

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2023年5月19日(19.05.2023)



(10) 国際公開番号

WO 2023/085315 A1

- (51) 国際特許分類:  
A23L 29/00 (2016.01) A23L 13/00 (2016.01)  
A23J 3/00 (2006.01) A23L 13/40 (2023.01)  
A23J 3/14 (2006.01) A23L 33/185 (2016.01)  
A23L 5/00 (2016.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2022/041703
- (22) 国際出願日: 2022年11月9日(09.11.2022)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2021-182521 2021年11月9日(09.11.2021) JP  
特願 2022-063829 2022年4月7日(07.04.2022) JP
- (71) 出願人: 天野 エンザイム株式会社 (AMANO ENZYME INC.) [JP/JP]; 〒4608630 愛知県名古屋市中区錦1丁目2番7号 Aichi (JP).
- (72) 発明者: 酒井 杏匠 (SAKAI, Kiyota); 〒5090109 岐阜県各務原市テクノプラザ1丁目6番 天野エンザイム株式会社 イノベーションセンター内 Gifu (JP).
- (74) 代理人: 田中 順也, 外 (TANAKA, Junya et al.); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島6-2-40 中之島インテス2 1階 Osaka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: DIGESTIBILITY ENHANCER FOR COMPOSITION CONTAINING BOTANICAL PROTEIN

(54) 発明の名称: 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a composition containing a botanical protein having improved digestibility. A protein deamidase according to the present invention can be used as an active ingredient for a digestibility enhancer for the composition containing a botanical protein in order to improve the digestibility of the composition containing a botanical protein.

(57) 要約: 本発明の目的は、消化性が向上した植物性タンパク質含有組成物を提供することである。タンパク質脱アミド酵素は、植物性タンパク質含有組成物の消化性を向上できるため、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤の有効成分として用いることができる。



WO 2023/085315 A1

## 明 細 書

**発明の名称**：植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤

### 技術分野

[0001] 本発明は、植物性タンパク質含有組成物の消化性を向上させる加工技術に関する。

### 背景技術

[0002] タンパク質は、身体を作る成分として重要な栄養素の1つである。タンパク質摂取の効率は、アミノ酸への消化効率と同義である。つまり、タンパク質を有効に体内に取り入れるためには、効率的な消化が必須となる。

[0003] 2050年には世界人口が97億人に達することが予想されており、将来のタンパク質需要量が供給量を上回ること（タンパク質危機）が危惧されている。このような中、環境負荷の少ない植物性タンパク質によって動物性タンパク質を代替する動きがますます加速している。

[0004] 一方で、植物性タンパク質については、動物性タンパク質に比べて消化性が劣ることが知られており（非特許文献1）、食品摂取量と栄養吸収量とのギャップも問題となっている。

### 先行技術文献

#### 非特許文献

[0005] 非特許文献1：栄養と食糧、第20巻第4号、p. 259-266

### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

[0006] そこで、本発明は、消化性が向上した植物性タンパク質含有組成物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

[0007] 本発明者は、鋭意検討の結果、植物性タンパク質材料にタンパク質脱アミド酵素を作用させる処理を行うことで、得られる植物性タンパク質含有食品の消化性が向上することを見出した。本発明は、この知見に基づいて、更に

検討を重ねることにより完成したものである。

[0008] 即ち、本発明は、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項 1. タンパク質脱アミド酵素を含む、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。

項 2. 必須アミノ酸遊離量の向上に用いられる、項 1 に記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。

項 3. 分岐アミノ酸遊離量の向上に用いられる、項 1 又は 2 に記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。

項 4. 前記タンパク質脱アミド酵素がプロテイングルタミナーゼである、項 1～3 のいずれかに記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。

項 5. 前記植物性タンパク質が、菽穀類、禾穀類、及び種実類からなる群より選択される植物のタンパク質である、項 1～4 のいずれかに記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。

項 6. 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法。

項 7. 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の必須アミノ酸遊離量向上方法。

項 8. 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の分岐アミノ酸遊離量向上方法。

項 9. 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造方法。

項 10. 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む方法によって得られる、タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物。

## 発明の効果

[0009] 本発明によれば、消化性が向上した植物性タンパク質含有組成物が提供される。

### 発明を実施するための形態

#### [0010] 1. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤

本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤は、タンパク質脱アミド酵素を含むことを特徴とする。

#### [0011] 1-1. 用途

本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤は、当該組成物に含まれる植物性タンパク質の消化性を向上させる用途で用いられる。本発明において消化性を向上させるとは、タンパク質の消化環境下で遊離できるアミノ酸量を増加させることをいう。タンパク質の消化環境は、具体的には、胃及び／又は小腸である。消化性の向上は、遊離したアミノ酸量がタンパク質脱アミド酵素を用いない場合（つまり、タンパク質脱アミド酵素を用いないことを除いて同じ条件で植物性タンパク質含有組成物を処理した場合）に比べて増加していることにより確認することができる。より具体的には、試験試料を、胃を模した環境（人工胃液中、体温相当温度条件下）及び／又は小腸内を模した環境（人工腸液中、体温相当温度条件下）に所定時間供して消化し、消化後の遊離アミノ態窒素、又は消化後の遊離アミノ態窒素及び残渣重量を測定することで確認できる。所定時間内で消化した後の遊離アミノ態窒素が多いほど、残渣重量が少ないほど、消化性が高いと評価できる。

[0012] 本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤は、消化環境下で遊離するアミノ酸のうち、非必須アミノ酸量よりも必須アミノ酸量をより増加させる（つまり、必須アミノ酸遊離量を向上させる）用途でも用いることができる。必須アミノ酸遊離量の向上は、遊離した非必須アミノ酸の量に対する遊離した必須アミノ酸の量の比率が、タンパク質脱アミド酵素を用いない場合（つまり、タンパク質脱アミド酵素を用いないことを除いて同じ条件で植物性タンパク質含有組成物を処理した場合）に比べて向上していることにより確認することができる。

[0013] 本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤は、消化環境下で遊離するアミノ酸のうち、分岐アミノ酸量を増加させる（つまり、分岐アミノ酸遊離量を向上させる）用途でも用いることができる。分岐アミノ酸遊離量の向上は、遊離した分岐アミノ酸の量が、タンパク質脱アミド酵素を用いない場合（つまり、タンパク質脱アミド酵素を用いないことを除いて同じ条件で植物性タンパク質含有組成物を処理した場合）に比べて向上していることにより確認することができる。

[0014] 本発明の植物性タンパク質含有組成物の適用対象となる植物性タンパク質含有組成物、及び具体的な使用方法については、「2. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法、必須アミノ酸遊離量向上方法、及び分岐アミノ酸遊離量向上方法」で詳述する。

[0015] 1-2. タンパク質脱アミド酵素

タンパク質脱アミド酵素は、本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤の、消化性向上、好ましくは消化性向上に加えて必須アミノ酸遊離量及び／又は分岐アミノ酸遊離量の向上に寄与する有効成分である。タンパク質脱アミド酵素としては、ペプチド結合の切断及びタンパク質の架橋を伴わずタンパク質のアミド基含有側鎖を分解する作用を示す酵素であれば、その種類及び由来等は特に限定されない。タンパク質脱アミド酵素の例として、特開2000-50887号公報、特開2001-218590号公報、国際公開第2006/075772号に開示された、クリセオバクテリウム (*Chryseobacterium*) 属、フラボバクテリウム (*Flavobacterium*) 属、エンペドバクター (*Empedobacter*) 属、スフィンゴバクテリウム (*Sphingobacterium*) 属、アウレオバクテリウム (*Aureobacterium*) 属又はミロイデス (*Myroides*) 属由来のタンパク質脱アミド酵素が挙げられる。これらのタンパク質脱アミド酵素は、1種を単独で用いてもよいし、複数種を組み合わせて用いてもよい。

