

総 説

大豆から豆乳・豆腐が生成する機構とそれに影響を与える諸因子
(大豆加工における成分相互作用の解明と応用に関する研究)

(平成 19 年度日本食品科学工学会賞)

小 野 伴 忠[§]

岩手大学大学院連合農学研究科

The Mechanism of Soymilk and Tofu Formation from Soybean,
and the Factors Affecting the FormationTomotada Ono[§]United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University,
Ueda 3-18-8, Morioka, 020-8500

1. はじめに

大豆は古来より米を補間する食物として重要で、味噌、醤油、豆乳、豆腐等に加工され利用されてきた。大豆は植物でありながらタンパク質を多量に含み (35%)、さらに、主食である米の制限アミノ酸であるリジン豊富に含んでいる¹⁾。そのため動物タンパク質摂取が少ない米主体の食生活において、大豆は健康との関わりで重要な食品として定着してきた。さらに大豆は油量植物 (20% 含む) としても重要で、しかも、必須脂肪酸であるリノール酸を多量に含み栄養的に優れているが、酸化を受けやすい油である。しかし、多量の不飽和脂肪酸にもかかわらず、伝統的な加工法で製造した味噌や豆腐関連製品は、酸化に対して極めて安定であり、古より我々の健康を支えてきた。味噌や豆腐は加熱しても油がしみ出すことがなく、凍り豆腐ではスポンジ状に空いた穴が空気にさらされているにもかかわらず酸化臭はほとんどなく、保存に耐える製品となっている²⁾。

多くの大豆製品の中でも豆乳・豆腐は、現在、食用大豆消費の半分を占めている。ここでは、「大豆加工における成分相互作用の解明と応用に関する研究」の中心的な課題であった「大豆から豆乳・豆腐が生成する機構とそれに影響を与える諸因子」に関して総説する。

2. 豆乳の生成

飲用の豆乳については製造法の研究等が多数なされているが、いわゆる豆腐用の豆乳についての研究は極めて少な

い。豆乳の白濁が何によるかについても 1990 年代までしっかりと研究はなされていなかった。小野ら³⁾は超遠心による分画遠心分離⁴⁾を用いて、粒子性のものが油滴球だけでなく、豆乳中タンパク質の一部も粒子を形成していることを突き止めた。生の豆乳では、油滴球は大量のタンパク質と結合し超遠心により沈殿するが、加熱すると油滴球からタンパク質が遊離し、オイルボディ様の粒子になることを明らかにした。そして、豆乳中のタンパク質粒子は 40~100 nm の大きさで、加熱により可溶性のタンパク質から形成され、量的にはタンパク質の約半分を占めることを明らかにした。その組成は Utsumi ら⁵⁾が指摘した大豆タンパク質の加熱で生成する高分子会合体と同様に、11S グロブリン (11S) のベジックペプチドと 7S グロブリン (7S) の β サブユニットを多く含んでいた。さらに、大豆をヘキサソ脱脂後調製した脱脂豆乳でも、加熱により同様の粒子タンパク質が生じることが明らかになった⁶⁾。生豆乳から加熱によりどのように油滴球やタンパク質が変化し、豆乳となるのか、Guo ら⁷⁾は加熱に伴う豆乳中成分の変化を追跡した。Fig. 1 に示すように、未加熱では大部分の油滴が超遠心で沈殿する粒子画分に含まれることから、11S を主体とした大量のタンパク質と結合していることが分かる。加熱温度を上げて行くと、65~75°C でタンパク質の一部が遊離し上澄画分に油滴が一部現れ、さらに温度を上げ 90°C 以上でタンパク質がはずれほとんどの油滴が浮上可能になることが明らかとなった。この油滴画分は Kamat ら⁸⁾が脂質と大豆タンパク質を機械的に分散したものは異なり、大豆磨砕画分の加熱によって生成するものであり、そのタンパク質組成からオイルボディと同等のもの⁹⁾

〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

[§] 連絡先 (Corresponding author), tomon@iwate-u.ac.jp

であることが明らかとなった。タンパク質粒子は β コングリシニン (7S の主要成分) の β サブユニットとグリシニン (11S の主要成分) のベーシックペプチドを多く含むことから, 11S が崩壊する 90°C 以上で¹⁰⁾ 形成されるものと考えられる。この加熱による豆乳形成のメカニズムを Ono ら³⁾ および Guo ら⁷⁾ の論文を基に Fig. 2 に簡略図として示す。超遠心で油滴と一緒に沈殿した生粒子は大量の 11S を結合しているが, 65~75°C の加熱で粒子の崩壊が起こり, タンパク質が遊離し油滴球の密度が溶液と同等のものもできる。さらに 85°C 以上で可溶性画分のベーシックペプチドが減少することから粒子タンパク質の形成が考えられ,

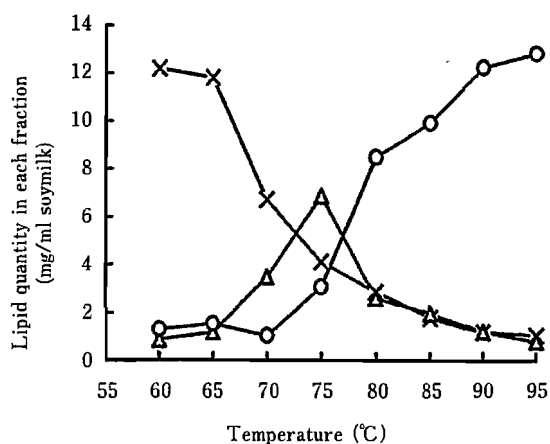


Fig. 1 Lipid quantity in the particulate, soluble, and floating fractions of unheated soymilk at elevated temperature

The unheated soymilk was heated at a specific temperature for 5 min and cooled to 20°C. Particulate (X), soluble (Δ), and floating (O) fractions were obtained by centrifugation at 156 000g for 30 min. (Guo *et al.*⁷⁾, 1997)

遠心加速度の計算から 40~100 nm の粒子であると推定された³⁾。加熱により生成する油滴球に結合しているタンパク質の約 60% はオレオシン (この論文では BX1, BX2) であり⁹⁾, それに 11S, 7S タンパク質が結合してできている。このことからこの油滴球は, オイルボディ (オレオシンのみ結合) にさらに 11S, 7S が結合した形であると考えられた。後に粒度分布計により測定したところ, 油滴粒子は約 400 nm, タンパク質粒子は 80 nm 前後であることが分かっている (Toda ら⁸⁾, 2007)。以上のことから豆乳は 11S, 7S タンパク質を表面の一部に結合したオイルボディ (オイルボディ様粒子) と粒子タンパク質および可溶性タンパク質を主な成分とする乳濁した分散液であると考えられる。分散媒は糖とカリウムなどのミネラルを含む溶液¹⁾ に可溶性タンパク質が溶解した液である。

