腸内乳酸菌増殖食品の研究 (第4報)

Studies on Foods That Stimulate the Increase of Intestinal
Lactobacilli (Report 4)大豆煮熟浸出液並びに豆乳飲用による *Lactobacillus acidophilus*
増殖効果について (その2)Effect of Ingestion of Soybean Infusion and Soybean Juice on
Lactobacillus acidophilus Multiplication (2)

人体飲用実験

An Experiment on Human Being

国立栄養研究所 (The National Institute of Nutrition)

長井 摂 郎 (S. Nagai)

Lactobacillus acidophilus in the intestine of the rats was observed to increase when soybean infusion was administered. Soybean juice, too, indicated the same tendency.

This paper is to report about the results of an experiment on human being, results being as follows.

- 1) The intake of 10% soybean infusion 500 cc per day promote the multiplication of *L. acidophilus*,
- 2) The decreasing trend of coli-form bacilli was observed.
- 3) No effect was recognized by drinking soybean juice 1 liter per day.

緒言 食物により腸内における *Lactobacillus acidophilus* の増殖を旺盛ならしめ、われわれの保健に寄与する目的で、数種の食品汁液中における本菌の増殖状況を調査した結果、大豆煮熟浸出液（以下大豆汁と略記す）及び豆乳中における増殖は最も優れていることを認めた。また、*L. acidophilus* の選択培地として大豆汁を用いた培地を試製し、現今、本菌分離培地として、最も広く賞揚されているトマトジュース培地、その他従来より使用させている数種の培地と、本菌の検出性能を比較したところ、大豆汁寒天は、いずれの培地にも劣らぬ成績を示した。そこで、大豆汁及び豆乳の飲用による本菌増殖効果を、白ネズミにつき実験を行つたところ、大豆汁の給与により増加が認められ、また、豆乳においても増加の傾向が見られた。¹⁾しかし、白ネズミを用いた実験では、試験食品を比較的多く与えることができたが、個体差があり、全例に同一の成績が得られず、また、不規則な消長がみられた。このことは白ネズミでは、糞便標本の採取が少量より得られぬこと、その他、採取上に不便があり、そのため標本誤差も起りやすいことにもよると考えられた。よつてさらに、人体飲用実験を行つた。

大豆汁飲用実験 I 実験方法

1. 被試験者及び実験期間 成人男子3名を使用した。21日間を3期に等分の予定であつたが、排便その他の都合により、最初の7日間を前調査期とし、次の12日間を試験食期、最後の2日間を後調査期とし、各期間

における腸内細菌，特に，*L. acidophilus* 及び大腸菌群の消長を比較した。

2. 標準食 献立材料は表 1 に示した如く，腸内における *L. acidophilus* の増殖に対する影響を考慮し，豆類及びその製品，その他食用効果の有無にかかわらず，培養などにおいて，*L. acidophilus* の増殖に関係がある食品，たとえば，乳類（バターを除く）肝臓，トマトなどの使用を避けた。その他の材料については，魚肉の種類は一定しなかつたが，獣肉は牛肉または豚肉を用い，野菜類は一定の種類のものを用いた。しかし，限られた材料による食欲の減退を避けるため，調理法を適宜に変化させ，これを週期的に繰り返した。

3. 試験食品の調製 試験食品とした大豆汁は，大豆 200 g を水 2 l に約 12 時間浸漬した後，autoclave で

表 1 標 準 食（大豆汁飲用実験）

食事区分	材 料 名	数 量 g	カロリー	蛋白質 g	脂 肪 g	糖 質 g
朝 食	{ 食 パ ン	130	342	10.4	2.0	70.6
	{ バ タ ー	10	74	—	8.2	—
	{ 鶏 卵	50	76	6.4	5.6	—
	{ は な や さ い	80	31	1.3	0.2	3.6
	{ に ん じ ん	20	8	0.2	0.04	1.6
	{ マ ヨ ネ ー ズ	10	64	0.3	7.0	—
	{ み か ん	100	50	0.9	0.3	11.0
	{ 紅 茶	10	39	—	—	9.8
	{ 砂 糖	10	39	—	—	9.8
	小 計		684	19.5	23.5	96.6
昼 食	米	160	547	10.2	1.3	124.0
	豚 肉	70	102	15.0	4.6	—
	じ や が い も	100	78	1.9	0.1	17.3
	ほ う れ ん 草	50	12	1.5	0.2	1.0
	玉 ね ぎ	30	8	0.2	0.06	1.6
	き や べ つ り	30	5	0.5	1.0	0.7
	の	1	—	—	—	—
	小 計		752	29.3	7.2	144.6
夕 食	米	140	479	9.0	1.1	108.4
	魚 (あ じ)	70	77	14.0	2.1	0.5
	だ い こ ん	50	8	0.6	—	1.4
	に ん じ ん	20	8	0.2	0.04	1.6
	青 菜	50	12	1.5	0.2	1.0
	油 (バ タ ー)	10	74	—	8.2	—
	ふ	2	7	0.6	—	1.1
	砂 糖	5	20	—	—	4.9
	小 計		685	25.9	14.6	118.8
夜 食	{ 食 パ ン	100	263	8.0	1.5	54.3
	{ バ タ ー	5	37	—	4.1	—
	{ 角 ソ ー セ ー ジ	20	54	2.7	4.4	0.8
	{ ミ カ ン	100	50	0.9	0.3	11.0
	小 計		404	11.6	10.3	66.1
	合 計		2,525	86.3	55.4	426.1

