

報 文

大豆粉生地物性に対するグルタチオンの効果

早川 文代, 福井 明子, 松木 順子, 矢野 裕之*

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門
〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

Effect of glutathione on the physical properties of soy dough

Fumiyo Hayakawa, Akiko Fukui, Junko Matsuki, Hiroyuki Yano*

Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization, 2-1-12
Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

Abstract

In this research, glutathione (reduced form), a natural peptide, was shown to cleave the disulfide bonds of protein in soy flour. Also, both reduced and oxidized glutathiones were shown to have effects on the physical property of soy dough. Especially, the reduced form of glutathione made the dough soft and sticky. Sensory evaluation clarified more detailed differences in the dough property. In summary, potential applicability of glutathione on the development of soy products with various physical properties was suggested here.

Key words: Glutathione (グルタチオン), Sensory evaluation (官能評価), Soy dough (大豆粉生地)

緒 言

米, 小麦などと比較してタンパク質を多く含む大豆は「畑の肉」として日本人の食生活に重要な役割を果たしてきた。大豆タンパク質は乳化性, 起泡性, 保水性, ゲル化性など, ユニークな加工特性をもつことから,

古来より, 豆乳, 豆腐をはじめ様々な加工食品に利用されている。最近では, 大豆の摂取により血中コレステロールの低下¹⁾, 肥満の改善²⁾などの効果があることが報告されており, 食品における大豆の重要性は今後も高まることが期待される。海外では幼児が遊ぶグルテンフリー粘土として大豆生地が“Soy Yer Dough”の商品名で製品化されるなど, 食品以外の活用も進ん

* 連絡先 (Corresponding author) hyano@affrc.go.jp

でいる。

グルタチオンはグルタミン酸、システイン、グリシンの3つのアミノ酸から構成される天然ペプチドである。グルタチオンが小麦グルテンに作用し、小麦粉生地物の物性を変化させることはよく知られていた³⁾。また、我々はこれまで、グルタチオンを米粉生地に添加すると生地の性質が変化し、増粘剤を使用しなくてもグルテンフリーパンを製造できることを報告してきた^{4,5)}。グルタチオンは食品素材に含まれるタンパク質に作用して原料の物性を変化させ、食品の加工特性に影響することから、今後も様々な食品への応用が期待される。大豆を原料とした食品素材の物性が制御できれば、大豆の利用価値をさらに高めることができるであろう。そこで本研究では、その端緒としてグルタチオンを大豆粉生地に添加し、タンパク質構造や物性に变化が生じるか調べた。

実験材料および方法

1. 生地の作成

大豆粉（マルコメ株式会社製）200 gに還元型グルタチオンまたは酸化型グルタチオンを2 g（または0.4 g）添加し、粉のままボウルでよく混合した。これにミネラル水（南アルプス天然水、サントリーホールディングス株式会社製）を218.4 g添加し、ホームベーカリー（SD-BH105, パナソニック株式会社製）の生地攪拌モードで20分間、2回攪拌し、「大豆粉生地」とした。

2. タンパク質遊離SH基の評価

大豆粉生地0.1 gを、20 mMのモノプロモビマン（mBBr）を含む電気泳動用サンプルバッファー1 mLに懸濁し、ポルテックスミキサーでよく混合した。5,000 × g, 10分間遠心した後、上清を電気泳動用サンプルバッファーで10倍に希釈し、さらに5,000 × g, 10分間遠心後、10 μLを電気泳動に供した。

3. 物性測定

大豆粉生地を直径5 cm, 高さ1 cmの円形プラスチックシャーレに詰め、動的粘弾性測定装置（レオメータCR-500DX, 株式会社サン科学製）での物性測定に供した（図1）。直径10mm, 高さ20mmの樹脂製円柱状プランジャーを使用して1 mm/sにて表面から2.5mmの深さまで大豆粉生地を等速圧縮し、その後、直ちに同じ速度で逆向きにプランジャーを引き上げた。圧縮時の最大応力（N）を硬さ、引き上げ時の最大応力（N）



