

明 細 書

発明の名称：酪酸菌の生育促進剤、酪酸又は乳酸の産生量増強剤

技術分野

[0001] 本発明は、酪酸菌の生育促進剤に関する。また、本発明は、酪酸又は乳酸の産生量増強剤にも関する。

背景技術

[0002] 酪酸、酢酸、プロピオン酸等の短鎖脂肪酸は、腸に様々な効用をもたらすことが知られており、例えば、非特許文献 1 には、腸のバリア機能を維持すること、腸内の pH を低下させることで病原性細菌の増殖を抑えること、抗炎症効果を有すること、免疫調節機能を有すること、また、インスリンの感受性を高めたり、満腹感の維持を向上させたりすることで、肥満を抑制する効果を有すること等が開示されている。

[0003] 短鎖脂肪酸が腸にもたらす効用の中でも、腸のバリア機能の維持は非常に重要である。腸は、水分や栄養成分といった生体の維持に必要な物質を吸収する機能を有する一方で、有害物質や病原細胞等の不要な物質を適切に排除する機能を有しており、異物の侵入を制限するバリアとして重大な役割を持つ。この腸のバリア機能が破綻し、腸管が損傷すると、異物が粘膜内に侵入して過度な免疫反応が惹起され、炎症を引き起こし、さらに異物が血流に乗ることで全身性の炎症状態にもつながる。

非特許文献 2 には、腸に穴が開き、血中に漏れ出す状態にある腸のことをリーキーガットと呼び、リーキーガットは慢性炎症を引き起こすとして問題視されていることが開示されている。したがって、腸のバリア機能は、動物が健康を維持するために不可欠な機能である。

[0004] ここで、非特許文献 1 及び非特許文献 2 には、短鎖脂肪酸の中でも特に酪酸が、タイトジャンクションを増強し、ムチンや抗微生物ペプチドを産生することで、腸のバリア機能を高めることが開示されている。したがって、酪酸には、微生物や異物が粘膜固有層へ通過するのを制限し、リーキーガット

を未然に防ぐことが期待される。

さらに、非特許文献3には、酪酸が、アレルギーや炎症性腸疾患（IBD）の抑制に効果を有する制御性T細胞（Treg）の分化に必須であることが開示され、非特許文献4には、酪酸が腸管上皮細胞によって代謝されるとき、腸内の酸素消費が増加することが開示されている。したがって、酪酸には、IBDの抑制や腸のバリア機能を高めることの他に、腸内の免疫応答を維持する効果や、腸内を嫌気状態に保つことで、ビフィズス菌をはじめとする善玉菌を増やし、腸内フローラを改善する効果も期待される。

以上から、腸において酪酸は、腸のバリア機能の強化をはじめとした様々な重要な役割を果たしている。

[0005] ここで、酪酸は、食物繊維が腸内細菌によって資化されたり、又はフルクトース、オリゴフルクトース若しくはイヌリンが*Eubacterium rectale*（現在は、*Agathobacter rectalis*と呼ばれる。）等の酪酸菌によって資化されたりすることで、産生される（非特許文献5を参照）。

[0006] そして、酪酸菌の中でも、*Agathobacter rectalis*は腸管上皮を覆う粘液層に定着しているため、腸管上皮細胞の近くで酪酸を産生し、酪酸による腸のバリア機能強化等の生理作用を効率よく発揮させることができる（非特許文献6を参照）。また、IBD患者において*Agathobacter rectalis*を含む微生物群の減少が確認されることから、*Agathobacter rectalis*のIBD抑制への関与が示唆されている（非特許文献7を参照）。

[0007] さらに、特許文献1には、腸内の酪酸菌や酪酸を効果的に増加させることを目的とした、オリゴ糖の一種である1-kestoseを有効成分とする酪酸菌生育促進剤や腸内酪酸増加剤が開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：国際公開第2017/159643号

非特許文献

- [0009] 非特許文献1: Riviere et al. Bifidobacteria and Butyrate-Producing Colon Bacteria: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. *Frontiers in Microbiology*. 2016, 7, Article 979.
- 非特許文献2: 小林杏輔・浅見幸夫. 腸管バリア機能に対するヨーグルトの効果. *Jpn. J. Food Microbiol.* 2019, 36 (1), 32-35.
- 非特許文献3: Furusawa et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013, 504, 446-450.
- 非特許文献4: 鈴木卓弥. 腸管タイトジャンクションバリアの重要性と食品成分による制御. *Milk Science*. 2020, 69 (3), 180-186.
- 非特許文献5: F. Moens & De Vuyst. Inulin-type fructan degradation capacity of Clostridium cluster IV and XIVa butyrate-producing colon bacteria and their associated metabolic outcomes. *Beneficial Microbes*. 2017, 8 (3), 473-490.
- 非特許文献6: P Van den Abbeele et al. Butyrate-producing Clostridium cluster XIVa species specifically coloni

ze mucins in an in vitro gut model . The ISME Journal. 2013, 7, 949-961.

