

明 細 書

発明の名称：

ジケトピペラジンを含む植物エキス及びその製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、ジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキス及びその製造方法に関する。

背景技術

[0002] アミノ酸が二つ結合した「ジペプチド」が機能性物質として注目されている。ジペプチドは単体アミノ酸にない物理的性質や新たな機能を付加することが可能であり、アミノ酸以上の応用範囲を有するものとして期待されている。特に、環状のジペプチドであるジケトピペラジンは、抗菌作用や抗酸化作用（非特許文献1，2）、学習意欲改善作用（特許文献1）などの様々な生理活性を持つことが知られており、医療・薬理分野において需要が拡大することが予想されている。

[0003] 通常、ジケトピペラジンは、化学合成法（非特許文献3）や酵素法（非特許文献2，4）などで製造されている。また、直鎖ペプチドを超臨界領域又は亜臨界領域にある高温高圧水で脱水・環化反応させることにより、任意のアミノ酸配列を持った環状ペプチドを合成する方法（特許文献2）、直鎖ジペプチド又は直鎖トリペプチドを水溶媒中で加熱処理して環状ジペプチドを製造する方法（特許文献3，4）も提案されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特表2012-517998号公報

特許文献2：特開2003-252896号公報

特許文献3：韓国公開特許10-2011-0120051

特許文献4：特許5456876号公報

特許文献5：特開2010-166911号公報

特許文献6：特表2012-517214号公報

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Peptides, 16(1), 151-164 (1995)

非特許文献2：バイオサイエンスとインダストリー, 60(7), 454-457 (2002)

非特許文献3：J. Comb. Chem., 3, 453-460 (2001)

非特許文献4：Chemistry Biology, 8, 997-1010 (2001)

非特許文献5：Agr. Biol. Chem., 38 (5), 927-932 (1974)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0006] このように、生体内で種々の生理活性が期待されるジケトピペラジンであるが、天然由来のジケトピペラジンや、ジケトピペラジンを高濃度に含有する食品はほとんど存在していない。天然由来のジケトピペラジンとしては、シェリー酒、紹興酒、醤油、みりん、酢等の発酵食品中にジケトピペラジンが存在することが知られている（非特許文献5）が、その含有量は極微量であり、これらの食品をジケトピペラジンの有する機能性を期待して摂取するには、相当量を摂取しなければならず、何れも実用性に乏しいものである。また、Cyclo (Pro-Phe) やCyclo (Pro-Leu) を含有するコーヒー飲料も知られている（特許文献5）が、これらのジケトピペラジンは苦味が強く、他の飲料に応用するのは難しい。

[0007] さらに、コラーゲンや蓄肉などの動物性タンパク質を起源とする、ジケトピペラジンを比較的多く含有する組成物も知られている（特許文献4, 6）。しかし、これら動物性タンパク質を起源とするジケトピペラジン含有組成物を、茶飲料、コーヒー飲料、大豆飲料、果汁飲料等の植物の抽出液又は搾汁液等を主成分として配合して得られる飲料や、フレーバードウォーター、ミネラル飲料、炭酸飲料などの清涼飲料に、そのまま使用することは香味の影響から難しい。

[0008] 本発明の目的は、天然由来であって安全性が高いジケトピペラジンを高濃度で含有する香味良好なエキスとその製造法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、タンパク質を含有する植物体に分解処理を施して植物性ペプチドを生成させ、この植物性ペプチドを液体中で高温高圧処理することにより、高濃度にジケトピペラジンを含む植物エキスを製造できることを見出した。そして、この植物エキスを風味良好であることを確認し、本発明を完成するに至った。

[0010] すなわち、本発明は、以下に関する。

(1) シクロアラニルグルタミン、シクロアラニルアラニン、シクロセリルチロシン、シクログリシロロイシン、シクログリシルトリプトファン、シクロバリン、シクロトリプトファンニルチロシン、シクロロイシルトリプトファン及びシクロロフェニルアラニルアラニンのいずれか一以上を、 $10\mu\text{g}/100\text{g}$ ／ $B\times$ 以上の濃度で含有する、植物エキスを、

(2) $B\times$ あたりのジケトピペラジンの総量が、 $900\mu\text{g}/100\text{g}/B\times$ 以上である、(1)記載の植物エキスを。

(3) 植物エキスを、茶エキスを、大豆エキスを、小麦エキスを、(1)または(2)記載の植物エキスを。

(4) タンパク質を含有する植物体に分解処理を施して植物性ペプチドを生成させ、この植物性ペプチドを液体中で高温高圧処理することにより得られる植物エキスを。

(5) 植物性ペプチドを、液体中で高温高圧処理する工程を含む、シクロロイシルロイシン及びシクロロフェニルアラニンを含むジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスの製造方法。

(6) 高温高圧処理工程での加熱条件が、 $100\sim 170^\circ\text{C}$ の液体中で30～数時間である、(5)に記載の製造方法。

(7) 植物性ペプチドがオリゴペプチドである、(5)又は(6)に記載の製造方法。

(8) 植物性ペプチドが、植物由来のタンパク質又はタンパク質を含有する植物体に分解処理を施して得られたものである、(5)～(7)のいずれか

に記載の製造方法。

(9) 分解処理が加熱処理または酵素処理である、(8)に記載の製造方法。

(10) 分解処理が酵素処理であり、酵素がエンド型プロテアーゼである、(9)に記載の製造方法。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、天然由来であって安全性が高いジケトピペラジンを高濃度で含有する植物エキスを、大量生産規模で煩雑な工程や複雑な設備を伴うことなく簡便に製造することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図1は、大豆タンパク質を用いて得られた植物ペプチド加工品中のシクロフェニルアラニルフェニルアラニン濃度の定量結果を示す。

[図2]図2は、米タンパク質を用いて得られた植物ペプチド加工品中のシクロフェニルアラニルフェニルアラニン濃度の定量結果を示す。

[図3]図3は、前抽出の回数と可溶性成分の除去率の関係を示す。

発明を実施するための形態

[0013] (植物性ペプチド)

本発明の植物エキ스는、植物性ペプチドを液体中で高温高圧処理して製造することが可能である。ここで、本明細書における「植物性ペプチド」とは、特に断りがない限り、植物由来のタンパク質又はタンパク質を含む植物体に既知の分解処理（熱や圧力による分解処理、酸やアルカリによる分解処理、酵素による分解処理等）を施して低分子化（オリゴペプチド）することにより生じるアミノ酸が数個つながったペプチドをいう。

[0014] 本発明の植物性ペプチドには、大豆ペプチド、大麦ペプチド、小麦ペプチド、小麦胚芽ペプチド、エンドウペプチド、コメペプチド等を用いることができる。後述するように植物由来のタンパク質又はタンパク質を含む植物体から植物性ペプチドを調製して用いてもよいが、市販品を用いてもよい。市販の植物性ペプチドとしては、例えばハイニュートAM、ハイニュートDC

、ハイニュートHK（以上、不二精油社製）などの大豆ペプチド、オリザペプチドP60（オリザ油化社製）などのコメペプチド、グルタミンペプチドGP-1N、グルタミンペプチドGP-N（以上、日清ファルマ社製）などの小麦ペプチド、ゴマペプチドKM-20（KISCO社製）などのゴマペプチドを例示できる。

[0015] 本発明者らの検討によると、ペプチドの大きさにより得られるジケトピペラジン混合物の収率に差が生じる。植物性ペプチドは、分子量5000以下のペプチドの割合が高いものを用いるのが好ましく、分子量3000以下のペプチドの割合が高いものを用いるのがより好ましく、分子量1000以下のペプチドの割合が高いものを用いるのが特に好ましい。また、アミノ酸スコアの高い大豆を用いると、複数種のジケトピペラジンがより高い濃度で生成することから、大豆ペプチドは好ましい態様の一例である。

[0016] 本発明の植物性ペプチドには、植物由来のタンパク質や、タンパク質を含む植物体を原料として製造されるペプチド混合体を用いることができる。具体的には、大豆タンパク質、小麦タンパク質、小麦胚芽タンパク質、米タンパク質、ゴマたんぱく質等の植物由来のタンパク質や、緑茶葉などの葉類、大麦、小麦、麦芽、胡麻、米などの種子類、大豆、小豆、黒豆などの豆類、さつまいも、じゃがいもなどの芋類など、タンパク質を含有し飲食可能な植物体を原料として、既知の分解処理（熱や圧力による分解処理、酸やアルカリによる分解処理、酵素による分解処理等）を施して製造されるペプチド混合体を挙げることができる。これらタンパク質を含む植物体の中でも、本発明では大豆、麦芽、茶葉が好適に用いられる。特に、大豆や茶葉を用いることが好ましく、茶葉を用いることがより好ましい。上記の植物由来のタンパク質や、タンパク質を含む植物体を原料として分解処理を施し、植物性ペプチドであるペプチド混合体を得るが、この分解処理は、オリゴペプチドが生成される条件下で行う。具体的には、分子量5000以下のペプチド（好ましくは分子量3000以下のペプチド、より好ましくは分子量1000以下のペプチド）の割合が高くなるように、分解処理を行う。

[0017] 分解処理は、目的とするオリゴペプチドの生成のしやすさ（反応速度の速さ）、多量処理の容易さから、熱による分解処理および／又は酵素による分解処理が好ましく、特に酵素による分解処理（以下、酵素処理）が好適に用いられる。

[0018] 加熱による分解処理を行う場合、植物体やタンパク質の焦げを防止するため、溶媒中で行う。その量は、通常、植物体 1 質量部あたり溶媒を 10～100 質量部、好ましくは 15～80 質量部、より好ましくは 20～60 質量部、特に好ましくは 20～40 質量部程度である。溶媒としては、水、エタノール、またはこれらの混合物等を用いるのが好ましく、特に水を用いるのが好ましい。加熱条件は、ペプチドが生成される条件であれば特に限定されない。加熱条件として 100℃以上、さらに 125℃以上の温度で、30分～数時間、好ましくは 2～7 時間程度の加熱を例示できる。加熱処理装置としては、圧力鍋、オートクレーブなどを条件に合わせて用いることができる。なお、この加熱処理は、本発明の「液体中での高温高圧処理工程」と同時に行うことができる。

[0019] 酵素処理により植物性ペプチドを製造する場合、酵素には、タンパク質分解酵素（プロテアーゼ）が用いられるが、エンド型分解活性の強いプロテアーゼを用いることが好ましい。プロテアーゼは、また、作用至適 pH の差異によりアルカリ性プロテアーゼ、中性プロテアーゼおよび酸性プロテアーゼの 3 種類に大別される。さらにプロテアーゼの起源としては、植物起源、動物起源あるいは微生物起源のものがあるが、酵素起源および至適 pH は、分解効率が悪い場合や得られた分解抽出液の香味が悪かった等の悪影響がない限り、特に限定されるものではない。

[0020] 例えば、本発明の使用可能な細菌由来のプロテアーゼとして、プロテアーゼ N、プロテアーゼ NL、プロテアーゼ S、プロレザー（登録商標）FGF、（以上、アマノエンザイム社製）；プロチン NY、プロチン P、デスキン、デピレイス、プロチン A、サモアーゼ（登録商標）（以上、大和化成社製）；ビオプラーゼ（登録商標）XL-416F、ビオプラーゼ（登録商標）

