

β-コングリシニンおよびホスファチジルコリンの ドウ成分との相互作用の解明に関する研究

裏出 令子*

京都大学大学院農学研究科

Interactions of β-Conglycinin and Phosphatidylcholine with Dough Components

Reiko URADE

Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Uji 611-0011

ABSTRACT

Soy protein, β-conglycinin is known to decrease plasma triacylglycerol and cholesterol levels in humans. Since these effects of β-conglycinin are transient, it is necessary to take it daily to keep in good health. Bread is a convenient vehicle for introducing β-conglycinin into the daily diet. However, β-conglycinin decreases the loaf volume of bread. Therefore, strategies to overcome this adverse effect should be developed. When soy phosphatidylcholine (PC) was added to the ingredients including β-conglycinin, the adverse effect of this protein on the loaf volume was shown to be counteracted. This study was carried out to elucidate the mechanism of this improving effect of PC on bread-making. By confocal microscopy, PC was shown to associate with gluten in dough. The effects of PC on the volume of dough prepared with de-lipidated wheat flour were determined. The addition of PC showed improving effect on the volume of dough with or without β-conglycinin. This effect reached a plateau when soy PC was supplemented at 4% of wheat flour weight. However, when PC was supplemented in combination with wheat lipids, a synergistic increase in dough volume was obtained. These results suggest that PC acts in two ways, dependent or independent, on wheat lipids in dough. PC showed different effects depending on the PC molecular species. *Soy Protein Research, Japan* **7**, 52-56, 2004.

Key words: β-conglycinin, bread, dough, phosphatidylcholine, molecular species

大豆種子貯蔵たん白質の一つである β-コングリシニンにはヒトの血清中のトリグリセリドおよびコレス

テロールの値を改善し、体脂肪を減少させる効果があることが明らかにされている^{1,2)}。このような大豆由来のたん白質の生理的效果を付加したパンの開発は生活習慣病の予防と健康増進に有用であると考えられる。

*〒611-0011 宇治市五ヶ庄

しかし、小麦粉への大豆たん白質の添加はパンの物性を著しく損ないローフ容積を減少させる³⁾。昨年度の研究で、ダイズレシチンの主要リン脂質であるホスファチジルコリン (PC) にローフ容積回復効果があることを見出した⁴⁾。本研究は、PCの製パン性改善効果の分子メカニズムを解明することにより β -コングリシニンなどの大豆たん白質を添加したパンを開発することを目指して行った。

方 法

材 料

小麦粉は日清製粉のスーパーキングを、ショートニングは日本たばこ産業株式会社のブルニエファミリーを、ドライイーストはS. I Lesaffre社サフドライを用いた。分離大豆たん白質 (SPI) および β -コングリシニンは不二製油株式会社から供与を受けた。大豆PCおよび合成PCは日本油脂株式会社製を用いた。蛍光PC (β -BODIPY FL C₁₂-HPC) はMolecular Probes社から購入した。

小麦粉の脱脂

小麦粉1 kgに1.2 Lのクロロホルムを添加し3分間攪拌した後、室温で一晩放置した。濾紙での濾過によりクロロホルムを除いた小麦粉を1.2 Lクロロホルムに再懸濁し、濾過した。この操作を5回繰り返した後、小麦粉を乾燥させ開口106 μ mの篩を通した。

パンの作製

小麦粉 (200 g)、ドライイースト (4 g)、ショ糖 (10 g)、食塩 (4 g)、ショートニング (10 g)、蒸留水 (134 mL) から作製した。SPI および β -コングリシニン添加の場合は小麦粉の5%をこれらのたん白質で代替した。リン脂質は小麦粉重量に対する百分率として示した重量分を蒸留水に超音波処理で懸濁することにより添加した。材料はミキサーKN-200 (大正電気株式会社) で20分間混捏した後、一次発酵 (28℃, 40分)、ねかせ (23℃, 20分)、整形・型入れ (60 g/型)、二次発酵 (36℃, 40分) を経て180℃, 13分焼成した。ドウの体積は二次発酵後に、パンの体積は焼成後2時間冷却の後に測定した。