非特許文献7: Heinken et al. Systematic assessment of secondary bile acid metabolism in gut microbes reveals distinct metabolic capabilities in inflammatory bowel disease. Microbiome. 2019, 7, Article 75.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] 本発明が解決しようとする課題は、酪酸菌の生育を促進することが可能な新規成分を提供することである。また、本発明が解決しようとする課題は、酪酸又は乳酸の産生量を増強させることが可能な新規成分を提供することでもある。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らが、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、又は醤油様調味液のエタノール沈殿物が、酪酸菌の生育を促進し、酪酸又は乳酸の産生量を増強させることを発見し、本発明を完成させるに至った。

[0012] すなわち、本発明は以下の通り。

(1)

こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸菌の生育促進剤。

(2)

こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類を含む、(1)に記載の酪酸菌の生育促進剤。

(3)

(1) 又は (2) に記載の酪酸菌の生育促進剤を含む、食品組成物。

(4)

こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸菌の生育を促進するための食品組成物。

(5)

こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法。

(6)

こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤。

(7)

こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類を含む、(6) に記載の酪酸又は乳酸の産生量増強剤。

(8)

(6) 又は (7) に記載の酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む、食品組成物。

(9)

こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸又は乳酸の産生量を増強するための食品組成物。

(10)

こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を用いて、酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法。

上記 (1) ～ (10) において、

こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物を含む、酪酸菌の生育促進剤であってもよく、

こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法であってもよく、

醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を含む、酪酸又は乳酸

の産生量増強剤であってもよく、

醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を用いて、酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法であってもよい。

また、上記各態様において、酪酸菌がアガソバクター レクタリス (*Agathobacter rectalis*) であってもよい。

[0013] 本発明は、以下の通りであってもよい。

(11)

酪酸菌の生育の促進における使用のための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物。

(12)

酪酸菌の生育の促進における使用のための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む食品組成物。

(13)

酪酸菌の生育を促進のための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物の使用。

(14)

酪酸菌の生育を促進するための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む食品組成物の使用。

(15)

酪酸菌の生育促進剤を製造における、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物の使用。

(16)

酪酸菌の生育を促進するための食品組成物を製造における、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物の使用。

上記(11)～(16)において、

こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物が用いられることが好ましく、

こいくち醤油に由来する多糖類を含んでいてもよく、

及び／又は

酪酸菌がアガソバクター レクタリス (*Agathobacter re*
ctalis) であってもよい。

[0014] 本発明は、以下の通りであってもよい。

(21)

酪酸又は乳酸の産生量の増強における使用のための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物。

(22)

酪酸又は乳酸の産生量の増強における使用のための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む食品組成物。

(23)

酪酸又は乳酸の産生量を増強するための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物の使用。

(24)

酪酸又は乳酸の産生量を増強するための、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む食品組成物の使用。

(25)

酪酸又は乳酸の産生量増強剤を製造における、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物の使用。

(26)

酪酸又は乳酸の産生量を増強するための食品組成物を製造における、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物の使用。

上記(21)～(26)において、

醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物が用いられることが好ましく、

醤油様調味液に由来する多糖類を含んでいてもよく、

及び／又は

酪酸菌がアガソバクター レクタリス (*Agathobacter re*

c t a l i s)であってもよい。

- [0015] 本発明においては、治療的な発明であってもよいが、非治療的な発明であってもよい。すなわち、治療的又は非治療的な方法の発明であってもよく、治療的又は非治療的な使用の発明であってもよく、治療的又は非治療的な物の発明であってもよい。

発明の効果

- [0016] 本発明により、酪酸菌の生育を促進することが可能な新規成分を提供することが可能となる。また、本発明により、酪酸又は乳酸の産生量を増強させることが可能な新規成分を提供することも可能となる。

図面の簡単な説明

- [0017] [図1]醤油様調味液のエタノール沈殿物の赤外吸収スペクトルを、赤外分光光度計を用いて、フーリエ変換赤外分光法 (F T I R) によって測定した結果を示す。

発明を実施するための形態

- [0018] 以下、本発明を実施するための形態（以下、「本実施形態」という。）について詳細に説明する。なお、本発明は以下の本実施形態に限定されるものではない。
- [0019] 本実施形態は、こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、すなわち、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を含む、酪酸菌の生育促進剤を提供する。
- [0020] 本実施形態において、「こいくち醤油」とは、例えば、日本農林規格に規定される「こいくちしょうゆ」に当たる醤油を対象とする。また、全窒素分が0.95 g / 100 mL以上のものであってもよい。本実施形態における「こいくち醤油」は、例えば、大豆や麦等の原料に麹菌を加えてできた麴に食塩水を加え、その後発酵・熟成を経ることで、作られる。
- [0021] 本実施形態において、「醤油様調味液」とは、日本農林規格に規定される「しょうゆ」と同様の用途で用いられる調味液をいう。

[0022] 醤油様調味液としては、特に限定されないが、例えば、特開 2016-086700 号公報及び特開 2016-059382 号公報に記載される醤油様調味液が挙げられる。

醤油様調味液は、特に限定されないが、例えば、以下のようにして製造することができる。

穀物原料に、麹菌を加え、25～40℃で2～3日培養することで醤油麴を得る。醤油麴に、食塩濃度が4% (w/v) 未満となるように食塩水を加え、25～57℃で0～48時間加温分解することで諸味を得る。諸味に殺菌処理を行い、その後酵母を諸味1gあたり 1×10^5 個以上添加して、15～45℃で1～90日間発酵を行う。発酵が終了した諸味は圧搾、火入れ、清澄、濾過等の常法による製成を行うことで、醤油様調味液を得る。

また、発酵が終了した諸味を圧搾する前、火入れする前、清澄化する前、濾過等の処理を行う前、又は全ての工程終了後に、食塩を添加して醤油様調味料を得てもよい。

醤油様調味液を得る際に用いられる、穀物原料、麹菌、及び酵母等については、特に限定されないが、従来公知のものを用いてよい。

穀物原料としては、特に限定されないが、例えば、丸大豆、脱脂大豆、大豆タンパク、小麦グルテン、えんどう豆、そら豆、及び小豆等に代表される蛋白質原料、並びに、小麦、大麦、ライ麦、フスマ、米、米ぬか、とうもろこし、及び澱粉粕等に代表される澱粉質原料等が挙げられる。

