畜産における乳酸菌

森 地 敏 樹

農林省畜産試験場, 千葉市 280

Lactic Acid Bacteria in Animal Industry

Toshiki MORICHI

National Institute of Animal Industry, Chiba-shi 280

ま え が き

乳酸菌は、炭水化物を乳酸醗酵してエネルギーを獲得する細菌の総称であるが、栄養要求性が複雑な点にひとつの特長があり、多くの種類のアミノ酸、ビタミン類が存在する環境でなければ増殖できない。したがって乳酸菌は動植物界を中心に生息し、人間とも親しい細菌といえることができる。大昔から、人間はそれと知らずに乳酸菌の力を利用してきた。また反対に、乳酸菌のために迷惑を被る場合もある。

畜産という人間の営みも、乳酸菌とは因縁が深い。畜産が成立し、発展するとともに、そこに一群の乳酸菌が定着した。現在では、畜産界だけにしか存在しない菌種も認められていて、これは畜産のなかで進化し、選抜された乳酸菌と考えることができる。著者は、畜産における「人間」と「動植物」と「乳酸菌」の掛かり合いを基調とし、これに沿って最近の研究動向をまとめてみたいと考えた。本稿の前半では主として畜産における乳酸菌の生態について述べ、つぎに関連する研究の進歩についていくつかの話題を提供するつもりである。

ヒトと家畜の乳酸菌

ひと口に乳酸菌といっても、その種類は多く、生息している場所も同じではない。連鎖球菌(*streptococci*)を例にとると、ヒトの口腔、咽喉には *S. salivarius*, *S. mitis*, ヒトをはじめとする温血動物の消化管には *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. bovis* (ウシ), *S. equinus* (ウマ) が分布している^{58,249,297)}。また *S. pyogenes* はヒト, *S. agalactiae* はウシ(乳房炎)の病原菌である。これに対

して, *S. lactis*, *S. cremoris* および *S. thermophilus* は主として乳製品から分離される³⁰²⁾。このような乳酸菌の住み分けは興味深い現象である。

従来から、腸内細菌の代表として、*Escherichia-Aerobacter* 群および腸球菌 (*S. faecalis* など) が重視されることは周知のごとくである^{218,223,297)}。ところで MITSUOKA *et al.*¹⁷⁴⁾ は、腸内菌相の検索法を改良し、ヒトおよび各種動物の腸内でとくに優勢な細菌は、従来培養しにくかった *Bacteroidaceae*, *Peptostreptococcus*, *Catenabacterium*, *Bifidobacterium*, *Spirillaceae* などの偏性嫌気性菌ならびに *Lactobacillus* であることを明らかにした^{172,175)}。

彼らの成績によれば、腸内容物 1 g あたりの全菌数は $10^9 \sim 10^{11}$ であり、このうち *lactobacilli* は、ヒト (成人) $10^6 \sim 10^8$, ウシ $10^3 \sim 10^4$, ウマ $10^7 \sim 10^8$, ブタ $10^8 \sim 10^9$, ニワトリ (直腸) $10^8 \sim 10^9$ であった。また *streptococci* は、ヒト $10^6 \sim 10^9$, ウシ $10^4 \sim 10^8$, ウマ $10^7 \sim 10^8$, ブタ $10^7 \sim 10^9$, ニワトリ $10^3 \sim 10^8$ のレベルである。ウシでは個体差が著しいが、一般に腸内で乳酸菌の占める比率が低く、一方ニワトリ (十二指腸, 直腸) では *lactobacilli* がもっとも優勢であった^{172,175,221)}。またブタの腸内にも *lactobacilli* が多数常在することは多くの研究者が確認している^{147,267,326,347)}。

MITSUOKA¹⁷³⁾ は、ヒト、ブタおよびニワトリの腸管内に常在する *lactobacilli* の主要菌種は *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. fermenti* であることを明らかにした。また麻生ら⁷⁾ の成績では、乳児の腸管から分離される *lactobacilli* は *L. acidophilus* と *L. salivarius* のみであり、成人では *L. fermenti* がもっとも多く、つぎに

L. salivarius, *L. casei* の分離頻度が高かった。このほかにも、いろいろな種類の *lactobacilli* が腸内で検出されるが、いずれも菌数が少なく、一過性のものと考えられる^{72,172,173,267}。

ヒトの腸内では、*lactobacilli* は必ずしも支配的な菌種ではないが、ニワトリやブタではこの乳酸菌がもっとも優勢である¹⁷³。MORISHITA *et al.*¹⁹⁴の実験では、ヒトや酸乳由来の *L. acidophilus*, *L. casei* など無菌ヒナに単独で投与したときは、消化管内によく定着したが、これらの菌をニワトリ由来の菌株 (*L. acidophilus*, *S. faecalis* など) と組み合わせて投与すると、前者の増殖は妨げられ、腸管から排除される傾向が認められた。また乳製品由来の *L. jugurti* や *L. helveticus* はニワトリの腸内に定着しなかった。このように腸内に定着する菌型 (biotype) が動物種に個有である点は興味深く¹⁷³、腸内に生息する乳酸菌の宿主に対する意義を理解する上からも、腸内細菌叢の研究がさらに発展することが望まれる^{172,284}。

ここで母乳栄養児の消化管における最優勢菌種として、とくに小児科領域で重視されているビフィダス菌について簡単に触れたい。この菌は、*L. acidophilus* に近縁の乳酸菌として³⁸⁶、BERGEY'S Manual (第7版) では *L. bifidus* の種名で *lactobacilli* の仲間に加えられているが、分類上疑問点が多く、現今では *Bifidobacterium* とすべきことを提案する専門家が多い^{171,220,269}。MITSUOKA¹⁷³ は、ヒト、ウシ、ブタ、ニワトリなどの消化管から分離した多数のビフィダス菌を同定し、動物由来株は発育温度や炭水化物醗酵性の点でヒト由来の菌株と明瞭に区別できることを明らかにした。また吉岡³⁵⁸の成績によれば、人工栄養児や母乳比率 50% 以下の混合栄養児ではビフィダス菌の定着が不完全であった。この菌の生理的意義や発育促進物質 (ビフィダス因子) をめぐって多数の報文が発表されているが、ここでは紙面の関係で省略する。

ヒトや家畜では、消化管のほか、口腔や膣にも乳酸菌が常在する。口腔の *lactobacilli* は虫歯との関係で古くから研究されているが、とくに個有の菌種があるわけではない。口腔からは、*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermenti*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. cellobiosus* などが分離されているが^{50,51,278}、これらは消化管、植物、乳製品などにも分布する乳酸菌である。また膣に常在する *lactobacilli* (Döderlein 桿菌) も従来考えられていたような単一のものではなく^{51,169}、ROGOSA & SHARPE²⁷⁷ は、21 人の婦人から、*L. acidophilus* のほか、*L. casei*, *L. fermenti*, *L.*

cellobiosus, *Leuc. mesenteroides* などを分離した。なおニワトリの嗦の上皮には、特有の *lactobacilli* (*L. salivarius* および *L. fermenti* に類似) が共生的に定着しており、その生理的意義が注目される⁶⁸。

作物の乳酸菌

前節に述べたヒトと家畜の乳酸菌は、生態的にみて、2 群に分けることができる。第 1 のタイプは、*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *S. faecalis*, *Bifidobacterium* などのごとく、消化管や膣が本来の生息場所と考えられる乳酸菌である。第 2 のタイプは、外界から侵入し、動物体に一時的に滞在する乳酸菌であって、*L. casei* や *L. plantarum* がその例である。いずれのタイプの乳酸菌も、畜産界を循環しており、SANDINE *et al.*²⁸⁴は第 1 図のごとき模式的関係を考えた (単純化のため、家畜は乳牛で代表した)。そこでつぎにヒトと家畜の乳酸菌と比較する意味で、栽培植物 (作物) の乳酸菌を調べてみたい。

著者ら¹⁹¹は、農林省畜産試験場構内 (千葉市) の牧草 201 点の乳酸菌数 (*lactobacilli*) を測定したが、全試料のうち約 1/3 には事実上 *lactobacilli* が検出できなかった。また約 1/3 の試料は $10 \sim 10^2/g$ の菌数を示し、最高菌数はほぼ $10^6/g$ であった。一般に人畜生活圏に密接した地域の牧草は *lactobacilli* 数が高く、それから比較的離れた圃場内の試料は、その菌数が低い傾向を認め、人畜生活圏から相当数の乳酸菌が牧草に移行することが示唆された。MUNDT & HAMMER¹⁹⁶ は、亜熱帯の多湿地域で採取した作物 160 点 (主に野菜、穀物) の約 1/3 から *lactobacilli* を検出したが、一般に菌数は低く、陽性試料の 54% は $10/g$ 以下であって、 $4.6 \times 10^2/g$ を越える試料は 6 点に過ぎなかった。彼らは、この成績に基づいて、*lactobacilli* は植物界に広く分布するが、生きた作物の表面では増殖できないと考えた。これに対して WÖLLER²⁵¹によれば、ドイツの雨が多い季節には ムギ

第 1 図 畜産界における乳酸菌の循環²⁸⁴

類の細菌数が著しく増加し、8月には乳酸菌数が $10^8/\text{g}$ にも達した。著者ら¹⁹¹⁾の成績でも、夏期(6月~8月)に採取した牧草は、全般的に高い *lactobacilli* 数を示した。作物の汁液は乳酸菌には好適な培地であり^{232,291)}、健全な植物体の表面における乳酸菌の増殖は微々たるものであっても、一旦傷ついて汁液がにじみ出した部分には、乳酸菌はよく増殖できると考えられる。

作物から分離される *lactobacilli* のうち、主要な菌種は、*L. plantarum*, *L. fermenti* および *L. brevis* である。*L. casei*, *L. salivarius*, *L. cellobiosus* なども分離できるが、ごく少数であった。また *L. acidophilus* は分離されなかった^{195,196)}。これを動物系の乳酸菌と比較すると、優勢菌種の差異は非常に明瞭である。なお *L. fermenti* は動植物に共通して優勢なヘテロ乳酸菌であるが、植物由来株は 15°C でよく発育し^{171,196)}、アラビノースを醗酵できる点¹⁹⁶⁾が特徴的である。

作物には *lactobacilli* とともに、多くの乳酸球菌(*streptococci*, *leuconostocs*, *pediococci*)が存在している。もっとも優勢な菌種は *Leuc. mesenteroides* である。また消化管に常在する *S. faecalis* や *S. faecium* は、植物界にも広く分布している¹⁹⁵⁾。牛乳や乳製品で重要な菌種である *S. lactis* は、ヒトや家畜(咽喉、消化管)、土壌には見いだせないが、トウモロコシ、キャベツ、レタス、小麦などからしばしば分離されており³²⁰⁾、この菌は植物起源と考えられる^{265,305)}。

作物に比較的少数ながら広く分布する乳酸菌がもともとどこから来たものかについてはまだ定説はない。しかし一般には、風や昆虫を介して、人畜生活圏から植物に伝播すると考えられる¹⁹⁵⁾。ところで周知のごとく、飼料作物をサイレージとして貯蔵する際には、乳酸醗酵が優勢になれば調製過程の養分損失が少なく、品質の高いものが得られる。作物を収穫する過程では、器具などからも乳酸菌が移行し^{158,321)}、また乳酸醗酵に有利な条件が与えられれば²²⁹⁾、材料草の乳酸菌(代表的な菌種は *L. plantarum*)は急速に増殖することはいうまでもない^{141,222,229,230,287,290,291)}。なお芥田ら⁵⁾の成績によると、*L. plantarum* を増殖させたサイレージを食べたウシの腸管から、この菌が多く検出された。これは第1図に示した乳酸菌が作物から家畜へ移行するひとつの例であらう。

畜産物の乳酸菌

越智・勝部²¹⁹⁾によれば、健康な乳牛(30頭, 114分房)から採取した前搾り乳の約80%は $10^8/\text{ml}$ 以上の細菌数を示した。乳房内に常在する主な細菌は *Micro-*

coccaceae, *Bacillaceae*, *Corynebacteriaceae* であるが、乳酸菌(*S. agalactiae*, *S. zymogenes*)もかなりの頻度で検出される^{64,219)}。ただし牛乳に広く分布する *S. lactis* は、乳房内には存在しない^{271,285)}。搾乳過程では、牛体、土、草、飼料、器具、人間などから、いろいろな細菌が牛乳に入りこむ²⁰²⁾。その結果、生乳からは各種の *streptococci* が分離されるが^{1,108,110,208,207,239,288,289)}、この中で主要な菌種は *S. lactis* と *S. faecalis* である。たとえば佐々木・中江²⁹⁹⁾の成績によれば、わが国の生乳から1年間にわたって分離した *Streptococcae* 193株のうち、*S. lactis* が48%、*S. faecalis* が21%を占めた。すでに述べたごとく、前者は植物起源と考えられ、後者は動物(腸管)に由来する。*S. lactis* は、かつて牛乳酸敗の原因菌として重視された。1902年の調査(E. WALKER)では、生乳に分布する細菌の95%以上が *S. lactis* であったといわれるが²⁸⁵⁾、搾乳方法や低温流通技術が進歩した現代においては、生乳におけるこの菌の分布比率は低下する傾向がある。また生乳から、菌数はそれほど多くないが、*leuconostocs*(主として *Leuc. mesenteroides*)と *pediococci* がしばしば分離される^{91,247,289)}。

