

明 細 書

発明の名称：

マンガン高含有酵母抽出物及びその製造方法、並びに、マンガン高含有酵母抽出物の利用

技術分野

[0001] 本発明は、マンガン高含有酵母抽出物及びその製造方法、前記マンガン高含有酵母抽出物を含む食品及び食品用乳酸菌培養培地用組成物、前記食品用乳酸菌培養培地用組成物を含む食品用乳酸菌培養培地、並びに、前記食品用乳酸菌培養培地を用いた食品用乳酸菌の培養方法に関する。

背景技術

[0002] マンガンは、近時の厚生労働省が発表したデータによると成人男性での1日の目安量としては4.0mg（成人女性では3.5mg）とされており、マンガンの欠乏により皮膚炎の一種である水晶様汗疹が発生すると推定されている。また、マンガンの欠乏に特異的ではないが、一般にはマンガンが不足すると、骨代謝、糖脂質代謝（糖尿病や脂肪性肥満）、運動機能、皮膚代謝等に影響が及ぶと考えられている（非特許文献1参照）。このため、マンガンを効率良く生体内に摂取乃至吸収することができ、マンガン欠乏による皮膚炎、骨代謝等の異常を改善し得るものであり、食品等に安全に用いることができる素材の開発が必要である。

[0003] 酵母は古くから人類が食品素材として利用しており、例えば、菌体内にマンガンを高濃度に含有させる技術が提案されている（例えば、特許文献1参照）。そのため、菌体内にマンガンを取り込ませた酵母又はその抽出物は、マンガンを補強した安全な食品素材として利用可能であると考えられる。

しかしながら、従来のマンガン含有酵母においては、酵母臭等の独特の臭い及び酵母味等の独特の味が十分に低減されていないため、食品素材としての用途には十分でなかった。また、従来のマンガン含有酵母は、水に可溶でないため、食品に添加した際ににごりや沈殿が生じ、特に清涼飲料水等とし

ての用途には利用できないという問題があった。

[0004] また、マンガン等のミネラル含有酵母から抽出物を得るためには、(1) 熱水抽出法、(2) 自己消化法、(3) 酵素分解法が提案されている（例えば、非特許文献2参照）。

しかしながら、前記(1)～(3)の方法では、ミネラルの回収率（抽出率）が低いという問題があった。更に、前記(2)及び(3)の方法には、酵母抽出物に特有の酵母臭及びエキスイ味が残る、前記(3)の方法には、高コストであり、使用した酵素が抽出物中に残存するという問題があった。

[0005] 更に、マンガン含有酵母は、食品用乳酸菌培養培地の一成分として用いることも提案されている（例えば、特許文献2参照）。しかしながら、マンガン含有酵母は水に不溶性のため、培養した乳酸菌を回収する際に前記マンガン含有酵母が混在してしまうという問題があり、水へ溶解することができ、かつ、食品用乳酸菌培養培地の一成分として用いることができるマンガン含有酵母の抽出物が求められている。

先行技術文献

非特許文献

[0006] 非特許文献1：「日本人の食事摂取基準 2010年版」 厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書、第一出版株式会社、p. 234 - p. 236、付録X L I X（2010年）

非特許文献2：杉本 洋 「酵母エキス製造法の変遷（I）－国内の特許出願の傾向から－」 New Food Industry 1994, Vol. 36, No. 10, p. 41 - 48

特許文献

[0007] 特許文献1：特開2003-153685号公報

特許文献2：特開2009-225722号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、このような要望に応え、現状を打破し、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、天然物由来のツンガンを高濃度に含有し、水への溶解性に優れ、食品等に添加した際に外観を損なわず、しかも添加した食品の風味等を損なうことなく、更には、食品用乳酸菌培養地の成分として用いることができるツンガノ高含有酵母抽出物及びその製造方法、前記ツンガノ高含有酵母抽出物を含む食品及び食品用乳酸菌培養地用組成物、前記食品用乳酸菌培養地用組成物を含む食品用乳酸菌培養地、並びに、前記食品用乳酸菌培養地を用いた食品用乳酸菌の培養方法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

[0009] 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> ツンガンを含有する酵母を、カルボン酸及びカルボン酸塩の少な
くともいずれかを含む溶液に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成
分とを分離する抽出工程を含むことを特徴とするツンガノ高含有酵母抽出物
の製造方法である。

<2> カルボン酸が1価から3価のカルボン酸であり、カルボン酸塩が
1価から3価のカルボン酸塩である前記<1>に記載のツンガノ高含有酵母
抽出物の製造方法である。

<3> 抽出工程における懸濁液のpHが、8.0以下である前記<1>
から<2>のいずれかに記載のツンガノ高含有酵母抽出物の製造方法である

<4> カルボン酸及びカルボン酸塩の総量が、酵母中のツンガノ1モル
に対して0.5モル以上である前記<1>から<3>のいずれかに記載のツ
ンガノ高含有酵母抽出物の製造方法である。

<5> 抽出工程の前に、酵母を60℃～120℃の熱水に懸濁させ、得
られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する熱水処理工程を含む前記<
1>から<4>のいずれかに記載のツンガノ高含有酵母抽出物の製造方法で
ある。

<6> 熱水処理工程において、熱水にリン酸塩を添加する前記<5>に記載のマンガンを含有酵母抽出物の製造方法である。

<7> 酵母菌体由来のマンガンを0.2質量%以上含有するマンガンを含有酵母抽出物であって、マンガンを含有酵母抽出物1gを水100mLに溶解乃至分散させたときの濁度が、波長660nmの吸光度（O.D. 660）として、0.1以下であることを特徴とするマンガンを含有酵母抽出物である。

<8> 前記<1>から<6>のいずれかに記載の製造方法により製造された前記<7>に記載のマンガンを含有酵母抽出物である。

<9> 酵母が、食品用酵母である前記<7>から<8>のいずれかに記載のマンガンを含有酵母抽出物である。

<10> 食品用酵母が、パン酵母、ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母及び味噌醤油酵母から選択される少なくとも1種である前記<9>に記載のマンガンを含有酵母抽出物である。

<11> 食品用酵母が、Saccharomyces cerevisiaeである前記<9>に記載のマンガンを含有酵母抽出物である。

<12> 食品に添加されて用いられる前記<7>から<11>のいずれかに記載のマンガンを含有酵母抽出物である。

<13> 食品が、流動食及び清涼飲料水のいずれかである前記<12>に記載のマンガンを含有酵母抽出物である。

<14> 前記<7>から<13>のいずれかに記載のマンガンを含有酵母抽出物を含むことを特徴とする食品である。

<15> 前記<7>から<11>のいずれかに記載のマンガンを含有酵母抽出物を含むことを特徴とする食品用乳酸菌培養培地用組成物である。

<16> 前記<15>に記載の食品用乳酸菌培養培地用組成物を含むことを特徴とする食品用乳酸菌培養培地である。

<17> 前記<16>に記載の食品用乳酸菌培養培地を用いて食品用乳酸菌を培養することを特徴とする食品用乳酸菌の培養方法である。

発明の効果

[0010] 本発明によると、従来における前記問題を解決することができ、天然物由来のマンガンを高濃度に含有し、水への溶解性に優れ、食品等に添加した際に外観を損なわず、しかも添加した食品の風味等を損なうことがなく、更には、食品用乳酸菌培養培地の成分として用いることができるマンガンを高含有酵母抽出物及びその製造方法、前記マンガンを高含有酵母抽出物を含む食品及び食品用乳酸菌培養培地用組成物、前記食品用乳酸菌培養培地用組成物を含む食品用乳酸菌培養培地、並びに、前記食品用乳酸菌培養培地を用いた食品用乳酸菌の培養方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、試験例1における純水、塩化ナトリウム、及び各カルボン酸塩によるマンガンの抽出率を示すグラフである。

