

氏 名 (本 籍)	にし ぎわ こう じ (東 京 都)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2468 号
学位授与年月日	平成 13 年 1 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	農学研究科
学 位 論 文 題 目	膜リアクターを用いたフラクトオリゴ糖の高効率生産技術の開発
主 査	筑波大学併任教授 工学博士 中 嶋 光 敏 (食品総合研究所)
副 査	筑波大学教授 農学博士 木 村 俊 範
副 査	筑波大学教授 農学博士 前 川 孝 昭
副 査	筑波大学教授 工学博士 向 高 祐 邦

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、我が国における食生活水準の向上は目覚ましく、食品に対する消費者ニーズも、主要な栄養素の量的確保から、栄養素のバランス及び嗜好性に優れ、健康の増進にも寄与する高品質・高付加価値の食品を志向するという、より高度な段階へと変化している。そのような時代背景のなかで、機能性食品素材の開発競争が激化しており、特にオリゴ糖については、マスコミ等の影響で一大ブームとなったように、機能性食品の代表格として一般消費者にも広く受け入れられている。フラクトオリゴ糖は、1983年に明治製菓（株）により工業化され、1995年には整腸効果をヘルスクレームとした特定保健用食品として認可されて、現在種々の健康食品素材並びに飼料用素材として広く利用されている。しかしながら、現在フラクトオリゴ糖は主にバッチ法にて生産されており、より効率的な生産技術の開発が求められている。また同時に、効率的な工業生産システムを構築する上で、フラクトオリゴ糖生成酵素である $\beta$ -フラクトフラノシダーゼの反応速度論的解析を行うことが必要である。一方、食品工業においては、酵素を利用して甘味料や調味料などの多くの製品が作られ、ビール、酒、醤油等の発酵工業でも固定化生体触媒の適用が検討されつつある。固定化生体触媒は、酵素等を所定の担体に固定化してカラムに充填することにより、生成物の連続生産及びコスト低減を図るものであるが、固定化による酵素活性の低下や、立体障害による反応速度の低下等の問題点があった。そこで、耐熱性や耐薬品性に優れた膜の開発に伴い、反応器に膜装置を組合せた膜リアクターの研究開発が盛んに行われるようになってきた。

本研究においては、膜リアクターを用いたフラクトオリゴ糖の高効率生産技術の開発を目的とし、feasibility studyとしてインペルターゼを固定化した強制透過型膜リアクターの基礎特性に関する研究を行った。その結果、多孔質セラミック膜細孔内に酵素を固定化することにより、従来のカラムリアクターと比較して生産性が約10倍に向上することがわかった。その際の転化率は、ほぼ100%であり、膜内滞留時間は約5秒と極めて短時間であった。以上のことから、シュクロースのような低分子物質を気質として用いる場合においては、強制透過型膜リアクターは生産性の点で極めて有効であり、かつ滞留時間が短いことからサニタリー性の面でも優位と考えられる。また、リアクターの生産性を圧力という応答性のよい操作因子にて制御可能であることを見出した。さらに、廃糖蜜のような不純物・夾雑物を多く含む原料を用いた場合においても、本リアクターは適用可能であることが示された。この結果に基づき、 $\beta$ -フラクトフラノシダーゼを固定化した強制透過型膜リアクターによるフラク

トオリゴ糖の生産を検討した。その結果、本リアクターはバッチリアクターの約500倍の生産性を有していることが明らかとなった。また、長期運転試験により、固定化酵素の活性半減期は35日であった。

$\beta$ -フラクトフラノシダーゼによるフラクトース転移反応の反応速度論的解析において、従来の研究とは異なる新たな反応モデルを考案し、GF、GF2、GF3を基質とした実験データから各基質における速度パラメータを求めた。次にグルコースによる阻害の解析を行い、 $\beta$ -フラクトフラノシダーゼは非拮抗的に阻害を受けることを明らかにした。さらに本モデルを用い、酵素反応による糖組成の経時変化をシミュレートした結果、実験値とシミュレーション値はほぼ一致し、本モデルの妥当性が示された。また、反応系からグルコースを除去することにより、転移反応が効率的に進行するとともにオリゴ糖収率の向上が期待されたため、膜を用いてグルコースの除去を試みた。グルコースを選択的に除去する膜を見出し、選定された膜を用いた遊離酵素型膜リアクターを構築してフラクトオリゴ糖の生産を検討した。その結果、得られたフラクトオリゴ糖の純度は93%と、一段の工程にて市販のメイオリゴPの純度にはほぼ匹敵する高純度のフラクトオリゴ糖を調整することができた。また、原料のGFに対するオリゴ糖収率も、クロマト分離による現行法と比較して約5%向上した。

以上の結果から、強制透過型及び遊離酵素型膜リアクターを用いることにより、フラクトオリゴ糖の効率的な生産システムの可能性が示された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はフラクトオリゴ糖の効率的生産システムの開発を目的に、酵素膜リアクターの基礎特性、フラクトオリゴ糖合成酵素である $\beta$ -フラクトフラノシダーゼの反応特性、さらに膜リアクターへの適用が検討された。酵素を膜に固定化した強制透過型膜リアクターが従来法に比べてきわめて高い反応性を有することなど、その特性を明らかにしたことに加えて、酵素反応の機構の解明、反応過程のシミュレーションにも成功した。また、目的物質のオリゴ糖と反応副産物であるグルコースを分離可能なナノろ過膜を選定し、その膜を用いることで、反応を行いながら副産物を連続的に除去しながら、高純度オリゴ糖を製造することができる方法を実証したことも評価される。

以上、転移反応の酵素特性の解析、バイオリアクターとしての膜リアクターの特性の解明を行ったことは、今後の食品産業における酵素、膜、バイオリアクターの利用技術の発展において大いに貢献するものである。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。