

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-129795

(P2019-129795A)

(43) 公開日 令和1年8月8日(2019.8.8)

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)		
A 2 3 L	31/15	(2016.01)	A 2 3 L	31/15		4 B 0 1 8		
C 1 2 P	13/04	(2006.01)	C 1 2 P	13/04		4 B 0 4 7		
C 1 2 P	1/00	(2006.01)	C 1 2 P	1/00	A	4 B 0 6 4		
C 1 2 P	21/06	(2006.01)	C 1 2 P	21/06				
A 2 3 L	27/00	(2016.01)	A 2 3 L	27/00	Z			
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 8 頁) 最終頁に続く								

(21) 出願番号 特願2018-17132 (P2018-17132)
 (22) 出願日 平成30年2月2日 (2018.2.2)

(71) 出願人 519127797
 三菱商事ライフサイエンス株式会社
 東京都千代田区有楽町一丁目1番3号
 (72) 発明者 工藤 真豪
 東京都千代田区有楽町一丁目2番2号 M
 Cフードスペシャリティーズ株式会社内
 (72) 発明者 深野 和絃
 東京都千代田区有楽町一丁目2番2号 M
 Cフードスペシャリティーズ株式会社内
 (72) 発明者 入江 香菜
 東京都千代田区有楽町一丁目2番2号 M
 Cフードスペシャリティーズ株式会社内
 Fターム(参考) 4B018 MD81 MD90 MF01 MF12
 4B047 LB03 LG56 LG57 LP01 LP18

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 風味改良剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 風味を改善させるのに用いられる酵母エキスおよび該酵母エキスの製造方法の提供。

【解決手段】 水溶性荷電ペプチドを含有する酵母エキスであって、ペプチド中の酸性アミノ酸含量が20%以上であり、また、塩基性アミノ酸含量が14.5%以上である酵母エキス。a) 食用酵母を担子菌産生酵素類による酵素処理に供する工程, (b) 工程(a)で生じた酵素処理液を固液分離して上清を回収する工程; (c) 前記上清から荷電性ペプチド含有組成物を得る工程を含む酵母エキスの製造方法。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

水溶性荷電ペプチドを含有する酵母エキス。

【請求項 2】

請求項 1 の水溶性荷電ペプチドが、ペプチド中の酸性アミノ酸含量が 20 % 以上である酵母エキス。

【請求項 3】

請求項 3 の水溶性荷電ペプチドが、さらに、ペプチド中の塩基性アミノ酸含量が 14.5 % 以上である酵母エキス。

【請求項 4】

以下の(a)~(c)を含む、水溶性荷電ペプチドを含有する請求項 1 ~ 3 に記載の酵母エキスの製造方法。

(d) 食用酵母を担子菌産生酵素類による酵素処理に供する工程

(e) 工程(a)で生じた酵素処理液を固液分離して上清を回収する工程；

(f) 前記上清から荷電性ペプチド含有組成物を得る工程

【請求項 5】

請求項 1 の製造方法中、工程(a)で使用する担子菌産生酵素類は、ヒイロタケ (*Pyrenopeziza cocci*) の培養物又は培養抽出物である請求項 1 の製造方法。

【請求項 6】

請求項 1 の製造方法中、b)の固液分離が、精密濾過によるものであり、精密濾過膜は 0.05 ~ 0.22 μm の平均孔径を有することを特徴とする請求項 1 記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、特定のペプチドを含む酵母エキス、風味改良剤に関する。

【背景技術】**【0002】**

近年の加工食品に用いられる調味料は、消費者の健康志向に高まりにより、自然な風味、食品添加物不使用などの食品が求められている。そのため、酵母エキス、HVP (Hydrolyzed Vegetable Protein: 植物性たん白加水分解物)、畜肉エキスなどの天然系調味料が用いられている。

