

米麴を使用したグルテンフリー米粉パンの製パン機構の解明

＜公益財団法人エリザベス・アーノルド富士財団令和5年度学術研究助成＞

仲島日出男*¹ 松本美樹*²

Research for the Baking Mechanism of Gluten-Free Rice Flour Bread Using Rice Koji

NAKAJIMA Hideo*¹, MATSUMOTO Miki*²

抄録

米麴を使用した米粉パンの生地形成プロセスを解明するため、米粉パン製造の最初の工程である米粉生地の米麴処理中の微生物解析を行うとともに、生地中の遊離アミノ酸含量、有機酸含量及び米タンパク分解物の解析を行った。米粉生地の分解処理中の乳酸菌の増加による生地pHの低下が、米粉パンの膨らみに必要となる粘性付与タンパク質の生成を促進していると考えられた。米麴及び米粉中に存在する乳酸菌がグルテンフリー米粉パンの形成に重要な役割を担っていることが強く示唆された。

キーワード：米粉パン，米麴，乳酸菌，米タンパク

1 はじめに

小麦アレルギー疾患患者数の増加や、世界的な小麦供給不安などの要因から、米粉パンへのニーズが高まっている。米粉はグルテンを含まないため、グルテンフリーのパンの製造において重要な役割を果たす¹⁾。しかし、米粉だけでは小麦粉に比べて膨らみが悪く、パンの製造には生地の粘性を向上させ、ガスを保持するための工夫が必要となる²⁾。これまで、小麦粉を使用しない米粉パンの製造には、増粘多糖類などが多く使用されてきたが、消費者の食の安全志向に応えるためには、米由来の原料のみを使用することが望ましい。

こうした背景から、我々は米麴を用いて、米粉100%のパン生地に粘性を付与する方法を開発した^{3,4)}。具体的には、米粉、米麴、水を混ぜた米粉生地をホイロで一晩発酵させる。この過程で、米麴に含まれるプロテアーゼが米粉中のタンパク質

を部分的に分解し、粘性を与えるタンパク分解物を生成する⁵⁾。さらに、発酵過程でパン酵母を加えることでガス保持力が向上し、膨らみのある米粉パンが完成する。

また、米粉生地の分解処理中には、生地のpHが低下する現象も観察されており⁴⁾、この過程で生成される粘性タンパク質に加え、酵母や乳酸菌などの微生物が複合的に作用して、最終的なパン生地の物性が向上している可能性が示唆された。本研究では、米麴を用いた米粉パンの生地形成過程における、微生物群の複合的な役割を解明することを目的とする。

2 実験方法

2.1 米粉生地試験

みたけ食品工業（株）（埼玉県）から市販されている米粉パン用の米粉を使用して一連の試験を実施した。原料米粉に対して水を100wt%、家庭用ミキサーで粉砕した市販米麴の粉末を3wt%加えて混合して米粉生地を調製した。これをインキュ

*¹ 食品プロジェクト担当

*² 食品・バイオ技術担当

表1 モデル米粉生地試験条件

試験区	米粉	加水	マイクロ波加熱	米麴
①加熱米粉	10.3g	200g	500W 3分	—
②加熱米粉+麴	10.0g	200g	500W 3分	0.3g
③非加熱米粉	10.3g	200g	—	—
④非加熱米粉+麴	10.0g	200g	—	0.3g

表2 米タンパクのHPLC分析条件

カラム	GLサイエンス Inertsil WP300 Diol (4.6 × 250 mm, 5 μm) + Inertsil Diol (4.6 × 250 mm, 5 μm)
移動相:	0.2M NaClを含む0.1Mリン酸ナトリウムバッファー (pH 6.7)
流速:	0.3mL/min
カラム温度:	35°C
注入量:	25 μL
検出波長:	214nm

ベーター内で 24 時間分解処理を行った。分解処理 15、18、24 時間後の米粉生地について、一般生菌数、酵母数及び乳酸菌数を測定した。比較として、米麴を添加しない米粉生地についても生菌数を測定した。

さらに、乳酸菌の由来を確認するために、表 1 の配合により、通常の米粉生地の 20 倍量の加水によりモデル米粉生地を調製し、インキュベーターでの分解処理後の生地 pH の変化を確認した。一部の試験区では、米粉への加水後にマイクロ波による加熱処理を行い、その後に米麴粉末を添加して米粉生地を調製し、米粉の加熱処理及び米麴添加の有無による生地 pH 変化の差異を確認した。

