

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-213370

(P2009-213370A)

(43) 公開日 平成21年9月24日(2009.9.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 2 1 D 2/36 (2006.01)	A 2 1 D 2/36 Z N A	4 B 0 2 4
A 2 1 D 13/00 (2006.01)	A 2 1 D 13/00	4 B 0 3 2
A 2 1 D 13/08 (2006.01)	A 2 1 D 13/08	
A 2 1 D 8/02 (2006.01)	A 2 1 D 8/02	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2008-58057 (P2008-58057)
 (22) 出願日 平成20年3月7日(2008.3.7)

(出願人による申告)平成19年度独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」、産業技術力強化法第19条の適用を受けるもの

(71) 出願人 501167644
 独立行政法人農業生物資源研究所
 茨城県つくば市観音台2丁目1-2
 (71) 出願人 504145342
 国立大学法人九州大学
 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号
 (74) 代理人 110000109
 特許業務法人特許事務所サイクス
 (72) 発明者 川越 靖
 茨城県つくば市観音台2-1-2 独立行政法人農業生物資源研究所内
 (72) 発明者 恩田 弥生
 茨城県つくば市観音台2-1-2 独立行政法人農業生物資源研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】パン類の製造に適した米粉組成物およびその利用

(57) 【要約】

【課題】粉食に適した米品種から作製された、製造工程の作業性がよく、かつ伸展性および可塑性の優れたパン類の原料となる米粉組成物を提供すること、米粉を原料として用いた作業効率のよいパン類の製造方法、および小麦粉と同等以上の品質をもつパン類を提供すること。

【解決手段】上記課題を、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉を単独または小麦粉と混合させて得た米粉組成物、並びに上記米粉組成物を主原料とするパン類およびその製造方法を提供することにより解決する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉を含むパン類用米粉組成物。

【請求項 2】

野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉 30 質量部に対して、小麦粉 1 ~ 150 質量部を含む、請求項 1 に記載のパン類用米粉組成物。

【請求項 3】

野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉 30 質量部に対して、小麦粉 30 ~ 70 質量部を含む、請求項 1 に記載のパン類用米粉組成物。

10

【請求項 4】

前記改良米が、タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ欠損変異が生じた改良米である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の米粉組成物。

【請求項 5】

前記タンパク質ジスルフィドイソメラーゼが、配列番号 1 に記載の P D I L 1 - 1 である、請求項 4 に記載の米粉組成物。

【請求項 6】

前記 P D I L 1 - 1 欠損変異が生じた改良米が、e s p 2 (受領番号 F E R M A P - 2 1 5 0 8) である、請求項 5 に記載の米粉組成物。

20

【請求項 7】

前記小麦粉が、強力粉である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の米粉組成物。

【請求項 8】

パン類の製造方法であって、請求項 1 ~ 7 に記載の米粉組成物に水および酵母を加えて混捏する混捏工程、前記混捏工程により得られたパン生地を発酵させる発酵工程、ならびに前記発酵工程により得られた発酵生地を成形して調理する調理工程を含む、前記製造方法。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の米粉組成物を主原料として含むことを特徴とするパン類。

30

【請求項 10】

前記パン類が、食パン、コッペパン、バターロール、揚げパン、菓子パン、フランスパン、ドイツパン、ベーグル、デニッシュパン、中華饅頭、イーストドーナツ、プレッツェル、ピザまたはナンである、請求項 9 に記載のパン類。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、パン類の製造に適した米粉組成物、ならびに上記米粉組成物を主原料とする食品およびその製造方法に関する。より詳細には、本発明は、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉を単独または小麦粉と混合させて得た米粉組成物、並びに上記米粉組成物を主原料とするパン類およびその製造方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

これまでに食パンやコッペパンなどのパン類の主原料として、小麦粉が使用されてきた。小麦粉を使用する理由は、小麦粉に水を加え混合して得たパン生地のグルテンの粘弾性に起因する。グルテンの粘弾性は、グリアジンとグルテニンの 2 つのタンパク質が加水条件下において、新たなジスルフィド結合による架橋構造を形成することにより生じる。このようなグルテンの粘弾性により、イーストを用いた発酵過程で生じた二酸化炭素の気泡

50

によってパン生地壁の肉厚が薄くなるにも関わらず、大きな気泡を包む骨格や特有のテクスチャーを形成し、パンとしての構造が潰れることなく保たれる。

【0003】

日本をはじめとしたアジア諸国では、米が伝統的に主食として用いられてきた。しかし、日本では米の消費量が年々低下しており、その対応策として米を粒食とするだけでなく、粉食として消費することが試みられている。このような米の用途拡大や消費拡大は、今後予想される食料不足の問題を解決する一つの方策として注目を浴びている。

【0004】

米を粉食として消費する一つの試みとして、米を粉碎して得た米粉を主原料とする米粉パンについて試験研究が積み重ねられている。例えば、グルテンや難発酵性糖質を添加して製造された米粉パン（特許文献1）、化米粉または化澱粉を添加して製造された米粉パン（特許文献2）、粘度を低下させたパン生地を用いて製造された米粉パン（特許文献3）などがこれまでに開発されている。

【特許文献1】特開2004-65250号公報

【特許文献2】特開2005-323536号公報

【特許文献3】特開2003-189786号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかし、上記した米粉パンにおいても、小麦粉と違ってグルテン成分を含まないという米粉の性質に起因する根本的な問題の解決には至っていない。特に、パン類の原料として小麦粉の代わりに米粉を用いてパン類を製造する場合、原料を混ぜ捏ねる混捏工程において、混捏してできたパン生地が器具などに粘着し易く、作業性が非常に悪いという問題や、パン生地が発酵によってある程度膨らむものの、その膨らんだ構造を保つことができず、経時的に凹むという問題がある。さらに、これまでの米粉はいずれも粒食用の米品種を粉食用として用いたものであって、米品種間の米粉としての利用適性についてはほとんど考慮されていない。

【0006】

したがって、本発明は、上記した従来技術の問題点を解消することを解決すべき課題とした。すなわち、本発明は、粉食に適した米品種から作製された、製造工程の作業性がよく、かつ伸展性および可塑性の優れたパン類の原料となる米粉組成物を提供することを解決すべき課題とした。さらに本発明は、米粉を原料として用いた作業効率のよいパン類の製造方法、および小麦粉と同等以上の品質をもつパン類を提供することを解決すべき課題とした。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者らは、上記課題を解決するために、米粉における小麦粉のグルテン成分に該当するタンパク質について鋭意検討した。その結果、そのようなタンパク質として胚乳内に蓄積するグルテリン前駆体を利用できることを見出した。さらに、本発明者らは、グルテリン前駆体を胚乳内に比較的多量に含有する、タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ（PDI）の欠損変異が生じた改良米は粉食に適した米品種であり、前記改良米から作製した米粉をパン類の原料として用いることにより、混捏工程の作業性がよく、かつ伸展性および可塑性の優れたパン類を取得することに成功した。驚くべきことに、そのようにして得られたパン類は、食感の優れた経時変化のない米粉パンであった。

