

微生物ラクターゼを利用した乳糖フリーヨーグルトの製造

大野信子, 福田晴美

Production of Lactose-free Yoghurt by Using Microbial Lactase

Nobuko Ohno and Harumi Fukuda

ヨーグルトの製造に当たり、製品中の乳糖量の低減化を図るために原料乳を微生物が生産した市販の乳糖分解酵素（ラクターゼ、 β -ガラクトシダーゼ）を用いて処理して発酵させた製造法について検討した。

原料乳の酵素による前処理は、用いた脱脂乳中の乳糖分解率が約50%に達する条件、カビラクターゼについては50℃で10分、酵母ラクターゼについては42℃で30分で行った。原料乳中の乳糖は、発酵過程で乳酸菌自身により30~35%近く分解された。ヨーグルトを製造する際には、殺菌した原料乳にヨーグルト菌（スターター）を直接添加し、乳酸発酵を行って作ることが一般的な製法であるが、脱脂乳をラクターゼで前処理する場合、両酵素ともに酵素の添加が原料乳の殺菌前と後の違いに関係なく、発酵中の乳糖は3~4時間で95%近くが分解された。

製品の酸度は酵素処理の有無、また酵素添加時期に大きな影響を受けることはなかった。ヨーグルトの形態は、酵素処理後にスターターを添加製造すると酵母ラクターゼで処理した場合はきれいなカードが保たれた。カビラクターゼで処理したものでは脆く崩れやすい形態であった。

キーワード：ラクターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ヨーグルト、乳糖、脱脂乳

緒 言

近年、健康面からその消費量を大きく延ばしている食品の一つにヨーグルトがあげられる。乳酸菌による特定保健用食品となっているヨーグルトは、牛乳を乳酸菌で発酵させた食品であるので、健康面に関して牛乳成分の効果、乳酸菌による発酵生成物の効果、また死菌を含む乳酸菌そのものの効果等があげられる。

牛乳の乳糖は一種のオリゴ糖として働き腸内のビフィズス菌の増殖を助け、腸内細菌のバ

ランスを改善するなど腸内フローラとの係わりについて多くの報告がされている^{1)~6)}。ヨーグルトでは乳酸発酵により、乳糖の20~40%が使われて減少している上に、乳酸菌のラクターゼが腸内で作用するので乳糖不耐のトラブルもまた避けられる。最近このような効果に加え、ヨーグルトにがん細胞増殖抑制(抗がん)効果があることや、コレステロールを下げる効果、血圧を下げる効果、排便性状の改善、抗ストレス効果、突然変異源物質を不活性化作用などが報告されている^{7)~11)}。

ヨーグルトの微生物菌叢については多くの報告がある¹²⁾¹³⁾が、ヨーグルト製造菌は乳酸桿菌である*Lactobacillus bulgaricus*、また球菌の*Streptococcus thermophilus*などが主流をなしており、このような発酵形態にさらにビフィズス菌を添加したものなど、製品面においても多様化している現状である。ヨーグルトを製造する際には、殺菌した原料乳にヨーグルト菌(スターター)を直接添加し乳酸発酵を行って作ることが普通一般の製法である。ヨーグルトの製造に関して、原料乳を乳糖分解酵素(ラクターゼ)を用いて処理して発酵させた製品もあるが、我国では現在まだ市販されていない。

そこで微生物が生産した市販の酵素を用いて処理したヨーグルト製造において乳糖の分解を中心に検討した結果を報告する。

実験材料および方法

1. 原料乳とした脱脂粉乳は雪印乳業(株)AGXを使用し、これを水に溶解して調製した還元脱脂乳を用いた(脱脂乳11g/水100ml)。
2. ヨーグルト菌は、市販品である明治ブルガリアヨーグルト(明治乳業株式会社)を使用した。この市販品の乳酸菌は*Lactobacillus bulgaricus*2038株、*Streptococcus thermophilus*1131株である。
3. 原料乳中の乳糖の分解は微生物乳糖分解酵素(ラクターゼ)、*Aspergillus oryzae*により生産されたカビラクターゼ(スミチームGLL:新日本化学工業株式会社)と*Kluyveromyces lactis*により生産された酵母ラクターゼ(GODO-YNL:合同酒精株式会社)を用いた。
4. ヨーグルト製造法¹⁴⁾:一般的な製造法を用いた。その製造工程を図1に、酵素による乳糖の分解条件を表1に示す。
5. 酸度測定法¹⁵⁾:試料を10g秤取し、蒸留水10mlを加え攪拌したのち、フェノールフタレンを滴下して0.1N-NaOH規定液で滴定し、この滴定値より酸度を乳糖として算出して表示した。
6. グルコース量測定法¹⁶⁾:試料を β -ガラクトシダーゼ(和光純薬工業株式会社)で処理

