

明 細 書

発明の名称：

風味の優れたホエイタンパク質加水分解物の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は風味の優れたホエイタンパク質加水分解物の製造方法に関する。
また本発明は、保存等によって生じる経時的な着色が抑制されたホエイタンパク質加水分解物の製造方法に関する。

背景技術

[0002] ホエイタンパク質は、吸収性の向上またはアレルギーの低減を目的として、タンパク質加水分解酵素（プロテナーゼ）で分解されて、ホエイタンパク質加水分解物とされることが多い。

[0003] しかし、ホエイタンパク質を加水分解すると、独特な雑味若しくは不快臭、またはペプチド若しくは遊離アミノ酸に由来する苦味が発生し、風味が悪化するという問題がある。また、ホエイタンパク質加水分解物は、特に水溶液の状態で加熱すると着色しやすく、製造工程や保存中に品質低下を引き起こすことが知られている。

[0004] このため、従来からホエイタンパク質加水分解物の風味を改善する方法が種々提案されている。例えば、ホエイタンパク質と乳糖を混合するか、ホエイタンパク質と乳糖または／および脱塩ホエイタンパク質を混合し酵素分解して風味が良好なホエイタンパク質ペプチド組成物を得る方法（特許文献１）；ホエイペプチドと共に椎茸エキス、イノシン酸Na及びグアニル酸Na等の核酸を用いることで苦味及び渋味が低減された食品組成物を得る方法、さらにこれらに酢酸または／および茶エキスを配合することでマスキング効果を増強する方法（以上、特許文献２）；苦味を呈するアミノ酸またはペプチドに酸性リン脂質を添加して苦味低減する方法（特許文献３）；ペプチド（乳タンパク質由来含む）を含有する食品にサイクロデキストリンを添加してペプチドの苦味または臭いを抑制する方法（特許文献４）；ペプチド（乳

タンパク質由来ペプチドを含む)を含有する飲料にフラボノイド類または／および没食子酸誘導体の1種以上を添加することで光劣化及び/又は熱劣化によって生じるペプチドの苦味または臭いを改善する方法(特許文献5);牛乳由来のタンパク質をタンパク質分解酵素で処理し分子量が1万以下のペプチドとすることで、抗原性が低く、かつ経口寛容誘導能を有する風味良好な低アレルギー性酵素分解ペプチド組成物を得る方法(特許文献6)などが知られている。しかし、これらのうち、特許文献1～5に開示の技術はいずれも他の成分を添加して苦味や臭いを紛らわせる方法であり、また特許文献6に開示の技術は加水分解の程度をコントロールする方法であり、添加した物質の影響で風味が画一化される、コストがかかる、または製造工程が複雑化するなどの問題がある。

[0005] また酵素を用いたタンパク質の加水分解方法として、例えばデキストリンの存在下でタンパク質を酵素で加水分解する方法(特許文献7)、乳清タンパク質を酵素で加水分解してTNF- α の発現阻害作用を有する加水分解物を調製する方法(特許文献8)、及び乳由来タンパク質を所定の酵素で加水分解する方法(特許文献9)が知られている。しかしながら、これらの文献にはいずれもホエイタンパク質加水分解物の風味を改善し向上させる方法については記載も示唆もされていない。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1: 特開平08-098656号公報
特許文献2: 特開2009-261299号公報
特許文献3: 特開平08-173093号公報
特許文献4: 特開2006-075064号公報
特許文献5: 特開2006-067874号公報
特許文献6: 特許第3071877号公報
特許文献7: 特開2007-215540号公報
特許文献8: 特表2009-539883号公報

特許文献9：特表2012-522498号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0007] 本発明は、ホエイタンパク質の加水分解に関する従来の問題を解消することを目的とする。具体的には、本発明はホエイタンパク質を加水分解する際に生じる雑味、苦味、または不快臭といった問題を改善し、臭いが少なく、風味良好なホエイタンパク質加水分解物を製造する方法を提供することを目的とする。また本発明は、着色しにくく製造工程や保存中の品質低下が抑制されたホエイタンパク質加水分解物を製造する方法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、上記課題を解決すること、つまりホエイタンパク質加水分解物の風味を改善することを目的として鋭意検討を重ねていたところ、ホエイタンパク質加水分解物の製造に使用する原料（反応基質）として、脂質含量の少ない、好適には脂質含量が1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を用いることで、上記目的に適った臭いが少なく風味が良好なホエイタンパク質加水分解物が得られることを見出した。また、原料（反応基質）として乳糖含量の少ない、好適には乳糖含量が1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を用いることで、加熱による着色が有意に抑制されたホエイタンパク質加水分解物が得られることを見出した。

- [0009] 本発明はかかる知見に基づいて完成したものであり、下記の実施形態を有するものである。

[0010] (1) ホエイタンパク質加水分解物の製造方法

(1-1) (a) 脂質含量が1質量%未満、または／および (b) 乳糖含量が1質量%未満であるホエイタンパク質含有原料を加水分解処理してホエイタンパク質加水分解物を調製する工程を有する、ホエイタンパク質加水分解物の製造方法。

