グルテンの形成に及ぼすリパーゼの効果について*

Effect of Lipase on the Gluten during Doughing

(昭和 36 年 12 月 5 日受理)

木 咲 弘
(Hiromu Kisaki)

By an addition of lipase in the preparation of flour dough, the dough decreased its hardness and elasticity, and the gluten prepared from this dough was remarkably extensible and soft. In chemical analysis of the gluten, it was proved that the ratio of lipid and protein was not influenced by the lipase addition, but the glutenin content in the treated gluten was distinctly smaller. As for the protein composition of the dough with lipase addition, the contents of 70% EtOH-soluble N, probably gliadin, and 5% K_2SO_4 -soluble N were both increased, while glutenin content was decreased.

It was suggested that a part of glutenin in gluten changed into gliadin by the addition of lipase in the dough.

緒 言

さきに著者は、油脂を添加したパン生地は抗張力と弾性が強くなり、それからグルテンを採るとグルテンの脂質含量が多くなり、特にグルテニンとその脂質含量が増加することを報告した¹⁾。

本報告はパン生地にリパーゼを添加するとグルテンの性質がどのように変わるかを検討したので報告する。小麦粉中のリパーゼの分布については、Sullivan と Howe²⁾ やその他の研究者による報告があり、Engel³⁾ は穀粒中の aleurone 層と胚芽部分にエステラーゼの分布の多いことを述べ、Ferrigan と Geddes⁴⁾ は小麦粉のリパーゼは粉の灰分量と比例的関係があり、製粉歩止まりが少ない場合にはリパーゼ量が非常に少ないことを述べている。従って製パンにおけるリパーゼの効果については普通の粉ではほとんど無視できる程度のものであると想像される。Miller と Kummerow⁵⁾ は小麦粉中のリパーゼ作用によりパン質が悪くなるが、生成された脂肪酸の量が少ないと顕著でなく、またパン質の悪くなるのはこれらの脂肪酸中、不飽和脂肪酸のリポオキシダーゼによる酸化にあると述べている。また Widhe と Onselius⁶⁾ は、ライ麦をまぜた小麦粉でパンを作ると製品は石鹼のような臭をもちよいものができないのは、ライ麦中に多量に含まれているリパーゼによるものであると報告して

いる。いずれの報告も、脂質の分解により生成した脂肪酸によるパン質の悪変のみがとりあげられており、グルテンを形成するリポ蛋白質に対するリパーゼ作用の研究はみられない。グルテンにリパーゼを作用させると、グルテン中の脂質が分解され、脂質を含む蛋白質グルテニンは脂質の少ない蛋白質になるのではないだろうかと推察し実験した。

実 験 方 法

1) 実験材料

i 小麦粉：銀桂（マニトパ3号一本挽 未漂白品、大倉製粉製）蛋白質 13.0% 灰分 0.50%、グローブ（マニトパ3号パテント粉 未漂白品、井沢製粉製）蛋白質 12.7% 灰分 0.45%

ii リパーゼ：豚の膵臓より調整した市販品（東京化成），op. pH 5.0~7.0 at 50°C Lipase value: $3.5 \times U. S. P.$

2) ドウの硬さ測定法

小麦粉 50 g に水 30 cc を加えよくこねてドウとし、ぬれ布帛でおおい 25°C 恒温器中に保って熟成させる。30 分後パンチし再び 30 分間熟成したのち 20 cc の縦長ビーカーにドウを詰めカードメーター（飯尾電機 No 301）でその硬さを測定した。感応軸は直径 3 mm、錘 200 g のときの目盛りの静止した点を読みドウの硬さを

