

# 乳酸菌の研究

北原覚雄編著

東京大学出版会

**編著者略歴**

明治 39 年 長野県に生る  
昭和 4 年 京都大学農学部農林化学科卒業  
(醸酵菌学専攻)  
昭和 15 年 農学博士  
昭和 22 年 京都大学教授 (食糧科学研究所)  
昭和 28 年 東京大学教授 (応用微生物研究所)  
昭和 35 年 乳酸菌の研究 で日本学士院賞受賞  
現住所 東京都渋谷区神宮前1丁目3番2の403

**乳酸菌の研究**

1966年3月31日 初版発行

定価 6000 円\*\*\*

検印  
廃止

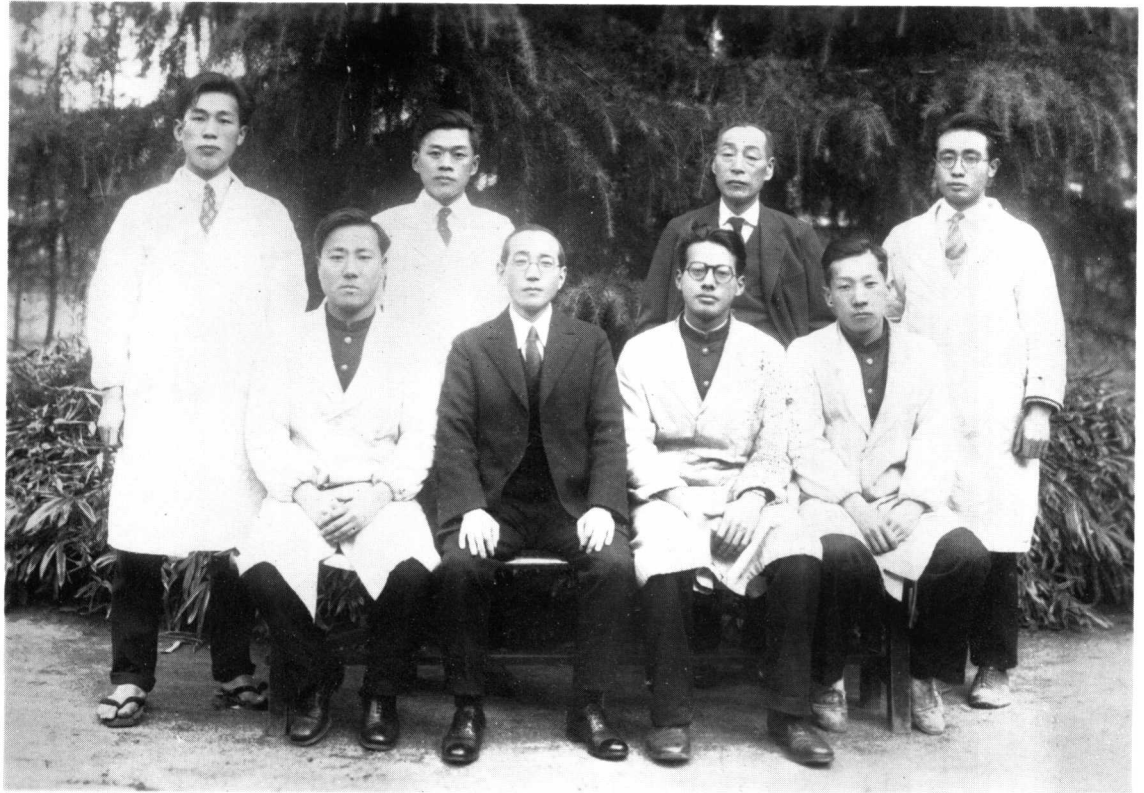
© 編著者 北原覚雄  
発行者 神立誠

発行所 財団法人 東京大学出版会

東京都文京区本郷 東大構内、電話 (811) 8814 後援東京 59964

新日本印刷・新栄社製本

F19/35



乳酸菌の研究をはじめた頃

北原覚雄 松下憲治 曾野安次郎 増田耕作

前田総六 片桐英郎先生 菅瀬 陽 深見監二

## 序 文

編者自身としてみれば、生涯を乳酸菌の研究だけに終始したわけではないが、最も力を傾注したものであるだけに、いつの間にか乳酸菌と心中しかねないような偏執者としての“名誉”を担ってしまった。そんな関係でこのたび東京大学を去る記念に自分を中心として今日まで行なってきた乳酸菌の研究を成書にまとめてみたらと、他からもすすめられ、自らも考えて本書の編著が企画された。

