Gluten 代替タン白質の検索に関する研究

(第8報) 改質大豆7Sグロブリンの製パン性について

山 本 淳*・西岡ゆかり*・高田千鶴子*

Studies of a Searching Examination for Gluten Replace Protein

Part VIII Examination of Bread Baking Properties of Modified Soy 7S Globulin

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

Summary

In the previous paper, it was elucidated that several conditionings such as frozen storage of mixed dough and adding a small amount of egg lecithin had improved the bread baking properties of soy 11S globulin, however, the same conditionings had effected oppositely in soy 7S globulin. Therefore, the enlargement of molecular size of 7S globulin through reacting with epichlorohydrin was tried and the product, modified 7S globulin, showed the excellent bread baking properties when added a small amount of egg lecithin. These properties of modified 7S globulin resembled significantly to soy 11S globulin. Therefore, the changes of bread baking properties of modified 7S globulin as affected by combining with soy 11S globulin were examined. The combination of original 7S and 11S globulins gave the inferior breads, respectively. Oppositely, the combination of modified 7S and 11S globulins gave the excellent breads by adding of 0.1% egg lecithin. These differences between original and modified 7S globulin were tried to clarify through determining the differences of Formol titration value in their trypsin proteolysates as described previously. However, the clear results to show such differences in both globulins were not obtained.

(Received Jan. 11, 1986)

結 論

米粉、小麦グルテン、大豆グロブリンを構成要素とするパンを焼成する過程で、大豆7Sグロブリンは発酵の段階までは優れたスポンジネットを形成するが、続く焼成の段階で明らかなスポンジネットの破壊が起り、顕著な中落ち現象を呈する。このことに対処して、エピクロルヒドリンによる7Sグロブリン分子の巨大化を行った結果、7Sグロブリンの製パン性を低下させた少量の卵

黄レシチンの添加が、反対に改質7Sグロブリンでは明らかに製パン性を向上させることを知り、既に報告¹⁾した。極く少量のレシチンの添加によって優れた製パン性を発現する大豆11Sグロブリン²⁾と製パン挙動を等しくするものと、これらの結果を評価した。

しかし、エピクロルヒドリン改質7Sグロブリンが真の評価を得るためには、11Sグロブリンと併用した時の製パン挙動、また、分子形状に確実に変化を与えることが判っている、混捏ドウの凍結保蔵による製パン性の変化を確かめる必要がある。これとともに、11Sグロブリンの製パン性の変化に優れた知見を与えてくれた、トリプシン分解物のフォルモール滴定による検討の手法³⁾を

* 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 (6-178, Tohdacho, Moriguchishi, Osaka 570, JAPAN)

適用して、改質7Sグロブリンに起った製パン性の変化を検討した。以下、これらの結果を報告する。

実験の部

1. 実験材料

(1) 大豆7S, 11Sグロブリン^{4),5)}, 改質7Sグロブリン^{1),6)}: いずれも前報¹⁾と全く同じ材料を実験に供した。低温脱脂大豆を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)で抽出, 抽出液をpH6.2として5℃の冷室中で1夜ゆるく攪拌して沈でんする11Sグロブリンを分離し, 残液をpH4.8にして沈でんする7Sグロブリンを遠心, 捕集した。これをpH6.4で再溶解, 透析, 凍結乾燥して7Sグロブリンを調製した。7Sグロブリンを10%硫酸ナトリウム含有0.4%水酸化ナトリウム溶液に溶解し, 7Sグロブリン量の3%および10%のエピクロルヒドリンを滴加して室温で6時間攪拌を続けた後, pH4.8で沈でんする区分をpH7.0で再溶解し, 不溶物を分離後, 再びpH4.8で沈でんする区分をpH6.4として, 透析, 凍結乾燥して改質大豆7Sグロブリンとした。

脱脂大豆抽出液からpH6.2で沈でんした11Sグロブリン区分は, pH8.0のトリス緩衝液に溶解, 前と同様に冷室中でpH6.4として1夜ゆるく攪拌して沈でんする区分を集め, pH7.0の0.01M-メルカプトエタノール液に懸濁し, 透析した後, 凍結乾燥して大豆11Sグロブリンを得た。

