

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(10) 国際公開番号

WO 2013/080911 A 1

(43) 国際公開日

2013年6月6日(06.06.2013)

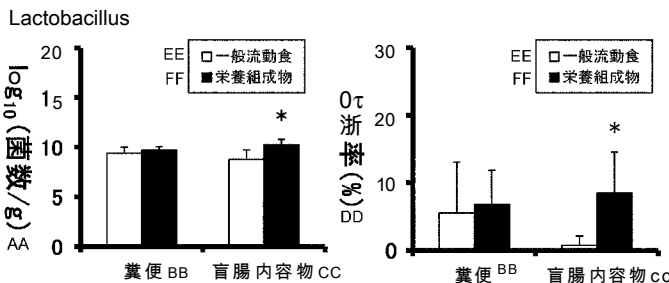
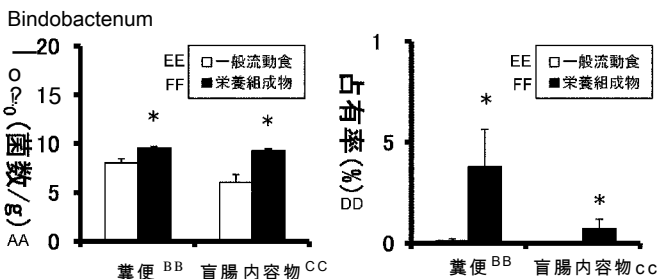
W I P O | P C T

- (51) 国際特許分類 :
A23C 9/152 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A23C 19/068 (2006.01)
- (21) 国際出願番号 : PCT/JP20 12/080450
- (22) 国際出願日 : 2012年11月26日(26.11.2012)
- (25) 国際出願の言語 : 日本語
- (26) 国際公開の言語 : 日本語
- (30) 優先権データ :
特願 2011-262715 2011年11月30日(30.11.2011) JP
- (71) 出願人 株式会社明治(MEIJI CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1368908 東京都江東区新砂1丁目2番10号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者 : 永淵 真也 (NAGAFUCHI, Shinya); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治研究本内 Kanagawa (JP). 条 久枝 (KUME, Hisae); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治研究本内 Kanagawa (JP). 山地 健人(YAMAJI, Taketo); 〒2500862 知奈川県
- (74) 代理人 清水 初志, 外 (SHIMIZU, Hatsushi et al); 〒3000847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄 つくばビル6階 Ibaraki (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,

[続葉有]

(54) Title: NUTRITIONAL COMPOSITION FOR IMPROVING INTESTINAL FLORA

(54) 発明の名称 腸内菌叢改善用栄養組成物



AA Log₁₀(bacteria count/g)
 BB Stool
 CC Cecal content
 DD Occupancy
 EE Normal liquid diet
 FF Nutritional composition

(57) Abstract: A nutritional composition comprising milk protein hydrolyzate, a cultured milk protein, a phospholipid, an oil containing oleic acid, and isomaltulose, wherein an intestinal flora improvement effect has been found. Specifically, this nutritional composition has been found to increase the bacteria count and occupancy of Bifidobacterium genus and Lactobacillus genus in the intestine, in in vivo tests using rats. From these results, this nutritional composition is understood to promote the propagation of the Bifidobacterium genus and/or the Lactobacillus genus of bacteria.

(57) 要約: 乳タンパク質の加水分解物、発酵乳タンパク質、リン脂質、オレイン酸を含む油脂、およびイソマルチュロースを含む栄養組成物において、腸内菌叢を改善する効果を見出した。具体的には、ラットを用いた in vivo 試験において、本発明の栄養組成物が腸内の Bifidobacterium 属や Lactobacillus 属の細菌の数および占有率を高めることを見出した。この結果から、本発明の栄養組成物は、Bifidobacterium 属および/または Lactobacillus 属の細菌の増殖を促進することがわかった。

WO 2013/080 11 A1

明 細 書

発明の名称 : 腸内菌叢改善用栄養組成物

技術分野

[0001] 本発明は、腸内菌叢を改善するための栄養組成物に関する。

背景技術

[0002] 腸内環境は様々な疾患や老化に関与していると考えられている。高齢者では、*Bifidobacterium*属の細菌数が減少して、腸内菌叢が乱れていると言われている。このような腸内菌叢の悪化では、老化を促進する可能性が指摘されている。腸管内の悪玉菌は有害な腐敗産物（アンモニア、アミン、フェノール、インドールなど）を産生する。これらの腐敗産物は腸管に直接的に障害を与えると共に、部分的に体内に吸収され、宿主の生涯に渡って老化を促進するだけでなく、ガン、心筋梗塞、高血圧などの疾患の発症にも関わっている。これに対して、腸管内の*Bifidobacterium*属のような善玉菌は悪玉菌の増殖を阻害する。従って、腸管内の*Bifidobacterium*属の細菌の存在は健康維持に役立ち、有用な腸内細菌として、宿主の生涯に渡って重要であることが示唆されている。つまり、腸管内の*Bifidobacterium*属の細菌数の減少や消失は、不健全な状態を意味するのである（非特許文献1）。

[0003] ところで、経腸栄養患者では、腸管内の*Bifidobacterium*属の細菌数が健常人に比べて少なく（非特許文献2、非特許文献3）、腸内菌叢が健常人に比べて悪化していると考えられている。このことから、経腸栄養患者の乱れた腸内菌叢を正常のそれに近づける必要がある。

[0004] 腸内菌叢を改善する効果のある食材には、*Bifidobacterium*属や*Lactobacillus*属などのプロバイオティクスのほかに、プロピオン酸菌や乳酸菌（*Enterococcus*属、*Lactococcus*属）の培養上清（特許文献1）、フラクトオリゴ糖（非特許文献3）などが知られている。しかしながら、これらは栄養の補給を目的とした栄養組成物（流動食）そのもので、*Bifidobacterium*属および/または*Lactobacillus*属の善玉菌の増殖の促進を目的とするものは知ら

れていない。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1 :特開平05-041 995号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1 :Mitsuoka T, Intestinal FLora and Aging, Nutrition Reviews, 1992; 50(1 2):438-46

非特許文献2 :DeL Piano M, Clinical Experience With Probiotics in the ELderly on Total Enteral Nutrition, Journal of Clinical Gastroenterology, 2004; 38(6 Suppl): s111-4.

非特許文献3 :Bouhnik Y et al, The capacity of short-chain fructo-Oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans, Nutrition Journal, 2006; 5:8.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、このような状況に鑑みてなされたものである。すなわち本発明の課題は、栄養を補給すると同時に、腸内（腸管内）のBifidobacterium属および/またはLactobacillus属の細菌の増殖を促進するための栄養組成物を提供することである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、上述の課題を解決するために鋭意検討した。その結果、乳タンパク質の加水分解物、発酵乳タンパク質、リン脂質、オレイン酸を含有する油脂、およびイソマルチユロースを含む栄養組成物が、Bifidobacterium属および/またはLactobacillus属の細菌の増殖を促進する効果を見出し、本発明を完成させた。

[0009] 具体的には、ラットを用いたin vivo試験において、上述の栄養組成物が、腸内の総菌数を変化させることなく、Bifidobacterium属やLactobacillus属

の細菌数および占有率を高めることを見出した。この結果から、上述の栄養組成物は、*Bifidobacterium*属および/または*Lactobacillus*属の細菌の増殖を促進することがわかった。また、盲腸内のpHの低下、盲腸組織・盲腸内容物の重量の増加、盲腸内容物の有機酸量の増加が確認された。従って、本発明の組成物は、腸内菌叢の改善に有用である。

[0010] すなわち、本発明は、

[1] タンパク質として乳タンパク質の加水分解物および発酵乳タンパク質、脂質としてオレイン酸を含有する油脂、ならびに乳リン脂質および/または大豆レシチン、糖質としてイソマルチュロースを含む、*Bifidobacterium*属および/または*Lactobacillus*属の増殖を促進するための栄養組成物、

[2] 乳タンパク質が、カゼイン、乳タンパク質濃縮物(MPC)、ホエイタンパク質濃縮物(WPC)、ホエイタンパク質分離物(WPI)、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリンおよびラクトフェリンからなる群より選択される、前記[1]に記載の栄養組成物、

[3] 乳タンパク質の加水分解物が、栄養組成物100mlあたり0.9~5.0g含まれる、前記[1]-[2]のいずれか1つに記載の栄養組成物、

[4] 乳タンパク質の加水分解物が、ホエイタンパク質濃縮物(WPC)および/またはホエイタンパク質分離物(WPI)をバシラス・リシエニフォルムス(*Bacillus Licheniformis*)由来のアルカラゼで加水分解およびプタ膝臓由来のトリプシンで加水分解して得られる、前記[1]-[3]のいずれか1つに記載の栄養組成物、

[5] 乳タンパク質の加水分解物が、分画分子量10,000の限外濾過膜で処理して得られる透過画分(パーミエイト)である、前記[1]-[4]のいずれか1つに記載の栄養組成物、

[6] 発酵乳タンパク質がチーズに由来する、前記[1]-[5]のいずれか1つに記載の栄養組成物、

[7] チーズがクワルクである、前記[6]に記載の栄養組成物、

[8] 発酵乳タンパク質が、栄養組成物100mlあたり0.5~6g含まれ

る、前記[1]~[7]のいずれか1つに記載の栄養組成物、
[9] イソマルチュロースが、栄養組成物100mlあたり4~15g含まれる、前記[1]~[8]のいずれか1つに記載の栄養組成物、
[10] 脂質にオレイン酸が全脂肪酸組成の30%以上の割合で含まれる、前記[1]~[9]のいずれか1つに記載の栄養組成物、からなる。

