

凍り豆腐の凍結エージング過程で生ずる凝集体形成挙動の詳細観察 Observation for formation behavior of aggregate in “Kouri-tofu” during aging process under subzero temperature

小林 りか^a, 石黒 貴寛^b, 尾関 亜海^c
Rika Kobayashi^a, Takahiro Ishiguro^b, Ami Ozeki^c

^a 日本大学生物資源科学部, ^b 旭松食品(株), ^c 東京海洋大学海洋科学部

^a College of Bioresource Science, Nihon University, Japan,, ^b Asahimatsu Foods Co., LTD. , ^c Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Japan,

凍り豆腐の硬さ付与に不可欠な凍結エージング過程は短縮化が望まれるが、豆腐内で硬さが生ずるメカニズムが不明である。このメカニズム理解の一助として、放射光単色 X 線 CT で得られる密度分解能の高い X 線線吸収係数を利用し、エージング過程における豆腐固形部での密度変化を観察した。豆腐固形部由来の X 線線吸収係数は脂質由来の低密度ピークとタンパク質由来の高密度側ピークに分離され、低温エージングの進行過程でタンパク質由来のピーク中心値は変化しない一方で、脂質由来のピーク中心値が変化した。すなわち低温エージング過程での硬さ変化には、固形部分の油脂の寄与がある可能性が示唆された。

キーワード： 食品加工、冷凍技術、エージング、テクスチャー、X 線 CT

背景と研究目的：

凍り豆腐の製造過程では、原料豆腐を凍結した後、約 3 週間 -2°C の環境下に置いておく低温エージング過程を必要とする。この過程は凍り豆腐の硬く強固なテクスチャー付与のため必要不可欠な工程であるが、その過程でどのような物理的、および化学的反応が生じ、結果として豆腐の硬さ増していくのか、そのメカニズムが不明である。一般的に豆腐を凍結すると、氷結晶が生成し、豆腐中の水以外の構成成分である大豆タンパク質や大豆脂質等は氷結晶間に濃縮される。濃縮が生ずることによって豆腐の主構成成分である大豆タンパク質間ではジスルフィド結合や水素結合等が生じて新たな網目構造を形成すると理解されている[1,2]。しかしこれまでの実験結果より、低温エージング過程では凍り豆腐中の大豆タンパク質のジスルフィド結合量は変化しないこと、その一方で大豆タンパク質の表面疎水領域が増加する傾向があることが示されている。そこで我々は、低温エージング中の硬さ増大は、疎水性相互作用や水素結合等の分子間相互作用によってタンパク質の凝集構造の形成が進行し、ネットワーク構造がより強固なものとなることに起因するのではないかと考えた。そこで本実験では、実際のエージング過程において豆腐固形部で凝集体形成が進行するのか非破壊で観察することを目的に、X 線 CT 撮像から得られる X 線線吸収係数の違いを利用して、豆腐固形部分の局所的密度変化の観察を試みた。放射光施設で得られる高輝度単色光 X 線を用いた CT イメージングでは、断層画像は照射 X 線波長での X 線線吸収係数の多階調な空間分布として得られるため、密度分解能の高い X 線線吸収係数の度数分布図(ヒストグラム)が得られ、食品内の微妙な密度変化を定量的に捉えるポテンシャルがあるとされる[3]。これまでに我々は 2016B 期(課題番号 2016B1792)において、放射光単色 X 線 CT 撮像手法を利用し、凍り豆腐の熟成前後での固形部分の密度変化が、CT で得られる X 線線吸収係数から捉えられるか、凍結乾燥試料、および凍結試料を用いて検討を行った。その結果、凍結乾燥試料では、固形部分は度数分布が低密度側と高密度側の 2 つのピークに分かれ、低温熟成過程を経ると、2 つのピークの中心がより高密度側に若干シフトする傾向にあった。これは一見、低温熟成によって高密度を示す凝集体の形成が進行していることを示していると考えられた。しかしながら、固形部分の低密度側の X 線線吸収係数の由来が解釈できなかつた上、凍結状態の試料では、氷部分と固形部分の密度差が小さいことから、固形部分の X 線線吸収係数の分布を解析できるほど十分な情報量が得られず、前回の課題の測定条件では凍結状態のままの評価は難しかった。そこで本実験では、試料を 1 ステップずつ回転させて撮像する際に、5 枚の透過像を撮像し、それらを積