15ポンド30分間加熱し濾過した。この液を被験者3名の1日量とし、これを3回に分ち、毎食事時に飲用させた。すなわち、この濾液の収量は平均 1.3 ℓ であつたから、被試験者1人に対し、10%大豆汁1日約430 ccを飲用させたことになる。

4. 腸内細菌の検索 試験食期及び後調査期へ転換後、1回目の排便を除き、毎回の排便につき検査した。糞便は1 gをとり、前報同様の方法で移植した。分離用培地は次の培地を使用し、*L. acidophilus* 及び大腸菌群、その他、コロニーの形状により識別し得る主な種類につき検索した。*L. acidophilus* については、大豆汁寒天及びトマトジュース寒天(Difco)を併用した。これら両培地においては、*L. acidophilus* のほか、腸球菌及び酵母などを検索した。大腸菌群細菌の検索には、Drigalsky 改良培地を用い、乳糖分解菌とその他を類別するとともに、エオジンメチレンブルー培地を併用し参考とした。

図1(a) *L. acidophilus* と大腸菌群の消長：大豆汁飲用実験

図1(b) *L. acidophilus* と大腸菌群の消長：大豆汁飲用実験

II 実験成績 被試験者Nにおいては図1

(a) に示した如く *L. acidophilus* は試験食期を通じ、前後の調査期より増加を示した。

大腸菌群は試験食期に2回の不規則な増加があり、前調査期との変化が明らかでなかつたが、後調査期には増加を示した。本例は大腸菌群及びその他の細菌は非常に少なく、大腸菌群と *L. acidophilus* の和に対する後者の比率は、ほとんど99%を占めていたため、両細菌相互の消長関係は明らかでなかつた。また、腸球菌も大腸菌群と同数くらい検出されたに過ぎず、消長が不規則で、各期における変化を明らかにすることができなかつた。被試験者Mにおいては図1(b) に示した如く、試

図 1(c) *L. acidophilus* と大腸菌群の消長：大豆汁飲用実験

験食期における *L. acidophilus* の消長はやや不規則で前例の如き持続的増加が見られなかつたが、増加は試験食期間内にのみ見られ、増加の傾向が認められた。大腸菌群は試験食期に減少を示した。したがって大腸菌群と *L. acidophilus* の和に対するの後者比率について見るとき、前調査期では大腸菌群

の消長が不規則であつたため比率も動揺があつたが、平均18%であつた。これに対し、試験食期では77~99%を占めた。その他の細菌については、本例では、Drigalsky改良培地において、コロニーの形態により区別できる乳糖非分解性の2種のグラム陰性短桿菌が各期を通じて継続的に検出され、大腸菌群より優占していた。(10~100倍)しかし、その消長には一定した傾向が見られなかつた。腸球菌は少数で *L. acidophilus* 検出のための稀釈試料では稀に検出されたに過ぎなかつた。被試験者Sにおいては図1(c)に見られる如く、*L. acidophilus*は試験食期に入つて継続した増加が見られたが、同期の終りの2回の検査においては、前調査期の頃の数に減少し、後調査期に至つた。大腸菌群は試験食期に減少したが、すでに、前調査期の終りに減少の傾向が見られた。しかし、この時の検査試料では *L. acidophilus* もやや減少の傾向があつた。大腸菌群と *L. acidophilus* の和に対する後者比率についても、前調査期では平均4%であつたが、試験食期では97%を示し、*L. acidophilus* の増加が認められた。本例においては、腸球菌が常に腸内 Flora の優占種 (*acidophilus* の約10~100倍)として検出され、試験食期にわずかに減少の傾向が見られた。

