

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3992425号  
(P3992425)

(45) 発行日 平成19年10月17日(2007.10.17)

(24) 登録日 平成19年8月3日(2007.8.3)

(51) Int. Cl.		F I	
<b>C 1 1 B</b>	<b>11/00</b>	<b>(2006.01)</b>	C 1 1 B 11/00
<b>C O 7 H</b>	<b>1/08</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 H 1/08
<b>C O 7 H</b>	<b>15/10</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 H 15/10

請求項の数 1 (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願2000-219087 (P2000-219087)	(73) 特許権者	000004503 ユニチカ株式会社 兵庫県尼崎市東本町1丁目50番地
(22) 出願日	平成12年7月19日(2000.7.19)	(72) 発明者	宮西 健次 京都府宇治市宇治小桜23番地 ユニチカ 株式会社中央研究所内
(65) 公開番号	特開2002-38183 (P2002-38183A)	(72) 発明者	林 まゆみ 京都府宇治市宇治小桜23番地 ユニチカ 株式会社中央研究所内
(43) 公開日	平成14年2月6日(2002.2.6)	(72) 発明者	向井 克之 京都府宇治市宇治小桜23番地 ユニチカ 株式会社中央研究所内
審査請求日	平成15年3月28日(2003.3.28)	審査官	澤村 茂実

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 スフィンゴ糖脂質含有物の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

トビ粉に、極性を有する有機溶剤を添加し、スフィンゴ糖脂質を抽出することを特徴とするスフィンゴ糖脂質含有物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】

本発明は、トビ粉に含まれるスフィンゴ糖脂質の製造方法に関するものであり、詳しくは、原料としてトビ粉を使用し、スフィンゴ糖脂質を効率よく製造する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

最近の研究によれば、複合糖質、なかでも、糖脂質に、顕著な生理活性を有するものがあることが明らかにされてきた。例えば、脂肪酸とスフィンゴシンから成るセラミド、糖と脂肪酸とスフィンゴシンから成る、スフィンゴ糖脂質の一種であるセレブロシドは、人の皮膚の角質層に多く存在し、体内から水分の蒸発を防ぐ働きをしていることが明らかとなっている。この高い保湿性を生かした美容分野への利用、さらにはエラストラーゼ抑止効果や遊離基抑止効果を生かした製薬分野への応用も開発が進んでいる。

【0003】

従来、これらスフィンゴ糖脂質を中心としたセラミド関連物質は、ウシの脳などから抽出

され、供給されていた。しかし、1986年に狂牛病が発生してからは、ヒトへの感染の可能性から、供給量が激減し、安全な植物起源のセラミド関連物質へ回帰現象が生じている。

植物由来のスフィンゴ糖脂質、特にその中でも、グルコシルセラミドとしては、コメ (Agric. Biol. Chem., 49, 2753 (1985)) および米糠 (特開平11-279586号公報) や小麦 (Agric. Biol. Chem., 49, 3609 (1985))、大豆 (Chem. Pharm. Bull., 38 (11), 2933 (1990))、特開平04-282317号公報) などの穀物由来のものが知られており、すでに化粧品素材や、食品添加剤としても開発が進められている。

#### 【0004】

##### 【発明が解決しようとする課題】

これら、植物由来のスフィンゴ糖脂質を得るための植物原料として、利用されているものは、現在までのところ、穀類、豆類に限られている。これらのスフィンゴ糖脂質含有量は、さほど多くなく、いずれも、0.01%程度であると推測される。しかも、これら植物原料は、すべて人類が食用としているものばかりであり、スフィンゴ糖脂質抽出後の残さは、食品としての価値も喪失してしまう。このように、ごくわずかのスフィンゴ糖脂質成分を抽出するために、非常に多くの食品原料を、食品としての価値を喪失させてしまうのが、植物原料の問題点であった。一方、食品加工業界を見渡せば、トビ粉は、こんにやく芋を原料とするこんにやく製造時の副産物として、年間3000~4000トン生じるにもかかわらず、特有のえぐ味と刺激臭を有するため、一部、肥料、コンクリート等の増粘剤として利用されているものの、食品としては全く利用されていない資源である。また、綿実油粕は、綿実を搾り、綿実油を取得する際に生じる副産物であり、10年ほど前までは植物性蛋白質飼料として利用されていたが、近年は牛乳の脂肪率向上のための高エネルギー飼料として、綿実をそのまま給与する農家が増え、利用価値の向上が望まれているものである。

#### 【0005】

本発明は、化粧品、食品向けの機能素材として注目を集めているスフィンゴ糖脂質の製造法に関し、従来知られていた、動物組織からの抽出による方法で指摘の多かった、製品安全性に何ら問題がなく、かつ、植物素材でありながら、現在までのところ、食品としての価値を有することのなかった原料を用いる方法を提供することを目的とするものである。