発明の効果

- [001 1] 本発明の栄養組成物は、栄養を補給すると同時に、腸内菌叢を改善することができる。例えば、本発明の栄養組成物を流動食、経口・経腸・経管栄養などに用いると、栄養の補給に加え、それを摂取した者の腸内菌叢をも改善することができる。また、本発明の組成物は、安全に摂取できるので、長期療養における栄養管理に適している。

図面の簡単な説明

- [001 2] [図1]実施例1における、盲腸等の重量、および盲腸内のpHを示すグラフである。グラフはmean±SDを表す。* : $p<0.05$ 。
[図2]実施例1における、盲腸内容物の短鎖脂肪酸量を示すグラフである。グラフはmean±SDを表す。* : $p<0.05$ 。
[図3]実施例1における、*Bifidobacterium*属、*Lactobacillus*属の解析結果を示すグラフである。グラフはmean±SDを表す。* : $p<0.05$ 。

発明を実施するための形態

- [001 3] 以下、本発明を詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい実施態様に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更できるものである。

本発明は、以下の1. から3. を含む、*Bifidobacterium*属および*Lactobacillus*属の細菌の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進するための栄養組成物に関する。

1. タンパク質
2. 脂質
3. 糖質

本発明の栄養組成物は、タンパク質として、乳タンパク質の加水分解物お

よび発酵乳タンパク質を含む。脂質としてオレイン酸を含有する油脂およびリン脂質を含む。糖質としてイソマルチュロースを含む。以下に、本発明の組成物の構成成分を具体的に説明する。

[00 14] 1. タンパク質

1-1 乳タンパク質の加水分解物

原料の乳タンパク質として、カゼイン、ホエイタンパク質（ホエイタンパク質濃縮物（WPC）、ホエイタンパク質分離物（WPI）、 α -ラクトアルブミン（ α -La）、 β -ラクトグロブリン（ β -Lg））、乳タンパク質濃縮物（MPC、総乳タンパク質（TMP）ともいう）から選択される少なくとも一つの乳タンパク質およびこれらの混合物を例示することができる。

[00 15] 乳タンパク質の加水分解物について、ホエイタンパク質の加水分解を例に説明する。ホエイタンパク質の加水分解に用いる酵素として通常、ペプシン、トリプシンおよびキモトリプシンがあるが、植物由来のパパイン、バクテリアや菌類由来のプロテアーゼを用いた研究報告（Food Technol., 48: 68-71, 1994; Trends Food Sci. Technol., 7: 120-125, 1996; Food Proteins and Their Applications, pp. 443-472, 1997）もある。従って本発明においては、これらの酵素を使用することができる。よって本発明の組成物は、上述の乳タンパク質を、これらの酵素からなる群から選択される少なくとも一つの酵素によって加水分解することによって得られるものを含む。ホエイタンパク質を加水分解する酵素の活性は、その種類により大きく変動する。当業者であれば、各酵素の活性に基づき最適な酵素を選択することができる。ペプシンは α -La および変性した α -La を分解するが、未変性の（native） β -Lg を分解しない（Neth. Milk dairy J., 47: 15-22, 1993）。トリプシンは α -La をゆっくりと分解するが、 β -Lg をほとんど分解しない（Neth. Milk dairy J., 45: 225-240, 1991）。キモトリプシンは α -La を速く分解するが、 β -Lg をゆっくりと分解する。パパインはウシ血清アルブミン（BSA）および β -Lg を分解するが、 α -La を分解しにくく、 α -La には抵抗性がある（Int. Dairy Journal 6: 13-31, 1996a）。しかしながら、パパインはCaを結合していな

- い α -La を酸性の pH で完全に分解する (J. Dairy Sci., 76: 311-320, 1993)。
- [001 6] 乳タンパク質の加水分解の程度をコントロールして、乳タンパク質を修飾することにより、広範囲の pH およびプロセッシングの条件に亘って、乳タンパク質の機能的な特性を変更することができる (Enzyme and Chemical Modification of proteins in Food proteins and their Applications, pp. 393-423, 1997, Marcel Dekker, Inc., New York, 1997 ; Food Technology, 48: 68-71, 1994)。
- [001 7] ペプチド結合の加水分解では、荷電基数および疎水性の増加、低分子量化、ならびに分子の立体配置の修飾がもたらされる (J. Dairy Sci., 76: 311-320, 1993)。乳タンパク質の機能的な特性の変化は加水分解度に大きく依存する。例えば、ホエイタンパク質の機能性に共通して見られる最大の変化は溶解性の増加と粘度の低下である。ホエイタンパク質の加水分解度が高い場合、その加水分解物では、しばしば、加熱しても沈澱せず、pH が 3.5-4.0 において溶解性が高くなる。また、その加水分解物では、無処置 (intact) のタンパク質よりも、はるかに粘度が低くなる。これらの差異は特に、タンパク質の濃度が高い場合に顕著である。その他の影響としては、ゲル特性の変化、熱安定性の向上、乳化性および起泡安定性の低下などが挙げられる (Int. Dairy Journal, 6: 13-31, 1996a ; Dairy Chemistry 4, pp. 347-376, 1998 ; J. Dairy Sci., 79: 782-790, 1996)。
- [001 8] 乳タンパク質から派生して、さまざまな生理活性ペプチドが知られている。例えば、 α s2-カゼイン由来のペプチドは、標準的な腸内細菌叢に自然に存在しない微生物 (Rhodotorula rubra、大腸菌、Enterococcus faecium、Staphylococcus epidermidis、Staphylococcus carnosus、Bacillus subtilis) を破壊することが指摘されている (特表 2000-507941 号公報)。また、ホエイタンパク質の加水分解物のみをタンパク質源とする栄養組成物では、未分解のホエイタンパク質のみをタンパク質源とする栄養組成物と比べて、空腸・回腸の乳酸菌や腸球菌の増殖を抑制することが指摘されている。しかし

れの試験群においても、ビフィズス菌は検出されていない（特表2004-5361 43号公報）。さらに、乳タンパク質のペプシン処理物から得られる、 κ -カゼイン由来のペプチドおよびラクトフェリン由来のペプチドでは、*in vitro*において、ビフィドバクテリウム・ビフィダムを大腸菌よりも相対的に（優先的に）成長させることが指摘されている（特表2001-51 6570号公報）。しかし具体的な実験データは開示されていない。

[0019] 一方、乳タンパク質の加水分解物については、上記に例示した学術文献に加えて、数多くの調製方法などが開示された特許文献（公開特許公報および特許公報）が存在する。当業者であれば、これらの文献にしたがって乳タンパク質の加水分解物を調製することができる。例えば、カゼインとホエイタンパク質を別々に加水分解してから、疎水性部分を吸着・除去した後に、両者を所定割合で混合する方法（日本特許第2, 986, 764号）、

ホエイタンパク質をバチルス属由来のプロテアーゼと放線菌由来のプロテアーゼにより加水分解した後に、酵素と不溶性の加水分解物を除去する方法（日本特許第3, 222, 638号）、

β -ラクトグロブリンを酵素で分解して、分岐鎖アミノ酸/芳香族アミノ酸のモル比が10重量%以上、芳香族アミノ酸が2.0重量%未満、平均分子量が数百〜数千のペプチドの混合物を得る方法（日本特許第3, 183, 945号）、

ホエイタンパク質中の β -ラクトグロブリンを選択的に酵素分解する方法（日本特許第2, 794, 305号）、あるいは

ホエイタンパク質をバシラス・リシエニフォルムス（*B. Licheniformis*）由来のプロテアーゼおよび/または枯草菌（*B. subtilis*）由来のプロテアーゼにより、非-pH-スタット法を用いて、15~30%の加水分解度（DE）まで加水分解し、カットオフ値10,000を超える限外濾過膜の透過液を得る方法（日本特許第3167723号）

などを挙げることができるがこれらに限定されない。本発明の乳タンパク質加水分解物では、これらの特許文献以外の方法や技術で調製されたものも包

含まれる。

[0020] 本発明の好ましい態様として、ホエイタンパク質の加水分解物は、例えば下記 (1) ~ (5) の工程を含む方法により調製することができる。

(1) 乾燥物としてタンパク質の含量が約90 % (W/W) のホエイタンパク質の分離物 (WPI、ダビスコ社) を、タンパク質の濃度が8 % (w/v) となるように蒸留水に溶解して、タンパク質の水溶液を得る。

(2) この水溶液を85℃、2分間で加熱処理して、タンパク質を変性させる。この加熱処理後の水溶液のpHは、例えば約7.5とすることができる。

(3) その後に、アルカラーゼ2.4L (酵素、ノボザイムス社) を、タンパク質 (基質) の濃度に対して2.0 % (W/W) で添加し、その水溶液を55℃、3時間で保持して加水分解する。

(4) 次に、豚由来のトリプシンである PTN 6.0S (酵素、ノボザイムズジャパン社) を、タンパク質 (基質) の濃度に対して3.0 % (W/W) で添加し、その水溶液を55℃、3時間で保持して加水分解する。つまり、加水分解の時間は例えば合計6時間とすることができる。これらの加水分解の反応終了時の水溶液のpHは、例えば約7.0とすることができる。

