

# 凍り豆腐の調理過程におけるタンパク質の溶出と テクスチャーの関係

## Effect of protein elution on the texture of *Kori-tofu* during the cooking process

戸松美紀子・森久 瞳・木村 留美・住田 尚子・水尾 和雅・杉山 寿美  
TOMATSU Mikiko, MORIHISA Hitomi, KIMURA Rumi, SUMIDA Naoko,  
MIZUO Kazumasa and SUGIYAMA Sumi

We investigated changes in hardness, amount of protein and fat eluted, and the composition of eluted protein, when *Kori-tofu* was heated in buffer solutions with different pHs, and in the presence of NaCl or sucrose.

Compared to heating in a pH 3.0 buffer, *Kori-tofu* heated in a pH 7.0 buffer eluted more protein and fat, and was softer. Higher buffer concentrations at pH 7.0 and at pH 3.0 had the effect of decreasing and increasing protein elution, respectively. Higher protein and fat elution levels were associated with softer texture. SDS-PAGE patterns of proteins eluted in the buffer showed that  $\alpha$ ,  $\alpha'$  subunits and acidic peptides were eluted at pH 6.0, and  $\beta$  subunits and basic peptides were eluted at pH 7.0, while retaining their disulfide bonds. When heated in a pH 7.0 buffer solution containing 1% NaCl, *Kori-tofu* became harder and the amount of eluted protein and fat decreased. Conversely, when heated in the presence of 5% sucrose, the *Kori-tofu* became soft and the amount of eluted protein and fat increased. It has been suggested that the amount of fat eluted was very small when the *Kori-tofu* is heated in buffer and oil, implying that the oil-body is stable in the protein network and that fat elutes from, and fluctuates within, the protein network.

The results showed that heating *Kori-tofu* in a pH 7.0 buffer solution causes some of the basic polypeptides and  $\beta$  subunits to elute, softening the *Kori-tofu*. Furthermore, this softening of the *Kori-tofu* is suppressed by NaCl and promoted by sucrose.

### 1 緒言

豆腐は、豆乳をにがり ( $MgCl_2$ ) やすまし粉 ( $CaSO_4$ ), グルコノデルタラクトンで凝固させたものである。豆乳や豆腐に含まれる脂質やタンパク質の存在形態は、OnoやGuoらによって報告されている<sup>1-3)</sup>。豆乳中では、脂質はオレオシタンパク質で覆われたオイルボディとして存在し、グリシニン (11S),  $\beta$ -コングリシニン (7S) と結合、巨大粒子を形成しているが、加熱によりオイルボディとタンパク質は乖離し、グリシニン、 $\beta$ -コングリシニンは加熱変性し、グリシニンはAcidicペプチドとBasicペプチドに、 $\beta$ -コングリシニンは $\alpha$ ,  $\alpha'$  サブユニット,  $\beta$  サブユニットに乖離する。乖離したタンパク質のうち、親水性のAcidicペプチドと2つの糖鎖を有する $\alpha$ ,  $\alpha'$  サブユニットは

可溶性であり、一方、疎水性のBasicペプチドと糖鎖が1つで電荷が少ない $\beta$ サブユニットは凝集しやすく、疎水結合や水素結合で結合し安定化しようとする（ジスルフィド結合（S-S結合）の寄与は小さい<sup>4</sup>）。そして、にがり（ $MgCl_2$ ）等が加えられることで生成される豆腐中では、オイルボディがBasicポリペプチドや $\beta$ サブユニットが主体となって形成している粒子に覆われ、その周囲に可溶性タンパク質である $a$ 、 $a'$ サブユニット、AcidicペプチドがS-S結合によって結合する<sup>5</sup>。そして、この粒子表面への $a$ 、 $a'$ サブユニット、Acidicペプチドの結合は、さらなる巨大粒子の形成を阻止している。

本研究の対象である凍り豆腐（高野豆腐）は、豆腐を凍結乾燥する過程で生成した氷結晶間でタンパク質が濃縮され、凍結変性し接近したタンパク質分子間でS-S結合が形成されている<sup>6</sup>。さらに、水素結合、疎水結合も関与してタンパク質分子の会合不溶化が起こり、解凍によって弾力のある密なスポンジ状組織が形成される<sup>6,7</sup>。田村は、凍り豆腐の加熱調理をアルカリ性で行うことで、スポンジ構造を形成している不溶化したタンパク質の一部が溶出し、網目状構造を作っている格子を緩ませ、吸水膨潤、しなやかな状態になるとし、タンパク質溶出率、体積増加率、軟らかさについて報告している<sup>7</sup>。しかし、タンパク質の溶出と加熱調理に着目した研究は他に見当たらず、阿部が凍り豆腐の加熱時間は30分が好ましく、食塩や醤油よりも砂糖やみりんで軟化するとした報告のみである<sup>8</sup>。