） S P - 4 F G、バイオプレーゼ（登録商標） S P - 1 5 F G（以上、ナガセケムテックス社製）；オリエンターゼ（登録商標） 9 0 N、ヌクレイシン（登録商標）、オリエンターゼ（登録商標） 1 0 N L、オリエンターゼ（登録商標） 2 2 B F（以上、エイチビィアイ社製）；アロアーゼ（登録商標） A P - 1 0（ヤクルト薬品工業社製）；プロタメックス（登録商標）、ニュートララーゼ（登録商標）、アルカラーゼ（登録商標）（以上、ノボザイムズ社製）； C O R O L A S E N、C O R O L A S E 7 0 8 9、V E R O N W、V E R O N P（以上、A Bエンザイム社製）；エンチロンNBS（洛東化成工業社製）；アルカリプロテアーゼ G L 4 4 0、ピュラフェクト（登録商標） 4 0 0 0 L、プロテアーゼ 8 9 9、プロテックス 6 L（以上、ジェネコン協和社製）などが挙げられる。また、本発明の使用可能な麹菌由来のプロテアーゼとして、プロテアーゼ A、プロテアーゼ M、プロテアーゼ P、ウマミザイム、ペプチダーゼ R、ニューラーゼ（登録商標） A、ニューラーゼ（登録商標） F（以上、天野エンザイム社製）；スミチーム（登録商標） A P、スミチーム（登録商標） L P、スミチーム（登録商標） M P、スミチーム（登録商標） F P、スミチーム（登録商標） L P L（以上、新日本化学工業社製）；プロチン（登録商標） F N（大和化成社製）；デナプシン 2 P、デナチーム（登録商標） A P、X P - 4 1 5（以上、ナガセケムテックス社製）；オリエンターゼ（登録商標） 2 0 A、オリエンターゼ（登録商標） O N S、テトララーゼ（登録商標） S（以上、エイチビィアイ社製）；モルシン（登録商標） F、P D 酵素、I P 酵素、A O - プロテアーゼ（以上、キッコーマン社製）；サカナーゼ（科研ファルマ社製）パンチダーゼ（登録商標） Y P - S S、パンチダーゼ（登録商標） N P - 2、パンチダーゼ（登録商標） P（以上、ヤクルト薬品工業社製）；フレーバザイム（登録商標）（ノボザイムズジャパン社製）；コクラーゼ（登録商標） S S、コクラーゼ（登録商標） P（以上、三共ライフテック社製）；V E R O N P S、C O R O L A S E P N - L（以上、A Bエンザイム社製）などを挙げることができる。その他、本発明で使用可能なプロテアーゼとして、放線菌由来プロテアーゼ（例え

ばアクチナーゼ（登録商標）A S、アクチナーゼ（登録商標）A F（以上、科研ファルマ社製）、タシナーゼ（登録商標）（ジェネンコア協和社製）や、植物由来プロテアーゼ（例えばパパインW-40（アマノエンザイム社製）、食品用精製パパイン（ナガセケムテックス社製））や、動物由来のペプシン、トリプシンなどを挙げることができる。

[0021] 上記のプロテアーゼのなかでも、分解効率や得られるペプチド含有液の香味の観点から、細菌由来のプロテアーゼを用いることが好ましく、バチルス・サブティリス（*Bacillus subtilis*）由来の中性プロテアーゼや、バチルス・アミロリケファシエンス（*Bacillus amyloliquefaciens*）由来のプロテアーゼや、バチルス・ステアロサーモフィルス（*Bacillus stearothermophilus*）由来のプロテアーゼを用いることがより好ましく、バチルス・サブティリス（*Bacillus subtilis*）由来の中性プロテアーゼを用いることが特に好ましい。

[0022] このようなプロテアーゼを、植物由来のタンパク質やタンパク質を含む植物体に対して0.1～20重量%、好ましくは1～15重量%、より好ましくは3～10重量%の範囲で用いることが好ましい。上記範囲より添加量が少ない場合は、ペプチド生成収率を向上させる効果を発揮することができず、一方上記範囲より多く添加しても大幅なペプチド生成収率の向上が期待できず、コスト面で不利となる。なお、酵素処理は、植物由来のタンパク質や植物体に水を加え、湿潤させた状態で酵素を作用させる。添加する水の量は、通常、乾燥状態のタンパク質や植物体1質量部あたり水を10～50質量部、より好ましくは10～30質量部、特に好ましくは10～20質量部程度である。

[0023] プロテアーゼによる酵素処理条件は、使用するプロテアーゼの至適条件を鑑みて設定すればよいが、通常、20～70℃（好ましくは30～60℃、より好ましくは40～60℃）で、30分～24時間（好ましくは1時間～12時間、より好ましくは1時間～6時間）程度である。

[0024] 酵素の種類により、基質であるタンパク質への作用部位が異なり、結果と

して本発明で得られるジケトピペラジン混合体の組成を変えることができるので、所望するジケトピペラジン混合体の組成を鑑みて、酵素を選択することもできる。酵素は2種以上を併用して用いてもよい。

[0025] 植物性ペプチドとして、植物体を用いる場合、上述の分解処理によるペプチド生成工程を施す前に、植物体に含有される水溶性タンパク質を予め低減する前処理を行っておくことが好ましい。本発明者らの検討によると、水溶性タンパク質を予め低減しておくことで、分解処理によるペプチドの生成収率や、本発明の加熱処理工程によるジケトピペラジンの生成収率が格段に向上する。水溶性タンパク質を除去する前処理の方法としては、植物体を液体中にて加熱して水溶性タンパク質を溶出させる方法であってその後に固液分離して得られる固体（植物体）を分解処理に供する方法、植物体に水等の水性溶媒で抽出処理を施す方法であってその抽出残渣を分解処理に供する方法などが挙げられる（以下、総称して「前抽出」という）。前抽出の際には、植物体の重量に対して好ましくは15倍重量以上、より好ましくは15～150倍重量程度の抽出溶媒に浸漬して植物体に含まれる水溶性タンパク質などの可溶性成分を溶出させることが好ましい。この場合、予め抽出溶媒を加熱しておいてもよいが、植物体を抽出溶媒に浸漬した後に加熱して抽出してもよい。抽出溶媒としては純水を好適に用いることができるが、これにエタノール等有機溶媒を適宜含有させることもできる。また、抽出溶媒にミネラル分を添加することにより適宜硬度を調整することもできる。

[0026] 前抽出において、その抽出温度は特に限定されないが、通常、50～100℃、好ましくは60～95℃、より好ましくは70～90℃程度である。また、抽出時間は、1分～24時間、好ましくは3分～20時間程度である。抽出温度、時間などの抽出条件は、得られる抽出残渣の可溶性成分除去率が60%以上、好ましくは70%以上、より好ましくは80%以上、さらに好ましくは90%以上、特に好ましくは95%となるようにする。可溶性成分の除去率は、最大限除去できる可溶性成分を100%とした場合における抽出液で回収される固形分の相対的な割合をいい、式「（前抽出で得られた

採液量（総量）（g）×そのブリックス [Bx]）／（最大限除去できる可溶性成分（g）×そのブリックス [Bx]）×100（%）」で算出される値をいう。本明細書では、「最大限除去できる可溶性成分」として、便宜的に「植物体の重量に対して30倍量の熱湯で10分間抽出することを10回繰り返した際の採液量」で表すものとする。ここで、本明細書でいうBxは、市販のBx測定計測器にて計測することができる。

[0027] 植物体の前抽出は、1回だけ行ってもよいし、複数回行ってもよい。前抽出で得られる抽出液は廃棄してもよいが、飲食物に配合して利用することもでき、例えば本発明で得られるジケトピペラジンを含む植物エキスと混合して飲食物に配合することもできる。

[0028] （加熱処理）

本発明の製造方法では、このような植物性ペプチドを液体中で高温高压処理することにより、ジケトピペラジンを生成する。高温高压処理における液体としては純水を好適に用いることができるが、これにエタノール等有機溶媒を適宜含有させることもできる。また、抽出溶媒にミネラル分を添加することにより適宜硬度を調整することもできる。加熱処理に供す液体のブリックス（Bx）は、0.1～50程度になるように必要に応じて濃縮又は希釈しておくことが好ましい。

[0029] 本明細書でいう高温高压とは、100℃以上の温度かつ大気圧を越える圧力を意味する。高温高压抽出装置としては、耐圧性抽出装置や圧力鍋、オートクレーブなどを条件に合わせて用いることができる。

[0030] 高温高压の温度は、100～170℃が好ましく、110～150℃がより好ましく、120～140℃が特に好ましい。なお、この温度は、加熱装置として耐圧性抽出装置を用いた場合には抽出カラムの出口温度を測定した値を示し、加熱装置としてオートクレーブを用いた場合には、圧力容器内の中心温度の温度を測定した値を示す。また、圧力は、0.101～0.79 MPaが好ましく、0.101～0.48 MPaがより好ましい。さらに、加熱時間は、30～500分が好ましく、60～300分程度がより好まし

い。

[0031] より最適な加熱処理条件は、横軸を時間 (min.)、縦軸を温度 (°C) とした座標系において、次の座標系(i)~(Vi)によって囲まれる時間及び温度の範囲内で保持される加熱処理である。

[0032] (i) (170°C, 30 min.)、(ii) (150°C, 30 min.)、(iii) (115°C, 180min.)、(iv) (105°C, 480min.)、(v) (135°C, 480min.)、(vi) (150°C, 180min.)

液体中での高温高压処理の後、必要に応じて固液分離を行って液部を回収して、本発明のジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスが得られる。固液分離には、ろ過及び／又は遠心分離手段が用いられる。

[0033] 植物性ペプチドの由来（原料となる植物の種類）や酵素の種類によって、得られるジケトピペラジン高濃度に含有する植物エキス中のジケトピペラジンの組成は異なるが、本発明の植物性ペプチドの液体中での高温高压処理により、シクロアラニルグルタミン (CAS Registry Number:268221-76-7 ; Cyclo(Ala-Gln))、シクロヒスチジルプロリン (CAS Registry Number:53109-32-3 ; Cyclo(His-Pro))、シクロアラニルアラニン (CAS Registry Number: 5845-61-4 ; Cyclo(Ala-Ala))、シクログリシルプロリン (CAS Registry Number :3705-27-9 ; Cyclo(Gly-Pro))、シクロセリルチロシン (CAS Registry Number:21754-31-4 ; Cyclo(Ser-Tyr))、シクロプロリルスレオニン (CAS Registry Number:227777-31-3 ; Cyclo(Pro-Thr))、シクロヒスチジルフェニルアラニン (CAS Registry Number:56586-95-9 ; Cyclo(His-Phe))、シクロアラニルプロリン (CAS Registry Number:65556-33-4 ; Cyclo(Ala-Pro))、シクロフェニルアラニルセリン (CAS Registry Number:35591-00-5 ; Cyclo(Phe-Ser))、シクログリシルロイシン (CAS Registry Number:5845-67-0 ; Cyclo(Gly-Leu))、シクログリシルフェニルアラニン (CAS Registry Number:10125-07-2 ; Cyclo(Gly-Phe))、シクロプロリルプロリン (Cyclo(Pro-Pro))、シクログリシルトリプトファン (Cyclo(Gly-Trp))、シクロアスパルチルフェニルアラニン (CAS Registry Number:5262-10-2 ; Cyclo(Asp-Phe))、シクロバリルプロリン (Cyclo(Val-Pro))、シクロプロリルチロシン (Cyclo(Pro-Tyr))

