

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

第2690130号

(45)発行日 平成9年(1997)12月10日

(24)登録日 平成9年(1997)8月29日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/74	ADN		A 6 1 K 35/74	ADNC
C 1 2 N 1/20			C 1 2 N 1/20	A
// (C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:01)				

請求項の数6(全 8 頁)

(21)出願番号	特願昭63-505915	(73)特許権者	999999999 株式会社アドバンス 東京都中央区日本橋小舟町5番7号
(86) (22)出願日	昭和63年(1988)7月8日	(72)発明者	石原 一興 東京都千代田区内神田2-13-7
(86)国際出願番号	PCT/J P 8 8 / 0 0 6 8 6	(72)発明者	伊藤 正憲 石川県金沢市石引1-13-6 ハイツ石引302
(87)国際公開番号	W O 8 9 / 0 0 4 2 5	(74)代理人	弁理士 青木 朗 (外3名)
(87)国際公開日	平成1年(1989)1月26日	審査官	岡部 義恵
(31)優先権主張番号	特願昭62-169744		
(32)優先日	昭62(1987)7月9日		
(33)優先権主張国	日本 (J P)		
微生物の受託番号	F E R M B P - 1 9 2 6		
微生物の受託番号	F E R M B P - 1 9 2 7		
微生物の受託番号	F E R M B P - 1 9 2 8		
微生物の受託番号	F E R M B P - 7 1 5		
微生物の受託番号	F E R M B P - 2 9 7		

(54)【発明の名称】 過酸化脂質減少剤

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】エンテロコッカス属 (Enterococcus) 又は
ビフィドバクテリウム属 (Bifidobacterium) に属する
微生物から得られる生菌体、死菌体及びそれらの不溶性
成分からなる群から選んだ少なくとも1種を有効成分と
して含有する過酸化脂質減少剤。

【請求項2】前記微生物が、エンテロコッカス・フェシ
ウム (Enterococcus faecium)、同フェカリス (E. faec
alis)、ビフィドバクテリウム・アドレッセンテス (Bi
fidobacterium adolescentes)、同ロンガム (B. longu
m)、同ブレベ (B. brave) 及び同ビフィダム (B. bifidu
m) よりなる群から選択される1種以上である請求の範
囲第1項に記載の過酸化脂質減少剤。

【請求項3】前記微生物が、エンテロコッカス・フェシ
ウムAD1060 (FERM BP - 1926) 又は同フェカリスAD9001

2

(FERM BP - 297) である請求の範囲第1項記載の過酸化
脂質減少剤。

【請求項4】医薬として許容できる担体を更に含有する
請求の範囲第1項記載の過酸化脂質減少剤。

【請求項5】保存に適した乾燥した形の請求の範囲第1
項記載の過酸化脂質減少剤。

【請求項6】過酸化脂質減少活性を有する新規菌株であ
るエンテロコッカス・フェシウムAD1060 (FERM BP - 192
6)。

10 【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、乳酸菌及びコウボの菌体を有効成分とする
過酸化脂質減少剤に関する。さらに述べると、エンテロ
コッカス属、ラクトバシラス属、ビフィドバクテリウム
属及び/又はサッカロマイセス属に属する微生物の菌体

を有効成分として含有する過酸化脂質減少剤に関する。本明細書において「過酸化脂質」とは一般的に脂質の過酸化物を意味し、例えばリノール酸、オレイン酸、アラキドン酸の過酸化物を挙げることができる。

背景技術

食品に含まれる過酸化脂質は、消化管粘膜等を障害し、又、その一部は生体内に取り込まれ、さまざまな影響を与えることが知られている。例えば生体内で不飽和脂肪酸を多く含んでいる細胞膜に過酸化脂質が生成されると種々の酵素の活性低下をきたすこと、膜の性状が劣化し、例えば赤血球が溶血を起しやすくなり、又、血管壁が硬化し、種々の組織に形態的変性が生じることなどが報告されている。これらの諸現象が重複して、現実には動脈硬化、酵素機能の低下、網膜症、白内障、糖尿病といった老化性の機能退行が現われると考えられている。