(1-2) 上記ホエイタンパク質含有原料の脂質含量及び乳糖含量がいずれ

も1質量%未満である、(I-1)に記載する製造方法。

(I-3)加水分解処理が酵素処理である(I-1)または(I-2)に記載する製造方法。

(I-4)酵素処理がタンパク質分解酵素(プロテアーゼ)、好ましくはプロテアーゼMまたは／およびプロテアーゼPを用いた処理である(I-3)に記載する製造方法。

(I-5)脂質含量が4質量%より多いホエイタンパク質含有原料を加水分解処理して得られるホエイタンパク質加水分解物よりも、臭いが少ないホエイタンパク質加水分解物を得る方法である、(I-1)～(I-4)のいずれかに記載する製造方法。

(I-6)脂質含量が4質量%より多いホエイタンパク質含有原料を加水分解処理して得られるホエイタンパク質加水分解物よりも、風味良好なホエイタンパク質加水分解物を得る方法である、(I-1)～(I-5)のいずれかに記載する製造方法。この場合、ホエイタンパク質含有原料として、少なくとも(a)脂質含量が1質量%未満であるホエイタンパク質含有原料が使用される。

(I-7)乳糖含量が4質量%より多いホエイタンパク質含有原料を加水分解処理して得られるホエイタンパク質加水分解物よりも、経時的に生じる着色が抑制されたホエイタンパク質加水分解物を得る方法である、(I-1)～(I-6)のいずれかに記載する製造方法。この場合、ホエイタンパク質含有原料として少なくとも(b)乳糖含量が1質量%未満であるホエイタンパク質含有原料が使用される。

[0011] (II) ホエイタンパク質加水分解物の臭い低減、風味向上、または着色抑制方法

(II-1)脂質含量が1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を加水分解処理に供してホエイタンパク質加水分解物を調製する工程を有する、ホエイタンパク質加水分解物の臭い低減または／および風味向上方法。

(II-2)上記ホエイタンパク質含有原料が乳糖含量が1質量%未満である

、（II－１）記載の臭い低減または／および風味向上方法。

（II－３）乳糖含量が１質量％未満であるホエイタンパク質含有原料を加水分解処理に供してホエイタンパク質加水分解物を調製する工程を有する、ホエイタンパク質加水分解物の着色抑制方法。

（II－４）上記ホエイタンパク質含有原料の脂質含量が１質量％未満である、（II－３）に記載する着色抑制方法。

（II－５）加水分解処理が酵素処理である（II－１）～（II－４）のいずれかに記載する方法。

（II－６）酵素処理がタンパク質分解酵素（プロテアーゼ）、好ましくはプロテアーゼMまたは／およびプロテアーゼPを用いた処理である（II－５）に記載する方法。

発明の効果

[0012] 脂質含量が１質量％未満のホエイタンパク質含有原料を用いてタンパク質加水分解処理を行うことで、臭いが抑制されたホエイタンパク質加水分解物を得ることができる。また当該ホエイタンパク質加水分解物は、脂質含量が４質量％より多いホエイタンパク質含有原料を用いて調製されるホエイタンパク質加水分解物と比較して、苦味や雑味が低減されており、風味良好である。またさらに乳糖含量が１質量％未満のホエイタンパク質含有原料、好ましくは脂質含量が１質量％未満であり、且つ乳糖含量が１質量％未満のホエイタンパク質含有原料を用いてタンパク質加水分解処理を行うことで、上記特性（臭い抑制、風味良好）に加えて、乳糖含量が４質量％より多いホエイタンパク質含有原料を用いて調製されるホエイタンパク質加水分解物と比較して、経時的に生じる着色が抑制されたホエイタンパク質加水分解物を得ることができる。斯くして調製されたホエイタンパク質加水分解物は、特に水溶液の状態で８０℃で２日間保存しても着色が有意に抑制されていたことから（実験例２）、製造工程や保存中の品質低下が抑制されたホエイタンパク質加水分解物として有用である。

[0013] すなわち本発明によれば、上記の好ましい特性を有するホエイタンパク質

加水分解物を製造する方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]ホエイタンパク質含有原料の脂質含量と酵素加水分解処理後のホエイタンパク質加水分解液の臭い強度との関係を示した図である。(A)は酵素としてプロテアーゼMを使用した場合の結果を、(B)酵素としてプロテアーゼPを使用した場合の結果を、それぞれ示す。

[図2]ホエイタンパク質含有原料の脂質含量と酵素加水分解処理後のホエイタンパク質加水分解液の風味との関係を示した図である。(A)は酵素としてプロテアーゼMを使用した場合の結果を、(B)酵素としてプロテアーゼPを使用した場合の結果を、それぞれ示す。