[図2]図2は、試験例2における各カルボン酸塩によるマンガンの抽出率を示すグラフである。

[図3]図3は、試験例3におけるマンガンの抽出率に対する懸濁液のpHの影響を示すグラフである。

[図4]図4は、試験例4におけるクエン酸緩衝液の濃度とマンガンの抽出率との関係を示すグラフである。

[図5A]図5Aは、試験例5における本発明の一態様であるマンガンを高含有酵母抽出物の粉末、及びミネラル酵母Mn2の水への溶解性を示す写真の一例である。

[図5B]図5Bは、図5Aの水溶液を3,000rpmで5分間遠心した後の写真である。

[図5C]図5Cは、試験例5における本発明の一態様であるマンガンを高含有酵母抽出物の粉末、及びミネラル酵母Mn2のリンゴ果汁溶液への溶解性を示す写真の一例である。

[図5D]図5Dは、図5Cのリンゴ果汁溶液を3,000rpmで5分間遠心した後の写真である。

[図6A]図6Aは、試験例7の各培地におけるA) *Lactobacillus casei* subsp. *casei* (NRIC1042) の増殖曲線である。

[図6B]図6Bは、図6Aの増殖曲線に対応したpH推移曲線である。

[図6C]図6Cは、試験例7の各培地におけるB) *Lactobacillus brevis* (NRIC1684) の増殖曲線である。

[図6D]図6Dは、図6Cの増殖曲線に対応したpH推移曲線である。

[図6E]図6Eは、試験例7の各培地におけるC) *Lactobacillus plantarum* (NRIC1067) の増殖曲線である。

[図6F]図6Fは、図6Eの増殖曲線に対応したpH推移曲線である。

[図6G]図6Gは、試験例7の各培地におけるD) *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (NRIC1541) の増殖曲線である。

[図6H]図6Hは、図6Gの増殖曲線に対応したpH推移曲線である。

[図6I]図6Iは、試験例7の各培地におけるE) *Pediococcus pentosaceus* (NRIC0099) の増殖曲線である。

[図6J]図6Jは、図6Iの増殖曲線に対応したpH推移曲線である。

発明を実施するための形態

[0012] (マングノ含有酵母抽出物の製造方法)

本発明のマングノ含有酵母抽出物の製造方法は、抽出工程を含み、更に必要に応じて、熱水処理工程、乾燥工程などの他の工程を含む。

[0013] <抽出工程>

前記抽出工程は、マングノを含有する酵母を、カルボン酸及びカルボン酸塩の少なくともいずれかを含む溶液に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する工程である。前記抽出工程により、マングノを含有する液体成分(抽出物)を得ることができる。

[0014] <酵母>

前記酵母は、菌体内にマングノを含んでい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。前記酵母におけるマンガン含有量としては、マンガン高含有酵母抽出物をマンガン強化食品素材等として用いる場合には多いほど好ましいが、酵母におけるマンガンの取込みの限界、及びマンガン高含有酵母抽出物を効率的に製造する観点からは、乾燥菌体質量当たり0.01質量%～5質量%が好ましく、1質量%～5質量%がより好ましい。

[0015] ここで、前記酵母におけるマンガン含有量とは、酵母菌体内におけるマンガン含有量を指し、例えば、水等で洗浄した菌体であっても、洗浄後においてもマンガン含有量が高く維持されることが好ましい。このような酵母は、洗浄を行っても該マンガンは除去されず菌体内部に保持されたままであるので、菌体由来のマンガンであって安全性が高く、酵母特有の臭いや味を低減するための熱水処理（洗浄）を行った場合に、添加した食品の風味等を損なうことがなく、しかも前記マンガンを高濃度含有しているので、食品素材等として好適である。

なお、前記酵母におけるマンガン含有量は、公知の方法で測定することができ、例えば、原子吸光法、ICP発光分光分析法により測定することができる。

[0016] 前記マンガンを含む酵母は、培養液にマンガンを追加して酵母を培養することにより、酵母菌体内にマンガンを取り込ませて作製してもよい（例えば、特開2003-153685号公報参照）、市販品を用いてもよい。前記市販品としては、例えば、ミネラル酵母Mn、ミネラル酵母Mn₂、ミネラル酵母Mn-F（以上、オリエンタル酵母工業株式会社製）などが挙げられる。前記培養液に添加するマンガンの量としては、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、マンガン利用率（マンガンの菌体内取込率）と対糖収率（増殖率）とを良好なレベルで両立させることが好ましい。

なお、添加するマンガンの種類、培地の種類、培養条件などは、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。

[0017] 前記マンガンを含む酵母は、破碎されていてもよい。前記破碎の程度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、顕微鏡観察下で未破碎菌体が観察されなくなるまで破碎することができる。前記酵母が破碎物である場合でも、マンガン含有量が多いほど好ましく、破碎物を水等で洗浄した沈殿画分における乾燥菌体質量当たりのマンガン含有量が、破碎を行う前の菌体における乾燥菌体質量当たりのマンガン含有量の70質量%以上が好ましく、80質量%以上がより好ましく、90質量%以上が特に好ましい。

[0018] なお、前記破碎の方法としては、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、物理的破碎処理であってもよいし、化学的破碎処理であってもよく、具体的には、0.5mm径のビーズをシリンダーに50容量%充填したダイノミルを用いる方法などが好適に挙げられる。

[0019] また、前記マンガンを含む酵母の態様としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、湿菌体の態様であってもよいし、粉末の態様であってもよい。

[0020] 前記酵母は、マンガン以外に、更にその他のミネラル成分を含有していてもよく、該ミネラル成分としては、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、鉄、銅、マグネシウム、亜鉛等が挙げられる。これらのミネラル成分は、酵母中に、1種単独で含まれていてもよいし、2種以上含まれていてもよく、また、含まれている濃度としては、目的に応じて異なり一概に規定することはできないが、一般に高濃度であるのが好ましい。

[0021] 前記酵母としては、その抽出物を食品素材、食品用乳酸菌培養培地用組成物等として用いる場合には、食品用酵母であることが特に好ましい。

前記食品用酵母としては、特に制限はなく、公知のものの中から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、味噌醤油酵母などが挙げられる。これらの中でも、パン酵母が特に好ましい。

[0022] 前記食品用酵母の菌株としては、例えば、サッカロミセス (Saccharomyces) 属、トルロプシス (Torulopsis) 属、ミコトル

ラ (Mycotorula) 属、トルラスポラ (Torulaspora) 属、キャンディダ (Candida) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、ピキア (Pichia) 属などが挙げられる。

[0023] 前記食品用酵母の菌株の具体例としては、Saccharomyces cerevisiae、Saccharomyces carlsbergensis、Saccharomyces uvarum、Saccharomyces rouxii、Torulopsis utilis、Torulopsis candida、Mycotorula japonica、Mycotorula lipolytica、Torulaspora delbrueckii、Torulaspora fermentati、Candida sake、Candida tropicalis、Candida utilis、Hansenula anomala、Hansenula suaveolens、Saccharomyces fibuligera、Saccharomyces lipolytica、Rhodotorula rubra、Pichia farinosaなどが挙げられる。

