キシロオリゴ糖のビフィズス菌増殖効果

岡崎 昌子, 藤川 茂昭, 松元 信也

サントリー(株)技術開発センター基礎研究所生物化学工学研究室

Effects of Xylooligosaccharide on Growth of Bifidobacteria

Masako OKAZAKI, Shigeaki FUJIKAWA and Nobuya MATSUMOTO

*Biochemical Engineering Laboratory, Institute for Fundamental Research,
Suntory Ltd., Shimamoto, Mishima-gun, Osaka 618*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) **43**, 395~401 (1990)

The effect of xylooligosaccharide from xylan on the human intestinal flora was studied. We had already observed that the growth of intestinal bifidobacteria was selectively promoted by administration of 5 g xylooligosaccharide per day. To determine the minimum dose necessary to produce this effect, 5 healthy male subjects aged 50 to 60 years each received 1 or 2 g xylooligosaccharide daily for 3 weeks. As the dose of xylooligosaccharide was increased, the percentage of bifidobacteria relative to the total intestinal bacterial flora tended to increase. Xylooligosaccharide was found to produce a selective increase in bifidobacteria even when administered at 1 g per day.

Key Words xylooligosaccharide, bifidobacteria, intestinal flora, minimum dose.

(Received February 16, 1990)

腸内細菌を構成する細菌間のバランスは、人間の健康と密接に関わりをもっており、腸内細菌のうちその有用性が明らかにされているビフィズス菌^{1)~5)}がいつも優勢であるような状態がバランスのよい腸内菌叢であると考えられている。

ビフィズス菌は糖を分解し、酢酸、乳酸を産生し、腸内のpHを低下させることが知られている^{6)~8)}。酢酸は抗菌性が強く⁹⁾、大腸菌などの有害菌の増殖を抑え¹⁰⁾大腸菌などにより産生されるアンモニア、アミンはpHが低いほど腸管からの吸収速度が低下する¹¹⁾。またpHの低下は腸管を刺激して腸のぜん動運動を高め、腸内の異常発酵、便秘などの改善に貢献するといわれており、ビフィズス菌は腸内菌叢を好ましい状態に保つのに役立つといわれている。

そこで近年、腸内のビフィズス菌を積極的に増殖させるための研究が進められており、種々のビフィズス菌含有製剤やビフィズス菌のエネルギー源となりうるいくつかのオリゴ糖が有効であることが報告されているが¹²⁾¹³⁾、現在市販されているものは、定着性¹⁴⁾、安定性¹⁵⁾¹⁶⁾や腸内細菌の選択資化性等^{17)~19)}の点で問題があると考えられる。そこでわれわれはこれらの欠点を克服する糖としてキシロオリゴ糖を見だし、研究を行って

きた。その結果、1日5gの摂取で腸内のビフィズス菌を増やすことを明らかにした²⁰⁾。本研究では、このような効果を得るには最低どれくらい摂取すればよいかを知るために、健康な成人男子を対象にキシロオリゴ糖を1日1gあるいは2gずつ3週間摂取させたときの腸内フローラ、便の性状に及ぼす影響について検討した。

実験方法

1. 実験材料

試験に用いたキシロオリゴ糖は、綿実セリ、コーンコブおよびバーチウッドを原料にして、トリコデルマ由来の酵素キシラーゼを作用させて分解²¹⁾したのち、活性炭脱色、脱塩、濃縮して得られたもので、キシロース 27%、キシロビオース 52%、キシロトリオース以上のオリゴ糖を 19%、その他 2% を含む糖組成のものである。

2. 投与方法

被験者として、年齢50~60歳の健康な成人男子10名を対象として、うち5名にはキシロオリゴ糖を毎日1g、残り5名には2gずつを3週間にわたって摂取させた。この間、生菌製剤、納豆の非摂取以外についてはとくに食事制限は行わなかった。摂取直前、摂取開始1週間目、2週間目、3週間目および摂取中止6週間後に採便を行い、光岡らの方法に準拠して便の腸内フローラ、pH、水

Fig. 1. Effect of XO on counts of *Bifidobacterium* in intestine.

