

市販活性グルテンのネットワーク形成に おける硬水の効果

Effect of Hard Water in the Formation of Vital Gluten Networks

日比野 久美子

Kumiko HIBINO

要旨

グルテンを粉末状にした市販の活性グルテンには、添加物や乾燥法など製造方法により様々な種類があり、用途により使い分けられている。グルテンのドウを形成する際、副資材として用いられる食塩は、グルテン構成タンパク質であるグルテニンとグリアジンの相互作用に関わり、特にグリアジン会合体の形成に機能していることが明らかにされているが、他の塩類については詳細が不明である。本研究では、硬水が市販活性グルテンのネットワーク形成に与える影響を調べ、活性グルテンの種類によっては大きな影響を及ぼすことを明らかにした。特に、分散剤に酢酸を使用した市販活性グルテンは、共存イオンの影響を大きく受けた。アンモニアや還元剤処理グルテンでは、顕著な塩類の影響は認められなかった。

There are various kinds of vital gluten according to its production methods. The addition of sodium chloride to wheat dough changes the interaction between gliadins and glutenins, and has a function of promoting the formation of gliadin-aggregation. In this study, the effects of hard water on the formation of vital gluten network were examined. Remarkable effects were observed in the vital gluten that contains of acetic acid as a dispersant. Increasing concentration of hard water brought heavier effect by the coexistent ions. On the other hand, significant effects were not observed in ammonia or reducing agents processed vital gluten.

キーワード：活性グルテン，グルテンネットワーク，ドウ，硬水，塩類
vital gluten, gluten network, dough, hard water, mineral

はじめに

小麦粉に水を加えて混捏すると、小麦タンパク質であるグリアジンとグルテニンの相互作用により、粘弾性をもつグルテンネットワークが形成される。デンプン質を洗い流し得られるガム状のものを生グルテンといい、これを乾燥させ粉末状にしたものを活性グルテ

ンという¹⁾。活性グルテンは加水により速やかに元の粘弾性を持ったグルテンに復元するが、製造過程で添加物を使用したものや乾燥方法の違いにより、品質特性が変化するため、用途によって使い分けられている。しかし、市販活性グルテンの品質に関する報告はほとんどない。山澤らは、これまで9種類の市販活性グル

試料 No	分類	添加物の種類	乾燥法
1	I 群 (添加物なし)	なし	フラッシュ・ドライ法
2		なし	真空乾燥法
3		なし	凍結乾燥法
4		なし	フラッシュ・ドライ法
5	II 群 (分散剤使用)	酢酸	スプレードライ法
6		アンモニア	スプレードライ法
7		アンモニア	スプレードライ法
8	III 群 (還元剤使用)	亜硫酸塩	真空乾燥法
9		亜硫酸塩・アンモニア	スプレードライ法

表 1 各種市販活性グルテンの種類と分類

活性グルテンは添加物の種類によりⅢ群に分類し、乾燥方法によりNo.1～9の番号で分類した。同一の群・乾燥法の場合は、製造メーカーが異なる製品である。

テンについて検討し、品質特性を明らかにした²⁾。さらに、米粉とグルテンの相互作用にグルテン品質特性が及ぼす効果について検討し、組織的、官能的に大きく異なった性質を示すことを明らかにした^{3) 4)}。筆者は、市販活性グルテンのネットワーク形成に及ぼす効果が、軟水と硬水で異なることを見出した。副資材としての塩類の効果については、裏出らにより食塩の役割について新知見が報告されているが^{5) 6)}、食塩以外の塩類についてはほとんど明らかにされていない。本研究では、塩類とグルテンタンパク質の相互作用を明らかにすることを目的に、硬水に含まれる塩類がグルテンのネットワーク形成に及ぼす影響について検討を行った。

材料と方法

1) 各種市販活性グルテン

各製造メーカーより提供された9種類の市販活性グルテンは、分散剤や還元剤の有無により、表1に示すようなⅢ群に分類した²⁾。Ⅰ群は添加物を使用していないもの、Ⅱ群は分散剤を添加して製造されたもの、Ⅲ群は製造過程で還元剤を用いているものである。更に、乾燥法により1～9の試料番号で分類した。1と4、6と7は群と乾燥法が同じであるが、メーカーの異なる別の製品である。

