

明 細 書

発明の名称： 酪酸又は乳酸の産生量増強剤

技術分野

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

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] これまでに、大豆イソフラボンを有効成分として含有する、腸内細菌中の乳酸菌割合及び腸内細菌叢の多様性の増加剤が、酪酸産生菌を増加させ（特許文献1）、また、おからを含む組成物が酪酸菌を増殖させる（特許文献2）ことが開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特開2020-158439号公報

特許文献2：特開2020-156420号公報

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. But

yrate-producing Clostridium cluster XIVa species specifically colonize 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、豆乳が酪酸および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)

豆乳を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤。

(2)

豆乳に由来する多糖類を含む、(1)に記載の酪酸又は乳酸の産生量増強剤。

(3)

(1)又は(2)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。

(4)

豆乳を含む、酪酸又は乳酸の産生量を増強するための食品組成物。

(5)

豆乳を用いて、酪酸又は乳酸の産生量を増強する方法。

(6)

豆乳を含む、酪酸菌の生育促進剤。

(7)

豆乳に由来する多糖類を含む、(6)に記載の酪酸菌の生育促進剤。

(8)

(6)又は(7)に記載の酪酸菌の生育促進剤を含む、食品組成物。

(9)

豆乳を含む、酪酸菌の生育を促進するための食品組成物。

(10)

豆乳を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法。

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)

酪酸又は乳酸の産生量の増強における使用のための、豆乳。

(12)

酪酸又は乳酸の産生量の増強における使用のための、豆乳を含む食品組成物。

(13)

酪酸又は乳酸の産生量を増強するための、豆乳の使用。

(14)

酪酸又は乳酸の産生量を増強するための、豆乳を含む食品組成物の使用。

(15)

酪酸又は乳酸の産生量増強剤を製造における、豆乳の使用。

(16)

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、豆乳の使用。

上記(11)～(16)において、

豆乳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)

酪酸菌の生育の促進における使用のための、豆乳。

(22)

酪酸菌の生育の促進における使用のための、豆乳を含む食品組成物。

(23)

酪酸菌の生育を促進のための、豆乳の使用。

(24)

酪酸菌の生育を促進するための、豆乳を含む食品組成物の使用。

(25)

酪酸菌の生育促進剤を製造における、豆乳の使用。

(26)

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、豆乳の使用。

上記(21)～(26)において、

豆乳が用いられることが好ましく、

豆乳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。

[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が可能となる。

発明を実施するための形態

[0017] 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。

[0018] 本実施形態は、豆乳を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を提供する。

[0019] 本実施形態において、「豆乳」とは、大豆（丸大豆、脱脂加工大豆、粉末状大豆など）から熱水などによりたん白質その他成分を溶出させ、繊維質を除去して得られた乳状の豆乳液を含有する飲料であり、例えば、消費者庁告示による豆乳類品質表示基準に記載されている豆乳類（豆乳、調製豆乳、豆乳飲料）などが挙げられ、豆乳類品質表示基準に記載する以外の豆乳類なども含まれる。また、本実施形態における豆乳は、他の副原料（例えば、動植物油脂、甘味料、食塩などの調味料、果汁、野菜汁、コーヒー、ココアなどの風味原料、乳化剤、糊料、香料などが）を含むものであってもよい。さらに、脱皮大豆や全粒大豆の粉末を水に懸濁、溶解又は均質化させて調製した、いわゆる大豆液の調製品や、それらを原料とする大豆飲料も、本実施形態の豆乳に含まれる。前記豆乳は、長期保存を目的として殺菌を行い商業的無菌性が維持された状態で密封包装された豆乳であってもよい。

豆乳の製造方法は、特に制限はないが、例えば、大豆を一夜水中に浸漬後、グラインダーで摩砕するなど、当業者に公知の手法を用いて製造することができる。大豆は焙煎等により前処理してから用いてもよい。豆乳は、一般的に市販されている豆乳を用いてもよい。

最終製品が無調整豆乳以外の豆乳である場合、一般的な豆乳飲料に使用さ

れる各種添加剤を添加してもよい。例えば、添加剤の例として、砂糖などの糖類、食塩、乳酸カルシウム、乳化剤、カラギナンなどの糊料、香料、着色料、油脂、保存料、酸化防止剤、乳化剤、香辛料、各種エキス・ペースト類、タンパク質及びその分解物、有機酸、有機酸類、デンプン、安定剤等が挙げられる。

大豆固形分量に関連して、日本農林規格では、豆乳は大豆固形分8.0%以上のものと定義され、調整豆乳は大豆固形分6%以上のものと定義され、豆乳飲料は大豆固形分4%以上のものと定義されているが、これらのいずれも本実施形態における豆乳として用いることができる。

