

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：34424

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K02111

研究課題名（和文）キシログルカンの分子構造とグルテンフリーパンへの新規活用法に関する研究

研究課題名（英文）Structure of xyloglucan and new application in gluten-free bread

研究代表者

伊藤 聖子 (Ito, Seiko)

梅花女子大学・食文化学部・准教授

研究者番号：70466506

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：キシログルカンの分子構造が影響するゲル化特性に着目し、グルテンフリーパンに対するキシログルカンの新たな利用法を明らかにすることを目的とした。キシログルカンと酵素添加パンを比較した結果、セルラーゼで部分分解したキシログルカンだけでなく、ペクチナーゼも製パン性を改善する可能性が示唆された。生地粘度特性と発酵体積試験から、セルラーゼ分解物の方が生地物性は安定していることが明らかとなった。キシログルカン部分分解物を添加すると、グルテンフリーパンの生地に適度な粘度を付与し、発酵および焼成時にガス保持効果が高くなり、均一できめ細かいクラムが比容積の向上に寄与したと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルテンフリー食品は世界的なニーズが年々増加し、主食となるグルテンフリーパンは国内外の需要が高い。しかし、グルテンフリーパンには製造法と品質保持に関する課題が多い。本研究は、キシログルカンの新たな利用法を検討し、グルテンフリーパンだけでなく保存性が重要となる非常食の食品加工等にも応用可能と考えられる。また、キシログルカンは食物繊維としての機能も有するため腸内環境の改善効果も期待でき、健康増進につながる食品の可能性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate a new application for xyloglucan in gluten-free bread. We focused on the gelation properties of xyloglucan, which are influenced by its molecular structure. A comparison of xyloglucan and enzyme-added bread suggested that partial degradation of xyloglucan by the pectinase, as well as cellulase, may improve bread-making properties. The viscosity characteristics of the dough and the fermentation volume test showed that the cellulase-degraded product has more stable dough physical properties. Adding a partially degraded product of xyloglucan gave gluten-free bread dough with an appropriate viscosity that positively affects gas retention during fermentation and firing, contributing to the improvement of specific volume.

研究分野：調理科学

キーワード：グルテンフリー キシログルカン 米粉パン 糖質分解酵素 粘度特性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グルテンフリー食品は、近年増加している小麦アレルギーやセリアック病およびグルテン過敏症患者の QOL 向上のため、世界的なニーズが年々増加し、特に主食となるグルテンフリーパンは国内外の需要が高い。しかし、多くのグルテンフリー食材は、澱粉特性ならびにタンパク質組成が小麦粉と異なるため、パンのような発泡食品には欠かせない気泡の保持力と骨格の維持力がないため膨化が難しい。さらに、パンの硬化が小麦粉パンより速いため、保存による物性変化が最大の課題である。

グルテンフリーパンの膨化に関しては、増粘多糖類による検討が多数行われているが、パンの硬化に対しては有意な効果を示す報告がほとんどない。グルテンフリー食品に増粘剤として利用される多糖類は様々あるが、増粘効果に加え、澱粉とよく似た溶解特性を示す多糖にキシログルカンがある。タマリンド種子由来のキシログルカンは、他の増粘多糖類と異なり、ニュートン性の流動特性をもつという大きな特徴がある。また、熱や pH に対して優れた安定性を示すことから、増粘安定剤や澱粉改質剤として様々な加工食品に使用されている。しかし、キシログルカンは他の多糖類と粘度特性が異なるため、粘度補助を目的としたグルテンフリーパン等の発泡食品に利用した例はほとんどない。

また、タマリンド種子由来のキシログルカンは、キシロース側鎖が規則正しく結合していることに加え、ガラクトキシロース側鎖があり、この側鎖を部分的に分解することによってゲル化性が変化することが知られている。そこで、キシログルカンと分解酵素を組み合わせることで、様々な分子量分布と側鎖構造を有するキシログルカンの調製が可能と考えられる。様々な分子構造をもつキシログルカンは、これまでの増粘剤とは異なる新たなゲル化機構の発現や包接機能を示す可能性が期待されるため、グルテンフリーパンに対するキシログルカンの効果について検討した。