【0008】

すなわち、本発明によれば、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉を含むパン類用米粉組成物が提供される。

【0009】

好ましくは、本発明の米粉組成物は、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉30質量部に対して、小麦粉1~150質量部、よ

10

20

30

40

50

り好ましくは小麦粉30～70質量部を含む。

【0010】

好ましくは、本発明の米粉組成物は、前記改良米が、タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ欠損変異が生じた改良米である。

【0011】

好ましくは、本発明の米粉組成物は、前記タンパク質ジスルフィドイソメラーゼが、配列番号1に記載のPDIL1-1である。

【0012】

好ましくは、本発明の米粉組成物は、前記PDIL1-1欠損変異が生じた改良米が、esp2(受領番号FERM AP-21508)である。

10

【0013】

好ましくは、本発明の米粉組成物は、前記小麦粉が、強力粉である。

【0014】

さらに本発明の別の側面によれば、パン類の製造方法であって、本発明の米粉組成物に水および酵母を加えて混捏する混捏工程、前記混捏工程により得られたパン生地を発酵させる発酵工程、ならびに前記発酵工程により得られた発酵生地を成形して調理する調理工程を含む、前記製造方法が提供される。

【0015】

さらに本発明の別の側面によれば、パン類を製造する際の主原料として、少なくとも本発明の米粉組成物を用いることを特徴とするパン類が提供される。

20

【0016】

好ましくは、本発明のパン類は、食パン、コッペパン、バターロール、揚げパン、菓子パン、フランスパン、ドイツパン、ベーグル、デニッシュパン、中華饅頭、イーストドーナツ、プレッツェル、ピザまたはナンである。

【発明の効果】

【0017】

本発明の米粉組成物によれば、従来の米粉パン原料よりも粘着力が低減された機械適性の高い米粉パンを製造するための原料を提供することができる。さらに、本発明の米粉組成物によれば、小麦粉を原料として用いたパン類の製造ラインと同様の設備・工程で米粉パンを製造するための原料を提供することができる。

30

【0018】

本発明の製造方法によれば、本発明の米粉組成物を原料とすることにより、食感が優れ、かつ従来の米粉パンや小麦粉を原料とするパン類と同等以上の外観、内相、風味、および日持ちに優れたパン類の製造をすることができる。

【0019】

本発明のパン類は、上記した性質を有することによって流通経路を拡大することができ、米の用途および消費の拡大に貢献し、将来直面すると予測される食糧問題を解決するための一助となりうる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0020】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

40

本発明の米粉組成物は、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉を含むパン類用米粉組成物である。

【0021】

本明細書にいう「グルテリン前駆体」とは、分子量が57kDaであるグルテリンの前駆体であって、下記に示す方法により確認できるものである：

米の完熟種子を微粉碎して得られた全タンパク質を緩衝液(50mM Tris-HCl、pH6.8、8M urea、4% SDS、20% glycerol、5% -mercaptoethanol)で抽出し、SDS-PAGE法によりタンパク質を分離してクマシーブリリアントブルー(CBB)染色した際に、57kDaの位置に存在

50

するバンドのタンパク質がグルテリン前駆体である。

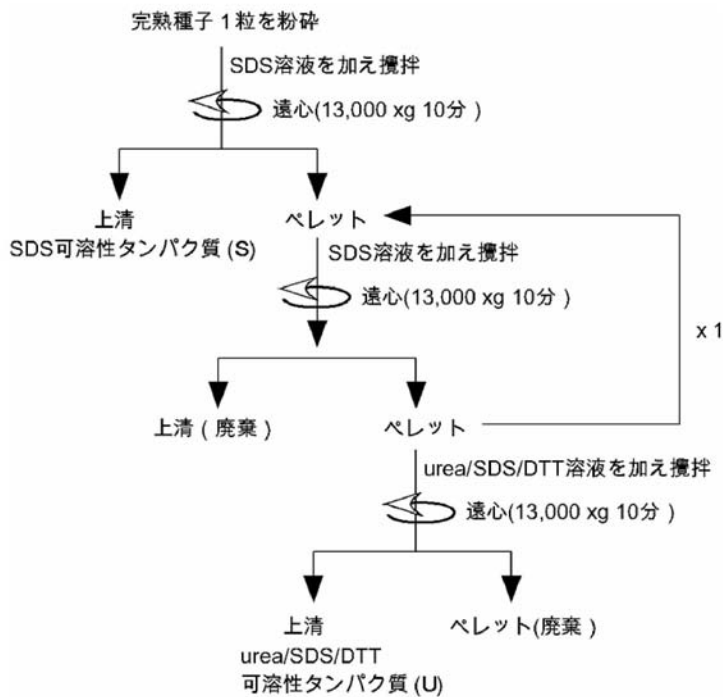
【0022】

本明細書にいう「改良米」とは、野生型の米を種子とするイネに改良を施した米を意味する。イネの改良方法は、イネを改良できれば特に制限されないが、例えば、人為選択、交雑、変異、遺伝子組換えなどによる方法が挙げられるが、その中でもイネに変異を誘発する方法が好ましい。野生型の米としては、胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含むように改良されていない米であれば特に制限されないが、例えば、N I A S ジーンバンク (http://www.gene.affrc.go.jp/index_j.php) に登録されているイネ科植物や農林水産省に品種登録されたイネ科植物などから得られる米を挙げることができる。

【0023】

本明細書にいう「野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米」とは、上記改良により野生型の米の胚乳に存在するグルテリン前駆体の量と比較して、より多量のグルテリン前駆体を胚乳内に含有している改良米を意味する。ここで、「より多く含む」とは、野生型と比較して少しでも多く含むのであれば特に制限されないが、例えば、野生型と比較して2倍以上、好ましくは3倍以上、より好ましくは5倍以上多く含むことを意味する。さらに、上限については特に制限されるものでなく、10倍でも、100倍でも、1000倍でも、10000倍でもいい。このような野生型の米と改良米とにおける胚乳内のグルテリン前駆体含量の比較は、例えば、下記スキームにそって実施することができる。

【化1】



【0024】

野生型の米の完熟玄米1粒と、野生型の米を改良した改良米の完熟玄米1粒とを、それぞれ2mlチューブに入れ、メタルコーンで細かく粉碎する。SDS溶液(50mM Tris-HCl、pH6.8、0.5%(w/v)SDS)を0.7ml加え、室温で2時間程度攪拌する。メタルコーンをチューブから取り除き、更に1時間攪拌する。遠心(13,000xg、10分、室温)して、ペレットに上記SDS溶液を1ml加え、大きな塊がなくなるまで攪拌する。遠心(13,000xg、10分、室温)して、上清を捨てる。この操作をもう1回繰り返す。次に、ペレットにurea/SDS/DTT溶液(50mM Tris-HCl、pH6.8、4M urea、2%(w/v)SDS、50mM DTT)を0.7ml加え、1時間攪拌する。遠心(13,000xg、10分