図1. 大豆粉生地の物性測定

を付着性の指標とした。測定は3回繰り返し、平均値を求めた。

4. 官能評価

(1) パネル

農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門（以下、農研機構食品研究部門）の近隣住民から募集し、ISO8586⁶⁾を参考にして選抜、訓練し、2～12年の官能評価経験をもつ10名をパネルとした。パネルリストにはインフォームドコンセントを行い、評価参加の承諾を得た。なお、すべての評価は手で触って行われ、その際、パネルリストは合成ポリマーニトリル製のパウダーフリー手袋（マイクロフレックス社製）を装着して評価を実施した。

(2) 試料

大豆粉のみ（CTR）、大豆粉に還元型グルタチオン（+GSH）または酸化型グルタチオン（+GSSG）を1%添加した生地100gを直径5 cmの球状に成形して試料とした。試料は、ラップで包み、3桁のランダムコードを付した白色の皿に試料を乗せ、1枚のトレイに3試料を三角形に配置して提示した。並べ方は、パネルリストごとにランダムマイズした。

(3) かたさおよび付着感の評価

順位法⁷⁾を用い、かたい順および付着感の強い順に

表1 選択肢として用いたテクスチャー用語リスト

粗い*	ねとねと・ねとっ・ねととり・ねとつく
重い	ねばねば・ねばっ・ねばつく・ねばい・ねばっこい・ねばりがある*
かたい (硬・堅・固)	のびる
軽い*	ふにふにや・ふにやっ・ふにやり*
きめ細かい*	べたべた・べたっ・べったり・べたつく
切れやすい	べたべた・べたっ・べったり
くずれやすい	べちゃべちゃ・べちゃっ・べっちゃり
くつつく	べちゃっ・べちゃり*
くによくにや・くにかやっ・くにかやり	べちよべちよ・べちよっ
ぐによくにや・ぐにかやっ・ぐにかやり	べとべと・べとっ・べととり・べとつく
くによくにゆ	べとべと・べとっ・べととり
ぐによくにゆ・ぐにゆっ	ほくほく・ほくくり*
くによくによ*	ほくほく・ほくくり*
ぐによくによ・ぐによっ	ほこほこ*
粉っぽい*	ほそほそ・ほそっ
ゴムのような	ほそほそ・ほそっ*
こわれやすい*	ほっこり*
裂けやすい	ほてほて・ほてっ・ほてり
しっかり	ほてっ・ほてり*
しなやか*	ほろほろ・ほろっ・ほろり*
弾力がある	ほろほろ・ほろっ・ほろり
ちぎれやすい	ほろほろ・ほろっ・ほろり*
つぶれやすい	まとわりつく
どっしり	むちむち・むちり
なめらか*	むにゆむにゆ・むにゆっ
にちゃにちゃ・にちゃっ	もさもさ・もっさり*
ぬちゃぬちゃ・ぬちゃっ	もそもそ・もそっ*
ねたねた・ねたっ	もちもち・もちっ・もっちり
ねちねち・ねちっ・ねちり	もろい*
ねちゃねちゃ・ねちゃっ	もろもろ・もろっ*
ねちよねちよ・ねちよっ	やわらかい (軟・柔)

*選択された頻度が低かったため、最終的な解析から外した用語/用語群。

順位をつけさせた。同順位はつけないよう指示した。

かたさは、試料のラップをはずし、左手の掌に乗せ、右手の人差し指の腹で試料を上から押して評価した。「かたさ」は、試料を変形させるのにかかる力の大きさと定義した。付着感は、試料のラップをはずして球を左右2つに割った後、両断面を付着させたり離したりして、付着する感じの強さを評価させた。

(4) テクスチャーの質の評価

多肢選択法 (Check-All-that-Apply; CATAとも呼ばれる⁸⁾) を用いた。これは、あらかじめ作成した候補用語リストを選択肢としてパネリストに提示し、試料の特徴として該当するものをすべて選択させ、頻度集計したデータから試料の特徴を把握する方法である。

