そば粉に含まれる水溶性粘質物の特性について

大日方洋*・小原忠彦*・村松信之*
唐沢秀行*・大池昶威*

Viscosity and Chemical Composition of Water Extracts
from Buckwheat Flour

Hiroshi OHNATA*, Tadahiko OHARA*, Nobuyuki MURAMATSU*,
Hideyuki KARASAWA* and Terutake OHIKE*

* Nagano State Laboratory of Food Technology
205-1, Kurita, Nagano-shi, Nagano 380

The viscous properties of the water extracts from buckwheat flour were investigated using a B-type viscometer. The viscosity of the extract solutions depended upon shear rate, and exhibited pseudoplasticity. And it decreased as ionic strength increased. The viscosity of supernatants prepared from the extract solution at different pHs provided a minimum value at pH 3.0-3.4. The viscosity of the supernatants prepared at different temperatures under 90°C was constant. It was revealed from measurements under some denaturation conditions that the viscosity of the supernatant corresponded to the content of total carbohydrate rather than that of protein. The water extract was fractionated by ion exchange chromatography on a DEAE-Sephadex column. One fraction of them was given higher viscosity over 18 times than that of the other fractions. The high viscous fraction was mainly composed of sugar. Composition of the sugar was galactose, xylose and mannose in the decreasing order of contents. On the basis of these results, it was concluded that the viscosity of the water extracts from buckwheat flour was attributable to polysaccharides.

(Received Aug. 20, 1990)

そば粉の加工適性の評価指標としては、色、灰分、粒度、香りなどが主に用いられているが、さらに産地、製粉時期、製粉方法なども考慮されている。しかし、小麦粉などの他の穀類に比べ科学的評価指標は充分であるとはいえない。一方、そば粉の水懸濁液には粘性があることが知られており、この粘性がそば粉の製麺性などの加工適性に影響を与えていると考えられる¹⁾。曾田ら²⁾は、そば粉水抽出液から調製した酸沈澱タンパク質が強い粘性を示したと報告している。また、小麦粉ではそのガム質がドウの粘性に影響を及ぼしていることも知られている³⁾。藤巻ら⁴⁾は、そばの水溶性非澱粉質多糖（ガム質）について研究し、それらは塩析による分画効果が少なく、その大部分が70%硫酸アンモニウム上澄部に集められ

たこと、またその組成の産地別による差も少なかったこと、などを報告している。

そこで著者らは、そばの粘性をそば粉の加工適性の評価指標の一つとするための基礎研究として、そば粉の水抽出液の粘度特性を明らかにするとともに、粘質物の組成について検討した。

実 験 方 法

1. 試 料

そば粉は、中国産玄そばを原料とする市販そば粉（水分13.0%，タンパク質13.8%，灰分2.2%）を用いた。

2. そば粉水抽出液の調製

そば粉 500 g に 5 倍量の水を加え、室温で 30 分間緩

* 長野県食品工業試験場（〒380 長野市栗田 205-1）

やかにかくはんした後遠心分離 (3 000 rpm × 10 min) し、上澄みを凍結乾燥して試料 (A) とした。なお、試料 (A) のそば粉に対する収率は 10.4% で、乾燥試料の組成はタンパク質 86.5 mgN/g、灰分 9.4%、全糖 258 mgGlc/g であった。次に、試料 (A) を 10% 濃度になるよう水に再溶解させ、これを透析チューブに入れ蒸留水に対して 3 日間透析した。透析内液を遠心分離 (3 000 rpm × 10 min) し、上澄みを凍結乾燥させて試料 (B) とした。なお、試料 (B) のそば粉に対する収率は 2.1% で、乾燥試料の組成はタンパク質 102.9 mgN/g、灰分 5.0%、全糖 147 mgGlc/g であった。水抽出液の粘度特性は、試料 (A) を水に再溶解させ、測定時の濃度を通常は 1.25% に調製した試料を用いて測定した。また、水溶性粘質物の粘度に対する温度、pH 及びアルコール濃度の影響は、試料 (B) を用いて以下の方法により調製した試料を用いて測定した。

(1) 温度

試料 (B) を 1% 濃度になるよう水に再溶解し、各温度に 15 分保持した後流水で急冷し、不溶部が生じた場合には遠心分離 (3 000 rpm × 10 min) して得られる上澄を試料とした。

(2) pH

試料 (B) を 2% 濃度になるよう水に再溶解し、種々の pH の 0.1 M ユニバーサル緩衝液を等量加えてかくはんした後、不溶部が生じた場合には遠心分離して得られる上澄を試料とした。