すなわち、凍り豆腐のタンパク質の一部を溶出しながらも煮崩れしていない状態に加熱調味し、噛みしめるときに好ましいテクスチャーとするための、タンパク質の溶出の程度とpHや塩濃度の影響は明らかでなく、さらにタンパク質に含まれた脂肪の変動も明確ではない。これらのことから、本研究では、異なるpH、異なる濃度の緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、タンパク質と脂肪の溶出量、溶出したタンパク質の組成を把握し、さらに、NaCl、スクロース存在下での加熱の影響を検討した。

## 2 方法

### 2.1 試料調製

凍り豆腐（ひとくちの凍り豆腐、株式会社コーポレーション）は80℃の温湯中に10分間つけて戻し、流水中で白濁水がでてこなくなるまで5回押し洗った。その後、布巾に挟んで押し水気をとった。これを4等分（1片あたりの重量：約2g）し、50-200mMの緩衝液20ml中で15分間加熱した。緩衝液は、酒石酸緩衝液（pH3.0）、酢酸緩衝液（pH6.0）、リン酸緩衝液（pH7.0）を用いた。なお、1%NaClあるいは5%スクロースを含む酢酸緩衝液（pH6.0）、リン酸緩衝液（pH7.0）についても同様に行った。加熱後の凍り豆腐は、葉さじ2本で押し、内部の水分も加熱緩衝液に加えた。加熱緩衝液は蒸留水で20mlとした。なお、予備実験においてpH2.0からpH8.0の緩衝液中で凍り豆腐を加熱し、形状維持が認められた範囲での検討とした。

### 2.2 凍り豆腐のテクスチャー測定

緩衝液中で加熱した試料の硬さは、EZ-S（島津製作所）を用いて測定した。試料のサイズは、縦1cm×横1.2cm×厚さ9mmとし、クリアランス5mmで、くさび型プランジャーを用いて測定した。得られた最大荷重を硬さとした。

### 2.3 凍り豆腐から緩衝液中に溶出したタンパク質の定量とSDS-PAGE

加熱緩衝液中に溶出したタンパク質は、Bradford法で定量した。試料溶液80 $\mu$ lを試験管にとり、5倍希釈したタンパク質定量試薬（Bio-Rad, Protein Assay Reagent）800 $\mu$ lを加えてタッチミキサーで振とう、590nmの吸光度を測定した。対照には、試料溶液80 $\mu$ lに蒸留水を800 $\mu$ l加えたものを用い

た。ウシ血清アルブミン（ナカライテスク）を標準タンパク質として、検量線を作成した。算出したタンパク質量は、加熱前の凍り豆腐100gあたりで示した。

SDS-PAGEはLaemmliの方法で行った。試料20  $\mu$ lは、10%SDS溶液7  $\mu$ l,  $\beta$ -Me7  $\mu$ l, 0.2%BPB溶液2  $\mu$ l, 50%グリセリン溶液20  $\mu$ l, 500mMトリス塩酸緩衝液 (pH6.8) 20  $\mu$ lと混合、沸騰浴中で2分間加熱した（終濃度は1%SDS, 9%  $\beta$ -Me, 14%グリセリン, 143mMトリス塩酸緩衝液）。また、 $\beta$ -Meの代わりに10M 尿素40  $\mu$ lを加えたものも調整した（終濃度は0.6%SDS, 3.6M尿素, 9%グリセリン, 90mMトリス塩酸緩衝液）。泳動は15%の分離用ゲルを用い、ゲル1枚につき20mA定電流で行った。泳動後、固定液に1時間浸漬した後、染色はQuick-CBB（和光純薬）で行った。分子量マーカーはTEFCO分子量マーカーIIを用いた。

## 2.4 凍り豆腐から緩衝液中に溶出した脂肪の定量

加熱緩衝液中に溶出した脂肪は、クロロホルム：メタノール混液（1：2）を用いたBligh-Dyer法で抽出した。抽出した脂質はクロロホルムに溶解し、分析まで-80℃の冷凍庫で保存した。抽出物の一部は、内部標準物質としてトリペンタデカノイン（Sigma, USA）を加え、メタノール-塩酸（東京化成）を用いてメチル化を行った。脂肪酸メチルエステルの分析はガスクロマトグラフィー（GC2010, 島津製作所）により行った（キャピラリーカラム：DB-WAX, 60m  $\times$   $\phi$ 0.25mm, J & W Scientific, USA）。キャリアーガスは窒素を用い、温度設定は、170℃～230℃（昇温速度15℃/min）とした。各ピークの同定は脂肪酸メチルエステル標品の保持時間との比較によって行い、内部標準物質であるトリペンタデカノインのピークエリアとの比較により算出、総脂肪量を求めた。内部標準から求めた各試料の脂肪酸量は加熱前の凍り豆腐100gあたりで示した。