HAMMER & BABEL⁹⁸⁾によれば、*lactobacilli* も乳房内には存在しないが、搾乳し終わった生乳には広く分布し、その菌数は $10^2 \sim 10^4/\text{ml}$ 程度である^{118,303)}。しかし1mlに1個以下という報告例もあり^{117,247)}、一般に菌数自体はあまり高くない。生乳へは、牧草、サイレージ、その他の飼料、牛舎のほこり、乳工場の空気などを通して侵入するといわれている^{66,140,212,248,299)}。牛乳に存在する主な菌種は *L. casei* と *L. plantarum* であり、ほかに *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. buchneri* などもしばしば検出される^{117,247,289,299)}。牛乳から硬質チーズを製造すると、殺菌工程で一旦 *lactobacilli* 数は急減するが、チーズの熟成に伴って *L. casei*, *L. plantarum* が最優勢となる^{66,190,247,299,306)}。最近、ミシガン湖底に1世紀以上、沈んでいたチーズが発見されたが、中心部には $3 \times 10^4/\text{g}$ の細菌が生存し、そのすべては *L. casei* 近縁の乳酸菌であった¹⁶⁸⁾。

食肉(ウシ、ブタ、ニワトリ)や肉製品(ハム、ソーセージ、ベーコンなど)にも、*streptococci*, *pediococci* および *leuconostocs* が広く分布する^{22,54,116,139,126,250,268)}。たとえば動物の腸管に常在する *S. faecalis* や *S. faecium* は³⁴⁵⁾、食肉、ハム、ソーセージにも検出され^{108,121,348)}、また *S. lactis* も各種肉製品から分離されている¹³⁰⁾。

一方 *lactobacilli* も生肉に存在し、酸素を通さないフィルムで包装して1週間嫌氣的に冷蔵すると、その菌数

はほぼ $10^3 \sim 10^8/\text{g}$ から $10^5 \sim 10^8/\text{g}$ まで増大して、ほかの細菌を圧倒する^{90,260}。また REUTER²⁶⁸ の成績によると、ドライソーセージの *lactobacilli* 数は $10^5 \sim 10^9/\text{g}$ であった。肉製品（醗酵ソーセージ、ハムなど）に分布する *lactobacilli* のうち、主なものは *L. plantarum* と非定型的 *streptobacteria* である⁸⁰⁰。後者は、*L. casei* および *L. plantarum* と似ているが、いずれにも分類できない中温性ホモ乳酸桿菌であり、肉製品に広く分布するほか²⁶⁸、サイレージ、乳製品などからもしばしば分離されている^{126,171,247,299}。1940 年に調査した成績 (L. B. JENSEN & L. S. PADDICK) では、醗酵ソーセージから *L. plantarum* のほかに、*L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. lactis*, *L. fermenti*, *L. casei*, *L. brevis* などが分離された⁸⁰⁰。これに対して 1961 年には *L. plantarum* と非定型的 *streptobacteria* しか検出されていない⁶⁴。すなわち 1940 年頃は、肉製品の *lactobacilli* は主としてブタ腸管に由来したが、食肉加工の衛生状態が著しく改善された現代では、この汚染系路はほぼ遮断されたことを示している。したがって肉製品の *lactobacilli* は、牛乳から分離されるものとかなり類似しており、土、空気、植物起源の菌が食肉工場に定着していると考えられる⁸⁰⁰。ただし *L. viridescens*²¹⁷ は特筆に値する。これはソーセージなどの緑変の原因菌として知られており、稀に牛乳や植物から検出された例もあるが^{28, 170, 195}。一般的には肉製品だけに分布する特異なヘテロ乳酸菌である²⁹⁹。なお肉製品の不快臭やスライムが *lactobacilli* によって生ずる場合もあることが知られている^{22, 54, 60, 300, 328}。

卵に分布する細菌の由来と侵入増殖の経過については、佐藤²⁹²の総説に述べられているが、乳酸菌は別に重要ではない。乳に付着している乳酸菌は、主として腸管由来の *S. faecalis* とその類縁菌である。*S. faecalis* はかって乾燥粉卵の褐変を防ぐ目的で、卵白の醗酵（糖除去）に利用された²⁸⁷。

周知のごとく、畜産加工では、スターターとして積極的に乳酸菌を添加する。乳加工に用いる乳酸菌として重要な菌種は、*S. cremoris*, *S. lactis*, *S. diacetylactis*, *S. thermophilus*, *Leuc. citrovorum*, *L. jugurti*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* などである²⁰⁴。この中には、*S. cremoris* や *L. jugurti*（高酸型ブルガリア菌²³⁸）のように、乳製品以外の材料からはまず分離できないと思われる菌種が含まれているが、この点は次節で触れたい。またドライソーセージのスターターとしては、*L. plantarum*, *P. cerevisiae* などが重要である^{55, 269, 300}。

乳酸菌の進化

乳酸菌のような栄養要求性の複雑な細菌は、もっと栄養要求の単純な細菌から欠損突然変異によって生じたという学説がある。すなわち中山²⁰⁹によれば、乳酸菌は系統発生的に原始的な細菌だから乳酸醗酵しかできないのではなく、いろいろな細菌がアミノ酸、ビタミン、糖類などをそのままの形で楽に利用できる環境の下で、各種の合成機能を失って、ひとつのグループに縮退（収斂的進化）したと考えることができる。つまり乳酸菌の起源はおそらく多能的である。たとえば坂口²⁸⁰は *Staphylococcus* から *Pediococcus* へ、中山²⁰⁸や光岡¹⁷⁰は *Bacillus* から *Lactobacillus* への系統発生を論じた。

すでに述べたごとく、*L. plantarum* は口腔、植物、サイレージ、牛乳、チーズ、肉製品など、畜産領域にも広く存在する野生的な乳酸菌である。この菌は、細胞壁にジアミノピメルン酸とリビトール型タイコ酸 (teichoic acid) を有する点で、ほかの *Lactobacillus* よりもむしろ *Bacillus* に似ている^{9, 41, 109}。また *L. plantarum* のなかには、カタラーゼ陽性^{44, 119, 344}、運動性^{62, 96}、硝酸塩還元性²⁷⁸など、乳酸菌らしくない性格をもった菌株が知られている。したがって *L. plantarum* は、*Bacillus* と *Lactobacillus* の接点に立つ乳酸菌と考えることができる。

第2図に DAVIS⁵² の描いた *lactobacilli* の系統発生図を示した。光岡¹⁷⁰も、さらに詳細な図式を発表している。第2図で *Bacillus* から *L. plantarum* への流れは、多くの研究者が妥当なものと考えている。周知のごとく、*Bacillus* の中には、嫌気条件下でホモ乳酸醗酵を営む菌種が存在する^{210, 311}。たとえば細菌の分類書として権威ある BERGEY'S Manual (第7版)に *L. thermophilus* として記載されている乳酸菌が、実は *B. coagulans* であった²⁹⁹。一方カタラーゼ活性をもたない有胞子乳酸菌 (*Sporolactobacillus inulinus* など) も、北原^{181, 182, 183}や中山²¹¹によって分離されており、とくに後者の菌は胞子形成と運動性がなければ、*L. plantarum* のイヌリン醗酵株と一致する。しかも *Bacillus* の胞子形成能は、突然変異によりしばしば失われることはよく知られている^{17, 272, 317}。

つぎに第2図の *L. plantarum* から各種の *lactobacilli* が生じた経過を裏づける事実、現段階ではそれほど多くない。DAVIS⁵² は分類学的知見から推論して、ヘテロ乳酸桿菌はホモ乳酸桿菌から派生したと考えた。DNA の全塩基に対するグアニンとシトシンの比率 (GC%) は、細菌の近縁関係を判断するひとつの根拠と

第2図 *Lactobacilli* の系統発生⁵²⁾
() 内は DNA の GC%^{71,100)}

なるので¹⁵⁵⁾, 第2図にその数値^{71,100)}を記入した。その結果, GC% から考えると DAVIS⁵²⁾の図式はまだ十分満足すべきものでないことが分かる。光岡¹⁷⁰⁾は, *L. plantarum* (植物など, 広く分布)→*L. salivarius* (動物)→*L. acidophilus* (動物)→*L. helveticus-jugurti* (乳製品)の系路を想定しているが, これは前述の生態的知見と考え合わせると理解しやすい。また炭水化物の利用性を比較すると, *L. plantarum* は五炭糖, 六炭糖, 二糖類, 三糖類, 糖アルコールなどを幅広く醗酵できるが *L. salivarius*, *L. acidophilus* の順に利用し得る炭水化物の種類が少なくなり, ついに乳製品に馴化した *L. jugurti* は乳糖とぶどう糖(六炭糖)しか醗酵できない。そしてさらに極端な例として, *L. bulgaricus* の中には乳糖がなくては満足に増殖できない菌株さえ存在する事実は^{112,810)}, 畜産における乳酸菌の進化という観点から注目し得る。

一方 *streptococci* の中にも, 野生的な乳酸菌が存在する。すなわち動物の腸管を中心に広く生息する *S. faecalis*, *S. faecium* など (D *streptococci*) には, 運動性あるいはカタラーゼ活性をもつ菌株が多数報告されており^{119,120,146,154,344)}, 丁度 *lactobacilli* における *L. plantarum* とよく対応する。ORLA-JENSEN (1943) は, *S. faecalis* から *S. lactis* が生じたと考えた¹⁰²⁾。GC% をみると, *S. faecalis* 34.5~38.5¹⁰⁰⁾, *S. lactis* 33.8~36.9⁸⁸⁾で, 両者の値はかなり近似している。GARVIE⁶⁹⁾ は, *S. lactis* にも *S. cremoris* にも分類できない N

streptococci を生乳から多数分離した。この菌の性質はむしろ *S. bovis* と共通性があり, ある意味では *S. faecalis* と *S. lactis* の中間に位置すると考えることもできる。また *S. lactis* をヘミンとともに培養すると呼吸活性が増大したという報告もあり³⁰⁷⁾, この乳酸菌にはまだ野生的な性質が残っていると考えられる。

これに対して, *S. cremoris* の起源はまったく謎である²⁸⁵⁾。典型的な *S. cremoris* は, 稀に生乳から分離されるほかは¹⁰²⁾, スターターを使った乳製品 (チーズなど) 以外の自然界にはほとんど存在せず^{180,285,305)}, 専ら乳業界で生息する乳酸菌といえることができる。一般的には, *S. cremoris* は *S. lactis* (あるいは *S. diacetylactis*) に由来し, 後者が牛乳という環境にさらに適応馴化した変種といわれている^{35,103,305)}。しかし未だに *S. lactis* から *S. cremoris* を得たという確実な報告例はない。

乳酸菌の育種

前節でとり上げた *S. cremoris* は, 畜産の発展に伴い, 牛乳が十分供給される時代になってから, その中で馴化し, 選抜された有用乳酸菌の1例であって, ある意味では人間が育成した細菌と考えることもできる。したがって現存の乳酸菌を積極的に育種改良することが, ひとつの研究課題として浮き上がってくる。この可能性を探るためには, まず乳酸菌の分類に関する最近の進歩について簡単に触れなければならない。

Lactobacilli を例にとると, 形態, 生理, 生化学的性状による ORLA-JENSEN (1919) の分類を基礎として, 多くの研究者^{19,20,50,131,173,242,274,276,278,299,342)}の努力で現行の分類大系が完成された¹⁷⁵⁾。そしてこの分類は, 血清学的方法^{298,304)}, 細胞壁の化学組成^{41,109,301)}, 栄養要求性^{65,276,278)}, 物理化学的測定 (赤外吸収)⁸⁶⁾, エステラーゼ型¹⁹²⁾, 脂肪酸組成³²⁷⁾, 細胞成分のクロマトグラフィ^{23,24)}, 数値分類法²⁹⁶⁾など, いろいろな角度から吟味され, ほぼ妥当なものとして支持されている。また第2図に示したような DNA の GC% によって, *lactobacilli* の種の異同を論ずることができる^{71,72,100,166,170,322)}。最近では, 単に DNA の塩基組成を比較するだけでなく, DNA-RNA¹⁶⁷⁾ あるいは DNA-DNA^{66,808)} のハイブリッド形成により, さらに直接的に *lactobacilli* の近縁性を確かめることができるようになった。

ひとつの例を挙げよう。わが国でもヨーグルトや醗酵乳飲料の製造に愛用されるブルガリア菌は, BERGEY'S Manual (第7版) には単に *L. bulgaricus* と記載されている。しかしこの菌は, 細胞顆粒の有無, 乳酸生成量, 旋光性, 血清学的性質などにより, 2つの菌種 (*L. jugurti*

と *L. bulgaricus*) に分けられることが、かなり以前から認められていた^{170, 288, 276, 299, 353}). 両菌種はパンテチン要求性でも区別できる¹¹²). 一方、分類学的性状から判断して、*L. jugurti* は *L. helveticus*, *L. bulgaricus* は *L. lactis* と近縁であると推測されていた²⁷⁶). そしてこれらの菌の DNA について得られた成績は、従来の知見を全面的に支持する。すなわち GC%⁷¹(第2図) から判断して *L. jugurti* と *L. bulgaricus* はまったく別の菌種であり、またほぼ 100% の DNA-DNA ハイブリッド形成がおこることから、*L. jugurti* と *L. helveticus*, ならびに *L. bulgaricus* と *L. lactis* の密接な近縁関係が立証された^{56, 308}). 著者は Dr. SHARPE の研究室で、*L. helveticus* に紫外線を照射してマルトース非醗酵性の変異株を得たが、これは *L. jugurti* とまったく区別ができなかった。

突然変異を利用して乳酸菌を改良しようとする試みとしては、いまのところジアセチル生産性の向上に目標をおいたものが多い^{58, 88, 142, 352}). YOKOVLEV & SHMELYOVA³⁵²) は紫外線またはγ線照射によって、親株よりジアセチル生産量が 2~3 倍多く、酸生成力は変らない *S. diacetylactis* 変異株を得た。一方、BURROW *et al.*²¹) は、*S. diacetylactis* をニトロソグアニジン処理して、ジアセチルはまったく生産しない代りに、酸生成力強い変異株を得た。*S. lactis* でも突然変異による酸生成力の向上が報告されている¹¹). また乳酸菌の蛋白分解力を高める実験では、X線処理により *L. helveticus* と *L. casei* でかなり有望な変異株が得られ、チーズの熟成期間を短縮できるといわれている^{58, 59}).

