

## 明 細 書

発明の名称：

酵母菌から抽出されたポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物及びその製造方法。

### 技術分野

[0001] 本発明は、酵母菌から抽出されたポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物及びその製造方法に関するものである。

### 背景技術

[0002] ポリリン酸は、リン酸を重合させることで、容易に化学合成されることが知られている。ポリリン酸は、例えば、化粧品，育毛剤，口腔清掃剤，食品添加物，医療材料及び医療製剤に用いられている。一般的に、ポリリン酸は、リン酸を加熱する方法，リン酸に五酸化リンを添加溶解する方法といった化学合成による方法により製造される（特許文献１）。

[0003] 化学合成されたポリリン酸は、細胞増殖因子のような細胞内のタンパク質を安定化させることができる（非特許文献１）。さらに、ポリリン酸は、組織修復促進能をもち、外傷，火傷の治癒促進，歯周病治療，手術後の治癒促進などに利用可能である（特許文献２）。また、ポリリン酸は、血管新生促進作用を有することが知られている（特許文献３）。さらにポリリン酸は、腸の上皮細胞の隙間を狭めることにより、有害物質や病原菌の進入から腸を保護し、整腸作用を示すことが知られている（非特許文献２）。

[0004] しかし、化学合成されたポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物は、分子の形状が大きいため、細胞に対する浸透能力が低く、少量の塗布や投与では細胞増殖が促進されにくいという問題点があった。また、化粧品，育毛剤，口腔清掃剤及び食品，食品添加物は、長期間に渡って、肌に塗布するか、口腔内もしくは経口摂取して使用するものであるため、含有成分は天然素材のものが好まれる傾向にある。そのため、化学合成のポリリン

酸ではなく、微生物で天然に合成されたポリリン酸が化粧料、育毛剤、口腔清掃剤、食品、食品添加物及びサプリメントに用いられることが望まれている。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0005] 特許文献1：特表2004-537490号公報

特許文献2：特開2007-54080号公報

特許文献3：特開2007-169171号公報

## 非特許文献

[0006] 非特許文献1：Shiba et al., J. Biol. Chem. 278, 26788-26792 (2003)

非特許文献2：Segawa et al., PLoS ONE, 6, e23278 (2011)

## 発明の概要

## 発明が解決する課題

[0007] 本発明は、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能が高く、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持に作用するポリリン酸組成物を提供することを目的とする。さらに、腸の上皮細胞の隙間を狭めることにより、有害物質や病原菌の進入から腸を保護し、整腸作用を示すポリリン酸組成物を提供することを目的とする。またさらに本発明は、安全性が高く、天然に合成されたポリリン酸を含むポリリン酸組成物を提供することを目的とする。

[0008] 本発明は、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能が高く、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持に作用するポリリン酸組成物の製造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] 本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意検討を重ねた結果、酵母菌か

ら抽出されるポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物を製造することができ、本発明を完成するに至った。

[0010] 本発明の第1の側面は、酵母菌から抽出されるポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物に関する。酵母菌から抽出されたポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物は、細胞に対する浸透力が高い。さらに、ポリリン酸組成物を皮膚，歯茎，及び頭皮に塗布することで、ポリリン酸組成物は細胞増殖，細胞延命，毛髪伸長，及び毛髪の成長期維持に有効に作用する。

[0011] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、酵母菌が出芽酵母である。出芽酵母は古くから食用として用いられている酵母菌である。出芽酵母を用いることで、効率的にポリリン酸，ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物を得ることができる。さらに、出芽酵母を用いることで細胞に対する浸透力が高いポリリン酸組成物を得ることができる。さらに、ポリリン酸組成物を皮膚，歯茎，及び頭皮に塗布することで、ポリリン酸組成物は細胞増殖，細胞延命，毛髪伸長，及び毛髪の成長期維持に有効に作用する。

[0012] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、抽出液は、酵母菌の細胞構成物質及びタンパク加水分解物のうち少なくとも1つをさらに含むものである。ポリリン酸組成物に細胞構成物質やタンパク加水分解物を含むことで、酵母菌由来の栄養分をポリリン酸組成物に含有することができる。このことにより、ポリリン酸組成物は、細胞増殖促進能，細胞に対する浸透性，及び細胞延命促進能を有し、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持により有効に作用する。

[0013] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、抽出液は、ビタミン及びミネラルのうち少なくとも1つをさらに含むものである。ポリリン酸組成物にビタミンやミネラルを含むことで、ポリリン酸組成物は、細胞増殖促進能，細胞に対する浸透性，及び細胞延命促進能を有し、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持に、より有効に作用する。

- [0014] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、ポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物は、ポリリン酸組成物の総質量に対して、0.01質量%以上70質量%以下含まれるものである。ポリリン酸組成物にポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を有効量含むことで、ポリリン酸組成物は、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能を有し、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持に、より有効に作用する。
- [0015] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、ポリリン酸の重合度が20以上300以下のものである。重合度が20以上300以下のポリリン酸は、水溶性の特性を持ち、細胞成長因子の安定化と活性化能を有する。ポリリン酸の重合度が20以上300以下のものを用いることで、ポリリン酸は水溶性の性質を有する。そのことによって、ポリリン酸組成物は皮膚や頭皮の細胞の増殖を促進し、細胞を活性化する。
- [0016] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、ポリリン酸は最大径10nm以上1000nm以下の形状である。ポリリン酸が、ナノ粒子レベルの大きさであることで、ポリリン酸組成物は皮膚や頭皮の細胞に浸透しやすくなる。
- [0017] 本発明の第1の側面の好ましい態様は、酵母菌が乳酸菌と共培養して得られたものである。実施例によって示されたとおり、酵母菌は乳酸菌と共培養された場合に、ポリリン酸の蓄積能が高まる。このため、酵母菌が乳酸菌と共培養して得られたものの場合は、ポリリン酸の濃度が高まり、その結果優良なポリリン酸組成物を得ることができることとなる。
- [0018] 本発明の第2の側面は、化粧品に関するものである。化粧品には、酵母菌から抽出されるポリリン酸組成物が、有効成分として有効量含まれる。ポリリン酸組成物を化粧品に有効量混合することで、化粧品は、細胞増殖及び細胞延命を促進する働きをする。
- [0019] 本発明の第3の側面は、育毛剤に関するものである。育毛剤には、酵母菌から抽出されるポリリン酸組成物が、有効成分として有効量含まれる。ポリリン酸組成物を育毛剤に有効量混合することで、育毛剤は、毛髪伸長促進し

，毛髪の成長期維持する働きをする。

[0020] 本発明の第4の側面は、口腔清掃剤に関するものである。口腔清掃剤には、酵母菌から抽出されるポリリン酸組成物が、有効成分として有効量含まれる。ポリリン酸組成物を口腔清掃剤に有効量混合することで、口腔清掃剤は、炎症抑制による歯周病の予防及び再生促進効果による歯槽骨の再生、に有効に作用する。

[0021] 本発明の上記とは別の側面は、食品、食品添加物、サプリメント又は整腸剤に関するものである。ポリリン酸は腸の上皮細胞の隙間を狭めることにより、有害物質や病原菌の進入から腸を保護し、整腸作用を示すことが知られている。したがって、酵母に生産させたポリリン酸組成物を食品、食品添加物もしくはサプリメントとして利用することにより、整腸作用をもった製品を提供することができる。

[0022] 本発明の第5の側面は、ポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物含有物の製造方法に関するものである。この方法は、酵母菌塊を得る工程と、酵母菌培養液を得る工程と、酵母菌沈殿物を得る工程と、酵母菌懸濁液を得る工程と、酵母菌抽出液を得る工程と、ポリリン酸組成物を得る工程を含む。酵母菌塊を得る工程は、酵母菌を1℃以上10℃以下の温度条件下で静置し、酵母菌塊を得る工程である。酵母菌培養液を得る工程は、酵母菌塊を、リン酸塩を含有する培養液で培養し、ポリリン酸を含蓄した酵母菌を含む培養液を得る工程である。酵母菌沈殿物を得る工程は、酵母菌培養液を遠心分離し、沈殿物を得る工程である。酵母菌懸濁液を得る工程は、沈殿物として得られた酵母菌を液体に懸濁し、酵母菌が懸濁された懸濁液を得る工程である。酵母菌抽出液を得る工程は、酵母菌懸濁液を加熱処理することで、ポリリン酸を酵母菌体内から抽出し、酵母菌抽出液を得る工程である。ポリリン酸組成物を得る工程は、酵母菌抽出液を、ポリリン酸を含有する上清と酵母菌体画分を含有する沈殿物とに遠心分離し、上清のポリリン酸組成物を得る工程である。上記の工程で、目的のポリリン酸組成物は製造される。本発明に係る製造方法の培養工程は1工程からなり、培養時間は大幅に短

縮される。得られたポリリン酸組成物は、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能を有し、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持に、より有効に作用する。

