

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-524406

(P2005-524406A)

(43) 公表日 平成17年8月18日(2005.8.18)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

A23J 3/16

F1

A23J 3/16

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁)

(21) 出願番号	特願2004-502731 (P2004-502731)	(71) 出願人	504412875 ソラエ・エルエルシー SOLAE, LLC アメリカ合衆国、ミズーリ州、セント・ルイス、ダンフォース・ドライブ 1034 1034 Danforth Drive , St. Louis, MO 631 02, United States o f America
(86) (22) 出願日	平成15年5月7日(2003.5.7)	(74) 代理人	100057874 弁理士 曾我 道照
(85) 翻訳文提出日	平成17年1月7日(2005.1.7)	(74) 代理人	100110423 弁理士 曾我 道治
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/014323	(74) 代理人	100084010 弁理士 古川 秀利
(87) 国際公開番号	W02003/094627		
(87) 国際公開日	平成15年11月20日(2003.11.20)		
(31) 優先権主張番号	60/378, 618		
(32) 優先日	平成14年5月7日(2002.5.7)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質製品およびそれを生産する方法

## (57) 【要約】

超低イソフラボン含有量および高サポニン含有量を有する大豆タンパク質物質は、大豆粉またはフレークから繊維を除去することにより得られる大豆タンパク質物質から吸着によりイソフラボンを除去することを包含するプロセスにより生産される。大豆タンパク質物質はまた、高窒素溶解性指数(「NSI」)を有する。低イソフラボン、高大豆サポニン大豆タンパク質物質は、少なくとも約55.0重量%のタンパク質、約200μg/g(総乾燥物)未満のイソフラボン、および少なくとも約1000μg/g(総乾燥物)のソヤサポゲノールを有する。低イソフラボン、高サポニン大豆タンパク質物質を生産するプロセスは、脱脂大豆物質から繊維を除去すること、および液体(これは、次に低温殺菌される)を得ることを包含する。次に、糖および他の低分子量成分が、膜分離を用いて液体から任意に除去されて、最終物質のタンパク質含有量を増加させる。得られた液体または濃縮液は、イソフラボンの吸着除去に付され、任意に低温殺菌され、噴霧乾燥される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

総乾燥物の少なくとも約 55.0 重量%のタンパク質含有量、  
約 200  $\mu\text{g}/\text{g}$  (総乾燥物)未満のイソフラボン含有量、および  
少なくとも約 1000  $\mu\text{g}/\text{g}$  (総乾燥物)のソヤサポゲノール含有量を特徴とする大豆タンパク質物質。

## 【請求項 2】

少なくとも約 70%の窒素溶解性指数(「NSI」)を特徴とする、請求項 1 に記載の大豆タンパク質物質。

## 【請求項 3】

前記イソフラボン含有量は、約 150  $\mu\text{g}/\text{g}$  (総乾燥物)未満であることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の大豆タンパク質物質。

## 【請求項 4】

前記タンパク質含有量は、総乾燥物の少なくとも約 65.0 重量%であることを特徴とする、請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載の大豆タンパク質物質。

## 【請求項 5】

前記タンパク質含有量は、総乾燥物の少なくとも約 90.0 重量%であることを特徴とする、請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載の大豆タンパク質物質。

## 【請求項 6】

総乾燥物の約 3.0 重量%未満の粗繊維含有量、  
少なくとも約 100  $\text{mg}/\text{g}$  のキモトリプシン阻害剤(「CI」)含有量、  
約 10.0  $\text{ml}$  未満の沈降物の溶解性指数、および  
前記大豆タンパク質物質の約 12.0 重量%の溶液が約 22 の温度で水中に再構成される場合の約 500 センチポアズ(cp)未満の粘度  
の少なくとも 1 つを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の大豆タンパク質物質。

## 【請求項 7】

(a) 実質的に脱脂された大豆物質を供給する工程、  
(b) 前記物質を水と混合する工程、および前記物質からタンパク質を抽出する工程、  
(c) 不溶分を除去し、液体を生産する工程、  
(d) 前記液体を加熱処理する工程、および  
(e) 前記液体を吸着プロセスに付し、イソフラボンが吸着により除去される工程  
を特徴とする、大豆タンパク質製品を生産する方法。

## 【請求項 8】

前記吸着工程(e)の後に、(f)前記液体を乾燥させ、固体形態の大豆タンパク質物質を供給する、さらなる工程を特徴とする、請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記加熱処理工程(d)の後に、前記液体を限外濾過に付して、濃縮液を得る、さらなる工程を特徴とする、請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記限外濾過工程は、  
前記限外濾過工程が、約 25 ~ 約 65 の温度で実施されること、および、  
約 5,000 ~ 約 60,000 の分子量カットオフを有する限外濾過膜を用いて実施されること  
の少なくとも 1 つを特徴とする、請求項 9 に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記混合する工程(b)は、  
スラリーの pH を約 6.8 ~ 約 10.0 に調製すること、および  
約 5.0 重量% ~ 約 15.0 重量%(固形分)のレベルで前記物質を水と混合すること  
の少なくとも 1 つを特徴とする、請求項 7 ないし 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 2】

前記大豆タンパク質物質が、  
 総乾燥物の少なくとも約 55.0 重量%のタンパク質含有量、  
 約 200  $\mu\text{g}/\text{g}$  (総乾燥物)未満のイソフラボン含有量、および  
 少なくとも約 1000  $\mu\text{g}/\text{g}$  (総乾燥物)のソヤサポゲノール含有量であることを特徴とする、請求項 8 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## [発明の分野]

本発明は、低イソフラボン高サポニン植物質、およびそれを生産する方法に関する。

10

## 【0002】

## [関連出願の相互参照]

本出願は、米国特許法 35 USC 119 (e) の下、2002 年 5 月 7 日に出願された高溶解性イソフラボン除去大豆タンパク質物質を生産する方法およびその製品 (PROCESS FOR PRODUCING HIGH SOLUBILITY, ISOFLAVONES-DEPLETED SOY PROTEIN MATERIAL AND THE PRODUCT THEREOF) という表題の米国仮特許出願第 60/378,618 号の有益性を主張する。

## 【背景技術】

## 【0003】

## [発明の背景]

## 関連技術の説明

大豆タンパク質の有益性は十分文書で立証されている。コレステロールは、工業世界全体にわたって消費者に関する主要な関心である。植物製品はコレステロールを含有しないことがよく知られている。数十年の間に、栄養研究により、食物中に大豆タンパク質が含まれることにより、危険性のある人々において実際に血清コレステロールレベルを低減させることが示されてきた。コレステロールが高いほど、大豆タンパク質はそのレベルを低減させるのにより効果的である。

20

## 【0004】

大豆は、穀類および豆類すべてのうちで最も高いタンパク質含有量を有する。特に、大豆は、約 40.0 重量%のタンパク質を有するのに対して、他の豆類は 20.0 ~ 30.0 重量%のタンパク質を有し、穀類は約 8.0 ~ 15.0 重量%のタンパク質を有する。大豆はまた、主として炭水化物の残存乾燥物 (35.0 重量%) とともに約 20 重量%の油を含有する。湿量基準 (そのままの状態) で、大豆は、約 35 重量%のタンパク質、約 17.0 重量%の油、約 31.0 重量%の炭水化物、および約 4.4 重量%の灰分を含有する。

30

## 【0005】

大豆において、タンパク質および脂質の両方が、大豆の使用可能な果肉 (いわゆる子葉) 中に含有される。複雑な炭水化物 (または食物繊維) もまた、子葉の細胞壁に含有される。細胞の外層 (いわゆる種皮) は、大豆総重量の約 8.0 重量%を構成する。生のさやをむいた大豆は、種類によるが、およそ 18.0 重量%の油、15.0 重量%の可溶性炭水化物、15.0 重量%の不溶性炭水化物、14.0 重量%の水分および灰分、ならびに 38.0 重量%のタンパク質である。

