れることを証明した。

(尙、本報文の大意は昭和 22 年 6 月 28 日、日本農芸化学会東京支部会に於て講演した。)

ブタノール醗酵に於ける阻害因子に関する研究 (第 8 報)*

ブタノール醗酵に於ける所謂「酸醗酵」について (其の 3)

根 元 茂 (合同酒精株式会社)

昭和 32 年 11 月 6 日 受 理

・ 緒 言

著者は第 6 報、第 7 報に於て、ブタノール醗酵に於ける酸醗酵及びこれに関連せる異常醗酵につき検討し、その醗酵形式を明らかにし、更にこれの原因は用水中に存在する生酸菌である 13 号菌の混在による事を証明した。よって本菌の細菌学的特性を検討し、更にその汚染機構につき 2, 3 の考察を行ったのでここに報告する。

実 験 の 部

I. 13 号菌の細菌学的特性

(1) 形態学的性質

栄養細胞；桿菌 $0.8 \sim 1.0 \mu \times 2.5 \sim 5 \mu$ 。配列；単独又は双生、時に非常に長く連鎖する。

運動性；無し。グラム染色；陽性。孢子；形成せず。

(2) 培養的性質

麵汁寒天平板培養；径 0.1 mm 程度の円形乃至不正円形の小コロニーを表面又は内部に発生、乳白色にして粘稠性を有す。

グルコース・ブイヨン穿刺培養；穿刺溝に沿い乳白色によく発育する。

グルコース・ブイヨン劃線培養；殆んど発育せず。

グルコース・ブイヨン液体培養；一様に濁濁し、振盪すれば絹糸状に動く。1 週間の培養にて菌体は沈下し、液は清澄となる。

麵汁液体培養；培養後 17 時間にして一様に濁濁し、振盪すれば絹糸状に動き、1 週間後液は清澄となる。

(3) 生理的性質

繁殖の適温； 30° 附近。死滅温度； 80° , 1 分。カタラーゼ反応；陰性。

ガスの発生；微量に発生す。インドール；陰性。乳酸旋光性；不活性。硝酸塩還元性；陽性。

炭水化物よりの生酸性；アラビノーズ、キシロース、グルコース、ガラクトース、蔗糖、麦芽糖、ラフィノーズ、ラクトースより生酸し、グリセリン、イヌリン、澱粉、ソルビット、ラムノーズ、グリコゲンより生酸せず。

醗酵生産物；乳酸の他にエタノール、醋酸、炭酸ガスを副生す。

II. 13 号菌の分類学上の位置及び類縁関係

以上の諸性質より Bergey⁽¹⁾ の分類表によって比較すれば、乳酸の他にエタノール、醋酸を副生し、アラビノーズを醗酵し、ラフィノーズ、蔗糖、ラクトースより生酸する点より *Lactobacillus buchneri* に属する菌株と思われる。又其他の点についてもよく類似するが、唯硝酸塩を還元する点が異なる。

北原⁽²⁾ の分類によればグラム陽性、桿菌、カタラーゼ反応陰性、第 2 醗酵形式に従い、ラフィノーズより生酸する点より *L. brevis* α に属すると考えられる。然して北原は特に *L. buchneri* 種をもうけず、アラビノーズの醗酵性の他は極めて *L. fermentum* と類同的なをもつて、*L. buchneri* を *L. brevis* の α -type と見なししている。

Fred⁽³⁾ 等はブタノール醗酵を阻害する乳酸菌について研究し、*Lactobacillus leichmannii* が最も阻害作用を有するとなし、その他に mannit-forming bacteria として *L. mannitopoeum*, *Lactobacillus gracile*, *Lacto-*

* Studies on the Inhibitory Factors in Acetone-Butanol Fermentation. Part VIII. On the So-called "Acid Fermentation" in Acetone-Butanol Fermentation. (3)

By Shigeru NEMOTO (Gōdō-Shusei, Inc.)

bacillus intermedium を上げている。又 Fred は、典型的酸醗酵を行わしめる *B. volutans* n. sp. Fleming, Thaysen⁽⁴⁾ は *Lactobacillus leichmannii* と同種ならんと推論している。而して No. 13 号菌は heterofermentative な点より明らかに *B. volutans*, *L. leichmannii* と全く異なる。寧ろこの点よりすれば *Lactobacillus mannitopoeum* によく類似する。然して Bergey は *L. mannitopoeum* を *L. buchneri* と同一種と見なしている。従って本菌は *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. fermentum* の中間種と思われるが、その性質が *Lactobacillus buchneri* に最も近いのでその 1 変種と認めた。

