

明 細 書

発明の名称： ナッツミルクの凝集防止

技術分野

[0001] 本発明はナッツミルクに関する。詳しくは、分散性が向上した（凝集し難い）ナッツミルク及びその用途等に関する。本出願は、２０１９年２月２１日に出願された日本国特許出願第２０１９－０２９９０４号に基づく優先権を主張するものであり、当該特許出願の全内容は参照により援用される。

背景技術

[0002] アレルギー問題や菜食主義者の増加、宗教上の理由などを背景に、牛乳に代表される、動物由来の乳タンパク源を用いた食品飲料の代替原料として、植物起源である大豆由来のタンパク質が普及するようになった。しかし、普及が進むにつれ大豆もアレルギーを引き起こすことが分かり、近年、大豆に代わる植物由来のタンパク質原料の開発が盛んになっている。実際、エンドウ、米、オートといった穀物由来のタンパク質や、アーモンド、カシューナッツ、ピーナッツといったナッツタンパク質が大豆の代替として、次々と食品や飲料として商品化されており、アレルギー回避のための大豆に代わる他の植物由来のタンパク質原料の多様化の必要性や要望は高いといえる。

[0003] 一方、乳タンパク質原料を植物由来のタンパク質原料に置き換える場合、タンパク質の種類や機能性、あるいは香りや味を構成する成分が異なることから、そのまま置き換えることができない事例が散見される。例えば、アーモンドミルクやピーナッツミルクといったナッツミルクを牛乳の代替としてコーヒー、紅茶などの酸性飲料に添加すると凝集することが知られている。通常、このような凝集は牛乳では発生せず、ナッツミルクに特有の現象といえる。

[0004] 本発明者らの知る限り、ナッツミルクの酸性液体食品への添加時に起こるタンパク質凝集の機構やその対処策を明確に示した報告（文献等）はない。消費者間での対処策（例えばナッツミルクとコーヒーの温度差を少なくした

上で混合することや、ナッツミルクにコーヒーをゆっくりと注ぐことなどの試行錯誤は認められるものの、いまだ根本的に解決するに至っていない。

[0005] 一方で、乳タンパク質は等電点付近の酸性条件下では分散安定性が不安定となり、酸性乳飲料においては、沈殿や凝集等が生じやすくなるという問題が知られている。この乳タンパク質の凝集を防ぐため、例えば、ペクチンやカルボキシメチルセルロースといった多糖類が添加される（例えば特許文献1、2を参照）。このような分散安定剤を用いることでナッツタンパク類の凝集も防止できる可能性はあるものの、添加剤の使用が不可欠となる。また、多糖類を採用した場合、添加量によっては粘性が上昇するといった副効果が起こる可能性もある。

[0006] 添加剤を加えずに乳タンパク質の凝集を防ぐことに関して、タンパク質脱アミド酵素処理したコーヒーホワイトナーが提案されている（特許文献3）。しかしながら、当該コーヒーホワイトナーは乳化剤を含む製品となり、その用途はコーヒーや紅茶といったホワイトナーが使用されるものに限定される。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：国際公開第2012/176852号パンフレット

特許文献2：特許第3885194号公報

特許文献3：国際公開第2011/108633号パンフレット

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] ナッツミルクに特有ともいえる凝集現象は、今後一層の需要の増大や用途の拡大が見込まれるナッツミルクの価値（利用価値、商品価値など）を低下させる。そこで、ナッツミルクの価値を高め、その利用ないし応用の促進を図るべく、本発明は、ナッツミルクの凝集防止に有効な手段を創出すること、特に、添加剤を加えずとも液体飲料（特に酸性液体飲料）や液体食品（特

に酸性液体食品)用途で凝集しにくいナッツミルクを提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0009] 上記課題に鑑み検討を重ねる中、本発明者らはタンパク質の脱アミド化に着眼し、タンパク質脱アミド酵素で処理することによりナッツミルクの分散性向上を試みた。尚、これまで、ナッツミルクにタンパク質脱アミド酵素を使用した例は報告がない。

[0010] まず、ナッツミルクの典型的な用途の一つといえるコーヒーへの添加に関して、タンパク質脱アミド酵素による処理が凝集防止に有効か否かを調べた。驚くべきことに、酵素処理後のアーモンドミルクを使用するとタンパク凝集が生じなかった。この知見を基に、様々な用途を想定した詳細な実験を施行した結果、タンパク質脱アミド酵素による処理がナッツミルク一般の分散性向上に極めて有効であることが明らかとなった。言い換えれば、ナッツミルクの凝集防止に有効な手段が見出され、分散性が向上し、乳化剤等の添加物を使用しなくとも凝集し難いナッツミルクの調製に成功した。また、各種飲料や食品にナッツミルクを利用する際に有益な多くの知見がもたらされた。これらの成果に基づき、以下の発明が提供される。尚、上掲の通り、コーヒーホワイトナーの分散性向上にタンパク質脱アミド酵素を使用することが提案されているが、コーヒーホワイトナーは一般に、食用油脂を主原料とし、乳化剤、必要に応じて乳成分、増粘剤、香料等を添加した乳化液を高圧ホモゲナイザー等のせん断力に優れた乳化機で均質化処理をして調製されるものであり、ナッツミルクとはその原料、組成、調製方法等が全く異なる。従って、コーヒーホワイトナーの分散性向上に有効な手段のナッツミルクに対する有効性はもとより、その適用の可能性さえ、到底予測できない。

