

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6505127号
(P6505127)

(45) 発行日 平成31年4月24日 (2019. 4. 24)

(24) 登録日 平成31年4月5日 (2019. 4. 5)

(51) Int. Cl.	F 1
C 1 2 N 1/16 (2006. 01)	C 1 2 N 1/16 G
A 2 3 L 31/10 (2016. 01)	A 2 3 L 31/10
A 2 3 K 10/16 (2016. 01)	A 2 3 K 10/16
A 2 3 K 20/174 (2016. 01)	A 2 3 K 20/174
A 2 3 K 20/20 (2016. 01)	A 2 3 K 20/20

請求項の数 28 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-561582 (P2016-561582)	(73) 特許権者	502329223
(86) (22) 出願日	平成25年12月26日 (2013. 12. 26)		ヒルズ・ペット・ニュートリション・イン
(65) 公表番号	特表2017-502697 (P2017-502697A)		コーポレーテッド
(43) 公表日	平成29年1月26日 (2017. 1. 26)		アメリカ合衆国カンザス州66603, ト
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/077775		ピーカ, サウスウエスト・エイス・アベニ
(87) 国際公開番号	W02015/099727		ュー 400
(87) 国際公開日	平成27年7月2日 (2015. 7. 2)	(73) 特許権者	516190714
審査請求日	平成28年12月21日 (2016. 12. 21)		エイビー・マウリ・フード・インコーポレ
			イテッド・ディ/ビー/エイ・オーリー・
			アメリカズ
			AB MAURI FOOD INC.,
			D/B/A OHLY AMERICAS
			アメリカ合衆国55350ミネソタ州ハッ
			チンソン、アダムズ・ストリート・ノース
			イースト35番

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高栄養酵母

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

栄養的に強化された酵母を調製する方法であって：

a) 酵母を、少なくとも一つの発酵性の基質と共に、発酵を達成する上で適した条件下で培養すること；

b) 発酵後に酵母を単離すること；

c) 単離した酵母を、一つ以上のキレートミネラルならびにビタミン、アミノ酸、および抗酸化物質から選択される少なくとも一つの微量栄養素と組み合わせて、栄養的に強化された酵母を得ること；および

d) 栄養的に強化された酵母を低温殺菌し、乾燥させることを含む方法。

【請求項 2】

ビタミンがビタミンA、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンB1（チアミン）、ビタミンB2（リボフラビン）、ビタミンB3（ナイアシン）、ビタミンB5（パントテン酸）、ビタミンB6（ピリドキシン）、ビタミンB9（葉酸）、ビタミンB12（コバラミン）、およびコリンから選択される少なくとも一種のビタミンを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

キレートミネラルのミネラル部分がカルシウム、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、鉄、銅、マンガン、亜鉛、ヨウ素、コバルト、およびセレンから選択される少なくとも

一種のミネラルを含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

アミノ酸がスレオニン、イソロイシン、リジン、メチオニン、シスチン、フェニルアラニン、チロシン、バリン、アルギニン、ヒスチジン、アラニンおよびアスパラギン酸から選択される少なくとも一種のアミノ酸を含む、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

抗酸化物質がタウリン、リポ酸、グルタチオン、N-アセチルシステイン、ビタミン E、ビタミン C および β カロチンから選択される少なくとも一種の抗酸化物質を含む、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 6】

単離した酵母を、少なくとも一つの熱不安定なビタミンと組み合わせる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

単離した酵母を、ビタミン B 1（チアミン）および／またはビタミン C と組み合わせる、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

単離した酵母を、鉄、亜鉛、銅、およびマンガンから選択される少なくとも一つのミネラルを含むキレートミネラルと組み合わせる、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 9】

単離した酵母が酵母クリームを含む、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

酵母クリームが、1.5 重量%～2.5 重量%の乾燥物を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

単離した酵母を、少なくとも一つのビタミンと、単離した酵母の固形分総重量に対して 0.5 重量%～3 重量%のビタミン総重量で組み合わせる、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

単離した酵母を、少なくとも一つのビタミンと、単離した酵母の固形分総重量に対して 1 重量%～1.5 重量%のビタミン総重量で組み合わせる、請求項 11 に記載の方法。

30

【請求項 13】

単離した酵母を、少なくとも一つのキレートミネラルと、単離した酵母の固形分総重量に対して 0.1 重量%～2 重量%のミネラル総重量で組み合わせる、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

単離した酵母を、少なくとも一つのキレートミネラルと、単離した酵母の固形分総重量に対して 0.5 重量%～1 重量%のミネラル総重量で組み合わせる、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

単離した酵母を、少なくとも一つの微量栄養素と、3℃～45℃の温度で、0.5 時間～4.8 時間の間組み合わせる、請求項 1～14 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 16】

酵母が遠心分離によって単離される、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

単離した酵母を、少なくとも一つの微量栄養素と組み合わせる前に、自己消化させる、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

自己消化酵母が 1.0 重量%～2.5 重量%の乾燥物を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

50

栄養的に強化された酵母を60℃～135℃の温度まで加熱する、請求項1～18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

栄養的に強化された酵母を1重量%～10重量%の水分含量まで乾燥させる、請求項1～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

酵母を噴霧乾燥あるいは凍結乾燥によって乾燥させる、請求項1～20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

発酵性の基質がエタノールを含む、請求項1～21のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項23】

酵母がトルラ酵母（トルロブシス ユーティリス（*Torulopsis utilis*）、トルラ ユーティリス（*Torula utilis*）またはカンジダ ユーティリス（*Candida utilis*））である、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