算することで、取得する情報量を増やし、詳細な密度情報を得て、凍結状態のままの豆腐試料のエイジング過程での密度変化評価および、凍結乾燥試料では前回の実験結果の再現性を確認することを目的に以下の実験を行った。

実験：

約 $40 \times 70 \times 1.5 \text{ mm}^3$ の平板状となっている旭松食品(株)社の凍り豆腐製造用原料豆腐を -9°C のエアブラスト凍結装置で凍結した後、 -2°C 静止空气中で最大 14 日間低温熟成させ、低温熟成 0 日、7 日、14 日にサンプリングを行なった。これらの一部をドライアイス中に保持し凍結状態のままビームラインに持ち込み CT 撮像に供した。残りは、棚温度を約 -40°C に制御した凍結乾燥装置で凍結乾燥させ測定試料とした。X 線 CT 測定は BL19B2 ラインで行ない、X 線源のエネルギーは 12.4 keV に設定した。実験ハッチ内には液体窒素蒸気を吹き付けて低温での温調を可能とした X 線 CT 用の回転試料ステージと、高調波除去のため 0.23° で X 線ミラーを設置し、ステージ下流側に X 線 CCD カメラを設置した。凍結および乾燥試料の中心部から、測定直前に約 $1.5 \times 1.5 \times 10 \text{ mm}^3$ の直方体試料片を切り出し、これを回転試料ステージに設置し撮像した。空間分解能は $2.91 \mu\text{m}/\text{pixel}$ であった。試料の撮像は多重露光で行った。すなわち試料を 1 ステップあたり 0.5° で 180° まで回転させ撮像を行う過程で、1 ステップにつき 5 枚の透過像を連続で得て積算した。この際の 1 枚当たりの露光時間は 0.25 s とした。こうして得られた一組の透過像 (361 枚) から断層像を再構成し、得られた断層像から、断層像 1 枚内の X 線線吸収係数の度数分布を得た。この度数分布をヒストグラム上で空隙由来のピークと乾燥豆腐の固形部分由来のピークとに分離し、乾燥豆腐の固形部分由来の X 線線吸収係数の分布が、エイジングを経ることによってどのように変化するか観察した。

結果および考察：

凍結状態の凍り豆腐試料の CT 断層像 (X 線線吸収係数の断層面内分布) を Fig.1 の上段に示す。凍結試料では、最も暗く映った部分が空隙、暗い灰色に映った部分が氷結晶、明るい灰色に映った部分が豆腐固形部を示す。エイジングを経るほど、断層像上では固形部分と氷部分コントラストが大きくなり、固形部分の構造がよりはっきりと観察できた。これらの画像の豆腐部分から得た X 線線吸収係数の度数分布を Fig.1 の下段に示す。X 線線吸収係数の実測値の分布 (図中黒実線) は $2.4\text{--}2.5 \text{ cm}^{-1}$ 付近を中心とした一つのピークを持つ形状であった。

