

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4467305号  
(P4467305)

(45) 発行日 平成22年5月26日(2010.5.26)

(24) 登録日 平成22年3月5日(2010.3.5)

(51) Int. Cl.		F I
<b>C 0 8 B</b> 30/14	<b>(2006.01)</b>	C 0 8 B 30/14
<b>A 2 3 K</b> 1/14	<b>(2006.01)</b>	A 2 3 K 1/14
<b>A 2 3 L</b> 1/0522	<b>(2006.01)</b>	A 2 3 L 1/195
<b>A 2 3 L</b> 1/187	<b>(2006.01)</b>	A 2 3 L 1/187
<b>C 0 9 J</b> 103/02	<b>(2006.01)</b>	C 0 9 J 103/02

請求項の数 14 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2003-554739 (P2003-554739)	(73) 特許権者	302063961
(86) (22) 出願日	平成14年12月19日(2002.12.19)		バイエル・クロツプサイエンス・アクチエ ンゲゼルシャフト
(65) 公表番号	特表2005-515268 (P2005-515268A)		ドイツ40789モンハイム・アルフレー ト・ノベル・シュトラッセ50
(43) 公表日	平成17年5月26日(2005.5.26)	(74) 代理人	100127926
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/014600		弁理士 結田 純次
(87) 国際公開番号	W02003/054024	(74) 代理人	100105290
(87) 国際公開日	平成15年7月3日(2003.7.3)		弁理士 三輪 昭次
審査請求日	平成17年12月13日(2005.12.13)	(74) 代理人	100091731
(31) 優先権主張番号	101 63 541.9		弁理士 高木 千嘉
(32) 優先日	平成13年12月21日(2001.12.21)	(72) 発明者	ルードルフ・クリングラー
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		ドイツ連邦共和国13437ベルリン・ア ム・ケセルプフル65a

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルファ化デンブunおよびその製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

a) ジャガイモデンブunおよび水の懸濁液を製造する工程、  
 b) a) において製造された懸濁液をローラードライヤーのホットローラーにかける工程、および、  
 c) 工程b)の方法で得られたアルファ化デンブunを分離する工程、  
 を含み、前記ジャガイモデンブunのアミロース含量が30～85質量%であり、且つ総ホスフェート含量が60～110μmolホスフェート/gであることを特徴とする、優れたゲル形成能を有するアルファ化デンブunの製造方法。

【請求項2】

ジャガイモデンブunのアミロース含量が30～65質量%である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ジャガイモデンブunのアミロース含量が32～55質量%である、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

ジャガイモデンブunのアミロース含量が32～45質量%である、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

請求項1～4のいずれか一項に記載の方法で得られたアルファ化デンブun。

10

20

## 【請求項 6】

スライス可能なゲルを製造するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンの使用。

## 【請求項 7】

食品を製造するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンの使用。

## 【請求項 8】

インスタントプディング製造のための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンの使用。

## 【請求項 9】

飼料を製造するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンの使用。

## 【請求項 10】

接着剤を製造するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンの使用。

## 【請求項 11】

着色材を製造するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンの使用。

## 【請求項 12】

請求項 5 に記載のアルファ化デンプンを含む組成物。

## 【請求項 13】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法で製造されたアルファ化デンプンを 2 ~ 15 質量%、さらに、糖および矯味矯臭剤を含む、インスタントプディング製造用のドライミックス。

## 【請求項 14】

アルファ化デンプンを 5 ~ 9 質量%含む、請求項 13 に記載のインスタントプディング製造用のドライミックス。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、アルファ化デンプン (pregelatinized starch) の製造方法、および、この方法により得られたアルファ化デンプンに関する。さらに本発明は、このアルファ化デンプンを含む組成物、特にインスタントプディング製造用のドライミックスに関する。さらに本発明は、食品、特にインスタントプディング、飼料、接着剤および着色材を製造するための新規のアルファ化デンプンの使用に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

アルファ化デンプンとは、主に湿式加熱分解で製造される物理的に改変されたデンプンのことである。天然のデンプンとは異なり、アルファ化デンプンは、冷水で、用いられたアルファ化デンプンの濃度、および、アルファ化デンプン製造に用いられたデンプンのタイプに応じて、分散液またはペーストまたはゲルを形成する。このような特性のために、食品産業において及び様々な技術分野で、アルファ化デンプンに関して多数の可能性がある用途が生じている。ほとんどの場合、天然のデンプンの代わりにアルファ化デンプン (低温膨潤デンプンともいう) を使用することは、製造方法を簡便化し短縮できるという利点を有する。

## 【0003】

原理的には、低温膨潤デンプン (アルファ化デンプン) は、例えばローラードライヤーを用いた湿式加熱処理、押出機を用いた機械的および熱的処理または、もっぱら振動ミルを用いた機械的処理などの様々な方法で製造することができる。いずれの方法においても、詳細は不明であるがエネルギー伝達により成長したデンプン粒構造と準結晶分子組織が

10

20

30

40

50

壊れ、デンプンが非晶質に変換されるという点では共通している。既知の方法では運転変数が質的および量的にそれぞれ異なるため、異なる特性の生成物が生産される。

【0004】

工業的なアルファ化デンプン製造は、主にローラードライヤーを用いて行われる。一般的に、この場合、約35%濃度のデンプン水懸濁液をローラードライヤーの熱したローラーの表面にかける。ローラー表面で、デンプンはゲル化されるだけでなく、脱水される。

【0005】

低温膨潤特性をデンプンに付与するため、デンプンの粒子構造または準結晶構造は、ローラードライヤーでの加熱（例えば約100で1分間未満）の間に破壊されなければならない。それにより、固体と完全な可溶性物質との間の中間体状態になる。デンプン水懸濁液ではなく、予備加熱されたデンプンペーストを、乾燥のためにローラーにかけることもできる。

【0006】

加えて、ローラー乾燥方法の様々な改良法が説明されており、塩、酸、脂質などの添加物の存在下でアルファ化する方法、および/または、出発原料として化学修飾されたデンプンを用いる方法が挙げられる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

