

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450173

研究課題名(和文) 厳密な加熱条件設定による豆乳の新品質創出

研究課題名(英文) Improvement of soymilk quality by strictly controlled heating conditions

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：パック入り豆乳は何度も加熱処理を受けて製造されるが、加熱中の変化については未解明な点が多い。そこでジュール加熱(通電による直接加熱)を用い、パソコンで厳密にコントロールされた条件下で生豆乳を加熱し、得られた豆乳の品質に対する加熱条件の影響について検討した。

その結果、生豆乳を加熱するときの温度上昇がゆっくりであるほど粘度(のど越しに影響)と沈澱形成は大きくなった。さらに段階的に豆乳を加熱したところ、特定の温度で保持して二段階の加熱を行うと豆乳の沈澱は増えずに粘度のみが上昇した。これらの結果より、加熱の速さと段階的な加熱を組み合わせることで豆乳の品質をコントロールできる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Packed soymilk beverages are produced by several times of heating, but only limited knowledge has been given. So raw soymilk was heated by PC-controlled Joule heating system and the resulting soymilk was analyzed, and the effect of heating conditions on soymilk quality was estimated.

Both of viscosity and precipitation of heated soymilk were increased with decrease in heating rate. Further, the effect of step by step heating of raw soymilk was estimated. When the raw soymilk was heated by two step heating at 70 °C (or 80 °C) and 95 °C, the viscosity of the soymilk was increased with no increasing of precipitation. These results are thought to show that combination of heating rate and step by step heating will be able to control quality of soymilk. High heating rate appeared to inhibit interaction among different protein species and two step heating showed some possibility that denaturation behaviors of protein, such as unfolding as well as interaction was changed.

研究分野：食品加工学

キーワード：soymilk Joule heating heating rate aggregation viscosity

1. 研究開始当初の背景

食品の加工・調理の場面において加熱処理は重要な意味を持っているが、食品成分の変化や相互作用については未解明な点が多い。市販されている飲用豆乳では無菌充填までに少なくとも3回の加熱工程が含まれているが、製品の分散性などについては主に経験的に理解されており、科学的な検討はまだ不十分である。また実験室での加熱は主に湯浴を用いた伝熱加熱であり、プラントにおける加熱と比較して昇温が非常に遅いうえに、昇温の制御も不正確であることが問題となっている。

そこで、実験室でも実現可能な急速加熱と厳密な温度制御を可能とする加熱方法として申請者はジュール加熱(通電加熱)に着目した。ジュール加熱は食品などを電極で挟んで電球を流すことで食品内部の電気抵抗によって発熱させる方法であり、大きな昇温速度を実現するとともに、電圧に依存した直線的な温度上昇をもたらすことを確認している。そこでジュール加熱装置をコンピュータで制御することで実験室においてもプラントに匹敵する昇温速度で豆乳の加熱しながら厳密な温度制御が可能となる実験系を構築することができるものと考えた。

2. 研究の目的

ジュール加熱装置としてプログラム温調装置を導入し、厳密な温度制御のもとで豆乳を調製することを試みた。温度制御としてまず昇温速度を種々設定して加熱を行い、得られた豆乳の沈澱等の品質について調べるとともに、タンパク質の変性挙動について解析することとした。特に大豆タンパク質は加熱変性によってタンパク質分子どうしが集まって凝集体を形成することが知られているために凝集体の量とサイズについて検討することとした。さらに、2つの温度で二段階加熱した豆乳から得られた豆腐はかたさが増すという報告があるため、二段階加熱すなわち温度保持過程を挿入して加熱調製した豆乳の品質について調べることで、温度保持の影響についても検討することとした。併せて、豆乳を構成しているタンパク質レベルでも検討を行い、タンパク質分散液を加熱した際の変性挙動について情報を得ることとした。

3. 研究の方法

(1) 生豆乳の調製

生豆乳は国産大豆(ミヤギシロメ、あるいはフクユタカ)を蒸留水で一晩浸漬後、吸水した水を含めて8倍量の蒸留水とともにブレンダーで磨砕し、ポリプロピレン製不織布を用いておからを除いて調製した。

(2) 大豆タンパク質の調製

大豆タンパク質はヘキサソ脱脂した大豆粉末に10倍量の0.1Mリン酸緩衝液(pH7.6)を添加して抽出物を得た。水抽出物は塩酸で

pHを4.5に調整し、得られた沈澱を遠心分離で回収し、緩衝液に分散後、透析することで得た。これを凍結乾燥したものを大豆タンパク質試料として用いた。

(3) 生豆乳のジュール加熱による豆乳の調製

得られた生豆乳のうち100mLをガラスエポキシ樹脂製容器(内寸50×50×90mm)に採り、チタン電極(接液部50×50mm)を2枚浸し、上面をガラスエポキシ樹脂板で蓋をした。電極をプログラム温調装置に接続し電圧を制御して温度上昇させた。加熱後、内容物は50mL容の樹脂製遠心チューブに分注し、氷水中で冷却した。