×, ○, ●, □, ■ : each value of five volunteers. △---△ : average values of five volunteers. XO : xylooligosaccharide mixture mainly composed of xylobiose. Before : average value of duplicate samples before the initial XO administration. During : average of the values after the 1st, 2nd and 3rd week during the XO administration. After : the value after six weeks from the final administration of XO.

分の測定を行った。

3. 腸内フローラの測定

採取した検体 1 g を秤量し、ただちに 9 ml の嫌気性希釈液を含む中型試験管に移し、酸素不含、無菌炭酸ガス通気下でよく混和し、その 1 ml を新しい希釈液 9 ml に加え、上記の炭酸ガスを吹き込みながら同様に 10^{-8} 倍の濃度まで希釈し、順次、希釈液の 0.05 ml を嫌気性菌用平板 9 種類¹⁾、好気性菌用 (LBS を含む) 平板 7 種類¹⁾ に様に塗抹した。嫌気性菌用平板は、還元スチールウールとともにジャーに入れ、炭酸ガスを置換して 37°C で 72 時間嫌気培養した。また、DHL, TS 培地は、37°C で 24 時間好気培養、TATAC, PEES, P, NAC 培地は 37°C で 72 時間好気培養した。LBS 培地については、ジャーに入れ、還元スチールウールを入れずに、炭酸ガスを置換して 37°C で 72 時間好気培養した。培養終了後、集落の形状、グラム染色性、細胞の形態によって菌群を決定して集計した。

4. 糞便中の水分の測定

恒量を出した秤量瓶に、検体約 1 g を精秤し、真空乾燥器 (ヤマト科学製, DP-22) で 76 cmHg, 105°C, 4 h 乾燥後、デシケーター内で室温まで冷却し、重量を測定した。さらに、恒量に達するまで、上記の操作を繰り返した。

なお、本研究はヘルシンキ宣言の精神に則り施行したものである。

実験結果

キシロオリゴ糖 1 g/day 摂取群, 2 g/day 摂取群の腸

内フローラの各種菌数の推移を平均値で Table 1, Table 2 に示した。試験期間中の総菌数レベルには変化が認められなかった。キシロオリゴ糖の摂取によって 2 g/day 摂取群では *Bifidobacterium* 菌は 3 週間目には 2.5% 危険率で有意に増加した。そしてキシロオリゴ糖の摂取を止めることによりビフィズス菌は減少し、摂取前と有意差がなくなった。また、個人別にみると (Fig. 1), 1 g/day 摂取群では被験者 5 名中 3 名が増え、2 g/day 摂取群では 5 名中 4 名が *Bifidobacterium* 菌数の増加を示した。

Fig. 2 に糞便中の総菌数に占める各菌群の割合を示した。キシロオリゴ糖 1 g/day 摂取群ではビフィズス菌はキシロオリゴ糖摂取前が平均 8.5% であったのに対し、キシロオリゴ糖の摂取により 1 週目で 7.6%, 2 週目で 17.9%, 3 週目で 20.2% へと順次増加し、摂取開始後 2 週目からは 5% 以下の危険率で有意に増加した。キシロオリゴ糖 2 g/day 摂取群では摂取前が 9.3% であったのが、摂取により 1 週目で 33.1%, 2 週目で 22.5%, 3 週目で 37.4% へと摂取開始後 1 週目から 5% 以下の危険率で有意に増加した。また摂取中止後、ビフィズス菌の占有率は減少し、摂取前とは有意差がなくなった。一方、腐敗発酵菌とみなされる²²⁾ *Bacteroides* 菌は摂取前は 55% 前後であったのに、キシロオリゴ糖 1 g/day 摂取群では摂取 1 週間目には 47.6% に低下し、キシロオリゴ糖 2 g/day 摂取群では 31.4% に低下した。個人別にみると、キシロオリゴ糖 1 g および 2 g/day 摂取群とも被験者全員がキシロオリゴ糖を摂取することによりビフィズス菌の占有率を増やした (Fig. 3)。また

Table 1. Changes in intestinal microflora of healthy adults by intake of XO^a (1 g/day).

