

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7632965号
(P7632965)

(45)発行日 令和7年2月19日(2025.2.19)

(24)登録日 令和7年2月10日(2025.2.10)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 P	1/00 (2006.01)	C 1 2 P	1/00 A
A 2 3 L	31/15 (2016.01)	A 2 3 L	31/15
C 1 2 P	7/62 (2022.01)	C 1 2 P	7/62
C 1 2 P	17/12 (2006.01)	C 1 2 P	17/12
A 2 3 L	27/00 (2016.01)	A 2 3 L	27/00 C
請求項の数 6 (全66頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2020-151535(P2020-151535)	(73)特許権者	715011078
(22)出願日	令和2年9月9日(2020.9.9)		アサヒグループ食品株式会社
(65)公開番号	特開2021-45122(P2021-45122A)		東京都墨田区吾妻橋一丁目2 3 番1 号
(43)公開日	令和3年3月25日(2021.3.25)	(74)代理人	100107766
審査請求日	令和5年7月26日(2023.7.26)		弁理士 伊東 忠重
(31)優先権主張番号	特願2019-167481(P2019-167481)	(74)代理人	100070150
(32)優先日	令和1年9月13日(2019.9.13)		弁理士 伊東 忠彦
(33)優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)	(74)代理人	100107515
			弁理士 廣田 浩一
		(74)代理人	100107733
			弁理士 流 良広
		(74)代理人	100115347
			弁理士 松田 奈緒子
		(72)発明者	乙志 昇
			東京都渋谷区恵比寿南二丁目4 番1 号
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ローストフレーバー付与用組成物、ロースト色付与用組成物、飲食品、又はペットフード用嗜好性向上剤の製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有するローストフレーバー付与用組成物又はロースト色付与用組成物、前記ローストフレーバー付与用組成物及び／又は前記ロースト色付与用組成物を含有する飲食品、若しくは、前記ローストフレーバー付与用組成物及び／又は前記ロースト色付与用組成物を含有するペットフード用嗜好性向上剤の製造方法であって、
酵母の細胞壁（ただし、酵母エキスを含有するものを除く）を、エキソグルカナーゼで処理する酵素処理工程と、
前記酵素処理工程で得られた酵素処理物をアルカリ性に調整するpH調整工程と、
前記pH調整工程で得られたアルカリ性の前記酵素処理物を加熱処理する加熱処理工程と、
を含み、
前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、ピラジン、メチルピラジン、2，5－ジメチルピラジン、2，6－ジメチルピラジン、2，3－ジメチルピラジン、及びフラネオールから選択される少なくとも1種類の化合物を含有することを特徴とする製造方法。

【請求項2】
前記酵素処理工程が、前記酵母の細胞壁のプロテアーゼ処理を更に含む、請求項1に記載の製造方法。

【請求項3】
前記酵素処理工程が、前記酵母の細胞壁のエキソペプチダーゼ処理を更に含む、請求項2に記載の製造方法。

【請求項 4】

前記加熱処理工程が、前記 pH 調整工程で得られたアルカリ性の前記酵素処理物を 60℃～180℃で1分間～360分間加熱処理する、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 5】

前記酵素処理物の固形分質量に対して、総遊離アミノ酸の含有率が7質量%以上であり、還元糖の含有率が1質量%以上である請求項 1 から 4 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 6】

前記酵素処理物の固形分質量に対して、総遊離アミノ酸の含有率が12質量%以上であり、還元糖の含有率が10質量%以上である請求項 1 から 5 のいずれかに記載の製造方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、酵母細胞壁由来分解物含有組成物及びその製造方法、並びに、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有するビール様香付与用組成物、ローストフレーバー付与用組成物、ロースト色付与用組成物、飲食品、及びペットフード用嗜好性向上剤に関する。

【背景技術】

【0002】

酵母菌体には、タンパク質をはじめ、ビタミン、ミネラル、核酸、グルタチオン、食物繊維などの種々の栄養成分が含まれているため、食品分野、バイオ分野、化粧品分野などの種々の分野において幅広く利用されている。

20

【0003】

酵母菌体の利用には、例えば、酵母菌体に含まれる成分を抽出した酵母エキスが利用される場合、酵母エキスを製造する際に、酵母エキスを分離した後の残渣として発生する酵母細胞壁が利用される場合などが挙げられる。これらの中でも、酵母エキスは、水に対する溶解性が高く、65質量%～70質量%程度まで高濃縮が可能であるなど加工が容易であるため、利用される場合が多い。

一方、酵母細胞壁は、水に不溶であり、熱等に対して非常に安定的な物性を有し、更に、多糖類を多く含んでいる。そのため、酵母細胞壁を含むスラリーの状態であっても、該スラリーの濃度が約15質量%以上になると粘度が大幅に増加し、高濃縮が不可能であるなど加工が困難であるため、十分に有効活用されていないのが現状である。

30

【0004】

近年、食品分野や化粧品分野では、世界的に、オーガニック、天然物（ナチュラル）、無添加などに対する要望が高まっており、これらの要望を満たす製品開発が行われている。特に、欧州連合（EU）では、C I A A（欧州食品・飲料工業連盟）の一般食品法のトレーサビリティに関するガイドラインにより、天然物（ナチュラル）であることを示す「クリーンラベル」を付すための基準が定められている（非特許文献1参照）。

【0005】

酵母エキスを利用したもので、「クリーンラベル」を付すことができるものとして、例えば、牛肉フレーバー、ローストフレーバー等のフレーバーを有する反応フレーバーが提案されている（特許文献1参照）。この反応フレーバーは、メイラード反応の生成物として得られたものである。メイラード反応は、モノマーの還元単糖とアミノ酸とを加熱して褐色物質を生み出す反応である。EUでは、グルコース等の還元単糖及びアミノ酸を外部から副原料として添加した場合、添加剤として表示しなければならない、「クリーンラベル」を付すことができないため、前記要望に対応しておらず、好ましくないという問題がある。

40

【0006】

そこで、前記提案の反応フレーバーは、酵母抽出物又は酵母自己消化物を、エンドプロテアーゼ、 α - α -トレハラーゼ、グルコアミラーゼ、エンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ等の酵素で段階的に処理し、酵母由来のアミノ酸及び還元糖を産生させた酵母由

50

来製品を得た後、これを遠心分離して不溶性成分（即ち、酵母細胞壁）を除去した酵母エキスを、所定の条件下でインキュベートして、前記酵母由来のアミノ酸と還元糖とのメイラード反応させることにより製造されている。

【0007】

前記提案の方法では、酵母細胞壁を含む酵母抽出物又は酵母自己消化物を、エンドプロテアーゼで処理した後、グルカナーゼで処理することにより、酵母細胞壁からもある程度のアミノ酸及び還元糖が生成されていることが推測される。しかしながら、酵母細胞壁は、前述の通り、可溶化率が非常に低いため、前記提案の方法では、酵母細胞壁に含まれる成分のうちの一部しか可溶化されず、酵母細胞壁に由来する大量の沈殿が発生するため、遠心分離して不溶性成分を除去することが必要であるという問題がある。

10

【0008】

このように、酵母細胞壁は、一部しか可溶化することができないため、不溶性成分の除去作業が必要であり、作業効率及び生産効率が悪いという問題があった。また、酵母細胞壁は、加工が困難である上に、モノマーの還元単糖及びアミノ酸が非常に乏しく、前記提案のような反応フレーバーを得ることができないという問題もあった。

一方、酵母細胞壁は、酵母エキスを分離した後の残渣として得られるため、可溶化等の加工特性が改善されれば、低コストで利用可能である点で有利である。

【0009】

酵母細胞壁を利用した、脂っこくてクリーミーな食感を増強又は付与することができるフレーバー組成物も提案はされている（特許文献2参照）。このフレーバー組成物は、酵母細胞壁のスラリーと、エンドグルカナーゼ（ラミナリペンタオース産生 β -1, 3-グルカナーゼ）及びエンドプロテアーゼとを接触させた後、固液分離により不溶性成分を除去し、液体画分を分離して製造されている。したがって、その可溶化率は十分満足できるものではないという問題がある。更に、この方法により、酵母細胞壁由来のアミノ酸は生成されるものの、糖としては、還元単糖は生成されず、エンドグルカナーゼの作用により非還元性多糖（グルコースの β -1, 3-グルコシド結合からなる5糖のオリゴ糖）が生成されるため、このフレーバー組成物を用いてメイラード反応物を得ることもできない。

20

【0010】

ミートフレーバー、ローストフレーバー等のフレーバーを有するメイラード反応物は、人の嗜好性の向上に寄与するだけでなく、ペットの嗜好性の向上に寄与することが知られている（特許文献3、非特許文献2など参照）。

30

【0011】

したがって、酵母細胞壁の可溶化率及び分散安定性を向上することができ、酵母細胞壁の不溶性画分の分離除去操作が不要であり、作業効率及び生産効率の高い酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法の提供、並びに、酵母細胞壁由来の原料のみで製造可能であり、ミートフレーバー、ローストフレーバー等の良好なフレーバーを有する酵母細胞壁由来分解物含有組成物の提供が強く望まれているのが現状である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

40

【文献】特許第5982696号

【文献】特表2018-531586号公報

【文献】特開2017-86079号公報

【非特許文献】

【0013】

【文献】CIAA GUIDELINES, on Regulation (EC) No. 1334/2008, on Flavourings and Certain Food Ingredients with Flavouring Properties for Use in and on Foods

【文献】ペットフード用・ペット用医薬品の最新動向、「第4章 ペットフード用の嗜好

50

性」，2013年12月16日，p. 29-35，シーエムシー出版

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

本発明は、従来における前記諸問題を解決し、以下の目的を達成することを課題とする。

即ち、本発明は、酵母細胞壁の可溶化率及び分散安定性を向上することができ、酵母細胞壁の不溶性画分の分離除去操作が不要で作業効率及び生産効率が高く、かつ低コストである酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法を提供することを目的とする。

【0015】

本発明は、可溶性及び分散安定性に優れる細胞壁由来分解物含有組成物を提供することを目的とする。

10

【0016】

本発明は、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー及び油脂感、並びに良好なロースト色を有する酵母細胞壁由来分解物含有組成物を提供することを目的とする。

【0017】

本発明は、可溶性及び分散安定性に優れ、オフフレーバーが少なく、かつ、良好なビール様香を有するビール様香付与用組成物を提供することを目的とする。

【0018】

本発明は、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー及び油脂感を有するローストフレーバー付与用組成物を提供することを目的とする。

20

【0019】

本発明は、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なロースト色を有するロースト色付与用組成物を提供することを目的とする。

【0020】

本発明は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有する飲食品を提供することを目的とする。

【0021】

本発明は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有するペットフード用嗜好性向上剤を提供することを目的とする。

30

【課題を解決するための手段】

【0022】

前記課題を解決するための手段としては、以下の通りである。即ち、

<1> 酵母の細胞壁を、エキソグルカナーゼで処理する酵素処理工程を含むことを特徴とする酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法である。

<2> 前記酵素処理工程が、酵母の細胞壁のプロテアーゼ処理を更に含む前記<1>に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法である。

<3> 前記酵素処理工程が、酵母の細胞壁のエキソペプチダーゼ処理を更に含む前記<2>に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法である。

<4> 前記酵素処理工程で得られた酵素処理物を加熱処理する加熱処理工程を更に含む前記<1>から<3>のいずれかに記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法である。

40

<5> 前記酵素処理工程で得られた酵素処理物をアルカリ性に調整するpH調整工程を更に含む、

前記加熱処理工程が、前記pH調整工程で得られたアルカリ性の酵素処理物を加熱処理する前記<4>に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法である。

<6> 酵母細胞壁由来分解物を含有する酵母細胞壁由来分解物含有組成物であって、固形分濃度10質量%の前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物100mLを、25℃、常圧下にて48時間静置した時の堆積物の体積が50mL以下であることを特徴とする酵母細胞壁由来分解物含有組成物である。

50

< 7 > 酵母細胞壁由来分解物含有組成物の固形分質量に対して、総遊離アミノ酸の含有率が7質量%以上であり、還元糖の含有率が1質量%以上である前記< 6 >に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物である。

< 8 > 酵母細胞壁由来分解物含有組成物の固形分質量に対して、総遊離アミノ酸の含有率が12質量%以上であり、還元糖の含有率が10質量%以上である前記< 6 >から< 7 >のいずれかに記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物である。

< 9 > カプロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチル、フェニルエチルアルコール、及びカプリン酸から選択される少なくとも1種類の化合物を含有する前記< 6 >から< 8 >のいずれかに記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物である。

< 10 > 酵母細胞壁由来分解物が、ビール酵母細胞壁由来分解物である前記< 9 >に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物である。 10

< 11 > 酵母細胞壁由来分解物を含有する酵母細胞壁由来分解物含有組成物であって、ピラジン、メチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン、2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン、及びフラネオールから選択される少なくとも1種類の化合物を含有することを特徴とする酵母細胞壁由来分解物含有組成物である。

< 12 > 前記< 9 >から< 10 >のいずれかに記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有することを特徴とするビール様香付与用組成物である。

< 13 > 前記< 11 >に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有することを特徴とするローストフレーバー付与用組成物である。

< 14 > 前記< 11 >に記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有することを特徴とするロースト色付与用組成物である。 20

< 15 > 前記< 6 >から< 11 >のいずれかに記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有することを特徴とする飲食品である。

< 16 > 前記< 6 >から< 11 >のいずれかに記載の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有することを特徴とするペットフード用嗜好性向上剤である。

【発明の効果】

【0023】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、酵母細胞壁の可溶化率及び分散安定性を向上することができ、酵母細胞壁の不溶性画分の分離除去操作が不要で作業効率及び生産効率が高く、かつ低コストである酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法を提供することができる。 30

【0024】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、可溶性及び分散安定性に優れる細胞壁由来分解物含有組成物を提供することができる。

【0025】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー及び油脂感、並びに良好なロースト色を有する酵母細胞壁由来分解物含有組成物を提供することができる。

【0026】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、可溶性及び分散安定性に優れ、オフフレーバーが少なく、かつ、良好なビール様香を有するビール様香付与用組成物を提供することができる。 40

【0027】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー及び油脂感を有するローストフレーバー付与用組成物を提供することができる。

【0028】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なロースト色を有するロースト色付与用組成物を提供することができる。 50

【0029】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有する飲食品を提供することができる。

【0030】

本発明によると、従来における前記諸問題を解決し、前記目的を達成することができ、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有するペットフード用嗜好性向上剤を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】図1は、試験例7-1における酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）の固相マイクロ抽出（SPME）-ガスクロマトグラフ質量分析の結果を示す図である。

10

【図2】図2は、試験例7-1における自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）の固相マイクロ抽出（SPME）-ガスクロマトグラフ質量分析の結果を示す図である。

【図3】図3は、試験例7-1における自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1M）（調製例5-1）の固相マイクロ抽出（SPME）-ガスクロマトグラフ質量分析の結果を示す図である。

【図4】図4は、図1～図3のチャートを重ねて比較した図である。破線は、酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）のチャートを示し、太実線は、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）のチャートを示し、細実線は、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1M）（調製例5-1）のチャートを示す。

20

【図5】図5は、図4を拡大した図である。

【図6】図6は、図4のピラジン類のピーク部分を拡大した図である。

【図7】図7は、図4のフラネオール類のピーク部分を拡大した図である。

【図8】図8は、試験例7-2における自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）及び自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）（調製例3-4）の固相マイクロ抽出（SPME）-ガスクロマトグラフ質量分析のチャートを重ねて比較した図である。点線は、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）のチャートを示し、太実線は、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）（調製例3-4）のチャートを示す。

30

【図9】図9は、試験例7-2における自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）及び自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）（調製例3-4）の固相マイクロ抽出（SPME）-ガスクロマトグラフ質量分析により検出されたピーク面積をグラフ化した図である。左カラム（黒塗りつぶし）は自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）の各成分のピーク面積を示し、右カラム（黒斜線）は自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）（調製例3-4）の各成分のピーク面積を示す。

【図10】図10は、試験例8における自己消化型酵母細胞壁スラリー（調製例1-1）及び自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）の不溶画分の粒度分布測定に結果を示す図である。黒色線は、自己消化型酵母細胞壁スラリー（調製例1-1）の不溶画分の粒度分布測定の結果を示し、灰色線は、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）の不溶画分の粒度分布測定の結果を示す。縦軸は頻度（%）を示し、横軸は粒径（ μm ）を示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0032】

（酵母細胞壁由来分解物含有組成物及びその製造方法）

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法は、少なくとも酵素処理工程を含み、更にpH調整工程と、加熱処理工程とを含むことが好ましく、必要に応じて更にその他の工程を含む。

本明細書において、前記酵素処理工程で得られた酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、

50

「酵素処理物」と称することがある。また、本明細書において、前記加熱処理工程で得られた酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、「加熱処理物」と称することがある。

【0033】

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、少なくとも酵母細胞壁由来分解物を含有し、固形分濃度10質量%の前記スラリー酵母細胞壁由来分解物含有組成物100mLを、25℃、常圧下にて48時間静置した時の堆積物の体積が50mL以下である。

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の製造方法により好適に製造することができる。

【0034】

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、少なくとも酵母細胞壁由来分解物を含有し、かつ、ピラジン、メチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン、2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン、及びフラネオールから選択される少なくとも1種類の化合物を含有する。

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の製造方法により好適に製造することができる。

【0035】

以下に、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法の説明と併せて、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物について説明する。

【0036】

<酵素処理工程>

前記酵素処理工程は、酵母の細胞壁（以下、「酵母細胞壁」と略記することがある）を、エキソグルカナーゼで処理する工程である。前記酵素処理工程は、前記酵母細胞壁のプロテアーゼ処理及びエキソペプチダーゼ処理の少なくともいずれかの処理を更にも含むことが好ましく、プロテアーゼ処理及びエキソペプチダーゼ処理の両方の処理を含むことがより好ましい。

前記酵素処理工程で、前記酵母細胞壁を分解することにより、可溶性に優れる酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）を得ることができる。

【0037】

ここで、本発明における可溶化率は、下記式（1）により算出される。

可溶化率（%）＝固形分質量A／固形分質量B×100・・・式（1）

前記式（1）において、「固形分質量B」は、Xgの対象試料を105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を示す。

また、前記式（1）において、「固形分質量A」は、Xgの対象試料を5,000Gにて5分間遠心分離し、得られた上清を105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を示す。

前記対象試料としては、例えば、前記酵母細胞壁、前記酵素処理物、前記加熱処理物などが挙げられる。

【0038】

<<酵母細胞壁>>

本発明において、前記酵母細胞壁は、酵母細胞（「酵母」、「酵母菌体」などと称することもある）から酵母エキスを抽出するための処理を行い、得られた酵母細胞の抽出物を分離した後に重液として得られる不溶性画分である。なお、前記抽出物を分離した後に上清として得られる可溶性画分が酵母エキスである。したがって、本発明における酵母細胞壁には、前記酵母エキスを含有している酵母細胞壁の態様のものは含まれない。

【0039】

前記酵母細胞壁の原料となる前記酵母の種類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、パン酵母、ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母、醤油酵母、トルラ酵母、バイオエタノール用酵母などが挙げられる。

【0040】

前記酵母の属としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例え

10

20

30

40

50

ば、サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属、キャンディダ (*Candida*) 属、クルイベロミセス (*Kluyveromyces*) 属などが挙げられる。これらの中でも、サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属が好ましい。

前記サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属の酵母の具体例としては、サッカロミセス セルビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) などが挙げられる。

前記酵母細胞壁は、1種の酵母から調製したものを使用してもよいし、2種以上の酵母から調製したものを併用してもよい。

【0041】

前記酵母細胞壁は、市販品を使用してもよく、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法に使用する目的で適宜培養等の公知の方法で調製したものを使用してもよい。また、廃物利用及び廃棄物の廃棄コスト低減の観点から、ビール、ウイスキー、ワイン、焼酎、清酒、味噌、醤油等の醸造産業において排出される余剰廃棄物として得られる酵母細胞壁を使用してもよい。

【0042】

前記酵母細胞壁を調製するために、前記酵母細胞から酵母エキスを抽出するための処理方法としては、特に制限はなく、公知の酵母エキスの抽出方法の中から適宜選択することができ、例えば、自己消化法、熱水抽出法、酵素分解法、アルカリ分解法、凍結融解法、物理的破碎法などが挙げられる。これらの抽出方法は、1種単独で実施してもよいし、2種以上を併用して実施してもよい。