麹菌としては、特に限定されないが、例えば、アスペルギルス・ソーヤ (*Aspergillus sojae*) 及びアスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) 等が挙げられる。

酵母としては、特に限定されないが、例えば、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、チゴサッカロマイセス・ルキシー (*Zygosaccharomyces rouxii*)、及びクリュイペロマイセス・マルシアヌス (*Kluyveromyces marxianus*) 等が挙げられる。

また、調製した諸味は、乳酸、酢酸、リンゴ酸、クエン酸、グルコン酸、及びアジピン酸等の有機酸を用いてpHを3.0～7.0に調整して、次工程に供してもよい。

[0023] 醤油様調味液の具体的な製造法の一例を以下に示す。加熱変性した大豆と小麦を等量含む固体培地に、麹菌アスペルギルス・ソーヤの孢子を添加して、常法に則り25～40℃で42時間製麹することで醤油麹を得る。次に加熱変性した大豆と醤油麹を1：2倍以上の割合で混合し、食塩濃度が4%（w/v）未満となるように食塩水を混合し、50℃、100rpm、24時間、攪拌し消化する。室温まで冷却したのちに、乳酸を添加しpHが4.0～5.0となるように調整した諸味を得る。その後、121℃、5分間の殺菌処理を行うと同時に、諸味中の酵素も失活させる。醤油酵母チゴサッカロマイセス・ルキシーを 1×10^7 個/g諸味となるように添加し、諸味品温25℃で常法どおり適時通気を行い、5日間発酵を行う。得られる諸味に食塩濃度10%になるよう食塩を混合した後、圧搾濾過し、得られた生揚げを80℃、30分火入れし、清澄タンクに入れて3日間清澄（オリ引き）することで、澄明で、風味良好な醤油様調味液を得る。

[0024] 本実施形態において、「こいくち醤油のエタノール沈殿物」、「醤油様調味液のエタノール沈殿物」は、それぞれ、「こいくち醤油」、「醤油様調味液」に対して、エタノールを添加することで得られる沈殿物である。

こいくち醤油のエタノール沈殿物又は醤油様調味液のエタノール沈殿物は、特に限定されないが、当業者に公知の方法で得ることができる。例えば、エタノールの終濃度が10～99%（v/v）になるようにエタノールをこいくち醤油又は醤油様調味液に添加し、－80℃～30℃の温度において、1秒～30分間静置することで沈殿物を得ることができる。エタノールを添加した後、適宜遠心することで沈殿物を得てもよい。得られた沈殿物は、セルロース系の透析膜等を用いて透析することで、希望の分子サイズを有する沈殿物を選択してもよい。また、沈殿物（透析後の沈殿物も含む）を水等の溶媒に溶かしたものを、本実施形態において用いてもよい。

エタノール沈殿に用いるエタノールとしては、特に限定されないが、90%濃度以上のエタノールを用いればよい。

[0025] 本実施形態における酪酸菌の生育促進剤は、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種のみを含んでもよくこいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる2、3、又は4種を含むものであってもよい。また、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、又は醤油様調味液のいずれかのみ含むものであってもよい。

[0026] 本実施形態において、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、又は醤油様調味液のエタノール沈殿物は、多糖類を含んでいてもよい。この場合、本実施形態は、こいくち醤油又は醤油様調味液由来の多糖類を含む、酪酸菌の生育促進剤をも提供する。

こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類は、当業者に公知の方法で分析することができ、例えば、フーリエ変換赤外分光法（FTIR）やHPLC法を用いて分析することができる。

多糖類は、多数の単糖分子が互いにグリコシド結合してできた糖類である。本実施形態における多糖類は、500Daより大きい分子量を有するものであってよい。こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類としては、特に限定されないが、例えば、特開2012-036100号公報及び特開2005-179315号公報等を参考に理解されるものであってよい。また、例えば、製造の過程で分解されずに最終的に醤油に残る多糖類は、ポリガラクトuron酸であることから（菊地忠昭、大豆細胞壁多糖類の醤油醸造における変化、日本農芸化学会誌、1976、50（6）、273-277.）、こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類は、ポリガラクトuron酸を主成分とするものであってもよい。さらに、大豆由来の多糖類の構成糖組成（中村彰宏、オカラ由来の大豆多糖類の開発と食品機能剤としての利用、日本食品科学工学会誌、2011、58（11）、

559-566. 又は、特開2012-036100号公報)、及び醤油由来の多糖類の構成糖組成(菊地忠昭、大豆細胞壁多糖類の醤油醸造における変化、日本農芸化学会誌、1976, 50(6), 273-277.)から、本実施形態における多糖類の構成糖として、ガラクトン酸以外に、ガラクトース、アラビノース、ラムノース、フコース、キシロース、グルコース、マンノース、及びリボースを含む多糖類であってもよい。構成糖であるアラビノース及びガラクトースからなるアラビノガラクトンは、その一部が本実施形態に含まれる多糖類であるポリガラクトン酸に結合しているもよい。

こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類としては、特に限定されないが、例えば、特開2012-036100号公報及び特開2005-179315号公報等を参考に理解されるものであってよい。

[0027] 本実施形態における一形態として、腸において酪酸を増加させるためには、食物繊維等の多糖類が酪酸菌等によって代謝され酪酸菌が増えることが重要である。酪酸菌が増えた結果として、酪酸産生量の増加が期待できる。つまり、食物繊維等の多糖類が酪酸菌等によって代謝されることで、酪酸菌等の生育が促進され、酪酸菌等の数が増えることで、酪酸等の産生量の増加が期待できる。本実施形態においては、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、又は醤油様調味液のエタノール沈殿物には、多糖類が含まれ得るため、酪酸菌等により多糖類が代謝されることで、酪酸等が産生される。また、多糖類を代謝して酪酸等を産生する酪酸菌等が増えた結果、腸における酪酸の増加が期待でき、腸において酪酸等の有する生理機能が発揮されることが期待される。

