

食品たん白質の異方性凍結組織化—大豆たん白質への適用

ANISOTROPIC FREEZE-TEXTURING OF FOOD PROTEINS—APPLICATION TO SOY PROTEIN

荒井 綜一 (東京大学農学部)

Soichi ARAI

Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo 113

ABSTRACT

We proposed a new process for freeze-texturing using *Erwinia ananas* cells as heterogeneous ice nuclei. The bacterial cells, when added to isotropic aqueous dispersions or hydrogels of proteins, converted the bulk water into directional ice crystals at a subzero temperature, not lower than -5°C , with formation of anisotropically textured products. Aqueous dispersions of SPI and soybean curd were used as materials to be textured. These were each mixed with a small mass of the bacterial cells and slowly cooled to -5°C in an air bath. The frozen materials were vacuum-dried before setting the resulting textures by steaming for 2 min at 1 atm, if necessary, forming flake-like textures. Slicing the textured products at right angles to the lamellas of the flakes gave fibrous products. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 17-19, 1987.

植物素材から肉類似物を作る目的で、たん白質の組織化に関する多くの研究がなされており¹⁾、日本でも凍豆腐で代表される伝統的凍結組織化が長年実施されてきた²⁾。一般にたん白質の水分散液あるいは水性ゲルは過冷却しやすく、過冷却を破って氷晶を形成させるには氷の融点よりかなりの低温が要求される。これには第一にコストの問題があり、第二に等方性のスポンジ様構造ができてしまうという問題がある³⁾。

一方、*Pseudomonas syringae* や *Erwinia herbicola* などの氷核活性細菌が原因となって、理論的には不均一氷晶核が存在しない限り水滴の凍結が起こらないような氷点下域において、農作物が霜害を受けることが知られている。牧野は霜害を受けやすい作物である茶木から氷核活性細菌の一種である *Erwinia ananas* IN-10 を分離した⁴⁾。

本研究は、氷核活性細菌がたん白質の水分散液や水性ゲルのバルク水を過冷却した場合と異なった形状に凍結させ、それが特異な凍結組織の形成に寄与するだろうというアイデアでなされたものである。

実験方法

SPI は脱気水と混合し、5, 10, 15, 20重量%の分散液とした。大豆カードは10重量% SPI 分散液100gを 70°C で10分間加熱し、 20°C まで冷却した後0.1gの CaCl_2 を加えて調製した。*E. ananas* IN-10を*Pseudomonas* Agar F(Difco)上で 20°C で2日間培養し、600 nmのODが1.0になるように水で希釈したものを不均一氷晶核として用いた。

過冷却度は次のようにして測定した。各試料10 mlを氷核活性細菌懸濁液0.1 ml または純水0.1 ml と混合し、この混合液3 mlをパイレックス試験管につめ、パルスNMRのプロープにセットした。温度センサーはサンプル内に挿入した。40 μ 秒における自由誘導減衰(FID)強度の変化と温度変化を同時に記録し、FID強度のゆるやかな減少と温度上昇が認められる温度をバルク水の凍結開始温度(T)とした³⁾。過冷却度は $T_m - T$ として表した。ここで、 T_m は凍結した試料を徐々に暖めた際の融点である。各試料の過冷却度は5

回の独立した測定値の平均値に標準誤差をつけて表した。

冷凍顕微鏡の試料には、氷核活性細菌を加えた SPI 水分散液と加えない水分散液を用いた。試料 3 μ l をガラス板上に置き、温度センサー挿入用の穴のあいたカバーガラスをかぶせた。このプレパラートを冷凍顕微鏡(岡田技研, モデルIII)台にセットし、オリンパス BH-2 顕微鏡(倍率100倍)で氷の状態を撮影した。試料は 1 $^{\circ}$ C/分の速度で冷却し、氷結晶形成開始温度を測定後、さらに -30° C まで冷却した。

氷核細菌を加えた試料を凍結組織化し、凍結面に対して直角に切断した断面を走査型電子顕微鏡で観察した。用いた顕微鏡は日立 S-510 走査型電子顕微鏡で倍率を40倍とした。対照として、氷核細菌を加えない試料を用い、同様に組織化し、顕微鏡観察した。

結果と考察

Table 1 に示したように、測定したすべての試料において、氷核細菌を加えたものは加えなかったものよりも明らかに過冷度は小さくなった。この結果から、食品素材水性スラリーを氷点下の状態に置いた際、氷核細菌が存在するかないかによって氷の形状に何らかの違いが生じると考えられる。実際、冷凍顕微鏡で観察したところ、氷核細菌を加えなかったプレパラートでは、 -15° C で多数の小さな氷結晶が生成して急激に凍結したが、氷核細菌を加えた場合には -3° C で凍結が開始し、非常にゆっくりと平行な大きく長い氷結晶を形成した。

Table 1. Degrees of supercooling of materials with and without *E. ananas*.

