

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2008年12月11日 (11.12.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/149738 A1

(51) 国際特許分類:

C08B 37/00 (2006.01) A23C 9/152 (2006.01)
A23C 9/13 (2006.01) A23L 2/38 (2006.01)

[JP/JP]: 〒3002436 茨城県つくばみらい市絹の台4丁目3番地 不二製油株式会社 つくば研究開発センター内 Ibaraki (JP). 吉田 隆治 (YOSHIDA, Ryuji) [JP/JP]: 〒5988540 大阪府泉佐野市住吉町1番地 不二製油株式会社 阪南事業所内 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2008/059773

(22) 国際出願日: 2008年5月28日 (28.05.2008)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願2007-150724 2007年6月6日 (06.06.2007) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 不二製油株式会社 (FUJI OIL COMPANY, LIMITED) [JP/JP]: 〒5420086 大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号 Osaka (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 藤井 名苗 (FUJII, Nanae) [JP/JP]: 〒3002436 茨城県つくばみらい市絹の台4丁目3番地 不二製油株式会社 つくば研究開発センター内 Ibaraki (JP). 戸邊 順子 (TOBE, Junko) [JP/JP]: 〒3002436 茨城県つくばみらい市絹の台4丁目3番地 不二製油株式会社 つくば研究開発センター内 Ibaraki (JP). 中村 彰宏 (NAKAMURA, Akihiro)

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(54) Title: METHOD FOR PRODUCTION OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDE

(54) 発明の名称: 水溶性多糖類の製造法

(57) Abstract: Disclosed is a novel water-soluble soybean polysaccharide which is produced by imparting a function of stabilizing a protein in a pH range around the isoelectric point of the protein to a water-soluble soybean polysaccharide. Also disclosed is a novel dispersion stabilizer which enables to stabilize the dispersion of a protein in a pH range around the isoelectric point of the protein. Further disclosed is an acidic protein food/beverage comprising the dispersion stabilizer. A crosslinked product of a water-soluble soybean polysaccharide extracted from a soybean seed raw material can improve the dispersion stability of a milk protein in a pH range around the isoelectric point of the protein. By using the water-soluble soybean polysaccharide, an acidic protein food/beverage having a low viscosity can be produced.

(57) 要約: 水溶性大豆多糖類に蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質を安定化する機能を付与することで、新規な水溶性大豆多糖類を提供するとともに、蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質が分散安定化できる、新規な分散安定剤およびこれを用いた酸性蛋白飲食品を提供することを課題とした。大豆種子原料の抽出により得た水溶性大豆多糖類を架橋させることで、乳蛋白質の等電点付近のpH域における、蛋白質の分散安定性を向上させることが出来た。また、この水溶性大豆多糖類を用いた低粘度の酸性蛋白飲食品を得ることが出来た。

WO 2008/149738 A1

明 細 書

水溶性多糖類の製造法

技術分野

- [0001] 本発明は、従来の水溶性大豆多糖類では安定化が不十分であった、蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質を安定化できる、新規な水溶性大豆多糖類の製造法、及び製造された多糖類を有効成分とする、蛋白質の新規な分散安定剤に関する。

背景技術

- [0002] 日本では年間約80万tものオカラが副生しているが、殆どは飼料や肥料として、付加価値が低いまま用いられている。こうしたオカラを有効利用する方法の一つとして、オカラから機能性の高いさまざまな物質の抽出が試みられてきた。例えば特許文献1では、蛋白質を含有する水不溶性の植物繊維を、蛋白質の等電点付近の酸性下において高温で分解させる様にして、水溶性大豆多糖類を得ている。
- [0003] 通常乳蛋白質はpH5.0以下では凝集沈殿が起こるが、この水溶性大豆多糖類を添加すると、pH3.8～pH4.2の酸性下でも、蛋白質を分散安定化出来るために、低粘度の酸性乳飲料を作製することが出来る(特許文献2)。しかし、従来法で製造されたこれら水溶性大豆多糖類は、例えば乳蛋白質の等電点付近またはそれを越えるpHであるpH4.2以上のpH域では、蛋白質の十分な分散安定化能を示さなかった。
- [0004] 一方、酸性下での蛋白質の分散安定剤として、水溶性大豆多糖類の他に、ペクチンやカルボキシメチルセルロースが用いられている。これらを酸性乳飲料の安定剤として用いた場合、水溶性大豆多糖類では困難な、乳蛋白質の等電点付近であるpH4.2～4.8程度のpH域で乳蛋白質を分散安定することが出来るが、糊状感や粘度のある飲料となってしまう。乳蛋白質の等電点付近のpH域で、且つ、低粘度の飲料を得ることは困難である。
- [0005] 乳蛋白質は、その等電点以下の酸性下で正電荷を帯びている。酸性乳飲料中の蛋白質を多糖類によって分散させるモデルについて、特にペクチンと水溶性大豆多糖類に関して研究が進められている(非特許文献1)。乳蛋白質の分散安定性に寄与する多糖類は、自身の持つ負電荷によって蛋白質表面にイオンの、または疎水的

に結合することで、電氣的反発や立体障害によって蛋白質の凝集沈殿が抑えられると考えられている。これまで多糖類の分散安定性を向上させるために、多糖類の持つ負電荷を増やす試みは数多く実施されてきた。例えば上述したカルボキシメチルセルロースは、セルロースにカルボキシメチル基を導入して負電荷を増やしたものである。しかし、乳蛋白質の等電点付近のpH域に於て、乳蛋白質を低粘度で分散安定させる安定剤は得るに至っていない。また、蛋白質の分散安定性に対して、安定剤の分子量に着目した検討は、これまでに知られていない。

[0006] 特許文献1:特許第2599477号公報

特許文献2:特許第3280768号公報

非特許文献1:J. Agric. Food Chem., 54 (17), 6241-6246, 2006.

