

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3869861号
(P3869861)

(45) 発行日 平成19年1月17日(2007.1.17)

(24) 登録日 平成18年10月20日(2006.10.20)

(51) Int. Cl.	F I	
C 1 1 C 3/00 (2006.01)	C 1 1 C 3/00	
A 2 3 D 7/02 (2006.01)	A 2 3 D 7/02	
A 2 3 K 1/16 (2006.01)	A 2 3 K 1/16	3 0 4 C
A 2 3 L 1/035 (2006.01)	A 2 3 L 1/035	
A 2 3 L 1/24 (2006.01)	A 2 3 L 1/24	A
		請求項の数 42 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平11-500043	(73) 特許権者	セムバイオシス ジェネティクス インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成10年5月27日(1998.5.27)		カナダ国 アルバータ ティー2エヌ 2
(65) 公表番号	特表2002-503268 (P2002-503268A)		エイ1 カルガリー 14 ストリート
(43) 公表日	平成14年1月29日(2002.1.29)		ノース ウェスト 609 スイート 204
(86) 国際出願番号	PCT/CA1998/000523	(74) 代理人	弁理士 杉村 興作
(87) 国際公開番号	W01998/053698		
(87) 国際公開日	平成10年12月3日(1998.12.3)	(72) 発明者	デッケルス ハルム エム
審査請求日	平成13年8月17日(2001.8.17)		カナダ国 アルバータ ティー2エム 1
(31) 優先権主張番号	60/047,753		ジー3 カルガリー トゥエンティース
(32) 優先日	平成9年5月27日(1997.5.27)		アヴェニュー ノース ウェスト 1302
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/047,779		
(32) 優先日	平成9年5月27日(1997.5.27)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 油体の使用法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

エマルジョン配合物の調製方法であって、

- (1) 細胞から損傷のない油体を得る工程と、
 - (2) 油体を、有意な量の汚染物質の除去をもたらす水、緩衝剤システム、有機溶媒又は洗浄剤を用いて洗浄し、ほぼ均一な大きさ、形状、および濃度の損傷を受けていない油体を含有する洗浄済み油体調製物を得る工程と、
 - (3) 洗浄済み油体調製物をエマルジョンに配合する工程と、
- を有することを特徴とする調製方法。

【請求項2】

前記細胞が、植物細胞であることを特徴とする請求項1に記載の調製方法。

【請求項3】

前記植物細胞が、孢子、花粉、種子、または栄養繁殖器官より得られることを特徴とする請求項2に記載の調製方法。

【請求項4】

前記油体が、植物種子より得られることを特徴とする請求項2に記載の調製方法。

【請求項5】

エマルジョン配合物の調製方法であって、

- (1) (a) 植物種子を水相において粉碎する工程と、
- (b) 粉碎した種子から固形物を取り除く工程と、

(c) 水相から油体相を分離する工程と、

を含有する方法によって植物種子から損傷のない油体を得る工程と、

(2) 油体相を、有意な量の汚染物質の除去をもたらす水、緩衝剤システム、有機溶媒又は洗淨剤を用いて洗淨し、ほぼ均一な大きさ、形状、および濃度の損傷を受けていない油体含有する洗淨済み油体調製物を回収する工程と、

(3) 洗淨済み油体調製物をエマルジョンに配合する工程と、

を有することを特徴とする調製方法。

【請求項6】

液相が、粉碎する工程の前、または後に添加されることを特徴とする請求項5に記載の調製方法。

10

【請求項7】

前記配合する工程は、エマルジョンが形成されるまで洗淨済み油体を混合する工程を有することを特徴とする請求項1～6のいずれか1項に記載の調製方法。

【請求項8】

液相が洗淨済み油体に添加され、かつ液相および洗淨済み油体は、エマルジョンが形成されるまで混合されることを特徴とする請求項7に記載の調製方法。

【請求項9】

前記液相が水であることを特徴とする請求項6または8に記載の調製方法。

【請求項10】

前記液相は、1%から99% v/vに変化する量で、エマルジョン中に存在することを特徴とする請求項9に記載の調製方法。

20

【請求項11】

前記植物は、脂肪種子植物であることを特徴とする請求項4または5に記載の調製方法。

【請求項12】

前記植物は、ナタネ (*Brassica* spp.)、大豆 (*Glycine max*)、ヒマワリ (*Helianthus annuus*)、オイルヤシ (*Elaeis guineensis*)、綿の種子 (*Gossypium* spp.)、アメリカホドイモ (*Arachis hypogaea*)、ココナツ (*Cocos nucifera*)、ヒマ (*Ricinus communis*)、ペニバナ (*Carthamus tinctorius*)、カラシ (*Brassica* spp.および*Sinapis alba*)、コリアンダー (*Coriandrum sativum*)、カボチャ (*Cucurbita maxima*)、亜麻の種子/亜麻 (*Linum usitatissimum*)、ブラジルナツノキ (*Bertholletia excelsa*)、ホホバ (*Simmondsia chinensis*) およびトウモロコシ (*Zea mays*) よりなる植物の群から選択されることを特徴とする請求項4または5に記載の調製方法。

30

【請求項13】

前記固形物が、前記粉碎された種子の遠心法または濾過法によって取り除かれることを特徴とする請求項5に記載の調製方法。

【請求項14】

前記油体相が、重力に基づく方法または寸法排除に基づく方法によって前記水相から分離されることを特徴とする請求項5に記載の調製方法。

【請求項15】

洗淨済み油体調製物が、非油体の種子タンパク質、反栄養的化合物、デンプン、これらをグリコシル化または破壊した生成物、および繊維が本質的に含まれていないことを特徴とする請求項5に記載の調製方法。

40

【請求項16】

前記種子タンパク質が、グリコシル化されていることを特徴とする請求項15に記載の調製方法。

【請求項17】

前記配合する工程が、防腐剤を添加する工程を有することを特徴とする請求項1から16のいずれか1項に記載の調製方法。

【請求項18】

前記エマルジョンは、食品、飼料、パーソナルケア製品、医薬品、または工業製品である

50

ことを特徴とする請求項 1 から 16 のいずれか 1 項に記載の調製方法。

【請求項 19】

種子は、粉碎される前に 15 分から 2 日間にわたって液相に浸漬されることを特徴とする請求項 5 に記載の調製方法。

【請求項 20】

ほぼ均一な大きさ、形状、および濃度の損傷を受けていない油体からなる洗浄済み油体調製物を含有することを特徴とするエマルジョン。

【請求項 21】

さらに、液相を含有することを特徴とする請求項 20 に記載のエマルジョン。

【請求項 22】

前記液相が水であることを特徴とする請求項 21 に記載のエマルジョン。

【請求項 23】

さらに、防腐剤を含有することを特徴とする請求項 20 に記載のエマルジョン。

【請求項 24】

油体が植物から得られることを特徴とする請求項 20 に記載のエマルジョン。

【請求項 25】

前記油体が、ナタネ (*Brassica* spp.)、大豆 (*Glycine max*)、ヒマワリ (*Helianthus annuus*)、オイルヤシ (*Elaeis guineensis*)、綿の種子 (*Gossypium* spp.)、アメリカホドイモ (*Arachis hypogaea*)、ココナツ (*Cocos nucifera*)、ヒマ (*Ricinus communis*)、ベニバナ (*Carthamus tinctorius*)、カラシ (*Brassica* spp. および *Sinapis alba*)、コリアンダー (*Coriandrum sativum*)、カボチャ (*Cucurbita maxima*)、亜麻の種子/亜麻 (*Linum usitatissimum*)、ブラジルナツノキ (*Bertholletia excelsa*)、ホホバ (*Simmondsia chinensis*) およびトウモロコシ (*Zea mays*) からなる群より選択される植物から得られることを特徴とする請求項 24 に記載のエマルジョン。

【請求項 26】

前記エマルジョンが、食品、飼料、パーソナルケア製品、医薬品、または工業製品であることを特徴とする請求項 20 から 25 のいずれか 1 項に記載のエマルジョン。

【請求項 27】

前記食品または飼料が、非日常的代用品、非日常的チーズ、非日常的ヨーグルト、マーガリン、マヨネーズ、ピネグレット、アイシング、アイスクリーム、サラダドレッシング、合成マスタード、キャンディー、チューインガム、プディング、ベーキングプロダクト、調味料、ジュース、ベビー用配合物、香料担体、質感剤、ペットフード、および家畜飼料よりなる群から選択されることを特徴とする請求項 26 に記載のエマルジョン。

【請求項 28】

前記食品または飼料が、マヨネーズ、コレステロールの含まれないマヨネーズ、ベシャメルソース、ピネグレット、マスタード、または魚の餌であることを特徴とする請求項 26 に記載のエマルジョン。

【請求項 29】

前記パーソナルケア製品が、石鹸、化粧品、スキンクリーム、化粧クリーム、歯磨き粉、口紅、香水、メイクアップ、ファンデーション、ほお紅、マスカラ、アイシャドウ、日焼け止めローション、整髪剤よりなる群から選択されることを特徴とする請求項 26 に記載のエマルジョン。

【請求項 30】

前記医薬品が、治療薬、診断薬、および分娩薬よりなる群から選択されることを特徴とする請求項 26 に記載のエマルジョン。

【請求項 31】

前記治療薬が、成長ホルモンを含むことを特徴とする請求項 30 に記載のエマルジョン。

【請求項 32】

前記工業製品が、ペイント、コーティング、潤滑剤、フィルム、ゲル、ボーリング用流体、紙糊付け剤、ラテックス、建築または道路建設材料、インク、染料、ワックス、光沢剤

10

20

30

40

50

、および農薬配合物よりなる群から選択されることを特徴とする請求項 2 6 に記載のエマルジョン。

【請求項 3 3】

パーソナルケア製品、食品、飼料、工業製品、または医薬品を製造するための請求項 1 から 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法で調製されたことを特徴とするエマルジョンの用途。

【請求項 3 4】

前記食品または飼料が、非日常的代用品、非日常的チーズ、非日常的ヨーグルト、マーガリン、マヨネーズ、ピネグレット、アイシング、アイスクリーム、サラダドレッシング、合成マスタード、キャンディー、チューインガム、ブディング、ベーキングプロダクト、調味料、ジュース、ベビー用配合物、香料担体、質感剤、ペットフード、および家畜飼料を含有することを特徴とする請求項 3 3 に記載のエマルジョンの用途。

10

【請求項 3 5】

前記食品または飼料が、マヨネーズ、コレステロールを含まないマヨネーズ、ベシャメルソース、ピグレット、マスタード、または魚の餌を含有することを特徴とする請求項 2 6 に記載のエマルジョンの用途。

【請求項 3 6】

前記パーソナルケア製品が、石鹸、化粧品、スキンクリーム、化粧クリーム、歯磨き粉、口紅、香水、メイクアップ、ファンデーション、ほお紅、マスカラ、アイシャドウ、日焼け止めローション、または整髪剤を含有することを特徴とする請求項 3 3 に記載のエマルジョンの用途。

