総 説

製パンにおけるモノグリセリドの作用機構に関する研究

(平成9年度 日本食品科学工学会奨励賞)

井 上 茂 孝*

A Study on Monoglyceride Function Mechanisms Affecting Breadmaking Properties

Shigetaka INOUE*

* Research & Development Division, Yamazaki Baking Co., Ltd.,
3-15-6, Chitose, Sumida-ku, Tokyo 130

1. はじめに

モノグリセリド(グリセリン脂肪酸モノエステル)は、製造時の機械に対する生地耐性を改善したり、パンの容積の増加や保存中のパンの硬化抑制など品質を改善する効果があり、年間約2500トンが製パン用として利用されている¹⁾。現在までの研究でモノグリセリドは、油脂の分散性の向上やデンプンと複合体を形成し老化を遅延することなどがわかっており、これらは多数の論文、総説にまとめられている^{2)~13)}。

しかし、製パンに及ぼす効果については、パンの容積や内相のきめの細かさ、硬さの改善など現象面からのアプローチが主体である。この理由として、パンは小麦粉、水、油脂、糖、食塩などの多成分から成り、生地物性を決定する主要成分のグルテンが不溶性であるため、その構造解析が不十分であること、さらに混捏、発酵、加熱など様々な外的作用を受けて製造される食品であることが挙げられる。従ってモノグリセリドの生地中のタンパク質への作用機構についてはほとんど言及されておらず、その詳細は明らかにされていない。このため、生地物性や生地中のタンパク質に対する作用機構を解明することは、製パン性を改善するための基礎的知見としても重要と考える。

また、一般にモノグリセリドは天然油脂を原料として

製造されるため¹⁴⁾、各種脂肪酸が混在したものが多い。このため改善効果に対する脂肪酸の構造(鎖長、不飽和度、二重結合の位置・幾何異性体)の特定^{15)~18)}も十分に行われていないのが現状である。

著者は、飽和脂肪酸であるカプリル酸(C8:0)、ラウリン酸(C12:0)、パルミチン酸(C16:0)、ステアリン酸(C18:0)、ベヘン酸(C22:0)、全シス型不飽和脂肪酸であるオレイン酸(C18:1 cis 9)、リノール酸(C18:2 cis 9, cis 12)、リノレン酸(C18:3 cis 9, cis 12, cis 15)およびトランス型モノ不飽和脂肪酸であるエライジン酸(C18:1 trans 9)の高純度モノグリセリドを調製し、製パン性に対する影響を比較検討し、モノグリセリドの脂肪酸種と製パンにおける機能の関係を明らかにした。さらに、ステアリン酸(C18:0)、オレイン酸(C18:1 cis 9)およびエライジン酸(C18:1 trans 9)の3種類の高純度モノグリセリドについて、それらの生地中のタンパク質への作用機構について検討し、モノグリセリドのパン品質向上に対する作用機構の一端を明らかにすることができたので以下に概説する。なお、本総説はタンパク質への作用を中心にまとめており、パンの硬化抑制に関するデンプンへの作用については既発表の論文を参照していただきたい¹⁹⁾。

* 山崎製パン株式会社中央研究所(〒130 東京都墨田区千歳 3-15-6)

図1 生地混捏時の抵抗に及ぼす各種モノグリセリドの影響

- : C 8:0; モノカプリリン □: C 12:0; モノラウリン
 △: C 16:0; モノパルミチン ●: C 18:0; モノステアリン
 ■: C 18:1 cis 9; モノオレイン ▲: C 18:1 trans 9; モノエライジン
 ▨: C 18:2 cis 9, cis 12; モノリノレイン
 ▲: C 18:3 cis 9, cis 12, cis 15; モノリノレニン
 ○: C 22:0; モノベヘニン

