(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年11月7日(07.11.2019)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2019/212050 A1

(51) 国際特許分類:
*B01J 13/04* (2006.01) *A23L 5/00* (2016.01)
*A23L 2/00* (2006.01) *A23L 31/10* (2016.01)
*A23L 3/00* (2006.01) *C11B 9/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2019/018037

(22) 国際出願日： 2019年4月26日(26.04.2019)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2018-088182 2018年5月1日(01.05.2018) JP

(71) 出願人：テーブルマーク株式会社(**TABLEMARK CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒1040045 東京都中央区築地六丁目４番１０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者：立 松 綾 子 (**TATEMATSU, Ayako**); 〒1440042 東京都大田区羽田旭町５丁目１４番 富士食品工業株式会社 素材開発部内 Tokyo (JP). 松藤 久(**MATSUFUJI, Hisashi**); 〒2220032 神奈川県横浜市港北区大豆戸町９４番地 富士食品工業株式会社内 Kanagawa (JP). 藤江 望未(**FUJIE, Nozomi**); 〒1440042 東京都大田区羽田旭町５丁目１４番 富士食品工業株式会社 素材開発部内 Tokyo (JP).

(74) 代理人：小野 新次郎，外(**ONO, Shinjiro** et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目２番１号 新大手町ビル２０６区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能)：AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：
一 国際調査報告（条約第21条(3)）

(54) **Title:** MICROCAPSULE

(54) 発明の名称： マイクロカプセル

(57) **Abstract:** The present invention relates to a microcapsule that comprises a yeast cell remaining after the contents thereof have been removed, a method for producing the microcapsule, and a use therefor. A method for producing a microcapsule according to the present invention includes: a step in which yeast cells are subjected to hot water treatment, the contents of the yeast cells are discharged to the exterior thereof, and yeast cells remaining after the contents thereof have been removed are thus produced; and a step in which the yeasts cells remaining after the contents thereof have been removed are used as a first active ingredient and a second active ingredient is encapsulated therein. The yeast cells remaining after the contents thereof have been removed are not subjected to acid treatment.

(57) 要約：本発明は、内容成分が分離され残留した酵母細胞を含むマイクロカプセル、並びにその製造方法及びその利用に関する。本発明のマイクロカプセルの製造方法は、酵母細胞を熱水処理し、内容成分が菌体外に放出され、内容成分が分離され残留した酵母細胞を製造する工程、前記内容成分内容成分が分離され残留した酵母細胞を第１有効成分とし、これに第２有効成分を内包させる工程、を含み、ただし、内容成分内容成分が分離され残留した酵母細胞に酸処理を施さない。

WO 2019/212050 A1

# 明　細　書

## 発明の名称 ： マイクロカプセル

## 技術分野

[0001] 本発明は、酵母細胞を有効成分として含有するマイクロカプセル、並びにその製造方法及びその利用に関する。

## 背景技術

[0002] 食品のおいしさを考える上で香味は非常に重要な因子である。香味に関与する香料（フレーバー）の物理化学的特性としては、分子量が３００以下と低く、また、その分子構造にはアルデヒド・ケトン・エステルのような反応性基を持つものが多い。よって、フレーバーは高揮発性を有し、熱・光・酸素に対して不安定な物質であるといえる。食品加工では、乾燥・濃縮・殺菌といった種々の工程において加熱処理が行われる。これら工程においてフレーバーが揮散又は酸化し、食品の品質劣化や風味の低下が引き起こされる。このため、フレーバーの保持安定化は必要不可欠といえる。

[0003] フレーバーの保持安定化手法には、活性炭やゼオライトに吸着して保持する吸着法や、皮膜物質で被覆して内容物を保護するマイクロカプセル化法がある。マイクロカプセルは、液体、固体、気体を内包し、そのまわりを薄い皮膜で均一に覆った微粒子である。医薬品、農薬、香料、食品素材等を内包させたマイクロカプセルが工業的に製品化されている。ある特性をもった物質の外側に薄膜を形成させることでその特性も同時に封じ込めてしまうことが可能で、必要時に内包された物質を取り出すことができる。食品フレーバーについては、マイクロカプセル化技術により、調理・加工時における反応及び揮散の抑制、熱、光及び酸化からの劣化の防止、長期保蔵性の向上、徐放制御などの効果が期待できる。マイクロカプセルの製法には、化学的手法として、界面重合法、液中硬化皮膜法、シクロデキストリンによる分子包接法など、物理的手法として、噴霧乾燥法、噴霧冷却法、気中懸濁皮膜法など、及び菌体法として酵母等の菌体内に液体物質を包括する方法（菌体法）が

ある。

[0004] 菌体法に主に用いられる酵母は、古くから食品加工において、糖質の発酵によるアルコール飲料の製造や、パン・味噌・漬物などといった発酵食品を作るのになくてはならない存在である。近年では、生物工学や遺伝子工学の飛躍的な技術進歩により、アミノ酸・ビタミン・核酸など、食品領域のみならず医薬品分野も含め、多種多様の有用物質の製造に利用されている。その一方で、有用物質を抽出した後に発生する酵母細胞の骨格部分については利用手段が少なく、産業廃棄物として大量に廃棄されている。この酵母細胞の骨格部分を主成分として含有する細胞（以下、酵母細胞）の有効活用における新たな技術開発が求められている。

[0005] 近年、酵母の生体膜構造に着目した包括技術、特にフレーバー包括法が注目されている。酵母マイクロカプセルは、菌体内に香料を内包させた酵母をカプセル化したものである。酵母細胞内にフレーバーを封入することにより、酵母フレーバー粉末が作製される。酵母フレーバー粉末は、酵母細胞を用いない噴霧乾燥粉末と異なり、水溶液中でも粉末の形状を保ち、吸水後すぐにフレーバーが徐放する酵母細胞を用いない噴霧乾燥粉末と差別化でき、酵母フレーバー粉末は、乾燥食品以外での応用も期待できるフレーバー包括方法であると考えられる。

[0006] 酵母マイクロカプセルの製造方法として、酵母菌体内成分を菌体外に放出させた酵母菌体のカプセル化が報告されている。

[0007] 特開平８－２４３３７８は、自己消化後に酸処理をした酵母菌体をマイクロカプセル化する製造方法である。酸処理により、酵母細胞壁表面と内包する物質の電気的な反発を軽減し、取り込ませ易くする方法である（特開平８－２４３３７８の段落００１２）。特開２００９－２６８３９５は、菌体内に香料や香辛料抽出物を内包した酵母マイクロカプセルの表面を油脂で被覆した酵母カプセルに関する。この方法では酵母細胞を、酵素処理後、固形分を酸処理し、酵母菌体内へ香料を封入する。

[0008] 上述した特開平８－２４３３７８及び特開２００９－２６８３９５の方法

では、カプセル化すべき物質を多く内包させるために、酵素処理による分離後に強酸での処理が必要であった。そのため、カプセル化の際、アルカリ溶液などでｐＨ調整が必要であり、アルカリ溶液添加による成分変化が起こり、風味に影響することが懸念されていた。

[0009] 特表２０１６－５１４９５１は、原形質分離させた酵母等の微生物と、フレーバー又はフレグランス、及び水を一定の割合で含有する均質なペーストを含有する組成物において、フレーバー又はフレグランスは原形質分離させた生物中でカプセル化した原形質分離させた微生物の製造方法である。原形質分離させた微生物との混合物をポリマーの水溶性乳化剤及び任意の炭水化物から構成されるキャリヤーを混和し、加熱した後、押し出し機で溶融塊を押し出し、顆粒に切断しガラス粒子又はガラスビーズを製造する。

[0010] また、酵母細胞をフレーバー粉末の基剤として利用した場合、廃棄物を高付加価値商品として販売できる可能性がある。包括されたフレーバーは、オイル条件下では、ほとんどフレーバーは徐放されず、湿潤の細胞では、膨潤し細胞壁上の孔が増加し、フレーバーが徐放され、一方乾燥酵母では、孔が閉鎖され徐放されにくいことが報告されている。しかしながら、包括されたフレーバーの継時的な徐放挙動や、包括されたフレーバーの安定性についてはほとんどわかっていない。

[0011] 国際公開ＷＯ２０１６／０８０４９０には、酵母細胞をプロテアーゼやセルラーゼといった酵素処理や乳化剤添加処理することで、特有の異味（苦味、渋み、えぐ味など）又は異臭を低減することが報告されている。

[0012] 上述したように、酵母を用いたカプセル化については研究がされていたが、風味が良く、かつ、安定に優れたマイクロカプセルは得られていなかった。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0013] 特許文献1：特開平８－２４３３７８

特許文献2：特開２００９－２６８３９５

特許文献3：特表２０１６－５１４９５１

特許文献4：国際公開ＷＯ２０１６／０８０４９０

特許文献5：ＷＯ２０１７／０１４２５３

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0014] 本発明者らは、上記問題解決のために鋭意研究に務めた結果、酵母細胞から、内容成分を菌体外に放出させ、内容成分が分離された酵母細胞を用いることにより、安定性、徐放性そして風味に優れたマイクロカプセルが得られることを見出し，本発明を想到した。

[0015] 本発明は、マイクロカプセルの製造方法を提供することを目的とする。

[0016] 本発明は、本発明の製造方法によって製造された内容成分が分離された酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセルを提供することを目的とする。

[0017] 本発明は、本発明のマイクロカプセルを含む、食品又は飲料の風味向上剤を提供することを目的とする。

[0018] 本発明は、本発明のマイクロカプセル、あるいは、風味向上剤を含む、食品又は飲料を提供することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0019] 限定されるわけではないが、本発明は以下の態様を含む

［態様１］

マイクロカプセルの製造方法であって、

酵母細胞を熱水処理し、内容成分が菌体外に放出され、内容成分が分離され残留した酵母細胞を製造する工程、

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞を第１有効成分とし、これに第２有効成分を内包させる工程、

を含む、

ただし、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酸処理を施さない、

前記製造方法。

［態様２］

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞にプロテアーゼ及び／又はセルラーゼ添加処理を施す工程を含む、態様１の方法。

［態様３］

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞にプロテアーゼ及び／又はセルラーゼ添加処理を施す工程の前、後、又は同時に乳化剤を添加する工程を含む、態様２に記載の方法。

［態様４］

乳化剤が、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、レシチン及びサポインからなる群より選択される、態様３に記載の方法。

［態様５］

第２有効成分が、香料、香辛料抽出物、香味油、動物性油脂及び植物性油脂からなる群から選択される脂溶性物質である、態様１－４のいずれか１項に記載の方法。

［態様６］

内容成分が分離され残留した酵母細胞が、乾燥された状態のものである、態様１－５のいずれか１項に記載の方法。

［態様７］

内容成分が分離され残留した酵母細胞が、タンパク質成分を４５重量％－７０重量％の範囲で含有する、態様１－６のいずれか１項に記載の方法。

［態様８］

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程が、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌することを含む、態様１－７のいずれか１項に記載の方法。

［態様９］

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程が、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合

して攪拌し、得られた分散液を乾燥することを含む、態様１－８のいずれか１項に記載の方法。

［態様１０］

内容成分が分離され残留した酵母細胞と第２有効成分の混合割合が、４：１－１：１の範囲である、態様８又は９に記載の方法。

［態様１１］

攪拌時間が１時間以上８時間以内である、態様８－１０のいずれか１項に記載の方法。

［態様１２］

攪拌温度が２５℃以上５０℃未満である、態様８－１１のいずれか１項に記載の方法。

［態様１３］

第２有効成分の包括効率が少なくとも４０％である、態様１－１２のいずれか１項に記載の方法。

［態様１４］

態様１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル。

［態様１５］

酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルと比較して、第２有効成分の徐放性が向上している、態様１４に記載のマイクロカプセル。

［態様１６］

酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルと比較して、同等の酸化安定性である、態様１５に記載のマイクロカプセル。

［態様１７］

第２有効成分を５重量％以上含む、態様１４－１６のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

［態様１８］

第２有効成分が香料、香辛料抽出物、動物性油脂、香味油及び植物性油脂からなる群から選択される脂溶性物質である、態様１４－１７のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

［態様１９］

ペースト状である、態様１４－１８のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

［態様２０］

冷蔵保存され得る、態様１９のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

［態様２１］

態様１４－２０のいずれか１項に記載のマイクロカプセルを含む、食品又は飲料の風味向上剤。

［態様２２］

態様１４－２０のいずれか１項に記載のマイクロカプセル、あるいは、態様２１に記載の風味向上剤を含む、食品又は飲料。

［態様２３］

レトルト食品である、態様２２に記載の食品。

［態様２４］

（１）態様１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル、及び

（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物

を含む、植物性タンパク質臭を抑制するための組成物。

［態様２５］

（１）態様１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル、及び

（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物

を含む、食品又は飲料。

［態様２６］

（１）態様１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル、及び

（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物

を添加することを含む、植物性タンパク質臭を抑制するための方法。

## 発明の効果

[0020] 本発明のマイクロカプセルは、熱水抽出した酵母細胞をカプセル化することで、多量の香料を内包することができるだけでなく、経時的及び喫食時間の経過につれて、香りを放出する徐放性にも優れた酵母マイクロカプセル化を製造することができた。さらに、本発明のマイクロカプセルは、酸処理を施さないため、バニラフレーバーなど、これまで酸化臭が影響するために使用ができなかったフレーバーも内包することができ、加工食品、調味料、レトルト食品のみではなく、乳製品などより多くの飲食品に使用することができる。

## 図面の簡単な説明

[0021] [図1]図１は、酵母細胞（標品２－Ｄ）の酵母分散液濃度（固形分濃度）（重量％）とフレーバー包括率（ｍｇ／ｇ粉末マイクロカプセル）（左縦軸）及び含水率（右縦軸）の関係を示す。黒丸は包括率、白丸は、含水率を示す。

[図2]図２は、マイクロカプセル中のフレーバーと酵母（標品２）の混合割合（フレーバー／酵母）とフレーバーの包括率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）（左縦軸）及び包括効率（％）（右縦軸）の関係を示す。四角はフレーバー包括率、菱形は包括効率を示す。図２Ａは、酵素や乳化剤で処理せず、噴霧乾燥（スプレードライ）し得た酵母細胞を用いた酵母マイクロカプセル（標品２－Ｓ）の結果、図２Ｂは、酵素や乳化剤で処理せず、加熱乾燥（ドラムドライ）し得たの酵母細胞（標品２－Ｄ）を用いた酵母マイクロカプセルの結果を示す。

[図3]図３は、マイクロカプセル中のフレーバーと酵母の混合割合（フレーバー／酵母）とフレーバーの包括率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）（左縦軸）の関係を示す。黒塗りのグラフは、標品１－Ｄを用いた結果、網掛けのグラフは標品２－Ｄを用いた結果を示す。

[図4]図４は、噴霧乾燥空気入口温度とフレーバー包括率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）の関係を示す。丸型は、標品１－Ｄとｄ－リモネンの包括率、菱形は標品２－Ｄとｄ－リモネンの包括率、四角は、標品１－Ｄの含水率、三角は標品２－Ｄの含水率の結果を示す。

[図5]図５は、内容成分が抽出された細胞、第２有効成分及び水の混合液の攪拌時間と、フレーバー包括率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）の関係を示す。四角は、標品１－Ｄとｄ－リモネン、丸型は標品２－Ｄとｄ－リモネン、菱形は、標品１－Ｄとカプロン酸エチル、三角は標品２－Ｄとカプロン酸エチルの結果を示す。

[図6]図６は、内容成分が抽出された細胞（標品１）、第２有効成分及び水の混合液の攪拌温度と、フレーバー包括率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）の関係を示す。各温度の右側の黒色グラフがカプロン酸エチル、左側の網掛けグラフがｄ－リモネンの結果を示す。

[図7]図７は、内容成分が抽出された細胞（標品２）、第２有効成分及び水の混合液の攪拌温度と、フレーバー包括率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）の関係を示す。

[図8]図８は、酵素や乳化剤で処理せず、噴霧乾燥（スプレードライ）し得た酵母細胞（標品２－Ｓ）を用いた酵母マイクロカプセルの構造を走査形電子顕微鏡を用いて観察した結果を示す。左から、フレーバーを含まない対照マイクロカプセル、カプロン酸エチルを含むマイクロカプセル、ｄ－リモネンを含むカプセルである。上段及び中断は３０００倍、下段は１０，０００倍の顕微鏡写真である。

[図9]図９は、酵素や乳化剤で処理せず、ドラムドライし得た酵母細胞（標品２－Ｄ）を用いた酵母マイクロカプセルの構造を走査形電子顕微鏡を用いて

観察した結果を示す。左から、フレーバーを含まない対照マイクロカプセル、カプロン酸エチルを含むマイクロカプセル、ｄ－リモネンを含むカプセルである。上段及び中段は３０００倍、下段は１０，０００倍の顕微鏡写真である。

[図10]図１０は、酵素処理、乳化剤処理を行い噴霧乾燥した酵母細胞（標品１－Ｄ）を用いた酵母マイクロカプセルの構造を走査形電子顕微鏡を用いて観察した結果を示す。上段はカプセル化前の酵母細胞（標品１－Ｄ）であり、下段がｄ－リモネンを含むマイクロカプセルである。上段は３０００倍、左下段は５０００倍、右下段は１５００倍の顕微鏡写真である。

[図11]図１１は、マイクロカプセルの徐放挙動を調べた結果である。横軸は、マイクロカプセルを製造し乾燥条件又は湿潤条件を課してからの時間（分）、縦軸はフレーバー残留率を示す。左は、乾燥条件徐放、右は、湿潤条件（１００％重量％）徐放である。上段はカプロン酸エチルを含むマイクロカプセルの結果、下段はｄ－リモネンを含むカプセルの結果である。

[図12]図１２は、マイクロカプセルの酸化安定性を調べた結果である。横軸は、マイクロカプセルを１０５℃の酸化条件下に供した保存期間（日）である。縦軸は、リモネン酸化物放出率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）（図１２Ａ）及び、カルボン放出率（ｍｇ／粉末マイクロカプセル）（図１２Ｂ）である。丸印は、標品２－Ｄをカプセル化したもの、四角は、標品２－Ｄを酸処理しカプセル化したもの（比較例１）、そして、▲はデキストリンの噴霧乾燥品の結果である。

[図13]図１３は、植物性タンパク質のみ（試験区１）、乳酸菌・酵母発酵物を添加（試験区２）、酵母マイクロカプセルを添加（試験区３）、乳酸菌・酵母発酵物及び酵母マイクロカプセルの両者を添加（試験区４）の各試験区について、ＧＣ－ＭＳ測定を行い、各試験区のヘキサナールにあたるＧＣピークの総面積を示した図である（上から、試験区１～試験区４）。

## 発明を実施するための形態

[0022] １．マイクロカプセルの製造方法

本発明は、一態様において、マイクロカプセルの製造方法に関する。

[0023] 限定されるわけではないが、本発明の方法は、

酵母細胞を熱水処理し、内容成分が菌体外に放出させ、内容成分が分離され残留した酵母細胞を製造する工程、

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞を第１有効成分とし、これに第２有効成分を内包させる工程、

を含む、

ただし、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酸処理を施さない。

[0024] （酵母細胞）

本発明において、酵母細胞の種類は特に限定されない。一態様において、酵母細胞としては、トルラ酵母、パン酵母、ビール酵母、清酒酵母等の細胞が挙げられる。また、酵母細胞は、圧搾酵母、乾燥酵母、活性乾燥酵母、死滅酵母、殺菌乾燥酵母等の種々の形態であってもよい。また、酵母細胞は、酵母細胞（菌体）と実質的に同じ組成からなる酵母細胞由来物（例えば、酵母細胞の破砕物、粉末）であってもよい。

[0025] 本発明に用いられる酵母は、例えば、サッカロミセス（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）属に属する酵母やキャンディダ（Ｃａｎｄｉｄａ）属に属する酵母であってよく、特に限定されるものではない。例えば、食経験が豊富である観点から、サッカロミセス・セレビジエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）であってもよく、研究等で知見が多い観点から、キャンディダア・ユーティリス（Ｃａｎｄｉｄａ　ｕｔｉｌｉｓ）であってもよい。

[0026] （熱水処理）

本発明の方法は、酵母細胞を熱水処理し、内容成分が菌体外に放出され、内容成分が分離され残留した酵母細胞を製造する工程を含む。内容成分が菌体外に放出させる機能を有する溶液であれば水以外の高温の溶液も使用可能である。例えば、緩衝液、乳化剤を使用してもよい。

「内容成分」とは、酵母菌体を分解抽出した成分のことである。主成分と

してアミノ酸や核酸関連物質、ミネラル、ビタミン類を含み、「調味料」、「微生物培養の培地」、「家畜飼料」、「健康補助食品」などに用いられる。発酵機能や発酵産物（代謝物）をパンやアルコール飲料などに利用してもよい。

