



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110651043 A

(43)申请公布日 2020.01.03

(21)申请号 201880033134.X

(22)申请日 2018.05.31

(30)优先权数据

2017-112848 2017.06.07 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.11.19

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2018/021025 2018.05.31

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/225623 JA 2018.12.13

(71)申请人 天野酶制品株式会社

地址 日本国爱知县名古屋市中区锦1丁目2
番7号

(72)发明人 黑田学 北条真之

(74)专利代理机构 北京汇思诚业知识产权代理
有限公司 11444

代理人 龚敏 王刚

(51)Int.Cl.

C12N 9/24(2006.01)

A23L 33/125(2006.01)

A61K 38/46(2006.01)

A61P 1/12(2006.01)

A61P 1/14(2006.01)

权利要求书2页 说明书13页 附图2页

(54)发明名称

乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂

(57)摘要

本发明提供进一步提高了保存稳定性的乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂。通过使在乳糖酶原料粉末的制造工序中不可避免地生成的葡萄糖和/或半乳糖的量的允许量在规定范围内,从而提高乳糖酶原料粉末的稳定性。一种乳糖酶原料粉末,其包含乳糖酶以及半乳糖和/或葡萄糖,上述半乳糖和上述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下;以及,一种乳糖酶制剂,其包含该乳糖酶原料粉末作为有效成分。

1. 一种乳糖酶原料粉末,其特征在于,包含乳糖酶以及半乳糖和/或葡萄糖,所述半乳糖和所述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下。
2. 根据权利要求1所述的乳糖酶原料粉末,其中,所述半乳糖和所述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $30\mu\text{mol}$ 以下。
3. 根据权利要求1所述的乳糖酶原料粉末,其中,所述半乳糖和所述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $8\mu\text{mol}$ 以下。
4. 根据权利要求1~3中任一项所述的乳糖酶原料粉末,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为10%以上。
5. 根据权利要求1~3中任一项所述的乳糖酶原料粉末,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为50%以上。
6. 根据权利要求1~3中任一项所述的乳糖酶原料粉末,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为75%以上。
7. 根据权利要求1~6中任一项所述的乳糖酶原料粉末,其中,所述乳糖酶为米曲霉产生的乳糖酶。
8. 一种乳糖酶制剂,其特征在于,包含权利要求1~7中任一项所述的乳糖酶原料粉末。
9. 根据权利要求8所述的乳糖酶制剂,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为10%以上。
10. 根据权利要求8或9所述的乳糖酶制剂,其中,还包含糖赋形剂。
11. 根据权利要求10所述的乳糖酶制剂,其中,所述糖赋形剂的含量为10质量%以上。
12. 根据权利要求8~11中任一项所述的乳糖酶制剂,其中,乳糖酶制剂中的半乳糖和葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 。
13. 根据权利要求8~12中任一项所述的乳糖酶制剂,其中,所述乳糖酶制剂为医药品。
14. 根据权利要求8~12中任一项所述的乳糖酶制剂,其中,所述乳糖酶制剂为补充剂。
15. 根据权利要求8~12中任一项所述的乳糖酶制剂,其中,所述乳糖酶制剂为食品添加剂。
16. 一种乳糖酶原料粉末的制造方法,其特征在于,包含以下工序(1)和(2):
 - (1) 准备葡萄糖和半乳糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下的含乳糖酶液体的工序;以及
 - (2) 对所述含乳糖酶液体进行干燥的工序。
17. 一种乳糖酶制剂的制造方法,其特征在于,包含以下工序(1)~(3):
 - (1) 准备葡萄糖和半乳糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下的含乳糖酶液体的工序;
 - (2) 对所述含乳糖酶液体进行干燥的工序;以及
 - (3) 将乳糖酶干燥物制剂化的工序。
18. 一种医药品的制造方法,其特征在于,包含将权利要求1~7中任一项所述的乳糖酶原料粉末或权利要求8~12中任一项所述的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。
19. 一种补充剂的制造方法,其特征在于,包含将权利要求1~7中任一项所述的乳糖酶原料粉末或权利要求8~12中任一项所述的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。

20. 一种食品添加剂的制造方法, 其特征在于, 包含将权利要求1~7中任一项所述的乳糖酶原料粉末或权利要求8~12中任一项所述的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。

21. 一种饮食品的制造方法, 其特征在于, 包含将权利要求1~7中任一项所述的乳糖酶原料粉末、权利要求8~12和15中任一项所述的乳糖酶制剂添加到饮食材料中的工序。

乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂。更具体而言,本发明涉及可工业化制造且保存稳定性高的乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂。

背景技术

[0002] 乳糖酶是将乳糖(即lactose)水解为葡萄糖和半乳糖的酶,也被称为 β 半乳糖苷酶。

[0003] 牛奶等乳制品中包含乳糖。当摄取乳制品时,多数人通过存在于小肠的乳糖酶在体内分解乳糖,并由小肠吸收。但是,部分人中,小肠内不存在足量的乳糖酶,因此即使摄取乳制品也不产生小肠内的适当吸收,呈现消化不良、腹泻、腹部胀满感等症状。这种病情被称为乳糖不耐受。

[0004] 为了抑制乳糖不耐受的症状,通常已知服用乳糖酶剂。因此,在很多国家制造销售乳糖酶剂。另一方面,已知如果在摄取乳制品前服用乳糖酶则其效果下降或变得无效。因此,专利文献1公开了一种技术,其通过使乳糖酶剂同时含有乳糖酶和抗酸剂即选自柠檬酸三钠、酒石酸钠钾、碳酸钙、碳酸钠或磷酸氢钙中的至少1种,从而即使在摄取包含乳糖的饮食品之前服用,乳糖酶也不失活且在体内分解乳糖。

[0005] 通常在酶剂之类的生物制剂的制造中,如非专利文献1记载所示,为了使不稳定的生物活性物质成为稳定的制品而推荐将其与容易玻璃化的赋形剂一同干燥,并将其封入水溶性的玻璃内。非专利文献1中公开了:作为赋形剂,碳水化合物较重要,作为容易形成玻璃的碳水化合物,可举出甘油、核糖、木糖、山梨糖醇、甘露糖醇、果糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、海藻糖、麦芽三糖、棉籽糖。

[0006] 另一方面,专利文献2指出:在通过提供非晶态或玻璃样固体基质而使酶稳定化的碳水化合物赋形剂存在下进行的生物物质的干燥中和干燥后,会发生美拉德反应。并且报告了美拉德反应引起的着色的程度似乎与酶活性的下降有关。因此公开了以下方法:为了防止由碳水化合物赋形剂引起的美拉德反应,延长干燥后的生物物质的寿命,在对使干燥后的生物物质稳定化有效的量的碳水化合物赋形剂存在下,且对实质上防止美拉德反应有效的量的美拉德反应抑制剂存在下对生物物质进行干燥。作为具体例,示出了在作为碳水化合物赋形剂的葡萄糖的存在下通过使其包含作为美拉德反应抑制剂的赖氨酸并使碱性磷酸酶干燥,从而该酶的活性提高。

