

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 1日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22500752

研究課題名（和文）蛋白質・アレルゲンを混入させずアミノ酸・単糖類を穀物から効率的に回収する加工法

研究課題名（英文）Development of a method to recover amino acids and monosaccharides effectively from cereal seeds.

研究代表者

矢野 裕之 (YANO HIROYUKI)

 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・食品素材科学研究領域・
上席研究員

研究者番号：20355580

研究成果の概要（和文）：本研究は穀物から蛋白質・アレルゲンの混入がなく、高濃度の糖類やアミノ酸を回収するための基盤技術を開発することを目的とした。米粉に加水・加熱して糊化させた後、アミラーゼおよびプロテアーゼで処理して液化した糖化液を遠心すると、上清には蛋白質がほとんど含まれず、蛋白質の36%がアミノ酸として、アミノ酸とペプチドを併せると63%が上清に回収され、澱粉は単糖類としてほぼ定量的に回収された。米粉を原料とした新規食品の開発・実用化および米粉の需要拡大への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：We sought to develop basic technique to recover monosaccharides and amino acids effectively from cereal seeds without contamination of protein or allergen. First, water was added to rice flour and subjected to heating. Then, the gel was liquefied by addition of amylase and protease, and rice slurry was obtained. We found that when the slurry was centrifuged, the supernatant contained almost no visible protein. Besides, 36% of the protein in the original rice flour was recovered as free amino acids in the supernatant. The recovery of total amount of amino acids and peptides was estimated to 63%. Most of the starch was recovered as monosaccharides. The obtained knowledge is expected to contribute to the development of new rice-based foods as well as to the expansion of the demand for rice flour.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：アレルゲン、糊化、蛋白質、糖化液

1. 研究開始当初の背景

世界人口の3～4%がなんらかの食品に対してアレルギー性であることが報告され、年々増加傾向にある。食品アレルギーはアトピー

性皮膚炎やアナフィラキシーのような重篤な症状を引き起こすことがあるが、効果的な治療法はほとんどなく、アレルギー患者はアレルゲンを除去する食事を余儀なくされて

いるのが現状である。一方、アレルギーのコンタミ事故を恐れ、食品メーカーは「アレルギーフリー」を謳った食品の開発・生産を躊躇する傾向がある。そこで信頼できる原理に基づいたアレルギーフリー食品の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、蛋白質やアレルギーを含まず、穀物からアミノ酸と単糖類を効率的に回収する基盤技術を開発する。

3. 研究の方法

米粉に加水した後、加温による糊化、アミラーゼ処理による糖化を行い、澱粉由来成分に蛋白質を結合させる。この後、プロテアーゼ処理を行って、蛋白質(アミノ酸が遊離した残りの部分)は固定したまま、アミノ酸を溶液に遊離させることが可能であるか調べる。次にプロテアーゼの種類や反応条件をかえて、回収されるアミノ酸やペプチドの定量・定性分析を行い、アミノ酸の回収率を上昇させる検討を行う。

4. 研究成果

(1) 低アレルギー糖化液の開発

米粉に水を加え、加熱して糊化させた後、食品に汎用されるアミラーゼおよびプロテアーゼで処理すると液化した糖化液が得られる。これを遠心すると、上清には蛋白質がほとんど含まれないことが SDS-PAGE より明らかになった(図1)。

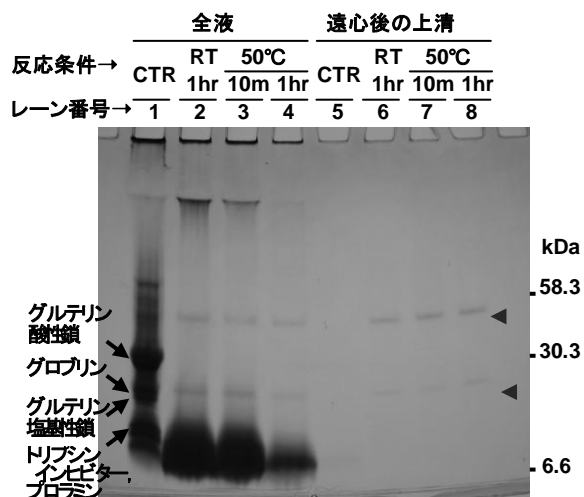


図1. 各条件でプロテアーゼ処理した糖化液の全液および遠心後の上清に含まれる蛋白質
CTR, プロテアーゼ処理しない標準サンプル。
◀, プロテアーゼ由来のバンド
(文献(5)より引用)

