



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 A23L 1/30, A61K 31/19, 31/365 C12N 1/38, C07C 59/105		A1	(11) 国際公開番号 WO 94/09650
		(43) 国際公開日 1994年5月11日 (11.05.94)	
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01473 (22) 国際出願日 1993年10月14日 (14. 10. 93) (30) 優先権データ 特願平 4/288643 1992年10月27日 (27. 10. 92) JP 特願平 5/45022 1993年3月5日 (05. 03. 93) JP 特願平 5/48354 1993年3月9日 (09. 03. 93) JP 特願平 5/49805 1993年3月11日 (11. 03. 93) JP 特願平 5/61721 1993年3月22日 (22. 03. 93) JP 特願平 5/63765 1993年3月23日 (23. 03. 93) JP 特願平 5/63972 1993年3月23日 (23. 03. 93) JP 特願平 5/64222 1993年3月23日 (23. 03. 93) JP 特願平 5/64451 1993年3月24日 (24. 03. 93) JP 特願平 5/64560 1993年3月24日 (24. 03. 93) JP 特願平 5/67892 1993年3月26日 (26. 03. 93) JP 特願平 5/72695 1993年3月31日 (31. 03. 93) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区道修町 3丁目4番7号 Osaka, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 浅野敏彦 (ASANO, Toshihiko) [JP/JP] 〒300 茨城県土浦市大字永国字東田 1150-5 Ibaraki, (JP)		近藤亮子 (KONDO, Ryoko) [JP/JP] 〒305 茨城県つくば市天久保 4-5-25-304 Ibaraki, (JP) 森 康美 (MORI, Yasumi) [JP/JP] 〒305 茨城県つくば市天久保 4-5-25-302 Ibaraki, (JP) 竹縄誠之 (TAKENAWA, Seishi) [JP/JP] 〒631 奈良県奈良市学園緑ヶ丘 2-15-22 Nara, (JP) 矢持素子 (YAMOCHI, Motoko) [JP/JP] 〒565 大阪府豊中市新千里西町 3-1 C-22-206号 Osaka, (JP) 樺田清彦 (KUNUGITA, Kiyohiko) [JP/JP] 〒305 茨城県つくば市下広岡 500-75 Ibaraki, (JP) 寺地 務 (TERACHI, Tsutomu) [JP/JP] 〒563-01 大阪府豊能郡豊能町光風台 6-20-6 Osaka, (JP) (74) 代理人 弁理士 関 英男 (SEKI, Hideo) 〒532 大阪府大阪市淀川区加島 2丁目1番6号 藤沢薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP) (81) 指定国 AU, CA, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書	

(54) Title : BIFIDOBACTERIUM GROWTH PROMOTER

(54) 発明の名称 ビフィドバクテリウム菌の増殖促進剤

(57) Abstract

A bifidobacterium growth promoter containing gluconic acid, a nontoxic salt thereof and/or glucono-δ-lactone as the active ingredient. It has not only a selective bifidobacterium growth promoter effect but also the effect of inhibiting the growth of deleterious bacteria. Further, it is reduced in the rate of digestion and absorption in the upper alimentary tract and hence has excellent characteristics as a bifidus factor. Therefore, this promoter can be used *per se* or as an additive for various food and drink to provide functional food and drink, thus being remarkably useful from the viewpoint of health improvement.

(57) 要約

本発明はグルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を有効成分として含有するビフィドバクテリウム菌の増殖促進剤である。

本発明のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤は選択的なビフィドバクテリウム菌増殖活性を示し、有害菌の増殖を抑制する効果も併せ持つ。また上部消化管における消化吸収率も低いので、ビフィズスファクターとして優れた特性を有している。従って本発明のビフィドバクテリウム菌の増殖促進剤は単独であるいは各種食品や飲料に添加して各機能性食品や飲料として用いることができ、健康増進の点から極めて有益である。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT	オーストリア	CS	チェッコスロヴァキア	KR	大韓民国	PL	ポーランド
AU	オーストラリア	CZ	チェッコ共和国	KZ	カザフスタン	PT	ポルトガル
BB	バルバドス	DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア
BE	ベルギー	DK	デンマーク	LK	スリランカ	RU	ロシア連邦
BF	ブルキナ・ファソ	ES	スペイン	LU	ルクセンブルグ	SD	スーダン
BG	ブルガリア	FI	フィンランド	LV	ラトヴィア	SE	スウェーデン
BJ	ベナン	FR	フランス	MC	モナコ	SI	スロヴェニア
BR	ブラジル	GA	ガボン	MG	マダガスカル	SK	スロヴァキア共和国
BY	ベラルーシ	GB	イギリス	ML	マリ	SN	セネガル
CA	カナダ	GN	ギニア	MN	モンゴル	TD	チャド
CF	中央アフリカ共和国	GR	ギリシャ	MR	モーリタニア	TG	トーゴ
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	NE	ニジェール	US	米国
CI	コート・ジボアール	IT	イタリア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン共和国
CM	カメルーン	JP	日本	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NZ	ニュージーランド		

明 細 書

発明の名称

ビフィドバクテリウム菌の増殖促進剤

技術分野

- 5 本発明はビフィドバクテリウム菌の増殖を選択的に促進する増殖促進剤並びにその具体的用途への応用に関するものである。

背景技術

- 10 ビフィドバクテリウム属の微生物即ちビフィドバクテリウム菌は、ヒトを含む哺乳類の腸管内常在菌であり、それ自体は病原性がなく、しかも乳酸産生や栄養要求性等の点から病原性腸内細菌に拮抗し、これらの菌の腸管内での増殖を妨げることが知られている。またこの菌が腸管内に純培養のように存在する天然栄養児は、この菌
15 の少ない人工栄養児よりも腸管内感染におかされにくいことが知られている。このような知見を基に近年ビフィドバクテリウム菌に関する研究が進み、この菌の免疫賦活効果、菌交代症の防止効果、更には発癌性物質に対する抑制効果等が明らかになり臨床への応用が試みられて
20 いる。

- 上述したようなビフィドバクテリウム菌の有する種々の効果を利用するためには、この菌を腸管内で増殖させることが必要であるので、ビフィドバクテリウム菌の増殖を促進する物質（以下ビフィズスファクターという）
25 に関する研究が盛んに行なわれている。

ビフィズスファクターとして望ましい条件は、上部消化管において消化吸収されずに回腸や大腸へ到達すること、またビフィドバクテリウム菌の利用性が高く、他の菌に利用されにくいこととされている。このようなビフィズスファクターとして既にいくつか提案され、中でもオリゴ糖類を種々の食品へ添加することが広く利用されている。

しかしながら上記条件の観点から見た場合、従来報告されたオリゴ糖類は、ビフィズスファクターとしては不十分なものである。例えばフラクトオリゴ糖は、胃酸により分解されて上部消化管で一部吸収されてしまうという問題がある。またイソマルトオリゴ糖は小腸粘膜酵素により加水分解を受けて吸収されるので、大量の摂取が必要となる。ガラクトオリゴ糖の場合は酸や熱に対して比較的安定で上部消化管での消化吸収を受けにくい、製法上収率が低く製造コストが高いという欠点を有している。またこれらはいずれも糖類であるので、食品に添加する場合甘味料として働き、食味のうち甘味ばかりが強調されてしまうという問題もある。更にはこれら糖類の利用能の選択性が低く、ビフィドバクテリウム菌以外の腸内細菌にも利用されるので、十分な効果をあげるためには大量の摂取が必要になるという欠点がある。

本発明は上記のような従来技術の問題点に着目してなされたものであって、その目的は、上部消化管において消化吸収されず、ビフィドバクテリウム菌の増殖促進効

果に優れ、しかも選択性の高いビフィズスファクターを提供することにある。

発明の開示

上記課題を解決することのできた本発明は、グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラクトン

5 ンを有効成分として含有することに要旨を有する。

本発明者らはビフィズスファクターに関して種々検討した結果、グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラクトンがビフィドバクテリウム菌の選択

10 的増殖促進作用を有するという新しい知見を得、この新しい知見に基づき、さらに研究を続けた結果、本発明の完成に至ったものである。即ち、本発明者らがグルコン酸の利用能について検討した結果、ビフィドバクテリウム菌のうち、特に成人の腸内に優勢とされるビフィ

15 ドバクテリウム・アドレセンティス (*Bifidobacterium adolescentis*) に効率よく利用され、一方腸管内に常在して産褥熱、虫垂炎、腸炎、食中毒の原因菌となるウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) には利用されず逆にその発育を抑制することを見出した。またグルコン

20 酸 (塩) は腸内優勢菌であるバクテロイデス属の菌には利用されないことも解明した。

グルコン酸 (塩) がインビトロでビフィドバクテリウム・アドレセンティスに利用され得ることは「バージー

25 ズ・マニュアル・オブ・システマティック・バクテリオロジー、第8版、ザ・ウィリアムズ・アンド・ウィルキ

ンス社」等に記載されている、一方、ビフィズスファクターとしての重要な条件として、既述の如く上部消化管で消化吸収されずに大腸に到達することが挙げられるが、有機酸は一般に小腸で吸収されることが知られており、グルコン酸も小腸で吸収されるだろうと考えられてきた。また、グルコン酸はグルコースにも化学構造的に類似するので、グルコースと同様小腸で吸収されると従来考えられてきた。しかしながら後記するように腸管ループ法によってグルコースが100%吸収される条件下でグルコン酸の小腸における吸収性を試験した結果、驚くべきことに大部分が小腸に吸収されず、大腸に到達するということを見出したのである。有機酸がビフィドバクテリウム菌増殖促進作用を有することを見出したのは初めてである。さらにまた、本発明者らはグルコン酸がいわゆる「悪玉菌」であるウエルシュ菌の発育を抑制する効果があることを初めて見出した。このように、グルコン酸はビフィドバクテリウム菌を選択的に増殖促進させるという作用を有する。

