

酵素の食品工業への利用

— 製パン、調味料、醸造などを中心に —

ノボルディスクバイオインダストリー(株)

上 島 孝 之

はじめに

ここ数年、微生物酵素の用途開発および実用化が着実に進んでいる。産業用酵素として、従来からの加水分解酵素のほかに酸化還元酵素、転移酵素などが用いられるようになった。用途も食品加工、洗剤、醸造工業のほかに繊維加工、製紙工業などの新しい分野が開拓されつつある。いずれも、酵素の効率的、特異的反応がそれぞれの工程で生かされているのが特徴である。

ここでは、酵素の食品工業への利用について、製パン、天然調味料製造、醸造工業などに於ける例を挙げて、話題提供してみたい。

1. パン製造

[デンプンの分解]

パン製品のもとになるドウは小麦粉、水、イースト、塩と多くの場合は糖や脂肪などの成分が加わってできている。ドウが作られるとすぐにイーストが糖に作用しアルコール発酵がはじまる。パンが膨らむのはアルコール発酵により生ずる炭酸ガスのためである。

一般的に、穀物には α -アミラーゼと β -アミラーゼが含まれていると言われている。デンプンは α -アミラーゼによってデキストリンと低分子糖に分解され生成したデキストリンは続いて β -アミラーゼによってマルトースに変換される。マルトースはイーストが発酵可能な糖である。しかし多くの小麦粉には α -アミラーゼが不足している。これは地理的な要因によるところが大きい。すなわち、 α -アミラーゼ含有量は生育期から収穫までの諸条件によって大きく左右されやすい。気候が湿潤であればあるほど穀粒は多量の α -アミラーゼを生産する。あまり湿潤であると小麦の中には発芽するものも出てきて、弊害になることもある。一般にヨーロッパ産のものは、おだやかな気候に起因してほど良い量の α -アミラーゼを含有している。しかしアメリカ産は暑い乾いた気候のために往々にして α -アミラーゼの含有量が少ない。 α -アミラーゼが不足している場合、イーストは当面は小麦粉中に含まれる発酵可能な糖を消費するが、その糖を使い尽くすと発酵プロセスは止まってしまう。そこで新たな糖の補給をするために、デンプンをデキストリンとマルトースに分解する酵素、たとえば *Aspergillus oryzae* の α -アミラーゼ（商品名ファンガミル）が使われる。小麦粉への酵素添加によりアルコール発酵が順調に進み、ふっくらとしたパンができ上がる。

α -アミラーゼの供給源として、麦芽エキスや麦芽粉も用いることができる。しかし、カビ由来の酵素の方が製パンには適している。カビの酵素は麦芽のものと異なり、50℃以上の温度では長時間もちこたえられない。これが重要なポイントである。すなわち、ベーキングの過程で70℃ほどになるとデンプンが糊化しはじめる。カビの酵素は70℃では失活して問題は無いが麦芽の α -アミラーゼは未糊化デンプンに作用して、余分のデキストリンを生成してしまう。その結果、パンの中身が粘つきすぎたり、柔らかくなりすぎてしまう。カビの酵素は必要な時、つまり膨張中にだけ活性を発揮する訳である。

〔パンの老化防止〕

パンのステーリング（ぼろぼろになる状態）はデンプンが変化してしまったために起こる。デンプン粒が可溶性形から不溶性形に転換するとき、デンプン中の湿気または水分が結合から離れて自由になる。デンプンは水分を保持できなくなると弾力性を失ってしまうので、パンは固く、脆くなる。

パンの老化を遅延させるために、小麦粉の α -アミラーゼ処理が有効である。特に、細菌のエキソ型 α -アミラーゼ（商品名ノバミル）はデンプンに作用（低分子糖とデキストリンを生成する。低分子糖の主成分はマルトースであり、水分保持力を高める作用がある。この酵素は熱安定性が高いためオープン内でデンプンが糊化した後でも作用し、しかも好都合なことにはパンが焼きあがった時点では酵素は失活している。

