

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：32415

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500952

研究課題名(和文) 栄養成分や機能性成分を付加したグルテンフリー米粉パンの製造

研究課題名(英文) Production of gluten free rice flour bread to which nutrients and functional ingredients are added

研究代表者

小谷 スミ子 (ODANI, Sumiko)

十文字学園女子大学・研究所・客員研究員

研究者番号：60018653

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ロール製粉による玄米粉は、酵素処理製粉による白米粉より製パン性が劣った。これは玄米粉の平均粒径、澱粉損傷率、吸水率が高いことによる。玄米粉に含まれる機能性成分のγ-アミノ酪酸(GABA)は、玄米粉パン製造過程の一次発酵後には3.4倍に達した。しかし二次発酵後と焼成後には減少し2.2倍に留まった。イーストの作用と加熱による褐変反応(アミノカルボニル反応)がGABA減少の要因となっていることが示唆された。生地のパHや発酵温度、焼成時間等の製パン法を改良することで、さらにGABA含量を高めた玄米粉パンの製造が可能と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Bread-making quality of the brown rice powder produced by the roll milling method was inferior to that of the white rice flour produced by the enzyme processing-milling method. This was because the average grain diameter, the starchy damage level and the water absorption coefficient of the brown rice powder were higher than those of the white rice flour. The amounts of γ-aminobutylic acid (GABA) which is one of the functional ingredients of brown rice were increased at 3.4 times after the first fermentation process. But that decreased at 2.2 times after the secondary fermentation and the baking process. It is suggested that the decrease of GABA was caused by the yeast work and the browning reaction (amino-carbonyl reaction) by baking bread. It will possible to produce the GABA rich brown rice bread by improving the bread-making conditions such as the dough's pH, the fermentation temperature and the baking time.

研究分野：家政学

キーワード：グルテンフリー 米粉パン 玄米粉パン HPMC 流動特性 抗酸化性 フィチン酸 γ-アミノ酪酸(GABA)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らはこれまでに、小麦、卵、牛乳のアレルゲンを含まない 100%米粉パン（グルテンフリー米粉パン）の製造方法を確立させており、おいしさや保存性について検討してきた。増粘多糖としてメトローズを用いた米粉パンはもちもち感やしっとり感があり、米の甘味が感じられ、腹持ちが良いなどの特徴を有している。米粉の原料となる米については、玄米は白米に比べてビタミンやミネラルを多く含む他、血圧降下作用や神経鎮静作用をもつ γ -アミノ酪酸、フィチン酸、フェルラ酸などの抗酸化性成分を含むことがわかっている。これらの成分は特に米糠に豊富に含まれる。フィチン酸は、これまではミネラルの吸収を阻害する抗栄養因子とされていたが、近年はフィチン酸の持つ強いキレート作用による抗酸化作用や抗癌作用、抗脂肪肝作用などの効用が示され、米糠の利用向上に繋がることが期待されている。

2. 研究の目的

(1) 増粘多糖としてメトローズを用いたグルテンフリー米粉パン生地は小麦粉パン生地とは異なり流動性のあるバター状態となる。またパン生地はパンの品質に深く関連していることも知られている。そこで、グルテンフリー米粉パン生地の基礎的データを得るために、メトローズとしてヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) 2 種とメチルセルロース (MC) 1 種を選び、それらを添加した米粉パン生地の流動特性を明らかにすることを目的とした。

(2) グルテンフリー米粉パンの製造において、白米粉に玄米粉および米糠を添加することで栄養価や機能性を強化した高付加価値米粉パンの製造が期待できる。そこで本研究では、玄米粉および米糠の機能性を評価するとともに、玄米粉の添加割合が異なる米粉パンの抗酸化性を評価すること、米糠添加米粉パンの製造過程におけるフィチン酸量の変化について明らかにすることを目的とした。