[図3]ホエイタンパク質含有原料の乳糖含量と酵素加水分解処理後のホエイタンパク質加水分解液の経時的着色との関係を示した図である。(A)は酵素としてプロテアーゼMを使用した場合の結果を、(B)酵素としてプロテアーゼPを使用した場合の結果を、それぞれ示す。

発明を実施するための形態

[0015] (I) ホエイタンパク質加水分解物の製造方法

(1) 製造原料

本発明のホエイタンパク質加水分解物の製造方法は、その製造に使用する原料として脂質含量が1質量%未満であるホエイタンパク質含有原料を用いることを特徴とする。

[0016] ホエイタンパク質は、乳からカゼインや脂肪を取り除いた液体部分であるホエイ（乳清）に含まれるタンパク質であり、乳清タンパク質とも称される。ホエイには、通常、 β ラクトグロブリン、 α ラクトアルブミン、免疫グロブリン、血清アルブミン、及びラクトフェリン等が含まれている。本発明でいうホエイタンパク質という用語には、これらの個々のタンパク質、並びにこれらのタンパク質を2種以上含む集合物が含まれる。

[0017] ホエイの由来である乳は、哺乳動物の乳であれば制限されないが、広く飲食に適用されているという点で牛由来の乳（牛乳）を好適に挙げることがで

きる。なお、牛乳に含まれるタンパク質のうち、約80%がカゼインであり、残りの約20%がホエイタンパク質である。

[0018] 本発明のホエイタンパク質加水分解物の製造に使用するホエイタンパク質含有原料は、上記ホエイタンパク質を含み、且つ（a）脂質含量が1質量%未満であるか、または／および、（b）乳糖含量が1質量%未満であることを特徴とする。

[0019] ホエイタンパク質含有原料は、上記（a）と（b）のいずれか少なくとも一方の条件を満たすものであればよいが、臭いが少なく、風味が良好なホエイタンパク質加水分解物を製造するという目的からは、少なくとも（a）の条件を満たし、好ましくは（a）と（b）の両方の条件を満たす原料を使用することが好ましい。また経時的着色が抑制されたホエイタンパク質加水分解物を製造するという目的からは、少なくとも（b）の条件を満たし、好ましくは（b）と（a）の両方の条件を満たす原料を使用することが好ましい。（a）と（b）の両方の条件を満たすホエイタンパク質含有原料を用いることで、臭いが少なく、風味が良好であるとともに、経時的着色が抑制されたホエイタンパク質加水分解物を製造することができる。

[0020] なお、本発明において「臭い」とは室温に調整したホエイタンパク質加水分解物を鼻で嗅いだ場合の臭いを意味する。「臭いが少ない」とは、後述する実験例1に示すように、脂質含量が4質量%より多いホエイタンパク質含有原料を用いて調製されるホエイタンパク質加水分解物と比較して、臭い、特にホエイタンパク質加水分解物特有の臭いが少ないことを意味する。また本発明において「風味」とは室温に調整したホエイタンパク質加水分解物を口に含んだ際に感じる味と、口に広がり鼻腔を通じて感じる臭いを総称したものである。「風味が良好」とは、脂質含量が4質量%より多いホエイタンパク質含有原料を用いて調製されるホエイタンパク質加水分解物と比較して、ホエイタンパク質加水分解物特有の好ましくない苦味や雑味、並びに不快臭が低減されて少ないことを意味する。

[0021] また、上記方法で調製されるホエイタンパク質加水分解物は、後述する実

験例 2 に示すように、原料として乳糖含量が 1 質量%未満であるホエイタンパク質含有原料を用いて製造することで、乳糖含量が 4 質量%より多いホエイタンパク質含有原料を用いた場合よりも、経時的に生じる着色が抑制されている。ここで経時的着色が抑制されているか否かは、後述する実験例 2 に示すように、ホエイタンパク質加水分解物を 80℃の暗所条件下に 2 日間保存した場合に、保存前後で吸光度 (420nm) の差の大小で評価することができる。

[0022] なお、脂質含量は 1 質量%未満であればよいが、好ましくは 0.7 質量%以下、より好ましくは 0.5 質量%以下である。また乳糖含量も 1 質量%未満であればよいが、好ましくは 0.7 質量%以下、より好ましくは 0.5 質量%以下である。

[0023] 当該ホエイタンパク質含有原料は脂質含量が 1 質量%未満または／および乳糖含量が 1 質量%未満であれば、乳から調製されるホエイ（乳清）そのものであってもよいし、またホエイタンパク質が変性または変質しないことを限度として、ホエイ（乳清）を抽出処理、濾過処理、分画処理、精製処理、濃縮処理または乾燥処理等の各種処理に供して加工したものであってもよい。また脂質含量が 1 質量%未満または／および乳糖含量が 1 質量%未満であれば、商業的に入手できるホエイまたはその加工物を用いてもよい。

