

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07821

研究課題名(和文)豆乳はどこまで濃縮できるのか - タンパク質間相互作用の制御に向けて -

研究課題名(英文)Evaporation of soymilk-Control of protein-protein interaction-

研究代表者

下山田 真(Shimoyamada, Makoto)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：60235695

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：豆乳を蒸発濃縮した際の粘度を解析した。その結果、豆乳の粘度は固形分濃度に対して二段階の指数関数的上昇を示した。このうち一段階目は粒子成分の接近による上昇、二段階目はタンパク質と脂質粒子の相互作用による上昇と推測した。また実験室で調製した未加熱豆乳を濃縮すると、市販豆乳とは異なる粘度上昇を示し、タンパク質の変性挙動が大きく影響することを見出した。そこで、タンパク質変性剤であるドデシル硫酸ナトリウムと尿素をあらかじめ添加して濃縮した際の粘度を測定した。その結果、低濃度の添加では粘度上昇を抑制したが、高濃度では逆に促進することが示された。豆乳中の粒子成分の挙動の制御が重要であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

豆乳は良質なタンパク質、脂質を高濃度に含んだ液体であり、ヒトの健康面のみならず環境問題や食糧問題の観点からもその活用は重要と考えられる。本課題により豆乳を蒸発濃縮した際の粘度上昇は二段階の指数関数で表せることがわかり、そのメカニズムや抑制方法についても一定の理解を深めることができた。こうした新しい知見は学術的な意義があるものと考えている。またメカニズムの一端が解明されたことで、今後豆乳を濃縮した製品を開発するにあたり基礎的なデータとして活用可能であり、社会的意義と考えている。今後、本課題の成果が大豆の利用範囲の拡大のために寄与しうることを期待している。

研究成果の概要(英文)：Viscosity of commercially available soymilk was measured during evaporation.

The increase in viscosity was able to be regressed with two exponential curves with an intersection. At lower concentrations, viscosity appeared to increase depending on solids content, but at higher concentrations, the viscosity increased more rapidly due to interaction between oil droplets and protein aggregates. Unheated soymilk prepared in a laboratory showed lower viscosity compared with commercially available soymilk. However, after heating of the soymilk, the viscosity was almost equivalent or rather higher than commercially available soymilk. Addition of lower concentration of urea or sodium dodecyl sulfate showed reduced viscosity. However, the addition at higher concentration showed higher viscosity. Lower concentration of urea and SDS inhibited viscosity increase but higher concentration of them was considered to accelerate interaction among oil droplets and proteins, resulting in higher viscosity.

研究分野：食品科学

キーワード：soymilk evaporation viscosity protein lipid

1. 研究開始当初の背景

豆乳は主にタンパク質凝集体と脂質粒子を含んだ分散系からなる液体食品であるが、様々な機能性成分を含んでおり、その健康イメージによって年々消費量を伸ばしている。さらなる生産量の拡大のためには豆乳製品の多様化が重要と考えられ、その技術的要素として濃縮を取り上げた。豆乳を濃縮することで、体積が減少し、輸送・保管コストが低減されるだけでなく、新規食品創造の可能性が広がるものと期待している。一方で、豆乳を濃縮する際の問題点として豆乳成分間の相互作用によって粘度が上昇し、やがて流動性を失うことが知られている¹⁾。しかしながら、豆乳を濃縮する際の粘度挙動の詳細については解明されておらず、濃度上昇に伴う豆乳成分の変化についても理解が進んでいない。濃縮の進行に伴った流動性喪失を定量的に理解し、そのメカニズムを解明することは、濃縮豆乳の製造を可能とするために重要と考えた。豆乳の粘度について応募者のグループでは、以前より豆乳の製造工程の見直しを行っており、豆乳の粘度変化を用いて豆乳加熱条件の評価²⁾を行った。しかしながら粘度測定を濃縮と関連付けた報告はない。食品の加工工程では、熱および物質移動が同時に進行するが、豆乳を濃縮する際の粘度変化を定量的にとらえることで、この状態における食品成分間の相互作用について解析するための基礎的なデータを得ることができるものと考えた。さらに、粘度上昇はタンパク質凝集体やタンパク質と脂質粒子複合体の生成・成長によって起こるものと考えられる。濃縮に伴うタンパク質凝集体および脂質粒子の相互作用について解析し、生じる複合体の構造を解析することで、相互作用の本体について知見が得られ、濃縮時の豆乳の粘度を制御するためのヒントが得られるものと考えた。

