

令和6年度仙台市NanoTerasuトライアルユース事業

「小麦粉グルテンタンパク質中の
含硫アミノ酸S-S結合計測に基づく特性評価」

株式会社金トビ志賀

01

会社紹介

- 1917年の創業時からうどん粉一筋。
中力粉に特化した専門工場で、高品質な
うどん専用小麦粉を作り続けている
- 小麦の旨味を最大限に引き出すため、
ゆっくり、丁寧な挽砕で製粉
- 「地域の小麦で、地域の味を」
 - 明るい色ともちもち食感が特徴の愛知県産小麦
「きぬあかり」を挽砕
 - きしめんや味噌煮込みうどん等、
愛知の麺文化に貢献



02

背景と目的

- 段階式製粉の発熱や物理的衝撃を可能な限り抑制する独自の製法で小麦本来の甘い香りを逃がさず、味のある小麦粉を製造

ロール機への原料投入



製粉工程



小麦粉



- 多くの有名うどん店から優れた品質を評価いただき、長年使用していただいている
 - 「愛知県産小麦 人気広がる」. 中日新聞. 2014年2月1日, p.1.
 - 有名うどん店「ふわっとした優しい食感。理想に近い」

これまでの自社小麦粉の検討状況

● 「製麺用小麦粉のたんぱく質電気泳動解析」

- 製麺工程や食味評価での明確な違いにも関わらず、自社および他社の小麦粉の成分分析(表1)、粒度分布解析(図1)、タンパク質の電気泳動解析(図2,3)などの試験では他社製品との差は観察されず、ユーザー評価との相関も観察されなかった

表1 小麦粉の一般的試験

製品	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
水分 (%)	15.0	15.0	14.9	13.8	13.4	13.2	13.2	13.4	15.2	13.5
灰分 (%)	0.33	0.35	0.37	0.34	0.37	0.34	0.36	0.34	0.36	0.39
たんぱく質 (%)	8.9	9.1	9.3	9.2	8.8	8.6	8.9	8.5	9.3	9.1
グルテン含量 (湿重量 (%))	25.4	25.6	26.5	25.0	25.9	25.7	26.3	25.0	25.3	26.4
グルテン含量 (乾重量 (%))	8.2	8.3	8.5	8.4	8.5	8.4	8.6	8.1	8.5	8.6
粉色	-4.65	-4.21	-3.78	-4.31	-4.31	-4.75	-4.17	-4.66	-3.95	-3.73

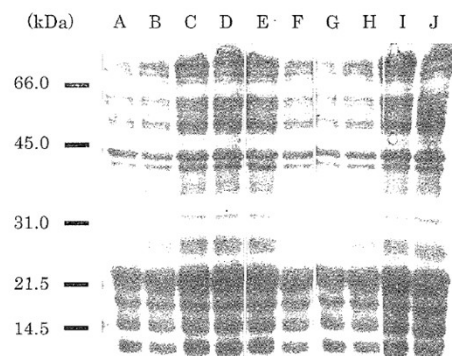


図2 アルブミン/グロブリン混合画分のSDS-PAGE解析

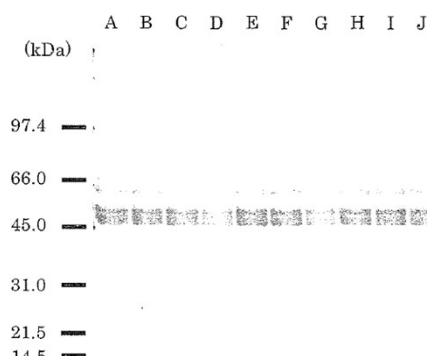


図3 グルテン画分のSDS-PAGE解析

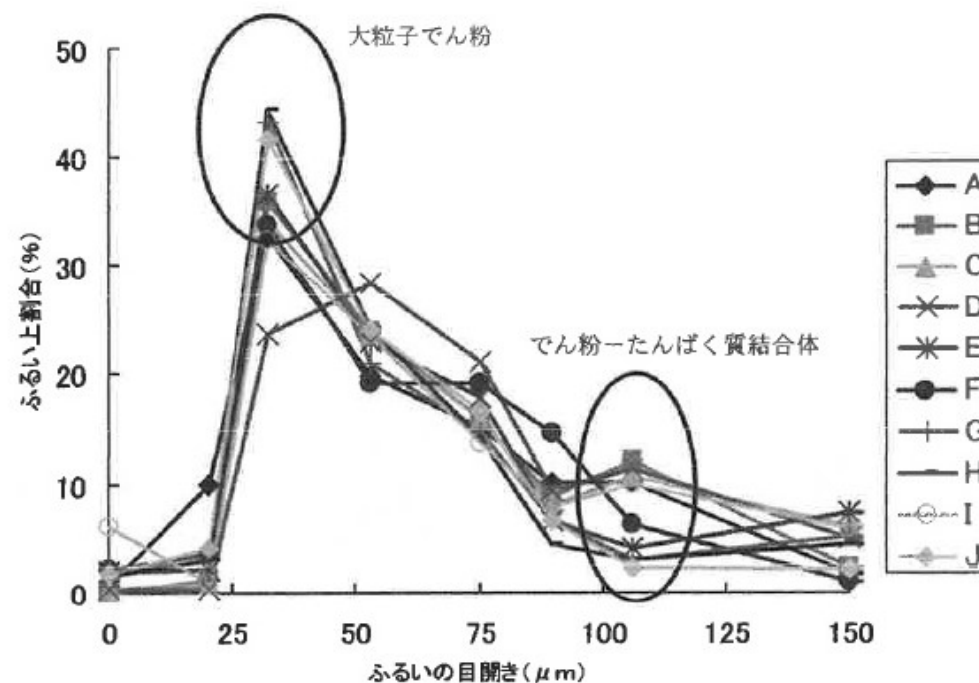


図1 小麦粉の粒度分布

半谷明朗、近藤由加、西田淑男、石川健一、矢野未右紀、日渡美世、内藤茂三、志賀紀仁.
製麺用小麦粉のたんぱく質電気泳動解析. 愛知県産業技術研究所研究報告, 80-83, (2010).