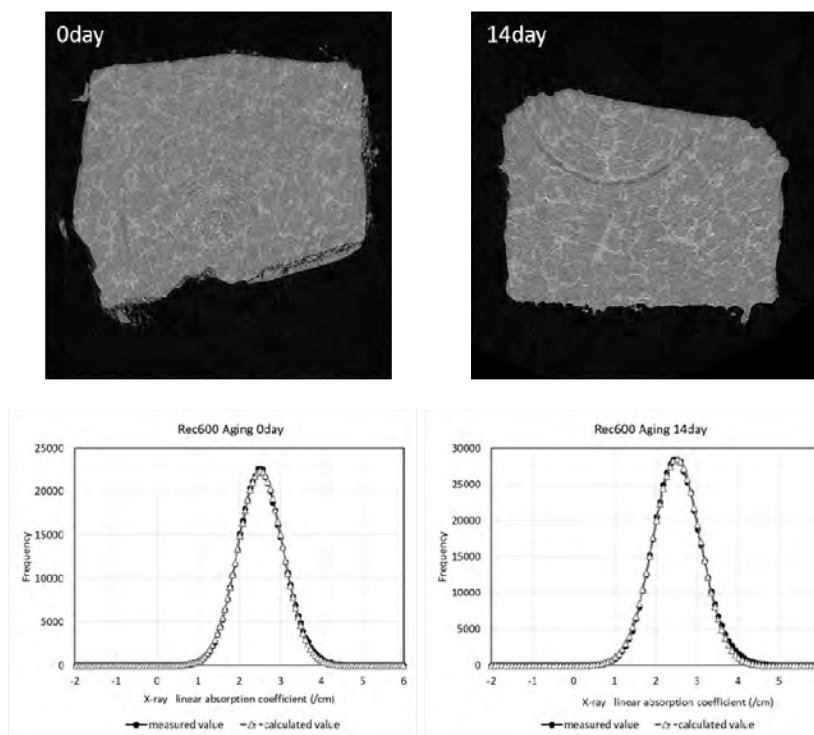


Fig.1 凍結状態の凍り豆腐断層像および X 線線吸収係数の度数分布

腐固形部のピークから成り、実測値とフィッティングした計算値との差に、豆腐固形部分由来の線吸収係数の寄与が表れていると考えられる。X 線線吸収係数の実測値と計算値との差は、相対的にはエージングを経た後でより顕著に違いが表れていた。これは、エージング過程で豆腐固形部から脱水が進み、固形部の濃縮が進行していることを示していると考えられる。しかしながら絶対値としての差は僅かであり、ピーク分離を行って詳細検討するに十分な情報量ではなかった。そこで、乾燥物の断層像をより詳しく見ていった。Fig.2 に豆腐凍結乾燥物の断層像を示す。

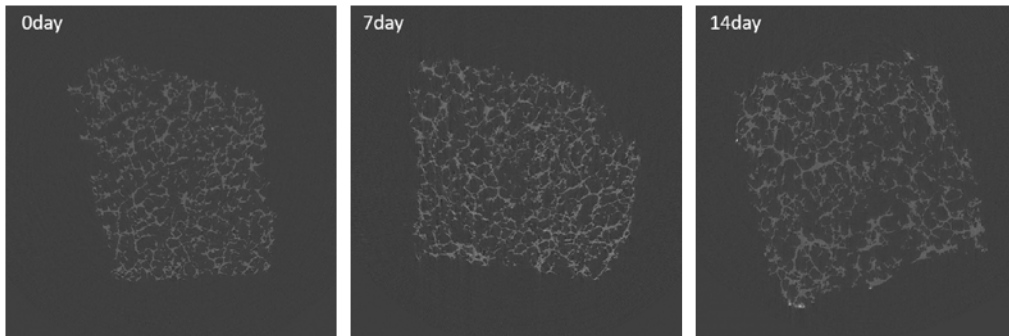


Fig.2 熟成過程下の凍り豆腐の断層像

暗色部分が空隙構造、明色部分が固形構造を示している。凍結乾燥試料では、氷結晶が存在していた部分が空孔となり、空孔由来の X 線線吸収係数は 0 cm^{-1} を中心としたガウス分布を示す。その一方、タンパク質を主構成成分とする豆腐固形部分由来の X 線線吸収係数は 3.0 cm^{-1} 付近を中心とした分布を持つ。そのため、 2.45 cm^{-1} 付近にピーク中心を持つ氷結晶と 3.0 cm^{-1} 付近にピーク中心を持つ豆腐固形部分から成る凍結試料よりも、凍結乾燥試料のほうがより明瞭なコントラストが得られた。

そこで、凍結乾燥試料の断層像を用いて、豆腐固形部分の X 線線吸収係数の度数分布変化の詳細観察を行った。度数分布の空隙部分と固形部分がそれぞれガウス関数に従うとして、ピーク分離を行った結果を Fig.3 に示す。

