

微生物酵素を用いた新規有用糖質素材の創出



株式会社林原 安田 亜希子

はじめに

弊社は、独自に保有する糖質関連の微生物酵素を、澱粉に作用させることで、マルトース、トレハロースなどの低分子の糖質だけでなく、食物繊維素材であるイソマルトデキストリンなど比較的高分子の糖質についても数多く実用化してきた。微生物酵素は、澱粉を低分子化するだけでなく、グルコース同士の結合様式を変換する役割を持ち、酵素の組合せ方しだいで多種多様な分子サイズと結合様式をもつ糖質を作り出すことが可能である。

糖質の粘度や甘味、老化耐性などの性質は、分子サイズに大きく依存する。さらに、結合様式が変わると、これらの性質だけでなく、消化性など生体での利用にも変化が現れる。

本研究では、独自酵素を駆使した、老化しない高分子デキストリンと低分子の食物繊維素材の創出について紹介する。

1. 老化しない高分子デキストリンの開発

デキストリンは、粉末化基材、粘度を活かした物性のコントロールの他、エネルギー源としても広く活用されるが、食品中での老化が課題となることが多い。市販デキストリンは大きくても Mw が 1×10^5 (デキストロース換算, DE: 2-5) であるが、分子量が大きいほど老化しやすいことが知られている。

我々は、土壌分離菌 *Paenibacillus alginolyticus* PP710 が産生する α -グルコシルトランスフェラーゼを重量平均分子量 (Mw) 1×10^6 のワキシコーンスターチの部分加水分解物 (WS-1000) に作用させて修飾高分子デキストリン (MWS-1000) をパイロットスケールで製造することに成功した¹⁾。MWS-1000 は、原料澱粉のアミロペクチンのグルコース鎖の非還元末端に α -1, 6分岐が導入された構造をしている (図1)。酵素の作用を制御することで、重量平均分子量約 1×10^6 、数平均分子量約 3×10^4 の高分子デキストリンを得ることが可能で、その DE は 1未満と極めて低値である¹⁾。

MWS-1000 は、30% (w/w) 水溶液を冷蔵で4週間保存しても白濁による濁度の上昇はなく、レオロジーおよび熱量測定においても老化現象は確認されなかった^{1, 2)}。また、この溶液は

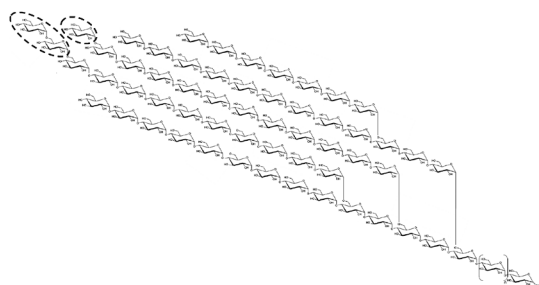


図1. MWS-1000の推定部分構造
破線部分は α -1,6 結合を持つグルコース残基を示す。

凍結解凍を繰り返しても濁度が上昇せず (図2)、粘度も低下しなかった。このように、MWS-1000 は低DE で分子量が大きいにもかかわらず、デキストリンが老化しやすい条件でも老化現象は観察されず、冷蔵・冷凍時の安定性に優れた特徴を持つことがわかった。WS-1000の一部をマルトースに置き換えても老化を抑制できなかったため (図2)、MWS-1000の高い老化耐性は、原料澱粉のアミロペクチンのグルコース鎖の非還元末端に導入された α -1,6分岐が寄与すると推察された¹⁾。

基本的な物性として、MWS-1000 は高分子特有の高い水和特性と粘度を示す^{2, 3)}。ゲル化した小麦澱粉の粘弾性に及ぼす MWS-1000 の影響を調べたところ、MWS-1000 含量が増加するにつれ線粘弾性領域での貯蔵弾性率は低下し $\tan \delta$ は増加し、市販カスタードクリームと同様の挙動を示した²⁾。

生体内において、MWS-1000 は消化吸収されてエネルギー源となる³⁾ため、流動食、介護食、スポーツ用途など、エネルギー供給をターゲットとした食品への配合も可能である。これらの特性と、安定で老化しないことを活かすことで、新しい物性や用途の食品設計に貢献できることが期待される。

