

品種の異なるダイズから調製した豆乳の性質

手塚正教*†・小野伴忠*・伊東哲雄*

Properties of Soymilk Prepared from Soybeans of Different Varieties

Masanori TEZUKA*†, Tomotada ONO* and Tetsuo IRO*

* *Department of Bioscience and Technology, Iwate University,
3-18-8, Ueda, Morioka-shi, Iwate 020*

† *Present address: Taishi Shokuhin Kogyo Co. 25-1, Shimomaegawara,
Osaka, Towada-shi, Aomori 034*

The properties of soymilk, which prepared from soybeans of six varieties having different subunit composition, were studied. Soymilk's protein particles were fractionated in size by differential centrifugation. The particles of more than 100 nm, 100-40 nm, and less than 40 nm in diameter were obtained as large protein particles (LP), medium protein particles (MP), and supernatant protein (SP), respectively. The LP content in all raw soymilks decreased and the MP content increased by heating, but the MP content in soymilk prepared from GILM (7 S rich) did not increase so much by heating. When calcium chloride was added to the soymilks, the protein solubilities of the soymilk from Karikei 434 (11 S rich) decreased sharply between 6 and 8 mM calcium chloride, while that from GILM decreased sharply between 10 and 12 mM. The concentration of magnesium chloride, which began to decrease the protein solubilities, was similar to that of calcium chloride. But a decreasing slope of the protein solubilities by magnesium chloride was gentler than that by calcium chloride. The precipitation pH of protein by magnesium chloride was 0.1 pH higher than that by calcium chloride. Phytate in the soymilks accelerated a pH-decrease on the addition of calcium chloride. These results suggest that higher calcium and magnesium concentrations are required for the 7 S globulin rich-soymilk coagulation than for normal soymilk coagulation, and that the pH decrease by the addition of calcium in phytate rich-soymilk is greater than that in low phytate soymilk.

(Received Jul. 14, 1994)

ダイズ中にはタンパク質が約 35% 含まれ、その主な成分は貯蔵タンパク質である 11 S, 7 S と呼ばれるグロブリンタンパク質である。これらタンパク質は加熱により、7 S グロブリンの β -サブユニットと 11 S グロブリンの塩基性サブユニットがジスルフィド結合や疎水結合などにより会合体を形成することが知られている。加熱による凝集体は、この会合体に 7 S グロブリンの α , α' -サブユニットや 11 S グロブリンの酸性サブユニットが付着し形成されると考えられている¹⁾²⁾。加熱により調製される豆乳タンパク質について、ONO ら³⁾はその 50%

が粒子を形成していることを見だし、その粒子中には 7 S グロブリンの β -サブユニットと 11 S グロブリンの塩基性サブユニットが多く含まれていることを報告している。この豆乳中の粒子画分は塩化カルシウムを加えると、粒子を形成していないタンパク質(可溶性画分)よりも早く沈殿することから豆腐カードの骨格形成に粒子画分が関与していると推定している⁴⁾。豆乳からの豆腐カード形成にはカルシウムやマグネシウムの作用の他に pH 低下が関与するが、その pH 低下にはフィチン酸の寄与が示唆されている⁴⁾。さらに、形成された豆腐

* 岩手大学農学部応用生物学科 (〒020 岩手県盛岡市上田 3-18-8)

† 現住所 太子食品工業(株)研究部 (〒034 青森県十和田市大字相坂字下前川原 25-1)

カードの物性は7S及び11Sグロブリンの組成割合で異なることが知られている⁵⁾。7S及び11Sグロブリンより形成した豆腐カードを比較すると、11Sグロブリンカードの方が固くなる⁶⁾。また、フィチン酸が多い豆乳ではカード形成にカルシウムを多く必要とするとともに、カードが柔らかくなることが知られている⁷⁾。そこで、本報では、11Sと7Sの組成比の異なる6種類のダイズを用いて豆乳を調製し、粒子画分の割合、フィチン含量及び塩化カルシウムや塩化マグネシウム添加時のタンパク質溶解度及びpH変化について検討するとともに、それら諸成分との関係を解析することにより、豆乳の凝固に関する現象を考察した。