ビフィドバクテリウム菌については、前記ビフィドバクテリウム・アドレセンティスのほか、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレータム、ビフィドバクテリウム・カテニユレータム等の菌がグルコン酸を利用し得るということが知られているので、グルコン酸、その無毒性塩およびグルコノデルタラクトンがこれらの菌の増殖促進作用を有し得る。

グルコン酸は温和な酸味を有するので食品の酸味料として用いられ、またそのカルシウム塩は水によく溶けるのでカルシウム剤として食品に添加したり医薬品として用いられている。また、グルコノデルタラクトンは水に溶解すると徐々にグルコン酸塩に変化し、豆腐の凝固剤、パン等の膨張剤として用いられている。

本発明で用いるグルコン酸の無毒性塩としては、人体に無害であり、且つビフィドバクテリウム菌の利用性が良好なものであれば特に限定されないが、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩のほか、カルシウム塩、マグネシウム塩、亜鉛塩、銅塩等が好ましいものとして例示される。

ビフィドバクテリウム菌の増殖促進作用を有するグルコン酸、その塩および／またはグルコノデルタラクトンは、ヒトまたは動物のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤、クロストリジウム菌の増殖抑制剤、整腸剤、腸内腐敗発酵抑制剤、下痢予防治療剤、糞便の臭いの軽減剤、便性状改善剤、便秘改善剤、或は更に動物肥育促進剤等として用いることもできる。

本発明のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤をはじめとする各種用途の剤は、グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラクトンを単独で、或いは他のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤を二種以上混合して粉剤、顆粒剤、錠剤等の所望の形状に加工すればよい。また用途や適用対象に応じて液剤として提供するこ

ともできる。

更に本発明のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤をはじめとする各種用途の剤には常用される各種添加剤を加えることも有効である。添加剤としては、アップルファイバー、コーンファイバー、アルギン酸、キャロットパウダー、ペクチン、海藻多糖類、カルボキシメチルセルロース等の食物繊維；乳糖、でんぷん等の賦形剤；蔗糖、麦芽糖、果糖、ソルビトール、マンニトール、ステビオサイド、アスパルテーム等の甘味料；ビタミン、ミネラル、ミルクパウダー、肉エキス等の栄養補給剤；香料；アラビアゴム末、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク等の滑沢剤などが挙げられ、これらの中から適宜選択して用いればよい。

本発明のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤および各種用途の剤は、グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤をそのまま、或は前記製剤にしたものをそのまま単独でヒトまたは動物に投与しても良いし、また各種食品に添加してヒトに、飼料に添加して動物にそれぞれ投与しても良い。

具体的には、発酵乳、清涼飲料水、シャーベット、キャンディー、ゼリー等の菓子、豆腐、食肉・魚肉練製品、その他の食品（例えば、各種漬物、ドレッシング等）に添加しても良い。また、糞便の臭いの軽減の目的

で老人食、病院食に添加したり、また粉剤、顆粒剤は振りかけ、スープの素、味噌汁の素等に添加しても良く、ウシ、ブタ、トリ等の家畜やイヌ、ネコ等のペットの飼料添加物として下痢の予防、治療、糞便の臭いの軽減のために、あるいは肥育促進剤として使用することができる。または、グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を水に添加してヒトまたは動物の飲料水として用いることもできる。

更にまた、グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤は、酸味料、カルシウム剤（グルコン酸カルシウム）、凝固剤あるいは膨張剤として従来から使用されているので、これらの用途を兼ねたビフィズスファクターとして用いることができる。

食品または飼料に添加する際の含有量としては0.1～10重量%の範囲が望ましい。またグルコン酸の無害性は既に広く知られているところであるが、1日の総摂取量は成人で0.1 g / kg、乳幼児で0.05 g / kg程度を目安とする。

また、この発明のビフィドバクテリウム菌の増殖促進作用等各種の効果は、水中で加水分解されてグルコン酸を生成する物質、例えばグルコン酸のエステル（例えば、メチルエステル、エチルエステル等のアルキルエステル等）、グルコノガンマラク톤等、あるいはまたD-ガラクトン酸、D-ガラクト-1, 4-ラク톤等でも期待できる。

ビフィドバクテリウム菌を選択的に増殖させる作用を有するグルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を添加した食品および食品素材は機能性食品および機能性食品素材として有用である。

- 5 食品および食品素材にグルコン酸、その無毒性塩またはグルコノデルタラク톤を含有させる方法としては、直接添加する方法と、食品や食品素材に含まれる成分を化学的あるいは生化学的な方法でグルコン酸等に変化させる方法がある。
- 10 前者の方法を用いる場合には、目的によって、グルコン酸、その無毒性塩またはグルコノデルタラク톤から適当なものを選択すればよく、例えば酸味を付加したい場合には、グルコン酸やグルコノデルタラク톤などを添加すればよく、塩味や味の改善を目的とする場合には
- 15 グルコン酸ナトリウムやグルコン酸カリウムを添加する方法が考えられる。又、後者の方法を用いる場合には、食品や食品素材にグルコースが含まれている場合にはグルコースオキシダーゼなどの酵素あるいは、グルコン酸生産菌を作用させて、グルコースをグルコン酸に変化させる方法があり、シュクロースやデンプン類を含む食品
- 20 や食品素材の場合は、例えばインベルターゼやアミラーゼなどの酵素を用いて、グルコースを生成させた後、同様にグルコースをグルコン酸に変化させる方法がある。

- グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を含有させうる食品および食品素材として
- 25

は、前記の食品のほか甘味料、ハチミツ、ローヤルゼリー、乳製品、大豆製品、食塩、酸味料、調味料、デンプン、デキストリン、魚肉・畜肉加工製品、麺類、飲料、パン、ケーキ、菓子、漬物等の塩蔵製品、pH調整剤、氷温貯蔵用凝固点降下剤、水分活性調整剤、防腐剤、賦型剤、増量剤などあらゆる食品および食品素材が挙げられる。これらの中から代表的なものを選び説明する。

(1) ハチミツ

ハチミツにはグルコン酸が少量含まれているが、グルコン酸のビフィドバクテリウム菌の増殖促進の機能を発現するためには、さらに濃度を高める必要がある。ハチミツの甘味とグルコン酸の酸味がよく調和することから、ハチミツにグルコン酸やグルコノデルタラクトンなどを添加するか、ハチミツ中のグルコースを酵素的にグルコン酸に変えることにより酸味を有する新規なハチミツが得られる。

(2) 甘味剤

異性化糖、水飴、黒砂糖、グルコースなどの甘味剤は、飲料、キャンディー、菓子類などに広く用いられているが、これにグルコン酸やグルコノデルタラクトンを添加するかあるいは、その成分を一部グルコン酸に変化させることで機能性を有する酸味を呈する新規な甘味剤として使用できる。

(3) オリゴ糖類

各種の機能を有するオリゴ糖類が開発されており、これらにグルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を添加して、その機能性を増強することにより、新規な呈味性甘味剤として使用できる。

(4) 乳製品

牛乳や脱脂粉乳は各種の食品の原料として用いられており、グルコン酸を添加することにより新規な呈味を有する機能性食品素材として使用できる。

この他にも、あらゆる食品や食品素材に対してグルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤の含有が考えられ、酸味、塩味の付加、カルシウムやマグネシウムの強化など、目的により選択して使用できる。

さらにまた、ビフィドバクテリウム菌の増殖促進作用を有するグルコン酸のアルカリ金属塩は上記に加えて次のような効果を有する。

(1) アスパルテームと併用した場合、アスパルテームの甘味の改善作用を有する。

(2) 豆腐用凝固剤と併用して、豆腐を製造した場合、豆腐の風味、舌ざわりを損なわずに維持できる作用を有する。

(3) 食塩と併用した場合、食塩の味の改善、保存性等を低下させることなく維持できる作用を有する。

また、グルコン酸は従来から使用されている酸味剤に添加することにより、酸味剤の有する味、風味、酸味の強さ等を損うことなく、機能性を付加できるという作用を有する。

5 以下、これらについて説明する。

アスパルテームとグルコン酸のアルカリ金属塩を含有する機能性甘味剤について：

アスパルテーム（ α -L-アスパルチル-L-フェ
ニルアラニンメチルエステル、以下アスパルテームと言
10 う）は甘味が砂糖の100～200倍程度と強いため食品に用
いた場合、エネルギーは低くダイエット甘味料として各
種飲料やケーキなどに広く用いられている。甘味の質は
砂糖に比較的近いものの、甘味の発現がやや遅く、舌に
残りやすいという欠点があることからその改善方法が検
15 討されている。例えば、アスパルテームとサイクロデキ
ストリンを併用する方法（特開昭60-114166）、アスパ
ルテームと水あめを併用する方法（特開昭60-114167）
などが知られている。しかし、サイクロデキストリンや
水あめは消化吸収され、エネルギー源となることからア
20 スパルテームの特徴である低エネルギー性の面からは好
ましい方法とはいえない。

