

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6501267号
(P6501267)

(45) 発行日 平成31年4月17日 (2019. 4. 17)

(24) 登録日 平成31年3月29日 (2019. 3. 29)

(51) Int. Cl.

F 1

A 2 3 L 3/3544 (2006. 01)

A 2 3 L 3/3544

A 2 3 L 5/00 (2016. 01)

A 2 3 L 5/00

Z

A 2 3 L 29/00 (2016. 01)

A 2 3 L 29/00

請求項の数 7 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2016-131996 (P2016-131996)
 (22) 出願日 平成28年7月1日 (2016. 7. 1)
 (65) 公開番号 特開2017-12168 (P2017-12168A)
 (43) 公開日 平成29年1月19日 (2017. 1. 19)
 審査請求日 平成29年6月20日 (2017. 6. 20)
 (31) 優先権主張番号 特願2015-133211 (P2015-133211)
 (32) 優先日 平成27年7月2日 (2015. 7. 2)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 399030060
 学校法人 関西大学
 大阪府吹田市山手町3丁目3番35号
 (73) 特許権者 595068232
 マルコメ株式会社
 長野県長野市大字安茂里883番地
 (74) 代理人 110001726
 特許業務法人綿貫国際特許・商標事務所
 (72) 発明者 河原 秀久
 大阪府吹田市山手町3丁目3番35号
 学校法人関西大学 化学生命工学部内
 (72) 発明者 小池 祥悟
 長野県長野市安茂里883 マルコメ株式
 会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 食品の褐変化抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記(1)～(3)の理化学的性質を有するフラボノイドを有効成分として含有することを特徴とする食品の褐変化抑制剤。

(1) 質量分析 (LC - TOF - MS) : $m/z = 255.0616 [M+H]^+$ 、 $m/z = 253.0501 [M-H]^-$

(2) 分子量 : 254

(3) 分子式 : $C_{16}H_{14}O_3$

【請求項 2】

さらに、ダイゼインを有効成分として含有することを特徴とする請求項1に記載の食品の褐変化抑制剤。

【請求項 3】

さらに、ゲニステインを有効成分として含有することを特徴とする請求項1に記載の食品の褐変化抑制剤。

【請求項 4】

味噌を空气中でスプレードライ装置によってスプレードライして乾燥味噌を製造する際、前記スプレードライ装置に付着した味噌を過加熱して焙煎味噌を製造する工程と、

得られた焙煎味噌からエタノールで抽出してエタノール抽出物を得る工程とを含むことを特徴とする食品の褐変化抑制剤の製造方法。

【請求項 5】

10

20

味噌を空气中で加熱して焙煎味噌を製造する工程と、
得られた焙煎味噌からエタノールで抽出してエタノール抽出物を得る工程とを含み、
前記エタノール抽出物に、下記(1)～(3)の理化学的性質を有するフラボノイドを
有効成分として含有することを特徴とする食品の褐変抑制剤の製造方法。

(1) 質量分析(LC-TOF-MS): $m/z = 255.0616 [M+H]^+$ 、 $m/z = 253.0501 [M-H]^-$

(2) 分子量: 254

(3) 分子式: $C_{16}H_{14}O_3$

【請求項6】

前記エタノール抽出物に、さらに、ダイゼインを有効成分として含有することを特徴と
する請求項5に記載の食品の褐変抑制剤の製造方法。

10

【請求項7】

前記エタノール抽出物に、さらに、ゲニステインを有効成分として含有することを特徴
とする請求項5に記載の食品の褐変抑制剤の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、食品の褐変を抑制する食品の褐変抑制剤に関する。

【背景技術】

【0002】

20

食品の品質を、その外観、風味、食感などの指標により判断することがある。新鮮な食
品や製造してからの時間が短い食品の色と比較して、同じような色の食品であれば、品質
が維持されているとみなすことがある。

【0003】

食品の色を変化させる機構の一つに糖とアミノ酸との反応であるメイラード反応がある。
メイラード反応では、最終的にメラノイジンと呼ばれる重合体の褐色生成物などが生成
される。メイラード反応を阻害する物質として、食品加工において発生する物質を原料と
して用いて製造したメイラード反応阻害剤がある。例えば、醤油粕抽出物、あん粕抽出物
、そばがら水抽出物を含むメイラード反応阻害剤が特許文献1に開示されている。その他
、摘果ブドウ抽出物を含む抗糖化剤が特許文献2に開示されている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】特開2006-256977号公報

