

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-518421

(P2005-518421A)

(43) 公表日 平成17年6月23日(2005.6.23)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/575	A 6 1 K 31/575	4 B 0 1 8
A 2 3 D 9/007	A 2 3 L 1/30	4 B 0 2 6
A 2 3 L 1/30	A 6 1 K 31/23	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/23	A 6 1 K 31/231	4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/231	A 6 1 K 35/12	4 C 0 8 8
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-564064 (P2003-564064)	(71) 出願人	504263439
(86) (22) 出願日	平成15年1月30日 (2003.1.30)		エンジモテック リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成16年8月11日 (2004.8.11)		イスラエル国 2 3 1 0 6 ミグダル ハ
(86) 国際出願番号	PCT/IL2003/000081		エメク ピー. オー. ボックス 6 アフ
(87) 国際公開番号	W02003/064444		リカーイスラエル サイエンス パーク
(87) 国際公開日	平成15年8月7日 (2003.8.7)	(74) 代理人	100060715
(31) 優先権主張番号	147942		弁理士 松原 伸之
(32) 優先日	平成14年1月31日 (2002.1.31)	(74) 代理人	100070116
(33) 優先権主張国	イスラエル (IL)		弁理士 村木 清司
		(74) 代理人	100112209
			弁理士 中山 健一
		(74) 代理人	100095304
			弁理士 橋本 千賀子
		(74) 代理人	100103643
			弁理士 松嶋 さやか
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 油中のフィトステロールエステルの分別

(57) 【要約】

食用油および／または食用脂肪中に溶解または分散させた少なくとも一つのジアシルグリセロールおよび少なくとも一つのフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含み、ならびに任意でモノグリセリドをさらに含む組成物。フィトステロールエステルは、β-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールおよびブラシカステロールエステルであってよい。フィトスタノールは、スチグマステロール、カンパスタノールおよびシトスタノールであってよい。フィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルは、好ましくはC₁₄-C₂₂、好ましくはC₁₆-C₁₈飽和もしくは不飽和脂肪酸、特別にはオレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸およびステアリン酸のエステルである。ジアシルグリセロールは、好ましくは1, 3-ジ-脂肪酸アシルグリセロールである。本発明は、主として不飽和脂肪酸および／または主として飽和脂肪酸のトリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルが強化された組成物を調製するための工程をさらにまた提供する。本発明は、さらに本発明の組成物を含む栄養補助食品および健康食品にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

食用油および／または食用脂肪中に溶解または分散させた少なくとも一つのジアシルグリセロールおよび少なくとも一つのフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む物質の組成物。

【請求項 2】

食用油および／または食用脂肪中に溶解または分散させた 1～99 重量%のジアシルグリセロールおよび 1～99 重量%のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む、請求項 1 による物質の組成物。

【請求項 3】

モノグリセリドをさらに含む、請求項 1 または 2 記載の物質の組成物。

【請求項 4】

1～99 重量%のジアシルグリセロール、1～99 重量%のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルならびに 0～50 重量%のモノグリセリドおよび 1～99 重量%のトリアシルグリセロールを含む、請求項 2 または請求項 3 記載の物質の組成物。

【請求項 5】

3～50 重量%のジアシルグリセロール、7～48 重量%のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルおよび 2～90 重量%のトリアシルグリセロールを含む、請求項 4 記載の物質の組成物。

【請求項 6】

前記フィトステロールが β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールおよびブラシカステロールからなる群から選択される、請求項 1～5 のいずれか一項記載の物質の組成物。

【請求項 7】

前記フィトスタノールがスチグマステロール、カンペスタノールおよびシトスタノールからなる群から選択される、請求項 1～6 のいずれか一項記載の物質の組成物。

【請求項 8】

前記フィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルが $C_{14} \sim C_{22}$ 、好ましくは $C_{16} \sim C_{18}$ 飽和もしくは不飽和脂肪酸のエステルである、請求項 1～7 のいずれか一項記載の物質の組成物。

【請求項 9】

前記脂肪酸が、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸およびステアリン酸からなる群から選択される、請求項 8 記載の物質の組成物。

【請求項 10】

ジアシルグリセロールが、1, 3-ジ-脂肪酸アシルグリセロールである、請求項 1～9 のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 11】

食用油が、亜麻仁油、ナタネ油、トウモロコシ油、オリーブ油、カカオ脂、米糠油、大豆油、パーム油、核油、ヒマシ油、綿実油、ヤシ油、ピーナッツ油、ヒマワリ油、アボカド油、ベニバナ油および魚油からなる群から選択される、請求項 1～10 のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 12】

食用脂肪がバター脂および動物脂肪、特に豚脂からなる群から選択される、請求項 1～10 のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 13】

請求項 1～12 のいずれか一項記載の物質の組成物を含む栄養補助食品。

【請求項 14】

請求項 1～12 のいずれか一項記載の物質の組成物を含む健康食品。

【請求項 15】

10

20

30

40

50

請求項 1 に規定した物質の組成物を調製する工程であって、前記工程が：

油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルおよびジグリセリドからなる生成物（混合物 A と呼ぶ）を生じさせるために、油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールをエステル化するステップを含み、

このとき前記生成物が、主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む油画分、ならびに主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含むペースト状画分である二つの明白に別個の画分を含む工程。

10

【請求項 16】

前記油画分が重量で約 10～20%の主として不飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有しており、そして前記ペースト状画分が重量で約 30～35%の主として飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有する、請求項 15 記載の工程。

【請求項 17】

前記フィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルが $C_{14} \sim C_{22}$ 、好ましくは $C_{16} \sim C_{18}$ 飽和もしくは不飽和脂肪酸のエステルである、請求項 15～16 のいずれか一項記載の工程。

【請求項 18】

前記脂肪酸が、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸およびステアリン酸からなる群から選択される、請求項 17 記載の工程。

20

【請求項 19】

前記フィトステロールが β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールおよびブラシカステロールからなる群から選択され、そして前記フィトスタノールがカンペスタノールおよびシトスタノールからなる群から選択される、請求項 15～18 のいずれか一項記載の工程。

【請求項 20】

飽和もしくは不飽和脂肪酸を用いてフィトステロールおよび／またはフィトスタノールのエステルを含有する生成物を入手するための工程であって、前記工程が：

30

(a) 第一生成物（混合物 A と呼ぶ）を生じさせるために油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールをエステル化するステップであって、前記第一生成物が二つの明白に別個の画分を含み、第一分画が主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む油画分であり、そして第二分画が主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含むペースト状画分であるステップと；

および

(b) 主として飽和脂肪酸のジグリセリド、トリグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む第一生成物（混合物 B と呼ぶ）と、主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む第二生成物（混合物 C と呼ぶ）とを生じさせるために、前記混合物 A の二つの画分を分離するステップと、を含む工程。

40

【請求項 21】

混合物 A の二つの画分の分離が遠心分離によって実施される、請求項 20 記載の工程。

【請求項 22】

混合物 B 中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの含量が、重量で少なくとも 50%の主として飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む生成物（混合物 B1 と呼ぶ）を形成するためにさらに強化される、請求項 21 記載の工程。

50

【請求項 2 3】

前記混合物 B がヘキサン処理によって強化される、請求項 2 2 記載の工程。

【請求項 2 4】

前記混合物 B が、主として不飽和脂肪酸の実質的純粋のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル（重量で少なくとも 98%）（混合物 B 2 と呼ぶ）を生じさせるためにトルエン処理によって強化される、請求項 2 2 記載の工程。

【請求項 2 5】

前記混合物 C 中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの含量が、重量で少なくとも 25% の主として不飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む生成物（混合物 C 1 と呼ぶ）を生じさせるためにさらに強化される、請求項 2 0 記載の工程。 10

【請求項 2 6】

前記混合物 C がアセトン処理によって強化される、請求項 2 5 記載の工程。

【請求項 2 7】

前記混合物 C が、主として不飽和脂肪酸の純粋のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル（重量で少なくとも 95%）（混合物 C 2 と呼ぶ）を生じさせるためにトルエン処理によって強化される、請求項 2 5 記載の工程。