## 2.5 凍り豆腐の油中加熱

緩衝液等で加熱した凍り豆腐の油中加熱を行った。すなわち、50mMの酢酸緩衝液（pH6.0）500ml中、あるいは調味液（水、シマヤだしの素：水の0.7%, 砂糖：だし汁の5%, 濃口しょうゆ：だし汁の1.3%, 塩：だし汁の0.8%（溶液中1%塩分, 5%糖分））で20分間加熱した。

加熱後の凍り豆腐は、布巾ではさんで5分放置し、水気を取り、片栗粉（約1.3g）をまぶした。その後、180℃のサラダ油（日清キャノーラ油：なたね油, 日清オイリオグループ株）で、1分30秒加熱した。加熱中、45秒でひっくり返した。なお、用いたサラダ油の脂肪酸組成は、16：0が4.2%, 16：1が0.2%, 18：0が1.7%, 18：1（n-9）が63.8%, 18：2が19.7%, 18：3が8.7%, その他が1.8%であった。油中加熱前後の凍り豆腐は、クロロホルム：メタノール混液（1：2）を加えて均質化し、Bligh-Dyer法で脂肪の抽出を行った。抽出した脂質のメチル化、GCによる分析は前述のとおり行った。また、18：1（n-9）、18：2の組成変化と総脂肪量から、凍り豆腐由来、サラダ油由来の脂肪量を算出した<sup>9-11)</sup>。

## 2.6 統計処理

試料の硬さ、タンパク質量、脂肪量の有意差検定は、IBM SPSS Statistics 28を用いて多重比較（Tukey-HSD）で、脂肪酸組成の変化の有無はt検定で行った。

### 3 結果

#### 3.1 緩衝液中で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液に溶出したタンパク質量と脂肪量

図1に、緩衝液中で加熱した凍り豆腐の硬さと緩衝液中に溶出したタンパク質量、脂肪量を示した。凍り豆腐の硬さは、図1-aに示したとおり、pH3.0の緩衝液では1.26~1.12N、pH6.0の緩衝液では0.64~0.73N、pH7.0の緩衝液では0.39~0.64Nであり、緩衝液濃度に関わらず、pH3.0の緩衝液で加熱した凍り豆腐はpH6.0、pH7.0の緩衝液で加熱した凍り豆腐よりも有意に硬かった。また、緩衝液濃度が高いほど、pH3.0では有意ではないものの軟らかく、pH7.0では有意に硬くなった。

緩衝液中へのタンパク質の溶出量は、図1-bに示したとおり、加熱前の凍り豆腐100gあたりpH3.0の緩衝液では0.34~0.59g、pH6.0の緩衝液では0.60~0.63g、pH7.0の緩衝液では1.32~1.17gであった。また、緩衝液濃度に関わらず、pH7.0の緩衝液で加熱した時のタンパク質の溶出量はpH3.0、pH6.0の緩衝液で加熱した凍り豆腐よりも有意に多かった。加えて、pH3.0の緩衝液での加熱では、50mM緩衝液よりも200mM緩衝液で有意にタンパク質の溶出量が多かった。一方、pH7.0の緩衝液での加熱では、有意ではないが50mM緩衝液よりも200mM緩衝液でタンパク質の溶出量が少なかった。

図1-cに示した緩衝液中への脂肪の溶出量は、加熱前の凍り豆腐100gあたりpH3.0の緩衝液では0.09~0.17g、pH6.0の緩衝液では0.36~0.23g、pH7.0の緩衝液では0.44~0.33gであり、50mM、200mM緩衝液ではpH7.0の緩衝液で加熱した時の脂肪の溶出量は、pH3.0の緩衝液で加熱した時の溶出量よりも有意に多かった。加えて、pH7.0の緩衝液での加熱では、50mM緩衝液よりも200mM緩衝液で脂肪の溶出量が少なかった。