3. 豆乳から豆腐の形成

豆乳はカルシウム, マグネシウムイオンなどの添加や pH 低下により凝集する。均一に凝集させると豆腐カードを形成する。各種豆腐製品に適合した良質の豆腐を形成させるための多くの研究があり, それらについては小原の総説¹¹⁾ を見ていただきたい。従来, 豆腐の形成については, 大豆タンパク質のゲル形成と同様の機構と理解され, 豆腐もゲルの一種として取り扱われてきた。タンパク質のゲル形成機構については森の総説¹²⁾ を参照いただきたい。さて, 豆乳とよく似た性状の牛乳は, 凝集してカードを形成し, さらに水を排出してチーズへと加工される。ゼリーはゲルであるがカードではない。ゲルとカードの違いは, ゲルでは分子どうしが絡み合って水を抱き込んだ形で固まる現象で, 通常では水を排出して収縮するシネリシスを起こさない。カードでは分子から構成された巨大構造体 (コ

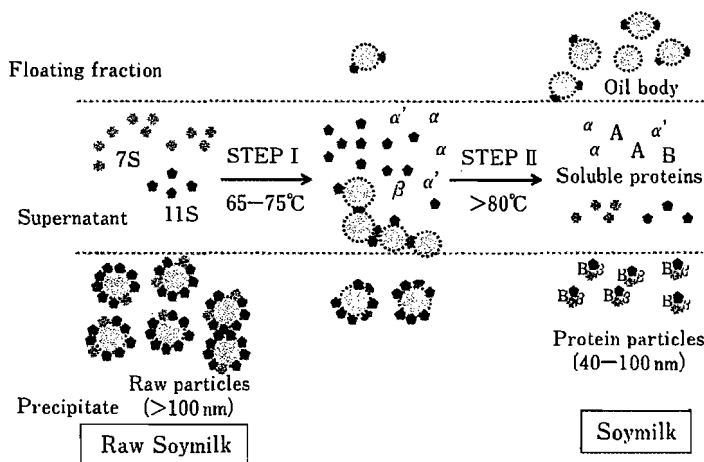


Fig. 2 Schematic diagram of Soymilk formation from raw soymilk by heating, which was induced from Ono *et al.*³⁾ (1991) and Guo *et al.*⁷⁾ (1997)

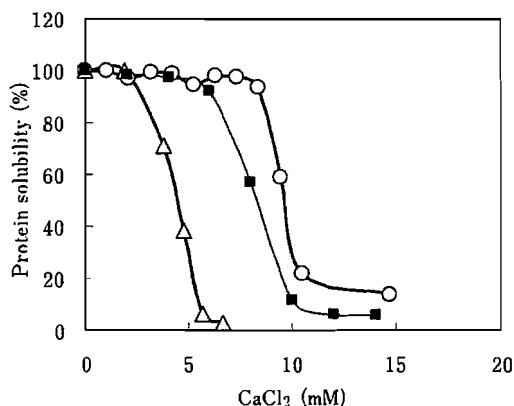


Fig. 3 Effects of Calcium on Protein Solubility in Soy-milk

Particulate protein (Δ) dispersed in ultrafiltrate, soluble protein (\circ) and soymilk (\blacksquare). This figure was prepared from Fig.1 of Ono *et al.*¹¹⁾ (1993).

ロイド) どうしがネットワークを作るように結合し、水を抱え込んで固まる現象で、シネリーシスを起こすのが一般的である。豆乳は油滴球、タンパク質粒子などのコロイドを含む³⁾⁷⁾ことから、豆腐はゲルではなくカードである可能性が高い。豆腐形成をカード形成として研究した事例は1990年代まで無かった。Onoら¹³⁾は豆乳を構成するタンパク質を粒子と可溶性タンパク質に分け、カルシウムに対する凝集性を見た。Fig. 3に示すように、粒子タンパク質は可溶性タンパク質よりも低濃度のカルシウムイオンで凝集することが明らかになった。このことは豆乳に凝固剤を加えたとき、先ず粒子タンパク質の凝集から始まることを意味している。ここで使用した豆乳では、粒子タンパク質と可溶性タンパク質がほぼ同量入っているのに、粒子タンパク質が沈殿し終えた凝固剤濃度で豆乳中タンパク質の約半分が凝集してよいはずである。しかし、豆乳はほとんど凝集沈殿しなかった。これらのタンパク質溶液と豆乳の違いは、油滴球が混在していることである。そこで、Guoら¹⁴⁾は、油滴球と可溶性タンパク質、および油滴球と粒子タンパク質の分散系を作り、それぞれで凝固剤に対するタンパク質の凝集および油滴球の挙動を観察した。Fig. 4aに示すように粒子タンパク質の凝集とともに油滴球の補足も起こっていることが分かった。一方、可溶性タンパク質の場合は、Fig. 4bに示すように、ある一定量の凝固剤濃度までタンパク質および油滴の凝集や補足は起こらないが、可溶性タンパク質から粒子タンパク質が一定量以上生じると凝集が起こることが分かった。これらのことから、豆腐形成は、豆乳に凝固剤を添加すると先ず粒子タンパク質の油滴球への結合で始まり、次に可溶性タンパク質がさらに結合して進行すると考えられる。これらを基にして、小野¹⁵⁾¹⁶⁾は新しい豆腐形成のモデルを提案した。Fig. 5に豆乳から豆腐がいかにして形成されるか、その模式図を示

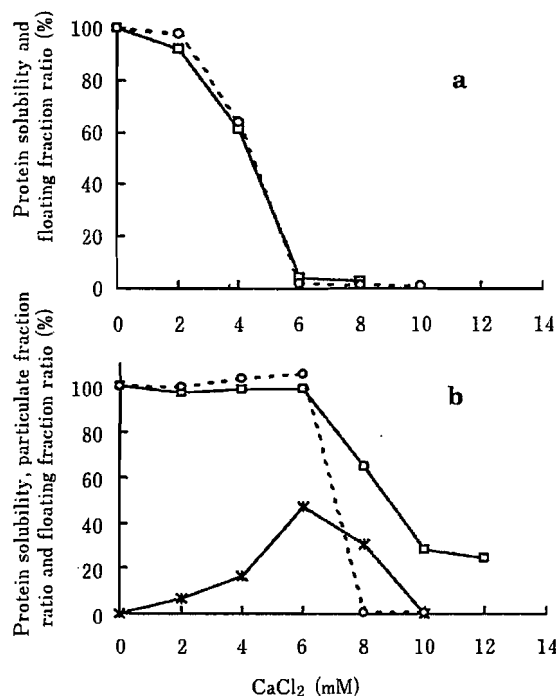


Fig. 4 Changes in protein solubility and floating fraction ratio in dispersions of floating and particulate fractions (a) and floating and soluble fractions (b) at various concentrations of calcium chloride

(\square) protein solubility; (\circ) floating fraction ratio; ($*$) newly formed particulate fraction ratio (Guo *et al.*¹²⁾, 1999)

す。油滴球は、豆乳中ではオイルボディ様粒子であるので表面にオレオシンタンパク質を持ち、凝集することなく安定である。凝固剤が添加されると粒子の反発イオンが中和され、油滴球の周りに粒子タンパク質が結合したブロックができ、会合可能となる。次にこのブロックがネットワーク状に水を抱き込んで結合し、豆腐が形成されて行く。添加された凝固剤が全体に行きわたると、可溶性タンパク質から形成された粒子タンパク質がさらにそのネットワークに結合し、しっかりとした豆腐カードができることになる。豆腐の油滴球はオイルボディタンパク質(オレオシン)、粒子タンパク質、さらに可溶性タンパク質から形成された粒子タンパク質の三層のタンパク質に包まれ、酸化を受けにくい極めて安定な形になっていることが分かる。大豆油はリノール酸に富み、酸化され易い油であるが、三層のタンパク質による包み込みで豆腐が安全で安定な食品になっていることが、この豆腐形成の機構から理解できる。

