

明 細 書

発明の名称：

銅含有酵母抽出物及びその製造方法、並びに食品、及び野菜の緑色保持復元剤

技術分野

[0001] 本発明は、銅含有酵母抽出物及びその製造方法、並びに食品、及び野菜の緑色保持復元剤に関する。

背景技術

[0002] 銅は、近時の厚生労働省が発表したデータによると成人男性での1日の推定平均必要量としては約0.7mg（成人女性では約0.6mg）とされており、生体内で欠乏すると、貧血や心臓疾患等を引き起こす可能性がある（非特許文献1参照）。このため、銅を効率良く生体内に摂取乃至吸収することができ、銅欠乏による貧血、心臓疾患等を改善し得る流動食、飲料等の安全な食品素材の開発が必要である。

一方、酵母は古くから人類が食品素材として利用しており、例えば、ビール酵母が食物繊維、ビタミンあるいはミネラル分の供給源としても用いられてきた。特に菌体内に銅を取り込ませた酵母（銅含有酵母）又はその抽出物は、銅を補強した安全な食品素材として利用可能であると考えられる。

しかしながら、従来銅含有酵母においては、酵母臭等の独特の臭い及び酵母味等の独特の味が十分に低減されていないため、食品としての用途においては十分満足いくものではなかった。

[0003] 上記問題を解決するため、前記銅含有酵母から抽出された銅含有酵母抽出物とすることが考えられる。これまで、銅等のミネラル含有酵母からの抽出には、（１）熱水抽出法、（２）自己消化法、（３）酵素分解法などが用いられてきた（非特許文献2参照）。しかしながら、前記（１）～（３）の方法では、ミネラルの回収率（以下、「抽出率」と称することがある）が低いという問題があった。ミネラルの中でも、特に銅の抽出率は低く、その抽出

率を高めることができる技術の開発が強く求められているのが現状である。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：「日本人の食事摂取基準 2010年版」 厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書、第一出版株式会社、p. 231 - p. 233、付録X L I X (2010年)

非特許文献2：杉本 洋 「酵母エキス製造法の変遷 (I) - 国内の特許出願の傾向から -」 New Food Industry 1994, Vol. 36, No. 10, p. 41 - 48

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、このような要望に応え、現状を打破し、従来における前記諸問題を解決し、以下の目的を達成することを課題とする。即ち、本発明は、銅を含有する酵母から、高い抽出率で銅を抽出することができる銅含有酵母抽出物の製造方法、該製造方法により得られる銅含有酵母抽出物、並びに該銅含有酵母抽出物を含む食品、及び野菜の緑色保持還元剤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

[0006] 前記課題を解決するための手段としては、以下の通りである。即ち、

<1> 銅を含有する酵母を、アミノ酸乃至その塩を含む溶液に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する抽出工程を含み、

前記アミノ酸乃至その塩が水溶性であることを特徴とする銅含有酵母抽出物の製造方法である。

<2> 抽出工程で得られる抽出液のpHが、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかである前記<1>に記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

<3> アミノ酸乃至その塩が、ヒスチジン乃至その塩、グリシン乃至そ

の塩、スレオニン乃至その塩、及びグルタミン酸乃至その塩から選択される少なくとも１種である前記＜１＞から＜２＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜４＞ アミノ酸乃至その塩が、ヒスチジン乃至その塩を含む前記＜１＞から＜３＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜５＞ アミノ酸乃至その塩が、ヒスチジン乃至その塩と、グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、及びグルタミン酸乃至その塩から選択される少なくとも１種とを含む前記＜１＞から＜４＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜６＞ 銅を含有する酵母を、細胞壁分解酵素で処理する工程を含む前記＜１＞から＜５＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜７＞ 下記式で表される銅の抽出率が、４０％以上である前記＜１＞から＜６＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

銅抽出率（％）＝ {抽出物中の銅全量（質量）／抽出に用いた酵母に含まれる銅全量（質量）} × １００

＜８＞ 銅の抽出率が、５０％以上である前記＜７＞に記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜９＞ 抽出工程の前に、酵母を６０℃～１２０℃の熱水に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する熱水処理工程を含む前記＜１＞から＜８＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜１０＞ 熱水処理工程において、熱水にリン酸塩を添加する前記＜９＞に記載の銅含有酵母抽出物の製造方法である。

＜１１＞ 前記＜１＞から＜１０＞のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法により製造されたことを特徴とする銅含有酵母抽出物である。

＜１２＞ 酵母が、食用酵母である前記＜１１＞に記載の銅含有酵母抽出物である。

＜１３＞ 食用酵母が、パン酵母、ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母及び味噌醤油酵母から選択される少なくとも１種である前記＜１２＞に記載の

○ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗

発明を実施するための形態

[0009] (銅含有酵母抽出物の製造方法)

本発明の銅含有酵母抽出物の製造方法は、抽出工程を含み、更に必要に応じて、酵素処理工程、熱水処理工程、乾燥工程などのその他の工程を含む。

[0010] <抽出工程>

前記抽出工程は、銅を含有する酵母を、アミノ酸乃至その塩を含む溶液に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する工程である。前記抽出工程により、銅を含有する液体成分（以下、「抽出液」と称することがある）を得ることができる。

[0011] <<酵母>>

前記酵母は、菌体内に銅を含んでいる限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。前記酵母における銅含有量としては、銅含有酵母抽出物を銅強化食品素材等として用いる場合には多いほど好ましいが、酵母における銅の取込みの限界、及び銅含有酵母抽出物を効率的に製造する観点からは、乾燥菌体質量当たり0.01質量%～10質量%が好ましく、0.5質量%～2質量%がより好ましい。

[0012] ここで、前記銅含有量とは、酵母菌体内における銅含有量を指し、例えば、水等で洗浄した菌体であっても、洗浄後においても銅含有量が高く維持されることが好ましい。このような酵母は、洗浄を行っても該銅は除去されず菌体内部に保持されたままであるので、菌体由来の銅であって安全性が高く、酵母特有の臭いや味を低減するための熱水処理（洗浄）を行った場合に、添加した食品の風味等を損なうことがなく、しかも前記銅を高濃度含有しているので、食品素材等として好適である。

なお、前記酵母における銅含有量は、公知の方法で測定することができ、例えば、原子吸光法により測定することができる。

[0013] 前記銅を含有する酵母は、培養液に銅を添加して酵母を培養することにより、酵母菌体内に銅を取り込ませて作製してもよいし、市販品を用いてもよい。市販品としては、例えば、ミネラル酵母Cu1、イーストミネラル銅（

以上、オリエンタル酵母工業株式会社製）などが挙げられる。

[0014] 前記銅を含有する酵母は、更に、破碎されていてもよい。前記酵母が破碎物である場合でも、銅含有量が多いほど好ましく、破碎物を水等で洗浄した沈殿画分における乾燥菌体質量当たりの銅含有量が、破碎を行う前の菌体における乾燥菌体質量当たりの銅含有量の70質量%以上が好ましく、80質量%以上がより好ましく、90質量%以上が特に好ましい。