- 背景

- 金トビ志賀の小麦粉は他社の小麦粉と比較して、製麺工程や食味評価で違いがあるとされてきたが、その評価は定性的なものに留まっていた

- 課題

- これまで定量的な評価を目指し、電気泳動などの従来の科学的分析を実施してきたが、明確な数値化・分析は未達成であった

- 本事業での目的

- NanoTerasuの高輝度なテンダーX線を用いた硫黄（S）のK-Edge XAFS（X線吸収微細構造分析）のXANES領域の分析により、小麦粉グルテンタンパク質中のSの環境構造解析を行った
- これにより、小麦粉の製造方法や原料小麦の違いが小麦粉グルテンタンパク質中のS-S結合に与える影響を科学的に評価し、これまで定量的に示すことが困難であった金トビ志賀の小麦粉の性質を理解すること

測定試料：うどんに適した国産小麦新品種「きぬあかり」



● 「きぬあかり」

- 愛知県農業総合試験場が麺用小麦として開発し、2011年に品種登録

● ゆで麺官能評価

- 小麦粉の色が明るく黄色みを帯び、色が明るい
- アミロース含量がやや少ないため、食感が滑らか
- 生地を強くするグルテニン遺伝子を4種持つため、コシ(粘弾性)がある



表 5. ゆで麺官能評価結果

品種名	色	外観	硬さ	粘弾性	滑らかさ	食味	合計
	配点	20	15	10	25	15	15
きぬあかり	15.9	11.2	7.1	19.4	11.8	10.9	76.2
農林 61 号（基準）	14.0	10.5	7.0	17.5	10.5	10.5	70.0
イワイノダイチ	15.1	10.5	6.5	19.0	11.5	10.7	72.9

供試サンプルは生産力検定の条播・標肥区のピューラーテストミル 60%粉で 2006 年産から 2008 年産の 3 か年の平均値。

農林 61 号を基準とした。

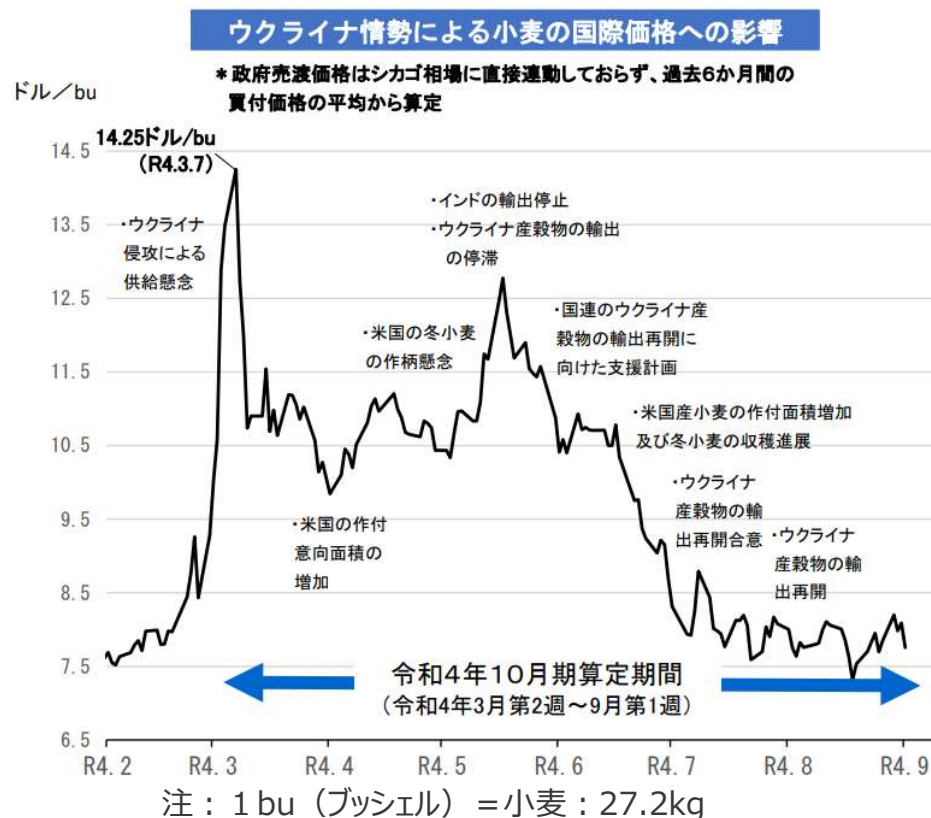
愛知県製粉協会技術者と愛知県農業総合試験場研究員との合同評価。

伴佳典, 吉田朋史, 辻孝子, 林元樹, 船生岳人, 遠藤征馬, 藤井潔. (2021). 日本麺用小麦品種「きぬあかり」の開発と高生産技術の開発・普及. 日本作物学会講演会要旨集 第 251 回日本作物学会講演会 (pp. 178-179). 日本作物学会.

国産小麦新品種「きぬあかり」の食料安全保障への貢献

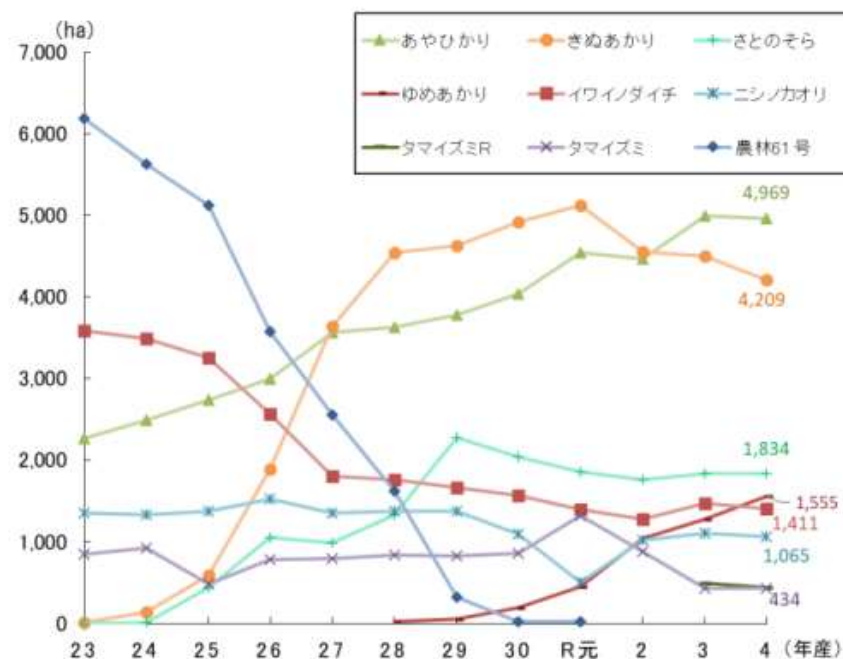


- 近年、ウクライナ侵攻等で輸入小麦の供給リスクが高まり、食料安全保障への懸念が高まっている
- 「きぬあかり」の特性や従来の小麦粉との差異をさらに科学的に評価することにより、国産小麦の消費や生産の拡大を通じて、日本の食料安全保障の強化に繋がるのではないかと