[0028] 本実施形態における酪酸菌の生育促進剤は、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を含むことにより、酪酸菌の生育を促進することが可能である。

酪酸菌の生育が促進していることは、酪酸菌の増殖に基づいて評価してよ

い。すなわち、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を酪酸菌に与えない場合と比べて、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を酪酸菌に与える場合の方が、酪酸菌の数が多いとき、酪酸菌の生育が促進されていると評価できる。また、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を酪酸菌に与えない場合と比べて、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を酪酸菌に与える場合の方が、酪酸菌の数が多く、それに伴い酪酸菌による酪酸の産生量が多いときも、酪酸菌の生育が促進されていると評価できる。

酪酸菌の増殖は、当業者に公知の方法で評価することができ、例えば、 OD_{600} の値を測定して評価することができる。

[0029] 酪酸菌は、特に限定されるものではないが、例えば *Agathobacter rectalis*、*Faecalibacterium prausnitzii*、*Clostridium methylpentosum*、*Clostridium leptum*、*Clostridium sporosphaeroides*、*Clostridium cellulosi*、*Clostridium viride*、*Roseburia intestinalis*、*Roseburia inulinivorans*、*Roseburia faecis*、*Roseburia hominis*、*Eubacterium hallii*、*Anaerostipes caccae*、*Coprococcus comes*、*Coprococcus eutactus*、*Anaerostipes hadrus*、*Clostridium coccoides*、*Clostridium celerecrescens*、*Clostridium boltei*、*Clostridium oroticum*、*Clostridium nexi*

le、Clostridium scindens、Clostridium butyricum、Blautia wexlerae等が挙げられ、Agathobacter rectalisが好適である。

[0030] 酪酸菌として好適なAgathobacter rectalisを例として説明すると、Agathobacter rectalisは、ゲノム上に52個のグリコシダーゼを有し、例えば、 β フルクトフラノシダーゼ、 α -アラビノフラノシダーゼ、 β -キシロシダーゼ、エキソオリゴキシラーゼ、 α -アミラーゼ、 α -及び β -グルコシダーゼ、 α -及び β -ガラクトシダーゼ、並びにセルラーゼを含む。他の酪酸菌においても同様に、同様の酵素群を含む。Agathobacter rectalisは、他の酪酸菌より多種類の多糖分解酵素を含むため、多糖類を代謝し、高い酪酸産生能を有することが期待され、本発明においてより好適といえる。また、本実施形態においては、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、又は醤油様調味液のエタノール沈殿物には、多糖類が含まれていてもよい。そのようなこいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、又は醤油様調味液のエタノール沈殿物が、酪酸菌の生育を促進し、酪酸又は乳酸の産生量を増強し得ると考えられる。

[0031] 本実施形態において、酪酸は、炭素4原子の直鎖飽和カルボン酸であって、 n -酪酸や、イソ酪酸であってもよい。本実施形態において、乳酸は、不斉炭素を有する α -ヒドロキシ酸であり、D体の乳酸や、L体の乳酸であってもよく、その両方を含むものであってもよい。

[0032] 本実施形態である酪酸菌の生育促進剤の態様は、以下に述べる他の実施形態にも適用される。

[0033] 他の実施形態として、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法も提供する。

上記の他の実施形態である酪酸菌の生育を促進する方法は、例えば、体内（好ましくは、腸内）において酪酸菌を増やすために実施されたり、酪酸菌

によって酪酸を産生する際に実施されたりすることで、酪酸菌の増殖を促進することができ、酪酸菌の増殖を促進することにより酪酸菌による酪酸の産生量を増強することもできる。体内において酪酸菌を増やすために、酪酸菌の生育を促進する方法を実施する場合、当該方法は、対象に、本実施形態における酪酸菌の生育促進剤を投与する工程を含んでもよい。投与対象は、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはヒト、サル、ネコ、ブタ、ウマ、ウシ、マウス、ラット、モルモット、イヌ及びウサギであり、更に好ましくはヒトである。酪酸菌の生育促進剤の投与量や投与頻度は、投与経路、並びに、投与対象の年齢、体重、及び症状等の種々の状況に応じて適宜設定してよい。

[0034] 他の実施形態として、酪酸菌の生育促進剤を含む食品組成物をも提供する。すなわち、酪酸菌の生育を促進するこいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を含む、食品組成物を提供する。

食品組成物中に、酪酸菌の生育促進剤を含むことで、食品組成物中に酪酸菌が存在することにより、あるいは、食品組成物が、酪酸菌の存在する環境下に存在することにより、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上による酪酸菌の生育促進機能が発揮される。酪酸菌の生育促進剤を、直接、その機能が発揮し得るようにしてもよく、酪酸菌の生育促進剤を、食品組成物中に含ませて、その機能が発揮し得るようにしてもよい。

本実施形態において、食品組成物として、酪酸又は乳酸を含む、酪酸菌の生育を促進するための食品組成物であってもよい。酪酸菌の生育促進剤を含む、食品組成物は、酪酸菌の生育促進剤を含む、酪酸菌の生育を促進するための食品組成物であってもよい。

[0035] 他の実施形態として、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる1種以上を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を提供する。

酪酸又は乳酸の産生量増強剤は、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を含むことにより、酪酸又は乳酸の産生量を増強することが可能である。