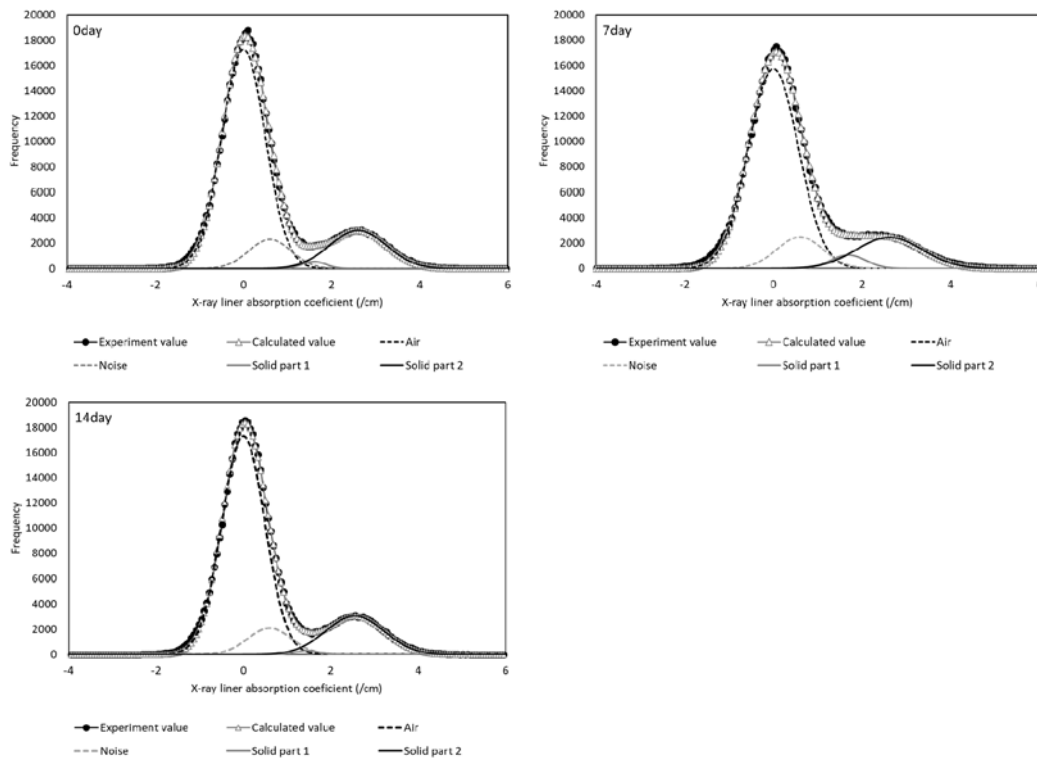


Fig.3 豆腐断層像の X 線線吸収係数度数分布のピーク分離結果

まず、どの豆腐試料においても 0.6 cm^{-1} 付近に由来不明の X 線線吸収係数の分布が顕著に表れた。断層像を X 線線吸収係数 0.6 cm^{-1} 付近で二値化して観察すると、この X 線線吸収係数はリングアーチファクトに起因するノイズ像が残ったことから、 0.6 cm^{-1} 付近をピークトップとした由来不明の X 線線吸収係数の分布は、バックグラウンドのノイズであると判断した。次に、ピーク中心を 0 cm^{-1} とした空隙部分とピーク中心を 0.6 cm^{-1} としたノイズの分布をまず X 線線吸収係数の度数分布のマイナス領域でフィットさせ、決定した後、固形部分由来のピークフィッティングを行った。どの豆腐試料においても、固形部分の度数分布は 1.7 cm^{-1} 付近を中心とする低密度側ピークと 2.8 cm^{-1} 付近を中心とする高密度側ピークの 2 つに分かれた。X 線線吸収係数の絶対値から考えると、低密度側は脂質由来、高密度側はタンパク質由来でないかと考えられた。低温熟成過程を経た際の、低密度側と高密度側の 2 つのピーク中心の変化を Fig.4 にまとめた。横軸は X 線線吸収係数の度数分布情報を取り出した断層像が、試料表面からどの程度の深さに位置しているかを示す。タンパク質由来と考えられる高密度側のピークトップ位置は、試料の深さ方向で多少のばらつきはあるが、エージング過程を通してほぼ同程度の値を示した。その一方、油脂由来と考えられる低密度側のピークトップ位置は、エージングを経ることで不規則に変化しており、エージング 0 日と比較して、エージング 7 日ではピークトップ位置が若干高密度側にシフトしている一方で、エージング 14 日後では低密度側にシフトしていた。これらの結果から、低温エージング過程の豆腐固形部分では、タンパク質そのものの自体の変化だけでなく、油脂でも何らかの変化が起こり、タンパク質と油脂の相互作用が変化し、硬さ増大に寄与しているのではないかと考えられた。