20

【請求項 3 7】

前記工業製品が、ペイント、コーティング、潤滑剤、フィルム、ゲル、ポーリング用流体、紙糊付け剤、ラテックス、建築または道路建設材料、インク、染料、ワックス、光沢剤、および農薬配合物を含有することを特徴とする請求項 3 3 に記載のエマルジョンの用途。

【請求項 3 8】

前記医薬品が、治療薬、診断薬、または分娩薬であることを特徴とする請求項 3 3 に記載のエマルジョンの用途。

【請求項 3 9】

コーティング、フィルム、またはエアゾルとしての請求項 1 から 1 9 に記載の方法で調製されたことを特徴とするエマルジョンの用途。

30

【請求項 4 0】

請求項 2 0 から 2 5 のいずれか 1 項に記載のエマルジョンを用いて被覆された魚の餌調製物。

【請求項 4 1】

前記エマルジョンがさらに治療用ペプチドを含むことを特徴とする請求項 4 0 に記載の魚の餌調製物。

【請求項 4 2】

前記治療用ペプチドがホルモンであることを特徴とする請求項 4 1 に記載の魚の餌調製物。

40

【発明の詳細な説明】

発明の分野

本発明は、油体 (oil body) を含む新規なエマルジョンを提供する。また、本発明は該エマルジョンの製造方法及び様々な家庭用及び産業用組成物に該エマルジョンを使用する方法を提供する。

発明の背景

エマルジョンは、相互に不溶な 2 種類の成分から調製される混合物である。混合条件の適当な選択と操作とによって肉眼で見える均一な様相を呈する混合物をそれらの成分から生成することが可能である。エマルジョンの最も一般的な形は、水溶性成分及び親油性成分が使われ、かつ当該技術分野においてはしばしば水中油形及び油中水形エマルジョンと呼

50

ばれるものである。油中水形エマルジョンでは親油性の相が水相に分散し、一方で水中油形エマルジョンでは親油性の相が水相に分散する。エマルジョンを基剤とする調合物は一般に周知の家庭用の例として、マヨネーズ、マーガリン、アイスクリーム、化粧品及び塗料があげられる。エマルジョン系は、医薬品及び農芸化学産業等の産業で同じく広範囲に応用されており、そこではエマルジョンに活性成分を配合することがしばしば望まれている。

一般にエマルジョンは、乳化、粘性、安定性及び外観の望ましいバランスを達成するために多種多様な他の物質の存在下で調製される。例えば、エマルジョンの配合は通常少なくとも一種類の乳化剤、多くの場合、いくつかの乳化剤を組み合わせたものが必要となる。これらの乳化剤は、一つの不混和相を別のものへ分散させることを促進し、さらにエマル
10
ジョンの安定化を助ける。乳化剤は多種多様な合成及び天然成分を含む。例えば、モノグリセリド及びその化学誘導体であり、食品では広く乳化剤として使用されている。天然の
乳化剤の例として、卵黄に含まれるリン脂質であるレシチンがあげられ、該レシチンはマ
ヨネーズを調製する際に一般に使用される。例えば、モノグリセリドおよびその化学的誘
導体は、マーガリンおよび焼いて料理した食品 (baked products) 等の食品用途でエマル
ジョンとして幅広く使用される。活性成分をエマルジョンの中にトラップすることも可能
である。このことは、特定のビタミンやヌクレオチドのような、水溶液で溶かすことが難
しい活性剤を含む組成物で特に望まれる。活性成分もまた安定性を高めるためにしばしば
エマルジョンとして配合される。薬剤を含むエマルジョン系の一例は、抗炎症薬を含む創
傷治癒組成物を開示する米国特許第 5,602,183 号に記述されている。前述のもの
20
は当該技術分野で周知のエマルジョンの配合物に含まれる無数の成分のうち、いくつかの
みを例示している。乳化剤及びその用途についての包括的な概要は、Becher, P. Encyclope
dia of Emulsion Technology, Dekker 編纂、1983 年に見いだすことが可能である。

大豆、ナタネ、ヒマワリ及びヤシ等の経済的に重要な作物が含まれる脂肪種子作物の種子
では、水不溶性油分画が油体、オレオソーム、脂質体またはスフェロソームとして当該技
術分野で様々なかたちで知られている離散的な細胞内構造の中に貯蔵される (Huang 1992
, Ann. Rev. Plant Mol. Biol. 43:177-200)。化学的に脂肪酸のグリセリンエステルと定義さ
れる油 (トリアシルグリセリド) の混合物のほかに、油体は一括して油体タンパク質と呼
ばれるリン脂質といくつかの関連タンパク質とを含む。構造的な観点から、油体は油体タ
ンパク質が埋め込まれているリン脂質の単分子膜によって封入されたトリアシルグリセリ
ドマトリックスであると考えられる (Huang 1992, Ann. Rev. Plant Mol. Biol. 43:177-200)
30
。植物種の油体分画に存在する種油は、様々なトリアシルグリセリドの混合物であり、そ
の正確な組成は油が得られる植物種に左右される。古典的な育種と遺伝子工学技術との組
み合わせによって種のプロフィールに手を加えたり、油植物油組成物の天然で入手可能な
レパートリーを詳細に調べることが可能となった。その領域における進行中の研究開発の
概要は、Designer Oil Crops/Breeding, Processing and Biotechnology, D.J. Murphy 編纂
、1994、VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany を参照せよ。

植物種子の油は様々な産業用途、特に食品、洗剤および化粧品産業で使用される。これら
の用途で使用される植物油を得るために、種子を粉碎または圧搾し、続いて有機物の抽出
、精練、中和、漂白および濾過等のプロセスを用いて洗浄する。植物脂肪種子の水抽出も
40
同じく記述されている (例えば、Embong and Jelen, 1977, Can. Inst. Food Sci. Technol. J.
10:239-243)。先行技術によって教示されたプロセスの目的は純粋な油を得ることなので
、そのような生産プロセスの過程で油体は構造的完全性を失う。したがって、植物油配合
の先行技術エマルジョンは一般に完全な状態の油体を含まない。

鉱油を基剤とする製品が市場を支配している多くの用途があるけれども、他の用途では植
物源および化石源由来の油が直接的な競合品である。例えば、洗剤の製造に幅広く使われ
ているラウリン系油は、ヤシ油と同様に鉱油から得られ、またより最近では遺伝子工学的
にナタネからも得られる (Knauf, V.C., 1994, Fat. Sci. Techn. 96:408)。しかし、原料とし
て生分解性の供給源に対する要求が現在増加している。本発明の植物油体を基剤とするエ
マルジョンは、油分画が更新可能で、かつ環境にやさしい源から由来するという点で、類
50

似の鉱油を基剤とする配合物と比較して優れている。

米国特許第5,683,710号および第5,613,583号は、油性植物由来の脂質小胞を含んでいるエマルジョンを開示している。これらの特許に開示されたエマルジョンは、比較的天然のままの種抽出物から調製され、グリコシレート化したタンパク質あるいはグリコシレート化していないタンパク質を含む数多くの種成分を含む。これらの特許が関連するエマルジョンの不利な点は、アレルゲン性や、望ましくない臭気、味、色および感覚刺激性の特性等、様々な望ましくない特性をエマルジョンに与える異物混入した種子成分からなるエマルジョンであるということである。種子の異物混入があることから、それらの特許に開示された脂質小胞の用途は限定される。

発明の要約

本発明は油体を含む新規なエマルジョン配合物に関する。本発明のエマルジョン配合物は無毒かつ食品用銘柄の形態で得ることが可能である。また、エマルジョン配合物はなめらかな歯ざわりの油体調製物から有利に調製されるので、様々な家庭用および産業用の用途に容易に適用可能であろう。本発明者は、生細胞の油体分画が様々なエマルジョンを基剤とする食品、化粧品、医薬品および工業製品の配合物に有用であることを発見した。概括的に述べれば、本発明は細胞由来の洗浄済みの油体を含むエマルジョン配合物を提供する。

また、本発明はエマルジョン配合物を調製する方法及び、様々な家庭用および産業用組成物で該エマルジョン組成物を使用する方法を提供する。

したがって、本発明は、1)細胞から油体を得る工程と、2)油体を洗浄する工程と、3)エマルジョンに洗剤済みの油体を配合する工程とを有するエマルジョン配合物調製方法を提供する。

本発明の好ましい実施形態では、洗浄済みの油体調製物は植物の種子、例えばナタネ、大豆、トウモロコシ及びヒマワリから得られる種子から調製する。したがって、本発明は、

- (a) 植物の種子を粉砕する工程と、
 - (b) 粉砕した種子から固形物を取り除く工程と、
 - (c) 水相から油体相を分離する工程と、
 - (d) 油体相を洗い、洗浄済みの油体調製物を生成する工程と、
 - (e) 洗浄済みの油体調製物をエマルジョンに配合する工程と、
- を含む植物種子からエマルジョン配合物を調製する方法を提供する。

本発明の好ましい実施形態では、種子の粉砕に先立って、あるいはその後に種子に液相を添加する。

本発明のさらに好ましい実施形態では、エマルジョン配合工程(e)は、洗浄済みの油体調製物に液相を添加することが含まれる。

本発明のエマルジョンは、食料品および飼料、医薬品、パーソナルケア製品および工業用品等の幅広い用途で使用することができる。本発明のエマルジョン配合物は、無毒で歯ざわりがなめらかであり、また生体分解性があることから、食品用銘柄の製品の調製に特に適している。

本発明の別の目的、利点および特徴は添付した図面と本発明の以下の詳細な説明とを検討することで明らかにされよう。

【図面の簡単な説明】

図1は、白ガラシ、ナタネ(*Brassica napus*)、大豆、落花生、カボチャ、亜麻、ヒマワリ、ベニバナおよびトウモロコシ由来の洗浄済みの油体調製物のクマシーブルー染色ゲルである。

図2A~Cは、*Brassica napus* (Canola) (A)、ヒマワリ(B)およびトウモロコシ(C)から得た様々な種子画分のタンパク質プロフィールを示すクマシーブルー染色である。ゲルは、以下の分画、すなわち(1)全種子タンパク質(TSP)、(2)デカントされた液相(DL)、(3)未洗浄済みの油体(LP1)、(4)3回水洗い(LP4)、(5)4回水洗いし、さらに1回100mM Na₂CO₃で洗浄(洗浄済み)を示す。

本発明の詳細な説明

既に言及したように、本発明は細胞由来の油体を含むエマルジョン配合物に関する。一つの実施形態では、本発明は洗浄済みの油体を含むエマルジョン配合物を提供する。

別の実施形態では、本発明は、1)細胞から油体を得る工程と、2)油体を洗浄する工程と、3)洗浄済みの油体をエマルジョンに配合する工程とを有するエマルジョン配合物調製方法を提供する。

