

(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
2010年12月16日(16.12.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/143719 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 36/60 (2006.01) A61K 36/00 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)
A61K 31/122 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/059970
- (22) 国際出願日: 2010年6月11日(11.06.2010)
- (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 2009-141316 2009年6月12日(12.06.2009) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): キリンホールディングス株式会社(KIRIN HOLDINGS KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1048288 東京都中央区新川二丁目10番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 谷口 慈将(TANIGUCHI Yoshimasa) [JP/JP]; 〒2360004 神奈川県横浜市金沢区福浦1-13-5 キリンホールディングス株式会社内 Kanagawa (JP). 眞鍋 簡利(MANABE Fumitoshi) [JP/JP]; 〒2308628 神奈川県横浜市鶴見区生麦1-17-1 キリンホールディングス株式会社内 Kanagawa (JP). 小林 夕美恵(KOBAYASHI Yumie) [JP/JP]; 〒2360004 神奈川県横浜市金沢区福浦1-13-5 キリンホールディングス株式会社内 Kanagawa (JP). 形山 幹生(KATAYAMA Mikio) [JP/JP]; 〒2308628 神奈川県横浜市鶴見区生麦1

ー17-1 キリンホールディングス株式会社内 Kanagawa (JP).

- (74) 代理人: 勝沼 宏仁, 外(KATSUNUMA Hirohito et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内三丁目2番3号 富士ビル323号 協和特許法律事務所 Tokyo (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告(条約第21条(3))

(54) Title: ALKALINE DECOMPOSITION PRODUCT OF HOP EXTRACT AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: ホップエキスのアルカリ分解産物およびその用途

(57) Abstract: A food and a food additive, each of which comprises an alkaline decomposition product of a hop extract; and a fat accumulation inhibitor or an agent for inhibiting the increase in body weight, which comprises the alkaline decomposition product as an active ingredient.

(57) 要約: 本発明によればホップエキスのアルカリ分解産物を用いた食品および食品添加剤並びにそれを有効成分とする脂肪蓄積抑制剤または体重増加抑制剤が提供される。



WO 2010/143719 A1

明 細 書

発明の名称： ホップエキスのアルカリ分解産物およびその用途 技術分野

[0001] 本発明は、ホップエキスのアルカリ分解産物およびその用途に関し、詳細には、ホップエキスのアルカリ分解産物を用いた食品および食品添加剤並びにそれを有効成分とする脂肪蓄積抑制剤および体重増加抑制剤に関する。

背景技術

[0002] 近年、健康を意識した飲食品が多く開発され、市販もされている。健康機能の実感がある本物の製品を得るためには、当然有効量を上回る配合が必要となる。古くから「良薬口に苦し」といわれているように、人体に有用な効果を与える、いわゆる機能性成分は苦味を伴うことがたびたびある。その際、飲食品に有効量以上を配合した場合、嗜好性が低下して、製品としての魅力が低下してしまう。

[0003] ビール中の苦味成分の起源であるホップは、古くから民間薬としても用いられており、鎮静効果、健胃効果などの様々な健康機能が知られている。このホップから得られる抽出物を飲食品に対して一定量以上配合すると独特の強烈な苦味が生じてしまい、嗜好性を損なう恐れがある。

[0004] このような苦味を除去あるいは抑制するために、多くの試みが報告されている。苦味低減素材として用いられる物質として、フォスファチジン酸（商品名「ベネコートBMI」花王株式会社）、L-オルニチン（食の科学 No. 3 17 p54 2004）などが挙げられる。しかし、いずれも単独では効果が必ずしも強くなく、特に上記ホップ抽出物の苦味を抑制することは難しかった。また、スクラロースやソーマチンなどの甘味料添加によるマスキング技術（特開 2008-99682号公報）では、甘味によって苦味が多少マスクされるものの、その強い甘味のため用途が限られたものになる。

[0005] 医薬品の場合は、錠剤の場合では通常糖衣が主に行われ、その他フィルムコーティング技術やマイクロカプセル化等が用いられているが、完全に苦味

のマスキングをすることは難しかった。さらに、液剤の場合は飲料と同様にこれらの技術を使用することができず、飲食品や医薬品の分野では苦味の抑制は依然として大きな課題である。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2008-99682号公報

特許文献2：WO2003/068205号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：食の科学 No. 317 p54 2004

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] これまでにホップエキス由来のイソフムロンにPPARアゴニスト作用があり、この作用を介して脂質代謝改善機能があることが報告されている（WO2003/068205号公報）。しかし、イソフムロンには強烈な苦味があり、飲食品や医薬品への応用する際にはその苦味の抑制が課題となっていた。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、ホップエキスをアルカリ分解処理して得られた分解産物とそのイソフムロン含量を大幅に低下させているにも関わらず、脂肪蓄積抑制作用および体重増加抑制作用を有すること、該分解産物の苦みが大幅に低減されることを見出した。本発明はこれらの知見に基づくものである。

[0010] すなわち、本発明によれば、ホップエキスのアルカリ分解産物からなる食品添加剤（以下、単に「本発明による食品添加剤」ということがある）、およびホップエキスのアルカリ分解産物を添加してなる食品（以下、単に「本発明による食品」ということがある）が提供される。

[0011] 本発明によれば、また、ホップエキスのアルカリ分解産物を有効成分とする、脂肪蓄積抑制剤または体重増加抑制剤（以下、単に「本発明による抑制

剤」ということがある）が提供される。

[0012] 本発明によれば、更に、ホップエキスをアルカリ処理し、次いで、該処理により生成した脂肪酸を除去することを特徴とする、本発明による食品に添加されるホップエキスのアルカリ分解産物および本発明による抑制剤の製造方法が提供される。

[0013] 本発明によれば、更に、ホップエキスのアルカリ分解産物をヒトを含む哺乳動物に投与することを含んでなる、脂肪蓄積の抑制方法および体重増加の抑制方法が提供される。

[0014] 本発明によれば、脂肪蓄積抑制剤または体重増加抑制剤の製造のためのホップエキスのアルカリ分解産物の使用が提供される。

[0015] ホップエキスのアルカリ分解産物は脂肪蓄積抑制作用および／または体重増加抑制作用を有するとともに、異性化されたホップエキスのような強烈な苦味がない。従って、本発明による食品や本発明による抑制剤は脂肪蓄積抑制や体重増加抑制などの生理活性を期待しつつ、苦味のマスキング手段を講じずにそのまま摂取できる点で有利である。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]強アルカリ加熱分解処理された後の分解産物（実施例1）のHPLCチャート（（1）および（2））と、強アルカリ加熱分解処理されていない異性化ホップエキスのHPLCチャート（（3）および（4））を示した図である。

[図2]弱アルカリ加熱分解処理された後の分解産物（実施例2）のHPLCチャート（（1）および（2））と、弱アルカリ加熱分解処理されていない異性化ホップエキスのHPLCチャート（（3）および（4））を示した図である。

[図3]図1（1）および（2）のHPLCチャートの拡大図である。

[図4]図2（1）および（2）のHPLCチャートの拡大図である。

[図5]動物の生理作用評価（実施例14）に用いた本発明による脂肪酸除去分解産物（実施例4）のサンプルのHPLCチャート図である。

[図6]本発明による脂肪酸除去分解産物（実施例5）のサンプルのHPLCチャート図である。

[図7]本発明による分解産物に含まれる脂肪酸について、微生物発酵によるその除去率を示した図である。

[図8]動物の生理作用評価（実施例13）に用いた本発明による分解産物（実施例12）のサンプルのHPLCチャート図である。

[図9]本発明による分解産物（実施例12）が高脂肪食摂取マウスの体重変化に与える影響を示した図である。

[図10]本発明による分解産物（実施例12）が高脂肪食摂取マウスの精巣周囲脂肪重量の変化に与える影響を示した図である。

[図11]本発明による分解産物（実施例12）が高脂肪食摂取マウスの皮下脂肪重量の変化に与える影響を示した図である。

[図12]本発明による分解産物（実施例12）が高脂肪食摂取マウスの肝臓重量の変化に与える影響を示した図である。

[図13]本発明による分解産物（実施例12）が高脂肪食摂取マウスの肝中総脂質量の変化に与える影響を示した図である。

[図14]本発明による分解産物（実施例12）が高脂肪食摂取マウスの肝中中性脂肪量の変化に与える影響を示した図である。

[図15]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例4）が高脂肪食摂取マウスの体重変化に与える影響を示した図である。

[図16]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例4）が高脂肪食摂取マウスの内臓脂肪重量の変化に与える影響を示した図である。

[図17]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例4）が高脂肪食摂取マウスの皮下脂肪重量の変化に与える影響を示した図である。

[図18]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例4）が高脂肪食摂取マウスの肝臓重量の変化に与える影響を示した図である。

[図19]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例4）が高脂肪食摂取マウスの肝中総脂質量の変化に与える影響を示した図である。

[図20]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例4）が高脂肪食摂取マウスの肝中中性脂肪量の変化に与える影響を示した図である。

[図21]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例9）が高脂肪食摂取マウスの体重変化に与える影響を示した図である。

[図22]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例9）が高脂肪食摂取マウスの精巣周囲脂肪重量の変化に与える影響を示した図である。

[図23]本発明による分解産物（錯体形成成分）（実施例9）が高脂肪食摂取マウスの皮下脂肪重量の変化に与える影響を示した図である。

発明の具体的説明

[0017] [アルカリ分解産物]

本発明により提供される「ホップエキスのアルカリ分解産物」（以下、単に「本発明による分解産物」ということがある）は、ホップエキスをアルカリ分解処理に付すことにより得ることができる。本発明において「アルカリ分解処理」とは、アルカリ条件下での分解処理を意味し、分解処理中のpHがアルカリ性を維持していれば特に限定されるものではないが、分解効率の観点から、好ましくはpH9以上、更に好ましくは、強アルカリ条件下、すなわち、pH13以上の条件下で分解処理を行うことができる。アルカリ分解処理の手法は後述する。また、本発明において「ホップエキス」とは、ホップ穂花の抽出物を意味し、ホップエキスを異性化処理に付すことにより得られた異性化ホップエキスを含む意味で用いられる。ホップエキスの抽出手法や異性化処理については後述する。

[0018] ホップエキスには α 酸（フムロン化合物）、 β 酸（ルプロン化合物）などの酸性樹脂成分が含まれている。また、異性化されたホップエキスにはイソ α 酸（イソフムロン化合物）などの酸性樹脂成分が含まれている。本発明において「フムロン化合物」は、フムロン、アドフムロン、コフムロン、ポストフムロン、およびプレフムロンを含む意味で用いられる。また、本発明において「ルプロン化合物」はルプロン、アドルプロン、コルプロン、ポストルプロン及びプレルプロンを含む意味で用いられる。さらに、本発明におい

て「イソフムロン化合物」は、イソフムロン、イソアドフムロン、イソコフムロン、イソポストフムロン、イソプレフムロン、テトラヒドロイソフムロン、テトラヒドロイソアドフムロン、テトラヒドロイソコフムロン、テトラヒドロイソプレフムロン、及びテトラヒドロイソポストフムロンを含む意味で用いられる。なお、イソフムロン化合物にはシスおよびトランス立体異性体が存在するが、特に断りがない限りその両者を含む意味で用いられる。

[0019] 後記実施例によると、ホップエキスをアルカリ分解処理に付すことにより α 酸およびイソ α 酸の含有量が低減され、これら以外の成分の含有量が増加する。従って、「ホップエキスのアルカリ分解産物」の例としては、実施例3のHPLC分析を実施した場合に、分解産物のうち β 酸以外の成分のHPLC総ピーク面積に対するイソ α 酸および α 酸の面積の割合が70%以下、好ましくは30%以下、より好ましくは10%以下であるものが挙げられる。

[0020] 本発明による分解産物に含まれる α 酸、 β 酸、およびイソ α 酸以外の成分は、イソ α 酸よりも疎水性の低い化合物であり、その存在はHPLC等の周知の分析手段により容易に検出することができる。例えば、実施例1に記載の手順で調製されたアルカリ分解産物には、 α 酸、 β 酸、およびイソ α 酸以外に、これらよりも疎水性の低い化合物が含まれており、この疎水性の低い化合物を含む分画（図1の矢印Aの部分、以下疎水性の低い化合物群という）は実施例13および14に示されているように生理活性を有する。従って、本発明による分解産物の例としては、実施例3のHPLC分析を実施した場合に、分解産物のうち β 酸以外の成分のHPLC総ピーク面積に対するイソ α 酸および α 酸以外の成分の面積の割合が30%以上、好ましくは70%以上、より好ましくは90%以上であるものが挙げられる。

[0021] 上記の生理活性を示す疎水性の低い化合物群の主たる成分は、その分子量からフムリン酸類であると考えられた。本発明による分解産物においては、分解産物に含まれるフムリン酸類の含有量は物質質量として、好ましくは、イ

ソ α 酸および α 酸の含有量の合計量以上である。本発明において「フムリン酸類」とは、フムリン酸、アドフムリン酸、コフムリン酸、ポストフムリン酸、およびプレフムリン酸、並びにアセチルフムリン酸、ジヒドロフムリン酸、アセチルジヒドロフムリン酸、フムリン酸C、フムリン酸D、O-メチルフムリン酸D、オキシフムリン酸、デヒドロフムリン酸、デハイドレイティッドフムリン酸、デハイドレイティッドジヒドロフムリン酸の各種同族体を含む意味で用いられ、シス、トランス立体異性体が存在するものは特に断りがない限りその両者を含む意味で用いられるものとする。

[0022] 本発明による分解産物にはアルカリ分解処理により生成した脂肪酸が含まれており、アルカリ処理条件あるいは摂取の態様によっては脂肪酸特有の不快感により摂取が妨げられる可能性があることが判明した。従って、本発明による分解産物は、好ましくは、分解産物に含まれる成分から脂肪酸が除去されたものであり、より好ましくは、分解産物に含まれる成分のうち金属イオンと錯体形成する成分からなるものである。この場合、本発明による分解産物中の脂肪酸含有量は、好ましくはフムリン酸類含有量の40重量%以下であり、より好ましくは10重量%以下である。脂肪酸の除去の手法は後述する。

[0023] [アルカリ分解産物の調製]

分解処理

本発明による分解産物は、異性化されたホップエキスをアルカリ条件下で分解処理することにより製造することができる。

[0024] すなわち、ホップエキスをアルカリ条件下で室温～100℃の温度で、数秒～72時間加熱することにより、好ましくは、pH10～14、50℃～90℃の温度範囲で5分～24時間加熱することにより、ホップエキスのアルカリ分解産物を得ることができる。反応溶液をアルカリ条件とするためには、一般的に使用されるアルカリ性水溶液を用いればよく、例えば、0.5～2Mの濃度の水酸化ナトリウム水溶液または炭酸カリウム水溶液に、異性化されたホップエキスをエキス乾燥重量で3～30w/v%となるように添