【0003】

従来から知られている呈味性成分 (グルタミン酸ナトリウム、5'-ヌクレオチド、糖類) のほか、ペプチド成分が、呈味性に重要な働きがあることが知られてきた。

例えば、酵母エキスは、食品素材、調味料用途に広く用いられている素材であり、アミノ酸、ペプチド、糖類、5'-ヌクレオチド等を含んでいる。そのため、グルタミン酸ナトリウム、イノシン酸、グアニル酸などの単体の呈味性物質と比較し、酵母エキスは、複雑な風味を付与することができる。

また、酵母エキスにも含まれるペプチドが、呈味性に寄与していることが知られている。例えば、グルタチオンに代表される、 γ -グルタミルペプチドがコク味付与物質として知られている (特許文献 1)。

酵母以外では、乳蛋白質を加水分解したペプチドに、酸味がマスキングと人工甘味料の後切れを改善する効果を有することが知られている (特許文献 2)

【0004】

しかし、酵母エキス中のペプチドにおいては、前述のようなペプチドにおいては、コク味付与に寄与していることは知られているが、どのような種類のペプチドに風味改善効果があるかは、不明な点が多い。従来は、ペプチドを多く含ませることにより、風味を改善させるような方法が多く、このような場合、風味に悪影響があるペプチドが含まれることもあるため、風味改善効果が弱まることがあった。さらに、ペプチドが修飾等されることに

10

20

30

40

50

より、色のつくことがあり、使用できる食品に制限がある場合もあった。さらに、分子量の大きいペプチドが含まれる場合は、溶解性が悪化することもあった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開2015-97474号公報

【特許文献2】特開2013-017402号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

以上のことから、本発明は、ペプチドを含み、前段の課題を解決した風味改良剤を得ることを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者らは、上記課題を解決するために、種々検討し、特定のペプチドを含有させることにより、食品に添加した際に、風味改良効果が高いことを見出し、本発明を完成させた。

【0008】

(1) 水溶性荷電ペプチドを含有する酵母エキス、

(2) 前記(1)の水溶性荷電ペプチドが、ペプチド中の酸性アミノ酸含量が20%以上である酵母エキス、

(3) 前記(2)の水溶性荷電ペプチドが、さらに、ペプチド中の塩基性アミノ酸含量が14.5%以上である酵母エキス、

(4) 以下の(a)~(c)を含む、水溶性荷電ペプチドを含有する請求項1~3に記載の酵母エキスの製造方法、

(a) 食用酵母を担子菌産生酵素類による酵素処理に供する工程

(b) 工程(a)で生じた酵素処理液を固液分離して上清を回収する工程；

(c) 前記上清から荷電性ペプチド含有組成物を得る工程

(5) 前記(1)の製造方法中、工程(a)で使用する担子菌産生酵素類は、ヒイロタケ(*Pyrenopeziza coccineus*)の培養物又は培養抽出物である請求項1の製造方法。

(6) 前記(1)の製造方法中、b)の固液分離が、精密濾過によるものであり、精密濾過膜は0.05~0.22 μ mの平均孔径を有することを特徴とする請求項1に記載の製造方法。

【発明の効果】

【0009】

本発明を食品に添加した際、特定のペプチドを含むことにより、添加した食品の味の持続性が向上する。さらに、甘味と旨味を強め、濃厚感を付与する酵母エキスを提供することができる。さらに、溶解性の良いペプチドを多く含むため、清澄性のあるスープ等に添加した場合でも濁りの発生を抑制する酵母エキスとなる。

【発明を実施するための形態】

【0010】

本発明は、水溶性荷電ペプチドを含有する風味改良剤であり、タンパク質を含む食品に担子菌産生酵素類による酵素処理に供する工程により、水溶性荷電ペプチドを含有する風味改良剤を得ることができる。タンパク質を含む食品としては、酵母を利用することが好ましい。

【0011】

本発明に用いる酵母としては、食用酵母であれば特に限定するものではなく、生酵母、自公知の方法で適宜乾燥した乾燥酵母いずれでもよく、例えば、ワイン酵母、パン酵母、清酒酵母、ビール酵母(*Saccharomyces pastorianus*)、トルラ酵母(*Candida utilis*)

