(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第3769057号

(P3769057)

(45)発行日　平成18年4月19日(2006.4.19)　(24)登録日　平成18年2月10日(2006.2.10)

| (51)Int.Cl. | | F I | | |
|---|---|---|---|---|
| B01J 13/04 | (2006.01) | B01J | 13/02 | A |
| A61J 3/07 | (2006.01) | A61J | 3/07 | M |
| A61K 9/50 | (2006.01) | A61K | 9/50 | |
| C07K 14/39 | (2006.01) | C07K | 14/39 | |
| C12N 1/16 | (2006.01) | C12N | 1/16 | J |

請求項の数 16　(全 18 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平7-298423
(22)出願日　平成7年11月16日(1995.11.16)
(65)公開番号　特開平8-243378
(43)公開日　平成8年9月24日(1996.9.24)
審査請求日　平成14年3月5日(2002.3.5)
(31)優先権主張番号　特願平6-283317
(32)優先日　平成6年11月17日(1994.11.17)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

(73)特許権者　000253503
麒麟麦酒株式会社
東京都中央区新川二丁目１０番１号
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100096183
弁理士　石井　貞次
(74)代理人　100098121
弁理士　間山　世津子
(72)発明者　雫石　三佳
群馬県高崎市宮原町３番地
麒麟麦酒株式会社　応用開発センター内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】マイクロカプセルの製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

酵母を酵素処理することによりその菌体内成分を菌体外に放出させた後、該酵母菌体を酸性水溶液で処理し、次いでこの酵母菌体内にカプセル化すべき物質を内包させることを特徴とする、マイクロカプセルの製造方法。

【請求項２】

カプセル化すべき物質が疎水性物質である、請求項１記載の方法。

【請求項３】

疎水性物質が液体である、請求項２記載の方法。

【請求項４】

疎水性液体が脂質である、請求項３記載の方法。

【請求項５】

脂質が、長鎖炭化水素、長鎖アルコール、長鎖アミノアルコール、長鎖アルデヒド、長鎖ケトン、長鎖酸およびその塩、テルペノイド、ステロイドならびにカロテノイドからなる群より選択される少なくとも一種の誘導脂質である請求項４記載の方法。

【請求項６】

脂質が、ワックス、グリセリド、エーテルグリセリドおよびセラミドからなる群より選択される少なくとも一種の単純脂質である請求項４記載の方法。

【請求項７】

脂質が、リン脂質、糖脂質、リン糖脂質、硫脂質およびアミノ酸脂質からなる群より選択

される少なくとも一種の複合脂質である請求項４記載の方法。
【請求項８】
カプセル化すべき物質が親水性物質である、請求項１記載の方法。
【請求項９】
親水性物質が、アミノ酸、水溶性ビタミン、ヌクレオチドおよび糖からなる群より選択される少なくとも一種の物質である請求項８記載の方法。
【請求項１０】
酵素がプロテアーゼである請求項１記載の方法。
【請求項１１】
酵素が、ヌクレアーゼ、β－グルカナーゼ、エステラーゼおよびリパーゼからなる群より選択される少なくとも一種の酵素とプロテアーゼとの組合せである請求項１記載の方法。
【請求項１２】
酵素が酵母の持つ自己消化酵素である請求項１記載の方法。
【請求項１３】
酸性水溶液が２．０以下のｐＨを有するものである請求項１記載の方法。
【請求項１４】
酸性水溶液が０～０．５のｐＨを有するものである請求項１３記載の方法。
【請求項１５】
酸性水溶液が塩酸、燐酸、硫酸、クエン酸、酢酸、アスコルビン酸、および乳酸からなる群から選ばれた少なくとも１つの酸の水溶液である請求項１記載の方法。
【請求項１６】
酵母が、サッカロマイセス・セレビッシェ(Saccharomyces cerevisiae)、サッカロマイセス・ルーキシ(Saccharomyces rouxii)、サッカロマイセス・カールスバーゲンシス(Saccharomyces carlsbergensisi)、キャンディダ・ウティリス(Candida utilis)、キャンディダ・トロピカリス(Candida tropicalis)、キャンディダ・リポリティカ(Candida lipolytica)、およびキャンディダ・フレーベリ(Candida flaveri)から成る群より選択される少なくとも一種の微生物である請求項１記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【発明の属する技術分野】
本発明はマイクロカプセルの製造方法に関し、さらに詳細には、酵母菌体内にカプセル化すべき物質を内包してなるマイクロカプセルの製造方法に関する。
【０００２】
【従来の技術】
マイクロカプセルは、液体、固体、気体を内包し、そのまわりを薄い皮膜で均一に覆った１μｍ～数百μｍまでの大きさの微粒子であり、現在、無色及び有色染料、医薬品、農薬、香料、飼料素材及び食品素材等を内包させたマイクロカプセルが工業的に製品化されている。
マイクロカプセルは、ある特性をもった物質の外側に薄膜を形成させることでその特性も同時に封じ込めてしまうことが可能で、必要時に内包された物質を取り出すことができるものである。
マイクロカプセルの製造方法としては、コアセルベーション法、界面重合法、in situ 法等が有力な方法として知られている。
【０００３】
一方、これらとは全くその製法を異にする、微生物を利用したマイクロカプセルがこれまでに幾つか提唱されている。微生物マイクロカプセルは、微生物の細胞壁を膜材として利用するため、内包すべき物質を既に出来上がっている膜材に包括させることにより得られる。製造方法としては、具体的には次のものが挙げられる。
【０００４】
米国特許第４００１４８０号明細書においては、真菌類を低窒素高炭素の培地組成で培養

