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

特許第6864367号
(P6864367)

(45)発行日　令和3年4月28日(2021.4.28)　(24)登録日　令和3年4月6日(2021.4.6)

| (51)Int.Cl. | | F I | | |
|---|---|---|---|---|
| C12N 1/16 | (2006.01) | C12N | 1/16 | A |
| A23L 27/10 | (2016.01) | A23L | 27/10 | H |
| A23L 5/00 | (2016.01) | A23L | 27/10 | C |
| A23L 27/00 | (2016.01) | A23L | 5/00 | J |
| C12P 7/06 | (2006.01) | A23L | 27/00 | D |

請求項の数 5　(全 32 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-78728(P2018-78728)
(22)出願日　平成30年4月16日(2018.4.16)
(65)公開番号　特開2019-180358(P2019-180358A)
(43)公開日　令和1年10月24日(2019.10.24)
審査請求日　令和1年5月13日(2019.5.13)

(73)特許権者　501028574
日本薬品開発株式会社
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地
(74)代理人　110002527
特許業務法人北斗特許事務所
(72)発明者　上山　英夫
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地　日本薬品開発株式会社内
(72)発明者　青塚　康幸
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地　日本薬品開発株式会社内
(72)発明者　小倉　洋子
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地　日本薬品開発株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】酵母発酵の方法、及び食品、又は調味料の製造方法、酵母発酵液の製造方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
酵母が生育できない条件で、糖類と、大麦若葉加工品及び大麦若葉加工廃棄物のうち少なくとも一方とを含有し、かつ、前記糖類の量が１２ｗ／ｖ％～２５ｗ／ｖ％の範囲内である培養液を調製することと、
前記培養液に酵母を接種することと、
前記培養液中で、前記酵母の代謝産物を生成させることと、
を含む、
酵母発酵の方法。
【請求項２】
前記代謝産物は、少なくともエタノール及びエステル類を含有する、
請求項１に記載の酵母発酵の方法。
【請求項３】
前記大麦若葉加工品が大麦若葉搾汁エキス末又は大麦若葉粉砕物を含み、
前記大麦若葉加工廃棄物が大麦若葉搾汁粕である、
請求項１又は２に記載の酵母発酵の方法。
【請求項４】
請求項１～３のいずれか１項に記載の酵母発酵の方法で得られた発酵液を用いて食品、又は調味料を製造することを含む、食品、又は調味料の製造方法。
【請求項５】

請求項１～３のいずれか１項に記載の酵母発酵の方法を備える、
酵母発酵液の製造方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、大麦若葉加工品及び大麦若葉加工廃棄物の少なくとも一方を酵母の活性化物質とする酵母発酵の方法、食品、又は調味料の製造方法、酵母発酵液の製造方法に関する。
【０００２】
農産加工品及び農産加工廃棄物の用途開発で特に、簡単な方法により生物学的な活性を類推できればその効果を製品開発に演繹できるものと考えられる。その用途開発は、一つの方法として、農産加工品および農産加工廃棄物をワイン酵母の活性化物質と捉え、酵母発酵の活性化の有無から得る事ができる。
【背景技術】
【０００３】
大麦若葉をはじめとする農産物の搾汁により残渣として搾汁粕が大量に排出される。この搾汁粕の処理としては有効利用を目的とすることを第一に考える必要がある。搾汁粕の種類により再利用の形態は異なる。搾汁粕の再利用の方法としては、発酵原料、バイオマスとしての利用、飼料としての利用、肥料、その他多くの対象がある（例えば、特許文献１、特許文献２）。
【０００４】
従来より、酵母は、酒、醤油、味噌等の製造に用いられてきた。
【０００５】
例えば、特許文献３は、焙煎コーヒー豆の抽出残渣（焙煎コーヒー粕ともいう）の利用の一つとしてアルコール飲料にコーヒー様の味と香りを付与することを目的としたものである。ところが、単に焙煎コーヒー粕からコーヒー様の成分が溶出してコーヒー様の飲料を得るのみではなく、ワイン様の芳香が新たに加わっていた。焙煎コーヒー粕は、ワイン酵母の生育とエタノール生成およびワイン酵母の特徴の一つと考えられるエステル類、アルコール類等に起因する芳香を発現させる作用を示唆しているが、対照として焙煎コーヒー抽出粕を加えない場合の実験が行われていないため、酵母に及ぼす効果については何ら効果も認めることが出来なかった。
【０００６】
発明者らは、特許文献３に基づく実験を、焙煎コーヒー抽出粕を加えない実験系を用いて再現した。その結果、焙煎コーヒー粕を加えない培地においては酵母発酵の生育とエタノールの生成は低く、また特徴的な芳香も得られなかった。この結果より、焙煎コーヒー粕には酵母発酵に関与する物質が含まれていると考えられ、これは農産加工品及び農産加工廃棄物による酵母発酵の活性化（特性と表現）を指標とする有用性を検出する一つの方法として用いることができると考えた。
【０００７】
この実験から焙煎コーヒー粕のような農産加工廃棄物に類似する農産物として、ほうじ茶、日本茶、紅茶などが考えられるが、発明者らは、出願人の製品の一つ、大麦若葉エキスの製造工程において廃棄物として大量に排出される搾汁粕の利用にこの結果を適用できるかを検討した。
【０００８】
この酵母発酵の手法は、農産加工品及び農産加工廃棄物の用途開発の一部として生理活性の測定と派生する効果を見ることができる。例えば、ある農産加工廃棄物が何に役立つのかを明確に理解できなくとも、用途開発を予想し有用性を推測することができる。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００９】

【特許文献１】特開昭６２－２５９５７０号公報
【特許文献２】特開２００２－１５３２３１号公報
【特許文献３】特開平１０－１１３１６３号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１０】
本発明の目的は、農産加工品及び農産加工廃棄物の用途開発を予想し有用性を推測するために酵母発酵の特性を評価し有用性のある発酵液を得る方法、食品、又は調味料に好適な代謝産物を得ることができる酵母発酵の方法、及びこの代謝産物を利用した食品、又は調味料の製造方法、酵母発酵液の製造方法を提供することである。
【課題を解決するための手段】
【００１２】
本発明に係る酵母発酵の方法は、酵母が生育できない条件で、糖類と、大麦若葉加工品及び大麦若葉加工廃棄物のうち少なくとも一方とを含有し、かつ、前記糖類の含有量が１２ｗ／ｖ％～２５ｗ／ｖ％の範囲である培養液を調製することと、前記培養液に酵母を接種することと、前記培養液中で、前記酵母の代謝産物を生成させることと、を含む。
【００１３】
本発明に係る一態様において、前記代謝産物は、少なくともエタノール及びエステル類を含有する、ことが好ましい。
【００１４】
本発明に係る一態様において、前記大麦若葉加工品が大麦若葉搾汁エキス末又は大麦若葉粉砕物を含み、前記大麦若葉加工廃棄物が大麦若葉搾汁粕である、ことが好ましい。
【００１６】
本発明に係る食品、又は調味料の製造方法は、前記酵母発酵の方法で得られた発酵液を用いて食品、又は調味料を製造することを含む。
【００１７】
本発明に係る酵母発酵液の製造方法は、前記酵母発酵の方法を備える。
【発明の効果】
【００１８】
本発明に係る酵母発酵の方法によれば、農産加工品及び農産加工廃棄物の用途開発の予想ができ、食品、又は調味料に好適な代謝産物を得ることができる。
【００１９】
本発明に係る食品、又は調味料の製造方法によれば、食品、又は調味料に好適な代謝産物を利用することができる。
【図面の簡単な説明】
【００２０】
【図１】図１は、発酵例２において、各本培養液における培養日数と酵母の菌体濃度との関係を示す増殖曲線である。
【図２】図２は、発酵例３において、各本培養液における培養日数と酵母の菌体濃度との関係を示す増殖曲線である。
【図３】図３は、発酵例４において、各本培養液の培養日数と酵母の菌体濃度との関係を示す増殖曲線である。
【図４】図４は、発酵例４において、各本培養液中で酵母を１日間培養させた結果を示す写真である。
【図５】図５は、発酵例４において、各本培養液中で酵母を２日間培養させた結果を示す写真である。
【図６】図６は、発酵例４において、各本培養液中で酵母を３日間培養させた結果を示す写真である。
【図７】図７は、発酵例５において、各本培養液における培養日数と酵母の菌体濃度との関係を示す増殖曲線である。

【図８】図８は、発酵例５において、各本培養液中で酵母を１日間培養させた結果を示す写真である。
【図９】図９は、発酵例５において、各本培養液中で酵母を２日間培養させた結果を示す写真である。
【図１０】図１０は、発酵例５において、各本培養液中で酵母を３日間培養させた結果を示す写真である。
【発明を実施するための形態】
【００２１】
以下、本発明を実施するための形態を説明する。
【００２２】
（酵母発酵の方法）
まず、一実施形態に係る、酵母発酵の方法を、以下に説明する。
【００２３】
本実施形態に係る、酵母発酵の方法（Ｍ１）は、酵母発酵の特性を発現できない条件で、農産加工品及び農産加工廃棄物の有する活性を官能試験で検知する。この場合、酵母発酵の特性を発現できない条件の組成物（Ｂ）に、農産加工品及び農産加工廃棄物のうち少なくとも一方の成分（Ａ）が加えられた培養液中で酵母発酵を行う。そして、得られた発酵液の官能試験を行うことで、成分（Ａ）が有する、酵母発酵に対する活性を検出する。このような検出結果から、成分（Ａ）の、用途開発を予想でき、有用性を推測することができる。例えば、成分（Ａ）を組成物（Ｂ）に加えても酵母発酵の特性を発現できない場合、培養液の官能試験で良好な香味を検出できない。また、組成物（Ｂ）に成分（Ａ）を加えることで酵母発酵の特性を発現させることができる場合、培養液の官能試験で良好な香味を検出できる。
【００２４】
方法（Ｍ１）に用いられる成分（Ａ）は農産加工品、又は農産加工廃棄物であればよく、成分（Ａ）は任意の成分である。
【００２５】
組成物（Ｂ）は、水溶液であって酵母発酵の特性を発現できない組成からなっていればよく、組成物（Ｂ）の組成は任意に設定できる。
【００２６】
本実施形態では、成分（Ａ）のうち、方法（Ｍ１）で良好な香味が得られた成分を用いて下記の方法（Ｍ２）が行われる。
【００２７】
本実施形態に係る、酵母発酵の方法（Ｍ２）は、酵母発酵の特性を発現できない条件で、糖類と、農産加工品及び農産加工廃棄物のうち少なくとも一方とを含有する培養液を調製することと、この培養液に酵母を接種することと、培養液中で酵母の代謝産物を生成させることと、を含む。
【００２８】
本実施形態に係る酵母発酵の特性を発現できない条件は、その条件の組成を有する組成物だけでは、酵母発酵により得られる良好な香味が得られにくいことを意味する。酵母発酵の特性を発現できない条件は、酵母が生育できない条件であってもよい。
【００２９】
培養液を調製するにあたって、まず、酵母を生育させるための基本成分と、農産加工品及び農産加工廃棄物のうち少なくとも一方の成分（以下、活性化成分ともいう）とを含有する混合液を調製する。そして、混合液に、酵母等の各種細菌が生育しない条件で、滅菌処理を施すことで培養液が調製される。調製直後の培養液中に細菌が生育できていなければ、任意の滅菌処理を採用できる。滅菌処理は、例えば、オートクレーブ滅菌装置中で行われてもよい。また、滅菌処理の条件は、例えば、１２１℃で１５分間の加熱加圧滅菌であってもよい。
【００３０】