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0007] 水溶性大豆多糖類に蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質を安定化する機能を付与することで、新規な水溶性大豆多糖類を提供するとともに、蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質が分散安定化できる、新規な分散安定剤およびこれを用いたの酸性蛋白飲食品を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、上記の課題に対して鋭意研究を重ねた結果、等電点付近のpH域の蛋白質に対する分散安定性に、添加する多糖類の分子量が大きく寄与していることを発見した。水溶性大豆多糖類に対し、架橋処理を行なった水溶性多糖類は、従来の水溶性大豆多糖類では安定化出来なかった、乳蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質を安定化出来ることを見出し、本発明を完成させた。

[0009] 即ち、本発明は、

(1)水溶性大豆多糖類に架橋処理を行なうことを特徴とする、水溶性多糖類の製造法。

(2)架橋処理に、リン酸化合物またはその塩を架橋剤として用いる、(1)に記載の水溶性多糖類の製造法。

(3)架橋処理が、水溶性大豆多糖類水溶液に、リン酸化合物を添加し、アルカリ条

件で加熱処理することである、(2)に記載の水溶性多糖類の製造法。

(4)架橋化水溶性大豆多糖類を有効成分とする、蛋白質の分散安定剤。

(5)(4)に記載の分散安定剤を含むことを特徴とする、酸性蛋白飲食品。

(6)リン酸ジエステル結合を分子内に含む、架橋化水溶性大豆多糖類。

である。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、従来とは異なる高い分子量を持った新規な水溶性大豆多糖類を得るとともに、この水溶性大豆多糖類を用いることで、従来安定化出来なかった蛋白質の等電点付近のpH域で蛋白質を分散安定化し、新規な酸性蛋白飲料及び食品を提供することが出来る。

発明を実施するための最良の形態

[0011] (水溶性大豆多糖類)

以下、本発明を具体的に説明する。本発明における水溶性大豆多糖類とは、種々の方法で得られる水溶性大豆多糖類を用いることができるが、例えば、特許文献1に記載された様な水溶性大豆多糖類を用いることができる。製造の一例を示せば、豆腐や豆乳、分離大豆蛋白質の製造時に副産物として得られるオカラや、脱脂大豆粕(ミール)を原料として、水系下で蛋白質の等電点付近である弱酸性域で高温抽出し、固液分離により水溶性大豆多糖類を得ることができる。油分、蛋白質が共に少ない、分離大豆蛋白質製造時のオカラが原料に好ましく、抽出温度は100℃を超えると抽出効率が高く好ましい。この様に得られた水溶性大豆多糖類は、抽出濾液または抽出濾液の精製物に対して以下の架橋反応を行なっても良いし、抽出濾液またはその精製物を更に乾燥した物に対して架橋反応を行なっても良い。

[0012] (架橋反応)

これらの水溶性大豆多糖類に架橋処理を行なう。架橋処理としては、水溶性大豆多糖類の分子内や分子間を直接架橋させることも出来るし、架橋剤を介して架橋させることも出来る。多糖類分子間を直接架橋させる方法を例示すると、水溶性大豆多糖類に、塩酸等の鉱酸をはじめとした各種の酸水溶液を、多糖類100gに対して2～50m mol加え、水分量を0.5～20%とした上で100℃～160℃で加熱する。また、水溶性

大豆多糖類を酵素処理や、放射線処理によって架橋しても良い。

[0013] 水溶性大豆多糖類に架橋剤を介して架橋させる方法を例示する。水溶性大豆多糖類の水溶液に対し、種々の架橋剤を添加する。ここで言う架橋剤とは、特に限定されないが、リン酸、フィチン酸、ポリリン酸、メタリン酸、無水リン酸、ヘキサメタリン酸、トリメタリン酸、等のリン酸化合物及びその塩、並びに、オキシ塩化リン、エピクロロヒドリン、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、ジエポキシアルカン及びジエポキシアルケン等が例示出来る。中でも食品に利用する場合は、反応の効率からもリン酸化合物若しくはその塩類が好ましく、中でもトリメタリン酸若しくはその塩類が最も好ましい。添加する架橋剤の量は、架橋剤の種類や水溶性大豆多糖類の濃度によっても異なるが、例えば水溶性大豆多糖類の5重量%水溶液にトリメタリン酸を用いる場合、溶液中の固形分に対して好ましくは1重量%以上100重量%以下、更に好ましくは10重量%以上80重量%以下、最も好ましくは20重量%以上50重量%以下である。架橋剤の量が少なすぎると、架橋の効率が低く、架橋剤の量が多すぎると、溶液の粘度が急激に上昇し、処理の過程でゲル化することがある。反応液中の水溶性大豆多糖類の濃度に合わせても、添加する架橋剤の濃度を調整する必要がある、水溶性大豆多糖類の濃度が高い場合、添加する架橋剤は上記値より少量にすることができる。尚、反応液中の水溶性大豆多糖類の濃度は、薄いと反応性が低く、高いと粘度上昇等が伴い取扱性が悪化するが、0.1～20重量%が好ましい。また、架橋反応をする場合、反応時の大豆多糖類の粘性を調製するために、塩類を添加することもできる。塩類としては、水の溶解するものであって、塩化ナトリウム、塩化カルシウム、硫酸ナトリウム、炭酸ナトリウムなどが好ましいものとして例示できる。

[0014] 架橋剤としてリン酸化合物またはその塩類を用いた場合、それらを添加後の水溶液は、アルカリ条件で加熱処理することで、効率よく架橋反応を行なうことが出来る。蛋白質の分散安定機能を高めるには、アルカリ条件としては、好ましくはpH10以上、更に好ましくはpH12以上であり、且つ、好ましくはpH14未満、更に好ましくはpH13以下が良好である。また、加熱条件としては、好ましくは40℃以上、更に好ましくは50℃以上、最も好ましくは55℃以上であり、且つ、好ましくは90℃以下、更に好ましくは80℃以下が良好である。加熱時間は、好ましくは10分間以上、更に好ましくは30分以上で

あり、且つ、好ましくは4時間以下、更に好ましくは2時間以下が良好である。加熱pHおよび加熱温度が高い場合は、水溶性大豆多糖類が β 脱離等により分解することがあり、また、加熱pHおよび加熱温度が低い場合は、架橋反応性に劣る。この操作により、水溶性大豆多糖類は架橋が起こり、高分子量画分が生成され、蛋白質の分散安定能を高めることが出来る。またこの処理によって、水溶性大豆多糖類に含まれるガラクトuron酸のメチルエステルを、架橋反応と同時に脱エステルすることが出来、蛋白質の分散安定能を更に高めることが出来る。これらの反応後に、発生する不溶化物を除去すると、水溶性画分のみを得ることができる。