[0023] 本発明の第5の側面の好ましい態様は、酵母菌抽出液を得る工程は、60℃以上80℃以下の温度で、20分以上40分以下の間、加熱処理をし、前記ポリリン酸とタンパク加水分解物を得る工程である。60℃以上80℃以下の温度で一定時間以上加熱処理をすることで、タンパク加水分解物を得ることができる。ポリリン酸に加えて、タンパク加水分解物を含有するポリリン酸組成物は、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能を有し、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持により有効に作用する。

[0024] 本発明の上記とは別の側面は、ポリリン酸含有酵母及びそのようなポリリン酸含有酵母を含むサプリメント（食品、食品添加物、整腸剤）に関する。このポリリン酸含有酵母は、以下のようにして製造できる。具体的な条件は先に説明した方法を適宜改変して用いることができる。酵母菌塊を、乳酸菌及びリン酸塩を含有する培養液で培養し、ポリリン酸を含蓄した酵母菌培養液を得る。次に、酵母菌培養液を遠心分離し、酵母菌沈殿物を得る。そして、酵母菌沈殿物を用いてポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物のいずれかを含有するポリリン酸含有酵母を得る。

### 発明の効果

[0025] 本発明によれば、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能が高く、さらに、毛髪伸長の促進及び毛髪の成長期維持に作用するポリリン酸組成物を提供することができる。本発明のポリリン酸組成物は、酵母菌体内で天然に合成されたポリリン酸を含むものであり、安全面においても優れたポリリン酸組成物を提供することができる。

[0026] さらに本発明によれば、細胞増殖促進能、細胞に対する浸透性、及び細胞延命促進能が高く、さらに、毛髪の伸長の促進及び毛髪の成長期維持に作用するポリリン酸組成物を製造することができる。また、本発明は、腸管細胞

を健全化し、整腸作用を与えるポリリリソ酸を酵母もしくはそのエキスを有効成分として有効量含む食品、食品添加物、サプリメント又は整腸剤を提供できる。本発明の製造方法は、効率的にポリリリソ酸組成物を得ることができる点において優れている。

### 図面の簡単な説明

[0027] [図1] 図1は、酵母菌より加熱抽出したポリリリソ酸の分子量の分布を示したものである。

[図2] 図2は、酵母菌より抽出したポリリリソ酸粒子の電子顕微鏡写真を示したものである。

[図3] 図3は、酵母菌より抽出したポリリリソ酸を含むポリリリソ酸組成物による線維芽細胞の増殖促進能を示したものである。

[図4] 図4は、酵母菌より抽出したポリリリソ酸で処理を行った人工皮膚のホルマザンの生成を示す図面に替わる写真である。

[図5] 図5は、酵母菌より抽出したポリリリソ酸による毛髪の伸長促進効果を示したものである。

[図6] 図6は、毛髪の伸長期、退行期、無変化の毛包の例を示したものである。

[図7] 図7は、酵母菌より抽出したポリリリソ酸による毛髪の伸長期の維持効果を示したものである。

### 発明を実施するための形態

[0028] 本発明の第1の側面は、酵母菌から抽出されるポリリリソ酸、ポリリリソ酸の塩又はポリリリソ酸の溶媒和物を含むポリリリソ酸の溶媒和物に関する。酵母菌から抽出されたポリリリソ酸、ポリリリソ酸の塩又はポリリリソ酸の溶媒和物を含むポリリリソ酸組成物は、細胞に対する浸透力が高い。さらに、ポリリリソ酸組成物を皮膚、歯茎、及び頭皮に塗布することで、ポリリリソ酸組成物は細胞増殖、細胞延命、毛髪伸長、及び毛髪の成長期維持に有効に作用する。

[0029] ポリリリソ酸組成物は、ポリリリソ酸、ポリリリソ酸の塩又はポリリリソ酸の溶媒和物を含む組成物のことである。ポリリリソ酸組成物は液体、濃縮液、粉体、

固形物といった様々な形状をとることができる。ポリリン酸組成物は、化粧品、育毛剤、口腔清掃剤といった剤に混合するため、水溶性であることが好ましい。また、ポリリン酸組成物にはポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物の他に、細胞構成物質、タンパク加水分解物、ビタミン及びミネラルのうち少なくとも1つをさらに含むことができる。尚、ポリリン酸組成物に含まれるものは、上述したものに限られず、他の有効成分を含むこともできる。

[0030] 酵母菌は、基本的には真核で単細胞の微生物である。酵母菌は、最外層に細胞壁を持ち、細胞壁は多糖類であるグルカン、マンナンを主成分とする。細胞壁の直下には細胞膜があり、様々な受容体、輸送ポンプが存在する。出芽酵母は真核生物であり、核膜と核を有する。その他にも、出芽酵母は、細胞質、ミトコンドリア及び微小管といった細胞器官を有する。酵母菌は一般的に、出芽酵母及び分裂酵母に大別することができる。本発明に用いる酵母菌は、一般的に酵母菌とよばれるものであれば特に限定されず、出芽酵母、分裂酵母を適宜用いることができる。

[0031] 本発明の好ましい態様は、酵母菌が出芽酵母である。出芽酵母は、古くから食品の加工に利用されている。出芽酵母は食品を発酵させ、食品中の糖をアルコールに分解することができる。酵母菌はビールやパン、味噌といった食品の製造に古くから用いられており、食用として用いることの安全性は古くから確かめられている。出芽酵母は、出芽により増殖する酵母菌である。出芽酵母の好ましい例には、サッカロミセス属、トルロプシス属、ミコトルラ属、トルラスポラ属、キャンディダ属、ロードトルラ属、ピキア属がある。本発明では、出芽酵母を用いることで、効率的にポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含むポリリン酸組成物を得ることができる。さらに、出芽酵母を用いることで、皮膚や頭皮細胞により有効に作用するポリリン酸組成物を得ることができる。

[0032] さらに好ましい態様として、酵母菌を乳酸菌と共培養することである。共培養により酵母菌が乳酸菌もしくはその生産する代謝物質の影響を受けて、

ポリリン酸の蓄積量が増加する。

[0033] 微生物は、リン酸を微生物体内に取り込み、ポリリン酸を合成する能力がある。微生物はアデノシン三リン酸（ATP）を利用してポリリン酸を合成する酵素を持つため、取り込んだリン酸からポリリン酸を合成することができる。酵母菌は、微生物であるため、上述した通り、リン酸を微生物体内に取り込み、ポリリン酸を合成する能力がある。

[0034] 酵母菌を、リン酸を含む培養液で培養することにより、酵母菌はリン酸を酵母菌体内に取込む。培養液は、pH 3 から 6 であることが好ましく、酵母菌が産生する目的とするタンパク質の特性に応じて、pH は 3 から 8 であっても良い。培養温度は、20℃以上35℃以下が好ましい。培養液には、マグネシウムやカルシウム及び亜鉛といったミネラル分、及び、ビタミンB2、ビタミンB6、ビタミンC、パントテン酸及び葉酸といったビタミン類を高濃度で含むこともできる。ビタミン及びミネラルは培養液中の総質量に対して、各々0.1質量%から3質量%含むことができる。酵母菌は培養液中に存在するビタミン及びミネラル酵母菌体内にミネラル分やビタミン類が取り込むことができる。

[0035] 酵母菌体内に取り込まれたリン酸は、酵母菌が持つ合成酵素によって、ポリリン酸に合成される。このようにして、酵母菌体内にポリリン酸は含蓄される。合成されたポリリン酸の重合度は、酵母菌の種類やポリリン酸の合成酵素の種類によって異なる。同一種の酵母菌であれば、酵母菌が持つ合成酵素が同一種であるため、得られるポリリン酸の重合度は一定の範囲内になる。さらに、酵母菌の培養温度及び培養時間の調節を行い、酵素活性を制御することによって、所望の重合度のポリリン酸を得ることができる。

[0036] 酵母菌体内で合成されたポリリン酸は、酵母菌に熱ショックを与え、酵母菌体を破壊することによって、抽出することができる。加熱条件は、60℃以上80℃以下の温度で、20分以上40分以下が好ましい。加熱処理によって、酵母菌の細胞壁及び細胞膜は破壊され、酵母菌で合成されたポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含む酵母菌抽出液を得るこ

とができる。抽出液には、細胞壁及び細胞膜は破壊された際、酵母菌の細胞壁、細胞膜、ミトコンドリア、核膜、核内物質及び微小管といった細胞構成物質の一部も抽出される。

[0037] 得られた酵母菌抽出液は、ポリリン酸を含有する上清と酵母菌体画分を含有する沈殿物とに遠心分離され、ポリリン酸組成物は得られる。細胞片の大きさが一定以上の大きさである場合は、細胞片は酵母菌抽出液を遠心分離する工程で沈殿し、取り除かれる。しかし、微細な細胞構成物質は、そのまま抽出液の上清に残る。このことにより、ポリリン酸組成物にはポリリン酸に加えて、酵母菌の細胞構成物質の一部が含まれる。さらに、酵母菌の細胞構成物質、酵母菌が産生したタンパク質が酵素分解された場合は、酵母菌抽出液にはタンパク加水分解物が含まれる。この場合、ポリリン酸組成物にはポリリン酸及び細胞構成物質の一部に加えて、タンパク加水分解物が含まれる。ポリリン酸組成物に細胞構成物質やタンパク加水分解物を含むことで、ポリリン酸組成物は酵母菌由来の栄養分を含有することができる。