【0043】

前記自己消化法は、具体的には、酵母菌体内に本来あるタンパク質分解酵素等を利用して酵母菌体を可溶化する方法である。

前記熱水抽出法は、具体的には、熱水中に一定時間浸漬することにより酵母菌体を可溶化する方法である。前記熱水抽出法における熱水の温度及び浸漬時間としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記酵素分解法は、具体的には、微生物や植物由来の酵素製剤を添加して酵母菌体を可溶化する方法である。前記酵素分解法において用いられる酵素製剤としては、特に制限はなく、公知の酵素製剤の中から、目的に応じて適宜選択することができる。

前記酸又はアルカリ分解法は、具体的には、酸又はアルカリを添加して酵母菌体を可溶化する方法である。

前記凍結融解法は、具体的には、凍結及び融解を少なくとも1回行うことにより酵母菌体を破碎する方法である。

前記物理的破碎法は、具体的には、物理的な刺激により酵母菌体を破碎する方法である。前記物理的破碎法において用いられる物理的刺激としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、超音波、高圧下におけるホモジェナイズ、マイクログラインダーによる磨砕、ガラスビーズ等の固形物との混合による磨砕などが挙げられる。

【0044】

これらの中でも、前記酵母細胞壁は、自己消化法により得られた酵母細胞壁（以下、「自己消化型酵母細胞壁」と称することがある）、熱水抽出法により得られた酵母細胞壁（以下、「熱水抽出型酵母細胞壁」と称することがある）、又は酵素分解法により得られた酵母細胞壁（以下、「酵素分解型酵母細胞壁」と称することがある）が好ましい。

【0045】

前記酵母細胞の抽出物から前記酵母細胞壁を分離する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、遠心分離する方法などが挙げられる。

前記遠心分離の条件としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、4, 700 G～5, 500 Gで5分間の条件が好ましく、5, 000 Gで5分間の条件がより好ましい。

【0046】

前記酵素処理工程で使用される酵母細胞壁の態様としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記酵母細胞の抽出物から分離することにより得られるスラリー（泥状）、前記スラリーを溶媒に懸濁させた懸濁液、前記スラリーを圧搾して濃縮したペースト状、前記ペースト状のものを乾燥して更に濃縮した乾燥物、前記乾燥物を粉碎した粉状などが挙げられる。

これらの中でも、前記酵母細胞壁の態様としては、圧搾や乾燥等の処理が不要であり、作業効率及び生産効率がよい点で、スラリー（泥状）又は前記スラリーを溶媒に懸濁させた懸濁液が好ましく、前記スラリーよりも粘度が低くなり、更に作業効率及び生産効率がよい点で、前記スラリーを溶媒に懸濁させた懸濁液がより好ましい。

【0047】

前記懸濁液における前記スラリーの濃度としては、特に制限はなく、前記スラリーの粘度などに応じて適宜選択することができるが、通常、前記酵母細胞壁のスラリーは、非常に粘度が高い。そのため、自己消化型酵母細胞壁では、前記懸濁液中の前記スラリーの濃度を15体積%～16体積%程度とすることが限度である場合が多く、熱水抽出型酵母細胞壁では、前記懸濁液中の前記スラリーの濃度を15体積%～20体積%程度とすることが限度である場合が多い。

【0048】

前記酵母細胞壁中のタンパク質含有率としては、特に制限はなく、前記酵母細胞壁を調製するための前記酵母エキスの抽出方法などに応じて適宜選択することができる。

前記自己消化型酵母細胞壁中のタンパク質含有率は、一般的に、20質量%～30質量%程度である。

前記熱水抽出型酵母細胞壁中のタンパク質含有率は、一般的に、45質量%～55質量%程度である。

前記酵素分解型酵母細胞壁中のタンパク質含有率は、使用する酵素の種類などに応じて変動するが、前記自己消化型酵母細胞壁中のタンパク質含有率に近い場合が多い。

前記酵母細胞壁中のタンパク質含有率は、前記酵母細胞壁の固形分質量に対する含有率であり、燃焼法（改良デュマ法）により測定することができる。

【0049】

本発明における前記酵母細胞壁の固形分質量は、前記酵母細胞壁を105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を示す。

【0050】

前記酵母細胞壁中の糖質含有率としては、特に制限はなく、前記酵母細胞壁を調製するための前記酵母エキスの抽出方法などに応じて適宜選択することができる。

前記自己消化型酵母細胞壁中の糖質含有率は、一般的に、45質量%以上である場合が多く、その上限値は、65質量%程度である。

前記熱水抽出型酵母細胞壁中の糖質含有率は、一般的に、50質量%以下である場合が多く、その下限値は、20質量%程度である。

前記酵素分解型酵母細胞壁中の糖質含有率は、使用する酵素の種類などに応じて変動するが、前記自己消化型酵母細胞壁中の糖質含有率に近い場合が多い。

前記酵母細胞壁中の糖質含有率は、前記酵母細胞壁の固形分質量に対する含有率であり、下記式（2）により算出することができる。

$$\text{酵母細胞壁中の糖質含有率} = 100 - (A + B + C + D) \quad \cdots \text{式(2)}$$

前記式（2）において、「A」は、前記燃焼法（改良デュマ法）により測定された酵母細胞壁中のタンパク質含有率を示す。「B」は、常圧加熱乾燥法により測定された酵母細胞壁中の水分含有率を示す。「C」は、酸分解法により測定された酵母細胞壁中の脂質含有率を示す。「D」は、直接灰化法により測定された酵母細胞壁中の灰分含有率を示す。

【0051】

<<エキソグルカナーゼ>>

エキソグルカナーゼは、前記酵母細胞壁中のセルロース鎖の末端を切断するエキソ型酵素である。エキソグルカナーゼとしては、特に制限はなく、適宜選択することができるが

10

20

30

40

50

、食品用途に使用できるもの又は食品用途に使用できるグレードであることが好ましい。

エキソグルカナーゼの種類としては、特に制限はなく、適宜選択することができるが、エキソー１，３-β-グルカナーゼ、エキソー１，４-β-グルカナーゼ、及びエキソー１，６-β-グルカナーゼの少なくともいずれかを含むグルカナーゼが好ましい。

【００５２】

エキソグルカナーゼの由来としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、タラロミセス (*Talaromyces*) 属由来；ラサムソニア エメルソニイ (*Rasamsonia emersonii*) 等のラサムソニア (*Rasamsonia*) 属由来；ジスポロトリカム ジモホスポラム (*Disporotrichum dimorphosporum*) 等のジスポロトリカム (*Disporotrichum*) 由来；ストレプトマイセス バイオラセオルバー (*Streptomyces violaceoruber*) 等のストレプトマイセス属由来；*Trichoderma longibrachiatum*、*Trichoderma ressei*等のトリコデルマ (*Trichoderma*) 属由来であることが好ましく、ラサムソニア エメルソニイ (*Rasamsonia emersonii*)、ジスポロトリカム ジモホスポラム (*Disporotrichum dimorphosporum*)、タラロミセス (*Talaromyces*) 属由来のエキソグルカナーゼがより好ましく、タラロミセス (*Talaromyces*) 属由来であることが特に好ましい。これらは、１種単独で使用してもよく、２種以上を併用してもよい。

【００５３】

エキソグルカナーゼは、市販品を使用してもよく、エキソグルカナーゼを有する細菌等から公知の方法で適宜調製したものを使用してもよい。

エキソグルカナーゼの市販品としては、例えば、FILTRASE（登録商標）BRX（DSMジャパン株式会社製）、FILTRASE（登録商標）BR-XL（DSMジャパン株式会社製）、デナチームGELL-L1/R（ナガセケムテックス株式会社製）、スミチームTG（新日本化学工業株式会社製）などが挙げられる。FILTRASE（登録商標）BRX（DSMジャパン株式会社製）、FILTRASE（登録商標）BR-XL（DSMジャパン株式会社製）、及びデナチームGELL-L1/R（ナガセケムテックス株式会社製）は、純粋なグルカナーゼ活性のみを含む市販品の例であり、スミチームTG（新日本化学工業株式会社製）は、プロテアーゼ活性等の複合活性を含む市販品の例である。

【００５４】

なお、一般的に、エキソグルカナーゼの市販品においては、エンドグルカナーゼも含まれていることが多いが、前記酵素処理工程では、エキソグルカナーゼの他にエンドグルカナーゼを含む市販品を使用してもよい。

エンドグルカナーゼは、前記酵母細胞壁中のセルロース鎖の内部をランダム切断するエンド型酵素である。

エンドグルカナーゼの種類としては、特に制限はなく、適宜選択することができるが、例えば、エンドー１，３-β-グルカナーゼ、エンドー１，４-β-グルカナーゼ、エンドー１，６-β-グルカナーゼなどが挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよく、２種以上を併用してもよい。

エンドグルカナーゼの由来としては、特に制限はなく、前記エキソグルカナーゼと同様のものなどが挙げられる。

【００５５】

前記酵母細胞壁に対するエキソグルカナーゼの添加量の下限值としては、０質量％ではない限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、０．０５質量％以上が好ましく、０．１質量％以上がより好ましく、０．５質量％以上が特に好ましい。

前記酵母細胞壁に対に対するエキソグルカナーゼの添加量の上限值としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁の固形分質量に対し

て、5質量%以下が好ましく、2質量%以下がより好ましく、1質量%以下が特に好ましい。

前記酵母細胞壁に対するエキソグルカナーゼの添加量の下限值と上限値とは、適宜組み合わせることができるが、前記酵母細胞壁に対するエキソグルカナーゼの添加量としては、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、0.05質量%～5質量%が好ましく、0.1質量%～2質量%がより好ましく、0.5質量%～1質量%が特に好ましい。

【0056】

前記酵母細胞壁が、エキソグルカナーゼで処理されることにより、前記酵母細胞壁が分解された酵素処理物は、可溶化率が向上する点で有利である。

また、前記酵母細胞壁がエキソグルカナーゼで処理されることにより、前記酵母細胞壁由来の還元単糖を多量に生成することができる点でも有利である。前記酵母細胞壁由来の還元単糖は、例えば、後述する加熱処理工程において、好ましくはメイラード反応の過程で機能することができる。

【0057】

前記還元単糖としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、リボース、キシロース、グルコース、マンノース、フルクトース、ガラクトース、アラビノース、ラムノースなどが挙げられる。これらの中でも、グルコースは酵母細胞壁中の糖から生成することができる酵母内在の単糖である。このため、前記酵素処理物に後から糖を添加する必要がない点で好ましい。このような酵素処理物を使用して製造した食品であれば、EUにおいてクリーンラベル及びナチュラルの製品表示が可能となるという利点も有する。

【0058】

<<プロテアーゼ>>

プロテアーゼは、前記酵母細胞壁中のタンパク質又はポリペプチド鎖におけるペプチド結合に作用し、加水分解する酵素である。プロテアーゼとしては、特に制限はなく、適宜選択することができるが、食品用途に使用できるもの又は食品用途に使用できるグレードであることが好ましい。

プロテアーゼの種類としては、特に制限はなく、適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁中のタンパク質又はポリペプチド鎖の内部をランダム切断するエンド型プロテアーゼが好ましい。

【0059】

プロテアーゼの由来としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、バチルス (*Bacillus*) 属由来であることが好ましい。

【0060】

プロテアーゼは、市販品を使用してもよく、プロテアーゼを有する細菌等から公知の方法で適宜調製したものを使用してもよい。

プロテアーゼの市販品としては、例えば、Alcalase（登録商標） 2.4 LFG（ノボザイムズジャパン株式会社製）などが挙げられる。

【0061】

前記酵母細胞壁に対するプロテアーゼの添加量の下限值としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、0.05質量%以上が好ましく、0.1質量%以上がより好ましく、0.2質量%以上が特に好ましい。

前記酵母細胞壁に対するプロテアーゼの添加量の上限値としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、5質量%以下が好ましく、2質量%以下がより好ましく、1質量%以下が特に好ましい。

前記酵母細胞壁に対するプロテアーゼの添加量の下限值と上限値とは、適宜組み合わせることができるが、前記酵母細胞壁に対するプロテアーゼの添加量としては、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、0.05質量%～5質量%が好ましく、0.1質量%～2質量%がより好ましく、0.2質量%～1質量%が特に好ましい。

【0062】

プロテアーゼの前記酵母細胞壁への添加時期としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、エキソグルカナーゼと同時期に作用させるように添加してもよく、エキソグルカナーゼとは別時期に作用させるように添加してもよい。

プロテアーゼを、エキソグルカナーゼと同時期に作用させるように添加する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、同時に添加する方法などが挙げられる。

プロテアーゼを、エキソグルカナーゼとは別時期に作用させるように添加する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、エキソグルカナーゼを作用させた後に、プロテアーゼを作用させることが好ましく、例えば、エキソグルカナーゼを添加した後に、プロテアーゼを添加する方法などが挙げられる。

10

前記酵母細胞壁が、エキソグルカナーゼ及びプロテアーゼで同時に処理されることにより、時間効率が向上する点で有利である。

【0063】

<<エキソペプチダーゼ>>

エキソペプチダーゼは、前記酵母細胞壁中のタンパク質又はポリペプチド鎖の末端付近におけるペプチド結合に作用し、加水分解する酵素である。したがって、前記酵母細胞壁がエキソペプチダーゼで処理されることにより、前記酵母細胞壁由来のアミノ酸を多量に生成することができる。

したがって、エキソペプチダーゼは、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法が、後述する加熱処理工程を含む場合に使用することが好ましい。

20

【0064】

エキソペプチダーゼとしては、特に制限はなく、適宜選択することができるが、食品用途に使用できるもの又は食品用途に使用できるグレードであることが好ましい。

【0065】

エキソペプチダーゼの由来としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、Aspergillus 属由来であることが好ましい。

【0066】

エキソペプチダーゼは、市販品を使用してもよく、エキソペプチダーゼを有する細菌等から公知の方法で適宜調製したものを使用してもよい。

30

エキソペプチダーゼの市販品としては、例えば、Flavourzyme（登録商標）1000L（ノボザイムズジャパン株式会社製）などが挙げられる。

【0067】

前記酵母細胞壁に対するエキソペプチダーゼの添加量の下限值としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、0.05質量%以上が好ましく、0.1質量%以上がより好ましく、0.2質量%以上が特に好ましい。

前記酵母細胞壁に対するエキソペプチダーゼの添加量の上限值としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、5質量%以下が好ましく、2質量%以下がより好ましく、1質量%以下が特に好ましい。

40

前記酵母細胞壁に対するエキソペプチダーゼの添加量の下限值と上限値とは、適宜組み合わせることができるが、前記酵母細胞壁に対するエキソペプチダーゼの添加量としては、前記酵母細胞壁の固形分質量に対して、0.05質量%～5質量%が好ましく、0.1質量%～2質量%がより好ましく、0.2質量%～1質量%が特に好ましい。

【0068】

前記酵素処理工程において、エキソペプチダーゼの前記酵母細胞壁への添加時期としては、特に制限はないが、プロテアーゼと同時期又はプロテアーゼより後に添加することが好ましい。

プロテアーゼ処理後に、エキソペプチダーゼ処理することが、前記酵母細胞壁由来のアミノ酸の産生効率が良好となる点、及び作業効率が良好となる点で好ましい。

50

【0069】

前記酵母細胞壁がエキソペプチダーゼで処理されることにより生成される前記酵母細胞壁由来の遊離若しくは低分子化した糖やアミノ酸は、微生物の栄養源として培地に使用することができ、また調味料用途としても使用することもできる。更には、後述する加熱処理工程において、好ましくはメイラード反応の過程で機能することができる。工業的かつ効率的にメイラード反応を起こすためには、還元単糖及びアミノ酸がいずれもモノマーであることが好ましい。したがって、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法が、前記加熱処理工程を含む場合は、外部から副原料としてアミノ酸及びグルコース等の還元単糖を添加することなく、酵素分解により生成した前記酵母細胞壁由来アミノ酸及び酵素分解により生成した前記酵母細胞壁由来還元単糖のみでメイラード反応を起こすことができる点、また良好なローストフレーバー及びロースト色を有する前記酵母細胞壁由来の加熱処理物を得ることができる点で有利である。特にEUにおいては、クリーンラベル及びナチュラルの製品表示を付すことができる点で有利である。

10

ただし、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法では、目的に応じて適宜アミノ酸及び還元糖の少なくともいずれかを外部から添加してメイラード反応を起こしてもよい。

【0070】

前記アミノ酸としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、セリン、トレオニン、アスパラギン酸、グルタミン、アラニン、グリシン、バリン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、メチオニン、システイン、プロリン等の遊離アミノ酸；グルタチオン等の一部のペプチドやトリペプチドなどが挙げられる。

20

【0071】

前記酵素処理工程のpHとしては、特に制限はなく、各酵素の至適pHなどに応じて、適宜選択することができる。

前記酵素処理工程において、エキソグルカナーゼと、プロテアーゼとを同時期に作用させるように添加する場合のpHとしては、4～9が好ましく、5～7がより好ましい。

また、前記酵素処理工程において、エキソグルカナーゼと、プロテアーゼと、エキソペプチダーゼとを同時期に作用させるように添加する場合のpHとしては、4～9が好ましく、5～7がより好ましい。

30

【0072】

前記酵素処理工程の温度としては、特に制限はなく、各酵素の至適温度などに応じて、適宜選択することができる。

前記酵素処理工程において、エキソグルカナーゼと、プロテアーゼとを同時期に作用させるように添加する場合の温度としては、30℃～70℃が好ましく、40℃～60℃がより好ましい。

また、前記酵素処理工程において、エキソグルカナーゼと、プロテアーゼと、エキソペプチダーゼとを同時期に作用させるように添加する場合の温度としては、30℃～70℃が好ましく、40℃～60℃がより好ましい。

【0073】

前記酵素処理工程の時間としては、特に制限はなく、分解度、目的、各酵素の添加量などに応じて、適宜選択することができる。

前記酵素処理工程において、エキソグルカナーゼと、プロテアーゼとを同時期に作用させるように添加する場合の時間としては、1時間～40時間が好ましく、12時間～30時間がより好ましい。

また、前記酵素処理工程において、エキソグルカナーゼと、プロテアーゼと、エキソペプチダーゼとを同時期に作用させるように添加する場合の時間としては、1時間～40時間が好ましく、12時間～30時間がより好ましい。

40

【0074】

前記酵素処理工程は、静置して行ってもよく、攪拌して行ってもよいが、攪拌して行う

50

ことが、各酵素による前記酵母細胞壁の分解効率がよい点で好ましい。

前記攪拌する際の速度としては、前記酵母細胞壁と、前記各酵素とが反応することができる限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0075】

－酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）－

前記酵素処理工程により得られた前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、酵母細胞壁のスラリーと比較して大幅に粘度が低下したものである。前記酵母細胞壁のスラリーは、酵母細胞壁中の増粘多糖類であるグルカンが多く含むため、非常に粘度が高いものである。しかしながら、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、前記酵素処理工程における酵素処理により、酵母細胞壁中のグルカンの大半が分解されて消失し、可溶化及びモノマー化されるため、粘度が低くなる。したがって、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、溶剤に可溶化することや、濃縮することが可能となるため、加工適性、流動性、及びハンドリング性が大幅に向上する点で有利である。

10

更に、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、酵母細胞壁のスラリーと比較して分散安定性も大幅に向上したものである。

【0076】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、固形分濃度10質量%の前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物100mLを、25℃、常圧下にて48時間静置した時の堆積物の体積が50mL以下であるが、40mL以下が好ましく、30mL以下がより好ましく、20mL以下が更に好ましく、15mL以下が特に好ましい。前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の堆積物の体積が50mL以下であると、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の大半は可溶化しているが、不溶画分の分散安定性が良好である。

20

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の堆積物の体積は、例えば、メスシリンダーで測定することができる。

なお、本発明において、常圧とは、特別に減圧も加圧もしないときの圧力を意味し、通常、大気圧に等しい圧力（101.325kPa）を意味する。

【0077】

ここで、本発明における固形分濃度は、下記式（3）により算出される。

30

固形分濃度（%）＝固形分質量／酵素処理物の質量×100・・・式（3）

前記式（3）において、「固形分質量」は、Xgの酵素処理物を105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を示す。

また、前記式（3）において、「酵素処理物の質量」は、Xgの酵素処理物の質量の質量を示す。

【0078】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の粒度分布（d10）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、4μm以下が好ましく、3μm以下がより好ましく、2μm以下が特に好ましい。

40

【0079】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の粒度分布（d50）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、7μm以下が好ましく、5μm以下がより好ましく、3μm以下が特に好ましい。

