

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6741401号
(P6741401)

(45) 発行日 令和2年8月19日(2020.8.19)

(24) 登録日 令和2年7月29日(2020.7.29)

(51) Int.Cl.		F I	
C 1 2 P	13/02	(2006.01)	C 1 2 P 13/02
A 6 1 K	8/9728	(2017.01)	A 6 1 K 8/9728
A 6 1 K	8/68	(2006.01)	A 6 1 K 8/68
A 6 1 Q	5/06	(2006.01)	A 6 1 Q 5/06
A 6 1 Q	19/00	(2006.01)	A 6 1 Q 19/00

請求項の数 6 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-110367 (P2015-110367)
 (22) 出願日 平成27年5月29日(2015.5.29)
 (65) 公開番号 特開2016-220617 (P2016-220617A)
 (43) 公開日 平成28年12月28日(2016.12.28)
 審査請求日 平成29年12月26日(2017.12.26)

(73) 特許権者 591082421
 丸善製薬株式会社
 広島県尾道市向東町14703番地の10
 (74) 代理人 100108833
 弁理士 早川 裕司
 (74) 代理人 100162156
 弁理士 村雨 圭介
 (74) 代理人 100201606
 弁理士 田岡 洋
 (72) 発明者 林 多恵子
 広島県福山市新市町相方1089-8 丸
 善製薬株式会社 総合研究所内

審査官 市島 洋介

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】セラミド類含有組成物の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

セラミド類含有組成物を配合した化粧品であって、
前記セラミド類含有組成物が、有機溶媒を含有せず、ポリオキシエチレンソルビタン脂
肪酸エステルからなる界面活性剤を含有する水性溶媒を用い、酵母を抽出する製造方法に
て製造されたものである
 ことを特徴とする化粧品。

【請求項2】

前記水性溶媒は前記界面活性剤を0.01~2質量%含有することを特徴とする請求項1に記載の化粧品。

【請求項3】

前記酵母がサッカロミセス・ヴェローナ(Saccharomyces veronae)であることを特徴とする請求項1または2に記載の化粧品。

【請求項4】

セラミド類含有組成物を配合した飲食品であって、
前記セラミド類含有組成物が、有機溶媒を含有せず、ポリオキシエチレンソルビタン脂
肪酸エステルからなる界面活性剤を含有する水性溶媒を用い、酵母を抽出する製造方法に
て製造されたものである
 ことを特徴とする飲食品。

【請求項5】

前記水性溶媒は前記界面活性剤を0.01～2質量%含有することを特徴とする請求項4に記載の飲食品。

【請求項6】

前記酵母がサッカロミセス・ヴェローナ (*Saccharomyces veronae*) であることを特徴とする請求項4または5に記載の飲食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、セラミド類含有組成物の製造方法に関するものであり、特に有機溶媒を含有しない水性溶媒を用いて抽出操作を行うセラミド類含有組成物の製造方法に関するものである。 10

【背景技術】

【0002】

セラミド類は、スフィンゴ脂質を構成する化合物群であり、スフィンゴイド類と脂肪酸とがアミド結合したセラミド骨格を分子内に有する化合物の一群である。セラミド骨格からなる成分（遊離セラミド）は、ヒトの角質に多量に存在し、角質細胞間の接着に寄与していることが知られている。また、セラミド類の中でも、上記セラミド骨格に1分子のグルコースが結合したグルコシルセラミドは、保湿作用や抗アトピー作用が見いだされており、化粧品や医薬品の素材として注目されている。 20

【0003】

従来、セラミド類は牛の脳等から抽出されていたが、BSEが発生して以降、より安全な供給源が求められるようになっており、例えば、米糠（特許文献1）、薊蕪（特許文献2）、酵母（特許文献3）等からセラミド類を抽出する方法が提案されている。特に酵母は、安定的な大量生産が可能であり、セラミド類の供給源として注目されている。 20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】特開平11-279586号公報

【特許文献2】特開2002-281936号公報

【特許文献3】特開2012-246287号公報 30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

ところで、植物体や微生物からセラミド類を抽出する際には、抽出溶媒として有機溶媒が用いられている。しかし、有機溶媒は、得られる抽出物中に残留することがあり、セラミド類を含有する抽出物を化粧品等に配合するうえで問題が生じる可能性があった。 30