[0016] タンパク質脱アミド酵素の例として、プロテイングルタミナーゼ、プロテ

インアスパラギナーゼが挙げられ、広義にはプロテインアルギニンデイミナーゼも挙げられる。これらのタンパク質脱アミド酵素の中でも、消化性、必須アミノ酸遊離量及び／又は分岐アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、好ましくはプロテイングルタミナーゼが挙げられる。

[0017] これらのタンパク質脱アミド酵素の中でも、消化性、必須アミノ酸遊離量及び／又は分岐アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、より好ましくはクリセオバクテリウム属由来のタンパク質脱アミド酵素、さらに好ましくはクリセオバクテリウム属由来のプロテイングルタミナーゼ、一層好ましくはクリセオバクテリウム・プロテオリティカム種由来のプロテイングルタミナーゼが挙げられる。

[0018] タンパク質脱アミド酵素は、上記のタンパク質脱アミド酵素の由来元となる微生物の培養液より調製することができる。具体的な調製方法としては、上記の微生物の培養液又は菌体よりタンパク質脱アミド酵素を回収する方法が挙げられる。例えば、タンパク質脱アミド酵素分泌型微生物を用いる場合は、培養液から、必要に応じて予めろ過、遠心処理等によって菌体を回収した後、酵素を分離及び／又は精製することができる。また、タンパク質脱アミド酵素非分泌型微生物を用いる場合は、必要に応じて予め培養液から菌体を回収した後、菌体を加圧処理、超音波処理等によって破碎して酵素を露出させた後、酵素を分離及び／又は精製することができる。酵素の分離及び／又は精製法としては、公知のタンパク質分離及び／又は精製法を特に限定されることなく用いることができ、例えば、遠心分離法、UF濃縮法、塩析法、イオン交換樹脂等を用いた各種クロマトグラフィー法等が挙げられる。分離及び／又は精製された酵素は、凍結乾燥、減圧乾燥等の乾燥法により粉末化することができ、また、当該乾燥法において適当な賦形剤及び／又は乾燥助剤を用いて粉末化することもできる。また、分離及び／又は精製された酵素は、適当な添加剤を加え、ろ過滅菌することで液状化することもできる。

[0019] タンパク質脱アミド酵素としては市販品を用いることもでき、好ましい市販品の例として、天野エンザイム株式会社製のクリセオバクテリウム・プロ

テオリティカム種由来のプロテイングルタミナーゼ「アマノ」500が挙げられる。

[0020] 1-3. 他の成分

本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤は、タンパク質脱アミド酵素以外の他の成分として、酵素剤の製剤上許容される添加剤及び／又は基剤を含んでいてもよいし、含んでいなくてもよい。このような添加剤及び基剤としては、賦形剤、緩衝剤、酸化防止剤、紫外線防止剤、保存剤、防腐剤、pH調整剤、分散剤、乳化剤、溶解補助剤、担体、溶媒（水等）等が挙げられる。これらの添加剤及び基剤は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を組み合わせて用いてもよい。また、これらの添加剤及び基剤の含有量については、それら成分の種類及び／又は製剤形態等に応じて適宜設定すればよい。

[0021] 1-4. 性状

本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤の性状については特に制限されないが、例えば、粉末状、細粒状、顆粒状の乾燥製剤、及び液状製剤が挙げられる。

[0022] 2. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法、必須アミノ酸遊離量向上方法、及び分岐アミノ酸遊離量向上方法

上述のとおり、タンパク質脱アミド酵素は、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上、好ましくは消化性の向上に加えて必須アミノ酸遊離量の向上及び／又は分岐アミノ酸遊離量の向上に寄与する。従って、本発明は、さらに、植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法；植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の必須アミノ酸遊離量向上方法；及び植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の分岐アミノ酸遊離量向上方法（以下において、これらの方法をまとめて「植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法等」とも記

載する。)も提供する。

[0023] これら本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法等において、「消化性の向上」、「必須アミノ酸遊離量の向上」、「分岐アミノ酸遊離量の向上」、「タンパク質脱アミド酵素」については、上記「1. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤」で詳述した通りである。

[0024] 2-1. 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程

植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程においては、適宜、植物性タンパク質含有組成物とタンパク質脱アミド酵素とを含む植物性タンパク質混合物を調製し、酵素反応を進行させる処理を行う。

[0025] 2-1-1. 植物性タンパク質含有組成物

本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤の適用対象である植物性タンパク質含有組成物は、植物性タンパク質を含み、生体が摂取できる形態のものであることを限度として特に制限はない。

[0026] 2-1-1-1. 植物性タンパク質

植物性タンパク質は、その由来が植物であることを限度として特に制限はないが、例えば、大豆、えんどう、レンズ豆、ひよこ豆、黒豆、空豆、緑豆、ルピン豆、インゲン豆等の菽穀類；小麦、大麦、燕麦（オート）、ソルガム、米、ライムギ、そば、ひえ、あわ、テフ、キヌア、トウモロコシ、ポテトなどの禾穀類；アーモンド、ココナッツ、ピーナッツ、カシューナッツ、ヘーゼルナッツ、ペカンナッツ、マカダミアナッツ、ピスタチオ、クルミ、ブラジルナッツ、ピリナッツ、栗、ゴマ、松の実、ヘンプシード（産業用ヘンプ）、チア種子、キア、アマランサス、カナリーシード、アマニなどの種実類；藻類に含まれる天然タンパク質が挙げられる。また、本発明における植物性タンパク質は、植物を由来とするタンパク質であればよいため、上記の天然タンパク質の他、上記の天然タンパク質の、酸、アルカリ等による化学的部分分解タンパク質、プロテアーゼ等による酵素的部分分解タンパク質

、各種試薬による化学修飾タンパク質であってもよいし、人工的にペプチド合成して得られるタンパク質であってもよい。

[0027] 本発明において、上記の植物性タンパク質は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を組み合わせて用いてもよい。

[0028] 上記の菽穀類の中でも、消化性をより一層高める観点から、好ましくは、大豆、えんどう、レンズ豆、ひよこ豆、空豆、緑豆が挙げられ、より好ましくは、大豆、ひよこ豆、緑豆が挙げられ、さらに好ましくは緑豆が挙げられる。上記の禾穀類の中でも、消化性をより一層高める観点から、好ましくは、小麦、燕麦（オート）、米、トウモロコシが挙げられ、より好ましくは小麦、米、トウモロコシが挙げられ、さらに好ましくは小麦、トウモロコシが挙げられ、一層好ましくは小麦が挙げられる。上記の種実類の中でも、消化性をより一層高める観点から、好ましくは、アーモンド、ココナッツ、ヘンプシード（産業用ヘンプ）、チア種子が挙げられる。

[0029] 上記の菽穀類の中でも、必須アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、好ましくは、大豆、えんどう、レンズ豆、ひよこ豆、空豆、緑豆が挙げられ、より好ましくは、大豆、えんどう、空豆、緑豆が挙げられ、さらに好ましくは、大豆、空豆、緑豆が挙げられ、一層好ましくは、大豆が挙げられる。上記の禾穀類の中でも、必須アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、好ましくは、小麦、燕麦（オート）、米、トウモロコシが挙げられ、より好ましくは、小麦、燕麦（オート）、トウモロコシが挙げられ、さらに好ましくは燕麦（オート）、トウモロコシが挙げられ、一層好ましくはトウモロコシが挙げられる。上記の種実類の中でも、必須アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、好ましくは、アーモンド、ヘンプシード（産業用ヘンプ）が挙げられる。

[0030] 2-1-1-2. 他の成分

植物性タンパク質含有組成物には、植物性タンパク質以外に、他の成分として、任意の成分を含んでもよいし、含んでいなくてもよい。他の成分としては、植物性タンパク質の起源植物に由来する成分、他の食材、及び食