Organisms	Before administration (n=5)	During administration		Six weeks after administration (n=5)
		After 1st week (n=5)	After 2nd week (n=5)	After 3rd week (n=5)
Enterobacteriaceae	8.08 ± 1.73 (100)	8.14 ± 1.17 (100)	7.96 ± 2.02 (100)	7.38 ± 1.40 (100)
<i>Streptococcus</i>	7.52 ± 0.49 (100)	7.16 ± 0.64 (100)	6.74 ± 0.77 (100)	7.48 ± 0.99 (100)
<i>Staphylococcus</i>	4.70 (20)	3.35 ± 1.48 (40)	3.85 ± 1.48 (40)	3.10 ± 0.85 (60)
Yeasts	4.30 ± 0.70 (60)	3.93 ± 0.58 (60)	3.66 ± 1.40 (60)	4.50 ± 0.72 (60)
<i>Candida albicans</i>	—	—	—	—
<i>Corynebacterium</i>	3.40 (20)	4.40 (20)	3.25 ± 0.91 (40)	3.90 (20)
<i>Bacillus</i>	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—
<i>Lactobacillus</i>	7.24 ± 1.45 (100)	2.30 (40)	3.30 (20)	3.20 (20)
<i>Bifidobacterium</i>	9.36 ± 0.73 (100)	5.51 ± 2.45 (100)	7.06 ± 1.66 (100)	7.42 ± 1.15 (80)
<i>Eubacterium</i>	10.14 ± 0.26 (100)	9.90 ± 0.23 (100)	9.50 ± 0.78 (100)	9.82 ± 0.26 (100)
Bacteroidaceae	10.58 ± 0.46 (100)	10.36 ± 0.13 (100)	9.76 ± 0.56 (100)	9.93 ± 0.33 (100)
<i>B. fragilis</i> group	10.58 ± 0.46 (100)	10.70 ± 0.20 (100)	10.02 ± 0.80 (100)	9.84 ± 0.93 (100)
<i>Fusobacterium</i>	10.00 ± 0.22 (100)	10.20 ± 0.32 (100)	9.42 ± 0.75 (100)	9.10 ± 1.10 (100)
<i>Megamonas hypermegas</i>	—	—	—	—
<i>Mitsuokella</i>	9.45 ± 0.31 (80)	9.00 ± 0.17 (60)	8.13 ± 0.55 (60)	8.40 ± 0.72 (60)
<i>Peptostreptococcus</i>	9.72 ± 0.30 (100)	9.57 ± 0.57 (100)	8.72 ± 0.61 (100)	7.60 (20)
<i>Clostridium</i>	9.66 ± 0.48 (100)	9.88 ± 0.35 (100)	9.14 ± 0.77 (100)	9.14 ± 1.04 (100)
Lecithinase (—)	9.66 ± 0.48 (100)	9.88 ± 0.35 (100)	9.14 ± 0.77 (100)	9.34 ± 0.48 (100)
<i>C. difficile</i>	—	—	—	—
Lecithinase (+)	4.80 ± 0.28 (40)	2.80 ± 0.70 (40)	2.80 (20)	3.90 (20)
<i>C. perfringens</i>	4.60 (20)	2.80 ± 0.70 (40)	2.80 (20)	3.15 ± 0.21 (40)
<i>Veillonella</i>	5.90 ± 0.22 (80)	7.60 ± 3.04 (60)	5.80 ± 2.23 (80)	5.87 ± 2.36 (80)
<i>Megasphaera</i>	8.40 (20)	—	8.30 (20)	7.30 (20)
Total Aerobes	8.78 ± 0.89 (100)	8.54 ± 0.71 (100)	8.84 ± 1.10 (100)	8.52 ± 0.75 (100)
Total Anaerobes	10.92 ± 0.28 (100)	11.02 ± 0.14 (100)	10.40 ± 0.67 (100)	10.60 ± 0.18 (100)
Total	10.92 ± 0.28 (100)	11.06 ± 0.11 (100)	10.44 ± 0.69 (100)	10.60 ± 0.18 (100)

Means ± S.D. of log No. of bacteria/g wet feces (% : Frequency of occurrence). ^a Xylooligosaccharide mixture mainly composed of xylobiose.

