

# 近赤外分光法を用いた豆乳凝固過程のモニタリングのための基礎研究

## Basic Research for Monitoring Soymilk Coagulation using Near Infrared Spectroscopy

Key words: Soymilk coagulation, monitoring, Near Infrared Spectroscopy

生物センシング工学分野 齋藤 嘉人

### 1. 緒言

豆腐は大豆加工品の中で最も主要な食品であり、日本では食用大豆消費の約半分を占める。豆腐製造において豆乳の凝固は豆腐の硬さなどの品質に直接影響するため、生産者が凝固反応を制御する際に必要となる凝固過程のモニタリング技術が求められている。

豆乳の凝固過程では豆乳中のタンパク質が油滴球を骨格として凝集し、内部に水を抱き込んだ「カード」と呼ばれる微細構造を形成する<sup>1)</sup>。また牛乳はチーズやヨーグルトに加工される際に発酵過程により凝固し、豆腐と同様にカードを形成する。既往の研究では、牛乳の凝固過程を近赤外光によりモニタリングした事例が報告されている<sup>2)</sup>。一方、近赤外光で豆乳の凝固過程をモニタリングした例には光ファイバーを用いた散乱測定<sup>3)</sup>があるが、これは凝固中の豆乳にファイバーを差し込むことによる破壊的なモニタリング方法であり、絹豆腐や充填豆腐のようなそのまま商品となる種類の豆腐製品には適さない。

そこで、近赤外分光法を用いた豆乳凝固過程の非破壊モニタリング法の開発を目指し、本研究ではまず、透過スペクトルと豆乳凝固状態との関係を明らかにすることを目的とする。既往の研究において硬さの異なる豆腐の透過特性を評価した事例はない。したがって本研究では、異なる凝固温度で作成した硬さの異なる豆腐の透過特性を評価し、近赤外分光法により豆腐の硬さの違いを検知できるか検証した。次に凝固過程のモニタリングを想定し、凝固時間の異なる豆腐の透過特性を評価し、モニタリングへの応用可能性を検証した。

### 2. 実験方法

本研究では、豆乳には成分無調整豆乳（名古屋製酪株式会社）を用いた。また、 $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ （中島商店株式会社）を豆腐用凝固剤として用いた。

透過測定には紫外可視近赤外分光光度計 V-670（日本分光社製）を使用した。この分光光度計は光束がリファレンスと試料を透過するダブルビーム方式で、回折格子型の分光器である。また、使用した

透過セルの厚みは 0.3 mm である。

以下に各実験の実験方法を示す。

#### 2.1 凝固温度の異なる豆腐の透過特性

室温下(22 °C)で豆乳 100 ml を用意し、凝固剤  $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$  を豆乳に対する濃度が 58.1 mM となるように調整したものを豆乳に加え、よく攪拌したものを用意した。なお、この  $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$  の濃度は、名古屋製酪株式会社製の成分無調整豆乳に対する  $\text{CaSO}_4$  の最適濃度であることが報告されている<sup>4)</sup>。

試料作成前に 2 つの空の透過セルを置いてベースライン測定を行った後、試料用透過セルに豆乳と凝固剤の混合物を注入し、室温下で凝固前の豆乳の透過測定を行った。

その後、40, 50, 60, 70, 80, 90 °C の 6 種類の凝固温度について、それぞれの温度でオープン内にて 10 分間凝固させた後、冷却(4 °C)7 分、静置(22 °C)7 分を行って試料を調製し、透過測定を行った。

測定波長は 1100~1800 nm、バンド幅は 0.5 nm、1 回の透過測定でのスキャン回数は 4 回とし、再現性を確かめるため、同条件で 4 回の測定を繰り返した。

また同凝固条件で 100 mL の豆腐を調製し、SV 型粘度計 SV-10（エー・アンド・デイ社製）を用い、硬さの指標として粘度を評価した。本装置は音叉型振動式粘度計であり、広いレンジに渡り液体から半固体状の物質まで構造をほぼ破壊せずに測定でき、豆腐の硬さの評価にも適している。

#### 2.2 凝固時間の異なる豆腐の透過特性

豆乳に凝固剤を混合し、凝固前の豆乳の透過測定を行うまでの工程は 2.1 の実験と同様である。ただし、凝固前の試料は凝固時間 0 分と定義する。

その後、1, 2, 4, 7, 10, 15, 20, 25, 30 分の 9 種類の凝固時間で 80 °C にて凝固させた後、冷却(4 °C)7 分、静置(22 °C)7 分を行って凝固時間の異なる試料を調製し、透過測定を行った。なお、凝固温度 80 °C は、既往の研究において用いられている凝固温度の平均値である<sup>4)</sup>。

測定波長は 1100~1800 nm、バンド幅は 0.5 nm、1 回の透過測定でのスキャン回数は 4 回とし、再現性を確かめるため、同条件で 4 回の測定を繰り返した。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 凝固温度の異なる豆腐の透過特性

測定波長全域において、凝固温度の増加に伴い豆腐の吸光度は増加していく傾向が得られた。原因として、試料自体の吸収の増加や、豆乳中の粒子が凝集してミセルのサイズが増加することで光の散乱強度が増加し、透過光強度が減少したことで見かけの吸光度が大きくなったことが考えられる。また、豆腐の粘度は凝固温度が上昇するにつれて増加する傾向が得られた。そこで、最も吸光度の上昇幅が大きかった 1100 nm において、凝固前の豆乳からの吸光度の増加  $\Delta A$  と豆腐の粘度との相関を図 1 に示す。ここで、エラーバーは全 4 回の測定の標準誤差を示す。

