

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00790

研究課題名(和文) 反応機構に基づいたプロテアーゼ処理によるグルテンフリー米粉パンの改善効果の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the improvement of gluten-free rice bread by protease treatment based on reaction mechanism

研究代表者

本多 裕司 (Honda, Yuji)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：40399382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年、様々な添加剤を用いてグルテンフリー米粉パンの製パン性を向上させる研究が行われてきている。私たちはグルテンを含まない米粉にプロテアーゼを作用させると、クラムが柔らかくて比容積が著しく増大したグルテンフリー米粉パンを焼成できることを明らかにした。また、プロテアーゼの反応機構の分類によってグルテンフリー米粉パンの製パン性に差異が現れる事を見出した。さらに、プロテアーゼを作用させると米粉バターのレオロジー特性が大きく変化することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In recent years, improvement of gluten-free rice bread has been investigated by using various food additives. We clarified that gluten-free rice flour with protease treatment increased crumb softness and specific volume of the gluten free rice bread. We also found that the bread-making property of gluten-free rice bread differs depending on the classification of reaction mechanism for proteases. Furthermore, it was revealed that rheological properties of rice flour batter changed with protease treatment.

研究分野：応用糖質科学

キーワード：グルテンフリー 米粉パン プロテアーゼ

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、幼児を含む食物アレルギーの患者は増加してきており、アレルギー原因物質を除去した食品の開発が重要となってきた。小麦粉で製造されたパンはご飯に次ぐ主食となってきたが、小麦アレルギー患者はそのようなパンを食べることができず、アレルゲンであるグルテンを含まないパンしか食べることができないのが現状である。

(2) ところが、小麦粉以外の穀粉で焼成したパンは食感やふくらみが悪いので、一般的に小麦に由来するグルテンを加えて焼成する事が多い。このようにグルテンはパンの焼成に必要なものであるが、最近、私たちはグルテンを含まない米粉にパパインなどのプロテアーゼを作用させると、クラムが柔らかくて比容積が著しく増大したグルテンフリー米粉パンを焼成できることを報告した(Hatta et al., *J. Cereal Sci.*, 2015, 下図中央、パパイン)。

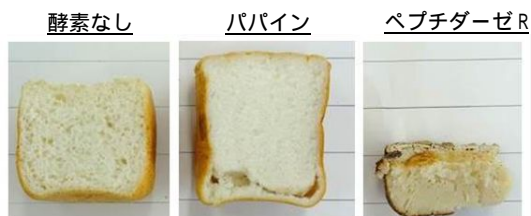


図1 プロテアーゼ処理したグルテンフリー米粉パン

2. 研究の目的

(1) 様々なプロテアーゼを添加してグルテンフリー米粉パンを焼成してみると、酵素を添加しないものよりもグルテンフリー米粉パンの品質を著しく低下させるプロテアーゼも発見した(図1右側、ペプチダーゼR)。以上の事から、品質を改善したプロテアーゼと品質を低下させたプロテアーゼを作用させたグルテンフリー米粉パンの性質をタンパク質と澱粉に関する観点から研究する事により、プロテアーゼによるグル

テンフリー米粉パンの品質改善効果を総合的に解明する事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 反応機構に注目したプロテアーゼの反応性に関する分析

プロテアーゼは触媒機構によって、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、金属プロテアーゼ、および酸性プロテアーゼに大別される。表1に示すように、これまでに入手したプロテアーゼを触媒機構によって分類し、触媒機構によるプロテアーゼの分類をした。

表1 本研究に用いたプロテアーゼの分類

| プロテアーゼ | 由来 | 分類 |
|--------------|-----------------------------------|-------------|
| プロチン SD-NY10 | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | 金属プロテアーゼ |
| パパイン W-40 | <i>Carica papaya</i> L. | システインプロテアーゼ |
| プロチン SD-AY10 | <i>Bacillus licheniformis</i> | セリンプロテアーゼ |
| ニューラーゼF | <i>Rhizopus niveus</i> | 酸性プロテアーゼ |
| プロテアックス | <i>Aspergillus oryzae</i> | ? |
| ペプチダーゼ R | <i>Rhizopus oryzae</i> | 酸性プロテアーゼ |

これらのプロテアーゼを米粉に添加してトルビーカーを用いた小スケールのグルテンフリー米粉パンを焼成するとともに、各米粉バターを SDS-PAGE (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動) で分析した。