農林水産省.「令和4年度小麦の需給動向に関する調査報告」. 2023年,
https://www.maff.go.jp/j/seisan/boueki/mugi_zyukyuu/attach/pdf/index-134.pdf.

東海地域における小麦の品種別作付面積の推移



農林水産省東海農政局.「東海地域における小麦の生産振興」. 2023年,
<https://www.maff.go.jp/tokai/seisan/shinko/mugi/attach/pdf/index-7.pdf>.

03

蛍光X線分析(XRF・XAFS)について

原子の蛍光

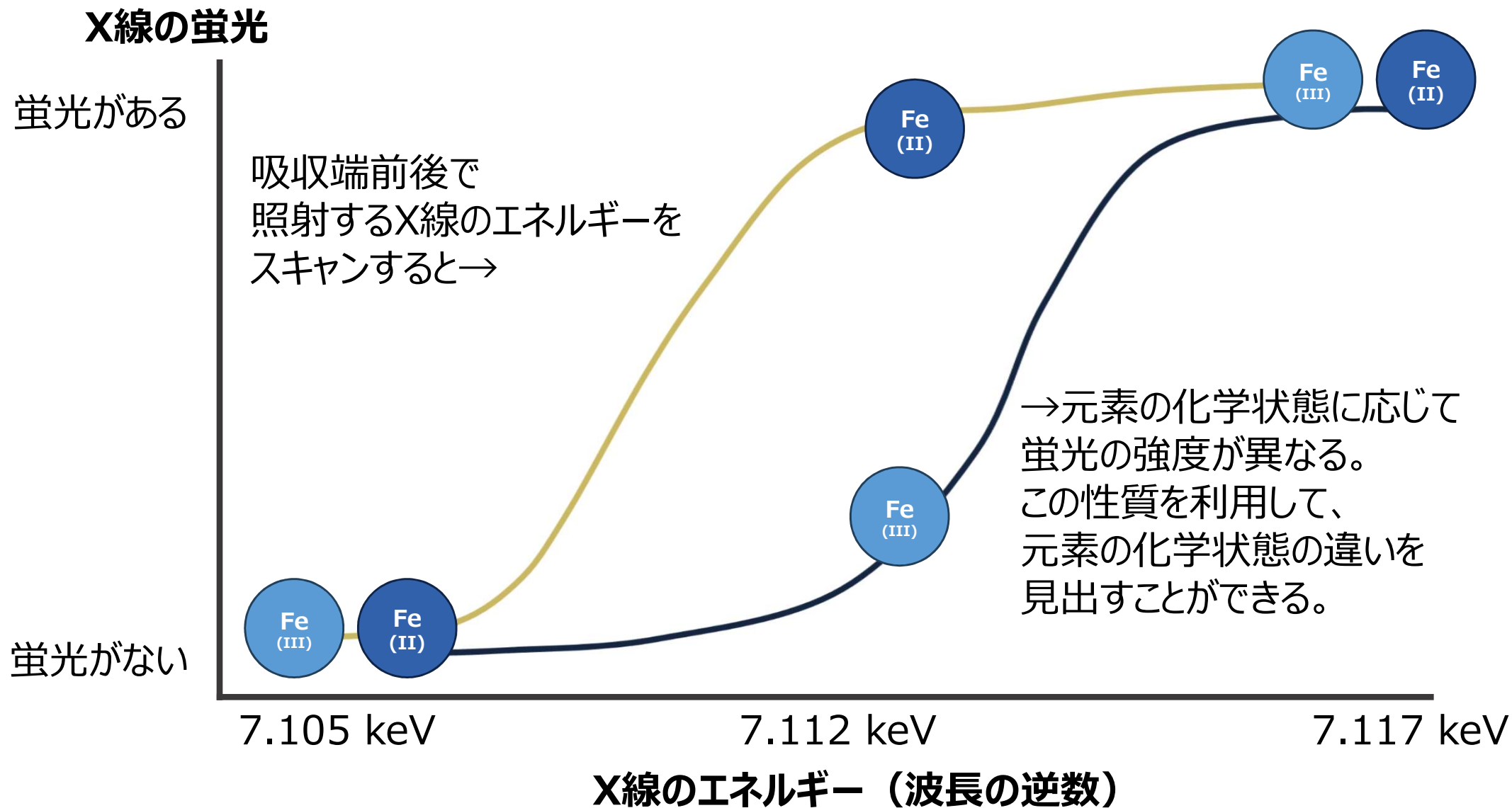
原子は特定の**エネルギー**（吸収端）より高い光で励起され、特定の**エネルギー**の蛍光を生じる

励起 : $>284.2 \text{ eV}$
 **C (炭素)**  蛍光 : 277 eV

励起 : $>7112 \text{ eV}$
 **Fe (鉄)**  蛍光 : $6405.2 \text{ eV}, 7059.3 \text{ eV}$

吸収端と蛍光のエネルギーは元素ごとに決まっており、
NanoTerasuのBL08Wでは、P～Asの範囲の元素について
化学状態を調べることが可能

蛍光X線を使った化学種分析の原理 (XAFS/XANES)



- 「Characterization of sulfur speciation in low molecular weight subunits of glutenin after reoxidation with potassium iodate and potassium bromate at different pH values using X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy」
- 小麦中のタンパク質（グルテン）のジスルフィド結合（S-S結合）が小麦の品質に深く関係している
- SのK-Edge XANESでS-S結合を直接分析できる可能性