日本語テクスチャー用語体系^{9) i)} から、予備実験によって試料のテクスチャーを表現する候補用語を抽出

した。得られた用語について、語基が同じ擬音語・擬態語、意味が近い漢字表記の異なる用語は一つの語群としてまとめ、62の用語/用語群を選択肢とした(表1)。これらを50音順に評価用紙に列挙した。

評価は、パネリストがラップをはずして試料に触って行った。触る際は、圧縮、展延、分割、付着、成形等、種々の操作を行って、感じられたテクスチャー用語にチェックをいれるよう指示した。3試料を同時に提示し、試料を一つずつ左端から時計回りに評価し、3試料の全ての評価が終わった後は、必要であれば、再度、戻って評価してもよいこととした。

試料とテクスチャー用語についてクロス集計を行い、コレスポネンズ分析を適用した。コレスポネンズ分析にはSPSS Statistics 22 (日本IBM) を用いた。

実験結果および考察

1. タンパク質SH基への影響

図2に、電気泳動のプロファイルを示す。図2Aはクーマシーブルーで全タンパク質を染色したもので、図2Bは遊離のSH基を蛍光染色したものである。個々のタンパク質の同定は行わなかった。無添加の大豆粉生地(CTR列)と、還元型または酸化型グルタチオンを添加した大豆粉生地から抽出したSDS可溶性タンパク質(GSH列、GSSG列)では、タンパク質全体のプロファイルは大きく変らなかった(図2A)ものの、還元型グルタチオンを添加した大豆粉生地では、蛍光強度が明らかに高まった(図2B, CTR列とGSH列の比較)ことから、遊離のSH基が無添加生地と比較して増加したことがわかる。この結果は、大豆粉に含まれるタンパク質のジ

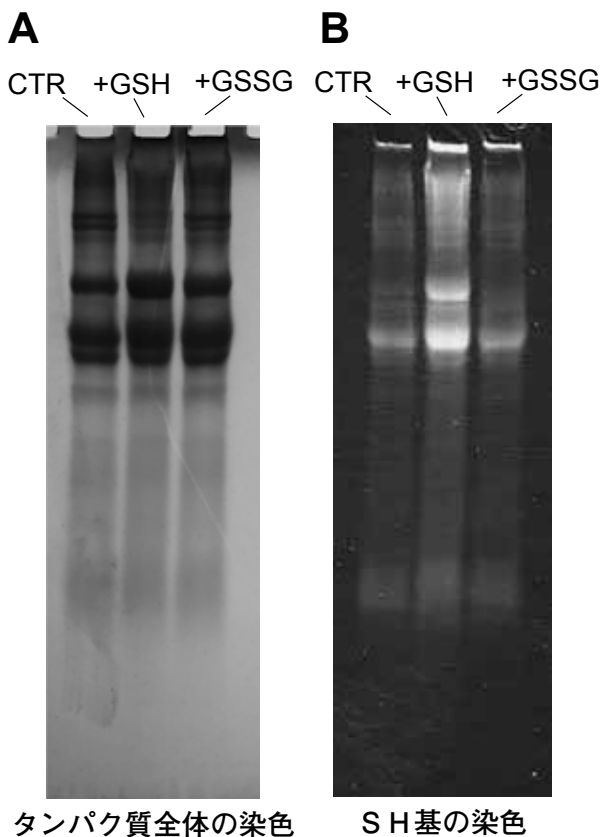


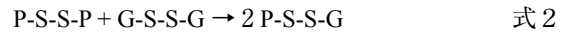
図2. グルタチオンを添加した大豆粉生地のタンパク質解析

CTR, 無添加大豆粉生地;
+GSH, 還元型グルタチオン添加大豆粉生地;
+GSSG, 酸化型グルタチオン添加大豆粉生地.