加してもよい。

- [0025] アルカリ分解処理により、ホップエキスを含まれているフムロンなどの α 酸、イソフムロンなどのイソ α 酸は分解される。これらの成分の分解の程度はHPLC等により分析し確認することができる。
- [0026] アルカリ条件下での分解処理に付される異性化されたホップエキスは、ホップエキスを異性化処理することにより得ることができる。異性化処理の方法は公知であり、いずれの方法を用いてもよいが、典型的には、ホップエキスをpH 8～9の弱アルカリ条件下で、あるいは酸化マグネシウム存在下で加熱することで実施することができる。ホップエキスをそのまま異性化処理に付してもよいが、異性化処理に先立って、ホップエキスを加温アルカリ水に添加し（ホップエキス添加後にpH 8～9）、溶解した α 酸と不溶の β 酸を分離し、得られた α 酸画分を異性化処理に付してもよい。
- [0027] 異性化処理に付されるホップエキスは、例えば、穂花やその圧縮物をそのままもしくは粉碎後、抽出操作に供することによって調製したものを用いることができる。抽出方法としては、例えば、ビール醸造に用いられるホップエキスの調製法として用いられるエタノール溶媒による抽出法や超臨界二酸化炭素抽出法などがある。このうち超臨界二酸化炭素抽出はポリフェノール成分が少なく、苦味質と精油成分がより高く濃縮されるなどの特徴を有する。また、ホップ抽出法として、その他一般に用いられる方法を採用することができ、例えば、溶媒中にホップの穂花、その粉碎物などを冷浸、温浸等によって浸漬する方法；加温し攪拌しながら抽出を行い、濾過して抽出液を得る方法；またはパーコレーション法等を挙げられる。得られた抽出液は、必要に応じてろ過または遠心分離によって固形物を除去した後、使用の態様により、そのまま用いるか、または溶媒を留去して一部濃縮若しくは乾燥して用いてもよい。また濃縮乃至は乾燥後、さらに非溶解性溶媒で洗浄して精製して用いても、またこれを更に適当な溶剤に溶解もしくは懸濁して用いることもできる。更に、上記のようにして得られた溶媒抽出液を、減圧乾燥、凍結乾燥等の通常の手段により乾燥させて得られたホップ抽出エキス乾燥物を

使用してもよい。

[0028] 上記の抽出に用いられる溶媒としては、例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノールおよびブタノール等の炭素数 1～4 の低級アルコール；酢酸エチルエステル等の低級アルキルエステル；エチレングリコール、ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリンなどのグリコール類；その他アセトン、酢酸等の極性溶媒；ベンゼンやヘキサン等の炭化水素；エチルエーテルや石油エーテルなどのエーテル類等の非極性溶媒の公知の有機溶媒を挙げることができる。これら溶媒は、単独で用いてもよく、二種以上を組み合わせ使用することもできる。

[0029] 本発明では異性化されたホップエキスのアルカリ分解産物のみならず、異性化されていないホップエキスのアルカリ分解産物も本発明による分解産物として用いることができる。この場合、ホップエキスを pH 9 以上のアルカリ条件下で室温～100℃の温度で、数秒～72 時間加熱することにより、好ましくは、pH 10～14、50℃～90℃の温度範囲で5分～48 時間加熱することにより、ホップエキスのアルカリ分解産物を得ることができる。反応溶液をアルカリ条件とするためには、例えば、0.5～2 M の濃度の水酸化ナトリウム水溶液あるいは炭酸カリウム水溶液に、ホップエキスをエキス乾燥重量で 3～10 w/v % となるように添加してもよい。反応に当たってはホップエキスをそのままアルカリ分解処理に付してもよいが、アルカリ分解処理に先立ってホップエキスから α 酸を分取し、それを分解処理に付してもよい。 α 酸と β 酸の分離は前述と同様に実施することができる。アルカリ条件下での分解処理に付されるホップエキスは、上述と同様に、穂花やその圧縮物をそのままもしくは粉碎後、抽出操作に供することによって調製することができる。

[0030] ホップエキスをアルカリ分解処理して得られた分解産物そのものはアルカリ性であることから、硫酸、塩酸、硝酸、リン酸、クエン酸、乳酸、酒石酸などの中和に一般的に使用される酸により適宜中和してもよい。中和された分解産物は後述のように食品や医薬品に添加して使用することができる。

[0031] アルカリ分解処理に付されるホップエキスはビール添加物として市販されており、本発明では市販品を使用することができる。例えば、ホップ毬花粉砕物から主にフムロン類とルプロン類を超臨界二酸化炭素抽出したホップエキス（例えば、CO₂ Pure Resin Extract（Hopsteiner社））、ホップ毬花粉砕物の炭酸ガス抽出物を異性化したエキス（例えば、Isomerized Kettle Extract（SS. Steiner社））、ホップ毬花粉砕物の炭酸ガス抽出物を異性化した後、さらにカリウム塩化して粘性の低い液体とした水溶性エキス（例えば、ISOHOPCO₂N（English Hop Products社）、IsoExtract30%（Hopsteiner社））などを用いることができる。

[0032] 本発明では、アルカリ分解処理と同様のアルカリ条件下に調整された溶媒を用いて抽出されたホップエキスを本発明による分解産物として用いることもできる。すなわち、毬花やその圧縮物をそのままもしくは粉碎後、アルカリ条件（pH 9以上、好ましくはpH 13以上）に調整された溶媒を用いて抽出操作を行うことによってホップエキスのアルカリ分解産物を調製することができる。

[0033] 脂肪酸除去処理

ホップエキスをアルカリ分解処理に付して得られた分解産物には臭気の原因となる脂肪酸が含まれていることから、該処理により生成した脂肪酸を除去する脂肪酸除去処理を実施してもよい。

[0034] 脂肪酸を除去する方法は、特に限定されない。例えば、分解産物を酸性処理後、加熱された水蒸気により脂肪酸を揮発除去する方法（水蒸気蒸留法）、担体により吸着する方法（吸着法）などの公知の方法を用いることができる。さらに本発明では、分解産物を酸性条件下で処理しオイル成分として沈殿させ、水で遠心洗浄することで脂肪酸を除去する方法（遠心分離法）、微生物による発酵を利用して脂肪酸を除去する方法（発酵法）、あるいは金属イオンと錯体形成する成分を分取することで結果的に脂肪酸を除去する方法（錯体形成法）も用いることができる。

[0035] 錯体形成法は生理活性成分のみ金属錯体として不溶化させ、脂肪酸を含む

溶液と固液分離することができる。すなわち、この方法は極めて簡便で、かつ効率的であるとともに、アルカリ条件下で作業を行うため、作業者が脂肪酸の不快臭に曝されることもない点で非常に有利である。ホップエキスのアルカリ分解産物に金属イオンを添加し、該金属イオンと錯体形成した成分を分取し、該成分を本発明による食品や本発明による抑制剤に用いてもよい。

[0036] 上記手法において錯体形成した成分は、硫酸、塩酸、硝酸、リン酸、クエン酸、乳酸、酒石酸などの酸を用いて金属イオンから解離させて本発明による食品や本発明による抑制剤に用いることができる。錯体形成に使用可能な金属イオンは、好ましくは2価の金属イオンであり、例えば、マグネシウムイオン（塩化マグネシウム）、カルシウムイオン、亜鉛イオン、鉄イオン、銅イオンなどが挙げられる。以下の理論に拘束される訳ではないが、本発明による分解産物に含まれるフムリン酸類などの生理活性成分が金属イオンと錯体を形成し、不溶化したと考えられる。

[0037] アルカリ金属塩の調製

本発明による分解産物はカリウムやナトリウム等のアルカリ金属と塩を形成させ、アルカリ金属塩水溶液とすることができる。また、その水溶液をスプレードライ等により粉末化することができる。本発明による分解産物の金属塩形成に使用可能なアルカリ金属塩としては、カリウム塩、ナトリウム塩のような食品への添加が許容された塩が挙げられるが、カリウム塩が好ましい。本発明による分解産物のアルカリ金属塩は水溶性が優れており、食品（特に飲料）への添加を容易に行うことができる点で有利である。

[0038] 上記のようにして得られた本発明による分解産物のアルカリ金属塩は脂肪酸除去処理に付して、脂肪酸を除去してもよい。また、本発明による分解産物のアルカリ金属塩は、脂肪酸除去処理に付された本発明による分解産物を用いて調製してもよい。

[0039] フムリン酸類の抽出

上記のようにして得られたアルカリ分解産物にはフムリン酸類が含まれているが、更に抽出工程を行ってフムリン酸類を単離・精製してもよい。例え

ばアルカリ分解産物を吸着樹脂等に吸着させた後、フムリン酸類のみを選択的に溶出させ、それを食品に添加してよく、また、本発明による食品添加剤や本発明による抑制剤として用いてもよい。

[0040] [アルカリ分解産物の用途]

後記実施例 13～15 に示される通り、ホップエキスのアルカリ分解産物は、高脂肪食摂取マウスにおいて体重増加を有意に抑制するとともに、高脂肪食摂取マウスの内臓脂肪や皮下脂肪を有意に減少させた。また、ホップエキスのアルカリ分解産物は、マウス肝臓中において脂質蓄積を有意に抑制した。

[0041] 従って、本発明による分解産物は、脂肪蓄積抑制剤（特に、内臓脂肪および皮下脂肪蓄積抑制剤）および体重増加抑制剤として有用である。また、本発明による分解産物は肥満の予防および／または治療に有用である。

[0042] また、実施例で用いたホップエキスのアルカリ分解産物にはフムリン酸に代表される低分子化合物が含まれていることから（実施例 3、4、5、および 12）、フムリン酸類は脂肪蓄積抑制剤および体重増加抑制剤として有用である。また、フムリン酸類は肥満の予防および／または治療に有用である。

[0043] 本発明による分解産物やフムリン酸類には異性化されたホップエキスのような強烈な苦味がない（実施例 11、16、17）。従って、本発明による分解産物やフムリン酸類は上記のような生理活性作用を期待しつつ、飲食品や医薬品において苦味のマスキング手段を講じずにそのまま利用できる点で有利である。

[0044] [医薬品および食品]

本発明による分解産物を医薬品として提供する場合には、本発明による分解産物を薬学上許容される添加物と混合することにより製造できる。本発明による分解産物はイソフムロン化合物のような強烈な苦味を有さないことから、苦味をマスキングするための手段を講じずに、あるいは既存のマスキング手段を用いて苦味を十分にマスキングした状態で所定の効能を期待する製

剤とすることができる点で有利である。

[0045] 本発明ではホップエキスのアルカリ分解産物そのもののみならず、分解産物に含まれる成分のうち金属イオンと錯体形成する成分や単離・精製されたフムリン酸類を使用することができる。金属イオンと錯体形成する成分ではアルカリ分解により生ずる脂肪酸がほとんど除去されていることから、これら成分を高濃度で医薬品に使用しても脂肪酸特有の不快臭を生じない点で有利である。

[0046] 本発明による分解産物は有効成分として経口投与または非経口投与することができ、好ましくは経口投与である。経口剤としては、顆粒剤、散剤、錠剤（糖衣錠を含む）、丸剤、カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤が挙げられる。非経口剤としては、注射剤（例えば、皮下注射剤、静脈内注射剤、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤）、点滴剤、外用剤（例えば、経鼻投与製剤、経皮製剤、軟膏剤）、坐剤（例えば、直腸坐剤、膣坐剤）が挙げられる。これらの製剤は、当分野で通常行われている手法により、薬学上許容される担体を用いて製剤化することができる。薬学上許容される担体としては、賦形剤、結合剤、希釈剤、添加剤、香料、緩衝剤、増粘剤、着色剤、安定剤、乳化剤、分散剤、懸濁化剤、防腐剤等が挙げられ、例えば、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、砂糖、ラクトース、ペクチン、デキストリン、澱粉、ゼラチン、トラガント、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、低融点ワックス、カカオバターを担体として使用できる。

[0047] 製剤は、例えば、下記のようにして製造できる。

経口剤は、有効成分に、例えば賦形剤（例えば、乳糖、白糖、デンプン、マンニトール）、崩壊剤（例えば、炭酸カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム）、結合剤（例えば、 α 化デンプン、アラビアゴム、カルボキシメチルセルロース、ポリビニールピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース）または滑沢剤（例えば、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール6000）を添加して圧縮成形し、次いで必要により

、味のマスキング、腸溶性あるいは持続性の目的のため自体公知の方法でコーティングすることにより製造することができる。コーティング剤としては、例えばエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリオキシエチレングリコール、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートおよびオイドラギット（ローム社製、ドイツ、メタアクリル酸・アクリル酸共重合体）などを用いることができる。

[0048] 注射剤は、有効成分を分散剤（例えば、ツイーン（T w e e n）80（アトラスパウダー社製、米国）、HCO60（日光ケミカルズ製）、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウムなど）、保存剤（例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルアルコール、クロロブタノール、フェノール）、等張化剤（例えば、塩化ナトリウム、グリセリン、ソルビトール、ブドウ糖、転化糖）などと共に水性溶剤（例えば、蒸留水、生理的食塩水、リンゲル液等）あるいは油性溶剤（例えば、オリーブ油、ゴマ油、綿実油、コーン油などの植物油、プロピレングリコール）などに溶解、懸濁あるいは乳化することにより製造することができる。この際、所望により溶解補助剤（例えば、サリチル酸ナトリウム、酢酸ナトリウム）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカイン）等の添加物を添加してもよい。

[0049] 外用剤は、有効成分を固状、半固状または液状の組成物とすることにより製造することができる。例えば、上記固状の組成物は、有効成分をそのまま、あるいは賦形剤（例えば、ラクトース、マンニトール、デンプン、微結晶セルロース、白糖）、増粘剤（例えば、天然ガム類、セルロース誘導体、アクリル酸重合体）などを添加、混合して粉状とすることにより製造できる。上記液状の組成物は、注射剤の場合とほとんど同様にして製造できる。半固状の組成物は、水性または油性のゲル剤、あるいは軟骨状のものがよい。また、これらの組成物は、いずれもpH調節剤（例えば、炭酸、リン酸、クエン酸、塩酸、水酸化ナトリウム）、防腐剤（例えば、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、塩化ベンザルコニウム）などを含んでいても

よい。坐剤は、有効成分を油性または水性の固状、半固状あるいは液状の組成物とすることにより製造できる。該組成物に用いる油性基剤としては、高級脂肪酸のグリセリド〔例えば、カカオ脂、ウイテプゾル類（ダイナマイトノーベル社製）〕、中級脂肪酸〔例えば、ミグリオール類（ダイナマイトノーベル社製）〕、あるいは植物油（例えば、ゴマ油、大豆油、綿実油）が挙げられる。水性基剤としては、ポリエチレングリコール類、プロピレングリコールが挙げられる。また、水性ゲル基剤としては、天然ガム類、セルロース誘導体、ビニール重合体、アクリル酸重合体が挙げられる。

[0050] 本発明による食品添加剤は、食品への添加が意図された本発明による分解産物である。本発明による分解産物は前記のように脂肪蓄積抑制効果および体重増加抑制効果などの生理的作用を発揮する。従って、本発明による食品添加剤には、本発明による分解産物の生理的作用を期待した食品への添加が意図されたものも含まれる。添加対象や添加態様は本発明による食品に関する記載に従うことができる。

[0051] 本発明による食品は、本発明による分解産物を有効量含有した飲食品である。ここで、本発明による分解産物を「有効量含有した」とは、個々の飲食品において通常喫食される量を摂取した場合に、後述するような範囲でフムリン酸類が摂取されるような含有量をいう。

[0052] 本発明による分解産物を食品として提供する場合には、本発明による分解産物をそのまま食品に配合することができる。より具体的には、本発明による食品は、本発明による分解産物をそのまま飲食品として調製したもの、各種タンパク質、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類等を更に配合したもの、液状、半液体状若しくは固体状にしたもの、カリウム塩、ナトリウム塩等の水溶液状にしたもの、一般の飲食品へ添加したものであってもよい。本発明による分解産物はイソフムロン化合物のような強烈な苦味を有さないことから、苦味をマスキングするための手段を講じずに、あるいは既存のマスキング手段を用いて苦味を十分にマスキングした状態で所定の生理作用が期待される食品とすることができる点で有利である。

