

酵素による加工食品のフレーバー改善

根 来 秀 夫

I. 緒 言

酵素は生細胞によって作られる生体触媒であり、生物体の示す複雑な酸化、還元、加水分解、合成などの種々の化学反応を行っている。その化学的本態は蛋白質を主体とし、なおそのほかに低分子の補助的な成分（補酵素）を含むことがある。

酵素が蛋白質であるということは極めて意味深いことで、その特性を反映して二つの著しい特徴を持っている。その一は温和な反応条件で最高の活性を発揮すること、その二は基質特異性が高いことである。

食品は多種多様の成分組成と組織構造を持っているが、このような複雑な系を加工処理する場合に、上述のような酵素の特性は極めて有利なものと考えられる。即ち、温度、pHなどの作用条件がおだやかなため、食品の品質はそこなわれず、また厳密な基質特異性のために、不要な化学変化を引起すことなしに目的の反応のみを達成させることが可能である。そのほか、酵素自体に毒性がなく、無味無臭で食品価値をそこなわない、低濃度で急速に働らく、必要な時に加熱などで、酵素を不活性化させて反応を止めることができるなどの食品加工における操作上の利点があり、従来果し得なかった食品の加工法も、酵素の活用によって解決し得る場合が多いものと考えられる。

ここ20年ほど前から、酵素の精製技術が急速に進歩し、多くのものが結晶状に単離されるようになって、その物理化学的性質がかなり明らかになって来た。このような知識は、酵素を安定な商品として供給し得ることに貢献したのみならず、従来食品加工上の一つの難点であった随伴する色、臭気の問題を解決した。他方微生物学の進歩によって、多くの微生物は、従来動植物に見出さ

れていたと同様な酵素を生産し得ること、またそれらには見出されなかった貴重な酵素を豊富に分泌生成し得ることが判明し、さらに近年の遺伝学の進歩による優良菌株獲得法の発達、酵素生成機作の解明、微生物培養法の進歩によって、酵素生産量を飛躍的に増大する可能性が高まった。

このような実状を背景として、酵素の食品加工その他への応用は急速な発展をとげつつある。その中で、最近、酵素を食品のフレーバーの生成、賦香に利用しようとする試みが行われ、成功を収めている。この研究は、酵素のもつ特性を巧みに活用した斬新なアイデアであり、今後の食品加工にも一つの方向を与えるものとして注目に値するものと考えられるので、その概要を紹介したい。

II. 酵素によるフレーバー発生の原理

言うまでもなく、風味は食品の生命ともいうべき極めて重要なもので、食品加工においては、その食品に特有の好ましい香りをつけたり、またはいとわしい臭いを除去することはかなり大きな分野を占めるものであり、食品加工の中で最もデリケートな技術として重要視されている。しかし、その化学的方法は非常におくれており、発酵法によるか、天然または合成フレーバーの添加によってフレーバーの強化をはかることが行われているにすぎない。食品衛生に関する慎重な配慮から、合成フレーバーの使用には厳密な規制が必要であり、また香りの成分の多くは揮発性物質であり、加熱に対して不安定で、光の照射によって **off-flavor** を発生しやすいので、加工工程によってもとの香調を損じやすい。したがって、フレーバー強化食品および嗜好品の多くは、自然のままの新鮮な香調に不足しやすい。一方天然物より回収したナチュラルフレーバーは、種類によってはまだコスト高になるので、一般に使用することが難しい。

前述のように、およそ自然界に生起するあらゆる生化学的現象は、酵素による触媒反応によるものであるから、この酵素を食品のフレーバーの生成、賦香に利用することは当然考えられることである。事実、食品のフレーバー生成に酵素を利用することは、人類の歴史と共に極めて古いことである。周知のよう

に、多くの食品は所謂醸造法によって作られている。酒、ビール、味噌、醤油、酢、納豆、チーズ、バターなどの食品は化学的合成法では不可能な微妙な香味があり、消費者の要望に適した嗜好的な面が第一に尊ばれている。それら発酵食品の品質を支配する風味物質の生成は極めて複雑であるが、これを酵素学の立場から解析して見ると、それぞれ特有の酵素の相接続した反応の結実であることに間違いはない。ただこれら複雑な風味成分の生成に関与するすべての酵素系を適量用いることは實際上不可能であり、またこれら酵素系の確認も統制条件も十分に把握されていないために、微生物そのものを利用した醸造法に依存せざるを得なかったのである。

所が、最近の食品化学の進歩にともなって、食品のフレーバー発生機構が次第に明らかになり、一方、酵素化学の各方面での発展に裏づけられて、目的とする酵素剤が経済的に供給されるようになり、さらに従来食品加工上最も大きな難点の一つであった酵素剤に随伴する色や、臭気の問題が解決された事もあって、所謂フレーバー酵素なるものが食品加工の方面にとり入れられて成功を収めている。

Hewitt⁴⁾によれば、酵素によるフレーバー発生機構の要点は次のようなものである。即ち、果実、野菜などの生鮮食品の特徴あるフレーバーは、それら生体の正常な代謝作用の結果として、生体組織内に生成される化学物質に起因するものである。このようなフレーバーは、多分フレーバー前駆物質 (flavor precursor) と呼ばれるものから生成されるもので、その化学変化は、その生物体に存在しているある種の酵素の働らきによって、触媒されるものと思われる。このフレーバー前駆物質は、比較的加熱に対して安定なので、加工処理によって食品のもつフレーバーは失われても、前駆物質は変化を受けずに残存している。これに酵素を添加することによって死蔵されている前駆物質をフレーバーに変化せしめることができる。彼はこれら一群の酵素に “flavorase” なる名称を与えた。このフレーバー酵素なる言葉はかなり広い範囲の意味に用いられており、“風味に関与する酵素” とでも訳すべきものと考えられ、その酵素の本体は、それぞれの食品に対して極端に異なる性格のものも含まれている。

食品，例えば多くの果実や野菜類のフレーバーは脱水，凍結，または製缶などの操作によって部分的に失われたり，著しい変化を受ける。このような加工食品は，貯蔵中の安定化，微生物の発生防止のため，ブランチングなどの加熱処理を行っているので，フレーバー酵素を含めて，ほとんどすべての酵素は破壊されている。したがって，フレーバーは加工後も変化せずに残った新鮮なフレーバーと，もとのフレーバーの変化したもの，加工過程に生じたフレーバーの組合せからなる。