【特許文献2】特開2012-116835号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかしながら、特許文献1および特許文献2に開示されるメイラード反応阻害剤は必ず
しも実用化に至っていないという課題がある。

40

【0006】

そこで本発明は上記課題を解決すべくなされ、その目的とするところは、焙煎味噌を利
用して食品の褐変を抑制することができる食品の褐変抑制剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明の食品の褐変抑制剤は、下記(1)～(3)の理化学的性質を有するフラボノ
イドを有効成分として含有することを特徴とする。

(1) 質量分析(LC-TOF-MS): $m/z = 255.0616 [M+H]^+$ 、 $m/z = 253.0501 [M-H]^-$

(2) 分子量: 254

50

(3) 分子式 : $C_{16}H_{14}O_3$

【 0 0 1 3 】

また、本発明において、さらに、ダイゼインを有効成分として含有してもよい。

【 0 0 1 4 】

また、本発明において、さらに、ゲニステインを有効成分として含有してもよい。

【 0 0 1 6 】

上記の目的を達成するため、本発明の食品の褐変化抑制剤の製造方法は次の構成を備える。すなわち本発明は、味噌を空气中でスプレードライ装置によってスプレードライして乾燥味噌を製造する際、前記スプレードライ装置に付着した味噌を過加熱して焙煎味噌を製造する工程と、得られた焙煎味噌からエタノールで抽出してエタノール抽出物を得る工程とを含むことを特徴とする。この構成によれば、焙煎味噌のエタノール抽出物に食品の褐変化を抑制する物質が含まれる。

10

【 0 0 1 8 】

また、本発明の食品の褐変化抑制剤の製造方法は、味噌を空气中で加熱して焙煎味噌を製造する工程と、得られた焙煎味噌からエタノールで抽出してエタノール抽出物を得る工程とを含み、前記エタノール抽出物に、下記 (1) ~ (3) の理化学的性質を有するフラボノイドを有効成分として含有することを特徴とする食品の褐変化抑制剤の製造方法。

(1) 質量分析 (L C - T O F - M S) : $m/z = 255.0616 [M+H]^+$ 、 $m/z = 253.0501 [M-H]^-$

(2) 分子量 : 254

20

(3) 分子式 : $C_{16}H_{14}O_3$

【 0 0 2 0 】

また、本発明において、前記エタノール抽出物に、さらに、ダイゼインを有効成分として含有してもよい。

【 0 0 2 1 】

また、本発明において、前記エタノール抽出物に、さらに、ゲニステインを有効成分として含有してもよい。

【 発明の効果 】

【 0 0 2 3 】

本発明に係る食品の褐変化抑制剤によれば、焙煎味噌を利用して食品の褐変化を抑制することができる食品の褐変化抑制剤を提供できる。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 4 】

【 図 1 】 食品のエタノール抽出物添加による醤油の色濃淡安定率を示す。

【 図 2 】 分離された各フラクションを試験管に入れたときの外観写真である。

【 図 3 】 $F_r . 4$ をゲルろ過クロマトグラフィーにより分離し、エタノールの溶出量に対する紫外線吸光度 (A_{254}) のグラフである。

【 図 4 】 液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定したピーク 1 の M S スペクトルである。

【 図 5 】 液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定したピーク 2 の M S スペクトルである。

40

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 5 】

本実施形態の褐変化抑制剤の原料となる物質は味噌である。食品の褐変化抑制剤は、焙煎味噌から抽出される抽出物を含有するものであり、焙煎味噌の抽出物の抽出には極性溶媒を用い、例えば、エタノールを用いて行うことができる。一般的な抽出方法によって焙煎味噌の抽出物は得られ、例えばソックスレー抽出器を用いたソックスレー抽出法を採用し得る。焙煎味噌から抽出されたエタノール抽出物を含有することにより、食品の褐変化を抑制することができる。

【 0 0 2 6 】

50

焙煎味噌は、味噌を鉄板などの上で加熱する通常の焙煎方法によって得ることができる。あるいは、乾燥味噌の製造工程において大量に発生して廃棄される味噌を有効利用できる。乾燥味噌の製造方法として、スプレードライ装置によって、液状味噌をノズルから加熱空気中に噴霧して粉状に乾燥するスプレードライ法がある。スプレードライ装置によって味噌を乾燥すると、製品となる乾燥味噌が得られると共に、スプレードライ装置におけるノズルや液状味噌が噴霧される容器の壁面に付着した液滴が過加熱された、いわゆる焦げ味噌が生じる。通常この過加熱された焦げ味噌は廃棄される。この焦げ味噌は焙煎味噌と呼べるものであって、本実施形態では、この焦げ味噌を焙煎味噌として有効利用するものである。焙煎味噌は、製品となる乾燥味噌と同様に粉末状であり、乾燥味噌よりも褐色が濃い。