2.2 米タンパク分解物組成

米タンパク分解物組成については高速液体クロマトグラフ (HPLC) を使用して分析を行った⁹⁾。6.0M 尿素及び 1% ジチオトレイトールを含む 2% ドデシル硫酸ナトリウム水溶液を抽出溶媒に使用して、上記のアミノ酸・有機酸分析と同様の抽出操作を行い、得られた遠心上清について、表 2 に

示す条件により抽出タンパク質の分子量分布を測定した。

3 結果及び考察

3.1 米粉生地試験

米麴による米粉生地分解処理中の一般生菌数、酵母数、乳酸菌数及び生地 pH の変化を図 1 に示す。分解処理の進行とともに一般生菌数が増加し、18 時間経過時においてそれらは 10^9 まで増加したが、その後の変化は小さかった。生地中の酵母数については、 $10^3 \sim 10^4$ 程度で大きな変化はなかった。また、米麴を添加しない生地において、生菌数及び酵母数が米麴添加生地より少なかった。

生地 pH の低下に寄与する乳酸菌の由来をさらに確認するため、米粉の加熱処理を含めたモデル米粉生地の pH 変化を測定した (図 2)。生地に麴を添加した米粉生地②と④では、米粉の加熱処理の有無によらず分解処理 24 時間後の生地 pH が 3.8 まで低下した。これらは米麴中に存在している乳酸菌の増殖によるものと推定された。一方、麴を使用しない米粉のみの生地では、加熱処理を行った