図 2 大腸菌群と *L. acidophilus* の和に対する後者の%

豆乳飲用実験 I 実験方法

1. 被試験者及び実験期間 成人男子2名女子1名を使用した。前回同様に3期に分ち、前調査期及び試験食期は各5回以上、毎回の排便につき検査したが、後調査期は3回に省略した。
2. 標準食及び試験食品 標準食の材料選択には、前回同様の考慮を払い、表2の如くした。なお、豆乳飲用中は豆乳 540 cc に相当する蛋白質及びカロリー量を標準食から減じて与えた。豆乳の飲用は、男子1日 1080 cc、女子は1日 720 cc を、3~4回に分けて飲用させた。

表2 標準食（豆乳飲用実験）

食事区分	材 料 名	数 量 _g	カロリー	蛋白質 _g	脂 肪 _g	糖 質 _g
朝 食	食 パ ン	130	342	10.4	2.0	70.6
	バ タ ー	15	110	0.1	12.2	—
	じ や が い も	50	39	0.1	0.1	8.6
	た ま ね ぎ	20	5	0.1	—	0.9
	に ん じ ん	10	4	0.2	—	0.8
	き や べ つ	30	5	0.6	0.1	0.7
	べ ー コ ン	10	65	0.6	6.9	—
	塩 ・ ご ま	—	—	—	—	—
	卵	50	76	6.4	5.6	—
	み か ん	70	35	0.6	0.2	6.9
	小 計		681	19.1	27.1	88.5
昼 食	米	160	547	10.2	1.3	24.0
	牛 肉	60	80	12.1	3.4	—
	り ん ご	30	14	0.1	0.1	3.0
	た ま ね ぎ	30	8	0.2	0.1	1.3
	油	10	90	—	—	—
	塩・ごま・ソース	—	—	—	—	—
	ほ う れ ん 草	60	12	1.5	0.2	1.2
	漬 物	10	9	0.4	—	—
	小 計		760	24.5	15.1	129.5
夕 食	米	160	547	10.2	1.3	124.0
	生 さ け	70	109	13.3	1.1	—
	き や べ つ	50	9	0.8	0.2	0.8
	し ゆ ん ぎ く	50	11	0.7	0.2	1.4
	マ ヨ ネ ー ズ	20	129	0.7	14.0	—
	た ま ね ぎ	5	1	—	—	0.2
	と ろ ろ こ ん ぶ	2	—	—	—	—
	ふ	2	7	0.6	—	1.1
	塩・醤油・味の素	—	—	—	—	—
	だ い こ ん	50	8	0.6	—	1.5
	小 計		821	26.9	21.8	129.0
夜 食	ビ ス ケ ャ ッ ト	20	81	2.0	1.2	14.2
	ク ラ ッ カ ー	30	126	3.4	3.2	21.1
	小 計		207	5.4	4.4	35.3
	合 計		2469	75.9	68.4	382.3

3. 腸内細菌の検索 エオジンメチレンブルー培地を McConkey 培地に変えたほかは、前回同様の方法で行った。

II 実験成績 各被試験者の *L. acidophilus* 及び大腸菌群の消長は図2に示した如く、いずれの被試験者も、豆乳飲用による影響は見られなかつた。3被試験者の腸内細菌は、それぞれ、特徴があり、被試験者Rにおいては他の者に比し、*L. acidophilus* が非常に少なく、これに反し、大腸菌群が多かつた。腸球菌は稀に少数検出されたに過ぎなかつた。また、これまで、他の被試験者に検出されなかつた不正円形で隆起し、表

図 3 *L. acidophilus* と大腸菌群の消長：豆乳飲用実験

L. acidophilus の増殖をはかる目的で、白ネズミに大豆汁及び豆乳を給与した結果、その効果は個体により異なったが、その大半は試験食期に *L. acidophilus* の約10倍の増加が認められた。この範囲の消長は個体により、時に前調査にも見られたが、試験食期には継続した増加が見られた。人体による本実験においても、大豆汁の飲用により *L. acidophilus* は約10倍の増加が見られた。その内、2例においては、試験食を通じて増加が継続し、試験食期が終了後減少したが、他の1例においては試験食期中も多少の増減が見られた。しかし、白ネズミについての実験の場合と異なり、3例共に、前後の調査期間中においては、試験食期の増加に等しい消