実験方法

1. 供試試料

平成4年産の米国産ダイズIOM、国産ダイズのミヤギシロメ（宮城県産）、ナンブシロメ+オクシロメ（岩手県産と青森県産のブレンド）、刈系434（東北農試刈和野試験地から恵与）、刈系423（同）、GILM（岩手大学海妻教授から恵与）の6種類を試料として用いた。これらのダイズは使用するまで5°Cに保存した。

2. 豆乳の調製

豆乳は次のように調製した。各ダイズを脱イオン水で5°C、18時間浸漬後、ダイズの7倍量の脱イオン水を加え、ミキサーで2分間摩砕し、消泡剤（シリコン）を加え、さらに2分間摩砕した。生じた呉を脱脂綿を用いてろ過し、ろ液を800×g、10分間遠心分離し、沈澱を除去したものを生豆乳とした。生豆乳4mlを10mlの試験管に入れ、沸騰している湯浴中で5分間加熱し、ただちに流水中で冷却したものを豆乳とした。いずれの豆乳も固形分は約9.5%に調製した。

3. SDS電気泳動

SDS-ポリアクリルアミド電気泳動（SDS-PAGE）はLAEMMLIの方法⁸⁾に準じて行った。デンストメトリーはFD-A IV型（富士理研(株)）を用い600nmで行った。

4. タンパク質粒子の分画

豆乳または生豆乳のタンパク質粒子はONOらの方法⁹⁾に従って以下のように分画遠心分離により分画した。生豆乳または豆乳を32500×g、30分間遠心分離し、生じた沈澱を大粒子画分とし、その上清を156500×g、30分間遠心分離し、沈澱を中粒子画分、上清を上清画分とした。遠心力と時間の関係より概算される各大粒子、中粒子、上清画分の粒子直径は、それぞれおよそ100nm以上、40~100nm、40nm以下である。

5. タンパク質の定量

生豆乳及び豆乳のタンパク質は以下のような処理を行った後、ブラッドフォード法⁹⁾により定量した。豆乳試料500μlをマイクロチューブに採取し、2Nの水酸化ナトリウムを500μl加え、攪拌後60°Cの湯浴中で30分間静置しタンパク質を溶解した。次に8000×g、3分間遠心分離し油層を浮上させた後、中層50μlを0.1Mリン酸緩衝液（pH6.0）2mlと混合し中和した。その100μlを測定のための試料とした。

6. タンパク質溶解度の測定

カルシウム、マグネシウムイオンに対するタンパク質溶解度の測定はONOらの方法⁴⁾に準じて行った。塩化カルシウムまたは塩化マグネシウムを各種濃度になるように豆乳に加え攪拌し、pHを測定した。30分間室温に放置後、1800×g、5分間の遠心分離を行い上清タンパク質の定量を行った。

7. フィチンの定量

フィチンの定量はMAKOWERの方法¹⁰⁾を改変した以下の方法により行った。豆乳2.0mlに6%トリクロロ酢酸2.0mlを加え、20分間室温に放置後、1800×g、15分間遠心分離した。上清2.0mlに塩化鉄溶液（2.0g FeCl₃・H₂O+16.3ml conc. HClを1lにしたもの。）6.0mlを加え、沸騰水中で30分間加熱後、室温で放冷し、1800×g、15分間遠心分離を行った。沈澱物を洗浄液（0.6% HCl・2.5% Na₂SO₄）2.0mlに分散後、さらに3000×g、15分間遠心分離した。次に、沈澱物に0.3Nの水酸化ナトリウムを2.0ml加え分散させた後、1800×g、15分間遠心分離した。その沈澱物を0.3Nの塩酸3.0mlで溶解後、脱イオン水で10mlとしたものの鉄含量をO-フェナントロリン法¹¹⁾で定量した。フィチン酸：鉄=1：4のモル比で結合すると仮定し、鉄重量を2.98倍したものをフィチン重量とした。

