

ショウガ(*Zingiber officinale*)抽出物を用いた豆乳ゲルの特性評価

苔庵泰志*, 梅谷かおり*, 栗田 修*, 山田徳広**

Evaluation of Characteristics on the Soymilk Gel Prepared by Ginger Rhizome (*Zingiber officinale*) Extract

Yasushi KOKEAN, Kaori UMETANI, Osamu KURITA and Norihiro YAMADA

Ginger rhizome (*Zingiber officinale*) contains some preteases which have milk clotting activity. In this study, we evaluated the soy milk for the clotting activity of ginger rhizome and the characteristics of soy milk gels. Soy milk gels were prepared by incubating the mixture of 3.0 mL ginger rhizome extract and 25 mL soymilk at 60 °C for 60 min. The strength for the soymilk gel was more soft than that of tofu. Heating treatment led to the decreased viscosity of soymilk and had an effect on hardness of soymilk gel.

Key words: Ginger Rhizome Extract, Soy Milk, Gelation, Clotting Activity

1. はじめに

ショウガの搾り抽出液を活用した牛乳ゲル化食品は、中国の伝統食品として古くから知られている。加温した牛乳にショウガの搾り抽出液を加えて固められ、広東語では薑抽出液撞奶(キョンジャツゾンナーイ)、薑撞牛奶(キョンゾンアウナーイ)あるいは薑埋奶(キョンマーイナーイ)と呼ばれている^{1,2)}。これは、ショウガに含まれるプロテアーゼの作用により凝集したゲルと考えられている^{2,3)}。ショウガに含まれるプロテアーゼについては、いくつかの報告がなされており、分子量の違う2つのセリンプロテアーゼ³⁾およびアミノペプチダーゼを含むことが明らかとなっている⁴⁾。

三重県では生産調整に伴う水田の活用として、冬から春にかけては小麦が、夏から秋にかけての時期には大豆等の栽培が行われることが多い。三重県の大豆の作付面積および収穫量は、昭和30年代にピークを迎え昭和51年には最盛期の1/8程度にまで減少したものの、この20年ほどは増加傾向であ

り、平成27年の作付面積は4,490 ha、収穫量は3,410 tとなっている⁵⁾。このような経緯の中、三重県においても、新たな大豆の活用法が求められているが、新規素材開発等は進んでいない。

一方、高齢者社会の加速的な進展により、生活習慣病や摂食機能の低下等が社会問題となっている。様々に流動性等を調整した嚥下訓練食や嚥下食および介護食等の需要が増している。また、ショウガに含まれる機能性成分として、Vanillin誘導体が、肺炎予防や嚥下機能改善に効果があるとの報告がある⁶⁾。

このようなことから、ショウガを用いた豆乳ゲルを活用し、嚥下機能改善等の機能を有する食品を開発することで、今後の食生活改善や介護食の進展に寄与できる可能性がある。そこで本研究では、ショウガ抽出液に含まれるプロテアーゼを活用して、ゲル化食品のモデルを試作し、その特性等を明らかにすることとした。

2. 実験方法

2.1 材料

* 食と医薬品研究課

** 津市立三重短期大学生生活科学科

生大豆は、三重県産フクユタカを用いた。ショウガ（ひねショウガ：生ショウガを剥皮して、低温で2か月以上熟成保存したもの）は中国産を用いた。豆乳は市販品7種類（イオン「オーガニック成分無調整豆乳」、キッコーマン「おいしい無調整豆乳」、マルサン「有機豆乳無調整」、スジャータ「有機豆乳」、椿き家「丸大豆豆乳」、野瀬豆腐「飲む豆腐」、大塚食品「スゴイサイズ」、豆腐は市販品3種類（デリカ食品「きぬこしとうふ」「もめんとうふ」、井村屋「大和屋和蔵 大豆ッ子（充填豆腐）」）を用いた。

2. 2 ショウガ抽出液の調製

図1にショウガ抽出液の調製法を示す。ショウガは1回の調製に168.8~303.9 gを用いた。適当な大きさに包丁で裁断した後、プラスチック製のおろし金で摩り下ろし、ジューサーにて連続的に固液分離した。得られた液を4°C、1,500 xgで15分間遠心分離しNO.5cろ紙で吸引濾過して不溶物を除いた。酵素活性安定化のためにシステイン塩酸塩とアスコルビン酸をそれぞれ10 mM、0.2%となるように添加して7ゲル化用のショウガ抽出液とした。

