

酵素処理による豆腐の物性変化に関する研究

誌名	長野県食品工業試験場研究報告 = [Research] report of the Nagano State Laboratory of Food Technology
ISSN	0286102X
著者	金子, 昌二 蟻川, 幸彦 近藤, 君夫 ほか1名,
巻/号	30号
掲載ページ	p. 58-62
発行年月	2002年9月

酵素処理による豆腐の物性変化に関する研究

蛋白分解酵素処理による影響

金子昌二・蟻川幸彦・近藤君夫・小原忠彦

緒 言

食品のおいしさを位置づける主要な要素として、化学的な味と物理的な味が関与している。化学的な味とは狭義の味（甘味、塩味、酸味、苦味、旨味などの味覚）や香り（嗅覚）などに関係する味であり、物理的な味とは噛みごたえや喉ごしなどのテクスチャーや温度（触覚）、調理時や咀嚼するときに出る音（聴覚）、色・光沢・形状（視覚）などに関係している味と区別される。化学的な味と物理的な味のおいしさへの寄与率は個々の食品によって異なるが、全体的に見るとほとんど等しい¹⁾。しかし、都会人ほど、経済階層の高いほど、男性より女性の方が嗜好に対する物理的な味の占める割合が大きき²⁾、特に近代社会においては物理的な味が重要視されているとする報告^{3) 4)}もある。

また、松本ら⁵⁾はいくつかの食品のおいしさに貢献する化学的な味と物理的な味の割合を調べており、概して、固形状の食品は物理的な味、液状の食品は化学的な味の影響が強かったことを報告している。その報告の中で卵豆腐に関しては物理的な味の割合が 72.7 % を占めており、豆腐類における物理的な味の重要性が伺える。著者らが行った長野県内における市販豆腐の食味試験結果⁶⁾においても、総合評価と物性評価との相関は高く、豆腐における物理的な味の重要性を確認している。

豆腐の嗜好性において、物理的な味の占める影響が大きいことは前記のとおりであるが、物理的な味の中でもテクスチャーの占める割合は大きいといえる。食品の高付加価値化、インテリジェンス化を目指すうえでも食感・テクスチャーからのアプローチに寄せられる期待が大きいとされており⁸⁾、何らかの方法でテクスチャー因子の一つである堅さ物性を変化させることは、豆腐の新製品開発・高機能化にも繋がるものと思われる。

豆腐の凝固には蛋白質のジスルフィド結合 (SS 結合)、水素結合、疎水結合、イオン結合などが関与しており、特に堅さに関しては蛋白質の SS 結合の影響が大きい⁹⁾とされる。豆腐はいわば、蛋白質のネットワークの中に水分や油分が取り込まれた状態で凝固しているものといえ、蛋白質のネットワーク結合の影響が豆腐の堅さ物性を左右する主要なものといえる。

さらに、大豆を主原料とする木綿豆腐の一般成分¹⁰⁾

は、水分 86.8%、蛋白質 6.6%、脂質 4.2%、炭水化物 1.6%、灰分 0.8%と水分が大部分を占めているが、乾物換算すると蛋白質 50.0%、脂質 31.8%、炭水化物 12.1%、灰分 6.1%となり、蛋白質が半量以上を占めており、豆腐の主要な成分であることがいえる。

それらのことから、物性を変化させる処理方法の一つとして、蛋白質に作用し、ネットワーク結合を変化させる酵素製剤を用いる方法があげられる。

しかし、豆腐に酵素製剤を作用させて、その酵素作用と物性変化について検討された報告は少ない。そこで、本研究においては豆腐に蛋白質分解酵素製剤であるプロテアーゼ製剤を作用させて、その物性変化をクリープメーターを用いて検討を行った。それらの結果について報告する。

実 験 方 法

1. 供試試料

(1) プロテアーゼ製剤

プロテアーゼ製剤は食品添加物認定を受けて市販されており、起源の異なる 3 種類 (カビ, 細菌, 植物) の製剤、すなわちプロテアーゼ A 「アマノ」G (以下「Aアマノ」)、プロテアーゼ N 「アマノ」G (以下「Nアマノ」)、パパイン W-40 (以下「パパイン」) を用いた。それらの起源ならびに性状を表 1 に示した。