品添加物が挙げられる。食品添加物としては、増粘剤、結着剤、調味料、pH調整剤、緩衝剤、着色料、香料等が挙げられる。

[0031] 2-1-1-3. 性状

植物性タンパク質含有組成物の性状としては、組織化状及び非組織化状のいずれであってもよい。

[0032] 組織化状の植物性タンパク質含有組成物

組織化状の植物性タンパク質含有組成物は、一般的に代替肉（擬似肉）として公知の食品材料である、組織化植物性タンパク質材料を含む。組織化植物性タンパク質材料の典型的な例として、植物性タンパク質及び水を含む原料混合物をエクストルーダー等で押出し、乾燥又は冷凍させて肉様に組織化させた材料が挙げられる。なお、本発明において、組織化植物性タンパク質材料が模する「肉」とは、食用とされる動物の筋肉を意味し、「肉」と記載する場合、哺乳類及び鳥類の筋肉だけでなく、魚介の身も包含する意味で用いる。

[0033] 組織化植物性タンパク質材料の形状としては、粒状及び繊維状が挙げられる。粒状の形状には、小粒型（ミンチ）、大粒型、ブロック型等の様々な大きさ（小粒型、大粒型、ブロック型の順にサイズが大きくなる）の塊状形状；フレーク型、フィレ型、スライス型等の様々な大きさ（フレーク型、フィレ型、スライス型の順にサイズが大きくなる）の扁平状形状が挙げられる。

[0034] 塊状形状としては、直交する三軸系（縦・横・厚みの三方向をいう。粒状形状の最大径方向が少なくともいずれかの方向に一致するように設定する。）で規定される大きさで表現した場合、三方向の大きさのうちの最長の値が、最短の値の1～3.7倍程度、好ましくは1～3.6倍程度となる形状が挙げられ；扁平状形状としては、当該三方向の大きさの内の最長の値が、最短の値の4倍以上、好ましくは4.5倍以上、より好ましくは4.8倍以上程度となる形状が挙げられる。

[0035] 塊状形状のうち、小粒型（ミンチ）の具体的な大きさとしては、当該三方向のうちの最長の値（つまり粒状形状の最大径）で、8mm程度以下、好ま

しくは7.5 mm以下が挙げられ；大粒型の具体的な大きさとしては、当該最長の値で、8 mm超13 mm以下、好ましくは9 mm超12 mm以下が挙げられ；ブロック型の具体的な大きさとしては、当該最長の値で、13 mm超、好ましくは14 mm超、16 mm超、又は18 mm超が挙げられる。扁平形状のうち、フレーク型の具体的な大きさとしては、当該三方向のうちの最長の値（つまり扁平形状の最大径）で、15 mm程度以下、好ましくは12 mm以下が挙げられ；フィレ型の具体的な大きさとしては、当該最長の値で、15 mm超40 mm以下、好ましくは20 mm超35 mm以下が挙げられ；スライス型の具体的な大きさとしては、当該最長の値で、40 mm超、好ましくは45 mm超が挙げられる。

[0036] 組織化植物性タンパク質材料のより具体的な例としては、粒状植物性たん白及び繊維状植物性たん白が挙げられる。粒状植物性たん白及び繊維状植物性たん白とは、いずれも、「植物性たん白の日本農林規格」で定義されたものを指す。しかしながら、本発明で用いられる組織化植物性タンパク質材料は上記のように肉様に組織化した材料であれば上記で定義される粒状植物性たん白及び繊維状植物性たん白に限定されるものではない。

[0037] 本発明で用いることができる組織化植物性タンパク質材料について、植物性タンパク質の種類、植物性タンパク質の含有割合以外の特性（例えば、性状、水分量、粒度、品温、食品添加物以外の原材料、食品添加物、かみごたえ、保水性、異物、内容量）及びその測定方法については、「植物性たん白の日本農林規格」で定義された特性及び測定方法に準拠することができる。

[0038] 組織化植物性タンパク質材料に含まれる植物性タンパク質の含有量（組織化植物性タンパク質材料が乾燥した状態の重量を基準とする。）としては特に限定されないが、例えば20重量%以上、25重量%以上、30重量%以上が挙げられる。タンパク質の消化性をより一層高める観点から、当該含有量としては、好ましくは35重量%以上、より好ましくは40重量%以上、さらに好ましくは45重量%以上、一層好ましくは50重量%以上が挙げられる。当該含有量範囲の上限としては特に限定されないが、例えば90重量

%以下、好ましくは80重量%以下、より好ましくは70重量%以下、さらに好ましくは60重量%以下が挙げられる。

[0039] 非組織化状の植物性タンパク質含有組成物

非組織化状の植物性タンパク質含有組成物のより具体的な性状としては、液状、スラリー状、ペースト状が挙げられ、好ましくは液状が挙げられる。

[0040] 非組織化状の植物性タンパク質含有組成物の具体例としては、いわゆる植物性代替乳（植物性ミルクともいう。）、並びに、植物性タンパク質素材（植物性タンパク質を抽出及び／又は精製して得られる、通常、粉末状で提供される素材をいう。）及び水を含む液状のタンパク質含有組成物（植物性タンパク質液）等が挙げられる。

[0041] 非組織化状の植物性タンパク質含有組成物中のタンパク質含量としては特に限定されないが、例えば0.05～30重量%、0.1～25重量%、0.5～20重量%、好ましくは1～15重量%、2～10重量%、より好ましくは3～8重量%、4～6重量%が挙げられる。また、非組織化状の植物性タンパク質含有組成物が植物性タンパク質素材及び水を含む液状のタンパク質含有組成物（植物性タンパク質液）である場合、非組織化状の植物性タンパク質含有組成物中の植物性タンパク質素材の含量としては、例えば0.1～30重量%、0.5～20重量%、好ましくは1～15重量%、2～10重量%、より好ましくは3～8重量%、4～6重量%となる量が挙げられる。

[0042] 非組織化状の植物性タンパク質含有組成物は、上記の植物性ミルク又は植物性タンパク質液を、タンパク質を完全にアミノ酸に分解する処理及びタンパク質脱アミド酵素による処理以外の、任意の処理に供されたものであってもよいし、当該任意の処理に供されていないものであってもよい。当該任意の処理の例としては、発酵（例えば乳酸発酵等）等が挙げられ、このような処理が行われた非組織化状の植物性タンパク質含有組成物の具体例としては、代替ヨーグルトが挙げられる。

[0043] 2-1-2. タンパク質脱アミド酵素の使用量

植物性タンパク質含有組成物に対して用いられるタンパク質脱アミド酵素

の量としては特に限定されないが、植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質1g当たりの使用量として、例えば0.01U以上が挙げられる。

[0044] 植物性タンパク質含有組成物が組織化状である場合、タンパク質脱アミド酵素の好適な使用量としては、植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質1g当たりのタンパク質脱アミド酵素の量として、0.01～1000U、0.05～500U、0.1～100Uが挙げられ、タンパク質の消化性をより一層高める観点から、好ましくは0.5～50U、より好ましくは1～40U、さらに好ましくは1.5～30U、一層好ましくは2～22Uが挙げられる。上記範囲の下限值は、3U、5U、7U、13U、15U、又は17Uであってもよく、上記範囲の上限値は、18U、16U、14U、8U、又は6Uであってもよい。

[0045] また、植物性タンパク質含有組成物が組織化状である場合、組織化植物性タンパク質材料1g（乾燥重量）当たりのタンパク質脱アミド酵素の量として、例えば0.01～1000U、0.05～500U、0.08～200Uが挙げられ、タンパク質の消化性をより一層高める観点から、好ましくは0.1～100U、0.15～50U、より好ましくは0.2～20U、さらに好ましくは0.8～12Uが挙げられる。上記範囲の下限值は、6U、10U、14U、26U、30U、又は34Uであってもよく、上記範囲の上限値は、36U、32U、28U、又は16Uであってもよい。