【請求項 2 8】

請求項 2 0 および 2 1 の工程により入手された混合物 B。

【請求項 2 9】

請求項 2 2 および 2 3 の工程により入手された混合物 B 1。 20

【請求項 3 0】

請求項 2 4 の工程により入手された混合物 B 2。

【請求項 3 1】

請求項 2 0 および 2 1 の工程により入手された混合物 C。

【請求項 3 2】

請求項 2 0 および 2 1 の工程により入手された混合物 C 1。

【請求項 3 3】

請求項 2 0 および 2 2 の工程により入手された混合物 C 2。

【請求項 3 4】

主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む、栄養食品または栄養補助食品。 30

【請求項 3 5】

主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む、栄養食品または栄養補助食品。

【請求項 3 6】

モノアシルグリセロールをさらに含む、請求項 3 5 または 3 6 のいずれか一項記載の栄養食品または栄養補助食品。 40

【請求項 3 7】

単位剤形、好ましくは錠剤またはカプセル剤である、請求項 3 5 または 3 6 のいずれか一項記載の栄養食品または栄養補助食品。

【請求項 3 8】

低コレステロールバター、カカオ脂、無水乳脂肪、アイスクリーム、コーヒー用粉末ミルクおよびクリーム、特別にはチーズのような乳製品、およびその他のコレステロール含有食品のうちのいずれか一つである、請求項 3 5 または 3 6 のいずれか一項記載の栄養食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、食用油および／または食用脂肪中に溶解もしくは分散させた、主として1, 3-ジアシルグリセロールであるジアシルグリセロール(DAG)、およびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル(PSE)ならびに任意でモノグリセリドを含む物質の組成物、それらの調製法および特別には栄養食品、栄養補助食品および／または食品産業における材料としての様々な使用に関する。

【0002】

より詳細には、本発明は、任意で界面活性剤被覆した固定化リパーゼを使用する、フィトステロールおよび／またはフィトスタノールのアルコールシス、エステル化および／またはインターエステル化の生成物に関する。特別には、本発明は、食用油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの新規混合物に関する。そのような混合物は、通常は特に主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有する油画分、ならびに主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有するペースト状画分を含んでいる。本発明は、本発明の混合物のさらなる分別により入手される、油もしくは脂肪中のジアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの様々な新規の強化混合物をさらに提供する。本発明は、前記分別工程により入手される高純度のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルならびにエステルの混合物にさらに関する。

【背景技術】

【0003】

用語「フィトステロール」には、植物ステロールおよび植物スタノールが含まれる。植物ステロールは、植物油の少量成分として食品中に存在する天然物質である。植物ステロールには、植物中において例えば細胞膜構造を形成するような、哺乳類におけるコレステロールの役割に類似する役割がある。ヒトの食物では、遊離植物ステロールと遊離植物スタノールのどちらも受益者である。

【0004】

フィトステロールおよびフィトステロールエステルは、現在は3つの主要産業分野、つまり医薬品、化粧品および健康食品において使用されている。ヒトの食物では、フィトステロールは血清中コレステロールを低減させることが、したがって心血管疾患のリスクを低下させることが証明させている(CVD) [Pollak O. J. (1953), Circulation, 7, 702-706]。フィトステロールは脂溶性ではないので、脂溶性フィトステロールエステルを製造するためにエステル化工程が開発された。フィトステロールエステルを含有する一般に利用できる食品は、主として油、マーガリン、そしてある種の乳製品である。二、三の例を挙げると、特にパスタおよびチョコレート製品等のその他多数の一般に知られる食品がフィトステロールエステルを含有している。栄養製品へのフィトステロールエステルの組み込みは重要であると思われ、そして健康集団でのコレステロール血症予備軍の症例における血清中コレステロール低減予防療法のため、そして重症高コレステロール血症ではスタチンと併用すると代替規定食を容易に提供する。

【0005】

ジグリセリド(DAG)

ジグリセリドは、脂肪の一分子当たり、脂肪酸を三種ではなく二種しか含有していない。二種の脂肪酸の主要部分は、主として脂肪分子の各末端(一般に1, 3位置と呼ぶ)に位置する。食物中では、独特の脂肪酸位置を備えるこのジグリセリドの組成は大きく相違する。身体は、DAG油を通常の油と同様に消化する。しかし、消化成分の一つは、DAG油上の二種の脂肪酸の最初の位置に起因して相違する。腸はこの消化成分を使用して脂肪富裕粒子を再構築しようとはしないが、これはDAG油を含有する食事の摂取後の血中に脂肪富裕粒子数が少ないことを反映している。その結果として、この消化成分は腸内で

完全に分解される。この相違により、身体は脂肪酸のこの部分を吸収後に脂肪貯蔵ではなくエネルギーのために使用する。ヒトにおけるDAG油についての詳細な研究は、20gという少量のDAG油の消費後には血中の脂肪富裕粒子数が通常の油と比較して減少することが観察されることを証明した(Taguchi H.ら, J Am Coll Nutr (2000年11~12月号), 19(6):789-96)。DAG油の消費後の脂肪富裕粒子のレベルは、食後の脂肪富裕粒子のピークレベルで通常の油より約50%低い。研究者らは食後脂肪レベルが血管の健康に及ぼす影響を理解しているので、DAG油のこの側面はいっそうより有益であろう。高度の、特に過剰な体重および肥満度指数(BMI)を備えるヒトにおいては、長期間にわたるDAG油の消費は体重および体脂肪の変化に影響を及ぼす可能性がある。初期の研究は、通常の油の代わりに1日当たり10~25gのDAG油を消費すると、体重および体脂肪低下が極めて大きな程度に発生する可能性がある」と指摘している(Nagaoka T.ら, J Nutr (2000), 130(4):792-7)。DAG油は、日本政府によって食後血中脂質および体重に関する特定保健用途に対して承認されている。さらに、日本の医師会等は保健食の一部としてDAG油を公式に推奨している。米合衆国では、DAG油は専門委員会の評価により一般に安全である(GRAS)と認識されており、料理用油およびスプレッドとして市販することができる。初期の研究は、米国の過体重成人においても日本人と同様の有益な方法で、体重および総脂肪量の変化が効果を現す可能性があることを指摘している(FASEB J (2001), 15(4):A301)。

10

20

30

40

50

【0006】

国際特許出願第01/32035号は、植物スタノールエステルおよび／または植物ステロールエステルを含む、特別に高級なオリーブ油（バージンオリーブ油等）に基づくオリーブ油を基剤とする製品を教示している。

【0007】

米国特許第5,843,499号は、コレステロール低減活性を有することが証明されているフェルレートエステル（フェルラ酸ヘエステル化されるフィトステロールエステル）、特にシトスタニルエステルを含有するトウモロコシ繊維から抽出できる油を開示している。トウモロコシ繊維油（約73%の脂肪（トリアシルグリセロール）、8%のステロール（脂肪酸アシル）エステル、4%の遊離ステロール、6%のジアシルグリセロールおよび6%のフェルレート（ステロールエステル）を含有する）は、コレステロールレベルを低下させるための栄養補助食品への添加物として使用されると記載されている。

【0008】

米国特許第6,326,050号は、油もしくは脂肪中に溶解もしくは分散させた油もしくは脂肪、ジアシルグリセロール、遊離フィトステロールおよびトコフェロールからなる組成物を開示している。

【0009】

だが上記の出版物はいずれも、油および／または脂肪中のフィトステロールエステルとジアシルグリセロールの組み合わせについて記載していない。

【0010】

その上、先行技術はジグリセリドおよびフィトステロールもしくはフィトスタノールエステルを備えるいずれかの天然の油もしくは脂肪の強化について記載していない。

【0011】

国際特許出願第01/75083号は、任意で界面活性剤被覆した固定化リパーゼを使用した脂肪を基剤とする製品中の遊離ステロール（フィトステロールを含む）の選択的アルコールシスまたはエステル化（インターエステル化）のための工程について記載している。反応は、任意で少なくとも一種のカルボキシル脂肪酸もしくはそのエステル誘導体の添加後に、脂肪を基剤とする製品中に含有されるトリグリセリドの存在下で発生する。この出版物において定義されたように、「選択的アルコールシス」とは、該工程が、例えばバター脂等の油もしくは脂肪を基剤とする製品中に存在するトリグリセリドのグリセロールバックボーン上の脂肪酸アシル基の同一性または位置分布における重大な変化を引き起

こすことなく、遊離ステロールのアルコールシスまたはエステル化を引き起こすことを意味する。この出版物は、記載された工程によって入手される加工バター脂組成物および低コレステロール食品調製物について記載しており、そしてさらにフィトスタノールエステルが強化された *in situ* で入手される脂肪を基剤とする製品について記載している。しかし国際特許出願第 01/75083 号は、前記選択的エステル化反応によって入手される生成物の組成および成分またはそれらの物理的特性の詳細について記載しておらず、入手されたジアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの組み合わせまたは対応する強化生成物の使用を改良するための、入手される生成物の特異的強化ステップを教示も示唆もしていない。

【特許文献 1】国際特許出願第 01/32035 号

【特許文献 2】米国特許第 5,843,499 号

【特許文献 3】米国特許第 6,326,050 号

【特許文献 4】国際特許出願第 01/75083 号

【非特許文献 1】[Pollak O. J. (1953), Circulation, 7, 702-706]。

【非特許文献 2】(Taguchi H. ら, J Am Coll Nutr (2000 年 11~12 月号), 19 (6): 789-96)

【非特許文献 3】(Nagao T. ら, J Nutr (2000), 130 (4): 792-7)

【非特許文献 4】(FASEB J (2001), 15 (4): A301)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

上記を考慮すると、本発明の一つの目的は、油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルならびにジアシルグリセロールからなり、任意でモノグリセリドをさらに含んでいてよい食用組成物を提供することである。