[0020] 本実施形態において、豆乳は、多糖類を含んでいてもよい。この場合、本実施形態は、豆乳由来の多糖類を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤をも提供する。

豆乳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。豆乳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号公報等を参考に理解されるものであってよい。また、豆乳に由来する多糖類は、ポリガラクトロン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、又は、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、ガラクトロン酸、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uron酸に結合していてもよい。

豆乳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号公報等を参考に理解されるものであってよい。

[0021] 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、豆乳には、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。

[0022] 本実施形態における酪酸又は乳酸の産生量増強剤は、豆乳を含むことにより、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、豆乳を酪酸菌に与えない場合と比べて、豆乳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、酪酸菌に豆乳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、豆乳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、豆乳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。

本実施形態におけ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。

[0023] 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 nexile*、*Clostridium scindens*、*Clostridium butyricum*、*Blautia wexlerae*等が挙げられ、*Agathobacter rectalis*が好適である。

[0024] 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ナーゼ、 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、豆乳には、多糖類が含まれていてもよい。そのような豆乳が、酪酸又は乳酸の産生量を増強し得ると考えられる。

[0025] 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。

[0026] 本実施形態である酪酸又は乳酸の産生量増強剤の態様は、以下に述べる他の実施形態にも適用される。

[0027] 他の実施形態として、豆乳を用いて、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。

[0028] 他の実施形態として、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む食品組成物をも提供する。すなわち、酪酸又は乳酸の産生量を増強する豆乳を含む、食品組成物を提供する。

食品組成物中に、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含むことで、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、豆乳による酪酸又は乳酸の産生量増強機能が発揮される。酪酸又は乳酸の産生量増強剤を、直接、その機能が発揮し得るようにしてもよく、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を、食品組成物中含ませて、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、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む、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。

[0029] 他の実施形態として、豆乳を含む、酪酸菌の生育促進剤を提供する。

酪酸菌の生育促進剤は、豆乳を含むことにより、酪酸菌の生育を促進することが可能である。

酪酸菌の生育の促進は、酪酸菌の増殖に基づいて評価してよい。すなわち、豆乳を酪酸菌に与えない場合と比べて、豆乳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。

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。

[0030] 他の実施形態として、豆乳を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法も提供する。

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し、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。

[0031] 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。

[0032] 他の実施形態として、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食品組成物として理解されてもよい。すなわち、豆乳を含む、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であってよく、酪酸菌の生育促進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、酪酸又は乳酸の産生量増強剤を含む、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。

[0033] 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の形態は、特に限定されないが、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。

[0034] 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における、豆乳の含有量は、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、酪酸若しくは乳酸の産生量増強剤、又は酪酸菌の生育促進剤の全量に対して、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。

[0035] 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、クリーム状およびペースト状、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。

[0036] 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使用されるものが挙げられる。

[0037] 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。

[0038] 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。

- [0039] 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含むことができる。

実施例

- [0040] 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。

- [0041] 〈実施例1〉豆乳が、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) Modified YCFA培地の調製

酪酸菌の培養に用いるYCFA培地を下記表1-1～表1-6に従って調製した。調製したYCFA培地を、10N NaOHを用いてpHを7.45に調整した後、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 Solution II (表1-7) を添加した。

- [0042] 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YCFA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 YCFA培地とした。

- [0043] 表1-1 YCFA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

[0044] 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

[0045] 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

[0046] 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

[0047] 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

[0048] 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

[0049] 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

[0050] (2) 豆乳が、A. r e c t a l i s 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（COY社製）内で解凍し、YCF A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、一晚静置培養を行って復元培養した。その復元培養液をYCF A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 YCF A培地で希釈して、継代培養液を調製した。

- [0051] フィルターろ過した無調整豆乳（キッコーマン社製）を 5% （ v/v ）の割合で含む $950\mu\text{L}$ のModified YCF A培地、又はコントロールとして無調整豆乳を含まないModified YCF A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。
- [0052] 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（ $300\text{mm}\times 8\text{mm}$ I.D. $7\mu\text{m}$ ）カラムを3本直列接続（温度 50°C ）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（ $\text{polarity}:+$ ）を用いた。

[0053] 無調整豆乳を5%（v/v）の割合で含む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、無調整豆乳を含まない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、無調整豆乳が*A. rectalis*の増殖に与える影響を評価した。無調整豆乳が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に示した。

[0054] 表2 5%（v/v）無調整豆乳おける、増殖活性並びにn-酪酸及び乳酸の産生量比の結果

[表2]

無調整豆乳濃度（%（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	3.74	2.94	1.94

請求の範囲

- [請求項1] 豆乳を含む、酪酸又は乳酸の産生量増強剤。
- [請求項2] 請求項 1 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3] 豆乳を用いて、酪酸菌の生育を促進する方法。