

α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷具有味質良好之甘味，另外，具有滲透壓調節性、保濕性、賦予光澤性、防止他種糖結晶性及防止澱粉老化性等之各性質，另外，因為兼具抗齲齒性、比非得氏菌（*Lactobacillus bifidus*）增殖促進性及礦物質吸收促進性等之機能，所以期待於之飲食品、嗜好物、飼料、餌、化粧品、醫藥部外用品及醫藥品等，另外，生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物之用途。然而，非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷係依據其本身，關於含其之糖質亦吸濕性大，吸收環境中的水份，容易結塊、潮解及容易失去流動性等，有安定性上的問題。因此，目前的狀況雖是期待著各種的有用性，但是非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷於各領域之應用，至目前為止之狀況，仍是沒有進展。

【發明內容】

發明所欲解決之課題

本發明係以提供吸濕性低及難以失去流動性之安定的結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，以及此等之製造方法與用途為目的。

課題之解決手段

本發明者等以確立吸濕性低，難以引起結塊或潮解以及難以失去流動性之保存安定性優異之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷為目的，努力研究中，以上述之酵素

法得到 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷的結晶（以下，稱為「結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷」），調查其物理化學上性質，意外地，該結晶的融點為 119°C 至 123°C ，發現與依據 R.W. Bassily 等，於非專利文獻 2 所揭示之結晶幾乎完全不同。該結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷係由含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷溶液所晶析分離出，或將非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，於水份存在下，轉換而可得到結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之嶄新的結晶。該結晶係以 $\text{CuK}\alpha$ 線為 X 光之粉末 X 光折射法分析時，至少於折射角（ 2θ ） 13.4° 、 17.4° 、 19.7° 及 22.3° 上，具有吸收峰之結晶。另外，該結晶，以差示掃描熱量計分析時，於約 118°C 至約 138°C 之範圍，具有吸熱吸收峰之結晶。另外，該結晶以卡爾－費歇法分析其水份含量時，檢出作為結晶之鍵結水，相當於含有 1 個結晶水之水份，另外，以 KBr 錠劑法測定紅外線吸收光譜時，顯示如圖 1 所示之光譜之結晶。

敘述本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之製造方法時，作為原料所使用之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，不論其來源，即使如有機合成法、醱酵法及酵素法等所製造者，以及由微生物及動植物等之天然物之萃取法所製造者均可。一般上，由安全性或經濟之觀點而言，以酵素法所製造者為宜，例如專利文獻 1 所記載之作為基質之 β -D-葡萄糖-1-磷酸（糖供應物）及 D-半乳糖（糖受體），使海藻糖磷酸酵素作用所得之 α -D-葡萄糖基 α -D-半

(4)

乳糖苷係可適合地使用。

本發明即使使用 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷作為原料，因為非關於 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷本身之製造方法，所以雖然省略相關的製造方法的詳細內容，但以酵素法敘述其概要，如以下所述。

製造 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷所使用之海藻糖磷酸酵素係只要具有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷生成能力之海藻糖磷酸酵素即可，例如專利文獻 1 所揭示之來自屬於 *Thermoanaerobium* 屬之微生物之 *Thermoanaerobium brockii*(ATCC 35047)之海藻糖磷酸酵素，為具有高耐熱性之酵素，因為可於較高溫度下進行酵素反應，所以可有效率地實施酵素反應，並具有避免微生物污染之優點。上述之專利文獻所揭示之海藻糖磷酸酵素係具有下述所示之理化性質之酵素。

(1) 作用

(a) 於無機磷酸存在下，分解海藻糖而生成 D-葡萄糖及 β -D-葡萄糖-1-磷酸。

(b) 由 β -D-葡萄糖-1-磷酸及 D-葡萄糖生成海藻糖及無機磷酸，進而以 β -D-葡萄糖-1-磷酸為糖供應物，催化葡萄糖基移轉至其他糖質。

(2) 分子量

以 SDS-凝膠電氣泳動法，為 $88,000 \pm 5,000$ Da (道耳吞，Dalton)。

(3) 等電點 (PI)

(5)

含有兩性電解質 (Ampholine) 之電氣泳動法， 5.4 ± 0.5 。

(4) 最適合之溫度

於 pH7.0 之 30 分鐘反應中，最適合之溫度為 70°C 附近。

(5) 最適合之酸鹼度

於 60°C 之 30 分鐘反應中，最適合之酸鹼度為 pH7.0 至 pH7.5 附近。

(6) 溫度安定性

於 pH7.0，保持 1 小時之條件下，於 60°C 附近為安定的。

(7) 酸鹼度安定性

於 4°C ，保持 24 小時之條件下，酸鹼度約為 6.0 至 9.0 係安定的。

(8) 促進活性及安定化

本酵素活性係以 1mM 之 dithiothreitol (DTT) 所促進的。

(9) 阻礙

本酵素活性為 1mM 之 Cu^{++} 、 Pb^{++} 、 Zn^{++} 、 Hg^{++} 、 Mg^{++} 或 Mn^{++} 所阻礙。

使用海藻糖磷酸酵素，製造 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之酵素反應中，通常以 β -D-葡萄糖-1-磷酸為糖供應物，另外，以 D-半乳糖為糖受體，於其中使海藻糖磷酸酵素作用，轉移葡萄糖基於 D-半乳糖而生成 α -D-葡萄糖

(6)

基 α -D-半乳糖苷。作為糖供應物之 β -D-葡萄糖-1-磷酸，可直接使用市售品，另外，於無機質之磷酸及/或其鹽之存在下，使海藻糖磷酸酵素、麥芽糖磷酸酵素、蔗糖磷酸酵素及纖維二糖磷酸酵素等之磷酸酵素，作用於作為其基質之糖質，亦可生成。 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之生成率，依酵素反應所使用之基質之種類、濃度及反應條件等而異，舉一例如，於無機磷酸存在下，使用 10% (w/w) 之海藻糖及 5% (w/w) 之 D-半乳糖為基質時之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之生成物為相當原料固形物之 30% (w/w) 程度。

另外，為提升所得反應液中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷含量，使用微生物及酵素等之 D-葡萄糖分解除去法或為提升所生成之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之純度之酵母醱酵法，另外，依據依據鹼性處理法、膜過濾法及管柱色層分析法等，可提升 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之純度。另外，因應需要，依據常法，經過過濾、脫色及脫鹽等之精製步驟後，濃縮、乾燥，亦可得到糖漿狀或粉末狀之含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質。如此所得之含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質係通常含有相對於固形物之 5 至 99.9% (w/w) 之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。

本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷係將上述之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，以後述之適當溶媒溶解而成含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液，具體上

，使其成過飽和溶液，由該過飽和溶液，晶析分離出結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。此時所使用之含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液之相當於固形成份之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之純度、固形成份濃度、溶媒之種類及溫度等，只要可得到 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之過飽和溶液，並無特別的限制。本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之製造方法中所使用之含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液之型態係只要生成 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶之型態即可，亦即可為溶解狀態，亦可部份混合不溶解物之懸濁狀。另外，使含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之粉末吸濕而使粉末表面成為潮解之溶液狀亦可。作為溶解 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶媒，通常，水係適合使用，但因應需要，亦可任意使用甲醇、乙醇、丙酮及吡啶等之具有與水相溶性之溶媒，或是使用其中 1 種或 2 種以上之有機溶媒與水之任意組合。本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之製造方法係例如將相當於固形成份之純度為 60% (w/w) 以上，濃度為 65 至 90% (w/w) 之含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液，放入助晶罐中，因應需要，於 0.1 至 20% (w/w) 之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷種晶之共存下，於 95℃ 之溫度下，以 10 至 90℃ 之範圍為宜，攪拌緩慢冷卻，製作含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之 maskit。另外，採用減壓濃縮以晶析分離出結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之連續晶析法亦可有效地實施。

由 maskit 製造結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之含蜜結晶之方法，採取例如分蜜法、塊狀粉碎法、流動造粒法及噴霧乾燥法等已知之方法即可。

分蜜法時，通常將 maskit 放入籃型離心分離機，分離出結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷及蜜（母液），必要時，於該結晶上，噴霧少量的冷水洗淨，以除去不純物，可製造純度更高之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。噴霧乾燥法時，通常將濃度為 70 至 85%（w/w），晶析率為 5 至 60% 左右之 maskit，例如以高壓幫浦由噴嘴噴霧，或以旋轉圓盤噴霧，於不溶解結晶粉末之溫度，例如以 60 至 100℃ 之熱風乾燥，其次，以約 20 至 60℃ 之暖風，約 1 至約 48 小時之熟成，而可容易地製造低吸濕性之含蜜結晶。另外，塊狀粉碎法時，通常，將水份為 5 至 20%（w/w），晶析率為 10 至 60% 左右之 maskit，靜置約 0.1 至約 7 天，使全體晶析分離結塊成塊狀，將其以粉碎或切削等之方法粉末化後乾燥，而可容易地製造低吸濕性之含蜜結晶。

本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之其他製造方法係由非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，製造結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之方法。該方法係於水份的存在下，於控制溫度於約 20 至約 60℃ 之環境下，將含有非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之粉末，於約 0.1 至約 7 日，靜置或攪拌，使非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷轉換成結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半