、室温)して、上清をurea/SDS/DTT可溶性タンパク質(U)とする。野生型の米のU(以下、WU)と改良米のU(以下、IU)について、それぞれ100 μ lに等量のゲルローディング緩衝液(75mM Tris-HCl、pH6.8、4%(w/v)SDS、20%(v/v)glycerol、10%(v/v)2-mercaptoethanol、0.01%(w/v)bromophenol blue)を加え混合し、85度で3分間加熱する。WUとIUの各サンプル6 μ lをSDS-PAGEゲルにアプライし、電気泳動後CBBで染色する。WUとIUとの間でグルテリン前駆体(57kDa)の量をイメージアナライザーで比較し、WUよりもIUのグルテリン前駆体が多い米が、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米である。例えば、上記改良米がタンパク質ジスルフィドイソメラーゼ欠損変異が生じた改良米である場合、上記改良米の胚乳内に含まれるグルテリン前駆体の量は、野生型と比べて5倍以上である。

10

【0025】

改良米の作製方法の具体例としては、野生型の米を種子とするイネに変異を誘発して作製する方法が挙げられる。イネに変異を誘発する方法としては、特に制限されないが、例えば、イネ受精卵に対するN-メチル-N-ニトロソウレア(N-methyl-N-nitrosourea)などの化学変異原処理もしくは放射線照射処理、ウイルス感染、トランスポゾン転移、自然突然変異などがある。

【0026】

上記変異による改良米の具体例としては、ジスルフィド結合形成を触媒する酵素である、タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ(PDI)の欠損変異が生じた改良米(以下、「PDI欠損変異米」とよぶ)がある。PDIファミリーには、表1(Houston, N.L. et al., (2005), Plant Physiology, 137, 762-778)に示す通りに種々のファミリータンパク質があるが、上記性質を有する米としては、配列番号3に記載のPDI L1-1(Accession No. of cDNA; AK068268)をコードする塩基配列の少なくとも一部が変異した米が好ましい。PDI L1-1遺伝子の塩基配列は、例えば、配列表の配列番号1に記載されている塩基配列を挙げることができ、そのコード領域は配列番号2に記載されている塩基配列を挙げることができる。これらの配列は、インターネットを利用して入手できる(http://cdna01.dna.affrc.go.jp/cDNA/report/KOME_J013147121.html)。

20

30

【表 1】

Phylogenetic Group ^a	PDIL Designation ^b	No. of Exons ^c	Predicted Polypeptide Size ^d	Accession No. of Gene ^e	Map Location (Chromosome) ^f	Accession No. of cDNA ^{g,h}	Structural Class ⁱ	TRX Domains ^j	COOH-Terminal Tetrapeptide	Localization ^k
I	AtPDIL1-1	9	501	At1g21750	1	NM_102024	1	2	KDEL	S
I	AtPDIL1-2	10	508	At1g77510	1	NM_106400	1	2	KDEL	S
I	OsPDIL1-1	10	512		11	AK068268	1	2	KDEL	S
I	OsPDIL1-2	10	517		4	AY739308	1	2	KDEL	S
I	OsPDIL1-3	9	492		2	AK073161	1	2	KDEL	S
I	ZmPDIL1-1	ND ^j	514		ND	AY739284	1	2	KDEL	S
I	ZmPDIL1-2	ND	512		ND	AY739285	1	2	KDEL	S
II	AtPDIL1-3	12	579	At3g54960	3	NM_115353	1	2	KDEL	S
II	AtPDIL1-4	12	597	At5g60640	5	NM_180903	1	2	KDEL	S
II	OsPDIL1-4	13	563		2	AK071514	1	2	KDEL	S
II	ZmPDIL1-3	ND	568		ND	AY739286	1	2	KDEL	S
II	ZmPDIL1-4	ND	561		ND	AY739287	1	2	KDEL	S
III	AtPDIL1-5	12	537	At1g52260	1	NM_104105	1	2	KDEL	S
III	AtPDIL1-6	12	534	At3g16110	3	NM_112481	1	2	KDEL	S
III	OsPDIL1-5	12	533		6	AK073970	1	2	KDEL	S
III	ZmPDIL1-5	ND	529		ND	AY739295	1	2	KDEL	S
IV	AtPDIL2-1	10	361	At2g47470	2	NM_130315	2	2	VASS ^{m,n}	S
IV	OsPDIL2-1	11	366		5	NM_185280	2	2	TFSS ^{m,n}	S
IV	OsPDIL2-2	11	371		1	NM_183927	2	2	TFSS ^{m,n}	S
IV	ZmPDIL2-1	ND	367		ND	AY739288	2	2	TFSS ^{m,n}	S
IV	ZmPDIL2-2	ND	366		ND	AY739289	2	2	IFSS ^{m,n}	S
V	AtPDIL2-2	9	443	At1g04980	1	NM_100376	2	2	KDDL	S
V	AtPDIL2-3	9	440	At2g32920	2	NM_128852	2	2	KDEL	S
V	OsPDIL2-3	9	441		9	AK062254	2	2	NDEL	S
V	ZmPDIL2-3	ND	439		ND	AY739290	2	2	NDEL	S
VI	AtPDIL5-1	4	146	At1g07960	1	NM_202059	5	1	DKEL	S
VI	OsPDIL5-1	4	147		3	AK063663	5	1	LQDS ^m	S'
VI	ZmPDIL5-1	ND	150		ND	AY739291	5	1	LEAD ^m	S'
VII	AtPDIL5-2	6	440	At1g35620	1	NM_103262	5	1	KKED	S
VII	OsPDIL5-2	5	423		4	AK069367	5	1	AHEE ^m	S
VII	OsPDIL5-3	5	425		2	ND ^o	5	1	AHED ^m	S
VII	ZmPDIL5-2	ND	418		ND	AY739292	5	1	IHEE ^m	S
VII	ZmPDIL5-3	ND	420		ND	AY739293	5	1	IHEE ^m	S
VIII	AtPDIL5-3	15	483	At3g20560	3	NM_112948	5	1	GKNI ^m	O
VIII	AtPDIL5-4	15	480	At4g27080	4	NM_118842	5	1	GKNF ^m	O
VIII	OsPDIL5-4	15	485		7	AK099660	5	1	GKNI ^m	O
VIII	ZmPDIL5-4	ND	483		ND	AY739294	5	1	GKNI ^m	O
XI	AtQSOX1	12	528	At1g15020	1	AY062528	5	1	EKER ^m	S
XI	AtQSOX2	12	495	At2g01270	2	AY090364	5	1	PRRR ^m	S
XI	OsQSOXL1	ND	513		5	AK121660	5	1	KNWN ^m	S'
XI	ZmQSOXL1	ND	511		ND	AY739305	5	1	KNWN ^m	S'
X	AtAPR1	4	465	At4g04610	4	NM_116699	5	1	NLVR ^m	O
X	AtAPR2	4	454	At1g62180	1	NM_104899	5	1	NLLR ^m	O
X	AtAPR3	4	458	At4g21990	4	NM_118320	5	1	NLVR ^m	O
X	AtAPR4	4	310	At1g34780	1	NM_103198	5	1	SSSQ ^m	S
X	AtAPR5	4	300	At3g03860	3	NM_111257	5	1	SDQS ^m	S
X	AtAPR6	4	295	At4g08930	4	NM_116962	5	1	SASQ ^m	S
X	AtAPR7	4	289	At5g18120	5	NM_121817	5	1	SQSA ^m	S
X	OsAPR1	ND	475		7	XM_478340	5	1	NSLR ^m	O
X	OsAPR2	5	282		6	AY739306	5	1	PSTS ^m	O
X	OsAPR3	4	311		2	XM_467860	5	1	NELR ^m	S
X	OsAPR4	ND	264		8	AY739307	5	1	SNLS ^m	S
X	OsAPR5	4	301		3	AK073308	5	1	SRQA ^m	S
X	OsAPR6	4	300		12	ND ^o	5	1	AVLD ^m	S'
X	ZmAPR1	ND	461		ND	AY739296	5	1	NSLR ^m	O
X	ZmAPR2	ND	466		ND	AY739297	5	1	NSLR ^m	O
X	ZmAPR3	ND	323		ND	AY739298	5	1	SELR ^m	S'
X	ZmAPR4	ND	321		ND	AY739299	5	1	SELR ^m	S'
X	ZmAPR5	ND	267		ND	AY739300	5	1	PSLS ^m	S'
X	ZmAPR6	ND	303		ND	AY739301	5	1	GSTI ^m	S'
X	ZmAPR7	ND	297		ND	AY739302	5	1	LLLD ^m	O
X	ZmAPR8	ND	299		ND	AY739303	5	1	SRQA ^m	S
X	ZmAPR9	ND	300		ND	AY739304	5	1	SRQA ^m	S'