[0046] 植物性タンパク質含有組成物が非組織化状である場合、タンパク質脱アミド酵素の好適な使用量としては、植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質1g当たり0.25U以上が挙げられ、タンパク質の消化性及び／又は必須アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、タンパク質脱アミド酵素の植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質1g当たりの使用量としては、好ましくは、0.5U以上、より好ましくは0.75U以上、さらに好ましくは1U以上、1.2U以上、1.5U以上、1.8U以上、2U以上が挙げられる。タンパク質脱アミド酵素の植物性タンパ

ク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質 1 g 当たりの使用量範囲の上限としては特に限定されないが、例えば、2000 U 以下、1500 U 以下、1300 U 以下、1000 U 以下、850 U 以下、500 U 以下、450 U 以下、250 U 以下、100 U 以下、75 U 以下、又は 55 U 以下が挙げられる。

[0047] また、植物性タンパク質含有組成物が非組織化状である場合、植物性タンパク質含有組成物が植物性タンパク質素材及び水を含む液状のタンパク質含有組成物（植物性タンパク質液）である場合、植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質素材 1 g（乾燥重量）当たりの使用量として、例えば 0.01 U 以上、0.1 U 以上、0.25 U 以上が挙げられる。タンパク質の消化性及び／又は必須アミノ酸遊離量をより一層高める観点から、タンパク質脱アミド酵素の植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質材料 1 g（乾燥重量）当たりの使用量としては、好ましくは 0.5 U 以上、より好ましくは 0.75 U 以上、さらに好ましくは 1.25 U 以上、1.5 U 以上、一層好ましくは 2 U 以上、2.25 U 以上が挙げられる。タンパク質脱アミド酵素の植物性タンパク質含有組成物に含まれる植物性タンパク質材料 1 g（乾燥重量）当たりの使用量範囲の上限としては特に限定されないが、例えば、500 U 以下、250 U 以下、100 U 以下、75 U 以下、50 U 以下、25 U 以下、10 U 以下、5 U 以下、3.75 U 以下、又は 2.75 U 以下が挙げられる。

[0048] なお、タンパク質脱アミド酵素の活性については、ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミンイルグリシン（Z-Gln-Gly）を基質とし、1 分間に  $1 \mu\text{mol}$  のアンモニアを遊離する酵素量を 1 単位（1 U）とする。

[0049] 2-1-3. 反応操作及び処理条件

植物性タンパク質混合物を調製する方法としては特に限定されない。植物性タンパク質混合物に含まれる植物性タンパク質含有組成物が組織化状である場合、植物性タンパク質混合物を調製する方法としては、例えば、組織化植物性タンパク質材料の乾燥物を、タンパク質脱アミド酵素を含む水溶液で

膨潤する方法であってもよいし、組織化植物性タンパク質材料の乾燥物を水で膨潤し、その後、タンパク質脱アミド酵素を含む水溶液と混合する方法であってもよい。好ましくは、組織化植物性タンパク質材料の乾燥物を、タンパク質脱アミド酵素を含む水溶液で膨潤する方法が挙げられる。植物性タンパク質混合物に含まれる植物性タンパク質含有組成物が非組織化状である場合、植物性ミルク又は植物性タンパク質液とタンパク質脱アミド酵素とを混合すればよい。

- [0050] 植物性タンパク質混合物の処理条件（温度、時間、pH等）については、本発明の効果が得られる限り特に限定されるものではない。
- [0051] 植物性タンパク質混合物に含まれる植物性タンパク質含有組成物が組織化状である場合、処理温度としては、例えば4～80℃、好ましくは8～70℃が挙げられる。当該温度範囲の下限は、15℃、30℃、45℃、又は55℃であってもよいし、当該温度範囲の上限は、65℃、50℃、40℃、又は20℃であってもよい。また、処理時間としては特に限定されないが、例えば0.1～18時間、好ましくは0.5～15時間が挙げられる。
- [0052] 植物性タンパク質混合物に含まれる植物性タンパク質含有組成物が非組織化状である場合、処理温度としては、例えば10～80℃、好ましくは20～70℃、より好ましくは40～60℃、さらに好ましくは45～55℃が挙げられる。処理pH（25℃）については、例えば5～10、好ましくは5～8、より好ましくは6～8が挙げられる。処理時間については、例えば1～48時間、好ましくは1～24時間、より好ましくは8～20時間、10～18時間が挙げられる。
- [0053] これらの処理条件は、使用酵素の至適温度及び／又は求められる本発明の効果（消化性の向上、若しくは、消化性の向上と必須アミノ酸遊離量の向上及び／又は分岐アミノ酸遊離量の向上）の程度に応じて適宜選択される。尚、最適な処理条件は予備実験を通して決定すればよい。
- [0054] 2-2. 他の工程

本発明の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法等は、上記のタン

パク質脱アミド酵素を作用させる工程以外の他の工程を含んでもよいし、含んでいなくてもよい。他の工程としては、植物性タンパク質含有組成物を調製する工程、酵素の失活工程、冷却工程、ろ過工程等が挙げられる。これら他の工程は、1つの工程を単独で行ってもよいし、2つ以上の工程を組み合わせで行ってもよい。

[0055] 植物性タンパク質含有組成物を調製する工程については、植物性タンパク質含有組成物を調製する任意の方法により行うことができる。

[0056] 例えば植物性タンパク質含有組成物として植物性代替乳（植物性ミルク）を用いる場合は、植物性タンパク質の由来植物の種類に応じ、任意の植物性代替乳調製法により調製することができる。また、植物性タンパク質含有組成物として植物性タンパク質素材及び水を含む液状のタンパク質含有組成物（植物性タンパク質液）を用いる場合は、植物性タンパク質素材を水中に溶解又は分散して調製することができる。植物性タンパク質含有組成物を調製する工程においては、さらに、調味料、pH調整剤、緩衝剤、着色料、香料等の、任意の食品添加物の配合、及び／又は、タンパク質を完全にアミノ酸に分解する処理及びタンパク質脱アミド酵素による処理以外の任意の処理（例えば、乳酸発酵等の発酵処理）等を行ってもよいし、行わなくてもよい。

[0057] 3. タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造方法

本発明は、植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造方法も提供する。

[0058] 本発明の製造方法によって得られるタンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物は、さらに、必須アミノ酸遊離量が向上及び／又は分岐アミノ酸遊離量が向上していてもよい。

[0059] 本発明のタンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造方法において、「消化性の向上」、「必須アミノ酸遊離量の向上」、「分岐アミノ酸遊離量の向上」、「タンパク質脱アミド酵素」については、上

記「1. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤」で詳述した通りであり、「植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程」については、上記「2. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法、必須アミノ酸遊離量向上方法、及び分岐アミノ酸遊離量向上方法」で詳述した通りである。

[0060] 本発明の製造方法は、植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程以外の他の工程を含んでもよいし、含まなくてもよい。「他の工程」においては、上記「2. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法、必須アミノ酸遊離量向上方法、及び分岐アミノ酸遊離量向上方法」で詳述したものに加えて、製造すべき加工植物性タンパク質含有組成物の最終の飲食品形態とするための任意の調理工程を行うことができる。

[0061] 調理工程の例としては、例えば植物性タンパク質含有組成物として組織化状のものを用いる場合にあっては、タンパク質脱アミド酵素により処理された後の当該混合物は、所望の形態に適した形状に成型し、必要に応じて加熱調理することによって、加工植物性タンパク質含有組成物（食品）を得ることができる。加熱調理の方法については、食品の種類に応じて当業者が適宜決定することができる。具体的には、加熱調理方法としては、煮沸、焼き（ロースト、トースト、ベイク、グリル、ブロイル）、蒸し、揚げ等が挙げられる。これらの加熱調理方法は、1種を単独で用いてもよいし、複数種を組み合わせて用いてもよい。