現在このような症状を緩和、回復させるためには、トコフェロール、アスコルビン酸等の抗酸化剤が主として使用されている。しかし、これらはそれ自身非常に酸化され易く、その効力を保持させる点で問題があり、又、食品添加物であるために、単独での摂取は望ましくない。

上記に鑑み、本発明者らは鋭意研究の結果、ある種の乳酸菌及びコウボに過酸化脂質を著しく減少させる効果のあることを知見し、本発明に至ったものである。

即ち、本発明の目的は、食品中又は消化管中の過酸化脂質を減少させることのできる菌体生成物を提供することにある。本発明の別の目的は、乾燥状態に保てば、過酸化脂質減少力の減弱が認められずに長期にわたってその効果を持続させることが可能な菌体生成物を提供することにある。さらに、食品として単独での摂取も行ない得る菌体生成物を提供することにある。

本発明の更に他の目的は、以下の説明により一層明らかになるであろう。

発明の開示

本発明は、エンテロコッカス属 (*Enterococcus*)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus*)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium*) 又はサッカロマイセス属 (*Saccaromices*) に属する微生物から得られる生菌体、死菌体及びそれらの不溶性成分からなる群から選んだ少なくとも 1 種を有効成分として含有する過酸化脂質減少剤に関するものである。

本発明は、別の観点によれば、エンテロコッカス・フェシウム AD1060 (FERM BP - 1926)、ラクトバシラス・サリバリウス AD0003 (FERM BP - 1927) 及びサッカロマイセス・セレビスシェ 155 - 77 (FERM BP - 1928) からなる群から選んだ少なくとも 1 種の、過酸化脂質減少活性を有する新規菌株にも関する。

図面の簡単な説明

第 1 図は実施例 1 の結果を示すグラフであり、横軸は

菌体濃度 (mg/ml)、縦軸は過酸化脂質 (LPO) の減少率 (%) を示す。第 2 図は、実施例 2 の操作方法を示す流れ図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明の過酸化脂質減少剤は、前記のとおり、エンテロコッカス属 (*Enterococcus*)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus*)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium*)、又はサッカロマイセス属 (*Saccaromices*) に属する微生物、特にエンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*)、同フェカリス (*E. faecalis*)、ラクトバシラス・アシドフィラス (*Lactobacillus acidophilus*)、同フェルメンタム (*L. fermentum*)、同サリバリウス (*L. salivarius*)、ビフィドバクテリウム・アドレッセンテス (*Bifidobacterium adolescentes*)、同ロングム (*B. longum*)、同ブレベ (*B. brave*)、同ビフィダム (*B. bifidum*) 又はサッカロマイセス・セレビスシェ (*Saccaromices cereviciae*) の 1 種又はそれ以上から調製することができる。これらの微生物の代表例を以下の第 1 表に示す。

第 1 表

No.	菌株名	寄託番号
1	エンテロコッカス・フェシウム (<i>Enterococcus faecium</i>) AD1060	FERM BP-1926 (FERM P-9414)
2	エンテロコッカス・フェカリス (<i>Enterococcus faecalis</i>) AD101	FERM BP-297 (FERM P-6625)
3	ラクトバシラス・アシドフィラス (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	IID S93
4	ラクトバシラス・サリバリウス (<i>Lactobacillus salivarius</i>) AD0003	FERM BP-1927 (FERM P-9415)
5	ラクトバシラス・フェルメンタム (<i>Lactobacillus fermentum</i>) AD0002	FERM BP-715 (FERM P-7539)
6	ビフィドバクテリウム・アドレッセンテス (<i>Bifidobacterium adolescentes</i>)	RIMD 0232001
7	ビフィドバクテリウム・ブレベ (<i>Bifidobacterium brave</i>)	I-53-8
8	ビフィドバクテリウム・ロングム (<i>Bifidobacterium longum</i>)	M-10-1-2
9	サッカロマイセス・セレビスシェ (<i>Saccaromices cereviciae</i>) 155-77	FERM BP-1928 (FERM P-9416)