基本成分は、糖類と、栄養成分とを含有する。糖類は、酵母の解糖系で代謝される成分を含有する。このような糖類として、例えば、グルコース、スクロース、転化糖、及びハチミツが挙げられる。糖類の量は、培養液から活性化成分を除いた液量に対して、１２質量％～２５質量％の範囲内である。すなわち、糖類の量は、１２ｗ／ｖ％～２５ｗ／ｖ％の範囲内である。

【００３１】

栄養成分は、酵母の生育時に栄養源となる成分を含有する。このような栄養成分として、酵母エキス、海藻灰エキス、麦芽エキス、脱脂大豆粕、キナコ、ふすま抽出エキス、米糠抽出エキス、脱脂胚芽、脱脂コーン粕、及び脱脂ピーナッツ粕等の有機成分；並びに$KH_2PO_4$、$(NH_4)_2SO_4$、及び$MgSO_4$等の無機成分が挙げられる。

【００３２】

活性化成分は、培養液中における酵母発酵を活性化させる成分であって、上記の通り、農産加工品及び農産加工廃棄物のうち少なくとも一方の成分である。このような活性化成分は、焙煎コーヒー粕を含まない。すなわち、農産加工廃棄物は、焙煎コーヒー粕を含まない。このように発酵時に焙煎コーヒー粕を用いなくても、酵母による発酵が活性化成分により活性化されることで、食品、又は調味料に好適な代謝産物を得ることができる。活性化成分により、培養液中における酵母発酵を活性化させることができればよく、活性化成分の量は特に限定されない。活性化成分の量は、例えば、培養液の液量に対して、０．１質量％～３質量％の範囲内、すなわち０．１～３ｗ／ｖ％の範囲内である。

【００３３】

農産加工品として、例えば、黒糖；ほうじ茶葉、日本茶葉、及び紅茶葉等の茶類；大麦若葉エキス末、及び大麦若葉粉砕末等の大麦若葉加工物；柑橘類果実の粉砕物を原料とした乾燥物である果実粉砕物、及び柑橘類搾汁エキスを原料とした乾燥物である果汁粉末等の柑橘類が挙げられる。これら農産加工品のうち、１種又は２種以上の成分を用いてもよい。大麦若葉エキス末は、大麦若葉の搾汁エキスの乾燥物（大麦若葉搾汁エキス末）であってもよく、後述の大麦若葉搾汁粕から可溶性分を冷水又は熱水で抽出させた抽出エキスの乾燥物（搾汁粕由来抽出エキス末）であってもよい。或いは、大麦若葉エキス末は、大麦若葉搾汁エキス末、及び搾汁粕由来抽出エキス末の混合物であってもよい。また、農産加工品が茶類である場合、茶類は、ほうじ茶葉、日本茶葉、及び紅茶葉の群から選択される少なくとも１つの茶葉であってもよい。農産加工品が柑橘類である場合、柑橘類は、その果汁粉末及び果実粉砕物の群から選択される少なくとも１つの成分であってもよい。

【００３４】

農産加工廃棄物としては、例えば、大麦若葉搾汁粕、野菜搾汁粕、及び果実搾汁粕等の搾汁粕が挙げられる。大麦若葉搾汁粕は、大麦若葉を搾汁した後に得られる残渣である。野菜搾汁粕は、ケール、セロリ、及び人参等の野菜を搾汁した後に得られる残渣である。果実搾汁粕は、リンゴ、パイナップル、及び柑橘類等の果実を搾汁した後に得られる残渣である。これら農産加工廃棄物のうち、１種又は２種以上の成分を用いてもよい。また、農産加工廃棄物は、ブドウ果皮を含まない。農産加工廃棄物が搾汁粕である場合、搾汁粕は、未処理のまま活性化成分として用いられてもよく、焙煎されてから活性化成分として用いられてもよく、或いは可溶化させてから活性化成分として用いられてもよい。搾汁粕が可溶化されている場合、高濃度の可溶化物を作製できれば、高濃度の可溶化物を活性化成分として利用することができる。

【００３５】

搾汁粕を焙煎する場合、搾汁粕の焙煎物が活性化成分として機能できればよく、具体的な焙煎条件は特に限定されない。搾汁粕の焙煎は、例えば、１２０～１５０℃の下１～２時間で行われる。

【００３６】

培養液の調製後、この培養液に酵母を接種する。このような酵母は、培養中に食品、又は調味料に好適な代謝産物を生成できれば、酵母の具体的は種類は特に限定されない。酵母は、例えば、ワイン、日本酒、ビール、及びしょう酎等の酒類の発酵醸造に使用される

酵母（酒酵母ともいう）であってもよい。より詳細には、酒酵母としては、例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅに属する協会６号酵母株、協会７号酵母株、協会９号酵母株、及び協会１１号酵母等株の日本酒酵母；Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　Ｗ－３株、及びＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＫＷ－３株、及びＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＯＣ－２株等のワイン酵母；Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＩＡＭ－４５５４株等のビール酵母；Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅに属する協会焼酎酵母２号株等のしょう酎酵母が挙げられる。酵母は、例えば、ワイン酵母であってもよく、より詳細には、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＯＣ－２株であってもよい。

【００３７】

酵母は任意の培地に接種され、例えば、５～３０℃、より詳細には１０～２５℃の温度で２～１０日間、酵母を前培養することによって、前培養物を作製する。前培養物を得るための培地として、例えば、寒天培地等の固形培地、及び液体培地が挙げられる。

【００３８】

次に、前培養物を、上記の培養液（本培養液ともいう）に添加する。前培養時の培地が固形培地である場合、白金耳でひとかき程度の酵母を本培養液に接種する。

【００３９】

その後、本培養液中で、例えば５～３０℃、より詳細には１０～２５℃の温度で１～２０日間、酵母を静置培養することで、酵母による発酵を行い、発酵時に代謝産物を生成させる。このようにして本培養液中で酵母による発酵を行うことで、発酵後に代謝産物を含有する発酵液が得られる。本培養液の温度は、２０～２５℃の範囲内であってもよい。

【００４０】

また、酵母の接種後、活性化成分を由来とする有用成分が培養液中で不足すると、酵母による発酵は低下されやすくなる。すなわち、代謝産物が生成されにくくなる。このような有用成分は、酵母に対する生理活性を有するため、基本成分に係らず、発酵の活性化に有効的な成分である。また、有用成分は、活性化成分の種類に応じて異なってもよい。有用成分は、酵母による発酵を活性化できればよく、有用成分の具体的な種類は特に限定されない。有用成分としては、例えば、二価亜鉛化合物、ビタミン類、及びアミノ酸類が挙げられる。

【００４１】

有用成分が、例えば、二価亜鉛化合物である場合、二価亜鉛化合物のみを含有する水溶液に酵母を接種しても、この水溶液中で酵母は増殖しにくくなり、かつ酵母による発酵も行われにくくなる。また、ビタミン類及びアミノ酸類のうち少なくとも一方のみを含有する水溶液に酵母を接種しても、この水溶液中で酵母は増殖しにくくなり、かつ酵母による発酵も行われにくくなる。このように、有用成分は、それだけでは、酵母の生育に寄与しないため、基本成分とは異なる成分である。

【００４２】

本実施形態では、有用成分は活性化成分中に含まれているが、例えば、活性化成分から単離された有用成分を、活性化成分の代わりに、培養液に添加してもよい。

【００４３】

発酵終了後、発酵後の本培養液に遠心分離を施すことにより、酵母を沈殿させる。これにより、発酵後の本培養液を、酵母からなる固相と、上清とに分離させることができる。そして、この上清を回収してから濾過する。このようにして濾過された上清を、本実施形態では、発酵液とする。

【００４４】

代謝産物は、少なくともエタノール及びエステル類（エステル化合物ともいう）を含有する。エステル化合物は、発酵液に含まれる香気成分のうち、少なくとも一部の成分である。すなわち、エステル化合物は、発酵液に芳香を付与する成分である。また、エタノールも発酵液に芳香を付与する成分である。ここで、一般的な酒類の発酵醸造では、例えば

、酢酸エチルの香気を基準にして、発酵液中のエステル化合物の有無が官能試験や、ガスクロマトグラフィーや、液体クロマトグラフィーで判断されている。さらに、発酵液の香気の種類の違いから、酢酸エチルの香気との違い、場合によっては、酢酸エチル以外のエステル化合物を、ある程度、嗅ぎ分けて判断されている。一般的な酒類の官能試験では、酢酸エチルのみではなく、高級脂肪酸およびそのエステル等を複合した香味を検出している。また、発酵液中のアルコール及びアルコール数は、例えば、日本薬局方第１４改正の一般試験法に記載された「１．アルコール数測定法」に準拠して測定される。

【００４５】

発酵液中のエステル化合物は、活性化成分及び酵母の種類等に応じて異なりやすく、酵母の代謝は複雑であるため、ガスクロマトグラフィー等の分析機器を用いても十分に同定できない成分を含んでいる。このため、エステル化合物は、発酵液に芳香を付与できればよく、エステル化合物の具体的な種類は特に限定され得ない。エステル化合物として、例えば、酢酸エチル、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチル、ベラルゴン酸エチル、及び酢酸フェニルエチルが挙げられる。これらのうち、１又は２種以上の成分を発酵液は含有してもよい。

【００４６】

発酵液は、エタノール及びエステル化合物とは異なる芳香成分（Ａ）を含有してもよく、又は芳香成分（Ａ）を含有しなくてもよい。発酵液が芳香成分（Ａ）を含有する場合、芳香成分（Ａ）は、発酵液に芳香を付与する成分である。芳香成分（Ａ）の芳香性は、活性化成分及び酵母の種類、並びに発酵条件等により変化しやすい。しかし、活性化成分の組成及び酵母の代謝は複雑であるため、ガスクロマトグラフィー等の分析機器を用いても、芳香成分（Ａ）の具体的な種類を十分に同定することは技術的に困難である。このため、芳香成分（Ａ）は、エタノール及びエステル化合物とは異なり、かつ発酵液に芳香を付与できればよく、芳香成分（Ａ）の具体的な種類は特に限定されない。

【００４７】

発酵液は、芳香性を有するため、例えば食品の着香料として用いられてもよい。また、芳香性が得られれば、発酵液の濃縮液又は乾燥粉末を、例えば食品の着香料として用いられてもよい。発酵液を濃縮又は乾燥させる際、発酵液に可食性吸着剤を添加することで、この可食性吸着剤に芳香成分（例えば、エタノール、エステル化合物）を吸着させることができる。これにより、発酵液の濃縮液又は乾燥粉末は、芳香成分を含有できる。

【００４８】

発酵液の濃縮液を作製するにあたって、還流により脱水することで発酵液を濃縮させる。また、発酵液の乾燥粉末を作製するにあたって、濃縮液に、凍結乾燥、又は噴霧乾燥等の乾燥処理を施すことで、濃縮液を粉末状に加工する。このような濃縮液、又は濃縮液の乾燥粉末は、揮発性の芳香成分と混合されてもよい。

【００４９】

可食性吸着剤は、芳香成分を吸着できればよく、可食性吸着剤の具体的な種類は特に限定されない。可食性吸着剤として、例えば、シクロデキストリン類が挙げられる。

【００５０】

（食品、又は調味料の製造方法）

次に、酵母発酵の生育に及ぼす農産加工品および農産加工廃棄物の効果が用途開発の類推ができる方法として実施例に例示し、一実施形態に係る、食品、又は調味料の製造方法を、以下に説明する。

