総 説

大豆蛋白質の凍結変性による新食品素材の
開発に関する研究

橋 詰 和 宗*

Studies on Production of New Textured Protein by
Freeze Denaturation of Soybean Protein

KAZUMOTO HASHIZUME*

豆腐を凍結して凍結状態で数日間保存するとゲル状の組織が海綿状の組織に変る。豆腐は乾燥し難く、そのまま乾燥した場合には堅い角質状の固体に変化して食用にすることはできない。しかし凍結を経て海綿状組織になった凍豆腐は脱水と乾燥が可能になり、豆腐とはまったく別の食感舌ざわりを持つ食品になる。中国で生れた豆腐は時代が定かでないが奈良時代から鎌倉時代に僧侶によって伝えられ、凍豆腐はわが国の風土の中で生れたといわれている。凍豆腐の誕生から現在までの変遷は宮下の凍豆腐の歴史¹⁾にくわしく述べられている。これによると凍豆腐のさがけともいえるものに戸外の寒気にさらして凍結させた「一夜水」がある。そしてこれが生れるまでには、伝えられた豆腐が日本人の食生活の中に深く根を下ろすことが必要であった。現在のような乾物の凍豆の原形は高野豆腐あるいはシミ豆腐として桃山時代末期に生れ、江戸時代に発達したといわれている。これは「一夜水」を冬期以外にも利用するため保存しようと工夫して乾燥品としたものであるが、この背景には凍結を利用した寒天、氷こんにゃく、氷餅、氷大根などの製造技術が存在したことを見のがせない。

凍結を利用してつくるこれらの食品の共通点は、凍結によって食品の組織が多孔質になって脱水乾燥が容易になるため保存食品に加工できるとともに、凍結前とはまったく違う性質を持つ食品に仕上ることである。凍結を利用したこれらの伝統食品の加工法の誕生は、日本人が冬の厳しい寒気を自然のめぐみとして受入れ、これによ

て起る変化をたくみに利用したことによるといえよう。

これとは別に、冷凍機の発明によって発達した食品の冷凍保存は、凍結による変化をできるだけ抑えてなるべくもとの状態のまま保存することが目的であって、凍結を利用した伝統的加工法とまったく対称的な立場が興味深い。

本稿は、凍豆腐を製造する際にみられる凍結によって起る蛋白質の変化を化学的にとらえ、また凍結による蛋白質の変性を利用した新蛋白質素材製造の試みを筆者の研究を中心に解説する。なお本稿の蛋白質の凍結変性は凍豆腐などの熱によって変性した蛋白質の凍結による変化も含めており、蛋白質化学における変性の定義²⁾——native の状態と異なる状態に移行したとき——にかならずしもあてはまらない。しかし共通点もあると思われるので、熱変性した蛋白質の凍結による変化も凍結変性に含めたことをお断りする。

凍豆腐製造における蛋白質の凍結変性

凍豆腐の製造は明治 34 年 (1901) 人工冷凍法が発明されるまで冬期間天然の寒気にたよって行なわれていた。現在のようにほとんどが人工冷凍法になったのは昭和 20 年代の暖冬異変を契機としてであって、昭和 30 年までには江戸時代から続いた天然凍結の凍豆腐はごく一部を残し姿を消³⁾した。

凍豆腐の製造工程はまず大豆より豆腐をつくる。凍豆腐の原料となる豆腐は普通豆腐の約 2 倍程度の固形分⁴⁾

* 農林水産省畜産試験場 (〒 280 千葉市青葉町 959)
National Institute of Animal Industry (〒 280 Aoba-cho 959, Chibashi)

(20.3%)である。これをつくるため、濃度の薄い豆乳に塩化カルシウムを加えて激しく攪拌しながら粒状の凝固物をつくり、強く圧搾する。できた豆腐は水にさらしたのち切断して凍結する。凍豆腐の製造法の特徴はその名の示すように凍結にあり、凍結した豆腐を -3°C 前後で2~3週間凍結保存する。この期間を「もや」といい、この間に蛋白質の凍結変性が起り、もとの豆腐とは異なる海綿状の組織を持つ凍豆腐になる。これを解凍したのち圧搾により脱水し、乾燥して仕上げる。

