

(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2006-345874

(P2006-345874A)

(43) 公開日 平成18年12月28日(2006.12.28)

(51) Int. Cl.

A23F 5/36 (2006.01)

F1

A23F 5/36

テーマコード (参考)

4B027

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2006-255909 (P2006-255909)	(71) 出願人	000000918 花王株式会社
(22) 出願日	平成18年9月21日 (2006. 9. 21)		東京都中央区日本橋茅場町 1 丁目 1 4 番 1 〇号
(62) 分割の表示	特願2005-21025 (P2005-21025) の分割	(74) 代理人	110000084 特許業務法人アルガ特許事務所
原出願日	平成17年1月28日 (2005. 1. 28)	(74) 代理人	100068700 弁理士 有賀 三幸
(31) 優先権主張番号	特願2004-24246 (P2004-24246)	(74) 代理人	100077562 弁理士 高野 登志雄
(32) 優先日	平成16年1月30日 (2004. 1. 30)	(74) 代理人	100096736 弁理士 中嶋 俊夫
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100117156 弁理士 村田 正樹
(31) 優先権主張番号	特願2004-379782 (P2004-379782)		
(32) 優先日	平成16年12月28日 (2004.12.28)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 容器詰飲料

(57) 【要約】

【課題】長期飲用しても体内で過酸化水素を生成しないコーヒー飲料の提供。

【解決手段】ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0.00005質量%であるコーヒー飲料組成物を充填した容器詰飲料。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ヒドロキシヒドロキノン含有量が 0 ~ 0 . 0 0 0 0 5 質量%であるコーヒー飲料組成物を充填した容器詰飲料。

## 【請求項 2】

コーヒー飲料組成物が、高速液体クロマトグラフィーによる分析における、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が 0 . 5 4 ~ 0 . 6 1 の時間領域に、実質的にピークを有しないものである請求項 1 記載の容器詰飲料。

## 【請求項 3】

シングルストレンクスである請求項 1 又は 2 記載の容器詰飲料。

10

## 【請求項 4】

容器が酸素非透過性である請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の容器詰飲料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、長期飲用しても体内での過酸化水素の発生を抑制することのできるコーヒー飲料組成物に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

活性酸素の一つである過酸化水素は、変異原性、癌原性等の他、動脈硬化症、虚血性心疾患等の循環器系疾患、消化器疾患、アレルギー疾患、眼疾患など多くの疾患に深く関与しているといわれている（非特許文献 1）。一方、コーヒーには、焙煎によって自然発生する過酸化水素が含まれており（非特許文献 2）、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、抗酸化剤（特許文献 1 ~ 4）等を添加することにより、コーヒー中の過酸化水素を除去する技術が報告されている。

20

【非特許文献 1】栄養 評価と治療 19,3 (2002)

【非特許文献 2】Mutat. Res. 16,308(2) (1994)

【特許文献 1】特公平 4 - 2 9 3 2 6 号公報

【特許文献 2】特開平 3 - 1 2 7 9 5 0 号公報

【特許文献 3】特開平 1 1 - 2 6 6 8 4 2 号公報

30

【特許文献 4】特開 2 0 0 3 - 8 1 8 2 4 号公報

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0003】

本発明者らが、過酸化水素を除去したコーヒーをラットに飲用させたところ、体内で過酸化水素が生成し、尿中過酸化水素濃度が上昇することが判明した。すなわち、従来の、コーヒー飲料中の過酸化水素除去技術によっては、コーヒー飲用後に体内での過酸化水素生成を抑制することはできなかった。

## 【0004】

従って、本発明の目的は、飲用後に体内で過酸化水素を生成させないコーヒー飲料組成物を提供することにある。

40

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

そこで本発明者は、コーヒー中の何らかの成分が生体内において過酸化水素を生成させるのではないかと仮説に基づき、種々検討した結果、コーヒー中に含まれるヒドロキシヒドロキノンに、生体内で過酸化水素を生成させる作用があること、及びヒドロキシヒドロキノンの含有量を通常含まれる量より十分に少ない 0 ~ 0 . 0 0 0 0 5 質量%に制御すれば、生体内で過酸化水素生成を増加させないコーヒー飲料が得られることを見出した。

## 【0006】

すなわち、本発明は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が 0 ~ 0 . 0 0 0 0 5 質量%であ

50

るコーヒー飲料組成物を充填した容器詰飲料を提供するものである。

【0007】

また、本発明は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0.00005質量%であるコーヒー飲料組成物を提供するものである。

【発明の効果】

【0008】

本発明のコーヒー飲料組成物を飲用しても生体内で過酸化水素が生成しない。従って、本発明のコーヒー飲料組成物は、安全性の高い飲料として有用である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

本発明のコーヒー飲料組成物は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0.00005質量%に調整されており、本発明のソリュブルコーヒー組成物は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0.001質量%に調整されていることを特徴とする。ヒドロキシヒドロキノン含有量が上記範囲内である場合には、これらの組成物を飲用したときに生体内での過酸化水素の発生が抑制される。コーヒー飲料組成物中の好ましいヒドロキシヒドロキノン含有量は、0～0.00003質量%であり、より好ましくは0～0.00001質量%である。ソリュブルコーヒー組成物中の好ましいヒドロキシヒドロキノン含有量は0～0.0003質量%であり、より好ましくは0～0.0001質量%である。