[0015] なお、前記破碎の方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、物理的破碎処理であってもよいし、化学的破碎処理であってもよく、具体的には、0.5mm径のビーズをシリンダーに50容量%充填したダイノミルを用いる方法などが好適に挙げられる。

[0016] また、前記銅を含有する酵母の態様としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、湿菌体の態様、粉末の態様などが挙げられる。

[0017] 前記酵母は、銅以外に、更にその他のミネラル成分を含有していてもよく、該ミネラル成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、鉄、マグネシウム、マンガン、亜鉛等が挙げられる。これらのミネラル成分は、酵母中に、1種単独で含まれていてもよいし、2種以上含まれていてもよく、また、含まれている濃度としては、目的に応じて異なり一概に規定することはできないが、一般に高濃度であることが好ましい。

[0018] 前記酵母としては、前記銅含有酵母抽出物を食品素材等として用いる場合には、食用酵母であることが特に好ましい。

前記食用酵母としては、特に制限はなく、公知のものの中から選択することができ、例えば、パン酵母、ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母、味噌醤油酵母などが挙げられる。これらの中でも、パン酵母が特に好ましい。

[0019] 前記食用酵母の菌株としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、サッカロミセス (Saccharomyces) 属、トルロプシス (Torulopsis) 属、ミコトルラ (Mycotor

ula) 属、トルラスポラ (Torulaspora) 属、キャンディダ (Candida) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、ピキア (Pichia) 属などが挙げられる。

[0020] 前記食用酵母の菌株の具体例としては、Saccharomyces cerevisiae、Saccharomyces carlsbergensis、Saccharomyces uvarum、Saccharomyces rouxii、Torulopsis utilis、Torulopsis candida、Mycotorula japonica、Mycotorula lipolytica、Torulaspora delbrueckii、Torulaspora fermentati、Candida sake、Candida tropicalis、Candida utilis、Hansenula anomala、Hansenula suaveolens、Saccharomycopsis fibuligera、Saccharomyces lipolytica、Rhodotorula rubra、Pichia farinosaなどが挙げられる。

これらの中でも、Saccharomyces cerevisiae、Saccharomyces carlsbergensisが好ましく、Saccharomyces cerevisiaeが特に好ましい。

[0021] <<アミノ酸乃至その塩>>

前記アミノ酸乃至その塩としては、水溶性であれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記水溶性とは、 $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ の水に1質量%以上溶解する溶解性をいう。

[0022] 前記アミノ酸乃至その塩の具体例としては、ヒスチジン乃至その塩、グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、グルタミン酸乃至その塩、リジン乃至その塩、アルギニン乃至その塩、アラニン乃至その塩、バリン乃至その塩、プロリン乃至その塩、セリン乃至その塩、システイン乃至その塩などが挙げられる。これらの中でも、銅抽出率がより優れる点で、ヒスチジン乃至

その塩、グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、グルタミン酸乃至その塩が好ましく、ヒスチジン乃至その塩がより好ましい。

前記塩としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、塩酸塩、ナトリウム塩などが挙げられる。

前記アミノ酸乃至その塩は、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。また、前記アミノ酸乃至その塩は、どちらか一方を使用してよいし、両者を使用してもよい。

[0023] 前記アミノ酸乃至その塩を複数使用する態様としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、銅抽出率がより優れ、また製造コストに優れる点で、ヒスチジン乃至その塩と、グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、及びグルタミン酸乃至その塩から選択される少なくとも1種とを併用する態様が好ましい。

前記併用する態様における、前記ヒスチジン乃至その塩と、前記グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、及びグルタミン酸乃至その塩から選択される少なくとも1種との比率としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

[0024] 前記懸濁液における前記アミノ酸乃至その塩の量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、10ミリモル/L以上が好ましく、10ミリモル/L～200ミリモル/Lがより好ましい。

[0025] 前記アミノ酸乃至その塩を含む溶液に用いられる溶媒としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、通常水であり、該水とアルコール等の有機溶媒との混合溶液であってもよい。

[0026] 前記懸濁液には、前記アミノ酸乃至その塩以外の他の成分が含まれていてもよい。前記その他の成分としては、本発明の効果を損なわない限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、カルボン酸乃至その塩などが挙げられる。

前記カルボン酸乃至その塩としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、クエン酸乃至その塩が、前記アミノ酸乃至その塩

と組み合わせることにより、銅の抽出率を高めることができる点で、好ましい。
 い。

前記クエン酸の塩としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、クエン酸三ナトリウムなどが挙げられる。

前記カルボン酸乃至その塩の使用量としては、本発明の効果を損なわない限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

[0027] 前記アミノ酸乃至その塩を含む溶液の pH としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。後述する抽出液の好ましい pH に応じて適宜選択する pH とすることができる。前記アミノ酸乃至その塩を含む溶液の pH を調整する方法としては、公知の方法を適宜選択することができる。

[0028] 前記懸濁液の pH としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。後述する抽出液の好ましい pH に応じた pH とすることができる。前記懸濁液の pH を調整する方法としては、公知の方法を適宜選択することができる。

[0029] 前記抽出工程における抽出時間としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。銅抽出率の観点から、5 分以上が好ましく、5 分間～24 時間がより好ましい。

[0030] 前記抽出工程における懸濁液の温度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。銅抽出率の観点から、10℃以上が好ましく、10℃～110℃がより好ましい。

[0031] 前記抽出工程における銅抽出率（以下、「銅溶出率」と称することもあ）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。高いほど好ましく、40%以上が好ましく、50%以上がより好ましく、60%以上が特に好ましい。

前記銅抽出率は、下記式により求めることができる。

$$\text{銅抽出率 (\%)} = \{ \text{抽出物中の銅全量 (質量)} / \text{抽出に用いた酵母に含まれる銅全量 (質量)} \} \times 100$$

[0032] <<懸濁>>

前記酵母を前記アミノ酸乃至その塩を含む溶液に懸濁させる方法としては、特に制限はなく、公知の攪拌方法や振とう方法を用いることができる。また、前記抽出工程において、前記懸濁液を更に振とうしてもよい。前記振とうの条件としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

[0033] <固体成分と液体成分との分離>

前記懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、濾過による分離、遠心による分離などが挙げられる。

前記濾過の方法としては、特に制限はなく、公知の濾過装置を適宜選択して行うことができる。例えば、フィルタープレス、ライソフィルターなどを用いることができる。なお、これらは併用してもよい。

前記遠心分離の方法としては、特に制限はなく、公知の遠心装置を適宜選択して行うことができる。また、前記遠心の条件としても、特に制限はなく、前記懸濁液の量に応じて適宜選択することができる。例えば、前記懸濁液の量が5 mLの場合は、3,000 rpmで5分間という条件とすることが挙げられる。

