

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-314458

(P2007-314458A)

(43) 公開日 平成19年12月6日(2007.12.6)

|                   |                  |            |             |
|-------------------|------------------|------------|-------------|
| (51) Int. Cl.     |                  | F I        | テーマコード (参考) |
| <b>C07K 14/78</b> | <b>(2006.01)</b> | C07K 14/78 | 4H045       |
| <b>C07K 1/14</b>  | <b>(2006.01)</b> | C07K 1/14  |             |

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁)

|           |                              |          |  |
|-----------|------------------------------|----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願2006-145160 (P2006-145160) | (71) 出願人 | 307016180                                |
| (22) 出願日  | 平成18年5月25日 (2006.5.25)       |          | 地方独立行政法人鳥取県産業技術センター<br>鳥取県鳥取市若葉台南七丁目1番1号 |
|           |                              | (72) 発明者 | 高橋 祐介<br>鳥取県境港市中野町 2032-1                |
|           |                              | (72) 発明者 | 野口 誠<br>鳥取県境港市中野町 2032-1                 |
|           |                              | Fターム(参考) | 4H045 AA20 CA52 EA01 EA15 FA71<br>GA01   |

(54) 【発明の名称】 コラーゲン抽出方法

## (57) 【要約】

【課題】収率良く質の高いコラーゲンを簡易に得ることができるコラーゲンの抽出方法を提供することを目的とする。

【解決手段】魚鱗から得た粗コラーゲンを2.5g計量し、当該計量した粗コラーゲンに濃度30%の過酸化水素水を25ml加え、20～25の室温にて16時間経過させた。次に、過酸化水素水と粗コラーゲンとの混合物に濃度0.02Nの酢酸を200ml加え、その状態で72時間経過させた。その後、過酸化水素水、粗コラーゲンおよび酢酸の混合物を回転数1000rpmで10分間遠心分離を行うことにより、不溶性成分を除去した。さらに、その混合物を透析することにより、過酸化水素、酢酸といった低分子成分を除去し、次いで、凍結乾燥を行った。その結果、1.53gのコラーゲンを得た。すなわち、収率は61.2%であった。

【選択図】なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

コラーゲン含有組織からコラーゲンを抽出する方法であって、  
コラーゲン含有組織に対して前処理を行って粗コラーゲンを生成する粗コラーゲン生成工程と、

前記粗コラーゲン生成工程により生成された粗コラーゲンに対して酸化処理を施す酸化処理工程と、

を含むことを特徴とするコラーゲン抽出方法。

**【請求項 2】**

前記酸化処理工程は、粗コラーゲンを過酸化水素を用いて処理する過酸化水素処理工程を含むことを特徴とする請求項 1 に記載のコラーゲン抽出方法。 10

**【請求項 3】**

前記過酸化水素処理工程は、水温がコラーゲンの変性温度以下かつ 0 以上の 20% ~ 40% 過酸化水素水に粗コラーゲンを 4 時間 ~ 96 時間浸漬させる工程を含むものであることを特徴とする請求項 2 に記載のコラーゲン抽出方法。

**【請求項 4】**

前記コラーゲン含有組織は、魚類から得られる組織であり、

前記粗コラーゲン生成工程は、コラーゲン含有組織を脱灰する脱灰工程を含むことを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか一つに記載のコラーゲン抽出方法。

**【発明の詳細な説明】** 20**【技術分野】****【0001】**

この発明は、コラーゲン抽出方法に関し、特に、収率良く質の高いコラーゲンを簡易に得ることができるコラーゲンの抽出方法に関する。

**【背景技術】****【0002】**

従来、コラーゲン含有組織から様々な方法でコラーゲンが抽出されている。抽出されたコラーゲンは、たとえば、食品や化粧品に添加され、これらはコラーゲン含有製品として市場に供給される。

**【0003】** 30

このようなコラーゲン含有組織は、以前は主に牛などを原料としていた。しかし、近年、いわゆる狂牛病が各地で発生していることから牛を原料とした製品が敬遠される傾向があり、牛以外の原料からコラーゲン含有組織を得る必要も生じている。

