

菌の能力を引き出す —納豆とヨーグルトの食べ合わせ—

Bring out the abilities of bacteria -A combination of natto and yogurt-

木田 佐映^{1,2}, 小林 悠^{1,3}, 三岡 茉央^{1,4}KIDA Sae^{1,2}, KOBAYASHI Haruka^{1,3}, MITSUOKA Mao^{1,4}東北大学 「科学者の卵養成講座」¹, 宮城県仙台第一高等学校²宮城県仙台第二高等学校³, 仙台白百合学園高等学校⁴EGGS, Tohoku University¹, Miyagi Prefecture Sendai Daiichi High School²
Miyagi Prefecture Sendai Daini High School³, Sendai Shirayuri Gakuen High School⁴

Corresponding Author's e-mail: mao.mitsuoka.t8@sci-eggs.net

(Received: 16 June 2024; Accepted: 24 March 2025; Released: 29 October 2025)

【要約】

いずれも身体に良いとされる納豆とヨーグルトを同時に食べた場合、納豆菌とビフィズス菌がどのように影響し合うのか調べた。納豆菌は好氣的に生育し、タンパク質分解酵素を分泌することやショ糖やグルタミン酸といった「糸」の原料を豊富に含む培地では、強く「糸」を引くことが分かった。一方ビフィズス菌は、嫌氣的条件下でプロピオン酸存在下に生育した。同じ条件下では納豆菌は生育できないことから、体内に入っても納豆菌とビフィズス菌では生育できる条件が異なると考えられた。また、ビフィズス菌はガラクトオリゴ糖により生育が促進されたが、様々な種類のオリゴ糖やその構成糖を培地に加えた培地ではラフィノースやキシロオリゴ糖での生育は悪かった。また、納豆菌の培養上清(多糖のレバンを含む)を加えた培地でビフィズス菌は生育せず、ビフィズス菌と納豆菌を共存させてもオリゴ糖なしでは生育しないなど、現在まで両者の生育に関して互いに影響は見られなかった。

【キーワード】 納豆菌, ビフィズス菌, オリゴ糖, 好氣的培養, 嫌氣的培養

Bacillus subtilis natto, *Bifidobacterium longum*, oligosaccharides, aerobic culture, anaerobic culture

1. はじめに

納豆は、蒸した大豆に耐熱性の胞子を作る「納豆菌」を接種し、納豆パックなど通気性がある容器に入れ、40℃程度の適温で菌を生育させることで作る。枯草菌の仲間である納豆菌は酸素呼吸で増え、自然界で稲藁などに付着するために γ ポリグルタミン酸 (γ -PGA, 図 1A) とレバン (図 1B) を主成分とする「糸」を作る。さらに、納豆菌は蛋白質分解酵素を分泌し、ビタミン K2 などのビタミンと抗菌物質を生産し整腸作用を示す。

ヨーグルトは、加熱殺菌した牛乳などに乳酸菌を接種し、密閉容器に入れて 40℃程度の適温で菌を生育させて作る。乳酸菌は酸素がない環境で乳酸発酵する細菌の総称で、伝統的なヨーグルトでは乳酸桿菌 (ブルガリア菌; *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) と乳酸球菌 (サーモフィラス菌; *Streptococcus thermophilus*) を使う。その理由は、乳酸球菌が作った乳酸を乳酸桿菌が取り込むことで増殖する一方、乳酸桿菌は乳酸球菌の増殖を促進するアミノ酸やペプチドを作るという関係のためである。現在ではヨーグルトには様々な効果を持つ乳酸菌が使用されており、ビフィズス菌もそのひとつである。ビフィズス菌は大腸に生息する善玉菌で、乳酸や酢酸を苦手とする菌の生育を抑え、腸内環境のバランスを整えることで、大腸の上皮細胞を刺激して丈夫にし、ぜんどう運動を活発にする作用もある。ヨーグルトを食べることで善玉菌が供給されるのである。