2. 研究の目的

本研究では、キシログルカンの分子構造が影響するゲル化特性や低分子物質の包接機能に着目し、グルテンフリーパンの保存による物性変化を改善する新たなキシログルカンの利用法を明らかにすることを目的とした。試料はタマリンド種子由来のキシログルカンを用い、各種酵素と組み合わせた場合の生地物性を比較し、膨化やクラムの硬化抑制に対するキシログルカンと分解酵素の影響を検討した。次に、キシログルカンの部分分解物を調製する酵素反応条件を検討し、製パン試験からグルテンフリーパンに対するキシログルカンおよび部分分解物の影響を明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1) 材料

キシログルカンは、タマリンド種子由来の市販品を用いた。分解酵素はいずれも市販の α -アミラーゼ (AB : Biozyme A、AK : Kleistase T10S) および β -アミラーゼ (BL : β -amylase L/R、BS : β -amylase #1500S)、ペクチナーゼ (PE : Cellulosin PE60)、キシラナーゼ (HC : Cellulosin HC)、セルラーゼ (COS : Cellulase "ONOUZUKA" 3S、YNC : Cellulase YNC、CA3 : Cellulase A "Amano" 3) の粗酵素標品を用いた。キシログルカンの部分分解物は、キシログルカンを蒸留水に溶解した後、0.1% の各酵素を添加して 40°C でインキュベート、100°C で 5 分間煮沸したものを凍結乾燥して調製した。

(2) 生地の粘度特性と発酵体積試験

生地粘度は、コーンプレート型回転式粘度計 (HAAKE、Viscotester550) で測定し、得られた流動曲線からみかけの粘度を比較した。発酵試験は、一定量の生地をトルビーカーに入れ、38°C のインキュベーター内で発酵させ、発酵開始から 10 分毎に膨張した体積を記録し体積膨化率を求めた。

(3) 製パン試験

グルテンフリーパンは、米粉、水、砂糖、食塩、オリーブオイル、ドライイーストを基本材料とし、キシログルカンおよび酵素無添加のパンをコントロールとした。キシログルカンは米粉の 1% 分を添加し、酵素の添加量は米粉の 0.01% とした。焼成後のパンは比容積を菜種置換法で測定し、1 日または 2 日間保存したパンの水分含有量とテクスチャー解析から製パン性を評価した。

(4) 糊化度測定とパンクラムの画像解析

焼成後 1 日および 2 日間保存したクラムの糊化度を、グルコアミラーゼ法で測定した。クラムの画像解析は ImageJ を用いて二値化後、ガスセル面積を測定した。

4. 研究成果

(1) キシログルカン部分分解物および酵素添加パンの製パン性比較

キシログルカンを部分分解して添加した場合と、さらに酵素を添加した場合の製パン性を比較するため、グルテンフリーパンに酵素のみ添加、キシログルカン(XG)と酵素、キシログルカン部分分解物と酵素を添加したパンを調製した。キシログルカン部分分解物(XG-E)は、予備実験の結果から、セルラーゼ系酵素のCOSを4時間反応させて調製したものを試料とした。

比容積(表1)は、酵素のみを添加して焼成したパンは上部が大きく凹む傾向がみられ、コントロールパンより比容積が低下した。特に、アミラーゼの添加によって比容積は有意に低下した。しかし、コントロールと比べて有意差はないが、ペクチナーゼ系酵素のPEを添加することで比容積が大きくなる傾向がみられた。XGを添加した場合、コントロールとほぼ同様の比容積が得られたが、さらにAKやPEおよびHC酵素を添加すると比容積がコントロールより大きくなった。しかし、AKとHC添加パンはクラムの内部に気泡が合一した大きな空洞ができていた。一方、XGとPE添加パンは内部に空洞はみられなかった。XG-Eを添加したパンは、コントロールより有意に比容積は大きくなり、さらにPEおよびHC添加パンも有意に大きくなった。PEを添加した場合、XGおよびXG-Eともに比容積が大きくなったことから、膨化に対してキシログルカンとPEとの併用効果があることが示唆された。

