

研究報文

乳酸菌飲料の細菌学的研究 第一報 市販乳酸菌飲料の食品衛生学的考察

平 田 一 士*
肥 後 純 江**

本研究の要旨は昭和32年12月8日第一回京都公衆衛生学会総会(会場京都大学医学部医化学講堂)に於いて発表した。

第一章 緒 論

所謂醗酵乳又は醗酵酸乳 Fermentative acidic milk は単に酸乳 Acidic milk と称せられ、古来色々な名称、例えばブルガリヤ、ギリシヤ、トルコ地方のヨーグルト、及びマヤ、Yoghurt and Maja, コーカサスの山岳地帯に於いて愛用されているケフイーヤ Kefir, シベリヤ地方のクームス等、何れも乳酸菌 Lactic acid bacilli の醗酵力 Fermentativity を応用して出来た有名な酸乳製品である、本邦に於いても亦、Yoghurt や、液状醗酵乳(今日の乳酸菌飲料)等は、従来から市販品として親られてはいたが、戦前に於いては差程広範なものではなかつた。即ち、夫等製品の味に、余り一般の親みが得られなかつた。ところが、今次終戦後に於いては、所謂乳酸菌飲料は、一種の嗜好飲料化の傾向にあり、克く大衆の味覚を捕え、茲両三年に於ける、之が全国的需給関係は、実に夥い数字を示しつつある現状で、時下此の種メーカーは大凡4000を数え、その製品取扱い高も毎日500万本を下らずと云われている。

抑々、乳酸菌を含む加工飲食品が、滋養強壯料、乃至は整腸剤としての薬効的期待の下に東西に、汎く賞用せられるに至つたその動機は、周知の如く、彼の Metschnikoff 氏の乳酸菌飲用に因る、所謂不老長寿説に端を発するものである。即ち、Metschnikoff 氏は、人間の老衰現象を説明して白く即ち、人間の老衰現象は、長年月に亘る自家中毒の結果であると称し、然して、その原因を腸内の腐敗生成物に帰し、その腐敗醗酵 Putrefactive fermentation を抑制する目的にて、生酸性有用醗酵菌たる生活乳酸菌を飲用して、当生活乳酸菌(当時は Metschnikoff 氏が Maja から分離した

Bulgarian bacillus Grigoroff, が対象となつていた)の腸内に於ける定着増殖を図り、そのために生産される乳酸酸性によつて腸内腐敗菌(異常醗酵菌)の繁殖は防止され、さすれば人間は健康と長寿とを保ち得る」と提唱したのである。Metschnikoff 氏の此の論拠は、ブルガリヤ国に、百才を越ゆる長寿者の多く居ることの原因を、同国人が愛飲する Bulgarian fermentative acidic milk に帰し、以つて、その因つて来たる所以を、Bulgarian bacilli, 即ち、Bacillus bulgaricus Grigoroff, に荷したのである。

ブルガリヤ国では、古来ブルガリヤ醗酵乳と称する所謂酸乳 Acidic milk を常用する習慣があり、その酸乳から1905年に、彼の Grigoroff 氏が、該醗酵微生物として一種の桿菌を分離し、本菌に Bacillus bulgaricus と命名したのである。

Metschnikoff 氏は、ブルガリヤ人は叙上ブルガリヤ醗酵乳の飲用によつて、当酸乳中の Grigoroff's Bulgarian bacilli の腸内に於ける定着増殖に基き、腸内の異状醗酵(腐敗醗酵)が防止され、(即ち、夫れは乳酸菌の定着増殖に依つて、乳酸醗酵が営まれ、その乳酸々性のために他の有害細菌が拮抗されて、整腸作用が行われると云うにある)。そのために腐敗生成物の発生がなくなり、引いては叙上した自家中毒 Auto-intoxication の発生も防がれるとの立論から、彼の Metschnikoff 氏の不老長寿説が生れた訳けである。

而して、その後、本菌(Bacillus bulgaricus)は、人の腸内には長期定着性がないことが認められ、爾後乳酸菌の叙上の効用は、専ら Moro's bacilli (1900年)即ち、酸好性乳酸菌(或は嗜酸性乳酸菌)として有名な Bacillus acidophilus の優秀性が確認されている。従つて、此の面の利用菌として B. bulgaricus は学問的には脱落した形になつているが、尚お一般的には、乳酸菌飲料、或は酸乳食品、乃至は乳酸菌製剤と言へば、まづ Bacillus bulgaricus (Bulgarian bacilli) の觀念が、Metschnikoff's theory 以来、伝統的に印象

*本学教授, 医博

**大食四回生

付けられており、専門的知識人間にすら前記のように思い誤られた観念が持たれていることが多い。そして、叙上 Metschnikoff's theory の発現機序に今日最も優秀性の認められる菌種、即ち、*Bacillus acidophilus*, *Bacillus bifidus* and *Lactic acid cocci*, etc. の乳酸菌種(細菌学的詳細後述)は、細菌学者間にのみ知られた醗酵乳用乳酸菌たるの観が強いのである。今日の乳酸菌利用状況から按ずれば、甚だ遺憾とせざるを得ない。なぜならば、本邦に於ける乳酸菌飲料の営業的、時下の市販趨勢は、將に市乳に次がん勢である。そして、嗜好飲料としての酸乳よりも、滋養強壯飲料、乃至は薬効飲料、即ち、滋養強壯剤、乃至は整腸剤、であることの期待の方が、一般需要者に強くなつてきている。つまり現下の乳酸菌飲料は、薬効を期待する宣伝方法のとられていることが、その販売政策の中心となつているかのようである。

