

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7577751号
(P7577751)

(45)発行日 令和6年11月5日(2024.11.5)

(24)登録日 令和6年10月25日(2024.10.25)

(51)国際特許分類 F I
A 2 3 L 5/43 (2016.01) A 2 3 L 5/43
C 0 9 B 61/00 (2006.01) C 0 9 B 61/00 Z

請求項の数 9 (全28頁)

(21)出願番号	特願2022-545226(P2022-545226)	(73)特許権者	312007962 グリコ栄養食品株式会社 大阪府大阪市西淀川区歌島四丁目6番5号
(86)(22)出願日	令和2年8月28日(2020.8.28)	(74)代理人	100124431 弁理士 田中 順也
(86)国際出願番号	PCT/JP2020/032752	(74)代理人	100174160 弁理士 水谷 馨也
(87)国際公開番号	WO2022/044291	(74)代理人	100175651 弁理士 迫田 恭子
(87)国際公開日	令和4年3月3日(2022.3.3)	(74)代理人	100122448 弁理士 福井 賢一
審査請求日	令和5年6月9日(2023.6.9)	(72)発明者	西川 正洋 大阪府大阪市西淀川区歌島四丁目6番5号 グリコ栄養食品株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 青色色素及びその製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含む青色色素であって、
 水で希釈して色価 $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ が 0.1 の溶液にした場合に、L a b 表色系における L^* 値が 66 以上、 a^* 値が -2.4 以下、及び b^* 値が -2.5 以上を示し、
 更に、以下の(1)~(3)に示す操作を行った場合に、90 で15分間加熱処理した溶液Aと加熱処理していない溶液Bとの色差 E_{ab}^* が 3.5 以下であり、且つ90 で15分間加熱した溶液Aの L^* 値が 64 以上、 a^* 値が -1.4 以下、及び b^* 値が -3.1 以上を示す、青色色素。

< 操作条件 >

(1) 準備

青色色素を pH 2.5 の 0.1 M クエン酸緩衝液で希釈して、色価 $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ が 0.1 の溶液Aを調製する。また、青色色素を pH 6.0 の 0.1 M クエン酸緩衝液で希釈して、色価 $E_{1\text{cm}}^{10\%}$ が 0.1 の溶液Bを調製する。

(2) 溶液の加熱処理

溶液Aについては90 で15分間加熱処理する。溶液Bについては加熱処理を行わない。

(3) 色調の測定

90 で15分間加熱処理した溶液Aと、加熱処理していない溶液Bについて、L a b 表色系における L^* 値、 a^* 値、及び b^* 値を測定する。

【請求項2】

極大吸収波長が604nm以上の領域に存在する、請求項1に記載の青色色素。

【請求項3】

前記ゲニピンが、アカネ科クチナシ由来、ゲニパアメリカーナ由来、又は遺伝子組み換え微生物由来である、請求項1又は2に記載の青色色素。

【請求項4】

請求項1～3のいずれかに記載の青色色素で着色されている、飲食品。

【請求項5】

以下の第1工程及び第2工程を含む、請求項1又は2に記載の青色色素の製造方法。

第1工程：大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドよりなる群から選択される少なくとも1種のペプチドと、ゲニピンとを、溶媒中で酸素を含むガスの非供給下で反応させる。

10

第2工程：前記第1工程で得られた反応溶液に対して、酸素を含むガスの供給下で処理する。

【請求項6】

前記ゲニピンが、アカネ科クチナシ由来、ゲニパアメリカーナ由来、又は遺伝子組み換え微生物由来である、請求項5に記載の製造方法。

【請求項7】

前記ペプチドが、分子量が2000以下のペプチドの割合が45%以上であり、且つ遊離アミノ酸の含有量が20質量%未満である、請求項5又は6に記載の製造方法。

【請求項8】

20

第1工程において、溶媒中で更にポリフェノールを共存させる、請求項5～7のいずれかに記載の製造方法。

【請求項9】

酸素を含むガスとして空気を使用する、請求項5～8のいずれかに記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含む青色色素であって、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する青色色素に関する。また、本発明は、当該青色色素の製造方法に関する。

30

【背景技術】

【0002】

従来、食品等に使用される青色着色料として、食用青色1号（2-（ビス{4-[N-エチル-N-（3-スルホナトフェニルメチル）アミノ]フェニル}メチリウムイル）ベンゼンスルホン酸二ナトリウム）、スピルリナ色素、クチナシ青色色素等が知られている。食用青色1号及びスピルリナ色素は、明るく、赤みが少なく黄みが強く、鮮やかな青色を呈する色素であり、鮮明な青色の色調を有するという特性がある。しかしながら、食用青色1号は、合成着色料であるため、食の安全に対する消費者意識の高まりと共に、使用が避けられる傾向にある。また、スピルリナ色素は、天然色素であるが、熱によって退色し易く、更に価格も高いという欠点がある。一方、クチナシ青色色素は、天然色素であり、熱に対する安定性もあり、食用青色1号及びスピルリナ色素の前記欠点が克服されており、食品分野等で汎用されている。

40

【0003】

クチナシ青色色素は、アカネ科クチナシの果実から得られるイリドイド配糖体に、-グルコシダーゼ及び第1級アミノ基含有化合物を好氣的条件下で作用させることにより製造されている。しかしながら、このような製法で得られるクチナシ青色色素は、明るさが不十分で、赤みも帯びているため、色調の点では十分に満足できるものではない。

【0004】

そこで、従来、クチナシ青色色素の色調を向上させ得る技術について種々検討されている。

【0005】

50

例えば、特許文献 1 には、アカネ科クチナシの果実に由来するイリドイド配糖体を、プロリン特異的エンドプロテアーゼにより処理されたカゼイン分解物の存在下で - グルコシダーゼ処理することにより、赤～紫味が低減された明るい青色の色調を有するクチナシ青色素が得られることが開示されている。

【0006】

特許文献 2 及び 3 には、a) ゲニポシドをグルコシダーゼで処理して加水分解産物を得る工程、b) 工程 a) で得られた加水分解産物を溶媒で抽出してゲニピンを含む生成物を得る工程、c) 工程 b) で得られた生成物をアミノ酸及び/又はその塩を含む水溶液と反応させて、クチナシ青色素生成させる工程を行うことにより、明るい青色の色調を有するクチナシ青色素が得られることが開示されている。

10

【0007】

特許文献 4 には、アカネ科クチナシの果実より抽出して得られたイリドイド配糖体をタンパク質分解物の存在下で - グルコシダーゼ処理して調製されるクチナシ青色素にポリフェノールを配合するか、またはアカネ科クチナシの果実より抽出して得られたイリドイド配糖体を、タンパク質分解物及びポリフェノールの存在下で - グルコシダーゼ処理する工程を行うことにより、赤～紫味が低減された明るい青色の色調を有するクチナシ青色素が得られることが開示されている。

【0008】

特許文献 5 には、好氣的条件下でイリドイド配糖体のアグリコンとタウリン含有物を共存させることによりクチナシ青色素を製造する際に、製造中又は製造後にポリフェノール化合物を添加することにより、明るい色調のクチナシ青色素が得られることが開示されている。

20

【0009】

しかしながら、特許文献 1～5 の技術では、得られるクチナシ青色素が依然として赤みを帯びており、色調は依然として満足できるものではなく、食用青色 1 号やスピリリナ色素と同程度にまで、明るく赤みが低減されている青色の色調を有するクチナシ青色素を製造することはできていない。

【0010】

また、ゲニバアメリカーナ(ウイトと称されることもある)の果実にも、ゲニピン(イリドイド配糖体のアグリコン)が含まれており、ゲニバアメリカーナ由来のゲニピンと第 1 級アミノ基含有化合物を好氣的条件下で作用させることにより青色色素が得られることも知られている。しかしながら、ゲニバアメリカーナを使用した青色色素でも、クチナシ青色素と同様、明るさが不十分で、赤みも帯びているという欠点があり、色調の改善が望まれている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【文献】国際公開第 2006/82922 号

【文献】国際公開第 2016/45100 号

【文献】国際公開第 2017/156744 号

40

【文献】国際公開第 2003/29358 号

【文献】特開平 7-111896 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

本発明の目的は、第 1 級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含む青色色素であって、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する青色色素、及びその製造方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0013】

50

本発明者は、前記課題を解決すべく鋭意検討を行ったところ、大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドよりなる群から選択される少なくとも1種のペプチドと、ゲニピンとを、溶媒中で酸素を含むガスの非供給下で反応させる第1工程、及び前記第1工程で得られた反応液に対して、酸素を含むガスの供給下で処理する第2工程を行うことにより、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する青色色素が得られることを見出した。また、前記第1工程及び第2工程を行うことにより得られた青色色素は、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ が 0.1 の溶液にした場合に、L a b 表色系における L^* 値が 66 以上、 a^* 値が -2.4 以下、 b^* 値が -2.5 以上を示し、食用青色1号と近似する色調を呈することを見出した。更に、添加するペプチドとして米ペプチドを使用して前記第1工程及び第2工程を行った場合、得られた青色色素は、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈するだけでなく、酸性条件下での加熱後にも色調を安定に維持できることを見出した。本発明は、これらの知見に基づいて、更に検討を重ねることにより完成したものである。

10

【0014】

即ち、本発明は、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項1. 第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含む青色色素であって、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ が 0.1 の溶液にした場合に、L a b 表色系における L^* 値が 66 以上、 a^* 値が -2.4 以下、及び b^* 値が -2.5 以上を示す、青色色素。

項2. 更に、以下の(1)~(3)に示す操作を行った場合に、90℃で15分間加熱処理した溶液Aと加熱処理していない溶液Bとの色差 E^*_{ab} が 3.5 以下であり、且つ 90℃で15分間加熱した溶液Aの L^* 値が 64 以上、 a^* 値が -1.4 以下、及び b^* 値が -3.1 以上を示す、項1に記載の青色色素。

20

<操作条件>

(1) 準備

青色色素を pH 2.5 の 0.1 M クエン酸緩衝液で希釈して、色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ が 0.1 の溶液 A を調製する。また、青色色素を pH 6.0 の 0.1 M クエン酸緩衝液で希釈して、色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ が 0.1 の溶液 B を調製する。

(2) 溶液の加熱処理

溶液 A については 90℃ で 15 分間加熱処理する。溶液 B については加熱処理を行わない。

30

(3) 色調の測定

90℃ で 15 分間加熱処理した溶液 A と、加熱処理していない溶液 B について、L a b 表色系における L^* 値、 a^* 値、及び b^* 値を測定する。

項3. 極大吸収波長が 604 nm 以上の領域に存在する、項1又は2に記載の青色色素。

項4. 前記ゲニピンが、アカネ科クチナシ由来、ゲニバアメリカーナ由来、又は遺伝子組み換え微生物由来である、項1~3のいずれかに記載の青色色素。

項5. 項1~4のいずれかに記載の青色色素で着色されている、飲食品。

項6. 以下の第1工程及び第2工程を含む、青色色素の製造方法。

第1工程：大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドよりなる群から選択される少なくとも1種のペプチドと、ゲニピンとを、溶媒中で酸素を含むガスの非供給下で反応させる。