架橋剤としてリン酸化合物またはその塩類を用いた水溶性大豆多糖類は、後述する実施例3で確認できる様に、その分子内にリン酸ジエステル結合を含むものであり、リン酸ジエステル結合により高分子化された水溶性大豆多糖類である。

[0015] (ヘテロ架橋反応)

前述した、水溶性大豆多糖類分子間を直接あるいは架橋剤を介して架橋させる以外に、水溶性大豆多糖類と他の高分子素材とを架橋させることも可能であり、本願の架橋化水溶性大豆多糖類はこれらも包含する。その高分子素材は特に限定されないが、デンプン、化工澱粉、デキストリン、セルロース、微結晶セルロース、発酵セルロース、各種修飾セルロース、寒天、カラギーナン、ファースラン、グアーガム、ローカストビーンガム、タマリンド種子多糖類、タラガム、アラビアガム、トラガントガム、カラヤガム、ペクチン、キサントガム、プルラン、ジェランガムなどの多糖類、また乳蛋白質や大豆蛋白質などの蛋白質及びその分画物が例示される。混合する高分子素材は2種類以上であっても構わない。水溶性大豆多糖類が、架橋化物の主たる成分でなくても、蛋白質分散安定性を得ることは可能であるが、より強い効果を得るには、水溶性大豆多糖類が架橋化物の半分以上配合されていることが好ましい。

[0016] 水溶性大豆多糖類と他の高分子素材を用いて架橋させる場合も、水溶性大豆多糖類単独の場合と同様であり、直接架橋させることも、他の架橋剤を介して架橋させることも可能である。また、その際の反応方法や条件も水溶性大豆多糖類単独の場合に準じる。

[0017] (精製)

得られた水溶性大豆多糖類はそのまま用いることも可能であるが、より機能を発揮させるために精製を行うことが望ましい。特に抽出した水溶性大豆多糖類をそのまま架橋した際には、水溶性大豆多糖類に夾雑する蛋白質は蛋白質の分散安定性に対し悪影響を及ぼすため、除去することが好ましい。蛋白質の除去方法として、pH調整し蛋白質を凝集させ、圧濾分離、遠心分離、ろ過や膜分離等の分離手段によって除去する方法、任意のプロテアーゼを用いて分解する方法、活性炭や樹脂を用いて不純物を吸着除去する精製方法等が挙げられる。pH調整により蛋白質を凝集させる場合は、大豆蛋白質の等電点であるpH4.5付近、好ましくはpH3.5～5.0にpHを調整し、沈澱した蛋白質を分離除去する。pH調整する際の酸には特に制限はなく、いずれのものも利用出来るが、塩酸、硫酸、リン酸等の無機酸、または酢酸、クエン酸、乳酸等の有機酸が挙げられる。これらの1種、若しくは2種以上を組み合わせることで蛋白質を除去することが好ましい。

[0018] 脱塩精製処理の方法として、塩類が分離除去出来るいずれの方法でも構わない。メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトン等の極性有機溶媒を用いた沈殿法、電気透析処理、イオン交換樹脂あるいは疎水性樹脂、UF膜を用いた膜分画等が例示出来る。これらの1法又は2法以上を組み合わせることで用いることが好ましい。こうして精製された水溶性大豆多糖類溶液をプレート殺菌、或いは蒸気殺菌等の殺菌処理を経た後、凍結乾燥、スプレードライ、加熱乾燥後に粉砕する等の方法により、粉体の水溶性大豆多糖類が得られる。

[0019] (分子量)

上記の方法で得られた水溶性大豆多糖類は、ゲルろ過HPLC (TSKgel-G-5000 P WXL;TOSOH 7.8mm×30cm)で分析すると、分子量50万から1000万の多糖類成分を含んでいた。尚、水溶性大豆多糖類の分子量は、標準物質プルランP-82(昭和電工(株))を用いて測定した値である。この際の分析条件は、移動相:50mM 酢酸ナトリウム水溶液(pH5.0)、流速 1.0mL/min、RI検出器を用いて糖の検出を行なった。総ピーク面積が多糖類の総量に相当するとし、総ピーク面積に対する、分子量50万から1000万の多糖類成分のピーク面積の比率を高分子画分含有率として計算した。得られた水溶性大豆多糖類の高分子画分含有率は、5%以上、好ましくは20%以上、更に

好ましくは30%以上のものにおいて、蛋白質の分散安定性に効果的である。また、水溶性大豆多糖類の高分子画分含有率が95%を超えない場合が、粘度等による使用の制限が少なく好ましい。

[0020] (分散安定剤)

本発明は、水溶液中の蛋白質の粒子の凝集を防止し、分散安定状態を維持することができる、蛋白質の分散安定剤である。その機能はpH4.2～5.2、好ましくはpH4.4～4.8、更に好ましくはpH4.4～4.6の領域で効果的であり、酸性蛋白飲食品、特に酸性蛋白飲料に好適である。pH4.2未満のpH領域での、乳蛋白質の分散であれば、従来の水溶性大豆多糖類で達成出来、pH5.2を超えるpH域であれば、乳蛋白質は溶解を開始し、分散剤を用いる必要が少ない。本発明により製造される水溶性大豆多糖類から成る分散安定剤を用いることで、pH4.2～5.2のpH域で酸性蛋白飲食品を調製することが出来る。

[0021] 本発明の分散安定剤は従来用いられているペクチン等と比較して、酸味が出やすく風味が良好であり、広い用途に使用できる。また、粘度が低い特徴もある。分散安定剤の物性を改良するために、必要に応じて、各種ガム質及び蛋白質及びその分解物を併用して使用することが出来る。これら併用物としては、例えば澱粉、加工デンプン、各種セルロース、寒天、カラギーナン、ファーセラシ、グアーガム、ローカストビーングム、タマリンド種子多糖類、タラガム、アラビアガム、トラガントガム、カラヤガム、ペクチン、キサントガム、プルラン、ジェランガム、などの多糖類の他、ゼラチン等の蛋白質を例示出来る。