単離した酵母を、少なくとも一つのビタミンおよびキレートミネラルと組み合わせる、請求項1に記載の方法。

【請求項25】

単離した酵母を、ビタミン非存在下で、少なくとも一つのキレートミネラルと組み合わせる、請求項1に記載の方法。

20

【請求項26】

キレート剤が、ペプチドまたは部分的に加水分解したペプチドを含む、請求項1～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

一つ以上のキレートミネラルが、カルシウム、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、鉄、銅、マンガン、亜鉛、ヨウ素、コバルト、およびセレンのタンパク化合物から選択される、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

請求項1～27のいずれか一項に記載の方法によって得られる栄養的に強化された酵母の、嗜好性のエンハンサーとしての使用。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、栄養的に強化された酵母を調製する方法、栄養的に強化された酵母組成物および食品組成物に関するものである。

【背景技術】

【0002】

酵母は、食品製造業、特にペットフード製造業において、タンパク質源、栄養補助剤、食感改良剤、および香りのエンハンサーとして、しばしば利用される。さらに、酵母は内在性の遊離のグルタミン酸およびヌクレオチドを高濃度で有するために、嗜好性のエンハンサーとしてしばしば利用される。

40

【0003】

食品産業で利用される酵母種は、広範囲に渡る。近年ペットフード産業で利用される最も一般的な酵母種には、サッカロマイセス セレビシエ（*Saccharomyces cerevisiae*）（パン酵母またはビール酵母としても知られている）およびトルロブシス ユーティリス（*Torulopsis utilis*）、トルラ ユーティリス（*Torula utilis*）、またはカンジダ ユーティリス（*Candida utilis*）（トルラ酵母としても知られている）が含まれる。

【0004】

豊富なタンパク質源、グルタミン酸、およびヌクレオチドに加えて、酵母はビタミンB、カリウム、およびセレンのような微量栄養素を含んでおり、ペットの食餌の栄養補助剤

50

として利用可能である。ペットフードの製造工程を単純化し、ペットの飼い主をくじけさせ得るようなペットフードの長い原材料表示を簡素化するために、微量栄養素をそれぞれペットフードに配合するよりも、酵母を微量栄養素源としてペットフードに利用する方が好ましい。

【0005】

それゆえに、食餌に微量栄養素を補う上で効果的な手段として利用可能な、高レベルに栄養的に強化された酵母を調製する方法の提供が望まれているであろう。

【発明の概要】

【0006】

本発明者は、発酵後に酵母と微量栄養素を組み合わせると、予想外に高レベルに微量栄養素が保持されることを見出した。

10

【0007】

従って、第一の局面として、本発明は栄養的に強化された酵母を調製する方法を提供し、本方法は；

a) 酵母を、少なくとも一つの発酵性の基質と共に、発酵を達成する上で適した条件下で培養すること；

b) 発酵後に酵母を単離すること；

c) 単離した酵母を、ビタミン、ミネラル、アミノ酸、抗酸化物質から選択される少なくとも一つの微量栄養素と組み合わせ、栄養的に強化された酵母を得ること；および

d) 栄養的に強化された酵母を乾燥させること
を含む。

20

【0008】

単離した酵母を、少なくとも一つのビタミンおよび／またはミネラルと組み合わせてもよい。所望により、単離した酵母を、ミネラル非存在下で、少なくとも一つのビタミンと組み合わせる。あるいは、単離した酵母を、ビタミン非存在下で、少なくとも一つのミネラルと組み合わせてもよい。

【0009】

所望により、単離した酵母を一つ以上のキレートミネラルと組み合わせる。好ましくは、キレート剤 (chelant) はペプチドまたは部分的に加水分解したペプチドを含む。さらに好ましくは、一つ以上のキレートミネラルは、カルシウム、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、鉄、銅、マンガン、亜鉛、ヨウ素、コバルトおよびセレンのタンパク化合物から選択される。

30

【0010】

典型的には、本発明の方法において、ビタミンは、ビタミンA、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンB1 (チアミン)、ビタミンB2 (リボフラビン)、ビタミンB3 (ナイアシン)、ビタミンB5 (パントテン酸)、ビタミンB6 (ピリドキシン)、ビタミンB9 (葉酸)、ビタミンB12 (コバラミン)、およびコリンを含む。

【0011】

所望により、単離した酵母を、ビタミン、アミノ酸、および抗酸化物質から選択される少なくとも一つの微量栄養素と、3℃～45℃で、30分～48時間の間、組み合わせる。

40

【0012】

典型的には、本発明の方法において、ミネラルは、カルシウム、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、鉄、銅、マンガン、亜鉛、ヨウ素、コバルトおよびセレンを含む。所望により、ミネラルは上記で規定されるようにキレート化されている。

【0013】

典型的には、本発明の方法において、アミノ酸は、スレオニン、イソロイシン、リジン、メチオニン、シスチン、フェニルアラニン、チロシン、バリン、アルギニン、ヒスチジン、アラニンおよびアスパラギン酸を含む。

【0014】

50

典型的には、本発明の方法において、抗酸化物質は、タウリン、リポ酸、グルタチオン、N-アセチルシステイン、ビタミンE、ビタミンCおよびβカロチンを含む。

【0015】

所望により、単離した酵母を、少なくとも一つのビタミンおよび／またはミネラルと組み合わせる。さらに所望により、単離した酵母を、ビタミンB1（チアミン）および／またはビタミンCのような熱不安定なビタミンと組み合わせる。さらに所望により、単離した酵母を、鉄、亜鉛、銅、およびマンガンから選択される少なくとも一つのミネラルと組み合わせる。