内容は一般の「何々学」というような厳しいものとせず、執筆者は自分の考え、かつ行なった仕事をできるだけ楽な気持で記述し、一つの読み物としての特徴をもたせようというのが主旨であった。いうなれば研究の回想で、最初から新鮮味のすくない内容のもので、これを参考書と銘打って出版したら、途端に古くさいと放り出されるのが関の山だからである。そんなことで自己担当の分は内容的には半ば随想的となり、ほぼ目的通りでできたと思っているが、共同執筆をお願いした若い人達が、意外に固くなり、本気になって書いて下さったので、全体を通じてみると学術的な匂いが相当強く感じ取られる。

パーティーの席などで、今乳酸菌についての編著を進めている、などと口にするると、それは Orla-Jensen (1919) 以来の快挙だ、などと先輩は大きく買って下さるが、そうした御期待は当たらない。Orla-Jensen は元来乳製品関係に造詣の深い典型的な微生物分類学者であるに対し、編者は日本の酒および醸造の足場に立つ発酵化学的色彩の濃い男である上に企ても根本的にちがうし、時代の推移も手伝って、当然のことながら内容も全く異なっている。

共同執筆者は事実上の編集者である福井助教授をはじめ、編者の共同研究者として一緒に歩いて呉れた面々を主とするが、北海道大学の佐々木教授、京都府立大学の中浜教授らをはじめ、六年にわたる文部省科学研究総合研究班のメンバーとして御協力下さった方々の内からも、それぞれの専門分野の執筆をお願いして書物の内容を多彩にさせていただいている。そのため菌株の分離・分類からはじめて生態、栄養、生化学から細胞構造、さては応用まで、乳酸菌の関与する各分野に一応触れていることにはいささか自負を感じている。

これら執筆者の方々には大変失礼な言い分ではあるが、一つ一つの面にはなお大いに発展の余地を残している（結語参照）というよりも、将来に俟つべきものがいかに多いかということ、換言すればこれだけ大勢で長い日子を費してやった仕事があったこれだけかという不満を読者諸氏は感じ取られると思うが、その点こそ本書の狙いであって、各所に暴露されるそうした不完全さの中に将来の研究への萌芽を見出して下さる人が一人でも多くあることが希望であり、念願である。

今一つ根本に遡って、乳酸菌の問題を最初に与えられ、自らもその研究に力を注がれつつ、温情溢れる御指導を辱うし、ついには片桐・北原という複合名詞まで作られるに至った恩師京都大学名誉教授片桐英郎先生にまず心からの御礼を申し上げて本書を捧げたい。

1966年1月15日・遷暦の日に

北原覚雄

## 執筆者一覧表（執筆順）

きたはら かく 雄 北原 覚雄	東京大学応用微生物研究所教授
かね こ た 吉 金子 太吉	理化学研究所所員
なかやま おお 樹 中山 大樹	山梨大学工学部助教授
とのおいけ りょう 三 外池 良三	国税庁醸造試験所第6研究室長
おかくち けん 二 坂口 健二	財団法人野田産業科学研究所主任研究員
さ さ き 西 二 佐々木西二	北海道大学農学部教授
こたまれい じろう 児玉礼次郎	財団法人醸酵研究所主任研究員
ふくい せき 蔵 福井 作蔵	東京大学応用微生物研究所助教授
おお ばやし おお 晃 大林 晃	鹿児島大学農学部助教授
くさ か い 巖 日下 巖	東京大学応用微生物研究所助手
なか がわ おつし 淳 中川 淳	朝日麦酒株式会社中央研究所所員
かりむら じろう 二郎 桐村 二郎	味の素株式会社中央研究所主任研究員
みや ざわ しげる 滋 宮沢 しげる	三共株式会社中央研究所主任研究員
さうとめ しんいち 五月女伸一	宇都宮大学農学部助教授
たむら かく 造 田村 学造	東京大学農学部助教授
みずしま しやうじ 昭二 水島 昭二	東京大学応用微生物研究所助手
やしま しげたか 重昂 八島 重昂	武田薬品工業株式会社醸酵生産物研究所研究員
やま なか 啓 山中 啓	香川大学農学部教授
はま だ こ や た 浜田小弥太	ビオフェルミン製薬株式会社取締役研究部長
なか しま とし 敏 中浜 敏雄	京都府立大学農学部教授