【0080】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の粒度分布（d90）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、15μm以下が好ましく、10μm以下がより好ましく、5μm以下が更に好ましく、4μm以下が特に好ましい。

50

【0081】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の体積平均粒径（MV）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、9 μm以下が好ましく、7 μm以下がより好ましく、5 μm以下が更に好ましく、3 μm以下が特に好ましい。

【0082】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の数平均粒径（MN）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、5 μm以下が好ましく、4 μm以下がより好ましく、3 μm以下が更に好ましく、2.5 μm以下が特に好ましい。

10

【0083】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の面積平均粒径（MA）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、7 μm以下が好ましく、5 μm以下がより好ましく、3 μm以下が更に好ましく、2.5 μm以下が特に好ましい。

【0084】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の標準偏差（SD）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性の点で、4 μm以下が好ましく、3 μm以下がより好ましく、2 μm以下が更に好ましく、1 μm以下が特に好ましい。

20

なお、前記標準偏差（SD）は、粒径分布の分布幅の目安を示す。

【0085】

本発明における前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の不溶画分の粒度分布（d10、d50、及びd90）、体積平均粒径（MV）、数平均粒径（MN）、面積平均粒径（MA）、及び標準偏差（SD）は、マイクロトラック粒度分布計（MT3300EX、日機装株式会社製）で測定した値を示す。

【0086】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、カプロン酸エチル（Hexanoic acid, ethyl ester）、カプリル酸エチル（Octanoic acid, ethyl ester）、カプリン酸エチル（Decanoic acid, ethyl ester）、フェニルエチルアルコール（Phenylethyl Alcohol）、及びカプリン酸（n-Decanoic acid）から選択される少なくとも1種類の化合物を含有することが好ましい。これらの化合物は、ビール様香に関する成分であり、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）が、ビール酵母の酵母細胞壁由来分解物含有組成物である場合に好適に含有される。

30

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物中の前記化合物は、固相マイクロ抽出（SPME）ーガスクロマトグラフ質量分析法により、実施例（試験例7-1又は試験例7-2）に記載の測定条件で測定することができる。

【0087】

前記酵素処理工程により得られた前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）は、前記酵素処理工程におけるエキソペプチダーゼの使用の有無により、大きく2態様に分けることができる。

40

【0088】

前記酵素処理物の第1の態様としては、前記酵素処理工程において、前記酵母細胞壁を、エキソグルカナーゼ、更に必要に応じてプロテアーゼで処理して得られた酵素処理物（以下、酵素処理物（1）と称することがある）である。したがって、前記酵素処理物（1）は、酵母細胞壁由来分解物と、エキソグルカナーゼとを少なくとも含み、更に必要に応じてプロテアーゼを含む。

前記酵素処理物（1）は、前記酵母細胞壁と比較して、可溶化率及び分散安定性が大幅に向上したものである。また、前記酵素処理物（1）は、更に前記酵母細胞壁由来の前記

50

酵母細胞壁由来の還元単糖（グルコース）を多量に含むものである。

【0089】

前記酵素処理物（1）における前記酵母細胞壁由来分解物は、前記酵母細胞壁が、エキソグルカナーゼ、更に必要に応じてプロテアーゼで分解されてなるものである。

前記酵素処理物（1）における前記酵母細胞壁由来分解物の含有量としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程で使用される前記酵母細胞壁の量などに応じて、適宜選択することができる。

【0090】

前記酵素処理物（1）における前記酵母細胞壁由来のグルコースの含有率としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程の条件などに応じて適宜選択することができるが、前記酵素処理物（1）の固形分質量に対して、1質量%以上が好ましく、10質量%以上がより好ましく、20質量%以上が更に好ましい。前記グルコースの含有率が、1質量%以上であると、可溶化率が高くなり、前記加熱処理工程でメイラード反応を起こしやすくなる。なお、前記酵素処理物（1）における前記酵母細胞壁由来のグルコースの含有率の上限値としては、特に制限はなく、原料となる酵母細胞壁が含有するグルカンの含有量、酵素による分解度などに応じて適宜選択することができ、通常35質量%以下である。

【0091】

本発明における前記酵素処理物の固形分質量は、前記酵素処理物を105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を示す。

また、本発明において、前記酵素処理物におけるグルコースの含有率は、多機能バイオセンサ（BF-7D、王子計測機器株式会社製）を用いて酵素触媒反応及び過酸化水素電極検出法により測定した値である。具体的には、多機能バイオセンサにおいて、グルコース電極及びシュークロース電極を使用し、30℃にて、専用緩衝溶液を用いて測定することができる。

【0092】

前記酵素処理物（1）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有率としては、特に制限はないが、前記酵母細胞壁におけるアミノ酸の含有率と同等である場合が多く、具体的には、前記酵素処理物（1）の固形分質量に対して、5質量%～8質量%程度であり、酵素処理の方法によっては、例えば、5質量%～13質量%である。

【0093】

なお、本発明において、前記酵素処理物における総遊離アミノ酸の含有率は、前記酵素処理物中のアミノ酸を、AccQ-Tag Ultra Derivatization kit（Waters社製）を製品プロトコールに従って誘導体化し、超高速高分離液体クロマトグラフ法により、実施例（試験例5）に記載の測定条件で測定することができる。

【0094】

前記酵素処理物（1）におけるエキソグルカナーゼの含有量及びプロテアーゼの含有量としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程で使用されるエキソグルカナーゼの量及びプロテアーゼの量などに応じて、適宜選択することができる。

【0095】

前記酵素処理物の第2の態様としては、前記酵素処理工程において、前記酵母細胞壁を、エキソグルカナーゼ及びエキソペプチダーゼ、更に必要に応じてプロテアーゼで処理して得られた酵素処理物（以下、酵素処理物（2）と称することがある）である。したがって、前記酵素処理物（2）は、酵母細胞壁由来分解物と、エキソグルカナーゼと、エキソペプチダーゼとを少なくとも含み、更に必要に応じてプロテアーゼを含む。

前記酵素処理物（2）は、前記酵素処理物（1）と同様に、前記酵母細胞壁と比較して、可溶化率及び分散安定性が向上したものである。また、前記酵素処理物（2）は、更に前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸及び前記酵母細胞壁由来の還元単糖を多量に含むものである。したがって、前記酵素処理物（2）は、前記加熱処理工程の加熱処理対象（原料）として好適に使用される。

【0096】

前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来分解物は、前記酵母細胞壁が、エキソグルカナーゼ及びエキソペプチダーゼ、更に必要に応じてプロテアーゼで分解されてなるものである。

前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来分解物の含有量としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程で使用される前記酵母細胞壁の量などに応じて適宜選択することができる。

【００９７】

前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来のグルコースの含有量としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程の条件などに応じて適宜選択することができるが、前記酵素処理物（２）の固形分質量に対して、１質量％以上が好ましく、１０質量％以上がより好ましく、２０質量％以上が更に好ましい。前記グルコースの含有率が、１質量％以上であると、可溶化率が高くなり、前記加熱処理工程でメイラード反応を起こしやすくなる。なお、前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来のグルコースの含有率の上限値としては、特に制限はなく、原料となる酵母細胞壁が含有するグルカンの含有量、酵素による分解度などに応じて適宜選択することができ、通常３５質量％以下である。

【００９８】

前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有率としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程の条件などに応じて適宜選択することができるが、前記酵素処理物（２）の固形分質量に対して、７質量％以上であることが好ましく、１０質量％以上がより好ましく、１２質量％以上であることが更に好ましい。前記総遊離アミノ酸の含有率が７質量％以上であると、前記加熱処理工程でメイラード反応を効率的に起こすことができる。なお、前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有率の上限値としては、特に制限はなく、原料となる酵母細胞壁が含有するタンパク質の含有率などに応じて適宜選択することができる。通常、原料となる酵母細胞壁が含有するタンパク質の含有率は６０質量％以下であり、アミノ酸分解高率は糖ほど高くないため、前記酵素処理物（２）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有率は３０質量％程度が上限である。

また、総遊離アミノ酸の含有率が、前記酵素処理物の固形分質量に対して、１２質量％以上であり、かつ還元糖の含有率が１０質量％以上であると、前記酵素処理物を原料として使用できる対象が広がる点で好ましい。

【００９９】

前記酵素処理物（２）におけるエキソグルカナーゼの含有量、プロテアーゼの含有量、及びエキソペプチダーゼの含有量としては、特に制限はなく、前記酵素処理工程で使用されるエキソグルカナーゼの量、プロテアーゼの量、及びエキソペプチダーゼの量などに応じて、適宜選択することができる。

【０１００】

前記酵素処理物（１）及び前記酵素処理物（２）の可溶化率としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記式（１）により算出される可溶化率が、６０％以上が好ましく、８０％以上がより好ましい。前記酵母細胞壁の前記式（１）により算出される可溶化率は、一般的に、１８％～２７％又はそれ以下程度であるため、前記酵素処理物（１）及び前記酵素処理物（２）は、前記酵母細胞壁と比較して、可溶化率が非常に向上したものである点で有利である。

【０１０１】

前記酵素処理物（１）及び前記酵素処理物（２）は、必要に応じて、更にその他の成分含んでいてもよい。

前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、溶媒、ｐＨ調整剤、塩等の防微剤、糖類、還元単糖類、チアミン、アスコルビン酸（ビタミン類）、アミノ酸、ペプチド、酸、アルカリ、乳化剤、その他食品添加物、含硫化合物などが挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよく、２種以上を併用してもよい。

前記酵素処理物における前記その他の成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて、適宜選択することができる。

【0102】

前記酵素処理物の態様としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、前記酵素処理工程で得られた液状、前記液状の酵素処理物を溶媒に懸濁させた懸濁液、前記液状の酵素処理物を圧搾して濃縮したペースト状、前記ペースト状のものを乾燥して更に濃縮した乾燥物、前記乾燥物を粉碎した粉状などが挙げられる。

【0103】

前記酵素処理物の用途としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。前記酵素処理物は、可溶化率及び分散安定性が高いため、一般的な酵母エキスの用途と同様に、食品分野、バイオ分野、化粧品分野などの種々の分野において幅広く用いることができる。具体的には、飲食品類、アルコール類、ペットフード用原料（特にペットフード用嗜好性向上剤）、培地などに好適に利用可能である。

【0104】

< pH調整工程 >

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法が後述する加熱処理工程を含む場合は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法は、pH調整工程を含むことが好ましい。

前記pH調整工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物を目的に合わせたpHに調整する工程である。

なお、前記pH調整工程において、pH調整の対象となる酵素処理物としては、前記酵母細胞壁を、エキソグルカナーゼ及びエキソペプチダーゼ、更に必要に応じてプロテアーゼで処理して得られた前記酵素処理物（2）である。

【0105】

前記pH調整工程を行う時期としては、前記酵素処理工程後、前記加熱処理工程前であれば、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記加熱処理工程の前に前記pH調整工程が行われることにより、前記酵母細胞壁の可溶化率及び分散安定性が更に向上する点で有利である。

また、前記加熱処理工程の前に前記pH調整工程が行われることにより、後の加熱処理工程における総遊離アミノ酸の消費（メイラード反応）が更に増加するため、更に良好なローストフレーバー、油脂感、及びロースト色の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を得ることができる点においても有利である。

【0106】

前記酵素処理物のpHを調整する方法としては、特に制限はなく、公知の方法の中から目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記酵素処理物にpH調整剤を添加する方法などが挙げられる。

【0107】

前記pH調整剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム等のアルカリなどが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。

【0108】

前記pH調整工程における前記酵素処理物のpHとして好ましくは、8以上10以下である。このようなpHの範囲であれば、後のローストフレーバーを得たりや着色したりすることを目的とする加熱処理工程においてメイラード反応の効率が向上する点で好ましい。

【0109】

< 加熱処理工程 >

良好なローストフレーバー及び油脂感、並びに良好なロースト色を有する酵母細胞壁由来分解物含有組成物を得ることを目的とする場合は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法は、加熱処理工程を含むことが好ましい。

前記加熱処理工程は、前記酵素処理工程で得られた前記酵素処理物を加熱処理する工程である。前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法が前記pH調整工程を含む場合は、前記加熱処理工程は、前記pH調整工程で得られたアルカリ性の酵素処理物を加熱処理する工程である。

なお、前記加熱処理工程における加熱処理対象としては、前記酵母細胞壁を、エキソグルカナーゼ及びエキソペプチダーゼ、更に必要に応じてプロテアーゼで処理して得られた前記酵素処理物（２）である。

【０１１０】

前記加熱処理工程により、前記酵素処理物（２）における、酵素分解により生成した前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸及び酵素分解により生成した前記酵母細胞壁由来の還元単糖が、メイラード反応を起こすことで、良好なローストフレーバー及びロースト色の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）を得ることができる。

10

なお、前記酵素処理工程で使用されたエキソグルカナーゼ、プロテアーゼ、及びエキソペプチダーゼは、前記加熱処理工程により失活される。したがって、これらの酵素を失活させる目的で、前記酵素処理物（１）を前記加熱処理工程における加熱処理対象として使用してもよい。また、前記加熱処理工程における加熱処理対象としては、後述する酵素失活工程を行ったものを用いてもよい。

【０１１１】

前記加熱処理工程において、メイラード反応を起こすためには、還元単糖及びアミノ酸が、いずれもモノマーであることが必要である。一般的に、メイラード反応において、アミノ酸の量と比べて還元単糖の量が多い場合は、よりローストフレーバーやロースト色の強度を得やすい点で有利である。また、還元単糖と比べてアミノ酸の量が多い場合は、ミートフレーバーや味の点で有利である。

20

前記加熱処理工程における、前記酵素処理物（２）中の前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸及び前記酵母細胞壁由来の還元単糖（グルコース）の好ましい含有量は、前記「－酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）－」の項目に記載した通りである。

【０１１２】

前記加熱処理工程におけるpHとしては、特に制限はなく、目的に応じて、適宜選択することができるが、メイラード反応を起こすことができるpHであることが好ましい。

前記メイラード反応を起こすことができるpHとしては、４～１２が好ましく、８～１０がより好ましい。前記加熱処理工程におけるpHが、４以上であると、メイラード反応の速度が速くなり、１２以下であると、オフフレーバーが発生しにくく、良好なローストフレーバー及びロースト色の加熱処理物が得られる。一方、前記加熱処理工程におけるpHが、４未満であると、メイラード反応の速度が遅くなることがあり、１２を超えると、オフフレーバーが発生することがあり、良好なローストフレーバー及びロースト色の加熱処理物が得られないことがある。なお、ＥＵにおいては、クリーンラベル及びナチュラルの製品表示を付すことができる点及びＥＵにおけるその他のレギュレーションの点から、pH８以下が好ましい。

30

【０１１３】

前記加熱処理工程における加熱温度としては、特に制限はなく、目的に応じて、適宜選択することができるが、メイラード反応を起こすことができる加熱温度であることが好ましい。

40

前記メイラード反応を工業的に効率的に短時間で起こすことができる加熱温度としては、６０℃～１８０℃が好ましく、９０℃～１２０℃がより好ましい。前記加熱処理工程における加熱温度が、６０℃以上であると、メイラード反応の速度が速くなり、１８０℃以下であると、副反応が起こりにくく、良好なローストフレーバー及びロースト色の加熱処理物が得られる。一方、前記加熱処理工程における加熱温度が、６０℃未満であると、メイラード反応の速度が遅くなることがあり、１８０℃を超えると、その他の反応や分解が起こり、良好なローストフレーバー及びロースト色の加熱処理物が得られないことがある。なお、前記加熱処理工程における加熱温度が、前記より好ましい範囲では、ＥＵにおい

50

ては、クリーンラベルを付することができる点で有利である。また、E Uにおけるその他のレギュレーションの点からも、180℃以下が好ましい。

【0114】

前記加熱処理工程における加熱時間としては、特に制限はなく、前記加熱処理工程における加熱温度などに応じて、適宜選択することができるが、短時間で効率的にメイラード反応を起こすことができる加熱時間であることが好ましい。

前記メイラード反応を起こすことができる時間としては、1分間～360分間が好ましく、30分間～180分間がより好ましい。前記加熱処理工程における加熱時間が、1分間未満であると、十分にメイラード反応を起こすことができないことがあり、360分間を超えると、オフフレーバーが発生することがあり、また長時間により生産効率の点で不利となることがある。

10

【0115】

前記加熱処理工程は、静置して行ってもよく、攪拌して行ってもよいが、攪拌して行うことが、前記加熱処理による酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）中の成分が安定かつ均一となる点で好ましい。

前記攪拌する際の速度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0116】

前記加熱処理工程は、装置を使用して行ってもよい。前記装置としては、前記酵母細胞壁を加熱処理することができる限り、特に制限はなく、公知の装置の中から適宜選択することができ、常圧で攪拌が可能なニーダー、加圧及び減圧が可能な攪拌装置等の一般的な食品製造機などが挙げられる。

20

前記加熱処理工程で使用し得る装置の具体例としては、オートクレーブ、クッキングミキサー（株式会社カジワラ製）、Flex-Mix Processor（SPX FLOW Technology製）などが挙げられる。

また、前記酵素処理工程で使用されたタンクをそのまま前記加熱処理工程で用いてもよい。

【0117】

－酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）－

前記加熱処理工程により得られた前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）は、少なくとも酵母細胞壁由来分解物を含む。前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来分解物は、前記酵母細胞壁が、前記加熱処理により分解されてなるものである。前記加熱処理物は、前記酵母細胞壁と比較して、可溶化率が向上したものであり、かつ、良好なローストフレーバー及び油脂感、並びに及びロースト色を有するものである。

30

【0118】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）は、ピラジン、メチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン、2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン、及びフラネオールから選択される少なくとも1種類の化合物を含有するものである。前記加熱処理物のローストフレーバーは、これらの化合物に起因するものである。

前記加熱処理物中の前記化合物は、固相マイクロ抽出（SPME）－ガスクロマトグラフ質量分析法により、実施例（試験例7-1又は試験例7-2）に記載の測定条件で測定することができる。

40

【0119】

前記加熱処理物として、前記自己消化型酵母細胞壁のような、糖質を高含有する酵母細胞壁を原料として得られたものは、更に可溶化率が向上し、かつ、強いメイラード反応により良好なローストフレーバーや、褐変度の高いロースト色を奏することができる点で有利である。

【0120】

前記熱水抽出型酵母のような、タンパク質を高含有する酵母細胞壁を原料として得られた加熱処理物も、前記糖質を高含有する酵母細胞壁を原料として得られた加熱処理物と同

50

様に更に可溶化率が向上する点で有利である。また、タンパク質を高含有する酵母細胞壁を原料として得られた前記加熱処理物は、前記酵母細胞壁由来のペプチドやアミノ酸が豊富になるため、前記糖質を高含有する酵母細胞壁を原料として得られた加熱処理物と比較して還元糖の比率が低いいため弱いローストとなり、ミートフレーバー様のローストフレーバーを奏することができる点で有利である。

【0121】

このように、前記加熱処理物のフレーバー及びロースト色は、原料となる酵母細胞壁における成分組成、好ましくは、前記酵素処理物（2）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸及び前記酵母細胞壁由来の還元単糖の含有量比（質量比）や、加熱処理工程におけるメイラード反応の条件などを調整することによって、適宜調整することができる。したがって、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法は、目的に応じて、適宜所望の加熱処理物を作り分けることができる点でも有利である。

10

【0122】

前記加熱処理物のローストフレーバーには、ローストフレーバー、ミートフレーバー、及び油脂感の少なくともいずれかが含まれる。

本発明において、「ローストフレーバー」とは、ロースト味（香ばしい味）、ロースト香やナッツ香（主に、ピラジン類に起因する香り）、シリアル香、コーヒー香、及び苦味を示す。

また、本発明において、「油脂感」とは、油脂及びリン脂質等のいわゆる脂肪感を付与するフレーバーに付随するものを示す。

20

【0123】

より具体的には、前記加熱処理物のローストフレーバーは、カカオマス、ココアバター、ココアパウダー、チョコレート、ピーナッツ、ローストピーナッツ、コーヒー等の植物に由来するフレーバー；鶏肉、七面鳥肉、キジ肉、ガチョウ肉、白鳥肉、アヒル肉等の鳥類に由来するフレーバー；牛肉、豚肉、ラム肉、ヒツジ肉、ヤギ肉、ウマ肉等の哺乳類に由来するフレーバー；及びこれらを連想させる又はその調理香などを有する。

