

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-83902  
(P2004-83902A)

(43) 公開日 平成16年3月18日(2004.3.18)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
C 1 1 C 3/00	C 1 1 C 3/00	2 B 1 5 0
A 2 3 D 9/007	A 2 3 K 1/16 3 O 1 F	4 B 0 1 8
A 2 3 K 1/16	A 2 3 K 1/16 3 O 2 B	4 B 0 2 6
A 2 3 L 1/30	A 2 3 L 1/30 B	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/232	A 2 3 L 1/30 Z	4 C 2 0 6
	審査請求 未請求 請求項の数 6 O L	(全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-284762 (P2003-284762)	(71) 出願人	000000918 花王株式会社
(22) 出願日	平成15年8月1日(2003.8.1)		東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番1 0号
(31) 優先権主張番号	特願2002-229901 (P2002-229901)	(74) 代理人	110000084 特許業務法人アルガ特許事務所
(32) 優先日	平成14年8月7日(2002.8.7)	(74) 代理人	100068700 弁理士 有賀 三幸
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100077562 弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736 弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100101317 弁理士 的場 ひろみ
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 油脂組成物

(57) 【要約】

【課題】 加工特性に優れ、風味良好で、P P A R 活性化作用、酸化活性化作用に優れ糖尿病、高脂血症、肥満用の医薬用途の他に、食品、飼料として有用な油脂組成物の提供。

【解決手段】 次の成分(A)及び(B)：

(A) 構成脂肪酸の20～75重量%がドコサヘキサエン酸(DHA)であり、0.1～25重量%がイコサペンタエン酸(IPA)であり、それらの重量比(DHA/IPA)が2以上であるモノグリセライド 80～99.9重量%、

(B) ジグリセライド 0.1～20重量%

を含有する油脂組成物。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

次の成分 (A) 及び (B) :

(A) 構成脂肪酸の 20 ~ 75 重量% がドコサヘキサエン酸 (DHA) であり、0.1 ~ 2.5 重量% がイコサペンタエン酸 (IPA) であり、それらの重量比 (DHA / IPA) が 2 以上であるモノグリセライド 80 ~ 99.9 重量%、  
(B) ジグリセライド 0.1 ~ 20 重量%

を含有する油脂組成物。

## 【請求項 2】

更に (C) 抗酸化剤 0.01 ~ 5 重量% を含有するものである請求項 1 記載の油脂組成物。 10

## 【請求項 3】

更に (D) 植物ステロール 0.05 ~ 19.9 重量% を含有するものである請求項 1 又は 2 記載の油脂組成物。

## 【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の油脂組成物を含有する食品。

## 【請求項 5】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の油脂組成物を含有する飼料。

## 【請求項 6】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の油脂組成物を含有する医薬品。 20

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、特定のグリセライド組成及び脂肪酸組成を有し、風味良好で、しかも顕著なゲル化性及び水取込性を有することから加工特性に優れ、優れたペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (Peroxisome Proliferator Activated Receptor、以下 PPAR と記載する) 活性化作用、酸化活性化作用を有する食品、医薬、飼料等として有用な油脂組成物に関する。

## 【背景技術】

30

## 【0002】

近年、特に健康の維持増進、疾病の予防治療に対する関心が高まり、魚油やその構成成分であるイコサペンタエン酸 (C20:5、以下 IPA と記載する)、ドコサヘキサエン酸 (C22:6、以下 DHA と記載する) の健康機能に関する研究が数多く行われてきている。具体的には、抗動脈硬化作用、脳機能改善作用、視覚機能改善作用、抗腫瘍作用、抗炎症作用等が知られている (非特許文献 1 等)。

## 【0003】

しかしながらこれらの成分は、保存時の劣化臭がひどく、風味の点で実用化が著しく制限されている。また、IPA に血小板凝集抑制作用や出血時間の延長作用のあることが指摘されている (非特許文献 2、3 等)。

40

## 【0004】

一方、本発明者らは、IPA、DHA を含む 3 系不飽和モノグリセライド・ジグリセライドに体脂肪燃焼作用が有ることを見出している (特許文献 1)。また、モノグリセライド、特に IPA モノグリセライドに PPAR 活性化作用が高いことを見出している (特許文献 2)。しかし、DHA モノグリセライドの PPAR 活性化作用については、未だ明らかにされていない。

## 【0005】

ここで、PPAR とは、核内受容体の 1 種で、ペルオキシソーム増殖剤により活性化を受けるレセプターのことである (Peroxisome Proliferator Activated Receptor: ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体)。最近の研究から、この PPAR が、非常に多くの生理 50