例えばインスタントデザートやインスタントプディングを製造するためには、例えばボイルドプディングの場合、アルファ化デンプンを冷たい液体（例えば水または牛乳）に攪拌した後、短時間でスライス可能なゲルが形成されることが必要である。市販のコムギ、ジャガイモまたはトウモロコシのアルファ化デンプンでは、上述の必要性を満たすことはできない。上述の特性を得るためには、これまで市販されてきたアルファ化デンプンの場合、ゼラチン、アルジネート、カラゲナンおよび/または無機塩のようなアルファ化デンプンの添加物が必要である。

【0008】

従って、本発明の目的は、冷たい液体に所定濃度で攪拌し、短時間で膨潤させた後、スライス可能なゲルを形成するアルファ化デンプンを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

驚くべきことに、通常のジャガイモデンプンと比べてアミロース含量が高いジャガイモデンプンと、ローラー乾燥とにより、短時間で膨潤させた後にスライス可能なゲルを形成するアルファ化デンプンが製造できることが見出されたため、上記目的は、本発明の方法により達成される。

【0010】

ジャガイモデンプンは、穀類デンプンとは異なり、特定の機能的特性を付与するリン酸エステル基を有するグルコース単位を含む。穀類デンプンのホスフェート含量はリン脂質含量から生じており、リン脂質はジャガイモデンプンには存在しない。ジャガイモデンプンのリン酸エステル基の過半量は、アミロペクチン分子（より正確には主にグルコース単位のC<sub>6</sub>原子）に結合しており、残りは主にC<sub>3</sub>位に、C<sub>2</sub>位には最も少なく結合している（Schierbaum, F.: Staerke 21 (1969) 87; Hizukiri S. et al. Staerke 22 (1970) 338）。機能的な観点から、リン酸エステル基含量は、主にデンプンのペースト化特性に影響し（ペースト化温度の低下、ピーク粘度の上昇）、加えて、ボイルしたサンプルやペーストが老化する傾向を低減し、凍結融解安定性を改善する。

【0011】

通常のジャガイモデンプンの総ホスフェート含量は、栽培品種や栽培条件に応じて、一般的に10~30 μmolホスフェート/gデンプンの範囲であり、ジャガイモデンプンの脂質含量は無視できる程度であるため、この総ホスフェート含量は一リン酸エステル基

10

20

30

40

50

に由来するものである。

【0012】

一方で、遺伝子組換えジャガイモから、総ホスフェート含量が約120 μmolホスフェート/gデンプン程度のジャガイモデンプンを製造することができる。

【0013】

通常のジャガイモデンプンの天然アミロース含量は、一般的に、約20～25質量%程度である。より高いアミロース含量を得るために、天然のデンプンを酵素で脱分枝し、脱分枝したアミロペクチン分子で短鎖アミロース分子を形成しなければならない。

【0014】

一方で、遺伝子組換えジャガイモから、天然(長鎖)アミロース含量が30～70質量%程度のジャガイモデンプンを製造することができる。

10

【0015】

その他のデンプン、例えばコムギまたはトウモロコシデンプンは、天然のアミロース含量は高いが、一方でリン酸エステル基含量はきわめて低いか(コムギデンプン)、または無視できる程度(トウモロコシデンプン)である。

【0016】

デンプンから製造されたアルファ化デンプンのゲル形成にはアミロース含量が高いデンプンが有利であるが、それによりデンプンのペースト化温度が上昇し、デンプン分解とアルファ化デンプン形成が困難になるが、リン酸エステルがデンプンに含まれることによりこの現象を抑えられることがわかった。

20

【0017】

それゆえに、本発明は、リン酸エステル基の含量が高いジャガイモデンプンを用いることを教示するが、ジャガイモデンプンは野生型植物からのジャガイモデンプンと比べてアミロース含量が高い。ジャガイモデンプンは、穀類デンプンとは異なり、アミロースと複合体を形成し、そのことによりアルファ化デンプンのゲル形成および/またはペースト形成を妨げる脂質を含まない。

【0018】

加えて、噴霧乾燥だと、不必要な可溶性炭水化物を多量に含む生成物が生じることがわかっており、本発明においては、ローラー乾燥が提供される。標準的な条件下でローラー上でゲル化しないトウモロコシからの高アミロースデンプンとは異なり、野生型植物からのジャガイモデンプンと比べてアミロース含量が高いジャガイモデンプンは、ローラー乾燥に適している。

30

【0019】

米国特許第3607394号では、アミロペクチンを少なくとも50%含むデンプン水懸濁液を熱処理し、ローラー乾燥またはスプレー乾燥することによるアルファ化デンプンの製造が開示されている。得られたアルファ化デンプンは、なめらかなペーストを形成し、放置したときに粘度が上昇する傾向が最小限であるとのことである。加えて、米国特許第3607394号において、高アミロースデンプンとは、アミロース含量が60%またはそれ以上のデンプンを意味し、これは、水でもどすと望ましいテクスチャーを持たないゲルを形成する生成物を生じることが記載されている。用いられるデンプンの種類に関しては、明確な区別はなされていない。また、スプレー乾燥も推奨されているが、それにより可溶性炭水化物の含量が不要に高くなる。

40

【0020】

欧州特許第480433号(A2)では、i)噴霧乾燥した非粒状デンプン、ii)噴霧乾燥した糊化デンプン、および、iii)短鎖アミロースを少なくとも40%含む酵素的に脱分枝した糊化デンプンから選択される可溶性高アミロースデンプンを含む食品を開示している。これら食品は、強度のあるゲルを形成することを特徴とするとのことである。トウモロコシデンプンおよびエンドウマメのデンプンは、唯一特記されたデンプンの種類であり、これらは特殊なデンプン分解(ジェットクッキング)が必要である。既知の高アミロースデンプンは、その他のデンプンに比べて高い温度で調理しなければならないことが

50

明示されている。ローラー乾燥は、酵素的に脱分枝した可溶性高アミロースデンプンを含むデンプン以外には不適切であるといわれている。

【0021】

これに対して、本発明は、天然の長鎖アミロースの含量が高いジャガイモデンプンを用いる。

【0022】

短鎖アミロースは、最大鎖長が $DP_{max} < 100$ であるアミロースを意味し、長鎖アミロースは、最大鎖長が $DP_{max} = 150 \sim 10000$ であるアミロースを意味するものとする。

