

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7524765号
(P7524765)

(45)発行日 令和6年7月30日(2024.7.30)

(24)登録日 令和6年7月22日(2024.7.22)

(51)国際特許分類

F I

A 2 3 L	5/00	(2016.01)	A 2 3 L	5/00	J
A 2 3 L	29/00	(2016.01)	A 2 3 L	5/00	N
A 2 1 D	8/04	(2006.01)	A 2 3 L	5/00	K
A 2 3 L	7/10	(2016.01)	A 2 3 L	29/00	
A 2 3 L	19/10	(2016.01)	A 2 1 D	8/04	

請求項の数 21 (全77頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-565218(P2020-565218)
 (86)(22)出願日 令和2年1月10日(2020.1.10)
 (86)国際出願番号 PCT/JP2020/000558
 (87)国際公開番号 WO2020/145371
 (87)国際公開日 令和2年7月16日(2020.7.16)
 審査請求日 令和4年12月21日(2022.12.21)
 (31)優先権主張番号 特願2019-2862(P2019-2862)
 (32)優先日 平成31年1月10日(2019.1.10)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 日本国(JP)
 (31)優先権主張番号 特願2019-69262(P2019-69262)
 (32)優先日 平成31年3月29日(2019.3.29)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 日本国(JP)

(73)特許権者 000000066
 味の素株式会社
 東京都中央区京橋1丁目15番1号
 (74)代理人 100080791
 弁理士 高島 一
 (74)代理人 100136629
 弁理士 鎌田 光宜
 (74)代理人 100125070
 弁理士 土井 京子
 (74)代理人 100121212
 弁理士 田村 弥栄子
 (74)代理人 100174296
 弁理士 富麻 博文
 (74)代理人 100137729
 弁理士 赤井 厚子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 デンプン含有食品の製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の製造方法であって、

(i)前記製造方法が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、

10

(ii)前記製造方法が前記(B)として少なくともトランスグルタミナーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料が米を含み、かつ前記デンプン含有食品が米飯食品であるか、

(iii)前記製造方法が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(iv)前記製造方法が前記(C)として少なくともグルコース、マルトース及びデキストリンからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

20

(v) 前記製造方法が前記(C)として少なくともグルコース及びマルトースからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、あるいは

(vi) 前記製造方法が前記(D)として少なくとも - アミラーゼ及び - グルコシダーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品である、製造方法。

【請求項2】

デンプン含有原料に添加される前記(A)の量が、デンプン含有原料1g当たり0.0001~1000Uである、請求項1記載の製造方法。

【請求項3】

サーマス(Thermus)属細菌が、サーマス・サーモフィルス(Thermus thermophilus)、サーマス・ラクテウス(Thermus lacteus)、サーマス・ルベンス(Thermus rubens)及びサーマス・ルバー(Thermus ruber)からなる群より選択される少なくとも一つである、請求項1又は2記載の製造方法。

【請求項4】

前記(A)が、サーマス・サーモフィルス(Thermus thermophilus)由来のアミロマルターゼを含む、請求項1~3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記(A)並びに(C)又は(D)に加えて、(E)タンパク質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを更に含む、請求項1~4のいずれか一項に記載の製造方法。

【請求項6】

タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項5記載の製造方法。

【請求項7】

(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを含み、かつ
(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を含む、デンプン含有原料に添加するためのデンプン含有食品用酵素組成物であって、

(i) 前記酵素組成物が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される一種以上を含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、

(ii) 前記酵素組成物が前記(B)として少なくともトランスグルタミナーゼを含み、前記デンプン含有原料が米を含み、かつ前記デンプン含有食品が米飯食品であるか、

(iii) 前記酵素組成物が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(iv) 前記酵素組成物が前記(C)として少なくともグルコース、マルトース及びデキストリンからなる群より選択される一種以上を含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(v) 前記酵素組成物が前記(C)として少なくともグルコース及びマルトースからなる群より選択される一種以上を含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、あるいは

(vi) 前記酵素組成物が前記(D)として少なくとも - アミラーゼ及び - グルコシダーゼからなる群より選択される一種以上を含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品である、酵素組成物。

【請求項8】

デンプン含有原料に添加される前記(A)の量が、デンプン含有原料1g当たり0.0001~1000Uとなるように、デンプン含有原料に添加するための、請求項7記載の酵素組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 9】

サーマス (*Thermus*) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス (*Thermus thermophilus*)、サーマス・ラクテウス (*Thermus lacteus*)、サーマス・ルベンス (*Thermus rubens*) 及びサーマス・ルバー (*Thermus ruber*) からなる群より選択される少なくとも一つである、請求項 7 又は 8 記載の酵素組成物。

【請求項 10】

前記 (A) が、サーマス・サーモフィルス (*Thermus thermophilus*) 由来のアミロマルターゼを含む、請求項 7 ~ 9 のいずれか一項に記載の酵素組成物。

【請求項 11】

前記 (A) 並びに (C) 又は (D) に加えて、(E) タンパク質改質酵素を更に含む、請求項 7 ~ 10 のいずれか一項に記載の酵素組成物。

【請求項 12】

タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項 11 記載の酵素組成物。

【請求項 13】

デンプン含有食品の改質用である、請求項 7 ~ 12 のいずれか一項に記載の酵素組成物。

【請求項 14】

デンプン含有食品の老化抑制用である、請求項 7 ~ 13 のいずれか一項に記載の酵素組成物。

【請求項 15】

デンプン含有食品の食感改良用である、請求項 7 ~ 14 のいずれか一項に記載の酵素組成物。

【請求項 16】

(A) サーマス (*Thermus*) 属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は (D) デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の改質方法であって、

(i) 前記方法が前記 (B) として少なくともグルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、

(ii) 前記方法が前記 (B) として少なくともトランスグルタミナーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料が米を含み、かつ前記デンプン含有食品が米飯食品であるか、

(iii) 前記方法が前記 (B) として少なくともグルコースオキシダーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(iv) 前記方法が前記 (C) として少なくともグルコース、マルトース及びデキストリンからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(v) 前記方法が前記 (C) として少なくともグルコース及びマルトースからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、あるいは

(vi) 前記方法が前記 (D) として少なくとも - アミラーゼ及び - グルコシダーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品である、方法。

【請求項 17】

前記 (A) が、サーマス・サーモフィルス (*Thermus thermophilus*) 由来のアミロマルターゼを含む、請求項 16 記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

(A) サーマス (Thermus) 属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は(D) デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の老化抑制方法であって、

(i) 前記方法が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、

(ii) 前記方法が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(iii) 前記方法が前記(C)として少なくともグルコース、マルトース及びデキストリンからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、

(iv) 前記方法が前記(C)として少なくともグルコース及びマルトースからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、あるいは

(v) 前記方法が前記(D)として少なくとも - アミラーゼ及び - グルコシダーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品である、方法。

【請求項 19】

前記(A)が、サーマス・サーモフィルス (Thermus thermophilus) 由来のアミロマルターゼを含む、請求項18記載の方法。

【請求項 20】

(A) サーマス (Thermus) 属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は(D) デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の食感改良方法であって、

(i) 前記方法が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料が小麦粉を含み、かつ前記デンプン含有食品がベーカリー食品であるか、

(ii) 前記方法が前記(B)として少なくともトランスグルタミナーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料が米を含み、かつ前記デンプン含有食品が米飯食品であるか、

(iii) 前記方法が前記(B)として少なくともグルコースオキシダーゼを添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品であるか、あるいは

(iv) 前記方法が前記(C)として少なくともグルコース、マルトース及びデキストリンからなる群より選択される一種以上を添加することを含み、前記デンプン含有原料がイモ類を含み、かつ前記デンプン含有食品がイモ類食品である、方法。

【請求項 21】

前記(A)が、サーマス・サーモフィルス (Thermus thermophilus) 由来のアミロマルターゼを含む、請求項20記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、デンプン含有食品の製造方法に関する。また本発明は、デンプン含有食品の改質方法(例えば、デンプン含有食品の老化抑制方法、デンプン含有食品の食感改良方法

10

20

30

40

50

、デンプン含有食品の製造適性改良方法、デンプン含有食品の風味改良方法等)に関する。さらに本発明は、これらの方法に好適に用いられ得る酵素組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

ベーカリー食品や米飯食品等のデンプン含有食品は、保存中にデンプンが老化し、経時的に品質(例、食感等)が低下することが知られている。このようなデンプンの老化を抑えて、デンプン含有食品の品質を改良するために、従来、様々な方法が提案されている。

【0003】

例えば、食品の改質(デンプンの老化防止等)のために、耐熱性を有し、かつ実質的に加水分解反応を触媒しないアミロマルターゼで、食品中のデンプンを低分子化し、かつ環状グルカンを生成すること(特許文献1)、老化性の改善された、特に経時的な老化進行の少ない澱粉粒を得るために、4- -グルカノトランスフェラーゼを、澱粉粒が溶解しない条件で澱粉粒に作用させること(特許文献2)、化学合成系の添加物を使用せずとも、生地に十分な機械耐性があり、大量生産の製造ラインを用いても満足するパン類が製造でき、且つパンの老化を抑制し、ソフトでしっとりとした、ボリュームのあるパンを提供するために、少なくとも一種のリパーゼ、及び少なくとも一種のグルコースオキシダーゼを含んでなるパン生地改良用組成物をパン生地作成時に適量添加すること(特許文献3)、パン生地の冷凍・解凍耐性を向上させるとともに、食感、外観及び耐老化性に優れ、商品価値の高い製パン用冷凍生地を製造するために、グルコースオキシダーゼに、特定の割合でプロテアーゼを組み合わせたものを含有させてなる油脂組成物を用いること(特許文献4)等が提案されている。またオリゴ糖は、デンプン質食品の老化防止効果を有することが報告されている(非特許文献1)。しかし、これらの方法では老化抑制効果が十分でない場合、もしくは老化が抑制されても食品の良好な食感、風味、製造適性等が損なわれる場合があった。

【0004】

一方、非特許文献2には、コリネバクテリウム・グルタミカム(*Corynebacterium glutamicum*)由来アミロマルターゼのデンプン糖転移活性を、可溶性馬鈴薯デンプン及びマルトースを用いたヨウ素法によって測定したことが記載されており、アミロマルターゼはデンプンの側鎖をマルトースに転移することが知られている。しかしながら、当該反応の老化抑制効果に関する知見は報告されていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【文献】特開平11-46780号公報

【文献】国際公開第2012/111326号

【文献】特開2002-272357号公報

【文献】特開平11-332452号公報

【非特許文献】

【0006】

【文献】応用糖質科学(2011)、第1巻、第4号、第281~285頁

【文献】Applied and Environmental Microbiology(2012)、vol.78、No.20、p.7223~7228

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、上述の事情に鑑みてなされたものであり、その解決しようとする課題は、デンプン含有食品を改質するための新規方法(例えば、デンプン含有食品の老化を抑制するための新規方法、デンプン含有食品の老化を抑制し、かつ食感を改良するための新規方法、デンプン含有食品の製造適性を改良し、かつ食感を改良するための新規方法、デンプン含有食品の風味を改良するための新規方法等)を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、上述の課題を解決するべく鋭意検討した結果、サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼ、並びに、タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、デンプン分解物又はデンプン分解酵素を組み合わせることでデンプン含有原料に添加することにより、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し、かつ食感を改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し、かつ食感を改良し得ること、デンプン含有食品の風味を改良し得ること等)を見出し、さらに研究を重ねることによって、本発明を完成するに至った。

10

すなわち、本発明は以下の通りである。

【0009】

[1](A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の製造方法。

[2]デンプン含有原料に添加される前記(A)の量が、デンプン含有原料1g当たり0.0001~1000Uである、[1]記載の製造方法。

[3]デンプン含有原料に添加される前記(A)の量が、デンプン含有原料1g当たり0.01~20U(好ましくは、0.05~20U)である、[1]記載の製造方法。

20

[4]サーマス(Thermus)属細菌が、サーマス・サーモフィルス(Thermus thermophilus) [別名、サーマス・アクアティクス(Thermus aquaticus)、サーマス・フラブス(Thermus flavus)]、サーマス・ラクテウス(Thermus lacteus)、サーマス・ルベンス(Thermus rubens)及びサーマス・ルバー(Thermus ruber)からなる群より選択される少なくとも一つである、[1]~[3]のいずれか一つに記載の製造方法。

[5]タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[1]~[4]のいずれか一つに記載の製造方法。

30

[6]タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ(好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ)である、[1]~[4]のいずれか一つに記載の製造方法。

[7]デンプン分解物が、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びデキストリンからなる群より選択される少なくとも一つであり、

デンプン分解酵素が、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ及び α -グルコシダーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[1]~[6]のいずれか一つに記載の製造方法。

40

[8]前記(A)並びに(C)又は(D)に加えて、(E)タンパク質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを更に含む、[1]~[7]のいずれか一つに記載の製造方法。

[9]タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[8]記載の製造方法。

[10]デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺類食品及び餅類からなる群(好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺類食品からなる群)より選択される、[1]~[9]のいずれか一つに記載の製造方法。

[11](A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを含み、かつ

50

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は(D) デンプン分解酵素を含む、酵素組成物。

[1 2] デンプン含有食品用である、[1 1] 記載の酵素組成物。

[1 3] デンプン含有原料に添加される前記(A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 0 0 1 ~ 1 0 0 0 U となるように、デンプン含有原料に添加するための、[1 2] 記載の酵素組成物。

[1 4] デンプン含有原料に添加される前記(A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 1 ~ 2 0 U (好ましくは、0 . 0 5 ~ 2 0 U) となるように、デンプン含有原料に添加するための、[1 2] 記載の酵素組成物。

[1 5] サーマス(*Thermus*) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス(*Thermus thermophilus*) [別名、サーマス・アクアティクス(*Thermus aquaticus*)、サーマス・フラブス(*Thermus flavus*)]、サーマス・ラクテウス(*Thermus lacteus*)、サーマス・ルベンス(*Thermus rubens*) 及びサーマス・ルバー(*Thermus ruber*) からなる群より選択される少なくとも一つである、[1 1] ~ [1 4] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

10

[1 6] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[1 1] ~ [1 5] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

20

[1 7] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ(好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ) である、[1 1] ~ [1 5] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[1 8] デンプン分解物が、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びデキストリンからなる群より選択される少なくとも一つであり、

デンプン分解酵素が、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ及び γ -グルコシダーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[1 1] ~ [1 7] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

30

[1 9] 前記(A) 並びに(C) 又は(D) に加えて、(E) タンパク質改質酵素を更に含む、[1 1] ~ [1 8] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[2 0] タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[1 9] 記載の酵素組成物。

[2 1] デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺帯食品及び餅類からなる群(好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺帯食品からなる群) より選択される、[1 2] ~ [2 0] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[2 2] デンプン含有食品の改質用である、[1 2] ~ [2 1] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[2 3] デンプン含有食品の老化抑制用である、[1 2] ~ [2 2] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

40

[2 4] デンプン含有食品の食感改良用である、[1 2] ~ [2 3] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[2 5] デンプン含有食品の製造適性改良用である、[1 2] ~ [2 4] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[2 6] デンプン含有食品の風味改良用である、[1 2] ~ [2 5] のいずれか一つに記載の酵素組成物。

[2 7] (A) サーマス(*Thermus*) 属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は(D) デン

50

ブン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の改質方法。

[2 8] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 0 0 1 ~ 1 0 0 0 U である、[2 7] 記載の方法。

[2 9] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 1 ~ 2 0 U (好ましくは、0 . 0 5 ~ 2 0 U) である、[2 7] 記載の方法。

[3 0] サーマス (Thermus) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス (Thermus thermophilus) [別名、サーマス・アクアティクス (Thermus aquaticus)]、サーマス・フラブス (Thermus flavus)]、サーマス・ラクテウス (Thermus lacteus)、サーマス・ルベンス (Thermus rubens) 及びサーマス・ルバー (Thermus ruber) からなる群より選択される少なくとも一つである、[2 7] ~ [2 9] のいずれか一つに記載の方法。

10

[3 1] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[2 7] ~ [3 0] のいずれか一つに記載の方法。

[3 2] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ (好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ) である、[2 7] ~ [3 0] のいずれか一つに記載の方法。

20

[3 3] デンプン分解物が、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びデキストリンからなる群より選択される少なくとも一つであり、

デンプン分解酵素が、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ及び α -グルコシダーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[2 7] ~ [3 2] のいずれか一つに記載の方法。

[3 4] 前記 (A) 並びに (C) 又は (D) に加えて、(E) タンパク質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを含む、[2 7] ~ [3 3] のいずれか一つに記載の方法。

[3 5] タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[3 4] 記載の方法。

30

[3 6] デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺類食品及び餅類からなる群 (好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺類食品からなる群) より選択される、[2 7] ~ [3 5] のいずれか一つに記載の方法。

[3 7] デンプン含有食品の改質方法が、デンプン含有食品の老化抑制方法、デンプン含有食品の食感改良方法、デンプン含有食品の製造適性改良方法、デンプン含有食品の風味改良方法及びデンプン含有食品の物性の改質方法からなる群より選択される少なくとも一つである、[2 7] ~ [3 6] のいずれか一つに記載の方法。

[3 8] (A) サーマス (Thermus) 属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

40

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は (D) デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の老化抑制方法。

[3 9] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 0 0 1 ~ 1 0 0 0 U である、[3 8] 記載の方法。

[4 0] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 1 ~ 2 0 U (好ましくは、0 . 0 5 ~ 2 0 U) である、[3 8] 記載の方法。

[4 1] サーマス (Thermus) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス (Thermus thermophilus) [別名、サーマス・アクアティクス (Thermus aquaticus)]、サーマス・フラブス (Thermus flavus)]、サー

50

マス・ラクテウス (*Thermus lacteus*)、サーマス・ルベンス (*Thermus rubens*) 及びサーマス・ルバー (*Thermus ruber*) からなる群より選択される少なくとも一つである、[38] ~ [40] のいずれか一つに記載の方法。
[42] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[38] ~ [41] のいずれか一つに記載の方法。

[43] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ（好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ）である、[38] ~ [41] のいずれか一つに記載の方法。

10

[44] デンプン分解物が、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びデキストリンからなる群より選択される少なくとも一つであり、

デンプン分解酵素が、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ及びグルコシダーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[38] ~ [43] のいずれか一つに記載の方法。

[45] 前記 (A) 並びに (C) 又は (D) に加えて、(E) タンパク質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを更に含む、[38] ~ [44] のいずれか一つに記載の方法。

20

[46] タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[45] 記載の方法。

[47] デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺帯食品及び餅類からなる群（好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺帯食品からなる群）より選択される、[38] ~ [46] のいずれか一つに記載の方法。

[48] デンプン含有食品の食感改良方法でもある、[38] ~ [47] のいずれか一つに記載の方法。

[49] (A) サーマス (*Thermus*) 属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、

(B) タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C) デンプン分解物又は (D) デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の食感改良方法。

30

[50] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0.0001 ~ 1000 U である、[49] 記載の方法。

[51] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0.01 ~ 20 U（好ましくは、0.05 ~ 20 U）である、[49] 記載の方法。

[52] サーマス (*Thermus*) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス (*Thermus aquaticus*) [別名、サーマス・アクアティクス (*Thermus aquaticus*)]、サーマス・フラブス (*Thermus flavus*)]、サーマス・ラクテウス (*Thermus lacteus*)、サーマス・ルベンス (*Thermus rubens*) 及びサーマス・ルバー (*Thermus ruber*) からなる群より選択される少なくとも一つである、[49] ~ [51] のいずれか一つに記載の方法。

40

[53] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[49] ~ [52] のいずれか一つに記載の方法。

[54] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ（好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ）である、[49] ~

50

[5 2] のいずれか一つに記載の方法。

[5 5] デンプン分解物が、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びデキストリンからなる群より選択される少なくとも一つであり、

デンプン分解酵素が、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ及び α -グルコシダーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[4 9] ~ [5 4] のいずれか一つに記載の方法。

[5 6] 前記 (A) 並びに (C) 又は (D) に加えて、(E) タンパク質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを更に含む、[4 9] ~ [5 5] のいずれか一つに記載の方法。

[5 7] タンパク質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ及びトランスグルタミナーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[5 6] 記載の方法。

[5 8] デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺帯食品及び餅類からなる群 (好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺帯食品からなる群) より選択される、[4 9] ~ [5 7] のいずれか一つに記載の方法。

[5 9] デンプン含有食品の老化抑制方法でもある、[4 9] ~ [5 8] のいずれか一つに記載の方法。

[6 0] デンプン含有食品の製造適性改良方法でもある、[4 9] ~ [5 9] のいずれか一つに記載の方法。

[6 1] (A) サーマス (*Thermus*) 属細菌由来のアミロマルターゼ、並びに、(B) タンパク質又は脂質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを含む、デンプン含有食品の製造適性改良方法。

[6 2] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 0 0 1 ~ 1 0 0 0 U である、[6 1] 記載の方法。

[6 3] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 1 ~ 2 0 U (好ましくは、0 . 0 5 ~ 2 0 U) である、[6 1] 記載の方法。

[6 4] サーマス (*Thermus*) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス (*Thermus thermophilus*) [別名、サーマス・アクアティクス (*Thermus aquaticus*)]、サーマス・フラブス (*Thermus flavus*)]、サーマス・ラクテウス (*Thermus lacteus*)、サーマス・ルベンス (*Thermus rubens*) 及びサーマス・ルバー (*Thermus ruber*) からなる群より選択される少なくとも一つである、[6 1] ~ [6 3] のいずれか一つに記載の方法。

[6 5] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[6 1] ~ [6 4] のいずれか一つに記載の方法。

[6 6] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ (好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ) である、[6 1] ~ [6 4] のいずれか一つに記載の方法。

[6 7] デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺帯食品及び餅類からなる群 (好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺帯食品からなる群) より選択される、[6 1] ~ [6 6] のいずれか一つに記載の方法。

[6 8] デンプン含有食品の食感改良方法でもある、[6 1] ~ [6 7] のいずれか一つに記載の方法。

[6 9] (A) サーマス (*Thermus*) 属細菌由来のアミロマルターゼ、並びに、(B) タンパク質又は脂質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを含む、デンプン含有食品の風味改良方法。

[7 0] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 0 0 1 ~ 1 0 0 0 U である、[6 9] 記載の方法。

