

平成 18 年度 産学官連携による食料産業等活性化のための
新技術開発事業 成果報告会

成 果 概 要 集

平成 19 年 2 月 26 日

社団法人 食品需給研究センター

10 廃鶏の表皮からのヒト型スフィンゴ脂質とプラズマローゲンの機能性食品素材化技術の開発

株式会社 レオロジー機能食品研究所

有限会社 梅田事務所

南薩食鳥 株式会社

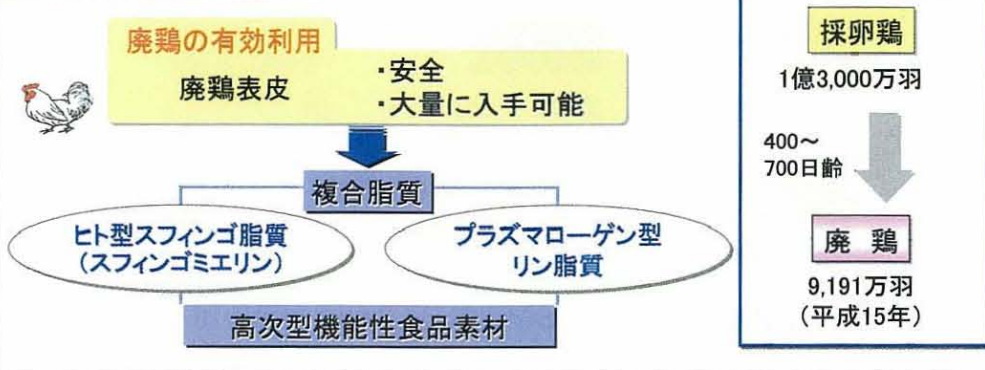
国立大学法人 帯広畜産大学

廃鶏の表皮からのヒト型スフィンゴ脂質とプラズマローゲンの機能性食品素材化技術の開発

問合せ先：
株式会社レオロジー機能食品研究所
〒811-2501
福岡県糟屋郡久山町大字久原2241-1
☎092-976-2800

実施者名：
株式会社レオロジー機能食品研究所
有限会社梅田事務所
南薩食鳥株式会社
国立大学法人帯広畜産大学

①-1 技術開発の目的



本研究は、廃鶏中抜き屠体より分離した表皮部から、抗アレルギー性を有するヒト型スフィンゴミエリンおよび抗痴呆性と抗酸化性が示唆されているプラズマローゲンを含む機能性複合脂質画分を大量生産する技術、並びにこれを利用した新規機能性食品の開発を目指すものである。現在、わが国では1億3000万羽の採卵鶏が飼育されており、そのうち約9000万羽が毎年、廃鶏として処理されているが、その皮部は十分には有効利用されていない。

①-2 技術開発の目的

スフィンゴ脂質およびプラズマローゲンの構造と生理機能

スフィンゴ脂質

極性基 — スフィンゴイド塩基

↓

脂肪酸

リン酸コリン: スフィンゴミエリン
ヘキソース: セレブロシド
他

セラミド

- 細胞の分化や増殖あるいは接着を調節・制御
- アトピー性皮膚炎緩和, 美肌効果, 大腸癌予防
- 食品素材, 化粧品原料

○最大の供給源は牛脳⇒BSE発生後, 分離困難

○現在の安全な供給源は穀類や酵母
⇒問題点: 構成スフィンゴイド塩基の違いにより生体利用性が低い

プラズマローゲン型リン脂質

ビニルエーテル結合

$$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OCH=CHR}_1 \\ | \\ \text{CHOCOR}_2 \\ | \\ \text{CH}_2\text{O-P-O-} \text{極性基} \\ | \\ \text{OH} \end{array}$$

ホスファチジル { エタノールアミン
コリン

- 痴呆における脳神経細胞死防止作用
- 動脈硬化予防作用 (LDLの酸化防止)