細胞は、植物細胞、動物細胞、真菌細胞及び細菌細胞等、油体(または油体様の構造)を含むどのような細胞でも可能である。本発明の好ましい実施形態では、油体は植物細胞から得る。油体は、該油体の構造的完全性を実質的に損なうことなく細胞構成要素を放出する任意の方法を用いて植物細胞膜および細胞壁を破壊することで植物細胞から得ることが可能である。より好ましくは、油体は植物の種子から得る。したがって、本発明は、

(1)(a)植物の種子を粉碎する工程、
(b)粉碎した種子から固形分を取り除く工程、および
(c)水相から油体層を分離する工程とを含む方法によって植物の種子から油体を得る工程と、
(2)油体を洗い、洗浄済み油体調製物を生成する工程と、
(3)洗浄済み油体調製物をエマルジョンに配合する工程とを有するエマルジョン配合物を調製する方法を提供する。

本発明の好ましい実施形態では、種子の粉碎に先立って、あるいはその後に種子に液相を添加する。

本発明のさらに好ましい実施形態では、エマルジョン配合工程(e)は、洗浄済みの油体調製物に液相を添加することが含まれる。

ここで使用される用語「粉碎(grinding)」は種子をミリング、クラッシング、チョッピングまたは顆粒化することを意味し、この出願全体にわたってそれらの用語を互いに置き換えて使用することが可能であろう。本プロセスでは、種子細胞は破碎されて開く。

ここで使用される用語「固形分(solids)」は、水相または油体相で不溶性を示す任意の材料、例えば種子の外皮を意味する。

ここで使用される用語「油体の洗浄(washing the oil bodies)」は、油体相から細胞の汚染物質(コンタミ)を取り除く任意のプロセスを意味するものであって、特にエマルジョン配合物に対して望ましくない特性、例えばアレルギー誘発性、望ましくない色、臭気、風味または感覚刺激性、あるいは何らかの別の望ましくない特性を与えるあらゆるコンタミを意味する。洗浄方法の例としては、遠心等の重力に基づく分離、メンブレン限界濾過や十字流微細濾過等の寸法による排除に基づく分離法が挙げられる。洗浄方法及び条件は、所望の油体調製物純度にもとづいて選択される。

ここで使用される用語「洗浄済みの油体調製物(washed oil body preparation)」は、アレルゲン性や、望ましくない臭気、味、色および感覚刺激性の特性等の望ましくない特性や、あるいはあらゆる他の望ましくない特性をエマルジョン配合物に与えるコンタミを含む細胞の物質のかなりの量が除去された油体からなる試料を意味する。好ましくは洗浄済み油体調製物に含まれる他の種子タンパク質は10%未満である。

「油体をエマルジョンに配合する」ことの意味は、もし必要ならば、エマルジョンが形成されるまで、洗浄済み試料を混合または均質化することである。好ましい実施形態では、その他の成分、例えば液相を添加し、洗浄済み油体調製物及び液相を均質な混合物が達成されるまで混合する。

洗浄済み油体調製物は以下に概説される有利な特性によるエマルジョンの配合に特に適している。

油体の特性

本発明のエマルジョン配合物は、ほぼ同一の大きさ、形状および濃度である損傷を受けていない洗浄済み油体を含む。電子顕微鏡下で観察すると、油体は多かれ少なかれ球状に形作られた構造であることがわかる(例えば、Murphy,D.J.and Cummins I.,1989,Phytochemistry,28:2063-2069;Jacks,T.J.et al.,1990,JAOCs,67:353-361)。油体の通常の大さは、0.4 μ mないし1.5 μ mの範囲で変動する(Murphy,D.J.and Cummins I.,1989,P

10

20

30

40

50

hytochemistry,28:2063-2069)。マルバーン粒径分析装置(Malvern Size Analyzer)を用いて分析した場合、ナタネから単離された洗浄済み油体調製物に含まれる油体は対称的かつ単峰的に1 μm 周囲に分布した。マルバーン粒径分析装置を用いると、洗浄済み油体調製物は豆乳、マヨネーズ(Kraft Real Mayonnaise)及び2種類のココナッツミルク調製品(Tosca, Aroy-D)を含む市販の油中水形エマルジョンと明らかに異なっている。油体の正確な大きさ及び濃度は、少なくとも部分的に、存在しているタンパク質/リン脂質/トリアシルグリセリド組成に左右される。本発明にもとづいて洗浄済み油体を調製すると、電子顕微鏡で観察した際に種子全体に存在する油体の形状と比較して、油体の形状の実質的な変化は認められない。

油体を含む細胞を割って開くと同時に、水溶液中では油体分画は遠心力を与えることで浮遊するので、水溶液から素早くかつ簡単に油体が分離可能となる。油体分画の密度が95%エタノール等の溶媒のものよりも大きい溶液中では、油体は同一条件下で沈殿するであろう。油体分画は、より均一な大きさの油体が得られるという点で有利であると思われるメンブレン濾過等の寸法による排除に基づく分離法によって、水分画から分離することが可能である。

本発明の洗浄済み油体調製物に含まれる油体は、強酸及び強塩基にさらされること、例えば少なくともpH2ほど低い酸性の条件および少なくともpH10ほど高いアルカリ性の条件に長引かせてさらすことに対する耐性を持つ。pH12にさらした場合、油がわずかに失われることが観察され、このことは油体構造の完全性の喪失を示している。また、メタノール、エタノール、ヘキサン、イソプロピルアルコール及びエチルアセテート等の様々な有機溶液による抽出は、洗浄済み油体調製物に含まれる油体の完全性を損なうことはほとんどない。アニオン系洗剤、デシル硫酸ナトリウム(SDS)、カチオン系洗剤、ヘキサデシルトリメチルプロミド及び非イオン系洗剤であるTween-80との混合に対して、洗浄済み油体調製物に含まれる油体が耐えるということが判明した。SDS存在下で洗浄済み油体調製物を沸騰させることは、少なくとも部分的な油体構造の崩壊をもたらすことが判明した。洗浄済み油体調製物に含まれる油体は、少なくとも100 まで2時間にわたって維持した場合に安定である。洗浄済み油体調製物をゆっくり凍結して解凍することで、均質なエマルジョンに対して集塊の形成によって特徴づけられる物理的様相の変化が生ずる。凍結解凍後の油体集塊も、(a)-20 でのゆっくりとした凍結のかわりに液体窒素による瞬間凍結または(b)凍結に先だって5%(v/v)を超える量のグリセロールを油体調製物に添加することによって十分に防ぐことが可能である。相対的に苛酷な化学的及び物理的条件に対する耐性は、本発明の洗浄済み油体調製物に含まれる油体のユニークな特徴である。

本発明は、かなりの量の種子コンタミが取り除かれた油体を含むエマルジョン配合物を提供する。このようなコンタミとして、例えばタンパク質、揮発分、さらに望ましくない色、臭気、味、感覚刺激性の特性あるいは他の望ましくない特性を与えうる他の化合物があげられる。いくつかの種子タンパク質は、アレルギー反応を誘発することが報告されている。例えば、オガワらは大豆糖タンパク質P34(あるいはGly m Bd30kと呼ぶ)のアレルギー誘発性を報告している(Ogawa et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 57:1030-1033, 1993)。ナタネ、小麦及び大豆の種子タンパク質に対するアレルギー反応も報告されている(Armentia et al., 1993., Clin. Exp. Allergy 23:410-415; Monsalve et al., Clin. Exp. Allergy 27:833-841, 1993)。それゆえ、コンタミ種子タンパク質を除去することは有利である。洗浄条件は、実質的に純粋な油体調製物が得られるように選択することができる。このような場合、油体タンパク質は実質的に試料中に存在している。

多くの用途に対して、実質的により純粋でより良好な限定された油体調製物を得ることも望ましいと思われ、これによって最終エマルジョンの配合プロセスをよりいっそう制御することが可能となる。エマルジョンの多様な組に洗浄済み油体調製物が含まれるために、揮発分を最小限に止め、また色はなるべく淡い色か白色にすることが望ましい。油体調製物の洗浄によって、より明るく色づけられた試料が得られ、また揮発分の大部分は除去される。同じく洗浄によって取り除かれるものは、洗浄済み油体調製物が未洗浄の油体より

10

20

30

40

50

も保存寿命が長いことが認められたことから、微生物の増殖を促進する化合物である。洗浄によって除去される他の化合物は、反栄養グルコシニレート及び(または)その分解産物と繊維状物質とを含むことによって取り除かれる。60 または80 で加熱した場合、未洗浄の試料と比較するとより大量の水が洗浄済み油体調製物によって依然として吸収されたままとなる。室温まで冷やして遠心すると、洗浄済み油体調製物が安定した状態のままであることが観察され、一方未洗浄の試料では相分離が観察された。洗浄済み油体の安定性が強化されたという条件のもとでは、加熱を含む配合プロセスが好まれる。40 に加熱した場合、洗浄済み油体調製物は相分離を引き起こすことなく大量の外來性添加水を吸収することが可能であった。したがって、水性エマルジョンの配合では、洗浄済み油体が好ましい。外來性添加油を吸収する能力も洗浄済み油体調製物と未洗浄試料とで比較

10

した。不安定のエマルジョンが形成される前に、大量の外來性油を洗浄済み油体調製物に添加することができた。このことは、潤滑剤あるいは化粧品が調製されるような配合プロセスに外來性油またはワックスを添加する配合で有利である。洗浄済み試料と未洗浄の試料とで粘性を比較した場合、洗浄済み試料のほうが粘性が高いことが判明した。配合プロセスで増粘剤を加える必要がなくなるため、より粘性の高い油性試料が望まれる。したがって、ここで提供される洗浄済み油体調製物は多くの点で未洗浄の試料よりも優れている。本発明の洗浄済み油体は、長期にわたって保存可能であり、より好ましい色、臭気及び粘性という特性を備えた良好な限定された試料である。洗浄済み油体は優れた水および油吸収特性も有する。最終的に大量の種子タンパク質が除去されることから、アレルギー反応はほとんど起こらない。これらの特性によって、多様な家庭用及び産業用エマル

20

ジョンの配合で洗浄済み油体調製物を用いることが可能となる。上記の観察は、ナタネから、また本出願の例2に記述されたようにして得られた洗浄済み及び未洗浄済み油体調製物を用いて行った。相対的に苛酷な化学的及び物理的条件に対する耐性は、油体の源にかかわらず本発明の洗浄済み油体調製物に存在する油体の特徴となると考えられる。しかし、ナタネの油体に関する以前に記述された特性の一つまたはそれ以上が、洗浄済み油体調製物を得た細胞に依存してある程度変動するかもしれない。それにもかかわらず、本発明は油体を含む任意の細胞から得られる油体調製物に対してなされたものであることは深く理解されよう。

本発明の一実施形態では、油体は植物種子から得られる。完全な油体がエマルジョンに存在すること及びそのような油体の記述された特性は、植物種子から調製される他の材料由来の対照となるエマルジョン配合とは明らかに異なる。