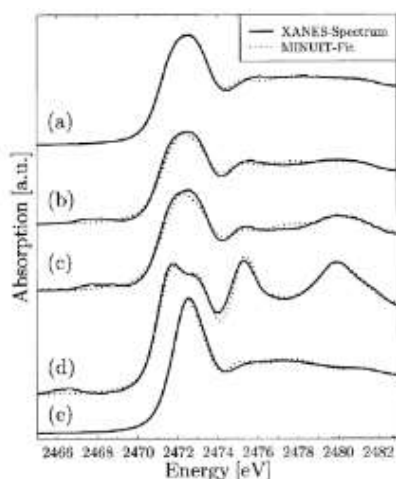


Figure 4. Sulfur K-edge XANES spectra of LMW subunits of glutenin: (a) reoxidized with potassium bromate at pH 8; (b) reoxidized with potassium bromate at pH 5; (c) reoxidized with potassium bromate at pH 4; (d) reoxidized with potassium bromate at pH 2; (e) LMW glutenin (reduced) and corresponding MINUIT fits.

Fig4. 様々な条件で処理したデンプンのスペクトル

Table1. グルタチオン等の標準物質のスペクトルでフィッティングして、S-S結合の定量化ができています

Table 1. Results of Fitting the Sulfur K-Edge XANES Spectra of Different LMW and HMW Subunits of Glutenin, Gluten, and Gliadin (cf. Figures 4, 6, and 7) to the Sum of Different Reference Spectra (cf. Figure 2)^a

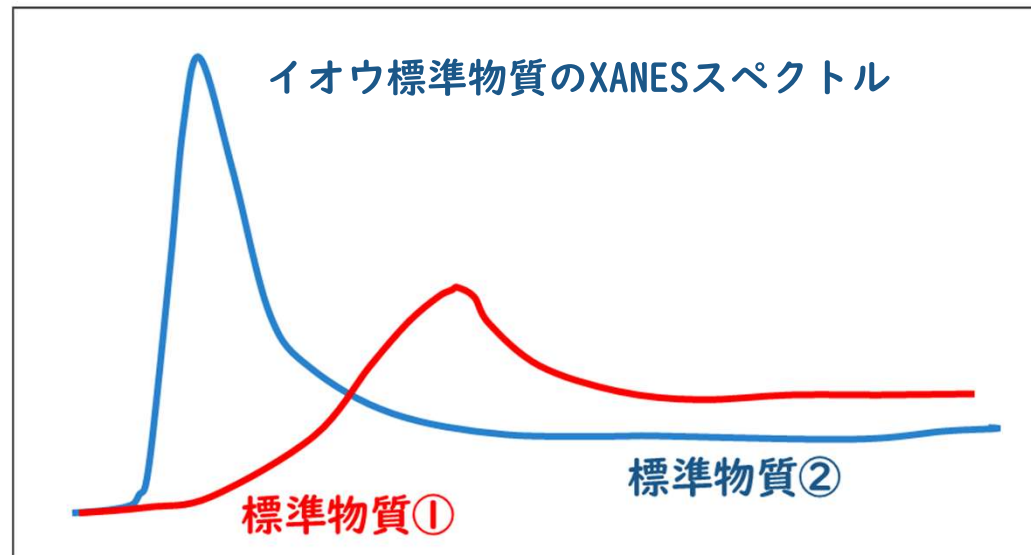
	percentage contribution of sulfur speciation					
	C-S-H (GSH) ^b	C-S-S-C (GSSG) ^b	C-S-C (methionine)	C-SO-C (dimethyl sulfoxide)	C-SO ₂ -C (cysteic acid)	SO ₃ ²⁻ (zinc sulfate)
LMW ^c [bromate, pH2]	4	39	7	10	39	—
LMW ^c [bromate, pH4]	17	53	—	2	27	—
LMW ^c [bromate, pH5]	19	60	—	2	18	—
LMW ^c [bromate, pH8]	14	43	35	—	5	—
LMW ^c [iodate, pH2]	21	44	—	1	33	—
LMW ^c [iodate, pH4]	22	44	—	1	33	—
LMW ^c [iodate, pH5]	32	55	—	—	13	—
LMW ^c [iodate, pH8]	14	49	32	—	4	—
LMW ^c [reduced]	40	7	53	—	—	—
HMW ^d [aged]	—	5	9	6	79	—
LMW ^c [aged]	—	4	11	8	76	—
gluten	12	65	24	—	—	—
gliadin	17	71	13	—	—	—

^a Reference compounds for the different sulfur species are shown in parentheses. Error: $\pm 10\%$; —, contribution $< 0.1\%$. ^b GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione. ^c LMW subunits of glutenin. ^d HMW subunits of glutenin.

NanoTerasuで、小麦粉中のS(イオウ)の化学状態を調べることができるか？

イメージ図

X
線
の
蛍
光

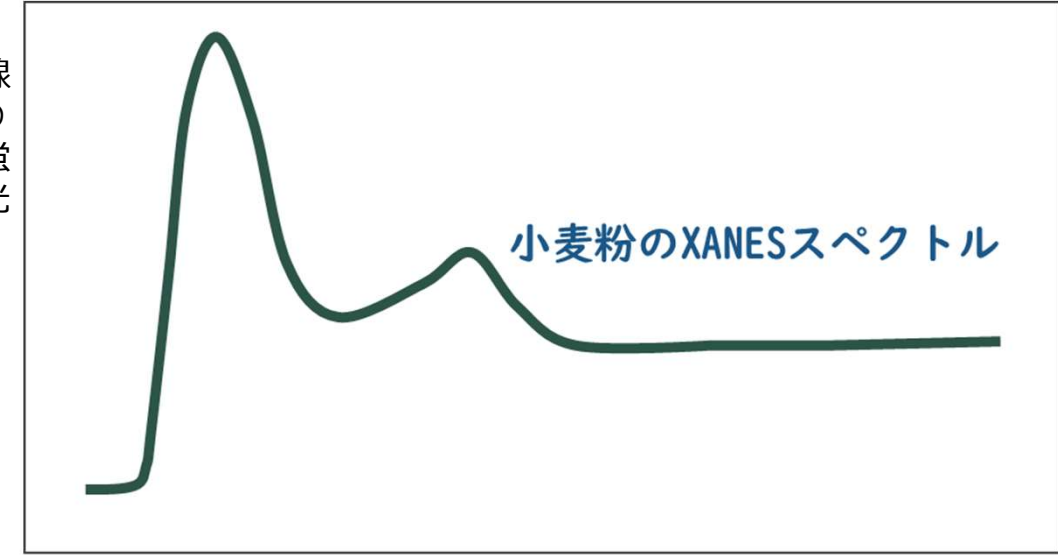


X線のエネルギー（波長の逆数）

- I. イオウの標準物質のXANESを測定し、標準物質ごとのスペクトル形状の違いを見出すことができるか？
(例) SHの構造を持つ標準物質：システインと、S-S結合（ジスルフィド結合）を持つシスチンのXANESスペクトルは区別できるのだろうか？