(2) 製パン材料: 米粉(日本製粉㈱兎月A32), 乾燥酵母を始めとする製パン副資材は総て前報⁷⁾に準じた。粉末小麦グルテンは前報¹⁾と同様, 一部の実験でオーストラリアH.P.P.社の製品(以下, HPと略す)を使用した。大半の実験では協和醸酵工業㈱の酵素改質小麦グルテン“プロビアン”(以下, KPと略す)を用いた。

(3) Trypsin: 和光純薬㈱のTrypsin (2,000u/g)を購入, 使用に供した。

2. 実験方法

(1) パンの焼成: 米粉80%, 小麦グルテン10%, 大豆グロブリン10%の基本組成およびパンの焼成の方法は全て前報⁷⁾と同様に行った。添加した大豆グロブリンは, 改質7Sグロブリンを含めて総て10倍量の3%食塩水と室温で30分間自動乳鉢中で搗潰, ゲル化してドウ調製時に添加した。凍結保蔵ドウの実験では, ゲル化グロブリンを添加調製した混捏ドウを-5℃, 14日間凍結保蔵し

た後解凍, 所定量の酵母を加えて軽くミキシングし, 他と同じ条件で発酵の過程を経た後焼成した。

焼成パンの評価は, 焼成容量を直接比較して行った。また, スライス面の状態を重視したことも従来どおりである。

なお, 図表中では使用した小麦グルテンの種類を略号で付記した。

(2) Trypsin Proteolysate の調製と Formol 滴定による解析: 前法⁸⁾と同様に操作した。すなわち, 試料グロブリン2gを水150mlに溶解, Trypsin 0.1gを加えて, pH8.0, 35℃で5時間反応させた後, pH7.0として85℃で20分間加熱してTrypsinを失活させ, そのまま凍結乾燥してTrypsin Proteolysateを調製した。得られたProteolysate 100mgをFormol溶液5mlに溶解し, SørensenのFormol滴定法⁹⁾により, フェノールフタレンを指示薬として, 0.1N-水酸化カリウム液の滴定値を直接比較してTrypsin Proteolysisの解析を行った。

実験結果ならびに考察

1. 改質大豆7Sグロブリン添加ドウの凍結保蔵による製パン性の変化

改質前後の大豆7Sグロブリン添加ドウを, それぞれ-5℃で14日間凍結保蔵した時の製パン性の変化を焼成パンのスライス断面の状態としてFig.1に示す。

Original 7S Globulin

grind and no-freeze
no-ingredient
Baked Volume(Hp) 373ml

grind and -5°C, 14 days
no-ingredient
Baked Volume(Hp) 282ml

Modified 7S Globulin

grind and no-freeze
no-ingredient
Baked Volume(Kp) 280ml

grind and -5°C, 14 days
no-ingredient
Baked Volume(Kp) 370ml

Fig. 1 Changes of Bread Baking Properties in Soy 7S and Modified Soy 7S Globulins affected by Freezing Storage of Prepared Dough

改質前 7 S グロブリンでは、混捏ドウの凍結保蔵によって大きく製パン性を低下したが、エピクロルヒドリン改質後の 7 S グロブリンでは、反対に焼成容量の大幅な増大がみられ、ここでも 11 S グロブリンと類似する製パン挙動を示すことが明らかになった。ただしこの場合、改質前 7 S グロブリンで見られたような焼成パンの極端な中落ちの現象はみられなかったが、改質グロブリンでも発酵ドウの焼成に際して明らかな中落ちが起った。そ

の理由については、今のところ説明がついていない。

2. 大豆 11 S グロブリンとの組合せパンの焼成

大豆 11 S グロブリンが極く少量のレシチンの添加によって大きく製パン性を向上することは既に報告²⁾した。これと同様に、エピクロルヒドリン改質 7 S グロブリンでも卵黄レシチンが製パン性を向上させることを知った¹⁾が、両者を組合せ、それぞれの比率を変えて焼成したパンの焼成結果をとりまとめて Table 1 に示す。

Table 1 Changes of Bread Baking Properties through Addeing of Egg Lecithin in the Combined Soy Globulines altered the Kind of Globulin and Their Constitutional Ratio

Kind of globulin and constitutional ratio		Kind of gluten	Added lecithin	Added water	Baked*		S. V. value
					volume	weight	
11S	Original 7S						
100%	—	Hp	—	70%	147ml	144.0 g	1.0
100	—	Hp	0.1%	80	320	112.1	2.9
75	25%	Hp	0.1	85	233	140.5	1.7
50	50	Hp	0.1	80	201	161.6	1.2
25	75	Hp	0.1	95	250	145.1	1.7
—	100	Hp	0.1	100	277	158.3	1.7
—	100	Hp	—	100	373	145.2	2.6
11S	Modified 7S						
—	100	Kp	—	100	280	158.9	1.9
—	100	Kp	0.1	100	330	150.9	2.2
30	70	Kp	0.1	95	340	152.6	2.2
50	50	Kp	0.1	90	345	145.2	2.4
70	30	Kp	0.1	85	320	143.7	2.2

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

* In the processing of dough preparation, added globulins were grinded 30min with ten volume of 3% NaCl previously.