10

【0027】

焙煎味噌を得る味噌は、その原料、配合量、熟成期間などは特に限定されない。すなわち、味噌の種類は特に限定されなく、色の違いによる赤味噌、白味噌、原料の違いによる米味噌、豆味噌、麦味噌を用いることができる。焙煎されることで元の味噌よりも褐色が濃くなるので、焙煎時間が長くなるとY値は低くなる。

【0028】

褐変化が抑制される食品としては、醤油、味噌などが挙げられる。醤油や味噌などの食品に褐変化抑制剤を添加する際、褐変する前の食品に褐変化抑制剤を添加することで、褐変化の進行を抑制できる。

【0029】

また、本実施形態の食品の褐変化抑制剤は、焙煎味噌からエタノールで抽出したエタノール抽出物の他に、食品を原料とする他の抽出物が含まれていてもよい。例えば、しらこたん白抽出物であるプロタミンが含まれていてもよい。これにより、より高い食品の褐変化抑制効果が得られる。

20

【0030】

本実施形態の食品の褐変化抑制剤として、味噌の抽出物をそのまま用いてもよく、適当な担体または賦形剤等と混合して用いてもよい。担体または賦形剤は毒性が低いもの、あるいはないものが好ましく、医薬上許容されるものが特に好ましい。本実施形態の食品の褐変化抑制剤に使用可能な担体または賦形剤の例としては、精製水、エタノール、食用油、デンプン、セルロース、糖蜜、砂糖、乳糖、タルク等が挙げられるがこれらに限らない。

30

【0031】

焙煎味噌からエタノールで抽出したエタノール抽出物には、質量分析、NMR分析の結果、分子量254（分子式： $C_{16}H_{14}O_3$ 、 $C_{15}H_{10}O_4$ ）、分子量270（分子式： $C_{15}H_{10}O_5$ ）であるフラボノイドが含まれている。これらの物質はいずれも褐変化抑制には有効である。エタノール抽出物には、分子式が $C_{15}H_{10}O_5$ であるゲニステインが含まれている。焙煎味噌には、分子量254の物質、分子量270であるゲニステインは、少なくともどちらか一方の物質が含まれ、分子量254の物質とゲニステインが両方含まれている場合でも、分離することは可能である。

【実施例】

40

【0032】

以下、実施例を挙げて説明するが、本実施形態はこれらに限定されるものではない。

【0033】

[実施例1] [焙煎味噌とその他食品との比較]

(焙煎味噌の色)

焙煎味噌について測色色差計（日本電色工業株式会社製）（C光源）を用いて、味噌の色を示すXYZ表色系（Yxy表色系）のY値を測定した。比較として、スプレードライされた淡色系の乾燥味噌、スプレードライされた赤色系の乾燥味噌もY値を測定した。スプレードライされた淡色系の乾燥味噌のY値は46.0～51.0の範囲にあり、スプレードライされた赤色系の乾燥味噌のY値は25.5～30.5の範囲にあった。焙煎味噌

50

のY値は21.6であり、この焙煎味噌は褐色が濃かった。

【0034】

(焙煎味噌からの抽出)

ソックスレー抽出法により、焙煎味噌のエタノール抽出を実施した。ミキサーで粉碎した焙煎味噌20gを円筒濾紙に入れ、ソックスレー抽出器の中間の位置にセットした。エタノール150mLを下部のフラスコに入れ、ソックスレー抽出を60℃で48h加熱し、焙煎味噌のエタノール抽出物を得た。

【0035】

(色濃淡安定率試験)

醤油の色は時間が経過するに連れ、赤褐色から黒色に変化することを利用し、試料のエタノール抽出物を醤油に添加し、色の経時変化を観察した。なお、密封パックされ、赤色のまま販売されている醤油を使用した。醤油10mLに対して、焙煎味噌のエタノール抽出物1%(V/V)を添加した。室温で保存して、色の変化を色彩色差計(コニカミノルタ製、CR-5)で測定した。色の濃淡であるL*値を測定し、L*値の変化を観察した。L*値は、淡い色ほど高い値を示し、濃い色ほど低い値を示す。本試験では、高いL*値を保っているほど効果が高いとした。なお、色濃淡安定率(%)は以下の数式1を用いて算出した。