[1] タンパク質脱アミド酵素による処理が施されたナッツミルク。

[2] 原料のナッツが、アーモンド、カシューナッツ、ヘーゼルナッツ、ペカンナッツ、マカダミアナッツ、ピスタチオ、クルミ、ブラジルナッツ、ピーナッツ、ココナッツ、栗、ゴマ及び松の実から選択される一又は二以上

のナッツである、〔１〕に記載のナッツミルク。

〔３〕ナッツタンパク質濃度が0.2% (w/v) ～10.0% (w/v) である、〔１〕又は〔２〕に記載のナッツミルク。

〔４〕前記処理によって分散性が向上している、〔１〕～〔３〕のいずれか一項に記載のナッツミルク。

〔５〕弱酸性～弱アルカリ性の液体に混合した場合（但し、混合液のpHが5以上）にタンパク凝集が生じない、〔４〕に記載のナッツミルク。

〔６〕前記液体のpHが5～7である、〔５〕に記載のナッツミルク。

〔７〕前記液体が、コーヒー、コーヒー飲料、茶、茶飲料、果汁、果汁飲料、スポーツ飲料、栄養補給飲料、スープ、カレー、ココア及びチョコレート飲料からなる群より選択される、飲料又は液体食品である、〔５〕に記載のナッツミルク。

〔８〕凝集防止のための、乳化剤及び増粘多糖類を含有しない、〔１〕～〔７〕のいずれか一項に記載のナッツミルク。

〔９〕タンパク質脱アミド酵素がクリセオバクテリウム属微生物由来の酵素である、〔１〕～〔８〕のいずれか一項に記載のナッツミルク。

〔１０〕クリセオバクテリウム属微生物が、クリセオバクテリウム・プロテオリティカムである、〔９〕に記載のナッツミルク。

〔１１〕ナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理することを特徴とする、分散性が向上したナッツミルクの製造方法。

〔１２〕以下のステップ（１）及び（２）を含む、〔１１〕に記載の製造方法：

- （１）ナッツミルクを用意するステップ、
- （２）（１）で用意したナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理するステップ。

〔１３〕ステップ（１）のナッツミルクが加熱殺菌前のナッツミルクである、〔１２〕に記載の製造方法。

〔１４〕更に以下のステップ（３）を含む、〔１３〕に記載の製造方法：

(3) 加熱処理するステップ。

[15] [1] ~ [10] のいずれか一項に記載のナッツミルクが配合された飲料又は液体食品。

[16] pHが5以上の飲料又は液体食品である、[15]に記載の飲料又は液体食品。

[17] コーヒー飲料、コーヒーホワイトナー、茶飲料、果汁飲料、スポーツ飲料、栄養補給飲料、スープ、カレー、ココア飲料及びチョコレート飲料からなる群より選択される飲料又は液体食品である、[15]に記載の飲料又は液体食品。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]実験結果（ナッツミルクのタンパク質濃度と凝集／凝集防止効果との関係）のまとめ。

[図2]実験結果（液体のpHと凝集／凝集防止効果との関係）のまとめ。

[図3]実験結果（各種液体での凝集防止効果）のまとめ。尚、実験1（コーヒーでの凝集防止）の結果も併記した。

[図4]実験結果（アーモンドミルク以外のナッツミルクでの凝集防止効果）のまとめ。

[図5]実験結果（液体の温度と凝集／凝集防止効果との関係）のまとめ。

[図6]実験結果（酵素処理条件（酵素添加量、反応温度、反応時間）の検討）のまとめ。

発明を実施するための形態

[0012] 1. 分散性が向上したナッツミルク

本発明の第1の局面は分散性が向上したナッツミルク（ナッツタンパク質含有飲料とも呼ばれる）に関する。本発明のナッツミルクは、タンパク質脱アミド酵素による処理が施されており、当該処理の結果、その分散性が向上している。本発明のナッツミルクは優れた分散性を示すため、分散性を高めるための添加剤（例えば、乳化剤、増粘多糖類（ペクチン、カルボキシメチルセルロース等）、塩類）を使用しなくとも、例えばコーヒーや紅茶等の飲