2. 研究の目的

そこで、本研究では豆乳を濃縮する際の粘度変化を測定し、豆乳成分間の相互作用の変化を定量的に解析し、最終的には濃縮時の粘度変化を制御する方法について検討することを目的とした。そのために豆乳を濃縮するための手段としてプラントにおける工程も考慮し、エバポレーターを用いて減圧下で加熱蒸発濃縮することとした。検討する項目は主に3つとし、1つめは市販豆乳を濃縮した際の粘度測定を行い、固形分濃度と粘度の関係について検討し、規則性・メカニズムについて明らかにする。2つめは実験室で調製した未加熱豆乳を用いてタンパク質の変性挙動との関連から粘度上昇について調べる。そして3つ目として、いくつかの添加物を用いて豆乳濃縮時の粘度上昇への影響について検討し、化学的手法による粘度上昇の制御について検討することとした。

3. 研究の方法

(1) 豆乳試料

豆乳試料は市販の無調整豆乳（固形分 9%）あるいは実験室で調製した未加熱豆乳を用いた。未加熱豆乳は、大豆種子（品種；フクユタカ）を一晩冷蔵庫中にて吸水させたのちに、

大豆重量の 8 倍の加水量になるよう調整してブレンダーにて磨砕した。磨砕物はポリエチレン製の不織布を 5 枚重ねにしたものを用いて、手で絞って未加熱豆乳を得た。豆乳の加熱は通電加熱を用い、一定電圧の下で 98℃まで昇温させた。

(2) 濃縮操作

濃縮は 1 L のナス型フラスコに豆乳 100 g を取り、ロータリーエバポレーターにて濃縮した。恒温水槽の温度を 55、65、75℃と 3 段階に設定し、それに合わせて減圧度と冷却水温度を調整して濃縮を行った。濃縮度の調整は濃縮時間で行った。

(3) 粘度測定

粘度測定は音叉振動式粘度計を用いて濃縮豆乳の粘度を測定するとともに、回転式粘度計によって流動曲線を求め、流動性指数を計算した。

(4) タンパク質凝集体（タンパク質粒子）の測定

豆乳を超遠心分離機に供して 160,000×g、60 min の条件で超遠心分離し³⁾、生成した沈殿物をタンパク質粒子成分としてその高さを測定した。合わせて、クリーム層が表面に分離したため浮遊層としてその厚さも求めた。

(5) 粒度分布測定

豆乳中の脂質粒子の大きさはレーザー回折散乱粒度分布計で測定した。その際の屈折率は溶媒（水）を 1.333、試料を 1.600 とした。

(6) トリプトファン自然蛍光測定

タンパク質の変性度を求めるためにトリプトファンの自然蛍光を測定した。励起波長は 290 nm とし、蛍光波長は 300～420 nm の範囲でスキャンした。

4. 研究成果

(1) 市販豆乳を蒸発濃縮した際の粘度上昇

市販豆乳をエバポレーターにて濃縮することで固形分濃度が 9%から 25%程度までの濃縮豆乳を得た。濃縮豆乳の粘度を音叉振動式粘度計および回転粘度計で測定した結果、指数関数的な上昇がみられたため、縦軸を対数にしてプロットし直した。グラフは 2 本の直線からなることがわかり、それぞれ 17%程度の固形分濃度で交点を示した。Fig.1 には回転粘度計を用いて測定した粘度の値を示した。湯浴の温度を 55、65、75℃と変えながら濃縮すると湯浴温度の上昇に伴って粘度は同じ固形分濃度でもより高い値を示したが、これは振動式粘度計では顕著であったものの回転粘度計で求めた粘度では小さな差となった。

