

30. 小麦粉グルテン形成における食塩の影響 (No.8930)

水谷 令子 (鈴鹿短期大学)

【研究目的】

パンの焼性には小麦タンパク質の質と量が最も大きく影響するが、副材料として添加する油脂や食塩なども良質なパンを作る重要な要素となっている。とりわけ、食塩は、小麦粉中のタンパク質が重合し、高分子化するのに必須で、パン調製時には経験的に小麦粉に対して2%程度の食塩が添加されている。われわれは、小麦粉ドウの粘弾性とパンの品質に対する食塩添加の効果を数量的に示す研究を行ってきた。今回は、小麦粉グルテンから溶離するタンパク質の定量と抽出タンパク質のSDSを含むアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を行い、グルテン形成における食塩の影響を調べた。また、調製したパンの物性の測定も併せて行った。

【研究方法】

小麦粉40gに0.2M NaCl 80mlを加え、室温に15分間静置したのち遠心分離し、得られた塊を数回0.2M NaCl溶液で洗い、澱粉と可溶成分を除いた。これをグルテンボールとして以下の実験に用いた。グルテンボールを遠心管に入れ、各濃度の食塩溶液、及び蒸留水を用いて、攪拌、遠心分離を行い、その上清のタンパク質をLowry法を用いて定量した。さらに、上清のタンパク質を常法に従いSDS-PAGE(12.5%アクリルアミドを含む)を行った。パンの軟らかさは、パンの中心部を一定の大きさに切り、レオメーター(不動工業、2002J型)を用いて5mmの歪を与えたときの圧縮応力と応力緩和を測定して調べた。

【研究結果】

- (1) 0.01M以上の食塩溶液ではグルテンからのタンパク質の溶離はほとんどなく、この濃度でグルテンボールの外観は変化しなかった。蒸留水で抽出することによってタンパク質は溶離し始め、グルテンボールは急にもろくなり、イオンの分子間相互作用がグルテン形成に重要であることが解った。
- (2) グルテンボールから蒸留水で溶離したタンパク質の種類は抽出回数によって変わらず、グルテン形成タンパク質の種類で分子間の結合性に差がなく、同質のタンパク質の会合によってグルテン塊は出来ていると考えられる。
- (3) 焼き上がったパンから抽出されるタンパク質の種類は食塩のある、無しによる違いはなかったが、食塩添加パンからはタンパク質の抽出性が悪かった。
- (4) 食塩添加でパンの圧縮応力(瞬間応力)は大きくなり、変形に対する回復性(緩和時間が短くなる)も増し、食塩がパンの弾力性に重要であることが解った。

28. 小麦粉グルテン形成における食塩の影響 (No.8930)

水谷 令子 (鈴鹿短期大学)

1. はじめに

小麦粉に水を加えてこねると、粘弾性のあるドウを形成するが、この性質がパンをはじめ、麺などの加工・調理に利用されている。パンの焼き上がり容積、内層のすだち、食感などには小麦粉タンパク質の性質や量が大きく影響を及ぼすが、それと同時に添加される油脂類、乳化剤、食塩なども重要な意味をもつといわれる。このうち食塩は、パンに塩味を付けるというだけでなく、その添加がドウの伸展性や安定性に効果があると考えられ、良質のパンを調製するために、小麦粉の2%程度の食塩が添加されている。自動パン焼き器を用いて、同一温度条件でパンを焼くと、酵母量が多く、ガス胞の発生が多いとき、食塩を添加しないものは、一旦膨化するものの「焼き」に入るとガスを保持しきれなくなって、生地がつぶれてしまい、焼き上がり容積が著しく小さくなった⁽¹⁾ (Fig. 1)。

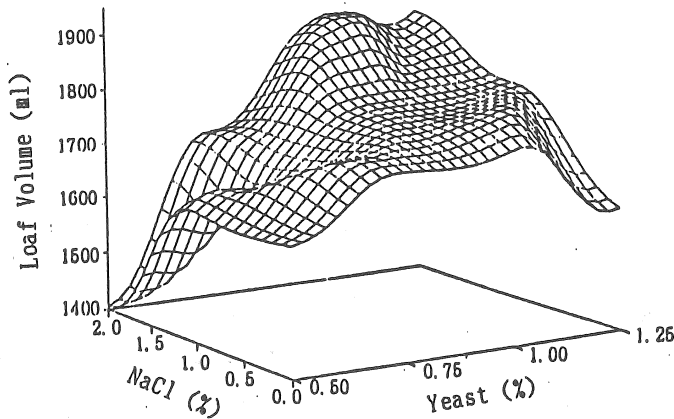


Fig. 1 Effect of sodium chloride and yeast on the loaf volume
Breads were prepared with an automatic baking apparatus.