【００５１】

本実施形態に係る食品、又は調味料の製造方法は、上記の発酵液を用いて食品、又は調味料を製造することを含む。

【００５２】

発酵液は、食品、又は調味料の製造途中に用いられてもよく、或いは食品、又は調味料を製造するための最終工程で用いられてもよい。

【００５３】

発酵液を用いる方法としては、任意の利用方法であればよく、例えば、塗布、混合、散布が挙げられる。

【００５４】

また、食品、又は調味料を製造する際、上記の通り、発酵液を着香料として用いてもよく、発酵液の濃縮液又は乾燥粉末を着香料として用いてもよい。

【００５５】

食品は可食性の製品であれば、食品の具体的な態様は特に限定されない。食品として、例えば、野菜加工食品、海藻加工食品、缶詰類、瓶詰め類、肉類加工品等の各種加工食品；ヨーグルト、スープ、スナック菓子、パン類、麺類、氷菓子類、お茶、ジュース、コーヒー、健康食品が挙げられる。

【００５６】

調味料は食品に風味付けできれば、調味料の具体的な態様は特に限定されない。調味料としては、例えば、砂糖、及びはちみつ等の甘味料；クリームチーズ、及びバター等の乳製品；並びにみりん、及び日本酒等の酒類が挙げられる。

【００５７】

以上より、発酵時に焙煎コーヒー粕を用いなくても、食品、又は調味料に好適な代謝産物を得ることができ、この代謝産物を利用した食品、又は調味料の製造方法を提供することができる。

【実施例】

【００５８】

以下、本発明を実施例によって具体的に説明する。ただし、実施例の内容は、本発明の範囲を制限するものではない。

【００５９】

また、下記発酵例１～５において、下記の培地成分を用いた。

【００６０】

・酵母エキス；Ｂａｃｔｏ　ＲＥＦ：２１２７５０、
・$KH_2PO_4$；和光純薬工業株式会社製、
・$(NH_4)_2SO_4$；和光純薬工業株式会社製、
・$MgSO_4$；林純薬工業株式会社製、
・海藻灰エキス；日本薬品開発株式会社製。

【００６１】

酵母発酵の特性の評価は、官能試験を行いエステル臭・アルコール臭・茶様香り・ワイン様香り・果実様香りなどの芳香や香りに甘味・酸味・アルコール味などが加わった香味が認められた場合を＋（プラス）、認められなかった場合を－（マイナス）とした。

【００６２】

［発酵例１］

＜＜前培養１＞＞

前培養は斜面寒天培地を使用して行った。斜面寒天培地の作製は、水５００ｍｌに２２．５ｇの寒天培地（ＢＢＬ　Ｍａｌｔ　Ａｇａｒ；ベクトンデッキンソン社）を加え加熱溶解し、寒天溶液を試験管１本あたり約８ｍｌ加える。そして試験管の口にシリコ栓を装着し１２１℃、１５分の加熱加圧滅菌を行い、管内の寒天培地が固まる前に試験管を斜めに静置して、斜面寒天培地を作製した。作製した試験管の斜面寒天培地にワイン酵母Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＯＣ－２株を接種し室温にて増殖させた。

【００６３】

＜＜本培養１＞＞

水１Ｌに対し、２５０ｇのグルコース、２ｇの酵母エキス、１ｇの$KH_2PO_4$、０．５ｇの$(NH_4)_2SO_4$、０．２４ｇの$MgSO_4$、０．２ｇの海藻灰エキスを基本成分とし、この基本成分と水とを混合した。この混合液１５０ｍＬを３００ｍｌ容のエルレンマイヤーフラスコに注加した。また活性化成分を加える場合はこの時に加える。そして

、滅菌を施した後、ＯＣ－２株を接種させ酵母培養をした。

【００６４】

下記本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３を、それぞれ２つ用意した。これら本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ２の各に、前培養１で得られたワイン酵母を白金耳で集め菌懸濁液とし一白金耳に付着した菌数相当量を接種した。その後、本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３を、室温２４．５℃の恒温室内に静置させて、ワイン酵母の本培養を行った。また、本培養液Ｃ３には、ワイン酵母を接種しなかった。後掲の表１に本培養が１日目の結果を示し、表２に本培養が２日目の結果を示し、表３に本培養が６日目の結果を示す。

【００６５】

＜本培養液Ｃ２及びＣ３＞

水１Ｌに対し、２５０ｇのグルコース、２ｇの酵母エキス、１ｇの$KH_2PO_4$、０．５ｇの$(NH_4)_2SO_4$、０．２４ｇの$MgSO_4$、及び０．２ｇの海藻灰エキスを基本成分とし、この基本成分と、水とを混合した。そして、この混合液１５０ｍＬを３００ｍｌ容のエルレンマイヤーフラスコに注加した。その後、オートクレーブ（高圧蒸気滅菌装置）内で混合液に１２１℃で１５分間の加熱加圧滅菌を施すことで、本培養液Ｃ２及びＣ３を作製した。

【００６６】

＜本培養液Ｅ１＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．０ｇの焙煎された大麦若葉搾汁粕（焙煎搾汁粕）を添加した以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｅ１を作製した。ここで、焙煎搾汁粕は、大麦若葉搾汁粕をオーブン（Ｙａｍａｔｏ　Ｄｒｙｉｎｇ　Ｏｖｅｎ　ＤＸ３００）内で１２０℃で１時間焙煎することで作製された。

【００６７】

＜本培養液Ｅ２＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．０ｇの大麦若葉搾汁粕（搾汁粕）を添加した以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｅ２を作製した。

【００６８】

＜本培養液Ｅ３＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．０ｇのほうじ茶葉を添加した以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｅ２を作製した。

【００６９】

＜本培養液Ｅ４＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．０ｇの日本茶葉を添加した以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｅ３を作製した。

【００７０】

＜本培養液Ｅ５＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．０ｇの紅茶葉を添加した以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｅ３を作製した。

【００７１】

＜本培養液Ｃ１＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．０ｇの焙煎コーヒー熱水抽出粕（焙煎コーヒー粕；焙煎コーヒー豆粉末の熱水抽出粕）を添加した以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｃ１を作製した。

【００７２】

【表１】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 外観 | 泡高 |
|---|---|---|---|---|
| E1 | 焙煎搾汁粕 | あり | フラスコ内液面に白く泡立ち | 5mmと10mm |
| E2 | 搾汁粕 | あり | フラスコ内液面に白く泡立ち | 10mmとl0mn |
| E3 | ほうじ茶葉 | あり | フラスコ内液面に白く泡立ち | 8mmと8mm |
| E4 | 日本茶葉 | あり | フラスコ内液面に白く泡立ち | 4mm～5mm（箇所により異なる） |
| E5 | 紅茶葉 | あり | フラスコ内液面に白く泡立ち | 8mmと8mm |
| C1 | 焙煎コーヒー粕 | あり | フラスコ内液面に白く泡立ち | 3mm～12mm（箇所により異なる） |
| C2 | なし | あり | 泡立ちは見られない。 | |
| C3 | なし | なし | | |

【００７３】

［評価］

{外観}

酵母接種から１日後の本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちの有無を評価した。本培養液Ｃ３にはワイン酵母を接種しなかったので、外観評価をしなかった。

【００７４】

{泡高}

本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１について、液面と泡の上端との間の距離を定規で測定し、この距離を泡高とした。本培養液Ｃ２では外観評価で泡立ちがなかったため、泡高を測定しなかった。また、本培養液Ｃ３にはワイン酵母を接種しなかったので、泡高を測定しなかった。

【００７５】

表１の結果から、焙煎搾汁粕、搾汁粕、ほうじ茶葉、日本茶葉、又は紅茶葉を活性化成分として添加した場合、酵母接種から１日後のフラスコ内液面に白い泡立ちが得られ、本培養液Ｅ１～Ｅ５の泡高は、いずれも５ｍｍ～１０ｍｍの範囲内であった。この結果から、活性化成分は、ワイン酵母の生育を抑制させることなく、ワイン酵母による発酵に関わる傾向が得られた。また、活性化成分を添加しなかった本培養液Ｃ２及びＣ３では、フラスコ内液面に白い泡立ちが得られなかった。なお、活性化成分として焙煎コーヒー粕を添加した本培養液Ｃ１では、フラスコ内液面に白い泡立ちが得られた。

【００７６】

【表２】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 糖度 | AI数 | pH | 泡高 | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E1 | 焙煎搾汁粕 | あり | 18.7 | 0.55 | 2.89 | 3mmと4mm | ＋ |
| E2 | 搾汁粕 | あり | 18.4 | 0.70 | 2.76 | 5mmと5mm | ＋ |
| E3 | ほうじ茶葉 | あり | 18.4 | 0.68 | 2.72 | 5mmと5mm | ＋ |
| E4 | 日本茶葉 | あり | 19.6 | 0.58 | 2.75 | 4mmと4mm | ＋ |
| E5 | 紅茶葉 | あり | 18.3 | 0.80 | 2.13 | 4mmと4mm | ＋ |
| C1 | 焙煎コーヒー粕 | あり | 20.0 | 0.63 | 2.64 | 4mmと4mm | ＋ |
| C2 | なし | あり | 21.4 | 0.38 | 2.85 | 泡立ちなし | － |
| C3 | なし | なし | 23.8 | 0.00 | 4.38 | 泡立ちなし | － |

【００７７】

［評価］

酵母接種から２日後の本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３について、下記の評価を行った。

【００７８】

{糖度}

糖度は、手持屈折計（ＡＴＡＧＯ　Ｎ１（Ｂｒｉｘ０～３２％））により測定された。

【００７９】

{Ａｌ数（アルコール数）}

アルコール数は、日本薬局方第１４改正の一般試験法に記載された「１．アルコール数測定法」に準拠して測定された。このアルコール数は、本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３の各々に含まれるエタノールの量を示す。

【００８０】
｛ｐＨ｝
ｐＨは、ｐＨメーター（ＨＯＲＩＢＡ　ｐＨ　ＭＥＴＥＲ　Ｆ－５２）により測定された。
【００８１】
｛泡高｝
本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１について、液面と泡の上端との間の距離を定規で測定し、この距離を泡高とした。本培養液Ｃ２及びＣ３では外観評価で泡立ちが得られなかった。
【００８２】
｛官能試験｝
本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３の各々の香りを嗅ぎ、各本培養液におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、以下のように評価した。
＋：香りに、エステル臭とアルコール臭との両方が確認された。
－：香りに、アルコール臭だけが確認されたか、或いはエステル臭とアルコール臭とのどちらも確認されなかった。
【００８３】
【表３】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 糖度 | AI数 | pH | 本培養液の風味 | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E1 | 焙煎搾汁粕 | あり | 11.2 | 1.40 | 2.87 | アルコール臭 | ＋ |
| E2 | 搾汁粕 | あり | 9.7 | 1.65 | 2.88 | ワイン様香 | ＋ |
| E3 | ほうじ茶葉 | あり | 8.9 | 1.58 | 2.86 | エステル | ＋ |
| E4 | 日本茶葉 | あり | 9.3 | 1.70 | 2.90 | アルコール | ＋ |
| E5 | 紅茶葉 | あり | 7.8 | 1.80 | 2.86 | アルコール臭 | ＋ |
| C1 | 焙煎コーヒー粕 | あり | 11.7 | 1.45 | 2.74 | コーヒーワイン様香 | ＋ |
| C2 | なし | あり | 17.5 | 0.80 | 2.87 | 白ワイン様匂い | ＋ |
| C3 | なし | なし | 23.8 | 0.00 | 4.38 | 培地臭 | － |