【0023】

それゆえに、本発明は、優れたゲル形成能を有するアルファ化デンプンの製造方法に関し、該方法は、

- a) デンプンおよび水の懸濁液を製造する工程、
  - b) a)において製造された懸濁液をローラードライヤーのホットローラーにかける工程；および、
  - c) 工程b)の方法で得られたアルファ化デンプンを分離する工程、
- を含み、本発明に係る方法は、アミロース含量が少なくとも30質量%のジャガイモデンプンの使用を含む。

【0024】

本発明において、用語「アルファ化デンプン」は、天然のデンプンとは異なり、用いられるアルファ化デンプン濃度に応じて冷水または冷たい牛乳で分散液、ペーストまたはゲルを形成する物理的に改変されたデンプンを意味するものとする。

【0025】

本発明において、用語「ホットローラー」は、温度が少なくとも100、好ましくは120~200、特に140~180、特に好ましくは150~170のローラードライヤーのローラーを意味するものとする。

【0026】

糊化デンプンを製造するためのローラードライヤーは、当業者既知であり、例えば、*Starch: Chemistry and Technology, Vol. II, Academic Press, New York, San Francisco, London (1967) (R. L. WhistlerおよびE. F. Paschall編)*で説明されている。例えば、本発明に関して、1またはそれ以上のフィードローラー(ローラー直径約500~800mm)を備えた蒸気加熱単気筒ドライヤーを用いることができる。しかしながら、その他のローラードライヤーも用いることができ、例えばローラー直径が約160mmの電気加熱単気筒ドライヤーが用いられる。

【0027】

本発明において用いられるジャガイモデンプンのアミロース含量は、少なくとも30%、特に30~85%、例えば30~65%、または32~55%、好ましくは32~45%である。

【0028】

本発明において、アミロース含量は、好ましくは、HovenkampおよびHermelink(*Potato Research 31, (1988), 241-246*)で説明されているアミロース含量の比色定量により測定される。

【0029】

好ましくは、本発明の方法の工程a)において、ジャガイモデンプンおよび水の懸濁液は、5質量パーセント(=質量%)~50質量%、好ましくは10~40質量%、特に15~35質量%、特に好ましくは20~30質量%の濃度範囲に製造される。

【0030】

工程a)で用いられるジャガイモデンプンの総ホスフェート含量は、5~120 $\mu$ molホスフェート/gデンプン、好ましくは10~120 $\mu$ molホスフェート/gデンプン

10

20

30

40

50

ン、15～110 μmolホスフェート/gデンプン、特に好ましくは60～110 μmolホスフェート/gデンプンであるべきである。

【0031】

本発明において、デンプンの「総ホスフェート含量」という用語は、デンプンのリン酸モノエステルの形態で、グルコース単位のC2、C3およびC6位に共有結合したホスフェートの含量を意味するものとする。リン酸化された非グルカン（例えばリン脂質）の含量は、用語「総ホスフェート含量」に含まれない。

【0032】

野生型ジャガイモ植物は、一般的に、アミロース含量が約17～23%のデンプンを合成する（アミロース含量はHovenkampおよびHermelinkに従って測定された）。本発明において用いられるアミロース含量が少なくとも30%のジャガイモデンプンは、例えば、遺伝子組換えジャガイモ植物から分離することができる。

10

【0033】

基本的には、BEI（分枝酵素I）、BEII（分枝酵素II）およびSSIII（可溶性デンプン合成酵素III）遺伝子の発現を減少させた植物からのジャガイモデンプンが、本発明のアルファ化デンプンの製造に特に適している。

【0034】

本発明に特に適した高アミロース含量かつ高ホスフェート含量のデンプンを合成する遺伝子組換えジャガイモ植物が、2002年12月19日付けで出願された本出願人のドイツ国特許出願で開示されている。

20

【0035】

しかしながら、アミロース含量が少なくとも30%であれば、その他の起源のジャガイモデンプンを用いてもよい。

【0036】

国際特許出願WO97/11188では、R1遺伝子とBEI遺伝子をアンチセンス阻害することにより、アミロース含量が約30～70%のデンプンを合成する遺伝子組換えジャガイモ植物が説明されており、ここでアミロース含量はHovenkampおよびHermelink法（Potato Research 31, (1988), 241-246）で測定されている。このジャガイモデンプンのホスフェート含量は、野生型植物からのデンプンのホスフェート含量に比べて減少している。

30

【0037】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の方法で用いられるジャガイモデンプンは、R1とBEI遺伝子の発現が対応する野生型植物に比べて改変されたジャガイモ植物（WO97/11188を参照）から得られる。

【0038】

アミロース含量が約50%（Gelose<sup>(R)</sup>）または70%（Hylon VII<sup>(R)</sup>）のトウモロコシデンプンと比べて、本発明において用いられるジャガイモデンプンは、ローラードライヤーで十分に分解可能であるという利点を有する。アミロース含量が約50～70%のトウモロコシデンプンの場合、ローラードライヤーでの分解は不十分であり、ローラー乾燥で製造された生成物は、適切な濃度範囲で冷水と攪拌してもペーストまたはゲルを形成しない。

40

【0039】

本発明の方法の工程b)において、デンプン懸濁液は、好ましくは2秒（秒=s）～120s、好ましくは3s～60s、特に3s～30s、特に好ましくは5s～20s、ローラードライヤーのホットローラーにかけられる。

【0040】

工程c)で分離されたアルファ化デンプンを、好ましくは冷却し、好ましくは空冷し、および/または、例えばミルを用いて細かく砕く。

【0041】

本発明の方法の実施形態において、工程a)で製造された懸濁液は、ローラードライヤ

50

一のホットローラーにかけられる前に、部分的または完全に糊化される。

【0042】

本発明において、用語「完全に糊化された」は、デンプン懸濁液をローラーにかける前に、デンプン粒構造が壊れ、少なくとも80%、好ましくは90%のデンプン粒が光学顕微鏡において偏光下で複屈折を示さないようになるまで、デンプン懸濁液を所定温度（例えば95）まで所定時間（例えば5分間）加熱することを意味するものとする。

【0043】

この場合、光学顕微鏡において偏光下で複屈折を示さないデンプン粒の割合は、例えば、Eberstein et al., Starch/Stärke 32, (1980), 397-404で説明されたように、偏光顕微鏡を用いて測定することができる。

10

【0044】

本発明において、用語「部分的に糊化された」は、デンプン懸濁液をローラーにかける前に、デンプンのペースト形成が始まり、デンプン粒構造が壊れ、デンプン粒の25~60%、好ましくは30~50%が光学顕微鏡において偏光下で複屈折を示さないようになるまで、デンプン懸濁液を所定温度（例えば65）まで所定時間（例えば5分間）加熱することを意味するものとする。