4. 豆腐形成に影響を与える諸因子

1) 豆乳成分の迅速測定

豆腐の品質は豆乳に大きく依存する。豆乳は用いる大豆

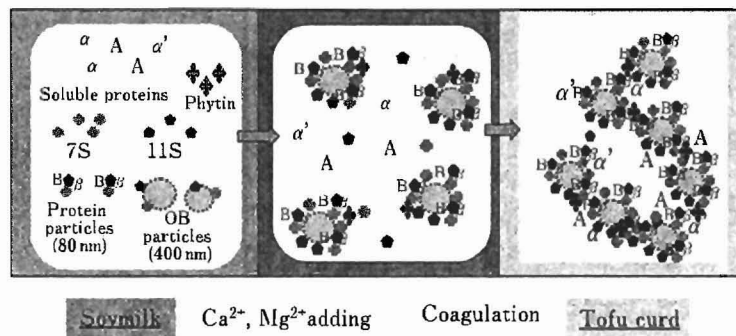


Fig. 5 Formation of Tofu Curd from Soymilk (Speculation)^{18,16)}

An OB particle is packed with oleosin proteins.

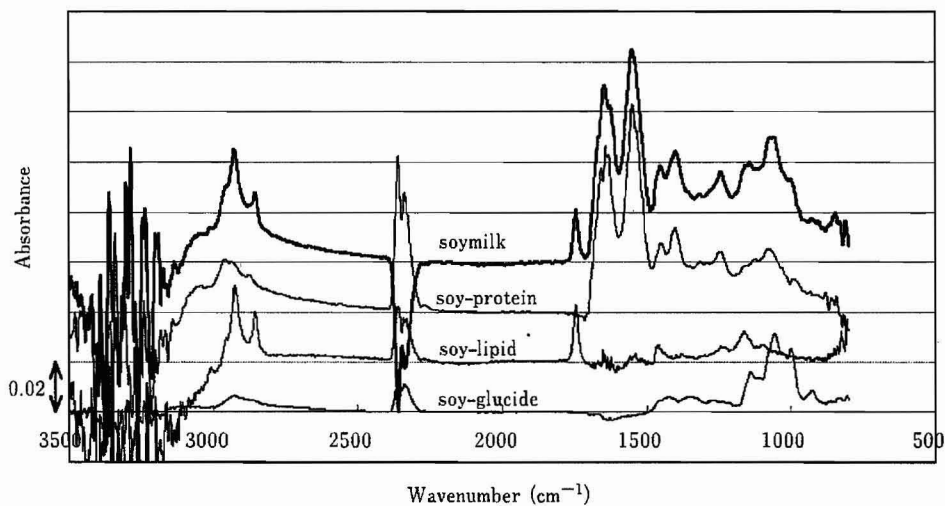


Fig. 6 IR Spectra of Soymilk and Its Components

IR spectra were measured from 4000 to 800 cm^{-1} with a FT-IR spectrophotometer equipped with an ATR apparatus. IR spectra of soymilk, soy-protein, soy-lipid, and soy-sugar are shown in order, from upper site. (Nakasato *et al.*¹⁶⁾, 2004)

や加水率さらには加工条件によって成分量に若干の変動が生じると考えられる。豆乳の固形分濃度は豆乳濃度計などにより迅速測定可能であるが、タンパク質、脂質、糖質など個々の成分含量は、豆乳調製後の迅速測定は困難である。従来、タンパク質の測定には、脂質を何らかの方法で除き³⁾、Bradford法¹⁷⁾を適用するのが一般的であった。脂質はソックスレーを用いた抽出法であり、糖質はタンパク質・脂質を差し引いて求めるか、還元糖の定量で求める。いずれにしても時間のかかる測定である。豆乳と豆腐の関係を研究するためには、豆乳成分の迅速測定が不可欠である。Nakasatoら¹⁸⁾は、赤外分光法を用いた豆乳中主要成分の迅速定量法を開発した。この方法は全反射吸収測定(ATR)試料台を用いて、試料をそのまま液状で測定する方法で、多くの液状食品で適用例^{19)~21)}が知られている。Fig. 6に豆乳およびそのタンパク質、脂質、糖質成分の中赤外領域の吸収を示す。タンパク質はアミド吸収帯、脂質はエステル吸収、糖質はC-O、C-Cの吸収帯を用いて測

定している。この方法では豆乳を直接そのままATR試料台に載せ測定するもので、タンパク質、脂質、糖質含量が1試料わずか数分で同時測定可能である。

2) タンパク質濃度

豆乳の主要成分であるタンパク質についてみると、多くの種類の大豆から調製した豆乳を試料とし解析した結果、タンパク質濃度が高い豆乳ほど硬い豆腐ができることが知られている²²⁾²³⁾。しかしながら、凝固剤によってはその差違を見いだせない場合も多い²⁴⁾。そこでこれらの問題を解決するには、大豆品種間の差違等を無くし、同じ豆乳でタンパク質濃度のみが変化した豆乳を調製する必要がある。Nakasatoら²⁵⁾は高速遠心分離を用いて豆乳から油滴を分離後、限外ろ過によりタンパク質濃度の調整を行い、それらを再構成することによりタンパク質濃度のみが異なる豆乳を調製した。それらを用いて豆乳のタンパク質濃度が高くなるほど豆腐の破断応力が高くなり、硬くなることを明らかにした。

3) 脂質濃度

脂質については、大豆タンパク質と脂質のエマルジョンの加熱ゲル形成において、脂質の添加でゲルは硬くなり、脂肪酸鎖が短くなるほど硬いゲルになると報告^{26)~28)}されている。豆腐は加熱ゲルとは異なりコロイドがカードを作る現象であり、脂質は前述¹⁴⁾¹⁵⁾したようにオイルボディ様粒子の形で存在し、これを核としてタンパク質が覆いブロックが形成され、これらが互いに結合することで豆腐ネットワークが形成される。すなわち、タンパク質によって包まれた油滴粒子が大きな水球を包み込むように互いに結合し胞をつくり、その胞どうしが互いに結合しネットワークを作るものと考えられる。山野²⁹⁾は豆乳にパームの粉末油脂を添加した場合、添加量が多いほどGDL豆腐は硬くなるが、植物油を添加した場合、加えるほど柔らかくなることを報告している。これらの添加油はいわゆる豆腐中の油滴球（オイルボディ様粒子）とは異なり、巨大な油滴が豆腐ネットワークに割り込む形で入っているのが走査電顕で観察されている。それでは、豆腐における豆乳中脂質量の効果とはいかなる条件で測定すべきであろうか。方法としては、豆乳中の油滴球（オイルボディ様粒子）を増加させその効果を見る必要がある。Nakasatoら²⁵⁾は高速遠心分離を用いて豆乳から油滴球を分離し、油滴量を変えて分散し豆乳を再構成した。それによると油滴量がタンパク質とある一定割合の時に豆腐は硬くなり、それ以上でも以下でも硬さは減少することを示した。油滴量が多過ぎるとそれを包むタンパク質量が不足するため、豆腐を作るブロックはタンパク質の包み込みが薄く弱くなるし、油滴量が少ないとブロックそのものの数が少なくなり、タンパク質だけでできた部分が多くなるため弱くなると考えられる。適正な豆腐ネットワーク形成には、脂質とタンパク質のバランスが重要であることが明らかになった。