* 小麦粉に関する研究 第5報

測定した。

3) グルテンの採集と分析法

i 採集法: 上記と同様にして1時間熟成させたドウを15~20°Cの流水中で静かに手でもんでグルテンを集め、洗液が白濁しなくなれば充分水を切り、約3mm³に細切りしポリエチレン布上に並べ37°C恒温器中で1夜乾燥し、さらに90~95°C乾燥器で1時間乾燥し収量を測った。

ii 蛋白質: ケールダール法によりNを求め、N×5.7で表示した。

iii 脂 質: 福場等⁷⁾の鹼化法を多少改良して実験した。試料3gを100cc共栓三角フラスコにとり30% KOH 5ccを加えかるく栓をして37°C恒温器中に1~2日保ち、グルテンを溶解させて後イソアミルアルコール0.2%を含む95%アルコール20ccを加え、逆流冷却器をつけ沸騰浴上で2時間加熱して脂質を鹼化する。冷却後25% HCl 8ccを加え酸性となし、再び冷却して石油エーテル25ccを加え、密栓し、1分間強く振盪して遊離脂肪酸を石油エーテル層に移行させる。しばらく静置し石油エーテル層が分離すれば上層を15ccとり石油エーテルを留去してから中性アルコール10ccを加えて脂肪酸を溶解させ、チモールフタレンを指示薬としてN/10 NaOHで滴定し、次式により計算した。

$$4.923 \times T \times F \div W = \text{脂質}(\%)$$

但、T: N/10 NaOHの滴定数、F: N/10 NaOHの力価、W: 試料のg数、脂肪酸の分子量は284として計算した。

4) 麵粉の調製法⁸⁾

上記により調製したドウを製麵機にかけて細切りするか、または手でちぎって細片となしポリエチレン布に並べ37°C恒温器中で1~2日間乾燥させる。ドウが非常に軟らかい場合にはポリエチレン布上に塗布し乾燥させた。かくして得た乾麵は1夜風乾してからミンチにかけて粉碎し80目篩で篩過して麵粉を得た。

5) グルテニンとグリアジンの分析法

AOAC法により全蛋白質、70%アルコール可溶蛋白質および5% K₂SO₄可溶蛋白質を測定しグルテニン、グリアジン量を計算した。

6) 酸価の測定

i 酸 価⁹⁾: 小麦粉10gを200cc三角フラスコにとり水100ccを添加しよく振りまぜて37°Cで時々振盪しながら1時間放置する。濾液25ccをとりフェノールフタレンを指示薬としてN/10 NaOHで滴定し、乳酸に換算して酸価を表示した。

ii アルコール酸価: 小麦粉または麵粉5gに水50ccを添加し上記と同様に1時間放置後95%アルコール

50ccを加え、30分間振盪して後濾過し濾液25ccを採り酸価を測定した。

7) グルテニンの調製法

小麦粉100gに水を加え常法によりドウとしグルテンを採集する。これに70%アルコール200ccを数回に分けて加え、手でもんでグリアジンを洗い出し残渣を上記のグルテンの場合と同様に細片として乾燥させ、その後分析した。

8) TCA可溶N

粉5gに5%三塩化酢酸溶液100ccを加え、1時間振盪した後濾液25ccをとり、可溶性Nを測定した。

実験結果と考察

1) リパーゼを添加したドウとグルテンの性質

小麦粉を水でこねてドウとする際にリパーゼを添加して熟成させると、ドウは軟らかくて伸びのよいものになるが逆に抗張力の少ないものとなることを認めた。カードメーターでその硬さを測ると、リパーゼを40mg%添加したドウは無添加に比し約1/3の硬さを示した(第1表)

第1表 リパーゼの添加によるドウの軟化状態

リパーゼの添加量	カードメーターの読み
mg% 0	35
10	29
20	10

実験試料: 銀桂

これらのドウから採ったグルテンは弾力性の少ない、粘稠で伸びのよいものであった。その収量は第2表のご

第2表 グルテンの収量と組成に及ぼすリパーゼの効果

小麦粉の銘柄	リパーゼの添加量	収量	蛋白質 (P)	脂質 (F)	F/P	小麦粉より回収した	
						蛋白質	脂質
銀桂	mg% 0	13.9	67.9	4.7	0.069	9.4	0.65
	10	13.0	75.1	5.3	0.071	9.8	0.69
	40	11.8	81.0	5.8	0.069	9.9	0.68
グローブ	0	12.7	83.7	4.8	0.057	10.7	0.61
	10	12.7	84.1	4.7	0.056	10.7	0.60
	40	11.9	86.5	5.6	0.065	10.3	0.67
	80	11.5	87.1	5.6	0.064	10.1	0.64

