連続式豆乳製造法による豆腐ゲルの性質

松浦 勝*・小幡明雄**・村尾澤夫***

Properties of Tofu Gel Made from Continuously Produced Soymilk

Masaru MATSUURA*, Akio OBATA** and Sawao MURAO***

* Product Development Division of Kikkoman Corporation,
399, Noda, Noda-shi, Chiba 278

** Research and Development Division, Kikkoman Corporation,
399, Noda, Noda-shi, Chiba 278

*** Department of Applied Microbial Technology, Kumamoto Institute of
Technology, 4-22-1, Ikeda, Kumamoto-shi, Kumamoto 860

The properties of tofu-gel made from soymilk produced on a continuous system (CS-tofu) were compared with those of tofu-gel made from soymilk produced on a traditional batch system (BS-tofu). To both types of soymilk, glucono- δ -lactone (GDL) was added as a coagulating agent. Each type of soymilk was then subjected to coagulation under normal heating conditions (at 90°C), and to coagulation in a retort (at 120°C under 2.0 kg/cm²). A scanning electron microscope revealed that under normal heating conditions BS-tofu and CS-tofu had well defined network structures. The retort-coagulated CS-tofu also had a clearly defined network structure, but breakdown was evident in the network structure of the retort-coagulated BS-tofu. The physical properties of each type of tofu were measured using a Tensipresser. The retort-coagulated BS-tofu displayed overall firmness, but lost its cohesiveness and showed overall shrinkage. However, CS-tofu (even the retort-coagulated type) showed increased firmness. It retained its cohesiveness and did not shrink significantly. Such differences in tofu gel properties were affected by the standing time between soybean grinding and heating process.

(Received Feb. 6, 1996)

豆腐は我が国や中国において、古くから親しまれてきた優れた大豆加工食品の一つである。さらに、最近では良質な植物性タンパク質食品として海外での評価が高まり、いまや新しい大豆加工食品として注目を浴びている。しかし、伝統的手法で作られる豆腐は、微生物汚染に極めて弱い長期保存が出来ず¹⁾²⁾、米国食品・薬品局 (Food and Drug Administration) ではその取り扱いについて注意を喚起している³⁾。また、欧米においては豆腐を取り扱う業者の知識の乏しさのために、しばしば酸敗したものがマーケットに見受けられるという現

実がある。

このため微生物汚染を防ぎ、常温流通を可能とする無菌化のための技術開発が必要とされてきた。豆腐を無菌化する方法としては、無菌充填とレトルトの二つのシステムがある。無菌充填法は、それぞれ無菌化した豆乳と凝固剤を混合し、無菌の容器に無菌充填したのち加熱凝固を行う。これに対し、レトルト法は凝固剤添加後の豆乳を容器に充填し、凝固と滅菌を同時に行う。レトルト豆腐は、滅菌のための高温、高圧処理のために豆腐の組織が破壊されると同時に、色、フレーバー等豆腐の品質

* キッコーマン(株)商品開発室 (〒278 千葉県野田市野田 399)

** キッコーマン(株)研究本部 (〒278 千葉県野田市野田 399)

*** 熊本工業大学応用微生物工学科 (〒860 熊本県熊本市池田 4-22-1)

の全ての面に於いてダメージを受ける。このためレトルト豆腐の開発は食品加工の立場から非常に困難なものと考えられてきた⁴⁾。

豆腐ゲルは90%もの水を保持することによって、その独特のテクスチャーを維持している。従って、レトルト豆腐の第一の課題は、いかに豆腐の組織が破壊されるのを防ぐかにある。伝統食品である豆腐の製造については多くの研究^{5)~7)}がなされており、豆腐ゲルの強度に影響を与える要因として大豆磨砕工程での最適加熱条件が検討された⁸⁾。また、森ら⁹⁾¹⁰⁾は大豆7Sおよび11Sグロブリンを用いたモデル系での加熱ゲル形成能を詳しく研究している。しかし、これまでの研究は全て100℃以下での加熱を前提としており、特に豆腐の凝固が90~80℃で行われることから、滅菌のために必要な120℃での凝固条件下での豆腐ゲルの形成についての研究はなされていない。