40

第2工程：前記第1工程で得られた反応液に対して、酸素を含むガスの供給下で処理する。

項7. 前記ゲニピンが、アカネ科クチナシ由来、ゲニバアメリカーナ由来、又は遺伝子組み換え微生物由来である、項6に記載の製造方法。

項8. 前記ペプチドが、分子量が 2000 以下のペプチドの割合が 45% 以上であり、且つ遊離アミノ酸の含有量が 20 質量% 未満である、項6又は7に記載の製造方法。

項9. 第1工程において、溶媒中で更にポリフェノールを共存させる、項6~8のいずれかに記載の製造方法。

項10. 酸素を含むガスとして空気を使用する、項6~9のいずれかに記載の製造方法。

50

【発明の効果】

【0015】

本発明によれば、第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含む青色色素であって、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する青色色素を簡便な手法で製造することが可能になる。また、本発明の青色色素は、アカネ科クチナシやゲニバアメリカーナ等の天然由来成分を使用しても、食用青色1号に近似する青色の色調を呈するので、食品等の様々な製品に対して、高い安全性をもって良好の色調で着色することができる。

【0016】

また、本発明の一態様では、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調に加えて、酸性条件下での加熱後にも色調を安定に維持できる特性も具備する青色色素が提供されるので、酸性食品に対しても良好の色調で着色することが可能になる。

【発明を実施するための形態】

【0017】

1. 青色色素

本発明の青色色素は、第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含む青色色素であって、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が0.1の溶液にした場合に、L a b表色系における L^* 値が66以上、 a^* 値が-2.4以下、 b^* 値が-2.5以上を示すことを特徴とする。以下、本発明の青色色素について詳述する。

【0018】

1-1. 第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物・第1級アミノ基含有化合物

本発明の青色色素は、青色を呈する成分として、第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含有する。

【0019】

第1級アミノ基含有化合物としては、ゲニピンとの反応によって、青色を呈させ、且つ後述する色調特性を充足させ得ることを限度として特に制限されないが、例えば、アミノ酸、ペプチド、タンパク質等が挙げられる。第1級アミノ基含有化合物は、1種単独で使用してもよく、2種以上を組み合わせて使用してもよい。

【0020】

これらの第1級アミノ基含有化合物の中でも、後述する色調特性を好適に具備させるという観点から、好ましくは、大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドが挙げられる。大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドについて説明する。

【0021】

大豆ペプチドとは、大豆由来のタンパク質を加水分解して低分子化したペプチドである。大豆由来のタンパク質を加水分解するには、特に制限されず、例えば、プロテアーゼ処理、酸処理、アルカリ処理等の公知の手法で行うことができる。また、大豆ペプチドは、市販品を使用してもよい。

【0022】

ゴマペプチドとは、ゴマ由来のタンパク質を加水分解して低分子化したペプチドである。ゴマ由来のタンパク質を加水分解するには、特に制限されず、例えば、プロテアーゼ処理、酸処理、アルカリ処理等の公知の手法で行うことができる。また、ゴマペプチドは、市販品を使用してもよい。

【0023】

米ペプチドとは、米由来のタンパク質を加水分解して低分子化したペプチドである。米由来のタンパク質を加水分解するには、特に制限されず、例えば、プロテアーゼ処理、酸処理、アルカリ処理等の公知の手法で行うことができる。米ペプチドは、市販品を使用してもよい。また、前述の通り、第1級アミノ基含有化合物として米ペプチドを使用する場合には、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈するだけでなく、耐酸加熱性を有する青色色素を製造することが可能になる。

10

20

30

40

50

【0024】

また、本発明で使用される大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドの平均分子量については、特に制限されないが、例えば、5000以下程度、好ましくは150~3000程度、より好ましくは150~2000程度が挙げられる。また、大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドにおける分子量分布としては、分子量が2000以下のペプチドが、45%以上程度、好ましくは50~100%程度、より好ましくは60~100%程度占めていることが挙げられる。このような比率で分子量が2000以下のペプチドが含まれている場合、青色色素の明るさの更なる向上及び赤みの更なる低減を図ることが可能になる。なお、本発明において、ペプチドの平均分子量は、標準物質として分子量既知のペプチドを使用して、HPLCを用いたゲル濾過クロマトグラフィー法によって算出される重量平均分子量である。また、分子量が2000以下のペプチドが占める割合は、全ピーク面積に対する分子量2000以下のペプチドのピーク面積の割合である。

10

【0025】

また、ペプチドには、タンパク質を加水分解した際に生じた遊離アミノ酸（ペプチドに結合しておらず、単独で存在するアミノ酸）が混在していることがある。大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドに、このような遊離アミノ酸が多く含まれている場合には、青色色素の明るさの低下や赤みの増強を招くことがある。そのため、本発明で使用される大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドには、遊離アミノ酸が少ないことが望ましく、例えば、遊離アミノ酸の含有量が20質量%未満、好ましくは10質量%以下、より好ましくは5質量%以下が挙げられる。

20

【0026】

・ゲニピン

ゲニピンとは、ゲニポシド（イリドイド配糖体）のアグリコンである。ゲニピンの由来については、特に制限されないが、例えば、アカネ科クチナシ由来、ゲニパアメリカーナ由来、遺伝子組み換え微生物由来等が挙げられる。以下、本発明で使用されるゲニピンについて由来毎に説明する。

【0027】

（アカネ科クチナシ由来のゲニピン）

アカネ科クチナシ由来のゲニピンは、アカネ科クチナシの果実から抽出処理することにより得られたゲニポシドに、 β -グルコシダーゼを作用させることにより得ることができる。

30

【0028】

ゲニポシドの抽出に使用されるアカネ科クチナシの果実は、未乾燥物、乾燥物又は凍結物のいずれであってもよく、また、抽出効率を高めるために、細切又は粉碎されたものであってもよい。

【0029】

ゲニポシドの抽出に使用される抽出溶媒としては、水、有機溶媒、及びこれらの混合溶媒が挙げられる。有機溶媒としては、親水性有機溶媒が好ましく、例えば、炭素数1~5の1価アルコール（エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール等）、炭素数2~5の多価アルコール（グリセリン、イソプロピレングリコール、プロピレングリコール及び1,3-ブチレングリコール等）等が挙げられる。これらの抽出溶媒の中でも、安全性及びゲニポシドの抽出効率の点から、好ましくは、水、1価低級アルコール、及びこれらの混合溶媒；より好ましくは、水、エタノール、及び含水エタノール（水とエタノールの混合溶媒）、更に好ましくは含水エタノールが挙げられる。溶媒として1価低級アルコールと水の混合溶媒を使用する場合、1価低級アルコールと水の混合比については、特に制限されないが、例えば、1価低級アルコールの濃度が1~99質量%程度、好ましくは40~90質量%程度、より好ましくは50~80質量%程度であればよい。

40

【0030】

抽出方法については、特に制限されず、一般的な溶媒抽出手法であればよいが、例えば、抽出溶媒中に原生薬を冷浸、温浸等によって浸漬し、必要に応じて攪拌する方法、パー

50

コレーション法等が挙げられる。

【 0 0 3 1 】

抽出処理により得られた抽出液を、必要に応じてろ過、遠心分離等によって固形物を除去することにより、ゲニポシドを回収できる。また、回収したゲニポシドは、必要に応じて、吸着処理、ゲルろ過、晶析等の精製処理に供して、純度を高めてもよい。

【 0 0 3 2 】

ゲニポシドからゲニピンを生成させるために使用される - グルコシダーゼは、 - グルコシダーゼ活性を有する酵素であればよく、例えば、*Aspergillus niger*、*Trichoderma reesei*、*Trichoderma viride*、アーモンド等に由来するものが挙げられる。 - グルコシダーゼ活性を有する酵素は、市販品を使用することができる。 - グルコシダーゼ活性を有する酵素の市販品としては、例えば、スミチーム C 6 0 0 0、スミチーム A C、スミチーム C、スミチーム X、スミチーム B G T、スミチーム B G A (商品名; 新日本化学工業社製)、セルロシン A C 4 0、セルロシン T 3、セルロシン A L (商品名; エイチパイアイ社製) オノズカ 3 S、Y - N C (商品名; ヤクルト薬品工業社製)、セルラーゼ A 「アマノ」 3、セルラーゼ T 「アマノ」 4 (商品名; 天野エンザイム社製) 等が挙げられる。

10

【 0 0 3 3 】

ゲニポシドに - グルコシダーゼを作用させてゲニピンを生成させるには、 - グルコシダーゼが作用可能な条件で、 - グルコシダーゼとゲニポシドを共存させればよい。 - グルコシダーゼの使用量については、ゲニポシド濃度、反応温度、反応時間等の条件に応じて適宜設定すればよい。

20

【 0 0 3 4 】

- グルコシダーゼを作用させる際の温度条件については、 - グルコシダーゼの作用温度範囲内で適宜設定すればよいが、例えば 3 0 ~ 6 0 程度、好ましくは 4 0 ~ 5 0 程度が挙げられる。

【 0 0 3 5 】

- グルコシダーゼを作用させる際の pH 条件については、 - グルコシダーゼの作用 pH 範囲内で適宜設定すればよいが、例えば pH 3 . 5 ~ 6 . 0 程度、好ましくは pH 4 . 3 ~ 4 . 8 程度が挙げられる。

【 0 0 3 6 】

- グルコシダーゼを作用させる際の反応溶媒としては、水; リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、酒石酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等の緩衝液が挙げられる。

30

【 0 0 3 7 】

- グルコシダーゼを作用させる時間については、使用する - グルコシダーゼやゲニポシドの量、温度条件等に応じて適宜設定すればよいが、例えば、3 ~ 3 0 時間程度、好ましくは 5 ~ 2 4 時間程度が挙げられる。

【 0 0 3 8 】

(ゲニパアメリカーナ由来のゲニピン)

ゲニパアメリカーナ由来のゲニピンは、ゲニパアメリカーナの果実から抽出処理することにより得ることができる。

40

【 0 0 3 9 】

ゲニパアメリカーナは、主に、南アメリカの熱帯雨林、アマゾン流域に自生している植物であり、ゲニパップ (genipap)、ウィット (huito)、ジャガー、ピルト (bilito)、カフェシロ デンタ (cafecillo denta)、カルト (caruto)、カルト レバルセロ (caruto rebalsero)、コンフィチャー デ シンゲ (confiture de singe)、ゲニペヤー ビチュ (genipayer bitu)、ガイティル (guaitil)、ガリチャ (guaricha)、ガヤティル コロラド (guayatil colorado)、フイトール (huitol)、ウィトック (huitoc)、ウィッチュ (huitu)、イライオール (irayol)、ジャガ ブランカ (jaguablanca)、ジャガ アメリラ (jagua amarilla)、ジャガ コロラド (jagua colorado)、ジェイパペイロ (jeipapeiro)、ジュニパー (juniper)、マルコ (maluco)、マンディ (mand

50

ipa)、マルメラド - ボックス (marmelade - box)、ナンディパ (nandipa)、ニャンディパ ゲニパポ (nyandipa genipapo)、タパキユロ (tapaculo)、タポエリパ (tapoeripa)、タプロエパ トツミロ (taproepa totumillo)、ヤガ (yagua)、ヤヌパ - i (yanupa-i)、ヤニパ - i (yenipa-i)、エニパパ ビ (yenipapa bi)、ゲニパポ (genipapo)、ウィトック (huitoc)、ビト (vito)、チパラ (chipara)、ガナペイ (guanapay)、又は他の変名 (例えば、ジェニパポラナ (jenipaporana) 又はジェニパポ - ブラボ (jenipapo-bravo) など) を含む、多くの非公式の名称で知られている。