10

20

30

40

【0027】

PDIL欠損変異米を作製する方法としては、PDIL遺伝子の発現またはPDILタンパク質の機能が実質的に欠損した改良米を作製できれば特に制限されないが、例えば、上記したイネに変異を誘発する方法以外にも、DNA断片導入によるPDIL遺伝子の破壊、RNAi法によるPDIL遺伝子の発現抑制などがある。PDIL欠損変異米であることを確認する方法としては、例えば、上記した胚乳内のグルテリン前駆体の確認方法、PCR法によりPDIL遺伝子領域の増幅の有無や上記領域のDNA配列を確認する方法、ウエスタンブロットイングやELISAなどの免疫蛍光法によりPDILタンパク質を確認する方法などがある。

【0028】

50

P D I 欠損変異米の具体例としては、例えば、Kumamaru T et al., (1987), Jpn J Gen et, 62, 333-339およびKumamaru et al., (1988), Theor Appl Genet 76, 11-16に記載の N - メチル - N - ニトロソウレア受精卵処理により得られた金南風の P D I 欠損変異米である、e s p 2 (Takemoto et al. (2002) Plant Phys. 128, 1212-1222 ;) を挙げるこ
とができる。この e s p 2 は、独立行政法人産業技術総合研究所の特許生物寄託センター
(〒305 - 8566 茨城県つくば市東1 - 1 - 1 つくばセンター 中央第6) に2
008年2月14日付けで受領番号FERM AP - 21508として寄託されている。
e s p 2 の分類学上の位置は、栽培イネである*Oryza sativa* Lである。e s p 2 種子は、
例えば、- 10、湿度30%で保管することができる。e s p 2 の発芽試験は、例えば
、ベンレート等の水稲用消毒剤によって種子を消毒しつつ浸水した後、25、0 ~ 10
00lux、2週間の条件下で実施できる。上記条件での発芽率は約80%である。その
他のe s p 2 の特徴を、図1および2を用いて、以下に示す。

10

20

30

40

50

【0029】

図1は、野生型(金南風)とe s p 2 の完熟種子を微粉碎し、全タンパク質を緩衝液(50mM Tris HCl、pH6.8、8M urea、4% SDS、20% glycerol、5% β -mercaptoethanol)で抽出した後に、SDS-PAGE法によりタンパク質を分離し、CBBで染色した結果を示す。なお、市販のコムギ強力粉、コムギ薄力粉、上新粉に上記緩衝液を加え、全タンパク質を同様に抽出したものをコントロールとした。図1で明らかのように、e s p 2 は、野生型の金南風と比較して、胚乳内のグルテリン前駆体(proglutelin)が5倍以上蓄積しており、タンパク質の組成も野生型や上新粉と異なる。さらに、e s p 2 は、小麦粉の強力粉や薄力粉ともタンパク質の組成が異なる。

【0030】

図2は、野生型(金南風)とe s p 2 の登熟種子の胚乳切片を蛍光試薬ロダミンで染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した結果を示す。図2の左パネル(野生型、WT)では球状で蛍光の強いタンパク質顆粒(PB-I)と大形で不定形の蛍光シグナルの弱いタンパク質顆粒(PB-II)を明確に分離して示している。一方、右パネル(e s p 2 変異体)はPB-IIの発達が阻害され、小さな顆粒が細胞全体を埋め尽くすように発達していることを示す。これらの結果は、e s p 2 の胚乳細胞では貯蔵タンパク質の蓄積状態が野生型と大きく異なっていることを示す。図1と図2からは、e s p 2 は貯蔵タンパク質の組成と細胞内での蓄積状態が野生型と大きく異なることを明らかにしている。

【0031】

野生型の米の栽培種としては、イネ科イネ属の植物であれば特に制限されず、例えば、ジャポニカ種、インディカ種、ジャバニカ種、グラベリマ種などを用いることができる。さらに、野生型の米の種類としては、粳米でも糯米でもよい。

【0032】

本明細書にいう「改良米から作製された米粉」とは、上記改良米の生米を粉碎、粉末化したものであれば特に制限されない。また、粉碎前の生米についても特に制限はなく、精白米、玄米、屑米、古米などの何れの生米を用いてもよい。

【0033】

米粉の粒経は、混捏工程によって得られるパン生地の表面が粗くならなければ特に制限されないが、通常平均粒径1 ~ 100 μ m、好ましくは1 ~ 75 μ m、より好ましくは1 ~ 45 μ mである。

【0034】

本発明の米粉組成物は、例えば、野生型と比較して胚乳内にグルテリン前駆体をより多く含む改良米から作製された米粉30質量部に対して、小麦粉1 ~ 150質量部を含むパン類用米粉組成物であることができる。

