

## スサビノリ多糖類の腸内フローラに及ぼす影響

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	河津, 大輔 田中, みさ子 藤井, 建夫
巻/号	61巻1号
掲載ページ	p. 59-69
発行年月	1995年1月

## スサビノリ多糖類の腸内フローラに及ぼす影響

河津大輔, 田中みさ子, 藤井建夫

(1994年3月17日受付)

Effect of Polysaccharides of "Susabinori" *Porphyra yezoensis* on Intestinal Flora

Daisuke Kawadu,\* Misako Tanaka,\* and Tateo Fujii\*

The increase in the ratios of *Bifidobacterium* in the rat cecum by the intake of *susabinori*, *Porphyra yezoensis*, has been demonstrated. In the present study, we examined *in vitro* the ability of various intestinal bacteria to ferment polysaccharides (xylan/mannan, porphyran, and floridean starch) extracted from *susabinori*, and the effects of these polysaccharides on the microflora and metabolic products in the cecum of rats. Both xylan/mannan and porphyran were fermented by a few strains of intestinal bacteria, and floridean starch was fermented by many intestinal bacteria, except for *Eubacterium*. The cecum microflora of rats was changed by the administration of xylan/mannan or porphyran added to diets and the number of *Bifidobacterium* increased by xylan/mannan. On the other hand, by administering 1.0% porphyran, the total viable count, particularly that of *Bifidobacterium*, decreased. The pH of the cecum contents dropped by xylan/mannan or porphyran. Microflora and metabolic products were not significantly changed by floridean starch. These results suggest that dietary fiber of *susabinori* influences the intestinal environment and each constituent dietary fiber shows a different function.

キーワード: スサビノリ, キシラン, マンナン, ポルフィラン, 紅藻デンプン, 腸内細菌, 細菌相

近年, 腸内フローラの検索技術の発展に伴って, ヒトや動物の腸内には約 100 種, 100 兆細胞もの細菌が常在していることが明らかとなっている。<sup>1)</sup> また, その腸内フローラと宿主の健康との関係については, 一般に *Bifidobacterium* が優勢であるような状態がバランスのよい腸内フローラであると考えられており,<sup>2,3)</sup> そのため, 腸内の *Bifidobacterium* の増殖を促進させるための研究が精力的に行われている。

著者らは前報<sup>4)</sup>で, ラットに 2% スサビノリ添加食を投与した際の盲腸フローラへの影響を調べ, スサビノリには *Bifidobacterium* の占有率の上昇や pH の低下といった腸内環境の改善作用があることを明らかにした。このような作用の主な要因として, 以前 Benno *et al.*<sup>5)</sup> が, 食物繊維の摂取量の比較的多い地域の老人は青年または壮年期のようなバランスのよい腸内フローラを維持しているという報告をしていることから, 多糖類, 特に胃や小腸の消化酵素では分解されずに大腸に到達する食物繊維が, 腸内菌により炭素源として代謝 (発酵) され, 腸内フローラへ影響を及ぼしたためではないかと考えられる。これまでに, Salyers *et al.*<sup>6,7)</sup> が種々の植物性多糖類

がある種の腸内菌により発酵されることを報告しているが, スサビノリ中の多糖類であるキシラン, マンナン, ポルフィラン, および紅藻デンプンについては明らかにされていない。

そこで本報では, スサビノリ中の多糖類の摂取による腸内フローラへの影響を明らかにするため, その食物繊維であるキシラン, マンナン, ポルフィラン, および貯蔵多糖である紅藻デンプンについてヒトの代表的な腸内菌株による発酵能を *in vitro* で調べ, さらにラットを用いて盲腸フローラの変動および盲腸内容物中の代謝産物の生成量の変化について検討を行った。

## 実験材料および方法

供試多糖の調製 前報<sup>4)</sup>で用いたスサビノリからキシラン, マンナン, ポルフィラン, および紅藻デンプンを抽出し実験に用いた。キシランおよびマンナンは Iriki *et al.*<sup>8)</sup>の方法でキシラン・マンナンとして, ポルフィランは Anderson and Rees<sup>9)</sup>の方法で, 紅藻デンプンは Barry *et al.*<sup>10)</sup>の方法でそれぞれ抽出した。

抽出した多糖を硫酸で加水分解した後, ペーパークロ

\* 東京水産大学食品生産学科 (Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Konan, Minato, Tokyo 108, Japan).

**Table 1.** Growth of various intestinal bacteria in xylan/mannan, porphyran, and floridean starch

Microorganisms*	Xylan/mannan	Porphyran	Floridean starch
<i>Bacteroides ovatus</i> HAN-5	—	—	±
<i>Bacteroides ovatus</i> HAN-7	+	—	±
<i>Bacteroides vulgatus</i> HAN-9	—	—	±
<i>Bacteroides vulgatus</i> HAN-11	—	+	±
<i>Bacteroides distasonis</i> HAN-15	—	—	±
<i>Bacteroides fragilis</i> HAN-18	±	+	—
<i>Eubacterium ventrasum</i> HAN-43	—	—	—
<i>Eubacterium aerofaciens</i> HSD-10	±	—	—
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> HAN-81	±	—	—
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> HSD-4	±	—	±
<i>Bifidobacterium longum</i> HAN-85	—	—	±
<i>Bifidobacterium longum</i> HSD-5	—	—	±
<i>Bifidobacterium bifidum</i> HSD-1	—	—	±
<i>Bifidobacterium infantis</i> HSD-2	—	—	—
<i>Bifidobacterium breve</i> HSD-3	—	—	±
<i>Peptostreptococcus productus</i> HSD-8	—	—	±
<i>Escherichia coli</i> HAE-1	—	—	—
<i>Enterococcus faecium</i> HSR-1	—	—	±
<i>Enterococcus faecalis</i> HSR-2	—	—	—
<i>Clostridium clostridiforme</i> HAN-66	—	—	+
<i>Clostridium innocuum</i> HAN-69	—	—	±
<i>Clostridium innocuum</i> HAN-71	—	—	±
<i>Clostridium ramosum</i> HAN-73	—	—	—
<i>Clostridium ramosum</i> HSD-6	+	—	—

\* Judgement of bacterial growth (estimated as the final pH compared with that of the control): +, pH lower by more than 0.5, compared with the control; ±, pH lower than control; —, same level of pH compared with the control.