))、シクロメチオニルプロリン (Cyclo(Met-Pro))、シクロメチオニルメチオニン (Cyclo(Met-Met))、シクロバリルバリン (Cyclo(Val-Val))、シクロロイシルプロリン (CAS Registry Number:2873-36-1 ; Cyclo(Leu-Pro))、シクロトリプトファニルチロシン (Cyclo(Trp-Tyr))、シクロフェニルアラニルプロリン (CAS Registry Number:3705-26-8 ; Cyclo(Phe-Pro))、シクロロイシルトリプトファン (CAS Registry Number:15136-34-2 ; Cyclo(Leu-Trp))、シクロフェニルアラニルトリプトファン (CAS Registry Number:82597-82-8 ; Cyclo(Phe-Trp))、シクロロイシルフェニルアラニン (CAS Registry Number:7280-77-5 ; Cyclo(Leu-Phe))、シクロロイシルロイシン (CAS Registry Number:952-45-4 ; Cyclo(Leu-Leu))、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン (CAS Registry Number:2862-51-3 ; Cyclo(Phe-Phe)) からなる群より選択される少なくとも 1 種のジケトピペラジンを増加させることができる。

[0034] 特に本発明は、Cyclo(Leu-Leu)及びCyclo(Leu-Phe)を比較的高濃度に含有するジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスの製造に有利である。また、本発明は、Cyclo(Phe-Phe)を高濃度に含有する植物エキスの製造に有利である。

[0035] 本発明のジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスから、公知の精製処理を施すことにより、特定のジケトピペラジンを高濃度に含有する天然植物由来のジケトピペラジンを選択的に製造することもできる。したがって、1つの観点から本発明はCyclo(Leu-Leu)、及びCyclo(Phe-Phe)を含むジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスの製造方法であり、また別の観点から本発明は、特定のジケトピペラジン（例えばCyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Leu-Leu)、Cyclo(Phe-Phe))の製造方法である。

[0036] (植物エキス)

本明細書でいうエキスとは液体状の抽出物をいい、本発明の「植物エキス」とは、植物体に抽出処理を施して得られる液体状の抽出物又はその加工品をいう。

[0037] 本発明によると、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Leu-Trp)及びCyclo(Phe-Phe)のいずれか一以上を、 $B \times$ あたりの含量が $10 \mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times$ 以上の植物エキスが得られる。

[0038] また、本発明によると、ジケトピペラジンの総量が、 $900 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ 以上、好ましくは $1000 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ 以上、より好ましくは $2000 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ 以上、特に好ましくは $5000 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ 以上となる植物エキスを得ることができる。なお、本明細書では、特に断りがない限り、ジケトピペラジンの総量は、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Pro-Pro)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Met-Met)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Trp)、Cyclo(Phe-Trp)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Leu-Leu)、及びCyclo(Phe-Phe)の総量を表すものとする。

[0039] 一般に、 $B \times$ が高いエキ스는、原料由来の様々な物質（例えば、苦味成分）が高濃度で含まれることを意味しており、そのものが飲料に不適だけでなく、香味や舌触りなどへの影響から飲料への添加にも不適である。したがって、飲料への添加を考えた場合、 $B \times$ は低い方が好ましい。本発明によると、生理活性物質であるジケトピペラジンを多く含み、かつ $B \times$ が低い植物エキス、すなわち、ジケトピペラジンの含有量と $B \times$ の比が高い植物エキスが得られる。具体的には、上記のジケトピペラジンの総量（単位： $\mu\text{g} / 100 \text{g}$ ）とブリックス（ $B \times$ ）の比が $900 (\mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times)$ 以上、好ましくは $1000 (\mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times)$ 以上、より好ましくは $2000 (\mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times)$ 、さらに好ましくは $5000 (\mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times)$ である植物エキスが得られる。エキス中のジケトピペラジンの上限は、特に制限されず、ジケトピペラジンの溶解性等を考慮して適宜設定す

ればよいが、通常、 $1000\text{ mg}/100\text{ g}$ 以下、好ましくは $500\text{ mg}/100\text{ g}$ 以下、より好ましくは $200\text{ mg}/100\text{ g}$ 以下程度である。

[0040] 植物体を原料として本発明の製造方法を適用して得られる植物エキスの場合には、発酵を伴わないことから副生成物が少なく、また前抽出を行った場合には可溶性成分が低く、極めて苦味が少ないという香味的な特徴を有する。

[0041] このような植物エキスは、香味がよく、沈殿や濁り等もなく外観にも優れるので、特別な後処理を施さなくても、エキス、調味料、飲料等にそのまま利用可能である。また、本発明の植物エキスは、ジケトピペラジンを高含有量で含むにも関わらず、 B_x が相対的に低いため、飲食物（特に、飲料）への配合量が少なくよく、飲食物の設計の自由度が増すという利点もある。特に、茶飲料、コーヒー飲料、大豆飲料、果汁飲料等の植物の抽出液又は搾汁液等を主成分として配合して得られる飲料や、フレーバードウォーター、ミネラル飲料、炭酸飲料などの清涼飲料に、そのまま配合して利用できる。例えば、本発明の植物エキスを飲料に配合すると、ジケトピペラジンの総量が $10\text{ }\mu\text{ g}/100\text{ g}$ 以上、好ましくは $20\text{ }\mu\text{ g}/100\text{ g}$ 以上、より好ましくは $40\text{ }\mu\text{ g}/100\text{ g}$ 以上、さらに好ましくは $60\text{ }\mu\text{ g}/100\text{ g}$ 以上となるような飲料で、かつ苦味を呈しない風味良好な飲料を得ることができる。

[0042] 本発明により得られる植物エキスは、添加する飲食物の態様に合わせて、清澄化処理等を行うこともできる。この場合、油分がないこと、繊維質が存在すること等の理由から、清澄化が容易に行えるという利点もある。

[0043] 本発明の植物エキスの好適な態様として、茶エキス、大豆エキス及び麦芽エキスが例示できる。以下、これらエキスについて詳述する。

[0044] （茶エキス）

本明細書でいう「茶エキス」とは、茶葉を抽出処理して得られる茶抽出物をいう。抽出原料となる茶葉としては、茶樹（学名：Camellia sinensis）を用いて製造された茶葉の葉、茎など、抽出して飲用可能な部位を使用するこ

とができる。また、その形態も大葉、粉状など制限されない。茶葉の収穫期についても、所望する香味に合わせて適宜選択できる。

[0045] 本発明で得られるジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキス（茶エキス）は、発酵過程を経ずに製造することで副生成物の生成を抑え、香味のよいものが得られることを特徴とする。この香味の観点から、茶葉は、煎茶、番茶、ほうじ茶、玉露、かぶせ茶、甜茶等の蒸し製の不発酵茶（緑茶）や、嬉野茶、青柳茶、各種中国茶等の釜炒茶等の不発酵茶を用いることが好ましい。

[0046] 本発明者らは、市販の茶葉を抽出して得られる茶エキス中のジケトピペラジン濃度を測定している。その結果、発酵茶に極微量（ $0 \sim 200 \mu\text{g}/100\text{g/Bx}$ 程度）含まれること、また緑茶には殆ど含まれないことを確認している（表1参照、測定方法は後述の実施例1と同じ）。

[0047]

[表1]

RT (min)	ジケトピペラジン濃度 (ppm/Bx)	緑茶	碁石茶	フーアル茶 1	フーアル茶 2
3.6	Ala-Gln	0.0	0.0	0.0	0.0
3.7	His-Pro	0.0	0.2	0.0	0.0
4.4	Ala-Ala	0.0	0.0	0.0	0.0
5.6	Gly-Pro	0.0	0.1	0.1	0.1
5.8	Ser-Tyr	0.0	0.0	0.0	0.0
5.8	Pro-Thr	0.0	0.6	0.2	0.1
6.5	His-Phe	0.0	0.0	0.0	0.0
6.7	Ala-Pro	0.0	0.2	0.3	0.2
7.4	Phe-Ser	0.0	0.0	0.0	0.0
7.8	Gly-Leu	0.0	0.0	0.0	0.0
8.1	Gly-Phe	0.0	0.0	0.0	0.0
8.6	Pro-Pro	0.0	0.1	0.1	0.1
8.6	Gly-Trp	0.0	0.0	0.0	0.0
8.9	Asp-Phe	0.0	0.0	0.0	0.0
9.2	Val-Pro	0.0	0.1	0.2	0.2
9.4	Pro-Tyr	0.0	0.1	0.1	0.1
9.6	Met-Pro	0.0	0.0	0.0	0.0
10.2	Met-Met	0.0	0.0	0.0	0.0
10.2	Val-Val	0.0	0.0	0.0	0.0
10.7	Leu-Pro	0.0	0.2	0.1	0.1
10.5	Trp-Tyr	0.0	0.0	0.0	0.0
11.0	Phe-Pro	0.0	0.1	0.1	0.1
11.2	Leu-Trp	0.0	0.0	0.0	0.0
11.8	Phe-Trp	0.0	0.0	0.0	0.0
12.3	Leu-Phe	0.0	0.0	0.0	0.0
12.4	Leu-Leu/Ile-Ile	0.0	0.0	0.0	0.0
12.6	Phe-Phe	0.0	0.0	0.0	0.0
合計濃度 (ppm/Bx)		0.0	1.9	1.2	0.8
単位 Bx あたり合計濃度 (μ g/100g/Bx)		0	193	119	82

[0048] 一方、本発明の茶エキ스는、従来の茶類には含まれていなかったジケトピペラジンであるCyclo(Ala-Gln)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Leu-Trp)及びCyclo(Phe-Phe)のいずれか一以上を、 $10\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上の濃度で含有する。

[0049] また、本発明の茶エキ스는、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Pro-Pro)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Phe)、及びCyclo(Leu-Leu)をそれぞれ $0.1 \text{ ppm} / B \times (10 \mu\text{g} / 100 \text{ g} / B \times)$ 以上の濃度で含有する。好ましくは上記のジケトピペラジンそれぞれを $0.2 \text{ ppm} / B \times$ 以上、より好ましくは $0.3 \text{ ppm} / B \times$ 以上、さらに好ましくは $0.4 \text{ ppm} / B \times$ 以上、特に好ましくは $0.5 \text{ ppm} / B \times$ 以上の濃度で含有する茶エキスである。さらに、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Leu-Trp)、Cyclo(Phe-Trp)及びCyclo(Phe-Phe)を、それぞれ $0.1 \text{ ppm} / B \times (10 \mu\text{g} / 100 \text{ g} / B \times)$ 以上、好ましくは $0.2 \text{ ppm} / B \times$ 以上、より好ましくは $0.3 \text{ ppm} / B \times$ 以上の濃度で含有させることができる。

[0050] 苦味が強いジケトピペラジンとして、コーヒー飲料中のジケトピペラジンであるCyclo(Leu-Pro)やCyclo(Phe-Pro)（特開2010-166911号公報参照）、カゼインの分解処理物であるCyclo(Leu-Trp)（蛋白質研究奨励会ペプチド研究所報, No.2, 1974）が知られている。本発明の茶エキ스는、これら強い苦味を有するジケトピペラジンを含有するにも関わらず、エキス自体は苦味をほとんど有さない。茶エキスと同じ濃度のCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)を含有する水溶液を調製した場合には、強い苦いを感じられたことから、共存する他のジケトピペラジンや茶由来の成分が相加的又は相乗的にCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)の苦味を低減していると考えられる。特に、Cyclo(Leu-Leu)とCyclo(Leu-Phe)の総量（A）に対する苦味を有するジケトピペラジンCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)の総量（B）の割合 $[(B) / (A)]$ が、1.0以下（好ましくは0.8以下、より好ましくは0.6以下、特に好ましくは0.4以下）となる茶エキ스는、苦味を始めとする味を伴わないジケトピペラジ

