

酸可溶性小麦タンパク質による
パン品質安定化に関する研究

2022 年

新井 千秋

目次

緒言.....	1
I. 機械化製パンにおける製品の品質安定化に及ぼす ASP 添加の影響	5
1. 試料および実験方法.....	6
1.1. 小麦粉および酸可溶性小麦タンパク質.....	6
1.2. 分析方法.....	6
1.3. 機械化製パン工程.....	6
1.4. ロールパンの形状の測定.....	9
1.5. パン内相の気泡数の測定.....	9
1.6. 中種法における本捏工程中の生地物性の特性値の測定.....	9
1.7. 成形工程中の圧延操作における生地物性の測定.....	10
1.8. 圧延操作後 (圧延生地) および成形操作後 (ロール生地) の生地の形状の測定.....	10
1.9. 走査型電子顕微鏡による微細構造観察.....	10
1.10. パン内相の硬さの測定.....	10
1.11. 小麦粉の生地特性の測定.....	10
1.12. ASP のタンパク質表面疎水性度の測定.....	11
1.13. 統計解析.....	11
2. 結果および考察.....	12
2.1. パンの外観と内相に及ぼすフロアタイムの影響と ASP 添加の効果.....	12
2.2. 中種法における本捏工程中の生地物性への ASP の効果.....	16
2.3. 成形時の生地物性におけるフロアタイムの影響と ASP の効果.....	18
2.4. 圧延生地およびロール生地の形状と生地の組織構造への ASP 添加の影響....	20
2.5. パンの内相の硬さおよび保存中の変化におけるフロアタイムの影響と ASP の効果.....	25
2.6. 小麦粉の生地特性に及ぼす ASP 添加の影響.....	27
2.7. ASP の表面疎水性度が生地物性に及ぼす影響.....	31
3. 要約.....	33
II. 冷凍生地製パンの品質に及ぼす ASP 添加の影響.....	35
1. 実験方法.....	36
1.1. 成形冷凍生地の製造.....	36
1.2. 成形冷凍生地からのロールパンの調製.....	40

1.3. 丸め後の生地玉の円形度の測定	40
1.4. 成形工程中の圧延操作における生地物性の測定	40
1.5. SEM による微細構造の観察.....	40
1.6. ロールパンの形状の測定	41
1.7. パン内相の気泡数の測定	41
1.8. ロールパンの内相と表皮の観察	41
1.9. パン内相の硬さの測定	41
1.10. 生地の冷凍保存が生地物性およびパンの比容積に及ぼす影響	41
1.11. 小麦タンパク質生地の水分活性値の測定	43
1.12. 小麦タンパク質生地の微細構造の観察	43
1.13. 統計解析	43
2. 結果および考察	44
2.1. 成形冷凍生地から調製したロールパンの外観と内相に対する ASP の効果	44
2.2. フロアタイムの違いが丸め工程および成形工程に与える影響	50
2.3. 成形生地および成形冷凍生地から調製した最終発酵生地の微細構造	53
2.4. 成形冷凍生地の長期冷凍保存によるロールパンの内相の気泡構造に及ぼす影響と ASP の効果.....	57
2.5. 成形冷凍生地の長期冷凍保存によるロールパンの表皮に及ぼす影響と ASP の効果.....	59
2.6. 成形冷凍生地から調製したロールパンの内相の硬さおよびその保存中の変化	60
2.7. 生地の冷凍変性に対する ASP の抑制効果の解析	62
2.8. グルテンおよび ASP の水分挙動と微細構造の比較.....	66
3. 要約.....	69
III. 米粉混合パンへの ASP 利用による品質安定化の検討.....	73
1. 試料および実験方法.....	74
1.1. 試料.....	74
1.2. 供試材料の成分および性状分析	74
1.3. 生地の性状に関する測定	74
1.4. 中種の発酵過程における生地容積の変化の測定	74
1.5. 製パン試験.....	75
1.6. 製パンの各工程における特性値の測定	78
1.7. 食パンの内相の観察と物性および経時的変化の測定	78
1.8. SEM による組織構造の観察.....	79

1.9. 統計処理.....	79
2. 結果および考察.....	80
2.1. 供試材料の成分.....	80
2.2. 米粉がファリノグラフ特性値に及ぼす影響.....	80
2.3. ASP の添加が米粉を混合した生地の中種の発酵状態に及ぼす影響.....	80
2.4. 中種のみキシング後の生地の内相の微細構造.....	80
2.5. 米粉およびグルテンを混合した生地のみキシング特性に及ぼす ASP の影響.....	84
2.6. 米粉およびグルテンを混合した生地の成形性に及ぼす ASP の影響.....	86
2.7. フロアタイムの差異による生地物性の変化に及ぼす ASP の影響.....	89
2.8. 食パンの内相.....	89
2.9. パンの内相物性の経時的変化.....	91
3. 要約.....	93
総括.....	94
参考文献.....	101
関係論文.....	108
謝辞.....	109

緒言

我が国では年間 126 万トンの小麦粉を使用したパンが生産され、その 85%は大規模工場における連続的な大量生産形式 (以下、機械化製パン) で製造されている。小麦粉は加水と混捏によって粘弾性に富む生地を生じ、これは小麦粉中の主要タンパク質である粘性に關与するグリアジンと弾性に關与するグルテニンが会合して、凝集物のグルテンが形成されるためである (Fig. 1a: Huebner, 1977)。生地の性状は、製パン工程中の作業性やパンの品質に大きく關与する。

機械化製パンでは生地の調製および発酵はバッチ式で行われ、その後の熟成 (以下、フロアタイム) 以降の工程 (分割・丸め・中間発酵・成形・最終発酵・焼成) は連続的に行われている。このため、生地の分割開始時と最終時までには 20 分程度の時間差が生じる。この間に生地は凝集が進み、生地の物性が硬く伸展性が低下するため、分割工程の開始時と後半では成形した生地の形状が不均一となる。このため成形時の圧力を高くするなどの対応を行っているが、成形生地の表面および内相が損傷を受け、焼成品の形状への影響や内相の粗雑化など品質が低下し、均一な製品の提供を求められる機械化製パンにとって大きな問題となっている。

また近年、冷凍生地を使用した製パンが普及している。機械化製パンによる量産品の計画生産が可能であるうえに、人手不足や省力化などの点から冷凍生地の生産量は年々増加している (Rosell & Gómez, 2007)。冷凍生地は製パン工程のどの段階で凍結するかにより分類され、最も煩雑な工程である成形工程の終了後に生地を凍結する成形冷凍生地は、店内で焼成するパンの販売を行うオープンフレッシュベーカリーなどで幅広く使用されている (丸岡, 1991; 井上, 1995)。製造上の基本技術としては、ガス発生力の低下の抑制とガス保持力の低下の抑制が重要となるが、冷凍耐性酵母の普及した今日では、冷凍によるグルテンマトリックスの損傷に伴うガス保持力の低下が課題となっている (井上, 1998)。現在この対策として、生地改良剤であるアスコルビン酸の添加量を増加させる他、タンパク質含量の高い小麦粉の使用あるいはグルテンを添加するといった対応を取るが、これらの改善効果は不十分で、硬く伸展性が低い生地となり気泡数が少なく気泡構造が不均一な内相になるなど最終製品の品質に新たな問題を招いている。

これらの大規模工場での機械化製パン並びに冷凍パン生地の問題は、いずれも生地、グルテンの強い弾性力によって惹起される。そこで本研究ではグルテン構成タンパク質の内、粘性に富むグリアジンの機能に着目し同タンパク質の利用によって、生地の伸展性を改善するとの推論のもと (Fig. 1b)、これらの課題の解決を目的に検討を進めた。

小麦グルテンは、乳酸や酢酸の酸性水溶液により可溶性成分 (グリアジンに富む画分) と不溶性成分 (グルテニンに富む画分) の 2 種類に分けることができ (Goforth & Finny, 1976; Macritchie, 1985)、各画分が小麦粉生地に異なる影響を与えることが知られ

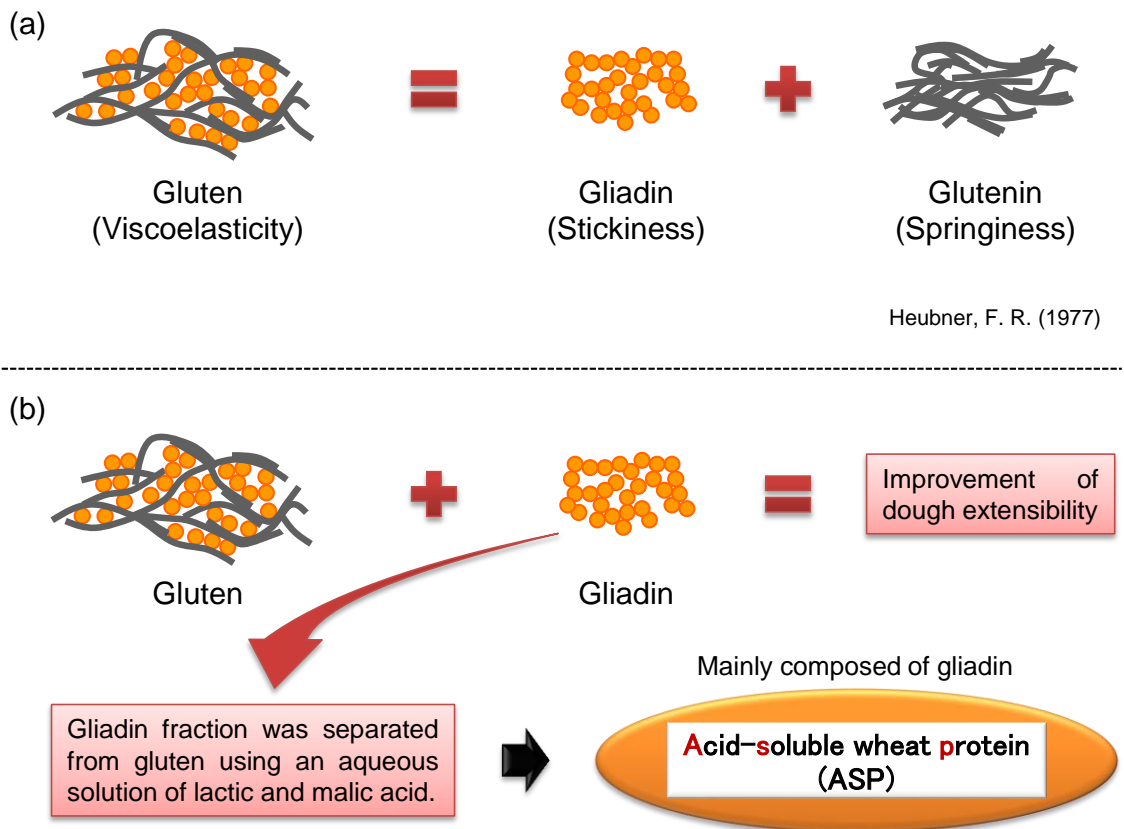


Fig. 1 Improvement of dough extensibility with gliadin. (a) Effect of gluten constituent proteins on dough rheological properties; (b) improvement of dough extensibility by adding acid-soluble wheat protein

ている (Skerritt, Bakes et al., 1996) 。これらのことから、小麦グルテン画分の多くの工業生産方法が開発されている (Bérot, Gautier et al., 1994; Bérot, Chiron et al., 1996; Bassi, Maningat et al., 1997; 矢嶋, 1999a; 矢嶋, 1999b; Roles, 2008; 矢嶋, 新井 他, 2014) 。

本研究では、これらグルテン画分のうちグリアジン画分を利用した生地物性の改善に取り組み、グルテンから酸性水溶液にて調製したグリアジンを主成分とする酸可溶性小麦タンパク質 (以下 ASP, Fig. 1b, Fig. 2) の添加による生地の品質改善機序を明らかにすると共に、ASP の添加により機械化製パン並びに冷凍パン生地による製パン工程に対応する生地を調製し、従来困難であったこれら製パンの工程の安定化および品質の均一性を向上させることを目的とした。

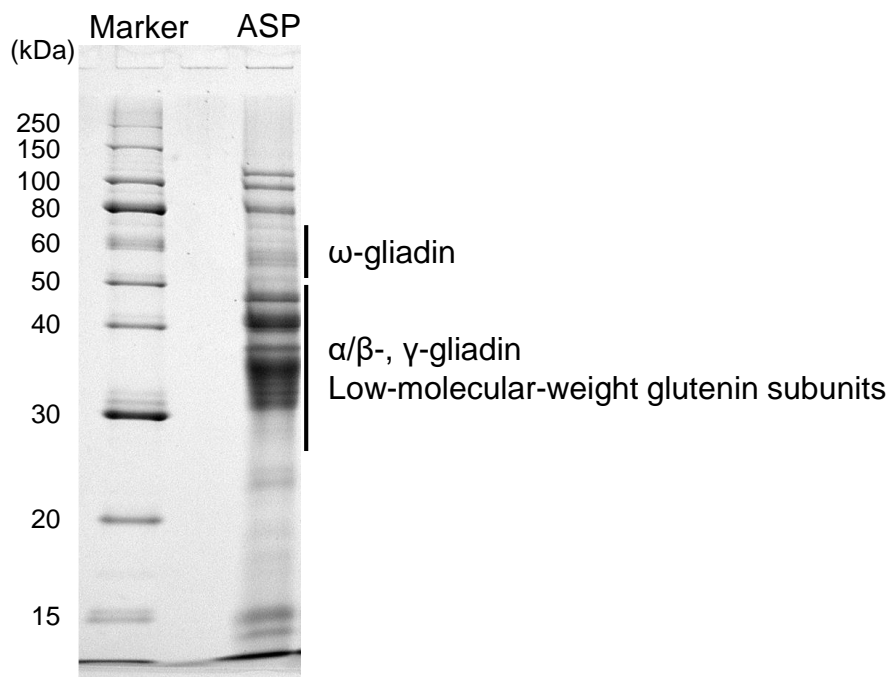


Fig. 2 SDS-PAGE analysis of acid-soluble wheat protein. Marker, molecular weight marker; ASP, acid-soluble wheat protein. 12.5% SDS-PAGE. CBB staining

I. 機械化製パンにおける製品の品質安定化に及ぼす ASP 添加の影響

大手製パンが提供する量産品では、品質の均一化が重要な要点の一つである。しかしながら、生地物性は刻一刻と変化していることから、生地の安定性が大量生産のための製パンにおける大きな課題となる。もし、生地物性が経時的に変化しなければ、成形機の設定を工程中維持することが可能である。しかし、実際には、製品形状の均一性を維持するために成形機の機械設定を変更することが不可欠である。このとき、製品形状の均一性を保つために圧延圧力および成形圧力が過大になると、成形生地の表面および内相が損傷する。生地物性に安定性がない場合、それが分割後の工程だけでなく、焼成品の形状および品質にも影響を与えることは周知の事実である。

本章で使用した中種法による製パンに、生地改良剤の添加は必須ではない (Cauvain, 1998a)。しかし、機械化製パンにおいては、製パン性の向上を目的に種々の改良剤が使用されていることから、中種法における酸化剤 (Yamada & Preston, 1994)、乳化剤 (Tsen & Weber, 1981; 井上, 次田 他, 1995; Miyamoto, Sakamoto et al., 2005; Hattori, Dupuis et al., 2015) あるいは酵素 (Maeda, Hashimoto et al., 2003; Harada, Lysenko et al., 2005) の効果について多くの研究が行われてきた。これらの成分は、パンの体積を増加し、生地の圧延特性を改善し、あるいは内相の硬さを低下する効果があることが分かっている。しかし、機械化製パンの分割工程で生じるフロアタイムの時間差による生地物性の変化に対する抑制効果に関する報告はみられない。

一方、小麦粉中のグルテンの性質はパン製造に大きな影響を及ぼすことが明らかであり、グルテン成分と生地特性との間の関係について多くの研究が行われてきた。多くの研究は、小麦粉生地の物性がグルテン中のグルテニンに対するグリアジンの比率に大きく依存することを示した (Uthayakumaran, Gras et al., 1999; Uthayakumaran, Newberry et al., 2000; Noor Hasniza, Wilkes et al., 2014)。したがって、単量体グリアジンが伸展性を担い、高分子グルテニンが弾力性を担うため、小麦粉の最適な加工品質はこれら 2 種類のタンパク質のバランスを必要とするとされている (Wieser, Bushuk et al., 2006; Wrigley, Békés et al., 2006)。

そこで本章では、ASP の添加による生地伸展性の向上効果が製パン工程における生地物性の安定化と製品の均一化に及ぼす影響について検討した。さらに、ASP の添加による生地伸展性の向上効果に関する作用機作について解析を進めた。

1. 試料および実験方法

1.1. 小麦粉および酸可溶性小麦タンパク質

小麦粉は、硬質小麦から作られた市販のパン用強力粉（ミリオン，日清製粉株式会社）を使用した。

グリアジンを主成分とする酸可溶性小麦タンパク質（ASP）は、粉末状の工業製品（グリア A，アサマ化成株式会社）を用いた。ASP は、乳酸とリンゴ酸の水溶液を用いて、硬質小麦から作られたグルテンから分離された（矢嶋，新井 他，2014）。製造工程上、ASP には酸が含まれているが、これらが本研究における各種測定値には影響しないことを確認している。

これらの試料の分析値と水分保持力（water SRC）を Table 1 に示した。

1.2. 分析方法

水分および灰分は、それぞれ AACC 法 44-19.01 および 08-02.01 (AACC International, 2010) により測定した。タンパク質は、AACC 法 46-11.02 (AACC International, 2010) により Kjeldahl 法で測定した。水を使用した溶媒保持力（water solvent retention capacity; SRC）の測定は、AACC 法 56-11.02 (AACC International, 2010) に従って実施した。結果は、製品重量当たりの wt% で示した。

1.3. 機械化製パン工程

大規模工場における生産を想定した実験工場（株式会社オシキリ）での機械化製パンによって、試験を行なった。コッペ型のロールパン（以下ロールパン）を、Table 2 に示す配合と Table 3 に示す工程に従って、中種を 3 時間発酵させる中種法を用いて製造した。全ての原材料は総小麦粉重量に基づくベーカーズパーセントで示されており、中種の原材料は小麦粉 70%、パン酵母（オリエンタルイースト，オリエンタル酵母工業株式会社）2.8%、乳化剤（エマルジーMM-100，理研ビタミン株式会社）0.3%、生地改良剤（C アンティーS，オリエンタル酵母工業株式会社）0.1%、水 40%であった。乳化剤は、対照区（無添加）および ASP 添加区における内相の硬さの経時的な増加を抑制するため（井上，次田 他，1995）に添加した。本捏段階では、発酵後の中種生地および総小麦粉重量に基づく残りの成分として、小麦粉 30%、砂糖 12%、ショートニング（カナリヤエイト，日油株式会社）12%、脱脂粉乳 2%、食塩 1.8%、水 22%をミキシングし、最適な生地形成状態とした。本実験のロールパンの場合、最適な生地形成状態となるミキシング時間は、下記の製パン実験室用ミキサシステムで測定したミキシングのファイナル段階到達点後 30–90 秒であることが予備試験から明らかになった。ただし、この時間は、配合とパンの種類によって異なる。これらの理由から、ミキシング時間の影響を排

Table 1 Analytical properties^a and solvent retention capacity (SRC)^b of wheat flour or acid-soluble wheat protein

Materials	Moisture (%)	Ash (%)	Protein ^c (%)	Water SRC (%)
Hard wheat flour	13.9	0.42	12.3	64.1
Acid-soluble wheat protein	6.5	3.70	78.2	148.1

^aData shown as percent of total weight (wt%); $n = 3$.

^bSRC tests are conducted according to the Approved Method 56-11.02 (AACC) using water. Data shown as wt% per product weight.

^cNitrogen to protein conversion factor: 5.7.

Table 2 Material formula of bread-making

Material	Formulation ^{a,b}	
Sponge		
Wheat flour (%)	70.0	(36.27)
Compressed yeast (%)	2.8	(1.45)
Emulsifier (%)	0.3	(0.16)
Dough improver (%)	0.1	(0.05)
Water (%)	40.0	(20.72)
Dough		
Wheat flour (%)	30.0	(15.54)
Sugar (%)	12.0	(6.22)
Shortening (%)	12.0	(6.22)
Nonfat dry milk (%)	2.0	(1.04)
Salt (%)	1.8	(0.93)
Water (%)	22.0	(11.40)

^aFormulations are reported in baker's percentages based on the weight of wheat flour.

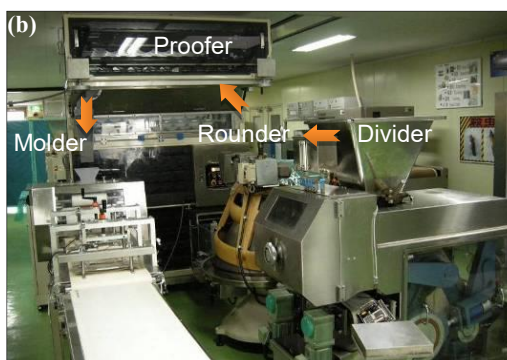
^bValues in parentheses are total formula percentages.

Table 3 Bread-making process

Process	Instruments and conditions
Sponge	
Instrument	Horizontal mixer, Laboratory mixer system, Model HM-50, Oshikiri Machinery Ltd.
Mixing time	Low-speed, 55 rpm (Low) 3 min; High-speed, 110 rpm (High) 2 min
Temperature of mixing end point	25.6 ± 0.4°C
First fermentation	
Condition	27°C, 75% relative humidity (RH), 3 hr
Temperature of fermentation end point	28.5 ± 0.4°C
Dough mixing	
Instrument	Horizontal mixer, Laboratory mixer system, Model HM-50
Mixing time	Low 3 min, High 3 min, Adding shortening, Low 3.5 min, High 4 min
Temperature of mixing end point	26.6 ± 0.4°C
Floor time	
Condition	27°C, 75% RH, 20 min or 40 min
Dividing	
Instrument	Dough divider, Model DQS, Oshikiri Machinery Ltd.
Dough weight	80 g
Condition	10 strokes/min, ×4 pockets
Rounding	
Instrument	Conical rounder, Model RQS, Oshikiri Machinery Ltd.
Intermediate proofing	
Instrument	Proofer, Model PQB, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	15 min
Molding	
Instrument	Molder, Sensor moulder system, Model WFS, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Roller clearance, First: 8.0 mm—Second: 2.0 mm; Peripheral speed of roller: 38 m/min Pressure board height, Inlet: 15.0 mm—Outlet: 15.5 mm; Width plate, Inlet: 160 mm—Outlet: 170 mm Panning to the baking pan (for bread roll)
Final proofing	
Instrument	Dough conditioner, Model OBS-D5, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	38°C, 85% RH, 60 min
Baking	
Instrument	Deck oven, Model DOV-T43, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Upper (Temperature/Heat control): 210°C/3; Lower (Temperature/Heat control): 210°C/1; 11 min
Cooling	
Condition	At room temperature for 40 min after baking
Packaging	
Condition	Individually packaged using polyethylene bag

*Bread rolls were produced using the sponge and dough method. Used 12.5 kg of wheat flour.

(a) The illustration shows the baked product seen from the upper. (b) Full view of the make-up line.



除するために、ショートニングを添加した後の高速ミキシングの時間を全ての試験区で4分に設定した。パン生地の原材料比率は小麦粉 12,500 g を基準とし、生地の最終重量は約 24,125 g であった。

ASP は本捏工程で、小麦粉総量に対して 0.5 あるいは 0.75% (w/w, 以下は%で表す) を添加した。この場合、water SRC の測定結果 (Table 1) を参考にして ASP の重量の 1.5 倍量の水を生地に添加した。

本捏工程後、フロアタイムの工程を行った生地を 80 g に分割した。本実験では、同一バッチの生地に対して、標準フロアタイムを 20 分に、分割最終時を想定したフロアタイムを 40 分と設定し生地を分割することで、分割工程で生じるフロアタイムの時間差を再現した。そして、その他の条件を一定にしてロールパンを焼成して、フロアタイムに対する ASP 添加の影響を検討した。

1.4. ロールパンの形状の測定

ロールパンの体積および形状は、レーザ体積測定装置 (Selnac-Win VM, 株式会社ケイ・アクシス) を用いて、20°C で 24 時間保存した後に測定した。比容積は、重量あたりの体積 (cm^3/g) として計算した。測定後に、外観はデジタルカメラ (AW-1, 株式会社ニコン) を用いて、切断面はスキャナー (GT-S620, セイコーエプソン株式会社) を用いて撮影した。

1.5. パン内相の気泡数の測定

1.4. で得られた切断面の画像のサイズを 4,000×2,800 pixel に切りそろえた後、画像を 40×40 の 1,600 分割 (一マス当たり 100×70 pixel) して、気泡数を測定した (ただし、パンの外周近くの気泡は細かく、気泡の分離が困難なため、パンの外周の 2 mm 分を省いた分)。解析には画像解析ソフト (Image J, National Institutes of Health) を用いた。予備試験において、面積が 1 mm^2 以上の気泡は目視で内相が粗いと認識できたことから、結果は面積が 1 mm^2 以上の気泡の数を示した。

1.6. 中種法における本捏工程中の生地物性の特性値の測定

Table 3 に示すように、生地のミキシング用のモータ電力を計測することにより、パン生地の物性変化 (ミキシング特性) を連続的に測定し表示できるセンサを装備した横型ミキサ (製パン実験用ミキサ/デベロッパモニタシステム Model HM-50, 株式会社オシキリ) を使用して、中種法の本捏工程を行った。解析ソフトウェアを使用して、5 秒ごとに得られたミキサモータの電力を生地のミキシング抵抗値に変換し、最大ミキシング抵抗やミキシングのファイナル段階到達点などの生地物性の特性値を測定した。ショートニング添加後の高速ミキシングにおいて、ファイナル段階到達点を最大ミキシング

抵抗が 10%以上減少する時間とした。

1.7. 成形工程中の圧延操作における生地物性の測定

成形工程時に、成形機 (モルダ) の圧延ローラに生地片が及ぼす応力を測定した。最終圧延ローラに取り付けられたロードセルによって捕捉された荷重は、解析ソフトウェア (センサモルダシステム Model WFS, 株式会社オシキリ) によってローラの応力値として検出した。

1.8. 圧延操作後 (圧延生地) および成形操作後 (ロール生地) の生地の形状の測定

成形工程中の生地の伸展性に対する ASP の影響を調べるために、圧延操作後および成形操作後の生地の形状を測定した。画像センサカメラ (Vision systems IV-S 200, シャープ株式会社) を使用して、圧延生地およびロール生地进行成形ベルトの上部から撮影した。次いで、画像解析ソフト (Image J, National Institutes of Health) を用いて、圧延生地の長さおよびロール生地の長さを解析した。

1.9. 走査型電子顕微鏡による微細構造観察

圧延生地の微細組織観察のために、小さな断片を円形の型 (内径 30 mm, 高さ 50 mm) を用いて採取し、液体窒素中で急速凍結した。凍結試料を凍結乾燥し、次いで、成形ベルトの進行方向が分かっている割断面を走査型電子顕微鏡 (SEM) (Miniscope TM3000, 株式会社日立ハイテクノロジーズ) を使用して観察した。

1.10. パン内相の硬さの測定

個別に包装したパンは、20°C で 24–96 時間保存した。測定試料の調製を目的として、ロールパンをスライサー (Fresh-100A, 富士島工機株式会社) で厚さ 25 mm に切断し、超音波カッター (USC-3305, 株式会社山電) を用いてスライス中央部から正方形 (25 mm×25 mm) の内相を切断した。パンの内相の硬さの測定は、クリープメータ (RE2-33005S, 株式会社山電) を用いて行った。測定条件として、円柱プランジャー (Type No. 3, 直径 40 mm) により 1 mm/s のスピードで 70%圧縮した。本実験では 50%歪率での値を硬さとして示した。全ての測定試料は、パンの上部から下部に向けて同じ方向に圧縮した。

1.11. 小麦粉の生地特性の測定

ファリノグラフ測定は、AACC 法 54-21.01 (AACC International, 2010) に従って実施した。300 g ファリノグラフボウルを用い、ミキシング中に試料温度を 30°C に維持した。標準ブレードを使用してミキシングを行い、ミキシング速度を 63 rpm (標準速度)

に制御した。ファリノグラフ特性値 (吸水率, 生地形成時間, 安定性, mixing tolerance index: MTI) は、ソフトウェア (Brabender) により解析した。ASP は、0.5, 0.75 および 1.0%の濃度 (w/w%, 以下%) で小麦粉に粉末状で添加した。この際、ASP (1.5 g, 2.25 g または 3.0 g) は、等しい重量の小麦粉を置換することにより評価した。

エクステンシグラフ測定は、AACC 法 54-10.01 (AACC International, 2010) に従って実施した。エクステンシグラフによる測定値 (伸長度, 最大伸長抵抗, ratio of maximum resistance to extensibility: R_{max}/E) は、ソフトウェア (Brabender) により解析した。ASP の添加は、ファリノグラフ測定と同じ方法で行った。

1.12. ASP のタンパク質表面疎水性度の測定

タンパク質表面疎水性の測定は、Hayakawa & Nakai (1985) および Bonomi, Mora 他 (2004) の方法に従い測定した。なお、ASP は 0.1M 酢酸溶液にて溶解後、タンパク質量を Lowry 法にて測定し、タンパク質量 1 mg あたりの蛍光強度 (Ex. 380 nm, Em. 480 nm) を ASP の表面疎水性度 (F.I./mg) とした。

ASP を 70%エタノールで分画したグリアジンおよびグルテニンについても同様にタンパク質表面疎水性度を測定した。

1.13. 統計解析

全ての機械化製パン試験を 2 回実施し、各試験区の結果が同じ傾向であることを確認した。本章の機械化製パン試験は同じ日に実施した。機械化製パン試験の測定結果として、成形工程中の圧延操作における生地物性、圧延操作後 (圧延生地) または成形操作後 (ロール生地) の生地の形状、ロールパンの体積と形状、パンの内相の硬さ (各保存期間) について、各試験区および異なるフロアタイムの間で比較を行った。統計的有意性は、一元配置分散分析に続いてソフトウェア (Statcel-the Useful Addin Forms on Excel-2nd ed., 有限会社オーエムエス出版) を使用した Tukey-Kramer 検定によって分析した。差は、 $p < 0.05$ で統計的に有意と見なした。ファリノグラフとエクステンシグラフの測定結果も同様に処理した。

2. 結果および考察

2.1. パンの外観と内相に及ぼすフロアタイムの影響と ASP 添加の効果

焼成製品の上面図、底面図および断面に対する異なるフロアタイムと ASP の添加量の影響を Fig. 3 に示した。対照区 (無添加) でのフロアタイムの時間差の影響を観察すると、フロアタイム 40 分後の生地は、20 分比べて、幅が顕著に広がっていた。この結果は、分割工程中の生地の物性の安定性が機械化製パンにおいて重要であるという概念を実証した。対照的に、ASP 0.5% および 0.75% 添加区のロールパンの幅は、フロアタイムの影響を受けなかった。

Fig. 4 にレーザ体積測定装置による測定結果を示す。図は上から下に、ロールパンの体積、比容積、長さ、幅および高さを示し、さらにフロアタイムの時間差の影響を示している。全ての試験区間でフロアタイム 20 分のロールパンの比容積および高さには有意差はなかった。フロアタイム 40 分の場合、全ての試験区で比容積と高さが増加したが、フロアタイムの時間差に対して分割重量を一定にした場合、この結果は通常である。全ての試験区間で、フロアタイムが 40 分であっても比容積と高さには有意差はなかった。