10

【0010】

当該ヒドロキシヒドロキノン含量は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により測定することができる。HPLCにおける検出手段としては、UV検出が一般的であるが、CL（化学発光）検出、EC（電気化学）検出、LC-Mass検出等により更に高感度で検出することもできる。なお、HPLCによるヒドロキシヒドロキノン含量の測定にあたっては、コーヒー飲料を濃縮した後に測定することもできる。

20

【0011】

更にヒドロキシヒドロキノン含量は、HPLCで直接測定することもできるが、コーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒー飲料組成物から、各種クロマトグラフィーによりヒドロキシヒドロキノン濃縮して、その濃縮画分の量を測定することによっても定量できる。なお、ヒドロキシヒドロキノン量の測定にあたっては、容器詰飲料の場合には開封後直ちに、例えば0.1N（規定）となるように塩酸を加えて、又は、0.1Nの塩酸/水酸化ナトリウムバッファー系で測定するのが好ましい。

30

【0012】

ヒトが通常市販のインスタントコーヒー2杯（280g）を飲用すると、尿中過酸化水素量は有意に増加する（図1）。一方、通常市販のコーヒー及び過酸化水素除去コーヒーを摂取したラットの尿中過酸化水素増加は同程度であった（図2）。このことから、コーヒー中に含まれる過酸化水素により、飲用後の尿中過酸化水素量が増加しているのではなく、コーヒー中に含まれる何らかの成分が生体内で過酸化水素を生成させていることは明らかである。

【0013】

そこで本発明者は、コーヒー中に含まれる種々の成分の体内での過酸化水素生成能について検討した。その結果、ヒドロキシヒドロキノン通常市販のコーヒー中に0.2～3mg/190g含まれているが、極めて少量の摂取でも体内過酸化水素生成を増加させる作用を有し（図3、4）、ヒドロキシヒドロキノン含有量を0.00005質量%以下に調整したコーヒーを摂取した場合には、体内での過酸化水素生成抑制することが判明した（図7）。

40

【0014】

本発明のコーヒー飲料組成物及びソリュブルコーヒー組成物は、ヒドロキシヒドロキノン含有量を低減させる以外は、通常市販のコーヒー成分をそのまま含有しているのが好ましい。

【0015】

50

本発明のコーヒー飲料組成物は、コーヒー飲料組成物100gを基準とした場合に、カリウムを30~300mg/100g、更に40~250mg/100g、特に50~200mg/100g含むのが好ましい。また本発明のソリュブルコーヒー組成物には、ソリュブルコーヒー組成物1gを基準として、カリウムを20~200mg/1g、更に30~180mg/1g、特に40~150mg/1g含むのがコーヒー本来の風味の点で好ましい。カリウム濃度の測定は、例えば原子吸光光度法を用いて測定することができる。カリウム量を上記範囲にするためには、コーヒー飲料組成物の製造過程で、カリウムを積極的に除去する等の操作を行わないのが好ましい。

また、本発明のコーヒー飲料組成物は、コーヒー飲料組成物100gを基準とした場合に、灰分の量が280mg以下、更には250mg以下、より更には220mg以下、特に200mg以下であることがコーヒー本来の風味の点で好ましい。灰分の測定は、四訂日本食品標準成分表(昭和57年発行、科学技術庁資源調査委員会編集、28頁)記載の方法に準拠し、550℃で加熱し残存炭素がなくなり恒量となるまで灰化する方法を用いて測定することができる。灰分の量を上記範囲にするためには、コーヒー飲料組成物の製造過程で、強アルカリで処理した後に酸を用いて中性領域に戻すなどの、灰分の量が多くなる操作を行わないのが好ましい。

10

#### 【0016】

また本発明のコーヒー飲料組成物は、 $H_2O_2$ (過酸化水素)の含有量が1ppm以下、更に0.1ppm以下、特に0.01ppm以下であるのがコーヒー本来の風味の点で好ましい。過酸化水素の測定は通常用いられる過酸化水素計を用いて行うことができ、例えば、セントラル科学社製の高感度過酸化水素計スーパーオリテクターモデル5(SUPER ORITECTOR MODEL 5)等を用いることができる。

20

#### 【0017】

本発明のコーヒー飲料組成物に用いるコーヒー豆の種類は、特に限定されないが、例えばブラジル、コロンビア、タンザニア、モカ等が挙げられる。コーヒー種としては、アラビカ種、ロブスタ種などがある。コーヒー豆は1種でもよいし、複数種をブレンドして用いてもよい。焙煎コーヒー豆の焙煎方法については特に制限はなく、焙煎温度、焙煎環境についても何ら制限はなく、通常の方法を採用できる。更にその豆からの抽出方法についても何ら制限はなく、例えば焙煎コーヒー豆又はその粉碎物から水~熱水(0~100℃)を用いて10秒~30分抽出する方法が挙げられる。抽出方法は、ポイリング式、エスプレッソ式、サイホン式、ドリップ式(ペーパー、ネル等)等が挙げられる。