4) タンパク質の11S/7S比

タンパク質量の場合、含量が多いほど豆腐は固くなる傾向が示された²²⁾²³⁾²⁵⁾が、大豆品種が異なると必ずしもタンパク質濃度だけでは言えないことが指摘されている²⁴⁾。大豆タンパク質の主な成分は11Sグロブリン（グリシニン）と7Sグロブリン（βコングリシニン）からなる。7Sおよび11Sグロブリンリッチの溶液からGDL等によりゲルを作ると11Sリッチの方が硬いゲルを作ることが示され³⁰⁾、それには11Sの遊離SH量が多いほど硬くなることからSS結合の寄与が示唆されている³¹⁾。また、11Sリッチの方が低濃度のカルシウムで凝集することも明らかにされた³²⁾。しかし、これらの性質はタンパク質溶液についての結果であり、実際の豆腐についてはなかった。Skurrayら³³⁾は15種の大豆について、豆腐の硬さと11S/7S比の関係を調べたが、その依存度は小さく、むしろ凝固剤濃度の寄与の方が大きいことを示した。一方、11S、7Sを添加した豆乳では11Sが多いもので確かに硬い豆腐ができる

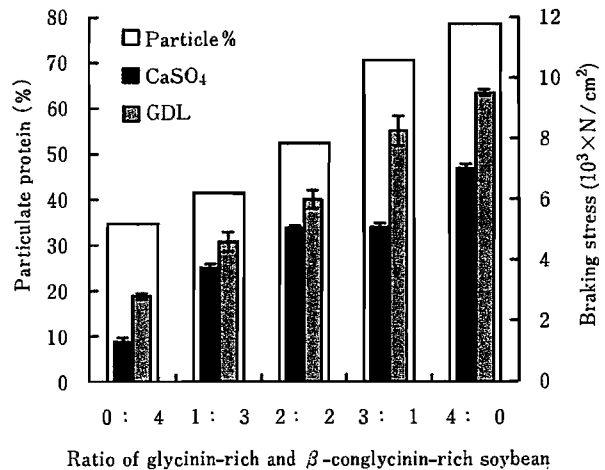


Fig. 7 Comparisons of protein particle content in soy-milk and the breaking stress of tofu curds prepared by mixture glycinin-rich and β-conglycinin-rich soybeans (Guo and Ono³⁹⁾, 2005)

が³⁴⁾、11S/7S比の異なる大豆13品種の比較実験で、11S/7S比よりも豆腐調製手法の方が豆腐の硬さに寄与していることが示された³⁵⁾。大豆品種間の比較では11S/7S比だけが異なるわけではなく、他の成分も変化するため、はっきりとした結果は出にくいものと考えられる。

一方、11S/7S比の大きく異なる6品種の大豆を用いて豆乳の性質を比較したところ、11Sの多いものでは豆乳中の粒子タンパク質量が多くなり、低濃度の凝固剤で凝集することが示された³⁶⁾。Yagasakiら³⁷⁾は、同系統の大豆で11S、7Sのサブユニットが欠損した大豆を使用し、11S/7S比の異なる豆乳・豆腐を作り実験を行った。11S/7S比が大きい豆腐ほど硬くなること、また、7Sが多い豆乳では凝集が緩慢になり、豆腐が作りやすいことなどを示した。

Guoら³⁸⁾は11Sリッチと7Sリッチの大豆を混合し、11S/7S比の異なる豆乳を作り、11Sが多いほど粒子タンパク質量が多くなり、低濃度の凝固剤で凝集が起こることを示した。さらに、GuoとOno³⁹⁾はFig. 7に示すように11Sが多いほど粒子タンパク質量が多くなるとともに豆腐が硬くなることを示した。この機構は豆腐形成のモデル¹⁵⁾¹⁶⁾ (Fig. 5)から説明できる。豆腐形成はオイルボディ様粒子（油滴球）に粒子タンパク質が結合することで始まるため、粒子タンパク質が増加すると油滴球をタンパク質がより厚く包んだブロックが形成され、それらが互いに結合して豆腐ネットワークができるため丈夫な構造となる。

5) タンパク質サブユニットによる変化

11Sグロブリン（グリシニン）および7Sグロブリン（βコングリシニン）は複数のサブユニット分子からなることが知られている。7Sグロブリンはα、α′、βの3種のサブユニットが知られている⁴⁰⁾。11Sグロブリンでは5種のサ

ブユニットが知られ、1次構造の類似性からグループ I ($A_{1a}B_2$; $A_{1b}B_{1b}$; A_2B_{1a}), グループ IIa ($A_5A_4B_3$) とグループ IIb (A_3B_4) に分けられている⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾.

加熱ゲルにおいて、7Sのサブユニットから作ったゲルの硬さは α , α' , β の順になることが知られている⁽⁴³⁾. 一方、グリシニンについては、Nakamuraら⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾がIIaはゲルの濁りに関係し、IIbは硬さに関係することを報告した. さらに、Nishinariら⁽⁴⁶⁾はIIaサブユニットを欠損している大豆からは硬い豆腐ができることを示した. Tezukaら⁽⁴⁷⁾はそれぞれのサブユニットを精製し、 β コングリシニンとの混合物に塩化マグネシウムを加え加熱ゲルを作り、その硬さを測定した. 硬さの順はI, IIb, IIaの順となった. これらはゲルであり豆腐とは異なる. そこで、それぞれのサブユニットを持った大豆を用いて豆乳・豆腐を作り比較したところ、豆乳中の粒子タンパク質量はIIa, IIb, Iの順となり、豆腐の硬さもこの順となった⁽⁴⁸⁾ (Fig. 8). しかし、それぞれ精製したタンパク質のゲルでは、I, IIb, IIaの順であり⁽⁴⁷⁾、豆腐の結果とは異なっている. この違いは豆腐とゲルの違いと考えられ、豆腐は油滴球、粒子タンパク質、可溶性タンパク質などが関係しカードを作ることから、単なるタンパク質ゲルの延長上では語れないことを示している. Poysaら⁽⁴⁹⁾は豆腐の硬さにIIbが重要な寄与をし、IIaはむしろマイナスに働いていること、そしてIは、これを含むと硬くなるが、A2はプラスに働くが、A1はマイナスに働くことを指摘した. この結果はNakamuraら⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾やNishinariら⁽⁴⁶⁾のゲルで行った結果と一致している. さらに、Poysaら⁽⁴⁹⁾はコングリシニンでは α' 無しの方が硬くなることを示した. サブユニットが変化するとタンパク質濃度や11S/7S比なども変化することなどから客観的に比較できる系を如何に作るかが問題になると考えられる. 豆乳中の粒子タンパク質量の比較⁽³⁹⁾なども1つの方法と考えられる.