[0007] 另外,专利文献3中列举了以下内容,即,在使用酶的食品的调理制造中,食品的起始成分中所含有的水会导致美拉德褐变。并且公开了下述主旨,即,如果水更少,则美拉德褐变的程度下降,因此用于控制美拉德褐变的方法是减少食品的起始成分中的水分量。另一方面还指出:在食品的调理制造中,作为用于控制美拉德褐变的方法的、基于除去水的干燥会引起其它问题。因此作为解决该方法公开了以下方法,即,在食品的起始成分(全脂牛奶或脱脂牛奶)中加入对于预防过度褐变有效的量的氧化还原酶而形成水性混合物后,干燥,制造食品(乳酪)。

现有技术文献

专利文献

[0008] 专利文献1:国际公开第2011/037058号

专利文献2:日本特表平10-505591号公报

专利文献3:日本特开2016-129525号公报

非专利文献

[0009] 非专利文献1:蛋白质核酸酶Vol.41, No.6 (1996) p.810-816

发明内容

[0010] 专利文献1的课题是服用乳糖酶剂时的体内的活性下降,关于针对乳糖酶剂本身的保存稳定性的课题,并没有公开。非专利文献1中记载了:从保存稳定性的观点出发,在酶剂之类的生物制剂的制造中需要葡萄糖、半乳糖等赋形剂。专利文献2的课题在于,中作为碳水化合物赋形剂所引起的其它问题,防止可能与酶活性下降有关的美拉德反应。但是,其解决方法与非专利文献1相同,在葡萄糖这类碳水化合物赋形剂存在下干燥成为前提。专利文献3公开了美拉德褐变的主要原因是水的存在,通过除去水可以控制美拉德褐变。

[0011] 但是,全部文献中,作为对保存时的酶的稳定性产生影响的主要原因,关于葡萄糖等碳水化合物赋形剂以外的主要原因没有任何启示。另外,作为对美拉德反应产生影响的主要原因,关于葡萄糖等碳水化合物赋形剂和水以外的主要原因也没有任何启示,其中,上述美拉德反应已被公开可能与酶活性下降有关。

[0012] 其中,鉴于制造效率和制造成本,通常利用微生物的发酵作用来生产以乳糖酶为首的为了工业用途而生产的酶。作为使用微生物生产酶的方法,可举出固体培养法、液体培养法。这样的培养法中可使用包含糖类的培养基。

[0013] 通过微生物发酵而生产的乳糖酶、淀粉酶等糖水解酶分解培养基中所包含的糖类。因此,工业制造的乳糖酶中不可避免地混杂有作为培养基中所包含的糖类、工序中添加的糖类的分解物等的葡萄糖、半乳糖。如此在制造中不可避免地产生的葡萄糖、半乳糖与作为赋形剂而后续添加的葡萄糖、半乳糖相比,可以说是极少量。因此,这样的制造中不可避免地混杂的葡萄糖、半乳糖对乳糖的影响,在以往的技术常识上,没有被特别考虑,是被忽视的。此外,如果乳糖酶为粉末状即干燥状态,则也不存在专利文献3等所公开的水所产生的影响,因此更加不存在考虑制造中不可避免地混杂的葡萄糖、半乳糖的动机。

[0014] 但是,本发明人发现了即使该制造中不可避免地混杂的葡萄糖、半乳糖为少量,也会大幅影响乳糖酶的保存稳定性且即使是干燥状态的乳糖酶该影响也存在。

[0015] 因此,本发明的目的在于,提供一种进一步提高了保存稳定性的乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂。

[0016] 本发明人发现,通过使乳糖酶的制造工序中不可避免地生成的葡萄糖和/或半乳糖的量的允许量在规定范围内,从而提高乳糖酶原料粉末的稳定性。此外,本发明人发现,如果是如此规定了葡萄糖和/或半乳糖的量的乳糖酶原料粉末,则即使在以干燥状态与赋形剂混合而制成乳糖酶剂时,可抑制来自赋形剂的还原糖对乳糖酶的不良影响。本发明是基于这些见解完成的。

本发明包含以下发明。

[0017] 方案1.一种乳糖酶原料粉末,其包含乳糖酶以及半乳糖和/或葡萄糖,上述半乳糖和上述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下。

方案2.根据方案1记载的乳糖酶原料粉末,其中,上述半乳糖和上述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $30\mu\text{mol}$ 以下。

方案3.根据方案1记载的乳糖酶原料粉末,其中,上述半乳糖和上述葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $8\mu\text{mol}$ 以下。

方案4.根据方案1~3中任一项记载的乳糖酶原料粉末,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为10%以上。

方案5.根据方案1~3中任一项记载的乳糖酶原料粉末,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为50%以上。

方案6.根据方案1~3中任一项记载的乳糖酶原料粉末,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为75%以上。

方案7.根据方案1~6中任一项记载的乳糖酶原料粉末,其中,上述乳糖酶为米曲霉(*Aspergillus oryzae*)产生的乳糖酶。

方案8.一种乳糖酶制剂,其包含方案1~7中任一项记载的乳糖酶原料粉末。

方案9.根据方案8记载的乳糖酶制剂,其中,在 105°C 放置4小时后的残存活性为10%以上。

方案10.根据方案8或9记载的乳糖酶制剂,其中,还含糖赋形剂。

方案11.根据方案10记载的乳糖酶制剂,其中,上述糖赋形剂的含量为10质量%以上。

方案12.根据方案8~11中任一项记载的乳糖酶制剂,其中,乳糖酶制剂中的半乳糖和葡萄糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 。

方案13.根据方案8~12中任一项记载的乳糖酶制剂,其中,上述乳糖酶制剂为医药品。

方案14.根据方案8~12中任一项记载的乳糖酶制剂,其中,上述乳糖酶制剂为补充剂。

方案15.根据方案8~12中任一项记载的乳糖酶制剂,其中,上述乳糖酶制剂为食品添加剂。

方案16.一种乳糖酶原料粉末的制造方法,其包含以下工序(1)和(2):

(1)准备葡萄糖和半乳糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下的含乳糖酶液体的工序;以及

(2)对上述含乳糖酶液体进行干燥的工序。

方案17.一种乳糖酶制剂的制造方法,其包含以下工序(1)~(3):

(1)准备葡萄糖和半乳糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下的含乳糖酶液体的工序;

(2)对上述含乳糖酶液体进行干燥的工序;以及

(3)将乳糖酶干燥物制剂化的工序。

方案18.一种医药品的制造方法,其包含将方案1~7中任一项记载的乳糖酶原料粉末或方案8~12中任一项记载的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。

方案19.一种补充剂的制造方法,其包含将方案1~7中任一项记载的乳糖酶原料粉末或方案8~12中任一项记载的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。

方案20.一种食品添加剂的制造方法,其包含将方案1~7中任一项记载的乳糖酶原料粉末或方案8~12中任一项记载的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。

