

## グルテンフリー米粉パンの風味制御技術の確立 (第2報)

仲島日出男\*<sup>1</sup> 海野まりえ\*<sup>1</sup> 原田雅典\*<sup>1</sup> 成澤朋之\*<sup>1</sup>  
常見崇史\*<sup>2</sup> 荒木和樹\*\* 奥西智哉\*\*\*

### Flavor Control of Gluten-free Rice Bread (Part2)

NAKAJIMA Hideo\*<sup>1</sup>, UMINO Marie\*<sup>1</sup>, HARADA Masanori\*<sup>1</sup>, NARISAWA Tomoyuki\*<sup>1</sup>,  
TSUNEMI Takashi\*<sup>2</sup>, ARAKI Kazuki\*\*\*, OKUNISHI Tomoya\*\*\*

#### 抄録

米由来原料のみを使用したグルテンフリー米粉パンの原料である米麴の酵素活性が、米粉パンの風味に与える影響について検討した。課題となっているチーズ臭やみそ・しょうゆ臭に対する指標化合物と米麴の酵素活性の相関を確認したところ、チーズ臭とプロテアーゼ活性の相関関係が確認された。米粉バターのpHは分解処理12時間以降急激に低下しており、乳酸菌や酵母などが産生する有機酸の影響であると考えられた。米粉パンの風味形成には、米麴由来の酵素活性のほかに、微生物的な要因も影響していることが示唆された。

キーワード：グルテンフリー，米粉パン，酵素活性，風味制御

### 1 はじめに

近年、日本をはじめ世界の多くの国や地域では、小麦粉のグルテンに対して自己免疫反応を引き起こすセリアック病などの小麦アレルギー疾患が増加している。これらの疾患を持つ人は生涯にわたって小麦粉を原料とするパン、麺類、菓子類などを食べることができない。米粉の使用は、これらの患者でも摂取可能なパンを得るために有効な手段となる<sup>1)</sup>。

グルテンフリーパンを膨らませるためには、パン酵母が生成した炭酸ガスなどを保持するため、生地の粘度を高めて膜状の生地組織を形成することが必要である<sup>2)</sup>。米粉パンの製造にあたっては、

この目的のために食品添加物に指定されている増粘剤などが使用されるケースが多い。

(株)味輝では、増粘剤ではなく、米麴に含まれるプロテアーゼなどの作用により、米由来原料のみを使用して米粉パンを得る技術を開発し、現在、自社製の米麴を使用した米粉パンが販売されている。しかし、実際の生産現場では、米粉パンに使用している自社製造の米麴のロットにより、チーズやみそ・しょうゆ様の風味が強く出すぎてしまうことがあり、この品質の安定化が課題となっている。我々は、これまでにこれらの風味の制御について検討し、その制御のための指標化合物として、チーズ様の風味についてはジアセチルおよびアセトインを、みそ・しょうゆ様の風味についてはフルフラールを決定した。また、これらの風味は米粉生地の処理条件や焼成条件の調整により制御できることを見出した<sup>3)</sup>。本研究では、原料の米麴に注目し、タンパク質分解酵素や糖化酵素

\*<sup>1</sup> 食品プロジェクト担当

\*<sup>2</sup> 化学技術担当

\*\* 株式会社味輝

\*\*\* 農研機構食品研究部門

の活性が米粉パンの風味に与える影響について検討した。

## 2 実験方法

### 2.1 試験製パン

みたけ食品工業(株)の米粉パウダー2番を試験に使用するとともに、表1に示した市販の米麴および(株)味輝で米粉パンの製造に使用している自社製米麴でロットの異なる2試料を試験に使用した。

米粉、米麴および水を加えて調整した米粉バターを一晩分解処理した。一部の米粉バターについては、この分解処理中のバターpHの変化を測定した。この米粉バターに砂糖、塩およびドライイーストを加えたのち、パン生地をマフィン型に分注した。この型に入れた状態でホイロに入れて45-60分発酵後、210℃で15分間焼成し、米粉パンを得た。