(5) ホエイタンパク質の加水分解物は、遠心処理 (20,000 X g、10分間) した後、分画分子量が10,000の限外濾過 (UF) 膜 (ミリポア社ウルトラフリー-MC) で処理する。

[0021] タンパク質の加水分解物の調製方法では、最適化のための5つのパラメータとして、予備加熱、酵素と基質の比率 (E/S)、pH、加水分解の温度、および加水分解の時間などがあり、例えば、次の条件を挙げることができる。すなわち、予備加熱 :65~90 °C、E/S :0.01-0.2、pH :2~10、加水分解の温度 :30~65 °C、加水分解の時間 :3~20 時間である。

[0022] タンパク質の加水分解に使用する酵素として、例えば次のものを挙げることができる。次の酵素は、例えばノボノルディスク社などの供給者を通じて入手することができる。

1) エンド型プロテアーゼ

- ・バシラス・リシエニフォルムス由来：アルカラゼ (Alcalase)
- ・B. レントウス (B. Lentus) 由来：エスペラーゼ
- ・枯草菌由来：ニュートラーゼ (Neutrase)
- ・バクテリア由来：プロタメックス
- ・豚膵臓由来：PTN (トリプシン)

2) エキソ型プロテアーゼ

- ・アスペルギルス・オリゼ (Aspergillus oryzae) 由来：フレーバーザイム
- ・豚あるいはウシ内臓由来：カルボキシペプチダーゼ

[0023] 上記酵素の他に、動物由来のパンクレアチン、ペプシン、植物由来のパパイン、プロメライン、微生物由来 (例えば、乳酸菌、酵母、カビ、放線菌など) のエンドプロテアーゼおよびエキソプロテアーゼ、これらの粗精製物、菌体破砕物等を例示することができる。また、酵素の混合物として、バシラス・リシエニフォルムス由来のアルカラゼと豚膵臓由来のPTN (トリプシン) の組み合わせがよく用いられる。

[0024] 本発明の乳タンパク質の加水分解物には、タンパク質の加水分解物そのもの、限外濾過膜で処理した保持液 (リテンテイト) あるいは透過液 (パーミエイト)、さらに、本発明で必要とされる同様の活性が有る市販の乳タンパク質の加水分解物が包含される。例えば、本発明の乳タンパク質加水分解物として、分画分子量が5000、6000、7000、8000、9000、10000のいずれかを下限 (〳以上、又は、〳より高い)、15000、20000、25000、30000のいずれかを上限 (〳以下、又は、〳より低い) とする2点の間の分子量である限外濾過膜、好ましくは分画分子量が10000である限外濾過膜で処理した保持液を用いることができる。

[0025] 乳タンパク質の加水分解物の配合量は、他の成分 (発酵乳タンパク質、オレイン酸を含有する油脂、乳リン脂質、大豆レシチン、イソマルチユロースなど) の配合量、経腸栄養患者の病態、症状、年齢、体重、用途などにより適宜調整することができる。具体的には、乳タンパク質の加水分解物の配合量として、栄養組成物100 mL当たり0.9~5.0g、好ましくは0.9~3.0g、より

好ましくは1.0~2.5g、さらに好ましくは1.2~2.0gを例示することができるが、これらの範囲に限定されない。

[0026] 1-2 発酵乳タンパク質

次に発酵乳タンパク質について説明する。本発明の発酵乳タンパク質の由来として、所謂、発酵乳（牛乳、水牛乳、ヤギ乳、羊乳、馬乳などの家畜乳および/または、これらの部分脱脂乳、脱脂乳、還元全乳、還元脱脂乳、還元部分脱脂乳、バター、クリームなどの乳原料を1種または2種以上で組み合わせて調製した液状乳を、乳酸菌などのスターターを用いて発酵させたもの全般）を用いることができる。例えば、フレッシュチーズ、ナチュラルチーズ、ヨーグルト、ホエイチーズは、本発明の発酵乳タンパク質に含まれる。また、本発明のチーズとは、乳、バターミルクもしくはクリームを乳酸菌で発酵させ、または乳、バターミルクもしくはクリームに酵素を加えてできた凝乳からホエイ（乳清）を除去したものをいい、固形化や熟成の有無について問わない。発酵乳を製造するスターターとして、*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*を主として用いることができるがこれらに限りなく、例えば、*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*などの乳酸菌やビフィズス菌を用いることもできる。その他、プロピオニバクテリウム属菌（*Propionibacterium*）などの発酵乳を製造する際に用いられる微生物を併用することができる。本発明の栄養組成物は、いずれの発酵乳を用いて調製してもよいが、好ましくは、フレッシュチーズまたはヨーグルト、より好ましくは、クワルク（quark）またはヨーグルトを用いて調製する。

[0027] フレッシュチーズには、カッテージ、クワルク、ストリング、ヌーシャテ

ル、クリームチーズ、モツアレラ、リコッタ、マスカルポーネなどの数多くの種類がある。クワルクは非熟成型（フレッシュ）チーズの一種であり、脂肪含量が低く、爽やかなフレーバーと酸味が特徴である。クワルクの一般的な製造法を以下に説明する。

まずは脱脂乳を殺菌してから、乳酸菌のスターター（主に*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*）を0.5~5%（w/w）で接種して発酵させる。その溶液のpHが4.6に達すると、カードが形成されるので、クワルクセパレーターを用いて、ホエイを遠心分離してから、その得られたカードを冷却する。本発明のクワルクの組成の一例として、例えば、全固形分が17~19%（w/w）、タンパク質が11~13%（w/w）、脂肪が1%（w/w）未満、炭水化物が2~8%（w/w）、乳糖が2%（w/w）未満を挙げることができる。その他、レンネットを用いて凝固させたものも、本発明のクワルクに包含される。また、ラクトコッカスに属するラクチス菌、クレモリス菌とロイコノストク属の菌種の混合培養液を脱脂乳に添加して培養し、ホエイを除去して得られたものも、本発明のクワルクに包含される。また、上記方法と同様にして得られたカードをカッターで切断した後に、その溶液を加温しながらホエイを分離して得られたものも、本発明のフレッシュチーズに包含される。

[0028] 乳酸菌にプロバイオティクス効果があることは広く知られている。また、乳酸菌発酵で得られるフレッシュチーズのホエイには、大腸菌、腸炎ビブリオ菌、ビフィズス菌、パクテロイデスなどに対する抗菌効果を有することが知られている（特開平07-155103号公報）。

[0029] 発酵乳タンパク質の配合量は、他の成分（乳タンパク質加水分解物、オレイン酸を含有する油脂含有油脂、乳リン脂質、大豆レシチン、イソマルチュロースなど）の配合量、摂取対象者の病態、症状、年齢、体重、用途などにより適宜調整することができる。具体的には、発酵乳タンパク質の配合量として、タンパク質に換算して栄養組成物100 mL当たり0.5~6g、好ましくは2~6g、より好ましくは2.5~4.5gを例示することができるが、これらの範囲

に限定されない。

[0030] 日本国の乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（昭和26年12月27日厚生省令第52号）では、乳等一般の成分規格及び製造の方法の基準として「分べん後5日以内の牛、山羊又はめん羊から乳を搾取してはならない」旨が定められている。つまり、この省令では初乳の乳製品への使用が制限されている。

本発明において乳タンパク質の加水分解物や発酵乳タンパク質の調製に使用する乳は、孚乳（normal milk）あるいは成熟乳（mature milk）ともいう）を用いるのがより好ましい。乳の由来は、ウシ、水牛、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ヒトなど、いずれの動物であってもよい。

[0031] 2. 脂質

2-1 リン脂質

本発明においては、リン脂質として乳リン脂質と大豆由来レシチンあるいは卵黄レシチンの組み合わせを用いることができる。あるいは、リン脂質として乳リン脂質、大豆由来レシチン、卵黄レシチンを単独で使用してもよい。本発明の好ましいリン脂質として、乳リン脂質と大豆由来レシチンの両方またはいずれか一方、または、乳リン脂質と卵黄レシチンの両方またはいずれか一方を挙げることができるがこれらに限定されない。レシチンという用語は、生化学、医学、薬学などの分野ではホスファチジルコリンを指す用語として使用されているが、商業的あるいは工業的には、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジン酸および他のリン脂質の混合物の総称として使われている。食品添加物公定書第7版（1999）では、レシチンは、「油糧種子または動物原料から得られたもので、その主成分は、リン脂質である」、と定義されている。本発明のレシチンには、商業的あるいは工業的な意味において使用されるこれらのリン脂質も含まれる。

[0032] 乳リン脂質

乳リン脂質は、スフィンゴミエリン（SM）、ホスファチジルコリン（PC）、ホ

スファチジルエタノールアミン (PE)、ホスファチジルイノシトール (PI)、ホスファチジルセリン (PS)、リゾホスファチジルコリン (LPC) からなり、乳脂肪球皮膜 (MFGM) のみに局在している。乳リン脂質の特徴は、表1に示すように、大豆レシチンには含まれないSMを多量に含むことである。

[0033] [表1]

リン脂質成分	重量 %
スフィンゴミエリン	22
ホスファチジルコリン	36
ホスファチジルエタノールアミン	27
ホスファチジルイノシトール	11
ホスファチジルセリン	4
リゾホスファチジルコリン	2

[0034] 大豆レシチン

大豆レシチンは天然の食品添加物として、食品分野で広く使われる。一方、ポリエノホスファチジルコリンは医薬品 (適応 : 慢性肝疾患における肝機能の改善、脂肪肝、高脂質血症) としても使われている。