【0013】

本発明のまた別の目的は、栄養補助食品（食品添加物）として、または健康食品における材料として前記組成物を提供することである。

【0014】

本発明のさらにまた別の目的は、油および／または脂肪中に含有されるトリグリセリドがアシル供与体として機能するフィトステロールおよび／またはフィトスタノールの酵素的インターエステル化、またはフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルならびにジアシルグリセロールを油および／または脂肪と単に混合もしくはブレンドすることのいずれかによって前記組成物を調製することである。

【0015】

本発明のまた別の目的は、さらなる強化のためにさらに分別することができる、油もしくは脂肪中のジアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの混合物を提供することである。

【0016】

本発明のまた別の目的は、飽和脂肪酸のジグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの様々な強化混合物を提供することである。

【0017】

本発明のさらにまた別の目的は、不飽和脂肪酸のジグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの様々な強化混合物を提供することである。

【0018】

本発明のまた別の目的は、高純度のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを提供することである。

【0019】

本発明のまた別の目的は、油もしくは脂肪中の、規定組成を備えるフィトステロールお

10

20

30

40

50

よび／またはフィトスタノールエステルおよびジグリセリドからなる組成物を調製する工程を提供することである。

【0020】

本発明のこれらやその他の目的は、以下の説明が進むにつれて明白になるであろう。

【課題を解決するための手段】

【0021】

本発明は、食用油および／または食用脂肪中に溶解または分散させた少なくとも一つのジアシルグリセロールおよび少なくとも一つのフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む物質の組成物に関する。

【0022】

本発明による物質の組成物は、食用油および／または食用脂肪中に溶解または分散させた好ましくは1～99重量%のジアシルグリセロールおよび1～99重量%のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含むが、そして任意でモノグリセリドをさらに含んでよい。

【0023】

特定実施形態では、本発明による物質の組成物は、1～99重量%のジアシルグリセロール、1～99重量%のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルならびに0～50重量%のモノグリセリドおよび1～99重量%のトリアシルグリセロールを含む。より特別には、本発明による物質の組成物は3～50重量%のジアシルグリセロール、7～48重量%のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルならびに2～90重量%のトリアシルグリセロールを含む。

【0024】

フィトステロールエステルは、 β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールおよびブラシカステロールエステルからなる群から選択することができる。フィトスタノールエステルは、スチグマステロール、カンペスタノールおよびシトスタノールからなる群から選択することができる。

【0025】

特定実施形態では、前記フィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルは C_{14} - C_{22} 、好ましくは C_{16} - C_{18} 飽和もしくは不飽和脂肪酸、特別にはオレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸およびステアリン酸のエステルである。

【0026】

ジアシルグリセロールは、好ましくは1, 3-ジ-脂肪酸アシルグリセロールである。

【0027】

食用油基剤は、好ましくは亜麻仁油、ナタネ油、トウモロコシ油、オリーブ油、カカオ脂、米糠油、大豆油、パーム油、核油、ヒマシ油、綿実油、ヤシ油、ピーナッツ油、ヒマワリ油、アボカド油、ベニバナ油および魚油からなる群から選択される。

【0028】

食用脂肪は、好ましくはバター脂および動物脂肪、特別には豚脂からなる群から選択される。

【0029】

また別の実施形態では、本発明は本発明による物質の組成物を含む栄養補助食品および健康食品に関する。

【0030】

さらにまた別の実施形態では、本発明は本発明による物質の組成物を調製するための工程を提供するが、該工程は、油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルおよびジグリセリドからなる生成物（混合物Aと呼ぶ）を生じさせるために油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールをエステル化するステップを含んでおり、このとき前記生成物は主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む油画分と、主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロー

10

20

30

40

50

ル、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含むペースト状画分である明白に別個の二つの画分を含む。

【0031】

本発明の工程では、前記油画分は重量で約10～20%の主として不飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有しており、そして前記ペースト状画分は重量で約30～35%の主として飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有している。

【0032】

本発明の工程で使用されるフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルは、 C_{14} - C_{22} 、好ましくは C_{16} - C_{18} 飽和もしくは不飽和脂肪酸、特別にはオレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸およびステアリン酸のエステルである。特定フィトステロールは、 β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロールからなる群から選択され、そして特定フィトスタノールはカンペスタノールおよびシトスタノールからなる群から選択される。

【0033】

別の実施形態では、本発明は飽和もしくは不飽和脂肪酸を用いてフィトステロールおよび／またはフィトスタノールのエステルを含有する生成物を入手するための工程に関するが、前記工程は、(a) 第1生成物（混合物Aと呼ぶ）を生じさせるために油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールをエステル化するステップであって、前記第1生成物が、第1画分は主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む油画分であり、そして第2画分は主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含むペースト状画分である二つの明白に別個の画分を含むステップと、および(b) 主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む第1生成物（混合物Bと呼ぶ）と、主として不飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む第2生成物（混合物Cと呼ぶ）とを生じさせるために前記混合物Aの二つの画分を分離するステップとを含む。

【0034】

混合物Aの二つの画分の分離は、遠心分離によって実施できる。

【0035】

混合物B中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの含量は、重量で少なくとも50%の主として飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む生成物（混合物B1と呼ぶ）を形成するためにさらに強化することができる。そこで、混合物Bは、主として飽和脂肪酸の実質的純粋のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル（重量で少なくとも98%）（混合物B2と呼ぶ）を生じさせるためにヘキサン処理によって強化できる、またはトルエン処理によって強化できる。

【0036】

前記混合物C中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの含量は、重量で少なくとも25%の主として不飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む生成物（混合物C1と呼ぶ）を生じさせるためにさらに強化することができる。そこで、混合物Cは、主として不飽和脂肪酸の純粋のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル（重量で少なくとも95%）（混合物C2と呼ぶ）を生じさせるためにアセトン処理によって強化できる、またはトルエン処理によって強化できる。

【0037】

本発明は、特に請求項20および22の工程によって入手された場合に、前記混合物B、混合物B1、混合物B2、混合物C、混合物C1および混合物C2にさらに関する。

【0038】

さらにまた、本発明は、主として不飽和脂肪酸および／または主として飽和脂肪酸のジアシルグリセロール、トリアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む、栄養食品、健康食品または栄養補助食品に関する。栄養食品、健康食品または栄養補助食品は、さらにまたモノグリセリドを含むことができる。

【0039】

本発明は、単位剤形、好ましくは錠剤またはカプセル剤である前記栄養食品、健康食品または栄養補助食品にさらに関する。

【0040】

本発明による栄養食品または健康食品は、低コレステロールバター、カカオ脂、無水乳脂肪、アイスクリーム、コーヒー用粉末ミルクおよびクリーム、特別にはチーズのような乳製品、およびその他のコレステロール含有食品のうちのいずれか一つであってよい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0041】

本発明者らはさらにまたより有益な補助食品を求めて、驚くべきことに、本発明の一つの目的である油および／または脂肪基剤中の主として1, 3-ジアシルグリセロール(DAG)であるジアシルグリセロールとフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル(PSE)との組み合わせに行き着いた。フィトステロールおよびジグリセリドの様々な組み合わせは知られているが(例えば、上記の米国特許第6, 326, 050号)、フィトステロールエステルおよびジアシルグリセロールの組み合わせは新規であり、そして予想外にもジアシルグリセロールおよび遊離フィトステロールの既知の組み合わせに比べて幾つかの長所を有することが見いだされた。そこで、通常の遊離フィトステロールの代わりにフィトステロールエステルを使用すると、混合物中のそれらの濃度を増加させることがより容易になる。さらに、結晶性植物ステロールは消化管内のミセル相内に有意な程度には溶解しないので、このためコレステロール吸収を効率的に阻害することはできない。その上、油および脂肪はほんの限られた程度にしか遊離ステロールを溶解させることができない。ステロールは、溶解形でしかコレステロールの吸収を阻害しない。

【0042】

そこで、本発明の主要な特徴は、本質的に食用油もしくは食用脂肪の基剤中に溶解もしくは分散させたジアシルグリセロールおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルからなる組成物である。本発明の組成物は、栄養食品として、栄養補助食品としておよび／または食品産業における材料として有用な可能性がある。

【0043】

本発明の組成物は、例えば国際特許出願第01/75083号に記載された選択的アルコールシスまたは(インター)エステル化工程を使用することによって入手できる。現在では、国際特許出願第01/75083号に記載された選択的フィトステロールエステル化または類似工程によって入手できる油生成物は、その各々がジグリセリドおよび異なるタイプのフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有する二つの画分からなることが見いだされている。より特別には、選択的アルコールシスまたはインターエステル化生成物は、二つの画分(油およびペースト)から構成される混合物であるが、このとき飽和脂肪酸のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルは一つの画分に実質的に含有されており、不飽和脂肪酸のエステルはもう一つの画分に実質的に含有されている。

