

試作発酵乳 (TFM) 200 ml を 21 日間 2 回飲用した 女子学生の排便状況と脂質代謝

石井 智美¹⁾・堀江 雅美¹⁾・川見 祥代¹⁾
森 ゆうこ²⁾・萩原 克郎²⁾

An experiment to measure the bowel movement and lipid metabolism of female students who drank 200 ml Trial Fermented Milk (TFM) for two trial periods each lasting 21 days.

Satomi ISHII¹⁾, Masami HORIE¹⁾, Sathiyu KAWAMI¹⁾,
Yuuko MORI²⁾ and Katuru HAGIWARA²⁾
(Accepted 25 July 2011)

緒 言

わが国の高齢者において、日常生活での転倒や骨折が、そのまま寝たきりとなる原因の1割になっている(折茂編 2006)。そのため高齢者のQOL (Quality of life) の維持が今日、社会的な課題となっている。女性は男性に比べ、加齢に伴うホルモンの影響によって、骨粗鬆症になりやすい。その予防には若い頃から十分なカルシウムを摂り、最大骨塩量高め、定期的な運動を行うことが不可欠とされている(Garn E and Delmas PD. 1993; 松本 1994; 米田 2004)。しかし「平成 18 年度国民健康・栄養調査」(健康・栄養情報研究会編 2009) では、男女とも全ての年代において、カルシウム摂取量が推奨値に達してはいない。

カルシウムを多く含む食品として乳、乳製品が知られているが、牛乳の飲用により腸管で乳糖不耐による不快な症状を起こすことが、牛乳消費の伸び無い理由の1つに挙げられている。家畜と関わる歴史が長い牧畜社会では、乳は発酵乳として利用されてきた。各地の伝統的な発酵乳の特性、多彩な菌叢が分離・同定されている(Kurmann, J. A et al 1992; 那日松ら 1996; 石井 2003)。近年発酵乳について、プロバイオティクス、プレバイオティクスの観点からの研究が進み、腸内細菌叢の改善、整腸作用、抗腫瘍作用、免疫賦活作用、血中コレステロール低減作用、高血圧抑制作用といった効果が注目され、報告がなされている(Ouwehand A. C et al 1999.; Ishida, Y et al 2005; 藤原 2007; 保井 2009)。そし

て発酵乳の飲用によって、便秘傾向の改善のほか、加齢に伴う胃酸の分泌低下に起因する、カルシウムの吸収能の低下を抑制する働きがあることも知られている。

これまでの我々の調査では、北海道在住の高齢者が、健康維持のため積極的に摂取したい食品として発酵乳が高頻度で挙げられており、特にマイルドな味の発酵乳が好まれていた。

そこで本研究は、研究室で分離・保存してきた乳酸菌株より免疫賦活作用を有する菌株を選抜し、マイルドな味の新規発酵乳を試作し、その連続飲用による排便に関わる効果、脂質代謝への影響を検討した。

材料および方法

1. 新規発酵乳 (以後 TFM と記す) の製造

予備選抜した各菌株を GAM 高層培地で培養し、その1白金線量を10%還元脱脂乳培地(110℃ 5分滅菌後急冷)に接種して25, 28, 32℃で培養し、24時間ごとの増殖特性を検討した。その中から1菌株を選抜した。選抜菌は先に理化学的同定として糖の発酵性試験を行っていたが、さらに16 SrRNA 遺伝子の塩基配列解析を行った。

TFMの培養基は脱脂をしているが、牛乳に近いたんぱく質、カルシウムを含み、品質が均質なことからスキムミルク(雪印乳業株式会社、札幌市)とし、それを連続したロットで購入した。

選抜菌はグラム染色を行い、菌の形態を確認しながら継代培養し、活性を高めMRS液体培地(Difco)

¹⁾ 酪農学園大学酪農学部食品科学科臨床栄養管理学研究室

Nutrition Care and Management, Department of Food Science, Faculty of Dairy Science, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学獣医学部獣医ウイルスユニット

Veterinary Virology, Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

10 ml に 1 白金線量を接種し、32℃ で 24 時間の前々培養を行った。前々培養液を MRS 液体培地 10 ml に 0.1 ml 加えて、32℃ で 24 時間の前培養をした。その後、前培養液を遠心機にかけ、滅菌水で 3 回洗菌した菌液を、10%還元脱脂乳培地に初期菌量 10^6 /ml となるように添加し、32℃ で 48 時間培養した。冷却後培養液を滅菌容器に 200 ml ずつ分注し、-40℃ で保存し飲用試料として供した。