前述のように前駆物質は加工処理後も安定に保たれているので，これを新鮮食品から抽出して得られたフレーバー酵素によって，真のフレーバーに転換せしめることができれば，フレーバーの乏しい加工食品に新鮮な食品の風味を附与することができる。その概略は図1の如くであり，その効果は図2で説明される。

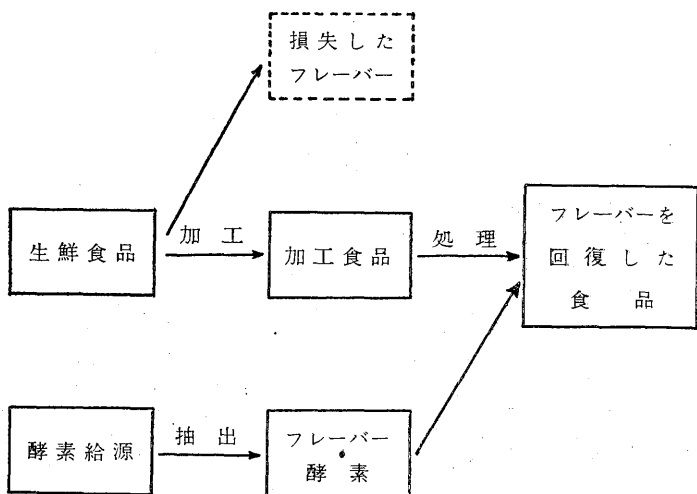


図1 フレーバー酵素によるフレーバーの回復

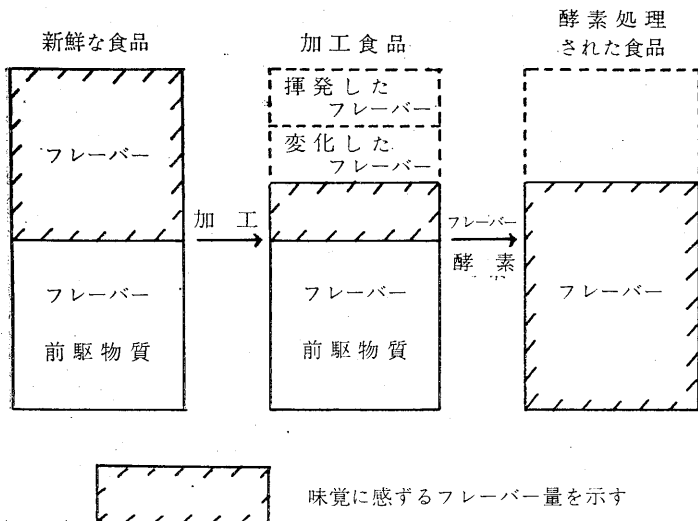
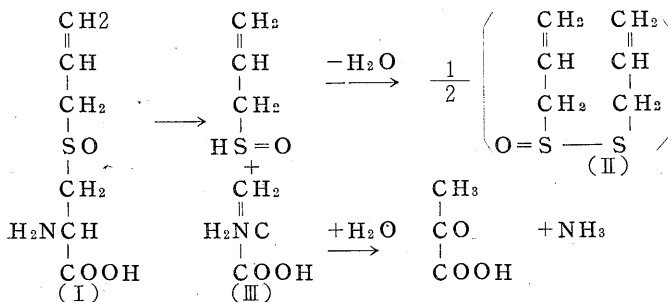


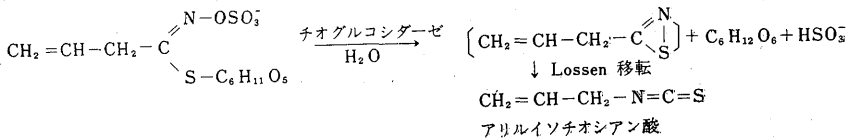
図2 加工によるフレーバーの損失と酵素処理による
フレーバー発生機構

古くから、このようなフレーバー発生機構を考慮したものとして、粉ワサビ、カラシ粉末などがある。香辛料の貯蔵形態は、近年の即用性を尊重する傾向から粉末であることが多い。このような乾燥粉末は、香味の前駆物質およびフレーバー酵素を含有している。これは、加水分解酵素に共通の基質である水を除去して酵素反応を抑制しているわけであり、使用時加水すると酵素作用によって前駆物質からフレーバーが発生するものである。例えばガーリックの場合には、酵素アリイナーゼが前駆物質アリイン (I) を分解して、特有のフレーバーを有するアリシン (II) と α -アミノアクリル酸 (III) を生じる。



この酵素は最適 pH が 5～8 と広い範囲にわたっているので、磨碎物の pH については特に注意しなくてもよい。しかし加熱に対しては鋭敏で、最適温度の 37° C 以上では活性が著しく低下する。50° C に保存すると急激に失活するので、加工保蔵温度に留意しなければならない。

ワサビの場合には、次のような反応がおきて辛味成分のアリルイソチオシアン酸を生ずる。



このようなことから、粉末香辛料を保存するに当っては、酵素反応を抑制するが、酵素の失活を来さない様に、低温、低水分の条件で保つことが必要である。凍結乾燥した粉末ワサビでは、水分含量とシニグリンの残存量の間には表 1 のような関係がある。

表 1 凍結乾燥ワサビ粉末の水分含量と保存中の辛味成分の変化

| 水分量 (%) | 残存シニグリン中のアリルイソチオシアン酸量 (μg/g) | | | | | |
|---------|------------------------------|------|------|------|-----|--------------|
| | 保 蔵 日 数 | | | | | 75日後の残存率 (%) |
| | 0 | 19 | 27 | 41 | 75 | |
| 0.5 | 12.3 | 12.1 | 11.8 | 11.4 | 8.3 | 67 |
| 1.6 | 12.4 | 12.0 | 10.1 | 10.0 | 7.7 | 62 |
| 2.8 | 11.7 | 9.7 | 9.3 | 8.4 | 5.3 | 45 |
| 4.1 | 11.9 | 11.0 | 7.6 | 7.6 | 3.9 | 38 |
| 5.9 | 12.3 | 6.7 | 6.7 | 4.2 | 0.3 | 2 |

(保蔵条件: 38° C, 暗所)

水分が 1% 前後のものでは、かなり長期間の保存に耐えるが、5% 以上になると 2～3 ヶ月後に加水しても、もはや辛味を生じない。これは保存中にチオグルコシダーゼが作用して有効成分のアリルイソチオシアネートを生じ、これ