2. 各種モノグリセリドのパン生地物性および焼成後の比容積に及ぼす影響

図1は、パン用小麦粉（日清製粉株式会社製、強力一等粉）に各種モノグリセリドを添加し、生地物性に対する影響をフェリノグラフを用いて測定した結果である。生地に加える水分量を一定（68%）にしたところ、炭素数8, 12の中鎖飽和脂肪酸および炭素数18の不飽和脂肪酸のモノグリセリドに生地混捏時の抵抗の低下効果が認められたが、炭素数16以上の長鎖飽和脂肪酸のモノグリセリドではこのような効果は認められなかった²⁰⁾。つぎにエクステンソグラフを用いて生地の伸長度と最高伸長抵抗を調べたところ、中鎖飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸のモノグリセリドに最高伸長抵抗の増加効果が認められ、特に不飽和度の高いモノグリセリドで顕著であった²⁰⁾。また不飽和脂肪酸のモノグリセリドを添加することにより、5%の危険率で有意にパン容積の増加が認められた²⁰⁾。これらのパンは、内相の観察からもすだちがよく、パン全体が縦に良く伸びていた。以上のように、各種モノグリセリドの生地物性に対する影響には差異が見られ、不飽和脂肪酸のモノグリセリドは生地の最

高伸長抵抗を高めパンの容積を増加させたのに対し、炭素数16以上の長鎖飽和脂肪酸のモノグリセリドはこれらの効果は認められなかった。

さらに製パン性向上の要因を探るため、生地をグルテン画分とデンプン画分に分離し、各画分中のモノグリセリド量を測定したところ、生地混捏時の抵抗の低下および生地の最高伸長抵抗の増加効果がほとんど見られないモノステアリン（飽和脂肪酸モノグリセリド）はグルテン画分とデンプン画分に存在する量比が1:20であった。一方、同効果が見られたモノオレイン、モノエライジン（不飽和脂肪酸モノグリセリド）はこれらの画分にはほぼ等量ずつ存在していた（図2）¹⁹⁾。以上の結果から両モノグリセリドはグルテン画分に対し高い親和性を示すことが認められ、グルテン中のモノグリセリドの存在量が生地物性（生地混捏時の抵抗、生地の最高伸長抵抗）に大きく影響することが示唆された。

生地は小麦粉、水、油脂、糖、食塩などから成り、さらに混捏時に気泡を抱き込むので、多成分の様々な界面で形成されている。モノグリセリドはこれら界面に吸着して界面の性質を変化させることにより生地物性を改善しているものと考えられ、先に示した結果より生地の抗

張力増大には、モノグリセリドが生地中のグルテンに吸着しない結合することが必要条件である。不飽和脂肪酸モノグリセリドのグルテンへの吸着性は主に次の点で飽和脂肪酸モノグリセリドより勝ると推察される。①モノグリセリドの融点や構成する脂肪酸の水に対する溶解度、また添加時の結晶型等は生地内の分散性に大きく影響し、不飽和脂肪酸モノグリセリドは飽和脂肪酸モノグリセリドに比べ分散性が高くなる条件を満たしている。

図2 生地中の各画分に存在するモノグリセリド量

- : グルテンに存在するモノグリセリド
- ▨: ペプシンで分解後回収されるグルテンと強固に存在する結合性モノグリセリド
- ▧: デンプンに存在するモノグリセリド
- : α -アミラーゼで分解後回収されるデンプンと強固に存在する結合性モノグリセリド

②モノグリセリドのアシル基の炭化水素部分に他より電子密度の高い所があり、その一電荷がタンパク質分子への吸着や構造・性状の変化に影響している。①の結晶型については著者の若干の知見があるが今回は割愛させていただく。モノグリセリド^{21)~23)}、トリグリセリドの結晶型については油化学分野で多くの論文にまとめられているのでこれらを参照していただきたい。また、②についてはその詳細は不明であり、今後の研究に期待したいと思う。

3. モノグリセリドの生地中のタンパク質に及ぼす作用

生地中のタンパク質の性状変化について検討した。生地中のタンパク質を水溶性タンパク質、酢酸可溶性タンパク質および酢酸不溶性タンパク質の3画分に画分し、水溶性タンパク質および酢酸可溶性タンパク質の2画分のタンパク質の表面疎水性度をANS (1-アニリノ-8-ナフタレンスルホン酸塩) 蛍光法²⁴⁾にて調べた。その結果、モノグリセリドを添加することにより水溶性タンパク質および酢酸可溶性タンパク質の表面疎水性度は低下した(図3a)²⁵⁾。特にモノオレイン、モノエライジン添加するとこれらのタンパク質の表面疎水性度は著しく低下した。さらに水溶性タンパク質および酢酸可溶性タンパク質を脱脂し、モノグリセリドと小麦粉脂質を除去したところ、表面疎水性度は増加し、モノグリセリド無