一方、グルコン酸のアルカリ金属塩が合成甘味剤であ
るアセスルファムKの風味を改善するということが知ら
れているが（特開昭59-66857）、該公報にはグルコン
25 酸のアルカリ金属塩が具体的にどのように風味を改善す

るかは記載されていない。

アスパルテームの特徴を損なうことなく、味の質をできるだけ砂糖に近づける方法を検討した結果、グルコン酸のアルカリ金属塩を併用することにより、上記課題を
5 解決できることを見出した。すなわち、グルコン酸のアルカリ金属塩は少量の添加でアスパルテームの甘味の質を改善できること、このためアスパルテームにグルコン酸のアルカリ金属塩を添加した甘味剤は低エネルギーで、しかもビフィドバクテリウム菌を選択的に増殖させる作用を有するため健康上にもすぐれたものであり、
10 従って機能性甘味剤として有用である。

この発明の機能性甘味剤は、甘味剤としてあらゆる食品に使用することができる。

グルコン酸のアルカリ金属塩の添加量は、アスパル
15 テーム 1 重量部に対して当量以上で甘味の改善効果が認められるが、グルコン酸のアルカリ金属塩の添加量が多くなると塩味を感じるようになることから、使用する食品によって添加量を調整する必要がある。例えば、清涼飲料などの塩味が問題となるような食品では、食品中の
20 グルコン酸のアルカリ金属塩の量が 1 % 以下となるようにすることが望ましく、逆に、漬物のように甘味と塩味が同時に必要な食品では、食品中のグルコン酸のアルカリ金属塩の量が 1 % を越えてもまったく問題とはならない。

この発明の甘味剤の使用方法としては、アスパルテームとグルコン酸のアルカリ金属塩をそれぞれ別々に食品に添加しても良いし、アスパルテームとグルコン酸のアルカリ金属塩を使用する食品に応じてあらかじめ混合して使用しても良い。甘味剤の形態としては粉末、顆粒状、液状等常用のものが挙げられる。又、アスパルテームとグルコン酸のアルカリ金属塩の他に例えば、酸味剤、他の甘味剤、調味料、賦形剤等各種成分を配合しても良い。

この発明の機能性甘味剤は、アスパルテームの味を低エネルギーのままでできるだけ砂糖に近づけたものであるため、低エネルギー甘味剤として優れているばかりでなく、該甘味剤を構成するグルコン酸のアルカリ金属塩の作用として腸内のビフィドバクテリウム菌を選択的に増殖させる効果を有するので、機能性甘味剤として有用である。

豆腐用凝固剤にグルコン酸のアルカリ金属塩を含有させた機能性豆腐用凝固剤について：

豆腐は大豆から製造した豆乳に凝固剤を添加して製造するが、凝固剤として一般に用いられているグルコノデルタラクトンは、水に溶かすと加水分解されてグルコン酸になるために添加量が多くなると豆腐に酸味が付加されるといった問題があり、添加量は0.3%が限度とされている。

国民の健康志向の向上とともに機能性食品の開発がさ

かんに行われているが、伝統食品である豆腐にも新たな機能性を持たせることができれば、食卓でも親しみやすい食品であるという点からもその意義は大きい。

この発明者等は、前記のようにグルコン酸等がビフィ
5 ドバクテリウム菌の増殖作用を有しているという新知見
に基づき、上記課題解決のため鋭意研究の結果、グルコ
ン酸のアルカリ金属塩を豆腐の製造時に添加することによ
って風味や舌ざわりを損なうことなくグルコン酸等を
高濃度で含有し、機能性を有する豆腐が製造できること
10 を見出した。豆腐凝固剤としては、従来の豆腐用凝固
剤、例えば、グルコノデルタラクトン、グルコン酸カル
シウム、硫酸カルシウム、塩化マグネシウム等やそれら
の合剤が挙げられる。

豆腐用凝固剤にグルコン酸のアルカリ金属塩を含有さ
15 せた機能性豆腐用凝固剤中の凝固剤とグルコン酸のアル
カリ金属塩との配合割合は一般的には凝固剤1に対して
0.3～30程度の範囲で配合すればよい。

このグルコン酸のアルカリ金属塩を含有させた機能性
豆腐用凝固剤を使って豆腐を製造する場合、該凝固剤の
20 添加量は豆腐が凝固する量でよいが、一般的には豆腐中
のグルコン酸量が0.5%（重量%、以下同じ）以上が好
ましい。

さらにまた、豆腐を製造する場合には、上記凝固剤の
ほか、リンゴ酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム等の有
25 機酸の塩等が併用されることがある。

グルコン酸のアルカリ金属塩の添加量は特に制限はないが、機能性を考慮した場合、豆腐中の含量がグルコン酸に換算して0.5%以上となるように添加することが好ましい。この場合、凝固剤として、グルコノデルタラク
5 トンやグルコン酸カルシウムあるいは、これらを配合したものを用いる場合には、合計量がグルコン酸に換算して0.5%以上となるようにグルコン酸のアルカリ金属塩の添加量を調整すれば良い。

グルコン酸のアルカリ金属塩を添加するに当たっては、豆腐の製造工程中の任意の時期に添加すれば良く、
10 例えば、大豆を水とともに磨砕した”ゴ”あるいはゴを加熱した後におからを除去して得た豆乳に添加する方法などが考えられる。又、添加の方法としては、単独で添加しても良いし、消泡剤や凝固剤などの豆腐の製造に用
15 いる添加物や食品素材とあらかじめ混合して添加しても良い。

又、グルコン酸のアルカリ金属塩は、あらゆる豆腐に使用が可能であり、例えば、絹ごし豆腐、充填包装豆腐、木綿豆腐、ソフト豆腐などが挙げられ、この場合にはこれらの豆腐を製造する目的で使用されている凝固剤
20 (グルコノデルタラクトン、硫酸カルシウム、塩化マグネシウム等)などの添加物はそのまま使用できる。

この発明の機能性豆腐は、従来の豆腐にグルコン酸のアルカリ金属塩等のグルコン酸類を添加することにより
25 豆腐の風味、舌ざわりなどを損なうことなく、ビフィド

バクテリウム菌の増殖促進作用という機能性を付加した点で有用である。

食塩にグルコン酸のアルカリ金属塩を添加した機能性塩味剤について：

- 5 近年の成人病の増加は食生活と深く関りがあることが指摘されており、その一つとして、高血圧と食塩の摂取量の因果関係が明らかにされている。その対策として、食塩の摂取量を少なくするために各種の減塩食品が販売されるようになってきたが、食塩は食品に塩味を付加する
- 10 目的だけで使用されているとは限らず、食品の加工や保存の面でも大きな役割りを果たしている場合が多い。例えば、漬物では減塩により、浸透圧の低下や水分活性の向上を伴い、加工特性や保存性に悪影響を及ぼすことが問題となっている。
- 15 この問題を解決する方法として、食塩の不足分を塩化カリウムで補う方法や、食酢や有機酸などの酸味剤を併用する方法などがとられているが、いずれの場合にも、食品の味への影響が大きく、有効な方法とはいえない。このような状況から、食塩を使用した食品の味、保存性
- 20 などを変化させることなく、食塩の使用量を低減できる添加剤の開発が強く望まれている。

上記の課題の解決のため鋭意研究の結果、グルコン酸のアルカリ金属塩は塩味は食塩より弱い、その質は食塩に近く、食塩の代替塩として有効であることを見出した。又、前記のようにグルコン酸等は、小腸ではほとん

25

ど吸収されずに大腸に到達してビフィドバクテリウム菌を選択的に増殖させる作用を有していることが新たに判明し、食塩の代替塩として有効であるばかりでなく、整腸作用を併せもつ点でも有益である。この発明は食塩を使用する食品の塩味の質、保存性などを低下させることなく、ビフィドバクテリウム菌の増殖作用という機能性を有する新しい塩味剤を提供するものである。

グルコン酸のアルカリ金属塩の使用量は特に制限はなく、食塩の半分以上を代替しても食品の味に悪影響は及ぼさないばかりでなく、代替率40%以上では食塩の味をマイルドにする効果もありこの点でも有効である。

使用方法としては、食塩と別々に添加して使用してもよいし、あらかじめ混合して使用しても良い。又この他、酸味剤、調味料、甘味料、賦形剤等各種成分を配合しても良い。

次にグルコン酸ナトリウムとグルコン酸カリウムの塩味の強さを示した。

食品の塩味の強さはこの値を参考にして添加量を決定すればよい。

20 塩味の強さ（閾値より算出）

表 1

	塩味度*
食 塩	1
グルコン酸ナトリウム	0.2
グルコン酸カリウム	0.15

5

* 食塩の塩味の強さを1とした時の相対値

グルコン酸のアルカリ金属塩を塩味剤の目的で使用する
場合、その用途は特に限定されることはなく、食塩が
用いられている食品ならすべてに使用が可能である。例
10 えば、漬物、麺、パン、みそ、しょう油、魚貝類の塩蔵
品、スープ、みそ汁などがあげられる。又、食品に塩味
を付加する目的であれば、かならずしも食塩を併用する
必要はなく、グルコン酸のアルカリ金属塩を単独で使用
してもよい。