**Table 2.** Composition (%) of experimental diets

Corn starch + Polysaccharides* <sup>1</sup>	33.0
Sucrose	33.0
Casein	20.0
Corn oil	6.8
Mixed minerals* <sup>2</sup>	4.0
Mixed vitamins* <sup>2</sup>	1.0
Tyrosine	1.0
Tryptophan	1.0
Choline bitartrate	0.2

\*<sup>1</sup> Polysaccharides: Either 0%, xylan/mannan 0.04%, xylan/mannan 0.2%, porphyran 0.2%, porphyran 1.0%, floridean starch 0.02%, or floridean starch 0.1%.

\*<sup>2</sup> See ref. 13.

マトグラフィーで構成単糖の確認を行った。<sup>11)</sup> なお、展開剤には *n*-ブタノール、酢酸、水を 4:1:5 に混合したものを、発色剤には 1N 硝酸銀、5N アンモニア水を 1:1 に混合したものを使用した。

**In vitro** におけるヒト腸内菌によるスサビノリ中多糖類の発酵試験 供試菌株には Table 1 に示したヒトの腸内構成菌である 7 菌属、22 株 (東京大学獣医畜産学科公衆衛生研究室保存菌株) を用いた。GAM 糖分解用 1/4 ブロス<sup>12)</sup> に各種多糖が 0.5% になるように添加した培地

5 ml に、あらかじめ GAM 糖分解用 1/4 ブロスで前培養しておいた供試菌液 0.1 ml を接種し、無酸素 CO<sub>2</sub> でガス置換し、37°C で 7 日間培養を行った。なお、対照には各種多糖を添加しない培地を用いた。培養後、各培養液の pH を pH メーターで測定し、発酵の有無を判定した。判定は、(対照の pH) - (培養後の pH) が 0 のものを -、0~0.5 のものを ±、そして 0.5~1.0 のものを + とした。

**食餌** 動物実験に用いた食餌組成<sup>13, 14)</sup> を Table 2 に示した。各種多糖類は上記の方法で抽出したものを粉碎機で処理をし、30 mesh で篩別した粉末を使用した。

**動物実験** 日本クレア(株)より購入した 4 週齢、体重 50~60 g の Jcl-Wistar 系雄ラット 30 尾を、粉末飼料 CE-2 (日本クレア(株)) で 3 日間予備飼育した後、実験に用いた。各種多糖類添加飼料の投与期間の影響および各種多糖類添加飼料投与中止の影響を検討するために以下の各試験群を設け実験を行った。試験群は、Table 2 に示したスサビノリ多糖類無添加飼料で 1 週間飼育する無添加飼料群、無添加飼料で飼育した後、各種多糖類添加飼料で 2 週間飼育する多糖類添加飼料群、多糖類添加飼料群で飼育した後、無添加飼料で 1 週間飼育する復帰群の合計 3 群である。多糖類添加飼料として 0.04% キシラ

**Table 3.** Effects of xylan/mannan, porphyran, or floridean starch containing diets on increasing rate (g/7 days) in body weight in rats

		Before intake	During intake	After intake
0.04%	Xylan/mannan	44.4±2.5	43.0±2.5	43.4±5.2
0.2%	Xylan/mannan	53.0±4.3	53.2*	46.4*
0.2%	Porphyran	44.4±2.5	42.9±1.0	45.3±6.5
1.0%	Porphyran	53.0±4.3	55.0*	52.0*
0.02%	Floridean starch	53.0±4.3	48.5±2.2	51.0±6.8
0.1%	Floridean starch	53.0±4.3	56.3*	39.8*

Values are means±S.D. of 3 rats.

\* Values from one sample.

**Table 4.** Effects of xylan/mannan, porphyran, or floridean starch containing diets on cecum contents percentage (%) of body weight in rats

		Before intake	During intake	After intake
0.04%	Xylan/mannan	0.76±0.04 <sup>a</sup>	0.78±0.04 <sup>a</sup>	0.60±0.04 <sup>b</sup>
0.2%	Xylan/mannan	0.75±0.03	0.72*	0.59*
0.2%	Porphyran	0.76±0.04 <sup>a</sup>	0.80±0.08 <sup>a</sup>	0.78±0.12 <sup>a</sup>
1.0%	Porphyran	0.75±0.03	0.95*	0.71*
0.02%	Floridean starch	0.75±0.03 <sup>a</sup>	0.69±0.05 <sup>b</sup>	0.69±0.08 <sup>b</sup>
0.1%	Floridean starch	0.75±0.03	0.80*	0.64*

Values are means±S.D. of 3 rats.

\* Values from one sample.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 5.** Effects of xylan/mannan, porphyran, or floridean starch containing diets on faecal weight (g/day) in rats

		Before intake	During intake	After intake
0.04%	Xylan/mannan	0.32±0.04 <sup>a</sup>	0.30±0.03 <sup>a</sup>	0.35±0.05 <sup>a</sup>
0.2%	Xylan/mannan	0.41±0.02	0.57*	0.50*
0.2%	Porphyran	0.32±0.04 <sup>a</sup>	0.36±0 <sup>a</sup>	0.40±0.13 <sup>a</sup>
1.0%	Porphyran	0.41±0.02	0.69*	0.57*
0.02%	Floridean starch	0.41±0.02 <sup>a</sup>	0.36±0.05 <sup>b</sup>	0.52±0.07 <sup>c</sup>
0.1%	Floridean starch	0.41±0.02	0.56*	0.37*

Values are means±S.D. of 3 rats.

\* Values from one sample.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

ン・マンナン食, 0.2% ポルフィラン食, 0.02% 紅藻デンプン食をそれぞれ3尾ずつに, 0.2% キシラン・マンナン食, 1% ポルフィラン食, 0.1% 紅藻デンプン食をそれぞれ1尾ずつに投与した。なお, 各種多糖類のラットへの投与量については, スサビノリからキシラン・マンナンが2%, ポルフィランが10%, 紅藻デンプンが1%抽出されたことや, 前報<sup>4)</sup>でスサビノリを2%投与したことを考慮し決定した。また, 実験期間中, 飼料および水は自由に摂取させた。糞便重量および体重は毎日測定した。ラットは各試験群とも試験終了日にエーテル麻酔下で開腹し, 盲腸内容物の全量を取り出した。盲腸内容物重量を測定後, 盲腸内容物のpH, 短鎖脂肪酸(SCFA)含量, およびアンモニア含量の測定を行った。