図3 生地中のタンパク質の表面疎水性度に及ぼす各種モノグリセリドの影響

a: 0.01 M 酢酸可溶性タンパク質

b: 0.01 M 酢酸可溶性タンパク質 (脱脂)

●: C18:0; モノステアリン

■: C18:1 cis 9; モノオレイン

▲: C18:1 trans 9; モノエライジン

添加生地表面疎水性に近い値までは回復することがわかった(図 3 b)²⁵⁾。このことはモノグリセリドは生地中のタンパク質に吸着して同タンパク質の表面疎水性を低下させていることを意味する。

なお本試験は試料タンパク質を水または酢酸溶液で低濃度に調製しており、タンパク質は可溶化している。この状態は製パンにおける生地混捏時のグルテンのネットワーク構造と異なるが、著者の過去の試験²⁶⁾経験から、生地の状態においても同様にタンパク質の表面疎水性の低下が起きているものと推察した。

脂肪酸^{27) 28)}、脂肪酸塩²⁹⁾およびモノグリセリド^{30)~32)}がタンパク質に与える影響については多くの論文に報告されている。何れもこれらの化合物はタンパク質の疎水性相互作用を改変することを指摘しており、著者は生地中のタンパク質の疎水性相互作用においても合致すると考えた。

そこで、この現象を明らかにするためタンパク質の疎水性相互作用を改変する試薬添加による試験を行い、タンパク質の表面疎水性度と生地混捏時の抵抗の関連を確認した。タンパク質の疎水性相互作用を弱める作用を有するチオシアン酸ナトリウム (STC)^{33) 34)}および疎水性相互作用を強める作用を有するプロピレングリコール (PG)^{35) 36)}を小麦粉に添加して、生地混捏時の抵抗への影響を検討した。その結果、STC 添加により生地混捏時の抵抗は低下し、不飽和脂肪酸モノグリセリドと同様な

効果を示した(図 4)²⁵⁾。また、STC の添加量による酢酸可溶性タンパク質の表面疎水性度の低下と生地混捏時の抵抗の低下には相関が認められ、同様に PG の添加量による酢酸可溶性タンパク質の表面疎水性度の増加と生地混捏時の抵抗の上昇にも相関が認められた。また STC 添加では、パンの比容積は無添加に比べて有意に増加し、PG 添加ではパンの比容積は大きく減少した。以上の結果より、生地中のタンパク質の表面疎水性度、すなわちタンパク質間の疎水性相互作用が生地物性に大きく影響し、モノグリセリド添加による生地物性改善およびパンの容積の増加は、モノグリセリドがタンパク質間の疎水性相互作用を低下させることにより惹起すると結論した。

4. モノグリセリドのグリアジンに及ぼす作用

モノグリセリドの生地物性改善効果は生地中のタンパク質間の疎水性相互作用を低下させることに起因することが明らかになった。そこでグルテンを構成するタンパク質のうち、モノグリセリドが作用するタンパク質を検索した。生地中のタンパク質を 5 画分に分離し、各画分の表面疎水性度およびモノグリセリド量を調べた。その結果、モノオレイン、モノエライジン添加によりグリアジン画分の表面疎水性度は無添加に比べ大きく低下し、主に同画分に両モノグリセリドが存在していた²⁵⁾。このことから、これらモノグリセリドが生地中のグリアジンに作用し、生地物性を改善することが推察された。

そこで次にモノグリセリドのグリアジンに対する作用機序の詳細について検討し、グリアジン分子中のモノオレイン親和性部位の決定を試みた。TOF-MS および NMR による解析を行い、小麦タンパク質とモノグリセリドとの相互作用に関する分子レベルの言及を行った。TOF-MS による分析の結果、モノグリセリド(モノオレイン、モノエライジン)を作用させることにより、グリアジン中の分子量 33.9 kDa のタンパク質が分子量 35.0 kDa に増加し(図 5)、モノグリセリドが分子量 33.9 kDa のタンパク質に特異的に作用することが認められた³⁷⁾。分子量の増加量から同タンパク質 1 分子に 3 分子のモノグリセリドが結合していると推察した。つぎに ¹³C NMR (400 Mz) によりモノグリセリド(モノオレイン)が作用しているタンパク質部位の特定を行ったところ、イソロイシン、バリン、アラニンのメチル基の T₁ に有意な変化が認められ、同アミノ酸のメチル基に特異的に吸着するものと考えた³⁸⁾。さらにパルス NMR により水の状態を解析した。T₂ およびそれらの ¹H モル%を表