[0022] (酸性蛋白飲食品)

本発明における酸性蛋白飲食品とは、動植物由来の蛋白質を含有する酸性飲食品であり、飲食品自体の固体、液体を問わない。動物由来の蛋白質とは、主に牛乳、山羊乳を始めとする獣乳類、具体的には、牛乳、脱脂乳、全脂粉乳、脱脂粉乳、ホエイパウダー、加糖乳、練乳、濃縮乳、カルシウム等のミネラルやビタミン等を強化した加工乳若しくは発酵乳等を指し、植物由来の蛋白質とは、主に大豆から得られる豆乳類、具体的には、豆乳、脱脂豆乳、粉末豆乳、粉末脱脂豆乳、分離大豆蛋白若しくはこれらの発酵物等を指す。

酸性蛋白飲食品の酸性蛋白飲料とは、これら獣乳類、豆乳類等を使用した飲料を発酵し、またはそれに果汁、若しくはクエン酸、乳酸などの有機酸、若しくはリン酸を始めとする無機酸を添加して、そのpH域を酸性とした蛋白飲料である。具体的には、殺菌タイプ若しくは生菌タイプの乳酸菌飲料、ドリンクヨーグルト類、ケフィア等が挙げられる。酸性蛋白飲食品の酸性蛋白食品とは、上記獣乳類、豆乳類等を原料としたもので、アイスクリームなどの乳成分入りの冷菓に有機酸類や果汁等を加えた酸性アイスクリーム、フローズンヨーグルト等の酸性冷菓、プリン、ババロア等のゲル化食品に有機酸類や果汁等を加えた酸性デザート、及びコーヒー飲料、酸性クリーム、ヨーグルト等が挙げられる。

[0023] 本発明により製造される水溶性大豆多糖類は、特に酸性蛋白飲料に於て、その蛋白質の分散安定化に対して機能を発揮する。従来の水溶性大豆多糖類では安定化出来ない、蛋白質の等電点付近のpH域でも蛋白質を分散安定化出来る。その際の蛋白質種は、いずれの蛋白質でも効果は認められるが、乳蛋白質または大豆蛋白質が好ましく、乳蛋白質が酸性飲食品として最も汎用的であり、本発明の分散安定剤の効果が顕著に表われ、最も好ましい。その際の酸性蛋白飲料の粘度は、蛋白質や分散安定剤の濃度によっても異なるが、例えば後述する表1の配合では、本発明の分散安定剤を用いると10mPa・s以下の粘度の酸性蛋白飲料とすることが出来る。また、従来の水溶性大豆多糖類を用いたpH4.2未満の酸性乳飲料では乳酸菌が生存できなかったのに対し、本願発明の安定剤を用いると、乳酸菌が生存できるpH域の飲食品が出来るため、乳酸菌醗酵乳を用いた、未加熱生菌タイプの乳酸菌飲料を作製することが出来る。

[0024] 本発明の蛋白質分散安定剤は、蛋白質濃度が10重量%以下の酸性飲食品において特に効果的であり、酸性飲食品に対して0.05～2.0重量%、より好ましくは0.1～1.5重量%、更に好ましくは0.2～1.0重量%添加することにより、蛋白質の等電点付近のpH域を中心に、蛋白質の良好な分散安定性を示す。例えば乳蛋白質や大豆蛋白質では、pH4.2～5.2程度の蛋白飲食品が調製出来、pH4.4～4.6において特に効果的に凝集を抑制できる。分散安定剤が高濃度では、飲食品の風味に影響を与える場合があり、低濃度では分散安定能が発揮できない場合がある。

実施例

[0025] 以下に実施例を記載するが、この発明の技術思想がこれらの例示によって限定されるものではない。尚例中の%は特に断らない限り重量基準を意味するものとする。

[0026] (製造例1)

水溶性大豆多糖類(ソヤファイブS-DA100:不二製油(株)製)の5%水溶液を調製し、沸騰水浴中で5分間加熱した。多糖類水溶液にトリメタリン酸ナトリウムを最終2%となるように溶解し、水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH12に調整した。この反応液を60℃で1時間攪拌しながら反応させた。不溶物を遠心分離(8,000rpm, 30分)で除去し、上清を多糖類として得た。多糖類溶液を最終60重量%エタノールで沈殿させ、90重量%の含水エタノールで精製し、得られた沈殿を風乾し水溶性大豆多糖類Aを得た。

[0027] (製造例2)

○反応pHの比較(水溶性大豆多糖類分子間の高分子化)

水溶性大豆多糖類Aの製造法において、トリメタリン酸ナトリウムを添加した後のpH調整を8, 9, 10, 11, 13, 14とする以外は、水溶性大豆多糖類Aと同様の手順で水溶性大豆多糖類B, C, D, E, F, Gを得た。

[0028] (製造例3)

○反応温度の比較(水溶性大豆多糖類分子間の高分子化)

水溶性大豆多糖類Aの製造法において、反応温度を40, 50, 70, 80, 90℃とする以外は水溶性大豆多糖類Aと同様の手順で水溶性大豆多糖類H, I, J, K, Lを得た。

[0029] (製造例4)

○他の高分子素材との高分子化1

水溶性大豆多糖類(ソヤファイブS-DA100)の2.5%水溶液を調製し、デキストリン(パインデックス#100:松谷化学(株)製)を2.5%となるように溶解させ、沸騰水浴上で5分間加熱した。多糖類水溶液にトリメタリン酸を最終2%となるように溶解し、水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH12に調整した。この反応液を60℃で1時間攪拌しながら反応させた。不溶物を遠心分離(8,000rpm, 30分)で除去し、上清を多糖類として得た。多糖類溶液を60重量%含水エタノールで沈殿させ、90重量%の含水エタノールで精製し、得られた沈殿を風乾し水溶性多糖類Mを得た。

[0030] (製造例5)