いわゆる「天然系」の一連のリン脂質製品に関しては、通常、製品中のPC含量によって序列されている。リン脂質の用途に応じてグレードアップした各種のリン脂質が製造されている。大豆レシチン製品は、大豆レシチンの精製、分画による主なPC含量の違いにより、便宜的に表2のように分類されている (藤川琢馬、油化学 第40巻 (10), pp. 951-p58, 1991)。

[0035] [表2]

種類	PC含量 (%)
ペーストレシチン	15 ~ 20
頼製レシチン	20 ~ 25
抽出レシチン	30 ~ 40
PC 港縮レシチン	45 ~ 60
PC 高純度レシチン	75 ~ お
リン脂質種 (PC、PE、PS、PG など)	各 98 %以上

[0036] 本発明において、乳リン脂質と大豆レシチンはそれぞれ単独で使用してもよく、また組み合わせて使用してもよい。乳リン脂質および/または大豆レシチンの配合量は、他の成分（乳タンパク質加水分解物、発酵乳タンパク質、オレイン酸を含有する油脂、イソマルチュロースなど）の配合量、摂取対象者の病態、症状、年齢、体重、用途などにより適宜調整することができる。具体的には、乳リン脂質および/または大豆レシチンの配合量として、栄養組成物100 mL当たり合計0.01~0.5 g、0.05~0.5 g、0.1~0.5 g、0.2~0.3 gを例示することができるが、これらの範囲に限定されない。

[0037] 2-2 その他の脂質

本発明の組成物は、脂質としてオレイン酸を含有する油脂を含む。厚生労働省では、飽和脂肪酸（SFA：パルミチン酸、ステアリン酸など）：一価不飽和脂肪酸（MUFA：オレイン酸など）：多価不飽和脂肪酸（PUFA：リノール酸、リノレン酸など）の望ましい摂取比率を従来の1：1.5：1~3：4：3となるよう、また、n-6系脂肪酸：n-3系脂肪酸の比率が4：1となるよう勧告している。わが国において、MUFAの摂取比を1.5倍まで高めた食生活の実施は難しいということが勧告の理由の一つである。そこで、望ましい脂肪酸摂取比率（SMP比）を実現するために、脂質の脂肪酸組成中一価不飽和脂肪酸（MUFA）の含量を高めることが考えられる。そのために、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸を本発明の栄養組成物に含有せしめることができる。オレイン酸を多く含む脂質源としては、例えば、高オレイン酸のハイオレイックヒマワリ油、なたね油、オリーブ油、高オレイン酸ペニバナ油、大豆油、コーン油、バーム油などが挙げられる。またオレイン酸を含む脂質源として栄養調製油脂（日本油脂（株））が挙げられる。ヒマワリ油、なたね油、オリーブ油、およびオリーブ油との混合物も用いることができる。

[0038] オレイン酸の配合量は、他の成分（乳タンパク質加水分解物、発酵乳タンパク質、乳リン脂質、大豆レシチン、イソマルチュロースなど）の配合量、摂取対象者の病態、症状、年齢、体重、用途などにより適宜調整することができる。具体的には、オレイン酸の配合量として、本発明の栄養組成物の脂

脂肪酸組成中25%以上、好ましくは30%以上、より好ましくは30~50%を例示することができるが、これらの範囲に限定されない。さらに、DHA、EPA、アラキドン酸などの多価不飽和脂肪酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸などの中鎖脂肪酸を加えて、飽和脂肪酸 : 一価不飽和脂肪酸 : 多価不飽和脂肪酸の比率を3 : 4 : 3に近くなるように調整することができる。

[0039] 3. 糖質および食物繊維

本発明において、糖質として主にイソマルチュロースを使用することができる。その他の糖質としては、糖アルコール（ソルビトール、キシリトール、マルチトールなど）、ハチミツ、グラニュー糖、ブドウ糖、果糖、転化糖などを使用することができる。

[0040] イソマルチュロースは、ブドウ糖と果糖が1分子ずつ α -1,6結合した二糖類で、シヨ糖の構造異性体であり、6-O-(α -D-Glucopyranosyl)-D-fructoseあるいはイソマルツロース、ノコチノースともいう。分子量342.297、Cas. No. 13718-94-0で、甘味料などに用いられている。イソマルチュロースは蜂蜜やサトウキビなどに非常に少量含まれている。また、スクロースにプロタミノバクター・ルプラム (Protaminobacter rubrum) 起源の α -ダルコシルトランスフェラーゼなどを作用させて、 α -1,2結合を α -1,6結合に転移させて、イソマルチュロースを製造することもできる。イソマルチュロースの甘味はスクロースに似ているが、甘味度はスクロースの約半分である。経口的に摂取されたイソマルチュロースは、消化管内でイソマルターゼによって分解を受け、シヨ糖と同様にグルコースとフルクトースに消化されて吸収される (合田敏尚ら、日本栄養・食糧学会誌, Vol. 36(3) : 169-173, 1983)。他にイソマルターゼで消化を受けるイソマルトース、パノース、イソマルトトリオースなどは、イソマルチュロースの消化と競合するため、イソマルチュロースの摂取によって消化吸収が抑制されると言われている (日本栄養・食糧学会誌, 36(3), pp. 169-173(1983))。イソマルチュロースのカロリーは4kcal/gである。本発明において、イソマルチュロースは、パラチノースシロップ、還元パラチノースある

いはパラチノース水飴などを含む。パラチノース水飴は、イソマルチュロースの脱水縮合によって生じる四糖、六糖、八糖などのオリゴ糖を主成分とする水飴状の液状物である。

[0041] イソマルチュロースが酪酸菌クロストリジウム・プチリカムに高選択的に資化され、クロストリジウム・プチリカムの生育を促進することは知られている (水谷武雄、"パラチノースオリゴ糖の特性と利用"、New Food Industry、食品資材研究会、1991年、第33巻、第2号、p. 9—16)。また、イソマルチュロースなどの晶質浸透圧調整剤、およびデキストリン'難消化デキストリンなどの膠質浸透圧調整剤の組み合わせを水に溶解して、浸透圧200~440mOsm/L に調整した水溶液が腸内の有害菌を排除し有用菌の増殖環境を調整することも知られている (国際公開WO2004/067037号)。

[0042] イソマルチュロースの配合量は、他の成分 (乳タンパク質加水分解物、発酵乳タンパク質、オレイン酸を含有する油脂、乳リン脂質、大豆レシチンなど)の配合量、摂取対象者の病態、症状、年齢、体重、用途などにより適宜調整することができる。具体的には、イソマルチュロースの配合量として、栄養組成物100 mL当たり4~15 g好ましくは5~7 gを例示することができるが、これらの範囲に限定されない。

[0043] 本発明の栄養組成物は、適当にタンパク質、脂質、糖質を加えることにより、その熱量を調節することができる。本発明の栄養組成物の熱量は、栄養組成物100mLあたり50~150kcal好ましくは、80~120 kcalを例示することができるが、これらの範囲に限定されない。

また、本発明の栄養組成物における、タンパク質、脂質および糖質の栄養組成物全体に対するエネルギー比率は、第六次改定日本人の栄養所要量にほぼ準ずる。具体的に、タンパク質15~25%、脂質20~30%、糖質45~65%を例示することができるが、これらの範囲に限定されない。

[0044] 本発明の栄養組成物は、食物繊維を含むこともできる。食物繊維は、ヒトの消化酵素によって加水分解されない食物中の物質を指し、水に対する親和性から、水溶性食物繊維および不溶性食物繊維に分類される。水溶性食物繊維

維として、難消化性オリゴ糖のラクツロース、ラクチトール、あるいはラフィノースなどを用いることができる。難消化性オリゴ糖の生理機能としては、未消化物のまま大腸に到達し、腸内ビフィズス菌の活性化および増殖に寄与し、腸内環境の改善すなわち整腸効果を有することが知られている。その他の水溶性食物繊維の候補として、ペクチン（プロトペクチン、ペクチニン酸、ペクチン酸）、グアーガム・酵素分解物、タマリンドシードガムなどを用いることができる。

さらに、水溶性食物繊維の候補として、高分子水溶性食物繊維では、大豆増粘多糖類、こんにゃくダルコマンナン、アルギン酸、低分子アルギン酸、サイリウム、アラビアガム、海藻多糖類（セルロース、リグニン様物質、寒天、カラギーナン、アルギン酸、フコダイン、ラミナリン）、微生物ガム（ウエランガム、カードラン、キサントガム、ジエランガム、デキストラン、プルラン、ラムザンガム）、その他のガム（種子由来のローカストビーンガム、タマリンドガム、タラガム、樹液由来のカラヤガム、トラガントガム）など、低分子水溶性食物繊維のポリデキストロース、難消化性デキストリン、パインファイバー、マルクトールなどを用いることができる。

[0045] 不溶性食物繊維は、大腸での不消化物の力増を増やし、通過時間を短縮する。その結果排便回数が増し、便量の増加をもたらす。不溶性食物繊維の候補として、セルロース、ヘミセルロース、リグニン、キチン、キトサン、大豆ふすま、小麦ふすま、大麦ふすま、パインファイバー、コーンファイバー、ビートファイバー、オート麦ふすま、ライ麦ふすま、ハトムギふすま、米糠、キビ、アワ、ヒエ、モロコシなどの雑穀ふすま、菽穀（マメ科）ふすま、ソバなどの擬穀ふすま、ゴマふすま、おからなどが挙げられる。