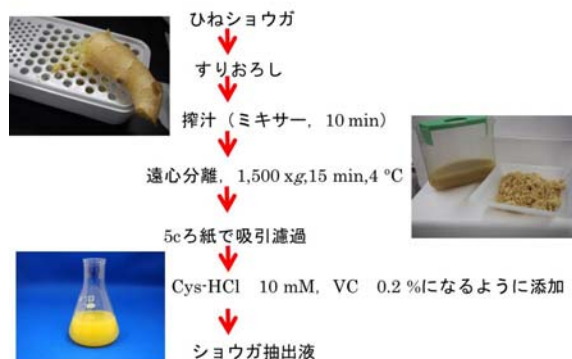


図1 ショウガ抽出液の調製法

2. 3 ショウガ抽出液のプロテアーゼ活性

カゼインを基質として、ショウガ抽出液のプロテアーゼ活性を評価した。酵素活性は、抽出直後および24時間、9°Cでの冷蔵保存、-70°Cでの冷凍保存後に測定した。

加熱溶解した1%カゼイン溶液(pH 7.0) 15 mLにショウガ抽出液 15 mLを添加し、60°Cで30分間反応させた後に、4.0 M トリクロロ酢酸(TCA : tri chlorinated acetic acid) 1.5 mLを添加して酵素反応を停止した。室温で30分放置後、14,000 xg

で15分間遠心分離し、得られた上清の280 nmでの吸光度を測定した。

2. 4 豆乳ゲルの調製

2. 4. 1 豆乳の調製

生大豆 200~400 gに水を加えて浸漬し、9°Cで18時間給水させた後、加水量が生豆の5倍となるように加水後ミキサーで1分間粉碎し、得られた呉を鍋で15分間攪拌しながら加温し、17,000 xg、15分間室温で遠心分離（工研豆乳1）、またはメッシュ袋で濾過し（工研豆乳2）、2種類の呉を得た。

2. 4. 2 豆乳加熱温度の検討

2.4.1項と同様の方法で生大豆を粉碎後、呉はそれぞれ70°C、80°C、95°Cで2時間加熱後に1,500 xgで10分間遠心した。得られた上清は沸騰湯浴中で15分間加熱後に冷却し、試験用の豆乳とした。

2. 4. 3 豆乳のゲル化

市販および生大豆から調製した豆乳 25 mLに対して、ショウガ抽出液 3.0 mLの割合で加え、60°Cで1時間保つことで、ゲル化の有無を目視で評価した。

2. 5 豆乳の化学的および物理的特性評価

2. 5. 1 豆乳の固形分および粒度測定

豆乳固形分の測定はポケット豆乳濃度計(PAL-27S, ATAGO)により行った。粒度分布の測定は、レーザ回折式粒度分布測定装置(SALD2100, 島津製作所)を用いて測定した。

2. 5. 2 ゲル強度の評価

ゲル強度の評価は、クリープメータ(RHEONER II RE2-33005S, 山電)により測定した。測定条件は、ロードセル 20 N, 径 20 mmの円形プランジャー、圧縮速度 1 mm/sec, 測定歪率 50%とし、試料容器は径 40 mm, 高さ 15 mmとした。

2. 5. 3 豆乳の粘度測定

豆乳の粘度は、動的粘弾性測定装置(AR-G2, TAインスツルメント)を用いて行った。測定は、試料 2 mLを秤量し、治具はφ60 mm, 角度2°コーンプレートを用い、温度 10°C, せん断速度 0.1~100 1/sとし、せん断速度に対する粘度を測定した。