#### 【0006】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、従来用いられていた穀類、豆類といった、植物性原料以外に、高濃度でスフィンゴ糖脂質を含有する植物性原料を探索した結果、上記のような食品としては利用されていない、トビ粉(芋類)や、綿実油粕(油粕)といった植物由来天然資源中に、スフィンゴ糖脂質が、穀類、豆類に匹敵あるいは凌駕する濃度で含まれていることを突き止め、本発明を完成させるに至った。さらに具体的には、こんにやく製造時に大量に発生し、食用としては、利用価値の低いトビ粉に、スフィンゴ糖脂質それも、セレブロシド類が豊富に含まれていること、および、適度な極性を有する有機溶剤を用いることにより、これら天然物から当該成分を、効率的に抽出できることを見だし、本発明を完成させるに至った。

#### 【0007】

すなわち、本発明は、トビ粉に、極性を有する有機溶剤を添加し、スフィンゴ糖脂質を抽出することを特徴とするスフィンゴ糖脂質含有物の製造方法を要旨とするものである。

#### 【0008】

##### 【発明の実施の形態】

以下、本発明について詳細に説明する。

本発明で抽出原料として好ましく用いられるトビ粉は、日本では、全国蒟蒻原料協同組合から入手可能である。

#### 【0009】

10

20

30

40

50

本発明で抽剤として使用する極性有機溶媒としては、アルコール類、クロロフォルム、アセトン、アセトニトリルなどが挙げられる。なかでも親水性のアルコールが好ましい。そのようなアルコールとしては、例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールなどの1価のアルコール、エチレングリコール、プロピレングリコールなどの2価以上のアルコールのいずれも利用可能である。これらの溶媒は、水分を含んでいても使用することができ、またこれらは互いに溶け合う組成の範囲内であれば、2種類以上を混合して使用することもできる。さらに必要に応じて、界面活性剤や、包接化合物などを、本発明の目的を脱しない範囲で添加し、抽出促進剤として用いることが出来る。なお、これら抽出促進剤を添加する場合は、必要に応じて抽出終了後に、カラム法など公知の技術で除去することが出来る。

10

**【0010】**

極性有機溶媒の使用量は、使用する抽出原料に対し望ましくは、1～30倍量程度、さらに望ましくは2～10倍量程度がよい。溶媒の使用量がこの範囲以下であれば、原料全体に溶媒が行き渡らず、抽出が不十分になる恐れがあり、この範囲を超える量の溶媒を添加してももはや抽出量に影響はなく、後の濃縮行程での溶媒除去作業の負担が増えるのみである。

**【0011】**

抽出温度は使用する溶媒の沸点にもよるが、エタノールを用いた場合は、望ましくは、室温程度から70℃、さらに望ましくは室温程度から60℃の範囲がよい。抽出温度がこの範囲以下であれば、抽出効率が低下し、この範囲以上の温度をかけても抽出効率に大きな影響はなく、いたずらにエネルギー使用量が増えるのみである。

20

**【0012】**

抽出時間は、1～24時間、望ましくは2～10時間、さらに望ましくは2～5時間程度である。抽出時間がこの範囲より短いと、十分に抽出が行われず、この範囲を超えていたずらに長く時間をかけて抽出を行っても、もはや、抽出量の増大は見込めない。また、抽出中攪拌をすることで時間を短縮することができる。

**【0013】**

なお、抽出操作は、一回のみの回分操作に限定されるものではない。抽出後の残渣に、再度新鮮な溶媒を添加し、抽出操作を施すこともできるし、抽出溶媒を、複数回、抽出原料に接触させることも可能である。すなわち、抽出操作としては、回分操作、半連続操作、向流多段接触操作のいずれの方式も使用可能である。

30

**【0014】**

次に、抽出残渣を分離除去する。分離の方法は特に限定されず、例えば、フィルタープレス、シリンダープレス、デカンター、遠心分離器などによることができる。

**【0015】**

このようにして得られた抽出液は、濃縮工程に送られる。濃縮処理は、例えば、エバポレーターのような減圧濃縮装置を用いて濃縮乾燥することができる。この濃縮処理により、黄色乃至褐色の、オイル状または蠟状の濃縮物が得られる。

**【0016】**

上記濃縮物を、引き続いて不純物類を取り除き、より純度を向上せしめる必要のある場合は、常法による精製が可能である。すなわち、シリカゲルカラムなどを通す方法、あるいは、単に、クロロフォルムや、ジクロルメタンといった、ハロゲン系有機溶媒と、水-メタノール間での分配などによることが出来る。

