Gluten 代替タン白質の検索に関する研究

(第7報) 大豆 7S グロブリンの製パン性の改良について

山 本 淳*・西岡ゆかり*・高田千鶴子*

Studies of a Searching Examination for Gluten Replace Protein

Part VII Improvement of Bread Baking Properties in Soy 7S Globulin

Atsushi YAMAMOTO**, Yukari NISHIOKA** and Chizuko TAKADA**

Summary

In the previous paper, it was elucidated that the bread baking properties of soy 11S globulin combined with 80% rice flour and 10% wheat gluten were improved remarkably by adding of 0.1% egg lecithin. Therefore, the changes of bread baking properties in soy 7S globulin combined with similarly structured components were examined. However, the addition of egg lecithin hindered the properties of soy 7S globulin. After frozen storage of mixed dough, 11S globulin improved the bread baking properties, but 7S globulin was damaged. These differences in both globulins were presumed to cause due to their molecular structures. Molecular weight of 7S globulin is about a half of 11S globulin. Particularly, the subunit structures are extremely different in both globulins. Therefore, the enlargement of molecular size was tried through reacting with epichlorohydrin. The product, modified soy 7S globulin, gave excellent bread by adding of 0.1% egg lecithin.

(Received Jan. 11, 1986)

緒 論

米粉, 小麦グルテン, 大豆タン白質の組合せについて製パン性を検討する過程で, 大豆タン白質の主要構成要素の一つである 11S グロブリンが顕著な製パン阻害を示すが, 極く少量のレシチンなどの表面活性物質を添加することによって, 一転して優れた製パン性発現に変化することを見出し, 既に報告¹⁾した。また, この時の製パン性の変化には, 12個のサブユニットが—S・S—架橋で結ばれ, 全体として強固な球状構造をとる 11S グロブリン分子内の内部疎水結合の変化が深く関り合うことも明

らかにすることができた²⁾。一方, 大豆タン白質の残る一つの主要構成要素 7S グロブリンは, そのままで可成り優れた製パン性を示す³⁾。

しかし, 11S グロブリンで明らかな効果が認められた混捏ドウの凍結保蔵によって, 反対に顕著な製パン性の低下が起った。また, 7S グロブリン添加ドウはいずれも発酵の過程までは良好なスポンジネットの形成が認められるものが, 焼成の段階で明らかな中落ちが起ることも既に報告³⁾した。大豆タン白質を構成する主要成分である 11S, 7S グロブリンの両者の製パン挙動は明らかに正反対の性質を示している。もちろん, 大豆タン白質が 7S, 11S 両グロブリンを主要な構成要素とするタン白質である以上は, 両者の製パン挙動の歩を一つにすることによって, 大豆タン白質が始めて優れた製パン素材となり得るものであることはいうまでもない。このため, 11

* 帝国女子大学家政学部(〒570 大阪府守口市藤田町6-173)

**Teikoku Women's University, Department of Domestic Science (6-173, Tohdacho, Moriguchishi, Osaka 570, JAPAN)

S グロブリンに対して著効を奏したレシチンなどの表面活性物質の添加による 7S グロブリンの製パン性の変化を試験するとともに、その時の変化に基づいて、7S グロブリンの製パン性の改良を試みた。以下、これらの結果を報告する。

定 験 の 部

1. 実験材料

(1)大豆 7S グロブリン：前報³⁾に記載した方法により調製した。すなわち、長谷川ら⁴⁾の記述に従い、柴崎ら⁵⁾の方法によって、不二製油㈱より分与を受けた、実験用に調製された低温脱脂大豆粉に0.01Mメルカプトエタノールを含む0.03Mトリス緩衝液 (pH8.0) の20倍量を加えて抽出、可溶性区分から5℃、pH6.2で沈でんする11S グロブリン区分を除去した残液をpH4.8として沈でんする画分を遠心捕集、pH6.4で溶解する画分のみをpH7.0に調整、凍結乾燥して7S グロブリン画分とした。

(2)卵黄レシチン、エピクロロヒドリン、ゲルタールアルデヒド：いずれも和光純薬㈱製の試薬を購入、使用に供した。

(3)製パン材料：米粉（日本製粉㈱兎月A32）、ドライ酵母を始めとする副資材は前報⁶⁾どおりである。粉末小麦グルテンは、これまでのオーストラリア H. P. P. 社製（以下、HPと略す）を用いた場合と、入手が容易な協和醸酵工業㈱の酵素改良小麦グルテン“プロビアン”（T. N. : 12.7%；以下、KPと略す）を実験に供した。なお、あらかじめ行った両グルテンの製パン比較試験では、KPが僅かに優る結果を示した。実験結果の記述では、それぞれの略号で両者を区分して記載した。