[0046] 本発明の栄養組成物は、前記のタンパク質、脂質、糖質、食物繊維の他に、水、タンパク質、糖質、脂質、ビタミン類、ミネラル類、有機酸、有機塩基、果汁、フレーバー類、乳化剤、増粘剤、安定化剤などを使用することができる。タンパク質としては、例えば全脂粉乳、脱脂粉乳、部分脱脂粉乳、カゼイン、ホエイ粉、ホエイタンパク質、ホエイタンパク質濃縮物、ホエイ

タンパク質分離物、ホエイタンパク質加水分解物、 α -カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼイン、 β -ラクトグロブリン、 α -ラクトアルブミン、ラクトフェリン、大豆タンパク質、鶏卵タンパク質、肉タンパク質などの動植物性タンパク質、これらの分解物；バター、ホエイ（乳清）ミネラル、クリーム、ホエイ、非タンパク態窒素、シアル酸、リン脂質、乳糖などの各種乳由来成分などが挙げられる。カゼインホスホペプチド、リジンなどのペプチドやアミノ酸を含んでいてもよい。糖質としては、例えば、糖類、加工澱粉（テクストリンのほか、可溶性澱粉、プリティッシュユスターチ、酸化澱粉、澱粉エステル、澱粉エーテルなど）、食物繊維などが挙げられる。脂質としては、例えば、ラード、魚油など、これらの分別油、水素添加油、エステル交換油などの動物性油脂；パーム油、サフラワー油、コーン油、ナタネ油、ヤシ油、これらの分別油、水素添加油、エステル交換油などの植物性油脂などが挙げられる。ビタミン類としては、例えば、ビタミンA、カロチン類、ビタミンB群、ビタミンC、ビタミンD群、ビタミンE、ビタミンK群、ビタミンP、ビタミンQ、ナイアシン、ニコチン酸、パントテン酸、ビオチン、イノシトール、コリン、葉酸などが挙げられ、ミネラル類としては、例えば、カルシウム、カリウム、マグネシウム、ナトリウム、銅、鉄、マンガン、亜鉛、セレンなどが挙げられる。有機酸としては、例えば、リンゴ酸、クエン酸、乳酸、酒石酸、エリソルビン酸などが挙げられる。また、便臭低減効果のある素材（例えば、シャンピニオンエキスを5 mg~500 mg(0.005%~0.5%)）、カロチノイド製剤（例えば、 α -カロチン、 β -カロチン、リコピン、ルテインなどを含む製剤を10 μ g~200 μ g (0.00001%~0.0002%)）、抗酸化剤（カテキン、ポリフェノールなど）を含ませることもできる。これらの成分は、2種以上を組み合わせて使用することができ、合成品および/またはこれらを多く含む食品を用いてもよい。食品の形態としては、固体、液体、ゲル状などいずれの形態であってもかまわない。

[0047] 本発明の栄養組成物の製造は、当業界において公知の方法で実施できる。前記原材料を一部または全てを調合した後に、必要に応じて均質化を行う。

均質化とは、調合した各成分を十分混合することにより均質にし、また、脂肪球や他成分の粗大粒子を機械的に微細化して脂肪などの浮上・凝集を防止するとともに、栄養組成物を均一な乳化状態にすることをいう。

[0048] 本発明の栄養組成物の製造においては加熱処理または加熱殺菌を行う。加熱殺菌条件は、一般的な食品の殺菌条件を用いることができ、慣用の装置を用いて加熱殺菌を行うことができる。例えば、62~ 65℃ X 30分、72℃ 以上 X 15秒以上、72℃ 以上 X 15分以上若しくは120~ 150℃ X 1~ 5秒の殺菌、または121~ 124℃ X 5~20 分、105~ 140℃ の滅菌、レトルト (加圧加熱) 殺菌、高圧蒸気滅菌などを使用することができるが、これらの例に限定されない。加熱殺菌は、好ましくは加圧下で行うことができる。

また、液状の栄養組成物を予め加熱滅菌した後、無菌的に容器に充填する方法 (例えば、UHT滅菌法とアセプティック包装法を併用した方法)、液状の栄養組成物を容器に充填した後、容器とともに加熱滅菌する方法 (例えば、オートクレープ法)、缶容器や流動食や経口・経管栄養に用いる各種容器 (いわゆるソフトバッグ、栄養バックなど) に充填しレトルト殺菌 (例えば115~ 145℃ で5~ 10秒) を行う方法、缶容器や流動食や経口・経管栄養に用いる各種容器 (いわゆるソフトバッグ、栄養バックなど) に充填しレトルト殺菌した後約140~ 145℃ で約5~8 秒間加熱殺菌後、冷却し、無菌充填を行う方法を例示することができるが、これらの例に限定されない。

加熱処理または加熱殺菌によって、原料の発酵乳に由来するスターター (乳酸菌、ビフィズス菌、またはプロピオニバクテリウム属菌など) は死滅する。

[0049] 本発明の組成物は、腸内菌叢の正常化や維持のために用いることができる。本発明の栄養組成物は、例えば流動食や経口・経管栄養、飲料、ゲル状食品 (特に、いわゆる機能性食品) などとして、経口・経腸栄養患者や高齢者、乳幼児などの栄養管理に用いることができる。

[0050] 本発明の栄養組成物の浸透圧は約500~ 1000 mOsm/ l 例例えば約550~750 mOsm/ Lの浸透圧を例示することができる。室温で測定する場合、栄養組成物の

粘度は、20~100 cp (1cp = 0.001 Pa's)、好ましくは25~60 cp、より好ましくは30~50 cpを例示することができるが、これらの範囲に限定されない。

また、本発明の栄養組成物のpHは4.6以下、好ましくは3.0~4.3、より好ましくは3.8~4.2に調整することができるが、これらの範囲に限定されない。

[0051] 腸内環境は様々な疾患や老化に関与していると考えられている。高齢者では、*Bifidobacterium*属の細菌数が減少して、腸内菌叢が乱れていると言われている。このような腸内菌叢の悪化では、老化を促進する可能性が指摘されている。腸管内の悪玉菌は有害な腐敗産物（アンモニア、アミン、フェノール、インドールなど）を産生するが、これらの腐敗産物は腸管に直接的に障害を与えると共に、部分的に体内に吸収され、宿主の生涯に渡って老化を促進するだけでなく、ガン、心筋梗塞、高血圧などの疾患の発症にも関わっている。これに対して、腸管内の*Bifidobacterium*属のような善玉菌は悪玉菌の増殖を阻害する。従って、腸管内の*Bifidobacterium*属の乳酸菌の存在は健康維持に役立ち、有用な腸内細菌として、宿主の生涯に渡って重要であることが示唆されている。つまり、腸管内の*Bifidobacterium*属の乳酸菌の減少や消失は、不健全な状態を意味するのである。

ところで、経腸栄養患者では、腸管内の*Bifidobacterium*属の細菌数が健常人に比べて少なく、経腸栄養患者では、腸内菌叢が健常人に比べて悪化していると考えられている。このことから、経腸栄養患者の乱れた腸内菌叢を正常に近づける必要がある。

[0052] ビフィズス菌や乳酸菌などのプロバイオティクス投与が腸内における有機酸量の増加および腐敗産物の減少と関連することが多くの報告で示されている。また、プロバイオティクス投与により、腸内のビフィズス菌や乳酸菌が増加し、これに伴って腸内のpHが低下することによる有害物質産生細菌（*Clostridium*の減少など）の増加阻止なども報告されている。

[0053] 流動食や経腸栄養剤は高齢者や様々な病態で使用されている。摂取対象者の腸管機能が充分機能していないことから、食物繊維の添加が少ない流動食

や経腸栄養剤が多く、盲腸発酵に配慮した流動食や経腸栄養剤が少ないのが現状である。一般的な流動食や経腸栄養剤は食物繊維を含有しないか、含有量が不十分であるため、摂取した者の盲腸発酵が不十分となる。本発明の栄養組成物は発酵乳タンパク質や食物繊維を含有することで盲腸発酵を正常範囲に保ち、それによつて盲腸組織重量の増加や盲腸内容物の増加をもたらす。盲腸内容物の増加は腸内菌叢の増加や総短鎖脂肪酸量の増加を意味する。短鎖脂肪酸は盲腸や大腸で吸収され、腸内の蠕動運動や盲腸や大腸の増殖の促進にも関与していることがわかっている。従つて本発明は、タンパク質として乳タンパク質の加水分解物および発酵乳タンパク質、脂質としてオレイン酸を含有する油脂、ならびに乳リン脂質および/または大豆レシチン、糖質としてイソマルチュロースを含む、盲腸組織重量の増加を促進するための組成物や盲腸内容物の増加を促進するための組成物を提供する。

[0054] 本発明の栄養組成物は、ラットを用いた *in vivo* 試験において、腸内の総細菌数を変化させることなく、盲腸内容物や糞便中の *Bifidobacterium* 属、*Lactobacillus* 属の細菌数や占有率を高めることが確認された。また、盲腸内の pH 低下や、盲腸組織・盲腸内容物の重量、盲腸内容物の有機酸量の増加が確認された。従つて、本発明の組成物は、腸内菌叢改善に有用である。また本発明は、タンパク質として乳タンパク質の加水分解物および発酵乳タンパク質、脂質としてオレイン酸を含有する油脂、ならびに乳リン脂質および/または大豆レシチン、糖質としてイソマルチュロースを含む、腸内の pH 低下を促進するための組成物や腸内の有機酸量の増加を促進するための組成物を提供する。腸としては小腸、大腸、盲腸などが挙げられる。