TFM の乳酸菌数は BCP 加プレート寒天培地 (Difco) を用い、32℃ で 72 時間培養した後計測した。TFM の細菌汚染については、常法 (玉木 2007) に準拠し、デソキシコーレイト寒天培地 (日水製) を用い 37℃ で 48 時間培養し、大腸菌群陰性であることを確認した。

2. TFM の分析

常法 (日本食品科学工学会新・食品分析法編集委員会編 2003) に準拠し、TFM の一般成分分析を行った。微量成分の分析は ICP 発光分析法 (SHIMADZU ICPS-7510) で行った。乳酸酸度は自動酸度測定装置 (MITSUBHI GT-05) で分析した。アミノ酸分析は株式会社 SRL に分析を依頼した。一般成分分析の値からエネルギー量を算出した。

3. 調査項目

被験者はヘルシンキ宣言に則り実験前に研究の趣旨、方法を十分に説明し、賛同を得た健康な女子学生ボランティア (21~28 歳) 35 名である。被験者と事前に同意書を交わした。個人情報保護の観点から被験者を ID 化してデータを処理し、データは鍵のかかる場所で保管した。本研究は酪農学園大学大学院疫学研究倫理審査委員会の承認 (06-1) を受けた。

TFM の飲用試験に先立ち、被験者のエネルギー摂取量、カルシウム摂取量を知るため被験者に食事調査票 (FFQg) の記入を依頼した。あわせて食生活、乳、乳製品の摂取状況、乳製品に関する意識調査等を行った。

TFM の飲用による身体への影響を確認するため、実験開始日と終了日に身長 (ヤガミ製 TL65S)、体重、体組成 (TANITA 体組成計 BC-118D) 等を測定した。実験期間中の運動量を知るため、万歩計 (YAMASA manpo mk-365) を着装し、1 日の歩数を記録してもらった。実験期間中排便に関する質問表 (辨野 2003) の記入を依頼した。

4. TFM の飲用試験

被験者は TFM を毎日 200 ml 摂取する群 (以後テスト群と記す) 18 名、摂取しない群 (以後コントロール群と記す) 17 名とした。TFM の飲用は毎日昼食時とし、土曜日、日曜日は保冷容器に入れ持ち帰って飲用してもらった。実験期間中、両群ともに普段通りの生活を送るように依頼した。

実験期間は表 1 に示したように、テスト群は 1 日 200 ml の TFM の飲用を 21 日間行った。その後 1 週間をウォッシュアウト期間として、再度 TFM を 21 日間飲んだ。さらに 1 週間をウォッシュアウト期間として最終日とした。実験期間は 56 日間であった。

5. 統計処理

計測した値は平均値±標準偏差で示した。さらに Stat View (Ver 5.0) を用いて Student's T-test を行い、実験開始日と最終日における群間の計測値の差を検定し $p < 0.05$ を有意とした。

Table 1 A list of experiment, investigation period and items

Item	Group	Test I				Wash out	Test II		Wash out
		1day	7day	14day	21day	28day	35day	49day	56day
Drinking of TFM	Test	→					→		
	Control								
A physical measurement	Test	○			○	○		○	○
	Control	○							○
Dietary survey	Test	→							
	Control	→							
Steps	Test	→							
	Control	→							
A bowel movement	Test	→							
	Control	→							
Drawing blood	Test	○			○	○		○	○
	Control	○							○

結果および考察

1. 選抜菌と TFM の製造

TFM の製造に用いる菌株は、増殖特性等も参考にして1菌株選んだ。選抜菌株の16 Sr-RNA 遺伝子の塩基配列相同性を、常法に準拠して検討した結果、*Lactobacillus plantarum* 標準菌株 (ATCC8014) と100%の相同性を示し、*L. plantarum* と同定した。

発酵食品の発酵に関与している乳酸菌には、免疫調整力を上げる働きを持つほか、下痢、便秘の改善効果があるとされている。中でも *Lactobacillus* 属は、それらプロバイオティクス効果のある菌株として広く用いられている。選抜菌と同じ *L. plantarum* として、*L. plantarum* 299 v がスエーデンの企業で (北澤・遠野 2008)、*L. plantarum* ONC141 が、国内の企業で利用されている (福井 2009)。