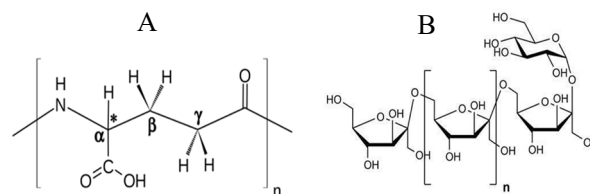


図 1 納豆菌の糸の主成分である γ ポリグルタミン酸とレバンの構造。A は γ ポリグルタミン酸を、B はレバンの構造

いずれも体に良いとされている納豆とヨーグルトだが、両方の菌を同時に食べた時に体の中で何が起ころのだろうか。この研究では、納豆菌とビフィズス菌の性質と相性、両者がどのように影響し合うのかを調べた。

2. 実験方法

(2-1) 菌株と培地

納豆菌は市販の納豆 2 粒を 2ml の滅菌水に懸濁したものを用いた。ビフィズス菌は市販のビヒダスヨーグルトに含まれる BB536 菌を用いた。

菌の培養には LB 培地 (1%ポリペプトン (蛋白質加水分解物), 0.5%酵母エキス, 0.5%NaCl, 1.5%寒天), スキムミルク培地 (LB 培地に 1%スキムミルクを添加), TSG 培地 (1%大豆ポリペプトン, 1%ショ糖, 1%グルタミン酸ナトリウム, 1.5%寒天), TOS プロピオン酸 (1%ペプトン, 0.1%酵母エキス, 0.3%リン酸 2 水素カリウム, 0.48%リン酸水素 2 カリウム,

0.3%硫酸アンモニウム, 0.02%硫酸マグネシウム/7 水, 0.05% L-Cys 塩酸塩・1 水, 1.5%プロピオン酸 Na, 1%ガラクトオリゴ糖) 培地を用いた。

(2-2) 納豆菌とビフィズス菌の液体培養

試験管に調製した 5 ml の LB 液体培地 2 本、5 ml の 0.2% NaNO_3 添加 LB 液体培地 (LB- NaNO_3) に納豆菌 1 エーゼ植菌した。LB 培地の 1 本は 37°C の恒温槽で振盪培養、もう一方の LB 培地と LB- NaNO_3 液体培地は 37°C の恒温槽で静置培養した。ネジ付き試験管に窒素置換して密閉した TOS 培地にビフィズス菌液 0.1 mL をシリンジを用いて植菌し、37°C の恒温槽で静置培養した。

(2-3) 納豆菌とビフィズス菌の寒天培地での培養

納豆菌をスキムミルク培地, TSG 培地, TOS プロピオン酸培地に画線し、37°C の恒温槽で好氣的に培養した。ビフィズス菌はスキムミルク培地, TSG 培地, TOS プロピオン酸培地各 2 枚に画線し、一組は 37°C 恒温槽で好氣的に培養した。もう一組は気密性の高い容器に密閉し、「アネロパック・ケンキ」で酸素を消費して嫌氣的に 37°C 恒温槽で培養した。

(2-4) 炭素源とビフィズス菌の生育との関係

TOS プロピオン酸培地の炭素源であるガラクトオリゴ糖のかわりに、デキストリン、フルクトオリゴ糖、ラクトストロース、ラフィノース、キシロオリゴ糖、グルコース、ガラクトース、フルクトース、キシロースの各糖を同じ濃度で加え、嫌氣的に調製した培地に同じ菌量のビフィズス菌をシリンジで接種した。37°C の恒温槽で静置培養し、経時的に濁度を計測した。

(2-5) 納豆の産物がビフィズス菌の生育に与える影響

市販納豆 10 g を 50 ml 遠沈管に取り、生理食塩水 10 ml を加えてかき混ぜてから、①室温②37°C で振盪③沸騰水中で加熱の 3 条件で糸を溶かし出した。8000 回転/分、10 分間、20°C で遠心分離して上清を回収し、納豆洗浄液（水溶性の納豆の糸を含む）とした。残った上清は捨て、納豆菌の沈殿を 2 ml の生理食塩水で 2 回遠心洗浄した。これを菌体懸濁液とし、4°C で保存した。

TOS プロピオン酸培地のガラクトオリゴ糖のかわりに 3 条件で処理した納豆洗浄液を、37°C、あるいは沸騰水中で処理した菌体懸濁液をそれぞれ加え、嫌氣的に調製した培地に同じ菌量のビフィズス菌(48 時間培養)を 0.1 ml 接種し、37°C の恒温槽で静置培養した。