[0062] 4. タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物

本発明は、植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む方法によって得られる、タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物も提供する。

[0063] 本発明の加工植物性タンパク質含有組成物は、タンパク質脱アミド酵素によりタンパク質消化性が向上する加工がなされた組成物である。本発明の加工植物性タンパク質含有組成物は、タンパク質消化性が向上している加工がなされていることに加え、さらに、必須アミノ酸遊離量が向上及び／又は分

岐アミノ酸遊離量が向上している加工がなされていてもよい。

[0064] 本発明のタンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物において、「消化性の向上」、「必須アミノ酸遊離量の向上」、「分岐アミノ酸遊離量の向上」、「タンパク質脱アミド酵素」については、上記「1. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤」で詳述した通りであり、「植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む方法」については、上記「2. 植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法、必須アミノ酸遊離量向上方法、及び分岐アミノ酸遊離量向上方法」及び「3. タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造方法」で詳述した通りである。

[0065] 本発明のタンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の具体的な形態については、任意の飲食品形態から選択できる。

[0066] 材料の植物性タンパク質含有組成物として組織化状のものを用いる場合にあっては、当該形態は、畜肉、鳥肉、及び／又は魚すり身加工食品に準拠することができる。つまり、本発明の加工植物性タンパク質含有組成物としては、肉様加工食品（畜肉、鳥肉、及び／又は魚すり身加工食品を模した食品を指す。）が挙げられる。より好ましくは、本発明の加工植物性タンパク質含有組成物としては、畜肉及び／又は鳥肉様加工食品（畜肉及び／又は鳥肉加工食品を模した食品を指す。）が挙げられる。このような畜肉及び／又は鳥肉加工食品は、畜肉及び／又は鳥肉を用いた肉種を成形し加熱することで調理される食品であればよく、その具体例としては、ハンバーグ、ミートボール、パティ、ミートローフ、ミンチカツ、点心等が挙げられる。

[0067] 材料の植物性タンパク質含有組成物として非組織化状のものを用いる場合にあっては、本発明の加工植物性タンパク質含有組成物の具体的な形態としては、植物性代替乳、代替ヨーグルト、代替チーズ、代替アイス等が挙げられ、好ましくは植物性代替乳、代替ヨーグルトが挙げられる。

## 実施例

[0068] 以下、実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明は以下の実施

例に限定して解釈されるものではない。

[0069] [A. 植物性タンパク質含有組成物]

[A-1. 組織化状植物性タンパク質含有組成物]

表1に示す組織化植物性タンパク質材料を用いた。

[表1]

		製品名	植物性 タンパク質	形状 大きさ	乾燥材料中 タンパク質含量 (重量基準)	メーカー
組織化植物性タンパク質材料	材料 (1)	大豆ミート ミンチタイプ	大豆 タンパク質	ミンチ 7 x 5 x 2 (mm)	50%	マルコム(株)
	材料 (2)	大豆ミート ミンチタイプ	大豆 タンパク質	ブロック 20 x 15 x 10 (mm)	50%	マルコム(株)
	材料 (3)	エンドウTVP	エンドウ タンパク質	ブロック 15 x 10 x 6 (mm)	情報なし	三晶(株)
	材料 (4)	えんどう豆から作っ たお肉 植物性 ミート 糖質オフ	エンドウ タンパク質	スライス 50 x 20 x 10 (mm)	37%	自然の館

[0070] [A-2. 非組織化状植物性タンパク質含有組成物]

植物性タンパク質含有組成物として、表2に示す植物性タンパク質素材（粉末）を5重量%となるようにリン酸緩衝液pH7.0（25℃）中に混合して調製した植物性タンパク質液、又は、表3に示す市販の植物性ミルクを用いた。なお、比較用の動物性タンパク質含有組成物として、表3に示す牛乳を用いた。

[0071]

[表2]

植物性タンパク素材	製品名	植物性タンパク質	タンパク質含量 (重量基準)	メーカー
	ソイプロ	大豆タンパク質	50%以上	J-オイルミルズ
	NUTRALYS F85M	エンドウタンパク質	85%以上	ロケットジャパン(株)
	VITEN®	小麦タンパク質	80%以上	ロケットジャパン(株)
	リョクトウ蛋白	リョクトウタンパク質	80%以上	オルガノ(株)
	そら豆蛋白	ソラマメタンパク質	83.7%以上	オルガノ(株)
	ひよこ豆蛋白	ヒヨコマメタンパク質	84%以上	オルガノ(株)
	オート蛋白	オートタンパク質	75%以上	オルガノ(株)
	チアシード蛋白	チアシードタンパク質	83%以上	オルガノ(株)
	レンズ豆蛋白	レンズマメタンパク質	50%以上	オルガノ(株)
	ライス蛋白	コメタンパク質	40.3%以上	バイオアクティブズジャパン(株)
	ヘンプ蛋白	ヘンプシード※タンパク質	85%以上	バイオアクティブズジャパン(株)
	アーモンド蛋白	アーモンドタンパク質	60%以上	バイオアクティブズジャパン(株)
	ゼイン	トウモロコシタンパク質	81%以上	富士フィルム和光純薬(株)

※ヘンプシードはTHCを含まない産業用ヘンプ由来である。

[0072] [表3]

	製品名	植物性タンパク質	タンパク質含量 (重量基準)	メーカー
植物性 ミルク	豆腐もできます有機豆乳 (豆乳)	大豆タンパク質	5.0%	スジャータめいらく(株)
	アーモンド・ブリーズ 砂糖不使用 (アーモンドミルク)	アーモンドタンパク質	0.6%	ポッカサッポロフード &ビバレッジ(株)
	アルプロ (オーツミルク)	オートタンパク質	0.3%	ダノンジャパン(株)
	EcoMil 有機ココナッツミルク 無糖タイプ (ココナッツミルク)	ココナッツタンパク質	0.2%	NUTRIOPS, S.L.
動物性 ミルク	明治おいしい牛乳	-	3.3%	(株)明治

[0073] [B. タンパク質脱アミド酵素]

タンパク質脱アミド酵素として、Protein Glutaminase "Amano" 500; Chryseobacterium proteo

lyticum由来プロテイングルタミナーゼ（天野エンザイム社製）を用いた。以下において、このタンパク質脱アミド酵素を「PG」とも記載する。

[0074] タンパク質脱アミド酵素活性値は、以下の方法で測定した。

30 mM Z-Gln-Glyを含む0.2 Mリン酸バッファー（pH 6.5）1 mLにタンパク質脱アミド酵素を含む試料溶液0.1 mLを添加して、37℃、10分間放置した後、0.4 M TCA溶液を1 mL加えて反応を停止した。ブランクとして、30 mM Z-Gln-Glyを含む0.2 Mリン酸バッファー（pH 6.5）1 mLに0.4 M TCA試液を1 mL加え、さらにタンパク質脱アミド酵素を含む試料溶液0.1 mLを添加して、37℃で10分間放置した。

[0075] 前記で得られた溶液についてアンモニアテストワコー（富士フィルム和光純薬株式会社）を用い、反応液中に生じたアンモニア量の測定を行った。アンモニア標準液（塩化アンモニウム）を用いて作成したアンモニア濃度と吸光度（630 nm）との関係を表す検量線より、反応液中のアンモニア濃度を求めた。

[0076] タンパク質脱アミド酵素の活性を、1分間に $1 \mu\text{mol}$ のアンモニアを生成する酵素量を1単位（1 U）とし、以下の式から算出した。式中、反応液量は2.1、酵素溶液量は0.1、Dfは酵素溶液の希釈倍率である。また、17.03はアンモニアの分子量である。