6) 凝固剤濃度

豆腐の硬さにはタンパク質量や11S/7S比だけでなく、凝固剤濃度も大きく関与する. 豆腐形成のための適正凝固剤濃度は大豆によって異なることが知られていて、その決定は豆腐工業において重要な操作の一つである. 凝固剤濃度決定には電気伝導度の変曲点から取る方法⁽⁵⁰⁾、回転粘度計の最大トルク到達時間から取る方法⁽⁵¹⁾、攪拌滴定で渦巻きが消える点から算出する方法⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾などが考案されている. 各大豆品種から調製した豆腐の硬さを比較する場合、凝固剤濃度をいかにするかは大豆によって異なることが考えられるが、実際の実験では一律の濃度で比較していることが多い. Todaら⁽⁵⁴⁾は6品種の大豆を使い $MgCl_2$ の濃度を変えて豆腐を作ったところ、大豆によって最大破断強度になる濃度が異なることを見いだした. また、タンパク質濃度と硬さの相関はある凝固剤濃度以上にならないと見られないことを報告している. 適性凝固剤濃度が必ずしも最

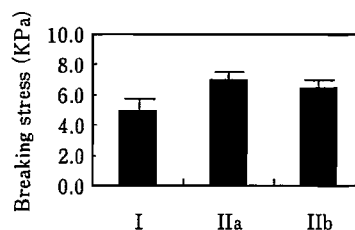


Fig. 8 Breaking stress of tofu curds prepared from soy milks with identical levels of glycinin content.

Values are means \pm standard deviation, $n=7$ per group. Tofu curd containing 13.0% solids was prepared by adding magnesium chloride from the mixture of soybeans having group I (Group I), IIa (Group IIa), and IIb (Group IIb) and soybean having a low content of glycinin. (Tezuka *et al.*⁽⁴⁸⁾, 2000)

大破断強度という訳ではないと考えられ、これらについてはさらなる検討が必要である. LiuとChang⁽⁵⁵⁾は適性凝固剤濃度に影響する因子を解析し、フィチン含量、11S/7S比、滴定酸度、Ca含量等が関与することを示した. GuoとOno⁽³⁹⁾は11S/7S比の異なる豆乳を用いて、豆乳中にできる粒子タンパク質量が11S含量に比例し、凝集に要する凝固剤濃度も少なくなる (Fig. 7) ことを指摘した. 粒子タンパク質は可溶性タンパク質に比べて低凝固剤濃度で凝集するため⁽³⁾、粒子タンパク質が多くなるほど低凝固剤濃度で凝集することになる. Kaoら⁽⁵⁶⁾は、凝固剤濃度を変えた豆腐の走査電子顕微鏡写真から最も均一で緻密な構造を持つ凝固剤濃度を最適凝固剤濃度として決めている. Onoら⁽⁵⁷⁾は11S/7S比の異なる豆乳から凝固剤濃度を変えて豆腐を作り、物性値、保水率を測定するとともに走査電子顕微鏡観察を行い、それらの関連性を見た. 物性値が定常状態になる変曲点で最も均一で緻密な構造となり、11S/7S比が大きいほどその点は低凝固剤濃度へ移動した. 豆腐の硬さはさらに凝固剤濃度が上がると漸増するが、豆腐ネットワークの穴は大きくなり保水率が低下した. これらのことから適性凝固剤濃度は最も緻密な豆腐構造となる破断応力等の変曲点にあると考えられ、それは最大凝固剤濃度とは異なる値であることが分かった. 必ずしも緻密な構造が最も破断応力が高くないのは、タンパク質間の結合力と保水力とのバランスの問題かも知れない. これらの面からのさらなる研究が期待される.

7) 加熱しぼり豆乳と生しぼり豆乳

豆腐用豆乳の作り方として、大豆を磨砕後オカラを除いて加熱する生しぼり法と、磨砕後すぐ加熱したものをろ過する加熱しぼり法がある. 現在、日本で作られている豆腐はほとんどが加熱しぼり法で作られている. 加熱しぼり法の方が硬い豆腐ができることが知られている. 加熱しぼり法ではオカラが加熱時に混在することから、オカラから抽出される何かが豆腐の硬さに関係すると考えられる. 浅野

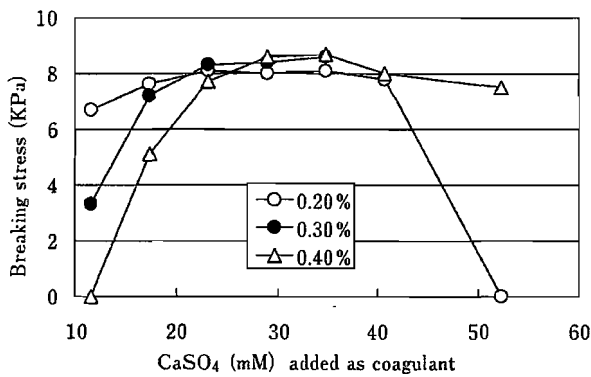


Fig. 9 Effect of Soymilk Phytate Concentration on CaSO₄ Tofu Hardness

Soymilks containing 0.20, 0.30, and 0.40% phytate were prepared by adding potassium phytate (pH 7.0) in soymilk preparation. (Ishiguro *et al.*⁶⁶, 2006)

ら⁵⁸)はオカラを温水で抽出すると糖質や Basic 7S タンパク質が抽出され、さらに糖質は加熱で2倍以上抽出されること⁵⁹)を報告した。Toda ら⁶⁰)は加熱しぼりと生しぼりの豆乳を比較し、加熱しぼりでCaイオン、Basic7S グロブリン、多糖、および粒子タンパク質が増加することを見だし、オカラから加熱抽出されると考えた。特にCaイオンと粒子タンパク質の増加が加熱しぼり豆腐が生しぼりよりも硬くなる原因であると推定している。なぜ粒子タンパク質が増加し、Caイオンがどの様に硬さに関与しているかなどは分かっていない。

8) フィチン含量

豆乳中の糖質は、シュクロースが半分を占め、残り半分はスタキオース、ラフィノースなどのオリゴ糖であるが、基本的には豆腐物性への影響は少ない。しかし、リン酸を持った糖であるフィチン酸(イノシトール6リン酸)は、大豆中に1~3%(豆乳では0.1~0.3%)含まれ、このリン酸残基が豆腐調製で添加される凝固剤と結合可能であるため大きな影響が考えられる。Saio ら⁶¹)は豆乳にフィチンを添加すると、豆腐は柔らかくなるが収量が増加し、凝集反応は緩慢になることを見出した。Ono ら¹³)、手塚ら⁶⁰)は、凝固剤添加でフィチンにCa等のイオンが結合すると水素イオンの放出が起こり、豆乳pHが低下することから、豆腐カード形成にフィチンが重要な役割を演じていることを指摘した。大豆中のフィチンは30℃以上で貯蔵されるとフィターゼにより分解され減少することが明らかにされ⁶²)⁶³)、夏期の貯蔵による大豆の豆腐作製能の変化が考えられる。Hou と Chang⁶⁴)は貯蔵によりフィチンが有意に減少することを確認し、その大豆から豆腐を作ったところ収量は減少し、組織は硬くなった。しかし、フィターゼでフィチンを分解した豆乳から豆腐を作ると、収量は増加し、組織は柔らかくなり、貯蔵大豆による変化とは逆の結果となった。高温での貯蔵では、フィチンだけでなく他の成分