【0045】

この場合、光学顕微鏡において偏光下で複屈折を示さないデンプン粒の割合は、例えば、Eberstein et al., Starch/Stärke 32, (1980), 397-404で説明されたように、偏光顕微鏡を用いて測定することもできる。

20

【0046】

本発明はまた、本発明の方法により得られたアルファ化デンプンに関する。

【0047】

さらに本発明は、本発明のアルファ化デンプンを含む組成物に関する。

【0048】

本発明において、用語「組成物」は、特に、本発明のアルファ化デンプンを含む混合物を意味するものとするべきである。

【0049】

例えば、用語「組成物」は、ベーキングミックス、菓子、インスタントプディング、インスタントデザート、フルーツフィリング、コールドクリームまたはソースを製造するためのミックスを含む。加えて、用語「組成物」は、飼料、洗濯のり、着色材および/または接着剤を製造するための混合物を含む。

30

【0050】

特に好ましい実施形態において、本発明は、本発明のアルファ化デンプンによるインスタントプディングの製造、および、本発明のアルファ化デンプンを用いて製造することができるインスタントプディングに関する。

【0051】

従って、本発明はまた、

a) 本発明のアルファ化デンプンを含む本発明の組成物を、液体と均一に混合する工程；

40

b) 工程a)で製造された混合物をゲル形成が起こるまで放置する工程、を含む、インスタントプディングの製造方法も包含する。

【0052】

特に本発明の好ましい実施形態において、上記液体は、牛乳および/または水である。

【0053】

工程a)のアルファ化デンプンは、2~15質量%、好ましくは4~12質量%、特に好ましくは5~9質量%の濃度範囲で用いられる。

【0054】

インスタントプディングの製造方法の工程a)における温度は、5~50であり、好ましくは10~30、特に好ましくは15~25である。

50

## 【0055】

インスタントプディングの製造方法の工程b)における温度は、-15～50 であり、好ましくは0～35、特に好ましくは室温(15～30)、特に20～25 である。

## 【0056】

インスタントプディング製造において、本発明の組成物は、アルファ化デンプンに加えてその他の成分を含んでもよく、例えば糖、および/または、 $CaCl_2$ 、および/または、矯味矯臭剤、および/または、汎用の塩、および/または、着色材、および/または、植物性脂肪、および/または、乳化剤、および/または、その他のアルファ化デンプンが挙げられる。

10

## 【0057】

従って、本発明はまた、本発明のアルファ化デンプンを2～15質量%、好ましくは5～9質量%含み、さらに、糖および矯味矯臭剤、ならびに、場合によりプディングに通常用いられるその他の添加物を含む、インスタントプディング製造用のドライミックスに関する。

## 【0058】

本発明のアルファ化デンプン以外に、例えばアルギネート、および/または、カラゲナン、および/または、ゼラチンのようなその他のゲル化剤は必要ない。

## 【0059】

インスタントプディング製造用の通常の組成物とは異なり、本発明の上記実施形態において、本発明の組成物は、余分な加熱を行うことなく、さらに、例えばアルギネート、および/または、カラゲナン、および/または、その他の親水コロイドのようなゲル化剤を加えることなく、好ましくは室温で、例えば水または牛乳に混合でき、形状が安定した、割ったりスライスすることができるゲルを形成することができるという利点を有する。

20

## 【0060】

インスタントプディング製造用の通常の組成物と比べて、本発明の組成物はさらに、固形ゲル、好ましくはスライス可能なゲルを短い放置時間でも形成できるという利点を有する。

## 【0061】

本発明において、用語「固形ゲル」は、少なくとも0.8N、好ましくは少なくとも1.0N、特に1.1N～4.5N、好ましくは1.2N～4.0N、特に好ましくは1.3N～3.6Nのゲル強度を意味するものとし、より正確には、糖および $CaCl_2$ を添加した水溶液中の使用デンプン濃度6.8質量%でのゲル強度を意味するものとする。この場合、ゲル強度は、以下に示すテクスチャー分析器を用いて測定される。

30

## 【0062】

本発明において、用語「短い放置時間」は、15～25、好ましくは20で、かつ、大気圧において3h未満、好ましくは2h未満、特に好ましくは1h未満の放置時間を意味するものとする。

## 【0063】

本発明の組成物のさらなる利点は、インスタントプディング製造用の通常の組成物に比べて、高い形状安定性を特徴とするゲルを形成することである。

40

## 【0064】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の組成物は、水または牛乳中で、高い形状安定性を有するゲルを形成する。

## 【0065】

本発明において、用語「高い形状安定性」は、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、特に少なくとも90%、特に好ましくは少なくとも95%の形状安定性を意味するものとするべきである。

## 【0066】

形状安定性の測定方法は、以下に示される。

50

## 【0067】

本発明のインスタントプディングは、スライス可能なテクスチャー、および/または、ゲル構造の高い安定性、および/または、ゲルの高い均一性を特徴とする。

## 【0068】

加えて、本発明は、食品、食品組成物または食品原料を製造するための、特に、パン製品および菓子、インスタントプディング、インスタントデザート、フルーツフィリング、デザートパウダー、コールドクリームパウダーまたはソースパウダーを製造するための、加えて、飼料、例えば、好ましくは牛乳の代替飼料の成分を製造するための、加えて、洗濯のり、例えば、着色材の添加剤、紙およびボール紙の接着剤および/またはパーベキュー用の木炭の結合剤を製造するための、本発明のアルファ化デンプンまたはこのようなアルファ化デンプンを含む本発明の組成物の使用に関する。

10

## 【0069】

## 方法

## 1. アルファ化デンプンの溶解度および補正された水との結合能の測定

アルファ化デンプンの溶解度、および、水との結合能を、Richter、AugustatおよびSchierbaumにより説明された方法(Ausgewählte Methoden der Staerkechemie [Selected Methods in Starch chemistry], Wiss. Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1968), 111)により、室温(23±2)で測定した。