料に添加した際に凝集し難い。この特性によって様々な飲料や食品への利用が可能になる。

- [0013] アーモンドミルクに代表されるナッツミルクは、ナッツ類を原料にした植物性ミルクであり、一般に、脱核したナッツの粉碎、浸水／溶解、混合／攪拌、濾過、均質化、殺菌等の工程によって調製される。本発明に用いるナッツミルクの調製方法は特に限定されない。また、原料メーカーが提供する、或いは市販のナッツミルクを購入し、本発明に用いることにしてもよい。
- [0014] ナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理し、その分散性を向上させることにより、本発明のナッツミルクが得られる。以下、説明の便宜上、タンパク質脱アミド酵素による処理に供するナッツミルクを「未処理ナッツミルク」と呼称する。
- [0015] 未処理ナッツミルクの原料であるナッツは特に限定されない。原料のナッツの例を挙げるとアーモンド、カシューナッツ、ヘーゼルナッツ、ペカンナッツ、マカダミアナッツ、ピスタチオ、クルミ、ブラジルナッツ、ピーナッツ、ココナッツ、栗、ゴマ及び松の実である。
- [0016] 二種類以上のナッツを併用（例えばアーモンドとカシューナッツの併用やアーモンドとピーナッツの併用）した未処理ナッツミルクを用いることもできる。
- [0017] 未処理ナッツミルク中のタンパク質濃度は特に限定されないが、タンパク質濃度が例えば0.2% (w/v) ～10.0% (w/v)、好ましくは0.2% (w/v) ～8.0% (w/v)、更に好ましくは0.2% (w/v) ～5.0% (w/v) の未処理ナッツミルクが用いられる。尚、タンパク質脱アミド酵素処理後のナッツミルクのタンパク質濃度も同様に、例えば0.2% (w/v) ～10.0% (w/v)、好ましくは0.2% (w/v) ～8.0% (w/v)、更に好ましくは0.2% (w/v) ～5.0% (w/v) である。
- [0018] 本発明に使用されるタンパク質脱アミド酵素は、タンパク質のアミド基に直接作用してペプチド結合の切断及びタンパク質の架橋を伴わず脱アミドする作用を有する。当該作用を示す酵素であれば、その種類や由来等は特に限

定されるものではない。タンパク質脱アミド酵素の例として、特開2000-50887号公報、特開2001-218590号公報、WO2006/075772等の開示された、クリセオバクテリウム (*Chryseobacterium*) 属、フラボバクテリウム (*Flavobacterium*) 属、エンペドバクター (*Empedobacter*) 属、スフィンゴバクテリウム (*Sphingobacterium*) 属、アウレオバクテリウム (*Aureobacterium*) 属又はミロイデス (*Myroides*) 属由来のタンパク質脱アミド酵素、市販されているクリセオバクテリウム属由来のプロテイングルタミナーゼ等を挙げることができる。好ましくはクリセオバクテリウム属由来の酵素(具体例はクリセオバクテリウム・プロテオリティカム由来の酵素(例えば、天野エンザイム株式会社製、プロテイングルタミナーゼ「アマノ」500))が用いられる。

[0019] タンパク質脱アミド酵素は、タンパク質脱アミド酵素を産生する微生物の培養液より調製したものを用いることができる。タンパク質脱アミド酵素の調製に用いられる微生物は特に限定されないが、当該酵素を産生する微生物であって、例えば、クリセオバクテリウム属、フラボバクテリウム属、エンペドバクター属、スフィンゴバクテリウム属、アウレオバクテリウム属、又はミロイデス属に属する微生物を用いることができる。タンパク質脱アミド酵素の調製に好適な微生物の具体例として、クリセオバクテリウム属に属するクリセオバクテリウム・エスピー (*Chryseobacterium* sp.) No.9670を挙げることができる。

[0020] 例えば、上記の微生物の培養液又は菌体よりタンパク質脱アミド酵素を得ることができる。即ち、分泌型タンパク質であれば培養液より、それ以外であれば菌体内より回収することができる。培養液からタンパク質脱アミド酵素を調製する方法は、公知のタンパク質分離、精製方法(遠心分離、UF濃縮、塩析、イオン交換樹脂等を用いた各種クロマトグラフィー等)を用いることができる。例えば、培養液を遠心分離して菌体を除去し、その後塩析、クロマトグラフィー等を組み合わせて目的の酵素を得ることができる。菌体内から酵素を回収する場合には、例えば菌体を加圧処理、超音波処理などによ

って破碎した後、上記と同様に分離、精製を行うことにより目的の酵素を取得することができる。尚、ろ過、遠心処理などによって予め培養液から菌体を回収した後、上記一連の工程（菌体の破碎、分離、精製）を行ってもよい。酵素は凍結乾燥、減圧乾燥等の乾燥法により粉末化してもよいし、その際に適当な賦形剤、乾燥助剤を用いてもよい。

[0021] 本願において、タンパク質脱アミド酵素の活性は以下の方法で測定する。

(1) 30mM Z-Gln-Glyを含む0.2Mリン酸バッファー (pH6.5) 1mlにタンパク質脱アミド酵素を含む水溶液0.1mlを添加して、37℃、10分間インキュベートした後、0.4M TCA溶液を1ml加えて反応を停止する。ブランクとして、30mM Z-Gln-Glyを含む0.2Mリン酸バッファー (pH6.5) 1mlと0.4M TCA溶液を1ml加えたものに、タンパク質脱アミド酵素を含む水溶液0.1mlを添加して、37℃で10分間インキュベートしたものを調製する。

(2) (1) で得られた溶液についてアンモニアテストワコー（和光純薬）を用い、反応により生じたアンモニア量の測定を行う。アンモニア標準液（塩化アンモニウム）を用いて作成したアンモニア濃度と吸光度（630nm）の関係を表す検量線より、反応液中のアンモニア濃度を求める。

(3) タンパク質脱アミド酵素の活性は、1分間に1 μ molのアンモニアを生成する酵素量を1単位とし、以下の式から算出する。

酵素活性 (U/mL) = 反応液中のアンモニア濃度 (mg/L) $\times$ (1/17.03) $\times$ (反応液量/酵素溶液量) $\times$ (1/10) $\times$ Df