10

20

30

40

50

[7 1] デンプン含有原料に添加される前記 (A) の量が、デンプン含有原料 1 g 当たり 0 . 0 1 ~ 2 0 U (好ましくは、0 . 0 5 ~ 2 0 U) である、[6 9] 記載の方法。

[7 2] サーマス (*Thermus*) 属細菌が、サーマス・サーモフィルス (*Thermus thermophilus*) [別名、サーマス・アクアティクス (*Thermus aquaticus*) 、サーマス・フラブス (*Thermus flavus*)] 、サーマス・ラクテウス (*Thermus lacteus*) 、サーマス・ルベンス (*Thermus rubens*) 及びサーマス・ルバー (*Thermus ruber*) からなる群より選択される少なくとも一つである、[6 9] ~ [7 1] のいずれか一つに記載の方法。

[7 3] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ及びホスホリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つである、[6 9] ~ [7 2] のいずれか一つに記載の方法。

[7 4] タンパク質又は脂質改質酵素が、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ (好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ及びリパーゼからなる群より選択される少なくとも一つ) である、[6 9] ~ [7 2] のいずれか一つに記載の方法。

[7 5] デンプン含有食品が、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品、麺帯食品及び餅類からなる群 (好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺帯食品からなる群) より選択される、[6 9] ~ [7 4] のいずれか一つに記載の方法。

【発明の効果】

【 0 0 1 0 】

本発明によれば、改質されたデンプン含有食品の製造方法 (例えば、老化が抑制されたデンプン含有食品の製造方法、老化が抑制され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、製造適性が改良され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、風味が改良されたデンプン含有食品の製造方法等) を提供できる。

一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の老化を抑制し得、したがって本発明によれば、老化が抑制されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の老化抑制方法を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の老化を抑制し、かつ食感を改良し得、したがって本発明によれば、老化が抑制され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の老化抑制方法及びデンプン含有食品の食感改良方法を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の製造適性を改良し、かつ食感を改良し得、したがって本発明によれば、製造適性が改良され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の製造適性改良方法を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、風味が改良されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の風味改良方法を提供できる。

本発明によれば、デンプン含有食品を改質するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の老化を抑制するため、かつ / 又は、デンプン含有食品の食感を改良するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の製造適性を改良し、かつ / 又は、デンプン含有食品の食感を改良するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の風味を改良するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 1 】

【 図 1 】 図 1 は、実施例で用いられたサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの

精製フローを示す図である。

【図2】図2は、試験例3において測定された、サンプル2-1、2-3、2-7及び2-9の食パンの、圧縮率10%時の応力(N)を示すグラフである。

【図3】図3は、試験例4において測定された、サンプル4-1~4-4の食パンの、圧縮率10%時の応力(N)を示すグラフである。

【図4】図4は、試験例5において測定された、サンプル5-1~5-4の食パンの、圧縮率10%時の応力(N)を示すグラフである。

【図5】図5は、試験区7-1~7-6及び対照区7-1~7-5のマッシュポテトの硬さを示すグラフである。

【図6】図6は、試験区8-1及び試験区8-2、並びに対照区8-1~8-4の食パンの硬さを示すグラフである。

10

【図7】図7は、試験区9-1及び試験区9-2、並びに対照区9-1及び対照区9-2の食パンの硬さを示すグラフである。

【図8】図8は、試験区11-1及び対照区11-1~11-3のマッシュポテトの硬さを示すグラフである。

【図9】図9は、試験例14において測定された、試験区12-1及び対照区12-1~12-3の食パンの、圧縮率10%時の応力(N)を示すグラフである。

【図10】図10は、試験区13-1及び対照区13-1~13-3のマッシュポテトの硬さを示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

20

【0012】

1. デンプン含有食品の製造方法

本発明のデンプン含有食品の製造方法(本明細書において「本発明の製造方法」と称する場合がある)は、(i)(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼ(本明細書において単に「(A)」と称する場合がある)を、デンプン含有原料に添加すること、並びに、(ii)(B)タンパク質又は脂質改質酵素(本明細書において単に「(B)」と称する場合がある)、あるいは、(C)デンプン分解物(本明細書において単に「(C)」と称する場合がある)又は(D)デンプン分解酵素(本明細書において単に「(D)」と称する場合がある)を、デンプン含有原料に更に添加することを含むことを、特徴の一つとする。

30

【0013】

本発明において「デンプン含有食品」とは、デンプン含有原料を原料の一つとして製造される食品をいい、例えば、ベーカリー食品(例、パン、ケーキ、クッキー等)、米飯食品(例、炊飯米、炒飯、おにぎり等)、イモ類食品(例、マッシュポテト、フライドポテト、ポテトサラダ、ポテトフレーク等)、麺帯食品(例、うどん、中華麺、餃子等)、餅類(例、餅、白玉、葛餅等)等が挙げられるが、これらに制限されない。

【0014】

本発明において「ベーカリー食品」とは、穀粉(例、小麦粉等)に水等を加えて捏ねた生地を加熱(例、焼成等)して得られる食品をいい、具体例としては、パン、ケーキ、クッキー等が挙げられるが、これらに制限されない。「米飯食品」とは、米を原料の一つとする食品をいい、具体例としては、炊飯米、炒飯、おにぎり等が挙げられるが、これらに制限されない。「イモ類食品」とは、イモ類(例、馬鈴薯等)を原料の一つとする食品をいい、具体例としては、マッシュポテト、フライドポテト、ポテトサラダ、ポテトフレーク等が挙げられるが、これらに制限されない。「麺帯食品」とは、麺帯を原料の一つとする食品をいう。ここで「麺帯」とは、穀粉(例、小麦粉等)に水等を加えて捏ねた生地を、薄く(例、帯状、シート状等)に圧延して得られる食品素材をいう。麺帯食品の具体例としては、うどん、中華麺、餃子等が挙げられるが、これらに制限されない。「餅類」とは、デンプン(例、米粉、上新粉、くず粉等)に水等を加えて捏ねた生地を、成形して得られる食品素材をいう。餅類の具体例としては、餅、白玉、葛餅等が挙げられるが、これらに制限されない。

40

50

【 0 0 1 5 】

[(A) サーマス属細菌由来のアミロマルターゼ]

本発明において「アミロマルターゼ」とは、 α -グルカン（例、アミロース、アミロペクチン、デンプン等）の非還元末端から α -グルカン鎖の一部を、別の α -グルカン（又はグルコース）の非還元末端に転移させる化学反応を触媒する酵素をいう。 α -グルカン鎖の供与体分子と受容体分子とは同一であってよく、その場合、分子内転移が生じ、生成物は環状構造となる。アミロマルターゼは、国際生化学・分子生物学連合（International Union of Biochemistry and Molecular Biology; IUBMB）により定められた酵素番号 EC 2.4.1.25 に分類され、また一般に α -グルカノトランスフェラーゼ等とも称される。

10

【 0 0 1 6 】

本発明において用いられるアミロマルターゼは、サーマス（*Thermus*）属細菌に由来することが好ましい。サーマス属細菌由来のアミロマルターゼは、約 60 ~ 80 で高い活性を保持し得、デンプン含有食品の製造中、調理中に酵素反応が進行し得る。またサーマス属細菌由来のアミロマルターゼは、約 90 ~ 100 に加熱することによって容易に失活させ得る。

【 0 0 1 7 】

アミロマルターゼを産生し得るサーマス属細菌としては、例えば、サーマス・サーモフィルス（*Thermus thermophilus*）[別名、サーマス・アクアティクス（*Thermus aquaticus*）、サーマス・フラブス（*Thermus flavus*）]、サーマス・ラクテウス（*Thermus lacteus*）、サーマス・ルベンス（*Thermus rubens*）、サーマス・ルバー（*Thermus ruber*）等が挙げられる。本発明において用いられるアミロマルターゼは、サーマス属細菌に由来するものであれば、その菌種は特に制限されないが、好ましくはサーマス・サーモフィルスである。これらの細菌は寄託機関等から容易に入手可能である。本発明においてサーマス属細菌は、野生型であってよく、又は変異株であってよい。

20

【 0 0 1 8 】

本発明における「サーマス属細菌由来のアミロマルターゼ」には、サーマス属細菌が産生するアミロマルターゼに加え、サーマス属細菌が産生するアミロマルターゼをコードする遺伝子を利用して遺伝子工学的的手法により取得されるアミロマルターゼも包含される。例えば、サーマス属細菌が産生するアミロマルターゼをコードする遺伝子で形質転換又は形質導入した宿主（例、大腸菌等）により発現するアミロマルターゼ等も、本発明における「サーマス属細菌由来のアミロマルターゼ」に包含される。サーマス属細菌由来のアミロマルターゼのアミノ酸配列や、当該アミロマルターゼをコードする遺伝子の塩基配列は、米国国立生物工学情報センター（National Center for Biotechnology Information; NCBI）等の公用のデータベースから取得できる。

30

【 0 0 1 9 】

(A) の製造方法は特に制限されず、自体公知の方法（例、特開平 11 - 46780 号公報に記載の方法、*This Kaper et al., Biochemistry, 2007, vol. 46, pp. 5261 - 5269* に記載の方法等）又はそれに準ずる方法により製造できる。例えば、(A) は、アミロマルターゼを産生し得るサーマス属細菌を培養し、得られた培養物からアミロマルターゼを回収すること等により製造できる。サーマス属細菌の培養条件は、サーマス属細菌が生育でき、アミロマルターゼが産生される限り、特に制限されない。また後述の実施例で用いられた方法又はそれに準ずる方法によっても製造できる。

40

【 0 0 2 0 】

(A) は、所望の程度に精製されたものであってよく、あるいは、アミロマルターゼを産生するサーマス属細菌の培養物、当該培養物から分離した菌体、当該菌体の処理物等を用いてもよい。(A) が精製されたものである場合、その精製方法は特に制限されず、自

50

体公知の方法又はそれに準ずる方法で行えばよい。例えば、後述の実施例で用いられた方法又はそれに準ずる方法によって行い得る。

【0021】

サーマス属細菌由来のアミロマルターゼの変異体を、(A)として用いてよい。また、(A)は市販品を用いてもよい。

【0022】

本発明においてアミロマルターゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

0.05%可溶性デンプン、0.05%マルトース、30mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.5)及び酵素液0.01mLの反応液1mLを70℃で5分間反応を行った後、96℃で5分間加熱し反応を停止する。その後0.1mLの反応液を1mLのヨウ素溶液(0.02% I_2 、0.2%KI)と混合し600nmにおける吸光度を測定する。酵素を用いなかった場合(コントロール)の測定値から酵素を用いた場合の測定値を減じた値を活性値とする。尚、600nmにおける吸光度を1分間に1減ずる酵素量を1U(ユニット)と定義する。

【0023】

[(B) タンパク質又は脂質改質酵素]

本発明において「タンパク質又は脂質改質酵素」とは、タンパク質又は脂質に作用し、これを改質(例、架橋、分解等)する活性を有する酵素であり、例えば、タンパク質架橋酵素(例、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ等)、タンパク質分解酵素(プロテアーゼ)、その他のタンパク質修飾酵素(例、プロテインアスパラギナーゼ等)等のタンパク質改質酵素;脂質分解酵素(例、リパーゼ、ホスホリパーゼ等)等の脂質改質酵素等が挙げられ、好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、プロテインアスパラギナーゼ、リパーゼ、ホスホリパーゼであり、より好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼ、リパーゼであり、特に好ましくは、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ、プロテアーゼである。

【0024】

グルコースオキシダーゼ(酵素番号EC1.1.3.4)は、グルコース、酸素、水を基質としてグルコン酸と過酸化水素を生成する反応を触媒する酸化酵素である。この反応により生成された過酸化水素は、蛋白中のSH基を酸化することでSS結合(ジスルフィド結合)生成を促進し、蛋白中に架橋構造を作る。グルコースオキシダーゼは、微生物由来、植物由来のもの等、種々の起源のものが知られているが、本発明で用いる酵素は、上述の活性を有している酵素であればよく、その起源は制限されない。また組み換え酵素であってもよい。本発明において用いられるグルコースオキシダーゼは市販品であってもよく、「スミチームPGO」という商品名で新日本化学工業株式会社より市販されている微生物由来のグルコースオキシダーゼが一例である。尚、カタラーゼが混合されているグルコースオキシダーゼ製剤が市販されているが、本発明において用いられるグルコースオキシダーゼは、グルコースオキシダーゼ活性を有していれば、他の酵素との混合物であってもよい。

【0025】

本発明においてグルコースオキシダーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

グルコースを基質として、酸素存在下でグルコースオキシダーゼを作用させることで過酸化水素を生成させ、生成した過酸化水素にアミノアンチピリン及びフェノール存在下でペルオキシダーゼを作用させることで生成したキノンイミン色素が呈する色調を、波長500nmで測定し定量する。1分間に1μモルのグルコースを酸化するのに必要な酵素量を、1U(ユニット)と定義する。

【0026】

トランスグルタミナーゼ(酵素番号EC2.3.2.13)は、タンパク質やペプチド

10

20

30

40

50

中のグルタミン残基を供与体とし、リジン残基を受容体とするアシル転移反応を触媒する活性を有する酵素であり、例えば、哺乳動物由来のもの、魚類由来のもの、微生物由来のもの等、種々の起源のものが知られている。本発明において用いられるトランスグルタミナーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源のトランスグルタミナーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられるトランスグルタミナーゼは市販品であってもよく、具体例としては、味の素社より「アクティバ」（登録商標）TGという商品名で市販されている微生物由来のトランスグルタミナーゼ等が挙げられる。

【0027】

本発明においてトランスグルタミナーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

10

ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを基質としてトランスグルタミナーゼに作用させ、ヒドロキサム酸にトリクロロ酢酸存在下で鉄錯体を形成させた後、525nmでの吸光度を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め、酵素活性を算出する。37℃、pH6.0で1分間に1μモルのヒドロキサム酸を生成する酵素量を、1U（ユニット）と定義する。

【0028】

本発明において用いられるプロテアーゼ（酵素番号EC3.4群）は、タンパク質中のペプチド結合の加水分解を触媒する酵素であり、本発明は、当該活性を有し動物性タンパク質を分解し得るプロテアーゼであればいかなる基質特異性、いかなる反応特性を有するものでも使用できる。また、その起源も特に制限されず、植物由来のもの（例、プロメライン、パパイン、アクチニジン、フィシン等）、哺乳動物由来のもの（例、トリプシン、カテプシン等）、魚類由来のもの、微生物由来のもの（例、サチライシン、サーモライシン等）等、いかなる起源のものでも使用でき、組み換え酵素を使用してもよい。本発明に用いられるプロテアーゼの具体例としては、「プロメラインF」（天野エンザイム株式会社製）、「食品用精製パパイン」（長瀬産業株式会社製）、「プロテアーゼA」（天野エンザイム株式会社製）、「プロチンFN」（大和化成株式会社製）、「プロチンSD-NY10」（天野エンザイム株式会社製）等が挙げられる。

20

【0029】

本発明においてプロテアーゼの活性単位は、カゼインを基質として、 37 ± 0.5 ℃で1分間にチロシン1μgに相当するフォリン試液呈色物質の増加をもたらす酵素量を、1U（ユニット）と定義する。

30

【0030】

プロテインアスパラギナーゼは、タンパク質中のアスパラギン残基を脱アミド化する反応を触媒する活性を有する酵素である。プロテインアスパラギナーゼは、微生物由来のもの等が知られているが、本発明で用いる酵素は、上述の活性を有している酵素であればよく、その起源は制限されない。また組み換え酵素であってもよい。本発明において用いられるプロテインアスパラギナーゼは、好ましくは微生物由来のものであり、微生物由来のプロテインアスパラギナーゼとしては、例えば、レイフソニア属細菌（例、レイフソニア・キシリー（Leifsonia xyli）、レイフソニア・アクアティカ（Leifsonia aquatica）等）由来のプロテインアスパラギナーゼ、ミクロバクテリウム属細菌（例、ミクロバクテリウム・テストセウム（Microbacterium testaceum）等）由来のプロテインアスパラギナーゼ、ルテイミクロビウム属細菌（例、ルテイミクロビウム・アルBUM（Luteimicrobium album）等）由来のプロテインアスパラギナーゼ、アグロマイセス属細菌（例、Agromyces sp.等）由来のプロテインアスパラギナーゼ等が挙げられる。本発明において用いられるプロテインアスパラギナーゼは市販品であってもよい。

40

【0031】

本発明においてプロテインアスパラギナーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

50

30 mmol/L Cbz-Asn-Glyを含む0.2 mol/Lリン酸緩衝液(pH 6.5) 125 μLに適切な濃度の酵素溶液25 μLを添加して、37、60分間インキュベートした後、12%トリクロロ酢酸溶液150 μLを加えて反応を停止させ、上清中のアンモニア濃度を測定する。1分間に1 μmolのアンモニアを生成するのに必要な酵素量を1 U(ユニット)と定義する。

【0032】

リパーゼは、グリセリン脂肪酸エステルを脂肪酸とグリセロールとに加水分解する活性を有する酵素であり、例えば、トリアシルグリセロール リパーゼ(triacylglycerol lipase)、トリアシルグリセリド リパーゼ(triacylglyceride lipase)等を包含する。リパーゼには、微生物由来のもの、植物由来のもの、動物由来のもの等、種々の起源のものが知られているが、本発明において用いられるリパーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源のリパーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられるリパーゼは、好ましくは微生物由来のものであり、微生物由来のリパーゼとしては、例えば、アスペルギルス属細菌(例、アスペルギルス・ニガー(Aspergillus niger)等)由来のリパーゼ、リゾプス属細菌(例、リゾプス・オリザエ(Rhizopus oryzae)等)由来のリパーゼ、カンジダ属細菌(例、カンジダ・ルゴサ(Candida rugosa)等)由来のリパーゼ、ペニシリウム属細菌(例、ペニシリウム・カマンベルティ(Penicillium camemberti)、ペニシリウム・ロックフォルティ(Penicillium roqueforti)等)由来のリパーゼ等が挙げられる。本発明において用いられるリパーゼは市販品であってもよく、具体例としては、リパーゼ GS「アマノ」250G、リパーゼ AY「アマノ」30SD、リパーゼ R「アマノ」、リパーゼ A「アマノ」6、リパーゼ MER「アマノ」(いずれも天野エンザイム株式会社製)、「リリパーゼA-10D」(ヤクルト薬品工業株式会社製)等が挙げられる。

【0033】

本発明においてリパーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

オリーブ油25 mLと2%PVA試液75 mLを乳化させて基質とし、当該基質5 mLにマッキルベン緩衝液(pH 7.0)4 mL及び酵素液1 mLを混和し、37にて30分間反応させ、反応停止後、生成した脂肪酸を滴定法で測定する。遊離した脂肪酸1 μmolに相当する酸を遊離させる酵素量を1 U(ユニット)と定義する。

【0034】

ホスホリパーゼは、リン脂質を加水分解する活性を有する酵素であり、加水分解する結合位置により、A₁、A₂、C及びDに分類される。本発明において用いられるホスホリパーゼは、上述の活性を有すれば特に制限されず、いずれのホスホリパーゼも使用できるが、好ましくはホスホリパーゼD、ホスホリパーゼA₂である。またホスホリパーゼは、組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられるホスホリパーゼは市販品であってもよく、具体例としては、デナベイクRICH、PLA2ナガセ10P/R、PLA2ナガセL/R(いずれもナガセケムテックス社製)等が挙げられる。

【0035】

本発明においてホスホリパーゼDの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

ホスファチジルコリンを含む基質溶液0.9 mLに酵素溶液0.1 mLを混和し、37にて30分間反応させ、反応停止後、コリンエステラーゼを含む発色溶液1 mLに反応液50 μLを加え5分反応させ、反応停止後、コリンより生成した色素量を測定する。ホスファチジルコリンを基質として37、1分間に1 μmolのコリンを遊離する酵素量を1 U(ユニット)と定義する。

また、本発明においてホスホリパーゼA₁、ホスホリパーゼA₂の活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

卵黄(約0.4%のリン脂質を含む)を基質として、pH 8.40で1分間に1 μモ

10

20

30

40

50

ルに相当する酸を遊離させる活性を 1 U とする。

【0036】

〔(C) デンプン分解物〕

本発明において「デンプン分解物」とは、デンプン（加工デンプンを含む）を酵素及び/又は酸を用いて低分子化（加水分解）することにより得ることができる食品材料をいう。本発明において用いられ得るデンプン分解物の DE は、好ましくは 3 ~ 100 であり、より好ましくは 5 ~ 100 であり、特に好ましくは 30 ~ 100 であり、最も好ましくは 40 ~ 100 である。本発明において用いられ得るデンプン分解物の具体例としては、グルコース（DE：100）；マルトース（DE：50）、マルトトリオース（DE：33）、マルトテトラオース（DE：25）等の、重合度 2 ~ 7（好ましくは、2 ~ 5）のマルトオリゴ糖；粉あめ（DE：通常 20 超過 40 以下）；デキストリン（DE：20 以下、好ましくは 10 以下）等が挙げられ、好ましくは、グルコース、重合度 2 ~ 7 のマルトオリゴ糖、DE 20 以下のデキストリンであり、より好ましくはグルコース、マルトース、マルトトリオース、DE 10 以下のデキストリンであり、特に好ましくはグルコース、マルトースであり、最も好ましくはマルトースである。

10

ここで「DE」とは、Dextrose Equivalent の略称であり、次の式で表される。DE は、デンプン分解物の加水分解の程度を示す指標として用いられ、DE が 100 に近いほど、加水分解が進行し、グルコースに近いことを示す。

$$DE = [\text{直接還元糖 (グルコース換算)} / \text{固形分}] \times 100$$

【0037】

本発明において用いられ得る (C) の製造方法は特に制限されず、(C) は自体公知の方法又はそれに準ずる方法によって製造され得る。(C) は、例えば、デンプンを、酵素及び/又は酸を用いて加水分解すること等により製造され得るが、(C) の製造方法は当該方法に制限されず、これ以外の方法により製造してもよい。(C) は市販品を用いてもよい。

20

【0038】

〔(D) デンプン分解酵素〕

本発明において「デンプン分解酵素」とは、デンプンに作用し、これを分解する活性を有する酵素であり、例えば、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ等が挙げられる。