30

#### 【0018】

本発明のコーヒー飲料組成物は、100gあたりコーヒー豆を生豆換算で1g以上使用したものをいう。好ましくはコーヒー豆を2.5g以上使用しているものである。更に好ましくはコーヒー豆を5g以上使用しているものである。本発明のコーヒー飲料組成物を容器詰飲料とする場合には、シングルストレンクスであることが好ましい。ここでシングルストレンクスとは、容器詰飲料を開封した後、常態として薄めずにそのまま飲むものをいう。

#### 【0019】

本発明のコーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒー組成物は、焙煎コーヒー豆抽出物を吸着剤処理してヒドロキシヒドロキノン含量を低減させることにより得られる。吸着剤としては、活性炭、逆相担体などが挙げられる。より具体的には、焙煎コーヒー豆抽出液又は焙煎コーヒー豆抽出液の乾燥品の水溶液に、吸着剤を加え0~100℃で10分~5時間攪拌した後、吸着剤を除去すればよい。ここで、吸着剤は、焙煎コーヒー豆重量に対して活性炭の場合は0.02~1.0倍、逆相担体の場合は2~100倍用いるのが好ましい。活性炭としては、ヤシ殻活性炭が好ましく、更に水蒸気賦活化ヤシ殻活性炭が好ましい。活性炭の市販品としては、白鷲 $WH_2c$ (日本エンパイロケミカルズ)、太閤CW(二村化学)、クラレコールGW(クラレケミカル)等を用いることができる。逆相担体としては、YMC・ODS-A(YMC)、C18(GLサイエンス)等が挙げられる。

40

これらの吸着剤処理法のうち、活性炭を用いた吸着剤処理法はクロロゲン酸類量を低下

50

させることなく選択的にヒドロキシヒドロキノン含量を低減させることができるだけでなく、工業的にも有利であり、更にカリウム含量を低下させない（質量比で1/5以上、特に1/2以上保持）点からも好ましい。

【0020】

また、本発明のコーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒー組成物中のヒドロキシヒドロキノン量は、高速液体クロマトグラフィーによりガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0.54~0.61の時間領域のピークとして検出することができる。従って、本発明のコーヒー飲料組成物は、高速液体クロマトグラフィーによる分析において、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0.54~0.61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするコーヒー飲料組成物と規定できる。また、本発明のソリュブルコーヒー組成物は、高速液体クロマトグラフィーによる分析において、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0.54~0.61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするソリュブルコーヒー組成物と規定できる。尚、この規定における高速液体クロマトグラフィーの分析条件は、後述の分析条件Bによるものである。

10

【0021】

本発明におけるコーヒー組成物が、高速液体クロマトグラフィーによる分析における、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0.54~0.61の時間領域に実質的にピークを有しないことを確認するには、一般的なHPLCを使用することができ、例えば溶離液として0.05M酢酸水溶液と0.05M酢酸100%アセトニトリル溶液のグラジエントを用い、ODSカラムを用いて、紫外線吸光光度計等により検出することで確認することができる。

20

【0022】

本発明においてガリックアシッドに対する相対保持時間が0.54~0.61の時間領域に実質的にピークを有しないとは、ガリックアシッドの1ppm溶液を分析時の面積値をS1とし、同条件でコーヒー飲料組成物を分析した時の前記特定の領域に溶出する成分に由来するピーク面積の総和をS2としたとき、 $S2/S1 < 0.01$ であることを意味する。

【0023】

本発明のコーヒー飲料組成物には、所望により、ショ糖、グルコース、フルクトース、キシロース、果糖ブドウ糖液、糖アルコール等の糖分、乳成分、抗酸化剤、pH調整剤、乳化剤、香料等を添加することができる。乳成分としては、生乳、牛乳、全粉乳、脱脂粉乳、生クリーム、濃縮乳、脱脂乳、部分脱脂乳、れん乳等が挙げられる。本発明のコーヒー飲料組成物のpHとしては、3~7.5、更に4~7、特に5~7が飲料の安定性の面で好ましい。

30

【0024】

ソリュブルコーヒー組成物とは粉体状のインスタントコーヒー粉体等の粉体食品のことである。インスタントコーヒー粉体は、常法にしたがって製造することができる。例えばコーヒー抽出液をノズルからスプレーし、約210~310の熱風中を落下させることにより、多孔質、水可溶性のコーヒー粉末にする噴霧乾燥（スプレードライ）、あるいはコーヒー抽出物を液体窒素や冷凍庫等で凍結し、粉碎し、篩別したのち真空中で水分を昇華させて、水分を3%以下にする凍結乾燥（フリーズドライ）等により乾燥粉体を得ることができる。