【0036】

【数1】

$$\text{色濃淡安定率(\%)} = 100 - \left(\frac{0 \text{ 日目の } L^* \text{ 値} - X \text{ 日目の } L^* \text{ 値}}{0 \text{ 日目の } L^* \text{ 値}} \times 100 \right)$$

【0037】

焙煎味噌の他、比較として生味噌(赤味噌)、大豆の脱皮、栗の渋皮、梅の熱水抽出後残渣、梅の種、焼き芋、生芋について、上記焙煎味噌と同じ抽出条件で各食品のエタノール抽出物を得た。そして、同じ試験条件で、エタノール抽出物を醤油に添加し、色の経時変化を観察した。また、ブランク試料についても試験を実施した。

【0038】

図1に、焙煎味噌を含む食品のエタノール抽出物添加による醤油の色濃淡安定率を示し、横軸に経過時間を示し、縦軸に色濃淡安定率を示す。また、表1に4日目、7日目における色濃淡安定率(%)を示す。焙煎味噌を添加した醤油の色は、ブランクよりも色の濃淡安定率が10%以上高く、その他の食品と比較して濃淡安定率が高かった。また、焙煎味噌のエタノール抽出物の濃度を変え、濃縮乾固することにより、4つの濃度19、38、56、75mg/mLの濃度に調製し、醤油による色濃淡安定率試験を行った。その結果、19~56mg/mL間では、添加量が増えるにつれて、濃淡安定率が上昇したのに対して、56mg/mLと75mg/mLでは、大きな差がなかった。

【0039】

【表1】

	ブランク	焙煎味噌	赤味噌	梅の種	栗渋皮	梅残渣	ワサビ菜	生芋	栗イガ	焼きイモ
4日目	55	68	57	60	52	56	55	61	49	57
7日目	38	48	43	42	36	39	39	44	36	40

【0040】

また、DPPHラジカル消去活性を測り、焙煎味噌を含む上記各食品の抗酸化力を測定した。この結果、焙煎味噌のエタノール抽出物のDPPHラジカル消去活性が24%であり、生芋、焼きイモ、ワサビ菜、栗渋皮と比較して低かった。栗渋皮はポリフェノールによる高い抗酸化能があるのに対し、焙煎味噌のエタノール抽出物は抗酸化能が高くないことが示された。これにより、醤油の色の変化を抑制しているのは抗酸化作用ではないと言える。

【0041】

また、醤油のメイラード反応系とは異なるグルコース・B S A系により、上記各食品のエタノール抽出物に対してA G E s生成阻害試験を行った。この結果、焙煎味噌は、A G E s生成阻害率が14%と低い阻害率であるのに対し、栗の渋皮が50%という高い阻害率を示した。

【0042】

[実施例2] [分画した焙煎味噌のエタノール抽出物の褐変化抑制]

(焙煎味噌成分の分画)

上述のソックスレー抽出法により、焙煎味噌のエタノール抽出を実施し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、エタノール抽出物を分画した。

【0043】

(1) カラムの調製

吸着剤には、シリカゲル60(カラムクロマトグラフィー用70-230 mesh ASTM)(Merck)を使用した。以後シリカゲルと記載する。乾熱機でシリカゲルを十分な乾燥状態にし、その後は最初の移動相であるヘキサンに浸し、懸濁させた。その後、クロマトグラム管(3cm×30cm)に上記で準備したヘキサンに懸濁させたシリカゲルを注入した。コックを開き、溶媒を流出させながら、気泡が入らないように注意し、クロマトグラム管に均一に充填させてカラムを調製した。最後に、クロマトグラム管の内径の大きさに合わせて切った濾紙をシリカゲルの上部に静置し、カラムの表面を水平にした。

・担体量(シリカゲル): 70.35g

・カラム体積: 140.7mL

【0044】

(2) 試料の注入

焙煎味噌エタノール抽出物の溶解量が1gになるように調整して、焙煎味噌エタノール抽出物をシリカゲルに浸み込ませた。ドラフト内で一晩放置して溶媒を除去した後、少量の移動相の溶媒に懸濁し、カラム上部の濾紙の上に静置した。