ン含有エキスであり、飲食品（特に、飲料）へそのまま配合することができる。

[0051] 茶エキス中のB×あたりのジクトピペラジンの総量は、 $900\mu\text{g}/100\text{g}$ 以上、好ましくは $900\sim3000\mu\text{g}/100\text{g}/\text{B}\times$ 、より好ましくは $2000\sim2500\mu\text{g}/100\text{g}/\text{B}\times$ 、特に好ましくは $5000\sim2000\mu\text{g}/100\text{g}/\text{B}\times$ である。このような濃度範囲にすると、ジクトピペラジンの有する機能（生理活性等）が付加された飲食品を製造するのに有利である。

[0052] このような茶エキスは、茶葉中のタンパク質を分解処理して茶ペプチドを調製し、これを液体中で高温高压処理をすることにより、簡便に製造できる。茶葉中にはタンパク質が約25%と豊富に含まれている（5訂食品成分表）。したがって、この茶葉タンパク質をプロテアーゼ等の酵素で分解処理すれば、茶ペプチドが得られるはずであるが、茶葉にプロテアーゼを作用させても、それほど多くの茶ペプチドは得られない。茶葉中の全タンパク質の80%以上は不溶性タンパク質であるため、茶葉に含まれているタンパク質に効率よくタンパク質分解酵素を作用させて、茶ペプチドを得ることが好ましい。具体的には、茶葉から水溶性タンパク質を除去する前処理を行った後、その抽出残渣にプロテアーゼ等のタンパク質分解酵素を作用させて茶ペプチドを調製する。すなわち、本発明の茶エキスは、以下の工程を順次行うことにより、水不溶性のタンパク質を効率よく分解して、ジクトピペラジンを高濃度に含有する茶エキスを簡便に製造することができる。

(a) 茶葉を水で抽出し、抽出残渣を回収する工程、
 (b) 抽出残渣に、水存在下でエントロテラーゼを作用させて茶葉タンパク質を分解し、茶ペプチドを含む液を得る工程、
 (c) 茶ペプチドを含む液を高温高压処理して反応液を得る工程、及び
 (d) 反応液を固液分離処理して、ジクトピペラジンを含む液体を回収する工程

または、

- (a) 茶葉を水で抽出し、抽出残渣を回収する工程、
- (b) 抽出残渣に、水存在下でエンド型プロテアーゼを作用させて茶葉タンパク質を分解し、茶ペプチドを含む液を得る工程、
- (d') 茶ペプチドを含む液を固液分離処理して、茶ペプチドを含む液体を回収する工程、及び
- (C') 茶ペプチドを含む液体を高温高圧処理してジケトピペラジンを含む反応液を得る工程

各工程の条件は、前述したとおりであるが、工程(a)の前抽出では、茶飲料の製造等で抽出処理を行って得られる茶滓等の抽出残渣を用いることもできる。従来、茶葉中の水不溶性茶タンパク質は、栄養源としては利用されておらず、例えば、国内の緑茶飲料製造時に生じる2.2万トンに上る抽出残渣は、その殆どが未利用資源として廃棄されているが、上記の茶エキスの製造方法は、従来廃棄されていた茶滓の有効利用にも有効である。

[0053] この方法によると、Cyclo(Leu-Leu)、Cyclo(Leu-Phe)、及びCyclo(Ala-Ala)を高濃度に含有する茶エキスが製造できる。具体的には、茶エキス中のジケトピペラジン全量に対して、Cyclo(Leu-Leu)が10%以上(重量基準)、Cyclo(Leu-Phe)が10%以上、Cyclo(Ala-Ala)が7%以上となるエキスである。これらを濃度で表わすと、それぞれ5.0ppm/Bx(500 μ g/100g/Bx)以上、好ましくは8.0ppm/Bx以上、より好ましくは10.0ppm/Bx以上の濃度となる茶エキスとなる。これらの上限は、50.0ppm/Bx以下、好ましくは40.0ppm/Bx以下、より好ましくは35.0ppm/Bx以下、さらに好ましくは30.0ppm/Bx以下程度である。

[0054] また、工程(a)における茶葉の水抽出(前抽出)を複数回繰り返して行うことにより、Cyclo(Leu-Leu)、Cyclo(Leu-Phe)、及びCyclo(Phe-Phe)の濃度が顕著に高くなることを見出した。したがって、この方法は、Cyclo(Phe-Phe)の製造にも有利である。本発明者らは、この方法で得られたCyclo(Phe-Phe)を3.0ppm/Bx以上含有する茶エキ스가、学習意欲改善作用を有す

ることを確認している。

[0055] ところで、疎水性の官能基を有するジケトピペラジンは、環状化することにより、直鎖ペプチドより、その疎水性が高まることが知られている。Cyclo(Phe-Phe)は、最も疎水性が高い成分であるが、上記の茶エキスを加速保存試験（55℃、2週間）した結果、Cyclo(Phe-Phe)が安定に維持されることを確認している。したがって、本発明の茶エキスは、Cyclo(Phe-Phe)含有エキスとしても有用なものである。茶エキス中のCyclo(Phe-Phe)含量は、 $10\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上、 $20\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上、 $30\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上とすることが好ましい。

[0056] （大豆エキス）

本明細書でいう「大豆エキス」とは、大豆に加水して抽出処理又はミリング処理して得られる液体をいう。原料となる大豆（学名：Glycine max）は品種や産地などの制限なく用いることができ、粉碎品などの加工品段階のものを用いることもできる。また、本明細書でいう大豆エキスには、大豆タンパク分解物に加水して得られる液体も便宜上含まれるものとする。

[0057] 大豆中のタンパク質は、約3割を占めると言われている。大豆タンパク質は、茶タンパク質のように水不溶性タンパク質が多くはないため、水溶性タンパク質を除去する前処理は必須ではなく、必要に応じて行えばよい。水溶性タンパク質を除去する前処理がない場合、ワンポット（One-Pot）反応で、より簡便にジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキス（大豆エキス）を製造することができる。

[0058] 本発明者らは、市販の大豆ペプチド（粉体）が、噴霧乾燥時に180～220℃程度の熱が加わっていることを鑑みて、大豆ペプチド中のジケトピペラジン濃度を測定している。その結果、市販の大豆ペプチドには、極微量（ $650\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 程度）含まれることを確認している（表2参照）。

[0059] 一方、本発明の大豆エキスは、従来大豆タンパク分解物（大豆ペプチド）には含まれていなかったジケトピペラジンであるCyclo(Ala-Gln)、Cyclo(A

la-Ala)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Leu-Trp)及びCyclo(Phe-Phe)のいずれか一以上をB xあたりの含量が $10 \mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times$ 以上で含有する。

[0060] また、本発明の大豆エキ스는、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Trp)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Leu-Leu)及びCyclo(Phe-Phe)をそれぞれ $0.1 \text{ ppm} / B \times$ ($10 \mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times$)の濃度で含有する。好ましくは上記のジケトピペラジンそれぞれを $0.5 \text{ ppm} / B \times$ 以上、より好ましくは $0.7 \text{ ppm} / B \times$ 以上、さらに好ましくは $0.9 \text{ ppm} / B \times$ 以上、特に好ましくは $1.0 \text{ ppm} / B \times$ 以上、特に好ましくは $1.2 \text{ ppm} / B \times$ 以上の濃度で含有する大豆エキスである。さらに、Cyclo(Pro-Pro)及びCyclo(Phe-Trp)を、それぞれ $0.1 \text{ ppm} / B \times$ ($10 \mu\text{g} / 100 \text{g} / B \times$)以上、好ましくは $0.2 \text{ ppm} / B \times$ 以上、より好ましくは $0.3 \text{ ppm} / B \times$ 以上の濃度で含有させることができる。

[0061] この大豆エキス（特に、大豆又はその粉碎物を原料として得られるエキス）は、苦味が強いジケトピペラジンとして知られているCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)を含有するにも関わらず、その苦味が低減されている。同じ濃度のCyclo(Leu-Pro)及びCyclo(Phe-Pro)を含有する水溶液を調製した場合には、強い苦いを感じられたことから、共存する他のジケトピペラジンや大豆由来の成分が相加的又は相乗的にCyclo(Leu-Pro)、及びCyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)の苦味を緩和していると考えられる。特に、Cyclo(Leu-Leu)とCyclo(Leu-Phe)の総量（A）に対する苦味を有するジケトピペラジンCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)の総量（B）の割合 $[(B) / (A)]$ が、1.0以下（好ましくは0.8以下、より好ましくは0.6以下、特に好ましくは0.5以下）となる大豆エキ스는、

苦味が顕著に低減されたジケトピペラジン含有エキスであり、飲食品（特に、飲料）に有利に配合することができる。

[0062] 大豆エキス中のB xあたりのジケトピペラジンの総量は、 $900 \mu\text{g}/100\text{g}/\text{B x}$ 以上、好ましくは $900 \sim 30000 \mu\text{g}/100\text{g}/\text{B x}$ 、より好ましくは $2000 \sim 25000 \mu\text{g}/100\text{g}/\text{B x}$ 、特に好ましくは $5000 \sim 20000 \mu\text{g}/100\text{g}/\text{B x}$ である。このような濃度範囲にすると、ジケトピペラジンの有する機能（生理活性等）が付加された飲食品を製造するのに有利である。

[0063] 本発明のジケトピペラジンを高濃度に含有する大豆エキスは、以下の工程を順次行うことにより、製造することができる。

（x）大豆又は大豆タンパク分解物に、水存在下でエンド型プロテアーゼを作用させて、大豆ペプチドを含む液を得る工程、

（y）大豆ペプチドを含む液を高温高圧処理して反応液を得る工程、及び

（z）反応液を固液分離処理して、ジケトピペラジンを含む液体を回収する工程

茶エキスの製造と同様に、工程（y）及び（z）は順序を交換してもよい。また、工程（x）の前に、水溶性タンパクを除去する工程（w）を加えてもよい。ジ又はトリペプチドを多く含有する大豆ペプチドを原料として用いる場合、工程（x）は、

（x'）ジ又はトリペプチドを多く含有する大豆ペプチドに加水して、大豆ペプチドを含む液を得る工程

となる。その他、各工程の条件は前述したとおりである。

[0064] この方法によると、Cyclo(Leu-Leu)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Ser-Tyr)及びCyclo(Pro-Thr)を高濃度に含有する大豆エキスが製造できる。具体的には、大豆エキス中のジケトピペラジン全量に対して、Cyclo(Leu-Leu)が8%以上（重量基準）、Cyclo(Leu-Phe)が8%以上、Cyclo(Ser-Tyr)が6%以上となるエキスである。これらの濃度がそれぞれ $5.0 \text{ ppm}/\text{B x}$ （ $500 \mu\text{g}/100\text{g}/\text{B x}$ ）以上、好ましくは $6.0 \text{ ppm}/\text{B x}$ 以上、より好ま

しくは7.0 ppm/Bx以上の濃度となる大豆エキスとなる。特に、Cyclo(Leu-Leu)及びCyclo(Leu-Phe)は、10.0 ppm/Bx以上、好ましくは12.0 ppm/Bx以上となる大豆エキスが得られる。これらの上限は、50.0 ppm/Bx以下、好ましくは40.0 ppm/Bx以下、より好ましくは35.0 ppm/Bx以下、さらに好ましくは30.0 ppm/Bx以下程度である。

[0065] また、この方法により、大豆ペプチドには含まれていないCyclo(Phe-Phe)を3.0 ppm/Bx以上、好ましくはCyclo(Phe-Phe)を4.0 ppm/Bx以上含有する大豆エキスが得られるので、この方法は、Cyclo(Phe-Phe)の製造にも有利である（後述の実施例参照）。Cyclo(Phe-Phe)は疎水性が高い成分であるが、この大豆エキス中では、安定に維持されることを確認している。