これらの中でも、Saccharomyces cerevisiae、Saccharomyces carlsbergensisが好ましく、Saccharomyces cerevisiaeが特に好ましい。

[0024] <<カルボン酸及びカルボン酸塩>>

前記カルボン酸としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、マンガンの抽出率（マンガンの溶出率）の観点から、1価から3価のカルボン酸が好ましい。

[0025] 前記1価のカルボン酸としては、例えば、蟻酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸、カプロン酸、エナント酸、カプリル酸、ピルビン酸、グルコン酸などが挙げられる。

前記2価のカルボン酸としては、例えば、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、アジピン酸、フマル酸、マレイン酸、酒石酸、オキサロ酢酸

、 α -ケトグルタル酸などが挙げられる。

前記3価のカルボン酸としては、例えば、クエン酸、イソクエン酸、アコニット酸、オキサロコハク酸などが挙げられる。

これらの中でも、食品添加及びマンガン抽出率の観点から、コハク酸、クエン酸、酢酸、グルコン酸、酒石酸が好ましい。

前記カルボン酸は、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

[0026] 前記カルボン酸塩としては、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、マンガンの抽出率（マンガン溶出率）の観点から、1価から3価のカルボン酸塩が好ましい。

これらのカルボン酸塩としては、例えば、上記カルボン酸の具体例の塩などが挙げられる。

これらの中でも、食品添加及びマンガン抽出率の観点から、コハク酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、グルコン酸塩、酒石酸塩が好ましい。

前記カルボン酸塩は、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

前記塩の種類としては、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、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩、マグネシウム、カルシウム等のアルカリ土類金属塩などが挙げられる。これらは、1種単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

[0027] 前記カルボン酸及びカルボン酸塩は、どちらか一方を使用してもよいし、両者を使用してもよい。

[0028] 前記カルボン酸又は前記カルボン酸塩の量としては、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、マンガンの抽出率の観点から、カルボン酸及びカルボン酸塩の総量が、酵母中のマンガン1モルに対して0.5モル以上が好ましく、1.0モル以上がより好ましく、2.0モル以上が特に好ましい。

[0029] 前記カルボン酸及び前記カルボン酸塩の少なくともいずれかを含む溶液（

以下では「カルボン酸緩衝液」と称することがある）に用いられる溶媒としては、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、通常水であり、該水とアルコール等の有機溶媒との混合溶液であってもよい。

前記カルボン酸緩衝液の濃度としては、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、マンガンの抽出率の観点から、25ミリモル／L以上が好ましく、50ミリモル／L以上がより好ましく、100ミリモル／L以上が特に好ましい。

[0030] 前記カルボン酸緩衝液の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。なお、前記pHは、前記カルボン酸及び前記カルボン酸塩の量比を変更することにより、調整することができる。

前記抽出工程における懸濁液の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、マンガンの抽出効率の観点から、8.0以下が好ましく、7.0以下がより好ましく、6.5以下が特に好ましい。

[0031] 前記抽出工程における抽出時間としては、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。

[0032] 前記抽出工程における懸濁液の温度としては、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。

[0033] 前記抽出工程におけるマンガンの抽出率（以下、「溶出率」と称することがある）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、高いほど好ましく、20%以上が好ましく、30%以上がより好ましく、60%以上が特に好ましい。

前記マンガンの抽出率は、下記式により求めることができる。

マンガンの抽出率（％）＝{抽出物中のマンガン全量（質量）／抽出に用いた酵母に含まれるマンガン全量（質量）}×100

[0034] <<懸濁>>

前記酵母を前記カルボン酸及びカルボン酸塩の少なくともいずれかを含む溶液に懸濁させる方法としては、特に制限はなく、公知の攪拌方法や振とう方法を用いることができる。

また、前記抽出工程において、前記懸濁液を更に振とうしてもよい。前記振とうの条件としては、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。

[0035] <<固体成分と液体成分との分離>>

前記懸濁液の固体成分と液体成分と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、濾過による分離、遠心による分離などが挙げられる。

前記濾過の方法としては、特に制限はなく、公知の濾過装置を適宜選択して行うことができ、例えば、フィルタープレス、ラインフィルターなどを用いることができる。なお、これらは併用してもよい。

前記遠心分離の方法としては、特に制限はなく、公知の遠心装置を適宜選択して行うことができる。また、前記遠心の条件としても、特に制限はなく、前記懸濁液の量に応じて適宜選択することができ、例えば、前記懸濁液の量が5 mLの場合は、3, 000 rpmで5分間という条件とすることが挙げられる。

[0036] 前記カルボン酸緩衝液による抽出の痕跡として前記マンガン含有酵母抽出物中にカルボン酸が残るため、前記カルボン酸緩衝液による抽出が行われたか否かは、前記マンガン含有酵母抽出物中のカルボン酸を分析して判別することができる。前記分析の方法としては、特に制限はなく、例えば、HPLC（高速液体クロマトグラフィー）によってカルボン酸量を測定することにより行うことができる。

[0037] <その他の工程>

前記その他の工程としては、本発明の効果を損なわ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、例えば、熱水処理工程、乾燥工程、濃縮工程、希釈工程などが挙げられる。これらの中でも、熱水処理工程を含むことが好ましい。

[0038] <<熱水処理工程>>

前記熱水処理工程は、前記抽出工程の前に、マンガンを含有する前記酵母

を60℃～120℃の熱水に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する工程である。前記抽出工程の前に、前記熱水処理工程を行うことが、酵母特有の臭い及び味（酵母臭、酵母味）を低減することができ、得られたマンガン高含有酵母抽出物を食品等に添加した際に食品等の風味をより損なわない点で好ましい。

前記熱水の温度としては、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、酵母臭及び酵母味の低減効果が高い点で、80℃～120℃が好ましく、95℃～120℃がより好ましい。

なお、酵母を懸濁させる方法及び得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する方法としては、特に制限はなく、前述した抽出工程と同様の方法が挙げられる。

[0039] 前記熱水処理工程においては、酵母特有の臭い及び味を低減させるため、酵母臭や酵母味の抽出（除去）を促進する抽出促進剤を熱水に添加することが好ましい。前記抽出促進剤としては、次の抽出工程におけるマンガンの溶出率に悪影響を与え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、例えば、カルボン酸塩以外の塩が挙げられる。これらの中でも、酵母臭を抽出する効果が高く、熱水工程においてマンガンが抽出され難い点で、リン酸塩が好ましい。

前記抽出促進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、乾燥酵母菌体質量当たり、5質量%～50質量%が好ましく、20質量%～50質量%がより好ましい。

[0040] <<乾燥工程、濃縮工程、希釈工程>>

前記乾燥工程は、前記マンガン高含有酵母抽出物を乾燥させる工程である。

前記乾燥の方法としては、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、スプレードライヤーL-8（大川原化工機株式会社製）を用いて行うことができる。これにより、マンガンを高含有した酵母抽出固形物（粉体）を得ることができ、後述する種々の用途に用いることができる。

。なお、前記固形物とする際には、デキストリン等の賦形剤を適宜含有させてもよい。

前記濃縮工程は、前記マンガン高含有酵母抽出物を濃縮する工程であり、前記希釈工程は、前記マンガン高含有酵母抽出物を希釈する工程である。

前記濃縮及び希釈の方法としては、特に制限はなく、従来公知の方法を用いることができる。

[0041] (マンガン高含有酵母抽出物)