酪酸又は乳酸の産生量が増強していることは、酪酸菌による酪酸又は乳酸の産生量に基づいて評価してよい。すなわち、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を酪酸菌に与えない場合と比べて、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を酪酸菌に与える場合の方が、酪酸菌による酪酸又は乳酸の産生量が多いとき、産生量が増強していると評価できる。例えば、酪酸菌にこいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を与える場合の方が、酪酸菌の一細胞が産生する酪酸又は乳酸の量が多いとき、産生量が増強していると評価できる。また、例えば、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を酪酸菌に与える場合の方が、酪酸菌の数が多く、それに伴い酪酸菌による酪酸又は乳酸の産生量が多くなるときも、産生量が増強していると評価できる。さらにまた、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を酪酸菌に与える場合の方が、酪酸菌の一細胞が産生する酪酸又は乳酸の量が多く、さらに酪酸菌の数が多いときも、産生量が増強していると評価できる。

酪酸又は乳酸の産生量は、当業者に公知の方法で測定することができ、例えば、HPLC法等を用いて測定することができる。

酪酸又は乳酸の産生量増強剤は、酪酸及び乳酸の両方の産生量を増強してもよい。

[0036] 他の実施形態として、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を用いて、酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法をも提供する。

酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法は、例えば、体内（好ましくは、腸内）において酪酸を増やすために実施されたり、酪酸菌によって酪酸を産生する際に実施されたりすることで、酪酸菌による酪酸の産生量を増強することができる。体内において酪酸を増やすために、酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法を実施する場合、当該方法は、対象に、本実施形態における酪酸又は乳酸の産生量増強剤を投与する工程を含んでもよい。投与対象は、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはヒト、サル、ネコ、ブタ、ウマ、ウシ、マウス、ラット、モルモット、イヌ及びウサギであり、更に好ましくはヒトである。酪酸又は乳酸の産生量増強剤の投与量や投与頻度は、投与経路、並びに、投与対象の年齢、体重、及び症状等の種々の状況に応じて適宜設定してよい。

[0037] 本明細書において、方法は、治療方法と非治療方法を含み、また、使用は、治療的使用と非治療的使用を含む。

[0038] 他の実施形態として、酪酸菌の生育促進剤を含む食品組成物は、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む食品組成物として理解されてもよい。すなわち、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上を含む、食品組成物は、酪酸菌の生育促進剤を含む食品組成物であってよく、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む食品組成物であってもよく、その双方であってもよい。

本実施形態において、食品組成物として、酪酸又は乳酸を含む、酪酸又は乳酸の産生量を増強するための食品組成物であってもよい。酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む、食品組成物は、酪酸菌の生育促進剤を含む、酪酸又は乳酸の産生量を増強するための食品組成物であってもよい。

[0039] 酪酸菌の生育促進剤、又は酪酸若しくは乳酸の産生量増強剤は、特に限定

されないが、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、液剤、シロップ剤、チュアブル、トローチ等の経口剤、軟膏剤、ゲル剤、クリーム剤、注射剤、舌下剤、吸入剤、又は坐剤等の剤型であってよい。これらの剤型とするためには、従来公知の添加剤を用いて製造することができ、特に限定されないが、例えば、業界において公知の賦形剤、結合剤、希釈剤、崩壊剤、緩衝剤、増粘剤、安定剤、乳化剤、分散剤、懸濁化剤、及び／又は防腐剤等を、必要に応じて用いてよい。

また、食品、飼料、又は医薬品等に、酪酸若しくは乳酸の産生量増強剤、又は酪酸菌の生育促進剤を配合して提供してもよい。

[0040] 酪酸菌の生育促進剤、又は酪酸若しくは乳酸の産生量増強剤における、こいくち醤油、こいくち醤油のエタノール沈殿物、醤油様調味液、及び醤油様調味液のエタノール沈殿物からなる群から選ばれる１種以上の含有量は、その機能を発揮し得る限り、任意の含有量であってよいが、酪酸菌の生育促進剤、又は酪酸若しくは乳酸の産生量増強剤の全量に対して、０．１質量％以上であることが好ましく、例えば、０．１質量％、０．２質量％、０．５質量％、１．０質量％、２．０質量％、３．０質量％、４．０質量％、５．０質量％、又は１０質量％以上であってよい。

[0041] 食品組成物は、例えば、使用の態様に適した形態とすることができ、特に限定されないが、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、液剤、シロップ剤、チュアブル、トローチ等の経口剤、軟膏剤、ゲル剤、クリーム剤、注射剤、舌下剤、吸入剤、又は坐剤等の剤型であってよい。食品組成物は、特に限定されないが、例えば、固形状、液状、顆粒状、粒状、粉末状、カプセル状、クリーム状、ペースト状、又はゼリー状等の食用に適した形態とすることができる。また例えば、カプセル状にする際は、必要に応じて一層以上の膜で被膜してもよい。これらの剤型や形態とするためには、従来公知の添加剤を用いて製造することができ、特に限定されないが、例えば、食品業界において公知の賦形剤、結合剤、希釈剤、崩壊剤、緩衝剤、増粘剤、安定剤、乳化剤、分散剤、懸濁化剤、及び／又は防腐剤等を、必要に応じ

て用いてよい。

- [0042] 食品組成物としては、特に限定されないが、例えば、飲食品、健康食品、機能性食品、特定保健用食品、栄養機能食品、健康補助食品、及びサプリメント等が挙げられる。

飲食品としては、例えば、飲料、食品、調味料、及び食品添加物等が挙げられ、飲料としては、具体的には、清涼飲料水、果汁飲料、炭酸飲料、乳飲料、アルコール飲料、スポーツドリンク、及び栄養ドリンク等が挙げられ、食品としては、具体的には、パン類、麺類、米類、スープ類、惣菜類、豆腐、乳製品、及び菓子類等が挙げられる。また、調味料としては、具体的には、味噌、醤油、又はドレッシングといった用途で利用されるものが挙げられる。

