L-アスコルビン酸と D-イソアスコルビン酸ナトリウムの 家庭用自動製パン装置による製パン効果

森田尚文*, 張 麗*, 山口幸宏*

Effects of L-Ascorbic Acid and Sodium D-Isoascorbate on
Breadmaking in a Domestic Breadmaking Apparatus

Naofumi MORITA,* Li ZHANG* and Yukihiro YAMAGUCHI*

* Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture
(1-1, Gakuen-cho, Sakai 593, Japan)

The effects of L-ascorbic acid (L-AsA) and sodium D-isoascorbate (D-AsA-Na) as an improver for breadmaking on the physical properties of wheat dough and starch were studied with use of a domestic breadmaking apparatus.

D-isoascorbic acid (D-AsA) was oxidized to its dehydro-form in a yield of 50% by AsA oxidase in a neutral buffer solution, while L-AsA was about 90%. After addition of D-AsA or L-AsA (100 ppm) to the ingredients for breadmaking, D-AsA remaining in the dough during the mixing for 30 min was about 10%, while that of L-AsA was only 4%. Addition of 20 ppm D-AsA-Na to the ingredients for breadmaking increased the specific volume of the bread, while lower and higher concentrations gave a decrease. The addition of 50 ppm D-AsA-Na to the wheat flour increased the mechanical stability of dough during mixing as compared to that of the control or D-AsA, by farinography. Also, addition of D-AsA-Na in the dough showed filamentous and viscous states intermediate between those of L-AsA and control, respectively, as evaluated by scanning electron microscopy. Furthermore, the gelatinization temperature of starch in the dough containing D-AsA-Na (50 ppm) after mixing for 25 min decreased to about 81°C which is intermediate between that of L-AsA and control. The results suggested that D-AsA-Na oxidized the SH groups of gluten mildly, followed by SS-cross linkage which changed the wrapping of the starch granules, thereby causing a decrease in the gelatinization temperature.

L-アスコルビン酸 (以下 L-AsA) である ビタミン C は抗壞血病作用を有しており栄養強化の面からだけでなく、その分子構造中に 2,3-エンジオール基を有するために、抗酸化作用の面からも食品に広く用いられている添加物の一つである¹⁻³⁾。この L-AsA の製パンにおける作用としては、還元剤としての効果のみならず、酸化剤としての作用の両作用から重要である^{4,5)}。エリソルビン酸 (D-イソアスコルビン酸, 以下 D-AsA) は、L-AsA の 5 位の水酸基がエピマーとなった立体異性体であるが、これは L-AsA と同様に強い還元力を示す。D-AsA は粉

末状態では安定であるものの水溶液中では不安定で、酸素、紫外線あるいは鉄、銅のような重金属等の共存により容易に酸化されることが知られている⁶⁾。この D-AsA を製パンの品質改良剤として用いた研究は古く⁷⁾、小麦粉中には L 型の AsA を酸化する酵素は共存するが⁸⁾、D 型のものには作用しないと考えられ、その作用についても未だ明らかでない^{5,9)}。これまで D-AsA の製パンの改良効果については十分な検討がなされなかった⁹⁾。われわれは家庭用製パン機を用い、L-AsA およびその誘導体による製パン効果を検討してきた^{4,10)}。

今回は、D-AsA と L-AsA を用い、立体構造の違いによる製パン性についてその効果を検討したところ D-

* 大阪府立大学農学部農芸化学科 (593 堺市学園町 1-1)

AsA のナトリウム型であるエリソルビン酸ナトリウム (以下 D-AsA-Na) の比較的低濃度の添加により良好なローフ・ボリュームをもつパンが焼成された。そこで、製パン中の生地について澱粉の糊化温度、走査型電子顕微鏡による組織変化等を検討したところ興味ある結果が得られたので報告する。

実験方法

1. 実験材料

小麦粉は奥本製粉より供与された強力粉「ヘルメス」を使用した。この小麦粉は、灰分 0.38%, 粗蛋白 11.8%, 水分含量 11.8% であった。砂糖は三井製糖㈱製の上白糖, ドライイーストは東洋醸造㈱より供与されたイギリス製の「フェルミドライイースト」, L-AsA, D-AsA は和光純薬工業㈱製の特級試薬を用いた。D-AsA-Na は藤沢薬品工業より供与されたものを使用した。ドータイ (導電性樹脂材料) は藤倉化成㈱製を用いた。その他の試薬類は市販の特級品を用いた。