15 この発明の機能性塩味剤は、食塩にグルコン酸のアル
カリ金属塩を添加使用することにより、従来から使用さ
れている食塩の用途にそのまま使用しても食品の塩味の
質、保存性などを低下させることなく、しかもビフィド
20 バクテリウム菌の増殖促進作用という機能性を付加した
ものであり、機能性塩味剤として有用である。

酸味剤にグルコン酸を添加した機能性酸味剤について：

食品に酸味を付加する物質、いわゆる酸味剤として各
種の有機酸が使われているが、それぞれに味、酸味の強
さなどの特徴が有り、食品により使い分けられている。
25 例えば、ジュース類にはクエン酸、キャンディーには酒

石酸、漬物には酢酸がよく使われるなどそれぞれの酸味剤の特徴を生かした使われ方がされている。又、食品によってはいくつかの酸味剤を組み合わせる場合もある。

- 5 最近は、機能性食品の開発がさかんに行われているが、従来から使用されている酸味剤についてもこれに機能性をもたせることができれば酸味剤としてすぐれたものになる。

- 10 この発明者等は上記課題解決のため鋭意研究の結果、グルコン酸がビフィドバクテリウム菌の増殖促進作用があるという新知見に基づき、グルコン酸を従来から使用されている酸味剤に添加使用することにより、酸味剤の有する味、風味、酸味の強さ等の特徴を損うことなく、機能性を付加できることを見出し、さらに研究を続けた
- 15 結果、この発明を完成した。

- 20 この発明は、従来から使用されている酸味剤の一部をグルコン酸に置きかえることにより、該酸味剤の味、風味、酸味の強さ等を損うことなく、ビフィドバクテリウム菌の増殖作用という機能性を有する新しい酸味剤および該酸味剤を添加した食品を提供するものである。

- 25 この発明で使用するグルコン酸としては、グルコン酸自体のほか、水溶液中でグルコン酸になる物質であれば使用でき、そのような例として、例えば、グルコノテラクトン、グルコノガンマラクトン、グルコン酸エチルエステル等のグルコン酸のアルキルエステル等が挙げ

られるが、一般的には食品に使用が認められているグルコン酸、グルコノデルタラクトンが好ましい。

また、酸味剤としては、従来から食品の酸味剤として使用されているすべての酸味剤に適用でき、好ましい例
5 としては例えば、クエン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、酢酸、コハク酸等が挙げられる。

酸味剤の一部をグルコン酸に置き換える場合、その割合は酸味剤の種類、酸味の強さ（酸味度）により異なる。各有機酸について、グルコン酸に置き換えることが
10 可能な割合（すなわち、従来の酸味剤の味、風味、酸味の強さ等を損うことなく、グルコン酸を添加できる量）の上限値を酸味度で示した（表2）。なお、ここに示した値は、グルコン酸を用いた場合を示しており、他の前記グルコン酸になる物質を用いる場合は、水溶液中での
15 グルコン酸の生成量を基に換算すれば良い。なお、参考までにグルコン酸の酸味度を1とした時の各種酸味剤の酸味度を示した（表3）。

表 2

酸 味 剤	グルコン酸に置換可能な 上限値（酸味度換算）
クエン酸	4 0 %
乳 酸	3 0 %
酒石酸	4 0 %
リンゴ酸	3 0 %
酢 酸	2 0 %
コハク酸	5 0 %

表 3

有 機 酸	酸 味 度
グルコン酸	1
クエン酸	3
乳 酸	3 . 2
酒石酸	4 . 7
リンゴ酸	4 . 1
酢 酸	4
コハク酸	3 . 6

次に上記表の見方をクエン酸を例に説明する。

クエン酸の酸味度の40%をグルコン酸に置き換える場合、クエン酸を目的量の60%添加し、目的量の40%のクエン酸をその酸味度に相当する量のグルコン酸に置換しても、クエン酸を単独で使用した場合に比べ、味、風

味、酸味の強さなどに差が認められないことを示している。例えば、0.5%のクエン酸溶液の酸味度の40%をグルコン酸に置き換える場合、クエン酸が0.3%、グルコン酸が0.6%となるように配合すればよい。

- 5 グルコン酸の使用方法としては、各種の酸味剤と別々に添加して使用しても良いし、あらかじめ混合して使用しても良い。この場合のグルコン酸類の使用割合は酸味度で上記の表の値以下となるようにすることが好ましく、この値より多く使用した場合には、酸味剤の味、風味が変化し、本来の特徴が生かせなくなる可能性がある。
- 10 又、いくつかの酸味剤を組み合わせる場合は、各々の酸剤の酸味度に対するグルコン酸への置換可能な上限値を参考に配合することができる。

- 次に従来の酸味剤にグルコン酸を配合した機能性酸味剤のうち、最も好ましい酸味剤の例を示すと、クエン酸とグルコン酸を10：3～10：20の割合で含有する酸味剤、酒石酸とグルコン酸を10：5～10：30の割合で含有する酸味剤および乳酸とグルコン酸を10：3～10：15の割合で含有する酸味剤等が挙げられる。そして、これらの酸味剤を添加する食品に応じて単独あるいは2種以上混合して使用すればよい。例えば、ジュース類、キャンディー等にこれら酸味剤の1種または2種以上を混合したものを添加する場合には、0.5重量%以上を添加すればよい。
- 15
- 20

この発明の機能性酸味剤は、従来の酸味剤にグルコン酸を添加使用することにより、酸味剤の味、風味、酸味の強さ等の酸味剤としての従来の特徴を損うことなく、ビフィドバクテリウム菌の増殖促進作用という機能性を付加した機能性酸味剤として有用である。

次にこの発明の試験例および実施例を示す。

試験例 1 <腸管ループによるグルコン酸の吸収試験>

本発明例としてグルコン酸ナトリウムを、比較剤としてグルコースを用いて試験を行った。被験動物はラット（ウイスター系、雄 7 週齢、体重約 280 g）を 1 群 3 匹とし、計 12 匹を用いた。

被験ラットを 24 時間絶食させ、エーテルで麻酔後開腹し、小腸上部（空腸のトライツ靱帯下部）または小腸下部（回腸）で約 10 cm のループを形成した。ループ部に 100 mM のグルコン酸ナトリウムまたはグルコースを溶解した生理食塩水 0.5 ml を注入し、閉腹して 30 分間吸収させた後ループを摘出し、内容液を生理食塩水 20 ml で洗い出した。

内容液中に残存しているグルコン酸量を「F-キット D-グルコン酸」（ベーリンガー・マンハイム・山之内製）を用いて測定し、またグルコース量を「グルコース CII テストワコー」（和光純薬製）を用いて測定し、この値を投与時回収量とした。

尚上記ループ摘出時に小腸の隣接部分を余分に切り取り、添加回収実験用ループ（約 10 cm）を作製した。そこ

へ供試剤0.5mlを注入し、上記方法と同様に回収し、グルコン酸量またはグルコース量を測定してこれを添加時回収量とし、下式に基づいて各試料の残存率を算出した。

$$\text{残存率 (\%)} = \left[\frac{\text{(投与時回収量)}}{\text{(添加時回収量)}} \right] \times 100$$

表 4

10

	グルコース	
小腸部位	上部	下部
残存率 (%) *	0 ± 0	50.7 ± 6.0

15

	グルコン酸ナトリウム	
小腸部位	上部	下部
残存率 (%) *	80.1 ± 4.8	89.4 ± 13.4

* : 平均値 ± S D

表 4 に小腸上部または下部における残存率を示した。

20 表 4 から明らかなように、グルコン酸は小腸で約80～90%残存しており、このことから小腸では一部しか消化吸収されないことが判る。これに対してグルコースは小腸上部で完全に吸収されてしまうので大腸にはほとんど到達できず、ビフィドバクテリウム菌を増殖させる効果は

25 期待できない。

試験例 2 <グルコン酸塩の選択的利用性>

表 5 に示す様に、ビフィドバクテリウム菌の代表として
ビフィドバクテリウム・アドレセンティス (*Bifidobacterium*
adolescentis ATCC 15703、*Bifidobacterium*
adolescentis ATCC 15705) を、またいわゆる悪玉菌の
代表としてウエルシュ菌 (*Clostridium perfringens*
GKK 16、*Clostridium perfringens* CWiu) 及び腸内優勢
菌としてバクテロイデス属の菌 (*Bacteroides fragilis*
W-7) を用いた。供試菌株を G A M ブイヨン培地 (ニッ
スイ製) に接種し、37℃、20時間嫌気培養して前培養菌
液とした。

供試剤としてはグルコン酸ナトリウム、フラクトオリ
ゴ糖、グルコースを用い (表 5 参照)、糖分解試験用培
地は、GAM 糖分解用半流動培地 (ニッスイ製) の 1 / 2
処方から寒天を除去した培地を基礎培地とし、上記供
試剤を 0.5W / V % 添加し、pH6.9 に調整したものを用い
た。