【0040】

ゲニピンの抽出に使用されるゲニパアメリカナの果実は、未乾燥物、乾燥物又は凍結物のいずれであってもよく、また、抽出効率を高めるために、細切又は粉碎されたものであってもよい。

10

【0041】

ゲニピンの抽出に使用される抽出溶媒としては、水、極性有機溶媒、及びこれらの混合溶媒が挙げられる。極性有機溶媒としては、例えば、炭素数 1 ~ 5 の 1 価アルコール (エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール等)、炭素数 2 ~ 5 の多価アルコール (グリセリン、イソプロピレングリコール、プロピレングリコール及び 1, 3 - ブチレングリコール等)、エステル (酢酸メチル、酢酸エチル等)、ケトン (アセトン等) 等が挙げられる。これらの抽出溶媒の中でも、安全性及び有効成分の抽出効率の点から、好ましくは、水、1 価低級アルコール、及びこれらの混合溶媒; より好ましくは、水、エタノール、及び含水エタノール (水とエタノールの混合溶媒)、更に好ましくは含水エタノールが挙げられる。溶媒として 1 価低級アルコールと水の混合溶媒を使用する場合、1 価低級アルコールと水の混合比については、特に制限されないが、例えば、1 価低級アルコールの濃度が 1 ~ 99 質量% 程度、好ましくは 40 ~ 90 質量% 程度、より好ましくは 50 ~ 80 質量% 程度であればよい。

20

【0042】

抽出方法については、特に制限されず、一般的な溶媒抽出手法であればよいが、例えば、抽出溶媒中に原生薬を冷浸、温浸等によって浸漬し、必要に応じて攪拌する方法、パーコレーション法等が挙げられる。

【0043】

抽出処理により得られた抽出液を、必要に応じてろ過、遠心分離等によって固形物を除去することにより、ゲニピンを回収できる。また、回収したゲニピンは、必要に応じて、非極性溶媒 (酢酸メチル、酢酸エチル、アセトン等) を用いた抽出処理、吸着処理、ゲルろ過、晶析等の精製処理に供して、純度を高めてもよい。

30

【0044】

ゲニパアメリカナ由来のゲニピンは、ゲニパアメリカナの果実から抽出処理することにより得られたゲニポシドに、 β -グルコシダーゼを作用させることにより得てもよい。ゲニパアメリカナから得られたゲニポシドに β -グルコシダーゼを作用させる条件については、アカネ科クチナシ由来のゲニピンの場合と同様である。

【0045】

(遺伝子組み換え微生物由来のゲニピン)

40

遺伝子組み換え微生物由来のゲニピンは、ゲニピンを産生できるように遺伝子組み換えされた微生物を培養することにより得ることができる。また、遺伝子組み換え微生物由来のゲニピンは、ゲニポシドを産生できるように遺伝子組み換えされた微生物を培養することによりゲニポシドを得た後に、当該ゲニポシドに β -グルコシダーゼを作用させることにより得ることもできる。遺伝子組み換え微生物から得られたゲニポシドに β -グルコシダーゼを作用させる条件については、アカネ科クチナシ由来のゲニピンの場合と同様である。

【0046】

1 - 2 . 色調特性

本発明において、「色価 $E^{10\%}_{1cm}$ 」とは、色素の色の濃さを表す単位であり、吸光度

50

計にて信頼性のある濃度範囲で光路長 1 cm のセルを用いて測定した時の極大吸収波長の吸光度を 10 重量 % 溶液での値に換算した値のことをいう。

【 0 0 4 7 】

青色色素の極大吸収波長は 600 nm 付近にあるので、青色色素の色価 $E^{10\%}_{1cm}$ は、600 nm 付近に極大吸収波長を特定し、その吸光度を測定することによって求めることができるが、極大吸収波長がない場合には 600 nm の吸光度を測定すればよい。

【 0 0 4 8 】

青色色素の色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液は、青色色素を水（好ましくはイオン交換水）で希釈して調製される。なお、本発明において、色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 とは、色価 $E^{10\%}_{1cm}$ の値の小数点以下第 4 位を四捨五入して 0.100 になることを指す。

10

【 0 0 4 9 】

本発明の青色色素は、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液にした場合に、L a b 表色系（C I E L * a * b * 表色系）における L * 値が 66 以上であり、明るい青色の色調を呈する。より明るい青色の色調を呈させるといふ観点から、当該 L * 値として、好ましくは 66 ~ 75、より好ましくは 67 ~ 75、更に好ましくは 68 ~ 73 が挙げられる。

【 0 0 5 0 】

本発明の青色色素は、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液にした場合に、L a b 表色系における a * 値が - 2.4 以下であり、赤みが少ない青色の色調を呈する。赤みをより低減させた青色の色調を呈させるといふ観点から、当該 a * 値として、好ましくは - 3.5 ~ - 2.4、より好ましくは - 3.5 ~ - 2.5、更に好ましくは - 3.2 ~ - 2.6 が挙げられる。

20

【 0 0 5 1 】

本発明の青色色素は、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液にした場合の、L a b 表色系における b * 値が - 2.5 以上である青色の色調を呈する。当該 b * 値として、好ましくは - 2.5 ~ - 1.5、より好ましくは - 2.4 ~ - 1.5、更に好ましくは - 2.3 ~ - 1.8 が挙げられる。

【 0 0 5 2 】

L a b 表色系における c * 値（彩度、C h r o m a）は $(a^* \text{値}^2 + b^* \text{値}^2)^{1/2}$ によって算出されるので、本発明の青色色素において、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液にした場合の L a b 表色系における c * 値（彩度）については、前記 a * 値及び b * 値を充足する範囲内で定まるが、例えば、3.4 以上、好ましくは 3.5 ~ 4.0、より好ましくは 3.6 ~ 4.0、更に好ましくは 3.7 ~ 4.0 が挙げられる。

30

【 0 0 5 3 】

発明の青色色素において、水で希釈して色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液にした場合の L a b 表色系における h * 値（色相、H u e）については、特に制限されないが、例えば、230 以下、好ましくは 205 ~ 228、より好ましくは 205 ~ 225、更に好ましくは 205 ~ 220 が挙げられる。

【 0 0 5 4 】

このような色調を満たす本発明の青色色素は、後述する製造方法によって得ることができる。

【 0 0 5 5 】

また、従来のクチナシ青色色素等の天然由来の青色色素は、酸性条件下で加熱されると、赤みが強くなって色調が変化するという欠点があるが、後述する製造方法において、第 1 工程において添加するペプチドとして米ペプチドを使用した場合には、前述する色調を具備すると共に、従来の天然由来の青色色素の前記欠点が解消され、酸性条件下での加熱後にも色調を安定に維持する特性（以下、「耐酸加熱性」と表記することもある）を備える青色色素を得ることができる。

40

【 0 0 5 6 】

このような耐酸加熱性を有する本発明の青色色素の具体例として、以下の（1）～（3）に示す操作を行った場合に、90 で 15 分間加熱処理した溶液 A と加熱処理していない溶液 B との色差 E^*_{ab} が 3.5 以下であり、且つ 90 で 15 分間加熱した溶液 A の L

50

値が6.4以上、 a^ 値が-1.4以下、及び b^* 値が-3.1以上を示すものが挙げられる。

<操作条件>

(1) 準備

青色色素をpH2.5の0.1Mクエン酸緩衝液で希釈して、色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が0.1の溶液Aを調製する。また、青色色素をpH6.0の0.1Mクエン酸緩衝液で希釈して、色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が0.1の溶液Bを調製する。

(2) 溶液の加熱処理

溶液Aについては90℃で15分間加熱処理する。溶液Bについては加熱処理を行わない。

(3) 色調の測定

90℃で15分間加熱処理した溶液Aと、加熱処理していない溶液Bについて、L a b表色系における L^* 値、 a^* 値、及び b^* 値を測定する。

【0057】

90℃で15分間加熱処理した溶液Aと加熱処理していない溶液Bとの色差 E^*_{ab} については、3.5以下であればよいが、より優れた耐酸加熱性を備えさせるという観点から、好ましくは3.0以下、より好ましくは0~2.5、更に好ましくは0~2.0が挙げられる。

【0058】

90℃で15分間加熱した溶液Aの L^* 値については、6.4以上であればよいが、より優れた耐酸加熱性を備えさせるという観点から、好ましくは6.5以上、より好ましくは6.5~7.0、更に好ましくは6.6~7.0が挙げられる。

【0059】

90℃で15分間加熱した溶液Aの a^* 値については、-1.4以下であればよいが、より優れた耐酸加熱性を備えさせるという観点から、好ましくは-1.5以下、より好ましくは-2.6~-1.6、更に好ましくは-2.6~-1.7が挙げられる。

【0060】

90℃で15分間加熱した溶液Aの b^* 値については、-3.1以上であればよいが、より優れた耐酸加熱性を備えさせるという観点から、好ましくは-3.0以上、より好ましくは-2.9~-2.2、更に好ましくは-2.8~-2.2が挙げられる。

【0061】

本発明において、L a b表色系における前記各値は、分光測色計(CM-5 コニカミノルタジャパン株式会社)を用いて測定される値である。測定条件は、全透過測定で光源はD65、視野は10°、測定径20mm、照射径26mmである。

【0062】

また、従来のクチナシ青色色素等の天然由来の青色色素の極大吸収波長は600nm付近に存在するが、本発明の青色色素の極大吸収波長は、例えば604nm以上、好ましくは604~610nm、より好ましくは605~610nm、更に好ましくは607~610nm又は608~610nmの範囲内に存在し得る。

【0063】

1-3. 用途

本発明の青色色素は、青色着色料として使用される。本発明の青色色素の使用対象となる製品については、青色着色料の使用が求められることを限度として特に制限されないが、具体的には、飲食品、化粧品、口腔用剤、医薬品等が挙げられる。本発明の青色色素の好適な一態様では天然由来であり、高い安全性を備えているので、特に飲食品用の着色料として好適である。

【0064】

本発明の青色色素の着色対象となる飲食品については、青色への着色が求められるものであればよく、その種類については、特に制限されないが、例えば、ゼリー、ガム、グミ、寒天、ケーキ、クッキー、錠菓等の菓子類；団子、餅菓子、わらび餅、餡等の和菓子類；果実ソース等の果実加工品；イチゴジャム、ブルーベリージャム等のジャム類；シロツ

10

20

30

40

50

ブ；みりん、料理酒、ドレッシングタレ類、ソース類等の調味料；アイスクリーム、アイスマイルク、氷菓等の冷菓；ヨーグルト、アイスクリーム、ホイップクリーム等の乳製品；蒲鉾、ちくわ、魚肉ソーセージ、魚肉すり身等の水産練製品；畜肉、魚肉、果実等の瓶詰、缶詰類；乳酸菌飲料、清涼飲料、炭酸飲料、果汁飲料、無果汁飲料、果実飲料、野菜飲料、スポーツ飲料、粉末飲料、ドリンクゼリー、アルコール飲料等の飲料；漬物類；麺類が挙げられる。