穀物種子に含まれる澱粉が糊化する際には、蛋白質が澱粉粒外膜と相互作用することが内外の研究で推察されていた。本研究により、これがプロテアーゼの作用を受けても維持され、遠心した際には不溶成分として除去できる可能性が示唆された。また、糖化液上清には、原料米粉に含まれる澱粉のほとんどがブドウ糖、麦芽糖などの単糖類として回収されること、蛋白質の36%がアミノ酸として回収されることがわかった。さらに、上清に含まれるペプチドの加水分解後のアミノ酸分析により、上清には遊離のアミノ酸とペプチドを併せ、もとの蛋白質の63%が回収されることがわかった。本報は極低蛋白質・低アレルギーでアミノ酸、糖類に富む食品原料を開発するための予備研究に位置づけられる(図2)。

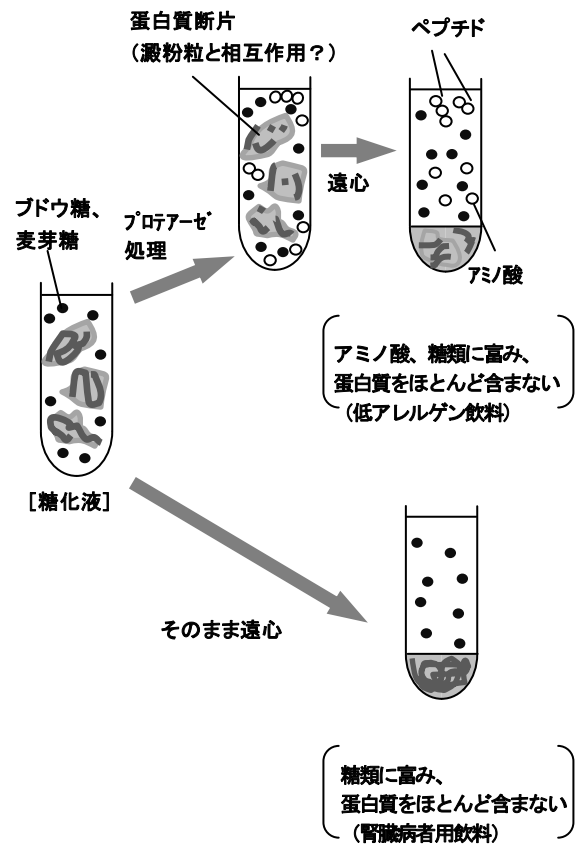


図2. 模式図: 糖化液からのアミノ酸、糖類の回収
(文献(5)より引用)

米を原料とした場合には、上清画分に、トリプトファン、スレオニン、リジン、バリン、メチオニン、ロイシン、フェニルアラニン、イソロイシン、ヒスチジンなどの必須アミノ酸がバランス良く、それぞれ理論値の3~5割程度の高収率で回収されることが示された。一方、ダイズ、コムギ、ソバなどを原料として糊化後のアミラーゼ/プロテアーゼ処理を行った場合には、遠心後の上清を二次元電気泳動で解析するとアレルゲンや蛋白質が顕著に低減するものの、糖、アミノ酸の回収率は米には及ばないことが明らかになった。そこで、現在のところは原料に米を用いるのが適切と考えられる。

(2) 米粉生地の変更

上記(1)の結果から、米粉に含まれる澱粉が糊化する際には、澱粉粒と澱粉粒近傍の蛋白質との相互作用が起こることが示唆された。また、この蛋白質は分子間ジスルフィド結合により高分子化していることが推定されていた。Purdue大学のHamaker教授は、この相互作用が、澱粉分子が吸水する際のバリアとして働くことを報告している。本研究ではこの理論と関連し、米粉生地にグルタチオン分子を添加するとバリア内のジスルフィド結合が切断され、米粉生地の性質が変化することを明らかにした。すなわち、グルタチオンを添加した米粉生地にドライイーストを添加して発酵させるとガスの保持力が高まり、グルテンなしでもパンが膨らむことがわかった(図3)。グルタチオンは動・植物、微生物のほとんど全ての細胞に含まれる天然ペプチドで、食品や医薬品として利用されている(図4)。本研究により新しいグルテンフリーパンの製造基盤技術が開発された。