【0124】

前記加熱処理物の可溶化率としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記式（1）により算出される可溶化率が、80%以上が好ましく、85%以上がより好ましい。前記酵母細胞壁の前記式（1）により算出される可溶化率は、前記した通り、一般的に、18%～27%又はそれ以下程度であるため、前記加熱処理物は、前記酵母細胞壁と比較して、可溶化率が大幅に向上したものである点で有利である。また、前記加熱処理物は、前記酵素処理物と比較しても、更に可溶化率が向上したものである点で更に有利である。

30

【0125】

前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来分解物の含有率としては、特に制限はなく、前記加熱処理物で使用される前記酵素処理物（2）の量などに応じて、適宜選択することができる。

【0126】

前記加熱処理工程により、前記酵素処理物（2）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸が、メイラード反応により消費される。したがって、前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有量は、前記酵素処理物（2）における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有量と比べて低下する。

40

前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有量が、前記酵母細胞壁における総遊離アミノ酸の含有量と同程度である場合、前記酵素処理工程で生成された、殆どあるいは全ての前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸が、前記加熱処理工程で消費されたことを意味する。

【0127】

前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来の総遊離アミノ酸の含有量は、メイラード反応により全てが消費されることが好ましいわけではなく、目的に応じて適宜選択するこ

50

とができ、例えば、調味料として用いることや味を付与するなどの目的の場合は、前記総遊離アミノ酸を残すように加熱処理が行われてもよい。

前記総遊離アミノ酸を残すように加熱処理を行う方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記加熱処理工程におけるpH、加熱温度、加熱時間等の各種条件を適宜調整することにより行うことができる。

【0128】

前記加熱処理工程により、前記酵素処理物(2)における前記酵母細胞壁由来の還元単糖が、前記総遊離アミノ酸と共に、メイラード反応により消費される。したがって、前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来の還元単糖の含有量は、前記酵素処理物(2)における前記酵母細胞壁由来の還元単糖の含有量と比べて低下する。

10

前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来の還元単糖の含有量が、前記酵母細胞壁における還元単糖の含有量と同程度である場合、前記酵素処理工程で生成された、殆どあるいは全ての前記酵母細胞壁由来の還元単糖が、前記加熱処理工程で消費された各種フレーバーの生成や着色が起きたことを意味する。

【0129】

前記加熱処理物における前記酵母細胞壁由来の還元単糖の含有量は、メイラード反応により全てが消費されることが好ましいわけではなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、培地や微生物の栄養源とするなどの目的の場合は、前記還元単糖を残すように加熱処理が行われてもよい。

前記還元単糖を残すように加熱処理を行う方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記加熱処理工程におけるpH、加熱温度、加熱時間等の各種条件を適宜調整することにより行うことができる。

20

【0130】

前記酵素処理物(2)の色は、前記加熱処理工程により褐変(ブラウニング)する。そのため、前記加熱処理物のローストの程度を評価するための指標のひとつとすることができる。

前記加熱処理物の色を評価する方法としては、特に制限はなく、褐変の程度を評価することが可能な公知の方法の中から適宜選択することができ、例えば、 $L^*a^*b^*$ (エルスター・エースター・ビースター)表色系で評価する方法、470nmでの吸光度(OD470)を評価する方法などが挙げられる。

30

【0131】

$L^*a^*b^*$ 表色系で評価する方法としては、具体的には、JIS Z-8722に準拠し、色差計を用いて、実施例(試験例2)に記載の測定条件で測定することにより、前記加熱処理物の L^* 値、 a^* 値、及び b^* 値をそれぞれ求めることができる。

【0132】

前記 $L^*a^*b^*$ 表色系とは、物体の色を表すのに使用される指標であり、1976年に国際照明委員会(CIE)で規格化されたものである。 $L^*a^*b^*$ 表色系では、明度が L^* 値で表され、色度(色相と彩度)が a^* 値と b^* 値とで表される。 L^* 値は、値が大きいほど明るいことを示す。また、 a^* 値と b^* 値とは、それぞれ色の方向を示しており、 a^* は赤方向を示し、 $-a^*$ は緑方向を示し、 b^* は黄方向を示し、 $-b^*$ は青方向を示す。

40

本発明において、 L^* 値とは、前記加熱処理物のローストの程度を色(明度)で評価するための値である。 L^* 値が0の場合は黒、 L^* 値が100の場合は白を示す。

【0133】

前記加熱処理物は、必要に応じて、更にその他の成分を含んでいてもよい。

前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、溶媒、pH調整剤、塩等の防微剤、グリセリン、プロピレングリコール、デキストリンなどが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。

前記加熱処理物における前記その他の成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて、適宜選択することができる。

50

【0134】

前記加熱処理物の態様としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記加熱処理工程で得られた液状、前記液状の加熱処理物を溶媒に懸濁させた懸濁液、前記液状の加熱処理物を圧搾して濃縮したペースト状、前記ペースト状のものを乾燥して更に濃縮した乾燥物、前記乾燥物を粉碎した粉状などが挙げられる。

【0135】

前記加熱処理物の用途としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー及び油脂感、並びに良好なロースト色を有するため、飲食品、ペットフード、ペットフード用嗜好性向上剤などにおける、ローストフレーバー増強、ローストフレーバー付与、ロースト色増強、ロースト色付与、油脂感増強、及び油脂感付与の少なくともいずれかのために用いることができる。

また、ローストフレーバー増強、ローストフレーバー付与、ロースト色増強、ロースト色付与、油脂感増強、及び油脂感付与の少なくともいずれかのための香料及び香料原料等の添加剤又はその原料としても用いることができる。

【0136】

<その他の工程>

前記その他の工程としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、殺菌工程、中和工程、酵素失活工程、冷却工程、遠心分離又はろ過工程、濃縮又は乾燥工程、粉碎工程、乳化工程などが挙げられる。

【0137】

ー殺菌工程ー

前記殺菌工程は、前記酵素処理工程の前に、原料となる前記酵母細胞壁を殺菌する工程である。

前記殺菌工程における前記酵母細胞壁の殺菌方法としては、特に制限はなく、公知の方法の中から適宜選択することができ、例えば、加圧条件下で加熱する方法、超高温短時間（UHT；ultra high temperature）法などが挙げられる。

前記加圧条件下で加熱する方法における、圧力、温度、及び時間としては、前記酵母細胞壁を殺菌することができる限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0138】

ー中和工程ー

前記中和工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物、あるいは、前記加熱処理工程で得られた加熱処理物を中和する工程である。

前記酵素処理物及び前記加熱処理物の用途に応じて、前記中和工程により中和してもよい。

前記中和する方法としては、特に制限はなく、公知の方法の中から適宜選択することができ、例えば、前記酵素処理物又は前記加熱処理物に、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム等のアルカリ、又は、塩酸、硫酸、クエン酸、蟻酸等の酸を適宜加える方法などが挙げられる。なお、前記中和後の前記酵素処理物又は前記加熱処理物のpHは、4～8が好ましく、5～7がより好ましい。

【0139】

ー酵素失活工程ー

前記酵素失活工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物中の酵素を失活させる工程である。

前記加熱処理工程で記載した通り、前記酵素処理工程で使用され、前記酵素処理物中に残存する酵素は、前記加熱処理工程により失活される。しかしながら、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法においては、前記酵素処理工程と、前記加熱処理工程とを連続して行わなくてもよい。そのような場合は、前記酵素処理工程後に、前記酵素失活工程を行い、前記酵素処理物中の酵素を失活させてもよい。

前記酵素処理物中の酵素を失活させる方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記酵素処理物のpHを酵素が失活するようなpHに調整する方法などが挙げられる。

前記酵素失活工程を行う時期としては、前記酵素処理工程の後であれば、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、所望の酵素処理物を得るために、酵素反応が進みすぎることを防止する点で、前記酵素処理工程の直後に行うことが好ましい。

【0140】

ー冷却工程ー

前記冷却工程は、前記加熱処理工程で得られた前記加熱処理物を常温（15℃～25℃）又はそれ以下の温度まで冷却する工程である。

前記冷却の方法としては、特に制限はなく、公地の方法の中から適宜選択することができ、例えば、放冷、水冷などが挙げられる。

【0141】

ー遠心分離又はろ過工程ー

前記遠心分離又はろ過工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物、あるいは、前記加熱処理工程で得られた遠心分離又はろ過することにより不純物を除去する工程である。

前記酵素処理物及び前記加熱処理物は、従来と比べて格段に可溶性及び分散安定性に優れるものであるが、前記酵素処理物及び前記加熱処理物の利用形態（例えば、ビール類、ビールテイスト飲料、ノンアルコール飲料、RTD（Ready to drink：例えば低アルコール飲料）、スピリッツ、ウイスキー等の飲食品）に清澄性が求められる場合は、前記遠心分離又はろ過工程により不純物を除去し、より清澄性の高い酵素処理物又は加熱処理物とすることができる。

【0142】

ー濃縮又は乾燥工程ー

前記濃縮又は乾燥工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物、あるいは、前記加熱処理工程で得られた加熱処理物を濃縮又は乾燥する工程である。

前記濃縮又は乾燥の方法としては、特に制限はなく、公地の方法の中から適宜選択することができ、例えば、スプレードライ法、エアードライ法、ドライドラムを用いて乾燥する方法、フリーズドライ法、バキュームドライ（真空乾燥）法などが挙げられる。

前記酵素処理物又は前記加熱処理物の濃縮率としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記酵素処理物又は前記加熱処理物は、前記酵母細胞壁と比べて可溶化率が向上したものであるため、前記酵素処理物又は前記加熱処理物を40質量%～50質量%程度まで高濃度に濃縮しても流動性の良い液体若しくはペーストとすることができ、作業効率及び生産効率がよい点で有利である。

【0143】

ー粉碎工程ー

前記粉碎工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物、あるいは、前記加熱処理工程で得られた加熱処理物を粉碎して粉状にする工程である。前記粉碎工程は、前記濃縮又は乾燥工程により得られた前記酵素処理物の濃縮又は乾燥物、あるいは、前記加熱処理物の濃縮又は乾燥物に対して行うことが好ましい。

前記粉碎の方法としては、特に制限はなく、公地の方法の中から適宜選択することができ、例えば、裁断、切断、切削などが挙げられる。これらは、1種単独で行ってもよいし、2種以上を併用してもよい。

前記粉碎に用いる手段としては、特に制限はなく、公知の粉碎機の中から適宜選択することができ、例えば、フードプロセッサなどが挙げられる。

【0144】

ー乳化工程ー

前記乳化工程は、前記酵素処理工程で得られた酵素処理物、あるいは、前記加熱処理工程で得られた加熱処理物を乳化する工程である。

前記酵素処理物又は前記加熱処理物の乳化に使用する原料としては、特に制限はなく、

10

20

30

40

50

一般的な油脂原料の中から適宜選択することができ、例えば、ひまわり油、大豆油、菜種油等の植物油脂；豚脂、ラード、牛脂、鶏油等の動物油脂などが挙げられる。

前記酵素処理物又は前記加熱処理物に対する前記油脂原料の添加量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

前記酵素処理物又は前記加熱処理物を乳化する方法としては、特に制限はなく、公知の乳化方法の中から適宜選択することができ、例えば、一般的なミキサーにより強撹拌する方法、ホモジナイザーや高圧の乳化機を使用する方法などが挙げられる。

【0145】

(ビール用香付与用組成物)

本発明のビール用香付与用組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）を少なくとも含有し、必要に応じて、更にその他の成分を含有する。

【0146】

<酵母細胞壁由来分解物含有組成物>

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、本発明の前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）であるが、ビール酵母の酵母細胞壁由来分解物含有組成物であることが好ましい。

本発明者は、前記ビール酵母の酵母細胞壁由来分解物含有組成物が、オフフレーバーが少ないにもかかわらず、予想外にも、ビール様香が非常に強いことを見出した。このビール様香は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物中のカプロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチル、フェニルエチルアルコール、及びカプリン酸から選択される少なくとも1種類の化合物に起因するものと考えられる。

【0147】

本発明において、「ビール様香」とは、麦芽、ホップ、及び水を主原料とし、必要に応じて、米、トウモロコシ、澱粉等の他の材料を副原料として一定範囲内（好ましくは、前記麦芽の質量の1/2以下の質量）で使用したものを、ビール酵母により発酵させたアルコール飲料に由来する香り（「醸造香」とも称する）と類似した香りを指す。

なお、カプリン酸は、通常、醸造香に直接関する化合物ではないが、ビール類、ビールテイスト飲料、ノンアルコール飲料、RTD（例えば、低アルコール飲料）、スピリッツ、ウイスキーなどに、厚みやボディ感を付与する上で重要なファクターであることが知られている。そのため、前記ビール用香付与用組成物において、非常に重要かつ必要不可欠な物質である。

【0148】

本発明において、「オフフレーバー」とは、劣化臭や酸化臭等による「通常のおいしさ」から逸脱していると判断されたときに「異臭」と感じるもの若しくはネガティブな指標となるものを示す。

【0149】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法において、前記酵母細胞壁の原料となる前記酵母の種類としてビール酵母を選択的に採用した場合と同様の方法で製造されることが好ましい。この場合、前記ビール酵母の酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、前記酵素処理物（前記酵素処理物（1）又は前記酵素処理物（2））に相当する性質を有するものであり、好ましい態様等も同様である。

【0150】

前記ビール酵母としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、ビール醸造で発生する余剰酵母若しくはその副産物を利用してもよい。ビール醸造で発生する余剰酵母若しくはその副産物は、そのままでは独特の香りを有するため、その用途が限られていた。また自己消化法により得られたビール酵母から発生する酵母細胞壁は、更に腐敗臭やホップの酸化臭を有するため、従来使用用途が更に限定されていた。一方、本発明のビール用香付与用組成物は、ビール酵母の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有することにより、オフフレーバーが少なく、かつ、良好なビール様香を有する点で有利であ

10

20

30

40

50

る。

【0151】

前記ビール用香付与用組成物における、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。前記ビール用香付与用組成物は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）そのものであってもよい。

【0152】

<その他の成分>

前記ビール用香付与用組成物における前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、溶媒、pH調整剤、塩等の防微剤、グリセリン、プロピレングリコールなどが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。また、前記ビール用香付与用組成物は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物に由来するエキソグルカナーゼ、プロテアーゼ、エキソペプチダーゼなどの酵素を含むものであってもよい。

前記ビール用香付与用組成物における前記その他の成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて、適宜選択することができる。

【0153】

前記ビール用香付与用組成物の用途としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性に優れ、オフフレーバーが少なく、かつ、良好なビール様香を有するため、飲食品、ペットフード、ペットフード用嗜好性向上剤などにおける、ビール様香増強、及びビール様香付与の少なくともいずれかのために用いることができる。

また、前記ビール用香付与用組成物は、ビール様香増強や、ビール様香付与の少なくともいずれかのための香料、香料原料、食品素材、抽出原料等の添加剤又はその原料としても用いることができる。

例えば、前記ビール用香付与用組成物は、ビール類、ビールテイスト飲料、ノンアルコール飲料、RTD、スピリッツ、ウイスキーなどの飲料の醸造時、調合時、又は混合時に添加することができる。

更に、このようなビール様香及び酵母臭は、昆虫やダニを誘引する効果もあることが知られている。そのため、前記ビール用香付与用組成物は、昆虫駆除剤又はダニ駆除剤としても使用できる。

【0154】

（ローストフレーバー付与用組成物及びロースト色付与用組成物）

本発明のローストフレーバー付与用組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）を少なくとも含有し、必要に応じて、更にその他の成分を含有する。

本発明のロースト色付与用組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）を少なくとも含有し、必要に応じて、更にその他の成分を含有する。

【0155】

<酵母細胞壁由来分解物含有組成物>

前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロースト色付与用組成物における前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）であるため、好ましい態様等は、前記「－酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）－」の項目に記載した通りである。

したがって、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の製造方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法と同様の方法で製造されることが好ましい。

【0156】

前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロースト色付与用組成物における、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロ

10

20

30

40

50

ースト色付与用組成物は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）そのものであってもよい。

【0157】

<その他の成分>

前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロースト色付与用組成物における前記その他の成分としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、溶媒、pH調整剤、塩等の防微剤、グリセリン、プロピレングリコールなどが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよく、2種以上を併用してもよい。

前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロースト色付与用組成物における前記その他の成分の含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて、適宜選択することができる。

10

【0158】

前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロースト色付与用組成物の用途としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー、油脂感、及びロースト色の少なくともいずれかを有するため、飲食品、ペットフード、ペットフード用嗜好性向上剤などにおける、ローストフレーバー増強、ローストフレーバー付与、ロースト色増強、ロースト色付与、油脂感増強、及び油脂感付与の少なくともいずれかのために用いることができる。

また、前記ローストフレーバー付与用組成物又は前記ロースト色付与用組成物は、ローストフレーバー増強、ローストフレーバー付与、ロースト色増強、ロースト色付与、油脂感増強、及び油脂感付与の少なくともいずれかのための香料及び香料原料等の添加剤又はその原料としても用いることができる。

20

【0159】

（飲食品）

本発明の飲食品は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを含有し、必要に応じて、更にその他の成分を含有する。

【0160】

前記飲食品とは、人の健康に危害を加えるおそれが少なく、通常の社会生活において、経口又は消化管投与により摂取されるものをいい、行政区分上の飲食品、医薬品、医薬部外品などの区分に制限されるものではなく、例えば、経口的に摂取される一般食品、健康食品、保健機能食品、美容食品、医薬部外品、医薬品などを幅広く含むものを意味する。

30

【0161】

前記飲食品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選定することができ、例えば、ビール類、ビールテイスト飲料、ノンアルコール飲料、RTD、スピリッツ、ウイスキー、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料等の飲料（これら飲料の濃縮液及び調製用粉末を含む）；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の冷菓；そば、うどん、はるさめ、ぎょうざの皮、しゅうまいの皮、中華麺、即席麺等の麺類；飴、キャンディー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、ピーナツクリーム、焼き菓子、パン等の菓子類又はその製菓材料；カニ、サケ、アサリ、マグロ、イワシ、エビ、カツオ、サバ、クジラ、カキ、サンマ、イカ、アカガイ、ホタテ、アワビ、ウニ、イクラ、トコブシ等の水産物；かまぼこ、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品；加工乳、発酵乳等の乳製品；サラダ油、てんぷら油、マーガリン、マヨネーズ、ショートニング、ホイップクリーム、ドレッシング等の油脂及び油脂加工食品；砂糖、塩、酢、醤油、味噌、ソース、たれ、コンソメの素、ブイヨン等の調味料；カレー、シチュー、親子丼、お粥、雑炊、中華丼、かつ丼、天丼、うな丼、ハヤシライス、おでん、マーボ豆腐、牛丼、ミートソース、玉子スープ、オムライス、餃子、シューマイ、ハンバーグ、ミートボール等のレトルトパウチ食品；サラダ、漬物等の惣菜；種々の形態の健康・美容・栄養補助食品；錠剤、顆粒剤、カプセル剤、ドリンク剤、トローチ等の医薬品、医薬部外品などが挙げられる。なお、前記飲食品は、上記例示に限定さ

40

50

れるものではない。

【0162】

前記飲食品における、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の少なくともいずれかの含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0163】

前記その他の成分としては、飲食品を製造するに際して通常用いられる補助的原料乃至添加物などが挙げられる。

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

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

【0164】

前記飲食品の製造方法としては、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）の少なくともいずれかを配合する限り、特に制限はなく、公知の飲食品の製造方法を適宜選択することができる。

【0165】

本発明の飲食品は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを含有するため、これらのローストフレーバー、ビール様香、又はロースト色を利用し、本来の飲食品自体のフレーバー又はロースト色に加え、更に、ローストフレーバー、ビール様香、又はロースト色を付与又は増強した飲食品とすることができる。

また、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかは、前記酵母細胞壁由来のものであり、その他の添加剤を配合することなくローストフレーバー、ビール様香、又はロースト色を付与又は増強することができるため、EUにおいては、クリーンラベル及びナチュラルの製品表示を付すことができる点で有利である。

【0166】

（ペットフード用嗜好性向上剤）

本発明のペットフード用嗜好性向上剤は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを含有し、必要に応じて、更にその他の成分を含有する。

【0167】

本発明において、「ペットフード用嗜好性向上剤」とは、ペットフード用原料の一つであり、少量をペットフードに添加することによって嗜好性を向上（例えば、ペットによる食いつき、食事量の向上など）させる効果を有すものを意味する。

