酵母による豆乳の凝固について

橋本俊郎*・木村宏忠*・高橋 清*

Coagulation of Soybean Milk by Culture of Yeast

Toshiro HASHIMOTO, Hirotada KIMURA and Kiyoshi TAKAHASHI*

* Ibaraki Food Research Institute, Nagaoka 3781, Ibaraki-machi,
Ibaraki-ken, 311-31

The use of *Saccharomyces cerevisiae* (for sake, wine and bread etc.) for the manufacture of soybean protein curd from soybean milk was investigated. *S. sake* coagulated soybean milk easily by culture on 30°C, but under the same conditions, it did not coagulate milk and skim added 2% glucose. The compositions of soybean curds which were obtained by use of sake, wine bread yeasts were similar to tofu, but those curds had fermented flavour instead of beany flavour. Protein and fat yields in curds were approximately 86~88% and 100%, respectively. During the process of fermentation, *S. sake* formed acetic acid, succinic acid and malic acid, and it was suggested that coagulation was caused by acidic products. In case of *S. rouxii*, coagulation of soybean milk was slower than that with *S. cerevisiae*.
(Received Aug. 6, 1984)

丸太豆から熱水抽出して得られる豆乳を利用して、新しい大豆蛋白食品素材の開発を試みた。

豆腐製造では、豆乳の凝固のために、無機塩類 (Ca 塩, Mg 塩), あるいはグルコノデルタラクトンが用いられる。豆乳利用チーズ状食品製造においては、カード形成のために、乳酸菌の乳酸発酵を利用することが多く、酵母を併用する場合は、蛋白分解力の強い酵母を用いて、熟成を目的としている¹⁾²⁾と考えられる。著者らは、一般的な乳酸菌を豆乳カード化に用いた場合、豆乳特有の臭いがとれず、また、酸度の調節が困難であったことに比し、清酒酵母やパン酵母単独の作用により豆乳の凝固が容易に起こり、豆乳臭をほとんど感じさせない大豆蛋白の凝固物が得られることを見出したので、分析的方法により検討した。

実験方法

1. 豆乳

茨城県産大豆 (エンレイ, タマホマレ) を用い、最終加水量 8~10 倍の豆乳を得た。すなわち、磨砕したご汁を 80~85°C に加熱、ろ過し、100°C、20 分の蒸気滅菌を行った。必要に応じ、食添用グルコースを 0.5~10%

の範囲で添加・補糖した。

2. 使用酵母

清酒酵母 (醸造協会 10 号) を主に用い、他にワイン酵母 (協会ブドウ 2 号)、パン酵母 (市販品) ならびに味ぞ酵母 (*Saccharomyces rouxii*) を、いずれも麴汁液体培地に前培養して用いた。

3. 乳豆の凝固試験方法

一定量の豆乳を三角フラスコに入れ、前培養した酵母を 1 ml 加え、30°C で一定時間静置培養した。

酵母による凝固は、副生する炭酸ガスのため、小孔の多い凝固物となり、発酵の進行と共に大部分が液体部 (ホエー) の上に浮上する。そこで、凝固物 (カード) とホエーの分離には、バスケット型遠心分離 (サランろ布使用, 3 000 rpm, 5 分) あるいは遠沈管を使用した遠心分離 (3 000 rpm, 10 分) によって、その後の測定に供した。

4. 分析法

(1) 一般成分

pH, 水分 (固形分) は常法による。総窒素はケルダール分解法。還元糖はソモギー変法、粗脂肪はソックスレーエーテル抽出法。灰分は 600°C 乾式灰化法。全リンは

* 茨城県食品試験所 (〒 311-31 茨城県東茨城郡茨城町長岡 3781)

メタバナジン酸法。

(2) アルコール

GLC による。充てん剤 Porapak Q を用いた絶対検量線法。

(3) 有機酸

東京理化学機械製カルボン酸分析計使用。

(4) 酵母数の計測

トーマの血球計測器使用、もしくは麴汁寒天培地による平板培養法。

(5) 無機成分 (K, Ca, Mg)

原子吸光度計を使用し、炎光法もしくは原子吸光法。

実験結果

1. 清酒酵母による豆乳と牛乳の凝固試験

牛乳や脱脂乳を原料とし、チーズ様食品³⁾や乳酒⁴⁾を製造する研究がなされている。そこで市販牛乳、10% 脱脂乳および豆乳 (固形分 7.0%) を培地とし、さらにそれらの培地にグルコースを 2% となるよう補糖し、清酒酵母を 4.6×10^6 個/g となるように接種し、30°C で 40 時間の静置培養した。