40

## 【0006】

加工処理では、大豆は、色および大きさに関して慎重に選択される。次に、大豆を清浄化して、調整して (外皮の除去をより容易にするため)、砕いて、皮をむいて、ロールでつぶしてフレークにする。油を除去する溶媒浴にフレークをさらす。溶媒を除去して、フレークを乾燥させ、大豆タンパク質製品すべての基盤となる脱脂大豆フレークを創出する。市場で製品が多数あるにも関わらず、たった 3 つのタイプの脱脂大豆タンパク質製品 (粉、濃縮物および単離物) が存在するに過ぎない。

50

## 【0007】

大豆粉は、およそ50.0重量%のタンパク質含有量を有する最も単純な形態の大豆タンパク質である。脱脂フレークを単にすり碎いて、ふるいにかけることにより、大豆粉が生産される。この単純な加工処理により大豆の特徴の多くが大豆粉に残ったままである。加工処理の不足がまた、大豆粉を品質に関して非常に様々なものになっている。

## 【0008】

大豆粉およびグリットは、依然として広範に生産され、焼き菓子、スナック食品およびペットフードの用途では最も頻繁に使用されており、この用途では高風味特性は問題を課さない。型押し(textured)大豆粉は、肉製品の外見を模倣または増強する際の初期の試みである。型押しすることにより大豆粉の組成は変化せず、ほんのわずかに風味特性を減少させる。その主要な用途は、安価な肉製品またはペットフードである。

10

## 【0009】

大豆濃縮物は、乾燥した重量に基づいて少なくとも65.0重量%のタンパク質を有する。大豆タンパク質濃縮物は、脱脂大豆果肉から可溶性炭水化物物質を除去することにより作製される。アルコール水溶液抽出(60~80%エタノール)または酸浸出(等電点沈殿)が炭水化物除去に関して最も一般的な手段である。しかしながら、アルコール水溶液抽出および酸浸出の両方において、本質的にすべてのタンパク質が不溶性となる。タンパク質の溶解性は、中和により酸浸出生成物において部分的に回復される場合もある。また、アルコール水溶液抽出では、イソフラボンおよびサポニンがアルコール相に抽出され、続いて廃棄されてしまう。したがって、アルコール水溶液抽出を用いて生産される大豆タンパク質濃縮物は、せいぜいほんの少量のイソフラボンおよびサポニンを有するに過ぎない。加工食品、肉、家禽、魚、穀類および乳製品系において大豆濃縮物および型押し濃縮物に関して無数の用途が開発されている。

20

## 【0010】

単離物は、標準的な化学的単離により生産され、可溶化(pH7~10でのアルカリ抽出)および単離、続く等電点沈殿により脱脂フレークからタンパク質を抜き出す。結果として、単離物は、乾燥した重量に基づいて少なくとも90.0重量%のタンパク質である。単離物は、ときどきナトリウムおよびミネラル(灰分含有量)が高く、これはそれらの用途を制限し得る特性である。その主要な用途は、乳幼児用製品および代用乳などに見られるような乳製品代用品である。

30

## 【0011】

イソフラボンは、大豆のような植物性タンパク質物質を含む各種マメ植物および脂肪種子に見られる。これらの化合物として概して、ダイジン、6"-O-アセチルダイジン、6"-O-マロニルダイジン、ダイゼイン、ゲニスチン、6"-O-アセチルゲニスチン、6"-O-マロニルゲニスチン、ゲニスチン、グリシチン、6"-O-マロニルグリシリン、グリシチン、ピオカニンA、およびフォルモノネチンが挙げられる。

## 【0012】

近年、大豆のような植物性タンパク質に含有されるイソフラボンが、乳癌細胞、前立腺癌細胞および結腸癌細胞のようなヒト癌細胞の成長を阻害し得ると提唱されている。さらに、イソフラボンはまた、例えばリポタンパク質および低密度コレステロールを含むアテローム性動脈硬化症のレベルを低減させることにより、および内皮依存性血管拡張応答を増加させることにより、心血管の危険因子を減少させるとも提唱されている。イソフラボンはまた、骨粗しょう症を防止する際および更年期症候群を治療する際にかんがりの展望を示している。

40

## 【0013】

イソフラボン化合物は、大豆のような植物性タンパク質物質における固有の苦味のある風味と関連している。タンパク質単離物およびタンパク質濃縮物のようなかかるタンパク質物質の商業生産では、イソフラボン化合物を除去することに焦点が当てられている。例えば、大豆タンパク質単離物の生産に関する慣例のプロセスでは、タンパク質を可溶化させるためにタンパク質の等電点以上のpHを有する水性媒質で大豆フレークを抽出する。

50

タンパク質を含有する抽出物は、不溶性繊維物質から分離されて、タンパク質抽出物を供給する。たいていのイソフラボンは、抽出物ならびにタンパク質に可溶化される。酸浸出、すなわち酸を用いて抽出物のpHをタンパク質のほぼ等電点に、大豆に関しては通常4.2~4.6に調節することにより、タンパク質を沈殿させる。続いて、沈殿したタンパク質を抽出物から分離する。ほとんどのイソフラボンは、抽出物からの沈殿したタンパク質(カード)の分離後に抽出物に可溶化されたままであるが、イソフラボンの幾らかは通常沈殿したカードに存在する。抽出物から沈殿したタンパク質カードを分離した後、抽出物およびそこに可溶化されたイソフラボンは通常廃棄される。分離されたタンパク質中に残された任意の残存イソフラボンは、タンパク質の徹底した洗浄により除去されて、確実にイソフラボンに関連した風味がタンパク質に存在しないようにする。また、先述の洗浄プロセスは、サポニンならびにイソフラボンを除去する傾向にある。

10

#### 【0014】

問題としては、等電点沈殿がタンパク質の溶解性を減少させる。したがって、先述のプロセスを用いて作製される大豆濃縮物および単離物は通常、典型的に約70%未満であるそれらの低窒素溶解性指数(「NSI」)により示されるように低溶解性を有する。

#### 【0015】

大豆は、約0.5重量%のサポニンを含有する。大豆サポニンは、20世紀初期以来研究の対象になっている。これらの化合物は、様々な糖およびアセチル部分を有するトリテルペノイド骨格から構成される。現在のコンセンサスは、ソヤサポゲノールA、BおよびEが真のアグリコンである一方で、ソヤサポゲノールCおよびDは、それらの単離のプロセス中に見られる加水分解の加工品であることである。相当するグリコシドは、それぞれいわゆる「A群サポニン」、「B群サポニン」、および「E群サポニン」である。

20

#### 【0016】

大豆サポニンは、癌予防用の有望な作用因子となる抗変異原性特性を示すことが提唱されている。さらに、B群大豆サポニンは、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)の*in vitro*での複製に対して顕著な抑制効果を示すと提唱されている。大豆サポニンの化学構造は、既知の抗ウイルス剤である化合物グリチルリジンの構造と非常に類似しており、したがって大豆サポニンは、抗ウイルス医薬化合物の合成用の構成単位として展望を示している。

#### 【発明の開示】

30

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0017】

非常に大量の大豆の栽培および加工処理にも関わらず、目下大豆サポニンは、それらの単離および精製の困難性に起因して重要な商品ではない。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0018】

##### [発明の概要]

本発明は、低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質製品、および低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質製品を生産する方法を提供する。大豆タンパク質製品は、高窒素溶解性指数(「NSI」)、および従来利用可能な大豆タンパク質物質よりも低いイソフラボン含有量を有する。また、本発明の大豆タンパク質物質は、高サポニン含有量を有する。

40

#### 【0019】

少なくとも約55.0重量%のタンパク質、約200 $\mu$ g/g未満のイソフラボン、および少なくとも約1000 $\mu$ g/gのソヤサポゲノール(サポニン)を含有する低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質物質が提供される。あるいは、大豆タンパク質物質のタンパク質含有量は、大豆タンパク質濃縮物を供給するには少なくとも約65.0重量%であってもよく、大豆タンパク質単離物を供給するには少なくとも約90.0重量%であってもよい。