**【0004】**

そこで、近年、コラーゲン含有組織を得るための牛以外の原料として魚類が用いられており、特に、魚鱗や魚皮が用いられている。具体的な製品としては、現在、魚から抽出したコラーゲンを配合した食品が「フィッシュコラーゲン」として市場に出回っている。

**【0005】**

魚からコラーゲンを抽出する方法としては、魚鱗や魚皮を熱水で煮出してコラーゲンを抽出する方法もあるが、このような方法では、コラーゲン繊維が変形したり分解したりしてしまい、抽出されるコラーゲンの質が低いものになってしまう。そこで、魚から質の高いコラーゲンを抽出すべく様々な方法が検討されている（たとえば、特許文献 1 および特許文献 2 参照）。 40

**【特許文献 1】** 特開平 05 - 93000 号公報

**【特許文献 2】** 特開 2003 - 327599 号公報

**【発明の開示】****【発明が解決しようとする課題】****【0006】**

しかしながら、従来技術では以下の点で問題があった。

特許文献 1 に記載の方法は、魚鱗から粗コラーゲンを生成し、当該生成した粗コラーゲ 50

ンを酸性水溶液中に浸漬させせることによりコラーゲンを抽出するものである。この方法においては各工程を15以下で低温で行っており、これにより、コラーゲンが変形や分解等せずに質の高いコラーゲンを得ることができる。

具体的には、特許文献1では、生成した粗コラーゲン(粗魚鱗コラーゲン)に4~5の酢酸水溶液を加えて36時間~48時間経過させてコラーゲンを抽出している。そして、この抽出工程を3回繰り返している。その結果、粗コラーゲンに対して最終的に得られたコラーゲンの収率が約6.6%となっている。このように、この方法によると質の高いコラーゲンを得ることができるが、抽出工程を複数回行うという手間があるにもかかわらず収率が悪いため、実際の生産には不向きであるという問題点がある。

#### 【0007】

また、特許文献2に記載の方法は、酵素を用いてコラーゲンの抽出を行う酵素処理を行っており、これにより、コラーゲンを収率よく抽出することができる。

具体的には、まず、粗コラーゲン(前処理済み魚鱗)を塩酸中に浸漬して膨張させた後に破碎し、当該破碎した粗コラーゲンに蛋白質分解酵素であるペプシンを加えて24時間経過させる。その後、遠心分離により上澄み液と沈殿物とに分離し、沈殿物に対しては上記処理を繰り返し行い、合計でペプシンを加える処理を3回行っている。その結果、粗コラーゲンに対して最終的に得られたコラーゲンの収率が約70.0%となっている。なお、この場合の収率は、処理工程を3回繰り返し行った後の合計の収率であり、1回の処理工程のみを行った場合の収率は依然として低いものであった。このように、この方法によると収率良くコラーゲンを抽出することもできるが各工程を繰り返し行わなければならないため、全体として煩雑な方法であり、また、各工程を一回行うのみでは収率が低いといった問題点がある。

#### 【0008】

本発明は上記に鑑みてなされたものであって、収率良く質の高いコラーゲンを簡易に得ることができるコラーゲンの抽出方法を提供することを目的とする。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0009】

上記の目的を達成するために、請求項1に記載のコラーゲンの抽出方法は、コラーゲン含有組織からコラーゲンを抽出する方法であって、コラーゲン含有組織に対して前処理を行って粗コラーゲンを生成する粗コラーゲン生成工程と、前記粗コラーゲン生成工程により生成された粗コラーゲンに対して酸化処理を施す酸化処理工程と、を含むことを特徴とする。

#### 【0010】

すなわち、請求項1にかかる発明は、粗コラーゲンに対して酸化処理を施すことで、粗コラーゲンをコラーゲンの抽出がしやすい状態にすることができる。より詳しくは、通常は、コラーゲン含有組織から生成された状態の粗コラーゲンは、粗コラーゲン分子同士の架橋構造により分子同士が強く結合しており、コラーゲンが抽出しにくい状態となっている。そこで、粗コラーゲンに対して酸化処理を施すことで、粗コラーゲン分子同士の架橋構造を除去することができ、粗コラーゲンから容易にコラーゲンを抽出することが可能となる。