結果及び考察

1. 各種豆乳タンパク質のサブユニット組成

実験材料に用いた6品種のダイズについて7Sグロブリンと11Sグロブリンの含量をSDS-PAGEにより検討した。IOM、ミヤギシロメ、ナンブシロメ+オクシロメ、刈系434、刈系423、GILMの6品種の豆乳のSDS-PAGEパターンをFig. 1に示す。Fig. 1のSDS-PAGEについてデンストメトリーを行い、それぞれの品種の7Sグロブリンと11Sグロブリンの相対割合を求めた。その結果、7Sと11Sの合計を100とすると、刈系434は

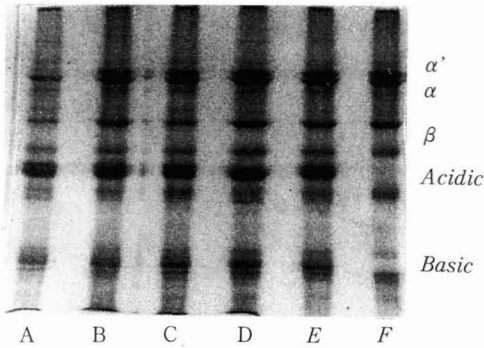


Fig. 1 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of soymilk proteins from 6 varieties

A, Karikei 434 ; B, Miyagisirome ; C, IOM ; D, Karikei 423 ; E, Nanbusirome+Okusirome ; F, GILM.

7S が 8.7, 11S が 91.3, IOM は 7S : 11S = 35.6 : 64.4, ミヤギシロメは 7S : 11S = 38.5 : 61.5, ナンブシロメ + オクシロメは 7S : 11S = 40.3 : 59.7, 刈系 423 は 7S : 11S = 36.7 : 63.3, GILM は 7S : 11S = 59.7 : 40.3 となった。刈系 434 の 7S : 11S がおよそ 10 : 90 に対し, GILM を除く他の 4 品種ではおよそ 35 ~ 40 : 60 ~ 65 となり, 他の品種と比較して刈系 434 は 11S グロブリンリッチであった。GILM では 7S : 11S がおよそ 60 : 40 であり, 他と比較して 7S グロブリンリッチであることが確認された。

2. 各種豆乳の粒子組成

ONO ら³⁾は, 生豆乳では, 大粒子が多く, 中粒子が少ないのに対して, 加熱して豆乳にすると, 大粒子が減少し, 中粒子が増加することを報告している。そこで, 7S グロブリンと 11S グロブリンの含量の相対割合が異なる品種で生豆乳及び豆乳タンパク質の粒子組成の変化を検討した。Fig. 2 に示すように 6 品種の豆乳で加熱により大粒子が減少し中粒子が増加する同様の傾向が見られた。しかし, 7S グロブリンリッチの GILM では, 他の品種より中粒子の増加は少なかった。一方, 11S グロブリンリッチの刈系 434 では加熱による中粒子の増加量は GILM 以外の他の品種と大きくは変わらなかった。このことは加熱による中粒子の形成には, 7S と 11S グロブリンの相対量に関与していることを示唆している。ONO ら³⁾は生豆乳の大粒子は加熱により上清タンパク質画分に移行し, 加熱によって生じる中粒子は, 上清タンパク質の 7S グロブリンの β -サブユニットと 11S グロブリン