乳糖苷，將其直接或粉碎或切削等再粉末化乾燥而可容易地製造低吸濕性之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末或含其之糖質。另外，於該方法中，所謂水份的存在下，只要於將非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷轉換成 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷含水結晶時，可供應所需水份之環境即可，並無特別的限制，通常係指控制相對濕度為約 50 至約 70% 之環境。

如此所得之本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質係通常含有結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷為相對於固形物之 50% (w/w) 以上，以 60 至 99.99% (w/w) 為宜。

本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質係固體狀，粉末狀態，吸濕性顯著為低，容易操作，安定且具有味質良好的甘味，具有滲透壓調節性、保濕性、賦予光澤性、防止他種糖結晶性及防止澱粉老化性等之各性質，另外，因為兼具抗齲齒性、比非得氏菌 (*Lactobacillus bifidus*) 增殖促進性及礦物質促進吸收性等之機能，所以有效地利用於廣泛的飲食品、嗜好物、飼料、餌、化粧品、醫藥部外用品及醫藥品等，另外，生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，可直接作為甘味料之調味料使用。必要時，與一種或二種以上之例如粉飴、葡萄糖、麥芽糖、海藻糖、蔗

糖、異性化糖、蜂蜜、楓糖、甘露糖醇、麥芽糖醇、二氫化查爾酮、甜菊糖(stevioside)、 α -葡萄糖基甜菊糖、rebaudioside、甘草素(Glycyrrhizin)、阿斯巴甜(Aspartame)、蔗糖、醋磺內酯鉀(acesulfame K)、糖精(Saccharine)、苷胺酸及丙胺酸等之其他甘味劑，以適當的比率混合而可使用。另外，必要時，與一種或二種以上之糊精、澱粉及乳糖等之增量劑，以適當的比率混合而可使用。

另外，本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質之呈味，與具有酸味、鹹味、澀味、甘味及苦味等之其他呈味之各種物質非常調和，耐酸性及耐熱性亦大，所以可有效地利用於賦予飲食物一般的甘味，呈味改良，以及品質改良等。作為上述之飲食物，例如醬油、粉末醬油、味噌、粉末味噌、諸味、醬、灑飯料、美乃滋、沙拉醬、醋、三杯醋、粉末壽司醋、中華調味素、天婦羅露、麵露、醬汁、蕃茄醬、澤庵醃汁、白菜醃汁、烤肉醬、咖哩塊、奶油白湯調味料、湯調味料、高湯料、綜合調味料、味醃、新味醃、餐桌用糖及咖啡用糖等各種調味料。

另外，本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質係可有效地使用於如仙貝、仙貝粒、米香、麻糬、日式饅頭、外郎、紅豆餡、羊羹、水羊羹、錦玉、果凍、長崎蛋糕及飴玉等之各種和式點心，麵包、奶油餅乾、硬式餅乾、軟式餅乾、派、布丁、奶油餡、布丁餡、

泡麩、威化餅乾、海棉蛋糕、甜甜圈、巧克力、口香糖、牛奶糖及糖果等之西式點心、冰淇淋及冰沙（Sherbet）等之冰果、糖漬水果及冰蜜等之糖漿類、花醬、花生醬、水果醬及抹醬等之醬類、果醬、橘子醬、糖漿漬及糖衣果等之果實及蔬菜之加工食品類、福神漬、白蘿蔔麴漬、千枚漬及圓蔥漬等之醃菜類、火腿及熱狗等之獸肉製品類、魚肉熱狗、魚板、竹輪、天婦羅等之魚肉製品、海膽、烏賊之鹽辛漬、醋昆布、魷魚絲及河豚味醃乾等之各種珍味類、海苔、山菜、魷魚、小魚及貝類所製造之佃煮類、煮豆類、馬鈴薯沙拉、昆布捲等之即食菜、乳製品、魚肉、獸肉、果實及蔬菜之罐裝類、清酒、合成酒、利口酒（Liqueur）及洋酒等之酒類、紅茶、咖啡、可可、果汁、碳酸飲料、乳酸飲料及乳酸菌飲料等清涼飲料水、布丁粉、熱餅粉、速食紅豆湯圓及速食湯等之速食食品，另外，離乳食、治療飲食、口服液、米飯、麵類及冷凍食品等之各種飲食品之賦予甘味，呈味改良以及物性改良等。

另外，本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，因為具有優異的保濕性，所以作為溶液系、可溶化系、乳化系、粉末分散系、水—油二層系、水—粉體二層系及水—油—粉末三層系等之任何劑型之化粧品或醫藥部外用品之原料，可有效地利用。另外，這些化粧品或醫藥部外用品之用途亦隨意的，例如以化粧水、化粧乳液、乳液、乳霜、軟膏、煉製劑、懸濁劑、乳劑、膏、腮紅、固型、半固型、粉末、固型粉末、果凍、凝膠、氣

凝膠、錠劑、面膜霜及面膜等之型態，可使用於基礎化粧品、洗淨用化粧品、化粧水、化粧乳液、乳液、面膜霜、粉底、白粉撲粉、唇膏、眉目頰化粧品、香水、浴用化粧品、浴用劑、口腔化粧品、防曬及防曬化粧品用品、彩粧化粧品、臉部化粧品、化粧油、芳香化粧品、身體用化粧品、頭髮用化粧品、洗髮用化粧品、肥皂、藥用肥皂、洗潔劑、牙膏、口中清涼劑、腋臭防止劑、爽身粉、育毛及養毛劑、刮鬍子用劑及防曬劑，進而，可作為炎症、感染症、過敏、異位性皮膚炎、潰瘍及腫瘍等之各種疾病之預防及治療劑使用。具體上，可作為洗臉乳霜、洗臉泡沫、磨砂乳霜、磨砂乳、磨砂乳液、磨砂油、按摩乳霜、滋養面霜、保濕霜、保濕乳液、乳液、化粧水、粉底液、粉餅、唇膏、護唇膏、面膜霜、剃毛後乳霜、乳液、剃毛後乳液、防曬乳霜、防曬油、沐浴劑、洗髮精、潤絲精、護髮乳、養毛料、育毛料、腮紅、護髮霜、護髮液、整髮乳液、噴霧定型液、泡沫整髮劑、染髮劑、頭髮脫色劑、彩色潤絲劑、彩色噴髮劑、燙髮液、粉餅、蜜粉、眼影、護手霜、脫毛乳霜、古龍水、體香浴用劑、沐浴油、口中清涼劑、口中香劑、漱口藥劑、漱口水、牙膏、外傷治療用軟膏、抗菌乳霜、類固醇軟膏及廚房用洗劑等使用。

另外，因為本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質為安定的糖質，所以通常使用於化粧品或醫藥部外用品，與任何 1 種或 2 種以上之物質選自糖質、具有促進血液循環作用之物質、具有抗炎症作用之物質

、具有抗菌作用之物質、具有保濕作用之物質、具有美白作用之物質、具有抗氧化作用之物質、具有吸收感光元素及紫外線作用之物質、具有散亂紫外線作用之物質及具有乳化作用之物質，可以任意組合及/或配合比率使用。另外，因應需要，例如化粧品原料基準、化粧品原料外成份基準、化粧品種別配合規格、醫藥部外用品原料規格、日本藥局方、日本藥局方外醫藥品規格、醫藥品添加物規格、日本藥局方外生藥規格及食品添加物公定書等所收載之成份或「最新化粧品科學 改訂增補Ⅱ」、株式會社藥事日報社發行（平成 4 年 7 月 10 日發行）或「最新化粧品學」、株式會社南山堂發行（平成 14 年 1 月 18 日發行）等所記載之具有上述作用之成份，及/或具有上述作用成份以外之醫藥品、醫藥部外用品及化粧品等通常所使用之物質或依其配合處方亦可隨意地適當地使用 1 種或 2 種以上選自例如醫藥品、賦形劑、基劑、保濕劑、冷感劑、收斂劑、分散劑、可溶化劑、溶劑、鹼性劑、粘度調節劑、增粘劑、起泡劑、消泡劑、著香劑、著色劑、安定劑、防腐劑、殺菌劑、褪色防止劑、氧化防止劑、毛髮處理劑、潤濕劑、毛髮保護劑、帶電防止劑、助劑、溶劑、溶解劑、溶解補助劑、流動化劑、懸濁劑、緩衝劑、甘味劑、清涼化劑、矯味劑、結合劑、吸附劑、噴射劑、被覆劑、齧嚼劑、充填劑、軟化劑、調整劑、金屬封鎖劑、褪色防止劑、油脂、油溶性高分子、無機及有機顏料、以二氧化矽或含氟化合物所處理之無機及有機顏料、有機染料等之色

劑、lumin 等之感光色素、蠟、抑汗劑、消臭劑、抗皺紋劑、皮脂抑制劑、抗脂漏劑、角質剝離劑、鎮痛劑及抗胞漿素劑等之成份。

其他，本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質可使用於提升家畜、家禽及魚等之飼育動物用之飼料及餌等之嗜好性為目的。其他，可有效地使用於以固狀、膏狀及液體狀等之型態，作為香煙、牙膏、唇膏、護唇膏、內服液、錠劑、糖錠、肝油錠、口中清涼劑、口中香劑、漱口藥水等之嗜好物及醫藥品等之甘味劑、或呈味改良劑及矯味劑，進而，品質改良劑。