**盲腸フローラの検索** 盲腸フローラの検索は光岡の方

法<sup>15)</sup>に準じて検索を行った。分離培地は3種類の非選択培地(BL, EG, およびTS)と10種類の選択培地(DHL, TATAC, PEES, LBS, BS, NBGT, ES, PO, VS, およびNN)を用いた。盲腸内容物を常法どおり10倍段階希釈し, 各希釈段を0.05 ml塗抹し, DHL, TS, TATAC, およびPEES寒天培地は好気条件下で2~3日間, その他の寒天培地はアネロバック(三菱ガス化学(株)製)を用いて嫌気条件下で3日間, 37°Cで培養を行った。培養終了後, コロニーの形状, 出現数, 好氣的発育の有無, グラム染色性, および細胞形態を観察し, 簡易同定を行った。

**盲腸内容物pH, SCFA含量, およびアンモニア含量の測定** 盲腸内容物のpHは, 約0.1gの盲腸内容物を脱イオン水2mlに混釈し, pH電極で測定した。pH測定後, 混釈液を過塩素酸で除タンパクし, SCFA含量およ

**Table 6.** Effect of 0.04% xylan/mannan containing diets on microflora, pH, short-chain fatty acids, and ammonia of cecum contents of rats

	Before intake	During intake	After intake
<b>Microflora (log CFU/g)</b>			
Total counts	10.7±0.1 <sup>a</sup>	10.6±0.2 <sup>a</sup>	10.5±0.1 <sup>a</sup>
Enterobacteriaceae	9.5±0.3 <sup>a</sup> ( 9.8) <sup>1)</sup>	8.4±0.3 <sup>b</sup> ( 0.8)	7.2±0.3 <sup>c</sup> ( <0.1)
<i>Streptococcus</i>	7.7±0.1 <sup>a</sup> ( 0.1)	6.6±0.2 <sup>b</sup> ( <0.1)	7.3±0.2 <sup>c</sup> ( <0.1)
<i>Staphylococcus</i>	6.0±0.4 <sup>a</sup> ( <0.1)	5.5±0.5 <sup>a</sup> ( <0.1)	6.2±0.3 <sup>a</sup> ( <0.1)
<i>Lactobacillus</i>	9.6±0.3 <sup>a</sup> ( 12.0)	9.3±0.5 <sup>a</sup> ( 7.7)	9.5±0.1 <sup>a</sup> ( 10.2)
<i>Bifidobacterium</i>	9.9±0.2 <sup>a</sup> ( 20.3)	10.4±0.1 <sup>b</sup> ( 56.4)	10.2±0.2 <sup>a, b</sup> ( 47.5)
<i>Eubacterium</i>	10.0±0.3 <sup>a</sup> ( 30.9)	9.6±0.2 <sup>a</sup> ( 10.3)	9.3±0.2 <sup>a</sup> ( 6.5)
Bacteroidaceae	9.8±0.2 <sup>a</sup> ( 19.2)	9.7±0.4 <sup>a</sup> ( 17.8)	10.0±0.1 <sup>a</sup> ( 30.2)
Peptococcaceae	9.5±0.1 <sup>a</sup> ( 7.7)	9.5±0.1 <sup>a</sup> ( 7.4)	9.2±0.2 <sup>b</sup> ( 5.4)
<i>Clostridium perfringens</i>	— <sup>2)</sup>	—	—
<i>Clostridium</i> others	7.4 ( <0.1)[1/3] <sup>3)</sup>	7.4 ( <0.1)[1/3]	—
<b>pH</b>			
	7.15±0.07 <sup>a</sup>	7.10±0.22 <sup>a</sup>	7.39±0.06 <sup>a</sup>
<b>Short-chain fatty acids (mg/g)</b>			
Total acids	4.12±0.44 <sup>a</sup>	3.46±0.35 <sup>a</sup>	2.90±0.45 <sup>a</sup>
Lactic acid	0.21±0.10 <sup>a</sup>	0.24±0.08 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>
Acetic acid	2.43±0.16 <sup>a</sup>	1.88±0.20 <sup>a</sup>	1.59±0.22 <sup>a</sup>
Propionic acid	1.29±0.23 <sup>a</sup>	1.03±0.03 <sup>a</sup>	0.92±0.13 <sup>b</sup>
n-Butyric acid	0.29±0.09[2/3] <sup>a</sup>	0.31±0.08 <sup>b</sup>	0.24±0.11 <sup>a, b</sup>
Ammonia (mg/g)	1.44±0.08 <sup>a</sup>	0.68±0.01 <sup>b</sup>	1.68±0.95 <sup>c</sup>

Values are means±S.D. of 3 rats.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>1)</sup> Ratio of bacteria to total counts × 100.

<sup>2)</sup> Not detected.

<sup>3)</sup> (Detected numbers)/(Number of samples).

びアンモニア含量の測定を行った。SCFA 含量は、HPLC ((株)島津製作所製, 有機酸分析システム) を用いて乳酸, 酢酸, プロピオン酸, および酪酸を測定した。アンモニア含量は, ワールブルグ検圧計 ((株)大岳製作所製, OT-ST-9) を用いて測定した。なお, SCFA 含量およびアンモニア含量は盲腸内容物 1 g 当たりに換算した。

**統計処理** 菌数については盲腸内容物 1 g 当たりの常用対数で表した。各測定値は, 平均値±標準偏差で示し, 有意差の検定は Student の *t*-test を用いて危険率 5% 以下で行った。

## 結 果

**In vitro** におけるヒト腸内菌によるスサビノリ中多糖類の発酵試験 代表的なヒト腸内菌によるスサビノリ多糖類発酵試験の結果を Table 1 に示した。キシラン・マンナン発酵能が *B. ovatus* および *C. ramosum* で認めら

れ, *B. fragilis*, *E. aerofaciens*, および *Bif. adolescentis* でも微弱ながら認められた。ポルフィラン発酵能は, *B. vulgatus*, *B. fragilis* でのみ認められ, 紅藻デンプン発酵能は *B. fragilis* 以外の *Bacteroides* 属, *Bif. infantis* 以外の *Bifidobacterium* 属, *P. productus*, *E. faecium*, および *C. ramosum* 以外の *Clostridium* 属に微弱ながら認められた。