【0045】

(3) 試料の溶出

溶出溶媒はヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム、メタノールを使用した。溶出溶媒は、以下の通り行い、各液500mLずつ流し、500mLずつ回収した。

[Fr. 1] ヘキサン100%

[Fr. 2] ヘキサン: 酢酸エチル = 4:1 (v/v)

[Fr. 3] ヘキサン: 酢酸エチル = 2:1 (v/v)

[Fr. 4] ヘキサン: 酢酸エチル = 1:1 (v/v)

[Fr. 5] クロロホルム100%

[Fr. 6] クロロホルム: メタノール = 9:1 (v/v)

[Fr. 7] クロロホルム: メタノール: 水 = 8:2:0.1 (v/v/v)

[Fr. 8] クロロホルム: メタノール: 水 = 7:3:0.5 (v/v/v)

[Fr. 9] クロロホルム: メタノール: 水 = 6:4:1 (v/v/v)

[Fr. 10] クロロホルム: メタノール: 水 = 5:5:1.5 (v/v/v)

[Fr. 11] メタノール: 水 = 9:1 (v/v)

【0046】

(4) 回収物の溶解

エバポレーターを用いて溶媒を飛ばし、析出した回収物をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶かした。

【0047】

表2にオープンカラムクロマトグラフィーを用い、溶媒1~11(Fr. 1~11)により焙煎味噌エタノール抽出物を分離した結果を示す。エタノール抽出物からカラムを用いて分離したときの収率はおよそ91%であり、ほぼ回収できた。図2にオープンカラムクロマトグラフィーにより分離された各フラクションを試験管に入れたときの外観写真を

10

20

30

40

50

示す。極性が高く、褐色物質の量が全体の大半を占めていた。この色の多くは、焙煎味噌の褐色物質である A G E s の色であると考えられる。極性が低い部分には、色の薄い成分が多く回収された。

【 0 0 4 8 】

【表 2】

溶出液	収量	収率 (%)
Fr.1 ヘキサン	17 mg	1.86
Fr.2 ヘキサン/酢酸エチル (4:1)	43 mg	4.70
Fr.3 ヘキサン/酢酸エチル (2:1)	28 mg	3.05
Fr.4 ヘキサン/酢酸エチル (1:1)	12 mg	1.31
Fr.5 クロロホルム	5 mg	0.54
Fr.6 クロロホルム/メタノール (9:1)	173 mg	18.8
Fr.7 クロロホルム/メタノール/水 (8:2:0.1)	102 mg	11.1
Fr.8 クロロホルム/メタノール/水 (7:3:0.5)	229 mg	25.0
Fr.9 クロロホルム/メタノール/水 (6:4:1)	187 mg	20.4
Fr.10 クロロホルム/メタノール/水 (5:5:1.5)	84 mg	9.17
Fr.11 メタノール/水 (9:1)	35 mg	3.82
計	916 mg	—

【 0 0 4 9 】

(焙煎味噌フラクションを用いた色濃淡安定率)

醤油の褐変色素産生系である D - X y l o s e ・ G l y c i n e 系において試験を実施した。D - X y l o s e と G l y c i n e が 0 . 1 M になるように、D - X y l o s e と G l y c i n e を 6 7 m M リン酸緩衝液 (p H 7 . 2) に添加した。さらに、分画した焙煎味噌エタノール抽出物の各フラクションである F r . 1 ~ 1 1 を 1 0 m g / m L に調製し、6 7 m M リン酸緩衝液 (p H 7 . 2) 1 0 m L に対して 1 0 0 μ L を添加した。調製した液体を、1 5 m L 容ファルコンチューブに 5 m L ずつ分注し、恒温恒湿度器で、6 0 、 5 0 % でインキュベートした。色の変化を、色彩色差計 (コニカミノルタ製、C R - 5) で測定した。なお、褐変色素が生成された後の D - X y l o s e ・ G l y c i n e 系を含む溶液の色は 2 日間でも十分な変化が見られたことから、試験期間は 2 日間とし、0 日目の L * 値から 2 日目の L * 値を引いた L * 値で比較した。併せて a * 値、b * 値も測定し、0 日目と 2 日目における差である a * 値、b * 値を比較した。

【 0 0 5 0 】

表 3 に焙煎味噌の各フラクションを用いた溶液の L * 値を示す。L * 値は、すべてのフラクションでブランクよりも小さく、褐変化を抑制していた。また、極性の低いフラクションである F r . 1 ~ 4 において高い褐変化抑制効果を示した。その一方で a * 値、b * 値に着目するとブランクよりも変化しており、かつその値からブランクよりも赤味と黄味も増していることがわかった。