表1 使用米麴

市販A	乾燥米麴、甘酒・塩こうじ・みそ用
市販B	乾燥米麴、甘酒・塩こうじ・みそ用
市販C	粉碎米麴、甘酒・塩こうじ用
味輝1	} (株)味輝が自社の米粉パンに使用する自社製米麴
味輝2	

### 2.2 酵素活性測定

米麴の酵素活性として、プロテアーゼ活性および糖化力の測定を行った。

プロテアーゼ活性は、シグマ製のアゾカゼインを基質として使用して行った<sup>4)</sup>。測定手順を図1に示す。60分間に吸光度を0.1上昇させる酵素量を1 unit とした。

でんぷんの分解に関連する酵素活性については、でんぷんを分解するグルコアミラーゼとこの分解物をグルコースまで分解するグルコシダーゼ両者の活性を反映した糖化力として測定を行った。

粉碎米麴 100mg に 0.5% NaCl を含む 10mM 酢

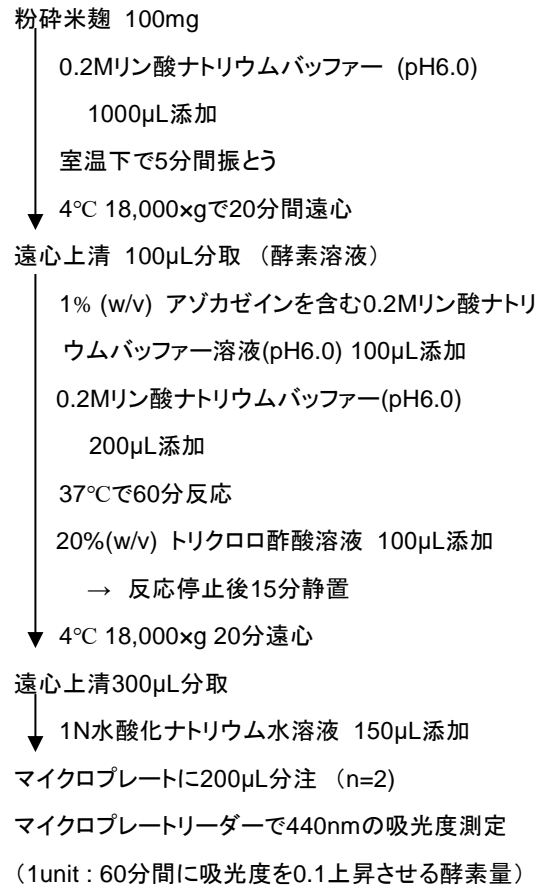


図1 プロテアーゼ活性測定手順

酸ナトリウムバッファー(pH5.0)を1ml加え、5分間振とう処理後、4°C 18,000×gで20分間遠心処理した上清を粗酵素液として、キッコーマンバイオケミファ(株)製の糖化力測定キットを使用して糖化力を測定した。

### 2.3 揮発性成分分析

米麴パンの揮発性成分分析は前報<sup>3),5)</sup>と同様の方法により行った。

ガステル製MPS robotic proオートサンプラー、加熱脱着装置(TDU)及びクールドインジェクションシステム(CIS)を装備したアジレント・テクノロジー製8890ガスクロマトグラフをホスト側GCとして使用した、5977Bシングル四重極質量分析装置(アジレント・テクノロジー製)から構成されるガスクロマトグラフ室質量分析装置(GC/MS)を分析に使用した。焼成後15分間放冷した米粉パンのクラスト1.0gを20ml用のスクリ

ューキャップ付きバイアルに秤量し、Multi-Volatile Method による2段階のダイナミックヘッドスペース法 (DHS-MVM 法)<sup>6)</sup>により抽出した揮発性成分を GC/MS により分析した。

得られたクロマトグラムについて、MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアパッケージ(アジレント・テクノロジー製)を用いて NIST17 ライブラリとの照合から化合物の推定を行うとともに、指標化合物のターゲットイオンの面積値を算出した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 米粉バターの pH 変化