而も、叙上の如く、之が市販状況の隆盛はめざましく、従つて、茲数年来の乳酸菌飲料のメーカーは、既述の如く全国的に激増し、都市、僻村の別なく、之が需要は急激に拡大され、而も尚お、次々増大しつつある情勢にあるが、本品を内容的、及び食品衛生的見地から窺うに、誠に憂慮に耐えない疑問が感ぜられるので、著者は純学究的立場から、今日の市販乳酸菌飲料、及び醗酵乳に就いて、種々科学的検討を加えることの決して無駄でないことを惟い、研究を進めているが、茲に来夏に備え、特に急を要する結果を得ているので、取敢ず要点を取纏め、抄報すると共に、乳酸菌飲料、殊に食用微生物の範疇に入る当乳酸菌等に就いては、普段、主として病原微生物とのみ接触の多い衛生関係の技術者諸彦におかれては、従来、余り関心がなかつたかと考えられるので、今回改正食品衛生法の実施に当り、首題に関連する諸般の概略に就いても併せて聊か卑見を述べんと欲する次第である。

第二章 主要なるグラム陽性乳酸菌

乳酸菌を最初に発表したのは、文献的には1882年の Kern 氏の報告であるように思う。Kern 氏は1881年に、コーカサス地方に於ける醗酵乳製品の一つであるケフイーヤ Kefir 中に、一乳酸桿菌 *Lactic acid bacillus* を発見し、之に *Dispora caucasica* と命名し、翌1882年に公にしている。然し後に、本菌は *Bacillus causicus* と改名された。そして、1892年には更に乳酸菌の一種として Döderlein 氏が、妊婦の陰分泌液中に、一乳酸桿菌 *Döderlein's bacilli* を認めて報告したが、本菌は後に *Bacillus vaginalis*

或は *Bacillus crassus* とも命名され、健康婦人陰内の自浄作用は、専ら当菌に因るとされた。而し本菌は、今日、細菌学的には *Bacillus acidophilus* に一致するとの説が強い。

爾来、所謂乳酸菌は後続分離され、数十種以上にも及ぶと云われているが、吾人の生活環境に於いて、保健上の観点から、有用乳酸菌と看做されて利用されているものの主なものは、通常後記の数種にとどまつているようである。

第一節 乳酸菌の定義

乳酸菌 *Lactic acid bacilli* と称するものは、糖類、特に *Glucose fermentation* が強く、而して乳酸 $C_2H_4(OH)COOH$ のみを産生して、瓦斯 (CO_2) 及びその他の副生物を産生せざることを原則としている。即ち、*Lactic acid fermentation* を営むが、*Gas-propuctivity* がない菌種であることを意味し、此の group の菌種を *Homofermentative strain* と称するのである。而し、広義には乳酸以外の副生物を産生するところの、所謂 *Heterofermentative strain* のあることを忘れてはならない。殊に乳酸菌飲料、或は醗酵乳メーカーに於いてそうである。*Heterofermentative strain in Lactic acid bacilli* には醗酵終末産物の一つとして CO_2 、アルコール、酢酸等を副生する菌株が存在し、是等の菌株は、此種生産加工には全然使用不適であるからである。

第二節 乳酸菌の主な種類

乳酸菌を大別して、まづ次の二群となす。即ち、

1. 乳酸桿菌 *Lactic acid bacilli* (*Milch säure bezillen*)
2. 乳酸球菌 *Lactic acid cocci* (*Milch säure kokken*)

乳酸菌は酸に対して抵抗性が強いと云う意味から *Acidoric Bacteria* と総称する学者 (Kendall 氏) すらあるように、一般に此の菌は乳酸酸性に対して抵抗性が強いことを特徴とし、且つ、之は斯界周知の常識である。

尚お、乳酸桿菌に就いての名称は種々であつて、同一細菌と思惟されるものに対しても、発見材料とか、或はその時期や、発見者の別によつて等と思われる、種々の命名が見られる。

例えば、

A. 人体より分離されたものに

1. *Bacillus bifidus* (Tissier 氏が1899年に発見し1900年に発表) 本菌が最初に母乳栄養の乳児便より分

離されたもので、人の腸内(殊に母乳栄養乳児)、及び糞便に多く存在する。

母乳栄養乳児の腸内に於ける本菌の棲息状態は極めて顕著で、その腸内棲息細菌叢中の約90%以上が *Bacillus bifidus* だと云われ、一方、このように *Bifidus flora* の状態が母乳栄養乳児腸内の生理的状态だとされている。尚お、本菌は分岐し易く、又よく棍棒状菌や、膨大形菌等をも認め、そして菌体中に、Neisser 氏染色法によつて、異染小体が証明される等の事項は本菌種の特徴である。更に本菌種は、牛乳培養中速かに酸酵が営まれるにかかわらず、カゼイン凝固作用(凝乳作用)を欠くか或は、之が疑わしいことが、一般乳酸菌と異なる特質である Tissier, weiss and Rettger 氏等)とも称せられる。又1953年~1955年にかけて本菌の放線状菌所属説も強くなつていくことを附記しておく。