另外，因為 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷係具有 α -D-葡萄糖基之糖質，同樣地具有 α -D-葡萄糖基之乳糖二糖(lactobiose)、蜜二糖或棉子糖同樣地，期待例如制癌、自然殺傷細胞之活性化、異位性皮膚炎之改善、免疫賦活、病原性大腸菌 O-157 佛羅毒素(Verotoxin)之中和、肝性腦症治療、牛精液之冷凍保存安定化、移殖用臟器輸送時之安定化等之作用效果及於此等領域之用途，使用本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質於此等目的時，亦可有效地實施。

另外，本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，作為品質改良劑及安定劑，亦可有效地適用於容易失去有效成份之活性等之各種生理活性物質或含其之健康食品、化粧品、醫藥部外用品及醫藥品等。例如干擾素 - α 、干擾素 - β 、干擾素 - γ 、腫瘤壞死因子 -

α (Tumor necrosis factor - α)、腫瘤壞死因子 - β 、巨噬細胞遷移抑制因子 (Macrophage migration inhibitory factor)、集落刺激因子 (colony-stimulating factor, CSF)、Transfer factor、介白素-1 (Interleukin-1)、介白素-2、介白素-6、介白素-12 及介白素-15 等之含細胞激素 (cytokine) 液、胰島素、成長素 (growth hormone)、泌乳激素 (prolactin)、血球生成素 (Erythropoietin)、組織血漿蛋白原活化劑 (tissue plasminogen activator)、卵泡刺激素 (Follicle stimulating hormone) 及胎盤素等之含激素液、卡介苗 (BCG)、日本腦炎疫苗、麻疹疫苗、小兒麻痺疫苗、牛痘、破傷風類毒素 (Tetanus toxoid)、毒蛇血清及人類免疫球蛋白等之含有生物製劑液、青黴素、紅黴素 (erythromycin)、氯黴素 (Chloramphenicol)、四環黴素 (tetracycline)、鏈黴素 (Streptomycin) 及硫酸康絲菌素 (kanamycin sulfate) 等之含抗生素液、硫胺 (thiamine)、核黃素、L-抗壞血酸、肝油、類胡蘿蔔素、麥角固醇及生育醇等之含維生素液、脂肪酵素、elastase (彈性蛋白酵素)、血栓溶解酵素 (Urokinase)、蛋白酵素、 β -澱粉酵素、異澱粉酵素、葡萄糖化酵素及乳糖酵素等之含酵素液、藥用人參萃取物、鰲萃取物、綠藻萃取物、蘆薈萃取物及蜂膠 (PROPOLIS) 萃取物等之萃取物、病毒、乳酸菌及酵母等之活菌及蜂王漿等之各種生理活性物質上，適當地配合本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，可容易製造不會失去此等有效成份之活性，為安

定且高品質之健康食品、化粧品、醫藥部外用品或醫藥品等。

本發明中所指之組成物係包含所使用之經口或非經口之飲食物、化粧品、醫藥部外用品、其他的醫藥品、生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

另外，使此等組成物中含有本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質之方法，只要使該製品至完成間之步驟中含有即可，例如可適當地選擇混和、溶解、浸漬、滲透、散佈、塗佈、噴霧、注入及固化等之已知之方法。配合這些各種組成物之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷量，通常係相對於組成物總重之 0.01% (w/w)，以 0.1% (w/w) 以上為宜，以 1 至 99.99% (w/w) 尤佳。

其次，以實驗更具體地說明本發明。

[實驗 1]

〈海藻糖磷酸酵素之生產〉

作為碳來源，取代 0.5%(w/v) 之葡萄糖而使用 0.5%(w/v) 之海藻糖以外，依據「ATCC Catalog of Bacteria and Bacteriophages，第 18 版」(american type culture collection 發行，1992 年)，452 頁至 456 頁所記載之 *Thermoanaerobium brockii* 培養基之調製法，將各 100ml 之所調製之培養基放入 100ml 之耐壓瓶後，接種

Thermoanaerobium brockii (ATCC 35047)，於 60℃ 下，靜置培養 48 小時者作為種培養液。

於 4 支容量 11L 之不銹鋼瓶中，分別約放入 10ml 之與種培養所使用之相同組成之培養基，加熱滅菌，冷卻至 60℃ 後，接種相當於該培養基體積 1% (v/v) 之上述種培養液，於 60℃ 下，靜置培養約 40 小時。

將約 40L 之總培養液離心分離，而得 92g 之培養菌體。將菌體懸濁於 10mM 之磷酸緩衝溶液，超音波粉碎後，離心分離而得菌體粉碎上清液。每 1ml 培養液之海藻糖磷酸酵素活性為 0.3 單位/ml。將該菌體粉碎上清液，以超微過濾膜(UF 膜)濃縮，而得 360ml 之每 ml 約含 30 單位海藻糖磷酸酵素之濃縮酵素液。

另外，海藻糖磷酸酵素活性係如下所述測定之。亦即，作為基質之 2ml 之含有 1.0% (w/v) 之海藻糖之 20mM 磷酸緩衝溶液 (pH7.0) 中，加入 0.2ml 之酵素液，於 60℃ 下，進行反應 30 分鐘後，將 0.5ml 之反應液，於 100℃ 下，加熱 10 分鐘，使反應停止。該反應停止液中，添加 0.5ml 之 D-葡萄糖氧化酵素/過氧化酵素試藥攪拌，於 40℃ 下放置 30 分鐘後，添加 2.5ml 之 5N-鹽酸，攪拌後，測定於 525nm 之吸光度。1 單位之海藻糖磷酸酵素活性係定義為於上述之反應條件下，每 1 分鐘生成 1 μ mol 之 D-葡萄糖之酵素量。

[實驗 2]

〈海藻糖磷酸酵素之精製〉

將 300ml 之實驗 1 所得之濃縮酵素，對於 10mM 之磷酸緩衝溶液（pH7.0），進行 24 小時透析，離心分離除去不溶解物。將該透析液上漬液（380ml），供予使用「DEAE-TOYOPAL 650 凝膠」（TOSOH 株式會社製）之離子交換管柱層析（凝膠量為 380ml）。

使海藻糖磷酸酵素吸附於 DEAE-TOYOPAL 650 凝膠，以食鹽濃度由 0M 上升至 0.5M 之線性梯度（Linear gradient）（食鹽水），使之由管柱溶出。回收以約 0.1M 之食鹽濃度所溶出之酵素活性部份後，將該部份以下述之方法再精製。對於含有 1.5M 之硫酸銨之 10mM 之磷酸緩衝溶液（pH7.0）進行透析，離心分離該透析液，除去不溶解物，其次，進行使用「BUTYL-TOYOPAL 650 凝膠」（TOSOH 株式會社製）之疏水性交換管柱層析（凝膠量為 100ml）。將所吸附之海藻糖磷酸酵素，以硫酸銨濃度由 1.5M 下降至 0.5M 之線性梯度（Linear gradient），使之由管柱溶出，回收酵素活性部份。其次，進行使用「Ultrogel AcA44」（法國、SEPRACOL 社製）之凝膠過濾管柱層析（凝膠量為 300ml），回收由管柱溶出之酵素活性部份。

由以上之精製手段所得之精製酵素標準品之回收率，以海藻糖磷酸酵素活性換算，相對於菌體粉碎上清液約 25%，精製酵素標準品之相對活性係每 mg 蛋白質之 78.2 單位。

將精製酵素標準品，以含有濃度 7.5%(w/v)之聚丙烯醯胺之凝膠，進行電泳，檢查該酵素標準品之純度時，具有單一個蛋白條帶之高純度標準品。

[實驗 3]

〈 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之調製〉

將含有 4.5%(w/w)之海藻糖、2.5%(w/w)之 D-半乳糖及 5mM 之磷酸二氫鈉之溶液，調整為 pH5.0，於其中加入實驗 2 之方法所調製之精製海藻糖磷酸酵素，使相對於每 g 之海藻糖為 17 個單位，於 60℃ 下，使之反應 96 小時。該反應液於 90℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後冷卻。為調查該反應液中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷純度，乾固部份之反應液，溶解於吡啶後，三甲基矽烷基化，供予氣相層析（以下，簡稱為「GC」）。GC 管柱為充填 2% 之二氧化矽 OV-17/ChromzorbW（GL Science 株式會社製）之不銹鋼管柱（3mm ϕ × 2m），運輸氣體為氮氣，流速為 40ml/分，爐溫為 160 至 320℃ 之升溫速度為 7.5℃/分，檢測係使用氫火焰離子化檢測器分析時，該反應液係含有相當固形成份之約 30%（w/w）之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。於反應液中加入濕重相對於固形物重量為 30% 之市售麵包酵母，使用濃度為 1M 之氫氧化鈉水溶液，控制反應液 pH 為 5 至 6，於 27℃ 下，保持 6 小時，提供反應液中之 D-葡萄糖為營養源。之後，將麵包酵母以離心分離除去，所得之上清液，使用濃度為 1M 之

