

千葉県産生乳に適した製造工程に関する研究（第1報）

～ラクトースを低減した牛乳の特性について～

食品・化学技術室 大垣 佳寛, 山本 貴之, 海老原 昇
 技術支援室 宮崎 浩子
 古谷乳業株式会社 高野 和也, 白井 寛, 三浦 みゆき

Research on milk production processes suitable for raw milk produced in Chiba prefecture
 ~ Production of lactose reduced milk ~

Yoshihiro OGAKI, Takayuki YAMAMOTO, Noboru EBIHARA, Hiroko MIYAZAKI,
 Kazuya TAKANO, Hiroshi SHIROI, Miyuki MIURA

本研究では、生乳を酵素処理してラクトースを低減した牛乳を調製した。その結果、ラクトースが 1.5%（糖全体の 28%）に低減されるとともに、約 1.4%のガラクトオリゴ糖を含む牛乳を製造できた。この牛乳は機能性食品として有用であると考えられる。

1. はじめに

乳製品は、カルシウム等のミネラル、必須アミノ酸を豊富に含むタンパク質など栄養に富む食品である。近年、超高齢社会の到来により、骨、関節、筋肉等の運動器の障害により、生活活動の制限や介護が必要になるリスクが高まる「ロコモティブシンドローム（運動器症候群）」の対策が喫緊の課題となっている。日頃からの乳製品の摂取は、これら運動器の障害を予防する手段の一つとして有望であると考えられる。

千葉県は、大消費地である東京に近いこともあり、首都圏における牛乳の一大産地である。生乳の生産量は全国で5位¹⁾（平成28年度）である。また、「ちばの牛乳」は中小企業地域資源活用促進法に基づく地域資源としても指定されている。

一方、全国の牛乳の生産量は1994年の505万kLをピークに減少傾向にある。その要因として少子高齢化社会に入ったことや、ペットボトル清涼飲料などの飲用増加などが挙げられている²⁾。

さらに、一般に日本人は欧米人に比べて乳製品の摂取量が少ない傾向にある。この理由の一つとして、日本人成人は「乳糖不耐症」を発症する傾向が高いことが挙げられる。

牛乳中には糖類としてはほとんどラクトースのみが4.8%³⁾含まれているが、ヒトは乳幼児時には小腸内でラクトースを分解する酵素であるラクターゼの活性が高く、乳糖を十分に消化することが可

能である。しかし、成長するにつれ小腸内のラクターゼの活性が弱まるため、乳糖を消化しにくくなり、腹部の不快感や下痢等を起こす「乳糖不耐症」を生じやすくなる。乳製品を日頃から多く摂取する欧米人は、成人になってもラクターゼ活性が高いため、乳糖不耐症を起こしにくいとされている。

本研究では、ラクトース分解酵素を用いてラクトースを低減した牛乳を調製した。更にその中の糖類の分析を行った。

2. 実験方法

2. 1 試料の調製

2. 1. 1 ラクトースを低減した牛乳の調製

生乳（千葉県産）についてラクトース分解酵素剤（ β -ガラクトシダーゼ）を加え、所定の温度で保持し、所定の時間ごとにサンプリングを行った。得られた試料は分析開始まで -25°C で冷凍保存した。

2. 2 高速液体クロマトグラフ（HPLC）による牛乳中のラクトースおよびオリゴ糖の分析

2. 2. 1 アミノカラムを用いた牛乳中のラクトースの分析（分析方法A）

試料を水で10倍希釈し、メンブランフィルター（ $0.45\ \mu\text{m}$ ）でろ過してHPLC分析用試料溶液とした。分析条件は以下のとおり。

装置; 日立 L-6000, カラム; Shodex Asahipak NH2P-50 4E 4.6 mm×250 mm, 移動相; アセトニトリル+水=3+1 (容量), 流速; 1.0 mL/min, カラム温度; 40 °C, 検出器; RI (示差屈折検出器 日立L-3300), 注入量; 5 μL.

2. 2. 2 水溶媒型GPCカラムを用いた牛乳中のラクトースとオリゴ糖の分析 (分析方法B)

試料を水で100倍希釈し, メンブランフィルター (0.45 μm) でろ過してHPLC分析用試料溶液とした。分析条件は以下のとおり。装置; 上記と同じ, カラム; Shodex SUGAR KS-801+KS-802 8.0 mm×300 mm, 移動相; 純水, 流速; 0.7 mL/min, カラム温度; 80 °C, 検出器; RI (上記と同じ), 注入量; 20 μL.