III. 酸醗酵に対する対策

前報の試験結果により、酸醗酵並びにそれに関連せる異常醗酵は水の洩漏による乳酸菌の汚染なる事が明白となった。工場に於て水の洩漏の考え得られるのは、イ) シャワー水が醗酵槽冷却時に減圧となるため浸入する。ロ) 醗酵槽内の冷却用コイルが醗の吹込時にフランジがゆるんで水が洩漏する。ハ) 各パイプのドレンが洩漏する。

然して直接水の洩漏のみに帰因せしめることばかりでなく、間接的に残存せる酸敗醗が醗にふれることも考察しなくてはならない。以上の対策として下記の事が考えられる。

イ) エアー・コンプレッサーの設置： 従来当工場に於てはエアー・コンプレッサーをブタノール醗酵の場合は、該菌が嫌気性菌なる故をもって使用せず、唯ファメンターの上部に小さな綿濾管を附設したのみであった。然し種々検討した結果、蒸気によって吹込時に湿気を運び、シャワーにて冷却を開始する場合に、外気の吸込が不十分になることと、500 石のファメンターに対して能力が不足し、タンクの内圧が減圧になりシャワー水並びに接続するパイプ類より洩漏する事が判明した。それゆへ、エアーコンプレッサーを新設し、エアーフィルターを別に設置し、醗をタンク内に吹出後冷却開始前より空気を導入し、タンクの内圧を保つようにした。

ロ) 冷却用コイルの除去： 醗酵槽内に於ける冷却コイルは前述の如くフランジより洩水の危険があるので、全部除去し、外部のシャワーのみにて冷却する事とした。然し冷却時間は殆んど大差がなかった。又醗酵槽上部のシャワー・コイルは内部の空気を直接冷却するので減圧になり易く、且つタンクの鏡面の彎曲部より水が発散する傾向が多いので、醗の液面迄下げた。

ハ) 洗滌を完全にすること： 醗酵槽の上部及び内部の諸設備は出来るだけ除去し、洗滌をし易くし、且つ第 4 報に記載せる如くにホルマリン殺菌を仕込ごとに行った。

以上の対策を順次行ったが、コンプレッサー附置により酸醗酵はなくなった。然し時折再蒸煮醗酵が頻発したが、内部コイルの除去によってこれがなくなった。

考

察

以上第 6 報、第 7 報に於てブタノール醗酵に於ける酸醗酵及びこれに関連せる異常醗酵について報告したが、この結果に基づき 2, 3 の考察を行えば次の如くである。

Fred⁽³⁾ 等及び Thaysen⁽⁴⁾ 等は *Lactobacillus leichmannii*, *B. volutans* 等の high-acid forming bacteria によって、典型的酸醗酵が惹起されしていると報告している。然し著者の場合は hetero-fermentative に属する *Lactobacillus buchneri* によるもので、その規を異にする。然し Peterson の Infection bacillus と報告せる *Lactobacillus mannitopoeum* と細菌学的性質が非常に類似しているので、著者の場合もこれに類すると考えられるが、Fred は酸醗酵を惹起せる場合の酸度曲線の変化、その他の異常現象につき言及されていないので *L. mannitopoeum* の場合にアルコールが副生し、醋酸が増加するかどうかは不明であるが、*Lactobacillus buchneri* の場合は明白にアルコールの副生、醋酸の増加が観察され得た。又添加時期の差により *Lactobacillus buchneri* の場合は典型的酸醗酵と異型異常醗酵との両異常醗酵が出現し得るが、これは該菌の特性とも考えられる。これは添加される菌量と共に発育速度、即ち培養基の状態に適應して増殖する速度が非常に問題となるので、汚染の強度はかなり菌種の差があると考えられる。

更に不思議な現象は異常醗酵に於て、菌形に変化の起る時期、即ち菌が交代する時期に於てしばらく醗酵が停止する現象である。Fred はブタノール菌と乳酸菌の交代機構については澱粉分解能、蛋白分解能を有するブタノール菌が始導し、これにより乳酸菌が繁殖を開始し、それと共に pH が下降し、これによりブタノール菌が阻害され乳酸菌のみが増殖し酸度の上昇を行うとしている。乳酸菌の出現については勿論ブタノール菌の澱粉分解能、蛋白分解能を必要とするが、著者の研究によればブタノール菌と乳酸菌とが共存し、ブタノール醗酵と乳酸