[0034] 前記抽出工程で得られる抽出液のpHとしては、特に制限はなく、使用するアミノ酸乃至その塩に応じて適宜選択することができるが、銅の抽出効率の観点から、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかが好ましい。

前記アミノ酸乃至その塩として、ヒスチジン乃至その塩を使用する場合における前記抽出液のpHとしては、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかが好ましく、7.0超10.0以下がより好ましく、8.0以上の9.5以下が特に好ましい。

前記アミノ酸乃至その塩として、グリシン乃至その塩を使用する場合における前記抽出液のpHとしては、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかが好ましく、3.0以下、及び7.0超10.0以下のいずれかが

より好ましく、2.3以下が特に好ましい。

前記アミノ酸乃至その塩として、スレオニン乃至その塩を使用する場合における前記抽出液のpHとしては、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかが好ましく、2.7以下、及び7.0超10.9以下のいずれかがより好ましく、2.0以下、及び8.0以上9.5以下のいずれかが特に好ましい。

前記アミノ酸乃至その塩として、グルタミン酸乃至その塩を使用する場合における前記抽出液のpHとしては、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかが好ましく、3.3以下、及び7.0超10.3以下のいずれかがより好ましく、3.0以下、及び8.5以上10.0以下のいずれかが特に好ましい。

前記抽出工程における各溶液のpHは、懸濁から抽出までの間に変化する。そのため、前記抽出工程における各溶液のpHは、前記抽出液の好ましいpHとなるように適宜調整することが好ましい。

[0035] <その他の工程>

前記その他の工程としては、本発明の効果を損なわない限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、酵素処理工程、熱水処理工程、乾燥工程、濃縮工程、希釈工程などが挙げられる。これらの中でも、酵素処理工程、熱水処理工程を含むことが好ましい。

[0036] <<酵素処理工程>>

前記酵素処理工程は、前記銅を含有する酵母を、細胞壁分解酵素で処理する工程である。前記酵素処理工程を行うことにより、銅の抽出率をより高めることができる。

前記酵素処理工程を行う時期としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記抽出工程の前に行ってもよいし、前記抽出工程と同時に行ってもよいし、前記抽出工程の後に行ってもよい。

[0037] ー細胞壁分解酵素ー

前記細胞壁分解酵素としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択す

ることができ、例えば、 β -グルカナーゼ、プロテアーゼ、などが挙げられる。これらの中でも、 β -グルカナーゼが、抽出物の溶媒への漏洩を容易にする点で、有利である。

前記細胞壁分解酵素は、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

[0038] 前記細胞壁分解酵素の使用量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、4.05 Y s U / mL ~ 405.0 Y s U / mL が好ましい。

前記 Y s U とは、活性度単位であり、Saccharomyces cerevisiae IFO 0309 の凍結乾燥菌体 1 mg に 35℃ で作用するとき、反応液の濁度を 1 分間当り 1 % 低下させる酵素量を、酵母細胞壁溶解力 1 単位 (Y s U) とする。

前記 Saccharomyces cerevisiae IFO 0309 は、公益財団法人発酵研究所より入手可能である。

[0039] 前記酵素処理の温度、pH、及び時間としては、特に制限はなく、使用する細胞壁分解酵素に応じて適宜選択することができる。

[0040] <<熱水処理工程>>

前記熱水処理工程は、前記抽出工程の前に、銅を含有する酵母を 60℃ ~ 120℃ の熱水に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する工程である。前記抽出工程の前に、前記熱水処理工程を行うことにより、酵母特有の臭い及び味（酵母臭、酵母味）を低減することができ、得られた銅含有酵母抽出物は、食品等に添加した際に食品等の風味を損なわない点で好ましい。

前記熱水の温度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、高いほど酵母臭及び酵母味の低減効果が高い点で、80℃ ~ 120℃ が好ましく、95℃ ~ 120℃ がより好ましい。

前記酵母を懸濁させる方法及び得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する方法としては、特に制限はなく、前述した抽出工程と同様の方法が

挙げられる。

[0041] 前記熱水処理工程においては、酵母特有の臭い及び味を低減させるため、酵母臭や酵母味の抽出（除去）を促進する抽出促進剤を熱水に添加することが好ましい。前記抽出促進剤としては、次の抽出工程における銅の抽出率に悪影響を与えない限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、酵母臭を抽出する効果が高く、熱水工程において銅が抽出され難い点で、リン酸塩が好ましい。

前記抽出促進剤の添加量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、乾燥酵母菌体質量当たり、5質量%～50質量%が好ましく、20質量%～50質量%がより好ましい。

[0042] <<乾燥工程、濃縮工程、希釈工程>>

前記乾燥工程は、前記銅含有酵母抽出物を乾燥させる工程である。

前記乾燥の方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、スプレードライヤーＬ－８（大川原化工機株式会社製）を用いて行うことができる。これにより、銅を含有した酵母抽出固形物（粉体）を得ることができる。なお、前記固形物とする際には、デキストリン等の賦形剤を適宜含有させてもよい。

前記濃縮工程は、前記銅含有酵母抽出物を濃縮する工程であり、前記希釈工程は、前記銅含有酵母抽出物を希釈する工程である。

前記濃縮及び希釈の方法としては、特に制限はなく、公知の方法を適宜選択して用いることができる。

[0043] （銅含有酵母抽出物）

本発明の銅含有酵母抽出物は、本発明の銅含有酵母抽出物の製造方法により製造される。

前記銅含有酵母抽出物は、前記銅含有酵母抽出物の製造方法により製造されるため、天然物由来の銅を高濃度に含有する。また、前記銅含有酵母抽出物は、水への溶解性にも優れる。

前記銅含有酵母抽出物における銅含有量としては、特に制限はなく、目的

に応じて適宜選択することができるが、0.2質量%以上が好ましく、0.5質量%以上がより好ましく、0.8質量%以上が特に好ましい。

[0044] 前記銅含有酵母抽出物の形態としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記抽出工程によって得られた液体（ろ液、上清等の抽出液）であってもよいし、粉末（パウダー）、粒子状、シート状等の固形物であってもよいし、ゲル状、スラリー状等の半固形物であってもよい。

[0045] <用途>

本発明の銅含有酵母抽出物の用途としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、食品に添加されて用いられる食品素材、飼料、餌料等としての用途が好ましく、食品素材としての用途が特に好ましい。前記食品素材の中でも、本発明の銅含有酵母抽出物は、天然物由来の銅を高濃度に含有し、水への溶解性にも優れるため、流動食、清涼飲料水が好ましい。また、その他の用途としては、食品発酵培地、野菜の緑色保持還元剤としての用途が好ましく挙げられる。本発明の銅含有酵母抽出物を用いることにより、銅含有食品、銅含有飼料、銅含有餌料などが得られる。