2. 天然調味料の製造

バイオテクノロジーを用いて、食料資源を高度に利用しようとする気運の中で天然調味料の開発の声が高まっている。天然調味料は天然物を原料として、分解あるいは抽出、つづいて濃縮、乾燥、造粒などの工程を経て製造される。アミノ酸、ペプチド、糖および核酸関連物質を含み、肉類、魚介類あるいは野菜などの味とフレーバーを有する嗜好性の高い調味料である。製造プロセスから、おもに分解型と抽出型に分類される。

分解型調味料は蛋白を分解して得られ、アミノ酸やペプチドを主成分とする。原料の種類により、魚肉、鶏肉などの動物タンパク質水解物（HAP）と大豆、トウモロコシなどの植物タンパク質水解物（HVP）の2種類がある。従来、塩酸分解法によって製造されていたが、近年ではプロテアーゼを利用した製造法が考案されている。酵素法は原料の風味を生かすことができるうえに、トリプトファン、メチオニン、システインなどのアミノ酸が損傷を受けずに回収されるので、栄養の観点からも有益な手段である。

一方、抽出型調味料は魚介類、肉類、野菜類を原料として、風味成分を抽出して製造される。代表的な例として、イワシエキス、ハマグリエキス、ビーフエキス、チキンエキス、オニオンエキス、昆布エキスなどがある。この場合にも、プロテアーゼの利用によって、抽出率の向上、油脂の分離、粘土低下などが可能になる。

プロテアーゼを利用して調味料を製造する場合、同じタンパク質を原料として用いても、プロテアーゼの種類によって分解生成物の呈味性に差が生じる。石田ら¹⁾は大豆タンパク質を10種類のプロテアーゼで分解し、それぞれを比較した。プロテイナーゼ活性の強いパパイン、ペプシン、Bacillus natto アルカリプロテアーゼ、Bacillus subtilis 中性プロテアーゼは強い苦味を呈し、プロテイナーゼ、ペプチターゼ両活性を有する。Streptomyces griseus、Aspergillus oryzaeでは苦味は弱く、旨味がでてくる。プロテイナーゼ活性はほとんどなく、ペプチターゼ活性の高い S. peptidofaciens の場合は苦味がなく、旨味が強い。すなわち、プロテイナーゼ活性の強い酵素は一般に苦味を生成し、ペプチターゼ活性の強い酵素は旨味を生成した。

ここで興味あるデータを示した S. peptidofaciens と生産する酵素系について少し言及したい。本菌は著者らが土壌中より分離したもので、その培養液はカゼイン分解力が非常に弱く Leu- β -naphthylamide および Z-Gly-Leu (Z:ベンジルオキシカルボニル) に良く作用する。²⁾ つまり、エンド型プロテアーゼはほとんど生産せず、エキソ型であるアミノペプチターゼ、カルボキシピプチターゼを併産する。アミノペプチターゼは精製・結晶化され、最適pH8.0、分子量1.9kDa、Ca²⁺によって活性化されることが判明した。カルボキシピプチターゼは最適pH8.0比較的不安定で精製されていない。

さて、藤巻ら³⁾は大豆タンパク質をペプシンで分解して得られる苦味ペプチドを単離し、苦味ペプチドはN端あるいはC端側にロイシン残基を有することを報告した。そこで苦味ペプチドに対するペプチターゼの作用を調べるべく、ミルクカゼインから得られた苦味ペプチドを S. peptidofaciens のペプチターゼで処理したところ、N端のロイシン、フェニルアラニン、C端のロイシン、フェニルアラニン、バリンが遊離してくることが確認された。

大豆タンパク質の酵素的分解による調味料試作の一例を図1に示す。アルカリプロテアーゼとペプチターゼによる2段階酵素反応が特徴であり、最後のところで、活性炭処理により大豆臭や異味成分を除去している。この方法によると、脱脂大豆の90%が調味液として利用され、そのうち40%近くが遊離アミノ酸として存在する。得られた調味料は濃厚な旨味を呈すると報告されている。