10

20

30

40

50

等が使用できる。特に、トルラ酵母が好ましい。

【0012】

酵母の培養方法は、制限なく、通常の方法で培養したものを使用することができる。一般的には、酵母を培養する際の培地には、炭素源として、ブドウ糖、酢酸、エタノール、グリセロール、糖蜜、亜硫酸パルプ廃液等が用いられ、窒素源としては、尿素、アンモニア、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸塩などが使用される。リン酸、カリウム、マグネシウム源も過リン酸石灰、リン酸アンモニウム、塩化カリウム、水酸化カリウム、硫酸マグネシウム、塩化マグネシウム等の通常の工業用原料でよく、その他亜鉛、銅、マンガン、鉄イオン等の無機塩を添加する。その他は、ビタミン、アミノ酸、核酸関連物質等を使用しなくても培養可能であるが、これらを添加しても良い。コーンステープリカー、カゼイン、酵母エキス、肉エキス、ペプトン等の有機物を添加しても良い。また、市販されている乾燥酵母を使用してもよい。

10

【0013】

培養温度やpH等の培養条件は、特に制限なく適用でき、使用する酵母菌株に合わせて設定すれば良い。一般的には、培養温度は21~37、好ましくは25~34が良く、pHは3.0~8.0、特に3.5~7.0が好ましい。

【0014】

本発明の培養形式としては、バッチ培養、あるいは連続培養のいずれでも良いが、工業的には後者が望ましい。培養時の攪拌、通気等の条件は特に制限なく、一般的な方法でよい。

20

【0015】

菌体培養後に本発明のエキス抽出を行う。菌体培養後の湿潤酵母菌体を蒸留水に懸濁して遠心分離を繰り返すことで洗浄した後に、酵母エキスの抽出を行う。

本発明の抽出法は、pH7.0~8.5に調整し、50~90で10~60分間加熱攪拌して洗浄する。pH調整は、通常の方法でよい。洗浄後、再度遠心分離をする。遠心分離で得られた沈殿物を再懸濁し、酵素処理をする。

再懸濁は、菌体濃度が乾燥重量換算で、5~30%、好ましくは10~20%になるように蒸留水に再懸濁する。

【0016】

次いで、得られた懸濁液に酵素処理をする。本発明で使用する酵素は、プロテアーゼである。本発明で使用するプロテアーゼには、担子菌産生酵素類を使用する。例えば、ホウロクタケ属に属する担子菌、好ましくはヒイロタケ(*Pycnoporus coccineus*)を公知の方法により培養し、プロテアーゼを含有する培養液、培養抽出物、濃縮物、又は乾燥物等を使用する。さらには、公知の方法により、プロテアーゼ必須構成酵素とする酵素類を採取し、粗製酵素、または精製酵素として用いることができる。また、担子菌産生酵素は、プロテアーゼ活性だけでなく、グルカナーゼ活性を有しているため、酵素に適用した際には、細胞壁成分も分解可能である。

30

【0017】

担子菌産生酵素類の添加量は、酵素の調整方法により、通常酵素と同様に適宜調整し添加する。水溶液の水溶性部分の乾燥物を用いる場合、酵母に対して、0.3~1.5重量%程度使用する。

40

【0018】

本発明では、必要に応じ、5'-イノシン酸及び5'-グアニル酸などの呈味性5'-ヌクレオチド類を含有させる工程を含める。通常は、ヌクレアーゼ、デアミナーゼ処理をすることで、酵母中の核酸を分解することで、本発明の風味改良剤に5'-イノシン酸及び5'-グアニル酸を含有させることができる。酵素は、通常酵母エキス製造に用いるものでよい。本発明では、ヌクレアーゼ、デアミナーゼ反応後、前記の担子菌産生酵素類を添加し、処理する。また、酵母の自己消化法と組み合わせても良い。添加する酵素量、酵素反応の温度、pH、反応時間は各酵素により異なるが、各酵素の至適温度、至適pHで反応させることが好ましい。自己消化法は、一般的な方法でよい。