該試験用培地に前培養菌液を 0.01V / V % 接種し、37
℃、20時間嫌気培養して濁度 (660nm) 及び pH を測定し
た。培地は直径 18mm の試験管に 5 ml ずつ分注した。嫌気
培養はアネロパック (三菱ガス化学製) を使用した。濁
度の測定は島津ミルトン・ロイ分光光度計 "スペクトロ
ニック 20A" を使用し、試験管のまま測定した。pH の測
定は pH メーター HM-30S (東亜電波工業製) のガラス電
極で直接測定した。基礎培地を用いたコントロールと比

較して濁度を増加させるか或いはpHを低下させた場合、
その供試剤が利用されると判定した。結果を表5に示す。

また、代表的な菌株としてBifidobacterium adolescentis ATCC 15703を選んで、グルコン酸カルシウムに関して試験した結果を表6に示す。

表 5 (その1)

	供試菌株	供試剤		コントロール (基礎培地)	グルコン酸 ナトリウム
10	Bifidobacterium adolescentis ATCC 15703	濁度 p H		0.27 6.04	0.68 5.22
	Bifidobacterium adolescentis ATCC 15705	濁度 p H		0.15 6.10	0.66 5.28
15	Clostridium perfringens GKK 16	濁度 p H		0.27 6.46	0.23* 6.43
	Clostridium perfringens CWiu	濁度 p H		0.36 6.60	0.33* 6.56
	Bacteroides fragilis W-7	濁度 p H		0.48 6.12	0.48 6.07

表 5 (その2)

	供試菌株	供試剤		フラクト オリゴ糖	グルコース
5	Bifidobacterium adolescentis ATCC 15703	濁度 p H		0.77	0.84
				4.32	4.23
10	Bifidobacterium adolescentis ATCC 15705	濁度 p H		0.80	0.76
				4.27	4.27
	Clostridium perfringens GKK 16	濁度 p H		0.40	0.95
				6.01	4.99
15	Clostridium perfringens CWiu	濁度 p H		0.47	1.04
				6.53	5.24
	Bacteroides fragilis W-7	濁度 p H		0.64 5.20	0.60 4.99

* : コントロールよりも濁度が減少

表 6

20	供試菌株	供試剤		コントロール (基礎培地)	グルコン酸 カルシウム
	Bifidobacterium adolescentis ATCC 15703	濁度 p H		0.25	0.45
				6.81	5.39

表 5 及び表 6 から明らかなように、本発明に係るグル

25 コン酸ナトリウム及びグルコン酸カルシウムはいずれ

も、ビフィドバクテリウム菌によく資化され、またグル
コン酸ナトリウムは病原菌ともなるウエルシュ菌には資
化されず、むしろ増殖を抑制することが分かる。さらに
また、グルコン酸ナトリウムは腸内優勢菌であるバクテ
5 ロイデス属の菌には利用されず、本発明の増殖促進剤が
選択的な増殖促進剤として優れていることが判かる。一
方、グルコースはビフィドバクテリウムの資化性は強い
ものの本発明例のような選択性は認められない。また試
験例 1 から明らかなようにグルコースは小腸上部ではほ
10 完全に吸収されてしまうので、大腸に到達し得ず、ビフ
ィズスファクターとしては不適當であることが分かる。
試験例 3 <ヒトの糞便菌叢に及ぼすグルコノデルタラク
トン投与の影響>

本発明例としてグルコノデルタラクトン（グルコン酸
15 のラクトン）を、ヒトに投与して、腸内菌叢と便性に及
ぼす影響について試験を行った。

健康成人男性（50歳）1名に、1日当たり9gのグルコ
ノデルタラクトン粉末を1日3回に分けて摂取させ、摂
取0日、摂取10日、摂取30日および摂取終了後20日休止
20 した時点での糞便中の腸内菌叢を、光岡の方法（光岡知
足：「腸内菌の世界」，叢文社，東京，p 53（1984））
に準じて測定した。その結果を表7に示す。また糞便の
性状として硬さ，色，臭いを被験者自身が毎日官能で観
察した。

表 7

属 名	糞便 1 g 当たりの菌数の対数値 ()内は全体に対する比率(%)			
	摂取 0 日	摂取 10日	摂取 30日	休止 20日
5 Bifidobacterium (ビフィドバクテリウム)	9.5 (10)	10.5 (65)	10.7 (94)	9.7 (19)
Bacteroidaceae (バクテロイデス)	10.2 (52)	10.0 (22)	9.3 (4)	10.3 (69)
10 Eubacterium (ユウバクテリウム)	9.4 (8)	9.6 (8)	8.9 (1)	9.5 (11)
Peptococcaceae (嫌気性レンサ球菌)	9.9 (30)	9.3 (5)	8.7 (1)	8.7 (2)
C. perfringens (ウェルシュ菌)	7.0	<3	<3	3.6
15 Enterobacteriaceae (大腸菌群を含む)	7.0	6.4	6.2	6.8
総菌数	10.5 (100)	10.6 (100)	10.7 (100)	10.4 (100)

表 7 から明らかな様に、グルコノデルタラクトンにより、腸内におけるビフィドバクテリウムは顕著に増加した。これに対してバクテロイデスは減少し、ウェルシュ菌は検出されない状態にまで減少した。また、便の硬さは柔らかくなり、便秘改善作用が見られ、臭いも軽減した。

試験例 4 <イヌの糞便臭気の低減>

本発明例として、グルコノデルタラクトンをイヌに投与して、糞便臭気の低減効果について検討した。

約10か月齢のビーグル犬雄8頭（体重10～13kg）を1
5 群4頭の2群に分け、グルコノデルタラクトン投与区と、グルコノデルタラクトンを投与しない対照区とした。

グルコノデルタラクトンはゼラチンカプセルに入れ、
50mg/kg体重/回で10時、13時、16時の1日3回、2週
10 間投与した。投与前と2週間投与後に、投与区と対照区の新鮮糞便を採取し、パネラーによる糞便臭気の比較を行った。

その結果、グルコノデルタラクトン投与区で糞便臭気の低減が観察された。

15 試験例 5 <甘味剤官能検査>

アスパルテームにグルコン酸ナトリウムを添加した時の甘味の改善度を官能検査により比較した。

官能検査の方法

砂糖10%溶液（x）、アスパルテーム0.083%溶液
20 （y）、アスパルテーム0.083%溶液にグルコン酸ナトリウムを0.3%となるように添加した溶液（z）の三者を2つずつ組合せ、先に味わった味（A）が後に味わった味（B）に比べてどの程度砂糖の味に近いかを下記の基準で評価した。なお甘味の強さはx、y、zともに同
25 程度である。対照は砂糖10%溶液とした。

パネル数 10 名

	Aの方がBに比べて対照の味に非常に近い	+ 3
	〃 かなり近い	+ 2
	〃 少し近い	+ 1
5	どちらが対照の味に近いとはいえない	0
	Bの方がAに比べて対照の味に少し近い	- 1
	〃 かなり近い	- 2
	〃 非常に近い	- 3

結果

10

表 8

先 後	+ 3	+ 2	+ 1	0	- 1
x y	5	3	2	0	0
y x	0	0	0	0	1
x z	0	2	7	0	1
z x	0	0	2	0	6
y z	0	0	1	0	1
z y	4	3	1	1	1
計	9	8	13	1	10

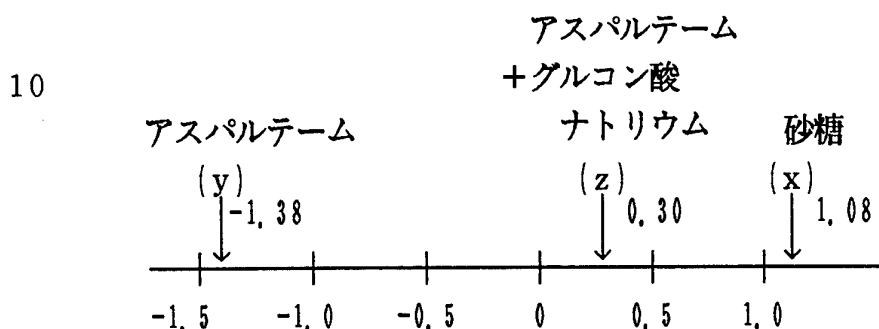
15

20

先 後	- 2	- 3	総 点	平均点
x y	0	0	23	2.3
y x	4	5	-24	-2.4
x z	0	0	10	1.0
z x	2	0	-8	-0.8
y z	6	2	-18	-1.8
z y	0	0	18	1.8
計	12	7		

25

この結果について分散分析を行った結果、 x 、 y 、 z にはそれぞれの間に有意な差が認められるが、アスパルテーム単独 (y) に比べ、アスパルテームにグルコン酸ナトリウムを添加したもの (z) の甘味の質は、砂糖 (x) の味にかなり近づいており、明らかに味の改善効果が認められた。砂糖、アスパルテーム、アスパルテームにグルコン酸ナトリウムを添加したものの味の関係をグラフに表わすと次のようになる。



15 三者の味の関係を例えば砂糖の味を100、アスパルテームの味を0とした場合、アスパルテームにグルコン酸ナトリウムを添加したものの味は68まで改善されると考えられる。

実施例 1 (甘味剤)

20 市販の100%オレンジ果汁に水、クエン酸およびアスパルテームにグルコン酸のアルカリ金属塩を添加した甘味剤を加え、オレンジ果汁飲料を調製した。比較例として、同じ甘味度となるようにグラニュー糖を用いて同様にオレンジ果汁飲料を調製し、味の違いを官能検査 (三