表1 各パンの比容積

[cm ³ /g]	non	AB	AK	BL	BS	PE	HC	COS	YNC	CA3
control	3.56	3.04	3.02	3.20	3.34	3.70	3.61	3.32	3.28	3.54
XG	3.53	3.57	3.72	3.47	3.41	3.67	3.95	3.28	3.08	3.43
XG-E	3.79	3.62	3.44	3.42	3.45	3.94	3.85	3.46	3.28	3.50

(non: 酵素無添加)

テクスチャー解析は、AK添加パンはいずれもクラムに空洞が生じ、試料採取が困難だったため、それ以外のパンを試料として焼成後1日保存(D1)および2日保存(D2)したクラムを解析した。酵素のみを添加して焼成したパン(図1)は、いずれもコントロールと同様のかたさになることが示された。

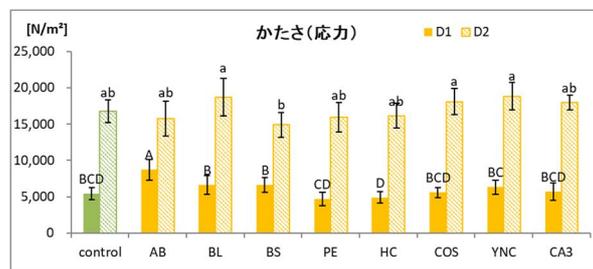


図1 酵素添加パンのかたさ(応力)

XG添加パンは、保存1日および2日目ともにコントロールより有意にクラムがやわらかかった(図2)。XGとアミラーゼ系酵素(AB、BL、BS)を添加すると、有意差はないがコントロールよりかたくなる傾向がみられた。XGとPE、HC、COS、YNC酵素を添加した場合、コントロールより有意にかたくなった。それに対して、XGとCA3添加パンは、コントロールおよびXG添加パンと同等のかたさになることが示唆された。

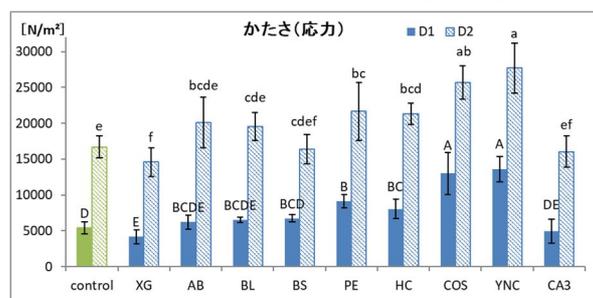


図2 XGと酵素添加パンのかたさ(応力)

XG-E添加パンは、コントロールより有意にクラムがやわらかくなった(図3)。XGとBL添加パンは、いずれもコントロールより有意にクラムがかたくなった。一方、XGとCA3添加パンは、1日および2日保存後もコントロールより有意にやわらかくなった。

CA3を添加した場合、XGおよびXG-Eともにクラムがやわらかくなることが示され、テクスチャー改善にキシログルカンとCA3の併用効果があることが示唆された。

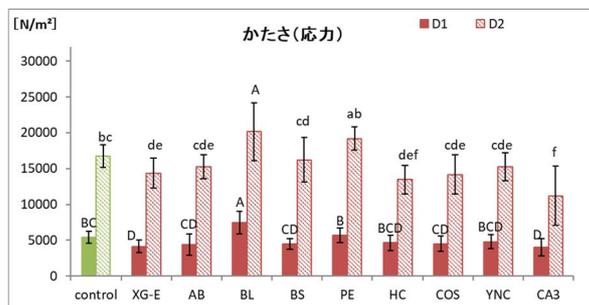


図3 XG-Eと酵素添加パンのかたさ(応力)

(2) 酵素反応条件の検討

キシログルカンと酵素添加パンを比較した結果、セルラーゼ系のCOSで部分分解したキシログルカンだけでなく、ペクチナーゼ系のPEまたはセルラーゼ系のCA3も製パン性を改善する可能性が示唆された。そこで、COS、PEおよびCA3によるキシログルカン部分分解条件を検討した。