30

油体の供給源及び調製

本主題の洗浄済み油体調製物は、油体または油体様オルガネラを含む任意の細胞から得ることができる。これには動物細胞、植物細胞、真菌細胞、酵母細胞 (Leber, R. et al., 1994, *Yeast* 10:1421-1428)、細菌細胞 (Pieper-Furst et al., 1994, *J. Bacteriol.* 176:4328-4337) 及び藻類細胞 (Rosler, P. G., 1988, *J. Physiol. (London)* 24:394-400) が含まれる。本発明の好ましい実施形態では、油体または油体様オルガネラが存在する花粉、孢子、種子及び栄養繁殖器官を含む植物細胞から油体を得られる (Huang, 1992, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 43:177-200)。より好ましくは、本発明の洗浄済み油体は植物種子から得られ、さらに好ましくはナタネ (*Brassica* spp.)、大豆 (*Glycine max*)、ヒマワリ (*Helianthus annuus*)、オイルヤシ (*Elaeis guineensis*)、綿の種子 (*Gossypium* spp.)、アメリカホドイモ (*Arachis hypogaea*)、ココナッツ (*Cocos nucifera*)、ヒマ (*Ricinus communis*)、ペニバナ (*Carthamus tinctorius*)、カラシ (*Brassica* spp. および *Sinapis alba*)、コリアンダー (*Coriandrum sativum*)、カボチャ (*Cucurbita maxima*)、亜麻の種子/亜麻 (*Linum usitatissimum*)、ブラジルナッツノキ (*Bertholletia excelsa*)、ホホバ (*Simmondsia chinensis*) およびトウモロコシ (*Zea mays*) を含む植物種由来である。植物の栽培及び種まきは当業者によく知られている農耕栽培技術によって行う。種子を収穫し、必要に応じて石や種子の外皮等の物質を、例えばふるい分けまたは濯ぎによって取り除き(皮むき)、任意に種子の乾燥を行った後、種子を機械的に圧搾、摩砕または破碎によって続けて処理する。好ましい実施形態では、液相は種子の摩砕に先だって加えられる。こ

40

50

のことは、湿式磨砕として知られている。好ましくは、液体として水を使用する、エタノール等の有機溶媒を使用してもよい。油抽出プロセスでの湿式磨砕は、様々な植物由来の種子について報告されており、例えばカラシ (Aguilar et al.1990, Journal of Textures studies 22:59-84)、大豆 (米国特許第3,971,856号、Carter et al.,1974、J.Am.Oil.Chem.Soc.51:137-141)、落花生 (米国特許第4,025,658号、米国特許第4,362,759号)、綿の種子 (Lawon et al.,1977、J.Am.Oil.Chem.Soc.63:533-534) 及びココナツ (Kumar et al.,1995, INFORM 6(11):1217-1240) があげられる。磨砕に先だつて、液相で15分から約2日間の時間をかけて種子を吸水膨潤させることも有利であると思われる。吸水膨潤によって細胞壁が柔らかくなり、磨砕プロセスを容易にする。長時間にわたる吸水膨潤は、発芽プロセスを模倣し、かつ種子成分の組成にある種の有利な変化が生ずるものと考えられる。別の実施形態では、液相は種が磨砕された後に加えられる。これは、乾式磨砕として知られている。好ましくは、加えられる液相は水である。

種子は、コロイドミル、例えばMZ130 (Fryma Inc.) を持ちいて磨砕される。コロイドミルのほかに、工業規模の量の種子を処理することが可能な他の粉碎および磨砕装置も同様にここで記載した発明に使用してもよく、例えばフレーキングロール、ディスクミル、コロイドミル、ピンミル、軌道ミル、IKAミル及び工業規模のホモゲナイザがあげられる。ミルの選択は、用いる種子の供給源と同様に、種子処理量要求条件に依存する。種子の油体が磨砕プロセスの間、完全な状態のままであることは非常に重要である。したがって、脂肪種子処理で一般に用いられ、油体を破壊させる傾向にある作業条件は、いかなるものでも本発明のプロセスでの使用には不相当である。磨砕温度は、好ましくは10から90までの間、より好ましくは26から30までの間であり、一方pHは好ましくは2.0から10の間に保たれる。

種子の外皮、繊維状物質、不溶性炭水化物及びタンパク質、さらに他の不溶性のコンタミ等、固形状のコンタミは、粉碎された種子分画から取り除かれる。固形状のコンタミの分離は、デカンテーション遠心機 (decantation centrifuge)、例えばHASC02002 - フェーズデカンテーション遠心機 (2-phase decantation centrifuge) またはNX310B (Alpha Laval) を用いて達成してもよい。種子処理量要求条件 (seed throughput requirements) に依存して、デカンテーション遠心機の能力は、3 - フェーズデカンタ (3-phase decanter) 等、他のモデルのデカンテーション遠心機を用いることによって変化する。作業条件は、用いられる特定の遠心機に依存して変動するので、不溶性のコンタミ物質が沈降し、デカンテーションで沈降したままとなるように調整されなければならない。油体相と液相との部分的分離はそのような条件下で観察可能である。

不溶性のコンタミの除去に続いて、油体相が液相から分離される。本発明の好ましい実施形態では、管型ボール遠心機 (tubular bowl centrifuge) が用いられる。別の実施形態は、液体サイクロン、ディスクスタック遠心機、あるいは自然重力下での相の沈降あるいはいずれかの別の重力に基づく沈降方法による相の沈降を用いてもよい。メンブレン濾過や十字流微細濾過等の寸法による排除に基づく分離法によって、水分画から分離することが可能である。好ましい実施態様では、管型ボール遠心機はSharples型AS-16 (Alpha Laval) またはAS-46 Sharples (Alpha Laval) である。重要なパラメータは遠心機を動かすために使用されるリングダム (ring dam) の寸法である。リングダムは、AS-16の場合28から36mmに変化する中心輪状開口部を持つ着脱自在のリングであり、油体相からの液相の分離を制御することで得られる油体分画の純度を調節する。好ましい実施形態では、リングダムの大きさはAS-16を用いる場合、29mmまたは30mmとする。使用するリングダムの正確な寸法は、油体調製物の所望の最終粘度 (consistency) と同様に、使用される脂肪種子の種類に左右される。分離の効率は流速の影響も受ける。AS-16が使用される際、流速は一般に750ないし1000ml/分 (リングダム寸法26) または400ないし600ml/分 (リングダム寸法30) であり、温度は好ましくは26ないし30である。使用した遠心機の型に応じて、流速およびリングダム寸法は液相からの油体分画の分離が最適に行えるように調整されなければならない。それらの調整は、当業者に容易に理解されよう。

10

20

30

40

50

固形物の分離や油体分画からの液相の分離を、3 - フェーズ管型ボール遠心機、デカンタあるいは液体サイクロン等の重力に基づいた分離法、または寸法にもとづく排除に基づく分離法を用いて同時に行ってもよい。

このプロセスの段階で得られた組成物は、一般に相対的に粗雑であり、グリコシレート化および非グリコシレート化タンパク質等の多くの種子タンパク質や、澱粉あるいはグリコシニレート等の他のコンタミ、またはそれらの分解産物を含む。本発明には、大量の種子コンタミを除去することが含まれる。コンタミ種子材料の除去を達成するために、液相からの分離によって得られた油体調製物に対して、油体分画を再懸濁し、再懸濁された分画を遠心することで少なくとも一回の洗浄を行う。このプロセスによって、この出願の目的である洗浄済み油体調製物と呼ばれるものが生ずる。洗浄の回数は、一般に油体分画の所望の純度に左右されよう。用いた洗浄条件に応じて、本質的に混じり気のない油体調製物を得ることができる。そのような試料では、唯一存在するタンパク質は油体タンパク質と思われる。油体分画を洗浄するために、管型ボール遠心機、または液体サイクロンあるいはディスクスタック遠心機等の他の遠心機を用いてもよい。油体の洗浄は、水、緩衝系、例えば高pH (11 ~ 12) で0.01 Mないし少なくとも2 M濃度の塩化ナトリウムと0.1 M炭酸ナトリウム、低塩類緩衝液、例えば50 mM Tris - HCl pH 7.5、有機溶媒、洗剤、またはいずれかの他の液相を用いて行ってもよい。好ましい実施形態では、洗浄は高pH (11 ~ 12)で行う。pH及び温度等の洗浄条件と同様に、洗浄に用いた液相は用いた種子の種類に応じて変えてもよい。pH 2ないしpH 11 ~ 12の間のいくつかの異なるpHは、コンタミ、特にタンパク質の段階的な除去を可能とすることから有益であると考えられる。洗浄条件は、洗浄ステップが油体の構造的完全性を損なうことなく大量のコンタミが除去されるように選択される。2回以上の洗浄ステップが実行される実施形態では、洗浄条件は異なる洗浄ステップに応じて変わる。SDSゲル電気泳動または他の分析方法を、油体の洗浄によって種子タンパク質及び他のコンタミが除去されたかをモニターするのに都合よく使用することが可能である。洗浄ステップ間の水相のすべてを取り除く必要はなく、また最終洗浄済み油体調製物を水、緩衝系、例えば50 mM Tris - HCl pH 7.5、あるいはいずれかの他の液相に懸濁してもよく、さらに必要に応じてpHをpH 2ないしpH 10のいずれかのpHに調整してもよい。

洗浄済み油体調製物を製造するための方法は、バッチ操作または連続流れプロセスで行うことができる。特に管型ボール遠心機を用いる場合、ステップ (a) および (b)、(b) および (c)、さらに (c) および (d) の間で動作するポンプの系で、処理系全体にわたる連続的な流れが生ずる。好ましい実施形態では、1インチM2 Wilden空気駆動二重ダイヤフラムポンプを使用する。他の実施形態では、ポンプ、例えば油圧またはぜん動式のポンプを用いてもよい。デカンテーション遠心機および管型ボール遠心機に対して均質的なコンシステンシーの供給を維持するために、ホモゲナイザ、例えばIKAホモゲナイザを分離ステップ間に付加してもよい。インラインホモゲナイザも油体調製物の洗浄に用いられる様々な遠心機または寸法による排除に基づく分離装置間に付加してもよい。リングダムの寸法、緩衝液の組成、温度およびpHを、各洗浄ステップにおいて第一の分離ステップで用いられるリングダムの寸法とは異なるものとすることもできる。

より柔らかい組織、例えばオリーブの中果皮から油体を分離する本発明の実施形態では、細胞の開裂に適用される技術は、硬い種子を割るのに使用される技術とある程度変えることが可能である。例えば、圧力に基づく技術は破碎技術よりも好ましいと思われる。小規模で油体を単離する方法がオリーブ (*Olea europaea*) やアボガド (*Persea americana*) の中果皮 (Ross et al., Plant Science, 1993, 93:203-210) およびナタネ (*Brassica napus*) の小孢子由来の胚 (Holbrook et al., Plant Physiol., 1991, 97:1051-1058) からの油体の単離について報告されている。