その結果、豆乳を培地としたもののみに、凝固が起こり、特に 2% 補糖豆乳は、遠心分離によってほとんど透明なホエーと白色のカードが得られた。酵母接種前の豆乳の pH は 6.78 であったが、凝固時のそれは 5.96~6.00 と低下し、酵母数は 10^8 台に増加した。一方、2% のグルコースを添加した牛乳、脱脂乳の pH は 5.95~6.08 と低下し、酵母数も 10^8 台に増加していたが、凝固した様子は認められなかった。

2. 数種の酵母による豆乳の凝固試験

はじめに豆乳への補糖量の決定のため、グルコース添加量を 2, 5 および 10% と変えて、清酒酵母を接種し、24 時間培養して分離した。

グルコース無添加区は、ホエーがやや白濁し、水分の多いカードとなり、2% 以上の補糖区で、透明なホエーとしっかりしたカードが得られた。しかし、5% 以上の補糖区のカードは残糖が多く、分離後にも発酵が続いた。

そこで、補糖量は 2% とし、2% グルコース添加豆乳 700 g に対し清酒酵母、ワイン酵母、パン酵母および味そ酵母 (*S. rouxii*) を接種し、30°C で 40 時間培養した。

LODDER の分類による *S. cerevisiae* に属する 3 種の酵母添加区にカード化が起きたが、*S. rouxii* 添加区は凝固しなかった。味そ酵母添加区の 40 時間培養後の pH は、6.60 と、他の酵母添加区のそれ (pH 5.6~6.0) と比べて低下しなかったが、さらに長期間の培養によって

表 1 酵母による豆乳カードの性状

	清酒酵母	パン酵母	ワイン酵母
収量 (g)	306.0	299.2	314.4
固形分 (%)	12.24	12.67	12.07
pH	5.97	5.98	5.95
総窒素 (%)	1.25	1.27	1.19
粗たん白 (%)	7.13	7.23	6.20
粗脂肪 (%)	3.20	3.28	3.13
全糖 (%)	0.42	0.41	0.38
粗灰分 (%)	0.45	0.47	0.42
全リン (mg%)	76.0	86.0	83.0

豆乳 (固形分 7.01%, 総窒素 0.617%, pH 6.78) 700 g にグルコースを 2% 添加し、各酵母を接種後 30°C, 40 時間培養。バスケット型遠心分離機で分離し、カードとする。

凝固した。この凝固物は、醬油様のフレーバーを有していた。*S. cerevisiae* 添加によって得られるカードは、酒粕あるいはワイン風のフレーバーを有し、それらのカードの性状を表 1 に示した。

豆乳からの窒素成分の回収率は、87~89% であり、豆腐製造における移行率⁵⁾、川口ら⁶⁾ のグリーンカードでの回収率などと同様であった。粗脂肪の回収率は、いずれも 100% であった。また、カードの全リン含量は、カード蛋白質の 1.1~1.2% であり、酸沈蛋白に類似している⁷⁾。三種の酵母によるカードの成分は、ほとんど変わらず、フレーバーがやや異なるが、凝固の機構は本質的に変らないものと考えられる。

3. 低濃度補糖、培養日数と凝固との関係

酵母によるカード化のために添加するグルコース量は、実用上少ない方がよいと考え、補糖量を 0, 0.5, 1 および 2% とし、培養日数を 1, 2, 3 日間とし、清酒酵母を使用してカード化した。

遠心分離前の発酵物について、pH および酵母数を計測し、分離後のホエーについて、アルコール、有機酸および窒素成分を定量し、カードについて水分含量と豆乳臭の有無を調べた。清酒酵母の添加量は、 2.7×10^6 個/g であった。

1 日および 3 日間培養後の結果を、表 2、表 3 に示した。豆乳のアルコールは 0% であったが、補糖量に比例して増加し、2% 補糖で 1.2% 台となった。ホエーの窒素成分から、凝固した蛋白質は補糖量が多い程増加し、補糖量 2%, 1 日培養で蛋白質の収率はおよそ 85% となり、その後の培養によっても変化しなかった。カード

表 2 補糖量の違いによる豆乳発酵物の性状 (1日培養)