【0065】

また、本発明の青色色素が耐酸加熱性を有している場合には、酸性の飲食品、特に製造工程において加熱殺菌が行われる酸性の飲食品に対して好適に使用できる。本発明において、酸性の飲食品とは、pHが5.0以下である飲食品を指す。

10

【0066】

本発明の青色色素が耐酸加熱性を有している場合に、着色対象となる酸性の飲食品のpHは、5.0以下の範囲であれば特に制限されないが、例えばpHが4.0以下の酸性飲食品であっても、安定に維持させた色調を呈させることができる。酸性の飲食品として、具体的には、乳酸菌飲料、清涼飲料、炭酸飲料、果汁飲料、無果汁飲料、果実飲料、野菜飲料、スポーツ飲料、ドリンクゼリー、アルコール飲料等の酸性飲料；ヨーグルト、アイスクリーム、ホイップクリーム等の乳製品；ゼリー等のデザート類；シャーベット、アイスマイルク、氷菓等の冷菓類；グミ、ゼリービーンズ等の菓子類；イチゴジャム、ブルーベリージャム等のジャム類；果実のフレーバーソース等のソース類等；漬物類；ドレッシング等の調味料等が挙げられる。

20

【0067】

本発明の青色色素の着色対象となる化粧料については、青色への着色が求められるものであればよく、その種類については、特に制限されないが、例えば、クリーム、乳液、化粧水、美容液、軟膏、オイル、パック、ローション、ジェル等の基礎化粧料；ファンデーション、アイシャドウ、口紅、頬紅などのメイクアップ化粧料等が挙げられる。

【0068】

本発明の青色色素の着色対象となる口腔用剤については、青色への着色が求められるものであればよく、その種類については、特に制限されないが、例えば、練歯磨剤、粉歯磨剤、液体歯磨剤等の歯磨剤；歯用クリーム；マウスウォッシュ、含嗽剤等の洗口剤；口腔用パスタ剤、マウススプレー、口腔内崩壊性フィルム、ゲル、トローチ、タブレット、チュアブル等が挙げられる。

30

【0069】

本発明の青色色素の着色対象となる医薬品については、青色への着色が求められるものであればよく、その種類については、特に制限されないが、例えば、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、液剤等が挙げられる。

【0070】

本発明の青色色素の着色対象となる製品への添加量については、当該製品の種類、当該製品に付与すべき着色の程度に応じて適宜設定すればよい。

【0071】

2. 青色色素の製造方法

40

本発明の青色色素の製造方法については、第1級アミノ基含有化合物とゲニピンとの反応生成物を含み、前述する色調特性を満たす青色色素が得られることを限度して特に制限されないが、好適な製造方法として、以下の第1工程及び第2工程を含む方法が和えられる。第1工程：大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチドよりなる群から選択される少なくとも1種のペプチドと、ゲニピンとを、溶媒中で酸素を含むガスの非供給下で反応させる。

第2工程：前記第1工程で得られた反応溶液に対して、酸素を含むガスの供給下で処理する。

【0072】

以下、第1工程及び第2工程を含む製造方法について詳述する。

50

【 0 0 7 3 】

2 - 1 . 第 1 工 程

・ ペ プ チ ド

第 1 工 程 で は 、 第 1 級 ア ミ ノ 基 含 有 化 合 物 と し て 、 大 豆 ペ プ チ ド 、 ゴ マ ペ プ チ ド 、 及 び 米 ペ プ チ ド よ り な る 群 か ら 選 択 さ れ る 少 な く と も 1 種 を 使 用 す る 。 使 用 す る 大 豆 ペ プ チ ド 、 ゴ マ ペ プ チ ド 、 及 び 米 ペ プ チ ド に つ い て は 、 前 記 「 1 . 青 色 色 素 」 の 欄 に 記 載 の 通 り で あ る 。

【 0 0 7 4 】

・ ゲ ニ ピ ン

第 1 工 程 で 使 用 す る ゲ ニ ピ ン に つ い て は 、 前 記 「 1 . 青 色 色 素 」 の 欄 に 記 載 の 通 り で あ る 。

10

【 0 0 7 5 】

例 え ば 、 ア カ ネ 科 ク チ ナ シ 由 来 の ゲ ニ ピ ン を 使 用 す る 場 合 、 ア カ ネ 科 ク チ ナ シ の 果 実 か ら 抽 出 処 理 す る こ と に よ り 得 ら れ た ゲ ニ ポ シ ド に - グ ル コ シ ン グ ー ゼ を 作 用 さ せ て ゲ ニ ピ ン を 生 成 さ せ た 反 応 液 を 、 そ の ま ま の 状 態 で ゲ ニ ポ シ ド 含 有 液 と し て 第 1 工 程 で 使 用 し て も よ く 、 ま た 、 必 要 に 応 じ て 、 精 製 処 理 、 濃 縮 処 理 、 乾 燥 処 理 等 に 供 し て 、 濃 縮 液 又 は 乾 燥 物 の 状 態 に し て 第 1 工 程 で 使 用 し て も よ い 。

【 0 0 7 6 】

ま た 、 例 え ば 、 ゲ ニ パ ア メ リ カ ー ナ 由 来 の ゲ ニ ピ ン を 使 用 す る 場 合 、 ゲ ニ パ ア メ リ カ ー ナ の 果 実 か ら 抽 出 処 理 す る こ と に よ り 得 ら れ た ゲ ニ ピ ン 抽 出 液 を そ の ま ま の 状 態 で ゲ ニ ポ シ ド 含 有 液 と し て 第 1 工 程 で 使 用 し て も よ く 、 ま た 、 必 要 に 応 じ て 、 精 製 処 理 、 濃 縮 処 理 、 乾 燥 処 理 等 に 供 し て 、 濃 縮 液 又 は 乾 燥 物 の 状 態 に し て 第 1 工 程 で 使 用 し て も よ い 。

20

【 0 0 7 7 】

・ ポ リ フ ェ ノ ー ル

第 1 工 程 で は 、 前 記 特 定 の ペ プ チ ド と ゲ ニ ピ ン と 共 に 、 ポ リ フ ェ ノ ー ル を 共 存 さ せ て 反 応 を 行 っ て も よ い 。 ポ リ フ ェ ノ ー ル と は 、 分 子 内 に 複 数 の フ ェ ノ ー ル 性 水 酸 基 を 有 す る 化 合 物 で あ る 。 使 用 す る ポ リ フ ェ ノ ー ル の 由 来 に つ い て は 、 特 に 制 限 さ れ ず 、 植 物 由 来 の も の 、 微 生 物 に よ っ て 産 生 さ れ た も の 、 化 学 合 成 さ れ た も の 等 の い ず れ で あ っ て も よ い 。

【 0 0 7 8 】

ポ リ フ ェ ノ ー ル の 種 類 に つ い て は 、 特 に 制 限 さ れ ず 、 フ ラ ボ ノ イ ド 系 ポ リ フ ェ ノ ー ル 又 は 非 フ ラ ボ ノ イ ド 系 (フ ェ ノ ー ル 酸 系) ポ リ フ ェ ノ ー ル の い ず れ で あ っ て も よ い 。 フ ラ ボ ノ イ ド 系 ポ リ フ ェ ノ ー ル と し て は 、 例 え ば 、 フ ラ バ ノ ン 類 、 フ ラ ボ ン 類 、 フ ラ ボ ノ ー ル 類 、 フ ラ バ ノ ー ル 類 、 フ ラ バ ノ ノ ー ル 類 、 イ ソ フ ラ ボ ン 類 、 ア ン ト シ ア ニ ン 類 、 カ ル コ ン 類 、 ス チ ル ベ ノ イ ド 類 等 が 挙 げ ら れ る 。

30

【 0 0 7 9 】

フ ラ バ ノ ン 類 と し て は 、 具 体 的 に は 、 ヘ ス ペ リ ジ ン 、 糖 転 移 ヘ ス ペ リ チ ン 、 ヘ ス ペ レ チ ン 、 ナ リ ジ ン 、 リ キ リ チ ゲ ン 等 が 挙 げ ら れ る 。 糖 転 移 ヘ ス ペ リ ジ ン と は 、 ヘ ス ペ リ ジ ン の 水 酸 基 に 、 グ ル コ ー ス 、 ア ラ ビ ノ ー ス 、 ガ ラ ク ト ー ス 、 ル チ ノ ー ス 、 ソ ホ ロ ー ス 、 グ ル ク ロ ン 酸 等 の 単 糖 又 は オ リ ゴ 糖 を 転 移 さ せ た ヘ ス ペ リ ジ ン 誘 導 体 で あ り 、 具 体 的 に は 、 - モ ノ グ ル コ シ ル ヘ ス ペ リ ジ ン 、 - ジ グ ル コ シ ル ヘ ス ペ リ ジ ン 、 - ト リ グ ル コ シ ル ヘ ス ペ リ ジ ン 、 - テ ト ラ グ ル コ シ ル ヘ ス ペ リ ジ ン 及 び - ペ ン タ グ ル コ シ ル ヘ ス ペ リ ジ ン 等 が 挙 げ ら れ る 。

40

【 0 0 8 0 】

フ ラ ボ ン 類 と し て は 、 具 体 的 に は 、 フ ラ ボ ン 、 ア ピ ゲ ニ ン 、 ル テ オ ニ ン 、 ア ピ ゲ ニ ニ ジ ン 、 ル テ リ オ ニ ジ ン 、 バ イ カ レ イ ン 等 が 挙 げ ら れ る 。

【 0 0 8 1 】

フ ラ ボ ノ ー ル 類 と し て は 、 具 体 的 に は 、 ケ ル セ チ ン 、 ケ ン フ ェ ロ ー ル 、 ミ リ セ チ ン 等 が 挙 げ ら れ る 。

【 0 0 8 2 】

フ ラ バ ノ ー ル 類 と し て は 、 具 体 的 に は 、 カ テ キ ン (エ ピ カ テ キ ン 、 エ ピ カ テ キ ン ガ レ ー

50

ト、エピガロカテキン、エピガロカテキンガラート、テアフラビン等)、テアフラビン、ロイコアントシアニン等が挙げられる。

【0083】

フラバノール類としては、具体的には、アルピノン、タキシフォリン等が挙げられる。

【0084】

イソフラボン類としては、具体的には、ゲニステイン、ダイゼイン、ダイジン、グリシテイン、エクオール、ピオカニンA、クメストロール、プエラリン、ホルモノネチン等が挙げられる。

【0085】

アントシアニン類としては、具体的には、ペラルゴニン、シアニン、ベツニン、ペオニン、ペチュニン、デルフィニン、マルビジン等が挙げられる。

10

【0086】

カルコン類としては、具体的には、カルタミン、プロレチン等が挙げられる。

【0087】

スチルベノイド類としては、具体的には、レスベラトロール等が挙げられる。

【0088】

非フラボノイド系ポリフェノールとしては、例えば、エラグ酸、クマリン、クルクミン、クロロゲン酸、リグナン、セサミン等が挙げられる。

【0089】

これらのポリフェノールは、1種単独で使用してもよく、また2種以上を組み合わせ使用してもよい。

20

【0090】

これらのポリフェノールの中でも、好ましくはフラバノン類、より好ましくはヘスペリジン、糖転移ヘスペリチン、ヘスペレチン、更に好ましくは糖転移ヘスペリチンが挙げられる。