非植物細胞から油体得られる本発明の実施形態では、既にあらましを説明したものと同様の手順に従って洗浄済み油体調製物を単離する。酵母から油体を単離する方法が記述されている (Ting et al., 1997, Journal Biol. Chem. 272:3699-3706)。

油分画の化学的および物理的特性は、少なくとも2通りの方法で変動すると考えられる。

10

20

30

40

50

第一に、異なる植物種は異なる油組成の油体を含む。例えば、ココナツはラウリン系油（C12）が豊富であり、一方いくつかのアブラナ属の種（*Brassica* spp.）ではエルシン酸系油（C22）が大量に含まれる。第二に、油の相対的な量は当業者に周知の育種および遺伝子工学を適用することで特定の植物油種において修飾することが可能である。これらの技術はともに油合成に關与する代謝経路を制御する酵素の相対的活性を変えることを目的とする。これらの技術を適用することによって、異なる油の洗練されたセットを持つ種子が入手可能となる。例えば、育種努力はエルシン酸含有量が低いナタネ（*Canola*）を生み出す（Bestor, T.H., 1994., *Dev. Genet.* 15:458）。また、二重結合の位置および数の変化、脂肪酸の鎖の長さの変化、および所望の官能基の導入がなされた油を有する植物系統が遺伝子工学によって生じている（topfeer et al., 1995, *Science*, 268:681-685）。同様のアプローチを用いることで、当業者は油体の現在入手可能な供給源に対してさらに拡張することが可能である。油組成の変化によって油体の物理的および化学的特性が変化するのであろう。したがって、油体の供給源として異なる種または植物系統から脂肪種子またはそれらの混合物を選択することによって、異なる質感および粘性を持つエマルジョンの広範囲のレパートリーが獲得されるかもしれない。

10

エマルジョンの配合

洗浄済み油体調製物は、当該技術分野で周知の技術を用いてエマルジョンに配合することができる。好ましくは、少なくとも一つの追加成分が洗浄済み油体調製物に加えられる。追加の成分は、溶液、懸濁液、ゲル、または固体として加えることができ、また追加成分の量は配合に左右されるであろう。追加成分は、配合すると同時に、油体、溶液に懸濁された残り、または油体が分散された懸濁液の形成に対応付けられるようになる。成分は油体を取り巻くリン脂質単分子膜またはトリアシルグリセリドマトリックスを貫通するものであってもよい。油体を貫通する成分として、例えば油、ワックス及び色素ニール赤（*Nile Red*）があげられる。好ましい実施形態では、追加成分は液相である。さらに好ましい実施形態では、液相は水である。水は、直接添加されるか、あるいは他の成分に關係させた水分として添加されるかのいずれかである。水の最終量は重要ではなく、成分の混合がなされる限り、安定したエマルジョンが形成される。一般に、組成物は少なくとも1%の水および最大で99%の水を含むであろう。通常は、混合は適当なエマルジョンを提供する上で必要であり、加熱または圧力を加える際に必要であろう。

20

別の好ましい実施形態では、追加成分は油またはワックスである。油またはワックスを、油体のトリアシルグリセリドマトリックスに対する隔壁とすることができ、それによって脂質溶解性の成分、例えば脂溶性ビタミンを油体マトリックスに送ることが可能である。油またはワックスが追加成分を含む場合、油体を親油性の相に懸濁させたまま、あるいは二重エマルジョンを形成されることも可能である。

30

最終組成物は、固形状または液状の組成物、あるいは他の所望の粘性を持つ任意の組成物とすることが可能である。

エマルジョンは、ゲル化剤、例えばセルロース及びその誘導体、カルボポール（*Carbopol*）およびその誘導体、イナゴマメ、カラギーナンおよびその誘導体、キサンタンゴム、スクレランゴム、長鎖アルカノールアミド、さらにベントンおよびその誘導体を用いて増粘することが可能であり、一般に2重量%未満の濃度で含まれる。

40

エマルジョンは、選択された材料の湿潤、発泡、貫通、乳化、可溶化および（または）分散のために界面活性剤をさらに含むものであってもよい。例えば、ココナツモノグリセリドスルホン酸ナトリウム等のアニオン性界面活性剤、ラウリルトリメチルアンモニウム塩、塩化セチルピリジニウムおよびトリメチルアンモニウムブロミド等のカチオン性海面活性剤、ブルロニック、及びアルカリフェノールのポリエチレンオキシド縮合物を含む非イオン性界面活性剤、さらに脂肪族第4級アンモニウム、ホスモミウムおよびスルホニウム化合物を含む両性イオン性界面活性剤のすべてを必要に応じて添加してもよい。

金属イオンと結合することが可能なキレート剤、例えば酒石酸、EDTA、クエン酸、アルカリ金属シトレート、ピロホスフェート塩またはアニオン重合性ポリカルボキシレートもまた必要に応じてエマルジョン配合物に加えてもよい。

50

一般に、エマルジョン配合物は、細菌、真菌、マイコプラズマ、ウィルス等のコンタミ、あるいは酸化反応等の望ましくない化学反応が防げるように処理されるであろう。好ましい実施形態では、このことはメタ重亜硫酸ナトリウムまたは他の化学薬品添加物等の防腐剤によって、あるいはコバルト 60 またはセシウム 137 照射等の電離放射線等の照射によって、あるいは紫外線照射によって達成される。

さらに、活性剤を洗浄済み油体調製物に添加してもよい。例えば、化粧品組成物は、本エマルジョン配合物およびビタミンを用いて安定な懸濁液として配合してもよく、また保湿剤をスキンケアに入れてもよい。本発明のエマルジョンに活性成分を加えることができるとりわけ有利な方法の一つは、WO 96/211029で詳細に説明されたようなオレオシン遺伝子融合の構築を介することである。手短に述べれば、WO 96/211029はオレオシンの融合タンパク質としてタンパク質及びペプチドを合成する方法を開示している。そのような融合タンパク質は、オレオシンをコード化する遺伝子と関心あるペプチドまたはタンパク質をコード化する遺伝子とを遺伝学的に結合することで生成される。融合遺伝子の発現は、例えば脂肪種子植物では、油体を標的とする融合タンパク質の合成をもたらす。油体分画の単離は、融合タンパク質の回収をもたらす。基本的に、任意の所望のタンパク質またはペプチドはこの方法を持ちいて産生することが可能である。例えば、北極地方に住む魚の抗凍結ペプチド (Davies, P.L. et al., 1990 FASEB J. 4:2460-2468) はオレオシン融合タンパク質として産生される。洗浄済み油体調製物は、氷の結晶が形成されるのを素子または防ぐことによって凍結特性が改善されたアイスクリーム、ミルクシェイク、あるいは他の冷凍食品銘柄の材料に用いることができる。他の実施形態では、オレオシン融合として治療タンパク質を産生することが可能である。油体は経口投与用または皮膚に対する局所塗布用の所望の懸濁液を配合するのに使用することができる。本発明のこの実施形態は、さらに本発明の例 11 に例示される。この例ではオレオシンとコイの成長ホルモンとの融合体を含む油体を有する魚の餌が調製される。

膜形成特性を持つエマルジョンも配合することが可能である。そのようなエマルジョンは表面に塗布されると乾燥して皮膜を形成する。被覆油体膜が適用されるエマルジョンの一例は魚の餌にあり、油体は栄養価を高めるために魚の餌に適用してもよい。膜形成エマルジョンは、薬剤や香料等の揮発成分を送達する等、活性成分の放出を制御することが必要とされる本発明の実施形態に特に有用である。乾燥の過程で生ずるエマルジョンの膜からの活性剤の放出時間は、他のファクタの中で膜の厚さに左右される。厚めの皮膜が塗布されると、乾燥に要する時間が長くなり、それによって活性剤の放出がよりいっそう遅くなる。熟考した異なる配合では、薬剤の放出は膜が乾燥した時のみ起こる。他のファクタ、例えばエマルジョンの組成と活性成分の種類および濃度とによって放出の特性も決定される。例えば、エタノール等の共溶媒を配合物に添加し、放出時間に影響を与えることが可能である。活性成分の放出は食品用途でも求められる。エマルジョンにトラップされたフラボラントが消費の過程で放出される。フラボラントの放出は、エマルジョンの的確な配合に依存しており、突然の激しい感覚または風味とエッセンスのいっそう微妙なブレンドを引き出すことが可能である。

エマルジョン配合物は、スプレーおよびエロゾルで使われるものであってもよい。好ましくは寸法が小さい油体、例えば *B. napus* で見いだされるような直径が 1 μ m 以下のものをこの目的のために用いる。アルコールや芳香のあるもの等、揮発分をそのようなスプレーに含んでもよい。このタイプのエマルジョンは、ポテトチップ等の乾燥食品や乾燥スープの表面に噴霧することもできる。エマルジョンは、フラボラントを含むものであってもよく、防腐価値を付与するか、あるいは食品を適当な温度に保つのを助ける。

エマルジョン配合物の使用

本発明は、産業用および家庭用組成物に有用なエマルジョンの製造に関する。エマルジョンが物理的特性および使用という点でかなり相違する組成物に適用することが可能であることを特に言及しておく。したがって、特定の実施形態では、食品および飼料、医薬品、パーソナルケア製品および工業製品等の用途が含まれる。

食品および飼料での使用は、非日常的代用品、例えば非日常的チーズまたはヨーグルト、

10

20

30

40

50

マーガリン、マヨネーズ、ピネグレットソース、アイシング、アイスクリーム、サラダドレッシング、合成マスタード、キャンディ、チューインガム、プディング、ベーキングプロダクト、調味料、ジュース、曇り剤、ベビー用配合物、香料担体、質感剤（ショートニング）、ペットフード、魚の餌および家畜飼料が含まれる。

パーソナルケア製品は、例えばマスカラ、アイシャドウ、日焼け止めローション、整髪剤および髪染剤があげられる。医薬品は、本発明の洗浄済み油体調製物を用いて配合されるもので、例として治療薬、診断薬および分挽（delivery）薬があげられる。治療または診断薬として、エマルジョンはさらに活性成分を含んでいるだろう。活性成分は、宿主に送達されることを望む何らかのものである。一実施形態において、活性成分は治療または診断価値を持つタンパク質またはペプチドであってもよい。そのようなペプチドとして、抗原（ワクチン配合物用）、抗体、サイトカイン、血液凝固因子および成長ホルモンがあげられる。本発明のエマルジョンの産業上の利用としては、ペイント、コーティング、潤滑剤、フィルム、ジェル、ポーリング用流体、紙糊付け剤、ラテックス、建物及び道路建設材料、インク、染料、ワックス、光沢剤、さらに農薬配合物があげられる。好ましい実施形態では、本発明は動物およびヒトに摂取される組成物に関する。そのような組成物は摂取されるものなので食品銘柄品質でなければならぬ。しかし、エマルジョンが適用される特定の製品および特定の形状は、特に重要なことではなく、要求に応じてと考えられる。洗浄済み油体調製物が配合されたエマルジョンは、任意の家庭用または産業用製品に適用することが可能であることは明白に理解されよう。