[0027] 本願発明は、内容成分が分離され残留した酵母細胞をマイクロカプセルを構成する第１有効成分として使用する。本明細書において、内容成分が分離され残留した酵母細胞を「酵母細胞」と呼称する場合がある、非限定的に、「内容成分が分離され残留した酵母細胞」の例として、モイステックスＳＴＤ（富士食品工業）が挙げられる。モイステックスＳＴＤは、内容成分が分離した後の酵母細胞を酵素処理及び乳化剤で処理したものである。「内容成分が分離され残留した酵母細胞」の他の例として、いわゆる乾燥酵母であり、「ＤＹＰ－ＳＹ－０２」（富士食品工業）、ＫＲ酵母（興人ライフサイエンス）などが挙げられる。これらの標品では、内容成分が抽出した後、あるいは抽出せずにそのままの酵母細胞を、殺菌後に乾燥させたもので、モイステックスＳＴＤと異なり、酵素処理や乳化剤添加処理などの工程を行っていないものである。

[0028] これらの酵母細胞の具体的な製造工程の一例を以下の表１に示す。

[0029]

[表1]

| | 酵素処理及び乳化剤処理した酵母細胞（標品1） | 未処理の酵母細胞（標品２） |
|---|---|---|
| | 培養された酵母細胞 | 培養された酵母細胞 |
| | ↓ | ↓ |
| 熱水処理 | 熱水処理 | 熱水処理 |
| | ↓↓ | ↓ |
| 乳化剤 | グリセリン脂肪酸エステル０．０５％添加 | ↓ |
| | ↓ | ↓ |
| 滅菌 | ９０℃、３０分間 | 加熱処理：９０℃、３０分間 |
| | ↓ | ↓ |
| | 冷却 | 冷却 |
| | ↓ | |
| 酵素処理 | プロテアーゼ処理：５０℃、６時間 | |
| | 酵素失活：８０℃、２０分間 | |
| | ↓ | ↓ |
| | 水洗浄（３回） | 水洗浄（３回） |
| | ↓ | ↓ |
| 乾燥 | 乾燥（噴霧乾燥又は加熱乾燥） | 乾燥（噴霧乾燥又は加熱乾燥） |
| | ↓ | ↓ |
| | 標品１ | 標品２ |

[0030] 本発明のマイクロカプセルにおいて、内容成分が分離され残留した酵母細胞は、乾燥された状態であっても、水分を含んだペースト状であってもよい。一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞は、乾燥された状態のものである。

[0031] 又、一態様としては酵母に適量の水分を加えたペースト状のものである。酵母に加える水分の量が特に限定されない。非限定的に、酵母の量に対して、約０．１倍以上の水分を添加してペースト状にすることができる。

[0032] 本発明の一態様において、熱処理を行った後に、あるいは、熱処理に加えて酵素処理及び／又は乳化剤添加処理を行った後に、水洗浄を行う、水洗浄とは、酵母細胞に水を加えて撹拌処理を行って洗浄することをいう。非限定的に、水洗浄後は遠心分離機等により固液分離を行い、内容成分等の除去を行うのが好ましい。水洗浄は、好ましくは２回以上、３回以上行う。水洗浄を繰り返すことにより、異味や異臭の原因となる成分を除去することができ

、又、白色に近い色調とすることができる。

[0033] 一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞はタンパク質の含量が、好ましくは、７０重量％以下、６６重量％以下、６０重量％以下、５５重量％以下、５３重量％以下、５１重量％以下である。内容成分が分離され残留した酵母細胞はタンパク質の含量が、好ましくは、４５重量％以上、４８重量％以上、５０重量％以上である。内容成分が分離され残留した酵母細胞はタンパク質の含量が、好ましくは、４５重量％以上－７０重量％以下、４５重量％以上－６６重量％以下、４８重量％以上－６６重量％以下、４８重量％以上－５５重量％以下、４８重量％以上－５３重量％以下である。

[0034] （第２有効成分）

本発明の製造方法は、内容成分が分離され残留した酵母細胞を第１有効成分とし、これに第２有効成分を内包させる工程を含む。当該工程により、第２有効成分が第１有効成分である内容成分が分離され残留した酵母細胞に内包されたマイクロカプセルが得られる。

[0035] 第２有効成分の種類は、内容成分が分離され残留した酵母細胞に内包することができるものであれば、特に限定されない。

[0036] 非限定的に、第２有効成分は、香料、香辛料抽出物、香味油、動物性油脂及び植物性油脂からなる群から選択される脂溶性物質である。本発明のマイクロカプセルは一態様において、食品、飲料等に添加することができる。第２有効成分として、食品、飲料等の風味、香り、食感等の向上に有用な成分が好ましい。

[0037] 「香料（フレーバー）」には、一態様として、ｄ－リモネン、カルボン、カプロン酸エチル、チリフレーバー、バニラフレーバー、グリルフレーバー、ワサビフレーバー、コーヒーフレーバー、コショウ、ブラックペッパー、マスタード、カレー用スパイス、畜肉フレーバー等が含まれる。

[0038] 第２有効成分の例として、その他に、具体的には、単純脂質として高級脂肪酸と高級アルコールからなるパルミチン酸メチルエステル等のモノエステル型の鎖式単純ワックス及びコレステロールエステル、シトステロールエス

テル、エルゴステロールエステル等のステロールエステルや脂溶性ビタミンＡ、Ｄ、Ｅ等のエステルに代表される含環式単純ワックス及びシアノ脂質を含む単純ワックス類、ジオール脂質、ジエステル等の複合ワックス類、モノオレイン、モノステアリン等のモノグリセリド及びジグリセリドまたトリオレイン、大豆油、コーン油、米糠油、サフラワー油、綿実油、オリーブ油、ヒマシ油、タラ油、イカ油、イワシ油、豚脂、牛脂、羊脂、馬油、その他、微生物油脂類に代表されるトリグリセリド、キミルアルコール、バチルアルコール等のモノアルキルやジアルキル、モノアルキルモノアシル、モノアルキルジアシル、トリアルキルタイプ等のアルキルグリセロールエーテル脂質類及びモノアルケニル、ジアルケニル、モノアルケニルモノアシル、モノアルケニルジアシル、トリアルケニルタイプ等のアルケニルグリセリルエーテル脂質類及びセラミド類、イソアミルアルコールなどのアルコール類があげられる。また誘導脂質として飽和型と不飽和型で直鎖、モノ枝鎖及びポリ枝鎖の長鎖炭化水素とこれら長鎖炭化水素が酸化されたオクタコサノールなどに代表される長鎖アルコール類、ジヒドロスフィンゴシン、スフィンゴシン、フィトスフィンゴシン、デヒドロフィトスフィンゴシン等の長鎖アミノアルコール類、シトロネラール、ファルネサールや昆虫フェロモンに多い長鎖アルデヒド類、フィロキノン、ユビキノン等の直鎖ケトン類、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、イソ吉草酸、イソ酪酸、に代表される各種脂肪酸、及び、ヒドロキシ酸、ケト酸、ジカルボン酸等の長鎖酸類とその塩類、ヘミテルペンやリモネン、メントール、シトラール、イオノン等のモノテルペン、ビサボレン、ファルネソール、ネロリドール、シペロン、ヒノキ酸等のセスキテルペン、カンホレン、フィトール、ヒノキオール、スギオール、アビエチン酸、クロロフィル、レチノール、トコフェロール、フィロキノン等のジテルペン及びトリテルペン、テトラテルペンやメナキノン、ユビキノン等のポリテルペン等のテルペノイド類、コレステロール、シトステロール、エルゴステロール、胆汁酸、性ホルモン、副腎脂質ホルモン、心臓毒ゲニ

ン、ステロイドサポゲニン、ソラニジン等のステロイド類、フィトエン、リコピン、カロチン、キサントフィル、シトラウリン、カプサンチン等のカロチノイド類があげられる。また更に、複合脂質として大豆レシチン等のホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン等のグリセロリン脂質、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン等のグリセロホスホノ脂質、プラズマローゲン等のエーテルグリセロリン脂質、セラミドリン酸、スフィンゴミエリン等のスフィンゴリン脂質、セラミドシリアチン等のスフィンゴホスホノ脂質等のリン脂質類、その他グリセロ糖脂質やスフィンゴ糖脂質などの糖脂質類、サポニン、ソラニン等のステロイド配糖体、脂肪酸糖、リポ多糖等の糖脂質類、リン糖脂質類、硫脂質類、アミノ酸脂質類などがあげられる。

[0039] また更に、フェニトロチオンやピラクロファス等の脂溶性液体が挙げられる。グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル及びポリソルベート類等に代表される乳化剤等を芯物質として挙げることもできる。

[0040] 非限定的に、本発明の一態様において、「第２有効成分」は、非脂溶性物質が含んでもよい。但し、徐放性の点の観点から、一態様において「第２有効成分」が脂溶性物質のみの場合がある。

[0041] （混合割合）

内容成分が分離され残留した酵母細胞と第２有効成分の混合割合は適宜選択可能である。好ましくは、内容成分が分離され残留した酵母細胞と第２有効成分の混合割合が、重量比で、６：１－１：２の範囲、４：１－１：２の範囲、４：１－１：１の範囲、３：１－１：１の範囲、２：１－１：１の範囲、約２：１の割合である。好ましくは、内容成分が分離され残留した酵母細胞の方が、第２有効成分よりも多い割合で混合する。

[0042] （第２有効成分を内包させる工程）

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程は、特に限定されない。一態様において、前記内容成分が分離され残留し

た酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程は、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌することを含む。

[0043] 水以外にも、水と同様に内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を混合し、分散できる液体であれば本発明に方法に「水分」として利用可能である。例えば、緩衝液、糖液、食塩水、出汁等が挙げられる。

[0044] 混合物に含まれる内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分の固形分の濃度は特に限定されない。非限定的に、好ましくは、固形分濃度１０％以上、１５％以上、２０％以上、２３％以上、２５％以上、３０％以上である。本明細書の実施例では固形分濃度約２３％以上で、第２有効成分（フレーバー）の包括量（包括率）が最大になった。

[0045] 本発明において、攪拌時間及び攪拌濃度の条件は、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分が十分に混合され、分散液が得られる条件であれば特に限定されない。非限定的に、攪拌時間は、好ましくは、１分以上、１０分以上、３０分以上、１時間以上、２時間以上、３時間以上である。攪拌時間は好ましくは、１０時間以内、８時間以内、６時間以内、５時間以内、４時間以内である。攪拌時間は、好ましくは３０分以上１０時間以内、１時間以上８時間以内、２時間以上６時間以内、３時間以上５時間以内である。一態様において、攪拌時間は約４時間である。

[0046] 攪拌温度は、常温でよいが酵母細胞にダメージを与えなければ特に限定されず、常温あるいは、一定の温度で攪拌することができる。好ましくは、５℃以上、１０℃以上、２０℃以上、２５℃以上、３０℃以上、３５℃以上である。攪拌温度は、好ましくは、６０℃未満、５０℃未満、４５℃未満である。攪拌温度は、好ましくは、２０℃以上６０℃未満、２５℃以上５０℃未満、３０℃以上４５℃未満である。一態様において、攪拌温度は約４０℃である。

[0047] 非限定的に、攪拌は例えば、撹拌機、ホモジナイザーを用いて、好ましくは１００ｒｐｍ－５０００ｒｐｍ、２００ｒｐｍ－１０００ｒｐｍの速度で行うことができる。

[0048] 混合・攪拌以外にも内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分が接触される工程であれば特に限定されず、任意の手段により内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させることができる。

[0049] 本発明の一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程は、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌し、得られた分散液を、そのままペーストの状態でマイクロカプセルとして用いてもよい、あるいは、乾燥して用いてもよい。

[0050] 又、一態様としては酵母に適量の水分を加えたペースト状のものである。酵母に加える水分の量が特に限定されない。非限定的に、酵母の量に対して、約０．１倍以上の水分を添加してペースト状にすることができる。

[0051] 本発明の一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程は、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌し、得られた分散液を乾燥することを含む。乾燥により乾燥状態のマイクロカプセルが得られる。乾燥は、例えば、噴霧乾燥、加熱乾燥（例えば、常圧加熱乾燥）、凍結乾燥、真空乾燥等の手段によって行うことが可能であるが特に限定されない。

[0052] 噴霧乾燥とは、アトマイザーにより分散液（乳化液）を微小な液滴に噴霧し、これを高温の熱風と接触させ、粉末化する方法である。アトマイザー回転数により粒径制御ができ、粘度の高い液状食品や結晶などを含むスラリー液の噴霧に使用される。噴霧乾燥は、例えば、Ｍｉｎｉ　Ｓｐｒａｙ　Ｄｒｙｅｒ　Ｂ２９０　Ｂｕｃｈｉ等の噴霧乾燥機を用いて行うことができる。

[0053] 噴霧乾燥機空気入り口の温度は、特に限定されない、非限定的に１４０℃以上、１６０℃以上、１８０℃以上、２００℃以上である。非限定的に３００℃以下、２８０℃以下、２５０℃以下、２２０℃以下である。一態様において１６０℃－２２０℃、約２００℃である。噴霧乾燥機空気出口の温度は、非限定的に９０℃－１４０℃、１００℃－１２５℃、１０５℃－１２０℃である。

[0054] 一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌し、得られた分散液を、好ましくは、流量５ｍｌ／分－１５ｍｌ／分、流量８ｍｌ／分－１２ｍｌ／分、より好ましくは約１０ｍｌ／分で、噴霧乾燥機に導入する。

[0055] 一態様において、噴霧乾燥機のアトマイザー（分散液を微少な液滴に噴霧する装置）の回転数は、好ましくは、１０，０００ｒｐｍ－５０，０００ｒｐｍ、２０，０００ｒｐｍ－４０，０００ｒｐｍ、２５，０００ｒｐｍ－３５，０００ｒｐｍ、約３０，０００ｒｐｍである。

[0056] 又、加熱乾燥としてはドラムドライヤー（ドラムドライ）やオーブンなどを用いて常法により行うことができる。加熱乾燥は、好ましくは常圧加熱乾燥である。真空乾燥としては連続式真空乾燥装置（ＣＶＤ）などを用いて行うことができる。凍結乾燥とは、食品等の水分を含んだ物質を氷点下（例えば、マイナス３０度程度で急速に凍結し、さらに減圧状態で水分を消化させて乾燥させる乾燥技術である。フリーズドライとも呼称される。例えば、フリーズドライヤー等の装置を用いて行うことができる。

[0057] 非限定的に、第２有効成分の包括効率は、好ましくは、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、８０％である。第２有効成分の包括効率は混合に用いた第２有効成分のうち、マイクロカプセルの包括された第２有効成分の割合である。マイクロカプセルに包括された第２有効成分の量は、定量が可能なガスクロマトグラフィー等の手段、例えば、ガスクロマトグラフィー－水素炎イオン化型検出器を用いて行うことができる。酵素処理、乳化剤処理を行った酵母マイクロカプセルはそれらの処理を行わない酵母マイクロカプセルと比較しても高い包括効率が得られる。

[0058] （酸処理を施さない）

本発明の方法は、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酸処理を施さない。「酸処理」とは、内容成分が分離され残留した酵母細胞を含む酸性水溶液を一定時間、加熱及び撹拌する処理である。酸性水溶液としては、塩酸、燐酸、硫酸、乳酸、クエン酸、酢酸、アスコルビン酸等が含まれるが、特に

限定はされない。例えば、特開平８－２４３３７８は、酵母のマイクロカプセルの製造方法として以下のような酸性水溶液による処理を必須要件として記載している。

[0059] 酸性水溶液のｐＨは２．０以下が適当であり、０－１が好ましく、０－０．５がより好ましい。また、酵母菌残渣は、酸性水溶液に固形分濃度１－１０％、好ましくは２－５％となるように懸濁させるとよい。この懸濁液の加熱温度及び時間は系のｐＨやイオン強度に依存して設定されることが好ましいが、例えば、ｐＨが０－０．５の酸性水溶液により処理される場合には、５０℃以上１００℃以下、好ましくは８５℃以上１００℃以下の温度で、５分以上１時間以下、好ましくは１０分以上３０分以下加熱するとよい。この際、ｐＨが０－０．５の酸性水溶液により１時間以上という長時間の加熱処理を行ったりｐＨが０以下という過度な酸性水溶液での処理を行えば、酵母の細胞壁の強度がそれに応じて低下し、酸処理した酵母の収率の低下を招く場合がある。上記のような酸性水溶液による処理に際しては、必要に応じて各種有機溶剤、分散剤、防腐剤を添加することも可能である。有機溶剤としては、メタノール、エタノール等の各種アルコール、アセトン、ヘキサン等を、分散剤としては、ショ糖エステル、グリセリンエステル等を、防腐剤としては、安息香酸、ソルビン酸、サリチル酸等を単独で、又は併用して使用することができる。

本発明は、上記に例示されるような酸処理を施さないことを特徴の一つとする。

[0060] （酵素処理）

本発明の好ましい一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酵素処理を施す工程を含んでもよい。酵素処理は、酵母エキスが抽出された細胞による第２成分の包括をより容易にするような処理、酵母の第１有効成分としての風味改善効果を向上させる処理、酵母の第１有効成分としての食感改良効果を向上させる処理、酵母の第１有効成分としての酸化安定性を向上させる処理、酵母エキスが抽出された細胞による第２成分の香りを放出

する処理、等が含まれる。

[0061] 酵素は、１種を単独で、又は２種以上を混合して酵母細胞と反応させてもよい。例えば、複数種プロテアーゼを、あるいは複数種のセルラーゼを組み合わせてもよい。本発明の一態様において、酵素処理に用いる酵素は、プロテアーゼ、セルラーゼ、又は、これらの組み合わせである、本発明の一態様において、「酵素処理」は、プロテアーゼ及び／又はセルラーゼ添加処理である。

[0062] （ｉ）プロテアーゼ

プロテアーゼとしては、セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、金属プロテアーゼ等が挙げられ、例えば、微生物由来のプロテアーゼ、植物由来のパパイン、ブロメライン等、動物由来のトリプシン、ペプシン、カテプシン等が挙げられる。

[0063] 微生物としては、例えば、アスペルギルス・オリゼ（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｏｒｙｚａｅ）、アスペルギルス・メレウス（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｍｅｌｌｅｕｓ）等のアスペルギルス属菌；リゾパス・ニベウス（Ｒｈｉｚｏｐｕｓ　ｎｉｖｅｕｓ）、リゾパス・オリゼ（Ｒｈｉｚｏｐｕｓ　ｏｒｙｚａｅ）等のリゾパス属菌；バチルス・アミロリクエファシエンス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ａｍｙｌｏｌｉｑｕｅｆａｃｉｅｎｓ）、バチルス・リケニフォルミス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ）、バチルス・ステアロサーモフィルス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｓｔｅａｒｏｔｈｅｒｍｏｐｈｉｌｕｓ）等のバチルス属菌等が挙げられる。

[0064] プロテアーゼはエンド型プロテアーゼであってもエキソ型プロテアーゼであってもよい。好ましくは、エンド型プロテアーゼである。

[0065] 理論に拘泥するものではないが、酵母細胞にプロテアーゼを反応させることにより、酵母細胞壁表層のタンパク質を切断するとともに、そのタンパク質に付着している異臭の原因物質である低級アルコール等が除去されることにより、異臭が除去され、酵母細胞が有する風味改善効果が向上すると解される。

[0066] （ｉｉ）セルラーゼ

セルラーゼとしては、セルロース等のβ－１，４－グルカンのグリコシド結合を加水分解するものであれば特に限定されず、例えば、トリコデルマ・リーゼ（Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ　ｒｅｅｓｅｉ）、トリコデルマ・ビリデ（Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ　ｖｉｒｉｄｅ）等のトリコデルマ属菌；アスペルギルス・アクレアタス（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ａｃｌｅａｔｕｓ）、アスペルギルス・ニガー（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ）等のアスペルギルス属菌；クロストリジウム・サーモセラム（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ　ｔｈｅｒｍｏｃｅｌｌｕｍ）、クロストリジウム・ジョスイ（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ　ｊｏｓｕｉ）等のクロストリジウム属菌；セルロモナス・フィミ（Ｃｅｌｌｕｌｏｍｏｎａｓ　ｆｉｍｉ）等のセルロモナス属菌；アクレモニウム・セルロリティクス（Ａｃｒｅｍｏｎｉｕｍ　ｃｅｌｌｕｌｏｒｉｔｉｃｕｓ）等のアクレモニウム属菌；イルペックス・ラクテウス（Ｉｒｐｅｘ　ｌａｃｔｅｕｓ）等のイルペックス属菌；フミコーラ・インソレンス（Ｈｕｍｉｃｏｌａ　ｉｎｓｏｌｅｎｓ）等のフミコーラ属菌；パイロコッカス・ホリコシ（Ｐｙｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｈｏｒｉｋｏｓｈｉｉ）等のパイロコッカス属菌等の微生物由来のセルラーゼが挙げられる。

[0067] （ｉｉｉ）酵素処理の条件

本工程では、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酵素を添加して反応させる。

酵素の添加量は、酵素の種類に応じて当業者が適宜決定できる。例えば、プロテアーゼの場合、非限定的に、添加量は、酵母細胞（固形分）１ｇあたり１－５０００ユニットであることが好ましく、１０－２０００ユニットであることがより好ましく、１００－３００ユニットであることが更に好ましい。例えば、セルラーゼの場合、酵母細胞（固形分）１ｇあたり０．１－１００ユニットであることが好ましく、０．５－５０ユニットであることがより好ましく、１－２０ユニットであることが更に好ましい。