2) 軟水、硬水、各種塩溶液

蒸留後脱イオンした水(DDW)を軟水、市販のコン

トレックスを硬水として用いた。コントレックスは、100mlあたりカルシウム46.8mg、マグネシウム7.45mg、ナトリウム0.94mg、カリウム0.28mgを含む硬度約1468mg/L、pH7.4の表示がされている。塩類溶液は、カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、カリウムの塩化物(WAKO社製)を用い、軟水により調整した。

3) グルテンからのタンパク質調整

グルテン10mgに軟水、硬水および各種塩溶液を各々500 μ lずつ加え、ミキサーおよびBio Masher II (NIPP社製)を用い攪拌し、4℃で24時間静置後、遠心分離(15,000rpm, 10分間)を行い、上清液を溶出タンパク質とした。

3) タンパク質の定量と同定

Coomassie Protein Assay Kit (Thermo Scientific社製)を用い、付属の標準BSA溶液(2mg/ml)を使用してタンパク質の定量を行った。

タンパク質は、SDS-PAGE用サンプル調整溶液(EzApply, ATTO社製)に溶解し、7.5%あるいは10%ゲル(e-PAGE, ATTO社製)でSDS-PAGE後、クマシーブリリアントブルー(CBB)染色(EzStainAqua, ATTO社製)により検出した。

結果

1. 軟水と硬水における活性グルテンの分散性、還元性およびゲルの物性

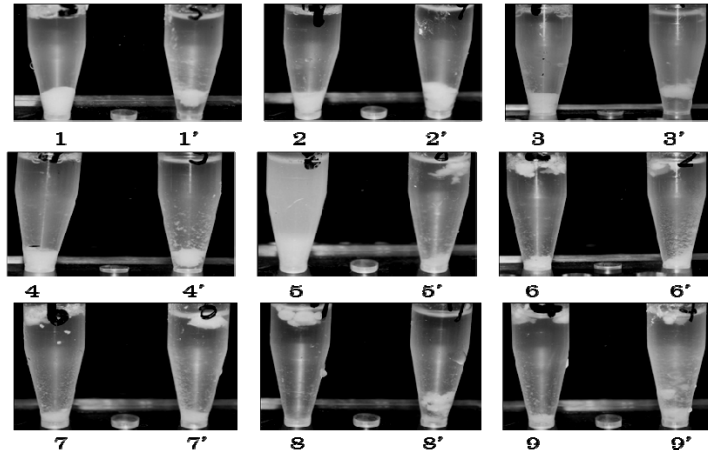


図1 市販活性グルテンの軟水と硬水における吸水とドウ形成
1～9は、表1の試料No.1～9、10 mgに軟水1 mlを加えたもの、1'～9'は、試料No.1～9、10 mgに硬水1 mlを加え、ミキシングした後のものである。

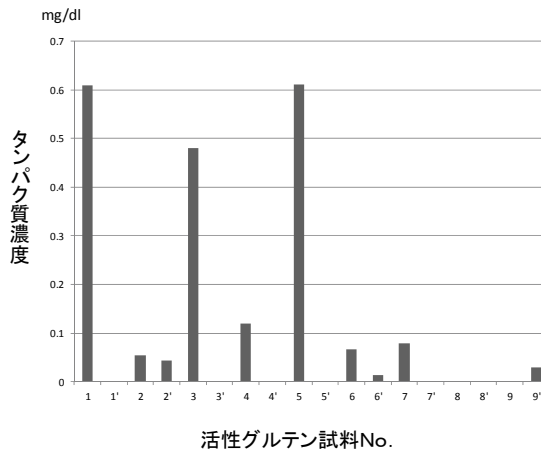


図2 各種市販活性グルテンのグルテンネットワーク形成時における溶出タンパク質濃度

No.1～9は軟水、1'～9'は硬水に試料を吸水させた際の上清画分を示す。

表1の各種市販活性グルテンに水を加えると、全ての活性グルテンは速やかに吸水し、ミキシングによりドウを形成するが、ドウの性質は活性グルテンの種類によって異なった。図1に示すように、I群(1～4)の活性グルテンは粘弾性・伸展性に富むグルテンを形成した。II群の5は粘性・伸展性の高い非常に柔らかいドウを形成したが、濁りが残った。6～9の活性グルテンは弾力の強い硬いドウを形成した。一方、市販の硬水を加えた場合は、全ての活性グルテンは硬いドウを形成した。軟水では