最近のトピックスとして、まず大日本製糖(株)と新田ゼラチン(株)は共同研究によって、ゼラチンを原料として酵素分解による調味料の生産技術を開発した。酵素反応は2段階で、Aspergillus 属麹菌の酵素で蛋白原料を分解し、次に苦味除去の目的で Rhizopus 属の酵素で最終的にアミノ酸遊離率80%まで分解する。また天野製薬(株)では苦味を除去する作用の強い「ペプチターゼR」を新たに開発した。本酵素剤はアミノ酸の種類に対する特異性が低く、ペプチドを分解してアミノ酸を遊離する作用が強いという特色がある。したがって苦味ペプチドを分解して苦味を消すことが可能になったと報告されている。一方、ノボルディスク社では Aspergillus oryzae によって生産されるプロテアーゼ/ペプチターゼの複合酵素(商品名フレバーザイム)を開発した。複合酵素はpH5~7付近、温度45

～50℃で最も良く作用し、両酵素活性により蛋白はアミノ酸まで分解される。生成物は苦味を出さないのので、調味料製造用酵素として今後の用途開発が期待されている。

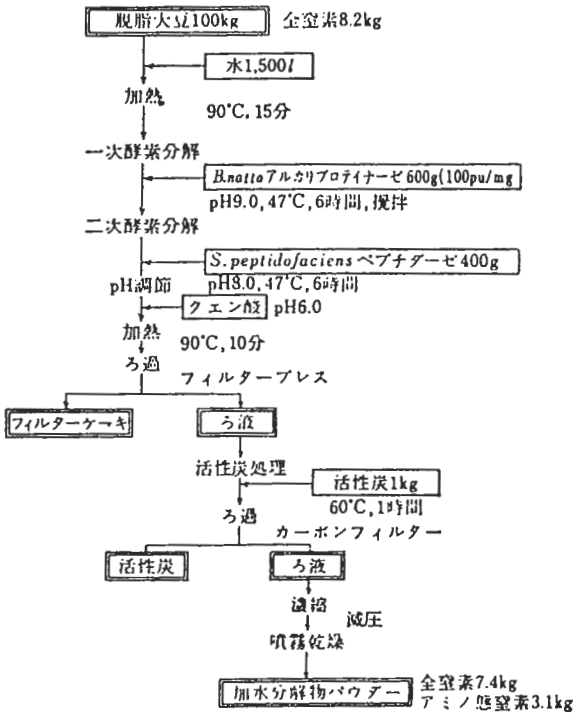


図1 酵素利用による大豆タンパク質分解物の製造法¹⁾

3. ビール醸造

ビール醸造は主として麦芽製造、仕込み、発酵、熟成、ろ過の5工程より成る。まず、温水タンク中に主原料である大麦麦芽と副原料のトウモロコシ、ソルガム、米などを添加し混ぜ合わせる。このもろみ作りの段階で麦芽中に存在する酵素によって、デンプン及び蛋白質は単糖、低ペプチド、アミノ酸に分解される。次にろ過後、酵母を添加して発酵、熟成が行われる。この間に酵母によりこれら分解生成物からアルコール、二酸化炭素、風味成分が作り出される。

〔仕込工程への酵素利用〕

麦芽はデンプン、蛋白質を提供する原料であるが、酵素の供給源でもある。しかし麦芽製造工程は酵素生産の方法としてはコスト高である。そこで少なくとも麦芽の一部を未発芽の大麦にし、 α -アミラーゼ、 β -グルカナーゼ、プロテアーゼなどを添加してデンプン、細胞壁、蛋白質を分解すれば、かなりのコストダウンになる。