- [0053] 本発明ではホップエキスのアルカリ分解産物そのもののみならず、分解産物に含まれる成分のうち金属イオンと錯体形成する成分や単離・精製されたフムリン酸類を食品に使用することができる。金属イオンと錯体形成する成分ではアルカリ分解により生ずる脂肪酸がほとんど除去されていることから、これら成分を高濃度で食品に使用しても脂肪酸特有の不快臭を生じない点で有利である。
- [0054] 本発明において「食品」とは、健康食品、機能性食品、特定保健用食品、病者用食品を含む意味で用いられる。
- [0055] また「食品」の形態は特に限定されるものではなく、例えば、飲料の形態であってもよい。
- [0056] 本発明による分解産物は、脂肪蓄積抑制作用および体重増加抑制作用を有するため、日常摂取する食品やサプリメントとして摂取する健康食品や機能性食品、好適には脂質を含有する食品や高カロリーの食品等に本発明による分解産物を配合することにより、健康の維持・増進に役立つ食品、具体的には、脂肪蓄積抑制作用や体重増加抑制作用といった機能を併せ持つ食品として提供することができる。すなわち、本発明による食品は、脂肪の蓄積（特に、体脂肪および内臓脂肪の蓄積）が気になる消費者や体重の増加が気になる消費者に適した食品、特に特定保健用食品、として提供することができる。
- [0057] かかる飲食品として具体的には、飯類、麺類、パン類およびパスタ類等炭水化物含有飲食品；クッキーやケーキなどの洋菓子類、饅頭や羊羹等の和菓子類、キャンディー類、ガム類、ヨーグルトやプリンなどの冷菓や氷菓などの各種菓子類；ウイスキー、バーボン、スピリッツ、リキュール、ワイン、果実酒、日本酒、中国酒、焼酎、ビール、アルコール度数１％以下のノンアルコールビール、発泡酒、その他雑酒、酎ハイなどのアルコール飲料；果汁入り飲料、野菜汁入り飲料、果汁および野菜汁入り飲料、清涼飲料水、牛乳、豆乳、乳飲料、ドリンクタイプのヨーグルト、ドリンクタイプのゼリー、コーヒー、ココア、茶飲料、栄養ドリンク、スポーツ飲料、ミネラルウォーター

ターなどの非アルコール飲料；卵を用いた加工品、魚介類（イカ、タコ、貝、ウナギなど）や畜肉（レバー等の臓物を含む）の加工品（珍味を含む）などを例示することができるが、これらに限定されるものではない。

[0058] 茶飲料としては、例えば、紅茶、緑茶、麦茶、玄米茶、煎茶、玉露茶、ほうじ茶、ウーロン茶、ウコン茶、プーアル茶、ルイボスティー茶、ローズ茶、キク茶、ハーブ茶（例えば、ミント茶、ジャスミン茶）が挙げられる。

[0059] 果汁入り飲料や果汁および野菜汁入り飲料に用いられる果物としては、例えば、リンゴ、ミカン、ブドウ、バナナ、ナシ、およびウメが挙げられる。また、野菜汁入り飲料や果汁および野菜汁入り飲料に用いられる野菜としては、例えば、トマト、ニンジン、セロリ、キュウリ、およびスイカが挙げられる。

[0060] 本発明による医薬品および食品は、人類が飲食品として長年摂取してきたホップエキスを利用することから、毒性も低く、それを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、サル等）に対し安全に用いられる。本発明による分解産物の投与量または摂取量は、受容者、受容者の年齢および体重、症状、投与時間、剤形、投与方法、薬剤の組み合わせ等に依存して決定できる。例えば、本発明による分解産物を医薬として経口投与する場合、体重60kgの成人1人1日当たりフムリン酸類換算で、10～600mg、好ましくは20～200mg、非経口投与する場合は1～100mg、好ましくは3～30mgの範囲となるように、1日1～3回に分けて投与することができる。本発明による分解産物と組み合わせて用いる他の作用機序を有する薬剤も、それぞれ臨床上用いられる用量を基準として適宜決定できる。また、食品として摂取する場合に、体重60kgの成人1人1日当たりフムリン酸類換算で、25～9600mgの範囲、好ましくは、25～780mgの範囲の摂取量となるよう本発明による分解産物を食品に配合することができる。

実施例

[0061] 以下の例に基づいて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの例に

限定されるものではない。

[0062] 実施例 1 : 強アルカリ加熱分解産物の調製

9 5 °C に加熱した 2 M 水酸化ナトリウム水溶液中にイソフムロン、イソアドフムロン、イソコフムロンを主成分とする異性化ホップエキス (Isoextract30%; hopsteiner 社) をエキス乾燥重量で 3 % w / v となるよう添加し、10 分まで加熱時間を保持した。加熱中の水溶液中の pH は 13 以上であった。

[0063] 実施例 2 : 弱アルカリ加熱分解産物の調製

8 0 °C に加熱した 0.5 M 炭酸カリウム水溶液中にイソフムロン、イソアドフムロン、イソコフムロンを主成分とする異性化ホップエキス (Isoextract30%; hopsteiner 社) をエキス乾燥重量で 6 % w / v となるよう添加し、24 時間後まで加熱時間を保持した。加熱中の水溶液中の pH は 10 ~ 12 であった。

[0064] 実施例 3 : アルカリ加熱分解産物の分析

実施例 1、2 で調製したアルカリ加熱分解溶液を以下のような前処理を行った。

[反応液分析前処理]

採取した反応液を塩酸にて pH 3 以下に調整し、HPLC サンプル溶液中に含まれる異性化ホップエキスが乾燥重量で 0.1 ~ 0.3 % w / v となるようにエタノールにて希釈した。

[HPLC 構成装置]

ポンプ : LC-10ADvp × 2 (SHIMADZU)

デガッサー : DGU-14A (SHIMADZU)

システムコントローラー : CBM-20A (SHIMADZU)

オートサンプラー : SIL-20AC (SHIMADZU)

カラムオーブン : CTO-20AC (SHIMADZU)

フォトダイオードアレー検出器 : SPD-M20A (SHIMADZU)

波形解析ソフトウェア : LGSolution (SHIMADZU)

[HPLC条件]

カラム：Alltima C18 4.6mm I.D. x 150mm 粒子径 $5\mu\text{m}$

流速：1.8mL/min

溶出溶媒A：水/リン酸、1000/0.2, (v/v) + EDTA(free) 0.02%(w/v)

溶出溶媒B：アセトニトリル

注入量：10 μL

カラム温度：40°C

検出波長：270nm（フムリン酸類、イソ α 酸、 α 酸、 β 酸）

210nm（脂肪酸類）

グラジエントプログラム（i）：0-20分：52%Bイソクラティック

20-30分：52-70%Bリニアグラジエント

30-60分：70%Bイソクラティック

60分：ストップ

[0065] なお、イソフムロン、イソアドフムロン、イソコフムロンを主成分とし、 α 酸類、 β 酸類含量が無視できる異性化ホップエキスをを使用してアルカリ加熱分解を行った場合は、以下のグラジエントプログラム（ii）における測定も可能である。

グラジエントプログラム（ii）：0-20分：52%Bイソクラティック

20分：ストップ

[0066] 上記分析条件にて、検出波長270nmで検出される β 酸を除く全ピークの合計面積値（ $\text{mAU} \cdot \text{min}$ ）中のイソフムロン化合物およびフムロン化合物のピークの面積値の比率（%）を算出した。尚、 β 酸を除く全ピークとは、グラジエントプログラム（i）を用いた場合、アドフムロン溶出後までの領域、グラジエントプログラム（ii）を用いた場合、シスイソアドフムロン溶出後までの領域中に検出されるピークと定義し、以下全ピークと記載したものはこの定義に従うものとする。波形解析にあたって、溶媒ピークやインジェクションショックによる負ピークが生じる領域は解析除外領域とした。

[0067] 上記実施例 1 で調製した分解産物分析時の HPLC クロマトグラム（グラジエントプログラム(ii)）を図 1（1）および（2）に示す。また、2 M 水酸化ナトリウム水溶液の代わりに蒸留水を使用し、加温を行わなかった際の分析時クロマトグラムを図 1（3）および（4）に示す。このとき検出されたイソフムロン化合物はトランスイソコフムロン、シスイソコフムロン、トランスイソフムロン、シスイソフムロン、トランスイソアドフムロン、シスイソアドフムロンであり、それぞれ図 1（3）のピーク 1～6 に該当した。

[0068] 実施例 2 で調製した分解産物分析時の HPLC クロマトグラム（グラジエントプログラム(ii)）を図 2（1）および（2）に示す。また、0.5 M 炭酸カリウム水溶液の代わりに蒸留水を使用し、加温を行わなかった際の分析時クロマトグラムを図 2（3）および（4）に示す。

[0069] 各分析サンプルにおける検出波長 270 nm で検出される全ピークの合計面積値（mA U・min）中のイソフムロン化合物のピークの面積値の比率（%）は表 1 の通りであった。

[表1]

反応溶液	加熱温度	ピーク面積比(%)
		(イソフムロン化合物ピーク/全ピーク)
2M 水酸化ナトリウム	95℃	0.3
0.5M 炭酸カリウム	80℃	14.9
蒸留水	室温	95.4

[0070] 上記結果から明らかなように、アルカリ加熱分解処理された異性化ホップエキスではイソフムロン化合物のピークがかなり低下あるいは消失していた。

[0071] また、アルカリ加熱分解産物にはイソフムロン化合物よりも疎水性の低い化合物のピークが新たに出現していた。すなわちトランスイソコフムロン溶出時間よりも早い時間に溶出されるピークで図 1 および図 2 において矢印 A で分画される範囲のピークがこれに該当する。検出波長 270 nm で検出される全ピークの合計面積値（mA U・min）中のイソフムロン化合物より

疎水性の低い化合物ピークの面積値の比率（％）は表２の通りであった。

[表2]

反応溶液	加熱温度	ピーク面積比(%)
		(イソフムロンより疎水性の低い化合物ピーク/全ピーク)
2M 水酸化ナトリウム	95℃	99.7
0.5M 炭酸カリウム	80℃	81.7
蒸留水	室温	4.6

[0072] 強アルカリ加熱分解処理後のイソフムロン化合物より疎水性の低い化合物溶出時間のHPLCクロマトグラム拡大図を図3に示す。イソフムロン化合物はアルカリ加熱処理によりC4位側鎖アシル基が加水分解され、フムリン酸と脂肪酸（4-メチルー2-ペンテン酸（4-methyl-2-pentenoic acid）および4-メチルー3-ペンテン酸（4-methyl-3-pentenoic acid）など）を生成することが知られ、210nmで検出されたピークa、bは分解により生じた脂肪酸類であると想定された。ピークbは市販標品として入手可能な4-メチルー2-ペンテン酸と保持時間、分子量が一致したため4-メチルー2-ペンテン酸と同定された。また、LC-MS分析の結果、ピークaはピークbと分子量が同一であり、分取後NMR測定を行った結果から4-メチルー3-ペンテン酸と同定された。270nmで観測されたピーク1'、2'、3'は各種機器分析の結果、順にコフムリン酸、フムリン酸、アドフムリン酸（それぞれシス体とトランス体の混合物）と同定された。

[0073] 弱アルカリ加熱分解処理後のイソフムロン化合物より疎水性の低い化合物溶出時間のHPLCクロマトグラム拡大図を図4に示す。強アルカリ加熱分解産物と同様に270nmでピーク1'、2'、3'が検出された他、機器分析結果からフムリン酸誘導体であるアセチルフムリン酸同族体混合物と同定されたピーク4'、5'が検出された。

[0074] 上記分析方法にてホップエキスまたはそのアルカリ分解産物に含まれる α 酸、イソ α 酸、フムリン酸類、脂肪酸類の定量分析が可能である。定量分析

用の標準品としては、 α 酸、イソ α 酸は、例えば American Society of Brewing Chemists (ASBC) から入手可能な Internal Calibration Standards の ICE-2、ICS-I2、ICS-T2 などが利用できる。また、フムリン酸類はトランスフムリン酸を標準品として定量可能である。トランスフムリン酸は公知の手法で単離したものが利用できる。また、4-メチル-2-ペンテン酸は市販標品または公知の手法で単離したもの、4-メチル-3-ペンテン酸はアルカリ分解産物から HPLC により分取精製するか、その他公知の手法で単離したものを標準品とすることで定量可能である。

[0075] 実施例 4：脂肪酸の除去（１）（錯体形成法）

実施例 1 および 2 で調製されたアルカリ加熱分解産物は分解反応に起因する脂肪酸を含んでおり、摂取する態様によっては、この脂肪酸に起因する不快臭のため快適な摂取が困難であると考えられた。そこで、脂肪酸の除去を検討した。

[0076] 実施例 1 で得られた分解産物 2.2 L に硫酸を添加し、溶液 pH が 9 程度になるまで調整した後、2 M 塩化マグネシウム溶液 1.6 L を添加し、マグネシウムとの錯体である白濁液を得た。

[0077] 次に、ろ過により白色のろ過残渣を得、その残渣を 1 M 塩化マグネシウム、0.5 M 炭酸水素ナトリウム溶液にて洗浄し、錯体を解離することを目的として 2 M 硫酸にて洗浄することで 270 g の黄色固形物を得た。

[0078] 黄色固形物をエタノールに溶解させ、実施例 3 と同様の手法で測定波長 210 nm にて脂肪酸を、測定波長 270 nm にてフムリン酸類を定量分析し、脂肪酸除去率を分解産物中のフムリン酸重量に対する脂肪酸重量の割合（％）の変化として示した（表 3）。また、分析時のクロマトグラムを図 5 に示した。

[表3]

	分解産物中に含まれるフムリン酸類重量に対する 脂肪酸類重量(%)
脂肪酸除去前	31.7
脂肪酸除去後	0.00

[0079] 脂肪酸ピークが消失しており、良好な脂肪酸除去が可能であることが明らかとなった。

[0080] 実施例5：脂肪酸の除去（2）（錯体形成法）

実施例2で得られた生成物より、錯体形成法による脂肪酸除去を検討した。実施例4に記載された方法に従って行った。

[0081] 得られた黄色固形物をエタノールに溶解させ、実施例3と同様の手法で測定波長210nmにて脂肪酸を、測定波長270nmにてフムリン酸類を定量分析し、脂肪酸除去率を分解産物中のフムリン酸重量に対する脂肪酸重量の割合(%)の変化として示した(表4)。また、分析時のクロマトグラムを図6に示した。

[表4]

	分解産物中に含まれるフムリン酸類重量に対する 脂肪酸類重量(%)
脂肪酸除去前	12.3
脂肪酸除去後	0

[0082] 脂肪酸ピークが消失しており、良好な脂肪酸除去が可能であることが明らかとなった。

[0083] 実施例6：脂肪酸の除去（1）（遠心分離法）

実施例1で得られた生成物より、遠心分離による脂肪酸除去を検討した。

[0084] 生成物への硫酸添加により、溶液pHを2程度に調整し、遠心分離（5000rpm、10分）することで黄褐色の固形物を得た。さらに、0.5Mの炭酸水素ナトリウム溶液にて固形物の洗浄を実施した後エタノールに溶解

させ、実施例 3 に記載の方法により樹脂中のフムリン酸および脂肪酸を分析した。

[0085] 遠心分離による脂肪酸除去率を分解産物中のフムリン酸重量に対する脂肪酸重量の割合（％）の変化として示した（表 5）。

[表5]

	分解産物中に含まれるフムリン酸類重量に対する 脂肪酸類重量(%)
脂肪酸除去前	36. 8
脂肪酸除去後	12. 3

[0086] 遠心分離により、良好な脂肪酸除去が可能であることが明らかとなった。

[0087] 実施例 7：脂肪酸の除去（2）（遠心分離法）

実施例 2 で得られた生成物より、遠心分離による脂肪酸除去を検討した。

[0088] 実施例 6 に記載された方法に従って行い、黄褐色の固形物を得た。得られた固形物をエタノールに溶解後、実施例 3 に記載の方法により、フムリン酸類および脂肪酸の分析を行った。

[0089] 遠心分離による脂肪酸除去率を分解産物中のフムリン酸重量に対する脂肪酸重量の割合（％）の変化として示した（表 6）。

[表6]