が揮散するためである。

次にフレーバー酵素の実用例について説明する。

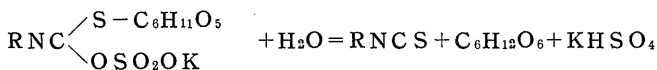
Ⅲ. 野菜のフレーバー再生

a) Water cress (タガラシ)¹⁰⁾

タガラシをブランチングせずに、または蒸気や熱水でブランチングした後に乾燥すると、いずれの場合にも新鮮物のフレーバーは完全に消失する。所が、この乾燥物に新鮮なタガラシの抽出物を加えると、新鮮なものと同じフレーバーを再生する。ブランチング処理をせずに乾燥した場合には、フレーバーは完全に再生され、また、蒸気ブランチングしたものは大部分回復する。しかし熱水にてブランチングしたものからは、ごく僅かしか香気の発生がみられない。この最後の場合、ブランチングに用いた水に、新鮮なタガラシの抽出液を加えると、新鮮物のフレーバーが再び現われてくる。この場合供試タガラシの水抽出液を加熱すると、フレーバー生成効果は全く見られない。以上のような諸事実から、⁷⁾ 香気発生過程は酵素的な反応であり、この反応を触媒する酵素系は水によって抽出されること、この酵素の基質は加熱に対して安定で、水溶性の物質であることが明らかとなった。黒カラシやキャベツ種子から調製した酵素でも同様な効果があった。

b) キャベツ⁴⁾

キャベツ、カラシ、セイヨウワサビ、タガラシなどのフレーバーは大部分 mustard oil (芥子油) から導かれる。mustard oil (isothiocyanate) はシニグリン (black mustard) あるいはシナルビン (white pepper) のような thioglucoside から thioglucosidase の作用を受けて、次のような反応式に従って生成される。



新鮮なキャベツを乾燥すると、乾燥工程中に揮発性硫黄化合物の一部またはほとんど全部が揮散損失する。この乾燥キャベツに、キャベツまたはカラシか

らとった酵素（キャベツの葉またはカラシ種子を磨碎して、石油エーテルで脱脂し、その水抽出物に冷アセトンを加えて生ずる沈殿物）を添加すると、新鮮キャベツに類似した香りを発生する。その際の揮発性硫黄化合物の生成状態を示せば図3、図4および表2のごとくなる。

| | Known Thioureas | 1 Dehydrated Cabbage Mustard Enz. | 2 Dehydrated Cabbage Cabb. Enz. | 3 Dehydrated Cabbage NH ₄ OH tr. |
|--------------------------|-----------------|--|--|--|
| Methyl | ○ A | ○ 7 | ○ 7 | ○ 7 |
| Ethyl | ○ B | ○ 2 | ○ 5 | |
| Allyl | ○ C | ○ 8 | ○ 8 | |
| 3-Butenyl | ○ D | ○ | ○ 4 | |
| sec-Butyl | | | | |
| ω-Methyl sulf-d-n-propyl | ○ E | ○ 4 | ○ 5 | |
| n-Butyl | ○ F | ○ | ○ | |
| 4-Pentenyl | ○ G | | | |
| Phenyl | ○ H | | | |
| β-Phenyl ethyl | ○ I | | | |
| n-Hexyl | | | | |

図3 乾燥キャベツに対するカラシおよびキャベツ酵素効果の比較

| | Known Thioureas | Fresh Cabbage Before NH ₄ OH tr. | Cabbage After NH ₄ OH tr. | Dehy. Cabbage + Cabb. Enz. |
|----------------|-----------------|---|--------------------------------------|----------------------------|
| | ○ A | ○ 9 | ○ 7 | ○ 7 |
| | ○ B | | ○ 7 | ○ 5 |
| | | | ○ 5 | ○ 7 |
| | ○ C | ○ | ○ | ○ 9 |
| | ○ D | ○ 5 | ○ 5 | ○ 6 |
| | ○ E | | | ○ 6 |
| | ○ F | ○ 5 | | ○ 5 |
| | ○ G | | ○ 8 | |
| | ○ H | | | |
| | ○ I | | ○ 7 | |
| β-Phenyl ethyl | ○ J | ○ 5 | ○ 7 | |
| n-Hexyl | | | | |
| | | ○ 9 | ○ 9 | |

図4 新鮮キャベツと酵素処理再生キャベツの比較

表2 新鮮および加工処理キャベツの揮発性硫黄化合物

| | 新鮮キャベツ | 乾燥キャベツ | 乾燥キャベツ酵素 |
|------------------------|--------|--------|----------|
| Isothiocyanates | | | |
| Methyl- | + | 0 | 0 |
| n-Butyl- | + | 0 | + |
| Butenyl- | + | 0 | + |
| Allyl- | + | 0 | + |
| Methylthiopropyl- | + | 0 | 0 |
| Sulfides | | | |
| Hydrogen | + | 0 | 0 |
| Carbonyl | + | 0 | + |
| Dimethyl | + | + | + |
| Diethyl | + | 0 | 0 |
| Dibutyl | + | 0 | 0 |
| Disulfides | | | |
| Carbon | + | 0 | + |
| Dimethyl | + | 0 | + |
| Methyl ethyl | + | 0 | 0 |
| Diethyl | + | 0 | 0 |
| Ethyl propyl | + | 0 | 0 |
| Dipropyl | + | 0 | 0 |
| Propyl buyl | + | 0 | 0 |
| Propyl allyl | + | 0 | 0 |
| Diallyl | + | 0 | 0 |
| Trisulfides | | | |
| Dimethyl | + | 0 | 0 |