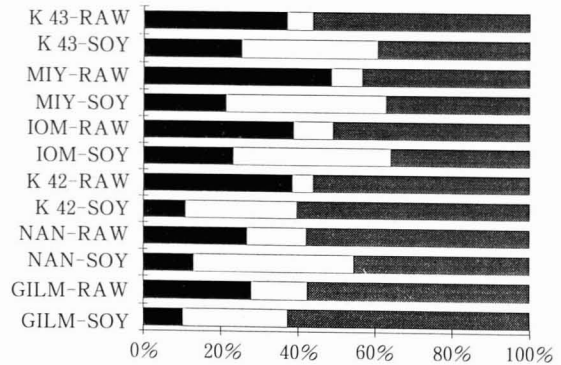


Fig. 2 Distribution of the protein particles from various soymilks, before (RAW) and after (SOY) heating

K 43, Karikei 434 ; MIY, Miyagisirome ; K 42, Karikei 423 ; NAN, Nanbusirome+Okusirome. Large (■), medium (□) protein particles and supernatant protein (▨) are shown.

の塩基性サブユニットが核となり, それに 7S, 11S グロブリンが会合し形成されると述べている。会合の際に糖タンパク質である 7S グロブリンが多いと, 相互作用するタンパク質の親水性領域が増加し, 疎水的な結合の機会が減少するため粒子が形成されにくくなるものと考えられる。

7S グロブリンを単独で中性, 弱イオン強度のもとで加熱した場合, 分子はサブユニットに解離し凝集を起こさないことが知られている¹²⁾。これは, 7S グロブリンが糖タンパク質であり, 親水領域を多く持っているためと考えられる。一方, 11S グロブリンではイオン強度 0.5, pH 7.6, 100°C 加熱で, 分子の解離にひきつづいて凝集が起こる。これは, 加熱により 11S グロブリンの疎水領域が露出するとともに, SH 基間の架橋形成により凝集すると考えられている¹³⁾。これらの事実は 7S グロブリンがタンパク質の凝集を抑制する働きを持つことを示唆している。

3. 各種豆乳タンパク質の塩化カルシウム感受性

豆乳の粒子組成及び 11S, 7S の割合等が塩化カルシウム添加時のタンパク質溶解度にどのような影響を及ぼすかについて検討した。各種豆乳に塩化カルシウムを加え豆乳タンパク質の溶解度を測定し, 結果を Fig. 3 に示す。11S グロブリンリッチの刈系 434 は 6 ~ 8 mM の間でタンパク質溶解度が大きく減少し, ミヤギシロメもほぼ同様のカルシウム濃度で減少した。IOM は 6 ~ 10 mM で, 刈系 423, ナンブシロメ + オクシロメの豆乳は 8 ~ 10

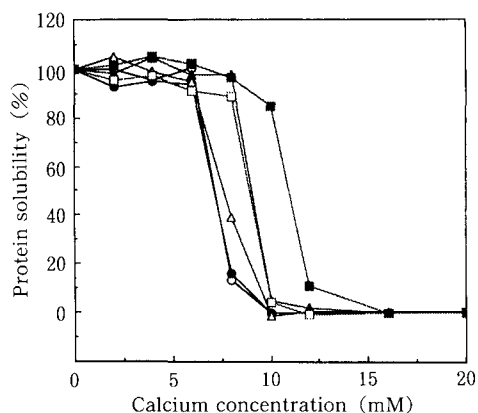


Fig. 3 Effects of calcium on protein solubility of various soymilks

Samples are Karikei 434 (—○—), Miyagisirome (—●—), IOM (—△—), Karikei 423 (—▲—), Nanbusirome+Okusirome (—□—) and GILM (—■—).

mMでタンパク質溶解度が減少した。7SグロブリンリッチのGILMでは10~12 mMでタンパク質溶解度が減少した。11Sグロブリンが多い刈系434の豆乳では、低濃度のカルシウムでタンパク質溶解度が減少し、7Sグロブリンが多いGILMの豆乳では、比較的高いカルシウム濃度で減少した。豆乳中の粒子画分は低濃度のカルシウムで沈澱することが知られ⁴⁾ているが、7Sリッチの粒子画分が少ないGILMでは、タンパク質溶解度の減少に、より多くのカルシウムを必要とした。