本発明の栄養組成物は、様々な *Bifidobacterium* 属の細菌および *Lactobacillus* 属の細菌に対して効果的である。*Bifidobacterium* 属の細菌として *Bifidobacterium longum*、*Bifidobacterium bifidum*、*Bifidobacterium breve*、*Bifidobacterium animalis*、*Bifidobacterium lactis*、*Bifidobacterium infantis*、*Bifidobacterium catenulatum* が挙げられる。また *Lactobacillus* 属の細菌として *Lactobacillus casei*、*Lactobacillus helveticus*、*Lactobacillus*

acidophilus、Lactobacillus rhamnosus、Lactobacillus plantarum、Lactobacillus murinus、Lactobacillus reuteri、Lactobacillus brevis、Lactobacillus gasseri、Lactobacillus paracaseiが挙げられる。

Bifidobacterium属の細菌やLactobacillus属の細菌の増殖が促進されたか否かは、細菌のコロニーの観察やリアルタイムPCRによる方法など当業者に公知の方法により判定することができる。

[0055] 本発明の栄養組成物の医薬品または飲食品における一日当たりの摂取量は摂取対象者の病態、年齢、症状、体重、用途、および本発明の栄養組成物が栄養の唯一のものであるかなどによって異なるため、特に限定されない。具体的には、成人の場合一日当たり400 ~ 1600ml、好ましくは600 ~ 1600mlより好ましくは800 ~ 1200mlの摂取量を例示することができる。健康な成人の場合、例えば一日当たり3000mlまで摂取してもよい。また、摂取量は、摂取対象者の担当医により決定することもできる。

また、本発明の栄養組成物を従来知られる腸内菌叢の改善効果を有する医薬品や食品と併用して用いてもよい。具体的には、プロピオン酸菌発酵物、D 麩(2, 4-dihydroxy-2-naphthoic acid)、ACNQ(2-amino-3-carboxy-L,4-naphthoquinone)、フラクトオリゴ糖などを挙げることができるが、これらの例に限定されない。

[0056] 本発明の栄養組成物は医薬品または飲食品いずれの形態でも利用することができる。例えば、本発明の栄養組成物を医薬品として直接投与することにより、または特定保健用食品などの特別用途食品、栄養機能食品、栄養補助食品、流動食やサプリメントとして直接摂取することにより、腸内菌叢を改善することが期待される。また、液状、ペースト状、固形、粉末などの形態を問わず、各種食品(牛乳、清涼飲料、発酵乳、ヨーグルト、チーズ、パン、ビスケット、クラッカー、ピッツァクラスト、調製粉乳、流動食、特別用途食品、病者用食品、栄養食品、冷凍食品、加工食品その他の市販食品など)に添加し、これを摂取してもよい。また、栄養組成物の使用形態が粉末の場合、例えば噴霧乾燥、凍結乾燥などの手段を用いることにより製造するこ

とができる。

[0057] 本発明の栄養組成物を医薬品またはサプリメントとして使用する場合には、種々の形態で投与することができる。その形態として、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤などによる経口投与を挙げることができる。これらの各種製剤は、常法に従って主剤および賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる、既知の製剤化のための補助剤を用いて製剤化することができる。また、適当量のカルシウムを含んでいてもよい。さらに適当量のビタミン、ミネラル、有機酸、糖類、アミノ酸、ペプチド類などを添加してもよい。

[0058] 本発明の栄養組成物は、タンパク質として乳タンパク質の加水分解物および発酵乳タンパク質、脂質としてオレイン酸を含有する油脂、ならびに乳リン脂質および大豆レシチンの両方またはいずれか一方、糖質としてイソマルチユロースを含む、*Bifidobacterium*属および*Lactobacillus*属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進するための薬剤と表現することもできる。

また本発明は、本発明の栄養組成物を動物に経口投与する工程を含む、*Bifidobacterium*属および*Lactobacillus*属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進する方法に関する。本発明の栄養組成物が投与される対象としては哺乳動物が挙げられる。哺乳動物としてはヒト及びヒト以外の哺乳動物が挙げられ、好ましくはヒトやサルが挙げられ、より好ましくはヒトが挙げられる。

また本発明は、*Bifidobacterium*属および*Lactobacillus*属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進に使用するための、タンパク質として乳タンパク質の加水分解物および発酵乳タンパク質、脂質としてオレイン酸を含有する油脂、ならびに乳リン脂質および/または大豆レシチン、糖質としてイソマルチユロースを含む栄養組成物に関する。あるいは本発明は、*Bifidobacterium*属および*Lactobacillus*属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進するための栄養組成物の製造における、タンパク質、脂質および糖質の使

用に関する。また本発明は、Bifidobacterium属およびLactobacillus属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進のための、タンパク質、脂質および糖質の使用に関する。また本発明は、タンパク質、脂質および糖質と薬学的に許容される担体を配合する工程を含む、Bifidobacterium属およびLactobacillus属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進のための栄養組成物の製造方法に関する。タンパク質、脂質および糖質の具体例は本明細書に説明した。

なお本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本明細書に組み入れられる。

実施例

[0059] 以下、本発明に関して実施例を挙げて説明するが、本発明は、これにより限定されるものではない。

[0060] [実施例 1 :動物を用いた有効性試験]

(被検試料)

表3および表4に示す配合の一般流動食および本発明の栄養組成物を調製し、これをレトルト(加熱加圧)殺菌(135~145℃×5~10秒)したものを凍結乾燥して被検試料として用いた。なお、表中の栄養組成物に含まれるオレイン酸の含有量は、脂肪酸組成中39%であった。

対照群 :一般流動食の凍結乾燥物を摂取。

試験群 :本発明の栄養組成物の凍結乾燥物を摂取。

[0061]

[表3]

		/100ml	一般流動食	栄養組成物
一般組成	たんぱく質	g	4.0	5.0
	脂質	g	2.8	2.8
	炭水化物	g	15.5	14.5
	糖質	g	14.5	13.3
	食物繊維	g	1.0	1.2
	灰分	g	0.7	0.6
	水分	g	84.5	84.4
	カロリー	kcal	100.0	100.0
ビタミン	ビタミンA	μgRE	60	150
	レチノール	μgRE		60
	βカロチン	μgRE		90
	ビタミンD	μg	0.50	0.75
	ビタミンE	mgα-TE	3.0	5.0
	ビタミンK	μg	5	3.4
	ビタミンB1	mg	0.15	0.25
	ビタミンB2	mg	0.20	0.30
	ナイアシン	mgNE	2.4	4.0
	ビタミンB6	mg	0.30	0.30
	葉酸	μg	50	50
	ビタミンB12	μg	0.60	0.60
	ビオチン	μg	15.0	7.5
	パントテン酸	mg	0.60	1.2
	ビタミンC	mg	16	50
ミネラル	コリン	mg	1.7	9.2
	ナトリウム	mg	110	70
	カルシウム	mg	60	80
	鉄	mg	1.0	1.0
	リン	mg	60	70
	マグネシウム	mg	20	20
	カリウム	mg	100	80
	銅	mg	0.080	0.050
	ヨウ素	μg	15	9.7
	マンガン	mg	0.23	0.175
	セレン	μg	3.5	5.0
	亜鉛	mg	0.80	1.0
	クロム	μg	3.0	2.96
	モリブデン	μg	2.5	2.5
	塩素	mg	140	80
エネルギー バランス	たんぱく質	%	16	20
	脂質	%	25	25
	炭水化物	%	59	55
浸透圧		mOsm/L	380	600
pH(20°C)			6.7	4.0

[0062] [表 4]

栄養組成	一般流動食		栄養組成物	
成分	原料	g/100ml	原料	g/100ml
たんぱく質	カゼインNa	4.0	ホエイタンパク質 加水分解物	2.0
	乳タンパク質		発酵乳タンパク質	3.0
脂質	食用油脂	2.8	食用油脂	1.9
			乳リン脂質	0.1
			中鎖脂肪酸油	0.6
			精製魚油	0.2
糖質	デキストリン	14.5	デキストリン	7.2
	シヨ糖		パラチノース	6.2
	食物繊維	1	食物繊維	1.5

[0063] (動物実験)

6週齢雄性SDラット(日本SLC)を、体重を指標に対照群および試験群の2群(各群n=6)に群分けして、同日(day0)より被検試料を18日間または22日間自由摂取させた。この間、飲料水も自由摂取させた。被検試料の摂取開始から18日目(day18)または22日目(day22)に剖検を行った。糞は剖検日の朝に採取した。剖検はエーテル麻酔下で行い、心臓採血の後、開腹して盲腸を取り出し、回腸側と結腸側を糸で結紮した後、盲腸重量を測定し、-80℃で測定まで凍結保存した。

[0064] (測定)

・盲腸内のpH:凍結した盲腸を解凍し、盲腸内容物が入った状態の盲腸にラコムテスターpH計(アズワン(株))を挿入して、pHを測定した。

・盲腸組織重量・盲腸内容物重量:盲腸内のpHを測定後、直ちに盲腸組織と盲腸内容物を分離して秤量した。

・盲腸内容物の短鎖脂肪酸量:盲腸内容物を集め均一に混合した。200mgの盲腸内容物に400 μ lのミリQ水を添加し、超音波破砕機でホモジナイズして均一にした後、4℃、10000rpmで10minの条件で遠心分離を行った。上清を別のマイクロチューブに移し、上清200 μ L当たり、Car rez I (53.5g of ZnSO₄ · 7H₂O/100mL)、Car rez II (17.2g of K₄[Fe(CN)₆] · 3H₂O/100mL)を各2.5 μ L加え攪拌した。4℃、10000rpm、10分の条件で遠心分離を行い、上清をフイ