30

【0039】

α -アミラーゼは、デンプンの α -1,4-グルコシド結合を不特定の場所で加水分解する活性を有するエンド型酵素であり、例えば、微生物（例、バシルス属菌、アスペルギルス属菌等）由来のもの等が知られているが、本発明において用いられる α -アミラーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源の α -アミラーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられる α -アミラーゼは市販品であってもよく、具体例としては、ノバミル 10000 BG、ノバミル 3D BG（いずれもノボザイムズ ジャパン社製）、ピオザイム A、ピオザイム LC（いずれも天野エンザイム株式会社製）等が挙げられる。

【0040】

本発明において α -アミラーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。ブロック p-ニトロフェニルマルトヘプタオサイドを基質として α -アミラーゼを作用させる。その後、生成した p-ニトロフェニルマルトサッカライドを耐熱性 α -グルコシダーゼで分解しリン酸三ナトリウムで反応停止させ、生成した p-ニトロフェノールを 410 nm での吸光度を測定する。1 分間で 1 μ モルの p-ニトロフェノールを遊離させる酵素量を 1 U（ユニット）と定義する。

40

【0041】

α -アミラーゼは、デンプンの α -1,4-グルコシド結合を、非還元性末端から一つおきに（マルトース単位で）加水分解する活性を有するエキソ型酵素であり、例えば、微生物由来のもの、植物由来のもの等、種々の起源のものが知られているが、本発明におい

50

て用いられる α -アミラーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源の α -アミラーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられる α -アミラーゼは市販品であってもよく、具体例としては、ハイマルトシン G L、ハイマルトシン G L H（いずれもエイチビィアイ社製）、 α -アミラーゼ F「アマノ」（天野エンザイム株式会社製）等が挙げられる。

【0042】

本発明において α -アミラーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。
 p -ニトロフェニル- α -D-マルトトリオシド（PNP- α -M）を基質として α -アミラーゼを作用させる。その後、生成した p -ニトロフェノール（PNP）の量を 400 nm の吸光度で測定する。1 分間に 1 μ モルの PNP を解離させる酵素量を 1 U（ユニット）と定義する。

10

【0043】

グルコアミラーゼは、デンプンの α -1,4-グルコシド結合、 α -1,6-グルコシド結合を、非還元性末端から加水分解し、 α -D-グルコースを生成する活性を有するエキソ型酵素であり、微生物（例、アスペルギルス属菌、リゾプス属菌等）由来のもの等が知られているが、本発明において用いられるグルコアミラーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源のグルコアミラーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられるグルコアミラーゼは市販品であってもよく、具体例としては、AMG 1100BG、AMG 300L（いずれもノボザイムズ ジャパン社製）、スミチーム、スミチーム S、スミチーム SG（いずれも新日本化学工業社製）、酒造用グルコアミラーゼ「アマノ」SD（天野エンザイム株式会社製）等が挙げられる。

20

【0044】

本発明においてグルコアミラーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

2%可溶性デンプン溶液 1 mL に 0.2 M 酢酸緩衝液（pH 5.0）0.2 mL を加え、40℃で 5 分間予熱する。これに酵素液 0.1 mL を加え、40℃で 20 分間反応させた後 1 N 水酸化ナトリウム溶液 0.1 mL を添加し反応を停止する。その後 30 分間放置し、1 N 塩酸 0.1 mL を加え中和する。この反応液中に発生したブドウ糖量を定量し、可溶性デンプンから 40℃で 60 分間に 1 mg のブドウ糖を生成する酵素量を 1 U（ユニット）と定義する。

30

【0045】

α -グルコシダーゼは、糖類やデンプンの α -1,4-グルコシド結合を非還元末端から加水分解し、 α -D-グルコースを生成する活性を有する酵素である。本発明において用いられる α -グルコシダーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源の α -グルコシダーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられる α -グルコシダーゼは市販品であってもよく、具体例としては、 α -グルコシダーゼ「アマノ」、トランスグルコシダーゼ L「アマノ」（いずれも天野エンザイム株式会社製）等が挙げられる。

【0046】

本発明において α -グルコシダーゼの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

1 mM α -メチル-D-グルコシド 1 mL に 0.02 M 酢酸バッファー（pH 5.0）1 mL を加え、酵素溶液 0.5 mL 添加して、40℃、60 分間を作用させた時に、反応液 2.5 mL 中に 1 μ g のブドウ糖を生成する酵素量を 1 U（ユニット）と定義する。

【0047】

本発明の製造方法は、（A）並びに（C）又は（D）をデンプン含有原料に添加することに加え、（E）タンパク質改質酵素をデンプン含有原料に添加することを、更に含んでよい。

本明細書において、「タンパク質改質酵素」を、便宜上「（E）」と称する場合がある。

40

50

【 0 0 4 8 】

本発明において（ E ）として用いられ得る「タンパク質改質酵素」とは、タンパク質に作用し、これを改質（例、架橋、分解等）する活性を有する酵素であり、例えば、タンパク質架橋酵素（例、グルコースオキシダーゼ、トランスグルタミナーゼ等）が挙げられる。本発明において（ B ）として用いられ得るタンパク質改質酵素（上述）を用いてもよい。

【 0 0 4 9 】

本発明の製造方法において、デンプン含有原料に添加される（ A ）の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること（例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等）から、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 0 . 0 0 0 1 U 以上であり、より好ましくは 0 . 1 U 以上であり、特に好ましくは 0 . 5 U 以上である。また、デンプン含有原料に添加される（ A ）の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること（例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等）から、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 1 0 0 0 U 以下であり、より好ましくは 1 0 0 U 以下であり、特に好ましくは 2 0 U 以下である。

【 0 0 5 0 】

一態様として、本発明の製造方法において、デンプン含有原料に添加される（ A ）の量は、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ることから、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 0 . 0 1 U 以上であり、より好ましくは 0 . 0 3 U 以上であり、特に好ましくは 0 . 0 5 U 以上である。また、一態様として、デンプン含有原料に添加される（ A ）の量は、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ることから、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 1 0 0 U 以下であり、より好ましくは 2 0 U 以下であり、特に好ましくは 1 0 U 以下である。

【 0 0 5 1 】

本発明の製造方法が（ B ）をデンプン含有原料に添加することを含む場合、デンプン含有原料に添加される（ B ）の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること（例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等）から、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 0 . 0 0 0 0 1 U 以上であり、より好ましくは 0 . 0 0 0 1 U 以上であり、特に好ましくは 0 . 0 0 0 5 U 以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される（ B ）の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること（例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等）から、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 1 0 0 0 U 以下であり、より好ましくは 1 0 0 U 以下であり、特に好ましくは 1 0 U 以下である。

【 0 0 5 2 】

一態様として、本発明の製造方法が（ B ）をデンプン含有原料に添加することを含み、当該（ B ）として例えばグルコースオキシダーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される（ B ）の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること（例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等）から、デンプン含有原料 1 g 当たり、好ましくは 0 . 0 0 0 1 U 以上であり、より好ま

10

20

30

40

50

しくは0.001U以上であり、特に好ましくは0.01U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1000U以下であり、より好ましくは1U以下であり、特に好ましくは0.05U以下である。

【0053】

他の一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばトランスグルタミナーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.00001U以上であり、より好ましくは0.0001U以上であり、特に好ましくは0.0005U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1000U以下であり、より好ましくは1U以下であり、特に好ましくは0.005U以下である。

【0054】

他の一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばリパーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.001U以上であり、より好ましくは0.01U以上であり、特に好ましくは0.1U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1000U以下であり、より好ましくは100U以下であり、特に好ましくは50U以下である。

【0055】

他の一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばプロテアーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.00001U以上であり、より好ましくは0.0001U以上であり、特に好ましくは0.001U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(B)の量は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること

、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1000U以下であり、より好ましくは100U以下であり、特に好ましくは10U以下である。

【0056】

一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばグルコースオキシダーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(B)の量との活性比は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、好ましくは(A):(B)=1:0.0001~0.04であり、より好ましくは(A):(B)=1:0.0005~0.035であり、特に好ましくは(A):(B)=1:0.001~0.03である。

10

【0057】

一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばトランスグルタミナーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(B)の量との活性比は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、好ましくは(A):(B)=1:0.000001~1000であり、より好ましくは(A):(B)=1:0.00001~0.01であり、特に好ましくは(A):(B)=1:0.00015~0.003である。

20

【0058】

一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばリパーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(B)の量との活性比は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、好ましくは(A):(B)=1:0.001~1000であり、より好ましくは(A):(B)=1:0.01~100であり、特に好ましくは(A):(B)=1:0.1~50である。

30

【0059】

一態様として、本発明の製造方法が(B)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(B)として例えばプロテアーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(B)の量との活性比は、デンプン含有食品を効果的に改質し得ること(例えば、デンプン含有食品の老化を効果的に抑制し得ること、デンプン含有食品の食感を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の製造適性を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の風味を効果的に改良し得ること、デンプン含有食品の物性を効果的に改質し得ること等)から、好ましくは(A):(B)=1:0.00001~1000であり、より好ましくは(A):(B)=1:0.0001~100であり、特に好ましくは(A):(B)=1:0.01~10である。

40

【0060】

本発明の製造方法が(C)をデンプン含有原料に添加することを含む場合、デンプン含有原料に添加される(C)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料に対して、好ましくは0.05重量%以上であり、より好ましくは0.1重量%以上であり、特に好ましくは0.3重量%以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(C)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料に対して、好ましくは70重量%以下であり、より好ましくは60重量%以下であり

50

、特に好ましくは55重量%以下である。

【0061】

一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えば - アミラーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、老化抑制効果の程度の観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.001U以上であり、より好ましくは0.01U以上であり、特に好ましくは0.1U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、物性の好ましさの観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは100U以下であり、より好ましくは10U以下であり、特に好ましくは1U以下である。

【0062】

他の一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えば - アミラーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、老化抑制効果の程度の観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.0001U以上であり、より好ましくは0.001U以上であり、特に好ましくは0.01U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、物性の好ましさの観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは10U以下であり、より好ましくは1U以下であり、特に好ましくは0.1U以下である。

【0063】

他の一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えばグルコアミラーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、老化抑制効果の程度の観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.025U以上であり、より好ましくは0.25U以上であり、特に好ましくは2.5U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、物性の好ましさの観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは2500U以下であり、より好ましくは250U以下であり、特に好ましくは25U以下である。

【0064】

他の一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えば - グルコシダーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、老化抑制効果の程度の観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.00001U以上であり、より好ましくは0.0001U以上であり、特に好ましくは0.001U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(D)の量は、物性の好ましさの観点から、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1U以下であり、より好ましくは0.1U以下であり、特に好ましくは0.01U以下である。

【0065】

一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えば - アミラーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(D)の量との活性比は、老化抑制効果の程度及び物性の好ましさの観点から、好ましくは(A):(D)=1:0.00001~10000であり、より好ましくは(A):(D)=1:0.0001~1000であり、特に好ましくは(A):(D)=1:0.001~100である。

【0066】

他の一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えば - アミラーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(D)の量との活性比は、老化抑制効果の程度及び物性の好ましさの観点から、好ましくは(A):(D)=1:0.000001~1000であり、より好ましくは(A):(D)=1:0.00001~100であり、特に好ましくは(A):(D)=1:0.0001~10である。

【0067】

他の一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含

10

20

30

40

50

み、当該(D)として例えばグルコアミラーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(D)の量との活性比は、老化抑制効果の程度及び物性の好ましさの観点から、好ましくは(A):(D)=1:0.00025~250000であり、より好ましくは(A):(D)=1:0.0025~25000であり、特に好ましくは(A):(D)=1:0.025~2500である。

【0068】

他の一態様として、本発明の製造方法が(D)をデンプン含有原料に添加することを含み、当該(D)として例えばグルコシダーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(D)の量との活性比は、老化抑制効果の程度及び物性の好ましさの観点から、好ましくは(A):(D)=1:0.0000001~100であり、より好ましくは(A):(D)=1:0.000001~10であり、特に好ましくは(A):(D)=1:0.00001~1である。

10

【0069】

本発明の製造方法が(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)をデンプン含有原料に添加することを含む場合、デンプン含有原料に添加される(E)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.00001U以上であり、より好ましくは0.0001U以上であり、特に好ましくは0.0005U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(E)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは10U以下であり、より好ましくは1U以下であり、更に好ましくは0.1U以下であり、特に好ましくは0.03U以下である。

20

【0070】

一態様として、本発明の製造方法が(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)をデンプン含有原料に添加することを更に含み、当該(E)として例えばグルコースオキシダーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(E)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.0001U以上であり、より好ましくは0.001U以上であり、特に好ましくは0.002U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(E)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1U以下であり、より好ましくは0.1U以下であり、特に好ましくは0.05U以下である。

30

【0071】

他の一態様として、本発明の製造方法が(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)をデンプン含有原料に添加することを更に含み、当該(E)として例えばトランスグルタミナーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(E)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは0.00001U以上であり、より好ましくは0.0001U以上であり、特に好ましくは0.0005U以上である。また、この場合、デンプン含有原料に添加される(E)の量は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、デンプン含有原料1g当たり、好ましくは1U以下であり、より好ましくは0.01U以下であり、特に好ましくは0.005U以下である。

40

【0072】

一態様として、本発明の製造方法が(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)をデンプン含有原料に添加することを更に含み、当該(E)として例えばグルコースオキシダーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(E)の量との活性比は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、好ましくは(A):(E)=1:0.0001~0.04であり、より好ましくは(A):(E)=1:0.0005~0.035であり、特に好ましくは(A):(E)=1:0.001~0.03である。

【0073】

50

他の一態様として、本発明の製造方法が(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)をデンプン含有原料に添加することを更に含み、当該(E)として例えばトランスグルタミナーゼ等が用いられる場合、デンプン含有原料に添加される(A)の量と(E)の量との活性比は、(A)の作用を効果的に高め得ることから、好ましくは(A):(E)=1:0.00001~0.01であり、より好ましくは(A):(E)=1:0.0001~0.005であり、特に好ましくは(A):(E)=1:0.00015~0.003である。

【0074】

[デンプン含有原料]

本発明において「デンプン含有原料」とは、デンプンを含有し、食品の製造に用いられる原料をいい、デンプンそのものや加工デンプン等も包含する概念である。デンプン含有原料としては、例えば、デンプンを成分として含有する植物から得られる原料等が挙げられ、より詳細には、穀類(例、小麦、米、とうもろこし等)、イモ類(例、馬鈴薯、甘薯、キャッサバ等)、野菜類、果実類等に、必要に応じて加工処理(例、磨砕処理、粉碎処理、加熱処理、乾燥処理、濃縮処理等)を施して得られる原料等が例示される。具体例としては、小麦粉(例、薄力粉、中力粉、強力粉等)、米、米粉、ホールコーン、コーンパウダー、コーンペースト、カットポテト、ポテトフレーク、ポテトパウダー、ボイルドポテト等が挙げられる。

10

【0075】

本発明の製造方法が(A)及び(B)をデンプン含有原料に添加することを含む場合、デンプン含有原料に、(A)及び(B)を個別に添加してよいが、(A)及び(B)を添加前に予め混合し、得られた混合物を添加してもよい。(A)及び(B)の添加は、後述の本発明の組成物を使用して行われてもよい。

20

(A)及び(B)を個別に添加する場合、添加の順序及び間隔は特に制限されず、例えば、(A)及び(B)の順序、あるいはその逆の順序等で添加してよい。また(A)及び(B)を同時に添加してもよい。

【0076】

本発明の製造方法が(A)及び(C)をデンプン含有原料に添加することを含む場合、デンプン含有原料に(A)及び(C)を個別に添加してよいが、(A)及び(C)を添加前に予め混合し、得られた混合物を添加してもよい。(A)及び(C)の添加は、後述の本発明の組成物を使用して行われてもよい。

30

(A)及び(C)を個別に添加する場合、添加の順序及び間隔は特に制限されず、例えば、(A)、(C)の順序、あるいはその逆の順序等で添加してよい。また(A)及び(C)を同時に添加してもよい。

【0077】

本発明の製造方法が(A)及び(D)をデンプン含有原料に添加することを含む場合、デンプン含有原料に(A)及び(D)を個別に添加してよいが、(A)及び(D)を添加前に予め混合し、得られた混合物を添加してもよい。(A)及び(D)の添加は、後述の本発明の組成物を使用して行われてもよい。

40

(A)及び(D)を個別に添加する場合、添加の順序及び間隔は特に制限されず、例えば、(A)、(D)の順序、あるいはその逆の順序等で添加してよい。また(A)及び(D)を同時に添加してもよい。

【0078】

本発明の製造方法が(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)をデンプン含有原料に添加することを更に含む場合、デンプン含有原料に、(A)及び(C)~(E)を個別に添加してよいが、(A)及び(C)~(E)を添加前に予め混合し、得られた混合物を添加してもよい。(A)及び(C)~(E)の添加は、後述の本発明の組成物を使用して行われてもよい。

(A)及び(C)~(E)を個別に添加する場合、添加の順序及び間隔は特に制限されず、例えば、(A)、(C)又は(D)、(E)の順序、あるいはその逆の順序等で添加

50

してよい。また(A)及び(C)~(E)を同時に添加してもよい。

【0079】

(A)~(E)をデンプン含有原料に添加する方法及び条件は特に限定されず、デンプン含有食品の種類等に応じて適宜設定できる。(A)~(E)をデンプン含有原料に添加する時期は特に限定されないが、例えば、本発明の製造方法が、デンプン含有原料を加熱することを含む場合、(A)~(E)の添加は、デンプン含有原料を加熱する前に行われることが好ましい。

【0080】

本発明の製造方法は、(A)~(E)をデンプン含有原料に添加することに加えて、デンプン含有食品の製造において慣用の処理工程、調理工程を、製造するデンプン含有食品の種類等に応じて適宜含んでよい。例えば、本発明の製造方法は、デンプン含有原料を加熱することを更に含み得る。

10

【0081】

本発明の製造方法がデンプン含有原料を加熱することを含む場合、デンプン含有原料を加熱する方法及び条件(例、加熱温度、加熱時間等)は特に限定されず、製造するデンプン含有食品の種類等に応じて適宜設定できるが、デンプン含有原料を加熱する際の加熱温度は通常60~250であり、加熱時間は通常1~180分間である。

【0082】

本発明の製造方法は、デンプン含有食品の所望の流通形態等に応じて、デンプン含有食品を、冷蔵処理、冷凍処理等に供してもよい。したがって本発明の製造方法によって得られるデンプン含有食品は、冷蔵品、冷凍品(冷凍食品)等であってもよい。

20

【0083】

本発明の製造方法は、(A)~(E)及びデンプン含有原料以外の食品原料を、製造するデンプン含有食品の種類等に応じて適宜使用してよい。

【0084】

本発明の製造方法によって製造され得るデンプン含有食品の種類は特に制限されないが、本発明の製造方法は、好ましくは、ベーカリー食品(例、パン、ケーキ、クッキー等)、米飯食品(例、炊飯米、炒飯、おにぎり等)、イモ類食品(例、マッシュポテト、フライドポテト、ポテトサラダ、ポテトフレーク等)、麺類食品(例、うどん、中華麺、餃子等)及び餅類(例、餅、白玉、葛餅等)からなる群(より好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺類食品からなる群)より選択されるデンプン含有食品の製造方法である。

30

一態様として、本発明の製造方法は、好ましくは、ベーカリー食品の製造方法であり、より好ましくは、パンの製造方法である。

他の一態様として、本発明の製造方法は、好ましくは、イモ類食品の製造方法である。

他の一態様として、本発明の製造方法は、好ましくは、餅類の製造方法である。

【0085】

本発明の製造方法によれば、改質されたデンプン含有食品を製造でき、具体的には、例えば、老化が抑制されたデンプン含有食品、食感が改良されたデンプン含有食品、製造適性が改良されたデンプン含有食品、風味が改良されたデンプン含有食品、物性が改質されたデンプン含有食品等を製造できる。

40

【0086】

本発明の製造方法によれば、老化が抑制されたデンプン含有食品を製造できる。

本発明において、デンプン含有食品の「老化」とは、デンプン含有食品の品質が経時的に低下すること(例えば、デンプン含有食品の食感が経時的に硬くなることや、ボソつくようになること、パサつきが強くなること等)を意味する。デンプン含有食品の老化の程度は、専門パネルによる官能評価(例えば、後述の実施例に示される官能評価等)によって評価できる。

また本発明においてデンプン含有食品の老化の「抑制」とは、デンプン含有食品の老化を防止すること又は遅延させることをいう。

50

【0087】

本発明の製造方法によれば、食感が改良されたデンプン含有食品も製造でき、例えば、歯切れ、口どけ、しっとり感、ほぐれやすさ、弾力、柔らかさ、粒立ち及びなめらかさからなる群より選択される少なくとも一つが改良されたデンプン含有食品等を製造できる。

一態様として、デンプン含有食品がベーカリー食品である場合、本発明の製造方法によれば、例えば、歯切れが改良されたベーカリー食品、口どけが改良されたベーカリー食品、しっとり感が改良されたベーカリー食品、柔らかさが改良されたベーカリー食品等を製造できる。本発明において、ベーカリー食品の「歯切れ」とは、食品を前歯で噛んだときの噛み切りやすさを意味する。またベーカリー食品の「口どけ」とは、食品の咀嚼中における口内での食塊の溶けやすさを意味し、例えば、口内でダマになって残存しやすい食品は、口どけが悪いと評価される傾向にある。またベーカリー食品の「しっとり感」とは、パサつくことなく、適度な水分を含んでいるように感じられる食感を意味する。ベーカリー食品の歯切れ、口どけ、しっとり感の程度は、例えば、専門パネルによる官能評価（例、後述の実施例に示される官能評価等）等によって評価できる。

10

他の一態様として、デンプン含有食品が米飯食品である場合、本発明の製造方法によれば、例えば、ほぐれやすさが改良された米飯食品、弾力が改良された米飯食品、粒立ちが改良された米飯食品等を製造できる。

他の一態様として、デンプン含有食品がイモ類食品である場合、本発明の製造方法によれば、例えば、ボソつきが抑えられ、なめらかさが改良されたイモ類食品、しっとり感が改良されたイモ類食品、柔らかさが改良されたイモ類食品等を製造できる。