突然変異による優良菌株の選抜は偶然的要素が強く、常に成功するわけではない。これに対して、目的とする遺伝子 (DNA) を直接乳酸菌に移入する方法が考えられる²⁸⁸). 一部の *streptococci* (とくに Lancefield グループ H に属する菌種) では形質転換 (transformation) が可能であり、ある菌株から別の菌株にストレプトマイシン抵抗性などの遺伝形質を移すことができる^{240, 245, 246}). しかし畜産領域で重要な *N. streptococci* (*S. lactis* など) では形質転換が認められなかった²⁴⁴). MILLER & MORGAN¹⁶⁵) は、*S. lactis*, *S. lactis* var. *maltigenes*, *S. diacetylactis* の間で DNA-RNA ハイブリッド形成がきわめて高率におこる事実を確認したが、ストレプトマイシン抵抗性などをマーカーとした形質転換には成功していない。一方 MØLLER-MADSEN & JENSEN¹⁷⁶) は *S. diacetylactis* の DNA を *S. lactis* に作用させて、低頻度ではあるが、くえん酸醗酵性の *S. lactis* を得た。また *S. lactis* にファージを介して遺伝形質 (ストレプトマイ

シン抵抗性など) を伝達する形質導入 (transduction) の成功例も知られており²⁸⁸)、この分野の研究は今後の発展が期待される。

一方 WEIXL-HOFMANN^{286, 287}) は、*L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* など 7 種の *lactobacilli* を石こう培養して、孢子の形成を認めた。この孢子は強い耐熱性を有し、発芽すれば元の乳酸菌に戻ったといわれている。もしも *lactobacilli* に孢子形成能をもたせることができれば、実用的には大変便利である。この実験は著者も追試したが成功せず、その後否定された¹²²). 確かに古典的な細菌分類学の立場からは信じられない現象であるが、前述した *L. plantarum* と *Bacillus* の近縁性を考えると、著者はまだ WEIXL-HOFMANN の成績には検討の余地があると思っている。

乳糖 醗 酵 性

ヒトの腸管から分離される *lactobacilli* には、乳糖を醗酵できない菌株がかなり存在する⁷). また肉製品に局在する *L. viridescens*²¹⁷)、植物起源の *L. delbrueckii*, 清酒の火落菌 (*L. homohiochii*, *L. heterohiochii*)¹²⁸) はいずれも乳糖非醗酵性であり、ライ麦のパン種からも乳糖を利用できない *lactobacilli* が多数分離できる。これに対して、乳・乳製品に分布する乳酸菌はまず例外なく乳糖醗酵性を有することは、当然とはいえ重要な特徴である。乳糖が細胞内に取りこまれたあと、ホモ乳酸菌では主として Embden-Meyerhof-Parnas 系、ヘテロ乳酸菌では Hexose monophosphate 系を経て乳酸を生ずることはほぼ定説となっており、中江²⁰⁰)、光岡¹⁷⁰) の総説もあるので、本稿では乳糖が細胞に取りこまれて、ぶどう糖とガラクトースに分解されるまでの経過をとり上げたい。

乳酸菌による乳糖の取りこみと分解は、従来ほとんど問題とされなかった。その理由は、大腸菌の β-ガラクトシダーゼ (β-gal) が実に精しく研究され、この乳糖分解酵素が細菌、酵母、カビはもちろん、動植物界にも広く存在することが知られていたため^{163, 246})、乳酸菌も多分大腸菌と同じと安易に考えられたためであろう。実際に 1952 年 MONOD & COHEN¹⁷⁷) は *L. bulgaricus* に存在する β-gal について報告し、また *S. lactis* (UN および ATCC 7962) でも本酵素が証明された^{80, 159, 380}).

しかし現今の知識から判断すると、β-gal をもつ菌株は *S. lactis* の中では例外的なものである。(7962 は牛乳由来の菌株であるが³⁵⁸)、*S. lactis* としては血清学的に疑問がある¹⁶⁴.) McFETERS *et al.*¹⁵⁹) は、約 50 株の lactic *streptococci* を調べたが、前記 7962 を除き、い

第3図 PEP 依存性フォスフォトランスフェラーゼ系

HPr: ヒスチジンを含む熱安定性の可溶性蛋白質

ずれの菌株にも β -gal 活性は検出されなかった。たとえば *S. lactis* C₂F の細胞抽出液は、乳糖を分解できないが、フォスフォエノールビルビン酸 (PEP) の共存下でりん酸化された乳糖ならば加水分解できる¹⁶⁴⁾。そして大多数の *S. lactis*, *S. diacetylactis*, *S. cremoris* には、PEP 依存性のフォスフォトランスフェラーゼ系^{99, 143, 279)} (第3図) が存在することが証明された^{162, 163, 164)}。この系で鍵となる酵素はフォスフォ- β -ガラクトシダーゼ (β -Pgal) であり、りん酸化された乳糖はぶどう糖とガラクトース-6-りん酸になって、代謝される。また乳糖の透過性に関しては、第3図の HPr が重要な役割を演ずる。この系をもつ *E. coli* にコールドショックを与えて HPr を除くと、 β -ガラクトシド透過能が失われた¹⁴⁴⁾。したがって *S. lactis* の場合も、第3図の P-HPr でりん酸化される過程で乳糖が細胞内に取りこまれると考えられる^{162, 163)}。PREMI *et al.*³⁵⁴⁾ によれば、大多数の *lactobacilli* (*L. acidophilus*, *L. cellobiosus*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum* など) には β -gal と β -Pgal が共に検出された。しかし *L. casei* には β -Pgal しか存在しない事実は興味深い。

乳糖醗酵性は意外に不安定な性質であって、乳糖を利用できない *S. lactis* や *S. cremoris* はしばしば報告されている^{101, 104, 161, 356)}。この中には自然に生じた変異株のほかに、ぶどう糖培地での継代、連続培養、あるいはアクリフラビン処理による変異株も含まれる。最後の例は、*lactic streptococci* の乳糖代謝に核外遺伝子が関与している可能性を示唆する。DEMKO *et al.*⁵⁷⁾ が分離した乳糖の能動輸送系を欠く *S. lactis* 変異株は、ぶどう糖培地では正常なホモ乳酸醗酵を行うが、乳糖を炭素源とする場合は乳酸よりもずっと多量の乳酸と酢酸を生成した(通気培養では酢酸, CO₂, ジアセチルなど)。Streptococci でビルビン酸→乳酸の変化を解媒する乳酸脱水素酵素は、果糖-1,6-二りん酸(解糖系の中間体)により活性化される³⁶⁰⁾。したがって DEMKO *et al.*⁵⁷⁾ の変異株では、乳糖が透過する速度が極端に遅いため、果糖二りん酸の細胞内濃度が著しく低下し、乳酸以外の醗酵生産物を生ずる代謝系路が表面に出たと解釈される。また前述の *S. lactis* UN 株は、 β -gal を有するとともに、乳糖をラクトビオン酸に酸化して、これをガラクトースとグ

ルコン酸に分解する酵素系³¹⁴⁾ をもち、グルコン酸は Hexose monophosphate 系を経て代謝される³⁶⁰⁾。したがって *lactic streptococci* による乳糖醗酵の幹線系路は Embden-Meyerhof-Parnas 系であることは間違いないとしても、それ以外にヘテロ型の代謝系が潜在する可能性が十分考えられる。

なお最近 GILLILAND *et al.*⁸⁰⁾ は、 β -gal を添加した牛乳中で *S. lactis*, *S. cremoris* の酸生成が促進されると報告した。彼らの成績では、乳糖やガラクトースよりも、ぶどう糖の方が容易に利用されたと考えられる。しかしペプトン-酵母エキスを培地で増殖速度を比較すると、*S. lactis* では糖源(ぶどう糖, ガラクトース, 乳糖)による差がほとんどないのに対し²⁸⁶⁾, *S. cremoris* では乳糖を含む培地で増殖がもっとも速やかな例が認められた(著者ら, 未発表)。このように、植物にも広く生息する *S. lactis* と、牛乳にまったく馴化した *S. cremoris* の乳糖利用性を比較することは、実用上はもちろん、生態的にも興味深い問題点と思われる。

乳酸菌の蛋白質、脂肪分解作用

乳酸菌 (*streptococci*, *lactobacilli*) の蛋白分解力は比較的微弱であるが、チーズの熟成で重要な役割を果たすため、精しく調べられている。この点については、すでに中江^{200, 201)}, 大宮・佐藤^{224, 225)} の総説があるので、本稿ではごく最近の研究を中心に簡単に述べたい。

乳酸菌のプロテアーゼは主として細胞内に存在する²²⁵⁾。*S. cremoris*, *S. lactis*, *L. helveticus* ならびに *L. bulgaricus* から抽出されたプロテアーゼは、中性付近に至適 pH をもち、乳蛋白の中ではとくに α_s -カゼインに対する分解作用が強い²²⁶⁾。そして大宮・佐藤は、*S. cremoris* と *L. helveticus* の細胞内プロテアーゼが自己融解により放出され²²⁶⁾、チーズの熟成過程でカゼインを分解することを実証した^{227, 228)}。

また苦味ペプチド^{198, 324)} は実用上大きな問題であるが、スターター乳酸菌 (*S. cremoris* など) の中にはチーズに苦味を生ずる菌株が知られている^{61, 84)}。その発生機構としては、長沢¹⁹⁸⁾ の指摘したごとく、苦味ペプチドは主としてレンネットの作用で生ずるが、スターター乳酸菌がこれを分解できないためにチーズに苦味が残ると考

えられる⁶¹⁾。しかし *S. cremoris* がカゼインから直接苦味ペプチドをつくる 例も報告されており^{84,97,224)}、苦味発生防止とも関連して、今後の研究発展が望まれる。

一方、乳酸菌のプロテアーゼが、細胞機能の面で果す役割も最近注目されている⁸⁸⁾。たとえば *S. lactis* は約 8 種の アミノ酸を要求するが³⁵⁴⁾、牛乳に含まれる遊離アミノ酸はごく微量に過ぎない。それにもかかわらず、乳酸菌が牛乳によく生えることは、乳蛋白を分解して必要なアミノ酸を獲得する可能性を示唆する²⁶⁵⁾。COWMAN & SPECK⁹⁷⁾ によれば、*S. lactis* (No. 3) は細胞内プロテアーゼとともに、細胞膜に結合したプロテアーゼをもっている。膜結合プロテアーゼは α_{s1} -カゼイン B を 11 個のペプチドに切断した²¹³⁾。そして細胞内に取りこまれたペプチドは、細胞内プロテアーゼ (ペプチダーゼの作用も有する³⁹⁾) によってアミノ酸となり、菌に利用されると考えられている^{312,388)}。従来から、*S. lactis* の酸生成が早い株と遅い株では、プロテアーゼ系に差があるのではないかと推測されてきた^{29,70,95)}。WESTHOFF *et al.*⁸⁴⁰⁾ は、前述の *S. lactis* No. 3 から、菌生成の著しく遅い変異株 (22°C で牛乳凝固に 72 時間を要する) を分離した。この変異株の膜結合プロテアーゼは、親株と同じである。しかし細胞内プロテアーゼが、分子量、最適 pH、3°C での安定性、基質特異性などの点で、親株と違うことが確認された^{339,341)}。この変異株の場合は、基質特異性から判断して、増殖に必須なグルタミン酸またはプロリンの遊離が不完全なため、發育速度が遅いと考えられる³³⁹⁾。

乳酸菌の脂肪分解作用についてはまだ不明の部分が多い。従来から乳酸菌におけるリパーゼの存在はむしろ否定的に考えられてきた^{200,205)}。チーズのフレーバー成分として、脂肪酸とその分解物が重要なことはよく知られているが、この場合脂肪酸は主として牛乳由来のリパーゼ作用で生ずるか²⁶⁶⁾、あるいは乳酸菌の酵素作用によりアミノ酸から生ずるといわれている²⁰³⁾。しかし最近の報告を見ると、乳酸菌が非常に微弱ながら脂肪分解能をもつことは確かなようである^{67,264,293,294,328)}。一方、乳酸菌には広くエステラーゼが存在し、とくに *L. casei*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *Leuc. mesenteroides*, *S. faecalis* などには強い活性が検出される^{163,192,384)}。そして OTERHOLM *et al.*²³⁵⁾ は、*L. plantarum* のアセチルエステラーゼを部分精製した。この酵素はトリブチリンの乳濁液を分解できないのでリパーゼとはいえないが、チーズ成分のエステル結合を切って、フレーバー発生に寄与する可能性が考えられる¹⁹²⁾。