【0044】

そこで、本発明は前記組成物を調製するための工程をさらに提供するが、該工程は、前記油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルおよびジグリセリドからなる生成物(混合物Aと呼ぶ)を製造するために、油および／または脂肪中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールのエステル化ステップを含んでいる。この生成物は、二つの明白に別個の画分(層)、つまり主として不飽和脂肪酸のジグリセリド、トリグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノ

ールエステルを含有する油画分、ならびに主として飽和脂肪酸のジグリセリド、トリグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含有するペースト状画分を含む。二つの画分は、主として飽和脂肪酸のジグリセリド、トリグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む一つの生成物（混合物 B と呼ぶ）と、および主として不飽和脂肪酸のジグリセリド、トリグリセリドおよびフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む第二生成物（混合物 C と呼ぶ）とを生じさせるために分離される。

【0045】

さらに本発明によると、混合物 B および C 中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの含量は任意でさらに強化することができる。重要なことに、本発明はステノールエステルおよびジアシルグリセロールを備えるあらゆる天然油の強化を可能にする。 10

【0046】

前記混合物 B および C は、各層に含有されるフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルのいっそうの強化ステップを受けさせることができる。

【0047】

さらに別の実施形態では、本発明の分別工程は、以下のような様々な新規混合物を生じさせるために、前記混合物 A の強化を含む：

(i) 主として飽和脂肪酸、好ましくは $C_{14} - C_{22}$ 飽和脂肪酸のエステル、および特別には $C_{16} - C_{18}$ 飽和脂肪酸エステルからなる重量で約 3 ～ 50 重量%のジグリセリドおよび重量で約 7 ～ 48 %のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含むペースト（本明細書では混合物 B と呼ぶ）； 20

(ii) 主として不飽和脂肪酸、好ましくは $C_{14} - C_{22}$ 不飽和脂肪酸のエステル、および特別には $C_{16} - C_{18}$ 不飽和脂肪酸エステルからなる重量で約 3 ～ 50 重量%のジグリセリドおよび重量で約 7 ～ 48 %のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを含む油（本明細書では混合物 C と呼ぶ）；

(iii) 主として飽和脂肪酸、好ましくは $C_{14} - C_{22}$ 飽和脂肪酸のエステル、および特別には $C_{16} - C_{18}$ 飽和脂肪酸のエステルからなる重量で約 60 重量%のフィトステロールエステルを含む固体（本明細書では混合物 B1 と呼ぶ）；

(iv) 主として不飽和脂肪酸、好ましくは $C_{14} - C_{22}$ 飽和脂肪酸のエステル、および特別には $C_{16} - C_{18}$ 飽和脂肪酸エステルからなる重量で約 30 ～ 35 重量%のフィトステロールエステルを含むペースト（本明細書では混合物 C1 と呼ぶ）； 30

(v) 主として飽和脂肪酸、好ましくは $C_{14} - C_{22}$ 飽和脂肪酸のエステル、および特別には $C_{16} - C_{18}$ 飽和脂肪酸エステルからなる高純度のフィトステロールエステル（本明細書では混合物 B2 と呼ぶ）；および

(vi) 主として不飽和脂肪酸、好ましくは $C_{14} - C_{22}$ 飽和脂肪酸のエステル、および特別には $C_{16} - C_{18}$ 飽和脂肪酸エステルからなる高純度のフィトステロールエステル（本明細書では混合物 C2 と呼ぶ）。

【0048】

これらのフィトステロールエステルの様々な混合物は、例えば栄養食品としてのように最終製品として、ならびに健康食品中の機能的成分、および栄養補助食品のどちらとしても食品産業における広範囲の用途に有用な可能性がある。 40

【0049】

上記のように、本発明の混合物は、食用油および／または食用脂肪中のジグリセリドならびにフィトステロールまたはフィトスタノールエステルを単純にブレンドすることによっても調製できる。そこで本発明は、食用油および／または脂肪中のジグリセリドならびにフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルの様々なブレンドを提供する。本発明によると、これらのブレンドは 1 ～ 99 重量%のフィトステロールまたはフィトスタノールエステル、1 ～ 99 重量%のジグリセリドおよび 0 ～ 50 重量%のモノグリセリド、好ましくは 3 ～ 50 重量%のジグリセリドおよびおよび 7 ～ 48 %のフィトステ 50

ロールもしくはフィトスタノールエステルを含有してよい。

【0050】

フィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルのタイプが規定されている組成物を調製する能力は極めて重要である。より詳細には、本発明によると、エステル化工程中に所望のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルを特定の油および／または脂肪中に添加することによって組成物中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルが規定される組成物を調製することが可能である。油およびペースト状画分の、エステル化工程後の分離は、不飽和脂肪酸を含有する主として所望のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルからなる組成物、および／または飽和脂肪酸残留物を含有する主として所望のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルからなる組成物を提供する。油および／または脂肪中のトリグリセリドは、フィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステル化工程における脂肪酸アシル基の内部起源として機能できる。あるいは、または追加して、遊離脂肪酸および／またはそれらの誘導体がアシル基の外部起源として役立つ可能性もある。

【0051】

本発明の精製および強化工程は、高純度のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールエステルも提供することができる。

【0052】

本発明の組成物および栄養素は、単位剤形で調製することができる。例えば、経口剤形は錠剤またはカプセル剤であってよい。経口投与用の各用量単位は本発明の混合物、またはその部分もしくは倍数からなる推奨1日量を含有してよい。推奨用量は、通常は主治医または食事療法士によって決定され、予想消費者の年齢、性別、体重および全身状態に依存するであろう。

【0053】

錠剤を調製するためには、例えばステアリン酸マグネシウム、デンプン、白土、タルク、ゼラチン、アラビアゴム、ステアリン酸、ラクトースおよびスクロース等の固形調製物を調製するために日常的に使用されるあらゆる医薬担体を使用できる。カプセル剤を調製するためには、例えば硬質ゼラチンカプセル殻中に前記担体を使用するようなあらゆる日常のカプセル化が適切である。軟質ゼラチン殻カプセルもまた、軟質ゼラチンカプセル核中に組み込むことができる水性ゴム、セルロース、ケイ酸塩または油等の分散液もしくは懸濁液を調製するために日常的に使用される医薬担体を使用することによって調製できる。

【0054】

本明細書の説明では、用語の「ジグリセリド」および「ジアシルグリセロール」は入れ替え可能に使用されており、そして用語の「相」と「画分」、ならびに「ペースト」、「ペースト状」および「スプレッド」も同様に入れ替え可能であることを言及しておかなければならない。

【0055】

これまで開示かつ記載してきたが、本発明は本明細書に開示した特定の実施例、工程ステップおよび材料に限定されないと理解されなければならないが、それはそのような工程ステップおよび材料はある程度変動しても構わないからである。さらにまた、本明細書に使用した用語は特定実施形態を説明する目的でのみ使用したものであり、発明の範囲は添付の特許請求の範囲およびその等価物によってのみ限定されるので、限定する意図はないと理解されなければならない。

【0056】

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用したように、単数形「一つの(a, an)」および「その(the)」には、その内容が明白にそうではないことを指示していない限り、複数対象が含まれることを言及しておかなければならない。

【0057】

本明細書および特許請求の範囲を通して、その内容が他のことを要求していない限り、

用語「含む (comprise)」、ならびに「含む (comprises)」および「含んでいる (comprising)」は他のあらゆる整数もしくはステップまたは整数もしくはステップの群を除外せずに明言された整数もしくはステップまたは整数もしくはステップの群を含むことを意味すると理解されるであろう。

【0058】

以下の実施例は、本発明の態様を実施する際に本発明者らが使用した技術の代表例である。これらの技術は本発明を実践するための好ましい実施形態の典型ではあるが、当業者は、本発明の開示に照らして、本発明の意図される範囲から逸脱することなく極めて多数の変更を加えられることを認識すると理解すべきである。

【0059】

例

方法

(1) 生成物の調製：混合物 A ならびに画分 B および C

混合物 A は、遊離脂肪酸および／または対応するモノー、ジーもしくはトリグリセリドのいずれかの存在下で、油中のフィトステロールおよび／またはフィトスタノールの直接エステル化および／またはアルコールシス+インターエステル化のどちらかの後に入手された混合物であると定義されている。例えば：

反応はバッチ式で実施する。界面活性剤被覆した固定化リパーゼおよびフィトステロールまたは植物スタノールを油または脂肪に添加する。典型的混合物は、1 部の触媒に対して 1～10 部の油および 1 部のフィトステロール（または植物スタノール）に対して 1～10 部の油を含有する。次に反応混合物を混合し、5～96 時間、好ましくは 10～48 時間にわたり、35～70℃、好ましくは 50～60℃へ加熱する。フィトステロールまたはフィトスタノールからフィトステロールエステルまたはフィトスタノールエステルへの変換率は、ガスクロマトグラフによって決定する。計量した反応混合物のサンプル（触媒を含まない）をバッチから取り出し、n-ヘキサンまたはトルエン中で 20～60 mg/mL の濃度へ希釈し、以下に記載する方法にしたがって GC へ直接注入する。遊離フィトステロールまたはフィトスタノールの濃度は定量的に（検量線に基づいて）決定し、フィトステロールの初期濃度に比較して変換率を計算する。この反応は、通常は 70～100%、典型的には 85～95% の変換率で停止させる。

