



酵素を利用した豆乳の風味改善技術の開発

馬場美聡¹, 平野啓太¹, 佐藤幸秀², 高山宗幸², 齋藤 努¹

¹不二製油グループ本社株式会社, ²天野エンザイム株式会社

1. はじめに

近年, ①環境問題, ②人口増加に伴う食糧問題, ③動物愛護といった様々な社会課題を背景として, プラントベースフード (PBF) への需要が国内外共に高まっている. とくにダイズのようなマメ科の植物は大豆ミートといった代替肉や豆乳などの植物性ミルクなどのPBFに加工され, 世界中で食されている. しかしながら, PBFでは畜肉や牛乳などの動物性食品には感じられない豆臭さといった異風味が存在し, この異風味が原因となってPBFの国内での普及が思うように進んでいないともいえる. そのため, PBFの異風味を改善する食品加工技術の開発が望まれており, この食品加工技術の1つとして酵素製剤を用いる手法は穏和な反応条件であるため, PBFの品質劣化を起こさない異風味の抑制手法として期待される. これまでに酵素製剤を利用したPBFの風味改善技術を幅広く検討し, 我々はグルタミナーゼSD-C100S (天野エンザイム, 以下グルタミナーゼ製剤と略称) がPBF, とくに豆乳に対して風味改善効果があることを見出している. 本研究では, 豆乳がグルタミナーゼ製剤と反応することにより異風味が改善されるメカニズムを解析した.

2. 試料と実験方法

2.1 試料の作成

低脂肪豆乳 (不二製油) にグルタミナーゼ製剤 (SD-C100S, 天野エンザイム) を終濃度 0.1% (w/w) となるように添加し, 50℃の湯浴で1時間酵素反応を実施した.

2.2 グルタミナーゼ製剤中の酵素の分画

グルタミナーゼ製剤をイオン交換クロマトグラフィーを用いて分画した. 分画して得た画分はN末端アミノ酸配列解析を実施し, 各画分に含まれる酵素を同定した.

2.3 化合物の分析と官能評価

各種化合物の分析はLC-MSMS (液体クロマトグラフ質量分析計) およびGC-MS (ガスクロマトグラフ質量分析計) にて行った. 官能評価は8名の訓練されたパネルに対し, 7点評価法にてダイズ臭の強度を評価した.

3. 結果と考察

3.1 グルタミナーゼ製剤の分画および香気成分分析

グルタミナーゼ製剤中に存在するPBFへの風味改善に効果をもたらしている活性本体を特定するためにグルタミナーゼ製剤をイオン交換クロマトグラフィーを用いて分画を行った. その結果, A画分, B画分, γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ GT) 画分の3つの画分が得られた (図1). 続いて, どの画分が低脂肪豆乳の風味変化に寄与しているかを調べるために低脂肪豆乳を各画分で酵素処理したところ, γ GT画分において風味変化を示した. そこで, 酵素処理を行うことで低脂肪豆乳中の香気成分に何かしらの変化が生じていると考え, 酵素処理を行った試料に対してGC-MSにて分析を行ったところ, グルタミナーゼ製剤および γ GT画分で酵素処理を行った低脂肪豆乳試料でのみフェニルアセトアルデヒドの増加が認められた (図2).

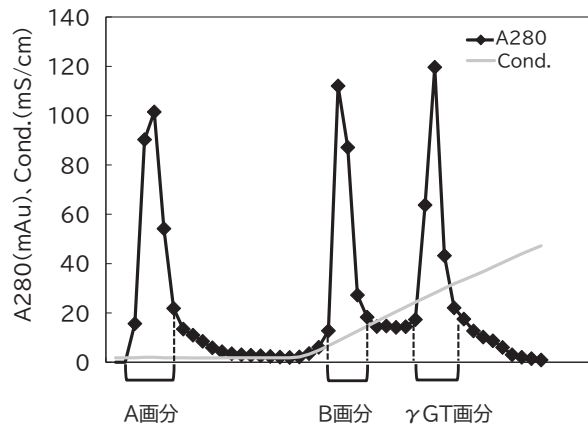


図1 グルタミナーゼ製剤のイオン交換クロマトグラフィー
灰色実線は Conductivity (Cond.), 黒色実線および点は Absorbance at 280 nm (A280) を示す.

〒598-8540 大阪府泉佐野市住吉町1番地
† FAX: 00-0000-0000, E-mail: baba.misato@so.fujioil.co.jp