ここで、長さおよび幅に着目すると、対照区 (無添加) のみでは、フロアタイム 40 分のロールパンの長さはフロアタイム 20 分よりも有意に短く、幅は有意に広がった。製品形状のこの変化は、機械化製パンにおける量産製品の商品価値の低下につながる。成形条件が一定に保たれているため、フロアタイムの時間差が生地物性の変化を引き起こした結果と考えることができる。

一方、ASP 添加区のロールパンの長さとは幅はフロアタイムの時間差の影響を受けなかった。ロールパンの幅に変化がないのは、ASP 添加区の生地の伸展性が高く、成形生地の収縮が小さいことで、焼成後のロールパンの長さが変わらないためと考えられた。上記のデータは、製品品質の均一化にとって重要な生地物性の安定性は、ASP を生地に添加することにより向上することを示唆している。

さらに、Table 4 に示したように、パン内相は目視で内相が粗いと認識される 1 mm^2 以上の気泡数が対照区でフロアタイム 20 分に対し 40 分で大きく増加したが、ASP 0.5% および 0.75% 添加区の内相の状態はフロアタイムの差異による影響はあまりみられなかった。

これらの結果より、均一な製品の提供を求められる機械化製パンにおいて、ASP の添加によって、形状および内相などが良好で均質なパンを調製することができることが明らかとなった。この要因は、ASP 添加によってフロアタイム中におけるパン生地の収縮が抑制されたものと推察した。

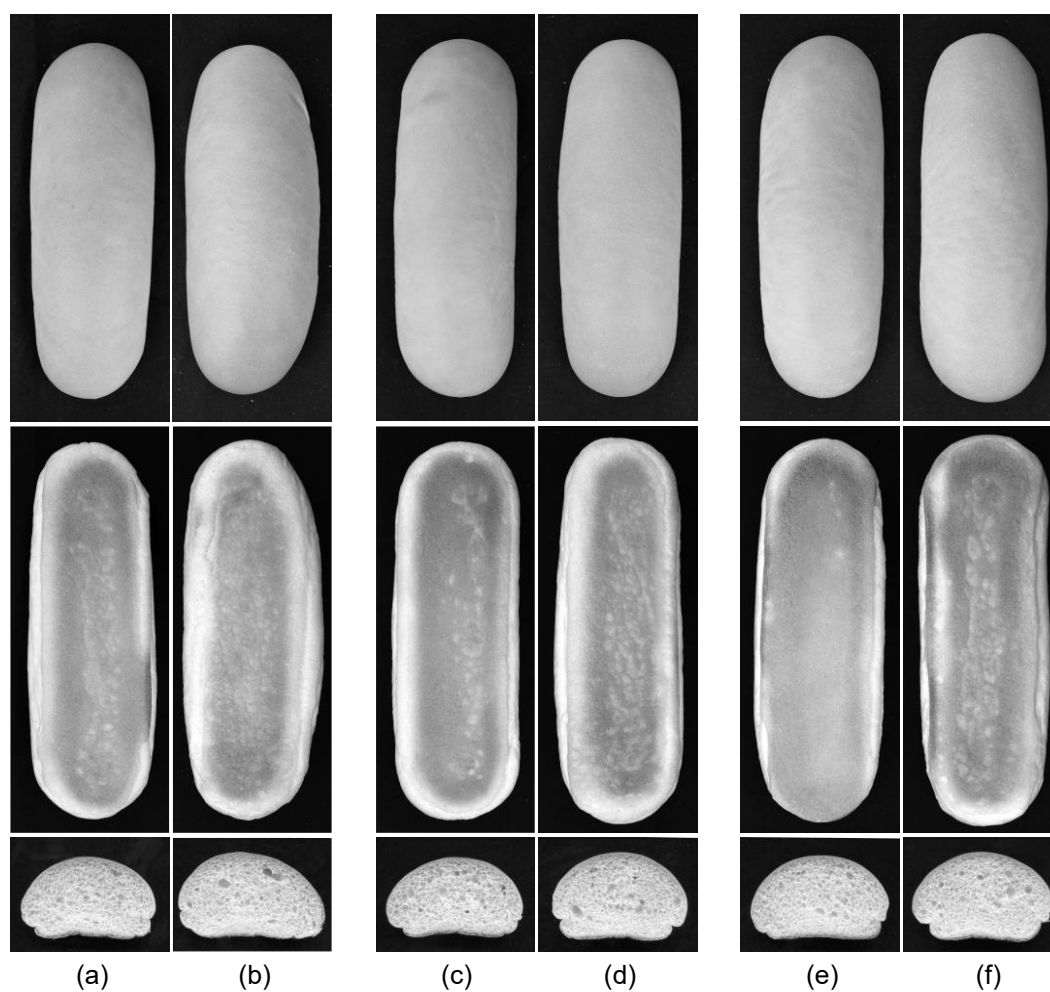


Fig. 3 External appearance and cross section of bread roll. (a) No additive (control), floor time 20 min; (b) no additive (control), floor time 40 min; (c) 0.5% acid-soluble wheat protein, floor time 20 min; (d) 0.5% acid-soluble wheat protein, floor time 40 min; (e) 0.75% acid-soluble wheat protein, floor time 20 min; (f) 0.75% acid-soluble wheat protein, floor time 40 min

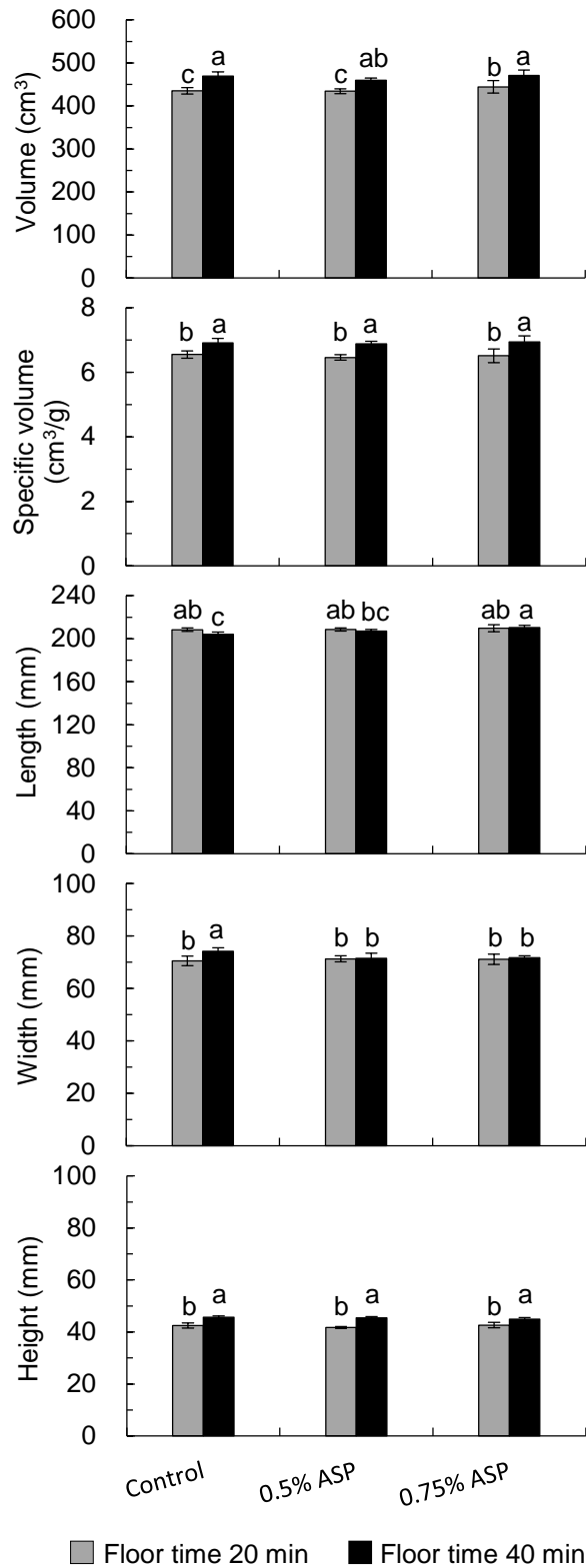


Fig. 4 Specific volume and shape of bread roll. Results show the average value \pm standard deviation ($n = 8$). Bars labeled with different letters are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test. Control, no additive; ASP, acid-soluble wheat protein

Table 4 Cell number of larger than 1 mm² in cross section of bread roll

	No additive (Control)		0.5% Acid-soluble wheat protein		0.75% Acid-soluble wheat protein	
	FT 20	FT 40	FT 20	FT 40	FT 20	FT 40
	Cell number/cross section	143	185	148	151	151

*Cross section in Figure 3.

**FT 20, floor time of 20 min; FT 40, floor time of 40.

2.2. 中種法における本捏工程中の生地物性への ASP の効果

ASP の添加は、フロアタイムの時間差に対して製品品質を安定化する効果を示したため、より詳細な解析のために製パン工程の各段階での生地物性を測定した。最初に、中種法における本捏工程中の物性の変化を測定した結果を示した。Fig. 5a はミキサモータの電力を示し、さらに、Fig. 5b は解析ソフトウェアによって変換されたミキシング抵抗を示す。ショートニングを添加する前の段階で観察すると、対照区 (無添加) と ASP 添加区との間で電力の変化およびミキシング抵抗の最大値にほとんど差がなかった。これらの結果は、ASP を添加するときに調整された水の量が適切であったことを支持するものである。

中種法における本捏工程の目的は、最終生地の物性を十分に变化させることにより、発達したグルテン構造を持つ滑らかで均質な生地を作ることである (Cauvain, 1998a; Marsh, 1998; Stauffer, 1998)。ショートニング添加後の段階で観察すると、ASP 添加区のミキシング抵抗の最大値が対照区より低いことを示した。そしてこの図によれば、ASP の添加量が増加するにしたがって、ミキシングのファイナル段階到達点の高速ミキシング時間が短縮されることが示された。結果として、ASP の添加が生地の形成に影響を与えることが示唆された。

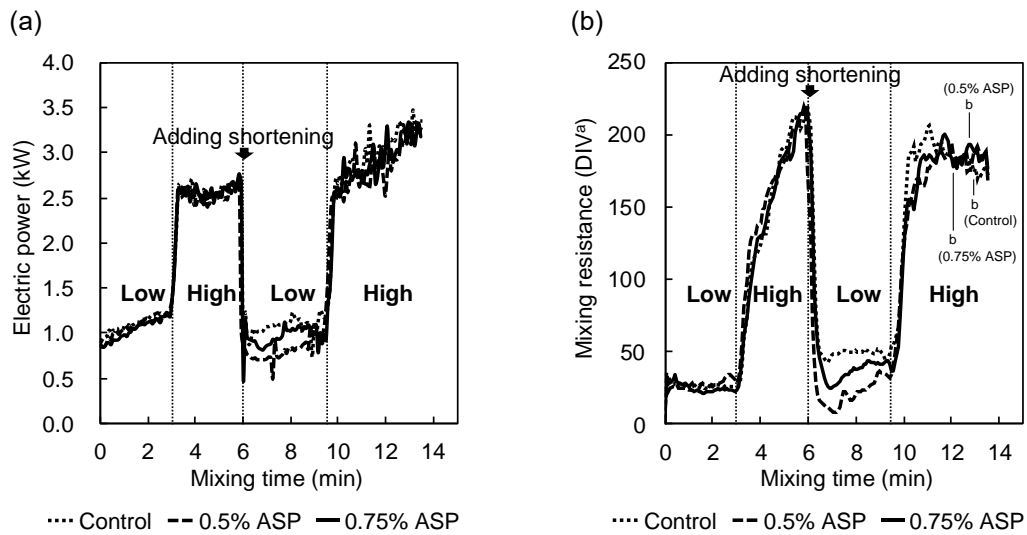


Fig. 5 Electrical power curve (a) or mixing resistance curve (b) during the dough mixing. Mixer motor electrical power (kW) obtained every 5 s was converted as the mixing resistance (DIV^a) of the dough by the analysis software. Each test was performed twice and the results were confirmed to be the same. Control, no additive; ASP, acid-soluble wheat protein; Low, low-speed mixing; High, high-speed mixing. ^aThe unit of this system, which means division (vertical axis in the figure b). ^bThe final stage of the high speed mixing after adding shortening was taken as the time at which the maximum mixing resistance decreased by > 10%

2.3. 成形時の生地物性におけるフロアタイムの影響と ASP の効果

成形工程における圧延操作は、生地片を連続するローラ対の間を通過させる。この圧延操作により、生地片の厚さを 10 分の 1 以下に減少し、表面積は 3 倍以上に増加する。圧延操作の第 1 の目的は、発酵生地の二酸化炭素ガスを脱ガスし、大きな気泡を減少させることである (Marsh, 1998)。一方、生地の物性がローラの間隙およびローラ速度に適さない場合、気泡の細分化が進行しないか、または圧延生地が損傷を受け、その結果としてパンの品質が悪影響を受ける。

Fig. 6 は、フロアタイム 20 分または 40 分の分割生地を成形したときに最終圧延ローラに加えられた最大応力を示す。対照区 (無添加) では、フロアタイム 40 分の生地によってローラに加えられた応力は、フロアタイム 20 分と比較して、56.1 N 増加した。生地の伸展性が低下したと考えられる。モルダの圧延ローラの設定条件は、対照区のプロアタイム 20 分を基準とした。このため、生地物性が大きく変化し、生地の伸展性が低下する場合、ロール成形後の生地の長さが影響を受ける。結果として、生地の伸展性の低下は、製品の外観の違いとして現れる。

一方で、ASP 0.5%添加区のプロアタイム 20 分の最大応力は対照区より有意に低く、これは生地が機械化製パンにおける成形工程のための良好な物性に改善されたことを意味する。ASP 0.5%添加区でフロアタイムを 20 分から 40 分に延長した場合、最大応力の増加は 54.2 N であり、最大応力の変化は対照区と比較して抑制された。ASP 0.75%添加区におけるフロアタイム 20 分での最大応力は、ASP 0.5%添加区より有意に低かった。ASP 0.75%添加でフロアタイムを 20 分から 40 分に延長した場合の最大応力の増加は 41.6 N であった。これらの結果から、ASP の添加量が増加すると、フロアタイム 20 分から 40 分の最大応力の差は減少した。結果として、ASP 0.75%添加区におけるフロアタイム 40 分の最大応力は、対照区におけるフロアタイム 20 分の値に近づいた。これは、成形工程における適切な生地物性に改善されたことを示している。

前述したように、機械化製パン工程の安定化には、分割工程で生じるフロアタイムの時間差に対して生地物性を安定化させることが重要である。ASP の添加の効果は、Fig. 3 に示した製品の的外観および内相の均一性と Fig. 4 に示した製品の形状の均一性を高めることに貢献したと考えられた。

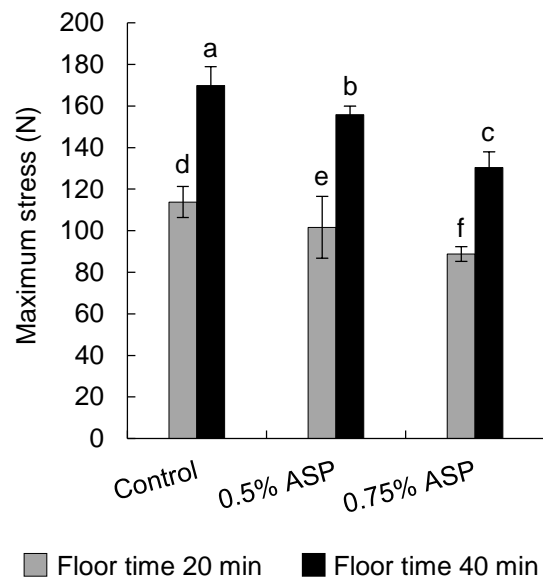
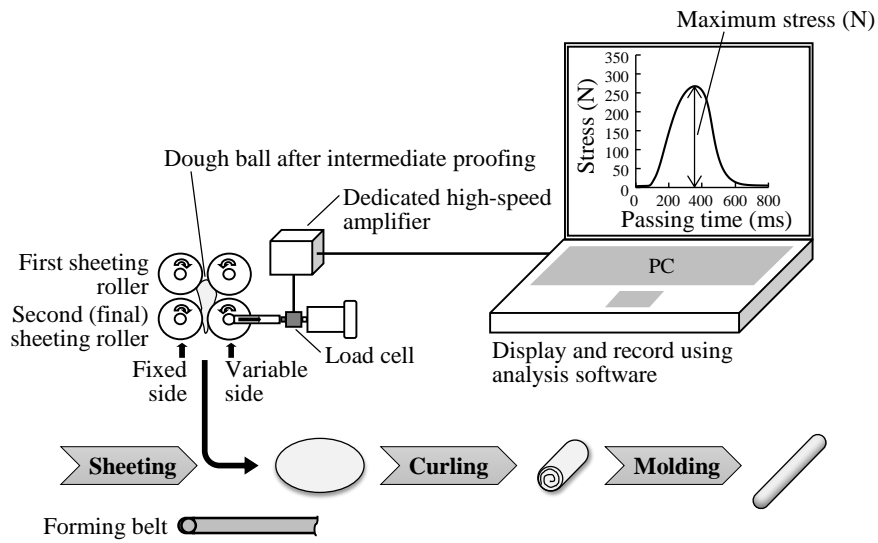


Fig. 6 Effect of floor time on the maximum stress to the final sheeting roller. Results show the average value \pm standard deviation ($n = 20$). Bars labeled with different letters are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test. Control, no additive; ASP, acid-soluble wheat protein

2.4. 圧延生地およびロール生地の形状と生地の組織構造への ASP 添加の影響

Table 5 に圧延生地 (下の写真 A) とロール生地 (下の写真 B) のそれぞれの長さを示した。

対照区 (無添加) の圧延生地を観察した場合、フロアタイムが 20 分から 40 分に延長されると長さ L1 (成形ベルトの進行方向) が短くなった。これらの結果は、上述した成形機の圧延ローラの応力測定結果と関連していると考えられる。ASP 添加区を対照区と比較した場合、フロアタイム 20 分の圧延生地の長さ L1 は有意差がなかった。フロアタイム 40 分の各圧延生地の長さ L1 を比較すると、ASP 0.75%添加区は対照区および ASP 0.5%添加区より有意に長かった。さらに、ASP 0.75%添加区はフロアタイム 20 分と 40 分の間で有意差が見られなかった。これらの結果は、ASP の添加が、Fig. 6 に示す各フロアタイムにおける圧延ローラの応力測定結果と同様に、フロアタイムの時間差に対する生地物性の安定性の改善に寄与することを示唆している。圧延生地の長さ L2 (圧延生地の横方向) に対する各フロアタイムでの試験区間に有意差は認められなかった。これらは、グルテンの粘弾性に対する ASP の効果であり、グリアジンの作用であると考えられた。

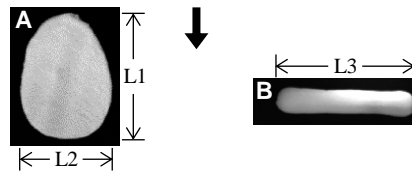
さらに、カーリング操作前の圧延生地の内部微細構造を SEM で観察した (Fig. 7)。図中に S で示したのがデンプンの大粒子であり、Fig. 7a および b に示す対照区 (無添加) の圧延生地の SEM 画像では、フロアタイム 20 分および 40 分ともにデンプン粒に配向性はみられず、グルテンネットワークに方向性はみられなかった。生地を伸ばしても弾性が強いいため戻ってしまったためと思われた。

対照的に、Fig. 7c および d に示す SEM 画像から明らかなように、ASP 0.75%添加区の圧延生地はフロアタイムに関係なく、デンプン粒が縦に配向しており、グルテンネットワークが圧延方向に伸ばされていることが観察できた。グルテンネットワークの伸展性が高いことが推察された。結果として、ASP は展圧操作に対して生地を伸ばしやすくし、さらには伸ばされた成形生地の収縮を弱めることに寄与した。

Fig. 8 には、圧延生地がロール型に成形される際の模式図を示した。青い線はグルテンネットワークを表している。成形工程では、中間発酵後の生地玉は最終圧延ローラによって圧延されて圧延生地となり、カーリングチェーンで円筒状に巻きこまれ、次いで展圧板でロール型の生地形状に成形される。Fig. 8a の対照区の場合の様に、グルテンネットワークが多方向に伸びていると、成形生地は展圧操作により伸ばされた方向と逆方向に、つまり、短くなる方向に強く収縮する (圧延方向の垂直方向に強く収縮する)。これに対して、Fig. 8b の ASP 0.75%添加区の場合には、圧延方向に伸ばされたグルテンネットワークの方向性により、成形生地は圧延方向により伸ばされた方向と逆方向に収縮する。この結果として、グルテンネットワークの方向性が展圧操作により伸ばされた成形生地の収縮 (圧延方向の垂直方向の収縮) を弱めることに寄与したと考えら

Table 5 Measurement of the shape of the sheet dough (A) and roll dough (B)

	Sheet dough		Roll dough	
	L1 (mm)	L2 (mm)	L3 (mm)	
No additive (Control)				
Floor time 20 min	149.1 ^{a-d} (7.9)	119.2 ^a (2.9)	153.2 ^{bc} (3.9)	
Floor time 40 min	140.1 ^{de} (7.7)	116.9 ^{ab} (3.7)	148.7 ^e (4.0)	
0.5% Acid-soluble wheat protein				
Floor time 20 min	159.0 ^a (7.9)	116.6 ^{ab} (7.9)	153.3 ^b (3.3)	
Floor time 40 min	140.2 ^e (6.4)	115.9 ^{ab} (4.1)	151.1 ^{bd} (3.3)	
0.75% Acid-soluble wheat protein				
Floor time 20 min	158.5 ^{ab} (6.0)	115.1 ^{ab} (3.6)	155.7 ^a (2.9)	
Floor time 40 min	149.8 ^{ac} (4.6)	113.0 ^b (4.1)	152.2 ^{bcd} (2.9)	



*Thick arrow indicates the traveling direction of the forming belt.

**Values in parentheses are standard deviation ($n = 10$). Means followed by the different letters in the columns are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test.

***Dough pieces were pressed and degassed with two rolls of molder (photo A).

****Molded doughs were moved on to the final proofer after panning to the baking pan (photo B).

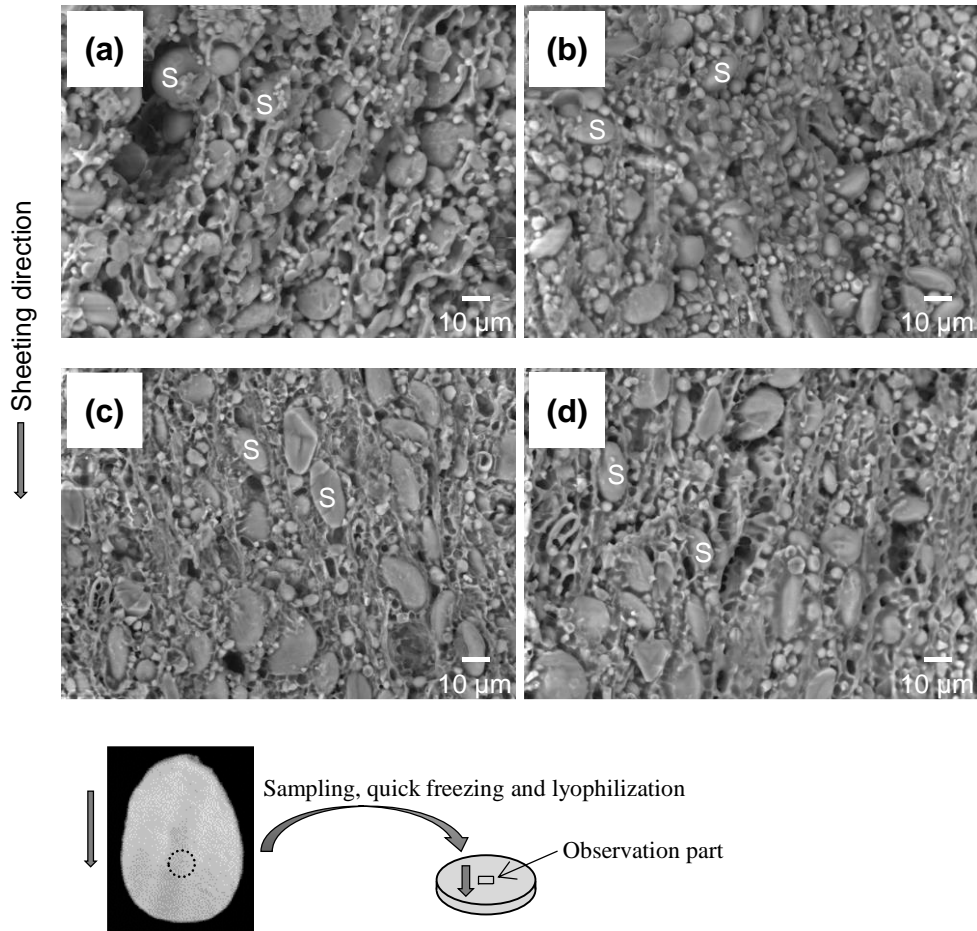


Fig. 7 Scanning electron microscopy images of the dough after final sheeting. (a) No additive (control), flour time 20 min; (b) no additive (control), flour time 40 min; (c) 0.75% acid-soluble wheat protein, flour time 20 min; (d) 0.75% acid-soluble wheat protein, flour time 40 min. Starch granules (S) are labeled in dough samples

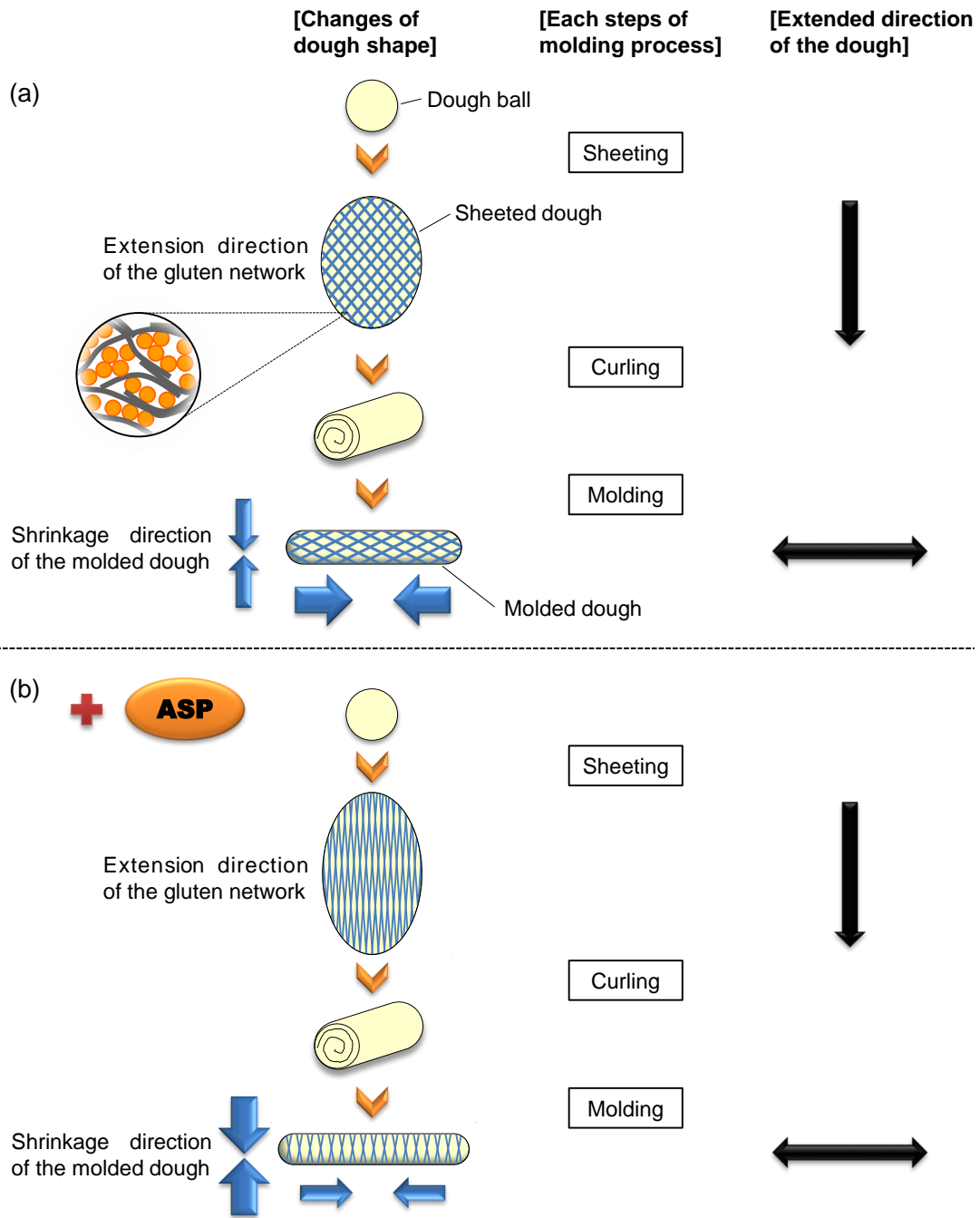


Fig. 8 Effect of adding acid-soluble wheat protein to shrinkage of the molded dough. (a) Control, no additive; (b) adding acid-soluble wheat protein. ASP, acid-soluble wheat protein

れた。

実際に、Table 5 に示したロール生地長さ (下の写真 B) の場合、対照区においてフロアタイムを 20 分から 40 分に延長すると、長さ L3 は短くなった。ASP 0.5% 添加区をフロアタイム 20 分の対照区と比較した場合、ロール生地長さに差はなかった。しかし、フロアタイム 40 分では、ASP 0.5% 添加区のロール生地は対照区よりも長く、生地物性の時間依存的変化は ASP の添加により抑制されたことを示唆した。ASP 0.75% 添加区の場合、ロール生地長さ L3 は、各フロアタイムの対照区長さよりそれぞれ有意に長かった。これらの結果から、ASP の添加により、フロアタイム長さの影響によるロール成形後の生地収縮が抑制されることが確認された。すなわち、ASP を添加することで生地の伸展性が向上し、フロアタイムが長くなっても伸展性が維持されるため、ロール生地形状を一定にするために余分な成形圧力を加える必要がない。また、上述したように圧延工程が生地の微細構造に影響を与えることから、ASP がロールパンの内相の均質化に大きく寄与していると推察した。さらには、ASP の添加により標準偏差が小さく、個体差が少なくなる傾向が認められた。

この ASP の特性は多くの種類のパンに適用できると考えられる。

2.5. パンの内相の硬さおよび保存中の変化におけるフロアタイムの影響と ASP の効果

Fig. 9 に 20°C で 24 時間保存後のパンの内相の硬さと保存中の変化を示す。図は、各試験区のフロアタイム 20 分と 40 分との比較も示している。パンの内相の硬さの測定は、ASP の添加による生地物性の安定化がパンの内相の品質に与える影響を明らかにすることを目的としている。24 時間保存後の対照区 (無添加) の硬さを観察すると、フロアタイム 40 分がフロアタイム 20 分よりも柔らかいことが明らかである。さらに、フロアタイム 40 分の保存中の硬さの変化は、フロアタイム 20 分の場合よりも遅く、内相の柔らかさの経時的な安定性が比較的高いことが明らかであった。しかしながら、上述したように、分割工程の時間差によるフロアタイムの延長はロールパンの外観に影響を与える。24 時間保存後、ASP 0.75% を添加した場合、各フロアタイムでのパンの内相の硬さは対照区よりも有意に低かった。さらに、これらの差異は保存後も維持された。さらに、24 時間保存後、ASP 0.75% 添加区のフロアタイム 20 分の硬さは、対照区におけるフロアタイム 40 分とほぼ同じである。24 時間保存後、ASP 0.5% 添加による硬さへの影響は対照区と比較して有意差を認めなかった。さらに、これらの傾向は保存後も同じであった。これらの結果から、小麦粉への ASP 0.75% の添加は、パンの内相の硬さに対する分割工程中の時間差の影響を低減することが明らかとなった。