またトウモロコシや米など煮沸してから麦芽もろみに添加されているが、その場合にはデンプンは糊化しており、取り扱いが難しい。そこで液化してからもろ

みタンクに注ぎ込む必要があり、液化に α -アミラーゼが用いられる。麦芽自信の α -アミラーゼをその為に用いることもできるが、現在では微生物の α -アミラーゼの利用が増えている。経済的な上に、高温でも作用するからである。100℃でも効率的に作用する耐熱性 α -アミラーゼが供給できるようになった。

〔ろ過性の改良〕

もろみがろ過タンクに流し込まれる時や、最終的にビールからろ過される時に、ろ過性が遅いことが問題になる。原料由来のガム状物質 β -グルカンがゲル層を形成してフィルターの小さな穴を塞いでしまうためである。この様な場合、もろみ中が発酵の開始時に β -グルカナーゼを添加して、 β -グルカンを分解すれば解決できる。

〔低カロリービール〕

麦芽酵素は全てのデンプンを発酵可能な糖に分解する訳でなく、デンプンの約3分の1が非発酵性デキストリンに変換される。デキストリンはでき上がったビールの中に残り、その分がカロリーになる。そこでもろみまたは発酵中にグルコアミラーゼを添加することにより、デキストリンをグルコースに分解できる。グルコースは酵母によってほぼ完全にアルコールと二酸化炭素に変換される。換言すると、麦汁を低エキスに調整しておけば、アルコール度は通常のままでもカロリーが約3分の1ほど少ないビールを作ることが可能になる。この様な低カロリービールは体重を気にしている人には勿論、味も爽快で人気がある。

〔熟成速度の促進〕

通常、ビール発酵は早い速度で進むが、その後の熟成期間が長い。発酵の初期の段階で酵母によって α -アセト乳酸が生成され、この物質は非酵素的に徐々にダイアセチルへ変換される。ダイアセチルは不快な未熟臭を有する物質である。発酵の後期と熟成中に酵母はダイアセチルをほとんど無味無臭のアセトインへ変換する。この α -アセト乳酸からダイアセチルを経てアセトインにするプロセスが熟成を長引かせる原因になっている。そこで α -アセト乳酸脱炭酸酵素（商品名マチュレックス）を発酵初期に添加したところ、図2に従って、 α -アセト乳酸を直接アセトインに転換することが可能になった。その結果、熟成速度が著しく促進され、発酵生産能力が20～30%増加した。マチュレックスは最適pH6付近、最適温度35℃付近であるので、pH4.5、温度10℃前後のビール発酵液中でも反応が可能である。この酵素法はヨーロッパ、アジア、南アメリカの一部で実用化されている。