乳酸菌の共生と競合

畜産領域では、2 種類以上の乳酸菌を混合培養してスターターに使うことが多い。醗酵バターやチーズ用の伝統的スターターは、*S. cremoris*, *S. lactis* および *Leuc. citrovorum* の混合培養であり、現今ではさらに *S. diacetylactis* を加えたものも普及している⁴⁰⁾。もちろんこのように複雑な混合培養は、始めから意識的につくり上げたものではない。昔のバターやチーズ製造は自然の乳酸醗酵にまかせるか、あるいは偶然よくできた製品の一部を共菌式に添加して行われた。1890 年頃に酸度とフレーバーの優れた醗酵クリームを「天然スターター」として、殺菌クリームに加えて良質のバターを製造する技術が生まれた⁶⁴⁾。そして 1919 年になって、好ましいバタースターターには 2 つのタイプの乳酸菌 (酸生成菌とフレーバー生産菌) が共存することが明らかにされた⁹²⁾。

このいわば自然が教えてくれたバタースターターの共生関係はかなり複雑なものである。すなわち *Leuc. citrovorum* がジアセチルを生産する最適 pH は 4.1~4.4 であるが^{64,98)}、この菌は乳糖からほとんど乳酸をつくれなため、酸生成菌 (*S. cremoris*, *S. lactis*) の協力が必要となる。また *S. lactis* のつくるフォリニン酸 (シトロバウム因子) が *leuconostocs* の發育を促進し²¹⁸⁾、前述した *streptococci* の蛋白分解作用も共生菌に有利に働く可能性が考えられる^{64,82)}。ヨーグルトの場合にも、*L. bulgaricus* と *S. thermophilus* の混合培養を使うことがあるが、この共生関係¹³⁾については矢野³⁵³⁾の総説に紹介されている。

チーズの製造に使うスターターは、バター用と違って、原則としてフレーバー生産菌は不用である (カテージチーズやクリームチーズは別)。したがってニュージーランドなどでは、*S. cremoris* の優良単一株を使用していた¹⁴⁸⁾。しかし酸生成力、苦味発生、ファージ感受性などを考慮すると、チーズスターターの場合も、2 種類の酸生成菌 (*lactic streptococci*) を対にして使う方法が安全といわれている。たとえば *S. cremoris* (または *S. lactis*) の単一株を原料乳に 2% 接種するよりも、2 種の菌株を 1% ずつ接種した方が、一般に酸生成が早く、チーズの製造時間が短縮できる^{45,137,148,241)}。またチーズに苦味を生ずるが酸生成力の強い菌株と、逆に苦味は生じないが活性の弱い菌株を組み合わせれば、苦味のない良質のチーズが得られる可能性が大きい⁶¹⁾。したがって性質の違う菌株を 1 対にしてスターターに使う方法はあると考えられる。このためには、個々の菌株について、牛乳における酸生成力、活性の季節的変動、世代時

間、不快なフレーバーの有無、蛋白分解力、ファージ感受性などに関する情報を系統的に整理して活用する必要がある⁴⁰⁾。

最近、2種以上の乳酸菌を組み合わせた混合培養を何回か植えつき、菌のバランスがどのように変化するかを調べた報告がいくつか発表された^{260,261,381)}。REDDY *et al.*²⁶¹⁾ の成績によると、*S. cremoris*, *S. lactis*, *S. diacetylactis* の3菌種を混ぜて継代培養したとき、菌株の相違により、(1) *S. cremoris* が他の2菌種を圧倒して優勢になる場合、(2) *S. diacetylactis* が優勢になる場合、(3) 3菌種が安定に共存する場合など、いろいろなパターンが認められた。*S. cremoris* や *S. diacetylactis* が優勢となる理由としては、これらの菌株が抗菌性物質を生産したか^{33,149,260,265)}、あるいは *S. diacetylactis* の場合には耐酸性が強いためと考えられる³⁸¹⁾。一方 *S. lactis* の生産するアデニンが *S. cremoris* の発育を促進するという報告例もあり⁴⁶⁾、また *S. cremoris* の2菌株を混合培養したとき、1方の菌株がカゼインから生産する物質により他方の発育が促進された¹³⁶⁾。これらの場合は、安定した共存が可能である。なお *lactic streptococci* の細胞抽出液が *lactobacilli* や *leuconostocs* の発育を促進する事実も知られている^{18,81,94)}。いずれにせよ、乳酸菌の共生と競合に関する研究は、単にスターターだけでなく、畜産における乳酸菌の生態を理解する上にも役立つと考えられる。

乳酸菌の抗菌作用

最近になって、腐敗細菌や病原菌に対する乳酸菌の抗菌作用が改めて注目されている^{314,315)}。正しく製造された醗酵乳製品の中毒事故が絶無に近いことは事実であり、乳酸菌が *Staph. aureus*^{47,107,124,348)}、*Pseudomonas*^{261,266)}、*Salmonella*^{79,89,313)}、*Clostridium*^{85,103,105)} などの増殖を抑えることは多くの研究者が認めている。

昔から、乳酸菌による pH の低下が、ほかの細菌の発育を阻害することはよく知られていた。*Sal. gallinarum* に対する *Leuc. citrovorum*³¹⁸⁾、あるいは *Ps. fragi* に対する *S. diacetylactis* の発育阻害作用は²⁵¹⁾、主として乳酸と酢酸によると考えられる。乳酸はもちろんであるが、乳酸菌のつくる揮発性脂肪酸(ぎ酸、酢酸)の抗菌作用は無視できない³¹⁴⁾。たとえば *Salmonella* の発育は、乳酸で pH 4.4 としてもほとんど阻害されないが、酢酸で同じ pH にすると完全に抑えられた³¹⁹⁾。DALY *et al.*⁴⁹⁾ によれば、*S. diacetylactis* (培養液上清) が *Staph. aureus* などの発育を抑制する効果は、pH を中性付近に調整すると完全に失われた。この場合、酸自体

が抗菌作用を発揮すると同時に、低 pH が他の阻害物質の効果を増強したと考えられる^{49,79)}。

一方、GILLILAND & SPECK⁷⁹⁾ の成績によれば、牛乳における *Sal. typhimurium* や *Staph. aureus* の発育を阻害する *lactic streptococci* (6株) の効果は、酸生成力とは無関係であった。また牛乳の pH を中性に保って培養した場合も、*streptococci* の *Salmonella* に対する阻害作用が確認された。したがって乳酸菌の抗菌作用は、酸だけによるものではない。

乳酸菌のつくる抗生物質としては、ナisin (*S. lactis*)^{15,166)} のほか、diplococcin (*S. cremoris*)²³⁶⁾、acidophilin (*L. acidophilus*)³³⁹⁾、lactolin (*L. plantarum*)¹³⁴⁾、bulgarican (*L. bulgaricus*)²⁵⁹⁾ などが報告されている。この内で、ナisinは分子量約1万のペプチドであるが、生理的 pH で難溶なため医療用には使われていない。しかし消化管内で速やかに分解され、西欧諸国ではチーズ、ハム、ソーセージ、かん詰などの腐敗細菌 (*Bacillus*, *Clostridium*) を押える目的で利用されている(わが国では許可されていない)^{106,114)}。*S. diacetylactis* は、*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*, *Clostridium* など広範囲の細菌に発育阻害効果を示すが、この場合もナisinとは別の抗生物質が作用している可能性がある^{38,49)}。

一部の乳酸菌が生産する H_2O_2 ³⁴⁴⁾ の抗菌作用も重要である。DAHIYA & SPECK⁴⁷⁾ は *L. lactis* および *L. bulgaricus* が *Staph. aureus* などに及ぼす阻害効果は H_2O_2 によることを明らかにした。同じように、*L. plantarum* から生ずる H_2O_2 も *Pseudomonas* や *Bacillus* の発育を抑制する²⁶⁵⁾。さらに H_2O_2 はカタラーゼをもたない *Clostridium* に対して強い阻害効果を発揮することが認められている¹⁰⁵⁾。一般には、*lactobacilli* のなかに H_2O_2 生産能の強い菌株が多いといわれているが^{253,314)}、GILLILAND & SPECK⁷⁸⁾ は *lactic streptococci* にも H_2O_2 生産株が存在することを明らかにした。なお最近、乳酸菌が *Staph. aureus* のエンテロトキシン生産を抑える事実も報告されている⁸⁹⁾。この実験に用いた *Staph. aureus* No. 243 は、 8×10^7 /ml 以上の菌数に達するとエンテロトキシン B が検出された。しかし *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. thermophilus* あるいは *P. cerevisiae* と一緒に培養すると、*staphylococci* の増殖が阻害されるため、毒素は検出されなかった。この場合も乳酸菌の H_2O_2 生産能が抑制効果を発揮したといわれている⁸⁹⁾。

乳業界ではスターターとして乳酸菌を使う技術がすでに定着しており、最近ではチーズの抗菌性が注目されてい

る²⁸⁶⁾。たとえば栗崎ら¹⁴⁶⁾はナチュラルチーズに 1.6~40.6 $\mu\text{g/g}$ の安息香酸を検出した。この程度の量は食品衛生上問題とならないが、チーズの抗菌性の維持には寄与すると考えられる。この安息香酸は、原料乳の馬尿酸から生じ、これはスターター乳酸菌の作用による可能性が大きい。また前述の知見は、乳業以外の分野でも実用的意義をもつと考えられる。DALY *et al.*⁴⁹⁾ によれば、バニラクリーム、ハムサンドイッチ・スプレッド、ひき肉(ビーフ)あるいは肉汁スープ(チキン)に1%量の *S. diacetilactis* (牛乳培養)を添加すると、*Staph. aureus* はほぼ完全に抑制できた。REDDY *et al.*²⁸²⁾ も、乳酸菌(*S. lactis*, *Leuc. citrovorum*)添加が、ひき肉の保存性を高めることを確認した。醗酵ソーセージに好ましいフレーバーと組織を与え、また製造時間を短縮するために、*P. cerevisiae* や *L. plantarum* をスターターとして加える技術が普及しつつあるが^{55, 62, 216, 269)}、これには有害菌を押える効果も期待できる。たとえば醗酵ソーセージの製造工程において添加した *pediococci* や *lactobacilli* が、*Sal. typhimurium*⁸³⁾ あるいは *Staph. aureus*⁴⁸⁾ の増殖を阻止したと報告されている。またフランスやドイツで長期間塩漬してハムを製造する際に用いるブラインでは、*lactobacilli* (*L. plantarum* など)が支配的であり、この場合も乳酸菌の抗菌作用がブラインの安定性に寄与すると考えられる³⁰⁰⁾。

サイレーズの醗酵においても、乳酸菌(*lactobacilli* など)が増殖する過程でグラム陰性菌や蛋白分解菌は急減するという競合的関係が観察される^{157, 280, 281, 290, 291)}。さらにサイレーズの酪酸醗酵を防ぐために、乳酸菌スターターの添加が古くから試みられている。この点については、大山³²⁹⁾が精しく論じているのでここでは省略する。また大山らと著者によれば^{292, 293)}、当初に存在する乳酸菌の発育を促進する条件(たとえば十分量の糖の供給)を与えることの重要性が認められた。なお本節の知見と関連して、著者は *Clostridium* に対する抗菌性のとくに強い乳酸菌菌株を選んで、サイレーズに添加を試みてもよいのではないかと考えている。また畜産領域には、ここで触れた以外にも、乳酸菌の抗菌作用を積極的に活用できる対象が残されているかも知れない。

乳酸菌のプロファージ

人間が乳酸菌を利用するときには、その発育阻害因子について十分な知識をもたなければならない。比較的最近においても、畜産物に混入した抗生物質が社会的問題となり、また醗酵乳製品の製造も著しく阻害された苦い経験を忘れることはできない。しかし乳酸菌の発育を阻

害する要因として、世界的にみてまだ十分解決されていないものはバクテリオファージの問題である^{40, 123, 197, 256)}。ファージの被害を防ぐ管理法としては、(1)工場内の無菌化、(2)菌株のローテーション、(3)ファージ阻止培地の導入などが重要であるが、すでに多くの著者^{8, 27, 148, 232, 268)}が論じているので、本稿では乳酸菌のプロファージに関する最近の研究について触れてみたい。

溶原菌はファージを生産する遺伝的能力をもっているが、それは非感染性のプロファージの形で細胞内に保たれている。何らかの処理(たとえば紫外線照射)で細菌とプロファージの平衡が崩されると、感受性のファージ粒子が放出される(誘発, induction)。Lactic streptococci の中に溶原性をもつ菌株が存在することは1949年に REITER²⁶⁸⁾ がはじめて報告した。そして SANDINE *et al.*²⁸³⁾ は自分たちの保管菌株を調べて、*S. cremoris* W がプロファージをもち、これが誘発されると *S. cremoris* No. 3 を溶菌する事実を見いだした。また *S. cremoris* C11-56 は紫外線を照射すると溶菌する。この溶菌液には宿主のほか多数の *S. cremoris* 菌株を溶かすバクテリオシン活性をもつ欠損ファージが認められた¹²⁹⁾。さらに乳酸菌の代謝の研究に広く用いられている *S. lactis* C2 も溶原株であることが明らかにされた¹⁶⁰⁾。

最近発表された KOZAK *et al.*¹³⁸⁾ の成績をみると、lactic streptococci にはかなりの頻度で溶原菌が存在すると考えられる。彼らは *S. lactis* 46 株、*S. diacetilactis* 24 株、*S. cremoris* 17 株について調査したが、*S. lactis* では5株、*S. diacetilactis* では2株に溶原性が認められた。ナisin生産性の *S. lactis* では、12株のうち2株が溶原菌であった。ここで誘発されたファージには、指示株だけにしか増殖できないものもあるが、*S. diacetilactis* から放出されたファージは宿主域が広く、同じ菌種だけでなく、*S. lactis* や *S. cremoris* に属する多数の菌株を溶菌した事実は注目に価する。