(3) 玄米は白米に比べ栄養成分や機能性成分を豊富に含む。特に玄米の胚芽には、抑制性神経伝達物質であり、抗高血圧作用や抗ストレス効果が報告されている γ -アミノ酪酸 (GABA) を生成するグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) が含まれるため、玄米の利用により GABA を豊富に含むグルテンフリー米粉パンの製造が可能であると考えられる。そこで本研究では、増粘多糖としてヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を用いたグルテンフリー玄米粉パンの製造方法を検討し、その製造過程における GABA の含量の変化を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 試料

白米粉は H23 年新潟県産コシヒカリ DK タイプ (新潟製粉㈱)、玄米粉は H23 年新潟県産コシヒカリ (㈱新生バイオにて製粉)、米糠 (生・焙煎) は (株)タイナイ製を使用した。流動特性測定においては、増粘多糖のメチルセルロース (MC): メトローズ MCE-4000 (MCE) とヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC): メトローズ SFE-4000 (SFE) とメトローズ NE-4000 (NE) (信越化学工業㈱) を用いた。白米粉パンおよび玄米粉パン製造においては、増粘多糖としてメトローズ SFE-4000 (信越化学工業㈱) を、ドライイーストは日清スーパーカメラ (日清フーズ㈱)、その他の材料は市販品を用いた。



メトローズの種類	ヒドロキシメチルセルロース (HPMC)		メチルセルロース (MC)
	SFE-4000	NE-4000	MCE-4000
化学構造		メトキシ基 (-OCH ₃) + ヒドロキシプロピル基 (-OCH ₂ CHOHCH ₂)	
置換度	メトキシ基=27.0~30.0% ヒドロキシプロピル基=4~7.0%	メトキシ基=19.0~24.0% ヒドロキシプロピル基=4~12%	メトキシ基=25.0~33.0%

図1 メトローズの種類別による化学構造と置換度の違い

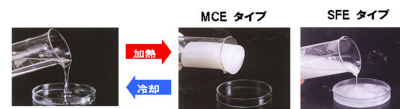


図2 メトローズの性質: 可逆的熱ゲル化性

メトローズを米粉パンに用いる利点

- ・生地は弾力を与え、米粉パン製造に均一で強固なガス空間を形成する。
- ・軽くてふっくらとした製品に仕上がる
- ・食べる時には、流動性が復活し、ゲル状の硬い食感を感じない

(2) 流動特性の測定

試料の調製

メトローズ水溶液は、熱水に溶解後、冷却してゾル化した。米粉メトローズバターは、米粉とメトローズに水を加えハンドミキサーで攪拌し、泡切りした。

粘度の測定

試料調製直後に、E型粘度計 (TV-22、東機産業㈱、SPP ローター: 半径 14mm) を用い、ローターの回転数を階段状に上昇下降させて指針示度 (%) を自動記録した (20)。

流動特性の解析

粘度測定で得られた粘度計指示値 (%) および回転数 N (rpm) より式: $S = k_1 \cdot N$ 、 $D = k_2 \cdot N$ 、 $D = k_2 \cdot \frac{S}{t}$ を用いて、ずり速度 D (s⁻¹) とずり応力 S (Pa) を算出し流動特性を解析した (k_1 : ずり応力係数、 k_2 : ずり速度係数)。流動曲線 (S-D) のヒステリシスループの面積からチキソトロピー特性値 Th を、粘度曲線 (S-D) からベキ法則の定数 (非ニュートン粘性係数 μ と非ニュートン粘性指数 n) を、Casson プロット (S-D) から Casson 降伏値 Sc を求めた。データの解析はマイクロソフト・エクセルおよび流動解析ソフト (VA550、東機産業㈱) を用いて行

った。

(3) 玄米粉パンの製造

白米粉パンで確立された製造条件をもとに、玄米粉パンの製造条件(加水量、HPMC濃度、発酵時間と焼成時間)を検討した。

材料配合割合

表1の材料配合割合をもとに、米粉として白米粉に対して玄米粉を0、25、50、75、100%添加した玄米粉パン(BRF0、BRF25、BRF50、BRF75、BRF100)を製造した。また、白米粉に対して、米糠(生・焙煎)を10%添加した米糠添加米粉パンを製造した。