本発明のマンガン高含有酵母抽出物は、酵母菌体由来のマンガンを0.2質量%以上含有するマンガン高含有酵母抽出物であって、マンガン高含有酵母抽出物1gを水100mLに溶解乃至分散させたときの濁度が、波長660nmにおける吸光度(O.D. 660)として、0.1以下である。

前記マンガン高含有酵母抽出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、前記本発明のマンガン高含有酵母抽出物の製造方法によって好適に製造することができる。即ち、マンガンを含む酵母を、カルボン酸及びカルボン酸塩の少なくともいずれかを含む溶液で抽出して製造することが好ましい。

[0042] <マンガン含有量>

前記マンガン高含有酵母抽出物におけるマンガン含有量としては、マンガン高含有酵母抽出物をマンガン強化食品素材等として用いる観点から、多いほど好ましいが、本発明において「マンガン高含有」とは、酵母菌体由来のマンガンを0.2質量%以上含有することをいい、0.5質量%以上が好ましく、1.0質量%以上がより好ましい。

このようにマンガンを高濃度に含有することにより、流動食、飲料等の経口経管栄養組成物、食品素材、乳酸菌培養培地用組成物等として好適に用いることができる。

なお、前記マンガン含有量は、公知の方法で測定することができ、例えば、原子吸光法、ICP発光分光分析法などにより測定することができる。

[0043] <濁度>

本発明のマンガン高含有酵母抽出物は、水に対する溶解性が高いため、水溶液とした場合の透明度が高く、マンガン高含有酵母抽出物 1 g を水 100 mL に溶解乃至分散させたときの濁度が、波長 660 nm における吸光度（O. D. 660）として、0.1 以下であり、0.05 以下が好ましく、0.01 以下がより好ましい。前記濁度が 0.1 を超えると、食品等に添加した際ににごりが生じ、変色することがあり、食品等の外観を損ねることがある。また、水に対する溶解性が十分でなく、沈殿することがあるため、特に清涼飲料水等、透明性が必要とされる食品としての用途に用いる際に問題が生じることがある。

[0044] 前記マンガン高含有酵母抽出物の形態としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記抽出工程によって得られた液体（ろ液、上清等の抽出液）であってもよいし、粉末（パウダー）、粒子状、シート状等の固形物であってもよいし、ゲル状、スラリー状等の半固形物であってもよい。ただし、前記濁度を測定する際の「マンガン高含有酵母抽出物 1 g」は、乾燥させた固形物であり、前記固形物の水分含有量が 7 質量%以下であるものを指す。前記乾燥の方法としては、特に制限はなく、上述の方法を用いることができ、その条件等は、特に制限はない。

なお、前記濁度は、分光光度計を使用して、波長 660 nm における吸光度（O. D. 660）を測定することができ、前記分光光度計としては、例えば、U-2000 型（株式会社日立製作所製）などが挙げられる。

[0045] <用途>

本発明のマンガン高含有酵母抽出物の用途としては、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、食品に添加されて用いられる食品素材、飼料、餌料、後述する食品用乳酸菌培養培地用組成物としての用途が好ましく、前記食品素材、前記食品用乳酸菌培養培地用組成物としての用途がより好ましい。前記食品素材の中でも、本発明のマンガン高含有酵母抽出物が溶解性に優れる点で、前記食品としては、流動食、清涼飲料水の用途が好ましい。本発明のマンガン高含有酵母抽出物を用いることにより、マンガ

ン高含有食品、マンガン高含有飼料、マンガン高含有餌料、マンガン高含有食品用乳酸菌培養培地用組成物等が得られる。

[0046] 前記マンガン高含有酵母抽出物の使用形態としては、特に制限はなく、用途に応じて適宜選択することができ、乾燥された粉末の状態（例えば、抽出物をスプレードライ等により乾燥したものなど）で使用してもよいし、溶媒に溶解された溶液の状態で使用してもよいし、半固形物の状態（例えば、ゲル状、クリーム状のものなど）で使用してもよい。なお、前記使用形態にするためのマンガン高含有酵母抽出物の調製方法としては、特に制限はなく、公知の装置等を用い公知の方法に従って行うことができる。

[0047] （食品）

本発明の食品は、本発明のマンガン高含有酵母抽出物を含み、更に必要に応じてその他の成分を含む。

ここで、前記食品とは、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、医薬部外品、医薬品などを幅広く含むものを意味する。

前記食品の種類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、流動食、パン、ビスケット、クラッカー等の製菓、水産加工品、食肉加工品、麺類、味噌等の調味料、加工野菜製品、ジュース等の飲料、アイスクリーム等の氷菓、健康食品等が好ましく、流動食、飲料が特に好ましい。

[0048] 前記食品中の前記マンガン高含有酵母抽出物の添加量としては、特に制限はなく、用途、目的等に応じて適宜選択することができる。

[0049] 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、食品を製造するにあたって通常用いられる、補助的原料又は添加物などが挙げられる。

前記補助的原料又は添加物としては、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、ブドウ糖、果糖、ショ糖、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、エリソルビン酸ナトリウム、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、カルシウム塩類、色素、香料、保存剤などが挙げられる。

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。

[0050] (食品用乳酸菌培養培地用組成物)

本発明の食品用乳酸菌培養培地用組成物は、本発明のマンガン高含有酵母抽出物を含み、更に必要に応じてその他の成分を含む。

前記食品用乳酸菌培養培地用組成物は、前記マンガン高含有酵母抽出物のみからなるものであってもよいし、その他の成分を含むものであってもよい。

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、後述する食品用乳酸菌培養培地に含まれる成分が挙げられる。

[0051] (食品用乳酸菌培養培地)

本発明の食品用乳酸菌培養培地は、本発明の食品用乳酸菌培養培地用組成物を含み、更に必要に応じてその他の成分を含む。

前記食品用乳酸菌培養培地としては、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、GYP培地、前記GYP培地に含まれる $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ を除いた培地等が挙げられる。

前記GYP培地は、乳酸菌の培養の基本培地として慣用されており、その組成は、以下のとおりである。

—GYP培地（pH 6.8）の組成（100mLあたり）—

- ・ Glucose . . . 1.0 g
- ・ Yeast extract . . . 1.0 g
- ・ Peptone . . . 0.5 g
- ・ Na-acetate · 3H₂O . . . 0.2 g
- ・ Salts solution (※1) . . . 0.5 mL
- ・ Tween 80 solution (2.5 mg/mL水溶液)
. . . 1.0 mL

※1: Salts solutionの組成（1mLあたり）

- ・ MgSO₄ · 7H₂O . . . 40 mg
- ・ MnSO₄ · 4H₂O . . . 2 mg
- ・ FeSO₄ · 7H₂O . . . 2 mg
- ・ NaCl . . . 2 mg

前記食品用乳酸菌培養培地では、前記マンガン高含有酵母抽出物を前記GYP培地に含まれるMnSO₄ · 4H₂Oの代わりに使用することができる。また、前記食品用乳酸菌培養培地は、前記マンガン高含有酵母抽出物を含むので、培地中に酵母菌体の沈殿が生じることがなく、乳酸菌を回収した際に酵母と混在しない点でも、好適に用いることができる。このような食品用乳酸菌培養培地は、天然物由来のマンガンを使用しているため、食品用乳酸菌の培養にも安全に用いることができる。

[0052] （食品用乳酸菌の培養方法）

本発明の食品用乳酸菌の培養方法は、本発明の食品用乳酸菌培養培地を用いて食品用乳酸菌を培養することを含む。

[0053] <食品用乳酸菌>

前記食品用乳酸菌としては、食品用途で使用されているものであれば、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、各種乳酸菌が挙げられる。その具体例としては、Lactobacillus属、Leuconostoc属、Pediococcus属、などが挙げられ、これらの属に