	分解産物中に含まれるフムリン酸類重量に対する 脂肪酸類重量(%)
脂肪酸除去前	12. 3
脂肪酸除去後	5. 16

[0090] 遠心分離により、良好な脂肪酸除去が可能であることが明らかとなった。

[0091] 実施例 8：脂肪酸の除去（微生物による脂肪酸資化性の評価）

実施例 1 で得られた生成物中の脂肪酸類について、微生物による資化性を検討した。

[0092] 評価には Aspergillus oryzae（アスペルギルス・オリザエ）RIB40（NBRC10

0959)、Aspergillus kawachii (アスペルギルス・カワチ) NBRC4308、Trichoderma reesei (トリコデルマ・リーセイ) NBRC31239、Penicillium camemberti (ペニシリウム・カメンベルチ) PC12を用いた。各菌株を前培養後、菌体1mLを100mLの本培養培地に添加した。Penicillium camemberti PC12は20℃、それ以外は30℃で好気条件にて4日間培養した。

[表7]

培地組成	
前培養培地	%
グルコース	0.5
K ₂ HPO ₄	0.1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.02
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.001
CaCl ₂	0.001
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1
酵母エキス	0.5
本培養培地	%
実施例1の分解物	0.1
K ₂ HPO ₄	0.1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.02
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.001
CaCl ₂	0.001
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1
酵母エキス	0.5

[0093] 培養開始0、24、48、72、96時間後に培養液を500μLサンプリングし、室温にて6000rpmで遠心した。得られた上清100μLにエタノール80μL、2M 水性HCl 20μLを加え、よく攪拌しHPLC用のサンプル溶液とした。HPLCでの定量分析法は先述の通りである。

[0094] HPLC分析の結果得られた培養液中のフムリン酸重量に対する脂肪酸重量の割合(%)を脂肪酸資化性の指標とした。

[0095] 各菌株の経時的な脂肪酸資化性の指標の変化を図7に示す。

[0096] 用いた菌株のうち、*Aspergillus oryzae* RIB40 (NBRC100959)、*Aspergillus kawachii* NBRC4308、*Trichoderma reesei* NBRC31239において脂肪酸の資化が確認された。*Aspergillus kawachii* NBRC4308は特に資化が顕著であり、72時間後のサンプルは官能的にも脂肪酸の不快感はほぼ消失していることが確認できた。

[0097] 上記実施例4～8いずれも脂肪酸の除去が可能であるが、特に実施例4および5（錯体形成法）では作業工程中の脂肪酸に起因する不快感が著しく低減され、操作も簡便で非常に効率的なものである。

[0098] 実施例9：アルカリ分解産物のカリウム塩化

実施例7で得られた黄色固形物を80℃に加温しながら、3M炭酸カリウム水溶液を加えpHを8に調整し、アルカリ分解産物のカリウム塩水溶液を得た。得られたカリウム塩水溶液を希釈し実施例3の方法に従いHPLC分析を行い、アルカリ分解産物が固形分量で20%（w/w）となるよう調製した。

[0099] 実施例10：臭気官能評価

[臭気官能評価の評価方法]

実施例4～7で得た生成物、および実施例1で得た生成物（コントロール）の脂肪酸に起因する不快感について、以下の方法で7人の社内パネラーを用いて官能評価を行った。実施例1、4～7の分解物をクエン酸バッファー溶液（pH3.5程度）にフムリン酸類が500ppm含まれるよう添加調製した溶液にて評価を実施した。

[0100] 官能評価は、数秒にわたり溶液の臭気を確認し、評価基準に従い評価した。結果は7名の評価点の平均値として求め、以下の基準に従って記号化した。

[0101] ◎：非常によい（平均値が0～1未満）

○：良好（平均値が1以上～2未満）

△：やや悪い（平均値が2以上～3未満）

×：非常に悪い（平均値が3以上～4）

[評価基準]

[表8]

評価項目	評価基準	評価点
臭気	不快臭を感じない、快適な匂い	0点
	わずかに不快臭を感じる。	1点
	不快臭を感じる	2点
	強く不快臭を感じる。	3点
	非常に強く不快臭を強く感じる。	4点

[0102] [評価結果]

[表9]

	臭気スコア	評価結果
実施例1反応溶液(コントロール)	3.1	×
実施例4生成物	0.4	◎
実施例5生成物	0.3	◎
実施例6生成物	1.8	○
実施例7生成物	0.3	◎

[0103] その結果、実施例4～7の分解産物はコントロールに対して不快臭が低減しており、特に実施例4、5、7で得られた分解産物では、不快臭がほぼ完全に消失しており、飲用に適した香味であることが示唆された。

[0104] 実施例11：苦味官能評価

実施例4～7で得られた分解産物について、その苦味を官能評価にて比較した。

[0105] [苦味官能評価の評価方法]

実施例4～7の分解産物、イソフムロン化合物（Isoextract30%；Hopsteiner社）（コントロール）の苦味について、以下の方法で7人の社内パネラーを用いて官能評価を行った。実施例4～7の分解産物についてはイソフムロ

ン化合物 50 ppm からの分解産物生成相当量となるように、コントロールについてはイソフムロン 50 ppm となるように、それぞれ pH 中性付近の水溶液を作製した。

[0106] 官能評価はサンプル数 mL を口に含み、評価基準に従い評価した。結果は 7 名の評価点の平均値として求め、以下の基準に従って記号化した。

◎：非常によい（平均値が 0 ～ 1 未満）

○：良好（平均値が 1 以上～ 2 未満）

△：やや悪い（平均値が 2 以上～ 3 未満）

×：非常に悪い（平均値が 3 以上～ 4）

[0107] [評価基準]

[表10]

評価項目	評価基準	評価点
苦味	苦味を感じない。	0点
	わずかに苦味を感じる。	1点
	苦味を感じる	2点
	とても苦味を感じる。	3点
	非常に苦味を強く感じて飲むことができない。	4点

[0108] [評価結果]

[表11]

	苦味スコア	評価結果
コントロール	4	×
実施例4生成物	0	◎
実施例5生成物	0.3	◎
実施例6生成物	0	◎
実施例7生成物	0.2	◎

[0109] その結果、実施例 4 ～ 7 で得られた分解産物について苦味がほぼ消失して

おり、飲用に適した香味であることが示唆された。

[0110] 実施例 1 2：生理作用評価サンプルの調製

実施例 1 で調製された強アルカリ加熱分解産物の生理作用を評価するために、以下の方法により分解産物溶液から分解産物のみを抽出した。

[0111] 実施例 1 で調製された 1 L の分解産物溶液を冷却しながら、12 N 塩酸を添加し pH を 2 以下にした。次いでヘキサン 700 mL、500 mL、500 mL で計 3 回抽出し、得られた抽出液を合一し、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで残存水分を除去した。ヘキサンをロータリーエバポレーターにて除去後、固形分濃度が 50% (w/v) となるようエタノールに溶解させた。このように調製したサンプルを生理作用評価に用いた。また、サンプルを希釈して HPLC 分析に供し、イソフムロン化合物より疎水性の低い化合物及び脂肪酸が抽出されていることを確認した (図 8)。

[0112] 実施例 1 3：脂肪蓄積等への影響の評価 (1)

実施例 1 2 で得た分解産物 (水酸化ナトリウム濃度が 2 M の場合の強アルカリ加熱分解処理産物) について、マウスを用いて生理評価を実施した。1 群 6 匹の C57BL/6J (雄) (日本チャールスリバー社) を、AIN93G 飼料にて 1 週間馴化後、高脂肪食群、高脂肪食に実施例 1 2 で得た分解産物を固形分量 0.5% (W/W) 添加した群の計 2 群を設定した。投与開始時より毎週体重を測定し、32 日間まで投与を継続し、解剖時に内蔵脂肪重量 (精巣周囲脂肪、腸間膜脂肪、腎周囲脂肪重量の合計で表した)、皮下脂肪重量、臓器重量、各種血中パラメーター等を測定した。

[表12]

高脂肪食組成

	混合比率(%)
ミルクカゼイン	29.00
レーシステン	0.440
シュークロース	23.28
サフラワー油	33.50
セルロースパウダー	7.250
AIN93Gミネラル	5.080
AIN93Gミネラル(コリン入り)	1.450

[0113] その結果、高脂肪食群に対し、分解産物0.5%添加群において有意な体重増加の抑制作用が認められ（図9）、有意な内臓脂肪重量の低下や皮下脂肪重量の低下も認められた（図10、図11）。

[0114] また、解剖時に肝臓を取得し、重量を測定したところ、高脂肪食群に対し、有意な減少が認められた（図12）。そこで、肝臓総コレステロール、中性脂肪、リン脂質含量を測定した。解剖後、肝臓は即液体窒素下で凍結し、その後一部を破碎後取得し、重量で9倍量の生理食塩水下でテフロン（登録商標）ホモジナイザーを用いて氷冷下破碎した。その後、Timothy P. Carr et al., Clinical Biochemistry 26, 39-42, 1993に記載の方法に従って、脂質を抽出した。即ち、1mlの肝臓破碎液に5mlのクロロホルム・メタノール（2：1）を加えて激しく攪拌後、更に0.5mlの0.06N H_2SO_4 を加え、再度攪拌した後、遠心しクロロホルム相を抽出した。クロロホルム相の一部について、窒素ガス下で乾固後、リン脂質テストワコー（過マンガン酸塩灰化法）（和光純薬社製）を用いてリン脂質を測定した。また、別のクロロホルム相の一部に1%トライトン-X100を含むクロロホルムを混ぜた後に、窒素ガス下で乾固し、水に懸濁後、上記方法で総コレステロール、中性脂肪を測定した。その結果、分解産物投与により肝総脂質量、中性脂肪量が有意に減少した（図13、図14）。なお、肝中コレステロール、リン脂質は有意な差は認められなかった。

[0115] 実施例 1 4 : 脂肪蓄積等への影響の評価 (2)

実施例 4 で得られた生成物 (分解物から脂肪酸除去したサンプル) について、実施例 1 3 と同様の手法でマウスを用いて生理作用を確認した。本実施例では、高脂肪食群、高脂肪食に実施例 4 の生成物を固形分量で 0. 3 7 0 %、0. 1 2 3 %、0. 0 4 1 % となるよう添加した群、通常食群 (A I N 9 3 G) の 5 群を設定し投与期間を 3 2 日間とした。その結果、有意な体重増加抑制、内臓脂肪重量低下、肝重量低下が認められた (図 1 5 ~ 2 0)。

[0116] その結果、脂肪酸を除去した生成物であっても、生理作用が維持されていることが明らかとなった。

[0117] 実施例 1 5 : 脂肪蓄積等への影響の評価 (3)

実施例 9 で得られた生成物 (分解物から脂肪酸を除去しカリウム塩化したサンプル) について、実施例 1 3 と同様の手法でマウスを用いて生理作用を確認した。1 群 6 匹の C 5 7 B L / 6 J (雄) (日本チャールスリバー社) を、A I N 9 3 G 飼料にて 1 週間馴化後、高脂肪食群 (H F D 群)、高脂肪食に実施例 9 で得た弱アルカリ分解産物 (脂肪酸除去した分解物) を固形分量 0. 4 0 % (W / W) 添加した群 (弱アルカリ処理エキス群) の計 2 群を設定した。投与開始時より毎週体重を測定し、3 2 日間まで投与を継続し、解剖時に精巣周囲脂肪重量、皮下脂肪重量を測定した。

[0118] その結果、高脂肪食群に対し、弱アルカリ処理エキス群 1. 2 5 % 添加群において有意な体重増加の抑制作用が認められ (図 2 1)、有意な精巣周囲脂肪、皮下脂肪重量の低下も認められた (図 2 2、図 2 3)。

[0119] 実施例 1 6 : アルカリ濃度検討

実施例 1 で行った強アルカリ加熱分解に最適なアルカリ濃度を検討した。0 ~ 2 M の水酸化ナトリウム溶液にイソフムロン化合物を主成分とする異性化ホップエキス (Isoextract30%; Hopsteiner 社) をエキス乾燥重量で 3 w / v % となるよう添加し、1 0 分まで加熱時間を保持し、それぞれの回収液を H P L C にて測定し、ピーク全体の面積に対するイソフムロン化合物のピークの面積比を算出した。H P L C 分析は実施例 3 に示された手順に従って行

った。

[表13]

試料番号	水酸化ナトリウム濃度(M)	ピーク面積比(イソフムロン類ピーク/全ピーク)
A1	0.5	3.4
A2	1.0	0.9
A3	2.0	0.3
A4	0	95.4

[0120] その結果、水酸化ナトリウム濃度が0.5～2.0Mの範囲内である場合において、ピーク全体の面積に対するイソフムロン化合物のピーク面積比は70%以下であることが確認された。

[0121] 次に、アルカリ加熱処理により得られたそれぞれの試料（試料A1～A4）の官能評価を実施した。評価は実施例11に記載された手順に従って行った。

[表14]

試料番号	苦味スコア	評価結果
A1	0.43	◎
A2	0.29	◎
A3	0	◎
A4	4	×

[0122] その結果、水酸化ナトリウム濃度が0.5～2.0Mの範囲内である場合（試料A1～A3）において大幅な苦味の低減が認められた。

[0123] 実施例17：エキス添加量加熱温度－時間

2M 水酸化ナトリウム水溶液を室温～90℃に加熱し、イソフムロン化合物を主成分とする異性化ホップエキス（Isoextract30%；Hopsteiner社）をエキス乾燥重量で3w／v%となるよう添加し、添加後、数秒～24時間まで加熱時間を保持し、経時的に反応溶液を採取し、それぞれの上清を実施例3の方法に従ってHPLCにて測定し、ピーク全体の面積に対するイソフムロン化合物のピーク面積比を算出した。また、実施例11に記載された方法

に従って官能評価を実施した。結果は以下の通りであった。

[表15]

試料番号	加熱温度 (°C)	加熱時間 (分)	ピーク面積比 (イソフムロン化合物ピーク/全ピーク)	苦味スコア	苦味評価 結果
1	50	0	79.1	3.9	×
2		5	78.2	3.9	×
3		10	73.8	3.7	×
4		30	55.9	2.7	△
5		60	25.8	1.6	○
6		180	4.50	0.7	◎
7		360	1.00	0.3	◎
8		1440	0.10	0.3	◎
9	70	0	90.1	4.0	×
10		5	55.0	3.1	△
11		10	42.8	3.3	△
12		30	8.20	1.0	◎
13		60	1.90	0.1	◎
14		180	0.80	0.1	◎
15		360	0.10	0.0	◎
16		1440	0.10	0.0	◎
17	90	0	81.1	4.0	×
18		5	15.6	1.4	○
19		10	6.80	1.7	◎
20		30	1.20	0.6	◎
21		60	0.50	0.3	◎
23		180	0.10	0.6	◎
24		360	0.00	0.1	◎
25		1440	0.00	0.0	◎
26	室温	0	86.3	3.9	×
27		5	31.7	2.1	△
28		10	21.3	1.9	○
29		30	17.0	1.7	○
30		60	13.1	1.7	○
31		180	6.30	1.3	◎
32		360	2.90	0.9	◎
33		1440	0.40	0.4	◎

[0124] その結果、試料27では、5分後にピーク面積比は70%以下に到達し苦味は低減されていたものの、樹脂が水層に溶解せず、その収率は著しく悪い

ものであった。試料 18 では、加熱温度、加熱時間に比例し、加熱温度が上昇するとピーク面積比が 70 %以下に到達する時間は短縮され、効率よく苦味の低減が図れることが明らかとなった。

[0125] 実施例 18：異性化されていないホップエキスからの強アルカリ加熱分解産物の調製

80℃に加熱した 2 M 水酸化ナトリウム水溶液中にフムロン、アドフムロン、コフムロンを主成分とするホップ CO₂ 抽出物 (CO₂ hop extract ; hopsteiner 社) をエキス乾燥重量で 5 %w/v となるよう添加し、0 から 60 分まで加熱時間を保持し、反応溶液を経時的に採取した。加熱中の水溶液中の pH は 13 以上であった。得られた分解産物溶液について実施例 3 の前処理を実施した後、実施例 3 の HPLC 分析 (グラジエントプログラム (i)) に供し、ピーク全体の面積に対するフムロン化合物およびイソフムロン化合物のピーク面積比を算出した。さらに、各サンプルについて実施例 11 の評価法により苦味評価を行なった。結果は以下の通りであった。