完全にゲル化せず濁りが残った5のグルテンも、硬水では硬いドウを形成して濁りもみられなかった。

2. 活性グルテンタンパク質の挙動

1) 溶出タンパク質について

軟水と硬水では分散性やゲルの物性に違いが認められたため、上清へのたんぱく質溶出について検討した。図2に、各種市販活性グルテンのグルテンネットワーク形成時における溶出タンパク質の濃度を示した。試料No.1,3,5の活性グルテンは水への溶

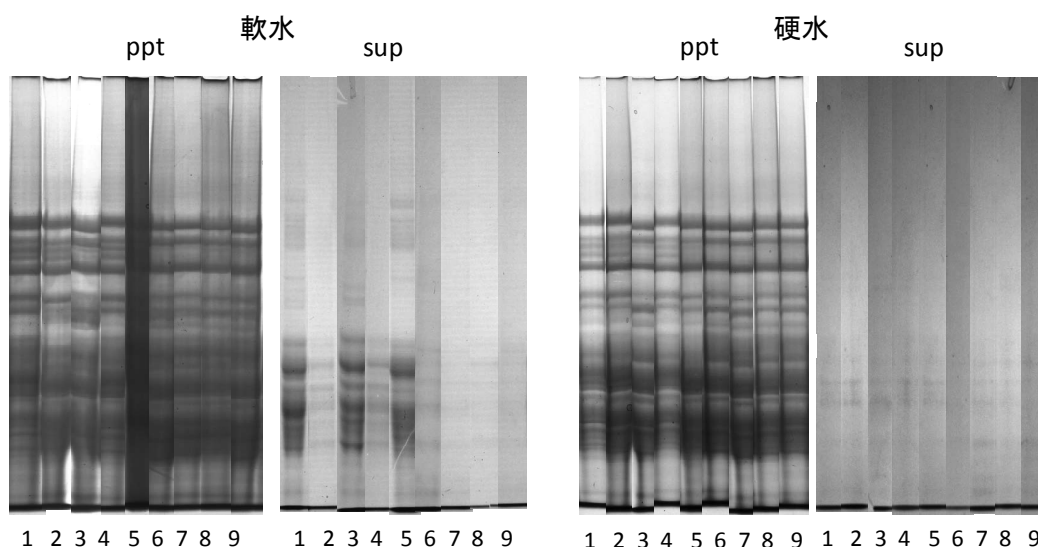


図3 市販活性グルテンのSDS-PAGEパターン

表1の9種類の市販活性グルテンを軟水（DDW）と硬水（コントレックス）に膨潤化させ、グルテンドウを形成させた後、遠心により沈殿画分（ppt）と上清画分（sup）を得た。各々について7.5%ゲルを用いたSDS-PAGEを行い、CBB染色を行った。

出量が多かった。特に5の活性グルテンは形成されるドウの量が少なく、水に分散して濁り、溶出タンパク質が最も多かった。市販の硬水では、全ての活性グルテンにおいてタンパク質の溶出はほとんど認められなかった。

2) SDS-PAGE による解析

9種類の市販活性グルテンについて、SDS-PAGEによる解析を試みた。活性グルテンに水を加え膨潤後攪拌し、グルテンを形成させたのち、遠心により沈殿（ppt）と上清（sup）画分を得た。沈殿は全量をサンプル調整溶液に溶解し、遠心後の上清画分10 μ lを用いた。

図3に結果を示した。沈殿画分にはグルテンタンパク質のバンドパターン^{10) 11)}が認められたが、軟水と硬水における大きなバンドパターンの違いは認められなかった。電気泳動は同量を解析したため、No. 5の軟水沈殿はオーバーチャージとなり、バンドとして検出できなかった。上清画分では、図1の結果と同様、軟水ではNo. 1, 3, 5の活性グルテンに比較的低分子のタンパク質のバンドが検出されたが、硬水では全ての活性グルテンでタンパク質のバンドは検出されなかった。コントレックスは、硬度が約1468mg/L、pH7.4と表示されている、カルシウ