氫氧化鈉水溶液，調整為 pH7.5 後，將依據「應用糖質科學會誌」，第 42 卷之 231 至 236 頁（1995 年）所記載之方法所調製之來自 *Bacillus* sp. T3 之海藻糖酵素，加入相對於 1g 之固形物之 10 單位，於 45℃ 下，反應 24 小時，將溶液中之海藻糖水解成 D-葡萄糖。其次，將所得之反應液，以約 100℃ 加熱，少量分次加入粒狀之氫氧化鈉，維持 pH 為 10 至 11，於約 100℃ 下，保持 1 小時，分解 D-葡萄糖等之還原糖。所得之溶液以鹽酸中和後，依據常法以活性碳脫色及過濾，以 H 型及 OH 型離子交換樹脂脫鹽精製，進而濃縮，而得到相對於固形物之回收率約為 25% 之固形物濃度約為 80% (w/w) 之糖漿。以 GC 法分析時，本糖漿中，含有相當於固形成份之 88.1% (w/w) 之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷、7.5% (w/w) 之甘油、1.0% (w/w) 之海藻糖及 3.4% (w/w) 之其他糖質。將本糖漿撒於玻璃板上，將其放入恆溫器內，於常壓之 40℃ 下放置 2 日，生成如圖 2 之照片所示之柱狀結晶狀物質。將含該結晶狀物質之試料之總量放入玻璃製研鉢，加入 100ml 之 85% (v/v) 之乙醇水溶液，邊粉碎結晶狀物質邊洗淨。將其移於玻璃製過濾器上吸引過濾，於過濾器上所剩餘之結晶狀物質，再以 100ml 之 85% (v/v) 之乙醇水溶液洗淨，吸引過濾。回收過濾器上之結晶狀物質，於 40℃ 下，真空乾燥 16 小時，而得到相對於原料固形物之回收率約 17% 之粉末狀之結晶狀物質。所得到之結晶狀粉末，以 GC 法分析時，含有相對於固形成份之 98.4% (

w/w) 之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。

[實驗 4]

〈粉末 X 光折射分析〉

將實施 3 所得之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之結晶狀粉末作為試料，使用粉末 X 光折射裝置（商品名「GAIGA-Flex」，理學電機株式會社製造），以 CuK α 線為 X 光之粉末 X 光折射法分析時，得到至少於折射角（ 2θ ） 13.4° 、 17.4° 、 19.7° 及 22.3° 上，具有吸收峰之 X 光折射光譜（圖 3）。使用附屬於本 X 光折射裝置之電腦系統「依據 Ruland 法之結晶化度解析程式」，計算該粉末之結晶化度時，約為 72.5%。由這些結果判定本粉末以 CuK α 線為 X 光之粉末 X 光折射法分析時，為至少於折射角（ 2θ ） 13.4° 、 17.4° 、 19.7° 及 22.3° 上，具有吸收峰之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。

[實驗 5]

〈水份測定〉

將實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末作為試料，使用卡爾－費歇法測定水份時，該水份為 5.4%（w/w）。因為結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷含有 1 結晶水時之理論水份值為 5%（w/w），所以結論係實施 3 所得之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷為含 1 個結晶水之結晶。

[實驗 6]

〈融點測定〉

將實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末作為試料，使用融點測定裝置（商品名「MP-21」，大和科學株式會社製造）測定融點時，判定該融點為 119℃ 至 123℃。因為該值與非專利文獻 2 所揭示之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶之融點為 165℃ 至 170℃，明顯地不同，所以可說實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與非專利文獻 2 所揭示之結晶為完全不同者。

[實驗 7]

〈紅外線吸收光譜測定〉

將實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末作為試料，使用紅外線分光光度計（商品名「FTIR-8200」，株式會社島津製作所製造），以 KBr 錠劑法測定時，可得到如圖 1 所示之紅外線吸收光譜。

[實驗 8]

〈差示掃描熱量計（DSC）之分析〉

將 4.4mg 之實施 3 所得之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶粉末放入鋁容器密封，使用差示掃描熱量計（商品名「DSC 2200」，精工 instrument 株式會社製造），進行 DSC（熱學性質）分析。DSC 分析係於 30℃ 至 200℃ 之

(23)

溫度範圍，以每分鐘升溫 10°C 之溫度程式下進行。所得之分析結果如圖 4 所示。本粉末於上述之條件下，進行 DSC 分析時，判定於約 118°C 至約 138°C 之範圍，具有吸熱吸收峰。

[實驗 9]

〈對水之飽和濃度〉

於 10ml 之蒸餾水中，放入過量之實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，於 25°C 或 40°C 下，攪拌 48 小時後，將水溶液中之未溶解物以 $0.45\ \mu\text{m}$ 之過濾器濾過，分別回收濾液（飽和溶液）。將所得之二種飽和溶液之水份量，依據「食品衛生檢查指針」（厚生省監修，（社）日本食品衛生協會出版，1991 年）所記載之乾燥助劑法測定，求出 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之飽和濃度。該結果判定 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷對水之飽和濃度以無水物換算，於 25°C 為 68.9%（w/w），於 40°C 為 71.8%（w/w）。

[實驗 10]

〈結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之吸濕試驗〉

於預先精稱之複數個鋁製秤量罐中，各放入約 0.5g 之實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，分別精稱之，由總重減去秤量罐重量的重量為結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末之試驗開始重量。將放

入結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末之秤量罐，分別放入預先調整濕度為相對濕度 33% 至 90% 之玻璃製乾燥器內，維持所定之濕度，於 25℃ 下，保存 1 至 7 日。吸濕試驗終了後，精秤各秤量罐，計算對於試驗開始重量之重量增加部份，求出吸濕量。另外，吸濕試驗中，肉眼觀察結晶粉末性狀。其結果總結於表 1。

表 1

相對 濕度 (%)	保存 1 日		保存 2 日		保存 3 日		保存 7 日	
	吸濕量 (%)	性狀	吸濕量 (%)	性狀	吸濕量 (%)	性狀	吸濕量 (%)	性狀
90	6.9	部份 潮解	11.8	部份 潮解	19.2	潮解	42.1	潮解
84	3.2	固結	4.4	固結	6.1	固結	11.0	固結
75	0.1	無變化	0.1	無變化	0.1	無變化	0.2	無變化
60	0.1	無變化	0.1	無變化	0.1	無變化	0.2	無變化
53	0.0	無變化	0.0	無變化	0.0	無變化	0.1	無變化
43	0.0	無變化	0.0	無變化	0.0	無變化	0.0	無變化
33	0.0	無變化	0.0	無變化	0.0	無變化	0.0	無變化

由表 1 的結果顯示，結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，雖然於相對濕度為 90% 及 84% 之保存條件下吸濕、潮解或結塊，但是於 75% 以下之保存條件下不吸濕，未發現結晶粉末之性狀改變。該結果與後述實驗 11

之表 2 所表示之非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末之吸濕試驗結果相對比時，明白結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末與非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末相比，為難吸濕之安定結晶粉末。

[實驗 11]

〈非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之吸濕試驗〉

將實施 3 所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末溶解於水成濃度為 30% (w/w) 水溶液後，冷凍乾燥，調製成非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末。所得之非晶質粉末與實驗 10 的方法同樣地，放入複數個鋁秤量罐，分別放入預先調整濕度為相對濕度 43% 至 90% 之玻璃製乾燥器內，維持所定之濕度，於 25℃ 下，保存 1 至 7 日。吸濕試驗終了後，與實驗 10 同樣地，求出吸濕量。另外，肉眼觀察吸濕試驗中各粉末之性狀。另外，對於保存第 7 天之試料，依據實驗 4 所記載之粉末 X 光折射法，確認各粉末之性狀，認為有結晶者，則測定其結晶化度。其結果總結於表 2。

表 2

相對濕度 (%)	保存 1 日		保存 7 日			
	吸濕量 (%)	性狀	吸濕量 (%)	性狀		結晶化度 (%)
		肉眼觀察		肉眼觀察	X 線回析法	
90	13.2	部份潮解	36.2	潮解	—	—
60	3.1	表面濕潤	2.0	固化	含 1 個結晶水之結晶	71
53	3.5	表面濕潤	1.8	固化	含 1 個結晶水之結晶	67
43	4.5	固結	6.3	固化	非晶質	—

由表 2 的結果顯示，非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，與結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末不同，判定於相對濕度為 43% 至 90% 之保存條件下明顯地吸濕、結塊、濕潤、固化或潮解，粉末之性狀經時地變化大。詳細而言，相對濕度為 60% 及 53% 之保存條件下，於保存第 1 天時粉末表面濕潤，保存第 7 天時粉末整體固化。分析固化試料時，非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末轉變為含 1 個結晶水之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之結晶。測定該結晶之融點時，為 119℃ 至 123℃。另外，相對濕度為 43% 時，非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末雖然吸濕而粉末整體結塊，但仍保持非晶質狀態。另外，於本實驗中所認定之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶，因為吸收水份改變成結晶以及該 X 光解析之模式，與實驗 4 所測定之含 1 個結晶水之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶一致，所以可結論為含 1 個結晶水之結晶。

。

由以上結果判定，結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末於相對濕度為 75% 以下之條件下，實質上不吸濕，性狀安定而且容易操作。亦即，結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末與以往之非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末相比較，判定具有優異的耐濕性。

【實施方式】

以下係依據實施例 A 說明本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之製造方法。

實施例

[實施例 A-1]