TFM は 32℃、48 時間培養で菌数が 10^8 /ml となるように調製した。完成時の乳酸度は 0.9% だった。一般成分分析の結果は表 2 に示したように、培養基を 10% スキムミルクとしたため、脂肪分は少なかった。TFM のエネルギー量は 100 ml あたり 36 kcal だった。TFM 中のカルシウム量は表 3 に示したように、100 ml あたり 130 mg と、市販のドリンクタイプのヨーグルトと近い値だった。アミノ酸量を表 4 に示した。伝統的な手法で乳を乳酸菌と酵母で発酵させている民族飲料と比べると、アミノ酸生成量は半分ほど少なかった (石井 2002)。グルタミン酸が 100 ml あたり 6.45 mg と、アミノ酸の中で最も多かった。TFM の飲用による下痢などの症状は無

かった。被験者の評価は、「香りが良く飲みやすい」、「無糖でも飲みやすい」であった。

2. 被験者の状況

実験終了時に、データが有効で、すべてのデータが揃った被験者は、テスト群 11 名、コントロール群 13 名だった。実験開始日と最終日の身体計測等の結果を表 5 に示した。ともに両群間で差は無かった。「平成 18 年国民健康・栄養調査」(健康・栄養情報研究会編 2009) における同世代の平均値と被験者の実験開始日の平均値を比較すると、両群とも身長は近値で差は無かったが、両群ともに体重は同世代の平均値より重かった。BMI は同世代の平均値 22 と近かったが、体脂肪率は両群共に 29~30% と同世代の平均値である 24% よりも高かった。このことから被験者は筋肉量が低く、定期的に負荷のかかる運動をしている割合が低いと思われた。

Table 5 The physical measured value of the subject

Item	Group	1day	56day
Height (cm)	Test	159.6±4.7	159.7±4.8
	Control	159.6±5.3	159.3±5.3
Weight (kg)	Test	53.5±5.8	53.5±5.7
	Control	56.0±10.5	55.2±10.2
Percent of body fat (%)	Test	29.6±2.9	29.3±3.2
	Control	31.2±5.2	30.4±5.6
BMI (kg/m ²)	Test	21.2±1.7	21.0±1.7
	Control	21.9±3.3	21.6±3.1

*, Test was n=11, Control was n=13.

Table 2 A general ingredient analysis level of the Trial fermented milk (TFM)

Sample	Water	Carbohydrates	Protein	Fat	Ash
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Trial fermented milk	90.3	5.2	3.6	0.1	0.8

Table 3 Trace analysis of the Trial fermented milk (TFM)

Sample	Na	Ca	P	Fe	K	Mg	Zn	Cu	Mn
	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(μg/100 g)	(μg/100 g)	(μg/100 g)
Trial fermented milk	46	130	100	0	180	ND	0.4	0	ND

Table 4 Free amino acid level of the Trial fermented milk (TFM)

Sample	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys	Val	Met
	Trial fermented milk	3.28	0.05	0.1	6.45	0.68	0.65	ND	Tr
Sample	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Trp	Arg	Pro	
Trial fermented milk	0.13	ND	ND	0.56	0.32	ND	1.9	0.86	

3. 被験者のエネルギー摂取量, 1日の平均歩数, 乳製品の摂取状況, 骨粗鬆症に対する認識

実験開始にあたり食事調査票 (FFQg) から算出した平均エネルギー摂取量は, テスト群 $1,952 \pm 718$ kcal, コントロール群 $1,988 \pm 955$ kcal だった。両群間で差は無く, 「平成 18 年国民健康・栄養調査」(健康・栄養情報研究会編 2009) による, 同世代女性の平均エネルギー摂取量 $1,720 \pm 497$ kcal よりも多かった。エネルギー摂取量は集団の平均としてみるとエネルギー摂取がなされているようにみられるが, 個人の食事内容, 量を精査して行くと, 個人差が非常に大きかった。機能性飲料の効果を評価する上で, このような食の自由喫食においてもその効果が認められるべきだが, 今回の調査では後述するが, 被験者の自由喫食が, TFM 飲用による脂質代謝への影響がはっきりとはしなくなった理由にもなると考える。