2. 2. 3 陰イオン交換カラムを用いた牛乳中のオリゴ糖の分析 (分析方法C)

試料を水で100倍希釈し, メンブランフィルター (0.45 μm) でろ過してHPLC分析用試料溶液とした。分析条件は以下のとおり。装置; イオンクロマトグラフ (ダイオネクス社製 DX-500), カラム; Dionex Carbopac PA100 4 ×250 mm, 流速; 0.5 mL/min, カラム温度; 35 °C, 注入量; 25 μL, 検出器; 電気化学ーパルスアンペロメトリ (金電極) 検出器 (Hewlett Packard 104 9A) .

グラジエント条件;

- A: 0.5 M NaOH, B: 1.0 M CH₃COONa, C: H₂O.
- A 33.0 %, C 67.0 %, (5.0 min)
- A 33.0 %, B 25.0 %, C 42.0 % (42.5 min)
- A 33.0 %, B 25.0 %, C 42.0 % (44.0 min)
- A 33.0 %, C 67.0 % (60.0 min)

3. 結果と考察

3. 1. 高速液体クロマトグラフ (HPLC) による牛乳中のラクトースの分析

一般に, 牛乳中のラクトースの分析では, アミノカラムを用いた高速液体クロマトグラフ (分析方法A) がよく用いられており, 食品表示基準における栄養表示の基準法⁴⁾としても採用されている。しかし, 本法では牛乳中のラクトースの定量はできることは確認したが, 酵素処理牛乳中の糖の分析では, ガラクトオリゴ糖が十分に分離できなかった。

表 1 異なる分析方法 (A, B) による A 社製, B 社製牛乳中のラクトースの含有量 (3 回平均値±標準偏差)

	分析方法 A (アミノカラム)	分析方法 B (水溶媒系 GPC)
A 社製牛乳	4.50±0.04%	4.57±0.01%
B 社製牛乳	4.66±0.19%	4.97±0.03%

水溶媒型GPCカラムを用いた方法 (分析方法B) は, 単糖類, 二糖類はもとより, 三糖類以上のオリゴ糖類についても分離できる。そこで, 市販の牛乳試料 (A, B社製) を用いて, まず, 両者の分析方法の違いについて検討を行った。その結果を表 1 に示す。A社製牛乳では分析条件Aおよび分析条件Bともほぼ同一の分析値が得られたが, B社製牛乳では分析条件Bで行った方が若干(7%程度)高い値が出ることを確認した。

3. 2 HPLC による酵素処理牛乳中の糖類の分析

図 1 に水溶媒型 GPC カラムを用いた HPLC (分析方法 B) で酵素処理牛乳を分析した際のクロマトグラムを示す。5つのピークが確認され, 後ろの3ピークは保持時間の早いほうからラクトース, グルコース, ガラクトースと同定された。さらにラクトースより早いリテンションタイムに2ピークが確認された。本カラムは重合度の大きい糖から溶出し, 異性体はほとんど分離しないことを考慮すると, これらの2つのピークはリテンションタイムの早いほうからそれぞれ4糖, 3糖のガラクトオリゴ糖と考えられる。

表 2 に生乳にラクトース分解酵素を加え, 所定の温度で保持し, 一定時間ごとにサンプリングを行った際の各成分の変化を示す。

生乳中には約5.8%のラクトースが含まれており, 酵素反応でラクトースは1.9%まで減少した。一方, グルコースは1.9%まで増加し, ガラクトースは0.9%まで増大した。さらに約0.6%のオリゴ糖 (4糖) と1.2%のオリゴ糖 (3糖) を生成させることが出来た。

成分を調整した後の最終製品では, 図 2 に示したとおり, ラクトースが1.5% (全体の糖の28%) まで低減され, 約0.5%のオリゴ糖 (4糖) と0.9%のオリゴ糖 (3糖) が存在した。