3種類の米麴により調製した米粉バターの pH 変化を図 2 に示す。いずれの米粉バターにおいても分解処理 12 時間以降で pH の低下が大きかった。pH の低下は、麴に含まれる酵母や乳酸菌が分解処理中に増殖し、これらが産生する有機酸の増加が要因として考えられた。また、米粉バター中の微生物により、バター中のアミノ酸や糖などが消費されている可能性もあり、これらが焼成された米粉パンの風味に影響を与えている可能性が示唆された。今後、米粉パンの風味形成プロセスの推定のため、これらの微生物的な要因の確認が必要である。

#### 3.2 米麴の酵素活性測定

分解処理中の米粉バターの pH は、いずれの米麴においても平均値で約 6.0 であったため、pH 6.0 を基準としてプロテアーゼ活性を測定することとした。糖化力については、測定キットがこの pH に対応していなかったため、測定キットで利用できる pH5.0 での活性を比較した。

これまで米麴のプロテアーゼ活性測定は、基準みそ分析法<sup>7)</sup>により行っていた。この方法では、10g の米麴から 100ml の抽出バッファーを用いて、測定酵素液の抽出を行うなど、小スケール多検体のスクリーニングに適していない。また、基質として使用したカゼインの分解により生成するチロシン量をさらにフェノール試薬で定量する必要が