本反応に用いた thioglucosidase の活性を一定条件下で遊離されるブドウ糖量で測定した結果は図5のようである。

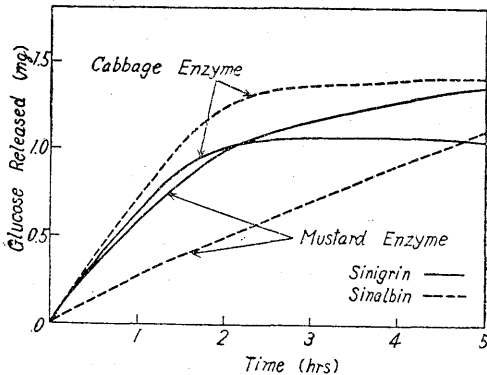


図5 シニグリンおよびシナルビンに対するキャベツとカラシのチオグルコシダーゼの効果

11) Bailey らは新鮮キャベツと乾燥キャベツ, および乾燥物を酵素処理したも
 のについて, 揮発性硫黄化合物を gas chromatography および mass spec-
 trometry で比較した。その結果は図6の通りであり, 乾燥キャベツには
 isothiocyanate は検出されないが, 新鮮キャベツおよび酵素処理物には明ら
 かに, 大量の allyl isothiocyanate と僅かの n-butyl isothiocyanate の
 存在が認められる。

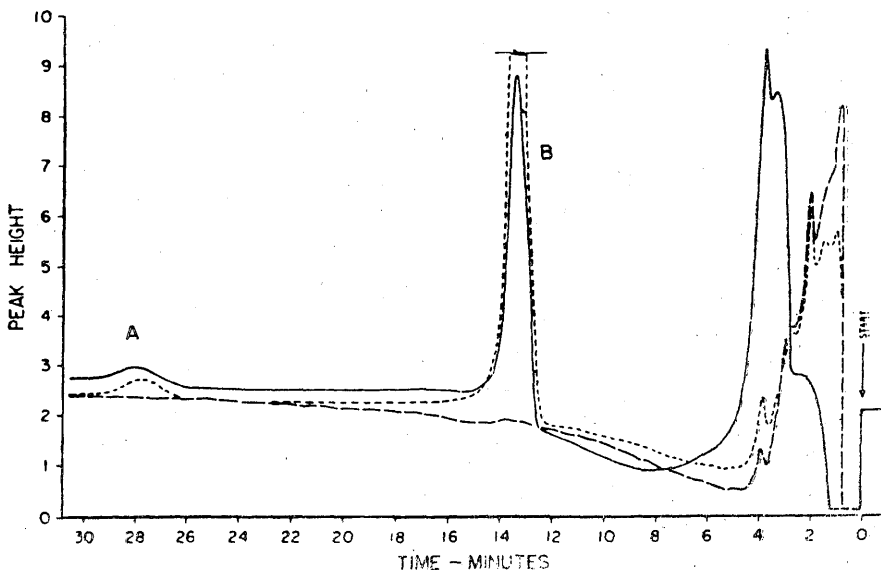


図6 isothiocyanate の酵素的遊離

A : n-butyl isothiocyanate

B : Allyl isothiocyanate

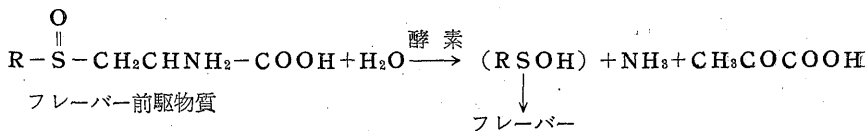
—— 新鮮キャベツ

----- 乾燥キャベツ

..... 乾燥キャベツの酵素処理物

c) 玉ネギ⁴⁾

玉ネギを破碎すると次に示すような反応で刺戟臭が発生する。



即ち、S-substituted-L-cysteine 化合物は存在する sulfoxidase によって不安定な sulfenic acid (RSOH) とアンモニアとピルビン酸にかわり、sulfenic acid は自発的に変化して特有のフレーバーとなる。Hewitt⁴⁾ は玉ネギの可溶性区分から活性なフレーバー酵素を調製し、これを加熱処理した玉ネギのフレーバー増強に利用した。Schwimmer^{12,13)} は玉ネギから作った sulfoxidase と S-propyl cysteine sulfoxide との反応について研究し、1モルの基質が消失するに伴って、1モルのアンモニアと1モルのピルビン酸が作られること、新鮮な玉ネギジュースの臭いを感じ得る限界濃度と、そのジュース中で酵素的に生成されるピルビン酸量との値に相関関係のあることを見出した。玉ネギ粉碎後に95%以上のピルビン酸が玉ネギ組織中の酵素によって生成される。刺戟の弱い玉ネギでは2~4 μmol/g、中間のもので8~10 μmol、強いもので15~20 μmolを生成する。

d) インゲン豆⁴⁾

フレーバー酵素の多くのものは、以上のように加水分解酵素であるが、酸化還元酵素も無視できない。例えば、インゲン豆から調製した粗酵素標品(四磷酸塩…pH7.0あるいはクエン酸塩、リン酸緩衝液…pH9.3で抽出した可溶性区分から、冷アセトンまたはエタノールで沈殿せしめたもの)は、lipase, glucosidase, peroxidase, alcohol dehydrogenase を含み、冷凍、乾燥および缶詰インゲン豆に新鮮フレーバーを付与する作用を示す。インゲン豆の主要フレーバー成分が2-Hexenalであることから、alcohol dehydrogenaseが重要なフレーバー酵素であると推定されている。しかし、2-Hexenalはフレーバーの一成分にすぎず、市販のalcohol dehydrogenase(酵母)では代用できない。(表3)

表3 インゲン豆フレーバー酵素の基質特異性

| 基 質 | 酵 素 | 生 産 物 |
|-----------|---------------------|------------------------|
| 加工インゲン豆 | インゲン豆酵素 (豆または植物) | フレーバー促進 (2-Hexenal) |
| | 市販ペルオキシダーゼ | フレーバー無 |
| | インゲン豆 Phosphatase | " |
| 2-Hexenol | 市販アルコール脱水素酵素 | " |
| | インゲン豆酵素+TPN | 2-Hexenal |
| | インゲン豆ホモゲネート | 2-Hexenal |
| | 市販アルコール脱水素酵素+DPN | 2-Hexenal |

IV. 果実のフレーバー

a) ラズベリー¹⁴⁾

フレーバー酵素はまた多くの果実に適用されている。新鮮なラズベリーの slurry を沸騰し、これを水蒸気蒸溜して揮発性のフレーバーを除去した後、濃厚なシラップ状に濃縮するか、凍結乾燥する。かくして得られた無臭物を基質として、これに新鮮なラズベリーから調製した酵素を作用させると、成熟した果実のフレーバーが再生される。発生する揮発性成分をガスクロマトグラフで追跡すると図7に示す如く、いくつかのピークが認められる。