脱脂小麦粉を用いたドウの容積測定

脱脂小麦粉 (10 g)、ドライイースト (0.2 g)、ショ糖 (0.5 g)、食塩 (0.2 g)、蒸留水 (6.7 mL) をファリノグラフ装置のミキサーで30分間混捏し、パン作製の場合と同様の条件で一次発酵とねかせを行った。ねかせたドウ15 gを整形して100 mL容メスシリンダーの底に入れ36℃, 40分間発酵させた後、容積を読みとった。

PCおよび小麦脂質は材料の蒸留水に超音波処理により懸濁して添加した。

大豆PCの分子種分析

大豆PCの分子種組成は鬼頭らの方法^{5,6)}で分析した。

PCの相遷移温度測定

各PCは蒸留水に30%の濃度で懸濁し示差熱量測定計DSC100 (Seiko Instruments Inc) を用いて、5℃/分の昇温分析を行った。

結 果

脱脂小麦粉ドウの容積に対するPCの効果

PCのローフ容積増大効果は、ドウの物性には影響せずに発酵時の容積を増大させることから、ドウのガス保持能を改善すると考えられた。共焦点レーザ走査型蛍光顕微鏡観察により、PCはドウのグルテンネットワークと結合していることを明らかにした。グルテンネットワークには、小麦たん白質以外に脂質が含まれている。そこで、PCのローフ容積増大効果と小麦脂質との関係を明らかにするために、クロロホルム処理により小麦粉を脱脂した。これにより、非極性脂質はほぼ100%、極性脂質は90%以上が除かれた。脱脂した小麦粉の形態およびたん白質組成は脱脂前と変化がないことを、走査型電子顕微鏡観察およびSDS-PAGEにより確認した。脱脂小麦粉を用いて作製したドウの発酵後の容積は未処理小麦粉の場合と差がなかった (Fig. 1)。脱脂小麦粉ドウの容積はPCの添加により増大した。この効果はPC添加量に依存して増大し、4%以上で頭打ちになった。 β -コングリシニンの添加によりドウ容積は約25%減少したが、PCの2%以上の添加により容積が10%回復した (Fig. 2)。

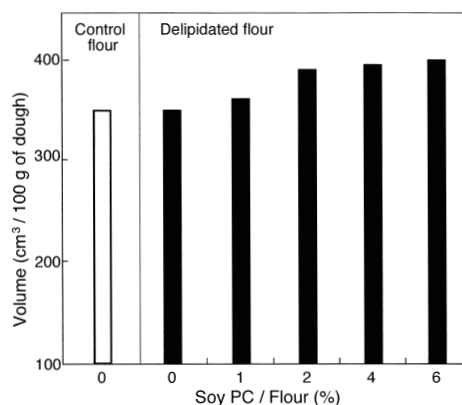


Fig. 1. Effects of soy PC on the volume of dough with delipidated flour.

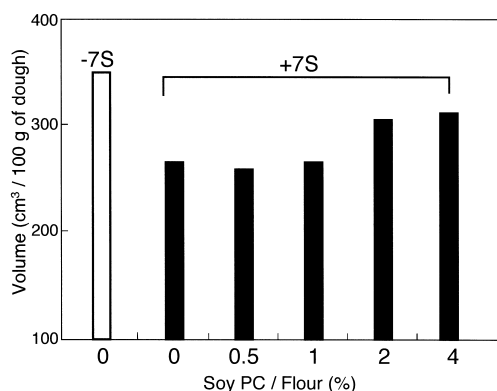


Fig. 2. Effects of soy PC on the volume of dough with delipidated flour and β -conglycinin. Dough was made in the absence or presence of soy PC and the specific volume was measured after 2nd fermentation.