25 点比較法) で評価した。本件発明と比較例の味に有意な

差は認められなかった。

		実施例の組成		比較例の組成
		(A)	(B)	
	100% オレンジ果汁	150 g	150 g	150 g
5	クエン酸	3.6 g	3.6 g	3.6 g
	アスパルテーム	0.22 g	0.22 g	—
	グルコン酸ナトリウム	2.1 g	—	—
	グルコン酸カリウム	—	5.0 g	—
	グラニュー糖	—	—	51 g
10	水	516 g	516 g	516 g

官能検査 パネル数10名

表 9

15	試 験 区	官能検査 注)
	実施例 A ↔ 比較例	5 / 10 (有意差なし)
	実施例 B ↔ 比較例	5 / 10 (有意差なし)

注) 識別正解者数 / パネル数

実施例 2 (ハチミツ)

- 20 中国産のレンゲハチミツ 200 g に水 300 g を加え、これにグルコースオキシダーゼ (60 ユニット / mg) とカタラーゼ (390 ユニット / mg) 活性を有する酵素剤 0.5 g を添加し、23℃、通気条件下で90分間反応させ、グルコン酸を含有するハチミツを得た。この反応液のグルコン酸
- 25 を高速液体クロマトグラフィーにより定量したところ表

10の結果が得られた。本品は酸味と甘味を併せ持った、
さわやかな呈味性を有していた。

表 10

		反応前	反応後
5	グルコン酸含量 (%)	0 . 0 5	3 . 5
	P H	4 . 2	2 . 6

実施例 3 (異性化糖)

異性化糖 (果糖 42% 品) 135 g に水 300 g を加え、これ
10 に実施例 2 で用いた酵素剤 0.5 g を添加し、23℃、通気
条件下で 90 分間反応させ、グルコン酸を含有する異性化
糖液を得た。この異性化糖液中のグルコン酸を高速液体
クロマトグラフィーにより定量したところ表 11 の結果が
得られた。

15 表 11

		反応前	反応後
	グルコン酸含量 (%)	0 . 0 2	3 . 5
20	P H	5 . 8	2 . 5

なお、グルコン酸を含有する異性化糖液を製造する場合、異性化糖の製造工程であるグルコースをフラクトースに変換する反応が終了した段階で、上記の反応を行
25 い、その後に濃縮する方法も考えられる。

実施例 4 (グルコース)

グルコース 100 g に水 400 g を加え溶解し、これに実施例 2 で用いた酵素剤 0.5 g を添加し、23℃、通気条件下で 90 分間反応させ、グルコン酸を含有するグルコース液を得た。このグルコース液中のグルコン酸を高速液体クロマトグラフィーにより定量したところ、表 12 の結果が得られた。

表 12

	反 応 前	反 応 後
グルコン酸含量 (%)	0	5 . 4
P H	6 . 7	2 . 6

実施例 5 (水 飴)

水 飴 100 g に水 400 g を加え、これに実施例 2 で用いた酵素剤 0.5 g を添加し、23℃、通気条件下で 90 分間反応させ、グルコン酸を含有する水 飴 溶液を得た。この水 飴 溶液中のグルコン酸を高速液体クロマトグラフィーにより定量し、下表の結果が得られた。この場合も実施例 3 と同様に、水 飴 の製造工程に於て、デンプンを加水分解した段階で、上記の反応を行い、グルコン酸を含有する水 飴 を製造する方法も考えられる。

表 13

	反 応 前	反 応 後
グルコン酸含量 (%)	0 . 0 5	3 . 0
P H	4 . 2	2 . 8

実施例 6 (オリゴ糖)

イソマルトオリゴ糖 (昭和産業、イソマルト 500) 150 g に水 350 g を加え、これに、実施例 2 で用いた酵素剤 0.5 g を添加し、23℃、通気条件下で 90 分間反応させ、グルコン酸を含有するオリゴ糖液を得た。このオリゴ糖液中のグルコン酸を高速液体クロマトグラフィーにより定量し、表 14 の結果が得られた。この場合も実施例 3 と同様オリゴ糖の製造工程で酵素によりイソマルトオリゴ糖を生成させる反応を行った後上記の反応を行い濃縮する方法も考えられる。又、この他、フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、乳果オリゴ糖類なども同様の方法でグルコン酸を含有するオリゴ糖とすることができる。

表 14

	反 応 前	反 応 後
グルコン酸含量 (%)	0 . 0 2	4 . 0
P H	3 . 6	2 . 5

実施例 7 (黒砂糖)

黒砂糖 100 g に水 400 g を加え、これにインペルターゼ
(4 U / ml) を 0.1 g と実施例 2 で用いた酵素剤 0.5 g を
添加し、23℃、通気条件下で 90 分間反応させ、グルコン
5 酸を含有する黒砂糖液を得た。この黒砂糖液中のグルコ
ン酸を高速液体クロマトグラフィーにより定量したところ、
表 15 の結果が得られた。

表 15

	反応前	反応後
グルコン酸含量 (%)	0	3.6
P H	5.8	3.0

実施例 8 (乳飲料)

15 脱脂粉乳 20 g に水 180 g を加え、これにグルコン酸カル
シウム 2 g とグルコン酸ナトリウム 3 g を添加した。
この方法で、加熱しても沈澱物の生成しない安定したカル
シウム強化乳飲料が製造できた。

実施例 9 (牛乳凝固物)

20 牛乳 100 g に砂糖 10 g とグルコノデルタラクトン 3 g
を加え、80℃で 30 分間加熱して、牛乳を凝固させ、デ
ザート用牛乳凝固物を得た。

実施例 10 (リンゴ果汁飲料)

市販の 100% リンゴ果汁に水、クエン酸、グラニュー
25 糖、グルコン酸ナトリウムを加えてリンゴ果汁飲料を調

製した（組成は下記の通り）。

本品はグルコン酸ナトリウムを加えないものに比べて味は濃厚であり、100%リンゴ果汁に近い品質となった。

5	100%リンゴ果汁	20 g
	グラニュー糖	8 g
	クエン酸	0.32 g
	グルコン酸ナトリウム	1.08 g
	水	80 g

10 実施例11（豆腐）

一晩水に浸漬し、充分吸水させた大豆200 gに水350mlを加え、ミキサーで磨砕し、ゴを調製する。このゴに蒸気を吹き込みながら加熱し、100℃に達した後、さらに3分間加熱し、直ちに、こし布でおからを分離し、豆乳を得る。この豆乳にグルコン酸ナトリウムを0.6%、1.0%となるように添加した後、グルコノデルタラクトンを0.3%となるように添加し、80℃の湯浴で30分間加熱し、豆腐を製造した。

結果は表16に示す通りである。

20 グルコン酸ナトリウムを添加した豆腐は無添加の豆腐に比べて”コク”があり、味は良好であった。なお、豆腐のかたさ、舌ざわりなどに、ほとんど差は認められなかった。

表 16

グルコン酸ナトリウム 添加量(%)	かたさ ^{注1)} (g/0.5cm ²)	味	グルコン酸 ^{注2)} 含量(%)
無添加	49	—	0.33
0.6	50	無添加に比べ コクがある	0.87
1.0	47	無添加に比べ コクがある	1.23

注1) カードメーターで測定

注2) グルコン酸換算量(計算値)

実施例12(豆腐)

実施例11と同様の方法で調製した豆乳を20℃まで冷却し、これにグルコン酸ナトリウムを1%となるように添加した後、グルコノデルタラク톤を0.3%となるように添加し、90℃の湯浴で40分間加熱し、豆腐を製造した。

結果は表17に示す通りである。

グルコン酸ナトリウムを添加した豆腐は無添加の豆腐に比べて”コク”があり、味は良好であった。なお、豆腐のかたさ、舌ざわりなどにほとんど差は認められなかった。

40

表 17

グルコン酸ナトリウム 添加量(%)	かたさ (g/0.5cm ²)	味	グルコン酸 含量(%)
無添加	57	—	0.33
1.0	56	無添加に比べ コクがある	1.23

実施例13(豆腐)

実施例11と同様の方法で調製した豆乳にグルコン酸ナ
トリウムを1.0%となるように添加した後、グルコノデ
ルタラクトン67%、硫酸カルシウム33%からなる凝固剤
0.30および0.34%を添加し80℃の湯浴で30分間加熱し
て、豆腐を製造した。対照にグルコン酸ナトリウムを添
加しない豆乳に同じ組成の凝固剤を0.30%加え同様に豆
腐を製造した。

結果は表18に示す通りである。

グルコン酸ナトリウムを添加した豆腐は、やや軟くな
るが、凝固剤を1割程度増すことで、かたさは対照と同
程度とすることができた。

20

25

表 18

	グルコン酸ナトリウム添加量 (%)	凝固剤添加量 (%)	かたさ (g/cm ²)	味	グルコン酸量 (%)
5	無添加	0.30	40	—	0.22
	1.0	0.30	33	無添加に比べ コクがある	1.12
10	1.0	0.34	39	無添加に比べ コクがある	1.15

実施例14 (凝固剤)

グルコン酸ナトリウム 3 kg にグルコノデルタラクトン
1 kg を混合し機能性豆腐用凝固剤 4 kg を製造した。

実施例15 (凝固剤)