#### 【0011】

また、その後は、たとえば、粗コラーゲンに酢酸等の酸性水溶液を添加することにより、酸性溶液にコラーゲンを溶解させて収率良くコラーゲンを抽出することができる。

また、このようにすることで、コラーゲンが変形や分解等しにくいため、質の高いコラーゲンを抽出することができる。ゆえに、簡易な方法でありながら、収率良く質の高いコラーゲンを得ることができる。

#### 【0012】

なお、粗コラーゲンに対して酸化処理を施すとは、広く粗コラーゲンを酸化させる状況に置くことを言い、その方法としては、たとえば、オゾン等の酸化剤を用いる方法や、電気分解を行う方法を挙げることができる。

10

20

30

40

50

## 【0013】

また、請求項2に記載のコラーゲンの抽出方法は、請求項1に記載のコラーゲンの抽出方法において、前記酸化処理工程が、粗コラーゲンを過酸化水素を用いて処理する過酸化水素処理工程を含むことを特徴とする。

## 【0014】

すなわち、請求項2にかかる発明は、過酸化水素を用いて粗コラーゲンを処理するので、特別な装置を導入することなく、処理液の入替えのみの簡便な作業にてコラーゲンを抽出することができる。

## 【0015】

また、請求項3に記載のコラーゲンの抽出方法は、請求項2に記載のコラーゲンの抽出方法において、前記過酸化水素処理工程が、水温がコラーゲンの変性温度以下かつ0以上の20%～40%過酸化水素水に粗コラーゲンを4時間～96時間浸漬させる工程を含むものであることを特徴とする。

10

## 【0016】

すなわち、請求項3にかかる発明は、効率的な条件のもとで粗コラーゲンに過酸化水素処理を行うことができる。

なお、コラーゲンの変性温度は、たとえば、コラーゲンが魚由来のものの場合には約30であり、コラーゲンが牛や豚由来のものの場合には約40である。また、コラーゲン水溶液の凝固点は、約0である。また、過酸化水素水の水温は、20～25であることが好ましい。

20

## 【0017】

また、請求項4に記載のコラーゲンの抽出方法は、請求項1～3のいずれか一つに記載のコラーゲンの抽出方法において、前記コラーゲン含有組織が、魚類から得られる組織であり、前記粗コラーゲン生成工程が、コラーゲン含有組織を脱灰する脱灰工程を含むことを特徴とする。

## 【0018】

すなわち、請求項4にかかる発明は、魚類からコラーゲンを抽出するので、牛に比べて需要を見込むことができるコラーゲンを抽出することができる。

また、コラーゲン含有組織を脱灰して粗コラーゲンを生成するので、質の高い粗コラーゲンを得ることができる。なお、脱灰するとは、広くカルシウム成分を除去することを言う。より詳しくは、魚類から得られるコラーゲン含有組織には、カルシウムが多く含まれており、このままの状態ではコラーゲンを抽出すると不純物が混入しやすく抽出するコラーゲンの質が悪くなり、また、収率も悪くなってしまう。そこで、コラーゲン含有組織からカルシウム成分を除去して粗コラーゲンを生成することで、収率良く質の高い粗コラーゲンを得ることができる。

30

## 【0019】

なお、魚類から得られるコラーゲン含有組織としては、魚鱗や魚皮等を挙げるることができる。たとえば、魚鱗は、その成分の約50%がカルシウム成分であり、残りの約50%がたんぱく質である。そして、そのたんぱく質の約40%がコラーゲンである。そのため、脱灰してカルシウム成分を除去することで、余分な成分を除去して質の高い粗コラーゲンを得ることができる。

40

## 【0020】

なお、脱灰する方法としては、コラーゲン含有組織を水酸化ナトリウム水溶液に浸漬してアルカリ処理する工程と、アルカリ処理した後のコラーゲン含有組織を塩酸溶液に浸漬して塩酸処理する工程とを含む方法を挙げることができる。このようにすることで、コラーゲン含有組織を良好に脱灰することができる。