[0068] 酵素の反応温度及び反応時間は、選択した酵素に応じて適宜調整すること

ができる。反応温度としては、例えば、１０℃－８０℃、２５℃－６０℃が挙げられる。また、反応時間としては、例えば１５分－４８時間、３０分－４８時間、２時間－１２時間が挙げられる。

[0069] （乳化剤）

本発明の一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酵素処理を施す工程の前、後、又は同時に乳化剤を添加する工程を含む

乳化剤を添加する工程は、酵素を反応させる工程の前に行ってもよく、酵素を反応させる工程の後に行っても、あるいは、酵素を反応させる工程と同時に行っても良い。また、２種類以上の酵素を反応させる場合、ある酵素を反応させた後であって、２種類目の酵素を反応させる前、即ち複数の酵素の反応の間に乳化剤を添加してもよい。

[0070] 乳化剤としては、１－１４のＨＬＢ値を有するものが好ましい。乳化剤のＨＬＢ値は、１－１２であることがより好ましく、１－７であることが更に好ましい。

[0071] 一態様において、乳化剤は、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、レシチン及びサポインからなる群より選択される。また、乳化剤は、１種を単独で、又は２種以上を混合して内容成分が分離され残留した酵母細胞に添加してもよい。

[0072] グリセリン脂肪酸エステルとしては、グリセリンの重合度が１であり、脂肪酸の炭素数が６－１８であるモノグリセリン脂肪酸エステル；グリセリンの重合度が２－１０であり、脂肪酸の炭素数が６－１８であるポリグリセリン脂肪酸エステル；有機酸モノグリセリド等が挙げられる。

[0073] グリセリン脂肪酸エステルを構成する脂肪酸としては、例えば、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸等が挙げられる。

[0074] 有機酸モノグリセリドとしては、モノグリセリンカプリル酸コハク酸エス

テル、モノグリセリンステアリン酸クエン酸エステル、モノグリセリンステアリン酸酢酸エステル、モノグリセリンステアリン酸コハク酸エステル、モノグリセリンステアリン酸乳酸エステル、モノグリセリンステアリン酸ジアセチル酒石酸エステル、モノグリセリンオレイン酸クエン酸エステル等が挙げられる。

[0075] ソルビタン脂肪酸エステルとしては、ソルビタンの水酸基の１つ以上に炭素数が６－１８の脂肪酸がエステル結合したものが挙げられる。より具体的には、例えば、ソルビタンモノラウリン酸エステル、ソルビタンモノパルミチン酸エステル、ソルビタンモノステアリン酸エステル、ソルビタンモノオレイン酸エステル等が挙げられる。

[0076] プロピレングリコール脂肪酸エステルとしては、プロピレングリコールに炭素数が６－１８の脂肪酸がエステル結合したものが挙げられ、モノエステルであってもジエステルであってもよい。プロピレングリコール脂肪酸エステルを構成する脂肪酸としては、例えば、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸等が挙げられる。

[0077] ショ糖脂肪酸エステルとしては、ショ糖の水酸基の１つ以上に炭素数が６－２２の脂肪酸がエステル結合したものが挙げられ、たとえば、ショ糖ラウリン酸エステル、ショ糖ミリスチン酸エステル、ショ糖パルミチン酸エステル、ショ糖ステアリン酸エステル、ショ糖オレイン酸エステル、ショ糖ベヘン酸エステル、ショ糖エルカ酸エステル等が挙げられる。

[0078] レシチンとしては、例えば、大豆、トウモロコシ、落花生、ナタネ、麦等の植物；卵黄、牛等の動物；大腸菌等の微生物等から抽出された各種レシチンが挙げられ、ホスファチジン酸、ホスファチジルグリセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルメチルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ビスホスアチジン酸、ジホスファチジルグリセリン等のグリセロレシチン；スフィンゴミエリン等のスフィンゴレシチン等が挙げられる。レシチンは、水素

添加レシチン、酵素分解レシチン、酵素分解水素添加レシチン、ヒドロキシレシチン等であってもよい。

[0079] サポニンとしては、エンジュサポニン、キラヤサポニン、精製大豆サポニン、ユッカサポニン等が挙げられる。

[0080] 乳化剤の添加量は、内容成分が分離され残留した酵母細胞（湿潤質量）を基準として、０．０１－１質量％であることが好ましく、０．０１－０．１質量％であることがより好ましい。なお、本明細書において、湿潤質量とは、液体（分散媒）を含む内容成分が分離され残留した酵母細胞の質量を意味する。

[0081] 乳化剤による処理の温度及び時間は、選択した乳化剤に応じて適宜調整することができる。温度としては、例えば、５０℃－９５℃、７０℃－９５℃が挙げられるが特に限定されない。また、反応時間としては、例えば１０分－５時間、２０時間－３時間が挙げられるが特に限定されない。

[0082] 理論に拘泥するものではないが、酵素処理及び／又は乳化剤添加により、酵母細胞に由来する苦味、渋み、えぐ味等の異味の原因物質である疎水性アミノ酸等が、水洗浄の際に洗い流されやすくなり、これらの異味が低減されると考えられる。

[0083] ２．マイクロカプセル

本発明は、一態様においてマイクロカプセルに関する。

本発明のマイクロカプセルは、本発明の製造方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む。本発明のマイクロカプセルにおける、第２有効成分の定義は、「１．マイクロカプセルの製造方法」の項目で説明した通りである。一態様において、第２有効成分は、香料、香辛料抽出物、動物性油脂及び植物性油脂からなる群から選択される脂溶性物質である。

[0084] 製造されたマイクロカプセルは、冷凍、冷蔵又は常温で保存しても良い。好ましくは、製造されたマイクロカプセルは、冷蔵で保存する。冷凍は－１８℃以下であり、冷蔵は－１８℃より大きく１０℃以下のことであり、常温

は１０℃以上のことを示す。

[0085] 乾燥された酵母マイクロカプセルは、常温で長期間保存することが可能であるが、乾燥する工程においてマイクロカプセルを構成する酵母細胞が破壊され、包括状態が欠損する可能性がある。一方、ペースト状のものは酵母細胞が破壊されず、包括された状態をある程度の期間維持することが可能である。ペースト状態のものについては、常温保存、冷蔵保存、冷凍保存のいずれも可能である。ただし、常温保存の場合は、マイクロカプセルを構成する酵母細胞の変敗が進むために乾燥の態様と比較して比較的短期間しか保存ができず、また、冷凍保存の場合は凍結時に酵母細胞が破壊しやすい。冷蔵保存した場合は酵母細胞の破壊が進まず、変敗も比較的抑えられるため、望ましい。

[0086] 本発明の一態様において、酵母マイクロカプセルは、冷蔵保存され得るペースト状の酵母マイクロカプセルである。「冷蔵保存され得る」とは、冷蔵保存に適した態様であることを意味し、実際に冷蔵保存された態様を含む。非限定的に、冷蔵は－１８℃より大きく１０℃以下のことを意味する。非限定的に、冷凍は－１８℃以下を意味し、常温は１０℃以上を意味する。ペースト状の酵母マイクロカプセルは、非限定的に、好ましくは、冷蔵で、１週間以上、２週間以上、１ヶ月以上、２ヶ月以上、又は３ヶ月以上保存可能である。

[0087] 本発明のマイクロカプセルは、第２有効成分の徐放性に優れている。一態様において、本発明のマイクロカプセルは乾燥条件下（例えば８０℃）において、優れた内包性を示し、マイクロカプセルの製造から６０分経過後でも約８０％以上の第２有効成分の残留率を示す。第２有効成分の種類によってはより高い、例えば９０％以上の残留率を示す。一態様において、本発明のマイクロカプセルは、湿潤条件下でも徐放性を示し、例えば、１０分後より第２有効成分を緩やかに放出する。

[0088] 一態様において、本発明のマイクロカプセルは、酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルと比較し

て、第２有効成分の徐放性が向上している。「酸処理を施した」の「酸処理」は、「１．マイクロカプセルの製造方法」の「（酸処理を施さない）」の項目で説明した酸処理と同様である。

[0089] 「第２有効成分の徐放性が向上している」とは、より多くの時間をかけて、及び／又は、より多くの第２有効成分を放出すること意味する。非限定的に、例えば、本発明のマイクロカプセルは、酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルよりも、１．５倍以上、２倍以上、３倍以上、５倍以上の時間経過後に、第２有効成分を放出する。本発明のマイクロカプセルは、マイクロカプセルの製造から、１時間経過、６時間経過、１２時間経過、１日経過、３日経過、５日経過、８日経過、１０日経過、１５日経過、２０日経過するにつれて、徐々に第２有効成分を放出する。一態様において、本発明のマイクロカプセルは、マイクロカプセルの製造から、８日以上、１０日経過、１５日経過、２０日経過してもなお第２有効成分を放出する能力を有している。非限定的に、例えば、本発明のマイクロカプセルは、酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルよりも、１．５倍以上、２倍以上、３倍以上、５倍以上の量の第２有効成分を放出する。

[0090] 一態様において、本発明のマイクロカプセルは、優れた酸化安定性を示す。「酸化安定性」とは、酸化条件にさらされても、例えば、時間が経過しても加熱しても、あるいは、酸化剤を添加しても、マイクロカプセルの性質が変化しにくいことを意味する。例えば、一態様において、マイクロカプセルは高温（例えば、１００℃以上、例えば１０５℃）の乾燥下で、７日以上、１０日経過、１５日経過、２０日経過してもなお第２有効成分を放出する能力を保持している。例えば、別の一態様において、本発明のマイクロカプセルは、高温（例えば、１００℃以上、例えば１０５℃）の乾燥下で、７日以上、１０日経過、１５日経過、２０日経過しても変色、腐敗せず保持している。

[0091] 酵素処理、乳化剤処理を行った酵母マイクロカプセルは、それらの処理を

行っていない酵母マイクロカプセルと比較して、包括された第２成分の酸化安定性等が高く、第２有効成分の包括状態がより良好である。

[0092] 本発明のマイクロカプセルは、一態様において、乾燥状態のマイクロカプセルにおいて、第２有効成分を５重量％以上、好ましくは、１０重量％以上、好ましくは１５重量％以上、更に好ましくは２０重量％以上含む。

[0093] マイクロカプセルは一態様において、内容成分が分離され残留した酵母細胞が、単体ではなく集合体を形成している。マイクロカプセルは、一態様において、第２有効成分を包括していない対照と比較して、表面に膜を張っている形状をしている。

[0094] ３．風味向上剤

本発明は、一態様において、上記マイクロカプセルを含む、食品又は飲料の風味向上剤に関する。

マイクロカプセルは、第１有効成分として内容成分が分離され残留した酵母細胞を含む。内容成分が分離され残留した酵母細胞は、酵母細胞に由来する食品又は飲料の風味向上に有用な成分を含む。そして、さらに第２有効成分としても、香料、香辛料抽出物、動物性油脂及び植物性油脂等の食品又は飲料の風味向上に有用な成分を包括することできる。

[0095] 風味向上剤は、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含むマイクロカプセルを含有している限り、これら以外の成分を含有していてもよい。風味向上剤が含有し得る、さらなる成分としては、例えば、調味料、ｐＨ調整剤等が挙げられる。

[0096] 「有効成分として含有する」とは、マイクロカプセルが風味向上効果を奏する程度に含有していれば特に限定されない。一態様において、風味向上剤中、マイクロカプセルを３０重量％以上、５０質量％以上、より好ましくは７０質量％以上、更に好ましくは９０質量％以上含有することを意味する。風味向上剤は、食品又は飲料に添加することができる。本発明のマイクロカプセルを含む風味向上剤は、乾燥状態のものであっても、ペースト状（ペースト品）であってもよい。

[0097] 本発明の風味向上剤を添加しうる食品、飲料の種類は特に限定されない。食品としては、肉料理（例えば、鶏肉、牛肉、豚肉、羊肉、鹿肉、猪肉などを使用した料理、ステーキ類、挽肉料理など）、魚介類料理（海水魚、淡水魚、エビ、イカ、貝類などを使用した料理）、野菜料理（例えば、果菜類、葉菜類、根菜類などを使用した料理）、スープ、シュチューなどを含む、料理の食材に直接添加してもよく、あるいは、ソース、衣、かまぼこ等の練り製品等、料理に付加する物に用いてもよい。肉料理は、例えば、焼き鳥のピックル液、ソーセージ、ハムなどの調味料、焼売、餃子などの調味料などに使用可能である。スイーツ（例えば、クッキー、ケーキ）などの材料に添加することも可能である。飲料としては、水、ジュース、茶（緑茶、紅茶）、コーヒー、ココア、牛乳、酒類、乳飲料等に添加することは可能である。また、マイクロカプセルをサプリメントとして摂取することも可能である。一態様において、本発明の風味向上剤を添加する食品はレトルト食品である。一態様において、本発明は、ペースト状の風味向上剤をレトルト食品への使用を含む。レトルト食品の種類は特に限定されず、カレー、シチュー、ハヤシライス、中華丼、牛丼、等含む。

[0098] また、本発明の一態様としては、本発明の風味向上剤を添加する食品は、冷蔵食品又は冷凍食品であっても良いが、特に態様に限定されるものではない。

[0099] 一態様において、風味向上剤は、食品又は飲料に最終濃度として、好ましくは、０．０１重量％－９９重量％、好ましくは０．０１重量％－１０重量％、好ましくは０．０３重量％－５重量％、好ましくは０．０５重量％－３重量％含まれる。一態様において、マイクロカプセルは、食品又は飲料に最終濃度として、好ましくは、０．０１重量％－９９重量％、好ましくは０．０１重量％－１０重量％、好ましくは０．０３重量％－５重量％、好ましくは０．０５重量％－３重量％含まれる。一態様において、第２有効成分が食品又は飲料に最終濃度として、好ましくは、０．０１重量％－９９重量％、好ましくは０．０１重量％－１０重量％、好ましくは０．０３重量％－５重

量%、好ましくは０．０５重量%－３重量%含まれる。

[0100] 本発明のマイクロカプセルは、風味向上剤としてだけでなく食感改良効果も同時に実現できる。本発明は、一態様において、上記マイクロカプセルを含む、食品の食感改良剤にも関する。本発明のマイクロカプセルを含む剤は、風味向上剤及び食感改良剤として機能しうる。

[0101] 本発明のマイクロカプセルは第２有効成分として種々の成分を包括しうる。マイクロカプセルは、食品以外にも芳香剤、脱臭剤、消臭剤、除湿剤等として使用可能である。

[0102] ４．マイクロカプセル又は風味向上剤を含む、食品又は飲料

本発明は、一態様において、上記マイクロカプセルあるいは上記風味向上剤を含む、食品又は飲料に関する。飲料、食品については、「３．風味向上剤」の項目で説明した通りである。

[0103] ５．植物性タンパク質臭を抑制するための組成物

本発明は、一態様において、上記（１）マイクロカプセル、及び、（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を含む、植物性タンパク質臭を抑制するための組成物に関する。

[0104] 「マイクロカプセル」については、「１．マイクロカプセルの製造方法」及び「２．マイクロカプセル」の項目で説明した通りである。

[0105] 「植物性タンパク質臭抑制効果を有する物」は、植物性タンパク質臭に対する抑制効果を有するものであって、酵母マイクロカプセル以外のものであれば特に限定されるものではない。具体的には、例えば、豆乳又は乳清の、乳酸菌および酵母による発酵物（乳酸菌・酵母発酵物）」が挙げられ、非限定的に、例えば、ＷＯ２０１７／０１４２５３の例えば、段落［００１７］－［００４４］に記載されたものを使用することができる。

[0106] 植物性タンパク質臭抑制効果を有する物の原料の例は、牛乳由来の全乳、乳清または豆乳であり、好ましくは牛乳由来の乳清または豆乳であるが特に限定されない。乳清または豆乳液の発酵に際しては、乳酸菌による発酵と酵母に拠る発酵との順は、適宜とし得るが、好ましい実施態様の一つにおいて

は、まず乳酸菌による発酵が先に行われる。用いる乳酸菌は、食品製造のために使用できるものであれば特に限定されるものではない。乳酸菌による発酵のための条件は、当業者であれば、用いる乳酸菌に応じ、適宜設計することができる。酵母発酵に用いられる酵母は、食品製造のために用いられるものであれば、特に限定されない。酵母による発酵のための条件は、当業者であれば、用いる酵母に応じ、適宜設計することができる。

[0107] 植物性タンパク質臭抑制効果を有する物は、種々の形態であり得る。例えば、上記の液状のものを、必要に応じ、濃縮または乾燥等し、ペースト状、固形状、粉末状、顆粒状等とすることができる。

[0108] 植物性タンパク質臭抑制効果を有する物の例としては、例えば、ＣＮ－２（富士食品工業社製）、「京寶」料理用マスキング焼酎（宝酒造社製）、その他の調理酒などが含まれる。

[0109] 植物性タンパク質、特に大豆タンパク質（それを原料とする加工品を含む。）は独特の酸化臭（「植物タンパク臭」ということもある）を有している。（１）マイクロカプセル及び（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を含む組成物は、このような、植物性タンパク質臭を抑制するために用いることができる。「植物性タンパク質臭」とは植物性タンパク質、特に大豆タンパク質（それを原料とする加工品を含む。）に独特の酸化臭のことをいう。

[0110] ＷＯ２０１７／０１４２５３は、乳酸菌・酵母発酵物が、植物性タンパク質臭を抑制することができることを記載している。しかしながら、例えば、本明細書の実施例２０において明らかにされたように、乳酸菌・酵母発酵物のみでは、植物性タンパク質臭は減少するが完全に無くなるわけではない、また、咀嚼時に、植物性タンパク質由来の不快な風味が残る、などの問題がある。本発明の酵母マイクロカプセルは、植物性タンパク質臭の抑制効果と、風味の改善効果が有する。さらに、本発明の酵母マイクロカプセルと乳酸菌・酵母発酵物を併用することにより、植物性タンパク質臭の抑制効果が長時間持続する。

[0111] 組成物に含まれる酵母マイクロカプセル及び植物性タンパク質臭抑制効果を有する物の量は特に限定されない。そして、組成物の植物性タンパク質に対する使用量も特に限定されない。非限定的に、一態様において、植物性タンパク質に対する酵母マイクロカプセルの量が、０．５重量％以上、０．８重量％以上、１．０重量％以上、１．２重量％以上、１．５重量％以上となるような量で組成物を使用する。使用する酵母マイクロカプセルの量が多すぎると、酵母カプセル由来の風味（好ましくない場合）を感じてしまう場合がある。非限定的に、一態様において、植物性タンパク質に対する酵母マイクロカプセルの量が、５．０重量％以下、３．０重量％以下、２．０重量％以下となるような量で組成物を使用する。

[0112] 酵母マイクロカプセルと植物性タンパク質臭抑制効果を有する物の割合も特に限定されない。一態様において、酵母マイクロカプセルと植物性タンパク質臭抑制効果を有する物の割合は、２：１～１：４、または１：１～１：３である。一態様において、酵母マイクロカプセルと植物性タンパク質臭抑制効果を有する物の含量の割合は、約１：２である。

[0113] 本発明の植物性タンパク質臭を抑制するための組成物は、酵母マイクロカプセルと植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を併用することにより、好ましくは、植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を単独で使用するよりも、より長時間の植物性タンパク質臭抑制効果を得ることができる。理論に縛られるわけではないが、一態様において、植物性タンパク質臭抑制効果を有する物が酵母カプセル内に取り込まれ、酵母カプセルから徐放されることで、長時間の植物性タンパク質臭抑制効果として働く、と考えられる。

[0114] ６．食品又は飲料

本発明は、一態様において、（１）マイクロカプセル、及び、（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を含む、食品又は飲料、に関する。

[0115] 「マイクロカプセル」については、「１．マイクロカプセルの製造方法」及び「２．マイクロカプセル」の項目で説明した通りである。

[0116] 「植物性タンパク質臭抑制効果を有する物」については、「５．植物性タ

ンパク質臭を抑制するための組成物」に記載した通りである。

[0117] 飲料、食品については、「３．風味向上剤」の項目で説明した通りである。食品の例として、植物性タンパク質臭の抑制が好ましいものが含まれる。一態様として、例えば、ハンバーグ、メンチカツ、ミートボール、ミートローフ、ロールキャベツ、ソーセージ等の加工品が含まれる。より好ましくは、大豆タンパク質を原料とした加工品である。

[0118] ７．植物性タンパク質臭を抑制するための方法

本発明は、（１）マイクロカプセル、及び、（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を添加することを含む、植物性タンパク質臭を抑制するための方法、に関する。

[0119] 「マイクロカプセル」については、「１．マイクロカプセルの製造方法」及び「２．マイクロカプセル」の項目で説明した通りである。

[0120] 「植物性タンパク質臭」については、「５．植物性タンパク質臭を抑制するための組成物」に記載した通りである。

[0121] （１）マイクロカプセルと（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を添加する態様は特に限定されない、両者を同時に添加しても、順次添加しても良い。好ましくは同時に添加する。（１）マイクロカプセルと（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物を単一の組成物として添加しても良いし、別々に添加しても良い。