[0066] （麦芽エキス）

本明細書でいう「麦芽エキス」とは、麦芽又はその粉碎物に抽出処理して得られる抽出物をいう。原料となる麦芽大豆（malt）は、品種や産地などの制限なく用いることができるが、特に大麦の種子を発芽させた大麦麦芽が好適に用いられる。大麦麦芽は、皮部を除去してタンパク質含量の高い画分を分離して用いるのが実用的であり効率的である。タンパク質含量の高い画分は、麦芽を表面から徐々に削り、穀皮を除去し、その後、アリーロン層および胚乳といったタンパク質が多く含まれる画分を削り取るという方法が挙げられる。或いは、茶エキスで実施したように、前抽出を行った抽出残渣を利用することができる。抽出残渣としては、ビール製造時に発生する麦芽の絞り粕を例示できる。

[0067] タンパク質含量の高い画分を原料とすれば、ワンポット（One-Pot）反応で、より簡便にジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキス（麦芽エキス）を製造することができる。

[0068] 本発明の麦芽エキスは、従来、抽出されにくかったジケトピペラジンであるCyclo(Ala-Gln)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyc

lo(Val-Val)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Leu-Trp)及びCyclo(Phe-Phe)のいずれか一以上を、 $10\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上の濃度で含有する。

[0069] また、本発明の麦芽エキ스는、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Trp)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Leu-Leu)及びCyclo(Phe-Phe)をそれぞれ $0.1\text{ppm}/\text{Bx}$ ($50\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$)以上の濃度で含有する。好ましくは上記のジケトピペラジンそれぞれを $0.3\text{ppm}/\text{Bx}$ 以上、より好ましくは $0.4\text{ppm}/\text{Bx}$ 以上、さらに好ましくは $0.5\text{ppm}/\text{Bx}$ 以上、特に好ましくは $0.6\text{ppm}/\text{Bx}$ 以上の濃度で含有する麦芽エキスである。

[0070] この麦芽エキ스는、苦味が強いジケトピペラジンとして知られているCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)を含有するにも関わらず、その苦味が低減されている。特に、Cyclo(Leu-Leu)とCyclo(Leu-Phe)の総量(A)に対する苦味を有するジケトピペラジンCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)の総量(B)の割合 $[(B)/(A)]$ が、1.0以下 (好ましくは0.8以下) となる麦芽エキ스는、苦味が顕著に低減されたジケトピペラジン含有エキスであり、飲食品 (特に、飲料) に有利に配合することができる。

[0071] 麦芽エキス中のBxあたりのジケトピペラジンの総量は、 $900\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上、好ましくは $900\sim30000\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 、より好ましくは $2000\sim25000\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 、特に好ましくは $5000\sim20000\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ である。このような濃度範囲にすると、ジケトピペラジンの有する機能 (生理活性等) が付加された飲食品を製造するのに有利である。

[0072] 本発明のジケトピペラジンを高濃度に含有する麦芽エキ스는、以下の工程

を順次行うことにより、製造することができる。

(x) 麦芽又は麦芽タンパク分解物に、水存在下でエンド型プロテアーゼを作用させて、麦芽ペプチドを含む液を得る工程、

(y) 麦芽ペプチドを含む液を高温高圧処理して反応液を得る工程、及び

(z) 反応液を固液分離処理して、ジケトピペラジンを含む液体を回収する工程

茶エキスの製造と同様に、工程 (y) 及び (z) は順序を交換してもよい。また、工程 (x) の前に、水溶性タンパクを除去する工程 (w) を加えてもよい。その他、各工程の条件は前述したとおりである。

[0073] この方法によると、Cyclo(Leu-Leu)、Cyclo(Leu-Phe)及びCyclo(Ala-Ala)を高濃度に含有する麦芽エキスが製造できる。具体的には、これらの濃度がそれぞれ5.0 ppm/Bx (500 µg/100 g/Bx) 以上、好ましくは6.0 ppm/Bx以上、より好ましくは7.0 ppm/Bx以上の濃度となる麦芽エキスとなる。これらの上限は、50.0 ppm/Bx以下、好ましくは40.0 ppm/Bx以下、より好ましくは30.0 ppm/Bx以下、さらに好ましくは20.0 ppm/Bx以下程度である。

[0074] また、この方法により、Cyclo(Phe-Phe)を1.0 ppm/Bx以上、好ましくは2.0 ppm/Bx以上、さらに好ましくは3.0 ppm/Bx以上含有する麦芽エキスが得られるので、この方法は、Cyclo(Phe-Phe)の製造にも有利である。

実施例

[0075] 以下、実施例に基づいて本発明を説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。また、本明細書において特記しない限り、濃度等は重量基準であり、数値範囲はその端点を含むものとして記載される。

[0076] (実施例1) 植物性ペプチドからのジケトピペラジンの製造

植物性ペプチドとして大豆ペプチドおよびゴマペプチドを用い、液体中にて高温高圧処理してジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスを製造した。具体的には、大豆ペプチド（ハイニースAM、不二製油社製）および

ゴマペプチド (KM-20、KISCO社製) 3 g に、それぞれ 15 ml の蒸留水を加え、オートクレーブ (トミー精工社製) に入れて、135℃、0.31 MPa、3 時間高温高压処理を加えた。また、比較例として、同じペプチドを用いて高温高压処理を行わないものを調製した。処理後の液体 10 ml を 50 倍希釈して膜処理したものを LC-MS/MS に供し、各種ジケトピペラジン濃度を求めた。分析条件詳細は、下記の通り。また、ジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスのブリックス (Bx) をデジタル屈折計 RX-5000a (ATAGO 社製) を用いて測定し、ジケトピペラジンの総量 (単位: $\mu\text{g} / 100\text{g}$) とブリックス (Bx) の比を算出した。

[0077] [化1]

(LC-MS/MS 分析条件)

LC 装置	SHIMADZU UFLC XR
カラム	Agilent technologies Zorbax SB-AQ 1.8 μm 2.1 x 150 mm
カラム温度	40 °C
移動相	A: 0.1% ギ酸、B: メタノールのグラジエント分析
流速	総量 0.2 mL/min
注入量	2 μL
検出器	AB Sciex 4000 Q TRAP® - Turbo Spray (ESI) - Scheduled MRM (multiple reaction monitoring)
	ノズル位置 上 4 mm, 横 7 mm
	MRM detection window 40 sec, Target Scan Time 0.5 sec
	[Positive mode] Scheduled MRM にて分析
	イオンソース部条件 CUR 20.0, CAD 6, IS 5500, TEM 700, GS1 70, GS2 70

[0078] 表 2 に結果を示す (本明細書中、Cyclo(Leu-Leu)はCyclo(Leu-Leu)とCyclo(Ile-Ile)の合算値を表わす)。本発明の液体中での高温高压処理により、ジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキ스가簡便に製造できることがわかった。また、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Pro-Pro)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Met-Met)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Trp)、Cyclo(Phe-Trp)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Leu-Leu)、及びCyclo(Phe-Phe)からなる群より選択される少なくとも

1種のジケトピペラジンを増加させることができることが示唆された。特に、Cyclo(Leu-Leu)およびCyclo(Leu-Phe)を高濃度に含有し、その含有量は、ジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキス中21.5%であった。

[0079] [表2]

RT (min)	ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	大豆ペプチド		ゴマペプチド
		本発明品1	比較品	本発明品2
3.6	Cyclo (Ala-Gln)	6.8	0.0	3.0
3.7	Cyclo (His-Pro)	6.7	0.9	1.8
4.4	Cyclo (Ala-Ala)	6.1	0.0	2.8
5.6	Cyclo (Gly-Pro)	5.3	0.0	0.3
5.8	Cyclo (Ser-Tyr)	11.7	0.0	1.3
5.8	Cyclo (Pro-Thr)	8.1	0.5	2.6
6.5	Cyclo (His-Phe)	6.1	0.1	3.3
6.7	Cyclo (Ala-Pro)	6.9	0.8	2.1
7.4	Cyclo (Phe-Ser)	4.3	0.1	1.3
7.8	Cyclo (Gly-Leu)	4.5	0.0	4.4
8.1	Cyclo (Gly-Phe)	6.1	0.1	6.7
8.6	Cyclo (Pro-Pro)	0.4	0.0	0.1
8.6	Cyclo (Gly-Trp)	1.5	0.0	0.0
8.9	Cyclo (Asp-Phe)	6.6	0.2	6.8
9.2	Cyclo (Val-Pro)	5.8	0.5	0.4
9.4	Cyclo (Pro-Tyr)	3.2	0.2	0.3
9.6	Cyclo (Met-Pro)	2.7	0.5	0.1
10.2	Cyclo (Met-Met) t	0.2	0.1	2.0
10.2	Cyclo (Val-Val)	1.7	0.0	0.4
10.7	Cyclo (Leu-Pro)	6.9	1.1	1.5
10.5	Cyclo (Trp-Tyr)	1.0	0.0	0.3
11.0	Cyclo (Phe-Pro)	8.1	0.4	0.0
11.2	Cyclo (Leu-Trp)	2.7	0.0	4.2
11.8	Cyclo (Phe-Trp)	0.3	0.1	3.9
12.3	Cyclo (Leu-Phe)	14.5	0.3	5.5
12.4	Cyclo (Leu-Leu)	17.9	0.4	6.8
12.6	Cyclo (Phe-Phe)	4.3	0.0	2.8
合計濃度 (ppm/Bx)		150.7	6.5	64.6
単位 Bx あたり 合計濃度 (μ g/100g/Bx)		15067	652	6460

[0080] (実施例2) 植物性ペプチドからのCyclo(Phe-Phe)の製造

植物性ペプチドとして、以下のペプチドを用いた。

- 1) 大豆ペプチド「ハイニュートAM」(不二製油社製) : ジ・トリペプチドが67%、平均分子量500
- 2) 大豆ペプチド「ハイニュートDC」(不二製油社製) : 鎖長3~7、平均分子量1000
- 3) 大豆ペプチド「ハイニュートHK」(不二製油社製)
- 4) コメペプチド「オリザペプチド」(オリザ油化社製) : トリペプチドが40~50%
- 5) 小麦ペプチド「グルタミンペプチドGP-1N」(日清ファルマ社製) : 分子量5000~10000
- 6) 小麦ペプチド「グルタミンペプチドGP-N」(日清ファルマ社製) : 分子量5000~10000

植物性ペプチド3gに、それぞれ15mlの蒸留水を加え、オートクレーブ(トミー精工社製)に入れて、132℃、0.29MPa、2時間高温高压処理を加えた。処理後の液体10mlをOASIS MAX(Waters社製)を用いて固相抽出し、得られた固相抽出物を減圧濃縮後、DMSO 1000μlに溶解し、そのうち10μlを用いて高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりシクロフェニルアラニルフェニルアラニン濃度を求めた。

[0081] 表3に結果を示す。ペプチドの種類により、シクロフェニルアラニルフェニルアラニンの生成度合いに違いがあった。大豆ペプチドは、コメペプチドや小麦ペプチドを用いた場合に比べて、シクロフェニルアラニルフェニルアラニンが高濃度に生成した。これより、分子量5000以下(特に分子量1000以下)のペプチドの割合が高い大豆ペプチドを用いるのが好ましいことが示唆された。また、大豆ペプチドで比較すると、分子量がより小さく、ジ・トリペプチドを多く含むオリゴペプチドを原料とするのが好ましいことが示唆された。

[0082]

[表3]