○プラズマローゲンの大半はエタノールアミンをもつリン脂質クラス

○脳や心筋に多い

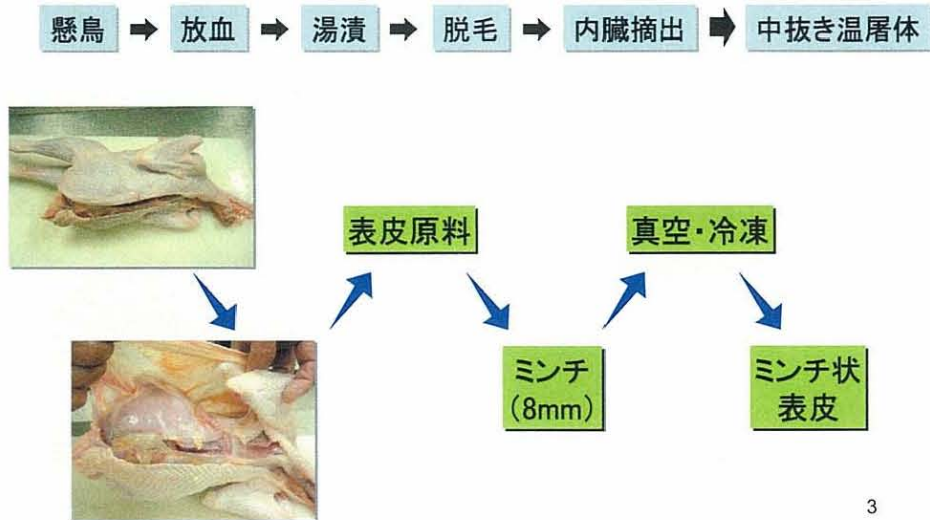
○安全な供給源はホヤ内臓
⇒大量入手が困難

セラミドを基本骨格とするスフィンゴ脂質 (スフィンゴミエリンやセレブロシド) は多様な生理機能や食品機能性を有することから、機能性素材「セラミド」として化粧品やサプリメントとして広く利用されている。従来、牛脳がスフィンゴ脂質の供給源であったが、BSEの問題が発生して以来、安全な植物由来の「セラミド」が上市されている。しかし、構成スフィンゴイド塩基が動物 (ヒト) と植物では異なることから、生体利用性に違いがあることが示唆されている。一方、プラズマローゲンもこれまで安全、且つ大量に入手可能な供給源は見当たらなかった。

②技術開発の方法

(1)表皮部の手動採取と粉碎の方法

工程フローチャート



廃棄された採卵鶏は、懸鳥、放血、浸漬、脱毛後に内臓が摘出され、死後硬直前の中抜きの温屠体が調製される。昨年度の研究結果から、この温屠体からは表皮が剥離されやすいことが明らかになっている、今回は、手動による表皮採取を行った。背皮部にカッターで切れ目を入れ、表皮を採取し、得られた表皮原料を8mmサイズのミンチに破碎した。それを真空・冷凍加工した後、脱油条件の検討に使用した。

②技術開発の方法

(2)表皮部の脱油・脱脂技術の開発

低酸素ハイブリッドスチーム (hi-LOHS-R) 装置による加熱試験



装置全景



チルド皮仕込時



加熱終了後の皮

検討項目

- ・加熱温度と時間
- ・原料形状
- ・原料保管
- ・回転数
- ・装置の防汚対策

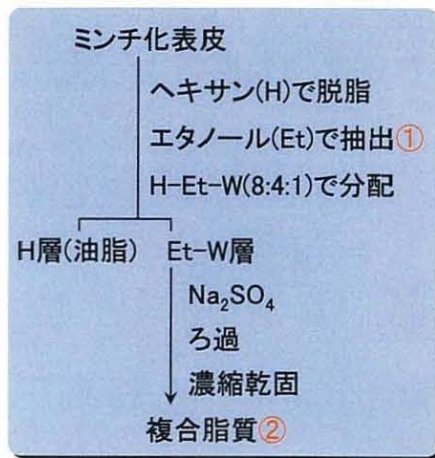
4

廃鶏表皮から複合脂質高含有素材を調製するためには、大量に含まれる油成分を効率的に除去することが必要である。本開発事業において「低酸素ハイブリッドスチーム hi-LOHS-R 装置を開発した。本装置は、準密閉空間において低酸素条件下で連続的に過熱・飽和蒸気を噴射させ、試料の殺菌、脱塩および脱油を行うものである。さらに、回転機構を加えることによって、廃鶏表皮の脱脂と装置の自浄効果を高めることに成功した。今回は、実用化に向けた具的検討項目として、加熱温度と時間および装置の防汚対策などの検討を行った。