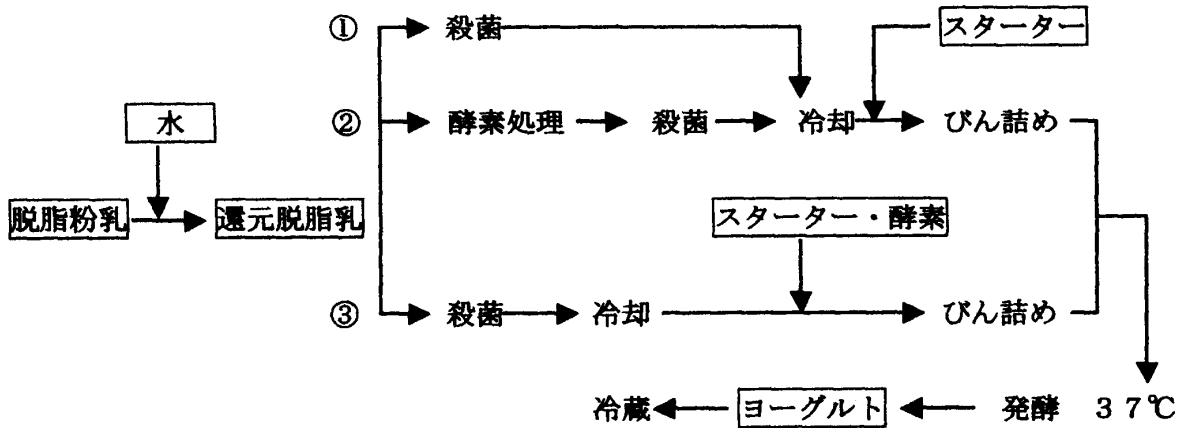


図1 ヨーグルトの製造法

- ① 酵素での処理を行わない製造
- ② 脱脂乳を各酵素で反応させ、殺菌後スターターを添加する製造
- ③ 酵素での前処理はなく、殺菌後スターターと同時に酵素を添加する製造

表1 酵素ラクターゼによる還元脱脂乳の処理条件

製造条件	酵素および濃度		反応温度 (°C)	反応時間 (分)
A	非酵素処理			
B	カビラクターゼ	0.10%	50	15
C	酵母ラクターゼ	0.04%	42	30
D	カビラクターゼ	0.05%	42	20
	酵母ラクターゼ	0.02%		
E	カビラクターゼ	0.05%	50	20
	酵母ラクターゼ	0.01%		
F	カビラクターゼ	0.025%	42	20
	酵母ラクターゼ	0.020%		

カビラクターゼ (スミチームGLL: 新日本化学工業株式会社)

酵母ラクターゼ (GODO-YNL: 合同酒精株式会社)

した後、グルコース測定試薬 (ダイヤカラーGC、小野薬品工業株式会社) を使用してグルコースオキシダーゼによる酵素法により生じたキノン色素を550nmの吸光度で測定することによりグルコース量を算出し、その量をもとにして計算により乳糖量を求めた。

実験結果および考察

1 ラクターゼによる還元脱脂乳中の乳糖の分解

還元脱脂乳に微生物由来の2種類のラクターゼを最適温度で作用させ乳糖(8g/100ml)の分解率を経時的に調べた(図2)。

カビラクターゼを50℃(最適温度)で作用させた場合は、作用開始後約10分で乳糖分解率が50%に達した。一方、酵母ラクターゼを42℃(最適温度)で作用させた場合は乳糖分解率が50%に達するのにおよそ30分近くを要した。なお、図中には示していないが、両酵素は長時間作用させることで脱脂乳中の乳糖を100%分解することができた。

2 殺菌温度がラクターゼの活性に及ぼす影響

還元脱脂乳の殺菌方法は、通常風味を損なわないということから低温長時間殺菌(63℃、30分)が用いられているが、この条件では本実験に使用したカビラクターゼと酵母ラクターゼの作用を短時間に止めることができず、図3に示すように殺菌処理時間内にかなりの乳糖が分解されることがわかった。