[0046] 前記銅含有酵母抽出物の使用時の形態としては、特に制限はなく、用途に応じて適宜選択することができ、乾燥された粉末の状態（例えば、抽出物をスプレードライ等により乾燥したものなど）で使用してもよいし、溶媒に溶解された溶液の状態で使用してもよいし、半固形物の状態（例えば、ゲル状、クリーム状のものなど）で使用してもよい。なお、前記使用形態にするための銅含有抽出物の調製方法としては、特に制限はなく、公知の装置等を用い公知の方法に従って行うことができる。

[0047] （食品）

本発明の食品は、本発明の銅含有酵母抽出物を含み、更に必要に応じてその他の成分を含む。

ここで、前記食品とは、人の健康に危害を加えるおそれが少なく、通常の社会生活において、経口又は消化管投与により摂取されるものをいい、行政区分上の食品、医薬品、医薬部外品などの区分に制限されるものではなく、

例えば、経口的に摂取される一般食品、健康食品、保健機能食品、医薬部外品、医薬品などを幅広く含むものを意味する。

前記食品の種類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、流動食、パン、ビスケット、クラッカー等の製菓、水産加工品、食肉加工品、麺類、味噌等の調味料、加工野菜製品、ジュース等の飲料、アイスクリーム等の氷菓、健康食品等が好ましく、流動食、飲料が特に好ましい。

[0048] 前記食品中の前記銅含有酵母抽出物の添加量としては、特に制限はなく、用途、目的等に応じて適宜選択することができる。

[0049] 前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、食品を製造するにあたって通常用いられる、補助的原料又は添加物などが挙げられる。

前記補助的原料又は添加物としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ブドウ糖、果糖、ショ糖、マルトース、ソルビトール、ステビオサイド、ルブソサイド、コーンシロップ、乳糖、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、L-アスコルビン酸、d- α -トコフェロール、エリソルビン酸ナトリウム、グリセリン、プロピレングリコール、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、アラビアガム、カラギーナン、カゼイン、ゼラチン、ペクチン、寒天、ビタミンB類、ニコチン酸アミド、パントテン酸カルシウム、アミノ酸類、カルシウム塩類、色素、香料、保存剤などが挙げられる。

前記その他の成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

[0050] (野菜の緑色保持復元剤)

本発明の野菜の緑色保持復元剤は、本発明の銅含有酵母抽出物を含み、更に必要に応じてその他の成分を含む。

前記緑色保持復元剤の対象となる野菜としては、食用の緑色植物である限

り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、緑色野菜、茶葉等の緑色植物の緑色を保持することができ、また、冷凍乃至冷蔵された緑色野菜、塩漬けされた緑色野菜、市販の漬物等の退色した緑色を復元することができ。

[0051] 前記野菜の緑色保持復元剤中の前記銅含有酵母抽出物の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

[0052] 前記野菜の緑色保持復元剤における前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、上述した食品における補助的原料又は添加物などが挙げられる。

前記野菜の緑色保持復元剤中の前記その他の成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

[0053] 前記野菜の緑色保持復元剤の野菜への添加量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

実施例

[0054] 以下、本発明の試験例を説明するが、本発明はこれらの試験例に何ら限定されるものではない。

[0055] (試験例 1：各種アミノ酸乃至その塩による銅の抽出)

乾物質質量 250 mg の銅含有酵母粉末（ミネラル酵母 Cu 1、銅含有量：11,422 質量 ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製）に、100 ミリモル/L の Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.6) を 2.5 mL と、表 1 に示す 100 ミリモル/L の各アミノ酸乃至その塩の溶液を 2.5 mL（最終濃度 50 ミリモル/L）とを加え、撹拌し、銅を含有する酵母を懸濁させ、懸濁液を得た。また、対照として、水、100 ミリモル/L の Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.6) のみ（以下、「緩衝液」と称することがある）についても同様にして、懸濁液を得て、以下同様の試験を行った。

前記懸濁液を室温（25℃）で、30 分間保温した後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。得られた上清を ICP 発光分光分析装置用フイルタ

ーで濾過し、得られた上清を試験管に採取し、酵母抽出物を得て、その質量

を測定した。また、前記酵母抽出物（以下、「抽出液」と称することもある）のpHをpHメーターMP230（METTLER TOREDO社製）で測定した。

前記銅の抽出率は、前記酵母抽出物中の銅含有量を、ICP発光分光分析装置（Optima 2100DV、パーキンエルマー社製）を用いてICP発光分光分析法により測定し、抽出液へ溶出された銅の割合を下記式から算出した。結果を表1及び図1に示した。

銅抽出率（％）＝{抽出物中の銅全量（質量）／抽出に用いた酵母に含まれる銅全量（質量）}×100

[0056] [表1]

アミノ酸乃至その塩の種類	抽出液のpH	銅抽出率（％）
水	5.4	10.8
緩衝液	7.3	21.7
ヒスチジン塩酸塩	5.6	57.6
グリシン	7.3	51.2
スレオニン塩酸塩	7.2	42.2
グルタミン酸塩酸塩	3.1	48.5
リジン塩酸塩	7.2	36.4
アルギニン塩酸塩	7.1	29.8

[0057] 図1中、「His」はヒスチジン塩酸塩の結果を示し、「Gly」はグリシンの結果を示し、「Thr」はスレオニン塩酸塩の結果を示し、「Glu」はグルタミン酸塩酸塩の結果を示し、「Lys」はリジン塩酸塩の結果を示し、「Arg」はアルギニン塩酸塩の結果を示す。

表1及び図1の結果から、アミノ酸乃至その塩を用いることにより、高い抽出率で銅を抽出できることが示された。また、アミノ酸乃至その塩の中でも、ヒスチジン塩酸塩、グリシン、スレオニン塩酸塩、グルタミン酸塩酸塩を用いた場合に銅の抽出率がより高くなり、ヒスチジン塩酸塩では最も抽出率が高い結果となった。

[0058] （試験例2－1：ヒスチジン塩酸塩による銅の抽出におけるpHの影響）

前記試験例 1-1 において、100ミリモル/LのTris-HCl緩衝液（pH 7.6）を用いていた点を、表 2-1 に記載の抽出液の pH となるように調整した各溶液に代え、アミノ酸乃至その塩をヒスチジン塩酸塩とした以外は、試験例 1-1 と同様にして試験し、抽出液の pH 及び銅の抽出率を求めた。結果を表 2-1 及び図 2 に示した。

[0059] [表2-1]

溶液	抽出液の pH	銅抽出率 (%)	備考
2-1-1	1.9	66.4	塩酸でpHを調整
2-1-2	2.6	60.8	塩酸でpHを調整
2-1-3	3.1	51.3	塩酸でpHを調整
2-1-4	4.4	58.6	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-1-5	5.1	57.4	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-1-6	6.1	63.2	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-1-7	6.5	68.9	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-1-8	9.3	81.2	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-1-9	12.5	25.7	水酸化ナトリウムでpHを調整