【００８４】
［評価］
酵母接種から６日後の本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３について、下記の評価を行った。
【００８５】
｛糖度｝
糖度は、酵母接種から２日後と同様の手順で測定された。
【００８６】
｛Ａｌ数（アルコール数）｝
アルコール数は、酵母接種から２日後と同様の手順で測定された。
【００８７】
｛ｐＨ｝
ｐＨは、酵母接種から２日後と同様の手順で測定された。
【００８８】
｛官能試験｝
本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１～Ｃ３の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から２日後と同様にして評価した。
【００８９】
また、本培養液Ｅ１～Ｅ５及びＣ１の各々の風味も評価した。活性化成分を添加した本培養液Ｅ１～Ｅ５は、それぞれ特有の芳香のあるアルコール性の味と、酸味のあるアルコール臭とを呈した。具体的には、本培養液Ｅ１は、酸味を伴うアルコール性香気とレーズン様の味を呈した。本培養液Ｅ２は、酸味を伴う麦様香気とバランスのとれたアルコール性の良好な味を呈した。本培養液Ｅ３は、ほうじ茶様芳香のあるアルコール性の味を呈した。本培養液Ｅ４は、日本茶様芳香のあるアルコール性の味を呈した。本培養液Ｅ５は、紅茶の芳香と味が残るアルコール性の味を呈した。なお、本培養液Ｃ１は、酸味を伴うコーヒー様芳香とアルコール性の味を呈した。また、本培養液Ｃ２は、甘さのみを呈し、ア

ルコール性香味を呈しなかった。

【００９０】

表２、表３の結果から、比較例としての本培養液Ｃ１；焙煎コーヒー粕が、酸味を伴うコーヒー様芳香とアルコール性の味を呈したことは、酵母発酵の特性の一つの様態を示し本発明の妥当性を示すものである。そして、本培養液Ｅ１～Ｅ５のいずれもが、食品（例えば、飲料）又は調味料として利用できることが期待される。

【００９１】

［発酵例２］

＜＜前培養２＞＞

前培養は斜面寒天培地を使用して行った。斜面寒天培地の作製は、発酵例１の前培養１と同じ方法で作製した。そして作製した試験管の斜面寒天培地にワイン酵母Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＯＣ－２株を接種し室温にて増殖させた。以後、本培養の時にワイン酵母を白金耳で集めて予め菌懸濁液を作製してＴｈｏｍａ血球計算器を用いて菌数（菌体濃度）を測定した。

【００９２】

＜＜本培養２＞＞

本培養２と同様の手順で、ワイン酵母の本培養を行った。下記本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５を用意した。そして、初期菌濃度が７．８×$10^4$ｃｅｌｌｓ／ｍｌ－ｍｅｄｉｕｍとなるようにして、本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々に、前培養２で得られたワイン酵母を接種した。接種後、本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５を、室温２４．５℃の恒温室内に静置させて、ワイン酵母の本培養を行った。後掲の表４に本培養が１日目の結果を示し、表５に本培養が４日目の結果を示し、表６に本培養が７日目の結果を示す。また、図１は、酵母接種時からの培養日数と、本培養液中の菌体濃度との関係（酵母の増殖曲線）を示す。

【００９３】

＜本培養液Ｃ５＞

本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｃ５を作製した。

【００９４】

＜本培養液Ｅ６＞

まず、大麦若葉搾汁粕をオーブン（Ｙａｍａｔｏ　Ｄｒｙｉｎｇ　Ｏｖｅｎ　ＤＸ３００）内で１２０℃で１時間焙煎させた。この焙煎物を焙煎搾汁粕１とした。その後、エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．５ｇの焙煎搾汁粕１を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ５と同様の手順で、本培養液Ｅ６を作製した。

【００９５】

＜本培養液Ｅ７＞

まず、大麦若葉搾汁粕をオーブン（Ｙａｍａｔｏ　Ｄｒｙｉｎｇ　Ｏｖｅｎ　ＤＸ３００）内で１５０℃で１時間焙煎させた。この焙煎物を焙煎搾汁粕２とした。その後、エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．５ｇの焙煎搾汁粕２を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ５と同様の手順で、本培養液Ｅ７を作製した。

【００９６】

＜本培養液Ｅ８＞

レンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．５ｇの大麦若葉搾汁粕（搾汁粕）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ５と同様の手順で、本培養液Ｅ８を作製した。

【００９７】

＜本培養液Ｃ４＞

レンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として１．５ｇの焙煎コーヒー熱水抽出粕を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ５と同様の手順で、

本培養液Ｃ４を作製した。

【００９８】

【表４】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 糖度 | Al数 | pH | 泡高 | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E6 | 焙煎搾汁粕１ | あり | 7.15 | 23.0 | 0.23 | 3.92 | 7mm | ＋ |
| E7 | 焙煎搾汁粕２ | あり | 6.50 | 22.8 | 0.35 | 3.51 | 8mm | ＋ |
| E8 | 搾汁粕 | あり | 4.30 | 22.4 | 0.40 | 4.00 | 12mm | ＋ |
| C4 | 焙煎コーヒー粕 | あり | 5.80 | 23.0 | 0.40 | 4.19 | 4mm | ＋ |
| C5 | なし | あり | 1.21 | 23.1 | 0.32 | 4.19 | 0mm | － |

【００９９】

［評価］

酵母接種から１日後の本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５について、下記の評価を行った。

【０１００】

｛菌数｝

本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々の菌数（菌体濃度）は、前培養２と同様にして測定された。

【０１０１】

｛糖度｝

糖度は、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１０２】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１０３】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１０４】

｛泡高｝

泡高は、発酵例１と同様にして測定された。

【０１０５】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、発酵例１と同様にして評価した。

【０１０６】

また、本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ６及びＥ７は、それぞれ、搾汁粕の香りを伴う僅かにアルコール性香味を呈した。本培養液Ｅ８は、青葉の香りを伴うアルコール性香味を呈した。ワイン酵母の特徴を発現させている。なお、本培養液Ｃ４は、特許文献１のようなコーヒー様香気を伴うコーヒー様ワイン風の味を呈した。また、本培養液Ｃ５は、酸味のある僅かなアルコール性香味のみを呈した。

【０１０７】

【表５】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 糖度 | Al数 | pH | 泡高 | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E6 | 焙煎搾汁粕１ | あり | 7.80 | 12.0 | 1.15 | 2.98 | 3mm | ＋ |
| E7 | 焙煎搾汁粕２ | あり | 5.45 | 10.5 | 1.30 | 2.95 | 3mm | ＋ |
| E8 | 搾汁粕 | あり | 4.25 | 11.3 | 1.40 | 2.98 | 3mm | ＋ |
| C4 | 焙煎コーヒー粕 | あり | 8.20 | 13.5 | 1.15 | 2.81 | 3mm | ＋ |
| C5 | なし | あり | 1.03 | 17.7 | 0.70 | 2.76 | 0mm | － |

【０１０８】

［評価］

酵母接種から４日後の本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５について、下記の評価を行った。

【０１０９】

{菌数}
本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１１０】
{糖度}
糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１１１】
{Ａｌ数（アルコール数）}
アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１１２】
{ｐＨ}
ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１１３】
{泡高}
泡高は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１１４】
{官能試験}
本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。
【０１１５】
また、本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ６及びＥ７は、それぞれ、エステル臭とアルコール臭とを伴う僅微な渋みのある味を呈した。本培養液Ｅ８は、青葉の芳香を伴うエステル臭とアルコール性香味を呈した。なお、本培養液Ｃ４は、特許文献１のようなコーヒー様香気を伴うコーヒー様ワイン風の味を呈した。また、本培養液Ｃ５は、酸味のあるアルコール性香味のみを呈した。
【０１１６】
【表６】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 糖度 | AI数 | pH | 香り | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E6 | 焙煎搾汁粕１ | あり | 7.65 | 8.0 | 1.70 | 3.18 | 芳香 | ＋ |
| E7 | 焙煎搾汁粕２ | あり | 5.60 | 8.0 | 1.60 | 3.11 | 芳香 | ＋ |
| E8 | 搾汁粕 | あり | 4.16 | 7.4 | 1.70 | 3.13 | 芳香 | ＋ |
| C4 | 焙煎コーヒー粕 | あり | 2.94 | 8.8 | 1.50 | 2.90 | 芳香 | ＋ |
| C5 | なし | あり | 1.46 | 14.8 | 1.70 | 2.77 | 発酵臭 | － |

【０１１７】
［評価］
酵母接種から７日後の本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５について、下記の評価を行った。
【０１１８】
{菌数}
本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１１９】
{糖度}
糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１２０】
{Ａｌ数（アルコール数）}
アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１２１】
{ｐＨ}
ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１２２】

{泡高}
泡高は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。
【０１２３】
{官能試験}
本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。
【０１２４】
また、本培養液Ｅ６～Ｅ８及びＣ４～Ｃ５の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ６及びＥ７は、それぞれ、ワイン様芳香と僅かな苦味を呈した。本培養液８は、アルコール性香味を呈した。なお、本培養液Ｃ４は、特許文献１のようなコーヒー様香気を伴うコーヒー様ワイン風の味を呈した。また、本培養液Ｃ５は、発酵臭のある甘味を呈したが、エステル臭を呈しなかった。
【０１２５】
表４～表６の結果から、本培養液Ｅ６～Ｅ８のいずれも、酵母発酵により、エタノール及びエステル化合物が生成されることが示された。また、表６の結果で、本培養液Ｃ５のアルコール数が増加したのは、本培養時にワイン酵母の自己消化が生じ、この自己消化物を栄養物質とすることで、ワイン酵母による発酵が開始／促進されたと考えられる。
【０１２６】
［発酵例３］
＜＜前培養３＞＞
前培養２と同様の手順で、ワイン酵母の前培養を行った。前培養終了後、液中の菌数（菌体濃度）をＴｈｏｍａ血球計算器を用いて測定した。
【０１２７】
＜＜本培養３＞＞
下記本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７を用意した。そして、初期菌濃度が４．３３×$10^5$ｃｅｌｌｓ／ｍｌ－ｍｅｄｉｕｍとなるようにして、本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６の各々に、前培養３で得られたワイン酵母を接種した。また、本培養液Ｃ７には、ワイン酵母を接種しなかった。接種後、本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７を、室温２４．５℃の恒温室内に静置させて、ワイン酵母の本培養を行った。後掲の表７に本培養が１日目の結果を示し、表８に本培養が４日目の結果を示す。また、図２は、酵母接種時からの培養日数と、本培養液中の菌体濃度との関係（酵母の増殖曲線）を示す。
【０１２８】
＜本培養液Ｃ６及びＣ７＞
本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｃ６及びＣ７を作製した。
【０１２９】
＜本培養液Ｅ９＞
まず、大麦若葉搾汁粕１ｋｇに対し、４．３６ｋｇの冷水を用意した。そして、大麦若葉搾汁粕を冷水に浸してから７０℃で３時間加温することで、大麦若葉搾汁粕中の水溶性成分を水中に溶出させた。加温後、大麦若葉搾汁粕を濾別させて水溶液を回収し、この水溶液を噴霧乾燥することで、噴霧乾燥物を作製した。そして、この噴霧乾燥物を大麦若葉エキス末とした。ここで、大麦若葉エキス末の収率は０．００７％であった。次に、エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として０．２１ｇの大麦若葉エキス末（エキス末１）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ６と同様の手順で、本培養液Ｅ９を作製した。
【０１３０】
＜本培養液Ｅ１０＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として０．０２１ｇの大麦若葉エキス末（エキス末２）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ６と同様の手順で、本培養液Ｅ１０を作製した。ここで、エキス末２は、添加量が異なるだけで、本培養液Ｅ９と同様の大麦若葉エキス末である。