**動物実験** それぞれの食餌を投与したラットの体重の増加量の変化を Table 3 に, 盲腸内物重量 (体重比) の変化を Table 4 に, 糞便重量の変化を Table 5 に示した。

ラットの体重の増加量の変化については, 各種多糖類添加食投与による影響はほとんどみられなかった。

盲腸内容物重量については, キシラン・マンナン添加食投与による影響はほとんどなかったが, 0.04% 添加食投与中止後は有意な減少 ( $p < 0.05$ ) を示し, 0.2% 添加食投与中止後も減少する傾向が見られた。ポルフィラン添加食投与では, 投与中に増加し, 投与中止後は減少する傾向がみられた。特に, 1.0% 添加食投与ではこの傾向が

**Table 7.** Effect of 0.2% xylan/mannan containing diets on microflora, pH, short-chain fatty acids, and ammonia of cecum contents of rats

	Before intake	During intake	After intake
<b>Microflora (log CFU/g)</b>			
Total counts	10.5±0.2*	10.7	10.4
Enterobacteriaceae	8.7±0.2* ( 1.6) <sup>1)</sup>	7.7 ( 0.1)	8.3 ( 0.7)
<i>Streptococcus</i>	7.7±0.7* ( 0.4)	6.8 (<0.1)	6.8 (<0.1)
<i>Staphylococcus</i>	6.0±0.5* (<0.1)	5.1 (<0.1)	4.3 (<0.1)
<i>Lactobacillus</i>	9.3±0.3* ( 12.0)	9.1 ( 2.5)	8.8 ( 2.2)
<i>Bifidobacterium</i>	10.0±0.2* ( 29.9)	10.4 ( 46.5)	10.0 ( 37.0)
<i>Eubacterium</i>	9.9±0.1* ( 20.9)	10.1 ( 27.2)	9.9 ( 29.6)
Bacteroidaceae	10.0±0.2* ( 31.0)	9.8 ( 11.9)	9.6 ( 15.9)
Peptococcaceae	9.5±0.1* ( 7.7)[2/3] <sup>2)</sup>	9.8 ( 11.7)	9.6 ( 14.8)
<i>Clostridium perfringens</i>	— <sup>3)</sup>	—	—
<i>Clostridium</i> others	—	7.9 ( 0.2)	—
<b>pH</b>			
pH	7.50±0.09*	7.24	7.21
<b>Short-chain fatty acids (mg/g)</b>			
Total acids	3.11±0.35*	4.31	3.55
Lactic acid	0.23±0.5*	0.23	0.24
Acetic acid	1.75±0.07*	2.17	1.60
Propionic acid	0.92±0.10*	1.33	0.98
<i>n</i> -Butyric acid	0.32±0.05[2/3]*	0.58	0.73
Ammonia (mg/g)	0.82±0.23*	1.04	1.05

Values from one sample.

\* Values are means±S.D. of 3 rats.

<sup>1)</sup> Ratio of bacteria to total counts × 100.

<sup>2)</sup> (Detected numbers)/(Number of samples).

<sup>3)</sup> Not detected.

顕著に示され、体重比で 0.75 から 0.95% へと投与中に増加し、投与中止後は 0.71% へと減少した。紅藻デンプン添加食投与による影響は比較的少なかったが、0.02% 添加食投与により有意な減少 ( $p < 0.05$ ) を示した。

糞便重量については、0.2% キシラン・マンナン添加食、1.0% ポルフィラン添加食、および 0.1% 紅藻デンプン添加食投与では、盲腸内容物重量と比例して投与中に増加し、投与中止後は減少する傾向がみられた。また、0.02% 紅藻デンプン添加食投与でも、盲腸内容物重量の挙動と比例し、投与中に有意に減少 ( $p < 0.05$ ) し、投与中止後は有意に増加 ( $p < 0.05$ ) した。

**盲腸フローラへの影響** それぞれの食餌を投与したラット 3 尾の各盲腸内容物 1 g 中の総菌数、菌群別の菌数、および各菌群の占有率の算出結果を Table 6~11 に示した。

0.04% キシラン・マンナン添加食投与では、総菌数は投与前と比べ投与中、投与中止後とも有意な変化はみら

れなかった。菌群別では、投与前と比べ *Bifidobacterium* が有意に増加 ( $p < 0.05$ ) し、Enterobacteriaceae、*Streptococcus* が減少 ( $p < 0.05$ ) した。投与中止後は Enterobacteriaceae および Peptococcaceae が減少 ( $p < 0.05$ ) し、*Streptococcus* が増加 ( $p < 0.05$ ) を示した。占有率は、投与中 *Bifidobacterium* が 20.3 から 56.4% へ上昇し、Enterobacteriaceae および *Eubacterium* が低下した。

0.2% キシラン・マンナン添加食投与では、0.04% キシラン・マンナン添加食投与と同様の傾向が示され、*Bifidobacterium* の増加が示された。占有率も投与中 *Bifidobacterium* が 29.9 から 46.5% へ上昇した。

0.2% ポルフィラン添加食投与による影響は比較的少なかったが、総菌数が投与前と比べ投与中に有意な減少 ( $p < 0.05$ ) を示した。菌群別では、投与前と比べ Enterobacteriaceae、*Streptococcus*、および Peptococcaceae が減少 ( $p < 0.05$ ) した。占有率は、投与中 *Bifidobacterium* が上昇した。

**Table 8.** Effect of 0.2% porphyran containing diets on microflora, pH, short-chain fatty acids, and ammonia of cecum contents of rats