20

## 【0070】

アルファ化デンプン乾燥品0.5gを遠心管(100ml)に量り取り、エタノール1mlで湿らせ、マグネチックロッドと攪拌装置を用いて蒸留水40mlに30分間分散または膨潤させ、マグネチックロッドを取り除き、蒸留水10mlでリンスし、混合物を10分間(2800×g)遠心分離した。上清をろ過し(溝つきのフィルター)、ろ液10gを秤量皿にのせ、一晚105で乾燥させ、その後、沈殿物を量った。

## 【0071】

以下の式により溶解度を計算した：

## 【数1】

$$\text{溶解度 (\%)} = \frac{\text{蒸発乾燥させたら過物 (g DM)} \times 50 \times 100}{\text{デンプン質量 (g DM)} \times 10}$$

30

## 【0072】

以下の式により水の結合能(WBC)を計算した：

## 【数2】

$$\text{WBC (g/g)} = \frac{\text{沈殿物 (g)} - \text{デンプン質量 (g DM)}}{\text{デンプン質量 (g DM)}}$$

## 【0073】

以下の式により、溶解度に関して補正された水との結合能(WBC<sub>corr</sub>)を計算した：

## 【数3】

$$\text{WBC}_{\text{corr}} (\text{g/g}) = \frac{[\text{沈殿物 (g)} - \text{デンプン質量 (g DM)}] \times 100}{\text{デンプン質量 (g DM)} \times [100 - \text{溶解度 (\%)}]}$$

40

## 【0074】

## 2. プディングのゲル強度の測定

テクスチャー分析器(TA.XT2 Stable Mikro Systems, Haslemere, Surrey GU273AY, GB)でゲル強度を測定した。アル

50

ファ化デンプン 4.0 g、砂糖 5.0 g、水 50 ml および牛乳 50 ml および  $\text{CaCl}_2$  0.1 g を室温 (23 ± 2) で混合して製造されたプディングを、製造直後に、互いに重ねられた 2 つのリング (それぞれ高さ 20 mm ; 直径 25 mm) の 1 つの円筒容器に入れ、冷蔵庫 (8 ~ 10) で 2 時間保存した。平面圧縮ヘッド (直径 24.5 mm) を用いてゲルを 1 回加圧することによりゲル強度を測定した。2 つのリング間でゲルをナイフで切り出すことにより平面ゲル表面を得た。

【0075】

測定条件：

グラフのタイプ：力対時間

力の閾値：0.196 N

接触域：471 mm<sup>2</sup>

接点力：0.0490 N

モード：圧縮の際に測定された力

オプション：サイクルユニットカウント

力の単位：ニュートン

試験速度：2.0 mm / s

距離：1.0 mm

トリガーの力：0.097 N。

【0076】

### 3. ラピッドビスコアライザー (RVA) を用いた粘度特性の測定

ラピッドビスコアライザー (RVA) (Rapid Visco Analyser, Newport Scientific Pty Ltd, Investment Support Group, Warriewood NSW 2102, Australia) を用いた粘度特性の測定において、水 25 ml 中のジャガイモデンプン 2 g の懸濁液に、以下のように熱処理を行った：50 で 60 秒間懸濁し、50 ~ 95 の範囲で 1 分あたり 12 の割合で加熱し、2.5 分間一定に保ち、1 分あたり 12 の速度で 50 まで冷却し、2 分間一定に保った。RVA 温度特徴から、最大粘度 (Max) および最終粘度 (Fin)、ペースト化温度 (T)、最大粘度の後生じる最小粘度 (Min)、および、最小粘度と最終粘度との差 (Setback, Set) について、試験されたデンプンの粘度に関するパラメーターが得られた。

【0077】

### 4. 形状安定性 (堅さ) の測定

室温 (23 ± 2) で混合されたプディングを、製造直後に、ポリプロピレンフィルムで裏打ちされたプレキシグラス (Plexiglas) シリンダー (高さ 20 mm ; 直径 25 mm) に入れ、表面を平らにし、ゲル化させるために冷蔵庫 (8 ~ 10) で 90 分間放置した。次に、円筒容器 (サポートリング) を取り除き、5 分間後に、プディングの高さを測定し、以下の式により形状安定性を計算した：

【数 4】

$$\text{形状安定性 (\%)} = \frac{B \times 100}{A}$$

A = サポートリングの高さ、

B = サポートリングを取り除いた後のプディングの高さ。

【0078】

### 5. デンプンの総ホスフェート含量の測定

Ames の方法 (Methods in Enzymology VIII, (1966), 115 - 118) により総ホスフェート含量を測定した。

測定のために、デンプン約 50 mg を硝酸マグネシウムエタノール溶液 30 μl と混合し、マッフル炉で 500 で 3 時間灰化した。残留物を 0.5 M 塩酸 300 μl と混合し、60 で 30 分間インキュベートした。次に、0.5 M 塩酸 300 μl のアリコート

10

20

30

40

50

作製し、10%濃度のアスコルビン酸100 $\mu$ lと2M硫酸中の0.42%モリブデン酸アンモニウム600 $\mu$ lとの混合物に加え、45 $^{\circ}$ Cで20分間インキュベートした。

【0079】

標準として、検量されたホスフェート値を用いて820nmで光度定量を行った。

以下の実施例により本発明を説明する。

【実施例】

【0080】

実施例1：高アミロースジャガイモデンプンからのアルファ化デンプンの製造

アルファ化デンプンを製造するため、R1遺伝子と分枝酵素I遺伝子との発現を同時に減少させた遺伝子組換えジャガイモ植物（例えば国際特許出願WO97/11188A1に説明されている）から得られたアミロース含量が約35~45%のジャガイモデンプン（以下、HAデンプンと称する）（アミロース含量はHovenkampおよびHermeleinに従って測定した）を、ローラードライヤーで物理的に改変した。

【0081】

アルファ化デンプンを製造するために、La Monferrina社（イタリア、モデルC）のクレープメーカーを用いた。このクレープメーカーは、ローラー直径約160mmの電気加熱単気筒ドライヤーであり、速度を毎分3回転（rpm）、ローラー温度を160~190 $^{\circ}$ Cで稼働させた。デンプン懸濁液のローラー上の滞留時間は、回転速度3rpmで約1.2秒間であった。ローラーが完全に一回転する前に生成物をローラーから回収した。