【0006】

本発明は、抽出溶媒として有機溶媒を使用せずに、効率よくセラミド類を抽出することができるセラミド類含有組成物の製造方法を提供することを目的とする。 40

【課題を解決するための手段】

【0007】

上記課題を解決するために、第1に本発明は、有機溶媒を含有せず、界面活性剤を含有する水性溶媒を用い、酵母を抽出することを特徴とするセラミド類含有組成物の製造方法を提供する（発明1）。 40

【0008】

本発明によれば、抽出原料として酵母を用い、かつ、抽出溶媒として、有機溶媒を含有せず界面活性剤を含有する水性溶媒を用いるため、有機溶媒を使用せずに、効率よくセラミド類を抽出することができる。 40

【0009】

上記発明（発明1）において、前記水性溶媒は前記界面活性剤を0.01～2質量%含 50

有することが好ましい（発明２）。

【００１０】

上記発明（発明１，２）においては、前記酵母がサッカロミセス・ヴェローナ（*Saccharomyces veronae*）であることが好ましい（発明３）。

【００１１】

上記発明（発明１～３）においては、前記界面活性剤がプロピレングリコール脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、およびポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルからなる群より選択される１種または２種以上であることが好ましい（発明４）。

【００１２】

第２に本発明は、上記発明（発明１～４）に係る製造方法にて製造されたセラミド類含有組成物を提供する（発明５）。

【００１３】

第３に本発明は、上記発明（発明５）に係るセラミド類含有組成物を配合したことを特徴とする化粧料を提供する（発明６）。

【００１４】

第４に本発明は、上記発明（発明４）に係る製造方法にて製造されたセラミド類含有組成物を配合したことを特徴とする飲食品を提供する（発明７）。

【発明の効果】

【００１５】

本発明によれば、抽出溶媒として有機溶媒を使用せずに、効率よくセラミド類を抽出することができる。

【図面の簡単な説明】

【００１６】

【図１】薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）の結果を表す写真である。

【図２】薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）の結果を表す写真である。

【発明を実施するための形態】

【００１７】

以下、本発明の実施の形態について説明する。

本実施形態に係るセラミド類含有組成物の製造方法は、有機溶媒を含有せず、界面活性剤を含有する水性溶媒を用い、酵母を抽出するものである。

【００１８】

ここで、本実施形態における「セラミド類」とは、スフィンゴイド類と脂肪酸とがアミド結合したセラミド骨格を含む化合物をいい、セラミド骨格からなる化合物（本明細書において「遊離セラミド」ということがある。）のほか、セラミド骨格中のスフィンゴイド部分が糖とグリコシド結合した糖セラミド（例えば、グルコシルセラミド、ガラクトシルセラミド等のセレブロシド）を包含する概念である。

【００１９】

１．抽出溶媒

本明細書における「水性溶媒」は、酵母からセラミド類を抽出するための溶媒として用いられるものであり、水を溶媒とし、後述する界面活性剤や、所望により塩等を含む水溶液をいう。

【００２０】

本実施形態において使用し得る水としては、純水、水道水、井戸水、鉱泉水、鉱水、温泉水、湧水、淡水等のほか、これらに各種処理を施したものが含まれる。水に施す処理としては、例えば、精製、加熱、殺菌、濾過、イオン交換、浸透圧調整、緩衝化等が含まれる。したがって、本実施形態における水性溶媒に使用し得る水としては、精製水、熱水、イオン交換水、生理食塩水、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等も含まれる。

【００２１】

本実施形態における上記水性溶媒は、有機溶媒を含有しない。有機溶媒（例えば、クロ

10

20

30

40

50

ロホルムやメタノール等)は、セラミド類の抽出において汎用されているが、得られるセラミド類含有抽出物に残留することがあり、当該抽出物を化粧品等に配合するうえで、安全性に懸念が生じ得るためである。

【0022】

本実施形態においては、有機溶媒を用いずに酵母からセラミド類を効率よく抽出するため、界面活性剤を用いる。使用し得る界面活性剤としては、ノニオン系界面活性剤、アニオン系界面活性剤、カチオン系界面活性剤、両性界面活性剤が挙げられる。