醱酵が併行的に進行する時期はない。即ちブタノール醱酵の時期と乳酸醱酵の時期とは醱酵停止を境界とし、翻然として二分され、交代時期に於ける未分解の澱粉は醱酵終了後迄未分解のまま残存する。故に著者の異常醱酵の場合は、唯単に以上の如く澱粉分解能と蛋白分解能にのみ帰因する事は出来ない。

木下⁽⁵⁾は酸醱酵もブタノール菌のバクテリオ・ファージにより、ブタノール菌自体が溶菌現象を起し、乳酸菌が2次的に発生するのでないかと推論している。かかる場合も当然思考され得るのである。而して木下⁽⁶⁾は又所謂「眠り病」はバクテリオファージによると報告され、ファージを添加する事により氏のA型、B型の異常醱酵を再現せしめている。然し眠り病の場合に於ては醱酵停止は行っても、ブタノール菌は再現し爾後正常と殆んど変らない醱酵を営むのであって、この醱酵停止が乳酸菌の混在により直ちに醱酵の切り換えを意味するかどうかは不明である。

著者の研究によれば、酸醱酵又は冷却水をブタノール菌の接種前に添加する場合、再蒸煮醱酵を行った。この場合、ブタノール菌は相当繁殖していたにも拘らず、増酸期以前に消失し醱酵は停止した。数日間もその状態のまま存在し、後に *B. subtilis* 属と思われる細菌により変敗に移行した。而してブタノール菌消失以前には大型の連鎖球菌が発現していた。このブタノール菌の消失現象がバクテリオファージによるものであるか、大型球菌による作用であるかは確認試験を行っていないので不明であるが、酸醱酵及び冷却水中にはブタノール菌を溶菌せしむべき因子が潜在する事は明らかである。

而してこの溶菌現象がバクテリオファージに由来するとすれば、完全に溶菌作用を行う場合でなければならない。かかる場合がブタノール菌に対して起り得るかどうかは今後の研究を俟たなければならない。

然し、乳酸菌を純粋に分離し、これをブタノール菌と共に混合培養を行った場合に於ても、異型、典型的酸醱酵を惹起する。この乳酸菌の培養液をザイツ濾過を行い、乳酸菌の存在せざることを確認後、玉蜀黍培養基にブタノール菌接種12時間前、同時、12時間後と混合培養を行ったが、対照と大差なく培養液の影響は全くみられなかった。これは Fred 等の実験と全く規を一にしたのである。この事実より考察するに、ファージの存在がなくても乳酸菌のみにて酸醱酵は行い得るのである。又もしファージが醱酵休止、醱酵交代の要因とするならば、異型酸醱酵の場合はクロストリディア形成後に於ても働くファージの存在が必要となる。

以上の事実より考察するに、乳酸菌のブタノール醱酵過程中に発現する機構は従来考えられていたものより、更に複雑なものであると思われる。

Fred はブタノール菌と共存する場合、乳酸菌の発育が異常に促進される事実を認め、玉蜀黍培養基に対して各種の物質を添加して、同様な乳酸菌の発育が認められるかどうかを試験したが、パンクレアチンによって分解せるもの、玉蜀黍培養基に2% グルコース、1% 磷酸塩を添加せるものが *L. leichmannii* の発育、生酸に相当効果ある事を認めたが、その生酸速度はブタノール菌混在の場合より遙かにおそいものであると報告している。

著者等⁽⁷⁾は酒精醱酵に於いて、酵母の生産する或る種の物質が乳酸菌の汚染、発育に対して大なる影響も持つことを知った。即ちブタノール菌の存在は澱粉分解能、蛋白分解能以外に更に大きな意味を乳酸菌に対して持っていると思われる。故に乳酸菌の発現機構については培養基に於ける醱酵中間生産物系のブタノール菌と乳酸菌の間に於ける授受の問題、殊に蛋白質系の分解、授受の問題が大なる影響があると思われる。

総 括

前報に於て、ブタノール醱酵に於ける酸醱酵並びにこれに関連せる異常醱酵につき検討し、これらの原因は用水中に存在する乳酸菌である事を知った。よって本報に於て該菌の細菌学的特性を検討し、酸醱酵に於ける対策を樹立し、更に2、3の考察を行った結果を総括すれば次の如くである。

(1) 13号菌の細菌学的性質を検討し、分類学上の位置及び類縁関係を比較せる結果、Bergey の分類に従い *Lactobacillus buchneri* の1変種と認めた。