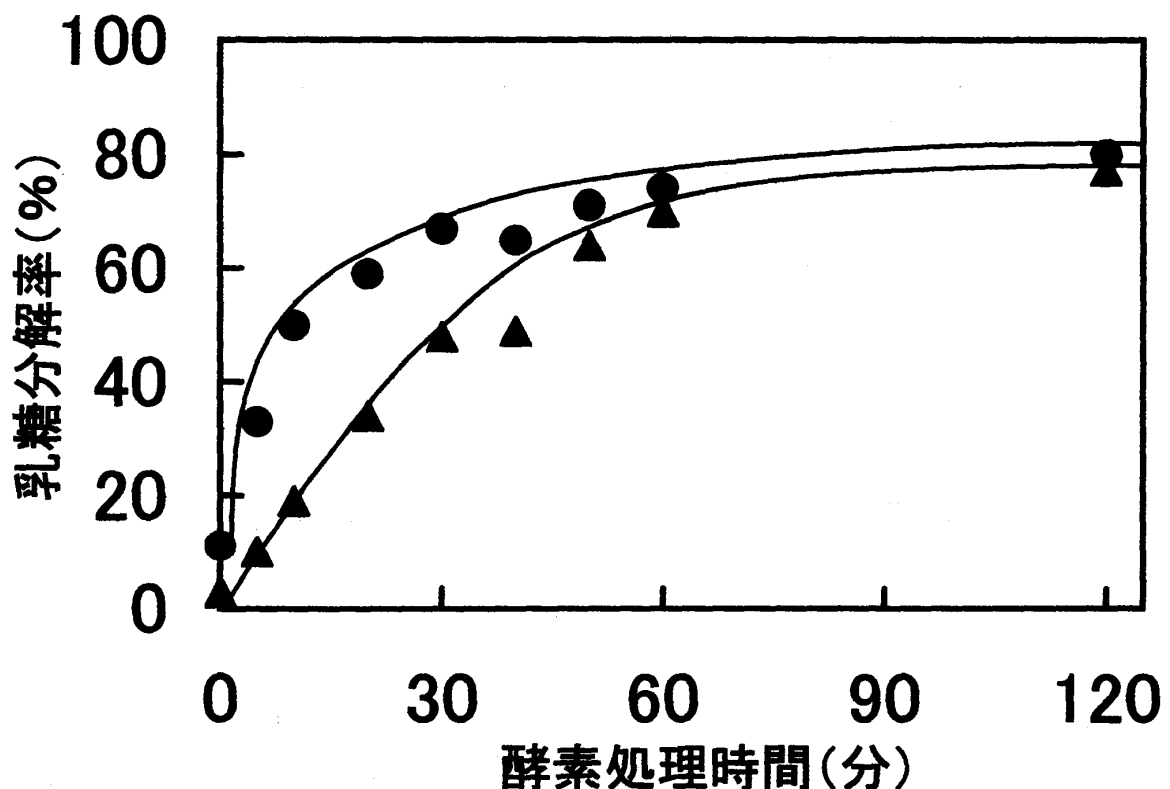


図2 酵素による還元脱脂乳中の乳糖分解

(-●-) : 0.10%カビラクターゼ

(-▲-) : 0.04%酵母ラクターゼ

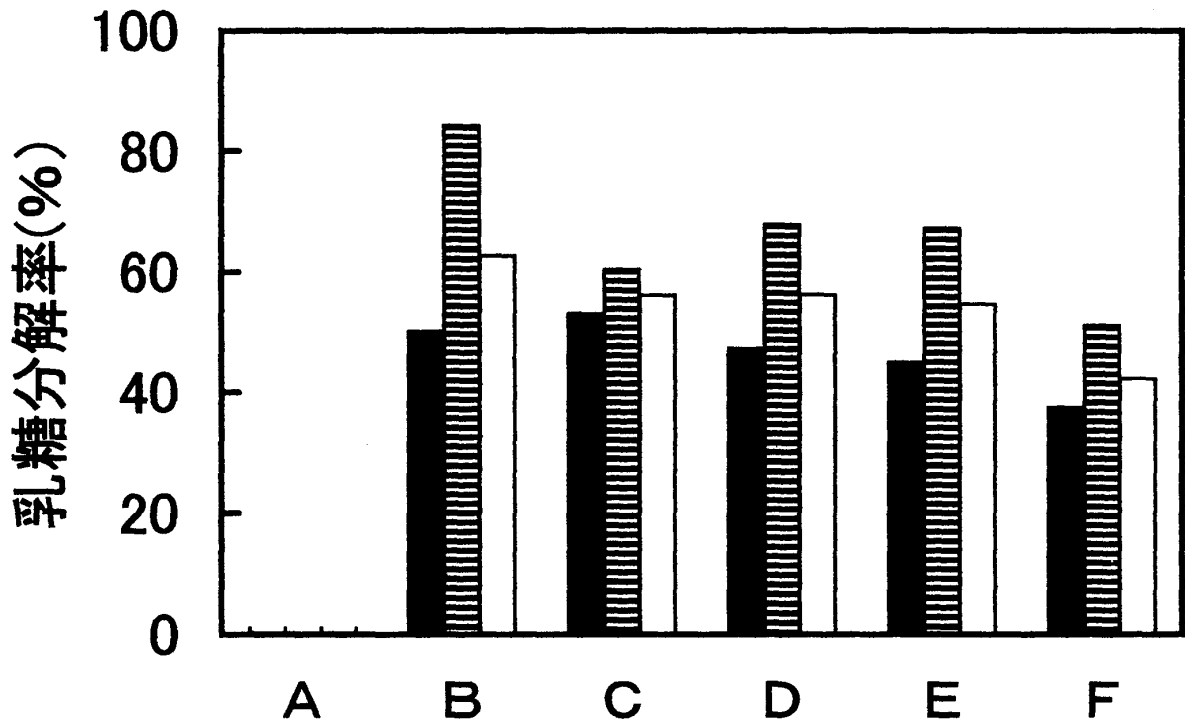


図3 酵素処理後の殺菌温度が乳糖分解におよぼす影響

- : 殺菌処理前
- ▨ : 殺菌処理 (63°C 30分)
- : 殺菌処理 (70°C 30分)
- ≡ アルファベットは酵素の種類と酵素処理条件を示す (表1 参照)

活性最適温度の高いカビラクターゼ (50°C) で分解が大きかった。殺菌処理条件を70°C、30分にすることにより両酵素による殺菌中の乳糖の分解は上記条件によりかなり低下したが完全に抑えることはできなかった。

3 ラクターゼ処理をして製造したヨーグルトの残乳糖と酸度

還元脱脂乳をラクターゼで一定時間作用してから殺菌してスターターを加えて発酵、脱脂乳を殺菌処理してからラクターゼとスターターを同時に加えて発酵させた各種の条件で製造したヨーグルトについて乳糖の残存量を調べた。

脱脂乳中の乳糖は乳酸菌による発酵の過程で30~35%近くが分解されることがわかった (表2)。この場合乳糖の分解は3~4時間の発酵でほぼ定常に達した。

脱脂乳をラクターゼで処理した場合には、酵素の添加が殺菌前、後の違いにかかわりなく、発酵3~4時間で95%近くの乳糖は分解され、分解率は6時間後にはほぼ100%に達していることがわかった。

酸度については酵素処理の有無、酵素の添加時期に大きな影響を受けることはなかった(表3)。

以上、ラクターゼを使用することにより製造したヨーグルト中の乳糖量をほぼゼロまでに

表2 ラクターゼ処理がヨーグルト中の乳糖量におよぼす影響

酵素処理後スターター添加 (②の製造法)				
発酵時間	3時間30分		6時間	