実験期間中の 1 日の平均歩数は, テスト群で $10,287 \pm 1,373$ 歩, コントロール群で $9,472 \pm 2,280$ 歩だった。両群ともに「平成 18 年国民健康・栄養調査」(健康・栄養情報研究会編 2009) における同年代女性の平均 $7,710$ 歩を上回っていた。被験者は習慣的に運動する割合は低いと思われたが, よく歩いていたといえる。

被験者の食事調査票によるカルシウム摂取量は, コントロール群 575 mg/day, テスト群 614 mg/day だった。「平成 18 年国民健康・栄養調査」(健康・栄養情報研究会編 2009) における同世代女性の平均摂取量は 475 mg/day で, 両群共に平均摂取量を上回っていた。しかし「日本人の食事摂取基準 (2010 年版)」(厚生労働省 2010) では, 18 歳から 29 歳女性のカルシウム摂取推奨量を 663 mg/day と設定しており, この数値に比べ被験者らのカルシウム摂取量は不足していた。

被験者すべてが「骨粗鬆症」の予防に, 十分なカルシウム摂取が重要であることを認識していた。しかし現在「牛乳の飲用習慣がある」との回答は僅かで, 毎日の牛乳, 乳製品の摂取量, 頻度ともに低く, カルシウム摂取が重要とした知識が日常の食に反映されてはいなかった。そして被験者が最も好む乳製品として挙げたのは, ヨーグルトだった。

4. TFM 飲用による排便の変化

実験開始時において「便秘傾向はなく, 習慣的な排便習慣がある」とした被験者は両群ともに低かった。すべての実験データが揃った被験者において特に便秘傾向が強いと回答したのはテスト群 11 名中

4 名, コントロール群 13 名中 4 名の計 8 名であった。今日, わが国の若い女性の 10 人中 7 人が, 便秘がちと言われ(辨野 2005), 毎日ではなくても, 定期的な排便習慣を持つことを辨野は, 「第 2 の脳と呼ばれる腸管の諸機能維持の面からも重要である」と報告(辨野 2005)している。

これまでも発酵乳の継続的な摂取で腸内細菌叢が改善され, 糞便水分量が増加するほか, 糞便の色調が褐色系から好ましい黄色系に変化し, 便秘傾向が抑えられることが報告されている (Yaeshima T. et al 1999; 辨野 2005)。

図 1 に, 「便秘傾向が強い」としたテスト群, コントロール群から各 2 名を抽出し 4 名の実験期間中の排便感覚を数値化して示した。

「便秘傾向が強い」としたテスト群 2 名は, 共に 1 回目の 21 日間の TFM 連続飲用中の排便状況に顕著な改善がみられた。ウオッシュアウト期間中に以前の便秘傾向に戻って閉まったが, さらに 2 回目の 21 日間の TFM 飲用中には 1 回目の飲用と同様に改善し, 再現性がみられた。一方「便秘傾向が強い」としたコントロール群の排便状態には, 実験期間中変化はみられなかった。

用いた *L. plantarum* が, 飲用後に腸管において死菌となっていると考えるが, 死菌でも菌体成分が腸内細菌に利用され, 生理活性機能を持つとの *L. acidophilus* L-92 株の例も報告されている (藤原 2008)。ゆえに TFM の連続飲用により *L. plantarum* の菌体成分を被験者の腸内細菌が利用し, その過程で生じた諸代謝産物の作用によってテスト群で便秘傾向が強かったといった, 排便状況を改善したと考えた。これまでもヨーグルトの喫食により「肌に張り生まれる」「肌のつやが良くなる」ことが報告されている (辨野 2009)。主観による報告であるが, テスト群において TFM の飲用実験前に比べ飲用後では「顔面に吹き出物が出なくなった」「肌の調子が良くなった」と感じたとの回答が 6 名からあった。

5. TFM 飲用の脂質代謝への影響

これまでも発酵乳の飲用によって, 血清コレステロール値が低下するか否かについて多くの研究報告がある。そこには発酵乳の製造に用いられた乳酸菌の持っている性質が関与しているのではないかとされている (荒井ら 1981; 高野 1997; 橋本ら 1998; Ouweland A. C et al 1999; 石川, 綿貫 2001; Xiao J. Z., 2003)。