[0077] [数1]

$$\begin{aligned} & \text{タンパク質脱アミド酵素活性(U/mL)} \\ & = \text{反応液中のアンモニア濃度(mg/L)} \times (1/17.03) \times (\text{反応液量} / \text{酵素溶液量}) \times (1/10) \times \text{Df} \end{aligned}$$

[0078] [C. 消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造]

[C-1. 組織化状植物性タンパク質含有組成物を使用]

上記[A-1. 組織化状植物性タンパク質含有組成物]に示した組織化植物性タンパク質材料（乾燥材料）10 gに対して6倍重量のPG水溶液を加え、60分間60℃で静置して膨潤させ、水で洗い流した。水分を切り、膨

潤した組織化植物性タンパク質材料を25gずつ秤量し、加工植物性タンパク質含有組成物（調味前）を得た。

[0079] 膨潤した組織化植物性タンパク質材料に対して、2.75gの粉末状エンドウタンパク質（ロケット社製NUTRALYS F85M）、5mLの水、5mLのオリーブオイル、メチルセルロース（終濃度2重量%）を混合し、パティの形状に成型することで、加工植物性タンパク質含有組成物（調味後、焼成前）を得た。

[0080] 加工植物性タンパク質含有組成物（調味後、焼成前）を180℃で10分間焼成した。これによって、パティ形態の加工植物性タンパク質含有組成物（焼成後）を得て、その一部をPG処理画分として消化性試験に供した。

[0081] 別途、上記のPG処理を行わなかったことを除いて同様の操作を行うことでパティ形状の加工植物性タンパク質含有組成物（焼成後）を得て、その一部をPG未処理画分として消化性試験に供した。

[0082] [C-2. 非組織化状植物性タンパク質含有組成物を使用]

上記[A-2. 非組織化状植物性タンパク質含有組成物]に示した植物性タンパク質液の植物性タンパク質素材1gに対して2.5U、又は市販の植物性ミルク1gに対して2.5UのPGを添加し（植物性タンパク質含有組成物及びPGの混合物の25℃におけるpHは約7）、50℃にて一晩インキュベートし、加工植物性タンパク質含有組成物を得て、その一部をPG処理画分として消化性試験に供した。

[0083] 別途、植物性タンパク質液又は市販の植物性ミルクに対してPGを添加しなかったことを除いて同様の操作を行うことで加工植物性タンパク質含有組成物を得て、その一部をPG未処理画分として消化性試験に供した。

[0084] また、比較用に、上記[A-2. 非組織化状植物性タンパク質含有組成物]に示した牛乳に対し、動物性タンパク質1gに対して2.5UのPGを添加し、50℃にて一晩インキュベートすることで加工牛乳を得て、その一部をPG処理画分として消化性試験に供した。別途、牛乳に対してPGを添加しなかったことを除いて同様の操作を行った加工牛乳を得て、その一部をP

G未処理画分として消化性試験に供した。

[0085] [D. 消化性試験]

PG処理画分及びPG未処理画分それぞれに対して、INFOGEST method (Brodkorb et al., 2019 Nat. Protoc) を参照した消化性試験を行った。

[0086] PG処理画分又はPG未処理画分5gに、人工唾液3.5mL及び0.77mg/mLアミラーゼ0.5mLを混合して、2分間37℃の水浴中で160rpm攪拌し、口腔消化物モデルを得た。人工唾液の組成は、0.28M KCl、0.07mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.26mM NaHCO<sub>3</sub>、2.8mM MgCl<sub>2</sub>、1.1mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、1.5mM CaCl<sub>2</sub> (pH7.0) であった。

[0087] 次に、口腔消化物モデル10mLに対して、人工胃液7.5mL及び0.227g/19.2mLのペプシン溶液(シグマーアルドリッチ)1.6mLを混合して、2時間37℃の水浴中で160rpm攪拌し、胃消化物モデルを得た。人工胃液の組成は、0.10M KCl、0.01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.38M NaHCO<sub>3</sub>、0.71M NaCl、1.82mM MgCl<sub>2</sub>、7.58mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、0.165mM CaCl<sub>2</sub> (pH3.0) であった。

[0088] さらに、胃消化物モデル20mLに対して、人工腸液11mL及び16.4mg/5mLのパンクレアチン溶液(シグマーアルドリッチ)、215mg/2.5mLのタウロコール酸ナトリウム、40μLの0.3M塩化カルシウム溶液を混合して、2時間37℃の水浴中で160rpm攪拌し、小腸消化物モデルを得た。人工腸液の組成は、8.5mM KCl、1mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、106.3mM NaHCO<sub>3</sub>、48mM NaCl、0.4mM MgCl<sub>2</sub> (pH7.0) であった。

[0089] なお、上記[A-1. 組織化状植物性タンパク質含有組成物]に示した組織化植物性タンパク質材料を用いた場合は、さらに、人工胃液による消化反応後の残渣を60℃で一晩乾燥させた後、重量を測定した。

## [0090] [E. 遊離アミノ態窒素量の測定]

## [E-1. 遊離アミノ態窒素量測定]

PG処理画分及びPG未処理画分それぞれから得られた、口腔消化物モデル、胃消化物モデル、又は小腸消化物モデルの上清を適宜希釈して得られた希釈液1.0 mLに対してニンヒドリン試薬pH6.7 (10%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / 12\text{H}_2\text{O}$ 、6%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.50%ニンヒドリン、0.30%フルクトース)を0.5 mL添加し、混合した。その後16分間煮沸し、570 nmの吸光度にて遊離アミノ態窒素量 (mg/L) を測定した。

## [0091] [E-2. 遊離アミノ態窒素量の比率導出]

口腔消化物モデル、胃消化物モデル、又は小腸消化物モデルそれぞれについて、PG未処理画分から得られた消化物モデルの遊離アミノ態窒素量に対する、PG処理画分から得られた消化物モデルの遊離アミノ態窒素量の比率 (遊離アミノ態窒素比) を導出した。胃及び/又は小腸での遊離アミノ態窒素比が大きいほど、消化性に優れていると判断できる。なお、消化前のPG未処理画分の遊離アミノ態窒素量に対する、消化前のPG処理画分の遊離アミノ態窒素量の比率は、1であった。すなわち、PG処理しただけでは、遊離アミノ態窒素量は増加しないことも確認した。

## [0092] [F. アミノ酸分析]

PG処理画分から得られた小腸消化物モデルの上清を、フィルター (0.45  $\mu\text{m}$ ) をろ過し、アミノ酸分析用試料を調製した。別途、PGを添加しなかったことを除いて同様の項目C. 及び項目D. の操作を行うことで小腸消化物モデルの上清を調製し、さらにフィルター (0.45  $\mu\text{m}$ ) をろ過し、コントロールのアミノ酸分析用試料を調製した。アミノ酸分析用試料、及びコントロールのアミノ酸分析用試料のそれぞれについて、アミノ酸分析装置 (Agilent 1260 Infinity II LCシステムを用いたアミノ酸分析) を用い、当該装置のプロトコルに従って遊離アミノ酸量を分析した。具体的には、まず、遊離した、必須アミノ酸 (必須AA) [具体的には分岐アミノ酸 (BCAA)、芳香族アミノ酸 (AAA) 及びその他の必

須アミノ酸] と非必須アミノ酸（非必須AA）とを測定した。アミノ酸分析用試料におけるBCAA、AAA、その他の必須AA、及び非必須AAの遊離量を、コントロールのアミノ酸分析用試料におけるBCAA、AAA、その他の必須AA、及び非必須AAの遊離量をそれぞれ1とした場合の相対値として導出した。これにより導出された相対値が1を超えていれば、PG処理により当該アミノ酸の遊離量が高められたことを意味する。

[0093] [試験例1]

