

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4741824号
(P4741824)

(45) 発行日 平成23年8月10日(2011.8.10)

(24) 登録日 平成23年5月13日(2011.5.13)

(51) Int.Cl.

F 1

A 6 1 K 31/7012 (2006.01)

A 6 1 K 31/7012

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/04

A 2 3 L 1/308 (2006.01)

A 2 3 L 1/308

C 0 7 H 3/00 (2006.01)

C 0 7 H 3/00

請求項の数 2 (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2004-279381 (P2004-279381)
 (22) 出願日 平成16年9月27日(2004.9.27)
 (65) 公開番号 特開2006-89437 (P2006-89437A)
 (43) 公開日 平成18年4月6日(2006.4.6)
 審査請求日 平成19年9月3日(2007.9.3)

特許法第30条第1項適用 平成16年7月20日 日本応用糖質学会発行の「JOURNAL OF APPLIED GLYCOSCIENCE 第51巻 講演要旨集(通巻197号)」に発表

(73) 特許権者 591173213
 三和澱粉工業株式会社
 奈良県橿原市雲梯町594番地
 (74) 代理人 100103816
 弁理士 風早 信昭
 (74) 代理人 100120927
 弁理士 浅野 典子
 (72) 発明者 出川 洋子
 奈良県橿原市雲梯町594番地 三和澱粉工業株式会社内
 (72) 発明者 柴沼 清
 奈良県橿原市雲梯町594番地 三和澱粉工業株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酸性オリゴ糖

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

キシロオリゴ糖にグルクロン酸が結合されている酸性オリゴ糖を有効成分として含有することを特徴とする体脂肪蓄積抑制剤。

【請求項2】

キシロオリゴ糖の平均重合度が2～10であることを特徴とする請求項1に記載の体脂肪蓄積抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、酸味を有する酸性オリゴ糖に関し、特に優れた体脂肪蓄積抑制効果を有する酸性オリゴ糖に関する。

【背景技術】

【0002】

オリゴ糖は単糖が二個から十数個重合した糖質であり、自然界に様々な形で存在する。オリゴ糖の中でも難消化性のものは、経口摂取した場合、消化液で実質的に分解されずに大腸に到達し、腸内ビフィズス菌によって選択的に資化されるため、腸内ビフィズス菌を増殖させて腸内細菌叢を改善する作用を有する。また、難消化性オリゴ糖はその具体的なメカニズムは今だ明確に解明されていないが、体脂肪蓄積抑制作用を有する。

【 0 0 0 3 】

従来、様々なオリゴ糖が腸内ビフィズス菌増殖因子や体脂肪蓄積抑制因子として使用されているが（非特許文献 1 ～ 6、特許文献 1）、これらのオリゴ糖はいずれも糖であるがゆえに多少とも甘味を有している。しかし、肥満の忌避から甘味に対して良くないイメージを保持する消費者もいる。従って、体脂肪蓄積抑制効果を強調して販売する場合、甘味以外に例えば酸味等の味覚を有するオリゴ糖が一般に消費者に受け入れられ易く、かかるオリゴ糖を提供することは、市場的意義が大きい。

【非特許文献 1】奥，栄養学雑誌，44，291（1986）

【非特許文献 2】石川等，ビフィズス，9，5，（1995）

【非特許文献 3】Hara et al.，Bifidobact. Microflora 10
，13，51，（1994）

【非特許文献 4】坂井等，澱粉化学，63，167（1990）

【非特許文献 5】Agheli et al.，J of Nutr.，128，1283，（1998）

【非特許文献 6】林等，医学と生物学，119，15（1989）

【特許文献 1】特開平 10 - 290681 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 4 】

従って、本発明の目的は、甘味ではなく酸味を有し、しかも従来のオリゴ糖と同等又はそれ以上の優れた体脂肪蓄積抑制作用を有するオリゴ糖を提供することである。 20

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 5 】

本発明者らはかかる課題を解決するため、難消化性オリゴ糖の好ましい分子構造について鋭意検討した結果、難消化性のオリゴ糖に弱酸が結合された酸性オリゴ糖が酸味を有しながら優れた体脂肪蓄積抑制作用を有することを見出し、遂に本発明を完成させるに至った。