目 次

序 文  
執筆者一覧表  
序 論

研究の経過 . . . . . 3

清酒の醗の乳酸菌 (4) — Lactic acid の旋光性に関する古典的な問題 (7) — 菌種の蒐集と分類 (9) — マンニト発酵 (11) — ホモ発酵とヘテロ発酵 (11) — *Rhizopus* による lactic acid の形成 (13) — 軟腐甘藷の乳酸菌 (13) — *Lactobacillus japonicus* (14) — *Lactobacillus xylosus* (14) — 高温発酵性乳酸菌 (14) — Racemiase (15) — 火落菌の本態 (16) — バクテリオファージ (16) — 旋光性 lactic acid の分別 (16) — 乳酸菌の通気培養 (17) — 新しいペントースの発酵式の提唱 (17) — Racemiase 形成と NAD (18) — 清酒の醗の生態的考察 (18) — *Lactobacillus delbrueckii* の形態異常 (19) — *Pediococcus* の問題 (19) — 捲込発酵 (20) — 乳酸菌による inulin の発酵・発酵誘起因子の発見 (21) — *Sporolactobacillus* (21) — 酸素との連繫その他進化の痕跡を示す酵素の検出 (22) — 乳酸発酵系の定量的解析 (23) — Racemiase の本態 (24) — 分類に関する知見 (24)

I. 分離・分類

*Lactobacillus sake* . . . . . 29

*Lactobacillus delbrueckii* . . . . . 34

菌種の発見・アルコール工業との関係 (34) — Lactic acid の製造 (35) — *L. delbrueckii* の分離法 (35) — 高温醗中で活動する乳酸菌 (36) — 乳、乳製品中の高温性乳酸菌 (37) — 市販の lactic acid がラセミ体である理由 (37) — 異常伸長 (38)

火 落 菌 . . . . . 40

1. 菌株の分離および一般性質 . . . . . 40

2. 実 験 . . . . . 40

3. 乳酸菌としての火落菌の分類と同定 . . . . . 44

4. あとがき . . . . . 48

*Sporolactobacillus* nov. subgen. . . . . 50

1. 発見の経緯 . . . . . 50

2. 特徴	50
3. 検討された諸性質	54
分類	60
<i>Streptococcus</i> (60)— <i>Pediococcus</i> (60)— <i>Leuconostoc</i> (61)— <i>Tetracoccus</i> (61)— <i>Lactobacillus</i> (61)— <i>Microbacterium</i> と <i>Wild-lactobacillus</i> (61)	
1. 分類	62
2. 筆者私見	64
3. 分類に対する種々の試み	71
有胞子乳酸菌	73
1. 有胞子乳酸菌の研究史	73
2. 菌学的性質	74
3. 2型現象	75
4. 分布	76
5. 自然分類上の位置について	77

## II. 生態

清酒醸造と乳酸菌	83
腐造酒と乳酸菌	91
1. 清酒もろみと腐造	91
2. 腐造の型	92
3. 腐造もろみの乳酸菌	92
4. 混合培養	95
5. 乳酸菌侵入の径路	97
6. 腐造もろみの有機酸	100
7. 腐造乳酸菌の殺菌	100
8. おわりに	101
耐塩性 <i>Pediococcus</i> , 進化・退化・分化	103
1. 醤油中の細菌研究の回顧	103
2. 耐塩性のない <i>Pediococcus</i> や <i>Staphylococcus</i> と <i>Pc. soyae</i> との関係ならびに 退化によって同一となった種属について	105
3. 分化・進化	113
サイレージにおける乳酸菌の生態論	116
[I] サイレージの沿革	116
[II] サイレージ調製法	117
[III] サイレージ熟成と微生物の関係	117