(3) アルコール濃度

試料 (B) を水に再溶解し、試料濃度が 1% になるようアルコールと水を加えてかくはんした後、不溶部が生じた場合には遠心分離して得られる上澄を試料とした。

3. 粘度の測定

粘度の測定は、B 型粘度計 (東京計器, BL 型) を用い $20 \pm 0.05^\circ\text{C}$ にて測定し、主に見かけの粘度として表示した。なお、イオン交換クロマトグラフィーにより分画した試料については、電気透析 (旭化成工業, Aciplex-220) した後凍結乾燥した試料を 1% 濃度になるよう水に再溶解させ、この粘度をオストワルド粘度計により測定し比粘度として表した。

4. タンパク質および糖の定量

タンパク質は LOWRY 改良法⁵⁾、全糖はフェノール-硫酸法⁶⁾により定量した。

5. イオン交換クロマトグラフィー

試料 (B) を 2.5% 濃度になるよう 0.1 M Tris-HCl 緩衝液に溶解し、その 20 ml を DEAE-Sephadex

A-25 カラム (2.8 × 30 cm) に導入した。溶媒は 0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH=8.0) を用い、塩化ナトリウム濃度を 0.5 M まで段階的に変化させて、平均流速 7 ml/cm² · h で溶出させ、これをフラクションコレクターで 5 ml ずつ分取した。タンパク質は 280 nm の吸光度、全糖はフェノール-硫酸法による 490 nm の吸光度により測定した。

6. 糖組成

イオン交換クロマトグラフィーにより分画された画分を電気透析した後凍結乾燥し、次の方法によってその糖組成を調べた。試料 2 mg を封管中で 1 N 硫酸 0.5 ml とともに 100°C、12 時間加水分解し、Amberlite CG-400 (-CH₃COO⁻型) カラム (0.5 × 6 cm) による分画を行った。水で溶出される中性糖画分は水素化ホウ素ナトリウムによる還元後アセチル化処理により Alditol acetate とし、キャピラリーカラム (Thermon-600 T) を用いてガスクロマトグラフにより分別定量した⁷⁾。また、4 N 酢酸で溶出される酸性糖画分はカルバゾール-硫酸法⁸⁾より比色定量した。

実験結果及び考察

1. そば粉の水抽出液の粘度特性

(1) ずり速度

B 型粘度計の回転速度を変化させて粘度を測定した結果を Fig. 1 に示した。水抽出液は測定した濃度範囲のいずれの濃度においても、ずり速度が大きくなるに従って粘度が減少し擬塑性を示した。

(2) 温度

水抽出液の粘度の温度依存性を Fig. 2 に示した。測定温度が高くなるにつれて水抽出液の粘度は減少した。一般に粘度は温度の関数であり、ANDRADE の式で表されることが知られている⁹⁾。そば粉水抽出液の粘度の温度依存性をこの式を適用して回帰分析したところ、

$$\log \eta = -1.401 + 667/T \quad (r^2 = 0.992)$$

として回帰された。

(3) 試料濃度

そば粉の水抽出液の粘度の濃度依存性を Fig. 3 に示した。そば粉の水抽出液の粘度は Fig. 1 に示したようにずり速度に依存するため、回転粘度計の回転数を 3 段階に変えて測定を行った。 $(\ln \eta_r)/c$ は 0.6% 未満の濃度で急激に上昇し、この変化の傾向はいずれの回転数においても同様であった。Fig. 3 において、濃度を 0 に外挿して得られる極限粘度は 5 付近にあるものと推定され、この値は曾田ら²⁾が細管式粘度計を用いて測定した

Fig. 1 Effects of shear rate on viscosity of the aqueous extracts from buckwheat flour

Viscosity was measured by a B-type viscometer at 20°C.

○—○, 2.5%; ○—○, 1.25%; ●—●, 0.5% (Sample A)

Fig. 2 Temperature dependency of viscosity of the extracts (Sample A; at 1.25%)

値とはば一致していた。

(4) イオン強度

そば粉の水抽出液に対して塩化ナトリウム溶液を加えてイオン強度を変えた時の粘度変化を Fig. 4 に示した。イオン強度 0.1 まではイオン強度が増加するにつれて粘度は減少したが、0.1 以上では粘度は一定であった。イオン強度 0.1 以上の粘度は、塩化ナトリウムを加えない場合の粘度に比べておよそ 3/4 にまで減少した。これは、食塩の共存によってそば粉からの水抽出タンパク溶液の粘度が低下することを報告した曾田²⁾の結果と一致し、そば加工上の業界の通念ともよく対応していた。