一般的に、ペットフード用嗜好性向上剤として、乾燥酵母、メイラード物質、アミノ酸、糖などを原料として使用した酵母素材や魚粉等が、ペットフードに1質量%～2質量程度添加される。また、ペットフード用嗜好性向上剤としては、酵母、酵母エキス、酵母細胞壁などを使用したものも知られている。しかし、従来のペットフード用嗜好性向上剤は、酵母、酵母エキス、酵母細胞壁といった酵母素材の単体又は、前記酵母素材に、アミノ酸（リシン、システイン、メチオニン等）、糖（還元糖等例えばキシロース）などを添加してメイラード反応を起こしたものであり、これらの物をペットフードに添加すると、添

10

20

30

40

50

加物として表示される。

一方、本発明のペットフード用嗜好性向上剤は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを含有するため、無添加としてペットフード用嗜好性向上剤やそれを含有するペットフードを供給することができ、クリーンラベル及びナチュラルの製品表示を付すことができる点で有利である。このようなペットフード用嗜好性向上剤は、従来存在しないものであった。

【0168】

＜酵母細胞壁由来分解物含有組成物＞

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかである。そのため、好ましい態様等は、前記「－酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）－」の項目、及び前記「－酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）－」の項目に記載した通りである。これらの中でも、前記ペットフード用嗜好性向上剤は、カプロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチル、フェニルエチルアルコール、及びカプリン酸から選択される少なくとも1種類の化合物を含有する前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）、又はピラジン、メチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン、2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン、及びフラネオールから選択される少なくとも1種類の化合物を含有する前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）を含有することが好ましく、ピラジン、メチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン、2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン、及びフラネオールから選択される少なくとも1種類の化合物を含有する前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）を含有することがより好ましい。前記ペットフード用嗜好性向上剤が、これらの化合物（香気成分）を含有する前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを含有することにより、ペットの嗅覚を刺激し、誘因及び食量を増やす、即ち、嗜好性を向上させることができる点で好ましい。

【0169】

前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の製造方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、前記細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法と同様の方法で製造されることが好ましい。

【0170】

前記ペットフード用嗜好性向上剤における、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかの含有量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。前記ペットフード用嗜好性向上剤は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかそのものであってもよい。

【0171】

＜その他の成分＞

前記その他の成分としては、ペットフード用嗜好性向上剤を製造するに際して通常用いられる原料、補助的原料、又は添加物などが挙げられる。

前記ペットフード用嗜好性向上剤における、前記その他の成分の含有量としても、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【0172】

前記ペットフード用嗜好性向上剤の製造方法としては、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを配合する限り、特に制限はなく、公知のペットフード用嗜好性向上剤の製造方法を適宜選択することができる。

【0173】

前記ペットフード用嗜好性向上剤の形態としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ペットフード製造時に配合する形態（例えば、ペットフードのペレットに練り込むなど）、完成したペットフードにふりかけるなどして上掛け又はコーティングする形態などが挙げられる。

【0174】

ペットフードに対する前記ペットフード用嗜好性向上剤の添加量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、その上限値としては、ペットフードの全量に対して、1質量%未満が好ましく、0.5質量%以下がより好ましく、0.3質量%以下が特に好ましい。また、ペットフードに対する前記ペットフード用嗜好性向上剤の添加量の下限値としては、0.1質量%以上が好ましく、0.2質量%以上がより好ましい。

10

ペットフードに対する前記ペットフード用嗜好性向上剤の添加量の上限値と下限値とは、適宜組み合わせることができるが、0.1質量%以上1質量%未満が好ましく、0.1質量%以上0.5質量%以下がより好ましく、0.2質量%以上0.3質量%以下が特に好ましい。混合の工程の適正が1質量%～2質量%程度が望ましい場合は、その他の嗜好剤や媒散剤、賦形剤等で希釈して上記濃度程度となるようにしてもよい。

【0175】

前記ペットフード用嗜好性向上剤の対象となるペットとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、サル、ブタ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ハムスター、トリ、魚等のヒト以外の動物などが挙げられる。

20

【0176】

前記ペットの嗜好性を確認する方法としては、特に制限はなく、公知の方法の中から適宜選択することができ、例えば、対象となるペットに、前記ペットフード用嗜好性向上剤を添加したペットフードと、対照となるペットフード（例えば、前記ペットフード用嗜好性向上剤未添加のペットフードや、市販のペットフード用嗜好性向上剤を添加したペットフードなど）とを同時に与え、最初に口に入れた方（以下、「ファーストチョイス（First Choice）」又は「ファーストバイト」と称することがある）、及び摂食量が多い方を嗜好性が高いペットフードと判断する2点評価法による上記2項目での評価が一般的である。

【0177】

30

前記ペットフード用嗜好性向上剤は、前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）及び前記酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）の少なくともいずれかを含有するため、そのフレーバー、即ち、ビール様香、あるいは、ローストフレーバー（例えば、ミートフレーバー）、油脂感、及びロースト色の少なくともいずれかを利用し、本来のペットフード自体のフレーバー又は色に加え、更に、ビール様香、ローストフレーバー、油脂感、及びロースト色の少なくともいずれかを付与又は増強したペットフードとすることができる点で有利である。

【実施例】

【0178】

以下に調製例及び試験例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの調製例及び試験例に何ら限定されるものではない。

40

【0179】

（調製例1-1：自己消化型酵母細胞壁スラリー）

サッカロミセス（*Saccharomyces*）属に属するビール酵母に由来する酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）のスラリーを、該スラリーの濃度が10質量%となるように調製した。具体的には、酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）（製品名：酵母細胞壁、アサヒグループ食品株式会社製）100gを、水900gに懸濁し、「自己消化型酵母細胞壁スラリー」を調製した。

なお、酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）として使用した「酵母細胞壁」（アサヒグループ食品株式会社製）は、スプレードライされた粉末状のものである。

50

【0180】

(調製例1-2：自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1))

調製例1-1で調製した自己消化型酵母細胞壁スラリー(スラリー濃度：10質量%)を、オートクレーブにて120℃、15分間の条件で加熱処理して、「自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)」を得た。

【0181】

(調製例1-3：自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(2))

調製例1-1で調製した自己消化型酵母細胞壁スラリー(スラリー濃度：10質量%)を、オートクレーブにて120℃、30分間の条件で加熱処理して、「自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(2)」を得た。

【0182】

(調製例2-1：熱水抽出型酵母細胞壁スラリー)

サッカロミセス(*Saccharomyces*)属に属するパン酵母に由来する酵母細胞壁(熱水抽出型酵母細胞壁)のスラリーを、該スラリーの濃度が16質量%となるように調製した。具体的には、酵母細胞壁(熱水抽出型酵母細胞壁)(製品名：HG-YCW、アサヒグループ食品株式会社製)160gを、水840gに懸濁し、「熱水抽出型酵母細胞壁スラリー」を調製した。

なお、酵母細胞壁(熱水抽出型酵母細胞壁)として使用した「HG-YCW」(アサヒグループ食品株式会社製)は、スプレードライされた粉末状のものである。

【0183】

(調製例2-2：熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1))

調製例2-1の熱水抽出型酵母細胞壁スラリー(スラリー濃度：16質量%)を、オートクレーブにて120℃、15分間の条件で加熱処理して、「熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)」を得た。

【0184】

(調製例2-3：熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(2))

調製例2-1の熱水抽出型酵母細胞壁スラリー(スラリー濃度：16質量%)を、オートクレーブにて120℃、30分間の条件で加熱処理して、「熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(2)」を得た。

【0185】

(調製例3-1：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E))

調製例1-2で得られた自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)1kgを2L容量のジャーに入れ、水酸化ナトリウムを用いてpH5.7となるように調整した。次いで、*Talaromyces*属由来グルカナーゼ(FILTRASE(登録商標)BRX、DSMジャパン株式会社製)、*Bacillus*属由来プロテアーゼ(Alcalase(登録商標)2.4LFG、ノボザイムズジャパン株式会社製)、及び*Aspergillus*属由来エキソペプチダーゼ(Flavourzyme(登録商標)1000L、ノボザイムズジャパン株式会社製)の3種の酵素を、それぞれ自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)の固形分質量に対して0.5質量%となる量で同時に添加し、50℃、200rpmの条件で攪拌しながら24時間酵素処理を行い、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)」を得た。24時間酵素処理後の自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)のpHは、5.5であった。

なお、pHは、pHメーター(型式：F-52/ガラス電極式、株式会社堀場製作所製)を用いて測定した。以下の調製例において、pHの測定方法は同様である。

【0186】

(調製例3-2：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2E))

調製例3-1において、酵素処理を行う際に、*Aspergillus*属由来エキソペプチダーゼを使用せず、*Talaromyces*属由来グルカナーゼ(FILTRASE(登録商標)BRX、DSMジャパン株式会社製)、及び*Bacillus*属由来プロテアーゼ(Alcalase(登録商標)2.4LFG、ノボザイムズジャパン株式

10

20

30

40

50

会社製)の2種の酵素のみを、それぞれ自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)の固形分質量に対して0.5質量%となる量で同時に添加したこと以外は、調製例3-1と同様の方法で「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2E)」を得た。24時間酵素処理後の自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2E)のpHは、5.5であった。

【0187】

(調製例3-3：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3E))

調製例3-3では、以下の方法で、プロテアーゼ、グルカナーゼ、及びエキソペプチダーゼを、2段階に分けて別々に酵素処理した。

【0188】

第1段目として、調製例1-2で得られた自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)1kgを2L容量のジャーに入れ、水酸化ナトリウムを用いてpH8.0となるように調整した。次いで、Bacillus属由来プロテアーゼ(Alcalase(登録商標) 2.4 L FG、ノボザイムズジャパン株式会社製)を自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)の固形分質量に対して0.5質量%となる量で添加し、65℃、200rpmの条件で攪拌しながら6時間酵素処理を行った。プロテアーゼによる酵素処理後の自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)のpHは、7.3であった。

【0189】

次に、第2段目として、プロテアーゼで処理した自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)を、塩酸を用いてpH5.5となるように調整した。次いで、Talaromyces属由来グルカナーゼ(FILTRASE(登録商標) BRX、DSMジャパン株式会社製)と、Aspergillus属由来エキソペプチダーゼ(Flavourzyme(登録商標) 1000L、ノボザイムズジャパン株式会社製)とを、該自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)の固形分質量に対して0.5質量%となる量でそれぞれ添加し、50℃、200rpmの条件で攪拌しながら18時間酵素処理を行い、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3E)」を得た。グルカナーゼ及びエキソペプチダーゼによる酵素処理後の自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3E)のpHは、5.5であった。

【0190】

(調製例3-4：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E))

調製例1-2で得られた自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)1kgを2L容量のジャーに入れ、水酸化ナトリウムを用いてpH5.5となるように調整した。次いで、Talaromyces属由来グルカナーゼ(FILTRASE(登録商標) BRX、DSMジャパン株式会社製)を、自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)の固形分質量に対して0.5質量%となる量で同時に添加し、50℃、200rpmの条件で攪拌しながら24時間酵素処理を行い、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)」を得た。24時間酵素処理後の自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)のpHは、5.5であった。

【0191】

(調製例4-1：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E))

調製例2-2で得られた熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)1kgを2L容量のジャーに入れ、水酸化ナトリウムを用いてpH5.7となるように調整した。次いで、Talaromyces属由来グルカナーゼ(FILTRASE(登録商標) BRX、DSMジャパン株式会社製)、Bacillus属由来プロテアーゼ(Alcalase(登録商標) 2.4 L FG、ノボザイムズジャパン株式会社製)、及びAspergillus属由来エキソペプチダーゼ(Flavourzyme(登録商標) 1000L、ノボザイムズジャパン株式会社製)の3種の酵素を、それぞれ熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)の固形分質量に対して0.5質量%となる量で同時に添加し、50℃、200rpmの条件で攪拌しながら24時間酵素処理を行い、「熱

10

20

30

40

50

水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｅ）」を得た。２４時間酵素処理後の熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｅ）のｐＨは、５．５であった。

【０１９２】

（調製例４－２：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（２Ｅ））

調製例４－１において、酵素処理を行う際に、Aspergillus属由来エキソペプチダーゼ（Flavourzyme（登録商標）１０００Ｌ、ノボザイムズジャパン株式会社製）を使用せず、Talaromyces属由来グルカナーゼ（FILTRASE（登録商標）BRX、DSMジャパン株式会社製）及びBacillus属由来プロテアーゼ（Alcalase（登録商標）２．４ＬFG、ノボザイムズジャパン株式会社製）の２種の酵素のみを、それぞれ熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）の固形分質量に対して０．５質量％となる量で同時に添加したこと以外は、調製例４－１と同様の方法で「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（２Ｅ）」を得た。２４時間酵素処理後の熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（２Ｅ）のｐＨは、５．５であった。

【０１９３】

（調製例４－３：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（３Ｅ））

調製例４－３では、以下の方法で、プロテアーゼ、グルカナーゼ、及びエキソペプチダーゼを、２段階に分けて別々に酵素処理した。

【０１９４】

第１段目として、調製例２－２で得られた熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）１ｋｇを２Ｌ容量のジャーに入れ、水酸化ナトリウムを用いてｐＨ８．０となるように調整した。次いで、Bacillus属由来プロテアーゼ（Alcalase（登録商標）２．４ＬFG、ノボザイムズジャパン株式会社製）を熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）の固形分質量に対して０．５質量％となる量で添加し、６５℃、２００ｒｐｍの条件で攪拌しながら６時間酵素処理を行った。プロテアーゼによる酵素処理後の熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）のｐＨは、７．０であった。

【０１９５】

次に、第２段目として、プロテアーゼで処理した熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）を、塩酸を用いてｐＨ５．５となるように調整した。次いで、Talaromyces属由来グルカナーゼ（FILTRASE（登録商標）BRX、DSMジャパン株式会社製）と、Aspergillus属由来エキソペプチダーゼ（Flavourzyme（登録商標）１０００Ｌ、ノボザイムズジャパン株式会社製）とを、該熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）の固形分質量に対して０．５質量％となる量でそれぞれ添加し、５０℃、２００ｒｐｍの条件で攪拌しながら１８時間酵素処理を行い、「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（３Ｅ）」を得た。グルカナーゼ及びエキソペプチダーゼによる酵素処理後の熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（３Ｅ）のｐＨは、５．５であった。

【０１９６】

（調製例４－４：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（４Ｅ））

調製例２－１で得られた熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）１ｋｇを２Ｌ容量のジャーに入れ、水酸化ナトリウムを用いてｐＨ５．５となるように調整した。次いで、Talaromyces属由来グルカナーゼ（FILTRASE（登録商標）BRX、DSMジャパン株式会社製）を、熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（１）の固形分質量に対して０．５質量％となる量で同時に添加し、５０℃、２００ｒｐｍの条件で攪拌しながら２４時間酵素処理を行い、「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（４Ｅ）」を得た。２４時間酵素処理後の熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（４Ｅ）のｐＨは、５．５であった。

【０１９７】

調製例３－１～４－４の条件を下記表１にまとめて示す。

【0198】

【表1】

調製例		使用原料	酵素処理工程		
			グルカナーゼ	プロテアーゼ	エキソ ペプチダーゼ
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	自己消化型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	0.5質量%	0.5質量%
調製例3-2	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2E)	自己消化型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	0.5質量%	—
調製例3-3	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3E)	自己消化型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	0.5質量%	0.5質量%
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)	自己消化型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	—	—
調製例4-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	0.5質量%	0.5質量%
調製例4-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2E)	熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	0.5質量%	—
調製例4-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3E)	熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	0.5質量%	0.5質量%
調製例4-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)	熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレープ処理物(1)	0.5質量%	—	—

【0199】

(調製例5-1：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M))

調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)を、水酸化ナトリウムを用いてpH8.0となるように調整した。次いで、オートクレープ(LSX-300、株式会社トミー精工製)を用いて120℃、30分間の条件で加熱処理した。加熱処理物のpHは、6.4であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてpH6.0に調整し、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)」を得た。

【0200】

(調製例5-2：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2M))

調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)を、水酸化ナトリウムを用いてpH8.0となるように調整した。次いで、オートクレープ(LSX-300、株式会社トミー精工製)を用いて90℃、3時間の条件で加熱処理した。加熱処理物のpHは、6.5であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてpH6.0に調整し、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2M)」を得た。

【0201】

(調製例5-3：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3M))

調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)を、水酸化ナトリウムを用いてpH10.0となるように調整した。次いで、オートクレープ(LSX-300、株式会社トミー精工製)を用いて120℃、30分間の条件で加熱処理した。加熱処理物のpHは、7.3であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてpH6.0に調整し、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3M)」を得た。

【0202】

(調製例5-4：自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4M))

調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)を、水酸化ナトリウムを用いてpH10.0となるように調整した。次いで、オートクレープ(LSX-300、株式会社トミー精工製)を用いて90℃、3時間の条件で加熱処理した。加熱処理物のpHは、7.6であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてpH6.0に調整し、「自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4M)」を得た。

【0203】

(調製例6-1：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M))

10

20

30

40

50

調製例４－１で得られた熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｅ）を、水酸化ナトリウムを用いてｐＨ８．０となるように調整した。次いで、オートクレーブ（ＬＳＸ－３００、株式会社トミー精工製）を用いて１２０℃、３０分間の条件で加熱処理した。加熱処理物のｐＨは、６．７であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてｐＨ６．０に調整し、「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｍ）」を得た。

【０２０４】

（調製例６－２：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（２Ｍ））

調製例４－１で得られた熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｅ）を、水酸化ナトリウムを用いてｐＨ８．０となるように調整した。次いで、オートクレーブ（ＬＳＸ－３００、株式会社トミー精工製）を用いて９０℃、３時間の条件で加熱処理した。加熱処理物のｐＨは、６．８であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてｐＨ６．０に調整し、「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（２Ｍ）」を得た。

【０２０５】

（調製例６－３：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（３Ｍ））

調製例４－１で得られた熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｅ）を、水酸化ナトリウムを用いてｐＨ１０．０となるように調整した。次いで、オートクレーブ（ＬＳＸ－３００、株式会社トミー精工製）を用いて１２０℃、３０分間の条件で加熱処理した。加熱処理物のｐＨは、７．９であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてｐＨ６．０に調整し、「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（３Ｍ）」を得た。

【０２０６】

（調製例６－４：熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（４Ｍ））

調製例４－１で得られた熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（１Ｅ）を、水酸化ナトリウムを用いてｐＨ１０．０となるように調整した。次いで、オートクレーブ（ＬＳＸ－３００、株式会社トミー精工製）を用いて９０℃、３時間の条件で加熱処理した。加熱処理物のｐＨは、８．０であった。前記加熱処理物を、塩酸を用いてｐＨ６．０に調整し、「熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（４Ｍ）」を得た。

【０２０７】

調製例５－１～６－４の条件を下記表２にまとめて示す。

【０２０８】

【表２】

調製例		使用原料	加熱処理前 pH	加熱処理工程		加熱処理後 pH
				温度	時間	
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	8.0	120℃	30分間	6.4
調製例5-2	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2M)	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	8.0	90℃	3時間	6.5
調製例5-3	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3M)	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	10.0	120℃	30分間	7.3
調製例5-4	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4M)	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	10.0	90℃	3時間	7.6
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	8.0	120℃	30分間	6.7
調製例6-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(2M)	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	8.0	90℃	3時間	6.8
調製例6-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(3M)	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	10.0	120℃	30分間	7.9
調製例6-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4M)	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	10.0	90℃	3時間	8.0

【０２０９】

<試験例１：可溶化率>

下記表３－１及び３－２に示す調製例で得られたものを試験試料として、以下の方法で

可溶化率を測定した。

50 g の試験試料を 105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を、前記試験試料の「固形分質量 B」(g)とした。

また、酵母細胞壁スラリー50 g の前記試験試料を 5,000 G にて5分間遠心分離し、得られた上清を 105℃にて5時間乾燥させて得られた乾燥物の質量を、前記試験試料中に可溶化された「固形分質量 A」(g)とした。

前記固形分質量 A 及び前記固形分質量 B より、下記式(1)に基づき、試験試料中の固形分の可溶化率を算出した。結果を下記表 3-1 及び 3-2 に示す。

可溶化率(%) = 固形分質量 A / 固形分質量 B × 100 ……式(1)

【0210】

10

【表 3-1】

試験試料		可溶化率
調製例1-1	自己消化型 酵母細胞壁スラリー	26.8%
調製例1-2	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	26.9%
調製例1-3	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(2)	26.9%
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	86.0%
調製例3-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	85.8%
調製例3-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	79.8%
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	86.5%
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	92.7%
調製例5-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	92.3%
調製例5-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	93.5%
調製例5-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4M)	93.1%