このように、製パン工程中の生地物性の安定性に対する ASP 添加の改善効果は、パンの内相の品質の安定化に寄与する。機械化製パンにおける連続生産の安定化は ASP の添加によって達成できることが明らかとなり、これは前述のようにパン製品の外観にも良い影響を与えた。さらに、ロールパンの内相の均質化がロールパンの表皮に影響すると考えられ、II 章ではこの点についても検討することとした。

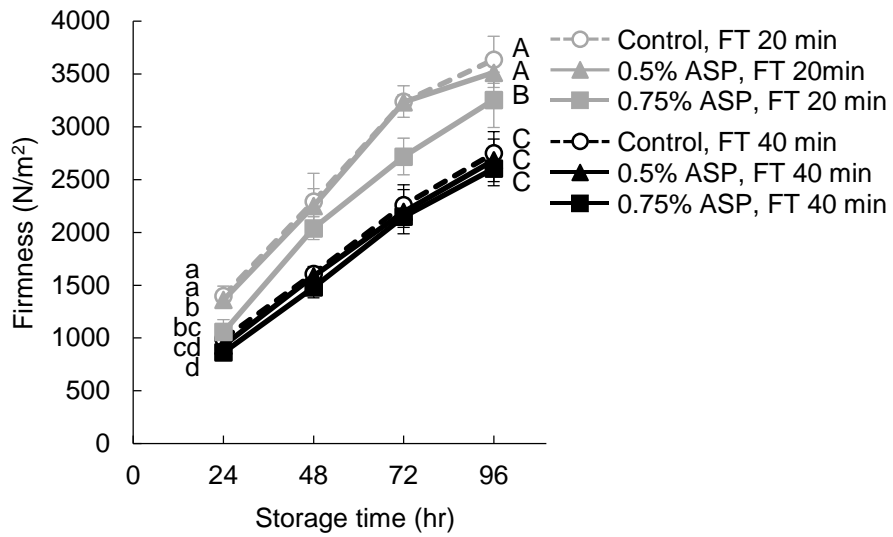


Fig. 9 Effects of acid-soluble wheat protein on crumb firmness and change of the crumb firmness during storage at 20°C. Bread rolls were stored at 20°C for 24–96 hr. Results show the average value \pm standard deviation ($n = 12$). Bars labeled with different letters are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test. Control, no additive; ASP, acid-soluble wheat protein; FT, floor time

2.6. 小麦粉の生地特性に及ぼす ASP 添加の影響

ASP を小麦粉生地に添加したときのミキシング段階における生地形成への影響を調べるためにファリノグラフ試験を行った。種々の濃度の ASP のファリノグラフデータを Table 6 に要約する。ASP 0.5%または 0.75%の添加は、対照区 (無添加) と比較して生地形成時間 (Development time) を 12.5%短縮した。さらに、小麦粉に ASP 1%を添加した場合、対照区と比較して生地形成時間を約 20%短縮した。ASP の添加による小麦粉の生地形成時間の短縮というこの効果は、ドウグラフを使用した結果と一致する (Noguchi, Shiono et al., 2016)。

また、これらの傾向は単離したグリアジン画分を小麦粉に加えたミキソグラフの実験結果と一致する (Uthayakumaran, Tömösközi et al., 2001)。さらに、グリアジン粉末をグルテンに添加したときにグリアジン比が増加するにつれて、ミキソグラフのピーク生地耐性を達成する時間が短縮されることが報告されている (Murakami, Kitabatake et al., 2015)。これらの結果は、グリアジン成分が生地形成を促進する効果を有することを一貫して示している。

また、ASP の添加は生地形成時間を短縮するが、同時に生地の安定性 (Stability) を向上する傾向があった。ASP は主にグリアジンで構成されているが、還元条件下での 2-mercaptoethanol 存在下の SDS-PAGE は、 ω -グリアジンより高分子側にグルテニンサブユニットと思われるバンドが存在することを示した (Fig. 2)。加えて、70%エタノールで抽出できないグルテニンポリマーのいくつかは、酸性または塩基性条件下で、グリアジンと同様に 70%エタノールで抽出可能になることが報告されている (Murakami, Kitabatake et al., 2015)。その結果、SDS-PAGE のパターンとミキソグラフ特性値が影響を受けた (Murakami, Nishimura et al., 2016; Murakami, Nishimura et al., 2018)。ASP に含まれる、または含まれる可能性のあるこれらのグルテニン成分のファリノグラフ特性への影響は、今後の課題である。ただし、ASP 添加による小麦粉中のタンパク質濃度増加の影響を考慮する必要がある。

製パン工程のミキシング段階の後、生地物性は、さらにいくつかの加工工程で重要な役割を果たす (Spies, 1990)。エクステンシグラフは破断するまで伸ばされている生地の試験片のカー時間曲線を記録するための装置であり、製パンのための小麦粉の適合性は経時的に測定することによって評価することができる。生地物性の時間的変化に対する安定化のための ASP 添加の影響を確認するために、ASP を小麦粉に添加したエクステンシグラフ試験を行った。結果を Table 7 に要約する。45 分値の伸長度 (Extensibility) は対照区 (無添加) と全ての ASP 添加区との間に有意差を認めなかった。90 分値の対照区の生地は 45 分値と比較して低い伸長度を有した。これに対して、ASP 0.5%および 0.75%添加区は、45 分値と 90 分値の間で伸長度に有意差を示さない。

45 分値の生地の最大伸張抵抗 (R_{max}) は、対照区と全ての ASP 添加区との間に有意差

Table 6 Farinograph properties of wheat flour with varying levels of acid-soluble wheat protein

	Water absorption		Development time		Stability		Mixing tolerance index	
	(%)	(SD)	(min)	(SD)	(min)	(SD)	(MTI) (BU)	(SD)
No additive (Control)	65.7	(0.21)	7.2 ^a	(0.17)	16.5	(1.84)	9.7	(1.53)
0.5% Acid-soluble wheat protein	65.7	(0.46)	6.3 ^b	(0.06)	17.8	(1.62)	6.3	(2.31)
0.75% Acid-soluble wheat protein	65.6	(0.06)	6.3 ^b	(0.15)	18.6	(0.21)	7.7	(0.58)
1.0% Acid-soluble wheat protein	65.6	(0.06)	5.8 ^c	(0.06)	17.9	(1.37)	7.7	(0.58)

*Values in parentheses are standard deviation ($n = 3$).

**Means followed by the different letters in the columns are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test.

Table 7 Extensigraph properties at three resting periods of wheat flour with varying levels of acid-soluble wheat protein

	Extensibility (<i>E</i>) (mm)		Maximum resistance to extension (<i>R</i> _{max}) (BU)		<i>R</i> _{max} / <i>E</i> ratio	
No additive (Control)						
45 min	186.0 ^{abc}	(5.9)	491.5 ^e	(19.4)	2.65 ^d	(0.16)
90 min	173.8 ^{ef}	(4.4)	617.7 ^c	(24.8)	3.55 ^{bc}	(0.12)
135 min	168.3 ^f	(2.7)	647.7 ^{bc}	(30.5)	3.85 ^{ab}	(0.16)
0.5% Acid-soluble wheat protein						
45 min	186.7 ^{abc}	(4.1)	505.0 ^e	(36.5)	2.70 ^d	(0.19)
90 min	179.7 ^{cde}	(3.7)	612.8 ^{cd}	(43.1)	3.41 ^c	(0.26)
135 min	178.0 ^{cde}	(4.3)	613.7 ^{cd}	(37.3)	3.44 ^c	(0.19)
0.75% Acid-soluble wheat protein						
45 min	192.8 ^a	(4.4)	547.5 ^{de}	(41.1)	2.84 ^d	(0.21)
90 min	184.7 ^{a-d}	(3.1)	691.2 ^{ab}	(24.7)	3.74 ^{abc}	(0.10)
135 min	183.0 ^{bcd}	(5.4)	708.7 ^{ab}	(23.3)	3.88 ^{ab}	(0.15)
1.0% Acid-soluble wheat protein						
45 min	191.5 ^{ab}	(6.4)	543.5 ^e	(30.2)	2.84 ^d	(0.11)
90 min	178.5 ^{cde}	(5.0)	686.2 ^{ab}	(46.9)	3.84 ^{abc}	(0.21)
135 min	176.7 ^{def}	(5.1)	717.2 ^a	(44.8)	4.06 ^a	(0.21)

*Values in parentheses are standard deviation ($n = 6$).

**Means followed by the different letters in the columns are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test.

を示さない。 R_{\max} は 45 分値のデータと比較して、対照区と全ての ASP 添加区で 90 分後に増加する傾向があり、135 分後には横ばいになるように見えた。これらの生地物性は、対照区と全ての ASP 添加区で同じ傾向を示した。結果として、ASP を添加したこれらのパン製品は対照区のプロアタイム 20 分のような均整のとれた形状をしていた (Fig. 3)。

Fig. 3 に示されるように、対照区のロールパンの幅はフロアタイム 40 分でかなり広くなっており、これはおそらく生地の R_{\max} の増加と同時に起こる伸長度の減少に関係している。しかし、対照区において生地の伸長度を維持するためにフロアタイムを 20 分未満に短縮すると、生地の伸長抵抗が不十分であるためにロールパンの形状および内相が悪影響を受ける可能性がある。

これに対して、ASP 0.5%および 0.75%添加区のロールパンの幅は、フロアタイムの影響を受けなかった (Fig. 3)。これは、 R_{\max} の増加にも関わらず、伸長度が維持された結果に関係するものと思われた。

これらのデータは、ASP の添加が機械化製パンで製造される多くの種類のパンの品質の安定化に寄与するという仮説をさらに支持している。しかしながら、生地の伸長度は、添加された ASP の量の増加に比例して必ずしも改善されなかった。この現象の原因は、ASP の添加による小麦粉中のタンパク質濃度の増加の影響を考慮しなければならない。エクステンシグラフは、小麦粉の生地の物性を測定する方法として、フェリノグラフと共に広く使用されている。エクステンシグラフの結果は、小麦粉への適量の ASP の添加が生地の伸長度を改善し、経時的に生じる伸長度の低下を抑制することを示している。いずれにしても、ASP の生地物性に対する改善効果が生地中の濃度に依存するならば、ASP の適切な添加量は生地配合および製パン方法に依存すると考えられる。

硬質および軟質小麦から分離したグリアジンは、microextension tester で測定したとき、伸長度を増加させ、生地の伸長抵抗を減少させたことが報告されており (Uthayakumaran, Tömösközi et al., 2001)、これは本研究の結果と一致する。さらに、グリアジンから単離された α - + β -グリアジン、 γ -グリアジンおよび ω -グリアジンは、microextension tester の測定結果に対して異なる影響を及ぼすことが報告されている (Uthayakumaran, Tömösközi et al., 2001)。さらに、ASP からの ω -グリアジンの脱離がグリアジンの表面疎水性を増加させ、そしてその結果として物性における粘性を減少させることが報告されている (岡, 大原 他, 2014; 野口, 2014)。これらのことから、本研究で得られた ASP の生地改良効果およびパン品質の安定化の効果に対する ω -グリアジンの関与が推察された。

2.7. ASP の表面疎水性度が生地物性に及ぼす影響

ASP の添加によるグルテンネットワークへの作用を明らかにするために、グルテンネットワークの形成に大きな役割を持っているタンパク質疎水性度を測定した。グルテンは疎水性が高く、分子間での疎水性相互作用が生地形成および性状に大きく関与する。先述したように、機械化製パンによる製パン試験やエクステンシグラフによる生地特性の測定において、ASP を添加すると生地の伸展性が向上した。さらに、ASP を添加した圧延生地の SEM による観察では、グルテンネットワークの伸展性が高いことが推察された。このような変化は、ASP を添加したことによる疎水性相互作用への影響であることが推察された。

そこで、ASP のタンパク質表面疎水性度 (F.I./mg protein) を測定し、ASP の構成成分であるグリアジン (アルコール可溶性画分)、グルテニン (アルコール不溶性画分) と比較した。その結果、Table 8 に示すように、ASP の表面疎水性度は $155 \pm 2.0 (\pm SD)$ と、グリアジンの 139 ± 3.6 に近い値を示し、グルテニンの 200 ± 1.0 に比べて著しく低かった。以上のことから、ASP 添加による生地の伸展性を向上および過度な生地の凝集抑制は、ASP によってグルテンにおける疎水性相互作用が低下したことによって惹起するものと推察した。

つまり、グルテニンとグリアジンが会合することでグルテンの凝集物が形成され、この際に疎水性の低いつまりは親水性の高いグリアジンは、グルテンの分子間相互作用に介在して、疎水性の高いグルテニンの結合を緩めることで、グルテンネットワークの伸展性に関与する (Fig. 10 の上図)。しかし、グルテンの疎水性相互作用が高ければ、圧延によって伸ばされても元に戻ってしまい、この結果、生地は収縮してしまう。これに対して ASP の添加は、親水性の高いグリアジンが増えることで、グルテニンの結合を緩めることをよりすすめることで、グルテンの会合性を弱める (Fig. 10 の下図)。この結果、グルテンネットワークは伸びやすく、圧延後に元に戻ることはなくなり、生地の伸展性を向上するものと推察した。この生地の性質が、パンの形状や内相に対するフロアタイムの違いの影響を軽減したものと考えている。

ASP の添加は、デベロップモニタシステム (Fig. 5) およびファリノグラフ (Table 6) による測定により生地成形時間を短縮する効果が認められた。これらの結果も ASP 添加がグルテンの疎水性相互作用を低下させることによる効果であると考えられた。

Table 8 Comparison of protein surface hydrophobicity

Materials	Hydrophobicity (FI./mg protein)
ASP	155 ± 2.0
Gliadin	139 ± 3.6
Glutenin	200 ± 1.0

Values are expressed as means ± standard deviations ($n = 3$). ASP, acid-soluble wheat protein.

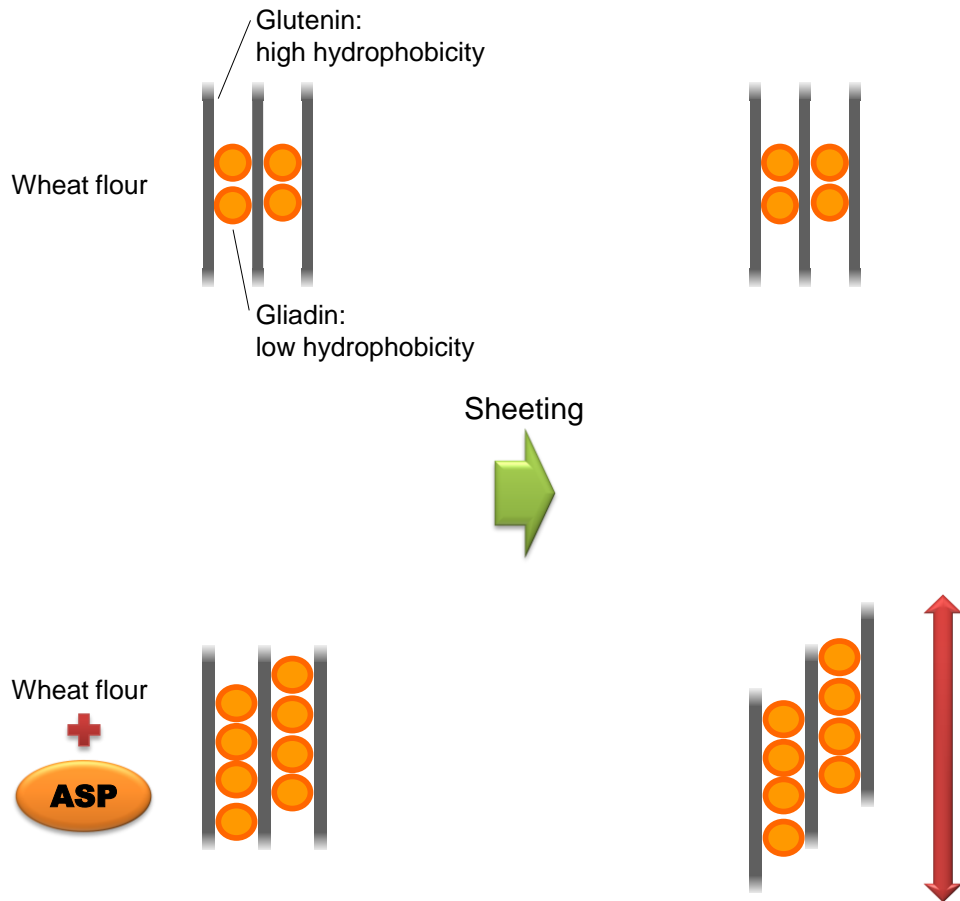


Fig. 10 Effect of adding acid-soluble wheat protein on viscoelasticity formation of gluten in dough. ASP, acid-soluble wheat protein

3. 要約

本章では、ASP の添加による生地伸展性の向上効果が製パン工程における生地物性の安定化と製品の均一化に及ぼす影響について、機械化製パンにより検討した。結果は、ASP を添加した生地は、生地物性が機械化製パンの成形工程に適していることを示した。さらに、分割工程で生じるフロアタイムの時間差による生地物性の変化を抑制することによって、製品形状とその品質の均一性向上に寄与することを示した。

中種法の本捏工程中の生地物性の測定は、ASP の添加が対照区 (無添加) と比較して最大ミキシング抵抗を減少させることを示した。さらに、ミキシング終了点を短くすることにより、生地形成が促進されることを示した。これらの効果は、ASP を小麦粉に添加したファリノグラフ測定の結果により裏付けられた。

成形工程では、ASP の添加により圧延ローラへの最大応力が減少し、高い伸展性が示された。圧延操作中の過度の圧力は、成形生地の表面および内部相を損傷する。対照区のフロアタイム 40 分は、20 分と比較して最大応力が約 1.5 倍に増加した。ASP 添加ではフロアタイム 20 分、40 分共に最大応力は対照区より有意に低くなり、ASP 0.75% 添加区のフロアタイム 40 分の最大応力は、対照区の同 20 分の値に近づき、生地が成形工程のための適切な物性に改善された。これらの効果は、圧延生地およびロール生地の形状の測定結果によって支持された。これらは、グルテンの粘弾性に対する ASP の効果であり、グリアジンの作用であると考えられた。

圧延生地の微細構造を SEM で観察した結果、ASP 0.75% 添加区では、フロアタイムに関係なく圧延方向に伸びたグルテンネットワークおよびこの方向に沿って配向したデンプン粒が観察され、グルテンネットワークの伸展性が高いことが推察された。結果として、ASP は展圧操作に対して生地を伸ばしやすくし、さらには伸ばされた成形生地の収縮を弱めることに寄与した。

さらに、エクシテンシグラフ測定の結果では小麦粉に ASP を添加すると、生地の伸展性が向上し、生地の経時的な凝集が抑制されることが示された。

これらの結果、ASP の添加は、フロアタイムの違いによるパンの形状や内相への影響を軽減したものと考えている。

また、ASP はグルテン構成タンパク質であるグルテニンに比べ、タンパク質表面疎水性度が低いことが示された。ASP 添加はグルテンの疎水性相互作用を低下させることで生地の伸展性を向上させ、過度な生地凝集を抑制するものと推察した。この結果、グルテンネットワークは伸びやすくなり、生地の伸展性を向上することが明らかとなった。この生地の性質変化が、パンの形状や内相に対するフロアタイムの違いの影響を軽減したものと考えている。

本章の結果は、機械化製パンの様々なパン製品について、ASP の添加により品質の均

一性が向上する可能性があることを示唆している。

II. 冷凍生地製パンの品質に及ぼす ASP 添加の影響

I 章では、ASP の添加は生地を機械化製パンに適した物性に改善し、さらには生地の熟成時間 (フロアタイム) の違いで生じる変化を抑制することを明らかにした。その結果、焼成後の製品形状および内相物性に及ぼす影響が軽減され、製品間の均一性が向上することが明らかとなった。しかし、ASP の添加による生地物性の変化の抑制効果がパン内相の気泡構造へ及ぼす影響とこれらが表皮に与える影響についての詳細は検討していない。

先述したように、冷凍生地の問題の多くはグルテンマトリックスの損傷によるガス保持力の低下になる。冷凍および冷凍保管は生地構造および組成に負の影響を与え (Tang, Wang et al., 2016)、低い体積および高い組織硬度 (Omedi, Huang et al., 2019) のパン製品を生じる。現在この対策として、生地改良剤であるアスコルビン酸の添加量を増加させる他、タンパク質含量の高い小麦粉の使用、あるいはグルテンを添加する。さらには、成形前発酵を最小限に抑制するといった対応を取る。これらの対策の結果、生地は硬く、伸展性が低くなる。

生地玉などの小分割済冷凍生地は、冷凍保存中の氷結晶の形成によってグルテンシートが損傷されても、生地解凍後の成形工程における再度の圧延工程で修復される (Takano, Ishida et al., 2002; Naito, Fukami et al., 2004)。これに対して、成形冷凍生地は生地解凍後から焼成するまでに生地構造を再構築する圧延などの工程がない。そのため、冷凍保存による影響はもとより、成形工程後の生地状態が製品の品質に直接反映される。さらに、一般的に機械化製パンにおける成形冷凍生地の製造は冷凍前に発酵をほとんど行わないことから、伸展性に優れたグルテンシートに発達することは期待できない (Takano, Naito et al., 2002)。また、冷凍保存後の生地物性を考慮して冷凍生地製法では、通常製法と比べて一般的に低い吸水率で製パンされる (松下, 田村 他, 2018)。つまり、成形冷凍生地の製造工程で低加水により伸展性が不足した硬い生地は、丸め機 (ラウンダ) や成形機 (モルダ) による生地の丸めや成形時に気泡の細分化が進みにくく、さらに生地の損傷などが発生する可能性がある。加えて、分割工程での時間差による生地物性の変化は、これらを増長することが考えられる。製パン工程中の物性変化を抑制することは、成形冷凍生地の製造上でも同様に重要な課題である。

そこで本章では、成形冷凍生地を対象として機械化製パンによる試験を実施し、ASP の添加による生地物性の改良が成形冷凍生地およびこれから得られるパンの品質への向上効果について、検討した。さらに、これらの効果における ASP の作用機作について解析を進めた。

1. 実験方法

1.1. 成形冷凍生地の製造

小麦粉 (ミリオン, 日清製粉株式会社) は I 章の 1.1. と同様の製品を使用した。ASP は I 章の 1.1. と同じものを使用した。

I 章と同様に、大規模工場における生産を想定した実験工場 (株式会社オシキリ) での機械化製パンによって、ロールパンの成形冷凍生地を、ノータイム冷凍生地製パン法 (Cauvain, S. P., 1998b; 山内, 一ノ瀬 他, 1999) を用いて調製した。全ての実験は、冷凍生地製法用の冷凍耐性酵母 (FD-1, オリエンタル酵母工業株式会社) を用いて行った。酸化剤は、発酵を抑えて調製する冷凍生地製法の生地の物性を強化し、さらに冷凍保存による生地の弾性の低下を抑制する (Inoue & Bushuk, 1991) 。そのため、本実験のノータイム冷凍生地製パン法では全ての試験区に、酸化剤としてアスコルビン酸を配合した市販の生地改良剤 (フリーマックス, オリエンタル酵母工業株式会社) を 1% 添加した。他の材料は Table 9 に示したように、I 章と同様のロールパンの配合で、I 章に示したものを同様に使用した。パン生地の原材料比率は小麦粉 10,000 g を基準とし、生地の最終重量は約 18,980 g であった。

製造工程ごとに最適な条件を採用した。I 章で使用したのと同じ、生地の物性変化を測定できる横型ミキサ (製パン実験用ミキサ/デベロップモニタシステム Model HM-50, 株式会社オシキリ) を使用して生地を調製した。同条件で予備実験を行い、最適な生地形成状態をもたらすミキシング時間の範囲を決定した。ミキシング工程の機能の一つは、生地の中に気泡を取り込み、酵母発酵の際に発生する二酸化炭素のガス核を作ることである (Marsh, 1998) 。このことから、ミキシング時間の違いは、生地の気泡構造に大きく影響する。結果として、Table 10 に示すように、全ての試験区に同じミキシング時間を設定した。ショートニングを除く全ての材料について、低速と高速でそれぞれ 3 分間と 4 分間のミキシングを行った。さらに、ショートニングを加えた後、低速と高速でそれぞれ 4 分間と 6 分間のミキシングを行った。

ASP 0.5% (w/w, 以下は%で表す) を生地中の小麦粉の重量に基づいて添加し、そして、I 章に記載したように、ASP の重量の 1.5 倍量の水を生地に添加した。なお、ショートニングを加える前、対照区 (無添加) と ASP 0.5% 添加区の生地のミキシング抵抗の最大値に大きな違いは見られなかったことより、適量の水が生地に加えられたことを確認した。

ミキシング中には、ミキシング工程の終了時の生地温度が $20 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ になるように生地を冷却した。通常、機械化製パンにおける成形冷凍生地の製造では、ミキシング工程中の生地温度を下げ、フロアタイムを短縮して、冷凍前の生地発酵を抑制する。これらの条件は、生地の発酵を妨げ、生地の膨張を抑制する。成形冷凍生地から製造されたパ

Table 9 Molded frozen dough formulation

Material	Formulation ^{a,b}
Wheat flour (%)	100.0 (52.69)
Sugar (%)	12.0 (6.32)
Shortening (%)	12.0 (6.32)
Nonfat dry milk (%)	2.0 (1.05)
Salt (%)	1.8 (0.95)
Dough improver (%)	1.0 (0.53)
Freeze-tolerant yeast (%)	6.0 (3.16)
Water (%)	55.0 (28.98)

^aFormulations are reported in baker's percentages based on the weight of wheat flour.

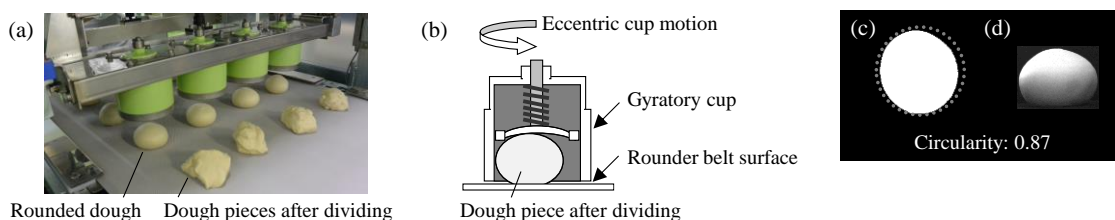
^bValues in parentheses are total formula percentages.

Table 10 Preparation of molded frozen dough and baking process

Process	Instruments and conditions
Mixing	
Instrument	Horizontal mixer, Laboratory mixer system, Model HM-50; Oshikiri Machinery Ltd.
Mixing time	Low-speed, 55 rpm (L) 3 min; High-speed, 110 rpm (H) 4 min, Adding shortening, L 4 min, H 6 min
Temperature of mixing end point	20.0 ± 0.4°C
Floor time	
Condition	27°C, 75% relative humidity (RH), 5 or 20 min
Dividing	
Dough weight	80 g
Condition	Manually
Rounding	
Instrument	Gyratory rounder, Model RGC-1; Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Volume of gyratory cup: 250 mL; Time taken for rounding: 8 sec (3 times/s)
Intermediate proofing	
Condition	27°C, 75% RH, 10 min
Molding	
Instrument	Molder, Sensor moulder system, Model WFS; Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Roller clearance, First: 8.0 mm—Second: 2.0 mm; Peripheral speed of roller: 38 m/min Pressure board height, Inlet: 15.0 mm—Outlet: 15.5 mm; Width plate, Inlet: 160 mm—Outlet: 170 mm
Freezing	
Instrument	Freezing room; Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	-30°C, 60 min (cooling velocity of the core of dough: 1.30°C/min or less)
Frozen storage	
Instrument	Freezer, Type ERF-C20CB; Fujitsu General Ltd.
Condition	-20°C, 0-60 days, Individually packaged using nylon/polyethylene bag
Thawing	
Instrument	Dough conditioner, Model OBS-D5; Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	18°C, 90 min, Panning to the baking pan (for bread roll)
Final proofing	
Instrument	Dough conditioner, Model OBS-D5
Condition	35°C, 78% RH, 60 min
Baking	
Instrument	Deck oven, Model DOV-T43; Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Upper (Temperature/Heat control): 210°C/3; Lower: 210°C/1; 11 min
Cooling / Packaging	At room temperature for 40 min after baking / Individually packaged using polyethylene bag

*No-time frozen dough method. Used 10.0 kg of wheat flour.

(a) Dough ball circularity measurement after rounding using a four-row gyratory rounder. (b) Schematic diagram of dough rounding through eccentric movement. Photographs of the (c) top and (d) side view of the dough ball (Control, no additive, floor time 20 min).