表 3 腸内細菌相の調査期別平均数
大豆汁飲用実験

被試験者	種類 調査期	<i>L. acidophilus</i>	大腸菌群	% *	連鎖球菌	酵 母	そ の 他
N (○)	前調査期	50×10^3	0	100.0	24×10^2	0	50
	試験食期	44×10^4	40×10^2	99.9	25×10	11×10^2	36
	後調査期	26×10^3	10×10^2	96.3	41×10^2	20×10	5
M (○)	前調査期	38×10^3	18×10^4	17.6	0	0	17×10^4
	試験食期	13×10^4	49×10^2	96.4	40×10	13×10^2	11×10^4
	後調査期	67×10^3	15×10^3	81.6	0	50×10	90
S (○)	前調査期	16×10^3	39×10^4	3.8	54×10^4	17×10	12×10^3
	試験食期	18×10^4	18×10^3	91.1	40×10^4	89×10	18×10^3
	後調査期	20×10^3	11×10^3	64.2	47×10^4	10×10	15×10^2

長は見られなかった。したがって、各期の平均数 (表 3 参照) についても 3 例共に、試験食期に増加が見られた。また、F 検定の結果、各期の間に有意水準 1% で有意の差が認められた。

豆 乳 飲 用 実 験

被試験者	種類 調査期	L. acidophilus	大腸菌群	% *	連鎖球菌	ブドウ球菌	酵 母	そ の 他	双球菌
R (+)	前調査期	18×10	27×10 ⁴	0.07	0	41×10 ²	12×10 ²	19×10 ⁴	12×10
	試験食期	17×10	11×10 ⁴	0.16	20×10	39	0	52×10 ²	36×10
	後調査期	35×10	28×10 ⁴	0.12	0	12	10	23×10 ³	62×10
S (+)	前調査期	27×10 ⁴	25×10 ³	91.6	12×10 ⁴	36×10 ³	0	13×10 ³	
	試験食期	11×10 ⁴	11×10 ³	90.8	42×10 ³	49×10 ³	0	72×10 ²	
	後調査期	90×10 ³	21×10 ³	81.1	0	33×10 ²	0	97×10 ³	
N (+)	前調査期	69×10 ⁴	57×10	99.9	24×10 ⁴	11×10 ⁴	0	32	
	試験食期	92×10 ⁴	49×10	99.9	50×10 ⁴	56×10 ²	0	34×10 ²	
	後調査期	69×10 ⁴	43	99.9	35×10 ⁴	29×10 ³	0	0	

注. 糞便 0.01 g 中の細菌数. * 大腸菌群と L. acidophilus の和に対する後者の%

大腸菌群の消長は1例は大腸菌群が異常に少ないため、各期の消長について言及することは妥当でないが、他の2例では、試験食期に減少が見られ、F検定により各期の間に有意水準1%で有意の差が認められた。したがって、前調査期と試験食期について L. acidophilus と大腸菌群の消長に逆相関（有意水準10%）が認められた。しかし、前述の如く大腸菌群が異常と認め1例を除外した2例に過ぎないから、さらに例数を重ねた上でなければ明言はできない。以上の如く大豆汁の飲用は腸内における L. acidophilus の増殖に促進効果のあることが認められたが、いまだ、顕著な増加を来すまでには至らなかった。しかし、Kopeloff, Cohen は乳糖1日100gを与えても、L. acidophilus の増殖効果は不充分であるとし、また、Rettger, cheplin は乳糖1日300~400gを与え、また、アシドフィルスミルク1lを与えて、L. acidophilus の増加を見たことを報告していることより見れば、本実験における大豆汁の飲用量は430ccで、上記アシドフィルスミルクの半量に満たなかつたから、さらに、飲用量を増加しならば顕著な増加が見られたかもしれない。

次に、豆乳の飲用によつては、L. acidophilus の増加が見られなかつたが、このことは、白ネズミに大豆汁及び豆乳を与えた前回の実験においても、豆乳は大豆汁に比し本菌増殖効果が劣るように見られたことから推量される。本菌の試験管内培養実験の結果では、豆乳における増殖は、大豆汁におけるよりも、むしろ、良好であつたが、これより蛋白質を除いた豆清中における増殖は、それ程良好でなかつた点より見れば、豆乳蛋白質中にある物質が本菌の発育に関係があると思われるが、一方、大豆汁中には蛋白質0.5%を含むに過ぎないが、本菌の増殖は豆乳に近い成績を示したことは、その発育因子が蛋白質以外のものであるとも見られる。この点に関して、いまだ、明らかにするに至つていないので、豆乳の飲用が本菌の増殖効果を示さなかつた理由については明らかでない。もし、本菌の発育に有効な物質が豆乳の蛋白質以外のものであるとすれば、豆乳はその製造工程において、水が加えられ発育に有効な物質も稀釈されているから、本実験における大豆汁の飲用量が430ccであつたのに対し、豆乳では1080ccで、前者の約2.5倍であつたが増殖促進に有効な物質の飲用量としては大豆汁の場合より少なかつたため、効果が見られなかつたということも考えられる。