[0038] 上述したように、培養液に、マグネシウムやカルシウム又は亜鉛といったミネラル分、及び、ビタミンB<sub>2</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンC、パントテン酸及び葉酸といったビタミン類を高濃度で含む場合、酵母菌体内には、ポリリン酸に加えて、ミネラル分及びビタミン類が含蓄される。そのため、加熱処理によって酵母菌から抽出する抽出液には、ポリリン酸に加えて、酵母菌体内に含蓄されたビタミン類、及びミネラル分も含有される。

[0039] 酵母菌の細胞構成物質、タンパク加水分解物、ビタミン及びミネラルは、皮膚や頭皮細胞の栄養源となり、細胞の維持又は成長に有用である。そのため、これらの物質を化粧品、育毛剤、口腔内清浄剤に添加した場合、これらの物質は有効成分として作用する。さらに、酵母菌の細胞構成物質、タンパク加水分解物、ビタミン及びミネラルはポリリン酸との相互作用することによって、ポリリン酸の細胞増殖促進能や、皮膚への浸透性を上げることができる。

[0040] ポリリン酸は、直鎖状ポリリン酸、側鎖状ポリリン酸、環状ポリリン酸、

高度な枝分かれ状（網目状）のリン酸重合体であるポリリン酸（ウルトラリン酸）であってもよく、それらの混合物やそれらの誘導体であっても良い。直鎖状ポリリン酸は、オルトリン酸の脱水縮合によって2個以上の $\text{PO}_4$ 四面体が頂点の酸素原子を共有して直鎖状に連なった構造を有する。側鎖状ポリリン酸は直側鎖に有機基が導入された構造を有する。

[0041] ポリリン酸は、 $\text{H}_2\text{O}$ 及び $\text{P}_2\text{O}_5$ を構成分子とし、 $\text{H}_{n+2}(\text{P}_n\text{O}_{3n+1})$ もしくは $(\text{HPO}_3)_n$ で表される直鎖状もしくは環状のものである。ここでは、重合したリン酸の個数は $n$ で表される。ポリリン酸には、主に、20から100の重合度のポリリン酸（中鎖ポリリン酸）、100から1000の重合度のポリリン酸（長鎖ポリリン酸）がある。本発明においては、ポリリン酸の重合度は20から300、好ましくは50から250、より好ましくは80から200である。重合度が20以上300以下のポリリン酸は、水溶性であり、線維芽細胞増殖因子のような細胞成長因子を安定化することによって細胞の増殖促進能を有する。

[0042] 本発明のポリリン酸組成物には、ポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物が含まれる。

[0043] ポリリン酸の塩とは、ポリリン酸の塩、特に薬学的に許容されるポリリン酸の塩を意味する。ポリリン酸の塩として、アルカリ金属塩が好ましく、ナトリウム塩がより好ましい。本明細書において、ポリリン酸の塩には、無水塩のみならず含水塩が含まれても良い。これらの塩は、例えば、溶液内で電離してポリリン酸と同様に機能する。

[0044] ポリリン酸の溶媒和物とは、ポリリン酸の溶媒和物の溶媒和物を意味する。溶媒和物として、水和物があげられる。また、本発明のポリリン酸組成物は、酵母菌体内又は抽出液中で、水分を吸収し、吸着水が付くことで水和物となる場合がある。そのような溶媒和物を形成する場合も、ポリリン酸の溶媒和物に含む。これらの溶媒和物は、溶液内で電離してポリリン酸と同様に機能する。

[0045] 本発明に使用するポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物

は、１種類であってもよいが、複数種の混合物であってもよい。複数種のポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物には、重合度、又は分子構造の異なるポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物、及び金属イオンの異なるポリリン酸塩を含む。

[0046] 本発明では、ポリリン酸は、ポリリン酸組成物の総質量に対して、０．０１質量％以上７０質量％以下、好ましくは０．０２質量％以上５０質量％以下、さらに好ましくは、０．１質量％以上５０質量％以下含まれることが好ましい。ポリリン酸は、ポリリン酸の塩、又はポリリン酸の溶媒和物であっても良く、ポリリン酸組成物に対するポリリン酸の含有率は、これらの３種のポリリン酸の合計質量の含有率である。ポリリン酸組成物にポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を有効量含むことで、細胞の増殖促進、皮膚細胞の延命、毛伸長と毛の成長期維持、整腸作用に有効に作用する。

[0047] 本発明で得られるポリリン酸は、酵母菌体内で合成され、酵母菌体内に含蓄される。酵母菌体内においてポリリン酸が安定に存在するために、ポリリン酸は折りたたまれた構造で存在する。折りたたまれた状態となったポリリン酸は、最大径が１０ｎｍ以上１０００ｎｍ以下、好ましくは３０ｎｍ以上８００ｎｍ以下、さらに好ましくは５０ｎｍ以上５００ｎｍ以下の形状である。本発明で得られるポリリン酸はナノオーダーレベルの粒子の大きさであることから、皮膚表面への浸透性に優れている。また、ポリリン酸は上記形状になることで頭皮や皮膚上の油脂成分の層になじみやすくなり、浸透性が高まる。尚、折りたたまれた構造とは、ポリリン酸が凝集した粒子形状をいい、形状には、球形、楕円形、円柱形、四角形、凹凸のある塊状といった様々な形状が含まれる。

[0048] 本発明の第２の側面は、化粧品に関するものである。化粧品には、酵母菌から抽出されるポリリン酸組成物が、有効成分として有効量含まれる。

[0049] 本発明に係る化粧品は、ポリリン酸組成物を有効成分として含む。ポリリン酸組成物は、液体、濃縮液、粉体、固形物の状態で化粧品に添加される。

ポリリン酸は、化粧量の総質量に対して、0.01質量%以上70質量%以下、好ましくは0.02質量%以上50質量%以下、さらに好ましくは、0.1質量%以上50質量%以下含まれることが好ましい。

[0050] 本発明に係る化粧料には、さらに他の既知の有効成分を加えることができる。例えば、化粧水には、イオン交換水などの角質層へ水分を供給するための精製水、エタノール、及びプロパノールといった油溶性成分を溶解し、清涼感を与えるためのアルコール、グリセリン、PEG、及びヒアルロン酸といった角質層の保湿のための保湿剤、エステル油、植物油といった保湿性や使用感の向上のためのエモリエント剤（水分が蒸発することを防ぐ油成分）、ポリオキシエチレンオレイルアルコールエーテルといった原料成分を可溶化するための可溶化剤、クエン酸、乳酸、及びアミノ酸類といった製品のpHを調整するための緩衝剤、バニリン、オレンジフレーバー、レモンフレーバー、ミルクフレーバー、ゲラニオール、及びリナロールといった香りを付加するための香料、メチルパラベン、及びフェノキシエタノールといった微生物を抑制し、腐敗を防止するための防腐剤、着色するための着色剤、金属イオン封鎖剤、及び紫外線吸収剤といった退色や変色を防止するための退色防止剤、収れん剤、殺菌剤、賦活剤、消炎剤、及び美白剤といった薬剤である。これら化粧水の有効成分の中から選択された1種又は2種以上を添加することができる。

[0051] 化粧料は、一般的に、肌を清潔にして皮膚を健やかに保つために皮膚表面に塗布されるものである。化粧料の例として、化粧水、乳液、クリーム、ジェル、美容液（エッセンス）及びパック化粧料といったものがある。ポリリン酸組成物を有効成分として含む化粧料は、通常の方法に従って製造することができる。

[0052] 化粧水の基本的機能は、皮膚の角質層に水分や保湿成分を補給することであり、化粧水は肌を柔軟にする機能もある。化粧水の有効成分は角質層に浸透することが求められており、皮膚への浸透能力が高いものが好ましい。上述したように、酵母菌体内で合成されたポリリン酸は、ナノオーダーレベル

の粒子の大きさを持つ。そのため、酵母菌体内で合成されたポリリン酸は、皮膚への浸透能力が高く、細胞増殖促進能を持ち、皮膚細胞の延命効果を高める働きをする。このことによって、肌細胞を健康な状態に保つことができる。