ルター付きマイクロチューブ (0.22 μm) に移し、再度、4℃、10000rpm、10分の条件で遠心分離を行い、上清を測定試料とした。測定試料中の有機酸を、電気伝導度検出器を用いた、ポストカラムpH緩衝化電気伝導度検出法によって定量した (Niwa T., Nakao M., Hoshi S. et al. Effect of Dietary Fiber on Morphine-induced Constipation in Rats, Biosci. Biotechnol. Biochem., 66(6), 1233-1240, 2002)。

検出器 : 電気伝導度検出器 (島津 CDD-10A)

カラム : 有機酸分析用ポリマーカラム IC Sep ICE-PRE-ORH-801

6.5mm I.D. X 300mm (東京化学工業 (株))

有機酸分析用ガードカラムカートリッジ IC Sep ICE-ORH-801

4.0mm I.D. X 20mm (東京化学工業 (株))

カラムの温度 : 55℃

移動相 : 5mM p-トルエンスルホン酸水溶液、0.5mL/min

反応液 : 5mM p-トルエンスルホン酸と100 μM EDTA(2Na) を含む

20mM Bis-Tris水溶液、0.5mL/min

●腸内菌叢の解析 :

盲腸内容物には凍結乾燥処理を施した。

糞便および盲腸内容物乾燥物から細菌のDNAを抽出して、*Bifidobacterium* 属、*Lactobacillus* 属の細菌数 (生菌数+死菌数) をリアルタイムPCRにて測定し、細菌数の対数值 (Log_{10} (細菌数/g)) を求めた。また、総細菌数に対する各細菌の菌数の割合を占有率 (%) として算出した。

結果の統計解析は、Student's t-test (等分散) または Welch の検定 (不等分散) で行った。

[0065] (結果)

図1に、各群の盲腸等の重量、および盲腸内のpHを示す。盲腸重量が対照群に比べ、試験群で有意に ($p < 0.05$) 増加した。この増加は盲腸の組織重量と盲腸内容物の増加によるものであった。また、対照群に比べ、試験群は盲腸内pHが有意に ($p < 0.05$) 低値を示した。

図2に、盲腸内容物の短鎖脂肪酸量を示す。対照に比べ、試験群で有意な差は認められなかったが短鎖脂肪酸が増加する傾向を示した。

図3に、各群の腸内菌叢の解析結果を示す。Bifidobacterium属の細菌数および占有率は糞便と盲腸内容物とも、試験群は対照群に対して有意に ($p < 0.05$) 増加した。盲腸内容物のLactobacillus属の細菌数および占有率も、試験群は対照群に対して有意に ($p < 0.05$) 増加した。なお、糞便と盲腸内容物の総細菌数に両群間でほとんど変化はなかった (data not shown)。

また、試験期間中の体重および摂餌量についても、両群間で有意な差を認めなかった。以上の結果から、本発明の栄養組成物が、栄養を補給すると同時にBifidobacterium属および/またはLactobacillus属の増殖を促進したことがわかった。

産業上の利用可能性

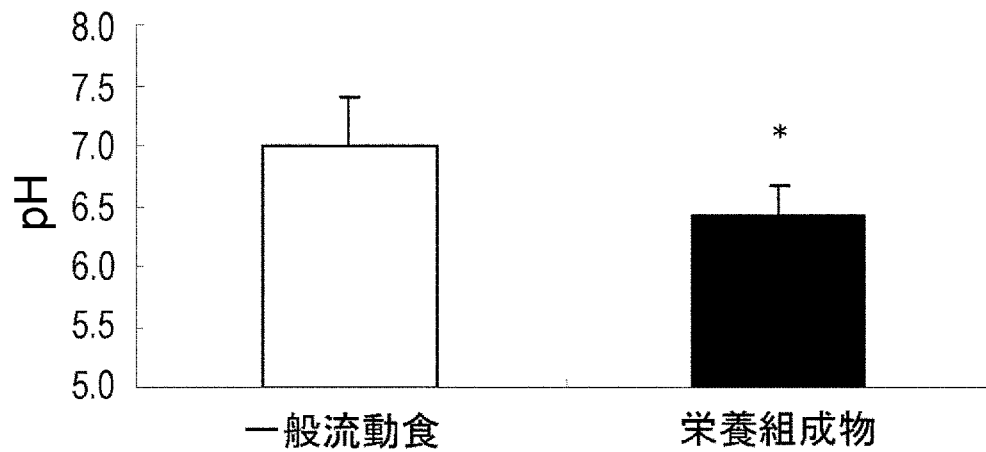
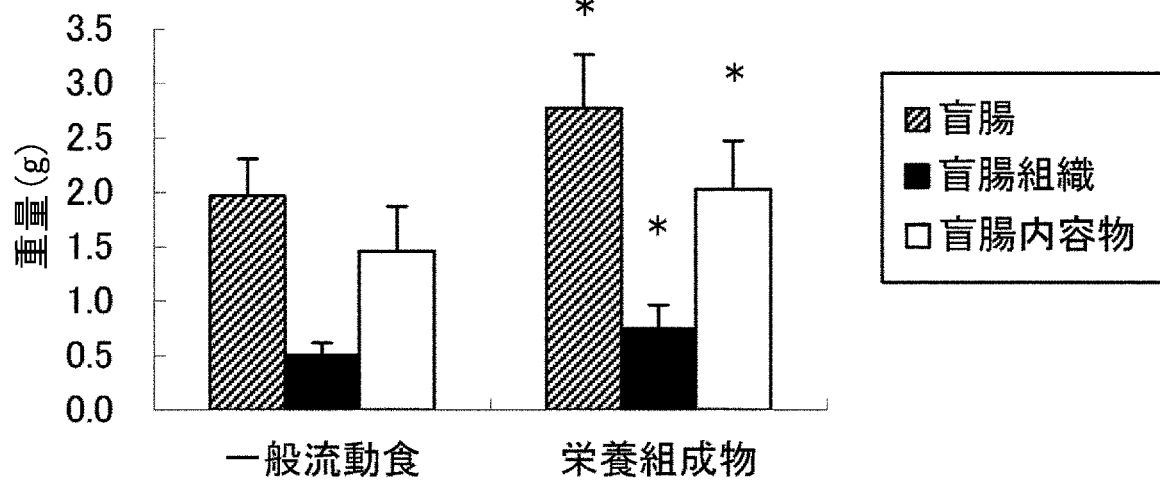
[0066] 本発明の栄養組成物は、腸内菌叢を改善することができる。具体的には、本発明の組成物は、Bifidobacterium属および/またはLactobacillus属の乳酸菌の増殖の促進、腸重量の増加の促進、腸内容物の有機酸量の増加の促進、腸内のpHの低下の促進、短鎖脂肪酸の増加の促進などに有用である。

請求の範囲

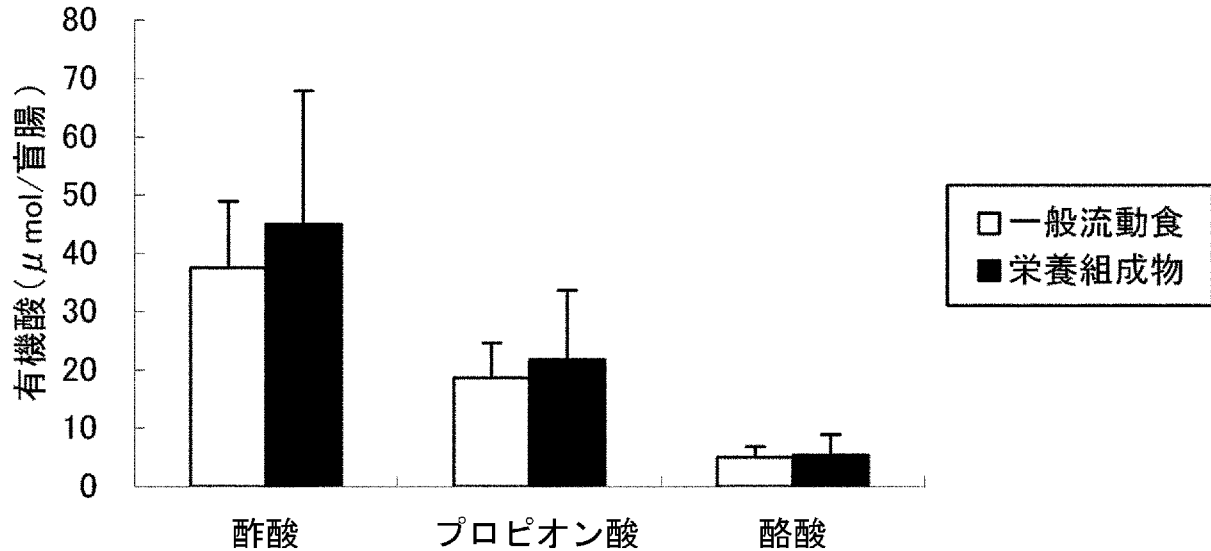
- [請求項1] タンパク質として乳タンパク質の加水分解物および発酵乳タンパク質、脂質としてオレイン酸を含有する油脂、ならびに乳リン脂質および大豆レシチンの両方またはいずれか一方、糖質としてイソマルチュロースを含む、*Bifidobacterium*属および*Lactobacillus*属の両方またはいずれか一方の細菌の増殖を促進するための栄養組成物。
- [請求項2] 乳タンパク質が、カゼイン、乳タンパク質濃縮物 (MPC)、ホエイタンパク質濃縮物 (WPC)、ホエイタンパク質分離物 (WPI)、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリンおよびラクトフェリンからなる群より選択される、請求項1に記載の栄養組成物。
- [請求項3] 乳タンパク質の加水分解物が、栄養組成物100mlあたり0.9~5.0g含まれる、請求項1または2に記載の栄養組成物。
- [請求項4] 乳タンパク質の加水分解物が、ホエイタンパク質濃縮物 (WPC) および/またはホエイタンパク質分離物 (WPI) をバシラス・リシエニフォルムス (*Bacillus Licheniformis*) 由来のアルカラゼで加水分解およびブタ膵臓由来のトリプシンで加水分解して得られる、請求項1~3のいずれか1項に記載の栄養組成物。
- [請求項5] 乳タンパク質の加水分解物が、分画分子量10,000の限外濾過膜で処理して得られる透過画分 (パーミエイト) である、請求項1~4のいずれか1項に記載の栄養組成物。
- [請求項6] 発酵乳タンパク質がチーズに由来する、請求項1~5のいずれか1項に記載の栄養組成物。
- [請求項7] チーズがクワルクである、請求項6に記載の栄養組成物。
- [請求項8] 発酵乳タンパク質が、栄養組成物100mlあたり0.5~6g含まれる、請求項1~7のいずれか1項に記載の栄養組成物。
- [請求項9] イソマルチュロースが、栄養組成物100mlあたり4~15g含まれる、請求項1~8のいずれか1項に記載の栄養組成物。
- [請求項10] 脂質にオレイン酸が全脂肪酸組成の30%以上の割合で含まれる、請