とくリパーゼの添加量とは逆にやや少なくなるが、グルテン中の蛋白質含量は逆に増加するのでグルテンとして回収し得た蛋白質の量はほとんど変わらない。リパーゼの添加量が多くて、ドウの軟化状態が著しいものでもグ

ルテンとして回収しうる蛋白質量の減少は非常に少ない。一方、グルテン中の脂質含量もリパーゼの添加量の多いものの方が多く、その回収量もやや増加する。したがってグルテン中に含まれる脂質と蛋白質の割合 F/P はほとんど変わらない。今、リパーゼの作用によりグルテン形成に關与する脂質が分解するものと仮定すると、当然 F/P の値が小さくなることが予想されるが、実験結果はほとんど変わらない。前報¹⁾で述べたように F/P の値が大きくなるとグルテンの弾性が強く粘性の少ないものとなるが、本実験で得たグルテンは軟らかく伸びのよいものであったにもかかわらず F/P の値が変わらないので、F/P を求める方法ではグルテンの性質を検討することができない。脂肪酸を加えたドウからグルテンを採った場合¹⁰⁾、グルテン組成は F/P の値が大きなものとなり、脂肪酸もリポ蛋白質の形成に關与することを認めているので、本実験でリパーゼの作用により分解した脂肪酸はグルテン洗出の際に流出することなくグルテン中に含まれるものと考えられ、リパーゼ作用の有無にかかわらずグルテンの F/P の値はドウ中の脂質量が一定の場合、変化しないものと考えられる。

そこで生グルテンを 70% アルコールで処理してグリアジンを洗出し、残渣を乾燥しグルテニンをとると、リパーゼ作用をうけたものは第 3 表のごとくグルテニン収

第 3 表 グルテニンの収量と組成に及ぼす
リパーゼの効果

リパーゼの添加量	収量	蛋白質	脂質	F/P	小麦粉より回収した蛋白質	グルテニン N とグルテン N の割合
mg%	%	(P)	(F)		%	
0	12.4	71.0	4.6	0.065	8.8	0.84
20	11.4	71.3	4.2	0.059	8.1	0.82
40	7.9	72.4	4.0	0.055	5.7	0.59

実験試料： グローブ

量が著しく減少した。すなわちリパーゼをドウに作用させてもグルテンの量はほとんど減少しないが、グルテニンの含量は著しく減少することを確認した。

第 4 表 リパーゼを添加した小麦粉の酸価

リパーゼの添加量	抽出溶媒	酸 価
mg%		%
0	水	0.16
20	水	0.23
0	アルコール	0.33
20	アルコール	0.63

実験試料： 銀桂

2) 小麦粉に対するリパーゼ作用の検討

小麦粉にリパーゼを 20 mg% 添加しその酸価を測定すると、リパーゼを添加したものは脂質の分解のため第 4 表のごとく酸価が大きくなった。酸価測定の場合にアルコールを加えて試料を抽出し、中和滴定するとその値が著しく増加することを認めた。これはリパーゼ作用により生成した脂肪酸の溶解性がよくなったためと考えられる。

3) リパーゼを添加した麵粉中のグルテニンとグリアジン含量

前述のごとくリパーゼの添加によりグルテニンは著しく減少するにもかかわらずグルテン収量は変わらないことを認めたが、この点を確認するためリパーゼを添加して 1 時間熟成させたドウを製麺し、それを粉碎の後 AOAC 法により小麦粉中のグリアジン、グルテニン分析法に準じて麵粉の分析を行なった。その麵粉中の酸価は第 5 表のごとくリパーゼ添加により増加するので、ドウ中

第 5 表 リパーゼを添加した麵粉の
酸価と TCA 可溶窒素

リパーゼの添加量	酸 価*	TCA 可溶窒素*
mg%	%	%
0	0.38	0.48
10	0.56	0.57
40	0.66	0.75
80	0.80	1.02