、病理現象に関わっていることが明らかになっている。すなわち、高脂血症治療薬であるフィブラート系化合物や、糖尿病治療薬として知られるチアゾリジン誘導体が、PPARのアゴニストであることが明らかにされて以来、これらの化合物に続く高脂血症やインスリン抵抗性、糖尿病の改善薬の開発が試みられている（非特許文献4～6）。

【0006】

この他にもモノグリセライドに関する種々の技術が開示されている。モノグリセライドの製造法として、特許文献3～7等が開示されている。また、特許文献8には、高度不飽和脂肪酸含有モノグリセライドが開示されている。しかし、これらのモノグリセライドはいずれも風味の点で問題がある。

【0007】

更に、特許文献9及び10には、モノグリセライドを含む部分グリセライドが開示されている。これらの技術は、ジグリセライドを主成分とするため、トリグリセライドに比べて水への分散性が良好である。しかし、モノグリセライドが少ないために水を取り込むことができない等、加工特性の点で課題がある。

このように、IPAやDHAを含む油脂には、いろいろな健康機能が解明されてきている。しかし、加工特性、風味等の点で課題があり、十分な技術が確立されていないのが現状である。

【非特許文献1】日本油化学会誌，48，1017(1999)

【非特許文献2】Atherosclerosis，50，3-10(1984)

【非特許文献3】Lipids，32，1129-1136(1997)

【非特許文献4】細胞，31(6)，218-234(1999)

【非特許文献5】J. Lipid Res. 37，907-925(1996)

【非特許文献6】Curr. Opin. Lipidol. 10，151-159(1999)

【特許文献1】特開2001-64672号公報

【特許文献2】特開2001-354558号公報

【特許文献3】特開平3-103499号公報

【特許文献4】特開平8-214892号公報

【特許文献5】特開平10-57086号公報

【特許文献6】特開2000-212588号公報

【特許文献7】特開2001-329291号公報

【特許文献8】特開平7-39302号公報

【特許文献9】特開平8-60181号公報

【特許文献10】特開平10-265795号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

かかる観点から、食品としての加工特性や風味が良好で、優れた生理作用を有する油脂組成物の開発が望まれている。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者は、モノグリセライドの脂肪酸組成について種々検討した。その結果、構成脂肪酸としてIPA及びDHAを特定量含むモノグリセライド混合物が、風味良好で、しかも顕著なゲル化性及び水取込性を有することから加工特性に優れており、かつPPAR活性化作用、酸化活性化作用が極めて強く、健康上有益な食品、飼料及び医薬品として有用であることを見出した。

【0010】

すなわち、本発明は、次の成分(A)及び(B)：

(A)構成脂肪酸の20～75重量%がドコサヘキサエン酸(DHA)であり、0.1～2.5重量%がイコサペンタエン酸(IPA)であり、それらの重量比(DHA/IPA)が2以上であるモノグリセライド 80～99.9重量%、

10

20

30

40

50

(B) ジグリセライド 0.1 ~ 20 重量%

を含有する油脂組成物を提供するものである。

また、本発明は、上記油脂組成物を含有する食品、飼料及び医薬品を提供するものである。

【発明の効果】

【0011】

本発明油脂組成物は、加工特性に優れ、風味良好で、PPAR活性化作用、酸化活性化作用に優れ糖尿病、高脂血症、肥満用の医薬用途の他に、食品、飼料として有用である。

【発明を実施するための最良の形態】

10

【0012】

本発明の油脂組成物のモノグリセライド(成分(A))を構成する脂肪酸のうち、ドコサヘキサエン酸(DHA)の含量は、生理効果、加工特性、風味の点で20~75重量%であり、さらに30~65重量%、特に35~55重量%であるのが好ましい。

【0013】

また、モノグリセライド(成分(A))を構成する脂肪酸のうち、イコサペンタエン酸(IPA)の含量は、生理効果、加工特性、風味の点で0.1~25重量%であり、さらに0.1~20重量%、特に0.1~15重量%であるのが好ましい。

【0014】

モノグリセライド中のDHAとIPAの重量比(DHA/IPA)は、風味、加工特性、生理効果の点から、2以上であることが必要で、好ましくは2~20、より好ましくは3~13、更に4~11、特に5~8であることが好ましい。

20

【0015】

モノグリセライド(成分(A))の残余の構成脂肪酸としては、9系不飽和脂肪酸、6系不飽和脂肪酸、飽和脂肪酸等が含まれる。ここで、例えばオレイン酸等の炭素数8~22の9系不飽和脂肪酸は、工業的生産性、脂肪酸の摂取バランスの点から0~50重量%、更に0.1~25重量%、特に0.1~15重量%含有するのが好ましい。