2. *Bacillus acidophilus* (Moro 氏1900年), 本菌も人の腸内に棲息する。従つて腸内容及び糞便より分離されるが、本菌も最初は前項の *Bacillus bifidus* と同じく、乳児の便より分離されたものである。

Bacillus acidophilus は、嗜酸性乳酸菌又は酸好性乳酸菌等とも称せられ、特に耐酸性 *Acidotolerant* の強い乳酸菌として著名である。

3. *Bacterium gastrophilus* (Lehmann and Neumann 氏1895年), 本菌は最初胃瘻患者の胃内容物より分離されたものである。
4. *Bacillus vaginalis*, (Döderlein's *Lactobacillus*; Döderlein 氏1892年), (緒論末尾参照),

以上(1)の *Bacillus bifidus* は独立するが、(2), (3), (4)は、同一菌種との見方が今日、強いことを特に茲に附記しておく。

B. 牛乳又は牛乳加工製品、及びその他より分離されたもの

1. *Bacillus bulgaricus* (Grigoroff 氏1905年), 此の菌は *Bulgaria* に於いて、ブルガリア酸酵乳(Yoghurt)中に、Grigoroff 氏により発見され、命名されたものであるが、その後、本菌(*Bacillus bulgaricus*)は、Metschnikoff 氏の研究業績、特に彼の不老長寿説に関連して有名になつた。(緒論参照)、但し Metschnikoff 氏の試用した菌株は、彼れ自身が *Maja* から分離した *Bacillus bulgaricus* であつたとされている。

然し、*Bacillus bulgaricus* は、その後の研究では腸内に於ける定着性が弱い、又は無いとも言われている。此の問題は乳酸菌飲料、或は乳酸菌製剤

の調製菌種としての利用上重要なことであるが、叙上のような製品の調製には、*Bacillus bulgaricus* は通称 *Bulgarian bacilli* として、Metschnikoff 氏以来伝統的に浮び上る名称である。

2. *Bacillus caucasicus* (Kern 氏1881年発見, 1882年発表), 本菌は Kern 氏が、コーカサス地方に於いて、酸酵乳製品であるケフィーヤ、及びチーズ *Kefir and Cheese* より分離した菌種で、最初 *Dispora caucasica* と命名されていたものである。

(緒論末尾参照),

本菌は、牛乳培養に於いて迅速に乳酸を産生してカゼイン凝固をよくし、且つ本菌の発育形式は「*Microaerophilic growth*」と云われる。

3. *Bacillus lactis acidii* (Leichmann, Weigmann 氏),

本菌は他種乳酸菌と同様に *Gram positive*, 牛乳培養にて乳酸産生、同培養1~4日にてカゼインを凝固する。

4. *Bacillus acidificans longissimus* (Lafar 氏)

叙上(3), (4)の菌は *Cheese and Milk* より分離せられたもので *Bacillus mazum* と称したものと同一菌と看做されている。

尚お、一般乳酸桿菌は、形態的に小・中等形の長糸状菌が多く、且つ重桿菌、又は短糸状を成す場合も少ない。殊に *Milk culture* の場合に長糸状を成すものが多い。しかし屢々膨大形、又はその他の変形(殊に *Bacillus bifidus*)が見られる。そして *Gram*=陽性、*Indol*-R=陰性、無芽胞、非動性であることが各種乳酸桿菌に於ける共通の性状である。

第三節 乳酸菌の耐酸性 *Acidotolerant*

乳酸菌の耐酸性 *Acidotolerant* に就いては実験の結果、*Bacillus acidophilus* > *Lactic acid cocci* > *Bacillus bifidus* の順序であつたが、是は従来文献に一致した。

平田が、本学に於いて、市販 Yoghurt の、或る品種より分離した乳酸桿菌と、乳酸球菌の、牛乳培養基に於ける生活消長も、桿菌種に於いて遙かに生命力が長く、培養の陳旧環境に耐える力(謂わば所謂耐酸性)も亦極めて大であることを認めた。

(注意) 乳酸球菌の分離使用に際しては、牛乳凝固作用を有する化膿球菌の誤用に注意せねばならない。

昭和30年、神奈川県下の或る小学校で、酸酵乳製品が原因食品となつたブドー球菌性食中毒が報告

されていることを茲に附記しておく。

第三章 所謂醱酵乳並に乳酸菌飲料に就いて

既に述べたように、古来此の種飲料は、所謂醱酵酸乳、或は酸乳 *Fermentative acidic milk or Acidic milk* 等と称して、洋の東西を問わず、広く愛用されている謂わば一種の嗜好飲料である。特にブルガリヤ地方では、古くから広く此の醱酵酸乳 *Bulgarian fermentative acidic milk (Yoghurt)* が一般に好んで常用され、又コーカサス地方に於いても醱酵乳製品ケフイーヤ *Kefir* が、シベリヤ地方ではクームス(モースコ馬蹄乳酸菌と及酸母、馬乳をもつて調製したもの)が、中央アジア地方、殊にトルコではヨーグルト *Yoghurt* が、インドに於いてはダトリーが、次で本邦に於いてはヨーグルトや液状醱酵乳(即ち乳酸菌飲料)が等と、全国各地に於て種々多様であるが、就中、所謂乳酸菌飲料としての歴史は日本が最も浅いであろう。