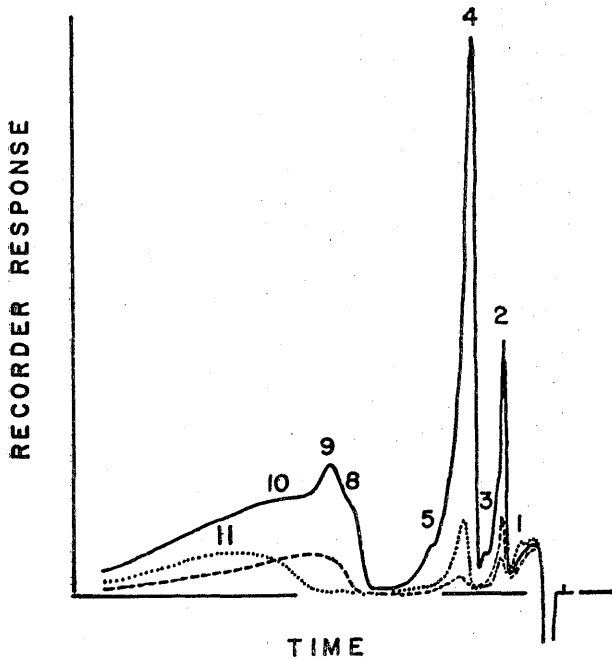


図7 酵素によるラズベリー揮発成分の生成

- ラズベリー基質混合物+酵素
- - - - - ラズベリー基質混合物単独
- ラズベリー酵素単独

またこのピークのうちで若干のものは、市販の酵素剤によって形成されることが知られる。(表4)

表4 ラズベリーのフレーバー発生に対する各種酵素剤の影響

| 酵 素 剤 | 発生する揮発生物質 (peak No.) | | | | | | | | | |
|--------------------|----------------------|---|---|---|---|---|---|---|----|--|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| raspberry | + | + | + | + | - | - | + | + | + | |
| β-glucosidase | - | - | + | + | + | + | ± | + | ± | |
| Cellulase | - | - | + | + | - | - | ± | + | ± | |
| Alc. dehydrog.+CoI | + | - | + | - | - | - | - | - | - | |
| Lipase | - | - | - | + | - | - | - | - | - | |
| Alm. emulsin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Bromelin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Diastase (malt) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Tyrosinase | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Myrosinase | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |

b) バナナ¹⁵⁾

加熱処理したバナナピューレーは新鮮なバナナと全く違った香りを持っている。これを基質として、これに新鮮バナナから得られた粗酵素系を作用させると、バナナ特有のフレーバーを発生する。供試酵素液はバナナを稀食塩水で抽出し、この抽出液を硫酸アンモニアで分画沈殿したものである。この加熱ピューレーとフレーバー酵素の混合系に種々のアミノ酸やその他の物質を添加して、フレーバー発生に対する影響を検した結果、ピルビン酸、バリン、オレイン酸などが顕著な促進効果を示すことが判明し、これらをバナナフレーバーの前駆物質と推定した。(表5)

表5 バナナフレーバー発生に対する前駆物質添加の効果

| 供試前駆物質 | 鑑定員 の数 | 差 異 (%) | | 嗜 好 性 (%) | |
|-------------------|-----------|---------|--------|-----------|--------|
| | | ア リ | ナ シ | 酵素処理物 | 対 照 |
| ピルビン酸 | 33 | 94.0 | 6.0 | 72.8 | 21.2 |
| バリリン | 45 | 91.2 | 8.8 | 69.0 | 22.2 |
| オレイン酸 | 36 | 97.2 | 2.8 | 77.8 | 19.4 |
| クエン酸 | 23 | 91.4 | 8.6 | 39.1 | 52.3 |
| α -ケトグルタル酸 | 30 | 83.3 | 16.7 | 40.0 | 43.3 |
| 酢酸ソーダ | 38 | 68.5 | 31.5 | 31.5 | 37.0 |
| リノレン酸 | 34 | 94.2 | 5.8 | 41.2 | 53.0 |
| アラニン | 40 | 80.0 | 20.0 | 45.0 | 35.0 |
| アルギニン | 34 | 64.8 | 35.2 | 29.4 | 32.4 |
| ヒスチジン | 20 | 90.0 | 10.0 | 30.0 | 60.0 |
| リジン | 24 | 83.3 | 16.7 | 29.2 | 54.1 |
| ロイシン | 36 | 86.1 | 13.9 | 47.3 | 38.8 |
| イソロイシン | 43 | 81.4 | 18.6 | 46.5 | 34.9 |
| グルタミン酸ソーダ | 27 | 81.5 | 18.5 | 29.6 | 51.9 |

しかし、加熱プューレーを加えずに、ただこれらの物質とフレーバー酵素のみを配合した系では、新鮮なバナナの香りは再現できなかった。

V. 酪農品のフレーバー

a) バターフレーバー^{5,6)}

多くの乳製品のフレーバーは主として乳脂肪の分解によって生成した揮発性物質に由来することが考えられる。このようなことから、乳製品のフレーバー強化の目的でミルクリパーゼの利用が古くから試みられているが、¹⁶⁾ 実際面となると多くの難点がある。即ち、酵素母体の種類やまた培地の酸度、基質、温度などの条件によって、生成される有機酸の量比が異なるので、常に一定のフレーバーを生成せしめることがむずかしい。新鮮なミルク中には少なくとも4種のリパーゼがあるが、その量比は血統、飼料、季節、地域によって異なるので、この種の試みは実用化の面で成功しなかった。また¹⁷⁾ 膀胱酵素のリパーゼ活性を用いる方法が行われたが、供試酵素中にリパーゼ以外にアミラーゼやプロテアーゼが夾雑していたために、アミノ酸、ペプチドの苦味が生じ、よい結

果が得られなかった。

10年ほど前に、ミルクレートなる商品が米国から発売された。これは、ミルククリームに子牛の食道部から得られたリパーゼを作用せしめたものであるといわれ、バターフレーバーとして広く使われている。

子牛、子ヤギ、子ヒツジの食道部から得られたリパーゼを乳脂肪に作用させると、それぞれ特異的なフレーバーが生じ、その際にある一定の比率で脂肪酸が遊離される。その割合は季節、血統、飼料などに無関係である。

リパーゼの作用で発生したフレーバーを官能テストによって判定する一方、遊離脂肪酸の分別定量を行い、芳香の強い酸として **butyric acid, caproic acid, caprilic acid, capric acid** の4種およびより長鎖の脂肪酸に分離した。(表6)