【0016】

また、例えばリノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸等の炭素数8~22の6系不飽和脂肪酸は、工業的生産性、脂肪酸の摂取バランスの点で0.1~25重量%、更に0.1~10重量%

30

更に、飽和脂肪酸は、工業的生産性、生理効果の点から0~30重量%、更に0.1~20重量%、特に0.5~15重量%含有するのが好ましい。

【0017】

かかるモノグリセライド(成分(A))は、生理効果、加工特性の点で、本発明油脂組成物中に80~99.9重量%含まれることが必要で、好ましくは90~99重量%、更に92.9~97重量%、特に93~97重量%含まれるのが好ましい。

【0018】

ジグリセライド(成分(B))は、加工特性、工業的生産性、風味の点で、本発明油脂組成物中に0.1~20重量%含有することが必要で、好ましくは1~10重量%、更に2.9~7重量%、特に3~7重量%含有するのが好ましい。

40

ジグリセライド(成分(B))の構成脂肪酸は、モノグリセライドと同様であるのが工業的生産性の点で好ましい。

【0019】

本発明の油脂組成物において、トリグリセライドの含有量は、生理効果、加工特性、工業的生産性の点で、19.9重量%以下であるのが好ましく、更に0~9重量%、特に0.01~4重量%、殊更0.1~4重量%であるのが好ましい。

トリグリセライドの構成脂肪酸は、モノグリセライドと同様であるのが工業的生産性の点で好ましい。

【0020】

50

本発明の油脂組成物において、遊離脂肪酸又はその塩の含有量は、風味、安定性、工業的生産性の点から、5重量%以下であるのが好ましく、更に0~2.5重量%、特に0.01~1重量%、殊更0.1~0.5重量%であるのが好ましい。

本発明の油脂組成物の遊離脂肪酸又はその塩は、モノグリセライドの構成脂肪酸と同様であるのが工業的生産性の点で好ましい。

#### 【0021】

かかる特定のグリセライド組成及び脂肪酸組成を有する本発明の油脂組成物は、例えば、リパーゼ等の酵素を用いたグリセリンと脂肪酸とのエステル化反応や、アルカリ触媒等を用いたグリセリンと油脂とのエステル交換反応等により製造することができる。また、後記製造例に示すように、ジオキソラン等の保護基をグリセリンに結合した後、油脂とエステル交換反応を行い、次いで保護基を外すことにより目的とする油脂組成物を製造することもできる。

10

#### 【0022】

本発明の油脂組成物は、脱ガム、脱酸、水洗、脱色、脱臭等の精製を施して使用するのが風味、安定性の点で好ましいが、特に過氧化物価(POV)が20以下、好ましくは10以下、より好ましくは7以下、更に好ましくは5以下、特に好ましくは3以下、最も好ましくは0.1~1とするのが好ましい。更には、ロビポンド法(5 1/4インチガラスセル使用)による色(10R+Y)が50以下、好ましくは40以下、更に好ましくは30以下、特に5~25とするのが好ましい。

#### 【0023】

本発明の油脂組成物には、抗酸化剤(成分(C))を添加するのが、風味、安定性の点で好ましい。抗酸化剤は通常、食品、医薬品に使用されるものであればいずれでもよいが、カテキン、トコフェロール、ビタミンC脂肪酸エステル、ブチルヒドロキシトルエン(BHT)、ブチルヒドロキシアニソール(BHA)、ターシャルブチルヒドロキノン(TBHQ)、リン脂質、天然抗酸化成分の1種又は2種以上の組合せが好ましく、特にトコフェロール、カテキンが好ましい。ビタミンC脂肪酸エステルとしては、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステルが、天然抗酸化成分としては、ローズマリー等のハーブ、桃の葉や根塊からの抽出物等が挙げられる。抗酸化剤は本発明の油脂組成物に0.01~5重量%、特に0.05~1重量%添加することが好ましい。

20

#### 【0024】

本発明の油脂組成物には、コレステロール低下効果の点で、植物ステロール(成分(D))を含有するのが好ましい。植物ステロールは、本発明の油脂組成物に0.05~19.9重量%含有するのが好ましく、更に0.3~4.7重量%、特に1.2~4.7重量%含有するのが好ましい。ここで植物ステロールとしては、例えば -シトステロール、  
-シトステロール、スチグマステロール、カンペステロール、  
-シトスタノール、  
-シトスタノール、スチグマスタノール、カンペスタノール、シクロアルテノール等のフリー体、及びこれらの脂肪酸エステル、フェルラ酸エステル、桂皮酸エステル等のエステル体が挙げられる。