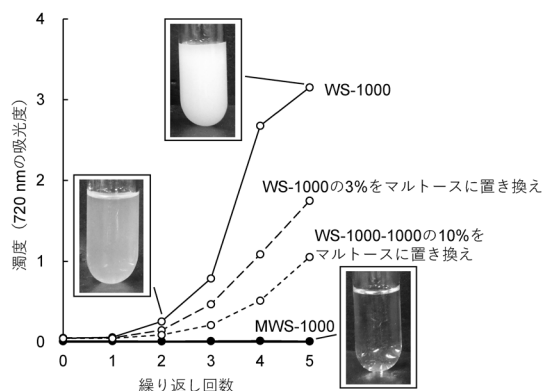


図2. 冷凍耐性
30% (w/w) 水溶液について冷解凍を繰り返した。

2. 環状四糖水飴テトラリング®の開発

我々は、環状四糖の一種、環状ニゲロシルニゲロース (CNN, *cyclo*- β -1 \rightarrow 6)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 3)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 6)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 3)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow) がユニークな構造であり (図3)、最も分子量の小さい食物繊維のひとつであることに注目してきたが、実用化には至っていなかった。市販されている一般的な食物繊維は分子量が大きく食品物性に大きな影響を及ぼすこと、また食品加工のプロセスにおいて作業性が悪いことなどの課題に着目し、分子量が小さく、水飴形態で作業性の良い食物繊維素材の開発を目指した。そこで、すでに確立された従来の CNN の製法⁴⁾を改良し、CNN を生成する *Bacillus globisporus* N75 由来の 6- α -グルコシルトランスフェラーゼと 3- α -イソマル

トシルトランスフェラーゼの2つの酵素と、*B. stearothermophilus* TC-91由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、*Pseudomonas amyloclavata*由来イソアミラーゼを組み合わせ、澱粉から工業スケールでCNN水飴を製造することに成功した^{5-7, 12}。本水飴は、CNNを主成分とし、分岐CNNや直鎖の α -1,3あるいは α -1,6グルコシル残基からなる糖質から構成され(図3)、食物繊維が76%(酵素-HPLC法)、Mwが807と小さく、適度な甘味(甘味度;25)を示した^{8, 12}。本水飴の最大無作用量は、男性で0.88 g/kg体重、女性で0.89 g/kg体重と判定され、下痢を起こしにくい食物繊維素材であることが明らかになった^{8, 12}。また、本水飴のカロリーはCNNが0 kcal/gであることと、CNN以外の部分は消化吸収されることから2 kcal/gであると算出された⁹⁻¹²。本水飴摂取時の血糖値およびインスリン濃度の上昇は穏やかであった^{9, 12}。実際に、種々の食品に添加しても元々の食品物性にほとんど影響を及ぼさず、食物繊維を強化することができた。物性面では、CNNのガラス転移温度は直鎖四糖よりも高いことが特徴的であり^{6, 12}、既存の水飴とは異なる新しい用途の発見が今後期待される。これらの成果を受け2021年6月に、本水飴はテトラリング[®]の製品名で上市するに至った(製品規格:表1)。

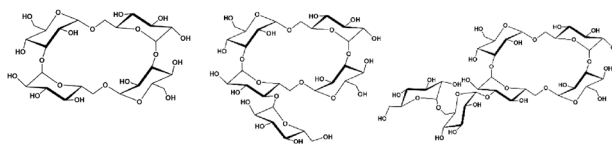


図3. CNNおよび主な分岐CNNの構造式
左からCNN, 4-O-glucosyl-CNN, 3-O-isomaltosyl-CNN.

表1. テトラリング[®]の製品規格

固形分	71.0%以上
pH*	3.5~6.5
食物繊維(酵素-HPLC法)	72.0%以上(固形分当たり)
総環状四糖量	45.0%以上(固形分当たり)
グルコース	6.0%以下(固形分当たり)

*30%水溶液を測定。

テトラリング[®]の特徴は^{7, 12}、既存の食物繊維素材の抱える膨らまない、べたつくといった課題を解決できることである。主な解決例を図4に示す。現在、多くの食品メーカーにおいて評価を進めていただいております。既に採用された食品が販売されている。また、さらなる用途開発を進めており、食品への配合評価だけでなく、腸を起点とした生理作用の評価¹³などを進め、人々の健康増進への貢献を目指している。