上記[A-1. 組織化状植物性タンパク質含有組成物]の表1に示す材料(1)を用い、上記[C-1. 組織化状植物性タンパク質含有組成物を使用]の方法でパティ形態の加工植物性タンパク質含有組成物（焼成後）を製造した。なお、組織化植物性タンパク質材料（乾燥重量）1g当たりのPG添加量は10U、大豆タンパク質1g当たりのPG添加量は20Uであった。

[0094] 加工植物性タンパク質含有組成物（焼成後）について、上記[D. 消化性試験]の試験を行い、PG処理画分及びPG未処理画分それぞれから得られた胃消化物モデルの上清について、上記[E-1. 遊離アミノ態窒素量測定]の測定を行った。結果を表4に示す。

[0095] [表4]

	遊離アミノ態窒素 (mg/L)	残渣量 (g)
比較例1-1 (PG未処理画分)	41.4	2.5
実施例1-1 (PG処理画分)	63.9	1.57

[0096] 表4に示される通り、組織化植物性タンパク質材料にPG処理を行うことによって、加工植物性タンパク質含有組成物（焼成後）において遊離アミノ酸への分解が進んでおり、消化性が向上したことが確認できた。

[0097] [試験例2]

PG添加量を表5に示す量に変更したことを除いて、試験例1と同様に加工植物性タンパク質含有組成物（焼成後）の製造及び胃消化物モデルにおける遊離アミノ態窒素量の測定を行った。結果を表5に示す。

[0098] [表5]

	PG添加量		遊離アミノ態窒素 (mg/L)
	組織化植物性タンパク質材料 乾燥重量1g当たり量	タンパク質 1 g 当たり量	
比較例1-1 (追試)	0U	0U	46.2
実施例1-2	1U	2U	69.0
実施例1-3	2U	4U	71
実施例1-4	5U	10U	70.9
実施例1-1 (追試)	10U	20U	70.3

[0099] 表5に示される通り、いずれの量でPGを用いた場合であっても、消化性の向上が確認できた。

[0100] [試験例3]

上記[A-1. 組織化植物性タンパク質含有組成物]の表1に示す材料(1)～材料(4)をそれぞれ用い、PG添加量を表6に示す量としたことを除いて、試験例1と同様にして加工植物性タンパク質含有組成物(焼成後)の製造及び胃消化物モデルにおける遊離アミノ態窒素量の測定を行った。さらに、胃消化物モデルの上清について、上記[E-2. 遊離アミノ態窒素量の比率導出]に基づいて遊離アミノ態窒素量の比率も導出した。結果を表6に示す。

[0101]

[表6]

	組織化植物性タンパク質材料			PG添加量		遊離 アミノ態窒素 (mg/L)	遊離 アミノ態窒素 比
	由来	形状 大きさ(mm)	組織化植物性 タンパク質材料 乾燥重量 1g当たり量	タンパク質 1g当たり量			
比較例1-1 (追試)	材料 (1)	大豆	ミンチ 7 x 5 x 2	0U	0U	47	
比較例1-2	材料 (2)	大豆	ブロック 20 x 15 x 10			60.9	
比較例1-3	材料 (3)	エンドウ	ブロック 15 x 10 x 6			35.6	
比較例1-4	材料 (4)	エンドウ	スライス 50 x 20 x 10			43.5	
実施例1-1 (追試)	材料 (1)	大豆	ミンチ 7 x 5 x 2	10U	20U	69.9	1.5
実施例1-5	材料 (2)	大豆	ブロック 20 x 15 x 10		20U	92.2	1.5
実施例1-6	材料 (3)	エンドウ	ブロック 15 x 10 x 6		(不明)	46.4	1.3
実施例1-7	材料 (4)	エンドウ	スライス 50 x 20 x 10		27U	57.8	1.3

[0102] 表6に示されるとおり、組織化植物性タンパク質材料の由来及び形状によらず、組織化植物性タンパク質材料にPG処理を行うことによって、遊離アミノ酸への分解が進んでおり消化性が向上したことが確認できた。また、組織化植物性タンパク質材料の由来が大豆である場合に、遊離アミノ酸への分解が特に進んでおり、消化性が特に優れることが確認できた。

[0103] [試験例4]

上記[A-2. 非組織化植物性タンパク質含有組成物]に示す植物性タンパク質含有組成物を用い、上記[C-2. 非組織化植物性タンパク質含有組成物を使用]の方法で加工植物性タンパク質含有組成物を製造した。得られた加工植物性タンパク質含有組成物について、上記[D. 消化性試験]の試験を行い、PG処理画分及びPG未処理画分それぞれから得られた口腔消化物モデル、胃消化物モデル、又は小腸消化物モデルの上清について、上記[E-1. 遊離アミノ態窒素量測定]の測定を行い、さらに上記[E-2

．遊離アミノ態窒素量の比率導出]に基づく遊離アミノ態窒素量の比率の導出、及び上記[F. アミノ酸分析]に基づく所定アミノ酸遊離量の相対値の導出を行った。結果を表7～9に示す。なお、表9では、小腸消化後のタンパク質を構成する非必須AA量（相対値）に対する必須AA量（相対値）の比率も併記した。この比率が1を超えていれば、PG処理により、非必須アミノ酸に比べて必須アミノ酸の遊離量を高める効果の方が優れていることを意味する。

[0104] [表7]

	植物性タンパク質液 (液状の植物性 タンパク質含有組成物)	遊離アミノ態窒素比 (PG処理画分/PG未処理画分)		
		口腔	胃	小腸
実施例2-1	大豆タンパク質液	1	1.3	1.34
実施例2-2	エンドウタンパク質液	1	1.3	1.31
実施例2-3	そら豆タンパク質液	1	1.36	1.36
実施例2-4	リョクトウタンパク質液	0.99	1.97	1.97
実施例2-5	ひよこ豆タンパク質液	1	1.61	1.64
実施例2-6	レンズ豆タンパク質液	0.98	1.31	1.31
実施例2-7	小麦タンパク質液	1	6.79	6.83
実施例2-8	トウモロコシタンパク質液	0.99	3.77	3.87
実施例2-9	オーツタンパク質液	0.98	1.69	1.72
実施例2-10	ライスタンパク質液	1.01	2.31	2.4
実施例2-11	アーモンドタンパク質液	0.99	1.64	1.61
実施例2-12	チアシードタンパク質液	1	1.79	1.83
実施例2-13	ヘンプタンパク質液	1	1.74	1.71

[0105] [表8]

	市販ミルク	遊離アミノ態窒素比 (PG処理画分/PG未処理画分)		
		口腔	胃	小腸
実施例2-14	豆乳	0.93	1.62	1.57
実施例2-15	アーモンドミルク	1.03	1.76	1.78
実施例2-16	オーツミルク	1.17	1.58	1.54
実施例2-17	ココナッツミルク	1.05	1.47	1.58
比較例2-1	牛乳	1.1	1.08	1.02

[0106]

[表9]

	タンパク質液 (液状のタンパク質 含有組成物)	PG処理後				
		必須AA			非必須 AA	必須AA 非必須AA
		BCAA	AAA	その他		
実施例2-1	大豆タンパク質液	3.43	3.53	4.18	1.90	1.95
実施例2-2	エンドウタンパク質液	3.00	3.83	3.35	1.85	1.83
実施例2-3	そら豆タンパク質液	3.87	3.83	4.93	2.01	2.09
実施例2-4	リョクトウタンパク質液	3.50	4.90	6.03	2.66	1.81
実施例2-5	ひよこ豆タンパク質液	3.83	3.90	6.08	1.84	2.50
実施例2-6	レンズ豆タンパク質液	3.23	5.97	2.23	1.71	2.23
実施例2-7	小麦タンパク質液	2.20	3.70	3.25	2.92	1.04
実施例2-8	トウモロコシタンパク質液	3.90	2.90	3.78	1.65	2.14
実施例2-9	オーツタンパク質液	3.23	4.17	4.73	2.14	1.89
実施例2-10	ライスタンパク質液	3.50	3.60	7.85	3.56	1.40
実施例2-11	アーモンドタンパク質液	4.27	4.03	3.08	1.61	2.36
実施例2-13	ヘンプタンパク質液	1.43	3.07	2.15	1.65	1.34
比較例2-1	牛乳	1.27	1.00	1.36	1.54	0.79