〈結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末〉

將含有 5.0%(w/w)之海藻糖、2.5%(w/w)之 D-半乳糖及 5mM 之磷酸二氫鈉之溶液，調整為 pH5.0，於其中加入實驗 1 之方法所調製之海藻糖磷酸酵素，使相對於每 g 之海藻糖為 15 個單位，於 60℃ 下，使之反應 72 小時。將所得之反應液於 95℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後，冷卻至溫度 45℃，調整為 pH7.5，於其中加入相對於 1g 之固形物為 10 個單位之來自 *Bacillus* sp. T3 之海藻糖酵素（株式會社林原生物化學研究所製造），於 45℃ 下，反應 24 小時。將所得之反應液於 90℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後，加入濕重相對於固形物重量為 5% 之

市售麵包酵母，使用 1N 之氫氧化鈉溶液，控制反應液之 pH 爲 5 至 6，於 27℃ 下，保持 6 小時，提供反應液中之 D-葡萄糖爲營養源。將麵包酵母以離心分離所除去之上清液，依據常法以活性碳脫色及過濾，以 H 型及 OH 型離子交換樹脂脫鹽精製，進而濃縮，而得到固形物濃度約爲 45 % (w/w) 之糖液。爲提高本糖液中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之含有率，使用鹼金屬型強酸性陽離子交換樹脂 (Rohm and Haas Japan 株式會社製，商品名「XT-1016」，Na 型，交聯度爲 4 %)，以水懸濁充填於 4 支之內徑爲 3 cm 及長度爲 1 m 之附有被套之不銹鋼管柱，相連成直鏈，使樹脂層全長約爲 4 m。管柱內溫度維持於 40℃，加入相對於樹脂爲 5 % (v/v) 之糖液，於其中以 40℃ 之溫水，以 SV0.15 之流速沖提而分液，採取高含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷分液，將其濃縮成濃度約爲 85 % (w/w)，放入助晶機中，加入約 1 % (w/w) 之作爲種晶之本發明之含 1 個結晶水之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，一邊攪拌一邊緩慢冷卻，晶析 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。其次，以籃型離心分離機分蜜，噴霧少量的水洗淨，乾燥而得相對於原料固形物之回收率約爲 10 % 之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末。

本產品係含有約 99 % (w/w) 之相對於原料固形物之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，測定融點時，爲 119℃ 至 123℃。本產品吸濕性低，容易操作，實質上不顯示還原性，安

定，具有味質良好之甘味、適當的粘稠度及保濕性，作為甘味劑、呈味改良劑、安定劑、比非得氏菌增殖促進劑及礦物質吸收促進劑等，有效地利用於廣泛的飲食品、化粧品、醫藥部外用品、醫藥品、生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

[實施例 A-2]

〈結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末〉

將含有各 5.0%(w/w)之海藻糖及 D-半乳糖以及 5mM 之磷酸二氫鈉之溶液，調整為 pH5.0，於其中加入實驗 1 之方法所調製之海藻糖磷酸酵素，使相對於每 g 之海藻糖為 15 個單位，於 60℃ 下，使之反應 72 小時。將所得之反應液於 95℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後，冷卻至溫度 45℃，調整為 pH7.5，於其中加入相對於 1g 之固形物為 10 個單位之來自 *Bacillus* sp. T3 之海藻糖酵素（株式會社林原生物化學研究所製造），於 45℃ 下，反應 24 小時。該反應液中加入氫氧化鈉溶液，保持 pH10 以上之鹼性，以 100℃ 加熱後冷卻，依據常法以活性碳脫色及過濾，以 H 型及 OH 型離子交換樹脂脫鹽精製，進而濃縮，而得到固形物濃度約為 45% (w/w) 之糖液。為提高本糖液中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之含有率，使用實施例 A-1 所記載之鹼金屬型強酸性陽離子交換樹脂，進行管柱分液，採取高含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷分液，將其精製，再濃縮成濃度約為 85% (w/w)，放入助晶

機中，加入約 2% (w/w) 之作為種晶之含 1 個結晶水之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶粉末，緩慢冷卻，而得晶析率約為 10% 左右之 maskit。將本 maskit，由乾燥塔上之噴嘴，以 $150\text{kg}/\text{cm}^2$ 之高壓噴霧。同時，將 80°C 的熱風，由乾燥塔的上部送風，於底部設有運送網輸送帶上捕集，由輸送帶之下方送出 40°C 之暖風，將金屬網輸送帶上所捕集之結晶粉末，緩緩移動至乾燥塔外而取出。將該取出之結晶粉末，充填於熟成塔，送出暖風，使熟成 10 小時，結晶化及乾燥終了後，得到相對於原料固形物之回收率約為 12% 之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末。

本產品係含有約 98% 之相對於原料固形物之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之粉末，測定融點時，為 119°C 至 123°C 。於 DSC 分析時，顯示於約 118°C 至約 138°C 之範圍，具有吸熱吸收峰。另外，本產品吸濕性低，容易操作，無還原性，安定，具有味質良好之甘味、粘稠度及保濕性，作為甘味劑、呈味改良劑、安定劑、比非得氏菌增殖促進劑及礦物質吸收促進劑等，有效地利用於廣泛的飲食品、化粧品、醫藥部外用品、醫藥品、生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

[實施例 A-3]

〈含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質粉末〉

將含有 4% (w/w) 之海藻糖、6% (w/w) 之 D-半乳糖及

5 m M 之磷酸二氫鈉之溶液，調整為 pH5.0，於其中加入實驗 1 之方法所調製之海藻糖磷酸酵素，使相對於每 g 之海藻糖為 20 個單位，於 60℃ 下，使之反應 72 小時。將所得之反應液於 95℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後，冷卻至溫度 45℃，調整為 pH7.5，於其中加入相對於 1g 之固形物為 10 個單位之來自 *Bacillus* sp. T3 之海藻糖酵素（株式會社林原生物化學研究所製造），於 45℃ 下，反應 24 小時後，冷卻至溫度 27℃。接著，加入濕重相對於固形物重量為 10% 之市售麵包酵母，使用 1N 之氫氧化鈉溶液，控制反應液之 pH 為 5 至 6，於 27℃ 下，保持 12 小時，提供反應液中之 D-葡萄糖為營養源。將麵包酵母以離心分離除去後，所得之上清液，依據常法以活性碳脫色及過濾，以 H 型及 OH 型離子交換樹脂脫鹽精製，進而濃縮，而得到固形物濃度約為 45% (w/w) 之糖液。為提高本糖液中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之含有率，使用實施例 A-1 所記載之鹼金屬型強酸性陽離子交換樹脂，進行管柱分液，採取含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷分液，將其濃縮成濃度約為 85% (w/w)，放入助晶機中，混合約 1% 之作為種晶之含 1 個結晶水之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶粉末後，置於托盤上，於 25℃ 下，靜置 5 天，使 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷析晶固化，其次以切削機粉碎、乾燥，而得相對於原料固形物之回收率約為 13% 之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質粉末。

本產品係含有約 88% 之相對於固形物之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之粉末狀糖質，於 DSC 分析時，顯示於約 118℃ 至約 138℃ 之範圍，具有吸熱吸收峰。此特徵與具有融點為 119℃ 至 123℃ 之本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之特徵一致。另外，本產品吸濕性低，容易操作，幾乎無還原性，安定，具有味質良好之甘味、適當的粘稠度及保濕性，作為甘味劑、呈味改良劑、安定劑、比非得氏菌增殖促進劑及礦物質吸收促進劑等，有效地利用於廣泛的飲食品、化粧品、醫藥部外用品、醫藥品、生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

[實施例 A-4]

〈含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質粉末〉

將含有 10%(w/w)之海藻糖、5%(w/w)之 D-半乳糖及 5mM 之磷酸二氫鈉之溶液，調整為 pH5.0，於其中加入實驗 1 之方法所調製之海藻糖磷酸酵素，使相對於每 g 之海藻糖為 30 個單位，於 60℃ 下，使之反應 90 小時。將所得之反應液於 95℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後，冷卻至溫度 45℃，調整為 pH7.5，於其中加入相對於 1g 之固形物為 20 單位，來自 *Bacillus* sp. T3 之海藻糖酵素（株式會社林原生物化學研究所製造），於 45℃ 下，反應 24 小時。將所得之反應液於 90℃ 下，加熱 30 分鐘，使酵素失活後冷卻，依據常法以活性碳脫色及過濾，以 H 型

及 OH 型離子交換樹脂脫鹽精製，進而濃縮，而得到之固形物濃度約為 45 % (w/w) 之糖液。為提高本糖液中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之含有率，使用實施例 A-1 所記載之鹼金屬型強酸性陽離子交換樹脂，進行管柱分液，採取含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷分液，依據常法以活性碳脫色及過濾，以 H 型及 OH 型離子交換樹脂脫鹽精製，真空乾燥粉碎，將所得之含有非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，撒於鋁製托盤上，於 25℃ 之相對濕度為 60 % 之恆溫調濕室，靜置 5 天，使粉末中之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷結晶化，而得相對於原料固形物之回收率約為 20 % 之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質粉末。

本產品係含有約 70 % 之相對於固形物之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之粉末狀糖質，於 DSC 分析時，顯示於約 118℃ 至約 138℃ 之範圍，具有吸熱吸收峰。此特徵與具有融點為 119℃ 至 123℃ 之本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之特徵一致。另外，本產品吸濕性低，容易操作，具有味質良好之甘味、適當的粘稠度及保濕性，作為甘味劑、呈味改良劑、安定劑、比非得氏菌增殖促進劑及礦物質吸收促進劑等，有效地利用於廣泛的飲食品、化粧品、醫藥部外用品、醫藥品、生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