(2) 酵素入り豆腐

i) 豆腐

豆腐は市販されている木綿豆腐ならびに絹豆腐とし、長野市内のスーパーで購入したものをを用いた。また、試験場において製造した豆腐も用いた。その製造方法は図 1 のとおりである。その際の豆乳は既報¹¹⁾のとおり生搾り豆乳を用いた。

表1 プロテアーゼ製剤の起源ならびに性状

製剤名	起源	至適	
		pH	温度 (°C)
プロテアーゼ A 「アマノ」G	<i>A.oryzae</i>	7	50
プロテアーゼ N 「アマノ」G	<i>B.subtilis</i>	7	55
パパイン W-40	<i>Carica papaya</i>	8	45-65

注) 製品パンフレットを参考とした

硫酸カルシウム 1.0g を蒸留水 1ml で懸濁

(200ml ビーカー中)

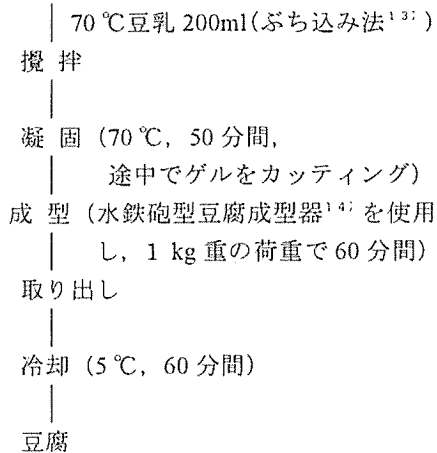


図1 豆腐製造工程

ii) 酵素力価測定

パンフレットによる各製剤の酵素力価表示が異なる方法により測定されていたので、使用に際し添加力価の等量化を行うため、便宜的に基準みそ分析法¹²⁾を参考に、調製¹¹⁾した豆乳(固形分濃度 11%, 蛋白質濃度 4.8% (係数 5.71))を用いて、pH6.5 リン酸緩衝液で希釈したもの(固形分濃度 5%, 蛋白質濃度 1.5%に調製)を基質として pH6.5 におけるプロテアーゼ力価の測定を行った。

iii) 酵素作用方法

ii) で測定した酵素力価をもとに、各濃度の酵素液を調製し、この液中に冷蔵庫中(5℃)で5時間水切りし、20×20×20mmの立方体にカットした豆腐を浸漬させて、酵素入り豆腐を製造した。浸漬条件としては、酵素液濃度 30, 50u/ml とし、浸漬温度 5℃、浸漬時間 16時間とした。対照には蒸留水を用いた。なお、pH調整は行わず製剤溶解後そのまま用いた。物性測定に際して、酵素液から豆腐を取り出し、冷蔵庫中(5℃)で1時間水切りし、15℃の測定温度まで放置したものを用いた。温度熟成をかける試料については、酵素液から豆腐を取り出し、冷蔵庫中(5℃)で1時間水切りした試料を、50℃で4時間の熱履歴を与え、再度、冷蔵庫中(5℃)で1時間冷却後、15℃の測定温度まで放置したものを用いた。

2. 物性測定

クリープメータ(RE-33005 關山電製)を用いて、大変形測定である圧縮試験による破断強度測定を行った。試料寸法は20×20×20mmの立方体、クリアランス4mm、プランジャーは直径40mmのアクリル樹脂製の円形ディスク型を用い、圧縮速度1.0mm/s、試料温度は15℃、自動解析ソフトウェア(Ver2.1)を用いて、破断応力、破断歪み、破断エネルギー値を求めた。