3. 結果と考察

(3-1) 納豆菌とビフィズス菌の液体培養

LB 培地に納豆菌を植菌し、振盪培養し空気を送り込むと、培地全体に菌が増殖した (図 1-①)。しかし、試験管を立て

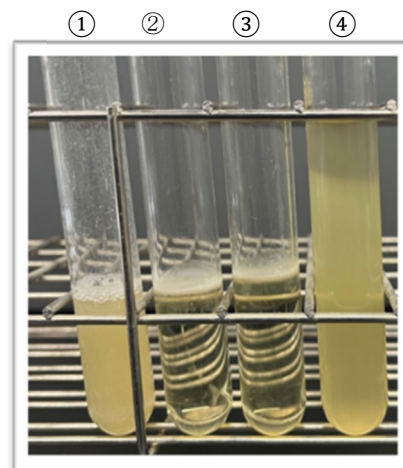


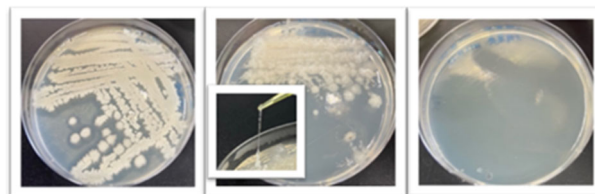
図 1 納豆菌 (①～③) とビフィズス菌 (④) の液体培養の様子

たまま振盪せずに静置して培養すると、培地の表面だけに菌が増殖した (図 1-②)。これは、納豆菌は酸素呼吸によって好氣的に生育することを示しており、呼吸鎖の電子伝達系での電子受容体としての酸素が必要であるため、酸素を得られる表面でのみ増殖したと考えられる。大腸菌などでは、酸素の代わりに硝酸塩を電子受容体を使って嫌気呼吸できる。しかし納豆菌では硝酸塩を加えても表面でしか生育せず、培地の濁りが見られないことから、酸素がある場合にはそれを優先的に使っていると考えられる (図 1-③)。

一方ビフィズス菌は、密閉容器中で窒素置換した TOS 培地に植菌して静置培養すると培地全体に菌が生育したことから、酸素がなくても旺盛に増殖することが示された (図 1-④)。

(3-2) 納豆菌とビフィズス菌の寒天培地での培養

納豆菌はスキムミルク培地と TSG 培地の 2 種類の寒天培地上では、空気中での培養で大きなコロニーを形成した。スキムミルク培地では表面が乾いたようなコロニーを形成し、その周りが透明になった。これは納豆菌が蛋白質分解酵素を分泌して周りのスキムミルクを可溶性のアミノ酸に消化したことを示している (図 2-①)。TSG 培地では盛り上がりシワがよったコロニーができ、爪楊枝で触ると糸を引いた (図 2-②)。これは TSG 培地が糸の原料であるグルタミン酸ナトリウムとショ糖を豊富に含むためと考えられ、スキムミルク培



① スキム培地 ②TSG 培地 ③TOS 培地

図 2 納豆菌の生育

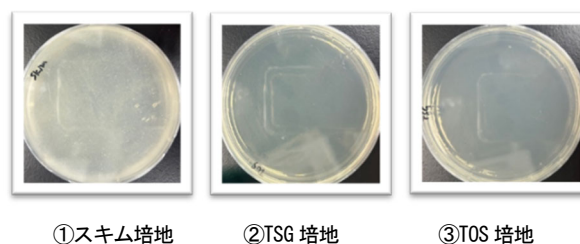


図3 ビフィズス菌の生育の様子(好氣的培養)

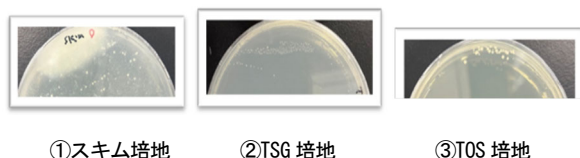


図4 ビフィズス菌の生育の様子(嫌氣的培養)

地では糸引きがないことと合わせ、納豆菌は材料が潤沢にある場合に糸の成分である γ -PGAやレバンを生産することが分かった。一方、納豆菌はビフィズス菌が生育できるTOS培地に植えた場合、好気条件にしても生えなかった。市販TOS培地に含まれるプロピオン酸は他の乳酸菌の生育を抑えることでビフィズス菌を選択的に増殖させる目的がある。この実験で、納豆菌もプロピオン酸塩が含まれる培地では生育が阻害されることが分かった(図2-③)。