以上の結果を基にして、プロテアーゼ処理したグルテンフリー米粉パンの製パン性と米粉に含まれているタンパク質の分解パターンの相関性について検証した。

(2) グルテンフリー米粉バターの粘度に関する測定

これまでの研究によって、プロテアーゼを米粉に作用させると、米粉バターの粘性に変化が生じている事が判ってきた。また、ホイップのような粘りを生じる米粉バターは焼成したグルテンフリー米粉パンの比容積が増加する傾向もみられた。本研究では、様々なプロテアーゼ処理をしたグルテンフリー米粉バターを調製し、動的粘弾性測定装置(MCR301, Anton Paar)を用いて、グルテンフリー米粉バターの動的粘弾性に関するパラメーターを得る事で、グルテンフリー米粉バターのレオロジー的な挙動を分析した。

4. 研究成果

(1) プロテアーゼ処理した米粉パンの製パン性

図2は、7種類のプロテアーゼを添加して製造されたグルテンフリー米粉パンの写真を示している。また、対照としてプロテアーゼを添加していないグルテンフリー米粉パン (Control) も焼成した。

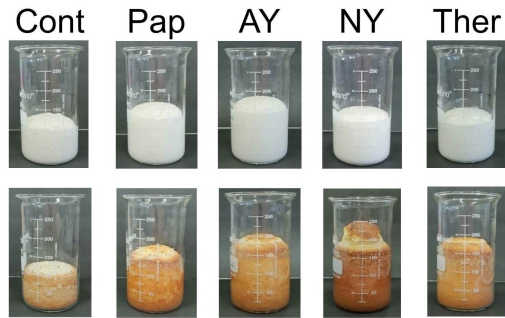


図2 上段：発酵後の米バター, 下段: 焼成後のグルテンフリー米粉パン

Cont ; Control (with no protease), Pap; Papain, AY; Protin SD-AY10, NY; Protin SD-NY10, Ther; Thermoase.

パパイン、プロチン SD-AY10 およびプロチン SD-NY10 を作用させると、発酵および焼成後のグルテンフリー米粉パンの体積が増大した。サモアーゼを作用させると焼成後のグルテンフリー米粉パンの体積が増大したが、発酵後の体積は Control と同様であった。

一方、図3に示すように、ペプチダーゼ R とプロテアックスを作用させると発酵後の米粉バターの体積は増大したが、焼成後のグルテンフリー米粉パンの中央に大きな窪みが形成された。ニューラーゼ F は発酵後または焼成後のいずれにおいてもグルテンフリー米粉パンの体積に影響を与えなかった。

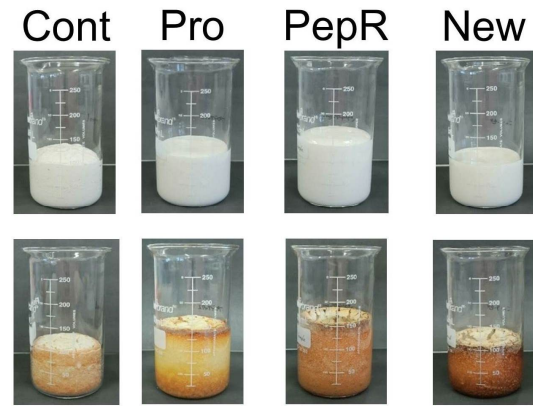


図3 上段：発酵後の米バター, 下段: 焼成後のグルテンフリー米粉パン

Cont ; Control (with no protease), Pro; Proteax, PepR; Peptidase R, New; Newlase F.

これらの結果から、パパイン、プロチン SD-AY10、プロチン SD-NY10 およびサモアーゼは製パン性の改良に有効なプロテアーゼとして分類し、ニューラーゼ F、ペプチダーゼ R およびプロテアックスはグルテンフリー米粉パンの製パン性の改良に効果的ではないプロテアーゼであることを明らかにした。