【０１３１】
＜本培養液Ｅ１１＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として０．００４ｇの大麦若葉エキス末（エキス末３）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ６と同様の手順で、本培養液Ｅ１１を作製した。ここで、エキス末３は、添加量が異なるだけで、本培養液Ｅ９と同様の大麦若葉エキス末である。
【０１３２】
＜本培養液Ｅ１２＞
まず、大麦若葉搾汁粕をオーブン（Ｙａｍａｔｏ　Ｄｒｙｉｎｇ　Ｏｖｅｎ　ＤＸ３００）内で１２０℃で１時間焙煎させた。この焙煎物を焙煎搾汁粕１とした。次に、エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３ｇの焙煎搾汁粕１を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ６と同様の手順で、本培養液Ｅ１２を作製した。
【０１３３】
＜本培養液Ｅ１３＞
まず、大麦若葉搾汁粕をオーブン（Ｙａｍａｔｏ　Ｄｒｙｉｎｇ　Ｏｖｅｎ　ＤＸ３００）内で１５０℃で１時間焙煎させた。この焙煎物を焙煎搾汁粕２とした。次に、エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３ｇの焙煎搾汁粕２を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ６と同様の手順で、本培養液Ｅ１３を作製した。
【０１３４】
＜本培養液Ｅ１４＞
レンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３ｇの大麦若葉搾汁粕（搾汁粕）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ６と同様の手順で、本培養液Ｅ１４を作製した。
【０１３５】
【表７】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 糖度 | AI数 | pH | 香り | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E9 | エキス末１ | あり | 1.78 | 10.8 | 0.45 | 3.02 | 果実様 | ＋ |
| E10 | エキス末２ | あり | 0.39 | 11.4 | 0.20 | 3.21 | アルコール | ＋ |
| E11 | エキス末３ | あり | 0.23 | 11.2 | 0.20 | 3.49 | 酸臭 | － |
| E12 | 焙煎搾汁粕１ | あり | 0.77 | 10.6 | 0.50 | 3.18 | エステル臭 | ＋ |
| E13 | 焙煎搾汁粕２ | あり | 1.01 | 10.3 | 0.50 | 3.12 | 芳香 | ＋ |
| E14 | 搾汁粕 | あり | 0.90 | 9.8 | 0.50 | 3.20 | 梅様芳香 | ＋ |
| C6 | なし | あり | 0.29 | 11.2 | 0.10 | 3.34 | 酸臭 | － |
| C7 | なし | なし | 0.00 | 11.4 | 0.00 | 4.38 | 培地臭 | － |

【０１３６】
［評価］
酵母接種から１日後の本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７について、下記の評価を行った。
【０１３７】
｛外観｝
本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちの有無を評価した。その結果、本培養液Ｅ９～Ｅ１４ではフラスコ内液面に白い泡立ちが確認され、本培養液Ｃ６～Ｃ７ではフラスコ内液面に白い泡立ちが確認されなかった。
【０１３８】
｛菌数｝
本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７の各々の菌数（菌体濃度）は、前培養３と同様の手順で測定された。
【０１３９】
｛糖度｝

糖度は、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１４０】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１４１】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１４２】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、発酵例１と同様にして評価した。

【０１４３】

また、本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ９は、酸味のある果実様芳香と甘味を呈した。本培養液Ｅ１０は、甘みを伴うアルコール性香味を呈した。本培養液Ｅ１１は、僅かな酸味を伴う甘味を呈した。本培養液Ｅ９～Ｅ１０の結果から、大麦若葉エキス末の効果は、濃度依存性を示した。本培養液Ｅ１２及びＥ１３は、それぞれ、茶様の香りとエステル臭とを呈した。本培養液Ｅ１４は、梅様の芳香を伴うエステル臭を呈した。なお、本培養液Ｃ６は、酸味を伴う甘味のみを呈した。また、本培養液Ｃ７は、酵母接種されなかったため、風味評価はされなかった。

【０１４４】

【表８】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 糖度 | AI数 | pH | 香り | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E9 | エキス末１ | あり | 0.60 | 3.4 | 1.00 | 2.77 | アルコール | ＋ |
| E10 | エキス末２ | あり | 0.34 | 5.6 | 0.70 | 2.66 | アルコール | ＋ |
| E11 | エキス末３ | あり | 0.35 | 5.2 | 0.95 | 2.61 | 酸臭 | － |
| E12 | 焙煎搾汁粕１ | あり | 2.21 | 3.8 | 1.00 | 3.21 | 茶様芳香 | ＋ |
| E13 | 焙煎搾汁粕２ | あり | 1.20 | 3.8 | 1.10 | 3.17 | 茶様芳香 | ＋ |
| E14 | 搾汁粕 | あり | 1.65 | 3.9 | 0.60 | 3.24 | 茶様芳香 | ＋ |
| C6 | なし | あり | 0.93 | 5.4 | 1.20 | 3.61 | エステル | ＋ |
| C7 | なし | なし | 0.00 | 11.4 | 0.00 | 4.38 | 培地臭 | － |

【０１４５】

［評価］

酵母接種から４日後の本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７について、下記の評価を行った。

【０１４６】

｛菌数｝

本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１４７】

｛糖度｝

糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１４８】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１４９】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１５０】

｛泡高｝

泡高は、酵母接種から１日後と同様にして測定された。

【０１５１】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６～Ｃ７の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。

【０１５２】

また、本培養液Ｅ９～Ｅ１４及びＣ６の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ９は、酸味を伴うワイン様香味を呈した。本培養液Ｅ１０は、弱い酸味を伴うアルコール性香味を呈した。本培養液Ｅ１１は、エステル臭を伴う重い酸臭と甘味と苦味を呈した。本培養液Ｅ１２及びＥ１３は、それぞれ、茶様の香りと苦みを呈した。本培養液Ｅ１４は茶様の香りと苦みのあるアルコール性香味とを呈した。なお、本培養液Ｃ６は、エステル臭とアルコール臭とを伴う甘味と辛味を呈したが、活性化成分に起因する香味を呈さなかった。ここで、本培養液Ｃ６がエステル臭とアルコール臭とを呈したのは、本培養時にワイン酵母の自己消化が生じ、この自己消化物を栄養物質とすることで、ワイン酵母による発酵が開始／促進されたと考えられる。

【０１５３】

表８の結果から、本培養液Ｅ９～Ｅ１４のいずれもが、食品（例えば、飲料、ケーキ）又は食品の風味付加用調味料として利用できることが期待される。

【０１５４】

［発酵例４］

＜＜前培養４＞＞

前培養２と同様の手順で、ワイン酵母の前培養を行った。以後、本培養の時にワイン酵母を白金耳で集めて予め菌懸濁液を作製してＴｈｏｍａ血球計算器を用いて菌体濃度を測定した。

【０１５５】

＜＜本培養４＞＞

基本成分が水１Ｌに対し１２０ｇのグルコースである以外は本培養１と同じ混合液を作製した。下記本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ１１を用意した。そして、初期菌濃度が４．３３×$10^5$ｃｅｌｌｓ／ｍｌ－ｍｅｄｉｕｍとなるようにして、本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ１１の各々に、前培養４で得られたワイン酵母を接種した。また、本培養液Ｃ１０及び１１には、ワイン酵母を接種しなかった。接種後、本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ１１を、室温２４．５℃の恒温室内に静置させて、ワイン酵母の本培養を行った。後掲の表９に本培養が１日目の結果を示し、表１０に本培養が２日目の結果を示し、表１１に本培養が３日目の結果を示す。また、図３は、酵母接種時からの培養日数と、本培養液中の菌体濃度との関係（酵母の増殖曲線）を示す。さらに、図４～図６は、それぞれ、酵母接種時からの１日目、２日目、及び３日目の各本培養液の外観を示す。

【０１５６】

＜本培養液Ｃ９及びＣ１０＞

基本成分が水１Ｌに対し１２０ｇのグルコースである以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｃ９及びＣ１０を作製した。

【０１５７】

＜本培養液Ｅ１５＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの果実粉砕物（レポカ）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ９と同様の手順で、本培養液Ｅ１５を作製した。ここで、レポカは、レモン、カボスおよびスダチの果実全体を粉砕して混合した後、糖類及び可食性多糖類が添加された混合液を噴霧乾燥することで製造された粉末である。また、レポカの製造は、具体的には、特開２００４－３５０６７６号公報に記載された方法に基いて行われた。

【０１５８】

＜本培養液Ｅ１６＞

エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの黒糖を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ９と同様の手順で、本培養液Ｅ１６を作製した。

【０１５９】
＜本培養液Ｅ１７＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの大麦若葉搾汁粕（搾汁粕）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ９と同様の手順で、本培養液Ｅ１７を作製した。
【０１６０】
＜本培養液Ｃ８＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇのグラニュー糖を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ９と同様の手順で、本培養液Ｃ８を作製した。
【０１６１】
＜本培養液Ｃ１１＞
グルコースの量を、水１Ｌに対して、１２０ｇにした以外は、本培養液Ｃ９と同様の手順で、本培養液Ｃ１１を作製した。
【０１６２】
【表９】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 生菌率 | 糖度 | AI数 | pH | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E15 | レポカ | あり | 12.6 | 92.9% | 10.3 | 0.26 | 2.53 | ＋ |
| E16 | 黒糖 | あり | 4.50 | 95.1% | 12.6 | 0.39 | 3.72 | ＋ |
| E17 | 搾汁粕 | あり | 10.60 | 90.6% | 8.6 | 0.62 | 3.25 | ＋ |
| C8 | グラニュー糖 | あり | 2.77 | 97.5% | 11.1 | 0.24 | 2.95 | － |
| C9 | なし | あり | 2.80 | 96.1% | 11.3 | 0.16 | 2.90 | － |
| C10 | なし | なし | | | 12.0 | | 4.55 | |

【０１６３】
［評価］
酵母接種から１日後の本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ１０について、下記の評価を行った。
【０１６４】
｛外観｝
本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちを評価した（図４参照）。本培養液Ｅ１５では、フラスコの液面全体に白色の泡が発生しており、泡高は５ｍｍ～１０ｍｍであった。さらに、本培養液Ｅ１５のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１６では、濁りがあり、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１６のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１７では、フラスコ内の麦繊維が液内全体に広がり、麦繊維が液面を押し上げるようにして泡が発生し、液面の上で麦繊維と泡とが混合された層の泡高は液面から２０ｍｍであり、泡のみの層の泡高は５ｍｍ～８ｍｍであることが確認された。本培養液Ｃ８の２つのフラスコのうち、一方のフラスコでは液面に泡が発生しなかったが、一方のフラスコでは液面の縁に沿って泡がわずかに発生していた。また、本培養液Ｃ９では、フラスコ内の液面の縁に沿って泡がにわずかに発生し、泡高は２ｍｍ～４ｍｍであった。さらに本培養液Ｃ９のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡立ちが液内でも確認された。なお、本培養液Ｃ１０は酵母接種されなかったので、本培養液Ｃ１０の外観評価はされなかった。
【０１６５】
｛菌数｝
本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の菌数（菌体濃度）は、前培養３と同様の手順で測定された。
【０１６６】
｛生菌率｝
本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の菌懸濁液を作製しＴｈｏｍａ血球計算

器を用いて生菌数を倒立顕微鏡にて算出する。菌懸濁液は計数する視野において菌数が１００個以上となるように予め希釈しておく。下記式（１）に基いて、生菌率を算出した。生菌率（％）＝（生菌数／（生菌数＋死菌数）×１００　・・・（１）。

【０１６７】

｛糖度｝

糖度は、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１６８】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１６９】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、発酵例１と同様の手順で測定された。