2. 実験方法

(1)大豆 7S グロブリン添加パンの焼成：米粉80%、粉末小麦グルテン10%、大豆 7S グロブリン10%を基本組成として、広く行われている小麦粉食パンに準じて焼成した。これらの手法は総て前報⁶⁾と同様に行った。なお、いずれの実験においても、添加した7S グロブリンは10倍量の3%食塩水と自動乳鉢中30分間搗潰、ゲル化した後ドウ調製時に添加した。また、卵黄レシチン添加区では所定量（0.1または0.5%）を搗潰時に添加してゲル化を行った。後述するエピクロロヒドリン改質7S グロブリンも、改質前7S グロブリンと全く同様に取扱った。

改質前7S グロブリンについて行った実験では、卵黄レシチン添加実験を除いて、いずれもHPを用いた。卵黄レシチン添加区、エピクロロヒドリン改質7S グロブリンを用いた実験区は総てKPを使用した。

(2)諸操作過程における7S グロブリンの電気泳動パターンの変化：調製ドウでの変化は、0.067M 磷酸緩衝液 (pH7.6) 20倍量を加えて冷室中で一夜振盪して溶出するタン白質を、また、改質過程の7S グロブリンは直接採試して、前報⁶⁾と同様10% SDS-PAGE (Poly-acrylamide Gel Electrophoresis) によりその泳動パターンの変化を調べた。

(3)改質大豆 7S グロブリンの調製：大豆 7S グロブリンは、分子中にグルコース、マンノースを含有する糖タン白質であることが知られている⁷⁾。このことに着目して、多糖類分子間の架橋に広く用いられるエピクロロヒドリンによる架橋改質を試みた。

貝沼ら⁸⁾の記述に従い、7S グロブリンを10%無水硫酸ナトリウムを含む25倍量の0.4% 水酸化ナトリウム溶液に溶解し、7S グロブリンに対し3%および10%のエピクロロヒドリンを滴加し、室温で攪拌を続けながら反応を行った。6時間後にpH4.8で沈でんする区分を捕集し、pH7.0で再溶解、再びpH4.8で沈でん、pH6.4で可溶性区分のみを透析、凍結乾燥して改質7S グロブリンとした。収量約90%。これら一連の操作を取まとめてFig. 1に示す。

なお、エピクロロヒドリンは皮膚、粘膜に障害を来す毒性が知られており⁹⁾、このためエピクロロヒドリン改質7S グロブリンは食品としての適性を欠くと判断し、これを用いて焼成したパンの食味試験は一切行わなかった。

結果ならびに考察

1. 大豆7S, 11S両グロブリンの製パン性の比較

12個のサブユニットの総てが—S—S—架橋で結ばれ、分子内に44個の半シスチン、その中の2個が遊離の—SHであることが明らかにされている分子量約36万の11S グロブリンに対して、7S グロブリンの分子量は半分の約18万であり、6個のヘテロジェニティー中の3個が会合して構成される7S グロブリン分子ではサブユニット間の結合は分子間力のみ依存しており、11S グロブリンで見られたサブユニット間の共有結合は存在しない。これに加えて、7S グロブリン分子には僅かに4

Fig. 1 Modification Procedure of Soy 7S Globulin with Epichlorohydrin

個の半シスチンが存在するのみで、遊離の—SHは存在しないことが知られている⁷⁾。両グロブリンのこのような分子構成の差は、両者の製パン性に当然大きく影響するはずである。そこで、加塩擂潰、ゲル化したグロブリン添加ドウの凍結保蔵、0.1%卵黄レシチン添加による製パンへの影響のそれぞれを両グロブリンについて試験した。これらの結果を、焼成パンのスライス断面としてFig. 2に示す。

これらの結果、11Sグロブリンではそれぞれの処理が確実に製パン性を向上させたが、これとは全く逆に、7Sグロブリンではいずれの処理も製パン性の低下を来した。これに加えて、7Sグロブリン添加焼成パンのいずれもが、スライス断面の両端上縁部が鋭いエッジ状を呈し、発酵ドウの焼成の過程でスポンジネットの破壊に基づく中落ちを起したことを示している。事実、7Sグロブリン添加ドウは最後の焙炉の段階までは、発酵に伴うスポンジネットの形成も良好で、よく膨んでいたものが、焼成によって急激な容積低下を起すことが観察された。このことは、発酵の過程で発生する炭酸ガスを包含して、7Sグロブリンのスポンジ膜形成は順調に行われたものが、焼成の段階で泡沫破壊が起ったことを示している。このような膜破壊は形成膜の強度の不足によるのか、あるいは、焼成時の膜固定に際し共存するでん粉の

Soy 7S Globulin

Soy 11S Globulin

Fig. 2 Changes of Bread Baking Properties in Soy 7S and 11S Globulin affected by Various Conditionings