スルフィド結合(S-S)を還元型グルタチオンが切断し、遊離のSH基(次式1中のSH)が露出したことを示すと考えられる:



ここで、Pはタンパク質、Gはグルタチオン、S-Sは各分子中のジスルフィド結合、SHはチオール基を示す。一方、酸化型グルタチオンの場合、蛍光強度の明らかな増加は見られなかった。もし仮に酸化型グルタチオンがジスルフィド結合を切断する場合でも、遊離のSH基は増加しないと考えられる(式2)ことから、図2の実験結果だけでは、酸化型グルタチオンが大豆粉に含まれるタンパク質に作用しているかどうかを判断することはできない:



食品素材には遊離のSH基や分子間・分子内ジスルフィド結合をもつ様々なタンパク質が含まれ、グルタチオンが作用する場合、しない場合もあるため、グルタチオンが関連する反応を上記の2反応式のみで単純化することはできないが、還元型グルタチオンが大豆粉に含まれるタンパク質に作用することは図2より明らかである。

2. 物性測定

レオメーターを用いた物性測定結果を図3に示す。ここでは、圧縮時の最大応力(N)を硬さの指標、引き上げ時の最大応力(N)を付着性の指標として論じる。何も添加しない大豆粉生地では圧縮時の最大応力は3.93 Nであるが、還元型または酸化型グルタチオンを大豆粉に対して0.2% (w/w) 添加すると、それぞれ3.33 Nおよび3.34 Nまで、いずれも有意 ($p < 1\%$) に低下した。一方、引き上げ時の最大応力(N)は無添加生地の0.22 Nからそれぞれ0.27 N, 0.3 Nに増加したが有意差は得られなかった。グルタチオン濃度を1% (w/w) まで高めると、圧縮時の最大応力(N)は還元型の場合2.62 N ($p < 1\%$) まで、酸化型の場合も3.47 N ($p < 5\%$) まで低下した。引き上げ時の最大応力(N)は還元型では0.74 Nまで増加し ($p < 1\%$)、酸化型では0.24 Nに増加した(無添加と有意差なし)。以上の結果から、還元型グルタチオンの添加は大豆粉生地を柔らかくし、付着性を高めること、また、酸化型グルタチオンは生地を柔らかくするが、付着性には大きく作用しないことが示された。