30

#### 【0025】

本発明の油脂組成物には、更に結晶抑制剤を添加するのが、外観、作業性の点で好ましい。本発明で使用する結晶抑制剤としては、ポリグリセリン縮合リシノレイン酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、シヨ糖脂肪酸エステル、ソルピタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルピタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステルのポリオール脂肪酸エステルが挙げられる。またポリオール脂肪酸エステルは、HLB(Griffinの計算式)が4以下、特に3以下のポリグリセリン脂肪酸エステル、シヨ糖脂肪酸エステル、ソルピタン脂肪酸エステルが好ましい。本発明の油脂組成物に、結晶抑制剤は0.02~5重量%、特に0.05~2重量%含有するのが好ましい。

40

#### 【0026】

かくして得られた油脂組成物は、極めて優れたPPAR活性化作用、酸化活性化作用を有し、更に良好なゲル化性及び水取込性を有することから加工特性や風味に優れている

50

。かかる優れた特性を有するため、本発明の油脂組成物は食品、飼料及び医薬品に利用することができる。

**【0027】**

食品としては、該油脂組成物を食品の一部として含有する油脂含有食品や食品添加物に用いることができる。かかる油脂含有食品としては、例えば特定の機能を発揮して健康増進を図る健康食品が挙げられる。また、食品添加物としては、乳化、解乳化、可溶化、分散、湿潤、コーティング、起泡、消泡、浸透、離型、洗浄、抗菌、品質改良等の目的で、乳化剤、品質改良剤等として食品に補助的に用いることができる。

**【0028】**

具体的な食品としては、かかる油脂組成物を配合したカプセル剤、錠剤、顆粒剤、粉末剤、パン、ケーキ、クッキー、パイ、ピザクラスト、ベーカリーミックス等のベーカリー食品、スープ、ソース、アイスクリーム、コーヒーホワイトナー、ドレッシング、マヨネーズ、ホイップクリーム等の水中油型乳化食品、マーガリン、スプレッド、バタークリーム等の油中水型乳化食品、チョコレート、キャンデー、キャラメル、タブレット等の菓子、ソーセージ、ハム、ハンバーグ等の肉加工食品の他、飲料、麺、惣菜、冷凍食品、レトルト食品等が挙げられる。かかる食品は、上記油脂組成物の他に、油脂含有食品や食品添加物の種類に応じて一般に用いられる食品原料を添加して製造することができる。

10

**【0029】**

本発明の油脂組成物の油脂含有食品への配合量は、食品の種類によっても異なるが、一般に0.1~100重量%、特に1~80重量%が好ましい。また、本発明の油脂組成物の食品添加物への配合量は、食品添加物の用途によっても異なるが、一般に1~100重量%、特に80~100重量%が好ましい。本発明の食品添加物の食品への配合量は、食品添加物の用途によっても異なるが、一般に0.01~10重量%、特に0.1~5重量%が好ましい。

20

**【0030】**

医薬品としては、例えば散剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、錠剤等の固形製剤、水剤、懸濁剤、乳剤等の液剤等の経口投与剤が挙げられる。この経口投与剤は、上記油脂組成物の他、経口投与剤の形態に応じて一般に用いられる賦形剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、界面活性剤、アルコール類、水、水溶性高分子、甘味料、矯味剤、酸味料等を添加して製造することができる。経口投与用医薬品としては、PPAR活性化作用、酸化活性化作用に基づき、糖尿病予防治療薬、肥満予防治療薬、高脂血症予防治療薬が挙げられる。本発明の油脂組成物の経口投与用医薬品への配合量は、医薬品の用途及び形態によっても異なるが、一般に0.1~100重量%、特に1~80重量%が好ましい。また、投与量は、油脂組成物として、1日当たり0.1~50gを、1~数回に分けて投与することが好ましい。

30

**【0031】**

飼料としては、豚、鶏、魚等の動物用のエサだけでなく、犬、猫等のペット用のペットフードが挙げられる。本発明の油脂組成物の飼料への配合量は、1~40重量%、さらに1~30重量%、特に2~20重量%であるのが好ましい。本発明の油脂組成物は、飼料中の全部又は一部の油脂を置き換えて用いることができる。