し、その脂質含有量を４０～６０ｗｔ％まで高め、その脂質に可溶性の物質をカプセル化する方法が紹介されている。本方法によれば、カプセル化はカプセル化すべき物質が真菌類と接触することにより細胞内に取り込まれ、細胞内に形成された脂肪球中に不動的に保持される。

【０００５】

また、特開昭５８－１０７１８９号公報は、成長微生物の脂質含量の増量方法として、培地から回収した脂質含量１０ｗｔ％以上の成長微生物（例えば油脂形成性酵母菌、麦酒酵母菌など）に脂質増量用有機物質（例えば脂肪族アルコール類、エステル類、芳香族炭化水素類、水添芳香族炭化水素類）から選択される液体を包含せしめた後、これら脂質増量用有機物質に可溶な芯物質となるべき液体をカプセル化してなる微生物カプセルを開示している。

【０００６】

さらに特開昭６１－８８８７１号公報では、脂質含量１０ｗｔ％未満の真菌類に疎水性物質もしくは親水性物質を内包させ、必要時に圧力を加えることで破壊し中身を取り出すことを特徴とする微生物カプセルを挙げている。

【０００７】

一方最近、簡便で優れた方法として、予め菌体内成分を溶出させた酵母の細胞壁をマイクロカプセルの基材として用いる方法が開示されている（特開平４－４０３３、特開平４－６３１２７、特開平４－１１７２４５、特開平５－９５７９１、特開平５－１３８０１０、および特開平５－２５３４６４）。しかし、これらの方法によっても、酵母の細胞壁内に芯物質である疎水性液体を多量に含有させるためにはカプセル化の目標物質でない乳化剤等の併用が必要となり芯物質以外の成分がカプセル化されることを避けることができなかった（特開平４－４０３３、特開平４－６３１２７、特開平４－１１７２４５、および特開平５－１３８０１０）。 また必ずしも乳化剤等のカプセル化補助剤を必要としない方法として、酵母の細胞壁をアルカリ液で処理する方法（特開平４－６３１２７）、またはカプセル化処理時のｐＨを中性域に調整した後に内包せしめる疎水性液体と酵母の細胞壁を混合し、カプセル化処理する方法（特開平５－２５３４６４）が開示されているが、マイクロカプセルにおける脂肪酸の含有量は６０％程度に留まっていた。また、脂肪酸と比較して、トリグリセリドは食品添加物としてより利用しやすいが、上記の全ての方法では、外因性のトリグリセリドが３％程度しかカプセル化されないなど食品に応用する場合に非常に大きな問題点があり、改善しなければならない点が多かった。

【０００８】

油脂を含む疎水性液体は栄養学的機能を有するものも多く、それらは一般的に動物や植物から得られるが、最近では微生物からも製造されるようになってきた。これら疎水性液体の一部は食品素材および飼料素材として有効に利用されているが、熱、光、酸化剤等により変質し易いものも多く、また液状のものであれば非常に扱いにくいといった欠点を有している。有用な疎水性液体を従来法より、より高含有量でカプセル化できれば、これら欠点を改善でき、更に高度な用途への応用が可能になるものと期待されている。

【０００９】

食品および飼料へ応用することを前提として疎水性液体をマイクロカプセル化するにあたっては、次の３点を十分考慮して製造工程を選択すべきである。まず第一に、食品ないしは飼料として摂取されても、その安全性について何ら懸念すべきことのない皮膜材およびカプセル化助剤が使用されること；第二に、油脂成分の多くは熱変成を受け易い特性を有するため、過度に高温、長時間の条件を要するカプセル化工程は避けること；第三に、できればカプセル化助剤を必要とすることなく、芯物質である疎水性液体をできるだけ多量に含有するカプセルが調製できること等である。しかし、現在のところ、上記の３条件を十分に満たすようなマイクロカプセルの製造方法は確立されていない。

【００１０】

【発明が解決しようとする課題】

従って、本発明は、上記の従来技術の欠点を有しないマイクロカプセルの製造方法を提供

することを目的とする。

【００１１】

【課題を解決するための手段】

そこで本発明者らは、前記課題を解決すべく種々検討を試みたところ、酵母を酵素処理することによりその菌体内成分を菌体外に放出させた後、該酵母菌体を酸性水溶液で処理し、次いでこの酵母菌体内にカプセル化すべき物質を内包させることにより、より多量の疎水性物質を含有するマイクロカプセルのみならず、親水性物質を含有するマイクロカプセルをも製造することができることを見い出し、本発明を完成させるに至った。すなわち、本発明は、酵母を酵素処理することによりその菌体内成分を菌体外に放出させた後、該酵母菌体を酸性水溶液で処理し、次いでこの酵母菌体内にカプセル化すべき物質を内包させることを特徴とする、マイクロカプセルの製造方法を提供するものである。

【００１２】

特定の理論に拘泥するわけではないが、本発明のマイクロカプセルの製造方法においては、酵素処理のみのものと比べて、酸処理することで、酵母細胞壁表面の電荷（負に帯電している）が減少し、電気的な反発が軽減され、カプセル化すべき物質をより取り込ませ易くなると考えられている。