前記第 1 表において、菌株 No. 1、No. 4 及び No. 9 は、各々、通商産業省工業技術院微生物工業技術研究所〔日本国茨城県筑波郡谷田部町東 1 丁目 1 番 3 号 (郵便番号 305)〕〔以下、微工研 (FRI) と称す〕に昭和 62 年 6 月 13 日から国内寄託 (受託番号を FERM - P として示す) されており、昭和 63 年 6 月 29 日からブタベスト条約に基づく国際寄託機関としての微工研に移管されている (受託番号を FERM - BP として示す)。菌株 No. 2 は微工研 (FRI) において昭和 57 年 7 月 15 日から国内寄託され、昭和 58 年 5 月 31 日から国際寄託に移管されている。菌株 No. 5 は微工研 (FRI) において昭和 59 年 3 月 8 日から国内寄託さ

5

6

れ、称名60年2月19日から国際寄託に移管されている。菌株No.3は東京大学医科学研究所に寄託されている。菌株No.6は大阪大学微生物病研究所に寄託されている。菌株No.7及びNo.8はピフィズス菌センターに寄託されている。

本発明の微生物の一般的な菌学的性質は、同じ分類に属する公知微生物の菌学的性質と同じである。すなわち、一般的な菌学的性質、培養方法及びその他の性質は以下の文献に記載されているものに相当する。

1) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed, 490 - 676 (1974)

2) Int. J. Syst. Bact. 16, 114 (1966)

3) Poupard, J.A., Husain, I., and Norris, R.F.: Bacteriol. Rev. 37, 136 - 165 (1973)

4) 光岡知足、日本細菌誌 24, 261 - 280 (1969)

5) 農芸化学実験書 第2巻 (1964) 京都大学農学部農芸化学教室編

6) Microbiol. Immunol. 25 (3), 257 - 269 (1981)

7) J. Clin. Pathol. 33 53 - 57 (1980)

8) J. General Microbiol., 128 713 - 720 (1982)

9) Applied Microbiol., 23 (6) 1131 - 1139 (1972)

10) 光岡知足：臨床と細菌、2 (3), (1975) 55 - (235) 93, 1975

11) T. Watanabe, H. Shimohashi, Y. Kawai, M. Muti: 25 (3), 257 - 269, 1981

12) R. H. Deibel, D. E. Lake, C. F. Nieven, Jr.: J. Bacteriol. 86, 1275 - 1282, 1963

前記第1表に示した本発明による微生物の代表的な菌学的性質を以下に要約して第2表～第6表に示す。

第2表：エンテロコッカス・フェシウム (Enterococcus faecium) AD1060 (FERM BP - 1926)

グラム染色	+
カタラーゼ (煮沸血液存在下)	-
10 での増殖	+
45 での増殖	+
50 での増殖	+
pH9.6での増殖	+
6.5%NaClでの増殖	+
40%胆汁における増殖	+
1/4000亜テルル酸での増殖	-
0.1%メチレンブルーミルクでの増殖	+
炭水化物醗酵	
アラビノース	+
グリセリン	-
ラフィノース	+
ソルビット	-
ラクトース	+
メレチトース	-
イヌリン	-
エスクリン	+

アルギニンよりアンモニア産出	+
馬尿酸加水分解性	-
第3表：ラクトバシラス・サリバリウム (Lactobacillus salivarius) AD0003 (FERM BP - 1927)	
形状	桿菌
グラム染色	+
グルコースからのガス生成	-
15 での増殖	-
45 での増殖	+
炭水化物醗酵	
アラビノース	-
キシロース	-
ラムノース	-
リボース	-
マンノース	+
フルクトース	+
ガラクトース	+
シェクロース	+
マルトース	+
20 セロビオース	-
ラクトース	+
トレハロース	+
メリビオース	-
ラフィノース	+
メレジトース	-
デキストリン、デンプン	N.D.
マンニット	+
ソルビット	+
エスクリン	+
30 サリシン	+
アミグダリン	-
第4表：サッカロマイセス・セレビスユ (Saccharomyces cerevisiae) 155 - 77 (FERM BP - 1928)	
形状	卵形
繁殖法	出芽
胞子形成	+
発酵性状	
グルコース	+
フルクトース	+
40 マンノース	+
ガラクトース	+
シュークロース	+
マルトース	+
ラクトース	-
ラフィノース	+
沈澱酵母	+
酵母環	-
皮膜	-
ゼラチン液化	-
50 硝酸塩同化	-