イメージ図

X
線
の
蛍
光



X線のエネルギー（波長の逆数）

- II. 小麦粉のSのXANESスペクトルは測定できるのだろうか？

↓最終的には

- III. 小麦粉ごとのSのXANESスペクトルから、S-S結合の割合を数値化できるのだろうか？

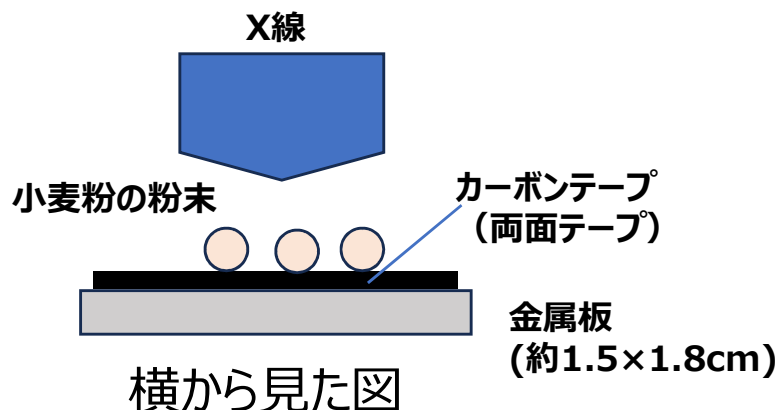
測定試料の準備：BL08W

成分を分析するのに、抽出や精製などの操作は不要

第一回 測定



(約1.5×1.8cm)

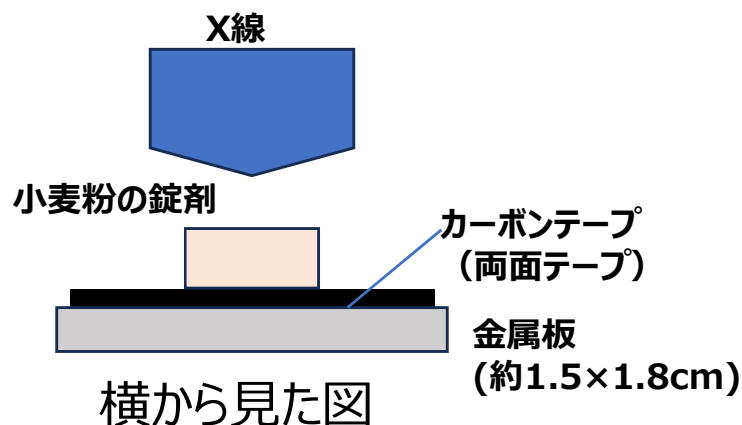


小麦粉の粉末を NanoTerasu BL08Wにある金属製のプレートに両面テープで固定する操作のみ実施

第二回 測定



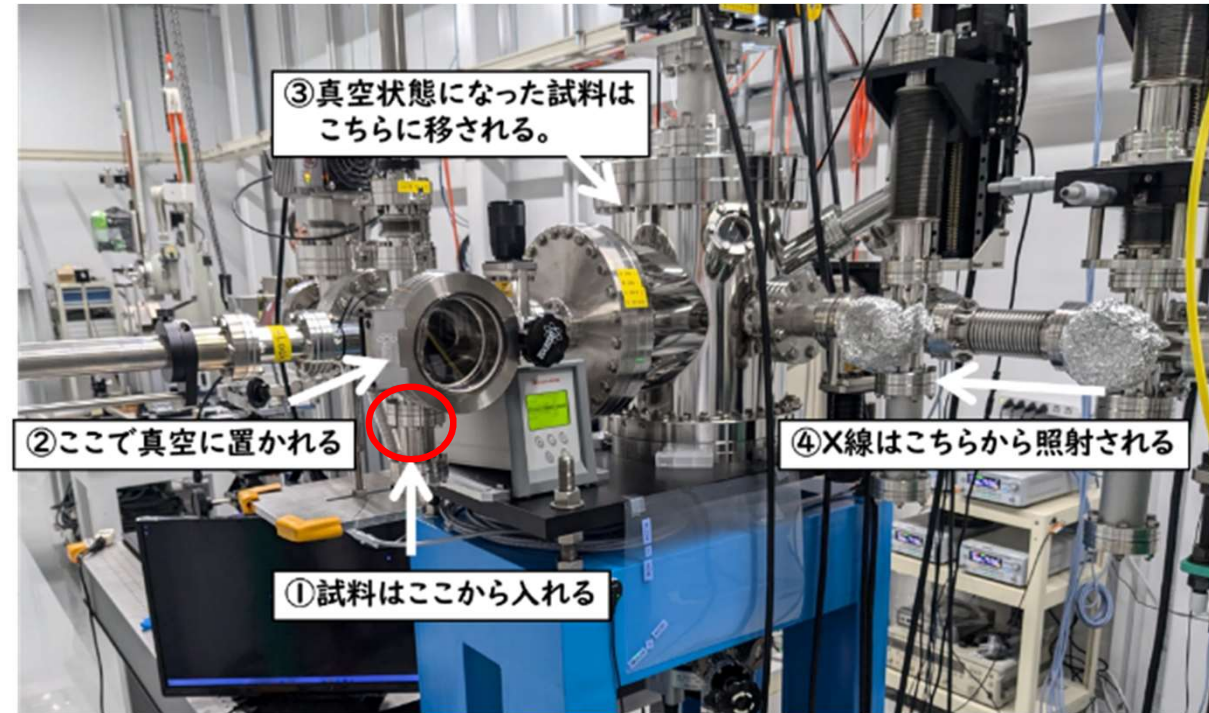
(約1.5×1.8cm)