其次係以實施例 B，說明關於含有本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質之組成物。

[實施例 B－1]

〈甘味劑〉

相對於 1 重量份之實施例 A－2 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，加入 0.05 重量份之 α -葡萄糖基甜菊糖（東洋精糖株式會社製造，商品名「 α -Gsweet」），混合均勻而製造成粉末甘味劑。本產品係具有優雅的甘味，約為砂糖之 2 倍甜度，卡洛里約甜度相當時砂糖量之 2 分之 1。因此本產品作為低卡洛里之甘味料，可適合使用於限制卡洛里攝取者，例如肥滿者及糖尿病者用之低卡洛里飲食物之調味。另外，因為本產品對於蛀牙誘發菌之酸生成亦少，不溶性葡聚糖之生成亦少，所以可適合使用於抑制蛀牙之飲食物等之調味。

[實施例 B－2]

〈硬式糖果〉

相對於 20 重量份之實施例 A－4 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，加入 80 重量份之還原麥芽糖水飴（水份為 25%（w/w））及適當量的水，混合溶解，於減壓下，濃縮水份成 2%（w/w）未滿，於其中混和 1 重量份之檸檬酸及適量的檸檬香料及著色劑，其次，依據常法成形，製造硬式糖果。本產品係具有優雅的甘味，吸濕性少，難發生液體下垂且咬感良好之硬式糖果。

[實施例 B－3]

〈口香糖〉

相對於 4 重量份之實施例 A－3 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，加入 3 重量份之 D-葡萄糖及 2 重量份之加熱熔融至柔軟程度之口香糖基材混合，再混合適量之肉桂香料後，依據常法，以滾輪煉合成形而製造成口香料。本產品為質感及風味均優異之製品。

[實施例 B－4]

〈巧克力〉

相對於 15 重量份之實施例 A－4 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，加入 40 重量份之可可醬、10 重量份之可可油、10 重量份之蔗糖及 15 重量份之全脂奶粉混合，通過細磨機（refiner）。其次，降低粒度後，放入精煉機，加入 0.5 重量份之卵磷脂，於 50℃ 下，混煉 2 晝夜而成。接著，再依據常法，倒入成型機成型固化而製造成巧克力。本產品無產生油脂結晶（fat bloom）及糖結晶（sugar bloom）之虞，放於舌上之融解狀況及風味均良好。

[實施例 B－5]

〈奶油布丁餡〉

相對於 400 重量份之實施例 A－4 之方法所得之含結

晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，加入 500 重量份之玉米澱粉、500 重量份之麥芽糖及 5 重量份之食鹽，過篩後充份混合，再加入 1,400 重量份之雞蛋攪拌，於其中緩緩加入 5,000 重量份之沸騰牛奶後，以小火加熱，繼續攪拌，至玉米澱粉完全糊化，整體成半透明時熄火，其次，冷卻後加入少量的香草香料而製造成奶油布丁餡。本產品係柔細且具有光澤，甜味不過於強烈之美味。

[實施例 B－6]

〈外郎〉

相對於 70 重量份之實施例 A－4 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，加入 90 重量份之米粉、20 重量份之玉米澱粉、20 重量份之砂糖、1 重量份之抹茶粉及適量的水混煉後，將其放入容器內，蒸 60 分鐘，製造抹茶外郎。本產品係光澤及口感良好，風味亦佳者。另外，亦抑制澱粉老化，長時間安定。

[實施例 B－7]

〈白蘿蔔麴漬〉

相對於 1 重量份之實施例 A－3 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，加入 3 重量份之麥芽糖、0.05 重量份之苷草製劑、0.008 重量份之蘋果酸、0.07 重量份之谷胺酸鈉、0.03 重量份之山梨酸鉀及 0.2 重量份之普路蘭(pullulan)，均勻混合而製造成白蘿蔔麴

(37)

漬汁。將 30kg 之白蘿蔔依據常法以食鹽醃漬後，接著再以砂糖醃漬，再醃漬於以 4kg 所得之白蘿蔔醃漬汁所調製之調味液，製造白蘿蔔麴漬。本產品之色澤及香氣均良好，具有適當的甜味，咬感亦佳。

[實施例 B－8]

〈乳酸菌飲料〉

相對於 100 重量份之實施例 A－4 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，將 175 重量份之脫脂奶粉及 50 重量份之含有高乳糖粉末（株式會社林原商事販賣，登錄商標「乳果 oligo」）溶解於 1,200 重量份之水中，於 65℃ 下，殺菌 30 分鐘，冷卻至 40℃ 後，於其中，依據常法，接種 30 重量份之乳酸菌菌元 (starter)，於 37℃ 下，培養 8 小時，而得乳酸菌飲料。本產品不僅含有寡糖，保持乳酸菌安定，亦具有比非得氏菌增殖促作用之風味良好之乳酸菌飲料。

[實施例 B－9]

〈肥皂〉

將重量比為 4 比 1 之牛脂及椰子油，供予通常之皂化鹽析法，所得之 96.5 重量份之皂核 (neat soap)，加入 1.5 重量份之實施例 A－3 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質、0.5 重量份之 L－抗壞血酸 2－葡萄糖苷、0.5 重量份之白糖、0.5 重量份之糖轉移芸香

苷（東洋精糖株式會社販賣，商品名「 α Grutin」）、1 重量份之麥芽糖醇、0.0001 重量份之感光素 201 號及適量的香料，均勻混合後，倒入模型，冷卻固化而製造成肥皂。本產品因 L-抗壞血酸 2-葡萄糖苷而美白效果優異，進而，因為含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，所以使用後肌膚亦不粗糙之使用感優異之肥皂。

[實施例 B-10]

〈入浴劑〉

將 44 重量份之硫酸鈉、14 重量份之碳酸氫鈉、7 重量份之碳酸鈉、21 重量份之琥珀酸及 5 重量份之實施例 A-4 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質中，加入適量的滑澤劑、色素及香料，均勻混合後，打錠而製造成入浴劑。本產品放入浴缸時所發生之二氧化碳氣體對於促進血液循環之效果優異，另外，因為含有含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，所以入浴後之肌膚亦不發粘，為保濕性亦佳之使用感優異之浴用劑。

[實施例 B-11]

〈養髮液（hair tonic）〉

將 50 重量份之乙醇、1.5 重量份之聚環氧乙烯（8 莫耳）油酸酯、0.1 重量份之日扁柏醇、1.0 重量份之甘草素、0.01 重量份之感光素 301 號、5 重量份之海藻糖、8

(39)

重量份之實施例 A-1 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末、0.1 重量份之羥苯乙酯 (Ethylparaben)、0.05 重量份之香料及適量的精製水，依據常法調製成養髮液。本產品因含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，所以保濕性優異，使用後肌膚亦不發粘，為使用感優異之養髮液。

[實施例 B-12]

〈防曬用凝膠〉

於加溫成約 55℃ 之適量的精製水中，分散 1.0 重量份之聚丙烯酸系高子（住友精化株式會社販賣，商品名「AcpecHV505」），冷卻至 40℃ 以下後，添加以適量的水溶解 2.0 重量份之 L-抗壞血酸 2-葡萄糖苷者，加入 0.9 重量份之氫氧化鉀，使 pH 為 6.3。於其中加入溶解 1.0 重量份之實施例 A-2 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末、6.0 重量份之濃苷油、2.0 重量份之 1,3-丁二醇、3.0 重量份之二丙二醇、1.3 重量份之山梨糖醇、1.5 重量份之聚乙二醇 400 及 3.1 重量份之 1,2-戊二醇，再加入精製水使總量為 100 重量份，調製成防曬用膠。本產品為美白效果優異之凝膠化粧品。另外，本產品因為含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，所以保濕性優異。另外，配合二丙二醇及聚乙二醇，維持 pH5.9 至 7.0 之間，不發生配合有 L-抗壞血酸 2-葡萄糖苷之凝膠於塗佈後所見之不均勻或垢，透明且塗抹感覺良好，塗佈後亦

無發粘感，使用感優異。另外，本產品，即使長期保存，認為不會發生 pH 變化、粘稠度降低及著色之安定凝膠。

[實施例 B-13]

〈化粧水〉

將 0.2 重量份之苷草酸二鉀、0.1 重量份之檸檬酸、0.3 重量份之檸檬酸鈉、2.0 重量份之實施例 A-4 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質、5.0 重量份之乙醇、0.0001 重量份之感光素 201 號及 0.1 重量份之羥苯乙酯，加水使總量成為 100 重量份，混合溶解，調製成化粧水。本產品因為含有含 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，所以除了保濕性優異之外，對皮膚之刺激性低，所以不必擔心過敏症，可使用於預防肌膚粗糙、皮膚刺激或發癢等。另外，塗佈於皮膚上不會有發粘感之使用感優異之化粧水。

[實施例 B-14]

〈潤絲精〉

將 2.5 重量份之流動鏈烯烴、0.5 重量份之甘油三肉豆蔻酸酯、1.5 重量份之十六烷醇、3 重量份之單硬脂酸甘油酯、1 重量份之月桂醯谷胺酸聚環氧乙烯辛基十二烷基醚二酯及 0.5 重量份之焦谷胺酸異硬脂酸聚環氧乙烯甘油酯加熱混合者，與加入 3 重量份之實施例 A-3 之方法所得之含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質、3