著者らは、豆乳の咽喉刺激性発現のメカニズムの解明と、そのコントロールのための豆乳製造システムの開発を行ってきた^{11)~13)}。この目的のために開発した連続式豆乳製造法は、大豆磨砕工程における大豆内在酵素のコントロールを目的とし、磨砕物の速やかな加熱処理に適したものである。この連続式豆乳製造法を用いて得られた豆腐用豆乳は、伝統的豆腐製造法であるバッチ式で得られた豆乳とは、豆腐ゲルの性質においても違いが認められた。本研究は、この原因を明らかにすると共に、滅菌のための高温、高圧の条件下でも安定して良好なゲルを形成し得る豆乳を作ることを目的とした。

実 験 方 法

1. バッチ、連続両方式による豆乳並びに豆腐の調製

(1) バッチ式による豆乳の調製

バッチ式(伝統的手法)については渡辺ら¹⁴⁾の標準製造工程図をもとに、米国全粒大豆(IOM, 5 kg)を水道水で洗浄後、5倍量の水道水に20℃、16時間浸せきし、この膨潤大豆に水(22.5 l)を加えながら、マスコロイダー(MKZA 6-2, 増幸産業)を用いて6分間で全量を磨砕した。この磨砕物(ご)を二重釜に入れ加熱し、95℃以上に3分間保持した。これを85℃まで冷却した後、スクリュエデカンター(Z 18-V, 田辺鉄鋼所)で固液分離を行い豆乳を得た(大豆の磨砕から固液分離までの時間を13分間で行った)。この豆乳を真空チャンパー(500 mmHg)で脱気後、プレートクーラーで10℃まで冷却した。

(3) 連続式による豆乳の調製

米国全粒大豆(IOM, 10 kg)を水道水で洗浄後、5倍量の水道水に20℃、16時間浸せきし、この膨潤大豆に水(40 l)を加えながら横型磨砕機(TK-Homomic line mill, 特殊機化工業)で連続的に磨砕を行った。「ご」は直ちに外側に加圧熱水(110℃)を通じた二重管内に導いて95℃まで加熱し3分間保持した。これを二重管熱交換機で85℃まで冷却し、スクリュエデカンター(Z 18-V)で固液分離を行った。得られた豆乳は真空チャンパー(500 mmHg)に導入して脱気したのち、プレートクーラーで10℃まで冷却した。

(3) 豆腐ゲルの調製

ケルダール法により求めた総窒素量(TN)に、タンパク質換算係数(6.25)を乗じた値をタンパク質濃度とした。そのタンパク質濃度を5.5%に調製したそれぞれの豆乳(6 l)に10% GDL 溶液(210 ml)を加え、これをガゼットタイプ軟包材(外側よりPolyester/Nylon/Aluminum foil/Polypropyleneの4層フィルム)の容器(厚み×横幅×長さ=3×6.5×14 cm)に充填シールした(300 g)。この容器に充填された凝固剤入り豆乳を90℃と120℃(2.0 kg/cm²)の熱水中でそれぞれ40分間の加熱処理を行い、豆腐ゲルの形成を行った。工程図をFig. 1に示す。

それぞれの豆乳に凝固剤を加え、通常の充填豆腐の凝固条件(90℃, 40分)で得られたものを標準豆腐ゲル、レトルト条件(120℃, 40分)で得られたものをレトルト豆腐ゲルとした。

2. 走査電子顕微鏡観察

豆腐ゲルの走査型電子顕微鏡(SEM)観察は、クライオシステム装備の走査型電子顕微鏡(S-2 400, 日立製作所)を用いた。それぞれ2.5 mm角の柱状で切り出した豆腐を、液体窒素中で瞬間凍結し、これを液体窒素により冷却された鏡筒に挿入、凍結された豆腐を切断し、その断面を-80℃で観察した。