[0060] (試験例 2-2 : グリシンによる銅の抽出における pH の影響)

前記試験例 1-1 において、100ミリモル/LのTris-HCl緩衝液（pH 7.6）を用いていた点を、表 2-2 に記載の抽出液の pH となるように調整した各溶液に代え、アミノ酸乃至その塩をグリシンとした以外は、試験例 1-1 と同様にして試験し、抽出液の pH 及び銅の抽出率を求めた。結果を表 2-2 及び図 2 に示した。

[0061]

[表2-2]

溶液	抽出液の pH	銅抽出率 (%)	備考
2-2-1	1.9	65.1	塩酸でpHを調整
2-2-2	2.9	51.6	塩酸でpHを調整
2-2-3	3.5	41.5	塩酸でpHを調整
2-2-4	5.1	36.9	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-2-5	5.8	38.3	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-2-6	6.8	44.5	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-2-7	8.0	51.7	Ti ₂ S ₂ O ₈ 及び塩酸でpHを調整
2-2-8	8.6	54.6	Ti ₂ S ₂ O ₈ 及び塩酸でpHを調整
2-2-9	8.8	56.8	Ti ₂ S ₂ O ₈ 及び塩酸でpHを調整
2-2-10	9.7	54.2	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-2-11	11.0	36.7	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-2-12	12.7	19.8	水酸化ナトリウムでpHを調整

[0062] (試験例 2-3 : スレオニソ塩酸塩による銅の抽出における pH の影響)

前記試験例 1-1 において、100 ミリモル/L の T r i s - H C l 緩衝液 (pH 7.6) を用いていた点を、表 2-3 に記載の抽出液の pH となるように調整した各溶液に代え、アミノ酸乃至その塩をスレオニソ塩酸塩とした以外は、試験例 1-1 と同様にして試験し、抽出液の pH 及び銅の抽出率を求めた。結果を表 2-3 及び図 2 に示した。

[0063]

[表2-3]

溶液	抽出液の pH	銅抽出率 (%)	備考
2-3-1	1.9	66.3	塩酸でpHを調整
2-3-2	2.7	54.5	塩酸でpHを調整
2-3-3	3.3	43.3	塩酸でpHを調整
2-3-4	5.0	44.0	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-3-5	5.8	45.2	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-3-6	6.8	52.3	リン酸二水素ナトリウム、及び水酸化ナトリウムでpHを調整
2-3-7	7.9	58.4	Ti ₂ S ₂ O ₈ 及び塩酸でpHを調整
2-3-8	8.4	62.9	Ti ₂ S ₂ O ₈ 及び塩酸でpHを調整
2-3-9	8.7	61.4	Ti ₂ S ₂ O ₈ 及び塩酸でpHを調整
2-3-10	9.3	63.4	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-3-11	10.8	54.7	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-3-12	12.7	21.9	水酸化ナトリウムでpHを調整

[0064] (試験例2-4：グルタミン酸ナトリウムによる銅の抽出におけるpHの影響)

前記試験例1-1において、100ミリモル/LのT₂S₂O₈-HCl緩衝液(pH7.6)を用いていた点を、表2-4に記載の抽出液のpHとなるように調整した各溶液に代え、アミノ酸乃至その塩をグルタミン酸ナトリウムとした以外は、試験例1-1と同様にして試験し、抽出液のpH及び銅の抽出率を求めた。結果を表2-4及び図2に示した。

[0065]

[表2-4]

溶液	抽出液の pH	銅抽出率 (%)	備考
2-4-1	2.9	55.7	塩酸でpHを調整
2-4-2	4.2	40.1	塩酸でpHを調整
2-4-3	4.7	37.0	塩酸でpHを調整
2-4-4	5.0	35.7	塩酸でpHを調整
2-4-5	5.3	34.3	塩酸でpHを調整
2-4-6	5.4	37.1	塩酸でpHを調整
2-4-7	6.0	39.7	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-4-8	6.5	44.9	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-4-9	8.7	54.9	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-4-10	9.8	55.2	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-4-11	11.2	31.1	水酸化ナトリウムでpHを調整
2-4-12	12.9	19.5	水酸化ナトリウムでpHを調整

[0066] 図2中、「△」は試験例2-1（ヒスチジン塩酸塩）の結果を示し、「●」は試験例2-2（グリシン）の結果を示し、「■」は試験例2-3（スレオニン塩酸塩）の結果を示し、「□」は試験例2-4（グルタミン酸ナトリウム）の結果を示す。

試験例2-1から2-4の結果から、抽出液のpHが、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかであると、より優れた銅の抽出率となった。

また、前記アミノ酸乃至その塩として、ヒスチジン塩酸塩を使用した場合における前記抽出液のpHとしては、7.0超10.0以下がより好ましく、8.0以上9.5以下が特に好ましい結果となった。

前記アミノ酸乃至その塩として、グリシンを使用した場合における前記抽出液のpHとしては、3.0以下、及び7.0超10.0以下のいずれかがより好ましく、2.3以下が特に好ましい結果となった。

前記アミノ酸乃至その塩として、スレオニン塩酸塩を使用した場合における前記抽出液のpHとしては、2.7以下、及び7.0超10.9以下のいずれかがより好ましく、2.0以下、及び8.0以上9.5以下のいずれか

が特に好ましい結果となった。

前記アミノ酸乃至その塩として、グルタミン酸ナトリウムを使用した場合における前記抽出液のpHとしては、3.3以下、及び7.0超10.3以下のいずれかがより好ましく、3.0以下、及び8.5以上10.0以下のいずれかが特に好ましい結果となった。

[0067] (試験例3-1:細胞壁分解酵素処理)

乾物質量250mgの銅含有酵母粉末(ミネラル酵母Cu1、銅含有量:11,422質量ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製)に、150ミリモル/LのNaOHを2.5mLと、100ミリモル/Lのヒスチジン塩酸塩の溶液を2.5mL(最終濃度50ミリモル/L)とを加え、攪拌し、銅を含有する酵母を懸濁させ、懸濁液を得た。

前記懸濁液を室温(25℃)で、60分間保温した後、3,000rpmで5分間遠心分離し、得られた上清をICP発光分光分析装置用フィルターで濾過した。

前記遠心分離後の残渣に2質量%酵素液(詳細は、下記参照)を4.5mL加えて懸濁後、45℃で、180分間反応させた。

前記反応後、3,000rpmで5分間遠心分離し、得られた上清をICP発光分光分析装置用フィルターで濾過した。

得られたアミノ酸処理後の上清と、酵素処理後の上清とを試験管に採取し、酵母抽出物を得て、銅の抽出率を試験例1-1と同様にして測定した。結果を表3及び図3に示した。

<酵素液>

β -グルカナーゼ(天野エンザイム株式会社製、ツニカーゼ)を80.1YsU/mLに調整した67ミリモル/Lのリン酸緩衝液(pH7.7)。

[0068] (試験例3-2:細胞壁分解酵素処理)