(41)

重量份之 1，3-丁二醇、0.01 重量份之感光素 301 號、2.5 重量份之月桂醯-L-賴胺酸、0.5 重量份之脂肪酸 1-精胺酸乙基吡咯烷酮羧酸鹽、0.5 重量份之氯化硬脂醯三甲基銨、0.1 重量份之糖轉移芸香苷、1 重量份之吡咯烷酮羧酸鈉、1 重量份之當藥萃取物於 74 重量份之精製水之加熱混合者相混合，依據常法，乳化調製成潤絲精。本產品因為含有含 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，所以即使不使用苷油，除了保濕性優異之外，亦不會有發粘感之使用感優異之化粧水。

[實施例 B-15]

〈皮膚乳霜〉

相對於 4 重量份之實施例 A-1 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，加入 2 重量份之單硬脂酸聚環氧乙二醇、5 重量份之自乳化型單硬脂酸苷油酯、2 重量份之 α -葡萄糖基芸香苷、1 重量份之流動聚鏈烯烴、10 重量份之三辛酸苷油酯及適量的防腐劑，將其依據常法加熱溶解，再加入 5 重量份之 1,3-丁二醇及 66 重量份之精製水，以勻化器乳化，加入適量的香料攪拌混合而製造成皮膚乳霜。本產品因為含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，所以為保濕性優異且容易塗抹之乳霜，可有效地作為防曬劑、美膚劑及色白劑等使用。

[實施例 B-16]

(42)

〈牙膏〉

相對於 12 重量份之實施例 A-2 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，加入 45 重量份之磷酸氫鈣、1.5 重量份之月桂基硫酸鈉、25 重量份之甘油、0.5 重量份之聚環氧乙烯山梨糖醇酐月桂酸酯、0.02 重量份之糖精、0.05 重量份之防腐劑及 16 重量份之水混合而得牙膏。本產品因為含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，所以為具有適當的粘稠度、使用感優異而且光澤且洗淨力亦良好之牙膏。

[實施例 B-17]

〈管灌營養劑〉

調製由相對於 80 重量份之實施例 A-1 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末，以及 190 重量份之乾燥蛋黃、209 重量份之脫脂奶粉、4.4 重量份之氯化鈉、1.85 重量份之氯化鉀、4 重量份之硫酸鎂、0.01 重量份之硫胺素、0.1 重量份之抗壞血酸鈉、0.6 重量份之醋酸維生素 E 及 0.04 重量份之煙醯胺所形成之配合物。將各 25g 之該配合物充填於鋁箔製小包，經熱密封而得製品。本產品係溶解每袋於約 150 至 300ml 之水，作為營養補給液，以管灌方法，由鼻腔、食道及胃等投予使用。

[實施例 B-18]

〈外傷治療用軟膏〉

相對於 450 重量份之 macrogol(400)、3 重量份之羧基乙烯基聚合物、1 重量份之普路蘭(pullulan)及 400 重量份之異丙醇，加入 1 重量份之 Cluconate Chlorhexidine，真空混合攪拌，於其中，加入 70 重量份之實施例 A-1 之方法所得之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷粉末、3 重量份之氫氧化鈉及 77 重量份之精製水混合，而得具有適當的塗抹性及附著性之外傷治療用軟膏。本產品因為含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，所以保濕性優異，無使用後之發粘，塗抹感覺良好，以直接塗佈於傷口或塗抹於紗布等而使用於患部，可治療切傷、擦傷、燙傷、足癬及凍傷等之外傷。

發明之功效

本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質係明顯地具有吸濕性低之優異特徵。因此，結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質係吸濕性低、難引起結塊或潮解、難失去流動性及保存安定性優異。另外，本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質作為優雅甘味之甘味劑、呈味改良劑、品質改良劑、體賦予劑、粘稠度調節劑、保濕劑及光澤賦予劑，進而，再作為營養補給劑，有效地利用於廣泛的飲食品、化粧品、醫藥部外用品、醫藥品、生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各種組成物。

另外，依據本發明之製造方法及變換方法，可於工業

上大量且價廉地製造結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質。

因此，本發明不僅於食品、化粧品、醫藥部外用品及醫藥品之領域，對於生活用品、農林水產用品、試藥及化學工業用品等之各領域之貢獻，係具有相當大意義之發明。

【圖式簡單說明】

圖 1：本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之紅外線光譜。

圖 2：本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之柱狀結晶照片。

圖 3：本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之粉末 X 光折射光譜。

圖 4：本發明之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之差示掃描熱量計分析圖。

伍、中文發明摘要

發明之名稱：結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，以及此等之製造方法與用途

課題

提供吸濕性低及難以失去流動性之安定的結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，以及此等之製造方法與用途為課題。

解決手段

融點為 119°C 至 123°C 之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，由含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液，晶析分離結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，採取其為特徵之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質之製造方法，將非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，於水份存在下，轉換為結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之方法，以及確立含有結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質之各種組成物，而解決上述課題。