○他の高分子素材との高分子化2

水溶性大豆多糖類(ソヤファイブS-DA100)の2.5%水溶液を調製し、HMペクチン(USP-H:三晶(株)製)を2.5%となるように溶解させ、沸騰水浴上で5分間加熱した。多糖類水溶液にトリメタリン酸を最終2%となるように溶解し、水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH12に調整した。この反応液を60℃で1時間攪拌しながら反応させた。不溶物を遠心分離(8,000rpm, 30分)で除去し、上清を多糖類として得た。多糖類溶液を60重量%含水エタノールで沈殿させ、90重量%の含水エタノールで精製し、得られた沈殿を風乾し水溶性多糖類Nを得た。

[0031] (製造例6)

○脱エステルとの同時反応

乾燥オカラを原料とし、固形分10%となるように加水し、塩酸を用いて抽出前のpHが4.5となるように調整し、120℃, 90分間加熱抽出した。その後遠心分離(8,000rpm, 30分)で沈殿除去し、上清を得た。上清にトリメタリン酸ナトリウムを2%となるよう溶解させ、脱メキシ処理するため、水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH12に調整し、60℃で1時間攪拌した。多糖類溶液を60重量%含水エタノールで沈殿させ、90重量%の含水エタノールで精製し、得られた沈殿を風乾し水溶性大豆多糖類Oを得た。

[0032] (実施例1)分子量測定

○分子量分布測定並びに高分子画分の定量

水溶性大豆多糖類の分子量は、前述したゲルろ過HPLCにより分子量分布を測定した。図1に水溶性大豆多糖類A及び水溶性大豆多糖類(ソヤファイブS-DA100)を示す。この図から架橋により水溶性大豆多糖類が高分子化していることが確認できた。高分子画分の定量については、総ピーク面積が多糖類の総量に相当するとし、総ピーク面積に対する、分子量50万から1000万の多糖類成分のピーク面積の比率を定量した。

[0033] (実施例2)酸性乳飲料の作製と安定性評価

○発酵乳の調製

脱脂粉乳(よつ葉乳業(株)社製)を21重量%含む水溶液を調製し、攪拌しながら95

℃で加熱殺菌した。冷却後、市販のプレーンヨーグルトを接種し、40℃の恒温器中でpHが4.6になるまで発酵させた。発酵したヨーグルトをホモゲナイザー(150kgf)にてカードを砕き、均質化した。

[0034] ○酸性乳飲料の調製

各製造例、比較製造例で作製した水溶性大豆多糖類A～Oの各水溶液、水、グラニュー糖溶液、発酵乳を、表1の配合にて氷水浴中で混合した後、50重量%クエン酸溶液で任意のpHに氷上で調整した。調合した溶液をホモゲナイザー(150kgf)にて均質化した。これをガラス瓶に移して密閉し、80℃の湯浴中で20分加熱殺菌した。

[0035] ○表1:酸性乳飲料配合

2 重量% 水溶性大豆多糖類溶液	20部
水	52部
50重量% グラニュー糖溶液	14部
21重量% 発酵乳溶液	14部

[0036] ○酸性乳飲料の評価

調製した酸性乳飲料を、粘度、沈殿率、上すき、更に総合的な安定性として評価した。

粘度:調製1週間後に、BM型粘度計(ローターNo.1, 60rpm, 1min)にて測定した。

沈殿率:調製1週間後に、コクサン遠心機(2,000rpm, 20min)を使用し、遠沈管に酸性乳飲料20gを分取し遠心分離し、上清を除いた沈殿重量を測定した。沈殿率は以下の式により算出した。

$$\text{沈殿率}(\%) = (\text{沈殿物重量}) / (\text{分取した酸性乳飲料重量}) \times 100$$

沈殿率は、沈殿率0.6%未満を◎、沈殿率0.6%以上1%未満を○、沈殿率1%以上1.5%未満を△、沈殿率1.5%以上を×と表記した。

上すき:加熱殺菌後の凝集の有無及び、溶液上面の上すきの有無について目視により判断した。+は上すきあり、±は上すきなしとした。

総合評価:上記を総括し、それぞれの多糖類毎に、非常に良いを◎、良いを○、やや悪いを△、悪いを×として示した。

[0037] ○表2:酸性乳飲料の安定性(反応pHの比較:水溶性大豆多糖類A～G)

	架橋反応条件		酸性乳飲料評価					高分子画分 含有率(%)
	反応pH	反応温度	酸乳pH	粘度(cp)	沈殿率(%)	上すき	総合評価	
水溶性大豆多糖類B	pH8	60℃	4.2	4.6	1.15 △	+	×	0.9
			4.4	4.5	1.52 △	+		
			4.6	4.8	2.83 ×	+		
水溶性大豆多糖類C	pH9	↑	4.2	4.0	0.84 ○	±	×	1.1
			4.4	4.6	1.04 △	±		
			4.6	4.3	2.43 ×	+		
水溶性大豆多糖類D	pH10	↑	4.2	4.0	0.73 ○	±	○	18.2
			4.4	4.6	0.94 ○	±		
			4.6	4.7	1.03 △	+		
水溶性大豆多糖類E	pH11	↑	4.2	4.0	0.74 ○	±	○	23.5
			4.4	4.1	0.81 ○	±		
			4.6	4.1	0.98 ○	+		
水溶性大豆多糖類A	pH12	↑	4.2	5.5	0.39 ◎	+	◎	38.3
			4.4	5.2	0.30 ◎	±		
			4.6	4.6	0.35 ◎	±		
水溶性大豆多糖類F	pH13	↑	4.2	4.1	0.92 ○	±	◎	44.1
			4.4	4.0	0.71 ○	±		
			4.6	4.4	0.55 ◎	+		
水溶性大豆多糖類G	pH14	↑	4.2	4.3	0.90 ○	±	×	1.3
			4.4	4.5	1.51 ×	±		
			4.6	4.2	1.74 ×	+		
ソヤファイブS-DA100	—	—	4.2	4.5	1.26 △	+	×	0.9
			4.4	4.5	1.77 ×	+		
			4.6	4.6	3.19 ×	+		
HM-ペクチン	—	—	4.2	12.6	0.35 ◎	±	◎	未測定
			4.4	15.0	0.45 ◎	±		
			4.6	18.0	0.30 ◎	±		