ンの場合、生地の膨張率が高い (すなわち、生地を冷凍する前の生地の膨張率が 2 を超える) と、内相および表皮に著しく悪影響を与えることが報告されている (安藤, 一言他, 1996)。さらに、分割工程を迅速に完了するために、1 バッチの生地量が低減される。それにも関わらず、機械化製パンの分割工程は、一般に、約 10 分から 15 分を必要とする。そのため、フロアタイムの違いにより生地物性が変化し、冷凍生地製法でも成形工程後に生地に損傷を与える可能性がある。本実験では I 章と同様に、機械化製パンの工程中の生地物性の安定化に対する ASP の効果を調べるために、分割工程前の生地のフロアタイムについて、長さの違いを与えた。つまり、分割工程の始まりと終わりに生じる時間差について通常想定される時間を考慮し、標準のフロアタイムを 5 分に設定し、さらに、同じ生地に対してフロアタイム 20 分で分割を行った。ミキシング直後の生地容積を 1.0 とすると、フロアタイム 20 分での生地容積は全ての試験区で 1.05 であった。したがって、生地の膨張率は低く抑えられていた。

続いて、生地を手作業により 80 g の生地片に分割した。分割された生地片を、丸め機 (ジャイレトリラウンダ Model RGC-1, 株式会社オシキリ, Table 10 の下の a および b) を用いて、個体間で丸め状態に差異がでないように同一の条件で生地玉とした。その後、フロアタイムと生地への ASP 添加の効果を調べた。丸めた後、生地玉を 10 分間 (27°C, 相対湿度 (RH) 75%) の中間発酵を経た後、成形機 (ワイドファインモルダ Model WFS, 株式会社オシキリ) を使用して機械的に成形した。成形機の設定条件は、対照のフロアタイム 5 分に基づいており、これは I 章と同じであった。生地物性に対するフロアタイムの影響を評価するために、全ての試験区に同じ成形条件を使用した。

氷結晶の生成は生地の凍結速度に強く依存する。凍結速度が遅いため最大氷晶形成帯内での滞留時間が長いと、冷凍生地のグルテン構造に影響を及ぼす。これにより、パンの内相構造が劣化し、パン体積が減少する (山田, 荻須 他, 2011a)。逆に、パン生地中心の冷却速度が 1.5°C/分を超える急速冷凍は、パン体積を減少させるので、パン生地中の酵母の生存率にとって有害であることが報告されている (Neyreneuf & Delpuech, 1993)。本実験では、冷凍耐性酵母を使用し、全ての試験区の生地の中心部の冷却速度を 1.3°C/分以下に設定した。さらに、パン酵母の使用量が多いことから (Table 9)、冷凍保存期間中の成形冷凍生地のガス発生能力は低下しないことを確認した。加えて、冷凍生地の最低到達温度と保存条件にも留意した。既報による SEM の観察では、最低温度が -40°C の冷凍生地のグルテン構造の弱体化が観察されて、対応する焼成品の内相の品質が劣化したことが示されている (山田, 荻須 他, 2011b)。さらに、冷凍保存中に生地を複数回の凍結融解サイクルにかけると、生地の強度が大幅に低下し、焼成品の体積が大幅に減少した (Inoue & Bushuk, 1992)。その上、SEM 画像は生地構造が損傷していることを明らかにした (Zhang, Li, Liu, & Zhang, 2018)。これらのことから、全ての試験区の成形冷凍生地は、生地の中心温度が -20°C に達した後、つまり、冷凍室 (株式会社オシ

キリ) で -30°C で 60 分間冷凍した後、ナイロン/ポリエチレン製袋で個別包装し、冷凍庫 (冷凍ストッカー ERF-C20CB, 株式会社富士通ゼネラル) で -20°C の一定温度で保存した。これらの条件は予備実験で決定した。

1.2. 成形冷凍生地からのロールパンの調製

あらかじめ冷凍保存していた成形冷凍生地を解冻し、最終発酵後に焼成することでロールパンを調製した。既報における SEM による観察結果では、緩慢な条件下で解冻された生地がグルテン構造を弱め、パンの品質を低下させたことを示している (山田, 渡邊 他, 1999)。このことから、本実験では最大氷結晶生成帯の通過時間が短い条件として、個包装から出してロールパン用の型天板に並べ、恒温恒湿器 (ドウコンディショナ OBS-D5, 株式会社オシキリ) 中で、 18°C で 90 分間の解冻条件を設定した。本実験条件下では冷凍保存 60 日間で成形冷凍生地のガス発生力が低下しないことから、適切な最終発酵 (35°C , RH78%, 60 分) および焼成条件 (210°C , 11 分) を予備試験から決定し、全ての試験区において同一の条件とした。冷却および包装の条件は I 章と同条件とした。

1.3. 丸め後の生地玉の円形度の測定

フロアタイム、ASP の添加および丸め工程が生地玉の円形度に及ぼす影響を検討するために、丸め後の生地玉の上面と側面を画像センサカメラ (Vision Systems IV-S200, シヤープ株式会社) を使用して撮影した。円形度は、生地玉の上面画像と画像解析ソフトウェア (Image J, National Institutes of Health) を使用して計算した。各生地玉の輪郭の重心を決定し、円形度を重心から輪郭までの最大距離に対する最小距離の比率として定義した (Table 10c)。生地玉の輪郭が真円の場合、円形度は 1 になる (Table 10c の点線は真円を表す)。

1.4. 成形工程中の圧延操作における生地物性の測定

I 章の 1.7. と同じ手順に従って、成形中に生地片がモルダの圧延ローラに及ぼす応力を測定した。

1.5. SEM による微細構造の観察

成形生地の微細構造を観察するために、成形生地の中心部から小片を採取し、液体窒素中で急速凍結した。続いて凍結試料を凍結乾燥し、成形生地の表面部分を I 章の 1.9. と同様に SEM で観察した。

さらに、解冻および最終発酵工程を経た成形冷凍生地 (冷凍保存 7 日間) について、中央部分を採取し、液体窒素中で急速凍結した。凍結試料を凍結乾燥した後、SEM で表面部分およびその断面を観察した。

1.6. ロールパンの形状の測定

ロールパンの体積および形状は、I章の1.4と同様にレーザ体積測定装置を用いて、20°Cで24時間保存した後に測定した。比容積は、重量あたりの容積 (cm^3/g) として計算した。測定後はI章の1.4と同様に、外観および切断面を撮影した。

1.7. パン内相の気泡数の測定

1.6.で得られた切断面の画像を使用して、I章の1.5と同様に、面積が 1 mm^2 以上の気泡の数を計測した。

1.8. ロールパンの内相と表皮の観察

ロールパンの切断面中央の表皮と接触した内相の気泡構造を実体顕微鏡 (SMZ800, 株式会社ニコン) を使用して観察した。加えて、内相の気泡構造が表皮の外観に大きく影響するため (Ishida, Takano et al., 2001; Takano, Ishida et al., 2002)、気泡構造の観察部分について、その後に真上の表皮の外観を実体顕微鏡により観察した。

1.9. パン内相の硬さの測定

内相の硬さを測定するために、同じ組成の成形冷凍生地を上記と同条件で新たに調製した。その後、成形冷凍生地を30日間冷凍保存し、続いてロールパンの調製に使用した。個別に包装されたロールパンは、20°Cで24–72時間保管した。測定用試料の採取と測定条件はI章の1.10.と同様とした。

1.10. 生地の冷凍保存が生地物性およびパンの比容積に及ぼす影響

生地の冷凍変性に対するASPの抑制効果の解析のために、小麦粉の2%をグルテン(ASPの原料)あるいはASPに置き換えて、生地の冷凍保存が生地物性およびパンの比容積に及ぼす影響を検討した。比較として、アスコルビン酸30 ppmも同時に検討した。

Table 11 に示す低糖生地組成のパン生地をピン型ミキサ (Swanson type 100–200 gram pin mixer, National Manufacturing Co.,) により3分間ミキシングすることにより調製した。その後、30°Cにて60分間醗酵させ、174 g (小麦粉100 g分) に分割した。未冷凍の生地の場合は、続いて丸め、ベンチタイム15分間の後、モルダ (ミニモルダー MM-230, 株式会社愛工舎製作所) にて成形し、38°C、RH85%、50分間醗酵 (ドウコンディショナ DII-30W-DX, 有限会社協同電熱製作所) させ、エクステンシグラフ (Model 8600, Brabender) の発酵生地用ホルダーとフックを用いて生地物性 (生地の引張り物性) を測定した。冷凍生地の場合には240×170 mmのポリエチレン製チャック袋中で薄くのぼして密閉し、-20°Cにて冷凍 (ショックフリーザー KQF-20A, 株式会社共栄電熱) した。1週間、-20°Cで保存する間、10°Cで1時間解凍する操作を4回行った (以下、これを

Table 11 Low-sugar bread dough formulations^a

Material	Control (no additive)	30 ppm L-Ascorbic acid	2% Gluten/ASP
Wheat flour (%)	100	100	98
Sucrose (%)	5	5	5
Salt (%)	2	2	2
Freeze-tolerant yeast (%) ^b	4	4	4
Water (%)	63	63	63
L-Ascorbic acid (%)	—	0.003	—
Gluten/ASP (%)	—	—	2

^aFormulations are reported in baker's percentages based on the weight of wheat flour.

^bNon-frozen dough: 2%. ASP, acid-soluble wheat protein.

冷凍解凍反復処理とする)。冷凍1週間後に30°Cにて60分間解凍し、丸め以降は未冷凍の場合と同様の操作を行った。なお、未冷凍の生地の場合は、生地組成中の酵母量を、小麦粉100gに対し2gとした。

また、生地の冷凍保存が焼成後のパンの比容積に及ぼす影響を検討するために、冷凍前発酵を40分とした以外は同様として、生地の調製と解凍操作を行った。生地を丸め後、30°Cにて30分間の第2醗酵をとり、モルダにて成形し、105×70×50mmのテフロンコーティングパンケースに型詰めした。最終醗酵(ドウコンディショナ Dll-30W-DX, 有限会社協同電熱製作所)は38°C、RH85%、55分とし、200°Cにて25分間焼成(ロータリーオープン KRO-4SDX, 有限会社協同電熱製作所)した。1時間放冷後、重量を測定し、体積をレーザ体積測定装置(Selnac-Win VM, 株式会社ケイ・アクシス)にて計測し、比容積(cm^3/g)を算出した。

1.11. 小麦タンパク質生地の水分活性値の測定

ASPおよびASPの原料グルテンについて、水分43%、固形分57%になるように試料を測り、水を入れたビーカーに入れ、よく混合して水和させた。これを水分活性測定用容器に入れ、蓋をして20分間放置後に蓋を取り、水分活性恒温測定装置(LabMASTER-aw, Novasina)にセットし、水分活性値(A_w)を求めた。ASPおよびグルテンの A_w からそれぞれの結合(吸着)水の割合を比較した。

1.12. 小麦タンパク質生地の微細構造の観察

1.11.と同じ小麦タンパク質の試料1gに対して、20gの水を加えて、攪拌混合し、遠心分離(3,000 rpm, 10分)により沈殿した生地を分離した。これを凍結乾燥後に、上記1.5.と同様にSEMを使用して、断面の微細構造を観察した。

1.13. 統計解析

実験工場における機械化製パン試験は全て2回実施し、各試験区の結果は同じ傾向を示していることを確認した。本章の機械化製パン試験は、特に断りのない限り、同じ日に実施した。機械化製パン試験における測定値、即ち、丸め後の生地玉の円形度、成形工程の圧延操作中の生地物性、ロールパンの体積と形状、冷凍保存による成形冷凍生地の比容積の変化および保存期間ごとの内相の硬さの測定結果について、異なる試験区と異なるフロアタイムについて比較した。一元配置分散分析を使用して統計的有意性を分析した後、ソフトウェア(Statcel-the Useful Addin Forms on Excel-2nd ed., 有限会社オーエムエス出版)を使用してTukey-Kramer検定を行った。差は、 $p < 0.05$ で統計的に有意と見なした。

2. 結果および考察

2.1. 成形冷凍生地から調製したロールパンの外観と内相に対する ASP の効果

成形冷凍生地から調製したロールパンの外観および断面に及ぼす異なるフロアタイムおよび ASP 0.5%添加の影響を Fig. 11 に示した。Fig. 11a-d は、冷凍保存 5 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンを示している。対照区 (無添加) のロールパンの長さおよび幅は、フロアタイムが 5 分から 20 分に増加すると、それぞれ短くなり、広がった (Fig. 11a および b)。これに対して、ASP 0.5%添加区のロールパンの長さおよび幅は、フロアタイムの影響を受けなかった (Fig. 11c および d)。レーザ体積測定装置による測定結果、すなわちロールパンの体積、比容積、長さ、幅、高さへの異なるフロアタイムの影響と生地への ASP 0.5%の添加の影響を Table 12 にまとめて示した。試験区間の焼減率の差が小さかったため、体積と比容積は同じ傾向を示した。比容積について、フロアタイム 5 分と比較して、フロアタイム 20 分はわずかに値が高かったが、両試験区間を各フロアタイムの値で比較した場合、有意な差は認められなかった。本研究を実施した目的は、成形冷凍生地から調製した均一な形状と品質を有するパンを提供することである。したがって、最終発酵工程の完了時に形状を一定に保つために、成形冷凍生地の解凍時にはロールパン用の型天板を使用した。このため、対照区と ASP 0.5%添加区を比較するとフロアタイム 5 分の生地のロールパンの長さは有意差がなかった。しかし、これらに比べて、対照区のフロアタイム 20 分の生地のロールパンの長さは有意に短かった。

本実験ではモルダによる成形時に展圧する際、成形後の生地の長さを合わせる目的で幅板を使用した。このため、ロールパンの長さが短いということは、成形冷凍生地の短さ、つまりは成形時の生地の伸展性が足りないことや生地が収縮したことを示している。これに対して、ASP 0.5%添加区はフロアタイム 20 分の生地のロールパンの長さについても有意差はなかった。これはモルダによる成形時に、生地がよく伸展し、収縮がなかったことを示している。

ロールパンの高さについては、対照区のフロアタイム 20 分の生地のロールパンの高さが他の試験区に比べて有意に高かった。対照区のフロアタイム 20 分の生地のロールパンの形状は、モルダによる成形時に、生地の伸展性が低下して成形生地の高さが縮んだ結果であると考えられた。

対照区の断面画像は、フロアタイム 20 分のロールパンの内相の気泡構造の均一性が、フロアタイム 5 分のロールパンよりも低いことを示した (Fig. 11a および b)。これに対して、ASP 0.5%添加区のロールパンの内相の気泡構造に及ぼす異なるフロアタイムの影響は、対照区に比べて少ないようであった (Fig. 11c および d)。Table 13 に示した画像解析による 1 mm^2 以上の気泡の数の測定結果もこれを裏付けていた。これらの結果

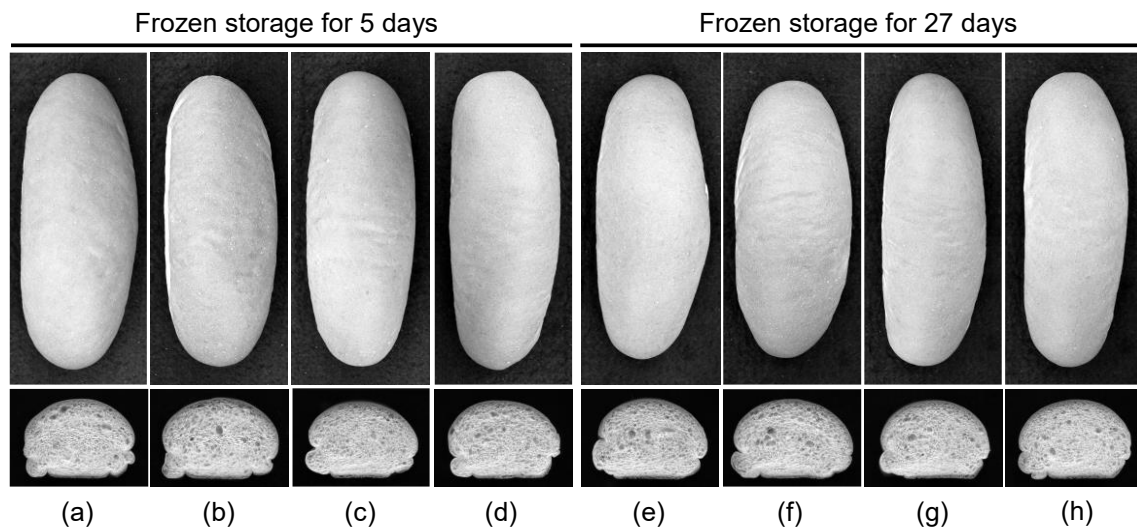


Fig. 11 External appearance and cross section of bread roll prepared from molded frozen dough. (a) and (e) Control (no additive), flour time of 5 min; (b) and (f) control, flour time of 20 min; (c) and (g) 0.5% acid-soluble wheat protein additive, flour time of 5 min; (d) and (h) 0.5% acid-soluble wheat protein additive, flour time of 20 min

Table 12 Volume, specific volume, and size of bread rolls prepared from molded frozen dough

	Volume (cm ³)	Specific Volume (cm ³ /g)	Length (mm)	Width (mm)	Height (mm)
Frozen storage period of 5 days					
Control (no additive)					
Floor time of 5 min	472.2 ^{ab} ± 9.8	6.8 ^{ab} ± 0.1	197.5 ^a ± 5.6	76.8 ^a ± 3.0	49.5 ^b ± 1.3
Floor time of 20 min	485.5 ^a ± 15.4	7.0 ^a ± 0.2	191.3 ^b ± 4.5	76.8 ^a ± 2.0	52.6 ^a ± 1.3
0.5% Acid-soluble wheat protein					
Floor time of 5 min	464.0 ^b ± 3.6	6.7 ^b ± 0.1	201.0 ^a ± 1.5	73.2 ^a ± 2.3	49.5 ^b ± 1.0
Floor time of 20 min	483.4 ^a ± 7.2	6.9 ^a ± 0.1	199.0 ^a ± 2.7	74.2 ^a ± 2.5	50.4 ^b ± 0.8
Frozen storage period of 27 days					
Control					
Floor time of 5 min	450.3 ^{ab} ± 8.0	6.5 ^{ab} ± 0.1	194.1 ^{ab} ± 4.1	75.8 ^a ± 2.3	49.4 ^b ± 0.9
Floor time of 20 min	461.1 ^a ± 11.1	6.7 ^a ± 0.2	190.1 ^b ± 1.9	76.4 ^a ± 1.7	51.5 ^a ± 1.6
0.5% Acid-soluble wheat protein					
Floor time of 5 min	442.6 ^b ± 10.3	6.3 ^b ± 0.1	196.8 ^a ± 3.6	72.0 ^b ± 2.0	49.9 ^{ab} ± 0.8
Floor time of 20 min	464.1 ^a ± 11.7	6.7 ^a ± 0.2	196.5 ^a ± 5.3	72.5 ^b ± 3.0	51.2 ^a ± 1.1

*Values are expressed as means ± standard deviations ($n = 8$).

**Different letters in the same column (frozen storage for 5 or 27 days, respectively) are significantly different ($p < 0.05$) according to the Tukey–Kramer test.

Table 13 Cell number of larger than 1 mm² in cross section of bread roll prepared from molded frozen dough

	Frozen storage for 5 days				Frozen storage for 27 days			
	No additive (Control)		0.5% Acid-soluble wheat protein		No additive (Control)		0.5% Acid-soluble wheat protein	
	FT 5	FT 20	FT 5	FT 20	FT 5	FT 20	FT 5	FT 20
Cell number/cross section	156	189	156	166	191	174	157	125

*Cross section in Figure 11.

**FT 5, floor time of 5 min; FT 20, floor time of 20.

は、ASP を添加した成形冷凍生地は、いずれのフロアタイムも気泡構造が細かく均一であったことを示している。冷凍生地中の大きな気泡は、小さい気泡に比べて、冷凍保存中に気泡内に氷結晶が生成しやすいことが報告されており (Esselink, van Aalst et al., 2003) 、ASP を添加した成形冷凍生地では、細かく均一な気泡構造が氷結晶の生成の抑制につながる可能性がある。

Fig. 12 は、ロールパンの比容積に対する成形冷凍生地の冷凍保存期間の影響を示している。冷凍保存 5 日間と比較して、冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンの比容積は全ての試験区において有意に減少した。

Fig. 11e-h は、冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンを示している。対照区では、フロアタイム 5 分に比べてフロアタイム 20 分でロールパンの長さが短くなり、幅が広くなった (Fig. 11e および f) 。これに対して、ASP 0.5%添加区のロールパンの長さ、幅は、フロアタイムの影響を受けず (Fig. 11g および h) 、冷凍保存 5 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンで観察された結果と同様であった。冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンのレーザ体積測定装置による測定結果 (Table 12) によると、対照区のフロアタイム 20 分の生地のロールパンの長さは、ASP 0.5%添加区に比較して有意に短かった。これに対して、ASP 0.5%添加区のロールパンの長さは、フロアタイム 5 分とフロアタイム 20 分間に有意差はなかった。ロールパンの幅については、両試験区ともにフロアタイム間に有意差はなかったが、対照区に比べて ASP 0.5%添加区は有意に値が低かった。ロールパンの高さについては、ASP 0.5%添加区はフロアタイム間に有意差はなかった。しかしながら、フロアタイム 20 分の対照区のロールパンの高さは、フロアタイム 5 分の対照区のロールパンの高さよりも有意に高かった。同じ傾向が、冷凍保存 5 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンで観察された。

断面図について、対照区のロールパン (Fig. 11e および f) の内相の気泡構造の均一性は、ASP 0.5%添加区のロールパン (Fig. 11g および h) よりも低かった。これは、冷凍保存 5 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンと同じ傾向であり、画像解析による 1 mm^2 以上の気泡の数の測定結果からも示された (Table 13) 。

冷凍保存の影響を観察すると、対照区について、フロアタイム 5 分の冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンは、フロアタイム 5 分の冷凍保存 5 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンに比較して、内相の気泡構造の均一性が低いように見えた (Fig. 11a および e) 。これに対して、ASP 0.5%添加区では、いずれのフロアタイムに関してもロールパンの内相の気泡構造に対する冷凍保存の影響はあまりみられなかった。これらの結果についても画像解析による測定結果がこれを裏付けていた (Table 13) 。

これらの結果は、I 章の 2.3. で述べた生地の伸展性を改善する ASP の添加効果に起

因しており、ASP 0.5%添加区の生地内の気泡が、仕上げ工程 (分割, 丸め, 中間発酵および成形) 中、特に成形中に細かく均質化されたことによると考えられた。これらのデータは、添加した ASP が製パン工程中に生じる生地物性の変化を抑制することを示唆した。これは、I 章でも述べたように、製品品質の均一性にとって重要である。さらに、生地の適切な粘弾性は発酵によるガスを保持するために重要である (He & Hosney, 1992; Naito, Fukami et al., 2005) ことから、ASP の添加による生地物性の変化の抑制は、内相の気泡構造および表皮の状態に改善効果をもたらす可能性があることを推測した。

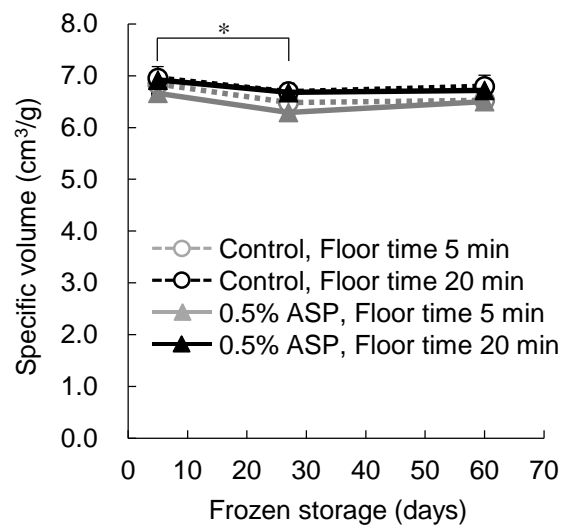


Fig. 12 Effect of frozen storage period of molded frozen dough on the specific volume of bread roll. The results are presented as average values \pm standard deviations ($n = 8$). *All changes were significant ($p < 0.05$) according to the Tukey–Kramer test. Here, Control and 0.5% ASP denote dough samples with no additive and with 0.5% acid-soluble wheat protein additive, respectively

2.2. フロアタイムの違いが丸め工程および成形工程に与える影響

焼成後のパンの品質低下を抑制する目的で、冷凍前発酵がほとんど行なわれないように生地のみキシング終了後の生地温度を低くし、フロアタイムを短く設定した本実験においても、ASPの添加はI章と同様に、フロアタイムの時間差に対する製品の安定化向上効果を示した。これより、製パン工程での各段階におけるASPの添加効果の検討を行った結果について述べる。

みキシングを終了した生地は、フロアタイムが経過した後、細かい生地片に分割され(分割工程)、生地玉に丸められる(丸め工程)。さらに、中間発酵後、成形により生地の組織構造が均質化される(内田, 1991)。これに対して、不均一な丸めの状態は、内相と表皮に悪影響を与える成形の状態につながる可能性がある(Marsh, 1998)。このため、内相の気泡構造や表皮を評価する際には、機械化製パン時に、分割された生地片に対して、丸め機(ラウンダ)を使用して丸めることが適切に行われたかどうかを判断する必要がある。そこで、生地玉の円形度を測定することにより、フロアタイム(分割工程中の時間差を想定した5分および20分)および添加されたASPの丸めへの影響を調べた。対照区およびASP 0.5%添加区において生地玉の円形度は、フロアタイム5分の 0.90 ± 0.02 (\pm SD) に対して、フロアタイム20分で 0.89 ± 0.02 となり、わずかに減少した。しかし、これらの値に有意差はなかった($n=15, p<0.05$)。これらの結果、試験区間で有意差は観察されなかった。また、全ての生地がほぼ球形に丸められ、側面は均一であった(Table 10d)。これらの結果は、成形に対する丸めの条件の影響は、本実験における試験区では無視できることを示した。

成形工程における圧延の主な目的は、気泡構造を引き伸ばし、分割および丸めの際に発生する特に大きな気泡を閉じることである(Marsh, 1998)。冷凍生地の製造では、発酵が少ないため、大きな気泡が発生することはほとんどない。逆に、伸展性の優れたグルテンシートへの発達は期待できないので(Takano, Ishida et al., 2002; Takano, Naito et al., 2002)、生地の組織構造が適切に延伸されることを期待することはできない。生地物性がローラ間隙に適していない場合、グルテンシートが損傷する(内藤, 石田 他, 2004)。その結果、焼成後のパンの内相の気泡構造が悪影響を受ける。

フロアタイム5分および20分後の生地について、分割し、丸め後の生地玉を中間発酵後に成形する際、最終圧延ローラに与える最大応力を測定した結果をFig. 13に示した。対照区の場合、フロアタイム20分の生地がローラに及ぼす応力は、フロアタイム5分の生地が及ぼす応力よりも41.1N高かった。モルダの圧延ローラの設定条件は、対照区のアートタイム5分を基準とした。その結果、生地物性が大きく変化し、生地の伸展性が低下すると、生地の構造が損傷し、気泡構造が均一に細分化されなくなる。

これに対して、フロアタイム5分のASP 0.5%添加区の生地の最大応力は、対照区の最大応力よりも有意に低かった。これは、I章と同様に、添加したASPが生地に圧延

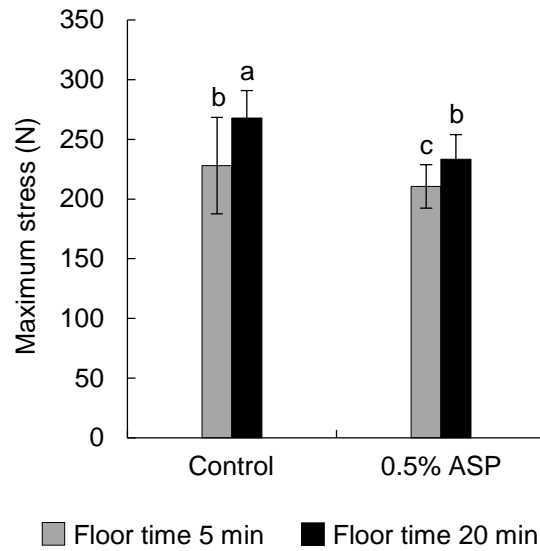


Fig. 13 Effect of floor time on the maximum stress of the final sheeting roller. The results are presented as average values \pm standard deviations ($n = 15$). Bars labeled with different letters are significantly different at $p < 0.05$ according to the Tukey–Kramer test. Control and 0.5% ASP denote dough samples with no additive and with 0.5% acid-soluble wheat protein additive, respectively

のための良好な伸展性を与えることを示した。その結果、圧延ローラと展圧板によって生地にかかる負荷が軽減された。さらに、ASP 0.5%添加区のフロアタイムを 5 分から 20 分に延長すると、最大応力が 23.0 N 増加した。したがって、フロアタイムの違いによる最大応力の変化は、対照区に比較して小さかった。その結果、フロアタイム 20 分の ASP 0.5%添加区の最大応力とフロアタイム 5 分の対照区の最大応力との間に有意差は観察されなかった。言い換えれば、添加された ASP により、フロアタイムを延長しても生地の伸展性を維持したため、成形中に生地に過度の負荷がかかることはなかった。

II 章における生地への水の添加量が少なく発酵が可能な限り抑制されたノータイム冷凍生地製パン法では、成形中に最終圧延ローラに加えられた最大応力は、I 章の中種法を用いた場合より 2 倍以上高く、硬い生地であることが示された。しかし、フロアタイムを延長した場合の生地物性の変化は小さかった。また、ASP 0.5%を生地に添加した場合のフロアタイム差による生地物性の変化抑制効果は、中種法を用いた場合よりも高かった。これは、機械化製パンにおいて、品質安定化のための ASP の最適添加量は、同じ小麦粉を使用して調製された同じ種類のパンであっても、製パン方法に依存することを示唆した。

I 章で述べたように、生地の伸展性を改善すること自体は、機械化製パンによる製品の品質の安定化には寄与しない。さらに、分割中に発生するフロアタイムの時間差に対して生地物性を安定させることが重要である。機械化製パンの成形工程で生地物性が時間の経過とともに変化することがなければ、モルダの設定条件を一定にすることが可能である。しかし、実際にはフロアタイムが延長されることにより、生地物性が変化して生地の伸展性が低下した場合には、圧延ローラの間隙を拡げることや製品形状 (長さ) を均一化する目的でモルダの展圧板と成形ベルトの間隙を狭めることになる。しかし、これは生地組織に影響し、さらに生地の損傷を助長させることになると考えられる。つまり、生地はフロアタイムの延長に対する伸展性の維持が必要となる。今回の実験により、成形冷凍生地の製造工程において ASP の添加は、生地の伸展性の向上とフロアタイムが延長されることによる生地の伸展性の低下を抑制する効果が示された。これらの結果は、上記の 2.1. で述べた冷凍保存 5 日間および冷凍保存 27 日後の成形冷凍生地を焼成したロールパンの外観および断面と形状測定の結果と関係するものと考えられた。

2.3. 成形生地および成形冷凍生地から調製した最終発酵生地の微細構造

仕上げ工程中に、中間発酵後の生地玉は、圧延ローラによって圧延生地にされ、さらに圧延生地をカーリングチェーンで円筒状に巻き上げた後、展圧板を使用してロール型の生地形状に成形された（以下、成形生地）。これらの工程中に、生地は縦方向と横方向の両方に延伸された。I章で述べたように、ASPを添加することで圧延時の生地の伸展性が改善され、フロアタイムが延長されることによる生地の収縮が抑制されることが示された。一方で、上述の2.2.に示したように、フロアタイムが延長されることに起因する生地物性の変化のために、成形工程中に生地に過剰な負荷が加えられた場合、生地が損傷するであろうことは容易に推測できる。

Fig. 14 は、SEM で観察した成形直後の成形生地の表面の微細構造を示している。対照区のフロアタイム 5 分 (Fig. 14a) では成形生地の表面に、デンプン粒が均一に分布したグルテンシートが観察された。そして、対照区のフロアタイム 20 分では、グルテンシートに矢印で示すような大きな亀裂が観察された (Fig. 14b)。これらの結果は、圧延時にローラに加えられた応力が、フロアタイム 20 分の生地で大きく変化した結果と関係するものと考えられた。これらに対して、ASP 0.5% 添加区の生地表面のグルテンシートには、フロアタイムに関係なく、大きな亀裂は観察されなかった (Fig. 14c および d)。これらの結果は、ASP 0.5% 添加区で圧延時の最大応力が対照区より減少し、さらにフロアタイム 5 分から 20 分までの最大応力の増加が抑制されることと関係するものと考えられた。つまり、ASP の添加により生地の伸展性が向上したため、成形中に生地に過度の負荷がかからなかったためと考えられた。

フロアタイム 20 分の生地の冷凍保存 7 日間の成形冷凍生地から調製した最終発酵生地の表面および断面について、SEM で観察した微細構造を Fig. 15 に示した。対照区の生地の表面構造、すなわち焼成後にパンの表皮となる部分を観察すると、グルテンシートに観察された亀裂 (Fig. 15a に矢印で示した) は、成形生地の表面に観察されたものと類似していた。さらに、亀裂は生地の断面の SEM 画像で明確に観察された (Fig. 15b に矢印で示した)。先に示したように、生地の伸展性が低いことで成形時に生地表面が損傷していることが原因と考えられた。均一性の低いグルテンマトリックスはデンプンが適切に糊化できず、焼成時の気泡の規則的な膨張に耐えられない可能性がある。焼成の初期段階で気泡が急激に膨張して合体すると、気泡が大きくなり (Hayman, Hosney et al., 1998)、これはパンの内相の気泡構造にも影響する。また、パン生地の冷凍によるグルテンからの離水は通常数日以内に起こり、冷凍生地を解凍しても、水分がグルテンのマトリックス内で元の状態に戻ることはないことが報告されている (Esselink, van Aalst et al., 2003)。そして、パン生地の冷凍と解凍による離水によって製パン性が低下するが、これはグルテンマトリックスの伸展性と関連する可能性が示唆されている (Morimoto & Seguchi, 2011; Seguchi, Nikaidoo et al., 2003)。