含まれる任意の種・株が好適に挙げられる。これらの中でも、Lactobacillus casei subsp. casei、Lactobacillus brevis、Lactobacillus plantarum、Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides、Pediococcus pentosaceusが好ましい。

[0054] <食品用乳酸菌の培養>

前記食品用乳酸菌を本発明の食品用乳酸菌培養培地を用いて培養する場合、培養の前に前記食品用乳酸菌培養培地を調製し、オートクレーブ滅菌処理することが好ましい。

前記食品用乳酸菌培養培地の調製は、常法に従って行うことができ、例えば、前記GYP培地に含まれる $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ を除いた培地を用いる場合、前記GYP培地の組成において、 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ を除いた組成の溶液を調製し、前記食品用乳酸菌培養培地用組成物を添加すればよい。

このとき、前記食品用乳酸菌培養培地用組成物の前記食品用乳酸菌培養培地における含有量としては、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が、マンガン(Mn)の含有量(Mn換算含有量)が、一般の前記GYP培地と略同じ含有量となる量であるのが好ましく、該GYP培地よりも高濃度となる量であってもよい。

前記オートクレーブ滅菌条件としては、常法に従って行うことができ、特に制限はなく、目的に応じて適宜条件を選択することができる。

[0055] 前記食品用乳酸菌の前記食品用乳酸菌培養培地への接種量としては、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、通常、湿菌体として0.01%~30%(質量/体積)程度が菌体の特性、培養操作性、生産効率の諸面から好ましい。

前記食品用乳酸菌の培養は、少量であれば坂口フラスコ等を用いて振とう培養により行うことができ、このときの振とう条件としては、特に制限はないが振幅12cm程度では100rpm~200rpm程度が好ましい。大

量であればジャーファーマンターを用いて好適に行うことができる。このときのジャーファーマンターにおける培養条件としては、特に制限はなく適宜決定することができる。

前記培養の条件としては、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、温度としては、例えば、 $28^{\circ}\text{C}\sim 33^{\circ}\text{C}$ 程度であり、時間としては、例えば、1時間～40時間程度であり、通気量としては、例えば、 $0\text{vvm}\sim 5\text{vvm}$ 程度であり、攪拌速度としては、例えば、 $100\text{rpm}\sim 700\text{rpm}$ 程度が好ましい。前記培養液のpHとしては、無調製であってもよく、調製する場合は $4.0\sim 8.0$ 程度であるが、培養初期を 7.0 以上とするのが好ましく、 $7.0\sim 8.0$ に調整するのがより好ましい。

前記培養は、静置培養により行なってもよい。

また、前記培養を行なう前に前培養を行なってもよい。

[0056] 以上の本発明の前記食品用乳酸菌培養培地を用い、本発明の前記食品用乳酸菌の培養方法により、培養して得られた前記食品用乳酸菌は、培養後に、そのまま使用してもよいが、分離、洗浄等されて、各種の食品に好適に使用することができる。

前記食品としては、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、例えば、ヨーグルト等の乳製品、パン類、菓子類、麺類、惣菜類、飲料などが挙げられる。

実施例

[0057] 以下、本発明の試験例を説明するが、本発明はこれらの試験例に何ら限定されるものではない。

[0058] (試験例1：カルボン酸塩によるマンガンの抽出－1)

乾物質質量 5g のマンガン高含有酵母粉末（ミネラル酵母Mn2、マンガン含有量： $18,980$ 質量ppm、オリエンタル酵母工業株式会社製）に、表1に示す 200 ミリモル/Lの各カルボン酸ナトリウム水溶液を 50mL 加えて攪拌し、 100mL にメスアップした。なお、前記各カルボン酸ナトリウムの量は、抽出される酵母中のマンガン1モルに対して、 4.1 モルで

あった。対照としては、水又は200ミリモル/Lの塩化ナトリウム（食塩）水溶液を用い、以下同様の試験を行った。ここで得られた各懸濁液のpHをpHメーターMP230（METTLER TOREDO社製）で測定した。

前記懸濁液をスターラーによって攪拌しながら、5 mLを試験管に取り、沸騰水中で10分間加熱した。この懸濁液を3,000 rpmで5分間遠心分離し、上清のみを試験管に採取し、酵母抽出物を得て、その質量を測定した。

前記マンガンの抽出率は、酵母抽出物中のマンガン含有量を、ICP発光分光分析装置（Optima 2100 DV、パーキンエルマー社製）を用いてICP発光分光分析法により測定し、抽出液へ抽出されたマンガンの割合を計算した。結果を表1及び図1に示す。

[0059] また、前記抽出物を乾燥粉末とし、前記乾燥粉末におけるマンガン含有量（質量%）を以下のようにして測定した。即ち、マンガンを抽出した抽出液にデキストリンを添加し、固形物含量を10質量%に調整後、スプレードライヤーL-8（大川原化工機株式会社製）を用いて乾燥させ、ICP発光分光分析装置（Optima 2100 DV、パーキンエルマー社製）を用いてICP発光分光分析法によりマンガンを定量することにより行った。結果を表1に示す。

[0060] [表1]

	抽出溶媒の種類	懸濁液のpH	マンガン抽出率(%)	乾燥粉末のマンガン含有量(質量%)
試験例 1-1	純水	6.7	7	0.1
試験例 1-2	塩化ナトリウム(食塩)水溶液	6.7	9	0.1
試験例 1-3	コハク酸-ナトリウム水溶液	5.1	65	0.7
試験例 1-4	クエン酸三ナトリウム水溶液	7.9	62	0.7

[0061] 表1及び図1の結果から、マンガン抽出率及び抽出物におけるマンガン含有量は、カルボン酸塩を用いることでマンガン抽出率が高くなり、マンガン

を高含有した抽出物が得られることがわかった。

[0062] (試験例 2 : カルボン酸塩によるマンガンの抽出ー 2)

乾物質量 5 g のマンガン高含有酵母粉末 (ミネラル酵母 M n 2、マンガン含有量 : 18, 980 質量 p p m、オリエンタル酵母工業株式会社製) に、表 2 に示す 200 ミリモル／L の各カルボン酸ナトリウム水溶液を 10 mL 加えて攪拌し、各 pH に調整後、20 mL にメスアップした。なお、酵母中のマンガン 1 モルに対する前記各カルボン酸ナトリウムの量は、表 2 のとおりであった。また、前記 pH の調整は、pH メーター MP 230 (METTLER T O R E D O 社製) で測定しながら行った。

前記懸濁液をスターラーによって攪拌しながら、5 mL を試験管に取り、沸騰水中で 10 分間加熱した。この懸濁液を 3, 000 r p m で 5 分間遠心分離し、上清のみを試験管に採取し、酵母抽出物を得て、その質量を測定した。

前記マンガンの抽出率は、酵母抽出物中のマンガン含有量を、I C P 発光分光分析装置 (O p t i m a 2100DV、パーキンエルマー社製) を用いて I C P 発光分光分析法により測定し、抽出液へ抽出されたマンガンの割合を計算した。結果を表 2 及び図 2 に示す。

[0063] また、試験例 1 と同様にして、抽出物の乾燥粉末を得て抽出物におけるマンガン含有量を測定した。結果を表 2 に示す。

[0064] [表 2]