図 4 生地混捏時の抵抗に及ぼすタンパク質表面疎水性度の影響

▲: 表面疎水性度 ●: 生地混捏時の抵抗

1に示した³⁸⁾、グリアジン（水はグリアジンに対して50%混合）中の水は T_2 の長短により運動性の異なる3成分が存在した。このうち T_2 が約20 msの成分はタンパク質に結合していない自由水であり、 μ sオーダーの2成分は配位水と推定され、これらを以下のように考えた。配位水(1)はタンパク質分子表面から少し離れて配位し、相対的に運動性のある水。配位水(2)はタンパク質分子の折りたたまれた内部またはその表面近傍の運動性が束縛された水。ここでモノオレインを混合することにより自由水が減少し、配位水(1)が増大した。これはモノ

オレインがグリアジンの表面疎水性を低下させ、グリアジンのタンパク質の親水性が増加することにより、自由水の一部がタンパク質表面に配位したためと解釈することができる。小麦タンパク質と脂質の相互作用では、トリグリセリドを構成するステアリン酸は生地中のタンパク質と結合するとステアリン酸のメチル基末端から12番目の炭素原子まで運動性が制限されること³⁹⁾、乳化剤（モノステアリン等）は小麦タンパク質中のグルタミンのアミド基と水素結合すること⁴⁰⁾、などが報告されている。前述においてモノグリセリドはグリアジンの表面疎水性を大きく低下させていることが判明していることから、グリアジンに疎水性相互作用によって吸着していると考えられた。さらにNMR解析からモノグリセリドとグリアジンの反応機構の一部を分子論的に明らかにすることができたと考えた。

5. モノグリセリドの生地中のタンパク質との相互作用に関する考察

グルテンのネットワーク構造は、タンパク質分子内および分子間のジスルフィド結合（SS結合）、イオン結合、水素結合および疎水性相互作用などが複雑かつ複合的に関与して形成される。グルテン形成の基盤はSS結合であり、これをメルカプトエタノールで還元すると生地が著しく軟弱化し、臭素酸カリウムやアスコルビン酸などの酸化作用により生地は強固に形成する。これに対しイオン結合、水素結合および疎水性相互作用のタンパク質間の分子間力は結合エネルギーが小さく、生地の混捏条件や添加物によって大きく影響を受けると考えられる。

製パン工業において、製パン性向上の目的で使用しているモノグリセリドは非イオン性で両親媒性構造を持つことから、その製パン性向上の機能の一つとしてグルテンの疎水性相互作用に影響を与え、生地物性の改善やパンの容積の増加などの効果を発現すると予想される。

著者は、モノグリセリドの製パン性向上に及ぼす作用

図5 TOF-MSによるグリアジンの分子量測定

表1 パルスNMRによる水和グリアジンの緩和時間(T_2)測定

	自由水 (自由水)		束縛水Ⅰ (配位水Ⅰ)		束縛水Ⅱ (配位水Ⅱ)	
	^1H モル%	$T_2(\text{ms})$	^1H モル%	$T_2(\mu\text{s})$	^1H モル%	$T_2(\mu\text{s})$
無添加*	55.1	20.01	25.8	110.60	19.1	21.02
モノオレイン添加**	53.8	19.08	27.2	131.92	19.0	21.81

*: グリアジン/水 2/1 (w/w)

** : グリアジン/水/モノグリセリド 2/1/0.1 (w/w/w)

図6 モノグリセリドの作用機作のモデル図

機構について一連の実験を行い、以下のようにモノグリセリドの製パン性に対する機能を明確にした。すなわち、飽和脂肪酸モノグリセリドは主にデンプンに作用し、デンプンの老化を防止する。不飽和脂肪酸モノグリセリド（モノオレイン、モノエライジン）は混捏時にグリアジン成分に特異的に作用し、同分子の表面疎水性を低下させる。モノオレインが特異的に作用するタンパク質はグリアジン成分中の分子量 33.9 kDa のタンパク質である。モノオレインの添加による生地物性の改善は、グリアジン成分中の分子量 33.9 kDa のタンパク質の疎水性アミノ酸残基からなる疎水性領域にモノグリセリドの脂肪酸部が疎水性相互作用によって結合し、同タンパク質の表面疎水性を低下させることにより発現するものと考えた。