【0035】

本明細書にいう「小麦粉」としては、グルテン成分を含む小麦粉であれば特に制限されないが、例えば、強力粉、中力粉、薄力粉、全粒粉などがあり、強力粉が好ましい。

【0036】

小麦粉の割合は、米粉30質量部に対して、1～150質量部である。ただし、パン類製造における混捏工程の作業性ならびにパン類の伸展性および可塑性を増したければ、米粉30質量部に対して、小麦粉30～70質量部が好ましい。上記作業性、伸展性および可塑性をさらに増したければ、米粉30質量部に対して、小麦粉50～70質量部がより好ましく、米粉30質量部に対して、小麦粉60～70質量部が最適に好ましい。

【0037】

本発明の米粉組成物には、米粉と小麦粉以外にも、パン類の種類に応じて必要な成分を加えることができる。そのような成分としては、例えば、活性グルテンなどのグルテン；シュクロース、ぶどう糖、果糖、乳糖、砂糖、マルトース、イソマルトース、トレハロースなどの糖；ソルビトール、マルチトール、パラチニット、水添水飴などの糖アルコール；塩化ナトリウムが99%以上の精製塩、天日塩、粗塩などの食塩；アルギン酸、キサンタンガム、デキストリン、セルロースなどのガム類；粉乳、脱脂粉乳、大豆粉乳などの乳成分；卵黄、卵白、全卵などの卵成分；バター、マーガリン、ショートニング、ラード、オリーブ油などの油脂；塩化アンモニウム、塩化マグネシウム、炭酸アンモニウム、炭酸水素アンモニウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、硫酸アンモニウム、硫酸カルシウム、硫酸マグネシウム、リン酸三カルシウム、リン酸水素二アンモニウム、リン酸二水素アンモニウム、リン酸一水素カルシウム、リン酸二水素カルシウム、焼成カルシウム、アンモニウムミョウバンなどの無機塩；ビタミンC（アルコールピニン酸）、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンD、ビタミンE、カロチンなどのビタミン類；ライ麦粉、ハト麦粉などの穀粉；植物の果実、種子、枝葉などの植物成分；イーストフード；乳化剤などがあげられる。

10

20

【0038】

米粉組成物中におけるこれら成分の含有量は、パン類の種類に応じて適宜設定することができる。

【0039】

本発明の製造方法は、パン類の製造方法であって、本発明の米粉組成物に水および酵母を加えて混捏する混捏工程、前記混捏工程により得られたパン生地を発酵させる発酵工程、ならびに前記発酵工程により得られた発酵生地を成形して調理する調理工程を含む。

30

【0040】

本発明の製造方法における混捏工程は、本発明の米粉組成物、水および酵母以外にも、所望によりその他の原料を加えることができる。前記混捏工程により用いられる水は特に制限されるものではなく、水道水や蒸留水などだけでなく、牛乳などの液体であってもよい。前記酵母は、パン類や菓子の製造に通常用いられている酵母であれば特に制限されないが、サッカロミセス・セレピシエのパン酵母が好ましく、生酵母およびドライイーストのいずれを用いても構わない。その他の原料としては、上記した米粉組成物に加えるべき、パン類の種類に応じて必要な成分（例えば、糖、食塩、卵成分など）が用いられる。

【0041】

混捏は、手動または市販の混捏機などにより、製造するパン類の種類に応じて、温度、湿度、時間等を設定して行う。混捏の具体的な方法としては、例えば、25～30の室温下で、8～20分間の手捏ねにより実施する。必要であれば、混捏工程で得られたパン生地を、例えば、0～5などのパン生地が発酵しない温度条件下でしばらく寝かした後に、発酵工程の付すこともできる。

40

【0042】

発酵工程は、室内または恒温器内で、25～35、好ましくは27～30の温度で、30～120分、好ましくは40～60分間の条件下ですることができる。発酵工程により得られた発酵生地は、ベンチタイムを15～20分設けることが好ましい。

【0043】

調理工程に際して、上記発酵生地を成形した後に続けて調理してもよいし、冷蔵または冷凍保存し、必要に応じて加温、解凍して調理してもよい。本明細書にいう「成形」とは

50

、任意にかたち作ることができれば特に制限されるものではなく、適当に分割してもいいし、その手段も手動だけでなく機械的に行ってもいい。

【0044】

本明細書にいう「調理する」とは、上記発酵生地を成形した後に、焼成、フライ、蒸煮、マイクロ波加熱または加圧加熱などのよく知られた方法により調理することをいう。

【0045】

焼成方法としては、例えば、上面および/または下面から加熱するオーブン、または、前もって加熱された炉面などに直接接触させて加熱するなどの方法を用いることができる。フライ方法としては、例えば、食用油を使って加熱する調理法、いわゆる炒める、揚げるなどの方法を用いることができる。蒸煮方法としては、例えば、火炎上で加熱することにより蒸気を生じさせて加熱する蒸し器、または、ボイラーを用いて予め作られた蒸気を容器内に送り込んで加熱するなどの方法を用いることができる。マイクロ波による方法としては、例えば、マイクロ波を生じ、照射することのできる機能を備えた機器、装置を用いて加熱するなどの方法を用いることができる。加圧加熱方法としては、例えば、高温高圧条件で加熱することのできる圧力鍋、装置を用いて加圧加熱する方法を用いることができる。

10

【0046】

発酵生地は、成形した後調理する前に、ホイロタイムを設けることもできる。ホイロタイムは、良好な発酵状態が得られるためにはそれぞれ30分以上が好ましく、40～50分がより好ましい。

20

【0047】

前記発酵生地を成形する際に、アン、カレー、各種惣菜などの具材料を包み込んでアンパン、カレーパン、惣菜パンや中華饅頭等に仕上げることも有利に実施できる。

【0048】

本発明のパン類は、パン類を製造する際の主原料として、少なくとも本発明の米粉組成物を用いることを特徴とするパン類である。本明細書にいう「主原料」とは、パン類の製造に際して必ず含まれるべき原料をいう。したがって、本発明のパン類とは、本発明の米粉組成物を用いて製造されたパン類であれば特に制限されない。

【0049】

本発明のパン類は、食パン、コッペパン、バターロール、揚げパン、菓子パン、フランスパン、ドイツパン、ベーグル、デニッシュパン、中華饅頭、イーストドーナツ、プレッツェル、ピザもしくはナンなど多種多様に及ぶが、本発明の米粉組成物を用いて製造されたものであればこれらに限定されるものではない。

30

【0050】

このようにして得られた米粉パンは、日持ちがよく、冷蔵または冷凍保存することも容易であり、必要に応じて加温、解凍して喫食し、その風味を楽しむことも有利に実施できる。