②技術開発の方法

(3)原料試作及びその試作濃縮物並びに試料製品の品質検定

溶媒分画法による複合脂質の濃縮法



機能性複合脂質クラスのHPLCによる定量および構成成分分析

スフィンゴミエリン精製品の調製法



5

廃鶏表皮の脂質成分の大部分は中性脂質画分であることから、食品加工で使用が許可されているヘキサンとエタノールを用いて、複合脂質の濃縮法の検討を行った。表皮をミンチ状にし、ヘキサンで軽く脱脂した後にエタノールで抽出を行った。その後、水を加えて2層系で分配し、下層から複合脂質濃縮物を調製した。また、エタノール抽出物を弱アルカリおよび酸により分解処理し、その後、アセトン沈殿処理を行って、高純度スフィンゴミエリン濃縮物を調製した。

②技術開発の方法

(4)試作調製品の機能性評価の方法

アトピー性皮膚炎モデルマウスの発症抑制

廃鶏表皮からのスフィンゴミエリン精製物を含む軟膏の塗布



治療経過の肉眼的および顕微鏡的観察

機能性評価

6

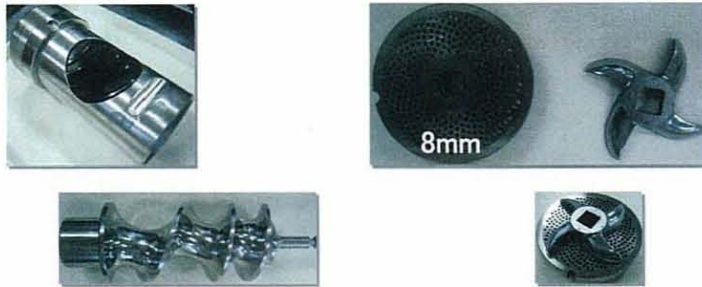
昨年度作製に成功したアトピー性皮膚炎モデルマウスを用いてスフィンゴミエリンのスキンケア機能を評価した。廃鶏表皮から調製したスフィンゴミエリン精製物を含む軟膏を本モデルマウスに塗布し、治療経過の肉眼的および顕微鏡的観察を行った。

成果①

廃鶏からの表皮の手动採取法と粉碎法の確立



ミンチ機による粉碎

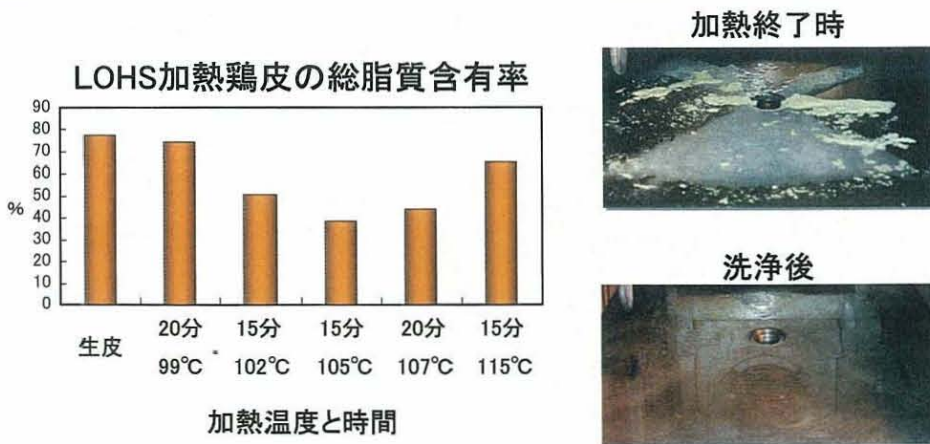


7

廃鶏からの表皮の手动採取法と粉碎法を確立した。廃鶏背皮部にカッターで切れ目を入れ、左右に引きはがすと全身の表皮が一度に簡単に採取できた。得られた表皮原料はミンチ機により粉碎した。メッシュを変更することにより様々なサイズに調製可能であるが、脱油効果やハンドリング性の点から8mmサイズに決定した。