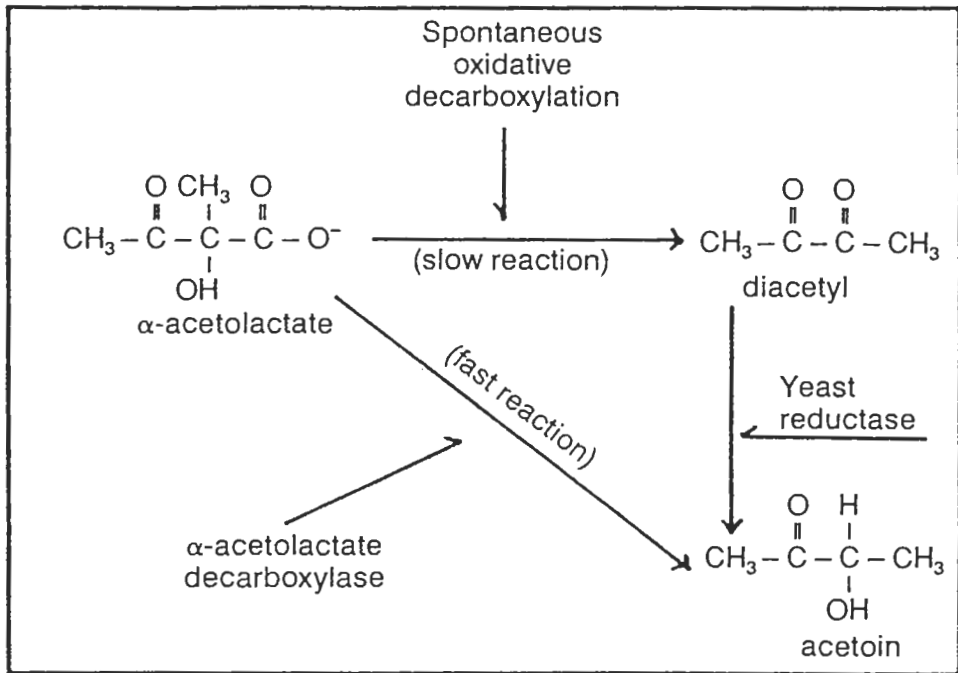


図2 発酵中における α-アセト乳酸の除去

4. 果物ジュースとワイン

〔搾汁と清澄〕

果物には細胞壁を互いに結びつける働きをするペクチンが含まれている。ペクチンは未熟な果物には不溶性で存在しているが、熟するにつれてより可溶性になる。圧搾の際にかなりのペクチンが搾汁の中に入り込み、粘度が増し、色合が悪くなる。

ペクチンはガラクトツロン酸が α-1、4 グルコシド結合で直鎖状に連結したポリマー（1、4-α-D-ガラクトツロナン）を主鎖にもつ高分子多糖類である。そのカルボキシル基の約75%がメチル基でエステル化されている。ペクチン分解酵素として、ペクチンエステラーゼ（PE、反応式1）、ポリガラクトツロナーゼ（PG、反応式2）が古くから知られている。すなわち、ペクチンはPEによって脱メチル化されてから、PGによって内部から切断される。最近、この他に新しいタイプの酵素として、ペクチントランスエリミナーゼ（PTE、反応式3）が見出された。PTEはエンド型のペクチンリアーゼで、単独でペクチン質に直接作用する。メチル基をつけたまま切断する点がPE、PGによる分解様式と異なる（図3）。