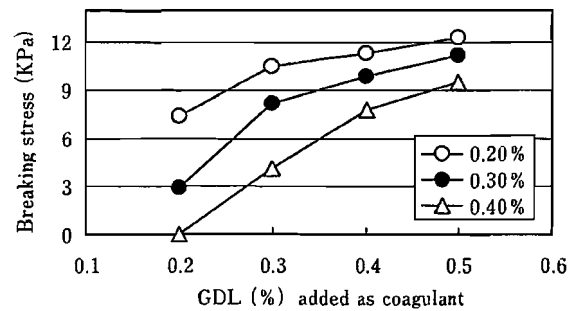


Fig. 10 Effect of Soymilk Phytate Concentration on GDL Tofu Hardness

Soymilks containing 0.20, 0.30, and 0.40% phytate were prepared by adding potassium phytate (pH 7.0) in soymilk preparation. (Ishiguro *et al.*⁶⁶, 2006)

変化も起こることから、他の効果の方が大きく寄与したものと考えられる。これらの結果では、フィチン添加およびフィターゼによるフィチンの分解のどちらでも豆腐収量は増加し、組織は柔らかくなっている。フィチンは増加しても減少しても同様の効果が現れるのであろうか。Toda ら⁶⁵)は、収穫年や地域の異なる3品種の大豆を用いてフィチン含量の変化が豆腐に与える影響を調べた。使用した凝固剤濃度が低めの場合、フィチン含量が多いものほど豆腐は柔らかくなるが、使用凝固剤濃度が高くなるとその傾向は消失した。この傾向は11S/7S比の小さい凝固剤を多く要求する³⁹)品種で顕著であり、十分な凝固剤添加でその傾向は消失することが明らかになった。Ishiguro ら⁶⁶)はフィチン含量を調整した豆乳で凝固剤濃度を変えて豆腐を作ったところ、Fig. 9に示すように豆腐が固くなるにはフィチン含量が多い豆乳ほど凝固剤量も多く必要とすることを明らかにした。CaやMgイオンからなる凝固剤ではフィチンが多いほどそのリン酸残基への結合に消費されるためと考えられる。しかし、pH低下の凝固剤であるGDLでもFig. 10に示すように同様の現象が見られた。フィチンが多いとGDLによるpH低下が抑えられるため、特定の硬さに達するにはより多くのGDLを必要とした。フィチンはpH低下に対する緩衝作用をもつことが明らかとなった。さらに、畑地と水田転換畑で栽培した27種の大豆のフィチン含量を測定したところ、畑地と水田転換畑で含量が大きく異なる品種と変化の少ない品種があった。フィチン含量が少なく栽培畑間で含量の異なる大豆は豆腐が作り難いと言われている品種が多く、フィチン含量が高く栽培畑間で含量に変化が少ない品種には優良豆腐品種として用いられているナンブシロメ、エンレイ、オオスズ等が含まれていた。これらのことから、フィチン含量の変動は凝固剤添加量の決定を難しくし、豆腐を作り難くする原因の1つと考えられる。

9) フィチンの簡便測定法

大豆あるいは豆乳のフィチン含量を簡便に測定できると、豆腐形成に影響するフィチン含量の研究や豆腐形成時の凝固剤添加量決定に有用である。フィチンの測定は、古くから多くの方法が開発されてきた。ThompsonとErdman⁶⁷⁾は1982年にそれまでの多くの方法を比較検討し、最も簡便な方法として3% TCA+10% Na₂SO₄で抽出後、従来の鉄沈殿法で沈殿させたものを1.2% HClで溶解したものを測定する方法を提案した。この方法は従来のMakwer法⁶⁸⁾等の改良法と考えることができる。さらに沈殿法での沈殿を溶解し湿式分解後モリブデンブルー法で比色分析する方法⁶⁹⁾等も考案された。一方、AOAC法としても取り上げられたイオン交換カラムを用いる方法⁷⁰⁾では、リン酸残基数の異なるイノシトールリン酸(フィチン)を分別定量できる。さらに、この方法は改良されて高速液体クロマトグラフィ法⁷¹⁾となり、短時間での測定が可能となっている。しかし上記従来法の改良法では煩雑な多段階の操作を必要とするし、イオン交換法の場合はHPLC法であっても時間がかかるため、簡便な測定とは言い難い。Ishiguroら⁷²⁾は豆乳・豆腐の製造現場で適用できるように、生豆乳中フィチンの簡便測定法を開発した。この方法ではpH11~12でフィチンがCaイオン添加で沈殿することを利用し、この沈殿をクエン酸で溶解後、ATR試料台を用いてFT-IR測定を行う方法である。さらに、大豆製品一般にも適用するため抽出法を改良し⁷³⁾、上記同様の方法を可能にした。この方法では抽出、沈殿、溶解までの操作およびFT-IR測定が短時間で簡便に操作可能であり、多検体試料の比較⁶⁶⁾等にも効力を発揮した。

5. おわりに

豆乳・豆腐は日本に渡来してから1000年以上の歴史を持つあまりにも身近な食品である。そのためか製造法等にちなんだ研究は多いが、基礎的な研究は少ないように思われる。豆腐が固まることは、なぜか当たり前のことのように考えられ、また、リノール酸に富む油量作物であるにもかかわらず、豆腐に大量の油が含まれていることは忘れがちである。また最近、大豆の機能性成分にばかり目が行き、米が主食の日本人にとって不足しがちなリジンと補填してくれる優良なタンパク質源であることを忘れてはいないだろうか。

豆乳は性状が牛乳とよく似ているだけでなく、構成物の形態【油滴球(脂肪球)、タンパク質粒子(カゼインミセル)、可溶性タンパク質、糖質、ミネラル】もよく似ている。牛乳は豆乳とは異なる呼び方(かっこ内)だが豆乳同様に脂質とタンパク質の粒子である。牛乳は古くからカゼインミセルによるカード形成が知られていたが、豆乳では粒子タンパク質の存在が知られていなかった。牛乳では37°C前後の酵素反応により粒子の糖鎖を切断することでカード

形成するが、豆乳では90°C前後のタンパク質変性が関与して形成される。そのため豆乳のカード形成は牛乳と異なり核になるのは疎水性の油滴球である。加熱変成により疎水性表面をもつ粒子タンパク質は、凝固剤添加で粒子間の反発イオンが中和されると油滴球を包むように結合し、さらに水を安定化する糖鎖を多く含む可溶性タンパク質が結合し、カード形成が達成される。油滴球はオレオン、粒子タンパク質、可溶性タンパク質で3重に包まれ、さらに水を抱え込んで極めて安定な豆腐となる。このように豆腐は油とタンパク質が見事に融合し水を抱え込んだ食品であり、大豆に含まれる不快味を消す⁷⁴⁾だけでなく、油やタンパク質も感じさせないヘルシー感覚の食品となっている。この伝統的技術に支えられた脂質とタンパク質の融合メカニズムが明らかになったことで、この原理を新たな食品へ応用する道が開けるものと期待している。