酵素はキシログルカンの 0.1%とし、40℃で 4 時間、8 時間および 16 時間インキュベートして部分分解物を調製した。製パン試験と同様の材料配合で調製した生地粘度特性を測定した結果、いずれも酵素反応時間が長くなるほどみかけの粘度が低下した。しかし、発酵体積増加率は、ペクチナーゼとセルラーゼで傾向が異なることがわかった。パンを焼成する際の発酵時間と同じ 80 分後の増加率は、PE4 時間および PE8 時間分解物はいずれも 2.3 倍になり、PE16 時間分解物が 1.7 倍であった。PE 分解物は、生地粘度が低下すると発酵中の体積膨化率もともに低下した。一方、COS および CA3 分解物は、4 時間、8 時間および 16 時間分解物の発酵体積増加率はいずれも 2.5 倍となり、生地の粘度は反応時間が長くなるほど低下するが、発酵中の生地の膨化は同程度になることが示唆された。本実験では、キシログルカンの部分分解物に酵素を添加した場合にテクスチャー改善効果が示唆されたため、酵素の反応時間を 4 時間、8 時間および 16 時間に設定したが、4 時間以下あるいはペクチナーゼとセルラーゼの併用分解によってさらに製パンに適したキシログルカン部分分解物が得られる可能性があり、今後の検討が必要である。

(3) キシログルカン部分分解物による製パン性評価

焼成したパンの比容積およびクラムのテクスチャー改善効果がみられた COS 分解物 (XG-E) と CA3 酵素添加による製パン性について、パンの糊化度と画像解析および生地粘度特性からキシログルカン部分分解物の影響を検討した。

パンの糊化度は、焼成後 1 日および 2 日間保存したクラムで比較した。保存 1 日目は、XG 添加パンがコントロールより有意に高い値を示し、有意差はなかったが XG-E 添加および XG-E と CA3 添加パンはいずれもコントロールより糊化度が高かった。保存 2 日目のパンは、XG-E 添加パンいずれもコントロールより糊化度は高かったが、有意差は認められなかった。

パンクラムの画像解析によって、ガスセル平均面積を求めた結果、XG と XG-E 添加パンはコントロールより有意に面積が小さいことが明らかになった。特に、XG-E 添加パンはコントロールと比べて有意にガスセル面積が小さく、きめ細かいクラムになることが示唆された(図 4)。また、発酵体積試験を行った際、XG 添加パンより XG-E 添加パンの方が発酵中のガスセルが均一で細かい様子が観察された。

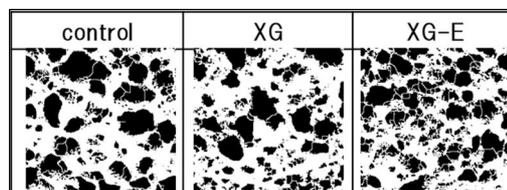


図 4 パンクラム画像

表 2 各生地のみかけの粘度

[mPa・s]	発酵前	発酵後
control	564.9 ± 87.9	506.7 ± 17.5
XG	6732.7 ± 311.1	5800.7 ± 655.7
XG+CA3	6214.3 ± 1507.3	3290.7 ± 1507.9
XG-E	780.4 ± 44.0	646.5 ± 30.3
XG-E+CA3	780.4 ± 61.4	570.8 ± 26.7

そこで、混捏直後と 80 分発酵後の生地について粘度特性を比較した。ずり速度 100sec^{-1} におけるみかけの粘度をまとめた結果(表 2)、XG 添加生地は XG によって粘度が著しく増加し、CA3 を添加すると 80 分発酵後に粘度が大きく低下することが明らかになった。一方、XG-E 添加生地も XG 添加生地と同様にコントロールより生地粘度は高くなるが、CA3 を添加しても XG 添加生地のように粘度が大きく低下しないことがわかった。このことから、XG-E を添加すると、グルテンフリーパンの生地に適度な粘度を付与し、発酵および焼成時にガス保持効果が高くなり、均一できめ細かいクラムが比容積の向上に寄与したと考えられた。テクスチャー変化を改善した要因については、XG-E と米粉との相互作用を明らかにすることと、XG-E の構造についてキシログルカンの分子量分布とオリゴ糖ユニットの解析により部分分解物の構造を決定する等、今後さらに検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤聖子
2. 発表標題 米粉パンの製パン性向上と老化遅延に関する研究
3. 学会等名 日本応用糖質科学会第49回近畿支部会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------