実験結果および考察

1. 酵素力価測定

豆乳を基質としたプロテアーゼ力価の測定結果を表2に示した。これらの値を基に、浸漬用の酵素液濃度の調製を行った。

2. 物性測定

(1) 市販豆腐を用いた物性測定試験

Aアマノを用いて酵素処理した市販の木綿豆腐、絹豆腐の物性測定結果を表3に示した。

表3の結果のとおり、木綿豆腐では酵素濃度にかかわらず酵素処理した豆腐の物性値は対照と比較していずれの値も減少した。破断強度については、30u/ml、熟成の無いものでも減少率は82%(対照、熟成無との比較)と、かなり柔らかくなっていた。熟成の有無の差は少なく、ほぼ同じ値であった。50u/mlにおいては熟成有がやや値が大きかったが、30u/mlの各値と比較しても大差はなかった。破断歪みについては30u/ml、熟成の無いものでも減少率は58%(対照、熟成無との比較)となり、弾性が少なく、もろさや粘性が増加する傾向にあった。破断強度と同様に熟成の有無の差は少なく、ほぼ同じ値であった。50u/mlにおいては熟成有がやや値が小さくなったが、30u/mlの各値と比較しても大差はなかった。破断エネルギーについては、30u/ml、熟成の無いものでも減少率は90%(対照、熟成無との比較)と、かなり減少していた。50u/mlの熟成有がやや値が小さかったが、破断強度と同様な傾向であった。

表2 プロテアーゼ力価 (pH6.5, 基質: 豆乳)

製剤名	プロテアーゼ力価*
プロテアーゼ A「アマノ」G	12,400
プロテアーゼ N「アマノ」G	63,500
パパン W-40	16,900

*: 基準みそ分析法を参考

表3 酵素処理した市販木綿豆腐並びに絹豆腐の物性測定結果 (使用酵素: A「アマノ」)

豆腐種類	酵素液濃度 (u/ml)	熟成有無	破断強度 (×10 ³ Pa)	破断歪み (%)	破断エネルギー (×10 ² J/m ²)
木綿	0	無	13.1	50	26.3
		有	19.2	45	28.0
	30	無	2.4	21	2.6
		有	2.3	20	2.1
	50	無	1.8	27	2.5
		有	2.2	13	1.6
絹	0	無	16.3	50	27.5
		有	23.8	50	40.4
	30	無	5.3	48	12.6
		有	1.9	13	1.1
	50	無	5.3	50	11.7
		有	1.6	11	0.9

絹豆腐では木綿豆腐と同様に酵素処理により各物性値は減少するものが多かったが、熟成の有無の差による傾向は異なっていた。破断強度については、30u/ml、熟成の無いものでも減少率は67%（対照，熟成無との比較）と、柔らかくなっていた。熟成により、さらに減少率は92%（対照，熟成有との比較）と大きくなった。50 u/mlにおいては、30u/mlの各値と比較しても大差はなかった。破断歪みについては30u/ml、熟成の無いもので減少率は4%（対照，熟成無との比較）と、対照とほぼ同じ数値であったが、熟成の有るものについては減少率は、74%（対照，熟成有との比較）と増加した。50 u/mlにおいても30u/mlの各値と比較して大差はなく同様な傾向であった。熟成無における木綿豆腐との傾向の違いは、酵素液の浸透性が主因と推測されるが、詳細な検討が必要である。破断エネルギーについては、30u/ml、熟成の無いもので減少率は54%（対照，熟成無との比較）であり、他の傾向は破断強度と同様であった。

以上のように、豆腐にプロテアーゼ処理を施すと、物性値が大きく変化することが確認された。外観的には滑らかさが増加し、クリーミーな状態となっていることが観察された。

なお、32時間浸漬による処理豆腐についても検討してみたが、両豆腐とも豆腐が柔らかくなりすぎて、物性測定が困難であった。

今回使用した市販の木綿豆腐は十分水切りを行い試験に用いたが、組織が密ではなく、かつ所々隙間が存在して均一性に乏しく、柔らかな試料であった。こういった豆腐は消費者のソフト嗜好やコスト面などの理由から近年多くみられる傾向にある。そのため、酵素処理したものは一層脆く、柔らかくなり過ぎ、取扱いに慎重性が増す事態が生じた。