【0023】

具体的に、本実施形態において使用し得るノニオン系界面活性剤としては、プロピレングリコール脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、POE(ポリオキシエチレン)ソルビタン脂肪酸エステル、POEソルビット脂肪酸エステル、POEグリセリン脂肪酸エステル、POEアルキルエーテル、POE脂肪酸エステル、POE硬化ヒマシ油、POEヒマシ油、POE・POP(ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレン)共重合体、POE・POPアルキルエーテル、ポリエーテル変性シリコンラウリン酸アルカノールアミド、アルキルアミノオキシド、水素添加大豆リン脂質などが挙げられる。

10

【0024】

アニオン系界面活性剤としては、脂肪酸セッケン、 α -アシルスルホン酸塩、アルキルスルホン酸塩、アルキルアリルスルホン酸塩、アルキルナフタレンスルホン酸塩、アルキル硫酸塩、POEアルキルエーテル硫酸塩、アルキルアミド硫酸塩、アルキルリン酸塩、POEアルキルリン酸塩、アルキルアミドリリン酸塩、アルキロイルアルキルタウリン塩、N-アシルアミノ酸塩、POEアルキルエーテルカルボン酸塩、アルキルスルホコハク酸塩、アルキルスルホ酢酸ナトリウム、アシル化加水分解コラーゲンペプチド塩、パーフルオロアルキルリン酸エステルなどが挙げられる。

20

【0025】

カチオン系界面活性剤としては、塩化アルキルトリメチルアンモニウム、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム、臭化ステアリルトリメチルアンモニウム、塩化セトステアリルトリメチルアンモニウム、塩化ジステアリルジメチルアンモニウム、塩化ステアリルジメチルベンジルアンモニウム、臭化ベヘニルトリメチルアンモニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベヘニン酸アミドプロピルジメチルヒドロキシプロピルアンモニウム、ステアリン酸ジエチルアミノエチルアミド、ステアリン酸ジメチルアミノプロピルアミド、ラノリン誘導体第四級アンモニウム塩などが挙げられる。

30

【0026】

両性界面活性剤としては、カルボキシベタイン型、アミドベタイン型、スルホベタイン型、ヒドロキシスルホベタイン型、アミドスルホベタイン型、ホスホベタイン型、アミノカルボン酸塩型、イミタゾリン誘導体型、アミドアミン型などが挙げられる。

【0027】

これらの界面活性剤は、1種を単独で又は2種以上を組み合わせ用いることができる。これらの中でも、セラミド類の抽出効率に優れ、また、得られるセラミド類含有組成物を化粧品や飲食品に配合したときに安全性に優れることから、ノニオン系界面活性剤が好ましく、中でも、食品添加物として使用し得る界面活性剤である、プロピレングリコール脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、またはPOEソルビタン脂肪酸エステルが好ましく、POEソルビタン脂肪酸エステルが特に好ましい。

40

【0028】

本実施形態における水性溶媒は、上記界面活性剤を0.01~2質量%含むことが好ましく、0.05~0.5質量%含むことが特に好ましく、0.07~0.15質量%含むことがさらに好ましい。水性溶媒が上記範囲で界面活性剤を含むことで、酵母からセラミド類を効率よく抽出できるとともに、夾雑物が抽出されるのを抑制することができる。

【0029】

50

なお、本実施形態における水性溶媒には、前述した界面活性剤のほか、塩、pH調整剤などの添加剤を、本実施形態の効果を損なわない範囲で加えることができる。

【0030】

2. 抽出原料

本実施形態において用いられる抽出原料は、酵母である。本実施形態にて使用し得る酵母としては、セラミド類を産生するものであれば特に制限されないが、例えば、サッカロミセス・ヴェローナ (*Saccharomyces veronae*)、サッカロミセス・クлуйヴェリ (*Saccharomyces kluyveri*) 等のサッカロミセス (*Saccharomyces*) 属；シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) 等のシゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces*) 属；クлуйヴェロミセス・サーモトレランス (*Kluyveromyces thermotolerans*)、クлуйヴェロミセス・ラクティス (*Kluyveromyces lactis*) 等のクлуйヴェロミセス (*Kluyveromyces*) 属；ジゴサッカロミセス・サーモトレランス (*Zygosaccharomyces thermotolerans*) 等のジゴサッカロミセス (*Zygosaccharomyces*) 属；ラカンセア・サーモトレランス (*Lachancea thermotolerans*)、ラカンセア・クлуйヴェリ (*Lachancea kluyveri*) 等のラカンセア属；カンディダ・ウティリス (*Candida utilis*, トルラ酵母) 等のカンディダ (*Candida*) 属；などの酵母が好ましく例示される。なお、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*, パン酵母) については、セラミド類を産生せず、本実施形態に利用できない。

