

博士（農 学）溝 田 輝 彦

学 位 論 文 題 名

ラクチュロースの工業的製法の開発及び  
その生理作用に関する研究

学位論文内容の要旨

ラクチュロースは乳糖から生成される難消化性の二糖類であり、ビフィズス因子の一つである。本論文は高純度ラクチュロースシロップおよびラクチュロース粉末の工業的な製造法を確立したもので、さらにラクチュロースの適正な摂取量を知るために行った整腸効果に関する知見についても述べている。第1章においては一般的なオリゴ糖の有効性、それらの中でのラクチュロースの意義付けと製造方法開発の歴史について述べ、第2-4章においてはラクチュロースの工業的製造方法の開発について、第5章ではラクチュロースの有効性をボランティアを用いて検証した結果について述べている。これらの成果の概要は以下の通りである。

1. 硼砂法によるラクチュロースの高収率反応の改良

従来、硼砂および水酸化ナトリウムを用いてラクチュロースを高収率で製造する方法が知られていたが、使用される試薬量は極めて多く、硼砂および水酸化ナトリウム使用量はそれぞれ乳糖の約40-400倍および3-30倍と非常に多量であった。本研究ではそれらの試薬の使用量を極力押さえた製造法を検討し、硼砂および水酸化ナトリウムが乳糖の約0.22倍および0.06倍の量でも生成ラクチュロース比率が90%と高収率を達成することが可能な方法を開発した。この新しい方法では、副生物であるガラクトースがラクチュロースの8%であるため、反応液を単に精製・濃縮するだけで90%近くの高純度なラクチュロースシロップが製造可能となった。

2. 低収率反応によるラクチュロースシロップの工業的製造法の開発

上述の方法では硼酸の除去にメタノール蒸留法を用いているが、これはできるだけ避けたい工程である。そこでこの点を解消するために発想を転換し、ラクチュロースの生成率は低くとも副生物の生成を抑制することにより高純度ラクチュロースシロップを製造する方法を開発した。その結果、水酸化ナトリウムを乳糖に対して約0.5%以下の添加量で使用し、ラクチュロースの生成率を21%以内に押さえることにより、副生物であるガラクトースはラクチュロースの15%以内に確保できた。さらに未反応の乳糖は濃縮、冷却、結晶化して分離・除去し、最終的に80%近くの高純度ラクチュロースシロップが製造できた。この方法では、用いる試薬が全て食品添加物であり安全性が高いこと、試薬の除去がイオン交換樹脂によって容易に実施できること、また未反応の乳糖は再使用が可能であることなどの利点がある。一方、ラクチュロースの生成率が低いため、製品出来高に比較してより大きな仕込量を要し、かつ大きな設備が必要とされる。だが、それらのコストは償却可能であり、またランニングコストも大きくはないため、工業的製造法として最

適と考えられる。

### 3. ラクチュロース三水和物の結晶化による新規の精製法

ラクチュロースは水に対する溶解度が高いため、アルコールを使用しないで結晶粉末を得ることは困難と考えられ、1970年代以降シロップ形態で流通・利用されてきた。本研究ではラクチュロース三水和物を水溶液から結晶化させることに成功し、かつ比旋光度、融解開始点、溶解熱、赤外吸収スペクトル、結晶形、温度安定性などの特性を明らかにした。これらの物理化学的特性から、工業的に製造・市販されているラクチュロースシロップからもラクチュロース三水和物の結晶化が可能であることも明らかにした。

### 4. イオン交換樹脂によるラクチュロースの精製および三水和物結晶の製造法の確立

ラクチュロースシロップ中の夾雑物分離に、強酸性陽イオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィー法を用いた。ナトリウム型陽イオン交換樹脂を使用すると分子篩効果も得られ、またカルシウム型を使用するとアルドースとケトースの分離が強いことを見出し、これら2種のイオン交換樹脂カラムを組み合わせた方法を開発した。すなわち、ラクチュロースシロップ中の単糖類との分離にナトリウム型を、他の二糖類からの分離にカルシウム型を用いて順次分離し、効率的に高純度なラクチュロースを得る方法である。またラクチュロース溶液からの三水和物の結晶化法、および結晶分離上澄み液から陽イオン交換樹脂によりラクチュロースを回収し精製する方法を組み合わせて、大量生産を可能とする工業的な製造体系を確立した。

