

ヨーグルトにユニークな特徴を付与するプロテアーゼの開発

(合同酒精(株) 酵素医薬品事業部)
品田 敦子

開発の経緯

当社は、豊かな食生活へ貢献することを企業理念の根幹とし、酒類事業を通じて発酵・培養技術を培ってきた。これらの技術を活かし、乳糖分解酵素〔ラクターゼ：GODO-YNL（以下、YNL）〕をはじめとする種々の酵素を製造・販売している。YNLの各種アプリケーションデータを取得するなかで、さらなる用途開発を目的に、当社の保有する酵素についてデータを取得した。具体的には、ヨーグルトに保有する酵素を添加し、効果の有無を検証した。酵素の中には、効果を示さない、効果を示しても異味を示す酵素などもあったが、*Bacillus*属由来のプロテアーゼでテクスチャーの改変効果を示しつつ、異味や苦みを生じにくい酵素が見つかった。

その酵素が後にADMIL®となるプロテアーゼであった。

変化したテクスチャー

市販の全脂肪牛乳と無脂肪牛乳それぞれにChr. Hansen社のスターターYF-L812を接種した。スターターと同時にADMIL®を0.02%添加し、43℃で約4時間発酵させ、できたヨーグルトを各種試験に用いた。

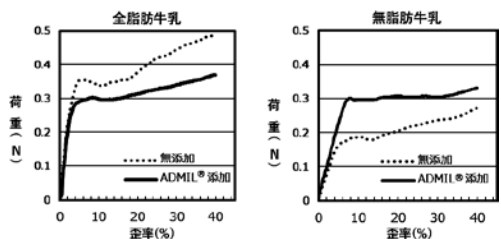


図1. ヨーグルトの破断強度比較

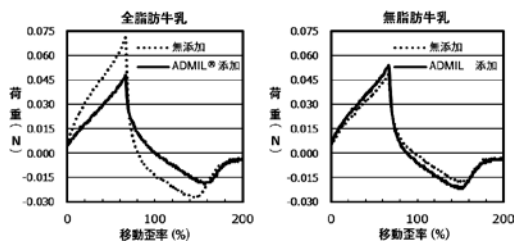


図2. ヨーグルトのテクスチャー比較

原料乳の違いとテクスチャーの違い ADMIL®はできたヨーグルトに対して以下のようなテクスチャー改変効果を示した。

図1に表面の硬さと内部の滑らかさを示す破断強度解析、図2に口中で感じる食感を表すテクスチャー解析の結果を示した。どちらも左側に全脂肪牛乳、右側に無脂肪牛乳を原料にして作ったヨーグルトの結果を示している。

図1から、全脂肪牛乳を原料にした場合、ADMIL®添加区では無添加区よりも、表面が柔らかく内部が滑らかなことがわかる。一方、無脂肪牛乳を原料にした場合は、ADMIL®添加区で無添加区より表面が硬くなる傾向がみられた。

図2では全脂肪牛乳を原料とした場合、無添加区に比べ、添加区は柔らかく糸を引く食感を示している。一方、無脂肪牛乳を原料とした場合には違いは見られなかった。

増えたEPS テクスチャーの違いが生じた理由として、EPSが要因ではないかと推察し、同様に作製したヨーグルト中のEPS量を測定した。

EPSとはExopolysaccharideの略で、「乳酸菌が発酵乳中に産生する菌体外多糖」のことである。乳酸菌がヨーグルト中にEPSを産生することで、ヨーグルトらしい食感にするだけでなく、保水性、浸透圧耐性、抗菌物質耐性などの効果により、乳酸菌菌体を保護する役目もある¹⁾。

加えて、腸内細菌の栄養源となり、腸内細菌の短鎖脂肪酸の産生を増加させることによる腸の蠕動運動の促進や、腸管粘膜粘液の分泌促進による便通の改善などのプレバイオティクス効果もある^{2,3)}。さらに、EPS自体が

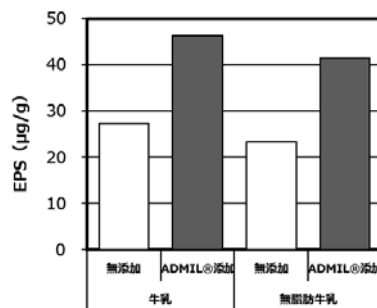


図3. EPS量の変化



免疫細胞に働きかけ、免疫系を賦活化するという機能も確認されている¹⁾。

図3にヨーグルト中のEPSの変化量を示した。EPS量はどちらの原料の牛乳でも無添加区と比較してADMIL[®]添加区で約1.7倍となった。これはADMIL[®]の添加によって乳タンパクが分解され、乳酸菌の増殖が進んだ結果、EPSの産生量が增大したと考えられた。

テクスチャーはなぜ変化したか ヨーグルトのテクスチャーにはタンパク質と脂肪の存在が大きくかかわっている⁴⁾ことから、テクスチャーが変化した理由に、原料の違いとEPSの影響が考えられた。

乳タンパク質の約8割はカゼインが占めており、カゼインがカゼインネットワークとしてゲル様の微細構造をとることでヨーグルトとなる。乳脂肪はネットワーク間に存在することで滑らかなテクスチャーを作り出すことが知られている⁴⁾。