[0024] [タンパク質含量]

ホエイタンパク質含有原料中に含まれるタンパク質含量は、効率よく所望のホエイタンパク質加水分解物を得る目的から、好ましくは 60 質量%以上であり、より好ましくは 80 質量%以上、特に好ましくは 90 質量%以上である。上限は 100 質量%であるが、98 質量%であってもよい。ここで原料中に含まれるタンパク質含量は、ケルダール法に従って測定することができる。

[0025] ケルダール法とは、測定試料中の窒素量を求めて試料中のタンパク質含量を測定する方法である。測定試料を硫酸と混ぜて加熱し、試料中に含まれる窒素を硫酸アンモニウムに変換する。その後、アルカリ性にして加熱し、発

生するアンモニアの量を適当な滴定によって定量する。より具体的な手順としては、測定試料（約0.5 gを0.1 mgの桁まで正確に秤量する）をケルダールフラスコに入れ、これに分解促進剤10 g（硫酸カリウム9 gと硫酸銅(II)五水和物1 gの混合粉末）を加え、これに濃硫酸15 mLを加え、振り混ぜる。次に予め200℃に保温しておいたブロック分解装置で30分間加熱する。その後、400～420℃に設定し、分解液が清澄になった後、400～420℃の状態で約60分間分解を続ける。分解終了後、室温まで放冷し、その後速やかに分解液にイオン交換水20 mLを加え、振り混ぜる。調製した分解液にイオン交換水30 mL、24 g以上の過剰量の水酸化ナトリウムを含むように25%～45% (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液を加え、分解液をアルカリ性にした後に、アンモニア蒸留装置に連結する。アンモニア蒸留装置の出口には、アンモニア捕集液として、4%ホウ酸水溶液50 mL（イオン交換水で調製したもの）に、滴定指示薬としてプロモフェノールブルー溶液を2, 3滴加えた溶液を入れた容量300 mLの三角フラスコを用意し、この中に留液が150 mL以上得られるように蒸留を行う。蒸留で得られた留液をビュレットを用いて0.05 mol/L 硫酸標準溶液で滴定する。留液が緑色→汚無色→微灰赤色を呈したところで終点とし、得られた滴定値（硫酸標準溶液の容量： V_1 ）を小数点第2位まで記録する。なお、別に空試験として測定試料の代わりに、測定試料と同量程度の蔗糖を採取し、測定試料と同様に分解後蒸留し、同様に滴定値（硫酸標準溶液の容量： V_2 ）を求める。下記式により窒素量（g/100gホエイタンパク質含有原料）を算出し、ホエイタンパク質含有原料100質量%に含まれる窒素含量（質量%）を求める。

[0026] [数1]

タンパク質含量 (g/100g) = 窒素量 (g/100g) × (窒素-タンパク質換算係数)

窒素量 (g/100g) = { [($V_1 - V_2$) × f × 1.4] / (W × 1000) } × 100

V_1 : 本試験で中和に要した 0.05mol/L 硫酸標準溶液量 (mL)

V_2 : 空試験で中和に要した 0.05mol/L 硫酸標準溶液量 (mL)

f : 用いた 0.05mol/L 硫酸標準溶液のファクター

W: 試料採取量 (g)

[0027] また、ホエイタンパク質含有原料中の脂質含量及び乳糖含量は、例えば下記の方法により測定（定量）することができる。

[0028] [脂質含量の測定方法]

ホエイタンパク質含有原料中の脂質含量は、酸分解法に従って測定することができる。酸分解法とは、測定試料を塩酸で分解した後、マジョニア管を用いて脂質を抽出して得る方法である。より具体的な手順としては、測定試料（1 g～1.5 g程度の質量を正確に秤量する：W）に水：25～28%アンモニア水＝9：1の混液（10 mL）を加えた後、濃塩酸（11 mL）を加え、電熱器上で加熱分解（沸騰するまで加熱し、沸騰後5分間保持）する。その後、室温まで放冷した後、試料をマジョニア管に移し、エタノール（10 mL）、ジエチルエーテル（25 mL）を加え混和し（エタノールとジエチルエーテルでマジョニア管を洗い込む）、さらに、石油エーテル（25 mL）を加え抽出する。これをマジョニア管遠心分離器にかけ、エーテル混液層と水層を分離し、エーテル混液層を予め水30 mLをいれた分液漏斗に移す。その後、残ったエーテル混液層にさらにジエチルエーテルと石油エーテルの混液（等量混合）を入れて、上記と同様の抽出操作を2回繰り返してエーテル混液層を上記の分液漏斗に移す（1回目の抽出には40 mLのジエチルエーテル／石油エーテル混液を使用。2回目は30 mLの混液を使用）。分液漏斗に回収したエーテル混液と水を十分に振り混ぜた後、静置して分離した水を捨てる。エーテル混液に対して、更に水30 mLによる洗浄操作を2回行う。回収したエーテル混液に硫酸ナトリウム（無水）を入れて脱水した後、脂肪瓶に濾過回収する。なお、脂肪瓶は予め100～105℃の電気低温乾燥器で1時間乾燥させた後放冷して質量（ W_0 ）を測定しておく。このエーテル混液から溶媒を留去し、100～105℃の電気低温乾燥器で1時間乾燥させた後放冷し、質量を測定する。恒量になるまで乾燥と放冷を繰り返し、最終的に得られた脂質の質量を脂肪瓶に入った状態で正確に秤量し（ W_1 ）、下記式により脂質量（g/100g）を算出し、ホエイタンパク質含有原料100質量%に含まれる脂質含量（質量%）を求める。