40

**【0032】**

かかる飼料は、上記油脂組成物の他に、肉類、蛋白質、穀物類、ぬか類、粕類、糖類、野菜、ビタミン類、ミネラル類等一般に用いられる飼料原料とともに混合して製造される。肉類としては、牛、豚、羊(マトン又はラム)、うさぎ、カンガルー等の畜肉、獣肉及びその副生物、加工品;ミートボール、ミートボーンミール、チキンミール等の上記原料のレンダリング物;まぐろ、かつお、あじ、いわし、ほたて、さざえ、魚粉(フィッシュミール)等の魚介類等が例示される。蛋白質としては、カゼイン、ホエー等の乳蛋白質や、大豆蛋白質等の植物蛋白質等が、穀物類としては、小麦、大麦、ライ麦、マイロ、トウモロコシ等が挙げられる。ぬか類としては、米ぬか、ふすま等が、粕類としては、大豆粕等が例示される。飼料中の肉類、蛋白質、穀物類、ぬか類、粕類の合計量は、5~95重量

50

%であるのが好ましい。糖類としては、ぶどう糖、オリゴ糖、砂糖、糖みつ、澱粉、液糖等が挙げられ、飼料中5～80重量%含有するのが好ましい。野菜類としては、野菜エキス等が挙げられ、飼料中1～30重量%含有するのが好ましい。ビタミン類としては、A、B1、B2、D、E、ナイアシン、パントテン酸、カロチン等が挙げられ、飼料中0.05～10重量%含有するのが好ましい。ミネラル類としては、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム、鉄、マグネシウム、亜鉛等が挙げられ、飼料中0.05～10重量%含有するのが好ましい。その他、一般的に飼料に使用されるゲル化剤、保型剤、pH調整剤、調味料、防腐剤、栄養補強剤等も含有することができる。

#### 【実施例】

##### 【0033】

10

#### 実施例1 油脂組成物の製造

次の油脂組成物を製造した。得られた油脂組成物の組成を表1に示す。グリセライド組成は、HPLC法にて測定した(カラム:「TSKgelG2500H」東ソー(株)製、溶出溶媒:THF、溶媒流速:0.4mL/分、検出器:RI)。脂肪酸組成は、メチルエステル化後、GLC法にて測定した(日本油化学協会「基準油脂分析試験法」2.4.1.2-1996、2.4.2.2-1996)。

##### 【0034】

#### 油脂組成物1(本発明品)

4ツ口フラスコに、2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール422.9gと水酸化ナトリウム0.64gを入れ、80にて減圧脱水とアルコール化を行った後、50にて冷却した。これにDHA高含有油「DHA-22」(マルハ(株)製)355.3gを加え、1.5時間反応を行った後、50%硫酸で中和した。次に1.33kPa、80～100で減圧蒸留を行い、水と2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを留去した。これを水洗し、モノグリセライドアセタール451.4gを得た。

20

得られたモノグリセライドアセタール220gに、酸性白土(ガレオンアースNV、水澤化学(株)製)13.2gを加えた。反応系内に、1時間あたりモノグリセライドアセタールに対して10%の水蒸気を導入して、反応時に生成するアセトンと過剰な水蒸気を系外に除去しながら、脱アセタール化反応を6時間行った(70、13.3kPa)。次いで、酸吸着剤(KW600S、協和化学(株)製)を6.6g加えた後、0.5時間脱水を行った(6.65kPa、70)。これを濾過し、モノグリセライド170.7gを得た。これにトコフェロール「イーミックスD」(エーザイ(株)製)を200ppm加え、油脂組成物1を製造した。

30

##### 【0035】

#### 油脂組成物2(本発明品)

DHA高含有油として、「DHA-45」(マルハ(株)製)を用い、油脂組成物1と同様にして、油脂組成物2を製造した。

##### 【0036】

#### 油脂組成物3(本発明品)

4ツ口フラスコに、DHA高含有油「DHA-70G」(日本化学飼料(株)製)1000g、グリセリン280gと水酸化ナトリウム1gを入れ、窒素気流下にて、170で2時間反応を行った。反応終了後、リン酸0.88gを加え、中和した。次いで、10分間脱グリセリンを行った(180、0.667kPa)後、薄膜蒸留を行った(185、0.004kPa)。薄膜蒸留で得られた留分を採取し、トコフェロール「イーミックスD」(エーザイ(株)製)を200ppm添加して、油脂組成物3を得た。

40

##### 【0037】

#### 油脂組成物4(比較品)

油脂組成物4として、DHA高含有油「DHA-22」(マルハ(株)製)を用いた。

##### 【0038】

#### 油脂組成物5(比較品)

50

油脂組成物 3 の製造時に生成した薄膜蒸留の残分を採取した。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー（「ワコーゲル C - 200」（和光純薬（株）製））で、溶媒としてヘキサンと酢酸エチル（最初 100 : 0、次いで 95 : 5、次いで 90 : 10、次いで 80 : 20、最後に 70 : 30、v / v）を用いて分画した。次いで、溶媒をエバポレーターで留去した。得られた各画分を混合した後、トコフェロール「イーミックス D」（エーザイ（株）製）を 200 ppm 加え、油脂組成物 5 を製造した。