全脂肪牛乳で柔らかく滑らかなテクスチャーになった要因は、ADMIL[®]の添加によりタンパク質を部分分解し、カゼインミセル凝集体を小さくしたことで、滑らかさが向上したためと考えられる。さらに、増加したEPSが増粘剤の役割をし、均一な滑らかさが付与されたと推察される。

一方、無脂肪牛乳で硬くしまったヨーグルトになったのは、増加したEPSが乳脂肪の代わりに本ネットワークを安定化させたためと考えられる。そこにホエーや乳酸菌が入り込むことで離水が抑制され、さらにネットワークが安定化したことで、テクスチャーが強固になったと推察している。

新たな効果

テクスチャーやEPS量の変化の他に、ヨーグルトへのさらなる効果の探索を実施したところ、以下の二つの効果が確認された

①増えたビフィズス菌！！ ヨーグルト中のビフィズス菌についての影響を試験した。

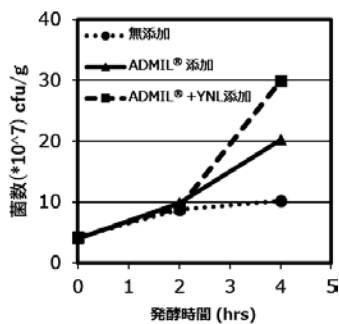


図4. 発酵中のビフィズス菌増殖数変化

ビフィズス菌の持つ機能性は、大きく二つあげることができ、一つ目が整腸作用である。ビフィズス菌は腸内の他の乳酸菌と異なり、乳酸だけでなく酢酸を腸内で産生することで、腸内フローラを改善に向かわせている。さらに、腸内に病原菌が侵入した場合も腸管内定着を防いだり、抗菌作用を示したりして感染防御効果も発揮している。

二つ目の機能性は免疫調節作用である。ビフィズス菌として腸管を刺激することで、免疫力を高めて、免疫系を賦活化させることが知られている⁵⁾。

タンパク分解物やカゼイン分解物を発酵乳の原料に添加すると、ビフィズス菌の増殖効果が見られることは知られており⁶⁾、また、YNLにもビフィズス菌増殖効果が確認されているため⁷⁾、ADMIL[®]単独で使用した場合とYNL併用した場合の影響について試験を実施し、図4に発酵中のビフィズス菌数の変化を示した。

全脂肪牛乳に、Chr. Hansen社のヨーグルトスターター YF-L812とビフィズス菌BB-12を使用したヨーグルトを作製した。試験系は、無添加区、ADMIL[®]添加区、ADMIL[®]とYNL添加区とした。また、それぞれの酵素はスターターと同時に添加して試験を実施した。

無添加区と比較してADMIL[®]添加区では2.1倍、YNLを併用した系では3.9倍もの増殖効果が確認された。この現象は、ADMIL[®]による乳タンパクの分解に加え、YNLによってラクトースの分解が起こり、乳酸菌やビフィズス菌の資化性が変化したことが、一因になったと考えられる。

②発酵促進！！ ADMIL[®]を添加したヨーグルトでは発酵促進効果が確認されている。上述のヨーグルトを作製した際のpH変化を図5に示した。無添加区では発酵終了の目安となるpH 4.6に到達するのに約5時間を要したが、ADMIL[®]添加区では約4時間と、およそ1時間も短縮される結果となった。

ヨーグルト製造時に乳タンパク分解物を添加しても発酵促進が起こることが確認されており⁶⁾、ADMIL[®]を添

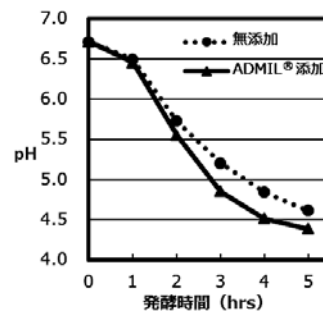


図5. 発酵時間の違い



加した結果、発酵中に乳タンパクの分解が生じ、同様の作用が起きていると考えられる。

製品化にあたって

名づけられたADMIL 前述したさまざまな効果が見つかったプロテアーゼの上市に際し、社内で名前を公募した。その結果、牛乳(=MILK)に利点・強味(=ADVANCE)を加える(=ADD)酵素という意味で「ADMIL®」と名前がつけられた。

まとめ

ADMIL®には、①EPS産生量増加、②ビフィズス菌増殖促進という二つのプレバイオティクス効果と発酵促進効果があるという可能性が示されている。

またADMIL®は、ほかのプロテアーゼなどの酵素よりも苦みや異味が生じにくいといった特徴があり、さらに液状であるため、工場などの現場でも使いやすい酵素だといえる。まだヨーグルトでしか新機能は発見できていないが、今後、さらなるアプリケーションデータの拡充とユニークな機能の発見を目指していきたい。

文 献

- 1) 松崎千秋：生物工学, **93**, 154 (2015).
- 2) 坂田 隆, 市川宏文：日本油化学会誌, **46**, 1205 (1997).
- 3) 武田薬方web: <https://takeda-kenko.jp> (2020/1/10).
- 4) 福田健司, 浦島 匡：乳業技術, **60**, 77 (2010).
- 5) 腸内細菌学会：<https://bifidus-fund.jp> (2020/1/7).
- 6) 北岸孝之ら：日本食品工学会誌, **60**, 11 (2013).
- 7) 国際公開番号 WO 2016/186151