【0031】

本実施形態において、これらの酵母は1種を単独でまたは2種以上を併用して用いることができる。これらの中でも、セラミド類の生産性、入手の容易性および化粧品に用いたときの安全性の観点から、サッカロミセス属 (サッカロミセス・セレビシエを除く) が特に好ましく、サッカロミセス・ヴェローナ (*Saccharomyces veronae*) がさらに好ましい。

【0032】

本実施形態においては、かかる酵母を培養する。培養形式は、バッチ培養または連続培養のいずれでもよい。培養に用いる培地は、酵母を培養可能なものであれば特に制限されず、グルコース等の炭素源；アンモニウム塩等の窒素源；マグネシウム塩等の無機塩；必須アミノ酸やビタミンなどが含まれるものであれば良い。また、培地には、これらに加えて、またはこれらに替えて、酵母エキス、ペプトン、カゼイン等、酵母の培地に汎用される成分を用いてもよい。

【0033】

本実施形態においては、上記成分が配合された培地として、酵母の培養に汎用される培地を好適に用いることができ、中でもYPD培地、YM培地、ME培地およびMRS培地が好ましく、MRS培地が特に好ましい。

【0034】

酵母の培養は、上記培地を培養槽に入れ、酵母を接種し、25～35℃、好ましくは28～32℃の温度範囲で、12～72時間、好ましくは18～48時間処理することにより、行うことができる。

【0035】

培養を終了させたときの培養液において、エタノール濃度は、1容量%以下であることが好ましく、0.5容量%以下であることがさらに好ましい。ここで、1容量%以下とは、0容量%、すなわち培養液にエタノールが全く含まれない場合を包含するものである。また、上記培養は、主として好気呼吸により行われ、実質的にアルコール発酵が行われなことが好ましい。実質的にアルコール発酵が行われなことで得られる酵母の菌体は、エタノール濃度が低く、そのため有機溶媒を含まない水性溶媒にて抽出するとの本実施形態の効果が、如何なく発揮される。

【0036】

得られた培養液は、そのまま界面活性剤を添加して抽出操作に供してもよいが、遠心分離、ろ過等により酵母の菌体を回収した後、界面活性剤を含む水性溶媒にて抽出操作を行

10

20

30

40

50

うことが好ましい。

【0037】

3. 抽出方法

本実施形態においては、かかる酵母の菌体を抽出原料とし、抽出溶媒として前述した水性溶媒を用い、セラミド類を抽出する。

【0038】

抽出操作において、上記界面活性剤を含む水性溶媒の使用量は、酵母菌体の湿質量で100質量部に対し、1.0~10質量部であることが好ましく、2.0~8.0質量部であることが特に好ましく、3.0~6.0質量部であることがさらに好ましい。抽出時間は、1~10時間であることが好ましく、1.5~5時間であることがさらに好ましい。抽出温度は、50~100であることが好ましく、70~90であることがさらに好ましい。

10

【0039】

得られた抽出液から、ろ過、遠心分離等により抽出残渣を除去し、所望により濃縮、凍結乾燥等を行うことにより、本実施形態に係るセラミド類含有組成物を得ることができる。

【0040】

なお、得られたセラミド類含有組成物は、必要に応じ、さらに精製を行ってもよい。精製方法は特に限定されず、常法により行うことができる。例えば、シリカゲルやアルミナ等の多孔質物質、イオン交換樹脂等を用いたカラムクロマトグラフィーに付して、セラミド類を含む画分を回収する方法等が挙げられる。

20

【0041】

このようにして得られるセラミド類含有組成物は、有機溶媒を含まない水性溶媒にて抽出されたものであるため、安全性が高く、後述する化粧品および飲食品のほか、医薬品などの配合成分として好適に利用することができる。

【0042】

4. 化粧品

本実施形態に係る化粧品は、前述したセラミド類含有組成物が配合されるものである。本実施形態においては、セラミド類含有組成物をそのまま配合してもよいし、セラミド類含有組成物からさらに製剤化した組成物を配合してもよい。化粧品にセラミド類含有組成物を配合することにより、保湿作用や抗アレルギー作用等、セラミド類が有する好ましい作用を化粧品に付与することができる。