【 0 0 0 6 】

即ち、本発明によれば、難消化性オリゴ糖に弱酸が結合されていることを特徴とする酸性オリゴ糖が提供される。 30

【 0 0 0 7 】

本発明の好ましい実施態様によれば、上記弱酸はグルクロン酸等のウロン酸又はフェルラ酸であり、上記難消化性オリゴ糖の平均重合度は 2 ～ 10 である。

【 0 0 0 8 】

また、本発明によれば、上記酸性オリゴ糖を含有することを特徴とする体脂肪蓄積抑制用食品又は飲料が提供される。

【 0 0 0 9 】

さらに、本発明によれば、上記酸性オリゴ糖を有効成分として含有することを特徴とする体脂肪蓄積抑制剤が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】 40

【 0 0 1 0 】

本発明のオリゴ糖は、基本骨格である難消化性オリゴ糖に弱酸が結合されている分子構造を有することを特徴とし、この弱酸の存在により糖本来の甘味ではなく酸味を呈することができるものである。

【 0 0 1 1 】

このような分子構造を有するオリゴ糖は従来公知のいかなる方法で製造することもできるが、例えば特開平 11 - 313700 号公報に記載されているように、弱酸が結合された多糖を含む天然原料（例えばコーンスターチ製造時の副産物であるトウモロコシの種皮等）を酸及び／又は酵素で加水分解して多糖をオリゴ糖に変換することによって得ることができる。加水分解物には目的とする酸性オリゴ糖に加えて単糖や中性オリゴ糖も通常含 50

まれているので、適当な方法で酸性オリゴ糖のみを分離抽出して用いればよい。

【 0 0 1 2 】

本発明の酸性オリゴ糖では、基本骨格である難消化性オリゴ糖に結合される弱酸は、ヒトの体内に摂取・吸収されても安全な弱酸ならいかなる弱酸であることもできるが、弱酸が結合された多糖を含む天然原料からの加水分解により酸性オリゴ糖を得る場合、弱酸は通常、グルクロン酸等のウロン酸又はフェルラ酸である。なお、弱酸のオリゴ糖への結合様式は通常、弱酸残基がオリゴ糖の側鎖として存在する様式であると考えられる。

【 0 0 1 3 】

本発明の酸性オリゴ糖において体脂肪蓄積抑制作用の主な担い手である難消化性オリゴ糖の平均重合度は、オリゴ糖の重合度として通常規定される範囲（二から十数）であれば10
いずれの値でもよいが、得られる酸性オリゴ糖の粘度の低さ及び取扱いの容易さの観点からは平均重合度は2～10であることが好ましい。平均重合度のさらに好ましい範囲は2～8であり、特に好ましい範囲は2～7である。難消化性オリゴ糖の平均重合度の制御は当業者には周知であるのでここでは詳細に述べないが、例えば弱酸が結合された多糖を含む天然原料からの加水分解により酸性オリゴ糖を得る場合、オリゴ糖の平均重合度の制御は加水分解時間や加水分解時の反応溶液のpHを適宜調節することによって行うことができる。なお、本発明において「難消化性オリゴ糖」とは、消化液で実質的に分解されず、従って小腸で吸収されずにそのまま大腸に到達する程度の消化性しか有さないオリゴ糖を意味し、例えばキシロースが複数個重合したキシロオリゴ糖がこれに該当する。また、このオリゴ糖はホモオリゴ糖である必要はなく、2種以上の単糖が重合したヘテロオリゴ糖20
であってもよい。

【 0 0 1 4 】

本発明の酸性オリゴ糖は、その体脂肪蓄積抑制作用を利用して食品又は飲料に含有させるか又は医薬の有効成分として用いることができる。食品もしくは飲料又は医薬中の本発明の酸性オリゴ糖の含有量は特に制限されないが、0.5～90重量%であることが好ましく、さらに好ましくは1～50重量%、特に好ましくは5～25重量%である。また、本発明の酸性オリゴ糖を有効成分として含む医薬は、本発明の酸性オリゴ糖を所望により公知の医薬用担体と組合せて製剤化することによって容易に製造することができる。