[0053] 本発明の第3の側面は、育毛剤に関するものである。育毛剤には、酵母菌から抽出されるポリリン酸組成物が、有効成分として有効量含まれる。

[0054] 本発明に係る育毛剤は、ポリリン酸組成物を有効成分として含む。ポリリン酸組成物は、液体、濃縮液、粉体、固形物の状態で育毛剤に添加される。ポリリン酸は、育毛剤の総質量に対して、0.01質量%以上70質量%以下、好ましくは0.02質量%以上50質量%以下、さらに好ましくは、0.1質量%以上50質量%以下含まれることが好ましい。育毛剤は、ポリリン酸組成物の重量に換算して、0.01g以上10g以下（好ましくは0.1g以上5g以下）を1日1回から10回の範囲で投与すればよい。

[0055] 本発明に係る育毛剤には、さらに他の既知の育毛成分を加えることができる。例えば、ローレルエキス及びクロロフィルといった生体細胞の賦活剤、オタネニンジンエキス、センブリエキス、セファランチン、ビタミンE及びその誘導体、及びγオリザノールといった末梢血管の血流を促進する血行促進剤、トウガラシチンキ、ショウキョウチンキ、カンタリスチンキ、及びニコチン酸ベンジルエステルといった局所刺激剤、ビタミンA、B1、B2、B6、E及びそれらの誘導体、パントテン酸およびその誘導体、ビオチンなどのビタミン類、シスチン、システイン、メチオニン、ロイシン、トリプトファン、及びアミノ酸エキスといったアミノ酸類の毛母細胞周辺への栄養補給のための栄養剤、エストラジオール、及びエチニルエストラジオールといった男性ホルモンに対して拮抗作用を有する女性ホルモン、パントテン酸及びその誘導体、プラセンタエキス、アラントイン、及び感光素301号といった毛母細胞の機能低下の改善のための毛根賦活剤、グリチルリチン酸ジカリウム、β-グリチルレチン酸、アラントイン、及びヒノキチオールといった抗炎症剤、グリセリン、及びピロリドンカルボン酸といった頭皮の乾燥を

防ぐための保湿剤である。これら育毛成分の中から選択された1種又は2種以上を添加することができる。

[0056] 育毛剤は、一般的に、毛生促進、発毛促進、育毛、養毛及び抜け毛予防に効果があるものである。育毛剤は頭皮に直接塗布するものが一般的である。育毛剤の例として、液剤、乳剤、クリーム、ローション、ジェル、フォーム、及びスプレーといったものがある。また、シャンプー、リンス、及びトリートメントの中にポリリン酸組成物を有効成分として含んでも良い。また、不織布や綿に有効成分をしみ込ませた湿布剤でもよい。ポリリン酸組成物を有効成分として含む育毛剤は、通常の方法に従って製造することができる。

[0057] 育毛剤の基本的機能は、頭皮の毛包細胞の活性化を持続させ、毛髪を伸長させることである。育毛剤は頭皮の毛包細胞に有効成分を浸透させるために、毛包細胞への浸透能力が高いものが好ましい。上述したように、酵母菌体内で合成されたポリリン酸は、ナノオーダーレベルの粒子の大きさを持つ。そのため、酵母菌体内で合成されたポリリン酸は、毛包細胞への浸透能力が高く、毛包細胞の活性化を持続させることができる。そのため、毛髪の伸長を促進させ、さらに、毛包細胞を成長期の状態で維持することができる。

[0058] 本発明の第4の側面は、口腔清掃剤に関するものである。口腔清掃剤には、酵母菌から抽出されるポリリン酸組成物が、有効成分として有効量含まれる。

[0059] 本発明に係る口腔清掃剤は、ポリリン酸組成物を有効成分として含む。ポリリン酸組成物は、液体、ジェル、ペースト、濃縮液、粉体、固形物の状態で口腔清掃剤に添加される。ポリリン酸は、口腔清掃剤の総質量に対して、0.01質量%以上70質量%以下、好ましくは0.02質量%以上50質量%以下、さらに好ましくは、0.1質量%以上50質量%以下含まれることが好ましい。口腔清掃剤は、ポリリン酸組成物の重量に換算して、0.01g以上10g以下(好ましくは0.1g以上5g以下)を1日1回から10回の範囲で投与すればよい。

[0060] 本発明に係る口腔清掃剤には、さらに既知の口腔清掃成分を加えることができる。

できる。例えば、ポリエチレングリコール、ポロビニルピロリドン、フィチン酸、リン酸水素ナトリウム、リン酸ナトリウム、及びゼオライトといった清掃剤、過酸化水素、過酸化尿素、過酸化カルシウム及び亜塩素酸ナトリウムといった漂白剤、アラントイン、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸、グリチルリチン酸ジカリウム、 $\beta$ -グリチルレチン酸、アスコルビン酸、ビタミンE、及びアズレンスルホン酸ナトリウムといった抗炎症剤、イソプロピルメチルフェノール、塩酸クロルヘキシジン、トリクロサン、ヒノキチオール、塩化セチルピリジニウム、銅クロロフィリンナトリウム、塩化ベンザルコニウム、塩化デカリウム、塩化ベンゼトニウム、塩酸アルキルジアミノエチルグリシン、塩酸ピリドキシン、塩化リゾチーム、及びカテキンといった抗菌剤、ポリオキシエチレンラウリルエーテル及びラウロイルサルコシナトリウムといった界面活性剤、メントール、マスティックエキス、ローズエキス、ミントフレーバーといった香味料、フッ化ナトリウム、モノフルオロリン酸ナトリウム、及びフッ化第二スズといったフッ素化合物、パラベン、フェノキシエタノール、及び塩酸アルキルジアミノエチルグリシンといった防腐剤である。これら口腔清掃成分の中から選択された1種又は2種以上を添加することができる。

[0061] 口腔清掃剤は、一般的に口腔内に一定時間滞留して、口腔内を浄化、乾燥防止し、清涼感等を与え、あるいは口腔内疾患の予防若しくは治療効果を持つものである。口腔清掃剤の例として、歯磨き粉、研磨剤、洗口剤、スプレー式口腔内用清掃剤、含嗽剤、及び口腔リンスといったものがある。ポリリン酸組成物を有効成分として含む口腔清掃剤は、通常の方法に従って製造することができる。

[0062] 口腔清掃剤の基本的機能は、口腔内の清掃と歯槽骨を含む歯周組織と歯の健康を促進することである。口腔清掃剤は歯周組織の細胞に有効成分を浸透させ、歯茎の炎症を抑えるために、歯周ポケットへの浸透能力が高いものが好ましい。上述したように、酵母菌体内で合成されたポリリン酸は、ナノオーダーレベルの粒子の大きさを持つ。そのため、酵母菌体内で合成されたポ

リリン酸組成物は、歯周組織の歯茎細胞や歯槽骨への浸透能力が高く、歯茎細胞の増殖促進をすると同時に炎症を抑制し、歯槽骨の再生を促すことができる。

[0063] 本発明の好ましい側面は、上記したいずれかのポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、食品に関する。食品の種類は特に限定されるものではない。食品は先に説明したいずれかの効能を発揮するものであれば、その効能を発揮させることのできる量のポリリン酸組成物を含めばよい。食品の例は、飲料である。飲料であれば容易に本発明のポリリン酸組成物を経口摂取できる。飲料の例は、清涼飲料、お茶、コーヒー、紅茶及び乳酸飲料である。食品は、ポリリン酸組成物の重量に換算して、0.01g以上10g以下（好ましくは0.1g以上5g以下）を1日1回から10回の範囲で対象者に投与すればよい。

[0064] 本発明の好ましい側面は、上記したいずれかのポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、食品添加物に関する。この態様の食品添加物は、上記したポリリン酸組成物の効能を発揮するため、適宜食品に添加される。

[0065] 本発明の好ましい側面は、上記したいずれかのポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、サプリメントに関する。サプリメント自体は公知である。すなわち、公知の担体（でんぷん等）に本発明のポリリン酸組成物を混合し、打錠機で成型することによりサプリメントを製造できる。本発明に係る食品、食品添加物もしくはサプリメントには、ポリリン酸組成物を含む。ポリリン酸は、サプリメントの総質量に対して、0.01質量%以上50質量%以下、好ましくは0.02質量%以上30質量%以下、さらに好ましくは、0.1質量%以上15質量%以下含まれる。サプリメントは、乳糖、オリゴ糖などの糖類、デキストリン、セルロースなどの賦型剤、各種無機塩類、ビタミン類、コラーゲン、ヒアルロン酸、コエンザイムQ10、 $\alpha$ リポ酸、各種植物エキスなどの各種有用成分、香料、甘味料などを適宜含んでもよい。サプリメントは、ポリリン酸組成物の重量に換算して、0.01g以上10g以下（好ましくは0.1g以上5g以下）を1日1回から10回の範

図で対象者に投与すればよい。

[0066] 本発明の好ましい側面は、上記したいずれかのポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、整腸剤に関する。上記したサプリメントと同様にして、整腸剤を製造できる。整腸剤は、ポリリン酸組成物の重量に換算して、0.01g以上10g以下（好ましくは0.1g以上5g以下）を1日1回から10回の範囲で対象者に投与すればよい。