Original 7S globulin

original 7S globulin 100%
11S globulin —
egg lecithin —
Baked Volume(Hp) 373m^l

original 7S globulin 100%
11S globulin —
egg lecithin 0.1
Baked Volume(Kp) 277m^l

original 7S globulin 50%
11S globulin 50
egg lecithin 0.1
Baked Volume(Kp) 201m^l

Modified 7S Globulin (3% Epichlorohydrin)

modified 7S globulin 100%
11S globulin —
egg lecithin —
Baked Volume(Kp) 280m^l

modified 7S globulin 100%
11S globulin —
egg lecithin 0.1
Baked Volume(Kp) 330m^l

modified 7S globulin 50%
11S globulin 50
egg lecithin 0.1
Baked Volume(Kp) 345m^l

Fig. 2 Changes of Bread Baking Properties in Original and Modified 7S Globulin affected by Combining with Soy 11S Globulin and Egg Lecithin

これらの結果の中から、改質前後の7Sグロブリンについて、卵黄レシチン無添加、0.1%添加、また、11Sグロブリンとの等量混合区に卵黄レシチン0.1%添加した時の焼成パンスライス断面の状態をFig.2に示す。

これらの結果、改質前7Sグロブリンと11Sグロブリンの等量混合物、すなわち、大豆タン白質それ自体に最も近い混合比のものに卵黄レシチン0.1%を添加して焼成したパンの焼成容量は僅かに201mlに過ぎなかったが、改質7Sグロブリンについて同様の組合せで焼成した時の焼成容量は345mlと、格段の向上がみられた。焼成パンのスライス断面の状態でも焼成時の中落ちは全く見られず、改質7Sグロブリンは11Sグロブリンと組合せて優れた製パン機能を発現することが明らかになった。

前報¹⁾でも詳述したように、大豆タン白質を構成する主要な構成要素、7S、11S両グロブリンは製パン性に関して全く逆の性質を示すもので、このことがこれまで、大豆タン白質を広く製パンに利用できなかった最大の理由として間違いない。そして、此处に始めて、両グロブリンが共通の製パン機能を発現する基礎が与えられたことになる。大豆タン白質を優れた製パン素材として新しい用途を開くためには、その主要構成要素の一つである7Sグロブリンを食品に適した方法で改質することが不可欠な要素であることを示すものであり、高く評価される結果といって過言ではない。

3. Trypsin Proteolysate の変化

前報³⁾において、分別グロブリンを夫々をSDS-PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) により泳動した結果、泳動ゲルの先端部分まで泳動する低分子量タン白質を全く見出せなかった11Sグロブリンで、そのトリプシン分解物のFormol滴定値は0.62mlであった。これに対して、先端近くまで泳動する低分子量タン白質の混在が認められた7Sグロブリンを、11Sグロブリンと同様にトリプシンで分解して得たProteolysateのFormol滴定値を測定した結果は0.61mlであった。先端近くまで泳動する低分子量タン白質区分にTrypsin Inhibiterが混在していれば、7Sグロブリンのトリプシン分解物のFormol滴定値は大きく低下するはずである。

しかし、前の11Sグロブリン、そして、今回の7Sグロブリンのそれぞれのトリプシン分解物のFormol値に差が見出せなかったことから、7SグロブリンにもTrypsin Inhibiterの影響はなかったものと判断した。

前報³⁾の11Sグロブリンの場合と同様に、凍結乾燥7SグロブリンのTrypsin Proteolysate 100mgのFormol滴定値と、凍結乾燥7SグロブリンのpH8.0の水溶液を90℃、30分間加熱して変性させた後のトリプシン分解物100mgのFormol滴定値の差を標準として、7Sグロブリンの凍結変性後、0.1%卵黄レシチン添加、エビクロルヒドリン改質7Sグロブリンと、それに卵黄レシチンを添加した時の各々のトリプシン分解物のFormol滴定値の差をプロットしてFig.3に示す。

