



酵素が作るオリゴ糖・多糖

久保亜希子

近年、多くの『オリゴ糖入り』製品を目にする機会が増えた。オリゴ糖は特定保健用食品や機能性表示食品などに用いられており、糖質に詳しくない方でも体に良さそうなイメージをお持ちの方は多いと思う。そのオリゴ糖や多糖の多くが酵素反応を用いて生産されていることをご存知だろうか。天然の植物由来のオリゴ糖の大部分はショ糖(スクロース)、マルトースなどの二糖であるが、市場には多種多様なオリゴ糖・多糖が存在し、さまざまな用途に使用され、特に加工食品の分野では重要な位置を占めている。

オリゴ糖のoligoは「少ない」という意味のギリシャ語を語源としており、単糖が2~10単位程度連結した構造をしている(三糖以上をオリゴ糖とする分類もある)。オリゴ糖は、構成される糖の種類と結合様式によって、性質や機能がさまざまに異なる。多糖は単糖が多数(~10⁶単位)重合した糖のことであり、デンプンやセルロースなどが含まれる。オリゴ糖と多糖の間の大さの糖として重合度10~100程度のものはメガロ糖として分類されることもある¹⁾。

これらの糖質素材の効率的な生産技術の開発には、酵素研究が深くかかわってきた。特に日本には伝統的な発酵生産技術を利用した多くの発酵食品が存在し、現在も世界でトップレベルの技術力を有している。本稿では酵素と糖質素材の開発の歴史、現状と、主な糖質素材について解説するとともに、酵素を用いた独特な製造方法についても紹介する。

糖質素材の生産に欠かせない酵素

酵素と糖質研究の歴史 改めて言うまでもないが、酵素はタンパク質である。20種類のアミノ酸から成り、構成されるアミノ酸の違いにより多様な立体構造をとり、触媒する反応の種類が異なる。生化学の研究史の初期の1833年、フランスのPayenとPersozによって世界で初めて単離された酵素は、ジアスターゼと名付けられた。酵素の名前の最後に-aseをつける命名法は、これに由来するところが大きい。麦芽から分離されたジアスターゼは、 α -アミラーゼと β -アミラーゼを主成分とし、高分子のデンプンを麦芽糖および低分子のデキストリン

に分解することができた。この頃から、糖と酵素の関係は深く、糖の発酵が身近な現象であり、研究対象であったことがうかがえる。その後、高峰譲吉により麹菌より発見されたタカアミラーゼは強力なデンプン消化剤として現在も製造されている。また、高峰は酵素を酒類や食品分野へと利用する可能性を認識し、食品産業へ多大な影響を与えた実業家でもあった²⁾。

酵素の用途 酵素の産業利用は拡大している。酵素の伝統的な利用方法として、微生物自体を利用する発酵技術がある。発酵は微生物の持つ酵素を利用して人間にとって有益な物質を生産するための重要な方法で、微生物の営みによる現象を利用する。酒、パン、チーズ、味噌、醤油など、古来、さまざまな発酵食品の生産に利用されてきた。

1970年代以降は、微生物から抽出した精製(粗精製)酵素を用いる方法が産業用途に活発に利用されるようになり、多種多様な酵素が開発されている。もっとも多様といえるのは食品加工用酵素である。目的に応じた酵素が発見・開発されており、糖質(α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、グルコースイソメラーゼなど)、タンパク質(各種プロテアーゼ、キモシンなど)、脂質(リパーゼなど)の各基質に関わる多様な酵素が生産・販売されているが、特に糖質関連酵素を用いた加工食品分野は発展が著しい。

日用品にも酵素が用いられている。洗剤に配合される酵素の多くはタンパク質、脂肪、糖質汚れを分解する加水分解酵素である。工業製品としては、製紙、バイオエタノールなどの合成に酵素が用いられる。他にも、量は少ないが、医薬品、化粧品、診断薬、試薬などとして利用されている。