[0067] 本発明の別の側面は、ポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物含有物の製造方法に関するものである。この方法は、酵母菌塊を得る工程と、酵母菌培養液を得る工程と、酵母菌沈殿物を得る工程と、酵母菌懸濁液を得る工程と、酵母菌抽出液を得る工程と、ポリリン酸組成物を得る工程を含む。酵母菌塊を得る工程は、酵母菌を10℃以上の温度条件下で静置し、酵母菌塊を得る工程である。酵母菌培養液を得る工程は、酵母菌塊を、リン酸塩を含有する培養液で培養し、ポリリン酸を含まない酵母菌を含む培養液を得る工程である。酵母菌沈殿物を得る工程は、酵母菌培養液を遠心分離し、沈殿物を得る工程である。酵母菌懸濁液を得る工程は、沈殿物として得られた酵母菌を液体に懸濁し、酵母菌が懸濁された懸濁液を得る工程である。酵母菌抽出液を得る工程は、酵母菌懸濁液を加熱処理することによって、ポリリン酸を酵母菌体内から抽出し、酵母菌抽出液を得る工程である。ポリリン酸組成物を得る工程は、酵母菌抽出液を、ポリリン酸を含有する上清と酵母菌体画分を含有する沈殿物とに遠心分離し、上清のポリリン酸組成物を得る工程である。

[0068] 酵母菌は、リン酸を酵母菌体内に取り込み、菌体内でポリリン酸を合成することができる。酵母菌を、リン酸塩を含有した培養液中で酵母菌を培養することで、酵母菌はリン酸を菌体内に取り込む。酵母菌体内にリン酸を取り込み、ポリリン酸を合成させる方法としては、培養工程を2工程とする方法が一般的に知られている。第1工程は、酵母菌がリン酸を取り込み易くするために、酵母菌を、リン酸を全く含まない培養液で培養し、酵母菌をリン酸飢餓状態にするための工程である。第2工程は、酵母菌を、リン酸を豊富に

含む培養液で培養し、リン酸を酵母菌体内に取り込ませる工程である。培養工程を2工程とすることによって、酵母菌はリン酸を、効率的に菌体内に取り込むことができるとされていた。しかし、上述した方法では、培養液が2種類必要であるため、1種類目の培養液で培養した菌体は集菌され、再度新たな培養液で培養をする必要がある。そのため、従来の培養工程は、操作面、コスト面でも課題があるものであった。

[0069] 本発明に係る製造方法では、まず、酵母菌塊を得る工程がある。酵母菌塊を得る工程とは、酵母菌を1℃以上10℃以下で静置し、酵母菌塊を得る工程である。酵母菌塊を得る工程は、酵母菌塊に対して30質量%以上50質量%以下の水分含量条件化で酵母菌を静置する。酵母菌塊を得る工程では、酵母菌を1℃以上10℃以下で好ましくは、72時間以上静置することが好ましい。酵母菌塊を得る工程には、培地又は培養液は必要なく、酵母菌塊を得た後に、培養液の交換をする必要がない。そのため、培養工程手順が簡素化する。さらに、酵母菌塊を得る工程を経ることによって、酵母菌培養液を得る工程における培養時間が大幅に短縮される。

[0070] 酵母菌培養液を得る工程は、リン酸塩を含有した培養液中で酵母菌塊を培養する工程である。培養液には、マグネシウムや、カルシウム、及び亜鉛といったミネラル分、及び、ビタミンB2、ビタミンB6、ビタミンC、パントテン酸及び葉酸といったビタミン類を高濃度で含むことができる。本発明に係る製造方法では、酵母菌塊を得る工程を経るため、酵母菌培養液を得る工程は1工程のみからなる。本発明に係る製造方法では、従来の2工程からなる培養工程を含む製造工程と比較して約1.5倍量のポリリン酸を得ることができる。さらに、培養時間は1時間以上3時間以内であり、従来の2工程からなる培養工程でかかる培養時間に比べて、大幅に短縮される。さらに、ミネラル分及びビタミン類の存在下中で、酵母菌を培養することによって、化粧料、育毛剤及び口腔清掃剤に好適なポリリン酸組成物を得られるだけでなく、培養時間を短縮することもできる。

[0071] 培養液は、乳酸菌を含むことが好ましい。乳酸菌は、酵母菌の0.1質量

%以上50質量%以下添加されることが好ましく、0.5質量%以上20質量%以下でも、1質量%以上15質量%以下でも、2質量%以上10質量%以下でもよい。乳酸菌の例は、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・ブレビス、ラクトバチルス・デルブリュッキイ、ラクトバチルス・ファーマンタム、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・パラカゼイ、ラクトバチルス・プランタラム、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・サリバリウス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトコッカス・プランタラム、ラクトコッカス・ラフィノラクティス、ロイコノストック・ラクティス、ロイコノストック・メセンテロイデスのいずれか又は2種以上である。乳酸菌はあらかじめ培地に添加されてもよく、培養途中で徐々に添加されてもよいし、培養途中で添加されてもよい。

[0072] 酵母菌沈殿物を得る工程は、酵母菌を培養した液を遠心分離し、沈降した酵母菌を得る工程である。遠心分離は、 $3000 \times g$ から $15000 \times g$ の遠心力で、3分から30分間の条件で行う。遠心分離は通常の方法で行うことができる。

[0073] 酵母菌懸濁液を得る工程は、遠心分離によって得られた酵母菌の沈殿物を細胞懸濁溶媒で懸濁する工程である。細胞懸濁溶媒は、蒸留水、生理食塩水、リン酸緩衝液、pH緩衝液といった細胞懸濁に通常用いられる溶液を用いることができる。

[0074] 酵母菌抽出液を得る工程は、酵母菌抽出液に熱を加える工程である。酵母菌に熱ショックを与えることで、細胞膜が破壊され、ポリリン酸が菌体外に溶出する。熱処理は $60^{\circ}\text{C}$ 以上 $80^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で、20分以上40分以下の間行うことができる。熱処理は、合成されたポリリン酸が分解されないような温度、時間条件を設定することが好ましい。

[0075] ポリリン酸組成物を得る工程は、酵母菌抽出液をポリリン酸と含有している上清と酵母菌体画分とに遠心分離し、ポリリン酸組成物を得る工程である。

。菌体内から溶出したポリリン酸は水溶性であり、液体に溶解する。そのため遠心分離をすることによって、酵母菌体の沈殿物とポリリン酸を含むポリリン酸組成物に分離することができる。遠心分離後、上清を回収し、ポリリン酸組成物を得ることができる。遠心分離は、 $5000 \times g$  から  $10000 \times g$  の遠心力で、3分から30分間の条件で行う。遠心分離は通常の方法で行うことができる。酵母菌抽出液には、ポリリン酸に加えて、酵母菌の細胞構成物質、タンパク質のタンパク加水分解物、ビタミン類及びミネラルが含まれる。酵母菌の細胞構成物質、タンパク加水分解物、ビタミン及びミネラルは、皮膚や頭皮細胞の維持又は成長に有用であり、化粧品、育毛剤及び口腔内清浄剤の有効成分として働く。そのため、ポリリン酸組成物を得る工程における遠心分離の際、ポリリン酸に加えて、これらの物質を上清に残しておくことが好ましい。従って、遠心分離の条件は、 $5000 \times g$  から  $10000 \times g$  といった、通常の遠心分離機で可能な比較的小さな遠心力で分離することが好ましい。

[0076] 本発明の好ましい態様は、酵母菌抽出液を得る工程は、 $60^{\circ}\text{C}$ 以上 $80^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で、20分以上40分以下の間、加熱処理をする工程である。上述したポリリン酸組成物の製造方法における酵母菌抽出液を得る工程は、 $60^{\circ}\text{C}$ 以上 $80^{\circ}\text{C}$ 以下、好ましくは $65^{\circ}\text{C}$ 以上 $75^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で、20分以上40分以下、好ましくは25分以上35分以下の間、加熱処理する工程である。加熱温度や加熱時間の条件により、合成されたポリリン酸が分解されることがあるため、加熱処理処理時間は40分以下であることが好ましい。さらに、酵母菌抽出液を得る工程では、タンパク加水分解物を得ることができる。酵母菌体内のタンパク質を加水分解することにより、タンパク加水分解物を得ることができる。そのため、酵母菌体内の加水分解物酵素が失活しないよう、 $80^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で、一定時間以上加熱処理をすることが好ましい。

[0077] 本発明では、製造工程に、 $60^{\circ}\text{C}$ 以上 $80^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で、20分以上40分以下の間、加熱処理をする工程を含んでいるにも関わらず、熱に弱いタ

ンパク質やビタミン類の変性が抑えられている。これは、酵母菌からポリリン酸と共にタンパク質やビタミン類を抽出する際に、ポリリン酸のナノ粒子がタンパク質やビタミン類を内包し、保護しているためである。酵母菌から抽出されるポリリン酸には、熱に不安定な成分を安定化させる働きもある。