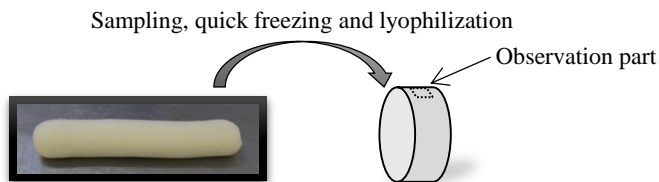
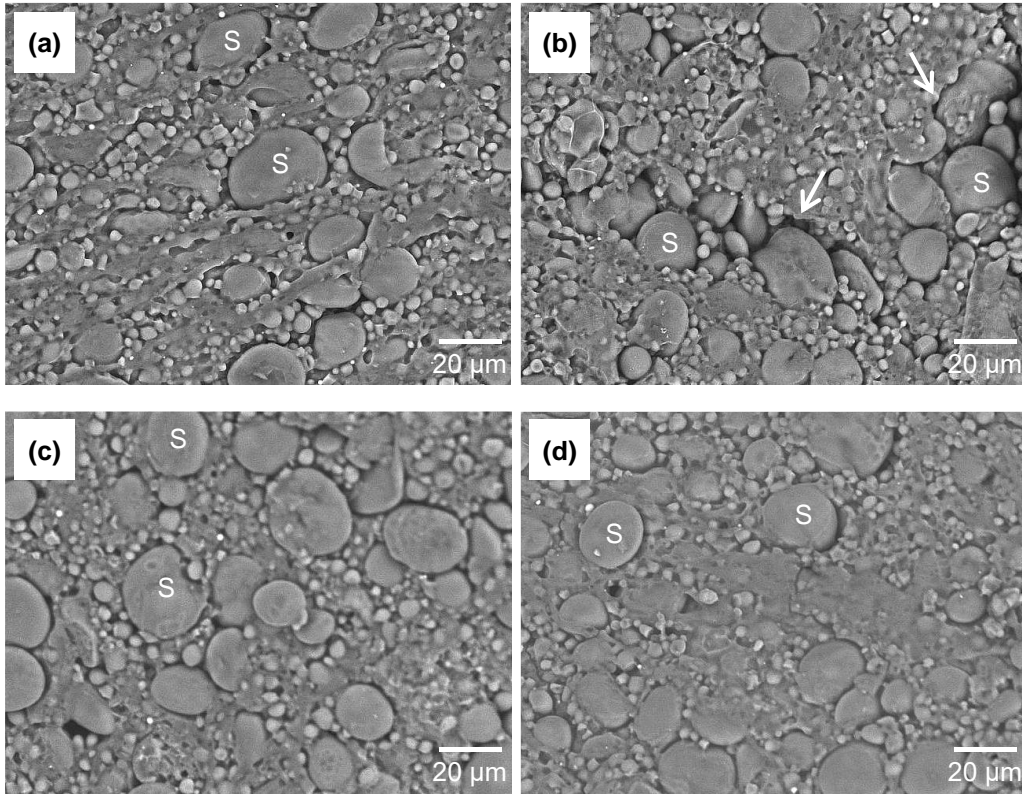


Fig. 14 Scanning electron micrographs of molded dough surface. (a) Control (no additive), flour time of 5 min; (b) control, flour time of 20 min; (c) 0.5% acid-soluble wheat protein additive, flour time of 5 min; (d) 0.5% acid-soluble wheat protein additive, flour time of 20 min. S denotes starch granules. The arrows indicate cracks in the gluten sheet

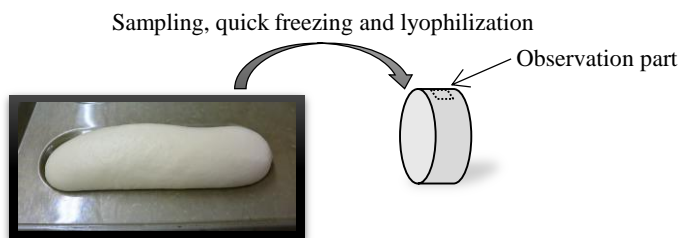
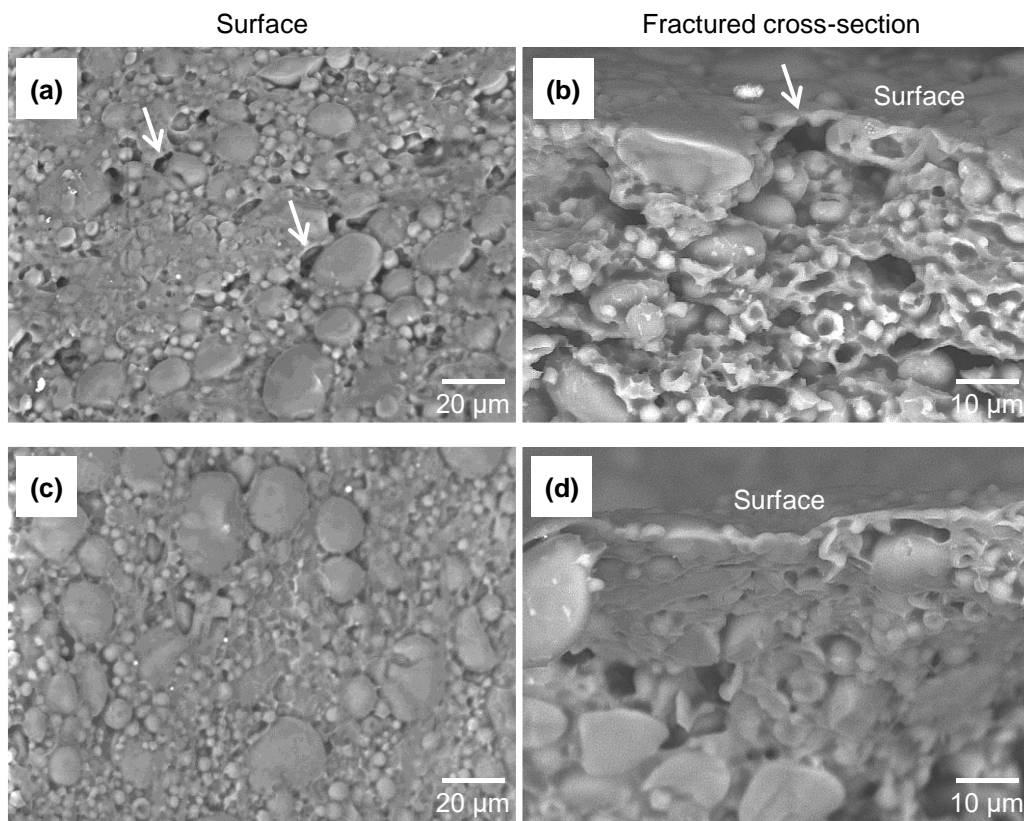


Fig. 15 Scanning electron micrographs of the final proofed dough prepared from molded frozen dough with a frozen storage period of 7 days with a flour time of 20 min. (a) and (b) Control (no additive) and (c) and (d) 0.5% acid-soluble wheat protein additive. The arrows indicate cracks in the gluten sheet

これらのことから、成形時の生地損傷に加えて、冷凍によるグルテンからの離水が生地の伸展性を低下させることで、グルテンシートが発酵時に損傷した可能性があることを推察した。欠陥のあるグルテンマトリックスは、焼成中の気泡の規則的な膨張に耐えることができない (Ishida, Takano et al., 2001)。このことから、本実験で観察されたグルテンシートの亀裂は、焼成後のロールパンの内相の気泡構造および表皮において、不均一な部分が観察される可能性につながる。

これに対して、成形生地の表面と同様に、ASP 0.5%添加区の生地グルテンシートに大きな亀裂は観察されなかった (Fig. 15c および d)。ASP の添加により冷凍後も生地の伸展性が維持されたためと考えられた。グルテンマトリックスに均一に埋め込まれたデンプン粒の糊化は、焼成中の生地の規則的な膨張に重要な役割を果たし、それによって焼成後の内相の気泡構造を決定し (He & Hoseney, 1991; Naito, Fukami et al., 2005)、これは冷凍生地から調製された焼成製品の均一な気泡構造に貢献する (Li, Tang et al., 2011)。したがって、本実験で観察された試験区間のグルテンシートの違いが、上述した 2.1. の焼成後のロールパンの内相の気泡構造の違いに現れたと推察した。

I 章の 2.4. で述べた中種法の結果では、生地に ASP 0.75% を添加すると、生地のグルテンネットワークに大きな変化が生じることを示した。本実験におけるノータイム冷凍生地製パン法の結果は、生地に ASP 0.5% を添加すると、成形生地のグルテンネットワークが大幅に変化することを示した。これらの結果は、I 章で述べた成形の圧延時の応力測定データおよび前述した 2.2. の応力測定データとよく一致していた。

2.4. 成形冷凍生地の長期冷凍保存によるロールパンの内相の気泡構造に及ぼす影響とASPの効果

2.1.で述べたように、冷凍保存 5 日間と 27 日間の成形冷凍生地のロールパンについて、対照区と ASP 0.5%添加区の間には、品質差があった。このことから、長期の冷凍保存により品質差がさらに拡大する可能性が考えられた。したがって、実体顕微鏡を使用してパンの内相の気泡構造を観察し、成形冷凍生地の冷凍保存期間がロールパンの品質に及ぼす影響を検討した (Fig. 16)。Fig. 16a–d は、冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンの内相と表皮の実体顕微鏡画像を示している。この実験では、Fig. 11 に示したロールパンの断面を観察するために使用したのと同じ試料を調べた。小さい円形の気泡がロールパンの表皮層に沿って観察され、表皮層の下には、これより大きな楕円形の気泡が全ての試験区の内相に認められた。

対照区に比較して、ASP 0.5%添加区は大きな楕円形の気泡が全体的に少ないことが観察された。両試験区ともに、異なるフロアタイムの間の気泡構造に大きな差は観察されなかった。ASP を添加することで生地の伸展性が向上した (Fig. 13)。その結果、成形後に観察されたグルテンシートの亀裂の大きさは ASP の添加により減少し (Fig 14 および Fig. 15)、焼成中に気泡の合体が抑制され、このことが内相の気泡構造の均一性に寄与したものと推定した。

Fig. 16e–h には、冷凍保存 60 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンの内相と表皮の実体顕微鏡画像を示した。対照区 (Fig. 16e および f) は、冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製した対照区と比較して、フロアタイム 5 分および 20 分のいずれも、内相の気泡構造が粗く不均一であった。さらに、フロアタイム 20 分 (Fig. 16f) の内相では、フロアタイム 5 分 (Fig. 16e) の内相より大きな楕円形の気泡が多くなり、いくつかの大きな楕円形の気泡は表皮層まで到達する様子が観察された。冷凍保存 27 日間と冷凍保存 60 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンの比容積に有意差は認められなかった。しかしながら、内相の気泡構造の観察結果は、対照区のロールパンの品質が、成形冷凍生地での長期の冷凍保存によって低下したことを示した。

ASP 0.5%添加区でのフロアタイム 5 分および 20 分において、冷凍保存 27 日間と 60 日間の内相の気泡構造を比較すると、冷凍保存 60 日間は全体的に大きな楕円形の気泡が多いように見える。しかし、フロアタイム 5 分および 20 分のいずれも、表皮層に到達する大きな気泡は見られなかった (Fig. 16g および h)。したがって、ASP の添加は成形冷凍生地から調製したロールパンの内相の気泡構造の均一性が、生地の長期の冷凍保存によって低下することを抑制することが明らかとなった。

冷凍保存中に冷凍パン生地に氷晶が生成されると、グルテンマトリックスからデンプン粒が分離することが報告されている (Berglund, Shelton et al., 1991)。さらに冷凍保存中の氷結晶の成長は生地構造に悪影響を及ぼし、冷凍パン生地の製パン性能を低下させ

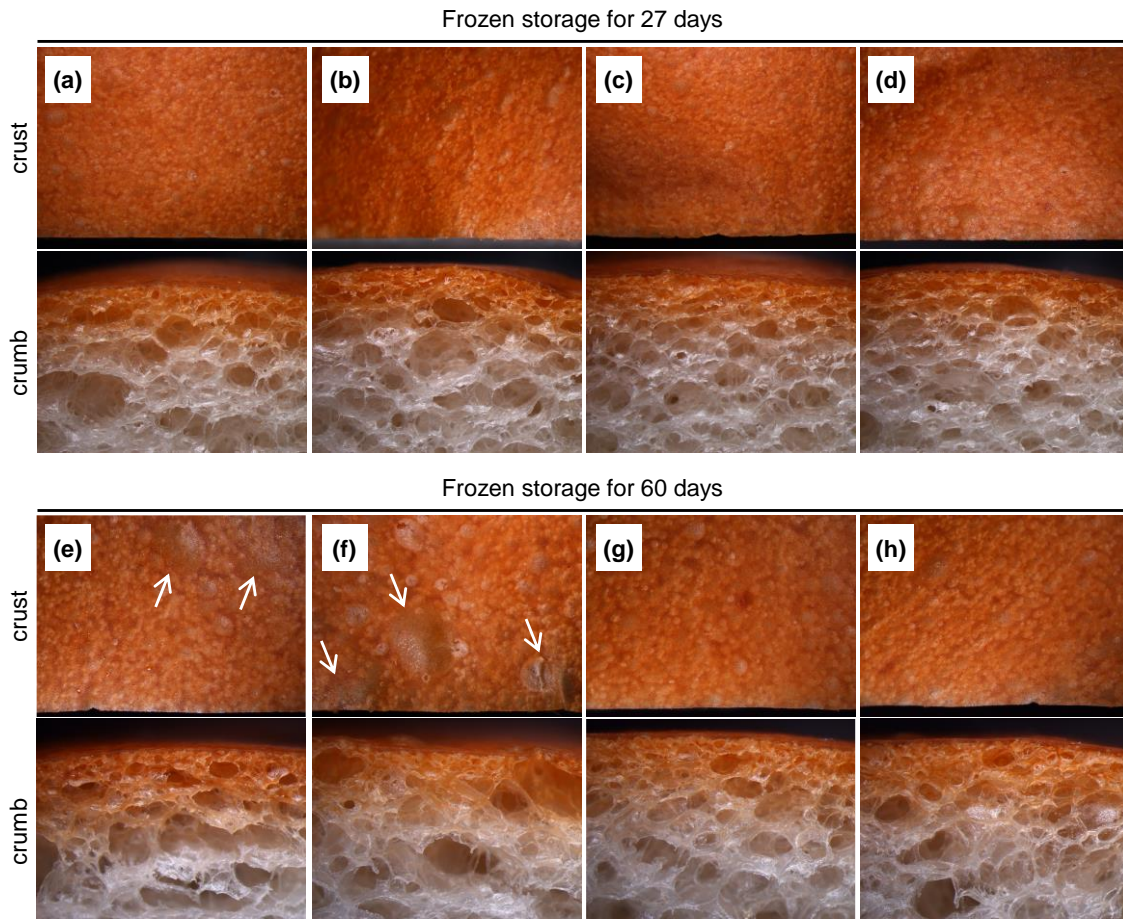


Fig. 16 Stereomicroscopy images of the crumb and crust of bread rolls prepared from molded frozen dough with frozen storage times of 27 and 60 days. (a) and (e) Control (no additive), floor time of 5 min; (b) and (f) control, floor time of 20 min; (c) and (g) 0.5% acid-soluble wheat protein additive, floor time of 5 min; (d) and (h) 0.5% acid-soluble wheat protein additive, floor time of 20 min. The arrows indicate the coarse parts of the crust. The scale bar is 5 mm

た (Baier-Schenk, Handschin et al., 2005)。本章の 2.3. で述べたように、デンプン粒がグルテンマトリックスに均一に埋め込まれて糊化しない場合、焼成中の急速な膨張に耐えられない気泡が合体する傾向がある。その結果、内相の気泡構造が粗くなり、不均一になる可能性がある。本実験で観察された試験区間のグルテンシートの状態の違い (Fig. 14 および Fig. 15) は、冷凍保存によってさらに促進されることが推測され、これは本実験で観察された内相の気泡構造の違いの原因の一つと考えられた。

2.5. 成形冷凍生地 of 長期冷凍保存によるロールパンの表皮に及ぼす影響と ASP の効果

Fig. 16 の冷凍保存 27 日間および 60 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンの表皮層を含む内相の実体顕微鏡画像の上に、同部分の表皮の観察結果を示した。冷凍保存 27 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンについては、全ての試験区において表皮層に沿って小さい円形の気泡が観察された結果、表皮についての試験区間の差異はほとんどみられなかった。

冷凍保存 60 日間の成型冷凍生地から調製したロールパンについて、対照区は冷凍保存 27 日間と比較して、内相の大きな楕円形の気泡が多くなり、粗い状態が観察されたことから、表皮の状態も全体的に粗くみえた (Fig. 16e および f)。さらに、いくつかの部分は非常に粗く不均一であった (Fig. 16e および f に矢印で示した)。フロアタイム 20 分の内相には、フロアタイム 5 分より大きい気泡が観察されたが、表皮層に到達する大きい気泡がある部分では、上から観察したときに表皮に大きな火膨れが現れていた (Fig. 16f に矢印で示した)。

冷凍保存 60 日間の成形冷凍生地から調製したロールパンについて、ASP 0.5% 添加区は両方のフロアタイム (Fig. 16g および h) で、冷凍保存 27 日間の ASP 0.5% 添加区の成形冷凍生地から調製したロールパンと比較して、表皮の状態が全体的に粗いように見えた。しかし、表皮層に到達する大きな気泡は見られないことから表皮に火膨れは観察されなかった (Fig. 16g および h)。

2.6. 成形冷凍生地から調製したロールパンの内相の硬さおよびその保存中の変化

2.1-5.に示した試験と同じ配合および条件で、機械化製パンによる成形冷凍生地を新たに調製した。そして、冷凍保存 30 日間の成形冷凍生地からロールパンを調製した。Fig. 17 には、20°C で保存した際のロールパンの内相の硬さおよび保存中の変化並びに各試験区のフロアタイム 5 分とフロアタイム 20 分との比較を示した。生地物性の分割工程中の変化に対する ASP の添加による安定化効果および ASP の添加による成形冷凍生地の品質に対する効果を評価するために、内相の硬さの測定を実施した。個別に包装したパンは、20°C で 24-72 時間保存した。

対照区の 24 時間保存後、フロアタイム 5 分の生地から調製したロールパンに比較して、フロアタイム 20 分のは内相の硬さが低く、つまり柔らかいことが明らかであった。さらに、これらの差異は保存後も維持され、72 時間保存後ではフロアタイム 5 分はフロアタイム 20 分に比較して、硬さが有意に高くなった。しかしながら、上述したように分割工程の時間差によるフロアタイムの延長は、対照区のロールパンの形状、内相の気泡構造および表皮の状態に悪影響を与えることが示された。これらの結果は、ロールパンの柔らかさの経時的な維持を目的に、フロアタイムを長くすることは困難であることを示唆した。

ASP 0.5%添加区の 24 時間保存後、フロアタイム 5 分の生地から調製したロールパンに比較して、フロアタイム 20 分のは内相が柔らかかった。このことは対照区と同じ傾向を示した。72 時間保存後、ASP 0.5%添加区は、フロアタイム 5 分の生地から調製したロールパンの内相の硬さが対照区のフロアタイム 20 分のものとはほぼ同じであった。ASP 0.5%添加区はフロアタイム 5 分とフロアタイム 20 分の有意差がなかった。これらの結果から、焼成後のロールパンについて、内相の柔らかさの経時的な安定性が ASP の添加により向上することは明らかであった。これらの結果と実体顕微鏡による観察結果は、ASP の添加が成形冷凍生地から調製したロールパンの内相の品質を安定させることを示した。したがって、ASP の添加は、機械化製パンの工程中に発生するフロアタイムの違いによる生地物性の変化を効果的に抑制することで、パンの内相の品質を安定させたと結論付けられた。

冷凍生地のデンプン粒が埋め込まれたグルテンマトリックスの安定化は、高いパン比容積と柔らかいパンの食感をもたらすことが報告されている (Huang, Yuan et al., 2008)。ASP の添加が内相の品質に及ぼす影響は、グルテンマトリックスの安定化の結果であると考えられた。

さらに、これは、I 章で述べた ASP の添加がロールパンの硬さに対するフロアタイムの影響を減少させることに関連している可能性がある。中種法を使用して調製する生地に ASP 0.75%を添加すると、保存中のロールパンの内相の硬さの変化が抑制された。ノータイム冷凍生地製パン法を使用して調製する生地に ASP 0.5%を添加すると、同様

の効果が得られた。これらの結果から、ASP の最適な添加量は製パン方法に依存することが再度確認された。

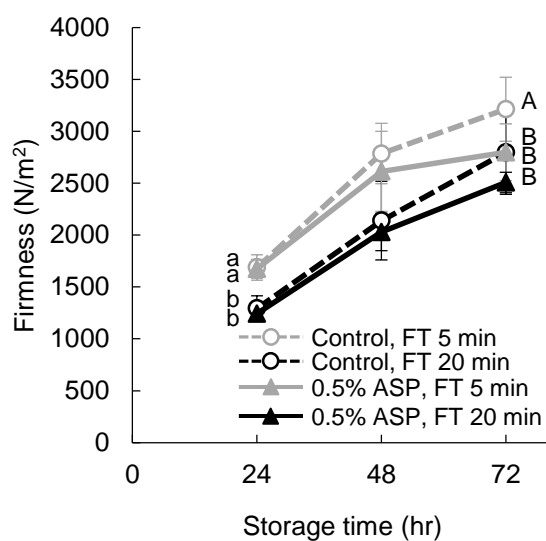


Fig. 17 Changes in crumb firmness of bread rolls prepared from molded frozen dough with a frozen storage period of 30 days during storage at 20°C. The results are presented as average values \pm standard deviations ($n = 12$). Bars labeled with different letters are significantly different ($p < 0.05$) according to the Tukey–Kramer test. Here, Control and 0.5% ASP denote dough samples with no additive and with 0.5% acid-soluble wheat protein additive, respectively, and FT denotes floor time

2.7. 生地 of 冷凍変性に対する ASP の抑制効果 of 解析

2.4. および 2.5. において、成形冷凍生地から調製したロールパンの内相の気泡構造の均一性が生地 of 長期冷凍保存によって低下することに対して、ASP の添加は改善効果を示すことが明らかとなった。

2.4. でも述べたように、冷凍生地において焼成後のパンの内相の気泡構造が変化するのは、生地 of 冷凍保存によるグルテンマトリックスの損傷により生地 of ガス保持力が低下することが大きな原因となる。今回の実験条件では冷凍保存期間中に成形冷凍生地 of ガス発生力の低下はなかったことから、パンの内相の気泡構造の均一性の低下は、成形冷凍生地 of 生地組織に及ぼす冷凍保存の影響が主な原因であると思われる。

先述したように、パン生地 of 冷凍によりグルテンからの離水が起こり (Esselink, van Aalst et al., 2003) 、これはグルテンマトリックスの伸展性を低下させて、製パン性を低下させる (Morimoto & Seguchi, 2011; Seguchi, Nikaidoo et al., 2003) 。また、冷凍保存により生地 of 物性が変化し、パン of 体積が減少するなど品質が低下する (Inoue & Bushuk, 1991; Inoue & Bushuk, 1992; Kenny, Wehrle et al., 1999; Tang, Wang et al., 2016) が、これらの変化は冷凍保存中の氷結晶の成長に関連することが報告されている (Baier-Schenk, Handschin et al., 2005) 。これらのことから、生地 of 長期 of 冷凍保存により生地 of ガス保持力が低下するのは、冷凍期間中にグルテンからの離水が進行することでグルテンの伸展性がさらに低下することと、氷結晶によりグルテンマトリックスが損傷することが要因として考えられた。

2.4. の結果では、対照区 of パン of 気泡構造に長期 of 冷凍保存による変化が顕著に表れていた。これに対して、ASP の添加は長期 of 冷凍保存による変化を抑制した。ASP の効果は、上述した冷凍保存により生地 of ガス保持力が低下する要因に対して抑制効果を示すことが想定された。

そこで、生地 of 冷凍保存による生地物性および製パン性 of 変化に対する ASP の効果を検討した。冷凍解凍反復処理による生地物性への影響を試験した結果を Fig. 18 に示した。

生地物性 (引張り物性) は、エクステンシグラフにて測定し $\text{Energy (cm}^3\text{)} = \text{「生地 of 力」}$ 、 $\text{Resistance (BU)} = \text{「伸長抵抗」}$ 、 $\text{Extensibility (mm)} = \text{「伸長度」}$ の各測定値を求めた。

灰色は未冷凍の値で、各項目とも無添加に対する割合で表している。黒色は冷凍の値で、無添加 of 未冷凍に対する割合で表した。

無添加生地では、冷凍により伸長抵抗が大きく低下し生地 of 力も大きく減少した。これに対し、アスコルビン酸を添加すると、未冷凍、冷凍ともに伸張抵抗が大きく増加し生地 of 力も増加したが、伸長度の低下が大きく、生地は硬く伸びの低い生地となった。

一方、グルテンおよび ASP 添加で伸長抵抗は増加したもののアスコルビン酸添加に比べ小さく、伸長度は無添加とほぼ同等で生地は伸展性を維持していた。また、冷凍後

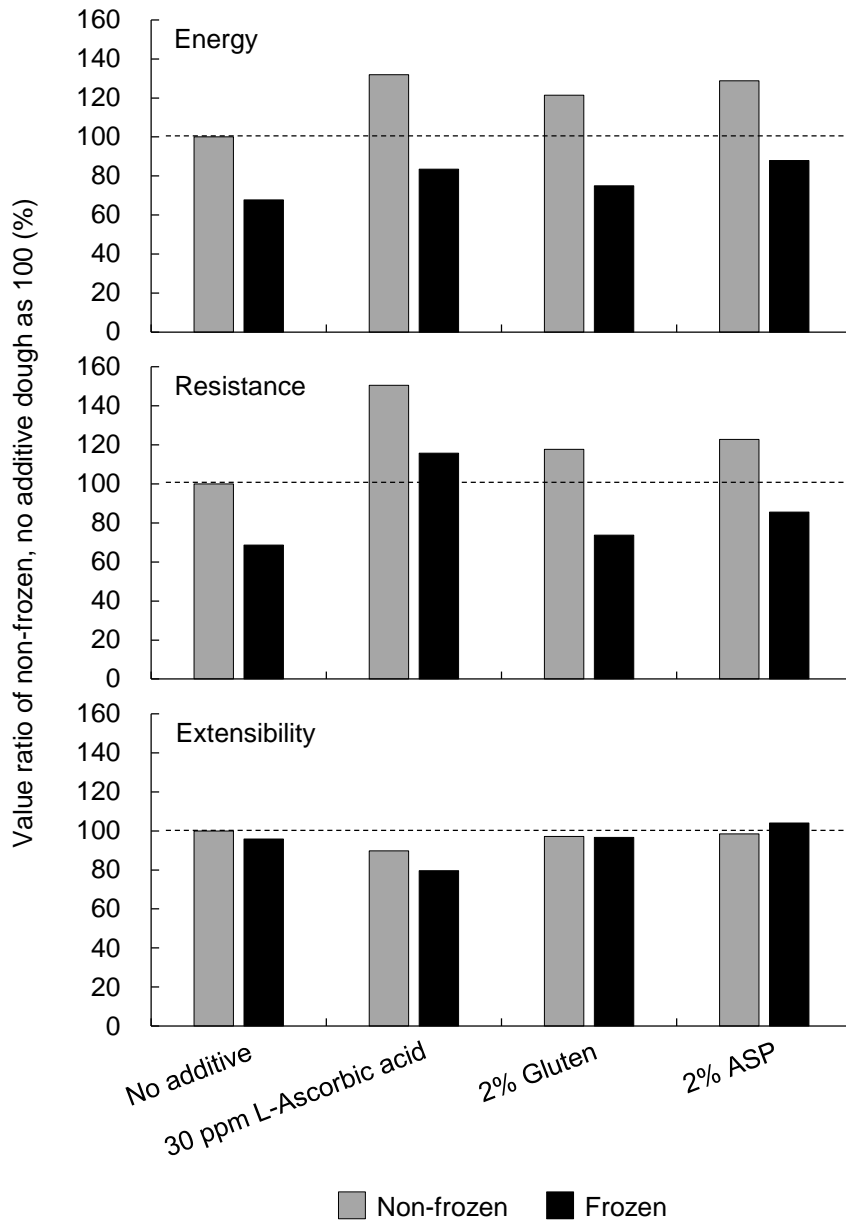


Fig. 18 Effect of freeze-thaw cycles on dough rheological properties. Results show the average value ($n = 4$). ASP, acid-soluble wheat protein

の生地の方にはグルテンおよび ASP 添加の間に差異がみられ、ASP を添加することで無添加の未冷凍の生地にもっと近い値となった。

従来、冷凍によって生じる生地の弱화를抑制するためにアスコルビン酸が添加されているが、添加による生地の伸長度の低下が 2.2.および 2.3.で示したような成形時における圧延でのグルテンの断裂を招き、パン内相の粗雑化を引き起こす可能性が示唆された。

また、冷凍による生地の弱化に対して、グルテン添加では伸長度の改善は十分でなく、ASP 添加によって伸長抵抗を保ちつつ、伸長度を向上させることでグルテンマトリックスの損傷を抑制することが示された。これらの結果、Fig. 19 に示した冷凍生地を焼成したパンの比容積は、ASP の添加が最も高くなった。

さらに、冷凍解凍反復処理中にはグルテンマトリックスからの離水および最大氷結晶生成帯通過による氷結晶の成長が予想される。これらに対して、ASP の添加は抑制効果を示すことが示唆された。

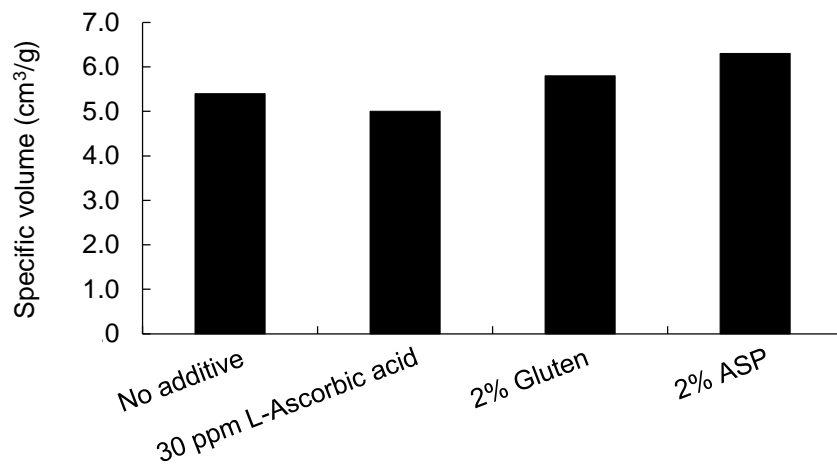


Fig. 19 Effect of freeze-thaw cycles on specific volume. Results show the average value ($n = 4$). ASP, acid-soluble wheat protein

2.8. グルテンおよび ASP の水分挙動と微細構造の比較

パン生地の冷凍によりグルテンからの離水が起こり (Esselink, van Aalst et al., 2003)、これによりグルテンマトリックスの伸展性が低下して製パン性が低下する (Morimoto & Seguchi, 2011; Seguchi, Nikaidoo et al., 2003)。これは、グルテンの疎水性相互作用が高まった結果であると考えられる。グルテンおよび ASP と水分との相互作用について検討するために、水を加え水和させた両試料の水分活性値を測定した結果を Table 14 に示した。グルテンでは 0.978 ± 0.001 (\pm SD) を示したのに対し、ASP では 0.960 ± 0.003 と水分活性値は有意に低くなり、ASP はグルテンに比べ結合水が多く、保水力が高いことが明らかになった。

また、両試料に水を加え水和させて、凍結乾燥後に SEM により微細構造を観察すると、グルテンに比べて、ASP のネットワーク構造は非常に緻密であることが認められた (Fig. 20)。ASP は、このような緻密な構造をとることによって、水を保持しやすいタンパク質となっていることが示された。

2.7. のエクステンシグラフの結果と合わせて、ASP はこの構造と高い保水力によって、冷凍によるグルテンからの離水を抑制することで、その伸展性の低下を阻害したと考えられた。これにより成形冷凍生地のグルテンマトリックスの損傷が抑制され、均一なグルテンシートが生地のガス保持力を維持することで内相の均一性に寄与したものと推察した。

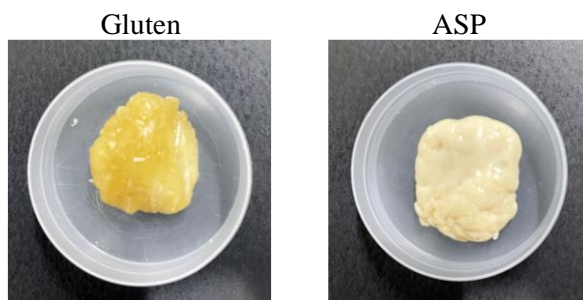
Table 14 Water activity of wheat protein dough

Sample	Water activity (A_w)
Gluten	$0.978^a \pm 0.001$
ASP	$0.960^b \pm 0.003$

*As shown in the picture below, homogenized samples (solid content 57%) were placed at the bottom of a disposable sample cup and measured for water activity using a water activity meter.