一方、*lactobacilli* でも溶原菌の存在が知られている。COETZEE & KLERK⁸¹⁾ は、345株の *lactobacilli* を調べ、*L. fermenti* 2株に溶原性を見いだした。桜井・高橋²⁸²⁾ は、*L. casei* と *L. salivarius* 各3株がいずれも紫外線やマイトマイシンCで誘発されるプロファージを有することを示した。また血清学的性質がグループCに属する *L. casei* 36株のうち15株が溶原株であったといわれている¹¹⁸⁾。*L. casei* IAM 1043 のファージ誘発の際に産生する乳酸菌溶解酵素は、*L. casei* に強い溶菌活性を示すほか、*L. helveticus*, *L. salivarius*, *L. acidophilus* に対する活性も認められた²⁶⁷⁾。なお *L. casei* 1043 からは、熱処理でも誘発のおこる変異株が分離されてい

る²⁸¹⁾。

本稿の主題と関連して、乳酸菌のプロファージはいくつかの重要性をもつと考えられる。まず世界的にみて、畜産の先進国ほどファージの被害が多い傾向があるが、上述の成績も考え合わせると、乳酸菌自体をファージの主要な給源と見なすことは妥当であろう^{48,160)}。したがって溶原性の乳酸菌をスターターとして使うことはかなり危険である⁴⁰⁾。GRAHAM *et al.*⁸⁷⁾ は米国で実際に使われている *lactic streptococci* について調べたが、厳密な意味での溶原株は認められなかった。しかし一部のスターターは、外見上の異常を示すことなく、ファージを保持しつづけていた (carrier state)。このような培養では、ファージと感受性菌と抵抗性菌の3者間に平衡が成立していると考えられるが、下手をするとファージの給源となるおそれがあることは溶原菌の場合と同様である。なお最近では、米国の実用スターターに溶原株が存在する可能性も示唆されており¹⁶⁰⁾、ファージの制御という実用面から、今後の研究発展が望まれる。つぎに乳酸菌のプロファージはまったく別の見地からも興味深い。乳酸菌の育種と関連して、*S. lactis* で形質導入の成功例²⁸³⁾があることは前述したが、溶原株を使えばこの手法はきわめて有望なはずである。また最近 MCKAY & BALDWIN¹⁶⁰⁾ は、*lactic streptococci* における乳糖の代謝性と溶原化の関連に着目している。

乳酸菌の凍結・乾燥とその利用性

長い畜産の歴史から見れば、ついこの間といってもよい19世紀末までは、畜産における乳酸菌の役割はほとんど認識されていなかった。したがって前述のごとく、畜産加工でも共種式という不確実な方法で、この菌の力を利用してに過ぎない。しかし酪農細菌学の進歩とともに、選抜された乳酸菌の純粋培養をスターターとして用いる方法が普及し、優良菌株の安全な保管法も重視されるようになった⁶³⁾。著者はこの分野における最近の研究動向を概括して、本稿の結びとしたい。

乳酸菌の凍結乾燥自体はすでに1910年代に試みられている²⁷⁰⁾。しかし畜産領域で使われる乳酸菌の実際的な凍結乾燥法について研究が盛んになったのは、1950年以降である^{43,55,63,811,334,349,355)}。その後、この関係の研究は世界各国で急速に進展し、現在では凍結または凍結乾燥の利用は単に菌株保存の範囲に留まらず、乳酸菌の濃厚菌液を凍結しておいて、醗酵乳製品やソーセージの生産に直接利用する新しい技術が実用化されている^{3,12,26,27,48,62,75,180,262)}。

細菌の凍結乾燥を成功させる上にもっとも重要な因子

は、適切な保護物質(分散媒)を選ぶことである。従来から乳酸菌には主として脱脂乳が利用されていたが、著者ら¹⁸⁷⁾は、グルタミン酸ナトリウム²⁵⁾が各種乳酸菌の凍結乾燥による死滅を防止することを確かめた。分散媒溶質の保護効果は、その化学構造に支配される。そして化学構造に基づく系統的な検索によって、従来有効性が知られていなかった多数の酸性、中性または塩基性化合物が強い保護効果を有するを見いだした^{178,182,184,187,188)}。著者ら^{183,186,186)}の成績によれば、*S. lactis*, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* を、それぞれ1%グルタミン酸ナトリウム溶液、脱脂乳+1%りんご酸塩、脱脂乳+1%アルギニン HCl に懸濁して凍結乾燥すれば、いずれの乾燥試料にも70~100%の菌が生き残った。現在では、乳酸菌の凍結乾燥技術の大筋はほぼ確立したと考えられる^{179,180,182)}。

川島・前野¹²⁵⁾は、グルタミン酸や酵母エキスを1%添加した脱脂乳に、*S. lactis*, *L. bulgaricus*などを浮かべて凍結すると(-15°C~-20°C)、その保存性が高まることを明らかにした。また *lactic streptococci* を-23°Cあるいは-37°Cに保存したとき、りんご酸や乳糖の添加がとくに効果的なことが知られている^{73,318)}。液体窒素を利用して凍結保存温度を-196°Cまで下げれば、乳酸菌の生残率は著しく向上し、保護物質の選択はほとんど問題でなくなる^{12,73,76,243,333)}。ただし乳酸菌のなかで、*L. bulgaricus* (*L. jugurti*を含めて)は凍結や凍結乾燥に比較的弱いことが認められている^{125,187,188,309)}。たとえば SMITTLE *et al.*³⁰⁹⁾によると、液体窒素で凍結した *L. bulgaricus* はかなり不安定であって、保護物質の添加もそれほど効果がない。しかし0.025~0.1%の Tween 80を含む培地で得た菌体は、強い凍結抵抗性を示した。また *L. bulgaricus* 凍結乾燥菌を水でもどす際、復水液の液温を37~50°Cにすると、せっかく生き残った菌の大多数が死滅する現象も知られている¹⁸⁹⁾。したがってわが国で広く使われているブルガリア菌の凍結や凍結乾燥条件については、未解決の問題が残されていると思われる。

実用的立場から、乳酸菌の酸生成力はきわめて重要であり、その活性に及ぼす凍結や凍結乾燥の影響はよく検討されてきた。一般的にいえば、-196°C凍結保存ではほとんど活性低下が認められない^{12,36,128,262)}。また *Leuc. citrovorum* のジアセチル生産能も、-196°Cならば低下しなかった⁷⁶⁾。一方、凍結乾燥菌を牛乳に植えたときは、酸生成が遅れることが多い³¹⁹⁾。たとえば著者ら^{186,193)}の成績によると、凍結乾燥して0°Cに8~15か月、あるいは38°Cに5週間保存した *S. cremoris*, *S.*

lactis, *L. bulgaricus* は、常法の脱脂乳継代培養菌に比べて、酸生成が 3~4 時間遅れた。これは主として lag の延長による。しかし最近、菌株の選択や復水条件に注意すれば、凍結乾燥乳酸菌を直接原料乳に接種してチーズの製造ができるといわれている^{10,316)}。なお凍結や凍結乾燥による乳酸菌の細胞損傷とその回復条件に関しても、多くの報文が発表されているが、著者¹⁸¹⁾の総説があるので、ここでは触れないことにする。

畜産加工において、凍結または凍結乾燥した乳酸菌の濃厚菌液を利用することには、いくつかの利点がある。すなわち継代培養によって乳酸菌の性質が変化する心配がなく、しかもマザースターターからパルクスターターに至る何段階かの増菌操作が省略できて、醗酵乳製品などの生産計画に柔軟性をもたせることができる。また現在では多くの種類の凍結濃厚菌が入手できるので、これらをローテーションして用いれば、ファージ事故の防止にも役立つといわれ、欧米では現在普及しつつある^{6,27,151,180)}。もちろんこの技術は乳業だけでなく、醗酵肉製品の加工などにも応用できる。たとえば凍結乳酸菌を添加すると、セミドライソーセージの品質が安定し、製造時間も短縮された。EVERSON *et al.*⁶²⁾によれば、伝統的方法では 150 時間を要する製造工程が、凍結乾燥菌あるいは凍結菌を利用すればそれぞれ 32~48 時間、12~15 時間で完了した。また前述のごとく、ひき肉の保存性を向上させるために乳酸菌を添加するときも、凍結濃厚菌を利用するのが便利といわれている⁴⁹⁾。

このように、畜産領域で乳酸菌を積極的に利用する技術は急速に進歩しつつあるが、現在最大の問題点は、いかにして大量の乳酸菌菌体を安価に、しかも効率よく生産するかということである。培養基としては、脱脂乳では菌体の分離が難しいため、プロテアーゼ処理した脱脂乳、ホエー、ペプトン、酵母エキスなどを使用し、糖源には主として乳糖を用いる^{4,76,151,152,180,252)}。菌体収量を高めるためには、培養の pH を 6.0~6.5 に維持する方法が効果的である^{3,14,16,70,111,248)}。通常の液体培養法に比べて、最高菌数はほぼ 5~20 倍に増加するといわれている。しかしさらに収量を上げるためには、乳酸の中和だけでは十分でない。GILLILAND & SPECK⁷⁷⁾は、*lactic streptococci* が自己の生産する D-ロイシンにより増殖が停止することを明らかにした。このような乳酸菌の自己阻害因子についてはさらに今後の検討が必要と考えられる。一方、乳酸菌の連続培養は、チーズ製造のオートメーション化と関連して検討されていたが、大量培養法としても注目される^{32,127,150,151)}。

このように人工的な新しい培養条件で得られた乳酸菌

の性質は、従来の伝統的培養法（脱脂乳、静置）のものと比べて、一般的には差がないと考えられている。しかし 2 種以上の菌株 (*lactic streptococci*) の混合スターターを定 pH 培養すると菌株のバランスが崩れるおそれがあり、通常の脱脂乳培養と比較して、ファージ感受性に差が生ずる事例が認められた⁷⁴⁾。また連続培養において、*S. lactis* の乳糖醗酵性が失われる事実も報告されており¹⁶¹⁾、この分野には未解決の問題が多いことが示唆される。

あ と が き

本稿では、畜産における乳酸菌の生態を中心に述べ、それに関連する研究の最近の進歩について、いくつかの話題を提供した。著者の意図としては、今後の研究方向を探ることに主眼をおいたつもりである。ここでは触れなかった乳酸菌の栄養要求^{135,204)}、発育促進物質^{199,201)}、阻害物質^{199,266,353)}、乳酸菌のフレーバー成分^{66,115,825)}、その代謝^{84,200)}なども重要であって、最近もいくつかの総説が発表されている。なお本稿で文献の引用に不完全な点が多々あると思われるが、読者の御海容と御教示を願う次第である。

本稿の執筆にあたり、多数の貴重な文献をお教えたいた岡山大学農学部中江利孝助教授に御礼申し上げます。また原稿について再三の討議を願った農林省畜産試験場矢野信礼、入江良三郎、大山嘉信各博士に感謝します。

文 献

- 1) ABD-EL-MALEK, Y., and T. GIBSON, *J Dairy Res* **15**: 233-248. 1948.
- 2) ABO-ELNAGA, I. G., and O. KANDLER, *Zentr Bakteriell II Abt* **119**: 117-129. 1965.
- 3) ACCOLAS, J. P., and J. AUCLAIR, *Lait* **47**: 253-260. 1967.
- 4) ACCOLAS, J. P., J. AUCLAIR, C. BOUILLANNE, G. MOCQUOT, P. ROUSSEAU, E. VALLES, and L. VASSAL, *XVIII Int Dairy Congr* **1E**: 275. 1970.
- 5) 芥田三郎・清水公義・西山京子・西村幸二・小林邦彦, 山口大学農学部学術報告 **21**: 119-128. 1970.
- 6) Anon., *Food Process* **30**(1): 32-33. 1969.
- 7) 麻生健治・渡辺次男・岩渕明・山下哲郎, ヤクルト研究所研究報告集 昭45 No.1: 1-15. 1970.
- 8) BABEL, F. J., *J Dairy Sci* **45**: 1286-1290. 1962.
- 9) BADDILEY, J., and A. L. DAVISON, *J Gen Microbiol* **24**: 295-299. 1961.