40

【0025】

本発明のコーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒーはPETボトル、缶（アルミニウム、スチール）、紙、レトルトパウチ、瓶（ガラス）等の容器に詰めることができる。この場合、本発明のコーヒー飲料組成物はそのままで50~2500mLの容器詰飲料とすることができる。容器詰飲料のpHとしては5~7.5が好ましく、特に5.4~7が好ましい。容器としては、コーヒー中の成分の変化を防止する観点から、酸素非透過性の容

50

器が好ましく、例えば、アルミニウムや、スチールなどの缶、ガラス製のビン等を用いるのが良い。缶やビンの場合、リキャップ可能な、リシール型のものも含まれる。ここで酸素非透過性とは、20、相対湿度50%の環境下で測定した酸素透過度 ( $\text{cc} \cdot \text{mm} / \text{m}^2 \cdot \text{day} \cdot \text{atm}$ ) が5以下であることをいうが、更に3以下、特に1以下であればより好ましい。

また本発明のソリュブルコーヒーは1gあたり25~500mLの水又はお湯に溶解して飲むことができる。

#### 【0026】

容器詰飲料にする場合、通常殺菌処理が行われるが、当該殺菌処理は、金属缶のように容器に充填後、加熱殺菌できる場合にあつては食品衛生法に定められた殺菌条件で行われる。PETボトル、紙容器のようにレトルト殺菌できないものについては、あらかじめ食品衛生法に定められた条件と同等の殺菌条件、例えばプレート式熱交換器で高温短時間殺菌後、一定の温度迄冷却して容器に充填する等の方法が採用される。また無菌下で加熱殺菌後、無菌下でpHを中性に戻すことや、中性下で加熱殺菌後、無菌下でpHを酸性に戻す等の操作も可能である。

10

#### 【実施例】

#### 【0027】

##### 実施例1

(焙煎コーヒーが体内過酸化水素量に与える影響)

(a) 焙煎コーヒーの調製

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)4gをミネラルウォーター280mLに溶解した。この時コーヒー280mL中のクロロゲン酸量は210mg、HHQ量は2.6mgとなる。

20

#### 【0028】

(b) 得られたコーヒー280mLを健常男性6名に飲用させ、その後1~5時間後に尿中過酸化水素量を測定した。なお、尿中過酸化水素量は、FOX(ferrous ion oxidation-xyleneol orange)アッセイにより測定した。

#### 【0029】

その結果、図1に示すように、焙煎コーヒーの飲用により、ヒトの尿中過酸化水素量は増加することがわかる。

30

#### 【0030】

##### 実施例2

(過酸化水素除去コーヒーが体内過酸化水素量に与える影響)

(a) 焙煎コーヒー

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)10gを26mLの蒸留水に溶解した。

#### 【0031】

(b) 過酸化水素除去コーヒー

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)10gを23mLの蒸留水に溶解し、3mLのカタラーゼ溶液(セントラル科学)を添加した。

40

#### 【0032】

(c) 上記(a)及び(b)で得られたコーヒーを、6週齢のSD系雄性ラット(n=4)に強制経口投与(10mL/kg)した。投与後3時間目に採尿し、尿中過酸化水素量を測定した。なお、尿中過酸化水素量はFOX(ferrous ion oxidation-xyleneol orange)アッセイにより測定した。

#### 【0033】

その結果、図2に示すように、焙煎コーヒーの摂取により尿中過酸化水素量は増加し、その増加率は焙煎コーヒーから過酸化水素を除去してもほとんど変化しなかった。このことから、焙煎コーヒーを摂取することにより体内で新たに過酸化水素が生成することがわかる。

50

## 【0034】

## 実施例3

(体内で過酸化水素を生成させる成分)

(a) 焙煎コーヒー

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)を下記の溶離液Aに溶解し、20 mg/mLのコーヒー溶液を作製した。

## 【0035】

この焙煎コーヒー中のヒドロキシヒドロキノン量を定量したところ、0.0013質量%であった。ここで焙煎コーヒー中のヒドロキシヒドロキノンの分析法は次の通りである。以下の分析条件を分析条件Aとする。分析機器はHPLC(島津製作所(株))を使用した。装置の構成ユニットの型番は次の通り。ディテクター:SPD-M10A、オープン:CTO-10AC、ポンプ:LC-10AD、オートサンプラー:SIL-10AD、カラム:Inertsil ODS-2 内径4.6 mm×長さ250 mm。

10

## 【0036】

分析条件は次の通り。サンプル注入量:10 µL、流量:1.0 mL/min、紫外線吸光光度計検出波長:290 nm、溶離液A:0.05 M酢酸3%アセトニトリル溶液、溶離液B:0.05 M酢酸100%アセトニトリル溶液

## 【0037】

濃度勾配条件

時間	溶離液 A	溶離液 B
0分	100%	0%
20分	80%	20%
35分	80%	20%
45分	0%	100%
60分	0%	100%
70分	100%	0%
120分	100%	0%