	Before intake	During intake	After intake
<b>Microflora (log CFU/g)</b>			
Total counts	10.7±0.1 <sup>a</sup>	10.4±0.2 <sup>b</sup>	10.6±0.1 <sup>a</sup>
Enterobacteriaceae	9.5±0.3 <sup>a</sup> ( 9.8) <sup>1)</sup>	8.5±0.2 <sup>b</sup> ( 1.2)	8.3±0.3 <sup>b</sup> ( 0.6)
<i>Streptococcus</i>	7.7±0.1 <sup>a</sup> ( 0.1)	7.3±0.9 <sup>b</sup> ( <0.1)	7.0±0.7 <sup>b</sup> ( <0.1)
<i>Staphylococcus</i>	6.0±0.4 <sup>a</sup> ( <0.1)	6.1±0.2 <sup>a</sup> ( <0.1)	6.0±0.2 <sup>a</sup> ( <0.1)
<i>Lactobacillus</i>	9.6±0.3 <sup>a</sup> ( 12.0)	9.4±0.2 <sup>a</sup> ( 10.8)	9.3±0.4 <sup>a</sup> ( 6.5)
<i>Bifidobacterium</i>	9.9±0.2 <sup>a</sup> ( 20.3)	10.0±0.2 <sup>a</sup> ( 38.9)	10.2±0.2 <sup>a</sup> ( 39.2)
<i>Eubacterium</i>	10.0±0.3 <sup>a</sup> ( 30.9)	9.5±0.2 <sup>a</sup> ( 13.8)	9.6±0.2 <sup>a</sup> ( 10.0)
Bacteroidaceae	9.8±0.2 <sup>a</sup> ( 19.2)	9.8±0.1 <sup>a</sup> ( 23.3)	9.9±0.2 <sup>a</sup> ( 22.5)
Peptococcaceae	9.5±0.1 <sup>a</sup> ( 7.7)	9.3±0.5 <sup>b</sup> ( 11.5)	9.8±0.4 <sup>c</sup> ( 20.9)
<i>Clostridium perfringens</i>	— <sup>2)</sup>	—	—
<i>Clostridium</i> others	7.4 ( <0.1)[1/3] <sup>3)</sup>	6.9 ( <0.1)[1/3]	6.6 ( <0.1)[1/3]
<b>pH</b>	7.15±0.07 <sup>a</sup>	6.95±0.16 <sup>b</sup>	7.23±0.14 <sup>a</sup>
<b>Short-chain fatty acids (mg/g)</b>			
Total acids	4.12±0.44 <sup>a</sup>	3.77±0.24 <sup>a</sup>	3.44±0.36 <sup>a</sup>
Lactic acid	0.21±0.10 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>a</sup>	0.19±0 <sup>a</sup>
Acetic acid	2.43±0.16 <sup>a</sup>	2.30±0.15 <sup>a</sup>	1.87±0.14 <sup>b</sup>
Propionic acid	1.29±0.23 <sup>a</sup>	1.01±0.13 <sup>a</sup>	1.13±0.24 <sup>a</sup>
<i>n</i> -Butyric acid	0.29±0.09[2/3] <sup>a</sup>	0.30±0.02 <sup>a</sup>	0.26±0.08 <sup>b</sup>
<b>Ammonia (mg/g)</b>	1.44±0.08 <sup>a</sup>	0.50±0.15 <sup>b</sup>	0.98±0.46 <sup>c</sup>

Values are means±S.D. of 3 rats.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>1)</sup> Ratio of bacteria to total counts × 100.

<sup>2)</sup> Not detected.

<sup>3)</sup> (Detected numbers)/(Number of samples).

1.0% ポルフィラン添加食投与では、総菌数が投与前と比べ投与中に減少する傾向を示した。菌群別では、投与前と比べ Enterobacteriaceae が増加し、Enterobacteriaceae 以外の菌群が減少した。特に *Bifidobacterium* が 29.9 から 8.3% へ減少した。

0.02% 紅藻デンプン添加食投与では、総菌数は投与前と比べ投与中、投与中止後とも有意な変化はみられなかった。菌群別では、投与前と比べ Enterobacteriaceae, *Eubacterium*, および Peptococcaceae が有意に減少 ( $p < 0.05$ ) した。占有率は、投与中 *Bifidobacterium* が上昇し、Enterobacteriaceae, Bacteroidaceae, および Peptococcaceae が減少した。

0.1% 紅藻デンプン添加食投与による細菌数への影響はほとんどなかった。占有率は、投与中 *Bifidobacterium*, Peptococcaceae が上昇し、Bacteroidaceae が減少した。

**盲腸内容物 pH への影響** それぞれの食餌を投与したラットの盲腸内容物の pH の変化を Table 6~11 に示し

た。

0.04% キシラン・マンナン添加食投与による影響は少なく、投与中に若干の pH 低下がみられたが有意な差はなかった。0.2% キシラン・マンナン添加食投与では、pH が投与前と比べ 0.26 低下し、投与中止後は変化がみられなかった。0.2% ポルフィラン添加食投与では、投与中に pH が 0.2 低下し、投与中止後は上昇傾向がみられた。1.0% ポルフィラン添加食投与でも、0.2% ポルフィラン添加食投与と同様に pH が 0.2 低下し、投与中止後は上昇傾向がみられた。0.02% 紅藻デンプン添加食投与では、投与中に pH が低下し、投与中止後は上昇する傾向がみられたが、有意な差はみられなかった。0.1% 紅藻デンプン添加食投与では、pH が投与前と比べ 0.25 低下し、投与中止後は上昇傾向がみられた。

**盲腸内容物中の SCFA 含量への影響** それぞれの食餌を投与したラットの盲腸内容物 1 g 中の SCFA 量の変化を Table 6~11 に示した。

**Table 9.** Effect of 1.0% porphyran containing diets on microflora, pH, short-chain fatty acids, and ammonia of cecum contents of rats

	Before intake	During intake	After intake
<b>Microflora (log CFU/g)</b>			
Total counts	10.5±0.2*	10.0	10.6
Enterobacteriaceae	8.7±0.2* ( 1.6) <sup>1)</sup>	9.3 ( 22.8)	7.6 ( <0.1)
<i>Streptococcus</i>	7.7±0.7* ( 0.4)	7.8 ( 0.6)	7.3 ( <0.1)
<i>Staphylococcus</i>	6.0±0.5* ( <0.1)	5.1 ( <0.1)	4.3 ( <0.1)
<i>Lactobacillus</i>	9.3±0.3* ( 12.0)	8.9 ( 8.3)	9.1 ( 3.2)
<i>Bifidobacterium</i>	10.0±0.2* ( 29.9)	8.9 ( 8.3)	10.3 ( 50.8)
<i>Eubacterium</i>	9.9±0.1* ( 20.9)	9.3 ( 22.8)	10.0 ( 21.2)
Bacteroidaceae	10.0±0.2* ( 31.0)	9.5 ( 31.1)	9.7 ( 10.6)
Peptococcaceae	9.5±0.1* ( 7.7)[2/3] <sup>2)</sup>	8.8 ( 6.2)	9.8 ( 13.9)
<i>Clostridium perfringens</i>	— <sup>3)</sup>	—	—
<i>Clostridium</i> others	—	—	—
<b>pH</b>			
pH	7.50±0.09*	7.31	7.54
<b>Short-chain fatty acids (mg/g)</b>			
Total acids	3.11±0.35*	2.55	2.79
Lactic acid	0.23±0.05*	0.10	0.14
Acetic acid	1.75±0.07*	1.54	1.59
Propionic acid	0.92±0.10*	0.81	0.89
<i>n</i> -Butyric acid	0.32±0.05[2/3]*	0.10	0.17
Ammonia (mg/g)	0.82±0.23*	0.79	0.87

Values from one sample.