## 【発明の効果】

## 【0021】

以上のように、本発明（請求項1）によれば、簡易な方法でありながら、収率良く質の高いコラーゲンを得ることができる。本発明（請求項2）によれば、簡便な作業工程にて

50

コラーゲンを抽出することができる。本発明（請求項3）によれば、効率的な条件のもとで粗コラーゲンに過酸化水素処理を行うことができる。本発明（請求項4）によれば、牛に比べて需要を見込むことができるコラーゲンを抽出することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

以下、実施例および比較例により本発明を具体的に説明する。

本発明においては、原料として魚鱗を用い、特に、魚としてテラピアを用いた。

また、魚鱗を脱灰する工程としてアルカリ処理および塩酸処理を行った。このうち、アルカリ処理として魚鱗を水酸化ナトリウム水溶液に浸漬した。また、塩酸処理として魚鱗を塩酸溶液に浸漬した。また、魚鱗から得た粗コラーゲンを酸化処理する工程として、粗コラーゲンに過酸化水素水を加えた。

10

【0023】

なお、原料は魚鱗に限らず広くコラーゲン含有組織を含むものを用いることができる。たとえば、テラピア以外の魚を用いることもできるし、さらに、原料とする部分を魚皮とすることもできる。

また、魚鱗を脱灰する方法はカルシウムを除去するものであれば良く、アルカリ処理および塩酸処理を行うものに限られない。

【0024】

（実施例1）

乾燥したテラピアの魚鱗100gを濃度0.1Nの水酸化ナトリウム水溶液に浸漬し、水温を10℃に保って24時間攪拌した。その後、魚鱗を水酸化ナトリウム水溶液から取出し、洗浄液が濁らなくなるまで魚鱗を洗浄した。

20

【0025】

洗浄した魚鱗を濃度1%の塩酸溶液に浸漬し、塩酸溶液の水温を10℃に保って16時間攪拌した。その後、魚鱗を塩酸溶液から取出し、洗浄液が濁らなくなるまで魚鱗を洗浄した。

そして、洗浄した魚鱗をホモジナイザーを用いて粉碎した。粉碎した魚鱗を凍結乾燥することにより、50gの「粗コラーゲン」を得た。

【0026】

上記のようにして得られた粗コラーゲンを2.5g計量し、当該計量した粗コラーゲンに濃度30%の過酸化水素水を25ml加え、20℃～25℃の室温にて4時間、7時間、および16時間経過させた。

30

次に、コラーゲンを抽出するために過酸化水素水と粗コラーゲンとの混合物に濃度0.02Nの酢酸を20ml加え、その状態で72時間経過させた。

【0027】

その後、過酸化水素水、粗コラーゲンおよび酢酸の混合物を回転数1000rpmで10分間遠心分離を行うことにより、不溶性成分を除去した。さらに、その混合物を透析することにより、過酸化水素、酢酸といった低分子成分を除去し、次いで、凍結乾燥を行った。

その結果、過酸化水素水を加えた後の経過時間が4時間の場合の収率が36%、7時間の場合の収率が39%、16時間の場合の収率が61.2%となった。

40

これより、粗コラーゲンに過酸化水素水を加えた後の経過時間は4時間～16時間が効率的であることが確認できた。

【0028】

（実施例2）

実施例1と同様の方法で得た粗コラーゲンを2.5g計量し、当該計量した粗コラーゲンに濃度10%または20%の過酸化水素水を25ml加え、20℃～25℃の室温にて4時間、7時間経過させた。

次に、コラーゲンを抽出するために過酸化水素水と粗コラーゲンとの混合物に濃度0.02Nの酢酸を20ml加え、その状態で72時間経過させた。

50

## 【0029】

その後、過酸化水素水、粗コラーゲンおよび酢酸の混合物を回転数1000rpmで10分間遠心分離を行うことにより、不溶性成分を除去した。さらに、その混合物を透析することにより、過酸化水素、酢酸といった低分子成分を除去し、次いで、凍結乾燥を行った。

その結果、10%過酸化水素水にて4時間処理を行ったものの収率が2.5%、7時間のものは3.5%であった。20%過酸化水素水にて4時間処理を行ったものの収率が8%、7時間の場合の収率が10.5%となった。

これより、20%過酸化水素による酸化処理によってもコラーゲン抽出効率が向上することが確認できた。

10

## 【0030】

(実施例3)

