

小麦蛋白質の凝集性における塩化ナトリウムの影響

久保 さつき・松村 しのぶ・水谷 令子

Effect of Sodium Chloride on Protein Aggregation of Wheat Flour.

Satsuki KUBO, Shinobu MATSUMURA and Reiko MIZUTANI

1. 緒 言

小麦粉に水を加えて練ると、小麦粉中のタンパク質は相互作用して、特異的な粘弾性を持つ小麦粉生地ドウが形成される。ドウを水中で捏ねて澱粉と水溶性成分を洗い出すと、グルテンが弾力性と粘着性を持つゴム状の固まりとして得られる。グルテンの形成には小麦粉タンパク質の主要成分であるグリアジンとグルテニンが関与している。グリアジンは1本のポリペプチドから成る比較的分子量（約5万）のタンパク質で、70%アルコール可溶性である。一方、グルテニンは多数のサブユニットがS-S結合した高分子量（約50万）のタンパク質で、水に不溶性である¹⁾。小麦粉ドウの持つ粘弾性は、これら2種のタンパク質の相互作用により形成されるグルテンの網目構造によるものと考えられている。このタンパク質の凝集高分子化には塩の存在が必要であると考えられており²⁾、一般に、製パン・製麺過程でNaClが添加されている。

本研究では、グルテン形成におけるNaClの役割について分子レベルでの知見を得るため、グルテン形成量およびグルテンの物性を反映する小麦粉ドウの物性におけるNaClの影響を調べた。

2. 実験材料および実験方法

材料と使用器具

小麦粉は昭和産業株式会社製のパン用ブレンド小麦粉「ネオン」（10℃の冷蔵庫に保存）、塩化ナトリウムは市販の特級試薬を用いた。BSA（牛血清アルブミン）はSigma社製Fraction Vを用いた。試薬調製および実験において使用する水はすべて蒸留水を用いた。タンパク質の比色定量には日本分光株式会社製Ubest-30型分光光度計、ドウの調製には三洋電機株式会社製家庭用パン焼き器（SPM-B2）、ドウの粘弾性測定には東洋精機株式会社製レオグラフ、ゾル、

653型を用いた。

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 5 g, NaCl 溶液 15 ml を均一に混合し, 室温 (28 ± 1 °C) に 15 分間静置後, 4000 回転/分で 10 分間 (室温) 遠心し, 上清と沈殿に分離した。沈殿を取り出し, 先に用いた NaCl 溶液でもみ洗いし (200 ml ずつ用いて 3 回繰り返した), 澱粉を除去すると, グルテンはガム状の固まりとして得られた。グルテンを再度遠心して余分な水分を除去し, 得られた湿麩の重量を秤量した。次にこれを電気炉に入れ, 135 °C で 2 時間加熱したものを乾麩とし, その重量を秤量した。小麦粉に対する重量%をそれぞれ湿麩量, 乾麩量とした。

タンパク質損失量の測定

グルテン形成に関与しなかったタンパク質量を初回の遠心操作で得られた上清のタンパク質定量を行うことによって求めた。また, 3 回の澱粉除去操作中に溶出するタンパク質についても, それぞれの洗液中のタンパク質量を定量することによって求めた。定量にはいずれも Lowry 法³⁾を用いた。検量線は BSA を標準物質とし, 最小二乗法を行い, 作製した。

ドウの物性測定

ドウの粘弾性を動的測定法によって測定した。動的測定法は, 試料に振動を与え, その応答を観察するものである。本実験で用いた装置はゾル状の試料に正弦的な微小変形 (ズリ歪) を与え, その応答として応力を調べる装置である。試料の弾性的成分と粘性的成分の大きさは分けて測定することができる。測定に用いたドウは, 小麦粉 150 g, 蒸留水 100 ml をパン焼き器に入れて捏ね (28 分) の操作のみ行い調製した。これを直ちに器具から取り出し試料セルにつめ, 粘弾性の変化を 1 時間観察, 測定した。NaCl 濃度は 0 % と 2 % で行った。温度調節器で 30.0 °C に保ちながら, 測定を行った。