15 グルコン酸カリウム 1 kg にグルコノデルタラクトン
300 g を混合し、機能性豆腐用凝固剤 1.3 kg を製造した。

実施例16 (凝固剤)

20 グルコン酸ナトリウム 3 kg にグルコノデルタラクトン
600 g、硫酸カルシウム 400 g を混合し機能性豆腐用凝固
剤 4 kg を製造した。

実施例17 (豆腐)

25 実施例11と同様の方法で調製した豆乳に実施例15で製
造した機能性豆腐用凝固剤を1.3%となるように添加
し、80℃の湯浴で30分間加熱し、豆腐を製造した。製造
した豆腐は味が良好で、かたさ、舌ざわりもまったく問

題はなかった。

試験例 6 (塩味剤官能検査)

食塩単独と食塩の一部をグルコン酸ナトリウムで置き換えた塩味剤を調製し、両者の塩味の強さを同一にした水溶液の味を官能検査で評価した。

(官能検査の方法)

食塩の一部をグルコン酸ナトリウム (GNA) で置き換えた塩味剤を 5 % 濃度になるように調製した水溶液と、これと同じ塩味度の食塩溶液を調製し両者の味の違いを三点比較法により評価した。

結果を次表に示す。

表 19 (その 1)

試 験 区	識別正解者数 パネル数 注1)
食塩 3.5% } G N A 1.5% } ↔ 食塩 3.8%	4 / 1 0
食塩 3.0% } G N A 2.0% } ↔ 食塩 3.4%	7 / 1 0 *
食塩 2.5% } G N A 2.5% } ↔ 食塩 3.0%	8 / 1 0 **
食塩 2.0% } G N A 3.0% } ↔ 食塩 2.6%	8 / 1 0 **

表 19 (その2)

	試 験 区	塩味の質 注2)
5	食塩 3.5% } G N A 1.5% } ↔ 食塩 3.8%	—
	食塩 3.0% } G N A 2.0% } ↔ 食塩 3.4%	GNA配合品がマイルド 5 食塩単独がマイルド 2
10	食塩 2.5% } G N A 2.5% } ↔ 食塩 3.0%	GNA配合品がマイルド 7 食塩単独がマイルド 1
	食塩 2.0% } G N A 3.0% } ↔ 食塩 2.6%	GNA配合品がマイルド 8 食塩単独がマイルド 0

注 1) * : 5 % の危険率で有意差あり

** : 1 % " "

無印 : 有意差なし

注 2) 識別正解者のうち、GNA配合品又は食塩単独
15 の方が塩味がマイルドであると答えた人数

実施例 18 (塩味剤)

きゅうり 300 g に食塩 40 %、グルコン酸のアルカリ金属塩 60 % からなる塩味剤 15 g を加え、きゅうりに均一になるようにまぶしたものをトレーに入れ、これに上ぶたをして 600 g の重しを置き室温で 24 時間放置し、きゅうりの浅漬を製造した。比較例として、塩味剤として食塩のみを 15 g 使用して、同様にきゅうりの浅漬を製造した。グルコン酸塩を使用したきゅうりの浅漬は比較例と比べて塩味がマイルドである他は、外観、テクスチャー、脱水量共に差は認められず、グルコン酸のアル

カリ金属塩は食塩の代替塩として十分使用可能であった。

結果を表20に示す。

表 20

5	原 材 料		浅 漬	
	塩 味 剤	き ゆ う り	収 量	味 他
10	食 塩 6 g グルコン酸 ナトリウム 9 g	300 g	260 g	比較例より塩味マイルド テクスチャーに差なし
	食 塩 6 g グルコン酸 カリウム 9 g	300 g	263 g	比較例より塩味マイルド テクスチャーに差なし
	食 塩 15 g (比較例)	300 g	264 g	—————

15 試験例 7 (酸味剤)

酸味剤としてクエン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、酢酸、コハク酸を選び、それぞれ単独と酸味剤の一部又は全部をグルコン酸に置き換えた酸味剤の酸味度を同一にし、両者に官能的に差を認めないグルコン酸の最大配合割合を酸味度を基準にして求めた。

官能検査の方法：

酸味剤単独 (A) と酸味剤の一部又は全部をグルコン酸で置き換えた酸味剤 (B) の酸味度を同一にし、酸味剤と酸味剤の一部又は全部をグルコン酸に置き換えたものの間に官能的に差が認められるかどうかを三点比較法

で評価した。パネル数 10 名

結果：

結果を次表に示す。

表 21

5	A \ B	グルコン酸への置換度（％対酸味度）					
		20	30	40	50	60	100
	クエン酸	—	—	4/10	7/10*	—	8/10**
	乳酸	—	4/10	7/10*	—	—	8/10**
10	酒石酸	—	—	1/10	7/10*	—	9/10**
	リンゴ酸	—	4/10	7/10*	—	—	8/10**
	酢酸	3/10	7/10*	—	—	—	10/10**
15	コハク酸	—	—	—	4/10	8/10**	10/10**

注) 表の数値 識別正解者数／パネル数

* 5％の危険率で有意差あり

** 1％ ”

無印 有意差なし

20 実施例 19（酸味剤）

市販の 100％オレンジ果汁に水、グラニュー糖、酸味剤としてクエン酸とグルコン酸を加え、オレンジジュース果汁飲料を調製した。比較例として、酸味剤として実施例と同じ酸味度となるようにクエン酸を用いて同様に
25 オレンジ果汁飲料を調製し、両者の味を官能検査（三点

比較法)で評価した。両者の飲料の味に有意な差は認められなかった。

実施例の組成

	1 0 0 % オレンジ果汁	1 5 0 g
5	グラニュー糖	5 1 g
	クエン酸	2 . 1 6 g
	5 0 % グルコン酸液	8 . 6 4 g
	水	5 0 9 g

比較例の組成

10	1 0 0 % オレンジ果汁	1 5 0 g
	グラニュー糖	5 1 g
	クエン酸	3 . 6 g
	水	5 1 6 g

15 官能検査；パネル数 10 名
識別正解者数 4 名 (有意差なし)

実施例 20 (酸味剤)

厚手の鍋にグラニュー糖、水飴、水を入れ、弱火で加熱する。沸とうしてきたら、フタをして、さらに加熱し、液温が 150℃ になったら水に溶かした酒石酸とグル
20 コン酸からなる酸味剤を加え火を止める。これをサラダ油を塗ったバットに移し、ヘラを使って飴を押さえながら均一に冷却する。飴が冷えてきたら適当な大きさに切断し、丸く成形し、飴を製造した。比較例として、酸味
25 剤として実施例と同じ酸味度となるように酒石酸を用いて同様に飴を製造した。両者の飴には味、舌ざわりとも

に差は認められなかった。

実施例の仕込量

	グラニュー糖	6 5 g
	粉末水飴	4 . 3 g
5	酒石酸	0 . 6 6 g
	5 0 % グルコン酸液	4 . 1 4 g
	水	2 6 . 2 g

比較例の仕込量

	グラニュー糖	6 5 g
10	粉末水飴	4 . 3 g
	酒石酸	1 . 1 g
	水	2 8 . 3 g

実施例 21 (酸味剤)

通常の方法で炊飯した米飯に食酢、グルコン酸、食
 15 塩、グラニュー糖をあらかじめ混合した合わせ酢を加
 え、均一に混合し、冷却してちらし寿司用の寿司飯を調
 製した。比較例として、酸味剤として実施例と同じ酸味
 度となるように食酢を用い同様に寿司飯を調製した。両
 者の寿司飯には、味、風味、舌ざわり等、官能的に有意
 20 な差は認められなかった。

実施例の仕込量

5	合 わ せ 酢	米飯	300 g
		食酢	16 g
		50%グルコン酸液	1.44 g
		グラニュー糖	5 g
		食塩	1.6 g

比較例の仕込量

10	合 わ せ 酢	米飯	300 g
		食酢	20 g
		グラニュー糖	5 g
		食塩	1.6 g

試験例 8 <ヒトの糞便菌叢に及ぼすグルコン酸カルシウム投与の影響>

本発明例としてグルコン酸カルシウムを、ヒトに投与して、腸内菌叢に及ぼす影響について試験を行った。

健康成人男性（28才～56才）6名に、1日当り1.7gのグルコン酸カルシウム粉末を1日1回（昼食後）摂取させ、摂取開始1週間前、摂取開始日、摂取1週間目および2週間目、摂取終了後1週間および2週間休止した時点での糞便中の腸内菌叢を、試験例3と同様の方法で測定した。その結果を表22に示す。

表 22 (その1)

	属 名	糞便 1 g 当たりの菌数の対数値* ()内は全体に対する比率*(%)	
		摂取 1 週間前	摂取 0 日
5	Bifidobacterium (ビフィドバクテリウム)	9.5 ± 0.8 (17.7 ± 18.3)	9.7 ± 0.7 (19.3 ± 19.3)
	Bacteroidaceae (バクテロイデス)	10.3 ± 0.4 (45.0 ± 27.1)	10.3 ± 0.2 (46.9 ± 21.5)
	Eubacterium (ユウバクテリウム)	10.0 ± 0.2 (25.1 ± 11.8)	10.1 ± 0.2 (22.8 ± 7.2)
10	C. perfringens (ウェルシュ菌)	6.7 ± 0.4	3.5 ± 0.5
	Enterobacteriaceae (大腸菌群を含む)	8.4 ± 1.1	8.3 ± 1.2
15	総菌数	10.7 ± 0.2 (100)	10.7 ± 0.1 (100)