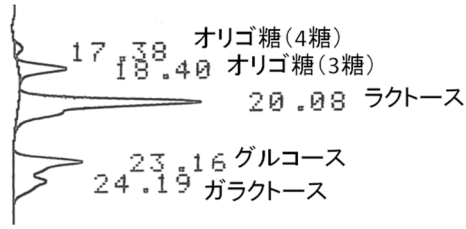


図1 水溶媒型 GPC カラムを用いた HPLC (分析方法 B) で酵素処理牛乳を分析した際のクロマトグラム

糖類(g/100mL)	酵素添加前	5 時間後	反応終了時
オリゴ糖(4 糖)	0.0	0.7	0.6
オリゴ糖(3 糖)	0.0	1.3	1.2
ラクトース	5.8	2.2	1.9
グルコース	0.0	1.8	1.9
ガラクトース	0.0	0.6	0.9

また、本製品中にガラクトオリゴ糖が存在していることを確かめるため、イオンクロマトによるオリゴ糖の分析を行った。図3に陰イオン交換カラム(分析方法 C)を用いたイオンクロマト分析における酵素処理牛乳のクロマトグラム(A)を示す。この試料においては、グルコース+ガラクトース(5.5分, 重なる), ラクトース(7.0分)の他に多数のピークが検出された。図3に試薬のガラクトオリゴ糖標準品(和光純薬)のクロマトグラム(B)も併せて示す。3本のピークが検出され、そのうち最初の7.0分のピークはラクトースと考えられ、その後の2ピークがリテンションタイムの早いほうから順番にそれぞれ3糖, 4糖のガラクトオリゴ糖と考えられる。これら2つのピークがクロマトグラムAのピークc, dのリテンションタイムにほぼ一致したことから、酵素処理牛乳中にガラクトオリゴ糖が存在していることを確認した。

4. まとめ

ラクトース分解酵素を用いてラクトースを低減した牛乳を調製した。更にその中の糖類の分析を行った。その結果、酵素処理牛乳ではラクトースが1.5%(全体の糖の28%)まで低減されるとともに、約1.4%のガラクトオリゴ糖(3糖+4糖の合計)が生成されることが確認された。本品は、整腸作用

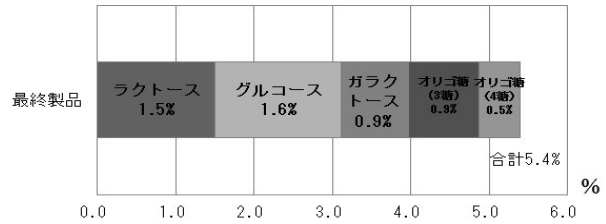


図2 酵素処理牛乳(最終製品)中の各糖の含有量

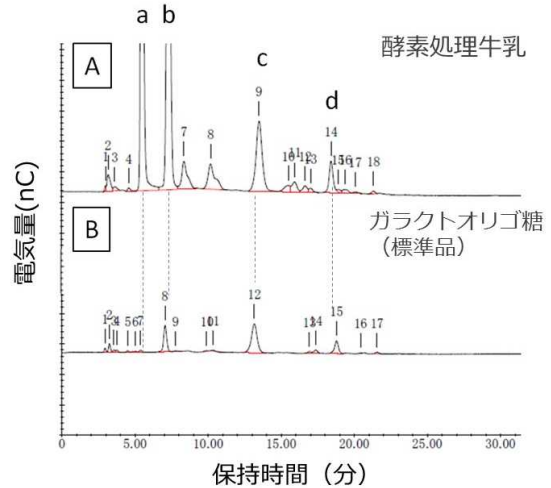


図3 陰イオン交換カラムを用いたイオンクロマトグラフで酵素処理牛乳(処理時間6時間)(A)と、ガラクトオリゴ糖標準品(B)を分析した際のクロマトグラム
a:グルコース+ガラクトース, b:ラクトース
c:オリゴ糖(3糖), d:オリゴ糖(4糖)

が報告されているオリゴ糖を含む機能性食品として有用であると考えられる。

参考文献

- 1) 農林水産省：牛乳乳製品統計(平成28年)
- 2) 一般社団法人Jミルク編：牛乳・乳製品の知識 改訂版(2017) p. 29.
- 3) 一般社団法人Jミルク編：牛乳・乳製品の知識 改訂版(2017) p. 39.
- 4) 食品表示基準について 別添 栄養成分の分析方法等 pp. 37-40(平成29年9月1日消食表第407号).
- 5) ガラクトオリゴ糖とその機能性 ヤクルトサイエンスレポートNo. 22.