	抽出溶媒の種類	モル比 (カルボン酸塩／マンガン)	懸濁液の pH	マンガン 抽出率 (%)	乾燥粉末の マンガン 含有量 (質量%)
試験例 2-1	酢酸ナトリウム (無水) 水溶液	4.1	2.0	90	1.0
試験例 2-2	グルコン酸ナトリウム 水溶液	4.1	2.0	91	1.0
試験例 2-3	L-酒石酸ナトリウム 水溶液	4.1	2.0	90	1.0

[0065] 表 2 及び図 2 の結果から、マンガン抽出率及び抽出物におけるマンガン含有量は、カルボン酸塩として、酢酸ナトリウム、グルコン酸ナトリウム、酒石酸ナトリウムを用いた場合にも高くなることがわかった。

[0066] (試験例 3 : マンガン抽出率に対する pH の影響)

40 質量%のクリームになるようミネラル酵母 Mn₂ (オリエンタル酵母工業株式会社製) の粉末を 300 mL の水に懸濁した。得られたクリームを沸騰水中で 10 分間加熱した後、洗浄し、沈殿を 300 mL にメスアップした。得られたクリーム 10 mL にクエン酸及びクエン酸三ナトリウムの少なくともいずれかを含む下記表 3 に記載の各水溶液 (クエン酸緩衝液) 10 mL を添加して懸濁させた。なお、前記クエン酸緩衝液の濃度は、全ての液で 200 ミリモル/L であり、前記クエン酸緩衝液の pH は、クエン酸とクエン酸三ナトリウムとの量比を適宜変更することにより、調整した。

各クエン酸緩衝液に懸濁させてから 2 時間後、遠心分離を行い、得られた上清 (酵母抽出物) について、試験例 1 と同様にして、マンガン抽出率を測定した。また、試験例 1 と同様にして、抽出物の乾燥粉末を得て抽出物におけるマンガン含有量を測定した。結果を下記表 3 及び図 3 に示す。

[0067] [表 3]

	クエン酸及びクエン酸三ナトリウムの少なくともいずれかを含む水溶液 (クエン酸緩衝液) の pH	懸濁液の pH	マンガン抽出率 (%)	乾燥粉末のマンガン含有量 (質量%)
試験例 3-1	1.9 (クエン酸のみ)	2.9	96	1.3
試験例 3-2	3.0	3.5	91	1.2
試験例 3-3	3.5	4.0	91	1.2
試験例 3-4	4.0	4.4	86	1.2
試験例 3-5	4.5	4.9	88	1.2
試験例 3-6	5.0	5.5	87	1.2
試験例 3-7	5.5	6.2	92	1.3
試験例 3-8	6.0	6.9	74	1.0
試験例 3-9	6.5	7.5	53	0.7
試験例 3-10	7.0	7.9	47	0.6
試験例 3-11	7.5	8.0	43	0.6
試験例 3-12	8.2 (クエン酸三ナトリウムのみ)	8.0	41	0.6

[0068] 表3及び図3から、抽出に用いる溶媒（カルボン酸緩衝液）のpHが小さいほど、マンガン抽出率は高くなる傾向が見られるものの、懸濁液のpHの広い範囲において、40%以上の高いマンガン抽出率を示し、マンガンを高含有する酵母抽出物が得られることがわかった。また、抽出に用いる溶媒として、カルボン酸のみ、カルボン酸及びカルボン酸塩、並びにカルボン酸塩のみを用いたいずれの場合にも高いマンガン抽出率を示し、マンガンを高含有する酵母抽出物が得られることがわかった。

[0069] （試験例4：マンガン抽出率に対する酵母中に含まれるマンガン量と、カルボン酸及びカルボン酸塩の総量との関係）

原料としてミネラル酵母Mn2（オリエンタル酵母工業株式会社製）を用いてカルボン酸及びカルボン酸塩の総量とマンガンの抽出効率との関係を試験した。抽出溶媒に含まれるカルボン酸としてクエン酸を用い、下記表4に示した濃度のクエン酸緩衝液を用意した。クエン酸緩衝液のpHは、クエン酸とクエン酸三ナトリウムとの量比を適宜変更することにより調整し、5.0とした。

下記表4に示した濃度の各クエン酸緩衝液を用いた以外は、試験例3と同様にして、酵母抽出物を得てマンガン抽出率を測定し、試験例1と同様にし、抽出物の乾燥粉末を得て乾燥粉末質量当たりのマンガン含有量を測定した。結果を下記表4及び図4に示す。なお、図4中、「◆」はマンガン抽出率を示し、「■」は懸濁液のpHを示す。

[0070]

[表4]

	pH 5.0の クエン酸緩衝液 の濃度 (ミリモル/L)	モル比 (クエン酸及びクエン酸塩の総 量/マンガン)	懸濁液のpH	マンガン 抽出率 (%)	乾燥粉末の マンガン 含有量 (質量%)
試験例 4-1	0	0	7.2	1	0.0
試験例 4-2	25	0.5	6.5	33	0.5
試験例 4-3	50	1.0	6.1	65	1.1
試験例 4-4	75	1.5	5.9	77	1.2
試験例 4-5	100	2.0	5.7	81	1.3
試験例 4-6	125	2.6	5.5	79	1.3
試験例 4-7	150	3.1	5.5	81	1.3
試験例 4-8	175	3.6	5.4	84	1.4
試験例 4-9	200	4.1	5.3	90	1.5

[0071] 表4及び図4から、マンガン抽出率は、マンガンと、カルボン酸及びその塩とのモル比に依存しており、カルボン酸及びカルボン酸塩の総量が、抽出される酵母中のマンガン1モルに対して1.0モル以上では、マンガン抽出率が65%以上と非常に高くなることがわかった。

[0072] (試験例5：溶解性の評価)

試験例4-9で得られたマンガン高含有酵母抽出物の粉末1gを水又はリンゴ果汁(10体積%リンゴ果汁入り飲料、アサヒ飲料株式会社製)で100mLにメスアップして、マンガン高含有酵母抽出物の1%(質量/体積)溶液を作製した。

そして、前記各溶液の濁度について、分光光度計(U-2000型、株式会社日立製作所製)を使用して、波長660nmにおける吸光度(O.D. 660)を測定することにより求めた。

また、前記各溶液を3,000rpmで5分間遠心した後の沈殿の有無を観察した。

なお、対照として、ミネラル酵母Mn2(オリエンタル酵母工業株式会社製;抽出を行っていない)について、マンガン含量が同じになるように添加して、同様に溶液の濁度の測定、遠心後の沈殿の有無の評価を行った。結果を表5、図5A(遠心前の水溶液)、図5B(遠心後の水溶液)、図5C(

遠心前のリンゴ果汁入り飲料)、及び図5D(遠心後のリンゴ果汁入り飲料)に示す。

[0073] [表5]

	試料	溶媒	O.D.660 (1%溶液)	目視評価	遠心後の 目視評価
試験例 5-1	マンガン高含有 酵母抽出物	水	0.010	清澄性の高い水溶液。	沈殿物は 確認されなかった。
試験例 5-2	ミネラル酵母Mn2	水	11.89	懸濁している。	沈殿物が 確認された(酵母)。
試験例 5-3	マンガン高含有 酵母抽出物	リンゴ果汁 入り飲料	0.010	清澄性の高い水溶液。	沈殿物は 確認されなかった。
試験例 5-4	ミネラル酵母Mn2	リンゴ果汁 入り飲料	10.20	懸濁している。	沈殿物が 確認された(酵母)。