このように食塩はグルテンの炭酸ガス保持機能の増大に効果があるが、これまでにグルテンの微細構造の形成性と食塩の関係についてタンパク質分子レベルでの研究例は少ない。

われわれは、既報において⁽²⁾薄い食塩溶液(0.01 M)を用いて調製したグルテンでも弾力性に富み、外観や手触りは高濃度の食塩溶液を用いて調製したグルテンとかわらないこと、ドウの動的粘弾性が食塩添加によって影響をうけること、グルテンは低濃度の食塩存在下でも形成されること、また、パンは食塩添加により、室温で保存したときに水分の損失が抑えられて硬くなりにくいことなどを示してきた。

本実験は、調製したグルテンを食塩溶液と蒸留水で抽出し、溶離してくるタンパク質量の定量と定性を行い、グルテンタンパク質の凝集性と溶解性に関する知見を得ることを目的に行った。同時に、食塩の有無が調製されたパンの物性にどのような影響を与えるかも併せて調べた。

2. 実験材料および実験方法

2. 1 実験材料と使用器具

小麦粉は昭和産業株式会社製、パン用ブレンド小麦粉「ネオン」、砂糖は市販上白糖、ドライイーストは東洋醸造販売「フェミルパン」、スキムミルクとショートニングは市販品(雪印)、食塩は特級試薬を用いた。パン及びグルテン調製等には蒸留水を用いた。タンパク質の比色定量には日本分光株式会社 Ubest-30 型分光光度計を用いた。

2. 2 グルテンの定量

グルテンの定量には重量法を用いた。小麦粉 5g を遠心管に入れ、これに種々の濃度の食塩溶液を 15ml 加えた。均一に混合した後、室温で15分間静置し、遠心分離(4,000 rpm, 10 分間)した。沈澱を遠心管から取り出し、はじめに用いた食塩溶液でもみ洗いをして溶解性成分と澱粉を除去する。グルテンはガム状の固まりとして得られた。余分な水分は遠心分離によって除去し、この重量をはかって湿麩量とした。135°Cの電気炉に入れて2時間加熱したものを乾麩とし、それぞれ小麦粉に対する重量%で示した。

2. 3 グルテンからのタンパク質抽出

小麦粉 40g に 0.2 M NaCl 80mlを加え、グルテンの定量の際に行った方法に準じて、0.2 M 食塩溶液を用いて沈澱、もみ洗いを行なってグルテン(湿麩)を調製した。このグ

ルテンを遠心管に入れ、0.1 M, 0.05 M, 0.01 M, 0 M 食塩溶液を用いて、攪拌、遠心分離を繰り返した。上清を集め、タンパク質の定量と SDS-PAGE の試料とした。遠心分離は 3,000 rpm で 10 分間、攪拌操作は室温でそれぞれ 3 回ずつ、スパーテルを用いて 5 分間行った。

2.4 パンからのタンパク質抽出

パン 20g に蒸留水 40ml を加えてよく攪拌したのち、遠心分離 (3,000rpm, 10分間) により上清と沈澱を分けた。沈澱に再び蒸留水 10ml を加えて攪拌、遠心分離を行ない、タンパク質を抽出した。この操作は 6 回行った。パンは食塩 2% 添加したものと無添加のものを調製して用いた。

2.5 タンパク質の定量

遠心分離による上清のタンパク質濃度の測定は牛血清アルブミン (BSA) を標準物質として、Lowry 法⁽³⁾を用いて行った。BSA は Sigma 社製 Fraction V を使用した。

2.6 SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

抽出したタンパク質はドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を含む 12.5% アクリルアミドゲルを用いて Laemmli の方法⁽⁴⁾に準じて電気泳動を行った。ゲルは 0.25% (W/V) とし、クマーシーブリリアントブルー (CBB) R-250/イソプロパノール-水-酢酸 (5 : 5 : 1) 溶液で染色、7% (V/V) 酢酸-15% (V/V) エタノール溶液を用いて脱色した。各試料はタンパク質量は 20 μg とし、2% 2-メルカプトエタノールによって処理して用いた。分子量マーカーはオリエンタル酵母社製分子量マーカーキットを用いた。