30

【0043】

ここで、セラミド類含有組成物を配合し得る化粧料の種類は特に限定されるものではなく、例えば、皮膚化粧料であれば、軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、ファンデーション等が例示され、また、頭髪化粧料であれば、ヘアトニック、ヘアクリーム、ヘアリキッド、シャンプー、ポマード、リンス等が例示される。

【0044】

セラミド類含有組成物の配合量は、化粧料の種類に応じて適宜調整することができるが、好適な配合率は、セラミド類含有量に換算して約0.0001~10質量%であり、特に好適な配合率は、約0.001~1質量%である。

40

【0045】

本実施形態の化粧品は、保湿作用や抗アレルギー作用、セラミド類が有する好ましい作用を妨げない限り、通常化粧料の製造に用いられる主剤、助剤又はその他の成分、例えば、収斂剤、殺菌・抗菌剤、美白剤、紫外線吸収剤、保湿剤、細胞賦活剤、消炎・抗アレルギー剤、抗酸化・活性酸素除去剤、油脂類、口ウ類、炭化水素類、脂肪酸類、アルコール類、エステル類、界面活性剤、香料等を併用することができる。このように併用することで、より一般性のある製品となり、また、併用された他の有効成分との間の相乗作用が通常期待される以上の優れた効果をもたらすことがある。

【0046】

50

以上の本実施形態に係る化粧料は、有機溶媒を含まない水性溶媒にて抽出されたセラミド類含有組成物を配合したものであるため、セラミド類が有する好ましい作用が付与されるとともに、安全性に優れたものとなる。

【0047】

5. 飲食品

本実施形態に係る飲食品は、特定の界面活性剤を用いて抽出されたセラミド類含有組成物を配合したものである。

【0048】

本実施形態に係る飲食品に配合されるセラミド類含有組成物は、プロピレングリコール脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、およびポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルからなる群より選択される1種または2種以上の界面活性剤を用いて抽出されたものである。これら特定の界面活性剤は、食品添加物として使用可能なものであるため、かかる界面活性剤を用いて抽出されたセラミド類含有組成物は、飲食品に配合したときに、特に安全性に優れたものとなる。

10

【0049】

本実施形態においては、上記セラミド類含有組成物をそのまま配合してもよいし、上記セラミド類含有組成物からさらに製剤化した組成物を配合してもよい。飲食品に上記セラミド類含有組成物を配合することにより、保湿作用や抗アトピー作用等、セラミド類が有する好ましい作用を飲食品に付与することができる。

20

【0050】

ここで、飲食品とは、人の健康に危害を加えるおそれが少なく、通常の世界生活において、経口又は消化管投与により摂取されるものをいい、行政区分上の食品、医薬品、医薬部外品等の区分に制限されるものではない。したがって、本実施形態における「飲食品」は、経口的に摂取される一般食品、健康食品、機能性食品、保健機能食品（特定保健用食品、機能性表示食品、栄養機能食品）、医薬部外品、医薬品等を幅広く含むものである。本実施形態に係る飲食品は、当該飲食品またはその包装に、セラミド類が有する好ましい作用を表示することのできる飲食品であることが好ましく、保健機能食品（特定保健用食品、機能性表示食品、栄養機能食品）、医薬部外品および医薬品であることが特に好ましい。

30

【0051】

上記セラミド類含有組成物、または上記セラミド類含有組成物から製剤化した組成物を飲食品に配合する場合、それらにおける有効成分の配合量は、使用目的、症状、性別等を考慮して適宜変更することができるが、添加対象となる飲食品の一般的な摂取量を考慮して、成人1日あたりのセラミド類摂取量が約1～1000mgになるようにするのが好ましい。なお、添加対象飲食品が顆粒状、錠剤状又はカプセル状の飲食品の場合、上記セラミド類含有組成物、または上記セラミド類含有組成物から製剤化した組成物の添加量は、添加対象飲食品に対し、セラミド類の質量に換算して通常0.1～100質量%であり、好ましくは5～100質量%である。

【0052】

本実施形態の飲食品は、上記セラミド類含有組成物をその活性を妨げないような任意の飲食品に配合したものであってもよいし、上記セラミド類含有組成物を主成分とする栄養補助食品であってもよい。