油脂組成物 6（比較品）

【0039】

油脂組成物 6 として、高純度モノグリセライド「エキセル O - 95 R」（花王（株）製）を用いた。

10

【0040】

油脂組成物 7（比較品）

「eicosapentaenoic acid」（Sigma社製）を用いた。

【0041】

油脂組成物 8（比較品）

「docosahexaenoic acid」（Sigma社製）を用いた。

【0042】

#### 実施例 2 PPAR 活性化試験

小腸上皮細胞株 IEC - 6 を 12 ウェルプレートにまき、DMEM（5% FCS）中で 1 日培養した。ここに GAL4、DNA 結合ドメイン（DBD）と PPAR リガンド結合ドメイン（LBD）のキメラ分子を発現するプラスミド（pGAL4-PPAR-LBD）と、蛍ルシフェラーゼ遺伝子上流に GAL4 結合配列を含むレポータープラスミド（pREP）を同時に各々 0.5 μg / well となるようトランスフェクション試薬（Superfect transfection reagent; QIAGEN）を用いて導入した。尚、トランスフェクション効率をモニタリングするため、pGAL4-PPAR-LBD に、ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子を同時に組み込んだ。その後、培養液を被験物質（500 μM）を含む DMEM（+ 250 μM BSA）培地に交換し、更に 24 時間培養した。PBS にて洗浄後、デュアルルシフェラーゼアッセイシステム（Promega）を用いて細胞を溶解した。次いで、該溶解液にルシフェリンを含む基質溶液を加え、ルミノメーターにて蛍及びウミシイタケのルシフェラーゼ活性を各々測定した。このようにして PPAR 依存的な遺伝子の転写活性（ルシフェラーゼ活性）を測定することにより、PPAR 活性化能を評価した。尚、PPAR 依存的な転写活性（ルシフェラーゼ活性）は以下のように定義した。

20

30

【0043】

PPAR 依存的な遺伝子の転写活性（ルシフェラーゼ活性）=（pREP による蛍ルシフェラーゼ活性）/（pGAL4-PPAR-LBD によるウミシイタケルシフェラーゼ活性）。

【0044】

尚、コントロールにおける PPAR 依存的転写活性を 100 とし、それに対する相対値を表 1 に示す。

【0045】

#### 実施例 3 ゲル化性の評価

40

各油脂：水 = 70 : 30（重量 / 重量）において、ゲル化性を目視で観察し、下記評価基準にて、評価を行った。結果を表 1 に示す。

A：流動性がなく、ゲル化している。

B：流動性があまりなく、ややゲル化している。

C：流動性があり、一部ゲル化している。

D：流動性があり、全くゲル化していない。

【0046】

#### 実施例 4 劣化臭の評価

実施例 3 にて作製したサンプル（各油脂：水 = 70 : 30）を室温にて、1 週間静置した。この臭いを嗅ぎ、下記評価基準にて、劣化臭の官能評価を行った。結果を表 1 に示す

50

- A : 劣化臭が殆どなく、不快ではない。  
 B : 劣化臭がややあるが、あまり不快でない。  
 C : 劣化臭があり、不快である。  
 D : 強い劣化臭があり、非常に不快である。

## 【0047】

## 実施例5 水取込性の評価

50 に加温した各サンプルに、対全系で何重量%まで水を取り込ませることができるかを5重量%毎に調べた。水が分離した点の1つ手前を、水取込性の値とした。結果を表1に示す。

10

## 【0048】

## 【表1】

		(重量%)							
		本発明品			比較品				
油脂組成物番号		1	2	3	4	5	6	7	8
油* 脂 組 成	TG	0	0	0	96.3	15.5	0	0	0
	DG	7	5	2	1.2	83.7	7.9	0	0
	MG	93	94.9	96.4	0.5	0.8	92.1	0	0
	FFA	0	0.1	1.6	0	0	0	100	100
脂 肪 酸 組 成	C16:0	17	9.9	3.2	17	2.6	5.5	ND	ND
	C16:1	4.7	3.5	ND*2	4.7	0.5	0.3	ND	ND
	C18:0	4.1	2	1.7	4.1	1.5	4.1	ND	ND
	C18:1	22.6	11.1	0.3	22.6	0.3	69.9	ND	ND
	C18:2	1	1.6	0.7	1	0.6	14.2	ND	ND
	C20:1	2.9	1.6	1.2	2.9	1.1	1.8	ND	ND
	C20:5	6.3	6.7	6.3	6.3	5.9	ND	99	ND
	C22:5	1.6	2.4	1.2	1.6	1.6	ND	ND	ND
	C22:6	24	41.3	63.7	24	67.2	ND	ND	98
DHA/IPA		3.8	6.2	10.1	3.8	11.4	—	—	—
加 工 特 性	PPAR $\gamma$	233	535	488	141	129	135	480	508
	ゲル化性	B	A~B	A	D	D	B	D	D
	劣化臭	B	A~B	A	C	D	A	D	D
	水取込性	20	25	35	0	0	10	—	—