以上の結果から、不飽和脂肪酸モノグリセリドの添加による生地中のタンパク質の性状に及ぼす作用機構について考察し、図6に製パン性向上に関して推論したモデルを図示した。不飽和脂肪酸モノグリセリドを配合しない場合は図6B、Cのように、球状タンパク質であるグリアジンは強い疎水性相互作用のため凝集状態となり、グリアジンを含むグルテンのネットワーク構造は固く凝集し十分に伸展しないものと推察した。

一方、不飽和脂肪酸モノグリセリド（モノオレイン）を配合した場合は、図6Dに示すようにグリアジンの分

子量 33.9 kDa のタンパク質1分子にモノグリセリドが約3分子吸着してその表面疎水性が低下する。これより図6Eに示すように生地形成時にグリアジンの疎水性相互作用が弱まり会合状態が変化して凝集性が低下する。混捏によってグルテンの周辺にグリアジンが十分に配向し（図6F）、最終的にグルテンのネットワーク構造が緻密になり、その伸長抵抗が増加するなど生地物性が改変する。その結果、焼成後のパンの容積が増大し、内相のきめが改善されるなど品質の良いパンができると考察した。

6. おわりに

モノグリセリドの機能解明の研究を通じて、製パン性の改善機構の一端を明らかにすることができた。グルテンの形成には、主にSS結合を介して重合するグルテンの機能が重要視され、グリアジンは脇役的存在であるという認識が強かったが、本研究によりグリアジンの機能の重要性を改めて認識することができた。このことからパン科学においてグリアジンの機能に着目することは、多くの未解明の解明に役立つと考えている。今後さらに研究を発展させ、実際のパン製造工業の問題点の解決に全力を尽していきたいと思う。

本研究を遂行するにあたり終始懇篤なるご指導、ご鞭

榎を賜りました東京農業大学農学部教授鴨居郁三先生、並びに旭電化工業株式会社基礎研究所鈴木一昭チーフ、斎藤哲美チーフ、小池誠治氏に謹んで感謝の意を表します。また、長年に渡り研究活動にご理解をいただくと共に技術的にご指導をも賜りました山崎製パン株式会社中央研究所丸岡宏前々所長、次田和正前所長、山田雄司所長代理および数々の支援を頂きました研究所員の方々に深く感謝致します。最後に本研究の機会を与えて下さいました山崎製パン株式会社飯島延浩社長、山崎晶男常務にこの場を借りて御礼申し上げます。