【0016】

典型的には、c)のステップにおいて、単離した酵母は酵母クリームを含む。所望により、酵母クリームは15重量%から25重量%の乾燥物を含む。

10

【0017】

好ましくは、単離した酵母を、単離した酵母の固形分の総重量に対し、0.1重量%～2重量%のビタミン総量で、少なくとも一つのビタミンと組み合わせる。さらに好ましくは、単離した酵母を、単離した酵母の固形分の総重量に対し、1重量%～1.5重量%のビタミン総量で、ビタミンと組み合わせる。

【0018】

好ましくは、単離した酵母を、単離した酵母の固形分の総重量に対し、0.01重量%～2重量%のミネラル総量で、ミネラルと組み合わせる。さらに好ましくは、単離した酵母を、単離した酵母の固形分の総重量に対し、0.1重量%～1重量%のミネラル総量で、ミネラルと組み合わせる。所望により、ミネラルは上記で規定されるようにキレート化されている。

20

【0019】

典型的には、b)のステップにおいて、酵母は遠心分離で単離される。好ましくは、単離した酵母を、少なくとも一つの微量栄養素と組み合わせる前に自己消化させる。さらに好ましくは、自己消化した酵母は10～25重量%の乾燥物を含む。

【0020】

典型的には、本発明の方法において、栄養的に強化された酵母は、60℃～135℃の温度まで加熱することによって滅菌される。所望により、栄養的に強化された酵母を、水分含量1重量%～10重量%まで乾燥させる。さらに所望により、酵母は噴霧乾燥または凍結乾燥によって乾燥させる。

30

【0021】

典型的には、発酵性の基質は、エタノールを含む。所望により、酵母はトルロプシスユーティリス (*Torulopsis utilis*)、トルラユーティリス (*Torula utilis*) またはカンジダユーティリス (*Candida utilis*) である。

【0022】

第二の局面として、本発明は、本明細書で規定される方法によって得られる栄養的に強化された酵母組成物を提供する。

【0023】

第三の局面として、本発明は、本明細書で規定される方法によって得られる栄養的に強化された酵母と、少なくとも一つの食品成分とを含む、食品組成物を提供する。所望により、食品組成物は、栄養的に強化された酵母を最大2重量%の量で含む。

40

【0024】

第四の局面として、本発明は、本明細書で規定される方法によって得られる栄養的に強化された酵母の、嗜好性のエンハンサーとしての使用を提供する。

【0025】

本発明のさらなる適用の範囲は、後述される詳細な説明から明らかになるであろう。詳細な説明と具体的な実施例は、本発明の好ましい実施形態を示すものであるが、単に例示を目的とすることを意図したものであり、本発明の範囲を限定することを意図していないことは、理解されるべきである。

50

【発明を実施するための形態】

【0026】

詳細な説明

次の好ましい実施形態の記述は、あくまで単に例示するものであり、本発明、その適用、または使用を限定することを意図したものではない。

【0027】

全体を通して使用されているように、範囲は、その範囲内のありとあらゆる値を指す省略表現として使用される。その範囲内のいずれの値もその範囲の終端として選択することができる。

【0028】

さらに、本明細書に引用される全ての参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本開示の定義と、引用文献の定義とに矛盾が生じた際は、本開示が優先される。

【0029】

他に指定されない限り、本明細書の当該部分および他の部分で表されたパーセンテージおよび量は全て、重量パーセントのことを指すと理解されるべきである。所与の量は、物質の有効重量 (active weight) に基づいている。

【0030】

本明細書で用いられる場合、「食餌 (food)」という用語は、全てではないがほとんどの栄養価を動物に対して通常提供する食品 (food product) のみを指すのではなく、軽食、おやつ、および栄養補助食品のような品目もまた指してもよい。

【0031】

ある実施形態において、本発明は、栄養的に強化された酵母を調製する方法であって：
a) 酵母を、少なくとも一つの発酵性の基質と共に、発酵を達成する上で適した条件下で培養すること；

b) 発酵後に酵母を単離すること；

c) 単離した酵母を、ビタミン、ミネラル、アミノ酸、抗酸化物質から選択される少なくとも一つの微量栄養素と組み合わせ、栄養的に強化された酵母を得ること；および

d) 栄養的に強化された酵母を乾燥させること
を含む方法、を提供する。

【0032】

酵母

本発明の方法において、様々な種の酵母を使用することができる。これらの酵母には、限定されないが、サッカロマイセス (Saccharomyces)、クリベロマイセス (Kluyveromyces)、カンジダ (Candida) およびトルラスポラ (Torulaspora) が含まれる。ある実施形態において、酵母はサッカロマイセス セレビシエ (Saccharomyces cerevisiae) である。好ましい実施形態において、酵母はトルロプシス ユーティリス (Torulopsis utilis)、トルラ ユーティリス (Torula utilis) またはカンジダ ユーティリス (Candida utilis) (トルラ酵母) である。トルラ酵母は、セレン (消費者に毒性をもたらす得る) のレベルがもともと低いために、本発明の方法の有力な候補である。

【0033】

本発明の方法において、酵母は、当業者に知られているであろう標準的な方法に従い発酵させる。発酵性の基質には、デキストロース、グルコース、マルトース、フラクトース、およびスクロースが含まれる。ある実施形態において、発酵性の基質はエタノールである。エタノールは特に、トルラ酵母の発酵に適している。