20

30

40

\*1 : 油脂組成 TG ; トリグリセライド、DG ; ジグリセライド、MG ; モノグリセライド、FFA ; 遊離脂肪酸

\*2 : ND ; 未検出

## 【0049】

表1より、本発明品は、ゲル化性が高く、かつ水取込性に優れているので、多量の水を取り込んだゲルを形成しやすく、しかも劣化臭が少ないことが示された。従って、本発明

50

の油脂組成物は、種々の食品への加工特性に優れ、かつ風味も良好である。このような特徴を有することから、例えば、冷凍・解凍時のドリップが少なくなる、水分活性（ $A_w$ ）が低下して保存性が向上する等のメリットが生じる。これに対しモノグリセライド含量の低い比較品 4 及び 5 はゲル化性が悪く、水を取り込むことができない。

また、本発明の油脂組成物は、比較品 6（モノグリセライド含量は高いが、脂肪酸組成が異なる）に比べて、極めて強力な P P A R 活性化作用を有することが示された。

【0050】

実施例 6 動物実験（酸化活性化試験）

表 2 に示す配合の基本食に、油脂組成物 2（本発明品）又は油脂組成物 6（比較品）を 10 重量部添加した餌を、C 5 7 B L / 6 マウス（ $n = 6$ ）に 10 日間摂取させた。最終日に解剖して、小腸を採取し、mRNA を単離した。次いで、Real time RT-PCR 法により、ACO（Acyl-CoA Oxidase）の mRNA の発現量を測定した。その結果を、油脂組成物 6 を摂取して発現した mRNA 量を 1.00 とした相対量で、表 3 に示す。

10

【0051】

【表 2】

基本食配合	重量部
脂肪* <sup>1</sup>	20.0
シュクロース	13.0
カゼイン	20.0
セルロース	4.0
ミネラル* <sup>2</sup>	3.5
ビタミン* <sup>3</sup>	1.0
ポテトスターチ	28.5

20

30

\*1 ; ハリリ-ルフラワ-油 + 菜種油 + コマ油（重量比 = 47.0 : 48.9 : 4.1）

\*2 ; AIN-76 prescription

\*3 ; AIN-76 prescription + choline bitartrate (20g/100g)

【0052】

【表 3】

油脂組成物	mRNA 発現量（相対値）
2（本発明品）	2.12 ± 0.66
6（比較品）	1.00 ± 0.45

40

【0053】

本発明の油脂組成物 2 を摂取することで、酸化関連酵素である ACO の mRNA 発現量が小腸で顕著に増加し、酸化の活性化が示された。

【0054】

50

## 実施例 7 錠剤

油脂組成物 2 を 100 重量部、「ミックスビタミン E MDE - 6000」(八代(株)製) 0.02 重量部、カテキン「サンカートル No. 1」(太陽化学(株)製) 0.1 重量部、「ビタミン C パルミテート」(ロッシュ社製) 0.02 重量部、及び植物ステロール「CANOLA STERYLESTERS」(ADM(株)製) 2.0 重量部を混合して油脂組成物 7 を得た。該油脂組成物 10 重量部、コーンスターチ 44 重量部、結晶性セルロース 40 重量部、カルボキシメチルセルロースカルシウム 5 重量部、無水ケイ酸 0.5 重量部及びステアリン酸マグネシウム 0.5 重量部の混合物を打錠して錠剤(200 mg/個)を製造した。

【0055】

10

## 実施例 8 ソフトカプセル

油脂組成物 3 を 100 重量部、「ミックスビタミン E MDE - 6000」(八代(株)製) 0.02 重量部、カテキン「サンカートル No. 1」(太陽化学(株)製) 0.5 重量部、ローズマリー抽出物「ハーバロックスタイプ HT-O」(カルセック社製) 0.1 重量部及びポリグリセリン脂肪酸エステル「THL-3」(阪本薬品工業(株)製) 0.2 重量部を混合して油脂組成物 8 を得た。該油脂組成物 300 mg をオパール型のソフトカプセルに封入し、ソフトカプセルを作製した。