## 実施例

[0122] 以下、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

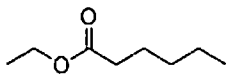
[0123] 本明細書の実施例では、特に言及されない限り、以下の材料及び実験器具を用いた。

［材料］

（１）フレーバー

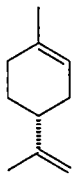
実施例ではフレーバーとして、以下の構造を有するｄ－リモネンとカプロン酸エチルを用いた。

[0124] [化1]



カプロン酸エチル

[0125] [化2]



ｄ－リモネン

[0126] カプロン酸エチルは、エステルの一種であり、主にパイナップルや清酒の香気成分として知られている。ｄ－リモネンは、モノテルペンの一種であり、主にレモンやオレンジなどの柑橘系の香気成分として知られている。リモネンの酸化物の例として、リモネンオキサイドとカルボンがある。

[0127] （２）使用した試薬

特に明記しない限り、実施例で使用した試薬は以下の通りである。

ｄ－リモネン（和光純薬工業株式会社、大阪、日本）；

カプロン酸エチル（和光純薬工業株式会社、大阪、日本）；

シクロヘキサノン（和光純薬工業株式会社、大阪、日本）

ヘキサン（和光純薬工業株式会社、大阪、日本）

[0128] ［実験器具］

（１）ハロゲン水分計

粉末の含水率測定にはハロゲン水分計（ＨＢ４３，Ｍｅｔｔｌｅｒ Ｔｏｌｅｄｏ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｃ．，Ｇｒｅｉｆｅｎｓｅｅ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用いた。測定開始時点の試料の重量を測定し、その後、本体に内蔵されているハロゲン・ヒーティング・モジュールが素早くサンプルを加熱し、水分を蒸発させる。乾燥過程中も継続的にサンプ

ル重量を測定し、測定終了後、水分減少量から含水率を算出するという温度重量原理に基づいて測定した。

[0129] （２）ガスクロマトグラフィー－水素炎イオン化型検出器（ＧＣ－ＦＩＤ）

フレーバー包括酵母に包括されたフレーバーの定量は、ＧＣ－ＦＩＤ（ＧＣ－２０１４，島津製作所，京都、日本）を用いて行った。実施例では、ガスクロマトグラフィーに接続する検出器として、水素炎イオン化型検出器（Ｆｌａｍｅ－Ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ－Ｄｅｔｅｃｔｏｒ；ＦＩＤ）を使用した。カラムには、キャピラリーカラム（ＵＬＢＯＮ　ＨＲ－１カラム、３０ｍ×φ、０．５３ｍｍ　ｉ．ｄ．×５μｍフィルム、信和化工株式会社、京都、日本）及びパックドカラム（ＰＥＧ２０Ｍ、信和化工株式会社、京都、日本）を使用した。

[0130] （３）撹拌機

撹拌機（Ｂｉｏ　ＳｈａｋｅｒＢＲ－１３ＵＭ，タイテック株式会社、埼玉、日本）を用いて、フレーバー混合液を温めながら、振とう・攪拌し、フレーバー分散液を得た。この攪拌機で温度と撹拌速度が調節することができる。

[0131] （４）噴霧乾燥機

フレーバー分散液は、噴霧乾燥機（Ｍｉｎｉ　Ｓｐｒａｙ　Ｄｒｙｅｒ　Ｂ２９０　Ｂｕｃｈｉ）を用いて噴霧乾燥させた。

[0132] 実施例１　内容成分を菌体外に放出させ、内容成分が分離され残留した酵母細胞の作成

本実施例では、酵素処理、乳化剤処理を行った酵母細胞（標品１）及びこれらの処理を行わなかった酵母細胞（標品２）を作成した。

[0133] （１）酵素処理、乳化剤処理を行った酵母細胞（標品１）の作成

定法により、培養したパン酵母（サッカロマイセス・セレビシエ）を熱水抽出によって内容成分を分離させ、残留した酵母細胞を使用した。次に、グリセリン脂肪酸エステルを、酵母細胞（湿潤質量）を基準として０．０５質

量％添加した。酵母細胞を９０℃で３０分間処理し滅菌した。続いて、冷却後、ｐＨを７．０に調整した後、エンド型プロテアーゼを酵母細胞に添加し、５０℃で６時間反応させた。そして、酵母細胞を８０℃で２０分間処理し、酵素を失活させた。その後、酵母細胞を冷却、水洗浄し（３回）、噴霧乾燥又はドラムドライにより乾燥させ、粉末の酵母細胞を得た。噴霧乾燥させたものを標品１－Ｓ、ドラムドライしたものを標品１－Ｄとした。

[0134] （２）酵素処理、乳化剤処理を行っていない酵母細胞（標品２）の作成

定法により培養したパン酵母（サッカロマイセス・セレビシエ）を、熱水抽出によって内容成分を分離させ、残留した酵母細胞を使用した。次に、酵素及び乳化剤などは特に加えず、酵母細胞を９０℃、３０分間処理し滅菌した。その後、酵母細胞を冷却、水洗浄し（３回）、噴霧乾燥又はドラムドライにより乾燥させ、粉末の酵母細胞を得た。噴霧乾燥させたものを標品２－Ｓ、ドラムドライしたものを標品２－Ｄとした。

[0135] 実施例２　酵母細胞カプセル化

本実施例では酵母細胞をカプセル化し、マイクロカプセルを製造した。さらに、カプセル化のための条件を検討した。

[0136] （１）標品１のカプセル化

実施例１で得た標品１－Ｄと香料の固形分２５重量％（固形分中の酵母細胞とフレーバーの重量比が２：１）と水７５重量％のフレーバー混合液を調製し、撹拌機（Ｂｉｏ　ＳｈａｋｅｒＢｒ－１３ＵＭ、タイテック株式会社、埼玉、日本）で振とう・撹拌して（２５０ｒｐｍ、４時間、４０℃）、フレーバー分散液を作成し、酵母細胞をカプセル化することによりマイクロカプセルを得た。

更に、フレーバー分散液を流量１０ｍｌ／分で噴霧乾燥機に導入し、アトマイザー回転数３０，０００ｒｐｍで噴霧乾燥を行った。噴霧乾燥機の入り口温度は１４０－２００℃、出口温度は６４－１０８℃、気流量は３５$m^3$／ｈであった。噴霧乾燥粉末を回収し、粉末の酵母マイクロカプセルとした（標品１の粉末酵母マイクロカプセル）。

[0137] （２）標品２のカプセル化

実施例１で得た標品２－Ｄと香料の固形分３０重量％（固形分中の酵母細胞とフレーバーの重量比が２：１）と水７０重量％のフレーバー混合液を調製し、撹拌機（Ｂｉｏ　ＳｈａｋｅｒＢｒ－１３ＵＭ、タイテック株式会社、埼玉、日本）で振とう・撹拌して（２５０ｒｐｍ、４時間、４０℃）、フレーバー分散液を作成し、酵母細胞をカプセル化することによりマイクロカプセルを得た。

更に、フレーバー分散液を流量１０ｍｌ／分で噴霧乾燥機に導入し、アトマイザー回転数３０，０００ｒｐｍで噴霧乾燥を行った。噴霧乾燥機の入り口温度は２００℃、出口温度は１１０－１１８℃、気流量は２７$m^3$／ｈであった。噴霧乾燥粉末を回収し、粉末の酵母マイクロカプセルとした（標品２の粉末酵母マイクロカプセル）。

[0138] （３）酵母分散液濃度の検討

実施例２（１）と同様の酵母マイクロカプセル作成において、実施例１で得た酵母細胞（標品２）を用いて、固形分濃度を変化させて酵母分散液濃度の検討を行った。

[0139] ８時間撹拌、撹拌温度４０℃によりカプロン酸エチル酵母分散液を作成した。実施例２（１）と同じ噴霧乾燥条件により噴霧乾燥機を用いて酵母分散液の粉末化を行い粉末のマイクロカプセルを製造した。ガスクロマトグラフィー－水素炎イオン化型検出器（ＧＣ－ＦＩＤ）を用いて、製造されたマイクロカプセルにおける酵母菌体内へのフレーバー包括量を調べた。

[0140] 具体的には、内部標準５００ｐｐｍシクロヘキサノンを含有するヘキサンを抽出溶媒として、酵母マイクロカプセルを抽出した。１２ｍｌの試験管（ＮＲ－１０、株式会社マルエム、大阪、日本）に２０ｍｇの酵母マイクロカプセルを秤量後、３００μｌの蒸留水を加え、１０分室温でボルテックスミキサーで混ぜた後、１，７００μｌの抽出溶媒を加え、室温で３０分ボルテックスミキサー（Ｖｏｒｔｅｘ　Ｇｅｎｉｕｓ３，　ＩＫＡ（登録商標）－Ｗｅｒｋｅ　ＧｍｂＨ＆ＣＯ．ＫＧ，Ｓｔａｕｆｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を

用いて速度６で抽出した。表面フレーバー量は、２０ｍｇの酵母マイクロカプセルに１，７００μｌの抽出溶媒を加え、室温で３０分ボルテックスにより表面を洗浄し、定量した。抽出された溶液を遠心分離し（３，０００ｒｐｍ，１０分）、１μｌのヘキサン層をＧＣ－ＦＩＤに注入した（スプリット比＝１：１０）。ＧＣ－ＦＩＤのパラメータを以下の表に示す。

[0141] [表2]

| GC | capillary |
|---|---|
| Carrier gas | N2 |
| Total flow | 13.9ml/min |
| Split ratio | 1:10 |
| | Tem.(℃) |
| Injector | 140 |
| Column | 130 |
| Detector | 200 |

[0142] 窒素ガスをキャリアガスとして使用し、全流量は１３．９ｍｌ／分に設定した。それぞれ注入口温度１４０℃、カラム温度１３０℃、検出器温度２００℃に設定し、検出信号の収集はクロマトデータシステム（ＣＤＳ－Ｌｉｔｅ　ｖｅｒ　５．０，有限会社エル・エイソフト、千葉、日本）によって行った。検出ピーク面積を用いて、フレーバーの定量を行った。フレーバー包括率（ｍｇ／ｇ粉末マイクロカプセル）の算出は以下の計算式を用いて行った。

[0143] [化3]

$$\text{フレーバー包括率} = {}^{C_E}/_{C_M} \quad \cdots (1)$$

$C_E$: 包括されたフレーバー量(mg),

$C_M$: 抽出に使用したマイクロカプセル粉末量(g)

[0144] 測定後、加熱前・加熱後サンプルのフレーバー定量を行い、蒸発したフレーバー量を算出後、以下の計算式を用い、正味の水分量を計算し、これを含水率とした。

[0145]

[化4]

$$M_{w+f} = M_b - M_a \cdots (2)$$
$$M_w = M_{w+f} - M_f \cdots (3)$$
$$\text{含水率}(\%) = M_w/M_b \times 100 \cdots (4)$$

$M_b$: 粉末量(g)(加熱前),

$M_a$: 粉末量(g)(加熱後),

$M_{(w+f)}$: 蒸発したフレーバーと水分量(g),

$M_w$: 正味の水分量(g),

$M_f$: 蒸発したフレーバー量(GC-FID により算出)

[0146] 結果を図１に示す。固形分濃度を変化させたところ、カプロン酸エチル（フレーバー）の包括率は固形分濃度２３％まで顕著に増加した。一方、２３％以上では包括率は向上するものの、増加率が抑えられた。以降の実施例では、特に明記しない限り、固形分濃度を３０重量％（酵母２０重量％、カプロン酸エチル１０重量％）とした。

[0147] （４）フレーバーと酵母の混合割合の検討

実施例２（１）と同様の酵母マイクロカプセル作成において、実施例１で得た未処理の酵母細胞（標品２）を用いて、混合するカプロン酸エチル（フレーバー）と酵母細胞の比を変化させた場合のカプロン酸エチルの包括率を検討した。フレーバーの包括率量の算出は、実施例２（３）と同様に行った。

[0148] 表３　フレーバーと酵母の混合割合

[0149] [表3]

| 混合割合 | |
|---|---|
| フレーバー% | 酵母% |
| 3.75 | 15 |
| 7.5 | 15 |
| 15 | 15 |
| 16.9 | 15 |
| 30 | 15 |

[0150] 結果を図２に示す。酵母細胞に対するフレーバーの割合が高くなると、包

括されたフレーバー量も増加する傾向にある。しかし、フレーバーと酵母細胞の混合割合について１／２値以上ではフレーバー包括率があまり変化せず、結果として包括効率が減っていた。噴霧乾燥処理又はドラムドライ処理し得た酵母細胞（標品２－Ｓ、及び標品２－Ｄ）を用いたいずれの場合でも、フレーバーの２倍の分量の酵母割合で包括効率が高く、フレーバー包括率も多く、フレーバーと酵母の添加割合については１／２が最も効率よくカプセル化することができる。

[0151] さらに、実施例１で得たそれぞれのドラムドライした酵母細胞（標品１－Ｄ及び標品２－Ｄ）についても、ｄ－リモネンとの混合割合を変化させて攪拌、噴霧乾燥することにより、粉末の酵母マイクロカプセルを作成し、酵母細胞の比を変化させた場合のｄ－リモネンの包括率を検討した。ｄ－リモネン包括率量の算出は、実施例２（３）と同様に行った。標品１－Ｄと標品２－Ｄを用いた場合の包括率量を図３に示す。

[0152] 図３に示すように、標品１－Ｄの酵母マイクロカプセル、標品２－Ｄの酵母マイクロカプセル、いずれの場合も、フレーバーと酵母の添加割合が１／２の方が１／４よりも効率が良いことが改めて示された。さらに、標品１－Ｄの酵母マイクロカプセルの方が標品２－Ｄの酵母マイクロカプセルよりも包括効率が高いことが示され、酵素処理、乳化剤処理などの処理が酵母細胞のフレーバーの包括率の向上に寄与していることが示唆された。

[0153] （５）噴霧乾燥空気入口温度の検討

実施例２と同様の酵母マイクロカプセル作成において、実施例１で得た酵母細胞（標品１－Ｄおよび標品２－Ｄ）を用いて、乾燥入口空気温度がフレーバー（ｄ－リモネン）包括率及び含水率に及ぼす影響について検討した。

[0154] 酵母細胞と香料の固形分２５重量％（固形分中の酵母細胞とフレーバーの重量比が２：１）と水７５重量％のフレーバー混合液を調製し、振とう・撹拌して（２５０ｒｐｍ、４時間、４０℃）、フレーバー分散液を作成した。その後、実施例２と同様、噴霧乾燥を行い、標品１の粉末酵母マイクロカプセルおよび標品２の粉末酵母マイクロカプセルとした。

[0155] フレーバーの包括率の算出は、実施例２（３）と同様に行った。含水率は、ハロゲン水分計（ＨＢ４３，Ｍｅｔｔｌｅｒ Ｔｏｌｅｄｏ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｃ．，Ｇｒｅｉｆｅｎｓｅｅ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用いて測定した。１ｇの湿潤酵母マイクロカプセルを、水分測定用アルミニウム皿（直径１００ｍｍ，１－５７９０－０１，ＡＳ ＯＮＥ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）に取り、測定に用いた。乾燥温度を１６０℃に設定した。測定後、加熱前・加熱後サンプルのフレーバー定量を行い、蒸発したフレーバー量を算出後、化４の計算式を用い、正味の水分量を計算し、これを含水率とした。フレーバー包括率および含水率を図４に示す。

[0156] 乾燥入口空気温度に関わらず、標品１－Ｄの酵母マイクロカプセルの方が標品２－Ｄの酵母マイクロカプセルよりも高いフレーバー包括率である。また、乾燥入口空気温度に関わらず、標品１－Ｄの酵母マイクロカプセルの方が標品２－Ｄの酵母マイクロカプセルよりも含水率が低い。特に、乾燥入口空気温度が１８０℃以上となると標品１－Ｄの酵母マイクロカプセルの含水率が顕著に低下したが、フレーバー包括率はほぼ変わらなかった。特に２００℃では、含水率が３％程度まで低下した。

[0157] 従って、本発明の酵母細胞カプセルは、フレーバーの包括率を維持したまま、含水率を下げることができる。また、標品１－Ｄの酵母マイクロカプセルは、標品２－Ｄの酵母マイクロカプセルよりもフレーバー包括率が高い。

以上の実験より噴霧乾燥入口の最適温度は２００℃と考えられる。

[0158] （６）撹拌時間の検討

実施例２（１）と同様の酵母マイクロカプセル作成において、実施例１で得た酵母細胞（標品１及び標品２）を用いて、フレーバー分散液の撹拌時間がフレーバー（ｄ－リモネン又はカプロン酸エチル）の包括率に及ぼす影響を調べた。フレーバーの包括率の算出は、実施例２（３）と同様に行った。

[0159] 結果を図５に示す。結果より、ｄ－リモネンおよびカプロン酸エチルを用いた場合、共に０時間から４時間では、包括率は、継時的に増加した。一方、４時間以上になると、ほとんど包括率に変化がなかった。

また、酵母細胞については、標品１－Ｄを用いた時の方が標品２－Ｄを用いた時よりも高いフレーバーの包括率を示した。

[0160] 一方、４時間以上になると、ほとんど包括率に変化がなかった。以降の実施例では、特に明記しない限り攪拌時間は４時間とした。

[0161] （７－１）攪拌温度の検討１

実施例２（１）と同様の酵母マイクロカプセル作成において、実施例１で得た標品１－Ｄを用いて、フレーバー分散液の攪拌温度がフレーバー（ｄ－リモネン又はカプロン酸エチル）の包括率に及ぼす影響を調べた。フレーバーの包括率の算出は、実施例２（３）と同様に行った。

結果を図６に示す。４０℃でｄ－リモネンおよびカプロン酸エチルの包括率は一番高い値を示した。

[0162] （７－２）攪拌温度の検討２

実施例２（１）と同様の酵母マイクロカプセル作成において、実施例１で得た酵母細胞（標品２－Ｄ）を用いて、フレーバー分散液の攪拌温度がフレーバー（カプロン酸エチル）の包括率に及ぼす影響を調べた。フレーバーの包括率の算出は、実施例２（３）と同様に行った。

結果を図７に示す。４０℃でのカプロン酸エチル包括率は一番高かった。以降の実施例では、特に明記しない限り攪拌温度は４０℃とした。

[0163] 実施例３　酵母マイクロカプセルの形状

本実施例において、酵母マイクロカプセルの形状を調べた。

具体的には、フレーバーとしてカプロン酸エチル又はｄ－リモネンを各々、噴霧乾燥処理又は加熱乾燥（ドラムドライ）処理した標品２に各々カプセル化して、酵母マイクロカプセルを製造した。また、標品１原体と、標品１をカプセル化した酵母カプセルをそれぞれ製造した。得られた各々の物質構造を、走査型電子顕微鏡（ＪＳＭ－６０６０、日本電子株式会社、東京、日本）を用いて観察した。具体的には、酵母マイクロカプセルをφ８ｍｍ丸形カーボンテープ（日新ＥＭ株式会社、東京、日本）を試料台につけ、スパーテルを用いてテープに少量のせた。それを、マグネトロンスパッタ装置（Ｍ

ＰＳ－１Ｓ，（株）真空デバイス、茨城、日本）に設置し、Ｐｔ－Ｐｄ電子を付着させた。試料ホルダに試料台を入れ、電子顕微鏡に取り付け、観察した。

[0164] 結果を図８、図９及び図１０に示す。標品１及び標品２のいずれの菌体もほとんど単体として存在せず、集合体を形成していた。マイクロカプセルは、フレーバーを包括しなかった対照と比べ、表面に膜を張っているように見られた。噴霧乾燥処理し得た標品２をカプセル化した場合と、加熱乾燥処理し得た標品２をカプセル化した場合とでほとんど差は見られなかった。また、標品１原体、標品１カプセル化いずれの菌体もほとんど単体として存在せず、集合体を形成していた。集合体の表面の凹凸ははっきりせず、やや平面状となり一体化している。これは、酵素処理、乳化剤を添加する工程で、余計なタンパクが反応したためと考えられる。

[0165] 比較例１

特開平８－２４３３７８の酸処理した酵母細胞に相当するものとして、酵母細胞をリン酸でｐＨ２．０に３０分間放置する処理（以下、酸処理）を行ったものを作成し、以下の試験に供した。以下、比較例１とする。

[0166] 実施例４　酵母細胞の栄養成分分析

本実施例では、酵母マイクロカプセルのメカニズム解明試験に付随して、標品２－Ｓ、標品１－Ｓ、及び比較例１の３種類の酵母細胞原体について、栄養成分分析を行った。各成分の含量を以下の方法によって分析した。

水分：常圧加熱乾燥法（１０５℃、３時間）

粗タンパク質：ケルダール法

脂質：酸分解法

灰分：直接灰化法（５５０℃、１０時間）

炭水化物：全体から上記４成分を差し引いた。

[0167]