2.7 パンの調製

パン調製は Table 1 に示す原料配合及びタイムコースに従って行った。混ねつ及び一次発酵はパンこね器 (レディースニーダー、

Table 1 Formulas of sample bread dough (% flour weight basis)

| Ingredients | |
|-------------|-----|
| Flour | 100 |
| sugar | 5 |
| Shortening | 4 |
| Salt | 2 |
| Dry yeast | 2 |
| Skim milk | 2 |
| Water | 65 |

KN-30, 大正電機株式会社製)を用い、その他の作業はマニュアルで行った。パン生地を250gずつ分割し、食パン用の焼き型に入れて、上火 180°C, 下火 200 °Cで 20 分間焼成した。24時間後及び4日後に物性の測定を行った。

2. 8 パンのやわらかさの測定

パンの中心部から3×3×2(cm)の試料を切り、レオメーター(不動工業, 2002J型)を用いて応力緩和測定を行った。歪を5mmに設定し、その応力とその後2分間の応力緩和を測定した。試料台速度は20mm/minとし、プランジャーは円盤型(no3, 直径3cm)を使用した。

3. 実験結果と検討

3. 1 グルテン形成量における食塩濃度の影響

グルテン形成量における食塩の影響を調べた結果をTable 2 に示した。

蒸留水(0 M 食塩溶液)で小麦粉をこねると乾麩量、湿麩量はそれぞれ26%, 10%であった。食塩濃度が高くなるに従いグルテン量は増大し、0.1 M でそれぞれ34%, 13%となり、上限に達した。食塩が存在しない条件下で得た湿麩はもろく、崩れ易かった。また、加熱しても膨らまなかった。

Table 2 Effect of sodium chloride on amount of gluten formation

| NaCl (M) | Wet gluten (%) | Dry gluten (%) |
|----------|----------------|----------------|
| 0 | 26.1±1.2 | 10.2±0.4 |
| 0.01 | 31.5±0.9 | 11.4±0.4 |
| 0.05 | 33.8±1.4 | 12.4±0.6 |
| 0.10 | 34.0±2.0 | 12.8±1.1 |
| 0.15 | 33.6±0.5 | 12.8±0.3 |
| 0.20 | 34.1±0.6 | 12.8±0.3 |
| 0.25 | 34.4±1.0 | 12.6±0.5 |

mean ± SD (n=8)

3. 2 グルテンからのタンパク質抽出

グルテンから種々の濃度の食塩溶液を用いて抽出したタンパク質をLowry法で定量した結果をFig.2に示した。操作1は0.2 M 食塩存在下でグルテンを得たとき、グルテン形成に関与しなかったタンパク質を示している。操作2以降は操作1において得られたグルテンから各濃度の食塩溶液を用いてそれぞれ3回ずつ抽出した上清のタンパク質量を小麦粉

1 g 当りで示している。0.1 M から 0.01 M まで (抽出操作 9 まで) は溶離するタンパク質量は非常に少なく、グルテンの外観、弾力性はほとんど変化しなかった。このことは食塩がわずかでも存在するとグルテンからタンパク質の溶出はほとんどないことを示している。蒸留水を用いて抽出すると抽出操作を重ねていくうちにグルテンの結着性はなくなり、同時に上清のタンパク質量は徐々に増加した。さらに抽出操作を重ねると沈澱部 (不溶性タンパク質) は水分を多量に含みゲル状となった。