[IV] ビートトップおよびグラスサイレージにおける乳酸菌の生態 . . . . . 118

1. ビートトップサイレージにおける乳酸菌の生態 . . . . . 119
2. グラスサイレージにおける乳酸菌の生態 . . . . . 123

[V] 総括 . . . . . 132

蚕の軟化病と乳酸菌 . . . . . 138

[I] 生酸菌分離 . . . . . 139

1. グラム陽性球菌群 (*Streptococcus* 属菌株群) . . . . . 140
2. グラム陽性桿菌群 (*Lactobacillus* 属菌株群) . . . . . 142
3. グラム陰性桿菌群 (*Aerobacter* 属菌株, *Serratia* 属菌株) . . . . . 144

[II] 蚕児にたいする分離生酸菌の起病性 . . . . . 145

1. 桑葉飼育蚕に添食したときの病蚕発生 . . . . . 145
2. 無菌飼育蚕に添食したときの病蚕発生 . . . . . 145
3. ふたたび桑葉飼育蚕に添食したときの病蚕の発生 . . . . . 147

[III] 発病防除 . . . . . 148

[IV] 考察および今後の追究 . . . . . 148

乳酸菌のフェージ . . . . . 152

1. 各種乳酸菌フェージの分離 . . . . . 152
2. 乳酸菌フェージの増殖に及ぼす温度の影響 . . . . . 154
3. 乳酸菌フェージの増殖に及ぼす pH の影響 . . . . . 156
4. 乳酸菌フェージの増殖に及ぼす栄養条件の影響 . . . . . 158

### III. 形態と構造

細胞表層 . . . . . 167

1. Lysozyme に対する sensitivity . . . . . 168
2. *Streptococcus faecalis* R の cell wall の化学組成と仮説構造 . . . . . 171  
Cell wall の調整とその化学組成 (171)—Teichoic acid (176)—Rhamnose polymer (178)  
Mucopeptide (180)—*Sc. faecalis* R の cell wall の構造に対する speculation (182)
3. おわりに . . . . . 184

界面活性剤の適用 . . . . . 185

1. まえがき . . . . . 185
2. 界面活性剤による細胞内酵素力の変化 . . . . . 186
3. 各種界面活性剤による透過性の損傷 . . . . . 187
4. 界面活性剤による菌体内物質の漏洩 . . . . . 192
5. 凍結処理による菌体透過性の損傷 . . . . . 193

*Lactobacillus delbrueckii* における異常伸長 . . . . . 198

*Lactobacillus delbrueckii* の vitamin B<sub>12</sub> レスポンス . . . . . 213

*Pediococcus* における巨大化 . . . . . 219

1. 方法 . . . . . 219
2. 巨大細胞の性状 . . . . . 220
3. *Pc. cerevisiae* の正常細胞と巨大細胞および酵母との比較 . . . . . 220
4. 考察 . . . . . 221

Nicotinic acid とピリジン補酵素 . . . . . 223

1. まえがき . . . . . 223
2. Nicotinic acid . . . . . 223
3. ピリジン補酵素の生合成 . . . . . 226
4. ピリジン補酵素の菌体内含量 . . . . . 228
5. ピリジン補酵素の透過性 . . . . . 236
6. ピリジン補酵素の調製法 . . . . . 236
7. ピリジン補酵素の分析法 . . . . . 237

#### IV. 栄 養

栄養要求面からみた乳酸菌 . . . . . 243

[ I ] 改変 Thompson 合成培地の培地成分以外の栄養素 . . . . . 243

1. ビタミンまたはそれに類するもの . . . . . 243
2. アミノ酸およびペプチド . . . . . 249
3. 核酸関連物質 . . . . . 255
4. 糖 類 . . . . . 256
5. その他の栄養素 . . . . . 263