【0082】

改良型クレープメーカーを用いて、フィードシャフトを用いてデンプン懸濁液をホットローラー表面にかけることによりアルファ化デンプンを製造した。生成したフィルムをナイフで回収し、空冷し、戸外で一晩平衡化し、Retsch GmbH & Co KG（Haan, ドイツ）のミル（モデルZM100, screen rim 0.2mm）を10000rpmで用いて細かく砕いた。

【0083】

12.5%濃度のデンプン懸濁液を160~190 $^{\circ}$ Cでローラーにかけることにより、アルファ化デンプンを製造した。いずれの場合も、フィードシャフトでデンプンが部分的にアルファ化した。

【0084】

実施例2：インスタントプディングの製造

HAジャガイモデンプン（実施例1）から製造されたアルファ化デンプン4.0g、アイシング用砂糖（icing sugar）5.0g、CaCl<sub>2</sub>0.1gを均一に混合し、全乳（脂肪分3.5%）50mlと共にガラスビーカーに入れ、Krupps社（ドイツ）のKrupps 3-Mix（単独の泡だて器）を用いて、最高速度で3分間攪拌した。次に、この混合物を冷蔵庫で温度8~10 $^{\circ}$ Cで2時間静置し、その後、ゲル強度を上述の方法を用いて測定した。

【0085】

比較試験のために用いられたインスタントプディング製造用の市販品は、製造元のデータによれば、以下の成分：砂糖、加工デンプン、硬化植物性脂肪、グルコースシロップ、乳化剤（エステル化したモノ-およびジグリセリド）、乳タンパク質、増粘剤（カラゲナン、アルギネート）、汎用の塩、着色剤（カロチン、リボフラビン）、着香剤を含んでいた。製造元の説明書に従って、市販品12.0gを牛乳50mlに混合することによりインスタントプディングを製造した。

【0086】

市販品の増粘は、主にアルギネートおよびカラゲナンのゲル化に基づくものであった。充填剤として、または「本体形成」のために、上述の加工デンプン、アルファ化デンプン、が加えられた。対照的に、高アミロースジャガイモデンプン品種（HA）からのアルファ化デンプンを含むプディングの場合、ゲル化のために上述の親水コロイドを添加する必

10

20

30

40

50

要はなかった。

【0087】

市販品と比較すると(表1)、高アミロースジャガイモデンプン(実施例1:HAデンプン)からのアルファ化デンプンから製造されたインスタントプディングは、特に、プディングの特徴的なスライス可能なテクスチャーにより区別される。

【0088】

【表1】

表1:低温で牛乳に混合したアルファ化デンプンから製造されたプディングサンプルの、市販品と比較したゲル強度および構造

10

サンプル	ゲル強度	構造の説明
HA	2.0 N	柔らかい、均一でスライス可能なゲル
市販品	0.7 N	スライス不可能なゲル

【0089】

ジャガイモデンプンHAからのアルファ化デンプンの特性のさらなる試験は、それから製造されたプディングの流動学的特性、例えばプディングのゲル形成速度、粘度比、弾性および可塑性をより詳細に説明すること、および、市販のデンプンまたは市販品から製造されたプディングの流動学的特性と比較するために行われた。

20

【0090】

異なる起源のアルファ化デンプンから同じ方法で製造されたプディングサンプル(その製造はHAアルファ化デンプンからのプディングで述べた方法で行った)、これらプディングサンプルを様々な放置時間した後、テクスチャー分析器を用いて室温でゲル強度を測定した。測定結果を図1に示す。図1から、まず、プディングサンプルのゲル強度の経時的な増加から、調合物の粘度が低いほど、迅速に最大ゲル強度に達し、強度の高いゲルでは2時間にわたりゲル強度が増加することがわかる。

【0091】

HAジャガイモデンプンからのアルファ化デンプンから製造されたプディングは、対照のプディングとは異なり、スライス可能なテクスチャーを有していた。

30

【0092】

テクスチャーのスライス可能性はまた、上述の方法でプディングの形状安定性を測定することにより間接的に説明することもできる。様々なアルファ化デンプンタイプから製造されたプディングについて形状安定性を比較すると、HAデンプンからのアルファ化デンプンで製造したプディング(上記の製造方法を参照)は、同じ方法で製造された様々なタイプのアルファ化デンプン(トウモロコシアルファ化デンプン、コムギアルファ化デンプン、ジャガイモアルファ化デンプン)からのプディング(牛乳50ml中、アルファ化デンプン4.0g、アイシング用砂糖5.0g、CaCl<sub>2</sub>0.1g)と比べて、極めて高い形状安定性を示すことがわかる。上述の市販品から製造されたプディングの比較においても

40

【0093】

結果:

【表 2】

結果：

デンプン	形状安定性
HA	98%
トウモロコシアルファ化デンプン	71%
コムギアルファ化デンプン	42%
ジャガイモアルファ化デンプン	77%
市販品	80%

10

## 【0094】

インスタントデザート製造用の個々のアルファ化デンプンのふさわしさは、感覚的により互いを明確に区別することができる。混合後に室温で2時間置き、型から取り出したプディングサンプルを図解することにより、その他の可能性が提供される。サンプルの外観や切断面により、HAからのアルファ化デンプンを含むプディングにおいてのみ望ましいスライス可能な構造が達成されたことがよくわかる。これは、その他の種のデンプンからのアルファ化デンプンを用いては明らかに達成できない本デンプンの通常の性質に関する重要な証明を提示している。

20

## 【0095】

実施例 3：BEI、SIIIおよびBEII遺伝子の発現を減少させた遺伝子組換えジャガイモ植物の製造

ME5/6発現ベクターの製造

pGSV71は、中間体ベクターpGSV1から誘導されたプラスミドpGSV7の誘導体である。pGSV1は、pGSC1700の誘導体であり、その構築は、CornelissenおよびVanderwieleにより説明されている(Nucleic Acid Research 17, (1989), 19-25)。pGSV1は、pGSC1700から、カルベニシリン耐性遺伝子を除去し、プラスミドpTiB6S3のTL-DNA領域のT-DNA配列を除去することにより得られた。

30

## 【0096】

pGSV7は、プラスミドpBR322(Bolivar et al., Gene 2, (1977), 95-113)の複製起点、および、シュードモナス属のプラスミドpVS1(Ito et al., Plasmid 11, (1984), 206)の複製起点を含む。pGSV7はまた、Klebsiella pneumoniaeのトランスポゾンTn1331からの選択マーカー遺伝子aadAを含み、これは、抗生物質スペクチノマイシンおよびストレプトマイシンへの耐性を生じさせる(Tolmasky, Plasmid 24(3), (1990), 218-226; Tolmasky and Crosa, Plasmid 29(1), (1993), 31-40)。