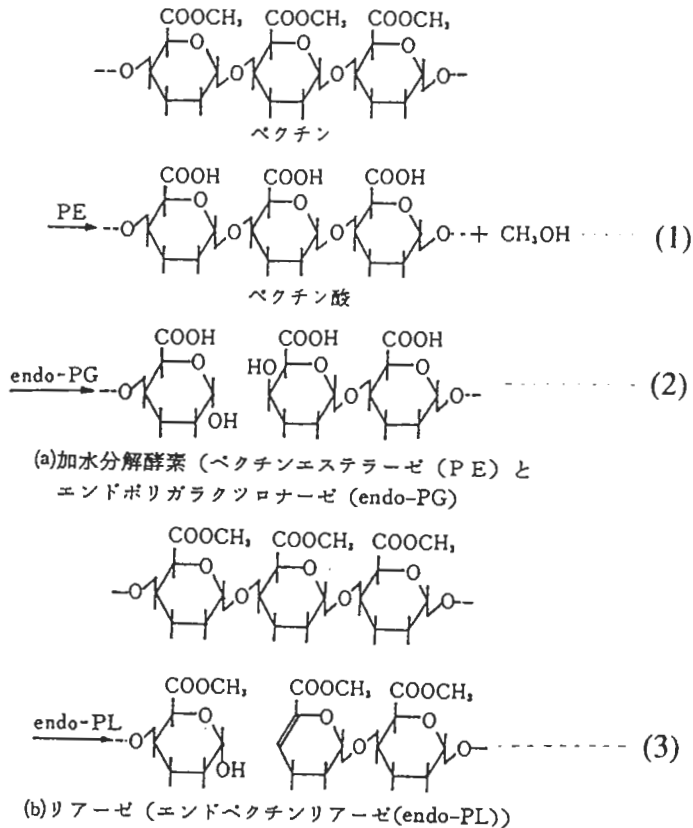


図3 ペクチンの酵素的分解様式

ペクチンによる果汁混濁の障害は圧搾に先立って上記のペクチン分解酵素をマッシュ（果実をすりつぶしたもの）に添加することによって解決できる。さらに、ペクチン分解酵素とともにセルラーゼ、ヘミセルラーゼを用いてマッシュ処理するとろ過性が改善され、収率も著しく向上することが見出された。このような複合酵素による分解力は非常に強力であり、果肉をほとんど溶解する。処理後の残滓は皮、柄、芯、種子そして一部の不溶性のセルロース性およびフェノール性物質だけであり、得られるジュースは繊維やミネラルを多量に含んでいる。

ペクチンと共に多糖アラバンは果実の細胞壁の重要な成分であるが、果実濃縮液中のおりの原因となることがある。おりが現われるのはジュースが濃縮されてからしばらく後のことである。従って発生を予測することは難しく、あらかじめアラバナナーゼを添加しておくことが望ましい。

ノボルディスク社は主としてリンゴや梨などのマッシュ処理向けに酵素剤（商品名ペクチネックスウルトラSP-L）を開発した。本酵素剤は *Aspergillus niger* より得られたもので、ポリガラクトナーゼ、ペクチンエステラーゼ、ペクチントランスエリミナーゼの他に、ヘミセルラーゼ、アラバナナーゼなども含まれている。

〔フェノール化合物の除去〕

清澄ジュース製造のために限外ろ過（UF）の使用が一般化しているが、生産されたジュースが不安定になることがある。すなわち、反応性のフェノール化合物がUF膜で止められず、濃縮後、白濁の原因になる。この様な現象を防ぐため、あらかじめラッカーゼを用いて反応性フェノール化合物を特異的に酸化しておくことが推められている。酸化フェノールは高分子の重合体となるので、UFシステムで除外することができる。

〔ワイン製造への利用〕

近年、ワインの高級品指向が進んでおり、特に良い香りのものが好まれている。ワインの中の芳香化合物テルペンは糖と結合している状態では香りが無いが、糖から遊離することにより揮発性になり、香りが出てくる。そこで酵素を使ってブドウの香りを高める新しい方法が開発された。使われている酵素は β -グルコシダーゼであり、ブドウ中の種々のテルペニルグルコシドに作用してテルペンを遊離させる。酵素は発酵の末期から終了時に添加される。本来はブドウ中の β -グルコシダーゼによってテルペンが生成されるが、活性が弱いので、この様な補助的な手段が行われるのである。

テルペンには約50種類が知られており、例えばゲラニオールがバラの香りを与え、テルピネオールは松の香りの主成分である。 β -グルコシダーゼ（商品名ノボフェルム）添加により、ゲベルツトラミナー種の場合にはゲラニオールが40.6%程多く遊離し、チャドナリー種ではテルピネオールが41.2%程多く遊離し、より香りのあるものが得られている。

おわりに

最後に、産業用酵素の進展する用途開発は最近のニューバイオテクノロジーの進歩がその基盤になっていることを強調したい。高発現宿主-ベクター系の開発により工業規模で酵素が生産されるようになり、さらに3次構造の解析データを基に位置特異的変異を導入する事により酵素の性質の改良が可能になった。また、複合酵素系の場合には、個々の酵素遺伝子を単離し、発現させることができるようになり、Monocomponent enzymes を用いて果汁工業、繊維工業などにおいて新しい用途が開発されている。

参考文献

1. 石田賢吾、山本 淳、食品工誌、23、524；24、171；26、168, 1976
2. T. Uwajima, N. Yoshikawa and O. Terada, Agric. Biol. Chem., 37 (7), 1517; 37 (12) 2727, 1973
3. M. Fujimaki, M. Yamashita, Y. Okazawa and S. Arai, J. Food Sci., 35, 215, 1970