40

【0053】

本実施形態の飲食品を製造する際には、例えば、デキストリン、デンプン等の糖類；ゼラチン、大豆タンパク、トウモロコシタンパク等のタンパク質；アラニン、グルタミン、イソロイシン等のアミノ酸類；セルロース、アラビアゴム等の多糖類；大豆油、中鎖脂肪酸トリグリセリド等の油脂類などの任意の助剤を添加して任意の形状の飲食品にすることができる。

【0054】

50

上記セラミド類含有組成物を配合し得る飲食品は特に限定されないが、その具体例としては、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料等の飲料（これらの飲料の濃縮原液及び調整用粉末を含む）；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の冷菓；そば、うどん、はるさめ、ぎょうざの皮、しゅうまいの皮、中華麺、即席麺等の麺類；飴、チューインガム、キャンディー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、焼き菓子等の菓子類；かまぼこ、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品；加工乳、発酵乳等の乳製品；サラダ油、てんぷら油、マーガリン、マヨネーズ、ショートニング、ホイップクリーム、ドレッシング等の油脂及び油脂加工食品；ソース、たれ等の調味料；スープ、シチュー、サラダ、惣菜、漬物；その他種々の形態の健康・栄養補助食品；錠剤、カプセル剤、ドリンク剤などが挙げられ、これらの飲食品に上記セラミド類含有組成物を配合するときに、通常用いられる補助的な原料や添加物を併用することができる。

10

【0055】

以上の本実施形態に係る飲食品は、有機溶媒を含まず、食品添加物として使用可能な界面活性剤を含む水性溶媒にて抽出されたセラミド類含有組成物を配合したものであるため、セラミド類が有する好ましい作用が付与されるとともに、安全性に優れたものとなる。

【実施例】

【0056】

以下、実施例、試験例等を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明は下記の各例に何ら制限されるものではない。

20

【0057】

〔実施例1〕

MRS培地（メルクミリポア社製）52gを水1000gに溶解し加熱滅菌した培地に、酵母（サッカロミセス・ヴェローナ，秋田今野商店社製）0.1gを接種して、フラスコに投入し、30℃で24時間静置することにより、培養を行った。得られた培養液を遠心分離（2,500×g,30分）して培地上清を除去し、酵母の菌体を集菌した。

【0058】

得られた菌体300gを、0.1質量%のTween20（ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート）（日油社製）を含有する水3,000gに加え、80℃で抽出した。得られた抽出液を珪藻土でろ過し、減圧濃縮することにより、セラミド類含有組成物を抽出液として得た（2,800g）。

30

【0059】

〔実施例2〕

界面活性剤としてのTween20の濃度を0.2質量%に変更した以外は、実施例1と同様にしてセラミド類含有組成物（2,800g）を得た。

【0060】

〔実施例3〕

界面活性剤としてのTween20の濃度を0.01質量%に変更した以外は、実施例1と同様にしてセラミド類含有組成物（2,800g）を得た。

【0061】

〔実施例4〕

界面活性剤としてのTween20の濃度を0.05質量%に変更した以外は、実施例1と同様にしてセラミド類含有組成物（2,800g）を得た。

40

【0062】

〔比較例1〕

抽出溶媒として、Tween20を含有しない水を用いた以外は、実施例1と同様にして抽出物（2,800g）を得た。

【0063】

〔試験例1〕セラミド類の検出

実施例および比較例で得られた抽出物（セラミド類含有組成物）について、以下のよう

50

にしてセラミド類を検出した。

【0064】

実施例および比較例で得られた抽出液（セラミド類含有組成物）5 mLに蒸留水25 mLを添加して希釈し、Sep-Pak（Waters社製）に通液し、カラムに吸着させた。このカラムを水6 mLで洗浄したのち、メタノール6 mLを用いてグルコシルセラミドを溶出した。溶出液を減圧濃縮し、濃縮物にメタノール0.5 mLを加えて溶かし、試料溶液とした。一方、グルコシルセラミド標準品（トウモロコシ由来）（長良サイエンス社製，NS170202）2 mgを採取し、メタノール10 mLに溶解し、標準溶液とした。

【0065】

得られた試料溶液および標準溶液について、以下の条件にて薄層クロマトグラフィー（TLC）を行い、Rf値約0.3に淡紫褐色～紫褐色のスポットを認めた。

【0066】

<薄層クロマトグラフィー条件>

展開溶媒：酢酸エチル / 1 - プロパノール / 水混合液（80 : 20 : 3）

薄層板：Pre-Coated TLC plates SILICAGEL 60F254（メルク社製）

展開距離：約6 cm

検出方法：薄めた硫酸200 mLにアントロン0.1 gおよびチオ尿素2 gを溶解したアントロン硫酸溶液を、展開後の薄層板に均等に噴霧した後、120 で10分間加熱