成果②-1

hi-LOHS-R装置による脱油・脱脂条件の確定と装置汚染抑制効果の実証



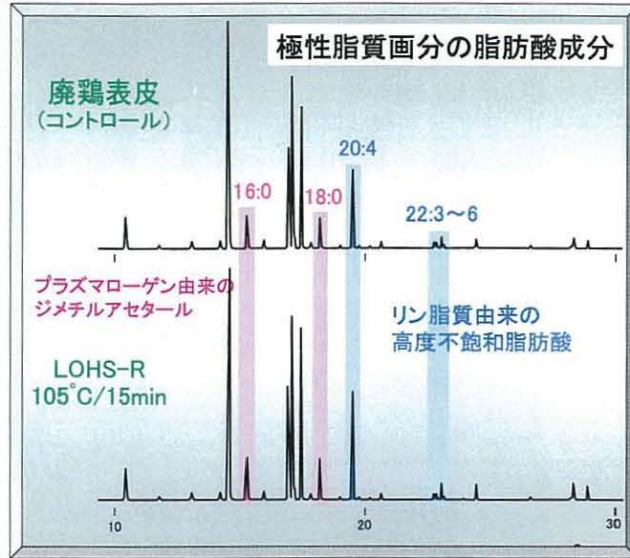
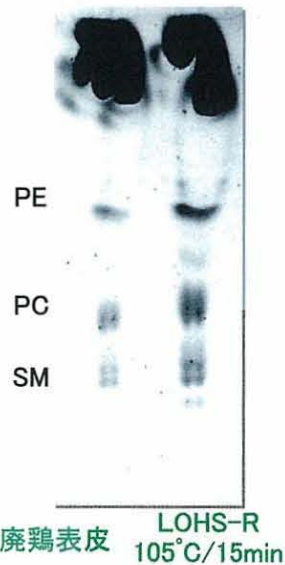
8

hi-LOHS-Rによる廃鶏表皮の脱脂試験を行ったところ、加熱時間は15分、処理温度は105°Cが至適条件であり、表皮中の脂質含量を50%低下させることに成功した。また、加熱終了後の装置内は、水道水シャワーで水洗するだけで洗浄可能であることが実証された。