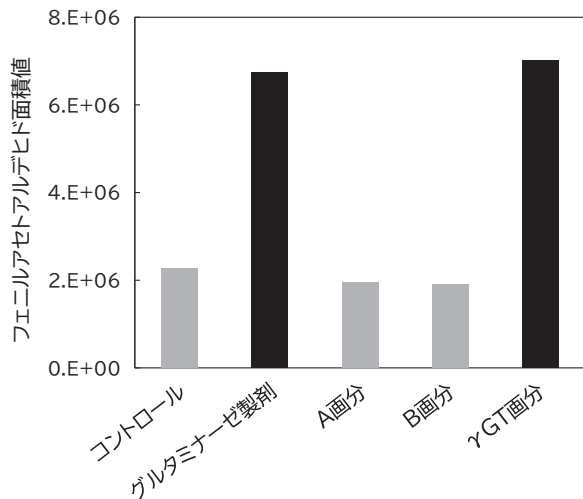


図2 各画分処理した低脂肪豆乳中のフェニルアセトアルデヒドのGC/MS

この結果から、グルタミナーゼ製剤中の夾雑酵素として存在するγGTが一般的にマスキング効果を示すことが知られているフェニルアセトアルデヒドの生成に寄与していることが示唆された。

3.2 γ-グルタミルトランスフェラーゼ (γGT) について

γGTはγ-グルタミル基転移酵素 (EC 2.3.2.2) に分類される酵素で転移反応と加水分解反応を触媒する。反応系が中性域ではγ-グルタミルペプチド (γGP) を基質とし、γGPをグルタミン酸と任意のアミノ酸に加水分解する[1]。しかしながら、この反応機構だけではフェニルアセトアルデヒドの生成を説明することはできない。

3.3 酵素処理低脂肪豆乳の各種分析

γGPの加水分解によるフェニルアセトアルデヒドの生成メカニズムを解明するためにγGTの酵素活性に着目して、低脂肪豆乳におけるアミノ酸とγGPの動態をLC-MSMSにて分析した。アミノ酸分析では、低脂肪豆乳の酵素処理をするとグルタミン酸・フェニルアラニン・チロシンが増加した (図3)。また、ダイズにはγGPとしてγ-グルタミルフェニルアラニン (γ-Glu-Phe)・γ-グルタミルチロシン (γ-Glu-Tyr) が含まれていることが既に知られており[2]、酵素処理をするとこれらのγGPが分解された (図4)。

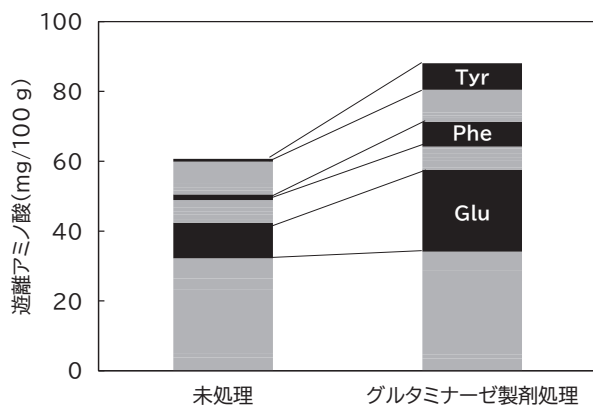


図3 低脂肪豆乳中の遊離アミノ酸含量

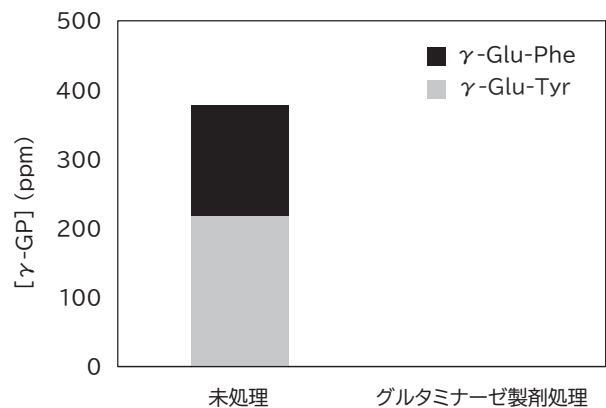


図4 低脂肪豆乳中のγGP含量

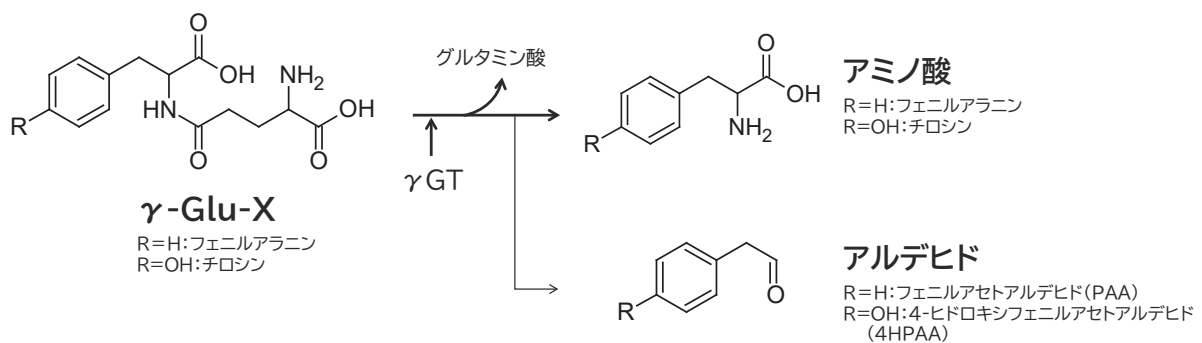


図5 γGPからアルデヒド生成経路の仮説

3.4 アルデヒドの生成経路の仮説

これまでの分析結果から、 γ GTが γ GPを加水分解すると主としてグルタミン酸と他のアミノ酸に分解され、わずかにアルデヒドが生成するという仮説を立てた(図5)。具体的に γ -Glu-Pheからはフェニルアセトアルデヒド(PAA)、 γ -Glu-Tyrからは4-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド(4HPAA)がわずかに生成すると考えられた。