20

## 【0038】

ヒドロキシヒドロキノンのリテンションタイム:5.5分。ここで求めたエリアからヒドロキシヒドロキノンを標準物質とし、質量%を求めた。

30

## 【0039】

また、コーヒー組成物中のヒドロキシヒドロキノンは以下の分析法によっても測定できる。以下の分析条件を分析条件Bとする。分析機器はHPLC(日立製作所(株))を使用した。装置の構成ユニットの型番は次の通り。ディテクター:L-7455、オープン:L-7300、ポンプ:L-7100、オートサンプラー:L-7200、カラム:Inertsil ODS-2 内径4.6 mm×長さ250 mm。

## 【0040】

分析条件は次の通り。サンプル注入量:10 µL、流量:1.0 mL/min、紫外線吸光光度計検出波長:258又は288 nm、溶離液A:0.05 M酢酸水溶液、溶離液B:0.05 M酢酸100%アセトニトリル溶液

40

## 【0041】

濃度勾配条件

時間	溶離液 A	溶離液 B
0分	100%	0%
15分	100%	0%
15.1分	0%	100%
25分	0%	100%
25.1分	100%	0%
30分	100%	0%

## 【0042】

50

ヒドロキシヒドロキノンの保持時間：6.8分。ここで求めたエリアからヒドロキシヒドロキノンを標準物質とし、質量%を求めた。同様に測定したガリックアシッドの保持時間は11.5分であった。

【0043】

(b) インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス) 2.4 g/kg (ヒドロキシヒドロキノンとして1.6 mg/kg)、ヒドロキシヒドロキノン1.6 mg/kgを、7週齢のSD系雄性ラット(n=4)に強制経口投与した。投与前及び投与後3時間、6時間目に採尿し、実施例2と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

【0044】

その結果、図3に示すように、ヒドロキシヒドロキノン及び焙煎コーヒー摂取群では摂取後3時間目の尿中過酸化水素量が有意に増加し、増加した尿中過酸化水素量はヒドロキシヒドロキノン及び焙煎コーヒー摂取群で同程度であった。これにより、コーヒー中の体内過酸化水素生成物質がヒドロキシヒドロキノンであることが判明した。

10

【0045】

実施例4

7週齢のSD系雄性ラット(n=3)に、ヒドロキシヒドロキノン(0.1、0.3、1及び3 mg/kg)を強制経口投与した。投与前及び投与後3時間、6時間目に採尿し、実施例2と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

【0046】

その結果、図4に示すように、0.3 mg/kg以上のヒドロキシヒドロキノンの摂取によって、用量依存的に体内の過酸化水素が増加することが判明した。

20

【0047】

実施例5

本発明のコーヒー飲料組成物は次のように製造した。インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス) 2.5 gをODS充填剤(YMC GEL ODS-A 細孔径6 nm 粒子径150 µm) 500 gを充填したカラムにアプライし、0.5%酢酸水6 Lでヒドロキシヒドロキノンを含む画分を溶出し、ヒドロキシヒドロキノンを含まない画分はメタノール6 Lで溶出した。ヒドロキシヒドロキノンを含まない画分Aは凍結乾燥法によりメタノールを完全に除去した。インスタントコーヒー2.5 gから画分Aは0.933 g得られた。画分Aを実施例3に示した方法で分析したところ、画分A中のヒドロキシヒドロキノンは検出できなかった。画分A 0.75 gを140 mLの水に溶解することにより、本発明のコーヒー飲料組成物を作製した。

30

尚、本発明の発明のコーヒー飲料組成物中の過酸化水素量を高感度過酸化水素計を用いて測定したところ、過酸化水素量は検出限界以下であり検出されなかった。過酸化水素の分析法は次の通りである。測定は、高感度過酸化水素計SUPER ORITECTOR MODEL 5(セントラル科学(株))にて行った。試料2 mLをホールピペットにて精秤し、装置本体の反応セルに注入した。反応セルを密栓した後、測定レンジを選択し、測定用スイッチを押して測定を開始した。測定準備が整ったことを知らせる発信音を確認後、速やかにオリテクター用カタラーゼ20 µLをマイクロシリンジにて注入し、出力値を読み取った。

40

【0048】

装置の校正は、0.1、1、及び5 mg/Lの過酸化水素標準液にて行った。

過酸化水素標準液の調製は、過酸化水素(30%水溶液、特級、和光純薬工業(株))を、イオン交換水にて1,000 mg/Lに希釈したものを原液として使用した。原液を抽出用溶液にて希釈し、過酸化水素標準液 5 mg/Lを調製した。更に、過酸化水素標準液 5 mg/L溶液を抽出用溶液にて希釈し、1 mg/L及び0.1 mg/Lを調製した。

【0049】

抽出用溶液(0.5%臭素酸カリウム含有0.2 Mリン酸緩衝液、pH 7.0)は、リン酸二水素カリウム(特級) 11.0 g、リン酸水素二ナトリウム12水和物(特級) 4