方案21.一种饮食品的制造方法,其包含将方案1~7中任一项记载的乳糖酶原料粉末、方案8~12和15中任一项记载的乳糖酶制剂添加到饮食材料中。

发明的效果

[0018] 根据本发明,可提供一种进一步提高了保存稳定性的乳糖酶原料粉末和乳糖酶制剂。

附图说明

[0019] 图1是对于实施例1~9和比较例1~6的干燥乳糖酶浓缩物的保存稳定性,绘制半乳糖和葡萄糖的总量与残存活性的关系而得到的图表。

图2是将图1中的半乳糖和葡萄糖的总量为50 μ mol/10万单位的情况在横轴方向放大而得到的图表。

图3是对于实施例10的干燥乳糖酶浓缩物和实施例11的乳糖酶赋形品,利用圆点与图1的图表重叠绘制而得到的图表。

具体实施方式

[0020] [1.乳糖酶原料粉末(干燥乳糖酶浓缩物)]

本发明的乳糖酶原料粉末是在乳糖酶原料粉末的制造工序的最后工序即干燥工序后未添加任何物质的干燥状态的乳糖酶浓缩物,允许混杂有规定量的葡萄糖和/或半乳糖。

另外,可以混杂有在乳糖酶原料粉末的制造工序中产生的成分(培养基成分、培养工序等中生成的杂蛋白、通过制造工序添加的成分等)。从工业制造的观点出发,优选以不大幅影响稳定性下降的程度包含上述成分。作为乳糖酶原料粉末的形态,没有特别限定,例如可举出粉末状、颗粒状等,优选举出粉末状。

[0021] [1-1.乳糖酶]

乳糖酶原料粉末中所包含的乳糖酶只要是工业上利用微生物的发酵作用而生产的乳糖酶即可,其来源没有特别限制。具体可举出由真菌、酵母、细菌等微生物分离得到的乳糖酶。这些微生物中,作为真菌,可举出米曲霉(*Aspergillus oryzae*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、亮白曲霉(*Aspergillus candidus*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)等曲霉(*Aspergillus*)属的真菌和多色青霉(*Penicillium multicolor*)等青霉(*Penicillium*)属的真菌。作为酵母,可举出地生隐球菌(*Cryptococcus terrestris*)、罗伦隐球菌(*Cryptococcus laurentii*)等隐球菌(*Cryptococcus*)属、掷孢酵母(*Sporobolomyces singularis*)等掷孢酵母(*Sporobolomyces*)属、乳酸克鲁维酵母菌(*Kluyveromyces lactis*)等克鲁维酵母菌属(*Kluyveromyces*)属、脆壁酵母(*Saccharomyces fragilis*)、乳脂圆酵母(*Torula cremoris*)和产朊圆酵母(*Torula utilis*)等。作为细菌,可举出大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*)、环状芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)等芽孢杆菌(*Bacillus*)属细菌、乳球菌(*Lactococcus*)属、保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus*

bulgaricus) 等乳杆菌 (*Lactobacillus*) 属、链球菌 (*Streptococcus*) 属、双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 属等乳酸菌。这些微生物可以直接作为乳糖酶的生产菌使用,也可以作为对自身的乳糖酶基因、其它来自微生物的乳糖酶基因进行基因重组而生产时的宿主使用。另外,可以将来自上述微生物的乳糖酶基因在上述微生物以外的宿主中重组而使用。

[0022] 上述微生物中,从良好地得到稳定性提高效果的观点出发,优选曲霉 (*Aspergillus*) 属的真菌,在曲霉 (*Aspergillus*) 属的真菌中,最优选米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)。作为米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 的具体例,例如可举出米曲霉 RIB40 株等。此外,也可举出通过在对上述微生物实施紫外线处理等变异处理的基础上,以乳糖酶活性为指标筛选从而得到的提高了乳糖酶生产率的微生物、以及通过基因重组导入乳糖酶基因从而提高乳糖酶生产率的微生物。

[0023] 乳糖酶原料粉末中所包含的乳糖酶的量例如为1质量%以上且99质量%以下,优选为10质量%以上且95质量%以下,更优选为50质量%以上且90质量%以下,进一步优选为75质量%以上且85质量%以下。

[0024] 另外,乳糖酶原料粉末的乳糖酶活性没有特别限定,例如可举出1000~200000ALU/g,优选为2000~150000ALU/g,更优选为5000~150000ALU/g,进一步优选为10000~150000ALU/g,特别优选为50000~150000ALU/g。应予说明,1ALU(1Acid Lactase Unit)是指:以邻硝基苯基- β -吡喃半乳糖苷(ONPG)为底物在反应温度37℃、反应pH4.5反应15分钟时,1分钟游离出1 μ mol的邻硝基苯酚的酶量。

[0025] [1-2.葡萄糖和半乳糖]

乳糖酶原料粉末可以仅混杂有葡萄糖和半乳糖中的葡萄糖,也可以仅混杂有半乳糖,还可以混杂有这两者,优选仅混杂有半乳糖。

[0026] 葡萄糖和半乳糖均是在乳糖酶原料粉末的生产过程中不可避免地产生的还原糖,不是在乳糖酶原料粉末的生产中由无关的添加剂,例如添加到粉末状的乳糖酶原料粉末中的碳水化合物赋形剂等粉末状的糖类添加剂产生的。作为在乳糖酶原料粉末的生产过程中不可避免地产生的还原糖,具体可举出乳糖酶原料粉末的生产过程中所使用的培养基的来源物、乳糖酶原料粉末的生产中使用的微生物代谢的糖类的来源物、乳糖酶原料粉末的生产中使用的微生物代谢的蛋白质上所修饰的糖、在乳糖酶原料粉末的制造工序的最后工序即干燥工序前添加的糖类或其来源物等。

[0027] 乳糖酶原料粉末中所包含的葡萄糖和半乳糖的总量,以相对于乳糖酶每10万单位的量计,从工业生产效率的观点出发,为超过0 μ mol,优选为0.1 μ mol以上,更优选为1 μ mol以上,且从提高乳糖酶的稳定性的观点出发,为50 μ mol以下。从更好地得到这些效果的观点出发,该总量相对于乳糖酶每10万单位例如为超过0 μ mol且50 μ mol以下,优选为0.1 μ mol以上且50 μ mol以下,更优选为1 μ mol以上且50 μ mol以下,优选为超过0 μ mol且30 μ mol以下,更优选为0.1 μ mol以上且30 μ mol以下,进一步优选为1 μ mol以上且30 μ mol以下,更优选为超过0 μ mol且9 μ mol以下,更加优选为0.1 μ mol以上且9 μ mol以下,还更加优选为1 μ mol以上且9 μ mol以下,更加优选为超过0 μ mol且8 μ mol以下,还更加优选为0.1 μ mol以上且8 μ mol以下,进一步更加优选为1 μ mol以上且8 μ mol以下,还更加优选为超过0 μ mol且6 μ mol以下,进一步更加优选为0.1 μ mol以上且6 μ mol以下,特别优选为1 μ mol以上且6 μ mol以下,进一步更加优选为超过0

μmol 且 $2\mu\text{mol}$ 以下,特别优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $2\mu\text{mol}$ 以下,最优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $2\mu\text{mol}$ 以下。