2. 試料の調製

小麦粉 280 g に砂糖 17 g, 食塩 5 g を加えポリエチレン製の袋に取り, 手動で 30 回攪拌後, パンケースに入れる。各種添加物は小麦粉重量に対して秤量し, このものを 210 ml の水に溶解後, パンケース中の小麦粉材料に加えた。ドライイースト 3 g をホームベーカリーの外ブタの上部のイースト容器に入れ, 焼き上げ時間を 4 時間にセットした^{4,11)}。

製パン過程の温度は, 予備試験の結果, こね上げ終了温度を 27°C に設定し, 環境温度 (T_r), 粉体温度 (T_f), および水温 (T_w) の和が 60°C となるように添加する蒸留水の温度を調節した。なお, すべての実験は, 室温 24±1°C で行った。

3. AsA オキシダーゼによる L 型, D 型 AsA の分解量の測定

L 型, D 型 AsA をそれぞれ 100 μ M 含むリン酸ナトリウム塩緩衝液 (0.1 M, pH 6.8) に 3.3 mU/ml となるようにキュウリの AsA オキシダーゼを加え 25°C で攪拌し, 反応液の一定量を取り 265 nm での吸収を測定し, L 型, D 型 AsA の残存量を求めた。

4. 製パン中のドウの L 型, D 型 AsA 残存量測定

L 型, D 型 AsA (100 ppm) を添加した製パンのドウ中に残存する添加物量を Roe らの方法¹²⁾にしたがって測定した。

5. パンの比容積の測定

パンの体積 V (cm³) は, “なたね置換法” で求めた。

パンの重量 W (g) と体積との関係から比容積 E (cm³/g) を求めた。

$$E = V/W$$

なお, コントロールと各種濃度の AsA を添加後のパンの比容積の有意差の検定は, Student の t 検定により行った¹³⁾。

6. ファリノグラフィー¹⁴⁾

添加剤を加えた小麦粉ドウの物性測定は, ブラベンダー社製のファリノグラフを用いて行った。小麦粉 300 g に L-AsA, D-AsA, D-AsA-Na をそれぞれ 50 ppm となるように少量の蒸留水に溶解後, 小麦粉に加え 30°C で混捏した。

7. 走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察^{15,16)}

SEM によるドウ試料の観察は日立製 S-800 走査型電子顕微鏡を用いた。試料の調製は四酸化オスミウム酸固定法を用いた。ホームベーカリー中で 25 分間混捏したドウ生地を変形させないようにパンケースよりハサミを用い切り出し, ただちに液体窒素中で凍結させた。約 1×1×0.5 cm に切断後, 凍結乾燥を行った。この凍結乾燥試料を 2% オスミウム水溶液中で一夜固定を行った。ついで, このものを十分水洗いし, 四酸化オスミウムを除き凍結後, 凍結乾燥を行った。この試料を固定台に取り銀ペーストで固定後, イオンスパッタリングによる Pt-Pd の蒸着を行い SEM 用の試料とした。SEM 像の観察は加速電圧 8 kV とし, 500, 1000, 2500 倍で写真撮影を行った。

8. 示差走査熱量分析 (DSC)¹⁷⁾

DSC はセイコー電子㈱製示差走査熱量計 SSC 560S を用いた。DSC のセルは容量 15 μ l のアルミニウム製密閉容器を使用した。容器は高温におけるアルミニウムの表面と水との反応によるベースラインの変動を防ぐため, あらかじめセルと水とともにオートクレーブで 120°C, 20 分間処理したものを用いた。小麦粉ドウ試料は 25 分間のミキシングをしたもの 20 mg をセルにとり密封して用いた。昇温速度は, 予備実験の結果 8.1°C/min で行った。

実験結果

1. L 型, D 型 AsA に対する AsA オキシダーゼの作用

L 型, D 型の AsA を 100 μ M 含む水溶液中における AsA オキシダーゼの酸化効果を検討した。その結果, 反応 30 分で L-AsA は 90%, D-AsA では 53% が分解されることがわかった。

Table 1. Amounts of D-AsA remaining in the dough during breadmaking.