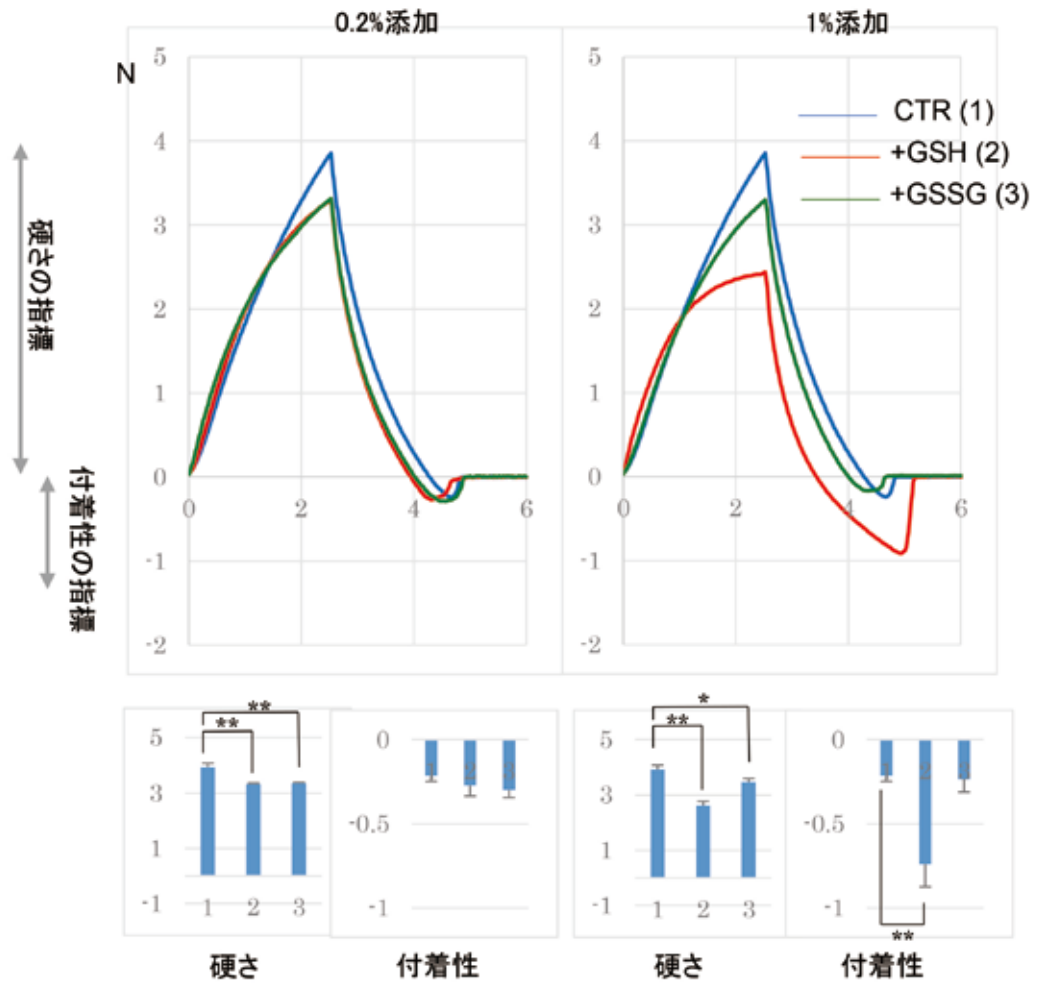


図3. グルタチオンを添加した大豆粉生地 の物性測定

CTR, 無添加大豆粉生地;
 +GSH, 還元型グルタチオン添加大豆粉生地;
 +GSSG, 酸化型グルタチオン添加大豆粉生地.

3. 官能評価

還元型または酸化型グルタチオンを大豆粉に対して1%(w/w)添加した生地で評価した。かたさは、CTR(無添加の大豆粉生地)が最もかたいと評価され、次いで+GSSG(酸化型グルタチオンを添加した大豆粉生地)、+GSH(還元型グルタチオンを添加した大豆粉生地)の順であった。付着感については、+GSHが最も強く、次いで+GSSG, CTRであった。いずれの項目も10人のパネリストが全員一致したデータであった。

テクスチャー用語と3種の試料に関して、10人のパネリストの反応をクロス集計した。“ほこほこ”は出現頻度の合計が0であったため、解析から除外した。また、“粗い”等の22語についても、出現頻度の合計が1~4と低かったため、以下の解析から除外した。

なお、予備的な解析によって、これらの22語を含めて解析しても、解析結果の構造は変わらず、残りの用語の分離が悪くなるのみであることを確認した。最終的に、試料3種、用語39語の3行39列のデータ行列を用いてコレスポネンス分析を行った。

結果を図4に示す。用語および試料に対するスコアを第1次元および第2次元の直交座標上に布置した。図4から、試料と用語の親近性が読み取れ、すなわち、各試料のテクスチャーの質の特徴を俯瞰することができる。CTRは、「くずれやすい」「ほろほろ」などの崩壊する感じや「ちぎれやすい」「ほそほそ」など分割しやすい感じが特徴であることが示された。+GSHは、「まとわりつく」「べとべと」などの付着する感じや「のびる」「くにくにくにゃ」などの展延性のよさが特徴で