【0091】

また、ポリフェノールは、精製された状態のものであってもよく、また、他の成分が混在している状態のもの(例えば、抽出物等)であってもよい。

【0092】

・反応

30

第1工程では、前記特定のペプチドとゲニピンを溶媒中で酸素を含むガスの非供給下で共存させて反応を行う。なお、前記特定のペプチド、ゲニポシド、及び - グルコシダーゼを同時にガスの非供給下で共存させて、ゲニポシドからゲニピンの生成反応とペプチドとゲニピンとの反応を同時に進行させると、前述する色調特性の青色色素が得られなくなる。そのため、ゲニポシドに - グルコシダーゼを作用させて得られたゲニピンを使用する場合には、 - グルコシダーゼの反応が完了した後に、第1工程を行うことが重要になる。

【0093】

前記特定のペプチドとゲニピンの反応開始時の濃度としては、例えば、前記特定のペプチドが、1~50質量%程度、好ましくは、5~30質量%程度、より好ましくは10~20質量%程度であり、ゲニピンの濃度が、0.1~50質量%程度、好ましくは、1~20質量%程度、より好ましくは2.5~10質量%程度が挙げられる。

40

【0094】

また、反応開始時のゲニピンと前記特定のペプチドの比率としては、例えば、ゲニピン100質量部当たり、前記特定のペプチドが20~1000質量部程度、好ましくは、100~600質量部程度、より好ましくは200~300質量部程度が挙げられる。

【0095】

また、ポリフェノールも共存させる場合、反応開始時のポリフェノールの濃度としては、例えば、0.01~10質量%程度、好ましくは、0.025~5質量%程度、より好ましくは0.5~1質量%程度が挙げられる。また、ポリフェノールも共存させる場合、

50

反応開始時のゲニピンとポリフェノールの比率としては、例えば、ゲニピン 100 質量部当たり、ポリフェノールが 0.2 ~ 220 質量部程度、好ましくは、0.5 ~ 110 質量部程度、より好ましくは 1 ~ 22 質量部程度が挙げられる。

【0096】

前記特定のペプチドとゲニピンを反応させる際の pH については、例えば、5 ~ 10 程度、好ましくは 6 ~ 9 程度、より好ましくは 7 ~ 8 程度が挙げられる。また、反応中はこれらの pH の範囲において一定に保つように調整してもよい。

【0097】

前記特定のペプチドとゲニピンを反応させる溶媒としては、例えば、水；リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、酒石酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等の緩衝液が挙げられる。

10

【0098】

第 1 工程において、溶媒中で前記特定のペプチドとゲニピンを共存させて反応させるには、前記特定のペプチドを溶解させた溶液にゲニピンを添加する方法、ゲニピンを溶解させた溶液に前記特定のペプチドを添加する方法等によって行うことができる。また、 β -グルコシダーゼを作用させてゲニピンを生成させた反応液（ゲニピン含有液）を使用する場合であれば、当該反応液に前記特定のペプチドを添加すればよい。

【0099】

第 1 工程では、溶媒中で前記特定のペプチドとゲニピンを共存させた状態で、酸素を含むガスを供給せずに反応させる。酸素を含むガスを供給せずに反応させるには、例えば、空気雰囲気下で、空気を取り込まない程度の穏やかな撹拌を行いながら、又は撹拌を行わずに静置する方法（以下、第 1 法）；窒素ガス、アルゴンガス等の不活性ガスの雰囲気下で撹拌又は静置する方法；窒素ガス、アルゴンガス等の不活性ガスを液中に供給する方法等によって行うことができる。これらの方法の中でも、前記第 1 法は、不活性ガスの準備や特殊な装置を要せず、簡便であるため好適である。

20

【0100】

第 1 工程における反応時の温度としては、例えば、5 ~ 50 程度、好ましくは 10 ~ 45 程度、より好ましくは 20 ~ 40 程度が挙げられる。

【0101】

また、第 1 工程における反応時間については、例えば、1 時間以上程度、好ましくは 3 ~ 24 時間程度、より好ましくは 5 ~ 20 時間程度が挙げられる。

30

【0102】

[第 2 工程]

第 2 工程では、前記第 1 工程で得られた反応液に対して、酸素を含むガスの供給下で処理する。前記第 1 工程で得られた反応液は、そのまま第 2 工程に供してもよいが、必要に応じて、pH を、5 ~ 10 程度、好ましくは 6 ~ 9 程度、より好ましくは 7 ~ 8 程度に調整した後に第 2 工程に供してもよい。反応中はこれらの pH の範囲において一定に保つように調整してもよい。

【0103】

第 2 工程において使用する酸素を含むガスについては、酸素ガス自体であってもよいが、例えば、空気のように酸素以外の気体成分が含まれている気体を使用してもよい。製造コストの低減等の観点から、酸素を含むガスとして、好ましくは空気が挙げられる。

40

【0104】

前記第 1 工程で得られた反応液に酸素を含むガスを供給するには、酸素を含むガスを当該反応液内に直接導入し、必要に応じて撹拌する方法；酸素を含むガスの雰囲気下で当該反応液に対して酸素を含むガスが当該反応液内に入り込むように撹拌する方法等によって行われる。

【0105】

酸素を含むガスの供給量については、従来 of クチナシ青色素等の製造で採用されている好氣的条件（発色させる際の条件）と同様であればよく、第 2 工程を行う装置の大きさ、酸素を含むガス供給中の撹拌の有無や撹拌速度等に応じて適宜設定されるが、例えば、酸

50

素を含むガスの供給量として0.01~5.0vvm、好ましくは0.05~2.5vvm、更に好ましくは0.1~1.0vvmが挙げられる。ここで、酸素を含むガスの供給量の単位「vvm」は、前記第1工程で得られた反応液1L当たり、1分間で供給するガスの量を指す。なお、ここで例示した酸素を含むガスの供給量は、空気自体の供給速度を指している。即ち、例えば酸素を含むガスとして純粋な酸素ガスを使用する場合であれば、空気中には酸素が約20容量%含まれているので、前記供給量の20%体積の量の酸素ガスを供給すればよい。

【0106】

酸素を含むガスを供給する際の温度としては、例えば、5~50程度、好ましくは10~45程度、より好ましくは20~40程度が挙げられる。第2工程中の温度は一定でもよいが、反応中にこれらの範囲で変動させてもよい。

10

【0107】

また、第2工程において、酸素を含むガスの供給は、溶液の色価が一定になるまで行えばよいが、所望の色調が呈されている時点で停止させてもよい。酸素を含むガスの供給時間として、具体的には、1時間以上、好ましくは3~120時間程度、より好ましくは6~50時間程度、更に好ましくは12~40時間程度が挙げられる。

【0108】

斯くして第2工程を行うことにより、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する前記青色色素が生成する。第2工程後の反応液は、青色色素溶液としてそのまま使用してもよいが、必要に応じて、精製処理、濃縮処理、乾燥処理等に供して、青色色素の濃縮液又は乾燥物の状態にしてもよい。

20

【実施例】

【0109】

以下、実施例等に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらによって限定されるものではない。

【0110】

試験例1

1. クチナシ青色色素の製造(ジャーファーマンタを使用)(実施例1-1~1-3及び比較例1-1~1-15)

(1) ゲニピンの調製

30

まず、アカネ科クチナシの果実から抽出・精製したゲニポシド液(色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が1335.48、測定波長238nm;ゲニポシド含有量は約45質量%)を準備した。
- グルコシダーゼ活性含有セルラーゼ(スミチームC、1500U/g、新日本化学工業株式会社)11.0gを精製水110gに溶解させ、前記ゲニポシド液110g(反応開始時の色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が245、測定波長238nm;反応開始時のゲニポシド濃度は約0.2mol/L)を添加した。次いで、溶液のpHを4.5に調整した後に、50にて18時間酵素反応を行い、ゲニピン含有液(反応後の溶液)を得た。

【0111】

(2) 酸素ガス非供給条件下での反応

リン酸水素ナトリウム・二水和物5.5g、リン酸三ナトリウム(無水)4.27g、表1に示すペプチド又はアミノ酸76.1gを水283gに添加して溶解させた。得られた溶解液を、前記で得られたゲニピン含有液(全量)に混合し、更にpHを7.5に調整した。得られた溶液を1L容のジャーファーマンタ(BMJ-01NC:エイブル株式会社)に移して、無通気状態で、35、空気を取り込まないような緩やかな攪拌条件で、15時間反応させた。

40

【0112】

(3) 酸素ガス供給条件下での反応

酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液をpH7.0に調整した後に、0.25vvmの供給量で空気を当該反応液中に供給しながら、35、420rpmの攪拌条件で、色価の上昇が横這いになるまで反応を行った。なお、反応時間は、使用したペプチド又は

50

アミノ酸の種類で反応時間は異なるが、24～48時間であった。斯くして、クチナシ青色素含有液（反応後の溶液）を得た。

【0113】

2. クチナシ青色素の色調の測定

得られたクチナシ青色素含有液を濾過し、不溶物が除去された色素液をイオン交換水で希釈して、色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ が0.1の溶液を調製した。この溶液の色調を分光測色計（CM-5 コニカミノルタジャパン株式会社）を用いて測定した。測定条件は、全透過測定で光源はD65、視野は10°、測定径20mm、照射径26mmに設定した。また、参考のために、食用青色1号をイオン交換水で希釈して、色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ が0.1の溶液についても、同様に色調の測定を行った。

10

【0114】

得られた結果を表1に示す。この結果、大豆ペプチド、ゴマペプチド、又は米ペプチドとゲニピンを空気非供給下で反応させた後に空気供給下で反応することにより得られたクチナシ青色素は、色価 $E^{10\%}_{1\text{cm}}$ を0.1の溶液にした場合に、 L^* 値が66以上、 a^* 値が-2.4以下、 b^* 値が-2.5以上を示し、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈し、従来のクチナシ青色素よりも食用青色1号に近い色調になることが確認された（実施例1-1～1-3）。一方、大豆ペプチド、ゴマペプチド、及び米ペプチド以外のペプチド又はアミノ酸を使用して、同様の条件で製造しても、赤みを帯びた青色（ a^* 値が高い値）になり、食用青色1号に近い色調にはできなかった（比較例1-1～1-15）。