[0029] [数2]

$$\text{脂質含量 (g/100g)} = [(W_1 - W_0) / W] \times 100$$

W_0 : 脂肪瓶の質量 (g)

W_1 : 抽出乾燥後の脂質入り脂肪瓶の重量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[0030] [乳糖含量の測定方法]

ホエイタンパク質含有原料中の乳糖含量は、ホエイタンパク質含有原料に含まれるタンパク質量、脂質量、及び灰分量を求め、それ以外の量を乳糖含量として、計算により求めることができる。具体的には、ホエイタンパク質含有原料の質量（湿重量）を100質量%とした場合に、これからホエイタンパク質含有原料に含まれるタンパク質量（質量%）、脂質量（質量%）、及び灰分含量（質量%）を除いた含量を、乳糖含量とする〔100 - (タンパク質量 + 脂質量 + 灰分含量)〕。なお、ホエイタンパク質含有原料（100質量%）中のタンパク質量（質量%）及び脂質量（質量%）は、上記の方法を用いて求めることができる。

[0031] また灰分は、直接灰化法に従って測定することができる。より具体的な手順としては、0.4 g ~ 1.2 g 程度の測定試料を、重量既知の磁製るつぼに採り（ W_0 ）、測定試料の質量（ W_1 ）を正確に秤量する。灰化装置にかけ、550℃で十分に灰化する（550℃に達したら5～6時間保持して灰化させる）。灰化後、測定試料が室温に戻るまで、デシケーター中で放冷し、測定試料の恒量（ W_2 ）を正確に秤量する。なお、灰が白色又は灰色の場合は、再度550℃で数時間加熱灰化し、放冷後、恒量（ W_2 ）を求める。灰化前の測定試料の質量に対する、灰化後の測定試料の質量の割合を下式により計算し、得られた灰分（g/100g）からホエイタンパク質含有原料100質量%に含まれる灰分含量（質量%）を求める。

[0032] [数3]

$$\text{灰分含量 (g/100g)} = [(W_2 - W_0) / (W_1 - W_0)] \times 100$$

W_0 : 恒量とした磁製るつぼの質量 (g)

W_1 : 試料を入れた磁製るつぼの灰化前の重量 (g)

W_2 : 試料を入れた磁製るつぼの灰化後の重量 (g)

[0033] (2) 製造方法

ホエイタンパク質含有原料を加水分解する方法は、タンパク質を加水分解する方法であればよく、その限りにおいて特に制限されるものではない。例えば、タンパク質分解酵素（プロテアーゼ）で処理する方法、酸またはアルカリ存在下で加熱処理する方法等を例示することができる。好ましくはタンパク質分解酵素で処理する方法である。

[0034] 当該酵素処理に使用するタンパク質分解酵素は、タンパク質のペプチド結合を加水分解する作用を有するものであればよく、例えばペプシン、キモトリプシン、トリプシン、パンクレアチンなどの動物由来のプロテアーゼ；パパン、プロメライン、フィシンなどの植物由来プロテアーゼ；微生物（乳酸菌、枯草菌、糸状菌、放線菌、カビ、酵母等）に由来するエンドプロテアーゼまたはエキソプロテアーゼ；及びこれらの粗精製物、菌体破砕物等が挙げられる。これらは1種単独で使用してもよいし、また2種以上を任意に組み合わせ使用することもできる。好ましくは微生物由来、特に糸状菌由来のエンドプロテアーゼである。

[0035] またプロテアーゼは、セリンプロテアーゼ（例えば、トリプシン、*Bacillus subtilis*由来、*Streptomyces*属由来、*Aspergillus*属由来アルカリプロテアーゼ等）、チオールプロテアーゼ（例えば、パパンなど）、金属プロテアーゼ（例えば、*Bacillus subtilis*由来、*Streptomyces*属由来、*Aspergillus*属由来中性プロテアーゼ等）、及びアスパラギン酸プロテアーゼ（例えば、ペプシン、レンニン、*Aspergillus*属由来酸性プロテアーゼ）に分類することができる。