### 5. ラクチュロース三水和物から無水物への変換法の確立

三水和物結晶は58–60°Cの融解開始点を有することから、融点のより高くて取扱い易い無水形への変換法を検討した。真空乾燥法で得られる無水形は不安定で強い吸湿性を示すが、空气中で流動させながら加温して脱水すること（流動乾燥法）により、結晶形を安定な粉末状態のまま変換させることに成功した。また、35°Cで表面的な変化を示す指標が外観および示差熱分析法(DTA)において見られ、吸気温度50–55°Cにおいて内部をも含めた大きな変化を示す表面構造変化、外観変化、水分減少、DTA分析データ、結晶化度の変化が見られた。吸気温度60°C以上では物理化学的な変化は生じなかった。

### 6. ラクチュロースの食品利用における適切な低摂取量レベルの把握

ラクチュロースが持つ腸内環境改善の有用性を確認でき、なおかつ過剰摂取等の問題を認めない適切な摂取量を把握するために、低摂取量水準(3gあるいは5g/日)における便性に及ぼす摂取効果を、健常な296名の被検者を用いて試験した。排便回数、形状、硬さなどの観察から、広く一般健常人に便性改善効果をもたらす適正なラクチュロース摂取量としては、1日当たり4gが望ましいと考えられた。次に1日当たりラクチュロース4gの摂取量を1本当たりに含有する飲料を作成し、男女計8名の被検者による摂取効果を糞便で調べた結果、有用菌であるビフィズス菌占有率は増加して摂取前の22.4%から摂取期の50.5%へと大きく変化し、逆に摂取前の主要細菌であった腸内腐敗菌類は減少し、腸内菌叢の改善効果が見られた。その他に、糞便水分の増加傾向、糞便pHの低下、糞便中酢酸の増加傾向、腸内腐敗産物の減少傾向、および腐敗産物生成酵素活性の低下傾向などの、便性改善を裏付け、かつ腸内環境を改善する効果あるいは傾向が認められた。

以上のように本研究において、チーズ製造時あるいは乳たんぱく質分離時に副生するホエイの主要成分である乳糖からまずラクチュロースシロップを、次いでラクチュロース三水和物の結晶

を得、さらに無水ラクチュロースの形態に変換する一連の工業的利用体系を築いたものである。さらに整腸効果を有する適切なラクチュロース含有量の根拠を示すことにより、ラクチュロース含有食品の設計への指針も示している。これらは産業的に大きな価値を持つ成果であるとともに、学術的にも興味ある知見を提供している。

# 学位論文審査の要旨

主査教授 島崎敬一  
副査教授 服部昭仁  
副査教授 松井博和  
副査助教授 玖村朗人

## 学位論文題名

### ラクチュロースの工業的製法の開発及び その生理作用に関する研究

本論文は6章から構成され、図54、表28からなる総ページ163の和文論文であり、他に参考論文3編が付されている。

ラクチュロースは乳糖から生成される難消化性の二糖類であり、ビフィズス因子の一つである。本論文は高純度ラクチュロースシロップおよびラクチュロース粉末の工業的な製造法を確立し、さらにラクチュロースの適正な摂取量に関する知見についても述べている。第1章では一般的なオリゴ糖の有効性、ラクチュロースの意義付け、製造方法の変遷について、第2～4章においてはラクチュロースの工業的製造方法の開発について、第5章ではラクチュロースの有効性をボランティアを用いて検証した結果について述べている。

#### 1. 硼砂法によるラクチュロースの高収率反応の改良

従来の硼砂法では、硼砂および水酸化ナトリウムをそれぞれ乳糖の約40-400倍および3-30倍と非常に大量に用いていた。本研究の結果、これらの試薬量をそれぞれ乳糖の約0.22倍および0.06倍の量でも高収率でラクチュロースを生成する方法を開発した。その結果、反応液を単に精製・濃縮するだけで純度90%近くのラクチュロースシロップが製造可能となった。