【0115】

20

30

40

50

【表 1】

	添加したペプチド又はアミノ酸	極大吸収波 長 (nm)	測定結果					
			L*値	a*値	b*値	c*値	h*値	ΔE^*_{ab} 値 ^{#3}
実施例 1-1	大豆ペプチド (ハイニユート AM、不二製油株式会社) ^{#1}	605.5	67.74	-26.45	-22.35	34.63	220.20	24.41
実施例 1-2	ゴマペプチド (ゴマペプチド KM-20、丸善製薬株式会社) ^{#2}	609.5	65.75	-30.81	-20.98	37.27	214.25	25.25
実施例 1-3	米ペプチド (大米肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	604.5	70.19	-27.66	-24.53	36.97	221.57	22.20
比較例 1-1	魚コラーゲンペプチド (魚胶原三肽、武汉天天好生物制品有限公司)	600.0	67.11	-22.75	-29.08	36.92	231.96	28.05
比較例 1-2	クルミペプチド (核桃肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	602.0	66.67	-22.4	-29.15	36.76	232.46	28.58
比較例 1-3	エンドウ豆ペプチド (豌豆肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	602.0	67.28	-22.23	-30.03	37.36	233.49	28.48
比較例 1-4	ナマコペプチド (海參低聚肽、大连深蓝肽科技研发有限公司)	598.5	66.07	-21.11	-28.06	35.11	233.05	29.26
比較例 1-5	苦瓜ペプチド (苦瓜肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	600.0	65.5	-19.66	-31.04	36.74	237.65	31.43
比較例 1-6	ゼラチンペプチド (SCP-3100、新田ゼラチン株式会社)	598.0	62.37	-17.04	-26.64	31.62	237.40	33.89
比較例 1-7	カゼインペプチド (極東ペプトン、極東製薬工業株式会社)	597.5	62.49	-15.67	-31	34.74	243.18	35.73
比較例 1-8	トウモロコシペプチド (アミフレックス AL-1、MC フードスペシャリティーズ株式会社)	592.5	62.69	-13.57	-30.71	33.57	246.16	36.60
比較例 1-9	小麦ペプチド (プロエキス HVP-G、播州調味料株式会社)	593.0	62.45	-13.49	-30.71	33.54	246.29	36.83
比較例 1-10	ジャガイモペプチド (アミノサンゴールド、コスモ食品株式会社)	592.0	62.52	-12.08	-30.29	32.61	248.26	37.44
比較例 1-11	シルクパウダーペプチド (丹後シルクパウダー 100%、有限会社丹後ユウシルク Y)	589.0	61.46	-6.03	-31.31	31.89	259.10	42.28
比較例 1-12	ヒステジン	595.5	67.09	-17.74	-29.61	34.52	239.07	30.58
比較例 1-13	グルタミン酸	593.0	66.22	-13.51	-31.37	34.16	246.70	34.24
比較例 1-14	アルギニン	598.5	67.82	-19.91	-28.75	34.97	235.30	28.60
比較例 1-15	アスパラギン酸	593.0	67.25	-16.64	-30.94	35.13	241.73	31.54
参考例 (食用青色 1 号、共立食品株式会社)		630.0	90.72	-33.86	-18.79	38.72	209.03	基準

#1 「大豆ペプチド (ハイニユート AM、不二製油株式会社)」は、遊離アミノ酸含有量が 2 質量%であり、HPLC を用いたゲル濾過クロマトグラフィー法による分析結果では、分子量 2000 以下のペプチドのピーク面積は全ピーク面積の 78.1%である。

#2 「ゴマペプチド (ゴマペプチド KM-20、丸善製薬株式会社)」は、HPLC を用いたゲル濾過クロマトグラフィー法による分析結果では分子量 2000 以下のペプチドのピーク面積は全ピーク面積の 90%以上である。

#3 ΔE^*_{ab} 値は、食用青色 1 号 (参考例) を基準とした場合の色差の値を示す。

【0116】

また、実施例 1-1 ~ 1-3 で得られたクチナシ青色素含有液を濾過し、不溶物が除去された色素液をイオン交換水で希釈して、色価 $E^{1\%}_{1cm}$ が 0.05 の溶液を調製した。この溶液の色調を、積分球を取り付けた紫外可視分光光度計 (JASCO 製、V750) を用いて測定した。得られた結果を表 2 に示す。この結果からも、実施例 1-1 ~ 1-3 で得られたクチナシ青色素は、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈することが確認された。

【0117】

10

20

30

40

50

【表 2】

	添加したペプチド	測定結果		
		L*値	a*値	b*値
実施例 1-1	大豆ペプチド	76.07	-17.36	-16.42
実施例 1-2	ゴマペプチド	77.09	-18.82	-15.03
実施例 1-3	米ペプチド	74.93	-15.84	-17.41

【0118】

10

試験例 2

1. クチナシ青色素の製造（ジャーファーマンタを使用）（実施例2-1～2-5）

酸素ガス非供給条件下での反応において表3に示す大豆ペプチドを使用したこと以外は、前記試験例1と同様の方法で、クチナシ青色素を製造した。

【0119】

2. クチナシ青色素の色調の測定

得られたクチナシ青色素の色調を前記試験例1と同条件で測定した。得られた結果を表3に示す。この結果から、所定のペプチドとゲニピンを空気非供給下で反応させた後に空気供給下で反応させる場合、使用するペプチドは、遊離アミノ酸含有量が低い程、赤みが抑えられた良好な色調のクチナシ青色素が得られることが確認された。

20

【0120】

【表 3】

	使用したペプチド			測定結果				
	商品名	遊離アミノ酸含有量 (質量%)	分子量 2000 以下のペプチドの割合 (%)#	L*値	a*値	b*値	c*値	h*値
実施例 2-1	大豆ペプチド (大豆肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	未測定	80.0	66.8	-28.2	-23.53	36.73	219.84
実施例 2-2	大豆ペプチド (ハイニュートAM、不二製油株式会社)	2	78.1	67.74	-26.45	-22.35	34.63	220.20
実施例 2-3	大豆ペプチド (ハイニュートDA、不二製油株式会社)	5	76.8	69.18	-27.81	-24.28	36.92	221.12
実施例 2-4	大豆ペプチド (ハイニュートDC6、不二製油株式会社)	2	61.1	66.61	-26.3	-23.86	35.51	222.22
実施例 2-5	大豆ペプチド (ハイニュートD1、不二製油株式会社)	1	45.8	65.98	-26.6	-23.92	35.77	221.96

「分子量 2000 以下のペプチドの割合 (%)」は、HPLC を用いたゲル濾過クロマトグラフィー法による分析結果から、ペプチドの全ピーク面積に対する分子量 2000 以下のペプチドのピーク面積の割合を求めた値である。

30

【0121】

試験例 3

1. クチナシ青色素の製造（ジャーファーマンタを使用）（実施例3-1～3-3及び比較例3-1）

添加するペプチドとして大豆ペプチド（ハイニュートAM、不二製油株式会社）を使用し、酸素ガス非供給条件下での反応時間を0時間（比較例3）、4時間（実施例3-1）、5時間（実施例3-2）及び22時間（実施例3-3）に変更したこと以外は、前記試験例1と同様の方法で、クチナシ青色素を製造した。

40

【0122】

2. クチナシ青色素の製造（ジャーファーマンタを使用）（比較例3-2）

(1) ゲニピンの調製

前記試験例1に示す条件でゲニピン含有液を調製した。

【0123】

(2) 酸素ガス供給条件下での反応

50

リン酸水素ナトリウム・二水和物 5.5 g、リン酸三ナトリウム（無水）4.27 g、表 4 に示すペプチド又はアミノ酸 76.1 g を水 283 g に添加して溶解させた。得られた溶解液を、前記で得られたゲニピン含有液（全量）に混合し、更に pH を 7.5 に調整した。得られた溶液を 1 L 容のジャーファーマンタに移して、0.25 vvm の供給量で空気を溶液中に供給しながら、35、420 rpm の攪拌条件で、色価の上昇が横這いになるまで反応を行った。なお、反応時間は 33 時間であった。

【0124】

(3) 酸素ガス非供給条件下での反応

酸素ガス供給条件下での反応後の反応液を pH 7.0 に調整した後に、無通気状態で、35、空気を取り込まない緩やかな攪拌条件で、18 時間反応させた。斯くして、クチナシ青色素含有液（反応後の溶液）を得た。

10

【0125】

3. クチナシ青色素の色調の測定

得られたクチナシ青色素の色調を前記試験例 1 と同条件で測定した。得られた結果を表 4 に示す。表 4 には、食用青色 1 号をイオン交換水で希釈して調整された色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1 の溶液についても、同様に色調の測定を行った。この結果からも、所定のペプチドとゲニピンを空気非供給下で反応させた後に空気供給下で反応させる場合、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈するクチナシ青色素が得られることが確認された。

【0126】

また、所定のペプチドとゲニピンを空気供給下で反応させた後に空気非供給下での反応を行っても、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈するクチナシ青色素は得られなかった。

20

【0127】

【表 4】

	酸素ガス非供給条件下での反応時間 (hrs)	測定結果					
		L*値	a*値	b*値	c*値	h*値	ΔE^*_{ab} 値 [#]
比較例 3-1	0	65.87	-19.56	-30.99	36.65	237.74	31.16
実施例 3-1	4	67.60	-25.71	-28.45	38.35	227.90	26.35
実施例 3-2	5	67.89	-26.44	-26.80	37.65	225.39	25.31
実施例 3-3	22	67.97	-25.93	-28.14	38.27	227.34	25.84
比較例 3-2 (空気供給下での反応後に空気非供給下での反応を実施)		66.33	-22.09	-28.59	36.13	232.31	28.80
参考例 (食用青色 1 号、共立食品株式会社)		90.72	-33.86	-18.79	38.72	209.03	—

30

ΔE^*_{ab} 値は、食用青色 1 号（参考例）を基準とした場合の色差の値を示す。

【0128】

試験例 4

1. クチナシ青色素の製造（ジャーファーマンタを使用）（実施例 4-1）

添加するペプチドとして大豆ペプチド（ハイニユート AM、不二製油株式会社）を使用し、且つ酸素ガス非供給条件下での反応に供する溶液に糖転移ヘスペリジン（ α -トリグルコシルヘスペリジンの含有量は 85 質量%、 β -ヘスペリジン PA-T、江崎グリコ株式会社）を 1.2 g 添加したこと以外は、前記試験例 1 と同様の方法でクチナシ青色素の製造を行った。

40

【0129】

2. クチナシ青色素の製造（フラスコを使用）（実施例 4-2）

(1) ゲニピンの調製

まず、アカネ科クチナシの果実から抽出・精製したゲニポシド液（色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 1240、測定波長 238 nm；ゲニポシド含有量は約 45 質量%）を準備した。 α -グルコシダーゼ活性含有セルラーゼ（スミチーム C、1500 U/g、新日本化学工業株式会

50

社) 3.56 gを精製水39.11 gに溶解させ、前記ゲニポシド液35.5 g (反応開始時の色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が245、測定波長238 nm;ゲニポシド濃度は約0.2 mol/L)を添加した。次いで、溶液のpHを4.5に調整した後に、50にて18時間酵素反応を行い、ゲニピン含有液(反応後の溶液)を得た。

【0130】

(2) 酸素ガス非供給条件下での反応

リン酸水素ナトリウム・二水和物1.65 g、リン酸三ナトリウム(無水)1.28 g、大豆ペプチド(ハイニユートAM、不二製油株式会社)22.83 g、及び糖転移ヘスペリジン(トリグルコシルヘスペリジンの含有量は85質量%、GヘスペリジンP A-T、江崎グリコ株式会社)0.18 gを水75 gに添加して溶解させた。得られた溶解液を、前記で得られたゲニピン含有液(全量)に混合し、更にpHを7.5に調整した。得られた溶液を300 mL容のビーカーに移し、密閉して無通気状態で、35、攪拌(マグネチックスターラー)100 rpmの条件で、18時間反応させた。

10

【0131】

(3) 酸素ガス供給条件下での反応

酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液をpH7.0に調整した後に500 mL容のフラスコに移し、フラスコの口を空気雰囲気開放した状態で、35、攪拌150 rpmの条件で、色価の上昇が横這いになるまで30時間反応を行った。斯くして、クチナシ青色素含有液(反応後の溶液)を得た。