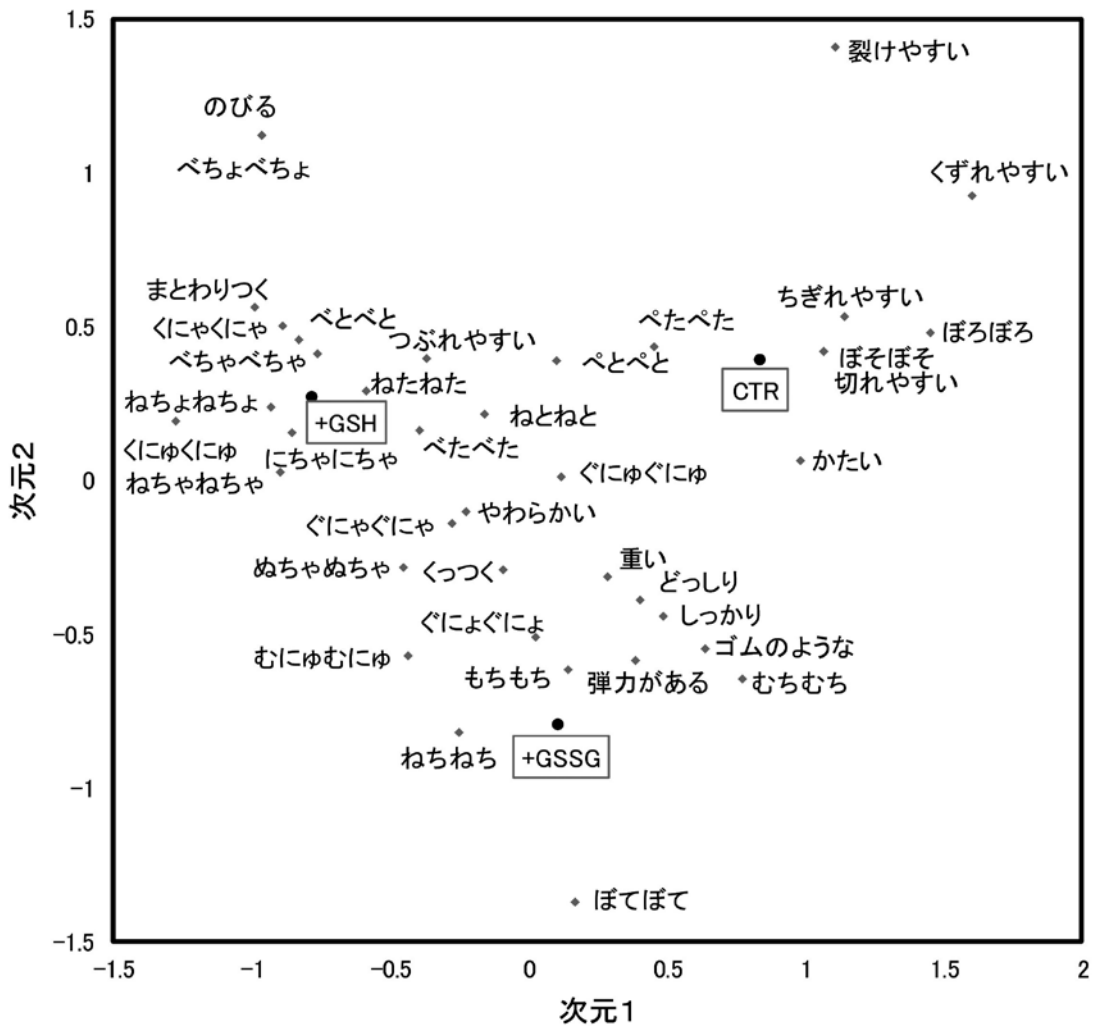


図4. 多肢選択 (CATA) による試料のテクスチャーマップ。

CTR, 無添加大豆粉生地；+GSH, 還元型グルタチオン添加大豆粉生地；+GSSG, 酸化型グルタチオン添加大豆粉生地。
複数の用語を用語群として選択肢にしたものは、代表語として、語基のくりかえしで成立しているもの（例「べたべた」）のみ表示した。