表6 各種のリパーゼ処理により乳脂肪から遊離された脂肪酸の量比

| リパーゼ給源 | Butyric acid | Caproic acid | Caprilic acid | Capric acid | Lauric and higher acid |
|-------------------|--------------|--------------|---------------|-------------|------------------------|
| Calf oral lipase | 40.8 | 11.0 | 8.6 | 8.7 | 31.0 |
| Kid oral lipase | 50.0 | 18.6 | 8.4 | 7.8 | 15.3 |
| Lamb oral lipase | 44.8 | 17.6 | 8.3 | 7.7 | 21.8 |
| Fungal lipase | 10.0 | 5.3 | 4.1 | 3.6 | 77.0 |
| Milk lipase | 13.5 | 8.2 | 10.2 | 8.7 | 60.0 |
| Pancreatic lipase | 8.4 | 2.1 | trace | trace | 89.1 |

また、その際の乳脂肪分解工程中の変化をクロマトで示すと図8のようになる。

これらの結果から明らかなように、哺乳動物の食道部分泌腺から得たリパーゼは、乳脂肪から主として短鎖長の脂肪酸を遊離する特性を有するが、この点は乳製品のフレーバー増強の目的に好都合なものと考えられる。Farnham によれば、低級脂肪酸中酪酸の含量とフレーバー効果との間に関連性があるといわれる。

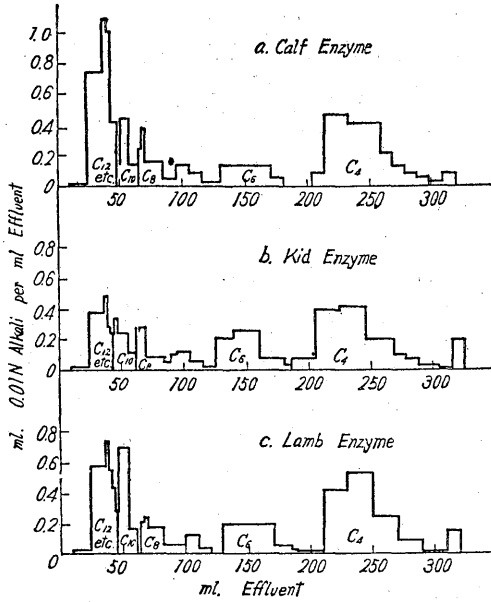


図8 生成脂肪酸のクロマトグラム
基質：牛乳

これらの実験的事実にもとずいて、上述の各脂肪酸を配合したものの効果が検討されたが、香調があらく、酵素処理に得られたなめらかな繊細なフレーバーに欠けていた。この事実から、酵素反応には同時に **side reaction** が行われていて、その結果全体の香調をまとめているものと考えられる。

以上のような基礎研究から、全乳をこの種リパーゼで処理することによって、乳製品フレーバーの粉末製品が工業的に生産され、すでにミルクチョコレート、チーズ、チーズケーキ、クリームセンター、サラダドレッシングなどのフレーバーとして利用されている。

しかしこのリパーゼは原料的な制約があり、かなり高価につくので、最近微生物起源のリパーゼを用いて、バターフレーバーの生産が試みられ効果を収めている。⁶⁾ その一例を示すと表7および表8の通りである。

表7 リパーゼによるバターフレーバーの生成

| 使用リパーゼ剤 | リパーゼ活性 | プロテアーゼ活性 | バター様香氣 | 異 臭 |
|-----------------------|---------|----------|--------|-----|
| <i>Rhizopus</i> (粗製) | 600u/ml | 130u/ml | ++ | + |
| " | " | 0 | +++ | - |
| <i>Rhizopus</i> (精製) | " | 4000 | ++ | + |
| +プロテアーゼ パンクレアチン | " | 1970 | - | +++ |
| <i>Asp. niger</i> 精製 | " | 0 | + | + |
| <i>Geotrichum</i> 精製 | " | 0 | ++ | + |
| <i>Penicillium</i> 精製 | " | 0 | + | ++ |

表8 リパーゼ量と香氣の発生

| 作用時間 | 250 | | | 2500 | | | 10000 | | |
|------|------------|----|----|------------|----|----|------------|----|----|
| | バター様 香氣 | 異臭 | 酸度 | バター様 香氣 | 異臭 | 酸度 | バター様 香氣 | 異臭 | 酸度 |
| 1 | - | - | 3 | + | - | 15 | +++ | - | 28 |
| 2 | - | - | 6 | ++ | - | 21 | +++ | - | 30 |
| 3 | + | - | 10 | +++ | - | 27 | +++ | + | 31 |
| 6 | + | - | 15 | +++ | - | 29 | +++ | + | 31 |
| 12 | ++ | - | 25 | +++ | + | 31 | | | |

b) チーズ⁷⁾

チーズの熟成過程は極めて複雑であるが、その主要なものは、チーズ中で生育する多くの微生物の酵素による蛋白分解と脂肪の分解であり、特に脂肪の分解によって遊離される脂肪酸がチーズ特有の風味に大きく関与しているものと思われる。特にカビ類によって熟成させるロックホール、ブルー、オリーゼチーズなどでは、菌の生成するリパーゼによる牛乳脂の分解と、それに起因する独特の風味の生成が顕著である。

このようなことから、チーズ製造の過程にリパーゼを添加して、微生物による脂肪分解を助長して、フレーバー強化をはかる試みが行われた。臍臓リパーゼ、ヒマシリパーゼ、糸状菌リパーゼはいずれも異臭を生じたり、またフレーバー発生が不十分で成功しなかった。

ところで、プロボロン[®]およびロマノチーズなどのイタリアチーズの製造に

は、凝乳酵素として、古くから伝統的にレンネットペーストが使われている。このペーストは子牛、子ヒツジ、子ヤギなどの胃全体を乾燥させて作ったものであり、これを用いるとチーズ特有の好ましいフレーバーを生成する。しかしこのフレーバーはレンネット抽出液を用いた場合には生じない。そこで、このような差異がおこる原因を追究した結果、レンネットペースト中に、食道部の分泌腺から出てくるある種のリパーゼが夾雑し、この区分がフレーバー発生に関与していることが判明した。このようなことから子牛などの食道部から分泌されるリパーゼの効果が検討された。¹⁸⁾(表9)