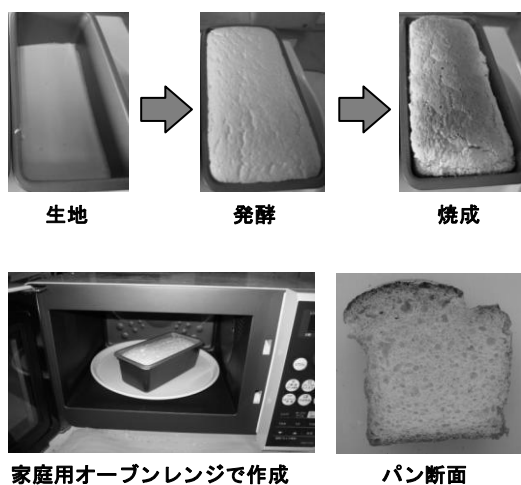


図3. グルタチオン米粉パンの製造各工程とパンの断面図(論文(6)より引用)

5. 結論

以上のように、本研究により米粉加工品の低蛋白・アレルゲン化や米粉生地の物性制御に関する新しい研究成果が得られたことから、米粉を原料とした新規食品の開発・実用化および米粉の需要拡大への貢献が期待される。

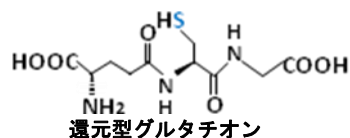


図4. 還元型、酸化型グルタチオンの構造比較
還元型2分子が分子間ジスルフィド結合により結合したものが酸化型である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

(1) Yano H. Further studies on the protein chemistry and property of glutathione-added rice bread. JARQ-Japan Agricultural Research Quarterly. 査読有、印刷中

(2) 矢野裕之. グルテンフリー米粉パンの開発研究. 農業および園芸. 査読なし、Vol. 88, 2013, 534-539.

(3) Yano H. D Comparison of oxidized and reduced glutathione in the bread-making qualities of rice batter. Journal of Food Science. 査読有、Vol. 77, 2012, C182-188. DOI:10.1111/j.1750-3841.2011.02556.x

(4) Kawakami T and Yano H. Disulfide proteomics: Current status in thioredoxin biochemistry and industrial research. JARQ-Japan Agricultural Research Quarterly. 査読有、Vol. 46, 2012, 277-285. <http://www.jircas.affrc.go.jp/english/publication/jarq/46-4/46-04-01.pdf>

(5) 矢野裕之、竹内正彦、加藤(江森)澄恵、我妻義則、田口計哉、岡澤由晃、西澤賢一、黒田秧。澱粉の糊化と酵素処理が米蛋白質の溶解性に与える影響。食品総合研究所研究報告。査読有、Vol. 76, 2012, 1-7. http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/76_hokoku_p01-07.pdf

(6) 矢野裕之、竹内正彦、加藤(江森)澄恵、我妻義則、佐藤里絵、田口計哉、岡澤由晃、西澤賢一、黒田秧。米澱粉の糊化における蛋白質の溶解性変化に関する解析。食品総合研究所研究報告。査読有、Vol. 75, 2011, 1-8. http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/75_hokoku_p001-008.pdf

〔学会発表〕(計6件)

①矢野裕之。澱粉の特性を活かしたグルテンフリー米粉パンの新規製造技術の開発。第60回日本応用糖質科学会中部支部総会・講演会。平成24年1月27日開催。於：愛知県産業労働センター(ウインクあいち)。

②矢野裕之。小麦粉・グルテンなしで米粉生地を膨らませる食品加工技術。TXテクノロジー・ショーケース in つくば2012(財団法人茨城県科学技術振興財団つくばサイエンス・アカデミー)。平成24年1月13日開催。於：つくば国際会議場。

③矢野裕之。グルタチオンを利用したグルテンフリー米粉パンの開発について。第56回山形大学国際事業化研究センター談話会(山形大学工学部)。平成23年12月13日開催。於：山形大学工学部国際事業化研究センターセミナーホール(秦ホール)。

④矢野裕之。低塩・減塩食品開発の実際 減塩でパンを作る。おいしい低塩・減塩食品を求めて(サイエンスフォーラム)。平成23年10月20日開催。於：飯田橋レインボービル。

⑤矢野裕之。グルタチオンを利用したグルテンフリー米粉パンの新しい製造技術の開発 ifia JAPAN 2011(食品化学新聞社)。平成23年5月19日開催。於：東京国際展示場。

⑥矢野裕之。グルテンを含まない米粉100%パンの製造技術の開発。第11回食物アレルギー研究会。平成23年2月19日開催。於：昭和大学上條講堂。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢野 裕之 (YANO HIROYUKI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・食品素材科学研究領域・上席研究員

研究者番号：20355580