低pHでの本発明のエマルジョン配合物の安定性は、酸エマルジョンからなる配合物に利用することが可能である。例えば、マヨネーズのような食品の調製にエマルジョン配合物を使用することができ、さらに、もし必要ならば洗浄済み油体調製物は植物油、マスタード、ピネガーおよび卵黄を含む。サラダドレッシングのような注ぎ込むことが可能なエマルジョンは、ピネガーの相対量を高めること、および（または）水を加えることによって調製することができる。

外見上明白な有害作用を伴うことなく加熱可能な用途の一例は、ベシャメルソースのような塩味の効いたソースやチョコレートソースのような甘いソースの調製である。これらの用途において、洗浄済み油体調製物は、フライ代用品として用いられる。ベシャメルソースを調製するために、加熱した油体調製物1部に対して、1部（W/W）の小麦粉を添加し、厚い懸濁が形成されるまでかき混ぜる。温めたミルクを所望の粘性を持つソースが得られるまで徐々に加える。

エマルジョン配合物はバター代用品としてもちいることもできる。この用途では、少量の水、例えば所望の粘度が得られるまで10%未満の水を、洗浄済み油体調製物に添加する。天然バター香料および増粘剤を必要に応じて添加してもよい。バター代用品は、スウィートコーンやパンに使用することができ、またケーキミックスやパンの製造に使うこともできる。香料に寄与し、かつ防腐剤として作用する塩は、約2.5%（wt/vol）の濃度で加えてもよい。着色剤、例えばベニノキ種子の抽出物またはカロチンを添加することで必要に応じて色を濃くしてもよい。この用途の利点は、油体をベースとするバターは、所望のコンシステンシーを達成するために、マーガリン等の配合物に使用され、かつ心臓病にも関連する水素添加脂肪酸を含まない。

ショートニングを、泡状から注入しうるショートニングまで、種々の度合いのスチフネスに対して調製してもよい。この用途では、空気がエマルジョン配合物に打ち込まれ、エマルジョン配合物は連続相である空気に分散されるものと考えられることができる。ショートニングは、クリーミングと羽毛立ち（fluffing）が求められる混合物に適用してもよい。そのような混合物は、例えばアイシング、合成クリーム、アイスクリーム及びケーキバターがあげられる。

人造のフルーツジュースは、人工または天然の香料および栄養素から調製してもよい。そのような人造のジュースは見かけが異なり、透明なために水っぽいが希釈されているように見える。見かけ上濃いジュースを得るために、少量、例えば0.1ないし1%（V/V）の洗浄済み油体調製物またはそのエマルジョンを添加して曇らせることができる。した

10

20

30

40

50

がって、本発明の油体調製物は、曇り剤として使用することが可能である。

ジュースを含む別の用途では、洗浄済み油体調製物またはそのエマルジョンをトマトジュース等の沈殿可能な固形物を含むジュースに添加してもよい。少量、例えば0.1ないし1% (V/V) の洗浄済み油体調製物を添加することによって、ジュースの固形分の沈降速度が減少し、深みのある外観を保つのを助ける。

本発明の洗浄済み油体調製物の局所的塗布も試みる。この実施形態では、エマルジョンは、皮膚科学的に許容されるエマルジョンとして配合され、例えば顔および(または)身体、爪や唇等に湿気を与えることに用いられ、あるいは肌の老化、にきび、色素沈着、育毛または脱毛、あるいは創傷治癒および(または)皮膚組織の再構築を促進する特性を有することが可能である。洗浄済み油体調製物は、好ましくは最終組成物1~99重量%に相当する。

10

本発明の化粧品組成物は、植物、動物、鉱油または合成油またはワックスまたはそれらの混合物等の追加の炭化水素化合物を含むものであってもよい。それらには、パラフィン、ワセリン、ペルヒドロスクアレン、アララ(arara)油、アーモンド油、カルフィラム(calphyllum)油、アボガド油、ごま油、ひまし油、ホホバ油、オリーブ油、またはシリアル穀物細菌油が含まれる。エステルは、例えばラノル(lanolic)酸、オレイン酸、ラウリン酸、ステアリン酸、ミリスチン酸のエステルとして包含される。アルコール、例えばオレオイルアルコール、リノレイルアルコールまたはリノレニルアルコール、イソステアールアルコールまたはオクチルドデカノール、アルコールまたはポリアルコールを含むことも可能である。さらに、含有可能な炭化水素は、オクタノエート、デカノエート、リシノ

20

レエート、カプリル/カプリントリグリセリドあるいは C_{10} ないし C_{22} 脂肪酸トリグリセリドである。これらの試薬の添加は、二重エマルジョンの形成をもたらす。
25で固化する水素化(硬化)オイル、例えば硬化ヒマシ油。パーム油、ココナツ油、または水素化獣脂;モノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド、またはスクログリセリド;ラノリン;さらに25で固化する脂肪酸もまた本発明の化粧品配合物に含ませてもよい。含有可能なワックスには、例えば蜜ろう等の動物性ワックス;カルナバワックス、カンテリラワックス、オウリカリ(ouricurry)ワックス、日本ろう、またはコルク繊維あるいはサトウキビ由来のワックス等の植物性ワックス;パラフィンワックス、亜炭ワックス、ミクロクリスタンワックスあるいはオゾケライト等の鉱物ワックス、さらに合成ワックスが含まれよう。

30

顔料を含有させることも可能で、白色または着色された、無機または有機系の顔料であり、さらに(あるいは)真珠箔顔料である。顔料は、酸化チタニウム、酸化亜鉛、酸化ジルコニウム、黒、黄色、赤および褐色の酸化鉄、酸化セリウム、酸化クロム、鉄青(ferric blue)、カーボンブラック、バリウム、ストロンチウム、カルシウムおよびアルミニウムレーキ、さらに酸化チタニウムまたは酸化ピスマスで覆われた雲母を含む。

活性成分は、通常スキンクリームに用いられるもので、例えばビタミンAまたはC等のビタミン、クエン酸、グリコール酸、乳酸、および酒石酸等のアルファヒドロキシ酸であり、化粧および(または)皮膚科学的組成物に含ませてもよい。例えば、米国特許第5,602,183号によると、ビタミンCまたはアスコルビン酸が結合組織の増殖を促進し、特に皮膚において煙や紫外線照射等の外部からの皮膚に対する攻撃に対して皮膚を強化する。スキン

40

クリームや化粧品に含有可能な湿潤剤は、例えば鉱油および尿素である。抗酸化剤、例えば天然に生ずるトコフェノールおよびポリフェノール、あるいはブチル化ヒドロキシルエンおよびヒドロキシアニソールもまた加えることが可能である。日焼け止め、例えばオクチルメトキシシナメート(Parsol MCX)、3-ベンゾフェノン(Uvinul M40)およびブチルメトキシジベンゾイルメタン(Pasol 1789)を用いて日焼け止めローションを調製することも可能である。化粧品組成物を配合するために使用可能な薬学的活性成分は、例えば抗生物質、殺菌剤および抗炎症剤が含まれる。

50

最終化粧製品は、浮遊した、流し込まれた、または圧縮された粉末(ファンデーション、ブラッシャー、またはアイシャドウ)、口紅、マスカラ、または身体または顔用のオイルまたはローション等の比較的油分に富んだ製品である。

洗浄済み油体調製物は歯磨き用ペーストの経口的に許容可能な担体として提供されることも可能であり、さらにシリカ、界面活性剤、キレート剤、フッ素、増粘剤、甘味料、ペーミント油等のフラボラント、酵素および殺虫剤をさらに含むものであってもよい。配合可能な工業製品の例としてはペイントであり、シリコン系化合物、アクリル系化合物、ポリエステル、アルキド、フッ素、エポキシ、ポリウレタンを主成分とする主樹脂を、部分的に、あるいは全体的に本発明の洗浄済み油体調製物と置換してもよい。さらに、顔料、染料、ガラス薄片、およびアルミニウム薄片、顔料分散剤、増粘剤、均染剤、硬化触媒、ジソシアネート等の硬化剤、硬化触媒、ゲル化阻害剤、紫外線吸収剤、フリーラジカルクエンチング剤等のさらなる添加剤を、必要に応じてペイント組成物に配合してもよい。

10

洗浄済み油体調製物を潤滑剤に配合することもできる。例えば、動物油、植物油、石油潤滑油、合成潤滑油等の潤滑油、あるいはリチウムグリース、尿素グリースおよびカルシウムグリース等の潤滑グリースと、洗浄済み油体調製物を部分的に、あるいは全体的に置換してもよい。潤滑配合物に用いられる他の配合物は、抗酸化剤、洗浄剤分散剤、オイルネス(oilness)剤、摩擦改質剤、粘度指数向上剤、流動点降下剤、固形潤滑物質、さび阻害剤およびあわ止め剤を含む。

ワックスも本発明の洗浄済み油体調製物を用いて調製してもよい。このようなワックスには、自動車に対する安定した疎水性膜フィニッシュおよび他の保護皮膜を提供するようなリンスワックス型が含まれる。ワックスの調製に使用される他の組成物として、界面活性剤、パラフィン系および芳香族系/ナフテン系油等の鉱油、香水、殺虫剤、着色剤が含ま

20

れ、これらは必要に応じて共溶性のある量で添加することが可能である。工業製品、例えばペイントまたは潤滑剤が配合されると、油体相の純度はあまり重要ではなく、油体を洗浄する必要性がないと思われる。工業用エマルジョンは、(i)細胞から油体を得た、(ii)油体を工業用エマルジョンに配合することによって調製してもよい。油体は、(a)植物の種子を粉碎し、(b)粉碎した種子から固形分を取り除き、さらに(c)水相から油体層を分離することによって得ることができる。本発明は、同じく本発明にもとづいて調製された油体を含む工業用エマルジョンを含む。

以下の非限定的な実施例は本発明を説明するためのものである。

実施例

例 1

30

ナタネ、大豆、ヒマワリ、白ガラシ、落花生、カボチャ、亜麻、ベニバナ、およびトウモロコシから、実験室規模で、洗浄済み油体調製物を得ること。

ナタネ(Brassica napus cv Westar)、大豆、ヒマワリ、白ガラシ、落花生、カボチャ、亜麻、ベニバナ、およびトウモロコシから得られた乾燥熟種を、5容積の低温破碎緩衝液(50 mMのTris-HCl、pH 7.5、0.4 Mのサッカロース、および0.5 MのNaCl)中で、高速で動作するポリトロン(polytron)を用いて、均質化した。得られた均質体を、微粒子物を除去するとともに可溶性種蛋白の大部分を含む水相から油体を分離するために、10×gで、30分間、遠心分離した。得られた油体分画を、金属製のへらで、上澄みの表面からかすり取り、一容積の粉碎緩衝液に加えた。次の工程での洗浄を効果的に行うためには、前記油体を前記粉碎緩衝液に再び完全に分散することが必要であることが判明した。この再分散は、低速駆動させたポリトロンを用いて、前記油体を粉碎緩衝液にゆっくりと均質化することにより、達成した。得られた再分散油体を、注射器を用いて、5容積の低温の50 mMのTris-HCl(pH 7.5)の下部に注意深く積層し、前述のように遠心分離した。遠心分離に続いて、得られた油体を取り出し、前述の洗浄手順を2回繰り返した。洗浄して最終的に得られた油体調製物は、前記ポリトロンで、一容積の低温のTris-HCl(pH 7.5)に再分散することにより、再度、懸濁した。