50

【0019】

本発明では、上記酵素と酵母との反応は、同一反応容器内で連続的に、反応条件を変えることも可能である。例えば、酵母に対し、ヌクレアーゼ、デアミナーゼを、pH 6.5 ~ 8.0にて、0.1 ~ 3.0重量%添加し、35 ~ 60 で3 ~ 10時間反応させ、次に60 ~ 70 で1 ~ 6時間酵母と接触させる。その後、pH 3.5 ~ 5.5にて、担子菌産生酵素類を0.3 ~ 1.5重量%添加し、45 ~ 60 で5 ~ 20時間酵母と接触させる。pH調整は、通常の方法でよく、必要に応じて酸（塩酸等）またはアルカリ（水酸化ナトリウム等）を用いて行なう。酵素反応後、必要に応じて、酵素の失活処理を行う。通常は、90 ~ 100 で10 ~ 60分間加熱することにより、酵素を失活させる。

10

【0020】

酵素反応後、遠心分離、濾過等により、固体分を除去する。遠心分離は、常法でよい。濾過の場合は、精密濾過を行うとよい。精密濾過も、公知の方法でよい。使用する平均孔0.05 ~ 0.2 μmの精密濾過膜で行うのが好ましい。

【0021】

固形分除去後、そのまま風味改良剤として使用することができるが、濃縮、乾燥により、粉末化しても良い。ろ液の固形分濃度を10 ~ 50重量%、好ましくは30 ~ 40重量%に濃縮してもよい。濃縮方法は特に限定するものではなく、例えば、常圧加熱濃縮、減圧過熱濃縮、冷凍濃縮等の公知の濃縮方法が採用できる。乾燥方法も公知の方法により、乾燥、粉末化してもよい。特に、50 以上に加温して噴霧乾燥することが、濃縮液のゲル化防止法として好ましい。

20

【0022】

本発明で、水溶性荷電ペプチドとは、ペプチド中の酸性アミノ酸含量が20%以上及び/又は水溶性ペプチド中の塩基性アミノ酸含量が14.5%以上となるペプチドである。酸性アミノ酸は、アスパラギン酸とグルタミン酸である。塩基性アミノ酸は、リシン、ヒスチジン、アルギニンである。本発明でペプチド含量は、本発明でいうペプチドとは、全アミノ酸量より遊離アミノ酸量を引くことにより算出する。本発明でのペプチド含量は、固形分あたり、30重量%以上含有する。特に好ましくは40重量%以上である。

【0023】

試料中のペプチド組成は、全アミノ酸と遊離アミノ酸をアミノ酸分析計（日立高速アミノ酸分析計L-8800）で測定し、全アミノ酸 - 遊離アミノ酸をペプチド組成とした。

30

【0024】

各アミノ酸の含有量は、アミノ酸測定用HPLCにより、含有アミノ酸分析を行う。ペプチド中に含まれる各アミノ酸の含有量を測定後、各アミノ酸の構成比から、酸性アミノ酸のアスパラギン酸とグルタミン酸、塩基性アミノ酸のリシン、ヒスチジン及びアルギニンの構成比を加算し、アスパラギン酸とグルタミン酸の含有量がペプチドを構成する全アミノ酸中20%以上、リシン、ヒスチジン及びアルギニンが15%以上となるのが、本願発明の風味改良剤である。本発明の機能を発揮するには、ペプチド中の塩基性アミノ酸含量は高い方がよい。ペプチド中の酸性アミノ酸の含量は、20%以上であるが、さらに好ましくは、20%以上35%未満である。特に好ましくは25%以上35%未満である。