[0107] 表7及び表8に示すように、植物性タンパク質含有組成物をPG処理することによって、胃及び小腸での消化性が向上したことが示された（実施例2-1～2-17）。この消化性の向上効果は、動物性タンパク質含有組成物である牛乳（比較例2-1）と対比しても顕著であった。

[0108] さらに、表9に示すように、植物性タンパク質含有組成物をPG処理することによって、消化後に遊離するアミノ酸の中でも、BCAA、AAA、その他の必須AA、及び非必須AAのいずれも遊離量が向上した（実施例2-1～2-11, 2-13）。さらに、非必須AAに対する必須AAの割合も高まっていることから、非必須アミノ酸の遊離量を高める効果よりも、BCAA等の必須アミノ酸の遊離量を高める効果の方がより一層向上したことが示された（実施例2-1～2-11, 2-13）。反対に、動物性タンパク質含有組成物である牛乳（比較例2-1）では、非必須AAに対する必須AAの割合が1を下回っていることから、PG処理により、むしろ非必須アミノ酸の方の遊離量が高められることが示された。

## 請求の範囲

- [請求項1] タンパク質脱アミド酵素を含む、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。
- [請求項2] 必須アミノ酸遊離量の向上に用いられる、請求項1に記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。
- [請求項3] 分岐アミノ酸遊離量の向上に用いられる、請求項1に記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。
- [請求項4] 前記タンパク質脱アミド酵素がプロテイングルタミナーゼである、請求項1に記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。
- [請求項5] 前記植物性タンパク質が、菽穀類、禾穀類、及び種実類からなる群より選択される植物のタンパク質である、請求項1に記載の植物性タンパク質含有組成物の消化性向上剤。
- [請求項6] 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の消化性向上方法。
- [請求項7] 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の必須アミノ酸遊離量向上方法。
- [請求項8] 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、植物性タンパク質含有組成物の分岐アミノ酸遊離量向上方法。
- [請求項9] 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む、タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物の製造方法。
- [請求項10] 植物性タンパク質含有組成物にタンパク質脱アミド酵素を作用させる工程を含む方法によって得られる、タンパク質消化性が向上した加工植物性タンパク質含有組成物。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/041703

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
<p><i>A23L 29/00</i>(2016.01)i; <i>A23J 3/00</i>(2006.01)i; <i>A23J 3/14</i>(2006.01)i; <i>A23L 5/00</i>(2016.01)i; <i>A23L 13/00</i>(2016.01)i; <i>A23L 13/40</i>(2023.01)i; <i>A23L 33/185</i>(2016.01)i            FI: A23L29/00; A23J3/14; A23L13/00 A; A23J3/00 502; A23L33/185; A23L13/40; A23L5/00 M</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L29/00; A23J3/00; A23J3/14; A23L5/00; A23L13/00; A23L13/40; A23L33/185		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/201277 A1 (AMANO ENZYME INC) 07 October 2021 (2021-10-07) claims, paragraphs [0023], [0040], examples	1-10
X	WO 2021/187510 A1 (AMANO ENZYME INC) 23 September 2021 (2021-09-23) claims, paragraphs [0019], [0073], examples	1-10
X	WO 2020/038611 A1 (RAISIO NUTRITION LTD) 27 February 2020 (2020-02-27) claims, examples	1-10
X	WO 2009/113628 A1 (AJINOMOTO CO., INC.) 17 September 2009 (2009-09-17) claims, paragraphs [0003], [0025], examples	1-10
X	JP 2000-050887 A (AMANO PHARMACEUT CO LTD) 22 February 2000 (2000-02-22) claims, paragraph [0052], examples	1-10
A	WO 2021/172546 A1 (AMANO ENZYME INC) 02 September 2021 (2021-09-02)	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&amp;” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search <b>18 January 2023</b>		Date of mailing of the international search report <b>31 January 2023</b>
Name and mailing address of the ISA/JP <b>Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan</b>		Authorized officer  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/JP2022/041703**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2021/201277	A1	07 October 2021	(Family: none)	
WO	2021/187510	A1	23 September 2021	(Family: none)	
WO	2020/038611	A1	27 February 2020	WO 2020/038541	A1
				WO 2020/038601	A1
				EP 3840584	A1
				EP 3840583	A1
WO	2009/113628	A1	17 September 2009	US 2011/0064847	A1
				claims, examples	
				EP 2267146	A1
JP	2000-050887	A	22 February 2000	US 2004/0072318	A1
				claims, examples	
				US 2004/0166558	A1
				US 2004/0175799	A1
				US 2009/0075337	A1
				US 2009/0081763	A1
				EP 976829	A2
WO	2021/172546	A1	02 September 2021	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A23L 29/00(2016.01)i; A23J 3/00(2006.01)i; A23J 3/14(2006.01)i; A23L 5/00(2016.01)i; A23L 13/00(2016.01)i; A23L 13/40(2023.01)i; A23L 33/185(2016.01)i FI: A23L29/00; A23J3/14; A23L13/00 A; A23J3/00 502; A23L33/185; A23L13/40; A23L5/00 M		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A23L29/00; A23J3/00; A23J3/14; A23L5/00; A23L13/00; A23L13/40; A23L33/185 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922 - 1996年 日本国公開実用新案公報 1971 - 2023年 日本国実用新案登録公報 1996 - 2023年 日本国登録実用新案公報 1994 - 2023年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2021/201277 A1 (天野エンザイム株式会社) 07.10.2021 (2021 - 10 - 07) 請求の範囲、[0023]、[0040]、実施例	1-10
X	WO 2021/187510 A1 (天野エンザイム株式会社) 23.09.2021 (2021 - 09 - 23) 請求の範囲、[0019]、[0073]、実施例	1-10
X	WO 2020/038611 A1 (RAISIO NUTRITION LTD) 27.02.2020 (2020 - 02 - 27) claims、examples	1-10
X	WO 2009/113628 A1 (味の素株式会社) 17.09.2009 (2009 - 09 - 17) 請求の範囲、[0003]、[0025]、実施例	1-10
X	JP 2000-050887 A (天野製薬株式会社) 22.02.2000 (2000 - 02 - 22) 特許請求の範囲、[0052]、実施例	1-10
A	WO 2021/172546 A1 (天野エンザイム株式会社) 02.09.2021 (2021 - 09 - 02)	1-10
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	18.01.2023	国際調査報告の発送日 31.01.2023
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官）  安田 周史 40 3445  電話番号 03-3581-1101 内線 3461	

国際調査報告  
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号  
 PCT/JP2022/041703

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2021/201277 A1	07.10.2021	(ファミリーなし)	
WO 2021/187510 A1	23.09.2021	(ファミリーなし)	
WO 2020/038611 A1	27.02.2020	WO 2020/038541 A1 WO 2020/038601 A1 EP 3840584 A1 EP 3840583 A1	
WO 2009/113628 A1	17.09.2009	US 2011/0064847 A1 claims, examples EP 2267146 A1	
JP 2000-050887 A	22.02.2000	US 2004/0072318 A1 claims, examples US 2004/0166558 A1 US 2004/0175799 A1 US 2009/0075337 A1 US 2009/0081763 A1 EP 976829 A2	
WO 2021/172546 A1	02.09.2021	(ファミリーなし)	