【0056】

## 実施例 9 さつま揚げ

油脂組成物 1 を 6 重量部、スケソウタラ(すり身) 600 重量部、砂糖 30 重量部、醤油 30 重量部、味醂 5 重量部、馬鈴薯澱粉 5 重量部、全卵 100 重量部をフードプロセッサにてよく攪拌・混合した。これを 50 g ずつ小判型に成形した後、180 のサラダ油(日清製油製)で 4 分間揚げて、さつま揚げを作った。

20

【0057】

## 実施例 10 スプレッド

油相：油脂組成物 2 を 0.5 重量部、部分硬化大豆油 68.8 重量部、レシチン 0.1 重量部、縮合リシノレイン酸エステル 0.5 重量部、フレーバー 0.1 重量部

水相：28.4 重量部、脱脂粉乳 0.3 重量部、食塩 1.3 重量部

上記油相と水相を調製し、次いで、ホモミキサー(特殊幾化工業製)により 10 分間混合・乳化を行った。得られた乳化物を常法により急冷・可塑化してスプレッドを得た。

30

【0058】

## 実施例 11 ペットフード

油脂組成物 7 を 2 重量部、トウモロコシ粉 15 重量部、ミートミール 8 重量部、小麦粉 26 重量部、脱脂大豆 20 重量部、魚粉 16 重量部、ビートパルプ 4 重量部、骨粉 2 重量部、ビタミン・ミネラル混合物 4 重量部、ラード 3 重量部を混合し、犬用ペットフードを作製した。

【手続補正書】

【提出日】平成 15 年 8 月 27 日(2003.8.27)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0042

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0042】

## 実施例 2 PPAR 活性化試験

小腸上皮細胞株 IEC - 6 を 12 ウェルプレートにまき、DMEM(5% FCS)中で 1 日培養した。ここに GAL4 - DNA 結合ドメイン(DBD)と PPAR リガンド結合ドメイン(LBD)のキメラ分子を発現するプラスミド(pGAL4-PPAR-LBD)と、蛍ルシフェラーゼ遺伝子上流に GAL4 結合配列を含むレポータープラスミド(pREP)を同

時に各々  $0.5 \mu\text{g}/\text{well}$  となるようトランスフェクション試薬 (Superfect transfection reagent; QIAGEN) を用いて導入した。尚、トランスフェクション効率をモニタリングするため、pGAL4-PPAR-LBD に、ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子を同時に組み込んだ。その後、培養液を被験物質 ( $500 \mu\text{M}$ ) を含む DMEM (+  $250 \mu\text{M}$  BSA) 培地に交換し、更に 24 時間培養した。PBS にて洗浄後、デュアルルシフェラーゼアッセイシステム (Promega) を用いて細胞を溶解した。次いで、該溶解液にルシフェリンを含む基質溶液を加え、ルミノメーターにて蛍及びウミシイタケのルシフェラーゼ活性を各々測定した。このようにして PPAR 依存的な遺伝子の転写活性 (ルシフェラーゼ活性) を測定することにより、PPAR 活性化能を評価した。尚、PPAR 依存的な転写活性 (ルシフェラーゼ活性) は以下のように定義した。

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/575	A 6 1 K 31/232	4 H 0 5 9
A 6 1 P 3/04	A 6 1 K 31/575	
A 6 1 P 3/06	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 3/10	
C 1 1 B 5/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 1 1 C 3/02	C 1 1 B 5/00	
C 1 1 C 3/06	C 1 1 C 3/02	
	C 1 1 C 3/06	
	A 2 3 D 9/00	5 1 6

(74)代理人 100117156

弁理士 村田 正樹

(74)代理人 100111028

弁理士 山本 博人

(72)発明者 小池 真

東京都墨田区文花2-1-3 花王株式会社研究所内

(72)発明者 村瀬 孝利

栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

(72)発明者 新居 賢紀

茨城県鹿島郡神栖町東深芝20 花王株式会社研究所内

(72)発明者 田中 俊伯

和歌山県和歌山市湊1334 花王株式会社研究所内

Fターム(参考) 2B150 AB10 CJ08 DA37 DA55 DA58

4B018 MD10 MD11 ME04 ME08 ME14

4B026 DC05 DH05 DH10 DL05

4C086 AA01 AA02 DA11 MA03 MA05 MA09 NA03 NA05 NA11 NA14

ZA70 ZC02 ZC33 ZC35 ZC75

4C206 AA01 AA02 DB09 MA03 MA05 MA21 NA05 NA09 NA11 NA14

ZA70 ZC02 ZC33 ZC35 ZC75

4H059 BA13 BA26 BA34 BB05 BB07 BB57 BC03 BC13 CA36 CA48

EA03