	Time(min)			
	10	20	30	90
D-AsA remaining (%)	17	10.7	9.6	7.8
L-AsA remaining (%)	9	7.5	4.2	1.7

2. 製パン中のドウの L 型, D 型の AsA の消長

L 型, D 型の AsA (100 ppm) を添加して製パンのドウ中に残存する添加物量を調べた. 結果は Table 1 に示す. D-AsA の添加により残存する D-AsA の量は, 10 分で 17%, 30 分で 10%, 90 分で 8% であった. 一方, L 型の AsA では 10 分で 10%, 30 分で 4%, 90 分で 2% 弱であった, Johannsson ら⁸⁾は D-AsA は製パン中ではほとんど酸化されず, D-AsA は製パンには効果がないと報告している. 今回の実験で D-AsA のドウ中での残存量が約 10% であることよりその約 90% 程度が酸化されていると考えられ, 酸化型の D-AsA も製パンのローフボリュームの発現に対し, 有効に働く可能性が示唆された.

3. D 型および L 型 AsA の製パンに及ぼす効果

D 型および L 型の AsA を製パン材料に加え, 焼成後のパンの比容積を調べた (Table 2). 対照に用いた L-AsA では, 8 ppm の添加で比容積の増大効果はみられたものの 20, 50 ppm の添加では, いずれも無添加のコントロールに比べ比容積の減少のみがみられた. とくに高濃度の添加による体積減少が著しかった. D-AsA の添加では 20 ppm で比容積 $4.47 \text{ cm}^3/\text{g}$ が得られたが, この値はコントロール $4.41 \text{ cm}^3/\text{g}$ に比べ有意な差ではなかった.

一方, D-AsA-Na では 20 ppm の添加により比容積 $4.59 \text{ cm}^3/\text{g}$ が得られ, 無添加のコントロール $4.41 \text{ cm}^3/\text{g}$

g に比べ明らかに比容積の増大がみられた. さらに D-AsA-Na の濃度が 50 ppm では, その体積が減少し, 比容積は $4.27 \text{ cm}^3/\text{g}$ であった. Fig. 1 に焼成後のパンの断面図の一例を示す. このように, 高濃度の D-AsA-Na の添加 (50 ppm) により空気あるいは金属等による酸化で生成された酸化型の D-AsA-Na がドウ中の SH 基等に影響を及ぼし, 架橋結合等を介して形成された網状構造が堅固になり, パンの体積減少がみられたと考えられる¹⁸⁾.

4. ファリノグラムに及ぼす添加物の影響

小麦粉に D 型および L 型の AsA, D 型の AsA-Na 50 ppm を添加した試料のファリノグラフィーを行った (Fig. 2). 500 ブラベンダー単位 (B. U.) の標準硬粘度に対する到達時間はいずれの試料も約 2.5 分であった. またディベロップ時間は D-AsA のものが若干遅いものの (約 5 分), コントロール, L-AsA, D-AsA-Na ではいずれも約 4 分でほとんど変化がみられなかった. D-AsA を添加した場合は, 硬粘度の安定性も D-AsA-Na のものに比べて悪く, かつファリノグラフの幅も狭く, マトリックスの崩壊による粘度低下も早く進行した. これは D 型の AsA は小麦粉中に存在する AsA オキシダーゼによっては酸化されにくく, 残存する遊離の D-AsA の影響があらわれたと考えられる. 一方, D-AsA-Na の場合はファリノグラフ的には安定性も長く (約 20 分まで) 良好な結果が得られた.

5. SEM による混捏中の小麦粉ドウの観察

D 型および L 型の AsA (50 ppm) を添加した製パン中の混捏生地を SEM により観察した. 結果は Fig. 3~5 に示す. 添加剤を含まないコントロールのドウ 500 倍, 1000 倍, 2500 倍の各試料の検鏡結果より, グルテンが一次澱粉, 二次澱粉を均一に包み込み全体的に表面が滑らかとなるため両者の境界がはっきりみられない. これは製パン機中での 25 分のミキシングにより球状タンパク質であるグリアジンと棒状タンパク質であるグルテニ

Table 2. Effects of L-AsA, D-AsA, and D-AsA-Na on specific volume of bread baked with wheat flour.