2. 5. 4 電気泳動

プロテアーゼによる大豆タンパク質の分解を評価するために、SDS-電気泳動(SDS-PAGE)を行っ

た。泳動は、5-20 %ポリアクリルアミド濃度勾配ゲルにより約 10~200 kDa までの分子量分布を検討した。

3. 結果と考察

3. 1 ショウガ抽出液のプロテアーゼ活性

ひねショウガからのショウガ抽出液の歩留まりは、約 78 %であった。

酵素活性は、抽出直後を 100 %とし、冷蔵保存 (9 °C) および冷凍保存 (-70 °C) で 24 時間保存後の酵素活性を示した。冷凍保存では抽出直後の約 65 %の活性となり、冷蔵保存ではほぼ活性は認められなかった。豆乳を用いたゲル化能の評価においても、60 時間の酵素反応ではゲル化は完全ではなく、ゲル化に要する時間の遅延が確認できた。そこで、以後のゲル化試験に用いるショウガ抽出液は、抽出直後のものを使うこととした。

3. 2 豆乳の特性評価

3. 2. 1 豆乳および豆乳ゲルのタンパク特性の把握

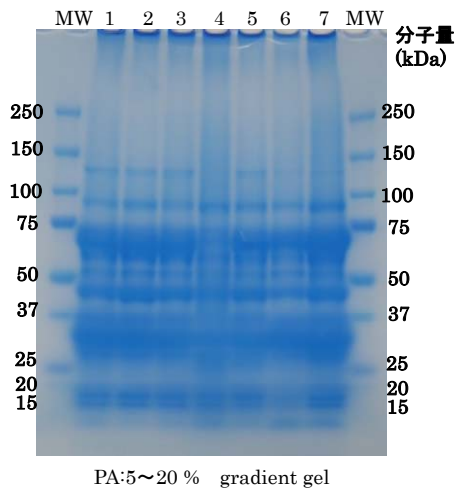


図 2 各社豆乳の SDS-PAGE による特性

- NO.1 : イオン「オーガニック成分無調整豆乳」
- NO.2 : キッコーマン「おいしい無調整豆乳」
- NO.3 : マルサン「有機豆乳無調整」
- NO.4 : スジャータ「有機豆乳」
- NO.5 : 大塚食品「スゴイサイズ」
- NO.6 : 工研豆乳 1 (呉を遠心で濾過)
- NO.7 : 工研豆乳 2 (呉をろ布で濾過)
- MW : 分子量マーカー

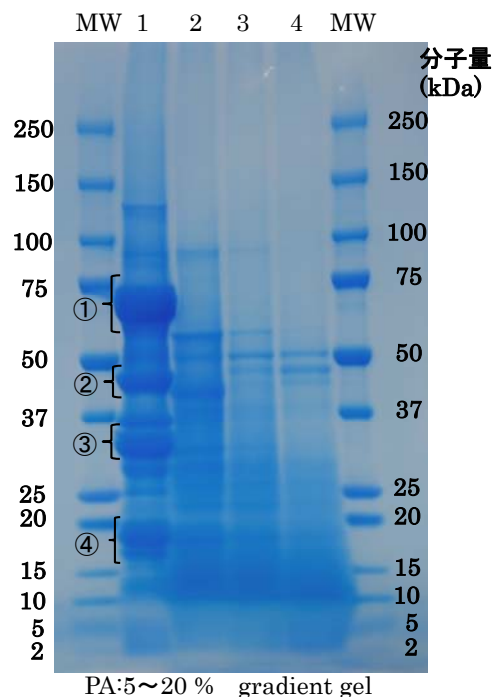


図 3 大豆タンパク質のショウガプロテアーゼによる分解

- 豆乳 25 mL に対してショウガ抽出液を加えた
- NO.1 : 未添加
- NO.2 : ショウガ抽出液 0.75 mL
- NO.3 : ショウガ抽出液 1.5 mL
- NO.4 : ショウガ抽出液 3.0 mL
- MW : 分子量マーカー

- ① : β -コングルシニン α 及び α' サブユニット (分子量 : 約 66 kDa)
- ② : β -コングルシニン β サブユニット (分子量 : 約 45 kDa)
- ③ : コングルシニン 酸性サブユニット (分子量 : 約 36 kDa)
- ④ : コングルシニン 塩基性サブユニット (分子量 : 約 20 kDa)

市販および生大豆から調製した豆乳の特性に関して、含有する大豆タンパク質の違い、ショウガ抽出液による分解度等を検討するため、電気泳動を行った。市販各豆乳間の電気泳動結果を図 2 に示す。