【0034】

典型的には、発酵後に、酵母を単離する。「単離」とは、大部分の発酵ブロスから酵母を分離することを意味する。酵母は、好ましくは遠心分離で単離される。遠心分離物は、単離した酵母を生じさせるために、洗浄して再度遠心分離してもよい。いくつかの実施形態において、単離した酵母は約15重量%～約25重量%の固形分を有する酵母クリーム

10

20

30

40

50

である。好ましくは、酵母クリームของ固形分は約 15 重量%、16 重量%、17 重量%、または 18 重量%～約 22 重量%である。

【0035】

ある実施形態において、発酵ブロスから単離した酵母は、例えば、酵母クリームの形態で、以下に記載したように、酵母の栄養を強化するために一つ以上の微量栄養素と組み合わせる。別の実施形態において、単離した酵母から酵母エキスを調製してもよい。酵母エキスを調製する従来の方法は、食品製造業者には知られているであろう。典型的な方法は、細胞壁を除去し、細胞内物質を単離することを包含する。さらに別の実施形態において、単離した酵母を自己消化させる。酵母の自己消化は、細胞成分を分解するプロテアーゼ、ヌクレアーゼ、リパーゼ、およびグリカナーゼのような内在性の加水分解酵素が関与する、複雑かつ進みの遅い現象である。酵母エキスの調製とは異なり、自己消化において細胞壁成分は除去されない。自己消化を行う最適条件は、食品製造業者には知られているであろう。ある実施形態では、自己消化酵母の固形分（乾燥物）は 10 重量%または 15 重量%～25 重量%である。しばしば、自己消化酵母の固形分（乾燥物）は約 15 重量%、16 重量%、17 重量%または 18 重量%～約 22 重量%である。自己消化酵母エキスは、続いて、以下に記載の通り、酵母の栄養を強化するために、一つ以上の微量栄養素と組み合わせてもよい。ある実施形態において、（自己消化していない）酵母クリームと自己消化酵母との混合物を、微量栄養素によって栄養強化させる。

10

【0036】

微量栄養素

20

単離した酵母は、典型的には、ビタミン、ミネラル、アミノ酸、および抗酸化物質から選択される一つ以上の微量栄養素と組み合わせる。好ましくは、単離した酵母は、少なくとも一つのビタミンおよび／または少なくとも一つのミネラルと組み合わせる。

【0037】

ビタミンは、限定されないが、ビタミン A、ビタミン B1（チアミン）、ビタミン B2（リボフラビン）、ビタミン B3（ナイアシン）、ビタミン B5（パントテン酸）、ビタミン B6（ピリドキシン）、ビタミン B9（葉酸）、ビタミン B12（コバラミン）、ビオチン、コリン、ビタミン C、ビタミン D およびビタミン E を含む。

【0038】

いくつかの実施形態において、単離した酵母は、ビタミン B1（チアミン）および／またはビタミン C のような熱不安定なビタミンと組み合わせる。本発明者は、高レベルな栄養強化が熱不安定なビタミンとの組み合わせでも観察されることを見出している。

30

【0039】

一つ以上のビタミンは、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して、0.1 重量%～5 重量%、または 0.1 重量%～4 重量%、または 0.1 重量%～3 重量%、または 0.1 重量%～2 重量%のビタミン総重量で、単離した酵母と組み合わせてもよい。さらに好ましい実施形態において、ビタミンの総重量は、単離した酵母の固形分（乾燥重量）の総重量に対して、0.5 重量%～3 重量%、または 0.5 重量%～2 重量%、または 0.5 重量%～1 重量%、または 1 重量%～3 重量%、または 1 重量%～2 重量%である。

40

【0040】

ミネラルは、限定されないが、カルシウム、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、鉄、銅、マンガン、亜鉛、ヨウ素、コバルトおよびセレンを含む。ある実施形態において、単離した酵母は、鉄、亜鉛、銅、およびマンガンから選択される少なくとも一つのミネラルと組み合わせる。

【0041】

一つ以上のミネラルは、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して、0.1 重量%～3 重量%、または 0.1 重量%～2 重量%、または 0.1 重量%～1 重量%、または 0.1 重量%～0.5 重量%のミネラル総重量で、単離した酵母と組み合わせてもよい。

50

【0042】

好ましい実施形態において、ミネラルがキレート化されている。従って、単離した酵母を一つ以上のキレートミネラルと組み合わせてもよい。ミネラルは、一つ以上のアミノ酸、部分的に加水分解したペプチド、またはペプチドとキレート化してもよい。本発明の方法で用いてもよいキレートミネラルは、限定されないが、カルシウム、リン、カリウム、ナトリウム、塩化物、マグネシウム、鉄、銅、マンガン、亜鉛、ヨウ素およびセレンのタンパク化合物を含む。キレートミネラルは、Alltech（登録商標）（Nicholasville KY）のような複数の供給元から市販されている。いくつかの実施形態において、少なくとも二つのミネラルが、複合体構築物として同一のキレート剤にキレート化されてもよい。このようなマルチミネラルキレート剤複合体の一例としては、Bioplex（登録商標）亜鉛／銅／マンガンがある。

10

【0043】

本発明者は、通常の（キレート化されていない）ミネラルが本発明の方法で用いられる場合、ミネラルは酵母と凝集して沈殿する傾向があることを見出した。このことは、栄養強化レベルを著しく低下させる。このような凝集および沈殿はキレートミネラルでは見られず、栄養強化レベルもまたキレートミネラルに比例して増加する。