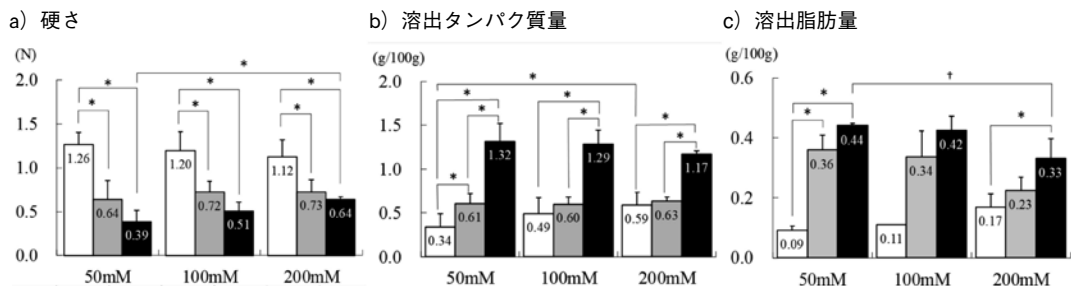


図1. 各条件の緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液に溶出したタンパク質量、脂肪量

□pH3.0: 50-200mM酒石酸緩衝液   ■pH6.0: 50-200mM酢酸緩衝液   ■pH7.0: 50-200mMリン酸緩衝液

a) n=3-6   b) n=8-10   c) n=1-3

\* $p < 0.05$ , † $0.05 < p < 0.10$ : 溶出脂肪量の100mM緩衝液 (pH3.0) のデータはn=1であり、統計処理を行っていない。

すなわち、図1-a, b, cの結果から、pH7.0の緩衝液での加熱は、pH3.0の緩衝液よりもタンパク質の溶出が多く、凍り豆腐は軟らかく、脂肪の溶出が多いことが示された。緩衝液濃度では、タンパク質の溶出量は、pH7.0では緩衝液濃度が高いほどが少なく、pH3.0では緩衝液濃度が高いほど多くなっていった。また、タンパク質の溶出量が多いほど、凍り豆腐は軟らかく、脂肪溶出量が多くなっていった。

#### 3.2 NaCl, スクロースを含む緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液に溶出したタンパク質量と脂肪量

図2に、1%NaClあるいは5%スクロースを含む緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液中に溶出したタンパク質量、脂肪量を示した。図2-a, b, cに示したpH6.0の緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液中に溶出したタンパク質量、脂肪量は、NaCl, スクロースの有無に関わらず、有意な差は認められなかった。

pH7.0の緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液中に溶出したタンパク質量、脂肪量も、図2-d, e, fに示したとおり、NaCl、スクロースの有無による有意な差は認められなかったが、pH6.0の緩衝液での加熱よりも、NaCl、スクロースの影響が認められ、NaCl添加で凍り豆腐は硬く、タンパク質、脂肪の溶出量は少なくなり、スクロース添加で凍り豆腐は軟らかく、タンパク質、脂肪の溶出量は多くなった。また、NaCl、スクロースを含む緩衝液での加熱でも、緩衝液濃度が高いほど凍り豆腐は硬く、タンパク質、脂肪の溶出量が少なく、NaCl、スクロースを含まない緩衝液での結果と同様であった。

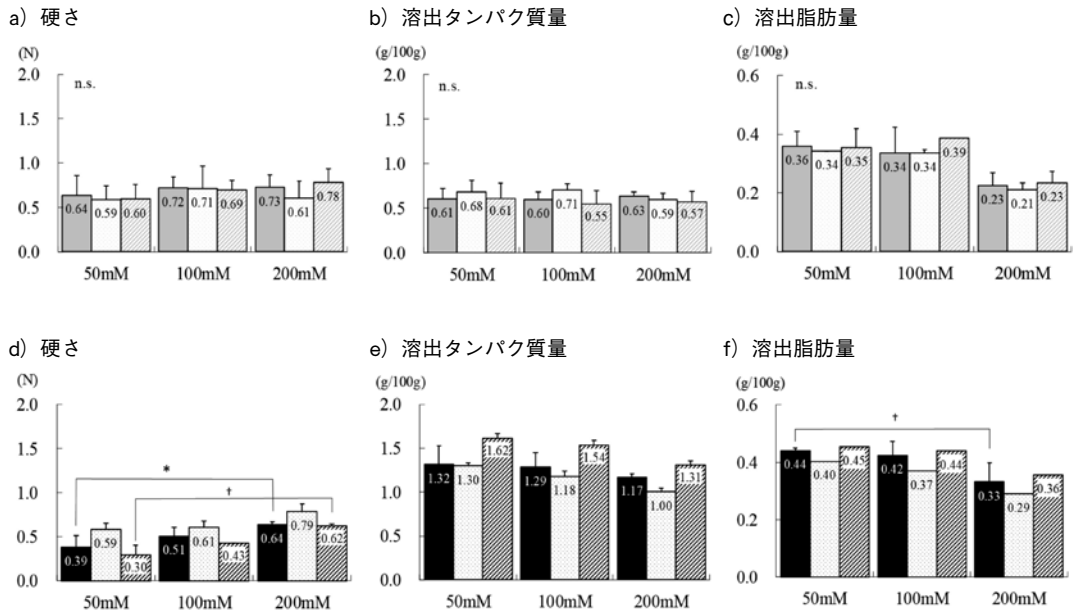


図2. NaCl、スクロースを含む緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液に溶出したタンパク質量、脂肪量

a, b, c) pH6.0 : 50-200mM酢酸緩衝液    d, e, f) pH7.0 : 50-200mMリン酸緩衝液

■ 緩衝液 (NaCl, スクロース無添加)    □ 1%NaCl含有緩衝液    ▨ 5%スクロース含有緩衝液

a) n=2-6    b) n=6-10    c) n=1-3    d) n=2-6    e) n=2-8    f) n=1-3,

\* $p < 0.05$ , † $0.05 < p < 0.10$  : f) 溶出脂肪量のNaCl含有緩衝液, スクロース含有緩衝液 (pH7.0) のデータはn=1であり, 統計処理を行っていない。