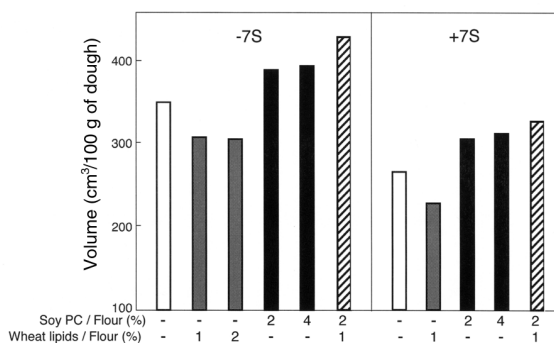


Fig. 3. Effects of soy PC and wheat flour lipids on the volume of dough with delipidated flour and β -conglycinin. Dough was made in the absence or presence of soy PC and the specific volume was measured after 2nd fermentation.

PCと小麦粉脂質との相互作用

脱脂処理により小麦粉から抽出された小麦脂質は小麦粉重量の約1%であった。脱脂小麦粉に抽出した脂質を小麦粉の2%添加してもドウ容積は増大せず、むしろ減少した (Fig. 3)。しかし、PCと抽出した小麦粉脂質を同時添加すると、PC単独添加で得られた最大の容積よりもさらに大きな容積増大効果が見られた。この効果は、 β -コングリシニンを添加した場合にも見られた。

PCの脂肪酸側鎖と製パン性改善効果

PCは、結合している2本の脂肪酸側鎖の物理的性質に依存して相遷移温度 (T_c) が異なる。大豆PCの主要分子種は2本の脂肪酸側鎖がともにリノール酸 (18:2) であるdi-18:2/18:2 PCであり、その他オレイン酸 (18:1)、パルミチン酸 (16:0)、リノレン酸 (18:3) およびステアリン酸 (18:0) を含む分子種が含まれていた (Table 1)。PCの相遷移温度とドウおよびローフ容積増大効果との関係を明らかにするために、側鎖が一種類の脂肪酸で構成されている各種化学合成PC分子種の効果を検討した。なお、大豆PCの平均相遷移温度はdi-18:2/18:2 PCとdi-18:1/18:1 PCの間の値であった (Fig. 4)。PCの相遷移温度とドウ容積増大効果との間には相関関係があった (Fig. 5)。すなわち、相遷移温度の低いPC分子種ほどドウ容積増大効果が大きかった。発酵温度 (36℃) より相遷移温度が高いdi-16:0/16:0 PCにはドウ容積増大効果がなかった。一方、ドウの焼成時に容積が減少する釜落ち率はPCの相遷移温度が低いほど大きかった (Fig. 6)。その結果、パンのローフ容積はドウ容積増大効果があり

Table 1. Molecular species composition of soy PC

Molecular species	Composition ^a (mol %)
16:0/18:1	4.1 ± 0.1
16:0/18:2	24.4 ± 1.0
16:0/18:3	2.1 ± 0.2
18:0/18:2	4.8 ± 0.1
18:1/18:1	2.7 ± 0.4
18:1/18:2	15.1 ± 0.8
18:2/18:2	35.1 ± 1.8
18:2/18:3	7.3 ± 0.9
unknown	4.4 ± 0.5

^aValues are means ± SD of 3 independent determinations.

釜落ちしないdi-14:0/14:0 PCで最も大きくなり、次いでdi-18:1/18:1 PCと大豆PCを添加したパンのローフ容積が大きくなった。di-16:0/16:0 PCは釜落ちせず、むしろ焼き伸びしたが、ドウ容積増大効果がないためパンのローフ容積を増大させる効果は他のPC分種よりも劣っていた。

考 察

本研究では、脱脂小麦粉を用いた製パンに対するPCの添加の影響を検討し、PCが小麦由来の脂質に依存せずに単独でドウ容積増大効果を発揮することを明らかにした。しかし、PC単独で見られる効果は4%以上で限界に達するが、これに小麦粉脂質を併存させるとさらに高い効果が得られることから、小麦粉脂質との相互作用により発揮される別の容積増大効果も存在することが示唆された。今後、小麦粉脂質のどの成分

とPCとの相互作用が重要であるかについて検討する予定である。通常の製パン過程では、PC単独で発揮される効果と小麦粉脂質との相互作用を介して発揮される両方の効果により、ドウ容積が増大していると考えられる。