文 献

- 1) 編集部：食品と開発，**30**，36 (1995)。
- 2) SCHOCH, T.J. : *Bakers Digest*, **39**, 48 (1965)。
- 3) LAGENDIJK, J. and PENNING, H.J. : *Cereal Sci. Today*, **15**, 354 (1970)。
- 4) KROG, N. and NYBO JENSEN, B. : *J. Food Technol.*, **5**, 77 (1970)。
- 5) KROG, N. : *Starch*, **23**, 206 (1971)。
- 6) KNIGHTLY, W.H. : *Bakers Digest*, **47**, 64 (1973)。
- 7) LONKHUYSEN, H. and BLANKESTIJN, J. : *Starch*, **26**, 337 (1974)。
- 8) MORAD, M.M. and D'APPOLONIA, B.L. : *Cereal Chem.*, **57**, 141 (1980)。
- 9) GHIASI, K., VARRIANO-MARSTON, E. and HOSENEY, R.C. : *Cereal Chem.*, **59**, 86 (1982)。
- 10) RUSSELL, P.L. : *J. Cereal Sci.*, **1**, 297 (1983)。
- 11) JOENSSON, T. and TOERNAES, H. : *Cereal Foods World*, **32**, 482 (1987)。
- 12) KROG, N., OLESEN, S.K., TOERNAES, H. and JOENSSON, T. : *Cereal Foods World*, **34**, 281 (1989)。
- 13) 山内宏昭・藤村昌樹・大宅甲三・平川 完・小林 猛：日食工誌，**39**，383 (1992)。
- 14) 日高 徹：食品用乳化剤（幸書房，東京），p. 14 (1987)。
- 15) RIISOM, T., KROG, N. and ERIKSEN, J. : *J. Cereal Sci.*, **2**, 105 (1984)。
- 16) NIERLE, W., EL BAYÄ, A.W. and BRÜMMER, J.M. : *Getreide Mehl Brot*, **49**, 327 (1990)。
- 17) NIERLE, W., EL BAYÄ, A.W. and BRÜMMER, J.M. : *Fat Sci. Technol.*, **93**, 309 (1991)。
- 18) HARTUNIAN-SOWA, S.M., WHITE, P.J. and BATRES, L.V. : *Starch*, **42**, 53 (1990)。
- 19) 井上茂孝・次田和正・小池誠治・丸銭詔司・鴨居郁三：食科工，**42**，634 (1995)。
- 20) 小池誠治・井上茂孝・鈴木一昭・鴨居郁三：日本食品科学工学会第43回大会講演要旨集，p. 88 (1996)。
- 21) 丸山武紀・新谷 助・今村正男・岡田正和・松本 巍・堀沢万里子・松本太郎：油化学，**20**，395 (1971)。
- 22) 丸山武紀・新谷 助・岡田正和・松本太郎：油化学，**28**，486 (1979)。
- 23) 丸山武紀・新谷 助・岡田正和・松本太郎：油化学，**31**，218 (1982)。
- 24) HAYAKAWA, S. and NAKAI, S. : *J. Food Sci.*, **50**, 486 (1985)。
- 25) INOUE, S., TUGITA, K., KOIKE, S., SUZUKI, K. and KAMOI, I. : *Food Sci. Technol. Int., Tokyo*, **2**, 97 (1996)。
- 26) 井上茂孝・井門和夫・高野克己・西谷紹明・巽 清・鴨居郁三：日食工誌，**40**，250 (1993)。
- 27) KOBREHEL, K. and BUSHUK, W. : *Cereal Chem.*, **54**, 833 (1977)。
- 28) 斎藤昌義・小笠原正志・那須勝哉・門間美千子・千國幸一：食科工，**42**，155 (1995)。
- 29) YUNO-OHTA, N., MAEDA, H., OKADA, M. and HASEGAWA, K. : *J. Food Sci.*, **57**, 86 (1992)。
- 30) MENDOZA-MARTINEZ, A.M. and SHERMAN, P. : *J. Dispersion Sci. Technol.*, **11**, 331 (1990)。
- 31) MENDOZA-MARTINEZ, A.M. and SHERMAN, P. : *J. Dispersion Sci. Technol.*, **11**, 347 (1990)。
- 32) MENDOZA-MARTINEZ, A.M. and SHERMAN, P. : American Chemical Society Symposium Series, p. 130 (1991)。
- 33) 笠井献一・松本勲武・別府正敏：アフィニティークロマトグラフィー（東京化学同人，東京），p. 223 (1991)。
- 34) DAMODARAN, S. and KINSELLA, J.E. : American Chemical Symposium Series 206, ACS, New York, p. 327 (1982)。
- 35) TANFORD, C. : *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 4240 (1962)。
- 36) YUNO-OHTA, N., SEGAWA, Y., FUJII, S., FUJIWARA, Y., KUCHIBA, M., MATOBA, T. and HASEGAWA, K. : *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 1747 (1988)。
- 37) 井上茂孝・小池誠治・鈴木一昭・鴨居郁三：日本食品科学工学会第43回大会講演要旨集，p. 88 (1996)。
- 38) 井上茂孝・安藤 進・小池誠治・鈴木一昭・鴨居郁三：日本食品科学工学会第44回大会講演要旨集，p. 121 (1997)。
- 39) NISHIYAMA, J., KUNINORI, T., MATSUMOTO, H. and HYONO, A. : *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1953 (1981)。
- 40) HAEHNEL, W., JUSSOFIE, I., WEITEMEYER, C. and MUELLER, F. : *Fat Sci. Technol.*, **96**, 60 (1994)。

(平成9年6月4日受理)