#### 【0020】

50

少なくとも45.0重量%のタンパク質(N×6.25)、約30.0~40.0重量%の炭水化物、約5.0~10.0重量%の水分、約1.0重量%未満の脂肪、および少なくとも70%の窒素溶解性指数(NSI)を有する脱脂大豆物質を供給する工程を含む、低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質物質を生産する方法が提供される。大豆物質を、約5.0~15.0重量%の固形分レベルで水を用いてスラリーとし、スラリーのpHを約7.0~約7.5に調整する。pH調整したスラリーを遠心分離プロセスに付して、液体を形成し、続いて低温殺菌する。膜限外濾過または別の分離法を用いて、糖および他の小分子量成分を任意に液体から除去して、大豆タンパク質製品のタンパク質含有量を増加させてもよい。膜限外濾過プロセスから得られた濃縮液を吸着プロセスに付して、吸着プロセスでイソフラボンが吸着により除去される。得られたイソフラボン除去大豆タンパク質物質を低温殺菌し、続いて任意に噴霧乾燥させる。

10

**【0021】**

あるいは、液体を限外濾過に付す介在工程なしで、遠心分離プロセスから回収される液体を吸着プロセスに付して、イソフラボンを除去する。得られたイソフラボン除去大豆タンパク質物質を低温殺菌し、続いて任意に噴霧乾燥させる。

**【0022】**

本発明の方法は、農家により慣例に育てられ、大豆プロセッサで使用される大豆から減少イソフラボン特性を有する大豆タンパク質物質を生産する新規で経済的に効率のよい方法を提供する。低イソフラボン大豆タンパク質物質は、高サポニン含有量を有し、高窒素溶解性指数を特徴とするように高い溶解性タンパク質を含有する。

20

**【0023】**

本発明の一形態において、本発明は、総乾燥物の少なくとも約55.0重量%のタンパク質含有量、約200μg/g(総乾燥物)未満のイソフラボン含有量、および少なくとも約1000μg/g(総乾燥物)のソヤサポゲノール含有量を含む大豆タンパク質物質を提供する。

**【0024】**

本発明の別の形態において、本発明は、(a)実質的に脱脂された大豆物質を供給する工程、(b)物質を水と混合する工程、および物質からタンパク質を抽出する工程、(c)不溶分を除去し、液体を生産する工程、(d)液体を加熱処理する工程、および(e)液体を吸着プロセスに付し、イソフラボンが吸着により除去される工程

30

を含む、大豆タンパク質製品を生産する方法を提供する。

**【発明を実施するための最良の形態】****【0025】****[ 詳細な説明 ]**

総乾燥物の少なくとも55.0重量%のタンパク質、200μg/g未満のイソフラボン、少なくとも約1000μg/gソヤサポゲノール(サポニン)、約3.0重量%未満の粗繊維を有する低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質物質が提供される。当該製品はまた、少なくとも70%、好ましくは約75%以上の窒素溶解性指数(「NSI」)を有する。

**【0026】**

実質的に脱脂された大豆物質を供給する工程、上記物質からタンパク質を抽出する工程、上記物質から繊維を除去する工程、イソフラボンおよびサポニンを保持しながら限外濾過により炭水化物およびミネラルの量を任意に低減させる工程、濃縮液または繊維除去した懸濁液を吸着プロセスに付し、イソフラボンを除去する工程、およびイソフラボン除去懸濁液を低温殺菌する工程を含む、低イソフラボン高サポニン大豆タンパク質物質を製造する方法が提供される。

40

**【0027】**

概して、本発明の方法は、1)完全大豆の皮をむくこと、2)皮をむいた大豆をフレーク状にすること、3)ヘキサンのような溶媒を用いてフレーク状にした大豆から大豆油を抽出すること、4)高加熱またはあぶり(toasting)なしで脱脂大豆フレークを脱溶媒する

50

ことであって、それにより「白色」フレークを生産すること、5)大豆フレークから繊維を除去すること、6)任意に液体(繊維除去スラリー)を限外濾過し、イソフラボンおよびサポニンを保持しながら炭水化物およびミネラルを除去すること、7)懸濁液を、吸着によりイソフラボンを除去する吸着剤と接触させること、8)イソフラボン除去懸濁液を低温殺菌すること、および9)任意に低温殺菌したイソフラボン除去懸濁液を乾燥させることを包含する。

【0028】

上述の工程1~工程4は、一般的に大豆に関する抽出プロセスと呼ばれる。上述の工程1~工程4に関する一般的な手順は、本発明の譲受人に譲渡された米国特許第5,097,017号(Konwinski)(この開示は、参照して本明細書に明白に援用される)に記載されるように十分認識されている。

10

【0029】

上述の第1項は、皮をむくことである。皮をむくことは、大豆の外皮を完全大豆から除去するプロセスである。皮をむく前に大豆を慎重に清浄化して、異物を除去し、その結果生成物は、着色体により汚染されない。大豆はまた一般に、皮をむく前に約6片~8片に碎かれる。

【0030】

外皮は通常、完全大豆重量の約8.0重量%を占める。皮をむいた大豆は、約10.0重量%の水、40.0重量%のタンパク質、20.0重量%の脂肪であり、残部は主として炭水化物、繊維およびミネラルである。

20

【0031】

上述の第2の工程は、フレーク状にするプロセスである。フレーク状にする前に、大豆片を十分柔軟にさせるように水分および温度を調節することにより大豆を調整する。調整した大豆片をフレーキングロールに通して、約0.01~0.012インチ(in.)厚のフレークを形成させる。

【0032】

上述の第3の工程は、フレークからの大豆油除去である。大豆フレークは、それらをヘキサンのような溶媒と接触させることにより脱脂させて、大豆油を除去する。大豆油は、マーガリン、ショートニングおよび他の食製品のような多くの用途で使用され、レシチンの優れた供給であり、レシチンは乳化剤として多くの有用な用途を有する。

30

【0033】

上述の第4の工程では、あぶりなしでヘキサン脱脂した大豆フレークを脱溶媒して、溶媒を除去し、白色フレークを生産する。白色フレークを粉にして、大豆粉を作製してもよい。本発明の出発物質として使用することができる大豆粉は容易に商業的に入手可能である。市販の大豆粉は通常、少なくとも50.0重量%(52.5重量%)のタンパク質(NX6.25)、約30.0~40.0重量%(34.6重量%)の炭水化物、約5.0~10.0重量%(6.0重量%)の水分、約5.0~10.0重量%(6.0重量%)の灰分、約2.0~3.0重量%(2.5重量%)の粗繊維、および約1.0重量%未満(0.9重量%)の脂肪を有する(エーテル抽出で決定される場合)。

【0034】

大豆粉は、90%のタンパク質分散性指数(「PDI」)を有する。PDIは、American Oil Chemist's Society(AOCS)法Ba 10-65により決定される。90%PDIは、加熱処理なしの大豆粉であり、酵素活性を有する。大豆粉は80メッシュであり、これは大豆粉の95重量%以上が80番メッシュUSA標準ふるいを通過することを意味する。本発明の一実施形態によれば、大豆粉または大豆フレークであり得る出発物質は、上記工程1~4に記載するような分離プロセスに従って生産される。次に、大豆タンパク質物質は、以下に記載する工程に従って生産される。90%を上回るタンパク質分散性指数(「PDI」)を有する大豆粉または大豆フレークは、数社で市販されている。

40

【0035】

次の工程は、物質からタンパク質を抽出すること、および繊維を除去することを包含す

50

る。これは、水を用いて出発物質をスラリーとし、スラリーを遠心分離のような分離または清澄化プロセスに付して、それにより物質から水溶性タンパク質を抽出することにより達成される。物質をスラリーとするのに使用される水は、約 27 ~ 約 70 の温度に予熱してもよく、スラリーは、約 5.0 重量% ~ 約 15.0 重量%の固形分含有量を有し得る。攪拌または混合が、出発物質をスラリーとするのに通常使用される。混合を実施する一手段は、プロペラ型攪拌装置である。

**【0036】**

繊維を除去する一手段は、水酸化ナトリウムのようなアルカリを用いてスラリーの pH を約 6.8 ~ 約 10.0 に調整し、続いてスラリーを分離させて、ケーキおよび液体を形成することである。分離は、多数の物理的な分離手段により実施することができるが、遠心分離が最も効率的かつ有効な手段である。スクロール型遠心分離機を用いて分離を実施してもよく、あるいは円板型または管状遠心分離機を用いて分離を行ってもよい。水酸化ナトリウムが本明細書中の実施例で使用されるが、水酸化カリウムおよび水酸化カルシウムのような他のアルカリ性試薬を用いてもよい。