酵素市場 2015年の酵素の世界市場は約4,000億円、国内市場は約410億円であり、そのうち産業用は240億円、医薬・研究用は170億円であった。産業用酵素のメーカーとしてはNovozymesやDuPontが市場をリードしており、DSM、Roche、BASFや天野エンザイムなどがある。国内の市販酵素とその用途に関しては、日本酵素協会のサイトで確認することができる³⁾。多くの酵素が入手可能だが、特に、アミラーゼやグルコアミ

ラーゼをはじめ、多くの糖質関連酵素が開発されていることが概観できる。

糖質関連酵素の分類 産業上代表的な糖質関連酵素は加水分解酵素 (EC 3.2.1) および糖転移酵素 (EC 2.4.1) である。前者には α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、デブランチングエンザイムなどが含まれ、後者はグルカノトランスフェラーゼ、ブランチングエンザイムなどが例としてあげられる。

デンプン加工に工業的に用いられる有用な酵素のうち、アミラーゼ関連酵素群に酵素の構造上の類似性があり、グルコシド結合に対する触媒機構に共通性があることが α -アミラーゼファミリーの概念として提唱された⁴⁾。また、アミノ酸配列の類似性を基盤として分類・細分化された糖質酵素のデータベース Carbohydrate-Active enZymes (CAZy) が運営され、ウェブ上で公開されており、世界中の多数の研究者によって知見の蓄積が続けられている^{5,6)}。CAZyでは加水分解酵素、糖転移酵素に加え、多糖リアーゼ、炭水化物エステラーゼ、酸化還元酵素のクラスが設置され、各クラスの酵素はさらに細かく分類されている。特に数の多い糖加水分解酵素 (GH) のクラスには120を超えるファミリーが存在する。このように多彩な糖質関連酵素が新規な糖質素材の開発に利用され、産業化されることを期待したい。

さまざまなオリゴ糖素材

多くのオリゴ糖が酵素を使用して生産されている。国

内で市販されているものを表1にあげ、オリゴ糖の一次機能の特徴である消化性とエネルギー値、二次機能の甘味度を示した^{7,8)}。オリゴ糖には可消化性のものと難消化性のものがあり、可消化性でも比較的緩やかに消化されるものもある。難消化性で低カロリーのオリゴ糖の一次機能が、低う蝕性や整腸作用などの三次機能に与える影響も大きい。また、二次機能としてオリゴ糖はシヨ糖と比較してまろやかな甘味を示すのも特徴である。オリゴ糖の主要なものについて以下に紹介する。

トレハロース トレハロースは自然界ではキノコなどに含まれる希少な二糖であり、産業用にはイソメラーゼと α -アミラーゼを用いてデンプンから生産され、年あたりの生産量は35,000トンを超えるとみられている。二つのグルコースが α, α -1,1グルコシド結合した構造をもち、非還元性であるためメイラード反応などによる褐変(カラメル化)を起こしにくい。その用途は多様で、和・洋菓子、パン、総菜、水産加工品、畜産加工品、レトルト食品、冷凍食品、飲料などの加工食品全般に用いられ、乾燥、凍結から食品を守る役割を持つ。その保水力を生かし、化粧品や医薬品などにも使用されている⁹⁾。

イソマルトオリゴ糖 トレハロースに次いで生産量が多いイソマルトオリゴ糖は、清酒や味噌、醤油などの発酵食品や蜂蜜に含まれるオリゴ糖であり、二つ、または三つのグルコースが α -1,6結合した構造から成り、その構造の一部に α -1,4結合を含むものもある。まろやかでうまみのある甘味が特徴で、保水力が高く、食品の老