3. 結 果

グルテン形成量における NaCl の影響

グルテン形成量における NaCl の影響を調べた結果を表 1 に示す。蒸留水 (0 M NaCl) で小麦粉を練ると, 湿麩量, 乾麩量は, それぞれ 26 %, 10 % となった。NaCl 濃度が高くなるに従い, 両者共に増加し, 0.10 M NaCl の条件下においては, 湿麩量, 乾麩量はそれぞれ 34 %, 13 % となり, 上限に達した。このことより, NaCl が存在すると, グルテンの形成が促進されることが, 明らかとなった。NaCl の存在しない条件下で得た湿麩は, もろく, くずれ易かった。それを加熱過程を経て得た乾麩は, 大きく膨らむことなく, 比較的小さな固まりとなった。NaCl 存

表1 グルテン形成量におけるNaCl濃度の影響

NaCl濃度 (M)	湿麩量 (%)	乾麩量 (%)
0	26.06±1.16	10.16±0.41
0.01	31.51±0.86	11.38±0.37
0.05	33.83±1.39	12.37±0.56
0.10	33.99±1.93	12.76±1.13
0.15	33.57±0.54	12.75±0.65
0.20	34.10±0.64	12.83±0.29
0.25	34.38±1.03	12.60±0.49

平均±標準偏差 (n=8)

在下で得た湿麩は粘弾性に富み、加熱により大きく膨らんだ。この傾向は NaCl 濃度の低い 0.01M NaCl 存在下においても観察できた。

タンパク質損失量

同量の小麦粉から得られるグルテン量が条件によって増減するという事は、グルテンの定量操作中に、タンパク質が失われていることになる。そこで、どの段階で、どの程度のタンパク質が失われるか測定した。結果を表2に示す。初回の遠心上清には、グルテン形成に関与しなかったタンパク質が検出できるはずである(A)。また、澱粉除去処理中に溶出するタンパク質は、手もみ作業に使用した600ml (200ml×3回)の洗液中に検出できるはずである(B)。NaCl濃度が高くなるに従い、Aの値は大きくなった。しかし、Bの値は逆に小さくなった。またBにおいては、1回目の操作で損失量が大きく、2回目以降の操作については、0Mと0.01M NaClで多少検出できただけで、他の条件下では、検出できなかった。

表2 各操作に於けるタンパク質損失量

NaCl濃度 (M)		0	0.01	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
A		(mg/5g小麦粉)						
		95.0	98.7	104.0	110.9	110.4	122.5	125.7
B		76.4	31.6	20.0	28.8	28.0	24.8	24.0
作業回数	1st	62.4	26.0	20.0	28.8	28.0	24.8	24.0
	2nd	14.0	5.6	0	0	0	0	0
	3rd	0	0	0	0	0	0	0
損失総量 A+B		171.4	130.3	124.0	139.7	138.4	147.3	149.7