10

**【0037】**

次に、繊維除去した物質を、例えば約 80 以上、好ましくは約 93 以上の温度での低温殺菌により加熱処理してもよい。低温殺菌は、例えば、ジェットクーキング(jet cooking)により、あるいは蒸気ジャケット付ケトル中で保持することにより実施することができる。あるいは、この加熱処理工程は、先述の繊維除去工程の前に行ってもよい。加熱処理後に、物質の pH は任意に適切な酸を用いて調整して、物質の pH を約 6.5 ~ 約 7.5 に低減させてもよい。通常、この pH の低減は、初期の水抽出が上記範囲の約 6.8 ~ 約 10.0 の上端付近の pH で実施される場合に行われる。加熱処理後に物質の pH を約 6.5 ~ 約 7.5 に調節することにより、10.0 重量%の懸濁液で水中に再構成されると、約 6.5 ~ 約 8.0 の pH を有する大豆タンパク質物質が供給されることを見出した。

20

**【0038】**

次に、物質を以下に記載するように吸着プロセスに付して、物質からイソフラボンを除去してもよい。あるいは、吸着プロセスに付す前に、まず物質を以下に記載する限外濾過プロセスに付して、小分子量成分を除去して、物質中のタンパク質を濃縮してもよい。

**【0039】**

特に、繊維除去した物質(液体)は任意に、5,000 ~ 60,000 分子量カットオフ(「MWCO」)膜、好ましくは 5,000 ~ 30,000 MWCO 膜を用いて限外濾過して、タンパク質を濃縮してもよい。限外濾過膜は、濃縮液中にイソフラボンおよびサポニンを保持しながら透過液中に炭水化物およびミネラルを透過させることにより、濃縮液中の液体のタンパク質含有量を濃縮する。イソフラボンおよびサポニンは、通常 1500 未満の分子量を有する低分子量成分である。しかしながら、驚くべきことに、イソフラボンおよびサポニンの大部分、限外濾過膜により濃縮液中に保持されることが見出された。イソフラボンおよびサポニンは、タンパク質と複合体形成している可能性があり、その結果イソフラボンおよびサポニンは濃縮液中に保持され、炭水化物およびミネラルと一緒に透過しないと現時点で考えられる。

30

40

**【0040】**

通常、限外濾過は、約 25 ~ 約 60、好ましくは約 25 ~ 約 50 の温度で行われる。イソフラボンおよびサポニンは低温では水により溶解性が下がり、より高い程度でタンパク質と複合体形成し、逆に高温では水により溶解性が上がり、より低い程度でタンパク質と複合体形成すると考えられる。したがって、上記温度範囲の約 25 ~ 約 60 度の下端付近で限外濾過を実施する場合、より大量のイソフラボンおよびサポニンが濃縮液中に保持され、上記温度範囲の約 25 ~ 約 60 度の上端付近で限外濾過を実施する場合、より少量のイソフラボンおよびサポニンが濃縮液中に保持される。

**【0041】**

種々の分子量カットオフを有する適切な膜は、Wilmington, MAにある Koch Membrane Sy

50

stems、Minnetonka, MNにあるOsmonics、Oxnard, CAにあるPTI Advanced Filtration、およびVacaville, CAにあるSynder Filtrationのような幾つかの供給メーカーから容易に商業的に入手可能である。

【0042】

また、濃縮液のタンパク質含有量は、限外濾過により製品から除去される透過液の量に基づいて制御され得る。すなわち、除去される透過液が多いほど、タンパク質含有量は高く、除去される透過液が少ないほど、タンパク質含有量は低い。例えば、少なくとも90重量%のタンパク質含有量を有する濃縮液を達成するために、本発明の方法ではダイアフィльтраーション(diafiltration)が実施される。ダイアフィльтраーションは、濃縮液に水を添加して、透過液中の膜透過種の除去を継続させるプロセスを指す。ダイアフィльтраーションは、本発明の2つの形態(不連続または連続ダイアフィльтраーション)のいずれかで行うことができる。不連続ダイアフィльтраーションは、透過可能な溶質が容積減少により濃縮液から透過液中に除去され、続いて繰り返しの工程で再希釈および再限外濾過を行う操作である。連続ダイアフィльтраーションは、透過液が膜により除去されるのと同じ速度で水を供給タンクに添加することを包含する。

10

【0043】

次の工程では、遠心分離した液体または膜濃縮液を、吸着によりイソフラボンを除去する吸着性物質と接触させる。適切な吸着剤としては、イオン性または非イオン性合成吸着性樹脂が挙げられる。本明細書中の実施例で使用される例示的な吸着剤は、SP825、SP850およびSP207であり、これらは、商品名Dianion(登録商標)およびSepabeads(登録商標)の名でWhite Plains, NYにあるMitsubishi Chemical Americaから入手可能な合成吸着性樹脂である。本明細書中の実施例で使用される別の吸着剤は、Dowex Optipore SD-2吸着剤であり、これは、Midland, MIにあるThe Dow Chemical Companyから入手可能な高分子吸着剤である。これらの合成吸着性樹脂および類似の合成吸着性樹脂を用いて、イソフラボンを物理的に吸着および保持することができ、それにより低温殺菌した遠心分離液体または膜濃縮液からイソフラボンを除去する。一実施形態によれば、合成吸着性樹脂は、水酸化ナトリウムで前洗浄した後、使用前に塩酸で処理する。

20

【0044】

このプロセスでは、イソフラボンは、吸着プロセスにより物質から除去される一方で、サポニンは除去されない。これに関する正確な理由が目下明らかではないが、サポニンがイソフラボンよりも高い程度で物質中のタンパク質と複合体形成している可能性があり、その結果サポニンは吸着されないと考えられる。

30

【0045】

以下の実施例の幾つかでは、合成吸着性樹脂が濃縮液中に混合された後、ふるいを通して濾過することによりそこから分離された。以下の他の実施例では、適切な吸着性物質を含有する慣例の吸着カラムを使用し、ここでは必要に応じて吸着剤を再生させた。商業的実践では、適切な吸着性物質を含有する慣例の吸着カラムを使用し、必要に応じて再生/清浄化する。

【0046】

続いて、イソフラボン除去液体または濃縮液を再び約80以上の温度で低温殺菌してもよい。低温殺菌は、ジェットクッキングにより、あるいは蒸気ジャケット付ケトル中で保持することにより実施され得る。

40

【0047】

任意の最終工程では、イソフラボン除去大豆タンパク質物質を乾燥させる。乾燥は、高圧ノズルを用いた垂直噴霧乾燥機により実施され得る。

【0048】

乾燥させたイソフラボン除去大豆タンパク質物質は、市販のレシチンまたはモノ~ジグリセリドのような他の食品用界面活性剤でコーティングして、水分散性を改善させ、物質の凝集を低減させてもよい。かかるコーティングの添加は、例えば、約0.5重量%~約

50

2.0重量%の範囲である。

【0049】

イソフラボン除去大豆タンパク質物質は多くの用途を有する。例えば、イソフラボン除去大豆タンパク質は、代用乳として、またドリンクミックスおよび飲料（例えば、チョコレート、バニラおよびパイナップル飲料）、乳製品（例えば、フルーツヨーグルト）、栄養および健康製品（例えば、プロテインバー）、全筋肉注射、スリミ(surimi)製品、乳化肉、穀類製品（例えば、朝食用シリアル）、パン製品（例えば、ブルーベリーマフィン）および他の液体またはドライ飲料、食物あるいは栄養製品中に使用することができる。

【0050】

以下の実施例では、窒素溶解性指数（「NSI」）は、American Oil Chemists' Method Ba 11-65に従って測定された。NSIは、製品中の水溶性のタンパク質の量の特徴付ける。例えば、NSI75%を有するタンパク質製品は、その製品中のタンパク質の75重量%が水溶性であることを意味する。

【0051】

溶解性指数を測定する方法は、Standards for Grades of Dry Milks including Methods of Analysis, Bulletin 916, American Dairy Products Institute, Chicago, IL 60606に記載されている。