ム、マグネシウムを多く含む非常に硬度の高い水である。コントレックスにおいて、軟水で見られたタンパク質の溶出が認められなくなったため、含まれる塩類がグルテンタンパク質の凝集性に何らかの影響を与えていることが示唆された。

3) 軟水に溶出するタンパク質

図3より、軟水に溶出されるタンパク質はグリアジン画分であることが推測されたため^{6) 11) 12)}、グリアジン抽出物であるアサマグリアA（アサマ化成）とSDS-PAGEのバンドパターンを比較した。図4に示すように、ほぼ同じバンドパターンを示したことから、市販活性グルテンから溶出されるタンパク質は、アサマグリアAと同様のグリアジン可溶性画分であることが示唆された。

4) 硬水ミネラル成分がグルテンタンパク質の溶解性に及ぼす影響

硬水ではタンパク質の溶出はほとんど認められなかった（図4, b）。軟水では溶出されるタンパク質が硬水では溶出されないのは、硬水に含まれる主要陽イオンの影響であると推測されたため、硬水と同じ濃度に調整した塩化物溶液（CaCl₂ 6.8mg/100ml, MgCl₂ 7.45mg/100ml, NaCl 0.94mg/100ml, KCl

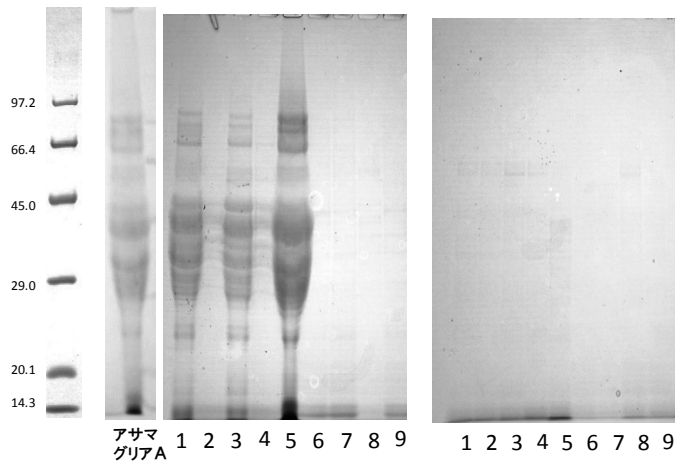


図4 軟水、硬水に溶出する市販活性グルテンたんぱく質の SDS-PAGE

aは蒸留脱イオン水（DDW）を軟水、bは市販のコントレックスを硬水として使用し、市販活性グルテン10mgを各々 a,b500 μ lに膨潤させた上清液20 μ lを試料とし、10%ゲルによる SDS-PAGE 後、CBB 染色を行った。アサマグリア A(アサマ化成提供)は軟水で調整した。

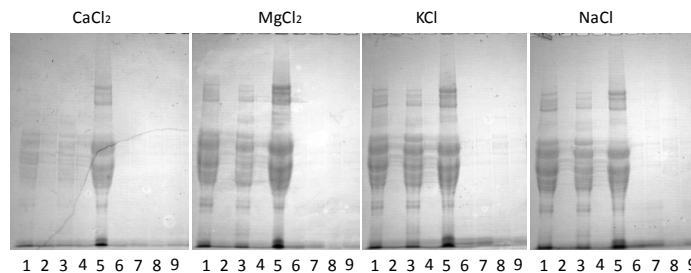


図5 グルテンからのたんぱく質溶出における市販硬水に含まれる4種類のミネラル単独の効果

市販硬水に含まれる濃度（表2）に調整した主要ミネラル4種類の溶液に、9種類の市販活性グルテンを膨潤させてグルテンを形成させた後の上清画分。

0.28mg/100ml) を用いて、溶出されるタンパク質の SDS-PAGE による解析を行った。図5に4種類の塩類単独の結果を示した。全てにおいて、軟水の場合と同様に No. 1, 3, 5の活性グルテンからグリアジン可溶画分様のタンパク質が溶出するが、 CaCl_2 では溶出量が少なかった。