20

【0088】

本発明の製造方法によれば、製造適性が改良されたデンプン含有食品も製造できる。本発明において、デンプン含有食品の「製造適性」とは、デンプン含有食品を製造する際の取り扱いやすさを意味する。

一態様として、デンプン含有食品が、米飯食品の一種である炊飯米である場合、本発明の製造方法によれば、例えば、炊飯釜への付着残りが抑制された炊飯米等を製造できる。

【0089】

本発明の製造方法によれば、風味が改良されたデンプン含有食品を製造できる。本発明において、デンプン含有食品の「風味」とは、デンプン含有食品の香り、味、又はそれらの総合的な感覚を意味する。

30

一態様として、デンプン含有食品が、イモ類食品である場合、本発明の製造方法によれば、例えば、イモ感（蒸かしたイモに特有の香り、風味）が改良されたイモ類食品等を製造できる。イモ類食品のイモ感の有無や程度は、例えば、専門パネルによる官能評価（例、後述の実施例に示される官能評価等）によって評価できる。

【0090】

本発明の製造方法によれば、好ましくは、老化が抑制され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品を製造できる。

【0091】

本発明の製造方法によれば、好ましくは、製造適性が改良され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品を製造できる。

40

【0092】

本発明の製造方法によれば、好ましくは、老化が抑制され、あるいは、製造適性が改良され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品を製造できる。

【0093】

本発明の製造方法によれば、好ましくは、食感及び風味が改良されたデンプン含有食品を製造できる。

【0094】

本発明の製造方法によれば、物性が改質されたデンプン含有食品も製造できる。

一態様として、デンプン含有食品がベーカリー食品である場合、本発明の製造方法によれば、例えば、焼成時の膨らみ（焼き伸び）が向上したベーカリー食品等を製造できる。

50

ベーカリー食品の焼成時の膨らみの程度は、例えば、ベーカリー食品のサイズ（例、高さ等）等から評価できる。

【0095】

2. デンプン含有食品の改質方法

本発明は、(i)(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、(ii)(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の改質方法（本明細書において「本発明の改質方法」と称する場合がある）も提供する。本発明の改質方法は、例えば、デンプン含有食品の老化抑制方法、デンプン含有食品の食感改良方法、デンプン含有食品の製造適性改良方法、デンプン含有食品の風味改良方法、デンプン含有食品の物性の改質方法等であってよい。

10

【0096】

本発明の改質方法は、一態様として、デンプン含有食品の老化抑制方法であってよく、したがって本発明は、(i)(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、(ii)(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の老化抑制方法も提供する。

また本発明の改質方法は、他の一態様として、デンプン含有食品の食感改良方法であってよく、したがって本発明は、(i)(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、(ii)(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の食感改良方法（好ましくは、デンプン含有食品の歯切れ、口どけ、弾力、粒立ち及びなめらかさからなる群より選択される少なくとも一つの改良方法）も提供する。

20

また本発明の改質方法は、他の一態様として、デンプン含有食品の製造適性改良方法であってよく、したがって本発明は、(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼ、並びに、(B)タンパク質又は脂質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを含む、デンプン含有食品の製造適性改良方法も提供する。

また本発明の改質方法は、他の一態様として、デンプン含有食品の風味改良方法であってよく、したがって本発明は、(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼ、並びに、(B)タンパク質又は脂質改質酵素を、デンプン含有原料に添加することを含む、デンプン含有食品の風味改良方法も提供する。

30

また本発明の改質方法は、他の一態様として、デンプン含有食品の物性の改質方法であってよく、したがって本発明は、(i)(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを、デンプン含有原料に添加すること、並びに、(ii)(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を、デンプン含有原料に更に添加することを含む、デンプン含有食品の物性の改質方法も提供する。

【0097】

40

本発明の改質方法は、デンプン含有食品の老化抑制及び食感改良方法であってもよい。また、本発明の改質方法は、デンプン含有食品の製造適性改良及び食感改良方法であってもよい。本発明の改質方法は、デンプン含有食品の風味及び食感改良方法であってもよい。

【0098】

本発明の改質方法において用いられる(A)(サーマス属細菌由来のアミロマルターゼ)、(B)(タンパク質又は脂質改質酵素)及びデンプン含有原料は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(A)、(B)及びデンプン含有原料と同様であり、好ましい態様も同様である。

【0099】

本発明の改質方法において用いられ得る(C)(デンプン分解物)は、前記「1. デン

50

ブン含有食品の製造方法」で説明した(C)と同様であり、好ましい態様も同様である。

【0100】

本発明の改質方法において用いられ得る(D)(デンプン分解酵素)は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(D)と同様であり、好ましい態様も同様である。

【0101】

本発明の改質方法は、(A)並びに(C)又は(D)をデンプン含有原料に添加することに加え、(E)タンパク質改質酵素をデンプン含有原料に添加することを、更に含んでよい。

本発明の方法において用いられ得る(E)(タンパク質改質酵素)は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(E)と同様であり、好ましい態様も同様である。

10

【0102】

本発明の改質方法は、特に断りのない限り、本発明の製造方法と同様に実施し得、好ましい態様も同様である。

【0103】

本発明の改質方法が用いられるデンプン含有食品の種類は特に制限されないが、本発明の改質方法は、好ましくはベーカリー食品(例、パン、ケーキ、クッキー等)、米飯食品(例、炊飯米、炒飯、おにぎり等)、イモ類食品(例、マッシュポテト、フライドポテト、ポテトサラダ、ポテトフレーク等)、麺帯食品(例、うどん、中華麺、餃子等)及び餅類(例、餅、白玉、葛餅等)からなる群(より好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺帯食品からなる群)より選択されるデンプン含有食品の老化抑制方法である。

20

一態様として、本発明の改質方法は、好ましくはベーカリー食品の老化抑制方法、ベーカリー食品の食感改良方法であり、より好ましくは、パンの老化抑制方法、パンの食感改良方法である。

他の一態様として、本発明の改質方法は、好ましくは、イモ類食品の老化抑制方法である。

他の一態様として、本発明の改質方法は、好ましくは米飯食品の製造適性改良方法、米飯食品の食感改良方法であり、より好ましくは、炊飯米の製造適性改良方法、炊飯米の食感改良方法である。

他の一態様として、本発明の改質方法は、好ましくはイモ類食品の食感及び風味改良方法あり、より好ましくは、マッシュポテトの食感及び風味改良方法である。

30

【0104】

本発明の改質方法によれば、デンプン含有食品の老化を抑制できる。例えば、本発明の改質方法によれば、デンプン含有食品の食感が経時的に硬くなること、デンプン含有食品の食感が経時的にボソつくようになること、デンプン含有食品の食感が経時的にパサつきが強くなること等を抑制できる。

【0105】

本発明の改質方法によれば、デンプン含有食品の食感を改良でき、例えば、デンプン含有食品の歯切れ、口どけ、しっとり感、ほぐれやすさ、弾力、柔らかさ、粒立ち及びなめらかさからなる群より選択される少なくとも一つを改良できる。

40

一態様として、デンプン含有食品がベーカリー食品である場合、本発明の改質方法によれば、例えば、ベーカリー食品の歯切れ、口どけ、しっとり感、柔らかさ等を改良できる。

他の一態様として、デンプン含有食品が米飯食品である場合、本発明の改質方法によれば、例えば、米飯食品のほぐれやすさ、弾力、粒立ち等を改良できる。

他の一態様として、デンプン含有食品がイモ類食品である場合、本発明の改質方法によれば、例えば、イモ類食品のボソつきを抑えて、なめらかさ等を改良できる。また、イモ類食品のしっとり感、柔らかさ等を改良できる。

【0106】

本発明の改質方法によれば、デンプン含有食品の製造適性を改良できる。

一態様として、デンプン含有食品が米飯食品の一種である炊飯米である場合、本発明の

50

改質方法によれば、例えば、炊飯米の炊飯釜への付着残り等を改良できる。

【0107】

本発明の改質方法によれば、デンプン含有食品の風味を改良できる。

一態様として、デンプン含有食品がイモ類食品である場合、本発明の改質方法によれば、例えば、イモ類食品のイモ感等を改良できる。

【0108】

本発明の改質方法によれば、デンプン含有食品の物性を改質することもできる。

一態様として、デンプン含有食品がベーカリー食品である場合、本発明の方法によれば、例えば、ベーカリー食品の焼成時の膨らみ（焼き伸び）等を向上できる。

【0109】

10

3. 酵素組成物

本発明は、(i)(A)サーマス(Thermus)属細菌由来のアミロマルターゼを含み、かつ(ii)(B)タンパク質又は脂質改質酵素、あるいは、(C)デンプン分解物又は(D)デンプン分解酵素を含む、酵素組成物(本明細書において「本発明の酵素組成物」と称する場合がある)も提供する。

本発明の酵素組成物に含まれる(A)(サーマス属細菌由来のアミロマルターゼ)及び(B)(タンパク質又は脂質改質酵素)は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(A)及び(B)と同様であり、好ましい態様も同様である。

【0110】

本発明の酵素組成物に含まれ得る(C)(デンプン分解物)は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(C)と同様であり、好ましい態様も同様である。

20

【0111】

本発明の酵素組成物に含まれ得る(D)(デンプン分解酵素)は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(D)と同様であり、好ましい態様も同様である。

【0112】

本発明の酵素組成物は、(A)並びに(C)又は(D)に加え、(E)タンパク質改質酵素を更に含んでよい。

本発明の酵素組成物に含まれ得る(E)(タンパク質改質酵素)は、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した(E)と同様であり、好ましい態様も同様である。

【0113】

30

本発明の酵素組成物に含まれる(A)の量は特に制限されないが、本発明の酵素組成物1g当たり、通常0.00001~10000Uであり、好ましくは0.0001~1000Uである。

【0114】

本発明の酵素組成物が(B)を含む場合、本発明の酵素組成物に含まれる(B)の量は特に制限されないが、本発明の酵素組成物1g当たり、通常0.00001~10000Uであり、好ましくは0.0001~1000Uである。

【0115】

本発明の酵素組成物が(C)を含む場合、本発明の酵素組成物に含まれる(C)の量は特に制限されないが、本発明の酵素組成物に対して、通常0.1~99重量%であり、好ましくは1~90重量%である。

40

【0116】

本発明の酵素組成物が(D)を含む場合、本発明の酵素組成物に含まれる(D)の量は特に制限されないが、本発明の酵素組成物1g当たり、通常0.00001~10000Uであり、好ましくは0.0001~1000Uである。

【0117】

本発明の酵素組成物が(E)を含む場合、本発明の酵素組成物に含まれる(E)の量は特に制限されないが、本発明の酵素組成物1g当たり、通常0.00001~10000Uであり、好ましくは0.0001~1000Uである。

【0118】

50

本発明の酵素組成物が (B) を含む場合、本発明の酵素組成物における (A) の含有量と (B) の含有量との活性比は、前記「 1 . デンプン含有食品の製造方法」で説明した、デンプン含有原料に添加される (A) の量と (B) の量との活性比と同様の範囲に設定し得、好適な範囲も同様である。

【 0 1 1 9 】

本発明の酵素組成物が (D) を含む場合、本発明の酵素組成物における (A) の含有量と (D) の含有量との活性比は、前記「 1 . デンプン含有食品の製造方法」で説明した、デンプン含有原料に添加される (A) の量と (D) の量との活性比と同様の範囲に設定し得、好適な範囲も同様である。

【 0 1 2 0 】

本発明の酵素組成物が (E) を含む場合、本発明の酵素組成物における (A) の含有量と (E) の含有量との活性比は、前記「 1 . デンプン含有食品の製造方法」で説明した、デンプン含有原料に添加される (A) の量と (E) の量との活性比と同様の範囲に設定し得、好適な範囲も同様である。

【 0 1 2 1 】

本発明の酵素組成物の形態は特に制限されず、例えば、固体状 (粉末状、顆粒状等を含む) 、液体状 (スラリー状等を含む) 、ゲル状、ペースト状等が挙げられる。

【 0 1 2 2 】

本発明の酵素組成物は、 (A) ~ (E) のみからなるものであってよいが、これらに加えて、食品用の酵素製剤に慣用の基剤をさらに含有するものであってよい。当該基剤としては、例えば、澱粉、デキストリン、シクロデキストリン、糖類 (例、乳糖、ショ糖、グルコース等) 、蛋白質 (例、動植物性蛋白質等) 、塩類 (塩化ナトリウム等) 、水、油脂類等が挙げられる。

【 0 1 2 3 】

本発明の酵素組成物は、本発明の目的を損なわない限り、 (A) ~ (E) に加えて、例えば、賦形剤、pH調整剤、酸化防止剤、増粘安定剤、乳化剤、甘味料 (例、砂糖等) 、食塩、有機塩類、無機塩類、調味料、酸味料、香辛料、着色料、発色剤等を更に含有してよい。

【 0 1 2 4 】

本発明の酵素組成物の製造は、食品用の酵素製剤の製造に慣用の方法又はそれに準ずる方法により行い得る。

【 0 1 2 5 】

本発明の酵素組成物に含まれる (A) ~ (E) は、全てが一つの製剤に含有されてよいが、 (A) ~ (E) が二つ以上の製剤に含有されてよい。 (A) ~ (E) が二つ以上の製剤に含有される場合、本発明の酵素組成物は、例えば、 (A) ~ (E) をそれぞれ単独で含有する製剤を組み合わせたもの等であってよい。

本発明の酵素組成物に含まれる (A) ~ (E) が二つ以上の製剤に含有される場合、本発明の酵素組成物に含まれる (A) ~ (E) の量は、各製剤に含まれる (A) ~ (E) の量を合計して算出される。

【 0 1 2 6 】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の原料であるデンプン含有原料に添加して用いられ得、本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品用酵素組成物であってよい。

【 0 1 2 7 】

本発明の酵素組成物を添加し得るデンプン含有原料は、前記「 1 . デンプン含有食品の製造方法」で説明したデンプン含有原料と同様であり、好ましい態様も同様である。

【 0 1 2 8 】

本発明の酵素組成物をデンプン含有原料に添加する方法及び条件は特に限定されず、本発明の酵素組成物の形態やデンプン含有食品の種類等に応じて自体公知の方法又はそれに準ずる方法で行い得る。本発明の酵素組成物をデンプン含有原料に添加する時期は特に限定されないが、例えば、デンプン含有食品が、デンプン含有原料を加熱して製造される場

10

20

30

40

50

合、本発明の酵素組成物の添加は、デンプン含有原料を加熱する前に行われることが好ましい。

【0129】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有原料に添加される(A)の量が、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した量と同様となるように、デンプン含有原料に添加するためのものであってよい。

【0130】

本発明の酵素組成物が(B)を含む場合、本発明の酵素組成物は、デンプン含有原料に添加される(B)の量が、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した量と同様となるように、デンプン含有原料に添加するためのものであってよい。

10

【0131】

本発明の酵素組成物が(C)を含む場合、本発明の酵素組成物は、デンプン含有原料に添加される(C)の量が、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した量と同様となるように、デンプン含有原料に添加するためのものであってよい。

【0132】

本発明の酵素組成物が(D)を含む場合、本発明の酵素組成物は、デンプン含有原料に添加される(D)の量が、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した量と同様となるように、デンプン含有原料に添加するためのものであってよい。

【0133】

本発明の酵素組成物が(E)を含む場合、本発明の酵素組成物は、デンプン含有原料に添加される(E)の量が、前記「1. デンプン含有食品の製造方法」で説明した量と同様となるように、デンプン含有原料に添加するためのものであってよい。

20

【0134】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品用の酵素組成物として好適に用いられ得る。本発明の酵素組成物が用いられるデンプン含有食品の種類は特に制限されないが、本発明の酵素組成物は、好ましくはベーカリー食品(例、パン、ケーキ、クッキー等)、米飯食品(例、炊飯米、炒飯、おにぎり等)、イモ類食品(例、マッシュポテト、フライドポテト、ポテトサラダ、ポテトフレーク等)、麺類食品(例、うどん、中華麺、餃子等)及び餅類(例、餅、白玉、葛餅等)からなる群(より好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺類食品からなる群)より選択されるデンプン含有食品用の酵素組成物である。

30

【0135】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の改質用の酵素組成物として好適に用いられ得る。デンプン含有食品の改質用の酵素組成物は、例えば、デンプン含有食品の老化抑制用の酵素組成物、デンプン含有食品の食感改良用の酵素組成物、デンプン含有食品の製造適性改良用の酵素組成物、デンプン含有食品の風味改良用の酵素組成物、デンプン含有食品の物性の改質用の酵素組成物等であってよい。

【0136】

本発明の酵素組成物が用いられるデンプン含有食品の種類は特に制限されないが、本発明の酵素組成物は、好ましくはベーカリー食品(例、パン、ケーキ、クッキー等)、米飯食品(例、炊飯米、炒飯、おにぎり等)、イモ類食品(例、マッシュポテト、フライドポテト、ポテトサラダ、ポテトフレーク等)、麺類食品(例、うどん、中華麺、餃子等)及び餅類(例、餅、白玉、葛餅等)からなる群(より好ましくは、ベーカリー食品、米飯食品、イモ類食品及び麺類食品からなる群)より選択されるデンプン含有食品の老化抑制用の酵素組成物である。

40

一態様として、本発明の酵素組成物は、好ましくはベーカリー食品の老化抑制用の酵素組成物であり、より好ましくは、パンの老化抑制用の酵素組成物である。

他の一態様として、本発明の酵素組成物は、好ましくは、イモ類食品の老化抑制用の酵素組成物である。

他の一態様として、本発明の酵素組成物は、好ましくはベーカリー食品の食感改良用の

50

酵素組成物であり、より好ましくは、パンの食感改良用の酵素組成物である。

他の一態様として、本発明の酵素組成物は、好ましくは米飯食品の製造適性改良用の酵素組成物であり、より好ましくは、炊飯米の製造適性改良用の酵素組成物である。

他の一態様として、本発明の酵素組成物は、好ましくはイモ類食品の食感及び風味改良用の酵素組成物であり、より好ましくは、マッシュポテトの食感及び風味改良用の酵素組成物である。

【0137】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の老化抑制用の酵素組成物として好適に用いられ得る。本発明の酵素組成物は、例えば、デンプン含有食品の食感が経時的に硬くなること、デンプン含有食品の食感が経時的にボソつくようになること、デンプン含有食品の食感のバサつきが経時的に強くなること等を抑制するための酵素組成物として好適に用いられ得る。

10

【0138】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の食感改良用の酵素組成物としても好適に用いられ得、例えば、デンプン含有食品の歯切れ、口どけ、しっとり感、ほぐれやすさ、弾力、柔らかさ、粒立ち及びなめらかさからなる群より選択される少なくとも一つの改良用の酵素組成物等として用いられ得る。

一態様として、デンプン含有食品がベーカリー食品である場合、本発明の酵素組成物は、例えば、ベーカリー食品の歯切れ、口どけ、しっとり感、柔らかさ等を改良するための酵素組成物として好適に用いられ得る。

20

他の一態様として、デンプン含有食品が米飯食品である場合、本発明の酵素組成物は、例えば、米飯食品のほぐれやすさ、弾力、粒立ち等を改良するための酵素組成物として好適に用いられ得る。

他の一態様として、デンプン含有食品がイモ類食品である場合、本発明の酵素組成物は、例えば、イモ類食品のボソつきを抑えて、なめらかさ等を改良するための酵素組成物として好適に用いられ得る。また、本発明の酵素組成物は、例えば、イモ類食品のしっとり感、柔らかさ等を改良するための酵素組成物としても好適に用いられ得る。

【0139】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の製造適性改良用の酵素組成物としても好適に用いられ得る。

30

一態様として、デンプン含有食品が米飯食品の一種である炊飯米である場合、本発明の酵素組成物は、例えば、炊飯釜への付着残りを抑制するための酵素組成物として好適に用いられ得る。

【0140】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の製造適性改良及び食感改良用の酵素組成物として用いてもよい。また、本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の老化抑制及び食感改良用の酵素組成物として用いてもよい。

【0141】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の風味改良用の酵素組成物としても好適に用いられ得る。

40

一態様として、デンプン含有食品がイモ類食品である場合、本発明の酵素組成物は、例えば、イモ感を改良するための酵素組成物として好適に用いられ得る。

【0142】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の食感及び風味改良用の酵素組成物として用いてもよい。

【0143】

本発明の酵素組成物は、デンプン含有食品の物性の改質用の酵素組成物としても用いられ得る。

一態様として、デンプン含有食品がベーカリー食品である場合、本発明の酵素組成物は、例えば、ベーカリー食品の焼成時の膨らみ（焼き伸び）等を向上するための酵素組成物

50

として好適に用いられ得る。

【0144】

以下の実施例において本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの例によってなんら限定されるものではない。

【実施例】

【0145】

以下の各試験例で用いたサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液は、下記の方法で調製した。

1. 発現ベクターの作製

以下指定のない限り、制限酵素はタカラバイオ株式会社製のものを用いた。また、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを、以下「TtAM」と省略して記載する。TtAMの発現ベクターは以下のように調製した。アクセッション番号YP_144527のアミノ酸配列を元に、Genscript社で大腸菌コドンユーセージを最適化した配列を持つDNAを合成した。合成DNAの5'末端にはNdeI制限酵素配列を、3'末端にはEcoRI制限酵素配列を付加しており、両制限酵素で処理した後に、NdeIおよびRcoIで制限酵素処理した発現ベクターpET21a(+)に挿入し、TtAMの発現ベクターpET21a-TtAMを得た。