20

30

【0211】

40

50

【表 3 - 2】

試験試料		可溶化率
試験例2-1	熱水抽出型 酵母細胞壁スラリー	22.6%
試験例2-2	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	22.8%
試験例2-3	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(2)	22.8%
調製例4-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	80.8%
調製例4-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	80.7%
調製例4-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	75.8%
調製例4-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	64.9%
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	88.7%
調製例6-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	89.2%
調製例6-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	90.8%
調製例6-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4M)	90.2%

【0 2 1 2】

酵母細胞壁をオートクレーブ処理するだけでは、可溶化率は変化せず、酵母細胞壁を、エキソグルカナーゼ単独、又は、エキソグルカナーゼとその他の酵素とを同時に酵素処理することにより、酵母細胞壁の可溶化率が向上することが分かった。ただし、エキソグルカナーゼ及びプロテアーゼを２段階に分けて別々に酵素処理した場合、それぞれの最適 pH にしたにもかかわらず、これらの酵素で同時に酵素処理した場合と比較して可溶化率の向上は少し劣る結果となった。また、前記同時に酵素処理した場合と比較して、前記２段階に分けて別々に酵素処理した場合の方が、沈殿した残渣嵩が大きかった。

酵母細胞壁の酵素処理物を加熱処理することにより、酵母細胞壁の可溶化率が更に向上することが分かった。

【0 2 1 3】

<試験例 2：色調>

下記表 4 - 1 及び 4 - 2 に示す調製例で得られたものを試験試料として、以下の方法で色調を測定した。

J I S Z - 8 7 2 2 に準拠し、色差計を用いて、以下の測定条件で、各試験試料の色調を測定し、L * 値、a * 値、及び b * 値をそれぞれ求めた。結果を下記表 4 - 1 及び 4 - 2 に示す。

【色調の測定条件】

- ・ 色差計：Z E 6 0 0 0（日本電色工業株式会社製）
- ・ 照明受光条件：反射 J I S Z - 8 7 2 2 に準拠する
- ・ 測定方法：ダブルビーム方式
- ・ 光源：ハロゲンランプ 1 2 V 2 0 W（N A 5 5 9 1 9）
- ・ 表色系：L * a * b *

【0 2 1 4】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

試験試料		色調		
		L*値	a*値	b*値
調製例1-1	自己消化型 酵母細胞壁スラリー	73.28	5.29	26.11
調製例1-2	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	71.56	5.38	26.71
調製例1-3	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(2)	71.42	5.39	26.61
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	62.49	6.31	26.57
調製例3-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	66.01	6.37	26.25
調製例3-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	64.23	7.17	25.74
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	69.98	5.68	26.52
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	23.95	18.73	29.32
調製例5-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	29.81	12.26	28.72
調製例5-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	20.13	20.73	26.23
調製例5-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4M)	21.52	19.96	27.95

【 0 2 1 5】

【表 4 - 2】

試験試料		色調		
		L*値	a*値	b*値
試験例2-1	熱水抽出型 酵母細胞壁スラリー	82.11	4.24	9.48
試験例2-2	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	81.72	4.48	9.50
試験例2-3	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(2)	81.51	4.42	9.51
調製例4-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	71.94	5.61	10.76
調製例4-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	73.01	5.61	10.29
調製例4-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	72.04	6.21	10.11
調製例4-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	76.14	5.25	9.98
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	22.42	14.35	16.01
調製例6-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	29.11	10.87	15.59
調製例6-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	19.92	15.34	18.17
調製例6-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4M)	22.14	15.24	15.87

【0216】

加熱処理工程により、a*値及びb*値（色度）は、大きく変化しなかったが、L*値（明度）が大きく低下し、褐変（黒化）していることが分かった。これらは強いメイラード反応が起きていることを示唆する。

【0217】

＜試験例3：ロースト香＞

下記表5-1及び5-2に示す調製例で得られたものを試験試料として、以下の方法でロースト香を評価した。

専門パネラー5名が、各調製例で原料として使用した酵母細胞壁スラリーの香りを対照（0点）とし（即ち、自己消化型酵母細胞壁を原料として得られたものは、自己消化型酵母細胞壁スラリーの香りを対照とし、熱水抽出型酵母細胞壁を原料として得られたものは、熱水抽出型酵母細胞壁スラリーを対照とした）、下記評価基準に基づき、試験試料のロースト香の強弱を評価した。評価結果は、専門パネラー5名の評価基準の平均点で示した。結果を下記表5-1及び5-2に示す。

[評価基準]

- －3点：ロースト香がとても弱い
- －2点：ロースト香が弱い
- －1点：ロースト香がやや弱い
- 0点：対照
- ＋1点：ロースト香がやや強い
- ＋2点：ロースト香が強い
- ＋3点：ロースト香がとても強い

【0218】

【表5-1】

試験試料		ロースト香
調製例1-1	自己消化型 酵母細胞壁スラリー	0
調製例1-2	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	0
調製例1-3	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(2)	0
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	0
調製例3-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	0
調製例3-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	+0.1
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	0
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	+2.8
調製例5-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	+2.2
調製例5-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	+3.0
調製例5-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4M)	+2.8

【0219】

【表 5 - 2】

試験試料		ロースト香
試験例2-1	熱水抽出型 酵母細胞壁スラリー	0
試験例2-2	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	0
試験例2-3	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(2)	0
調製例4-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	+0.1
調製例4-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	+0.1
調製例4-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	+0.1
調製例4-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	0
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	+2.6
調製例6-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	+2.4
調製例6-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	+2.8
調製例6-4	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4M)	+2.6

10

20

【0220】

酵母細胞壁をオートクレーブ処理のみ又は酵素処理工程だけでは、ロースト香に変化が認められず、酵素処理工程後に加熱処理することによりロースト香が得られることが分かった。また、ロースト香が強いものほど、ミートフレーバー様となる傾向があった。

試験例2及び3の結果より、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)～(4M)及び熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)～(4M)は、メイラード反応物であることが推察された。

30

【0221】

＜試験例4：ビール様香＞

下記表6に示す調製例で得られたものを試験試料として、以下の方法でビール様香を評価した。

専門パネラー5名が、各調製例で原料として使用した酵母細胞壁スラリーの香りを対照(0点)とし(即ち、自己消化型酵母細胞壁を原料として得られたものは、自己消化型酵母細胞壁スラリーの香りを対照とし、熱水抽出型酵母細胞壁を原料として得られたものは、熱水抽出型酵母細胞壁スラリーを対照とした)、下記評価基準に基づき、試験試料のビール様香の強弱を評価した。評価結果は、専門パネラー5名の評価基準の平均点で示した。結果を下記表6に示す。

40

[評価基準]

- －3点：ビール様香がとても弱い
- －2点：ビール様香が弱い
- －1点：ビール様香がやや弱い
- 0点：対照
- ＋1点：ビール様香がやや強い
- ＋2点：ビール様香が強い
- ＋3点：ビール様香がとても強い

【0222】

50

【表 6】

試験試料		ビール様香
調製例1-1	自己消化型 酵母細胞壁スラリー (対照)	0
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	+2.4
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	+2.8
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	0.2
調製例5-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	-0.2
調製例5-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3M)	-0.4
試験例2-1	熱水抽出型 酵母細胞壁スラリー (対照)	0
調製例4-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	0
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	0
調製例6-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2M)	0

【0223】

ビール酵母細胞壁スラリーは、微生物由来の腐敗臭のような独特の香りや、その他の腐敗臭やホップの酸化臭等のオフフレーバーを有していた。これに対し、ビール酵母細胞壁スラリーを酵素処理工程で酵素処理することにより、オフフレーバーが軽減するだけでなく、強いビール様香を有するようになるという予想外の効果が認められた。また、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）（調製例3-1）は、複雑で厚みのあるビール様香であった。更に、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）（調製例3-4）は、シャープなビール様香であり、より優れたビール様香を付与することが分かった。一方、パン酵母細胞壁を原料とした場合は、ビール様香は認められなかった。また、ビール酵母細胞壁の前記酵素処理物を加熱処理すると、ビール様香は弱まり弱いグリーン香、及び強いロースト香が認められた。

従来、ビール酵母細胞壁だけでは上記オフフレーバーがあること、醸造や発酵に由来する物質がないことにより香味原料として使用できなかったが、低分子化による可溶化、更にはモノマー化することにより可溶化率を上げ溶解させることにより、分子レベルで細胞壁に包接されていた醸造や発酵に由来する香気成分が溶出してきたと考察する。

また、試験例1で示したように、酵素処理工程を行っても酵母細胞壁中の不溶物が一部は残存するものの、従来とは異なり可溶化に近い沈殿の少ない分散状態となっていることにより、これらの香りが初めて得られたものと推測される。

【0224】

10

20

30

40

50

＜試験例 5：還元単糖含有率及び総遊離アミノ酸含有率＞

下記表 7 に示す調製例で得られたものを試験試料として、各試験試料に含有される還元単糖としてのグルコースの含有率及び総遊離アミノ酸の含有率を、以下の方法で測定した。結果を下記表 7 に示す。

なお、下記表 8 に示す調製例で得られたものについては、各遊離アミノ酸の含有率の結果を下記表 8 に示す。

【0225】

－試験試料中の固形分濃度の測定－

前記試験試料を 105℃にて 5 時間乾燥させて得られた乾燥物の質量（固形分質量）を測定し、下記式（3）に基づき、各試験試料における固形分濃度（T）を算出した。

$$\text{固形分濃度 (T) (質量\%)} = \text{固形分質量} / \text{試験試料の質量} \times 100 \quad \cdots \text{式 (3)}$$

【0226】

－グルコースの含有率の測定－

前記試験試料中のグルコースの濃度（G）を、多機能バイオセンサ（BF-7D、王子計測機器株式会社製）を用いて酵素触媒反応及び過酸化水素電極検出法により測定した。電極は、グルコース電極及びシュークロース電極を使用し、30℃にて、専用緩衝溶液を用いた。

下記表 7 における「グルコース含有率」は、測定されたグルコース濃度（G）と、各試験試料における固形分濃度（T）とから、下記式（4）に基づき算出した、試験試料の固形分質量に対するグルコースの含有率を示す。

$$\text{グルコース含有率 (質量\%)} = \text{グルコース濃度 (G)} / \text{固形分濃度 (T)} \quad \cdots \text{式 (4)}$$

【0227】

－総遊離アミノ酸の含有率の測定－

前記試験試料中の遊離アミノ酸を、AccQ-Tag Ultra Derivatization kit（Waters 社製）を製品プロトコールに従って誘導体化した。この誘導体化遊離アミノ酸を含む各試験試料中の各遊離アミノ酸の濃度（F）を、超高速高分離液体クロマトグラフ法により、以下の測定条件で測定した。

下記表 8 における「遊離アミノ酸含有率」は、測定された遊離アミノ酸濃度（F）と、各試験試料における固形分濃度（T）とから、下記式（5）に基づき算出した、試験試料の固形分質量に対する各遊離アミノ酸の含有率を示す。

また、下記表 7 における「総遊離アミノ酸含有率」は、測定された遊離アミノ酸濃度（F）と、各試験試料における固形分濃度（T）とから、下記式（5）に基づき算出した、試験試料の固形分質量に対する各遊離アミノ酸の含有率の合計値を示す。

$$\text{遊離アミノ酸含有率 (質量\%)} = \text{遊離アミノ酸濃度 (F)} / \text{固形分濃度 (T)} \quad \cdots \text{式 (5)}$$

[遊離アミノ酸の測定条件]

・ 分析装置：Ultra Performance LC（UPLC（登録商標））（Waters 社製）

・ 検出器：フォトダイオードアレイ（PDA）（Waters 社製）

・ カラム：AccQ-Tag Ultra RP Column（130Å、1.7µm、2.1mm×100mm、Waters 社製）

・ カラム温度：55℃

・ 試料温度：10℃

・ 移動相：A 液として AccQ-Tag Ultra Eluent A（Waters 社製）、及び B 液として AccQ-Tag Ultra Eluent B（Waters 社製）

【0228】

10

20

30

40

50

【表 7】

試験試料		グルコース 含有率 (質量%)	総遊離アミノ酸 含有率 (質量%)
調製例1-2	自己消化型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	0.19	7.20
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	25.50	14.90
調製例3-2	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	24.90	7.30
調製例3-3	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	19.20	12.30
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	25.00	7.20
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	8.80	7.70
試験例2-2	熱水抽出型酵母細胞壁の オートクレーブ処理物(1)	0.12	7.70
調製例4-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	13.80	15.90
調製例4-2	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(2E)	13.57	7.90
調製例4-3	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(3E)	10.91	12.60
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	0.76	10.40

【 0 2 2 9 】

【表 8】

アミノ酸 組成	遊離アミノ酸含有率(質量%)			
	調製例3-1	調製例5-1	調製例4-1	調製例6-1
	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	熱水抽出型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	熱水抽出型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)
His	0.36	0.06	0.35	0.13
Asn	0.75	0.39	0.64	0.38
Ser	0.80	0.48	0.81	0.55
Gln	0.30	0.02	0.02	0.00
Arg	0.87	0.10	1.16	0.48
Gly	0.40	0.20	0.28	0.17
Asp	1.01	0.63	0.69	0.54
Glu	1.12	0.61	1.56	1.06
Thr	0.79	0.41	0.98	0.62
Ala	1.04	0.68	0.87	0.68
Pro	0.24	0.21	0.23	0.18
Cys	0.12	0.03	0.18	0.07
Lys	1.48	0.34	1.73	1.02
Tyr	0.68	0.45	0.87	0.61
Met	0.35	0.14	0.03	0.01
Val	1.03	0.66	1.24	0.89
Ile	0.89	0.59	1.01	0.73
Leu	1.56	0.99	2.05	1.44
Phe	0.86	0.57	1.10	0.73
Trp	0.25	0.14	0.09	0.10

【0230】

エキソグルカナーゼ単独、又はエキソグルカナーゼとその他の酵素とを同時に酵素処理することによりグルコースの含有率が増加することが分かった。したがって、試験例1で示したように酵素処理により酵母細胞壁の可溶化率が向上したのは、酵素処理により酵母細胞壁が分解されたためであることが推察された。

一方、総遊離アミノ酸の含有率は、エキソグルカナーゼ単独では増加せず、エキソグルカナーゼとその他の酵素とを同時に酵素処理により増加した。

酵素処理を2段階に分けて、最適な条件で、プロテアーゼで酵素処理した後、エキソグルカナーゼで酵素処理した場合（調製例3-4）は、プロテアーゼでタンパク質を分解後に、グルカナーゼで糖が分解されるため、グルコース及び総遊離アミノ酸の含有率が更に増加することが予想された。しかしながら、グルコースの含有率は、プロテアーゼ及びエキソグルカナーゼで同時に酵素処理した場合よりも低かった。また、総遊離アミノ酸の含有率は、プロテアーゼ及びエキソグルカナーゼで同時に酵素処理した場合よりも少し高かったものの、エキソグルカナーゼ、プロテアーゼ、及びエキソペプチダーゼで同時に酵素処理した場合よりは低い結果となった。

また、加熱処理後は、グルコースの含有率及び総遊離アミノ酸の含有率が共に大きく減少しており、特に総遊離アミノ酸の含有率は、酵素処理前の自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（1）及び熱水抽出型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（1）と同程度まで減少していた。これより、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1M）及び熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1M）は、メイラード反応物であることが推察された。

【0231】

<試験例6：酵母細胞壁由来分解物含有組成物の油脂含有率>

下記表9に示す調製例で得られたもの、並びに、自己消化型酵母エキス（S-Ps、アサヒグループ食品株式会社製）、及び熱水抽出型酵母エキス（HG-Ps、アサヒグループ食品株式会社製）を試験試料として、これらの試験試料に含有される油脂の含有率の分析を一般財団法人日本食品分析センターに依頼した。結果報告された値を下記表9に示す。

【0232】

【表9】

試験試料		油脂含有率 (質量%)
調製例5-1	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)	8.80
調製例6-1	熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1M)	7.20
-	自己消化型酵母エキス	0.40
-	熱水抽出型酵母エキス	0.20

【0233】

<試験例7-1：酵母細胞壁由来分解物含有組成物の香気成分1>

酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）（製品名：酵母細胞壁、アサヒグループ食品株式会社製）、調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）及び調製例5-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1M）を試験試料として、各試験試料の香気成分を、以下の分析条件にて固相マイクロ抽出（SPME）-ガスクロマトグラフ質量分析法で分析した。

【0234】

[分析条件]

ー試験試料の前処理条件ー

自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1 E）及び自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1 M）を、それぞれスプレードライし、粉末化した酵母細胞壁由来分解物含有組成物を試験試料とした。

【0235】

ー固相マイクロ抽出条件ー

- ・ 固相マイクロ抽出（SPME）ファイバー：PDMS／DVB（膜厚：65 μm、コーティング相：ジビニルベンゼン分散ポリジメチルシロキサン、SUPELCO社製）
- ・ 揮発性成分抽出装置：MPS GC-MS用多機能オートサンプラ（ゲステル株式会社製）

- ・ 抽出条件：20 mL容量のSPME用バイアルに前記試験試料2.0 gを量り取り、60℃で30分間揮発性成分を抽出し、前記SPMEファイバーに前記揮発性成分を吸着させた。

【0236】

ーガスクロマトグラフ質量分析条件ー

- ・ 測定機器：Agilent 6890 GC-5975 MSD（アレジレント・テクノロジー株式会社製）
- ・ カラム：DB-WAX（60m×0.250mm ID×0.25 μm F.T、アレジレント・テクノロジー株式会社製）
- ・ 温度条件：38℃（10分間）保持→230℃まで3℃／分間で昇温→230℃（20分間）保持→245℃まで5℃／分間で昇温→245℃（6分間）保持
- ・ キャリヤー：Heガス、ガス流量1.0 mL／分間
- ・ 注入口：スプリット／スプリットレス注入口
- ・ 注入口温度：230℃
- ・ 注入量：1 μL
- ・ 注入法：パルスドスプリットレス（パルス圧250 KPa、1.01 mまで）
- ・ スプリット比：5：1
- ・ ライナー：Straight, SPME taper, Ultra Inert Liner
- ・ トランスファーライン温度：230℃
- ・ イオン化方式：EI（イオン化電圧70 eV）
- ・ イオン源タイプ：エクストラクタイオン源
- ・ イオン源温度：230℃
- ・ 四重極温度：150℃
- ・ 測定モード：Scan
- ・ スキャン質量：m/z 29.0～550.0

【0237】

前記試験試料の固相マイクロ抽出（SPME）ーガスクロマトグラフ質量分析の結果を図1～7に示す。

自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1 E）では、自己消化型酵母細胞壁（未処理物）には認められなかった、カプロン酸エチル（Hexanoic acid, ethyl ester）、カプリル酸エチル（Octanoic acid, ethyl ester）、カプリン酸エチル（Decanoic acid, ethyl ester）、フェニルエチルアルコール（Phenylethyl Alcohol）、及びカプリン酸（n-Decanoic acid）のピークが新たに認められた（図1、図2、及び図4参照）。

また、自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1 M）では、自己消化型酵母細胞壁（未処理物）及び自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1 E）には認められなかった、ピラジン（Pyrazine）、メチルピラジン（Methyl Pyrazine）、2,5-ジメチルピラジン（2,5-Dimethyl Pyrazine）、

2,6-ジメチルピラジン (2,6-Dimethyl Pyrazine)、2,3-ジメチルピラジン (2,3-Dimethyl Pyrazine)、及びフラネオール (Furaneol) のピークが新たに認められた (図1～図7参照)。

各試験試料において検出されたピークのリテンションタイム、ピーク高さ、及びピーク面積は、下記表10-1に示す通りである。

【0238】

【表10-1】

試験試料		検出成分	リテンション タイム (分)	ピーク 面積
調製例3-1	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	カプロン酸エチル	27.8	2489129
		カプリル酸エチル	37.6	149855505
		カプリン酸エチル	46.3	353173994
		フェニルエチルアルコール	56.0	10598725
		カプリン酸	67.4	45982413
調製例5-1	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1M)	ピラジン	26.0	783576
		メチルピラジン	29.0	13029499
		2,5-ジメチルピラジン	32.0	25537954
		2,6-ジメチルピラジン	32.3	14247415
		2,3-ジメチルピラジン	33.2	2520188
		フラネオール	59.8	393837