次に塩化カルシウムを加えた際のpH変化に対してタンパク質溶解度を取り、Fig. 4に示す。GILMを除く5種類の豆乳ではpH 6.1でタンパク質の溶解度が減少し、7SグロブリンリッチのGILMはpH 5.9で減少した。7Sグロブリンが多い豆乳ではカルシウムにより凝集しやすいタンパク質粒子の形成が少ないこと (Fig. 2) がわかっている。7Sグロブリンの多いGILMでは粒子画分が少なく、タンパク質の凝集に、より多くのカルシウム添加が必要となり、pHのさらなる低下が起こることが明らかになった。

4. 各種豆乳タンパク質の塩化マグネシウム感受性

豆腐を製造する場合、凝固剤として塩化カルシウムに加えて塩化マグネシウムがよく用いられている。そこで、塩化マグネシウムを豆乳に加えた場合の塩化カルシウムとの違いを検討した。Fig. 5に塩化マグネシウムを各種豆乳に加えたときのタンパク質溶解度の変化を示

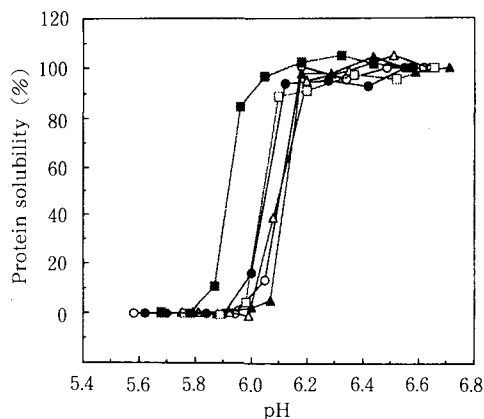


Fig. 4 Effects of pH on protein solubility on the addition of calcium to various soymilks

Symbols are the same as those in Fig. 3.

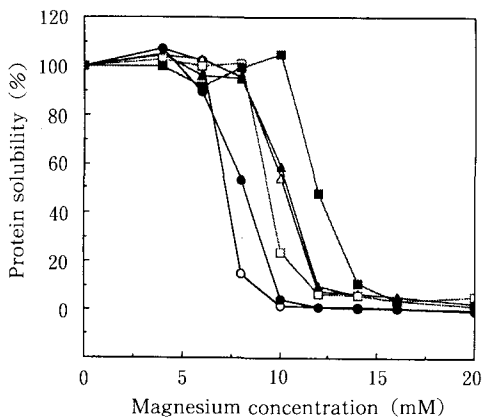


Fig. 5 Effects of magnesium on protein solubility of various soymilks

Symbols are the same as those in Fig. 3.

す。塩化マグネシウムに対するタンパク質の溶解度変化はFig. 3に示した塩化カルシウムの場合と比較すると、タンパク質溶解度が大きく減少するカルシウム及びマグネシウム濃度は、刈系434ではカルシウム、マグネシウムともに6~8 mMの間、ミヤギシロメではカルシウムで6~8 mM、マグネシウムで6~10 mM、IOMではカルシウムで6~10 mM、マグネシウムは8~12 mM、刈系423とナンブシロメ+オクシロメではカルシウムで8~10 mM、マグネシウムで8~12 mM、GILMではカルシウムで10~12 mM、マグネシウムで10~14 mMとなった。刈系434を除いた他の5品種ではタンパク質溶

解度が大きく減少しはじめるマグネシウムの濃度はカルシウムの場合とほぼ同じであったが、その減少の勾配はゆるやかであった。

次に塩化カルシウムと塩化マグネシウム添加によるpH変化に対するタンパク質溶解度をFig. 6に示す。11Sグロブリンリッチの刈系434, IOM, 7SリッチのGILM, 3種類いずれの豆乳も塩化カルシウムよりも塩化マグネシウムの方が0.1 pHが高いところで、タンパク質溶解度の減少が起こっている。豆乳タンパク質のpH低下のみによる凝集は、カルシウム、マグネシウムによるタンパク質溶解度減少時のpHよりも低いpH 5.8