【0052】

また、以下の実施例では、イソフラボンは、Thiagarajan, D.G., Bennink, M.R., Bouquin, L.D., and Kavas, F.A., Prevention of precancerous colonic lesions in rats by soy flakes, soy flour, genistein and calcium, Am. J. Clin. Nutr. 1998; 68(suppl.); 1394S-9Sに記載される手順により特徴付けられた。

【0053】

製品中のボーマン - パーク阻害剤（「BBI」）の量は、キモトリプシン阻害剤（「CI」）の存在により特徴付けられ、これはBBIに関する間接的なアッセイである。CI分析に使用される方法は、大豆製品用のトリプシン阻害剤活性に関するAmerican Oil Chemists' Society (AOCS) official method Ba 12-75に基づき、使用する酵素および基質が異なっている。CI分析に使用する基質は、製品番号49738としてSigma-Aldrichから入手可能なN - グルタリル - L - フェニルアラニン - p - ニトロアニリド（GPNA）である。使用する酵素は、製品番号C4129としてSigma-Aldrichから入手可能なウシ膵臓由来の - キモトリプシン（酵素委員会（EC）番号：3.4.21.1）である。AOCS法は、Kakade等(Cereal Chemistry, 51.376(1974))に基づいている。キモトリプシンは、過剰に存在する基質N - グルタリル - L - フェニルアラニン - p - ニトロアニリドを加水分解する。黄色い色素であるp - ニトロアニリドの放出が分光光度的に測定される。大豆タンパク質製品の存在下では、p - ニトロアニリドの放出は、活性なキモトリプシン阻害剤のレベルと逆に変化する。

【0054】

サポニンは、高速液体クロマトグラフィ（「HPLC」）を用いて分析した。HPLCベースの分析方法が開発され、大豆中に存在するサポニン前駆体の評価を有効にした。その方法は、エタノール抽出、続く結合糖鎖（複数可）を切断してそのアグリコン（ソヤサポゲノール）を形成するための酸加水分解を用いて微細大豆または大豆製品からの総サポニンの単離に基づく。得られたソヤサポゲノールを単離して、固相抽出法により濃縮した。定組成溶離による逆相カラムを用いてソヤサポゲノールを分離して、蒸発光散乱検出器（「ELSD」）を用いて検出した。ソヤサポゲノールの定量化は、基準化合物に対して得られた校正曲線を用いて実施した。総大豆サポニン含有量は、総ソヤサポゲノール含有量のおよそ2倍である(Duhan et al. (2001) Int. J. Food. Sci. Nutr. 52.53-59)。

【0055】

製品の粘度は、粘度計を用いて測定した。およそ22.2（72 ± 2 ° F）の高純度の水220グラムを、Waring 7 - スピードの1リットル実験室ブレンダー（モデル：7012G、Waring Products, Torrington, CT 06790）の1.2Lのガラスジャーに

添加した。消泡剤 ( K F O 1 2 0 4 A、Lubrizol Corporation, Wickliffe, OH 44092) 15 滴を水に添加した。ブレンダーをスピード 1 ( 低 ) で回転させた。低速設定により、 $3500 \pm 300$  rpm でブレンダーを操作した。タンパク質製品 30 グラムを水の渦に定常流として添加して、それにより 12.0 重量% 溶液を供給した。完全タンパク質製品を添加した後、ブレンダーを 15 秒間作動させた。15 秒混合した後 ( ブレンダーオフ )、ブレンダーの脇とブレードをスパチュラでこすり落として、ブレンドされていない物質を再懸濁させた。ブレンダーをスピード 1 ( 低 ) で 1 分間作動させることより懸濁液を再び混合した。混合したタンパク質懸濁液を最上部から約 1 / 2 インチになるように 150 ml のビーカーに充填した。適切なスピンドルを用いた Brookfield 粘度計 ( モデル : R V D V E A 1 1 5、Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, MA 02346 ) を使用して粘度を決定した。粘度計のモータを 100 rpm の速度設定を用いて作動させ、読取りを 15 秒で記録した。2 つの読取りがこの様式で取られ、2 つの読取りの平均を用いて、換算チャートからセンチポアズ ( c p ) で粘度を算出した。粘度が 50 ~ 200 c p の範囲である場合、スピンドル番号 2 を使用し、粘度が 200 ~ 600 c p の範囲である場合、スピンドル番号 3 を使用した。

10

**【 0 0 5 6 】**

本発明のこれらの態様および他の態様は、以下の 1 つまたはそれ以上の実施例を参照して、より容易に理解され得る。

**【 実施例 】****【 0 0 5 7 】**

20

**( 実施例 1 )**

水 227.1 L ( 60 ガロン ) を混合タンクに添加して、60 に加熱した。大豆白色フレイク 45.4 kg ( 100 lbs ) を混合タンクに添加した。4.5% 水酸化ナトリウム溶液 1400 ml を添加して、生じたスラリーの pH を約 7.0 に上げた。55 ~ 58 で 10 分間バッチを混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送し、この遠心分離機供給タンクは、60 に加熱した水 303.0 L ( 80 ガロン ) を含有していた。混合したスラリーの pH は 7.01 であった。55 ~ 58 で 20 分間スラリーを混合し、その後 1 分当たり 2 ガロン ( g p m ) の割合で Sharples スクロール型遠心分離機へ供給した。遠心分離機からの液体を、127 でのジェットクーキングにより低温殺菌した。低温殺菌した液体を、100 メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。10,000 MWC O 渦巻型膜を有する限外濾過膜系に液体を供給した。液体の温度は、膜処理中 26.5 ~ 26.8 に維持した。膜供給タンクへ添加した本来の供給容量の約 75% が透過液として除去された。膜系からの濃縮液を 77 で低温殺菌した。

30

**【 0 0 5 8 】**

低温殺菌した濃縮液約 1.0 L を凍結乾燥させた。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表 1 に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

**【 0 0 5 9 】**

## 【表 1】

表1 実施例1の方法から得られる製品の組成

組成	mg/g	総乾燥物
タンパク質(重量%)	78.13	
粗線維(重量%)	1.12	
粗脂肪(重量%)	0.02	
灰分(重量%)	6.28	
イソフラボン		5.86
ダイジン		1.38
グリシチン		0.29
ゲニスチン		1.91
6"-O-マロニルダイジン		0.83
6"-O-マロニルグリシチン		0.16
6"-O-アセチルゲニスチン		0.09
6"-O-マロニルゲニスチン		1.16
ダイゼイン		0.02
ゲニステイン		0.02

10

## 【0060】

(実施例2)

合成吸着性樹脂(White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP825)250.0mlを順次水ですすぎ、4%水酸化ナトリウム溶液ですすぎ、水ですすぎ、4%塩酸溶液ですすぎ、水ですすいだ。実施例1からの濃縮液750.0mlを、ピーカー中ですすいだ樹脂と混合した。混合物を30分間攪拌した。攪拌した後、US標準No.400ふるいを用いて混合物を濾過した。樹脂はふるいによって保持され、濾液を収集した。樹脂処理した濾液を凍結乾燥して、大豆タンパク質物質を得た。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表2に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

20

## 【0061】

## 【表2】

表2 実施例2の方法から得られる製品の組成

30

組成	μg/g	総乾燥物
タンパク質(重量%)	80.02	
粗線維(重量%)	1.03	
粗脂肪(重量%)	0.04	
灰分(重量%)	7.10	
イソフラボン		90.0
ダイジン		10.0
グリシチン		0
ゲニスチン		50.0
6"-O-マロニルダイジン		10.0
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		0
6"-O-マロニルゲニスチン		20.0
ダイゼイン		0
ゲニステイン		0
窒素溶解性指数(NSI)(%)	95.3	

40

## 【0062】

(実施例3)

50

水約227.1L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140°F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。水約302.8L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.43だった。スラリーを1分当たり約7.6L(1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7(260°F)の温度でジェットクーキングした。ジェットクーキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、100メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。2つの渦巻型膜(ともに10,000MWC0)を含有する限外濾過膜系に懸濁液を供給した。懸濁液の温度は、膜処理中約26.7(80°F)に維持した。膜供給タンクへ添加した本来の供給容量の約75%が透過液として除去された。膜系からの濃縮液約1.0Lを凍結乾燥させた。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表3に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