被験者の血清中の脂質代謝について表 6 にまとめ

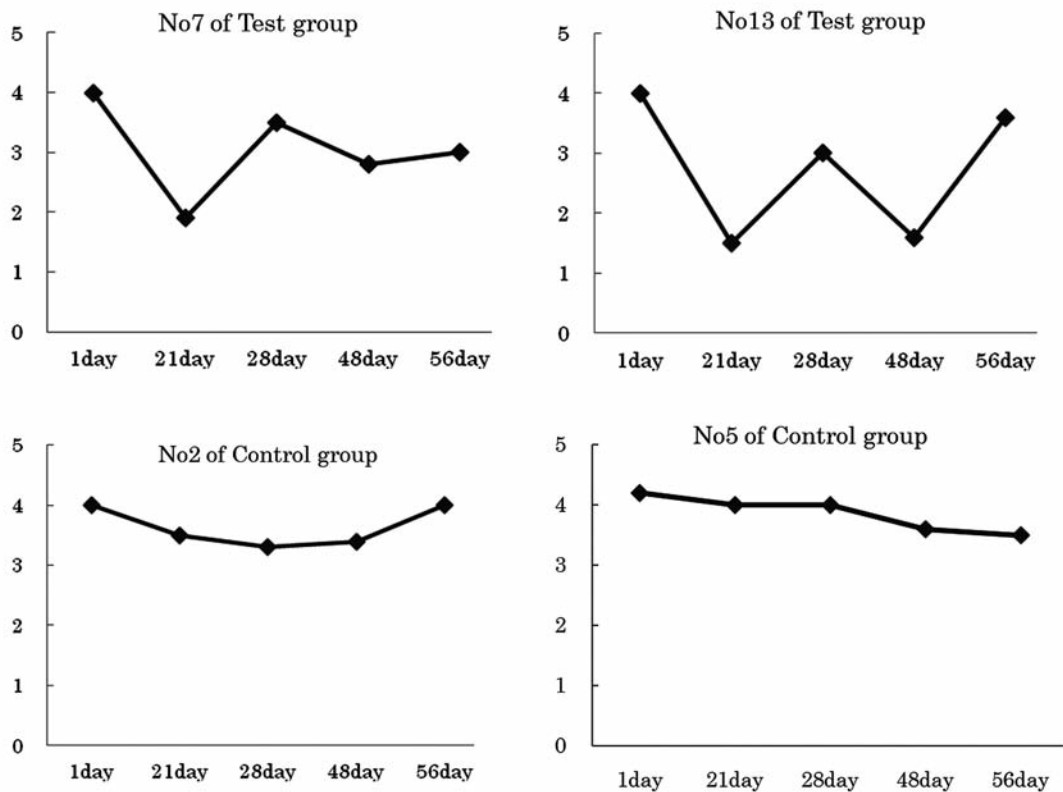


Fig. 1 Expressed the sense at the time of the bowel movement during an experiment period with five phases

We evaluated the state of the everyday bowel movement, a sense with five phases to a subject and had you record it. The numerical value of the evaluation is low, and the situation about the bowel movement is good. 1 is very much, 2 is considerably, 3 is common, 4 is not slightly good, 5 is sensation during bowel during the experimental period

Table 6 The lipid metabolism of the subject during an experiment period

Item	Group	Test I		Wash out	Test II		Wash out
		1day	21day	28day	48day	56day	
Total Cholesterol (mg/dl)	Test	186.0±14.7	191.0±25.9	180.0±22.7	180.0±19.3	17.01±23.0	182.0±24.2
	Control	182.0±28.6					
HDL Cholesterol (mg/dl)	Test	72.0±9.6	75.0±14.1	72.0±11.2	71.0±13.0	73.0±12.4	
	Control	72.0±12.8				65.0±9.1	
LDL Cholesterol (mg/dl)	Test	102.0±11.9	97.0±16.2	96.0±19.2	95.0±11.0	96.0±17.1	
	Control	9.03±21.0				91.0±17.1	
Triglycerol (mg/dl)	Test	75.0±27.5	80.0±26.1	62.0±17.4	67.8±29.9	57.3±23.1	
	Control	6.08±28.8				71.0±19.4	

*; Test was n=11, Control was n=13.