[表4]

酵母細胞各成分

| | 標品2-S原体 | 標品1-S原体 | 比較例1原体 |
|---|---|---|---|
| 粗タンパク | 64.88 | 54.36 | 44.72 |
| 脂質 | 7.17 | 9.91 | 8.50 |
| 灰分 | 3.24 | 1.57 | 11.62 |
| 炭水化物 | 24.71 | 34.15 | 35.15 |
| （固形分） | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

[0168] 粗タンパク質の量は、未処理である標品２－Ｓより、酵素処理、乳化剤処理を行った標品１－Ｓの方が少なく、それに加えて酸処理を行った、比較例１がさらに低減していた。このことは、これらの処理が細胞内のタンパク質部分を除去していることが示唆された。理論に縛られるわけではないが、酵素処理、乳化剤を添加する工程で余計なタンパクを除去することで、マイクロカプセルの包括能力がさらに向上する、と考えられる。又、特開平８－２４３３７８の酸処理を行うことにより、さらに細胞内のタンパク質成分を除去することができ、カプセルの包括能力が向上することが示唆された。

[0169] 実施例５　乾燥条件及び湿潤条件下におけるマイクロカプセル徐放挙動

本実施例により、乾燥条件及び湿潤条件下におけるマイクロカプセル徐放挙動を調べた。

[0170] 実施例１で得た標品２－Ｓおよび２－Ｄを用いて、実施例２（２）と同様の標品２－Ｓおよび２－Ｄの粉末酵母マイクロカプセルを作成した。８０℃の乾燥燥条件及び１００％湿潤条件における酵母マイクロカプセルのフレーバー徐放挙動を観察した。フレーバー徐放量は、酵母粉末中のフレーバー量の変化によって検討した。

[0171] 結果を図１１に示す。図１１の縦軸はフレーバー残留率、横軸は時間である。それぞれの酵母でのカプロン酸エチル及びｄ－リモネン徐放速度は、湿潤条件の方が著しく速かったが、乾燥条件では一定のフレーバーの保持効果があることが示された。湿潤条件下では、噴霧乾燥処理（２－Ｓ）に比べて、ドラムドライ処理（２－Ｄ）した細胞の酵母マイクロカプセルの徐放が多少速かったものの、ほぼ同等の徐放能であった。

[0172] 実施例６　酵母マイクロカプセルの酸化安定性及び徐放効果の検証

本実施例では、酵母マイクロカプセルの酸化安定性試験を行った。実施例１で得た標品２－Ｄを用いて実施例２（２）と同様の標品２－Ｄの粉末酵母マイクロカプセルを作成した。フレーバーは、リモネンを使用し、その酸化物であるリモネン酸化物とカルボンの放出を測定することにより、その酸化の早さを測定した。比較例として、比較例１の方法で標品２－Ｄを塩酸で処理した後、実施例２（２）と同様の方法で酵母マイクロカプセルを作製した。また、対照として、デキストリンを噴霧乾燥したカプセルを作成した。次いで、１０５℃乾燥燥条件下での酸化安定性試験により、それぞれの酵母マイクロカプセルの徐放挙動を観察した。

[0173] 結果を図１２に示す。観察開始当初（１日－１０日程度）は、リモネン酸化物の放出について検証したところ、デキストリンを用いた噴霧乾燥品においてはリモネン酸化物を実験開始当初から放出し、短期間で酸化されたことが示されたのに対し、いずれの酵母マイクロカプセルもリモネン酸化物の放出は抑えられており、酵母細胞をリモネンとともに　噴霧乾燥した方が酸化が抑えられている事が示された。また、酸処理を行なった酵母細胞の場合は、酸化物の放出が抑えられているものの、時間経過後にも酸化されていなかったのに対し、本発明の酵母細胞については、酸処理酵母細胞と比較して、酸化物の放出がわずかに多く、また、時間の経過に従い徐々に酸化が進む事が明らかになった。

[0174] 一方、そのリモネン酸化物の分解物であるカルボンの放出効果についても検証した。デキストリンとともにリモネンを噴霧乾燥したものは、実験開始直後にカルボンを放出し、その後１ｍｇ／ｇ付近の値で安定しているのに対し、マイクロカプセルを用いた試験区では始めは低い値であるものの、徐々にカルボンが増加する事が分かる。また、酸処理を行なったもの（比較例１）と比較したところ、酸処理したものと比べて、保存期間が長い時には、本発明の方が高い値を示しており、本発明では徐々にリモネンの酸化が進み、特に１０日経過後に標品２－Ｄから調製した酵母マイクロカプセルは、徐々

にカルボンを放出している事が示唆された。本発明の酸未処理の酵母マイクロカプセルは、比較例１の酸処理をした場合よりも酸化誘導期間が短いものの、当初は抑えられているものの、徐々に酸化が進む、というユニークな酸化安定性を示し、フレーバー（リモネン）を包括し安定化している事が明らかになった。

[0175] 実施例７　ペースト状の酵母細胞マイクロカプセルの調製

実施例１で得た標品１－Ｄと香辛料（ブラックペッパー抽出物）を固形分重量比が２：１の割合で混合後３倍量の水を添加し、さらに撹拌機（ＢｉｏＳｈａｋｅｒＢｒ－１３ＵＭ、タイテック株式会社、埼玉、日本）で撹拌することにより（２５０ｒｐｍ）４０℃で４時間攪拌することにより、ペースト状態の酵母マイクロカプセルを得た（標品１－Ｐ）。

[0176] 実施例８　リモネンの香りに関する試験

本実施例では、酵母マイクロカプセルのリモネンの香りに関する官能評価試験及び臭気センサーによる測定を行った。官能で「香りが強い＝包括量が多い」を示すと同時に、臭気センサーで「数値が高い＝臭いが強い」が示される。

[0177] リモネン包括酵母マイクロカプセルの３％水溶液を作成し、官能評価及び臭気センサー測定を行った。具体的には、実施例１で得た酵母細胞（標品１－Ｓ及び標品２－Ｓ）：リモネン：水＝２：１：７、４０℃、１時間撹拌し、フレーバー分散液を作成することで、ペースト状の酵母マイクロカプセルを得た（標品１－Ｐ及び標品２－Ｐ）。８０℃お湯に標品１－Ｐおよび標品２－Ｐを３％添加して撹拌し、リモネン香と酵母臭について官能評価を行った。官能評価は、専門のパネラー５名で行った。臭気センサーは、官能評価を実施した後、１分間測定したときの最大値を結果とした。結果は、以下の表の通りである。

[0178]

[表5]

| | 標品 2-P 酵母マイクロカプセル | 標品 1-P 酵母マイクロカプセル |
|---|---|---|
| 官能結果（リモネン香） | △ | ○ |
| 官能結果（酵母臭） | △ | ○ |
| 臭気センサー結果 | 921 | 985 |

リモネン香　○：強い　　△：ふつう
酵母臭　　○：なし　　△：少しある

[0179] 標品１－Ｐと標品２－Ｐの双方ともリモネン香及び酵母臭がした。標品１－Ｐの方がリモネンの香りが強く残っており、臭気センサーでも値が大きく、リモネンの包括量が多かった。

[0180] 実施例９　チリフレーバー包括酵母マイクロカプセルの包括状態目視確認試験

本実施例は、チリフレーバー包括酵母マイクロカプセルの包括状態目視確認試験である。標品１及び標品２を用いて、チリフレーバー包括酵母マイクロカプセルを製造した。チリフレーバーはチリソースフレーバーＯＳ－６４６５７（コーケンフード＆フレーバー社製）を使用した。標品１の酵母マイクロカプセルは、噴霧乾燥した粉末タイプのもの（ＳＤ品）と、噴霧乾燥しないペーストタイプ（ペースト品）の２種類を製造した。

[0181] 包括されるチリフレーバーがそれぞれ０．２％になるように希釈し、状態を目視で確認した。目視で「油浮きが少ない」場合、フレーバーが包括されていることを示す。標品２の酵母マイクロカプセルは、希釈直後から油浮きが見られた。標品１の酵母マイクロカプセル（噴霧乾燥、ペースト）は油浮きがほとんどみられない。

[0182] 実施例１０　チリフレーバー包括酵母マイクロカプセルの蒲鉾への添加によるフレーバー包括状態の官能確認試験

本実施例では、実施例９と同様に作成したチリフレーバー包括酵母マイクロカプセルを蒲鉾へ添加し、フレーバー包括状態の官能確認試験を行った。フレーバーの感じ方の違いで、「先味が弱く、後味に強くフレーバーを感じ

る」場合、「包括されていてカプセル化状態良好」な状況を示す。蒲鉾への配合は以下の表の通りである。

[0183] [表6]

| | 対照 | 試験区① | 試験区② | 試験区③ |
|---|---|---|---|---|
| すり身ＫＡ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 食塩 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 氷水 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 馬鈴薯澱粉 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 砂糖 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| グルタミン酸ナトリウム | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 |
| チリフレーバー | 0.2 | - | - | - |
| 原体 | 0.4 | - | - | - |
| ペースト品（標品１－Ｐ） | - | 2 | - | - |
| ＳＤ品（標品１－Ｓ） | - | - | 0.6 | - |
| ＳＤ品（標品２－Ｓ） | - | - | - | 0.6 |

[0184] 官能評価は、専門のパネラー５名で行った。結果は以下の表の通りである。

[0185] [表7]

| | 対照 | 試験区① | 試験区② | 試験区③ |
|---|---|---|---|---|
| チリ風味の先味 | ○ | × | × | ○ |
| チリ風味の後味 | × | ○ | ○ | △ |

○：強い △：ふつう ×：弱い

[0186] フレーバーの感じ方の違いで、「先味が弱く、後味に強くフレーバーを感じる」場合、「包括されていてカプセル化状態良好」な状況を示す。対照及び標品２の酵母マイクロカプセルは、喫食直後からチリ風味が感じられた。標品１の酵母マイクロカプセル（噴霧乾燥、ペースト）は、チリ風味の先味が抑えられすり身の風味が感じられ、咀嚼とともに徐々にチリ風味が感じられた。標品２の酵母マイクロカプセルもチリ風味の後味が感じられたが、標品１の酵母マイクロカプセルよりも弱かった。

[0187] 実施例１１ バニラ包括酵母マイクロカプセルのクッキーへの添加による

、酸化安定性の官能確認試験

本実施例では、バニラフレーバー包括酵母マイクロカプセル（標品１－Ｓの酵母マイクロカプセルと標品２－Ｓの酵母マイクロカプセル）を製造し、クッキーへ添加した場合の、酸化安定性の官能確認試験を行った。酵母マイクロカプセルは、噴霧乾燥したものである。バニラフレーバーは　バニラフレーバーＭＱ－９０７１（高砂香料工業社製）を使用した。バニラフレーバー包括酵母マイクロカプセル中のバニラフレーバーが０．０１％になるように（酵母マイクロカプセルで０．０５％添加）クッキーに練りこんで焼成した。

クッキーを４５℃で１週間程度保存し、官能評価を行った。官能評価は、専門のパネラー５名で行った。結果は以下の表の通りである。

[0188] [表8]

| | バニラフレーバー<br>又は粉末香料 | 標品２－Ｓ<br>酵母マイクロカプセル | 標品１－Ｓ<br>酵母マイクロカプセル |
|---|---|---|---|
| バニラフレーバーの残存 | × | △ | ○ |

バニラフレーバーの残存　強い：○　ふつう：△　弱い：×

[0189] 酵母マイクロカプセルは高温焼成処理後、１週間保存してもバニラ風味を感じることから、酸化安定性が良好であることが判明した。標品１－Ｓの酵母マイクロカプセルの方が標品２－Ｓの酵母マイクロカプセルよりも、バニラフレーバーがよく残存しており、より高い酸化安定性を示した。

[0190] 実施例１２　ウスターソースへの添加試験

香辛料としてブラックペッパー抽出物を使用して、実施例７の方法で調製した標品１－Ｐを含有するウスターソースを、うどんへ添加しその呈味性を評価した。

[0191] 酵母マイクロカプセルは、実施例１で得た標品１を用いて実施例２（１）と同様のフレーバー分散液を作成し、酵母細胞をカプセル化したものである（標品１－Ｐ）。フレーバーはブラックペッパー（ＯＬＥＯＲＥＳＩＮ　ＢＬＡＣＫ　ＰＥＰＰＥＲ：Ｋａｌｓｅｃ社）を使用した。

[0192] はじめに、以下の配合割合でウスターソース調製物（カゴメ社製）を作成した。

[0193] [表9]

表９　ウスターソース調製物の配合

| | 対照 | 香辛料抽出物 | 標品１-Ｐ |
|---|---|---|---|
| ウスターソース（カゴメ社製） | １００ | １００ | １００ |
| 香辛料抽出物 | － | ０．１ | － |
| 標品１-Ｐ | － | － | １ |

[0194] 次に、各ウスターソース調製物を７５℃で１０分間加熱後した。うどんに作成したウスターソース調製物をそれぞれ大さじ１杯（１５ｍｌ）かけて麺によく絡ませ官能評価を行った。評価は、「風味の強さ」、「辛味の強さ」、「２日後の風味残り」、「風味発現速度」である。官能評価は、専門のパネラー５名で行った。結果は以下の表の通りである。

[0195] [表10]

表１０　ウスターソース調製物の官能検査結果

| | 添加直後 | | ４８時間後 | | 風味発現速度 |
|---|---|---|---|---|---|
| | 風味 | 辛さ | 風味 | 辛さ | |
| 対照 | △ | × | × | × | なし |
| 香辛料抽出物 | △ | △ | × | × | 早い。喫食後にすぐ風味、香りを感じる。 |
| 標品１-Ｐ | ○ | ○ | ○ | ○ | 遅い。しばらく後に風味、香りを感じる。 |

○：　強く感じる。　△：やや感じる。　×：感じられない。

[0196] 香辛料無添加の場合は、ウスターソース由来の風味をやや感じられるが、辛味がなく、メリハリがない風味であった。それに香辛料抽出物を添加することにより、まとまりがあり、適度な呈味を有していた。それに対し、標品１－Ｐの酵母マイクロカプセルを添加すると、さらに風味の強さと辛味の強さが強く感じられた。また、酵母マイクロカプセルを含有させると、２日間保存しても風味、辛味を保持していることから、保存安定性が高いことが示唆された。

[0197] 又、香辛料抽出物を展開した場合には、喫食後すぐに風味、香りを感じた

が（風味発言速度早い）、酵母マイクロカプセル化した香辛料抽出物を加えたものは喫食直後には風味、香りの立ち上がりは弱いものの、しばらくしたのちに徐々に風味、香りを感じ、最終的には香辛料抽出物そのものを加えたものより強い風味、香りを感じた。

[0198] 実施例１３　レトルト処理における添加効果試験

次に、フレーバー包括酵母マイクロカプセルのレトルト加工時の風味の安定性について検証した。フレーバーおよび酵母マイクロカプセルは、実施例１２と同様の、ペースト状態のブラックペッパー抽出物を包括化したものを使用した。

[0199] はじめに、以下の配合で試験区を作成した。

コントロール：ブラックペッパー抽出物０．０５％

試験区：実施例１２のペースト状酵母マイクロカプセル　０．５％

[0200] レトルトパウチに水を投入後、各試料を上記添加量にて投入した。その後、レトルト加熱を行い殺菌した。レトルト加熱の条件は１２０℃で２０分間とした。

[0201] レトルト加熱後、湯煎し温めた状態で、「辛味の強さ」、「辛味の持続」を専門のパネラー５名で官能評価した。レトルト加熱前の状態を５点とし、１～５点の５段階評価を行った。点数が高い程、レトルト前の状態と変化がなかったことを表す。５名の評価の平均値を下表に示した。

（辛みの強さ）

５点：レトルト前と全く変化がない

４点：レトルト前よりほぼ変化がない

３点：レトルト前よりやや強さが抑えられた

２点：レトルト前より強さがない

１点：レトルト前より全く強さがない

（辛みの持続）

５点：レトルト前と全く変化なく辛さが長く残る

４点：レトルト前よりほぼ同様に辛さが持続した

３点：レトルト前より辛さが長く残らない

２点：レトルト前より辛さが短い

１点：すぐに辛さがレトルト前より全く強さがない

結果は以下の表の通りである。

[0202] [表11]

表１１　レトルト後の官能評価結果

| | 辛味の強さ | 辛味の持続 |
|---|---|---|
| コントロール | 3.1 | 3.2 |
| 試験区 | 4.0 | 4.3 |

[0203] 酵母マイクロカプセル化した香辛料抽出物（試験区）を添加すると、香辛料抽出物を直接加えたコントロールに比べてレトルト処理による辛味の低下が抑えられた。また、コントロールは、辛さが長く残らず、すぐに消えてしまったが、標品１の酵母マイクロカプセルを添加すると、辛みの出方が遅く、長く残った。長時間風味を感じられたことから、徐々に香りを放出する徐放挙動を示唆された。

[0204] 実施例１４　フレーバー包括酵母マイクロカプセルをカレーソースの添加によるフレーバー包括状態の官能確認試験

本実施例は、フレーバー包括酵母マイクロカプセルをカレーソースに添加したフレーバー包括状態の官能確認試験である。フレーバーおよび酵母マイクロカプセルは、実施例１２と同様のものを使用した。

[0205] はじめに、以下の配合でカレールーを作成した。

[0206]

[表12]

| | % |
|---|---|
| カレー粉 | 11.62 |
| 強力粉 | 40.40 |
| サラダ油 | 32.83 |
| 無塩バター | 7.58 |
| マーガリン | 7.58 |
| total | 100 |

[0207] 次に、下記配合でカレーソースを作成し、レトルト加熱を行い殺菌した。レトルト加熱の条件は１２０℃で２０分間とした。カレーソースの配合割合は以下の表の通りである。

[0208] [表13]

| | 対照 | 香辛料抽出物 | 標品1－P 1%添加 | 標品1－P 0.5%添加 |
|---|---|---|---|---|
| カレールー | 15.36 | 15.36 | 15.36 | 15.36 |
| ケチャップ | 0.96 | 0.96 | 0.96 | 0.96 |
| フルーツチャツネ | 0.96 | 0.96 | 0.96 | 0.96 |
| 砂糖 | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 |
| 食塩 | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 0.48 |
| ビーフェックスAWミート（富士食品工業社製） | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 香辛料抽出物 | - | 0.1 | - | - |
| 標品1－P | - | - | 1 | 0.5 |
| 水 | 79.57 | 79.47 | 78.57 | 79.07 |
| total | 100 | 100 | 100 | 100 |

[0209] レトルト加熱後、専門のパネラー５名で官能評価試験を行った。評価の内容は、「風味の強さ」、「辛味の強さ」、「風味発現速度」である。結果は以下の表の通りである。

[0210]

[表14]

| | 風味の強さ | 辛味の強さ | 風味発現速度 |
|---|---|---|---|
| コントロール | △ | △ | なし |
| 香辛料抽出物 | ○ | △ | 早い。喫食後にすぐ風味、香りを感じる。 |
| 標品１－Ｐ　１％ | ○ | ○ | 遅い。喫食後、しばらくしてから風味、香りを感じる。 |
| 標品１－Ｐ　０．５％ | △ | ○ | 遅い。喫食後、しばらくしてから風味、香りを感じる。 |

○：風味・辛味が強い（残っている）、△：風味・辛味がやや強い（やや残っている）

[0211] 標品１の酵母マイクロカプセルについて、０．５％添加時では、風味がやや強く感じられ、１％添加時では風味が強く感じられた。また、０．５％添加時、１％添加時の双方とも辛味が強く感じられた。風味発現速度について、酵母マイクロカプセルを含有させると、発現速度が低下し、喫食後、しばらくしたのちに徐々に風味、香りを感じ、最終的には香辛料抽出物そのものを加えたものより強い風味、香りを感じた。また、香辛料抽出物の添加のみでは、ケミカル臭（不自然な味）を感じるが、酵母マイクロカプセルを添加させると、自然な風味が付与されていた。

[0212] 実施例１５　炭焼きフレーバー包括酵母マイクロカプセルの焼き鳥への添加による、風味向上と食感のジューシー感向上試験

本試験において、実施例７と同様の方法で炭焼きフレーバー包括酵母マイクロカプセル（標品１－Ｄを使用）を製造し、焼き鳥へ添加した場合の、風味と食感を調べた。炭焼きフレーバーとして、ＮＧスモークフレーバーＮＯ５０１４８－Ａ（コーケンフード＆フレーバー社製）を使用した。ピックル液（肉、魚等の塩漬け液）の配合は以下の通りである。

ブランク：１％食塩水

対照：１％食塩水＋０．５重量％　炭焼きフレーバー

試験区：１％食塩水＋５．０重量％炭焼きフレーバー包括ペースト状の酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）