次に、2種類、3種類および4種類の塩類の組み合わせが、溶出にどのような影響を及ぼすかについて検討した。図6はNo. 1と3の活性グルテンについての結果である。 CaCl_2 と MgCl_2 の共存で溶出量が減少した。図7はNo. 5の活性グルテンの結果で

あるが、 CaCl_2 、 MgCl_2 、 NaCl の共存により溶出量が減少した。市販の硬水と同組成の4種類の塩類により、溶出が抑制されたことから（図7）、硬水による溶出タンパク質の減少とグルテンの物性の変化は、塩類の効果であることが確認できた。アンモニアや還元剤処理グルテンでは、顕著な塩類の影響は認められなかった。

考察

小麦から得られる生グルテンを乾燥した活性グルテンは、パンやうどん、水産練り製品、魚肉・畜肉のハ

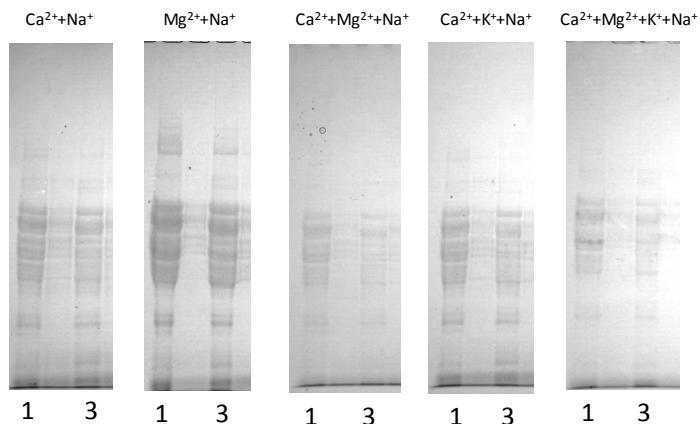


図6 4種のミネラル各種組み合わせによるNo. 1およびNo. 3の市販活性グルテン溶出たんぱく質のSDS-PAGE

市販硬水成分表示(表2)を基に調整した溶液を各種組み合わせたものを溶出液とし、上清画分を10%ゲルSDS-PAGE後CBB染色を行った。

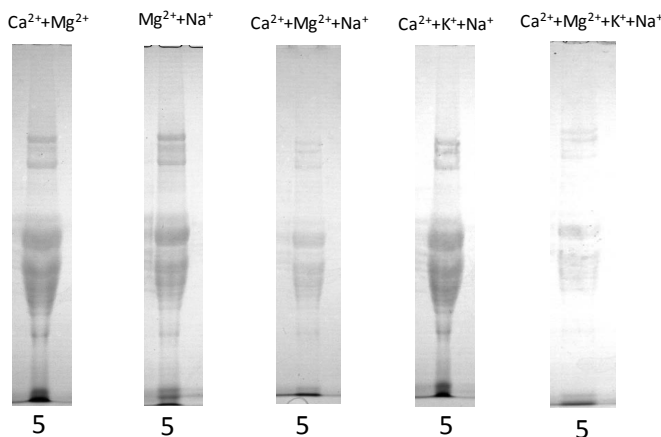


図7 4種のミネラル各種組み合わせによるNo. 5の市販活性グルテン溶出たんぱく質のSDS-PAGE

ムやソーセージなど種々の用途に用いられ、広く食品工業に利用されている。活性グルテンの調整方法は、グルテン特有の物性を失わないように粉末化する直接乾燥法と、分散性を確保するために無機酸や有機酸、アルカリ、還元剤等を添加し分散溶解して乾燥する分散乾燥法に分けられ^{7) 8)}、製法によって性質が異なり、用途も異なる。フラッシュドライ法(気流乾燥法)は生グルテンを細かく裁断しながら打ち粉を混合することで水分を調整し気流中で乾燥させる方法で、短時間で乾燥処理が可能であるため物性への影響は少ないと言われている。真空乾燥法は生グルテンを高真空・低温で乾燥させる方法で、熱変性が少ない。フリーズ