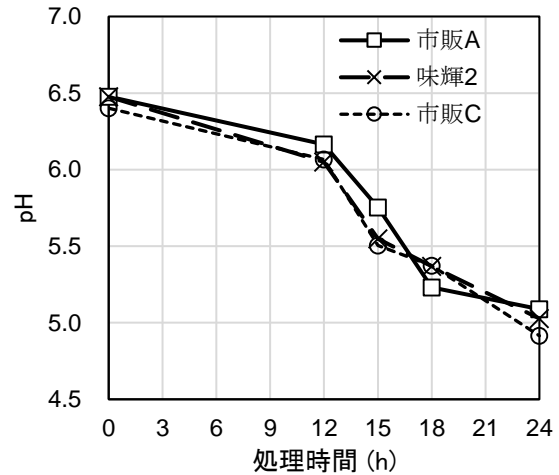


図2 米粉バターのpH変化

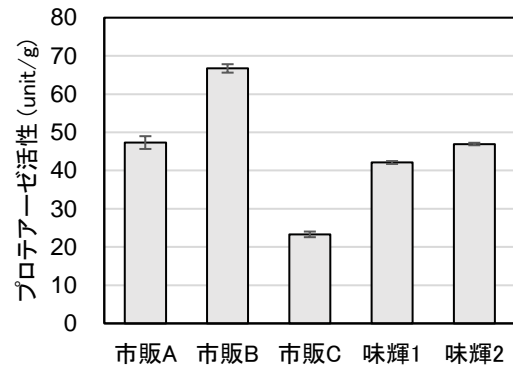


図3 米麴のプロテアーゼ活性

誤差線は標準偏差 (n=3) を表す

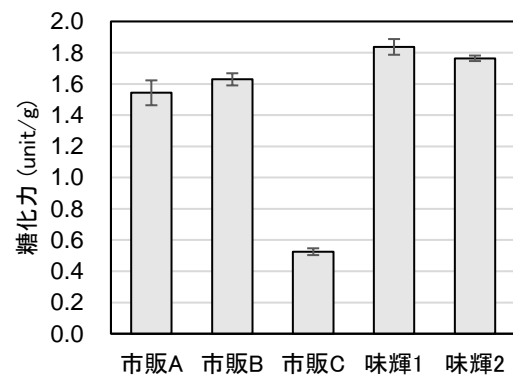


図4 米麴の糖化力

誤差線は標準偏差 (n=3) を表す

あるなど、測定に手間とコストがかかる。

本研究では、アゾ色素を結合したカゼインを基質として使用した。この基質にプロテアーゼが作用するとアゾ色素結合ペプチドが遊離し、この色

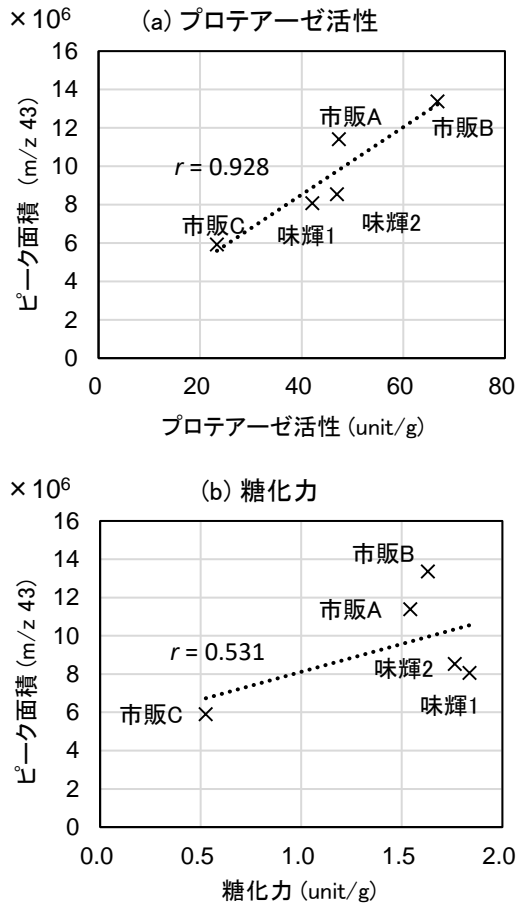


図5 チーズ臭指標化合物のターゲットイオンピーク面積と酵素活性の相関

素の吸光度測定により直接的に酵素活性測定が可能となり、測定時間を大幅に短縮することができる。また、吸光度測定にマイクロプレートリーダーを使用することで、必要な試薬や試料量も削減可能であり、米麴のプロテアーゼ活性測定を効率化することができる。

本研究で比較を行った米麴のプロテアーゼ活性を図3に、糖化力を図4にそれぞれ示す。プロテアーゼによる米タンパク質の分解により、米粉パンのふくらみに必要な生地の粘性に関連するタンパク分解物が生成する。市販Bの麴のプロテアーゼ活性が高く、市販Cが最小であった。味輝麴と市販Aは両者の間で、大きな違いは見られなかった。