50



4.8 g、及び臭素酸カリウム（特級）5.0 gをイオン交換水に溶解した後、1 Lに定容して調製した。使用時は、あらかじめ氷冷下で1時間以上窒素ガスを通気した。

【0050】

実施例6

本発明のソリュブルコーヒーは実施例5で得られた画分Aを粉砕することにより作製した。

【0051】

実施例7

本発明品のコーヒー飲料組成物は次の方法でも製造した。

活性炭処理コーヒーの製造

市販インスタントコーヒー（ネスカフェゴールドブレンド赤ラベル）20 gを、蒸留水1400 mLに溶解したのち（このコーヒーをコーヒーPという）、活性炭白鷺WH<sub>2</sub>c 28/42（日本エンパイロケミカルズ）を30 g加え、1時間攪拌したのち、メンブレンフィルター（0.45 μm）を用いてろ過し、ろ液を得た（このコーヒーをコーヒーQという）。得られたろ液を、凍結乾燥し、褐色粉末15.8 gを得た。この褐色粉末を蒸留水に溶解し、実施例1と同様にしてHPLC分析により、クロロゲン酸及びHHQの定量を行なったところ、クロロゲン酸は4.12質量%含まれ、HHQは検出限界以下（分析条件Bによる）であった。また、ICP発光分光分析法でカリウム含量を測定したところ、原料インスタントコーヒー及び活性炭処理コーヒーのいずれも約4.2質量%であった。コーヒーP、コーヒーQ、及びガリックアシッドをHPLCを用いて分析すると図5及び6に示すチャートが得られた。コーヒーQにおいては保持時間6.8分付近のピークが消失し実質的にピークを有していない。図5におけるaはコーヒーPのチャートを、bはコーヒーQのチャートを、cはガリックアシッドのチャートを示す。図6におけるbはコーヒーPのチャートを、cはコーヒーQのチャートを、aはガリックアシッドのチャートを示す。

また、本発明のコーヒー飲料組成物中のヒドロキシヒドロキノン（HHQ）量の測定は以下の方法でも行った。

【0052】

ヒドロキシヒドロキノンの測定

コーヒー飲料組成物のヒドロキシヒドロキノンの分析法は次の通りである。分析機器はHPLC-電気化学検出器（クーロメトリック型）であるクーロアレイシステム（モデル5600A、開発・製造：米国ESA社、輸入・販売：エム・シー・メディカル（株））を使用した。装置の構成ユニットの名称・型番は次の通りである。

アナリティカルセル：モデル5010、クーロアレイオーガナイザー、クーロアレイエレクトロニクスモジュール・ソフトウェア：モデル5600A、溶媒送液モジュール：モデル582、グラジエントミキサー、オートサンプラー：モデル542、パルスダンパー、デガッサー：Degasys Ultimate DU3003、カラムオープン：505。カラム：CAPCELL PAK C18 AQ 内径4.6 mm×長さ250 mm 粒子径5 μm（（株）資生堂）。

分析条件は次の通りである。

サンプル注入量：10 μL、流量：1.0 mL/min、電気化学検出器の印加電圧：0 mV、カラムオープン設定温度：40、溶離液A：0.1（W/V）%リン酸、0.1 mM 1-ヒドロキシエタン-1,1-ジホスホン酸、5（V/V）%メタノール溶液、溶離液B：0.1（W/V）%リン酸、0.1 mM 1-ヒドロキシエタン-1,1-ジホスホン酸、50（V/V）%メタノール溶液。

【0053】

溶離液A及びBの調製には、高速液体クロマトグラフィー用蒸留水（関東化学（株））、高速液体クロマトグラフィー用メタノール（関東化学（株））、リン酸（特級、和光純薬工業（株））、1-ヒドロキシエタン-1,1-ジホスホン酸（60%水溶液、東京化成工業（株））を用いた。

10

20

30

40

50

## 【0054】

## 濃度勾配条件

時間	溶離液 A	溶離液 B
0 . 0 分	1 0 0 %	0 %
1 0 . 0 分	1 0 0 %	0 %
1 0 . 1 分	0 %	1 0 0 %
2 0 . 0 分	0 %	1 0 0 %
2 0 . 1 分	1 0 0 %	0 %
5 0 . 0 分	1 0 0 %	0 %

## 【0055】

分析試料の調製は、試料 2 g を精秤後、溶離液 A にて 1 0 m L にメスアップし、メンブレンフィルター（H L C - D I S K 2 5 溶媒系、孔径 0 . 4 5 μ m、高速液体クロマトグラフィー用、関東化学（株））にて濾過した。得られた濾液約 2 . 5 m L について、ボンドエルト S C X（固相充填量：5 0 0 m g、リザーバ容量：3 m L、ジーエルサイエンス（株））に通液し、初通過液約 0 . 5 m L を除いた通過液を、速やかに分析に供した。

## 【0056】

上記の条件における分析において、ヒドロキシヒドロキノンの保持時間は、6 . 3 8 分であった。得られたピークの面積値から、ヒドロキシヒドロキノ（和光純薬工業（株））を標準物質とし、質量 % を求めた。

尚、本発明の発明のコーヒー飲料組成物中の過酸化水素量を高感度過酸化水素計を用いて測定したところ、過酸化水素量は検出限界以下であり検出されなかった。また、コーヒー P の灰分量は、前述の測定法により測定したところ、コーヒー飲料 1 0 0 g あたりの量で表すと、1 8 6 m g / 1 0 0 g であり、コーヒー Q の灰分量は 1 7 6 m g / 1 0 0 g であった。