**Values are expressed as means \pm standard deviations ($n = 3$).

***Different letters are significantly different ($p < 0.05$) according to the Tukey–Kramer test.
ASP, acid-soluble wheat protein.



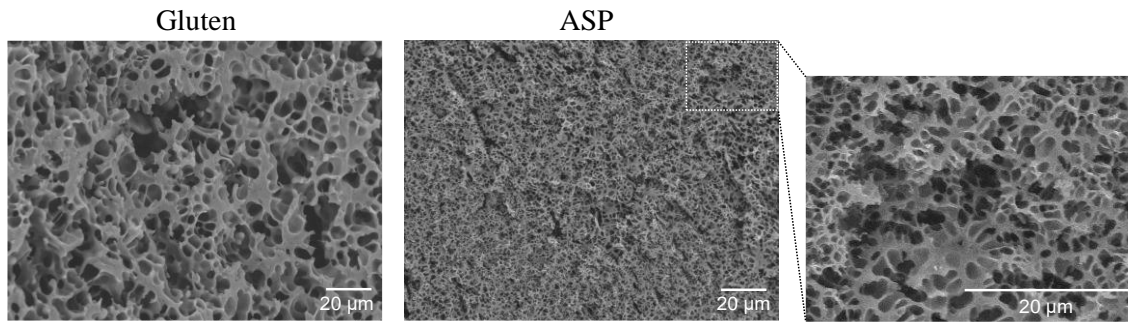


Fig. 20 Scanning electron micrographs of wheat protein dough.
ASP, acid-soluble wheat protein

3. 要約

本章では、ASP の添加が成形冷凍生地から調製したロールパンの品質に及ぼす影響を調べた。冷凍生地ではグルテンマトリックスの損傷により生地のガス保持力が低下する。これに対して従来は、アスコルビン酸やグルテンにより生地を強化することで対応されてきた。その結果、生地が硬く、伸展性が低くなってしまった。さらには、冷凍によるグルテンからの離水は分子間の疎水性相互作用を高め、伸展性が低下する。これが成形時における圧延でのグルテンの断裂を招き、パン内相の粗雑化を引き起こすことが本研究で明らかになった。生地の伸展性が不足すると、Fig. 21 の模式図の対照区のように、発酵時にはグルテンシートが切れて、気泡が合一してしまい、さらには、グルテンシートの亀裂からデンプン粒が露出してしまうこととなる。これらにより、生地の気泡構造が不均一になり、焼成後のパンの内相の気泡構造は粗くなってしまった。

これに対して、パンの高品質化を目指すには、生地の伸展性を付与しながら生地を強化する必要がある。小麦粉に ASP を 0.5% 添加すると分割工程中の時間差 (フロアタイムの時間差) に対する成形冷凍生地および焼成後のパンの品質の安定化向上効果が示された。ASP の添加により生地の伸展性が向上し、フロアタイムの時間差による生地の伸展性の低下が抑制されることによるものと考えられた。成形直後ならびに成形冷凍生地の最終発酵後の生地の微細構造を走査型電子顕微鏡で観察した結果、ASP の添加により成形工程時のグルテンの損傷で生じる亀裂が抑制され、グルテンシートの均一性が維持されることが示された。冷凍によるグルテンからの離水は生地の伸展性を低下させ、グルテンマトリックスを弱体化させると考えられるが、保水力の高い ASP の添加は冷凍によるグルテンからの離水を抑えて、生地の伸展性の低下を阻害する。このため、発酵時にグルテンシートに大きな亀裂はなくなり、気泡膜が崩壊することはなく、気泡構造の均一性が向上する (Fig. 21)。これらの効果は、焼成後のパンの内相の気泡構造の均一化に寄与したと推察した。

さらに、成形冷凍生地の長期冷凍保存では、Fig. 22 の模式図の対照区のように離水が進行することでグルテンの伸展性がさらに低下することに加えて、氷結晶によるグルテンマトリックスの損傷により、生地のガス保持力が低下する。これは焼成後のパンの内相の気泡構造の粗さや表皮の火膨れにつながる。

保水力が高い ASP の添加は、離水が進行することでグルテンの伸展性がさらに低下することを抑え、生地の伸展性を維持する (Fig. 22)。この結果、均一なグルテンシートが生地のガス保持力を維持すると考えられ、焼成後のパンの内相の気泡構造と表皮は均一性が増すこととなる。

また、ASP を添加した成形冷凍生地では気泡構造が細かく均一となることから、氷結晶の生成が抑制され、グルテンマトリックスの損傷が少なくなった可能性が考えられた (Fig. 22)。

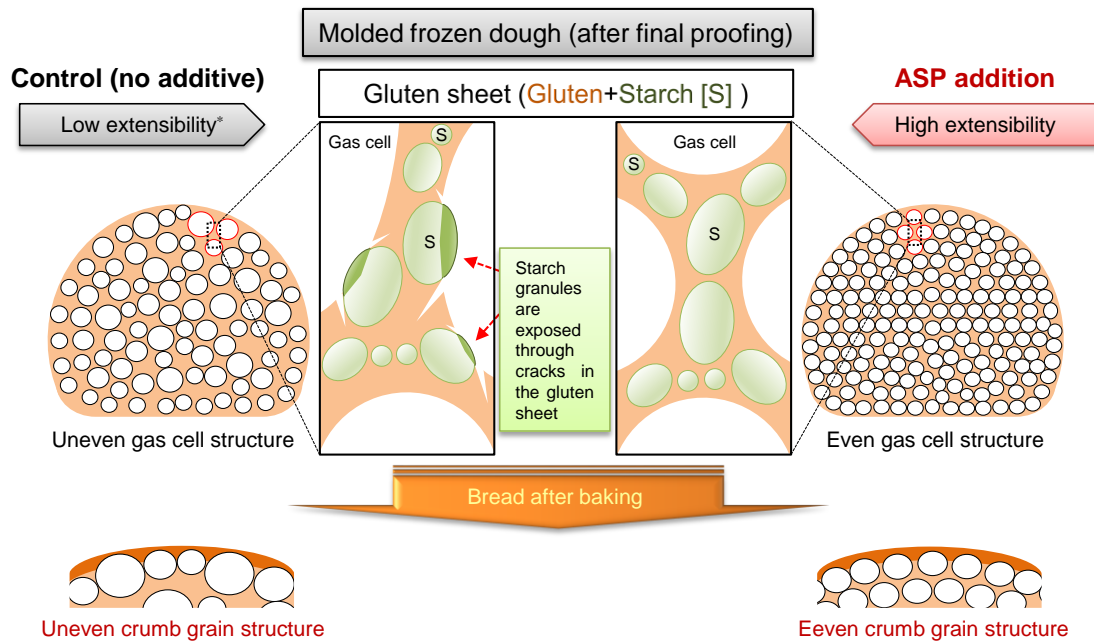


Fig. 21 Effect of adding acid-soluble wheat protein on crumb and crust of bread prepared from molded frozen dough. *Dough strengthening and dehydration of gluten due to freezing increases hydrophobic interactions and reduces extensibility. ASP, acid-soluble wheat protein

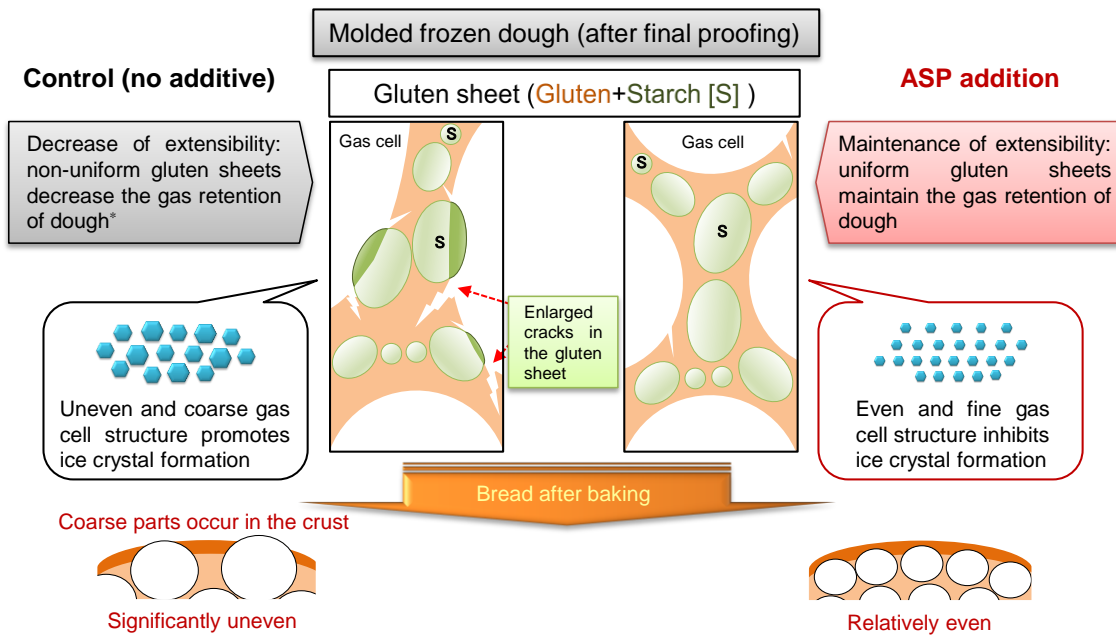


Fig. 22 Effect of adding acid-soluble wheat protein on the crumb and crust of bread prepared from long-term frozen storage molded frozen dough. *The progression of gluten dehydration further reduces gluten extensibility and ice crystals damage the gluten matrix. ASP, acid-soluble wheat protein

これらにより、ASP を添加した成形冷凍生地では、長期冷凍保存による生地のガス保持力の低下が抑制され、焼成後の内相の気泡構造と表皮の均一性が向上したものと考えられた。

III. 米粉混合パンへの ASP 利用による品質安定化の検討

米の消費拡大や小麦アレルギーに関するグルテンフリー食品への期待から、米粉でパンを製造する研究が多数なされており (高野, 山方 他, 1979; 高野, 豊島 他, 1986a; 高野, 豊島 他, 1986b; 中村, 諸橋, 2010; 大崎, 市川, 2012; 矢野, 2014; 西岡, 池田, 2015; 市川, 2017) 、米の品種特性が米粉パン品質に及ぼす影響 (高橋, 本間 他, 2009; 青木, 梅本 他, 2010; Aoki, Umemoto et al., 2012) 、米粉製粉技術の製パン性に関する研究 (與座, 松木 他, 2010; 小河, 永井, 2011; 山澤, 中島 他, 2012; 與座, 松木, 2014) や米粉の粒子径や損傷デンプン量が製パン性に及ぼす影響 (本間, 高橋 他, 2016) も検討されている。

米粉を原料として製造するパンの種類には、グルテンや小麦粉を加えず米粉のみあるいは米粉に増粘多糖類などの粘性物を添加する「グルテンフリー100%米粉パン」や米粉に小麦粉より調製したグルテンを2割程度添加した「グルテン添加米粉パン」、さらに小麦粉に米粉を1~5割程度混合する「米粉混合(小麦)パン」がある(鈴木, 2014)。米粉の大量消費を目的とした場合、前2者は小麦粉パンと風味が大きく異なることから、パンとしての消費拡大の期待が小さく、米粉の消費量増加には寄与が低くなるが、「米粉混合(小麦)パン」は米粉の特徴を生かしつつ、小麦粉パンに風味が近いことから、消費者の受け入れが容易であり、米粉の消費拡大への寄与が大きいと考えられた。しかしながら、小麦粉の2割程度までの米粉の添加であれば比較的容易に従来技術の製パンが可能であるが、米粉の配合比率を増加させるとグルテンが不足するため製パン性が低下する(與座, 岡部 他, 2008)。これを補うため通常グルテンを利用するが、市販されているグルテンは、生地に加えることにより生地を硬く伸びづらくする傾向にあることが知られており(Weegels & Hamer, 1992)、これは製パン性の低下につながる。これまでにも述べたように機械化製パンによる大量生産では、フロアタイム後の連続した工程における生地の安定性かつ均一化が必要である。

I章およびII章の結果から、ASPの添加はこれらに対する改良効果が期待された。そこで、本章では小麦より分離されたグルテンを利用して、小麦粉に米粉を4割と高配合した食パン(「米粉混合パン」)に対し、ASPを併用することによる生地の形成、その微細構造および物性への影響を検討した。さらに、分割工程において通常想定されるフロアタイムの時間差で生地を成形した際の物性変化を調べ、焼成後のパンの品質への影響とともにASPの効果について検討した。

1. 試料および実験方法

1.1. 試料

I章の 1.1.およびII章の 1.1.と同様の小麦粉 (ミリオン, 日清製粉株式会社) を使用した。使用時までポリエチレン製袋 (厚さ 0.08 mm) に封入後、冷凍保存した。

米粉は、製粉方法が異なる米粉は特性が異なり (與座, 松木 他, 2010; 小河, 永井, 2011)、粒径や損傷デンプン量がパンの品質に影響する (本間, 高橋 他, 2016) ことが分かっている。そこで試験では、国産米 (新潟県産コシイブキ) を原料とした粒度が細かく、損傷デンプン含有率が少なく、製パン性が良いとされている湿式気流粉碎品の市販品 (ファイン, 木徳神糧株式会社, 以下は米粉とする) を用いた。保存方法は小麦粉と同様とした。

小麦タンパク質として、食品用に市販されているグルテン (Whetpro 80, ADM) および ASP を使用した。ASP は I章の 1.1.およびII章の 1.1.と同じものを使用した。

1.2. 供試材料の成分および性状分析

常法 (堤, 安井, 1996) に準拠し、水分は 135°C 常圧加熱乾燥法、灰分は酸化マグネシウム添加灰化法 (600°C)、タンパク質はケルダール法 (小麦粉および小麦タンパク質: N×5.70, 米粉: N×5.95) によりそれぞれ定量した。損傷デンプン含有率については損傷デンプン定量キット (Starch damage assay kit, Megazyme) を用いて定量した。アミロース含量はヨード呈色法 (Juliano, 1971) により分析した。これらの成分はそれぞれ製品の重量当たりの含有率で示した。

また、レーザ回折式粒子径分布測定装置 (SALD-2000, 株式会社島津製作所) を用い乾式測定法により分析し、平均粒子径を求めた。

1.3. 生地性状に関する測定

小麦粉のパンでは気泡を包む被膜が薄く伸び、周辺部で上下方向に細長い気泡を生じるが、米粉で小麦粉を置換したパンでは米粉の割合が 40%以上で、被膜が厚くなり、製パン時の比容積が低下する (與座, 岡部 他, 2008)。このことから、小麦粉の重量に対して、40% (w/w) を米粉で置換した小麦粉と米粉の混合粉 (小麦粉/米粉) の生地特性について、ファリノグラフ (Model 8101, Brabender) による測定を実施した。

1.4. 中種の発酵過程における生地容積の変化の測定

中種法による製パンを想定して、中種の発酵過程における生地容積の変化を測定した。生地性状の測定と同様に、小麦粉重量に対して、40% (w/w) を米粉で置換し、この際小麦タンパク質の影響を検討した。生地の調製は堅型ミキサ (Model VM3, 株式会社

オシキリ) を使用し、小麦粉 (小麦粉/米粉) 2 kg 仕込みで行った。ミキシング (低速 (135 rpm) 2 分, 中速 (203 rpm) 2 分) 直後の中種の生地 200 g をメスシリンダーに入れ、恒温恒湿器中 (27°C, RH75%) で発酵による容積変化を測定した。結果は発酵開始時を 100% とした変化で示した。

小麦タンパク質 (ASP およびグルテン) は小麦粉/米粉の重量に対して、10% (w/w) を上乗せ添加し、この一部を ASP に置き換えた際の影響について検討した。グルテンの重量に対して ASP の置き換えを 20–40% (w/w) で実施し、ASP 2%+グルテン 8% のように表記した。

1.5. 製パン試験

製パン試験は大型製パン機械による大量生産で一般的に使用されている中種法を基本に検討を行った。配合を Table 15、工程を Table 16 に示した。製パン試験も生地性状や中種の発酵過程における生地容積の測定と同様に、小麦粉重量に対して、40% (w/w) を米粉で置換し、この際小麦タンパク質の影響を検討した。

食パンの原材料として、パン酵母 (オリエンタルイースト, オリエンタル酵母工業株式会社)、L-アスコルビン酸 (食品添加物, 昭和化学株式会社)、食塩、砂糖、脱脂粉乳 (H, 雪印メグミルク株式会社)、ショートニング (カナリヤエイト, 日油株式会社) を用いた。

小麦タンパク質は中種と本捏時に分けて、小麦粉/米粉の重量に対して 10% (w/w) を上乗せで添加した。グルテンの一部を ASP に置き換えた際の影響について検討した。グルテンの重量に対して ASP の置き換えを 20% (w/w) と 30% (w/w) で実施し、ASP 2%+グルテン 8% のように表記した。

食パンを製造する際に使用するための小麦粉のタンパク質含量が通常 11–13% であること、今回使用した小麦粉のタンパク質含量が 12.5% であることを考えると、小麦タンパク質 10% の添加は多いように思われるが、後藤 (2011) は米粉を 50% 混合した際のグルテンの最適添加量を検討した結果、小麦タンパク質の必要量は 12% が適しているとしている。また、予備実験を実施した際、中種の発酵過程における生地容積の変化の測定において、8% 以下の添加量では中種発酵中のガス保持性が極端に低い結果となった (データ未記載)。これらのことから、同添加量で製パン試験により ASP の影響を検討することとした。

生地の調製時の加水は、Fig. 23 のファリノグラフ測定の結果より小麦粉と小麦粉/米粉は同程度とみなした。小麦タンパク質については、パン用小麦粉に比べてタンパク質含量の少ない国産麺用小麦粉を対象とした試験 (新井, 廣瀬 他, 2003; 廣瀬, 佐藤, 2003; 廣瀬, 佐藤 他, 2004) において、添加量と同量の水を加水することで小麦タンパク質による製パン性改良効果が得られたことより、今回の製パン試験では同じ加水条件

Table 15 Material formula of bread-making

Material	Baker's % ^a	
	Wheat flour=100	Wheat flour/ Rice flour=60/40
Sponge		
Wheat flour	70	42
Rice flour	—	28
Wheat protein	—	7
Maltose	—	2
Compressed yeast	2	2
L-Ascorbic acid	0.001	0.001
Water	40	47 ^b
Dough		
Wheat flour	30	18
Rice flour	—	12
Wheat protein	—	3
Bakery enzyme ^c	—	0.025
Granulated sugar	6	6
Salt	2	2
Nonfat dry milk	2	2
Shortening	6	6
Water	26	29 ^b

^aThe formula used was based on total flour (wheat and rice) weight.

^bThe same amount of water as the wheat protein was added.

^c α -Amylase (GRINDAMYL A 1000/MAX-LIFE E50, Danisco: 0.005/0.005) and lipase (GRINDAMYL EXEL 640, Danisco: 0.015).

Table 16 Bread-making process

Process	Instruments and conditions
Sponge	
Instrument	Horizontal mixer, Laboratory mixer system, Model HM-50, Oshikiri Machinery Ltd.
Mixing time	Low-speed, 55 rpm (Low) 3 min; High-speed, 110 rpm (High) 1 min
Temperature of mixing end point	24°C
First fermentation	
Condition	27°C, 75% relative humidity (RH), 4 hr
Temperature of fermentation end point	28.5 ± 0.4°C
Dough mixing	
Instrument	Horizontal mixer, Laboratory mixer system, Model HM-50
Mixing time	Low 3 min, High 5 min, Adding shortening, Low 3 min, High 3–4 min
Temperature of mixing end point	26.5 ± 0.5°C
Floor time	
Condition	27°C, 75% RH, 20 min or 40 min
Dividing	
Instrument	Dough divider, Model DQS, Oshikiri Machinery Ltd.
Dough weight	220 g
Condition	13 strokes/min, ×2 pockets
Rounding	
Instrument	Conical rounder, Model RQS, Oshikiri Machinery Ltd.
Intermediate proofing	
Instrument	Proofer, Model PQB, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	15 min
Molding	
Instrument	Molder, Sensor moulder system, Model WFS, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Roller clearance, First: 8.0 mm—Second: 3.5 mm; Peripheral speed of roller: 38 m/min Pressure board height, Inlet: 21.0 mm—Outlet: 20.0 mm; Width plate, Inlet: 240 mm—Outlet: 240 mm Panning: U shape, 6 pcs; Case volume: 5 880 mL
Final proofing	
Instrument	Dough conditioner, Model OBS-D5, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	38°C, 85% RH, 35–32 mm height below the top of baking pan, 64–67 min
Baking	
Instrument	Deck oven, Model DOV-T43, Oshikiri Machinery Ltd.
Condition	Upper (Temperature/Heat control): 225°C/4; Lower (Temperature/Heat control): 220°C/3; 40 min Baking loss (%): 8.3–9.1
Cooling	
Condition	At room temperature for 90 min after baking
Packaging	
Condition	Individually packaged using polypropylene bag

*White breads were produced using the sponge and dough method. Used 12.5 kg of wheat flour or wheat flour/rice flour.

とした。

大型製パン機械による工程を想定した実験工場による製パン試験は、I 章と同じ設備を使用して、小麦粉 (小麦粉/米粉) 12.5 kg 仕込みで行った。ミキシング時間、捏上温度、発酵時間は小麦粉を使用した食パンの標準的な条件とした。また、損傷デンプン量が少ないと発酵量が低下するためにマルトース 2%を中種に添加し、体積向上等を目的とした製パン用酵素製剤 (GRINDAMYL A 1000, MAX-LIFE E50 および EXEL 640, Danisco) を本捏時に添加した (Table 15)。

本捏ミキシング後の生地はフロアタイムを経て、220 g に分割した。小麦粉を 100% 使用した場合と比較すると加水量が異なるため、生地中の固形分量は異なるが、米粉を混合した場合にも同じ重量に分割した。

I 章と同様に、標準的なフロアタイムは 20 分であるが、1 バッチの生地を分割する工程中に生じる時間差が物性的な安定性に及ぼす影響を考慮し、同じ生地フロアタイムを 40 分とした場合についても同様に分割を実施した。

生地の分割・丸めは分割機 (デバイダ Model DQS, 株式会社オシキリ) および丸め機 (ラウンダ Model RQS, 株式会社オシキリ)、丸め後の中間発酵は中間発酵機 (ベルトドライブプルーファ Model PQB, 株式会社オシキリ) を I 章と同様に使用した。

中間発酵後の生地はモルダを使用して成形した。この際のモルダ (ワイドファインモルダ Model WFS, 株式会社オシキリ) の設定は試験区全てを同条件とした。棒状に成形した生地は角型食パン用のパン型 (3 斤用) に入れた。その後、38°C、RH85%の恒温恒湿器 (ドウコンディショナ Model OBS-D5, 株式会社オシキリ) で生地上部が一定の高さになるように最終発酵を行い、オープン (デッキオープン Model DOV-T43, 株式会社オシキリ) で 40 分間焼成した。焼成後のパンは 90 分間冷却後、ポリプロピレン製袋 (厚さ 0.03 mm) に 1 本ずつ封入した。

1.6. 製パンの各工程における特性値の測定

I 章と同様に、横型ミキサを使用した生地のみキシング特性の測定を行い、米粉混合パンの生地における ASP の添加の影響を検討した。

さらに、I 章と同様にモルダによる成形時の圧延ローラへの応力を測定することで、米粉混合パンの成形時の生地物性に与える ASP の添加の影響を検討した。I 章と同様に、機械化製パンにおける生地の安定性を検討するため、分割工程の始まりと終わりに生じる時間差を想定したフロアタイムの差異 (20 分, 40 分) による生地物性の変化に対する ASP の添加量の影響についても測定した。

1.7. 食パンの内相の観察と物性および経時的变化の測定

冷却後にポリプロピレン製袋に封入したパンは、さらに測定日ごとの全試験区をポリ

エチレン製袋 (厚さ 0.08 mm) に封入し、内相物性の測定を行うまで 20°C で保存した。この角型食パンをスライサー (Fresh-100A, 富士島工機株式会社) で厚さ 25 mm に切断し、内相の力学的特性の測定用試料とした。その際、内相の不均一な気泡構造 (空洞化) の有無について観察した。機械化製パンにおける生地 of 安定性がパン品質へ与える影響を検討するため、フロアタイムの差異によるパン内相の状態と ASP の添加量の影響について検討した。

スライスした食パンは、さらに中央部を超音波カッター (USC-3305, 株式会社山電) により 25 mm 角に切断し、クリープメータ (RE2-33005S, 株式会社山電) により、圧縮応力 (直径 40 mm の円柱プランジャーにより 1 mm/s のスピードで 70% 圧縮した際の 50% 圧縮時の応力) および凝集性 (直径 16 mm の円柱プランジャーにより 1 mm/s のスピードで 70% 圧縮を 2 回行った際の仕事量が示す波形の面積比) を測定した。この際に内相へのプランジャーによる圧縮は、パンの上部から下部に向けて全ての測定試料で一定方向とした。さらにこれら内相物性について、パンを 20°C で保存した際の経時的変化を測定した。

1.8. SEM による組織構造の観察

製パン試験における中種のみキシング後の生地について、急冷用噴霧凍結剤 (EM フリーザー, 日新 EM 株式会社) を噴霧後 -70°C で凍結したものを切断し、2.5% グルタルアルデヒドおよび 1% オスミウムで固定した。洗浄後、エタノールで段階的に脱水し、t-ブチルアルコールで置換後、凍結乾燥した。凍結乾燥試料は、イオンスパッタにより金をコーティングして、SEM (Miniscope TM1000, 株式会社日立ハイテクノロジーズ) により組織の微細構造の観察を行った。

さらに、フロアタイム 20 分後に分割と丸めを行い、中間発酵後の生地をモルダにて圧延生地とした。そして、I 章と同様に、圧延された方向が分かるように観察部位を採取した。そして、中種のみキシング後の生地と同様に処理して、微細構造観察用試料とした。

1.9. 統計処理

データの統計解析に Tukey-Kramer 法を用いた多重比較試験 (Statcel-the Useful Addin Forms on Excel-2nd ed., 有限会社オーエムエス出版) を行った。差は、 $p < 0.05$ で統計的に有意と見なした。

2. 結果および考察

2.1. 供試材料の成分

小麦粉、米粉および小麦タンパク質の分析値を Table 17 に示した。小麦粉に比較して米粉の損傷デンプン含有率が低いことが示された。米粉の平均粒子径は小麦粉と比較して小さかった。アミロース含量は粳の一般品種として報告されているコシヒカリを使用した米粉 (高橋, 本間 他, 2009; 青木, 梅本 他, 2010) と比較して同程度であった。

小麦タンパク質のタンパク質含量は、グルテンと ASP でほぼ同程度であったため、配合比を調整する際には同じタンパク質含量の試料として使用した。

2.2. 米粉がファリノグラフ特性値に及ぼす影響

小麦粉に米粉を混合した際の生地物性の変化をファリノグラフで測定した結果を Fig. 23 に示した。小麦粉に米粉を 40%置換混合した際の吸水率は小麦粉と同程度であった。ファリノグラムは、小麦粉に比較して、小麦粉/米粉は、生地形成時間 (図中の矢印) は早い安定度 (図中の両矢印) が低かった。

2.3. ASP の添加が米粉を混合した生地の中種の発酵状態に及ぼす影響

米粉を混合した生地を縦型ミキサにより調製して、中種発酵による生地容積の変化を測定した結果を Fig. 24 に示した。小麦粉/米粉にグルテンを 10%添加した場合、発酵経過中に中種の容積が減少し、対照とした小麦粉に比べて、4 時間発酵後の中種の容積が低かった。発酵経過中に生地からガスが漏洩したことが原因と思われた。これに対して、グルテンの 30%を ASP に置き換えた ASP 3%+グルテン 7%添加区は、4 時間発酵後の中種の容積が対照とした小麦粉のみの生地と同等となった。中種発酵中の生地からのガスの漏洩が抑止された結果と思われた。

2.4. 中種のみキシング後の生地の内相の微細構造

実験工場における横型ミキサを使用した製パン試験において、中種のみキシング後の生地内相の組織を SEM で観察した結果、米粉を混合してグルテン 10%を添加した場合、グルテンネットワークの構造が不均一であるのに対して、ASP 3%+グルテン 7%を添加した場合には、グルテン形成は促進され、グルテンネットワークは均一性が増していることが観察された (Fig. 25)。

Table 17 Chemical composition, amylose content, damaged starch content, and mean particle size of samples

Sample	Moisture (%)	Protein (%)	Ash (%)	Amylose content (%)	Damaged starch content (%)	Particle size (μm)
Wheat flour	13.9	12.5 ^b	0.42	—	8.1	73.5
Rice flour ^a	12.1	5.9 ^c	0.35	12.6	3.1	50.8
Wheat protein						
Gluten	7.5	77.9 ^b	—	—	—	—
Acid-soluble wheat protein	6.5	78.2 ^b	—	—	—	—

^aMaterial: Koshiibuki, Niigata. ^bNitrogen to protein conversion factor: 5.70. ^cNitrogen to protein conversion factor: 5.95.