表9 イタリアチーズ中の酪酸含量^{*}とフレーバーの強さとの関係

| チー ズ 名 | 時 間 (日数) | 酵 素 給 源 | | | |
|--------------|----------------|----------|------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| | | レンネット | レンネット + 子牛の食道部 リパーゼ | レンネット + 子ヤギの食道部 リパーゼ | 子ヤギの レンネット ペースト |
| プロボロン | 1 | 0.05 | 0.12 | 0.13 | 0.13 |
| | 30 | 0.51 (0) | 0.88 (0) | 1.20 (0) | 1.50 (0) |
| | 90 | 0.55 (0) | 1.30($\frac{1}{2}$) | 1.80($\frac{1}{2}$) | 2.20 (1) |
| | 370 | 0.71 (0) | 1.70 (2) | 2.90($3\frac{1}{2}$) | 3.20($3\frac{1}{2}$) |
| ロ マ ノ | 1 | 0.15 | 0.30 | 0.45 | 0.51 |
| | 30 | 0.53 (0) | 1.20 (0) | 1.40 (0) | 1.80($\frac{1}{2}$) |
| | 90 | 0.72 (0) | 1.90($\frac{1}{2}$) | 3.00 (1) | 3.40 (2) |
| | 370 | 1.20 (1) | 3.20 (3) | 5.50 (4) | 5.70 (4) |

※ チーズ1gあたりの酪酸のmg数

かっこ内の数字は官能的にテストしたフレーバーの強さを示す。

0…イタリアチーズのフレーバーなし 4…完全なイタリアチーズのフレーバー

表9からレンネット単独では酪酸の生産量が微弱であり、またチーズフレーバーも殆んど生じないが、レンネットペーストを用いると酪酸の生成量もフレーバー発生量も顕著なこと、またレンネットに子牛や子ヤギの食道部のリパーゼを加えることによって、イタリアチーズ特有の香気を付与し得ることが明らかである。

Ⅵ. そ の 他

フレーバー酵素はなお以上のほかにも極めて広い範囲の加工食品の分野に利用できることが米国特許²⁾に述べられている。野菜類，果実類は勿論，ミルク，獣肉，鳥肉，魚肉のような動物性食品も含み，各前駆物質とフレーバー酵素の調製法と具体的なフレーバー再生法についてのデータが記載されている。表10にこの特許にのせられた実験例の一部を紹介する。

表10 フレーバー酵素の応用例

| 原 料 | 供 試 酵 素 | 試料の発生フレーバー | |
|------------|--------------------------|------------|---------------|
| | | 対 照 | 僅少のフレーバー |
| 乾燥ニンジン | ニンジン酵素 | 酵素処理物 | 良好なニンジンのフレーバー |
| | | 対 照 | 固有のフレーバー |
| 缶詰アスパラガス | アスパラガス酵素 | 酵素処理物 | 新鮮なフレーバー |
| | | 対 照 | 固有のフレーバー |
| 缶詰ビート | ビートの酵素 | 酵素処理物 | 新鮮なフレーバー |
| | | 対 照 | 固有のフレーバー |
| 脱臭した缶詰エンドウ | エンドウの酵素 | 酵素処理物 | 新鮮なフレーバー |
| | | 対 照 | 僅かなフレーバー |
| 缶詰混合野菜 | ニンジン，エンドウ，グリーンビーン，玉ネギの酵素 | 酵素処理物 | シャープなフレーバー |
| | | 対 照 | 温和なフレーバー |
| 凍結イチゴ(脱臭) | イチゴの酵素 | 酵素処理物 | 強烈なフレーバー |
| | | 対 照 | 甘いタイプのフレーバー |
| 冷凍パイナップル | パインの酵素 | 酵素処理物 | 弱いパインのフレーバー |
| | | 対 照 | 甘いタイプのフレーバー |

また加工の実施例として多くの例があげられている。例えば酵素のみをカプセルに入れて乾燥食品と一緒に製造し，同時に水で戻す方法や，また両者を凍結保存したり，乾燥状態で混合包装する方法，また缶内を区切って充填する方法などが記載されている。

また，酵素処理によるフレーバー発生に長時間を要し，微生物による腐敗現

象や異常発酵の恐れがある場合に、抗生物質を添加する例も含まれている。

Ⅶ. 異 臭 の 除 去

なお、以上のほかに、酵素の特異性を活用することによって、食品に随伴する不快な臭気を除去することも可能であると考えられる。これも広い意味でのフレーバー酵素というべきものであるが、その作用原理は前記のフレーバー酵素と根本的に異なり、いとわしい臭いの本態を化学的に変化せしめて除去することにもとづいているものである。現在、このような見地からの研究はまだ少ないが、酵素による食品の風味改善の大きな分野として、今後の発展が期待される。次にそれらの例について説明する。

a) 大豆豆乳の脱臭⁶⁾

大豆豆乳は栄養的にすぐれた食品であるが、一種特有の“生臭さ”臭があり、そのままのかたちでは食用に供しがたい。もしこの臭いを除去することができれば、その利用途は一段と開発されるものと考えられる。このような見地から、福本⁶⁾らはある種の **glucosidase** で大豆豆乳を処理し、かなり効果を収めている。(図9)

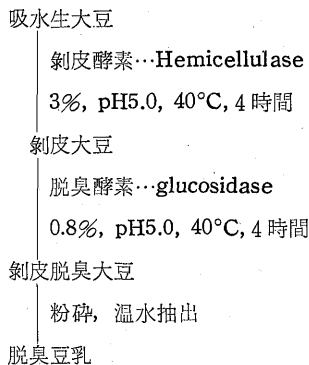
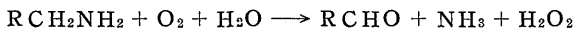


図9 大豆豆乳の脱臭

b) 魚 臭¹⁸⁾

魚の生臭い臭の主体をなすものはトリメチルアミンで、そのほかモノメチルアミン、モノエチルアミンなどがある。トリメチルアミンは魚の体液中に含まれている無臭のトリメチルアミンオキサイドが、死後細菌などの作用によって還元されて生ずるものである。