【0060】

このため混合物 A は、フィトステロールエステルおよびエステル化されなかった遊離フィトステロールの残留物を含有するであろう。

【0061】

さらに、フィトステロールと天然脂肪または油との反応の結果として生じた混合物 A は、ジグリセリド、モノグリセリドおよびある濃度の遊離脂肪酸を含有するであろう。ジグリセリドおよびモノグリセリドの強化は、トリグリセリドからフィトステロールエステル形成への脂肪酸の「供与」を通して達成する。

【0062】

反応の終了時に、触媒を反応温度での高温濾過によって油から除去する。室温以下の温度へ冷却した後、入手された混合物 A は二つの明白に相違する別個の相（画分とも呼ぶ）を備える固液スラリーを形成する：

混合物 B：ペースト状相；および

混合物 C：油相。

【0063】

二つの相は、それらが含有するフィトステロールエステルのタイプが相違する。油相（画分 C）は、例えばオレイン酸、リノール酸およびリノレン酸等の不飽和脂肪酸のエステルを用いて強化されるが、他方スプレッド相（画分 B）は例えばパルミチン酸およびステアリン酸等の飽和脂肪酸のエステルを用いて強化される。

【0064】

混合物 A から画分 B および画分 C への分離は、3,000～14,000 g および 10

10

20

30

40

50

～25℃で、5～60分間、好ましくは10～30分間にわたり混合物Aを遠心分離することにより入手できる。

【0065】

画分Bは底相としてペースト状形で入手し、画分Cは上相として透明油で入手する。

【0066】

画分Cを室温へ1～10日間放置すると、ペーストのいっそうの残留沈降および油透明性の消失が生じることがある。透明形は、二度目の遠心分離または濾過によって入手する。

【0067】

図3は、60℃で発生した木材フィトステロールとヒマワリ油との反応を形成する、混合物Aのガスクロマトグラムを示している。この混合物は、ヒマワリ油由来フィトステロールエステル（重量で16%）（16.136～15.413分の範囲内で六つの主要ピーク）、油のトリグリセリド（17.083および16.707）、ジグリセリド（12.642）、フィトステロール（11.663～11.182の範囲内に、三つの主要ピーク）および遊離脂肪酸（9.586、8.686、6.69）を含んでいる。

10

【0068】

図4は、混合物Bのガスクロマトグラムを示している。この混合物は、少量の不飽和脂肪酸のフィトステロールエステル（16.335、16.159、16.044）、油由来のトリグリセリド（16.904、17.26）、ジグリセリド（12.348）、フィトステロール（11.861、11.580、11.215）および少量の遊離脂肪酸とともに飽和脂肪酸のフィトステロールエステル（15.966、15.751、15.361）を含む。この混合物中のステロールエステルの総量は31%（w/w）である。

20

【0069】

図5は、混合物Cのガスクロマトグラムを示している。この混合物は、不飽和脂肪酸のフィトステロールエステル（16.009、15.825、15.686）、油由来のトリグリセリド（16.981、16.597）、ジグリセリド（12.506）、フィトステロール（11.526、11.242、11.043）および少量の遊離脂肪酸を含む。この混合物中のステロールエステルの総量は15%（w/w）である。

【0070】

天然油および天然脂肪の例は、植物や野菜の油（亜麻仁油、ナタネ油、トウモロコシ油、オリーブ油、カカオ脂、米糠油、大豆油、パーム油、核油、ヒマシ油、綿実油、ヤシ油、ピーナッツ油、ヒマワリ油等）、動物油（バター脂、魚油等）である。

30

【0071】

フィトステロールおよびフィトスタノールの例は、 β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールおよびブラシカステロール、ならびにスチグマステロール、カンペスタノールおよびシトスタノールである。

【0072】

(2) ガスクロマトグラフィー

フィトステロール、フィトスタノール、フィトステロールエステル、フィトスタノールエステル、脂肪酸およびトリグリセリドの濃度は、水素炎イオン化検出器を装備したガスクロマトグラフのHP-5890によって測定した。キャピラリーカラムQuardec 400-1HTは以下の分離条件下で使用した：インジェクターおよび検出器温度は350℃で保持し、初期カラム温度は160℃に設定し、その後2分間は等温線が続いた；次いでオープン温度は5℃/分の速度で180℃へ上昇させた；その後、オープン温度を20℃/分の速度で400℃へ上昇させ、等温線が10分間持続した。

40

【0073】

(3) 混合物BおよびCの分別についての詳細な理解

混合物BおよびCへの分別を詳細に調査するために、脂肪酸組成が相違する様々なタイプの油を用いて反応を実施した。各起源の油について、上記に記載した反応を実施し、画分B、Cを分離して計量した。

50

【0074】

表1は、様々な油中での大豆起源のフィトステロールのエステル化反応から入手した油画分（B）およびスプレッド画分（C）の重量％を表している。反応は、1：9のフィトステロール対油重量比および1：5の触媒対油重量比を用いて、50℃で24時間にわたりシェーカー・インキュベーター内で実施した。

【0075】

表1

様々な植物油中の大豆フィトステロールのエステル化から入手された画分B（スプレッド）およびC（油）の質量分率

反応に使用した油の タイプ	食用油中の 飽和脂肪酸 (% (w/w))	油相（混合物C）の 質量分率 (% (w/w))	スプレッド相 （混合物B）の 質量分率 (% (w/w))
純粋トリオレイン*	0	100	0
魚油**	1	100	0
ナタネ油***	9.2	93	7
ヒマワリ油***	13.0	91.6	8.6
大豆油***	15.8	80	20
オリーブ油****	19.8	76	24

* 標準トリオレイン純度>99%-Sigma 社

** Eysa 2030- [Panacea]

*** 市販精製起源

**** エキストラバージンオリーブ油

10

20

表1から、この場合は脂肪酸起源対油における飽和脂肪酸比が増加するにつれてスプレッド相（混合物B）の質量分率が増加することが明白に証明されている。

【0076】

さらに、フィトステロールエステル分子中の脂肪酸の組成における相違を評価するために、混合物Aならびに画分BおよびCをさらに解析した。

【0077】

この混合物からのフィトステロールエステルの精製は、Merck社のシリカゲル60（0.04～0.063μm）および溶媒として石油エーテル：エーテル混合物（2～10%のエーテル）を使用するガラス・カラムクロマトグラフィーによって達成した。この分離システムでは、最初にフィトステロールエステルが溶離するので容易に精製できる。

30

【0078】

フィトステロールエステルを含有する画分を結合し、純粋フィトステロールエステル画分中の脂肪酸は、AOC法C₆-2-66を適用することによってメチルエステルへ移した。メチルエステルの分離および定量は、内部標準を使用してキャピラリー・ガスクロマトグラフィー上で実施した。

【0079】

表2は、分率結果に対する基準として選択された植物油の脂肪酸組成を示している。

【0080】

表3～5は、様々なタイプの油を用いた反応の結果として発生した混合物A、B、およびCの脂肪酸組成を表している。

40

【0081】

SFAは飽和脂肪酸を表し、MUFAはモノ飽和脂肪酸を表し、そしてPUFAはポリ不飽和脂肪酸を表している。反応条件は、表1について記載した条件と類似である。

【0082】

表2

起源植物油の脂肪酸含量

油のタイプ	油中の脂肪酸組成		
	CFAs 重量%	MUFAs 重量%	SUFAs 重量%
オリーブ油	20	69.5	10.5
ナタネ油	9	55	36
大豆油	16	23.5	60.5
ヒマワリ油	11	27.6	61.6

10

表 3

混合物 A 中で入手されたフィトステロールエステルの脂肪酸含量

油のタイプ	フィトステロールエステルの脂肪酸組成		
	CFAs 重量%	MUFAs 重量%	SUFAs 重量%
オリーブ油	17	64	19
大豆油	11	25	64

20

表 4

混合物 B（スプレッド相）中で入手されたフィトステロールエステルの脂肪酸含量

油のタイプ	フィトステロールエステルの脂肪酸組成		
	CFAs 重量%	MUFAs 重量%	SUFAs 重量%
オリーブ油	32	53	15
ナタネ油	30	45	26
大豆油	41	17	42
ヒマワリ油	43	17	40

30

表 5

混合物 C（油液相）中で入手されたフィトステロールエステルの脂肪酸含量

油のタイプ	フィトステロールエステルの脂肪酸組成		
	CFAs 重量%	MUFAs 重量%	SUFAs 重量%
オリーブ油	6	73	21
ナタネ油	4	59	37
大豆油	5	26	69
ヒマワリ油	4	25	67