絹豆腐についても、豆腐の性質上、組織は均一であるが柔らかいため、酵素処理したものはさらに取扱いが困難となる傾向にあった。

そのため、今回の酵素処理に適するような豆腐の製造方法から検討する必要性が生じた。そこで、試験場において組織がある程度均一で、硬めの豆腐の製造を図1のとおり行った。そして、その豆腐を用いて起源の異なる各酵素剤を用いた酵素処理豆腐について物性測定を行った。

(2) 製造した豆腐を用いた物性測定試験

試験場で製造した豆腐を用い、各プロテアーゼ製剤を作用させた豆腐の物性測定結果を図2から図4に示した。

図2のとおり、破断強度についてはAアマノ、Nアマノともに熟成の有無に関係なく（有意差なし）、破断強度は対照に比べかなり減少（減少率はAアマノ30熟成無で60%、Nアマノ30熟成無で76%）していた。しかし、パパインについてはその減少率（パパイン30熟成無で15%）は低かった。なお、酵素濃度の違いによる影響につ

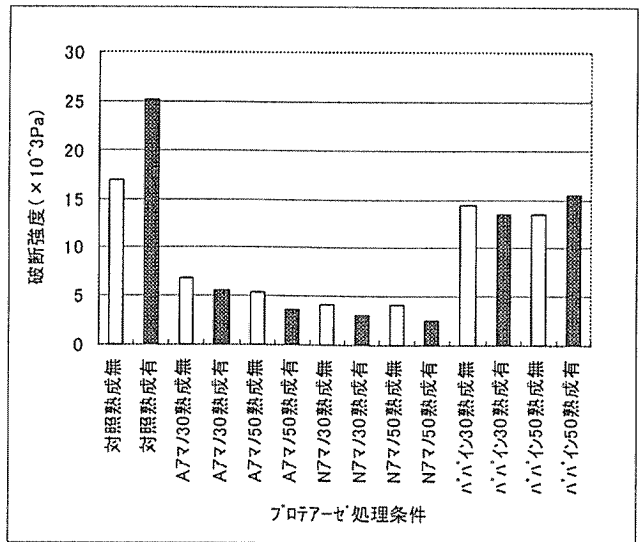


図2 プロテアーゼ処理による破断強度変化

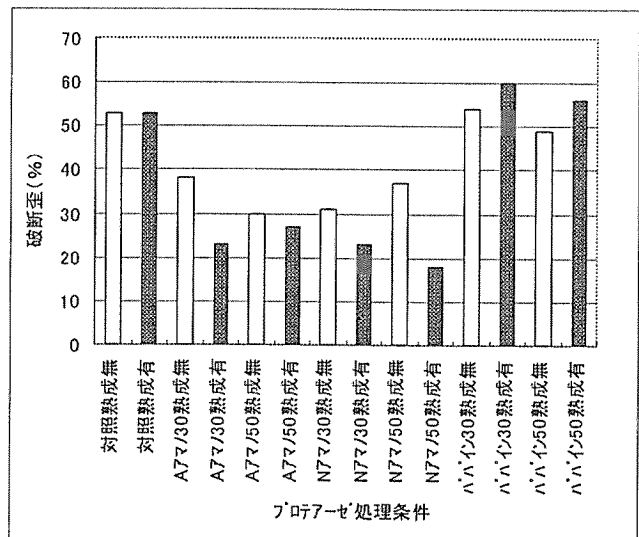


図3 プロテアーゼ処理による破断歪み変化

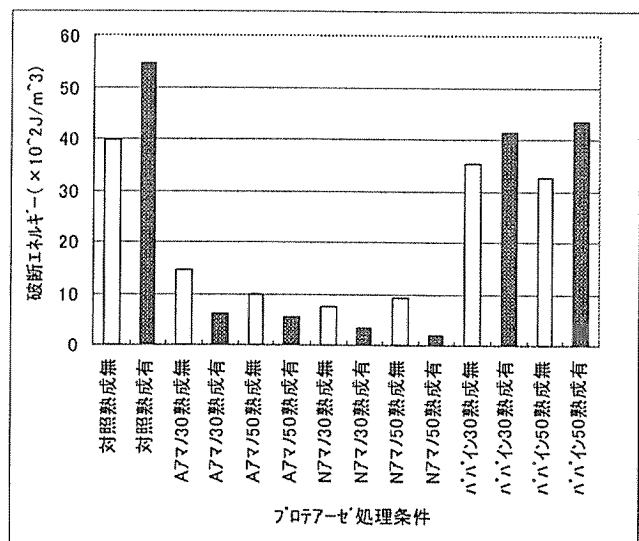


図4 プロテアーゼ処理による破断エネルギー変化

いては、危険率5%で有意差があった。

また、いずれの酵素も熟成の有無による破断強度への影響は酵素処理の有無に比べて小さかった(危険率1%有意)。なお、対象の熟成有の破断強度が大きくなった原因として、熟成中の離水ならびに乾燥の影響によるものと推測された。

各酵素剤により減少率に差が出た(危険率1%有意)要因としては、それらの至適pH(豆腐浸漬後の酵素液pHはいずれの条件でも6付近であった)や至適温度の影響もあるかもしれないが、起源に由来する酵素化学的性質の違いの影響が大きいものと推測される。

すなわち、Aアミノは麹菌由来の酵素でエンドペプチダーゼとエキソペプチダーゼを含み、Nアミノは細菌由来の酵素でエキソペプチダーゼはほとんど含まずエンドペプチダーゼのみを含んでおり、今回使用したこれらの酵素は金属が触媒作用に関連する金属プロテアーゼに属するものとみなされる¹⁶⁾。一方、パパインは植物由来のエンドペプチダーゼを含み、分子中に1個以上のシスチン残基をもち、触媒作用の前に遊離のSHの形となるチオールプロテイナーゼに属している¹⁶⁾。