PCのローフ容積増大効果は、PCの相遷移温度と関連していることが明らかとなった。このことは、ドウの発酵および焼成時のPCの物理的状態が重要であることを示唆している。PCは、相遷移温度以上の温度で液晶状態となり水中で安定な脂質2重層を形成するが、相遷移温度以下ではゲル状態になる。相遷移温度が発酵温度よりも高いdi-16:0/16:0 PCだけがドウの容積増大効果を示さなかったことから、PCは液晶状態

にある2重層の形でグルテンネットワークのガス保持能を高めると考えられる。また、相遷移温度が発酵温度よりも低いPC分子種は相遷移温度が低いものほど、すなわち、流動性が高いPCほどガス保持能を高める効果が高いことが示された。焼成時には温度上昇によって生じるデンプン粒のゲル化によるパン組織の固定化までのグルテンネットワークのガス保持能が釜落ち率あるいは焼き伸び率に影響する。相遷移温度が低いPC分子種ほど釜落ち率が大きいことから、焼成時には添加したPCが脂質2重層を維持できない温度にまでドウ温度が上昇するとガス保持能が失われたと考えられる。このことから、PCは2重層の形でガス保持能を高める作用を発揮することが強く示唆された。

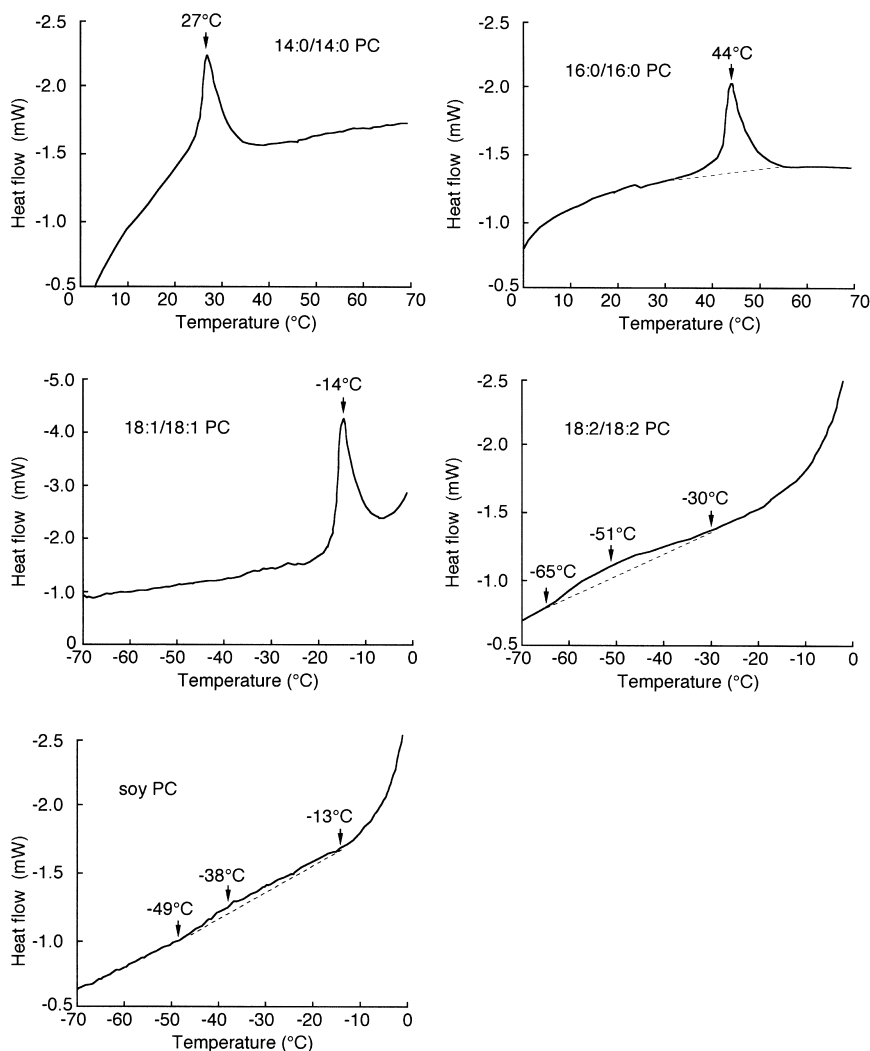


Fig. 4. DSC heating thermograms of PC molecular species. Endotherms for the gel to liquid-crystalline transitions of PC molecular species observed at a scanning rate of 5°C per min.