[0028] 葡萄糖和半乳糖的总量例如可以通过将基于超滤膜的浓缩·脱盐、硫酸铵沉淀等盐析、透析、离子交换树脂等各种色谱法等适当组合来调节。另外,在培养结束后至干燥为止的工序中,为了避免在乳糖酶、夹杂的糖水解酶的作用下由残存的糖类来生成,也可以通过使用活性抑制剂或适当设定为使反应难以进行的条件等来调节。

[0029] 葡萄糖与半乳糖的含有比率没有特别限定,可以是葡萄糖为更高的比率,也可以是半乳糖为更高的比率,还可以是同等比率。

[0030] [1-3.其它成分]

乳糖酶原料粉末中,可以包含上述葡萄糖和半乳糖以外的其它糖类。作为其它糖类,可举出多糖、寡糖、二糖以及葡萄糖和半乳糖以外的单糖。在包含其它糖类的情况下,可以包含1种其它糖类或者以多种的混合状态包含其它糖类。乳糖酶原料粉末中的其它糖类的含量例如可以是0质量%以上且50质量%以下,优选为0质量%以上且20质量%以下,进一步优选为0质量%以上且10质量%以下。

[0031] 其它糖类为还原糖和非还原糖均可,从良好地得到乳糖酶的稳定性的观点出发,优选上述葡萄糖和半乳糖以外的其它还原糖尽量少。作为其它还原糖,例如可举出果糖、麦芽糖、乳糖等。其它还原糖的总量可以是乳糖酶原料粉末整体中的还原糖总量(即,葡萄糖和半乳糖的总量与其它还原糖的总量之和)以基于DNS法的葡萄糖量换算计,例如达到相对于乳糖酶每10万单位为15mg以下的量,优选为10mg以下,更优选为7mg以下。另外,可以包含淀粉、糊精、难消化性糊精、海藻糖、甘露糖醇、蔗糖、山梨糖醇等多糖。从良好地得到乳糖酶的稳定性的观点出发,优选为即使添加这些多糖,乳糖酶原料粉末整体中的还原糖的总量也不会影响乳糖酶的稳定性的上述范围。

[0032] 乳糖酶原料粉末中,除上述成分以外,例如还可以包含对羟基苯甲酸酯类、氯代丁醇、苯甲醇等防腐剂等。

[0033] [1-4.保存稳定性]

乳糖酶原料粉末的保存稳定性,在 105°C 4小时的超促进条件下保存时,以其保存前的活性为100%时的残存活性例如为10%以上,优选为50%以上,更优选为70%以上,进一步优选为75%以上,更加优选为80%以上,还更加优选为90%以上。

[0034] 该保存稳定性例如可以通过乳糖酶原料粉末中的葡萄糖和半乳糖的总量来调节。将该残存活性设为10%以上时,例如可以将该总量设为 $50\mu\text{mol}$ 以下,将该残存活性设为50%以上时,例如可以将该总量设为 $30\mu\text{mol}$ 以下,将该残存活性设为70%以上时,例如可以将该总量设为 $9\mu\text{mol}$ 以下,将该残存活性设为75%以上时,例如可以将该总量设为 $8\mu\text{mol}$ 以下,将该残存活性设为80%以上时,例如可以将该总量设为 $6\mu\text{mol}$ 以下,将该残存活性设为90%以上时,例如可以将该总量设为 $2\mu\text{mol}$ 以下。

[0035] 为了维持保存稳定性,乳糖酶原料粉末优选在实施温度控制和/或湿度控制的环境中保存。保存温度为室温以下即可,例如为 40°C 以下,优选为 25°C 以下。保存湿度例如可以是 25°C 下的相对湿度80%RH以下,优选为65%RH以下。

[0036] [1-5.制造方法]

乳糖酶原料粉末的制造方法包含以下工序:准备葡萄糖和半乳糖的总量相对于乳糖酶

每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下的含乳糖酶液体的工序(工序(1));以及,对上述含乳糖酶液体进行干燥的工序(工序(2))。工序(1)和工序(2)均可以没有特别限定地使用工业上使用的方法。

[0037] 作为工序(1)中准备含乳糖酶液体的方法,可举出使用上述微生物的固体培养法和液体培养法等培养法,优选利用液体培养法。作为培养基,只要是能够培育使用的微生物的培养基就没有特别限定。例如可以使用添加葡萄糖、蔗糖、龙胆二糖、可溶性淀粉、甘油、糊精、糖蜜、有机酸等碳源,进一步添加硫酸铵、碳酸铵、磷酸铵、乙酸铵或蛋白胨、酵母提取物、玉米浆(corn steep liquor)、酪蛋白水解物、麸皮、黄豆面(黄粉)、肉提取物等氮源,进一步添加钾盐、镁盐、钠盐、磷酸盐、锰盐、铁盐、锌盐等无机盐的培养基。为了促进所使用的转化体的生长,可以向培养基中添加维生素、氨基酸等。在培养中产生气泡时,可以向培养基中添加消泡剂。培养基的pH例如可以调整为约3~8,优选为约4~7程度,以培养温度通常为约20~40℃,优选为约25~35℃的程度且以1~10天,优选为3~7天的程度在有氧条件下进行培养。作为培养法,例如可以利用振荡培养法、使用发酵罐(Jar fermenter)的有氧深层培养法。在以上条件下培养后,从培养液或菌体回收目标酶。在从培养液中进行回收的情况下,例如可以通过将培养上清过滤、离心处理等除去不溶物,然后将基于超滤膜的浓缩·脱盐、硫酸铵沉淀等盐析、透析、离子交换树脂等各种色谱法等适当组合而进行分离、纯化,从而得到上述含乳糖酶液体。另一方面,在从菌体内回收的情况下,例如提供对菌体进行加压处理、超声波处理等破碎后,通过与上述相同地进行分离、纯化,从而可以得到上述含乳糖酶液体。需要说明的是,在过滤、离心处理等预先从培养液回收菌体后通过进行上述一系列工序(菌体的破碎、分离、纯化),也可以得到上述含乳糖酶液体。

[0038] 工序(1)中得到的含乳糖酶液体中所包含的葡萄糖和半乳糖的总量,以相对于乳糖酶每10万单位的量计,从乳糖酶原料粉末的制造效率的观点出发,为超过 $0\mu\text{mol}$,优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上,更优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且从提高乳糖酶的稳定性的观点出发为 $50\mu\text{mol}$ 以下。从更好地得到这些效果的观点出发,该总量相对于乳糖酶每10万单位,例如为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下,优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $50\mu\text{mol}$ 以下,更优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $50\mu\text{mol}$ 以下,优选为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $30\mu\text{mol}$ 以下,更优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $30\mu\text{mol}$ 以下,进一步优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $30\mu\text{mol}$ 以下,更优选为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $9\mu\text{mol}$ 以下,更加优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $9\mu\text{mol}$ 以下,还更加优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $9\mu\text{mol}$ 以下,更加优选为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $8\mu\text{mol}$ 以下,还更加优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $8\mu\text{mol}$ 以下,进一步更加优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $8\mu\text{mol}$ 以下,还更加优选为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $6\mu\text{mol}$ 以下,进一步更加优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $6\mu\text{mol}$ 以下,特别优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $6\mu\text{mol}$ 以下,进一步更加优选为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $2\mu\text{mol}$ 以下,特别优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $2\mu\text{mol}$ 以下,最优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $2\mu\text{mol}$ 以下。