た。テスト群で実験開始日と最終日で検定を行った結果、総コレステロール、LDL、HDLの値に有意差は無かった。中性脂肪は、実験開始日の75±27.5 mg/dlと比べ、最終日57.3±23.1 mg/dlと有意差は無かったが、低下傾向を示した。今回の統計処理からデータを除外しているが、特に実験開始時に総コレステロール値が高い被験者1名では、総コレステロール値が最終日に顕著に低下した。

本研究は実験期間中1日200 mlのTFM飲用以

外、食事の均一化などの設定を行わなかった。そうした状況でTFMを飲用したテスト群で、最終日に中性脂肪が低下傾向を示したことは意義があるのではないかと考える。今後さらに血清脂質の値の高い高齢者による飲用試験を行いたい。

最後に、本研究の個人データは参考資料と共に被験者に還元し、健康管理について考える機会としてもらった。

謝 辞

本研究は「平成19年度シーズ発掘 JST 研究助成」の研究成果をもとに、「酪農学園大学学内共同研究」の助成を受けて行った研究の一部であることを記してここに感謝申し上げます。採血にご協力いただいた酪農学園大学保健室野越保健師をはじめ保健室の皆様にご感謝します。実験遂行にあたり、快くご協力をいただいた被験者の皆様、多くの協力者の皆様から心からお礼を申し上げます。

注

食事調査票 (FFQg) :

わが国における大規模な栄養調査結果をもとに、質問の回答状況から栄養状態を統計学的根拠より知ることを目的とした食事に関する調査票。

文 献

- 荒井幸一郎, 室田一也, 早川邦彦, 片岡元行, 光岡知足. 1981. 酸乳の保健効果. 腸内フローラと発癌. (光岡知足編). 初版. pp. 105-123. 学会出版センター. 東京.
- 辨野義巳. 2005. 究極のヨーグルト健康法. 初版. pp. 40-44. 講談社+ α 新書. 東京.
- 辨野義巳. 2009. 見た目の若さは腸年齢で決まる. 初版. pp. 161-162. PHP サイエンス・ワールド新書. 東京.
- 藤原茂. 2007. 第5章 バイオジェニクス. 乳酸菌の保健機能と応用 (上野川修一監修). 第1版. pp. 45-60. シーエムシー出版. 東京.
- 藤原茂. 2008. 免疫機能改善に働く乳酸菌 L-92 株の研究開発. 初版. pp. 202-211. 世界の発酵乳. はる書房. 東京.
- 福井宗徳. 2009. 発酵乳の過去・現在・未来～製造技術・機能性研究の変遷と今後の展望～. ミルクサイエンス 58 (3), 183-189.
- Garn E, Delmas PD. 1993. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immnoradimetric assay in patients with methabolic bone disease. *Journal. Clinic. Endocrinol. Metab* 77, 1046-1053.
- 橋本英夫, 山崎和幸, 荒井靖子, 川瀬学, He, F, 細田正孝, 細野明義. 1998. 乳酸菌のラット血清コレステロール上昇抑制作用に関する検討. *Aminmal Science Technology* 69 (7), 702-707.
- Ishida Y, Nakamura F, Kanazato H, Sawada D, Yamamoto N, Kagata H, Oh-ida M, Takeuchi H, and Fujiwara S. 2005. Effect of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* strain L-92 on symptoms of Japanese cedar Pollen allergy: A randomized placebo-controlled trail. *Bioscience Biotechnol Biochemistry* 69 (9), 1652-1660.
- 石井智美. 2002. 馬乳酒の微生物学的知見と機能性. 日本醸造協会誌 97, 210-215.
- 石井智美. 2003. 内陸アジアの遊牧民の製造する乳酒に関する微生物学的研究. 酒をめぐる地域間比較研究 JCAS 連携研究成果報告 4, 103-122.
- 石川文保, 綿貫雅章. 2001. 乳酸菌, 腸内フローラと健康 *Lactobacillus casei* シロタ株発酵乳の脂質代謝改善作用. 食品工業 44 (4), 26-33.
- 健康・栄養情報研究会編. 2009. 国民健康・栄養の現状——平成18年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より——. 初版. pp. 84, 319. 第一出版株式会社. 東京.
- 北澤春樹・遠野雅徳. 2008. プロバイオティクスからイムノバイオティクス. 世界の発酵乳. 初版. pp. 152-164. はる書房. 東京.
- 厚生労働省「日本人の食事摂取基準」作成検討会報告書. 2010. カルシウム. 「日本人の食事摂取基準 (2010年版)」。初版. pp. 195-198. 第一出版. 東京.
- Kurmann JA, Rasic JL, Kriger MV. and Nostrand R (eds). 1992. An international inventory of fermented milk, cream, buttermilk, whey, and related products. *Encyclopedia of fermented fresh milk products*. pp. 802-803. Elsevier. New York.
- 松本俊夫. 1997. イラスト医学&サイエンスシリーズ骨. 第1版. pp. 12-15, 72, 株式会社羊土社. 東京.
- 那日松, 田中嘉則, 森信寛, 北本豊. 1996. 中国・内蒙古地域における伝統的発酵乳アイラグの微生物フローラ. 日本畜産学会報 67, 78-83.
- 日本食品科学工学会新・食品分析法編集委員会編. 2003. 新・食品分析法. 第1版. pp. 30-107, 156-161. 光琳. 東京.
- 折茂肇編. 2006. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会代表; 骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン. 第1版. pp. 1-141. ライフサイエンス出版. 東京.
- Ouwehand AC, Kirjavaiene PV, Shortt C, Salminen S. 1999. Probiotics: Mechanisms and established effects, *International Dairy Jour-*