【００１３】

本発明によるマイクロカプセルの製造方法は、基本的に次の工程からなるものである。

▲１▼酵母を酵素処理することにより、菌体内成分を菌体外に放出させる工程

▲２▼菌体内成分を放出させた酵母を酸性水溶液で処理する工程

▲３▼カプセル化工程

この他必要に応じ、酵母の洗浄、脱水、ｐＨ・温度・圧力の調整、乾燥工程等を組み入れることも可能である。以下、本発明を上記の工程に則して詳細に説明する。

【００１４】

酵母とは、出芽もしくは分裂により増殖する微生物の総称であり、本発明においてはいかなる酵母を用いてもよい。麦酒酵母菌、パン酵母菌、トルラ酵母菌等を使用することができ、具体的には、例えば、サッカロマイセス属のサッカロマイセス・セレビッシェ(Saccharomyces cerevisiae)、サッカロマイセス・ルーキシ(Saccharomyces rouxii)、サッカロマイセス・カールスバーゲンシス(Saccharomyces carlsbergensis)、および、キャンディダ属のキャンディダ・ウティリス(Candida utilis)、キャンディダ・トロピカリス(Candida tropicalis)、キャンディダ・リポリティカ(Candida lipolytica)、キャンディダ・フレーベリ(Candida flaveri)等が使用することができる。これらは、単独であるいは組み合わせ て使用することができる。酵母の形状は種類によって種々の形があるが、なるべく球形に近い形態のものが好ましい。また、粒径は１～２０μｍの範囲が好ましい。本発明で使用されるこれらの酵母菌は、生のままでも、乾燥した状態でもよく、さらに増殖力のない死滅した菌であってもよい。

【００１５】

本発明で用いられるこれらの酵母には、水もしくは極性溶剤に可溶性の酵素およびタンパク質、アミノ酸成分、糖質分、核酸成分等の菌体内成分が存在しており、これらの成分は酵母菌体内へのカプセル化すべき物質の内包を阻害しうる。従って、カプセル化すべき物質をより大量に酵母菌体内に内包させるためには、予め酵素処理法により、これらの菌体内成分を菌体外に放出させた後の酵母菌残渣を用いることが必要である。この酵素処理法としては、任意の公知の方法を用いることができ、その例としては、Babayan, T.L. and Bezrukov, M.G., １Acta Biotechnol.０, ５, 129-136 (1985)に記載の自己消化酵素を活用するのが最も経済的である。それ以外にも、プロテアーゼによる処理、あるいは、ヌクレアーゼ、β－グルカナーゼ、エステラーゼおよびリパーゼからなる群より選択される少なくとも一種の酵素をプロテアーゼと組合せた処理を行ってもよい。プロテアーゼの例としては、アルカラーゼ、ニュートラーゼ（ノボ社）、プロテアーゼＡ、Ｍ、Ｎ等、パパイン、ニューラーゼＦ（アマノ社）などを挙げることができる。具体的には、自己消化酵素を有する酵母菌体の水分散液あるいは上記のような酵素を添加した酵母菌体の水分散液

を３０～６０℃で、１～４８時間、好ましくは、４０～５０℃で１５～２４時間インキュベーションすることにより酵母菌体を酵素処理することができる。酵素で処理した酵母菌体の水分散液を遠心分離等により、上清と酵母菌残渣に分離し、この酵母菌残渣を用いて以下の処理を行うとよい。

【００１６】

酵素処理を速やかに行う目的で、酵母の酵素処理の前に、高圧ホモジナイザー等により前処理を行ってもよい。具体的には、高圧ホモジナイザーを用いて１００～６００kg/cm$^2$の圧力下で予備分散させ、次いで８００～２０００kg/cm$^2$の圧力下で分散することにより、前処理を行うことができる。

【００１７】

次いで、酵素処理した酵母菌体を酸性水溶液で処理する。この処理により、酵母菌表面の負の電荷が低減し、酵母菌体へのカプセル化すべき物質の浸透性が増加する。具体的には、酵素処理後の酵母菌残渣を酸性水溶液に懸濁し、所望により、適当な酸濃度に調整した後、この懸濁液に所定時間、加熱および撹拌を施すとよい。本発明の方法に用いられる酸性水溶液としては、塩酸、燐酸、硫酸、乳酸、クエン酸、酢酸、アスコルビン酸等からなる群から選ばれた少なくとも１つの酸の水溶液を用いることができるが、特に限定はされない。酸性水溶液のｐＨは２．０以下が適当であり、０～１が好ましく、０～０．５がより好ましい。また、酵母菌残渣は、酸性水溶液に固形分濃度１～１０％、好ましくは２～５％となるように懸濁させるとよい。この懸濁液の加熱温度および時間は系のｐＨやイオン強度に依存して設定されることが好ましいが、例えば、ｐＨが０～０．５の酸性水溶液により処理される場合には、５０℃以上１００℃以下、好ましくは８５℃以上１００℃以下の温度で、５分以上１時間以下、好ましくは１０分以上３０分以下加熱するとよい。この際、ｐＨが０～０．５の酸性水溶液により１時間以上という長時間の加熱処理を行ったりｐＨが０以下という過度な酸性水溶液での処理を行えば、酵母の細胞壁の強度がそれに応じて低下し、酸処理した酵母の収率の低下を招く場合がある。上記のような酸性水溶液による処理に際しては、必要に応じて各種有機溶剤、分散剤、防腐剤を添加することも可能である。有機溶剤としては、メタノール、エタノール等の各種アルコール、アセトン、ヘキサン等を、分散剤としては、ショ糖エステル、グリセリンエステル等を、防腐剤としては、安息香酸、ソルビン酸、サリチル酸等を単独で、または併用して使用することができる。

【００１８】

上記のように酸性水溶液で処理した酵母菌体の懸濁液を遠心分離等により、上清と酵母菌残渣に分離し、この酵母菌残渣を用いて以下の処理を行うとよい。

上記のような酵素処理および酸性水溶液による処理を施して得られる酵母菌体の細胞壁は、グルカン、マンナン、キチン層から構成される物理的、化学的に比較的丈夫な皮膜であり、これはマイクロカプセルとして具備すべき内包物質の保護機能を損なうこと無く、より多量のカプセル化すべき物質を内包することができる。

上記のようにして処理した酵母菌体内にカプセル化すべき物質を内包させることにより、マイクロカプセルを製造する。

【００１９】

カプセル化すべき物質は、疎水性、親水性あるいは両親媒性のいかなる性質を有するものであってもよいが、本発明の方法は、疎水性物質、特に、疎水性液体をカプセル化するのに効果的である。