[0038] pH8, 9, 14(水溶性大豆多糖類B, C, G)では、得られる多糖類の中に高分子画分の増加は認められず、架橋が行なわれていなかった。これらの多糖類は酸性乳飲料に対する安定性を持たないのに対して、pH10以上pH14未満(A, D～F)では高分子画分の増加が認められ、酸性乳飲料の安定性が改善させる傾向にあった。特にpH12以上pH14未満(A, E)では、飲料上面の上すきも非常に少なく高い安定性を持っていた。また、比較に用いた従来の水溶性大豆多糖類であるソヤファイブS-DA100では、pH4.2～4.6では分散安定できず、HMペクチン(USP-H:三晶(株)製)では分散安定はできるものの、粘度の高い酸性乳飲料となった。

[0039] ○表3:酸性乳飲料の安定性(反応温度の比較:水溶性大豆多糖類A, H～L)

	架橋反応条件		酸性乳飲料評価					高分子画分 含有率(%)
	反応pH	反応温度	酸乳pH	粘度 (cp)	沈殿率 (%)	上すき	総合評価	
水溶性大豆多糖類 H	pH12	40℃	4.2	5.0	0.86	○	±	△
			4.4	4.8	0.82	○	±	
			4.6	3.6	1.06	△	+	
水溶性大豆多糖類 I	↑	50℃	4.2	4.8	0.65	○	±	◎〜○
			4.4	4.3	0.72	○	±	
			4.6	4.2	0.60	○	±	
水溶性大豆多糖類 A	↑	60℃	4.2	5.5	0.39	◎	+	◎
			4.4	5.2	0.30	◎	±	
			4.6	4.6	0.35	◎	±	
水溶性大豆多糖類 J	↑	70℃	4.2	5.5	0.53	◎	+	◎
			4.4	5.2	0.42	◎	±	
			4.6	5.2	0.40	◎	±	
水溶性大豆多糖類 K	↑	80℃	4.2	5.5	0.74	○	±	◎〜○
			4.4	4.0	0.68	○	±	
			4.6	4.0	0.66	○	±	
水溶性大豆多糖類 L	↑	90℃	4.2	4.3	0.85	○	±	△
			4.4	4.8	0.95	○	±	
			4.6	4.6	1.02	△	±	

[0040] 40℃, 90℃ (H, L)では高分子画分の増加が少なく、pH4.6での安定性がやや悪くなったが、50℃以上80℃以下 (A, I〜K)の範囲では高い安定性を示しており、中でも60℃以上70℃以下 (A, J)の範囲では更に安定性が向上した。

[0041] ○表4: 酸性乳飲料の安定性 (水溶性大豆多糖類 M〜O)

	架橋反応条件		酸性乳飲料評価					高分子画分 含有率(%)
	反応pH	反応温度	酸乳pH	粘度 (cp)	沈殿率 (%)	上すき	総合評価	
水溶性多糖類 M	pH12	60℃	4.2	5.0	1.00	△	±	○
			4.4	5.0	0.85	○	±	
			4.6	4.9	0.70	○	±	
水溶性多糖類 N	↑	↑	4.2	5.2	0.90	○	±	○
			4.4	5.5	0.70	○	±	
			4.6	5.0	0.70	○	±	
水溶性大豆多糖類 O	↑	↑	4.2	5.4	1.00	△	±	◎
			4.4	5.4	0.60	◎	±	
			4.6	5.5	0.55	◎	±	

[0042] デキストリン、デンプン、ペクチンそれぞれと架橋処理をした水溶性多糖類は、水溶性多糖類 M, N共に安定性が向上した。また、同時脱エステル処理を行なった水溶性大豆多糖類 Oでは、非常に高い安定性を示した。

[0043] 分子量50万から1000万の高分子画分の含有率と酸乳安定性を比較すると、含有率の高いものほど、酸性乳飲料の安定性が高い傾向にあった。高分子画分含有量が5%を超える、水溶性大豆多糖類 A, D〜F, I〜K, M〜Oは、蛋白質に対する強い安定性が認められ、高分子画分含有率が30%を超える、水溶性大豆多糖類 A, F, J, Oは、非常に強い安定性が認められた。

[0044] (実施例3)

○架橋構造の確認

水溶性大豆多糖類AをPectinex Ultra SP-L(ノボザイム社製)を用いて分解し、質量分析用のサンプルとした。酵素分解した水溶性大豆多糖類をMALDI-TOF-MS分析、MS/MS解析を行った(図2, 3)。

[0045] MALDI-TOF-MS分析によって、リン酸残基とアラビノースが2分子結合した365の質量のピークが確認された(図2)。結合の順序を確認するために、更にMS/MS解析を行った。グリコシド結合は比較的結合力が弱く、MS/MS解析で結合が外れるにも関わらず、アラビノース由来のピークが認められなかったことから(図3)、アラビノース2分子がグリコシド結合した端にリン酸残基がついている構造は存在せず、リン酸残基が中央にあって両端にアラビノースが結合している構造のみが存在していると考えられた。よって質量365のピークはリン酸残基が中央にあって両端にアラビノースが結合していると考えられ、水溶性大豆多糖類Aはリン酸残基を介して糖鎖が架橋しているリン酸ジエステル構造を取っていると推測された。

[0046] (実施例4)酸性デザート調製の調製。

砂糖5部とカラギーナン0.5部、ローカストビーンガム0.1部を温湯30部に溶かした(A液)。製造例1にて調製した水溶性大豆多糖類Aの5部を温湯95部に加え80℃,10分間攪拌溶解し、更に20℃まで冷却した(B液)。乳酸菌飲料(無脂乳固形分3.6%, pH4.5)40部、A液35.6部及びB液10部を混合し、これをヨーグルトフレーバー0.1部を加え、更に水を添加し全量を100部とし、75℃まで加熱した後にホモゲナイザー(150kgf)にて均質化した。均質化された調製液をカップ容器に充填後、冷水に浸してゼリー化させ、冷蔵庫中1週間保存した。得られたゼリーは、作業中も保存後も含め、蛋白凝集や離水現象のない、爽やかな酸味を持つゼリーであった。