Fig. 3 Effects of concentration on viscosity of the extracts

□—□, 12 rpm; △—△, 30 rpm; ○—○, 60 rpm (Sample A; at 20°C)

Fig. 4 Effects of ionic strength on viscosity of the extracts. Ionic strength was adjusted by the addition of a NaCl solution. The arrow indicates the original viscosity (Sample A; at 20°C, 1.25%)

2. 水溶性粘質物の粘度に対する温度、pH、アルコールの影響

そば粉水抽出液の粘度特性は上記により明らかとなった。そこで、この水抽出液の粘度が何に起因しているかを明らかにするため、水抽出液を純水に対して透析したところ、透析内液に高い粘性が認められた。そこで、一般的にタンパク質を変性させるとされる加熱、pH の変化、アルコールの添加などの操作によって、この水溶性粘質物の粘性がどのように変化するかについて次に検討した。

(1) 温度

温度の変化にともなう（不溶部を遠心分離により除去した）粘質物水溶液の見かけの粘度、タンパク質及び全糖量の変化を Fig. 5 に示した。粘度は、90℃ まではほぼ一定値を示し、100℃ で若干減少した。このことは、そばの水溶性粘質物は加熱に対して比較的安定であることを示している。タンパク質は 60℃ まではわずかな変化であったが、70℃ と 100℃ で大きく減少した。一方、全糖は 90℃ までは一定であったが、100℃ でやや減少し粘度の変化と対応していた。このことから、そば粉水抽出液の粘性は水溶性のタンパク質よりも糖類に起因しているのではないかと推察された。曾田ら²⁾はそば粉水抽出液の粘性がタンパク質に起因していると考え、そば粉の水抽出タンパク質の諸性質について検討している。しかしその報告の中で、本実験結果でも示したようにその水抽出タンパクが 90℃ 以上の加熱処理によって急激な相互反応を引き起こすのに対して、その粘性は加熱温度によってほとんど影響されなかった、といったタンパク質だけでは説明できない矛盾点があることも指摘している。そば粉水抽出液にはタンパク質とともに糖質も含

Fig. 5 The viscosity and total carbohydrate and protein contents of the supernatants obtained by heating from mucilage solutions

1% mucilage (Sample B) solutions were heated for 15 min in a water bath, and cooled with cold water. The supernatants were obtained by centrifugation of the mixtures.

○—○, viscosity; ●—●, total carbohydrate; △—△, protein

まれており、抽出液の粘性がタンパク質よりもむしろ糖類に起因していると考え、この矛盾は解決されることになると思われる。

(2) pH

そばの水溶性粘質物溶液の pH を変え、それにもなう水溶液の見かけの粘度、タンパク質及び全糖量を測定した結果を Fig. 6 に示した。粘度は pH 3.0~3.4 で極小値を示した。全糖も pH 3.0~3.4 で極小となり、pH による全糖の変化と粘度の変化はほぼ対応していた。粘質物水溶液の pH を調整する際に、1N 塩酸のような強酸を用いた場合には局部的に極端な pH の低下が生じタンパク質とともに多糖も共沈して正確な pH の影響が測定されないと考えて、ここでは緩衝液を使用した。その結果、例えば pH 4.0 の場合に粘質物水溶液中のタンパク質の多くは沈澱となったのに対して、上澄液中の全糖量は pH 7 の全糖量よりわずかに少ない程度で、粘度も pH 7 の場合よりも若干低下するにとどまった。

なお、この実験による中性付近の粘質物水溶液の粘度が温度の影響を調べた 20℃ 処理区やアルコール濃度 0% 区の場合の粘度に比較して値が小さかったのは、緩

Fig. 6 The viscosity and total carbohydrate and protein contents of the supernatants obtained at different pHs from mucilage solutions

2% mucilage (Sample B) solutions were added to the equal amount of 0.1M universal buffer, and the mixtures were centrifuged.