3. 豆腐の物性の測定

豆腐の物性の測定は、測定機器にテンシプレッサー(50 BX, タケトモ電機)を用い、BOURNE¹⁵⁾の圧縮試験法に準じて行った。すなわち、豆腐の内部より17 mm角に取り出したブロックの一定圧縮応力下に於ける破断点までの面積(A₁)を全体の硬さとした。また、豆腐表面の突き刺し時の破断点までの面積(A₂)を豆腐表面の硬さとし、豆腐内部より切り出した豆腐の突き刺し時の破断点までの面積(A₃)を豆腐内部の硬さとし、さらに、この17 mm角のブロックを、上面より9 mmの距離まで10回圧縮を繰り返し、その1回目の高さ(H₁)と、2

Fig. 1 Preparation of tofu-gel on a batch system and a continuous system

回目の高さ (H_2), あるいは10回目の高さ (H_{10}) との比 (H_2/H_1 , H_{10}/H_1) を, 凝集性としてそれぞれの豆腐の物性を表した (Fig. 2).

4. 豆乳中のSH基の測定

豆乳中のSH基含量の測定は, GRASSETT¹⁶⁾の方法をもとにSH基反応試薬として2, 2'-Dithiobis-(5-nitro-pyridine) (DTNP) を用いた著者ら¹⁷⁾の改変法により以下のように行った. 0.2 mlの豆乳に1.8 mlの0.1 M リン酸バッファー (pH 6.8) を加えたのち, 0.5 mlのDTNP (5×10^{-4} M) エタノール溶液を加える. 室温で20分間反応を行ったのち, 2.5 mlの過塩素酸溶液 (10%)

を加える. 此の溶液を遠心分離 ($3000 \text{ rpm} \times 10 \text{ min}$) し, 上清を $0.45 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルター (Millipore, Millex-HV) で濾過したのちに386 nmで吸光度を測定した.

5. 大豆ホエーからの硫酸沈殿区分の調整

米国全粒大豆 (IOM, 10 kg) を水道水で洗浄後, 5倍量の水道水に20°C, 16時間浸せし, この膨潤大豆にリン酸塩バッファー (0.1 M, pH 7.0, 50 l) を加えながら, 横型磨砕機 (TK-Homomic line mill) で磨砕した. この磨砕物をスクリュデカンター (Z18-V) により固液分離し, 可溶区分 (33 l) を得た. その可溶区分を希塩酸溶

Fig. 2 Measurements and the profiles of tofu-gel texture with a Tensipresser

液 (0.1 N) で pH 5.0 に調節したのち、5°C で遠心分離 (8 000×g×5 min) を行い、貯蔵タンパク質を主体とした不溶部を除いて上清区分 (14 l) を得た。この上清区分に 5°C で硫酸を加え 70% 飽和とし、16 時間静置したのち遠心分離 (8 000×g×10 min) により沈殿区分を回収した。この硫酸沈殿区分をリン酸バッファー (0.1 M, pH 6.8) に溶解後、同じバッファーを用いて限外濾過器 (Amicon Model TS5E, YM-30membrane) により脱塩のための透析処理を行ったのち、この透析液 (2.4 l) を凍結乾燥して粉末 (69 g) を得た。本粉末 (大豆粗酵素粉末) 中には、リポキシダーゼ¹⁸⁾、プロテアーゼ¹⁹⁾、グルコシダーゼ¹²⁾ 等の活性が認められた。

実験結果および考察

1. バッチ、連続両方式による豆乳製造工程の比較

Fig. 3 にバッチ、連続両方式による豆乳製造工程における品温の経時変化を示した。豆乳を得るまでにバッチ式では約 13 分かかったが、連続式では豆乳が連続的に得られるため約 6 分と、バッチ式とは 7 分間程度の時間的差異が生じた。バッチ式では、全ての大豆を磨砕し終わるまで次の工程に移行できないため、さらには、「ご」を二重釜に入れ加熱するために、達温までに時間がかかる等により、連続式よりもそれぞれの工程で時間がかかっているという結果であったが、これは渡辺ら¹³⁾ の伝統的製造法に近いものであった。