[ II ] Thiamine およびその関連化合物の微生物（乳酸菌）活性 . . . . . 264

[ III ] ビタミン要求型 . . . . . 267

バイオアッセー . . . . . 271

1. まえがき . . . . . 271
2. アミノ酸の定量法の特徴 . . . . . 271
3. 試料の調製法 . . . . . 272
4. 定量操作法 . . . . . 273
5. アミノ酸異性体 . . . . . 275
6. アミノ酸誘導体 . . . . . 276
7. ペプチドの要求性 . . . . . 279
8. 生育促進物質としてのジ-またはトリペプチド . . . . . 279
9. ペプチドの構造と活性 . . . . . 281
10. むすび . . . . . 284

薬剤耐性 . . . . . 287

1. 抗生物質耐性乳酸菌のビタミン, アミノ酸要求 . . . . . 288

2. 抗生物質と乳酸菌のビタミン代謝 . . . . . 292

3. Aureomycin 耐性菌の riboflavin 利用 . . . . . 300

4. Chloramphenicol 耐性化機序 . . . . . 300

5. その他薬剤の耐性化機序 . . . . . 305

発酵誘起因子 . . . . . 307

1. 緒言 . . . . . 307

2. イヌリン発酵性乳酸菌 F-101 菌について . . . . . 308

3. F-101 菌の栄養要求と蔗糖・イヌリン発酵因子の存在について . . . . . 309

4. 発酵誘起因子の性状について . . . . . 312

5. 考察 . . . . . 317

火落酸 . . . . . 319

1. 火落菌栄養についての研究 . . . . . 319

2. 火落菌の分離 . . . . . 319

3. 清酒中の未知因子の由来 . . . . . 320

4. Hiochic acid の精製, 分離 . . . . . 321

5. Hiochic acid の構造 . . . . . 322

6. Mevalonic acid の発見 . . . . . 323

7. Mevalonic acid (hiochic acid) から cholesterol の生成 . . . . . 324

8. 各種 isoprenoid の生合成 . . . . . 325

V. 生化学

ホモ乳酸発酵 . . . . . 331

[I] はじめに . . . . . 331

[II] 発酵中の細胞質内の様相 . . . . . 333

1. 細胞の大きさ, 細胞質内の広さ . . . . . 334

2. 細胞質内の無機イオン濃度 . . . . . 336

3. 細胞質内の助酵素の濃度 . . . . . 336

4. 細胞質内の pH 測定 . . . . . 337

5. 解糖代謝中間体の細胞質内濃度 . . . . . 337

[III] ホモ乳酸発酵と解糖系 . . . . . 339

[IV] ホモ乳酸発酵に関係する酵素の諸性質とその細胞内活性 . . . . . 341

[V] ホモ乳酸発酵とヘテロ乳酸発酵との関係 . . . . . 343

[VI] 乳酸発酵の酸素不感受性について . . . . . 344

[VII] Glucose よりの racemic lactic acid の生成機構 . . . . . 345

[VIII] Lactic acid のラセミ化 . . . . . 346

[IX] ATP の生成と消費の関係 . . . . . 347

[X] <i>L. casei</i> の lactic dehydrogenase と lactic acid 生成機構	348
ヘテロ乳酸発酵	351
1. Glucose の代謝	351
2. Fructose の代謝	358
3. Galactose の代謝	359
4. ヘテロ乳酸菌による二、三の物質の還元作用	359
5. ヘテロ乳酸発酵系酵素の細胞内活性	361
ペントースおよび gluconate の発酵	369
[I] ペントースを基質とする乳酸発酵の型	369
1. 各種乳酸菌によるペントース発酵試験	369
2. 発酵型式 (II) に対する CO <sub>2</sub> -塩の影響	370
3. <i>Sc. faecalis</i> および <i>L. thermophilus</i> T <sub>1</sub> の菌体によるペントースの代謝	373
4. ペントース, glucose および sedoheptulose に対する発酵試験の比較	374
[II] 乳酸菌類のペントース発酵能	376
1. 生育培地中の糖の種類とペントース発酵能	376
2. ペントース発酵能の発現様式	378
3. Sedoheptulose 発酵能の発現様式	379
[III] ペントースに対する sequential utilization について	379
1. 各種糖類の共存下におけるペントースの選択的代謝	379
2. 生育曲線とペントース発酵能	380