[0039] 工序(2)中,对工序(1)中得到的、葡萄糖和半乳糖的总量相对于乳糖酶每10万单位为超过 $0\mu\text{mol}$ 且 $50\mu\text{mol}$ 以下的上述含乳糖酶液体进行干燥。作为干燥的方法,例如可举出冷冻干燥、真空干燥、喷雾干燥等。由此得到乳糖酶原料粉末。应予说明,乳糖酶原料粉末的制造方法中,在工序(2)之后不包含任何添加成分的工序。

[0040] [1-6. 使用]

乳糖酶原料粉末可以直接用于规定的用途。另外,乳糖酶原料粉末可以用于可供于该规定用途的乳糖酶制剂的制造中的原料用途。

[0041] 作为乳糖酶原料粉末的上述规定用途,可举出作为产业用酶剂的用途和作为酶试剂的用途等。

[0042] 在作为产业用酶剂的用途,例如可举出作为医药品、补充剂或食品添加剂(以添加到食品或饮料中为目的的食品添加剂,商用和家用均可)的用途,还可举出饮食品制造用途等。

[0043] 作为医药品的制造,可举出混合有本发明的乳糖酶原料粉末的以乳糖不耐受者为对象的医药品的制造。在医药品的制造中,可以包含将本发明的乳糖酶原料粉末与其它成分混合和/或成型的工序。作为其它成分,可举出赋形剂、保存剂、稳定剂等。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。或者,在医药品的制造中,可以进行后述的乳糖酶制剂的制造方法中记载的工序。

[0044] 作为补充剂的制造,可举出混合有本发明的乳糖酶原料粉末的饮食补充剂(健康食品)的制造。在补充剂的制造中,可以包含将本发明的乳糖酶原料粉末与其它成分混合和/或成型的工序。作为其它成分,可举出赋形剂、乳酸菌、维生素、矿物质、氨基酸等。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。或者,在补充剂的制造中,可以进行在后述的乳糖酶制剂的制造方法中记载的工序。

[0045] 作为食品添加剂的制造,可举出用于添加到包含乳糖的饮食品(例如牛奶、酸奶、乳酪、黄油、奶油、奶粉等乳制品)、低聚半乳糖的制造用原料中的添加剂的制造。食品添加剂的制造可举出将本发明的乳糖酶原料粉末与其它成分混合和/或成型的工序。作为其它成分,可举出酶(不包括乳糖酶)、保存剂、稳定剂、制造用剂、甜味料、调味料等。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。或者,在食品添加剂的制造中,可以进行在后述的乳糖酶制剂的制造方法中记载的工序。

[0046] 作为饮食品的制造,可举出利用本发明的乳糖酶原料粉末进行处理的乳糖被分解的饮食品(例如牛奶、酸奶、乳酪、黄油、奶油、奶粉等乳制品)、半乳糖发生了糖基转移的饮食品的制造。在饮食品的制造中,包括将本发明的乳糖酶原料粉末添加到包含乳糖的饮食材料中的工序。如果包含乳糖的饮食材料在适当供于乳糖酶活性条件下而进行乳糖分解处理,则成为乳糖被分解的饮食品。作为应添加乳糖酶原料粉末的包含乳糖的饮食材料,可以是已形成饮食品形态但乳糖尚未被分解的状态的材料,也可以是为饮食品的材料(原材料或中间材料)的形态乳糖尚未被分解的状态。因此,作为添加本发明的乳糖酶原料粉末的时机,可以是包含乳糖的饮食品的制造工序之后,也可以是包含乳糖的饮食品的制造工序中。

[0047] 在作为酶试剂的用途中,例如包含作为生化诊断中的试剂的用途等。

[0048] 在乳糖酶制剂的制造中,可进行后述的乳糖酶制剂的制造方法中记载的工序。

[0049] [2.乳糖酶制剂]

乳糖酶制剂可以是将上述乳糖酶原料粉末作为有效成分进行制剂化而得到,可举出以乳糖酶原料粉末的成型物的形式制剂化的物质、以乳糖酶原料粉末与其它成分的混合物的形式制剂化的物质、以及以乳糖酶原料粉末与其它成分的混合物的成型物的形式制剂化的物质。优选包含其它成分而制剂化的物质。作为乳糖酶制剂的制剂形态,只要能够经口摄取就没有特别限定,例如可举出粉末剂、细粒剂、颗粒剂、丸剂、片剂、胶囊剂、锭剂等形态。

[0050] [2-1.乳糖酶]

乳糖酶制剂中的乳糖酶的量例如可以是1质量%以上且99质量%以下,优选为10质

量%以上且90质量%以下,更优选为55质量%以上且65质量%以下。

[0051] [2-2.糖赋形剂]

本发明的乳糖酶制剂可以包含糖赋形剂作为其它成分。即,可以包含于本发明的乳糖酶制剂中的糖赋形剂不是在乳糖酶浓缩过程中加入到应浓缩的乳糖酶液中的物质,而是以干燥状态混合于浓缩而变为干燥状态的乳糖酶原料粉末的物质。

[0052] 糖赋形剂只要是能作为赋形剂使用的、在室温下为固体状态的糖类即可。此外,糖赋形剂可以是具有半乳糖残基和/或葡萄糖残基作为构成糖残基的糖赋形剂。作为糖赋形剂的例子,可举出糊精、难消化性糊精、淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、乳糖、海藻糖。由于上述乳糖酶原料粉末的保存稳定性良好,因此只要为干燥状态则添加的糖赋形剂的量没有特别限制。乳糖酶制剂中的糖赋形剂的量,从更好地得到赋形效果和/或保存稳定性的观点出发,可以适当设定乳糖酶制剂中的糖赋形剂的量,例如可以为10质量%以上且90质量%以下,更优选为15质量%以上且80质量%以下,进一步优选为20质量%以上且70质量%以下。

[0053] [2-3.葡萄糖和半乳糖]

在本发明的乳糖酶制剂包含糖赋形剂的情况下,乳糖酶制剂可以包含在乳糖酶的作用下由糖赋形剂产生的半乳糖和/或葡萄糖。乳糖酶制剂所包含的半乳糖和葡萄糖的总量,以在乳糖酶的作用下由糖赋形剂产生的部分和乳糖酶原料粉末中所包含的部分的合计总量计,从良好地得到赋形效果和/或乳糖酶制剂的保存稳定性的观点出发,可以适当设定,相对于乳糖酶每10万单位例如可以是超过 $0\mu\text{mol}$,优选为 $0.1\mu\text{mol}$ 以上且 $1000\mu\text{mol}$ 以下,更优选为 $1\mu\text{mol}$ 以上且 $500\mu\text{mol}$ 以下,进一步优选为 $5\mu\text{mol}$ 以上且 $300\mu\text{mol}$ 以下,更加优选为 $50\mu\text{mol}$ 以上且 $200\mu\text{mol}$ 以下。