疎水性液体とは、実質的に水不溶性の液体であるもの、加熱により水不溶性の液体となるもの、更に脂肪酸エステルやステロイド等の脂溶性の物質を適当な液体（例えば、以下に記載する物質のうち液体であるもの）に溶解せしめた疎水性液体を含むものである。具体的には、単純脂質として高級脂肪酸と高級アルコールからなるパルミチン酸メチルエステル等のモノエステル型の鎖式単純ワックスおよびコレステロールエステル、シトステロールエステル、エルゴステロールエステル等のステロールエステルや脂溶性ビタミンＡ、Ｄ、Ｅ等のエステルに代表される含環式単純ワックスおよびシアノ脂質を含む単純ワックス

類、ジオール脂質、ジエステル等の複合ワックス類、モノオレイン、モノステアリン等のモノグリセリドおよびジグリセリドまたトリオレイン、大豆油、コーン油、米糠油、サフラワー油、綿実油、オリーブ油、ヒマシ油、タラ油、イカ油、イワシ油、豚脂、牛脂、羊脂、馬油、その他、微生物油脂類に代表されるトリグリセリド、キミルアルコール、バチルアルコール等のモノアルキルやジアルキル、モノアルキルモノアシル、モノアルキルジアシル、トリアルキルタイプ等のアルキルグリセロールエーテル脂質類およびモノアルケニル、ジアルケニル、モノアルケニルモノアシル、モノアルケニルジアシル、トリアルケニルタイプ等のアルケニルグリセリルエーテル脂質類およびセラミド類があげられる。また誘導脂質として飽和型と不飽和型で直鎖、モノ枝鎖およびポリ枝鎖の長鎖炭化水素とこれら長鎖炭化水素が酸化されたオクタコサノールなどに代表される長鎖アルコール類、ジヒドロスフィンゴシン、スフィンゴシン、フィトスフィンゴシン、デヒドロフィトスフィンゴシン等の長鎖アミノアルコール類、シトロネラール、ファルネサールや昆虫フェロモンに多い長鎖アルデヒド類、フィロキノン、ユビキノン等の直鎖ケトン類、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸に代表される各種脂肪酸および、ヒドロキシ酸、ケト酸、ジカルボン酸等の長鎖酸類とその塩類、ヘミテルペンやリモネン、メントール、シトラール、イオノン等のモノテルペン、ビサボレン、ファルネソール、ネロリドール、シペロン、ヒノキ酸

【００２０】

等のセスキテルペン、カンホレン、フィトール、ヒノキオール、スギオール、アビエチン酸、クロロフィル、レチノール、トコフェロール、フィロキノン等のジテルペンおよびトリテルペン、テトラテルペンやメナキノン、ユビキノン等のポリテルペン等のテルペノイド類、コレステロール、シトステロール、エルゴステロール、胆汁酸、性ホルモン、副腎脂質ホルモン、心臓毒ゲニン、ステロイドサポゲニン、ソラニジン等のステロイド類、フィトエン、リコピン、カロチン、キサントフィル、シトラウリン、カプサンチン等のカロチノイド類があげられる。また更に、複合脂質として大豆レシチン等のホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン等のグリセロリン脂質、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン等のグリセロホスホノ脂質、プラズマローゲン等のエーテルグリセロリン脂質、セラミドリン酸、スフィンゴミエリン等のスフィンゴリン脂質、セラミドシリアチン等のスフィンゴホスホノ脂質等のリン脂質類、その他グリセロ糖脂質やスフィンゴ糖脂質などの糖脂質類、サポニン、ソラニン等のステロイド配糖体、脂肪酸糖、リポ多糖等の糖脂質類、リン糖脂質類、硫脂質類、アミノ酸脂質類などがあげられる。

【００２１】

また更に、フェニトロチオンやピラクロファス等の脂溶性液体が挙げられる。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、プロピレングリコール脂肪酸エステルおよびポリソルベート類等に代表される乳化剤等を芯物質として挙げることもできる。

親水性物質とは、水分子とのあいだに結合をつくりやすい官能基、すなわち水酸基、カルボキシル基、アミノ基、ケトン基、スルフォ基などを分子構造の一部に有する比較的低分子の物質であり、実質的に水に有意な量可溶し得るものである。

具体的にはまずアミノ酸類を挙げることができる。プロリン、スレオニン、リジンなどのアミノ酸の他それらの金属塩、エステル、ペプチドが含まれる。

次いで糖類を挙げることができる。グルコース、ガラクトース、フラクトースなどの単糖類、マルトース、シュクロースなどの二糖類、ラフィノースなどの少糖類の他、アミノ糖、糖アルコールなどが含まれる。