見かけ上は、電気泳動での各構成タンパク質濃度に大きな差は認められなかった。各豆乳に含まれる構成タンパク質の割合は、各メーカー間でどれも大きな差はないと考えられる。また、市販豆乳（「おいしい無調整豆乳」、キッコーマン）に対してショウガ抽出液を作用させたところ、ショウガ抽出液の濃度依存的に大豆タンパク質の分解が促進されることが明らかとなった（図3）。しかしながら、分子量約 45 kDa 付近にバンドが確認できたことから、ショウガプロテアーゼは、β-コングリシニンのβサブユニットを分解できないことが示唆される。

3. 2. 2 豆乳ゲルの特性

市販及び調製豆乳の固形分濃度、粒度平均値、ゲル化能との関係を図4に示す。ゲル化に関しては、直接目視でゲル化していると判断できた場合を◎、やや柔らかいと判断した場合を○、ようやく固まりはじめた場合を△、固まらなかった場合を×として示した。

豆乳固形分、粒子径共にゲル化能と依存関係にあるデータは得られなかった。各豆乳の加熱や抽出条件の違いが、ショウガ抽出液の酵素活性に影響したことや、大豆タンパク質自体の変性度合いの違いがゲル化に影響したと考えられる。

豆乳-ショウガ抽出液ゲルのレオメータでの評価結果を図5に示す。対照として市販もめん豆腐、きぬこし豆腐、充填豆腐を用いた。ゲルの強度は、市販豆腐に比べてかなり柔らかいという評価結果であった。

豆腐製造におけるゲル化機構は、豆腐製造時の加熱によって生成する分子量 1,800 k~4,000 kDa の大豆タンパク質可溶性会合体が、さらに分子末端で結合しネットワーク構造を作ることによって分子間結合が増強して完熟ゲルとなる⁸⁾。一方で、植物由来プロテアーゼ、パイナップル由来のプロメラインを用いた大豆タンパク質のゲル化機構は、グリシニン凝集物の切断とその加水分解物の会合によるネットワーク形成であり、その結合力は分子間のS-S結合および疎水結合であるとしている⁹⁾。ショウガをはじめ、植物由来の至適温度が 40~70 °C と比較的高温のプロテアーゼの存在もいくつか報告されている¹⁰⁻¹³⁾。

ショウガ抽出液を添加した豆乳中では、電気泳動の結果（図3）から、大豆タンパク質の低分子化確かめられた。このことから、ショウガ抽出液に含ま

れるプロテアーゼが関与したゲル化機構は、大豆タンパク質-プロメライン¹⁴⁾と同様に、大豆タンパク質フラグメントの会合であると考えられる。さらに詳細な検討は、グリシニンおよびβ-コングリシニン標品を用いた酵素分解およびゲル化の検討が必要と思われる。また、今回得られたゲルは豆腐に比べて軟弱なゲルであったが、豆乳に対して、麹菌由来プロテアーゼでのゲル化後に加熱することにより、豆腐様の強固なゲルを形成できるとの報告もあり¹⁵⁾、加熱と酵素分解を適度に組み合わせることにより、様々なかたさおよび様々な食感のゲル調製が可能となるのではないかとと思われる。

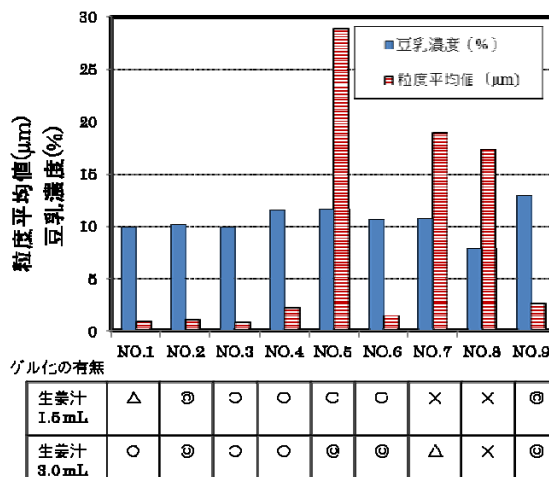


図4 市販及び調製豆乳の固形分濃度、粒度平均値、ゲル化能

- NO.1: イオン「オーガニック成分無調整豆乳」
- NO.2: キッコーマン「おいしい無調整豆乳」
- NO.3: マルサン「有機豆乳無調整」
- NO.4: スジャータ「有機豆乳」
- NO.5: 椿き家「丸大豆豆乳」
- NO.6: 野瀬豆腐「飲む豆腐」
- NO.7: 大塚食品「スゴイサイズ」
- NO.8: 工研豆乳1 (呉を遠心で濾過)
- NO.9: 工研豆乳2 (呉をろ布で濾過)