表1. 日本で市販されているオリゴ糖

オリゴ糖	原料	製造方法	消化性	エネルギー (kcal/g)	甘味度 (シヨ糖 = 100)
トレハロース	デンプン	イソメラーゼ + α -アミラーゼ	可	4	45
イソマルトオリゴ糖	デンプン	トランスグルコシダーゼ	可 (一部難)	3	42
ガラクトオリゴ糖	乳糖	β -ガラクトシダーゼ	難	2	35
フルクトオリゴ糖	シヨ糖	β -フルクトフラノシダーゼ	難	2	60
バラチノース	シヨ糖	グルコシルトランスフェラーゼ (糖アルコール)		4	42
ラクトスクロース	乳糖 + シヨ糖	β -フルクトフラノシダーゼ	難	2	55
グリコシルスクロース	デンプン + シヨ糖	グルカノトランスフェラーゼ	可	4	50
ニゲロオリゴ糖	デンプン	α -グルコシダーゼ	難	4	45
シクロデキストリン	デンプン	グルカノトランスフェラーゼ	難 (α , β)	2 (α , β)	25
ゲンチオオリゴ糖	デンプン	β -グルコシダーゼ	難	2	苦味
キシロオリゴ糖	キシラン	β -キシロシダーゼ	難	2	40
ラクチュロース	乳糖	化学的異性化	難	2	60
ラフィノース	甜菜	抽出	難	2	21

化抑制に役立つ。また、ビフィズス菌を選択的に増加する整腸作用があり、特定保健用食品の関与成分としても認められている。安定した需要があり、年間11,000トン前後の需要で推移している。

シクロデキストリン シクロデキストリンはデンプンからグルカノトランスフェラーゼにより合成され、独特の環状構造をしているのが大きな特徴である。6, 7, 8単位のグルコースが α -1,4結合で環状化したものは、それぞれ α -、 β -、 γ -シクロデキストリンと呼ばれる。環状構造の内側は疎水性が高く、ゲスト分子を取り込むことができる包接機能を有している。たとえば、練りワサビなどでは香辛成分を安定に保持させることができる。食品分野、医薬品分野、化粧品分野で使用されている。

ガラクトオリゴ糖 乳糖のガラクトース残基の4位に1から4個のガラクトース残基が β -1,4結合したガラクトオリゴ糖は、母乳中のミルクオリゴ糖の一成分である。ビフィズス菌に対する増殖効果作用や整腸作用を有しており、甘みがありながら低カロリーで、ヨーグルトや飲料に用いられている¹⁰⁾。特定保健用食品の用途にも利用されている。耐酸性が高く、酸性下での加熱にも安定で、食品加工時の取り扱いが容易である。2016年ごろから需要が高まり、年間総需要は約4500トン前後と推定される。

酵素の多様な利用方法

オリゴ糖はデンプンを液化酵素で液化したグルコースやマルトース、またはショ糖から製造されることが多いが、酵素の反応特性は実に多様である。独特の方法で製造される糖質素材の製法および特徴について、いくつかの例を紹介する。

リン酸化オリゴ糖 馬鈴薯デンプンには約0.08%のリン酸がエステル結合しており、エキソ型のグルコアミラーゼなどはこのリン酸基の所で作用が止まる。その結果、馬鈴薯デンプンを液化酵素で分解するとグルコースなどとともリン酸化オリゴ糖が生成される。このような酵素が反応できない性質を利用してリン酸化オリゴ糖が製造される。主成分はマルトトリオースからマルトペンタオースにリン酸基が1分子結合した構造であり、複数のリン酸基を含むものもある¹¹⁾。カルシウムなどのミネラル可溶化効果が高く、虫菌予防に有効な素材として食品に利用されている。

高度分岐環状デキストリン モチトウモロコシデンプンにブランチングエンザイムを作用させると、デンプンの分岐構造の疎な部分の α -1,4結合を分解して α -1,6結合し直す反応を起こすことができる(図1)。これによ