【０１７０】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、発酵例１と同様にして評価した。

【０１７１】

また、本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ１５は、重厚で、柑橘類に特有の酸性ある芳香と、柑橘類搾汁粕様の芳香のあるアルコール性飲料またはケーキの調味料に好適な味とを有する。本培養液Ｅ１６は、糖蜜の甘い香りとワイン様の芳香を有し、甘みのある味を呈するものの、アルコール性の香味は感じられない。本培養液Ｅ１７は、麦を刈り取った直後のみずみずしい香りと、緑茶のような香りと、ワイン様の芳香とを有し、酸味のあるアルコール性の香味を呈する。本培養液Ｃ８は、培地臭がある苦みと辛味を感じさせる香りを有し、本培養液Ｅ１６よりも甘さはありものの、アルコール性の香味は感じられない。本培養液Ｃ９は、培地臭を伴う甘味を有する。

【０１７２】

【表１０】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 生菌率 | 糖度 | AI数 | pH | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E15 | レポカ | あり | 9.68 | 95.6% | 6.8 | 0.84 | 2.55 | ＋ |
| E16 | 黒糖 | あり | 4.35 | 97.4% | 10.0 | 0.56 | 2.73 | ＋ |
| E17 | 搾汁粕 | あり | 28.50 | 92.5% | 4.0 | 1.08 | 3.22 | ＋ |
| C8 | グラニュー糖 | あり | 3.17 | 94.6% | 11.2 | 0.26 | 2.56 | － |
| C9 | なし | あり | 2.80 | 97.5% | 8.5 | 0.43 | 2.57 | － |
| C10 | なし | なし | | | 12.0 | | 4.55 | |

【０１７３】

［評価］

酵母接種から２日後の本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ１０について、下記の評価を行った。

【０１７４】

｛外観｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちを評価した（図５参照）。本培養液Ｅ１５では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い色の泡が発生し、泡高は１日目の場合よりも低いことが確認された。具体的には、２つのフラスコのうち、一方のフラスコでは泡高は２ｍｍ程度であり、他方のフラスコでは泡高は５ｍｍ程度であった。さらに、本培養液Ｅ１５のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１６では、濁りがあり、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１６のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１７では、フラスコ内の麦繊維が液内全体に広がり、麦繊維が液面を押し上げるようにして泡が発生し、泡高は液面から３ｍｍ程度であることが確認され

た。さらに、本培養液Ｅ１７の本培養液Ｅ１５のフラスコを振盪すると、麦繊維が液内全体に拡散されるものの、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ８では、フラスコ内の液面に泡が発生し、泡高は８ｍｍ～９ｍｍであることが確認された。さらに、本培養液Ｃ８のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が１２ｍｍ程度になることも確認された。本培養液Ｃ９では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生し、泡高は２ｍｍ～４ｍｍであることが確認された。さらに、本培養液Ｃ９のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。なお、本培養液Ｃ１０は酵母接種されなかったので、本培養液Ｃ１０の外観評価はされなかった。

【０１７５】

｛菌数｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１７６】

｛生菌率｝

生菌率は、酵母接種から１日後と同様の手順で算出された。

【０１７７】

｛糖度｝

糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１７８】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１７９】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１８０】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。

【０１８１】

また、本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ１５は、柑橘類果皮に特有の酸性ある芳香と、アルコール性の香味と、柑橘類搾汁粕様の芳香のあるアルコール性飲料またはケーキの調味料に好適な味とを有する。本培養液Ｅ１６は、糖蜜の甘い香りと、ワイン様の芳香とを有し、甘みのある味を呈するものの、アルコール性の香味は感じられない。このような本培養液Ｅ１６は、飲料及びケーキなどの調味料に好適な性質を有する。本培養液Ｅ１７は、緑茶のような香りと、苦味のある大麦様の香りとを有し、アルコール性の香味を呈する。本培養液Ｃ８は、酸味と共に、甘味と僅かに酸味のあるアルコール性の香味を有する。本培養液Ｃ９は、培地臭に伴う苦味と僅かな甘味とを有する。

【０１８２】

【表１１】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(×$10^7$/mL) | 生菌率 | 糖度 | Al数 | pH | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E15 | レポカ | あり | 6.00 | 96.3% | 4.8 | 1.40 | 2.58 | ＋ |
| E16 | 黒糖 | あり | 5.37 | 92.2% | 7.1 | 0.92 | 2.79 | ＋ |
| E17 | 搾汁粕 | あり | 19.50 | 92.6% | 3.8 | 1.10 | 3.32 | ＋ |
| C8 | グラニュー糖 | あり | 1.56 | 93.5% | 9.0 | 0.43 | 2.80 | － |
| C9 | なし | あり | 2.31 | 96.1% | 7.0 | 0.48 | 2.57 | － |
| C10 | なし | なし | | | 12.0 | | 4.55 | |
| C11 | なし | なし | | | 13.3 | | 4.68 | |

【０１８３】

［評価］

酵母接種から３日後の本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ１１について、下記の評価

を行った。

【０１８４】

｛外観｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちを評価した（図６参照）。本培養液Ｅ１５では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い色の泡が発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１５のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１６では、濁りがあり、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１６のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１７では、フラスコ内の麦繊維が液内に取り込まれており、液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１７の本培養液Ｅ１５のフラスコを振盪すると、麦繊維が液内全体に拡散されるものの、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ８では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡が発生し、測定位置にもよるが、泡高は５ｍｍ～７ｍｍであることが確認された。本培養液Ｃ９では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生し、泡高が２ｍｍ～４ｍｍであることが確認された。さらに、本培養液Ｃ９のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。なお、本培養液Ｃ１０及びＣ１１は酵母接種されなかったので、本培養液Ｃ１０及びＣ１１の外観評価はされなかった。

【０１８５】

｛菌数｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１８６】

｛生菌率｝

生菌率は、酵母接種から１日後と同様の手順で算出された。

【０１８７】

｛糖度｝

糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１８８】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１８９】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０１９０】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。

【０１９１】

また、本培養液Ｅ１５～Ｅ１７及びＣ８～Ｃ９の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ１５は、柑橘類果皮に特有の酸性ある芳香と、アルコール性の香味と、柑橘類搾汁粕様の芳香のあるアルコール性飲料またはケーキの調味料に好適な味とを有する。本培養液Ｅ１６は、糖蜜の甘い香りとワイン様の芳香とを有すると共に、甘味とアルコール性の香味とを有する。本培養液Ｅ１７は、大麦葉の搾汁液に特有の香りを有すると共に、酸味と苦みとアルコール性の香味とを有する。本培養液Ｃ８は、本培養液Ｅ１６よりも甘さは僅かに強く、僅かに酸味を感じさせるアルコール性の微香を有するものの、好適なアルコール性の香味は感じない。本培養液Ｃ９は、培地臭に伴う苦味と僅かな甘味とを有する。なお、本培養液Ｃ１１は、酵母エキス特有の香りと、甘みとを有する。

【０１９２】

［発酵例５］
＜＜前培養５＞＞
前培養２と同様の手順で、ワイン酵母の前培養を行った。以後、本培養の時にワイン酵母を白金耳で集め菌懸濁液を作製してＴｈｏｍａ血球計算器を用いて菌体濃度を測定した。
【０１９３】
＜＜本培養５＞＞
基本成分が水１Ｌに対し１２０ｇのグルコースであり酵母エキスが含まれない以外本培養１と同じ混合液を作製した。下記本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１６を用意した。そして、初期菌濃度が４．３３×$10^5$ｃｅｌｌｓ／ｍｌ－ｍｅｄｉｕｍとなるようにして、本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々に、前培養５で得られたワイン酵母を接種した。また、本培養液Ｃ１５及び１６には、ワイン酵母を接種しなかった。接種後、本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１６を、室温２４．５℃の恒温室内に静置させて、ワイン酵母の本培養を行った。後掲の表１２に本培養が１日目の結果を示し、表１３に本培養が２日目の結果を示し、表１４に本培養が３日目の結果を示す。また、図７は、酵母接種時からの培養日数と、本培養液中の菌体濃度との関係（酵母の増殖曲線）を示す。さらに、図８～図１０は、それぞれ、酵母接種時からの１日目、２日目、及び３日目の各本培養液の外観を示す。
【０１９４】
＜本培養液Ｃ１４及びＣ１５＞
基本成分が水１Ｌに対し１２０ｇのグルコースであり酵母エキスが含まれない以外は、本培養液Ｃ２と同様の手順で、本培養液Ｃ１４及びＣ１５を作製した。
【０１９５】
＜本培養液Ｅ１８＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの果実粉砕物（レポカ）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ１４と同様の手順で、本培養液Ｅ１８を作製した。ここで、レポカは、本培養液Ｅ１５と同様のものである。
【０１９６】
＜本培養液Ｅ１９＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの黒糖を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ１４と同様の手順で、本培養液Ｅ１９を作製した。
【０１９７】
＜本培養液Ｅ２０＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの大麦若葉搾汁粕（搾汁粕）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ１４と同様の手順で、本培養液Ｅ２０を作製した。
【０１９８】
＜本培養液Ｃ１２＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇのグラニュー糖を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ１４と同様の手順で、本培養液Ｃ１２を作製した。
【０１９９】
＜本培養液Ｃ１３＞
エルレンマイヤーフラスコ内の混合液に、液量１５０ｍＬに対して、活性化成分として３．７５ｇの焙煎コーヒー熱水抽出粕（焙煎コーヒー粕；焙煎コーヒー豆粉末の熱水抽出粕）を添加した以外は、以降、本培養液Ｃ１４と同様の手順で、本培養液Ｃ１３を作製した。
【０２００】

＜本培養液Ｃ１６＞

グルコースの量を、水１Ｌに対して、１２０ｇにした以外は、本培養液Ｃ１４と同様の手順で、本培養液Ｃ１６を作製した。

【０２０１】

【表１２】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(/mL) | 生菌率 | 糖度 | AI数 | pH | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E18 | レポカ | あり | $3.53\times10^{7}$ | 93.5% | 12.2 | 0.16 | 2.76 | ＋ |
| E19 | 黒糖 | あり | $1.79\times10^{7}$ | 91.1% | 12.9 | 0.25 | 2.77 | ＋ |
| E20 | 搾汁粕 | あり | $9.90\times10^{7}$ | 96.0% | 9.8 | 0.91 | 3.16 | ＋ |
| C12 | グラニュー糖 | あり | $1.66\times10^{5}$ | 94.0% | 13.3 | 0.00 | 3.70 | － |
| C13 | 焙煎コーヒー粕 | あり | $2.02\times10^{7}$ | 97.0% | 11.3 | 0.08 | 3.22 | ＋ |
| C14 | なし | あり | $1.83\times10^{5}$ | 90.9% | 11.4 | 0.00 | 3.73 | － |
| C15 | なし | なし | | | 10.4 | | 4.03 | － |

【０２０２】

［評価］

酵母接種から１日後の本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１５について、下記の評価を行った。

【０２０３】

｛外観｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちを評価した（図８参照）。本培養液Ｅ１８では、液に濁りがあり、液面全体に白い色が発生し、泡高は０．３ｍｍ～０．５ｍｍであることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１８のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１９では、液に濁りがあり、液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１９のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ２０では、フラスコ内の麦繊維が液内全体に広がり、麦繊維が液面を押し上げるようにして泡が発生し、泡高は８ｍｍ～１０ｍｍであることが確認された。さらに、本培養液Ｅ２０のフラスコを振盪すると、麦繊維が液内全体に拡散されるものの、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ１２では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。本培養液Ｃ１３では、静置状態で焙煎コーヒー粕が液体上部に移動していると共に、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生し、泡高は０．３ｍｍ～０．６ｍｍ程度であることが確認された。さらに、本培養液Ｃ１３のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ１４では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生していることが確認された。しかし、本培養液Ｃ１４のフラスコを振盪しても、発酵に伴う泡が液内で発生していることは確認されなかった。なお、本培養液Ｃ１５は酵母接種されなかったので、本培養液Ｃ１５の外観評価はされなかった。