[0213] 上記ピックル液を袋詰めした鶏肉に対して３０％重量分を添加し、１時間タンブリングを行った。その後、一晩つけ置きした後、焼成した（２２０℃

，１２分）。その後、官能検査に供した。

[0214] 結果、コントロールは炭焼きフレーバーをわずかに感じたが、表面に付着しているだけで、肉になじんでいない。口の中にフレーバー特有の尖った不快味が残る。試験区は、炭焼きフレーバー（グリルフレーバー）を感じ、かつ自然であった。肉の中から感じるので肉との一体感がある。本当に炭火直焼きをしたときのように感じられる。また、香気とともに肉汁が感じられ、食感もやわらかくジューシーになった。酵母マイクロカプセルは、風味向上効果だけでなく食感改良効果も同時に実現できる。

[0215] 実施例１６　マスタードオイル（わさび）包括酵母マイクロカプセルの調製とレトルト処理における保存安定試験

わさび由来のマスタードオイルを用いて、実施例７と同様の方法で、ペースト状の酵母マイクロカプセルを調製した。その後、以下の配合で試験区を作成した。

対照：わさび由来のマスタードオイル０．２重量％

試験区：わさび由来のマスタードオイル１０重量％を包括したペースト状酵母マイクロカプセル２％

[0216] レトルトパウチに水を投入後、各試料を投入した。その後、レトルト加熱を行い殺菌した。レトルト加熱の条件は１１０℃で１０分間とした。レトルト加熱後、冷却し、３５℃で保存し、官能評価した。その結果、コントロールは香り、風味ともにレトルト処理前と比べて大幅に減少しマスタードの香りおよび風味は残っていない。一方、試験区は、マスタードの香り及び風味があきらかに残っていた。また、時間が経過後に更に強い風味が確認された。

[0217] 実施例１７　唐揚げへの添加効果試験

次に、実施例１６の方法で調製したマスタードオイル（わさび）を包括した酵母マイクロカプセルを唐揚げに添加した場合の、香り・風味について検証した。

ピックル液の配合は以下のとおりである。

[0218] [表15]

| | コントロール | 試験区 |
|---|---|---|
| 食塩 | 3.0% | 3.0% |
| 砂糖 | 1.2% | 1.2% |
| 濃口醤油 | 8.0% | 8.0% |
| 日本酒 | 4.5% | 4.5% |
| グルタミン酸Na | 2.5% | 2.5% |
| チキンエキスC-500(S)<br>(富士食品工業社製) | 2.0% | 2.0% |
| マスタードオイル | 0.1% | |
| 標品1－P | | 1.0% |
| 水 | 78.7% | 77.8% |
| Total | 100.0% | 100.0% |

[0219] 上記ピックル液に鶏肉２０ｇを浸漬し、真空度０．０８ＭＰａ、回転数１０ｒｐｍ条件下、１時間タンブリングを行った。その後、衣付けをし、１７０℃で４．５分間加熱調理し凍結保存を行った。凍結保存された鶏肉を解凍し、わさびの香りおよび風味を官能評価した結果、コントロールはほとんどわさびの香りおよび風味は残っていない。一方、試験区は、わさびの香り及び風味が明らかに残っていた。また、香気とともに食感もやわらかくなった。酵母マイクロカプセルは、風味向上効果だけでなく食感改良効果も同時に実現できる。

[0220] 実施例１８　香気成分の定量分析

フレーバー包括酵母マイクロカプセルとすることによる香気成分の定量分析を行った。本試験では、香気成分として、マスタードやワサビなどの辛味主成分であるアリルイソチオシアネートを使用した。また、酵母マイクロカプセルは実施例７と同様のマイクロカプセル（標品１－Ｐ）を使用した。

[0221] はじめに以下の各サンプルを調製した。

対照：マスタードオイル０．２％水溶液

試験区：わさび由来のマスタードオイル１０重量％を包括したペースト状酵母マイクロカプセル２％水溶液

[0222] ［試験方法］

バイアルに、各サンプルを２ｍｌ採取し、固相マイクロ抽出（ＳＰＭＥ）

により５０℃で１８時間吸着させた。吸着させたＳＰＭＥをＧＣ－ＭＳで測定した。コントロールおよび試験区それぞれのサンプル作成直後と、４５℃で３日間保存後のサンプルのアリルイソチオシアネート量を測定し、アリルイソチオシアネートの残存率を測定した。

[0223] ［香気成分：ＧＣ－ＭＳ法］

装置： ＶａｒｉａｎＣＰ－３８００

カラム：Ａｇｉｌｌｅｎｔ ＤＢ－ＷＡＸ６０ｍ×０．２５ｍｍ，Ｉ．Ｄ．　０．２５μｍ

昇温：５０℃－２４０℃，　５℃／ｍｉｎ

[0224] （結果）

測定結果は以下の通りである。

[0225] [表16]

| | コントロール | 試験区 |
|---|---|---|
| 残存率 | 39.27% | 65.96% |

[0226] 標品１でマスタードオイルを包括しマイクロカプセル化することで、アリルイソチオシアネートの分解を抑制できる。

[0227] 実施例１９　ペースト状の酵母マイクロカプセルの保存安定性

本実施例では、ペースト状の酵母マイクロカプセルの保存安定性を検証した。

[0228] ［サンプル作製］

実施例１２と同様に、実施例１で得た標品１を用いて実施例２（１）と同様のフレーバー分散液を作成し、酵母細胞をカプセル化して、ペースト状の酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を調製した。フレーバーは、ブラックペッパー（ＯＬＥＯＲＥＳＩＮ　ＢＬＡＣＫ　ＰＥＰＰＥＲ：Ｋａｌｓｅｃ社）を使用した。

[0229] 得られたペースト状酵母マイクロカプセルを、冷凍（－２０℃）、冷蔵（４℃）、２５℃、４５℃の条件下で１ヶ月保存した。対照として、製造直後

の酵母マイクロカプセルを用いた。

[0230] 保存後のペースト状酵母マイクロカプセルを含むピックル液を配合した。ピックル液としては２．５％包括ペーストを含有する１％食塩水を使用した。

[0231] 上記ピックル液を、あらかじめ皮を剥がし袋詰めした鶏肉に対して３０重量％分を添加し、１時間タンブリングを行った。さらに、一晩つけ置きした後、焼成し（２２０℃、１２分）、、官能検査に供した。

[0232] （結果）

官能検査の結果は以下の表の通りである。製造直後の酵母マイクロカプセルを用いた場合を基準とする。官能評価は、専門のパネラー３名で行った。

[0233] [表17]

| | 製造直後 | 保存温度帯 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 冷凍 | 冷蔵 | 25℃ | 35℃ | 45℃ |
| 風味 | （基準） | × | ○ | △ | × | × |

○：強く感じる
△：やや感じる
×：感じられない

[0234] 冷蔵品は、ブラックペッパーの風味を強く感じる。保存後も製造直後の酵母マイクロカプセルを使用した場合とほとんど変化しなかった。２５℃で保存した場合は、わずかにブラックペッパーの風味を感じる程度であった。３５℃、４５℃で保存した場合は、ほとんどブラックペッパーの風味を感じられなかった。

[0235] 実施例２０　酵母マイクロカプセルによる植物性タンパク質臭成分の抑制効果

本実施例では、酵母マイクロカプセルによる植物性タンパク質臭成分の抑制効果
を調べた。

[0236] （１）官能評価試験

本実施例では、ブラックペッパー抽出物包括酵母マイクロカプセルの使用による、植物性タンパク質臭の抑制への影響について官能評価試験を行った。

[0237] ［サンプル作製］

実施例１２と同様に、実施例１で得た標品１を用いて実施例２（１）と同様のフレーバー分散液を作成し、酵母細胞をカプセル化して、ペースト状の酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を調製した。フレーバーは、ブラックペッパー（ＯＬＥＯＲＥＳＩＮ　ＢＬＡＣＫ　ＰＥＰＰＥＲ：Ｋａｌｓｅｃ社）を使用した。

[0238] ［試験区の作製］

・試験区１：植物性タンパク質

・試験区２：ＣＮ－２（富士食品工業社製）

ＣＮ－２は、豆乳を乳酸菌と酵母により発酵した複合発酵調味料である。

・試験区３：標品１－Ｐ

・試験区４：ＣＮ－２と標品１－Ｐの併用

植物性タンパク質の原料としては、アペックス３５０（不二製油社製）を用いた。

[0239] ［試験方法］

以下の配合で各試験区を作成した。

[0240] [表18]

| | 配合率(%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| 原料 | 試験区１ | 試験区２ | 試験区３ | 試験区４ |
| 植物性タンパク質 | 33.3 | 33.3 | 33.3 | 33.3 |
| 水 | 66.4 | 65.3 | 65.7 | 64.7 |
| 食塩 | 0.3 | - | 0.3 | - |
| CN-2（富士食品工業社製） | - | 1.3 | - | 1.3 |
| 標品１－Ｐ | - | - | 0.7 | 0.7 |
| Total | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

植物性タンパク質に対し、標品１－Ｐを２重量％添加

植物性タンパク質に対し、ＣＮ－２を４重量％添加

[0241] 全ての原料（各試験区当たり７５ｇ）を測り取り、レトルトパウチに投入し、混合した。３０分程度放置した（水戻し）後、パウチ毎沸騰水中で、湯煎を１０分間行った。その後、常温まで冷却後、冷蔵庫で１昼夜保存した。各試験区の試料を湯煎にて温め、官能評価試験に使用した。

[0242] ［官能評価試験］

各試験区について、「臭い」、「風味」について専門パネラー３名でブランク（試験区１）と比較し、官能評価を行った。

[0243] [表19]

| | 試験区1 | 試験区2 | 試験区3 | 試験区4 |
|---|---|---|---|---|
| 「臭い」評価 | （基準） | ○ | ○ | ◎ |
| 「風味」評価 | （基準） | △ | ◎ | ◎ |
| コメント | ・植物性タンパク質臭有り<br>・植物性タンパク質の不快な風味も有り。 | ・植物性タンパク質臭は、試験区1と比較すると、減少している。<br>・咀嚼時に、植物性タンパク質由来の風味が残る。 | ・植物性タンパク質臭が減少したが、僅かに臭いが残る。<br>・経時的に植物性タンパク質臭が増す。<br>・植物性タンパク質由来の風味を感じない。 | ・植物性タンパク質臭が無くなり、その状態が長時間続く。<br>・植物性タンパク質由来の風味を感じない。 |

臭い・・・◎:不快臭がない、○:不快臭が抑制されている
風味・・・◎:不快な風味がない、△:植物性タンパク質の風味が残る

[0244] （結果）

試験区２の結果より、試験区１の結果と比較して、植物性タンパク質に発酵液（ＣＮ－２）を添加することにより、植物性タンパク質臭が抑えられるが、咀嚼時、植物性タンパク質由来の風味が残ることが示された。

[0245] また、試験区３の結果より、植物性タンパク質に本発明のブラックペッパー抽出物包括酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を添加すると、植物性タンパク質臭が抑えられた。しかしながら、僅かに臭いが残り、経時的に臭いが増すことが明らかになった。植物性タンパク質由来の風味については、感じなかった。

[0246] さらに、試験区４の結果より、植物性タンパク質に発酵液と本発明のブラックペッパー抽出物包括酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を添加すると、植物性タンパク質臭が無くなり、その状態が長時間続いた。更に、植物性タンパク質の風味も感じないことが示された。

[0247] フレーバー及び酵母細胞を含む本発明の酵母マイクロカプセルにより、植物性タンパク臭が抑制され、また、植物性タンパク質由来の不快な風味も抑制された。さらに、本発明の酵母マイクロカプセルと発酵液を併用することにより、植物性タンパク臭の抑制効果がより長時間続いた。

[0248] （２）ＧＣ－ＭＳ分析

本実施例では、（１）で調製した各試験区の試料についてＧＣ－ＭＳ分析を行った。

[0249] 冷蔵庫で１日保存した各試験区の試料を、翌日、冷蔵庫から取り出して室温に戻した。各試験区の試料の２ｍｌをバイアルに採取し、固相マイクロ抽出（ＳＰＭＥ）により４５℃で２時間吸着させた。吸着させたＳＰＭＥをＧＣ－ＭＳで測定した。

装置：ＶａｒｉａｎＣＰ－３８００

カラム：Ａｇｉｌｌｅｎｔ　ＤＢ－ＷＡＸ６０ｍ×０．２５ｍｍ，ｌ．Ｄ．、０．２５μｍ

昇温：４５℃－２４０℃、５℃／ｍｉｎ

ＧＣ－ＭＳ測定の結果、各試験区のヘキサナールのあたるＧＣピークの総面積を図１３に示す。

[0250] 本発明の本発明のブラックペッパー抽出物包括酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を加えた試験区３、試験区４では、試験区１と比較し、ＧＣ－ＭＳのピークの総面積では、ヘキサナールの量が減少した。

発酵液（ＣＮ－２）を添加した試験区２では、ヘキサナールの挙動に変化がなかった。

[0251] （３）考察

（１）官能評価試験と（２）ＧＣ－ＭＳ分析の結果より、以下が考察される。

発酵液（ＣＮ－２）を添加すると、植物性タンパク質臭の抑制効果がある（試験区２）。

[0252] 酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を添加した試験区３では、植物性タ

ンパク質臭の抑制効果と、風味の改善効果がある。但し、臭いについては、経時的に植物性タンパク質臭が増していった。一方、発酵液（ＣＮ－２）と酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）を併用した試験区４は、植物性タンパク質臭の抑制効果が長く続いた。

[0253] （２）のＧＣ－ＭＳ分析の結果より、酵母マイクロカプセルを添加した試験区３では、試験区１と比較し、植物性タンパク質臭の主成分であるヘキサナールの量が減少している。なお、試験区２の結果から、発酵液（ＣＮ－２）の添加では、ヘキサナールの量が減少しない。

[0254] 試験区３の結果から、酵母マイクロマイクロカプセル添加により、カプセル内にあるブラップペッパーが徐放され、臭いと風味が改善されたことが示唆される。更に、試験区４のように、発酵液（ＣＮ－２）と酵母マイクロカプセルを併用することで、発酵液がカプセル内に取り込まれ、酵母マイクロカプセルから発酵液が徐放されることで、長時間の植物性タンパク質臭抑制効果として働くことが示唆される。

[0255] （４）、酵母マイクロカプセルの添加量の検討

本実施例では、酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）の添加量の検討を行った。

[0256] （１）官能評価試験の試験区３の結果から、植物性タンパク質に対して標品１－Ｐを２％添加したところ、植物性タンパク質臭抑制効果があった。そこで、最適添加量確認のため、標品１－Ｐの添加量を下げて、再度官能評価試験を実施した。

標品１－Ｐの添加量を対植物性タンパク質に対して、１．６重量％、１．０重量％、０．８重量％で実施した。結果を以下の表に示す。

[0257] [表20]

| | 1.60% | 1.00% | 0.80% |
|---|---|---|---|
| 「風味」評価 | ○ | ○ | △ |
| コメント | ・植物性タンパク質臭が大幅になくなってる。 | ・植物性タンパク質臭が大幅になくなってる。 | ・植物性タンパク質臭をわずかに感じる。<br>・風味も少し感じる。 |

風味・・・○：不快な風味をほぼ感じない、△：植物性タンパク質の風味が残る。

[0258] 表２０に示す通り、植物性タンパク質に対して標品１－Ｐを１．０重量％以上添加すると、不快臭が抑えられた。植物性タンパク質に対して１．０重量％～２．０重量％添加であれば、酵母マイクロカプセル（標品１－Ｐ）の風味も感じない。

# 請求の範囲

[請求項1] マイクロカプセルの製造方法であって、

酵母細胞を熱水処理し、内容成分が菌体外に放出され、内容成分が分離され残留した酵母細胞を製造する工程、

前記内容成分が分離され残留した酵母細胞を第１有効成分とし、これに第２有効成分を内包させる工程、

を含む、

ただし、内容成分が分離され残留した酵母細胞に酸処理を施さない、

前記製造方法。

[請求項2] 前記内容成分が分離され残留した酵母細胞にプロテアーゼ及び／又はセルラーゼ添加処理を施す工程を含む、請求項１の方法。

[請求項3] 前記内容成分が分離され残留した酵母細胞にプロテアーゼ及び／又はセルラーゼ添加処理を施す工程の前、後、又は同時に乳化剤を添加する工程を含む、請求項２に記載の方法。

[請求項4] 乳化剤が、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、レシチン及びサポインからなる群より選択される、請求項３に記載の方法。

[請求項5] 第２有効成分が、香料、香辛料抽出物、香味油、動物性油脂及び植物性油脂からなる群から選択される脂溶性物質である、請求項１－４のいずれか１項に記載の方法。

[請求項6] 内容成分が分離され残留した酵母細胞が、乾燥された状態のものである、請求項１－５のいずれか１項に記載の方法。

[請求項7] 内容成分が分離され残留した酵母細胞が、タンパク質成分を４５重量％－７０重量％の範囲で含有する、請求項１－６のいずれか１項に記載の方法。

[請求項8] 前記内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包さ

せる工程が、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌することを含む、請求項１－７のいずれか１項に記載の方法。

[請求項9] 前記内容成分が分離され残留した酵母細胞に第２有効成分を内包させる工程が、内容成分が分離され残留した酵母細胞、第２有効成分及び水分を混合して攪拌し、得られた分散液を乾燥することを含む、請求項１－８のいずれか１項に記載の方法。

[請求項10] 内容成分が分離され残留した酵母細胞と第２有効成分の混合割合が、４：１－１：１の範囲である、請求項８又は９に記載の方法。

[請求項11] 攪拌時間が１時間以上８時間以内である、請求項８－１０のいずれか１項に記載の方法。

[請求項12] 攪拌温度が２５℃以上５０℃未満である、請求項８－１１のいずれか１項に記載の方法。

[請求項13] 第２有効成分の包括効率が少なくとも４０％である、請求項１－１２のいずれか１項に記載の方法。

[請求項14] 請求項１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル。

[請求項15] 酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルと比較して、第２有効成分の徐放性が向上している、請求項１４に記載のマイクロカプセル。

[請求項16] 酸処理を施した、内容成分が分離され残留した酵母細胞を用いて得られたマイクロカプセルと比較して、同等の酸化安定性である、請求項１５に記載のマイクロカプセル。

[請求項17] 第２有効成分を５重量％以上含む、請求項１４－１６のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

[請求項18] 第２有効成分が香料、香辛料抽出物、動物性油脂、香味油及び植物性油脂からなる群から選択される脂溶性物質である、請求項１４－１

７のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

[請求項19] ペースト状である、請求項１４－１８のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

[請求項20] 冷蔵保存され得る、請求項１９のいずれか１項に記載のマイクロカプセル。

[請求項21] 請求項１４－２０のいずれか１項に記載のマイクロカプセルを含む、食品又は飲料の風味向上剤。

[請求項22] 請求項１４－２０のいずれか１項に記載のマイクロカプセル、あるいは、請求項２１に記載の風味向上剤を含む、食品又は飲料。

[請求項23] レトルト食品である、請求項２２に記載の食品。

[請求項24] （１）請求項１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル、及び

（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物

を含む、植物性タンパク質臭を抑制するための組成物。

[請求項25] （１）請求項１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル、及び

（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物

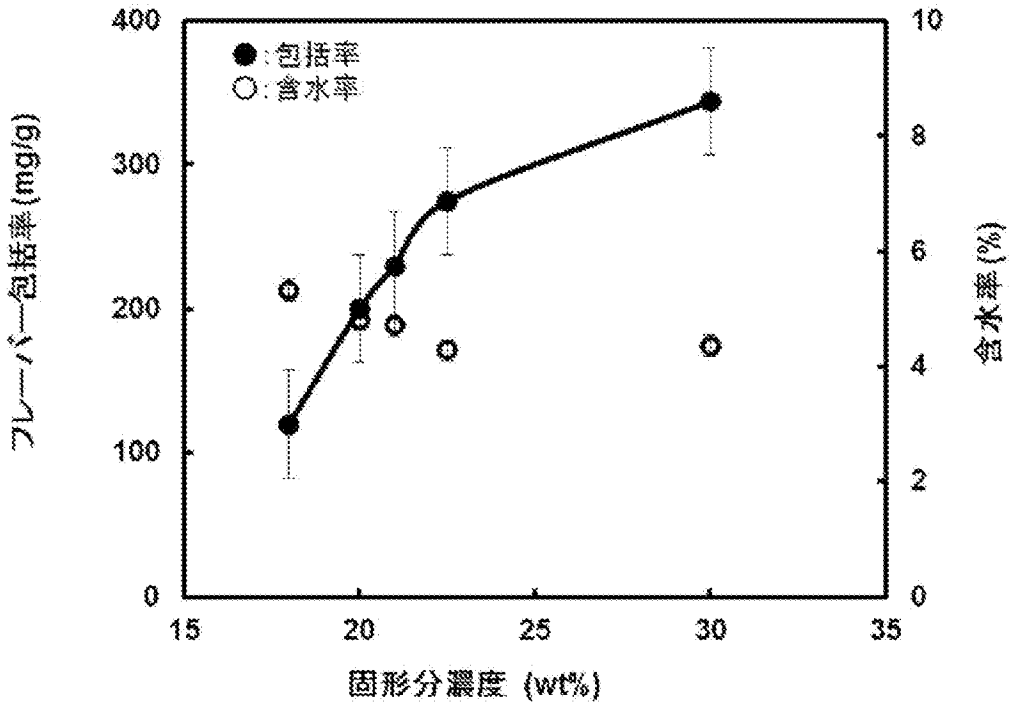
を含む、食品又は飲料。

[請求項26] （１）請求項１－１３のいずれか１項に記載の方法により製造された、内容成分が分離され残留した酵母細胞及び第２有効成分を含む、マイクロカプセル、及び

（２）植物性タンパク質臭抑制効果を有する物

を添加することを含む、植物性タンパク質臭を抑制するための方法。

[図1]