10

2. 発現菌の作製

得られた発現ベクターを用いて大腸菌BL21(DE3)を形質転換し、大腸菌発現株BL21(DE3)/pET21a-TtAMを得た。

20

3. 大量発現、精製

精製のフローを図1に示す。作製したTtAMの発現菌(BL21(DE3)/pET21a-TtAM)を用い、24リットルの発現培地(1%トリプトン(日本製薬株式会社)、0.5%酵母エキス(極東製薬工業株式会社)、0.5%塩化ナトリウム、0.5%ハイカザミノ酸「ダイゴ」(日本製薬株式会社)、0.2%グルコース、50µg/mLアンピシリン)で30°Cで培養を行った。OD600=0.6付近で終濃度20µMとなるようにIPTG(イソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド)を添加し、30°Cで20時間培養を続けた。その後集菌し、得られた菌体219gを約440mLの20mM Tris-HCl(pH8.0)、0.15M NaClに懸濁し、圧力式ホモジナイザー(株式会社エスエムテ-製圧力式ホモジナイザーLAB1000)で菌体を破碎した。破碎に際して超音波破碎機(株式会社トミー精工製超音波破碎機UD-201、標準チップTP-012(14.5mm))を併用した。細胞破碎液を22,000×gで、15分間遠心分離を行い細胞抽出液上清を約600mL得た。その細胞抽出液上清を70°Cで、30分間熱処理を行った後、22,000×gで、20分間遠心分離を行った。回収した上清約465mLに対し硫酸アンモニウムを50%飽和となるように加え、一晚4°Cで静置後22,000×gで、20分間の遠心分離によりタンパク質を沈殿させた後、20mM Tris-HCl(pH7.5)に少量懸濁し、20mM Tris-HCl(pH7.5)に対し透析を行った。透析後のタンパク溶液は120mL程度であった。

30

次にこのタンパク溶液に硫酸アンモニウムを20%飽和となるように加え、22,000×gで、15分間の遠心分離を行い上清を回収した。0.45µmフィルター処理した後に2回に分けてPhenyl Sepharose 6 Fast Flow(high sub)50/10カラム(カラム容量200mL、GEヘルスケア社)を用いた疎水性クロマトグラフィーに供した。20mM Tris-HCl(pH7.5)、20%飽和硫酸アンモニウムでカラムを洗浄した後に20mM Tris-HCl(pH7.5)、20%から0%の飽和硫酸アンモニウム直線濃度勾配の後、超純水(Milli-Q水)により目的酵素の溶出を行った。得られたTtAM溶出画分を集め、最後に20mMリン酸カリウムバッファー(pH7.0)、25mM NaClに対し透析を行った後、0.22µmフィルター滅菌を行いTtAM精製品(2730U/mL)とした。

40

【0146】

<試験例1>

50

〔食パンの作製〕

(サンプル 1 - 1)

強力粉（日本製粉株式会社製、商品名「ニップンイーグル（強力粉）」）、グラニュー糖（三井製糖株式会社製、商品名「スプーン印グラニュー糖」）、食塩（ナイカイ塩業株式会社製、商品名「ナクルM」）、スキムミルク（森永乳業株式会社製、商品名「森永スキムミルク」）を、下表 1 に示す量で予備混合し、ミックス粉とした。

市販の自動ホームベーカリー（家庭用自動パン焼き機）（エムケー精工株式会社製、品番：HBK-100）の容器（羽根を取り付けたパンケース）に市水 184.8 g を計量した後、上記のミックス粉を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト（日清フーズ株式会社製、商品名「日清 スーパーカメラヤ ドライイースト」）3 g 及びショートニング（株式会社 J - オイルミルズ製、商品名「ファシエ」）1.4 g を投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン・焼き色：ふつう」（調理時間：3 時間 5 0 分）に設定した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温（20）で 1 時間放冷した。

【0147】

【表 1】

材料	重量 (g)
強力粉	280
グラニュー糖	22.4
食塩	4.2
スキムミルク	5.6

【0148】

(サンプル 1 - 2)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉 1 g 当たり 0.024 U のグルコースオキシダーゼ（新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチーム PGO」）を併せて投入したこと以外はサンプル 1 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0149】

(サンプル 1 - 3)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する前に、強力粉 1 g 当たり 1.0 U のサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を添加したこと以外はサンプル 1 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0150】

(サンプル 1 - 4)

サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加量を、強力粉 1 g 当たり 5.0 U としたこと以外はサンプル 1 - 3 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0151】

(サンプル 1 - 5)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉 1 g 当たり 0.024 U のグルコースオキシダーゼ（新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチーム PGO」）を併せて投入したこと以外はサンプル 1 - 3 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0152】

(サンプル 1 - 6)

サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加量を、強力粉 1 g 当たり 5.0 U としたこと以外はサンプル 1 - 5 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0153】

(パン高さの測定及び焼き伸びの算出)

10

20

30

40

50

室温（20℃）で1時間放冷した後のサンプル1-1～1-6の食パンについて、それぞれ中央部分の高さ（本明細書において「パン高さ」とも称する）を測定した。

測定したパン高さから、下記式に基づき、サンプル1-2～1-6の食パンの焼き伸び（%）を算出した。

$$[\text{焼き伸び}(\%)] = [\text{パン高さ}(\text{cm})] \div [\text{サンプル1-1のパン高さ}(\text{cm})] \times 100$$

【0154】

（官能評価）

室温（20℃）で1時間放冷した後のサンプル1-1～1-6の食パンを、それぞれ厚さ2cmにスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封して温度10℃、湿度50%の条件下で2日間保存した。2日間保存後に、4名の評価パネルが各食パンのクラム部分（食パンの内相部分）のみを食し、老化感、歯切れ、口どけ及び好ましさについて、それぞれ下記の基準に基づいて評価した。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。

【0155】

〔老化感〕

- ++++：サンプル1-1より強い老化感がある
- +++：サンプル1-1と同等の老化感がある
- ++：サンプル1-1に比べ老化感が低い
- ＋：サンプル1-1に比べ明確に老化感が低い
- ±：サンプル1-1に比べ老化感が非常に低い
- ：老化感が全く感じられない

ここで「老化感」とは、老化したデンプン含有食品を食したときに感じられる感覚（硬い食感、パサつき等）をいう。

【0156】

〔歯切れ〕

- ++：サンプル1-1の食パンに比べて歯切れがとても良い
- ＋：サンプル1-1の食パンに比べて歯切れが良い
- ±：サンプル1-1の食パンと同等の歯切れ
- ：サンプル1-1の食パンに比べて歯切れが良くない

【0157】

〔口どけ〕

- ++：サンプル1-1の食パンに比べて口どけがとても良い
- ＋：サンプル1-1の食パンに比べて口どけが良い
- ±：サンプル1-1の食パンと同等の口どけ
- ：サンプル1-1の食パンに比べて口どけが良くない

【0158】

〔好ましさ〕

- ：極めて好ましい
- ◎：非常に好ましい
- ：好ましい
- ×：好ましくない

【0159】

結果を下表2に示す。表中、「GO」はグルコースオキシダーゼを示し、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

【0160】

10

20

30

40

50

【表 2】

サンプル	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6
GO (強力粉 1g 当たりのユニット)	/	0.024	/	/	0.024	0.024
TtAM (強力粉 1g 当たりのユニット)	/	/	1.0	5.0	1.0	5.0
パン高さ (cm)	14.2	14.3	15.0	15.3	15.0	15.2
焼き伸び (%)	+++	100.7 +++	105.6 ++	107.7 +	105.6 ±	107.0 ±~
老化感	食感が硬かつ強いパサつきが感じられた。	サンプル 1-1 と同等のパサつきが感じられた。	サンプル 1-1 よりパサつきが抑制されていた。	食感が明確にやわらかかつた。少しパサつき感じられた。	サンプル 1-1 の焼成直後とほぼ同等のやわらかさが感じられた。しっとり感がサンプル 1-3 より高かつた。	サンプル 1-1 の焼成直後とほぼ同等のやわらかさが感じられた。しっとり感がサンプル 1-5 よりさらに強かつた。
歯切れ	± (基準)	±	±	-	+	+
口どけ	± (基準)	±	±	-	+	+
好ましさ	×	×	△	○	◎	◎

10

20

30

【0161】

表 2 に示される結果から明らかなように、サンプル 1 - 5 の食パンにおいて、強い老化抑制効果が確認され、またサンプル 1 - 6 の食パンにおいては、さらにしっとり感が向上し、ほぼ焼きたてに近い食感となった。サンプル 1 - 5 及びサンプル 1 - 6 の食パンのいずれにおいても、歯切れ、口どけが良好であった。

40

一方、グルコースオキシダーゼを単独で添加したサンプル 1 - 2 の食パンにおいては、明確な老化抑制効果が認められなかった。

【0162】

< 試験例 2 >

[食パンの作製]

(サンプル 2 - 1)

市販の自動ホームベーカリー（家庭用自動パン焼き機）（エムケー精工株式会社製、品番：HBK-100）の容器（羽根を取り付けたパンケース）に市水 184.8g を計量

50

した後、試験例 1 と同様に調製したミックス粉 3 1 2 . 2 g を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト（日清フーズ株式会社製、商品名「日清スーパーカメリヤドライイースト」）3 g 及びショートニング（株式会社 J - オイルミルズ製、商品名「ファシエ」）1 4 g を投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン・焼き色：ふつう」（調理時間：3 時間 5 0 分）に設定した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温（2 0 ）で 1 時間放冷した。

【 0 1 6 3 】

（サンプル 2 - 2 ）

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉 1 g 当たり 0 . 0 0 1 U のトランスグルタミナーゼ（味の素株式会社製、商品名「アクティバ（登録商標）TG」）を併せて投入したこと以外はサンプル 2 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

10

【 0 1 6 4 】

（サンプル 2 - 3 ）

トランスグルタミナーゼの投入量を、強力粉 1 g 当たり 0 . 0 0 2 U としたこと以外はサンプル 2 - 2 と同様の手順で、食パンを作製した。

【 0 1 6 5 】

（サンプル 2 - 4 ）

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する前に、強力粉 1 g 当たり 1 . 0 U のサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を添加したこと以外はサンプル 2 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

20

【 0 1 6 6 】

（サンプル 2 - 5 ）

サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加量を、強力粉 1 g 当たり 5 . 0 U としたこと以外はサンプル 2 - 4 と同様の手順で、食パンを作製した。

【 0 1 6 7 】

（サンプル 2 - 6 ）

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉 1 g 当たり 0 . 0 0 1 U のトランスグルタミナーゼ（味の素株式会社製、商品名「アクティバ（登録商標）TG」）を併せて投入したこと以外はサンプル 2 - 4 と同様の手順で、食パンを作製した。

30

【 0 1 6 8 】

（サンプル 2 - 7 ）

トランスグルタミナーゼの投入量を、強力粉 1 g 当たり 0 . 0 0 2 U としたこと以外はサンプル 2 - 6 と同様の手順で、食パンを作製した。

【 0 1 6 9 】

（サンプル 2 - 8 ）

サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加量を、強力粉 1 g 当たり 5 . 0 U としたこと以外はサンプル 2 - 6 と同様の手順で、食パンを作製した。

40

【 0 1 7 0 】

（サンプル 2 - 9 ）

トランスグルタミナーゼの投入量を、強力粉 1 g 当たり 0 . 0 0 2 U とし、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加量を、強力粉 1 g 当たり 5 . 0 U としたこと以外はサンプル 2 - 6 と同様の手順で、食パンを作製した。

【 0 1 7 1 】

（パン高さの測定及び焼き伸びの算出）

室温（2 0 ）で 1 時間放冷した後のサンプル 2 - 1 ~ 2 - 9 の食パンについて、それぞれ中央部分の高さ（本明細書において「パン高さ」とも称する）を測定した。

測定したパン高さから、下記式に基づき、サンプル 2 - 2 ~ 2 - 9 の食パンの焼き伸び

50

(%)を算出した。

[焼き伸び(%)] = [パン高さ(cm)] ÷ [サンプル2 - 1のパン高さ(cm)] × 100

【0172】

(官能評価)

室温(20)で1時間放冷した後のサンプル2 - 1 ~ 2 - 9の食パンを、それぞれ厚さ2cmにスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封し温度10、湿度50%の条件下で2日間保存した。2日間保存後に、4名の評価パネルが各食パンのクラム部分(食パンの内相部分)のみを食し、好ましさについては、試験例1と同じ基準に基づいて評価し、老化感、歯切れ及び口どけについては、下記の基準に基づいて評価した。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。

10

【0173】

[老化感]

- ++++ : サンプル2 - 1より強い老化感がある
- +++ : サンプル2 - 1と同等の老化感がある
- ++ : サンプル2 - 1に比べ老化感が低い
- +: サンプル2 - 1に比べ明確に老化感が低い
- ± : サンプル2 - 1に比べ老化感が非常に低い
- : 老化感が全く感じられない

【0174】

20

[歯切れ]

- ++ : サンプル2 - 1の食パンに比べて歯切れがとても良い
- + : サンプル2 - 1の食パンに比べて歯切れが良い
- ± : サンプル2 - 1の食パンと同等の歯切れ
- : サンプル2 - 1の食パンに比べて歯切れが良くない

【0175】

[口どけ]

- ++ : サンプル2 - 1の食パンに比べて口どけがとても良い
- + : サンプル2 - 1の食パンに比べて口どけが良い
- ± : サンプル2 - 1の食パンと同等の口どけ
- : サンプル2 - 1の食パンに比べて口どけが良くない

30

【0176】

[好ましさ]

- : 極めて好ましい
- : 非常に好ましい
- : 好ましい
- × : 好ましくない

【0177】

結果を下表3及び4に示す。表中、「TG」はトランスグルタミナーゼを示し、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

40

【0178】

【表 3】

サンプル	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5
TG (強力粉 1g 当たりのユニット)		0.001	0.002		
TtAM (強力粉 1g 当たりのユニット)				1.0	5.0
パン高さ (cm)	14.0	14.2	14.1	14.2	15.1
焼き伸び (%)	+	101.4	100.7	101.4	107.9
老化感	食感が硬かった。 強いパサつきが感じられた。	サンプル 2-1 と同等のパサつきが感じられた。	サンプル 2-1 より強いパサつきが感じられた。 食感が硬かった。	サンプル 2-1 よりパサつきが抑制されていた。	食感が明確にやわらかかった。 少しパサつき感じられた。
菌切れ	± (基準)	+	++	±	-
口どけ	± (基準)	±	-	±	-
好ましさ	X	X	X	△	○

【 0 1 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 4】

サンプル	2-6	2-7	2-8	2-9
TG (強力粉1g当たりのユニット)	0.001	0.002	0.001	0.002
TtAM (強力粉1g当たりのユニット)	1.0	1.0	5.0	5.0
パン高さ (cm)	14.4	14.3	15.3	15.2
焼き伸び (%)	102.9	102.1	109.3	108.6
老化感	サンプル2-4より、食感が明確にやわらかく、しつとり感が高かった。	サンプル2-4より、食感が明確にやわらかく、しつとり感が高かった。	サンプル2-4より、しつとり感がさらに高かった。	サンプル2-8より、僅かに食感が硬いが、しつとり感が高かった。
歯切れ	+	++	+	+
口どけ	+	+	+	+
好ましさ	◎	◎	◎	◎

10

20

30

【0180】

表3及び4に示される結果から明らかなように、サンプル2-6～2-9の食パンにおいて、強い老化抑制効果が確認され、歯切れ、口どけが良好であった。

一方、トランスグルタミナーゼを単独で添加したサンプル2-2の食パンにおいては、明確な老化抑制効果が認められず、サンプル2-3の食パンは、保存後に、サンプル2-1の食パンに比べて食感が硬くなる傾向があった。

40

【0181】

<試験例3>

実施例2で作製したサンプル2-1、2-3、2-7及び2-9の食パンを、ポリエチレン製の袋に密封して温度10℃、湿度50%の条件下で2日間保存した後、圧縮試験を行った。

圧縮試験は、クリープメータ(株式会社山電製「レオナーII」、型番:RE2-33005、プローブ形状:楔形、測定モード:圧縮破断試験)を使用して、下記(1)～(3)の手順で行った(n=7～9)。

(1)各食パンのクラム(食パンの内相部分)を1辺2cmの立方体状にカットし、測定サンプルとする。

50

(2) 測定サンプルの上面にプローブが垂直に当たるよう、測定サンプルをクリープメータに設置する。

(3) 圧縮速度 1 mm / 秒、圧縮率 99.99% の条件にて、測定サンプル (品温: 20) をプローブで圧縮し、圧縮率 10% 時の応力 (N) を測定する。

【0182】

結果を図 2 に示す。

【0183】

図 2 に示される結果から、サンプル 2 - 7 及び 2 - 9 の食パンは、トランスグルタミナーゼを単独で添加したサンプル 2 - 3 の食パンに比べて、柔らかさが維持されていることが確認された。

【0184】

< 試験例 4 >

[食パンの作製]

(サンプル 4 - 1)

市販の自動ホームベーカリー (家庭用自動パン焼き機) (エムケー精工株式会社製、品番: HBK - 100) の容器 (羽根を取り付けたパンケース) に市水 184.8 g を計量した後、試験例 1 と同様に調製したミックス粉 312.2 g を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト (日清フーズ株式会社製、商品名「日清スーパーカメラヤ ドライイースト」) 3 g 及びショートニング (株式会社 J - オイルミルズ製、商品名「ファシエ」) 14 g を投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン・焼き色: ふつう」 (調理時間: 3 時間 50 分) に設定した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温 (20) で 1 時間放冷した。

【0185】

(サンプル 4 - 2)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉 1 g 当たり 10 U のリパーゼ (ヤクルト薬品工業株式会社製、商品名「リリパーゼ A - 10 D」) を併せて投入したこと以外はサンプル 4 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0186】

(サンプル 4 - 3)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する前に、強力粉 1 g 当たり 1 U のサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を添加したこと以外はサンプル 4 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0187】

(サンプル 4 - 4)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉 1 g 当たり 10 U のリパーゼ (ヤクルト薬品工業株式会社製、商品名「リリパーゼ A - 10 D」) を併せて投入したこと以外はサンプル 4 - 3 と同様の手順で、食パンを作製した。

【0188】

(官能評価)

室温 (20) で 1 時間放冷した後のサンプル 4 - 1 ~ 4 - 4 の食パンを、それぞれ厚さ 2 cm にスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封し温度 10、湿度 50% の条件下で 2 日間保存した。2 日間保存後に、4 名の評価パネルが各食パンのクラム部分 (食パンの内相部分) のみを食し、老化感、歯切れ、口どけ及び食感の好ましさについて、下記の基準に基づいて評価した。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。

【0189】

[老化感]

++++ : サンプル 4 - 1 より強い老化感がある

+++ : サンプル 4 - 1 と同等の老化感がある

++ : サンプル 4 - 1 に比べ老化感が低い

10

20

30

40

50

- + : サンプル 4 - 1 に比べ明確に老化感が低い
- ± : サンプル 4 - 1 に比べ老化感が非常に低い
- : 老化感が全く感じられない

【 0 1 9 0 】

[歯切れ]

- ++ : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて歯切れがとても良い
- + : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて歯切れが良い
- ± : サンプル 4 - 1 の食パンと同等の歯切れ
- : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて歯切れが良くない

【 0 1 9 1 】

[口どけ]

- ++ : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて口どけがとても良い
- + : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて口どけが良い
- ± : サンプル 4 - 1 の食パンと同等の口どけ
- : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて口どけが良くない

【 0 1 9 2 】

[食感の好ましさ]

- : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて大幅に好ましい
- : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて好ましい
- : サンプル 4 - 1 の食パンに比べて僅かに好ましい
- × : サンプル 4 - 1 の食パンと同程度の好ましさ

ここで「食感の好ましさ」とは、歯切れ及び口どけに加え、その他の食感（しっとり感、弾力、なめらかさ等）も考慮した、総合的な食感の好ましさをいう。

【 0 1 9 3 】

結果を下表 5 に示す。表中、「T t A M」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

【 0 1 9 4 】

10

20

30

40

50

【表 5】

	4-1	4-2	4-3	4-4
サンプル リパーゼ (強力粉 1g 当たりの ユニット)	対角線	10	対角線	10
TtAM (強力粉 1g 当たりの ユニット)	対角線	対角線	1	1
老化感	++ 食感が硬かった。 強いパサつき が感じられた。	++ サンプル 4-1 よりやわらか かったが、 強いパサつき が感じられた。	++ サンプル 4-1 よりやわらか く、パサつき も抑制された。	± 食感が明確に やわらかかつ た。 しっとり感が 高かった。
歯切れ	± (基準)	±	±	+
口どけ	± (基準)	±	±	+
食感の好ましさ	× (基準)	△	△	◎

10

20

30

【0195】

(物性測定)

サンプル 4-1 ~ 4-4 の食パンを、ポリエチレン製の袋に密封して温度 10℃、湿度 50% の条件下で 2 日間保存した後、試験例 3 と同様に圧縮試験を行った。結果を図 3 に示す。

【0196】

表 5 に示される結果から明らかなように、リパーゼを単独で添加したサンプル 4-2 の食パンにおいては、僅かな老化抑制効果しか認められず、また、歯切れ、口どけ及び食感の好ましさは改善しなかった。例えば、サンプル 4-2 の食パンは、しっとり感が改善しなかった。

40

サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを単独で添加したサンプル 4-3 の食パンは、僅かに老化抑制効果が認められたが、歯切れ、口どけ及び食感の好ましさは十分に改善しなかった。例えば、サンプル 4-3 の食パンは、柔らかさ、しっとり感の改善が不十分であった。

一方、サンプル 4-4 の食パンにおいて、強い老化抑制効果が確認され、歯切れ、口どけが良好であった。例えば、サンプル 4-4 の食パンは、サンプル 4-2 及び 4-3 の食パンで不十分であったしっとり感が明確に改善した。

【0197】

50

図3に示される結果から、サンプル4-4の食パンは、リパーゼを単独で添加したサンプル4-2の食パンや、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを単独で添加したサンプル4-3の食パンに比べて、柔らかさが維持されていることが確認された。

【0198】

<試験例5>

[食パンの作製]

(サンプル5-1)

強力粉(日本製粉株式会社製、商品名「ニップンイーグル(強力粉)」)、グラニュー糖(三井製糖株式会社製、商品名「スプーン印グラニュー糖」、食塩(ナイカイ塩業株式会社製、商品名「ナクルM」)を、下表6に示す量で予備混合し、ミックス粉とした。

市販の自動ホームベーカリー(家庭用自動パン焼き機)(エムケー精工株式会社製、品番:HBK-100)の容器(羽根を取り付けたパンケース)に市水(22.3)190gを計量した後、上記のミックス粉を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト(日清フーズ株式会社製、商品名「日清スーパーカメリヤドライイースト」)3g及びショートニング(株式会社J-オイルミルズ製、商品名「ファシエ」)20gを投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン・焼き色:ふつう」(調理時間:3時間50分)に設定した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温(24.5、湿度:56%)で1時間放冷した。