【０２０４】

｛菌数｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々の菌数（菌体濃度）は、前培養５と同様の手順で測定された。

【０２０５】

｛生菌率｝

生菌率は、発酵例４と同様にして算出された。

【０２０６】

｛糖度｝

糖度は、発酵例４と同様の手順で測定された。

【０２０７】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、発酵例４と同様の手順で測定された。

【０２０８】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、発酵例４と同様の手順で測定された。

【０２０９】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１５の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、発酵例４と同様にして評価した。

【０２１０】

また、本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ１８は、柑橘類に特有の芳香と、柑橘類搾汁粕様の芳香のあるアルコール性飲料またはケーキの調味料に好適な味とを有する。本培養液Ｅ１９は、糖蜜の甘いワイン様の芳香と甘味とを有するものの、アルコール性の香味は感じられない。このような本培養液Ｅ１９は、ケーキまたは食品の調味料に好適な性質を有する。本培養液Ｅ２０は、麦を刈り取った直後のみずみずしい香りと、緑茶のような香りと、ワイン様の芳香とを有し、酸味のあるアルコール性の香味を呈する。このため、搾汁粕を可溶化させて高濃度の原料にすることができれば、この原料から好適な調味料を製造できると期待される。本培養液Ｃ１２では、好適な香りが得られなかった。この結果から、グラニュー糖は、酵母による発酵を活性化しにくい傾向があると考えられる。本培養液Ｃ１３は、新鮮なコーヒー様の香りとコーヒー様の味とを有する。本培養液Ｃ１４は、殆んど無臭で、甘味を有する。なお、本培養液Ｃ１５は、特に匂いはなく、甘味のある液体である。

【０２１１】

【表１３】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(/mL) | 生菌率 | 糖度 | AI数 | pH | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E18 | レポカ | あり | $4.71\times10^{7}$ | 97.7% | 12.0 | 0.42 | 2.44 | ＋ |
| E19 | 黒糖 | あり | $3.95\times10^{7}$ | 94.9% | 11.5 | 0.53 | 2.50 | ＋ |
| E20 | 搾汁粕 | あり | $1.07\times10^{8}$ | 98.6% | 5.3 | 1.00 | 3.01 | ＋ |
| C12 | グラニュー糖 | あり | $1.08\times10^{6}$ | 75.4% | 13.7 | 0.00 | 3.11 | － |
| C13 | 焙煎コーヒー粕 | あり | $6.40\times10^{7}$ | 94.5% | 9.2 | 0.41 | 2.61 | ＋ |
| C14 | なし | あり | $2.75\times10^{5}$ | 96.4% | 11.7 | 0.00 | 3.37 | － |
| C15 | なし | なし | | | 10.6 | | 3.90 | － |

【０２１２】

［評価］

酵母接種から２日後の本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１５について、下記の評価を行った。

【０２１３】

｛外観｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちを評価した（図９参照）。本培養液Ｅ１８では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生し、泡高は４ｍｍ～５ｍｍ程度であることが確認された。さらに、本培養液Ｅ１８のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１９では、液に濁りがあるものの、液面に泡がないことが確認された。本培養液Ｅ２０では、フラスコ内の麦繊維が液内全体に広がり、麦繊維が液面を押し上げるようにして泡が発生し、泡高は、液面から４ｍｍ～５ｍｍ程度であることが確認された。さらに、本培養液Ｅ２０のフラスコを振盪すると、麦繊維が液内全体に拡散されるものの、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ１２では、液面に泡がないことが確認された。本培養液Ｃ１３では、液面中央部で塊となって液面全体に泡が発生し、泡高は、液面から６ｍｍ程度であることが確認された。さらに、本培養液Ｃ１３のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡がフラスコ内面に沿って発生し、泡高は１２ｍ程度になることも確認された。本培養液Ｃ１４では、液にわずかな濁りが

あるものの、泡の発生がなかったため、酵母による発酵は確認されなかった。なお、本培養液Ｃ１５は酵母接種されなかったので、本培養液Ｃ１５の外観評価はされなかった。

【０２１４】

｛菌数｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２１５】

｛生菌率｝

生菌率は、酵母接種から１日後と同様にして算出された。

【０２１６】

｛糖度｝

糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２１７】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２１８】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２１９】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１５の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。

【０２２０】

また、本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ１８は、柑橘類の果皮に特有の酸性ある芳香と、柑橘類搾汁粕様の芳香のあるアルコール性飲料またはケーキ等の調味料に好適な味とを有する。本培養液Ｅ１９は、糖蜜の甘い香りとワイン様の芳香を有し、甘みのある味を呈する。このような本培養液Ｅ１９は、飲料及びケーキ等の調味料に好適な性質を有する。本培養液Ｅ２０は、緑茶のような香りと、苦味のある大麦様の香りとを有し、アルコール性の香味を呈する。本培養液Ｃ１２は、糖味であって、僅かな甘味を呈する。本培養液Ｃ１３は、コーヒー様の風味と、甘みとを有する。本培養液Ｃ１４は、わずかな甘味を有する。

【０２２１】

【表１４】

| 本培養液 | 活性化成分 | 酵母接種 | 菌数(/mL) | 生菌率 | 糖度 | Al数 | pH | 官能試験 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E18 | レポカ | あり | $4.5\times10^{7}$ | 93.3% | 11.6 | 0.67 | 2.39 | ＋ |
| E19 | 黒糖 | あり | $3.1\times10^{7}$ | 97.5% | 10.0 | 0.74 | 2.51 | ＋ |
| E20 | 搾汁粕 | あり | $8.2\times10^{7}$ | 92.6% | 4.0 | 1.04 | 3.05 | ＋ |
| C12 | グラニュー糖 | あり | $1.8\times10^{6}$ | 81.1% | 12.8 | 0.08 | 2.72 | － |
| C13 | 焙煎コーヒー粕 | あり | $7.3\times10^{7}$ | 97.6% | 7.6 | 0.54 | 2.67 | ＋ |
| C14 | なし | あり | $2.7\times10^{5}$ | 94.7% | 11.7 | 0.08 | 3.37 | － |
| C15 | なし | なし | | | 12.0 | | 3.90 | － |
| C16 | なし | なし | | | 13.3 | | 4.68 | － |

【０２２２】

［評価］

酵母接種から３日後の本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１６について、下記の評価を行った。

【０２２３】

｛外観｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４を、それぞれ目視で確認し、フラスコ内液面における白い泡立ちを評価した（図１０参照）。本培養液Ｅ１８では、フラスコ内の液面の縁に沿って白い泡が発生し、泡高は３ｍｍ～４ｍｍであることが確認された。さらに

、本培養液Ｅ１８のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｅ１９では、液面に泡の発生がなく、液上部は透明で茶色を呈し、液下部に白い濁りがあることが確認された。また、本培養液Ｅ１９のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることが確認された。本培養液Ｅ２０では、フラスコ内の麦繊維が液内に取り込まれており、液面の縁に沿って白い泡がわずかに発生し、泡高は４ｍｍ～５ｍｍであることが確認された。さらに、本培養液Ｅ２０のフラスコを振盪すると、麦繊維が液内全体に拡散されるものの、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ１２では、液面にに泡の発生がなく、液下部に濁りがあることが確認された。さらに、本培養液Ｃ１２のフラスコを振盪すると、液に濁りがあるものの、発酵に伴う泡が液内で発生しないことも確認された。本培養液Ｃ１３では、液面全体に泡が発生していることが確認された。さらに、本培養液Ｃ１３のフラスコを振盪すると、発酵に伴う泡が液内で発生していることも確認された。本培養液Ｃ１４では、液面に泡の発生がないことが確認された。さらに、本培養液Ｃ１４のフラスコを振盪しても、発酵に伴う泡が液内で発生しないことも確認された。なお、本培養液Ｃ１５及びＣ１６は酵母接種されなかったので、本培養液Ｃ１５及びＣ１６の外観評価はされなかった。

【０２２４】

｛菌数｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々の菌数（菌体濃度）は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２２５】

｛生菌率｝

生菌率は、酵母接種から１日後と同様にして算出された。

【０２２６】

｛糖度｝

糖度は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２２７】

｛Ａｌ数（アルコール数）｝

アルコール数は、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２２８】

｛ｐＨ｝

ｐＨは、酵母接種から１日後と同様の手順で測定された。

【０２２９】

｛官能試験｝

本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１６の各々におけるエタノール及びエステル化合物の有無を、酵母接種から１日後と同様にして評価した。

【０２３０】

また、本培養液Ｅ１８～Ｅ２０及びＣ１２～Ｃ１４の各々の風味も評価した。本培養液Ｅ１８は、柑橘類の果皮に特有の酸性ある芳香と甘味を有すると共に、柑橘類搾汁粕様の芳香のあるアルコール性飲料またはケーキの調味料に好適な味を有する。本培養液Ｅ１９は、糖蜜の甘い香りとワイン様の芳香を有し、甘みのある味を呈する。さらに、本培養液Ｅ１９は、アルコール性の香味も有する。本培養液Ｅ２０は、大麦葉の搾汁液に特有の香りと酸味と苦みとを有すると共に、アルコール性の香味を有する。本培養液Ｃ１２は、本培養液Ｅ１９よりも僅かに強い甘みを有する。本培養液Ｃ１３は、コーヒー様の風味と、甘みとを有する。本培養液Ｃ１４は、僅かな香りと甘味とを有する。なお、本培養液Ｃ１６は、甘味を有する液体である。

【０２３１】

また、表１４の結果から、本培養液Ｅ１８及びＥ１９は、本培養液Ｅ２０及びＣ１３と比べて、酵母の生育を抑制する傾向があることが確認された。

【０２３２】

図７の結果から、本培養液が酵母エキスを含有していなくても、本培養液に活性化成分

を添加することで、ワイン酵母は活発に増殖することが確認された。

【０２３３】

さらに、発酵例１～５の結果、特に官能試験及び風味評価の結果から、大麦若葉搾汁粕、大麦若葉搾汁エキス末、ほうじ茶葉、日本茶葉、及び紅茶葉の各々が活性化成分として用いられた発酵液は、飲料に好適であり、柑橘類の果実粉砕物、及び黒糖の各々が活性化成分として用いられた発酵液は、飲料、菓子類、及びケーキ類を風味付けするための調味料に好適であることが期待される。

【０２３４】

［発酵例１～５の考察］

発酵例１～５では、活性化成分の生理活性を総合的に検出するための測定系を構築するため、酵母による発酵の指標として、アルコール生成、エステル類に起因する芳香、味覚、外観、及び増殖などを評価した。

【０２３５】

培養例１～４の本培養液は、グルコース、酵母エキス、$KH_2PO_4$、$(NH_4)_2SO_4$、$MgSO_4$、及び海藻灰エキスを含有している。このような本培養液に活性化成分が添加されていない場合、ワイン酵母Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ　ＯＣ－２を接種しても、酵母による発酵は極めて低調になりやすい。これは、活性化成分の以外の各成分が酵母の生育を支持しにくいことを示している。

【０２３６】

活性化成分として、柑橘類の果実粉砕物であるレポカ、黒糖、大麦若葉搾汁粕の焙煎物、大麦若葉搾汁粕の未焙煎物、ほうじ茶葉、日本茶葉、紅茶葉、大麦若葉搾汁エキス末のいずれかが添加された本培養液では、ワイン酵母による発酵が活性化されると共に、酵母の生育は支持された。これにより、アルコール生成、エステル類に起因する芳香、旺盛な生育の外観、酵母数の増加が確認された。すなわち、活性化成分は、ワイン酵母による発酵を活性化されると共に、酵母の生育を支持することが確認された。