- 10) BANNIKOVA, L. A., and I. V. LAGODA, XVIII Int Dairy Congr 1E: 277. 1970.
- 11) BANNIKOVA, L. A., and I. N. PYATNITSYNA, XVIII Int Dairy Congr 1E: 123. 1970.
- 12) BAUMAN, D. P., and G. W. REINBOLD, J Dairy Sci 49: 259-264. 1966.
- 13) BAUTISTA, E. S., R. S. DAHIYA, and M. L. SPECK, J Dairy Res 33: 299-307. 1966.
- 14) BERGERE, J. L., and J. HERMIER, Lait 48: 13-30. 1968.
- 15) BERRIDGE, N. J., Biochem J 45: 486-493. 1949.
- 16) BLAINE, J. W., W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Dairy Sci 53: 637. 1970.
- 17) BOTT, K. F., and R. DAVIDOFF-ABELSON, J Bacteriol 92: 229-240. 1966.
- 18) BRANEN, A. L., and T. W. KEENAN, Appl Microbiol 17: 280-285. 1969.
- 19) BRIGGS, M., J Gen Microbiol 9: 234-248. 1953.
- 20) BRIGGS, M., and C. A. E. BRIGGS, Dairy Sci Abstr 16: 252-268. 1954.
- 21) BURROW, C. D., W. E. SANDINE, P. R. ELLIKER, and C. SPECKMAN, J Dairy Sci 53: 121-125. 1970.
- 22) CAVETT, J. J., J Appl Bacteriol 25: 282-289. 1962.
- 23) CHEESEMAN, G. C., *ibid.*, 22: 341-349. 1959.
- 24) CHEESEMAN, G. C., N. J. BERRIDGE, A. T. R. MATTICK, V. BOTTAZZI, and M. E. SHARPE, J Appl Bacteriol 20: 205-217. 1957.
- 25) CHO, C., and Y. OBAYASHI, Bull Wld Hlth Org 14: 657-669. 1956.
- 26) CHRISTENSEN, V. W., Food Eng 41(5): 104-107. 1969.
- 27) CHRISTENSEN, V. W., Dairy Ind 37: 655-659. 1972.
- 28) CHUANG, L. F. and E. B. COLLINS, J Dairy Sci 54: 282-283. 1971.
- 29) CITTI, J. E., W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Dairy Sci 48: 14-18. 1965.
- 30) CITTI, J. E., W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Bacteriol 89: 937-942. 1965.
- 31) COETZEE, J. N., and H. C. DE KLERK, Nature 194: 505. 1962.
- 32) COGAN, T. M., D. J. BUCKLEY, and S. CONDON, J Appl Bacteriol 34: 403-409. 1971.
- 33) COLLINS, E. B., Appl Microbiol 9: 200-205. 1961.
- 34) COLLINS, E. B., J Dairy Sci 55: 1022-1028. 1972.
- 35) COLLINS, E. B., F. E. NELSON, and C. E. PARMELEE, J Bacteriol 59: 69-74. 1950.
- 36) COWMAN, R. A., and M. L. SPECK, J Dairy Sci 48: 1531-1532. 1965.
- 37) COWMAN, R. A., and M. L. SPECK, Cryobiology 5: 291-299. 1969.
- 38) COWMAN, R. A., H. E. SWAISGOOD, and M. L. SPECK, J Bacteriol 94: 942-948. 1967.
- 39) COWMAN, R. A., S. YOSHIMURA, and H. E. SWAISGOOD, J Bacteriol 95: 181-187. 1968.
- 40) CRAWFORD, R. J. M., Dairy Ind 37: 648, 650-654. 1972.
- 41) CUMMINS, C. S., and H. HARRIS, J Gen Microbiol 14: 583-600. 1956.
- 42) CZULAK, J., and L. A. HAMMOND, Aust J Dairy Technol 8: 89-91. 1953.
- 43) CZULAK, J., and J. NAYLOR, J Dairy Res 23: 131-133. 1956.
- 44) DACRE, J. C., and M. E. SHARPE, Nature 178: 700. 1956.
- 45) DAHIYA, R. S., and M. L. SPECK, J Dairy Sci 45: 607-612. 1962.
- 46) DAHIYA, R. S., and M. L. SPECK, J Bacteriol 85: 585-589. 1963.
- 47) DAHIYA, R. S., and M. L. SPECK, J Dairy Sci 51: 1568-1572. 1968.
- 48) DALY, C., M. L. CHANCE, W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Food Sci 38: 426-430. 1973.
- 49) DALY, C., W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Milk Food Technol 35: 349-357. 1972.
- 50) DAVIS, G. H. G., J Gen Microbiol 13: 481-493. 1955.
- 51) DAVIS, G. H. G., J Appl Bacteriol 22: 350-359. 1959.
- 52) DAVIS, G. H. G., J Gen Microbiol 34: 177-184. 1964.
- 53) DEIBEL, R. H., Bacteriol Rev 28: 330-366. 1964.
- 54) DEIBEL, R. H., C. F. NIVEN, Jr., and G. D. WILSON, Appl Microbiol 9: 156-161. 1961.
- 55) DEIBEL, R. H., G. D. WILSON, and C. F. NIVEN, Jr., Appl Microbiol 9: 239-243. 1961.
- 56) DELLAGLIO, F., V. BOTTAZZI, and L. D. TROVATELLI, J Gen Microbiol 74: 289-297. 1973.
- 57) DEMKO, G. M., S. J. B., BLANTON, and R. E. BENOIT, J Bacteriol 112: 1335-1345. 1972.
- 58) DILANIAN, Z., K. MARKARIAN, and D. CHUPRINA, Int Dairy Fed, F-Doc 19. 1973.
- 59) DILANIAN, Z., K. MARKARIAN, and R. SARKISYAN, XVIII Int Dairy Congr 1E: 122. 1970.
- 60) DRAKE, S. D., J. B. EVANS, and C. F. NIVEN, Jr., Food Res 23: 291-296. 1958.
- 61) EMMONS, D. B., W. A. MCGUGAN, J. A. ELLIOTT, and P. M. MORSE, J Dairy Sci 45: 332-342 & 595-600. 1962.
- 62) EVERSON, C. W., W. E. DANNER and P. A. HAMMES, Food Technol 24: 42, 44. 1970.
- 63) FOSTER, E. M., J Dairy Sci 45: 1290-1294. 1962.
- 64) FOSTER, E. M., F. E. NELSON, M. L. SPECK, R. N. DOETSCH, and J. C. OLSON, Dairy Microbiology Prentice-Hall. New Jersey. 158-160 & 291-293. 1957.
- 65) FRANKLIN, J. G., and M. E. SHARPE, J Gen Mi-

- crobiol **34**: 143-151. 1964.
- 66) FRYER, T.F., Dairy Sci Abstr **31**: 471-490. 1963.
 - 67) FRYER, T.F., B. REITER, and R.C. LAWRENCE, J Dairy Sci **50**: 388-389. 1967.
 - 68) FULLER, R., J Appl Bacteriol **36**: 131-139. 1973.
 - 69) GARVIE, E.I., J Dairy Res **20**: 41-44. 1953.
 - 70) GARVIE, E.I., and L.A. MABBITT, J Dairy Res **23** 305-314. 1956.
 - 71) GASSER, F., and M. MANDEL, J Bacteriol **96**: 580-588. 1968.
 - 72) GASSER, F., and M. SEBALD, Ann Inst Past **110**: 261-275. 1966.
 - 73) GIBSON, C.A., G.B. LANDERKIN, and P.M. MORSE, Appl Microbiol **14**: 665-669. 1966.
 - 74) GILLILAND, S.E., J Dairy Sci **54**: 1129-1133. 1971.
 - 75) GILLILAND, S.E., *ibid.* **55**: 1028-1031. 1972.
 - 76) GILLILAND, S.E., E.D. ANNA, and M.L. SPECK, Appl Microbiol **19**: 890-893. 1970.
 - 77) GILLILAND, S.E., and M.L. SPECK, J Dairy Sci **51**: 1573-1578. 1968.
 - 78) GILLILAND, S.E., and M.L. SPECK, Appl Microbiol **17**: 797-800. 1969.
 - 79) GILLILAND, S.E., and M.L. SPECK, J Milk Food Technol **35**: 307-310. 1972.
 - 80) GILLILAND, S.E., M.L. SPECK, and J.R. WOODARD, Jr., Appl Microbiol **23**: 21-25. 1972.
 - 81) GOEL, M.C., and E.H. MARTH, J Dairy Sci **54**: 472-477. 1971.
 - 82) GOEL, M.C., and E.H. MARTH, J Milk Food Technol **34**: 357-360. 1971.
 - 83) GOEFFERT, J.M., and K.C. CHUNG, J Milk Food Technol **33**: 185-191. 1970.
 - 84) GORDON, D.F., Jr., and M.L. SPECK, J Dairy Sci **48**: 499-500. 1965.
 - 85) GOUDKOV, A.V., and M.E. SHARPE, J Dairy Res **33**: 139-149. 1966.
 - 86) GOULDEN, J.D.S., and M.E. SHARPE, J Gen Microbiol **19**: 76-86. 1958.
 - 87) GRAHAM, D.M., C.E. PARMELEE, and F.E. NELSON, J Dairy Sci **35**: 813-822. 1952.
 - 88) GRINEVICH, A.G., and I.N. SIDOROVA, XVIII Int Dairy Congr **1E**: 121. 1970.
 - 89) HAINES, W.C., and L.G. HARMON, Appl Microbiol **25**: 436-441. 1973.
 - 90) HALLECK, F.E., C.O. BALL, and E.F. STIER, Food Technol **12**: 197-203. 1958.
 - 91) 浜本典男・金内稔郎・三野和雄, 日畜会報 **35**: 317-321. 1964.
 - 92) HAMMER, B.W., and F.J. BABEL, J Dairy Sci **26**: 83-168. 1943.
 - 93) HAMMER, B.W., and F.J. BABEL, Dairy Bacteriology P. 81. John Wiley and Sons. London. 1957.
 - 94) HANSEN, P.A., J Dairy Sci **24**: 969-976. 1941.
 - 95) HARRIMAN, L.A., and B.W. HAMMER, J Dairy Sci **14**: 40-49. 1931.
 - 96) HARRISON, A.P., Jr., and P.A. HANSEN, J Bacteriol **59**: 444-446. 1950.
 - 97) HARWALKAR, V.R., and E.W. SEITZ, J Dairy Sci **54**: 12-14. 1971.
 - 98) HEMPENIUS, W.L., and B.J. LISKA, J Dairy Sci **47**: 1099-1101. 1964.
 - 99) HENGSTENBERG, W., W.K. PENBERTHY, K.L. HILL, and M.L. MORSE, J Bacteriol **96**: 2187-2188. 1968.
 - 100) HILL, L.R., J Gen Microbiol **44**: 419-437. 1966.
 - 101) HIRSCH, A., J Gen Microbiol **5**: 208-221. 1951.
 - 102) HIRSCH, A., J Dairy Res **19**: 288-289 & 290-293. 1952.
 - 103) HIRSCH, A., M. MCCLINTOCK, and G. MOCQOT, J Dairy Res **19**: 179-186. 1952.
 - 104) HUNTER, G.J.E., J Dairy Res **10**: 464-470. 1939.
 - 105) HURST, A., J Milk Food Technol **35**: 418-423. 1972.
 - 106) 兵庫 祐・中西武雄, 酪農科研 **11**: A 155-176. 1962.
 - 107) IANDOLO, J.J., C.W. CLARK, L. BLUHM, and Z. J. ORDAL, Appl Microbiol **13**: 646-649. 1965.
 - 108) 市川忠次・田口 昭, 食衛誌 **3**: 161-168. 1962.
 - 109) IKAWA, M., and E.E. SNELL, J Biol Chem **235**: 1376-1382. 1960.
 - 110) 今村経明・片岡 啓, 岡山大学農学部学術報告 **11**: 41-48. 1958.
 - 111) 入江良三郎・岡本隆史・森地敏樹(農化, 投稿中).
 - 112) 入江良三郎・矢野信礼・森地敏樹・見坊 寛, 日細誌 **17**: 360-363. 1962.
 - 113) 石和浩美・桜井稔三, 農化 **46**: 245-251. 1972.
 - 114) 慶田雅洋, 日食工誌 **14**: 31-40. 1967.
 - 115) 慶田雅洋・津郷友吉, 乳業科学新説 乳業科学新説編集委員会. p. 279-291. 朝倉書店, 東京. 1966.
 - 116) JAYE, M., R.S. KITAKA, and Z.J. ORDAL, Food Technol **16**(4): 95-98. 1962.
 - 117) JENSEN, R.G., and J.E. EDMONDSON, J Dairy Sci **40**: 180-186. 1957.
 - 118) JOHNS, C.K., and S.E. COLE, J Dairy Res **26**: 157-161. 1959.
 - 119) JOHNSTON, M.A., and E.A. DELWICHE, J Bacteriol **90**: 347-351 & 352-356. 1965.
 - 120) JONES, D., R.H. DEIBEL, and C.F. NIVEN, Jr., J Bacteriol **88**: 602-610. 1964.
 - 121) JONES, D., M.J., SACKIN, and P.H.A. SNEATH, J Gen Microbiol **72**: 439-450. 1972.
 - 122) KAMINSKI, J., and W. DONDESKI, Medycyna dosw Mikrobiol **17**: 233-238. 1965. cited from Dairy Sci Abstr **28**: 1567.
 - 123) 金子太吉, 乳酸菌の研究 北原覚雄編 東京大学出版会, p. 40-49 & 152-164. 東京. 1966.
 - 124) KAO, C.T., and W.C. FRAZIER, Appl Microbiol