【 0 0 1 5 】

実施例

以下、実施例により、本発明の酸性オリゴ糖の体脂肪蓄積抑制作用を具体的に示す。なお、実施例の記載は純粋に発明の理解のためのみに挙げるものであり、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

【 0 0 1 6 】

（製造例1）

トウモロコシの種皮を、特開平11-313700号公報に例示されている方法に従って酸分解した。具体的には、トウモロコシの種皮にシュウ酸を添加してpHを2付近に調整し、130℃で30分～3時間の適当な時間加圧分解して分解糖液を得た。得られた分解糖液を細胞壁分解酵素処理後、活性炭処理し、イオン交換樹脂に通液し、さらにBio40
gel P2カラムで単糖成分を除去した後（図1）、強塩基型イオン交換樹脂に吸着させて、NaOHで脱離させ、グルクロノキシロオリゴ糖を得た。

【 0 0 1 7 】

（製造例2）

トウモロコシの種皮を、特開平11-313700号公報に例示されている方法に従って酸分解した。具体的には、トウモロコシの種皮にシュウ酸を添加してpHを2付近に調整し、130℃で30分～3時間の適当な時間加圧分解して分解糖液を得た。得られた分解糖液を細胞壁分解酵素処理後、活性炭処理し、イオン交換樹脂に通液し、さらにCa型カチオン交換樹脂によるクロマト分離で単糖成分を分離除去し粗精製液を得た。この粗精製液を、Na型とCa型を連結した配位子交換カラムでHPLC分析したところ、酸性のオリゴ糖成分を主成分（34%）とする糖鎖（AO₃₋₄）であることがわかった（図2、50

表 1)。このオリゴ糖液の構成糖を調べたところ、10%のグルクロン酸を含むヘテロ糖鎖であることがわかった(表 2)。

【0018】

【表 1】

表 1: 製造例2で得られた酸性オリゴ糖粗精製物の組成

成分	%
単糖 (Xyl、Glc、Gal 等)	7
酸性オリゴ糖	34
キシロビオース	21
その他	38

10

【0019】

【表 2】

表 2: 製造例2で得られた酸性オリゴ糖粗精製物の構成糖

	キシロース	グルコース	アラビノース	ガラクトース	マンノース	グルクロン酸
糖組成 (%)	51	18	12	8	1	10

【0020】

20

(製造例 3)

製造例 1 で得られたオリゴ糖液を弱塩基型イオン交換樹脂に吸着させ、4% NaCl で脱離させて、高純度グルクロノキシロオリゴ糖(純度 99%以上)を得た。得られたグルクロノキシロオリゴ糖には若干(0.3%程度)のフェルラ酸も認められた(図 3)。主鎖となるキシロオリゴ糖(アラビノースも平均で 0.1 個結合)の平均重合度は 4.1 であり、これにグルクロン酸が平均で 1.4 個結合した構造を持っていた(表 3)。

【0021】

【表 3】

表 3: 製造例3で得られた酸性オリゴ糖精製物のグルクロン酸含量

	キシロース	グルクロン酸
糖組成 (%)	75	25

30

【0022】

(製造例 4)

製造例 2 で得られたオリゴ糖液を Na⁺ カチオン交換樹脂(UBK 530、三菱化学(株))に通液して酸性成分と中性成分を分離した(図 4)。得られた酸性オリゴ糖(AO₇₅)は純度 75%であった。

【0023】

(製造例 5)

40

製造例 4 で得られた酸性オリゴ糖を、アニオン交換樹脂(WA30)に通液した。吸着成分を塩化ナトリウムで溶出した後、ゲル濾過(Biogel P-2)で脱塩し、高純度(純度 > 99%)の酸性オリゴ糖(AO₉₉)を得た(図 5)。

【0024】

検証試験 1: in vivoでの体脂肪蓄積抑制効果の検証試験

製造例 2 で得られたグルクロノキシロオリゴ糖を含む粗精製液(AO₃₄)をラットに摂取させ、その体脂肪蓄積抑制効果を調べた。

【0025】

試験方法

4週齢のWistar Hanovar GALAS雄ラットを市販固形飼料にて5日

50

間予備飼育後、平均体重が同じになるように1群6匹 ($n = 6$) で2群に分け、4週間ラットに飼料と水を自由摂取させた後、解剖に供した。飼育環境は、温度 23 ± 1 、相対湿度 $30 \sim 50\%$ 、明暗周期12時間の条件とした。製造例2で得られたグルクロノキシロオリゴ糖を含む粗精製液 (AO_{34}) を4%含有する飼料を摂取させた群を $AO_{34} 4\%$ 群 (AO_{34} 群とも称する) とし、 AO_{34} をセルロースに置換えた飼料を摂取させた群をコントロール群とした。