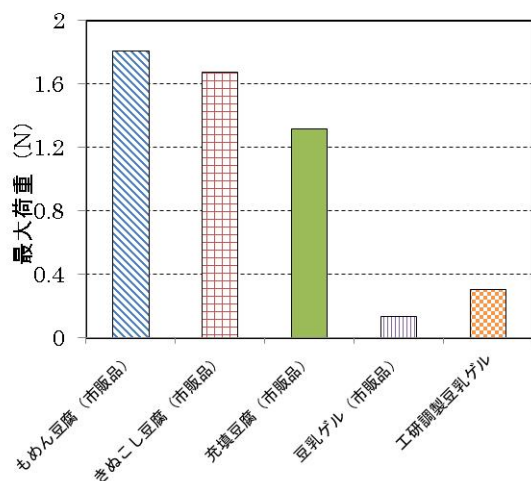


図 5 豆腐と豆乳ゲルのかたさの違い

もめん豆腐：デリカ食品「もめんとうふ」
 きぬこし豆腐：デリカ食品「きぬこしとうふ」
 充填豆腐：井村屋「大和屋和蔵 大豆ッ子」
 豆乳ゲル（市販品）：キッコーマン「おいしい無調整豆乳」
 工研調製豆乳ゲル：工研豆乳 2（呉をろ布で濾過）

3. 2. 3 加熱豆乳のゲル化および粘度特性

図 6 に、各温度で豆乳を加温した時、ゲルのかたさへの影響を示す。また、各豆乳のせん断速度を変えた時の粘度変化について図 7 に示す。豆乳の粘度は、80 °C で処理した時が一番高く、次いで 95 °C、70 °C の順となった。各豆乳の粘度は、ゲル化後の最大荷重が大きいほど高かった。

大豆タンパク質には主に 2 つの成分グリシニンとβ-コングリシニンが含まれており、呉の加熱時には、この 2 つの成分の加熱特性と存在割合によってゲルのかたさや粘性が決まってくると言われている¹⁵⁾。豆腐製造時、大豆タンパク質の粘度、ゲルのかたさは、90 °C 以上の加熱、その後の冷却によって増加する¹⁵⁾。

95 °C、80 °C、75 °C での呉の加熱では、温度が高いほど処理後の遠心分離で除去した沈殿物の量が多かった（データ示さず）。加熱によって不溶化、粘性を増した会合体はより温度の高い加熱条件で多くなり、これらが分離除去された 95 °C 加熱豆乳の粘度は低下したと考えられる。また、ゲル化後のかたさに関しても、豆乳中の大豆タンパク質フラグメントの濃度に依存すると考えられることから、

ゲルの強度・かたさも豆乳の粘度の値に依存する結果となったと考えられる。このため、70 °C 加熱豆乳では粘度が上がるまでタンパク質の変性、会合が進まず、低い値に留まり、80 °C 加熱豆乳ではその中間の値になったと推察される。