[0054] [2-4.保存稳定性]

本发明的乳糖酶制剂即使包含糖赋形剂作为其它成分也具有良好的保存稳定性。具体而言,乳糖酶制剂的保存稳定性,在 105°C 4小时的超促进条件下保存时,乳糖酶制剂的保存稳定性的以其保存前的活性为100%时的残存活性例如可以为10%以上,优选为50%以上,更优选为70%以上,更加优选为75%以上。

[0055] 为了维持保存稳定性,优选在进行温度控制和/或湿度控制的环境中保存乳糖酶制剂。保存温度可以是室温以下,例如 40°C 以下,优选为 25°C 以下。保存湿度例如可以是 25°C 下的相对湿度80%RH以下,优选为65%RH以下。

[0056] [2-5.另外的其它成分]

本发明的乳糖酶制剂中,可以包含上述糖赋形剂以外的另外的其它成分作为其它成分。例如可举出糖赋形剂以外的赋形剂、润滑剂、崩解剂、防腐剂、抗酸剂等。作为糖赋形剂以外的赋形剂,例如可举出滑石等无机赋形剂。作为润滑剂,例如可举出硬脂酸铝、硬脂酸镁、硬脂酸钙、聚乙二醇等。作为崩解剂,例如可举出羧甲基淀粉钠、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素、玉米淀粉等。作为防腐剂,例如可举出对羟基苯甲酸酯类、氯代丁醇、苄醇等。作为抗酸剂,可举出柠檬酸三钠、酒石酸钠钾、碳酸钙、碳酸钠、磷酸氢钙。除了上述成分以外,作为其它成分,本领域技术人员可以适当选择与乳糖酶制剂的用途(例如医药品、补充剂、食品添加剂等)相应的成分(添加剂)。例如可举出保存剂、稳定剂、乳酸菌、维生素、矿物质、氨基酸、制造用剂、甜味料、调味料等。

[0057] [2-6. 制造方法]

乳糖酶制剂例如可通过将上述乳糖酶原料粉末制剂化而得到。即,乳糖酶制剂的制造方法包含上述工序(1)和工序(2)以及将乳糖酶原料粉末制剂化的工序(3)。工序(3)中,进行乳糖酶原料粉末的成型和/或与其它成分的混合。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。其它成分如上所述。由此,可以制成可经口摄取的任意的制剂形态(例如粉末剂、细粒剂、颗粒剂、丸剂、片剂、胶囊剂、锭剂)。工序(3)优选始终在干燥状态下进行。在使用糖赋形剂进行制剂化的情况下,乳糖酶原料粉末和糖赋形剂均以干燥状态进行混合。包含乳糖酶原料粉末和糖赋形剂的混合物不经液体化而是作为乳糖酶制剂形式来得到。

[0058] [2-7. 应用]

乳糖酶制剂可以直接用于规定用途。作为乳糖酶制剂的该规定用途,可举出作为产业用酶剂的用途和作为酶试剂的用途等。

[0059] 在产业用酶剂的用途中,可举出例如作为医药品、补充剂或食品添加剂(以添加到食品或饮料中为目的的食品添加剂,商用或家用均可)的用途,还可举出饮食品的制造用途等。

[0060] 作为医药品的制造,可举出混合有本发明的乳糖酶制剂的以乳糖不耐受者为对象的医药品的制造。在医药品的制造中,可以包含将本发明的乳糖酶制剂与其它成分混合和/或成型的工序。作为其它成分,可举出赋形剂、保存剂、稳定剂等。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。

[0061] 作为补充剂的制造,可举出混合有本发明的乳糖酶制剂的饮食补充剂(健康食品)的制造。在补充剂的制造中,可以包含将本发明的乳糖酶粉末与其它成分混合和/或成型的工序。作为其它成分,可举出赋形剂、乳酸菌、维生素、矿物质、氨基酸等。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。

[0062] 作为食品添加剂的制造,可举出用于添加到包含乳糖的饮食品(例如牛奶、酸奶、乳酪、黄油、奶油、奶粉等乳制品)、低聚半乳糖的制造用原料中的添加剂的制造。食品添加剂的制造可举出将本发明的乳糖酶原料粉末与其它成分混合和/或成型的工序。作为其它成分,可举出酶(不包括乳糖酶)、保存剂、稳定剂、制造用剂、甜味料、调味料等。作为成型,可举出粉末化、颗粒化、压片等。

[0063] 作为饮食品的制造,可举出利用本发明的乳糖酶原料粉末进行了处理的乳糖被分解的饮食品(例如牛奶、酸奶、乳酪、黄油、奶油、奶粉等乳制品)、半乳糖发生了糖基转移的饮食品的制造。在饮食品的制造中,包括将本发明的乳糖酶制剂添加到包含乳糖的饮食材料中的工序。如果包含乳糖的饮食材料在适当供于乳糖酶活性条件下而进行乳糖分解处理,则成为乳糖被分解的饮食材料。作为应添加乳糖酶原料粉末的包含乳糖的饮食材料,可以是已形成饮食品形态但乳糖尚未被分解的状态的材料,也可以是为饮食品的材料(原材料或中间材料)的形态乳糖尚未被分解的状态。因此,作为添加本发明的乳糖酶制剂的时机,可以是包含乳糖的饮食品的制造工序之后,也可以是包含乳糖的饮食品的制造工序中。

[0064] 在作为酶试剂的用途中,例如包含作为生化诊断中的试剂的用途等。

实施例**[0065] [实施例1]**

(A) 乳糖酶原料粉末(干燥乳糖酶浓缩物)的制备

按照以下方式进行,制备乳糖酶原料粉末(干燥乳糖酶浓缩物)。

1.利用液体培养将生产菌(米曲霉(*Aspergillus oryzae*))在30℃培养5天。使用包含小麦麸4w/v%、黄豆面1w/v%、磷酸铵0.25w/v%、可溶性淀粉3w/v%的培养基。

2.通过硅藻土过滤除去生产菌体。

3.利用超滤膜浓缩至乳糖酶原料粉末的活性变为10000ALU/g以上。

4.通过重复5次以上的利用超滤膜等量加水并浓缩至原液量的工序,从而在脱盐的同时对半乳糖和葡萄糖的总量进行调节。

5.通过喷雾干燥或冷冻干燥而粉末化。

[0066] (B) 半乳糖含量和葡萄糖含量的测定

利用半乳糖测定试剂盒即乳糖/D-半乳糖(Lactose/D-Galactose)(R-Biopharm, catalog No.10 176 303 035),通过自动分析装置TBA-120FR(Toshiba Medical Systems)测定干燥乳糖酶浓缩物中的半乳糖含量。