10

【0063】

【表3】

表3 実施例3の方法から得られる製品の組成

組成	μg/g	総乾燥物
タンパク質(重量%)	82.69	
粗繊維(重量%)	0.40	
粗脂肪(重量%)	0.04	
灰分(重量%)	6.48	
フルクトース(重量%)	0.37	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	3.88	
ラフィノース(重量%)	0.58	
スタキオース(重量%)	3.25	
イソフラボン		3535.8
ダイジン		559.3
グリシチン		88.0
ゲニスチン		691.1
6"-O-マロニルダイジン		747.2
6"-O-マロニルグリシチン		98.3
6"-O-アセチルゲニスチン		51.7
6"-O-マロニルゲニスチン		1134.2
ダイゼイン		80.8
ゲニス테인		85.2
ソヤサポゲノール		3935.8
ソヤサポゲノールA		999.1
ソヤサポゲノールB		2936.7
窒素溶解性指数(NSI)(%)	51.0	

20

30

40

【0064】

(実施例4)

合成吸着性樹脂(White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP207)250.0mlを順次水ですすぎ、4%水酸化ナトリウム溶液ですすぎ、4%塩酸溶液ですすぎ、水ですすいだ。実施例3からの濃縮液750.0mlを、ピーカー中ですすいで前処理した樹脂と混合し、30分間攪拌した。US標準No.400ふるいを用いてその攪拌した混合物を濾過した。樹脂はふるいによって保持され、濾液を収集した。樹脂処理した濾液を凍結乾燥して、大豆タンパク質物質を得た。乾燥さ

50

せた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表4に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

【0065】

【表4】

表4 実施例4の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$	総乾燥物
タンパク質(重量%)	85.71	
粗繊維(重量%)	0.50	
粗脂肪(重量%)	0.03	
灰分(重量%)	6.80	
フルクトース(重量%)	0.32	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	2.83	
ラフィノース(重量%)	0.39	
スタキオース(重量%)	2.22	
イソフラボン		187.9
ダイジン		18.1
グリシチン		0.9
ゲニスチン		35.8
6"-O-マロニルダイジン		16.0
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		7.0
6"-O-マロニルゲニスチン		69.4
ダイゼイン		11.2
ゲニステイン		29.5
ソヤサポゲノール		3483.7
ソヤサポゲノールA		767.4
ソヤサポゲノールB		2716.3
窒素溶解性指数(NSI)(%)	61.2	

10

20

30

【0066】

(実施例5)

合成吸着性樹脂(Midland, MichiganにあるDow Chemical CompanyからのDowex Optipore SD-2吸着剤)250.0mlを順次水ですすぎ、4%水酸化ナトリウム溶液ですすぎ、水ですすぎ、4%塩酸溶液ですすぎ、水ですすいだ。実施例3からの濃縮液750.0mlを、ビーカー中ですすいで前処理した樹脂と混合し、30分間攪拌した。US標準No.400ふるいを用いてその攪拌した混合物を濾過した。樹脂はふるいによって保持され、濾液を収集した。樹脂処理した濾液を凍結乾燥して、大豆タンパク質物質を得た。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表5に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

40

【0067】

## 【表 5】

表5 実施例5の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$	総乾燥物
タンパク質(重量%)	85.78	
粗繊維(重量%)	0.20	
粗脂肪(重量%)	0.04	
灰分(重量%)	7.18	
フルクトース(重量%)	0.36	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	2.96	
ラフィノース(重量%)	0.43	
スタキオース(重量%)	2.59	
イソフラボン		150.2
ダイジン		12.7
グリシチン		0.8
ゲニスチン		39.2
6"-O-マロニルダイジン		14.9
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		5.1
6"-O-マロニルゲニスチン		44.0
ダイゼイン		10.0
ゲニス테인		23.5
ソヤサポゲノール		3663.3
ソヤサポゲノールA		867.9
ソヤサポゲノールB		2795.4
窒素溶解性指数(NSI)(%)	60.9	

10

20

## 【0068】

(実施例6)

水約227.1L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140°F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。水約302.8L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.43だった。スラリーを1分当たり約7.6L(1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7(260°F)の温度でジェットクッキングした。ジェットクッキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、100メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。2つの渦巻型膜(ともに10,000MWC0)を含有する限外濾過膜系に懸濁液を供給した。懸濁液の温度は、膜処理中約26.7(80°F)に維持した。膜供給タンクへ添加した本来の供給容量の約75%が透過液として除去された。膜系からの濃縮液約1.0Lを凍結乾燥させた。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表6に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

30

40

## 【0069】

## 【表 6】

表6 実施例6の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$ 総乾燥物	
タンパク質(重量%)	82.60	
粗繊維(重量%)	0.61	
粗脂肪(重量%)	0.05	
灰分(重量%)	4.61	
フルクトース(重量%)	0.44	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	3.27	10
ラフィノース(重量%)	0.52	
スタキオース(重量%)	3.14	
イソフラボン	3342.8	
ダイジン	430.7	
グリシチン	81.8	
ゲニスチン	541.2	
6"-O-マロニルダイジン	778.5	
6"-O-マロニルグリシチン	104.0	
6"-O-アセチルゲニスチン	49.7	
6"-O-マロニルゲニスチン	1162.2	
ダイゼイン	90.4	
ゲニステイン	104.3	20
ソヤサポゲノール	3296.6	
ソヤサポゲノールA	798.9	
ソヤサポゲノールB	2497.7	
窒素溶解性指数(NSI)(%)	73.5	

## 【0070】

(実施例7)

合成吸着性樹脂(White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP850)250.0mlを順次水ですすぎ、4%水酸化ナトリウム溶液ですすぎ、水ですすぎ、4%塩酸溶液ですすぎ、水ですすいだ。実施例6からの濃縮液750.0mlを、ビーカー中ですすいで前処理した樹脂と混合し、30分間攪拌した。US標準No.400ふるいを用いてその攪拌した混合物を濾過した。樹脂はふるいによって保持され、濾液を収集した。樹脂処理した濾液を凍結乾燥して、大豆タンパク質物質を得た。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表7に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

## 【0071】

## 【表 7】

表7 実施例7の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$	総乾燥物
タンパク質(重量%)	84.11	
粗繊維(重量%)	0.61	
粗脂肪(重量%)	0.05	
灰分(重量%)	6.07	
フルクトース(重量%)	0.40	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0.55	
スクロース(重量%)	4.41	
ラフィノース(重量%)	0.45	
スタキオース(重量%)	2.76	
イソフラボン		78.5
ダイジン		3.1
グリシチン		17.1
ゲニスチン		0
6"-O-マロニルダイジン		6.1
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		2.4
6"-O-マロニルゲニスチン		25.1
ダイゼイン		3.8
ゲニステイン		20.9
ソヤサポゲノール		3450.7
ソヤサポゲノールA		791.6
ソヤサポゲノールB		2659.1
窒素溶解性指数(NSI)(%)	37.0	

10

20

## 【0072】

(実施例8)

水約227.1L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140°F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。60(140°F)に予熱した水約302.8L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.52だった。スラリーを1分当たり約7.6L(1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7(260°F)の温度でジェットクーキングした。ジェットクーキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、100メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。2つの渦巻型膜(ともに10,000MWC0)を含有する限外濾過膜系に懸濁液を供給した。懸濁液の温度は、膜処理中約26.7(80°F)に維持した。膜供給タンクへ添加した本来の供給容量の約75%が透過液として除去された。

30

40

## 【0073】

膜系から収集した濃縮液を、1分当たり946ml(1分当たり0.25ガロン)の流速でクロマトグラフィ系へ供給した。クロマトグラフィ系は、連続してつなげた5本のカラムから構成されており、カラムはそれぞれ、White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP825である合成吸着性樹脂5.0Lを含有していた。したがって、クロマトグラフィ系は、25.0Lの樹脂を有し、カラムすべてを通過させた後の膜濃縮液を収集した。クロマトグラフィ処理流を約82.2(180°F)で低温殺菌して、垂直スプレー乾燥機中で高圧ポンプ供給スプレーノズルを用いて噴霧乾燥した