表1 米粉パンの材料と配合割合

材 料	分量 g (%)
米 粉	250 (100)
食 塩	5 (2)
上白糖	20 (8)
ドライイースト	3.75 (1.5)
HPMC	2 (0.8)
温湯	225 (90)
オリーブオイル	12.5 (5)

製造方法

材料をボールに入れ、ハンドミキサーで攪拌し、25 で 50 分間一次発酵させた。これをさらに攪拌し、一斤用食パン焼型に入れ、37、湿度90%で50分間二次発酵させた後、180 のオープンで45分間焼成した。

(4) 比容積の測定

重量、体積(菜種法)より比容積を求めた。

(5) 水分含量の測定

常圧加熱乾燥法(105)により測定した。

(6) 色調の測定

内相部について、色彩色差計 CR-200b(ミノルタカメラ株)を用いて L*a*b'値を測定した。

(7) 抗酸化性の測定

米粉および米粉パンの凍結乾燥粉末を90%メタノール溶液にて抽出し、DPPHラジカル捕捉活性(DPPH比色法)、ORAC値(ORAC法)、総ポリフェノール量(Folin-Ciocalteu法)を測定した。

(8) フィチン酸量の測定

米糠添加米粉パンの製造過程において、材料の混合後、1次発酵後、2次発酵後のパン生地及び焼成後の米粉パンを凍結乾燥し、粉末状にしたものについて Graf らの方法により測定した。

(9) フィターゼ活性の測定

米糠(生)、米糠(焙煎)、ドライイーストに20mM酢酸緩衝液(pH5.5)を加えて調製した粗酵素液について、中村変法で遊離した無機リンを定量し、活性を求めた。

(10) GABA量の測定

試料を凍結乾燥後、80%エタノールで抽出し、イオンペア試薬としてSDSを用いた逆相HPLCにより定量した。

4. 研究成果

(1) 流動特性

ずり履歴

ずり履歴測定生データではメトロースの特徴的な挙動が見られた(図3a、3b)。すなわち、a.ロータの回転を階段状に上昇させると、各段階における粘度が低下し、下降させると粘度が上昇する特異な挙動を示した。b.メトロース濃度の上昇に伴い粘度が大きく増大した。c.米粉メトロースバター(図3b)の粘度はメトロース水溶液(図3a)に比べ大幅に高まった。d.メトロース水溶液および米粉メトロースバターの粘度は MCE > NE > SFE の順であった。

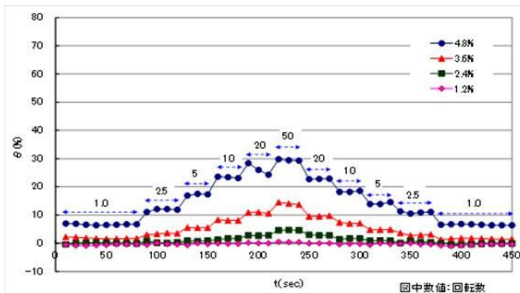


図3a メトロース水溶液(SFE-4000)のずり履歴測定生データ

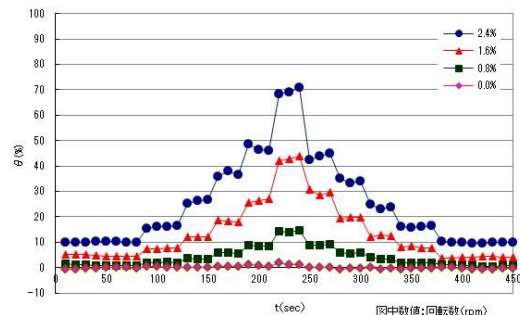


図3b 米粉メトロースバター(SFE-4000)のずり履歴測定生データ

流動曲線(ヒステリシスループ)