次いで水溶性ビタミン類が挙げられる。チアミン、リボフラビンなどのビタミンＢ群、アスコルビン酸、葉酸、コリンなどがある。

この他、核酸関連物質が挙げられる。５’－ＧＭＰ，５’－ＩＭＰなどのモノヌクレオチドの他、塩基、ヌクレオシド、オリゴヌクレチドがある。

【００２２】

これらのカプセル化すべき物質を単独であるいは組み合わせて、前記の処理を施した酵母菌体と混合し、カプセル化を行う。具体的には、カプセル化すべき物質を前記の処理を施した酵母菌残渣の水分散液に添加して、所望により、該分散液のｐＨを調整した後、一定時間、一定温度にて撹拌することにより行うことができる。カプセル化すべき物質と酵母菌体（固形分）の比率は、２：１～１：４が適当であり、１：１～１：２が好ましい。分散液中の酵母菌体の固形分濃度は、１～１０％が適当であり、２～５％が好ましい。所望により、前記分散液のｐＨは、５～９、好ましくは６．５～７．５になるように、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、重ソウ等のｐＨ調整剤を用いて調整してもよい。カプセル化工程における撹拌温度は特に限定はされないが、好ましくは４０～８０℃である。また、撹拌時間は、カプセル化すべき物質の内包されるべき量、カプセル化工程の温度などに応じて適宜設定すれば良い。撹拌は、ホモジナイザーを用いて、１０００～１００００rpm、好ましくは２０００～４０００rpm の速度で行うとよい。更に、必ずしも必要ではないが、カプセル化すべき物質の分散性向上を補助するために、界面活性剤や親水性の有機溶剤を添加しても良い。更に必要に応じ、硬膜剤、防腐剤、酸化防止剤などの各種劣化防止剤その他を添加してカプセル化を行うこともできる。本工程は酵母菌の培養とは全く異なるものであり、溶存酸素の供給、糖源、窒素源などの栄養源の添加は全く不要である。

【００２３】

上記のようにして作製された、カプセル化すべき物質を内包する酵母菌体を回収し、洗浄する。上記酵母菌体は、遠心分離、吸引濾過等の方法により回収することができる。

その他、必要に応じ、洗浄および熱風乾燥、凍結乾燥等の処理を行い乾燥してもよい。

このようにして得られたマイクロカプセルは食品、飼料などの素材に使用することができる。

【００２４】

【発明の実施の形態】

以下に、本発明を実施例により詳細に説明する。なお本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。実施例中に示された酵母菌重量は、全て乾燥状態での重量である。また、％で表示してある酵母菌体中のカプセル化率は、全て重量比％である。

【００２５】

〔実施例１〕

〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉

麦酒酵母菌（サッカロマイセス・セレビッシェ）２０ｇを含む水分散液２００ｇを振盪培養機中で温度５０℃の条件下で１７時間振盪し、菌体内の成分を自己消化法にて菌体外に溶出させた。遠心分離操作により、溶出液と酵母菌残渣を分離した後、酵素処理酵母菌残渣（以下、「酵素処理残渣」という。）として固形分約２０％のペーストが得られた。

【００２６】

〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉

上記の酵素処理残渣を固形分として５％となるように塩酸溶液で懸濁し、最終塩酸濃度を０．０５、０．１、０．５、１．０、および２．０Ｎになるようにそれぞれ調整した。この懸濁液を沸騰水浴中にて８５℃以上で１０分間加熱し、その後遠心分離した後、洗浄して酵素処理酵母菌の塩酸処理残渣（以下、「塩酸処理残渣」という。）を得た。塩酸処理残渣は水分が９０～８５％、即ち固形分が１０～１５％となった。

【００２７】

〈カプセル化工程〉

上記のようにして得られたそれぞれの塩酸処理残渣を固形分で５％、またオレイン酸またはトリオレインを７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下においてホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率（〔カプセル化酵母菌体中の脂質重量／カプセル化酵母菌体の乾燥重量〕×１００（％））を算出した。その結果を表１および表２に示す。例えば、１Ｎの塩酸処理残渣でオレイン

酸をカプセル化した場合、カプセル化酵母の回収率は使用した塩酸処理残渣の固形分とオレイン酸の総和の６２．６％であり、カプセル化したオレイン酸の最終回収率は７５．５％であった。

【００２８】

上記方法で調製したカプセルをｐＨ２、４、７、９に塩酸または水酸化ナトリウムで調整した溶液に懸濁し、２４時間放置後、カプセル中に残存する脂質量を測定した。また、１２０℃で２０分間加熱した後、同様に残存脂質量を測定したが、いずれも、脂質成分の流出は認められなかった。このことから、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であることがわかる。

【００２９】

〔比較試験　１－１〕

酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例１の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、オレイン酸のカプセル化率は３６．０％であり（表１の未処理群）、トリオレインのカプセル化率は４．６％であった（表２の未処理群）。また、実施例１においては、このカプセル化率に到達するまでに要するカプセル化時間は１時間以内であり、塩酸処理残渣が自己消化残渣に比べ、極めて速やかにカプセル化可能なことが示唆された。

【００３０】

【表１】

表１　　オレイン酸カプセル化酵母のカプセル化率

| 塩酸濃度 (N) | 処理液のｐＨ[1)] | カプセル化率 (%) |
|---|---|---|
| ０．０（未処理） | ５．８０ | ３６．０ |
| ０．０５ | １．３５ | ５６．２ |
| ０．１ | １．０７ | ５４．０ |
| ０．５ | ０．３４ | ６９．６ |
| １．０ | ０．０１ | ７２．４ |
| ２．０ | *** | ５９．８ |

1)　ｐＨは実測値

【００３１】

【表２】

表２　トリオレインカプセル化酵母のカプセル化率

| 塩酸濃度 (N) | 処理液のｐＨ[1)] | カプセル化率 (%) |
|---|---|---|
| ０．０（未処理） | ５．８０ | ４．６ |
| ０．０５ | １．３５ | ５．２ |
| ０．１ | １．０７ | ５．８ |
| ０．５ | ０．３４ | ３１．３ |
| １．０ | ０．０１ | ２５．３ |
| ２．０ | *** | １９．７ |