[0036] 好ましくは*Aspergillus*属由来プロテアーゼである。かかるプロテアーゼとして、商業的に入手できるプロテアーゼとしては、具体的には、プロテアーゼM「アマノ」SD、プロテアーゼP「アマノ」3SD（以上、天野エンザイム社製）、「コクラーゼP顆粒」（三菱化学フーズ社製）、「フレーバーザイム」（ノボザイムズ社製）、「スミチームFP」（新日本科学社製）などが挙げられる。

- [0037] プロテアーゼによりホエイタンパク質を加水分解する場合に採用するpH、温度条件および反応時間等の条件は、使用するプロテアーゼの種類および組合せ、並びに加水分解処理するホエイタンパク質の量に応じて適宜選択調整することができる。
- [0038] 制限されないものの、例えば、*Aspergillus*属由来の酸性プロテアーゼにより前述するホエイを加水分解する方法を例に挙げると、ホエイをpH3.5～6.5、好ましくはpH4.5～5.5に調整し、このホエイに*Aspergillus*属由来の酸性プロテアーゼを添加し、ゆっくりと攪拌しながら、30～60℃、好ましくは35～55℃にて2～24時間反応させればよい。
- [0039] ホエイタンパク質含有原料を酸存在下で加熱処理する場合、用いる酸剤は特に限定するものではないが、例えば塩酸、硝酸、硫酸、シュウ酸などが挙げられる。また、処理条件は特に限定されるものではないが、求める加水分解の程度によって任意に選択することができる。例えば、酸濃度0.1～3mol/L、加熱温度30～100℃、加熱時間1～50時間の範囲で適宜条件を選択すればよい。
- [0040] ホエイタンパク質含有原料をアルカリ存在下で加熱処理する場合、用いるアルカリ剤は特に限定するものではないが、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウムなどが挙げられる。また、処理条件は特に限定されるものではないが、求める加水分解の程度によって任意に選択することができる。例えば、アルカリ濃度0.1～3mol/L、加熱温度30～100℃、加熱時間1～50時間の範囲で適宜条件を選択すればよい。
- [0041] (3) 生成物：ホエイタンパク質加水分解物
- ホエイタンパク質含有原料をプロテアーゼ処理、酸存在下で加熱処理、またはアルカリ存在下で加熱処理をすることで得られるホエイタンパク質加水分解物の平均分子量（数平均分子量）は、特に限定するものではないが、通常5000以下程度であることが好ましく、より好ましくは200～1000である。なお、この平均分子量はゲルろ過クロマトグラフィーにより測定することができる。この場合、「校正曲線」の作成に使用される標準ポリマ

ーと溶離液としてはそれぞれプルラン及び水溶液を挙げることができる。

[0042] ホエイタンパク質含有原料を上記の方法で加水分解処理して得られる反応処理物は、そのままホエイタンパク質加水分解物として用いてもよいが、分画処理、固液分離処理、濾過処理、濃縮処理、乾燥処理、滅菌処理等の各種の処理に供した後、ホエイタンパク質加水分解物として用いることもできる。つまり、ホエイタンパク質加水分解物は、ホエイタンパク質含有原料を加水分解処理して得られる物質の集合物であり、それらにはホエイタンパク質そのものの加水分解物であるホエイペプチドやアミノ酸が含まれる。

[0043] 斯くして調製されるホエイタンパク質加水分解物は、後述する実験例 1 に示すように、原料として脂質含量が 1 質量%未満であるホエイタンパク質含有原料を用いて製造することで、脂質含量が 4 質量%より多いホエイタンパク質含有原料を用いた場合よりも、ホエイタンパク質加水分解物特有の臭いが低減されており、またホエイタンパク質加水分解物特有の好ましくない苦味や雑味が低減されて良好な風味を有している。また、上記方法で調製されるホエイタンパク質加水分解物は、後述する実験例 2 に示すように、原料として乳糖含量が 1 質量%未満であるホエイタンパク質含有原料を用いて製造することで、乳糖含量が 4 質量%より多いホエイタンパク質含有原料を用いた場合よりも、経時的に生じる着色が抑制されている。

[0044] 得られたホエイタンパク質加水分解物は、易吸収性のペプチド素材または機能性ペプチド素材として、食品（飲料を含む。以下同じ。）、医薬品、医薬部外品、化粧品、または化成品などの物品に配合して使用することができる。ここで食品には、一般食品、健康食品、スポーツ用食品、高齢者用食品、及び経口・経腸栄養剤が含まれる。また健康食品には、サプリメント、特定保健用食品、保健機能食品、栄養機能食品、栄養補助食品、及び機能性表示食品が含まれる。これらの食品は、粉末、顆粒、タブレット、ゼリー、ドリンク（アンプル）、硬カプセル、軟カプセルの製剤形態を有するものも含まれる。