40

得られた油体調製物を、SDS試料緩衝液に溶解し、次に、SDSゲル電気泳動法により分析した。その結果を図1に示した。

このようにして得られた物質を、次に、様々な配合に供することになる。

50

例 2

ナタネ、ヒマワリ、およびトウモロコシから、大規模に、洗浄済み油体調製物を得る。この例では、カノラ (canola)、ヒマワリ、およびトウモロコシの種からの油体分画の回収を、説明する。前記得られた調製物は、損傷のない油体を含んでおり、純度は、実験室規模の手順によって得た調製物と同等である。

種の粉碎 全量が 10 ~ 15 キログラムの乾燥カノラ種 (Brassica napus cv Westar)、ヒマワリ (Helianthus annuus) またはトウモロコシ (Zeamays) を、コロイドミル (Colloid Mill, MZ-130-(Fryma), 容量: 500 kg/hr) に、そのホッパーを通して注ぎ入れた。前記コロイドミルには、MZ-120 交差歯形ロータ/固定子粉碎セットと、上部注入ホッパーとが、装備されていた。ほぼ 50 ~ 75 l の水を、外部に接続したホースを通して、混合する前に、注入した。ミルの運転は、18 および 30 で 100 ミクロン未満の粒径にするために選ばれた 1 R にギャップを設定して、行った。このような種の粉碎に続いて、得られた種スラリーに水道水を添加して、最終容積を 90 リットルにした。

固形分の除去 得られたスラリーを、傾斜遠心分離機 (最高回転速度が 6000 rpm の Hascoco 200 2 相傾斜遠心分離器) に、この遠心分離器の回転速度を 3500 rpm にまで上げた後に、ポンプで送り込んだ。前記ミルから前記傾斜遠心分離器への移動は、流速 360 L/hr で、1 インチ M2 Wilden 空気駆動二重ダイアフラムポンプを用いて、実施した。15 ~ 20 分間で、約 15 kg の種が傾斜分離された。

油体分離 油体分画の分離は、Sharples 筒型ボウル遠心分離器 (モデル AS-16 (Alpha Laval)) を用いて、実行した。この遠心分離器には、3 相分離ボウルおよび脱着可能な環状ダム連続体が装備されており、その容量は 150 L/hr、環状ダムは 30 mm であった。駆動回転速度は 15000 rpm (13200 x g) であった。Watson-Marlow (モデル 704) 蠕動ポンプを用いて、前記傾斜抽出した液相を、前記筒型ボウル遠心分離器を運転速度にまで上げた後、この遠心分離器にポンプにて注入した。その結果、前記傾斜抽出液相は、水と可溶種蛋白とを含む重い相 (HP) と、油体を含む軽い相 (LP) とに、分離した。前記遠心分離器に一度かけた後に得られた油体分画は、非洗浄済み油体調製物と記す。前記油体分画を、次に、前記遠心分離器にさらに 3 回かけた。各回の遠心分離の間に、濃縮油体は、ほぼ 5 容積の新鮮な水と混合された。これら全部の手順は、室温にて実行した。二度の分離の後で得られた調製物は、全て、洗浄済み油体調製物を記す。3 度の洗浄によって混入可溶蛋白質のほとんどが除去され、SDS ゲル電気泳動法により得られた油体蛋白プロファイルは、実験室規模の手順により得た油体蛋白のプロファイルと同じ形状であった。

例 3

油体相を洗浄することによる種子蛋白の除去。本例では、カノラ、トウモロコシおよびヒマワリ種子から洗浄された油体分画を回収することを、説明する。異なる洗浄条件を使用することは、その洗浄が油体調製物から大部分の種蛋白を回収することになることを意味する。これらの蛋白には、アレルギーを起こすかもしれない蛋白質が含まれている。合計 10 ~ 15 kg の乾燥カノラ種子 (brassica napus cv Weatar)、トウモロコシ (Zeamays) またはヒマワリ (Helianthus annuus) を、MZ-120 交差型歯状ローター/固定子粉碎セットおよび上部注入ホッパーとを備えたコロイドミル (Colloid Mill, Mz-130 (Fryma)) に、そのホッパーを通して、注入した。約 50 ~ 75 l の水を、粉碎の前に、外部に接続したホースを通して、供給した。粉碎運転は、18 および 30 で 100 ミクロン未満の粒径を得るように選択された 1 R のギャップ設定にて、行った。種の粉碎に続いて、水道水を種のスラリーに添加して 60 ~ 90 リットルの最終容積として、SDS ゲル電気泳動に供する種スラリーの試料を得た。次いで、得られたスラリーを、傾斜遠心機 (Hascoco 200 2 相傾斜遠心分離器、最大運転速度 6,000 rpm) に、この延伸機の操作速度を 3,500 rpm まで高めた後に、ポンプにて注入した。ミルからの傾斜遠心機への移動は、1 インチ M2 Wilden 空気駆動二重ダイアフラムポンプを用いて、実施した。15 ~ 20 分間で、約 15 kg の種を傾斜抽出した。傾斜抽出した液層から、SDS ゲル電気泳動用のサンプルを得た。油体分画の分離は、Sharples 筒型ボウル遠心分離器 (モデル

A S - 1 6 (Alph Laval)) を用いて、実行した。この遠心分離器には、3相分離ボウルおよび着脱可能な環状ダム連続体が装備されており、その容量は150 L / hr、環状ダムは29 mmであった。駆動回転速度は15000 rpm (13200 × g) であった。Watson-Marlowe (モデル704) ぜん動ポンプを用いて、前記傾斜抽出した液相を、前記筒型ボウル遠心分離器を運転速度にまで上げた後、この遠心分離器にポンプにて注入した。非洗浄済み油体相を得て、これを約5容積の水と混合させた。この手順をさらに合計3回繰り返した。最初の遠心分離の後に得られた油体相を、非洗浄済み油体調製物と記す。全ての他の調製物は、洗浄済み油体調製物と記す。SDSゲル電気泳動による分析のための試料を、最初の分離後と、第4の分離後に得た。

4回の洗浄を終了して直ぐに、0.9 mlの油体調製物試料を、0.1 mlの1 M Na₂CO₃で均質化し、次いで、攪拌しながら室温に30分間放置した。次に、得られた洗浄済み油体分画を、遠心分離の後に水で一回洗浄して、回収し、SDSゲル電気泳動法用に用意した。

全ての試料は、SDS試料緩衝液に溶解し、この試料をSDSゲル電気泳動により分析した。その結果を図2に示した。

例4

水分保持特性に対する油体相の洗浄効果。洗浄済み油体調製物と、非洗浄済み油体相を、例2におけるように、菜種から調製した。上記非洗浄油体相と上記洗浄済み油体調製物との水分保持能力の違いを測定するために、30 mlの両方の油体調製物をvortexを用いて完全に混合した。得られた各調製物を、2時間、40、60 または80 の水浴中で、保持し、得られた試料を、1500 × gで、20分間遠心分離した(非希釈試料)。他の試料セットを、15 gの洗浄または非洗浄の油体調製物を15 mlの水に混合することにより、調製した。得られた試料をvortexで混合し、次に、40、60 または80 で、2時間保持し、試料中に存在していた水分量を1500 × gで、20分間遠心分離した後に測定した(希釈試料)。蒸発が原因の質量損を80 および60 で測定した。

80 では、油体を含む上記非希釈調製物は、蒸発により大量の水分を喪失した。非洗浄済み油体調製物では、その質量の26%が喪失したのに対し、洗浄調製物では16%の喪失であった。上記非洗浄調製物は、遠心分離すると、2.5 mlの水相を放出するのに対し、洗浄済み油体では同じ相が維持される。両方の希釈調製物は水を吸着していた。油体の容積は、両方の場合で、18.5 ± 1 mlまで増加した。

60 では、上記非希釈調製物は、蒸発により、ほぼ10%の水分を喪失した。遠心分離により、上記洗浄調製物は約0.5 mlの水相を放出したのに対し、上記洗浄済み油体調製物は、同じ相にとどまった。両方の希釈調製物は水を吸着していた。60 で、油体の容積は、両方の場合で、18 ± 1 mlにまで増加した。

40 では、上記希釈試料は、両方とも、ほぼ2 mlの水相を放出した。上記両方の希釈試料を比較した場合、60 または80 では、非希釈調製物が約3 mlの水を吸着していた。しかしながら、上記洗浄調製物は、40 で8 mlの水分を吸着していた。

これらに例により示されたことは、60 または80 に加熱された洗浄済み油体調製物では、非洗浄調製物の場合より、油体調製物に水がより強固に結合していることである。この洗浄済み油体調製物を冷やすと、非洗浄エマルジョンよりもさらに安定になる。40 に加熱すると、洗浄済み油体調製物は、相分離を引き起こすことなく、外因的に大量の添加水を吸収可能であった。

例5

洗浄済み油体の吸油特性に関する効果。洗浄済み油体調製物と洗浄されていない段階の油体とを例2と同様のナタネから調製した。洗浄されていない段階の油体と洗浄済み油体調製物との間の油吸収量の相違を決定するために、2グラムの油体を50 mlの試験管内に入れられた精製、漂白、脱臭された12 mlのキャノーラ油中に分散した。その内容物を30分のあいだで5分毎に30秒間攪拌した。その後、上記試験管を25分間、4,400 rpmで遠心分離にかけた。自由油を静かに注ぎ、吸収油の百分率を重量差によって決

めた。3つの洗浄済み油体調製物をテストした。

上記洗浄されていない油体の油吸収量は3回のバッチ間で重要にも18.7%から28%までの範囲で変化することが判明した。洗浄済み油体は再現可能な $32 \pm 1\%$ の油吸収量を有していた。このように、洗浄済み油体調製物は、(1)大量の油を吸収し、(2)その吸収が再現可能で起こる点で優れていることは判明した。

例6

洗浄済み油体調製物を含むマヨネーズ様エマルジョンの調製。洗浄済み油体調製物を例2と同様にナタネから調製し、家庭用の電気ミキサを用いて次のような成分と混合することによって、マヨネーズ様エマルジョンを調製した。