40

表 2～5 に表示したデータは、以下を示している：

1. 表 2 および 3 を比較すると、フィトステロールエステル中の飽和脂肪酸対不飽和脂肪酸の比率は反応に使用した油の脂肪酸組成に依存することを見て取ることができる。これを言い換えると、混合物 A 中の $(M U F A + P U F A) / S F A$ （表 3）は、天然油中の同様の比率（表 2）と極めて類似している。

【0083】

2. 表 4 と 5 を比較すると、混合物 B（スプレッド）および C（油）に含有されるフィトステロールエステルを識別する主要な特徴が脂肪酸組成であるという結論を引き出せる

50

。より詳細には、エステル化反応は、画分 B 中の飽和脂肪酸フィトステロールエステルおよび画分 C 中の不飽和脂肪酸フィトステロールエステルの強化を生じさせる。このステロールエステルの分別は、二つの別個の相の形成を可能にする。

【0084】

3. 表 5 から、油性相（画分 C）は、起源油の不飽和脂肪酸組成とは無関係に、94%を超える不飽和脂肪酸フィトステロールエステルを含有することを見て取ることができる。

【0085】

4. 画分 B（スプレッド）および画分 C（液体）の物理的形状の相違は、スプレッドのより高い融点の原因となるスプレッド相中の相当に高濃度の飽和脂肪酸フィトステロールエステルによって説明できる。

10

【0086】

（4）混合物 A、B および C のさらなる強化

4. 1. 分子蒸留によるフィトステロールエステルおよびジグリセリドを備える画分 A の強化

反応生成物のジグリセリドおよびフィトステロールエステルのさらなる強化は分子蒸留を導入することによって入手できる。三つの主要成分をそれらの分子量による順序で蒸留する：最初にジグリセリド、次にフィトステロールエステル、そしてトリグリセリド。このため、様々な供給流組成および蒸留条件は、予測されるジグリセリドおよびフィトステロールエステル強化蒸留物およびトリグリセリド強化残留物を生じさせる可能性がある。

0.001~0.01 mbar、好ましくは 0.001~0.005 mbar および 200~300℃、好ましくは 220~280℃の蒸留条件は、二つの軽い成分であるジグリセリドおよびフィトステロールエステルの蒸留を可能にする。

20

【0087】

4. 2. 結晶化による画分 B および C のフィトステロールエステルの強化

生成物中の他の成分と比較してフィトステロールエステルは溶解度が相当に低く融点が高いために、様々な有機溶媒中に画分を溶解させた後に冷却段階を用意することで、フィトステロールエステルの選択的結晶化がもたらされる。この工程は、フィトステロールエステル濃度の増加を可能にする。

【0088】

使用できる有機溶媒は、ヘキサン、トルエン、アセトン、エタノール、メタノール等である、

30

【実施例 1】

【0089】

ナタネ油中でのスチグマステロールのリパーゼ触媒アルコールシス

1. 1 酵素反応

ナタネ油中でのスチグマステロールからスチグマステロールエステルへのリパーゼ触媒変換は、以下の反応条件を使用して実施した：

4 g のスチグマステロールを用いて強化した 50 mL のナタネ油へ国際特許出願第 01/75083 号により入手した 9 g のリパーゼ調製物を添加した。次いでこの反応混合物を 60℃へ 14 時間にわたり加熱した。この期間後、上記に記載したようにサンプルを採取し、n-ヘキサンを用いて希釈し（30 μL の反応混合液／600 μL の n-ヘキサン）、ガスクロマトグラフィーシステム内に注入した。反応しなかったスチグマステロールの濃度は GC によって測定し、変換率は 94%であると計算された。

40

【0090】

1. 2 反応生成物の分離

反応の終了時に、酵素を濾過し、混合物を 25℃へ冷却して 12 時間放置した。

【0091】

入手した混合物（本明細書では混合物 A と呼ぶ）は二つの別個の分離した相／画分である油相／画分およびスプレッド（ペースト状）相／画分を有する。

50

【0092】

混合物BおよびCは、8,000×rpm、約15℃で5分間にわたる混合物Aの遠心分離により入手した。

【0093】

図1および2は、両方の個別画分のガスクロマトグラム解析を示している。

【0094】

図1は、ナタネ油中のスチグマステロールのアルコールシスによって入手された混合物Bのガスクロマトグラムを示している。この混合物は、パルミチン酸スチグマステロール（化学合成した類似の標準を使用して確認された）（16.5分間）、ナタネ油由来のトリグリセリド（19.35～18.12分間）、ジグリセリド（14.37分間）、スチグマステロール（10.73分間）、モノグリセリド（11.42分間）および遊離脂肪酸（8.72～6.54分間）を含む。

10

【0095】

図2は、ナタネ油中のスチグマステロールのアルコールシスによって入手された混合物Cのガスクロマトグラムを示している。この混合物は、オレイン酸スチグマステロール（化学合成した類似の標準を使用して確認された）（15.96分間）、パルミチン酸スチグマステロール（16.56分間）、油由来のトリグリセリド（19.42～18.17分間）、ジグリセリド（14.38分間）、スチグマステロール（10.76分間）、モノグリセリド（11.45分間）および遊離脂肪酸（8.75～6.57分間）を含む。

20

【実施例2】

【0096】

オリーブ油中での大豆起源由来フィトステロールのリパーゼ触媒アルコールシス

2.1 酵素反応

国際特許出願第01/75083号により入手した100gのリパーゼ調製物および大豆起源からの120gのフィトステロール（0.3～4%のブラシカステロール、20～30%のカンバステロール；11～20%のスチグマステロール；>40%のβ-シトステロールを含有する）を1Lのガラス製攪拌式反応器中の450gのエキストラバージン・オリーブ油へ添加した。この反応混合物を次に50℃へ加熱し、24時間攪拌した。反応の変換率は93%であった。触媒は50℃での濾過によって分離した。濾過した触媒は、120gの未反応フィトステロールを備える450gのエキストラバージン・オリーブ油の新鮮混合物へ添加した。第二バッチは、同様に24時間後に93%の変換率に達した。触媒の濾過を繰り返し、566gの生成物（混合物A）を室温に20時間放置した。

30

【0097】

混合物BおよびCは、7,500×rpmおよび25℃で15分間にわたり混合物Aの遠心分離により入手した。

【0098】

スプレッド画分である混合物Bの重量は164gであったが、油画分である混合物Cの重量は402gであった。

【0099】

混合物Aの組成は、16.3%のジグリセリド、6.18%のモノグリセリド、30.5%のフィトステロールエステルおよび5%の遊離脂肪酸、そして残余はトリグリセリドであった。

40

【0100】

画分BおよびCからのフィトステロールエステルの脂肪酸組成は、上記のとおりに測定した。結果は表6に示した。

【0101】

表6

フィトステロールエステルの脂肪酸組成

脂肪酸	油中含量 (%) (画分 C)	スプレッド中 含量 (%) (画分 B)
C16	3.0	29.9
C16:1	1.6	1.2
C18	1.2	2.0
C18:1	71.5	51.7
C18:2	20.9	14.1
C18:3	1.4	0.9
C20	0.2	0.1

【実施例 3】

【0102】

分子蒸留によるフィトステロールエステルおよびジグリセリドのさらなる強化：

10

13重量%のフィトステロールエステル、20重量%のジグリセリド、0.1～1重量%の遊離フィトステロールおよび5重量%の遊離脂肪酸を含有するナタネ油起源から入手した反応混合物を分子蒸留器（径2インチのガラス製実験用装置）へ供給した。初回通過は、遊離フィトステロールおよび遊離脂肪酸の除去を可能にする条件で実施した：180～200℃および0.01～0.001mbar。初回通過の残留物は、表7および8に示したように、様々な留出組成物を可能にする種々の条件下で再度供給した。PSEは、フィトステロールエステルを表す。

【0103】

表 7

20

留出液画分中の留出液質量およびフィトステロールエステル収率
(様々な温度で0.001～0.005mbar)

温度 (°C)	留出液質量 / 供給液質量	留出液中の PSE 質量 / 供給液中の PSE 質量
235	0.17	0.40
240	0.23	0.58
250	0.28	0.62
265	0.33	0.95

蒸留位相でのフィトステロールエステルの90%を得るために必要な条件は260～265℃及び0.001～0.005mbarであることが判明した。

30

【0104】

表 8

蒸留で入手した留出液組成 (様々な温度で0.001～0.005mbar)

温度 (°C)	留出液の組成		
	フィトステロールエステル (重量%)	トリグリセリド (重量%)	ジグリセリド (重量%)
235	27	22	51
240	32	25	40
250	32	25	43
265	27	52	21

40

計算は、GCから入手した供給液質量残余と相対積分面積に基づいて実施した。

【実施例 4】

【0105】

溶媒結晶化による画分BおよびCにおけるフィトステロールエステルのさらなる強化

(i) 混合物C中のフィトステロールエステル含量を濃縮するために、上記の実施例2に記載したとおりに入手した100mLの混合物Cへ100mLのアセトンを添加した。この混合物を12時間にわたり-20℃へ冷却した。この時間中に、白色固形沈殿物（混合