Table 2. Changes in intestinal microflora of healthy adults by intake of XO^a (2 g/day).

Organisms	Before administration (n=5)	During administration			Six weeks after administration (n=5)
		After 1st week (n=5)	After 2nd week (n=5)	After 3rd week (n=5)	
Enterobacteriaceae	7.48±0.57(100)	7.00±0.92(100)	7.74±1.31(100)	7.16±1.33(100)	7.32±0.85(100)
<i>Streptococcus</i>	7.00±1.59(100)	7.06±1.60(100)	7.06±1.85(100)	7.20±0.90(100)	7.60±1.41(100)
<i>Staphylococcus</i>	2.95±0.49(40)	3.35±0.35(40)	2.90±0.55(60)	2.90±0.84(40)	2.60±0.52(60)
Yeasts	3.80±0.98(60)	3.62±0.92(80)	3.57±0.98(80)	4.10±0.65(60)	3.50±0.53(60)
<i>Candida albicans</i>	—	—	—	—	—
<i>Corynebacterium</i>	2.80 (20)	2.60 (20)	3.10 (20)	—	3.1 (20)
<i>Bacillus</i>	—	4.80 (20)	3.30 (20)	3.30 (20)	4.3 (20)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.40 (20)	3.30 (20)	—	—	—
<i>Lactobacillus</i>	5.80±2.52(80)	7.07±1.58(80)	6.27±2.59(80)	6.32±2.11(80)	4.90±2.27(80)
<i>Bifidobacterium</i>	9.64±0.32(100)	9.92±0.63(100)	10.04±0.39(100)	10.14±0.25(100)*	9.58±0.60(100)
<i>Eubacterium</i>	10.04±0.38(100)	9.70±0.79(100)	9.94±0.60(100)	9.90±0.65(100)	9.76±0.21(100)
Bacteroidaceae	10.54±0.29(100)	9.86±0.90(100)	10.42±0.42(100)	10.06±0.64(100)	10.3 ±0.27(100)
<i>B. fragilis</i> group	10.24±0.23(100)	9.46±1.00(100)	10.10±0.23(100)	9.64±0.74(100)	9.84±0.35(100)
<i>Fusobacterium</i>	—	—	—	—	—
<i>Megamonas hypermegas</i>	8.60 (20)	8.56±0.46(60)	8.75±0.21(40)	8.30 (40)	9.2 ±0.56(40)
<i>Mitsuokella</i>	—	—	—	—	—
<i>Peptostreptococcus</i>	8.92±0.61(100)	9.02±0.93(100)	8.70±0.54(100)	8.26±0.98(100)	8.98±0.81(100)
<i>Clostridium</i>	9.72±0.33(100)	9.26±0.58(100)	9.70±0.57(100)	9.58±0.43(100)	9.26±0.54(100)
Lecithinase (—)	9.72±0.33(100)	9.26±0.58(100)	9.70±0.57(100)	9.58±0.43(100)	9.26±0.54(100)
<i>C. difficile</i>	—	—	—	—	—
Lecithinase (+)	4.45±2.19(40)	—	5.10±2.54(40)	3.20 (20)	5.23±1.37(60)
<i>C. perfringens</i>	4.45±2.19(40)	—	5.10±2.54(40)	3.20 (20)	5.23±1.37(60)
<i>Veillonella</i>	5.62±2.00(100)	5.16±2.45(100)	6.05±1.55(80)	5.87±1.14(80)	5.96±2.17(100)
<i>Megasphaera</i>	7.75±0.64(40)	9.30 (20)	8.40 (20)	9.10 (20)	8.0 (20)
Total Aerobes	7.96±0.94(100)	8.06±0.92(100)	8.40±0.73(100)	7.80±1.04(100)	8.06±1.28(100)
Total Anaerobes	10.78±0.24(100)	10.46±0.73(100)	10.76±0.43(100)	10.62±0.41(100)	10.56±0.26(100)
Total	10.78±0.24(100)	10.46±0.73(100)	10.76±0.43(100)	10.62±0.41(100)	10.58±0.24(100)

Means±S.D. of log No. of bacteria/g wet feces (% : Frequency of occurrence).