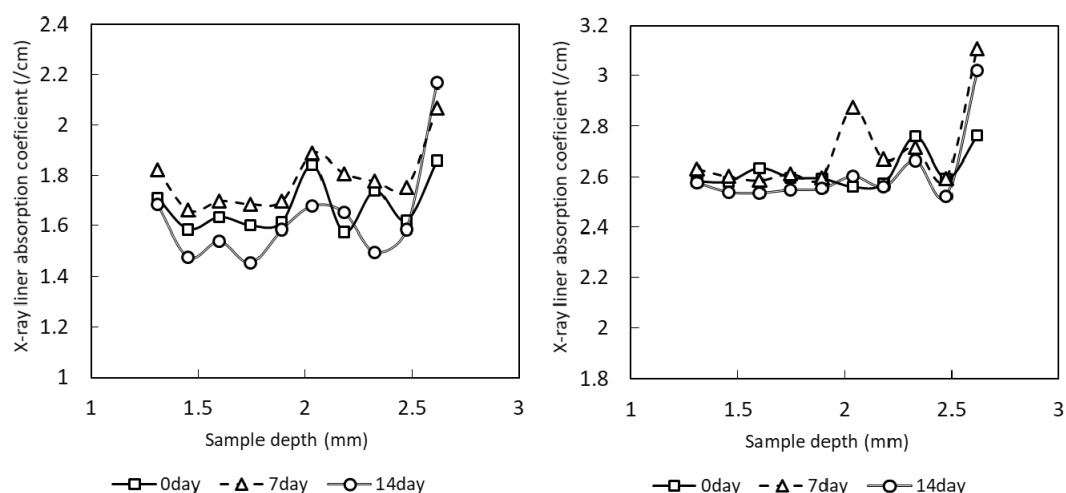


Fig.4 豆腐固形部分由来の X 線線吸収係数度数分布のピークトップ値、左図：低密度側、右図：高密度側

今回凍結乾燥試料で得られた X 線線吸収係数の度数分布をピーク分離した結果、4 つのピークに分かれたが、それらは空隙部分(ピーク中心 0 cm^{-1})、リングアーチファクトによるノイズ部分(ピーク中心 0.6 cm^{-1})、油脂部分(ピーク中心約 1.7 cm^{-1})、タンパク質部分(ピーク中心 2.6 cm^{-1})と根拠付けのできる結果となり、妥当なピーク分離が出来たと考えられる。今後これらのピーク中心値の変化挙動について、今回測定した試料より詳細にエージング日数を区切り、固形部分の油脂およびタンパク質由来の X 線線吸収係数の度数分布変化を確認し、本評価手法の再現性と妥当性を確認する必要がある。また、今回示唆されたエージング過程での豆腐硬さ増大に対する油脂の寄与を、油脂の量や酸化度等を変えたモデル豆腐を調整し、併せて検討する必要がある。

参考文献：

- [1] 橋詰和宗他, 日本食品工業学会誌, 21(4), 146-150, (1974).
- [2] K. Morita, and M. Shimoyamada, *Food Chemistry*, 140(1-2), 39-43, (2013).
- [3] M. Sato, et al, *Japan Journal of Food Engineering*, 17(3), 83-88, (2016).