成果②-2

hi-LOHS-R処理による影響：脂質の種類と脂肪酸組成

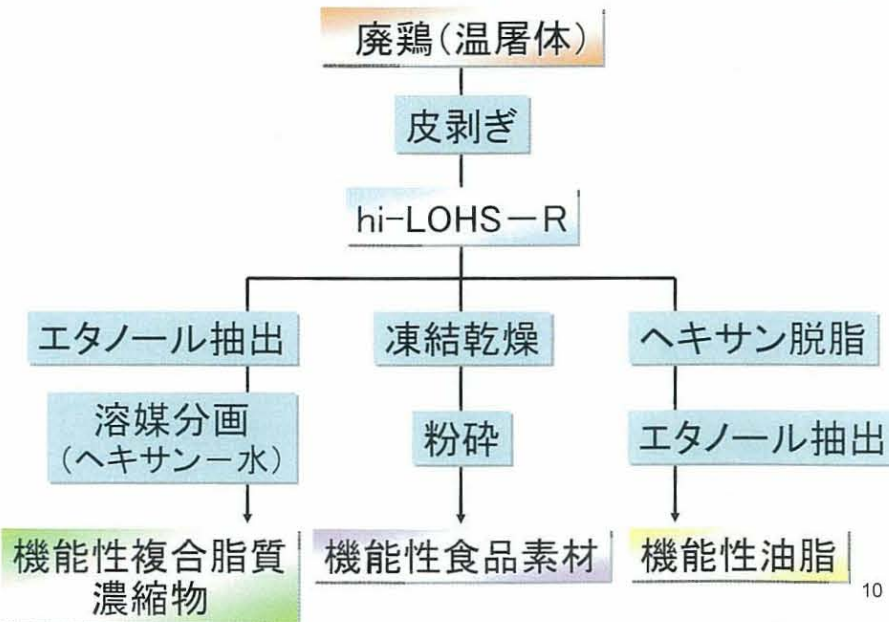
極性脂質画分のTLC



hi-LOHS-R 処理が脂質成分及ぼす影響を検討した。廃鶏表皮を hi-LOHS-R で 105°C、15 分間処理すると、複合脂質画分が濃縮されるが、脂質組成に変化は見られなかった。また、脂肪酸分析の結果から、アラキドン酸 (20:4) やドコサヘキサエン酸 (22:6) といった多価不飽和脂肪酸や、プラズマローゲン由来のジメチルアセタールが加熱処理後も安定して残存していたことから、hi-LOHS-R 処理による脂質成分の酸化的変性はほとんど起こらないことが実証された。

成果③

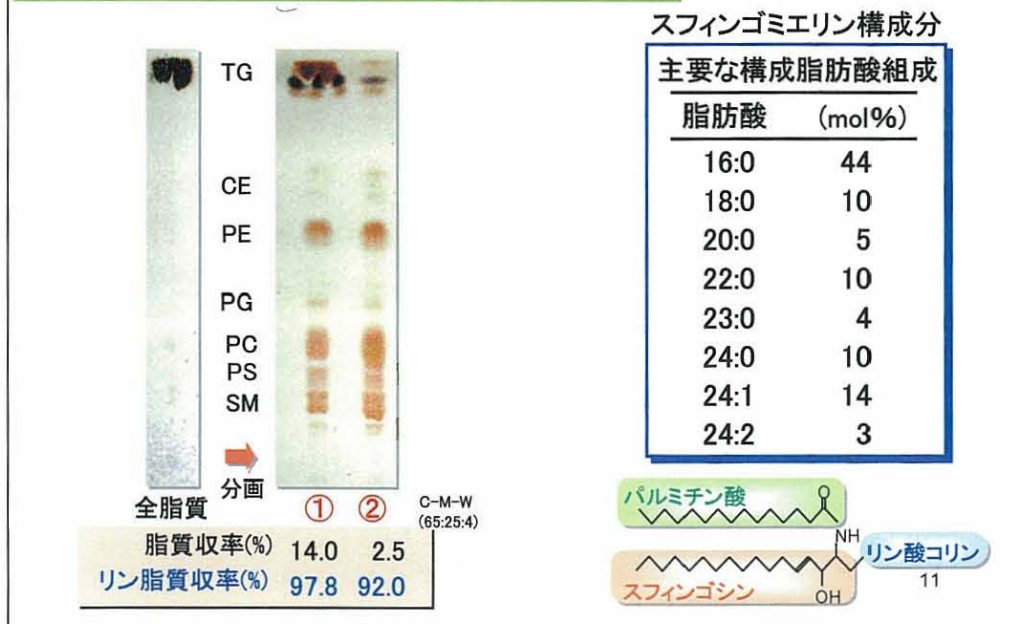
廃鶏表皮からの機能性複合脂質素材調製法



廃鶏表皮からの機能性複合脂質素材調製法についての成果をまとめた。1. 廃鶏の温屠体を用いることによって、表皮を人力でも効率的に剥ぎ取ることが可能であった。2. hi-LOHS-R を新規に開発し、脂質成分の酸化分解を起こすことなく表皮を殺菌・脱脂できることを明らかにし、その後、凍結乾燥処理によりそのまま機能性食品素材として実用化できることを提示した。3. LOHS 処理した表皮をヘキサン脱脂してからエタノール抽出、あるいはエタノール抽出物をヘキサンで分配することによって、廃鶏表皮複合脂質を濃縮することがラボレベルで達成された。