凍豆腐の製造工程で製品の品質性状に大きな影響を与える条件は凍結を別にして、豆腐の製造条件^{4,5)}、乾燥条件⁶⁾および膨軟加工条件⁷⁾などであり、製品の貯蔵条件⁸⁾も大切である。これら凍豆腐の製造および貯蔵条件の研究に関しては桜井らの「凍豆腐の科学」⁹⁾にまとめられている。

中嶋ら¹⁰⁾は豆腐の凍結条件と凍豆腐の組織生成の関係を調べた。凍結所要時間 60 分以内の急速凍結を行なった場合には解凍後凍豆腐の特徴ある弾性は現れず、凍結によってできた微細な多孔質組織は消失し、外観は原料豆腐と変らなくなる。これに対し凍結時間 60 分以上の緩慢凍結では氷結晶の生成によって生じた多孔質組織は完全に固定され、豆腐とは異なる性状になる。渡辺ら⁵⁾は豆腐の製造条件と凍結によって現われる脱水性、弾力性、きめの関係を検討した。凝固温度 $65\sim 75^{\circ}\text{C}$ 、塩化カルシウム濃度 $0.11\sim 0.14\%$ の凝固条件で得た豆腐を所定の凍結をした場合に凍豆腐の脱水性、弾性、きめは良好である。凍結速度は風速、風温によって影響されるが、最大氷晶生成帯通過時間が $20\sim 30$ 分のものがこれらの性状に良い影響を与える。松橋¹¹⁾は豆腐を高圧窒素ガス ($25\sim 70\text{ kg/cm}^2$) 加圧下で凍結したのち常圧にもどして解凍すると脱水性のよい海綿構造が形成されており、短時間で凍豆腐の組織ができることを報告している。筆者らは凍豆腐の長期間の「もや」を短縮するため、大豆蛋白質の凍結変性を促進させる条件を見出し、これをもとに「もや」促進を試みた¹²⁾。

大豆蛋白質の凍結変性機構

1) 凍結変性と S-S 結合生成

大豆蛋白質の凍結変性を扱った研究は主な研究対象が凍豆腐に限られるため数が少ない。これに対し、魚肉^{13,14,15)}、鶏肉¹⁶⁾、畜肉¹⁷⁾、鶏卵¹⁸⁾などの凍結を扱った研究では凍結貯蔵による品質低下と密接な関連があるため多方面から研究されている。しかしこれらは細胞からなる複雑な系における蛋白質の凍結変性であるため塩溶

液に対する溶解度変化¹³⁻¹⁷⁾、SH 基の変動^{15,18)}、粘度変化¹⁸⁾、あるいは細胞の顕微鏡観察^{13,14)}などからその変性機構を明解に説明するのは簡単ではない。またこれを凍豆腐のような均一なゲルの凍結変性に関連させるには両者の違いはあまりに大きい。

大豆蛋白質の凍結による性状変化について渡辺ら¹⁹⁾は脱脂大豆の水抽出液を用いて検討している。水抽出液を加熱後凍結すると蛋白質の一部が不溶化する。凍結による不溶化率は水抽出液の加熱の際の温度と蛋白質濃度が高いほど、また急速凍結より緩慢凍結によって増加する。凍結保存温度は -20°C より $-10\sim -5^{\circ}\text{C}$ の比較的高温が、短期より長期間凍結保存することによって不溶化率は高くなる。またこの凍結によって不溶化は加熱前のショ糖の添加、加熱後の超音波処理によってほぼ完全に抑制される。