前記試験例3-1において、酵素液による処理を行わなかった以外は、試験例3-1と同様にして銅の抽出率を求めた。結果を表3及び図3に示した。

[0069] [表3]

	銅抽出率 (%)
試験例 3-1	91.8
試験例 3-2	70.3

[0070] 表3及び図3の結果から、アミノ酸乃至その塩による処理と、細胞壁分解酵素による処理とを併用することにより、銅の抽出率が高まることが示された。

[0071] (試験例4：ヒスチジン塩酸塩との併用)

<試験例4－1－1：グリシン単独>

乾物質量250mgの銅含有酵母粉末（ミネラル酵母Cu1、銅含有量：11,422質量ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製）に、以下のようにして調製した50ミリモル/Lのグリシン含有液を5.0mL加え、攪拌し、銅を含有する酵母を懸濁させ、懸濁液を得た。

前記懸濁液を室温（25℃）で、30分間保温した後、3,000rpmで5分間遠心分離し、得られた上清をICP発光分光分析装置用フィルターで濾過し、銅の抽出率を試験例1－1と同様にして測定した。結果を表4－1及び図4に示した。

<グリシン含有液>

100ミリモル/Lのグリシンを含有する、100ミリモル/LのNaOH溶液を調製した（pH9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル/LのNaOH溶液で希釈し、グリシンの濃度が、50ミリモル/Lのグリシン含有液を調製した。

[0072] <試験例4－1－2：グリシンと、ヒスチジン塩酸塩との併用>

前記試験例4－1－1において、50ミリモル/Lのグリシン含有液を5.0mL加えていた点を、50ミリモル/Lのグリシン含有液を2.5mLと、以下のようにして調製した50ミリモル/Lのヒスチジン塩酸塩含有液を2.5mLとに代えた以外は、試験例4－1－1と同様にして試験した。

結果を表４－１及び図４に示した。

＜ヒスチジン塩酸塩含有液＞

１００ミリモル／Ｌのヒスチジン塩酸塩を含有する、１００ミリモル／ＬのＮａＯＨ溶液を調製した（ｐＨ９．５程度）。前記ＮａＯＨ溶液を、２０ミリモル／ＬのＮａＯＨ溶液で希釈し、ヒスチジン塩酸塩の濃度が、５０ミリモル／Ｌのヒスチジン塩酸塩含有液を調製した。

[0073] [表4-1]

	アミノ酸等	銅抽出率 (%)
試験例 4-1-1	グリシンのみ	46.7
試験例 4-1-2	グリシン及びヒスチジン塩酸塩	65.1

[0074] ＜試験例４－２－１：スレオニン塩酸塩単独＞

前記試験例４－１－１において、５０ミリモル／Ｌのグリシン含有液を５．０ｍＬ用いていた点を、５０ミリモル／Ｌのスレオニン塩酸塩含有液を５．０ｍＬ用いた以外は、試験例４－１－１と同様にして試験した。結果を表４－２及び図４に示した。

[0075] ＜試験例４－２－２：スレオニン塩酸塩と、ヒスチジン塩酸塩との併用＞

前記試験例４－１－２において、５０ミリモル／Ｌのグリシン含有液を２．５ｍＬ用いていた点を、５０ミリモル／Ｌのスレオニン塩酸塩含有液を２．５ｍＬ用いた以外は、試験例４－１－２と同様にして試験した。結果を表４－２及び図４に示した。

[0076] [表4-2]

	アミノ酸等	銅抽出率 (%)
試験例 4-2-1	スレオニン塩酸塩のみ	53.5
試験例 4-2-2	スレオニン塩酸塩及びヒスチジン塩酸塩	64.7

[0077] ＜試験例４－３－１：グルタミン酸ナトリウム単独＞

前記試験例４－１－１において、５０ミリモル／Ｌのグリシン含有液を５．０ｍＬ用いていた点を、５０ミリモル／Ｌのグルタミン酸ナトリウム含有

液を 5.0 mL 用いた以外は、試験例 4-1-1 と同様にして試験した。結果を表 4-3 及び図 4 に示した。

[0078] <試験例 4-3-2 : グルタミン酸ナトリウムと、ヒスチジン塩酸塩との併用>

前記試験例 4-1-2 において、50 ミリモル/L のグリシン含有液を 2.5 mL 用いていた点を、50 ミリモル/L のグルタミン酸ナトリウム含有液を 2.5 mL 用いた以外は、試験例 4-1-2 と同様にして試験した。結果を表 4-3 及び図 4 に示した。

[0079] [表4-3]

	アミノ酸等	銅抽出率 (%)
試験例 4-3-1	グルタミン酸ナトリウムのみ	37.5
試験例 4-3-2	グルタミン酸ナトリウム及びヒスチジン塩酸塩	61.5

[0080] 試験例 4-1-1 から 4-3-2 の結果から、ヒスチジン乃至その塩と、他のアミノ酸乃至その塩とを併用することにより、銅の抽出率を高めることができることがわかった。

[0081] (試験例 5-1 : ヒスチジン塩酸塩による銅の抽出における濃度の影響)

乾物質質量 250 mg の銅含有酵母粉末 (ミネラル酵母 Cu 1、銅含有量 : 11, 422 質量 ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製) に、以下のようにして調製した各濃度のヒスチジン塩酸塩含有液を 5.0 mL 加え、攪拌し、銅を含有する酵母を懸濁させ、懸濁液を得た。

前記懸濁液を室温 (25℃) で、60 分間保温した後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、得られた上清を ICP 発光分光分析装置用フィルターで濾過し、銅の抽出率を試験例 1-1 と同様にして測定した。結果を表 5-1 に示した。

なお、ヒスチジン塩酸塩を含有しない場合についても、同様にして試験した。

<ヒスチジン塩酸塩含有液>

200ミリモル/Lのヒスチジン塩酸塩を含有する、300ミリモル/LのNaOH溶液を調製した（pH9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル/LのNaOH溶液で希釈し、ヒスチジン塩酸塩の濃度が、10ミリモル/L、20ミリモル/L、50ミリモル/L、100ミリモル/L、200ミリモル/Lのヒスチジン塩酸塩含有液を調製した。なお、ヒスチジン塩酸塩を含まない300ミリモル/LのNaOH溶液も用意した。

[0082] [表5-1]

ヒスチジン塩酸塩の濃度	銅抽出率 (%)
0ミリモル/L	18.3
10ミリモル/L	57.2
20ミリモル/L	66.1
50ミリモル/L	76.0
100ミリモル/L	85.8
200ミリモル/L	88.4

[0083] (試験例5-2: グリシンによる銅の抽出における濃度の影響)