\* Values are means±S.D. of 3 rats.

<sup>1)</sup> Ratio of bacteria to total counts × 100.

<sup>2)</sup> (Detected numbers)/(Number of samples).

<sup>3)</sup> Not detected.

0.04% キシラン・マンナン添加食投与による影響は比較的少なかったが、投与中に酪酸が有意に増加 ( $p < 0.05$ ) し、投与中止後はプロピオン酸が有意に減少 ( $p < 0.05$ ) した。0.2% キシラン・マンナン添加食投与では、総 SCFA 量が投与前の 3.11 から 4.31 mg/g へ増加し、投与中止後は減少する傾向がみられた。各 SCFA 量は投与前と比べ乳酸以外は増加する傾向がみられた。0.2% ポルフィラン添加食投与による影響は比較的少なかったが、投与前と比べ総 SCFA 量、各 SCFA 量に減少する傾向がみられた。投与中止後も総 SCFA 量が減少する傾向がみられ、酢酸および酪酸も有意に減少 ( $p < 0.05$ ) した。1.0% ポルフィラン添加食投与では、総 SCFA 量が投与前の 3.11 から 2.55 mg/g へ減少し、投与中止後は増加する傾向がみられた。各 SCFA 量も投与前と比べ減少する傾向がみられた。0.02% 紅藻デンプン添加食投与では、投与中止後にプロピオン酸が有意に増加 ( $p < 0.05$ ) し、酪酸が有意に減少 ( $p < 0.05$ ) した以外は投与中、投与中

止後も総 SCFA 量、各 SCFA 量にほとんど影響がなかった。0.1% 紅藻デンプン添加食投与では、総 SCFA 量が投与量の 3.11 から 4.10 mg/g へ増加し、投与中止後は減少する傾向がみられた。各 SCFA 量は投与前と比べ乳酸以外は増加する傾向がみられた。

**盲腸内容物中のアンモニア含量への影響** それぞれの食餌を投与したラットの盲腸内容物 1 g 中のアンモニア量の変化を Table 6~11 に示した。

0.04% キシラン・マンナン添加食投与では、投与前の 1.44 から 0.68 mg/g へ減少 ( $p < 0.05$ ) し、投与中止後は有意に増加 ( $p < 0.05$ ) した。0.2% キシラン・マンナン添加食投与では、投与前の 0.82 から 1.04 mg/g へ若干の増加がみられた。0.2% ポルフィラン添加食投与では、投与前の 1.44 から 0.50 mg/g へ減少 ( $p < 0.05$ ) し、投与中止後は有意に増加 ( $p < 0.05$ ) した。1.0% ポルフィラン添加食投与では、投与中、投与中止後ともほとんど影響がなかった。0.02% 紅藻デンプン添加食投与では、投与前の



**Table 10.** Effect of 0.02% floridean starch containing diets on microflora, pH, short-chain fatty acids, and ammonia of cecum contents of rats

	Before intake	During intake	After intake
<b>Microflora (log CFU/g)</b>			
Total counts	10.5±0.2 <sup>a</sup>	10.4±0.1 <sup>a</sup>	10.5±0.1 <sup>a</sup>
Enterobacteriaceae	8.7±0.2 <sup>a</sup> ( 1.6) <sup>1)</sup>	7.2±0.2 <sup>b</sup> ( <0.1)	7.9±0.3 <sup>b</sup> ( 0.4)
<i>Streptococcus</i>	7.7±0.7 <sup>a</sup> ( 0.4)	6.9±0.5 <sup>a</sup> ( <0.1)	7.8±0.5 <sup>a</sup> ( 0.3)
<i>Staphylococcus</i>	6.0±0.5 <sup>a</sup> ( <0.1)	5.1±0.3 <sup>a</sup> ( <0.1)	4.8±0.4 <sup>a</sup> ( <0.1)
<i>Lactobacillus</i>	9.3±0.3 <sup>a</sup> ( 12.0)	9.3±0.2 <sup>a</sup> ( 9.1)	9.2±0.3 <sup>a</sup> ( 5.6)
<i>Bifidobacterium</i>	10.0±0.2 <sup>a</sup> ( 29.9)	10.2±0 <sup>a</sup> ( 53.9)	10.0±0.2 <sup>a</sup> ( 38.6)
<i>Eubacterium</i>	9.9±0.1 <sup>a</sup> ( 20.9)	9.6±0.1 <sup>b</sup> ( 16.3)	9.7±0.1 <sup>b</sup> ( 16.1)
Bacteroidaceae	10.0±0.2 <sup>a</sup> ( 31.0)	9.7±0.2 <sup>a</sup> ( 20.4)	9.9±0.1 <sup>a</sup> ( 29.6)
Peptococcaceae	9.5±0.1 <sup>a</sup> ( 7.7)[2/3] <sup>2)</sup>	8.9±0.1 <sup>b</sup> ( 0.3)	8.8±1.0 <sup>b</sup> ( 8.1)
<i>Clostridium perfringens</i>	— <sup>3)</sup>	—	—
<i>Clostridium</i> others	—	6.3 ( <0.1)[1/3]	8.6 ( 1.3)[1/3]
<b>pH</b>	7.50±0.09 <sup>a</sup>	7.36±0.04 <sup>a</sup>	7.62±0.16 <sup>b</sup>
<b>Short-chain fatty acids (mg/g)</b>			
Total acids	3.11±0.35 <sup>a</sup>	3.29±0.16 <sup>a</sup>	3.20±0.11 <sup>a</sup>
Lactic acid	0.23±0.05 <sup>a</sup>	0.16±0.04 <sup>a</sup>	0.16±0.04 <sup>a</sup>
Acetic acid	1.75±0.07 <sup>a</sup>	1.77±0.11 <sup>a</sup>	1.75±0.06 <sup>a</sup>
Propionic acid	0.92±0.10 <sup>a</sup>	0.99±0.03 <sup>a</sup>	1.07±0.03 <sup>b</sup>
<i>n</i> -Butyric acid	0.32±0.05[2/3] <sup>a</sup>	0.37±0.05 <sup>a</sup>	0.23±0.06 <sup>b</sup>
<b>Ammonia (mg/g)</b>	0.82±0.23 <sup>a</sup>	1.00±0.11 <sup>a</sup>	0.50±0.11 <sup>b</sup>

Values are means±S.D. of 3 rats.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>1)</sup> Ratio of bacteria to total counts × 100.