【0044】

アミノ酸は、限定されないが、アスパラギン、グルタミン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、チロシン、プロリン、バリンおよびセリンを含む。ある構成において、アミノ酸は、スレオニン、イソロイシン、リジン、メチオニン、シスチン、フェニルアラニン、チロシン、バリン、アルギニン、ヒスチジン、アラニン、およびアスパラギン酸から選択される。

20

【0045】

一つ以上のアミノ酸を、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して1重量%以下の総量で、単離した酵母と組み合わせてもよい。いくつかの実施形態において、一つ以上のアミノ酸を、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して0.1重量%～1重量%、または0.1重量%～0.5重量%、または0.1重量%～0.3重量%の総量で、単離した酵母と組み合わせる。他の実施形態において、一つ以上のアミノ酸を、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して0.3重量%～1重量%、または0.5～1重量%、または0.5重量%～0.8重量%の総量で、単離した酵母と組み合わせる。

30

【0046】

抗酸化物質は、限定されないが、タウリン、リポ酸、グルタチオン、N-アセチルシステイン、ビタミンE、ビタミンCおよびβカロチンを含む。好ましくは、抗酸化物質はタウリンである。

【0047】

一つ以上の抗酸化物質を、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して0.2%重量%以上の総量で、単離した酵母と組み合わせてもよい。ある実施形態において、一つ以上の抗酸化物質を、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して0.01重量%～0.2重量%、または0.01重量%～0.1重量%、または0.01重量%～0.05重量%の総量で、単離した酵母と組み合わせる。別の実施形態において、一つ以上の抗酸化物質を、単離した酵母の固形分（乾燥物）の総重量に対して、0.05重量%～0.2重量%、または0.05重量%～0.1重量%、または0.05重量%～0.08重量%の総量で、単離した酵母と組み合わせる。

40

【0048】

典型的には、微量栄養素を、3℃～45℃の温度で、0.5時間～48時間、単離した酵母と組み合わせる。いくつかの実施形態において、微量栄養素を、5℃～25℃、または5℃～10℃の温度で単離した酵母と組み合わせる。他の実施形態において、微量栄養素を、25℃～45℃、または10℃～20℃の温度で、単離した酵母と組み合わせる。

50

好ましくは、微量栄養素を、0.5時間、1時間、5時間、10時間、または20時間から最大30時間まで、単離した酵母と組み合わせる。ある実施形態において、微量栄養素を、10時間～20時間、単離した酵母と組み合わせる。上述した通り、単離した酵母は典型的には約15重量%～約22重量%の固形分を有している。発酵培地が単離した酵母の残りの部分を構成する。いくつかの実施形態において、微量栄養素は、単離した酵母と直接組み合わせる。従って、微量栄養素は、あらかじめ液体にすることなく、固体の状態で単離した酵母と直接組み合わせてもよい。本明細書に記載のステップc)の間、酵母と微量栄養素とは、最適な栄養強化を確実にを行うために、連続的に混合させてもよい。

【0049】

理論に縛られるものではないが、微量栄養素は、酵母細胞成分に付着するか、あるいは酵母細胞成分によってカプセル化され、その結果酵母の栄養が強化されと考えられる。

10

【0050】

発酵中に微量栄養素を発酵培地に配合すると、発酵プロセスを妨げる可能性があるために、酵母を発酵および単離した後に微量栄養素を組み合わせることは、有利である。

【0051】

滅菌

栄養的に強化された酵母を形成するために微量栄養素を単離した酵母と組み合わせた後、栄養的に強化された酵母を滅菌および／または乾燥させてもよい。滅菌および乾燥の方法は食品製造業者には知られているであろう。典型的には、栄養的に強化された酵母は60℃～135℃、または80℃～100℃、または90℃～95℃の温度まで加熱される。栄養的に強化された酵母が加熱される時間は、5秒～200秒、または5秒～120秒、または30秒～120分であってよい。

20

【0052】

栄養的に強化された酵母は、噴霧乾燥または凍結乾燥のような従来の技術によって乾燥させてもよい。典型的には、栄養的に強化された酵母は、酵母の総重量に対して、0.5重量%～10重量%、または1重量%～5重量%、または1重量%～2重量%の水分含量に乾燥させる。

【0053】

栄養的に強化された酵母の使用

本発明者は本発明の方法に従い栄養的に強化された酵母が、予想外に高レベルの微量栄養素を保持することを見出した。本明細書で用いられる「保持する」または「保持」という用語は、微量栄養素を酵母または酵母細胞成分と会合させること、あるいは組み合わせることを指す。それゆえに、本発明の方法によって得られる栄養的に強化された酵母は、食品組成物、とりわけペットフード組成物に配合する上で有用である。

30

【0054】

従って、ある構成において、本発明は、本発明の方法に従って得られる栄養的に強化された酵母を含む食品組成物を提供する。本発明の方法により高レベルな微量栄養素の保持が達成されることを考慮すると、栄養的に強化された酵母は、4重量%、3重量%、または2重量%と同程度の少ない量で、食品による適切な微量栄養素の補給を達成するために、食品組成物に配合されてもよい。従って、いくつかの実施形態において、食品組成物は、本発明の方法によって得られる栄養的に強化された酵母を、食品組成物の総重量に対して4重量%以下、3重量%以下、2重量%以下の量で含む。他の実施形態において、食品組成物は、食品組成物の総重量に対して、1重量%～3重量%、または1重量%～2重量%の量で、本発明の方法によって得られる栄養的に強化された酵母を含む