ドライ法(真空凍結乾燥法)は、真空乾燥法より高真空・低温で乾燥させる最も変性の少ない乾燥方法である。スプレードライ法(噴霧乾燥法)は、生グルテンに酸やアルカリの分散剤を入れ粘度を低下させた分散液を調整し、高温気中に噴霧し瞬間的に乾燥させる方法で、酸、アルカリ、還元剤を使用するためグルテンの風味、色調を損ね、ゲル強度等の物性を悪くする^{9) 10)}。

本研究で用いた市販活性グルテンについては、山澤らが品質特性を報告しているが²⁾、電気泳動の解析により変性が少ないとされているI群の活性グルテンも、グリアジン様タンパク質が溶出することがわかった。今回用いた活性グルテン(表1)のNo. 1と4は

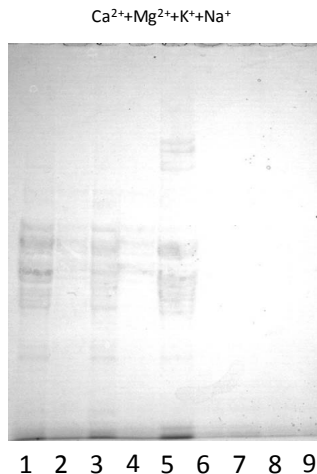


図8 市販硬水と同様の4種類のミネラルを含む溶液に溶出したタンパク質のSDS-PAGE

フラッシュドライ法, No. 2は真空乾燥法, No. 3は凍結乾燥法により製造されたもので, 小麦パンおよび米粉パンの製パン性には全く差は認められていない³⁾. 変性の少ない方法で製造され, 食品の製造等には差が認められない市販活性グルテンからも, 加水によるグルテン形成時にはグリアジン可溶画分様のタンパク質が溶出されることが明らかになった.

グリアジンは水に不溶で70%エタノールや酸溶液に溶解するタンパク質で, システインを多く持ち, 分子内ジスルフィド結合を形成するが, 表面の結合部位が小さく分子間力が弱いために分子間ジスルフィド結合は形成せず, グリアジン分子間の非共有結合的な会合がグリアジントタンパク質を不溶化していると考えられている¹⁴⁾. アサマグリアAは, 小麦タンパクグルテンから有機酸含有エタノールで抽出したグリアジンを主成分とする画分である¹³⁾. 酢酸処理グルテン (No. 5) から多量のグリアジンA様タンパク質が溶出するのは, pHの低下が水素結合の形成を阻害し, グリアジン分子間の会合を阻害した結果であると考えられる. グルテニンは多種類のサブユニットがジスルフィド結合で連結しグルテンの骨格を担っているが, グルテニンサブユニット間の非共有結合的な相互作用がグルテンの弾性を形成すると考えられている¹⁴⁾. pHの低下はグルテニンとグリアジンの構造変化をもたらし相互作用を変化させ, グルテニンの親水性を増加させているものと推察される. アンモニアや亜硫酸塩による処理では, グルテニンとグリアジンのジスルフィド結合

や非共有結合的相互作用を強め, グリアジンは溶出せず弾性をもつ塊になるものと考えられる.

裏出らは, 水に可溶化したグリアジンの凝集に対する塩の効果について, 塩素イオンのような陰イオンの作用を指摘している. グリアジン凝集は静電的相互作用によるもので, 陰イオンが極性側鎖による分子間の反発を中和することで, グリアジンの水素結合形成を可能にしていると推測している^{5) 6)}. 今回塩化物を使用したため, 塩素イオンの影響を確認する必要がある.

吉田は, 酢酸溶液に溶解したグルテントタンパク質が, カリウム, カルシウム, ナトリウム (塩化物) イオンにより凝集されることを報告している¹⁵⁾. カリウム, カルシウムイオンは, グリアジン分子の非共有結合による凝集を促進すると推察しているが, 詳細な機構については不明である. また, 森岡らは, うどんの物性に及ぼす海洋深層水の影響について, 食塩2.5%存在下で塩化カルシウムおよび塩化カリウム0.04%共存によりうどんの引っ張りとうどんの伸びが高くなることを報告している¹⁶⁾. 今回使用した硬水の主要ミネラルの濃度は, カルシウム約0.5%, マグネシウム約0.008%, ナトリウム約0.001%, カリウム約0.0003%であり, 森岡らが用いた海洋深層水はかなり塩類の濃度が高い. 硬水による溶出タンパク質の減少とグルテンの物性変化は塩類の効果であり, CaCl_2 と MgCl_2 の共存が加水時のタンパク質溶出を抑制するが, 塩類の種類の影響なのか, イオン強度の影響なのか, さらに解析する必要がある.