[0078] 本発明の上記とは別の側面は、ポリリン酸含有酵母及びそのようなポリリン酸含有酵母を含むサプリメント（食品、食品添加物、整腸剤）に関する。このポリリン酸含有酵母は、以下のようにして製造できる。具体的な条件は先に説明した方法を適宜改変して用いることができる。酵母菌塊を、乳酸菌及びリン酸塩を含有する培養液で培養し、ポリリン酸を含蓄した酵母菌培養液を得る。次に、酵母菌培養液を遠心分離し、酵母菌沈殿物を得る。そして、酵母菌沈殿物を用いてポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物のいずれかを含有するポリリン酸含有酵母を得る。この際、加熱等の処理を行って、酵母菌（及び乳酸菌）を死滅させてもよい。ポリリン酸含有酵母が、酵母菌や乳酸菌の死骸を含んでいれば、それらが腸内細菌のえさとなるため、より好ましい効果を発揮し、さらにサプリメント等の製造が容易になる。

## 実施例 1

[0079] （酵母菌を用いた菌体内ポリリン酸の製造）

培養に用いた酵母菌は食品用生イースト（オリエンタルイースト・レギュラー、オリエンタル酵母）を用いた。まず上記の酵母菌を10℃以下で3日間保管し、酵母菌塊を得た。次いで、酵母菌を表1に記載した組成の培養液Bのみで培養した。培養時間と酵母菌体量は表2に記載の通りである。酵母菌体量は、培養液量に対する菌体量の割合で示している。培養液Bを40mL準備し、そこに酵母菌を表2に記載の割合になるように投入した。その後、酵母菌を含んだ培養液を、25℃で2時間振とう培養した。振とう培養後、培養液を4000×gの条件で1分間の遠心分離をして、酵母菌体の沈殿を回収した。回収した菌体は蒸留水で1回清掃を行い、-30℃で保存した。

## [0080] [比較例 1]

酵母菌をリン酸飢餓状態とするため、リン酸を全く含まない培養液 A で培養を行った。培養時間と酵母菌体量は表 2 に記載の通りである。酵母菌体量は、各培養液量に対する菌体量の割合で示している。培養液 A を 300 mL 準備し、そこに酵母菌を 6 g 投入した。その後、酵母菌を含んだ培養液を、25℃で表 2 に記載の各時間振とう培養した。振とう培養後、培養液を 4000 × g の条件で 1 分間の遠心分離をして、酵母菌体の沈殿を回収した。次いで、培養液 B を 40 mL 準備し、そこに回収した酵母菌体を表 2 に記載の割合になるように投入した。その後、酵母菌を含んだ培養液を、25℃で 2 時間振とう培養した。振とう培養後、培養液を 4000 × g の条件で 1 分間の遠心分離をして、酵母菌体の沈殿を回収した。回収した菌体は蒸留水で 1 回清掃を行い、−30℃で保存した。尚、培養液 A と B はコハク酸緩衝液もしくはリン酸緩衝液とともに pH 5.2 に調整した。

## [0081] [表 1]

Table 1

| <u>培養液 A</u>                                    |       | <u>培養液 B</u>                                        |       |
|-------------------------------------------------|-------|-----------------------------------------------------|-------|
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0.50% | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>     | 0.50% |
| KCl                                             | 0.07% | KCl                                                 | 0.07% |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O            | 0.04% | MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O                | 0.04% |
| D-Glucose                                       | 1%    | D-Glucose                                           | 1%    |
| コハク酸                                            | 100mM | NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O | 100mM |

## [0082]

[表2]

Table 2

|         | 培養液A  |      | 培養液B  |      |
|---------|-------|------|-------|------|
|         | 酵母菌体量 | 培養時間 | 酵母菌体量 | 培養時間 |
| 比較例 1-1 | 3.33% | 15時間 | 5.0%  | 2時間  |
| 比較例 1-2 | 6.67% | 5時間  | 2.0%  | 2時間  |
| 比較例 1-3 | 2.00% | 15時間 | 1.5%  | 2時間  |
| 比較例 1-4 | 2.00% | 15時間 | 2.0%  | 3時間  |
| 実施例 1-5 | —     | —    | 5.0%  | 2時間  |
| 実施例 1-6 | —     | —    | 7.5%  | 2時間  |
| 実施例 1-7 | —     | —    | 10.0% | 2時間  |

## [0083] (ポリリン酸含蓄量の比較測定)

表2の条件で酵母菌を培養した後、菌体内のポリリン酸の含蓄量の評価を行った。菌体を、最初に投入した菌重量の2倍の蒸留水で懸濁し、80℃の温度で、30分間の加熱処理を行った。その後、10000×gの条件で10分間、遠心分離をして、上清を回収し抽出液とした。抽出液に、硝酸を最終濃度が3.4%になるように加え、100℃の温度で、30分間で加熱処理することによりポリリン酸を完全に加水分解した。次いで、バナジン酸・モリブデン酸試液を添加し、リン酸量を定量した。定量したリン酸量よりポリリン酸量の算出をした（食品添加物公定書 廣川書店 ポリリン酸カリウムの定量法）。算出した結果を表3に示す。表3の結果より、比較例1-1、1-2、1-3、1-4では、酵母1gあたりのポリリン酸蓄積量は、リン酸残基を一単位としたモル数で0.03~0.13mmolであった。これに対して培養液Aを使用しない実施例1-5、1-6、1-7では、0.10~0.22mmolと蓄積量が多いことがわかった。実施例1-5では、ポリリン酸含蓄量が一番多く、比較例1-3の1.5倍以上であった。また実施例1-5、1-6、1-7では、培養時間も2時間と短かった。さらに、培養液交換の必要もなかった。酵母菌から抽出されるポリリン酸を含むポリリン酸組成物の製造方法においては、実施例1の製造方法は比較例1の

製造方法に比べて操作性，コスト面に優れていることがわかった。

[0084] [表3]

Table 3

|        | 酵母1gあたりのポリリン酸蓄積量<br>(mmol) |
|--------|----------------------------|
| 比較例1-1 | 0.03                       |
| 比較例1-2 | 0.08                       |
| 比較例1-3 | 0.14                       |
| 比較例1-4 | 0.13                       |
| 実施例1-5 | 0.22                       |
| 実施例1-6 | 0.16                       |
| 実施例1-7 | 0.10                       |

## 実施例 2

[0085] (ポリリン酸の抽出方法の評価)

ポリリン酸を酵母菌から抽出する条件について検討した。加熱処理の温度（60～90℃）と時間（0～60分）を表4に記載の条件となるように加熱処理を行い，ポリリン酸の抽出率を比較した。酵母菌の培養液を4000×gの条件で1分間の遠心分離をして，酵母菌体の沈殿を回収した。回収した酵母菌体は−20℃で凍結した。その後，菌体を融解し，蒸留水に再懸濁した後，50μLずつをマイクロチューブに分注した。分注し，攪拌した後，8000×gの条件で5分間の遠心分離を行い，上清を抽出液として回収した。得られた抽出液をサンプルとし，15%のポリアクリルアミドゲルによる電気泳動（150V，45分）を行った。その後ゲルを0.05%のトルイジンブルーで染色した。電気泳動の結果を図1に示す。抽出された天然ポリリン酸の分子量分布を，電気泳動によって確認したところ，80℃で40分以上の間加熱処理を行うと分子量の大きな分子種が加熱時間に依存して少なくなっていることがわかった。これは，長時間の加熱を行うことで，ポリリン酸が分解されている可能性があるためである。このことより，ポリリン

酸の抽出には 80℃で 30 分程度の加熱処理が好ましいことがわかった。

[0086] 上記の方法で得た抽出液に、硝酸を最終濃度が 3.4%になるように加え、100℃の温度で、30 分間、加熱処理することによりポリリン酸を完全に加水分解した。次いで、バナジン酸・モリブデン酸試液を添加し、リン酸量を定量した。定量したリン酸量よりポリリン酸量の算出をした。算出した結果を表 4 に示す。表 4 の結果より、80℃で 30 分間加熱したときに最も高いポリリン酸の抽出量が得られた。

[0087] [表4]

Table 4

| 抽出条件     | 加熱温度<br>(℃) | 加熱時間<br>(分) | 菌体内ポリリン酸濃度<br>(mM) |
|----------|-------------|-------------|--------------------|
| 実施例 2-1  | 90          | 10          | 66.09              |
| 実施例 2-2  | 80          | 0           | 7.24               |
| 実施例 2-3  | 80          | 10          | 88.68              |
| 実施例 2-4  | 80          | 20          | 86.13              |
| 実施例 2-5  | 80          | 30          | 93.17              |
| 実施例 2-6  | 80          | 40          | 91.92              |
| 実施例 2-7  | 80          | 50          | 85.46              |
| 実施例 2-8  | 80          | 60          | 85.20              |
| 実施例 2-9  | 70          | 0           | 11.49              |
| 実施例 2-10 | 70          | 10          | 72.14              |
| 実施例 2-11 | 70          | 20          | 78.15              |
| 実施例 2-12 | 70          | 30          | 83.13              |
| 実施例 2-13 | 70          | 40          | 80.49              |
| 実施例 2-14 | 70          | 50          | 68.89              |
| 実施例 2-15 | 70          | 60          | 77.60              |
| 実施例 2-16 | 60          | 10          | 19.65              |
| 実施例 2-17 | 60          | 30          | 31.83              |
| 実施例 2-18 | 60          | 60          | 48.18              |