図4. テトラリング[®]による食物繊維配合食品の課題解決例
いずれも左が一般的な高分子の食物繊維素材、右がテトラリング[®]の配合品。

おわりに

本研究では、独自に保有する微生物酵素を駆使することで、

澱粉から高分子であるにもかかわらず老化しないデキストリンや、食物繊維としては分子量が小さく食品加工しやすい環状四糖水飴を創出することができた。これらの糖質は、澱粉を低分子化しただけでは得られない性質を有しており、多様化が進む食品加工において役立つ素材になることが期待される。

(引用文献)

- 1) Yasuda A, Miyata M, Sano O *et al.* A novel dextrin produced by the enzymatic reaction of 6- α -glucosyltransferase. I. The effect of nonreducing ends of glucose with by α -1,6 bonds on the retrogradation inhibition of high molecular weight dextrin. *Biosci Biotechnol Biochem*, Vol 85, p 1737-1745, (2021).
- 2) Sumida R, Kishishita S, Yasuda A *et al.* A novel dextrin produced by the enzymatic reaction of 6- α -glucosyltransferase. II. Practical advantages of the novel dextrin as a food modifier. *Biosci Biotechnol Biochem*, Vol 85, p 1746-1752, (2021)
- 3) 安田亜希子, 伊藤理恵, 小川 亨ら. 老化しない新規高分子デキストリンは高い水合特性に起因するユニークな物性を示すと同時に消化吸収されエネルギー源になる. 日本農芸化学会2020年度大会講演要旨集, p 491, (2020)
- 4) Aga H, Nishimoto T, Kuniyoshi M *et al.* 6- α -glucosyltransferase and 3- α -isomaltosyltransferase from *Bacillus globisporus* N75. *J Biosci Bioeng*, Vol 95, p 215-224, (2003)
- 5) 安田亜希子, 宮田 学, 山本拓生ら. 環状四糖(CNN)水あめの調製法の検討. 日本農芸化学会2021年度大会講演要旨集, p 323, (2021)
- 6) 川内優輝, 安田亜希子, 宮田 学ら. 環状四糖(CNN)水あめの工業スケールでの調製とその構造および基礎物性. 日本農芸化学会2021年度大会講演要旨集, p 324, (2021)
- 7) 安田亜希子, 宮田 学, 山本拓生ら. 環状四糖を含有する糖組成物とその用途並びに製造方法. WO2021/066159
- 8) 櫻井岳夫, 安田亜希子, 黒瀬真弓ら. 環状四糖(CNN)水あめの諸性質と下痢に対する最大無作用量. 日本農芸化学会2021年度大会講演要旨集, p 325, (2021)
- 9) 内田智子, 安田亜希子, 溝手晶子ら. 環状四糖(CNN)水あめの消化性および整腸作用. 日本農芸化学会2021年度大会講演要旨集, p 758, (2021)
- 10) 溝手晶子, 安田亜希子, 石田有希ら. 環状四糖(CNN)水あめのエネルギー評価とヒト腸内発酵性. 日本農芸化学会2021年度大会講演要旨集, p 759, (2021)
- 11) Mizote A, Yasuda A, Yoshizane C *et al.* Evaluation of the relative available energy of cyclic nigerosylnigerose using breath hydrogen excretion in healthy humans. *Biosci Biotechnol Biochem*, Vol 85, p 1485-1491, (2021)
- 12) Yasuda A, Mizote A, Miyata M *et al.* Development of a method for preparing cyclic nigerosylnigerose (CNN) syrup and investigation of its value as a dietary fiber. *Biosci Biotechnol Biochem*, (投稿中)
- 13) Tsuruta T, Katsumata E, Mizote A *et al.* Cyclic nigerosylnigerose ameliorates DSS-induced colitis with restoration of goblet cell number and increase in IgA reactivity against gut microbiota in mice. *Biosci Microbiota, Food Heal*, Vol 39, p 188-196 (2020)

謝辞 本研究は、株式会社林原の研究・開発・営業に携わる多くの方々に支えていただきながらおこなわれたものです。また、国立大学法人 広島大学大学院 川井清司教授、国立大学法人岡山大学大学院 鶴田剛司准教授との共同研究は素材の性質を見極めるうえで欠かせないものであります。本学会の皆様にも多くのご指導ご鞭撻を賜りましたことも、本研究を進めるうえで大きな支えとなりました。心より感謝申し上げます。