A: 遠心操作によるタンパク質損失量

B: でんぷん除去操作(手もみ作業)によるタンパク質損失量
3回操作の合計値を示す

ドウの物性

小麦粉ドウの物性に、NaClがどのような影響をあたえるかについて調べた結果を図1に示

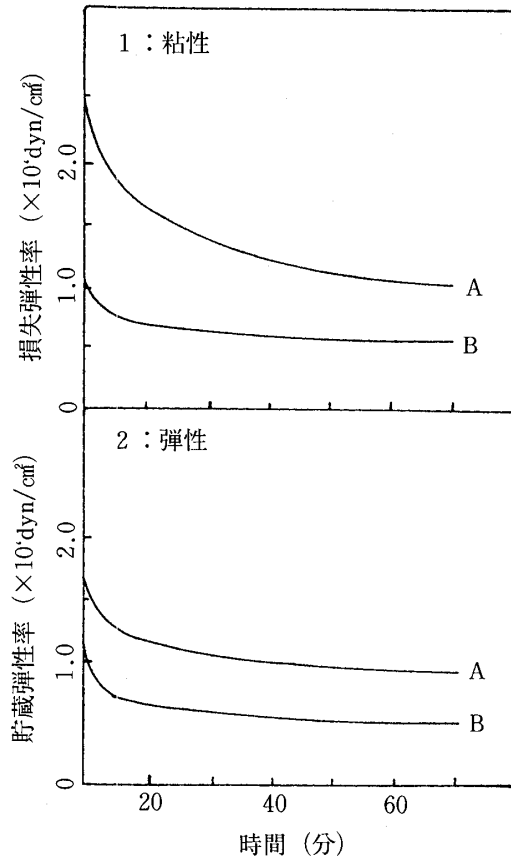


図1 ドウの粘弾性における NaCl の影響
 A : NaCl 0% B : NaCl 2%

す。図中の A, B はそれぞれ NaCl 無添加, NaCl 添加 (小麦粉に対して 2%) のドウを示している。縦軸は、力の大きさを表している。NaCl 添加により粘性, 弾性が低下し, 粘性は, NaCl 無添加のドウの 44~50%, 弾性は 55~60% となった。NaCl 無添加のドウは, 測定開始後, 粘性, 弾性共, 徐々に減少し, 60 分後には, 約 2 分の 1 の値になった。NaCl 無添加のドウも同様であった。以上のことより, NaCl を添加すると, ドウの粘性, 弾性は共に低下し, やわらかく, 伸び易いドウが形成されることが明らかとなった。

4. 考 察

小麦粉タンパク質は, その溶解性の差に基づき, アルブミン, グロブリン, グリアジン, グルテニンおよび不溶性タンパク質に分類されている⁴⁾ グリアジンとグルテニンは小麦粉全タンパク質の約 80% を占め, グルテン形成能を持ち, ドウの物性, 小麦粉の加工特性に特に関係の深いタンパク質である。このグルテン形成には塩の存在が必要であると考えられている。一般に, 小麦粉には 100g 中約 0.4~0.5g の灰分が含まれている⁵⁾ ので, 小麦粉を蒸留水で練ると, グルテンが形成される。しかし, 本実験におけるグルテンの定量結果は, NaCl を含まない条件下では, 乾麩量が NaCl 存在下の値の約 80% であった。これは表 2 の結果より澱粉除去操作

中におけるタンパク質の溶出が原因であることが明らかとなった。グルテン中には、普通グリアジン、グルテニンの他に水溶性タンパク質であるアルブミン、グロブリンが混入している⁴⁾。グルテン内部あるいは表面に結合していたアルブミン、グロブリンが、蒸留水で洗浄することによって、グルテンから遊離したと考えられる。また、遠心時の上清に残存するタンパク質は、おそらくアルブミンであろう。NaCl濃度の増加に伴い増加した上清残存タンパク質は塩溶性タンパク質であり、混合、静置中にグルテンから遊離したと考えられる。しかし、遊離したタンパク質が、果たしてアルブミン、グロブリンであるかどうかということについては、タンパク質の電気泳動やカラムクロマトグラフィーを行い、確認する必要があるであろう。ところで、NaClの存在により明らかに湿麩量が増加した。すなわち、グルテンの形成にNaClが関与していたことになる。NaClはイオン結合物質であるから、 Na^+ あるいは Cl^- の静電的効果がグルテンの形成に影響を及ぼしていると考えられる。グリアジン分子は、アミノ酸組成の研究から、非解離性アミノ酸や非極性側鎖を多く含むことが知られており、その会合、解離には、サブユニット表面の水素結合、疎水結合が重要であることが示されている^{6,7)}。しかし、これらの結合が有効に作用するには、サブユニットが十分に接近する必要があると考えられている。pHを変化させた状態でNaClを添加したところ、グリアジンの会合、解離が促進したという報告があるが、これはタンパク質分子表面の電荷を Na^+ あるいは Cl^- がマスクして、タンパク質分子間の反発力を弱めるためであると説明されている^{6,7)}。すなわち、サブユニット分子の会合、解離には、水素結合、疎水結合を補助する形でイオン結合が必要であることになる。グルテニンの会合、解離は、S-S結合が関与しているが、上記の非共有結合の重要性はグルテニンのアミノ酸組成がグリアジンと同様、非解離性アミノ酸や非極性アミノ酸を多く含むことから示唆される。本実験の結果はグルテン形成におけるNaClの静電的効果を示しており、イオン結合の重要性が明らかとなった。その機構を解明するために、塩の種類や小麦粉の品種を変えてタンパク化学的な実験をさらに続けていきたいと考えている。