	Amounts of additive (ppm)					
	0	10	20	30	40	50
L-AsA	4.49 ± 0.07	$4.54 \pm 0.03^+$	4.27 ± 0.04	4.21 ± 0.03	4.08 ± 0.04	4.02 ± 0.03
D-AsA	4.41 ± 0.07	4.31 ± 0.13	4.47 ± 0.07	4.29 ± 0.03	4.25 ± 0.05	4.05 ± 0.07
D-AsA-Na	4.41 ± 0.07	4.19 ± 0.13	$4.59 \pm 0.07^*$	4.49 ± 0.08	4.47 ± 0.07	4.27 ± 0.08

Each value shows the specific volume (cm^3/g) of bread baked. + Amount of additive: 8 ppm.

* Significantly different from the control value (Probability < 5%). Number of experiments: 5.

Fig. 1. Cross-sectional views of bread baked with L-AsA, D-AsA, or D-AsA-Na.

Fig. 2. Farinograms of wheat flour dough with L-AsA, D-AsA or D-AsA-Na (50 ppm).

ンとが適当に混捏されて澱粉粒を均一に包み込むと考えられる。L-AsA を添加した場合の小麦粉ドウでは、グルテンの澱粉粒の包み方に大きな変化がみられた。すなわち、グルテンの大部分が大きな繊維状に組織化した塊となり、澱粉粒を一樣には包み込めなくなるために、各デンプン粒子間の境界が、かなりはっきりみられる。これはグルテン中の SH 基が酸化されて SS 架橋結合をとるために、全体としてグルテンがより固くなったために生じた現象と考えられる。

一方、D-AsA-Na を加えたものでは、繊維状となった部分や糸状の部分が認められるとともに全体として大きな澱粉粒子である一次澱粉および小さな二次澱粉を包み込むため、各澱粉粒子間に糸を引いたような状態でグルテン膜が存在することがわかる。このように D-AsA-Na を添加した場合の SEM による変化には、コントロールと L-AsA の添加の場合のほぼ中間的な変化を示す部分も観察されており、このことは D-AsA-Na の添加によりグルテンの一部が酸化され三次元のネットワーク構造が変化し、グルテンの物性が変化することを示唆するものであろう。

6. 小麦粉ドウ試料の熱測定

L-AsA, D-AsA-Na (50 ppm) を添加して混捏した製パン中のドウ生地を用い DSC を行った。結果は、Table 3 に示す。L-AsA 添加によるドウ中の澱粉の糊化開始温度は 59.0°C と無添加のコントロールと比べ、差はみられなかったものの、糊化ピーク温度は 79.8°C と約 2°C、糊化終了温度は 103.0°C と 3°C 低い値が得られた。D-AsA-Na の添加では糊化ピーク温度 80.7°C が得られ、この値は無添加のコントロールと L-AsA の両者の中間の値を示した。

以上の結果、D-AsA-Na の添加による製パンの改良効果は 20 ppm 程度でみられ、それ以上の添加では逆に比

Fig. 3. Scanning electron micrographs of dough containing 50 ppm L-AsA or D-AsA-Na in breadmaking for 25 min.

The arrows in the photos show the portion of filamentous state.

Fig. 4. Scanning electron micrographs of dough containing 50 ppm L-AsA or D-AsA-Na in breadmaking for 25 min.

The arrows in the photos show the portion of filamentous state.

Fig. 5. Scanning electron micrographs of dough containing 50 ppm L-AsA or D-AsA-Na in breadmaking for 25 min.

容積が減少した。このことより L-AsA と D-AsA-Na とではその効果において若干の違いが認められた。すなわち、L-AsA ではドウ中に存在する酵素等により容易に

酸化されデヒドロアスコルビン酸(DHA)となり、この DHA が SH 基を酸化し三次元のネットワークを強く密に形成する。一方、D-AsA-Na においてはドウ中で酸化

Table 3. Summary of gelatinization temperature of starch in wheat flour dough with L-AsA or D-AsA-Na (50 ppm) as an additive in breadmaking for 25 min.

	Gelatinization temperature (°C)		
	Onset	Peak	Final
Control	59.0	82.0	106.0
L-AsA	59.0	79.8	103.0
D-AsA-Na	60.0	80.7	104.9

される量は L-AsA に対し若干少なく D-AsA-Na がドウ中の SH 基に穏やかに作用し、三次元のネットワークが緩やかに形成すると推測される。

事実、このことは混捏中のドウの SEM 観察により、グルテンの澱粉粒への包み方に変化がみられること、また、DSC において D-AsA-Na の添加による糊化温度が L-AsA と無添加のコントロールのほぼ中間的な値をとることからも明らかである。このように D-AsA-Na の添加により内相的にも体積的にも良好なパンが焼成できたことは製パンへの品質改良剤としての応用面からも興味深く、今後の実際的な利用が期待される。