### 実施例 3

[0088] (酵母菌から抽出されたポリリン酸の形状)

酵母菌から抽出されたポリリン酸を含むポリリン酸組成物を凍結乾燥し、ポ

リリン酸抽出液乾燥粉末を得た。この乾燥粉末の微細構造を走査型電子顕微鏡で観察した。図2に示したように、酵母細胞の構成成分が乾固したと考えられる構造物とともに、直径1000ナノメートル以下の粒子が多数確認された。このことから、酵母から抽出されたポリリン酸は、ナノオーダーの直径をもつ粒子として存在することが確認できた。

#### 実施例 4

[0089] (酵母菌から抽出されたポリリン酸組成物による繊維芽細胞増殖促進)

酵母菌から抽出されたポリリン酸を含むポリリン酸組成物が繊維芽細胞の増殖に対して及ぼす効果をMTS法 (Cell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay kit, プロメガ社製) により評価した。酵母は実施例1-5の手順で培養した。抽出はこれらの菌体懸濁液を0.2 mL ずつエッペンチューブに分注し、80℃で30分間、加熱処理を行った。10000×gの条件で10分間の遠心分離をして、上清を回収し抽出液Pを得た。得られた抽出液Pは0.45 μmの除菌フィルターでそれぞれろ過滅菌を行い、タンパク質濃度とリン酸量の測定を行った。リン酸量の測定の結果、抽出液P中のポリリン酸濃度は91.1 mMであった。また、タンパク質濃度の測定の結果、抽出液Pに含まれるタンパク質濃度は15.89 mg/mLであった。

[0090] [比較例2]

ポリリン酸を含まない培養液のみで (比較例1-3の手順で使用した培養液A) で15時間培養した酵母を、抽出液Pの抽出条件と同一条件で加熱処理し、ポリリン酸をほとんど含まない抽出液Qを調製した。この抽出液Qの天然ポリリン酸濃度は0.65 mMであり、タンパク質濃度は9.84 mg/mLであった。

[0091] (繊維芽細胞増殖促進の比較)

次にこれらの抽出液P及びQを正常ヒト胸部真皮細胞 (HDF, 米国CAI社製) の培養液中に添加し、MTS法 (Cell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay kit,

プロメガ社製）を用い、細胞増殖促進効果の評価を行った。細胞は、96wellプレートに3000cells/wellとなるように播種し、10%FBS（牛胎児血清）を含むD-MEM培地で24時間培養した。その後細胞を、1%FBSを含むD-MEMで一晩培養した。細胞の培養液を、ポリリン酸を含有した各抽出液を添加したD-MEM培地に交換し、各々24, 48, 69時間後にMTS反応を行い、反応開始から95分後にOD<sub>492nm</sub>をプレートリーダーで測定した。各抽出液はタンパク質濃度が0.174mg/mlとなるように調製した。この場合、抽出液Pのポリリン酸濃度は培地中で1mMであった。抽出液Qのポリリン酸濃度は培地中で0.0115mMであった。抽出液Pを加えた培地のポリリン酸濃度は、抽出液Qを加えた培地のポリリン酸濃度の約87倍の濃度である。また、酵母菌から抽出したポリリン酸濃度が抽出液中で0.2mMになるように添加したものも評価した。

[0092] 比較例として、培地にポリリン酸を加えなかった場合と、培地に酵母由来でない化学合成した中鎖ポリリン酸ナトリウム（化学合成ポリリン酸 平均リン酸重合数約60）を1mMの濃度で加えた場合を評価した。繊維芽細胞増殖促進の比較した結果を表5に示す。

[0093] [表5]

Table 5

| 時間\群 | 実施例 4-1                         | 実施例 4-2                           | 比較例 2-1                         | 比較例 2-2              | 比較例 2-3       |
|------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------|---------------|
| 内容   | 1mM<br>酵母菌抽出<br>ポリリン酸<br>(抽出液P) | 0.2mM<br>酵母菌抽出<br>ポリリン酸<br>(抽出液P) | ポリリン酸を<br>ほとんど含まない<br>抽出液(抽出液Q) | 1mM<br>化学合成<br>ポリリン酸 | 無処理           |
| 24   | 0.3448 (1.17)                   | 0.3117 (1.05)                     | 0.3311 (1.12)                   | 0.2913 (0.99)        | 0.2958 (1.00) |
| 48   | 0.4334 (1.50)                   | 0.3533 (1.22)                     | 0.3279 (1.13)                   | 0.3594 (1.24)        | 0.2892 (1.00) |
| 69   | 0.532 (2.12)                    | 0.4818 (1.92)                     | 0.4107 (1.64)                   | 0.4346 (1.73)        | 0.2507 (1.00) |

( )内の数字はそれぞれの時間での無処理（比較例2-3）の数値を1とした時の増殖倍率。

[0094] 表5はそれぞれの実施例及び比較例の内容とその細胞増殖率（490nmにおける吸光度）を示している。図3はその値をグラフ化したものである。実施例4-1が最も増殖率が高く、酵母菌から抽出したポリリン酸を1mM

含む抽出液は非常に高い細胞増殖促進活性を有することがわかった。また、実施例4-2の酵母菌から抽出したポリリン酸を0.2 mM含む抽出液も、比較的高い増殖促進活性を持つことがわかった。その増殖促進能はポリリン酸の含有量に依存することがわかった。また、ポリリン酸をほとんど含まない比較例2-1では、ポリリン酸を含むものに比べて増殖促進能は低かった。また酵母菌から抽出したポリリン酸を添加した場合は、同濃度の化学合成ポリリン酸を添加した場合に比べ、増殖促進率が約1.5~2倍高いことがわかった。以上のことから、酵母菌から抽出したポリリン酸は、従来の化学合成ポリリン酸よりも優れた細胞増殖促進能をもつことがわかった。

## 実施例 5

[0095] (酵母菌から抽出したポリリン酸の人工皮膚への浸透性)

人工皮膚 (TEST SKIN LSE-high 東洋紡) を用いて、化学合成ポリリン酸、酵母菌から抽出したポリリン酸の浸透性を比較した。人口皮膚の角質層の表面に20 mMの各種ポリリン酸水溶液を0.1 ml添加し、人工皮膚の下部に1.2 mlのTBS (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 137 mM NaCl) を加えて、37℃の条件下で24時間保温した。その後、人工皮膚の下部 (真皮層の下) に浸透してTBS中の溶け込んだポリリン酸量を定量した。定量方法は実施例1と同様にバナジン酸・モリブデン酸試液によりリン酸量を定量し、その値よりポリリン酸量を算出した。人工皮膚への浸透性を比較した結果を表6に示す。表6の結果より、酵母菌から抽出したポリリン酸を添加した人工皮膚において、酵母菌から抽出したポリリン酸は中化学合成ポリリン酸の約2.1倍量の浸透が確認された。従って、酵母菌から抽出したポリリン酸は化学合成ポリリン酸よりも皮膚に浸透しやすいことがわかった。

[0096]

[表6]

Table 6

|            | 透過量 ( $\mu$ M) |
|------------|----------------|
| 化学合成ポリリン酸  | 0.053          |
| 酵母菌抽出ポリリン酸 | 0.109          |

## 実施例 6

[0097] (酵母菌から抽出したポリリン酸の細胞延命効果)

人工皮膚 (TESTSKIN LSE-high 東洋紡) の角質層の表面に 20 mM 又は 100 mM の各種ポリリン酸水溶液を 0.1 ml 添加した。一方、比較例として人工皮膚の角質層の表面に TBS を 0.1 ml 添加した。人工皮膚の下部に 1.2 ml の TBS を加えて、37℃で 70 時間保温した後、人工皮膚細胞の生存率を MTT 法で評価した。MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-diphenyl tetrazolium bromide] は 0.333 mg/ml となるように TBS に溶解し、1.2 ml の人工皮膚の下層液を MTT が溶解した TBS に交換し、37℃で 4 時間保温した後、不溶性のホルマザンの生成を確認した。その結果を図 4 に示す。さらに、その後、人工皮膚を回収し、人工皮膚中に析出したホルマザンを 0.3 ml のイソプロパノールで溶解して、595 nm における吸光度を測定した。その結果を表 7 に示す。

[0098] [表7]