- [0043] 食品組成物には、必要に応じて、着色料、香料、甘味料、苦味料、酸味料、保存料、酸化防止剤、pH調整剤、及び／又は増粘安定剤等が添加されていてもよい。

- [0044] 食品組成物は、加熱殺菌をされてから提供されてもよく、また、袋や容器に封入された形態で提供されてよい。また、提供の際に、「腸のバリア機能を高める」、「腸の酪酸菌を増やす」、「腸の酪酸菌を育てる」、「腸の調子が気になる方に」といった表示が付されていてもよい。

- [0045] 食品組成物において、好ましくは、その機能を発揮し得る限り、任意の量の酪酸菌の生育促進剤、又は酪酸若しくは乳酸の産生量増強剤を含むことができる。

実施例

- [0046] 以下、具体例を挙げて、本発明をさらに具体的に説明する。なお、本発明は、これにより限定されるものではない。

- [0047] 〈実施例1〉こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿が、酪酸菌の増殖に与える影響の評価

(1) Modified YCFA培地の調製

酪酸菌の培養と、下記のこいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿

物の調製に用いるYCF A培地を下記表1-1～表1-6に従って調製した。調製したYCF A培地を、10N NaOHを用いてpHを7.45に調整した後に、121℃、20分間オートクレーブ滅菌した。その後、オートクレーブ滅菌した培地を室温に戻し、0.5mLのVitamin SolutionII（表1-7）を添加した。

[0048] 続いて、理化学研究所バイオリソース研究センターより購入した酪酸菌である*Agathobacter rectalis* JCM 17463^T株（以下*A. rectalis*と表記する。）を培養した前培養液をYCF A培地に2%（v/v）になるように植菌し、無酸素状態の嫌気性チャンバー（COY社製）内で、水素濃度を一定に保った条件下、37℃で、16時間静置培養を行った。その培養液を7,500rpm（5,100×g）で、10分間遠心し、上清を0.20μmのMinisart（登録商標）Syringe Filter（ザルトリウス社製）のフィルターで2度ろ過滅菌したものをModified YCF A培地とした。

上記で作製したYCF A培地、Modified YCF A培地と同じものを、実施例2以降でも用いた。

[0049] 表1-1 YCF A培地 500mL

[表1-1]

成分名	重量又は体積
T r y p t o n e	5 . 0 0 g
Y e a s t e x t r a c t	1 . 2 5 g
N a H C O ₃	2 . 0 0 g
G l u c o s e	1 . 0 0 g
M a l t o s e	1 . 0 0 g
C e l l o b i o s e	1 . 0 0 g
L - C y s t e i n e · H C l · H ₂ O	0 . 5 0 g
R e s a z u r i n	0 . 5 m g
M i n e r a l s o l u t i o n I	7 5 . 0 m L
M i n e r a l s o l u t i o n II	7 5 . 0 m L
V F A m i x	3 . 1 m L
H e m i n s o l u t i o n	5 . 0 m L
V i t a m i n s o l u t i o n I	0 . 5 m L
D i s t i l l e d w a t e r	3 3 0 . 0 m L

[0050] 表1-2 M i n e r a l s o l u t i o n I

[表1-2]

成分名	重量又は体積
K ₂ H P O ₄	0 . 2 2 5 g
D i s t i l l e d w a t e r	7 5 . 0 0 m L

[0051] 表1-3 M i n e r a l s o l u t i o n II

[表1-3]

成分名	重量又は体積
K H ₂ P O ₄	0 . 2 2 5 g
(N H ₄) ₂ S O ₄	0 . 4 5 0 g
N a C l	0 . 4 5 0 g
M g S O ₄ · 7 H ₂ O	0 . 0 4 5 g
C a C l ₂ · 2 H ₂ O	0 . 0 4 5 g
D i s t i l l e d w a t e r	7 5 . 0 0 m L

[0052] 表1-4 V F A (v o l a t i l e f a t t y a c i d) m i x

[表1-4]

成分名	体積
A c c e t t i c a c i d	1 7 . 0 m L
P r o p i o n i c a c i d	6 . 0 m L
n - V a l e r i c a c i d	1 . 0 m L
i s o - V a l e r i c a c i d	1 . 0 m L
i s o - B u t y r i c a c i d	1 . 0 m L
1 0 N N a O H	2 6 . 0 m L

[0053] 表1-5 H e m i n s o l u t i o n

[表1-5]

成分名	重量又は体積
p o t a s s i u m h y d r o x i d e	0 . 1 4 g
H e m i n	0 . 0 5 g
E t h a n o l	1 2 . 5 m L
D i s t i l l e d w a t e r	3 7 . 5 m L

[0054] 表1-6 V i t a m i n S o l u t i o n I

[表1-6]

成分名	重量又は体積
B i o t i n	0 . 5 m g
V i t a m i n B 1 2	0 . 5 m g
p - A m i n o b e n z o i c a c i d	1 . 5 m g
F o l i c a c i d	2 . 5 m g
P y r i d o x i n e ・ H C l	7 . 5 m g
D i s t i l l e d w a t e r	5 0 . 0 m L

[0055] 表1-7 V i t a m i n S o l u t i o n II

[表1-7]

成分名	重量又は体積
T h i a m i n e ・ H C l	2 . 5 m g
R i b o f l a v i n	2 . 5 m g
D i s t i l l e d w a t e r	5 0 . 0 m L