表 22 (その2)

属 名	糞便 1 g 当たりの菌数の対数値* ()内は全体に対する比率*(%)	
	摂取 1 週間	摂取 2 週間
5 Bifidobacterium (ビフィドバクテリウム)	10.1 ± 0.3 (35.8 ± 24.0)	9.9 ± 0.6 (30.1 ± 26.9)
Bacteroidaceae (バクテロイデス)	10.1 ± 0.6 (35.2 ± 24.5)	10.3 ± 0.4 (43.6 ± 23.6)
10 Eubacterium (ユウバクテリウム)	10.0 ± 0.2 (22.9 ± 5.3)	10.0 ± 0.3 (19.4 ± 6.9)
C. perfringens (ウェルシュ菌)	4.0 ± 0.8	4.7 ± 1.4
Enterobacteriaceae (大腸菌群を含む)	8.4 ± 1.0	8.4 ± 1.1
15 総菌数	10.7 ± 0.3 (100)	10.8 ± 0.2 (100)

表 22 (その3)

	属 名	糞便 1 g 当たりの菌数の対数値* ()内は全体に対する比率*(%)	
		休止 1 週間	休止 2 週間
5	Bifidobacterium (ビフィドバクテリウム)	9.7 ± 0.7 (32.5 ± 26.2)	9.8 ± 0.8 (21.2 ± 18.9)
	Bacteroidaceae (バクテロイデス)	10.0 ± 0.8 (38.9 ± 28.5)	10.4 ± 0.2 (47.1 ± 17.6)
	Eubacterium (ユウバクテリウム)	10.0 ± 0.2 (27.5 ± 5.9)	10.1 ± 0.2 (25.6 ± 13.6)
10	C. perfringens (ウェルシュ菌)	3.0 ± 0.6	3.9 ± 2.1
	Enterobacteriaceae (大腸菌群を含む)	8.1 ± 1.1	8.2 ± 1.2
15	総菌数	10.6 ± 0.3 (100)	10.8 ± 0.2 (100)

* 平均値 ± SD

表 22 から明らかな様に、グルコン酸カルシウムにより、腸内におけるビフィドバクテリウムは摂取前に比較して増加した。

20 産業上の利用可能性

本発明のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤は選択的なビフィドバクテリウム菌増殖活性を示し、ビフィズスファクターとして優れた特性を有している。従って本発明のビフィドバクテリウム菌増殖促進剤は単独であるいは各種食品や飲料に添加して各機能性食品や飲料とし

て用いることができ、健康増進の点から極めて有益である。

5

10

15

20

25

請 求 の 範 囲

- 1 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含むことを特徴とするビフィドバ
クテリウム菌の増殖促進剤。
- 5 2 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含む整腸剤。
- 3 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含む糞便の臭いの軽減剤。
- 4 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
10 デルタラクトンを含む下痢予防治療剤。
- 5 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含む腸内腐敗発酵抑制剤。
- 6 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含む便性状改善剤。
- 15 7 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含む便秘改善剤。
- 8 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含むクロストリジウム菌の増殖抑
制剤。
- 20 9 豆腐用凝固剤にグルコン酸のアルカリ金属塩を含む
させた機能性豆腐用凝固剤。
- 10 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノ
デルタラクトンを含むグルコン酸に換算して0.5%以上含有
する機能性豆腐。

- 11 食塩とグルコン酸のアルカリ金属塩とを含有する機能性塩味剤。
- 12 アスパルテームとグルコン酸のアルカリ金属塩とを含有する機能性甘味剤。
- 5 13 クエン酸とグルコン酸を10:3～10:20の割合で含有する酸味剤、酒石酸とグルコン酸を10:5～10:30の割合で含有する酸味剤および乳酸とグルコン酸を10:3～10:15の割合で含有する酸味剤から選ばれた酸味剤。
- 10 14 クエン酸とグルコン酸を10:3～10:20の割合で含有する酸味剤、酒石酸とグルコン酸を10:5～10:30の割合で含有する酸味剤および乳酸とグルコン酸を10:3～10:15の割合で含有する酸味剤から選ばれた1種または2種以上の酸味剤0.5重量%以上を含有するジュース類またはキャンディー。
- 15 15 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とするビフィドバクテリウム菌の増殖促進法。
- 16 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とする整腸法。
- 20 17 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とする糞便の臭いの軽減法。
- 18 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とする下痢予
- 25

防治療法。

19 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とする腸内腐敗発酵抑制法。

5 20 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とする便性状改善法。

21 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とする便秘改善法。
10

22 グルコン酸、その無毒性塩および／またはグルコノデルタラク톤を人に投与することを特徴とするクロストリジウム菌の増殖抑制法。

15

20

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01473

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ A23L1/30, A61K31/19, A61K31/365, C12N1/38, C07C59/105

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ A23L1/30, A61K31/19, A61K31/365, C12N1/38, C07C59/105

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS PREVIEWS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 57-71390 (Yakult Honsha Co., Ltd.), May 4, 1982 (04. 05. 82), Claim, (Family: none)	1, 8, 15, 22
A	JP, A, 61-239873 (Seiken K.K.), October 25, 1986 (25. 10. 86), Claim, examples 1 to 3, (Family: none)	1, 8, 15, 22
A	JP, A, 3-191779 (Asahi Denka Kogyo K.K.), August 21, 1991 (21. 08. 91), Claim, examples 3, 4, 5, (Family: none)	1, 8, 15, 22
A	JP, A, 2-104531 (Toyo Jozo Co., Ltd.), April 17, 1990 (17. 04. 90), Claim & EP, A1, 364235	2-7, 16-21
A	JP, A, 57-125649 (Koken K.K.), August 5, 1982 (05. 08. 82), Claim, (Family: none)	2-7, 16-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
January 5, 1994 (05. 01. 94)

Date of mailing of the international search report
January 25, 1994 (25. 01. 94)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office
Facsimile No.

Authorized officer
Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP93/01473

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 56-150067 (Bristol-Myers Co.), November 20, 1981 (20. 11. 81), Claim & BE, A1, 887220 & FR, A1, 2474493 & GB, A, 2068729 & DE, A1, 3102026 & US, A, 4322424	2-7 16-21
A	JP, A, 51-29280 (Kikkoman Corp.), March 12, 1976 (12. 03. 76), Examples 1, 2, 7, (Family: none)	9, 10
A	JP, A, 53-96360 (Shoji Kimura), August 23, 1978 (23. 08. 78), Claim, (Family: none)	11-14
A	JP, A, 53-96355 (Shoji Kimura), August 23, 1978 (23. 08. 78), Claim, (Family: none)	11-14
A	JP, A, 50-88250 (Yamasa Shoyu Co., Ltd.), July 15, 1975 (15. 07. 75), Line 17, upper part, right column to line 17, lower part, right column, page 2	11-14

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁵ A23L1/30, A61K31/19, A61K31/365, C12N1/38, C07C59/105		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁵ A23L1/30, A61K31/19, A61K31/365, C12N1/38, C07C59/105		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
BIOSIS PREVIEWS		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, A, 57-71390 (株式会社 ヤクルト本社), 4. 5月. 1982 (04. 05. 82), 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1, 8, 15, 22
A	JP, A, 61-239873 (株式会社 生研), 25. 10月. 1986 (25. 10. 86), 特許請求の範囲, 実施例 1-3 (ファミリーなし)	1, 8, 15, 22
A	JP, A, 3-191779 (旭電化工業株式会社),	1, 8, 15, 22
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日		国際調査報告の発送日
05. 01. 94		25. 01. 94
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 吉 田 一 朗 印 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	21. 8月. 1991 (21. 08. 91), 特許請求の範囲, 実施例 3, 4, 5 (ファミリーなし)	
A	JP, A, 2-104531 (東洋醸造株式会社), 17. 4月. 1990 (17. 04. 90), 特許請求の範囲第 4 項目 & EP, A1, 364235	2-7, 16-21
A	JP, A, 57-125649 (株式会社 コウケン), 5. 8月. 1982 (05. 08. 82), 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	2-7, 16-21
A	JP, A, 56-150067 (ブリストル・マイヤーズ・カンパニー), 20. 11月. 1981 (20. 11. 81), 特許請求の範囲 & BE, A1, 887220 & FR, A1, 2474493 & GB, A, 2068729 & DE, A1, 3102026 & US, A, 4322424	2-7 16-21
A	JP, A, 51-29280 (キッコーマン醤油株式会社), 12. 3月. 1976 (12. 03. 76), 実施例 1, 2, 7 (ファミリーなし)	9, 10
A	JP, A, 53-96360 (木村正次), 23. 8月. 1978 (23. 08. 78), 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	11-14
A	JP, A, 53-96355 (木村正次), 23. 8月. 1978 (23. 08. 78), 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	11-14
A	JP, A, 50-88250 (ヤマサ醤油株式会社), 15. 7月. 1975 (15. 07. 75), 明細書 2 ページ, 右欄, 上段 17 行目 - 同ページ, 右欄, 下段 17 行目 (ファミリーなし)	11-14