50

。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表8に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

【0074】

【表8】

表8 実施例8の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$	総乾燥物
タンパク質(重量%)	84.65	
粗繊維(重量%)	0.60	
粗脂肪(重量%)	0.06	
灰分(重量%)	4.99	
フルクトース(重量%)	0.24	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0.04	
スクロース(重量%)	3.18	
ラフィノース(重量%)	0.59	
スタキオース(重量%)	2.54	
イソフラボン		25.5
ダイジン		2.1
グリシチン		0
ゲニスチン		8.5
6"-O-マロニルダイジン		0
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		3.2
6"-O-マロニルゲニスチン		9.6
ダイゼイン		0
ゲニステイン		2.1
ソヤサポゲノール		2664.1
ソヤサポゲノールA		532.8
ソヤサポゲノールB		2131.3
窒素溶解性指数(NSI)(%)	87.8	

10

20

30

【0075】

(実施例9)

水約227.1L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140°F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。60(140°F)に予熱した水約302.8L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.50だった。スラリーを1分当たり約7.6L(1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7(260°F)の温度でジェットクーキングした。ジェットクーキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、100メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。2つの渦巻型膜(ともに10,000MWC0)を含有する限外濾過膜系に懸濁液を供給した。懸濁液の温度は、膜処理中約26.7(80°F)に維持した。膜供給タンクへ添加した本来の供給容量の約75%が透過液として除去された。

40

【0076】

膜系から収集した濃縮液を、1分当たり946ml(1分当たり0.25ガロン)の流速でクロマトグラフィ系へ供給した。クロマトグラフィ系は、連続してつなげた5本のカラムから構成されており、カラムはそれぞれ、White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP825である合成吸着性樹脂5.0Lを含有していた。し

50

たがって、クロマトグラフィ系は、25.0 Lの樹脂を有し、カラムすべてを通過させた後の膜濃縮液を収集した。クロマトグラフィ処理流を約82.2 (180 °F)で低温殺菌して、垂直スプレー乾燥機中で高圧ポンプ供給スプレーノズルを用いて噴霧乾燥した。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表9に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

【0077】

【表9】

表9 実施例9の方法から得られる製品の組成

組成	μg/g	総乾燥物
タンパク質(重量%)	85.32	
粗繊維(重量%)	0.83	
粗脂肪(重量%)	0.05	
灰分(重量%)	5.63	
フルクトース(重量%)	0	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0.36	
スクロース(重量%)	2.75	
ラフィノース(重量%)	0.59	
スタキオース(重量%)	2.43	
イソフラボン		62.5
ダイジン		2.1
グリシチン		0
ゲニスチン		19.8
6"-O-マロニルダイジン		2.1
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		5.2
6"-O-マロニルゲニスチン		23.9
ダイゼイン		2.1
ゲニステイン		7.3
ソヤサポゲノール		1967.9
ソヤサポゲノールA		270.7
ソヤサポゲノールB		1697.2
窒素溶解性指数(NSI)(%)	95.0	

10

20

30

【0078】

(実施例10)

水約227.1 L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140 °F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4 kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400 mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。60(140 °F)に予熱した水約302.8 L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.69だった。スラリーを1分当たり約7.6 L(1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7(260 °F)の温度でジェットクーキングした。ジェットクーキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、100メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。2つの渦巻型膜(ともに10,000 MWCO)を含有する限外濾過膜系に懸濁液を供給した。懸濁液の温度は、膜処理中約26.7(80 °F)に維持した。膜供給タンクへ添加した本来の供給容量の約75%が透過液として除去された。

40

【0079】

膜系から収集した濃縮液を、1分当たり946 ml(1分当たり0.25ガロン)の流

50

速でクロマトグラフィ系へ供給した。クロマトグラフィ系は、連続してつなげた5本のカラムから構成されており、カラムはそれぞれ、White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP825である合成吸着性樹脂5.0Lを含有していた。したがって、クロマトグラフィ系は、25.0Lの樹脂を有し、カラムすべてを通過させた後の膜濃縮液を収集した。クロマトグラフィ処理流を約82.2 (180°F)で低温殺菌して、垂直スプレー乾燥機中で高圧ポンプ供給スプレーノズルを用いて噴霧乾燥した。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表10に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

【0080】

【表10】

表10 実施例10の方法から得られる製品の組成

組成	μg/g	総乾燥物
タンパク質(重量%)	84.92	
粗繊維(重量%)	0.74	
粗脂肪(重量%)	0.14	
灰分(重量%)	2.92	
フルクトース(重量%)	0.25	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	3.23	
ラフィノース(重量%)	0.62	
スタキオース(重量%)	2.70	
イソフラボン		182.9
ダイジン		7.4
グリシチン		0
ゲニスチン		50.4
6"-O-マロニルダイジン		16.8
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		7.4
6"-O-マロニルゲニスチン		89.3
ダイゼイン		2.1
ゲニステイン		9.5
ソヤサポゲノール		2196.3
ソヤサポゲノールA		420.3
ソヤサポゲノールB		1776.0
窒素溶解性指数(NSI)(%)	95.1	

【0081】

(実施例11)

水約227.1L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140°F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。60(140°F)に予熱した水約302.8L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.48だった。スラリーを1分当たり約7.6L(1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7(260°F)の温度でジェットクーキングした。ジェットクーキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、さらに51.7(125°F)に冷却した。

【0082】

冷却した懸濁液約113.6L(30ガロン)を100メッシュトレーナに通してクロ

10

20

30

40

50

マトグラフィ系供給タンクへ移送した。懸濁液を、1分当たり946ml(1分当たり0.25ガロン)の流速でクロマトグラフィ系へ供給した。クロマトグラフィ系は、連続してつなげた5本のカラムから構成されており、カラムはそれぞれ、White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP825である合成吸着性樹脂5.0Lを含有していた。したがって、クロマトグラフィ系は、25.0Lの樹脂を有し、カラムすべてを通過させた後の懸濁液を収集した。クロマトグラフィ処理懸濁液を約82.2(180°F)で低温殺菌して、垂直スプレー乾燥機中で高圧ポンプ供給スプレーノズルを用いて噴霧乾燥した。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表11に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

【0083】

10

【表11】

表11 実施例11の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$	総乾燥物
タンパク質(重量%)	67.00	
粗繊維(重量%)	3.16	
粗脂肪(重量%)	0.16	
灰分(重量%)	8.29	
フルクトース(重量%)	0.95	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	9.49	
ラフィノース(重量%)	1.45	
スタキオース(重量%)	7.52	
イソフラボン		9.5
ダイジン		2.1
グリシチン		3.2
ゲニステイン		2.1
6"-O-マロニルダイジン		0
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニステイン		0
6"-O-マロニルゲニステイン		2.1
ダイゼイン		0
ゲニステイン		0
ソヤサポゲノール		1305.8
ソヤサポゲノールA		136.9
ソヤサポゲノールB		1168.9
窒素溶解性指数(NSI)(%)	91.5	
溶解性指数(沈降物ml)	2.0	
粘度(cP)	32.7	
キモトリプシン阻害剤(CI)(mg/g)	152.8	

20

30

40

【0084】

(実施例12)

水約227.1L(60ガロン)を混合タンクに添加して、60(140°F)に加熱した。次に、大豆フレーク約45.4kg(100ポンド)を混合タンクに添加して、スラリーを形成した。4.5%水酸化ナトリウム溶液約1400mlを混合タンクに添加した。スラリーを10分間混合した後、遠心分離機供給タンクへ移送した。60(140°F)に予熱した水約302.8L(80ガロン)を遠心分離機供給タンク中でスラリーに添加して、20分間スラリーを混合した。スラリーのpHは7.03だった。スラリ