3. <i>L. thermophilus</i> T <sub>1</sub> にみられる二段生育曲線の誘因について	382
[IV] 無細胞標品 (sonicate) による lactic acid 生成	383
[V] 乳酸菌類のペントース代謝系	386
[VI] 乳酸菌類のペントースに対する特殊な発酵	389
1. 好氣的発酵	389
2. 還元的発酵	389
[VII] 発酵法による xylan からの lactate 調製	390
[VIII] 乳酸菌類による gluconate の代謝	390
マンニット・デキストラン発酵	395
1. マンニット発酵	395
2. デキストラン発酵	398
好気条件下の挙動	401
1. まえがき	401
2. 乳酸菌の末端呼吸系	401
3. Glycerin, mannitol の好気代謝	402
4. Glucose およびペントースの好気発酵	403

5. 糸状菌 <i>Rhizopus oryzae</i> の乳酸発酵	409
捲込発酵	413
<i>L. plantarum</i> を用いた捲込発酵 (414)	
Lactic acid の旋光性	419
発酵乳酸がラセミ体である理由 (420)——乳酸菌により D(-) および L(+)-lactic acid の作られる理由 (423)	
1. Racemiasse の研究	425
2. Racemiasse 形成	427
ペントース・イソメラーゼ	433
1. ペントース・イソメラーゼの定義	433
2. ペントース・イソメラーゼの生成	435
3. イソメラーゼの精製	436
4. Glucose isomerase の発見	437
5. イソメラーゼの諸性質	438
6. ペントース・イソメラーゼとヘキソース・イソメラーゼの同一性	439
7. 反応機構	441
8. いわゆる glucose isomerase の応用	442
NADH <sub>2</sub> peroxidase	449
乳酸菌の terminal oxidase 特に <i>Lactobacillus plantarum</i> の	
NADH <sub>2</sub> oxidase について	453
乳酸菌の catalase (455)——Dolin の NADH <sub>2</sub> oxidase-NADH <sub>2</sub> peroxidase system について (455)—— <i>L. plantarum</i> 11 の NADH <sub>2</sub> oxidase (455)	
<i>Rhizopus</i> 属菌の乳酸発酵	462
1. Lactic acid の光学的性質	464
2. Lactic acid の生成率を高くするところみ	464
3. <i>Rhizopus oryzae</i> の乳酸発酵の機構	468

## VI. 応 用

乳酸菌を利用する調製	471
Lactic acid の製造 (471)——Mannitol の製造 (471)——Dextran の製造 (472)—— <i>l</i> -Malic acid (472)—— <i>L</i> -Aspartic acid (473)——Acetoin (474)——ペントースに関連して (475)	
乳酸菌製剤	476
1. 腸内菌叢内における乳酸菌	477

X  
(13)

2. 腸内における乳酸菌の意義	480
3. 経口投与した乳酸菌の腸内における増殖と定着	484
4. 乳酸菌経口投与の臨床成績	488
5. 乳酸菌製剤の製造	490
6. あとがき	498
有孢子乳酸菌の利用	501
整腸剤 (501) — 食品添加用 (502) — チーズ等の製造 (502) — 食用カゼインの製造 (503) — 動物性食, 飼料の貯蔵 (503) — 豆腐粕の貯蔵 (504) — 野菜の貯蔵 (504) — Lactic acid 等の 製造 (504) — Catalase の利用 (505) — イソメラゼの利用 (505) — バイオアッセーへの応 用 (505)	
食品加工 (すぐき)	507
1. まえがき	507
2. すぐき菜の品種について	509
3. すぐき菜の栽培法	511
4. すぐき菜の病害について	512
根瘤病(Clubroot disease) (512) — 腰折病 (Damping off) (515) — 軟腐病(Soft rot) (515) — 黒腐病(Black rot) (516) — 白さび病(White rust) (516) — べと病(Downy mildew) (516) — モザイク病(Mosaic disease) (516)	
5. すぐき製造のためのすぐき菜の加工法	517
「 <sup>めん</sup> 面とり」および「 <sup>あらい</sup> 荒削り」 (517) — 荒押し (塩漬け) (517) — 水洗い (518) — 本漬け (519) むろ (室) 作用 (520) — 家庭ですぐきを作る場合 (521)	
6. 加工方法に対する微生物学的考察	521
7. すぐきの熟成に関与する乳酸菌	522
8. あとがき	527
結 語	528
菌名索引	531
事項索引	535