【0199】

【表6】

材料	重量(g)
強力粉	280
グラニュー糖	15
食塩	4

【0200】

(サンプル5-2)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する前に、強力粉1g当たり1Uのサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を併せて投入したこと以外はサンプル5-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0201】

(サンプル5-3)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり0.4Uのプロテアーゼ(天野エンザイム株式会社製、商品名「プロチンSD-NY10」)を併せて投入したこと以外はサンプル5-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0202】

(サンプル5-4)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり0.4Uのプロテアーゼ(天野エンザイム株式会社製、商品名「プロチンSD-NY10」)を併せて投入したこと以外はサンプル5-2と同様の手順で、食パンを作製した。

【0203】

(パン高さ及び重量の測定)

室温(20)で1時間放冷した後のサンプル5-1~5-4の食パンについて、それぞれ中央部分の高さ(本明細書において「パン高さ」とも称する)及び重量を測定した。

【0204】

(官能評価)

室温(20)で1時間放冷した後のサンプル5-1~5-4の食パンを、それぞれ厚

10

20

30

40

50

さ 2 c m にスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封して温度 1 0 、湿度 5 0 % の条件下で 2 日間保存した。2 日間保存後に、4 名の評価パネルが各食パンのクラム部分（食パンの内相部分）のみを食し、しっとり感、口どけ、柔らかさ及び嗜好性について、それぞれ下記の基準に基づいて評価した。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。

【 0 2 0 5 】

[しっとり感]

- ++ : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてしっとりしている
- + : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてややしっとりしている
- ± : サンプル 5 - 1 の食パンと同等のしっとり感
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてややパサパサしている
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてパサパサしている

10

【 0 2 0 6 】

[口どけ]

- ++ : サンプル 5 - 1 の食パンに比べて口どけがよい
- + : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてやや口どけがよい
- ± : サンプル 5 - 1 の食パンと同等の口どけ
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてややねちゃつく
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてねちゃつく

【 0 2 0 7 】

[柔らかさ]

- ++ : サンプル 5 - 1 の食パンに比べて柔らかい
- + : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてやや柔らかい
- ± : サンプル 5 - 1 の食パンと同等の柔らかさ
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてやや硬い
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べて硬い

20

【 0 2 0 8 】

[嗜好性]

- ++ : サンプル 5 - 1 の食パンに比べて好ましい
- + : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてやや好ましい
- ± : サンプル 5 - 1 の食パンと同等の好ましさ（嗜好性）
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べてやや好ましくない
- : サンプル 5 - 1 の食パンに比べて好ましくない

30

ここで「嗜好性」とは、食品としての総合的な好ましさをいう。

【 0 2 0 9 】

結果を下表 7 に示す。表中、「T t A M」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

【 0 2 1 0 】

40

50

【表 7】

サンプル	5-1	5-2	5-3	5-4
T t AM (強力粉 1 g 当たりの ユニット)		1		1
プロテアーゼ (強力粉 1 g 当たりの ユニット)			0.4	0.4
重量 (g)	457.51	459.44	456.23	459.15
パン高さ (cm)	14.1	13.6	16.4	15.8
しっとり感	± (基準)	+	+	++
口どけ	± (基準)	--	+	+
柔らかさ	± (基準)	-	+	++
嗜好性	± (基準)	-	+	++

【0211】

(物性測定)

サンプル 5 - 1 ~ 5 - 4 の食パンを、ポリエチレン製の袋に密封して温度 10 、湿度 50 % の条件下で 2 日間保存した後、試験例 3 と同様に圧縮試験を行った。結果を図 4 に示す。

【0212】

表 7 に示される結果から明らかなように、サンプル 5 - 4 の食パンにおいて、しっとり感、口どけ、柔らかさ及び嗜好性が、いずれも良好であった。

一方、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを単独で添加したサンプル 5 - 2 の食パンは、口どけ、柔らかさ及び嗜好性が低下した。プロテアーゼを単独で添加したサンプル 5 - 3 の食パンにおいては、明確な老化抑制効果が認められず、また、歯切れ、口どけ及び食感の好ましさは改善しなかった。

また図 4 に示される結果から、サンプル 5 - 4 の食パンは、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを単独で添加したサンプル 5 - 2 の食パンや、プロテアーゼを単独で添加したサンプル 5 - 3 の食パンに比べて、柔らかさが維持されていることが確認され

た。

これらの結果から、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及びプロテアーゼを併用することによって、しっとり感及び柔らかさが付与され、好ましい食感を有するパンになることが確認された。

【0213】

<試験例6>

[米飯の作製]

(サンプル6-1)

白米(宮城県産ひとめぼれ)を150g秤量し、洗米(かき混ぜ20回×5回)した後、水を切って家庭用炊飯器(小泉成器株式会社製、ライスクッカーミニ KSC-1511)の炊飯釜(内なべ)に移し、白米及び水の合計量が360gとなるよう水を加えた。炊飯釜にラップをして白米が水に浸漬した状態で1時間静置した後、炊飯を行い、米飯(炊飯米)を得た。

10

【0214】

(サンプル6-2)

白米が水に浸漬した状態で1時間静置した後、炊飯を行う前に、白米1g当たり0.5Uのサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を添加したこと以外はサンプル6-1と同様の手順で、米飯(炊飯米)を作製した。

【0215】

(サンプル6-3)

白米が水に浸漬した状態で1時間静置した後、炊飯を行う前に、白米1g当たり17.25Uのトランスグルタミナーゼ(天野エンザイム株式会社製、製品1g当たりの活性値:1150U)を添加したこと以外はサンプル6-1と同様の手順で、米飯(炊飯米)を作製した。トランスグルタミナーゼの添加は、トランスグルタミナーゼを白米の浸漬液で溶解してから行った。

20

【0216】

(サンプル6-4)

白米が水に浸漬した状態で1時間静置した後、炊飯を行う前に、白米1g当たり0.5Uのサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液及び白米1g当たり17.25Uのトランスグルタミナーゼ(天野エンザイム株式会社製、製品1g当たりの活性値:1150U)を添加したこと以外はサンプル6-1と同様の手順で、米飯(炊飯米)を作製した。トランスグルタミナーゼの添加は、トランスグルタミナーゼを白米の浸漬液で溶解してから行った。

30

【0217】

(官能評価)

サンプル6-1~6-4の米飯を、炊飯終了から15分間蒸らした後、各米飯が入った炊飯釜をバット上で、上下逆さまにひっくり返して米飯をバットに移した後、米粒をつぶさないよう切るように各米飯を混ぜ広げ、粗熱をとった。このとき、炊飯釜の壁面に接していた米飯は取り除いた。混ぜ広げた各米飯に乾燥防止のため軽くラップした上で約30分間静置し、各米飯が冷めたことを確認した後、全量をパックに詰めてラップをし、15

40

に設定した恒温槽に保存した。
恒温槽で1日間保存後に、4名の評価パネルが各米飯を食し、口中におけるほぐれ及び粘りの程度について、下記の基準に基づいて評価した。また、米飯を炊飯釜からバットに移した後の、炊飯釜への付着残りの程度を4名の評価パネルが目視で確認し、下記の基準に基づいて評価した。

【0218】

[ほぐれ及び粘り]

○:適度なほぐれやすさと、適度な粘りとを兼ね備えている

×:ほぐれやすさ又は粘りを感じない

【0219】

50

[付着残り]

○：付着残りがなく好ましい

×：付着残りがあり好ましくない

【 0 2 2 0 】

結果を下表 8 に示す。表中、「T t A M」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示し、「T G」はトランスグルタミナーゼを示す。

【 0 2 2 1 】

【表 8】

サンプル	6-1	6-2	6-3	6-4
T t A M (白米 1 g 当たりのユニット)		0.5		0.5
T G (白米 1 g 当たりのユニット)			17.25	17.25
付着残りの評価結果	○	×	○	○
ほぐれ及び粘りの評価結果	×	×	×	○

【 0 2 2 2 】

表 8 に示される結果から明らかなように、サンプル 6 - 4 の米飯は、適度なほぐれ及び粘りを有し、また釜への付着残りがなく好ましいものであった。

一方、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを単独で添加したサンプル 6 - 2 の米飯は、付着残りがあり好ましくなかった。トランスグルタミナーゼを単独で添加したサンプル 6 - 3 の米飯は、ほぐれやすさを感じなかった。

これらの結果から、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及びトランスグルタミナーゼを併用することによって、当該アミロマルターゼ及びトランスグルタミナーゼをそれぞれ単独で使用した場合における米飯の製造上の課題を解消し、かつ、米飯のほぐれやすさ等について適度な食感改質効果が得られることが確認された。当該効果は、米粒同士の過度の付着を防ぐことが求められる食品（例、チャーハン、ピラフ等）において、特に有用である。

【 0 2 2 3 】

< 試験例 7 >

(サンプル 7 - 1)

市販の乾燥ポテトフレーク（株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」）40 g に、お湯（80 ）を全量が 160 g となるよう加えた後、均一となるようスパチュラを用いて 3 分間攪拌した。3 個のパックに 50 g ずつ小分けして真空包装し、75 のウォーターバスで 30 分間加温した。流水で粗熱をとった後、4 で 1 日間、冷蔵保存した。

【 0 2 2 4 】

(サンプル 7 - 2)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100 倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液 146.5 μ L（サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク 1 g 当たりのユニット数：0.1 U）を併せて添加し、全量を 160 g としたこと以外はサンプル 7 - 1 と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【 0 2 2 5 】

(サンプル 7 - 3)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100 倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液 1465.2 μ L（サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク 1 g 当たりのユニット数：1 U）を併せて添加し、全量を 160 g としたこと以外はサンプル 7 - 1 と同様の手順で、マッシュポテトを調

製した。

【0226】

(サンプル7 - 4)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、グルコースオキシダーゼ(新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチームP G O」)0.6mg(グルコースオキシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.03U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外はサンプル7 - 1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【0227】

(サンプル7 - 5)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、グルコースオキシダーゼ(新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチームP G O」)6mg(グルコースオキシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.3U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外はサンプル7 - 1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

10

【0228】

(サンプル7 - 6)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液146.5 μ L(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.1U)、及びグルコースオキシダーゼ(新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチームP G O」)0.6mg(グルコースオキシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.03U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外はサンプル7 - 1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

20

【0229】

(サンプル7 - 7)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液146.5 μ L(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.1U)、及びグルコースオキシダーゼ(新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチームP G O」)6mg(グルコースオキシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.3U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外はサンプル7 - 1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

30

【0230】

(サンプル7 - 8)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液1465.2 μ L(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:1U)、及びグルコースオキシダーゼ(新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチームP G O」)0.6mg(グルコースオキシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.03U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外はサンプル7 - 1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

40

【0231】

(サンプル7 - 9)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液1465.2 μ L(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:1U)、及びグルコースオキシダーゼ(新日本化学工業株式会社製、商品名「スミチームP G O」)6mg(グルコースオキシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.3U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外はサンプル7 - 1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【0232】

50

(官能評価)

7日間の冷蔵保存後に、3名の評価パネルが各マッシュポテトを食し、風味(イモ感)及び食感(柔らかさ、しっとり感)について、下記の基準に基づいて評価した。

【0233】

[風味(イモ感)]

○：好ましいイモ感を有する

：ややイモ感を有する

×：殆どイモ感が感じられない

ここで「イモ感」とは、蒸かしたイモに特有の香り、風味をいう。

【0234】

[食感(柔らかさ)]

+++：サンプル7-1のマッシュポテトに比べて非常に柔らかい

++：サンプル7-1のマッシュポテトに比べて柔らかい

+：サンプル7-1のマッシュポテトに比べてやや柔らかい

±：サンプル7-1のマッシュポテトと同等の柔らかさ

-：サンプル7-1のマッシュポテトに比べてやや硬い

--：サンプル7-1のマッシュポテトに比べて硬い

【0235】

[食感(しっとり感)]

+++：サンプル7-1のマッシュポテトに比べて非常にしっとりしている

++：サンプル7-1のマッシュポテトに比べてしっとりしている

+：サンプル7-1のマッシュポテトに比べてややしっとりしている

±：サンプル7-1のマッシュポテトと同等のしっとり感

-：サンプル7-1のマッシュポテトに比べてややパサパサしている

--：サンプル7-1のマッシュポテトに比べてパサパサしている

【0236】

結果を下表9に示す。表中、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示し、「GO」はグルコースオキシダーゼを示す。

【0237】

10

20

30

40

50

【表 9】

サンプル	7-1	7-2	7-3	7-4	7-5	7-6	7-7	7-8	7-9
TtAM (乾燥ポテトフ레이크1g 当たりのユニット)	0.1	0.1	1	0.03	0.3	0.03	0.1	1	1
GO (乾燥ポテトフ레이크1g 当たりのユニット)	0.1	0.1	1	0.03	0.3	0.03	0.1	1	1
風味 (イモ感)	×	×	×	×	×	○	△	△	○
食感	± (基準)	+	+	+	+	+	+	+	+
	± (基準)	+	+	+	±	+	+	+	+

10

20

30

【0238】

表9に示される結果から明らかなように、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及びグルコースオキシダーゼを併用することによって、マッシュポテトが、7日間の冷蔵保存後においても、良好な食感（柔らかさ、しっとり感）及び風味（イモ感）を有し得ることが確認された（サンプル7-6～7-9）。

40

【0239】

< 試験例 8 > デンプンの老化評価（濁度法）

本試験において、デンプンの老化評価は、特開2001-333712号公報に記載の方法に準じ、当該方法を改変して行った。糊化した直後のデンプンは透明であり、糊化した直後のデンプンを水に溶解して得られる糊化デンプン液は透明である。これに対し、老化したデンプンは白色の不溶物となり、糊化デンプン液は経時的に白濁する。この糊化デンプン液の白濁の程度（濁度）を、分光光度計を用いて530nmの波長で測定し、経時による変化量を求めることにより、デンプンの老化を評価した。

50

尚、特開2001-333712号公報に記載の方法では、トウモロコシデンプンのデンプン糊を調製し、その濁度の変化を、波長720nmの吸光度を測定することにより求めているが、本試験で用いた米デンプンでは、波長530nmの吸光度が、波長720nmの吸光度よりも高い値を示すことから、濁度の変化を捉えやすいよう、本試験では測定波長を改変した。

【0240】

[2%糊化デンプン液の調製]

超純水(Milli-Q水)を98mL計測して200mLビーカーに分注し、スターラーで攪拌しながら米デンプンを2g添加した。得られた米デンプン液を十分に攪拌した後、スタンディングパウチに移し、該パウチ内の空気をできるだけ抜いて密封した上で、100のウォーターバスで30分間湯浴した。その後、該パウチを室温に戻して、2%糊化デンプン液を得た。

10

【0241】

[試験区2-1~6-2、対照区1-2の酵素処理デンプン液及び対照区1-1~6-2の酵素未処理デンプン液の調製]

2%糊化デンプン液に、超純水(Milli-Q水)を混合後の米デンプン濃度が下表11に記載の濃度(1%)になるよう混合するか、又は下表11に記載の各糖液(グルコース液、マルトース液、マルトトリオース液、DE8のデキストリン液、DE4のデキストリン液)を、混合後の米デンプン濃度及び糖濃度が下表11に記載の濃度になるよう混合した。得られた各混合液に、TtAMを米デンプン1g当たり1Uとなるよう添加し、ボルテックスミキサーにて十分に攪拌した後、70のウォーターバスで1時間加温した。次いでIHヒーターにて10分間、100で加温して酵素(TtAM)を失活させた後、室温に戻して、試験区2-1~6-2及び対照区1-2の酵素処理デンプン液を得た。

20

またTtAMを混合液に添加しなかったこと以外は、上記と同様の手順で、対照区1-1~6-2の酵素未処理デンプン液を得た。

本試験において、DEが8であるデキストリンには、松谷化学工業株式会社製「パインデックス#1」を用いた。また、DEが4であるデキストリンには、松谷化学工業株式会社製の「パインデックス#100」を用いた。

【0242】

[吸光度の測定]

各酵素処理デンプン液及び酵素未処理デンプン液を、調製から1時間以内に、それぞれ96ウェルプレートに300μLずつ分注し(n=2)、マイクロプレートリーダー(モレキュラーデバイスジャパン社製)を使用して、波長530nmで吸光度を測定した。このようにして測定された吸光度を、以下において「day0吸光度」とも称する。

30

day0吸光度測定後の96ウェルプレートにプレートシールを貼り付けて24時間、5で冷蔵した後、室温に戻して攪拌し、再びマイクロプレートリーダー(モレキュラーデバイスジャパン社製)を使用して、波長530nmで吸光度を測定した。このようにして測定された吸光度を、以下において「day1吸光度」とも称する。

【0243】

[老化度の算出]

各酵素処理デンプン液及び酵素未処理デンプン液の老化の評価は、経時老化の指標として、下記式に示すように、day1吸光度とday0吸光度との差を算出し、下表10に示す基準に基づいて評価することにより行った。

40

デンプン経時老化指標 = 各試験区又は対照区のday1吸光度 - 各試験区又は対照区のday0吸光度

【0244】

50

【表 10】

(評価基準)

デンプン経時老化指標	評価
0.040未満	◎ (老化を顕著に抑制している)
0.040以上0.050未満	○ (老化を明らかに抑制している)
0.050以上0.090未満	△ (老化を抑制している)
0.090以上0.094未満	－ (老化を抑制していない)
0.094以上	× (老化を促進している)

10

【0245】

結果を、下表11に示す。表中、「U/g - s t」は、「デンプン1g当たりのユニット数」を意味する。

【0246】

20

30

40

50

【表 1 1】

米澱粉	TtAM (U/g-st)	試験区	波長530nmでの吸光度(濁度)		経時老化指標	評価	
			day0	day1			
1%	-	対照区1-1	0.409	0.503	day1-day0 0.094	-	
	1	対照区1-2	0.401	0.442	0.041	○	
	-	試験区	day0	day1	day1-day0		
	-	グルコース(%)	0.005 対照区2-1	0.367	0.438	0.071	△
	-		0.05 対照区2-2	0.368	0.449	0.081	△
	-		0.5 対照区2-3	0.356	0.423	0.067	△
	1		0.005 試験区2-1	0.360	0.384	0.023	◎
			0.05 試験区2-2	0.315	0.342	0.027	◎
			0.5 試験区2-3	0.227	0.237	0.010	◎
	-	マルトース(%)	試験区	day0	day1	day1-day0	
	-		0.005 対照区3-1	0.414	0.515	0.101	×
	-		0.05 対照区3-2	0.426	0.515	0.089	△
	1		0.5 対照区3-3	0.406	0.490	0.084	△
			0.005 試験区3-1	0.411	0.435	0.024	◎
			0.05 試験区3-2	0.405	0.423	0.018	◎
		0.5 試験区3-3	0.399	0.414	0.015	◎	
-	マルトオリオース(%)	試験区	day0	day1	day1-day0		
-		0.005 対照区4-1	0.361	0.429	0.068	△	
1		0.05 対照区4-2	0.365	0.434	0.069	△	
		0.5 対照区4-3	0.372	0.438	0.066	△	
		0.005 試験区4-1	0.351	0.366	0.015	◎	
		0.05 試験区4-2	0.335	0.357	0.022	◎	
		0.5 試験区4-3	0.305	0.330	0.025	◎	
-	デキストリン(DE8)(%)	試験区	day0	day1	day1-day0		
-		0.005 対照区5-1	0.362	0.433	0.071	△	
1		0.05 対照区5-2	0.373	0.444	0.071	△	
		0.005 試験区5-1	0.364	0.384	0.020	◎	
		0.05 試験区5-2	0.349	0.376	0.027	◎	
-	デキストリン(DE4)(%)	試験区	day0	day1	day1-day0		
-		0.005 対照区6-1	0.378	0.451	0.072	△	
1		0.05 対照区6-2	0.373	0.443	0.071	△	
		0.005 試験区6-1	0.385	0.405	0.020	◎	
		0.05 試験区6-2	0.370	0.390	0.020	◎	

10

20

30

【0247】

表 1 1 に示される結果から明らかなように、対照区 1 - 2 は、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇 (day 1 吸光度 - day 0 吸光度) が抑制され、T t A M によりデンプンの老化が抑制されたことが確認された。

40

グルコースを添加した対照区 2 - 1、対照区 2 - 2 及び対照区 2 - 3 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制され、グルコースによる老化抑制が確認された。

T t A M とグルコースを添加した、試験区 2 - 1、試験区 2 - 2 及び試験区 2 - 3 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制された。T t A M を同量添加した対照区 1 - 2 と比べて試験区 2 - 1、試験区 2 - 2 及び試験区 2 - 3 は濁度上昇が低かった。よって T t A M の老化抑制効果は、グルコースを併用することで相乗的に高まることが確認された。

マルトースを添加した対照区 3 - 2 及び対照区 3 - 3 においては、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制されたが、対照区 3 - 1 においては、顕著なデンプンの老化抑制効果は確

50

認められなかった。

T t A Mとマルトースを添加した、試験区 3 - 1、試験区 3 - 2 及び試験区 3 - 3 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制された。T t A Mを同量添加した対照区 1 - 2 と比べて試験区 3 - 1、試験区 3 - 2 及び試験区 3 - 3 は濁度上昇が抑制された。よってT t A Mの老化抑制効果は、マルトースを併用することで相乗的に高まることが確認された。

マルトトリオースを添加した対照区 4 - 1、対照区 4 - 2 及び対照区 4 - 3 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制され、マルトトリオースによる老化抑制が確認された。

T t A Mとマルトトリオースを添加した、試験区 4 - 1、試験区 4 - 2 及び試験区 4 - 3 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制された。T t A Mを同量添加した対照区 1 - 2 と比べて試験区 4 - 1、試験区 4 - 2 及び試験区 4 - 3 は濁度上昇が低かった。よってT t A Mの老化抑制効果は、マルトトリオースを併用することで相乗的に高まることが確認された。

10

デキストリン（D E 8 又はD E 4）を添加した対照区 5 - 1、対照区 5 - 2、対照区 6 - 1 及び対照区 6 - 2 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制され、デキストリンによる老化抑制が確認された。