40

【0055】

本発明の食品組成物は、典型的には、栄養的に強化された酵母と少なくとも一つの食品成分とを含む。少なくとも一つの食品成分は、タンパク質（例えば、肉、肉副産物、乳製品、卵、小麦タンパク質、大豆タンパク質、およびジャガイモ濃縮物）、脂質（例えば、動物性脂肪、魚油、植物油、肉、および肉副産物）、および炭水化物（例えば、小麦、コーン、大麦、米のような穀物）から選択されてもよい。他の食品成分は、限定されないが

50

、繊維（例えばセルロース、ビートパルプ、ピーナッツの殻、および大豆繊維）、ビタミン、ミネラル、および保存料を含む。食品成分は、本明細書で規定されるいずれの食品成分であってもよい。

【0056】

いくつかの実施形態において、本発明の食品組成物は、本明細書で規定される方法によって得られる栄養的に強化された酵母と、タンパク質、脂質、および炭水化物から選択される少なくとも一つの食品成分とを含む。本発明に従い栄養的に強化された酵母が補充された食品組成物は、0.01重量%～0.2重量%のビタミンC、0.01重量%～0.2重量%のビタミンE、0.005重量%～0.05重量%のチアミン、0.005重量%～0.2重量%の亜鉛および0.002重量%～0.1重量%の鉄を含んでもよい。

10

【0057】

表1は、本発明の方法によって得られる栄養的に強化された酵母を含む食品組成物の、典型的な微量栄養素のプロファイルを示しており、これらの微量栄養素は栄養的に強化された酵母由来である。

【0058】

【表1】

表1—最大2重量%の栄養的に強化された酵母を含む食品組成物中の、微量栄養素のプロファイル。

ミネラル	単位	最小値	最大値
カルシウム	%	0.050	1.200
カリウム	%	0.050	1.200
マンガン	ppm	50	1,000
ナトリウム	%	0.050	1.2
マグネシウム	%	0.050	0.600
鉄	ppm	10	4,000
セレン	ppm	0.05	500
コバルト	ppm	0.1	1000
ヨウ素	ppm	0.1	1,000
亜鉛	ppm	50	2000
ビタミン	単位	最小値	最大値
ビタミンA	IU/Kg	1,000	500,000
ビタミンD（総量）	IU/Kg	100	4,000
ビタミンE（総量）	IU/Kg	50	3,000
ビタミンC	ppm	5.000	1000
葉酸	ppm	0.01	1000
リボフラビン	ppm	1	1000
チアミン	ppm	1	1000
ピリドキシン	ppm	1	1000
ビタミンB12	ppm	0.01	1000

20

30

40

【0059】

本発明の食品組成物は、いかなる動物による消費にも適しているであろう。好ましくは、食品組成物は非ヒト動物による消費のためであって、非ヒト動物には、限定されないが、トリ、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、マウス、ひつじ、およびブタが含まれる。

【0060】

さらに好ましくは、食品組成物はペットによる消費のためである。最も好ましくは、食品組成物はイヌまたはネコを含む、コンパニオンアニマルによる消費のためである。

50

【0061】

本発明の食品組成物は従来のプロセスを用いることで、乾燥した形態または湿った形態で調製可能である。

【0062】

本発明の方法が栄養的に強化された酵母での高レベルな微量栄養素の保持をもたらすことを考慮すると、いくつかの実施形態において、本明細書で規定される食品組成物は、追加で補充された、または他から配合された微量栄養素（例えば、ビタミンやミネラル）を有さない。「追加で補充された、または他から配合された微量栄養素」という用語は、食品組成物中の少なくとも一つの食品成分にも、栄養的に改変された酵母にも含まれない微量栄養素を指す。

10

【0063】

さらに別の構成において、本発明の方法によって得られる栄養的に強化された酵母は、食品組成物の嗜好性を高めるために用いられてもよい。従って、本発明はさらに、本明細書で規定される方法によって獲得される栄養的に強化された酵母を含む嗜好性のエンハンサー、本明細書で規定される方法によって得られる栄養的に強化された酵母の食品組成物の嗜好性を高めるための使用、および食品組成物の嗜好性を高める方法であって、本明細書で規定される方法によって得られる栄養的に強化された酵母を食品組成物に配合することを含む方法、を提供する。

【0064】

本発明は次の限定的ではない実施例によって、さらに例示される。

20

【実施例】

【0065】

実施例1—チアミン（ビタミンB1）による酵母の栄養強化

【0066】

本発明の方法に従った酵母による微量栄養素の保持を評価するために、トルラ酵母をエタノール存在下で発酵させた。発酵後に、酵母を15%～22%固形分になるまで遠心分離し、冷却して、処理タンクに入れた。酵母の一部を処理タンクで自己消化させ、残りは（自己消化されていない）酵母クリームとして処理タンク内に留めた。自己消化プロセスが完了した際、酵母クリームと単離した酵母とを混合して、単離した酵母の混合物を形成した。続いて、単離した酵母の混合物を、表2に示すように他のビタミン中に4.35重量%のチアミンを含む、4つの異なる量のビタミンブレンドと、組み合わせて、かつ混合させた。混合は、高速で、鋭利な（high sheer）攪拌機において、少なくとも30分を超えて、20℃～30℃の範囲の温度で、行った。続いて、栄養強化酵母を滅菌した。