### 3.3 加熱後凍り豆腐のタンパク質組成

図3に、異なるpHの緩衝液で凍り豆腐を加熱した時に溶出したタンパク質のSDS-PAGEパターンを示した。図3-aに示した尿素を含むサンプル処理では、pHが高くなるにつれて複数のバンドが確認され、pH6.0では $\alpha'$ サブユニット (67KDa),  $\alpha$ サブユニット (63KDa), およびAcidicペプチド (36KDa) のバンドが確認された。pH7.0では $\alpha'$ ,  $\alpha$ サブユニット, AcidicペプチドがpH6.0よりも鮮明に確認され、さらに重合物のバンドが確認された。図3-bに示した $\beta$ -Meを含むサンプル処理では、尿素処理と同様に、pHが高くなるほど複数の濃いバンドが確認され、pH3.0ではAcidicペプチドのバンドが、pH6.0では $\alpha'$ ,  $\alpha$ サブユニットとAcidicペプチドのバンドが確認された。さらに、pH7.0では $\beta$ サブユニット (48KDa) およびBasicペプチド (20KDa) のバンドも確認された。この尿素あるいは $\beta$ -Meでのサンプル処理で認められたバンドの差から、pH3.0では $\alpha'$ ,  $\alpha$ サブユニット, Acidicペプチドが、pH7.0では、 $\beta$ サブユニットとBasicペプチドが $\alpha'$ ,  $\alpha$ サブユニットやAcidicペプチドとS-S結合を保持したまま緩衝液中に溶出していることが示された。

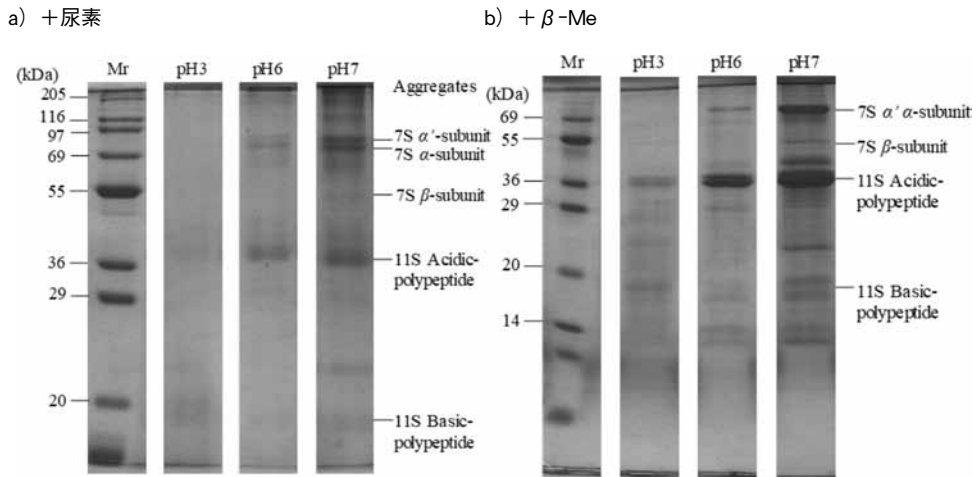


図3. 緩衝液で加熱した凍り豆腐から、緩衝液に溶出したタンパク質のSDS-PAGEパターン

pH3.0: 100mM酢酸緩衝液, pH6.0: 100mM酢酸緩衝液, pH7.0: 100mMリン酸緩衝液

### 3.5 油中加熱時の脂肪量変動

表1に、油中加熱前後の凍り豆腐の総脂肪量と脂肪酸組成を示した。油中加熱による総脂肪量の増加は、水戻しだけの凍り豆腐よりも緩衝液あるいは調味液で加熱した凍り豆腐で少なかった。油中加熱時の揚げ油の吸着量には食品の空隙が影響することから、緩衝液あるいは調味液での加熱時のタンパク質溶出による空隙の減少が揚げ油の吸着量を減少させたと考えられた。