而して、是等の何れもが、牛・馬・羊・山羊等の全乳、脱脂乳、或は脱脂粉乳等を15~20%程度の濃度に乳状化し、之に適宜(10%前後)糖類(蔗糖、ブドウ糖、水飴、或は蜂蜜等の類)を加えて、所要大(普通10~15立入)の硝子、ホーロー引、又はアルミニウム製の清浄な細口ツボに納め、蜜栓して、後ち之を同容器共に完全に蒸気滅菌し、次で予め略ぼ同質の乳液に純粋に培養した乳酸菌の、*Bacillus acidophilus or Bacillus bulgaricus* 等を主とし、時として乳酸球菌 *Lactic acid cocci* を混用播種 *Inoculation* して、更に *Yoghurt* の場合には40~50cc 入商品瓶に分注し、乳酸菌飲料の場合にはそのまま、適温度(30~38°C)内にて完全に乳酸醱酵を終る迄(即ち凝乳作用完結迄)培養したものである。特に注意すべきことは、叙上の操作中、一般芽胞菌や酵母類の迷入混殖を絶対に避けなければならないことである。

尚お、本邦に於ける醱酵乳製品の一、二例に就いて工場製造過程の實際を参考迄に概述すると大体次の如くである。

第一節 所謂ヨーグルト *Yoghurt* (本邦)の製法(略述)

- A, 材料,** 脱脂乳又は脱脂粉乳 15~20%
糖類, (前述本文参照) 10~15%
その他 (Vitamin 類, 香料, 等) 適宜, (但し乳液滅菌後無菌的に添加),

叙上を、よく攪拌混合して平等に乳状化し、之を所要の清浄容器(前述本文参照)に封入して、容器共に完全に加圧蒸気滅菌し、次いで温度の下降を待つて、無菌的操作の下に、予め叙上乳液と略々同質の糖加乳液に培養した目的の乳酸菌を、経験に従つて播種 *Inoculation* 混合して、之を40~50cc 位宛夫々各メーカー独自の商品瓶に封入し、適温度内にて瓶内容が完全に凝乳作用を終る迄培養する。(普通30~38°C内にて24~48時間程度)。

此の場合、製品の大凡のPHは、3.4~4.2~5.2 程度の乳酸酸性である。

B. 製品の味その他

経験によつて甘味料、芳香料、必要に応じ *Vitamin* 類を適宜乳液に混ぜて醱酵せしめ、製品に特徴を持たせ、大衆の親しむ味にすることに、一般に努力が払われている。

叙上のようにして出来た製品は、通常冷暗所に貯え、一、二日以内に消費されている。

Yoghurt も営業を目的として製造する場合には、本邦に於いては醱酵乳と称され、既に従来より許可制営業となつている。

但し、此の種製品の規格等に付いては、目下尚お検討中の模様である。然し我国に於ける *Yoghurt* の商品としての主目標(需要目的)が、*Metschnikoff's theory* に基く、保健料としてであり、従つて、生活乳酸菌が内容成分の主位におかれている。即ち、言い換えれば、生活乳酸菌を供給することを主眼とする以上、相当数の有用生活乳酸菌の含有が必須条件である。

第二節 液状醱酵乳(乳酸菌飲料)

此の種に類似する酸乳 *Acidic milk* として、本邦では生活乳酸菌を含まないカルピス(商品名)のような種類のものが、古くから嗜好飲料(本邦では嗜好飲料を別けて清涼飲料水と保存飲料水とに大別されているが、乳酸菌飲料又は醱酵酸乳は前者、即ち、清涼飲料の範疇に入る。但し昭和32年10月1日より乳酸菌飲料と名して食品衛生法上独立した)として、殊に夏季の糖加有酸飲料として広範な販路獲得に成功していたものであるが、生活乳酸菌を含有する所謂醱酵酸乳は、本邦に於いても、従来屢々製産企画があつたが、余り營業的に伸展を見なかつた。換言すれば、広く需要者を獲得し得なかつたようである。ところが、今次終戦後の本邦に於ける所謂乳酸菌飲料は、既述の如く、とみに、その需給関係が激増した。その理由は、主要原

料である脱脂粉乳の入手が容易となつたことも数えられようが、供給者、即ち、メーカーの本品普及に対する巧妙なる努力が最も効を奏しているように思惟する。それは *Metschnikoff's theoly* の巧妙なる活用下にあつて、更に之を好適なる嗜好飲料化を企図したことが、広く大衆の味覚を捕えたものに相違ない。