[0056] (2) こいくち醤油のエタノール沈殿物の調製

こいくち醤油（キッコーマン株式会社製）に対して3倍量の99.5%エタノールを添加し、生じた沈殿物をMilliQ水に溶解した。Spectra/Por（登録商標）Float-A-Lyzer（登録商標）G2 CE, 100D-500D 10 mL（REPLIGEN社製）を用いて、MilliQ水に対して沈殿物を含む溶液の透析を24時間行った。透析後の溶液は、卓上棚板式真空凍結乾燥機Advantage Proシリーズ（SP Scientific社製）を用いて、48時間凍結乾燥させることで、こいくち醤油のエタノール沈殿物を得た。乾燥粉体は、重量を測定し、Modified YCFA培地に溶解させ、0.22 μ mのPESシリンジフィルター（大阪ケミカル社製）でろ過滅菌して、下記（3）で用いた。

[0057] （3）こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物が、*A. rectalis*の増殖に与える影響の評価

グリセロールストックとして-80℃で保管した*A. rectalis*を嫌気チャンバー（COY社製）内で解凍し、YCFA培地で5倍希釈して、水素濃度を一定に保った条件下、37℃で、一晚静置培養を行って復元培養した。その復元培養液をYCFA培地で10倍希釈して継代培養し、その培養液をOD₆₀₀が0.15-0.25の範囲内になるようにModified YCFA培地で希釈して、継代培養液を調製した。

[0058] こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物を所定の濃度で含む950 μ LのModified YCFA培地、又はコントロールとして、こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物を含まないModified YCFA培地に、上記の継代培養液を50 μ L植菌して、水素濃度を一定に保った条件下、37℃で、16時間静置培養を行った。静置培養後、培養液のOD₆₀₀を測定した。

[0059] 所定の濃度でこいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物を含むModified YCFA培地を用いて上記の通り静置培養した培養液のOD₆₀₀の値を、こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物を含まない

Modified YCFA培地を用いて上記の通り静置培養した培養液（コントロール）のOD₆₀₀の値で割った値（増殖活性）を指標として、こいくち醤油又はこいくち醤油のエタノール沈殿物が*A. rectalis*の増殖に与える影響を評価した。以上の評価した結果を表2-1及び表2-2に示した。

[0060] 表2-1 25.0mg/mLこいくち醤油のエタノール沈殿物における、増殖活性の結果

[表2-1]

エタノール沈殿物濃度 (mg/mL)	増殖活性
0 (コントロール)	1.00
25.0	1.34

[0061] 表2-2 5.0% (v/v) こいくち醤油における、増殖活性の結果

[表2-2]

こいくち醤油濃度 (% (v/v))	増殖活性
0 (コントロール)	1.00
5.0	1.23

[0062] <実施例2> 醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物が、酪酸菌の増殖並びにn-酪酸及び乳酸の産生量に与える影響の評価

(1) 醤油様調味液のエタノール沈殿物の調製

醤油様調味液（キッコーマン株式会社製）に対して3倍量の99.5%エタノールを添加し、生じた沈殿物をMilliQ水に溶解した。Spectra/Por（登録商標） Float-A-Lyzer（登録商標）G2 CE, 100D-500D 10 mL（REPLIGEN社製）を用いて、MilliQ水に対して沈殿物を含む溶液の透析を24時間行った。透

析後の溶液は、卓上棚板式真空凍結乾燥機 *Advantage Pro* シリーズ (S P S c i e n t i f i c 社製) を用いて、48時間凍結乾燥させることで、醤油様調味液のエタノール沈殿物を得た。乾燥粉体は、重量を測定し、*Modified YCFA* 培地に溶解させ、 $0.22\mu\text{m}$ の *PES* シリンジフィルター (大阪ケミカル社製) でろ過滅菌して、下記 (2) で用いた。

- [0063] (2) 醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物が、*A. rectalis* の増殖並びに n -酪酸及び乳酸の産生量に与える影響の評価
- グリセロールストックとして -80°C で保管した *A. rectalis* を嫌気チャンバー (C O Y 社製) 内で解凍し、*YCFA* 培地で5倍希釈して、水素濃度を一定に保った条件下、 37°C で、一晩静置培養を行って復元培養した。その復元培養液を *YCFA* 培地で10倍希釈して継代培養し、その培養液を OD_{600} が $0.15-0.25$ の範囲内になるように *Modified YCFA* 培地で希釈して、継代培養液を調製した。
- [0064] 醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を所定の濃度で含む $950\mu\text{L}$ の *Modified YCFA* 培地、又はコントロールとして、醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を含まない *Modified YCFA* 培地に、上記の継代培養液を $50\mu\text{L}$ 植菌して、水素濃度を一定に保った条件下、 37°C で、15時間静置培養を行った。静置培養後、培養液の OD_{600} を測定した。
- [0065] 静置培養した培養液の上清を $15,000\text{rpm}$ ($204\times 100\text{g}$)、 4°C で、10分間遠心した。遠心上清を $0.22\mu\text{m}$ の *Millex* (登録商標) -GV、PVDF (*Merck* 社製) を用いてろ過滅菌し、 $500\mu\text{L}$ 容量の *Amicon* (登録商標) *Ultra Ultracel-10K-0.5mL* (*Merck* 社製) に加えて $12,900\text{rpm}$ ($150\times 100\text{g}$)、 4°C で、10分間遠心し、限外ろ過を行った。フロースルー溶液を回収し、*Nexera* 有機酸分析システム (島津製作所) を用いて、 pH 緩衝化-電気伝導度検出法 (島津高速液体クロマトグラフ 有機酸分析シ