脂肪酸組成については、油中加熱によって、18:1 (オレイン酸) の割合が増加し、18:2 (リノール酸) の割合が減少した。用いたサラダ油の18:1 (n-9), 18:2の割合 (それぞれ63.8%, 19.7%) から、算出した油中加熱後の凍り豆腐由来の脂肪量は、水戻しだけの凍り豆腐で11.8g/100g, pH6.0の緩衝液で加熱した凍り豆腐で11.8g/100g, 調味液で加熱した凍り豆腐で10.4g/100gであり、そのいずれでも油中加熱による有意な減少は認められなかった。油中加熱では食材からの脂肪溶出と揚げ油の吸着が生じるが<sup>9-11)</sup>、凍り豆腐そのものにも含まれる脂肪量が多いにも関わらず<sup>12)</sup>、油中加熱時の脂肪溶出はごくわずかであることが明らかとなった。すなわち、図1, 2に示した緩衝液中での加熱による脂肪溶出も含め、凍り豆腐の脂肪は調理によってほとんど減少しないことが示された。

表1. 油中加熱前後の凍り豆腐の脂肪量と脂肪酸組成

	水戻しのみ		pH6.0の緩衝液で加熱		調味液で加熱	
	油中加熱前	油中加熱後	油中加熱前	油中加熱後	油中加熱前	油中加熱後
総脂肪量 (g)	11.6 ± 0.7	55.0 ± 6.4	12.4 ± 0.5	26.3 ± 3.1	10.6 ± 0.0	24.1 ± 3.3
脂肪酸組成						
160	10.9 ± 0.8	5.5 ± 0.1	11.4 ± 0.2	8.2 ± 1.7	11.5 ± 1.4	7.9 ± 0.4
180	4.3 ± 0.3	2.2 ± 0.0	4.6 ± 0.0	3.3 ± 0.5	4.5 ± 0.6	3.2 ± 0.2
18:1 (n-9)	22.6 ± 0.7	55.0 ± 1.2*	22.4 ± 0.5	45.2 ± 1.0*	21.6 ± 0.0	45.6 ± 1.3*
18:1 (n-7)	1.1 ± 0.0	1.6 ± 1.4	1.0 ± 0.0	1.9 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.9 ± 0.1
18:2	54.5 ± 0.2	27.3 ± 0.6*	54.1 ± 0.4	34.1 ± 1.9*	55.0 ± 1.6	34.1 ± 0.9*
18:3	6.5 ± 0.2	8.4 ± 0.1	6.4 ± 0.0	7.4 ± 0.3	6.4 ± 0.4	7.3 ± 0.2

総脂肪量: 油中加熱前の凍り豆腐100gあたり

\* $p < 0.05$ : 18:1 (n-9), 18:2の割合に油中加熱前後で有意差あり。n=2-3

## 4 考察

本研究では、異なるpH、異なる濃度の緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、タンパク質、脂肪の溶出量、溶出したタンパク質の組成を把握し、さらに、NaCl、スクロース存在下での加熱の影響を検討した。

その結果、pH7.0の緩衝液での加熱は、pH3.0の緩衝液よりもタンパク質の溶出が多く、凍り豆腐は軟らかく、脂肪の溶出が多いことが示された。緩衝液濃度では、タンパク質の溶出量は、pH7.0では緩衝液濃度が高いほど少なく、pH3.0では緩衝液濃度が高いほど多く、また、タンパク質の溶出が多いほど凍り豆腐は軟らかく、脂肪の溶出量が多くなっていることが明らかとなった。さらに、緩衝液中に溶出したタンパク質のSDS-PAGEパターンからは、pHが高いほど、多くのタンパク質のバンドが認められ、pH6.0とpH7.0では $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニットとAcidicペプチドが、pH7.0では $\beta$ サブユニットやBasicペプチドもS-S結合を保持したまま溶出することが確認され、加熱緩衝液のpHにより可溶化するタンパク質が異なることが示された。低イオン強度条件下において、タンパク質は等電点から離れたpHでは、同種の荷電による反発力によって、タンパク質間の親和力よりも、タンパク質と溶媒間の親和力が増すために溶解性が増す。加熱、凝集、凍結乾燥を経て調製される凍り豆腐において再構成されたタンパク質のうち、pH7.0において粒子タンパク質である $\beta$ サブユニットやBasicペプチドも溶出し、緩衝液濃度が高いほど溶出量が少なかったことは、静電的相互作用（反発力）の減少によりタンパク質サブユニットの会合が促進され、分子が安定化した結果、溶解性が低くなったと考えられた。一方、pH3.0において緩衝液濃度が高いほどタンパク質の溶出量が多かったことは、溶出が可溶性タンパク質である $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニットとAcidicペプチドのみであることから、水素結合、疎水結合によって凍り豆腐表面で不溶化したこれらが溶出したと考えられた。