2. 豆腐の組織構造

クライオ SEM での豆腐の組織構造の観察 (Fig. 4) の結果、バッチ式での豆乳を用いた場合、標準豆腐ゲルは良好な網状構造が形成されていた (Fig. 4-A) が、レトルト豆腐ゲルでは網状構造が崩壊していることが認められた (Fig. 4-B)。これに対して連続式での豆乳を用いた場合では、標準豆腐ゲル (Fig. 4-C) 並びにレトルト豆

Fig. 3 Comparison of the soymilk process on a batch system with that on a continuous system

腐ゲル (Fig. 4-D) 共に網状構造は維持されており、バッチ式での豆乳の場合とは明らかな違いが認められた。斉尾ら²⁰⁾²¹⁾ は豆腐ゲルの電顕観察でその網状構造について、主に大豆タンパク質間の遊離 SH 基の S-S 交換反応により生ずる分子間 S-S 結合によること、さらには、疎水結合、イオン結合等から成り、網状構造により水が保持され豆腐の感触を決めると述べている。従って、この網状構造の違いは豆腐の品質における極めて大きな差異と言えるものである。

3. 豆腐の物性評価

それぞれの豆腐についてのテンシプレッサーを用いた物理的性質測定の結果を Fig. 5 に示した。バッチ式の豆乳を用いた場合、レトルトにより A₁, A₂, A₃ が大きくなり、H₁₀/H₁ が小さくなった。すなわち、レトルトという高温、高圧下での凝固により豆腐の凝集性は失われて硬くなり、全体的に大きく収縮した状態を示した。連続式の豆乳を用いた場合、標準豆腐ゲルはバッチ式のそれに比べ全体的に僅かではあるが高い値を示した。しかし、その品質には大きな違いは認められなかった。高温、高圧下での凝固ゲルの H₁₀/H₁ の値には変化は無く、豆腐の凝集性は維持された。A₁ の値が大きくなり豆腐の硬さは増したが、A₂, A₃ には変化は無く、大きな収縮は認められなかった。豆腐組織のクライオ SEM 観察によると、バッチ式と連続式の豆乳の性質の違いは、レトルト豆腐の網状構造の違いとして示されたが、この違いは、テクスチャープロファイルでは、豆腐の凝集性において特に顕著な違いとして示された。従って、豆腐の凝集性を測定することにより、これら二つの豆乳の僅かな性質の違いを表すことが可能であると結論した。

Fig. 4 Cryo SEM-images of variable tofu-gels ($\times 5000$)

A, Standard tofu-gels (by Batch system); B, Retorted tofu-gels (by Batch system); C, Standard tofu-gels (by Continuous system); D, Retorted tofu-gels (by Continuous system).

Fig. 5 Comparison of texture profile of variable tofu-gels on 4 factors

A₁, Firmness; A₂, Firmness of the surface; A₃, Firmness of the internal part; H₁₀/H₁, Cohesiveness.

4. 豆腐の凝集性の挙動

Fig. 6 に、豆腐の凝集性に対する加熱温度 (40 分処理) の影響について調べた結果を示した。バッチ式の豆

Fig. 6 Effect of coagulation temperature on cohesiveness of tofu-gels

乳の場合では 110°C を超えると凝集性が低下し、120°C では凝集性は全く無くなった。連続式の豆乳の場合は 125°C の処理でも凝集性を保持し、加熱安定性の高いゲ

ル形成が認められた。

連続式とバッチ式の最大の違いは、大豆の磨砕からごの加熱処理までの時間的な差異にあることから、この時間的な違いが豆腐の凝集性に及ぼす影響について調べた。Fig. 7 に浸せき大豆を 25℃ で磨砕後、ごの加熱までの保持時間と、得られた豆乳の 120℃ 凝固での豆腐の凝集性について調べた結果を示した。その結果、磨砕後加熱までの保持時間の経過と共に凝集性は低下した。このことから、磨砕後直ちに加熱をすることが高温、高圧下での豆腐ゲルの形成に重要であるとの結論が得られた。