メトロース水溶液および米粉メトロースバターは、降伏値を持った塑性流動を示し、上昇曲線(実線)と下降曲線(破線)の間でヒステリシスループを描いた(図4a、4b)。ずりを加えると、ずり速度の増加と共にメトロースの網目構造の破壊が進み、復元するのに時間を要するチキソトロピー的挙動をとるものと考えられる。ずり応力は、MCE > NE > SFE の順で高値となった。

米粉メトロースバターでは、チキソトロピー的挙動のほか、下降曲線が上昇曲線より高いずり応力を示す逆チキソトロピー的挙動(レオペクシー)も観察された。このよう

な現象は、食品では馬鈴薯デンプン糊液やガム類溶液に見られるのみで、ほとんど例がない。

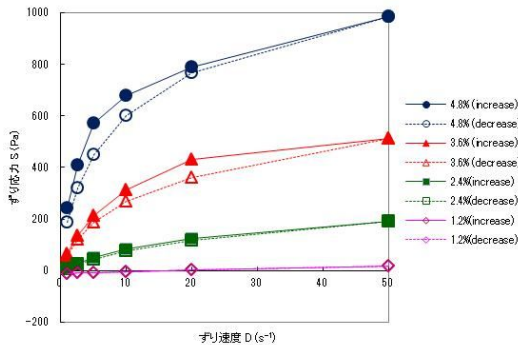


図 4a メトロース水溶液 (SFE-4000) の流動曲線

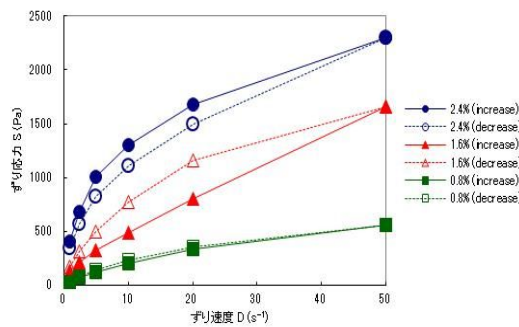


図 4b 米粉メトロースバター (SFE-4000) の流動曲線

流動特性を示すパラメータ

a. チキソトロピー特性値 (Th)

一般的に Th 値が大きいほど試料の構造破壊の回復が遅いことを意味する。Th 値は、MCE > NE > SFE の順で高値となった。メトロース水溶液は濃度の上昇と共に Th 値が上昇したが、米粉メトロースバターは、1.6%が最も高く、2.4%で低下する傾向であった。

b. ベキ法則の定数 (粘性係数 μ ・流動性指数 n)

粘性係数 μ は、ずり速度 D (s^{-1}) のときのみかけの粘度に相当し、流動性指数 n は、ずり速度による流動しやすさのパラメータである。粘度 とずり速度 D を両対数グラフで示し、直線関係が認められた低ずり速度エリアと高ずり速度エリアにおいて、 $\mu = k \cdot D^{n-1}$ ($\log \mu = \log k + (n-1) \log D$) が適用できることから、ベキ法則の定数 μ および n を求めた。

メトロース水溶液および米粉メトロースバターは、濃度の上昇とともに μ 値が上昇し n 値が下降した。すなわち濃度の上昇とともに構造が壊れ、粘性が高まり流動性が小さくなることが示された。また米粉メトロースバターは、メトロース濃度が低くても構造破壊が大きいことが示された。

c. Casson 降伏値 (Sc)

降伏値は一般に粘稠性のある物質の保形

性に関係し、食べもののおいしさを評価する上で大切な値である。たとえば、マヨネーズをサラダなどにかけたときの星形を保つ状態、あんかけやソース類を野菜や魚肉にかけた時の流れ去らず一定の厚さを保っている状態、和え物のまつわりつきやすさなどゾル状食品に要求されるレオロジー的性質を示す。メトロース水溶液の Sc は、添加濃度の上昇により急激に増加する傾向が認められた。上昇曲線では SFE が最も高い値を示したが、下降曲線では MCE が最大となった