	大豆ペプチド			コメペプチド	小麦ペプチド	
ジケトピペラジン 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	ハニユートAM	ハニユートDC	ハニユートHK	オリザペプチド	グルタミンペプチド GP-1N	グルタミンペプチド GP-N
Phe-Phe	38.4	25.8	15.1	3.2	0.59	0.33
Bx	20.66	20.10	19.42			
単位 Bx あたり 合計濃度 ($\mu\text{g}/100\text{g/Bx}$)	186	128	78			

[0083] (実施例3) 植物由来のタンパク質からのジケトピペラジンの製造

植物由来のタンパク質を原料として酵素による分解処理を施したものをを用いた。植物由来のタンパク質には、大豆タンパク質（プロリーナ900（不二製油社製））と米タンパク質（オリザプロテインP70（オリザ油化社製））を用いた。タンパク質300mgを15mlの蒸留水に加えた。次いで、酵素A（プロテアックス）、酵素B（ニューラーゼF3G；*Rhizopus niveus*由来の酸性プロテアーゼ（エンドペプチダーゼ））、酵素C（パパインW-40；*Carica papaya*由来のプロテアーゼ）、酵素D（プロテアーゼA「アマノ」SD；*Aspergillus* sp. 由来のプロテアーゼ）、酵素E（プロテアーゼM「アマノ」SD；*Aspergillus* sp. 由来のプロテアーゼ）、酵素F（プロテアーゼP「アマノ」3SD；*Aspergillus* sp. 由来のプロテアーゼ）、酵素G（プロメラインF；*Ananas comosus*由来のプロテアーゼ）、酵素H（ペプチダーゼR）、酵素I（サモアーゼPC10F；*Bacillus stearothermophilus*由来のプロテアーゼ（エンドペプチダーゼ））、酵素J（プロチンSD-NY10；*Bacillus* sp. 由来のプロテアーゼ）、酵素K（プロチンSD-AY10；*Bacillus* sp. 由来のプロテアーゼ）（以上、いずれも天野エンザイム社製）のいずれかを15mg添加し、37℃、2時間振とう混和した。その後、この酵素処理液を固液分離せずに加熱処理した。加熱処理はオートクレーブ（トミー精工社製）にて、132℃、2時間高温高压処理を行った。また、大豆タンパク質および米タンパク質を酵素で処理せずに同様に処理したものも製造した。処理後の液体10mlをOASIS MAX（Waters社製）を用いて固相抽出し、得られた固相抽出物を減圧濃縮後、DMSO 100 μl に溶解し、そのうち10 μl を用いて高速液体クロマ

トグラフィー（HPLC）によりシクロフェニルアラニルフェニルアラニン濃度を求めた。

[0084] 大豆タンパク質を用いた場合の結果を図1に、米タンパク質を用いた場合の結果を図2に示す。酵素による分解処理を行わないもの（未）も加熱による処理により、ジケトピペラジンが生成した。酵素の種類により、シクロフェニルアラニルフェニルアラニンの生成度合いに違いがあり、*Bacillus* sp. 由来のプロテアーゼを用いた場合に多く生成する傾向にあることがわかった。

[0085] （実施例4）植物体からのジケトピペラジンの製造（1）

植物体として、鹿児島県産の一番茶茶葉（品種：やぶきた、全窒素：6.3%）を用いた。この茶葉に対して、まず、水溶性タンパク質を低減する前処理（3回の前抽出）を行った。すなわち、茶葉10gに対して、熱湯200gを加えて適宜攪拌し、5分間抽出を行った。抽出終了後、140メッシュでろ過し、抽出残渣（茶滓）を回収した。この茶滓に対して、200gの熱湯を注ぎ5分間抽出を行って茶滓を回収した。再度、この茶滓に対して同様に抽出処理を行い茶滓を回収した。

[0086] 次に、この前抽出を行った茶葉（茶滓）に対して、酵素による分解処理を行った。茶滓（全量）に対して50℃の湯を200g注ぎ、プロテアーゼ（商品名：プロチンNY100、大和化成社製）を1g添加し、攪拌子で攪拌（300rpm）しながら、55℃のウォーターバス内にて3時間反応させた。その後、95℃、30分間保持して酵素を失活させた。

[0087] この酵素処理液を固液分離せずに茶葉液体混合物の形態で、加熱処理を施した。加熱処理は、オートクレーブ（トミー精工社製）に入れて、135℃、3時間の高温高压流体による加熱処理とした。処理後の液体を140メッシュでろ過し、茶エキス（エキスA）を得た。この茶エキス（エキスA）（B×0.99）について、実施例1と同様に、エキス中のジケトピペラジンの分析を行った。

[0088] 表4に結果を示す。茶葉（茶滓）に液体中での高温高压処理を行うことに

より、ジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスを高濃度に含有する茶エキ스가簡便に製造できることがわかった。また、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Pro-Pro)、Cyclo(Gly-Trp)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Met-Met)、Cyclo(Val-Val)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Trp-Tyr)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Trp)、Cyclo(Phe-Trp)、Cyclo(Leu-Phe)、Cyclo(Leu-Leu)、及びCyclo(Phe-Phe)からなる群より選択される少なくとも1種のジケトピペラジンを増加させることができることが示唆された。特に、シクロロイシルロイシンおよびシクロロイシルフェニルアラニンを高濃度に含有し、その含有量は、ジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキス中27.2%であった。この茶エキスの風味を官能評価すると、ほとんど無味無臭であった。

[0089]

[表4]

ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	エキスA
Cyclo (Ala-Gln)	6.7
Cyclo (His-Pro)	3.5
Cyclo (Ala-Ala)	11.3
Cyclo (Gly-Pro)	3.3
Cyclo (Ser-Tyr)	8.9
Cyclo (Pro-Thr)	6.9
Cyclo (His-Phe)	4.0
Cyclo (Ala-Pro)	3.2
Cyclo (Phe-Ser)	7.1
Cyclo (Gly-Leu)	9.0
Cyclo (Gly-Phe)	5.3
Cyclo (Pro-Pro)	1.7
Cyclo (Gly-Trp)	2.4
Cyclo (Asp-Phe)	7.1
Cyclo (Val-Pro)	2.9
Cyclo (Pro-Tyr)	1.8
Cyclo (Met-Pro)	0.9
Cyclo (Met-Met) t	0.5
Cyclo (Val-Val)	1.1
Cyclo (Leu-Pro)	6.8
Cyclo (Trp-Tyr)	1.3
Cyclo (Phe-Pro)	1.3
Cyclo (Leu-Trp)	2.2
Cyclo (Phe-Trp)	0.8
Cyclo (Leu-Phe)	17.5
Cyclo (Leu-Leu)	21.5
Cyclo (Phe-Phe)	4.2
合計濃度 (ppm/Bx)	143.3
単位 Bx あたり合計濃度 (μ g/100g/Bx)	14326

[0090] (実施例5) 植物体からのジケトピペラジンの製造(2)

植物体として、市販の水煮大豆および麦芽を使用した。水煮大豆および麦芽に対し、それぞれ実施例4と同様に、植物体(大豆)の乾燥重量に対して20倍量の熱湯で前抽出を3度行った後に、実施例3と同様の酵素処理及び液体中での高温高圧処理を行い、大豆エキス(エキスB)および麦芽エキス

(エキスC)を得た。なお、五訂データに基づき、大豆の乾燥重量は水煮大豆全量の36.5%として換算した。エキスBおよびエキスCについて、Bxを1に調整した後に実施例1と同様に、エキス中のジケトピペラジンの分析を行った。表5に結果を示す。大豆や麦芽からもジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスが簡便に製造できることがわかった。

[0091] [表5]

ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	エキスB	エキスC
Cyclo (Ala-Gln)	5.0	3.2
Cyclo (His-Pro)	3.2	2.0
Cyclo (Ala-Ala)	6.1	8.6
Cyclo (Gly-Pro)	3.0	2.2
Cyclo (Ser-Tyr)	9.4	3.6
Cyclo (Pro-Thr)	6.8	4.0
Cyclo (His-Phe)	3.7	2.2
Cyclo (Ala-Pro)	1.9	2.2
Cyclo (Phe-Ser)	2.8	2.2
Cyclo (Gly-Leu)	4.5	4.1
Cyclo (Gly-Phe)	5.4	2.7
Cyclo (Pro-Pro)	0.3	0.3
Cyclo (Gly-Trp)	1.1	0.6
Cyclo (Asp-Phe)	8.7	4.7
Cyclo (Val-Pro)	1.2	1.7
Cyclo (Pro-Tyr)	1.3	1.4
Cyclo (Met-Pro)	0.3	0.3
Cyclo (Met-Met) t	0.3	0.4
Cyclo (Val-Val)	1.4	0.7
Cyclo (Leu-Pro)	2.9	6.4
Cyclo (Trp-Tyr)	0.5	0.6
Cyclo (Phe-Pro)	3.3	3.3
Cyclo (Leu-Trp)	2.7	1.9
Cyclo (Phe-Trp)	0.6	0.3
Cyclo (Leu-Phe)	19.6	7.7
Cyclo (Leu-Leu)	24.2	9.5
Cyclo (Phe-Phe)	5.2	2.3
合計濃度 (ppm/Bx)	125.5	79.4
単位 Bx あたり合計濃度 (μ g/100g/Bx)	12553	7936

[0092] (実施例6) 植物体からのジケトピペラジンの製造 (3)

植物体として、実施例4と同じ茶葉を用い、前抽出、酵素処理、加熱処理の影響について検討した。サンプルを表6に示す。サンプルNo. 5及び6は、植物体からオリゴペプチドを生成させる工程と液体中での高温高圧処理によりオリゴペプチドを環化させてジペプチドを生成させる工程とを同時に加熱処理で実施していることを示す。前抽出は回数を2回にする他は、実施例4と同様にして行い、酵素処理は反応温度を50℃に、また加熱処理は加熱時間を8時間に変える他は、実施例4と同様にして行った。得られた茶エキス(サンプルNo.1~8)について、実施例1と同様にLC-MS/MSを用いて分析を行った。

[0093] [表6]

サンプル No.	前抽出	工程(a)	工程(b)	
1	なし	なし	加熱処理なし	
2	あり			
3	なし	酵素処理あり		
4	あり			
5	なし	酵素処理なし、加熱処理あり (135℃,8hr)		
6	あり			
7	なし	酵素処理あり	加熱処理あり (135℃,8hr)	
8	あり			

[0094] 表7に結果を示す。液体中での高温高圧処理を行わないと、ジケトピペラジンは生成しないことが明らかとなった(サンプルNo.1~4)。また、サンプルNo.5~8を比較して、以下の知見が得られた。

- ・前処理(抽出処理)を行うことで、得られる茶エキス中のジケトピペラジン濃度は増加した。
- ・加熱処理と酵素処理のいずれの方法でもオリゴペプチドが得られるが、酵素処理がより効果的かつ効率的であった。

[0095] 前抽出、加熱処理及び酵素処理を適切に用いることによって、B×あたりのジケトピペラジンの総量が、900μg/100g/B×以上と格段に多量に含む植物エキス(茶エキス)が得られた。これより、本発明が、ジケトピペラ

ジンを高濃度を含む植物エキス及びその製造に有利であることが示唆された。また、Cyclo(Ala-Gln)、Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Ala-Ala)、Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Ser-Tyr)、Cyclo(Pro-Thr)、Cyclo(His-Phe)、Cyclo(Ala-Pro)、Cyclo(Phe-Ser)、Cyclo(Gly-Leu)、Cyclo(Gly-Phe)、Cyclo(Pro-Pro)、Cyclo(Asp-Phe)、Cyclo(Val-Pro)、Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Met-Pro)、Cyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Leu-Phe)、及びCyclo(Leu-Leu)をそれぞれ $10 \mu\text{g} / 100 \text{g} / \text{Bx}$ 以上の濃度で含有する植物エキス（茶エキス）が得られることが示唆された。本発明は、これらジケトピペラジンの一以上の製造にも有用であることが示唆された。