脱脂大豆より得た分離蛋白質の水溶液を加熱したのち酸で沈澱させ、これを凍結保存すると凍結期間に応じて海綿化が進行する。これを稀カセイソーダ溶液にて溶解すると、凍結前および凍結直後には溶解した蛋白質が海綿化の進行に伴って溶解し難くなる²⁰⁾。これは凍結中に蛋白質分子間になんらかの結合ができ溶解していた蛋白質が溶解しなくなったことを示している。分離蛋白質を沈澱状態で、あるいは溶液状態で凍結した場合、沈澱状態のものは溶解し難くなり²⁰⁾、溶液状態のものは不溶化物を生成する²¹⁾。これらを 1.5M 尿素と 0.01M メルカプトエタノールを含む $\text{pH } 7.6$ のリン酸緩衝液に溶解させると図 1, 2 のようになる。凍結直後は尿素を含む緩衝液に溶解していた蛋白質が凍結保存期間が長くなると溶解度が低下する。しかしメルカプトエタノールと尿素を含む緩衝液には凍結によって溶解度が低下した蛋白質が再び溶解する。これは凍結中に起る蛋白質の分子間結合がメルカプトエタノールの作用で切断される S-S 結合である可能性を示している。また沈澱状態（豆腐のゲルに近い状態と思われる）と溶液状態で凍結した蛋白質は同じ挙動を示すことから両者とも凍結によって起る変化は同じものであると思われる。大豆の 11S 蛋白質を用いて超遠心分析により凍結中に起る蛋白質の会合を調べると凍結による分子間 S-S 結合の生成がさらに明確になった²¹⁾。すなわち 11S 蛋白質を薄いリン酸緩衝液に溶解して 4 日間凍結したのち解凍すると沈澱物の生成があり、メルカプトエタノールを含まないリン酸緩衝液と混合したところ 35% の蛋白質の不溶化が認められた。その上澄の超遠心沈降図は図 3 のようになり、新たに 15S 成分が認められる。しかし解凍後メルカプトエタノールを含

図1. 大豆蛋白質を沈澱状態で凍結した場合の溶解度変化

B: リン酸緩衝液 (pH 7.6 $\mu=0.5$)
 B+Ur: リン酸緩衝液+1.5M 尿素
 B+Me: リン酸緩衝液+0.01M メルカプトエタノール
 B+Ur+Me: リン酸緩衝液+1.5M 尿素+0.01M メルカプトエタノール

図2. 大豆蛋白質溶液の凍結による不溶化とその溶解度

溶解液は図1に同じ

むリン酸緩衝液と混合した場合には沈澱していた蛋白質は完全に溶解し、その超遠心沈降図は凍結前の11S蛋白質とほぼ同じになる。これより凍結によって生成した沈澱物と15S成分は11S蛋白質がS-S結合によって会合したものであることが明らかになる。このほか11S蛋白質のSH基をNEM(N-ethylmaleimide)でブロックした場合には凍結しても不溶化は起らず、超遠心沈降図にもほとんど変化が見られない²¹⁾ことから大豆蛋白質の凍結変性は分子間S-S結合の生成によるものであることが裏付けられた。

図3. 超遠心沈降図形にみられる大豆11S蛋白質の凍結による会合とメルカプトエタノールによる復元

2) SH基, S-S結合交換反応による分子間S-S結合の生成

蛋白質のS-S結合は2分子のSH基の酸化、あるいはSH基とS-S結合の交換反応によってできる。大豆蛋白質を凍結した場合に生成するS-S結合はこのいずれによるものであろうか。

一方HUGGINSら²²⁾は蛋白質分子間SH基, S-S結合交換反応が起る際に少量の環元剤が存在するとこの反応が促進されることを明らかにしている。高濃度の尿素中で起る血清アルブミンのゲル化はSH基とS-S結合交換反応による分子間S-S結合生成によるものであり、この場合アルブミン分子(0.7SH基)当たり約10倍のメルカプタンを加えるとSH基, S-S結合交換反応が促進され短時間でゲル化が起る。

大豆蛋白質の凍結によるS-S結合生成にS-S結合環元剤がどのような影響を与えるか調べた²¹⁾(図4)。分離蛋白質溶液にメルカプトエタノールを添加して凍結した場合、不溶化する蛋白質の割合は 10^{-3} ~ 10^{-4} M添加が無添加より多く、 10^{-2} M添加した場合には不溶化はまったく起らない。亜硫酸塩²³⁾を 10^{-2} Mと 10^{-4} M添加して凍結した場合の不溶化率²¹⁾はメルカプトエタノール添加と同じ傾向を示し、 10^{-2} Mでは不溶化は完全に抑制されるが、 10^{-4} M添加では無添加に比べ短期間でも不溶化が起りかつその割合も多い。S-S結合環元作用のない硫酸塩を添加した場合にはこのような効果は見られない。

このようにS-S結合環元剤が 10^{-3} ~ 10^{-4} M濃度で凍結による不溶化、すなわち蛋白質のS-S結合生成を促

図 4. 大豆蛋白質の凍結による不溶化におよぼすメルカプトエタノール濃度の影響

進する現象は、HUGGINS らの行なった SH 基、S-S 結合交換反応によるアルブミンのゲル化の結果と一致した。これは凍結によって起る不溶化が、SH 基、S-S 結合交換反応で生成する S-S 結合によって起ることを示すものである。