【0239】

表10-1の自己消化型細胞壁由来分解物含有組成物(1E)に記載の化合物のピークは、原料となるビール酵母の酵母細胞壁(自己消化型酵母細胞壁)を同条件で測定した場合には検出されなかったピークであり、ビール様香を奏する香気成分のピークであると推察される。

また、表10-1の自己消化型細胞壁由来分解物含有組成物(1M)に記載の化合物のピークは、原料となるビール酵母の酵母細胞壁(自己消化型酵母細胞壁)、及びそれを酵素処理した自己消化型細胞壁由来分解物含有組成物(1E)を同条件で測定した場合には検出されなかったピークであり、ローストフレーバーを奏する香気成分のピークであると推察される。

【0240】

<試験例7-2：酵母細胞壁由来分解物含有組成物の香気成分2>

調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)及び調製例3-4で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)を試験試料として、各試験試料の香気成分を、以下の分析条件にて固相マイクロ抽出(SPME)ーガスクロマトグラフ質量分析法で分析した。

【0241】

[分析条件]

ー試験試料の前処理条件ー

自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)及び自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)を、それぞれスプレードライし、粉末化した酵母細胞壁由来分解物含有組成物を試験試料とした。

【0242】

ー固相マイクロ抽出条件ー

- ・ 固相マイクロ抽出（SPME）ファイバー：PDMS／DVB（膜厚：65 μm、コーティング相：ジビニルベンゼン分散ポリジメチルシロキサン、SUPELCO社製）
- ・ 揮発性成分抽出装置：MPS GC－MS用多機能オートサンプラ（ゲステル株式会社製）

・ 抽出条件：20 mL 容量のSPME用バイアルに前記試験試料2.0 gを量り取り、60℃で30分間揮発性成分を抽出し、前記SPMEファイバーに前記揮発性成分を吸着させた。

【0243】

ーガスクロマトグラフ質量分析条件ー

- ・ 測定機器：Agilent 8890B／5977B（シングル四重極）（アレジレント・テクノロジー株式会社製）
- ・ カラム：DB－WAX UI（30m×0.250mm ID×0.25 μm F．T、アレジレント・テクノロジー株式会社製）
- ・ 温度条件：40℃（3分間）保持→250℃まで10℃／分間で昇温→250℃（6分間）保持
- ・ キャリヤー：Heガス、ガス流量1.1 mL／分間
- ・ 注入口：スプリット／スプリットレス注入口
- ・ 注入口温度：250℃
- ・ 注入量：1 μL
- ・ 注入法：パルスドスプリットレス（パルス圧20 psi、3分間）
- ・ スプリット比：5：1
- ・ ライナー：Straight， SPME taper， Ultra Inert Liner
- ・ トランスファーライン温度：230℃
- ・ イオン化方式：EI（イオン化電圧70 eV）
- ・ イオン源タイプ：エクストラクタイオン源
- ・ イオン源温度：250℃
- ・ 四重極温度：150℃
- ・ 測定モード：Scan
- ・ スキャン質量：m／z 29.0～550.0

【0244】

前記試験試料の固相マイクロ抽出（SPME）ーガスクロマトグラフ質量分析の結果を図8に示す。

各試験試料において検出されたピークのリテンションタイム、ピーク高さ、及びピーク面積は、下記表10－2に示す通りである。また、下記表10－2に示すピーク面積をグラフ化したものを図9に示す。

【0245】

10

20

30

40

50

【表 10-2】

試験試料		検出成分	リテンション タイム (分)	ピーク 面積
調製例3-1	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	カプロン酸エチル	8.0	5392
		カプリル酸エチル	11.1	1597774
		カプリン酸エチル	13.7	6043190
		フェニルエチルアルコール	16.8	1349524
		カプリン酸	20.2	1659465
調製例3-4	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(4E)	カプロン酸エチル	8.0	170458
		カプリル酸エチル	11.1	5337014
		カプリン酸エチル	13.7	9398269
		フェニルエチルアルコール	16.8	2023356
		カプリン酸	20.2	13886483

10

【0246】

1種の酵素で処理した自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）は、3種の酵素で処理した自己消化型細胞壁由来分解物含有組成物（1E）と比較して、ビール様香を奏する香気成分が増加することが分かった。

20

【0247】

＜試験例8：酵母細胞壁由来分解物含有組成物の不溶画分の粒度分布＞

調製例1-1で得られた自己消化型酵母細胞壁スラリー及び調製例3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）を試験試料として、以下の方法で前記試験試料中の不溶画分の粒度分布（d10、d50、及びd90）、体積平均粒径（MV）、数平均粒径（MN）、面積平均粒径（MA）、及び標準偏差（SD；測定した粒径分布の分布幅の目安）を測定した。結果を下記表11及び図10に示す。

【0248】

[粒度分布の測定条件]

30

- ・ 測定機器：マイクロトラック粒度分布計（MT3300EX、日機装株式会社製）
- ・ 湿式：溶媒として水を使用
- ・ 透過性：透過
- ・ 屈折率：1.333
- ・ 測定時間：10秒間
- ・ 測定回数：3回
- ・ 方式：レーザー回折散乱法

【0249】

【表 11】

試験試料		d10 (μm)	d50 (μm)	d90 (μm)	MV (μm)	MN (μm)	MA (μm)	SD (μm)
調製例1-1	自己消化型 酵母細胞壁 スラリー	5.199	8.765	17.38	10.251	6.1305	8.3098	4.6586
調製例3-1	自己消化型 酵母細胞壁由来 分解物含有組成物(1E)	1.757	2.419	3.379	2.5161	2.0495	2.348	0.6128

40

【0250】

＜試験例9：酵母細胞壁由来分解物含有組成物の分散安定性＞

調製例1-2で得られた自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物（1）、調製例

50

3-1で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）、及び調製例3-4で得られた自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4E）を試験試料として、以下の方法で分散安定性を評価した。結果を下記表12に示す。

【0251】

試験例5に記載の方法で、前記試験試料の固形分濃度を算出し、各試験試料の固形分濃度を10質量%となるように調整した。

100mL容量のガラスメスシリンダー（柴田科学株式会社製）に、固形分濃度10質量%の試験試料100mLを入れ、常圧下にて、48時間静置した。次いで、メスシリンダーの目盛りにて、堆積物の体積を測定した。

【0252】

【表12】

試験試料		堆積物の体積 (mL)
調製例1-2	自己消化型酵母細胞壁のオートクレーブ処理物(1)	78
調製例3-1	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(1E)	12
調製例3-4	自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物(4E)	11

【0253】

エキソグルカナーゼ単独、又はエキソグルカナーゼとその他の酵素とを同時に酵素処理することにより、酵母細胞壁の可溶化率が向上するだけでなく、固形分の分散安定性も向上することが分かった。

【0254】

<試験例10：イヌの嗜好性試験1>

－試験品I－

実験動物用のドッグフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、ロースト香を有する調製例5-4で調製した自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4M）を0.3質量%振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「試験品I」と称することがある）を調製した。

【0255】

－対照1－

実験動物用のドッグフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）のみを「対照1」として使用した。

【0256】

－2点比較試験－

試験品I及び対照1を使用して、以下の2点比較により、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。この2点比較試験は、統計学的差異を生じさせないようにする目的で、以下に示すように、試験1回目と、試験2回目とで、試験品Iと対照1との左右を入れ替えて実施した。

なお、以下の2点比較試験で使用したビーグル犬は、嗜好性試験用として識別訓練をして合格し、定期トレーニングを実施しているイヌである。

【0257】

〔試験1回目〕

対照1を最後に給与してから24時間後に、試験1回目を実施した。

1回目の試験として、試験品I及び対照1の各給与量（FA；Feeding Amount）を250gとし、それぞれ別の容器に入れ、試験品Iを左側にセットし、対照1を右側にセットし、ビーグル犬（n=20；生後2年～11年：雌（F）、雄（M）、又

10

20

30

40

50

は去勢済み（XM）の混合群；北山ラベス株式会社）に給与した。なお、飲水は自由摂取とした。

この際、最初に口に入れた物（試験品Ⅰ又は対照Ⅰ）をファーストチョイス（FC）とし、各ビーグル犬が、試験品Ⅰ及び対照Ⅰのどちらをファーストチョイスしたかを確認した。表13-1において、「○」は、ファーストチョイスされた物を示す。1回目の試験において、全20頭中、試験品Ⅰ又は対照Ⅰをファーストチョイスした頭数からファーストチョイス率を算出した（以下、「FC1」と称することがある）。結果を表13-1に示す。

【0258】

次に、給与開始から20分間後、各ビーグル犬について、試験品Ⅰ及び対照Ⅰを食べ残した量（以下、「残餌量」と称することがある）（g）から、それぞれのビーグル犬の1回目の摂食量（FI；Feeding Intake）を算出した（以下、「FI1」と称することがある）。なお、1回目の摂食量としては、試験品Ⅰの摂食量及び対照Ⅰの摂食量をそれぞれ算出した。結果を表13-2に示す。

【0259】

〔試験2回目〕

1回目の給与から24時間後、2回目の試験として、試験品Ⅰ及び対照Ⅰの各給与量（FA）を250gとし、それぞれ別の容器に入れ、対照Ⅰを左側にセットし、試験品Ⅰを右側にセットし、1回目の試験と同じ各ビーグル犬に給与した。なお、飲水は自由摂取とした。

この際、1回目の試験と同様に、各ビーグル犬が、試験品Ⅰ及び対照Ⅰのどちらをファーストチョイスしたかを確認した。表13-1において、「○」は、ファーストチョイスされた物を示す。2回目の試験において、全20頭中、試験品Ⅰ又は対照Ⅰをファーストチョイスした頭数からファーストチョイス率を算出した（以下、「FC2」と称することがある）。結果を表13-1に示す。

【0260】

次に、1回目の試験と同様に、給与開始から20分間後、各ビーグル犬について、試験品Ⅰ及び対照Ⅰの残餌量（g）から、それぞれのビーグル犬の2回目の摂食量（FI）を算出した（以下、「FI2」と称することがある）。結果を表13-3に示す。

【0261】

次に、下記式（6）より、試験品Ⅰ又は対照Ⅰの平均ファーストチョイス率（平均FC率）（%）を算出した。結果を下記表13-5に示す。

平均FC率（%）＝（FC1＋FC2）／2・・・式（6）

ただし、式（6）において、「FC1」は、1回目の試験における、試験品Ⅰ又は対照Ⅰのファーストチョイス率を示し、「FC2」は、2回目の試験における、試験品Ⅰ又は対照Ⅰのファーストチョイス率を示す。

【0262】

また、下記式（7）より、各ビーグル犬の試験品Ⅰ又は対照Ⅰの摂食率（%）を算出した。結果を表13-4に示す。各ビーグル犬の試験品Ⅰ又は対照Ⅰの摂食率（%）から、20頭のビーグル犬の試験品Ⅰ又は対照Ⅰの平均摂食率（%）を算出した。結果を下記表13-5に示す。

摂食率（%）＝（FI1－X＋FI2－X）／（FI1－Y＋FI2－Y）×100
・・・式（7）

ただし、式（7）において、「FI1－X」は、1回目の試験における、試験品Ⅰ又は対照Ⅰの摂食量（g）を示し、「FI2－X」は、2回目の試験における、試験品Ⅰ又は対照Ⅰの摂食量（g）を示し、「FI1－Y」は、1回目の試験における試験品Ⅰ及び対照Ⅰの合計摂食量（g）を示し、「FI2－Y」は、2回目の試験における試験品Ⅰ及び対照Ⅰの合計摂食量（g）を示す。式（7）において、試験品Ⅰの摂食率（%）を算出する場合、「FI1－X」及び「FI2－X」は、同時に試験品Ⅰの摂食量（g）を示し、対照Ⅰの摂食率（%）を算出する場合、「FI1－X」及び「FI2－X」は、同時に対

10

20

30

40

50

照 1 の摂食量（g）を示す。
【 0 2 6 3 】
【表 1 3－1】

性別	年齢 (年)	試験1回目		試験2回目	
		試験品I	対照1	対照1	試験品I
		FC1	FC1	FC2	FC2
M	2		○		○
F	8	○			○
M	2		○		○
M	4	○		○	
M	7	○			○
M	2	○			○
XM	11	○			○
M	10	○			○
F	8	○			○
F	8		○		○
F	10	○			○
F	2	○			○
F	7		○		○
F	8	○		○	
M	8	○		○	
F	6	○			○
F	7	○		○	
F	8	○			○
F	7	○			○
F	4	○			○
FC(頭)		16	4	4	16
FC率(%)		80	20	20	80

【 0 2 6 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 2】

性別	年齢 (年)	試験1回目					
		試験品I			対照1		
		給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI1) (g)	給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI1) (g)
M	2	250	0	250	250	116	134
F	8	250	0	250	250	189	61
M	2	250	0	250	250	19	231
M	4	250	0	250	250	183	67
M	7	250	39	211	250	0	250
M	2	250	121	129	250	0	250
XM	11	250	0	250	250	250	0
M	10	250	0	250	250	133	117
F	8	250	0	250	250	250	0
F	8	250	0	250	250	247	3
F	10	250	0	250	250	249	1
F	2	250	0	250	250	202	48
F	7	250	0	250	250	206	44
F	8	250	133	117	250	160	90
M	8	250	0	250	250	135	115
F	6	250	26	224	250	250	0
F	7	250	0	250	250	250	0
F	8	250	0	250	250	217	33
F	7	250	196	54	250	249	1
F	4	250	0	250	250	195	55

【 0 2 6 5】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 3】

性別	年齢 (年)	試験2回目					
		対照1			試験品I		
		給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI2) (g)	給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI2) (g)
M	2	250	23	227	250	0	250
F	8	250	246	4	250	0	250
M	2	250	174	76	250	0	250
M	4	250	183	67	250	0	250
M	7	250	212	38	250	0	250
M	2	250	0	250	250	127	123
XM	11	250	249	1	250	0	250
M	10	250	194	56	250	0	250
F	8	250	248	2	250	0	250
F	8	250	249	1	250	0	250
F	10	250	250	0	250	0	250
F	2	250	0	250	250	191	59
F	7	250	220	30	250	0	250
F	8	250	146	104	250	201	49
M	8	250	0	250	250	180	70
F	6	250	245	5	250	55	195
F	7	250	0	250	250	145	105
F	8	250	184	66	250	0	250
F	7	250	238	12	250	195	55
F	4	250	176	74	250	0	250

【 0 2 6 6】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 4】

性別	年齢 (年)	対照1	試験品I
		摂食率 (%)	摂食率 (%)
M	2	59	41
F	8	89	11
M	2	64	36
M	4	79	21
M	7	66	34
M	2	34	66
XM	11	100	0
M	10	75	25
F	8	100	0
F	8	99	1
F	10	100	0
F	2	51	49
F	7	87	13
F	8	44	56
M	8	45	55
F	6	99	1
F	7	65	35
F	8	84	16
F	7	90	10
F	4	80	20
平均摂食率(%)		75	25

10

20

30

【 0 2 6 7】

【表 1 3 - 5】

	対照1	試験品I
平均ファーストチョイス率 (%)	20	80
平均摂食量率 (%)	25	75

40

表 1 3 - 5 の結果より、対照 1 と比較して、試験品 I の方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、イヌの嗜好性が高いことが分かった。

【 0 2 6 8】

<試験例 1 1：イヌの嗜好性試験 2>

ー対照 2ー

実験動物用のドッグフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、調製例 1 - 1 で使用した粉末状の酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）（製品名：酵母細胞壁、アサヒグループ食品株式会社製）を 0.3 質量% 振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「対照 2」と称することがある）を調製した。

50

【0269】

－ 2点比較試験－

試験例10の2点比較試験において、対照1を対照2に変更したこと以外は、試験例10と同様の方法で、2点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表14に示す。

【0270】

【表14】

	対照2	試験品I
平均ファーストチョイス率 (%)	32	68
平均摂食量率 (%)	31	69

10

表14の結果より、対照2と比較して、試験品Iの方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、イヌの嗜好性が高いことが分かった。

【0271】

<試験例12：イヌの嗜好性試験3>

－ 試験品IIの調製－

実験動物用のドッグフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、ビール様香を有する調製例3-1で調製した自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）を0.3質量%振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「試験品II」と称することがある）を調製した。

20

【0272】

－ 2点比較試験－

試験例11の2点比較試験において、試験品Iを試験品IIに変更したこと以外は、試験例11と同様の方法で、2点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表15に示す。

【0273】

【表15】

	対照2	試験品II
平均ファーストチョイス率 (%)	30	70
平均摂食量率 (%)	31	69

30

表15の結果より、対照2と比較して、試験品IIの方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、イヌの嗜好性が高いことが分かった。

【0274】

<試験例13：イヌの嗜好性試験4>

－ 試験品IIIの調製－

実験動物用のドッグフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、ミートフレーバー様のローストフレーバーを有する調製例6-2で調製した熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（2M）を0.3質量%振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「試験品III」と称することがある）を調製した。

40

【0275】

－ 対照3－

実験動物用のドッグフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、調製例2-1で使用した粉末状の酵母細胞壁（熱水抽出型酵母細胞壁）（製品名：HG-YCW、アサヒグループ食品株式会社製）を0.3質量%振りかけ、均一に混合したペットフード（以

50

下、「対照 3」と称することがある）を調製した。

【0276】

－ 2 点比較試験－

試験例 10 の 2 点比較試験において、試験品 I を試験品 I I I に変更し、対照 1 を対照 3 に変更したこと以外は、試験例 10 と同様の方法で、2 点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表 16 に示す。

【0277】

【表 16】

	対照 3	試験品 III
平均ファーストチョイス率 (%)	30	70
平均摂食量率 (%)	32	68

10

表 16 の結果より、対照 3 と比較して、試験品 I I I の方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、イヌの嗜好性が高いことが分かった。

【0278】

<試験例 14：ネコの嗜好性試験 1>

－試験品 I V－

実験動物用のキャットフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、ロースト香を有する調製例 5－4 で調製した自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（4 M）を 0.3 質量％振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「試験品 I V」と称することがある）を調製した。

【0279】

－対照 4－

実験動物用のキャットフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）のみを「対照 4」として使用した。

【0280】

－ 2 点比較試験－

試験例 10 の 2 点比較試験において、試験品 I を試験品 I V に変更し、対照 1 を対照 4 に変更し、ビーグル犬をネコ（n = 20、生後 2 年～17 年、雌（F）、雄（M）、又は避妊済み（XF）の混合群、北山ラベス株式会社）に変更し、試験 1 回目及び試験 2 回目の給与量を 250 g から 70 g に変更したこと以外は、試験例 10 と同様の方法で、2 点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表 17－1～表 17－5 に示す。表 17－1 において、「○」は、ファーストチョイスされた物を示す。

なお、前記 2 点比較試験で使用したネコは、嗜好性試験用として識別訓練をして合格し、定期トレーニングを実施しているネコである。

【0281】

20

30

40

50

【表 1 7 - 1】

性別	年齢 (年)	試験1回目		試験2回目	
		試験品I	対照1	対照1	試験品I
		FC1	FC1	FC2	FC2
M	2	○			○
M	10	○		○	
M	15	○			○
XF	16	○			○
F	9		○		○
XF	15		○		○
M	11		○	○	
M	8	○			○
F	12	○			○
M	7		○		○
M	10	○		○	
F	11	○			○
XF	16	○		○	
F	7		○		○
F	7	○			○
F	8	○			○
M	10	○			○
F	7	○			○
XF	16		○		○
M	17	○			○
FC(頭)		14	6	4	16
FC率(%)		70	30	20	80

【 0 2 8 2】

10

20

30

40

50

【表 1 7 - 2】

性別	年齢 (年)	試験1回目					
		試験品I			対照1		
		給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI1) (g)	給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI1) (g)
M	2	70	13	57	70	70	0
M	10	70	13	57	70	70	0
M	15	70	3	67	70	70	0
XF	16	70	66	4	70	62	8
F	9	70	36	34	70	69	1
XF	15	70	48	22	70	69	1
M	11	70	11	59	70	62	8
M	8	70	37	33	70	67	3
F	12	70	36	34	70	66	4
M	7	70	14	56	70	63	7
M	10	70	16	54	70	48	22
F	11	70	16	54	70	46	24
XF	16	70	51	19	70	69	1
F	7	70	69	1	70	24	46
F	7	70	43	27	70	68	2
F	8	70	23	47	70	70	0
M	10	70	9	61	70	70	0
F	7	70	33	37	70	58	12
XF	16	70	62	8	70	55	15
M	17	70	8	62	70	70	0