T t A Mとデキストリン（D E 8 又はD E 4）を添加した、試験区 5 - 1、試験区 5 - 2、試験区 6 - 1 及び試験区 6 - 2 のいずれにおいても、対照区 1 - 1 と比べ濁度上昇が抑制された。T t A Mを同量添加した対照区 1 - 2 と比べて試験区 5 - 1、試験区 5 - 2、試験区 6 - 1 及び試験区 6 - 2 のいずれにおいても、濁度上昇が低かった。よってT t A Mの老化抑制効果は、デキストリンを併用することで相乗的に高まることが確認された。

20

【 0 2 4 8 】

< 試験例 9 >

[対照区 7 - 1]

市販のポテトフレーク（株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」）に、3倍重量のお湯（80 ）を加え、スプーンを用いて5分間攪拌した後、小分けして真空包装し、75 のウォーターバスで30分間加温した。

[対照区 7 - 2]

市販のポテトフレーク（株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」）に3倍重量のお湯（80 ）を加えてから、乾燥ポテトフレーク1g当たり0.1U又は0.05Uとなる量のT t A Mを加え、スプーンを用いて5分間攪拌した後、小分けして真空包装し、75 のウォーターバスで30分間加温した。

30

[対照区 7 - 3 ~ 7 - 5]

市販のポテトフレーク（株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」）に、3倍重量のお湯（80 ）及び乾燥ポテトフレークに対して5重量%のデンプン分解物（グルコース、マルトース、D E が8であるデキストリン（松谷化学工業株式会社製、商品名「パインデックス#1」））を加え、スプーンを用いて5分間攪拌した後、小分けして真空包装し、75 のウォーターバスで30分間加温した。

[試験区 7 - 1 ~ 7 - 6]

40

市販のポテトフレーク（株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」）に、3倍重量のお湯（80 ）並びに乾燥ポテトフレークに対して1.5重量%又は5重量%のデンプン分解物（グルコース、マルトース、D E が8であるデキストリン（松谷化学工業株式会社製、商品名「パインデックス#1」））を加えてから、乾燥ポテトフレーク1g当たり0.05Uとなる量のT t A Mを加え、スプーンを用いて5分間攪拌した後、小分けして真空包装し、75 のウォーターバスで30分間加温した。

【 0 2 4 9 】

試験区 7 - 1 ~ 7 - 6 及び対照区 7 - 1 ~ 7 - 5 において得られた各マッシュポテトを、加温後に5 で保管し、保管開始から1日後、8日後及び15日後に、下記の方法で官能評価及び物性（硬さ）測定を行った。

50

【0250】

(官能評価)

試験区7-1～7-6及び対照区7-1～7-5の各マッシュポテトを、室温に戻してから4名の評価パネルが食し、試験区7-1～7-6及び対照区7-1～7-5の各マッシュポテトにおける「老化抑制効果」及び「しっとり感」について、対照区7-1のマッシュポテトと比較し、それぞれ下記の基準に基づいて評価した。尚、本試験でいう「老化抑制効果」とは、食感が経時的にボソついたり、ザラついたりすることを抑えて、なめらかさを維持する効果をいう。

また「総合評価」として、「老化抑制効果」及び「しっとり感」の評価結果を総合的に勘案し、下記の基準に基づいて評価を行った。

10

【0251】

[老化抑制効果]

- +++ : 明確に老化が抑制されている
- ++ : 老化が抑制されている
- + : やや老化抑制効果を感じる
- : 明確な老化抑制効果は認められない
- : 対照区7-1に比べて好ましくない

【0252】

[しっとり感]

- +++ : かなりしっとりしている
- ++ : しっとりしている
- + : ややしっとりしている
- : 明確なしっとり感は認められない
- : 対照区7-1に比べて好ましくない

20

【0253】

[総合評価]

- +++ : 非常に好ましい
- ++ : 好ましい
- + : やや好ましい
- : やや好ましくない
- : 好ましくない

30

【0254】

保管開始から8日後の結果を下表12に示す。

【0255】

40

50

【表 1 2】

試験区	T t A M の 添加量 (ポテトフレーク 1 g に対する割合 ユニット数)	デンプン分解物の 種類と添加量 (ポテトフレーク に対する割合 (重量%))	総合 評価	老化 抑制 効果	しつ とり 感	評価コメント
対照区 7-1			基準	基準	基準	ぼそぼそし、老化していた。
対照区 7-2	0.05		+	+	+	柔らかくなめらかであったが、ややボソついた。
対照区 7-3		グルコース	--	--	--	硬くゲル状になっていた。
試験区 7-1	0.05	グルコース	+	+	++	対照区 7-2 と同程度に柔らかかったが、しつとりしていた。
試験区 7-2	0.05	グルコース	++	+	++	対照区 7-2 と同程度に柔らかかったが、しつとりしていた。
対照区 7-4		マルトース	--	--	--	硬くゲル状になっていた。弾力があ
試験区 7-3	0.05	マルトース	++	++	++	対照区 7-2 より柔らかく、しつとり
試験区 7-4	0.05	マルトース	+++	+++	+++	対照区 7-2 より柔らかく、しつとり
対照区 7-5		デキストリン	--	--	--	硬くゲル状になっていた。
試験区 7-5	0.05	デキストリン	++	++	++	対照区 7-2 より柔らかかった。
試験区 7-6	0.05	デキストリン	++	++	+	対照区 7-2 より柔らかかった。ほく

10

20

30

【 0 2 5 6】

(物性測定)

試験区 7 - 1 ~ 7 - 6 及び対照区 7 - 1 ~ 7 - 5 の各マッシュポテトの硬さは、テクスチャーアナライザー (S t a b l e M i c r o S y s t e m s 製、型番 : T A - X T P l u s) を使用して、下記 (1) ~ (2) の手順で測定した。

40

(1) 調製したマッシュポテトを、 2 4 ウェル平底マイクロプレート (直径 1 2 m m 、高さ 1 5 m m) の淵まで分注し、蓋をして 5 で保管する。

(2) 直径 5 m m のステンレス製球状プランジャーを用い、圧縮速度 0 . 5 m m / 秒で、 2 4 ウェル平底マイクロプレートに充填されたマッシュポテトの中心部を 5 0 % 圧縮 (突き刺し) し、圧縮 1 秒後の応力を記録する。

【 0 2 5 7】

保管開始から 8 日後の結果を図 5 に示す。

【 0 2 5 8】

50

表 1 2 に示される結果から明らかなように、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加した対照区 7 - 2 において、老化抑制効果が確認された。

また T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつグルコースを乾燥ポテトフレークに対して 1 . 5 重量% 添加した試験区 7 - 1、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつグルコースを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した試験区 7 - 2、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつマルトースを乾燥ポテトフレークに対して 1 . 5 重量% 添加した試験区 7 - 3、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつマルトースを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した試験区 7 - 4、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつ D E が 8 であるデキストリンを乾燥ポテトフレークに対して 1 . 5 重量% 添加した試験区 7 - 5 及び T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつ D E が 8 であるデキストリンを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した試験区 7 - 6 のいずれにおいても、対照区 7 - 2 に比べ、より明確な老化抑制効果が確認された。

10

一方、グルコースを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した対照区 7 - 3、マルトースを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した対照区 7 - 4 及び D E が 8 であるデキストリンを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した対照区 7 - 5 においては、明確な老化抑制効果は確認されなかった。

【 0 2 5 9 】

また図 5 に示される結果から明らかなように、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加した対照区 7 - 2 において、対照区 7 - 1 に比べ、硬さが低下したことが確認された。また T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加し、かつマルトースを乾燥ポテトフレークに対して 5 重量% 添加した試験区 7 - 4 は、T t A M を乾燥ポテトフレーク 1 g 当たり 0 . 0 5 U となるよう添加した対照区 7 - 2 に比べ、硬さが低下したことが確認された。

20

【 0 2 6 0 】

< 試験例 1 0 >

[食パンの作製]

(対照区 8 - 1)

強力粉 (日本製粉株式会社製、商品名「ニップンイーグル (強力粉) 」) 2 8 0 g、グラニュー糖 (三井製糖株式会社製、商品名「スプーン印グラニュー糖」) 1 5 g 及び食塩 (ナイカイ塩業株式会社製、商品名「ナクル M」) 4 g を予備混合し、ミックス粉とした。

30

市販の自動ホームベーカリー (家庭用自動パン焼き機) (エムケー精工株式会社製、品番 : H B K - 1 0 0) の容器 (羽根を取り付けたパンケース) に市水 1 9 0 g を計量した後、上記のミックス粉を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト (日清フーズ株式会社製、商品名「日清 スーパーカメラヤ ドライイースト」) 3 g 及びショートニング (株式会社 J - オイルミルズ製、商品名「ファシエ」) 2 0 g を投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン」 (メニュー番号 : 1)、焼き色を「ふつう」に設定 (調理時間 : 3 時間 5 0 分) した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温 (2 3 ~ 2 8) で 1 時間放冷した。

40

【 0 2 6 1 】

(対照区 8 - 2)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉に対して 5 重量% のグルコースを併せて投入したこと以外は対照区 8 - 1 と同様の手順で、食パンを作製した。

【 0 2 6 2 】

(対照区 8 - 3)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉に対して 5 重量% のマルトースを併せて投入したこと以外は対照区 8 - 1 と同様の手順で、食パンを作製

50

した。

【0263】

(対照区8-4)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり1Uとなる量のTtAMを併せて投入したこと以外は対照区8-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0264】

(試験区8-1)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり1Uとなる量のTtAM及び強力粉に対して5重量%のグルコースを併せて投入したこと以外
10

【0265】

(試験区8-2)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり1Uとなる量のTtAM及び強力粉に対して5重量%のマルトースを併せて投入したこと以外
10

【0266】

(物性測定)

試験区8-1、試験区8-2及び対照区8-1~8-4の食パンの硬さを、クリープメータ(株式会社山電製「レオナーII」、型番:RE2-33005)を使用して、下記
20

(1)~(4)の手順で測定した。

(1)食パンを、ポリエチレン製の袋に密封して温度10、湿度50%の条件下で2日間保存する。

(2)2日間保存後の食パンを厚さ約2cmに切り分けた後、その中心部の9箇所を1辺2cmの立方体状となるように切り出し、測定サンプルとする。

(3)測定サンプルの上面にプラスチック製楔型治具(No.49)が垂直に当たるよう、測定サンプルをクリープメータに設置する。

(4)ロードセル:20N、格納ピッチ:0.06秒、圧縮速度1mm/秒、圧縮率99.99%の条件にて、測定サンプル(品温:20)をプラスチック製楔型治具で圧縮し、食パンの硬さの指標として、50%圧縮時の荷重値(N)を測定する。50%圧縮時の荷重値が低値であるほど、食パンが柔らかい傾向にある。
30

【0267】

結果を図6に示す。

【0268】

(官能評価)

室温(23~28)で1時間放冷した後の試験区8-1、試験区8-2及び対照区8-1~8-4の食パンを、それぞれ厚さ2cmにスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封して温度10、湿度50%の条件下で2日間保存した。2日間保存後に、4名の評価パネルが各食パンのクラム部分(食パンの内相部分)のみを食し、試験区8-1、試験区8-2及び対照区8-2~8-4の食パンにおける老化抑制効果について、下記の基準に基づいて評価した。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。また、本試験でいう「老化抑制効果」とは、食感が経時的にパサついたり、ボソついたりするようになることを抑えて、やわらかさ、しっとり感を維持する効果をいう。
40

【0269】

[評価基準]

: 顕著な老化抑制効果あり

: 老化抑制効果あり

: 老化抑制効果が弱い

- : 老化抑制効果がない

【0270】

強力粉（日本製粉株式会社製、商品名「ニッポンイーグル（強力粉）」）280 g、グラニュー糖（三井製糖株式会社製、商品名「スプーン印グラニュー糖」）15 g 及び食塩（ナйкаイ塩業株式会社製、商品名「ナクルM」）4 g を予備混合し、ミックス粉とした。

市販の自動ホームベーカリー（家庭用自動パン焼き機）（エムケー精工株式会社製、品番：HBK-100）の容器（羽根を取り付けたパンケース）に市水190 gを計量した後、上記のミックス粉を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト（日清フーズ株式会社製、商品名「日清 スーパーカメラヤ ドライイースト」）3 g 及びショートニング（株式会社J-オイルミルズ製、商品名「ファシエ」）20 g を投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン」（メニュー番号：1）、焼き色を「ふつう」に設定（調理時間：3時間50分）した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温（23～28）で1時間放冷した。

10

【0274】

（対照区9-2）

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1 g 当たり1 U となる量のTtAMを併せて投入したこと以外は対照区9-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0275】

（試験区9-1）

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1 g 当たり1 U となる量のTtAM、強力粉に対して5重量%のマルトース及び強力粉に対して0.012重量%のグルコースを併せて投入したこと以外は対照区9-1と同様の手順で、食パンを作製した。

20

【0276】

（試験区9-2）

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1 g 当たり1 U となる量のTtAM、強力粉に対して5重量%のマルトース、強力粉に対して0.012重量%のグルコース及び強力粉1 g 当たり0.024 U となる量のグルコースオキシダーゼを併せて投入したこと以外は対照区9-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0277】

（物性測定）

試験区9-1、試験区9-2及び対照区9-1の食パンの硬さを、クリープメータ（株式会社山電製「レオナーII」、型番：RE2-33005）を使用して、試験例4と同様の手順で測定した。

30

結果を図7に示す。

【0278】

（官能評価）

室温（23～28）で1時間放冷した後の試験区9-1、試験区9-2及び対照区9-1の食パンを、それぞれ厚さ2 cmにスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封して温度10、湿度50%の条件下で2日間保存した。2日間保存後に、4名の評価パネルA～Dが各食パンのクラム部分（食パンの内相部分）のみを食し、「老化抑制効果」、「歯切れ」、「口どけ」、「好ましさ」のそれぞれについて、下記の基準に基づき、0.5点刻みで評点付けを行った。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。

40

【0279】

2点：非常に良い

1点：良い

0点：普通（基準）

-1点：悪い

-2点：非常に悪い

【0280】

50

結果（4名の評価パネルの評点の平均値、コメント）を下表14に示す。表中、「GO」は、グルコースオキシダーゼを意味する。

また各評価パネルの評点を、下表15に示す。

【0281】

【表14】

	老化抑制効果	歯切れ	口どけ	好ましさ	コメント
対照区 9-1	0	0	0	0	老化が進んでいて、ボソついた。
対照区 9-2	0.38	0.5	-0.63	0.25	対照区 9-1 に比べて老化が抑制されていたが、かたかった。
試験区 9-1	2.0	0.5	1.0	2.0	しつとりとしていて、やわらかかった。
試験区 9-2	2.0	1.0	1.0	2.0	やわらかく、しつとりとしていて好ましかった。

【0282】

10

20

30

40

50

【表 1 5】

	評価 パネル	老化抑制 効果	歯切れ	口どけ	好ましさ
対照区 9-1	A	0	0	0	0
	B	0	0	0	0
	C	0	0	0	0
	D	0	0	0	0
対照区 9-2	A	1	1	1	1
	B	-1	1	-2	-1
	C	0.5	0	-1	1
	D	1	0	-0.5	0
試験区 9-1	A	2	1	1	2
	B	2	1	2	2
	C	2	0	0	2
	D	2	0	1	2
試験区 9-2	A	2	1	1	2
	B	2	2	2	2
	C	2	1	0	2
	D	2	0	1	2

10

20

【0283】

表 1 4 に示される結果から明らかなように、T t A M を強力粉 1 g 当たり 1 U となるよう添加した対照区 9 - 2 において、老化抑制効果が確認された。

また T t A M を強力粉 1 g 当たり 1 U となるよう添加し、かつマルトースを強力粉に対して 5 重量% 添加した試験区 9 - 1 及び T t A M を強力粉 1 g 当たり 1 U となるよう添加し、マルトースを強力粉に対して 5 重量% 添加し、かつグルコースオキシダーゼを添加した試験区 9 - 2 のいずれにおいても、対照区 9 - 2 に比べ、より明確な老化抑制効果が確認された。試験区 9 - 2 の食パンは、試験区 9 - 1 の食パンに比べ、歯切れが向上し、より好ましいものであった。

30

【0284】

< 試験例 1 2 >

[5 % デンプン液 (対照区 1 0 - 1) の調製]

ラピッドビスコアナイザー (以下、単に「RVA」とも称する) 用アルミカップに、下表 1 6 に示す通り、馬鈴薯デンプン (ナカライテスク株式会社製) を計量し、水 (M i l l i - Q 水) を加えて、5 % デンプン液 (2 5 g) を得た。

40

【0285】

[対照区 1 0 - 2 及び対照区 1 0 - 3 の酵素添加デンプン液の調製]

RVA 用アルミカップに、下表 1 6 に示す通り、馬鈴薯デンプン (ナカライテスク株式会社製) を計量し、水 (M i l l i - Q 水) を加えた後、希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を添加し、酵素添加デンプン液 (2 5 g) を得た。尚、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加は、RVA を使用してデンプンの糊化及び酵素反応を行う直前に行った。

【0286】

[対照区 1 0 - 4 のグルコース添加デンプン液の調製]

50

RVA用アルミカップに、下表16に示す通り、馬鈴薯デンプン（ナカライテスク株式会社製）を計量した後、グルコースを添加し、水（Milli-Q水）を加えて、グルコース添加デンプン液（25g）を得た。

【0287】

[試験区10-1及び試験区10-2の酵素及びグルコース添加デンプン液の調製]

RVA用アルミカップに、下表16に示す通り、馬鈴薯デンプン（ナカライテスク株式会社製）を計量してから、グルコースを添加し、水（Milli-Q水）を加えた後、希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を添加して、酵素及びグルコース添加デンプン液（25g）を得た。尚、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液の添加は、RVAを使用してデンプンの糊化及び酵素反応を行う直前に行った。

10

【0288】

上記の試験区10-1及び試験区10-2、対照区10-1～10-4の各液の調製に用いられた原料（サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液、馬鈴薯デンプン、グルコース、水）の量を下表16に示す。表中、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

【0289】

20

30

40

50

【表 16】

	対照区				試験区	
	10-1	10-2	10-3	10-4	10-1	10-2
希釈したTtAM 水溶液		0.1 mL (馬鈴薯デンプン1g当たりのユニット数:1U)	1 mL (馬鈴薯デンプン1g当たりのユニット数:10U)		0.1 mL (馬鈴薯デンプン1g当たりのユニット数:1U)	1 mL (馬鈴薯デンプン1g当たりのユニット数:10U)
馬鈴薯デンプン			1.25 g			
グルコース				62.5 mg	62.5 mg	62.5 mg
水						
全量				25 g		
				残余		
				25 g		

10

20

30

【0290】

試験区10-1及び試験区10-2、対照区10-1~10-4の各液について、RVA (Pertin Instruments社製、RVA-TecMaster) を使用し、下表17に示す条件でデンプンの糊化、酵素反応を行った。

40

【0291】

50

【表 17】

<RVA条件>

時間	温度	回転数
0～10秒	37℃保持	960rpm
10秒～1分	37℃保持	160rpm
1分～5分	37℃→98℃	
5分～15分	98℃保持	
15分～19分	98℃→50℃	
19分～20分	50℃保持	

10

【0292】

得られた各反応液を、それぞれ96ウェルプレートに300μLずつ分注し(n=3)、マイクロプレートリーダー(モレキュラーデバイスジャパン社製)を使用して、波長530nmで吸光度を測定した。

【0293】

吸光度測定後の各液を冷蔵庫(4)で3日間保管し、その間、毎日、上記と同様に、波長530nmでの吸光度を測定した。

20

【0294】

結果を下表18に示す。

【0295】

【表 18】

<波長530nmでの吸光度(濁度)>

		対照区				試験区	
		10-1	10-2	10-3	10-4	10-1	10-2
保管 日数	0	0.07	0.07	0.07	0.08	0.07	0.05
	1	1.22	1.23	1.67	1.17	0.48	0.06
	2	1.41	1.58	1.76	1.37	0.87	0.07
	3	1.51	1.73	1.8	1.47	1.12	0.08

30

【0296】

表18に示される結果から明らかなように、対照区10-1は、保管日数が長くなるにしたがって濁度(波長530nmでの吸光度)が増加し、デンプンが経時により老化していることが確認された。

サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼが単独で添加された対照区10-2及び対照区10-3、並びに、グルコースが単独で添加された対照区10-4は、対照区10-1と比べて、濁度(波長530nmでの吸光度)の増加の程度に変化がみられなかったか、あるいは、濁度がより増加し、老化抑制効果は確認できなかった。

40

一方、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及びグルコースが併用された試験区10-1及び試験区10-2では、コントロールと比べて、濁度の増加が抑制され、老化抑制効果が得られた。

【0297】

<試験例13>

(対照区11-1)

市販の乾燥ポテトフレーク(株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」)40gに、お湯(80)を全量が160gとなるよう加えた後、均一となるようスパチュラを用いて3分間攪拌した。3個のパックに50gずつ小分けして真空包装し、75のウォーターバスで30分間加温した。流水で粗熱をとった後、4で1日間、冷蔵保存した。

50

【0298】

(対照区11-2)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液146.5μL(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.1U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外は対照区11-1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【0299】

(対照区11-3)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、 α -グルコシダーゼ(天野エンザイム株式会社製、「 α -グルコシダーゼ「アマノ」」)20mg(α -グルコシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.06U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外は対照区11-1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

10

【0300】

(試験区11-1)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液146.5μL(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.1U)、及び α -グルコシダーゼ(天野エンザイム株式会社製、「 α -グルコシダーゼ「アマノ」」)20mg(α -グルコシダーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.06U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外は対照区11-1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

20

【0301】

試験区11-1及び対照区11-1~11-3の各マッシュポテトの調製に用いられたサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及び α -グルコシダーゼの量(乾燥ポテトフレーク1g当たりユニット数)を下表19に示す。表中、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示し、「AG」は α -グルコシダーゼを示す。

【0302】

【表19】

	対照区			試験区
	11-1	11-2	11-3	11-1
TtAM (乾燥ポテトフレーク1g 当たりのユニット)		0.1		0.1
AG (乾燥ポテトフレーク1g 当たりのユニット)			0.06	0.06

30

【0303】

試験区11-1及び対照区11-1~11-3の各マッシュポテトの硬さを、テクスチャーアナライザー(Stable Micro Systems製、型番:TA-XT Plus)を使用して、下記(1)~(2)の手順で測定した。