* Significant difference from the counts before administration : $p<0.025$.^a See the footnote to Table 1.

1g/day administration

Fig. 2. Compositional changes of intestinal flora of volunteers by the administration of XO.

Values are the average ones of five volunteers. ■ : *Bifidobacterium*. ▨ : *Bacteroidaceae*. □ : Others. XO, Before, During and After : See the footnote to Fig. 1. * Significant difference from the counts before administration : $p < 0.05$.

Fig. 3. Effect of XO on ratio of *Bifidobacterium* in intestine.

Symbols are the same as in Fig. 1. XO, Before, During and After : See the footnote to Fig. 1.

Bacteroides 菌の占有率は 2g/day 摂取群では被験者全員が低下した (Fig.4)。

Fig.5 に便の水分、平均値、標準偏差を示した。キシロオリゴ糖 2g 摂取群においては、摂取前には 72~90% のばらつきのある水分が、キシロオリゴ糖を摂取することによって 80% 程度に収斂する傾向が認められた。平均値は全期間にわたって 81% 前後を維持したが、標準偏差が摂取前は約 6.8% であったのが、摂取すると、1 週間目で 4.4、2 週間目で 2.7、3 週間目で 4.9% となり、水分のばらつきが減少する傾向を示した。

考 察

ヒトがキシロオリゴ糖を摂取した際の腸内フローラの

変化をみると、摂取前、ビフィズス菌は 10% 弱の占有率であったのに対し、キシロオリゴ糖を毎日 1g 摂取すると腸内細菌に占めるビフィズス菌の占有率は平均 15% 程度に上昇し、毎日 2g 摂取すると 31% 程度に上昇することがわかった。そして摂取を中止することによりビフィズス菌の占有率は低下することから腸内ビフィズス菌の増加はキシロオリゴ糖の効果によるものと判断できた。一方、病原性や腸内腐敗発酵に関係する *Bacteroides* 菌や *Clostridium* 菌は摂取期間中増えることはなかった。

このようにキシロオリゴ糖を摂取することによりビフィズス菌は選択的に増加することから、キシロオリゴ糖は腸内フローラの改善に有効であることが明らかに

Fig. 4. Effect of XO on ratio of Bacteroidaceae in intestine.

Symbols are the same as in Fig. 1. XO, Before, During and After : See the footnote to Fig. 1.

なった。

またキシロオリゴ糖 2g/day の摂取により便の水分が 80% 程度に収斂する傾向は、便の固い人、柔らかい人ともにちょうどよい固さになっていくことを示し、便性状の改善効果も認められた。

なお、これらの効果は毎日 5g のキシロオリゴ糖を摂取した場合にはさらに顕著にあらわれ、腸内のビフィズス菌の有意な増加、便の水分の 80% 程度への収斂だけでなく、便の pH が低下することをすでに認めている²⁰⁾。

ビフィズス菌の占有率は精神的因子に大きく左右されて変化するといわれているが、キシロオリゴ糖摂取量の増加に伴い、ビフィズス菌占有率も増加することから、腸内ビフィズス菌の増加はキシロオリゴ糖摂取によるものと考えた。

またキシロオリゴ糖の摂取により腸内のビフィズス菌の増加、pH の低下および便の水分 80% への収斂といった、いずれも腸にとって好ましい状態になってくることがわかった。

キシロオリゴ糖のこのような効果は、従来のビフィズス菌増殖活性をもつオリゴ糖のなかで最も高く、非常に少量の摂取でビフィズス菌を選択的に増殖させ便性の改善ができることがわかった。これはキシロオリゴ糖が消化酵素により分解されない難消化性のオリゴ糖である²³⁾ため、ひとの小腸で吸収されずにそのまま消化管下部に到達し、ビフィズス菌などの有用な腸内細菌が選択的に利用し増殖することによるものと考えられる。

またこの他キシロオリゴ糖は、低甘味で上品な甘みを呈し、酸や熱に対する安定性に優れている²⁴⁾ことから、低 pH の果汁炭酸飲料を含めた種々の食品に使用でき、今後幅広い用途が期待できる。

Fig. 5. Changes of fecal water content of volunteers by the administration of XO (2g/day).