【0067】

実施例1～2のサンプルについてのTLC分析の結果を図1に、実施例1、実施例3～4および比較例1の結果を図2に、それぞれ示す。

【0068】

図1および2に示すように、抽出溶媒としての水に界面活性剤を加えることで、有機溶媒を用いずとも、セラミド類が効率よく抽出されることが明らかとなった。ここで、界面活性剤の含有量が0.1質量%である水性溶媒で抽出された実施例1の組成物は、セラミド類の含有量が最も多くかつ他の夾雑物が少ないことが明らかとなった。

【0069】

〔配合例1〕

下記組成に従い、乳液を常法により製造した。

セラミド類含有組成物（実施例1）	0.01 g
ホホバオイル	4.00 g
1,3-ブチレングリコール	3.00 g
アルブチン	3.00 g
ポリオキシエチレンセチルエーテル（20E.0.）	2.50 g
オリーブオイル	2.00 g
スクワラン	2.00 g
セタノール	2.00 g
モノステアリン酸グリセリル	2.00 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン（20E.0.）	2.00 g
パラオキシ安息香酸メチル	0.15 g
グリチルリチン酸ステアリル	0.10 g
黄杞エキス	0.10 g
グリチルリチン酸ジカリウム	0.10 g
イチョウ葉エキス	0.10 g
コンキオリン	0.10 g
オウバクエキス	0.10 g
カミツレエキス	0.10 g
香料	0.05 g

10

20

30

40

50

精製水		残部 (全量を 100 g とする)	
【0070】			
〔配合例 2〕			
下記組成のクリームを常法により製造した。			
セラミド類含有組成物 (実施例 1)	0.05 g		
クジンエキス	0.1 g		
オウゴンエキス	0.1 g		
流動パラフィン	5.0 g		
サラシミツロウ	4.0 g		
スクワラン	0.0 g		10
セタノール	3.0 g		
ラノリン	2.0 g		
ステアリン酸	1.0 g		
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20E.O.)	1.5 g		
モノステアリン酸グリセリル	3.0 g		
油溶性甘草エキス	0.1 g		
1,3-ブチレングリコール	6.0 g		
パラオキシ安息香酸メチル	1.5 g		
香料	0.1 g		
精製水		残部 (全量を 100 g とする)	20
【0071】			
〔配合例 3〕			
下記組成の美容液を常法により製造した。			
セラミド類含有組成物 (実施例 1)	0.01 g		
カミツレエキス	0.1 g		
ニンジンエキス	0.1 g		
キサントガム	0.3 g		
ヒドロキシエチルセルロース	0.1 g		
カルボキシビニルポリマー	0.1 g		
1,3-ブチレングリコール	4.0 g		30
グリチルリチン酸ジカリウム	0.1 g		
グリセリン	2.0 g		
水酸化カリウム	0.25 g		
香料	0.01 g		
防腐剤 (パラオキシ安息香酸メチル)	0.15 g		
エタノール	2.0 g		
精製水		残部 (全量を 100 g とする)	
【0072】			
〔配合例 4〕			
下記組成のヘアトニックを常法により製造した。			40
セラミド類含有組成物 (実施例 1)	0.4 g		
酢酸トコフェロール	適量		
セファラチン	0.002 g		
イソプロピルメチルフェノール	0.1 g		
ヒアルロン酸ナトリウム	0.15 g		
グリセリン	15.0 g		
エタノール	15.0 g		
香料	適量		
キレート剤 (エデト酸ナトリウム)	適量		
防腐剤 (ヒノキチオール)	適量		50

可溶化剤（ポリオキシエチレンセチルエーテル） 適量
 精製水 残部（全量を100gとする）

【0073】

〔配合例5〕

下記組成のシャンプーを常法により製造した。

セラミド類含有組成物（実施例1）	0.5g	
マジョラム抽出物	1.0g	
ウメ果実部抽出物	0.2g	
ヤシ油脂脂肪酸メチルタウリンナトリウム	10.0g	
ヤシ油脂脂肪酸アミドプロピルベタイン	10.0g	10
ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸ナトリウム	20.0g	
ヤシ油脂脂肪酸ジエタノールアミド	4.0g	
プロピレングリコール	2.0g	
香料	適量	
精製水	残部（全量を100gとする）	