大豆蛋白質の SH 基は加熱した直後の酸沈澱蛋白質で 100 g 当り 4~5 mol¹²⁾、7S と 11S 蛋白質では分子当りそれぞれ 2~3 mol¹⁴⁾ である。一方 11S の half cystine はアミノ酸分析から分子量 (36 万) 当り 48 mol²⁵⁾ であり、7S のそれは分子量 (18 万) 当り 4 mol²⁶⁾ である。また亜硫酸ソーダの存在下に電流滴定で測定できる酸沈澱蛋白質の half cystine は加熱前では 100 g 当り 42~44 mol であるが、加熱後は 82~84 mol になる²¹⁾。このように大豆蛋白質には S-S 結合が多く、SH 基はこれに比べて少ない。したがって SH 基の酸化によって分子間に S-S 結合ができると考えるより、分子内 S-S 結合が SH 基によって交換反応を起して分子間に新たな S-S 結合をつくると考えた方が合理的である。

凍結によって起るこのような SH 基を媒介した分子内 S-S 結合から分子間 S-S 結合への交換は、この反応に関与する SH 基が酸化されて S-S 結合となって消失するか、あるいは蛋白質分子間に水素結合や疎水結合ができて分子間を固定化し、SH 基と S-S 結合が接触できなくなるまで連鎖的に進行するものと思われる。凍結によって S-S 結合以外の分子間結合ができ、またこれが重要な役割を持つことは、加熱した蛋白質を凍結した場合にできる不溶化蛋白質がメルカプトエタノールだけでは

ほとんど溶解せず尿素が加えられて初めて溶解することから明らかである。凍結によって蛋白質分子間に最初に行ける結合が S-S 結合であり、S-S 結合の生成によって水素結合、疎水結合など他の結合ができることは、SH 基をブロックしたり、多量の S-S 環元剤を加えた場合には不溶化などの変化がまったく起らなくなることから説明できる。大豆蛋白質の凍結変性はこのような反応によって起るわけであるから、凍豆腐の製造にはできるだけ反応を促進させることが有利である。そのためには反応に必要な SH 基の多い原料豆腐をつくるか、あるいは反応を促進させる微量の亜硫酸塩を添加すれば良いことになる¹²⁾。

3) 凍結変性におよぼす濃縮の影響

蛋白質の凍結変性は非常に低い温度より氷結点に近い比較的高い温度で起りやすい。そのため肉や魚の冷凍貯蔵は -20~-30℃ の低温に保って変質をできるだけ防いでいる。一方凍結変性を利用した凍豆腐の製造では -10℃ 程度で凍結した豆腐を直ちに -3℃ 前後の貯蔵室に移して凍結変性を促進させている。

大豆蛋白質の凍結変性は SH 基、S-S 結合による分子間反応によって引起されるが、このような化学反応が起るには溶媒としての水が必要であろうし、蛋白質分子が相互に接近していることが必要と思われる。食品は塩類や糖類などの氷点を降下させる物質を含むため凍結した場合これらの物質は不凍結水の中に濃縮されて残り、連続的に不凍結水の氷結点を降下させる。そのため食品によって異なるが、-5℃ 程度では 10~20% の水が凍結せずに存在する²⁰⁾。したがってこのような状態におかれた蛋白質は不凍結水の中に濃縮された状態で存在することになり、化学反応に必要な水が存在し、蛋白質分子の間隔が狭まるという条件が満される。筆者はこのような条件下で起る蛋白質の反応は水の直接の作用によるものでなく、凍結に伴う濃縮作用によって起ると考えた。

一方 LEVITT²⁹⁾ は植物の凍結障害は分子間 S-S 結合生成のために起る蛋白質の構造変化が原因であると仮説を出している。すなわち細胞の凍結によって原形質の水が分離して氷結晶へと移動し、蛋白質分子が化学反応を行える近さまで接近する。SH 基の酸化、あるいは SH 基、S-S 結合交換反応によって生成した S-S 結合は共有結合であり、蛋白質の 3 次構造に関与する水素結合や疎水結合より強い。そのため S-S 結合が生成する際や、解凍の際に S-S 結合は切断されず蛋白質の unfolding を起し、これによって細胞の死が起ると推定している。凍結によって蛋白質分子が接近し、S-S 結合が生成するとい