- nal 9 (1), 43-52.
- 高野俊明. 1997. カルピス酸乳の保健効果と可能性. モンゴルの白いご馳走 (石毛直道監修). 初版. pp. 235-267. チクマ秀版社. 東京.
- 玉木武. 2007. 新訂早わかり食品衛生法. 第2版食品衛生法逐条解説. 第2版. pp. 14-367. (社)日本食品衛生協会. 東京.
- XIAO J Z. 2003. 発酵乳による血中脂質改善効果に関する研究. ミルクサイエンス 52 (3), 161-165.
- Yaeshima T, Takahashi S, Matsumoto N, Ishibashi N, Hayasawa H, and Iino H. 1997. Effect of yogurt containing *Bifidobacterium longum* BB536 on the intestinal environment, fecal characteristics and defecation frequency. *Bioscience Microflora* 16 (2), 73-77.
- 保井久子. 2009. 発酵乳製品の栄養と生理的效果. ミルクの事典 (上野川修一編集). 初版. pp. 244-248. 朝倉書店. 東京.
- 米田俊之. 2004. 新しい骨のバイオサイエンス. 第1版. pp. 111. 株式会社羊土社. 東京.

Abstract

The aging population in Japan means that fermented milk is a food which is important as a source of calcium. This study's purpose was the production of Trial Fermented Milk (TFM) with a mellow flavor that would be popular with elderly people. A strain of microorganism which has adjuvanticity and a pleasant fragrance under 10% reconstituted skimmed milk medium was selected from stored strains of microorganisms in our laboratory. We tried 16sRNA of the Lactic acid bacteria. The result was a standard strain of *Lactobacillus plantarum* and 100% homogeneity. Liquid of strain (*Lactobacillus plantarum*) as starter was cultured in a 10% RSM medium to make TFM with 10^8 /ml of *Lactobacillus plantarum* for 48 hours. And TFM was 36kcal per 100 ml. We asked healthy female students to drink 200 ml of TFM for 21 days over two separate periods of time with a washout period in-between. There were no problems after drinking TFM. The taste of TFM was mild (not so sour) to drink and seemed to be suitable for elderly people. In both the test group and the control group there were many people with the tendency to suffer from constipation. The participants in the test group drank fermented milk for 21 days over two separate periods of time. The bowel movement situation was improved conspicuously. However, the participants returned to a tendency to constipation in the washout period. These results show that drinking TFM has the effect of helping to ease constipation.

The result of examining the lipid metabolism of the 11 participants in test group and the 13 in control group was to show that there were no significant differences in the data for total cholesterol, LDL, HDL and triglyceride as measured from the first day to the last day of the trial.

However, the data for triglyceride showed a decrease on the last day of the trial in test group (from 75.0 ± 27.5 mg/dl on first day to 57.3 ± 23.1 mg/dl on the last day) so it seems there is a possibility for drinking TFM daily to help lipid metabolism. It will swallow up TFM to the person who is high in triglyceride level and wants to examine an effect in future.

Key words; Trial fermented milk (TFM), *Lactobacillus plantarum*, triglyceride