(2) プロテアーゼ処理した米粉バター中のタンパク質の分布

プロテアーゼ処理した米粉とプロテアーゼ処理していない米粉 (Control) のタンパク質の分子量分布を調べるために SDS-PAGE で分析した (図4)。

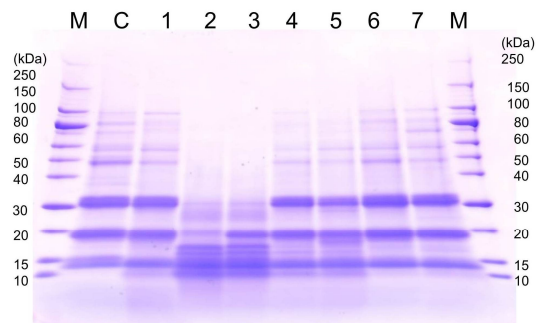


図4 グルテンフリー米粉パンから抽出したタンパク質の SDS-PAGE

Lane M, Molecular weight Marke; C, Control; 1, Thermoase; 2, Papain; 3,

Protin SD-AY10; 4, Protin SD-NY1010; 5, Proteax; 6, Peptidase R; 7, Newlase F.

ペプチダーゼ R とニューラーゼ F で処理した米粉は、Control の電気泳動パターンに類似しており、高分子のタンパク質はほとんど分解されていないことがわかった。サモアーゼ、プロチン SD-NY10 およびプロテアックスも Control の電気泳動パターンに類似していたが、高分子のタンパク質が分解され、10 kDa 前後に低分子化されたタンパク質が存在していた。パパインとプロチン SD-AY10 を作用させた米粉は、低分子化されたタンパク質が多く存在していることがわかった。

(3) プロテアーゼ処理した米粉バターの動的粘弾性の温度依存性

各プロテアーゼで処理した米粉バターの G' (貯蔵弾性率) の温度依存性を調べた。発酵温度 (35 °C) 付近の米粉バターの G' を比較してみると、製パン性が良かったプロテアーゼで処理した米粉バターは、酵素処理しなかった米粉バター (Control) よりも高い値を示した。

一方、製パン性に良い影響を与えなかったプロテアーゼで処理した米粉バターの G' は、Control よりも低い値を示した。これらの差異が、グルテンフリー米粉パンの製パン性の差異に影響を与えている事が示唆された。さらに、これらの米粉バターの G' は 60 °C 以上で急激に上昇した。これは米澱粉の糊化による粘弾性の変化であると考えられた。さらに、この急激な G' の変化はプロテアーゼの種類によって異なっていた事から、米粉バター中のタンパク質の分解物の差異が関係していることが考えられた。また、製パン性が非常に悪かったニューラーゼ F で処理した米粉バターの G' は他のプロテアーゼ処理した米粉バターの G' と比較して 10 °C 以上高い温度で急激に上昇していた。これらの動的粘弾性のパラメーターの違い

は、プロテアーゼ分解物の差異に由来している事が考えられた。また、これらの米粉バターの動的粘弾性の差異とグルテンフリー米粉パンの製パン性に相関があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Yuji Honda, Nanami Inoue, Reina Sugimoto,
Kenji Matsumoto, Tomonori Koda, Akihiro
Nishioka
Dynamic viscoelasticity of
protease-treated rice batters for
gluten-free rice bread making
Biosci. Biotech. Biochem. **82**, pp.
484-488 (2018) (査読有)

〔学会発表〕(計5件)

井上 七海, 有側 紗愛, 本多 裕司

プロテアーゼ処理した米タンパク質を
添加したグルテンフリー米粉バター の
動的粘弾性について日本農芸化学会 2018
年度大会 2018 年

井上 七海, 有側 紗愛, 本多 裕司

プロテアーゼ処理した米タンパク質を
添加した 米澱粉バターの動的粘弾性日
本応用糖質科学会中部支部静岡講演会
2018 年

本多裕司, 杉本怜菜, 松本健司, 香田智則,
宮田剣, 西尾太一, 西岡昭博

プロテアーゼ処理したグルテンフリー
米粉パンバターの性質について
第9回 北陸合同バイオシンポジウム
2016 年

本多裕司, 杉本怜菜, 松本健司, 香田智則,
宮田剣, 西尾太一, 西岡昭博

プロテアーゼを添加したグルテンフリ
ー米粉パンバターのレオロジー特性
日本応用糖質科学会 平成 28 年度大会
(第 65 回) 2016 年

本多 裕司, 小柳 喬

乳酸菌のチカラを借りたグルテンフリ
ー米粉パン～プロテアーゼによる食感改
良について～

2016 年度日本乳酸菌学会泊まり込みセミ
ナー、2016 年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本多 裕司 (HONDA, Yuji)

研究者番号: 40399382

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者