【0026】

飼育期間中は、体重、飼料摂取量を毎日測定した。

【0027】

ラットの解剖は、一昼夜絶食後、エーテル麻酔下で行い、門脈、腹部大動脈から採血して失血死させ、肝臓、腎臓、盲腸を摘出し、各臓器は重量を測定するとともに、盲腸内pHを測定した。また、腹腔内脂肪を摘出し、重量を測定した。

【0028】

結果

体重及び飼料摂取量は、コントロール群と AO_{34} 群間に差は見られず (表4)、肝臓、腎臓重量に変化は見られなかったが、 AO_{34} 群ではコントロール群と比べて盲腸重量が有意に増加し、盲腸内pHも有意に低下した (表5)。このことから、 AO_{34} 群では盲腸内細菌が活発化したと考えられる。また、腹腔内脂肪も AO_{34} 群はコントロール群より有意に減少した (表5)。

【0029】

【表4】

表4: 体重、飼料摂取量 ($n=6$)

	コントロール群	$AO_{34} 4\%$ 群
体重 (g)	288.6 ± 12.1	289.6 ± 15.5
飼料摂取量 (g) / 日	21.9 ± 1.1	21.0 ± 1.9
飼料効率	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.02

【0030】

【表5】

表5: 臓器重量 (g) 等 ($n=6$)

	コントロール群	$AO_{34} 4\%$ 群
肝臓 (g)	2.94 ± 0.12	2.99 ± 0.21
腎臓 (g)	0.66 ± 0.03	0.69 ± 0.02
盲腸 (g)	0.78 ± 0.04	$1.34 \pm 0.19^*$
盲腸内pH	7.01 ± 0.16	$6.76 \pm 0.09^*$
腹腔内脂肪 (g)	4.32 ± 0.48	$2.98 \pm 0.30^*$

(臓器重量は体重100gあたり)

*: コントロール群と各群間との有意差 ($p < 0.05$)

【0031】

結論

以上の結果から、酸性オリゴ糖 AO_{34} を摂取することで、体脂肪の蓄積が抑制されることが明らかである。

【0032】

検証試験2: *in vivo*での体脂肪蓄積抑制効果の検証試験

製造例4で得られたグルクロノキシロオリゴ糖を含む粗精製液をラットに摂取させ、その体脂肪蓄積抑制効果を調べた。不純物である中性オリゴ糖の作用と区別するため、高純

度の中性オリゴ糖物を準備し比較した。中性オリゴ糖は、ミックスベッド（アニオン交換樹脂 P A 4 0 8 とカチオン交換樹脂 P K 2 1 8（共に三菱化学（株））の混合）で精製して得た、純度 99% 以上のもの（N O₉₉）を用いた。

【0033】

試験方法

4 週齢の Wistar Hanovar GALAS 雄ラットを市販固形飼料にて 5 日間予備飼育後、平均体重が同じになるように 1 群 6 匹（n = 3）で 3 群に分け、4 週間ラットに飼料と水を自由摂取させた後、解剖に供した。飼育環境は、温度 23 ± 1、相対湿度 30 ~ 50%、明暗周期 12 時間の条件とした。製造例 4 で得られた酸性オリゴ糖を含む粗精製液（A O₇₅）を 1%、セルロースを 3% 含有する飼料を摂取させた群を A O₇₅ 1% 群（A O₇₅ 群とも称する）とし、中性オリゴ糖（N O₉₉）を 4% 含有する飼料を摂取させた群を N O₉₉ 4% 群（N O₉₉ 群とも称する）、N O₉₉ をセルロースに置換えた飼料を摂取させた群をコントロール群とした。