（式中、反応液量は2.1、酵素溶液量は0.1、Dfは酵素溶液の希釈倍率である。また、17.03はアンモニアの分子量）

[0022] ナッツミルクの分散性向上に有効である限り、タンパク質脱アミド酵素による処理の条件は特に限定されず、反応温度、反応時間及び酵素添加量（酵素濃度）を調整し、最適な反応条件を設定すればよい。

[0023] この例に限定されるわけではないが、反応温度は、例えば2℃～70℃の範囲内、好ましくは5℃～60℃の範囲内、更に好ましくは15℃～50℃の範囲内で設定すればよい。同様に、反応時間は、例えば10分～7日の範囲内、好ましくは

30分～3日の範囲内、更に好ましくは1時間～1日の範囲内で設定すればよい。また、酵素添加量は、例えば0.01 (U/gタンパク質) ～500 (U/gタンパク質) の範囲内、好ましくは0.02 (U/gタンパク質) ～50 (U/gタンパク質) の範囲内、更に好ましくは0.2 (U/gタンパク質) ～5 (U/gタンパク質) の範囲内で設定すればよい。ここでの「U/gタンパク質」は、基質ナッツタンパク質(g)当たりのユニット数である。尚、上でも言及したとおり、未処理ナッツミルク中のタンパク質濃度は特に限定されないが、タンパク質濃度が例えば0.2% (w/v) ～10.0% (w/v) 、好ましくは0.2% (w/v) ～8.0% (w/v) 、更に好ましくは0.2% (w/v) ～5.0% (w/v) の未処理ナッツミルクがタンパク質脱アミド酵素による処理に供される。

[0024] ここで、タンパク質脱アミド酵素による処理条件を設定する際には、以下の指標 (a) ～ (c) に従うとよい。

(a) 反応温度を低くする場合は、反応時間を長くするか酵素添加量を多くする (或いはこの両方) 。

(b) 反応時間を短くする場合には、反応温度を高くする (但し、70℃を超えない温度、好ましくは60℃以下の温度とする) か酵素添加量を多くする (或いはこの両方) 。

(c) 酵素添加量を少なくする場合には、反応温度を高くする (但し、70℃を超えない温度、好ましくは60℃以下の温度とする) か反応時間を長くする (或いはこの両方) 。

[0025] 処理条件を設定する際のより具体的な指標を以下に例示する。

5℃ ≤ 反応温度 < 15℃ の場合は、反応時間を8時間を超える時間 (好ましくは24時間以上) 、又は酵素添加量を0.2 (U/gタンパク質) 以上 (好ましくは1 (U/gタンパク質) 以上) 、とする。

15℃ ≤ 反応温度 < 25℃ の場合は、反応時間を7時間を超える時間、又は酵素添加量を0.2 (U/gタンパク質) を超える量 (好ましくは1 (U/gタンパク質) 以上) 、とする。

25℃ ≤ 反応温度 < 40℃ の場合は、反応時間を5時間を超える時間 (好ましく

は7時間以上)、又は酵素添加量を0.2 (U/gタンパク質) 以上(好ましくは1 (U/gタンパク質) 以上)、とする。

40℃ $\leq$ 反応温度<50℃の場合は、反応時間を好ましくは3時間以上、又は酵素添加量を好ましくは0.2 (U/gタンパク質) 以上、とする。

50 $\leq$ 反応温度の場合(但し、70℃を超えない温度、好ましくは60℃以下の温度とする)は、反応時間を好ましくは3時間以上、又は酵素添加量を好ましくは0.2 (U/gタンパク質) 以上、とする。

[0026] 上記の通り、本発明のナッツミルクは分散性に優れ、タンパク凝集を生じにくい。典型的には、弱酸性(3 $\leq$ pH<6)～弱アルカリ性(8 $\leq$ pH<11)の液体に混合(添加)した場合(但し、混合液のpHが5以上)にタンパク凝集が生じない。タンパク凝集が生じない、混合後の液体のpHは例えば5～10、好ましくは5～9、更に好ましくは5～7である。本発明のナッツミルクが混合される液体(飲料、液体食品)は特に限定されず、その例としてコーヒー、コーヒー飲料、茶(紅茶、緑茶、ウーロン茶等。抽出液を還元したもの、抽出液を加工(例えば濃縮、凍結乾燥)後に還元したものを含む)、茶飲料(フレーバーティー、ミルクティー、果汁入り茶飲料等)、果汁、果汁飲料、スポーツ飲料、栄養補給飲料(プロテイン飲料、介護栄養飲料等)、スープ(ブイヨン系スープ、シチュー、チャウダー、ボルシチ、野菜スープ(例えばトマトスープ、コーンスープ、ポタージュ、パンプキンスープ)、みそ汁)、カレー、ココア、チョコレート飲料を挙げることができる。

[0027] 本発明の好ましい一態様では、分散性に優れ、タンパク凝集を生じにくいという特徴を活かし、凝集防止のための、乳化剤(グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、レシチン、サポニン等)、増粘多糖類(ペクチン、カルボキシメチルセルロース等)、塩類(食塩(sea salt)、カルシウム塩、リン酸塩等)等を含有しない。特に乳化剤と増粘多糖類を含有しない。このように本発明によれば、添加物の少ない又は添加物のない商品に対する消費者のニーズに応えるナッツミルクが提供される。尚、当該好ましい態様においても、凝集防止のためではなく、他の目的(具体的には例えば味、