NaCl、スクロースを含む緩衝液で加熱した凍り豆腐の硬さ、緩衝液に溶出したタンパク質量、脂肪量については、pH7.0においてNaClを含む緩衝液での加熱では凍り豆腐は硬く、タンパク質、脂肪の溶出量は少なくなり、スクロースを含む緩衝液での加熱では凍り豆腐は軟らかく、タンパク質、脂肪の溶出量は多いことが示された。この結果は、食塩と醤油よりも砂糖やみりんなどで軟化することを示した阿部の報告と一致していた<sup>8)</sup>。NaClはタンパク質分子間の静電的相互作用を弱める一方で、疎水性相互作用を強めることから、NaCl添加によって硬くなった要因は、凍り豆腐のタンパク質の静電的相互作用（反発量）減少によるタンパク質の溶解性の減少と、凍り豆腐のタンパク質間の疎水性相互作用による結合の増加によるものと考えられた。また、スクロースは水分子との間に水素結合をつくるため、タンパク質の水和水を介して結合、疎水性相互作用を抑制した結果、軟らかくなったと考えられた。田村は、砂糖と醤油を加えたpH7.5の緩衝液において、煮汁が緩衝能を持つようイオン強度を0.03以上に調整することで、煮崩れせず適度な軟らかさにできることを報告している<sup>7)</sup>。本研究において、NaClを含むpH7.0の緩衝液での加熱でタンパク質の溶出量が少なく、硬くなり、スクロースを含むpH7.0の緩衝液での加熱でタンパク質の溶出量が多く、軟らかくなった結果は、その変化が有意ではなかったことから、田村の示した「煮崩れせず適度な軟らかさ」の範囲内の変化であるのかもしれない。

凍り豆腐の加熱中の脂肪溶出量は、緩衝液中の湿式加熱でも、油中加熱でもわずかであった。凍り豆腐中で脂肪は、オレオシンタンパク質で覆われたオイルボディとして存在し、オイルボディはBasicポリペプチドや $\beta$ サブユニットが主体となって形成している粒子に覆われ、その周囲に可溶性タンパク質である $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニット、Acidicペプチドが結合している<sup>5)</sup>。また、オレオシンタンパク質の変性温度は130℃である<sup>12)</sup>。本研究において、pH7.0の緩衝液中に溶出したタンパク質量と脂肪量が一致していたことは、調理過程において、オイルボディはタンパク質ネットワーク中で安定

であり、脂肪はタンパク質ネットワークとともに溶出、変動することが示唆された。なお、中谷らは凍り豆腐の戻し操作で12.2~37.5%の脂肪が溶出すると報告しているが<sup>13)</sup>、オレオシタンパク質で覆われたオイルボディとして存在する脂肪がもどし操作で容易に溶出するとは考えにくく<sup>12 14)</sup>、本研究の結果とは一致しない。もどし操作時のタンパク質の溶出の程度や脂肪抽出条件等の検討が必要であると考えられる。

以上の結果から、pH7.0の緩衝液中での凍り豆腐の加熱では、pH3.0では溶出しないBasicポリペプチドや $\beta$ サブユニットが一部溶出すること、さらに、緩衝液濃度やNaCl、スクロースの有無によって、静電的相互作用、疎水性相互作用が変化することで、それらの溶出量が変化することが示された。凍り豆腐の調味割合はこれまでにいくつか示されているが、他の煮物とは異なり、砂糖の割合は高く、醤油の割合は低い（例えば、砂糖10%、醤油2%、塩0.8%、酒3%）<sup>15)</sup>。凍り豆腐のように、調味割合がテクスチャーに影響する煮物は他になく、凍り豆腐の煮物を好ましいテクスチャーに仕上げるためには、調味割合の決定は極めて重要である。本研究の限界は、試料数が多くなく、揃っていないことである。しかしながら、タンパク質の溶出の程度とテクスチャーの関係をpHやNaCl、スクロースの有無から詳細に示した本研究の結果は、凍り豆腐の煮物を好ましいテクスチャーに仕上げる調味割合の検討において、基礎的知見として有益であると考えられる。

## 5 要約

異なるpH、異なる濃度の緩衝液中で加熱した時の凍り豆腐の硬さ、タンパク質、脂肪の溶出量と溶出したタンパク質組成を把握し、さらに、NaCl、スクロース存在下での影響を検討した。