ヒマワリ油	78グラム
卵黄	8グラム
酢	9グラム
塩	0.5グラム
洗浄済み油体	5グラム

10

マヨネーズ様テクスチャーを備えた生成物が得られた。マヨネーズ様生成物は、4で少なくとも一日間安定であった。

結果として得られたエマルジョンは展開し易く、なめらかで、マスタードよりもざらつき感が少ないマスタード様生成物である。

例7

無コレステロールのマヨネーズ様エマルジョンの調製。洗浄済み油体調製物を例2と同様にナタネから調製し、マヨネーズ様エマルジョンを次の成分と混合することによって得た。

20

ヒマワリ油	200グラム
洗浄済み油体	100グラム
酢	30ml

マヨネーズ様テクスチャーを備えた生成物が得られた。上記マヨネーズは市販のマヨネーズに共通する成分である卵黄なしで調製した。洗浄済み油体を用いて調製された生成物はコレステロールを含まない。上記マヨネーズは、遠心分離を用いて安定性を評価した際に、市販のマヨネーズと同様の安定性を有していることが判明した。

30

例8

洗浄済み油体調製物を含むピネグレット様エマルジョンの調製。洗浄済み油体調製物を例2と同様にナタネから調製し、ピネグレット様エマルジョンと次の成分とを手で混合することによって調製した。

ヒマワリ油	17.5グラム
マスタード	0.4グラム
酢	0.5グラム
洗浄済み油体	7.7グラム

40

ピネグレット様テクスチャーを備えた生成物が得られた。ピネグレット様生成物は4で少なくとも数日間安定であった。

例9

マスタード様生成物の調製。洗浄済み油体調製物を例2と略同様にナタネから得た。次の成分を混合してマスタード様生成物を得た。

マスタード	70グラム
洗浄済み油体	30グラム

結果として得られたエマルジョンは展開し易く、なめらかで、マスタードよりざらつき感が少ないマスタード様生成物である。

50

例 1 0

ベシャメル様ソースの調製。洗浄済み油体調製物を例 2 と略同様に得た。洗浄済み油体調製物を中程度の熱で加熱し、同量の小麦粉を加え、加熱された洗浄済み油体調製物と混合した。手で攪拌している間、この混合物にミルクを徐々に添加した。

小麦粉	50グラム
洗浄済み油体	50グラム
ミルク	100ml~1L

ベシャメル様ソースが得られた。上記ソースの濃度は添加されるミルクの量に依存してもよい。また、香料添加物を必要に応じて添加してもよい。上記生成物中における水素化脂肪酸が存在しないことは生成物に家庭用マーガリンから調製したソース以上の利点を与える。

10

例 1 1

魚の餌にコーティングするための医薬品エマルジョンの調製。オレオシンに遺伝子融合した鯉の成長ホルモン(cGH)が油体を標的とするように発現したトランスジェニック植物*B.napus*から調製した洗浄済み油体調製物を次のようにして得た。22アミノ酸シグナル配列を欠く上記成長ホルモン(cGH)のコード領域を含むDNA断片を、2つのcGHの特定プライマと組み合わせたポリメラーゼ連鎖反応を用いて共通の鯉(*Cyprinus carpio*)成長ホルモンcDNA(Koren et al., 1989, Gene 67:309-315)を含むプラスミドから増幅した。増幅されたcGHフラグメントを正しいリーディングフレームおよび3'において親プラスミドとしてpOThromb(van Rooijen, 1993, PhD Thesis, University of Calgary)を用い、また当業者に周知のクローニング戦略を用いてシロイヌナズナ(*A. rabidopsis thaliana*)オレオシンと融合させた。pOThrombでは、トロンピン切断部位を3'からオレオシンをコード化する配列まで改良した。オレオシン-CGH融合遺伝子をバイナリベクターpCGN1559(MacBride and Summerfelt, 1990, Plant Mol. Biol. 14:269-276)に導入し、結果として生ずる構築物を*A. tumefaciens*の形質転換に用いた。*B.napus* cv Wester幼植物の形質転換を行うためにアグロバクテリウム株を用いた。トランスジェニック植物の種子を得て、トランスジェニック種子から例1の概要に従って油体を単離した。

20

次に、上記油体を注射器内に吸い上げ、魚の餌1グラムあたり約25マイクログラムの油体タンパク質を用いて魚の餌に向けて噴霧した。油体でコーティングされた魚の餌を、その後一晩放置して乾燥させた。50mgの魚の餌をその後10mlの水と混合し、0分、30分、45分または60分インキュベートした。その後、餌を集め、0.2mlの50mM Tris-Cl(pH 7.5)中に再度、懸濁させ、2.5%のSDS中で沸騰させたSDSゲルを用いた電気泳動による分析のために試料調製した。魚の餌上の油体の存在は、ウェスタンブロット法およびcGHに対するモノクローナル抗体を用いて評価した。ウェスタンブロット法では、各レーンで観察される単一バンドの信号の強度により判断され、cGHを含む上記油体は水中で油体をインキュベートした場合の魚の餌に対して強く結合したままであった。水中で30分、45分または60分の間インキュベートした魚の餌は、水中でインキュベートしなかった魚の餌(対照区)とほぼ同量のcGHを含むことを示した。

30

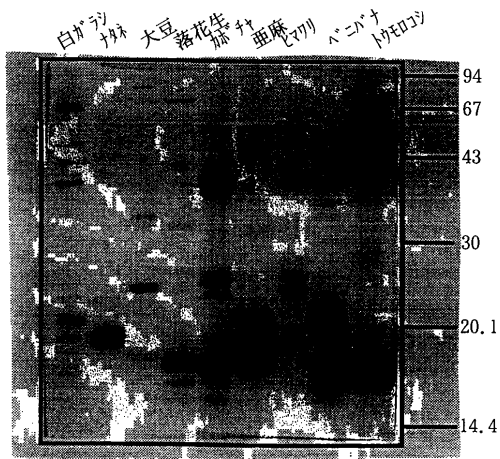
40

この例ではエマルジョンに特定の所望特性を分け与えるトランスジェニック植物の多様性が調製され得ることを示す。さらに、この例はエマルジョンがコーティングまたはフィルムとして用いられ得る洗浄済み油体調製物から調製されることを示す。最後に、この例は洗浄済み油体調製物を医薬品組成物を配合するのに用いることが可能であることを示している。

本発明を説明するために、いくつかの好ましい実施形態を記述してきたが、本発明の請求の範囲内にある他の用途は当業者にとって容易に理解されよう。

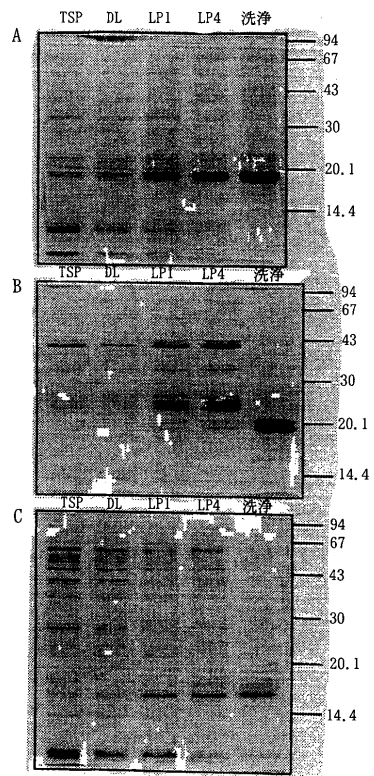
【 図 1 】

FIGURE 1



【 図 2 】

FIGURE 2



フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		
A 2 3 L	1/39	(2006.01)	A 2 3 L	1/39	
A 6 1 K	8/00	(2006.01)	A 6 1 K	8/00	
A 6 1 K	8/06	(2006.01)	A 6 1 K	8/06	
A 6 1 K	8/18	(2006.01)	A 6 1 K	8/18	
A 6 1 K	8/96	(2006.01)	A 6 1 K	8/96	
A 6 1 K	9/107	(2006.01)	A 6 1 K	9/107	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/44	(2006.01)	A 6 1 K	47/44	
A 6 1 K	49/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/00	A
A 6 1 Q	1/00	(2006.01)	A 6 1 Q	1/00	
A 6 1 Q	1/04	(2006.01)	A 6 1 Q	1/04	
A 6 1 Q	1/08	(2006.01)	A 6 1 Q	1/08	
A 6 1 Q	1/10	(2006.01)	A 6 1 Q	1/10	
A 6 1 Q	5/00	(2006.01)	A 6 1 Q	5/00	
A 6 1 Q	11/00	(2006.01)	A 6 1 Q	11/00	
A 6 1 Q	13/00	(2006.01)	A 6 1 Q	13/00	
A 6 1 Q	17/00	(2006.01)	A 6 1 Q	17/00	
B 0 1 F	17/00	(2006.01)	B 0 1 F	17/00	
C 1 1 B	1/00	(2006.01)	C 1 1 B	1/00	
C 1 1 B	1/04	(2006.01)	C 1 1 B	1/04	
C 1 1 B	3/00	(2006.01)	C 1 1 B	3/00	
C 1 1 B	3/16	(2006.01)	C 1 1 B	3/16	
C 1 1 B	5/00	(2006.01)	C 1 1 B	5/00	

- (31)優先権主張番号 60/075,863
 (32)優先日 平成10年2月25日(1998.2.25)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/075,864
 (32)優先日 平成10年2月25日(1998.2.25)
 (33)優先権主張国 米国(US)

- (72)発明者 ファン ローエイエン ヘイス
 カナダ国 アルバータ ティー2エル 1ティー1 カルガリー ベアーズボウ ドライヴ ノース
 ウェスト 3223
 (72)発明者 ブース ジョセフ
 カナダ国 アルバータ ティー2イー 0エル9 カルガリー シックスス アヴェニュー ノース
 ウェスト 332 ナンバー 302
 (72)発明者 ゴル ジャニス
 カナダ国 アルバータ ティー3ピー 1ゼット6 カルガリー フォーティセヴンス アヴェニ
 ュー ノース ウェスト 8323
 (72)発明者 モロニー モーリス
 カナダ国 アルバータ ティー3エイ 5エヌ5 カルガリー エッジブルック コーヴ ノース
 ウェスト 34
 (72)発明者 マーマウド ソヘイル セイド
 カナダ国 アルバータ ティー3ピー 2ヴィー3 カルガリー ジャクソン プレイス ノース
 ウェスト 203

審査官 近藤 政克

- (56)参考文献 特表平07-507199(JP,A)
特表平07-505525(JP,A)
特開平08-040877(JP,A)
特開平07-300411(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C11C 3/00
A23D 7/02
A23K 1/16
A23L 1/035
A23L 1/24
A23L 1/39
A61K 8/00
A61K 8/06
A61K 8/18
A61K 8/96
A61K 9/107
A61K 45/00
A61K 47/44
A61K 49/00
A61Q 1/00
A61Q 1/04
A61Q 1/08
A61Q 1/10
A61Q 5/00
A61Q 11/00
A61Q 13/00
A61Q 17/04
B01F 17/00
C11B 1/00
C11B 1/04
C11B 3/00
C11B 3/16
C11B 5/00