風味の調整)での添加物の使用を妨げるものではない。

[0028] 以上の説明からもわかるように、本発明のナッツミルクは未処理ナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理することにより製造することができる。従って、典型的には、以下の工程(1)及び(2)を含む製造方法によって、本発明のナッツミルクが得られる。

(1) ナッツミルクを用意するステップ、

(2) (1)で用意したナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理するステップ。

[0029] ステップ(2)、即ち、タンパク質脱アミド酵素による処理は、ナッツミルクの加熱殺菌前又は加熱殺菌後のいずれに行ってもよい。但し、製造工程の簡素化のためにはナッツミルクの加熱殺菌前に当該ステップを行い、その後、タンパク質脱アミド酵素の失活を兼ねた加熱殺菌の工程を行うと良い(換言すれば、ステップ(2)をナッツミルクの製造工程に組み入れても良い)。従って、好ましい態様では、ステップ(2)の後に、「(3)加熱処理するステップ」を行う。加熱処理の条件は、タンパク質脱アミド酵素の失活及びナッツミルクの殺菌が可能であれば特に限定されない。例えば、温度70℃～150℃で1秒～5時間の処理を行う。

[0030] 2. ナッツミルクの用途

本発明の第2の局面は本発明のナッツミルクの用途に関する。本発明のナッツミルクは分散性に優れ、タンパク凝集が生じにくい。この特性が故に様々な飲料や液体食品への利用に適する。即ち、本発明のナッツミルクが配合された各種飲料、各種液体食品が提供される。

[0031] 後述の実施例に示すように、本発明者らの詳細な検討によって、(i)タンパク質脱アミド酵素の処理によって、凝集が生じないpH域を酸性側に広げることができること、(ii)飲料や液体食品等にナッツミルクを混合した際に生じるタンパク凝集はナッツミルク混合後の飲料等のpHに依存し、pH5以上であればタンパク凝集を生じないこと、が明らかとなった。この知見に鑑みれば、本発明のナッツミルクが配合された飲料又は液体食品のpHは5以上で

あることが好ましい。より具体的には、本発明のナッツミルクが配合された飲料又は液体食品のpHは好ましくは5～9、更に好ましくは5～8、更に更に好ましくは5～7.5である。

[0032] 飲料又は液体食品の例は、コーヒー飲料、コーヒーホワイトナー（例えば紅茶など、コーヒー以外への使用も想定される）、茶飲料（フレーバーティー、ミルクティー、果汁入り茶飲料等）、果汁飲料、スポーツ飲料、栄養補給飲料（プロテイン飲料、介護栄養飲料等）、各種スープ、カレー、ココア飲料、チョコレート飲料である。この例からもわかるように、中性の飲料や液体食品等に限らず、弱酸性の飲料や液体食品等にも本発明を利用できる。

[0033] ナッツミルクは、例えば、飲料又は液体食品の製造過程の途中で他の原材料に混合される。好ましくは、製造過程の最終段階、即ち、他の原材料が混合され、加工された後（製品としての形態／形状となっている段階）にナッツミルクを混合する。但し、その後に殺菌処理や、味の調整や品質の保持等を目的とした調味料、保存料、香料、酸化防止剤等の添加等が行われてもよい。一方、製造過程が完了した後の飲料又は液体食品（即ち、中間製品ではなく最終製品の形態であるもの）にナッツミルクを混合することも好ましい一態様である。この態様の場合、飲料又は液体食品の製造工程を変えることなく本発明を適用可能となる。

実施例

[0034] 1. コーヒーでの凝集防止

市販のアーモンドミルク（Rude社製、タンパク含量1.5%、原材料：アーモンド、水）100mLにプロテイングルタミナーゼ「アマノ」500（天野エンザイム社製、500U/g）を、アーモンドミルク中のタンパク質1g当たり1U添加し、50℃で5時間反応させた（脱アミド反応）。95℃で20分間処理して酵素を熱失活させた後、5℃に冷やし、酵素処理アーモンドミルクとした。

[0035] 市販のインスタントコーヒーを湯に溶解し、コーヒー液（2%）を調製した。コーヒー液150mLに酵素処理アーモンドミルク20-30mLを添加したところ（酵素処理アーモンドミルク添加後のpHは5.7）、凝集は認められなかった。対

照的に、非酵素処理アーモンドミルクを用いた場合、明らかな凝集を認めた。尚、アーモンドミルクに代えてピーナッツミルクを用い、同条件で実験したところ、同様の結果（酵素処理ピーナッツミルクでは凝集が生じない）であった。

[0036] 2. ナッツミルクのタンパク質濃度と凝集／凝集防止効果との関係

＜酵素処理無し＞

（１）方法

市販のアーモンドミルク（Rude社製、タンパク含量1.5%、原材料：アーモンド、水）をタンパク濃度0.1、0.5、1.5%（w/v）となるように水道水で希釈したのち、5℃に冷やし各5mLずつを50mLの90℃に加温されたコーヒー溶液に添加し、凝集の有無を確認した。