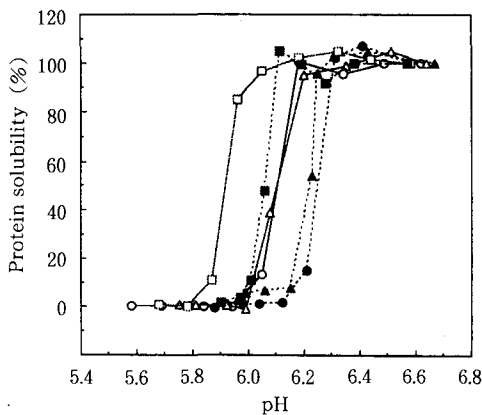


Fig. 6 Effects of pH on protein solubility on the addition of magnesium or calcium to various soymilks

The addition of calcium or magnesium; Karikei 434 (—○—) or (—●—), IOM (—△—) or (—▲—) and GILM (—□—) or (—■—).

付近で起こることが知られている⁴⁾。そのため、カルシウム、マグネシウム添加による凝集は、これらイオンにより凝集が開始され、さらにpHが低下することにより、凝集が促進されると考えられている。マグネシウムによるタンパク質溶解度の減少開始はカルシウムより若干高いpHで起こるため、それに続くpH低下による溶解度減少に至るまでにはカルシウムよりも多量のマグネシウムを必要とする。そのためマグネシウムによるタンパク質溶解度の減少はカルシウムよりもゆるやかに起こるものと考えられる。

5. 各種豆乳のフィチン含量

豆乳に塩化カルシウムを加えた場合、pH低下が起こるが、その原因はタンパク質中のグルタミン酸やアスパラギン酸のカルボキシル基、ヒスチジンのイミダゾール基等にカルシウムが結合する場合⁴⁾¹⁵⁾とフィチンにカルシウムが結合する場合があると考えられている。特にフィチンはダイズ種子中に2~3%含まれているため豆乳中で水素イオンを放出する因子として重要と考えられる。そこで各豆乳のフィチン含量と塩化カルシウムを加えたときのpHの変化をTable 1に示す。6種類すべての豆乳において、塩化カルシウムの添加量にほぼ比例してpHの低下が見られた。このpH低下は生豆乳でもほぼ同じ傾向を示す⁴⁾ことから、タンパク質の加熱変性による影響は少ないと考えられる。そこで、各豆乳について塩化カルシウム濃度0 mMと20 mMのときのpHの差をとりフィチン含量と比較した。pHの差が一番大きい刈系434はフィチン含量が一番多く、pHの差が小さいIOMとGILMはフィチン含量も少なかった。このことから各豆乳のpH低下にフィチン含量が密接な関係を持っていることが示唆される。フィチンは11Sグロブ

Table 1 pHs of various soymilks at various calcium concentrations and amounts of phytate in various soymilks

Various soymilks	CaCl ₂ (mM)						Δ pH*	Amount of phytate (mg/g protein)
	0	4	8	12	16	20		
Karikei434	6.62	6.34	6.05	5.84	5.69	5.58	1.04	79.5
Miyagisirome	6.55	6.28	6.00	5.84	5.70	5.62	0.93	47.4
IOM	6.64	6.35	6.08	5.92	5.81	5.75	0.89	38.7
Karikei423	6.71	6.44	6.18	6.00	5.88	5.79	0.92	53.9
Nanbu+Okusi**	6.66	6.37	6.10	5.89	5.76	5.68	0.98	46.2
GILM	6.58	6.32	6.05	5.87	5.78	5.68	0.90	34.4

* Δ pH is derived by subtracting pH of soymilk at 20 mM calcium from that at 0 mM calcium.