[0096] さらに、前処理や酵素処理を行うことによってCyclo(Phe-Phe)が生成した。これより、本発明によると、 Bx あたりのCyclo(Phe-Phe)含量が $10 \mu\text{g} / 100 \text{g} / \text{Bx}$ 以上である、植物エキス（茶エキス）が得られることが示唆された。疎水性の高いCyclo(Phe-Phe)は、エキス中（水溶液中）で安定に維持できた。

[0097] サンプルNo.5～8の香味評価を行ったが、エキス自体は苦味を始めとする味を伴わないエキスであった。No5. サンプルと同濃度のCyclo(Leu-Pro)、Cyclo(Phe-Pro)及びCyclo(Leu-Trp)をそれぞれ1種類又は3種類全てを含有する水溶液を調製して香味評価を行ったところ、苦味が顕著に知覚されたことから、茶エキス中で存在することにより、苦味が低減されることが示唆された。

[0098]

[表7]

ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8
Cyclo (Ala-Gln)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	1.9	6.6
Cyclo (His-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	2.7	1.3	3.4
Cyclo (Ala-Ala)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	1.4	5.8	11.9
Cyclo (Gly-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	1.9	1.5	3.2
Cyclo (Ser-Tyr)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.6	3.5	8.7
Cyclo (Pro-Thr)	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	3.1	3.2	6.9
Cyclo (His-Phe)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	1.3	3.9
Cyclo (Ala-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	2.0	1.7	3.2
Cyclo (Phe-Ser)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.7	3.4	7.4
Cyclo (Gly-Leu)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.6	3.9	9.6
Cyclo (Gly-Phe)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.5	1.8	5.4
Cyclo (Pro-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	2.2	0.8	1.7
Cyclo (Gly-Trp)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.6	2.4
Cyclo (Asp-Phe)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.3	1.7	6.4
Cyclo (Val-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.5	1.3	3.0
Cyclo (Pro-Tyr)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.9	0.8	1.8
Cyclo (Met-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.6	0.3	0.9
Cyclo (Met-Met) t	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.5
Cyclo (Val-Val)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	1.1
Cyclo (Leu-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	2.4	3.4	6.7
Cyclo (Trp-Tyr)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	1.3
Cyclo (Phe-Pro)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.9	0.6	1.3
Cyclo (Leu-Trp)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	2.2
Cyclo (Phe-Trp)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.8
Cyclo (Leu-Phe)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.4	4.1	16.5
Cyclo (Leu-Leu)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	6.2	20.9
Cyclo (Phe-Phe)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.6	3.9
合計濃度 (ppm/Bx)	0.0	0.0	0.0	0.0	9.1	24.0	51.1	141.6
単位 Bx あたり 合計濃度 (μ g/100g/Bx)	0	0	0	0	905	2402	5114	14157

[0099] (実施例7) 植物体からのジケトピペラジンの製造(4)

実施例6において、前抽出の有用性が確認されたことから、前抽出の回数について検討した。植物体として、鹿児島県産の一番茶茶葉(品種:やぶきた、全窒素:6.3%)を用いた。ジケトピペラジンの濃度をより高めるため、前抽出の最適回数の検討を実施した。前抽出は次の要領で実施した。茶葉10gに対して、熱湯200gを加えて適宜攪拌し5分間抽出を行った。抽出終了後、140メッシュで濾過し、抽出液は廃棄した。前抽出を二回以上実施す

る水準においては、濾過して得た茶殻に再度熱湯を200g加えて同様の操作を繰り返した。このようにして、前抽出を0回～3回実施した茶葉（初期量10g）に対して50℃の湯を200g注ぎ、酵素プロテアーゼ（天野エンザイム、プロチンNY100）を1g添加し、攪拌子で攪拌（300rpm）しながら、50℃のウォーターバス内にて3時間反応させた。その後、95℃、30分間保持することで酵素を失活させた。得られた茶葉液体混合物をオートクレーブ（トミー精工）に入れて、135℃、8時間高温高圧処理を行った後の液体を140メッシュで濾過し、茶エキスを得た。得られた抽出液はそれぞれBx測定をした後に、実施例1同様にLC-MS/MSを用いてジケトピペラジンの濃度を定量した。

[0100] 表8に結果を示す。前抽出の回数に応じて、ジケトピペラジンの生成量が増加した。前抽出の回数と可溶性成分の除去率の関係を図3に示す。可溶性成分の除去率は、式「（前抽出で得られた採液量（総量）（g）×そのブリックス [Bx]）／（植物体の重量に対して30倍量の熱湯で10分間抽出することを10回繰り返した際の採液量（g）×そのブリックス [Bx]）×100（％）」で算出した。前抽出を3回繰り返すことで、可溶性成分を95％以上除去できることがわかった。

[0101]

[表8]

ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	前抽出の回数			
	0 回	1 回	2 回	3 回
Cyclo (Ala-Gln)	1.9	5.0	6.6	6.7
Cyclo (His-Pro)	1.3	2.8	3.4	3.5
Cyclo (Ala-Ala)	5.8	9.6	11.9	11.3
Cyclo (Gly-Pro)	1.5	2.7	3.2	3.3
Cyclo (Ser-Tyr)	3.5	7.0	8.7	8.9
Cyclo (Pro-Thr)	3.2	5.8	6.9	6.9
Cyclo (His-Phe)	1.3	3.0	3.9	4.0
Cyclo (Ala-Pro)	1.7	2.7	3.2	3.2
Cyclo (Phe-Ser)	3.4	6.7	7.4	7.1
Cyclo (Gly-Leu)	3.9	8.6	9.6	9.0
Cyclo (Gly-Phe)	1.8	4.5	5.4	5.3
Cyclo (Pro-Pro)	0.8	1.5	1.7	1.7
Cyclo (Gly-Trp)	0.6	1.8	2.4	2.4
Cyclo (Asp-Phe)	1.7	5.2	6.4	7.1
Cyclo (Val-Pro)	1.3	2.4	3.0	2.9
Cyclo (Pro-Tyr)	0.8	1.5	1.8	1.8
Cyclo (Met-Pro)	0.3	0.7	0.9	0.9
Cyclo (Met-Met) t	0.1	0.0	0.5	0.5
Cyclo (Val-Val)	0.3	0.8	1.1	1.1
Cyclo (Leu-Pro)	3.4	6.0	6.7	6.8
Cyclo (Trp-Tyr)	0.3	0.9	1.3	1.3
Cyclo (Phe-Pro)	0.6	1.1	1.3	1.3
Cyclo (Leu-Trp)	0.6	1.7	2.2	2.2
Cyclo (Phe-Trp)	0.2	0.6	0.8	0.8
Cyclo (Leu-Phe)	4.1	12.2	16.5	17.5
Cyclo (Leu-Leu)	6.2	16.9	20.9	21.5
Cyclo (Phe-Phe)	0.6	2.6	3.9	4.2
合計濃度 (ppm/Bx)	51.1	114.4	141.6	143.3
単位 Bx あたり 合計濃度 (μ g/100g/Bx)	5114	11437	14157	14326

[0102] (実施例8) 植物体からのジケトピペラジンの製造 (5)

実施例6において、酵素処理の有用性が確認されたことから、酵素の種類について検討を行った。検討した酵素は次の9種類である。

<サンプルNo.9> プロチンNY100 : *Bacillus amyloliquefaciens*由来のプロテ

アーゼ（エンドペプチダーゼ）

<サンプルNo.10>サモアーゼ160 : *Bacillus stearothermophilus*由来の耐熱性プロテアーゼ（エンドペプチダーゼ）

<サンプルNo.11>サモアーゼPC10F : *Bacillus stearothermophilus*由来のプロテアーゼ（エンドペプチダーゼ）

<サンプルNo.12>プロテアックス : *Aspergillus oryzae*由来の中性プロテアーゼ

<サンプルNo.13>プロテアーゼM : *Ananas comosus* 由来の中性プロテアーゼ

<サンプルNo.14>プロテアーゼP : *Aspergillus melleus*由来のアルカリ性プロテアーゼ

<サンプルNo.15>プロテアーゼA : *Aspergillus oryzae*由来の中性プロテアーゼ

<サンプルNo.16>ペプチダーゼR : *Rhizopus oryzae*由来の中性プロテアーゼ

<サンプルNo.17>ニューラーゼF3G : *Rhizopus niveus*由来の酸性プロテアーゼ（エンドペプチダーゼ）

植物体として、鹿児島県産の一番茶茶葉（品種：やぶきた、全窒素：6.3%）を用いた。茶葉10gに実施例6と同様の前抽出を3回実施して得た茶滓に対して55℃（サモアーゼ160およびサモアーゼPC10Fに関しては70℃）の湯を200g注ぎ、各種酵素を1g添加し、攪拌子で攪拌（300rpm）しながら、55℃（サモアーゼ160およびサモアーゼPC10Fに関しては70℃）のウォーターバス内にて3時間反応させた。その後、95℃、30分間保持することで酵素を失活させた。得られた茶葉液体混合物をオートクレーブ（トミー精工）に入れて、135℃、8時間高温高圧処理を加えた。処理後の液体を140メッシュで濾過し、茶エキスを得た。得られた抽出液はそれぞれBx測定をした後に、実施例1同様にLS-MS/MS測定によりジケトピペラジンの濃度を定量した。

[0103] 表9に結果を示す。細菌由来の酵素でエンドペプチダーゼ活性が高い酵素を用いた場合に、ジケトピペラジンの濃度が顕著に増加することがわかった

。細菌由来の酵素の中でも、*Bacillus subtilis*由来の中性プロテアーゼや*Bacillus stearothermophilus*由来のプロテアーゼを用いた場合に、特にジケトピペラジンの生成量が増加した。

[0104] [表9]

ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	No.9	No.10	No.11	No.12	No.13	No.14	No.15	No.16	No.17
Cyclo (Ala-Gln)	6.7	7.0	3.8	2.1	1.3	1.6	1.9	1.3	0.8
Cyclo (His-Pro)	3.5	2.4	2.6	3.2	5.4	4.8	2.5	4.2	1.6
Cyclo (Ala-Ala)	11.3	9.8	7.5	3.8	2.3	2.7	4.1	2.1	1.4
Cyclo (Gly-Pro)	3.3	2.2	1.9	1.2	3.5	2.6	2.4	2.8	1.6
Cyclo (Ser-Tyr)	8.9	5.7	3.5	1.6	0.7	1.3	1.2	0.8	0.4
Cyclo (Pro-Thr)	6.9	5.3	3.8	4.0	7.4	6.8	5.2	6.1	3.7
Cyclo (His-Phe)	4.0	4.5	3.9	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3
Cyclo (Ala-Pro)	3.2	3.2	1.9	2.0	3.4	2.7	2.6	2.9	1.6
Cyclo (Phe-Ser)	7.1	5.3	4.9	1.5	0.8	1.2	0.9	0.9	0.7
Cyclo (Gly-Leu)	9.0	19.0	10.5	1.3	1.0	1.0	1.3	0.9	0.7
Cyclo (Gly-Phe)	5.3	5.7	5.8	0.8	0.8	1.0	0.6	0.7	0.5
Cyclo (Pro-Pro)	1.7	1.9	1.4	0.7	1.8	1.9	0.6	1.7	0.8
Cyclo (Gly-Trp)	2.4	2.0	0.8	0.4	0.5	0.5	0.7	0.5	0.2
Cyclo (Asp-Phe)	7.1	8.3	6.4	0.6	0.8	1.0	0.7	0.9	0.7
Cyclo (Val-Pro)	2.9	1.5	1.4	2.0	3.7	3.3	2.6	3.0	1.6
Cyclo (Pro-Tyr)	1.8	1.2	1.2	1.3	3.5	2.8	2.3	2.7	1.1
Cyclo (Met-Pro)	0.9	0.5	0.5	0.7	1.4	0.8	1.3	1.0	0.0
Cyclo (Met-Met) t	0.5	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cyclo (Val-Val)	1.1	1.4	0.7	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1
Cyclo (Leu-Pro)	6.8	4.5	2.5	3.1	6.9	5.5	5.4	5.1	1.9
Cyclo (Trp-Tyr)	1.3	1.5	0.6	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0
Cyclo (Phe-Pro)	1.3	1.0	0.9	1.2	3.2	2.0	2.4	2.4	0.9
Cyclo (Leu-Trp)	2.2	3.4	2.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Cyclo (Phe-Trp)	0.8	0.9	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cyclo (Leu-Phe)	17.5	4.1	10.2	1.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3
Cyclo (Leu-Leu)	21.5	8.9	10.8	2.6	0.2	0.4	0.8	0.3	1.1
Cyclo (Phe-Phe)	4.2	0.8	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
合計濃度 (ppm/Bx)	143.3	112.4	92.9	36.1	49.1	44.7	40.0	40.9	21.9
単位 Bx あたり 合計濃度 (μ g/100g/Bx)	14326	11242	9286	3607	4909	4471	4001	4086	2193