米粉メトロースバターの Sc は、メトロース水溶液よりはるかに高い値を示し、濃度の増加に伴い急激に増大することが明らかとなった。

以上、メトロース水溶液および米粉メトロースバターの流動特性に変化が見られたことは非常に興味深い結果である。この変化はメトロースの構造によるところが大きいと米粉とメトロースの相互作用も大きく関与しているものと考えられる。

(2) 白米粉、玄米粉の性状

玄米粉の粒度分布、澱粉損傷度、吸水率
玄米粉パンの製造条件の検討に先立ち、米粉の特性を把握するために白米粉と玄米粉の粒度分布、澱粉損傷度、吸水率を調べた。使用した玄米粉の平均粒径は $68.4 \mu m$ であり、白米粉の $43.8 \mu m$ より大きかった。また、ロール製粉法により調製した玄米粉の澱粉損傷度は 14.5% と、酵素処理製粉法で調製した白米粉の 2.4% に比べ非常に大きく、製粉方法の違いが大きく影響していると考えられた。さらに、玄米粉の吸水率は 103.0% と白米粉の 90.6% より大きく、澱粉損傷度が大きな玄米粉には露出した糖鎖が多いため吸水率も大きいと推測された。

白米粉・玄米粉の抗酸化性

米粉の抗酸化性について、DPPH ラジカル捕捉活性、ORAC 値、総ポリフェノール量の測定結果を表 2 に示す。米粉の抗酸化性は玄米粉の方が白米粉より有意に高く、DPPH ラジカル捕捉活性は約 40 倍、ORAC 値は約 10 倍、総ポリフェノール量は約 22 倍であった。

表 2 米粉の抗酸化性

試料	DPPHラジカル捕捉活性 (μmol Trolox eq./100g)	ORAC値 (μmol Trolox eq./100g)	総ポリフェノール量 (μmol GA eq./100g)
白米粉	3.8 ± 1.7	120.5 ± 8.0	10.3 ± 0.7
玄米粉	152.2 ± 7.6	1227.6 ± 71.9	224.3 ± 9.9

(3) 玄米粉添加米粉パンの性状と抗酸化性

玄米粉の添加割合の異なる米粉パンの外観 (内相の様子) を図 5 に示す。また、重量、重量減少率、体積、比容積および水分含量を表 3 に、内相部の色調を表 4 に示す。玄米粉を添加した場合、その添加割合が高いほど米粉パンの比容積は有意に低下した ($p < 0.01$)。

内相部の色調については、明度 L^* 値は BRF0 で最も高く、玄米粉の添加割合が高くなるほど b^* 値が高くなり、黄味が強くなった。



図5 米粉パンの外観

表3 米粉パンの重量、重量減少率、体積、比容積、および水分含量

試料	重量 (g)	重量減少率 (%)	体積 (mL)	比容積 (mL/g)	水分含量 (%)
BRF0	406.4 ± 19.7	21.1 ± 3.8	1390 ± 98	3.4 ± 0.2	47.4 ± 0.8
BRF25	419.3 ± 9.4	18.6 ± 1.8	1185 ± 103	2.8 ± 0.2	47.3 ± 0.7
BRF50	434.5 ± 12.1	15.7 ± 2.4	908 ± 97	2.1 ± 0.2	47.2 ± 0.8
BRF75	428.6 ± 3.9	16.8 ± 0.8	572 ± 53	1.3 ± 0.1	46.8 ± 0.2

表4 米粉パンの内相部の色調

試料	L^*	a^*	b^*
BRF0	79.2 ± 1.3	-1.9 ± 0.2	5.3 ± 0.9
BRF25	76.9 ± 0.6	-2.2 ± 0.1	9.2 ± 0.5
BRF50	75.5 ± 1.8	-2.0 ± 0.2	13.5 ± 1.1
BRF75	74.3 ± 0.4	-1.3 ± 0.1	17.6 ± 0.5