<sup>2)</sup> Not detected.

<sup>3)</sup> (Detected numbers)/(Number of samples).

0.82 から 1.00 mg/g へ若干の増加がみられたが有意な差はなかった。投与中止後は有意な減少 ( $p < 0.05$ ) がみられた。0.1% 紅藻デンプン添加食投与では、投与前の 0.82 から 0.96 mg/g へ増加がみられ、投与中止後は減少する傾向がみられた。

### 考 察

ラットに多糖類添加食を投与した結果の要約を Table 12 に示した。

キシラン・マンナン添加食投与では、腸内の有用菌である *Bifidobacterium* 数が増加し、盲腸内容物 pH が低下する傾向がみられた。このことは、発酵試験においてキシラン・マンナンが *Bifidobacterium adolescentis* により発酵されたことから、おそらくラットの盲腸内でも *Bifidobacterium* がキシラン・マンナンを発酵したために菌数が増加したと考えられる。また、*Bifidobacterium* の主発酵産物は酢酸であり、<sup>16)</sup> 0.2% キシラン・マンナン添

加食を投与した際の酢酸を中心とした SCFA 量の増加とも一致することから、pH の低下は、キシラン・マンナンによる *Bifidobacterium* の増殖および SCFA の生成量の増加によると考えられる。キシラン・マンナンは不溶性食物繊維であるが、不溶性食物繊維の生理作用の一つとして知られる盲腸内容物重量および糞便重量の顕著な増加は本報の結果では示されなかった。このことは、今回の実験での摂取量が少なかったためではないかと考えられる。

ポルフィラン添加食投与では、総菌数が減少し、盲腸内容物 pH が低下する傾向がみられた。そのうち、0.2% ポルフィラン添加食投与では、総菌数の減少以外は細菌相に大きな変化は認められなかったが、1.0% ポルフィラン添加食投与では Enterobacteriaceae の増加、*Bifidobacterium* の減少が顕著に示された。発酵試験において、ポルフィランは *Bacteroides* の数株によって発酵され、*Bifidobacterium* では発酵されないことが示されており、

**Table 11.** Effect of 0.1% floridean starch containing diets on microflora, pH, short-chain fatty acids, and ammonia of cecum contents of rats

	Before intake	During intake	After intake
Microflora (log CFU/g)			
Total counts	10.5±0.2*	10.4	10.0
Enterobacteriaceae	8.7±0.2* ( 1.6) <sup>1)</sup>	7.9 ( 0.3)	7.3 ( 0.2)
<i>Streptococcus</i>	7.7±0.7* ( 0.4)	7.3 ( <0.1)	7.2 ( 0.2)
<i>Staphylococcus</i>	6.0±0.5* ( <0.1)	5.4 ( <0.1)	4.8 ( <0.1)
<i>Lactobacillus</i>	9.3±0.3* ( 12.0)	8.9 ( 3.1)	8.8 ( 6.2)
<i>Bifidobacterium</i>	10.0±0.2* ( 29.9)	10.1 ( 46.1)	9.3 ( 20.8)
<i>Eubacterium</i>	9.9±0.1* ( 20.9)	9.8 ( 23.1)	8.3 ( 2.1)
Bacteroidaceae	10.0±0.2* ( 31.0)	9.0 ( 4.0)	9.8 ( 66.4)
Peptococcaceae	9.5±0.1* ( 7.7)[2/3] <sup>2)</sup>	9.8 ( 23.1)	8.6 ( 4.2)
<i>Clostridium perfringens</i>	— <sup>3)</sup>	—	—
<i>Clostridium</i> others	—	7.3 ( <0.1)	—
pH	7.50±0.09*	7.25	7.59
Short-chain fatty acids (mg/g)			
Total acids	3.11±0.35*	4.10	2.94
Lactic acid	0.23±0.05*	0.15	0.14
Acetic acid	1.75±0.07*	2.26	1.56
Propionic acid	0.92±0.10*	1.23	0.95
<i>n</i> -Butyric acid	0.32±0.05[2/3]*	0.46	0.29
Ammonia (mg/g)	0.82±0.23*	0.96	0.70

Values from one sample.

\* Values are means±S.D. of 3 rats.

<sup>1)</sup> Ratio of bacteria to total counts ×100.

<sup>2)</sup> (Detected numbers)/(Number of samples).

<sup>3)</sup> Not detected.

このことが *Bifidobacterium* の減少の要因の一つであると考えられる。また、*Bifidobacterium* のような腸内の有用菌と *Clostridium perfringens* や Enterobacteriaceae などの有害菌の間には負の相関性があると考えられており、本実験の場合、ラット盲腸内の *Bacteroides* によるポルフィランからの生成物を Enterobacteriaceae が利用し、増加したために *Bifidobacterium* が減少したとも考えられる。SCFA 量の減少は総菌数が減少したことによると考えられ、特に、1.0% ポルフィラン添加食投与の場合、*Bifidobacterium* の発酵産物である酢酸や乳酸の大きな減少は本菌の減少と一致する。一般に、西欧型の高脂肪・高タンパク質食の摂取は、胆汁分泌を促進し、この胆汁成分が腸内フローラの変化 (*Bifidobacterium* の減少) をもたらし、生成された二次胆汁酸の影響により大腸癌が多く発生すると考えられている。<sup>17)</sup> 一方、水溶性食物繊維には胆汁酸の吸着能があり、大腸癌抑制効果などがあると考えられている。水溶性食物繊維であるポルフィラ

ンも抗腫瘍性が報告されており、<sup>18)</sup> 本実験の結果でも盲腸内の pH の低下、アンモニア量の低下、および盲腸内容物重量や糞便重量の増加が示されているので、腸内環境を改善し、宿主の健康へ好影響を与えるものと考えられる。