[0047] (実施例5)発酵豆乳飲料の調製。

脱脂大豆より抽出した脱脂豆乳について、この11重量%溶液を殺菌後、スターターを加えpH4.5になるまで発酵した。この豆乳発酵液40部について、上記A液35.6部及びB液10部を混合し、更に水を添加し全量を100部とし、75℃まで加熱した後ホモゲナイザー(150kgf)にて均質化し、発酵豆乳飲料を調製した。得られた飲料は、作業

中も保存後も含め、蛋白凝集のない爽やかな酸味を持つ飲料であった。

図面の簡単な説明

[0048] [図1]水溶性大豆多糖類A及び水溶性大豆多糖類(ソヤファイブS-DA100)の、HPLCゲル濾過のクロマトグラムである。

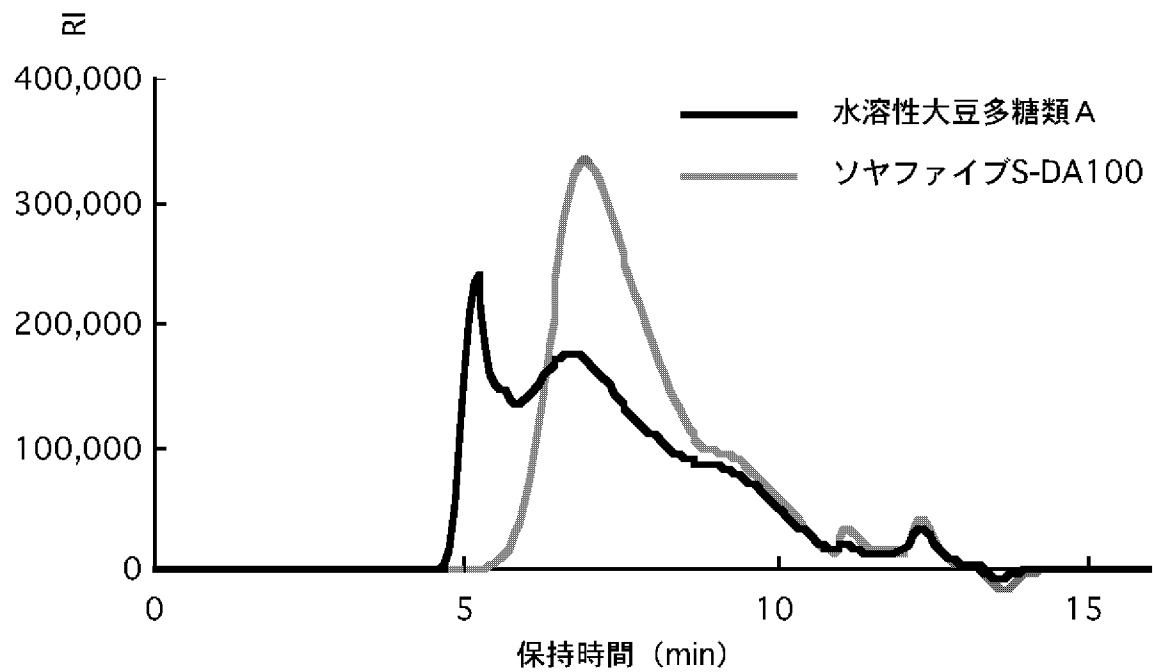
[図2]酵素分解した水溶性大豆多糖類を、MALDI-TOF-MSで分析した図である。