第 5 表 : エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) AD101 (FERM BP - 297)

細胞形状	球状
グラム染色性	+
溶血性	
10 での増殖	+
45 での増殖	+
50 での増殖	-
60 30分での熱耐性	+
pH9.6培地での増殖	+
メチレンブルー還元性	+
ゼラチンの液化	-
NaCl添加 (6.5%) 培地での増殖	+
胆汁添加 (40%) 培地での増殖	+
アンモニア産生	+ *

* 馬尿酸水解性	±
テルライト添加培地での増殖	+
TTC* 添加培地での増殖	+
炭素源からの酸生産性	
グルコース	+
エスクリン	+
イヌリン	-
ラクトース	+
グリセロール	+
10 アラビノース	-
メレジトース	+
ソルビトール	+
血清 (群抗原)	D
(*2,3,5 - トリフェニルテトラゾリウムクロリド)	

第 6 表 : ラクトバシラス・フェルメンタム (Lactobacillus fermentum)(FERM BP-715)

選択培地LBS上のコロニー形態	グラム染色	菌形態	カタラーゼ	ガス産生	糖発酵性								
					15°C 発育	45°C 発育	リトマスミルク	アラビノース	キシロース	リボース	グルコース	マンノース	ガラクトース
隆起S型白色光沢有	+	短桿菌連鎖	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+

選択培地LBS上のコロニー形態	糖発酵性												
	サツカロース	マルトース	セロビオース	ラク トー ス	トレ ハロ ース	メリ ビオ ース	ラフ イノ ース	メリ チト ース	マン ニト ール	ソル ビト ール	エス クリ ン	サリ シン	アミ グダ リン
隆起S型白色光沢有	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

本発明による各菌体は以下のようにして調製する。

菌体を、乳酸菌（エンテロコッカス属、ピフィドバクテリウム属及びラクトバシラス属の微生物）はロゴサ液体培地（組成は後述）に、酵母（サッカロマイセス属の微生物）は硫酸0.2%、イーストエキス0.2%、ブドウ糖2%、ペプトン0.1%含む液体培地に接種し、前者は37で16~24時間、後者は30で24~48時間浸漬培養する。遠心分離（10000×g,10min）により集菌し、培地の百分の一容の精製水に懸濁し、次いで遠心分離を行なうことによって洗菌する。この洗菌体を生菌体のままで使用することができる。或いは121で10分間の加熱殺菌処理後に乾燥（凍結又は加熱乾燥）して調製した死菌体を使用することができる。あるいはさらに、前記の死菌体を遠心分離して調製した不溶性成分を使用することもできる。

ロゴサ液体培地の組成

蒸溜水 1 ℓ 中

トリプチケース

10g 50

酵母エキス	5g
トリプトース	3g
K ₂ HPO ₄	3g
KH ₂ PO ₄	3g
酢酸ナトリウム	1g
クエン酸三アンモニウム	2g
ツイーン80	1g
40 グルコース	20g
L - システイン塩酸塩	0.2g
塩類溶液 ^(*)	5ml
(pH7,121 15分間加熱滅菌)	
(*) 塩類溶液 : 蒸溜水100ml 中	
MgSO ₄ · 7H ₂ O	11.5g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.68g
MnSO ₄ · 7H ₂ O	2.4g

本発明で使用する乳酸菌のスクリーニング方法はWatanabe,T.,et al.,Studies on streptococci.I.Distribution of fecal streptococci in man.Microbiol.Immuno

1.25 257 - 269 (1981) に記載の方法に準じて行う。すなわち、上記文献に記載の通り、健康人のフィーシーズをKMN agar及びLBS agarに塗沫、好氣的条件下で37、48~72時間培養し、生成コロニーをカウント、無作為にひろい、コロニー形、カタラーゼ陰性、グラム染色陽性球菌及び桿菌を分離し、生理的、生化学的性状を検査して分類同定した。また、酵母(サッカロマイセス属の微生物)は市販パン酵母製剤より抽出した。