【0051】

以下の実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

40

【実施例1】

【0052】

(1) グルテンに含まれるタンパク質の比較

金南風の野生型およびesp2(受領番号FERM AP-21508)の精米をPerren社製ラボラトリーミル3100で微粉碎し米粉を作製した。コムギ強力粉と米粉(金南風またはesp2)を7:3(左パネル)または1:1(右パネル)の割合で混ぜ、0.7x(v/w)の蒸留水を加え混合してタンパク質の架橋構造の形成を促し、グルテンを形成させた。その生地を水洗いし、デンプン粒とグルテンに取り込まれなかったタンパク質などを除き、残ったグルテンの一部を撮影した(図3、上のパネル)。米粉の割合を30%(左パネル)から50%(右パネル)に上げると、コムギ粉本来のグルテン形

50

成が阻害され、粘弾性の弱い、パサパサしたグルテンが形成された。これらのグルテンからタンパク質を緩衝液（50 mM Tris HCl pH 6.8、2% SDS、100 mM DTT、10% glycerol）で抽出し、SDS-PAGEでタンパク質を分離してCBB染色した。コントロールとして、強力粉、米粉、2つを混合した粉（ミックス）に直接緩衝液を加え、タンパク質を抽出し比較した。ミックスとグルテンのタンパク質組成を比較して、グルテンで濃縮されている強力粉由来のポリペプチドを矢印で示す。米粉由来のポリペプチドでは、グルテリン前駆体（proglutelin）と α -グルテリン（ α -glutelin）がグルテンで濃縮されている。米粉とコムギ粉を混合して生地を作製すると、コムギ由来のタンパク質に加えて、米由来のタンパク質もグルテンに取り込まれることが明らかとなった。

10

【0053】

上記結果は、米粉と小麦粉を混合してグルテンを形成させた場合、米粉由来のタンパク質がグルテンに取り込まれることを示している。また、esp2の米粉を用いた場合、野生型と異なり、グルテリン前駆体が多量にグルテンに取り込まれることが明らかになった。次に、実施例2及び3で示す通りに、野生型（金南風）またはesp2の米粉を主原料にして、砂糖、塩、ドライイースト、アスコルビン酸、および水を適量添加して、通常の方法で生地を作製し発酵試験で両者の比較を行った。野生型の米粉の生地は、従来から指摘されているように、器具や指への付着性が強く、作業性が悪いことが確認された。これに対し、esp2の生地は、器具や指への付着性が弱く、生地としてまとめやすく、作業性が著しく改善されることが明らかになった。

20

【0054】

さらに、上記のように作製した生地を室温（28℃）で発酵させたところ、esp2の生地は金南風に比べて膨らみが大きいことが明らかとなり、生地の伸展性がよいことが明らかとなった。次に、esp2の生地は膨らんだ後のへこみが小さいという特徴が明らかとなった。また、オープンを用いて焼成した後もこの特徴が維持された。これらの結果は、発酵によって膨らんだ生地が、その形で維持される性質（以後、「可塑性」と呼ぶ）がesp2の生地は高いことを示している。

【実施例2】

【0055】

(2) 100%米粉の米粉パンの特性試験

野生型（金南風）またはesp2の米粉50g、シュークロース（試薬特級）3g、塩化ナトリウム（試薬特級）1g、アスコルビン酸（試薬特級）10ppm、水道水35mlを混合し、へらを用いて原材料が均一に分散するまで約6分間混合した。次に市販ドライイースト（（株）日清フーズ販売、商品名「スーパーカメライースト」）1gを5mlの水道水に予め溶かし、この溶解液を生地に加え、手捏ねによって生地を作製した。この際、室温は約28℃で、手捏ねの時間を16分にした。生地25gを量りとり（25g×3）、まるめて形を整えたのち、50mlのピーカーに移し、パラフィルムでピーカーを覆い28℃で発酵試験を行った。生地の発酵過程を、発酵開始から0.5時間後、1時間後、2時間後、3時間後にピーカーの真横から撮影した（図4）。撮影した画像を基に生地が最も膨らんだところの高さを計測し、平均をとりグラフ化した（図5）。野生型（金南風）では発酵開始後30分で生地の高さが1.46cmから2.84cmに膨らみ（194%）、その後は萎んで、発酵開始から1時間後には高さ2.79cm、3時間後には高さ2.49cmになり、発酵開始から30分後から3時間後の間に約12%高さが減少した。これに対し、esp2では、発酵開始から30分後で高さ2.98cmになり、1時間後には高さ3.01cmに膨らみ、0時間と比較すると203%膨らんだ。発酵開始から2時間後の高さは2.79cm、3時間後の高さは2.76cmで、2時間で約8%高さが減少した。

30

40

【実施例3】

【0056】

(3) 70%米粉の米粉パンの特性試験

50

米粉 35 g、市販の強力粉（（株）日清フーズ販売、商品名「日清カメリヤ強力小麦粉」）15 g、シュークロース（試薬特級）3 g、塩化ナトリウム（試薬特級）1 g、アスコルビン酸（試薬特級）10 ppm、水道水 33 ml を混合し、実施例 1 と同様にして、へらを用いて原材料が均一に分散するまで約 5 分間混合した。次に市販ドライイースト（（株）日清フーズ販売、商品名「スーパーカメリヤドライイースト」）1 g を 5 ml の水道水に予め溶かし、この溶解液を生地に加え、手捏ねによって生地を作製した。この際、室温は約 28 で、手捏ねの時間を 9 分にした。生地 25 g を量りとり（25 g × 3）、パラフィルムでピーカーを覆い 28 °C で発酵試験を行った。生地の発酵過程を、発酵開始から 0.5 時間後、1 時間後、3 時間後にピーカーの真横から撮影した。強力粉を加えたため生地がまとまり易く、0 時間では生地が壁面と接触していない（図 6）。撮影した画像を基に生地が最も膨らんだところの高さを計測し、平均をとりグラフ化した（図 7）。強力粉を 3 割添加すると膨らみが大きくなり、発酵開始から 1 時間で野生型（金南風）では高さが 3.42 cm に膨らんだ（144%）。esp2 では発酵開始から 1 時間で高さが 3.49 cm に膨らんだ（140%）。金南風では発酵開始後 3 時間で高さ 2.92 cm に下がり、2 時間で約 15% 萎んだのに対し、esp2 では発酵開始後 3 時間の高さは 3.44 cm で、同じ 2 時間の間での萎みは 1% のみであった。

【0057】

（考察）

esp2 の生地の伸展性と可塑性が改善された理由としては、分子量の大きなグルテリン前駆体がグルテン様タンパク質複合体に取り込まれたこと、esp2 のタンパク質顆粒の形状および分布が野生型と大きく異なるために、esp2 を主な原材料として生地を作製した場合、野生型とは異なるタンパク質間の架橋構造が形成されたことなどが考えられる。

【産業上の利用可能性】

【0058】

米粉パンをはじめ、米粉の利用促進は米の消費拡大につながる。本発明の米粉組成物を利用した本発明の製造方法によれば、品質の安定した生産効率の高い米粉パンを大量に製造することができる。さらに、本発明のパン類は、食感の優れた経時変化のない米粉パンであるため、米粉および米の消費拡大に貢献するばかりか、パン類の需要を拡大することも期待できる。