この総説はあまりにも身近で学術にはそれほど関係なさそうな豆乳や豆腐についてまとめたものです。幸運にも2007年10月に「大豆加工における成分相互作用の解明と応用に関する研究」で日本食品科学工学会賞を受賞しました。この賞に推薦して下さいました宮城大学食産業学部教授鈴木建夫先生、また多くの労を執っていただいた下山田真先生に心から感謝いたします。20年前に大豆研究へ誘って下さった現在北海道大学大学院農学研究院教授喜多村啓介先生には一方ならぬ支援と励ましを戴きました。ここに厚く御礼いたします。また、ともに研究した国や地方の研究所の方々、私のもとで学位の研究を頑張られた方々、卒論研究で頑張られた方々の力なくしてこの研究は達成できませんでした。皆さんの力の結晶をこの総説に少しでもまとめられれば労に報えるものと思っています。また、私の今あるを導いて下さった恩師、諸先輩の方々、本当に有り難うございました。

文 献

- 1) 科学技術庁資源調査会編、五訂日本食品標準成分表、大蔵省印刷局(2000)。
- 2) 小野伴忠、郭 順堂、ダイズ製品中の脂質の安定性、化学と生物、37、290-292(1999)。
- 3) Ono, T., Choi, M.R., Ikeda, A. and Odagiri, S., Changes in the composition and size distribution of soymilk protein particles by heating. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2291-2297(1991)。
- 4) Ono, T., Murayama, T., Kaketa, S. and Odagiri, S., Changes in the protein composition and size distribution of bovine casein micelles induced by cooling. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1385-1392(1990)。
- 5) Utsumi, S., Damodaran, S. and Kinsella, J.E., Heat-induced interactions between soybean proteins: preferential association of 11S basic subunits and β subunits of 7S. *J. Agric. Food Chem.*, 32, 1406-1412(1984)。
- 6) Ono, T., Takeda, M. and Guo, S.T., Interaction of protein particles with lipids in soybean milk. *Biosci. Biotech.*

- Biochem.*, **60**, 1165-1169 (1996).
- 7) Guo, S.T., Ono, T. and Mikami, M., Interaction between protein and lipid in soybean milk at elevated temperature. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4601-4605 (1997).
 - 8) Kamat, V.B., Graham, G.E. and Davis, M.A.F., Vegetable protein : lipid interactions. *Cereal Chem.*, **55**, 295-307 (1978).
 - 9) Tzen, J.T.C., Lai, Y.K., Chan, K.L. and Huang, A.H.C., Oleosin isoforms of high and low molecular weights are present in the oil bodies of diverse seed species. *Plant Physiol.*, **94**, 1282-1289 (1990).
 - 10) Sorgentini, D.A., Wagner, J.R. and Anon, M.C., Effects of thermal treatment of soy protein isolate on the characteristics and structure-function relationship of soluble and insoluble fractions. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2471-2479 (1995).
 - 11) 小原忠彦, 総説：豆腐, 凍り豆腐製造における豆乳の凝固に関する研究, 日食工誌, **41**, 942-952 (1994).
 - 12) 森 友彦, 食品ゲルの構造形成とテクスチャー解析に関する研究, 食科工, **47**, 873-881 (2000).
 - 13) Ono, T., Katho, S. and Mothizuki, K., Influences of calcium and pH on protein solubility in soybean milk. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 24-28 (1993).
 - 14) Guo, S.T., Ono, T. and Mikami, M., Incorporation of soy milk lipid into protein coagulum by addition of calcium chloride. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 901-905 (1999).
 - 15) 小野伴忠, 牛乳と豆乳におけるタンパク質会合体. *New Food Industry*, **41**, 65-78 (1999).
 - 16) Ono, T., The mechanisms of curd formation from soybean milk to make a stable lipid food. *Proceedings of ISPUC-III* (Tsukuba), 51-52 (2000).
 - 17) Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254 (1976).
 - 18) Nakasato, K., Ono, T., Ishiguro, T., Takamatsu, M., Tsukamoto, C. and Mikami, M., Rapid quantitative analysis of the major components in soymilk using Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). *Food Sci. Tech. Res.*, **10**, 161-166 (2004).
 - 19) Defomez, M., Kemsley, E.K. and Wilson, R.H., Use of infrared spectroscopy and chemometrics for the authentication of fruit purees. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 109-113 (1995).
 - 20) Edelmann, A., Diewok, J., Schuster, K.C. and Lendl, B., Rapid method for the discrimination of red wine cultivars based on mid-infrared spectroscopy of phenolic wine extracts. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 1139-1145 (2001).
 - 21) Guillen, M.D. and Cabo, N., Usefulness of the frequency data of the Fourier transform infrared spectra to evaluate the degree of oxidation of edible oils. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 709-719 (1999).
 - 22) Wang, H.L., Swain, E.W. and Kwolek, W.F., Effect of soybean varieties on the yield and quality of tofu. *Cereal Chem.*, **60**, 245-248 (1983).
 - 23) Shen, C.F., deMan, L., Buzzell, R.I. and deMan, J.M., Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics : glucono- δ -lactone coagulant. *J. Food Sci.*, **56**, 109-112 (1991).
 - 24) Lim, B.T., deMan, J.M., deMan, L. and Buzzell, R.I., Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics. Calcium sulfate coagulant. *J. Food Sci.*, **55**, 1088-1092 (1990).
 - 25) Nakasato, K., Ono, T., Wada, T. and Takamatu, M., in preparation. (農化2004大会講演要旨集 : 83 (2004)).
 - 26) Catsimpoalas, N. and Meyer, E.W., Gelation phenomena of soybean globulins. III. Protein-lipid interactions. *Cereal Chem.*, **48**, 159-167 (1971).
 - 27) Shimada, K. and Matsushita, S., Effects of oils on thermal gelation of soybean protein. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2877-2881 (1981).
 - 28) Miura, M. and Yamauchi, F., Rheological behavior of soybean protein-lipid-water gel, from a small distortion to rupture. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2449-2455 (1984).
 - 29) 山野善正, 大豆タンパク質-油-水系のゲル形成と物性, 「食品の物性 第15集」松本, 山野編, pp. 203-222 (1990).
 - 30) Saio, K., Kamiya, M. and Watanabe, T., Food processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins. I. Effect of difference of protein components among soybean varieties on formation of tofu-gel. *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 1301-1308 (1969).
 - 31) Saio, K., Kajikawa, M. and Watanabe, T., Food processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins. II. Effect of sulfhydryl groups on physical properties of tofu-gel. *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 890-898 (1971).
 - 32) Saio, K., Watanabe, T. and Kaji, M., Food use of soybean 7 S and 11 S proteins. Extraction and functional properties of their fractions. *J. Food Sci.*, **38**, 1139-1144 (1974).
 - 33) Skurray, G., Cunich, J. and Carter, O., The effect of different varieties of soybean and calcium ion concentration on the quality of tofu. *Food Chem.*, **6**, 89-95 (1980).
 - 34) Ji, M.P., Cai, T.D. and Chang, K.C., Tofu yield and textural properties from three soybean cultivars as affected by ratios of 7S and 11S proteins. *J. Food Sci.*, **64**, 763-767 (1999).
 - 35) Cai, T.D. and Chang, K.C., Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 720-727 (1999).
 - 36) 手塚正教, 小野伴忠, 伊東哲雄, 品種の異なるサイズから調製した豆乳の性質. 日食工誌, **42**, 556-561 (1995).
 - 37) Yagasaki, K., Kousaka, F. and Kitamura, K., Potential improvement of soymilk gelation properties by soybeans with modified protein subunit compositions. *Breeding Science*, **50**, 101-107 (2000).
 - 38) Guo S.T., Tsukamoto, C., Takahashi, K., Yagasaki, K., Nan, Q.X. and Ono, T., Incorporation of soymilk lipid into soy-protein coagulum by the addition of calcium chloride. *J. Food Sci.*, **67**, 3215-3219 (2002).
 - 39) Guo, S.T. and Ono, T., The role of composition and content of protein particles in soymilk on tofu curdling by glucono- δ -lactone or calcium sulfate. *J. Food Sci.*, **70**, C258-262 (2005).
 - 40) Thanh, V.H. and Shibasaki, K., Major proteins of soybean seeds : subunit structure of β -conglycinin. *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 692-695 (1978).
 - 41) Nielsen, N.C., Dickinson, C.D., Cho, T., Thanh, V.H., Scallan, B.J. and Fischer, R.L., Characterization of the glycinin gene family in soybean. *Plant Cell*, **1**, 313-328 (1989).
 - 42) Yagasaki, K., Kaizuma, N. and Kitamura, K., Inheritance of glycinin subunits and characterization of glycinin molecules lacking the subunits in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Breeding Science*, **46**, 11-15 (1996).
 - 43) Mohamad Ramlan, B.M.S., Maruyama, N., Takahashi, K., Yagasaki, K., Higasa, T., Matsumura, Y. and Utsumi, S., Gelling properties of soybean β -conglycinin having different subunit compositions. *Biosci. Biotech. Biochem.*