叙上のように、全く嗜好飲料化された醗酵乳に、所謂 *Metschnikoff's theoly* を嚙み合せたことはメーカーの逞しい商魂の現れではあろうが、乳酸菌の眞の薬効的価値如何についての科学的討議等に就いては茲には之をまづ措き、誠に当を得た巧みな商法であつたであろうことを強調したい。而し、是等醗酵乳の商的普及方法の科学的論拠が、叙上 *Metschnikoff's theoly* を基調とするところの、生活乳酸菌の有効論である以上、一般市販乳酸菌飲料は、すべからく「看板をいつわらず」有用生活乳酸菌の相当数の含有が必須条件である。而も本品は、**食品衛生上所謂生(ナマ)**で飲用するものであるから、化学的に無害であることは勿論であるけれども、尚お、絶対に**有害細菌による汚染**があつてはならない。然るに本邦に於ける今日迄(昭和32年10月1日)の、此の種飲料に対しては、衛生上の法的措置が構じられてなく、その点殆ど野放し商品たるの状態下におかれていたので、メーカー独自に、此の点注意を払う以外に施す術がなかつたのであると云つて、敢えて過言ではないのである。

茲に於いて、乳酸菌飲料の市販現状が、揚げ潮に乗つた勢であるに乗じて、此種製品メーカー乱立の傾向にすらあるが、反面製品の衛生的問題に関しては、愈々憂うる可きものがある。殊に私は前者、Yoghurt(クリーム状品)よりも、後者の液状醗酵酸乳、即ち、所謂乳酸菌飲料に重点をおき、その保健衛生上の諸問題に就き、検討を企図したのである。

翻つて、此種メーカーや、之が単なる処理場(培養醗酵原液を商品化するのみの処理場の意味で、以下の同義語做左)、殊に後者(処理場)の場合、必ずしも衛生的設備の施設のみとは言ひ得ない野外工場にも等しい向も相当あるように思う時、眞に食品衛生上寒心に耐えないものを感じるのである。そこで著者は、昭和31年7月以来、当大学衛生研究室に於いて、所謂醗酵乳、及び乳酸菌飲料に就いて、その有効生活乳酸菌含有の如何、並に之が食品衛生上の見地に立脚した諸般の研究を企図し、準備を進めつつあつたが、本夏(1937年)に至り、聊かの成果ではあるが、本製品の性格上の根本に触れ、これに反するものがあるので、取り敢

えず、之を公開に付する機会を持つことは、該商品の来夏進出に備えて、殊に今回(昭和32年10月1日)、乳酸菌飲料に対する衛生上の法的措置が規定され、之に関する諸般の細則等検討されつつある秋に当り、衛生行政当局、並に之がメーカー諸彦に対し、些少とも貢献するところあるべきを信じ緒論せしように、敢えて茲に予報する次第である。

所謂乳酸菌飲料は、御多聞に漏れず、当京都市内市販品も、その種類(殆ど同質異名のもの)が、大凡十指に近い数を持つようである。著者は、その殆どの種類に就いて、諸実験を企図し、実施しつつあるが、まづ第一段階の実験として、当市内市販品中の一般生活雑菌数、及び腸内細菌(大腸菌を目標として)の有無、並びに**生活乳酸菌の在否**等に就いて、実験を試みたが、その結果、是等の商品の性格から按じ、実に奇怪な成績を得たので、まづそれ等の実験成績について報告して今後に備え、行政担当者の注意を喚起すると共に、各メーカー諸彦に対し、科学的良識と製品に対する道義的責任とを期待せんと欲するものである。

時今一般に市販されている所謂乳酸菌飲料も、その醗酵過程迄の加工要領は大體前記 Yoghurt 製造の場合に準じている。ただ異なるところは、この液状醗酵酸乳は、その醗酵が終れば、ホモゲナイザーに装置して充分凝固カゼインを解き砕き、平等乳液と化し、更に之に適宜、浄水及び糖(主として蔗糖を一旦シロップにして使つている)、クエン酸、香料等を加えて、頃合の酸性嗜好飲料とするのであるが、他方、遠地向け輸送用のもの場合には、叙上せる添加成分を、更に一般飲料適当濃度(一般商品濃度)の、6~7倍濃度容量に加える(輸送実量増大のため)。従つて処理場(商品化場、即ち、稀釈瓶詰作業場)では、本濃厚液を浄水にて数倍量に稀釈し、各自独特の特徴を持つ小瓶に分注し、打栓・密封して、需要者に配達されるのである。即ち、簡単に乳酸菌飲料の調製法を解義すれば叙上のようなのであるが、上述のように、本飲料も醗酵終了後、嗜好飲料化されて、需要者に渡る迄は、之又、内容の性格上消毒等の操作が一切加えられない、所謂**生(ナマ)**であるのが本品の特徴であるので、従つて、培養されたままの生活乳酸菌の多量を供給するのが、本飲料本来の目的として販売されているのであるから、生活乳酸菌を除いた醗酵乳液は、単なる酸性乳液と称しても亦敢えて過言でない訳である。即ち *Metschnikoff's theoly* を基調に造られた所謂酸乳は、生活乳酸菌が主剤で、他の乳液は単なる**賦加料**であるに

過ぎない程度のものである。故に本飲料調製に当つても、絶対に衛生的でなければならないのであるが、果して一般に市井の当該売品がそうであろうか。実に疑問なしとはいえないのが前述の如く当町工場、特に該処理場の現状なのである。そこで、著者等が市販乳酸菌飲料の細菌学的考察を企図した所以も茲にある。