ビフィズス菌は酸素がある条件ではいずれの培地でも全く生育できないことがわかった(図3)。そこで、機密性の高い容器に密閉し使い捨て懐炉の原理で酸素を消費する「アネロパック・ケンキ」を用い、嫌氣的に培養した。その結果、ビフィズス菌はスキムミルク培地やTSG培地では非常に小さなコロニーを形成した(図4-①②)。それに比べTOS培地では、大きなコロニーを作った(図4-③)。これらの結果はビフィズス菌の生育には培地成分が影響することを示している。

(3-3) ビフィズス菌の生育と各糖の相性

オリゴ糖はビフィズス菌の生育を促進するといわれ、それらを含む健康食品なども目につく。TOSプロピオン酸培地の

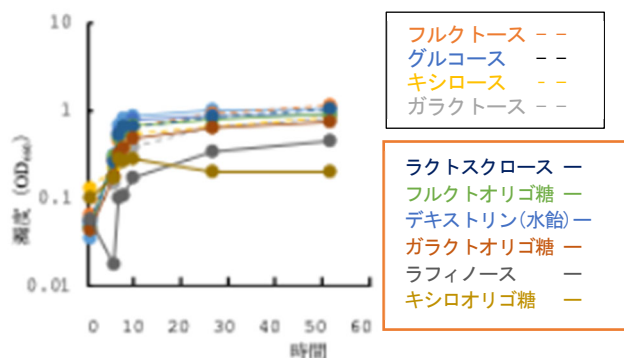


図5 ビフィズス菌の生育と各糖との相性



図6 納豆の抽出液添加によるビフィズス菌生育への影響

成分にもガラクトースが数個繋がったガラクトオリゴ糖が含まれている。そこで、TOSプロピオン酸培地のガラクトオリゴ糖を食品用オリゴ糖として市販されているグルコースが繋がった「デキストリン」、フルクトースが繋がった「フルクトオリゴ糖」、ガラクトースとグルコース、フルクトースが繋がった「ラクトスクロース」に加え、ガラクトースとグルコース、フルクトースの繋がり方が違う「ラフィノース」、キシロースの繋がった「キシロオリゴ糖」の計6種類のオリゴ糖と、それらを構成する単糖であるグルコース、ガラクトース、フルクトース、キシロースに変えた培地を調製し、ビフィズス菌の生育を解析した。その結果、ビフィズス菌は色々な糖やオリゴ糖を利用できることが分かった。しかし、ラフィノースやキシロオリゴ糖は最終的な濁度が低く、「オリゴ糖」といってもビフィズス菌にとって使いにくいものもあることがわかった(図5)。

(3-4) 納豆の菌体や糸などがビフィズス菌の生育に与える影響

納豆の糸の成分であるレバンはフルクトオリゴ糖と構成成分が似ているため、納豆の糸はビフィズス菌の生育に関係すると予想した。しかし実験の結果、糸が存在してもビフィズス菌は生育しなかった。その理由として、レバんとフルクトオリゴ糖は構成成分が同じフルクトースでもつながり方が異

なるため、ビフィズス菌が利用できない可能性が考えられる(図6-①②③④)。一方で濃度が薄すぎ、もう一方の成分である γ -PGAが影響している可能性もある。いずれにしても、納豆の糸はビフィズス菌の餌になりにくいかもしれない。これを確かめるには納豆の糸を大量に集め、そこからレバンを精製したものに濃度を合わせて用いた培地で確かめる必要がある。

また、ガラクトオリゴ糖の入っていない培地に納豆菌とビフィズス菌を同時に植菌し、嫌氣的に培養しても全く濁らなかった(図6-⑤⑥⑦)。ビフィズス菌が住む哺乳類の大腸にはほとんど酸素がなく、この状態では納豆菌は生育できない。またプロピオン酸は大腸内でプロピオン酸菌などにより作られるが、その存在も納豆菌には不利である。従って、ビフィズス菌の生育する大腸では納豆菌は生育できないといえる。一方のビフィズス菌もオリゴ糖などがなければ生育しない。納豆菌の存在がビフィズス菌に影響するかを確かめるには、「ガラクトオリゴ糖入り」のTOSプロピオン酸培地にビフィズス菌と納豆菌を同時に接種して、培地が濁ってくること、それに対して納豆菌のみを接種して培地が濁らないことを確認する必要がある。