#### 2. 低収率反応によるラクチュロースシロップの工業的製造法の開発

従来法では硼酸除去にメタノール蒸留法を用いるが、これはできるだけ避けたい工程である。そこで発想を転換し、ラクチュロースの生成率は低くとも副生物の生成を抑制することにより高純度ラクチュロースシロップを製造する方法を開発した。その結果、水酸化ナトリウム使用量を乳糖に対して約0.3%以下として、ラクチュロース生成率を17%とし、未反応の乳糖は結晶化により分離・除去することにより、純度が80%近くのラクチュロースシロップ

が製造できた。この方法では、用いる試薬が全て食品添加物であり安全性が高く、試薬の除去が容易に実施でき、また未反応の乳糖は再使用が可能であるなどの利点がある。一方、ラクチュロースの低い生成率のため大きな仕込み設備を必要とするが償却可能であり、またランニングコストも小さいために工業的製造法として適していると考えられる。

### 3. ラクチュロース三水和物の結晶化による新規の精製法

従来はラクチュロースはシロップの形態でしか流通・利用されなかった。それは、アルコールを使用しないで結晶粉末を得ることが困難であったためである。本研究ではラクチュロース三水和物を水溶液から結晶化させることに成功し、かつその物理特性を明らかにした。

### 4. イオン交換樹脂によるラクチュロースの精製および三水和物結晶の製造法の確立

ラクチュロース三水和物分離液からのラクチュロースの回収を図るために、強酸性陽イオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィー法を用いた。 $\text{Na}$ 型を使用すると分子篩効果が得られ、また $\text{Ca}$ 型を使用するとアルドースとケトースの分離が強いことを見出した。この回収法と三水和物の結晶化法を組み合わせて、三水和物の大量生産を可能とする工業的な製造体系を確立した。

### 5. ラクチュロース三水和物から無水物への変換法の確立

三水和物結晶の融解開始点は $58\text{--}60^\circ\text{C}$ であることから、融点のより高くて取扱い易い無水形への変換法も開発した。真空乾燥法で得られる無水形は不安定で強い吸湿性を示すが、空気中で流動させながら加温して脱水する流動乾燥法により、結晶形を安定な粉末状態のまま変換させることに成功した。また、この方法で得られた無水物の物理化学的特性についても明らかにした。

### 6. ラクチュロースの食品利用における適切な低摂取量レベルの把握

ラクチュロースが持つ腸内環境改善の有用性を確認でき、なおかつ過剰摂取等の問題が生じない適切な摂取量を把握するため、低摂取量水準（3gあるいは5g/日）での便性への摂取効果を、健常な296名の被検者を用いて試験した。排便回数、形状、硬さなどの観察から、便性改善効果をもたらす適正なラクチュロース摂取量としては、1日当り4gが望ましいと考えられた。次に、1日当りラクチュロース4gの摂取量を1本当に含有する飲料を作成し、男女計8名の被検者による摂取効果を調べた結果、糞便中のビフィズス菌占有率が増加し、摂取前の22.4%から摂取期の50.5%へと大きく変化した。逆に摂取前の主要細菌であった腸内腐敗菌類は減少し、腸内菌叢の改善効果が見られた。

以上のように、本研究はチーズ製造時あるいは乳たんぱく質分離時に副生するホエイの主要成分である乳糖からまずラクチュロースシロップを、次いでラクチュロース三水和物の結晶を得、さらに無水ラクチュロースの形態に変換する一連の工業的利用体系を築いたもので

ある。さらに整腸効果を有する適切なラクチュロース含有量の根拠を示すことにより、ラクチュロース含有食品の設計への指針も示した。これらは産業的に大きな価値を持つ成果であるとともに、学術的にも非常に興味ある知見を提供している。よって審査員一同は、溝田輝彦が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。