成果④-1

溶媒分画法と機能性複合脂質濃縮物の調製

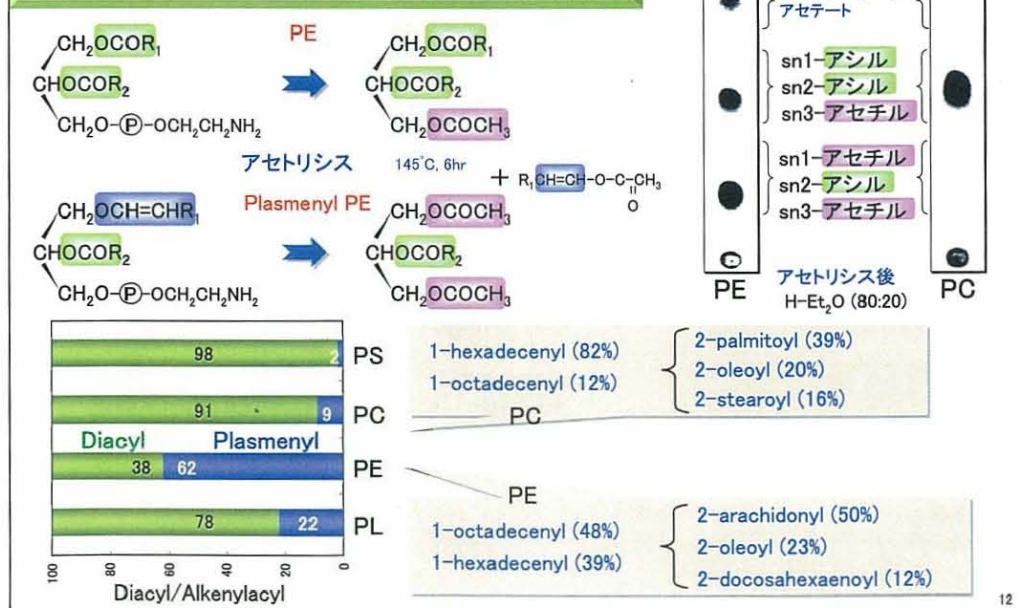


廃鶏表皮中には油脂（トリアシルグリセロール）が多量に含まれることから、廃鶏表皮をミンチ化した後にヘキサンで脱脂してからエタノール抽出を行った結果（図①）、機能性複合脂質に富む油脂を調製することが可能であった。また、エタノール抽出物をヘキサンと水で分配することにより、簡単、且つ高収率で油脂成分がほとんど含まれない機能性複合脂質濃縮物が得られた。複合脂質濃縮物に含まれるスフィンゴミエリンの構成脂肪酸はパルミチン酸で、構成スフィンゴイド塩基はヒト型であるスフィンゴシンであることが明らかとなった。