20

【0132】

3. クチナシ青色素の色調の測定

得られたクチナシ青色素含有液を用いて、前記試験例1と同様の方法で色調の測定を行った。得られた結果を表5に示す。表5には、食用青色1号をイオン交換水で希釈して調整された色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が0.1の溶液について色調の測定を行った結果も併せて示す。この結果、大豆ペプチドとゲニピンを酸素ガス非供給条件下での反応させる際に糖転移ヘスペリジンを添加しても、空気非供給下での反応後に空気の供給を行って反応させることにより、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈するクチナシ青色素が得られることが確認された。

【0133】

なお、実施例4-1のクチナシ青色素の極大吸収波長は605.5 nmであり、実施例4-2のクチナシ青色素の極大吸収波長は608.0 nmであった。

30

【0134】

【表5】

	製造条件		測定結果					ΔE^*_{ab} 値 [#]
	反応に使用した装置	糖転移ヘスペリジン添加	L*値	a*値	b*値	c*値	h*値	
実施例4-1	ジャーファーマンタ	有り	70.75	-28.74	-25.61	38.49	221.70	21.71
実施例4-2	フラスコ	有り	70.94	-28.54	-23.97	37.27	220.03	21.13
参考例(食用青色1号、共立食品株式会社)			90.72	-33.86	-18.79	38.72	209.03	—

40

ΔE^*_{ab} 値は、食用青色1号(参考例)を基準とした場合の色差の値を示す。

【0135】

試験例5

1. 精製ゲニピンを用いた青色色素の製造(フラスコを使用)(実施例5-1~5-4)

(1) 酸素ガス非供給条件下での反応

リン酸水素ナトリウム・二水和物1.65 g、リン酸三ナトリウム(無水)1.28 g、精製ゲニピン(ゲニピンの含有量は98質量%、商品名: Genipin、グリコ栄養食品

50

株式会社製) 8.31 g、表6に示すペプチド所定量、糖転移ヘスペリジン(-トリグルコシルヘスペリジンの含有量は85質量%、 GヘスペリジンPA-T、江崎グリコ株式会社) 0 g又は0.38 g、及び水残部を添加して合計180 gにして溶解させた。得られた溶解液のpHを7.5に調整した後に、300 mL容のビーカーに移し、密閉して無通気状態で、35℃、攪拌(マグネチックスターラー) 100 rpmの条件で、18時間反応させた。

【0136】

(2) 酸素ガス供給条件下での反応

酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液をpH7.0に調整した後に500 mL容のフラスコに移し、フラスコの口を空気雰囲気開放した状態で、35℃、攪拌150 rpmの条件で、色価の上昇が横這いになるまで48時間反応を行った。斯くして、青色色素含有液(反応後の溶液)を得た。

【0137】

2. 青色色素の色調の測定

得られた青色色素含有液を用いて、前記試験例1と同様の方法で色調の測定を行った。得られた結果を表6に示す。表6には、食用青色1号をイオン交換水で希釈して調整された色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が0.1の溶液について色調の測定を行った結果も併せて示す。この結果、精製ゲニピンを原料として使用しても、大豆ペプチド、ゴマペプチド、又は米ペプチドと空気非供給下で反応させた後に空気供給下で反応することにより得られた青色色素は、色価 $E^{10\%}_{1cm}$ を0.1の溶液にした場合に、 L^* 値が66以上、 a^* 値が-2.4以下、 b^* 値が-2.5以上を示し、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈することが確認された(実施例5-1~5-4)。

【0138】

即ち、本結果から、アカネ科クちなシから抽出・精製したゲニポシドから調製したゲニピンだけでなく、フイトから抽出・精製したゲニピン、フイトから抽出・精製したゲニポシドから調製したゲニピン、遺伝子工学的手法により得られたゲニピン、遺伝子工学的手法により得られたゲニポシドから調製したゲニピン等を使用しても、大豆ペプチド、ゴマペプチド、又は米ペプチドと空気非供給下で反応させた後に空気供給下で反応させることにより、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する青色色素が得られることが分かった。

【0139】

10

20

30

40

50

【表 6】

	添加したペブチド		極大吸収波長 (nm)	測定結果					
	種類	添加量		L*値	a*値	b*値	c*値	h*値	ΔE* _{a,b} 値#1
実施例 5-1	大豆ペブチド (ハイニユート AM、不二製油株式会社)	22.83g	607.5	67.77	-28.89	-23.87	37.48	219.56	24.03
実施例 5-2	大豆ペブチド (ハイニユート AM、不二製油株式会社)	22.83g	606.5	67.52	-28.90	-24.17	37.68	219.91	24.33
実施例 5-3	米ペブチド (大米胚粉、武汉天天好生物制品有限公司)	22.83g	608.0	68.02	-29.10	-24.18	37.83	219.72	23.81
実施例 5-4	ゴマペブチド (ゴマペブチド KM-20、丸善製菓株式会社)	30.43g	610.5	68.33	-31.92	-22.02	38.78	214.59	22.70
参考例 (食用青色 1号)	食用青色 1号、共立食品株式会社	—	630.0	90.72	-33.86	-18.79	38.72	209.03	基準

1 ΔE*_{a,b}値は、食用青色 1号 (参考例) を基準とした場合の色差の値を示す。

【 0 1 4 0 】

試験例 6

1. クチナシ青色素の製造 (フラスコを使用) (参考例 1)

特許文献 3 (国際公開第 2017/156744号) に記載の実施例 2 の手法に準じてクチナシ青色素を製造した。具体的には、ゲニピン (純度 98%、グリコ栄養食品株式会社) 0.6g、99.5%エタノール 9mL、及びグルタミン酸ナトリウム水和物 2.05g を水に溶解させた。得られた溶解液をフラスコに入れて、75 のウォーターバスにいれて、150ストローク/分の条件で 6 時間反応させた。反応後の反応液中のエタノールをエバポレーターで除去した後に凍結乾燥を行い、粉末状のクチナシ青色素を得た。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 1 】

2. クチナシ青色素の色調の測定

得られたクチナシ青色素をイオン交換水で希釈して調整された色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0 . 0 3 3 7 の溶液を調製し、色調を分光測色計（C M - 5 コニカミノルタジャパン株式会社）を用いて測定した。測定条件は、全透過測定で光源は D 6 5、視野は 1 0、測定径 2 0 mm、照射径 2 6 mm に設定した。また、参考のために、実施例 1-1 で得られたクチナシ青色素含有液をイオン交換水で希釈して調整された色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0 . 0 3 3 7 の溶液を調製して、これらの溶液についても同様に色調の測定を行った。

【 0 1 4 2 】

結果を表 7 に示す。この結果、特許文献 3 の手法で得られるクチナシ青色素では、 a^* 値が高く、赤み帯びた色調になることが確認された。

10

【 0 1 4 3 】

【表 7】

		測定結果				
		L*値	a*値	b*値	c*値	h*値
参考例 1	色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0 . 0 3 3 7 の溶液	86.43	-8.26	-13.52	15.85	238.57
実施例 1-1	色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0 . 0 3 3 7 の溶液	85.37	-14.51	-13.15	19.58	222.19

20

【 0 1 4 4 】

試験例 7

1. クチナシ青色色素の製造（比較例 7-1 ~ 7-3）

(1) ペプチド存在下における酵素処理及び酸素ガス非供給条件下での反応

先ず、アカネ科クチナシの果実から抽出・精製したゲニポシド液（色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 1 2 4 0、測定波長 2 3 8 nm；ゲニポシド含有量は約 4 5 質量%）を準備した。 - グルコシダーゼ活性含有セルラーゼ（スミチーム C、1 5 0 0 U / g、新日本化学工業株式会社） 3 . 5 6 g を精製水 3 9 . 1 1 g に溶解させ、前記ゲニポシド液 3 5 . 5 g（反応開始時の色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 2 4 5、測定波長 2 3 8 nm；ゲニポシド濃度は約 0 . 2 m o l / L）を添加した。次いで、リン酸水素一ナトリウム・二水和物 1 . 6 5 g、リン酸三ナトリウム（無水） 1 . 2 8 g、表 8 に示すペプチド所定量及び水残部を添加して合計 1 8 0 g にして溶解させた。得られた溶液を 3 0 0 m L 容のビーカーに移し、溶解液の pH を 4 . 5 ~ 4 . 8 に調整した後に、密閉して無通気状態で 5 0、攪拌（マグネチックスターラー） 1 0 0 r p m の条件で 1 8 時間、ペプチド存在下における酵素反応及び酸素ガス非供給条件下での反応を同時に行った。

30

【 0 1 4 5 】

(2) 酸素ガス供給条件下での反応

酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液を pH 7 . 0 に調整した後に 5 0 0 m L 容のフラスコに移し、フラスコの口を空気雰囲気開放した状態で、 3 5、攪拌 1 5 0 r p m の条件で、色価の上昇が横這いになるまで 4 8 時間反応を行った。斯くして、クチナシ青色素含有液（反応後の溶液）を得た。

40

【 0 1 4 6 】

2. 青色色素の色調の測定

得られたクチナシ青色色素含有液を用いて、前記試験例 1 と同様の方法で色調の測定を行った。得られた結果を表 8 に示す。表 8 には、食用青色 1 号をイオン交換水で希釈して調整された色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0 . 1 の溶液について色調の測定を行った結果も併せて示す。この結果、ゲニポシドからゲニピンへの酵素反応と同時に大豆ペプチド、ゴマペプチド、又は米ペプチドを空気非供給下で反応させた後に、空気供給下で反応を行うと、極大吸

50

収波長は低下し、色価 $E^{10\%}_{1cm}$ を 0.1 の溶液にした場合に、 L^* 値が 66 以上、 a^* 値が -2.4 以下、 b^* 値が -2.5 以上を全て満たさず、赤みが低減されている鮮明な青色の色調は認められなかった。

【0147】

【表8】

	添加したペプチド	添加量 (g)	極大吸 収波長 (nm)	測定結果					
				L^* 値	a^* 値	b^* 値	c^* 値	h^* 値	ΔE^*_{ab} 値#
比較例 7-1	大豆ペプチド (ハイニユートAM、不二製油株式会社)	22.83	601.5	64.98	-22.34	-25.26	33.72	228.52	28.93
比較例 7-2	米ペプチド (大米肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	22.83	601.5	64.77	-22.74	-24.80	33.65	227.49	28.86
比較例 7-3	ゴマペプチド (ゴマペプチド KM-20、丸善製薬株式会社)	30.43	606.0	64.67	-24.96	-22.94	33.90	222.59	27.84

ΔE^*_{ab} 値は、食用青色1号 (参考例) を基準とした場合の色差の値を示す。

【0148】

試験例8

1. クチナシ青色素の製造 (フラスコを使用) (実施例8-1)

(1) ゲニピンの調製

先ず、アカネ科クチナシの果実から抽出・精製したゲニポシド液 (色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 1335.48、測定波長 238 nm; ゲニポシド含有量は約 45 質量%) を準備した。
- グルコシダーゼ活性含有セルラーゼ (スミチームC、1500 U/g、新日本化学工業株式会社) 4.17 g を精製水 41.67 g に溶解させ、前記ゲニポシド液 41.67 g (反応開始時の色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 245、測定波長 238 nm; ゲニポシド濃度は約 0.2 mol/L) を添加した。次いで、溶液の pH を 4.5 に調整した後に、50 にて 18 時間酵素反応を行い、ゲニピン含有液 (反応後の溶液) を得た。