【0074】

〔配合例6〕

常法により、以下の組成を有する錠剤を製造した。

セラミド類含有組成物（実施例1）	5.0mg	
ドロマイト（カルシウム20%、マグネシウム10%含有）	83.4mg	20
カゼインホスホペプチド	16.7mg	
ビタミンC	33.4mg	
マルチトール	136.8mg	
コラーゲン	12.7mg	
シヨ糖脂肪酸エステル	12.0mg	

【0075】

〔配合例7〕

常法により、以下の組成を有する経口液状製剤を製造した。

< 1アンプル（1本100mL）中の組成 >

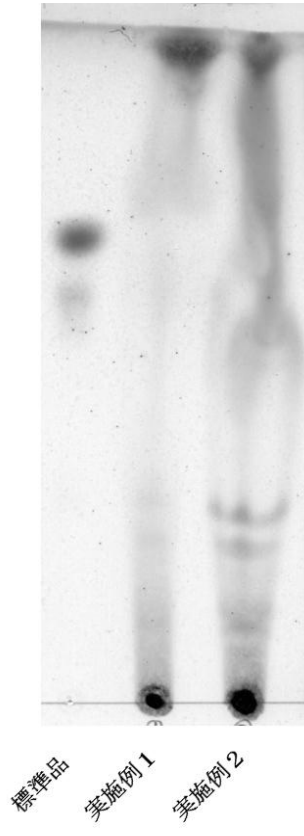
セラミド類含有組成物（実施例1）	0.3質量%	30
ソルビット	12.0質量%	
安息香酸ナトリウム	0.1質量%	
香料	1.0質量%	
硫酸カルシウム	0.5質量%	
精製水	残部（100質量%）	

【産業上の利用可能性】

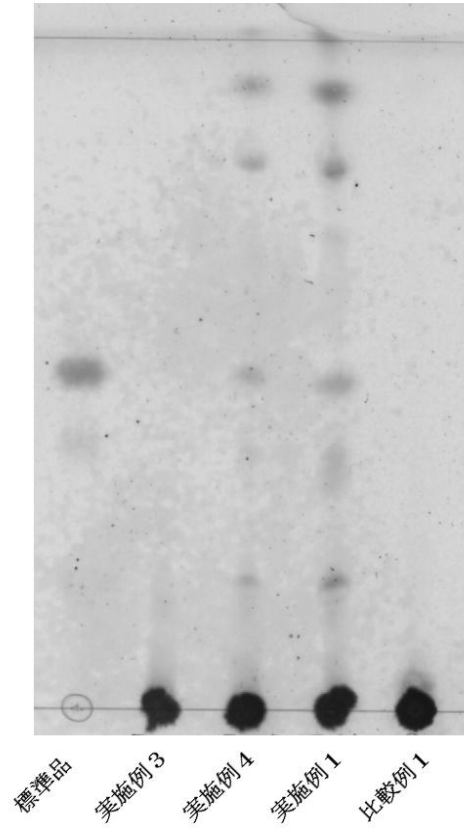
【0076】

本発明によれば、化粧品、飲食品、医薬品等の配合成分として有用性が高いセラミド類を含有する組成物を、有機溶媒を含まない水性溶媒にて酵母から抽出することができ、安全性の高いセラミド類含有組成物を製造することができる。

【 図 1 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 2 3 L 33/145 (2016.01) A 2 3 L 33/145

(56)参考文献 特開2013-043872(JP,A)
特開2003-113393(JP,A)
特開2012-246287(JP,A)
特開2004-089047(JP,A)
特開2008-245607(JP,A)
特開2012-228246(JP,A)
“Mammalian Protein Extract Buffer Yeast Protein Extract Buffer Kit”, [online], 2009.
1公開, GE Healthcare, [2019.12.12検索], インターネット<URL: http://wolfson.huji.ac.il/purification/PDF/Protein_Expression_Extraction/GE_MammalandYeastProtExtractBufKit.pdf>

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 P 1 / 0 0 - 4 1 / 0 0
A 2 3 L 5 / 4 0 - 5 / 4 9 ; 3 1 / 0 0 - 3 3 / 2 9
C a p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S (S T N)