●:包括率
○:含水率
プレバノール包括率(mg/g)
含水率(%)
固形分濃度 (wt%)
0
100
200
300
400
0
2
4
6
8
10
15
20
25
30
35

[図2]

図２Ａ

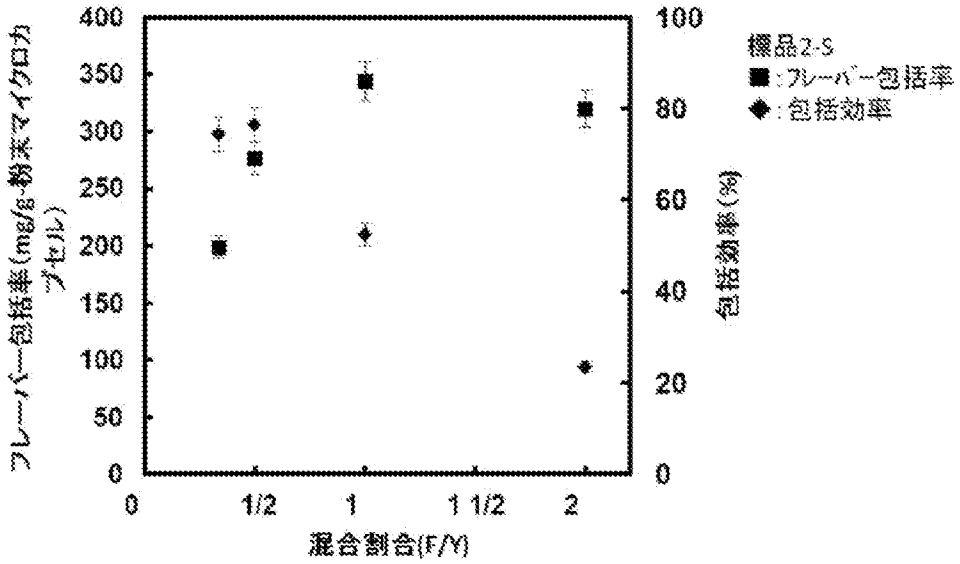
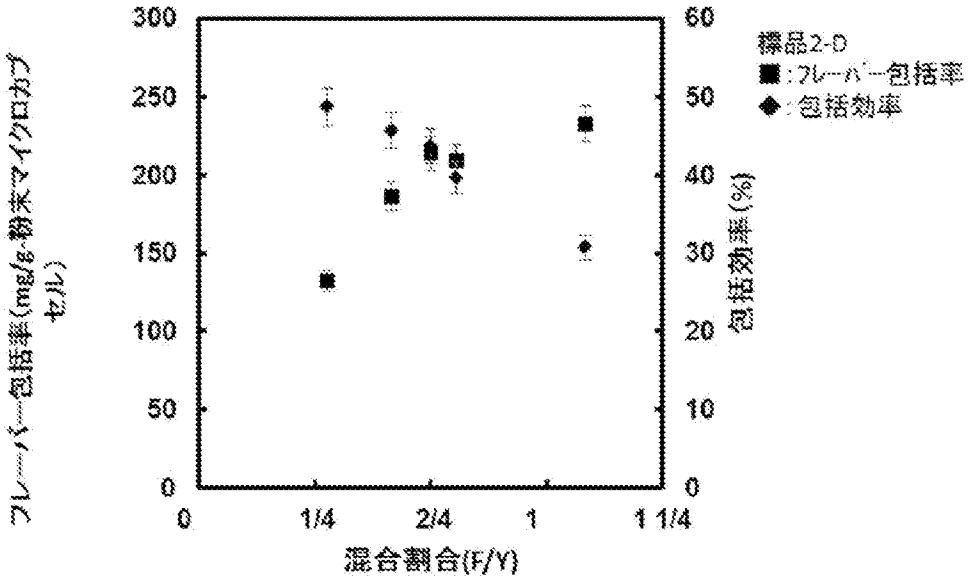
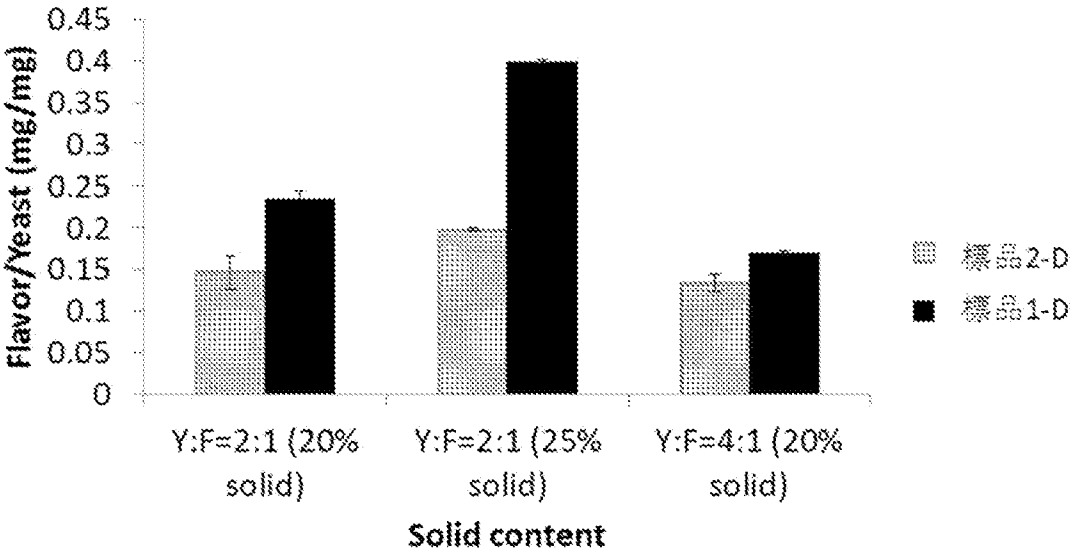

フレーバー包括率(mg/g-粉末マイクロカプセル)
包括効率(%)
混合割合(F/Y)
0
1/2
1
1 1/2
2
0
50
100
150
200
250
300
350
400
0
20
40
60
80
100
標品2-S
■:フレーバー包括率
◆:包括効率

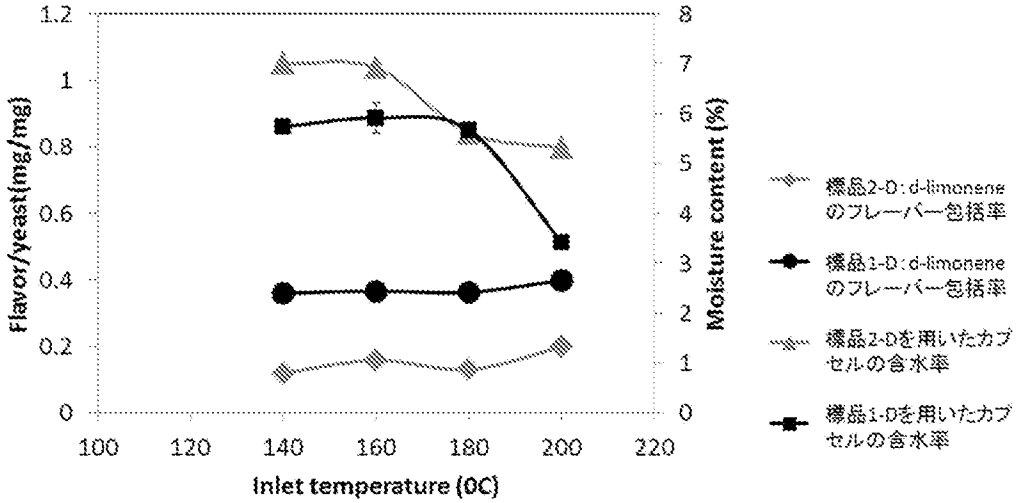
図２Ｂ


フレーバー包括率(mg/g-粉末マイクロカプセル)
包括効率(%)
混合割合(F/Y)
0
1/4
2/4
1
1 1/4
0
50
100
150
200
250
300
0
10
20
30
40
50
60
標品2-D
■:フレーバー包括率
◆:包括効率

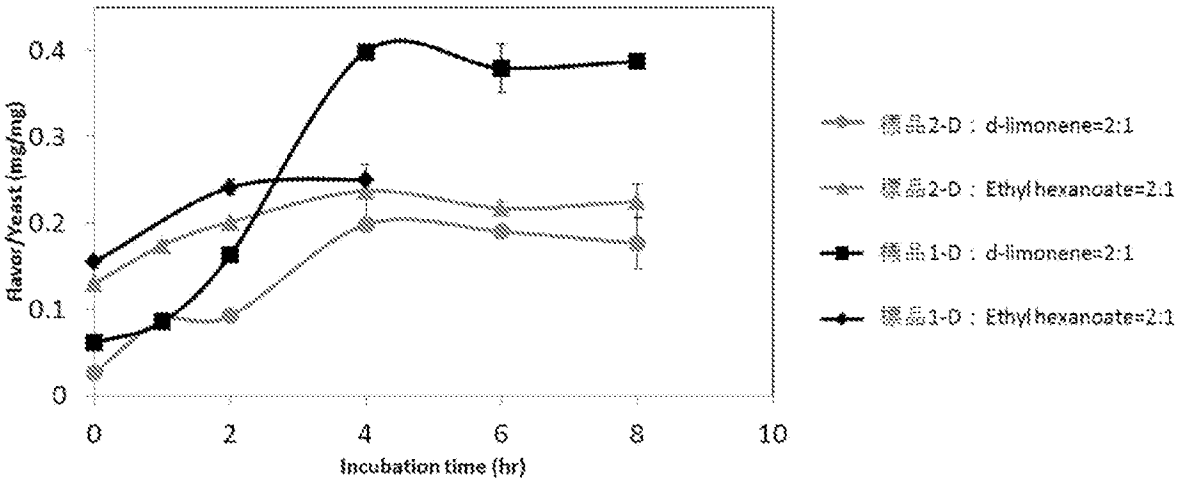
[図3]


Flavor/Yeast (mg/mg)
0.45
0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
Y:F=2:1 (20% solid)
Y:F=2:1 (25% solid)
Y:F=4:1 (20% solid)
Solid content
標品2-D
標品1-D

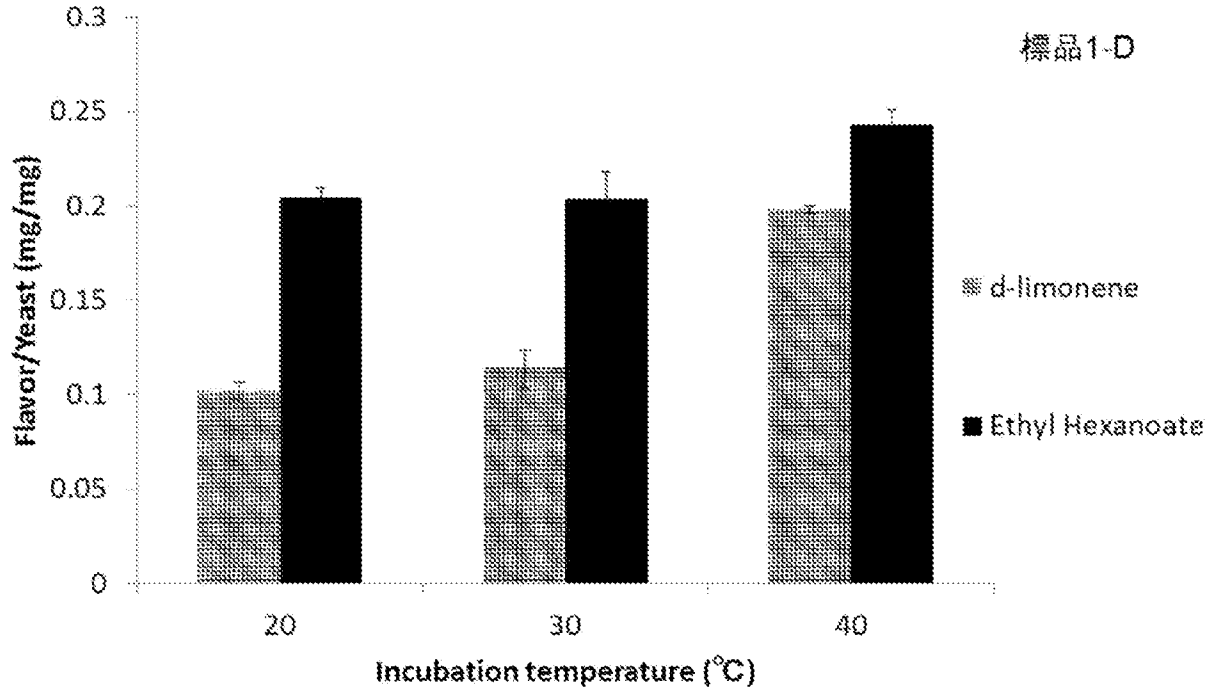
[図4]


Flavor/yeast(mg/mg)
Moisture content (%)
Inlet temperature (0C)
100
120
140
160
180
200
220
標品2-D:d-limonene のフレーバー包括率
標品1-D:d-limonene のフレーバー包括率
標品2-Dを用いたカプセルの含水率
標品1-Dを用いたカプセルの含水率

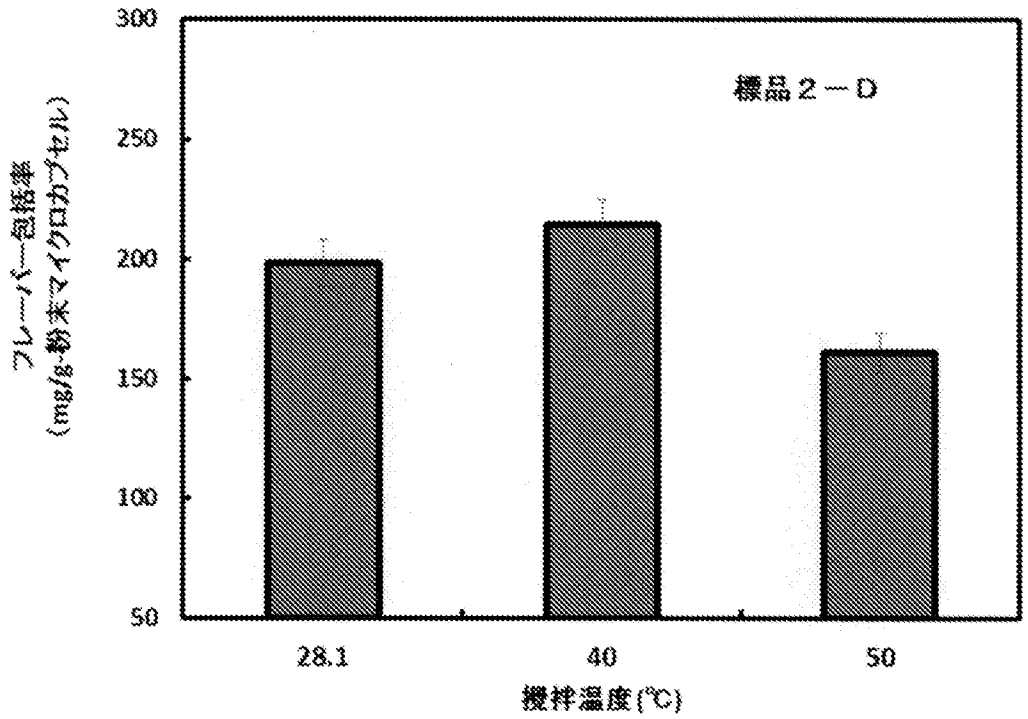
[図5]


Flavor/Yeast (mg/mg)
Incubation time (hr)
0
2
4
6
8
10
標品2-D : d-limonene=2:1
標品2-D : Ethyl hexanoate=2:1
標品1-D : d-limonene=2:1
標品1-D : Ethyl hexanoate=2:1

[図6]


標品1-D
Flavor/Yeast (mg/mg)
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
d-limonene
Ethyl Hexanoate
20
30
40
Incubation temperature (℃)

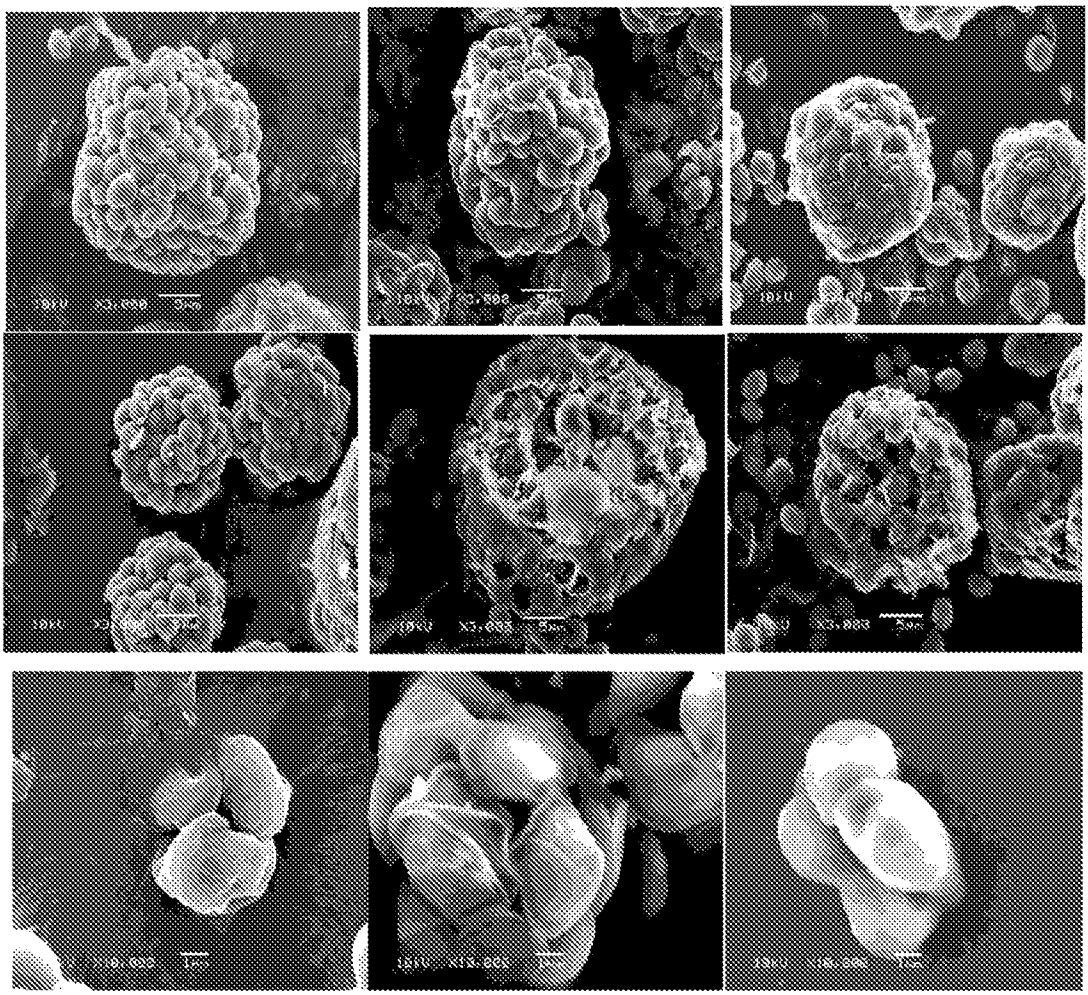
[図7]


標品２－D
フレーバー包括率
(mg/g-粉末マイクロカプセル)
300
250
200
150
100
50
28.1
40
50
攪拌温度(℃)

[図8]