40

## 【0097】

プラスミドpGSV71は、pGSV7の境界領域でキメラのbar遺伝子をクローニングすることにより得られた。キメラのbar遺伝子は、転写開始のためのカリフラワーモザイクウイルスのプロモーター配列(Odell et al., Nature 313, (1985), 180)、Skreptomycetes hygrosopicusのbar遺伝子(Thompson et al., Embo J. 6, (1987), 2519-2523)、および、転写とポリアデニル化を停止させるためのpTiT37のT-DNAのノパリン合成酵素遺伝子の3'-非翻訳領域、を含む。このbar遺伝子は、除草剤であるグルホシネートアンモニウムへの耐性を与える。

## 【0098】

198~222位のT-DNAは、プラスミドpTiB6S3のTL-DNAの右境界

50

配列を含む (Gielen et al., EMBO J. 3, (1984), 835-846)。ヌクレオチド223~249の間には、ポリリンカー配列がある。ヌクレオチド250~1634は、カリフラワーモザイクウイルスのP35S3プロモーター領域を含む (Ode11等、上記参照)。Streptomyces hygrosopicusのホスフィノトリシン耐性遺伝子 (bar) のコーディング配列 (Thompson等、1987年、上記参照) は、ヌクレオチド1635~2186に存在する。

#### 【0099】

bar野生型遺伝子の5'末端の2つの終止コドンは、コドンATGおよびGACで置き換えられた。ポリリンカー配列はヌクレオチド2187~2205の間にある。プラスミドpTiT37のT-DNAのノパリン合成酵素遺伝子の非翻訳3'末端 (3' nos 10) の長さ260bpのTaqI断片 (Depicker et al., J. Mol. Appl. Genet. 1, (1982), 561-573) は、ヌクレオチド2206と2465の間に置かれている。ヌクレオチド2466~2519には、ポリリンカー配列を含む。pTiB6S3のTL-DNAの左境界配列 (Gielen et al., EMBO J. 3, (1984), 835-846) は、ヌクレオチド2520~2544間に置かれている。

#### 【0100】

次に、ベクターpGSV71を酵素PstIで切り出し、平滑化した。B33プロモーターおよびocsカセットを切り出してベクターpB33-KanからのEcoRI-HindIII断片とし、平滑化し、PstIで切り出され平滑化されたベクターpGSV71 20に導入した。得られたベクターは、ME5/6を構築するための出発ベクターとして提供された：ベクターME4/6のB33プロモーターとocs因子との間にあるPstI開裂部位に、開裂部位EcoRI、PacI、SpeI、SrfI、SpeI、NotI、PacIおよびEcoRI (PstI開裂部位は2ヶ所) を含むオリゴヌクレオチドを導入した。得られた発現ベクターを、ME5/6と名付けた。

#### 【0101】

ベクターpSK-Pacの説明：

pSK-Pacは、pSK-Bluescript (ストラタジーン社、米国) の誘導体であり、そのマルチクローニングサイト (MCS) の両側に、PacI開裂部位が導入 30されている。

#### 【0102】

遺伝子組換え植物の製造：

BEI、SSIIIおよびBEIタンパク質の活性が減少した遺伝子組換え植物を製造するために、初めに、BEIおよびSSIIIタンパク質の活性が減少した遺伝子組換え植物を製造した。この目的のために、プラスミドpB33-aBEI-aSSIII-KanのT-DNAを、Rocha-Sosa等 (EMBO J. 8, (1989), 23-29) により説明されたようにアグロバクテリアでジャガイモ植物に導入した。プラスミドpB33-aBEI-aSSIII-Kanを構築するために、初めに、発現ベクターpBin33-Kanを構築した。このために、Solanum tuberosumのパタチン遺伝子からのB33のプロモーター (Rocha-Sosa等、1989年、上記参照) を、Ssti (Genbank Acc. No. M77789) で切り出されたベクターpUC19 (その末端はT4DNAポリメラーゼで平滑化されている) にDraI断片 (ヌクレオチド-1512~+14) としてライゲートした。 40

#### 【0103】

これにより、プラスミドpUC19-B33が得られた。このプラスミドからB33プロモーターをEcoRIおよびSmaIで切り出し、適切に切断されたベクターpBinArにライゲートした。これは、植物発現ベクターpBin33-Kanを生産した。プラスミドpBinARは、ベクタープラスミドpBin19 (Bevan, Nucl. Acid Research 12, (1984), 8711-8721) の誘導体であり、HoefgenおよびWilmitzerにより構築された (Plant Sci. 50

66, (1990), 221-230)。次に、ジャガイモのBEI酵素をコードしたcDNAの一部を含む長さ1631bpのHindIII断片(Kossmann et al., 1991, Mol. & Gen. Genetics 230(1-2):39-44)を平滑化し、B33プロモーター(Solanum tuberosumのパタチン遺伝子B33のプロモーター; Rocha-Sosa等、1989年)に対して「アンチセンス」方向で、SmaIで予め切断されたベクターpBinB33に導入した。得られたプラスミドをBamHIで切断した。ジャガイモのSSIII酵素をコードするcDNA(Abel et al., 1996, loc. cit)の一部を含む長さ1363bpのBamHI断片を、同様にB33プロモーターに対して「アンチセンス」方向で、開裂部位に導入した。

10

## 【0104】

形質転換後、塊茎のBEIおよびSSIIIタンパク質の活性が明らかに減少している様々な系の遺伝子組換えジャガイモ植物を同定した。

## 【0105】

この形質転換により得られた植物を038VLと名付けた。

## 【0106】

非変性ゲル電気泳動で可溶性デンプン合成酵素の活性を検出するために、ジャガイモ塊茎の組織サンプルを、50mMのトリス-HCl(pH7.6)、2mMのDTT、2.5mMのEDTA、10%グリセロールおよび0.4mMのPMSF中で破壊した。MiniProteinIIチャンパー(BioRAD)で電気泳動を行った。厚さ1.5mmのゲルのモノマー濃度は7.5%(w/v)であり、ゲルおよびランニング緩衝液は、25mMのトリス-グリシン(pH8.4)であった。同量のタンパク質抽出物をアプライし、ゲルあたり10mAで2時間分離した。