ところで、豆腐ゲルの強さはタンパク質の SH 基含量に影響され、SH 基の多い状態で凝固させたものほど硬い豆腐ができることが報告^{8) 22)} されている。著者ら²³⁾ は、豆乳製造工程中での SH 基の酸化の一つの要因として、大豆内在リポキシゲナーゼの作用による脂質の酸化系について明らかにした。本来、連続式豆乳製造法は大豆磨砕工程における大豆内在酵素のコントロールを目的としたものである。このような観点から、豆腐の凝集性に影響を与える要因が大豆内在酵素系にあるものと推定した。

このような経緯から、大豆ホーからの硫酸沈殿区分(大豆粗酵素粉末)の連続方式豆乳(タンパク質濃度 5.5%)への添加試験を行った。予備的にこの区分を 0.5% 以上加え、50℃ で 30 分間加温した場合のレトルト豆腐ゲルの凝集性の変化を調べたところ、明らかに豆腐の凝集性は無くなった。この結果をもとに同じ豆乳に、この区分を 0.5% 添加し、50℃ で加温した場合のレトルト豆腐ゲルの凝集性に及ぼす影響を、経時的に測定した結果を Fig. 8 に示した。加温時間の経過と共にレトルト豆腐ゲルの凝集性が低下したが、予め加熱処理(95℃, 5 分)したものでは変化を示さなかった。また、この変化は豆乳中の SH 基含量の減少と関連し、大豆内在酵素系の豆腐の凝集性に与える影響が強く示唆された。

大豆の磨砕時に SH 基は大きく変動する²³⁾ が、連続式豆乳製造法で用いている横型磨砕機では、磨砕水が空気の混入を防ぎ、自動酸化並びに酵素的酸化が抑えられるという効果がある。さらには、二重管熱交換機により、磨砕物の加熱が極めて短時間に均一に行われるために、内在酵素の熱失活が確実に行われるという利点がある。

Fig. 7 Effect of the standing time between the grinding and heating process on cohesiveness of retorted tofu-gels

Fig. 8 Changes in cohesiveness of retorted tofu-gels by the addition of soybean crude enzymes

これらの装置上の特徴が、バッチ方式との豆乳の性質の差となって表れたものと考えられる。実際、本実験に用いたバッチ方式の豆乳中の SH 基含量は、 0.76 ± 0.08 ($\times 10^{-5}$ mol/g protein) の範囲にあり、連続方式の豆乳中の SH 基含量は 1.16 ± 0.05 ($\times 10^{-5}$ mol/g protein) の範囲にあった。

以上の結果から、連続式とバッチ式の豆乳製造の僅かな差を高温、高圧下での凝固による豆腐の凝集性の違いとして捉えることができた。この製造方式の違いによって起こる豆乳の性質の違いに、大豆内在酵素系の関与が示唆された。「ご」の加熱処理の大きな目的の一つが大豆含有酵素系の加熱失活にあるということが推論された。一つの要因として SH 基の酸化を取り上げたが、この他に例えば、内在プロテアーゼによるタンパク質の加水分解による影響、あるいは、リポキシダーゼによる脂質の酸化がタンパク質の分散状態に与える影響等、大豆内在酵素系の関与については極めて興味のあるところであり、これらの点について現在検討中である。

要 約

連続式豆乳製造方式を用いた豆腐ゲルの性質を、伝統的豆腐製造方式（バッチ式）によるものと比較した。バッチ式で作った豆乳に凝固剤としてグルコノデルタラクトン（GDL）を加え、通常の加熱条件下（90℃）で凝固させたゲルは、走査電顕観察の結果、しっかりとした網状構造を保っていたが、高温、高圧下（120℃、2.0 kg/cm²）で凝固させたゲルでは網状構造の破壊が観察された。連続式で作った豆乳では、通常の加熱条件下で凝固させた GDL ゲルと、高温、高圧下で凝固させた GDL ゲル共にしっかりとした網状構造を保っていた。