なお比較のために、11Sグロブリンについて行った実験結果³⁾も併せて図示した。これらの結果、11Sグロブリンでは0.1%の卵黄レシチンを添加するとトリプシン分解は明らかに促進され、11Sグロブリンに熱変性に近い分子形状の変化が起ったことを示したが、7Sグロブリン、また、改質7Sグロブリンではともに、レシチンの添加によってトリプシン分解に差は全く見出せなかった。改質前後の7Sグロブリンがともに、0.1%卵黄レシチンの添加によって両者の製パン性が明らかに変化した、このような製パン性の変化とトリプシン分解は対応しないことが明らかになった。

一方、揺潰ゲルの凍結変性に伴うトリプシン分解の変化は、11Sグロブリンでは凍結初期にはFormol滴定値

Fig. 3 Differences of Formol Titration Values in Trypsin Proteolysates prepared from Various Conditionings Soy 7S and 11S Globulins

が上昇してトリプシン分解が行われ易くなったことを示したが、時間の経過とともに分解が行われ難くなり、ついには負の値を示すに至った。このことは、凍結の初期には11Sグロブリン分子にUnfoldingが起って分解され易くなったものが、時間の経過に従って分子会合が進行し、分子内、分子間で Tight な構造に移り変わったことを示すものと解することができる。

これに対して7Sグロブリンでは、時間が経過してもUnfoldingのままで推移し、分子間会合が進行しなかったことを示している。ここでも、7S、11S両グロブリンの分子挙動に大きな差があることを示す結果となった。エピクロロヒドリン改質7Sグロブリンでは、改質の過程でトリプシンの作用を受け難い変性が進行し、この状態はレシチンを添加しても変わらないことが推定される。

要 約

以上の結果を要約すると、

(1) エピクロロヒドリンで巨大分子化を行った改質大豆7Sグロブリンは、加塩擂潰ゲル添加ドウの凍結保蔵によって明らかに製パン性が向上し、改質前7Sグロブリンとは逆の製パン挙動を示した。

(2) 大豆7Sグロブリンと11Sグロブリンの混合比を変え、また、0.1%卵黄レシチン添加の有無について行った製パン試験で、両グロブリンそれぞれ単独で焼成した時の焼成容量を上廻ることはできなかった。

(3) エピクロロヒドリン改質7Sグロブリンと、11Sグロブリンを同様に混合比を変え、0.1%の卵黄レシチンを添加して焼成したものは、いずれも優れた製パン性を示し、焼成パンの中落ち現象も全く認められなかった。

(4) 大豆タン白質に優れた製パン機能を付与するためには、その主要構成要素の一つである7Sグロブリンを食品として適合した方法で改質することが不可欠な要素となることが強く示唆された。

(5) 大豆11グロブリン、7Sグロブリン、改質7Sグロブリンの製パン挙動に対応する分子形状の変化を検討する目的で、同一条件下で行ったトリプシン分解生成物のFormol 滴定値を比較した結果、7S、11S両グロブリンの凍結変性に伴う分子形状の変化については明確な知見が得られたが、エピクロロヒドリン改質前後の7Sグロブリンが、卵黄レシチンの添加によって起す製パン性の変化を示唆する結果は得られなかった。

以上の研究結果の概要は、昭和60年5月本会10周年記念講演会、同年9月の本会関西講演会で講演発表した。

研究を行うに当たり、協和醸酵工業㈱から物心両面の援助を受けた。快く試料を分与下さった不二製油㈱、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・高田千鶴子：本誌、投稿中
- 2) 山本 淳・西岡ゆかり・本誌、11, 39 (1985)
- 3) 山本 淳・西岡ゆかり・本誌、11, 65 (1985)
- 4) 長谷川喜代三他：農化誌、53, 375 (1979)
- 5) V.H. THAKK and K. SIBASAKI: *J. Agr. Food Chem.*, 26, 692 (1978)
- 6) 貝沼圭二・宮本成彦・鈴木繁男：澱粉科学、22 (No. 3), 66 (1975)
- 7) 山本 淳：本誌、8, 76 (1982)
- 8) 水島三一郎・赤堀四郎編：蛋白質化学、第1巻 (4版) (共立出版)、170頁 (昭35)

(昭和61年1月11日受理)