—●— : mean of five volunteers. ---- : mean $\pm$ SD. XO, Before, During and After : See the footnote to Fig. 1. 1st : after 1st week during administration. 2nd : after 2nd week during administration. 3rd : after 3rd week during administration.

要 約

キシロオリゴ糖の腸内フローラに及ぼす影響について検討を行うために健康な成人男子を対象に、毎日 1g もしくは 2g ずつ 3 週間にわたって摂取させ、摂取前、摂取中、摂取後に採便し、腸内フローラ、水分の測定を行った。

その結果、摂取前に比べ、摂取中は腸内菌叢に占めるビフィズス菌の割合が有意に増加し、摂取を中止すると低下することが示された。また、便の水分含量は 80% へと収斂し、軟便、固い便がちょうどよい固さになる傾

向を示した。

キシロオリゴ糖摂取量の増加に伴い、腸内のビフィズス菌も増加したことから、ビフィズス菌の増加は確かにキシロオリゴ糖摂取によるものと考えられた。

文 献

- 1) 光岡知足：腸内菌の世界，15 (1980)，叢分社（東京）
- 2) 本間 道，光岡知足：ビフィズス菌，110 (1979)，ヤクルト本社（東京）
- 3) 託摩武人，本間 道，西郷正勝，久保義明：日本医事新報，1564，3 (1954)
- 4) 平田美穂：医学のあゆみ，26，979 (1958)
- 5) Mayer, J.B. : *Mdschr. Kinderheilk.*, 114, 67 (1966)
- 6) 井上陽一，熊倉豊秋，相川 清：薬剤学，33，79 (1973)
- 7) Evered, D.F. and Sadoogh-abasian, F. : *Br. J. Nutr.*, 41, 47 (1979)
- 8) 田中文雄：神戸医大紀要，20，328 (1960)
- 9) Bergein, O. : *J. Infect. Dis.*, 66, 222 (1940)
- 10) 原 栄一，中村 洋，田村善蔵：日本薬学会第95回年会，生物化学部会 (1975)
- 11) Wolpert, E., Phillips, S.F. and Summerskill, W.H.J. : *New Eng. J. Med.*, 283, 159 (1970)
- 12) Yazawa, K., Ima, K. and Tamura, Z. : *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 3306 (1978)
- 13) 田中隆一郎，高山博夫，諸富正巳，黒島敏方，寺島経男，務台方彦：日細誌，34，304 (1979)
- 14) Tanaka, R., Takayama, H., Morotomi, M., Kuroshima, T., Ueyama, S., Matsumoto, K., Kuroda, A. and Mutai, M. : *Bifidobacteria Microflora*, 2, 17 (1983)
- 15) 日高秀昌：ネオシュガー研究会報告，5 (1982)，ネオシュガー研究会
- 16) 不破英次：ネオシュガー研究会報告，29 (1982)，ネオシュガー研究会
- 17) 小林洋一，越前隆一，馬田三夫，務台方彦：腸内フローラと食物因子，69 (1984)，学会出版センター（東京）
- 18) Yazawa, K. and Tamura, Z. : *Bifidobacteria Microflora*, 1, 39 (1982)
- 19) Sahota, S.S., Bramley, P.M. and Menzies, I.S. : *J. Gen. Microbiol.*, 120, 319 (1982)
- 20) Okazaki, M., Fujikawa, S. and Matsumoto, N. : *Bifidobacteria Microflora*, 9, 77 (1990)
- 21) 古賀邦正，藤川茂昭，岡崎昌子，諏訪秀秀，入江利夫，仲田俊之：特開昭 63-112979
- 22) Haenel, H. and Bendig, J. : *Prog. Food & Nutr. Sci.*, 1, 21 (1975)
- 23) 岡崎昌子，藤川茂昭，松元信也，古賀邦正：第12回糖質シンポジウム (1989)
- 24) 藤川茂昭，岡崎昌子：月刊フードケミカル，1月号，63 (1989)

(1990年2月16日受理)