成果④-2

アセトリシスによる2-アシル鎖の分析

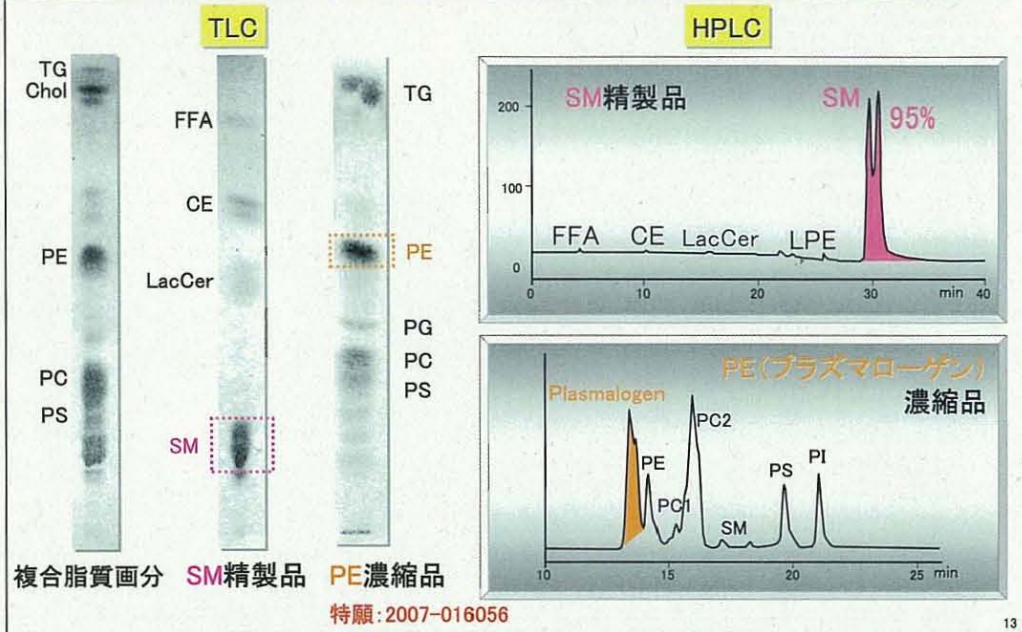
試作濃縮物中のリン脂質クラスのプラズマローゲン型の割合と構成成分の組成



リン脂質中のプラズマローゲンの割合は、PEでは62%、PCでは9%、PSでは2%であった。プラズマローゲンの2-アシル鎖を分析するために、アセトリシスを行った。原理としては、ジアシルリン脂質はアセトリシスにより3-アセチル体に変換されるのに対し、プラズマローゲンは1,3-ジアセチル体へと変換され、TLC上で分離される。sn2の脂肪酸結果から、PCでは1-ヘキサデセニル、2-パルミトイル型が、PEでは1-オクタデセニル、2-アラキドニル型が主成分であることが明らかとなった。また、PEプラズマローゲンではDHA結合型も12%存在していた。

成果④-4

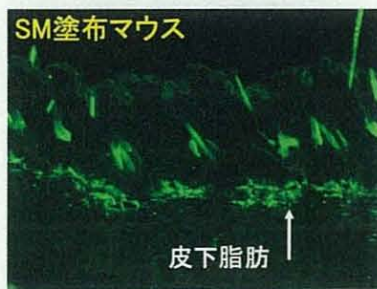
試作スフィンゴミエリン精製品およびプラズマローゲン濃縮品の分析



技術開発②-3項で調製されたスフィンゴミエリン精製品の純度検定を行った。複合脂質濃縮物から調製された試作精製品中の脂質成分はスフィンゴミエリンが大部分であったが、他に微量の遊離脂肪酸 (FFA)、セレブロシド (CE) およびラクトシルセラミド (LacCer) が検出された。順相 HPLC で分離して光散乱検出した結果、食品素材として使用可能である試作精製品中のスフィンゴミエリンの純度は 95% と、極めて高純度であることが示された。また、簡便なプラズマローゲン (PE) の分離濃縮法を開発し、食品用試作濃縮品 (約 40% 含有品) も調製した。

成果⑤

ADモデルマウスに対するスフィンゴミエリン (SM) 精製品の塗布効果



| | IFN- γ | | iNOS |
|---------|---------------|----|------|
| | 表皮 | 真皮 | |
| 対照マウス | + | ++ | ± |
| SM塗布マウス | - | - | - |

+: 強い免疫反応, ±: 微弱な免疫反応
-: 免疫反応なし

アトピー性皮膚炎 (AD) モデルマウスに対するスフィンゴミエリン (SM) 精製品の塗布効果を検証した。対照 AD マウス皮膚の蛍光顕微鏡写真像では、若干の免疫細胞が表皮基底側に浸潤しており、また、真皮全層に免疫細胞が比較的密に観察された。一方、SM 軟膏を塗布した AD マウス皮膚では、AD 関連の免疫細胞が殆ど完全に消失しており、AD モデルに対する軟膏塗布の効果が明確に示された。また、SM 塗布は Th1 型細胞産生性のインターフェロンガンマ (IFN- γ) および誘導性一酸化窒素生成酵素 (iNOS) の免疫反応をいずれも抑制することが実証された。