【0149】

(2) 酸素ガス非供給条件下での反応

リン酸水素ナトリウム・二水和物 1.65 g、リン酸三ナトリウム (無水) 1.28 g、及び米ペプチド (大月偏に太米粉、武さんずい偏に又天天好生物制品有限公司) 22.83 g を水 75 g に添加して溶解させた。得られた溶解液を、前記で得られたゲニピン含有液 (全量) に混合し、更に pH を 7.5 に調整した。得られた溶液を 300 mL 容のビーカーに移し、密閉して無通気状態で、35、攪拌 (マグネチックスターラー) 100 rpm の条件で、18 時間反応させた。

【0150】

(3) 酸素ガス供給条件下での反応

酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液を pH 7.0 に調整した後に 500 mL 容のフラスコに移し、フラスコの口を空気雰囲気開放した状態で、35、攪拌 150 rpm の条件で、色価の上昇が横這いになるまで 48 時間反応を行った。斯くして、クチナシ青色素含有液 (反応後の溶液) を得た。

【0151】

2. クチナシ青色素の耐酸加熱性の測定

得られたクチナシ青色素含有液を pH 2.5 の 0.1 M クエン酸緩衝液で希釈した溶液 A (色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1) を調製した。また、得られたクチナシ青色素含有液を pH 6.0 の 0.1 M クエン酸緩衝液で希釈した溶液 B (色価 $E^{10\%}_{1cm}$ が 0.1) を調製した。溶液 A 及び B を 5 にて約 18 時間静置した後、溶液 A に対しては 90 で 15 分間加熱処理を行った。なお、溶液 B に対しては加熱処理を行なわなかった。溶液 A 及び B を

10

20

30

40

50

遠心分離機にて3,000rpmで10分間遠心処理し、上清の600nm付近の極大吸収波長における吸光度を測定した。溶液Bの吸光度を100%とした場合の溶液Bに対する溶液Aの吸光度の割合を求め、これをpH2.5条件下における90で15分間加熱処理した際の残存率とした。

【0152】

また、加熱処理後の溶液Aと、加熱処理を行っていない溶液B(5にて約18時間静置後)の色調を分光測色計(CM-5 コニカミノルタジャパン株式会社)を用いて測定した。測定条件は、全透過測定で光源はD65、視野は10、測定径20mm、照射径26mmに設定した。

【0153】

結果を表9に示す。この結果から、米ペプチドとゲニピンを酸素ガス非供給条件下での反応させた後に酸素ガス供給下で反応させて得られたクチナシ青色素は、pHを2.5の条件(色価E^{10%}_{1cm}が0.1)にして加熱しても、L*値が64以上、a*値が-1.4以下、及びb*値が-3.1以上であり、更に加熱していないpH6.0の条件(色価E^{10%}_{1cm}が0.1)と比較してもE*_{ab}が3.5以下になっており、優れた耐酸加熱性を有していた。

【0154】

【表9】

		測定結果					
		残存率(%)	L*値	a*値	b*値	c*値	ΔE* _{ab} 値#
実施例8-1	加熱処理後の溶液A (pH2.5)	97.63	66.75	-21.98	-24.01	32.55	2.89
	加熱処理していない溶液B (pH6.0)	—	68.27	-24.43	-24.26	34.43	基準

ΔE*_{ab}値は、加熱処理していない溶液Bを基準とした場合の色差の値を示す。

【0155】

試験例9

1. 精製ゲニピンを用いた青色色素の製造(フラスコを使用)(実施例5-1~5-4)

(1) 酸素ガス非供給条件下での反応

リン酸水素ナトリウム・二水和物1.65g、リン酸三ナトリウム(無水)1.28g、精製ゲニピン(ゲニピンの含有量は98質量%、商品名:Genipin、グリコ栄養食品株式会社製)8.31g、及び米ペプチド(大月偏に太米粉、武さんずい偏に又天天好生物制品有限公司)22.83gを水145.93gに添加して溶解させた。得られた溶解液のpHを7.5に調整した後に、300mL容のビーカーに移し、密閉して無通気状態で、35、撹拌(マグネチックスターラー)1000rpmの条件で、18時間反応させた。

【0156】

(2) 酸素ガス供給条件下での反応

酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液をpH6.0に調整した後に500mL容のフラスコに移し、フラスコの口を空気雰囲気開放した状態で、35、撹拌150rpmの条件で、色価の上昇が横這いになるまで46時間反応を行った。斯くして、青色色素含有液(反応後の溶液)を得た。

【0157】

2. 青色色素の耐酸加熱性の測定

前記試験例8と同条件で耐酸加熱性の測定を行った。結果を表10に示す。この結果、精製ゲニピンと米ペプチドとを酸素ガス非供給条件下での反応させた後に酸素ガス供給下で反応させて得られた青色色素は、pHを2.5の条件(色価E^{10%}_{1cm}が0.1)にして加熱しても、L*値が64以上、a*値が-1.4以下、及びb*値が-3.1以上であり、更に加熱していないpH6.0の条件(色価E^{10%}_{1cm}が0.1)と比較してもE*_{ab}が3

10

20

30

40

50

. 5 以下になっており、優れた耐酸加熱性を有していた。

【 0 1 5 8 】

即ち、本結果から、ゲニピンはアカネ科クチナシ由来のものでなくても、米ペプチド空気非供給下で反応させた後に空気供給下で反応させることにより、優れた耐酸加熱性を有する青色色素が得られることが明らかとなった。

【 0 1 5 9 】

【表 1 0】

		測定結果					
		残存率(%)	L * 値	a * 値	b * 値	c * 値	ΔE^*_{ab} 値 [#]
実施例 9-1	加熱処理後の溶液 A (pH2.5)	102.0	65.22	-23.91	-27.63	36.54	3.41
	加熱処理していない溶液 B (pH6.0)	—	67.78	-26.12	-27.20	37.71	基準

10

ΔE^*_{ab} 値は、加熱処理していない溶液 B を基準とした場合の色差の値を示す。

【 0 1 6 0 】

試験例 1 0

1. クチナシ青色色素の製造(フラスコを使用)(比較例 7-1 ~ 7-5)

米ペプチドに代えて表 1 0 に示すペプチド又はアミノ酸を使用したこと以外は、前記実施例 8-1 と同条件でクチナシ青色色素を製造した。

20

【 0 1 6 1 】

2. クチナシ青色色素の耐酸加熱性の測定

前記試験例 8 と同条件で耐酸加熱性の測定を行った。結果を表 1 1 に示す。この結果、米ペプチド以外のペプチドとゲニピンを空気非供給下での反応後に空気供給下での反応を行っても、得られたクチナシ青色色素は耐酸加熱性を具備できないことが確認された。

【 0 1 6 2 】

【表 1 1】

	添加したペプチド		測定結果				
			L * 値	a * 値	b * 値	c * 値	ΔE^*_{ab} 値 [#]
比較例 8-1	シルクパウダーペプチド (丹後シルクパウダー 1 0 0 %、有限会社丹後ユウシルク Y)	加熱処理後の溶液 A (pH2.5)	64.38	-1.27	-25.04	25.07	5.72
		加熱処理していない溶液 B (pH6.0)	63.26	-3.65	-30.11	30.33	—
比較例 8-2	エンドウ豆ペプチド (豌豆肽粉、武汉天天好生物制品有限公司)	加熱処理後の溶液 A (pH2.5)	65.45	-17.29	-29.50	34.19	6.17
		加熱処理していない溶液 B (pH6.0)	68.96	-17.31	-24.42	29.93	—
比較例 8-3	ナマコペプチド (海參低聚肽、大连深蓝科技研发有限公司)	加熱処理後の溶液 A (pH2.5)	66.53	-15.33	-23.03	27.67	6.38
		加熱処理していない溶液 B (pH6.0)	66.75	-19.75	-27.62	33.95	—
比較例 8-4	魚コラーゲンペプチド (魚胶原三肽、武汉天天好生物制品有限公司)	加熱処理後の溶液 A (pH2.5)	58.32	-14.24	-31.41	34.48	8.04
		加熱処理していない溶液 B (pH6.0)	62.10	-16.52	-30.00	34.25	—
比較例 8-5	ヒスチジン	加熱処理後の溶液 A (pH2.5)	68.18	-13.24	-26.92	30.00	3.20
		加熱処理していない溶液 B (pH6.0)	69.67	-15.19	-27.23	31.18	—

30

ΔE^*_{ab} 値は、加熱処理していない溶液 B を基準とした場合の色差の値を示す。

【 0 1 6 3 】

製造例 1

ゲニパアメリカーナの果肉を細切した後に、2 倍量の (6 0 % エタノール水溶液) を抽出溶媒として使用して溶媒抽出処理を行う。溶媒抽出処理後、濾過にて固形分を除去して抽出液を回収する。得られた抽出液に対して等量の酢酸エチルを添加し攪拌することにより、ゲニピンを酢酸エチル層中に溶解させる。次いで、酢酸エチル層を分離し、減圧濃縮

40

50

、及び結晶化を行った後に、ゲニピン結晶を回収して乾燥させる、斯くして、ゲニピン結晶（純度70質量%以上）が得られる。

【0164】

次いで、前記で得られたゲニピン結晶8.31g、リン酸水素ナトリウム・二水和物1.65g、リン酸三ナトリウム（無水）1.28g、大豆ペプチド、ゴマペプチド又は米ペプチド22.83gを水145.93gに添加して溶解させる。得られた溶解液のpHを7.5に調整した後に、300mL容のビーカーに移し、密閉して無通気状態で、35℃、攪拌（マグネチックスターラー）100rpmの条件で、18時間反応させる。次いで、酸素ガス非供給条件下での反応後の反応液をpH7.0に調整した後に500mL容のフラスコに移し、フラスコの口を空気雰囲気開放した状態で、35℃、攪拌150rpmの条件で、色価の上昇が横這いになるまで48時間反応を行う。斯くして、ゲニパ
アメリカナ由来のゲニピンを原料として、明るく赤みが低減されている鮮明な青色の色調を呈する青色色素含有液が得られる。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (72)発明者 山下 順也
大阪府大阪市西淀川区歌島四丁目 6 番 5 号 グリコ栄養食品株式会社内
- (72)発明者 三浦 歌織
大阪府大阪市西淀川区歌島四丁目 6 番 5 号 グリコ栄養食品株式会社内
- (72)発明者 藤森 賢一
大阪府大阪市西淀川区歌島四丁目 6 番 5 号 グリコ栄養食品株式会社内
- 審査官 井上 政志
- (56)参考文献 国際公開第 2 0 0 3 / 0 2 9 3 5 8 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 1 8 / 0 2 9 3 3 8 (W O , A 1)
特開昭 5 2 - 0 5 3 9 3 4 (J P , A)
特開平 0 1 - 1 7 9 6 9 0 (J P , A)
特表 2 0 1 8 - 5 3 6 7 3 0 (J P , A)
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
A 2 3 L、C 0 9 B