50

物 C 1) が油性混合物から沈着した。固形沈殿物 (25 g) を低温濾過工程において濾過し、低温アセトンを用いて数回洗浄した。

【0106】

図 6 は、混合物 C 1 のガスクロマトグラムを示している。この混合物は、不飽和脂肪酸のフィトステロールエステル (16.247、16.067、15.934)、油由来トリグリセリド (17.119、16.814)、ジグリセリド、フィトステロール (11.764、11.486、11.291) および少量の遊離脂肪酸を含む。この混合物中のステロールエステルの総量は 30% (w/w) である。

【0107】

(ii) 混合物 C 中のフィトステロールエステル含量をさらに濃縮するために、穏やかに加熱しながら、上記に記載したとおりに入手した 20 g の固形混合物 C へ 50 mL のトルエンを添加した。この混合物を 12 時間にわたり -20℃ へ冷却した。この時間中に、白色固形沈殿物 (混合物 C 2) が溶液から沈着した。固形沈殿物 (4 g) を低温濾過工程において濾過し、低温トルエンを用いて数回洗浄した。

【0108】

図 7 は、混合物 C 2 のガスクロマトグラムを示している。この混合物は、不飽和脂肪酸のフィトステロールエステル (16.319、16.125、15.981)、フィトステロール (11.151、10.850、10.640) およびジグリセリド (13.24、13.01) を含む。この混合物中のステロールエステルの総量は >90% (w/w) である。

【0109】

(i) 混合物 B 中のフィトステロールエステル含量を濃縮するために、実施例 2 に記載したとおりに入手した 90 g の混合物 B へ 100 mL のヘキサンを添加した。この混合物を 12 時間にわたり -20℃ へ冷却した。この時間中に、白色固形沈殿物 (混合物 B 1) が溶液から沈着した。固形沈殿物 (35 g) を低温濾過工程において濾過し、低温ヘキサンを用いて数回洗浄した。

【0110】

図 8 は、混合物 B 1 のガスクロマトグラムを示している。この混合物は、主として飽和脂肪酸のフィトステロールエステル (15.941、17.752、15.612)、少量の不飽和脂肪酸のフィトステロールエステル (16.335、16.159、16.031)、油由来トリグリセリド (17.196、16.870)、ジグリセリド、フィトステロール (11.830、11.553、11.190)、ジグリセリド (14.39、13.97) および少量の遊離脂肪酸を含む。この混合物中のステロールエステルの総量は 50% (w/w) である。

【0111】

(ii) 混合物 B 中のフィトステロールエステル含量をさらに濃縮するために、穏やかに加熱しながら、実施例 2 に記載したとおりに入手した 20 g の固形混合物 B へ 50 mL のトルエンを添加した。この混合物を 12 時間にわたり -20℃ へ冷却した。この期間中に、白色固形沈殿物 (混合物 B 2) が溶液から沈着した。固形沈殿物 (5 g) を低温濾過工程において濾過し、低温トルエンを用いて数回洗浄した。

【0112】

図 9 は、混合物 B 2 のガスクロマトグラムを示している。この混合物は、主として飽和脂肪酸のフィトステロールエステル (15.371、15.184、15.047)、少量の不飽和脂肪酸のフィトステロールエステル (15.761、15.588、15.461) およびフィトステロール (10.615、10.310、10.096) を含む。この混合物中のステロールエステルの総量は >95% (w/w) である。

【図面の簡単な説明】

【0113】

本発明は、好ましい実施形態についての詳細な説明および添付の図面からより明白に理解されるであろう：

10

20

30

40

50

【図 1】 ナタネ油中のスチグマステロールのアルコールシスによって入手された混合物 B のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 2】 ナタネ油中のスチグマステロールのアルコールシスによって入手された混合物 C のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 3】 ヒマワリ油中のフィトステロールのエステル化後に 60℃ で入手された、混合物 A のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 4】 図 3 の混合物 A から入手された混合物 B のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 5】 図 3 の混合物 A から入手された混合物 C のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 6】 図 5 の混合物 C から入手された混合物 C 1 のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 7】 図 5 の混合物 C から入手された混合物 C 2 のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 8】 図 3 の混合物 B から入手された混合物 B 1 のガスクロマトグラムを示した図である。