米粉パンの抗酸化性は、BRF75 > BRF50 > BRF25 > BRF0 の順に有意に高くなった (表5)。前述の結果からも白米粉と玄米粉の抗酸化性の相違は明らかであり、白米粉および玄米粉を使用して米粉パンを製造した場合にもその添加量の影響が顕著に表れた。特に、DPPH ラジカル捕捉活性と ORAC 値において、玄米粉添加割合と米粉パンの抗酸化性に相関がみられた。しかし、玄米粉の添加割合が高いほど膨らみが悪くなるため、製造方法の検討が必要である。

表5 米粉パンの抗酸化性

試料	総ポリフェノール量 ($\mu\text{mol GA eq./100g fw}$)	DPPH 捕捉活性 ($\mu\text{mol Trolox eq./100g fw}$)	ORAC 値 ($\mu\text{mol Trolox eq./100g fw}$)
BRF0	13.7 ± 1.1	6.5 ± 0.1	N.D.
BRF25	20.2 ± 2.2	11.3 ± 2.7	110.5 ± 9.7
BRF50	35.7 ± 8.6	20.1 ± 3.0	204.5 ± 26.3
BRF75	41.9 ± 2.5	29.0 ± 3.6	328.3 ± 50.4

(4) 米糠添加米粉パンのフィチン酸量

焼成した2種類の米糠添加米粉パン(生10%、焙煎10%添加)はいずれも膨らみが悪く、比容積は一般的な小麦パン約5.0、白米粉パン約3.5に対して、生10%添加米粉パンは約1.9、焙煎10%添加米粉パンは約2.0であった。

製造過程において、フィチン酸量は生10%添加では2次発酵後から、焙煎10%添加では1次発酵後から減少がみられた(図6)。焼成後においては混合後に比べて生は約40%、焙煎は約30%のフィチン酸が減少した。特に、生10%添加は焼成によるフィチン酸の著しい減少がみられた。

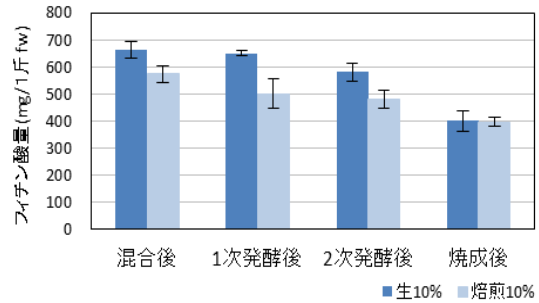


図6 米糠添加米粉パンのフィチン酸量

(5) フィターゼ活性

米糠(生・焙煎)およびドライイーストのフィターゼ活性を測定したところ、米糠はドライイーストよりもやや高い活性を示した(表6)。米糠(生)を180℃で1時間焙煎した際にはフィチン酸はほとんど減少しないことから、米糠添加米粉パンの製造過程におけるフィチン酸量の変化は米糠およびドライイーストに含まれるフィターゼの影響によるものと推察される。今後はフィチン酸量を高く保持した膨らみの良い米粉パンにするために、発酵温度や焼成時間等を検討する必要がある。

表6 フィターゼ活性

試料	フィターゼ活性 (units/mL)
米糠(生)	2.41 ± 0.04
米糠(焙煎)	2.39 ± 0.01
ドライイースト	2.24 ± 0.02

(6) 玄米粉パン製造過程における GABA 含量の変化

玄米粉パンの原材料に17.7 mg含まれていた GABA は、水を加えて攪拌することで急速に増加し、一次発酵後では3.4倍の60.1 mgに達した(図7)。しかし、二次発酵および焼成により減少し、焼成したパンにおける含量は原材料の2.2倍の38.4 mgにとどまった。しかし、その量は白米粉パンより8.7倍も多かった。GADによるGABA生成の基質であるグルタミン酸も合わせて分析したところ、製パン過程を通じ58~110 mgと豊富に含まれており、その枯渇がGABA生成の律速因子でないことがわかった。