【 0 2 8 3】

10

20

30

40

50

【表 1 7 - 3】

性別	年齢 (年)	試験2回目					
		対照1			試験品I		
		給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI2) (g)	給与量 (FA) (g)	残餌量 (g)	摂食量 (FI2) (g)
M	2	70	70	0	70	33	37
M	10	70	69	1	70	32	38
M	15	70	57	13	70	7	63
XF	16	70	61	9	70	66	4
F	9	70	70	0	70	44	26
XF	15	70	50	20	70	59	11
M	11	70	43	27	70	54	16
M	8	70	67	3	70	27	43
F	12	70	67	3	70	40	30
M	7	70	20	50	70	69	1
M	10	70	56	14	70	40	30
F	11	70	70	0	70	0	70
XF	16	70	53	17	70	70	0
F	7	70	39	31	70	69	1
F	7	70	67	3	70	42	28
F	8	70	70	0	70	28	42
M	10	70	69	1	70	32	38
F	7	70	58	12	70	29	41
XF	16	70	70	0	70	39	31
M	17	70	62	8	70	33	37

【 0 2 8 4】

10

20

30

40

50

【表 1 7 - 4】

性別	年齢 (年)	対照1	試験品I
		摂食率 (%)	摂食率 (%)
M	2	100	0
M	10	99	1
M	15	91	9
XF	16	32	68
F	9	99	1
XF	15	66	34
M	11	63	37
M	8	93	7
F	12	90	10
M	7	45	55
M	10	70	30
F	11	85	15
XF	16	48	53
F	7	3	97
F	7	92	8
F	8	100	0
M	10	99	1
F	7	76	24
XF	16	67	33
M	17	91	9
平均摂食率(%)		75	25

10

20

30

【 0 2 8 5】

【表 1 7 - 5】

	対照4	試験品IV
平均ファーストチョイス率 (%)	25	75
平均摂食量率 (%)	25	75

40

表 1 7 - 5 の結果より、対照 4 と比較して、試験品 I V の方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、ネコの嗜好性が高いことが分かった。

【 0 2 8 6】

<試験例 1 5：ネコの嗜好性試験 2 >

ー対照 5ー

実験動物用のキャットフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、調製例 1 - 1 で使用した粉末状の酵母細胞壁（自己消化型酵母細胞壁）（製品名：酵母細胞壁、アサヒグループ食品株式会社製）を 0 . 3 質量％振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「対照 5」と称することがある）を調製した。

50

【0287】

－ 2点比較試験－

試験例14の2点比較試験において、対照4を対照5に変更したこと以外は、試験例14と同様の方法で、2点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表18に示す。

【0288】

【表18】

	対照5	試験品IV
平均ファーストチョイス率 (%)	20	80
平均摂食量率 (%)	30	70

10

表18の結果より、対照5と比較して、試験品IVの方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、ネコの嗜好性が高いことが分かった。

【0289】

<試験例16：ネコの嗜好性試験3>

－試験品Vの調製－

実験動物用のキャットフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、ビール様香を有する調製例3-1で調製した自己消化型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（1E）を0.3質量%振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「試験品V」と称することがある）を調製した。

20

【0290】

－ 2点比較試験－

試験例15の2点比較試験において、試験品IVを試験品Vに変更したこと以外は、試験例15と同様の方法で、2点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表19に示す。

【0291】

【表19】

	対照5	試験品V
平均ファーストチョイス率 (%)	32	68
平均摂食量率 (%)	35	65

30

表19の結果より、対照5と比較して、試験品Vの方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、ネコの嗜好性が高いことが分かった。

【0292】

<試験例17：ネコの嗜好性試験4>

－試験品VIの調製－

実験動物用のキャットフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、ミートフレーバー様のローストフレーバーを有する調製例6-2で調製した熱水抽出型酵母細胞壁由来分解物含有組成物（2M）を0.3質量%振りかけ、均一に混合したペットフード（以下、「試験品VI」と称することがある）を調製した。

40

【0293】

－対照6－

実験動物用のキャットフード（嗜好剤未添加、北山ラベス株式会社製）に、調製例2-1で使用した粉末状の酵母細胞壁（熱水抽出型酵母細胞壁）（製品名：HG-YCW、アサヒグループ食品株式会社製）を0.3質量%振りかけ、「対照6」を調製した。

50

【0294】

－ 2点比較試験－

試験例14の2点比較試験において、試験品ⅠⅤを試験品ⅤⅠに変更し、対照4を対照6に変更したこと以外は、試験例14と同様の方法で、2点比較試験を行い、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率について試験した。結果を表20に示す。

【0295】

【表20】

	対照6	試験品ⅤⅠ
平均ファーストチョイス率(%)	27	73
平均摂食率(%)	28	72

10

表20の結果より、対照6と比較して、試験品ⅤⅠの方が、平均ファーストチョイス率及び平均摂食率が有意に高く、残餌量も有意に少なく、ネコの嗜好性が高いことが分かった。

【0296】

試験例10～17において、何も添加していないペットフード（対照1又は対照4）と、酵母細胞壁を添加したペットフード（対照2、対照3、対照5、又は対照6）とを比較すると、ペットフードに酵母細胞壁を添加することで、動物の嗜好性が少し向上した。これは、ビール酵母の細胞壁が、ある程度の酵母臭等を含むためと考えられる。しかしながら、ペットフードに、酵母細胞壁由来分解物含有組成物（酵素処理物）を添加した場合、及び酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）を添加した場合のいずれも、通常のペットフードと比較して顕著に嗜好性が向上するだけでなく、前記酵母細胞壁を添加したペットフードと比較しても、顕著に嗜好性が向上した。特に、酵母細胞壁由来分解物含有組成物（加熱処理物）は、ネコの嗜好性を好適に向上させることができることが分かった。

20

【産業上の利用可能性】

【0297】

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物の製造方法は、酵母細胞壁の可溶化率及び分散安定性を向上することができ、酵母細胞壁の不溶性画分の分離除去操作が不要で作業効率及び生産効率が高く、かつ低コストであるため、従来、酵母エキスを抽出後の不溶物として廃棄されていた酵母細胞壁を有効利用する方法として好適に利用可能である。

30

本発明の細胞壁由来分解物含有組成物は、可溶性及び分散安定性に優れるため、食品分野、バイオ分野、化粧品分野などの種々の分野において好適に利用可能である。特に、飲食品類、アルコール類、ペットフード用原料、ペットフード用嗜好性向上剤、培地などに好適に利用可能である。

本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物、ローストフレーバー付与用組成物、及びロースト色付与用組成物は、可溶性及び分散安定性に優れ、良好なローストフレーバー及び油脂感、並びに良好なロースト色を有するため、飲食品、ペットフード、ペットフード用嗜好性向上剤などのローストフレーバー増強、ローストフレーバー付与、ロースト色増強、ロースト色付与、油脂感増強、及び油脂感付与の少なくともいずれかのために好適に利用可能である。また、ローストフレーバー増強、ローストフレーバー付与、ロースト色増強、ロースト色付与、油脂感増強、及び油脂感付与の少なくともいずれかのための香料及び香料原料等の添加剤又はその原料としても好適に利用可能である。

40

本発明のビール様香付与用組成物は、可溶性及び分散安定性に優れ、オフフレーバーが少なく、かつ、良好なビール様香を有するため、飲食品のビール様香増強、及びビール様香付与の少なくともいずれかのために好適に利用可能である。また、ビール様香増強や、ビール様香付与の少なくともいずれかのための香料、香料原料、食品素材、抽出原料等の添加剤又はその原料としても好適に利用可能である。

本発明の飲食品は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有するため、ビール

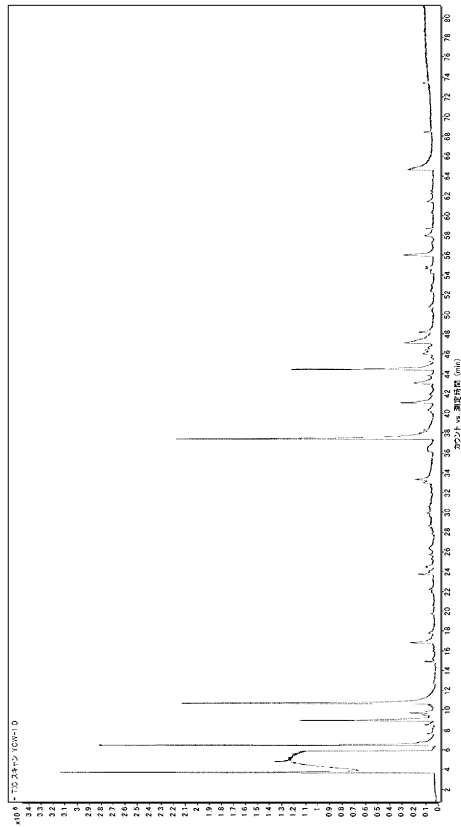
50

様香、ローストフレーバー、油脂感、ロースト色などを有する飲食品として好適に利用可能である。

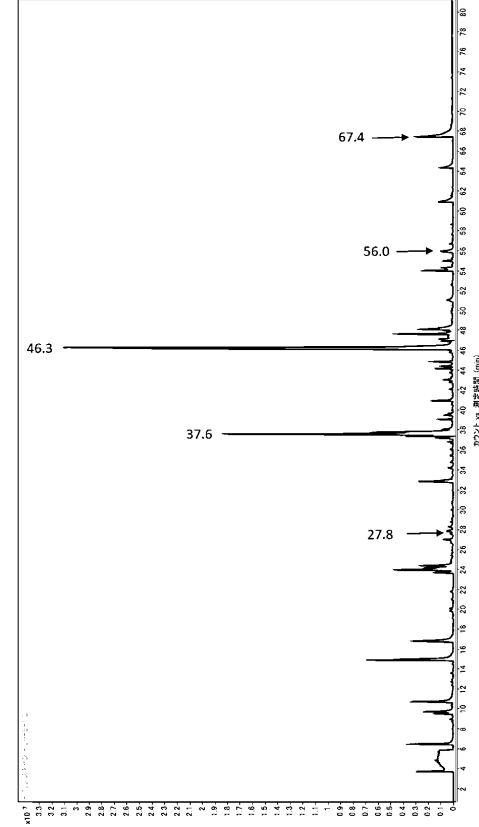
本発明のペットフード用嗜好性向上剤は、本発明の酵母細胞壁由来分解物含有組成物を含有するため、ペットフードの添加剤又はその原料として好適に利用可能である。

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

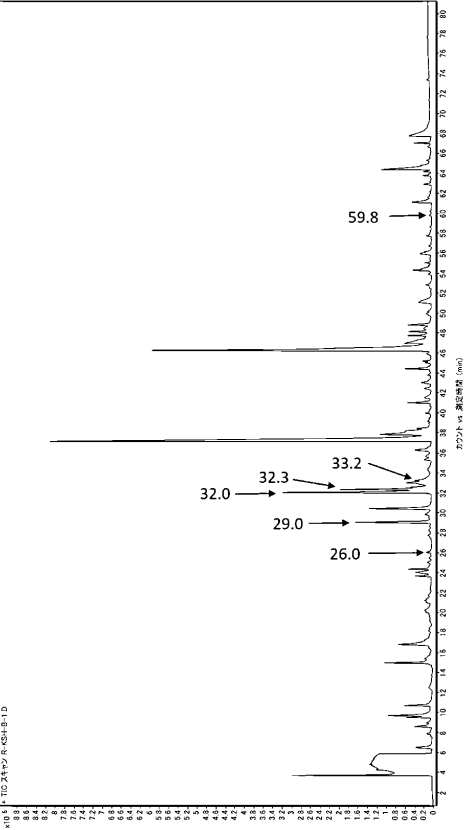
20

30

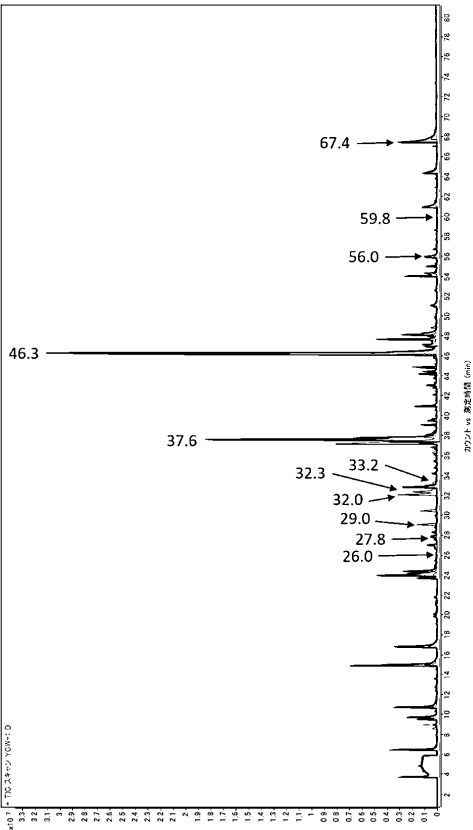
40

50

【図 3】



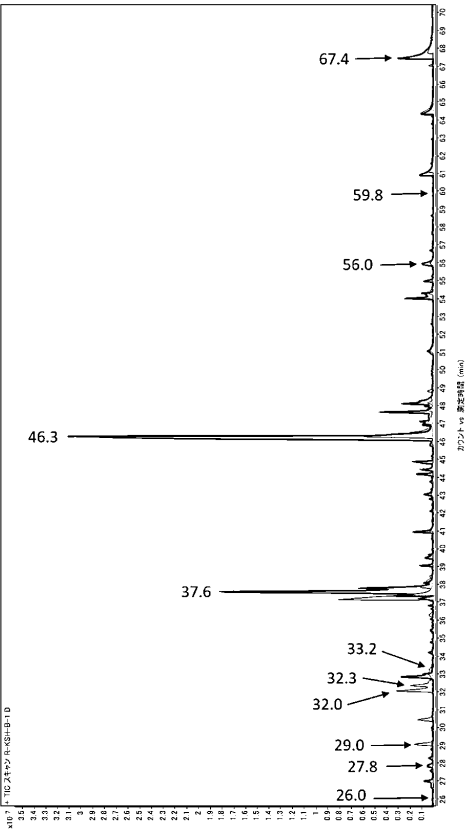
【図 4】



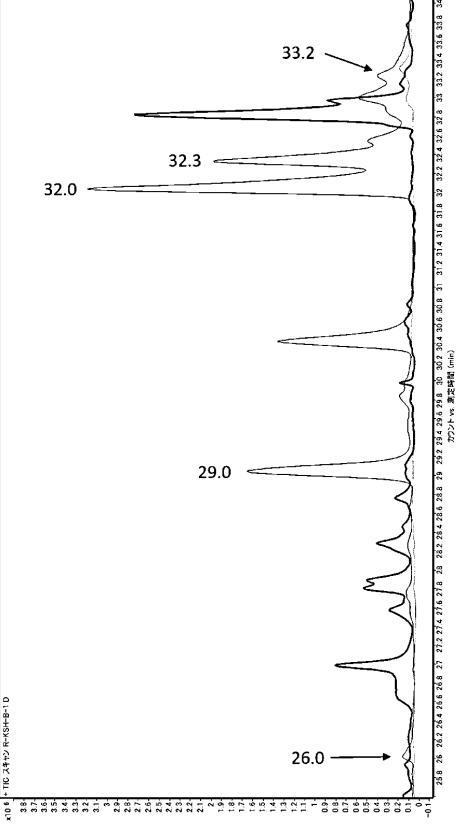
10

20

【図 5】



【図 6】

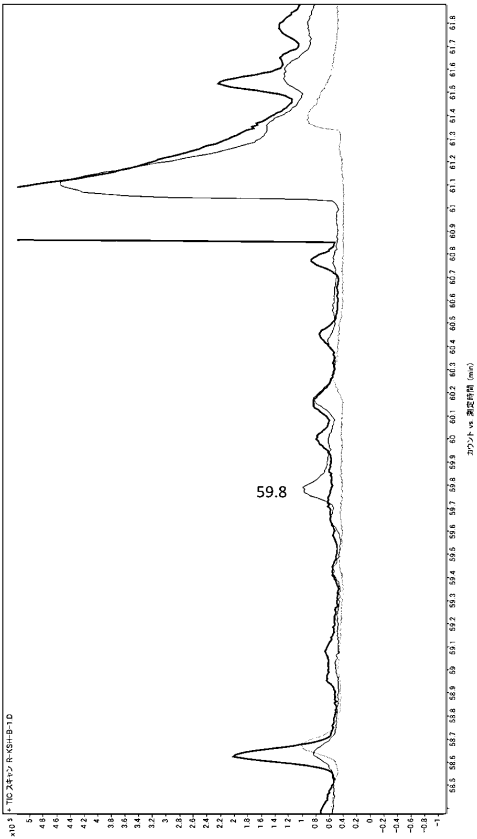


30

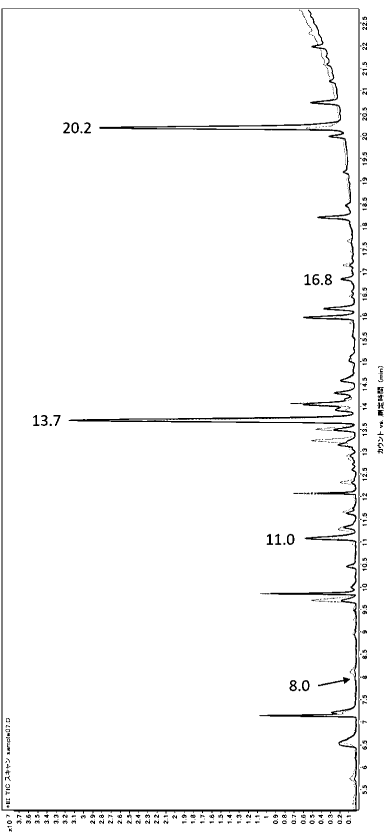
40

50

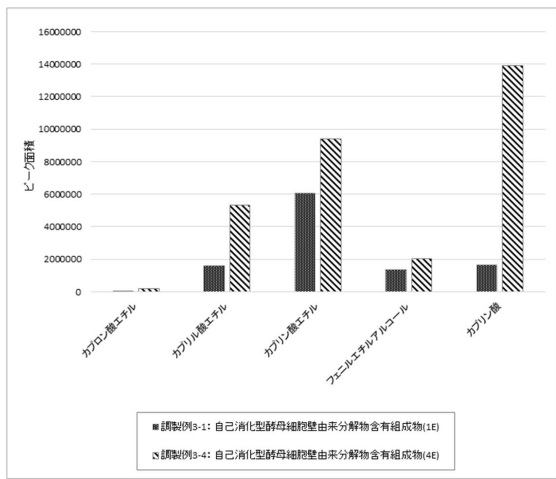
【図 7】



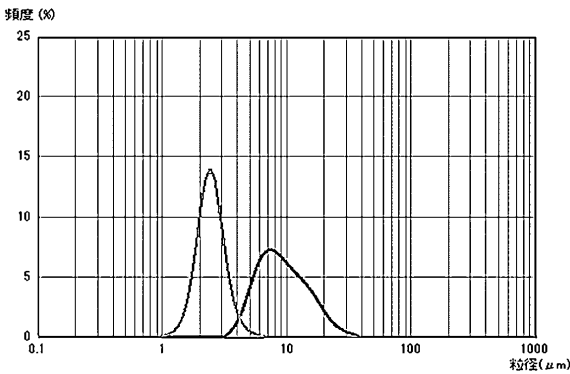
【図 8】



【図 9】



【図 10】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I		
A 2 3 L	27/10 (2016.01)	A 2 3 L	27/10	H
A 2 3 K	50/40 (2016.01)	A 2 3 K	50/40	
A 2 3 K	10/16 (2016.01)	A 2 3 K	10/16	

アサヒグループ食品株式会社内

審査官 松井 一泰

- (56)参考文献
- 特表 2 0 1 4 - 5 1 5 2 7 3 (J P , A)
 - 特表 2 0 1 8 - 5 3 1 5 8 6 (J P , A)
 - 特開 2 0 1 0 - 0 9 9 0 0 1 (J P , A)
 - 特表 2 0 1 1 - 5 2 6 7 8 1 (J P , A)
 - 特開 2 0 0 0 - 3 1 2 5 6 2 (J P , A)
 - 特開 2 0 1 2 - 1 6 1 2 6 8 (J P , A)
 - 特開 2 0 1 2 - 0 1 6 3 0 1 (J P , A)
 - 国際公開第 2 0 1 3 / 1 4 0 9 0 1 (W O , A 1)

- (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)
- C 1 2 P 1 / 0 0 - 4 1 / 0 0
 - J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)