琉球大学学術リポジトリ

細菌の生産する大豆乳凝集酵素の性質と食品加工への利用

メタデータ	言語:
	出版者: 南方資源利用技術研究会
	公開日: 2014-10-26
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 青山, みさ子, 小橋川, 共啓, 安田, 正昭
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016663

Carlsberg Ser 酵素、 アミノ酸 Mw 28746

細菌の生産する大豆乳凝集酵素の性質と食品加工への利用

琉球大学・農学部　　青山みさ子・○小橋川共啓・安田正昭

《目的》

大豆乳凝集活性を有する酵素は、大豆の新しい加工技術の開発のために重要な酵素として期待されている。これまでに植物由来のブロメラインやフィシンが報告され、これらを用いたチーズ様食品に関する研究が行われている。しかし、微生物由来の本酵素に関する知見は少ない。我々は、大豆乳凝集酵素(Soymilk Coagulating Enzyme;SMCE)によるとうふよう製造技法を確立するために微生物における本酵素のスクリーニングを行い、最も高い活性を有する *Bacillus pumilus* TYO-67 をとうふよう製造工程で分離、同定した。また、とうふよう製造の乾燥工程で、本菌を使用することにより、とうふようの熟成が迅速に進行することを明らかにした。本研究では、とうふよう研究の一環として本菌の生産する SMCE の酵素化学的、タンパク化学的性質及び大豆乳の凝集作用について調べた。また、本酵素を用いた大豆タンパクカードの調製条件について物性の面から検討した。

《方法》

供試菌株は *Bacillus pumilus*TYO-67 を使用した。本菌の培養は分離大豆タンパク質を含む培地で３０℃、４８時間振とう培養することにより行った。酵素１単位は１分間に１ml の大豆乳を凝集させる酵素量と定義した。本酵素の精製は培養ろ液を粗酵素液として用い、疎水、イオン交換クロマトグラフィーを組み合わせて行った。大豆乳に本酵素を作用させ、大豆乳中の凝集物量及び SH 基の変化を調べた。SH 基の定量は、DTNP 試薬を用い、小幡らの方法に従った。また、酸化インシュリンＢ鎖に本酵素を作用させ、逆相 HPLC により分離されたペプチドのアミノ酸組成分析及びアミノ酸シーケンスを行い、酸化インシュリンＢ鎖に対する切断点を調べた。国産大豆から調製した大豆乳に本酵素を添加し、生成した大豆タンパク質の凝集物を金属製フープに流し込み、圧搾成形し、大豆タンパクカードを調製した。得られたカードの物性はレオメーターシステムを用いて測定した。

《結果》

本酵素はセリンプロテアーゼ阻害剤によって顕著に阻害された。本酵素タンパク質の４０番目までの N 末端配列はズブチリシンタイプのセリンプロテアーゼと良く似た配列を有していた。大豆乳中の SH 基量は、酵素反応初期に増加し、凝集物が最大量になった時に減少した。本酵素の酸化インシュリンＢ鎖に対する作用は、１５番目のロイシンと１６番目のチロシンの間を優先的に切断する事がわかった。本酵素によるその切断点は Subtilisin Carlsberg のそれと良く類似しており、１５番目ロイシンと１６番目チロシンの間のほか、３個所が一致した。しかし、中性 SH 酵素であるブロメラインの切断点とは一致する箇所が見つからなかった。本酵素のとうふよう製造への利用を図るためにタンパク質カードの調製法について検討した。本酵素のみで調製した大豆タンパクカードは軟らかすぎてとうふようの製造には不適切であった。そこで、本酵素と硫酸カルシウムを併用したところ、得られた大豆タンパクカードは硫酸カルシウムだけで調製したそれに比べて硬く、しっかりした物性を有していた。一方ブロメラインと硫酸カルシウムを併用して調製した大豆タンパクカードは軟らかく、本酵素によるものとは異なった物性を示した。