40

【0025】

本発明では、前段までのペプチドのほかに、呈味性5'-ヌクレオチド類を含有させる。含有量としては、5'-イノシン酸及び5'-グアニル酸の合計量で、3重量%以上含有することが好ましい。さらに好ましくは、本発明の特定のペプチドとのバランスから3 ~ 8重量%含有させる。呈味性5'-ヌクレオチド類と本発明のペプチドを含有することにより、甘味と旨味の持続性が発揮される。

【0026】

本発明の製造法で得られた風味改良剤は、公知の風味改良剤と同様に使用することができ、例えば、得られた風味改良剤を農産加工食品（野菜、果実、穀物等の加工品を含む）、水産加工食品（魚介類、海藻等の加工品を含む）、畜産加工食品（畜肉・卵・乳製品等の

50

加工品を含む)、だし・つゆ・ソース・醤油・みそ、あらゆる合わせ調味料等に使用することができる。

【0027】

本発明の風味改良剤は、上記食品に対して、0.01~0.5重量%となるよう添加する。本発明の風味改良剤は、添加した食品の甘味と旨味の持続性を向上させる。当該効果は、水溶性荷電ペプチドによる効果であると考えている。

【実施例】

【0028】

(実施例1)

(ヒイロタケ産生酵素類の調製)

(1) ヒイロタケ(*Pycnoporus coccineus*)の孢子懸濁液(10⁷個/ml以上)2mlを種培地(塩化カルシウム1g/l、硫酸マグネシウム1g/l、硫酸アンモニウム2g/ml、リン酸一カリウム2g/l、シヨ糖50g/l、コーン・スティープ・リカー30g/l、pH7.0)20mlに接種し、200ml容フラスコ中28℃、200rpmで48時間培養し、種培養終了液を得た。

(2) 得られた種培養終了液2mlを主培地(塩化カルシウム1g/l、硫酸マグネシウム1g/l、硫酸アンモニウム2g/l、リン酸一カリウム2g/l、シヨ糖80g/l、脱脂大豆粉35g/l、pH6.0)20mlに移植し、200ml容フラスコで28℃、200rpmで96時間培養し、主培養終了液を得た。主培養終了液を、濾紙で濾過し、得られた酵素液を真空乾燥してヒイロタケ産生酵素類の乾燥粉末を得た。

【0029】

市販の乾燥キャンディダ・ユティリスを使用し、当該菌体で10%菌体懸濁液1000mlを常法でpH7.5に調整し、60℃、30分間加熱処理した後、遠心分離で菌体を回収し、菌体を水で洗浄し余分な抽出物を除去した。本菌体を純水で菌体濃度10%に調整した。これを常法により、pH7.7に調整した。調整後、酵母固形分に対して0.25%の割合で、リボヌクレアーゼP(天野エンザイム製5'-フォスフォジエステラーゼ)の30mgを少量の水に溶解して加え、同温度で攪拌しながら3時間反応させた。次いで、液温を45℃として、デアミザイム(天野エンザイム製デアミナーゼ)の20mgを少量の水に溶解して加え、この温度下で2時間攪拌しながら保持した。40℃から65℃まで5時間で昇温させ、ついで65℃で3時間保持した。反応後、50℃に冷却し、pH4.0に調整し、酵母固形分に対して0.6%の割合で、上記で得られた担子菌産生酵素乾燥粉末を加え、50℃で12時間反応させた。

反応終了後、90℃で10分間加熱殺菌し、60℃に冷却した。反応液を0.1~0.2μmの孔径を有する精密濾過膜で濾過した。残渣を3倍量の純水と共に攪拌し、再度濾過して、濾液を上記の濾液と合した。濾過後、濃縮、乾燥さえ、風味改良剤を得た。ペプチド含量は、42重量%、5'-イノシン酸及び5'-グアニル酸の合計含量は、6.6重量%であった。

得られた風味改良剤中でペプチドを構成するアミノ酸分析値を表1に示す。

【0030】

(実施例2)