1)　ｐＨは実測値

【００３２】
〔比較試験　１－２〕
酵素処理による菌体内成分の溶出処理を行なわず、酸性水溶液による処理を１Ｎの塩酸溶液を用いて行った他は、実施例１の操作を繰り返して、オレイン酸またはトリオレインを酵母菌体内にカプセル化した。この際、オレイン酸のカプセル化率は５５．３％であり、またトリオレインのカプセル化率は７．７％であった。このことは、酵素処理を行わない場合、カプセル化率が有意に低下し、特にトリオレインに関してはほとんどカプセル化されないことを示していた。
【００３３】
〔比較試験　１－３〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理において、塩酸溶液での処理を０．０１Ｎの水酸化ナトリウム溶液（ｐＨ＝１２．０，特開平４－６３１２７による至適条件）での処理に置き換えた他は、実施例１の操作を繰り返してオレイン酸またはトリオレインを酵母菌体内にカプセル化した。この際、オレイン酸のカプセル化率は４６．５％であり、またトリオレインのカプセル化率は４．５％であった。このことは、アルカリによる酵母菌残渣の処理より酸による処理の方が、カプセル化において有効であることを示していた。
【００３４】
〔実施例２〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉
実施例１と同様の方法で行ったが、最終塩酸濃度を１Ｎとした。
【００３５】
〈カプセル化工程〉
上記によって得られたそれぞれの塩酸処理残渣を固形分で５％、また大豆油を７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出した。この結果、大豆油のカプセル化率は２２．０％であった。
【００３６】

〔比較試験２〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例２の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体においては、大豆油のカプセル化率が有意に低下しており、４．４％となった。このことは酵素処理の後、酸性水溶液で酵母菌体を処理する本発明の方法が、トリオレインだけでなくトリグリセリド一般に応用できることを示すものである。
【００３７】
〔実施例３〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１での自己消化による菌体内成分の溶出処理に先立ち、高圧ホモジナイザーを用い、５００kg/cm$^2$の圧力下で麦酒酵母菌を１０％の固形分濃度で水に予備分散した後、１０００kg/cm$^2$の圧力下でさらに分散した。その後、振盪培養機中で温度５０℃の条件下で８時間振盪し、自己消化により菌体内の水溶性成分を菌体外に溶出させ、遠心分離操作により溶出液と酵母菌残渣を分離して、酵素処理残渣を得た。
【００３８】
〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉
実施例１と同様の方法で行ったが、最終塩酸濃度を１Ｎとした。
【００３９】
〈カプセル化工程〉
実施例１と同様の操作で、オレイン酸またはトリオレインをカプセル化した。この際、オレイン酸のカプセル化率は７４．６％、またトリオレインのカプセル化率は１８．６％であった。また、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。
【００４０】
〔比較試験３〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例３の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、オレイン酸のカプセル化率は４２．７％であり、トリオレインのカプセル化率は４．６％であった。
【００４１】
〔実施例４〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
【００４２】
〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理で、塩酸を硫酸に置き換え、最終硫酸濃度を０．５および１．０Ｎとした以外は実施例１の操作を繰り返した。この際、硫酸処理残渣は固形分が、それぞれ、１４％および１２％となった。
【００４３】
〈カプセル化工程〉
上記のようにして得られたそれぞれの硫酸処理残渣を固形分で５％、またトリオレインを７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定して、カプセル化率を算出した。その結果を表３に示す。また、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。
【００４４】
〔比較試験　４－１〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例４の操作を繰り返して

、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、トリオレインのカプセル化率は４．６％であった（表３の未処理群）。

【００４５】

【表３】

表３　トリオレインカプセル化酵母のカプセル化率

| 硫酸濃度 (N) | 処理液のｐＨ[1)] | カプセル化率 (%) |
|---|---|---|
| ０．０（未処理） | ５．８４ | ４．６ |
| ０．５ | ０．６２ | １２．７ |
| １．０ | ０．３３ | ３４．２ |

1)　ｐＨは実測値

【００４６】

〔比較試験　４－２〕

酵素処理による菌体内成分の溶出処理を行なわず、酸性水溶液による処理を１Ｎの硫酸溶液を用いて行った他は、実施例４の操作を繰り返して、トリオレインを酵母菌体内にカプセル化した。この際、トリオレインのカプセル化率は４．２％であった。このことから、酵素処理を行わない場合、トリオレインはほとんどカプセル化されないことが明らかとなった。

【００４７】

〔実施例５〕

〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉

実施例１と同様の方法で行った。

〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉

実施例１と同様の方法で行った。

【００４８】

〈カプセル化工程〉

上記のようにして得られたそれぞれの塩酸処理残渣を固形分で５％、またパルミチン酸メチルエステルを７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、パルミチン酸メチルエステルのカプセル化率は５４．７％であった。また、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。

【００４９】

〔比較試験５〕

酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例５の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、パルミチン酸メチルエステルのカプセル化率は２５．４％であった。

【００５０】

〔実施例６〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
【００５１】
〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、またオレイン酸モノグリセリドを７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、オレイン酸モノグリセリドのカプセル化率は３４．０％であった。また、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。
【００５２】
〔比較試験６〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例６の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体にふくまれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、オレイン酸モノグリセリドのカプセル化率１１．９％であった。
【００５３】
〔実施例７〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
【００５４】
〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、また大豆レシチン（ホスファチジルコリン）を７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。　この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定して、カプセル化率を算出したところ、大豆レシチンのカプセル化率は３１．３％であった。また、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。
【００５５】
〔比較試験７〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例７の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その重量を測定し、カプセル化率を算出したところ、大豆レシチンのカプセル化率は６．４１％であった。
【００５６】
〔実施例８〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残査の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
【００５７】

〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、またレチニルパルミテート３０％溶液（コーンオイル中）を７．５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、そのレチニルパルミテート含量をＨＰＬＣにより測定したところ、レチニルパルミテートのカプセル化率は６．７０％であった。また、これらのカプセルはｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。

【００５８】

〔比較試験８〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例８の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、その含量を測定し、カプセル化率を算出したところ、レチニルパルミテートのカプセル化率は３．１１％であった。