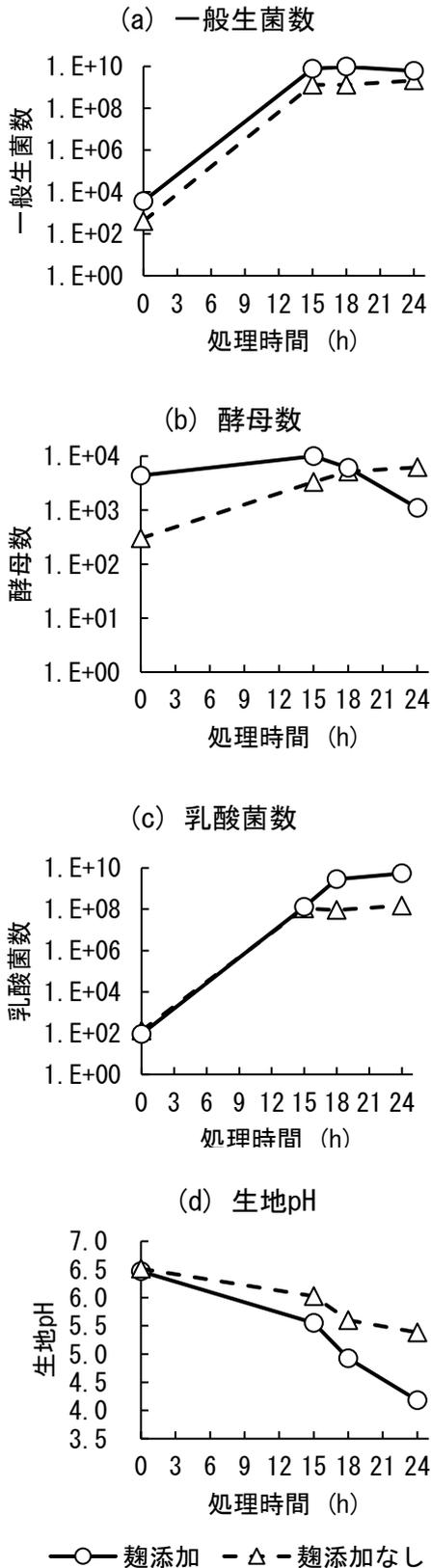


図1 米粉生地の菌数及びpH測定結果

①の生地における分解処理24時間後のpHは6.7であり、pH低下が抑制された。一方、加熱処理を行わない米粉生地③においては、米麴を添加しない

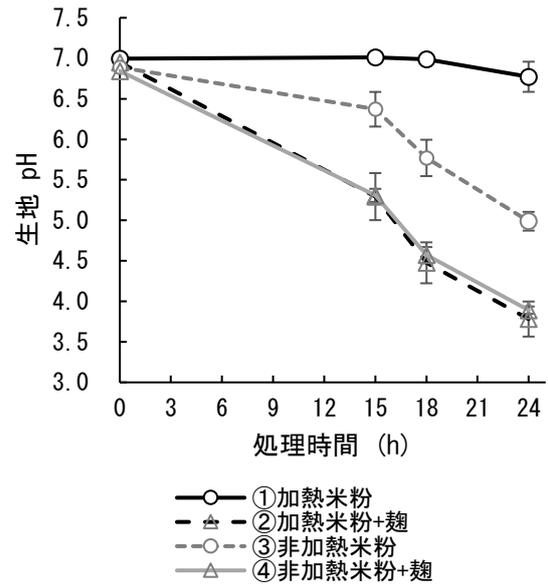


図2 モデル米粉生地のpH変化

条件においても24時間後にpHが5.0まで低下した。このように、米粉生地のpH低下は米麴だけでなく米粉由来の乳酸菌もその要因となっていると考えられた。

これらの結果から、米粉生地中においては、米粉由来及び米麴由来の乳酸菌の両者が共存しており、それらが分解処理中に増加し、生地pHを低下させていると考えられた。

3.2 米タンパク分解物組成

図3に、HPLCにより確認した米粉生地中の可溶性タンパク質の分子量分布に対応したクロマトグラムを示す。米粉生地の分解処理の進行とともに、保持時間が13分までの高分子量画分のピークが小さくなり、16分から20分までの比較的低分子量側のピークが大きくなった。分子量の大きいものからA~Dにクロマトグラムを分割し、それぞれのピーク面積を比較した(図4)。遊離アミノ酸と同様、分解処理18時間以降のピーク面積の増加が大きかった。特に分子量が10-20kDa付近に対応するCの画分のピーク面積の増加量が大きく、この分子量領域のタンパク質分解物が生地粘性に関与していると考えられた。

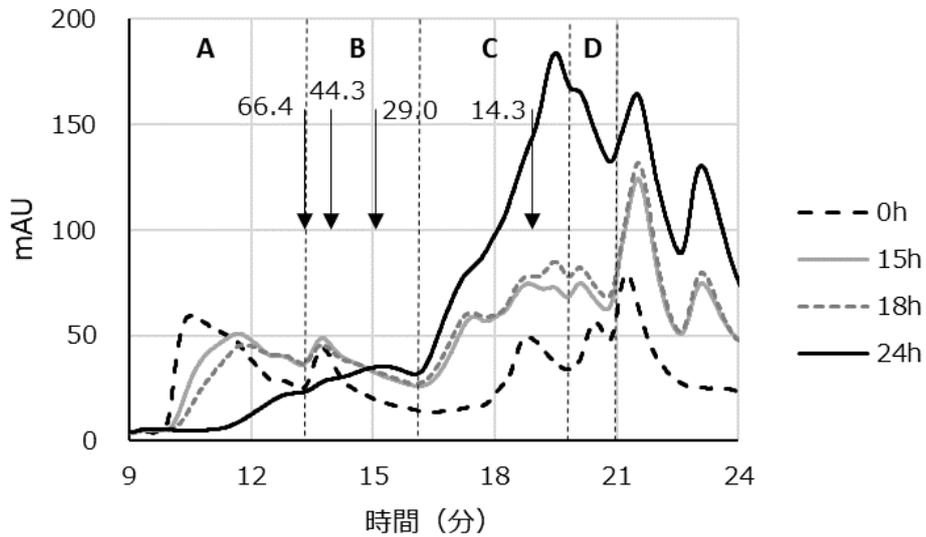


図3 米タンパク分解物のクロマトグラム

4種の分子量マーカーの溶出位置を矢印で示す（分子量単位:kDa）。
 得られたクロマトグラムを以下の4領域に分割してピーク面積を算出した。
 A: 9.0-13.2分、B: 13.2-16.5分、C: 16.5-19.8分、D: 19.8-20.8分

