由で蒸発が阻害されている場合は生成しない。

(3) 皮膜生成自体には液の濃度、pH は大きな影響がない。

(4) 不可逆的な皮膜生成には蛋白質分子間の水素結合が必要で、液面粘度が上昇しても水素結合が阻害され

ると皮膜が生成しがたくなる。

(5) 油脂の存在は蛋白質の皮膜生成を促進し、生成膜の蛋白溶解率を低める。

複雑な蛋白質混合溶液の皮膜生成の機構を以上の事実のみから簡単に説明することは、もとより不可能であるが、若干の推論が許されるなら以下のように考えられる。

蛋白質溶液が加熱されると、液内での蛋白質分子の動きが活発になり、加熱温度 60°C 付近で蛋白質の分子形態の変化が起こるであろう。大豆の水抽出蛋白質の加熱温度と蛋白質分子の形態性状の複雑な変化については、すでに渡辺ら⁶⁾により詳細に研究され、70°C、10 分で超遠心沈降図や電気泳動図が大きく変化し分子の会合が起こることを明らかにしており、また 60°C、10 分で硫酸塩析曲線に著しい変化があり、大部分の蛋白質が低飽和度の硫酸によって沈殿するとのべている⁶⁾。蛋白質膜生成という見地からも 60°C 付近でなんらかの分子形の変化があることが想像される。合成ポリペプチドの研究の進展につれて、 α -helix 型の重合体が一定温度の水中で β -coil 型に転換する事実が認められ、ポリ-L-アラニン⁷⁾は 60°C、ポリ-L-プロリンは 40°C がそれぞれ $\alpha \rightarrow \beta$ 転換点とされている⁷⁾。豆乳における 60°C がこの点に相当すると仮定するわけにはいかないが、分子の 2 次構造が比較的低温度で転換する可能性があり、このような不安定な状態で分子が界面に達すると極性基、非極性基の方向を一定にするように強いられるので、容易に分子形の変化(界面変性)が起こり、表面粘度も急昇するであろう。この際液面が水蒸気で充満しておれば配向が乱されこの変化は阻害されよう。こうして液面における蛋白

第4表 油脂の過酸化価^{*}と水面浮上時間との関係

	ユ抽出 バ出脂 かし らた				水浮た 面か油 にべ層			
	85°		65°		85°		65°	
	1 浮 枚上 当り 時間 (分)	P O V	1 浮 枚上 当り 時間 (分)	P O V	浮 上 時間 (分)	P O V	浮 上 時間 (分)	P O V
	—	32	—	20	—	32	—	20
使 用 油 脂	—	32	—	20	—	32	—	20
第 1 区 分	45	181	50	130	120	70	150	32
第 2 区 分	30	58	32	104	225	104	300	46
第 3 区 分	22	46	32	114	330	114	480	154

注: * Wheeler 法改良法⁸⁾による

質分子の密度が増大し、かつ液面から水分子がとび出していく条件の下では、蛋白質分子同志が互に密に接近し、分子間に水素結合が生じやすい状態となり、ついに相連なって皮膜を生成するに到ると考えられる。したがって蒸発を阻害しても、分子間水素結合を阻害しても皮膜は生成しない。

なお豆乳中に分散しユバ膜にとりこまれる脂肪球は前報¹⁾のごとく 0.5μ 以下のきわめて微細なものであるもので、これらが液面に浮上し空気と接触した状況の下では、単に油層を水面に浮べて加温している場合と全く異なり、きわめて酸化を受けやすい状態と考えられる。筆者らはこの状態で液面に比較的長時間接触していると、油脂の過酸化価が著しく高まる現象を認めて報告⁸⁾した(第4表)。酸化を受けた油脂は豆乳加温の場合と極めて類似の条件下で蛋白質と複合体を生じ、蛋白質の溶解率を減少させることは多くの研究¹⁰⁾に見られるとおりである。ユバ膜蛋白質が蛋白質単独の膜より溶解しがたい1部の理由は、これに類した反応が起こるためかも知れない。

終りに実験を担当された杉山美江子、大塚肇両氏、表面粘度測定に有益な御教示をいただいた本学工学部金子

六郎助教授、実験材料についての御配慮いただいた味の素株式会社に厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 岡本 奨・丸山美江子：食品工誌，**13**，184(1966)。
- 2) 日本油化学協会編：油脂化学便覧，(丸善)，p. 300 (1957)。
- 3) 日本化学会編：実験化学講座，(丸善)，7，p. 281 (1965)。
- 4) MCGHEE, J.E., KIRK, L.D. and MUSTAKAS, G.C.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **41**, 359 (1964)。
- 5) 渡辺篤二・中山 修：農化，**36**，890 (1962)。
- 6) 渡辺篤二：日本食品工業学会第12回大会受賞講演，(1964年4月，東京)。
- 7) 野口順蔵：ポリアミノ酸繊維に関する講演会(1964年11月，東京)。
- 8) 丸山美江子・岡本 奨：日本食品工業学会第13回大会発表(1966年4月，東京)。
- 9) 京大農化教室編：新改農芸化学実験書，(産業図書)，2，p. 713 (1965)。
- 10) NARAYAN, K.A. and KUMMER, F.A.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, 52 (1958); **40**, 339 (1963); **41**, 254 (1964)。

(1966年11月12日受理)