試験例5-1において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製した各濃度のグリシン含有液に代えた以外は、試験例5-1と同様にして試験した。結果を表5-2に示した。

<グリシン含有液>

200ミリモル/Lのグリシンを含有する、75ミリモル/LのNaOH溶液を調製した（pH9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル/LのNaOH溶液で希釈し、グリシンの濃度が、10ミリモル/L、20ミリモル/L、50ミリモル/L、100ミリモル/L、200ミリモル/Lのグリシン含有液を調製した。なお、グリシンを含まない75ミリモル/LのNaOH溶液も用意した。

[0084]

[表5-2]

グリシンの濃度	銅抽出率 (%)
0ミリモル/L	18.7
10ミリモル/L	33.4
20ミリモル/L	41.6
50ミリモル/L	49.6
100ミリモル/L	55.7
200ミリモル/L	60.6

[0085] (試験例5-3: グルタミン酸ナトリウムによる銅の抽出における濃度の影響)

試験例5-1において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製した各濃度のグルタミン酸ナトリウム含有液に代えた以外は、試験例5-1と同様にして試験した。結果を表5-3に示した。

＜グルタミン酸ナトリウム含有液＞

200ミリモル/Lのグルタミン酸ナトリウムを含有する、75ミリモル/LのNaOH溶液を調製した(pH9.5程度)。前記NaOH溶液を、20ミリモル/LのNaOH溶液で希釈し、グルタミン酸ナトリウムの濃度が、10ミリモル/L、20ミリモル/L、50ミリモル/L、100ミリモル/L、200ミリモル/Lのグルタミン酸ナトリウム含有液を調製した。

[0086] [表5-3]

グルタミン酸ナトリウムの濃度	銅抽出率 (%)
0ミリモル/L	18.4
10ミリモル/L	41.1
20ミリモル/L	44.5
50ミリモル/L	52.2
100ミリモル/L	55.8
200ミリモル/L	58.9

[0087] (試験例 5-4 : スレオニン塩酸塩による銅の抽出における濃度の影響)

試験例 5-1 において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製した各濃度のスレオニン塩酸塩含有液に代えた以外は、試験例 5-1 と同様にして試験した。結果を表 5-4 に示した。

＜スレオニン塩酸塩含有液＞

200ミリモル/Lのスレオニン塩酸塩を含有する、300ミリモル/LのNaOH溶液を調製した(pH9.5程度)。前記NaOH溶液を、20ミリモル/LのNaOH溶液で希釈し、スレオニン塩酸塩の濃度が、10ミリモル/L、20ミリモル/L、50ミリモル/L、100ミリモル/L、200ミリモル/Lのスレオニン塩酸塩含有液を調製した。

[0088] [表5-4]

スレオニン塩酸塩の濃度	銅抽出率 (%)
0ミリモル/L	18.5
10ミリモル/L	42.0
20ミリモル/L	52.4
50ミリモル/L	59.8
100ミリモル/L	66.8
200ミリモル/L	71.0

[0089] 試験例 5-1 から 5-4 の結果から、幅広い範囲のアミノ酸乃至その塩の濃度において、銅の抽出率に優れることがわかった。

[0090] (試験例 6-1 : ヒスチジン塩酸塩による銅の抽出における温度の影響)

乾物質量 250mg の銅含有酵母粉末(ミネラル酵母 Cu1、銅含有量: 11,422質量ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製)に、以下のようにして調製したヒスチジン塩酸塩の濃度が100ミリモル/Lのヒスチジン塩酸塩含有液を5.0mL加え、攪拌し、銅を含有する酵母を懸濁させ、懸濁液を得た。

前記懸濁液を室温(25℃)、50℃、75℃、又は100℃で、10分間保温した後、3,000rpmで5分間遠心分離し、得られた上清を1C

P発光分光分析装置用フィルターで濾過し、銅の抽出率を試験例 1 - 1 と同様に測定した。結果を表 6 - 1 に示した。

＜ヒスチジン塩酸塩含有液＞

200ミリモル／Lのヒスチジン塩酸塩を含有する、300ミリモル／LのNaOH溶液を調製した（pH 9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル／LのNaOH溶液で希釈し、ヒスチジン塩酸塩の濃度が、100ミリモル／Lであるヒスチジン塩酸塩含有液を調製した。

[0091] [表6-1]

処理温度	銅抽出率 (%)
25℃	82.3
50℃	80.6
75℃	82.3
100℃	82.6

[0092] （試験例 6 - 2：グリシンによる銅の抽出における温度の影響）

試験例 6 - 1 において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製したグリシンの濃度が100ミリモル／Lのグリシン含有液に代えた以外は、試験例 6 - 1 と同様に試験した。結果を表 6 - 2 に示した。

＜グリシン含有液＞

200ミリモル／Lのグリシンを含有する、75ミリモル／LのNaOH溶液を調製した（pH 9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル／LのNaOH溶液で希釈し、グリシンの濃度が、100ミリモル／Lであるグリシン含有液を調製した。

[0093] [表6-2]

処理温度	銅抽出率 (%)
25℃	43.9
50℃	46.3
75℃	45.8
100℃	44.9

[0094] (試験例 6-3 : スレオニン塩酸塩による銅の抽出における温度の影響)

試験例 6-1 において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製したスレオニン塩酸塩の濃度が 100 ミリモル/L のスレオニン塩酸塩含有液に代えた以外は、試験例 6-1 と同様にして試験した。結果を表 6-3 に示した。

<スレオニン塩酸塩含有液>

200 ミリモル/L のスレオニン塩酸塩を含有する、300 ミリモル/L の NaOH 溶液を調製した (pH 9.5 程度)。前記 NaOH 溶液を、20 ミリモル/L の NaOH 溶液で希釈し、スレオニン塩酸塩の濃度が、100 ミリモル/L であるスレオニン塩酸塩含有液を調製した。

[0095] [表6-3]

処理温度	銅抽出率 (%)
25℃	60.1
50℃	60.8
75℃	60.5
100℃	61.0

[0096] 試験例 6-1 から 6-3 の結果から、幅広い範囲の処理温度において、銅の抽出率に優れることがわかった。

[0097] (試験例 7-1 : ヒスチジン塩酸塩による銅の抽出における処理時間の影響)

乾物質質量 250 mg の銅含有酵母粉末 (ミネラル酵母 Cu1、銅含有量 : 11,422 質量 ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製) に、以下のようにして調製したヒスチジン塩酸塩の濃度が 100 ミリモル/L のヒスチジン塩酸塩含有液を 5.0 mL 加え、攪拌し、銅を含有する酵母を懸濁させ、懸濁液を得た。

前記懸濁液を室温 (25℃) で、10 分間、20 分間、40 分間、又は 60 分間保温した後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、得られた上清を ICP 発光分光分析装置用フィルターで濾過し、銅の抽出率を試験例 1-1