50

ーを1分当たり約7.6 L (1分当たり2ガロン)の割合でSharplesスクロール型遠心分離機へ供給した。上清(懸濁液)を、約126.7 (260°F)の温度でジェットクーキングした。ジェットクーキングした懸濁液をフラッシュ冷却し、約378.5 L (100ガロン)を100メッシュストレーナに通して膜供給タンクへ移送した。2つの渦巻型膜(ともに10,000MWC0)を含有する限外濾過膜系に懸濁液を供給した。懸濁液の温度は、膜処理中約48.9 (120°F)に維持した。透過液約189.3 L (50ガロン)を除去した後、水189.3 L (50ガロン)を膜供給タンクに添加した。透過液除去および水添加のこの工程(ダイアフィルトレーション)を再度2回繰り返し、その結果膜供給タンクに添加した水の総容量は567.8 L (150ガロン)であった。膜供給タンクに添加した水すべておよび膜供給タンクに添加した本来の供給容量の約80%が透過液として除去され、その結果除去された透過液の総容量は870.6 L (230ガロン)であった。

10

**【0085】**

膜系から収集した濃縮液を、1分当たり946 ml (1分当たり0.25ガロン)の流速でクロマトグラフィ系へ供給した。クロマトグラフィ系は、連続してつなげた5本のカラムから構成されており、カラムはそれぞれ、White Plains, New YorkにあるMitsubishi Chemical AmericaからのSP825である合成吸着性樹脂5.0 Lを含有していた。したがって、クロマトグラフィ系は、25.0 Lの樹脂を有し、カラムすべてを通過させた後の膜濃縮液を収集した。クロマトグラフィ処理懸濁液を約82.2 (180°F)で低温殺菌して、垂直スプレー乾燥機中で高圧ポンプ供給スプレーノズルを用いて噴霧乾燥した。乾燥させた製品を分析して、その含有量を決定した。分析結果を表12に示す。結果はすべて、別記しない限り、乾燥した重量に基づく。

20

**【0086】**

【表 1 2】

表12 実施例12の方法から得られる製品の組成

組成	$\mu\text{g/g}$	総乾燥物
タンパク質(重量%)	93.84	
粗繊維(重量%)	0.53	
粗脂肪(重量%)	0.04	
灰分(重量%)	5.19	
フルクトース(重量%)	0	
グルコース/ガラクトース(重量%)	0	
スクロース(重量%)	0.49	10
ラフィノース(重量%)	0.11	
スタキオース(重量%)	0.48	
イソフラボン		18.7
ダイジン		0
グリシチン		0
ゲニスチン		4.5
6"-O-マロニルダイジン		0
6"-O-マロニルグリシチン		0
6"-O-アセチルゲニスチン		0
6"-O-マロニルゲニスチン		5.9
ダイゼイン		0.8
ゲニステイン		7.5
ソヤサポゲノール		3137.5
ソヤサポゲノールA		537.0
ソヤサポゲノールB		2600.5
窒素溶解性指数(NSI)(%)	92.4	
溶解性指数(沈降物ml)	3.0	
粘度(cP)	174.5	
キモトリプシン阻害剤(CI)(mg/g)	262.1	30

## 【0087】

本発明は好ましい意向(design)を有するものとして記載してきたが、本発明は、この開示の精神および範囲内でさらに変更させることができる。したがって、本出願は、その一般的原理を用いた本発明の任意の変更、使用または適合を網羅するものとされる。さらに、本出願は、本発明が属する技術分野において既知または慣例の実施内に当たる場合で、かつ添付の特許請求の範囲の限定の範疇にあるこの開示からのかかる逸脱を網羅するものとされる。

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/US 03/14323
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A23J/16 A23L1/30 A23L1/015		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A23J A23L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) WPI Data, FSTA, EPO-Internal, PAJ		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 10665 A (ABBOTT LAB) 19 March 1998 (1998-03-19) claims 1-24; examples 1,2 ---	1,6-8, 11,12
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 200272 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 2002-668948 XP002231437 & JP 2002 119218 A (FUJI SEIYU KK), 23 April 2002 (2002-04-23) abstract ---	1-12
A	EP 0 795 553 A (ARCHER DANIELS MIDLAND CO) 17 September 1997 (1997-09-17) claims 1-28; examples 1-3 ---	1-12
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document 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		Date of mailing of the international search report
15 August 2003		01/09/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 6518 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  De Jong, E

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US 03/14323

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE WPI            Section Ch, Week 198507            Derwent Publications Ltd., London, GB;            Class A97, AN 1985-040577            XP002251444            &amp; JP 59 232052 A (AJINOMOTO KK),            26 December 1984 (1984-12-26)            abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-12
A	<p>EP 0 575 121 A (ROHM &amp; HAAS)            22 December 1993 (1993-12-22)            claims 1-7; example 8</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-12
A	<p>IRELAND P A ET AL: "Saponin content of            soya and some commercial soya products by            means of high-performance liquid            chromatography of the sapogenins."            JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND            AGRICULTURE 1986 DEP. OF FOOD SCI., UNIV.            OF READING, WHITEKNIGHTS, POB 226, READING            RG6 2AP, UK,            vol. 37, no. 7, pages 694-698,            XP002251443            tables 2,3</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-12

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US 03/14323

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9810665	A	19-03-1998	US 5804234 A	08-09-1998
			US 6020471 A	01-02-2000
			AT 219628 T	15-07-2002
			AU 725121 B2	05-10-2000
			AU 4341397 A	02-04-1998
			BR 9711804 A	24-08-1999
			CA 2258550 A1	19-03-1998
			CZ 9804266 A3	12-05-1999
			DE 69713609 D1	01-08-2002
			DE 69713609 T2	27-02-2003
			DK 929231 T3	14-10-2002
			EP 0929231 A1	21-07-1999
			ES 2179366 T3	16-01-2003
			HU 0003652 A2	28-02-2001
			JP 2001523086 T	20-11-2001
			NZ 333412 A	27-10-2000
			PT 929231 T	29-11-2002
			WO 9810665 A1	19-03-1998
			US 5985338 A	16-11-1999
			US 6440469 B1	27-08-2002
JP 2002119218	A	23-04-2002	NONE	
EP 0795553	A	17-09-1997	US 5702752 A	30-12-1997
			DE 69709472 D1	14-02-2002
			DE 69709472 T2	07-11-2002
			EP 0795553 A1	17-09-1997
			IL 120409 A	20-05-2001
			IL 130611 A	30-04-2001
			JP 10023878 A	27-01-1998
			US 6033714 A	07-03-2000
			US 2003064938 A1	03-04-2003
			US 2002168433 A1	14-11-2002
			US 6518319 B1	11-02-2003
			US 2002187211 A1	12-12-2002
			US 2003003168 A1	02-01-2003
			US 6261565 B1	17-07-2001
			US 6171638 B1	09-01-2001
			US 6399072 B1	04-06-2002
			US 6391308 B1	21-05-2002
			US 6391309 B1	21-05-2002
US 6395279 B1	28-05-2002			
US 6391310 B1	21-05-2002			
US 6565912 B1	20-05-2003			
US 5792503 A	11-08-1998			
JP 59232052	A	26-12-1984	JP 1418655 C	22-12-1987
			JP 62025016 B	01-06-1987
EP 0575121	A	22-12-1993	AT 177596 T	15-04-1999
			AU 4002293 A	23-12-1993
			BG 97870 A	27-05-1994
			CA 2097864 A1	17-12-1993
			CN 1085048 A	13-04-1994
			CZ 9301152 A3	19-01-1994
			DE 69323929 D1	22-04-1999
			DE 69323929 T2	02-12-1999
			EP 0575121 A1	22-12-1993

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US 03/14323

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0575121	A	ES 2129068 T3	01-06-1999
		FI 932736 A	17-12-1993
		HR 930979 A1	31-12-1995
		HU 65530 A2	28-06-1994
		IL 105926 A	04-08-1996
		JP 6098696 A	12-04-1994
		KR 258478 B1	01-06-2000
		NZ 247825 A	26-04-1996
		PL 299346 A1	10-01-1994
		RO 113801 B1	30-11-1998
		SI 9300323 A	31-12-1993
		SK 59293 A3	12-01-1994

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA, GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ, EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,M W,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100094695

弁理士 鈴木 憲七

(74)代理人 100111648

弁理士 梶並 順

(74)代理人 100122437

弁理士 大宅 一宏

(72)発明者 シン、ナフブリート

アメリカ合衆国、インディアナ州、フォート・ウェイン、サドルバック・コート 7310、アパ  
ートメント 1ビー