他の試験条件は検証試験 1 と同じとした。

【0034】

結果

体重及び飼料摂取量は、コントロール群や N O₉₉ 群と A O₇₅ 群間に差は見られず（表 6）、肝臓、腎臓重量に変化は見られなかったが、N O₉₉ 群と A O₇₅ で盲腸重量の有意な増加と盲腸内 pH の有意な低下が観察された（表 7）。このことから、A O₇₅ では、N O₉₉ と同様に盲腸内細菌を活発化させることが示唆された。

体重変化に違いは認められなかったが、腹腔内脂肪は A O₇₅ 群と N O₉₉ 群でコントロール群よりも有意に減少した（表 7）。その差は A O₇₅ 群で特に多く、コントロールに対しても 45%、N O₉₉ に対しても 20% の減少が認められた。

【0035】

【表 6】

表 6: 体重、飼料摂取量 (n=3)

	コントロール群	A O ₇₅ 1% 群	N O ₉₉ 4% 群
体重 (g)	289.8 ± 11.3	290.7 ± 16.5	289.6 ± 15.5
飼料摂取量 (g) / 日	21.9 ± 1.3	21.4 ± 1.8	21.3 ± 1.9
飼料効率	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.02

【0036】

【表 7】

表 7: 臓器重量 (g) 等 (n=3)

	コントロール群	A O ₇₅ 1% 群	N O ₉₉ 4% 群
肝臓 (g)	2.94 ± 0.12	2.97 ± 0.21	2.99 ± 0.21
腎臓 (g)	0.67 ± 0.03	0.68 ± 0.02	0.69 ± 0.02
盲腸 (g)	0.78 ± 0.04	1.44 ± 0.29*	1.34 ± 0.19*
盲腸内 pH	6.95 ± 0.16	6.3 ± 0.19*	6.51 ± 0.09*
腹腔内脂肪 (g)	4.35 ± 0.50	2.40 ± 0.40*	2.99 ± 0.26*

(臓器重量は体重 100g あたり)

*: コントロール群と各群間との有意差 (p < 0.05)

【0037】

結論

以上の結果から、酸性オリゴ糖 A O₇₅ を摂取することで、体脂肪の蓄積が抑制されることが明らかである。

また、酸性オリゴ糖の体脂肪蓄積抑制効果は中性オリゴ糖より優れていることが明らか

である。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】 トウモロコシ種皮酸分解物のゲル濾過結果を示す。