3.5 γ GP 標品を用いたアルデヒド生成の仮説検証

γ GTが γ GPを加水分解するとわずかなアルデヒドを生成するという仮説を検証するために、基質として γ GP標品を用いて酵素反応を実施した。 γ -Glu-Pheおよび γ -Glu-Tyrのどちらの基質もグルタミナーゼ製剤処理を行うことで、1000 ppmの基質からPAAおよび4HPAAがそれぞれ42.4 ppb(生成率0.00424%)、203 ppb(生成率0.0203%)生成した(図6)。

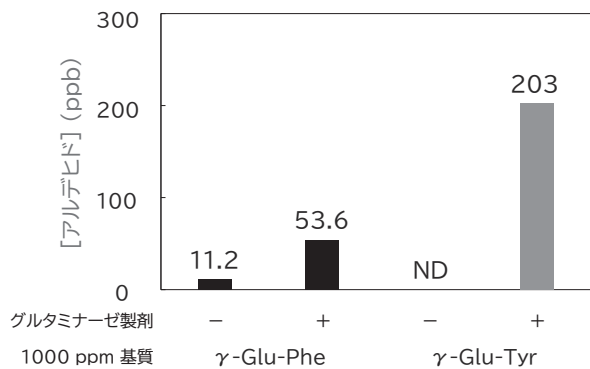


図6 アルデヒドの分析

3.6 アルデヒドによるマスキング効果の確認

理論上生成する2種類のアルデヒドをダイズを原料とする製品に添加し、ダイズ臭の変化について訓練された8名のパネリストによる官能評価を実施した。今回、ダイズを原料とする製品として5%調製豆乳(不二製油)および5%分離大豆たん白溶液(不二製油)を用意し、これらにPAAと4HPAAをそれぞれ6 ppb, 30 ppbの濃度で添加し、添加区とした。非添加区として2種類のアルデヒドを添加していない試料を用意した。点数は4点を基準として、7点評価を実施し、4点よりも点数が高いとダイズ臭を強く感じ、低いとダイズ臭を感じにくいことを示している。非添加区を4点としたときに、添加区でダイズ臭は調製豆乳および分離大豆た

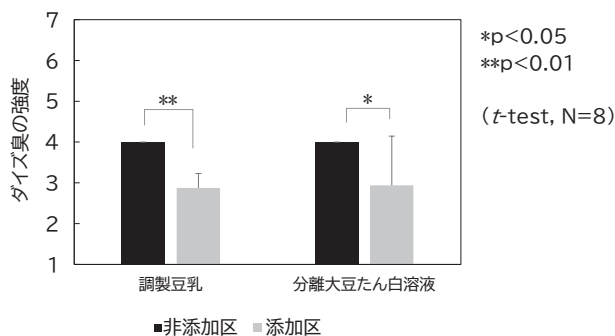


図7 アルデヒド添加区の官能評価

ん白溶液でそれぞれ2.88点、2.94点となり、どちらの製品もダイズ臭が低減した(図7)。この結果から γ GPを有する食品素材は酵素処理を行い、アルデヒドを生成させることで異風味の抑制が可能であることが示唆された。

4. おわり

PBFの風味改善技術開発を目的に不二製油と天野エンザイムの2社で共同研究を実施した。本研究結果より、グルタミナーゼ製剤中の γ -グルタミルトランスフェラーゼが豆乳中の γ -グルタミルペプチドを加水分解することでアルデヒドを生成し、このアルデヒドが豆乳などのダイズ臭をマスキングすることが明らかとなった。ダイズ由来の製品にグルタミナーゼ製剤処理を行う手法は、ダイズの異風味をマスキングし、PBFの風味を良くするための新たな手法の1つとなりうることが示唆された。本手法は食品の品質劣化を起こさない穏和な反応を利用した異風味の抑制手法としてPBFのおいしさを向上させ、PBFのさらなる普及の足掛かりになることが期待される。

引用文献

- 1) C. F. Morelli, C. Calvio, M. Biagiotti, G. Speranza. pH-Dependent hydrolase, glutaminase, transpeptidase and auto-transpeptidase activities of *Bacillus subtilis* γ -glutamyltransferase. *FEBS J.*, **281**, 232-245 (2014).
- 2) M. Shibata, M. Hirotsuka, Y. Mizutani, H. Takahashi, T. Kawada, K. Matsumiya, Y. Hayashi, Y. Matsumura. Diversity of γ -glutamyl peptides and oligosaccharides, the “kokumi” taste enhancers, in seeds from soybean mini core collections. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **82**, 507-514 (2018).