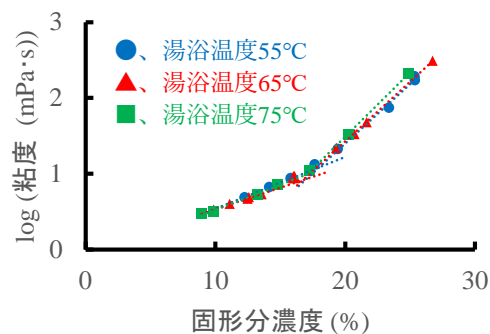


Fig. 1. 蒸発濃縮した市販豆乳の粘度
回転粘度計にて測定

そこで、2本の回帰直線の交点の前後を低濃度領域、高濃度領域として、その違いについて検討した。レーザー回折散乱粒度分布測定装置で豆乳成分の粒度分布を調べたところ、Fig. 2 に示したように低濃度領域ではピークトップの位置が同一であったのに対して交点を超えて高濃度領域に入ることによって右側へのシフトがみられ、豆乳中の脂質粒子の直径が増加していることがわかった。さらに超遠心分離によってタンパク質粒子成分（沈殿層）、脂質粒子画分（浮遊層）の比率を求めたところ、低濃度領域では脂質粒子画分の割合が低く、かつほぼ一定であったのに対して高濃度領域では固形分濃度の上昇とともに増加傾向がみられた。こうした結果より、低濃度側では濃縮しても豆乳成分に大きな変化はなく粒子の接近に伴った粘度上昇が起きているのに対して、高濃度領域では脂質粒子の表面にタンパク質あるいはタンパク質粒子が相互作用することでより激しく粘度が上昇したものと推測できた。

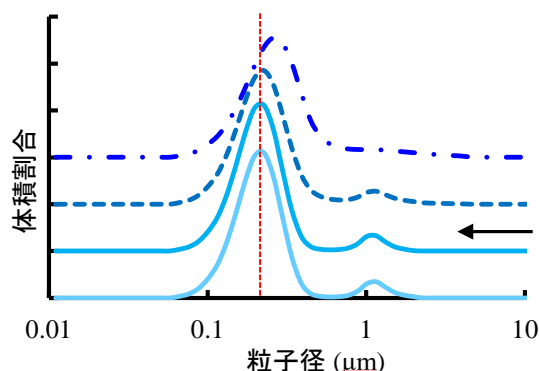


Fig. 2. 濃縮豆乳の粒度分布
下から順に固形分濃度が 9.1、15.8、21.4、26.2%。矢印は Fig. 1 の交点の固形分濃度

(2) 実験室で調製した豆乳を蒸発濃縮した際の粘度上昇

次に実験室で加熱操作を経ずに豆乳を調製し、その濃縮時の粘度を測定した。未加熱豆乳を同様に湯浴温度 55、65、75°C の条件下で、エバポレーターにて蒸発濃縮すると、その粘度上昇は市販豆乳とは異なる挙動を示した (Fig. 3)。55、65°C で濃縮した豆乳の粘度は市販豆乳と同様に二段階で上昇したが、その値は市販豆乳よりも低かった。一方、75°C で濃縮した未加熱豆乳は一段階のみの粘度上昇を示し、その値はむしろ市販豆乳よりも高かった。これは 75°C が豆乳中のタンパク質のうち β -コングリシニンの変性温度付近であったために、濃縮中に部分変性が起きたためと推測された。すなわちすべての主要タンパク質が変性している市販豆乳中に対して、本試料では β -コングリシニンのみが変性し、グリシニンはほぼ未変性状態で残存していることが関係しているものと考えられた。

さらに、この実験室で調製した豆乳をジュール加熱によって 95°C まで加熱したのちに同様に蒸発濃縮を行った。その結果、55、65、75°C のすべての湯浴温度にて二段階の粘度上昇を示すことが示

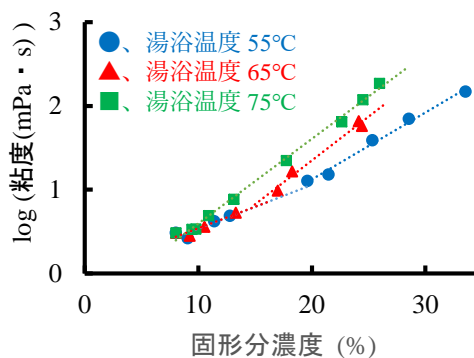


Fig. 3. 蒸発濃縮した未加熱豆乳の粘度
回転粘度計にて測定

されたが、その値は市販豆乳よりも大きな値であり、2本の直線の交点も14%付近とより低濃度であった。しかしながら、トリプトファン其自然蛍光の値からタンパク質内部の変性挙動の差は小さいことが示され、タンパク質凝集体表面の状態が変化することで相互作用が変化すると推測された。