紅藻デンプン添加食投与では、腸内フローラへの影響や SCFA やアンモニアといった代謝産物への影響は比較的少なかった。発酵試験において、紅藻デンプンは *Bacteroides* や *Bifidobacterium* などの多くの株に発酵されることが示されているが、食物繊維ではないために、消化酵素により加水分解を受け、宿主生体内に吸収され、盲腸に到達しなかったためと考えられる。0.1% 紅藻デンプン添加食投与で、盲腸内の pH の低下、SCFA 量の増加がみられたが、おそらく消化吸収されなかった紅藻デンプンが盲腸に到達し、腸内菌により発酵されたためであろう。

以上のことにより、スサビノリ中の食物繊維が腸内環

**Table 12.** Summary of the effects on rats by administrating xylan/mannan, porphyran and floridean starch containing diets

Diets	Cecum flora		Cecum characteristics			Faecal weight
	Increase	Decrease	pH	SCFA	Ammonia	
0.04% Xylan/mannan	<i>Bifidobacterium</i> *	Enterobacteriaceae* <i>Streptococcus</i> *			▼*	
0.2% Xylan/mannan	<i>Bifidobacterium</i>	Enterobacteriaceae <i>Streptococcus</i>	▼	▲(A, P) <sup>1)</sup>		
0.2% Porphyran		Enterobacteriaceae* <i>Streptococcus</i> * Peptococcaceae*	▼*		▼*	
1.0% Porphyran	Enterobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i> <i>Eubacterium</i> Peptococcaceae	▼	▼(L, A, B)		▲
0.02% Floridean starch		Enterobacteriaceae* <i>Eubacterium</i> * Peptococcaceae*				▼*
0.1% Floridean starch		Enterobacteriaceae Bacteroidaceae	▼	▲(A, P)		▲

Symbols: ▲, increase; ▼, decrease.

\* Significantly different from before fiber intake ( $p < 0.05$ ).

<sup>1)</sup> L, Lactic acid; A, Acetic acid; P, Propionic acid; B, n-Butyric acid.

境へ影響を与えることが明らかとなり、食物繊維の種類によって異なる作用が示された。本報ではラットへの各種多糖類の投与量はスサビノリ中の含有量を考慮して投与したわけであるが、キシラン・マンナン(*Bifidobacterium*) 増殖作用、ポルフィランの pH 低下作用といった種々の要因が関与し、それらが相互に作用して、スサビノリによる腸内環境改善作用を構成していると考えられる。本報の実験でのキシラン・マンナンの投与量の範囲では、*Bifidobacterium* の増加という宿主に対して有用な効果のみが示されたが、ポルフィランを 1.0% 投与した場合には *Bifidobacterium* の減少という腸内フローラの面では宿主に有害な効果が示された。したがって、今後は摂取量についての研究が必要であると思われる。また、本実験結果はラットを対象とした結果であるのでヒトを対象とした研究も必要であろう。スサビノリ(紅藻類)の各種食物繊維の栄養効果、薬理効果試験は褐藻類ほど行われていないので、この面でもさらなる研究の発展が望まれる。

## 謝 謝

本研究に当たり、菌株を分与下さった東京大学獣医畜産学科公衆衛生研究室平山和宏先生に謝意を表す。

## 文 献

- 1) 光岡知足: 腸内フローラの研究. 理研報, **61**, 1-30(1985).
- 2) 光岡知足: 腸内菌の生態. 「腸内菌の世界」, 叢文社, 東京, 1980, pp. 13-41.
- 3) 光岡知足: ヒトの健康における腸内フローラの役割. 「腸

内フローラの生態と役割」(光岡知足編), 学会出版センター, 東京, 1990, pp. 1-29.

- 4) 河津大輔, 藤井建夫, 大島直子, 奥積昌世: スサビノリのラット盲腸フローラに及ぼす影響. 日水誌, **60**, 111-115 (1994).
- 5) Y. Benno, K. Endo, T. Mizutani, Y. Namba, T. Komori, and T. Mitsuoka: Comparison of fecal microflora of elderly persons in rural and urban areas in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1100-1105(1989).
- 6) A. A. Salyers, J. R. Vercellotti, S. E. H. West, and T. D. Wilkins: Fermentation of mucin and plant polysaccharides by strains of *Bacteroides* from the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 319-322(1977).
- 7) A. A. Salyers, S. E. H. West, J. R. Vercellotti, and T. D. Wilkins: Fermentation of mucin and plant polysaccharides by anaerobic bacteria from the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**, 529-533 (1977).
- 8) Y. Iriki, T. Suzuki, K. Nisizawa, and T. Miwa: Xylan of siphonaceous green algae. *Nature*, **187**, 82-83(1960).
- 9) N. S. Anderson and D. A. Rees: Porphyran: A polysaccharide with a masked repeating structure. *J. Chem. Soc.*, **1965**, 5880-5887(1965).
- 10) V. C. Barry, T. G. Halsall, E. L. Hirst, and J. K. N. Jones: The polysaccharides of the florideae. Floridean starch. *J. Chem. Soc.*, **1949**, 1468-1470(1949).
- 11) 入来義彦, 千原光雄: 細胞壁構成物質の検出と同定. 「藻類研究法」(西沢一俊, 千原光雄編), 共立出版, 東京, 1979, pp. 602-630.
- 12) 藤井建夫, 久田 孝, 佐伯和昭, 奥積昌世: 褐藻類中水溶性多糖類のヒト腸内菌による *in vitro* での発酵. 日水誌, **58**, 147-152(1992).
- 13) 江指隆俊: 動物の飼育と管理. 「小動物を用いる栄養実験」(細谷憲政, 印南 敏, 五島孜郎編), 第一出版, 東京, 1980, pp. 14-28.
- 14) H. Hidaka, T. Eida, T. Takizawa, T. Tokuzawa, and Y. Tashiro: Effects of flucotoligosaccharides on intestinal flora

- and human health. *Bifidobacteria Microflora*, **5**, 37-50 (1986).
- 15) 光岡知足: 腸内菌叢の検索法. 「腸内菌の世界」叢文社, 東京, 1980, pp. 53-92.
- 16) 光岡知足: 腸内菌叢の構成と形成. 「腸内菌叢の分類と生態」, 食生活研究会, 東京, 1986, pp. 51-158.
- 17) M. J. Hill and V. C. Aries: Faecal steroid composition and its relationship to cancer of the large bowel. *J. Pathol.*, **104**, 129-139 (1971).
- 18) H. Noda, H. Amano, K. Arashima, S. Hashimoto, and K. Nisizawa: Antitumour activity of polysaccharides and lipids from marine algae. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1265-1271 (1989).