【 0 0 5 1 】

【表 3】

		ΔL^* 値	Δa^* 値	Δb^* 値
極性	ブランク	63.4	41.0	45.5
低い ↓	Fr.1	57.4	46.3	68.1
	Fr.2	52.7	45.6	65.0
	Fr.3	56.6	46.6	63.8
	Fr.4	52.8	42.5	54.2
	Fr.5	54.8	44.3	58.7
	Fr.6	58.8	45.9	64.0
	Fr.7	58.2	46.8	65.9
	Fr.8	61.0	44.5	61.5
	Fr.9	59.9	44.4	58.7
	Fr.10	60.7	46.9	62.6
高い	Fr.11	60.2	45.7	61.8

10

【0052】

【実施例 3】 [焙煎味噌のエタノール抽出物とプロタミンとの褐変化抑制]

D-Xylose・Glycine系において試験を実施した。D-XyloseとGlycineが0.1Mになるように、D-XyloseとGlycineを、プロタミン(0.1mg/mL)を含む67mMリン酸緩衝液(pH7.2)に添加した。さらに、分画した焙煎味噌エタノール抽出物の各フラクションであるFr.1~11が0.05mg/mLになるよう、分画した焙煎味噌エタノール抽出物を67mMリン酸緩衝液(pH7.2)に添加した。調製した液体を、15mL容ファルコンチューブに5mLずつ分注し、恒温恒湿度器で、60、50%でインキュベートした。色の変化を、色彩色差計(コニカミノルタ製、CR-5)で測定した。なお、褐変色素が生成された後のD-Xylose・Glycine系を含む溶液の色は2日間でも十分な変化が見られたことから、試験期間は2日間とし、0日目の L^* 値から2日目の L^* 値を引いた L^* 値で比較した。これを、15mL容ファルコンチューブに5mLずつ分注し、恒温恒湿度器で、60で48hインキュベートした。色の変化を、色彩色差計で測定し、0日目の L^* 値から2日目の L^* 値を引いた L^* 値で比較した。

20


30

【0053】

表4に焙煎味噌の各フラクションとプロタミンとを用いた溶液の L^* 値を示す。 L^* 値は、すべてのフラクションでブランクよりも小さく、褐変化を抑制していた。また、極性の低いフラクションでは、ブランクとの差がおよそ10となった。焙煎味噌のエタノール抽出物とプロタミンとを併用することで相乗効果が生じ、より高い褐変化抑制効果を示した。また、プロタミンの添加濃度を高くすればするほどその効果は高くなった。

【0054】

【表 4】

プロタミン＋ 焦げ味噌		
極性	ブランク	66.8
低い 	Fr.1	61.2
	Fr.2	54.0
	Fr.3	55.3
	Fr.4	54.4
	Fr.5	63.6
	Fr.6	61.0
	Fr.7	63.7
	Fr.8	62.2
	Fr.9	64.4
	Fr.10	64.7
高い	Fr.11	63.3

10

【 0 0 5 5 】

〔実施例 4〕〔焙煎味噌のエタノール抽出物に含まれる成分について〕

上記ソックスレー抽出法において時間を変更し、ソックスレー抽出を 60 で 20 h 加熱し、焙煎味噌のエタノール抽出物を得た。そして、焙煎味噌のエタノール抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画した。このうち、Fr. 4（ヘキサン：酢酸エチル＝1：1（v/v）画分）について、さらにゲルろ過クロマトグラフィーにより分画した。ゲルろ過クロマトグラフィーの条件は、下記の通りである。

20

- ・担体：Sephadex LH20
- ・カラム：1.6 × 110 cm (221.1 cm³)
- ・アプライ量：8 ml
- ・溶出液：エタノール 500 mL
- ・流速：0.5 mL/min