実験試料： グローブ、*水抽出、*5%三塩化醋酸可溶 N×5.7

で、リパーゼが作用したことを示している。つぎに蛋白質組成をみるとグルテニン量は著減し、70%アルコール可溶のグリアジン量は増加し、5% K₂SO₄ 可溶蛋白質もわずかに増加した。(第 1 図) Blish 等¹¹⁾はグルテンの蛋

第 1 図 リパーゼを添加した麵粉の蛋白質

白質組成は可逆的であると述べているが、本実験の結果、リパーゼ作用によってもその可能性のあることを認めた。しかしながら本実験では K_2SO_4 可溶Nの増加が起きるので、グルテニンが酵素剤添加により全量グリアジンに変成されない。このことはリパーゼ製品中のプロテアーゼによるのかもしれない。麵粉中の TCA 可溶Nを測定すると第5表のごとくリパーゼを添加した方に非蛋白性Nの増加がみられる。そこで本酵素のプロテアーゼ作用を調べると、pH 8.0 ではカゼインを相当量水溶性とするが pH 6.2 ではほとんど微弱であり、グルテンを基質とした場合には pH 9.0 ではやや消化されるが pH 4.6 では遊離Nを生じなかった。一方、小麦粉ドウの pH は 6.2~6.4 であるのでプロテアーゼの最適条件ではない。またドウにパパイン、トリプシン¹²⁾を作用させた場合のドウとそのグルテンの性質は本実験のものとは著しく違った軟化状態を示すので、使用した酵素製品中のプロテアーゼ作用は微弱であると考えられる。

したがってリパーゼの添加によっておこったパン生地
の軟化はグルテン組成中のグルテニンの分解によっておこったものであることが結論づけられる。またこのグルテニンの一部がグリアジンに変わることも推論できた。

要 約

小麦粉にリパーゼを添加してドウを作り、ドウおよびグルテンの性質とグルテン組成を調べた。その結果、リパーゼを添加するとドウは軟かくなり弾性が少なくなる。これを流水中でもんでグルテンを採ると、その性質は粘稠で伸びのよいものとなり収量はやや減少したが、グルテンとして回収される N の総量はほとんど変わらず、一方脂質含量もやや増加するので F/P の値はほとんど変わらず、この値によりグルテンの性質を判定することができなかった。このことは分解された脂肪酸がグ

ルテン洗出の際に流出せず、グルテン中に包含されるためであると考えられる。つぎにグルテンを70%アルコールで処理してグリアジンを洗出しグルテニンを採ると、リパーゼ添加のものはその収量および脂質含量が著しく少なくなった。またリパーゼを添加したドウを乾燥後粉末とし、AOAC 法によりグリアジン、グルテニンを量を測定すると、5% K_2SO_4 可溶Nおよび 70% アルコール可溶Nが増加した。したがってリパーゼ作用によりグルテン中のグルテニンの一部はグリアジンに変わることを推論した。

御助言をいただいた京大名誉教授 井上吉之先生、京大教授 小野寺幸之進先生、実験に協力下さった本学高野智子助手、中村都音美嬢に感謝いたします。

本論文の要旨は昭和36年4月29日第15回栄養食糧学会総会(徳島)において発表した。

文 献

- 1) 木咲：同志社女子大，8，79 (1957)
- 2) B. Sullivan, M. A. Howe: *J. Amer. Chem. Soc.*, **55**, 320 (1935)
- 3) C. Engel: *Biochem. et Biophys. Acta*, **1**, 278 (1947)
- 4) M. Ferrigan, W. F. Geddes: *Cereal Chem.*, **35**, 422 (1958)
- 5) B. S. Miller, F. A. Kummerow: *Cereal Chem.*, **25**, 391 (1948)
- 6) T. Widhe, T. Onselius: *Cereal Chem.*, **26**, 393 (1949)
- 7) 福場，山沢，稲垣：農化，**28**，59 (1954)
- 8) 木咲：同志社女子大.，**10**，346 (1959)
- 9) 藤沢：ベーカリーハンドブック，p. 306 (1954)
- 10) 木咲：同志社女子大.，**12**，86 (1961)
- 11) M. J. Blish, M. R. Sandstedt: *Cereal Chem.*, **7**, 412 (1930)
- 12) 木咲：未発表

(同志社女子大 家政学研究室)