本研究を行うにあたり有益な御助言を戴いた大阪府立大学農学部 松本幸雄教授に深謝致します。また、小麦粉材料、ドライイースト、エリスロビン酸ナトリウムを御恵与戴いた奥本製粉株式会社、東洋醸造株式会社、藤沢薬品工業株式会社に厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部はエリザベス・アーノルド富士財団の助成金によって行われたものであり、ここに深く感謝いたします。

要 約

L-アスコルビン酸 (L-AsA) の異性体であるエリスロビン酸ナトリウム (D-AsA-Na) を用い、製パンの品質改良剤としての効果を検討するとともに、これらの添加物の小麦粉ドウおよび澱粉に対する影響を検討し、次の結果を得た。

1) AsA オキシダーゼを含む中性緩衝液中の 30 分の反応で、D-AsA は約 50%、L-AsA は約 90% 酸化された。

2) L 型、D 型の AsA (100 ppm) を製パン材料に添加後の製パン中のドウに残存する添加物量は 30 分のミキシングで、D-AsA は約 10%、L-AsA では約 4% であった。

3) D-AsA-Na 20 ppm の添加により焼成後のパンの比容積は、無添加のコントロールに比べ明らかな増大効果がみられたが、その添加量が多くても少なくても減少した。

4) 混捏中のドウの物性をファリノグラフィーにより調べると D-AsA-Na の添加により D-AsA、コントロールに比べ安定性も長く、良好な結果が得られた。また、ドウの構造変化を SEM によって調べたところ、繊維状の部分も認められ L-AsA とコントロールの中間的な変化を示した。ドウ中の澱粉の糊化ピーク温度は 81°C となり、L-AsA とコントロールのほぼ中間的な値を示した。

以上の結果、D-AsA-Na の添加によりグルテン分子中の SH 基がおだやかに酸化され、SS 架橋結合を形成し、グルテンの澱粉粒の包み込みに変化がおこり L-AsA とコントロールのほぼ中間的な挙動をしたと考えられる。

文 献

- 1) J. M. SMOOT and S. NAGY : *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 417-421 (1980).
- 2) I. HOROWITZ, E. M. HABRY and C. O. GERSON : *J. Am. Med. Assoc.*, **235**, 2624-2625 (1976).
- 3) D. R. GRANT : *Cereal Chem.*, **64**, 403-406 (1987).
- 4) 高木正之助, 張 麗, 山口幸宏, 川井聖文, 森田尚文 : 澱粉科学, **38**, 235-240 (1991).
- 5) C. C. TSEN : *Cereal Chem.*, **42**, 86-97 (1965).
- 6) M. M. KHAN and A. E. MARTELL : *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 4176-4185 (1967).
- 7) J. F. FEASTER and W. H. CATHCART : *Cereal Chem.*, **18**, 201-208 (1941).
- 8) H. JOHANNSON and A. COOKE : *Baker's Dig.*, 30-35 (1971).
- 9) 荒川信彦 : 栄養と食糧, **43**, 157-165 (1990).
- 10) L. ZHANG, Y. YAMAGUCHI, N. MORITA and M. TAKAGI : *Denpun Kagaku*, **38**, 351-359 (1991).
- 11) C. Q. SHARP and K. J. KITCHENS : *Cereal Food World*, **35**, 1022-1024 (1990).
- 12) J. H. ROE and C. A. KEUTHER : *J. Biol. Chem.*, **147**, 399-407 (1943).
- 13) 市原清志 : 「バイオサイエンスの統計学」, 南江堂, 東京, p. 78 (1990).
- 14) E. Varriano-MARSTON : *Food Technol.*, 32-36 (1977).
- 15) 二瓶佳寿子, 鳥潟康雄, 影山 實 : 食工誌, **37**, 266-269 (1990).
- 16) Z. CZUCHAJOWSKA, Y. POMERANZ and H. C. JEFFERS : *Cereal Chem.*, **66**, 128-132 (1989).
- 17) Z. CZUCHAJOWSKA and Y. POMERANZ : *Cereal Chem.*, **66**, 305-309 (1989).
- 18) W. NIERLE : *Lebensm.-Wiss. Technol.*, **12**, 129-137 (1979).

(平成4年8月31日受付, 平成4年11月9日受理)