糖化力については、市販Cが最も低かった、それ以外の麴の差異は小さかった。市販Cを使用した米粉パンは白色が強、淡白な味であった。こ

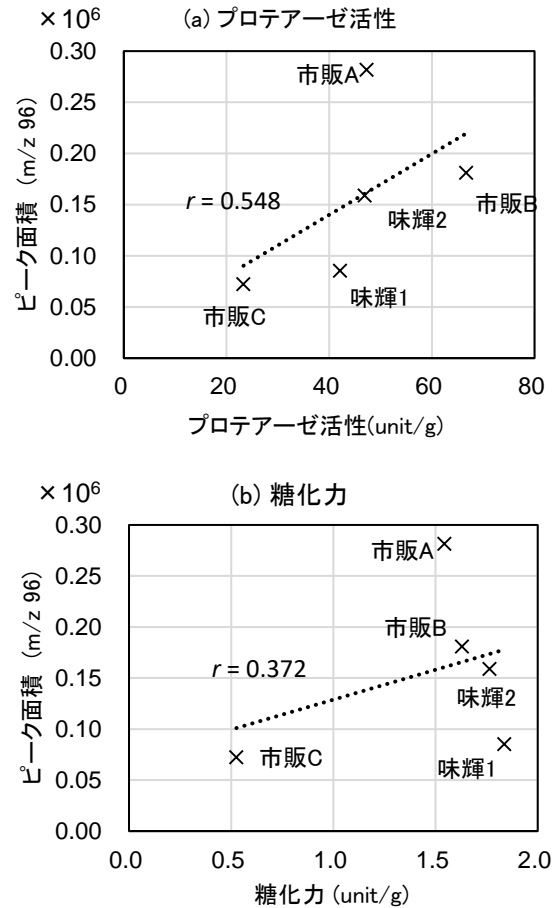


図6 みそ・しょうゆ臭指標化合物のターゲットイオンピーク面積と酵素活性の相関

れらの酵素活性の低さがこの風味の要因の一つになっていると考えられた。

### 3.3 酵素活性と米粉パンの風味

前報では、使用する米麴の選択と焼成条件の調整により風味の制御が可能であることを示した。本研究では、米麴の選択による風味の違いを生じる要因として酵素活性に注目した。

本研究では、米粉パンのチーズ臭についてはジアセチルおよびアセトインを、みそ・しょうゆ臭についてはフルフラールを指標化合物として決定した。米麴の酵素活性と各指標化合物ピークのターゲットイオン面積値の相関を図5および図6に示す。

チーズ臭の指標化合物であるジアセチルについて、プロテアーゼ活性が高いほどピーク面積が増加しており、これらの相関係数は0.928であった。

この結果から、チーズ臭の生成については、プロテアーゼ活性が関与していると考えられるとともに、原料の米麴の影響が大きいと考えられた。一方、糖化力については市販 C 以外の米麴の値に大きな違いがなかったことから、相関係数は 0.548 となっていた。

一方、みそ・しょうゆ臭については、本研究で比較を行った米麴において、指標化合物のピーク面積とプロテアーゼ活性や糖化力との相関関係は確認されなかった。米粉バターの分解処理中に生成するグルコースが、風味指標化合物であるフルフラールの加熱生成に関与するが、糖化力との相関関係は見られなかった。これらの結果から、みそ・しょうゆ臭の形成には原因物質であるグルコース以外に焼成時の加熱状態の影響が大きいと考えられた。

#### 4 まとめ

米由来原料のみを使用したグルテンフリー米粉パンの普及のため、製パン原料として使用する米麴の酵素活性が米粉パンの風味に与える影響について検討した。課題となっているチーズ臭やみそ・しょうゆ臭の指標化合物と米麴の酵素活性を確認したところ、チーズ臭の指標化合物であるジアセチルのピーク面積とプロテアーゼ活性の相関関係が確認されたが、みそ・しょうゆ臭と酵素活性の相関関係は見られなかった。これらの結果から、チーズ臭については原料である米麴の影響が大きく、みそ・しょうゆ臭については焼成時の加熱状態の寄与が大きいと考えられた。

米粉バターの pH は分解処理 12 時間以降急激に低下しており、乳酸菌や酵母などが産生する有機酸の影響であると考えられた。米粉パンの風味形成には、本研究で確認した米麴由来の酵素活性や焼成条件のほかに、微生物的な要因の寄与もあることが示唆された。今後、米粉パンの品質安定化に向けて、微生物的な側面からの検討も進めていく予定である。

#### 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准教授に感謝の意を表します。

#### 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) C. A. Corzo, K. N. Waliszewski and J. Welti-Chanes, “Pineapple Fruit Bromelain Affinity to Different Protein Substrates”, *Food Chemistry*, vol. 133, no.7, p631-635 (2012).
- 5) 仲島日出男, 原田雅典, 海野まりえ, 成澤朋之, 常見崇史, “未利用小麦ストリーム粉の活用による国産小麦パンの風味向上”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 19, p15-19 (2021).
- 6) Ochiai N., Tsunokawa, J., Sasamoto K. and Hoffman, A., “Multi-volatile Method for Aroma Analysis using Sequential Dynamic Headspace Sampling with an Application to Brewed Coffee”, *J. Chromatogr.* vol. 1371, p65 (2014).
- 7) 全国味噌技術会, “新・みそ技術ハンドブック 付 基準みそ分析法”, 全国味噌技術会, pp. 42-44 (2018).