求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の栄養組成物。

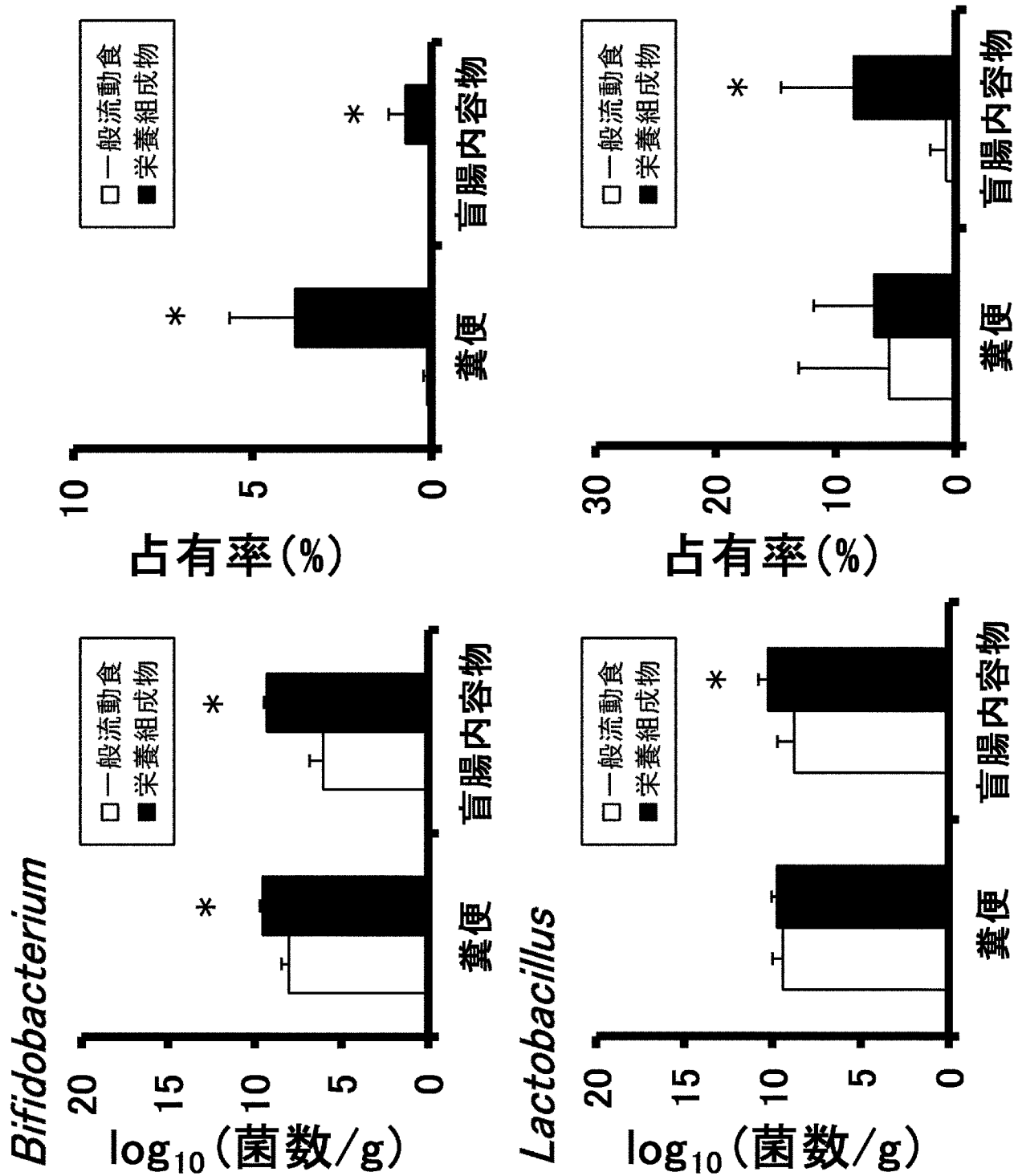
[図1]



[図2]



[図3]



Y

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 012 / 080450

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23C9/1 52 (2006.01)i, A23C1 9/0 68 (2006.01)i, A23L1 / 30 (2006.01)i

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)

A23C9/152, A23C19/068, A23L1/30

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

Jitsuyo	Shinan	Koho	1922-1	996	Jitsuyo	Shinan	Toroku	Koho	1996-2012
Kokai	Jitsuyo	Shinan	Koho	1971-2012	Toroku	Jitsuyo	Shinan	Koho	1994-2012

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

JST Plus / JME DPlus / JST7580 (JDreaml I), PubMed, WPI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u>	WO 2011/065552 AI (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 03 June 2011 (03.06.2011), examples 5, 6 & CN 102665750 A & TW 201121430 A	<u>1-10</u> <u>1-10</u>
<u>X</u>	WO 2004/047566 AI (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 10 June 2004 (10.06.2004), & JP 2006-515287 A & US 2006/0073186 AI & US 2009/0233865 AI & EP 1575379 A	<u>1-10</u> <u>1-10</u>



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 application or patent 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

"I" 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

18 December, 2012 (18.12.12)

Date of mailing of the international search report

08 January, 2013 (08.01.13)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 012 / 080450

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2004-536143 A (Societe des Produits Nestle S.A.), 02 December 2004 (02.12.2004), claim 4 & US 2004/0248768 AI & EP 1281325 AI & EP 1414316 A & WO 2003/011055 AI	1-1
Y	Tomotari MITSUOKA, "Prebiotics and Intestinal Flora", Journal of intestinal microbiology (2002), vol. 16, no. 1, pages 1 to 10	1-1
Y	JP 2001-046055 A (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 20 February 2001 (20.02.2001), paragraphs [0005], [0006], [0007] (Family: none)	1-1

o

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A23C9/152 (2006. 01) i, A23C19/068 (2006. 01) i, A23L1/30 (2006. 01) i

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. A23C9/152, A23C19/068, A23L1/30

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

日本国実用新案公報 1922-
 日本国公開実用新案公報 1971-2
 日本国実用新案登録公報 1996-
 日本国登録実用新案公報 1994-2

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), PubMed, WPI 年

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 請求項の番号
<u>X</u>	W 2011/065552 AI (明治乳業株式会社) 2011. 06. 03, 実施例 5、実施例 6 & CN 102665750 A & W 2011/121430 A	1-10 1-10
<u>X</u>	ffO 2004/047566 AI (明治乳業株式会社) 2004. 06. 10, & JP 2006-5 15287 A & US 2006/0073 186 AI & US 2009/0233865 AI & EP 1575379 A	1-10 1-10
	JP 2004- 536143 A (ソシエテ デ プロデュイ ネットスル ソシエテ アノニ ム) 2004. 12. 02, 請求項 4 & US 2004/0248768 AI & EP 1281325 AI & EP 14143 16 A & W 2003/01 1055 AI	1-10

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

IA 「特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの」
 IE 「国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの」
 I 「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)」
 IΘ 「口頭による開示、使用、展示等に言及する文献」
 IP 「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」
 IY 「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」
 I& 「同一パテントファミリー文献」

国際調査を完了した日
 18. 12. 2012

国際調査報告の発送日
 08. 01. 2013

国際調査機関の名称及びあて先
 日本国特許庁 (ISA / JP)
 郵便番号 100-8915
 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)
 高 美葉子
 電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー水	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 請求項の番号
Y	光岡知足, プレバイオティクスと腸内フローラ, 腸内細菌学雑誌 (2002), Vol. 16, No. 1, p. 1-10	1 - 10
Y	JP 2001-046055 A (雪印乳業株式会社) 2001. 02. 20, 【0005】, 【0006】, 【0007】 (ファミリーなし)	1 - 10