使用葡萄糖测定试剂盒即Glucose CII-Test Wako(和光纯药工业,Code439-90901)测定干燥乳糖酶浓缩物中的葡萄糖含量。

[0067] (C) 还原糖总量的测定

利用DNS法(二硝基水杨酸法)测定干燥乳糖酶浓缩物中的还原糖总量。具体而言,将DNS溶液(0.7w/v%3,5-二硝基水杨酸、1.21w/v%氢氧化钠、0.02w/v%酒石酸钾钠、0.57w/v%苯酚、0.55w/v%碳酸氢钠)0.6mL分注到试管中,再加入利用纯化水将干燥乳糖酶浓缩物稀释到适当浓度而成的乳糖酶溶液0.2mL。在沸水中加热显色5分钟,在流水中冷却15分钟后,添加4.2mL的纯化水,利用分光光度计测定波长550nm处的吸光度。另外,利用葡萄糖溶液(0、0.5、1、2、3、4、5mg/mL)代替乳糖酶溶液进行同样的操作而制作葡萄糖标准曲线。由制作的标准曲线计算干燥乳糖酶浓缩物中的还原糖量总量,将其作为葡萄糖的量。

[0068] (D) 保存稳定性

通过加速保存稳定性试验评价干燥乳糖酶浓缩物的保存稳定性。作为加速条件,将干燥乳糖酶浓缩物在105℃保存4小时。评价由在加速条件下的保存前后的乳糖酶活性基于以下数学式计算残存活性(%)。

残存活性(%) = 保存后的活性(ALU/g) / 保存前的活性(ALU/g) × 100基于美国食品化学物质标准(FCC:Food Chemical Codex)第4版中作为乳糖酶(酸)(β-半乳糖苷酶)(Lactase(Acid)(β-galactosidase))而记载的方法来测定乳糖酶活性。具体而言,以邻硝基苯基-β-吡喃半乳糖苷(ONPG)为底物,使其在反应温度37℃、反应pH4.5反应15分钟时,将1分钟内游离出1μmol的邻硝基苯酚的酶量作为1单位(1ALU;1Acid Lactase Unit)。

[0069] [实施例2~5、比较例1~3]

将实施例1中得到的乳糖酶原料粉末(干燥乳糖酶浓缩物)溶解于纯化水,制备乳糖酶溶液。向乳糖酶溶液中以不同浓度添加半乳糖并溶解,然后通过冷冻干燥而粉末化,制备半乳糖量不同的干燥乳糖酶浓缩物。对于得到的干燥乳糖酶浓缩物,与实施例1同样地测定半乳糖和葡萄糖的含量和还原糖总量,并且评价保存稳定性。

[0070] [实施例6~9、比较例4~6]

将实施例1中得到的乳糖酶原料粉末(干燥乳糖酶浓缩物)溶解于纯化水,制备乳糖酶溶液。向乳糖酶溶液中以不同浓度添加葡萄糖并溶解,然后通过冷冻干燥而粉末化,制备葡

萄糖量不同的干燥乳糖酶浓缩物。对于得到的干燥乳糖酶浓缩物,与实施例1同样地测定半乳糖和葡萄糖的含量和还原糖总量,并且评价保存稳定性。

[0071] [结果]

将实施例1~9和比较例1~6的结果示于表1。其中,关于保存稳定性,将绘制半乳糖和葡萄糖的总量与残存活性的关系而得到的图表示于图1。此外,将使图1中的半乳糖和葡萄糖的总量为50 μ mol/10万单位的情况在横轴方向放大而得到的图表示于图2。

[表1]

	添加的 还原糖	半乳糖 (Gal) 含量 (①) μ mol/10万ALU	葡萄糖 (Glu) 含量 (②) μ mol/10万ALU	Gal+Glu含量 (①+②) μ mol/10万ALU	还原糖含量 (DNS 法) mg/10万ALU	保存稳定性 (%) (105℃4小时 后的残存活性)
实施例1	(不添加)	1.9	0.0	1.9	4.2	94.5
实施例2	半乳糖	7.9	0.0	7.9	5.3	75.0
实施例3		12.7	0.0	12.7	5.8	69.9
实施例4		28.2	0.1	28.3	7.8	53.8
实施例5		49.3	0.4	49.7	12.0	11.9
比较例1		87.8	1.6	89.4	17.5	1.6
比较例2		214.8	4.8	219.6	37.0	0.9
比较例3		442.4	9.9	452.3	70.4	0.0
实施例6	葡萄糖	1.9	3.6	5.5	5.3	83.6
实施例7		1.9	6.4	8.3	5.9	70.5
实施例8		2.0	17.3	19.3	8.5	59.7
实施例9		2.2	36.2	38.4	11.1	12.3
比较例4		1.9	68.0	69.9	17.0	0.1
比较例5		1.8	172.5	174.3	36.9	0.0
比较例6		1.5	348.7	350.2	67.3	0.0

[0072] 如上述表1以及图1和图2所示,包含于应浓缩的乳糖酶溶液中的半乳糖和葡萄糖的总量以干燥后的含量计为50 μ mol/10万单位以下的实施例1~9与该总量以干燥后的含量计超过50 μ mol/10万单位的比较例1~6相比,可确认残存活性提高。可确认在该总量为30 μ mol/10万单位以下的实施例1~4和6~8中残存活性的提高效果更良好,可确认在该总量为8 μ mol/10万单位以下的实施例1~2和6中残存活性的提高效果更进一步良好。

[0073] [实施例10]

与实施例1同样地进行,制备乳糖酶原料粉末,测定半乳糖和葡萄糖的含量和还原糖总量并且评价保存稳定性。应予说明,乳糖酶原料粉末中的蛋白质的量为80 $\pm$ 5质量%,多糖和寡糖的总量为5 $\pm$ 10质量%。

[0074] [实施例11]

通过以干燥状态向实施例10得到的乳糖酶原料粉末中混合糊精作为赋形剂而制成乳糖酶组合物,从而制备乳糖酶制剂(赋形品)。得到的赋形品中的糊精的比例为20质量%。对于该赋形品,也与实施例1同样进行,测定半乳糖和葡萄糖的含量和还原糖总量并且评价保存稳定性。应予说明,乳糖酶制剂中的蛋白质的量为60 $\pm$ 5质量%,多糖和寡糖的总量为25 $\pm$ 5质量%。

[0075] [结果]

将实施例10~11的结果示于表2。为了便于比较参照,表2中也一同示出比较例1和比较

例4的结果,。此外,对于实施例10~11,将利用圆点与图1的图表重叠绘制而得到的图表示于图3。

[0076] [表2]

	半乳糖 (Gal) 含量 (①) $\mu\text{mol}/10\text{万ALU}$	葡萄糖 (Glu) 含量 (②) $\mu\text{mol}/10\text{万ALU}$	Gal+Glu含量 (①+②) $\mu\text{mol}/10\text{万ALU}$	还原糖含量 (DNS 法) mg/10万ALU	保存稳定性 (%) (105°C4小时后的 残存活性)
实施例10 (乳糖酶散粉)	4.4	0.0	4.4	5.6	82.0
实施例11 (赋形品)	4.4	79.7	84.1	30.6	76.0
(比较例1)	87.8	1.6	89.4	17.5	1.6
(比较例4)	1.9	68.0	69.9	17.0	0.1