(4) 遠心分離

沈澱画分の分離のためには高速冷却遠心機(日立CR21GあるいはSCR20B)を用いて1,500×g、10分の条件で遠心分離を行った。一方、タンパク質凝集体(タンパク質粒子)を分画するためには超遠心分離機(ベックマン・コールターOptima MAXあるいはOptima TLX)を用いて152,000×g、30分の条件で遠心分離した。

(5) 粘度測定

1,500×gで遠心分離した上清の粘度を豆乳粘度とし、振動型粘度計(イー・アンド・ディ、SV-10)を用いて測定した。

(6) 粒度分布測定

豆乳に含まれる粒子成分の粒度分布測定はレーザー回折散乱粒度分布測定装置(ベックマン・コールター、LS-13320)を用いて行った。

(7) タンパク質濃度の測定

タンパク質の定量はローリー法を用いて行った。

(8) タンパク質表面疎水性度の測定

タンパク質の変性度の指標として表面疎水性を測定した。希釈した豆乳に蛍光プローブとして 8×10^{-3} M 8-anilino-1-naphthalene-sulfonic acid (ANS)溶液を添加し励起波長390nm、蛍光波長470nmで蛍光強度を測定し、この値をタンパク質濃度で割り、疎水性度の指標とした。

(9) 電気泳動によるタンパク質の分析

豆乳中のタンパク質の分析は、12.5%ポリアクリルアミドゲルを用いてネイティブ系およびSDS系で行った。

4. 研究成果

(1) 昇温速度の制御

プログラム温調装置を用いて生豆乳を30から95まで昇温させる時間を120、600、1,800秒として直線的に昇温させる条件で加熱した。その後、95になった時点で冷却する試料と、95になってからさらに5分間95を保持したのちに冷却する試料をそれぞれ調製した。得られた各豆乳試料の粘度を比較したところ昇温時間が長くなる(昇温速度が小さくなる)につれて粘度は上昇していくことがわかり、さらに95での保持を挿入

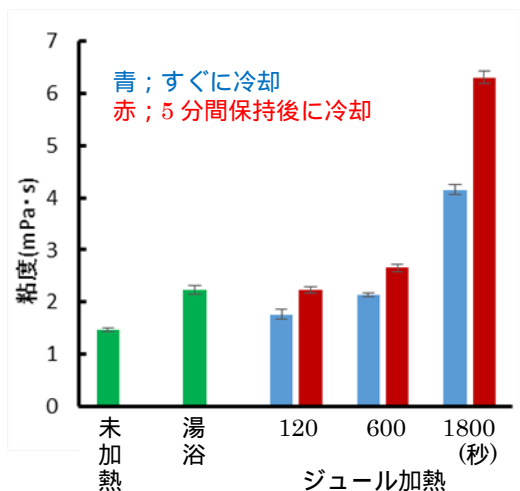


図 1. 昇温時間を変化させて調製した豆乳の粘度変化

することで粘度はさらに上昇した(図1)。合わせて 1,500×g で遠心分離した際の沈澱量やタンパク質の変性度にも類似した変化がみられ、豆乳の品質やタンパク質の変性挙動に加熱時の温度上昇の速度が影響していることが示された。次に、豆乳を超遠心分離し、凝集体をサイズ別に分画し、それぞれの割合を求めた。その結果(図2) 昇温時間を75秒としたより急速な加熱の方が120秒よりも凝集体の割合も減少し、サイズも比較的小さなものへと移行していることが示された。すなわち、昇温速度を大きくすることでタンパク質凝集体の巨大化が抑制されることが分かった。さらに豆乳の粒度分布の測定結果からも1,800秒と極端に昇温速度を遅くすると通常の0.4 μm 付近の油滴粒子に加えて3 μm以上の巨大な粒子が出現することがわかりタンパク質凝集体のみならずエマルションの合一なども促進されることが示された。