実施例1と同様の方法で得た粗コラーゲンを2.0g計量し、当該計量した粗コラーゲンに濃度30%の過酸化水素水を15ml加え、20~25の室温にて16時間経過させた。

次に、過酸化水素水と粗コラーゲンとの混合物に濃度0.02Nの酢酸を20ml加え、その状態で72時間経過させた。

## 【0031】

その後、過酸化水素水、粗コラーゲンおよび酢酸の混合物を回転数1000rpmで10分間遠心分離を行うことにより、不溶性成分を除去した。

20

次いで、より収率良くコラーゲンを得るために、この混合物に水酸化ナトリウム水溶液を加えてpHを7.5とし、さらに、回転数1000rpmで10分間遠心分離を行うことにより、コラーゲンを沈殿させた。

## 【0032】

そして、この混合物を濃度0.50Nの酢酸に投入して溶解し、その後、透析することにより低分子成分を除去し、次いで、凍結乾燥を行った。

その結果、1.38gのコラーゲンを得た。すなわち、収率は69.0%であった。

## 【0033】

(比較例1)

実施例1と同様の方法で得た粗コラーゲンを2.5g計量し、当該計量した粗コラーゲンに、たんぱく質分解酵素であるペプシンの濃度が0.1%であり、酢酸の濃度が0.01Nである溶液を25ml加え、さらに、水温を10に保って72時間経過させた。

30

## 【0034】

その後、粗コラーゲン、ペプシンおよび酢酸の混合物を回転数1000rpmで10分間遠心分離を行うことにより、不溶性成分を除去した。さらに、その混合物を透析することにより、低分子成分を除去し、次いで、凍結乾燥を行った。

なお、比較例1は、本件発明の方法と従来技術の方法とを分かりやすく比較するため、特許文献2に記載の方法を参考にして行った。また、特許文献2によれば、各工程を複数回繰り返す方法が記載されているが、比較例1においては比較の便宜上、各工程を一回のみ行った。

40

## 【0035】

その結果、0.12gのコラーゲンを得た。すなわち、収率は4.8%であった。

これより、実施例1および実施例2と比較例1とを比較すると、過酸化水素処理を行った実施例1および実施例2の収率が、比較例1の収率に比べて高いことが確認できた。すなわち、同一時間で処理を行う場合には実施例1および実施例2の方法が比較例1の方法よりもコラーゲンを多く抽出でき、同一の量のコラーゲンを抽出する場合には実施例1および実施例2の方法が比較例1の方法よりも工程が少なく簡易な方法であることが確認できる。換言すれば、特許文献2にならってペプシンを用いて本願方法と比較できるように実験を構築した比較例1よりも、本願方法が遥かに効率的であることが確認できたと言える。

50

## 【0036】

## (実施例4)

実施例2と同様の方法において、粗コラーゲンに過酸化水素水を加えた後の経過時間を種々に変更して測定結果を得た。過酸化水素水を加えた後の経過時間は、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間および2週間の6種類として、それぞれの測定結果を得た。また、過酸化水素水は34%のものを45ml用いた。また、過酸化水素水の水温は10に保った。

## 【0037】

その結果、経過時間が16時間の場合の収率が24.4%となり、経過時間が24時間の場合の収率が23.5%となり、経過時間が48時間の場合の収率が36.0%となり、経過時間が72時間の場合の収率が39.0%となり、経過時間が96時間の場合の収率が43.5%となり、経過時間が2週間の場合の収率が53.0%となった。

10

## 【0038】

これより、粗コラーゲンに過酸化水素水を加えた後の経過時間は、16時間～96時間、特に、16時間～48時間が効率的であることが確認できた。すなわち、実施例1の結果を併せれば、粗コラーゲンに過酸化水素水を加えた後の経過時間は、4時間～96時間が効率的であり、特に16時間～48時間が効率的であるといえる。

また、約40%過酸化水素による酸化処理によってもコラーゲン抽出効率が向上することが確認できた。

## 【産業上の利用可能性】

20

## 【0039】

本発明は、魚鱗からコラーゲンを抽出する方法のみならず、広くコラーゲン含有組織からコラーゲンを抽出する方法として利用することができる。