図5. 大豆蛋白質溶液の濃縮による不溶化とその溶解度

溶解液は図1に同じ

う Levitt の仮説と筆者の考えは一致する。

そこでこの仮説を証明するため次の実験²¹⁾を行った。分離蛋白質溶液を透析チューブに入れ、外側からカーボワックスで水分 60% 程度になるまで脱水濃縮したのち +5°C の冷蔵庫に3日間保存した。ついで尿素とメルカ

プトエタノールを含むリン酸緩衝液に対する溶解度を測定すると凍結によって生じた不溶化蛋白質の溶解度とほぼ同じになる(図5)。11S蛋白質溶液を凍結し、また別に濃縮をして、-5°Cと+5°Cで2日間保存したのち解凍あるいは水をもどすといずれも蛋白質の一部が不溶化している。上澄の蛋白質をディスク電気泳動で比較すると図6のようになり、いずれの泳動図も泳動距離の短い会合成分が認められ、図形はほぼ同じになる。一方解凍あるいは水を加えたのちメルカプトエタノールを加えると凍結区と同様濃縮区の不溶化蛋白質も溶解し、これらの泳動図は凍結あるいは濃縮前と同じになる。

この結果は仮説が正しいことを示しており、大豆蛋白質の凍結変性は凍結に伴う濃縮作用によって引き起こされると結論することができる。すなわち多量の水の中に溶解、あるいはゲルとして存在していた蛋白質は凍結によって大部分の水を氷結晶として失い濃縮された状態で氷結晶の間に押込められる。その結果凍結前には反応できない距離にあった蛋白質が接近してSH基、S-S結合交換反応が可能になり分子間S-S結合ができる。熱変性を受けて unfolding した蛋白質の場合にはさらに水素結合や疎水結合などの分子間結合ができ新たな3次元ネットワークを作ると結論できる。凍豆腐が海绵状組織に

図6. 大豆11S蛋白質のディスク電気泳動図形に現れる凍結と濃縮の影響

図 7. 凍豆腐の海绵化と氷結晶の役割

図 8. 凍結による凍豆腐の微細構造変化 (斉尾)

なるのは氷結晶の間でこのようにしてできた新しいゲル構造が解凍後もその構造を保ち氷が存在した部分が空隙になるためであろう (図 7)。

斉尾ら⁴⁰⁾は凍結による凍豆腐の微細構造の変化をクライオユニットを用いた走査電子顕微鏡で観察している (図 8)。凍結前には均一な網状構造を持つ豆腐が凍結によって圧縮される。しかしながら網状構造は見られるが、18日間凍結を行なったものでは網状構造は見られなくなり、豆腐のゲル構造が凍豆腐の新しい組織構造に変化していることが観察できる。これは凍結による濃縮作用の結果蛋白質分子間に新たな結合ができることを示しており、筆者らの結論を裏付けるものである。

このように濃縮状態におかれた蛋白質がゲルを形成す

るのは大豆蛋白質を加工する際に見られる共通な現象である。たとえばユバ膜⁴¹⁾の生成は水の蒸発によって液面で蛋白質が濃縮されることによって引起され、加熱ゲルの形成には蛋白質濃度が影響⁴²⁾を与える。またこれらのゲル形成には S-S 結合が重要な役割をはたしている^{31, 43)}。これら凍結とは無関係の大豆加工品と、凍結を利用した凍豆腐の製造における蛋白質の反応に共通点が認められることは興味深いことである。

凍結による新蛋白質素材の製造

近年大豆から繊維状蛋白質や組織状蛋白質などの食品素材が開発された。これは食品として価値の低い脱脂大豆を食品として直接利用することを目的としたものであ

図9. 凍結によって生成した海綿状蛋白質の形状

る。一方凍豆腐は長年の食生活の歴史の中から編み出されたものであり、一種の組織状蛋白食品といえる。その製造法は凍結によってゲル状組織が海綿状組織に変わる大豆蛋白質の性質をたくみに利用したものである。