[0077] 在以干燥状态将实施例10的乳糖酶原料粉末和赋形剂混合而制备的实施例11的乳糖酶制剂(赋形品)中,虽然通过进一步混入来源于赋形剂的还原糖而使半乳糖和葡萄糖的总量增加,但是可确认维持了良好的残存活性。应予说明,实施例11的乳糖酶制剂(赋形品)所包含的半乳糖和葡萄糖的总量为与比较例1相同或略多于比较例4的程度,但是从浓缩前的液体状态的时间点开始,与包含相当量的半乳糖和葡萄糖的总量的比较例1和比较例4相比,可确认残存活性大幅提高。即,表明如果在浓缩前的液体状态的时间点按照减少半乳糖和葡萄糖的总量的方式进行调整,则即使在干燥后添加糖赋形剂,糖赋形剂也不会对酶产生不期望的不良影响。

[0078] 本发明优选的实施方式如上述所示,但是本发明并非仅限于这些实施方式,也能够实施不脱离本发明的主旨的各种实施方式。

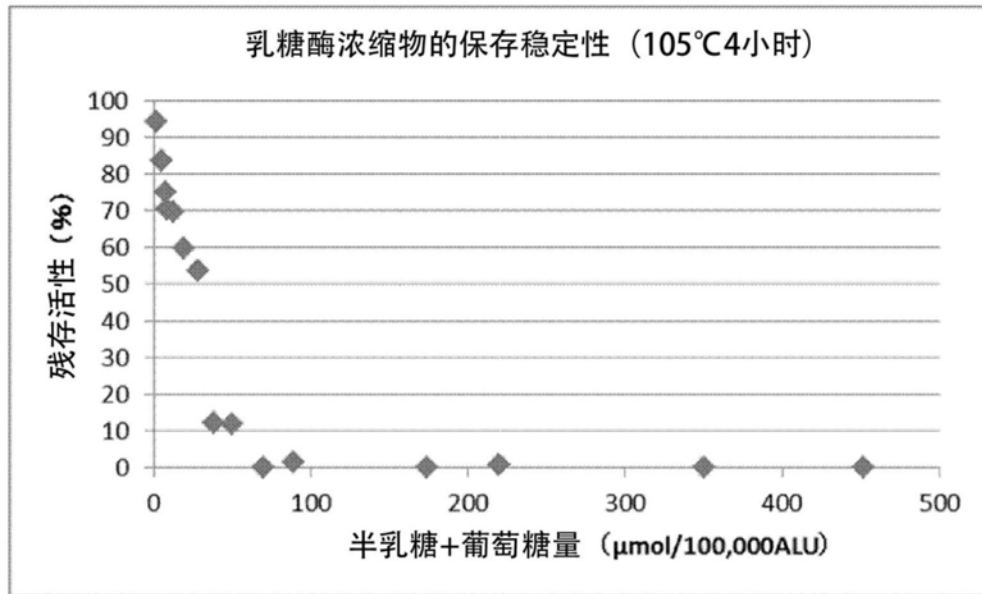


图1

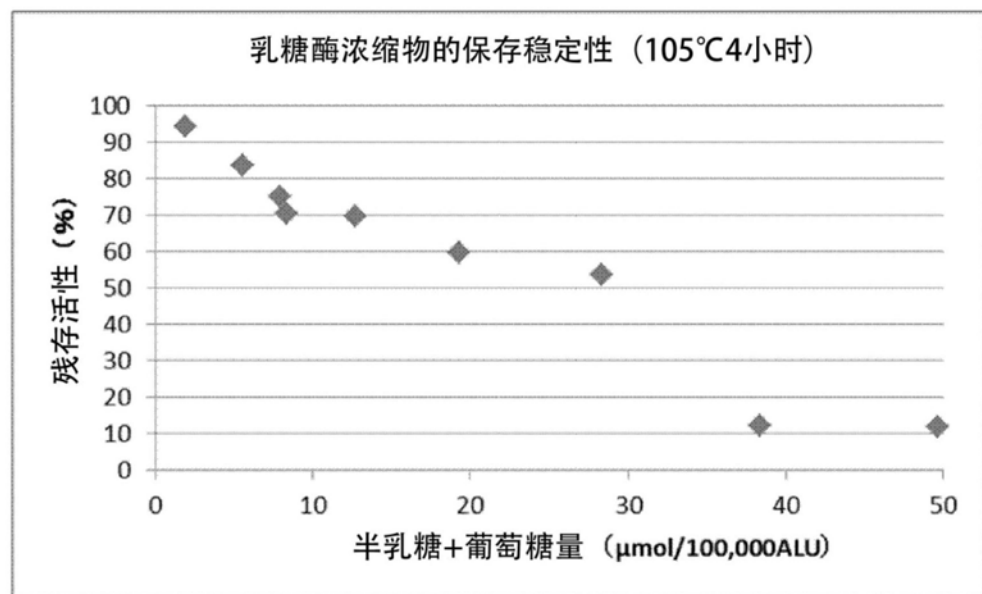


图2

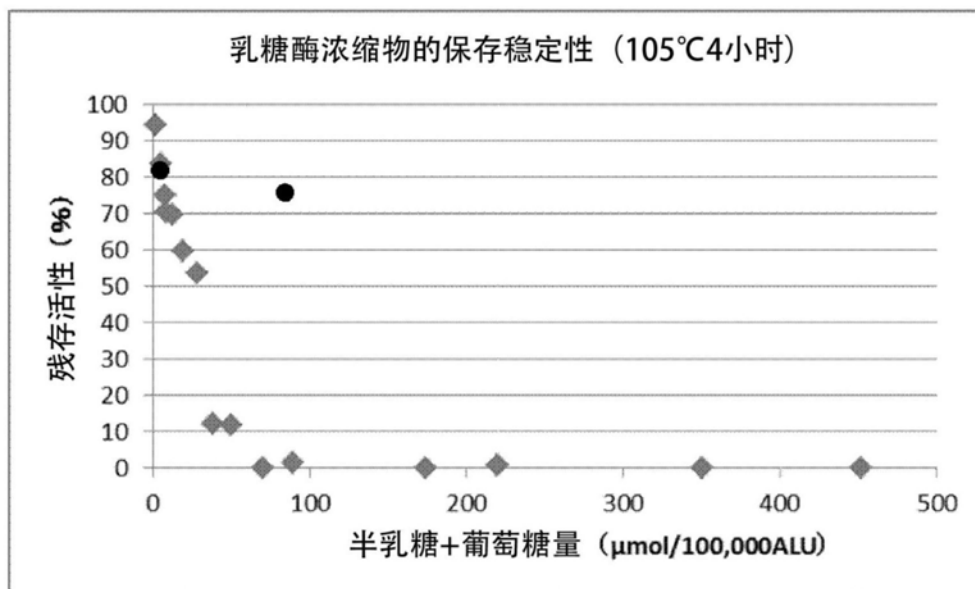


图3