[表16]

加熱時間 (分)	ピーク面積比 (フムロン化合物およびイソフムロン化合物ピーク/全ピーク)	苦味評価結果
0	78.3	×
5	25.8	△
10	8.1	○
30	1.8	◎
60	1.9	◎

[0126] 実施例 19：異性化されていないホップエキスからの弱アルカリ加熱分解産物の調製

80℃に加熱した 0.5 M 炭酸カリウム水溶液中にホップ CO₂ 抽出物 (CO₂ hop extract ; hopsteiner 社) をエキス乾燥重量で 5 %w/v となるよう添加し、0 から 48 時間後まで加熱時間を保持し、反応溶液を経時的に採取した。加熱中の水溶液中の pH は 10 ~ 12 であった。得られた分解産物溶液について実施例 3 の前処理を実施した後、HPLC 分析 (グラジエントプロ

グム(i)) に供し、ピーク全体の面積に対するフムロン化合物およびイソフムロン化合物のピーク面積比を算出した。さらに、各サンプルについて実施例 11 の評価法により苦味評価を行なった。結果は以下の通りであった。

[表17]

加熱時間 (分)	ピーク面積比 (フムロン化合物およびイソフムロン化合物ピーク/全ピーク)	苦味評価結果
0	83.0	×
180	61.0	×
1440	37.9	△
2880	14.5	○

[0127] 実施例 20：アルカリ分解産物を含む飲料の製造

実施例 4 で得た黄色固形物（脂肪酸除去）を実施例 9 の方法によりカリウム塩化し、各飲料 350 ml 当たり固形分重量で 50 mg の濃度で市販コーヒードリンクおよび市販紅茶飲料（ストレート）に添加し、アルカリ分解産物を含む飲料を製造した。添加直後に評価を行なうとともに、50℃で1週間置いた後再度評価を行い、アルカリ分解産物の残存率を実施例 3 の HPLC 分析で評価し安定性を調査した。

その結果、得られた飲料では苦みが気にならず、50℃で1週間経過後であってもアルカリ分解産物の残存率が90%以上であり、安定であった。

請求の範囲

- [請求項1] ホップエキスのアルカリ分解産物を含んでなる食品添加剤。
- [請求項2] 分解産物が、分解産物のHPLC分析による総ピーク面積（ β 酸を除く）に対するイソ α 酸および α 酸の面積の割合が30%以下であるものである、請求項1に記載の食品添加剤。
- [請求項3] 分解産物がフムリン酸類を含んでなり、フムリン酸類の含有物質質量がイソ α 酸および α 酸の含有物質質量の合計量以上である、請求項1または2に記載の食品添加剤。
- [請求項4] 分解産物に含まれる成分から脂肪酸が除去されたことを特徴とする、請求項1～3のいずれか一項に記載の食品添加剤。
- [請求項5] 分解産物がアルカリ金属塩の形態である、請求項1～4のいずれか一項に記載の食品添加剤。
- [請求項6] 分解産物が金属イオンと錯体形成する成分からなる、請求項1～5のいずれか一項に記載の食品添加剤。
- [請求項7] 分解産物の脂肪酸含有量がフムリン酸類含有量の30重量%以下である、請求項4～6のいずれか一項に記載の食品添加剤。
- [請求項8] 脂肪酸が、4-メチルー2-ペンテン酸、4-メチルー3-ペンテン酸、および4-メチルペンタン酸、並びにこれらの組み合わせから選択される、請求項4または7に記載の食品添加剤。
- [請求項9] フムリン酸類の成人1日摂取量が25～780mgとなるように分解産物が食品に添加される、請求項1～8のいずれか一項に記載の食品添加剤。
- [請求項10] 請求項1～9のいずれか一項に記載のホップエキスのアルカリ分解産物が添加されてなる、食品。
- [請求項11] ホップエキスをアルカリ処理し、次いで、該処理により生成した脂肪酸を除去することを特徴とする、請求項1～9のいずれか一項に記載のホップエキスのアルカリ分解産物の製造方法。
- [請求項12] ホップエキスのアルカリ分解産物に金属イオンを添加し、該金属イ

オンと錯体形成した成分を分取することを含んでなる、請求項 11 に記載の製造方法。

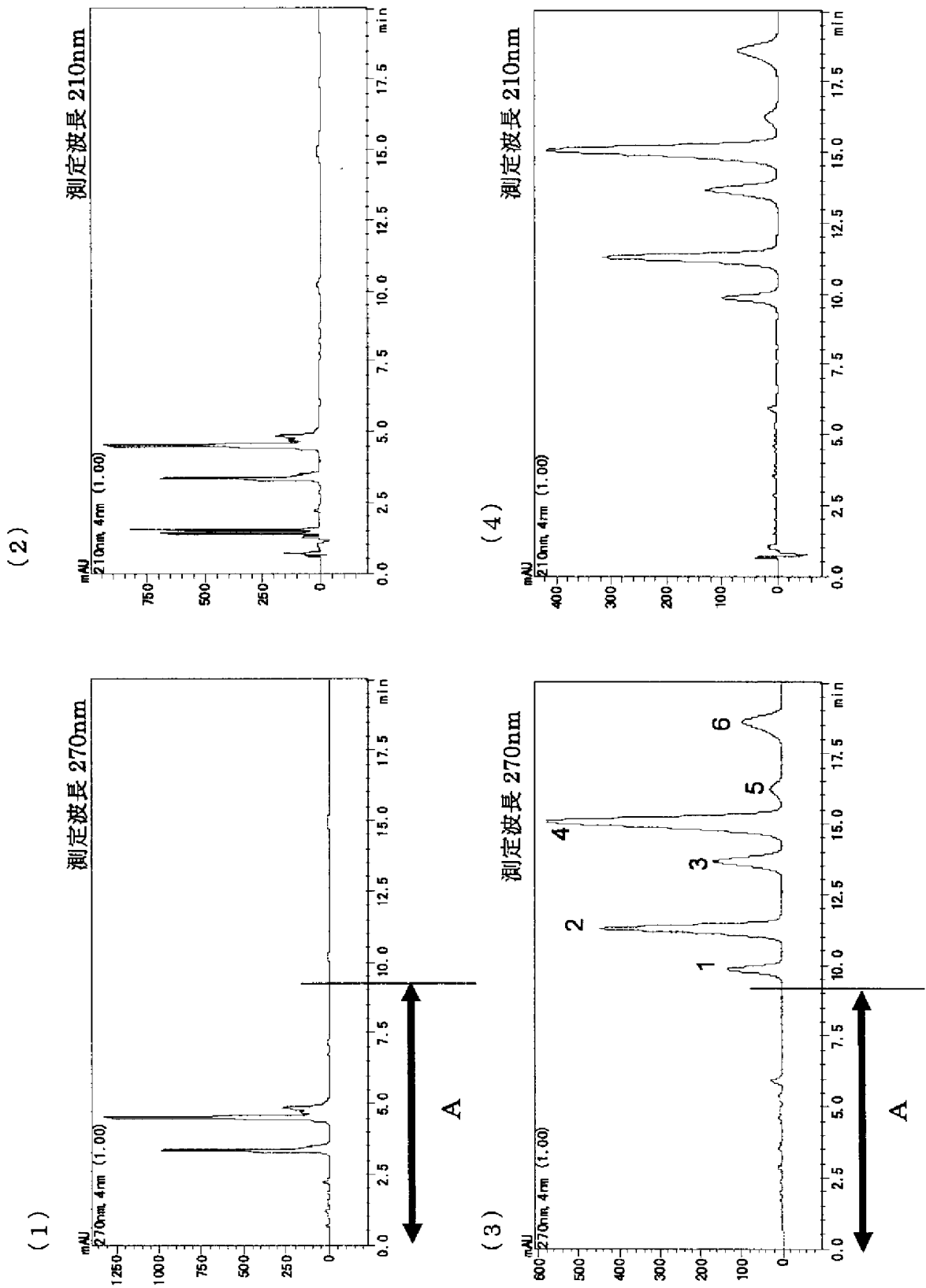
[請求項13] 請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載のホップエキスのアルカリ分解産物を有効成分とする、脂肪蓄積抑制剤または体重増加抑制剤。

[請求項14] フムリン酸類が成人 1 日当たり 25 ～ 780 mg の範囲で投与されることを特徴とする、請求項 13 に記載の脂肪蓄積抑制剤または体重増加抑制剤。

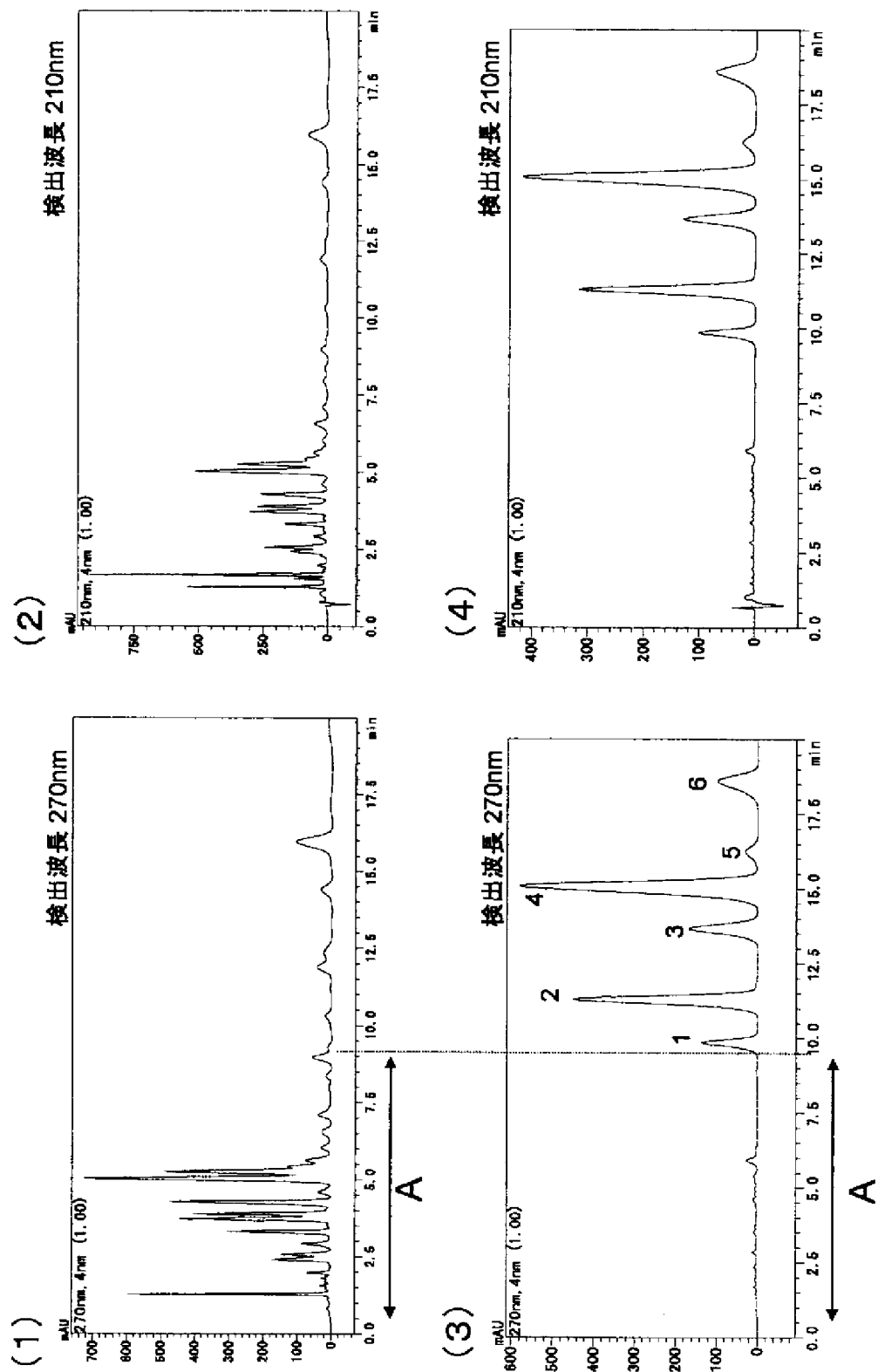
[請求項15] ホップエキスをアルカリ加熱処理し、次いで、該処理により生成した脂肪酸を除去することを特徴とする、請求項 13 または 14 に記載の脂肪蓄積抑制剤または体重増加抑制剤の製造方法。

[請求項16] ホップエキスのアルカリ分解産物に金属イオンを添加し、該金属イオンと錯体形成した成分を分取することを含んでなる、請求項 15 に記載の製造方法。

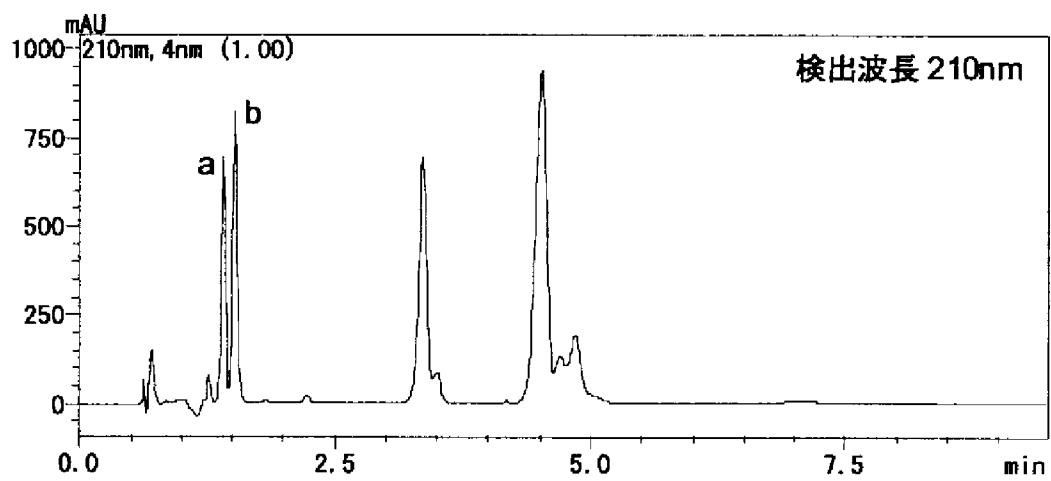
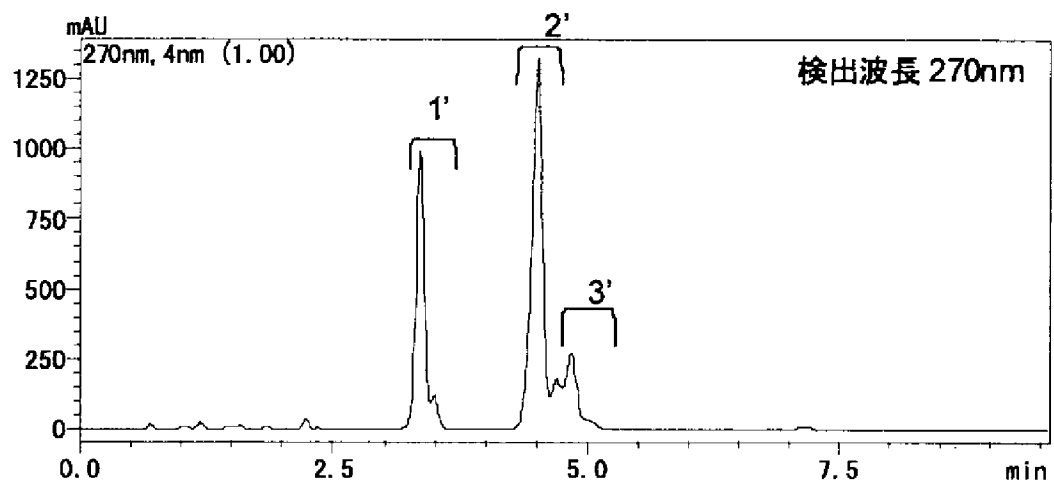
[図1]