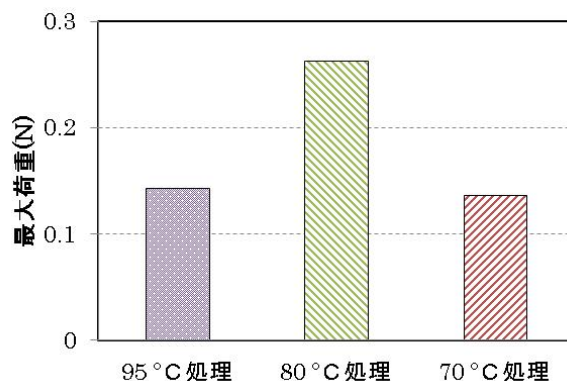


図 6 加熱温度と豆乳ゲルのかたさの違い

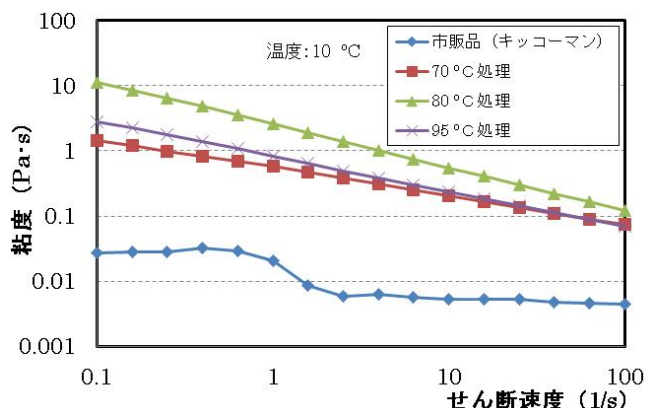


図 7 豆乳の粘度

治具：φ 60 mm，角度 2°のコーンプレート
 温度：10 °C
 せん断速度：0.1~100 1/s

4. まとめ

豆乳-ショウガ抽出液ゲルは豆腐に比べて柔らかいゲルであり、プリン状の食品や、増粘剤としての利活用できる可能性がある。

(1) SDS-PAGE で分析により、市販豆乳および生大豆から抽出した豆乳中の大豆タンパク質の低分子化が確認できた。

(2) 豆乳固形分、粒子径とゲル化能等の明確な相関関係は得られなかった。

(3) 豆乳の調製に関して、加水、粉碎、搾抽出液後、95 °C、80 °C、70 °C で加温調製したところ、その粘度およびショウガ抽出液添加により得られたゲルの強度は 80 °C > 95 °C > 70 °C の順であった。粘度は、ゲル化前の加熱温度によって制御可能であることが明らかとなった。

参考文献

- 1) 山田徳広ほか：“ショウガ抽出液を用いた牛乳ゲルの形成について”. 日本食品保蔵科学会誌, 41(3), p111-115 (2015)
- 2) 山田徳広：“ショウガプロテアーゼによる牛乳ゲルの調製におよぼす牛乳の種類と成分の影響”. 日本食品生活学会誌, 26(2), p79-84 (2015)
- 3) H.- P. Su et al.: “Characterization of ginger proteases and their potential as a rennin replacement”. J. Sci. Food Agric., 89, p1178-1185 (2009)
- 4) 大槻耕三ら：“ショウガアミノペプチダーゼのペプチド性食品に対する利用”. 浦上財団研究報告書, 8,p1-9 (2000)
- 5) 三重県中央農業改良普及センター：“みえの大豆情報”. p57-81 (2016)
- 6) 宮村充彦ら：“ショウガを利用した嚥下機能改善剤の研究開発”. 食品と開発, 51(6),p78-80 (2016)
- 7) A. Nafi et al: “Partial characterization of an enzymatic extraction from Bentong Ginger(*Zingiber officinale* var. Bentong)”. Molecules, 19, p12336-12348 (2014)
- 8) 森友彦：“大豆タンパク質のゲル化と物性発の分子構造要因—第二世代の研究—”. 日本調理学会誌, 38(3),p221-225 (2005)
- 9) M. Mohri et al: “Improvement of water absorption of soybean protein by treatment with bromelain”. J. Agr. Food Chem., 32, p486-490 (1984)
- 10) 孫成春ら：“食肉タンパク質におよぼすイチジク果実プロテアーゼの基本的性状”. 岡山大学農学部学術報告, 92, p53-56(2003)
- 11) 四十九成子ら：“プリンスメロンプロテアーゼの諸性質について”. 家政学雑誌, 28(2) (1977)
- 12) 増田功ら：“キウイフルーツのプロテアーゼの利用について”. 日本食品工業学会誌, 34(1), p36-41 (1987)
- 13) 妻鹿絢子ら：“ショウガプロテアーゼの筋原線維タンパク質におよぼす影響”. 家政学雑誌, 34(2) (1983)
- 14) 舟木淳子：“豆乳ゲル食品の調製”. 福岡女子大学人間環境学部紀要, 34, p23-26 (2002)
- 15) 星祐二：“大豆製品の機能特性,b 機能特性”. 大豆の科学, 朝倉書店, p162-178 (1992)