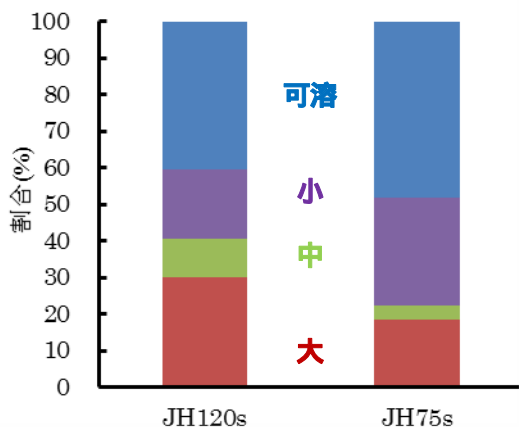


図 2. ジュール加熱により調製した豆乳中のタンパク質凝集体の割合
可溶、可溶性画分；小、小さな凝集体；中、中程度の凝集体；大、大きな凝集体

それぞれの試料でジュール加熱によって豆乳の温度が95に達したのちにその温度をさらに5分間保つことで、加熱による粘度や沈澱量の増加といった変化がさらに増大することが示された。ただし、保持時間を10分に延長しても変化量にはほとんど差は見られなかったためトータルの加熱時間がメインで効いているわけではなく昇温と保持の2つの組み合わせが効いているものと推測した。

(2) 温度保持の挿入

豆乳を2つの温度で二段階加熱すると得られる豆腐の硬さの増すことが報告されているのでプログラム温調装置を用いて様々な温度にて5分間その温度を保持するステップを挿入して豆乳を加熱調製した。その結果、

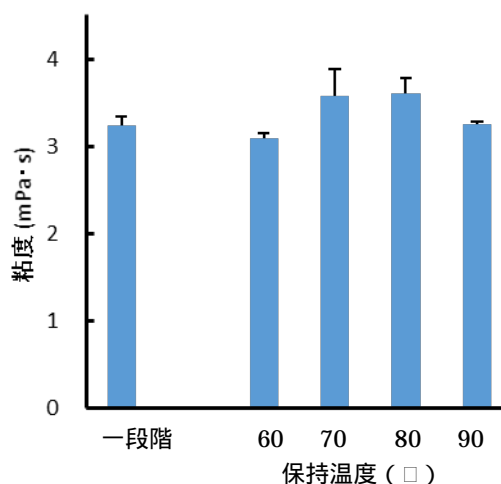


図 3. 各保持温度で二段階加熱して調製した豆乳の粘度

60 や 90 で温度保持を挿入した試料では温度保持なしのコントロールと粘度やタンパク質変性度に違いがみられず、70 と 80 において粘度の上昇傾向がみられた(図3)。この結果より、豆乳中のメインタンパク質である - コングリシニン(変性温度約70) とグリシニン(変性温度約90)の間の温度で保持するステップを挿入して加熱することで豆乳を構成するタンパク質の変性挙動は変化することが分かった。

さらに、70における温度保持の影響について検討した結果、加熱途中に温度保持を挿入せず、95まで直線的に昇温させた一段階加熱の系では昇温速度を小さくしトータルの加熱時間を長くすると粘度の上昇とともに沈澱量の増加が同時にみられたが、70に温度保持ステップを挿入した二段階加熱方法では粘度は上昇するのに対して沈澱の増加は見られず昇温速度と二段階加熱を組み合わせることで加熱調製することで得られる豆乳の品質を制御できる可能性が示された。

また加熱途中で温度保持を挿入して加熱した豆乳に豆腐用の凝固剤である塩化マグ

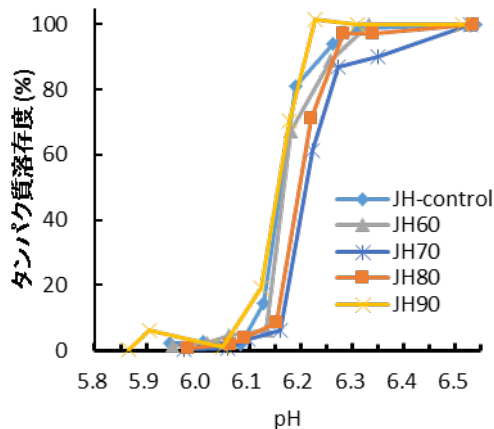


図 4. 各温度で保持し加熱調製した豆乳の $MgCl_2$ 添加時 pH と沈澱形成の関係

ネシウムを添加して pH の変化と沈澱の生成量について検討した結果、 Mg^{2+} の添加による沈澱形成は 70 で温度保持した豆乳においてより低濃度で沈澱形成がみられた。横軸を pH としてプロットしなおすと、70 あるいは 80 で温度保持した豆乳ではより高い pH から沈澱形成がみられ(図 4)、温度保持加熱によってタンパク質の変性挙動も異なることで表面電荷の状態にも差異がみられているために、pH も変化するうえに、添加した 2 価イオンに対する感受性も異なるものと考えられた。

(3) 大豆タンパク質分散液のジュール加熱

豆乳の加熱調製において加熱の速度や温度保持によって得られる豆乳の品質が変化することが示された。豆乳はタンパク質のサスペンションであると同時にエマルションでもあり、油滴の影響も無視できない。そこで、タンパク質の変性挙動についてタンパク質レベルでの検討が必要と考えられた。そこ