このような大豆蛋白質の性質を利用して新しい食品素材の製造が試みられている。90℃以上に加熱した豆乳を酸またはカルシウム塩で凝固し、凍結解凍すると著しく脱水性がよくなり、容易に水分を60%台にできる。この脱水物を2%食塩とともにこねるとよくまとまり、加熱するとカマボコに似た弾力に富むゲルを形成⁸⁴⁾し、これは食品素材として利用が可能である。脱脂大豆の水抽出液に2価塩や酸を加えて蛋白質を沈澱させ、水洗脱水したものを摩砕して水に懸濁させ凍結すると海綿状の蛋白質ができる⁸⁵⁾。これは肉様の食品素材として、または摩砕して植物ミルクとして利用できる。アルギン酸ナトリウムと蛋白質を水に溶解し、半透膜をへだてて凝固槽中でゲル化させ、これを凍結すると薄い膜が集まった食品素材になる⁸⁶⁾。グルコデルタラクトンで凝固した豆腐を緩慢凍結によってユバ状の組織に変化させて凍豆腐とは別の食品をつくる方法⁸⁷⁾などである。

加熱した大豆蛋白質溶液を凍結した場合に生ずる不溶化蛋白質は図9に示すように、切断面は氷結晶の跡が穴になった網目状であり、氷結晶の方向と平行にはいだ面は複雑なひだを持つ膜状⁸⁸⁾である。蛋白質溶液が氷の間で濃縮され、そのままゲル化したことを示しており、半透明でやわらかいが伸展性があり適度な強さを持っている。筆者らはこのものが海綿状を呈することから海綿状蛋白質と呼び、食品素材として製造することを考えた。

蛋白質溶液を凍結するだけでは海綿状の不溶化蛋白質になる割合は20~60%である。0.1M尿素を凍結前に添加すると収率は増加する⁸⁸⁾。しかしこれは食品添加物でないため問題があった。

大豆蛋白質の凝固剤であるカルシウム塩を凍結による不溶化の補助剤として使用することを考えた⁸⁹⁾。加熱した蛋白質溶液を十分冷却して塩化カルシウムを加えて凍結すると不溶化率は著しく増加する(図10)。この場合蛋白質g当り 3×10^{-4} mol以上添加すると凍結前に蛋白質は沈澱し始め、凍結によってできた海綿状蛋白質の組織は強く弾力がなく、蛋白質溶液を凍結して得られる蛋白質とは性質が著しく異なっている。 $2.0 \sim 2.5 \times 10^{-4}$ mol添加した場合には蛋白質溶液は白濁するが、短時間なら沈澱は起らず、また凍結して得られる蛋白質はカルシウム塩を添加せずに凍結したものとはほぼ同じ性質を持

図10. 蛋白質の凍結による不溶化におよぼす塩化カルシウム濃度の影響

図 11. 蛋白質の SH 基量と凍結による不溶化におよぼす加熱時間 (100°C) の影響

つ。

凍結によって蛋白質溶液を海綿状の組織に変えるには溶液の加熱処理が不可欠である。これは加熱変性によって蛋白質のゲル形成性を引出す^{40,41)}ためのもので、これにはゲル形成の際に重要な役割を受持つ SH 基と S-S 結合が分子表面に現われることが関係すると思われる。蛋白質の SH 基は加熱によって増加するが、加熱時間が長くなると減少するので最適時間を選ぶ必要がある。蛋白質溶液を加熱して、100°C に達してから SH 基の変化と凍結によって不溶化する蛋白質の量を測定すると図 11 のようになる。SH 基は 100°C に達して 1 分間は高い値を示すが、それ以上の加熱で減少する。不溶化率は SH 基の増減に影響され、100°C 加熱 1 分以内では比較的高い値であるが、3 分間以上の加熱で減少し、7.5 分間以上の加熱では不溶化蛋白質は生成しなくなる。亜硫酸ソーダを加えると SH 基が減少した場合でも不溶化促進の効果がある。塩化カルシウム添加の場合、1 分以内の短時間加熱では不溶化率は高く、亜硫酸塩添加の必要はない。これより蛋白質の加熱時間は、100°C に達してから 1 分程度が適当と判断できる。蛋白質溶液を -5, -20, -70°C で凍結したのち -5°C に 3 日間保ち、解凍後テクスチロメーターにより性質を調べると図 12 のようになる。-5°C で凍結した場合、堅さと凝集性は高く、-70°C では低い。-20°C では両者の中間の性質を示す。このよう

図 12. 海綿状蛋白質のテクスチャー SH におよぼす凍結温度の影響

デスチロメーターユニット			
凍結温度	堅さ	凝集性	
— — — — — -5°C	11.8	0.83	
- - - - -20°C	6.9	0.68	
- - - -70°C	2.3	0.61	
凍結後 -5°C で 3 日間凍結保存			