実施例1と同様に酵母菌体を調整し、リボヌクレアーゼ、デアミザイム処理をした。反応後、55℃に冷却し、pH4.5に調整し、酵母固形分に対して1.0%の割合で、上記で得られた担子菌産生酵素乾燥粉末を加え、55℃で12時間反応させた。反応後は、実施例1と同様に、処理し、アミノ酸分析をした、アミノ酸分析値は、表1に示す。ペプチド含量は、41重量%、5'-イノシン酸及び5'-グアニル酸の合計含量は、5.8重量%であった。

【0031】

比較として、市販の乾燥ビール酵母も実施例1と同様に酵素反応させ、酵母エキスを製造した(比較例1)。当該酵母エキスのペプチドを構成するアミノ酸分析値を表1に示す。ペプチド含量は、27重量%、5'-イノシン酸及び5'-グアニル酸の合計含量は、3

10

20

30

40

50

． 2 重量 % であった。

【表 1】

<構成比率>

アミノ酸(%) 固形当たり	実施例1	実施例2	比較例1
アスパラギン酸	12.65	11.92	13.56
スレオニン	5.66	5.66	5.54
セリン	5.96	5.66	6.24
グルタミン酸	16.25	12.76	21.90
プロリン	4.41	5.18	4.27
グリシン	6.59	7.85	7.29
アラニン	6.43	6.58	6.35
シスチン	0.36	0.00	0.00
バリン	6.14	5.88	4.98
メチオニン	1.14	1.69	0.00
イソロイシン	5.24	5.38	3.99
ロイシン	6.87	8.81	5.07
チロシン	2.59	2.58	2.90
フェニルアラニン	3.95	4.54	3.16
リジン	8.30	7.30	7.19
ヒスチジン	2.65	2.43	2.77
アラギニン	4.81	5.78	4.78
合計	100.00	100.00	100.00

10

構成比率	酸性ペプチド	塩基性ペプチド
	28.89 %	15.75 %
	24.68 %	15.50 %
	35.46 %	14.74 %

20

【 0 0 3 2 】

実施例 1 及び 2 で得られた、風味改良剤と比較例 1 の酵母エキスの添加効果を確認した。
(ホワイトソース)

表 2 に示す処方では対照のホワイトソースを作成した。まず、鍋にバターと小麦粉を入れ、中火で良く炒めた。ここに残りの材料を入れてとろみが付くまで煮込んだ。このホワイトソース 100.0 g に、実施例 1、2 及び比較例 1 の改良剤を 0.1 g 入れて溶解し、これを評価用サンプルとした。

【 0 0 3 3 】

【表 2】

30

原材料名	コントロール	評価品1	評価品2	評価品3
ホワイトルウ	5	5	5	5
無塩バター	3	3	3	3
加二でんぷん	2	2	2	2
砂糖	1.5	1.5	1.5	1.5
オルコックチキンブイヨン	1	1	1	1
ホワイトペッパー	0.03	0.03	0.03	0.03
濃縮乳	5	5	5	5
チーズパウダー	1.5	1.5	1.5	1.5
水	80.97	80.97	80.97	80.97
実施例1		0.1		
実施例2			0.1	
比較例1				0.1
合計 (g)	100	100.1	100.1	100.1

【 0 0 3 4 】

官能評価により、下記表の配合で、ホワイトソースの食味を評価した。10名の訓練されたパネラーにより、実施例で得られた風味改良剤と酵母エキスを添加し、無添加のものと比較し、添加効果の評価を行った。その結果、実施例 1 及び 2 では、甘味、旨味が強くなり、その持続性があった。比較例 1 では、先味である旨味を強く感じるが、対照サンプルと比較し、甘味には変化がなかった。

40

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
A 2 3 L 27/10 (2016.01) A 2 3 L 27/10 H

Fターム(参考) 4B064 AE03 AG01 BJ11 CA06 CA21 CB01 CC01 CC15 CE06 DA10
DA16