Material	Degree of supercooling ($^{\circ}$ C)	
	With <i>E. ananas</i>	Without <i>E. ananas</i>
5% SPI	1.2 ± 0.5^1	4.0 ± 0.3
10% SPI	1.8 ± 0.2	4.7 ± 0.1
15% SPI	2.3 ± 0.8	4.6 ± 0.7
20% SPI	2.3 ± 0.7	4.6 ± 0.8
Soybean curd	0.6 ± 0.2	3.8 ± 0.3

¹ Values represent mean $\pm$ SE

このような平行な氷結晶の形成は、等方性の液体やスラリーでもフィルムあるいはフレック状に組織化されることを示している。そこで、濃度の異なる SPI 水性スラリーおよび大豆カードの組織化を試みた。まず、

SPI 水性スラリーを調製した。ここで、素材を分散するために脱気水を用いることが第一のポイントとなる。空気が飽和濃度以上に存在すると泡が形成され、組織が秩序的に配列するのを妨害してしまうからである。大豆カードの場合には加熱工程で溶存空気量を減らすことができるので、とくに脱気水を用いることはない。次に、試料を氷水中で 20° C まで急速冷却し、 20° C に達したところで 600 nm の OD を 1.0 に調整した氷核細菌懸濁液 0.5 ml と混合した。*E. ananas* IN-10 は 26° C 以上の環境で氷核活性を失うため⁴⁾、この温度制御が第二のポイントとなる。試料を直径 9 cm のガラスシャーレに入れ、2枚の発泡スチロール板の間にはさま、 -5° C の空気浴中に 24 時間放置した。このようにゆっくりと凍結させることが方向性のある組織を得るための第三のポイントである。凍結試料はさらに -30° C まで冷却してから真空乾燥した。 -30° C まで冷却する工程は必ずしも必要ではないが、しっかりした組織の製品が得られるという利点があった。SPI の場合には真空乾燥後に組織を加熱固定する必要がある。加熱固定しないと製品に水を加えた際に組織が再び水に分散してしまうからである。本研究では 1 気圧で 2 分間の水蒸気固定を行った。*E. ananas* 懸濁液のかわりに 0.5 ml の水を加えて同様に調製した組織を対照とした。

こうして得られた製品を走査型電子顕微鏡で観察したところ、氷核細菌を加えなかった製品はすべてスポンジ様の構造をしていた。これに対して、氷核細菌を加えた場合にはすべての製品は方向性をもった繊維状あるいはフレック状の構造を呈していた。

上述のように、氷核細菌を用いる凍結組織化法を適用すると、フレック状の組織をもった製品を作ることができる。SPI から作成したフレック状構造の層に対して直角にスライスした切片を顕微鏡で観察すると、繊維状になっていた。氷核細菌を加えないで作成した製品の切片はモザイク状を呈していた。

本研究は不均一氷晶核として氷核細菌を用いて凍結組織化を行うという新しいプロセスを提案するものである。このプロセスは、フレック状組織や繊維状組織を作りだすのに適用できる。

文 献

- 1) Feeney, R. E.(1982): Chemical modification of proteins: an overview. in "Modification of Proteins: Food, Nutritional, and Pharmacological Aspects", ed. by Feeney, R. E. and Whitaker, J. R., American Chemical Society, Washington, D. C., pp. 3-55.

- 2) Wolf, W. J.(1972): What is soy protein. *Food Technol.*, **26**, 44-54.
- 3) Lillford, P. J.(1985): Freeze texturing and other aspects of the effects of freezing on food quality. in “ Properties of Water in Foods ”, ed. by Simatos, D. and Multon, J. L., Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp. 543-552.
- 4) Makino, T.: 未発表.