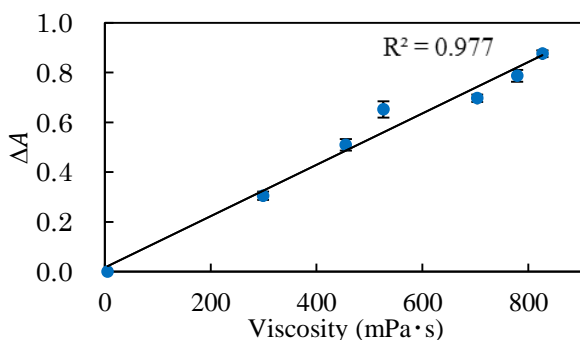


図 1 1100 nm における  $\Delta A$  と豆腐の粘度との関係

図 1 より、1100 nm における  $\Delta A$  は豆腐の粘度と線形的な関係を持つ可能性が示唆された。また、他の波長においても同様の傾向が確認され、近赤外分光法により豆腐の硬さを検知できることが示された。

#### 3.2 凝固時間の異なる豆腐の透過特性

1100~1800 nm 全域において、凝固時間が経過するにつれて豆腐の吸光度は増加する傾向が得られた。既往の研究において、凝固過程における豆乳の粘弾性は一次反応速度式に従うと報告されている<sup>5)</sup>。一方、凝固過程における近赤外光の散乱強度は時間の関数で S 字型曲線を描く傾向が確認されている<sup>3)</sup>。そこで本実験では凝固時間 0 分からの吸光度の増加を  $\Delta A$  と定義し、 $\Delta A$  について一次反応速度式と S 字型一次速度式でフィッティングを行った。このとき、選択する波長による速度式の違いを評価するため、1100, 1300, 1500, 1700 nm の 4 種類の波長を用いた。

式(1)と式(2)に、それぞれ一次反応速度式と S 字型一次速度式を記す。ここで、 $y$  は測定値 (ここでは  $\Delta A$ )、 $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ) は速度定数、 $C$  は平衡値である。

$$y = C(1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

$$y = C \cdot \frac{e^{(\alpha+1)kt} - \alpha}{e^{(\alpha+1)kt} + 1} \quad (2)$$

ただし、式(2)で、凝固時間 0 分のとき  $\Delta A = 0$ 、つまり境界条件  $t = 0$  のとき  $y = 0$  より、 $\alpha = 1$  とした。

得られた  $C$  および  $k$  の値と、 $R^2$  の値を表 1 に示す。

表 1 フィッティングによる各パラメータと  $R^2$

Wavelength (nm)	一次反応速度式			S 字型一次速度式		
	$C$	$k$	$R^2$	$C$	$k$	$R^2$
1100	0.89	0.23	0.981	0.87	0.18	0.986
1300	0.73	0.21	0.985	0.71	0.17	0.988
1500	0.59	0.20	0.987	0.57	0.16	0.988
1700	0.49	0.19	0.989	0.48	0.15	0.991

式(1)と式(2)より、 $k$  は凝固反応の速度を表す。したがって表 1 中の  $k$  の値より、波長が長くなるにつれて反応速度が小さくなることが示された。

豆乳凝固過程では、粒子サイズの増大に対応して短波長側から散乱強度が増加していくと考えられる。したがって、粒子の凝集による散乱光の増加は短波長側でより早く、その現象が見かけの吸光度の増加する速度に反映された結果であると考えられる。

### 4. 結言

凝固温度の異なる豆腐の透過特性から、豆腐の硬さを近赤外分光法で検知できることが示された。また凝固時間の異なる豆腐の吸光度のフィッティング結果から、モニタリングへの応用可能性が示された。図 1 のように豆腐の粘度と吸光度の増加が線形的な相関を持つと仮定すると、吸光度は一次反応速度式に従って増加する<sup>5)</sup>。しかしこの吸光度は、凝固過程では S 字型曲線を描く散乱<sup>3)</sup>や反射の影響も含むため、わずかに S 字型一次速度式で相関が高くなったと考えられる。ゆえに、吸収・散乱・反射の各成分について測定や解析を行うことで、より正確に凝固反応をモニタリングできる可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) Ono, T. (2008) : The Mechanism of Soymilk and Tofu Formation from Soybean, and the Factors Affecting the Formation, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **55**(2), 39-48
- 2) Christian Boge Lyndgaard, Soren Balling Engelsen, Frans W.J. van den Berg (2012) : Real-time modeling of milk coagulation using in-line near infrared spectroscopy, *Journal of Food Engineering*, **108**, 345-352,
- 3) Peng He, Zhen Zhou, Na Wang (2011) : Development of A Novel Fiber Optic Sensor for On-line Monitoring of Soymilk Coagulation, *Applied Mechanics and Materials*, **52-54**, 1703-1708
- 4) Yurie Mine, Kaori Murakami, Keiko Azuma, Shiho Yoshihara, Kimitoshi Fukunaga, Takashi Saeki and Etsuo Sawano (2005) : A Comparison of Various Coagulants in Tofu-Forming Properties, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **52**(3), 114-119
- 5) Kaoru Kohyama, Yoh Sano and Etsushiro Doi (1995) : Rheological Characteristics and Gelation Mechanism of Tofu (Soybean Curd), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, 1808-1812