40

**【0017】**

上記分配により純度を向上させる場合、系内に含まれる両親媒性物質のミセル状組織形成を抑えるため、用いる水は、中性塩水溶液であることが望ましい。その場合の塩濃度は、塩の種類にもよるが、塩化カリウムの場合では、望ましい濃度は、0.1～1.5Mさらに望ましくは、0.2～1.2Mの範囲である。塩濃度がこの範囲より、小さければ十分な効果が見られず、この範囲を超える場合は、メタノール添加で析出する場合があるからである。

50

## 【0018】

次に、得られた濃縮物の分析方法であるが、最も簡便な方法としては、薄層クロマトグラフ法があげられる。スフィンゴ糖脂質、なかでも、グルコシルセラミドの市販標準品が存在するので、これをリファレンスにし、市販のシリカゲル薄層プレートを用い、クロロフォルム-メタノール系などの展開溶媒で展開させ、濃硫酸や、アンスロン試薬などで、発色させれば、上記濃縮物中に、高含量で、スフィンゴ糖脂質類が存在することが容易に判定できる。その他、高速液体クロマトグラフ法、各種クロマトグラフ-マススペクトロメトリー法などの常法により、スフィンゴ糖脂質類が豊富に含まれることは判定できる。

## 【0019】

最終的に得られたスフィンゴ糖脂質含有物は、水などに分散させて用いることができる。この場合、分散性を向上させるために、他の両親媒性分子、界面活性剤、分散安定剤等を必要に応じて、適当な配合比で配合させることができる。

10

## 【0020】

このような両親媒性分子、界面活性剤、分散安定剤等として、たとえばレシチン、リゾレシチンなどのリン脂質、糖グリセリド、糖ステロールなどの糖脂質、サポニン、ポリソルベート類、長鎖脂肪酸、水溶性両親媒性高分子などがあげられる。

## 【0021】

また、得られたスフィンゴ糖脂質含有物は、そのまま、凍結乾燥法、スプレードライなどの方法を用いて、固体化、粉末化して用いることができる。

## 【0022】

このようにして得られた、各種形態を有したスフィンゴ糖脂質成分は、化粧品などの塗布用基材、食品添加剤などとして用いることができる。

20

## 【0023】

## 【実施例】

以下、本発明を実施例を用いて具体的に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。まず、以下の実施例に用いた測定装置・測定方法について説明する。

## (1) 測定装置

- ・シリカゲル薄層クロマトグラフィープレート：メルク社製 Sillica gel 60 F254タイプ 層厚 0.5 mm
- ・シリカゲル分取薄層クロマトグラフィープレート：メルク社製 Sillica gel 160 F254タイプ 層厚 2 mm
- ・デンストメーター：島津製作所製 CS-9300PC

30

## 【0024】

## (2) 測定方法

## (a) スフィンゴ糖脂質成分の存在確認、定量

市販のグルコシルセラミド標準品エタノール溶液とともに、抽出物のエタノール溶液をシリカゲルの薄層クロマトグラフィープレートにアプライし、クロロフォルム-メタノール混合溶媒(9:1)で、展開した。硫酸噴霧加熱により、標準品と同じRf値(=スポットの移動距離/溶媒先端移動距離)を与えるスポットをスフィンゴ糖脂質のスポットとした。また、セレブロシド成分の定量は、市販標準品のエタノール溶液の濃度を5点程度とり、(たとえば、0.25、0.5、1、2、5 mg/ml、あるいは、アプライ量を変える、など)これらの薄層クロマトグラフの発色強度を、デンストメーターにより、検量線を作成し、当該サンプルの発色強度を測定の後、検量線から、グルコシルセラミド(スフィンゴ糖脂質)量を計算により求めた。

40

## 【0025】

## 実施例1

トピ粉 1 kg を攪拌槽に仕込み、そこにエタノール 2 L を加え、常温で 5 時間攪拌した。その後、濾過により抽出液と残渣を分離した。抽出液をエバポレーターにより濃縮し、茶褐色の蠟状濃縮物 13.3 g を得た。これを、上記測定法(a)に基づき、スフィンゴ糖脂質類の存在確認と定量を行った。結果を表 1 に示す。

50

【 0 0 2 6 】

【 表 1 】

	原料 (1 k g)	抽出物		スフィンゴ糖脂質		
		量 (g)	原料に占める割合 (%)	量 (g)	原料に占める割合 (%)	抽出物に占める割合 (%)
実施例1	トビ粉	13. 3	1. 33	1. 34	0. 13	10. 1
比較例1	綿実油粕	8. 44	0. 84	0. 41	0. 04	4. 91
比較例2	小麦粉	9. 71	0. 97	0. 33	0. 03	3. 40

10

【 0 0 2 7 】

比較例 1

綿実油粕 1 k g を攪拌槽に仕込み、そこにメタノール 2 L を加え、常温で 5 時間攪拌した。その後、濾過により抽出液と残渣を分離した。抽出液をエバポレーターにより濃縮し、茶褐色の蠟状濃縮物 8 . 4 4 g を得た。これを、上記測定法 ( a ) に基づき、スフィンゴ糖脂質類の存在確認と定量を行った。結果を表 1 に示す。