糊化反応とうまく同調できなかつたことに基因すると考えられる。この中、でん粉糊化との同調進行については、前報⁹⁾でも詳述したように、米粉の一部を糊化温度の低い小麦あるいは馬鈴薯でん粉で置換してもスライス面の形状に大きな変化は認められず、ともに焼成上縁部両端が鋭角エッジ状を呈することに変わりなかった。このことから、7 S グロブリン添加パンで見られた焼成時の中落ちはスポンジ形成膜の強度の不足に基づくものと推定した。

2. エピクロロヒドリンによる大豆7 S グロブリンの改質

7 S グロブリン添加ドウの焼成結果から、0.1% 卵黄レシチンの添加によって明らかな製パン性の低下が起ることを知ったが、7 S グロブリンを構成する3個のサブユニットが分子間力だけの弱い結合によることを考慮すると、疎水結合を弱める方向に働くレシチンの添加が製パン性を低下させたとして良いであろう。このことはまた、スポンジ膜を形成するタン白質の分子サイズが、少なくとも11 S グロブリン程度以上の大きさを必要とするとも解することができる。換言すれば、3個のサブユニットが構成要素となる7 S グロブリンが、そのままスポンジネットの構成に寄与した時でも充分な膜強度を維持できるだけの分子サイズに達していないと仮定すると、これまでの実験結果を無理なく説明できることになる。

一方、大豆7 S グロブリンは分子内にグルコース、マンノースを含有する糖タン白質である。このことは、多糖類間の架橋反応に広く利用されているエピクロロヒドリン¹⁰⁾によって、サブユニット間また分子間に新たな共有結合を導入して、球状分子としての強固性を付与できるばかりでなく、分子サイズの巨大化も可能となる筈である。そこで、7 S グロブリンを10%硫酸ナトリウムを含む0.4%水酸化ナトリウム液に溶解し、溶存する7 S グロブリン量の3%、10%のエピクロロヒドリンを滴加、加え終わって室温で6時間反応を行ったが、この間の7 S グロブリンの変化を経時的に10% SDS-PAGE で調べた。これらの結果をFig. 3に示す。

泳動ゲルNo. 1, 9は7 S グロブリンを0.4%水酸化ナトリウム溶液に溶解直後、No. 2はそのまま24時間室温で攪拌を続けた後のものである。No. 1, 2の間に泳動バンドの変化が全く認められなかったことから、3%エピクロロヒドリン滴加1時間後 (No. 3)、3時間後 (No. 4)、6時間後 (No. 5) の7 S グロブリンバンドの著減、10%

Gel No.	Kind of Gel
1, 9	dissolved 7S in reaction solvent
2	dissolved 7S in reaction solvent then standing overnight at room temperature
3	reacted 1 hr with 3% epichlorohydrin
4	reacted 3 hrs with 3% epichlorohydrin
5	reacted 6 hrs with 3% epichlorohydrin
6	reacted 1 hr with 10% epichlorohydrin
7	reacted 3 hrs with 10% epichlorohydrin
8	reacted 6 hrs with 10% epichlorohydrin
10	sampled immediately after adding of 3% glutaraldehyde

Fig. 3 SDS-PAGE of Soy 7S Globulin reacted with Epichlorohydrin or Glutaraldehyde

エピクロロヒドリン滴加区での同様の変化 (No. 6, 7, 8) は、いずれも7 S グロブリンとエピクロロヒドリンの反応によることは明らかである。

これとともに、エピクロロヒドリン滴加区では、7 S バンドの薄弱化と比例して泳動原点に残る巨大タン白質のバンドが濃くなっており、期待したエピクロロヒドリンによる7 S グロブリン分子の巨大化が起ったことを明示している。なお、6時間以後も引続いて調べたが、泳動バンドに大きな変化は認められなかった。泳動ゲルNo. 10は、タン白質分子間架橋に広く用いられるグルタルアルデヒドを3%滴加した直後のものである。ここでは、添加前に存在したバンドの総てが一瞬の間に消失して、一線となった原点のバンドのみが見られる結果となった。このことから、反応の調節が事実上不可能と判断されたので、以後の実験はエピクロロヒドリンによる改質についてのみ行った。

3. 改質7 S グロブリンによる製パン性の変化

エピクロロヒドリンによる改質前後の7 S グロブリンに卵黄レシチンを添加した時の製パンの結果を取りまとめて Table 1 に示す。

また、この中の卵黄レシチン添加焼成パンのスライス断面をFig. 4に示す。これらの結果、7 S グロブリンの

Table 1 Changes of Bread Baking Properties in variously conditioned Soy 7S Globulin as affected by Adding of Egg Lecithin

Kind of 7S globulin*	Kind of gluten	Added egg lecithin	Baked**		S.V. value
			volume	weight	
Original 7S	Hp	—	373ml	145.3 g	2.6
	Kp	0.1%	277	158.3	1.7
Modified 7S with 3% epichlorohydrin	Kp	—	280	158.9	1.8
	Kp	0.1	330	150.9	2.2
	Kp	0.5	340	155.3	2.2
Modified 7S with 10% epichlorohydrin	Kp	—	256	165.0	1.6
	Kp	0.1	334	169.0	2.0
	Kp	0.5	330	156.8	2.1

* Added 7S globulins were grinded 30min previously with ten volumes of 3% NaCl and they were not freeze-dried respectively.