[0074] 試験例5-1の水溶液の濁度は、試験例5-2の水溶液の濁度に比べ、有意に低い値を示した。また、図5Aから、試験例5-1の水溶液は、目視でも試験例5-2の水溶液に比べ、有意に清澄性が高かった。更に、図5Bから、水溶液を3,000rpmで5分間遠心したところ、試験例5-1では沈殿物が確認されず、清澄性の高い溶液だったのに対し、試験例5-2では沈殿物が確認された。

これらの結果は、水の代わりにリンゴ果汁入り飲料を用いた試験例5-3、及び試験例5-4でも同様であった。

したがって、本発明のマンガン高含有酵母抽出物は、溶解性が高いため、流動食や飲料等にも添加して使用することができ、また、濁りや変色が生じないため、添加する食品等の外観を損なうことがなく、特に透明度の高い清涼飲料水等に添加して使用することもできることがわかった。

[0075] (試験例6:臭いと味の評価)

試験例4-9で得られたマンガン高含有酵母抽出物の粉末(以下、「粉末」と称する)、前記粉末の1%(質量/体積)水溶液、リンゴ果汁(10体積%リンゴ果汁入り飲料、アサヒ飲料株式会社製)に前記粉末を1%(質量/体積)となるように溶解させたもの(以下、「リンゴ果汁」と称する)、調整粉乳(チルミル、森永乳業株式会社製)14gを水100mLに溶解又は懸濁させた水溶液に前記粉末を1%(質量/質量)となるように溶解させ

たもの（以下、「ミルク」と称する）、栄養調整食品（メイバランス（ヨーグルト味）、株式会社明治製）に前記粉末を1%（質量／質量）となるように添加したもの（以下、「流動食」と称する）を用意した。

[0076] <評価方法>

前記粉末、前記粉末の1%水溶液、前記リンゴ果汁、前記ミルク、及び前記流動食について、酵母或いは酵母抽出物に特有の臭い（「エキス臭」、「金属臭・不快臭」）、及び味（「エキス味」、「金属的味・異味・えぐ味」）を6人の評価者により評価した。なお、前記マンガン高含有酵母抽出物の粉末については、臭いのみ評価した。

また、対照として、ミネラル酵母Mn2（オリエンタル酵母工業株式会社製、抽出を行っていない）をマンガン含有量が同じになるようにしたものも同様に評価した。

[0077] <<評価－1>>

前記粉末、前記粉末の1%水溶液、及び前記リンゴ果汁では、マンガン高含有酵母抽出物における各評価項目の評価を3（基準）として、試料（ミネラル酵母Mn2）について、下記基準に従って6人が評価した数値の平均をとった。結果を表6－1から表6－3に示す。

－臭い（「エキス臭」、「金属臭・不快臭」）の評価基準－

5：非常に強い

4：強い

3：同等

2：弱い

1：非常に弱い

－味（「エキス味」、「金属的味・異味・えぐ味」）の評価基準－

5：非常に強い

4：強い

3：同等

2：弱い

1 : 非常に弱い
[0078] <<評価-2>>

前記ミルク、及び前記流動食では、試料無添加における各評価項目の評価を3（基準）として、各試料（マングァン含有酵母抽出物、及びミネラル酵母Mn2）について、下記基準に従って6人が評価した数値の平均をとった。結果を表6-4から表6-5に示す。

一臭い（「エキス臭」、「金属臭・不快臭」）の評価基準一

5 : 非常に強い
4 : 強い
3 : 同等
2 : 弱い
1 : 非常に弱い

一味（「エキス味」、「金属的味・異味・えぐ味」）の評価基準一

5 : 非常に強い
4 : 強い
3 : 同等
2 : 弱い
1 : 非常に弱い

[0079] [表6-1]

	試料	エキス臭 金属臭・ 不快臭	試験例 6-1	マングァン含有 酵母抽出物	ミネラル酵母 Mn2	3.5	3.7
			試験例 6-2				
			食品等 粉末				

[表6-2]

	試料	食品等			
		粉末の1%水溶液			
		エキス臭	金属臭・不快臭	エキス味	金属的味・異味・えぐ味
試験例 6-1	マンガン高含有酵母抽出物	3.0	3.0	3.0	3.0
試験例 6-2	ミネラル酵母 Mn2	3.7	3.3	3.0	4.3

[表6-3]

	試料	食品等			
		リンゴ果汁			
		エキス臭	金属臭・不快臭	エキス味	金属的味・異味・えぐ味
試験例 6-1	マンガン高含有酵母抽出物	3.0	3.0	3.0	3.0
試験例 6-2	ミネラル酵母 Mn2	3.7	3.3	3.8	4.3

[表6-4]

	試料	食品等			
		ミルク			
		エキス臭	金属臭・不快臭	エキス味	金属的味・異味・えぐ味
基準	無添加	3.0	3.0	3.0	3.0
試験例 6-1	マンガン高含有酵母抽出物	3.7	3.3	4.0	3.3
試験例 6-2	ミネラル酵母 Mn2	4.2	3.7	4.0	4.5

[表6-5]

	試料	食品等			
		流動食			
		エキス臭	金属臭・不快臭	エキス味	金属的味・異味・えぐ味
基準	無添加	3.0	3.0	3.0	3.0
試験例 6-1	マンガン高含有酵母抽出物	3.2	3.0	3.5	3.0
試験例 6-2	ミネラル酵母 Mn2	3.7	3.5	3.8	4.2

[0080] 表 6-1 から表 6-5 から、前記本発明の一態様であるマンガン高含有酵母抽出物を用いた試験例 6-1 は、ミネラル酵母 Mn2 を用いた試験例 6-2 よりも酵母エキス臭を低減することができた。また、金属臭・不快臭という非食品的な臭いという観点からも、前記本発明の一態様であるマンガン高含有酵母抽出物を用いた試験例 6-1 は、試験例 6-2 と比べて優れていた。したがって、本発明のマンガン高含有酵母抽出物は、添加した食品等の風味等を損なわないことが示された。

[0081] (試験例 7 : 食品用乳酸菌の培養)

後述の 5 種類の食品用乳酸菌を、以下の 4 種類の培地を用いて培養を行った。即ち、使用した培地としては、(1) GYP 培地 (組成は、下記参照 ; 以下、「GYP」と称することがある)、(2) Mn 非含有 GYP 培地 (前記 GYP 培地において $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ を含まない以外は該 GYP 培地と同一組成のもの ; 以下、「GYP Mnなし」と称することがある)、(3) Mn 含有食品用酵母を含有する GYP 培地 (前記 GYP 培地において $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ に代えてマンガン含有食品用酵母 (オリエンタル酵母工業株式会社製、ミネラル酵母 Mn-F) を含む以外は該 GYP 培地と同一組成のもの ; 以下、「マンガン含有酵母」と称することがある)、(4) Mn 高含有酵母抽出物を含有する GYP 培地 (前記 GYP 培地において $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ に代えて試験例 4-9 で得られたマンガン高含有酵母抽出物の粉末を含

む以外は該GYP培地と同一組成のもの；以下、「マンガン高含有酵母抽出物」と称することがある）の4種類である。なお、前記GYP培地中のMnSO₄由来のMn濃度が2.5mg/Lであるので、前記（3）の培地においては、マンガン含有食品用酵母を、前記（4）の培地においては、試験例4-9で得られたマンガン高含有酵母抽出物の粉末を、Mn含有量が、前記（1）GYP培地におけるMn含有量と、実質的に同一となるよう添加した。