	(原料豆乳)	グルコース添加量			
		無補糖	0.5%	1.0%	2.0%
pH	6.78	5.92	5.82	5.74	5.66
アルコール (%)	0.0	0.335	0.536	0.732	1.021
ホエーの総窒素 (%)	0.588	0.111	0.103	0.094	0.091
酢酸 (mg%)	3.5	10.1	13.7	14.8	18.8
クエン酸 (mg%)	177.1	187.6	188.6	186.6	185.5
コハク酸 (mg%)	5.0	8.4	13.5	16.9	21.9
酵母数 ($\times 10^7$ /ml)	—	3.9	4.3	4.4	4.2
カードの水分 (%)	93.0	91.3	90.6	89.4	87.9
豆乳臭	+++	++	+	+	+-

清酒酵母 2.7×10^6 接種

表 3 補糖量の違いによる豆乳発酵物の性状 (3日培養)

	グルコース添加量			
	無補糖	0.5%	1.0%	2.0%
pH	5.95	5.85	5.79	5.64
アルコール (%)	0.297	0.516	0.799	1.230
ホエーの総窒素 (%)	0.113	0.108	0.099	0.093
酢酸 (mg%)	18.3	24.3	22.9	28.6
クエン酸 (mg%)	200.0	198.3	197.9	191.7
コハク酸 (mg%)	10.4	15.7	18.4	27.0
酵母数 ($\times 10^7$)	4.6	5.2	6.1	5.8
カードの水分 (%)	91.4	90.0	89.8	87.8
豆乳臭	+	-	-	-

図 1 清酒酵母による豆乳凝固における pH の変化

の含水量が1日培養以降、ほとんど一定であることから、酵母による豆乳の凝固は24時間で完了したと思われる。接種酵母数(初発菌数)と凝固に要する時間との関係は、初発菌数が多い程、速かに凝固が起こり、凝固時の酵母数は少なくとも 10^7 台に達していることが必要であり、今回の試験ではいずれの区も1日培養で 10^7 台に達し、その後の増加はわずかであった。

前に、*S. rouxii* 添加でも長期の培養で凝固が起こることを述べたが、この場合の凝固時の菌数は、 2×10^7 個/g(3日間培養)であり、凝固がおそいのは、同酵母の豆乳中での増殖速度が低いためと考えられる。

豆乳の有機酸組成は、クエン酸が93%を占め、大豆の有機酸組成とはほぼ一致している。酵母添加、培養により、ホエー中に酢酸、コハク酸、リンゴ酸が増加し、2%補糖、1日培養区でこれらの酸は24%増となった。

図 2 清酒酵母による豆乳凝固におけるコハク酸の変化

酵母のアルコール発酵において、同時に少量の有機酸を生成することはよく知られたこと⁸⁾であり、豆乳中での有機酸生成が pH 低下の要因となっているものと思われる(図1, 図2)。

原料とした豆加の豆乳臭は好ましいものでない。この豆乳臭は、GLC 分析によれば、ヘキサナール、ヘキサノールを主成分とするものではなかった。官能的に、酵母添加による豆乳臭の消失は、1日培養では不足であり、2日以上培養によって好ましい発酵臭におきかわった。

4. 豆乳の凝固における酵母の役割

酵母の増殖によって豆乳が凝固する理由を検討した。グロブリンは水不溶性であるが、希薄塩類溶液に溶解(塩溶効果)する。グロブリンに属する大豆蛋白質は、豆乳として抽出され、これは大豆に含まれる塩類によるものといわれている。また、脱脂大豆より食塩溶液で抽出された大豆グロブリンは、透析によって水不溶性となる⁷⁾。一方、酵母の増殖にはカリウムやリンなどの無機成分を要求し、増殖によって塩濃度が低下する可能性がある。酵母による豆乳の凝固後、ホエーとカードに分離し、K, Ca, Mg および P の分布を調べた(表4)。

その結果、K, Mg および Ca はカードとホエーに、ほぼ一様に分布し、カード中の K と Mg は、水洗浄によって大部分が溶出した。大豆に含まれる全リンの 70~80% はフィチン態で存在し、Ca 塩あるいは酸沈殿の際に共沈するといわれている⁹⁾が、酵母凝固でも他の無機成分とは異なり、カードへの分布が大であり、蛋白質と共沈していた。したがって、酵母凝固における塩濃度の影響はないものと思われる。

酵母による大豆蛋白カードは、pH 11 でほとんど溶解

し、pH 12 で完全に溶解した。酸性側では完全な溶解はみられなかった。豆乳に Ca 塩や GDL を作用させた場合の凝固について、橋詰ら¹⁰⁾は、酸凝固である GDL ゲルは水素結合、疎水結合、S-S 結合が重要な役割を果たしていると述べている。また、渡辺ら¹¹⁾は、豆乳に各種の酸類および塩類を作用させて、酢酸やリンゴ酸などの有機酸を用いた場合、上澄の pH が 6.0 付近のときに、ほぼ完全に凝固することを報告している。