[0045] (II) ホエイタンパク質加水分解物の臭い低減、風味向上、または着色抑制

方法

本発明はまたホエイタンパク質加水分解物の臭い低減方法、風味向上方法、または着色抑制方法を提供する。

[0046] ホエイタンパク質加水分解物の臭い低減方法は、脂質含量が1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を加水分解処理してホエイタンパク質加水分解物を調製することで実施することができる。当該ホエイタンパク質含有原料は、さらに乳糖含量が1質量%未満であってもよい。かかるホエイタンパク質含有原料、加水分解処理方法、及び得られるホエイタンパク質加水分解物については上記(1)に記載した通りであり、その記載はここに援用することができる。

[0047] ホエイタンパク質加水分解物の風味向上方法は、脂質含量が1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を加水分解処理してホエイタンパク質加水分解物を調製することで実施することができる。当該ホエイタンパク質含有原料は、さらに乳糖含量が1質量%未満であってもよい。かかるホエイタンパク質含有原料、加水分解処理方法、及び得られるホエイタンパク質加水分解物については上記(1)に記載した通りであり、その記載はここに援用することができる。

[0048] ホエイタンパク質加水分解物の経時的着色を抑制する方法は、乳糖含量が1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を加水分解処理してホエイタンパク質加水分解物を調製することで実施することができる。当該ホエイタンパク質含有原料は、さらに脂質含量が1質量%未満であってもよい。かかるホエイタンパク質含有原料、加水分解処理方法、及び得られるホエイタンパク質加水分解物については上記(1)に記載した通りであり、その記載はここに援用することができる。

[0049] 以上、本明細書において、「含有する」という用語は「から本質的になる」及び「からなる」という用語を包含するものとして用いられる。

実施例

[0050] 以下、本発明の構成及び効果をより理解しやすくする目的で、実験例及び

実施例を挙げる。但し、本発明はこれらの実験例及び実施例によって制限を受けるものではない。なお、下記の実験例における工程、処理、又は操作は、特に言及がない場合、室温及び大気圧条件下で実施される。室温は10～40℃の範囲内の温度を意味する。

[0051] 実験例 1

タンパク質加水分解する前のホエイタンパク質含有原料に含まれる脂質含量と、加水分解後のホエイタンパク質加水分解物の臭い（不快臭）及び風味との関係を調べた。

[0052] (1) 試料の調製

脂質含量及び乳糖含量の異なるホエイタンパク質含有原料6種（ホエイA～F）を用意し、試験に供した。各ホエイタンパク質含有原料（ホエイA～F）の組成（タンパク質含量、脂質含量、灰分含量、乳糖含量）を表1に示す。なお、ホエイタンパク質含有原料のタンパク質含量、脂質含量及び灰分含量は、それぞれ前述するケルダール法、酸分解法及び直接灰化法に従って求めた。また乳糖含量は、前述する通り、ホエイタンパク質含有原料に含まれるタンパク質、脂質、及び灰分の量以外の量として、計算から求めた。

[0053] [表1]

ホエイタンパク質含有原料の組成(100質量%)

	タンパク質	脂質	灰分	乳糖
ホエイ A	98.0	0.2	1.8	0.0
ホエイ B	92.0	0.7	2.4	4.9
ホエイ C	86.4	5.3	3.8	4.5
ホエイ D	75.7	4.9	2.7	16.7
ホエイ E	66.1	8.7	3.4	21.8
ホエイ F	79.4	11.4	3.4	5.8

[0054] 各ホエイタンパク質含有原料（ホエイA～F）（以下これを「基質」とも称する）10gを水190gに溶解した基質液に、プロテアーゼM（商品名「プロテアーゼM『アマノ』SD」、アマノエンザイム(株)製、日本）またはプロテアーゼP（商品名「プロテアーゼP『アマノ』3SD」、アマノエンザイム(株)製、日本）を各々0.2g添加（基質重量100質量部（10g）に対して2質量部

になる割合で添加)し、50℃で15時間反応させた。次いで、80℃で60分間の加熱処理により酵素を失活させ、合計12種類(酵素2種×ホエイタンパク質6種)のホエイタンパク質加水分解液を得た。

[0055] (2) 実験方法

得られた各ホエイタンパク質加水分解液の5倍希釈液(以下、これを「試料」と称する)を用いて、20代から40代の男女10名からなる、ホエイタンパク質加水分解液の臭いと味についてよく訓練された被験者パネルによる官能試験を行い、ホエイタンパク質加水分解液の(A)臭い、及び(B)風味を評価した。

[0056] 具体的には、臭いの評価は、被験者パネル(n=10)に、室温に調整した試料を、口に含まず、その臭いを鼻でかいでもらい、下記の基準(臭い強度)に従って6段階評価をしてもらった。

[0057] [臭い判断基準]

- 0: 臭いを全く感じない
- 2: 臭いを知覚できる程度に感じる(不快ではない)
- 4: わずかに不快臭を感じる
- 6: 強くはないが、不快臭を感じる
- 8: 不快臭を感じる
- 10: 強い不快臭を感じる。