【図 9】 図 3 の混合物 B から入手された混合物 B 2 のガスクロマトグラムを示した図である。

10

【図 1】

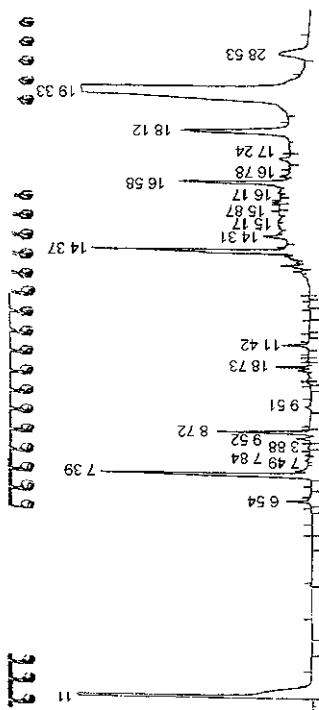


Fig. 1

【図 2】

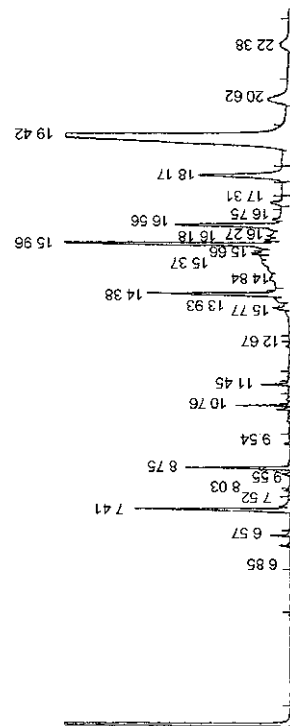


Fig. 2

【図3】

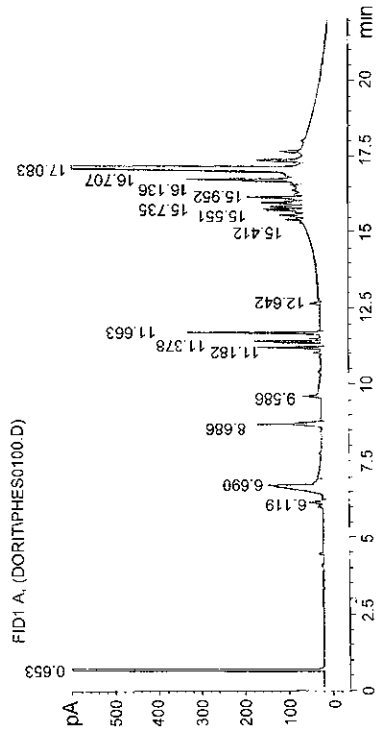


Fig. 3

【図4】

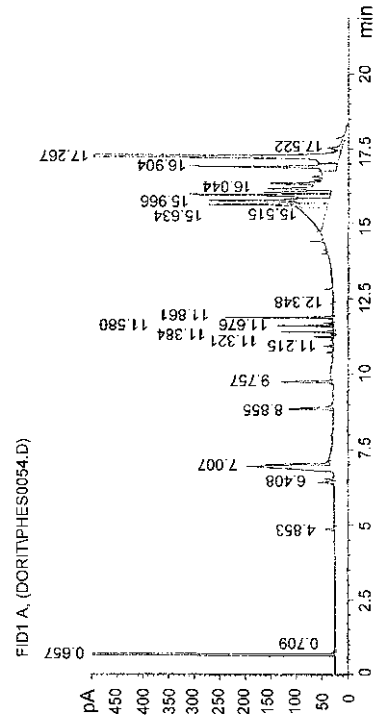


Fig. 4

【図5】

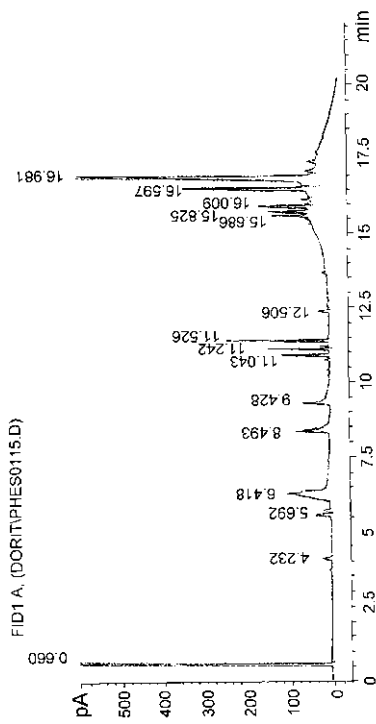


Fig. 5

【図9】

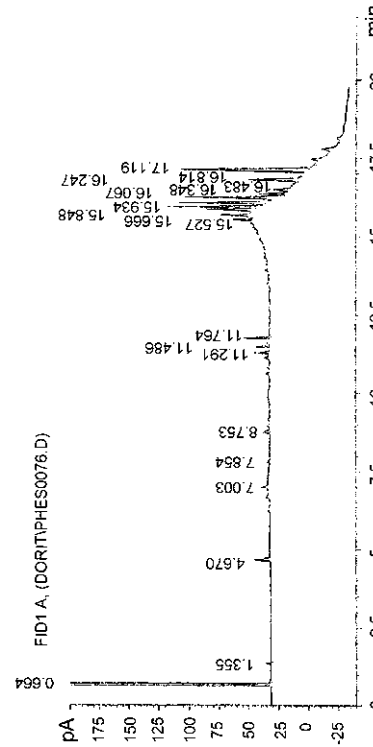


Fig. 6

【 7 】

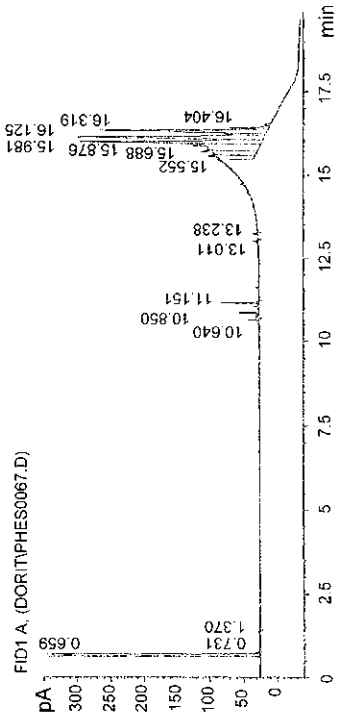


Fig. 7

【 8 】

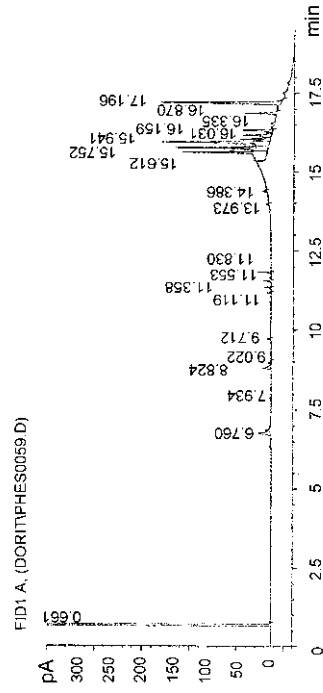


Fig. 8

【 6 】

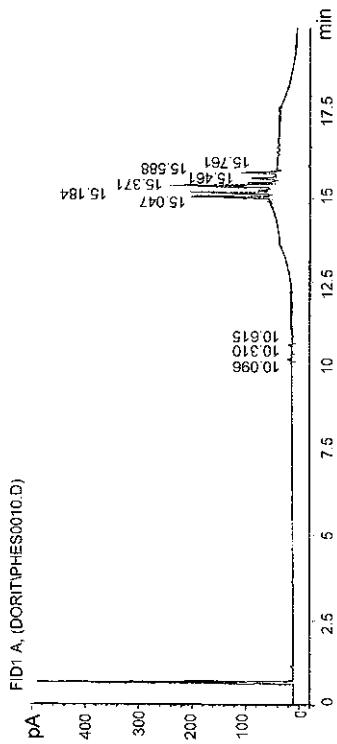


Fig. 9

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/IL 03/00081

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07J9/00 C11B7/00 C11C3/00 C12P7/64 A23D9/00 A23L1/30		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07J C11B C11C C12P A23D A23L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI Data, FSTA, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 73407 A (MARUZENI SHOJI ;SUZUKI KAZUAKI (JP); ASAHI DENKA KOGYO KK (JP); HI) 7 December 2000 (2000-12-07) the whole document	1-14, 34-38
P,X	& EP 1 180 545 A (ASAHI DENKA KOGYO KK) 20 February 2002 (2002-02-20) page 3, line 3 -page 8, line 45 examples 1-16 claims 1-10 --- -/-	1-14, 34-38
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
2 June 2003		17/06/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Dekeirel, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/IL 03/00081

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01 75083 A (BASHEER SOBHI ;ENZYMOTEC LTD (IL); PLAT DORIT (IL)) 11 October 2001 (2001-10-11) cited in the application page 17, line 8 - line 9 page 23, line 8 - line 13 page 29, line 12 - line 13 examples 5-9 claims 25,26,30-33	1,6-9, 11-14, 34-38
Y	---	2,4,10, 15-21, 25,26, 31,32
Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 200166 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 2001-587540 XP002242960 & KR 2001 035 226 A (ONBIO CORP), 7 May 2001 (2001-05-07) abstract	2,4,10
Y	WO 01 72136 A (PROCTER & GAMBLE) 4 October 2001 (2001-10-04) page 11, line 29 -page 15, line 24 page 17, line 24 - line 31 examples 3-5 claims 1-5,11,12,14,15	15-21, 25,26, 31,32
Y	WO 99 56558 A (RAISIO BENECOL OY ;EKBLOM JARI (FI); WESTER INGMAR (FI)) 11 November 1999 (1999-11-11) page 6, line 12 -page 7, line 13 page 9, line 18 -page 13, line 15 examples 4,5,7 claims 1-37	1,6-9, 11, 13-15, 17-20, 34-38
Y	EP 0 195 311 A (YOSHIKAWA OIL & FAT) 24 September 1986 (1986-09-24) page 8, line 19 -page 9, line 18 page 14, line 21 -page 16, line 3 examples 52,53,64 claims 1,6,9,10	1,6-9, 11, 13-15, 17-20, 34-38

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/IL 03/00081

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0073407	A	07-12-2000	JP 2001040388 A CA 2375023 A1 EP 1180545 A1 WO 0073407 A1 JP 2002206100 A	13-02-2001 07-12-2000 20-02-2002 07-12-2000 26-07-2002
WO 0175083	A	11-10-2001	AU 4679501 A EP 1268754 A1 WO 0175083 A1	15-10-2001 02-01-2003 11-10-2001
KR 2001035226	A	07-05-2001	NONE	
WO 0172136	A	04-10-2001	AU 4769001 A WO 0172136 A1 US 2002016317 A1	08-10-2001 04-10-2001 07-02-2002
WO 9956558	A	11-11-1999	FI 981011 A AT 236535 T AU 758747 B2 AU 3934999 A BR 9910248 A CA 2332000 A1 DE 69906719 D1 EP 1075191 A1 WO 9956558 A1 JP 2002513079 T NZ 508578 A	07-11-1999 15-04-2003 27-03-2003 23-11-1999 02-10-2001 11-11-1999 15-05-2003 14-02-2001 11-11-1999 08-05-2002 25-10-2002
EP 0195311	A	24-09-1986	JP 2554469 B2 JP 62166895 A JP 1825306 C JP 5033712 B JP 61204197 A JP 1985242 C JP 6095950 B JP 62048391 A CH 667284 A5 DE 3672270 D1 EP 0195311 A2 ES 8706830 A1 SG 34093 G US 5219733 A	13-11-1996 23-07-1987 28-02-1994 20-05-1993 10-09-1986 25-10-1995 30-11-1994 03-03-1987 30-09-1988 02-08-1990 24-09-1986 16-09-1987 09-07-1993 15-06-1993

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/12	A 6 1 K 35/78	C 4 C 2 0 6
A 6 1 K 35/78	A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 3/00	A 2 3 D 9/00	5 1 6

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100120433

弁理士 ▲高▼部 育子

(72)発明者 ガコーゴラン エイナブ

イスラエル国 2 0 1 0 0 カルミエル ハティヴァット ギヴァティ 9

(72)発明者 バシェール ソブヒ

イスラエル国 2 0 1 7 3 サクハナイン ピー. オー. ボックス 9 3 2 7

(72)発明者 プラト ドリト

イスラエル国 1 7 9 0 6 シムシット ピー. オー. ボックス 2 4 9

(72)発明者 ベン ドロール ガイ

イスラエル国 3 7 9 1 0 モシャブ エインーアイアン

(72)発明者 ファルカッシュ オーリィ

イスラエル国 1 7 9 0 6 シムシット ピー. オー. ボックス 2 1 7

(72)発明者 ホタム エルザファン

イスラエル国 3 0 9 0 0 ジクロン ヤコブ シバニット ストリート 1

(72)発明者 ゴールドシュミット ゴハール

イスラエル国 1 9 1 2 5 モシャブ ラマトーゼヴィ

F ターム(参考) 4B018 LB01 LB07 MD14 ME14 MF10

4B026 DC05 DG01 DG11 DH10 DP10

4C086 AA01 AA02 DA11 DA13 MA03 MA52 NA05 ZC80

4C087 AA01 AA02 BB33 MA02 NA05 ZC80

4C088 AB12 BA06 BA18 MA52 NA05 ZC80

4C206 AA01 AA02 DB06 DB07 DB47 DB48 MA03 NA05 ZC80