これら4種の培地に対し、食品用乳酸菌を接種する前に、それぞれpHを6.8に調整した後、オートクレーブ処理（121℃、15分）を行った。

<食品用乳酸菌>

培養に使用した菌株は、下記の5種類とした。いずれも東京農業大学応用生物科学部菌株保存室（NRIC）より入手したタイプストレインである。

A) Lactobacillus casei subsp. casei
(NRIC1042)

B) Lactobacillus brevis (NRIC1684)

C) Lactobacillus plantarum (NRIC1067)
)

D) Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides (NRIC1541)

E) Pediococcus pentosaceus (NRIC0099)
)

<GYP培地（pH6.8）の組成（100mLあたり）>

- ・ Glucose . . . 1.0g
- ・ Yeast extract . . . 1.0g
- ・ Peptone . . . 0.5g
- ・ Na-acetate · 3H₂O . . . 0.2g
- ・ Salts solution (※1) . . . 0.5mL
- ・ Tween 80 solution (2.5mg/mL水溶液)
. . . 1.0mL

※1: Salts solutionの組成 (1 mLあたり)

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. . . 40 mg
 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. . . 2 mg
 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. . . 2 mg
 NaCl . . . 2 mg

[0082] 上記5種の食品用乳酸菌を、5 mLのGYP培地5つにそれぞれ1白金耳

ずつ接種し、30℃で48時間静置培養（前培養-1）した。得られた5種の培養液全量を、200 mLのGYP培地に添加（接種）し、30℃で48時間静置培養（前培養-2）した。その後、生理食塩水を用いて洗浄を行い、培地成分を除去して得られた5種の菌懸濁液を、前記（1）GYP培地、前記（2）Mn非含有GYP培地、前記（3）Mn含有食品用酵母を含有するGYP培地、前記（4）Mn含有酵母抽出物を含有するGYP培地の4種に接種して本培養を行った。このときの接種量は、O、D、660 nm = 0.05となる量とした。本培養は、温度が30℃で、静置培養とした。なお、培養中に経時的にサンプリングを行ない、培養液のO、D、660 nmの濁度とpH値とを測定した。なお、培養液のO、D、660 nmの濁度は、分光光度計（HITACHI社製 U-1000型）を用い、pH値は、pHメータ（METTLER TOLERO社製 MP230）を用いて測定した。

[0083] 全20種の培養液のO、D、660 nmの濁度及びpH値の測定結果・推移を図6Aから図6Jに示した。図6Aから図6Jにおいて、「◆」は、前

記（1）GYP培地（GYP）を使用した場合を意味し、「■」は、前記（2）Mn非含有GYP培地（GYP Mnなし）を使用した場合を意味し、

「□」は、前記（3）Mn含有食品用酵母を含有するGYP培地（マンガン

含有酵母）を使用した場合を意味し、「●」は、前記（4）Mn含有酵母

抽出物を含有するGYP培地（マンガン含有酵母抽出物）を使用した場合

を意味する。そして、図6Aは、前記A) *Lactobacillus*

casei subsp. *casei* (NRIC 1042) の増殖曲線を表

し、図6Bは、図6Aの増殖曲線に対応したpH推移曲線を表す。図6Cは、前記B) Lactobacillus brevis (NRIC1684) の増殖曲線を表し、図6Dは、図6Cの増殖曲線に対応したpH推移曲線を表す。図6Eは、前記C) Lactobacillus plantarum (NRIC1067) の増殖曲線を表し、図6Fは、図6Eの増殖曲線に対応したpH推移曲線を表す。図6Gは、前記D) Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides (NRIC1541) の増殖曲線を表し、図6Hは、図6Gの増殖曲線に対応したpH推移曲線を表す。図6Iは、前記E) Pediococcus pentosaceus (NRIC0099) の増殖曲線を表し、図6Jは、図6Iの増殖曲線に対応したpH推移曲線を表す。

[0084] 図6Aから図6Jの結果から明らかなように、本発明の一態様である試験例4-9で得られたマンガン高含有酵母抽出物の粉末を含むGYP培地（前記（4）の培地）を用いた場合においても、前記（1）GYP培地、及び前記（3）Mn含有食品用酵母を含有するGYP培地を用いた場合と同等に各種乳酸菌を増殖させることができることが確認された。

また、前記（4）マンガン高含有酵母抽出物の粉末を含むGYP培地では、前記マンガン高含有酵母抽出物を用いたため、培地中に酵母菌体の沈殿が生じることがなく、乳酸菌を回収した際に酵母と混在することがなかった。

前記（4）マンガン高含有酵母抽出物の粉末を含むGYP培地では、食品添加物として認可されていないマンガンを使用していないので、培養の結果として得られた食品用乳酸菌の安全性が高く、好適に各種食品等に使用することができる。

産業上の利用可能性

[0085] 本発明のマンガン高含有酵母抽出物は、天然物由来のマンガンを高濃度に含有し、水への溶解性に優れ、食品等に添加した際に外観を損なわず、しかも添加した食品の風味等を損なうことがないことから、マンガン欠乏による皮膚炎、骨代謝等の代謝異常を改善し得る流動食、飲料等の経口経管栄養組

成物、食品素材等として好適に用いることができ、また、食品用乳酸菌培養培地用組成物としても好適に用いることができる。

本発明のマンガン高含有酵母抽出物の製造方法によれば、マンガンを含む酵母からのマンガン抽出率が高く、マンガン高含有酵母抽出物を効率的に製造することができる。

また、本発明の食品用乳酸菌培養培地用組成物は、食品用乳酸菌培養培地の成分として好適に用いることができ、前記食品用乳酸菌培養培地は、食品として利用可能な食品用乳酸菌の培養方法に好適に用いることができる。

請求の範囲

- [請求項1] マンガンを含む酵母を、カルボン酸及びカルボン酸塩の少なくともいずれかを含む溶液に懸濁させ、得られた懸濁液の固体成分と液体成分とを分離する抽出工程を含むことを特徴とするマンガン高含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項2] カルボン酸が1価から3価のカルボン酸であり、カルボン酸塩が1価から3価のカルボン酸塩である請求項1に記載のマンガン高含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項3] 抽出工程における懸濁液のpHが、8.0以下である請求項1から2のいずれかに記載のマンガン高含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項4] カルボン酸及びカルボン酸塩の総量が、酵母中のマンガン1モルに対して0.5モル以上である請求項1から3のいずれかに記載のマンガン高含有酵母抽出物の製造方法。
- [請求項5] 酵母菌体由来のマンガンを0.2質量%以上含有するマンガン高含有酵母抽出物であって、マンガン高含有酵母抽出物1gを水100mLに溶解乃至分散させたときの濁度が、波長660nmの吸光度（OD₆₆₀）として、0.1以下であることを特徴とするマンガン高含有酵母抽出物。
- [請求項6] 請求項1から4のいずれかに記載の製造方法により製造された請求項5に記載のマンガン高含有酵母抽出物。
- [請求項7] 請求項5から6のいずれかに記載のマンガン高含有酵母抽出物を含むことを特徴とする食品。
- [請求項8] 請求項5から6のいずれかに記載のマンガン高含有酵母抽出物を含むことを特徴とする食品用乳酸菌培養培地用組成物。
- [請求項9] 請求項8に記載の食品用乳酸菌培養培地用組成物を含むことを特徴とする食品用乳酸菌培養培地。
- [請求項10] 請求項9に記載の食品用乳酸菌培養培地を用いて食品用乳酸菌を培養することを特徴とする食品用乳酸菌の培養方法。