[0058] また風味の評価は、被験者パネル(n=10)に、室温に調整した試料を口に含んだ際に感じる味と口に広がり鼻腔に抜ける臭いを、下記の基準に従って7段階で総合的に評価を行ってもらった。具体的には、脂質含量の最も低いホエイAの加水分解液の5倍希釈液の風味を「基準0」とした下記の判断基準に基づいて官能評価を行った。なお、ここで「好ましい風味: +3」とは「苦味や雑味が少なく、また不快臭がなく、飲みやすい風味」を意味する。

[0059] [風味判断基準]

- +5: 非常に好ましい風味
- +3: 好ましい風味

- +1 : やや好ましい風味
- 0 : ホエイ A と同等
- 1 : やや好ましくない風味
- 3 : 好ましくない風味
- 5 : 非常に好ましくない風味。

[0060] (3) 実験結果

(A) 臭い評価

各被験者パネルの臭い評価結果の平均値と試験に使用したホエイタンパク質含有原料の脂質含量との相関を示した結果を、ホエイタンパク質含有原料の加水分解処理に使用した酵素（プロテアーゼM、プロテアーゼP）別に、図1（A）（プロテアーゼM）及び図1（B）（プロテアーゼP）に示した。

[0061] これらの結果からわかるように、タンパク質加水分解処理する前のホエイタンパク質含有原料に含まれる脂質含量が高くなるほど、加水分解処理後のホエイタンパク質加水分解物の臭い（不快臭）は強くなり、ホエイタンパク質含有原料中の脂質含量とホエイタンパク質加水分解物の臭い（強度）との間に正の相関関係が認められた。つまり、ホエイタンパク質加水分解物の調製に使用するホエイタンパク質含有原料に含まれる脂質含量が少ないほうが、臭いの少ないホエイタンパク質加水分解物が得られることが判明した。

[0062] (B) 風味評価

各被験者パネルの風味評価結果の平均値と試験に使用したホエイタンパク質含有原料の脂質含量との相関を示した結果を、ホエイタンパク質含有原料の加水分解処理に使用した酵素（プロテアーゼM、プロテアーゼP）別に、図2（A）（プロテアーゼM）及び図2（B）（プロテアーゼP）に示した。

[0063] これらの結果からわかるように、タンパク質加水分解する前のホエイタンパク質含有原料に含まれる脂質含量が高くなるほど、加水分解後のホエイタンパク質加水分解物の風味の好ましさは低下し、ホエイタンパク質含有原料

中の脂質含量とホエイタンパク質加水分解物の風味の良さとの間に負の相関関係が認められた。つまり、ホエイタンパク質加水分解物の調製に使用するホエイタンパク質含有原料に含まれる脂質含量が少ないほうが、風味が良好なホエイタンパク質加水分解物が得られることが判明した。

これらのことから、臭いが少なく、風味（苦味や雑味、及び不快臭）が良好なホエイタンパク質加水分解物を調製するためには原料（基質）として脂質含量の少ないホエイタンパク質含有原料、好ましくは脂質含量が1質量%以下、より好ましくは1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を使用することが必要であるといえる。

[0064] 実験例2

タンパク質加水分解する前のホエイタンパク質含有原料に含まれる乳糖含量と、加水分解後のホエイタンパク質加水分解物の経時的着色との関係を調べた。

[0065] (1) 実験方法

実験例1で調製した12種類のホエイタンパク質加水分解液〔酵素2種（プロテアーゼM、プロテアーゼP）×ホエイタンパク質6種（ホエイA～F）〕を、80℃の暗所条件下に2日間保存した際の保存前後の着色を吸光度（420nm）で測定し、比較した。

[0066] (2) 実験結果

ホエイタンパク質加水分解液の保存前後の吸光度（420nm）の差と試験に使用したホエイタンパク質含有原料の乳糖含量との相関を示した結果を、ホエイタンパク質含有原料の加水分解処理に使用した酵素（プロテアーゼM、プロテアーゼP）別に、図3（A）（プロテアーゼM）及び図3（B）（プロテアーゼP）に示す。

[0067] これらの結果からわかるように、タンパク質加水分解処理する前のホエイタンパク質含有原料に含まれる乳糖含量が高くなるほど、加水分解処理後のホエイタンパク質加水分解物の経時的着色の程度が強くなり、原料中の乳糖含量とホエイタンパク質加水分解物の着色との間に正の相関関係が認められ

た。つまり、ホエイタンパク質加水分解物の調製に使用するホエイタンパク質含有原料に含まれる乳糖含量が少ないほうが、経時的着色の程度が低いホエイタンパク質加水分解物が得られることが判明した。このことから、ホエイタンパク質加水分解物の経時的着色を低く抑えるためには原料（基質）として脂質含量に加えて乳糖含量の少ないホエイタンパク質含有原料、好ましくは乳糖含量が1質量%以下、より好ましくは1質量%未満のホエイタンパク質含有原料を使用することが必要であるといえる。