4. 結論

今回の実験で、納豆菌の生育には酸素が必要であること、ビフィズス菌の生育は逆に酸素で妨げられることが分かった。また、納豆菌とビフィズス菌の生育は、培地成分によっても異なることが分かった。

細胞が増殖するためには、細胞外の高分子有機物を分解する酵素を分泌して分解産物である栄養素を取り込む必要がある。納豆菌ではスキムミルク寒天培地でコロニー周囲にクリアゾーンができることでより蛋白質分解酵素の分泌を可視化できた。スキムミルクは主に牛乳のタンパク質成分であることから、納豆菌はヨーグルトの成分も利用できる可能性がある。また、納豆菌は糸の原料であるショ糖やグルタミン酸が潤沢にあるTSG寒天培地では、強く糸を引くコロニーを形成するが、スキムミルク培地ではそれが見られないことから、培地成分が糸引きに影響することがわかった、さらにTOSプロピオン酸培地では生育せず、プロピオン酸塩が納豆菌の生育を抑制することが明らかになった。

一方、ビフィズス菌は嫌気条件ならばスキムミルク寒天培地やTSG寒天培地でも生育するが、ガラクトオリゴ糖を含むTOSプロピオン酸寒天培地での生育が著しかった。そこでオリゴ糖がビフィズス菌の生育を促進すると考え、液体培地でオリゴ糖の効果を検証した。しかしビフィズス菌の液体培地での生育はいくつかのオリゴ糖とその構成成分の単糖であまり変わらなかった。ビフィズス菌は牛乳中ではラクトースを利用していることが知られている。しかし、ラフィノースやキシロオリゴ糖といった一部のオリゴ糖では、生育がむしろ悪く、利用しにくい糖・オリゴ糖もあることが示された。

今回、納豆とヨーグルトを同時に食べた時、消化管内での相互間の影響の解析を試みた。しかし納豆菌とビフィズス菌では酸素に対する態度や生育する培地が異なることから、両者は体内の同じ場所で増殖することはないと考えられる。また、ビフィズス菌は糖などの炭素源に代えて納豆の糸の成分や納豆菌そのものを利用して生育できないことから、納豆とヨーグルトを同時に摂取した場合でも、納豆の糸や菌体の存在でビフィズス菌が体内で増殖できることを示す結果は得られなかった。一方で、ビフィズス菌は増殖にある種のオリゴ糖を使えることは明らかで、オリゴ糖を同時に摂取することでは大腸でのビフィズス菌増殖に関係するといえる。

今後は納豆菌が消化できる糖・オリゴ糖について調査・実験し、大腸でビフィズス菌が優先的に増殖するために利用できる糖の種類を明確にしたい。また、乳酸菌が利用できる糖・オリゴ糖の存在下で、納豆菌やその産物がビフィズス菌の生育促進を阻害しないかを追求し、納豆とヨーグルトの食べ合わせについて研究していきたい。

謝辞

本研究は東北大学「科学者の卵養成講座」(JST次世代科学技術チャレンジプログラム(STELLA)および三菱みらい育成財団)の支援のもとで実施されました。本研究を行うにあたり、東北大学大学院農学研究科金子淳先生より、納豆菌やビフィズス菌についてご指導いただきました。またTAの吉井直毅氏はじめ研究室の方々に実験方針を指導していただきました。心より感謝いたします。

参考文献

- 木村 幹、永井利郎、木村啓太郎編 (2008)「納豆の科学」 建帛社.
- 木村 幹 監修 (2010)「納豆の研究法」 恒星社 厚生閣.
- 木村啓太郎 (2015)「納豆と微生物」 モダンメディア 61巻11号 26-32.
- 東北大学農学部生物化学コース編 (2022)「生物化学コース学生実験書」.
- 園池耕一郎 (2002)「ビフィズス菌とその検査法」 イーズ (栄研化学情報誌) 30巻.