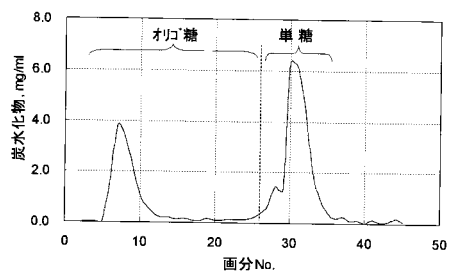
【図2】 酸性オリゴ糖粗精製物のHPLC分析結果を示す。

【図3】 酸性オリゴ糖中のフェルラ酸を示す。

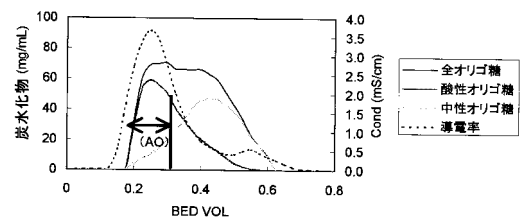
【図4】 酸性オリゴ糖の分離精製を示す。

【図5】 酸性オリゴ糖の精製結果を示す。

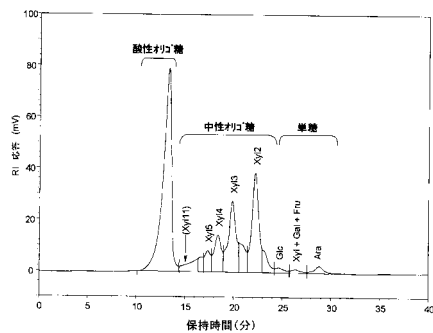
【図1】



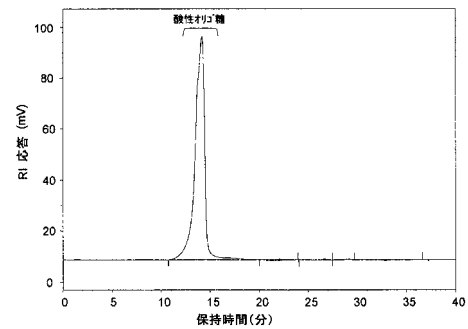
【図4】



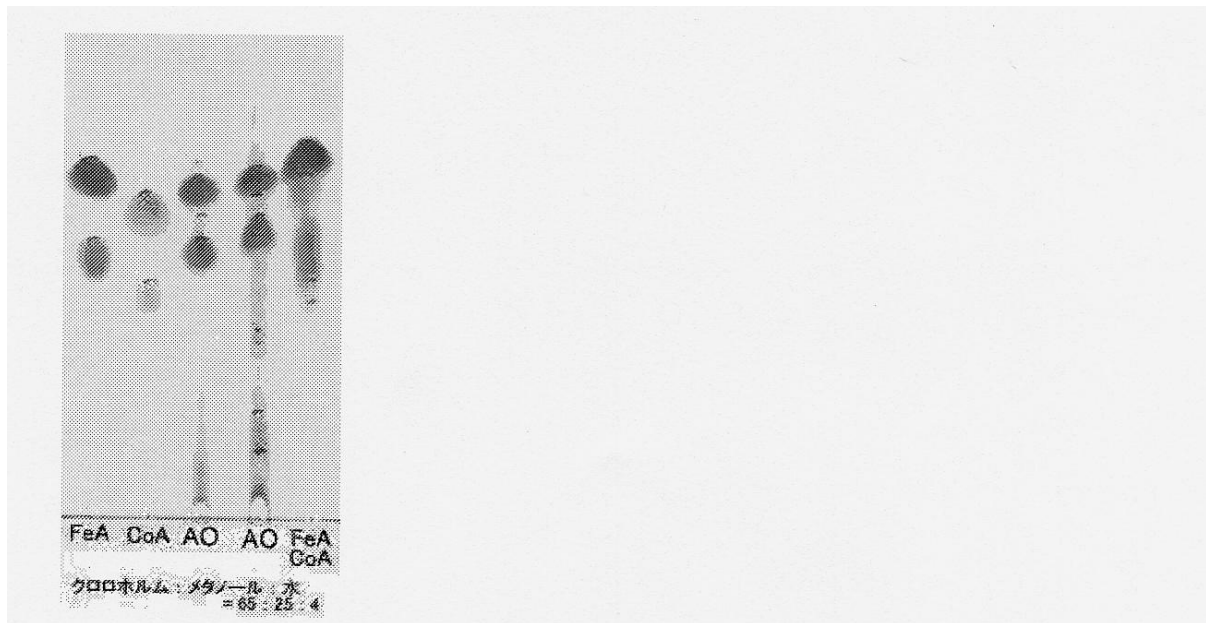
【図2】



【図5】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 高野 勝

栃木県下都賀郡石橋町下石橋 1 7 0 株式会社特殊免疫研究所 栃木工場内

審査官 瀬下 浩一

(56)参考文献 特開 2 0 0 4 - 1 8 2 6 1 5 (J P , A)

特開平 0 6 - 2 2 8 1 8 1 (J P , A)

特開 2 0 0 0 - 3 0 9 5 3 3 (J P , A)

YOSHIDA,S. et al , Structure of rice-straw arabinoglucuronoxylan and specificity of Streptomyces xylanase toward the xylan , Agricultural and Biological Chemistry , 1 9 9 0 年 , Vol.54, No.2 , p.449-57

YOSHIDA,S. et al , Preparation of glucuronoxyloligosaccharides from an acid hydrolysate of corn-hulls , Agricultural and Biological Chemistry , 1 9 9 0 年 , Vol.54, No.5 , p.1319-21

渡辺 隆司 等 , セルラーゼバイオリクターで連続生産したセロオリゴ糖の高シヨ糖食飼育ラットへの長期投与試験 , セルロース学会年次大会講演要旨集 , 1 9 9 8 年 , Vol.5th , Page.64

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 7 0 1 2

A 6 1 P 3 / 0 4

A 2 3 L 1 / 3 0 8

C 0 7 H 3 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)