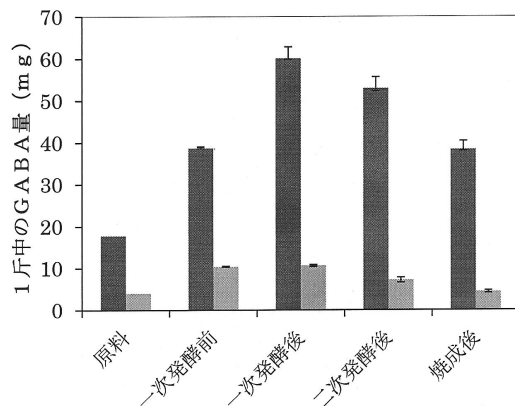


図7 製パン過程における GABA 含量の変化
黒：玄米粉パン、灰：白米粉パン

二次発酵における GABA の減少の要因を明らかにするため、イーストを加えずに製パン過程での GABA 含量の変化を調べたところ、二次発酵工程で GABA は減少せず、逆に増加した。このことから、イーストが GABA を減少させる要因であることがわかった。また、焼成時の GABA の減少は、加熱により生じる褐変反応（アミノカルボニル反応）で GABA が消費されることに起因すると考え、焼成時間の影響を調べた。その結果、焼成時間が短いと GABA の減少は少なく、また褐変部位であるパンの外相と褐変が少ない内相では内相の GABA 含量が多かった。これらのことから、加熱による褐変反応が焼成時の GABA の減少の要因であることが示唆された。

玄米粉による GABA 生成の最適条件を明らかにするため pH と温度の影響を調べた。その結果、パン生地の pH より低い pH 5.5、発酵温度より高い 40 で GABA の生成は最大となった。これらは米の胚芽や糠で報告されている GAD の最適条件と一致しており、生地の pH や発酵温度等の製パン法の改良により、さらに GABA 含量を高めた玄米粉パンの製造が可能と考えられた。

引用文献

Zhang, H., Yao, H-Y., Chen, F., Wang, X., Food Chem., 101, 1670-1676 (2007)

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 6 件)

高木桜子、橋詰杏奈、藤澤未恵子、原崇、城斗志夫、玄米米粉を利用した米粉パンの製造過程における γ -アミノ酪酸含量の変化、日本食品科学工学会第 61 回大会、2014 年 8 月 29 日、中村学園大学(福岡県福岡市)

山口智子、小谷スミ子、米糠添加米粉パンの抗酸化性とフィチン酸含量、日本家政学会第 66 回大会、2014 年 5 月 25 日、北九州国際会議場(福岡県北九州市)

小谷スミ子、山口智子、グルテンフリー米粉パン生地の流動特性に及ぼす HPMC および および MC 添加の影響、日本食品科学工学会第 60 回大会、2013 年 8 月 30 日、実践女子大学(東京都日野市)

山口智子、小谷スミ子、玄米粉パンの抗酸化性の評価、日本家政学会第 65 回大会、2013 年 5 月 19 日、昭和女子大学(東京都世田谷区)

小谷スミ子、山口智子、HPMC および MC 添加グルテンフリー米粉パン生地の流動特性、日本家政学会第 65 回大会、2013 年 5 月 19 日、昭和女子大学(東京都世田谷区)

山口智子、市村友香、小谷スミ子、米粉パンのテクスチャーと食味特性に対する玄

米粉添加の影響、日本調理科学会平成 24 年度大会、2012 年 8 月 24 日、秋田大学(秋田県秋田市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小谷 スミ子 (ODANI, Sumiko)
十文字学園女子大学・研究所・客員研究員
研究者番号：60018653

(2) 研究分担者

城 斗志夫 (JOH, Toshio)
新潟大学・自然科学系・准教授
研究者番号：00251794

(3) 研究分担者

山口 智子 (YAMAGUCHI, Tomoko)
新潟大学・人文社会・教育科学系・准教授
研究者番号：70324960