【 0 0 5 6 】

30

図 3 に Fr. 4 をゲルろ過クロマトグラフィーにより分離し、エタノールの溶出量（保持時間）に対する紫外線吸光度（A₂₅₄）のグラフを示す。Fr. 4 をゲルろ過クロマトグラフィーにより分離した結果、エタノールの溶出量に対する紫外線吸光度（A₂₅₄）は、0.8 以上の極大値を有する 2 つのピークであるピーク 1、ピーク 2 が見られた。ゲルろ過クロマトグラフィーにおける保持時間を変えることでそれぞれのピークを分離した。ピーク 1、ピーク 2 および Fr. 4 について薄層クロマトグラフィーを実施したところ、Fr. 4 では異なる R_f 値の 2 つのスポットが見られた。一方、ピーク 1 では 1 つのスポットが見られ、ピーク 2 ではピーク 1 とは異なる R_f 値に 1 つのスポットが見られた。なお、ピーク 1、ピーク 2 にあるそれぞれのスポットは Fr. 4 で見られた 2 つのスポットと同じ R_f 値であった。これにより、ゲルろ過クロマトグラフィーにより Fr. 4 に含まれる分子量の異なる 2 つの物質を分離することができた。

40

【 0 0 5 7 】

（メイラード反応の評価法）

メイラード反応の後期段階において糖化反応後期段階生成物（AGEs）が生成される。食品の褐変化の原因であるメラノイジン色素（褐変色素）も AGEs の一種である。これらの多くは、蛍光を発するため蛍光強度でその生成を確認できる。ピーク 1、ピーク 2、Fr. 4 について D-xylose・glycine 系色素生成抑制効果試験を行った。D-Xylose と Glycine が 0.1 M になるように、D-Xylose と Glycine を 67 mM リン酸緩衝液（pH 7.2）に添加し、さらに、ピーク 1、ピーク 2、Fr. 4 を 67 mM リン酸緩衝液（pH 7.2）に添加して各分画画分が 0.5 mg

50

／50 μL になるように調製した。調製した液体を、恒温恒湿度器で60℃、湿度50%でインキュベートした。なお、AGEs生成阻害率(%)は下記の数式2より求めた。ピーク1、ピーク2、Fr.4について、色の変化を、色彩色差計(コニカミノルタ製、CR-5)で測定した。試験期間は2日間(48h)とし、0日目のL*値から2日目のL*値を引いたΔL*値で比較した。

【0058】

【数2】

$$\text{AGEs生成阻害率} = \left(1 - \frac{X - X''}{Y - Y''}\right) \times 100$$

$$\left(\begin{array}{l} X : \text{サンプルの蛍光強度} \quad Y : \text{ブランクの蛍光強度} \\ X'' : 0 \text{ hのサンプルの蛍光強度} \quad Y'' : 0 \text{ hのブランクの蛍光強度} \end{array} \right)$$

10

【0059】

ピーク1、ピーク2、Fr.4によるΔL*値、AGEs生成阻害率を表5に示す。ピーク1、ピーク2の色の変化はブランクよりも小さかった。また、AGEs生成阻害率は、ピーク1はピーク2よりも高い値を示した。ピーク1およびピーク2に含まれる成分は、食品の褐変を抑制する物質として有効である。

【0060】

【表5】

20

サンプル名	ΔL値	AGEs阻害率[%]
ピーク1	52.8	52.5
ピーク2	53.3	3.2
Fr.4	53.3	26.9
ブランク	55.5	—

【0061】

焙煎味噌エタノール抽出物の成分を同定するため、液体クロマトグラフ質量分析計(島津製作所:LCMS-IT-TOF、LCMS-2020)を用いて測定した。その他の条件は以下の通りである。

- ・カラム: Intertsil ODS-3 3 μm 2.1 mm × 50 mm
- ・サンプル: Fr.4、ピーク1、ピーク2 (1 mg/mL)
- ・移動相: 超純水(ギ酸1%)とアセトニトリル(ギ酸1%)
アセトニトリル10%から90%までグラジエントをかける
- ・流速: 0.20 mL/min

【0062】

図4、図5に液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定したピーク1、ピーク2のMSスペクトルを示す。ピーク1のMSスペクトルのポジティブイオンモードの測定では、255.0616にピークが見られ、ネガティブイオンモードの測定では、253.0501にピークが見られた。ピーク2のMSスペクトルのポジティブイオンモードの測定では、271.0561にピークが見られ、ネガティブイオンモードの測定では、269.0443にピークが見られた。ゲルろ過クロマトグラフィーより、保持時間を変えることで、それぞれのピークに含まれる物質の分子量は、ピーク1の分子量>ピーク2の分子量となるが、シリカゲルの影響により分子量の順に溶出するとは限らない。このため、ピーク1に含まれる物質の分子量は530ではなく、254であると考えられる。また、ピーク2は分子量270であると考えられる。