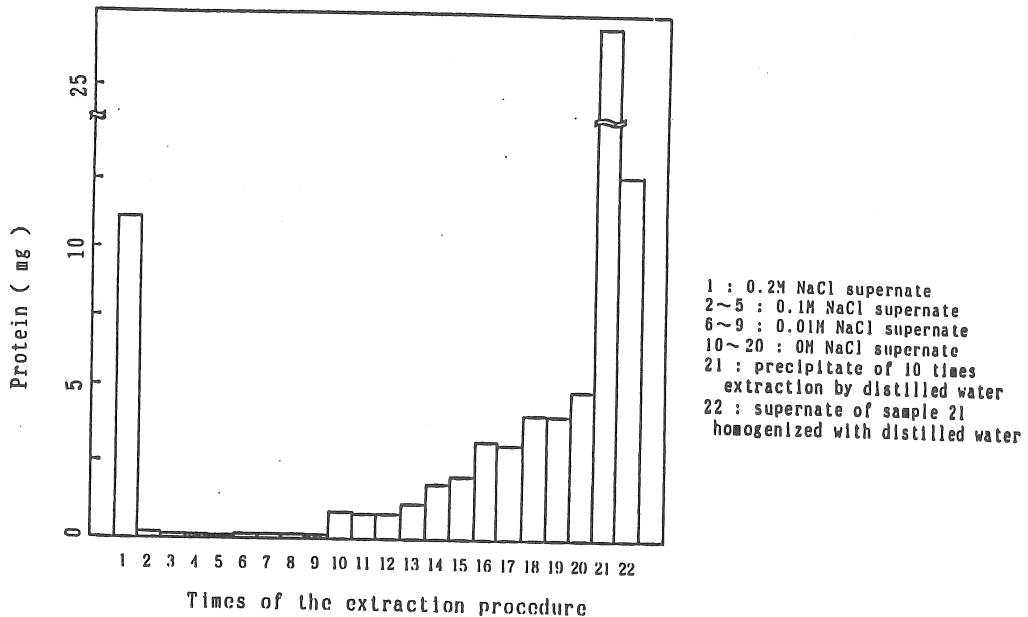


Fig. 2 Amount of protein extracted with NaCl solution

3. 3 グルテンから溶解したタンパク質の SDS-PAGE

3. 2 の実験でグルテンから溶離してきたタンパク質を SDS-PAGE で調べた結果を Fig. 3、Fig. 4 に示した。Fig. 4 は食塩溶液を用いず蒸留水のみで順次抽出したものである。食塩存在下で溶離したタンパク質のバンドは、量的には少ないが (Table 3) どの食塩濃度においても、12.4 K 付近 2 本、37 K 付近の数本、50 K 付近の 1 本がみられた。これは最初 0.2 M 食塩溶液を用いてグルテンを調製したときの沈澱部にみられたバンドと同

一であったことからグルテン形成に関与しなかったものであり、グルテンを調製する際にグルテン中に巻き込まれていたものが食塩溶液で抽出操作を繰り返しているうちに溶離したと考えられる。

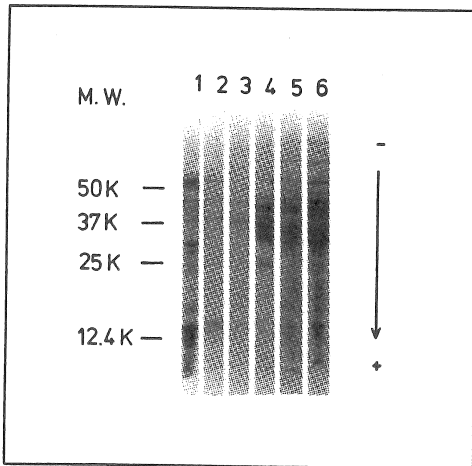


Fig. 3 SDS-PAGE of the supernate separated from gluten

line 1. 0.2 M NaCl,
line 2. 0.1 M NaCl,
line 3. 0.01 M NaCl,
line 4. 0 M NaCl,
line 5. precipitate after
extraction with 0 M NaCl,
line 6. supernate of sample 5
homogenized with 0 M NaCl.

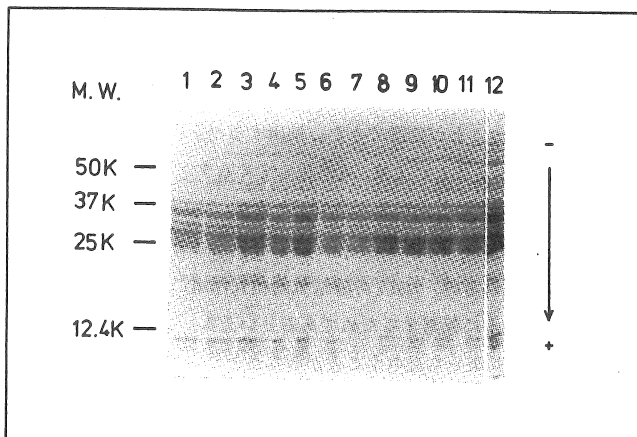


Fig. 4

SDS-PAGE of the supernate separated from gluten

The numbers of each line are the times of extraction by distilled water.