これらの豆腐をテンシプレッサーを用いて物理的性質の測定を行ったところ、バッチ式の豆腐では高温、高圧下での凝固により豆腐全体が硬くなり、豆腐の凝集性は失われ、全体的に収縮した状態を示した。連続式の豆腐では高温、高圧下での凝固により豆腐の硬さは増したが、豆腐の凝集性は維持されており、大きな収縮は認められなかった。

豆乳の作り方の違いによるこの様な豆腐ゲルの性質の相違は、大豆磨砕工程から「ご」加熱工程までの時間に影響を受けることから、大豆に内在する酵素の作用が原因の一つと推定された。

本研究を行うにあたり、終始貴重なご助言を賜りましたキッコーマン株式会社福島男児博士、長澤道太郎博

士、並びに京都大学食糧科学研究所教授森友彦博士、熊本工業大学応用微生物工学科教授新隆志博士に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) REHBERGER, T.G., WILSON, L.A. and GLATZ, B.A. : *J. Food Protection*, **47**, 177 (1984).
- 2) KOVATS, S.K., DOYLE, M.P. and TANAKA, N. : *J. Food Protection*, **47**, 618 (1984).
- 3) The Food and Drug Administration : Food Chemical News, March 6, p. 26 (1989).
- 4) 渡辺篤二・斉尾恭子・橋詰和宗 : 最新食品加工講座, 大豆とその加工, (建帛社, 東京) p. 82 (1968).
- 5) 渡辺篤二・橋詰和宗・川北 昭・北村共二 : 食糧研報, **21**, 26 (1966).
- 6) HASHIZUME, K., NAKAMURA, N. and WATANABE, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 1339 (1975).
- 7) 橋詰和宗・白鳥 誠・中村則子・渡辺篤二 : 日食工誌, **22**, 37 (1975).
- 8) 橋詰和宗・前田正道・渡辺篤二 : 日食工誌, **25**, 387 (1978).
- 9) MORI, T., NAKAMURA, T. and UTSUMI, S. : *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 33 (1986).
- 10) NAKAMURA, T., UTSUMI, S. and MORI, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2429 (1986).
- 11) MATSUURA, M., OBATA, A. and FUKUSHIMA, D. : *J. Food Sci.*, **54**, 602 (1989).
- 12) MATSUURA, M. and OBATA, A. : *J. Food Sci.*, **58**, 144 (1993).
- 13) MATSUURA, M., SASAKI, J. and MURAO, S. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1623 (1995).
- 14) 渡辺篤二・斉尾恭子 : 化学と生物, **11**, 631 (1973).
- 15) BOURNE, M.C. : *Food Technol.*, **62** (1978).
- 16) GRASSETI, D. R. and MURRAY, J. F. : *J. Chromatog.*, **41**, 121 (1959).
- 17) 小幡明雄・松浦 勝・福島男児 : 日食工誌, **36**, 707 (1989).
- 18) AXELROD, B., CHEESBROUGH, T.M. and LAAKSO, S. : *Methods in Enzymology*, vol.71, Academic Press, Inc., p. 441 (1981).
- 19) CATSMPOOLAS, N., FUNK, S.K., WANG, J. and KENNEY, J. : *J. Sci. Food Agric.*, **22**, 79 (1971).
- 20) 斉尾恭子・渡辺篤二 : 日食工誌, **15**, 290 (1968).
- 21) 斉尾恭子 : 食品の物性, 第 5 集, (食品資材研究会, 東京) p. 95 (1980).
- 22) SAIO, K., KAJIKAWA, M. and WATANABE, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 890 (1971).
- 23) OBATA, A. and MATSUURA, M. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 542 (1993).

(平成 8 年 2 月 6 日受理)