その結果、pH7.0の緩衝液での加熱は、pH3.0の緩衝液よりもタンパク質の溶出が多く、凍り豆腐は軟らかく、脂肪の溶出量が多いことが示された。また、タンパク質の溶出量は、pH7.0では緩衝液濃度が高いほど少なく、pH3.0では緩衝液濃度が高いほど多く、タンパク質の溶出量が多いほど凍り豆腐は軟らかく、脂肪溶出量が多くなっていることも明らかとなった。また、緩衝液中に溶出したタンパク質のSDS-PAGEパターンからは、pH6.0では $\alpha$ 、 $\alpha'$ サブユニットとAcidicペプチドの溶出が、pH7.0では $\beta$ サブユニットとBasicペプチドがS-S結合を保持したまま溶出していることが確認され、加熱緩衝液のpHにより溶出するタンパク質が異なることが示された。1%NaClあるいは5%スクロースを添加したpH7.0の緩衝液で加熱した場合、NaCl存在下では凍り豆腐は硬く、溶出タンパク質量、脂肪量は低下、スクロース存在下で凍り豆腐は軟らかく、溶出タンパク質量、脂肪量は増加した。なお、緩衝液中での湿式加熱、油中加熱のいずれでも、脂肪の溶出量はごくわずかであり、これは、オイルボディがタンパク質ネットワーク中で安定であり、脂肪はタンパク質ネットワークとともに溶出、変動することが示唆された。

以上、Basicポリペプチドや $\beta$ サブユニットの一部が溶出するpH7.0の緩衝液での加熱において、凍り豆腐が軟化すること、その軟化はNaClで抑制、スクロースで促進されることが明らかとなった。

## 謝辞

本研究の実施にあたり、実験にご協力くださった県立広島女子大学（現県立広島大学）の國永悠希さんに心より感謝いたします。



## 引用文献

- 1) Ono, T. Choi, M. R., Ikeda, A. and Odagiri, S. (1991), Changes in the composition and size distribution of soymilk protein particles by heating. *Agric. Biol. Chem.* 55, 2291-2297
- 2) Guo, S. Ono, T. and Mikami, M. (1997), Interaction between protein and lipid in soybean milk at elevated temperature. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4601-4605
- 3) Ono, T. (2000), The mechanisms of curd formation from soybean milk to make a stable lipid food. *Proceedings of ISPUC-111 (Tsukuba)*, 51-52
- 4) Chen, Y. and Ono, T. (2014), Protein particle and soluble protein structure in prepared soymilk. *Food Hydrocolloids*, 39, 120-126
- 5) 小野伴忠, 和田崇寛, 今井敦子 (2004), 豆腐中油の安定化機構の解明, *大豆たん白質研究*, 7, 42-47
- 6) 橋詰和宗 (1977), 凍豆腐の話－大豆タンパク質の凍結変性をめぐって－, *化学と生物*, 15, 301-308
- 7) 田村正紀 (1985), 凍り豆腐と調理, *調理科学*, 18, 142-146
- 8) 阿部芳子 (1989), 凍り豆腐の調理について, *相模女子大学紀要*, 53, 15-22
- 9) 平岡英子 (1987), 揚げ物における食品中の脂質の変化 (第1報): 油脂交換量におよぼす材料肉の脂質含量および形状の影響, *調理科学*, 20, 355-361
- 10) 平岡英子 (1991), 揚げ物における食品中の脂質の変化 (第2報): 揚げ条件の違いが油脂交換量におよぼす影響について, *調理科学*, 24, 124-129
- 11) 平岡英子 (1991), 揚げ物における食品中の脂質の変化 (第3報) 一素揚げと空揚げによる揚げ物中の脂質とトコフェロール量の比較一, *調理科学*, 24, 302-305
- 12) 小野伴忠, 郭順堂 (1999), *ダイズ製品中の脂質の安定性*, *化学と生物*, 37, 290-292
- 13) 中谷文子, 小池千晶, 一色かおる (1986), 凍り豆腐のもどし操作による脂肪の流出について, *大阪樟蔭女子大学論集*, 23, 101-106
- 14) Guo, S. T. and Ono, T. (2005), The role of composition and content of protein particles in soymilk on tofu curdling by glucono- $\delta$ -lactone or calcium sulfate. *J. Food Sci.* 70, C258-262
- 15) 山崎清子, 島田キミエ, 渋川祥子, 下村道子, 市川朝子, 杉山久仁子, 米田千恵, 大石恭子 (2021), *NEW調理と理論*. 同文書院

## 〈キーワード〉

凍り豆腐, *Kori-tofu*; 調理, cooking; テクスチャー, texture; タンパク質, protein; 脂肪fat

戸松美紀子 (健康栄養学部管理栄養学科)

森久 瞳 (県立広島大学地域創生学部地域創生学科 (非))

木村 留美 (広島国際大学健康科学部医療栄養学科)

住田 尚子 (安田女子大学家政学部管理栄養学科)

水尾 和雅 (会津大学短期大学部食物栄養学科)

杉山 寿美 (県立広島大学地域創生学部地域創生学科)

(2022. 10. 31 受理)