40

(1) 調製したマッシュポテトを、24ウェル平底マイクロプレート(直径12mm、高さ15mm)の淵まで分注し、蓋をして4℃で7日間、保管する。

(2) 直径5mmのステンレス製球状プランジャーを用い、圧縮速度0.5mm/秒で、24ウェル平底マイクロプレートに充填されたマッシュポテトの中心部を50%圧縮(突き刺し)し、圧縮1秒後の応力を記録する。

【0304】

結果(試験区11-1及び対照区11-1~11-3の各マッシュポテトの、8日間の冷蔵保存後の硬さ)を図8に示す。

50

【0305】

図8に示される結果から明らかなように、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼが単独で添加された対照区11-2、並びに、 α -グルコシダーゼが単独で添加された対照区11-3に比べて、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及び α -グルコシダーゼが併用された試験区11-1のマッシュポテトは、8日間の冷蔵保存後、最も柔らかくなっていた。当該結果から、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及び α -グルコシダーゼを併用することによって、相乗的な老化抑制効果が得られることが示唆された。

【0306】

<試験例14>

[食パンの作製]

(対照区12-1)

強力粉(日本製粉株式会社製、商品名「ニップンイーグル(強力粉)」)、グラニュー糖(三井製糖株式会社製、商品名「スプーン印グラニュー糖」、食塩(ナイカイ塩業株式会社製、商品名「ナクルM」)を、下表20に示す量で予備混合し、ミックス粉とした。

市販の自動ホームベーカリー(家庭用自動パン焼き機)(エムケー精工株式会社製、品番:HBK-100)の容器(羽根を取り付けたパンケース)に市水(22.3℃)190gを計量した後、上記のミックス粉を投入し、次いで、市水にふれないようミックス粉の上にドライイースト(日清フーズ株式会社製、商品名「日清スーパーカメリアドライイースト」)3g及びショートニング(株式会社J-オイルミルズ製、商品名「ファシエ」)20gを投入した。自動ホームベーカリーのメニューを「食パン・焼き色:ふつう」(調理時間:3時間50分)に設定した後、スタートキーを押し、調理を開始した。調理終了を知らせるブザーがなった後、取消キーを押して容器から焼き上がった食パンを取り出し、室温(24.5℃、湿度:56%)で1時間放冷した。

【0307】

【表20】

材料	重量(g)
強力粉	280
グラニュー糖	15
食塩	4

【0308】

(対照区12-2)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する前に、強力粉1g当たり1Uのサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液を併せて投入したこと以外は対照区12-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0309】

(対照区12-3)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり0.75Uの α -アミラーゼ(天野エンザイム株式会社製、商品名「ピオザイムA」)を併せて投入したこと以外は対照区12-1と同様の手順で、食パンを作製した。

【0310】

(試験区12-1)

市販の自動ホームベーカリーの容器にミックス粉を投入する際、強力粉1g当たり0.75Uの α -アミラーゼ(天野エンザイム株式会社製、商品名「ピオザイムA」)を併せて投入したこと以外は対照区12-2と同様の手順で、食パンを作製した。

【0311】

10

20

30

40

50

(官能評価)

室温(20)で1時間放冷した後の試験区12-1及び対照区12-1~12-3の食パンを、それぞれ厚さ2cmにスライスした後、ポリエチレン製の袋に密封して温度10、湿度50%の条件下で2日間保存した。2日間保存後に、4名の評価パネルが各食パンのクラム部分(食パンの内相部分)のみを食し、老化抑制効果、歯切れ及び口どけについて、それぞれ下記の基準に基づいて評価した。なお、官能評価は吐き出し法にて実施した。

【0312】

[老化抑制効果、歯切れ及び口どけの評価基準]

: 対照区12-1より大幅に好ましい

10

○: 対照区12-1より好ましい

: 対照区12-1と同程度である

【0313】

結果を下表21に示す。表中、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

【0314】

20

30

40

50

【表 2 1】

	対照区			試験区 1 2 - 1
	1 2 - 1	1 2 - 2	1 2 - 3	
T t AM (強力粉 1 g 当たり のユニット)	/	1	/	1
α-アミラーゼ (強力粉 1 g 当たり のユニット)	/	/	0.75	0.75
老化抑制効果	基準	○	△	◎
歯切れ	基準	△	△	○
口どけ	基準	△	○	○
コメント	/	ややしっとり していた。	やわらかかった が、表面が乾 いた感じだっ た。	しっとり感が 明確に向上し た。ふわふわ 感が強かった 。

10

20

30

【 0 3 1 5】

(物性測定)

試験区 1 2 - 1 及び対照区 1 2 - 1 ~ 1 2 - 3 の食パンを、ポリエチレン製の袋に密封して温度 1 0 、湿度 5 0 % の条件下で 2 日間保存した後、試験例 3 と同様に圧縮試験を行った。結果を図 9 に示す。

40

【 0 3 1 6】

表 2 1 に示される結果から明らかなように、試験区 1 2 - 1 の食パンにおいて、老化抑制効果、歯切れ及び口どけが、いずれも良好であった。

また図 9 に示される結果から、試験区 1 2 - 1 の食パンは、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを単独で添加した対照区 1 2 - 2 の食パンや、α-アミラーゼを単独で添加した対照区 1 2 - 3 の食パンに比べて、柔らかさが維持されていることが確認された。

これらの結果から、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及び α-アミラー

50

ゼを併用することによって、しっとり感及び柔らかさが付与され、好ましい食感を有するパンになることが確認された。

【0317】

<試験例15>

(対照区13-1)

市販の乾燥ポテトフレーク(株式会社大望製、商品名「じゃがいもフレーク」)40gに、お湯(80)を全量が160gとなるよう加えた後、均一となるようスパチュラを用いて5分間攪拌した。3個のパックに50gずつ小分けして真空包装し、75のウォーターバスで30分間加温した。流水で粗熱をとった後、4で1日間、冷蔵保存した。

【0318】

(対照区13-2)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液73.3μL(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.05U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外は対照区13-1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【0319】

(対照区13-3)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、α-アミラーゼ(天野エンザイム株式会社製、商品名「ピオザイムA」)0.1mg(α-アミラーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.0375U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外は対照区13-1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【0320】

(試験区13-1)

市販の乾燥ポテトフレークに、お湯を加える際、100倍希釈したサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ水溶液73.3μL(サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.05U)、及びα-アミラーゼ(天野エンザイム株式会社製、商品名「ピオザイムA」)0.1mg(α-アミラーゼの、乾燥ポテトフレーク1g当たりのユニット数:0.0375U)を併せて添加し、全量を160gとしたこと以外は対照区13-1と同様の手順で、マッシュポテトを調製した。

【0321】

試験区13-1及び対照区13-1~13-3の各マッシュポテトの調製に用いられたサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及びα-アミラーゼの量(乾燥ポテトフレーク1g当たりユニット数)を下表22に示す。表中、「TtAM」はサーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼを示す。

【0322】

【表22】

	対照区			試験区
	13-1	13-2	13-3	13-1
TtAM (乾燥ポテトフレーク1g 当たりのユニット)		0.05		0.05
α-アミラーゼ (乾燥ポテトフレーク1g 当たりのユニット)			0.0375	0.0375

【0323】

試験区 13 - 1 及び対照区 13 - 1 ~ 13 - 3 の各マッシュポテトの硬さは、テクスチャーアナライザー (Stable Micro Systems 製、型番：T A - X T P l u s) を使用して、下記 (1) ~ (2) の手順で測定した。

(1) 調製したマッシュポテトを、24 ウェル平底マイクロプレート (直径 12 mm、高さ 15 mm) の淵まで分注し、蓋をして 5 で保管する。

(2) 直径 5 mm のステンレス製球状プランジャーを用い、圧縮速度 1 mm / 秒で、24 ウェル平底マイクロプレートに充填されたマッシュポテトの中心部を 50 % 圧縮 (突き刺し) し、圧縮 1 秒後の応力を記録する。

【 0 3 2 4 】

保管開始から 8 日後の結果を図 10 に示す。

10

【 0 3 2 5 】

図 10 に示される結果から明らかなように、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼが単独で添加された対照区 13 - 2、並びに、 - アミラーゼが単独で添加された対照区 13 - 3 に比べて、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及び - アミラーゼが併用された試験区 13 - 1 のマッシュポテトは、8 日間の冷蔵保存後、最も柔らかくなっていた。当該結果から、サーマス・サーモフィルス由来アミロマルターゼ及び - アミラーゼを併用することによって、相乗的な老化抑制効果が得られることが示唆された。

【 産業上の利用可能性 】

【 0 3 2 6 】

20

本発明によれば、改質されたデンプン含有食品の製造方法 (例えば、老化が抑制されたデンプン含有食品の製造方法、老化が抑制され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、製造適性が改良され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、風味が改良されたデンプン含有食品の製造方法等) を提供できる。

一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の老化を抑制し得、したがって本発明によれば、老化が抑制されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の老化抑制方法を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の老化を抑制し、かつ食感を改良し得、したがって本発明によれば、老化が抑制され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の老化抑制方法及びデンプン含有食品の食感改良方法を提供できる。

30

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の製造適性を改良し、かつ食感を改良し得、したがって本発明によれば、製造適性が改良され、かつ食感が改良されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の製造適性改良方法を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、風味が改良されたデンプン含有食品の製造方法、デンプン含有食品の風味改良方法を提供できる。

本発明によれば、デンプン含有食品を改質するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の老化を抑制するため、かつ / 又は、デンプン含有食品の食感を改良するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

40

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の製造適性を改良し、かつ / 又は、デンプン含有食品の食感を改良するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

他の一態様として、本発明によれば、デンプン含有食品の風味を改良するために好適に用いられ得る酵素組成物を提供できる。

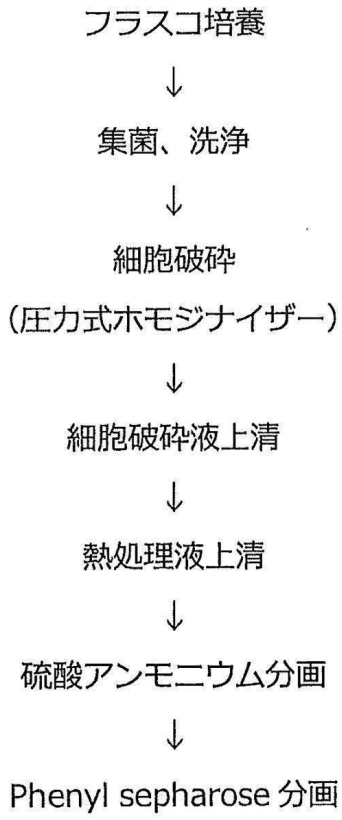
【 0 3 2 7 】

本出願は、日本で出願された特願 2019 - 002862 (出願日：2019 年 1 月 10 日) 及び特願 2019 - 069262 (出願日：2019 年 3 月 29 日) を基礎としており、それらの内容は本明細書に全て包含されるものである。

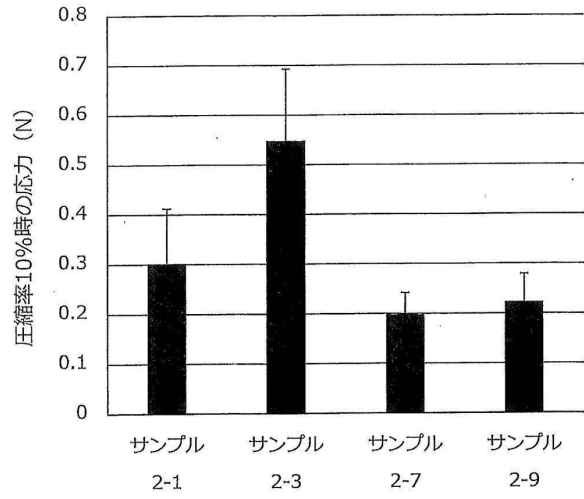
50

【図面】

【図 1】



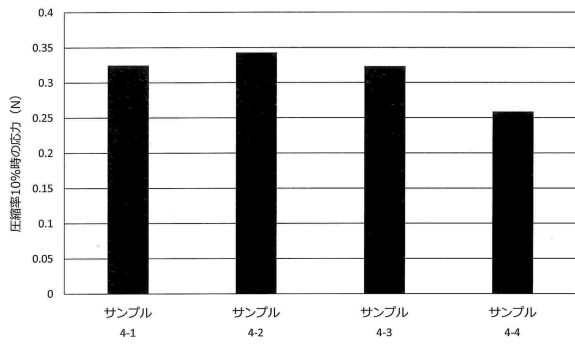
【図 2】



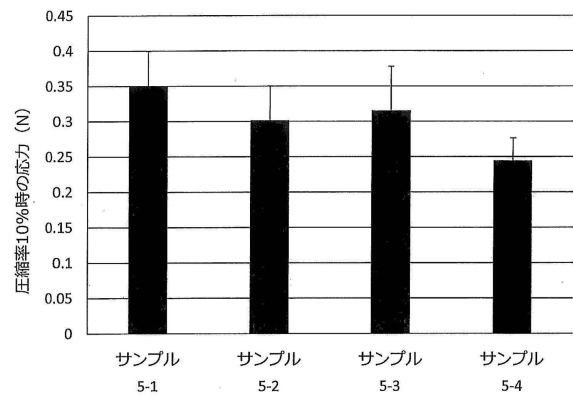
10

20

【図 3】



【図 4】

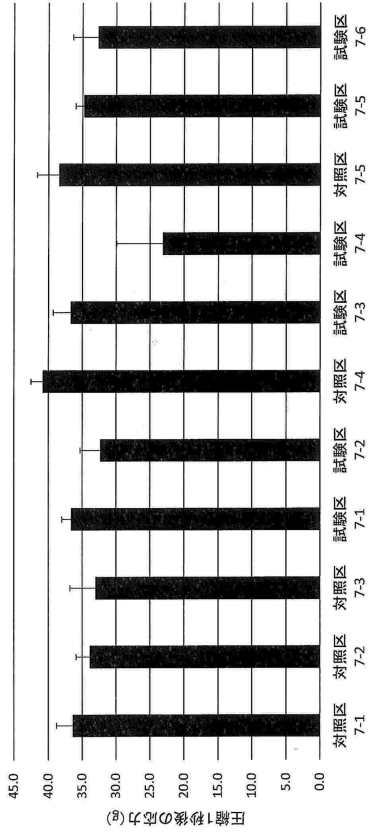


30

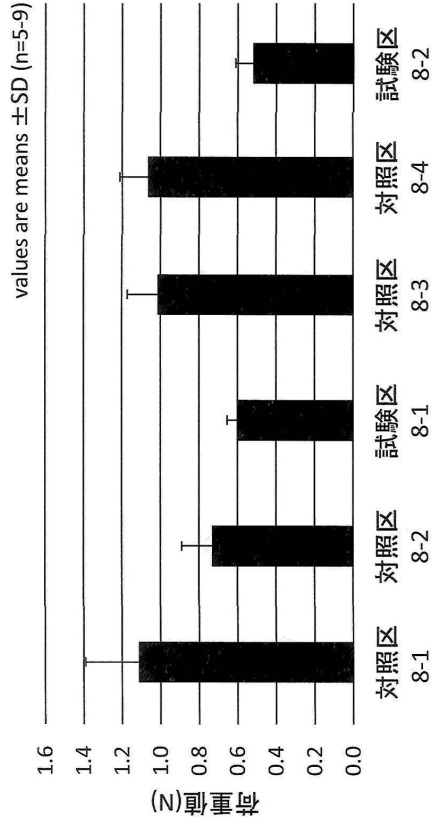
40

50

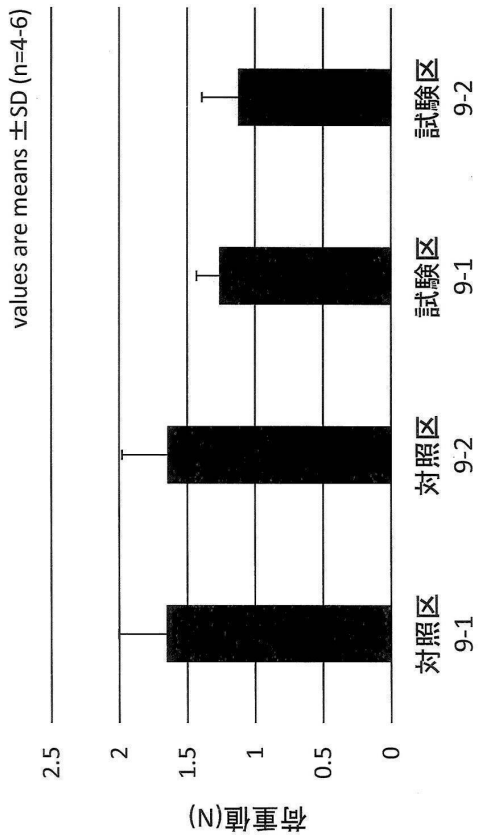
【 図 5 】



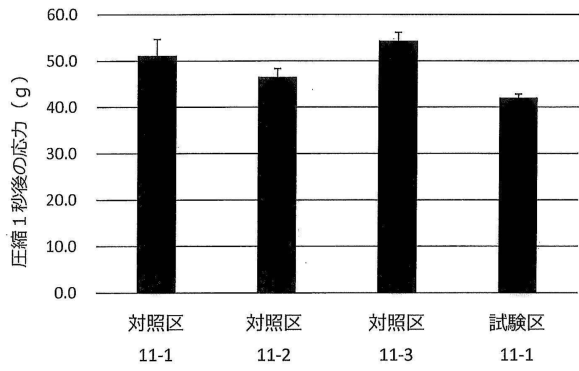
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



10

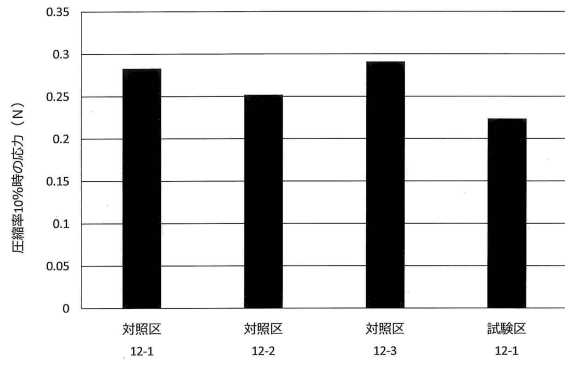
20

30

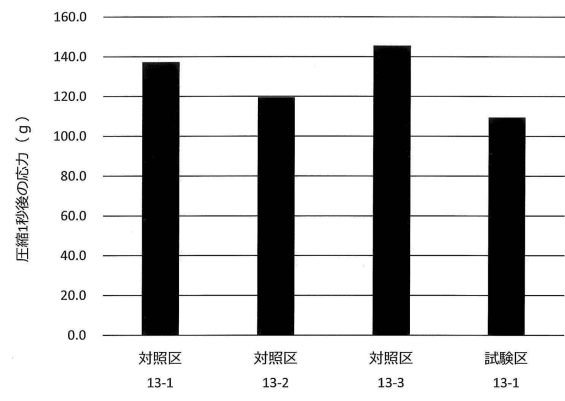
40

50

【 図 9 】



【 図 10 】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

		F I		
A 2 3 L	7/109(2016.01)	A 2 3 L	7/10	E
C 1 2 N	9/10 (2006.01)	A 2 3 L	19/10	
A 2 3 L	19/12 (2016.01)	A 2 3 L	7/109	A
C 1 2 N	9/28 (2006.01)	C 1 2 N	9/10	
C 1 2 N	9/04 (2006.01)	A 2 3 L	19/12	Z
C 1 2 N	9/50 (2006.01)	A 2 3 L	7/109	B
A 2 1 D	2/26 (2006.01)	C 1 2 N	9/28	
		C 1 2 N	9/04	D
		C 1 2 N	9/50	
		A 2 1 D	2/26	

(74)代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(74)代理人 100152308

弁理士 中 正道

(72)発明者 赤本 和人

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内

(72)発明者 杉野 多美

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内

(72)発明者 佐藤 実穂

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内

(72)発明者 横山 典子

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内

(72)発明者 関田 美沙

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内

審査官 吉森 晃

(56)参考文献

中国特許出願公開第108707634(CN, A)

韓国公開特許第10-2012-0016843(KR, A)

国際公開第2012/111326(WO, A1)

特開平11-332452(JP, A)

特開2002-272357(JP, A)

特開平07-031396(JP, A)

特開平06-292505(JP, A)

国際公開第2010/035858(WO, A1)

国際公開第2010/090337(WO, A1)

特開昭57-166945(JP, A)

特開平07-079689(JP, A)

特開平03-251173(JP, A)

特開平09-322725(JP, A)

特開2011-115157(JP, A)

米国特許出願公開第2013/0209607(US, A1)

米国特許出願公開第2011/0142994(US, A1)

米国特許出願公開第2011/0033600(US, A1)

米国特許出願公開第2010/0143542(US, A1)

国際公開第2010/029151(WO, A1)

Sun CHU et al., " High-yield cycloamylose production from sweet potato starch using Pseudomonas isoamylase and Thermus aquaticus 4- -glucanotransferase ", Food Science and Biotechnology, 2016年10月, Vol. 25, No. 5, p.1413-1419, DOI: 10.1007/s10068-016-0220-6

Jiwoon PARK et al., " Feasibility and characterization of the cycloamylose production from

high amylose corn starch ” , Cereal Chemistry , 2018年09月28日 , Vol. 95, No. 6 , p.838-848 , DOI: 10.1002/cche.10102

Chang-Kyu LEE et al. , “ Enzymatic Synthesis and Properties of Highly Branched Rice Starch Amylose and Amylopectin Cluster ” , Journal of Agricultural and Food Chemistry , 2007年12月12日 , Vol. 56, No. 1 , p.126-131 , DOI: 10.1021/jf072508s

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B名)

A 2 3 L 5 / 0 0

A 2 3 L 2 9 / 0 0

A 2 1 D 8 / 0 4

A 2 3 L 7 / 1 0

A 2 3 L 1 9 / 1 0

A 2 3 L 7 / 1 0 9

C 1 2 N 9 / 1 0

A 2 3 L 1 9 / 1 2

C 1 2 N 9 / 2 8

C 1 2 N 9 / 0 4

C 1 2 N 9 / 5 0

A 2 1 D 2 / 2 6

J S T P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / F S T A / A G R I C O L A (S T N)