[0105] (実施例9) 植物体からのジケトピペラジンの製造 (6)

茶葉に対する酵素 (プロチンNY100) 濃度を0~20%に変える他は、実施例4と同様にして茶エキスを製造した。得られた茶エキスについて、官能評価を実施するとともに、実施例1と同様にLC-MS/MSを用いて表10に示す17種のジケトピペラジンの含有量を定量し、その総量を求めた。

[0106] 表 10 に結果を示す。酵素濃度は、植物原料に対して 1 重量%～20 重量%、好ましくは 3 重量%～15 重量%、より好ましくは 4 重量%～10 重量%の範囲であることが示唆された。また、いずれの茶エキスもエキス自体にほとんど風味はなく、飲食物に配合して利用可能なエキスであると判断した。特に、前抽出、酵素処理、加熱処理を組み合わせで行ったものの香味が優れていた。

[0107] [表10]

RT (min)	ジケトピペラジン 濃度 (ppm)	酵素濃度							
		0.5%	1%	2%	3%	5%	10%	15%	20%
4.4	Cyclo (Ala-Gln)	14.1	16.5	20.3	20.7	23.6	26.4	26.2	28.2
5.6	Cyclo (His-Pro)	2.3	2.4	2.9	3.1	3.5	4.0	3.8	4.2
6.7	Cyclo (Ala-Ala)	2.0	2.2	2.6	2.7	3.1	3.5	3.5	3.7
7.4	Cyclo (Gly-Pro)	5.6	5.9	7.5	7.3	8.6	9.9	10.0	10.5
7.8	Cyclo (Ser-Tyr)	10.0	11.2	13.7	13.6	14.5	15.0	13.8	13.1
8.1	Cyclo (Pro-Thr)	6.7	7.5	9.7	9.9	11.4	12.1	11.1	10.7
8.6	Cyclo (His-Phe)	0.7	0.7	0.9	0.9	1.0	1.1	1.1	1.1
9.2	Cyclo (Ala-Pro)	0.7	0.7	1.0	1.0	1.3	1.6	1.7	1.9
9.6	Cyclo (Phe-Ser)	0.4	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.7	0.8
10.2	Cyclo (Gly-Leu)	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3
10.2	Cyclo (Gly-Phe)	1.0	1.3	1.7	1.7	2.0	2.2	2.2	2.2
10.7	Cyclo (Pro-Pro)	1.4	1.6	2.1	2.2	2.7	3.4	3.6	4.0
11	Cyclo (Gly-Trp)	1.3	1.4	1.7	1.6	1.8	2.0	2.0	2.2
12.3	Cyclo (Asp-Phe)	18.9	22.1	28.3	28.4	32.1	33.3	30.3	28.4
12.4	Cyclo (Val-Pro)	11.7	12.9	15.2	14.8	16.2	15.4	13.3	12.2
12.6	Cyclo (Pro-Tyr)	2.2	2.8	4.1	4.6	5.8	7.4	7.2	7.2
合計濃度 (ppm)		79.2	89.9	112.4	113.2	128.8	138.6	130.9	130.5
Bx		0.56	0.63	0.79	0.82	0.99	1.25	1.39	1.57
単位 Bx あたり 合計濃度 (μ g/100g/Bx)		14146	14267	14231	13803	13010	11088	9416	8310

[0108] (実施例 10) 植物体からのジケトピペラジンの製造 (7)

高温高圧処理の条件を変える他は、実施例 4 と同様にして茶エキスを製造した。具体的には、植物体として、実施例 4 と同じの茶葉を同量用いた。前抽出を 20 倍量の水から 30 倍量の水に変えて 3 回繰り返して茶葉 (茶滓) を得、実施例 4 と同様に酵素処理を行い、実施例 4 と同じ加熱処理装置を用いて表 11 に示す種々の加熱条件で加熱処理を行った。得られた茶エキスについて、実施例 1 と同様に、エキス中のジケトピペラジンの分析を行った。

[0109] 表 1 1 に結果を示す。ジケトピペラジンを生成するためには、100℃以上（好ましくは115℃以上、より好ましくは125℃以上）の加熱が必要であることが示唆された。また、加熱時間は、30分～10時間、好ましくは2～8時間程度の加熱であることが示唆された。

[0110] [表11]

ジケトピペラジン 濃度 (ppm/Bx)	加熱処理条件				
	95℃ 30min	105℃ 3h	115℃ 3h	125℃ 3h	135℃ 3h
Cyclo (Ala-Gln)	0.0	0.8	1.3	2.4	7.6
Cyclo (His-Pro)	0.0	0.5	1.0	1.6	2.2
Cyclo (Ala-Ala)	0.0	3.2	5.8	9.7	19.8
Cyclo (Gly-Pro)	0.0	0.3	0.9	1.6	3.5
Cyclo (Ser-Tyr)	0.0	0.6	1.3	3.0	5.9
Cyclo (Pro-Thr)	0.2	0.9	1.8	3.2	5.5
Cyclo (His-Phe)	0.0	0.9	1.7	2.5	2.1
Cyclo (Ala-Pro)	0.0	0.8	1.2	2.0	4.9
Cyclo (Phe-Ser)	0.1	1.4	1.8	2.7	6.9
Cyclo (Gly-Leu)	0.0	1.8	4.0	6.3	10.7
Cyclo (Gly-Phe)	0.1	1.7	3.1	5.7	9.2
Cyclo (Pro-Pro)	0.0	0.1	0.3	0.6	1.6
Cyclo (Gly-Trp)	0.0	0.5	0.8	1.5	3.0
Cyclo (Asp-Phe)	0.2	3.1	5.3	9.4	15.5
Cyclo (Val-Pro)	0.1	0.4	0.6	0.9	2.1
Cyclo (Pro-Tyr)	0.0	0.2	0.3	0.5	1.4
Cyclo (Ala-Gln)	0.0	0.0	0.1	0.3	0.7
Cyclo (His-Pro)	0.0	0.2	0.3	0.4	0.8
Cyclo (Ala-Ala)	0.0	0.1	0.2	0.4	1.6
Cyclo (Gly-Pro)	0.3	1.9	3.0	4.2	6.3
Cyclo (Ser-Tyr)	0.0	0.3	0.6	1.1	2.2
Cyclo (Pro-Thr)	0.0	0.0	0.3	0.7	1.4
Cyclo (His-Phe)	0.0	0.5	1.2	2.4	2.7
Cyclo (Ala-Pro)	0.0	0.2	0.1	0.7	1.7
Cyclo (Phe-Ser)	0.1	1.9	4.7	9.7	14.4
Cyclo (Gly-Leu)	0.2	2.4	5.7	12.0	17.7
Cyclo (Gly-Phe)	0.0	0.7	1.5	2.4	6.0
合計濃度 (ppm/Bx)	1.3	25.5	48.9	87.8	157.5
単位 Bx あたり 合計濃度 (μ g/100g/Bx)	130	2555	4890	8781	15748

[0111] (実施例 1 1) ジケトピペラジン含有飲食物の製造

市販の P E T 緑茶飲料 4 5 0 g に、実施例 4 で製造した茶エキス A 及び／又は水を表 1 2 のとおり 5 0 g ずつ添加して、全量 5 0 0 g のジケトピペラジン含有茶飲料を調製した。これら茶飲料について香味の官能評価を実施した。評価は、苦味を中心に総合的な好ましさで判断し、◎：香味が非常に良好、○：香味良好、△：飲用可能な香味、×やや飲用が困難な香味、××：飲用が非常に困難な香味の五段階で行った。

[0112] 表 1 2 に結果を示す。飲料 5 0 0 g あたり、ジケトピペラジン混合体として実施例 4 の茶エキス A を 0 ～ 5 0 g 含有する茶飲料は、いずれも香味良好であることを確認した。このことから、本発明で得られる茶エキスが飲料香味の配合設計において、汎用性の高い素材であることが示唆された。

[0113] [表12]

	配合量				ジケトピペラジン総量 (μ g/500g)	官能評価結果
	PET 緑茶 飲料 (g)	茶エキス (g)	水 (g)	合計 (g)		
1	450	0	50	500	0	◎
2	450	5	45	500	57	◎
3	450	10	40	500	115	◎
4	450	20	30	500	229	◎
5	450	30	20	500	344	◎
6	450	50	0	500	574	○

請求の範囲

- [請求項1] シクロアラニルグルタミン、シクロアラニルアラニン、シクロセリルチロシン、シクログリシルロイシン、シクログリシルトリプトファン、シクロバリルバリン、シクロトリプトファニルチロシン、シクロロイシルトリプトファン及びシクロフェニルアラニルフェニルアラニンのいずれか一以上を、 $10\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上の濃度で含有する、植物エキス。
- [請求項2] Bx あたりのジケトピペラジンの総量が、 $900\mu\text{g}/100\text{g}/\text{Bx}$ 以上である、請求項1記載の植物エキス。
- [請求項3] 植物エキ스가、茶エキス、大豆エキス又は麦芽エキスである、請求項1または2記載の植物エキス。
- [請求項4] タンパク質を含有する植物体に分解処理を施して植物性ペプチドを生成させ、この植物性ペプチドを液体中で高温高压処理することにより得られる植物エキス。
- [請求項5] 植物性ペプチドを、液体中で高温高压処理する工程を含む、シクロロイシルロイシン及びシクロロイシルフェニルアラニンを含むジケトピペラジンを高濃度に含有する植物エキスの製造方法。
- [請求項6] 高温高压処理工程での加熱条件が、 $100\sim 170^{\circ}\text{C}$ の液体中で $30\sim$ 数時間である、請求項5に記載の製造方法。
- [請求項7] 植物性ペプチドがオリゴペプチドである、請求項5又は6に記載の製造方法。
- [請求項8] 植物性ペプチドが、植物由来のタンパク質又はタンパク質を含有する植物体に分解処理を施して得られたものである、請求項5～7のいずれかに記載の製造方法。
- [請求項9] 分解処理が加熱処理または酵素処理である、請求項8に記載の製造方法。
- [請求項10] 分解処理が酵素処理であり、酵素がエンド型プロテアーゼである、請求項9記載の製造方法。