グルテンから蒸留水によって溶離してきたタンパク質は食塩溶液で溶離したものとは異なった。30 K 付近の数本のバンドと高分子域にあるバンドが特徴的であった。このとき抽出回数によって SDS-PAGE にみられるバンドの違いはなかった。20 数回の抽出操作の後、ゲル状に残った部分のバンドもこれらと同じであった。

これらのことは、グルテン形成タンパク質は 0.2 M ~ 0.01 M までの食塩溶液では同じ

であり、イオン強度による凝集性にも差がないことを示していると思われる。また、食塩が存在しないときはタンパク質分子間の結合性は弱く、外側に配位しているものから徐々にグルテンボールより離れ、最後にはバラバラになる。この時、分子間の相互作用が弱いと考えられる抽出回数の早いときに溶離してくるも最後まで沈澱として残った部分も SDS-PAGE のぼんどには違いがなかった。

3. 4 パンからのタンパク質の抽出

小麦粉重量に対して2%の食塩を含むパンと食塩を含まないパンについて、蒸留水を用いて抽出・遠心分離を行い、上清の SDS-PAGE を行った。その結果は Fig. 5 に示した。加熱処理したパンでは大部分のタンパク質は熱凝固するためにその抽出性は著しく悪くなり、抽出回数を重ねると次第に溶解するタンパク質量は減少した。このとき、食塩添加パンからのタンパク質の方が抽出されにくかった。すなわち、グルテンのみでなくパンにおいても食塩はタンパク質の不溶化に影響を及ぼしていることが分かった。

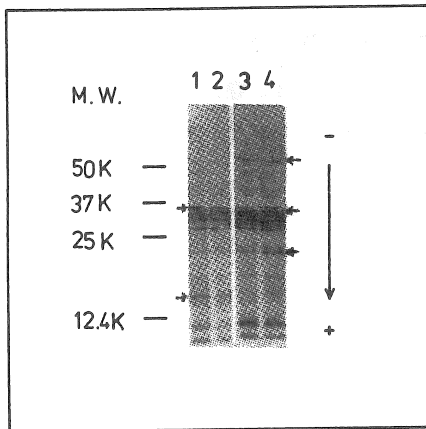


Fig. 5 SDS-PAGE of the extract from bread

line 1 & 2 ; bread containing NaCl (line 1 is 1 time and line 2 is 5 times extraction),
line 3 & 4 ; non NaCl bread (line 3 is 1 time and line 4 is 5 times extraction).

3. 5 パンの柔らかさにおける食塩添加の影響

パン内相の圧縮応力と応力緩和測定の結果を Table 3 に示した。パン調製翌日の圧縮応力は食塩添加パンで大きく、弾力のあることを示しているが、4日経過したものでは両者に差がなかった。2分後の緩和量においても同様の傾向を示した。食塩無添加パンは保存によって弾力性的変化が著しいことが分かった。

Table 3 Effect of sodium chloride on the firmness of bread

| Storage period (day) | NaCl(%) | Force of compression (g) | Relaxation after 2 min. (%) |
|-------------------------|---------|-----------------------------|--------------------------------|
| 1 | 0 | 73 ± 7 | 70.7 ± 3.3 |
| | 2 | 85 ± 7 ** | 67.9 ± 1.8 * |
| 4 | 0 | 121 ± 14 | 70.9 ± 2.2 |
| | 2 | 119 ± 7 | 69.4 ± 2.2 |

Values are mean ± SD (n=10).

* and ** show significance at the 5% and 1% levels of probability, respectively.

参考文献

- (1) 岡野節子, 岩崎ひろ子, 水谷令子, 鈴鹿短期大学紀要, 第9巻, 107~114 (1989)
- (2) 久保さつき, 松下しのぶ, 水谷令子, 鈴鹿短期大学紀要, 第9巻, 115~121(1989)
- (3) Lowry, O.H., et al, J. Biol. Chem., 198, 265 (1983)
- (4) Laemli, U. K., Nature, 227, 680 (1970)
- (5) Baker, A. E., Cereal Chem., 65, 302 (1988)

Effect of Sodium Chloride on the Formation of Wheat Gluten

Reiko Mizutani and Satsuki Kubo

Suzuka Junior College

Summary

The influence of sodium chloride on the formation of wheat gluten and the baking was investigated. A gluten ball used for this experiment was prepared from commercial wheat flour by a precipitation with 0.2 M NaCl solution. Little protein was eluted with more strong solution than 0.01M NaCl. However protein was eluted gradually and gluten ball got to be breakable with distilled water. Regardless to times of the extraction procedure, all SDS-PAGE patterns of proteins extracted from the gluten ball with water were the same. These results suggested that the ionic interaction of proteins is important for the formation of wheat gluten and the moleculars interact irrespective of the kind of proteins. The firmness of bread crumb was evaluated by measuring compression force and stress relaxation after 2 minutes on 5mm strain by using a rheometer (Fudo, model 2002J). The Firmness values between bread with and without NaCl differed significantly .