陸、英文發明摘要

發明之名稱：

本告公

圖 1

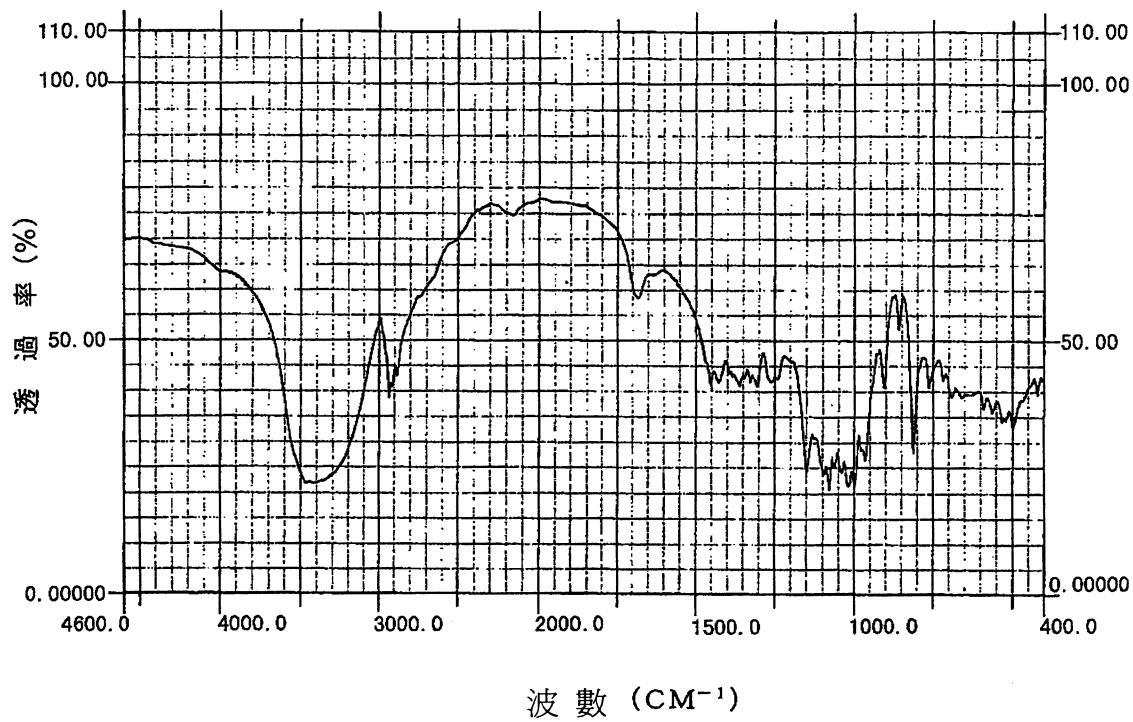


圖 2

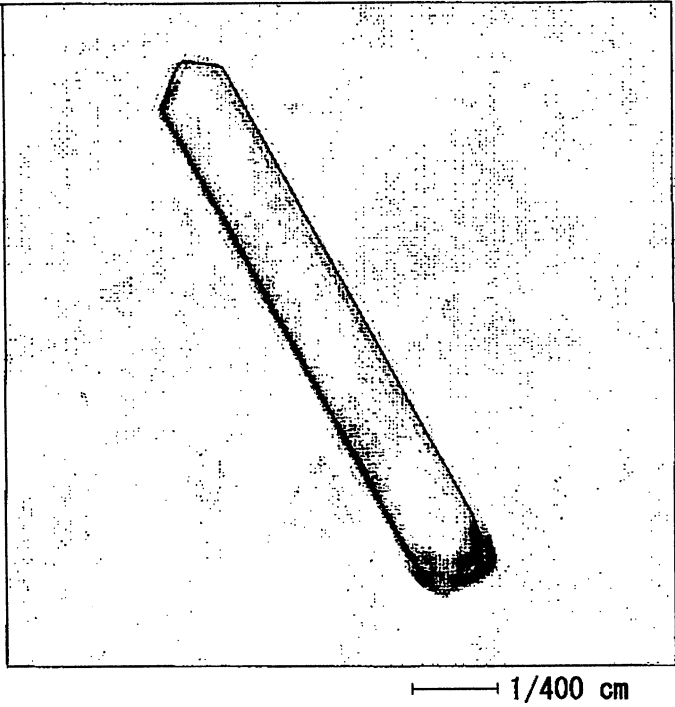


圖3

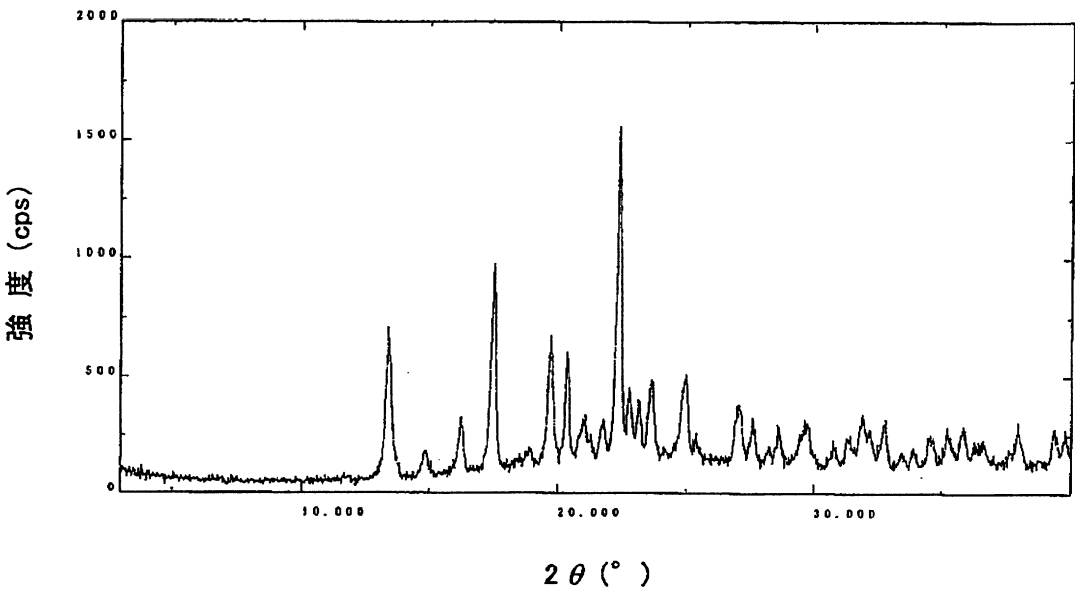
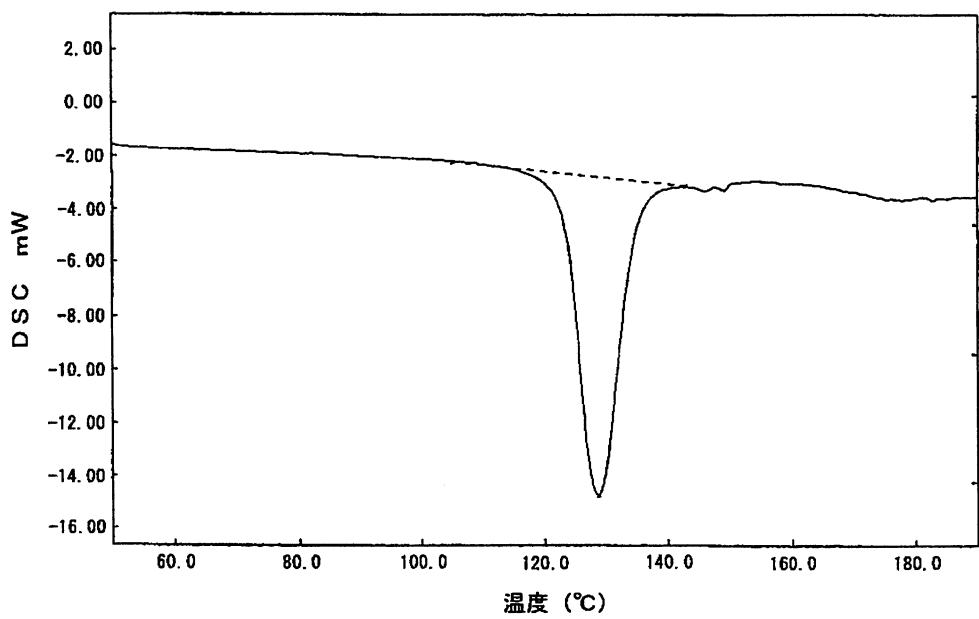


圖4

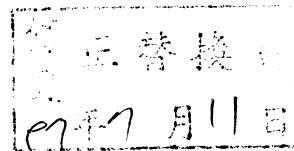


- 柒、 (一)、本案指定代表圖為：第 1 圖
(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

發明專利說明書

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)



※申請案號：92115264

※申請日期：92 年 06 月 05 日

※IPC 分類：C07H 3/04 (2006.01)

一、發明名稱：

(中) 結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，以及此等之製造方法與用途

(英) Crystalline α -D-glucosyl α -D-galactoside, saccharide composition comprising the same, process for producing the same, and uses thereof

二、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 林原生物化學研究所股份有限公司
(英)

代表人：(中) 1. 林原健
(英)

地 址：(中) 日本國岡山縣岡山市下石井一丁目二番三號
(英)

國籍：(中英) 日本 JAPAN

三、發明人：(共 3 人)

1. 姓 名：(中) 西本友之
(英)

國 籍：(中) 日本
(英) JAPAN

2. 姓 名：(中) 久保田倫夫
(英)

國 籍：(中) 日本
(英) JAPAN

3. 姓 名：(中) 福田惠濤
(英)

國 籍：(中) 日本
(英) JAPAN

e7 2 11 11

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

- | | | | |
|-------|--------------|---------------|--------------------------------------------|
| 1. 日本 | ； 2002/06/06 | ； 2002-166299 | <input checked="" type="checkbox"/> 有主張優先權 |
| 2. 日本 | ； 2003/01/17 | ； 2003-009056 | <input checked="" type="checkbox"/> 有主張優先權 |
| 3. 日本 | ； 2003/05/08 | ； 2003-129801 | <input checked="" type="checkbox"/> 有主張優先權 |

(1)

玖、發明說明

87. 7. 11

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於融點為 119°C 至 123°C 之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷與含其之糖質，以及此等之製造方法與用途，另外，將非晶質之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷轉換為結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之方法。

【先前技術】

專利文獻 1：特開平 10-304881 號公報

非專利文獻 1：C. K. Lee 等之「Carbonhydrate Research」，第 50 卷，152 頁至 157 頁（1976 年）

非專利文獻 2：R. W. Bassily 等之「Carbonhydrate Reserch」，第 239 卷，197 頁至 207 頁（1993 年）

α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷係葡萄糖與半乳糖以 α ， α -1，1 鍵結之非還原性雙糖，為 α ， α -海藻糖（以下，稱為「海藻糖」）之異構物。關於本糖質，以有機合成所得之物如非專利文獻 1 及非專利文獻 2 所揭示，另外，於非專利文獻 2 亦揭示融點為 165°C 至 170°C 之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之含 1 個結晶水之結晶。然而，該製造方法為煩雜的有機合成而且回收率亦低，難以大量調製，依據該工業生產之用途開發幾乎未被檢討。之後，本申請書及同申請人，於專利文獻 1 揭示使用海藻糖磷酸酵素之酵素法以合成 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，而開啓大量調製之道。

pg 1 11

拾、申請專利範圍

第 092115264 號專利申請案

中文申請專利範圍修正本

民國 97 年 7 月 11 日修正

1. 一種結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，其特徵為，融點為 119°C 至 123°C 。

2. 如申請專利範圍第 1 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，其以 $\text{CuK}\alpha$ 線為 X 光之粉末 X 光折射法分析時，至少於折射角 (2θ) 13.4° 、 17.4° 、 19.7° 及 22.3° 上，具有吸收峰。

3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，其以差示掃描熱量計分析時，於約 118°C 至約 138°C 之範圍，具有吸熱吸收峰。

4. 如申請專利範圍第 1 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，其中結晶為含有 1 結晶水之結晶。

5. 一種含結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之糖質，其特徵為，含有如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷所成。

6. 一種如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質之製造方法，其特徵為，由含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液，晶析分離出如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷而將其採取。

7.如申請專利範圍第 6 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質之製造方法，其中溶液為水溶液。

8.如申請專利範圍第 6 項或第 7 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質之製造方法，其中 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷係於 β -D-葡萄糖-1-磷酸及/或其鹽與 D-半乳糖，使海藻糖磷酸酵素作用所生成者。

9.如申請專利範圍第 8 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質之製造方法，其中 β -D-葡萄糖-1-磷酸及/或其鹽係於無機磷酸及/或其鹽之存在下，於 α -海藻糖中，使海藻糖磷酸酵素作用所生成者。

10.如申請專利範圍第 6 項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質之製造方法，其中包括以 1 種或 2 種以上選自鹼處理法、酵母酸酵法及管柱層析法之方法，除去夾雜糖質，以提高 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之純度之步驟。

11.一種如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質之製造方法，其特徵為乾燥含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液而成為非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，使其於水份存在下，轉換為如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷而將其採取。

12.一種將非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷轉換為結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之方法，其特徵為

，乾燥含有 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷之溶液而成爲非晶質 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷，使其於水份存在下，轉換爲如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷。

13. 一種組成物，其特徵爲，含有如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之結晶之 α -D-葡萄糖基 α -D-半乳糖苷或含其之糖質。