に凍結温度を変えることにより同じ蛋白質溶液から生成する海綿状蛋白質の組織構造は自由に変えることができるが、肉様の食品素材として使う場合 -20°C で凍結して得たものは組織が細かく、保水性もあり、堅さと凝集性が適当であると思われる。凍結期間は脱脂大豆から調製した直後の SH 基含量の高い蛋白質溶液を加熱し塩化カルシウムを加えた場合、収率は -5°C で 1 日間保存した場合一定となることから 1 日で十分と思われる。

以上の結果をもとに海綿状蛋白質の製造工程を定めると図 13 のようになる。これにもとづいて製造試験を行なった結果、分離蛋白質の 96% が製品として回収された。

分離蛋白質

図 13. 海綿状蛋白質の製造工程

海綿状蛋白質の食品素材としての性質

海綿状蛋白質の食品素材の適性を調べるため、肉の一部代替に用いてソーセージをつくり、テクスチロメーターによる測定と官能検査を行なった。豚肉の 40% まで海綿状蛋白質で代替したソーセージのテクスチロメーターによる測定結果³⁸⁾は図 14 のようになり、海綿状蛋白質の割合が増加すると凝集性はわずかに減少し、堅さ

図 14. ソーセージの肉質におよぼす海綿状蛋白質の影響

はわずかに増加したが悪影響とは認められない。保水性は海綿状蛋白質の割合が増すほど増加することが認められた。

豚肉の 20% を海綿状蛋白質で代替してソーセージをつくり、肉 100% の対照と比較した官能検査⁽⁴⁾を行うと図 15 のようになる。一般に植物蛋白質それ自体は肉の

図 15. 海綿状蛋白質を加えたソーセージの官能検査

注: +1 わずかに良い, +2 すこし良い,
 +5 もっとも良い
 -1 わずかに悪い, -2 すこし悪い
 -5 もっとも悪い

ような味, 香を持っていないので肉製品に加えた場合, 加えないものより肉らしくまいと感じられることはほとんどない。したがって外観, 食感, 風味がどれだけ肉のそれに近いかが評価の対象となる。官能検査の結果は対照と比較してわずかな差しか認められず食品素材としてすぐれた特性を持っていることが明らかになった。

海綿状蛋白質の特長と問題点

海綿状蛋白質の特長は:

(1) 日本古来の伝統食品である凍豆腐の製造に使われている手法をそのまま取り入れていることから, 製造が簡単であり, 高価な製造装置や高度の技術を必要としない。

(2) 凍結でゲル化した蛋白質が組織を形成するため半透明の海綿状の構造を持っており, 軟らかく弾力に富み, また無味, 無臭で肉製品に加えた場合ほとんど悪影響がなく, 離水を防ぐなどの改良効果があり, すぐれた食品素材といえる。

(3) おだやかな加熱処理と凍結処理を行うだけで蛋白質を組織状にすることができ, 強い物理的, 化学的処理を行わないことから必須アミノ酸の破壊などの栄養素損失などの問題はない。

海綿状蛋白質は以上のような特長があるが, 反面実用化にあたり解決しなければならない問題点もある。

(1) 素材がゲル化した蛋白質であるため, 通常の熱風乾燥法では角質化する。そのため乾燥製品にするには凍結乾燥の必要がある。

(2) 脱脂大豆を直接原料にすることができず, 脱脂大豆より蛋白質を抽出分離する必要がある。そのため分離工程とそれに伴う大豆ホエーや残渣の処理などで製造コストが上り, 現在市販されている製品の価格に比べていく分高くなる。

しかしこれらの問題のうち (1) については乾燥せずに凍結状態で流通すれば解決できる。(2)については品質と価格の問題であり, 海綿状蛋白質の持つすぐれた特長を必要とする食品素材の需要が高まれば解決されると思われる。

終りに, 本研究の御指導をいただきました共立女子大学渡辺篤二教授, 研究上有益な御教示をいただきました食品総合研究所斉尾恭子氏, 大阪大学蛋白質研究所油谷克英氏, 本研究に御協力をいただきました方々に心より感謝いたします。