【０２３７】

このように活性化成分を添加することで、酵母の増殖、糖消費及びエタノール生成を促進させ、活性化成分に起因する香味と、ワイン酵母による発酵で生じたと考えられる芳香とが得られた。このため、活性化成分は、有用な加工食品、例えば飲料、調味料の製造にも役立つものであると考えられる。

【０２３８】

なお、焙煎コーヒー熱水抽出粕を活性化成分として添加された本培養液でも、ワイン酵母による発酵が活性化されると共に、酵母の生育は支持されたが、活性化成分として焙煎コーヒー熱水抽出粕を用いなくても、食品又は調味料に好適な香味などが得られることが確認された。

【０２３９】

また、活性化成分の好適な量は、本培養液の液量に対して、０．１質量％～３質量％程度、すなわち０．１～３ｗ／ｖ％程度であると考えられる。

【０２４０】

培養例１～５において、同じ活性化成分を用いても、結果にバラツキが生じるのは、活性化成分が粗固形物であることに起因するものと考えられる。

【０２４１】

活性化成分は酵母の生育に対するストレッサーとして機能することが想定でき、さらに、出現する生理学的応答反応は、酵母の増殖に直結する測定値と、酵母の特性に起因する香気成分に関係すると考えられる。

【０２４２】

また、活性化成分には酵母発酵に大きく関わる成分が存在すると考えられ、酵母に対するストレスの種類に関係なく、発酵時に少なくともエタノールとエステル化合物とが生成されることで共通する。また、活性化成分が異なっていても、各活性化成分で共通の代謝系が作用すると仮定すると、各活性化成分に特有の発酵液（特にエステル化合物）が得ら

れると考えられる。

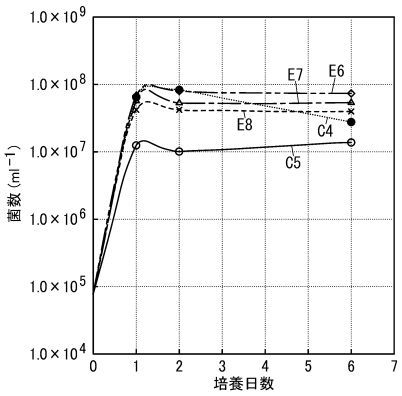
【０２４３】

発酵例１～５の結果から、活性化成分は、ワイン酵母による発酵に関わることから、酵母発酵に対する活性化作用があることが確認された。すなわち、活性化成分の存在下でワイン酵母を生育させることで、その結果から、活性化成分が酵母発酵に関わるか否かを簡便に判定することができると考えられる。この酵母発酵における官能試験の評価方法は、酵母発酵による農産加工品及び農産加工廃棄物の有効利用を予測する方法となり得ることがわかる。

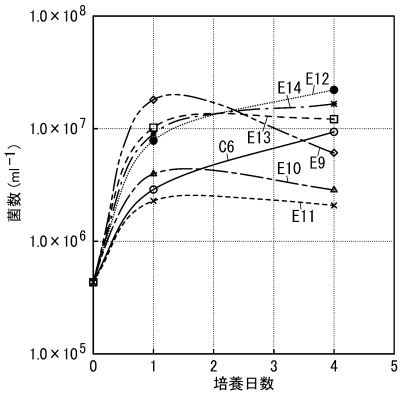
【０２４４】

また、ワイン酵母は、真核生物であるため、動物細胞に対する活性化成分による効果を検討する前段階として役割を果たすものとも考えられる。

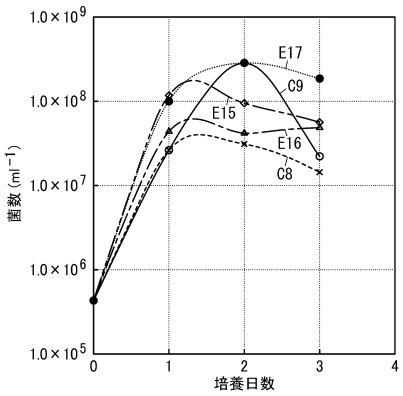
【図１】




【図２】




【図３】

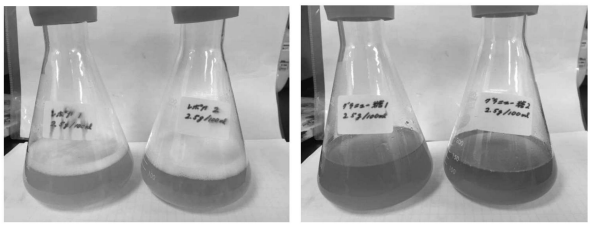


【図４】

本培養液E16（黒糖）　本培養液E17（搾汁粕）



本培養液E15（レポカ）　本培養液C8（グラニュー糖）

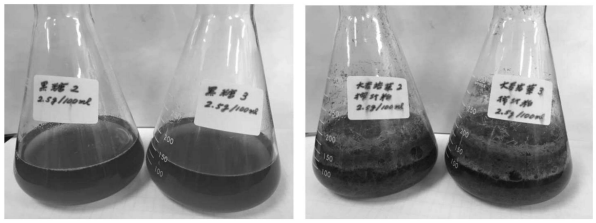


本培養液C9

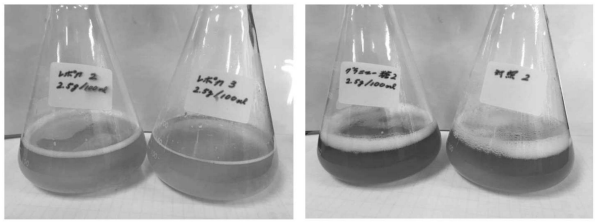


【図５】

本培養液E16（黒糖）　本培養液E17（搾汁粕）

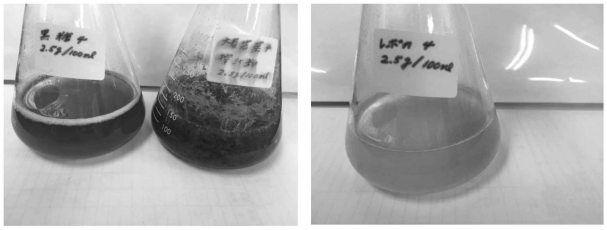


本培養液E15（レポカ）　本培養液C8（グラニュー糖）　本培養液C9

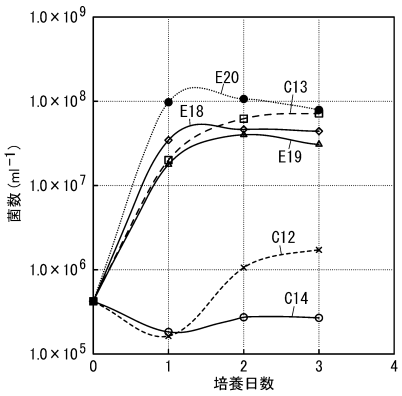


【図６】

本培養液E16　本培養液E17　本培養液E15（レポカ）



【図７】

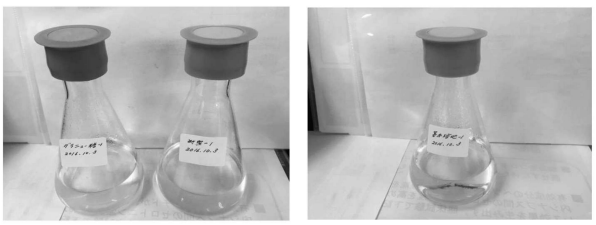



【図８】

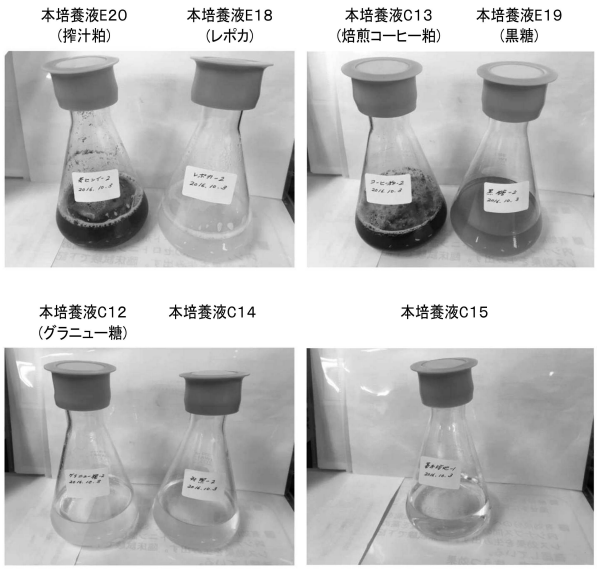
本培養液E20（搾汁粕）　本培養液E18（レポカ）　本培養液C13（焙煎コーヒー粕）　本培養液E19（黒糖）



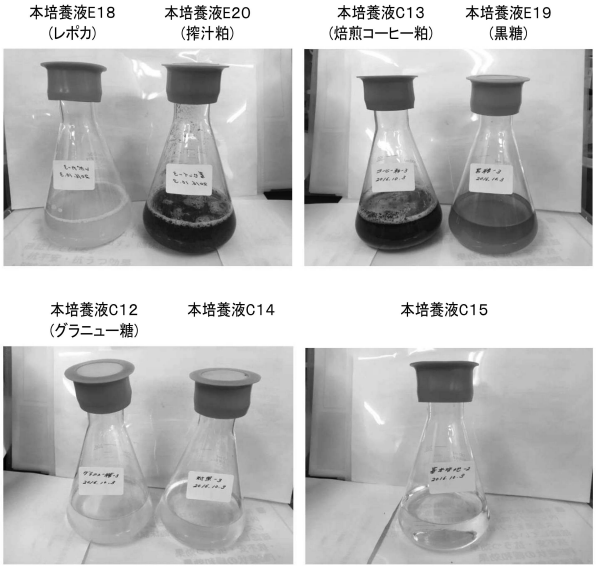
本培養液C12（グラニュー糖）　本培養液C14　本培養液C15



【図９】


本培養液E20
（搾汁粕）
本培養液E18
（レポカ）
本培養液C13
（焙煎コーヒー粕）
本培養液E19
（黒糖）
本培養液C12
（グラニュー糖）
本培養液C14
本培養液C15

【図１０】


本培養液E18
（レポカ）
本培養液E20
（搾汁粕）
本培養液C13
（焙煎コーヒー粕）
本培養液E19
（黒糖）
本培養液C12
（グラニュー糖）
本培養液C14
本培養液C15

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
*C12P 7/62 (2006.01)* C12P 7/06
C12P 7/62

(72)発明者 門脇 靖司
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地 日本薬品開発株式会社内
(72)発明者 永尾 純三
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地 日本薬品開発株式会社内
(72)発明者 三垣 貴正
兵庫県伊丹市北伊丹７丁目９８番地 日本薬品開発株式会社内

審査官 高山 敏充

(56)参考文献 特開２００２－１５３２３１（ＪＰ，Ａ）
特開２００９－２９６９４７（ＪＰ，Ａ）
特開２００１－２９２７２４（ＪＰ，Ａ）
特開平０４－１７９４４７（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
日経テレコン
ＡＧＲＩＣＯＬＡ／ＢＩＯＳＩＳ／ＢＩＯＴＥＣＨＮＯ／ＣＡＢＡ／ＣＡｐｌｕｓ／ＦＳＴＡ／
ＳＣＩＳＥＡＲＣＨ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）