濃度が薄い試料については粉末を錠剤化したものを用いた

測定試料のセットと所要時間：BL08W

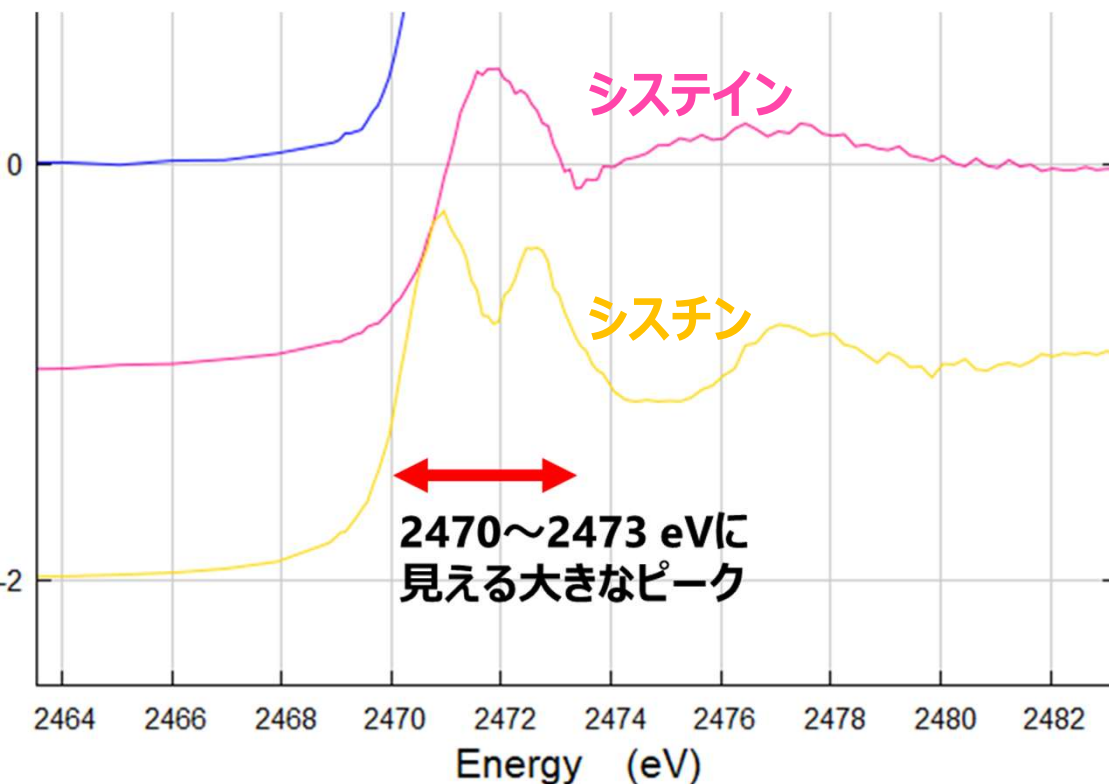
- 今回の測定は他の測定との関係で、真空中に置いたものを測定
- 金属プレートに貼り付けた試料は、右の写真の○の位置にセットした後、真空状態になり測定容器に入る
- 試料に照射されたX線により生じた蛍光を、X線の進行方向と垂直の位置に置かれた検出器で検出
- Caよりも重い元素（Asまで）については大気下で測定可
- 元素状態を調べる場合は、10～20分程度で測定することができた