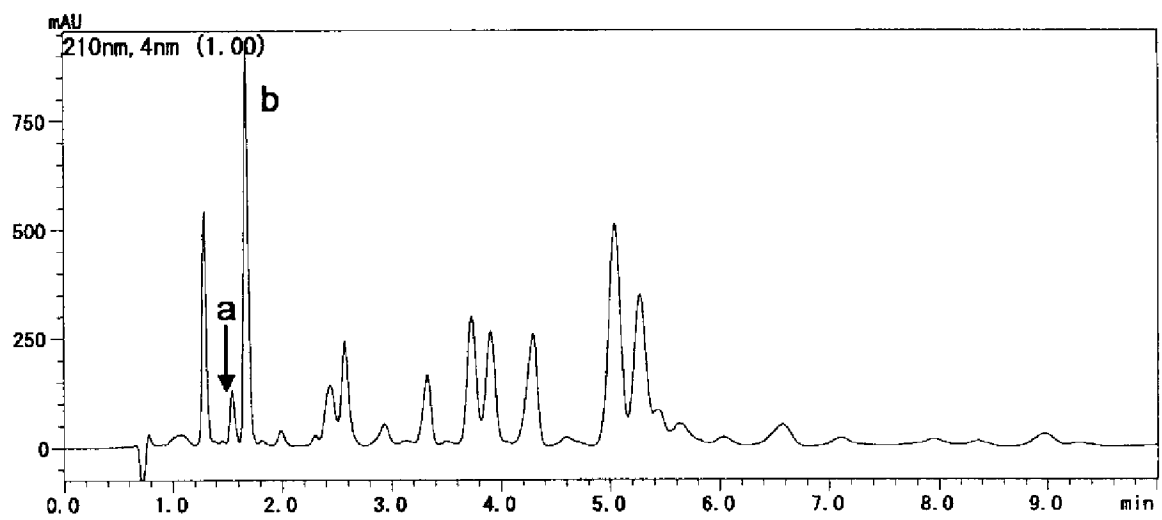
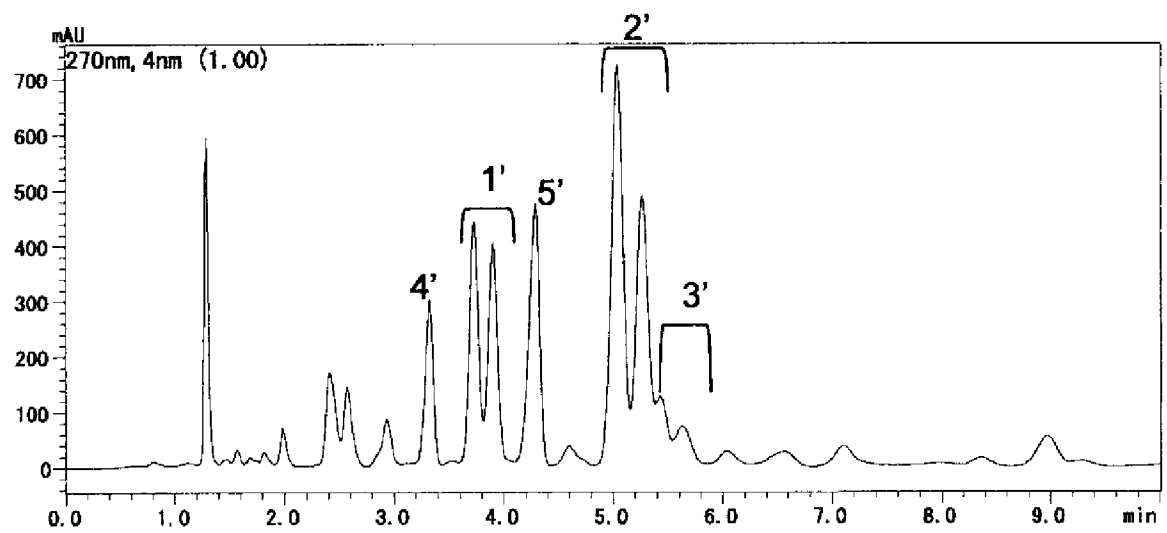
[図2]



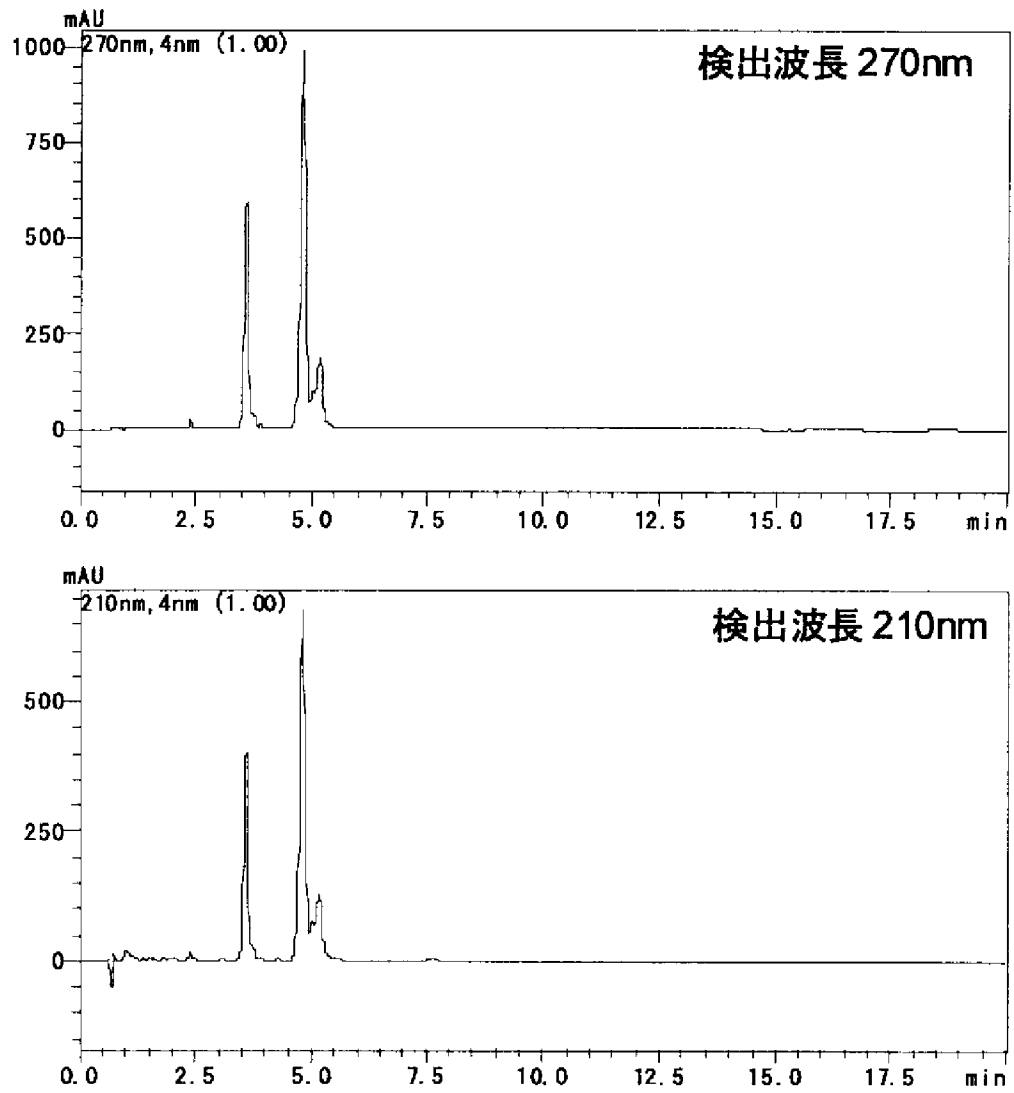
[図3]



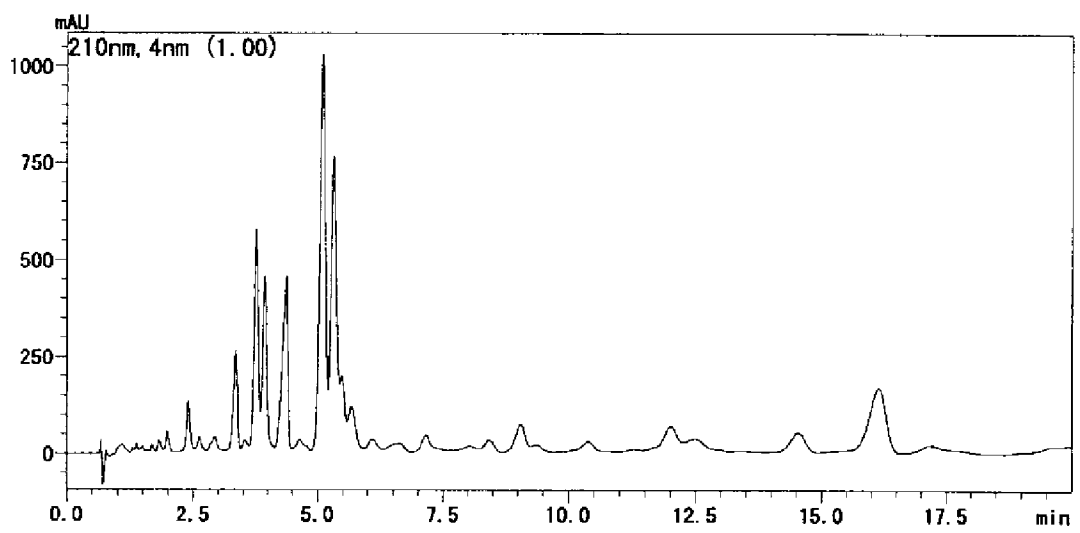
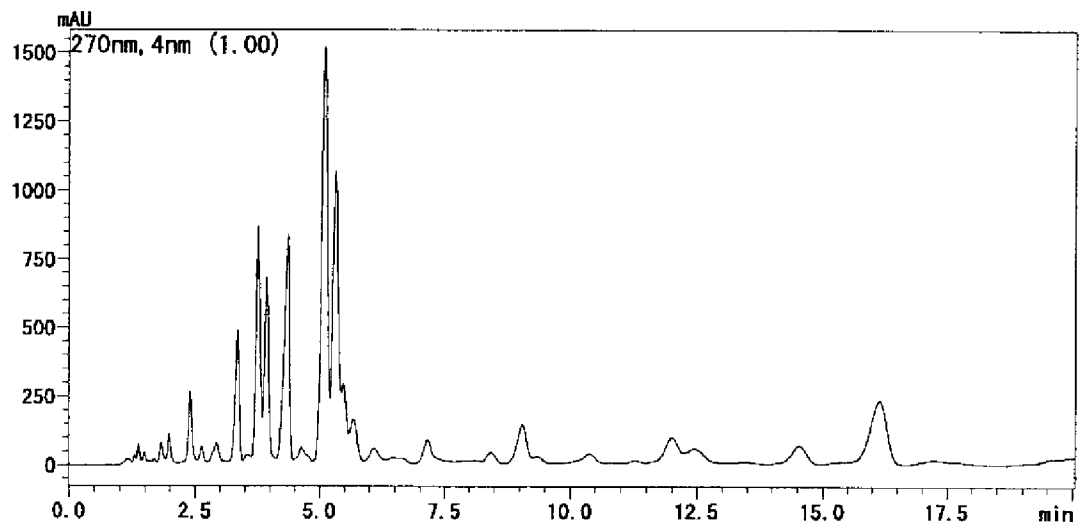
[図4]



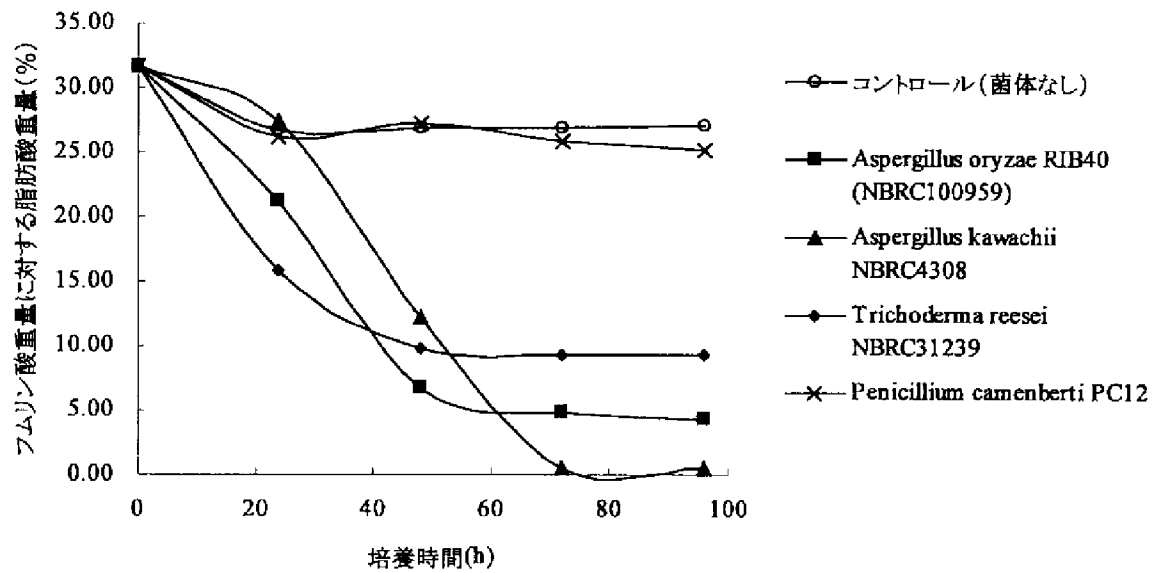
[図5]



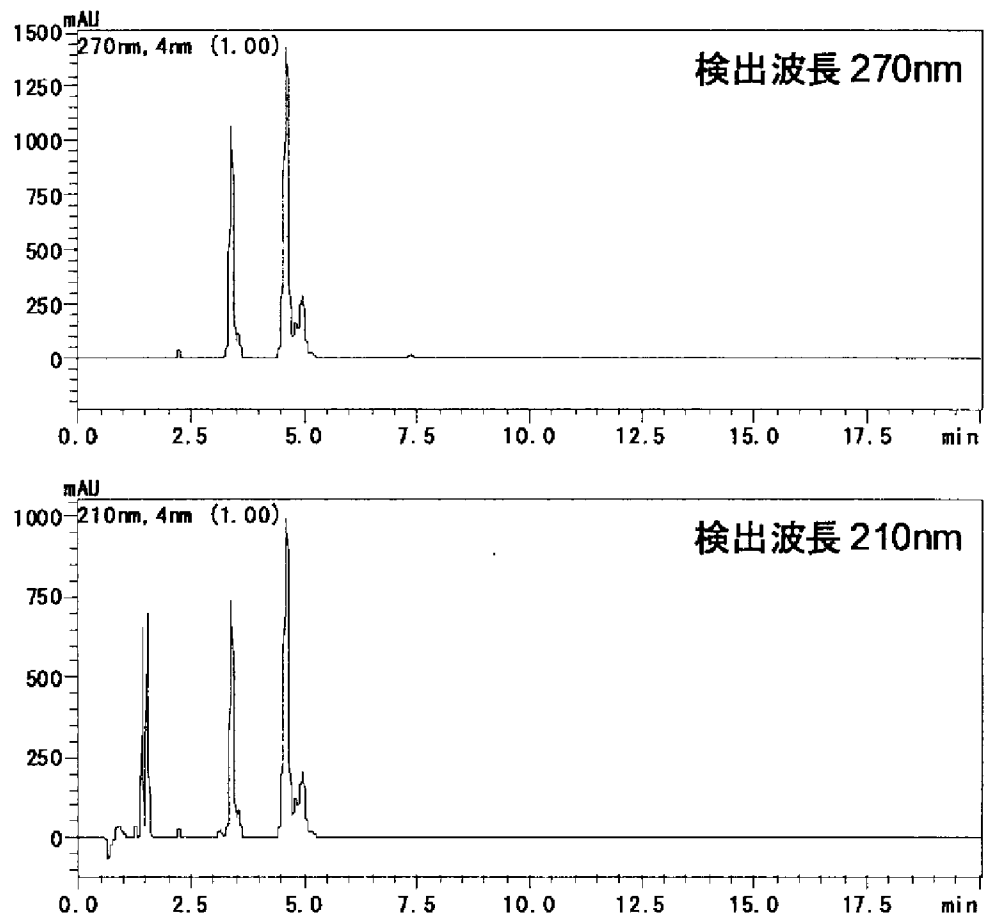
[図6]