酵素処理条件	残乳糖 (g/100ml)	乳糖分解率 (%)	残乳糖 (g/100ml)	乳糖分解率 (%)
A	4.044	36.8	4.121	35.6
B	0.228	96.6	0.017	99.7
C	1.420	77.8	0.804	85.9
D	0.320	95.0	0	100.0
E	0.308	95.2	0	100.0
F	0	100.0	0	100.0

酵素とスターター同時添加 (③の製造法)				
発酵時間	3時間30分		6時間	
酵素処理条件	残乳糖 (g/100ml)	乳糖分解率 (%)	残乳糖 (g/100ml)	乳糖分解率 (%)
A	4.044	36.8	4.121	35.6
B	1.220	80.9	0	100.0
C	1.436	77.6	0.766	88.0
D	0	100.0	0	100.0
E	0.400	93.8	0	100.0
F	0.306	95.2	0	100.0

表3 ラクターゼ処理がヨーグルトの酸度におよぼす影響

酵素添加条件		酵素処理後スターター(酸度%)		酵素とスターター同時添加(酸度%)	
発酵時間 (37℃)		3時間30分	6時間	3時間30分	6時間
酵素処理	A	0.89	1.03	0.87	0.90
	B	0.85	0.95	0.83	0.90
	C	0.83	0.99	0.83	0.90
	D	0.83	0.95	0.83	0.90

することができた。ヨーグルトの酸度は0.85~0.9% (pH4.2~4.3) になるような酸度が良いとされる¹⁷⁾が、このようにして製造したヨーグルトの酸度はこの範囲にありほとんど市販のものとは変わらないものであった。

ヨーグルトの物性(粘性)および風味についても予備的に検討した結果、酵母ラクターゼ処理したヨーグルトでは良い風味を与え、カード形成も良好であった。しかし一方、カビラクターゼで処理したものは薬剤臭が有り、多少の粘性が見られて、脆く崩れやすい形態であるなどの結果も得られている。