# 序 論





## 研究の経過\*

昭和6年の末ごろと記憶する。塩野義製薬の横山稔氏から乳酸製造に関する委託研究が京大の片桐研究室へ持ち込まれた。lactic acid は当時武田を初め二、三の製薬会社で造っていたが、清酒の速醸法が一般化し、また合成清酒も登場しようとする時期で、純度の高い製品が得られれば相当有利な仕事と考えこの委託となったものであろう。この仕事を私が担当するように指示された。もちろん文献は沢山あったが、当時乳酸菌は大変取り扱いの難しい細菌とされ、そのせいか菌株を保存しているところなど国内には全然なく、たとえあってもその菌株の実質はラベルとまったく無縁な雑菌に過ぎない状態であった。清酒醸造の方面など乳酸菌の関与が十分考えられながら、ほとんど研究に取り上げられておらず、また取り扱った経験者も近くにいないため、最初は菌株を取ってその性質を知る基本からはじめたので、今から考えると随分乱暴な実験を行なった。

甘藷 2kg ほどを蒸煮して甕の中へ打ち込み、5l の水と 500g ぐらいつの麴と  $\text{CaCO}_3$  を混入し急造麴室中で毎日1回攪拌保持すると比較的簡単に自然発酵が行なわれ、1週間ぐらいつると醪が固化して  $\text{Ca-lactate}$  の形成が知られる。この醪から Löhnis の方法、すなわち麴液とブイヨンの等量混合物に  $\text{CaCO}_3$  と寒天を加えた培地で平板培養すると透明な暈をもつ乳酸菌特有の小集落が出現する。これを拾って同じ培地に穿刺培養すると穿刺溝に沿って filiform または papillate の一様な繁殖を示し、表面にはほとんど繁殖しない。ここで知りえたことは一般の先入観にかかわらず、乳酸菌はけっして取り扱い難いものでなくむしろその取扱いは一般細菌よりは容易であり、一見して雑菌の混入を検知しうる利点ももち、穿刺培養はこの方法で少なくとも3カ月は保存可能であることも知られ、取り扱いに一応の自信を持つにいたった。栄養分に富む含糖培地を  $\text{CaCO}_3$  のごとき中和剤の存在下に  $30^\circ$  に保つこと自体腐敗の危険にさらされている。ことに自然発酵に放任するのであるから、乳酸発酵がたとえ行なわれても腐敗が併行するのは当然である。ところが数回繰り返した同様な実験において腐敗のため放棄したのはただ1回だけであったのでこの条件は乳酸菌にはとくに好適らしいと推定され、甘藷の代わりに澱粉を用いるとか、選択された強力乳酸菌種母を用いるという処置によって、後に並行複発酵式による乳酸製造法を案出する素地を得た。しかし乳酸製造法としては従来一般に行なわれているように  $48\sim 50^\circ$  という一般の雑菌が働かない高温で活動する *Lactobacillus delbrueckii* を用いるのが安全性の点で勝っている。しかし中温性菌でもこれを常に強力な状況に保持しその性能を十分発揮させるように使えば  $30^\circ$  の中性発酵が必ずしも危険でないし、密閉式発酵法の発展した今日では *L. delbrueckii* を使う方法が斜陽化しないのがむしろ不思議である。

\* 北原 覚雄