- 14: 251-255. 1966.
- 125) 川島拓司・前野正久, 日畜会報 **35**: 48-54 & 55-59. 1964.
- 126) KEDDIE, R. M., J Appl Bacteriol **22**: 403-416. 1959.
- 127) KEEN, A. R., J Dairy Res **39**: 151-159. 1972.
- 128) KEOGH, B. P., Appl Microbiol **19**: 928-931. 1970.
- 129) KEOGH, B. P., and P. D. SHIMMIN, J Dairy Res **36**: 87-92. 1969.
- 130) KING, N. S., and J. A. KOBURGER, J Dairy Sci **53**: 403-409. 1970.
- 131) 北原覚雄, 乳酸菌の研究 p. 50-59 & 60-72. 1966.
- 132) KITAHARA, K., and C. L. LAI, J Gen Appl Microbiol **13**: 197-203. 1967.
- 133) KITAHARA, K., and J. SUZUKI, J Gen Appl Microbiol **9**: 59-71. 1963.
- 134) 児玉礼次郎, J Antibiotics **5**: 72-74. 1952.
- 135) 児玉礼次郎, 乳酸菌の研究 p. 243-270. 1966.
- 136) KOTHARI, S. L., and V. K. N. NAMBUDRIPAD, Appl Microbiol **25**: 212-215. 1973.
- 137) KOTHARI, S. L., V. K. N. NAMBUDRIPAD, and H. LAXMINARAYANA, Milchwiss **26**: 415-418. 1971.
- 138) KOZAK, W., M. RAJCHERT-TRZPIL, J. ZAJDEL, and W. T. DOBRZANSKI, Appl Microbiol **25**: 305-308. 1973.
- 139) KRAFT, A. A., J Milk Food Technol **34**: 23-29. 1971.
- 140) KROULIK, J. T., L. A. BURKEY, C. H. GORDON, H. G. WISEMAN, and C. G. MELIN, J Dairy Sci **38**: 263-272. 1955.
- 141) KROULIK, J. T., L. A., BURKEY, and H. G. WISEMAN, J Dairy Sci **38**: 256-262. 1955.
- 142) KUILA, R. K., B. RANGANATHAN, S. M. DUTTA, and H. LAXMINARAYANA, J Dairy Sci **54**: 331-334. 1971.
- 143) KUNDIG, W., S. GHOSH, and S. ROSEMAN, Proc Nat Acad Sci **52**: 1067-1074. 1964.
- 144) KUNDIG, W., F. D. KUNDIG, B. ANDERSON, and S. ROSEMAN, J Biol Chem **241**: 3243-3246. 1966.
- 145) 栗崎純一・笹子謙治・津郷友吉・山内邦男, 食衛誌 **14**: 25-30. 1973.
- 146) LANGSTON, C. W., J. GUTIERREZ, and C. BOUMA, J Bacteriol **80**: 693-695 & 714-718. 1960.
- 147) LARSON, N. L., and E. G. HILL, J Animal Sci **14**: 674-687. 1955.
- 148) LAWRENCE, R. C., and L. E. PEARCE, Dairy Ind **37**: 73-78. 1972.
- 149) LIGHTBODY, L. G., and L. J. MEANWELL, J Appl Bacteriol **18**: 53-65. 1955.
- 150) LINKLATER, P. M., and C. J. GRIFFIN, J Dairy Res **38**: 127-136 & 137-144. 1971.
- 151) LLOYD, G. T., Dairy Sci Abstr **33**: 411-416. 1971.
- 152) LLOYD, G. T., and E. G. PONT, XVIII Int Dairy Congr **1E**: 126. 1970.
- 153) LUND, B. M., J Gen Microbiol **40**: 413-419. 1965.
- 154) LUND, B. M., J Gen Microbiol **49**: 67-80. 1967.
- 155) MARMUR, J., S. FALKOW, and M. MANDEL, Ann Rev Microbiol **17**: 329-372. 1963.
- 156) MATTICK, A. T. R., and A. HIRSCH, Nature **154**: 551-552. 1944.
- 157) McDONALD, P., A. C. STIRLING, A. R. HENDERSON, W. A. DEWAR, G. H. STARK, W. G. DAVIE, H. T. MACPHERSON, A. M. REID, and J. SLATER, Edinburgh Sch Agr Tech Bull No. 24, pp. 83. 1960.
- 158) McDONALD, P., S. J. WATSON, and R. WHITTENBURY, Z Tierphys Tierernähr Futtermittelk **21**: 103-110. 1966.
- 159) McFETERS, G. A., W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Bacteriol **93**: 914-919. 1967.
- 160) McKAY, L. L., and K. A. BALDWIN, Appl Microbiol **25**: 682-684. 1973.
- 161) McKAY, L. L., K. A. BALDWIN, and E. A. ZOTTOLA, Appl Microbiol **23**: 1090-1096. 1972.
- 162) McKAY, L. L., A. MILLER III, W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Bacteriol **102**: 804-809. 1970.
- 163) McKAY, L. L., W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, Dairy Sci Abstr **33**: 493-499. 1971.
- 164) McKAY, L. L., L. A. WALTER, W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Bacteriol **99**: 603-610. 1969.
- 165) MILLER, A., III, and M. E. MORGAN, J Dairy Sci **51**: 1-7. 1968.
- 166) MILLER, A., III, W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, J Bacteriol **102**: 278-280. 1970.
- 167) MILLER, A., III, W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, Can J Microbiol **17**: 625-634. 1971.
- 168) MINOR, T. E., E. H. MARTH, N. F. OLSON, T. RICHARDSON, W. E. HANTKE, R. L. BRADLEY, Jr., and H. E. CALBERT, J Dairy Sci **53**: 1795-1801. 1970.
- 169) 光岡知足, 日獣誌 **22**: 183-189. 1969.
- 170) 光岡知足, 日細誌 **24**: 261-280. 1969.
- 171) 光岡知足, 食衛誌 **10**: 147-156. 1969.
- 172) 光岡知足, 日医師誌 **67**: 132-148. 1972.
- 173) MITSUOKA, T., Zentr Bakteriell Orig **210**: 32-51 & 52-64. 1969.
- 174) MITSUOKA, T., T. SEGA, and S. YAMAMOTO, Zentr Bakteriell Orig **195**: 455-469. 1965.
- 175) MITSUOKA, T., A. TERADA, and Y. MORISHITA, Goldschmidt inform No. **23**: 23-41. 1973.
- 176) MØLLER-MADSEN, A. A., and H. JENSEN, XVI Int Dairy Congr **B**: 255-258. 1962.
- 177) MONOD, J., and M. COHEN, Adv Enzymol **13**: 67-119. 1952.
- 178) 森地敏樹, 醸工 **42**: 56-61. 1964.
- 179) 森地敏樹, 畜産試験場年報昭 **41**: 193-203. 1967.
- 180) 森地敏樹, 乳技協資料 **21(4)**: 3-14. 1971.
- 181) 森地敏樹, 食衛誌 **13**: 173-183. 1972.

- 182) 森地敏樹, 凍結・乾燥と保護物質 根井外喜男編, p. 78-113. 東京大学出版会, 東京. 1972.
- 183) 森地敏樹, 冷凍 48: 723-730. 1973.
- 184) MORICHI, T., Proceedings of the First International Conference on Culture Collections H. Iizuka & T. Hasegawa eds p. 351-361. University of Tokyo Press, Tokyo. 1970.
- 185) 森地敏樹・入江良三郎・見坊 寛・矢野信礼, 農化 45: 547-552. 1971.
- 186) 森地敏樹・入江良三郎・矢野信礼・見坊 寛, 畜試研報 6: 111-117. 1964.
- 187) MORICHI, T., R. IRIE, N. YANO, and H. KEMBO, J Gen Appl Microbiol 9: 149-161. 1963.
- 188) MORICHI, T., R. IRIE, N. YANO, and H. KEMBO, Agr Biol Chem 29: 61-65 & 66-69. 1965.
- 189) MORICHI, T., R. IRIE, N. YANO, and H. KEMBO, *ibid.*, 31: 137-141. 1967.
- 190) 森地敏樹・見坊 寛・小沢康郎, 農技研報 G17: 105-119. 1959.
- 191) 森地敏樹・大山嘉信, 日畜会報 43: 264-267. 1972.
- 192) MORICHI, T., M. E. SHARPE, and B. REITER, J Gen Microbiol 53: 405-414. 1968.
- 193) 森地敏樹・矢野信礼・入江良三郎・見坊 寛, 農化 35: 150-155. 1961.
- 194) MORISHITA, Y., T. MITSUOKA, C. KANEUCHI, S. YAMAMOTO, and M. OGATA, Jap J Microbiol 15: 531-538. 1971.
- 195) MUNDT, J. O., J Milk Food Technol 33: 550-553. 1970.
- 196) MUNDT, J. O., and J. L. HAMMER, Appl Microbiol 16: 1326-1330. 1968.
- 197) 村田晃, 醗酵協会誌 26: 521-526. 1968.
- 198) 長沢太郎, 日畜会報 34: 303-310. 1963.
- 199) 長沢太郎・川島拓司, 乳業科学新説 p. 264-279. 1966.
- 200) 中江利孝, 乳技協資料 16(3): 3-16. 1966.
- 201) 中江利孝, 酪農科研 17: A5-13. 1968.
- 202) 中江利孝, 食衛誌 14: 1-17. 1973.
- 203) NAKAE, T., and J. A. ELLIOTT, J Dairy Sci 48: 287-292 & 293-299. 1965.
- 204) 中西武雄, 牛乳と乳製品の微生物 p. 70-76. 144-145. 163-170 & 196-197. 地球出版. 1967.
- 205) 中西武雄・足立達・中江利孝, 日畜会報 35: 173-177. 1964.
- 206) 中西武雄・兵庫 裕, 酪農科研 11: A40-93. 1962.
- 207) 中西武雄・兵庫 裕, 酪農科研 13: A91-116. 1964.
- 208) 中山大樹, 玉川大学農学部研究報告 1: 73-109. 1960.
- 209) 中山大樹, 乳酸菌の研究 p. 73-80. 1966.
- 210) 中山大樹・坂口謹一郎, 農化 23: 513-517. 1950.
- 211) NAKAYAMA, O., and M. YANOSHI, J Gen Appl Microbiol 13: 139-153 & 155-165. 1967.
- 212) NAYLOR, J., and M. E. SHARPE, J Dairy Res 25: 431-438. 1958.
- 213) 西川哲三郎, 日畜会報 27: 161-176 & 285-305. 1956/1957.
- 214) NISHIZUKA, Y., and O. HAYAISHI, J Biol Chem 237: 2721-2728. 1962.
- 215) NIVEN, C. F., Jr., Bacteriol Rev 16: 247-254. 1952.
- 216) NIVEN, C. F., Jr., A. G. CASTELLANI, and V. ALLANSON, J Bacteriol 58: 633-641. 1949.
- 217) NIVEN, C. F., Jr., and J. B. EVANS, J Bacteriol 73: 758-759. 1957.
- 218) NURMIKO, V., Suomen Kem 28B: 62-66. 1955. (cited from Dairy Sci Abstr 18: 64).
- 219) 越智勇一・勝部泰次, 日獣誌 20: 39-43. 1958.
- 220) 越智勇一・光岡知足, 日獣誌 20: 71-81. 1958.
- 221) OCHI, Y., T. MITSUOKA, and T. SEGAI, Zentr Bacteriol I Orig 193: 80-95. 1964.
- 222) 越智勇一・光岡知足・瀬賀利夫・池上竹二・三浦高義, 日畜会報 36: 317-323. 1965.
- 223) 越智勇一・尾形 学・鹿江雅光, 日獣誌 22: 353-361. 1960.
- 224) 大宮邦雄・佐藤 泰, 酪農科研 17: A118-128. 1968.
- 225) 大宮邦雄・佐藤 泰, 酪農科研 18: A1-11. 1969.
- 226) OHMIYA, K., and Y. SATO, Agr Biol Chem 33: 662-668, 669-675 & 1628-1635. 1969.
- 227) OHMIYA, K., and Y. SATO, *ibid.*, 34: 457-463 & 1463-1469. 1970.
- 228) OHMIYA, K., and Y. SATO, Milchwiss 27: 417-422. 1972.
- 229) 大山嘉信, 日畜会報 42: 301-317. 1971.
- 230) 大山嘉信・榎木茂彦・森地敏樹, 日畜会報 41: 625-631. 1970.
- 231) 大山嘉信・榎木茂彦・森地敏樹, 日畜会報 42: 9-15. 1971.
- 232) 大山嘉信・榎木茂彦・森地敏樹, 日畜会報 44: 404-410. 1973.
- 233) 大山嘉信・榎木茂彦・滝川明宏・森地敏樹, 日畜会報 42: 1-8. 1971.
- 234) OTERHOLM, A., Z. J. ORDAL, and L. D. WITTER, Appl Microbiol 16: 524-527. 1968.
- 235) OTERHOLM, A., L. D. WITTER, and Z. J. ORDAL, J Dairy Sci 55: 8-13. 1972.
- 236) OXFORD, A. E., Biochem J 38: 178-182. 1944.
- 237) 小沢康郎, 農技研報 G2: 11-18 & 19-25. 1951.
- 238) 小沢康郎, 農技研報 G5: 33-39. 1953.
- 239) 小沢康郎・矢野信礼, 農技研報 G5: 41-51. 1953.
- 240) PAKULA, R., and W. WALCZAK, J Gen Microbiol 31: 125-133. 1963.
- 241) PEARCE, L. E., XVIII Int Dairy Congr 1E: 109. 1970.
- 242) PEDERSON, C. S., J Bacteriol 35: 95-108. 1938.
- 243) PEEBLES, M. M., S. E. GILLILAND, and M. L. SPECK, Appl Microbiol 17: 805-810. 1969.
- 244) PERRY, D., and H. D. SLADE, J Bacteriol 83: 443-449. 1962.
- 245) PERRY, D., and H. D. SLADE, J Bacteriol 85:

- 636-642. 1963.
- 246) PERRY, D., and H.D. SLADE, J Bacteriol 88: 595-601. 1964.
- 247) PERRY, K.D., and M.E. SHARPE, J Dairy Res 27: 267-275. 1960.
- 248) PERRY, K.D., M. E. SHARPE, and A. T. R. MATTICK, J Dairy Res 25: 407-408. 1958.
- 249) PERRY, K.D., M.K. WILSON, L.G.M. NEWLAND, and C.A.E. BRIGGS, J Appl Bacteriol 18: 436-442. 1955.
- 250) PIERSON, M.D., D.L. COLLINS-THOMPSON, and Z.J. ORDAL, Food Technol 24: 1171-1175. 1970.
- 251) PINHEIRO, A. J. R., B. J. LISKA, and C. E. PARMELEE, J Dairy Sci 51: 183-187. 1968.
- 252) PONT, E.G., and G.L. HOLLOWAY, Aust J Dairy Technol 23: 22-29. 1968.
- 253) PREMI, L., and V. BOTTAZZI, Milchwissen 27: 762-765. 1972.
- 254) PREMI, L., W.E. SANDINE, and P.R. ELLIKER, Appl Microbiol 24: 51-57. 1972.
- 255) PRICE, R. J., and J. S. LEE, J Milk Food Technol 33: 13-18. 1970.
- 256) PRICE, W. V., *ibid.*, 34: 329-346. 1971.
- 257) QUINN, L. Y., C.D. STORY, D.V. CATRON, A.H. JENSEN, and W.M. WHALEN, Antibiot Chemother 3: 527-533. 1953.
- 258) RAHN, O., C.P. HEGARTY, and R.E. DEWEL, J Bacteriol 35: 547-558. 1938.
- 259) REDDY, G.V., and K.M. SHAHANI, J Dairy Sci 54: 748. 1971.
- 260) REDDY, M.S., E.R. VEDAMUTHU, C.J. WASHAM, and G.W. REINBOLD, J Milk Food Technol 34: 236-240. 1971.
- 261) REDDY, M.S., E.R. VEDAMUTHU, C.J. WASHAM, and G.W. REINBOLD, Appl Microbiol 24: 953-957. 1972.
- 262) REDDY, S.G., R.L. HENRICKSON, and H.C. OLSON, J Food Sci 35: 787-791. 1970.
- 263) REITER, B., Nature 164: 667-668. 1949.
- 264) REITER, B., T.F. FRYER, M.E. SHARPE, and R.C. LAWRENCE, J Appl Bacteriol 29: 231-243. 1966.
- 265) REITER, B., and A. MØLLER-MADSEN, J Dairy Res 30: 419-456. 1963.
- 266) REITER, B., and M.E. SHARPE, J Appl Bacteriol 34: 63-80. 1971.
- 267) REUTER, G., Zentr Bakteriell Orig 197: 468-487. 1965.
- 268) REUTER, G., Fleischwirt 50: 951-954, 954-962 & 1397-1399. 1970.
- 269) REUTER, G., Fleischwirt 52: 465-468 & 471-473. 1972.
- 270) ROGERS, L.A., J Infect Dis 14: 100-123. 1914.
- 271) ROGERS, L.A., and A.O. DAHLBERG, J Agr Res 1: 491-511. 1914.
- 272) ROGOLSKY, M., and R.A. SLEPECKY, Can J Microbiol 14: 61-64. 1968.
- 273) ROGOSA, M., J Gen Microbiol 24: 401-408. 1961.
- 274) ROGOSA, M., Int J Syst Bacteriol 20: 519-533. 1970.
- 275) ROGOSA, M., J.G. FRANKLIN, and K.D. PERRY, J Gen Microbiol 25: 473-482. 1961.
- 276) ROGOSA, M., and M.E. SHARPE, J Appl Bacteriol 22: 329-340. 1959.
- 277) ROGOSA, M., and M.E. SHARPE, J Gen Microbiol 23: 197-201. 1960.
- 278) ROGOSA, M., R.F. WISEMAN, J.A. MITCHELL, M.N. DISRAELY, and A.J. BEAMAN, J Bacteriol 65: 681-699. 1953.
- 279) ROMANO, A.H., S.J. EBERHARD, S.L. DINGLE, and T.S. McDOWELL, J Bacteriol 104: 808-813. 1970.
- 280) 坂口健二, 乳酸菌の研究 p. 103-115. 1966.
- 281) 桜井稔三・石和浩美, 農化 46: 273-280. 1972.
- 282) 桜井稔三・高橋徳太郎, ヤクルト研究所研究報告集, 昭45 No. 1: 43-46. 1970.
- 283) SANDINE, W.E., P.R. ELLIKER, L.K. ALLEN, and W.C. BROWN, J Dairy Sci 45: 1266-1271. 1962.
- 284) SANDINE, W. E., K. S. MURALIDHARA, P. R. ELLIKER, and D.C. ENGLAND, J Milk Food Technol 35: 691-702. 1972.
- 285) SANDINE, W. E., P. C. RADICH, and P. R. ELLIKER, *ibid.*, 35: 176-185. 1972.
- 286) 笹子謙治・津郷友吉, 乳技協資料 22(4): 2-11. 1972.
- 287) 佐々木博, 北海道大学農学部紀要 8: 188-251. 1972.
- 288) 佐々木林治郎・中江利孝, 日畜会報 29: 357-361. 1959.
- 289) 佐々木林治郎・中江利孝, 日畜会報 30: 68-74 & 75-78. 1959.
- 290) 佐々木西二, 乳酸菌の研究 p. 116-137. 1966.
- 291) 佐々木西二, 化学と生物 10: 175-184. 1972.
- 292) 佐藤 泰, 日畜会報 38: 405-414. 1967.
- 293) 佐藤 泰・梅本弥一郎・岩山俊一, 農化 41: 585-591. 1967.
- 294) SEARLES, M.A., P.J. ARGYLE, R.C. CHANDON, and J.F. GORDON, XVIII Int Dairy Congr 1E: 108. 1970.
- 295) SEYFRIED, P.L., Can J Microbiol 14: 313-318. 1968.
- 296) SHAHANI, K.M., and J.R. VAKIL, J Dairy Sci 45: 1057-1065. 1962.
- 297) SHARPE, M.E., J Hyg 50: 209-228. 1952.
- 298) SHARPE, M.E., J Gen Microbiol 12: 107-122. 1955.
- 299) SHARPE, M.E., Dairy Sci Abstr 24: 109-118

- & 165-171. 1962.
- 300) SHARPE, M. E., *Food Manuf* **37**: 582-584 & 587-589. 1962.
- 301) SHARPE, M. E., A. L. DAVISON, and J. BADDILEY, *J Gen Microbiol* **34**: 333-340. 1964.
- 302) SHARPE, M. E., T. F. FRYER, and D. G. SMITH, *Identification Methods for Microbiologists*, Part A B. M. GIBBS & F. A. SKINNER, eds p. 65-79. Academic Press. N. Y., 1966.
- 303) SHARPE, M. E., and A. T. R. MATTICK, *J Dairy Res* **27**: 277-282. 1960.
- 304) SHARPE, M. E., and D. M. WHEATER, *J Gen Microbiol* **16**: 676-679. 1957.
- 305) SHERMAN, J. M., *J Dairy Sci* **38**: 1184-1187. 1955.
- 306) SHERWOOD, I. R., *J Dairy Res* **10**: 426-448. 1939.
- 307) SIJPESTEIJN, A. K., Antonie van Leeuwenhoek **36**: 335-348. 1970.
- 308) SIMONDS, J., P. A. HANSEN, and S. LAKSHMANAN, *J Bacteriol* **107**: 382-384. 1971.
- 309) SMITTLE, R. B., S. E. GILLILAND, and M. L. SPECK, *Appl Microbiol* **24**: 551-554. 1972.
- 310) SNELL, E. E., *Ann Rev Microbiol* **3**: 97-120. 1949.
- 311) SNUDDEN, B. H., W. C. FRAZIER, and H. E. CALBERT, *J Dairy Sci* **47**: 674. 1964.
- 312) SORRELLS, K. M., R. A. COWMAN, and H. E. SWAISGOOD, *J Bacteriol* **112**: 474-479. 1972.
- 313) SORRELLS, K. M., and M. L. SPECK, *J Dairy Sci* **53**: 239-241. 1970.
- 314) SPECK, M. L., *J Dairy Sci* **55**: 1019-1022. 1972.
- 315) SPECK, M. L., *J Milk Food Technol* **35**: 306. 1972.
- 316) SPECKMAN, C. A., E. R. VEDAMUTHU, W. E. SANDINE, and P. R. ELLIKER, *J Dairy Sci* **55**: 668. 1972.
- 317) SPIZIZEN, J., Spore III L. L. CAMPBELL & H. O. HALVORSON eds p. 125-137. *Am Soc Microbiol Mich* 1965.
- 318) STADHOUDERS, J., G. HUP, and L. A. JANSEN, *Neth Milk Dairy J* **25**: 229-239. 1971.
- 319) STADHOUDERS, J., L. A. JANSEN and G. HUP, *Neth Milk Dairy* **23**: 182-199. 1969.
- 320) STARK, P., and J. M. SHERMAN, *J Bacteriol* **30**: 639-646. 1935.
- 321) STIRLING, A. C., and R. WHITTENBURY, *J Appl Bacteriol* **26**: 86-90. 1963.
- 322) SUZUKI, J., and K. KITAHARA, *J Gen Appl Microbiol* **10**: 305-311. 1964.
- 323) THORNLEY, M. J., and M. E. SHARPE, *J Appl Bacteriol* **22**: 368-376. 1959.
- 324) 鶴田文三郎, 酪農科研 **15**: A23-30. 1966.
- 325) 津郷友吉・慶田雅洋, 化学と生物 **3**: 292-300. 1965.
- 326) 内田和夫・片岡弘毅・光岡知足・新城敏晴・尾張学, 日獣誌 **27**: 215-220. 1965.
- 327) UCHIDA, K., and K. MOGI, *J Gen Appl Microbiol* **19**: 129-140. 1973.
- 328) UNEMOTO, Y., H. UMEDA, and Y. SATO, *Agr Biol Chem* **32**: 1311-1317. 1968.
- 329) VAKIL, J. R., and K. M. SHAHANI, *Bacteriol Proc* p. 9. 1965.
- 330) VAKIL, J. R., and K. M. SHAHANI, *J Dairy Sci* **52**: 162-168. 1969.
- 331) VEDAMUTHU, E. R., B. A. HAUSER, D. R. HENNING, W. E. SANDINE, P. R. ELLIKER, and E. A. DAY, *XVII Int Dairy Congr D*: 611-618. 1966.
- 332) VEDAMUTHU, E. R., and G. W. REINBOLD, *J Milk Food Technol* **30**: 247-252. 1967.
- 333) WAES, G., *Revue Agr Brux* **23**: 1097-1109. 1970. cited from *Dairy Sci Astr* **33**: 1003.
- 334) WATTS, J. C., and H. E. CALBERT, *XIV Int Dairy Congr 2(2)*: 619-629. 1956.
- 335) WEISS, J. E., and L. F. RETTGER, *J Bacteriol* **28**: 501-521. 1934.
- 336) WEIXL-HOFMANN, H., *Milchwiss Ber Wolfpassing* **7**: 67-83. 1957.
- 337) WEIXL-HOFMANN, H., *ibid* **8**: 57-60. 1958.
- 338) WESTHOFF, D. C., and R. A. COWMAN, *J Dairy Sci* **53**: 1286-1287. 1970.
- 339) WESTHOFF, D. C., and R. A. COWMAN, *J Dairy Sci* **54**: 1265-1269. 1971.
- 340) WESTHOFF, D. C., R. A. COWMAN, and M. L. SPECK, *J Dairy Sci* **54**: 1253-1258. 1971.
- 341) WESTHOFF, D. C., R. A. COWMAN, and H. E. SWAISGOOD, *J Dairy Sci* **54**: 1259-1264. 1971.
- 342) WHEATER, D. M., *J Gen Microbiol* **12**: 123-132 & 133-139. 1955.
- 343) WHEATER, D. M., A. HIRSCH, and A. T. R. MATTICK, *Nature* **170**: 623-624. 1952.
- 344) WHITTENBURG, R., *J Gen Microbiol* **35**: 13-26. 1964.
- 345) WHITTENBURG, R., *ibid.*, **38**: 279-287. 1965.
- 346) WIERZBICKI, L. E., and F. V. KOSIKOWSKI, *J Dairy Sci* **56**: 26-32. 1973.
- 347) WILBUR, R. D., D. V. CATRON, L. Y. QUINN, V. C. SPEER, and V. W. HAYS, *J Nutr* **71**: 168-175. 1960.
- 348) WILKERSON, W. B., J. C. AYERS, and A. A. KRAFT, *Food Technol* **15**: 286-292. 1961.
- 349) WINKLER, S., and H. JAGER, *Milchwiss Ber Wolfpassing* **4**: 131-156. 1954.
- 350) WOLIN, M. J., *Science* **146**: 775-777. 1964.
- 351) WÖLLER, H., *Zentr Bacteriol II Abt* **79**: 173-177. 1929.
- 352) YAKOVLEV, D. A., and L. I. SHMELYOVA, *XVIII Int Dairy Congr* **1E**: 120. 1970.
- 353) 矢野信礼, 乳技協資料 **17(3)**: 14-23. 1967.

畜産における乳酸菌

- 354) 矢野信礼・入江良三郎・森地敏樹・見坊 寛, 農
化 **36**: 750-754. 1962.
- 355) 矢野信礼・森地敏樹・入江良三郎・見坊 寛, 農
化 **34**: 1046-1049. 1960.
- 356) YAWGER, E.S., and J.M. SHERMAN, J Dairy
Sci **20**: 83-86. 1937.
- 357) 横倉輝男・石和浩美, 農化 **46**: 253-257. 1972.
- 358) 吉岡八洲男, 雪印技術研究所報告 No. 72: 1-
114. 1971.