小麦粉ドウの粘弾性を測定した結果、NaCl存在下では、やわらかくて、伸長し易いドウが得られた。この結果は、NaCl添加時の湿麩の形状、性質と一致する。すなわち、グルテンの物性がドウの物性に反映されていることになる。ドウの物性をタンパク質の構造から説明したモデルが提出されているのでその代表的なものを示すことにする⁴⁾。図2は、グルテンがS-S結合によって架橋し、網目構造を形成しているモデルである。S-S結合による架橋が弾性に関与し、SH-SS交換反応による架橋の組み替え速度が粘性に関与していると考えている。図3は、グリアジン、グルテニンが非共有結合で結合して網目構造を形成しているモデルである。グリアジンは比較的小さな球状タンパク質であり、その分子間結合力は弱いので、粘性に富むかたまりとなる。グルテニンは高分子量タンパク質であり、分子間結合が強いので、弾性をもつかたまりとなる。この二者が混合してできるグルテンは、適度な粘弾性をもつようになる。本実験では、S-S結合に関与する試薬を全く使用しなかったにもかかわらず、NaClの有無だけで、明らかにドウの粘弾性が変化した。このことから、グルテンのモデルとしては後者を支

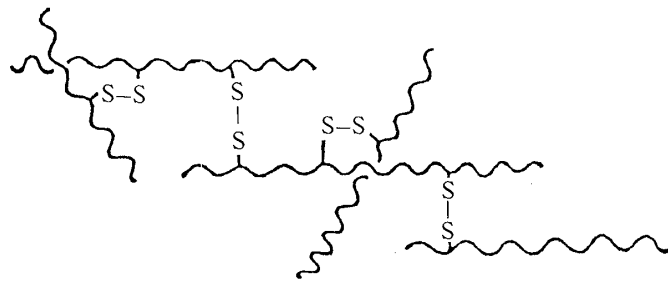


図2 S-S結合で架橋したグルテンのモデル

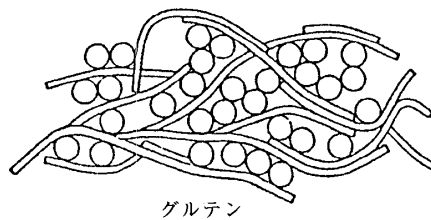
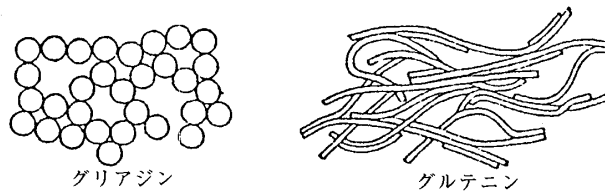


図3 非共有結合を持つグルテンのモデル

持する結果となった。しかし、脂質や糖類の関与するドウのモデルや、グルテン中の水の存在状態により、ドウの物性が決まると推論するモデルもある。これらのことは、グルテンの構造、物性が単なるグリアジン、グルテニンのタンパク質会合だけでは説明できない、極めて複雑なものであることを示している。

我々は、本実験の結果をもとにして、グルテン形成に関する分子レベルでの基礎的研究をさらに続けていきたいと考えている。

最後に、本実験を行うにあたり、有益な御助言をしていただきました、名古屋大学農学部食品第二研究室の早川茂博士に感謝致します。また、ドウの物性測定をさせていただきました、三重大学生物資源学部水産食品化学研究室の丹羽栄二博士始め研究室の皆様へ感謝致します。

参考文献

- 1) 並木満男ら共編, 現代の食品化学, p.210 三共出版 (1985)
- 2) Preston, K. R., *Cereal Chem.*, **58**, 317 (1981)
- 3) Lowry, O. H., Rowebrrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- 4) 山内文男編著, 食品タンパク質の科学, p.71 食品資材研究会 (1983)

- 5) 科学技術庁資源調査会編, 四訂 日本食品標準成分表, p.40 (1982)
- 6) Kasarda, D. D., Bernardin, E. and Nimmo, C. C., *Advances in Cereal Sci. and Tech.*, ed. by Pomeranz, Y., Amer. Ass. of Cereal Chem. Inc., St. Paul, p.275 (1976)
- 7) Bernardin, J. W., *Proceedings of the 10th National Conference on Wheat Utilization Research*, Arizona, p.101 (1977)