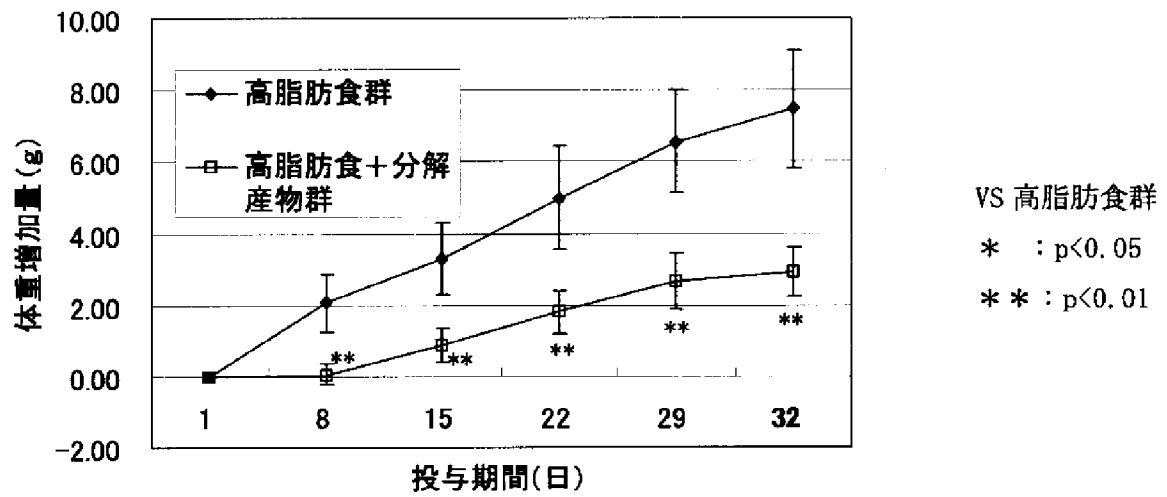
[図7]



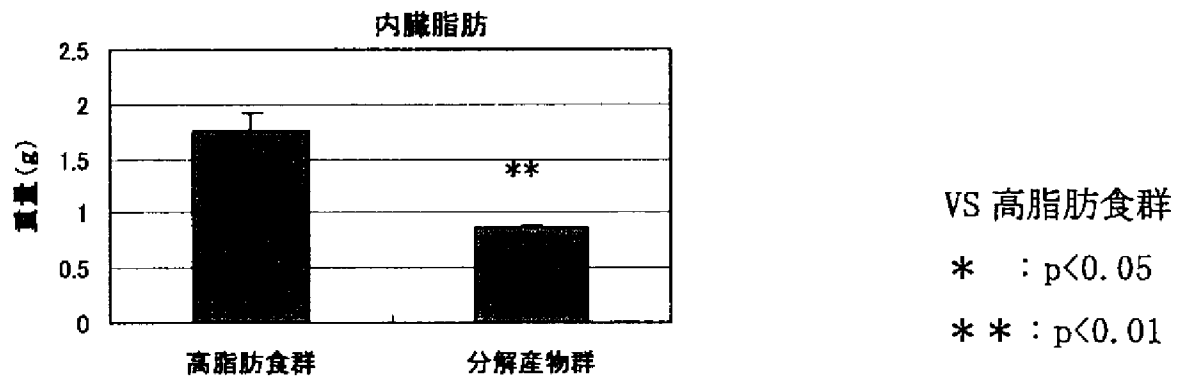
[図8]



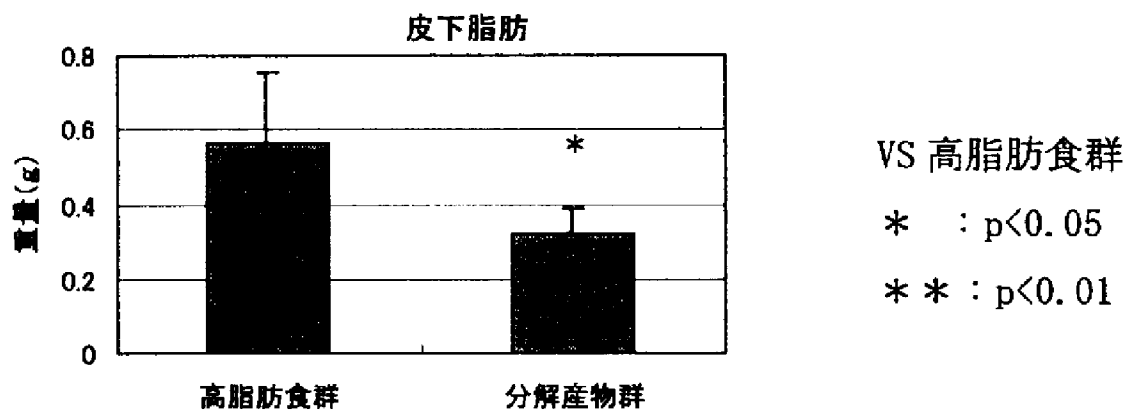
[図9]



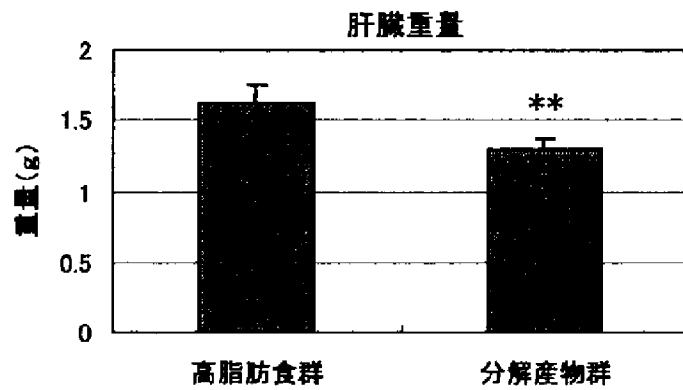
[図10]



[図11]



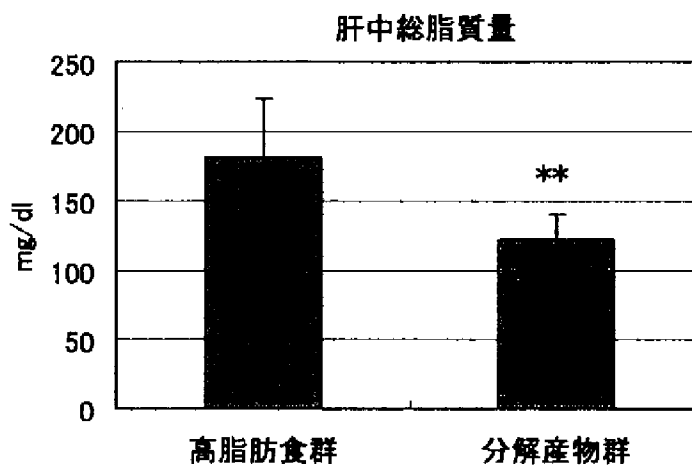
[図12]



VS 高脂肪食群

* : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

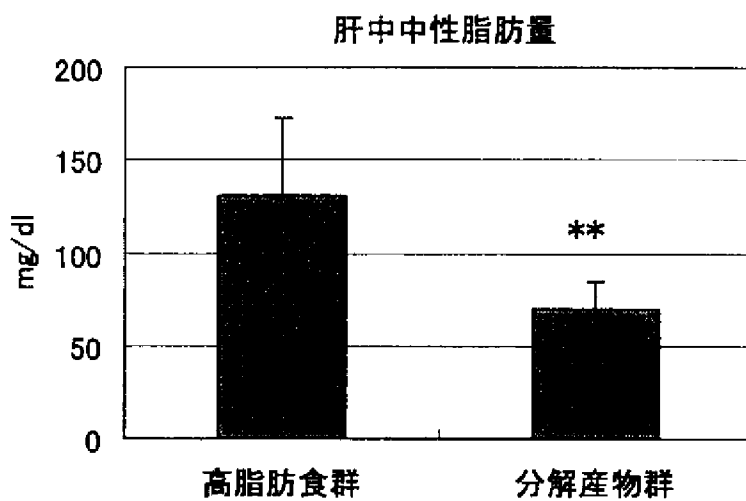
[図13]



VS 高脂肪食群

* : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

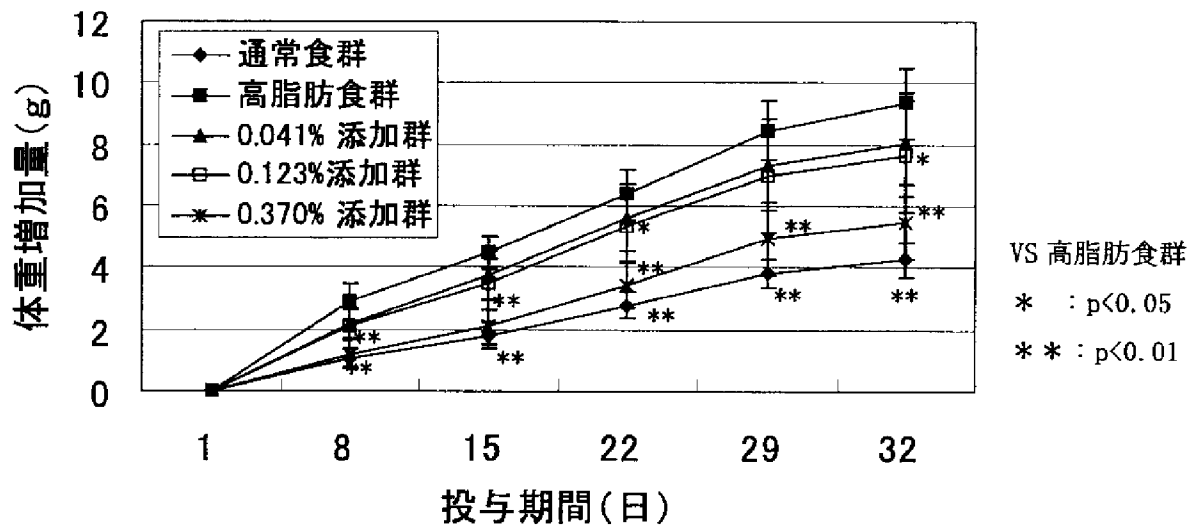
[図14]



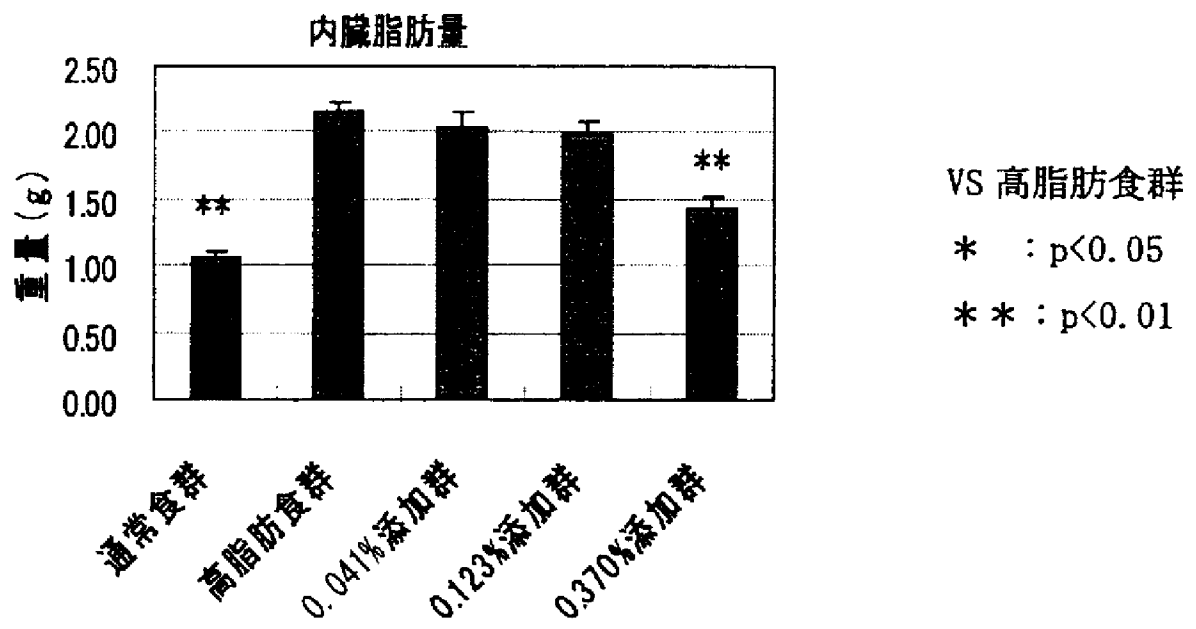
VS 高脂肪食群

* : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

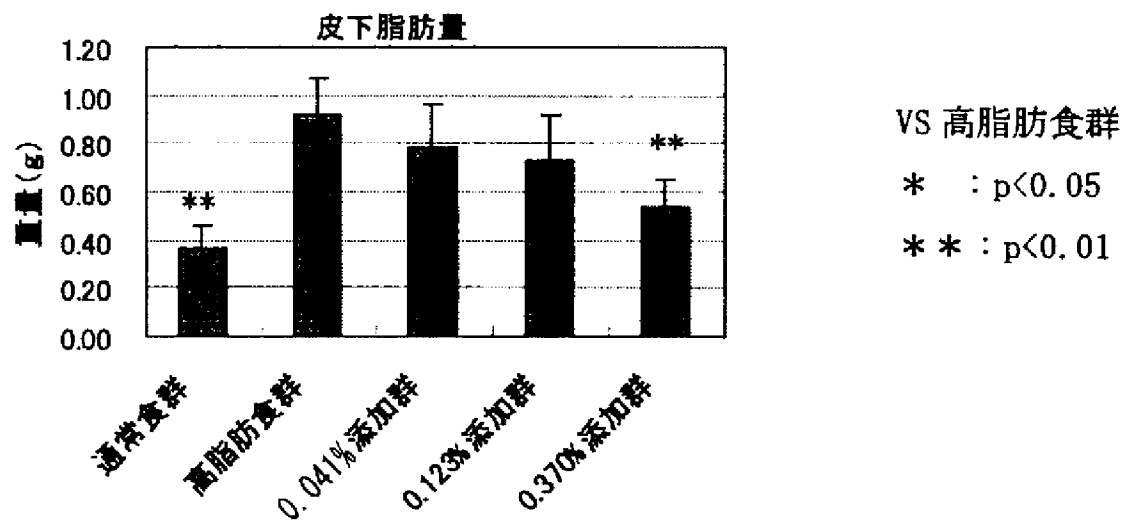
[図15]