市販活性グルテンは食品製造に用いられるものであり, グルテン以外の材料に含まれる塩類が品質特性に及ぼす影響が大きい. 製パンにおいても, I群に分類される活性グルテンの品質特性に差が認められなかったのは, 副資材に使用する乳製品の影響によるものと考えられる. しかし, うどんのように副資材が少ない場合, 塩類による品質改良が期待できる. したがってグルテントタンパク質の相互作用に与える塩類の効果の詳細な分子機構を明らかにすることは, 市販活性グルテンの有効利用に寄与するものと考ええる.

謝辞

本研究は, 財団法人エリザベスアーノルド富士財団の援助により行ったものです. ここに謝意を表します. また, グルテン製造メーカーより活性グルテンを, アサマ化成よりグリアAの提供をしていただきました. 貴重など援助を賜りましたことに深く感謝の意を表し

ます。この研究を進めるにあたり、名古屋文理大学短期大学部の山澤正勝先生に終始ご教示いただきましたことに心より感謝を申し上げます。

参考文献

- 1) 長尾精一, 小麦の科学, 朝倉書店 (1995)
- 2) 佐藤正一, 中島千恵, 山澤正勝, 市販活性グルテンの品質特性について, 日本家政学会中部支部会発表 (2008)
- 3) 山澤正勝, 中島千恵, 坂本奈央, 日比野久美子, 米粉食パンの品質に及ぼす米粉製粉技術の影響, 名古屋文理大紀要12, 31 (2012)
- 4) 山澤正勝, 佐藤正一, 酒井博臣, 中島千恵, 坂本奈央, 日比野久美子, 米粉パンの品質に及ぼす市販活性グルテンの影響, 日本食品科学工学会第58回大会 (2011)
- 5) 裏出令子, グルテンタンパク質ネットワーク形成における食塩の役割, 食品と技術12 (2008)
- 6) T. Ukai, Y. Matsumura and R. Urade, Disaggregation and Reaggregation of Gluten Proteins by Sodium Chloride, *J. Agric. Food Chem.*, 56 (3), 1122 (2008)
- 7) 遠藤悦雄, Vital-Protein について おもに Vital-gluten の製造方法と利用, 12(1), 18 (1965)
- 8) 遠藤悦雄, 小麦蛋白質—その化学と加工技術, 食品研究社 (1980)
- 9) 遠藤悦雄, 小麦タンパク (1) —調理, 加工上の小麦タンパク質の性質—, 調理科学, 18(1), 38 (1985)
- 10) 遠藤悦雄, 小麦タンパク (2) —調理, 加工上された食品について—, 調理科学, 18(2), 99 (1985)
- 11) Wrigley, CW., Shepherd, K. W., Electrofocusing of grain proteins from wheat genotype, *Ann, NY, Acad. Sci.*, 209, 154 (1973)
- 12) P. R. Shewry, A. S. Tatham, F. Barro, P. Barcelo, P. Lazzeri, Biotechnology of Breadmaking: Unraveling and Manipulating the Multi-Protein Gluten Complex, *Biotechnology*, 13, 1185 (1995)
- 13) 丹下幹子, 小麦たん白「グリアジン」の製パンへの応用, フードケミカル, 9, 29 (2006)
- 14) P. R. Shewry, N. G. Halford, P. S. Belton, A. S. Tatham, The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 357, 133 (2002)
- 15) 吉田千秋, カリウムイオンによるグルテンタンパ

ク質の凝集, 京都短期大学紀要, 34(1), 13, (2006)

- 16) 森岡克司, 延近愛子, 亀井美希, 川越雄介, 伊藤慶明, 久保田賢, 深見公雄, うどんの物性と組織構造に及ぼす海洋深層水の影響, 日食科工誌, 52, 9, 420 (2005)