** Nanbusirome+Okusirome

リンよりも7Sグロブリンと親和性が高いという報告¹⁶⁾があり、7SグロブリンリッチのGILMで高フィチン含量が予想されたが、今回の結果ではその逆であった。以上の結果から、フィチン含量の高い豆乳にカルシウムが添加されると、pH低下がより大きく、形成された豆腐カードの物性にも影響があるものと示唆される。

要 約

ダイズの主要なタンパク質である7S及び11Sグロブリンの組成比の異なる6種類のダイズを用いて豆乳を調製し、粒子組成、フィチン含量、カルシウム及びマグネシウムに対するタンパク質の溶解度などについて測定し豆乳の凝固との関連を検討した。

(1) 6種類の豆乳いずれも、加熱処理によりタンパク質よりなる大粒子が減少し、中粒子が増加した。しかし、7SグロブリンリッチのGILMでは中粒子の増加が少なかった。

(2) 11Sリッチの刈系434は塩化カルシウム濃度6~8mMでタンパク質溶解度が減少し、ミヤギシロメも同様であった。IOMは6~10mMで、刈系423とナンブシロメ+オクシロメは8~10mMで、7SリッチのGILMでは10~12mMで減少した。

(3) 各豆乳の塩化カルシウムによるタンパク質溶解度減少時のpHは、7SリッチのGILMではpH5.9、他の5種類の豆乳ではpH6.1付近であった。

(4) 各豆乳に塩化マグネシウムを加えた場合、タンパク質溶解度の減少開始のモル濃度は塩化カルシウムとほぼ同様であったが、その減少割合はゆるやかであった。

(5) 各豆乳のタンパク質溶解度が減少するpHは塩化カルシウムよりも塩化マグネシウムの方が約0.1pH高かった。

(6) 豆乳のフィチン含量が多いほど塩化カルシウムを加えたときのpH低下は大きいことが示された。

本研究において、ダイズを恵与して下さいました岩手大学農学部海妻矩彦教授、並びに東北農業試験場刈和野試験地の皆様へ感謝いたします。

文 献

- 1) UTSUMI, S., DAMODARAN, S. and KINSELLA, J.E. : *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 1406 (1984).
- 2) YAMAGISHI, T., MIYAKAWA, T., NODA, N. and YAMAUCHI, F. : *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 1229 (1983).
- 3) ONO, T., CHOI, M.R., IKEDA, A. and ODAGIRI, S. : *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2291 (1991).
- 4) ONO, T., KATHO, S. and MOTHIZUKI, K. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 24 (1993).
- 5) SAIO, K., KAMIYA, M. and WATANABE, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 1301 (1969).
- 6) KOHYAMA, K. and NISHINARI, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 8 (1993).
- 7) SAIO, K., KOYAMA, E., YAMAZAKI, S. and WATANABE, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 36 (1969).
- 8) LAEMMLI, U.K. : *Nature*, **227**, 680 (1970).
- 9) BRADFORD, M. M. : *Anal. Biochem.*, **72**, 248 (1976).
- 10) MAKOWER, R.U. : *Cereal Chem.*, **47**, 288 (1970).
- 11) MOSS, M.I. and MELLON, M.G. : *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **14**, 931 (1942).
- 12) THANH, V.H. and SHIBASAKI, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 805 (1979).
- 13) WOLF, W.J. and TAMURA, T. : *Cereal Chem.*, **46**, 331 (1969).
- 14) APPU RAO, A.G. and NARASINGA RAO, M.S. : *Cereal Chem.*, **52**, 21 (1975).
- 15) APPU RAO, A.G. and NARASINGA RAO, M.S. : *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 490 (1976).
- 16) BROOKS, J. R. and MORR, C.V. : *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 672 (1984).

(平成6年7月14日受理)