[図3]図2の試料に対し、更にMS/MS解析を行った図である。

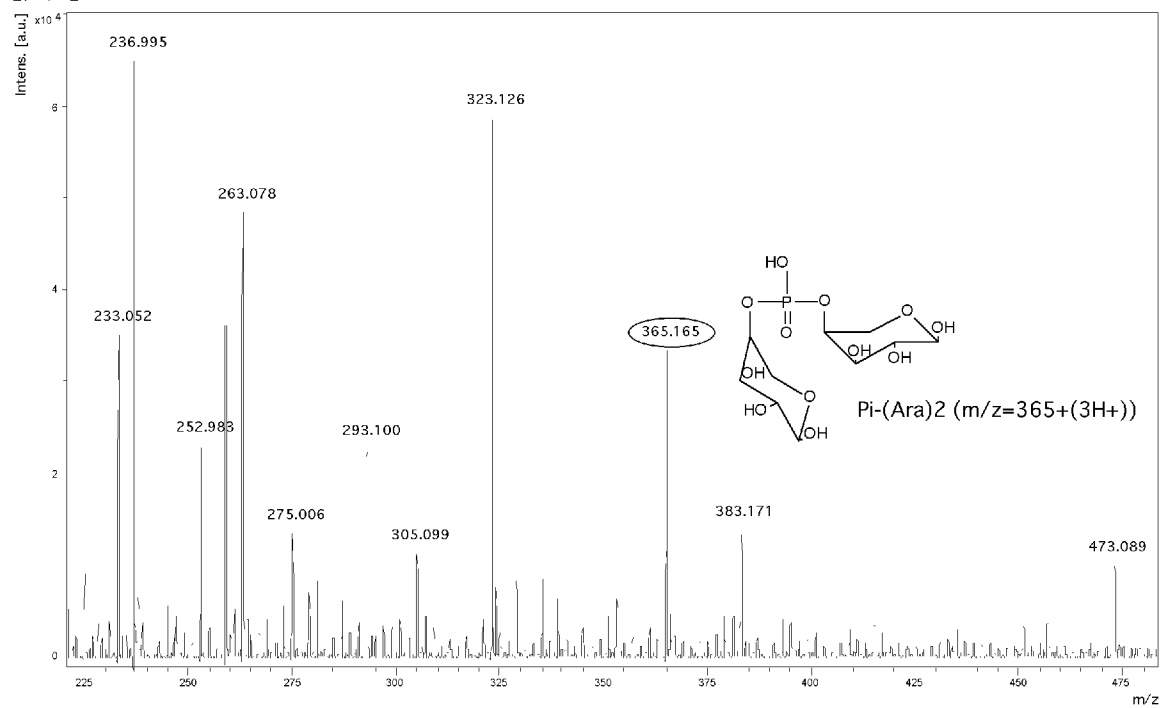
請求の範囲

- [1] 水溶性大豆多糖類に架橋処理を行なうことを特徴とする、水溶性多糖類の製造法。
- [2] 架橋処理に、リン酸化合物を架橋剤として用いる、請求項1に記載の水溶性多糖類の製造法。
- [3] 架橋処理が、水溶性大豆多糖類水溶液に、リン酸化合物を添加し、アルカリ条件で加熱処理することである、請求項2に記載の水溶性多糖類の製造法。
- [4] 架橋化水溶性大豆多糖類を有効成分とする、蛋白質の分散安定剤。
- [5] 請求項4に記載の分散安定剤を含むことを特徴とする、酸性蛋白飲食品。
- [6] リン酸ジエステル結合を分子内に含む、架橋化水溶性大豆多糖類。

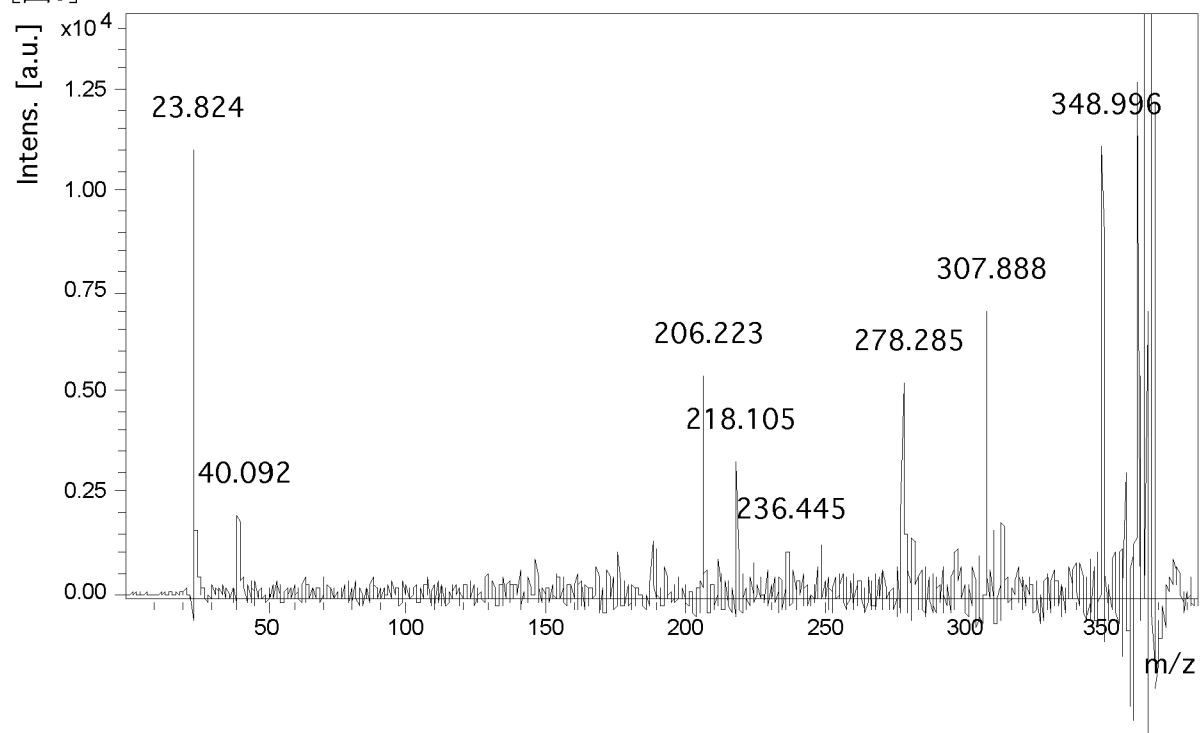
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/059773

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08B37/00(2006.01) i, A23C9/13(2006.01) i, A23C9/152(2006.01) i, A23L2/38(2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08B37/00, A23C9/13, A23C9/152, A23L2/38

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

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2008

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2008 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2008

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

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 5-230101 A (Fuji Oil Co., Ltd.), 07 September, 1993 (07.09.93), (Family: none)	1-6
A	JP 61-40302 A (Nippon Starch Chemical Co., Ltd.), 26 February, 1986 (26.02.86), (Family: none)	1-6
A	JP 2000-279104 A (San-Ei Gen F.F.I., Inc.), 10 October, 2000 (10.10.00), & WO 2000/024273 A1 & EP 1210880 A1 & US 7229658 B1	1-6
A	JP 6-256402 A (Japan Tobacco Inc.), 13 September, 1994 (13.09.94), (Family: none)	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

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

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

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
23 June, 2008 (23.06.08)Date of mailing of the international search report
15 July, 2008 (15.07.08)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/059773

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 11-240902 A (Fuji Oil Co., Ltd.), 07 September, 1999 (07.09.99), (Family: none)	1-6

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C08B37/00(2006.01)i, A23C9/13(2006.01)i, A23C9/152(2006.01)i, A23L2/38(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C08B37/00, A23C9/13, A23C9/152, A23L2/38

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 8 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 8 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 8 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAplus(STN), REGISTRY(STN), JSTPlus(JDreamII), JMEDPlus(JDreamII), JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 5-230101 A（不二製油株式会社）1993.09.07,（ファミリーなし）	1-6
A	JP 61-40302 A（日澱化学株式会社）1986.02.26,（ファミリーなし）	1-6
A	JP 2000-279104 A（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）2000.10.10, & WO 2000/024273 A1 & EP 1210880 A1 & US 7229658 B1	1-6
A	JP 6-256402 A（日本たばこ産業株式会社）1994.09.13,（ファミリーなし）	1-6

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 3 . 0 6 . 2 0 0 8

国際調査報告の発送日

1 5 . 0 7 . 2 0 0 8

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

福井 悟

4 P

9 1 6 0

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 9 1

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 11-240902 A (不二製油株式会社) 1999.09.07, (ファミリーなし)	1-6