**Baked goods were composed commonly with 80% non-glutinous rice flour, 10% wheat gluten and 10% soy globulin

original 7S globulin
no-ingredient
Baked Volume(Hp) 373ml

original 7S globulin
egg lecithin 0.1%
Baked Volume(Kp) 277ml

modified 7S globulin
(epichlorohydrin 3%)
egg lecithin 0.1%
Baked Volume(Kp) 330ml

modified 7S globulin
(epichlorohydrin 10%)
egg lecithin 0.1%
Baked Volume(Kp) 334ml

modified 7S globulin
(epichlorohydrin 3%)
egg lecithin 0.5%
Baked Volume(Kp) 340ml

modified 7S globulin
(epichlorohydrin 10%)
egg lecithin 0.5%
Baked Volume(Kp) 330ml

Fig. 4 Changes of Bread Baking Properties in Soy 7S Globulin affected by Modification with Epichlorohydrin

改質に際して滴加したエピクロロヒドリン量が3%と10%の間に大きな製パン性の差異は見出せなかった。また、卵黄レシチンを添加せずに焼成した場合は、改質7Sグロブリンは改質前に比して焼成容量が明らかに劣る結果となったが、この場合にでも、改質前7Sグロブリン

ンに見られた中落ちの現象は全く認められず、発酵スポンジドウがそのまま熱固定されていた。卵黄レシチンを添加して焼成した結果では、明らかな焼成容量の向上と併せて、焼成パンのスライス断面からも発酵の過程で形成したスポンジネットがそのまま熱固定されたことは明らかである。卵黄レシチンの添加によって大きく製パン性を向上した大豆11Sグロブリンと全く同様の製パン挙動を示したものとして、注目に値する。

要 約

以上の結果を要約すると、

- (1) 米粉80%, 小麦グルテン10%, 分別大豆グロブリン10%より成る発酵パンを焼成した結果、分子量、サブユニット構成を全く異にする大豆タン白質の7S, 11S両グロブリンは、文字通り正反対の製パン挙動を示した。
- (2) 7Sグロブリン添加焼成パンでは、発酵の過程まではいずれも良好なスポンジドウを形成したが、焼成の段階で顕著な中落ち現象を示した。このことは、7Sグロブリンの形成するスポンジネットの膜強度が不足することに原因するものと推定した。
- (3) 3個のサブユニットの分子間力だけで形成される7Sグロブリンでは、膜強度の保持に必要な分子サイズに欠陥があると推定し、エピクロロヒドリンによる巨大分子化の改質を試みた。
- (4) SDS-PAGEで調べて、巨大分子化をしたことを確認したエピクロロヒドリン改質7Sグロブリンについて製パン挙動を検討した結果、少量の卵黄レシチンの添

加によって明らかに製パン性が向上した。

- (5) 11S グロブリンと正反対の製パン挙動を示した 7 S グロブリンが、エピクロルヒドリン改質によって始めて 11S グロブリンと同一の製パン挙動を示したことは、優れた製パン素材として、大豆タン白質に新しい用途を開く可能性を強く示唆するものと評価した。

本研究の概要は昭和60年8月、日本農芸化学会大会で発表した。

研究を行うに際して、物心両面にわたって御援助頂いた協和醸酵工業㈱、快く実験材料を分与下さった不二製油㈱、また、実験に協力頂いた大西寿実、永井園子、野

上雅代、脇田七美の諸氏に厚く感謝の意を表する。

引用文献

- 1) 山本 淳：西岡ゆかり：本誌，**11**，39 (1985)
- 2) 山本 淳：西岡ゆかり：本誌，**11**，65 (1985)
- 3) 山本 淳：西岡ゆかり：本誌，**10**，48 (1984)
- 4) 長谷川喜代三他：農化誌，**53**，375 (1979)
- 5) V. H. THAKUR and K. SIBASAKI: *J. Agr. Food Chem.*, **26**，692 (1978)
- 6) 山本 淳：本誌，**8**，76 (1982)
- 7) 山内文男：New Feed Ind., **22** (No.3)，26 (1980)
- 8) 貝沼圭二・宮本成彦・鈴木繁男：澱粉科学，**22** (No.3)，66 (1975)
- 9) The Merck Index・Ninth Edition: 3536 (p.p.471) "Epichlorohydrin"; Merck & Co. Inc., (1976)

(昭和61年1月11日受理)