標品 2-S

対照　　カプロン酸エチル　　*d*-リモネン

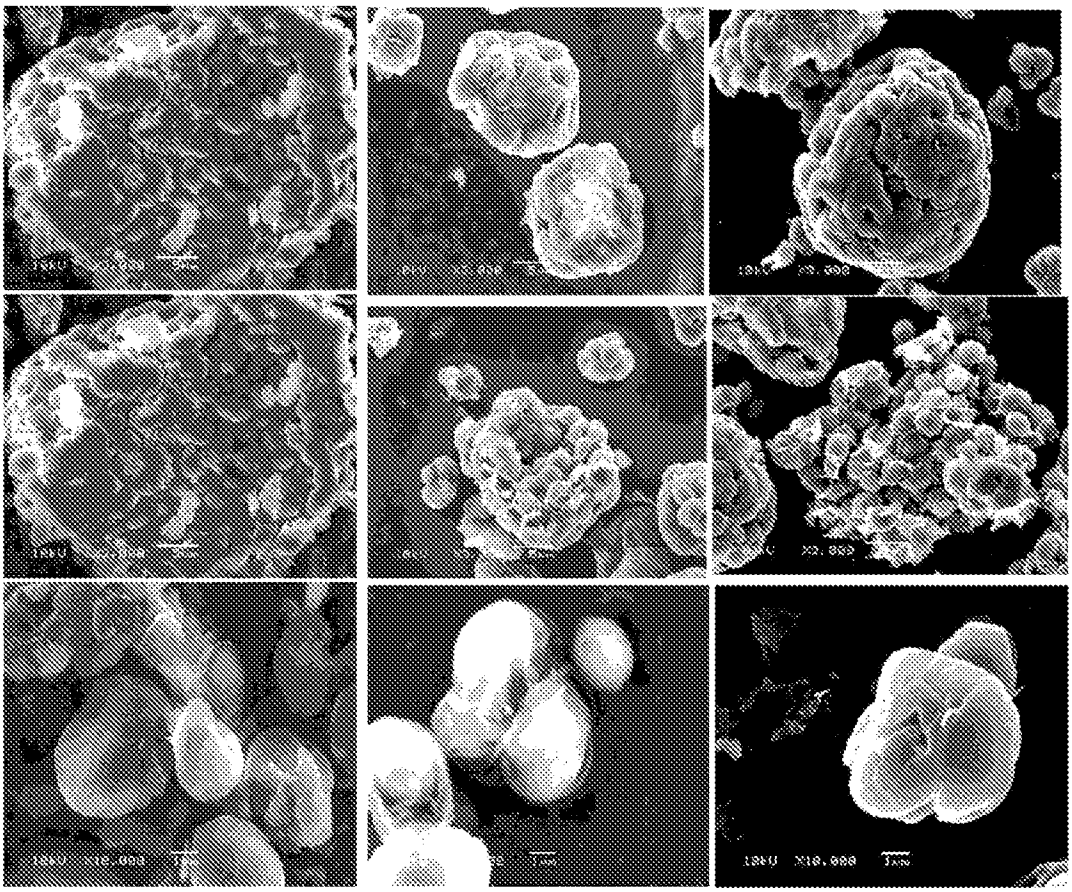


(左から対照、カプロン酸エチル、*d*-リモネン、上から 3000, 10000 倍)

[図9]

標品 2-D

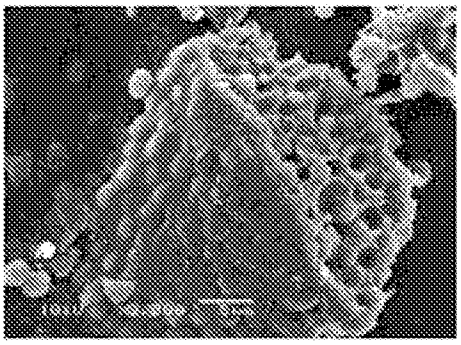
対照 カプロン酸エチル *d*-リモネン

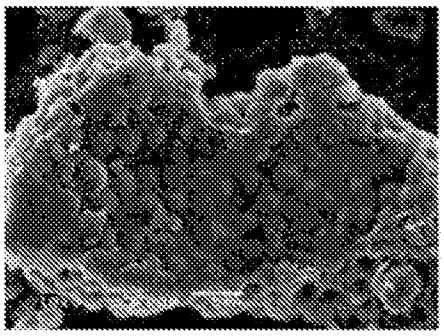


(左から対照、カプロン酸エチル、*d*-リモネン、上から 3000, 10000 倍)

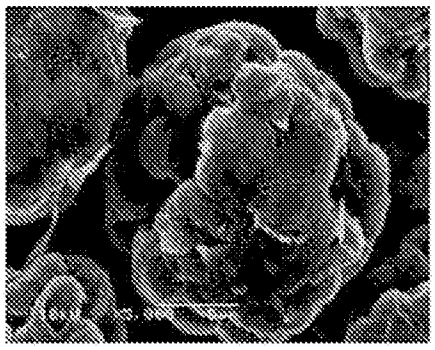
[図10]

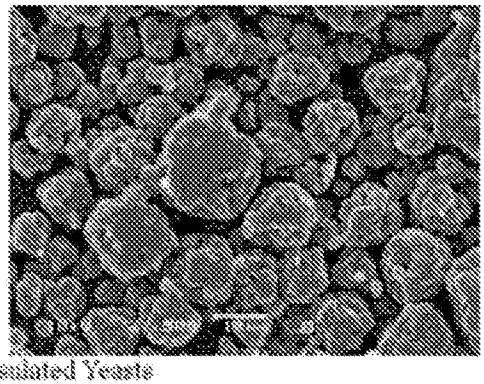
標品1－D





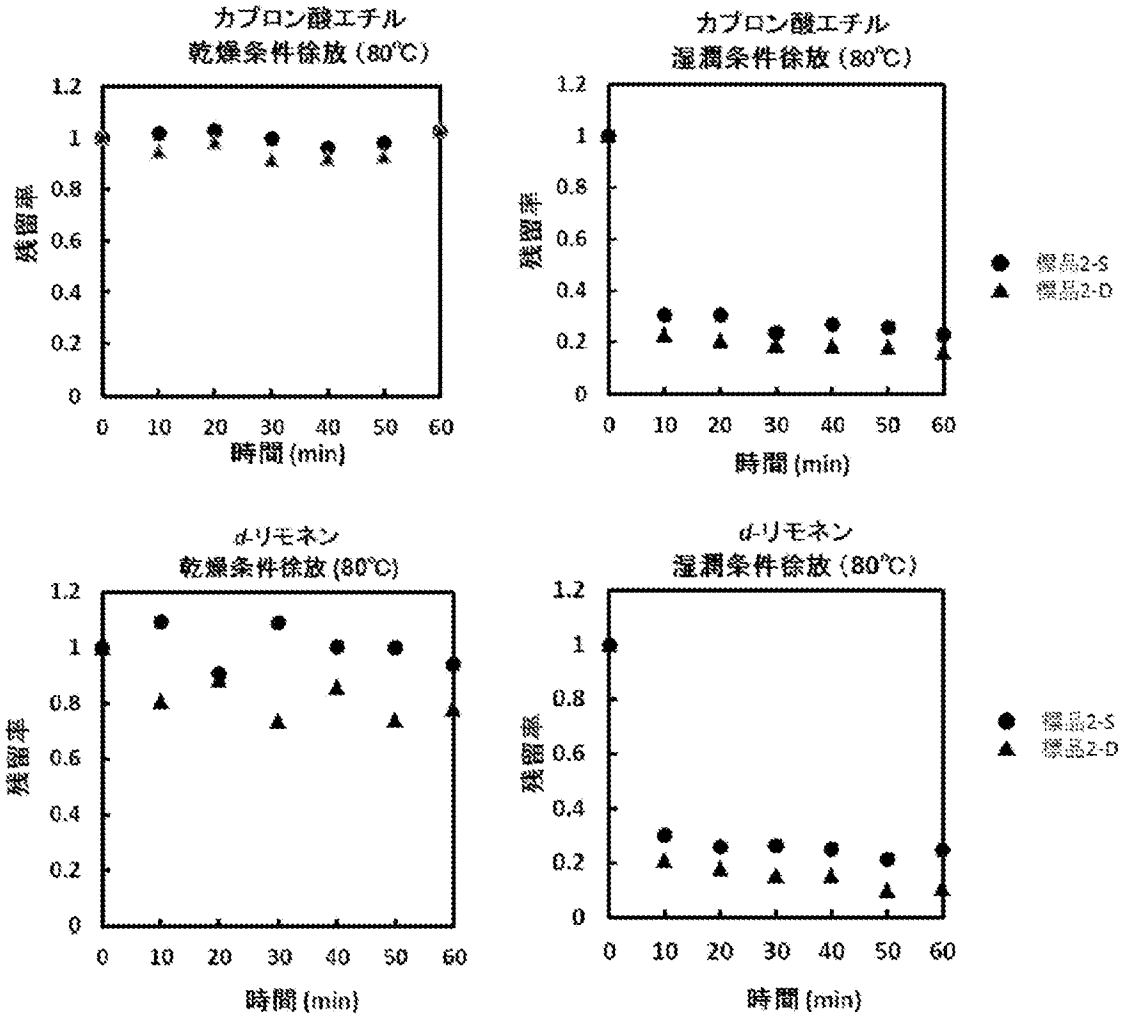
SEM pictures for noncapsulated Yeasts



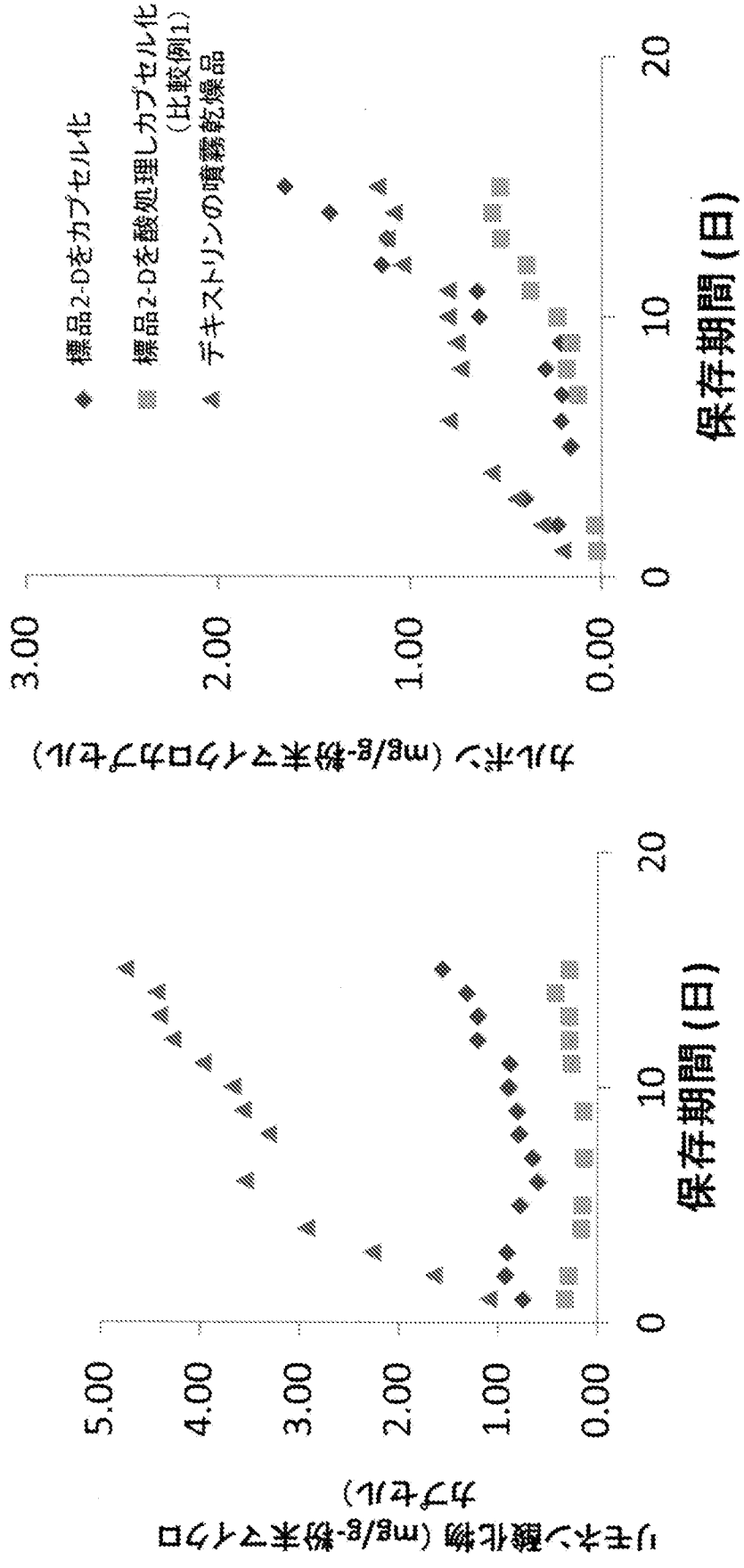


SEM pictures for encapsulated Yeasts

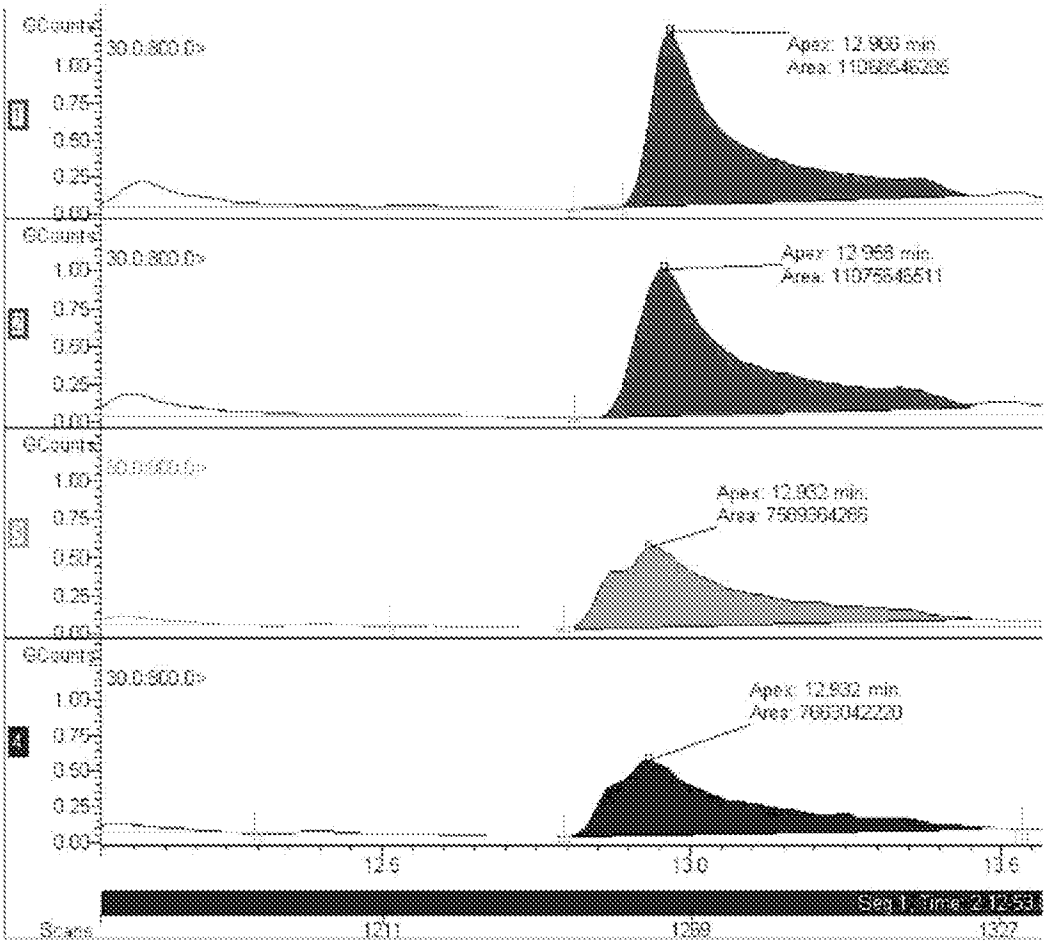
[図11]


カプロン酸エチル
乾燥条件徐放（80℃）
カプロン酸エチル
湿潤条件徐放（80℃）
d-リモネン
乾燥条件徐放（80℃）
d-リモネン
湿潤条件徐放（80℃）
残留率
時間（min）
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
0
10
20
30
40
50
60
製品2-S
製品2-D

[図12]


標品2-Dをカプセル化
標品2-Dを酸処理しカプセル化
（比較例1）
デキストリンの噴霧乾燥品
3.00
2.00
1.00
0.00
0
10
20
保存期間（日）
カルボン（mg/g-粉末マイクロカプセル）
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
0
10
20
保存期間（日）
リモネン酸化物（mg/g-粉末マイクロカプセル）

[図13]


Apex: 12.966 min.
Area: 1108546326
Apex: 12.968 min.
Area: 1107546511
Apex: 12.962 min.
Area: 7569304266
Apex: 12.932 min.
Area: 7663042220
12.8
13.0
13.2
Scan
1211
1259
1307

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2019/018037

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl. B01J13/04(2006.01)i, A23L2/00(2006.01)i, A23L3/00(2006.01)i, A23L5/00(2016.01)i, A23L31/10(2016.01)i, C11B9/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl. B01J13/02-22, A23L2/00, A23L3/00, A23L5/00, A23L31/10, C11B9/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | |
|---|---|
| Published examined utility model applications of Japan | 1922-1996 |
| Published unexamined utility model applications of Japan | 1971-2019 |
| Registered utility model specifications of Japan | 1996-2019 |
| Published registered utility model applications of Japan | 1994-2019 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | JP 4-4033 A (MITSUBISHI PAPER MILLS LIMITED, KIRIN BREWERY CO., LTD.) 08 January 1992, claim 1, page 2, lower right column, line 12 to page 3, upper left column, line 10, examples 1-3, 5 & EP 453316 A1, claim 1, column 3, line 41 to column 4, line 13, examples 1-3, 5 | 1-4, 6-16, 19-20 |
| Y | | 5, 18, 21-26 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 05 July 2019 (05.07.2019) | 16 July 2019 (16.07.2019) |

| Name and mailing address of the ISA/ | Authorized officer |
|---|---|
| Japan Patent Office<br>3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,<br>Tokyo 100-8915, Japan | Telephone No. |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/JP2019/018037

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X<br>Y | JP 11-505471 A (CPC INTERNATIONAL INC.) 21 May 1999, claims 1-4, 14, examples 2-3 & US 5798252 A, claims 1-3, 6, examples 2-3 & EP 844909 A1 & CN 1184438 A & KR 10-1999-0008281 A | 1, 5, 7-23<br>5, 18, 21-26 |
| X | JP 2005-137322 A (SANEI GEN FFI INC.) 02 June 2005, claim 1, examples (Family: none) | 1, 5, 7-11, 13-22 |
| X<br>Y | JP 9-107919 A (MEIJI SEIKA KAISHA, LIMITED) 28 April 1997, claims 1, 6, examples 1, 4 (Family: none) | 1, 6-17, 19-20, 22-23<br>24-26 |
| Y | JP 2010-246449 A (SANEI GEN FFI INC.) 04 November 2010, claims 1, 3 (Family: none) | 24-26 |
| Y | JP 7-99892 A (FUJI OIL CO., LTD.) 18 April 1995, claim 2, paragraph [0013] (Family: none) | 24-26 |
| Y | JP 2018-57309 A (WAKAN LTD.) 12 April 2018, claim 1, paragraph [0001] (Family: none) | 24-26 |

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１９／０１８０３７

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　B01J13/04(2006.01)i, A23L2/00(2006.01)i, A23L3/00(2006.01)i, A23L5/00(2016.01)i, A23L31/10(2016.01)i, C11B9/00(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　B01J13/02-22, A23L2/00, A23L3/00, A23L5/00, A23L31/10, C11B9/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|---|---|
| 日本国実用新案公報 | １９２２－１９９６年 |
| 日本国公開実用新案公報 | １９７１－２０１９年 |
| 日本国実用新案登録公報 | １９９６－２０１９年 |
| 日本国登録実用新案公報 | １９９４－２０１９年 |

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ．　関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー＊ | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| X | JP 4-4033 A（三菱製紙株式会社、麒麟麦酒株式会社）1992.01.08, 請求項１、第２頁右下欄第１２行～第３頁左上欄第１０行、実施例１～３、５ | 1-4, 6-16, 19-20 |
| Y | & EP 453316 A1、請求項１、第３欄第４１行～第４欄第１３行、実施例１～３、５ | 5, 18, 21-26 |

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

| 国際調査を完了した日 | 国際調査報告の発送日 |
|---|---|
| ０５．０７．２０１９ | １６．０７．２０１９ |


国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｚ　３６４６
吉岡　沙織
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４８０

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー＊ | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| X | JP 11-505471 A（シー・ピー・シー・インターナショナル・インコーポレイテッド）1999.05.21, 請求項１～４、１４、実施例２～３ | 1, 5, 7-23 |
| Y | & US 5798252 A、請求項１～３、６、実施例２～３<br>& EP 844909 A1 & CN 1184438 A & KR 10-1999-0008281 A | 5, 18, 21-26 |
| X | JP 2005-137322 A（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）2005.06.02, 請求項１、実施例（ファミリーなし） | 1, 5, 7-11, 13-22 |
| X | JP 9-107919 A（明治製菓株式会社）1997.04.28, 請求項１、６、実施例１、４（ファミリーなし） | 1, 6-17, 19-20, 22-23 |
| Y | | 24-26 |
| Y | JP 2010-246449 A（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）2010.11.04, 請求項１、３（ファミリーなし） | 24-26 |
| Y | JP 7-99892 A（不二製油株式会社）1995.04.18, 請求項２、段落[0013]（ファミリーなし） | 24-26 |
| Y | JP 2018-57309 A（株式会社和冠）2018.04.12, 請求項１、段落[0001]（ファミリーなし） | 24-26 |