本発明の過酸化脂質減少剤は、前記の生菌体、死菌体又は不溶性成分、及び場合により医薬として許容できる担体(例えばデンプン、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム)からなる。

本発明の過酸化脂質減少剤は経口投与によって摂取することができ、その用量は通常約0.1mg~約50mg/kg体重(1回)程度であり、粒剤、錠剤、顆粒剤等の剤型として使用し得る。

実施例

以下、実施例によって本発明を更に具体的に説明するが、本発明は以下の実施例によって限定されるものではない。

以下の各実施例で使用する菌体は前記の方法で調製した。また、過酸化脂質の調製及び測定は以下の方法に従って行った。

過酸化脂質調製法

リノール酸を自動酸化法又は光増感酸化法により酸化後、薄層クロマトグラフィーにより過酸化物を分離して*

$$C = \frac{\text{試料の吸光度}}{\text{標準液の吸光度}} \times 10 \text{ (nmol / ml)}$$

なお、以下の実施例において、人工腸液としては、日本薬局方に記載のとおり、0.2Mリン酸二水素カリウム試液250ml及び0.2N水酸化ナトリウム試液118mlに精製水を加え、全量を1000mlとして調製したものを使用した。

実施例 1 菌体量とLPO減少

Enterococcus faecium AD1060 (FERM BP - 1926) の生菌体を熱水処理してから凍結乾燥して得た死菌体1mg, 5mg, 10mg, 15mg又は20mgを過酸化脂質濃度125 µg/ml, 250 µg/ml又は500 µg/mlの人工腸液2mlに懸濁し、菌体濃度0.5mg/ℓ, 2.5mg/ℓ, 5.0mg/ℓ, 7.5mg/ℓ及び10.0mg/mlの実験試料を調製した。

前記測定法に従い、過酸化脂質の減少率を求めた。結果を第2表及び第1図に示す。これらから明らかなように効果的な過酸化脂質の減少が認められた。

* 過酸化脂質を調製した(参考文献: 過酸化脂質実験法、金田尚志、植田伸夫編集、医歯薬出版株式会社、Agric. Biol. Chem. 35, P33 - 39, 1971, 同45, P587 - 593, 1981、汎用衛生試験法と解説、日本薬学会編、南山堂、P33、脂質分析法入門、藤野安彦、学会出版センター、P100)。過酸化脂質測定法

過酸化脂質の測定法はTBA法(チオバルビツール酸法)(日本老年医学雑誌、内藤周幸、山中健、15, P187 - 191, 1978)を採用した。以下にその方法を述べる。

10 方法

(1) 共栓付試験管で菌体所定量と過酸化脂質(LPO)溶液2mlとを反応させる。

(2) 0.05N塩酸3.0mlを反応液(1)に加える。

(3) 0.67% TBA試薬3.0mlを加え、混合する。

(4) 試験管のふたを閉じ、沸騰水で30分間加熱する。

(5) 氷冷水槽に入れ、すみやかに室温まで冷却する。

(6) n - ブタノール2.0mlを加え、振替抽出する。

(7) 遠心分離(2500rpm, 10分間)した後、ブタノール層(上層)を取り、535nmで比色測定する。

20 標準液としては10nmol/mlテトラエトキシプロパン・メタノール溶液を使用した。又、菌体それ自体によるTBA反応物の妨害を補正するため、過酸化脂質を添加しない試料についても同様に測定を行い、この値を差し引いたものをTBA値とした。

過酸化脂質の濃度(C)(nmol/ml)は次の式によって求めた。

第 2 表

過酸化脂質濃度	125 µg/ml	250 µg/ml	500 µg/ml
菌体濃度			
0.5mg/ml	21.5%	18.7%	22.9%
2.5mg/ml	51.6%	47.9%	39.5%
5.0mg/ml	64.5%	60.7%	57.6%
7.5mg/ml	73.1%	65.3%	62.3%
10.0mg/ml	77.1%	70.8%	69.7%