○—○, viscosity; ●—●, total carbohydrate; △—△, protein

衝液によってイオン強度が高くなったためと考える。

(3) アルコール

アルコール濃度の変化にともなう粘質物水溶液の見かけの粘度、タンパク質及び全糖量の変化を Fig. 7 に示した。粘度は、アルコール濃度 20% で極大となり、40% 以上ではほぼ溶媒の粘度にまで減少した。タンパク質はアルコール濃度 20% までは一定値を示したが、それ以上の濃度ではほぼ直線的に減少した。これに対して、全糖はアルコール濃度 20% まではタンパク質と同様に一定であったが、40% までに急激に減少し、それ以上の濃度ではわずかに減少した。アルコールの場合も、pH の場合と同様に粘度の変化は全糖の変化に対応していた。なお、アルコール濃度 20% において粘度が極大値を示したが、これはおそらく粘質物がアルコールによって立体的な構造変化を引き起こしたことに起因するものと考えられる。

以上のように、pH などの変化による粘質物水溶液の粘度は、タンパク質よりもむしろ全糖量の変化に対応し

Fig. 7 The viscosity and total carbohydrate and protein contents of the supernatants obtained by changing ethanol concentration from mucilage solutions

Mucilage (Sample B) solutions were added to various concentrations of ethanol solution, and the final concentration of the mixtures was 1%. The supernatants were obtained by centrifugation of the mixtures. ○—○, viscosity; ●—●, total carbohydrate; △—△, protein; ×—×, viscosity of ethanol solution

ており、そば粉水抽出液の粘性は主に多糖に起因していることが推定された。そこで、このことを確認するため水溶性粘質物のイオン交換クロマトグラフィーを行って粘質物の分画を試みた。

3. イオン交換クロマトグラフィーによる粘質物の分画

陰イオン交換体である DEAE-Sephadex を用いて粘質物のカラムクロマトグラフィーを行った結果を Fig. 8 に示した。0.1 M Tris-HCl 緩衝液で溶出するフラクション No. 21~46 を区分 I, 0.2 M 塩化ナトリウムを含む緩衝液で溶出する No. 73~113 を区分 II, No. 137~150 を区分 III, 0.5 M 塩化ナトリウムを含む緩衝液で溶出する No. 158~168 を区分 IV として分画した。なお、塩化ナトリウム濃度を 1.0 M まで増加させたが、0.5 M 以上の濃度で溶出される成分はわずかであった。分画した各画分を電気透析後凍結乾燥した乾物試料 1 g 中の化学組成と、これを水に再溶解させた試料の粘度を Table 1 に示した。区分 III の粘度が最も高く、他の画分の 18 倍以上の比粘度を示した。この区分のタンパク質は他の画分の 1/6 程度であるのに対して、中性糖は約 4 倍量含まれていた。中性糖の構成糖としては、Galactose が 60% 以上で最も多く、次いで Xylose, Mannose の順であった。また、酸性糖も中性糖

Fig. 8 DEAE-Sephadex column chromatography of the mucilage

Mucilage of buckwheat flour (0.5 g in 20 ml of 0.1 M tris-HCl buffer, pH 8.0) was applied to a column of DEAE-Sephadex A-25 (2.8 × 30 cm) which had been equilibrated with the same buffer. The eluate was collected in 5 ml fractions and analyzed for both total carbohydrate and protein.

●—●, total carbohydrate (Abs. at 490 nm); △—△, protein (Abs. at 280 nm)

Table 1 Viscosity and composition^a of fractions

	I ^b	II	III	IV
η_{sp}^c	0.04	0.73	25.05	1.4
Protein ^d (mgN/g dry matter)	123.4	136.4	20.8	106.6
Uronic A. ^e (mg/g d.m.)	25.6	21.7	35.7	30.1
Neutral S. ^f (mg/g d.m.)	98.0	106.1	386.2	120.4
Rhamnose	2.6	7.2	1.2	15.7
Fucose	1.2	1.2	0.8	1.0
Ribose	0.6	0	0.1	0.3
Arabinose	47.0	13.9	1.1	7.1
Xylose	3.7	16.7	19.6	9.8
Mannose	9.1	3.4	11.8	12.2
Glucose	17.1	0	4.0	0.1
Galactose	18.7	57.6	61.4	53.8

^aThe composition of neutral sugar was estimated by GLC analysis of alditol acetates.

^bI: Tube number (21-46), II: (73-113), III: (137-150), IV: (158-168). Each fraction was dialyzed and lyophilized.

^cMeasured by Ostwald's viscometer (1g/100 ml).

^dEstimated by the Lowry method.

^eEstimated by the carbazole method and expressed as galacturonic acid.

^fEstimated by the phenol-sulfuric acid method and expressed as glucose.