30

40

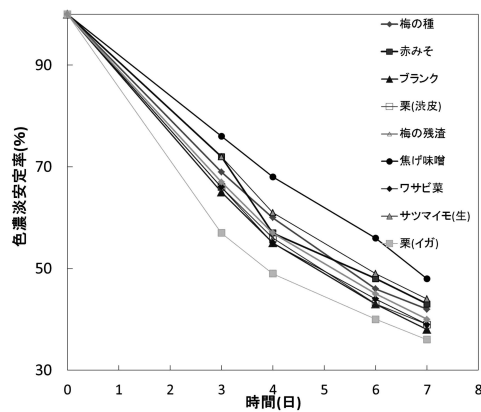
【0063】

また、ピーク1、ピーク2の¹H-NMR測定を実施した。NMR装置はJEOL A L-400、積算回数16、溶媒は重メタノールである。この結果、ピーク1およびピー

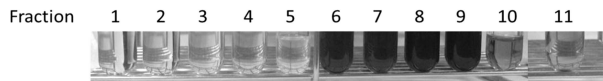
50

ク2には、フラボノイドが含まれていると考えられる。ピーク2に含まれるフラボノイドは、分子式が $C_{15}H_{10}O_5$ であるゲニステインである。また、ピーク1に含まれるフラボノイドの候補として、分子式が $C_{16}H_{14}O_3$ 、 $C_{15}H_{10}O_4$ が挙げられ、一例としてダイゼイン(分子式： $C_{15}H_{10}O_4$)がある。

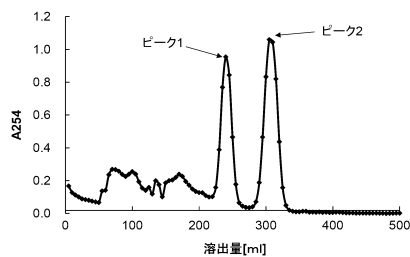
【図1】



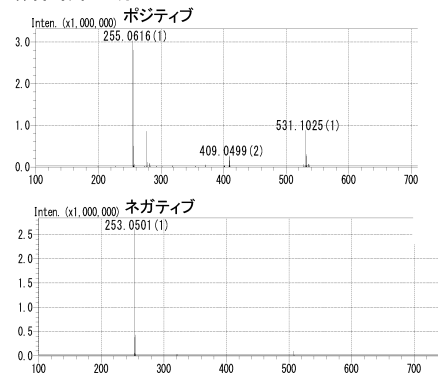
【図2】



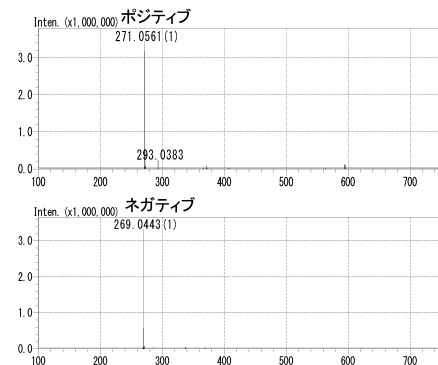
【図3】



【図4】

ピーク1のMSスペクトル
保持時間12.3分

【図5】

ピーク2のMSスペクトル
保持時間14.3分

フロントページの続き

- (72)発明者 村田 和巖
長野県長野市安茂里 8 8 3 マルコメ株式会社内
- (72)発明者 北川 学
長野県長野市安茂里 8 8 3 マルコメ株式会社内

審査官 鈴木 崇之

- (56)参考文献 特開 2 0 0 6 - 2 5 6 9 7 7 (J P , A)
特開平 0 4 - 0 9 9 7 3 0 (J P , A)
特開 2 0 0 0 - 0 9 3 1 3 2 (J P , A)
特開平 0 6 - 0 0 7 0 8 3 (J P , A)
特開平 0 1 - 2 8 9 4 4 6 (J P , A)
特開 2 0 0 6 - 2 6 5 2 4 9 (J P , A)
特開 2 0 0 9 - 0 0 1 5 6 8 (J P , A)
特開 2 0 1 5 - 0 7 4 6 1 3 (J P , A)
特開 2 0 1 1 - 1 7 8 7 3 0 (J P , A)
LWT , 2 0 0 7 年 , Vol . 40 , pp . 1410-1417

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 2 3 L 3 / 0 0 - 3 / 5 4
A 2 3 L 5 / 0 0 - 5 / 4 9
A 2 3 L 2 9 / 0 0 - 2 9 / 3 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)