(2) エアー・コンプレサーを設置し、タンク内圧を減圧にせざるようにする等、水が醱内に混入せざるように極力行った結果、本異常醱酵を防止し得た。

終りに臨み終始御懇篤な御指導を賜った東京大学坂口謹一郎教授、朝井勇宜教授、有馬啓助教授、協和醱酵株式会社社長加藤弁三郎博士、応用微生物研究所池田庸之助博士、名古屋大学土井新次教授に対して、深甚の謝意を表すると共に、本研究の実施と発表を御許可された合同酒精株式会社社長堀末治氏、社長野口喜一郎氏、常務取締役高野賢次氏、清水工場長堀豪三氏に深謝致します。更に協力の労をとられた合同酒精株式会社岡田成多氏、

福居昇一氏に附記して御礼を申し上げます。

(1) Bergey : Manual of Determinative Bacteriology, six edition (1948).	(4) A. C. Thaysen : Jour. Inst. Brewing, 27, 529 (1921).
(2) 北原覚雄 : 本誌, 16, 819 (1940).	(5) 木下祝郎 : 微生物工業, 276 (1956).
(3) E. B. Fred, W. H. Peterson, M. Mulvanian : Jour. Bact., 11, 323 (1936).	(6) 木下祝郎, 寺本賢一郎 : 本誌, 29, 955 (1955).
	(7) 根元 茂, 入江淑郎 : 未発表.

デキストラン (国産) の生体に及ぼす影響 (第 2 報)*

血液の粘度・凝固性に及ぼす影響, 並びにその毒性・抗元性

川 野 武 彦 (日本ブラッド・バンク研究部)

昭和 32 年 8 月 10 日 受理

デキストラン (国産) の生体に及ぼす影響の中, 赤血球の有する生理学的機能に及ぼす影響を検討した結果に就ては前報に於て報告した。

本文に於ては血液の粘度及び凝固性に及ぼす影響, 並びにデキストラン (国産) の毒性及び抗元性に就て検討した結果を報告する。

実 験

1. 血液の粘度に及ぼす影響 血液の粘度は末梢血管の抵抗, 循環系の負担と関連するので, 血漿増量剤として用いるには血液の粘度を異常に上昇させないことが 1 つの条件となる。従来血漿増量の目的で使用するものの粘度は血漿 (又は血清) と略々等しいのが良いとされていた。デキストランは通常使用される 6% の濃度で血清の約 2 倍, 血液の約 3/4 の粘度を有し, 従来の観点から言うところと粘度が大き過ぎる。併し血液中への注入を前提とするものにあつては, 血液と混合した場合の粘度こそ重要であつて, 単独の場合には注射に困難を感じない範囲の粘度であればよいと考えられる。そこで著者は保存血と 6% デキストラン, 3.5% PVP (Polyvinylpyrrolidone), 生理的食塩水とを混合した場合の粘度を測定した。

粘度測定は, 毛細管の内径 0.5 mm, 長さ 100 mm, 水に対する流下時間約 120 秒のオストワルド粘度管を使用し, 25° に於て測定した。比重は単独の場合にはピクノメーターにより, 血液と混合した場合には硫酸銅法により測定した。

その結果は第 1 図の如く, PVP では粘度の増加を来し食塩水では低下を来すに比較し, デキストランでは保存血と略々等しい相対粘度 3.5 に近い状態が維持された。単独ではデキストランより粘度の低い 3.5% PVP (相対粘度約 2.2) の方が血液と混合した場合かえって粘度の高くなることは, この様な物質の粘度は単独の場合より血液と混合した場合に問題があることを示しており, 国産のデキストランは血液の粘度に悪影響を及ぼさないと言うことが出来る。

2. 血液凝固に及ぼす影響 デキストランの大量注射は出血傾向をもたらすと言われるので, 著者は国産のデキストランを使用してデキストランの血液凝固に及ぼす影響を検討した。Thorsen⁽¹⁾ や Goldenberg 等⁽²⁾ はデキストランの使用が凝塊の形成や出血時間, 凝固時間, プロトロンビン時間に悪影響を及ぼさないことを述べたが, 徳沢等⁽³⁾ はデキストラン注射によりヒスタミンが遊離しそれにつれてヘパリンも遊離する様であり, 出血時間, 凝固時間, プロト

第 1 図 血液粘度に及ぼす影響

—x— 3.5% PVP, —o— 6% デキストラン
—▲— 0.9% 食塩水

* Studies on the Effects of Dextran manufactured in Japan on the Physiological Function.
Part II. Effects of Dextran on Blood Viscosity, Coagulation, and its Toxicity, Antigenicity.
By Takehiko KAWANO (Research Laboratory, The Blood Plasma Corp. of Japan)