Table 7

| sample           | 吸光度    |
|------------------|--------|
| 100mM 酵母菌抽出ポリリン酸 | 0.8089 |
| 20mM 酵母菌抽出ポリリン酸  | 0.1499 |
| 100mM 化学合成ポリリン酸  | 0.1911 |
| 20mM 化学合成ポリリン酸   | 0.0963 |
| TBS              | 0.0208 |

[0099] 図4は、MTT法により生細胞のミトコンドリアの還元能から生成されるホルマザンの析出量を示す図面に替わる写真である。20 mM又は100 mMの酵母菌から抽出したポリリン酸を添加して培養した人工皮膚には、肉眼でホルマザンの生成が確認された。酵母菌から抽出したポリリン酸100 mMで処理したもののほうが顕著にホルマザンの生成が確認された。表7の結果より、ホルマザンの生成量は、酵母菌から抽出したポリリン酸20 mMで処理したものは0.1499であった。ホルマザンの生成量は酵母菌から抽出したポリリン酸100 mMで処理したものは0.8089であった。このことより、母菌から抽出したポリリン酸100 mMで処理したものは、細胞の生存率が高いことがわかった。これに対して、化学合成ポリリン酸で70時間処理したものでは、肉眼でホルマザン生成がほとんど確認できなかった（図4）。また、ホルマザンの生成量は化学合成ポリリン酸20 mMで処理したものは0.0963であった。ホルマザンの生成量は化学合成ポリリン酸100 mMで処理したものでは、0.1911であった。TBSで処理した人工皮膚のホルマザン生成量は0.0208であったことから、化学合成ポリリン酸でも細胞の生存率は若干高まるが、その生存率は菌体内ポリリン酸処理のものよりも低いことがわかった。

## 実施例 7

[0100] （毛包の器官培養による毛髪の伸長促進効果）

化学合成ポリリン酸、酵母菌から抽出したポリリン酸の毛髪の伸長促進効果を比較した。植毛手術時に採取したヒト頭皮組織から単一毛包組織を単離し、単離した毛包を平均鎖長60以上の中鎖鎖ポリリン酸（5 mM）と酵母由来の菌体内ポリリン酸（5 mM）を含む培養液中で12日間培養した。培養中経時的に毛髪の長さを計測し、その毛髪の全体長を図5に示した。図5の結果より、酵母由来の酵母菌から抽出した内ポリリン酸を含む培養液で培養した毛包は、中鎖鎖ポリリン酸を含む培養液で培養した毛包よりも毛髪の伸長度が高いことがわかった。

## 実施例 8

[0101] (毛包の器官培養による成長期毛包の比率の評価)

毛包を用いて、毛髪の成長期毛包の比率を評価した。実施例 7 と同様の方法で、単一毛包組織を単離し、単離した毛包を化学合成ポリリン酸 (5 mM) と酵母菌から抽出されたポリリン酸 (5 mM) を含む培養液中で 12 日間培養した。その後、図 6 で示したように、器官培養によって毛成長が確認できたものを成長期の毛包、毛成長が確認できず、毛包から抜け落ちてきているものを退行期の毛包、また、全く変化の見られないものを無変化の毛包として区別し、各種ポリリン酸の処理によりそれぞれの毛包の比率がどう変化するかを調べた。毛包の伸長期、退行期、無変化期の評価を行ったものを図 6 に示す。その結果の比率を図 7 に示した。酵母菌から抽出されたポリリン酸で処理した毛包は培養 4 日目まで 87% が伸長期、6 日目でも 62% が伸長期であり、伸長期の率が高かったのに対して、化学合成ポリリン酸で処理した毛包では、2 日目で 62% が伸長期、4 日目で 62%、6 日目で 50% が伸長期であり、時間経過とともに伸長期の毛包の比率が低下した。従って、酵母菌から抽出したポリリン酸で処理した毛包は伸長期が長く保たれ、毛包が活性化したことがわかった。

## 実施例 9

[0102] (乳酸菌との混合培養によるポリリン酸の生産量の増加)

酵母菌 (オリエンタルイースト・レギュラー、オリエンタル酵母) に乳酸菌 (*Lactobacillus Casei*) を酵母菌の重量の 2.5% (実施例 9-1) もしくは 5% (実施例 9-2) の割合で混合し、実施例 1-5 の方法でポリリン酸蓄積処理を行った。比較例として酵母のみでポリリン酸を蓄積させたもの (比較例 9-1) と乳酸菌のみでポリリン酸を蓄積させたものを調製し、それらよりポリリン酸を抽出して生産されたポリリン酸量を比較した。その結果を表 8 に示した。比較例 9-1 に比べ、乳酸菌を混合して培養した実施例 9-1 で 106.3%、実施例 9-2 で 121.7% にポリリン酸の蓄積量が増加していた。乳酸菌のみ (比較例 9-2) ではポリリン酸の蓄積は測定限界値以下だったことから、乳酸菌を加えることにより酵母菌自体のポリ

リン酸蓄積能力が高まったものと考えられる。よって、酵母菌に乳酸菌を混合して培養するとポリリン酸生産能力を高めることができる。

[0103] [表8]

Table 8

|           |               | 酵母 1 g あたりの<br>ポリリン酸蓄積量 (mmol) | 生産効率 (%) |
|-----------|---------------|--------------------------------|----------|
| 比較例 9 - 1 | 酵母のみ          | 0.221                          | 100      |
| 比較例 9 - 2 | 乳酸菌のみ         | 検出限界以下                         | —        |
| 実施例 9 - 1 | 酵母 + 2.5% 乳酸菌 | 0.235                          | 106.3    |
| 実施例 9 - 2 | 酵母 + 5% 乳酸菌   | 0.269                          | 121.7    |

### 請求の範囲

- [請求項1] 酵母菌から抽出する抽出液を含み、  
前記抽出液はポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物を含む、ポリリン酸組成物。
- [請求項2] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記酵母菌は、出芽酵母である、ポリリン酸組成物。
- [請求項3] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記抽出液は、酵母菌の細胞構成物質及びタンパク加水分解物のうち少なくとも1つをさらに含む、請求項1に記載のポリリン酸組成物。
- [請求項4] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記抽出液は、ビタミン及びミネラルのうち少なくとも1つをさらに含む、ポリリン酸組成物。
- [請求項5] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記ポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物は、前記ポリリン酸組成物の総質量に対して、0.01質量%以上70質量%以下含まれる、ポリリン酸組成物。
- [請求項6] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記ポリリン酸は、重合度が20以上300以下である、ポリリン酸組成物。
- [請求項7] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記ポリリン酸は、最大径が10nm以上1000nm以下の形状である、ポリリン酸組成物。
- [請求項8] 請求項1に記載のポリリン酸組成物であって、  
前記酵母菌は、乳酸菌と共培養して得られたものである、ポリリン酸組成物。
- [請求項9] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、化粧品。
- [請求項10] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成

物を有効成分として有効量含む、育毛剤。

[請求項11] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、口腔内清掃剤。

[請求項12] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、食品。

[請求項13] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、食品添加物。

[請求項14] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、サプリメント。

[請求項15] 請求項1から請求項8のいずれか1項に記載の前記ポリリン酸組成物を有効成分として有効量含む、整腸剤。

[請求項16] ポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物のいずれかを含むポリリン酸組成物の製造方法であって、

酵母菌を、1℃以上10℃以下の温度で静置し、酵母菌塊を得る工程と、

前記酵母菌塊を、リン酸塩を含有する培養液で培養し、ポリリン酸を含蓄した酵母菌培養液を得る工程と、

前記酵母菌培養液を遠心分離し、酵母菌沈殿物を得る工程と、

前記酵母菌沈殿物を細胞懸濁溶媒に懸濁し、酵母菌懸濁液を得る工程と、

前記酵母菌懸濁液を加熱処理することで、酵母菌抽出液を得る工程と、

前記酵母菌抽出液を、ポリリン酸を含有するポリリン酸組成物と酵母菌体画分とに遠心分離し、ポリリン酸組成物を得る工程とを含む、ポリリン酸組成物の製造方法。

[請求項17] 請求項16に記載の製造方法であって、

前記リン酸塩を含有する培養液は、乳酸菌をさらに含む、方法。

[請求項18] 請求項16に記載の製造方法であって、

前記酵母菌抽出液を得る工程は、60℃以上80℃以下の温度で、20分以上40分以下の間、加熱処理をし、前記ポリリン酸とタンパク加水分解物を得る工程である、

方法。

[請求項19] 酵母菌塊を、乳酸菌及びリン酸塩を含有する培養液で培養し、ポリリン酸を含蓄した酵母菌培養液を得る工程と、前記酵母菌培養液を遠心分離し、酵母菌沈殿物を得る工程と、

前記酵母菌沈殿物を用いてポリリン酸、ポリリン酸の塩又はポリリン酸の溶媒和物のいずれかを含有するポリリン酸含有酵母を得る工程とを含有するポリリン酸含有酵母の製造方法によって得られたポリリン酸含有酵母。

[請求項20] 請求項19に記載の酵母を含むサプリメント。