(3) 様々な化学物質の濃縮豆乳の粘度上昇に対する抑制効果

豆乳を濃縮する際の粘度上昇にはタンパク質の変性挙動や脂質粒子とタンパク質との相互作用が深く関係していることがわかったので、タンパク質の変性剤として尿素とドデシル硫酸ナトリウム (SDS) が粘度上昇に及ぼす影響について検討した。

その結果 (Fig. 4)、尿素の場合 0.01 M では、無添加豆乳に対して効果的に粘度上昇を抑制することが示された。一方で 0.1 M とすると、逆に粘度は無添加よりも増加することがわかった。次に SDS を用いた

場合では 0.01%では粘度は低下したものの 0.1%ではほとんど低下効果は見られず、1%では逆に粘度上昇がみられた。そこで、それぞれの化学物質を添加して濃縮した豆乳を回転粘度計に供して流動曲線を得、そこから流動性指数を求めたところ、低濃度の尿素や SDS を添加した豆乳では無添加と同様の流動性指数を示したのに対して、高濃度で添加した豆乳では流動性指数はより低い値を示した。この結果より、濃縮豆乳において尿素や SDS を高濃度で添加した場合には、豆乳中のタンパク質凝集体や脂質粒子の間の相互作用が高められることで粘度が逆に上昇しているものと推測された。以上の結果からタンパク質の変性剤によって濃縮時の粘度上昇を抑制することは可能であることが示されたが、濃度依存性が強いことが示され、そのメカニズムについても今後の解析が必要と考えられた。

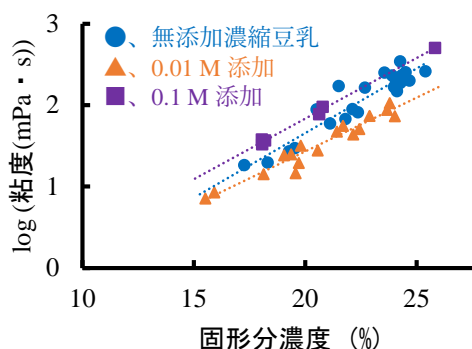


Fig. 4. 尿素添加後に蒸発濃縮した豆乳の粘度回転粘度計にて測定

<引用文献>

- 1) Wallace, G. M., & Khaleque, A.: Studies on the processing and properties of soymilk III. —Factors affecting concentration of soymilk and its stability during heat sterilisation. *J. Sci. Food Agric.*, **22**, 531–535 (1971).
- 2) Shimoyamada, M. *et al.*: Characterization of soymilk prepared by Ohmic heating and the effects of voltage applied, *Food Sci. Technol. Res.*, **21**, 439-444 (2015)
- 3) Shun-Tang, G. *et al.*: Interaction between protein and lipid in soybean milk at elevated temperature, *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4601-4605 (1997).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shimoyamada, M., Ishiyama, A., Masuda, H., Egusa, S., Matsuno, M.	4. 巻 112
2. 論文標題 Viscosity changes of soymilk due to vacuum evaporation with moderate heating	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 LWT- Food Sci. Technol.	6. 最初と最後の頁 108255
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108255	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 石山明、増田勇人、江草信太郎、松野正幸、下山田真
2. 発表標題 生豆乳を加熱濃縮した際の固形分濃度と粘度の関係
3. 学会等名 日本食品科学工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石山明、増田勇人、下山田真
2. 発表標題 市販の無調整豆乳を加熱濃縮した際の固形分濃度と粘度の関係
3. 学会等名 日本食品科学工学会第64回大会（藤沢）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shimoyamada, M., Ishiyama, A., Masuda, H., Egusa, S.
2. 発表標題 Relationship between solids content and viscosity after evaporating soymilk prepared in a laboratory
3. 学会等名 International congress of Engineering and Food 13（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----