緒言にも述べたように、豆腐の凝固にはSS結合が重要なファクターとなっている。そのため、パパインの作用は豆腐のSS結合に何ら影響を与え、このことが他の酵素とは異なる挙動を示した一因と推測される。福家ら¹⁶⁾は豆乳に対して、植物由来のプロテアーゼであるプロメラインを用いることにより凝固反応が起こることを報告している。プロメラインもパパインと同様にチオールプロテイナーゼに属している。パパインは主に肉類の軟化に用いられている酵素¹⁷⁾であるが、今回のような試験における豆腐への軟化については、他起源酵素より弱い結果となった。

また、Aアミノに対してNアミノの破断強度がいずれも小さい値となった理由としては、以下のことが推測される。すなわち、エンドペプチダーゼは蛋白質やポリペプチドに作用しておおまかに分解して、低分子ペプチドを生成し、蛋白質可溶性に適する酵素である。一方、エキソペプチダーゼはペプチドに作用して、アミノ酸を生成し、呈味強化目的に適する酵素である。そのため、強力なエンドペプチダーゼを含むNアミノの方が、豆腐の蛋白質ネットワーク分解により強く作用したため、破断強度への影響が大きかったものと考えられた。安田ら¹⁸⁾は豆腐のような熟成過程における破断応力の減少などの物性変化について検討しており、その要因としてエンドペプチダーゼにより蛋白質中のSS結合が切断されるとともに、低分子化されることによるものと指摘しており、今回の試験についても同様な機構が働いていると推測される。

破断歪みについては図3の結果のとおりであり、Aアミノ、Nアミノについては熟成をかけることにより値は低下した。一方、パパインについては逆に値が大きくな

っていた。熟成をかけることによって酵素反応がより進行し、Aアミノ、Nアミノについてはより粘性の増した脆い組織へと変化し、パパインについてはより弾性の増した組織へと変化した。外観的にもAアミノ、Nアミノで処理された豆腐はクリーミーで付着性が増加しており、測定後にはプランジャーに付着して離れなくなるケースが多く観察された。これらの差の原因としては、前記したような各酵素剤の性質に起因するものと推測される。なお、小林ら¹⁹⁾は各種ゲルの破断特性値について検討しており、その中の応力-歪み曲線と比較すると、Aアミノ、Nアミノで処理したものは大豆蛋白未加熱ゲルの特性にやや近い傾向を示していた。