40

実施例 2 菌体による食品中LPOの減少

ドレッシング1g中にEnterococcus Faecium AD1060 (FERM BP - 1926) を熱水処理してから凍結乾燥して得た死菌体10mg, 30mg, 50mg又は100mgを懸濁し、室温で1時間放置した後でTBA法にてLPOの減少率を求めた。

本実施例で用いたTBA法の手順を第2図に示す。結果を第3表に示す。第3表から明らかなように菌体100mg添加では、90.2%もの減少が観察された。

11
第 3 表

菌体(mg)	TBA値(nmol)	減少率(%)
0	29.5	—
10	13.8	53.2
30	8.4	71.5
50	5.0	83.1
100	2.9	90.2

実施例 3 消化酵素処理後の過酸化脂質減少能

消化管内での本発明の過酸化脂質減少剤の効果を調べるために、ペプシン、トリプシン、キモトリプシン又は牛胆汁末を加熱処理 - 凍結乾燥死菌体〔エンテロコッカス・フェシウムAD1060 (FERM BP - 1926)〕(以下、加熱乾燥死菌体と称す)に加え、過酸化脂質減少能を調べた。又、有効成分を特に多く含むと思われる、前記の加熱乾燥死菌体不溶成分についても実験を行った。対照用として、酵素で処理していない前記の加熱乾燥死菌体の減少率を100とし、結果を第4表に示した。

ペプシン処理

1) 0.1Mクエン酸緩衝液 (pH2.5) 2mlにペプシン (和光純薬工業社製) 0.1mgを溶解し、前記の加熱乾燥死菌体20mgを懸濁させ、37 で4時間処理した。これに過酸化脂質1000 μgを加え、1時間後にTBA法で過酸化脂質量を測定した。菌体を加えず同様の操作をしたものをコントロールとして、過酸化脂質減少率Aを求めた。酵素で処理していない前記の加熱乾燥死菌体20mg及び過酸化脂質1000 μgを含む人工腸液中での過酸化脂質減少率Bを求め、BでAを除し、100を乗じてペプシン処理の加熱乾燥死菌体の過酸化脂質減少率を算出した。

2) 上記と同様にしてペプシン処理を4時間行った後、遠心分離により不溶成分を集め、これに蒸留水10mlを加え、再懸濁遠心分離を2度繰り返して実施し、不溶成分を洗った。これを凍結乾燥後(冷凍乾燥の代わりに、80で加熱乾燥したものについても同様の結果が得られた)、過酸化脂質1000 μgを含む人工腸液2mlに加え、1時間後にTBA法にて過酸化脂質量を測定し、過酸化脂質減少率Cを求めた。Cを上記Bで除し、100を乗じて、不溶成分の減少率を算出した。

トリプシン処理及びキモトリプシン処理

0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.5) 2mlにトリプシン又はキモトリプシン (和光純薬工業社製) 0.1mgを溶解し、ペプシン処理と同様の方法で過酸化脂質減少率を求めた。

加熱乾燥死菌体不溶成分

前記の加熱乾燥死菌体20mgを水100mlに懸濁し、60で10分間保ち、遠心分離により不溶部を集め、ペプシン処理2)に準じ、過酸化脂質減少率を求めた。

牛胆汁末の添加

牛胆汁末として、Difco社製Ox - Gallを使用し、人工

腸液に0,0.05,0.10,0.15,0.50%の割合で添加し、実験を行った。

第 4 表

	過酸化脂質減少率(%)
非処理の加熱乾燥死菌体	100
ペプシン処理	95~105
トリプシン処理	95~100
キモトリプシン処理	100~115
加熱処理死菌体不溶成分	100
牛胆汁添加 0%	100
0.05%	100
0.01%	100
0.15%	80~95
0.50%	80~95

実施例 4

以下の第5表に記載の各種微生物の生菌体を熱水処理してから凍結乾燥して得た死菌体20mgと過酸化脂質500 μgとを含有する人工腸液2mlについて、前記各実施例と同様にして過酸化脂質減少率を測定した。結果を第5表に示す。