30

【0067】

続いて、栄養強化後の酵母で保持されるチアミン量を、酵母マトリックスからのチアミンの遊離を促進させるために酸加水分解を利用し、その後チアミンを分離および定量するためにHPLC測定を行うことによって、測定した。続いて、チアミン定量値を、予想チアミン保持レベル（損失が無いと仮定）と比較した。チアミンは熱分解の影響を受けやすく、従って回収率の低下の影響をより受けやすいため、プロトタイプのビタミンとして選択した。結果は表2に示した。後述されるように、全ての計算は水分のばらつきを説明するために、乾燥物基準で行う。

40

【0068】

【表 2】

表 2—チアミンによる酵母の栄養強化

変数		基準値	A	B	C	D
処方	酵母固形分 (lb)	90.00	71.23	89.64	87.53	98.98
	M 2 2 1 7 ビタミンブレンド (lb)	0.00	6.8	7.8	7.8	9.22
	ビタミンブレンド中の チアミン塩酸塩の量 (%)	4.88				
収率の推定	予想チアミン塩酸塩 (ppm ; 乾燥物基準) *	0	4458	4038	4199	4393
	酵母の水分含量 (%)	2.89	4.61	3.25	4.92	5.35
	酵母の測定チアミン塩酸塩 (ppm ; そのまま)	5.2	4450	3890	4410	4000
	酵母の測定チアミン塩酸塩 (ppm ; 乾燥物基準) **	5.4	4665	4021	4638	4226
	チアミン塩酸塩回収率 (%) ***	—	104.6	99.6	110.4	96.2
	平均回収率 (%)	—	102.7			

* 予想チアミン保持量 (ppm ; 乾燥物基準 ; 損失が無いと仮定) は次式を用いて計算した :

【数 1】

$$\frac{\text{ビタミンブレンドの量(lb)} \times 4.88}{\text{ビタミンブレンドの量(lb)} + \text{酵母の量(lb)}} \times \frac{100}{100 - \text{酵母の水分含量}\%} \times 10000$$

**測定チアミン量 (ppm ; 乾燥物基準) は、次式を用いて計算する :

【数 2】

$$\text{酵母の測定チアミン量(そのまま) (ppm)} \times \frac{100}{100 - \text{酵母の水分含量}\%}$$

***チアミンの回収パーセンテージは、次式を用いて計算する :

【数 3】

$$\frac{\text{乾燥物基準での酵母の測定チアミン量(ppm)}}{\text{乾燥物基準での予想チアミン量(ppm)}} \times 100$$

【0 0 6 9】

表 2 から分かるように、試験したすべてのチアミン濃度において、おおよそ 1 0 0 % の微量栄養素が保持された。上述したように、「保持」は、微量栄養素と、酵母または酵母細胞成分との、会合または組み合わせに関係する。従って、1 0 0 % の保持は、栄養強化のプロセスにおいて微量栄養素の損失が無いことを示す。(本実験において、1 0 0 % を超える値は実験誤差に起因し得る)。よって、栄養強化プロセスは非常に効果的であり、他のビタミンにも適しているであろう。

【0 0 7 0】

実施例 2—ミネラルによる酵母の栄養強化

【0 0 7 1】

実施例 1 で示した方法を、表 3 で示したように、様々なミネラルにおいて繰り返した。ミネラルは、酵母と、単独であるいはビタミンプレミックスと一緒に、組み合わせた。栄養強化の間に保持されるミネラルの量は、酵母マトリックスの有機物を燃焼させることによって標的元素を灰化させ、その後誘導結合プラズマ装置（Inductively Coupled Plasma instrument）を用いて標的元素を定量することによって、測定した。

【0072】

【表 3】

表 3—ミネラルによる酵母の栄養強化

変数	サンプル 番号	サンプ ル数 (n)	Zn (ppm)			Mn (ppm)		
			Exp*	Act**	Rec** *	Exp*	Act**	Rec***
ミネラル	DOE1-7	3	11,550	5,069	43.9%	550	427	77.5%
組み合わせ (Combo)	DOE1-8	2	9,010	3,903	43.3%	450	465	103.3%
変数	サンプル 番号	サンプ ル数 (n)	Fe (ppm)			Cu (ppm)		
			Exp*	Act**	Rec** *	Exp*	Act**	Rec***
ミネラル	DOE1-7	3	11,550	1,914	16.6%	577	456	79.1%
組み合わせ (Combo)	DOE1-8	2	9,010	2,863	31.8%	430	640	148.8%

* = 予想回収量（損失が無いと仮定した場合）

** = 実際の回収量

*** = 回収率 %（保持）

【0073】

表 3 から分かるように、保持値は、試験したミネラルによって、著しく異なった。マンガンおよび銅は、栄養強化プロセスの間、各々～78%および～79%の保持値で最も効果的に保持された。しかしながら、亜鉛および鉄の保持値は、著しく低かった（各々、～44%および～17%）。さらに、栄養強化の間、ミネラルの顕著な沈殿／凝集が見られた。このことによって、低い／変動的な保持率が説明できるであろう。

【0074】

実施例 3—ビタミンおよびキレートミネラルによる栄養強化

【0075】

実施例 1 に示した方法を、チアミンおよびビタミン C（ビタミンブレンドではなく個々のビタミンとして）、および様々なキレートミネラルを用いて繰り返した。キレートミネラル（Bioplex（登録商標）亜鉛／マンガン／銅およびBioplex（登録商標）鉄）は、Alltech（登録商標）（Nicholasville KY）から購入した。栄養強化のプロセスは、ミネラル単独、ビタミン単独、およびビタミンかつミネラルの両方を用いて、行われた。ビタミンおよびミネラルの保持を、それぞれ実施例 1 および 2 に記載した通りに、定量した。