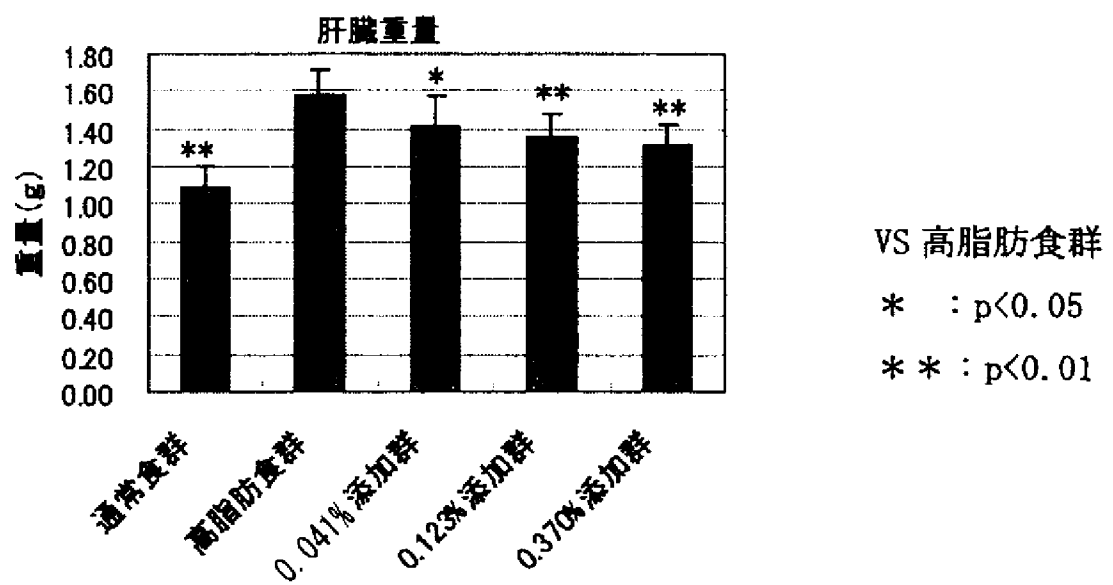
[図16]



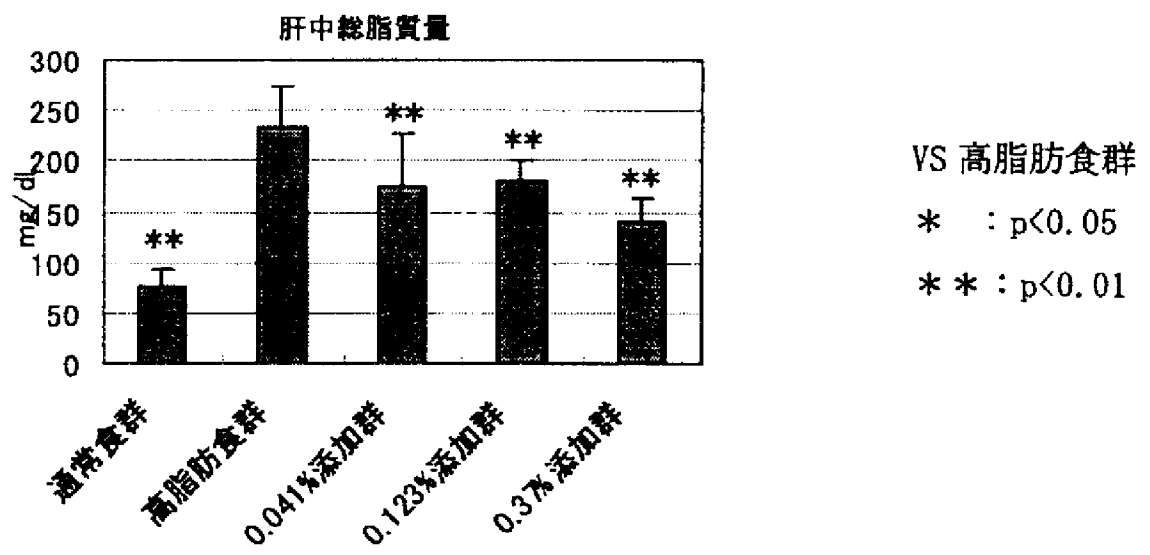
[図17]



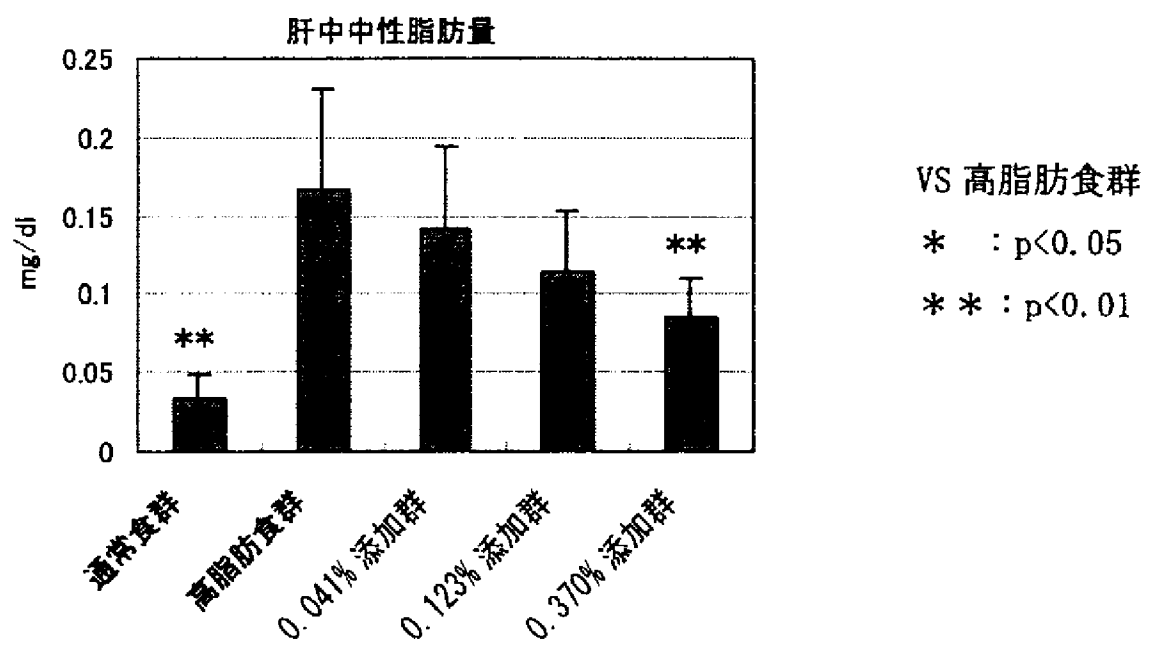
[図18]



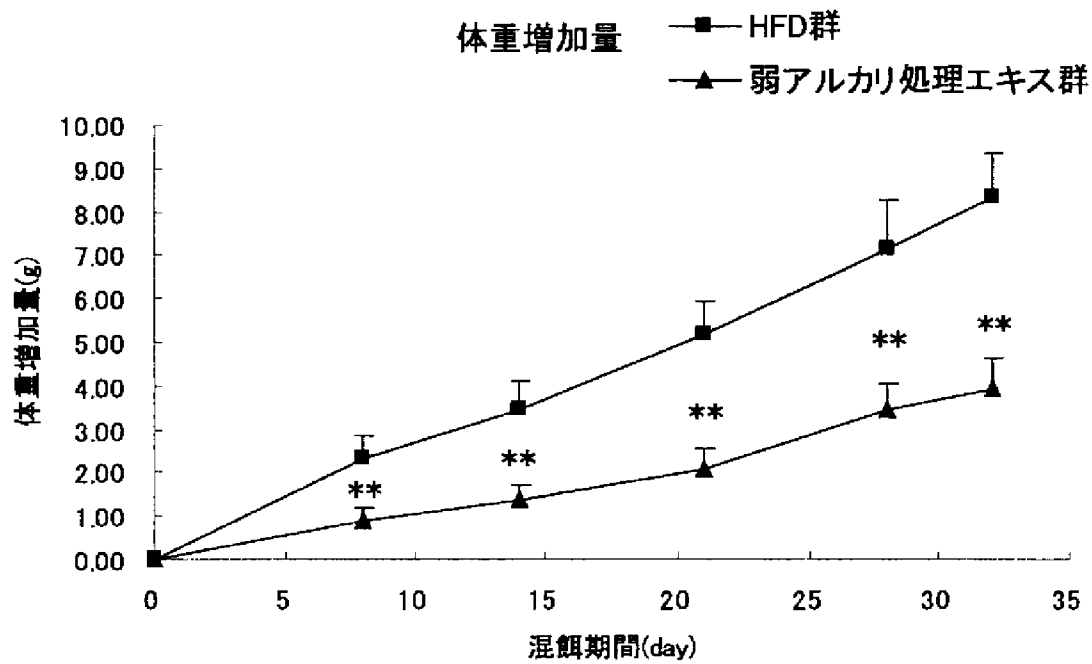
[図19]



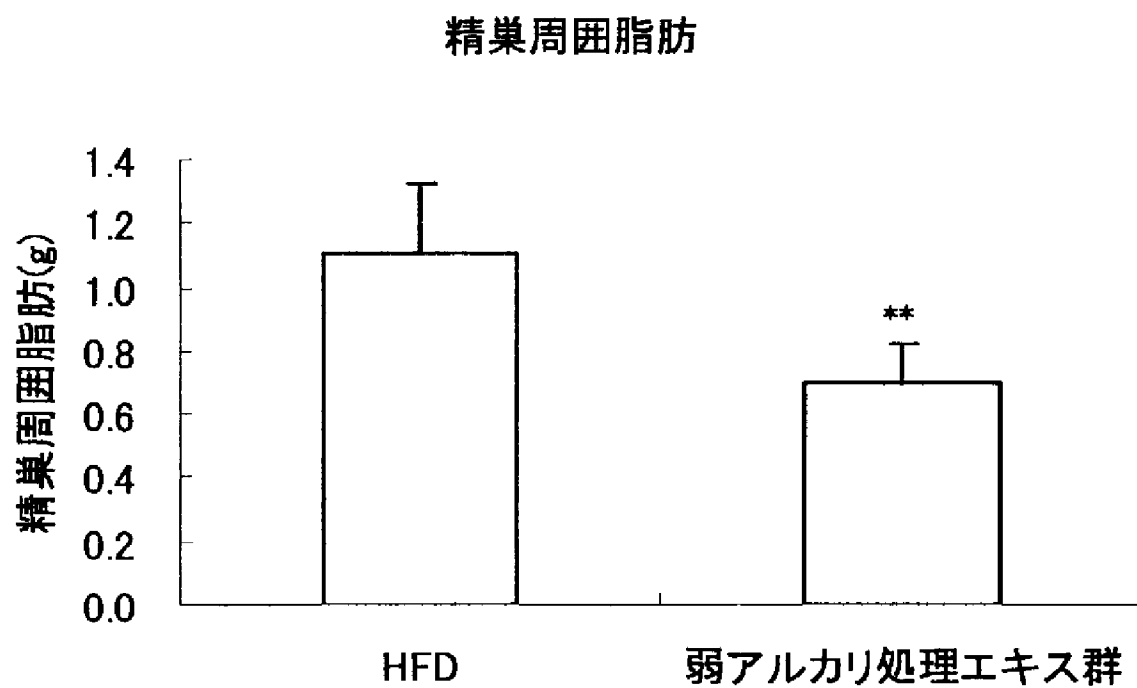
[図20]



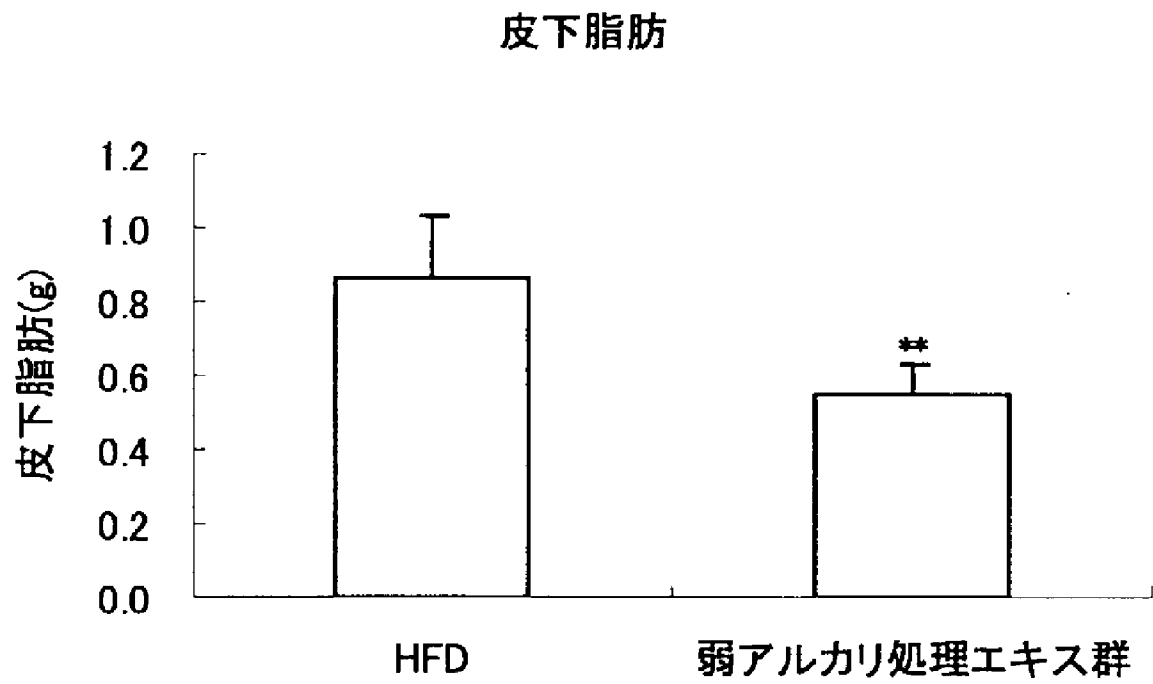
[図21]



[図22]



[図23]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/059970

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/60(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K31/122(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K36/60, A23L1/30, A61K31/122, A61K36/00, A61P3/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus (JDreamII), Shokuhin Kanren Bunken Joho (Shoku Net)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 63-196260 A (Electricite de France Service National), 15 August 1988 (15.08.1988), page 2, lower right column, lines 3 to 8 & US 4844912 A & EP 0277865 A2	1-16
A	US 4844939 A (Kalamazoo Holdings, Inc.), 04 July 1989 (04.07.1989), column 1, line 65 to column 2, line 7 & GB 8605992 A & DE 3609046 A1	1-16
A	SILVESTER D.J., Simultaneous determination of α , β and iso- α acids in hops and hop products., J.Inst.Brew., 1984, Vol.90, No.5, p.319-322	1-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 July, 2010 (15.07.10)

Date of mailing of the international search report
27 July, 2010 (27.07.10)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/059970

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Hiroaki YAJIMA et al., "Beer Nigami Seibun no Shibo Chikuseki Yokusei Sayo", The Japanese Society of Nutrition and Food Science Sokai Koen Yoshishu, 2003, vol.57th, page 242, 3D-07p	1-16

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/60(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K31/122(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i

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 (I P C))

Int.Cl. A61K36/60, A23L1/30, A61K31/122, A61K36/00, A61P3/04

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 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)

JSTPlus(JDreamII), 食品関連文献情報 (食ネット)

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
A	JP 63-196260 A (エレクトリシテ・ド・フランスーセルヴィス・ナショナル) 1988.08.15, 第2頁右下欄第3行~8行 & US 4844912 A & EP 0277865 A2	1 - 1 6
A	US 4844939 A (Kalamazoo Holdings, Inc.) 1989.07.04, 第1欄65行~第2欄7行 & GB 8605992 A & DE 3609046 A1	1 - 1 6

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ 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矛盾するものではなく、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

1 5 . 0 7 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

2 7 . 0 7 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富永 みどり

4 B

9 1 5 2

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8

C (続き) . 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
A	SILVESTER D. J., Simultaneous determination of α , β and iso- α acids in hops and hop products., J. Inst. Brew., 1984, Vol. 90, No. 5, p. 319-322	1 - 16
A	矢島宏昭他, ビール苦味成分の脂肪蓄積抑制作用, 日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, 2003, Vol. 57th, p. 242, 3D-07p	1 - 16