04

測定結果と考察

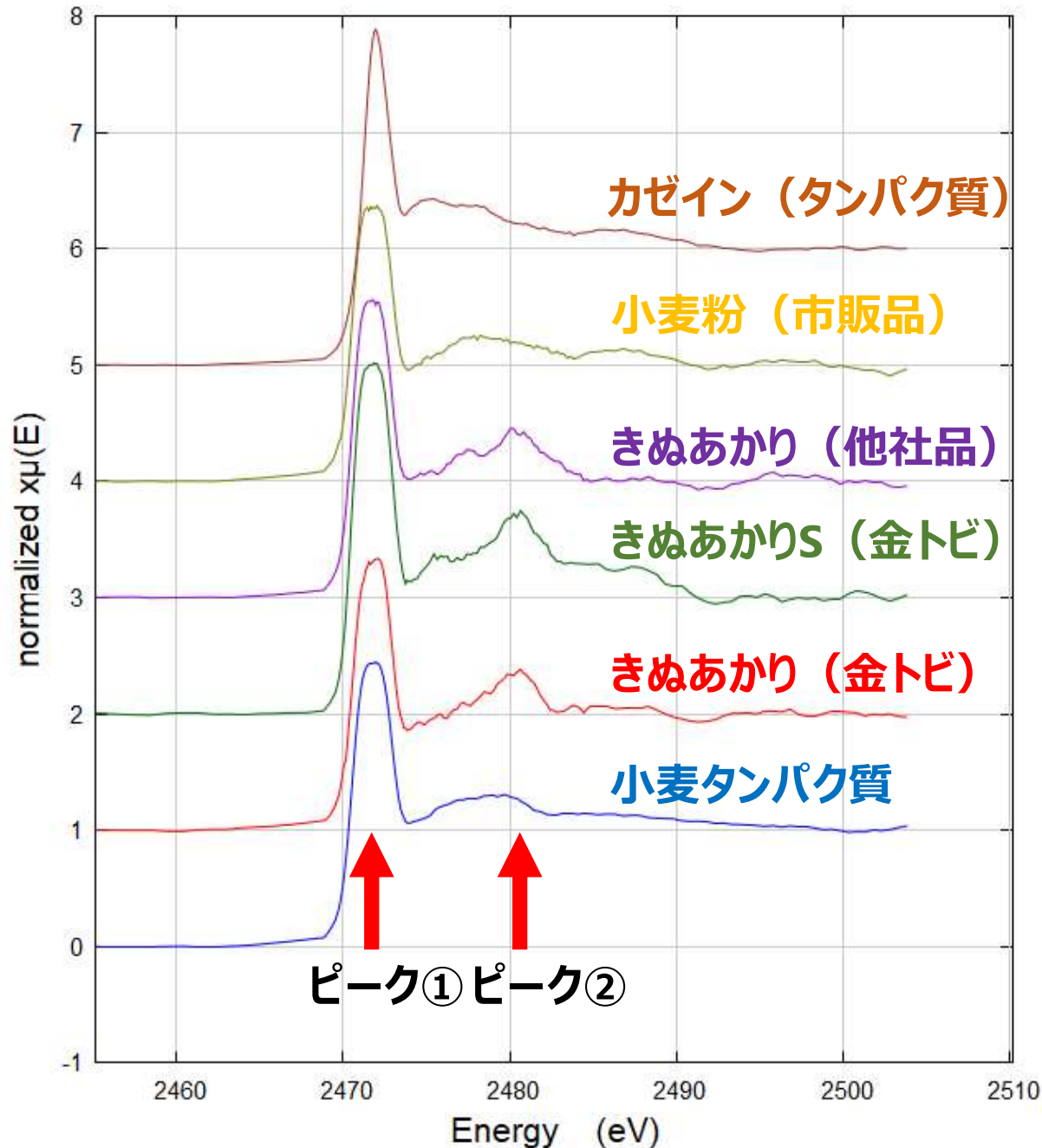
測定結果：標準物質システインとシスチンの区別



● 2470~2473 eVに見える大きなピーク

- タンパク質に含まれるアミノ酸、システインはSH基を持っており、シングルピークとなる
- システインのSH基が重合してS-S結合を形成した状態（この状態になるとタンパク質が重合している）になると、シグナルは横に広がり、2つに割れる
- NanoTerasu BL08WではSH基とS-S結合にあるSの区別が可能

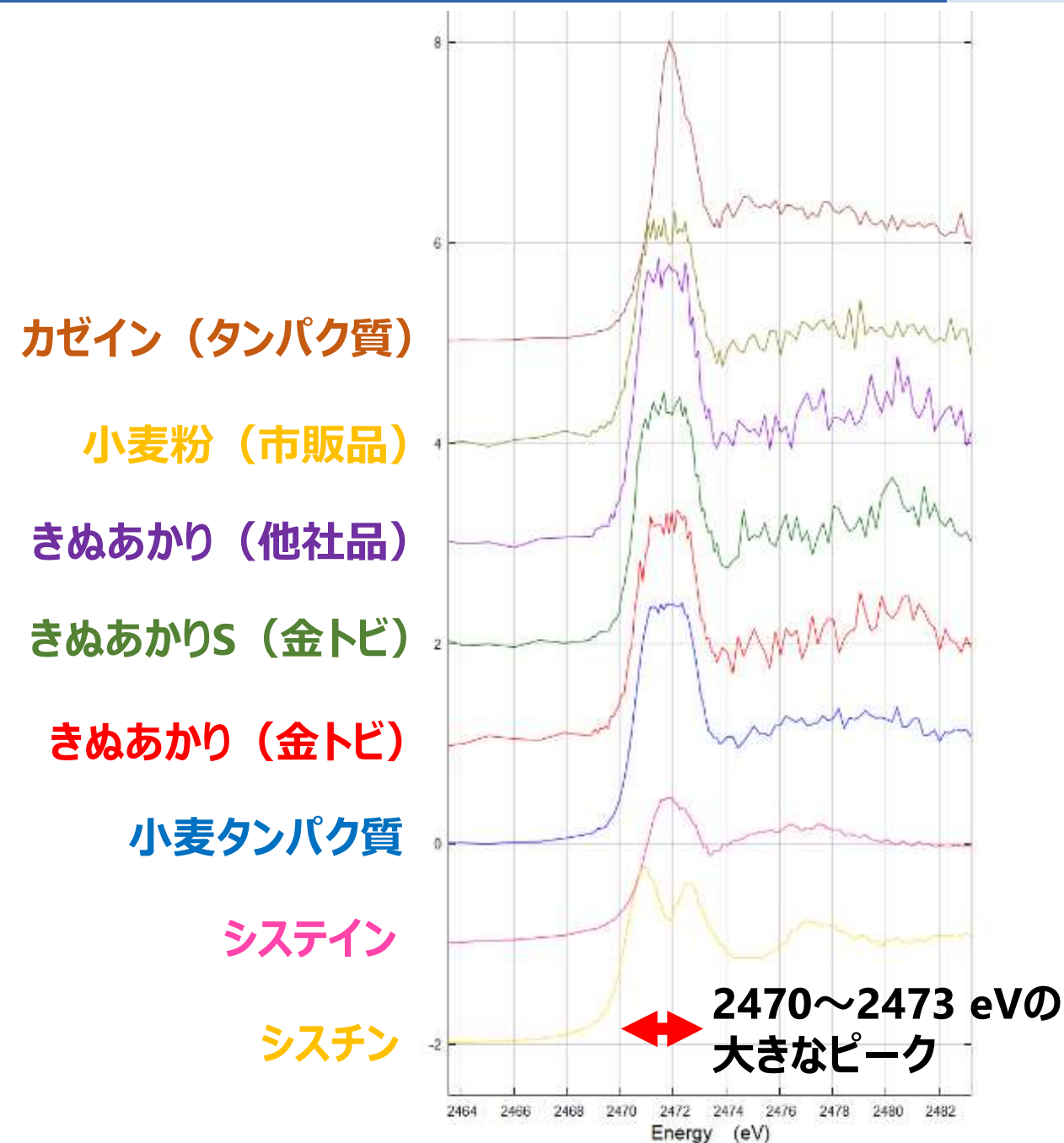
測定結果：小麦粉などのSのXANES測定



- 各試料について、SのXANESスペクトルを取得することができた
- 2470～2473 eVに見える大きなピーク①と2480 eV付近に見えるピーク②に特徴が見られた