第四章 乳酸菌飲料及び醗酵乳の 保健衛生的考察

乳酸菌飲料品が、専ら滋養強壯的、或は薬効的(整腸)期待を以つて供給、又は宣伝されていることは度々述べた通りであるが、尚お又、上記の効果期待が専ら製品中の生活乳酸菌に賦荷せられ、本品は食品衛生上、所謂生(ナマ)の形で飲食せられているものであることも既述の通りである。従つて、此の種飲料には、醗酵乳を除き、従来法定の規格基準がないにしても(昭和32年10月1日より食品衛生法適用)、化学的及び細菌学的に、絶対に無害でなければならないことは必須で、夫れはメーカーや、取扱業者の負うべき義務であり、責任である。殊に細菌学的に汚染を受け易い状態下にある本品の製造過程であるところから、経口伝染病、特に腸内病原細菌の侵入に対しては、嚴重な注意が払われねばならないのである。そして又製品中の一般生活細菌(雑菌)数等も、本品は、その内容の性格から見て、食品衛生法規上に云うところの乳加工食品の範疇において注意が払われる可きは当然である。

そこで、平田は、丁度本学に於いて食品衛生学を担任しているところから純学究の立場に於いて、上記の線に沿つて市販酸乳飲食品に就いて、学生の実験研究と相俟つて、細菌学的諸般の検討を試みつつある次第である。即ち、

A. 準備

検体 市販乳酸菌飲料(Yoghurtを含む)

1. 市販 Yoghurt の類
2. 市販乳酸菌飲料(生活乳酸菌又は活性乳酸菌等と称し、生きた乳酸菌の混在を標榜したものに付いて)の各種について一般需要者に配達される当日のものを試用、(各醗酵酸乳のPHは3.4~4.2内外であつた)。
3. 本実験の対照として市販の乳酸菌製剤 Biofermin tablet を試用した。

B. 培養基

1. 白堊寒天 特にブドウ糖を3%添加

2. 3%寒天培養基に

マルツ汁エキス	8~10%	} を加入す。
ブドウ糖	3%	
乳糖	2%	
酵母エキス	1%	

各培養基のPHは供試験体の酸性を中和してPH6.6~7.0程度のプラッテ培地とする目的で予め微アルカリ性とした。

C. 培養方法

1. Yoghurt (クリーム状品)は、各商品瓶の中央部より滅菌ピペットを以つて1cc容量を採り、之を滅菌ペトリー氏シャーレに移し、その2倍容量の生理的食塩水を加えて充分乳化し、予め溶解しておいた前記(1)、(2)の培地20cc宛を各別々に型の如き取扱方法により、各々所要量の検体を入れた上記シャーレに流して静かに水平動し、内容をよく混和し、自然凝固を待つて36°C内にて培養した。
2. 液状醗酵酸乳(一般乳酸菌飲料)は、前記の如く当日の市販品を夫々よく振盪して、その0.5cc及び1.0cc宛を滅菌ピペットにて採り、之を前項(1)の場合と同様に、夫々滅菌ペトリー氏シャーレに移し、予め溶解せし前項培養基(1)、(2)を各別々に型の如くに上記夫々の検体の所要量を入れた各シャーレに流して前項(1)と同様操作にて内容をよく混和後、自然凝固せしめて、36°Cの孵卵器内にて培養した。
3. 対照区 (Biofermin tablet)

一錠を2ccの生理的食塩水に溶解し、此の1ccに就いて前記二例と同様操作のもとに、生活乳酸菌の有無及びその数を検査して、市販乳酸菌飲料中の生活乳酸菌培養検索の対照とした。

以上が私達が京都市内にて入手して取扱つた一般市販乳酸菌飲料、及び醗酵乳に就いての細菌学的検査中、生活乳酸菌検索の手技操作の要旨であるが、夫々の培養時間は24時間、48時間、72時間の三回に亘つて各平板の深部菌集落に就いて観察した。後ち、更に数日間室温(夏季)内に静置して、毎日平板の深部、菌集落の発育状況、及び当平板表面菌集落(雑菌)の発生状況をも観察した。

尚お、乳酸菌の確認に就いては、乳酸菌特有の発育相をなした集落を、予め準備した牛乳培養基に移植培養して、乳酸菌独特の製酸・凝乳作用の確認をし、且つ発育菌がGram positiveの桿・球菌であること等を確めて決定した。各実験成績は一括末尾に掲載する。(因みに乳酸菌の培地中深部発育集落は輪廓が判然と

した紡錘形、又は菱形状をなし、灰白色不透明である)。

又更に各検体は、夫々別個に型の如く胆汁培養(48時間)を施し(特に検体の酸性中和と腸内細菌の増菌を目的として)、次で該培養を Endo-agar and SS-agar に移植培養して、腸内病原菌、及び大腸菌の有無をも検査した。

著者の実験では(末尾成績表参照)、供試の各 Yoghurt(クリーム状醗酵乳)には含有数に多少の差はあるが、夫々生活乳酸菌が認められた。そして、どの Yoghurt にも、乳酸桿菌が主に該醗酵に利用され、ただ一種、平田は或るメーカーの Yoghurt からのみ乳酸桿菌と、乳酸球菌とを分離した。