破断エネルギーについては図4の結果のとおりであり、熟成の有無によりそれらの値はやや変動するが、傾向は破断強度と同様であった。

以上のように、プロテアーゼ製剤を凝固した豆腐に作用させることにより、物性変化を起こすことが可能であり、その作用は用いる製剤によって異なることが確認された。

なお、今回の試験においては、豆腐の酵素剤の作用による物性変化のみに注目し検討を行った。今後はレオロジー領域における物性面だけではなく、味や香りなどの官能評価や大豆蛋白質の分解状況、ならびに機能面もふくめた検討を行う予定である。

要 約

起源の異なる3種類のプロテアーゼ製剤(Aアミノ、Nアミノ、パパイン)を用いて、豆腐の物性に与える影響について検討した。その結果、凝固成型した豆腐にプロテアーゼ製剤を浸漬して作用させることにより、物性変化を起こすことが可能であり、その作用は用いる製剤によって異なることが確認された。すなわち、麹菌由来のAアミノならびに細菌由来のNアミノでは、破断強度、破断歪みならびに破断エネルギーの減少が大きかったが、植物由来のパパインでは少なかった。

プロテアーゼ製剤の提供にご協力いただきました天野エンザイム(株)の関係各位に感謝申し上げます。

文 献

- 1) A.S.Szczesniak,D.H.Kleyn,*Food Technolgy*,74,17(1963).
- 2) A.S.Szczesniak,*J.Tex,Stud.*,2,280(1971).
- 3) 山野善正,食品のテクスチャー評価,食科工,44,83(1997).
- 4) 山野善正,テクスチャー測定とおいしさの評価,食品と開発,26,12(1991).

- 5) 松本伸子,松元文子,調理科学,10,97(1977).
- 6) 金子昌二,唐沢秀行,大日方洋,村松信之,大池和威,長野県内の市販生豆腐の食味検討会について(第1報)食味検討会の内容と食味評価について,長野食工試験報,24,67-72(1996).
- 7) 金子昌二,唐沢秀行,大日方洋,村松信之,黒河内邦夫,長野県内の市販生豆腐の食味検討会について(第3報)食味検討会の内容と食味評価について,長野食工試験報,25,84-89(1997).
- 8) 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(2000).
- 9) 斉尾恭子,豆腐の製造,やさしい豆腐の科学,渡辺篤二監修(フードジャーナル社,大阪),pp.60-61(1996).
- 10) 香川芳子監修,五訂食品成分表 2001(女子栄養大学出版部,東京),pp.52-53(2001).
- 11) 金子昌二,唐沢秀行,大日方洋,村松信之,大池和威,豆腐・豆乳の保存性向上に関する研究(第2報)豆乳の高温加熱処理について,長野食工試験報,23,57(1995).
- 12) 全国味噌技術会,基準みそ分析法(1995).
- 13) 橋詰和宗,もめん豆腐,大豆とその加工 I,渡辺篤二,斉尾恭子,橋詰和宗共著(建帛社,東京),p43(1992).
- 14) 小原忠彦,松橋鉄治郎,大日方洋,村松信之,豆腐および凍り豆腐製造に関する基礎的研究(第7報)豆腐製造試験用卓上型圧搾脱水成型器の試作,長野食工試験報,13,132(1985).
- 15) 小巻利章,タンパク質分解酵素とその応用,酵素応用の知識第三版(幸書房,東京),p.200(1992).
- 16) 福家洋子,松岡博厚,蛋白分解酵素処理による大豆乳の凝固,日食工誌,27,275(1980).
- 17) 小巻利章,タンパク質分解酵素とその応用,酵素応用の知識第三版(幸書房,東京),pp.212-214(1992).
- 18) 安田正昭,金城さきえ,三木英三,とうふようの熟成過程における破断特性,クリープ挙動及び微細構造の変化,食科工,43,322(1996).
- 19) 小林三智子,赤羽ひろ,中濱信子,家政誌,32,660(1981).