[0037] （２）結果

いずれのタンパク質濃度のアーモンドミルクも凝集が認められた（図1）。

[0038] ＜酵素処理有り＞

（１）方法

市販のアーモンドミルク（Rude社製、タンパク含量1.5%、原材料：アーモンド、水）にプロテイングルタミナーゼ「アマノ」500（天野エンザイム社製、500U/g）を、アーモンドミルク中のタンパク質1g当たり1U添加し、50℃で5時間反応させた（脱アミド反応）。90℃で15分間処理して酵素を熱失活させ、酵素処理アーモンドミルクとした。酵素処理アーモンドミルクをタンパク濃度0.1、0.5、0.75、1.0、1.5%（w/v）となるように水道水で希釈したのち、5℃に冷やし各5mLずつを50mLの90℃に加温されたコーヒー溶液に添加し、凝集の有無を確認した。

[0039] （２）結果

いずれのタンパク質濃度のアーモンドミルクも凝集が認められなかった（図1）。

[0040] 3. 液体のpHと凝集／凝集防止効果との関係

(1) 方法

塩酸又は水酸化ナトリウムでpH調整後、90℃に加温したお湯に15-20mLの非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルク（タンパク質濃度1.5%（w/v））を添加し、凝集を確認した。尚、酵素処理アーモンドミルクは上記2.の実験に記載した方法で調製した。

[0041] (2) 結果（図2）

非酵素処理アーモンドミルクの場合、添加後の混合溶液がpH2.5-7.0で凝集が認められた。一方、酵素処理アーモンドミルクでは、添加後の混合溶液がpH2.7-4.8で凝集が認められた。

[0042] 4. 各種液体での凝集防止効果

4-1. 紅茶

(1) 方法

市販の紅茶ティーパック（トワイニング社製、イングリッシュブラックファースト）に沸騰したお湯を注ぎ、2-3分抽出したのち、ティーパックを取り出し紅茶を調製した。この紅茶に非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルク（タンパク質濃度1.5%（w/v））を添加し、凝集の有無を確認した。アーモンドミルクを添加する直前の紅茶は80℃、pH5.2であった。また、アーモンドミルク添加後の紅茶のpHは5.9であった。尚、酵素処理アーモンドミルクは上記2.の実験に記載した方法で調製した。

[0043] (2) 結果（図3）

非酵素処理アーモンドミルクの場合、少しではあるが凝集が認められた。対照的に、酵素処理アーモンドミルクでは凝集が認められなかった。

[0044] 4-2. レモンティー

(1) 方法

市販の紅茶ティーパック（トワイニング社製、イングリッシュブラックファースト）に沸騰したお湯を注ぎ、2-3分抽出したのち、ティーパックを取り出し紅茶を調製した。この紅茶にレモン果汁を加え、pHを調整したのち、非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルク（タンパク質濃度1

.5% (w/v)) を添加し、凝集の有無を確認した。アーモンドミルクを添加する直前の紅茶は70℃であった。尚、酵素処理アーモンドミルクは上記2. の実験に記載した方法で調製した。

[0045] (2) 結果 (図3)

アーモンドミルク添加前のpHが3.5の場合、非酵素処理アーモンドミルクと酵素処理アーモンドミルクの両方で凝集が認められた。尚、非酵素処理アーモンドミルク添加後の紅茶のpHは3.9であり、酵素処理アーモンドミルク添加後の紅茶のpHは4.1であった。

[0046] 一方、アーモンドミルク添加前のpHが4.0の場合、非酵素処理アーモンドミルクは凝集が認められたが、酵素処理アーモンドミルクでは凝集が認められなかった。尚、非酵素処理アーモンドミルク添加後の紅茶のpHは4.9であり、酵素処理アーモンドミルク添加後の紅茶のpHは5.0であった。

[0047] 4-3. デカフェ

(1) 方法

市販のデカフェコーヒー粉末 (ネスレ社製、ネスカフェゴールド) に沸騰したお湯を注ぎ、良く溶かしデカフェコーヒー溶液を調製した。これに非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルク (タンパク質濃度1.5% (w/v)) を添加し、凝集の有無を確認した。アーモンドミルクを添加する直前のデカフェコーヒー溶液は80℃、pH5.3であった。また、アーモンドミルク添加後のデカフェコーヒー溶液のpHは5.8であった。尚、酵素処理アーモンドミルクは上記2. の実験に記載した方法で調製した。

[0048] (2) 結果 (図3)

非酵素処理アーモンドミルクは凝集が認められたが、酵素処理アーモンドミルクでは凝集が認められなかった。

[0049] 4-4. トマトスープ

(1) 方法

市販のチキンスープストック (ユニリーバ社製、クノールチキンキューブ) に、所定量の沸騰したお湯を注いでストックを完全に溶かし、チキンスー

プを調製したのち、市販のトマトピューレを加えた。ピューレの添加量を増減させトマトスープのpHを調整した後、非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルク（タンパク質濃度1.5%（w/v））を添加し、凝集の有無を確認した。アーモンドミルクを添加する直前のトマトスープは80℃であった。尚、酵素処理アーモンドミルクは上記2.の実験に記載した方法で調製した。

[0050] （2）結果（図3）

アーモンドミルク添加前のpHが5.0の場合、非酵素処理アーモンドミルクは凝集が認められたが、酵素処理アーモンドミルクでは凝集が認められなかった。尚、非酵素処理アーモンドミルク添加後のトマトスープのpH、酵素処理アーモンドミルク添加後のトマトスープのpHはいずれも5.4であった。