【００５９】

〔実施例９〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残渣の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で３％、またレシチンを３１％セファリンを３２％含むリン脂質混合物（理研ビタミン社製“レシオンＰＫ”）を５％の濃度となるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度７０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、そのなかのレシチン及びセファリン含量をＨＰＬＣにより測定したところ、合計で１６．９％であった。またこれらのカプセルは、ｐＨ２の条件下において若干の内包化物の漏出が認められた他は、ｐＨ変化、温度変化に非常に安定であり、水中に懸濁して２４時間放置しても、脂質成分の流出は認められなかった。

【００６０】

〔比較試験９〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例９の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる脂質成分をクロロホルムで抽出し、そのなかのレシチン及びセファリン含量を測定したところ、合計で１．０２％であった。

【００６１】

〔実施例１０〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残渣の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、また９種のアミノ酸即ちアラニン、バリン、プロリン、セリン、スレオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジンをそれぞれ１％の濃度になるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度３０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるアミノ酸を５０％エタノール溶液で抽出し、アミノ酸分析計により測定したところ

、９種のアミノ酸のカプセル化率は合計で４．８６％であった。
【００６２】
〔比較試験１０－１〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例１０の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるアミノ酸を５０％エタノール溶液で抽出し、アミノ酸分析計により測定したところ、９種のアミノ酸のカプセル化率は合計で０．８３％であった。
〔比較試験１０－２〕
酵素処理による菌体内成分の溶出処理および酸性水溶液による処理のいずれも行わず、カプセル化工程のみ実施例１０に準じて行いカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるアミノ酸を５０％エタノール溶液で抽出し、アミノ酸分析計により測定したところ、９種のアミノ酸のカプセル化率は合計で１．４３％であった。
【００６３】
〔実施例１１〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残渣の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、またプロリンを５％の濃度になるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度３０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるプロリンを５０％エタノール溶液で抽出し、アミノ酸分析計により測定したところ、プロリンのカプセル化率は２．８０％であった（図１の酸処理酵母群、洗浄０回）。また、このカプセルを多量の水に再懸濁したのち遠心分離により回収するという方法で洗浄したところ、４回の洗浄を繰り返したのちも有意な量のプロリンが酵母菌体内に保持されていることが判明した（図１の酸処理酵母群、洗浄４回）。
【００６４】
〔比較試験１１〕
酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例１１の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるプロリンを５０％エタノール溶液で抽出しアミノ酸分析計により測定したところ、カプセル化率は１．２９％であった（図１の自己消化酵母群、洗浄０回）。また、このカプセルを実施例１１と同様の方法で洗浄したところ、２回の洗浄を終えた時点で酵母菌体内にはもはやプロリンは殆ど保持されていなかった（図１の自己消化酵母群、洗浄２回）。
【００６５】
〔実施例１２〕
〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈酸性水溶液による酵素処理残渣の処理〉
実施例１と同様の方法で行った。
〈カプセル化工程〉
上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、またスレオニンを５％の濃度になるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度３０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるスレオニンを５０％エタノール溶液で抽出し、アミノ酸分析計により測定したところ、スレオニンのカプセル化率は０．５０％であった（図２の酸処理酵母群、洗浄０回）。このカプセルを多量の水に再懸濁したのち遠心分離により回収するという方法で２回洗浄したところ、酵母菌体内

に保持されているスレオニン含量は、わずか２３％低下するに留まった（図２の酸処理酵母群、洗浄２回）。

【００６６】

〔比較試験１２〕

酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例１２の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるスレオニンを５０％エタノール溶液で抽出し、アミノ酸分析計により測定したところ、カプセル化率は０．５３％であり（図２の自己消化酵母群、洗浄０回）、実施例１２とほぼ同等のレベルであった。しかしながら、このカプセルを実施例１２と同様の方法で２回洗浄したところ、酵母菌体内に保持されているスレオニン含量は大幅に低下した（図２の自己消化酵母群、洗浄２回）。

【００６７】

〔実施例１３〕

〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉

実施例１と同様の方法で行った。

〈酸性水溶液による酵素処理残渣の処理〉

実施例１と同様の方法で行った。

〈カプセル化工程〉

上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、またアスコルビン酸を５％の濃度になるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度３０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるアスコルビン酸をメタリン酸で抽出し、Ｆ－キット（ベーリンガー・マンハイム社製）により測定したところ、アスコルビン酸のカプセル化率は１．１７％であった（図３のアスコルビン酸、酸処理酵母群）。

【００６８】

〔比較試験１３〕

酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例１３の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれるアスコルビン酸をメタリン酸で抽出し、Ｆ－キット（ベーリンガー・マンハイム社製）により測定したところ、カプセル化率は０．４３％であった（図３のアスコルビン酸、自己消化酵母群）。

【００６９】

〔実施例１４〕

〈酵素処理による菌体内成分の溶出処理工程〉

実施例１と同様の方法で行った。

〈酸性水溶液による酵素処理残渣の処理〉

実施例１と同様の方法で行った。

〈カプセル化工程〉

上記によって得られた塩酸処理残渣を固形分で５％、また５’グアニル酸モノフォスフェート（以下５'-ＧＭＰ）を５％の濃度になるように蒸留水で懸濁し、ｐＨを７．０に水酸化ナトリウムで調整した。この懸濁液を温度３０℃の条件下において、ホモジナイザーで１６時間撹拌した。遠心分離することによりカプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる５'-ＧＭＰを８０％エタノールで抽出し、ＨＰＬＣにより測定したところ、５'-ＧＭＰのカプセル化率は１．１３％であった（図３の５'-ＧＭＰ、酸処理酵母群）。