20

## 【0107】

次に、50mMのトリス-NaOH(pH8.5)、25mMの酢酸カリウム、2mMのEDTA、2mMのDTT、1mMのADPグルコース、0.1%(w/v)アミロペクチンおよび0.5Mクエン酸ナトリウム中で、活性ゲルをインキュベートした。形成されたグルカンをルゴール溶液で染色した。

## 【0108】

非変性ゲル電気泳動でBEI活性も検出した：植物からタンパク質を分離するために、サンプル材料を液体窒素中で粉碎し、抽出緩衝液(50mMのクエン酸ナトリウム(pH6.5); 1mMのEDTA、4mMのDTT)に溶解させ、遠心分離(10分間、14000g、4 )した後、これを直接用いて、ブラッドフォード法によりタンパク質濃度を測定した。次に、必要に応じて、5~20µgの全タンパク質抽出物を、4倍量のローディング緩衝液(20%グリセロール、125mMのトリス-HCl、pH6.8)と混合し、「BE-活性ゲル」にアプライした。ランニング緩衝液(RB)の組成は以下の通りであった：RB=水1リットル中、トリス塩基(pH8.0)30.2g、グリシン144g。

30

## 【0109】

ゲル泳動が完了した後、ゲルをそれぞれ、「ホスホリラーゼ緩衝液」(1Mのクエン酸ナトリウム(pH7.0)25ml、グルコース-1-ホスフェート0.47g、AMP12.5mg、ウサギのホスホリラーゼa/b 2.5mg)25ml中で、37 で一晩インキュベートした。ゲルをルゴール溶液で染色した。

40

## 【0110】

さらに分析したところ、BEIタンパク質だけでなくSSIIIタンパク質も減少した038VL008系および038VL107系から分離されたデンプンが、研究された全形質転換体のなかで最も高いホスフェート含量を示したことがわかった。

## 【0111】

次に、この系の植物をRocha-Sosa等(EMBO J. 8, (1989), 23-29)が説明したように、プラスミドpGSV71-aBE2-basta(国際特

50

許出願PCT/EP02/06265を参照)を用いて形質転換した。

【0112】

プラスミドpGSV71-aBE2-bastaでの形質転換で得られた植物(108CFおよび110CFと名付けられた)から、それぞれの形質転換体の塊茎の組織サンプルを採取し、そのアミロース含量を測定した(HovenkampおよびHermelink, Potato Research 31, (1988), 241-246)。塊茎が最も高いアミロース含量を示す系のデンプンを、デンプン特性をさらに試験するためにそれぞれ分離した。この植物が、BEIおよびSIIIタンパク質の活性が減少したことに加えて、BEIIタンパク質の活性も減少していることを示すために、非変性ゲル電気泳動で分析した。

10

【0113】

上述した減少したBEI活性の分析に関する方法と同じ方法で分析した[ただし非変性ポリアクリルアミドゲルが上述の組成物に加えて0.5%マルトデキストリン(Beba、15%濃度マルトデキストリン溶液、新生児用、ネスレ社)を含む点で異なる]。デキストリンを加えることにより、ゲルを「ホスホリラーゼ緩衝液」(1Mクエン酸ナトリウム(pH7.0)25ml、グルコース-1-ホスフェート0.47g、AMP12.5mg、ウサギのホスホリラーゼa/b 2.5mg)中で37℃で一晩インキュベートし、続いてルゴール溶液で染色した後、ゲル中でBEIおよびBEIIタンパク質の異なる活性が示された。

20

【0114】

実施例4：ホスフェート含量が高い高アミロースジャガイモデンプンからのアルファ化デンプンの製造、および、このアルファ化デンプンのインスタントプディング製造のための使用

実施例3で説明された遺伝子組換え植物により合成された修飾されたデンプン(以下、このデンプンを「HA-ホスフェート」と称する)は、32~38%のアミロース含量、および、80.0~100μmol総ホスフェート/gデンプン乾燥重量のホスフェート含量を有していた。

【0115】

実施例1で説明したように、このデンプンを用いてアルファ化デンプンを製造した。次に、得られたアルファ化デンプンを用いて、インスタントプディングを製造した。実施例2で説明したようにプディングを製造した。

30

【0116】

以下のような実施例2と類似の方法でプディングの特性を説明することができる：

【表3】

表2：市販品と比較した、低温で牛乳に混合したHA-ホスフェートアルファ化デンプンを含むプディングサンプルのゲル強度および構造

サンプル	ゲル強度	構造の説明
HAホスフェート	2.7 N	スライス可能な、均一なゲル
市販品	0.7 N	スライス不可能なゲル

40

【0117】

実施例2で説明された実験条件下で、比較的短い放置時間(約30分間)で、場合によってはわずか10~15分後であっても、スライス可能なゲルが形成された。

【0118】

HA-ホスフェートアルファ化デンプンの形状安定性を考察すれば、形状安定性はHAアルファ化デンプン(実施例2)に関して説明された範囲内であり、98%であった。

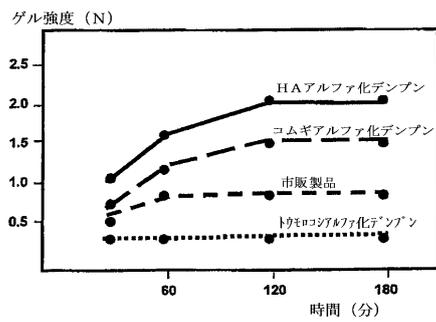
【図面の簡単な説明】

50

【 0 1 1 9 】

【 図 1 】 アルファ化デンプンおよび市販製品から作られたプディングの強度に対する時間の影響（テクスチャー分析器による）を示す。

【 図 1 】



---

フロントページの続き

(72)発明者 カール - ゲーオルク・ブッシュ  
ドイツ連邦共和国14532クラインマッハノヴ・ウーレンホルスト18

審査官 福井 悟

(56)参考文献 米国特許第03515591(US, A)  
米国特許第03086890(US, A)  
米国特許第03128209(US, A)  
特表平11-512286(JP, A)  
国際公開第92/011375(WO, A1)  
特表平09-502098(JP, A)  
Nature Biotechnology, 2000年, 18, 551-554

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C08B 1/00-37/18  
A23L 1/187  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)