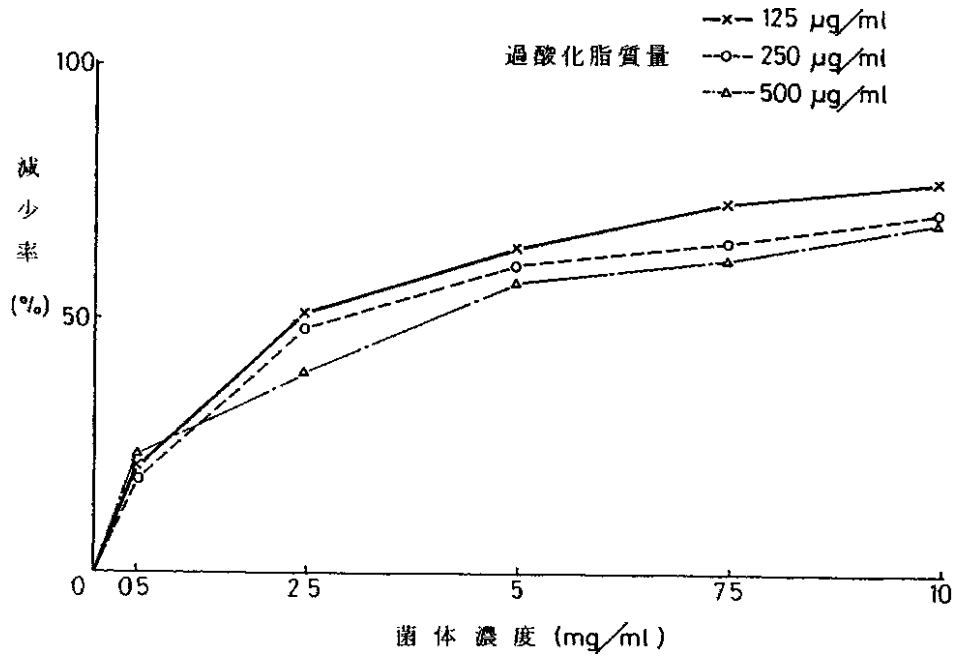
第 5 表

No.	菌株名	寄託番号	過酸化脂質減少率(%)
1	エンテロコッカス・フェシウム(Enterococcus faecium) AD1060	FERM BP-1926 (FERM P-9414)	70
2	エンテロコッカス・フェカリス(Enterococcus faecalis) AD101	FERM BP-297 (FERM P-6625)	71
3	ラクトバシラス・アシドフィラス(Lactobacillus acidophilus)	IID S93	46
4	ラクトバシラス・サリバリウス(Lactobacillus salivarius) AD0003	FERM BP-1927 (FERM P-9415)	52
5	ラクトバシラス・フェルメンタム(Lactobacillus fermentum) AD0002	FERM BP-715 (FERM P-7539)	34
6	ビフィドバクテリウム・アドレッセンテス(Bifidobacterium adolescentes)	RIMD 0232001	22
7	ビフィドバクテリウム・ブレベ(Bifidobacterium breve)	I-53-8	25
8	ビフィドバクテリウム・ロンガム(Bifidobacterium longum)	M-10-1-2	12
9	サッカロマイセス・セレビシエ(Saccaromyces cerevisiae) 155-77	FERM BP-1928 (FERM P-9416)	70

本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自

明の各種の変形は本発明の範囲に含まれるものである。

【第1図】



【第2図】

試料 1g

↓ +クロロホルム-メタノール(2:1) 15ml

↓ 振とう機で10分振とう

↓ 遠心(3000rpm 10分)

上清

↓ +0.9%食塩水 3ml

↓ 振とう 10分

↓ 遠心(3000rpm 10分)

クロロホルム層

↓ N₂気流下蒸発乾固

残渣

↓ +8.1%ラウリル硫酸ナトリウム 0.2ml

↓ +酢酸-酢酸ナトリウムバッファー(pH3.5) 1.5ml

↓ +0.8%チオバルビツール酸 1.5ml

↓ +水(総量 4ml)

↓ 加熱 100℃ 30分

↓ 冷却

↓ +水 1ml

↓ +n-ブタノール 5.0ml

↓ 振とう

↓ 遠心(3000rpm 15分)

有機溶媒層 吸光度 532nm 測定