文 献

- 1) 宮下 章:「凍豆腐の歴史」全国凍豆腐組合連合会 (1962)。
- 2) 伊勢村寿三:「タンパク質化学3」安藤鋭郎, 今堀和友, 伊勢村寿三, 早石 修編, 共立出版, p. 521 (1973)。
- 3) 川島正男: 食品工誌, 12, 291 (1965)。
- 4) 中嶋恭三・田村崔夫: 大阪工業奨励館報告, 7-1,

- 31 (1955).
- 5) 渡辺篤二・橋詰和宗・川北 昭・北村共二：食研報，**21**, 26 (1966).
- 6) 長谷川猛虎・平井英二・山口克夫・小森友明：金沢大学工学部紀要，**2**, 344 (1961).
- 7) 藤巻正生・五十嵐 脩・浅野克彦：食品工誌，**16**, 549 (1969).
- 8) 本間清一・桜井芳人：農化 **41**, 44 (1967).
- 9) 桜井芳人・渡辺篤二：「凍豆腐の科学」凍豆腐研究会 (1970).
- 10) 中嶋恭三・田村崔夫：大阪工業奨励館報告，**5-3**, 10 (1953).
- 11) 松橋鉄治郎：冷凍，**53**, 911 (1978).
- 12) 橋詰和宗・岩根隆夫・渡辺篤二：食品工誌，**21**, 146 (1974).
- 13) 田中武夫：冷凍，**40**, 3 (1965).
- 14) LOVE, R.M.: *J. Food Agric.* **27**, 544 (1962).
- 15) CONNELL, J.J.: *J. Sci. Food Agric.*, **11**, 245 (1960).
- 16) LAHN, A.W., BERG, L.V.D. and LENTZ, C.P.: *J. Food Sci.*, **28**, 425 (1963).
- 17) AWAD, A., POWRIE, W.D. and FENNENA, O.: *J. Food Sci.*, **33**, 227 (1968).
- 18) POWRIE, W.D., LITTLE, H. and LOPEZ, A.: *J. Food Sci.*, **28**, 38 (1963).
- 19) 渡辺篤二・中山 修・岩崎典子：食品工誌，**10**, 163 (1963).
- 20) 橋詰和宗・北 進一郎・渡辺篤二：食品工誌，**16**, 10 (1969).
- 21) HASHIZUME, K., KAKIUCHI, K., LOYAMA, E. and WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 449 (1971).
- 22) CECIL, R. and WAKE, R.G.: *Biochem. J.*, **82**, 401 (1962).
- 23) HUGGINS, C., TAPLEY, D.F. and JENSEN, E.V.: *Nature*, **176**, 592 (1951).
- 24) SAIO, K., KAJIKAWA, M. and WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 890 (1971).
- 25) SHVARTS, V.S. and VEINTRAUB, I.A.: *Biokhimiya*, **32**, 162 (1967).
- 26) KOSHIYAMA, I.: *Cereal Chem.*, **45**, 394 (1968).
- 27) HASHIZUME, K. WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 683 (1979).
- 28) HEISS, R. (1933): 「食品冷凍法」加藤舜郎，石渡憲治編，恒星社厚生閣出版 (1965).
- 29) LEVITT, I.: *Theoret. Biol.* **3**, 355 (1962).
- 30) 斉尾恭子・ダニエル・ガラソ：ジャパンプードサイエンス **15**, 17 (1976).
- 31) 岡本 奨：食品工誌，**14**, 148 (1976).
- 32) CIRCLE, S.J., MEYER, E.W. and WHITNEY, R.W.: *Cereal Chem.*, **41**, 157 (1962).
- 33) 青木 宏：食品工誌，**17**, 14 (1970).
- 34) 渡辺篤二・深町千晴・阿部和可：食品工誌，**10**, 167 (1963).
- 35) U.S. Patent: No. 3,490,914, Jan. 20, 1970.
- 36) U.S. Patent, No. 3,801,713, Agr. 2, 1924.
- 37) 特許出願公告：昭 47-17821.
- 38) 橋詰和宗・高坂和久・小山栄美子・渡辺篤二：食品工誌，**21**, 136 (1974).
- 39) 橋詰和宗・中村則子・渡辺篤二：食品工誌，**21**, 141 (1974).
- 40) 青木 宏・桜井正子：農化，**43**, 448 (1969).
- 41) HASHIZUME, K., NAKAMURA, N. and WATANABE, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 1339 (1975).
- 42) 橋詰和宗：食糧その科学と技術，**17**, 55 (1975).