一方、培地表面の菌集落(雑菌?)数にも、供試のヨーグルトの別(メーカーの別)によつて、幾分の差があり、夫等菌集落相も様々であつたが、黄・白色湿潤光沢の、まんじゆう形正円形の、さも Staphylococcus の colony でもあるかの如き、外観をしたものがあつたが、それは而し Gram's positive の中等大の桿菌群で、之が比較的多く見られた。又 Bacillus subtilis group と思われる Colony も多数認められた製品があつた。その他、気中菌と思惟される無名の桿菌や球菌類の Colony も相当数あり、而し之等の雑菌の種類や、それ等菌集落数も同一のメーカーのものであつても、製造月日の別によつて又相違があつた。(末尾掲載の表を参照されたい)。

次は所謂乳酸菌飲料(今回の食品衛生改正法にて乳酸菌飲料として独立した名称が決められた)であるが、私共の実験の結果は、末尾表示の通り、本飲料の本来の性格から按ずると、現在の市販品は、一言にして言うならば、実に細菌学的には、**お粗末な感じのもの**が多いと称して、決して過言でないように思う。

私達の今回の夏季実験では、対照例の Biofermin tablet 供試区以外は、一、二を除き、乳酸菌は培地に全く発育して来なかつた。又例え、培養陽性例であつても、発育菌数は僅少で多数の雑菌に覆われて Colony の発見に非常に苦心する状態であつた。勿論目的菌の分離等も不可能であつた。

著者は本実験に試用した商品名を茲に掲示することは、之を難く憚るが、而して此のような事実の顕われた事は、道義的に極めて重大な問題だと信ずる。是等の問題に関する私見は、後述に譲ることにするが、敍上の反面、使用培地平板の表面に発育する、一般細菌の Colony 数は非常に多く、且つその種類も実に雑多である。

過糖培地にして始めてよく発育し、一般培地には不発育乃至は発育極めて不良なるもの、及び B. Subtilis group の菌も亦多く包含する商品が決して少なく、或る商品の如きは、実験の都度(製造日時異なるもの)、恰も B. Subtilis の酸乳液が販売されて居ると云い得るようなものもあり、そのような商品に限つて又生活乳酸菌等は、片りん」だに培地に認められなかつた。敍上のように、現下市販の液状の乳酸菌飲料を細菌学的に検討するとき、実に**粗悪な汚ない製品**が市井に多く排出されていると断じて過言でない云うのが現状である。

尚お、過糖寒天培地に表在性に発育する煉瓦色集落菌は、或いは乳酸菌の変異したものではないかと思惟せられる疑念もあるが、此の点に関する実験は機会を新たに持ちたいと考えている。

又著者の、今日迄(主として夏季)の実験では、クリーム状、及び液状醗酵酸乳の市販品から Shigella, Salmonella group and Coli group etc の発育を認めなかつた事は幸で、此の事実によつて乳酸菌飲料に対する食品衛生上の、著者の初期の憂慮はまづ消え去つた訳けではあるが、しかし、今日の市販乳酸菌飲料が、食品衛生上謂うところの、所謂糞便系生活細菌の汚染を全く免かれていたものとのみには解し難く、例えば、平田は、当市内に散在する乳酸菌飲料調製処理工場の二、三を見学したが、その処理工場の施設上の状況や、技術上、及びその他に関する当該メーカーの、一方的思策に基く、該調整過程の現状から按ずるとき、以然、食品衛生上憂慮に堪えないものがある。即ち、此の面に於ける行政当局の科学的指導は、現下の乳酸菌飲料の全国的普及実状から見て、真に急を要するものがあるであろう。

更に特筆して関係者諸彦の注意を喚起しておきたいことは、私達が経験した之迄の実験結果に徴すると、今夏(1957年)、著者が取扱つた市販乳酸菌飲料の各種名称のもの大部分に、当該製品の重大な性格が失われている事実の発見である。即ち、夫れは、有効なる生活乳酸菌の培養証明の出来なかつた商品の多かつたことである。(詳細後述)。而して此の事実は、此種商品の普及目的に**全く相反するもの**であるから、之が是正には、メーカーは、全力を挙げて努力を傾注せねばならないことが、責任上当然な急務であることを、茲に強調するものである。

第五章 生活乳酸菌の培養証明の 出来ない乳酸菌飲料

市販乳酸菌飲料は、所謂液状醗酵酸乳であつて、夫れに有効生活乳酸菌を多量に含有することに於いて該飲料には、他の一般嗜好飲料に求め得られぬ、特徴が実在する訳けである。このことが、彼の *Metschnikoff's theory* に当嵌まる重要な点なのであつて、反面又本飲料の科学的評価を高め、而して、此の論拠を捕らえてメーカーは堂々と之が効用の表現主材とし、売り物にしているのである。従つて、その為に各メーカーは、該製品容器（商品）包装のラベルに、或は宣伝用の効能書に、生活乳酸菌、又は活性乳酸菌等と銘記して *Metschnikoff's theory* を併記活用して営業しているのが現状である。