[0051] アーモンドミルク添加前のpHが4.0の場合、非酵素処理アーモンドミルクと酵素処理アーモンドミルクの両方で凝集が認められた。尚、非酵素処理アーモンドミルク添加後のトマトスープのpH、酵素処理アーモンドミルク添加後のトマトスープのpHはいずれも4.0であった。尚、トマトピューレに添加されているpH調整剤のクエン酸による緩衝能が強いため、アーモンドミルクを添加にしてもpHが変動せず、凝集したと考えられる。

[0052] 5. アーモンドミルク以外のナッツミルクでの凝集防止効果

（1）方法

市販のピーナッツミルク（Rude社製、タンパク含量2.0%、原材料：ピーナッツ、水）及び市販のカシューナッツミルク（PLENISH社製、タンパク含量0.9%、原材料：水、カシューナッツ、食塩）、ピスタチオミルク（Borna food社製、タンパク含量1.0%）、ヘーゼルナッツミルク（Plenish社製、タンパク含量0.6%）にプロテイングルタミナーゼ「アマノ」500（天野エンザイム社製、500U/g）を、ナッツタンパク質1g当たり1U添加し、50℃で5時間反応させた（脱アミド反応）。酵素反応後は速やかに90℃、15分処理して酵素を失活させ、流水中で冷却後、冷蔵庫にて5℃まで冷やしたのち、各5mLずつを50mLの90℃に加温されたコーヒー溶液に添加し、凝集の有無を確認した。

[0053] (2) 結果 (図4)

ピーナッツミルク、カシューナッツミルク、ピスタチオミルク、ヘーゼルナッツミルクのいずれも酵素処理なしでは凝集が認められたが、酵素処理した場合は凝集が認められなかった。この結果は、アーモンドミルク以外のナッツミルクにも酵素処理による同様の効果が得られることを示す。

[0054] 6. 液体の温度と凝集／凝集防止効果との関係

<コーヒーの温度を変動 (アーモンドミルクは5℃一定) >

(1) 方法

各温度に調整したコーヒー50mLに、5℃に冷却した非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルクを5mL添加し、凝集の有無を確認した。

[0055] (2) 結果 (図5)

非酵素処理アーモンドミルクではコーヒーの温度が60℃以上で凝集が認められ、温度が高くなるにつれ凝集量が増加した。一方、酵素処理アーモンドミルクでは凝集防止効果が認められた (コーヒーの温度60℃、90℃)。

[0056] <コーヒーの温度を変動 (アーモンドミルクは90℃一定) >

(1) 方法

各温度に調整したコーヒー50mLに、90℃に加温した非酵素処理アーモンドミルク又は酵素処理アーモンドミルクを5mL添加し、凝集の有無を確認した。

[0057] (2) 結果 (図5)

90℃のコーヒーに90℃の非酵素処理アーモンドミルクを添加しても凝集が認められた。また、50℃のコーヒーに90℃の非酵素処理アーモンドミルクを添加した場合も凝集が認められたが、40℃のコーヒーに90℃の非酵素処理アーモンドミルクを添加した場合には凝集が認められなかった。50℃のコーヒーに90℃の非酵素処理アーモンドミルクを添加した場合にはコーヒーの温度が一時的に高温になり、凝集が生じたと考えられる。また、混合後の温度が高い方 (50℃以上) が凝集しやすくなると考えられる。

[0058] 酵素処理アーモンドミルクを添加した場合 (40℃又は90℃のコーヒー) には、凝集が認められなかった。

[0059] 7. 酵素処理条件（酵素添加量、反応温度、反応時間）の検討

（1）方法

市販のアーモンドミルク（Rude社製、タンパク含量1.5%、原材料：アーモンド、水）にプロテイングルタミナーゼ「アマノ」を、アーモンドミルク中のタンパク質1g当たり0.2U、1U又は5U添加し、所定の温度（5℃、15℃、25℃、40℃又は50℃）で3－24時間反応させた（脱アミド反応）。酵素反応後は速やかに90℃、15分処理して酵素を失活させ、流水中で冷却後、冷蔵庫にて5℃まで冷やしたのち、各5mLずつを50mLの90℃に加温されたコーヒー溶液に添加し、凝集の有無を確認した。

[0060] （2）結果（図6）

酵素添加量、反応温度、反応時間に応じて効果が変わるが、これらの条件の調整によって凝集を防止できることがわかる。具体的には、反応温度が低い場合には酵素添加量を多くするか又は反応時間を長くすれば（或いはこの両者）、所望の効果が得られる。例えば、反応温度が5℃であっても、酵素添加量が1U以上、或いは長時間の反応の場合、効果的に凝集を防止できている。一方、反応時間が短い場合には反応温度を高くするか又は酵素添加量を多くすれば（或いはこの両者）、所望の効果が得られる。例えば、反応時間が3時間であっても、反応温度を40℃以上に設定した場合や酵素添加量を1U以上にした場合には凝集防止効果が得られている。また、反応温度を高くするか又は反応時間を長くすれば或いはこの両者）、酵素添加量を低減できる。例えば、反応温度を25℃以上にするか、或いは反応時間を長時間にすれば、酵素添加量を0.2U以下にできる。