総括 腸内における Lactobacillus acidophilus の増殖を促進させる食品として、大豆汁及び豆乳を白ネズミに与え、その効果を実験した結果、前者においては、その効果が認められた。また、後者においても増加の傾向が見られた。よつてさらに、人体につきその効果を検討した結果、次の成績を得た。

1) 大豆汁の飲用により3例中全例に増加が見られ、試験食期と調査期の間にF検定により有意水準1%で

有意の差が認められた。

2) 大腸菌群は大豆汁の飲用により減少が見られ、試験食期と調査期の間に、有意水準 1% で有意の差が認められた。

3) 1 例は最初より大腸菌群の数が非常に少い個体であつたから、異常型と認め除外し、他の 2 例について見るときは、*L. acidophilus* と大腸菌群の消長に逆相関が認められた。

4) 豆乳の飲用により *L. acidophilus* 及び大腸菌群の消長に変化が認められなかった。

稿を終るに臨み、始終激励と御助言を賜つた恩師故島谷種三郎先生の霊に衷心より敬意を捧げます。また種々御指導を賜つた国立栄養研究所長有本邦太郎博士に謝意を表すると共に、実験に御協力下さつた橋本タニ技官をはじめ高梨直子氏、毛利敬子氏、藤井泰子氏、熊谷由起子氏、奥主敏子氏、坂巻とき江氏に感謝します。

なお、本研究は厚生省科学研究費によつて行つたことを附言する。

文 献

- 1) 長井：栄養学雑誌, 18, 270 (1960)
- 2) 長井：栄養学雑誌, 18, 276 (1960)
- 3) 長井：栄養学雑誌, 18, 281 (1960)
- 4) Kopeloff, N., Cohen, P.: J. Am. Med. Ass., 94, 1983 (1930)
- 5) Rettger, L. F., Cheplin, H. A, Arch. Internal Med., 29, 357 (1922)

(受付：昭和 35 年 7 月 7 日)

抄 録

リボフラビン欠乏ラツテに於ける蛋白代謝の同化現象 Some anabolic aspects of protein metabolism in riboflavin deficiency in the rat.

Sailen Mookerjee: Brit. J. Nutrition, 14, 201 (1960)

雌 70~90 g. 雄 80~100 g の幼ラツテを用い A 群は対照群, C 群はリボフラビン欠乏飼料, B 群は対照群と同飼料で C 群と同範囲の体重を保持する制限量で、各群とも蛋白 16% 含有飼料をし 45~76 日間夫々飼育した。試験終了時の体重は A 群に比し C 群は 10~15% 低く、ヘモグロビン、プラズマ中の蛋白含量と肝臓中窒素含量は A, B, C 各群とも同じであつた。また A 群に比し C 群は次第に食欲不振となり、成長が阻害された。第 1 回実験では肝臓と血液、第 2 回実験では肝臓、血液、腎臓をとり出して分析し、第 3 回実験では A B C 各群から 45 日目に 8

匹ずつ殺し肝臓、血液を分析し、残りのラツテはその後蛋白質をとりぞいた飼料で 21 日間与え、更に体蛋白を欠乏させるために最後の日に適量量出血させた。次の日各群から 4 匹ずつ殺し、残りのラツテに 40% 蛋白含有飼料を 3 日間与え後殺した。第 4 回実験も第 3 回と同様に行つた。

飼料中の蛋白質を不足させた場合には出血をさせてもさせなくても 40% 蛋白含有飼料を与えればヘモグロビンプラズマ、肝臓などの体蛋白含量はリボフラビン欠乏状態とか体重に関係なく 3 群ともほとんど同じ割合で減少し、また回復した。リボフラビン欠乏ラツテの肝臓重量は体重に大きく比例する傾向で、その結果蛋白欠乏ラツテでさえも体重に対する肝臓窒素含量の比は、リボフラビンを充分に与えた動物より大きかつた。

(平山)