ステム，応用データ集，）によりn－酪酸及び乳酸の量を測定した。n－酪酸及び乳酸の分離には、Shim-pack SCR-102H（300mm×8mm I.D. 7μm）カラムを3本直列接続（温度50℃）し、溶離液として2.5mmol/L p－トルエンスルホン酸水溶液（流量0.8mL/min）を用いた。検出には、カラムからの溶出液と2.5mmol/L p－トルエンスルホン酸、10mmol/L Bis-Tris及び0.05mmol/L EDTA-4H緩衝液（流量0.8mL/min）を混合し、電気伝導度計（polarity: +）を用いた。

[0066] 所定の濃度で醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を含むModified YCFA培地を用いて上記の通り静置培養した培養液のOD₆₀₀の値を、醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を含まないModified YCFA培地を用いて上記の通り静置培養した培養液（コントロール）のOD₆₀₀の値で割った値（増殖活性）を指標として、醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物がA. rectalisの増殖に与える影響を評価した。醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物がn－酪酸及び乳酸の産生量に与える影響についても、前記と同様に、上記のHPLC法で測定したn－酪酸及び乳酸の量の値を、コントロールでの値で割った値（n－酪酸及び乳酸の産生量比）を指標として評価した。以上の評価した結果を表2－1及び表2－2に示した。

[0067] 表3－1 醤油様調味液のエタノール沈殿物の各濃度における、増殖活性並びにn－酪酸及び乳酸の産生量比の結果

[表3-1]

エタノール沈殿物濃度（mg/mL）	増殖活性	産生量比	
		n－酪酸	乳酸
0（コントロール）	1.00	1.00	1.00
2.5	1.26	1.29	1.20
5.0	1.57	1.68	1.42
10.0	2.10	2.50	2.02
25.0	3.50	5.00	4.05

[0068] 表3－2 5.0%（v/v）醤油様調味液における、増殖活性並びにn－

酪酸及び乳酸の産生量比の結果

[表3-2]

醤油様調味液濃度（％（v／v））	増殖活性	産生量比	
		n－酪酸	乳酸
0（コントロール）	1．00	1．00	1．00
5．0	2．63	3．30	1．50

[0069] 〈比較例1〉イヌリンが*A. rectalis*の増殖並びにn－酪酸及び乳酸の産生量に与える影響の評価

イヌリン（フジ日本精糖株式会社製）を所定の濃度で含むModified YCFA培地を用いて、実施例2と同様の方法で、*A. rectalis*の増殖活性並びにn－酪酸及び乳酸の産生量比を評価した結果を表3に示した。醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物を用いた実施例2の方が、増殖活性並びにn－酪酸及び乳酸の産生量比の値は大きく、酪酸菌の増殖並びにn－酪酸及び乳酸の産生量に与える影響は、醤油様調味液又は醤油様調味液のエタノール沈殿物の方が大きいことが分かった。

[0070] 表4 イヌリンの各濃度における、増殖活性並びにn－酪酸及び乳酸の産生量比の結果

[表4]

イヌリン濃度（mg／mL）	増殖活性	産生量比	
		n－酪酸	乳酸
0（コントロール）	1．00	1．00	1．00
2．5	1．09	0．98	0．99
5．0	1．16	0．86	0．89
10．0	1．21	1．20	1．27
25．0	1．38	1．41	1．54

[0071] 〈実施例3〉醤油様調味液のエタノール沈殿物の成分評価

醤油様調味液のエタノール沈殿物を凍結乾燥させた粉体の赤外吸収スペクトルを、L－アラニンドーブ重水素化硫酸三グリシン（DLATS）検出器を備えたフーリエ変換赤外分光光度計（IRAffinity-1S，島津製作所）を用いて、フーリエ変換赤外分光法（FTIR）によって測定した。測定は、透過法で行い、測定波数範囲は400－4000cm⁻¹、分解

能は 4 cm^{-1} 、45回積算で実施した。

[0072] その結果、水酸基に由来する 3279 cm^{-1} 、カルボニル基に由来する 1584 cm^{-1} 、C-Hに由来する 1402 cm^{-1} 及びエーテル基に由来する 1042 cm^{-1} のピークが検出され、醤油様調味液のエタノール沈殿物の主成分は糖類であると示唆された（図1）。

[0073] さらに上記の醤油様調味液のエタノール沈殿物について、単糖類の分析を、公表されている液体クロマトグラフィーを用いた方法（HPLC Chromaster（クロムマスター）－糖分析の紹介（Chromaster リン酸－フェニルヒドラジンポストカラム法）、日立ハイテク、<https://www.hitachi-hightech.com/jp/ja/knowledge/analytical-systems/hplc/chromaster-ultra/cm-data26.html>）を参考にして実施した。その結果、単糖類や二糖類は検出されなかった。以上の実施例3の結果から、本願発明に係る醤油様調味液のエタノール沈殿物は主として多糖類からなるものと確認された。

請求の範囲

- [請求項1] こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸菌の生育促進剤。
- [請求項2] こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類を含む、請求項1に記載の酪酸菌の生育促進剤。
- [請求項3] 請求項1又は2に記載の酪酸菌の生育促進剤を含む、食品組成物。
- [請求項4] こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸菌の生育を促進するための食品組成物。
- [請求項5] こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法。
- [請求項6] こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤。
- [請求項7] こいくち醤油又は醤油様調味液に由来する多糖類を含む、請求項6に記載の酪酸又は乳酸の産生量増強剤。
- [請求項8] 請求項6又は7に記載の酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む、食品組成物。
- [請求項9] こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を含む、酪酸又は乳酸の産生量を増強するための食品組成物。
- [請求項10] こいくち醤油若しくは醤油様調味液、又はそれらのエタノール沈殿物を用いて、酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法。