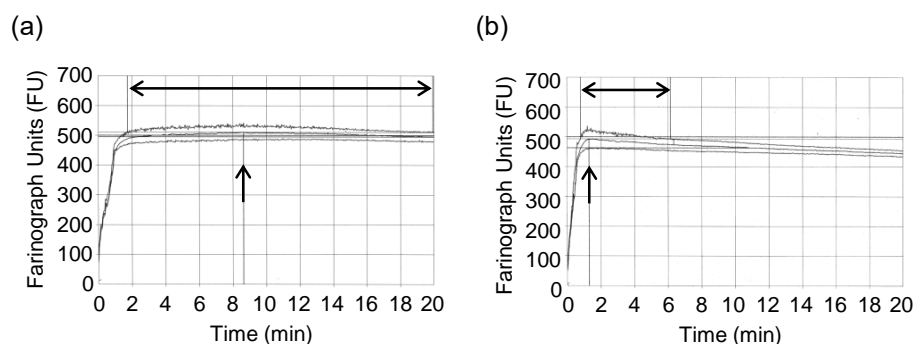


Fig. 23 Farinogram of the wheat flour and 60% wheat flour blended with 40% rice flour. (a) Wheat flour. (b) Replaced for 40% of wheat flour with rice flour was mixed well in advance and used for the test. The amount of water addition was 66% in all test groups. Arrows indicate the development time. Double-headed arrows indicate the stability

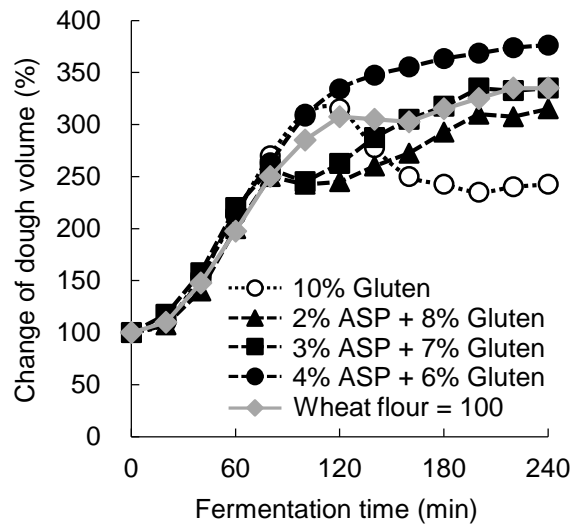


Fig. 24 Changes in volume of the sponge during fermentation at 27°C. Wheat protein was added in the wheat flour and rice flour blend. ASP, acid-soluble wheat protein

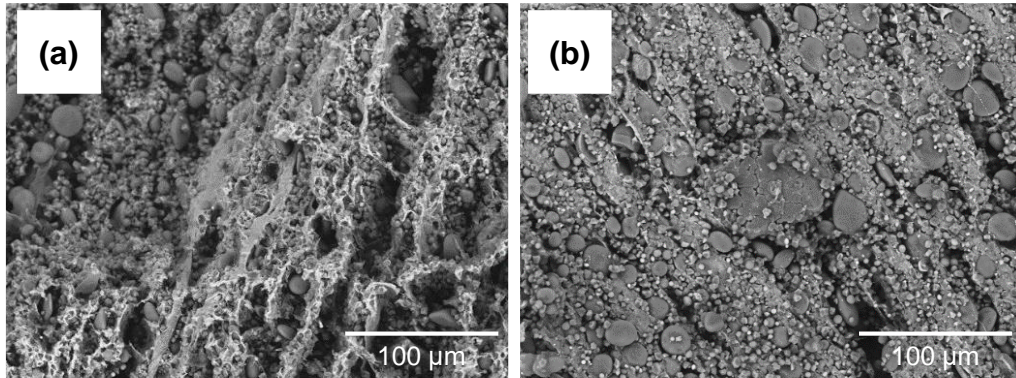


Fig. 25 Scanning electron microscopy images of the dough after sponge mixing of wheat flour and rice flour blend bread. (a) 10% Gluten; (b) 3% acid-soluble wheat protein + 7% gluten

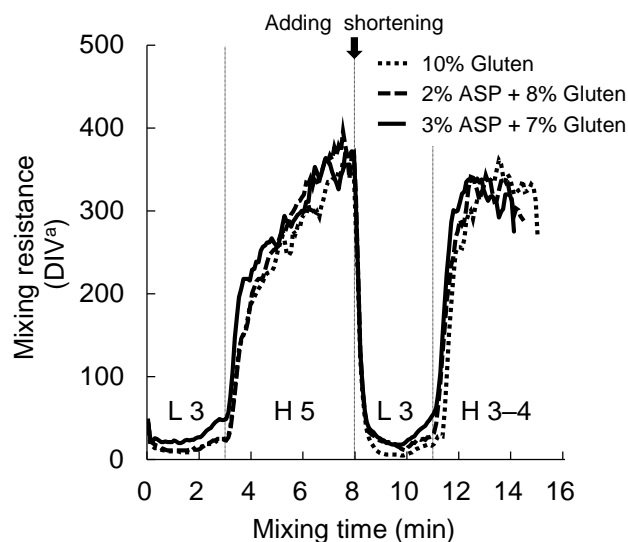
2.5. 米粉およびグルテンを混合した生地のみキシング特性に及ぼす ASP の影響

パン生地はみキシングによる生地形成で弾性が増し、その後に伸展性が現われ、この後の工程とパンの品質にとって最適な状態 (ファイナル段階) として、みキシングを終了とする。I 章でも述べたように、中種法における本捏工程の目的は、最終生地の物性を十分に变化させることにより、発達したグルテン構造を持つ滑らかで均質な生地を作ることである (Cauvain, 1998a; Marsh, 1998; Stauffer, 1998)。

実験工場において、中種法による製パンにおける本捏時の生地のみキシング特性を測定した結果を Fig. 26 に示した。横型みキサによるみキシングは、回転速度を、低速 (L) で 55 rpm および高速 (H) で 110 rpm にて行った。I 章と同様に、解析用ソフトウェアにより生地のみキシング状態を示すみキシング抵抗として表示した結果を示した。図の横軸がみキシング時間、縦軸が生地のみキシング抵抗を表す。みキシングの終了時間は、みキシング抵抗の曲線の形状変化と生地の状態より判断して決定した。この際、本捏みキシングにおけるファイナル段階への到達点はショートニング添加後の最大みキシング抵抗が 10%以上減少した時点とした。

この結果、グルテン 10%を添加した場合、高速みキシング 4 分を本捏みキシングの終了時間とした。グルテンの 20%を ASP で置換添加した場合 (ASP 2%+グルテン 8%添加) では 3 分 30 秒、グルテンの 30%を ASP で置換添加した場合 (ASP 3%+グルテン 7%添加) では 3 分を本捏みキシングの終了時間とした。ASP の添加量の増加に伴って、生地のグルテン形成は促進され、本捏みキシングの必要時間は短縮されることが示された。得られたこれらの時間を製パン試験の本捏みキシングの時間とし、生地を再度調製した。Fig. 26 は製パン用に生地を再度調製した際のデータである。本捏みキシング終了後の生地は引き続き製パン試験に供するため、捏上温度が一定になるように生地を冷却した。

本捏の工程は生地に柔軟な弾性と伸展性を与えることで、その後の工程に必要な機械耐性を与える。一方で市販されている粉末状グルテンは、乾燥する時の加熱によって凝集力が強くなり過ぎてしまうことから、生地に加えた際に生地の弾性を増加させ、伸展性を低下させる (Weegels & Hamer, 1992)。ASP の添加は最大みキシング抵抗を低下させ、グルテン添加による生地の弾性を低減することが示された (Fig. 26)。さらに、米粉混合パンの本捏みキシング終了後の生地の状態に ASP を添加したことによる伸展性の向上効果がみられた。生地の弾性の低下と伸展性の向上は、その後の連続工程における生地の機械成形性を向上させるものと考えられた。後藤 (2011) によると、小麦粉の重量に対して米粉を 50%置換混合した米粉混合食パンの大量製パンラインによる製造試験では、グルテンの一部を ASP に置き換えることは生地の伸展性の付与に有効であり、機械耐性が向上したとしている。この結果は本実験と合致するものであった。



After adding shortening		
	Maximum mixing resistance	High speed mixing time at the arrival of the final stage (min) ^b
10% Gluten	361	4.0
2% ASP + 8% Gluten	343	3.5
3% ASP + 7% Gluten	340	3.0

Fig. 26 Mixing resistance of during the dough mixing of wheat flour and rice flour blend bread. Mixing resistance curves were calculated from the electrical power consumption. Each test was performed twice and the results were confirmed to be the same. ^aThe unit of this system, which means division (vertical axis in the figure). ^bThe final stage of the high speed mixing after adding shortening was taken as the time at which the maximum mixing resistance decreased by > 10%. ASP, acid-soluble wheat protein; L, low speed (55 rpm); H, high speed (110 rpm)

2.6. 米粉およびグルテンを混合した生地の成形性に及ぼす ASP の影響

II 章でも述べたように、フロアタイムが終わった生地は分割、丸め、そして、中間発酵後のモルダによる成形工程を経て、生地組織が均一化される (内田, 1991)。これにより、パン酵母によって発生する炭酸ガスが分散した生地は均一な膨張が進行して、焼成後のパンの内相は均一性が増すことになる。

ASP がパン生地の機械成形性へ与える影響を検討するために、2.5.の生地についてモルダによる成形時、生地を圧延する際にローラに与える最大応力を測定した結果を Fig. 27 に示した。フロアタイム 20 分後の生地を圧延する際の応力について、米粉を配合し、グルテン 10%を添加した生地に比較して、ASP 2%+グルテン 8%あるいは ASP 3%+グルテン 7%とした際には、ローラに与える最大応力が減少した。つまり、ASP の添加によって、生地の特性が機械化製パンによる成形工程に適した生地に改善されることが示された。

モルダの圧延ローラにより圧延された後の生地の微細構造を走査型電子顕微鏡により観察した結果を Fig. 28 に示した。グルテンのみを 10%添加した場合、250 倍に拡大すると、グルテンネットワークの伸びている方向は一定方向ではないが、ASP を 3%添加した場合、圧延ローラを通過し伸ばされる方向と同方向にグルテンネットワークが伸びていることが観察された。ASP の添加はモルダによる生地の伸展性を向上し、生地組織を均一化することに効果が認められた。

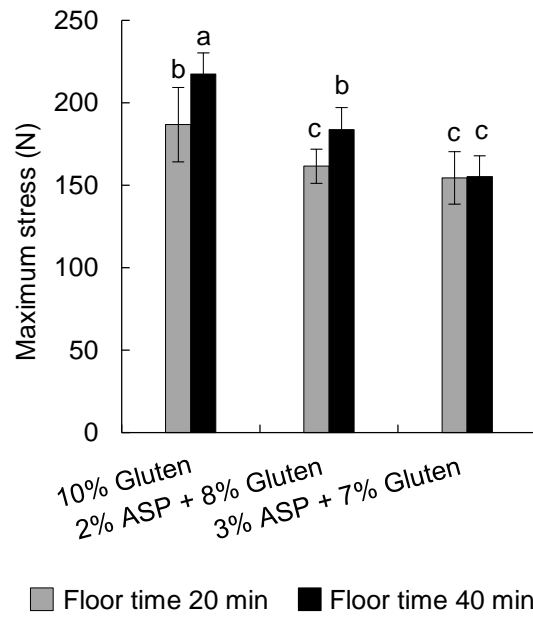


Fig. 27 Effect of floor time on the maximum stress to the final sheeting roller. Results show the average value \pm standard deviation ($n = 12$). Bars labeled with different letters are significantly different at $p < 0.05$, according to Tukey-Kramer test. ASP, acid-soluble wheat protein

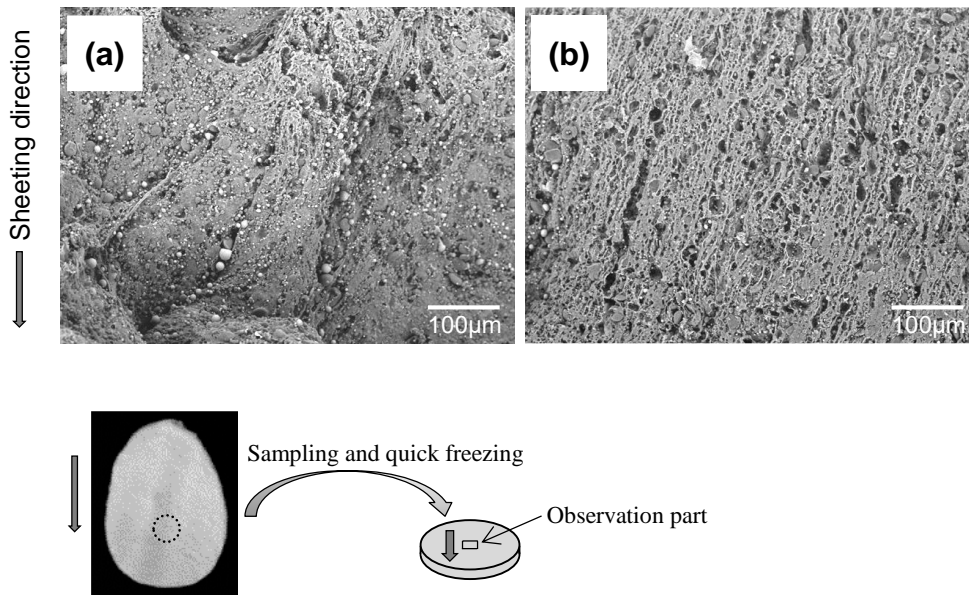


Fig. 28 Scanning electron microscopy images of sheeted dough of wheat flour and rice flour blend bread. The dough was given 20 min as floor time. (a) 10% Gluten; (b) 3% acid-soluble wheat protein + 7% gluten

2.7. フロアタイムの差異による生地物性の変化に及ぼす ASP の影響

これまでも述べたように、機械化製パンにおいて、バッチ当たりの生地の仕込み量が多い場合には、同一バッチの分割所要時間が 20 分程度もあり、この間に生地の性質が著しく変化する。これが製品品質にばらつきを生じさせる要因の一つとなっている。このため、大量生産では、この点を考慮した生地配合が必要となる。

米粉を高い比率で混合したパンでは小麦タンパク質の添加とその量、そして、添加する小麦タンパク質の性質が重要となる (後藤, 2011; 奥西, 2012; 奥西, 2015)。フロアタイムが長くなると生地の弾力が増し、モルダ成形時に生地の伸展性が著しく低下する。その場合にはモルダで圧延されても生地組織の均一化が十分になされない可能性があるでくる。気泡の均一化が進まないことはパン内相の不均一化の要因となる。

Fig. 27 は、フロアタイムの時間差を想定したフロアタイム 40 分の生地を成形する際に圧延ローラに与える応力の最大値も示している。

グルテン 10%添加区に比べて、ASP 2%+グルテン 8%添加区ではフロアタイムの時間差による最大応力の増加が抑制された。ASP 3%+グルテン 7%添加区ではフロアタイムの時間差による変化がほとんどなかった。これにより、ASP の添加で生地の機械成形への耐性が改善されるとともにバッチ内の生地を処理する間の生地の物性変化が抑制されることで、工程中の生地の安定性が向上し、機械化製パンによる大量生産に適した生地になることが示された。

I 章で述べたように、小麦タンパク質の表面疎水性度と物性との関係で、ASP はグルテンの構成成分のグルテニンに比較して、表面疎水性度が低い。ASP の添加は、グリアジンの作用でグルテン中のグルテニンの疎水性相互作用を弱めることで生地に伸展性を付与し、フロアタイムの時間差による生地物性の変化を抑制したものと考えられた。

2.8. 食パンの内相

成形工程での生地の伸展性が十分でないことが原因で、内相の気泡の不均一な状態が顕著となった場合には、内相の空洞化につながる。

フロアタイム 40 分の生地を使用した角型食パンの内相を Fig. 29 に示した。グルテンを 10%添加したパンはフロアタイム 20 分の内相に気泡の不均一な状態が観察され (図は未掲載)、フロアタイム 40 分では内相の気泡の不均一な状態が増長されて空洞化の現象が観察された。グルテンの 20%を ASP で置換添加した場合 (ASP 2%+グルテン 8%添加) では、グルテンのみを添加した場合と比較して、内相の空洞化の現象が抑制されていた。グルテンの 30%を ASP で置換添加した場合 (ASP 3%+グルテン 7%添加) では、内相の空洞化は観察されなかった。ASP の添加は、機械化製パンによる大量生産において重要な工程中の生地の安定性を向上することがパン内相の観察結果からも示された。

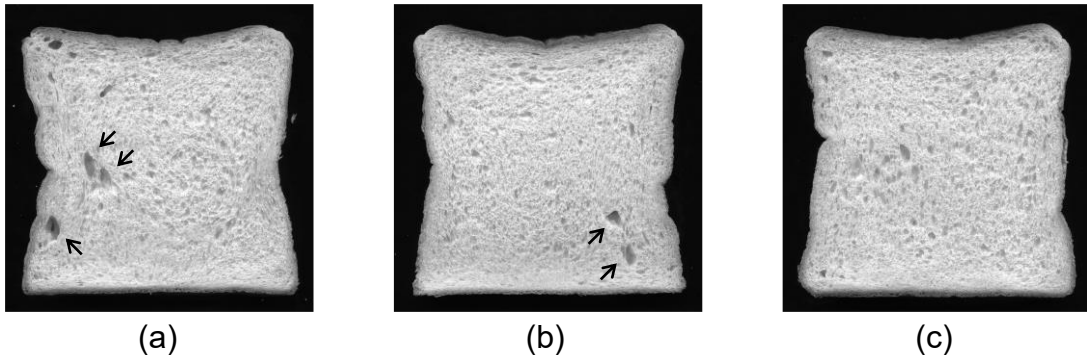


Fig. 29 Occurrence of uneven crumb structure of the baked products of dough after a flour time of 40 min. Wheat flour and rice flour blend bread. Arrows indicate the uneven crumb structure. (a) 10% Gluten; (b) 2% acid-soluble wheat protein + 8% gluten; (c) 3% acid-soluble wheat protein + 7% gluten

2.9. パンの内相物性の経時的変化

Fig. 30 の保存 24 時間後の結果に示したように、米粉混合パンの内相の圧縮応力は試験区間でほとんど差はない。しかし、保存 96 時間後には、グルテン 10%に対して、グルテンの 30%を ASP で置換添加した場合 (ASP 3%+グルテン 7%添加) は有意に低く、圧縮応力の経時的変化が少ないことが認められた。

凝集性は保存 24 時間後に、グルテン 10%に対して、グルテンの 20%を ASP で置換添加した場合 (ASP 2%+グルテン 8%添加) は有意に低いが、保存 96 時間後には試験区間の差はほとんどみられなくなった。

以上、機械化製パンによる大量生産を想定した米粉混合パンの製造試験において、ASP の添加は工程の安定化および製品の品質向上を示唆した。

このことは、様々な種類のパンにおける製パン性の向上を目的としたグルテンの使用に対して、ASP の添加が生地物性を改善し、パン品質を向上する可能性を示した。

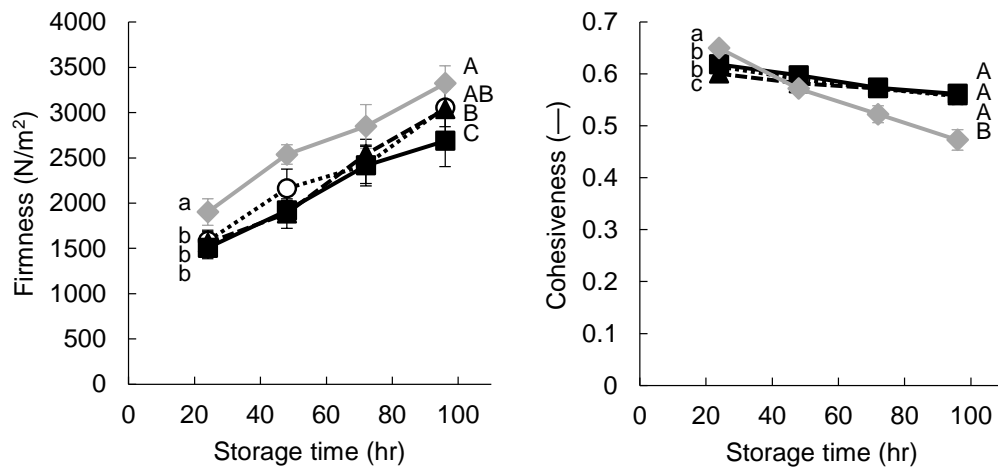


Fig. 30 Changes in crumb firmness and cohesiveness of wheat flour and rice flour blend bread during storage at 20°C. Vertical bars shows the SD of each value ($n = 12$). Bars labelled with different letters are significantly different at $p < 0.05$ according to Tukey-Kramer test. $\cdots\circ\cdots$, 10% Gluten; $-\blacktriangle-$, 2% ASP + 8% gluten; $-\blacksquare-$, 3% ASP + 7% gluten; $-\blacklozenge-$, wheat flour = 100. ASP, acid-soluble wheat protein

3. 要約

本章では、ASP の米粉混合パンへの添加の影響を以下のように調べた。小麦粉の 40% を米粉に置き換え、小麦タンパク質 (グルテンおよび ASP) の添加を 10% に設定し、グルテンの 20–40% を ASP に置換することによって試験を行った。中種法では、ASP を添加することにより中種のガス保持性が向上し、本捏時には生地形成時間が短縮された。加えて、大量生産の際、分割工程中に生じるフロアタイムの時間差で生じる生地の物性変化を抑制することでモルダによる成形性が向上した。また、生地内部の微細構造を観察するとグルテンネットワークが一定方向に伸びていることから ASP による伸展性向上効果が認められた。これらは、ASP によるグルテンの疎水性相互作用を低下する作用によるものであり、グルテンの一部を ASP に置換することにより、伸展性が付与され、グルテンマトリックスの損傷を抑制し、焼成後の内相は気泡の不均一性 (空洞化) が改善された。さらに内相の硬さの経時的変化 (20°C, 24–96 時間) が減少した。結論として、ASP の添加は機械化製パンによる米粉混合パンの製造工程の安定化および品質の向上をもたらした。

総括

我が国では年間 126 万トンの小麦粉を使用したパンが生産され、その 85%は大規模工場における連続的な大量生産形式 (以下、機械化製パン) で製造されている。小麦粉は加水と混捏によって粘弾性に富む生地を生じ、これは小麦粉中の主要タンパク質である粘性に關与するグリアジンと弾性に關与するグルテニンが会合して、凝集物のグルテンが形成されるためである。生地の性状は、製パン工程中の作業性やパンの品質に大きく關与する。機械化製パンでは生地の調製および発酵はバッチ式で行われ、その後の熟成 (以下、フロアタイム) 以降の工程 (分割・丸め・中間発酵・成形・最終発酵・焼成) は連続的に行われている。このため、生地の分割開始時と最終時までには 20 分程度の時間差が生じる。この間に生地は凝集が進み、生地の物性が硬く伸展性が低下するため、分割工程の開始時と後半では成形した生地の形状が不均一となる。このため成形時の圧力を高くするなどの対応を行っているが、成形生地の表面および内相が損傷を受け、焼成品の形状への影響や内相の粗雑化など品質が低下し、均一な製品の提供を求められる機械化製パンにとって大きな問題となっている。

また近年、冷凍生地を使用した製パンが普及している。冷凍耐性酵母の普及した今日では、冷凍によるグルテンの損傷に伴うガス保持力の低下が課題となっている。現在この対策として、生地改良剤であるアスコルビン酸の添加量を増加させる他、タンパク質含量の高い小麦粉の使用、あるいはグルテンを添加するといった対応を取るが、これらの改善効果は不十分で、硬く伸展性が低い生地となり気泡数が少なく気泡構造が不均一な内相になるなど最終製品の品質に新たな問題を招いている。

これらの大規模工場での機械化製パン並びに冷凍パン生地の問題は、いずれも生地、グルテンの強い弾性力によって惹起される。そこで本研究ではグルテン構成タンパク質の内、粘性に富むグリアジンの機能に着目し、同タンパク質の利用によって生地の伸展性が改善するとの推論のもと、これら課題の解決について検討を進めた。その結果、グルテンから酸性水溶液にて調製したグリアジンを主成分とする酸可溶性小麦タンパク質 (以下 ASP) の添加による生地の品質改善機序を明らかにすると共に、ASP の添加により機械化製パン並びに冷凍パン生地での製パン工程中の変化に対応する生地調製が可能となり、従来困難であったこれらの製パン工程の安定化および品質の均一性を向上させることが出来た。また、ASP が米粉混合パンの製造およびその品質を大きく改善することを見出した。

以下、本研究の概要を述べる。

I. 機械化製パンにおける製品の品質安定化に及ぼす ASP 添加の影響

1. パンの外観と内相に及ぼすフロアタイムの影響と ASP 添加の効果

中種法により調製した同一バッチの生地に対して標準フロアタイムを 20 分に、分割最終時を想定したフロアタイムを 40 分と設定し、生地を分割することとした。その他の条件を一定にしてコッペ型のロールパン (以下ロールパン) を焼成して、フロアタイムに対する ASP 添加の影響を検討した。無添加 (対照区) では、フロアタイム 40 分後の生地は同 20 分と比較してロールパンの長さは有意に短く横幅は有意に広がり、分割時間差が明らかに製品形状に影響した。一方、ASP 0.5% (対小麦粉、以下省略) および 0.75% 添加区は、フロアタイムによるパンの長さや横幅に有意な差はなく形状の均一性が向上した。パン内相は目視で内相が粗いと認識される 1 mm^2 以上の気泡数が対照区でフロアタイム 20 分に対し 40 分で大きく増加したが、ASP 0.5% および 0.75% 添加区の内相の状態はフロアタイムの差異による影響はあまりみられなかった。これらの結果より、ASP の添加によって機械化製パンにおいても形状および内相などが良好で均質なパンを調製することができた。この要因は、ASP 添加によってフロアタイム中におけるパン生地の収縮が抑制されたものと推察した。

2. 成形時の生地物性におけるフロアタイムの影響と ASP の効果

生地成形時における圧延ローラに加えられた応力を測定した結果、対照区のフロアタイム 40 分は、20 分と比較して最大応力が約 1.5 倍に増加した。ASP 添加ではフロアタイム 20 分、40 分共に最大応力は対照区より有意に低くなり、ASP 0.75% 添加区のフロアタイム 40 分の最大応力は、対照区の同 20 分の値に近づき、成形工程における適切な生地物性に改善された。

また、圧延した生地はカーリング後、転がしながら圧力をかける展圧操作によってロール型に成形 (以下、成形生地) されるが、硬い物性を示す生地は展圧操作後に生地の収縮が大きく、その影響は焼成品の外観の違いとして現れる。画像解析により成形直後の成形生地の長さを測定した。対照区のフロアタイム 20 分に対し、各試験区の 40 分を比較した結果、ASP 0.75% 添加区は有意差がなく、生地の収縮が抑制されていた。さらに、標準偏差が小さく、個体差が少なくなる傾向が認められた。これらは、グルテンの粘弾性に対する ASP の効果であり、グリアジンの作用であると考えられた。

3. 生地の組織構造への ASP 添加の影響

圧延生地の内部の微細構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した結果、対照区は、フロアタイムに関係なく、グルテンネットワークに圧延操作による方向性は観察されなかった。ASP 0.75% 添加区では、フロアタイムに関係なく圧延方向に伸びたグルテンネ

ットワークおよびこの方向に沿って配向したデンプン粒が観察され、グルテンネットワークの伸展性が高いことが推察された。結果として、ASP は展圧操作に対して生地を伸ばしやすくし、さらには伸ばされた成形生地の収縮を弱めることに寄与した。

4. ASP の表面疎水性度が生地物性に及ぼす影響

グルテンは疎水性が高く、分子間での疎水性相互作用が生地形成および性状に大きく関与する。先述の試験において、ASP を添加すると生地の伸展性が向上した。この様な変化は、ASP を添加したことによる疎水性相互作用への影響であることが推察された。そこで、ASP のタンパク質表面疎水性度 (F.I./mg protein) を測定し、ASP の構成成分であるグリアジン (アルコール可溶性画分) およびグルテニン (アルコール不溶性画分) と比較した。ASP の表面疎水性度は $155 \pm 2.0 (\pm SD)$ と、グリアジンの 139 ± 3.6 に近い値を示し、グルテニンの 200 ± 1.0 に比べて有意に低かった。以上のことから、ASP 添加による生地の伸展性を向上および過度な生地の凝集抑制は、ASP によってグルテンにおける疎水性相互作用が低下したことによって惹起するものと推察した。

II. 冷凍生地製パンの品質に及ぼす ASP 添加の影響

1. 成形冷凍生地から調製したロールパンの外観と内相に対する ASP の効果

冷凍生地製パンでは通常の製パンとは異なり、生地混捏直後の発酵を取らず成形し、急速冷凍した成形冷凍生地进行調製後、冷凍貯蔵・流通し、解凍、発酵、焼成される。I 章と同様、分割工程の時間差を想定し、フロアタイム 20 分を設定した。また、冷凍生地の評価は、冷凍後 5 および 27 日の生地にて実施した。焼成したパンの比容積は、対照区および ASP 0.5% 添加区ともに冷凍 27 日間は同 5 日間より有意に低下したが、パンの内相の気泡は冷凍 5 および 27 日間共に対照区に比べて ASP 添加区は 1 mm^2 以上の気泡数が少なかった。ASP を添加した成形冷凍生地は、生地の伸展性が向上することで気泡構造が細かく均一になったものと推察した。

2. 成形冷凍生地の成形工程および最終発酵後の生地構造に及ぼす ASP の影響

成形直後の生地表面の微細構造観察 (SEM) では、デンプン粒が均一に分布していたが対照区では亀裂が観察された。ASP 0.5% 添加区には対照区のような大きさの亀裂はみられず、成形中に生地に過度の負荷がかからなかったためと推察した。

冷凍保存 7 日間の成形冷凍生地の最終発酵生地の SEM 画像では、対照区で生地表面、すなわち焼成後に表皮になる部分に亀裂が観察された。これは生地の伸展性が小さいことで成形時の圧延力や氷結晶により損傷したためと考えられた。ASP 0.5% 添加区では

大きな亀裂は観察されず、ASP の添加により冷凍後も生地 of 伸展性が維持されたことが示唆された。

3. 成形冷凍生地の長期冷凍保存によるパン品質への影響と ASP の効果

冷凍 60 日間の成形冷凍生地のパンの比容積は、対照区、ASP 添加区共に同 27 日間と比較して減少しなかった。しかし、冷凍 60 日間の成形冷凍生地のパンは両試験区とも同 27 日間と比較して内相の気泡構造が粗く不均一であった。さらに、対照区はいくつかの気泡が表皮層まで達し、表皮に大きな火膨れが観察された。冷凍保存によるグルテンマトリックスの損傷により生地 of ガス保持力が低下したことが原因と考えられた。これに対して、ASP 0.5% 添加区は表皮層に達する大きな気泡は無く、火膨れは観察されなかった。ASP の添加で冷凍保存時の同マトリックスの損傷が抑制されることが示唆された。

4. 生地 of 冷凍変性に対する ASP の抑制効果の解析

ASP の添加は、冷凍保存によるパンの気泡構造の変化を抑制した。その機作を検証するため、油脂や脱脂粉乳を除いた単純低糖生地を調製し、未冷凍および冷凍保存後の生地を成形して、発酵後の生地 of 引張り物性を測定した。冷凍保存時には冷凍解凍反復処理 (-20°C で 1 週間保存する間、10°C で 1 時間解凍 4 回) を施し、加速度試験とした。