【図面の簡単な説明】

【0059】

【図 1】図 1 は、金南風の野生型および esp2 の全タンパク質の SDS - PAGE 解析結果を示す。

【図 2】図 2 は、金南風の野生型（WT）と esp2 のタンパク質顆粒の分布の違いを観察した結果を示す。

【図 3】図 3 は、金南風の野生型もしくは esp2 と強力粉を混合した後のグルテンに含まれるタンパク質の SDS - PAGE 解析結果を示す。

【図 4】図 4 は、金南風の野生型と esp2 の米粉（100%）生地のイースト発酵による膨らみ試験結果を示す。

【図 5】図 5 は、図 4 の膨らみ試験結果の平均値および標準偏差のグラフを示す。

【図 6】図 6 は、金南風の野生型と esp2 の米粉（70%）生地のイースト発酵による膨らみ試験結果を示す。

【図 7】図 7 は、図 6 の膨らみ試験結果の平均値および標準偏差のグラフを示す。

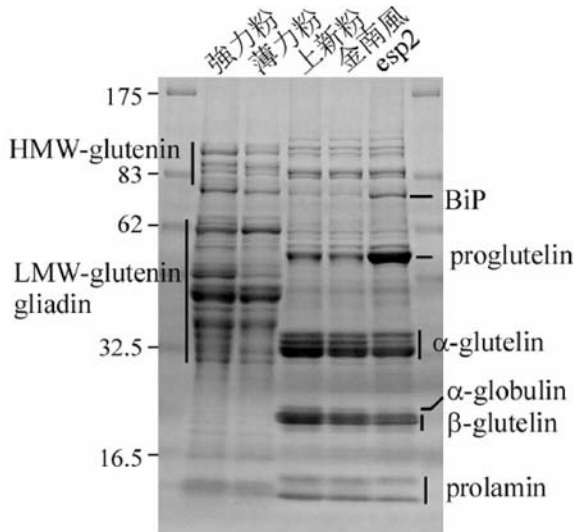
10

20

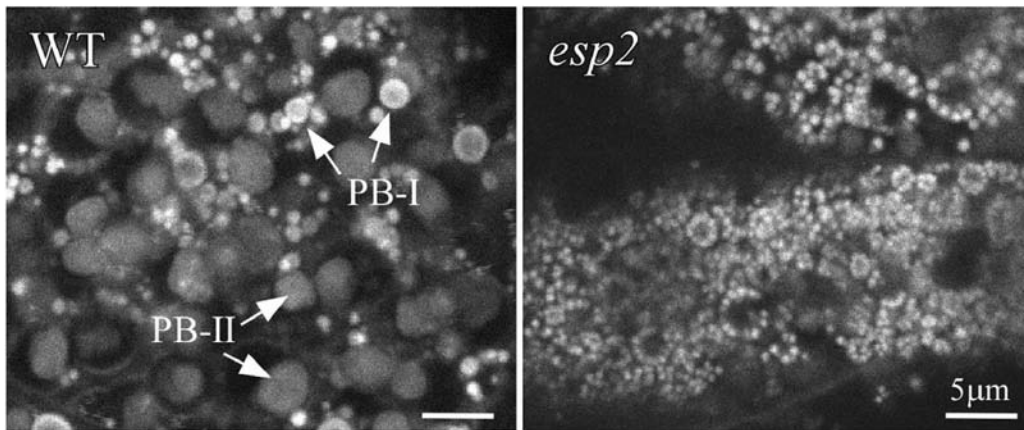
30

40

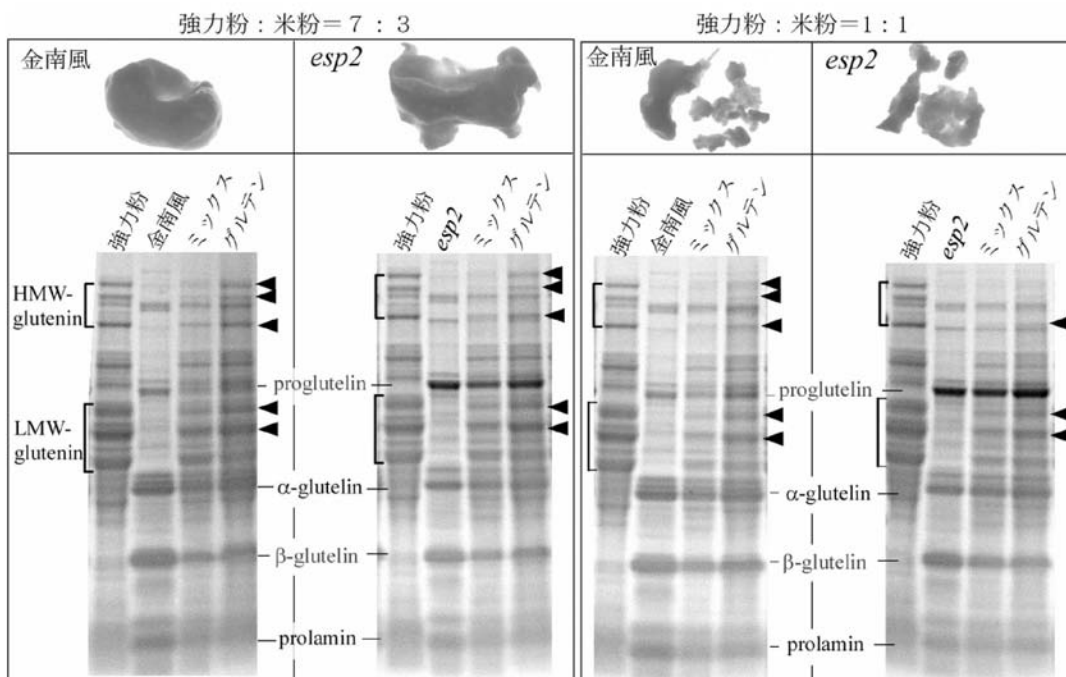
【 図 1 】



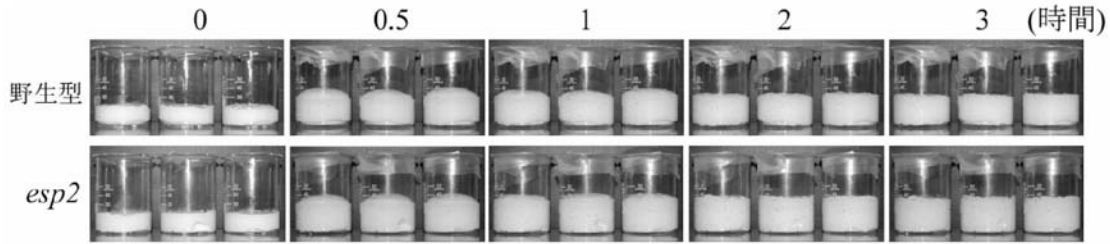
【 図 2 】



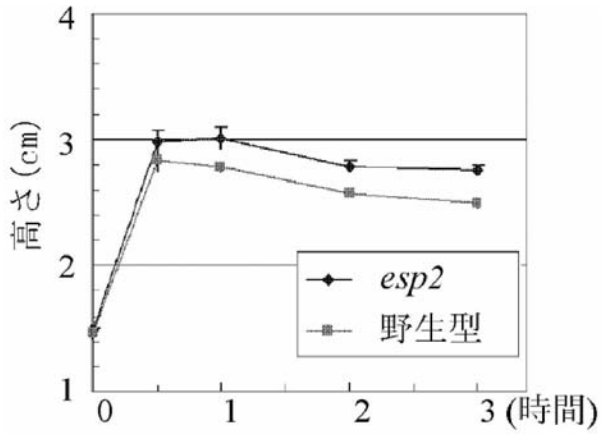
【 図 3 】



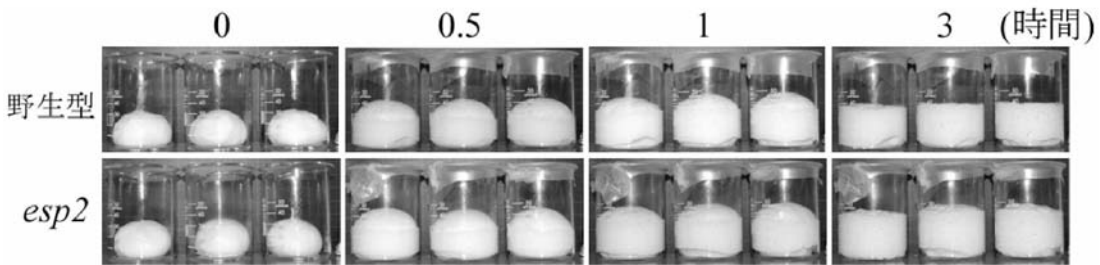
【 図 4 】



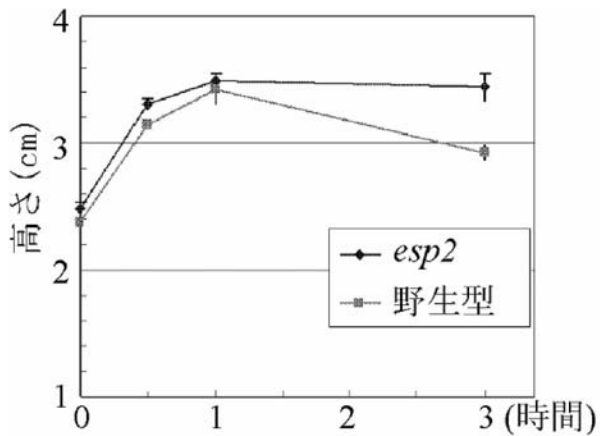
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 配列表 】

2009213370000001.app

【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成20年4月25日 (2008.4.25)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 6】

前記 P D I L 1 - 1 欠損変異が生じた改良米が、e s p 2 (受託番号 F E R M P - 2 1 5 0 8)である、請求項 5 に記載の米粉組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 2】

好ましくは、本発明の米粉組成物は、前記 P D I L 1 - 1 欠損変異が生じた改良米が、e s p 2 (受託番号 F E R M P - 2 1 5 0 8)である。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 8】

P D I 欠損変異米の具体例としては、例えば、Kumamaru T et al., (1987), Jpn J Gen et, 62, 333-339およびKumamaru et al., (1988), Theor Appl Genet 76, 11-16に記載の N - メチル - N - ニトロソウレア受精卵処理により得られた金南風の P D I 欠損変異米である、e s p 2 (Takemoto et al. (2002) Plant Phys. 128, 1212-1222 ;)を挙げることができる。