この魚臭の本体であるアミン類を酵素的に分解除去する手段が考えられている。例えばアミン酸化酵素を用いると、次のような反応がおきて脱アミンが可能となる。



アミン酸化酵素は生体におけるアミン代謝に関与し、アミンの酸化的脱アミノ反応を触媒する酵素で、そのいくつかは結晶化され、銅と **pyridoxal phosphate** を補酵素としている。

primary または **secondary amine** に作用するもののみが見出されているが、トリメチルアミンのような **tertiary amine** に作用する酵素があれば、魚の「生臭さ」臭と関連の深いこの種アミンの除去と関連して、魚類を主要な蛋白質源とする日本人には重要な酵素になるかと思われる。

c) ビールの異臭¹⁹⁾

ビールに時とすると、バター様のフレーバーが発生することがあるが、この現象は、**diacetyl** が異常に大量に生成されたためである。**diacetyl** はビール醸造の初期段階で生成されるが、発酵後期になると、通常 0.05~0.15 ppm に減少する。しかし時には 0.30~0.6 ppm から 1 ppm の **diacetyl** が残存することがある。**diacetyl** の含量が 0.25 ppm 以上になると、顕著な **off flavor** を示し、嗜好に適さなくなるので、酵素の特異性を利明してそれを除去することが行われている。この酵素は **diacetyl reductase** で **NADH** の存在で、**diacetyl** を非可逆的に還元して **acetoin** とする。*Aerobacter aerogenes* から分離された本酵素は pH 5~7.5 の間の広い範囲で最適を示し、賦活剤として金属を必要とせず、また EDTA によっても阻害されない。最適 pH 以下の低い pH でも **diacetyl** を減少せしめる効果がある。表11はこの酵素でビールを処理した一例であり、250 ppm の低濃度で **diacetyl** を 0.15 ppm のレベル

まで減少せしめることができる。この値は上述のように、官能的に感じられる限界濃度よりも低い。

表11 ビールの diacetyl 含量に対する Diacetyl reductase と NADH の影響

| Diacetyl reductase (ppm) | NADH (ppm) | Diacetyl (ppm) |
|--------------------------|------------|----------------|
| 0 | 0 | 0.86 |
| 125 | 50 | 0.70 |
| 250 | 100 | 0.48 |
| 250 | 200 | 0.15 |
| 500 | 200 | 0.16 |
| 750 | 300 | 0.06 |
| 1000 | 800 | 0.04 |

作用条件 1°C, 60時間

VIII. 結 び

以上フレーバー酵素の利用の問題点について概要を説明したが、なお実用上いくつかの難点がある。例えばフレーバー酵素および前駆物質はいずれも天然物に求めなければならないので、原生体の品種、栽培条件、収穫時期などによって変動をさけることができない。またこの方法は冷凍食品には、あまり効果が期待できない。しかし、乾燥、固型食品、携帯食糧の方面にこのアイディアを活用すれば、かつて見られなかったような新しい食品加工法が生れてくる。例えば、フレーバー酵素に関しては、その給源を植物体の廃棄物あるいはその他の材料（例えば微生物）に求めることによって、目的とする酵素調製時の生産費を軽減し得るであろうし、また、このような他の材料からとり出したフレーバー酵素を利用することによって、異ったタイプのフレーバーを付与し得る可能性も考えられる。一方フレーバー前駆物質の本態が明確にされれば、その添加によって、フレーバーの増強も可能である。

以上のような観点から食品加工の操作をみると、フレーバー発生の原理から考えて、加工条件はよいフレーバーを残すよりも、フレーバー前駆物質を未変化のまま、しかも最高のレベルに保持するような操作が目標となる。

また、フレーバー酵素に関する研究は、このような実用的な面からだけでな

く、この酵素系の本質や基質特異性を究めることによって、フレーバー前駆物質の構造やフレーバー発生機構を明らかにする一手段として、極めて有効なものと思われる。

従来、フレーバーに関する研究は、新鮮物のフレーバーの分離、同定や、またすでに生成された (manufactured) フレーバーの解明に焦点がそそがれていた。しかし、各食品の特徴あるフレーバーは、それぞれのフレーバー前駆物質に、微生物の生産する酵素や生体組織内の酵素が働いたためか、あるいは加熱効果によって生成したと考えられるので、単にフレーバーの内容を分析、確認するだけではなく、それがどのような過程をへて、何から生じたものか、さらにそのフレーバーがいかなる運命をたどるかを究めることが重要である。それには物理化学的な手段と厳密な官能テストと共に、自然界に営まれていゝるフレーバー発生現象についての生化学的な解析と理解とが必要であろう。このようにして始めて食品の完全な flavor picture をえがくことができる。

文 献

- (1) K. S. Konigsbacher et al : Food Technol., 13, 128 (1959)
- (2) E. J. Hewitt et al : U. S. Patent 2,924, 521 (1960)
- (3) S. Schwimmer : J. Food Sci., 28, 460 (1960)
- (4) E. J. Hewitt : Agr. & Food Chem., 11, 14 (1963)
- (5) 服部 : 日本食品工業学会誌 10, 70 (1963)
- (6) 福本ら : 食品加工と酵素 129 (1966)
- (7) G. Reed et al : Enzymes in Food Processing 376 (1966)
- (8) A. Stoll et al : Adv. Enzymol., 11, 377 (1951)
- (9) 木村ら : 農産技研誌 7, 124 (1960)
- (10) E. J. Hewitt et al : Food Technol., 10, 487 (1960)
- (11) S. D. Bailey et al : J. Food Sci., 26, 163 (1961)
- (12) S. Schwimmer et al : Experientia 16, 449 (1960)
- (13) S. Schwimmer et al : J. Food Sci., 27, 94 (1962)
- (14) C. Weurman : Food Technol., 15, 531 (1961)
- (15) H. O. Hultin et al : Food Technol., 16, 108 (1962)
- (16) A. R. Kemp et al : U. S. Patent. 2, 638, 418 (1953)
- (17) H. E. Othing : U. S. Patent. 1,966, 460 (1934)
- (18) J. E. Long et al : J. Dairy Sci., 39, 245 (1956)
- (19) E. Segel et al : U. S. Patent. 3, 130, 055 (1964)

Negoro, Hideo

Improvement of the Flavor of Processed Foods by Enzyme Preparations

Résumé

This review presents the role of enzymes as agents for the restoration of fresh food flavor in processed foods and also practical application of the enzymes in upgrading the flavor and acceptability of the foods.

The qualitative and quantitative aspects of the flavor change, the method and source of enzyme preparation and the conditions for alteration in flavor are discussed.