*L. bulgaricus*による粘質物はガラクトースからなる多糖類とポリペプチドを含有しているからだろうと言われている¹²⁾が、乳酸菌を適温より低い温度で培養した時に粘性を帯びるという意見や、菌にカプセルが出来るためではないかという意見も出されている。発酵乳の粘性については、消費者の嗜好が国によって差異があるようで、我国のヨーグルトの粘性は好まれないようである。

これらの性質や酵素処理が製造時間にどのように影響するのも含めて今後さらに検討をする必要があるものと考えている。

まとめ

- 1) 還元脱脂乳中の乳糖分解率はカビラクターゼ(最適温度50℃)で10分反応で50%、酵母ラクターゼ(最適温度42℃)では50%に達するのに30分近くを要した。
- 2) 発酵過程で脱脂乳の乳糖は乳酸菌により30~35%近く分解された。
- 3) ヨーグルトの残乳糖を調べた結果、脱脂乳をラクターゼで処理した場合、酵素の添加が殺菌前、後の違いに関係なく、発酵3~4時間で95%近くの乳糖が分解された。
- 4) 製品の酸度は酵素処理の有無、また酵素添加時期に大きな影響を受けることはなかった。
- 5) ヨーグルトの形態は、酵素処理後にスターターを添加製造すると酵母ラクターゼで処理した場合はきれいなカードが保たれた。カビラクターゼで処理したものでは脆く崩れやすい形態であった。
- 6) カビラクターゼ処理したヨーグルトは薬剤臭を有し、粘性が観察されたが、酵母ラクターゼ処理したヨーグルトでは風味が良く、カード形成も良好であった。

本研究を遂行するに当たり、実験に協力下さった和洋女子大学小川千秋さん、北村真味さん、水口明美さん、また多くのご助言を戴きました千葉大学藤井貴明教授、試料の提供やご助言下さった合同酒精株式会社石崎晴記氏、小林文男氏に深謝申し上げます。

文 献

- 1) 光岡知足編：腸内フローラと健康，会出版センター，2-20 1998.
- 2) Rotimi. V. O., Duereden, B. I : The development of the bacterial flora in normal neonates. J. Med. microbial. **14**, 51-58, 1981.
- 3) Benno, Y., Mitsuoka, T. : The development of gastrointestinal micro-flora in humans and animals. Bifidobacteria Micoroflora **5**, 13-25, 1986.
- 4) Benno, Y., et al : he intestinal microflora of infants. : Composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. Microbiol. Immunol. **28**, 975-986, 1984.
- 5) Bullen, C. L., et al : The effect of "humanized" milks and supplemented breast feeding on the faecal flora of infants. J. Med. Microbiol. **10**, 403-413, 1977.
- 6) 光岡知足：腸内細菌とその意義，臨床と細菌 **2**，197-239 1977.
- 7) Mitsuoka, T. : Intestinal flora and aging. Nutrition Reviews. **50**, 438-446, 1992.
- 8) Mitsuoka, T. : Colon cancer increase in Japan : a new trend. Acta. Chir. Scand. Suppl. **562**, 7-13, 1991.
- 9) Ellouz, F., Adam, A., Ciorbaru, R., Lederer, E. : Minimal structural requirements for adjuvant active of bacterial peptidoglycan derivatives. Biochem. Biophys. Res. Commun. **59**, 1317-1325, 1974.
- 10) 八重島智子，高橋幸子，太田真弓，中川清美，石橋憲雄，平松明德，大橋俊夫，早澤宏紀，飯野久和：*Bifidobacterium longum* BB 536含有加糖ヨーグルトの排便回数および排便性状に対する影響：健康・栄養食品研究，**1**，3/4，24-34 1998
- 11) 光岡知足編：腸内フローラと健康，学会出版センター，175-177 1998
- 12) 乳業科学新説編修委員会編：乳業科学新説，朝倉書店，295 1966
- 13) 中野政弘編：発酵食品，光琳全書，145-129 1986
- 14) 吉田企世子編：食品加工実験・実習書，医菌薬出版株式会社，57-59 1993
- 15) 近末貢編：食品加工実験実習書，医菌薬出版株式会社，43-44 1972
- 16) 酵素法による食品分析研究会編：酵素法による食品分析法，食品化学新聞社(株) 1989
- 17) 津郷友吉：乳製品の化学，地球出版株式会社，133-136 1961

大 野 信 子 (家政学部健康栄養学科教授)

福 田 晴 美 (家政学部健康栄養学科助手補)