【００７０】

〔比較試験１４〕

酸性水溶液による酵素処理残渣の処理を行わなかった他は、実施例１４の操作を繰り返して、カプセル化酵母菌体を得た。得られたカプセル化酵母菌体に含まれる５'-ＧＭＰを８０％エタノールで抽出し、ＨＰＬＣにより測定したところ、ほとんどカプセル化されてい

ないことがわかった（図３の５'-ＧＭＰ、自己消化酵母群）。

【００７１】

【発明の効果】

本発明の方法により、高い比率（カプセル化率）でより多量の疎水性液体を酵母菌体中へ短時間で内包させることが可能になった。本発明の方法により製造された疎水性液体成分の酵母カプセルは保持力および安定性も良好で、実用上充分使用に足るものである。

驚くべきことに、本発明の方法により、従来困難とされていたトリグリセリド、脂肪酸エステル類、および脂溶性ビタミン類のカプセル化を容易に実現できた。

さらに、本発明の方法により、従来のカプセル化法と比較して、より高い比率でより多量の親水性物質を酵母菌体中へ内包させることが可能になった。本発明の方法により製造された親水性成分の酵母カプセルは保持力および安定性も良好である。

以上のごとく、本発明の方法は、微生物を用いたマイクロカプセル化法として、品質的にも工業的にも優れた手段である。

【００７２】

【図面の簡単な説明】

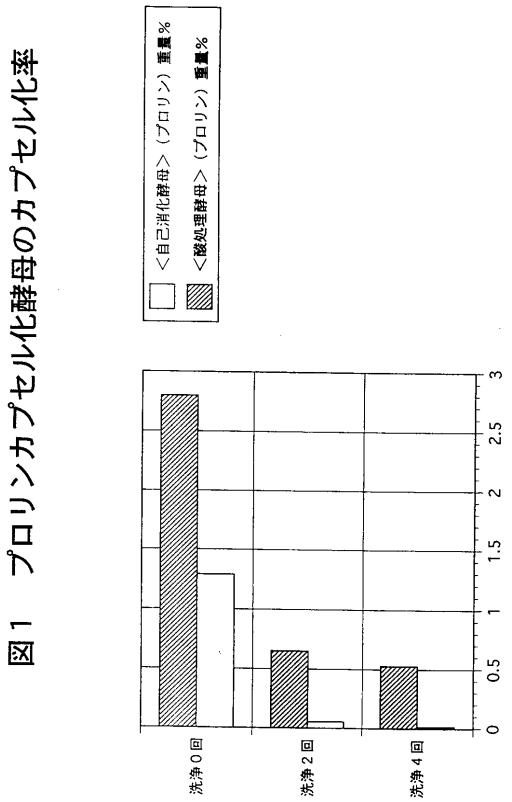
【図１】洗浄０、２および４回後の、プロリンカプセル化酵母のカプセル化率を示す。

【図２】洗浄０および２回後の、スレオニンカプセル化酵母のカプセル化率を示す。

【図３】アスコルビン酸カプセル化酵母および５’－ＧＭＰカプセル化酵母のカプセル化率を示す。

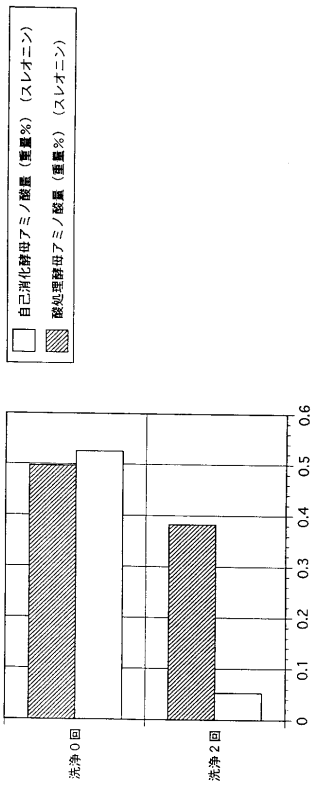
【図１】

図１　プロリンカプセル化酵母のカプセル化率



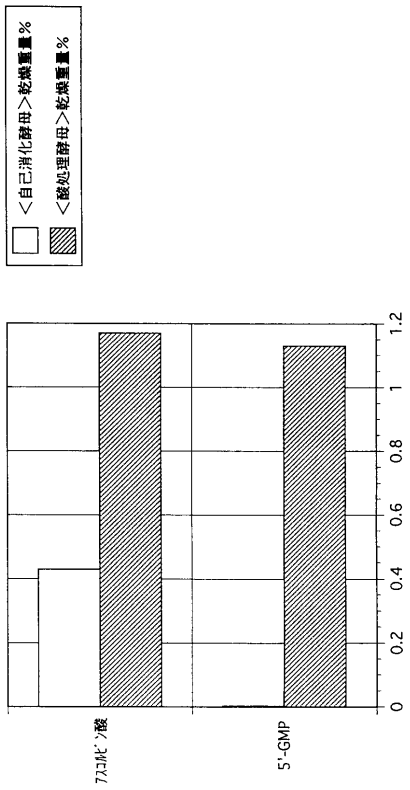

【図２】

図２　スレオニンカプセル化酵母のカプセル化率



【図３】

図３　ｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸、5'-GMP カプセル化酵母のカプセル化率



フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | | | FI | |
|---|---|---|---|---|
| *C12R* | *1/865* | *(2006.01)* | C12N | 1/16 |
| | | | C12R | 1:865 |

(72)発明者 出内 桂二
東京都渋谷区神宮前六丁目２６番１号 麒麟麦酒株式会社内
(72)発明者 小西 豊
群馬県高崎市宮原町３番地 麒麟麦酒株式会社 医薬探索研究所内

審査官 山田 充

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
B01J 13/02
A61J 3/07
A61K 9/50
C07K 14/39
C12N 1/16