と同様にして測定した。結果を表 7-1 に示した。

＜ヒスチジン塩酸塩含有液＞

200ミリモル／Lのヒスチジン塩酸塩を含有する、300ミリモル／LのNaOH溶液を調製した（pH9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル／LのNaOH溶液で希釈し、ヒスチジン塩酸塩の濃度が、100ミリモル／Lであるヒスチジン塩酸塩含有液を調製した。

[0098] [表7-1]

処理時間	銅抽出率 (%)
10分間	82.3
20分間	81.7
40分間	84.2
60分間	83.7

[0099] （試験例 7-2：グリシンによる銅の抽出における処理時間の影響）

試験例 7-1 において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製したグリシンの濃度が100ミリモル／Lのグリシン含有液に代えた以外は、試験例 7-1 と同様にして試験した。結果を表 7-2 に示した。

＜グリシン含有液＞

200ミリモル／Lのグリシンを含有する、75ミリモル／LのNaOH溶液を調製した（pH9.5程度）。前記NaOH溶液を、20ミリモル／LのNaOH溶液で希釈し、グリシンの濃度が、100ミリモル／Lであるグリシン含有液を調製した。

[0100] [表7-2]

処理時間	銅抽出率 (%)
10分間	43.9
20分間	44.2
40分間	42.8
60分間	43.0

[0101] （試験例 7-3：スレオニン塩酸塩による銅の抽出における処理時間の影響）

)

試験例 7-1 において、ヒスチジン塩酸塩含有液を、以下のようにして調製したスレオニン塩酸塩の濃度が 100 ミリモル/L のスレオニン塩酸塩含有液に代えた以外は、試験例 7-1 と同様にして試験した。結果を表 7-3 に示した。

＜スレオニン塩酸塩含有液＞

200 ミリモル/L のスレオニン塩酸塩を含有する、300 ミリモル/L の NaOH 溶液を調製した (pH 9.5 程度)。前記 NaOH 溶液を、20 ミリモル/L の NaOH 溶液で希釈し、スレオニン塩酸塩の濃度が、100 ミリモル/L であるスレオニン塩酸塩含有液を調製した。

[0102] [表7-3]

処理時間	銅抽出率 (%)
10分間	60.1
20分間	61.0
40分間	60.2
60分間	60.5

[0103] 試験例 7-1 から 7-3 の結果から、幅広い範囲の処理時間において、銅の抽出率に優れることがわかった。

[0104] (試験例 8 : 塩蔵きゅうりの緑色保持復元効果の評価)

＜銅含有酵母抽出物の粉末の調製＞

アミノ酸乃至その塩として、ヒスチジン塩酸塩、グリシン、スレオニン塩酸塩、又はグルタミン酸塩酸塩用い、試験例 1 と同様にして、銅含有酵母抽出物を得た。

前記銅含有酵母抽出物に、DL-リンゴ酸と、デキストリンとを添加し、スプレードライヤー L-8 (大川原化工機株式会社製) を用いて乾燥させ、銅含有量が 0.5 質量% の粉末を調製した (以下、それぞれ、「ヒスチジン塩酸塩抽出物」、「グリシン抽出物」、「スレオニン塩酸塩抽出物」、「グルタミン酸塩酸塩抽出物」と称することがある)。

なお、陽性対照として、レベルアップV8クリア（オリエンタル酵母工業株式会社製）についても、粉末中の銅含有量が0.5質量%となるように調製した。

[0105] <緑色保持試験>

前記ヒスチジン塩酸塩抽出物、グリシン抽出物、スレオニン塩酸塩抽出物、グルタミン酸塩酸塩抽出物、又はレベルアップV8クリアの2%水溶液（質量／体積）を調製し、90℃に加温した。

その後、塩蔵きゅうり（株式会社吉粹製）を投入し、攪拌しながら、90℃で40分間加熱した。

40分間加熱後、湯切りし、塩蔵きゅうりの色調を確認した。結果を図5Aから図5Eに示した。

[0106] 図5Aは、レベルアップV8クリアの結果を示し、図5Bは、ヒスチジン塩酸塩抽出物の結果を示し、図5Cは、グリシン抽出物の結果を示し、図5Dは、スレオニン塩酸塩抽出物の結果を示し、図5Eは、グルタミン酸塩酸塩抽出物の結果を示す。

図5Aから図5Eの結果から、ヒスチジン塩酸塩抽出物、グリシン抽出物、スレオニン塩酸塩抽出物、及びグルタミン酸塩酸塩抽出物では、レベルアップV8クリアよりも優れた緑色保持効果が確認された。

産業上の利用可能性

[0107] 本発明の銅含有酵母抽出物の製造方法によれば、高い抽出率で銅を抽出することができ、天然物由来の銅を高濃度に含有する銅含有酵母抽出物を効率的に製造することができる。

本発明の銅含有酵母抽出物は、流動食、飲料等の経口経管栄養組成物、食品素材、野菜の緑色保持還元剤などとして好適に利用可能である。また、前記経口経管栄養組成物、前記食品素材として本発明の銅含有酵母抽出物を用いることにより、銅欠乏による貧血、心臓疾患等を予防乃至改善し得る。

請求の範囲

- [請求項1] 銅を含有する酵母を、アミノ酸乃至その塩を含む溶液に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する抽出工程を含み、前記アミノ酸乃至その塩が水溶性であることを特徴とする銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項2] 抽出工程で得られる抽出液のpHが、4.0未満、及び7.0超11.0未満のいずれかである請求項1に記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項3] アミノ酸乃至その塩が、ヒスチジン乃至その塩、グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、及びグルタミン酸乃至その塩から選択される少なくとも1種である請求項1から2のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項4] アミノ酸乃至その塩が、ヒスチジン乃至その塩を含む請求項1から3のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項5] アミノ酸乃至その塩が、ヒスチジン乃至その塩と、グリシン乃至その塩、スレオニン乃至その塩、及びグルタミン酸乃至その塩から選択される少なくとも1種とを含む請求項1から4のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項6] 銅を含有する酵母を、細胞壁分解酵素で処理する工程を含む請求項1から5のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項7] 下記式で表される銅の抽出率が、40%以上である請求項1から6のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- $$\text{銅抽出率 (\%)} = \{ \text{抽出物中の銅全量 (質量)} / \text{抽出に用いた酵母に含まれる銅全量 (質量)} \} \times 100$$
- [請求項8] 銅の抽出率が、50%以上である請求項7に記載の銅含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項9] 請求項1から8のいずれかに記載の銅含有酵母抽出物の製造方法により製造されたことを特徴とする銅含有酵母抽出物。

- [請求項10] 請求項 9 に記載の銅含有酵母抽出物を含むことを特徴とする食品。
- [請求項11] 請求項 9 に記載の銅含有酵母抽出物を含むことを特徴とする野菜の
緑色保持還元剤。