20

【 0 0 2 8 】

比較例 2

小麦粉 1 k g を攪拌槽に仕込み、そこにエタノール 2 L を加え、常温で 5 時間攪拌した。その後、濾過により抽出液と残渣を分離した。抽出液をエバポレーターにより濃縮し、濃黄褐色の蠟状濃縮物 9 . 7 1 g を得た。これを、上記測定法 ( a ) に基づき、スフィンゴ糖脂質類の存在確認と定量を行った。結果を表 1 に示す。

【 0 0 2 9 】

表 1 のように、トビ粉から、極性有機溶剤を用いて得られる抽出物は、総重量の 1 . 3 3 % と多く、さらに、スフィンゴ糖脂質成分は抽出物に対して、1 0 . 1 重量%、抽出原料に対して 0 . 1 3 4 重量% とともに高い。すなやち、トビ粉抽出物中にスフィンゴ糖脂質成分はきわめて高濃度、高純度で存在することがわかった。また、綿実油粕抽出物中にも従来抽出原料として使われていた小麦粉と比較しても、充分高い濃度、純度でスフィンゴ糖脂質成分が含まれていることがわかる。このように、食品加工業界からの天然廃棄物から、きわめて高濃度で、スフィンゴ糖脂質類を取り出すことに成功した。

30

【 0 0 3 0 】

実施例 2

トビ粉 5 0 0 g を攪拌槽に仕込み、そこにエタノール 1 . 5 L を加え、常温で 2 時間攪拌し、濾過により抽出液と残渣を分離した。抽出液をエバポレーターにより濃縮し、茶褐色の蠟状濃縮物 6 . 4 g を得た。この濃縮物を、クロロフォルム-メタノール混液 ( 1 : 1 ) 1 L に溶かし、デカンターにて、さらに、精製水 4 0 0 m L を加え、分配を行った。その後クロロフォルム層をとりだし、エバポレーターにて濃縮し、濃縮物 3 . 9 g を得た。これを、上記測定法 ( a ) に基づき、スフィンゴ糖脂質類の存在確認と定量を行った。結果を表 2 に示す。

40

【 0 0 3 1 】

【 表 2 】

抽出原料 (トビ粉 500g)	抽出物		分配後の 重量 (g)	スフィンゴ糖脂質		
	重量 (g)	原料に占める 割合 (%)		重量 (g)	原料に占める 割合 (%)	分配後重量に占 める割合 (%)
実施例2	6.4	1.28	3.9	0.52	0.10	13.3
実施例3	6.3	1.26	3.3	0.64	0.13	19.4

10

## 【0032】

## 実施例3

実施例2と同様に、トビ粉500gを攪拌槽に仕込み、そこにエタノール1.5Lを加え、常温で2時間攪拌した。その後、濾過により抽出液と残渣を分離した。抽出液をエバポレーターにより濃縮し、茶褐色の蠟状濃縮物6.3gを得た。この濃縮物を、クロロフォルム-メタノール混液(1:1)1Lに溶かし、デカンターにて、さらに、400mLの、0.4M塩化カリウム水溶液を加えて、分配を行った。その後クロロフォルム層をとりだし、エバポレーターにて濃縮し、濃縮物3.3gを得た。これを、上記測定法(a)に基づき、スフィンゴ糖脂質類の存在確認と定量を行った。結果を表2に示す。

## 【0033】

20

表2に示されるように、抽出物中のスフィンゴ糖脂質の純度を、単なる溶媒間の分配によるのみの簡便な方法で、大幅に向上できることがわかった。このさい、用いる水を、中性塩水溶液にすることにより、分配効率がさらに向上することが示された。

## 【0034】

## 【発明の効果】

本発明によれば、今まで知られていなかったトビ粉から、安全性が高く、しかも素材としてイメージのよい植物起源のスフィンゴ糖脂質を得ることができる。

---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開平11-092781(JP,A)

F.Lalaguna 他1名, Lipid Classes of Fresh Cassava Roots (*Manihot esculenta* Crantz): Identification and Quantification, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 米国, 1988年, Vol.65, no.11, p.1808-1811

A.S.KULKARNI 他2名, Glycolipid Composition of Some Seed Varieties of Cotton, *Journal of Food Science & Technology*, 1992年, Vol.29, No.6, p.366-368

H.MATSUDA 他1名, Occurrence of Lipolytic Acyl-hydrolase in Higher Plants and Its Subcellular Distribution in Potato Tubers, 島根大学農学部研究報告, 日本, 1979年, 第13号, p.105-111

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C11B 1/00-15/00

C11C 1/00-5/00

C07H 1/00-99/00