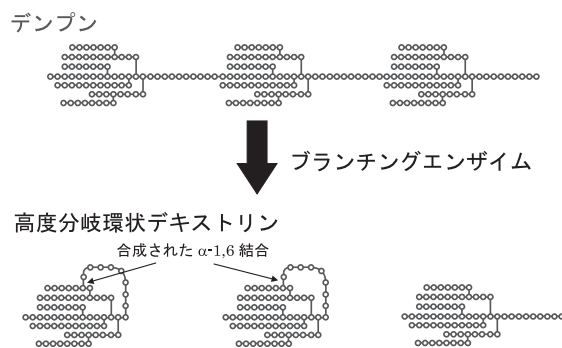


図1. ブランチングエンザイムのデンプンへの作用

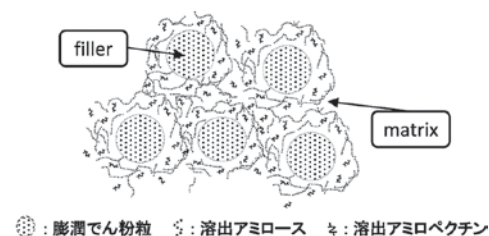


図2. デンプンゲルのfiller in matrix構造模式図。デンプン粒から溶出したデンプン成分(matrix)の網目の中に、溶出したデンプン粒(fillar)が捕捉されている様子を模式化したもの。

り、デキストリンをクラスターという大きな単位で合成することが可能になる。合成された高度分岐環状デキストリンは分子量分布の幅が狭く、分岐鎖の長さは平均でグルコース14.3個であり、一分子あたりグルコース数は平均で580個、重量平均で930個重合した構造をしている¹²⁾。高分子であるにもかかわらず、70%(w/v)もの水への高い溶解度を示し、保存しても老化(白濁)しない。水に溶解する高度分岐環状デキストリンは高エネルギー供給剤としてスポーツ分野で使用されている。

酵素処理デンプン 多くの糖質素材がデンプンの液化液を原料として製造されるのに対し、酵素をデンプン粒の加工に応用し、不溶性のデンプン粒に直接作用させる方法もある。

デンプンは食品をはじめ、さまざまな産業で使用される重要な原料であり、デンプンゲルが生み出す弾力は食品の物性を形成するために活用されている。デンプンの物性はアミロース/アミロペクチン比率や、デンプンの化学修飾により変化するが、ここでも酵素法が活用されている。デンプンを糊化させずに、デンプン粒を維持した状態で α -アミラーゼ処理を行う技術開発により作製された酵素処理デンプンは、デンプンゲルの弾力が顕著に上昇する特徴が確認された。この現象はfiller in matrix構造により説明されている(図2)¹³⁾。その特異な性質を生かして、半液体食品(ドレッシング類、フィリング類)

の増粘剤代替，畜肉加工品分野での高価なタンパク質素材代替のための素材として期待される。

文 献

- 1) Thoma, J. A.: *in Starch, Chemistry and Technology I*, p. 177, Academic Press (1965).
- 2) 山本 綽：日本醸造協会誌, **98**, 696 (2003).
- 3) 日本酵素協会：http://www.j-enzyme.com/enzyme_top.html (2018/10/5).
- 4) Kuriki, T.: *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **18**, 137 (2006).
- 5) CAZy: <http://www.cazy.org> (2018/10/5).
- 6) Henrissat, B.: *Biochem. J.*, **280**, 309 (1991).
- 7) 谷口 肇：生物工学, **91**, 14 (2013).
- 8) シーエムシー出版編集部 監修：機能性糖質素材・甘味料の開発と市場, p. 103, シーエムシー出版 (2017).
- 9) 久保田倫夫：工業用糖質酵素ハンドブック, p. 173, 講談社サイエンティフィック (1999).
- 10) 出口ヨリ子ら：栄養学雑誌, **55**, 13 (1997).
- 11) Kamasaka, H. *et al.*: *J. Appl. Glycosci.*, **44**, 253 (1997).
- 12) Takata, H. *et al.*: *J. Ferment. Bioeng.*, **84**, 119 (1997).
- 13) Ichihara, T. *et al.*: *Food Hydrocolloids*, **55**, 228 (2016).