の 1/10 程含まれていた。これらの構成糖は、ASANO ら¹⁰⁾が報告したそば粉中の水溶性非澱粉質多糖と構成割合こそ若干異なるものの構成順はよく一致していた。以上のことから、そば粉の水溶性粘質物の本質は多糖が主成分であることが確認された。

なお、この多糖の量的問題については抽出率等を考慮する必要があるが、試料 (B) 中の全糖すべてがそば粉の水懸濁液の粘性に関与したとしてもそば粉中の 0.3% を占めるに過ぎず、量的には少量の多糖が粘性に寄与していると考えられる。さらに、区分Ⅲの全糖量 (絶対量) は試料 (B) 中の全糖量の 12~16% であり、水溶性の多糖の中で特定の多糖のみが粘性に関与しているとも考えられる。しかし、今回イオン交換クロマトグラフィーによって分画されたⅢ以外の画分では多糖とタンパク質が分離されておらず、区分Ⅲ以外の多糖がどの程度粘性に寄与しているのかについては不明である。

そば粉の配合比率の高い手打ちのそば切りは、「湯ごね」と呼ばれるように熱湯を原料粉に加えて澱粉の一部を糊化させ、糊の力によって生地を形成させる手法が昔から行われてきている。しかし、熟練者は熱湯を用いずに水を使用する場合もある。従来これは、そば粉中に多く含まれる水溶性タンパク質の粘性を巧みに利用した技法であるとされてきた¹¹⁾。確かに、そば粉中の水溶性タンパク質は量的にも多く (そば粉全タンパク質中約 60% が水溶性)、製麺加工上重要な役割をはたしていると考えられる。しかし、本研究で明らかにされたようにそばの粘性の本質が多糖を主成分とすることから、今後は製麺加工における多糖の役割についてもさらに検討する必要があると考える。また、乾そばの製造にあたっては、とろろ、あるいは海藻などの粘質物を添加して製品に特徴をもたせるような試みもなされている。これら粘質物の粘性も多糖に由来しており、そば粉の多糖と合わせてその製麺加工上の作用の解明が期待されている。

また、製麺加工における多糖の役割がさらに明らかにされることによって、そば粉水抽出液の多糖あるいは粘度が、そば粉の品質評価の一つの指標として利用できるものと考えられる。

要 約

そば粉水抽出液の粘度特性を明らかにし、粘質物の組成について検討した。その結果、そば粉水抽出液の粘度はざり速度に依存する擬塑性を示し、またイオン強度の増加に伴って粘度は減少した。水抽出液は透析内液のみが高い粘性を示し、粘性質は分子量の大きな成分であることがうかがえた。粘質物水溶液の粘度は、pH 3.0~3.4 で極小となり、90℃ の加熱までは安定であった。また、アルコール濃度 20% で水溶液の粘度は極大となり、40% で大きく減少した。pH などによる粘度の変化は、水溶性のタンパク質よりも全糖の変化と対応していた。粘質物をイオン交換クロマトにより 4 画分に分画したところ、粘度の大きな画分は糖が主成分であった。高粘度画分の比粘度は他の画分の 18 倍以上の値を示した。この区分のタンパク質は他の画分の 1/6 程度であるのに対して、中性糖は約 4 倍量含まれていた。中性糖の構成糖としては、Galactose が 60% 以上で最も多く、次いで Xylose, Mannose の順であった。また、酸性糖も中性糖の 1/10 程含まれていた。

糖類の分析法などについて御助言、御指導を賜りました農林水産省生物資源研究所 渋谷直人博士に深謝申し上げます。

文 献

- 1) 松橋鉄治郎・小原忠彦・村松信之・大日方洋・黒河内邦夫: *New Food Industry*, **27**, 27 (1985).
- 2) 曾田武富・加藤潤子・桐淵滋雄・青木 宏: 日食工誌, **28**, 297 (1981).
- 3) BAINS, G.S. and IRVINE, G.N.: *J. Sci. Food Agr.*, **16**, 233 (1965).
- 4) 藤巻正生・五十嵐脩・浅野克彦: 農化, **43**, 625 (1969).
- 5) 菅原 潔・副島正美: 蛋白質の定量法, 第2版 (学会出版センター, 東京), p. 117 (1978).
- 6) 福井作蔵: 還元糖の定量法, 初版 (学会出版センター, 東京), p. 45 (1978).
- 7) 船越育雄・山科郁男: 糖質の化学 (下), 第5版 (東京化学同人, 東京), p. 322 (1986).
- 8) 福井作蔵: 還元糖の定量法, 初版 (学会出版センター, 東京), p. 57 (1978).
- 9) 川崎種一: *New Food Industry*, **25**, 52 (1983).
- 10) ASANO, K., MORITA, M. and FUJIMAKI, M.: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1522 (1970).
- 11) 藤村和夫: そばの技術, 第3版 (食品出版社, 東京), p. 146 (1980).

(平成2年8月20日受理)