[0061] <まとめ>

・ ナッツタンパク質濃度0.1～1.5%（w/v）の範囲において、濃度に関係なく同様の凝集防止効果が認められた。即ち、タンパク質脱アミド酵素による酵素処理が様々なタンパク質濃度のナッツミルクの凝集防止に有効であり、汎用性が高いことが示された。

・ ナッツミルクを混合する液体の種類にもよるが、傾向としては、タンパ

ク質脱アミド酵素による酵素処理がないとナッツミルクと混合後にpH7以下になると凝集するが、酵素処理した場合は凝集の下限をpH5まで拡大できることが分かった。ナッツミルク混合後の液体のpHが5以上であれば、コーヒー、紅茶といった飲料以外にも、酸味のあるミルクスープといった酸性液体食品にも利用できることが示された。また、ミルク混合後の液体のpHが5以上であれば、牛乳でも難しいミルクレモンティーが調製できたため、酸味を持つフルーツを用いた各種飲料や液体食品にも応用が可能である。

- ・ 基本的には、ナッツミルクを混合する液体のpHが凝集に大きく影響し、次いで液体の温度が高いほど凝集しやすくなる。

- ・ 酵素添加量（酵素濃度）、反応温度、反応時間に依存して効果が変わる。

- ・ アーモンドミルクに限らず、ピーナッツミルクやカシューナッツミルク、ピスタチオミルク、ヘーゼルナッツミルクでも同様の効果が認められた。従って、ナッツミルク全般の凝集防止に、タンパク質脱アミド酵素による酵素処理が有効であると考えられる。

産業上の利用可能性

[0062] 本発明は、乳化剤等の添加物を使用しなくとも分散性に優れたナッツミルクを提供する。高い分散性はナッツミルク自体及びナッツミルクを使用した飲料や液体食品の価値を高める。また、従来では実現できなかった新たな飲料、液体食品を提供することが可能になる。

[0063] 本発明が提供するナッツミルクは既存の用途に限らず、様々な用途（特に酸性飲料や酸性液体食品）への利用ないし応用が期待される。乳化剤等の添加物を不要にできることは本発明の極めて大きな利点である。また、ナッツミルクを牛乳や豆乳等の代替としてコーヒー等へ添加する場合においても、凝集防止のための特別の操作が不要となることから、消費者の利便性も向上する。

[0064] この発明は、上記発明の実施の形態及び実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる

範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。本明細書の中で明示した論文、公開特許公報、及び特許公報などの内容は、その全ての内容を援用によって引用することとする。

請求の範囲

- [請求項1] タンパク質脱アミド酵素による処理が施されたナッツミルク。
- [請求項2] 原料のナッツが、アーモンド、カシューナッツ、ヘーゼルナッツ、ペカンナッツ、マカダミアナッツ、ピスタチオ、クルミ、ブラジルナッツ、ピーナッツ、ココナッツ、栗、ゴマ及び松の実から選択される一又は二以上のナッツである、請求項1に記載のナッツミルク。
- [請求項3] ナッツタンパク質濃度が0.2% (w/v) ～10.0% (w/v) である、請求項1又は2に記載のナッツミルク。
- [請求項4] 前記処理によって分散性が向上している、請求項1～3のいずれか一項に記載のナッツミルク。
- [請求項5] 弱酸性～弱アルカリ性の液体に混合した場合（但し、混合液のpHが5以上）にタンパク凝集が生じない、請求項4に記載のナッツミルク。
- [請求項6] 前記液体のpHが5～7である、請求項5に記載のナッツミルク。
- [請求項7] 前記液体が、コーヒー、コーヒー飲料、茶、茶飲料、果汁、果汁飲料、スポーツ飲料、栄養補給飲料、スープ、カレー、ココア及びチョコレート飲料からなる群より選択される、飲料又は液体食品である、請求項5に記載のナッツミルク。
- [請求項8] 凝集防止のための、乳化剤及び増粘多糖類を含有しない、請求項1～7のいずれか一項に記載のナッツミルク。
- [請求項9] タンパク質脱アミド酵素がクリセオバクテリウム属微生物由来の酵素である、請求項1～8のいずれか一項に記載のナッツミルク。
- [請求項10] クリセオバクテリウム属微生物が、クリセオバクテリウム・プロテオリティカムである、請求項9に記載のナッツミルク。
- [請求項11] ナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理することを特徴とする、分散性が向上したナッツミルクの製造方法。
- [請求項12] 以下のステップ（1）及び（2）を含む、請求項11に記載の製造方法：

(1) ナッツミルクを用意するステップ、

(2) (1) で用意したナッツミルクをタンパク質脱アミド酵素で処理するステップ。

[請求項13] ステップ(1)のナッツミルクが加熱殺菌前のナッツミルクである、請求項12に記載の製造方法。

[請求項14] 更に以下のステップ(3)を含む、請求項13に記載の製造方法：
(3) 加熱処理するステップ。

[請求項15] 請求項1～10のいずれか一項に記載のナッツミルクが配合された飲料又は液体食品。

[請求項16] pHが5以上の飲料又は液体食品である、請求項15に記載の飲料又は液体食品。

[請求項17] コーヒー飲料、コーヒーホワイトナー、茶飲料、果汁飲料、スポーツ飲料、栄養補給飲料、スープ、カレー、ココア飲料及びチョコレート飲料からなる群より選択される飲料又は液体食品である、請求項15に記載の飲料又は液体食品。