この e s p 2 は、独立行政法人産業技術総合研究所の特許生物寄託センター (〒305 - 8566 茨城県つくば市東 1 - 1 - 1 つくばセンター 中央第 6) に 2008 年 2 月 14 日付けで 受託番号 F E R M P - 2 1 5 0 8 として寄託されている。e s p 2 の分類学上の位置は、栽培イネである *Oryza sativa* L である。e s p 2 種子は、例えば、- 10、湿度 30% で保管することができる。e s p 2 の発芽試験は、例えば、ベンレート等の水稻用消毒剤によって種子を消毒しつつ浸水した後、25、0 ~ 100 lux、2 週間の条件下で実施できる。上記条件での発芽率は約 80% である。その他の e s p 2 の特徴を、図 1 および 2 を用いて、以下に示す。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 5 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 5 2】

(1) グルテンに含まれるタンパク質の比較

金南風の野生型および e s p 2 (受託番号 F E R M P - 2 1 5 0 8) の精米を P e r t e n 社製ラボラトリーミル 3 1 0 0 で微粉碎し米粉を作製した。コムギ強力粉と米粉 (金南風または e s p 2) を 7 : 3 (左パネル) または 1 : 1 (右パネル) の割合で混ぜ、 $0.7 \times (v / w)$ の蒸留水を加え混合してタンパク質の架橋構造の形成を促し、グルテンを形成させた。その生地を水洗いし、デンプン粒とグルテンに取り込まれなかったタンパク質などを除き、残ったグルテンの一部を撮影した (図 3、上のパネル)。米粉の割合を 30% (左パネル) から 50% (右パネル) に上げると、コムギ粉本来のグルテン形成が阻害され、粘弾性の弱い、パサパサしたグルテンが形成された。これらのグルテンからタンパク質を緩衝液 (50 mM T r i s H C l p H 6 . 8、2% S D S、100 mM D T T、10% g l y c e r o l) で抽出し、S D S - P A G E でタンパク質を分離して C B B 染色した。コントロールとして、強力粉、米粉、2 つを混合した粉 (ミッ

クス)に直接緩衝液を加え、タンパク質を抽出し比較した。ミックスとグルテンのタンパク質組成を比較して、グルテンで濃縮されている強力粉由来のポリペプチドを矢印で示す。米粉由来のポリペプチドでは、グルテリン前駆体 (p r o g l u t e l i n) と γ -グルテリン (γ -g l u t e l i n) がグルテンで濃縮されている。米粉とコムギ粉を混合して生地を作製すると、コムギ由来のタンパク質に加えて、米由来のタンパク質もグルテンに取り込まれることが明らかとなった。

フロントページの続き

- (72)発明者 高星 千恵美
茨城県つくば市観音台 2 - 1 - 2 独立行政法人農業生物資源研究所内
- (72)発明者 熊丸 敏博
福岡県福岡市東区箱崎六丁目 1 0 番 1 号 国立大学法人九州大学内
- (72)発明者 佐藤 光
福岡県福岡市東区箱崎六丁目 1 0 番 1 号 国立大学法人九州大学内
- Fターム(参考) 4B024 AA05 BA80 CA02
4B032 DB02 DB13 DG02 DG08 DK54 DL20