## 【0057】

## 実施例 8

ラットにおける焙煎コーヒーと実施例 7 で製造した活性炭処理コーヒー（本発明コーヒー飲料組成物）の体内過酸化水素量に対する影響

## ( a ) 焙煎コーヒーの調製

インスタントコーヒー（ネスカフェカフェインレス）8 g を 1 2 m L の蒸留水に溶解した。

## ( b ) 活性炭処理コーヒーの調製

実施例 7 で製造した活性炭処理コーヒー 8 g を 1 2 m L の蒸留水に溶解した。（ c ）上記（ a ）及び（ b ）で得られたコーヒーを、7 週齢の S D 系雄性ラット（ n = 8 ）に強制経口投与（ 1 0 m L / k g ）した。投与前及び投与後 3 時間、6 時間目に採尿し、実施例 2 と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

その結果、図 7 に示すように、焙煎コーヒー摂取群では摂取後 3 時間目の尿中過酸化水素量が蒸留水摂取群に比べて有意に増加するが、活性炭処理コーヒー摂取群では蒸留水摂取群と同等であることがわかる。

## 【0058】

## 実施例 9

ヒトにおける焙煎コーヒーと活性炭処理コーヒー（本発明コーヒー飲料組成物）の体内過酸化水素量に対する影響

## ( a ) 焙煎コーヒーの調製

インスタントコーヒー（ネスカフェカフェインレス）4 . 5 g をミネラルウォーター 2 8 0 m L に溶解した。

## ( b ) 活性炭処理コーヒーの調製

実施例 7 で製造した活性炭処理コーヒー 4 . 5 g をミネラルウォーター 2 8 0 m L に溶解した。

( c ) 上記 ( a ) 及び ( b ) で得られたコーヒー 2 8 0 m L を健常男性 7 名に飲用させ、

10

20

30

40

50

その後 1 ~ 5 時間後に尿中過酸化水素量を測定した。また試験はクロスオーバーを行った。実施例 2 と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

その結果、図 8 に示すように、焙煎コーヒーの飲用により、ヒトの尿中過酸化水素量は増加するが、本発明コーヒー組成物の活性炭処理コーヒーでは増加しないことがわかる。

【 0 0 5 9 】

#### 実施例 1 1

一般的抽出機に中煎り ( L = 2 2 ) ・粉砕 ( 中挽き ) デカフェコロンビア豆を 4 0 0 g 投入後、95 の湯を加え 3 2 0 0 g の抽出液を得る。その抽出液の固形量に対し、5 0 % ( w / w ) の活性炭 W H <sub>2</sub> c ( 日本エンパイロケミカル社製 ) を添加し、3 0 分間攪拌後、遠心ろ過を行い活性炭除去し、脱 H H Q コーヒー抽出液を得る。その脱 H H Q コーヒー抽出液にイオン交換水及び重曹を p H 6 . 3 になる様に加え調合液を得る。その調合液を 1 9 0 g 容金属缶に充填・密封後、1 1 8 . 1 にて 1 0 分のレトルト殺菌を行い、缶コーヒーを得た。殺菌後の p H は 5 . 8 であった。

10

【 0 0 6 0 】

#### 実施例 1 2

実施例 7 で得られた凍結乾燥品をそのまま粉末コーヒーとした。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 6 1 】

【 図 1 】 焙煎コーヒーが体内過酸化水素に与える影響 ( ヒト ) を示す図である。

【 図 2 】 過酸化水素除去コーヒーが体内過酸化水素量に与える影響を示す図である。

20

【 図 3 】 体内で過酸化水素を生成させるコーヒー中の成分を示す図である。

【 図 4 】 ヒドロキシヒドロキノンが体内過酸化水素生成に及ぼす作用を示す図である。

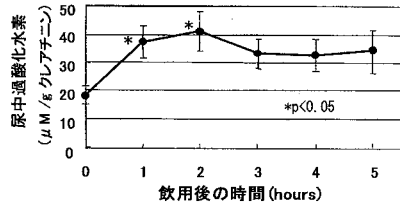
【 図 5 】 コーヒー Q の H P L C チャート ( 検出波長 2 5 8 n m ) を示す図である。

【 図 6 】 コーヒー Q の H P L C チャート ( 検出波長 2 8 8 n m ) を示す図である。

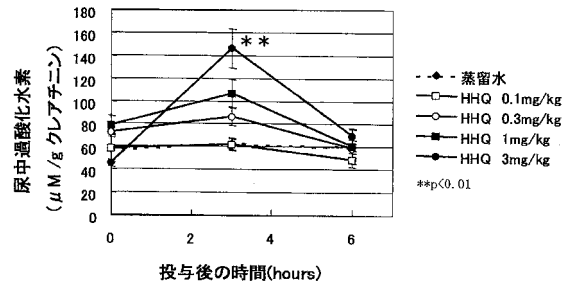
【 図 7 】 活性炭処理コーヒーがラットの体内過酸化水素量に与える影響を示す図である。