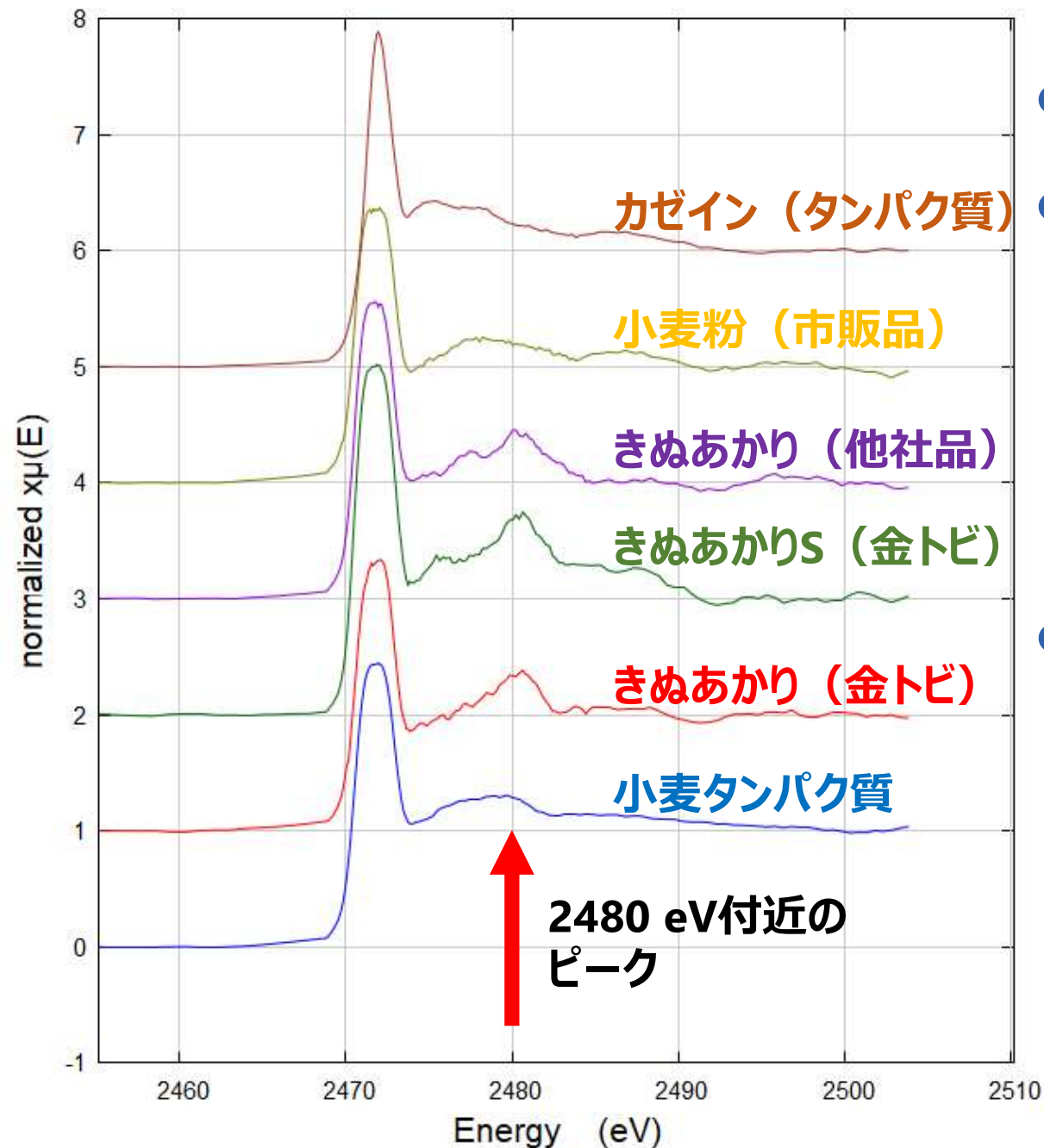
※きぬあかりS：除草剤不使用で生産した愛知県産きぬあかり

測定結果：2470～2473 eVの大きなピークについて



- カゼインタンパク質のシグナルはシングルピークであり、カゼイン中のシステインはSH基の状態であると考えられる
- 小麦粉に含まれるタンパク質は横に広がっており、システインとシスチンが混ざっている状態であると考えられる
- この仮説を検証するためには、小麦粉に還元剤を作用させて、S-S結合を切断してみるとよいかもしれない

測定結果：2480 eV付近のピークについて



- きぬあかりで明確に見られるピーク
- ピークが右側に生じている理由の一つとして、酸化による影響が考えられる
 - システインやメチオニンが酸化している可能性
- きぬあかりに特有のピークなのか、製粉してからの時間や保存方法によって生じたものなのか、今後検証していきたい

05

まとめと展望

仙台市トライアルユースのまとめ

- 本事業では、NanoTerasu BL08Wを使って、小麦粉中のイオウの化学状態をXANES（X-ray Absorption Near Edge Structure）で測定することで分析可能かどうか調査した
- 小麦粉に含まれるSの化学状態はSH基かS-S結合（ジスルフィド結合）の状態にあると考えられる。BL08Wの測定では、SH基を持つ標準物質：システインとS-S結合を持つ標準物質：シスチンでは、スペクトルの形状に明確な差が見られたことから、小麦粉の中でSH基とS-S結合の割合が異なっていれば、区別が可能であることが示唆された
- 小麦粉のSのXANESについても、BL08Wで測定可能であった
- 濃度が薄い試料については、錠剤化することでシグナル強度を高めることができた
- 小麦粉の種類ごとにスペクトルの特徴が見られそうである
- 小麦タンパク質の粉末ではSH基が多いのに対し、小麦粉の中にはSH基、S-S結合両方の状態で存在していることが示唆された

- 今後は今回確立した測定手法を用いて、SH基が重合してS-S結合となる可能性がある製造工程や、SH基とS-S結合の割合が異なる可能性のある以下の観点に着目し、小麦粉の定量的な解明を目指していきたい
 - 製粉工程
 - 挽砕中のロールによって摩擦が発生し、温度上昇によってSが変化する可能性
 - 製粉中に粉が空気に晒されることで、Sが変化する可能性
 - 製麺工程
 - 練り工程で空気が入り込みSが変化する可能性
 - 塩の作用でSの変化を助長する可能性
 - 小麦の部位
 - 小麦の外側と内側から採取できる小麦粉でSH基とS-S結合の割合に差がある可能性
 - 原料
 - 「きぬあかり」と他原料小麦粉でSH基とS-S結合の割合に差がある可能性

謝辞（敬称略）



- 原田昌彦（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）
- 村松淳司（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）
- 高山裕貴（東北大学国際放射光イノベーション・スマート研究センター）
- 日高將文（東北大学大学院農学研究科/放射光生命農学センター）
- NanoTerasuのスタッフの皆様