以上のことから、酵母による豆乳の凝固は、殺菌などにより熱変性された大豆蛋白質の発酵時に副生する有機酸による酸凝固であろうと推定した。

なお、発酵で生ずる炭酸ガスとアルコールの凝固への影響について、次のような試験を行った。すなわち、炭酸ガス発生装置よりガラス管で豆乳中に炭酸ガスを導入し、凝固するかどうかをみた。通気 18 時間で pH は 5.9 前後に低下し、ペースト状となったが、カードとしての分離は困難であった。更にエチルアルコールを 1% になるように添加して 48 時間通気したが、カード化にいたらなかった。

要 約

大豆から熱水抽出して得られる豆乳に、清酒酵母、ワイン酵母およびパン酵母を作用させ、豆乳臭のない大豆蛋白カードを製造した。

(1) 清酒酵母を接種し培養させることにより、2% グルコースを補糖した牛乳、脱脂乳は凝固しなかったが、同条件で、豆乳は凝固、カード化した。

(2) 清酒酵母、ワイン酵母およびパン酵母によって、豆乳から得られたカードは、いずれも蛋白質の凝固率 86~88%、粗脂肪の凝固率 100% と、他の豆乳関連食品(豆腐など)に類似していたが、淡白な味と不快でない発酵臭を有していた。

(3) 豆乳に接種した清酒酵母は、アルコールと共に酢酸、コハク酸、リンゴ酸を生成し、これらの有機酸が豆乳蛋白質の凝固に主要な役割を果たしていることと推定した。

終りに臨み、有益な御助言を賜りました食品総合研究所の斎尾氏、伊藤氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 松岡博厚・笹子謙治・関口正勝: 日食工誌, 15, 103 (1968).
- 2) 川口 豊: 日食工誌, 27, 1 (1980).
- 3) 津郷友吉・張 堅二: 日畜会報, 41, 445 (1970).
- 4) 越智猛夫: 東北福祉大学紀要, 創刊号 (1974).

表 4 豆乳の凝固における無機成分の分布

	原料豆乳	ホエー	カード
重量(収量)(g)	100.0	73.5	26.5
総窒素(%)	0.473	0.028 (6.0)*	0.438 (92.6)
カリウム(ppm)	1412	1400 (72.9)	1617 (30.3)
カルシウム(ppm)	96	90 (68.9)	101 (30.0)
マグネシウム(ppm)	181.0	178.3 (72.4)	194.4 (28.5)
リン(ppm)	507.6	347.8 (50.4)	922.8 (48.2)

* () 内に豆乳からの各成分の移行率を示す

5) 中山 修・深町千晴・久保彰治・駿河幸子・宮永節子・堀家静子・渡辺篤二：食総研報， 14 B ，53 (1960)。	8) 清酒酵母研究会：改訂清酒酵母の研究，p. 326 (1980)。
6) 川口 豊・松岡博厚：日食工誌， 28 ，8 (1981)。	9) 斎尾恭子・渡辺篤二：油脂， 21 ，10，115 (1968)。
7) 渡辺篤二・海老根英雄・太田輝夫：大豆食品， 2 版 (光琳)，p. 12 (1980)。	10) 橋詰和宗・何 銀蘭：日食工誌， 25 ，383 (1978)。
	11) 渡辺篤二・阿部和可：日食工誌， 9 ，158 (1962)。
(昭和 59 年 8 月 6 日受理)

新 刊 紹 介

食品分析—原理と方法—第 2 巻，物理化学的方法

DIETER, W., GRUENWEDEL and
JOHN R. WHITAKER 編

8 巻シリーズの第 2 巻。食品の品質に関連する物理的特性，原子から分子までの分析における物理化学的な方法を，最近の進歩をふまえて記述している。以下の 12 章で構成されている。温度測定。溶解性。粘度。光学顕微鏡。紫外・可視分光。生物分子の光学活性と構造。螢光とリン光。電子スピン共鳴法。原子吸光法。食品技術における赤外分光法。食品のキャラクタリゼーションのラマン分光法の応用。低角度レーザー光散乱を検出器とする Size exclusion chromatography による分子量測定。本文と図表，文献，索引を含め 591 ページ，107.5 ドル

Marcel Dekker Inc., 270 Madison Avenue,
New York, N. Y. 10016, U. S. A.