【 図 8 】 活性炭処理コーヒーがヒトの体内過酸化水素量に与える影響を示す図である。

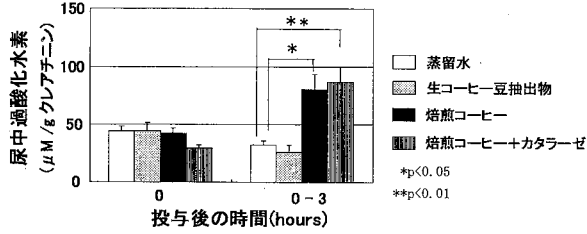
【 図 1 】



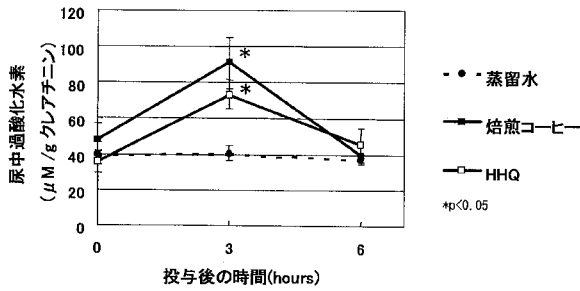
【 図 4 】



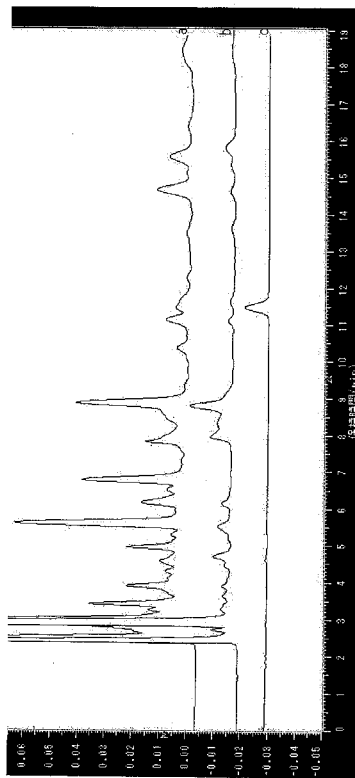
【 図 2 】



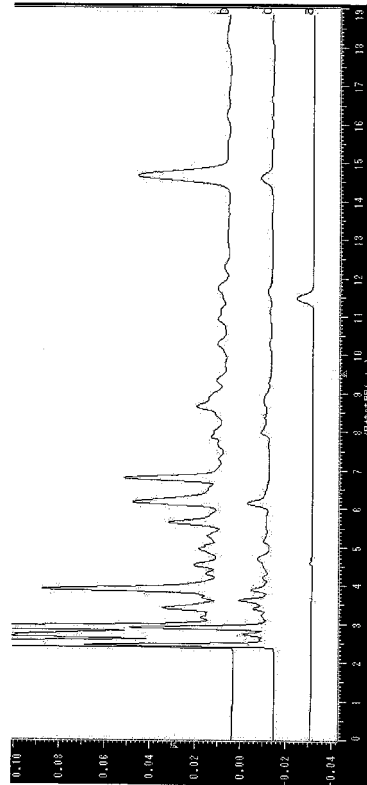
【 図 3 】



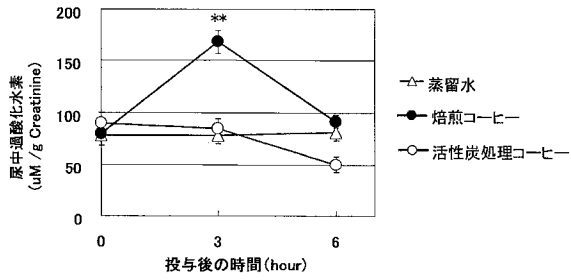
【 図 5 】



【 図 6 】

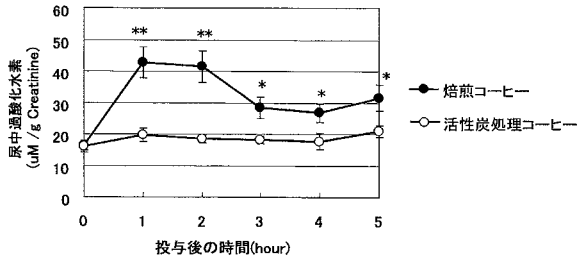


【 図 7 】



\*\* ; 蒸留水群に対して危険率1%以下で有意差あり。

【 図 8 】



\* ; 活性炭処理コーヒー飲用群に対して危険率5%以下で有意差あり。  
\*\* ; 活性炭処理コーヒー飲用群に対して危険率1%以下で有意差あり。

---

フロントページの続き

- (74)代理人 100111028  
弁理士 山本 博人
- (74)代理人 100101317  
弁理士 的場 ひろみ
- (72)発明者 藤井 明彦  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 山 崎 良恵  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 大南 英雄  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 落合 龍史  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 渋谷 祐輔  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- Fターム(参考) 4B027 FB24 FC03 FC06 FE08 FQ19