- 68, 1091-1096 (2004).
- 44) Nakamura, T., Utsumi, S., Kitamura, K., Harada, K. and Mori, T., Cultivar difference in gelling characteristics of soybean. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 647-651 (1984).
- 45) Nakamura, T., Utsumi, S. and Mori, T., Formation of pseudo glycinin from intermediary subunits of glycinin and their gel properties and network structure. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 2733-2740 (1985).
- 46) Nishinari, K., Kohyama, K., Zhang, Y., Kitamura, K., Sugimoto, T., Saio, K. and Kawamura, Y., Rheological study on the effect of the AS subunit on the gelation characteristics of soybean protein. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 351-355 (1991).
- 47) Tezuka, M., Yagasaki, K. and Ono, T., Changes in characters of soybean glycinin group I, IIa, and IIb caused by heating. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 1693-1699 (2004).
- 48) Tezuka, M., Taira, H., Igarashi, Y., Yagasaki, K. and Ono, T., Properties of tofus and soy milks prepared from soybeans having different subunits of glycinin. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1111-1117 (2000).
- 49) Poysa, V., Woodrow, L. and Yu, K., Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. *Food Res. Int.*, **39**, 309-317 (2006).
- 50) 小原忠彦, 酒井武一, 松橋鉄治郎, 電気伝導度計による豆乳の凝固剤適量の計測, 日食工誌, **39**, 406-411 (1992).
- 51) 小原忠彦, 黒河内邦夫, 大日方洋, 松橋鉄治, 回転粘度計による豆乳凝集工程の計測, 日食工誌, **39**, 578-585 (1992).
- 52) 大村芳正, 豆腐製造における凝固剤適量の迅速測定法, 徳島県立工技センター報, **2**, 123-126 (1993).
- 53) Liu, Z.S. and Chang, K.C., Development of a rapid titration method for predicting optimal coagulant concentration for filled tofu. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 5214-5221 (2003).
- 54) Toda, K., Ono, T., Kitamura, K., Hajika, M., Takahashi, K. and Nakamura, Y., Seed protein content and consistency of tofu prepared with different magnesium chloride concentration in six Japanese soybean varieties. *Breeding Science*, **53**, 217-223 (2003).
- 55) Liu, Z.S. and Chang, S.K.C., Effect of soy milk characteristics and cooking conditions on coagulant requirements for making filled tofu. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 3405-3411 (2004).
- 56) Kao, F.J., Su, N.W. and Lee, M.H., Effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions in tofu whey. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 6211-6216 (2003).
- 57) Ono, T., Onodera, Y., Toda, K. and Nakasato, K., in preparation. (日食工 53 回大会講演集: 124 (2006).)
- 58) 浅野三夫, 大久保一良, 山内文男, 大豆からの浸出成分挙動に及ぼす浸漬温度の影響. 日食工誌, **36**, 636-642 (1989).
- 59) 浅野三夫, 大久保一良, 山内文男, 大豆の温水浸漬によるオリゴ糖の浸出挙動. 日食工誌, **38**, 770-775 (1991).
- 60) Toda, K., Chiba, K. and Ono, T., Effect of components extracted from okara on the physicochemical properties of soymilk and tofu texture. *J. Food Sci.*, **72**, C108-113 (2007).
- 61) Saio, K., Koyama, E., Yamazaki, S. and Watanabe, T., Protein-calcium-phytic acid relations in soybean. III. Effect of phytic acid on coagulative reaction in tofu making. *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 36-42 (1969).
- 62) Thomas, R., deMan, J.M. and deMan, L., Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 777-782 (1989).
- 63) Nakagawa, Y., Effect of storage temperature on tofu-processing property and phytic acid in soybean. *Proceedings of ISPUC-III* (Tsukuba), 142-143 (2000).
- 64) Hou, H.J. and Chang, K.C., Yield and textural properties of tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. *J. Food Sci.*, **68**, 1185-1191 (2003).
- 65) Toda, K., Takahashi, K., Ono, T., Kitamura, K. and Nakamura, Y., Variation in the phytic acid content of soybeans and its effect on consistency of tofu made from soybean varieties with high protein content. *J. Sci. Food Agric.*, **86**, 212-219 (2006).
- 66) Ishiguro, T., Ono, T., Wada, T., Tsukamoto, C. and Kono, Y., Changes in soybean phytate content as a result of field growing conditions and influence on tofu texture. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **70**, 874-880 (2006).
- 67) Thompson, D.B. and Erdman, W., JR., Phytic acid determination in soybeans. *J. Food Sci.*, **47**, 513-517 (1982).
- 68) Makower, R.U., Extraction and determination of phytic acid in beans. *Cereal Chem.*, **47**, 288-295 (1970).
- 69) Mohamed, A., Perera, P.A.J. and Hafez, Y.S., New chromophore for phytic acid determination. *Cereal Chem.*, **63**, 475-478 (1986).
- 70) Harland, B.F. and Oberleas, D., Anion-exchange method for determination of phytate in food: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **69**, 667-670 (1986).
- 71) Sandberg, A.S. and Aherine, R., HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta- and hexaphosphates in foods and intestinal contents. *J. Food Sci.*, **51**, 547-550 (1986).
- 72) Ishiguro, T., Ono, T., Nakasato, K., Tsukamoto, C. and Shimada, S., Rapid measurement of phytate in raw soymilk by mid-infrared spectroscopy. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **67**, 752-757 (2003).
- 73) Ishiguro, T., Ono, T., Nakasato, K. and Tsukamoto, C., Rapid measurement of phytate in soy products by mid-infrared spectroscopy. *J. Food Sci.*, **70**, 63-66 (2005).
- 74) Mahfuz, A. al, Tsukamoto, C., Kudo, S. and Ono, T., Changes of astringent sensation of soy milk during tofu curd formation. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 7070-7074 (2004).

(平成 19 年 11 月 19 日受理)