生地 of 引張り物性は、エクステンシグラフにて測定し Energy (cm³) = 「生地 of 力」、Resistance (BU) = 「伸長抵抗」、Extensibility (mm) = 「伸長度」 of 各測定値を求めた。無添加生地では、冷凍により伸長抵抗が大きく低下し生地 of 力も大きく減少した。これに対し、アスコルビン酸を添加すると、未冷凍、冷凍ともに伸張抵抗が大きく増加し生地 of 力も増加したが、伸長度 of 低下が大きく、硬く伸び of 低い生地となった。一方、グルテンおよび ASP 添加で伸長抵抗は増加したもののアスコルビン酸添加に比べ小さく、無添加とほぼ同等 of 伸長度を維持していた。また、生地 of 力には冷凍後のグルテンおよび ASP 添加の間に差異がみられ、ASP を添加することで無添加 of 未冷凍生地に最も近い値となった。従来、冷凍によって生じる生地 of 弱化を抑制するためにアスコルビン酸が添加されているが、添加による生地 of 伸長度 of 低下が成形時における圧延でのグルテン of 断裂を招き、パン内相 of 粗雑化を引き起こすことを本研究で明らかにした。また、グルテン添加では伸長度 of 改善は十分でなく、ASP 添加によって伸長抵抗を保ちつつ、伸長度を向上させることでグルテンマトリックス of 損傷を抑制することができた。

5. グルテンおよび ASP の水分挙動と微細構造 of 比較

冷凍による生地物性 of 変化は、生地からの離水によって増長されると考えられている。生地からの離水は、グルテン of 疎水性相互作用を高め伸展性を低下させる。そこで、グ

グルテンおよび ASP と水分との相互作用について検討するため、水を加え水和させた両試料の水分活性値を測定した。グルテンでは 0.978 ± 0.001 (\pm SD) を示したのに対し、ASP では 0.960 ± 0.003 と水分活性値は著しく低くなり、ASP はグルテンに比べ結合水が多く、保水力が高いことが明らかになった。また、これらの水和物を凍結乾燥し SEM にて観察した結果、グルテンに比べて ASP のネットワーク構造は非常に緻密であった。ASP はこの構造と高い保水力によって、冷凍によるグルテンからの離水を抑制することで、その伸展性の低下を阻害したと考えられた。これにより成形冷凍生地中のグルテンマトリックスの損傷が抑制され、均一なグルテンシートが生地のガス保持力を維持することで内相の均一性に寄与したものと推察した。また、冷凍生地中の大きな気泡は、小さい気泡に比べて冷凍保存中に気泡内に氷結晶が生成しやすいことが報告されている。ASP を添加した成形冷凍生地では気泡構造が細かく均一であることから、氷結晶の生成が抑制され、グルテンマトリックスの損傷が少なくなった可能性が考えられた。

III. 米粉混合パンへの ASP 利用による品質安定化の検討

近年、米粉に注目が集まりパンへの利用が伸びている。しかし、小麦粉の一部を米粉に代替すると生地物性が弱体化して製パン性が低下する。このため、小麦より分離されたグルテンの添加が行われているが、これにより生地の弾性が強くなりすぎてしまい、パンの品質低下を招く。I および II の結果から、ASP の添加はこれらに対する改良効果が期待された。そこで小麦粉の 40% を米粉に置き換え、小麦タンパク質 (グルテンおよび ASP) の添加を 10% に設定し、グルテンの一部を ASP に置換して、中種法によって製パン試験を行なった。グルテンのみの添加に比べて、ASP 30% 置換により、生地の圧延応力が有意に低下した。その結果、グルテンマトリックスの損傷を抑制し、焼成後の内相は気泡構造の不均一性 (空洞化) が改善された。

機械化製パンにおいて、単に生地物性を硬くすることは製品の品質の安定化に寄与するものではなく、適度な伸展性を持つ生地の調製が重要である。また、分割工程で生じるフロアタイムの時間差による生地物性の変化を最小限に抑えることも重要である。本研究にて酸可溶性小麦タンパク質 (ASP) を用い、これら問題に対し検討を行ったところ、ASP はグルテン構成タンパク質であるグルテニンに比べ、タンパク質表面疎水性度が低く、ASP を添加することでグルテンの疎水性相互作用が弱まり、生地に伸展性を付与することが明らかとなった。また、生地に伸展性が付与されることで、生地圧延後の収縮が抑えられ、製品形状の安定化が図られるとともに、生地圧延時および発酵時にお

けるグルテンマトリックスの破断を抑制し、ガス保持力が維持されることでパン内相の粗雑化を抑制した。

冷凍生地においては、グルテンの伸長抵抗が冷凍変性により低下することでガス保持力の弱いパンとなる。これらの現象は、冷凍によるグルテンからの離水が生地の伸展性を低下させ、グルテンマトリックスを弱化させると考えられるが、保水力が高い ASP の働きによってグルテンからの離水が抑制され、グルテンマトリックスの損傷を防ぎ生地のガス保持力を維持することで、焼成後のパン内相の気泡構造を均一化し、良好な表皮の状態となることが明らかとなった。

さらに、本研究成果から近年注目されている米粉混合パンへの応用を試みた。米粉混合パンはグルテン含量が少ないことから、グルテンを添加しその生地物性を強化する。しかし、グルテン添加のみではグルテンの強すぎる弾性によって内相の粗雑化など、弊害が生じる。グルテンの一部を ASP に置換することにより、伸展性が付与され、グルテンマトリックスの破断などが防止されることで、緻密な内相をもつ米粉混合パンの製造が可能となった。

以上、大規模工場の大量生産や普及が拡大している冷凍生地の課題に対して、酸可溶性小麦タンパク質 (ASP) は、機械化製パンの製造工程の安定化とパン品質の均一性向上に寄与することが明らかとなった。

Study on stabilization of bread quality by addition of acid-soluble wheat protein

In mechanized baking, simply making dough with firm rheological properties does not contribute to product quality stability; it is important to prepare dough with adequate extensibility. For good product stability, it is also important to minimize changes in dough rheological properties caused by differences in floor time that occur during the dividing process. In this study, the issues above were investigated using acid-soluble wheat protein (ASP), which is less hydrophobic on the protein surface than glutenin, a gluten constituent protein. It was found that ASP addition weakened the hydrophobic interaction of gluten and improved dough extensibility. Furthermore, results showed that improved dough extensibility suppressed shrinkage after dough sheeting. This, along with stabilizing the product shape, also suppressed rupture of the gluten matrix during the dough sheeting and the final-fermentation, which maintained gas retention and therefore prevented coarsening of the crumb grain structure.

In frozen dough, the resistance to gluten extension is reduced due to freeze denaturation, which results in a bread with weak gas retention. The above is considered to be caused by water release from gluten due to freezing, which decreases the extensibility of dough and weakens the gluten matrix. However, results from this study showed that the high-water retention capacity of ASP inhibited water release from gluten, prevented damage of the gluten matrix, and also maintained gas retention in the dough, resulting in a uniform crumb grain structure after baking, and the attainment of favorable crust quality.

The results of this research were examined in wheat flour and rice flour blend bread, which has been the focus of much attention in recent years. Since wheat flour and rice flour blend bread has low gluten content, gluten is added to strengthen dough rheological properties. However, if gluten is the sole addition, gluten elasticity becomes too strong, and adverse effects, such as a coarse grain structure of the crumb, occur. Replacing some of the gluten with ASP improved extensibility and prevented rupture of the gluten matrix, making it possible to produce a wheat flour and rice flour blend bread with a fine crumb grain structure.

In summary, it was clear that acid-soluble wheat protein (ASP) addition contributed to stability in the production process in mechanized bread-production, and provided bread quality uniformity, improving the condition of frozen dough, the usage of which is becoming increasingly popular in mass-production in large-scale factories, and also in general.

参考文献

- AACC International (2010). *Approved methods of analysis* (11th ed.). Methods 08-02.01, 44-19.01, 46-11.02, 54-10.01, 54-21.01, and 56-11.02. St. Paul, MN: AACC International.
- Aoki, N., Umemoto, T., Hamada, S., Suzuki, K., & Suzuki, Y. (2012). The amylose content and amylopectin structure affect the shape and hardness of rice bread. *Journal of Applied Glycoscience*, 59, 75–82. https://doi.org/10.5458/jag.jag.JAG-2011_013
- Baier-Schenk, A., Handschin, S., & Conde-Petit, B. (2005). Ice in prefermented frozen bread dough —An investigation based on calorimetry and microscopy. *Cereal Chemistry*, 82, 251–255. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0251>
- Bassi, S., Maningat, C. C., Chinnaswamy, R., & Gray, D. R. (1997). *Alcohol-free wet extraction of gluten dough into gliadin and glutenin*. US Patent 5,610,277.
- Berglund, P. T., Shelton, D. R., & Freeman, T. P. (1991). Frozen bread dough ultrastructure as affected by duration of frozen storage and freeze-thaw cycles. *Cereal Chemistry*, 68, 105–107.
- Bérot, S., Chiron, H., Nicolas, M., Gautier, S., Godon, B., & Popineau, Y. (1996). Pilot scale preparation of wheat gluten protein fractions: II. Technological properties of the fractions. *International Journal of Food Science & Technology*, 31, 77–84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.20-314.x>
- Bérot, S., Gautier, S., Nicolas, M., Godon, B., & Popineau, Y. (1994). Pilot scale preparation of wheat gluten protein fractions I-Influence of process parameters on their protein composition. *International Journal of Food Science & Technology*, 29, 489–502. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02092.x>
- Bonomi, F., Mora G., Pagani, M. A., & Iametti, S. (2004). Probing structural features of water-insoluble proteins by front-face fluorescence. *Analytical Biochemistry*, 329, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.02.016>
- Cauvain, S. P. (1998a). Bread making processes. In S. P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), *Technology of breadmaking* (pp. 18–44). London, UK: Blackie Academic & Professional.
- Cauvain, S. P. (1998b). Dough retarding and freezing. In S. P. Cauvain, & L. S. Young (Eds.), *Technology of breadmaking* (pp. 149–179). Blackie Academic & Professional.
- Esselink, E. F. J., van Aalst, H., Maliepaard, M., & van Duynhoven, J. P. M. (2003). Long-term storage effect in frozen dough by spectroscopy and microscopy, *Cereal Chemistry*, 80, 396–403. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.4.396>
- Goforth, D. R., & Finney, K. F. (1976). Separation of glutenin from gliadin by ultracentrifugation. *Cereal Chemistry*, 53, 608–611. (Abstract only)

- Harada, O., Lysenko, E. D., Edwards, N. M., & Preston, K. R. (2005). Effects of commercial hydrolytic enzyme additives on Japanese-style sponge and dough bread properties and processing characteristics. *Cereal Chemistry*, 82, 314–320. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0314>
- Hattori, K., Dupuis, B., Fu, B. X., & Edwards, N. M. (2015). Effects of monoglycerides of varying fatty acid chain length and mixtures thereof on sponge-and-dough breadmaking quality. *Cereal Chemistry*, 92, 481–486. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-12-14-0267-R>
- Hayakawa, S., & Nakai, S. (1985). Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy proteins. *Journal of Food Science*, 50, 486–491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13433.x>
- Hayman, D., Hosoney, R. C., & Faubion, J. M. (1998). Bread crumb grain development during baking. *Cereal Chemistry*, 75, 577–580. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.5.577>
- He, H., & Hosoney, R. C. (1991). Gas retention in bread dough during baking. *Cereal Chemistry*, 68, 521–525.
- He, H., & Hosoney, R. C. (1992). Factors controlling gas retention in nonheated doughs. *Cereal Chemistry*, 69, 1–6.
- Huang, W. N., Yuan, Y. L., Kim, Y. S., & Chung, O. K. (2008). Effects of transglutaminase on rheology, microstructure, and baking properties of frozen dough. *Cereal Chemistry*, 85, 301–306. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-3-0301>
- Huebner, F. R. (1977). Wheat flour proteins and their functionality in baking. *Baker's Digest*, 51, 25–31.
- Inoue, Y., & Bushuk, W. (1991). Studies on frozen doughs. I. Effects of frozen storage and freeze-thaw cycles on baking and rheological properties. *Cereal Chemistry*, 68, 627–631.
- Inoue, Y., & Bushuk, W. (1992). Studies on frozen doughs. II. Flour quality requirements for bread production from frozen dough. *Cereal Chemistry*, 69, 423–428.
- Ishida, N., Takano, H., Naito, S., Isobe, S., Uemura, K., Haishi, T., Kose, K., Koizumi, M., & Kano, H. (2001). Architecture of baked breads depicted by a magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Imaging*, 19, 867–874. [https://doi.org/10.1016/S0730-725X\(01\)00410-6](https://doi.org/10.1016/S0730-725X(01)00410-6)
- Juliano, B.O. (1971). A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Science Today*, 16, 334–340.
- Kenny, S., Wehrle, K., Dennehy, T., & Arendt, E. K. (1999). Correlations between empirical and fundamental rheology measurements and baking performance of frozen bread dough. *Cereal Chemistry*, 76, 421–425. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.421>
- Li, Z., Tang, X., Huang, W., Liu, J. G., Tilley, M., & Yao, Y. (2011). Rheology, microstructure,

- and baking characteristics of frozen dough containing *Rhizopus chinensis* lipase and transglutaminase. *Cereal Chemistry*, 88, 596–601. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-07-11-0082>
- Macritchie, F. (1985). Studies of the methodology for fractionation and reconstitution of wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 3, 221–230. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(85\)80015-1](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(85)80015-1)
- Maeda, T., Hashimoto, T., Minoda, M., Tamagawa, S., & Morita, N. (2003). Effects of mutant thermostable α -amylases on rheological properties of wheat dough and bread. *Cereal Chemistry*, 80, 722–727. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.6.722>
- Marsh, D. (1998). Mixing and dough processing. In S. P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), *Technology of breadmaking* (pp. 81–119). London, UK: Blackie Academic & Professional.
- Miyamoto, Y., Sakamoto, M., Maeda, T., & Morita, N. (2005). Application of polyglycerol mono fatty acid esters to improve breadmaking. *Food Science and Technology Research*, 11, 19–25. <https://doi.org/10.3136/fstr.11.19>
- Morimoto, N., & Seguchi, M. (2011). Restoration of breadmaking properties to frozen dough by addition of sugar and yeast and subsequent processing. *Cereal Chemistry*, 88, 409–413. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-08-10-0109>
- Murakami, T., Kitabatake, N., & Tani, F. (2015). Dispersion in the presence of acetic acid or ammonia confers gliadin-like characteristics to the glutenin in wheat gluten. *Journal of Food Science*, 80, 269–278. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12757>
- Murakami, T., Nishimura, T., Kitabatake, N., & Tani, F. (2016). Molecular analysis of the polymeric glutenins with gliadin-like characteristics that were produced by acid dispersion of wheat gluten. *Journal of Food Science*, 81, 553–562. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13221>
- Murakami, T., Nishimura, T., Ogawa, T., Kitabatake, N., & Tani, F. (2018). Molecular analysis of polymeric glutenins in wheat gluten with gliadin-like characteristics by ammonia dispersion. *Food Science and Technology Research*, 24, 1049–1058. <https://doi.org/10.3136/fstr.24.1049>
- Naito, S., Fukami, S., Mizokami, Y., Hirose, R., Kawashima, K., Takano, H., Ishida, N., Koizumi, M., & Kano, H. (2005). The effect of gelatinized starch on baking bread. *Food Science and Technology Research*, 11, 194–201. <https://doi.org/10.3136/fstr.11.194>
- Naito, S., Fukami, S., Mizokami, Y., Ishida, N., Takano, H., Koizumi, M., & Kano, H. (2004). Effect of freeze-thaw cycles on the gluten fibrils and crumb grain structures of breads made from frozen doughs. *Cereal Chemistry*, 81, 80–86. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.1.80>

- Neyreneuf, O., & Delpuech, B. (1993). Freezing experiments on yeasted dough slabs. Effects of cryogenic temperatures on the baking performance. *Cereal Chemistry*, 70, 109–111.
- Noguchi, T., Shiono, K., Oka, D., Noguchi, H., & Takano, K. (2016). The action of the SS bond formation due to the PDI-ERO1 to wheat gliadin (GliA. A) on the dough formation and baking quality. *Food Preservation Science*, 42, 9–14.
- Noor Hasniza, M. Z., Wilkes, M. A., Uthayakumaran, S., & Copeland, L. (2014). Growth environment influences grain protein composition and dough functional properties in three Australian wheat cultivars. *Cereal Chemistry*, 91, 169–175. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-13-0109-R>
- Omedi, J. O., Huang, W., Zhang, B., Li, Z., & Zheng, J. (2019). Advances in present-day frozen dough technology and its improver and novel biotech ingredients development trends—A review. *Cereal Chemistry*, 96, 34–56. <https://doi.org/10.1002/cche.10122>
- Roels, S. (2008). *Method for the preparation of gliadin- and glutenin-rich fractions out of gluten in an aqueous medium and in the presence of an acid*, US patent 7,385,037.
- Rosell, C. M., & Gómez, M. (2007). Frozen dough and partially baked bread: An update. *Food Reviews International*, 23, 303–319. <https://doi.org/10.1080/87559120701418368>
- Seguchi, M., Nikaidoo, S., & Morimoto, N. (2003). Centrifuged liquid and breadmaking properties of frozen-and-thawed bread dough. *Cereal Chemistry*, 80, 264–268. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.3.264>
- Skerritt, J. H., Bekes, F., & Murray, D. (1996). Isolation treatments and effects of gliadin and glutenin fractions on dough mixing properties. *Cereal Chemistry*, 73, 644–649.
- Spies, R. (1990). Application of rheology in the bread industry. In H. Faridi & J. M. Faubion (Eds.), *Dough rheology and baked product texture* (pp. 343–361). New York, NY: Van Nostrand Reinhold.
- Stauffer, C. E. (1998). Principles of dough formation. In S. P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), *Technology of breadmaking* (pp. 262–295). London, UK: Blackie Academic & Professional.
- Takano, H., Ishida, N., Koizumi, M., & Kano, H. (2002). Imaging of the fermentation process of bread dough and the grain structure of baked breads by magnetic resonance imaging. *Journal of Food Science*, 67, 244–250. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11392.x>
- Takano, H., Naito, S., Ishida, N., Koizumi, M., & Kano, H. (2002). Fermentation process and grain structure of baked breads from frozen dough using freeze-tolerant yeasts. *Journal of Food Science*, 67, 2725–2733. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08805.x>
- Tang, X., Wang, F., Huang, W., Zou, Q., Jia, C., Jin, D., Omedi, J. O., & Li, Z. (2016). The combination of *Rhizopus chinensis* lipase and transglutaminase affects the rheology and

- glutenin macropolymer properties of frozen dough. *Cereal Chemistry*, 93, 377–385. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-15-0179-R>
- Tsen, C. C., & Weber, J. (1981). Dough properties and proof times of yeasted doughs affected by surfactants. *Cereal Chemistry*, 58, 180–181.
- Uthayakumaran, S., Gras, P. W., Stoddard, F. L., & Bekes, F. (1999). Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry*, 76, 389–394. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.389>
- Uthayakumaran, S., Newberry, M., Keentok, M., Stoddard, F. L., & Bekes, F. (2000). Basic rheology of bread dough with modified protein content and glutenin-to-gliadin ratios. *Cereal Chemistry*, 77, 744–749. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2000.77.6.744>
- Uthayakumaran, S., Tömösközi, S., Tatham, A. S., Savage, A. W. J., Gianibelli, M. C., Stoddard, F. L., & Bekes, F. (2001). Effects of gliadin fractions on functional properties of wheat dough depending on molecular size and hydrophobicity. *Cereal Chemistry*, 78, 138–141. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.2.138>
- Weegels, P.L., & Hamer, R.J. (1992). Improving the breadmaking quality of gluten. *Cereal Foods World*, 37, 379–385.
- Wieser, H., Bushuk, W., & MacRitchie, F. (2006). The polymeric glutenins. In C. Wrigley, F. Békés & W. Bushuk (Eds.), *Gliadin and glutenin—The unique balance of wheat quality* (pp. 213–240). St. Paul, MN: AACC Press.
- Wrigley, C., Békés, F., & Bushuk, W. (2006). Gluten-A balance of gliadin and glutenin. In C. Wrigley, F. Békés & W. Bushuk (Eds.), *Gliadin and glutenin—The unique balance of wheat quality* (pp. 3–32). St. Paul, MN: AACC Press.
- Yamada, Y., & Preston, K. R. (1994). Sponge-and-dough bread: Effects of oxidants on bread and oven rise properties of a Canadian red spring wheat patent flour. *Cereal Chemistry*, 71, 297–300.
- Zhang, Y., Li, Y., Liu, Y., & Zhang, H. (2018). Effects of multiple freeze–thaw cycles on the quality of frozen dough. *Cereal Chemistry*, 95, 499–507. <https://doi.org/10.1002/cche.10053>
- 青木法明, 梅本貴之, 鈴木保宏 (2010). グルテン添加米粉パンにおける多収性稲品種の製パン特性. *日本食品科学工学会誌*, 57, 107–113. <https://doi.org/10.3136/nskkk.57.107>
- 新井千秋, 廣瀬理恵子, 柴田朋子, 丹下幹子 (2003). 小麦タンパク質「グリアジン画分」による国産小麦粉を用いたパンの大量生産技術の開発. *ブレインテクノニュース*, 98, 30–34.
- 安藤正康, 一言 撰, 荒船由佳 (1996). パン表皮の荒れに及ぼす冷凍前の生地膨張率の影響. *日本食品科学工学会誌*, 43, 812–820. <https://doi.org/10.3136/nskkk.43.812>

- 市川朝子 (2017). グルテンフリー米粉食パンの物性に及ぼす β -アミラーゼ添加の影響. 日本食品科学工学会誌, 64, 584–590. <https://doi.org/10.3136/nskkk.64.584>
- 井上茂孝, 次田和正, 小池誠治, 丸銭詔司, 鴨居郁三 (1995). 脂肪酸の異なるモノグリセリドの製パン特性に与える影響. 日本食品科学工学会誌, 42, 634–642. <https://doi.org/10.3136/nskkk.42.634>
- 井上好文 (1995). 冷凍生地物の物性と製パン性の関係について. 日本食品低温保蔵学会誌, 21, 239–247.
- 井上好文 (1998). 冷凍パン生地—最近の技術動向と今後の課題—. 食の科学, 通巻 246号, 光琳, 28–35.
- 内田迪夫 (1991). パンの種類と製法. 「製パンの科学 I 製パンプロセスの科学」初版, 田中康夫, 松本 博編, 光琳, 東京, pp. 19–26.
- 大崎聡子, 市川朝子 (2012). グルテンフリー米粉パンの物性と食味に及ぼす絹フィブロインおよびキサントガムの影響. 日本調理科学会誌, 45, 9–18. <https://doi.org/10.11402/cookeryscience.45.9>
- 岡大貴, 大原慎太郎, 塩野弘二, 野口智弘, 高野克己 (2014). 小麦粉生地形成に及ぼす β -ラクトグロブリンによるグリアジンの特性変化について. 日本食品保蔵科学会誌, 40, 3–7.
- 小河拓也, 永井耕介 (2011). 製粉方法が米粉の特性および製パン性に及ぼす影響. 兵庫県立農林水産技術総合センター研究報告. 農業編, 59, 19–23.
- 奥西智哉 (2012). 米粉パン大規模製パンに向けての研究開発. 食品工業, 55 (5), 46–51.
- 奥西智哉 (2015). 米粉パン研究の現状とこれから. 日本調理科学会誌, 48, 385–391. <https://doi.org/10.11402/cookeryscience.48.385>
- 後藤雅文 (2011). 米粉パンの大量製パン技術の開発. 農林水産技術研究ジャーナル, 34, 37–41.
- 鈴木保宏 (2014). 米粉パンなどの米粉利用に適する品質特性の解明と好適品種の開発. 米粉の利用により食料の自給力を高めることを目指して. 化学と生物, 52, 796–798.
- 高野博幸, 山方次郎, 花木 満, 小柳 妙, 田中康夫 (1979). 調製法を異にする米粉の添加が小麦粉生地の物性および製パン性に及ぼす影響. 食品総合研究所研究報告, 34, 35–43.
- 高野博幸, 豊島英親, 渡辺敦夫, 小柳 妙, 田中康夫 (1986a). 生米粉の性状がレオロジー特性および製パン性に及ぼす影響. 食品総合研究所研究報告, 48, 43–51.
- 高野博幸, 豊島英親, 小柳 妙, 田中康夫 (1986b). 米粉高置換添加ライスペッドの品質改善. 食品総合研究所研究報告, 48, 52–62.
- 高橋 誠, 本間紀之, 諸橋敬子, 中村幸一, 鈴木保宏 (2009). 米の品種特性が米粉パン品質に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌, 56, 394–402.

<https://doi.org/10.3136/nskkk.56.394>

- 堤 忠一, 安井明美 (1996). 一般成分および関連成分. 「新・食品分析法」, 日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編, 光琳, 東京, pp. 1-105.
- 内藤成弘, 石田信昭, 深海新二, 溝上泰之, 狩野広美, 高野博幸 (2004). パンの気泡孔隙構造を支える微細グルテン網の SEM による観察. 食品工業, 47 (4), 53-60.
- 中村幸一, 諸橋敬子 (2010). パン製造用の米粉及び米粉を用いたパンの製造方法. 特許第 4451167 号, 2 月 5 日.
- 西岡昭博, 池田遼平 (2015). 米粉パン生地, 米粉パンおよび米粉パンの製造方法. 特許第 5769053 号, 7 月 3 日.
- 野口智弘 (2014). 脱脂乳による製パン性阻害に対する乳タンパク質熱変性の影響. 日本調理科学会誌, 47, 281-286. <https://doi.org/10.11402/cookeryscience.47.281>
- 廣瀬理恵子, 佐藤 健 (2003). 国産小麦を利用した製パン技術の開発. 食品の試験と研究, 38, 57-59.
- 廣瀬理恵子, 佐藤 健, 新井千秋, 柴田朋子, 丹下幹子 (2004). 国産小麦粉を原料とする製パン技術の開発. 東京都立食品技術センター研究報告, 13, 1-7.
- 本間紀之, 高橋 誠, 吉井洋一 (2016). 米の特性が製粉性に与える影響および米粉性状と製パン性の関係. 日本食品科学工学会誌, 63, 551-560. <https://doi.org/10.3136/nskkk.63.55>
- 松下耕基, 田村綾乃, 五嶋大介, 小疇 浩, 山内宏昭 (2018). 超強力粉含有国産小麦粉ブレンド粉の冷凍生地製パン適性. 日本食品保蔵科学会誌, 44, 51-62.
- 丸岡 宏 (1991). 製パンにおける冷凍技術の応用. 日本食品低温保蔵学会誌, 17, 69-73.
- 矢嶋瑞夫 (1999a). グルテニンを主成分とする分画物の製造方法. 特許第 2896422 号, 3 月 12 日.
- 矢嶋瑞夫 (1999b). グリアジン主体の抽出液の抽出方法. 特許第 2954542 号, 7 月 16 日.
- 矢嶋瑞夫, 新井千秋, 丹下幹子, 匂阪兼造 (2014). 酸性水可溶性タンパク質の製造方法及び酸性水可溶性タンパク質. 特許第 5614645 号, 9 月 19 日.
- 矢野裕之 (2014). 米粉パン類生地の製パン性向上方法. 特許第 5540347 号, 5 月 16 日.
- 山内宏昭, 一ノ瀬靖則, 高田兼則, 入来規雄, 椎名武夫, 小林 猛 (1999). 冷凍生地食パンの老化に関する速度論的解析. 日本食品科学工学会誌, 46, 212-219. <https://doi.org/10.3136/nskkk.46.212>.
- 山澤正勝, 中島千枝, 坂本奈央, 日比野久美子 (2012). 米粉食パンの品質に及ぼす米粉製粉技術の影響. 名古屋文理大学紀要, 12, 31-38.
- 山田盛二, 荻須昭雄, 平岩隆夫 (2011a). 冷凍条件に起因するパン生地の障害に関する研究 (凍結速度の影響). 熱物性, 25, 121-128. <https://doi.org/10.2963/jjtp.25.121>
- 山田盛二, 荻須昭雄, 平岩隆夫 (2011b). 冷凍条件に起因するパン生地の障害に関する

- 研究 (第2報 最低到達温度の影響). 熱物性, 25, 129–135.
<https://doi.org/10.2963/jjtp.25.129>
- 山田盛二, 渡邊裕史, 梶山正秀, 平岩隆夫 (1999). パン生地 of 冷凍障害に関する研究 (解凍条件が製品品質に及ぼす影響). 熱物性, 13, 7–12.
<https://doi.org/10.2963/jjtp.13.7>
- 與座宏一, 岡部繭子, 島 純 (2008). 米粉利用の現状と課題—米粉パンについて—. 日本食品科学工学会誌, 55, 444–454. <https://doi.org/10.3136/nskkk.55.444>
- 與座宏一, 松木順子, 岡留博司, 岡部繭子, 鈴木啓太郎, 奥西智哉, 北村義明, 堀金 彰, 山田純代, 松倉 潮 (2010). 製粉方法の異なる米粉の特性と製パン性の関係. 食品総合研究所研究報告, 74, 37–44.
- 與座宏一, 松木順子 (2014). 市販米粉の製パン性について. 食品総合研究所研究報告, 78, 43–46.

関係論文

- 新井千秋, 廣瀬理恵子, 戸崎幹子, 山口 聡, 鈴木 実, 宮森清勝, 野口智弘, 菊池修平, 高野克己 (2018). 酸可溶性小麦タンパク質の添加が米粉混合パンの品質安定化に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌, 65, 518–528.
<https://doi.org/10.3136/nskkk.65.518>
- Arai, C., Hirose, R., Tozaki, M., Nakamura, S., Yamaguchi, S., Suzuki, M., Miyamori, K., Noguchi, T., & Takano, K. (2020). Effect of adding acid-soluble wheat protein to dough on quality stabilization of products in bread-making. *Cereal Chemistry*, 97, 795–808. <https://doi.org/10.1002/cche.10293>
- Arai, C., Hirose, R., Tozaki, M., Nakamura, S., Yamaguchi, S., Suzuki, M., Miyamori, K., Noguchi, T., & Takano, K. (2021). Effect of acid-soluble wheat protein addition on the quality of bread prepared from molded frozen dough. *Cereal Chemistry*, 98, 701–715. <https://doi.org/10.1002/cche.10414>

謝辞

本研究の遂行ならびに本論文の作成にあたり懇切丁寧なる御指導を賜りました東京農業大学 高野克己名誉教授、東京農業大学応用生物科学部食品加工技術センター 野口智弘教授、同学部農芸化学科 辻井良政教授、村田容常教授、岡 大貴准教授、食品加工技術センター 菊池修平元准教授に深く感謝申し上げます。

本研究は、東京都立食品技術センター(現東京都立産業技術研究センター) ならびに株式会社オシキリとの共同研究で実施されたものであり、共同研究者の東京都立産業技術研究センター 宮森清勝氏、廣瀬理恵子氏、ならびに株式会社オシキリ 鈴木 実氏、山口 聡氏、中村 哲氏、研究課の方々に多くのご尽力を賜りました。ここに厚く御礼申し上げます。

また、元東京都立食品技術センター 宮尾茂雄氏 (現東京家政大学大学院客員教授)、若林素子氏 (現日本大学生物資源科学部教授) には多くのご教示をいただきました。ここに深く感謝の意を表します。

さらに、本研究を進める上で多大なご支援とご助言をいただきながらここにお名前を記すことが出来なかった多くの方々にこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。

なお、研究を遂行できたのは、共同研究者の戸崎幹子氏をはじめ、アサマ化成株式会社の多くの方々の暖かいご支援のたまものであると心より感謝いたします。

最後に、本研究をこのような形で学位論文としてまとめることを許可しご支援下さいましたアサマ化成株式会社代表取締役矢嶋瑞夫社長、同代表取締役中島智恭専務に深く感謝申し上げます。

2022年7月20日