あった。一方、+GSSGは「ねちねち」「もちもち」などの粘弾性、「弾力がある」「むちむち」のように弾力が特徴的ではあるが、CTRおよび+GSHに比べると+GSSGのみに特異的に特徴を表現する用語が少なかった。

順位法および多肢選択の官能評価結果より、無添加の大豆粉生地は変形させるのに力がかかるが、容易に分割され、また、崩壊性があること、還元型グルタチオンを添加した大豆粉生地は変形させるのに力は要らず、のびがよいが、分割した生地間および手袋と生地間で付着するのが特徴であること、酸化型グルタチオ

ンを添加した大豆粉生地はその中間的な特徴を有することが示された。これらの生地物性は、生地を成形する際の操作性に直接関係するだけでなく、食品として食べたときのテクスチャーにも関係すると考えられる。

グルテンフリーなど、アレルギー除去食品に対する需要の増加、ハラル対応のミートアナログなど、「異なる素材から同じテクスチャーの食品を作る技術の開発」は今後ますますその重要性が高まると考えられる。テクスチャー用語体系を利用した多肢選択法とコレスポンデンス分析による解析はその有力な手段の一つと

して貢献が期待される。本研究により、グルタチオンを用いて大豆粉生地のテクスチャーを制御できる可能性が示唆された。グルタチオンがタンパク質構造の変化を介して生地の物性を変えるのか、あるいは両者は独立した事象であるのか、メカニズムについても解析を進めている。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人 不二たん白質研究振興財団より助成を受けた。

要 約

本研究から、天然ペプチドであるグルタチオン（還元型）が大豆粉に含まれるタンパク質のジスルフィド結合を切断することがわかった。また、大豆粉で生地を作成した場合、還元型、酸化型グルタチオンがいずれもその物性に作用し、特に還元型の場合に生地を柔らかくし、付着性を高めることが示された。ヒトによる官能評価試験では、テクスチャー用語を用いたコレスポンデンス解析から、生地間のより詳細な性質の違いが明らかになった。以上のことから、グルタチオンにより、様々な物性をもつ大豆加工食品の開発の可能性が示された。

引用文献

- 1) Dewell, A., Hollenbeck, P.L., Hollenbeck, C.B., Clinical review: a critical evaluation of the role of soy protein and isoflavone supplementation in the control of plasma cholesterol concentrations, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **91**, 772-780 (2006).
- 2) Ørgaard, A., Jensen, L., The effects of soy isoflavones on obesity, *Exp. Biol. Med.*, **233**, 1066-1080 (2008).
- 3) 松本幸雄, 片山幸二, 米沢大造, グルテンタンパク質-水2成分系の応力緩和におよぼす諸因子, 日本レオロジー学会誌, **2**, 63-65 (1974).
- 4) Yano, H, Improvements in the bread-making quality of gluten-free rice batter by glutathione, *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 7949-7954 (2010).
- 5) Yano, H, Comparison of oxidized and reduced glutathione in the bread-making qualities of rice batter, *J. Food Sci.*, **77**, C182-188 (2012).
- 6) International Organization for Standardization, Sensory analysis – General guidance for the selection, training and monitoring of selected and expert assessors. ISO/DIS 8586 (2011).
- 7) 神宮英夫, 順位法, 官能評価士テキスト, 日本官能評価学会編, (建帛社, 東京), pp. 90-96 (2009).
- 8) Valentin, D., Chollet, S., Lelievre, M. and Abdi, H., Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **47**, 1563-1578 (2012).
- 9) Hayakawa, F., Kazami, Y, Nishinari, K., Ioku, K., Akuzawa, S., Yamano, Y., Baba, Y. and Kohyama, K., Classification of Japanese texture terms, *J. Texture Stud.*, **44**, 140-159 (2013).

引用URL

- i) 早川文代, 日本語テクスチャー用語体系
http://www.naro.affrc.go.jp/nfri-neo/introduction/files/nfri_0304_0726-6.pdf (2016.9.28)