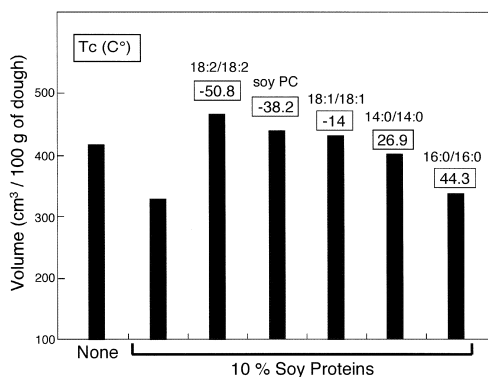


Fig. 5. Effects of a single PC molecular species on the volumes of dough containing SPI. Dough was made with or without additives. Their specific volumes were determined.

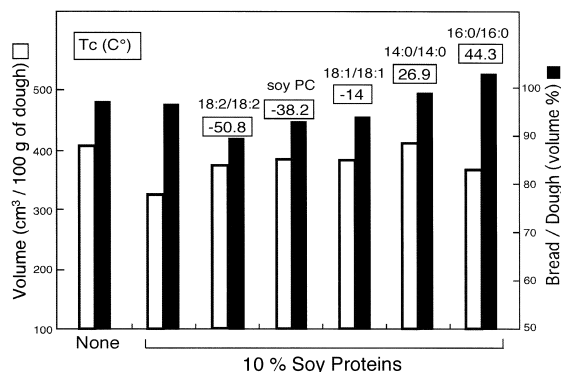


Fig. 6. Effects of a single PC molecular species on the loaf volumes of bread containing SPI. Bread was made with or without additives. Their specific volumes were determined. Ratio of bread/dough was calculated by dividing the volumes of bread by that of dough shown in Fig. 5.

要 約

本研究では、脱脂小麦粉で作製したドウの発酵後の容積に対するPCの効果を検討した。その結果、PCのドウ容積増大効果にはPC単独で発揮される効果と小麦粉脂質との相互作用により発揮される効果の2種類のメカニズムが存在することが示唆された。さらに、PCのローフ容積増大効果は脂肪酸側鎖によって異なり、ドウのガス保持能を改善する効果はPCが液晶状態にある場合に限られ、かつ流動性が高いほど高い効果を持つことが明らかとなった。

文 献

- 1) Aoyama T, Kohno M, Saito T, Fukui K, Takamatsu K, Yamamoto T, Hashimoto Y, Hirotsuka M and Kito M (2001): Reduction by phytate-reduced soybean β -conglycinin of plasma triglyceride level of young and adult rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, **65**, 1071-1075.
- 2) Kito M, Moriyama T, Kimura Y and Kambara H (1993): Changes in plasma lipid levels in young healthy volunteers by adding an extruder-cooked soy protein to conventional meals. *Biosci Biotechnol Biochem*, **57**, 354-355.
- 3) Mizrahi S, Zimmermann G, Berk Z and Cogan U (1967): The use of isolated soybean proteins in bread. *Cereal Chem*, **44**, 193-203.
- 4) Urade R, Okamoto S, Yagi T, Moriyama T, Ogawa T and Kito M (2003): Functions of soy phosphatidylcholine in dough and bread with soy protein. *J Food Sci*, **68**, 1276-1282.
- 5) Kito M, Takamura H, Narita H and Urade R (1985): A sensitive method for quantitative analysis of phospholipid molecular species by high-performance liquid chromatography. *J Biochem*, **98**, 327-331.
- 6) Takamura H, Narita H, Urade R and Kito M (1986): Quantitative analysis of polyenoic phospholipid molecular species by high performance liquid chromatography. *Lipids*, **21**, 356-361.