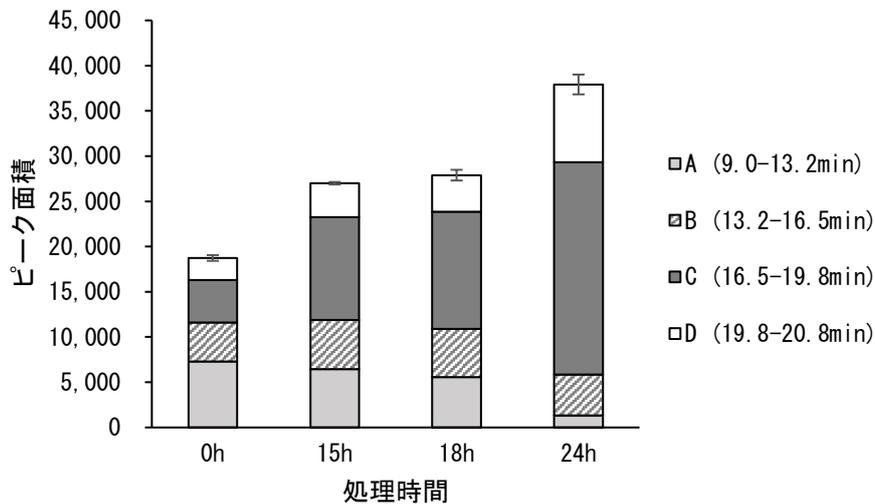


図4 米タンパク分解物のピーク面積の変化

遊離アミノ酸及び米タンパク分解物のいずれも分解処理 18 時間以降での増加量が大きかった。この要因はいずれも生地 pH の低下に伴う麴プロテアーゼの活性化であると考えられた。これらのことから、米粉パンの生地形成プロセスには、米粉生地の分解処理中の乳酸菌の増加とそれに伴う生地 pH の低下が大きな役割を果たしているといえる。生地の分解処理中に米粉及び米麴由来の乳酸菌が増殖し、これらによって生産される乳酸により生地 pH が低下する。その結果、

米麴プロテアーゼの活性化により粘性タンパク質の生成が促進され、米粉パン生地の粘性付与や発酵ガスの保持が実現される。米麴を使用したグルテンフリー米粉パンは、米麴由来の酵素だけでなく、これらの乳酸菌の働きにより製造が可能になっていることが、本研究の結果から強く示唆された。

4 まとめ

米麴を使用した米粉パンの生地形成プロセスを

解明するため、米粉パン製造の最初の工程である米粉生地での米麴処理中の微生物解析を行うとともに、生地中の遊離アミノ酸含量、有機酸含量及び米タンパク分解物の解析を行った。米粉生地の分解処理中に増殖する乳酸菌により生産される乳酸量の増加及びこれに伴う生地 pH の低下が、米粉パン生地の発酵ガス保持を実現するために必要となる粘性付与タンパク質の生成を促進していると考えられた。現在販売されている米粉パンは、米麴由来のタンパク質分解酵素だけでなく、米粉及び米麴中に存在する乳酸菌の働きにより生産が可能になっていると考えられる。日本酒の生酏造りで見られるような米麴と乳酸菌の共生系の働きが、グルテンフリー米粉パンの製造に重要な役割を担っていることが強く示唆された。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導いただきました石川県立大学の本多裕司教授に感謝の意を表します。

本研究は公益財団法人エリザベス・アーノルド富士財団令和5年度学術研究助成を受けて実施したものです。

参考文献

- 1) 大坪研一, “米の機能性食品化と新規利用技術・高度加工技術の開発”, テクノシステム, p303 (2022).
- 2) 奥西智哉, “米粉パン研究の現状とこれから”, 日本調理学会誌, vol. 48, no. 6, p385 (2015).
- 3) 仲島日出男, 海野まりえ, 原田雅典, 成澤朋之, 常見崇史, 荒木和樹, 奥西智哉, “グルテンフリー米粉パンの風味制御技術の確立”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 20, p24-28 (2022).
- 4) 仲島日出男, 海野まりえ, 原田雅典, 成澤朋之, 常見崇史, 荒木和樹, 奥西智哉, “グルテンフリー米粉パンの風味制御技術の確立 (第2報)”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告,

vol. 21, p26-30 (2023).

- 5) Honda Y., Inoue N., Kurita M. and Okunishi T., “Alpha-Glutelin Degradation and Its Hydrolysate by Protease Enhance the Specific Volume of Gluten-Free Rice Starch Bread”, *J. Cereal Sci.*, Vol. 102, p2-7 (2021).
- 6) A. Van Der Borght, G. E. Vandeputte, V. Derycke, K. Brijs, G. Daenen and J. A. Delcour, “Extractability and Chromatographic Separation of Rice Endosperm Proteins”, *J. Cereal Sci.*, Vol. 44, p68-74 (2006).