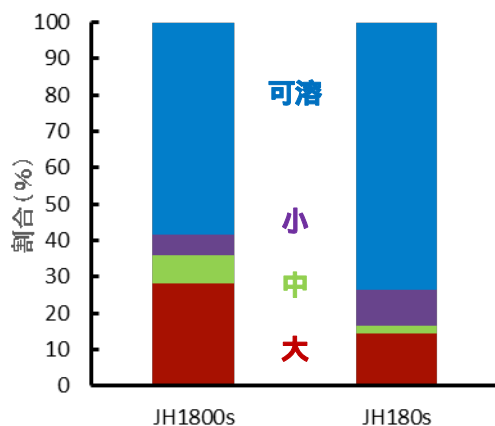


図 5. 大豆タンパク質分散液をジュール加熱した際の凝集体の割合におよぼす昇温時間の影響

可溶、可溶性画分；小、小さな凝集体；中、中程度の凝集体；大、大きな凝集体

で、脱脂大豆から水抽出によりタンパク質画分を得て、加熱の影響について検討することとした。今回調製した大豆タンパク質は試料を分散後に遠心分離によって上清だけを得たところ、上清中のタンパク質濃度は 0.3% であったためこの分散液を用いて検討を進めた。その結果、タンパク質表面疎水性度の測定からタンパク質の変性度について評価したところ有意な差は見られなかった。この点についてはタンパク質の濃度が低いことが影響して、正しく評価されていないことが予想された。しかしながら、超遠心分離によりタンパク質凝集体の割合を測定した結果、短時間で昇温させることで凝集体の割合は減少し、粒子サイズも大きなものが減少して小さなものへとシフトすることが示された。すなわち、タンパク質凝集体の形成は抑制されることがわかり、これは豆乳の場合と類似した結果となった(図 5)。

さらにネイティブ電気泳動を用いて加熱処理後のタンパク質の分析を行った。短時間で昇温させて加熱した大豆タンパク質試料において強く検出されたバンドを切り出し SDS-PAGE に供して詳細に分析したところ、いずれもグリシニン由来のサブユニットのバンドのみが検出され、急速に加熱することでグリシニン分子が十分に解離せず、 γ -コングリシニンとの相互作用が抑制された状態で変性しているものと推測された。

(4) 結論

以上の知見より、昇温速度の上昇はタンパク質分子の急速な加熱変性を誘導し、豆乳中の 2 つのメイン成分である γ -コングリシニンとグリシニンの異分子種間の相互作用を抑制する意味を持っているものと考えられた。

また、70~80 の温度で一旦加熱温度を保持する二段階加熱を行うことの意味として、豆乳中の 2 つのメイン成分のうち γ -コングリシニンのみが変性し、グリシニンは未変性のままで存在することが関与しているものと推測された。この状態で一定時間保持すると γ -コングリシニン分子どうしの相互作用が進行し、その後のグリシニンの変性に伴って、会合した γ -コングリシニンと新たに加熱変性したグリシニンが相互作用して、タンパク質凝集体の形成状態が一段階で加熱を行ったときとは異なることが大きな要因と推測された。

本課題の結果より、豆乳を加熱調製するときに、昇温速度を大きくする、すなわち短い時間で温度を上昇させると粘度や沈澱がともに減少することが示された。一方で 70 あるいは 80 で一旦温度を保持する二段階加熱を行うと得られた豆乳は沈澱の増加は見られずに粘度の上昇だけがみられた。これらのことから豆乳を加熱調製するときの昇温速度や保持温度の組み合わせを変えることで得られる豆乳の性質を制御し得ることが

示唆された。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 2件)

下山田真, 杉本いづみ, 金内誠, 石田光晴:
ジュール加熱した豆乳の性質に及ぼす昇温
速度と温度保持の影響. 日本食品工学会第 15
回年次大会、2014 年 8 月 7 日、つくば国際会
議場 (茨城県・つくば市)

下山田真、植松真未: 大豆タンパク質の加熱
変性挙動に及ぼす加熱速度の影響. 日本食品
工学会第 15 回年次大会、2015 年 8 月 10 日、
広島市立大学 (広島県・広島市)

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

杉本 いづみ (SUGIMOTO Izumi)
宮城大学食産業学部 学部生
植松 真未 (UEMATSU Mami)
静岡県立大学食品栄養科学部 学部生
安間 満彦 (YASUMA Mitsuhiro)
宮城大学食産業学部 学部生
金内 誠 (KANAUCHI Makoto)
宮城大学食産業学部・准教授
石田光晴 (ISHIDA Mitsuharu)
宮城大学食産業学部・教授