【0076】

栄養強化プロセスで用いられたビタミン／キレートミネラルの量と、予想される保持値（上述の方程式を用いて算出される）が、表 4 に記載されている。本実験の結果は、表 5 および 6 に示されている。

【0077】

【表 4】

表 4－ビタミンおよびキレートミネラルによる栄養強化

変数		2-1	2-2	2-3
栄養強化のオプション		ビタミン	ミネラル	組み合わせ (Combo)
処方	酵母固形分 (lb)	90	90	90
	アスコルビン酸 (lb)	0.77	—	0.81
	チアミン HCl・H ₂ O (lb)	0.25	—	0.26
	Bioplex ZMC 842 (lb)	—	1.69	1.72
	Bioplex 鉄15% (lb)	—	2.25	2.29
予想値	アスコルビン酸 (%)	0.85	—	0.85
	チアミン (%)	0.23	—	0.23
	Zn (ppm)	—	1440	1447
	Cu (ppm)	—	360	362
	Mn (ppm)	—	720	724
	Fe (ppm)	—	3600	3613

10

【 0 0 7 8 】

【表 5】

表 5－酵母のビタミン B 1 およびビタミン C の保持

変数	サンプル 番号	ビタミン C (%)			ビタミン B1 (%)		
		予想	実際	回収率	予想	実際	回収率
ビタミン	DOE2-1	0.85	0.354	41.65%	0.23	0.319	138.70%
組み合わせ (Combo)	DOE2-3	0.85	0.34	40.00%	0.23	0.315	136.96%

20

【 0 0 7 9 】

【表 6】

表 6－酵母のキレートミネラルの保持

変数	サンプル 番号	Zn (ppm)			Mn (ppm)		
		Exp*	Act**	Rec***	Exp*	Act**	Rec***
ミネラル	DOE2-2	1440	2164	150.3%	720	1017	141.3%
組み合わせ (Combo)	DOE2-3	1447	1404	97.0%	724	663	91.6%
変数	サンプル 番号	Fe (ppm)			Cu (ppm)		
		Exp*	Act**	Rec***	Exp*	Act**	Rec***
ミネラル	DOE2-2	3600	1317	36.6%	360	351	97.5%
組み合わせ (Combo)	DOE2-3	3613	2727	75.5%	362	252	69.6%

30

40

*＝予想回収量（損失が無いと仮定した場合）

**＝実際の回収量

***＝回収率％（保持）

【 0 0 8 0 】

表 5 から分かるように、チアミンの保持値は実施例 1 で見られた値と一致した（すなわち、100%の回収率であった）。（100%を超える値は、おそらく実験誤差に起因し

50

得るであろう。) ビタミンCの保持値は、ビタミンB1と比べて低かった(おおよそ40%)。しかしながら、ビタミンCの低い保持値は、ビタミンCによる他の栄養強化の方法でも典型的に見られる(例えば、押出成形後のビタミンCの栄養強化など)。ビタミンの保持は、ミネラルの存在に影響されず、このことは互換性の問題がないことを示している。

【0081】

表6から分かるように、キレートミネラルの保持値は、実施例2のキレート化されていない対応するミネラルの値よりも、非常に高い値である。例えば、ビタミン非存在下で、銅の保持は79.1%から97.5%に増加し、マンガンの保持は77.5%から~100%に増加し、亜鉛の保持は40%から100%に増加し、鉄の保持は~16%から~37%に増加した。亜鉛、マンガン、および銅の保持は、ビタミン存在下では、許容範囲のレベルで影響はあったが、ほとんど影響を受けなかった(表6の「組み合わせ(Combo)」)。

10

【0082】

本発明の特定の実施形態が例示および記載されているが、添付した請求項に規定される本発明の範囲から逸脱しなければ、様々な変更や改良を行ってもよいことは、当業者には明らかであろう。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 2 3 K	20/142 (2016.01)	A 2 3 K 20/142
A 2 3 K	20/105 (2016.01)	A 2 3 K 20/105
A 2 3 K	20/121 (2016.01)	A 2 3 K 20/121
A 2 3 K	20/147 (2016.01)	A 2 3 K 20/147

(74)代理人 100101454
弁理士 山田 卓二

(74)代理人 100062144
弁理士 青山 葆

(74)代理人 100106518
弁理士 松谷 道子

(74)代理人 100138911
弁理士 櫻井 陽子

(74)代理人 100165892
弁理士 坂田 啓司

(72)発明者 デニス・ジュウェル
アメリカ合衆国66049カンザス州ローレンス、イースト980ロード1752番

(72)発明者 ホンウェイ・リン
アメリカ合衆国66049カンザス州ローレンス、サマーフィールド・プレイス905番

(72)発明者 デイビッド・ゴースロー
アメリカ合衆国55350ミネソタ州ハッチンソン、アダムズ・ストリート・ノースイースト35番、オーリー・アメリカズ内

審査官 伊藤 良子

(56)参考文献 米国特許出願公開第2011/0003035 (US, A1)
米国特許第03051576 (US, A)
特表2009-537131 (JP, A)
特開2011-120502 (JP, A)
特開昭47-009738 (JP, A)
特開昭55-054891 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 2 3 K 10/00-40/35
A 2 3 L 31/00-31/15
C 1 2 N 1/00-7/08
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
PubMed