従つて、此種商品に、生活乳酸菌を含まないならば、本飲料に、従来の科学的観念に基礎を措いた、所謂乳酸菌飲料の名称もおかしく、又それは正しく単に酸敗した乳液と極言しても敢えて憚らない商品もあるのである。従て、そのような内容の本商品は、単なる嗜好飲料、殊に夏季好みの清涼飲料に適するように、酸乳を薄めて、更に酸味（主としてクエン酸が利用）を適当に持たせ、それに糖を加えてあることは一種の加工酸乳と言えようが、そのみでは（生活乳酸菌を含まないならば）、前記の如く、夫れは単なる清涼飲料の範疇にあるに過ぎずして、通称乳酸菌飲料とは言えないのである。

著者は現段階（少くとも昭和32年8月現在）に於ける乳酸菌飲料メーカーの中には、細菌学を弁えない単なる飲料加工業者、少くとも狭義に言つて、乳酸菌のみの、科学すら弁じない加工業者が相当多く居るのではないかと思うのである。従つて現段階に於ける乳酸菌飲料業者の大部分は、現下の乳酸菌飲料は、乳酸菌を以つて醗酵した所謂クリーム状醗酵乳（此の段階迄は多数の生活乳酸菌を含有）を、適宜に浄水にて稀釈して、之をホモゲナイザーに装置し、充分に乳液状化したものに酸味（PH 3.4~4.2程度）、及び適当量（嗜好程度）の糖を加えた迄に過ぎないので、当然、乳酸菌の多量を含有するものとして、業者は此の面の質疑に応答している。理論的には筋の通つた話である。ところが商品化した該市販品、殊に夏季製品の内容は、必ずしもそうでないので問題がある。即ち、夫れは叙上の理論に反して、事實は乳酸菌の培養証明が出来ない乳酸菌飲料（殊に夏季に於いて特にそうである）、が多く市販されているそのことが問題なのである。

本飲料の性格、並びに普及用の宣伝文句から見て、**実に奇怪とせねばならない**。殊に私共の実験成績末尾表第三、四に照し、その奇観は益々深く印象づけられるのである。即ち、乳酸菌は少くとも私共の使用した菌株に関する限り、市販乳酸菌飲料の酸度（PH 3.4~4.2）や、本菌の牛乳培養中の酸度（PH 4.0~4.2）では、その中に発育増殖した乳酸菌は、2W~3Wにて死滅することなどはないからである。そして、特に又牛乳培養基に発育したままの状態に屋内に放置するとき、私共の実験では約2ヶ月にて死滅するもの、及び3ヶ月以上を経過するも、尚お、生活力を保有する菌株のあることを確認している。乳酸球菌で、平田の有するものは、此の実験にて1ヶ月以上も生活力を維持したが、50日目以後には死滅した。然も斯る事實は、平田自身が、市販 Yoghurt から分離し、採取した菌株について確認し得たのである。

そこで、愈々、茲に疑問として残る問題は、然らば何故に市販の乳酸菌飲料（液状）**殊にその夏季商品に**、生活乳酸菌が存在しないか、乃至は培養証明が出来ないか、と云うことである。

抑々、乳酸菌は該菌用の特殊培地を使用しても、一般に好氣的には発育し難く、嫌氣的培養を好むのである。殊に該菌の初代分離培養では更にその傾向、即ち、嫌氣的発育性質が強いのであるが、此の点を念願に措き、培養操作を行うならば、乳酸菌と云えども決して培養証明の差程困難なものではないのである。私共は此の点の反証実験として、常に *Biofermin tablet* を試用して、菌発育上の対照とした。（*Biofermin* には毎常多数の生活乳酸菌を培養確認した）。

私共は、叙上の疑問の解明を企図して、まづその試験材料として、二、三メーカーから加工現場に於いて、新しく調製された**直後の濃厚（市販商品の6~7倍濃度）商品**と、夫れを直ちに一般市販品に**調製（稀釈）**したものにと就いて、当日より毎日一回宛五日間、以後は五日毎に商品内容の乳酸菌の培養証明試験を実施し、末尾の表三の結果を得た。

即ち、本実験によると、末尾の成績表第三に見らるるとおり濃厚商品の方は、調製後48時間以上経過したものよりの生活乳酸菌の培養証明が出来なかつた。他方稀釈品（即ち一般市販商品）濃度の方は、その調製後20日迄、生活乳酸菌を培養証明し得た。（末尾表第三参照のこと）しかし、25日を経過したものでは侵入雑菌の増殖著しく、乳酸菌の発育検証が困難であつたので、該実験を中止した。本実験は之を同一メーカー

を使用せんと欲せば、まづ、その被使用飲食品の種類や、性格に特と留意せねばならない。

前述のように、著者の1957年夏に於ける乳酸菌飲料を対象とした調査では、その市販品の或るものの中には明かに本剤の添加が認められているが、この事実は無条件では絶対に許容の出来ないことで、寧ろ夫れは細菌学を無視した暴挙と直言したいのである。しかし著者は、乳酸菌飲料にデハイドロ酢酸を使用することに就いては、或は尚お検討の余地もあるかとも思考するのである。要は迷入酵母の醗酵防止が主要な目的なのである。此の点に就いては、今別途に引続き実験を進めており、その結果に就いては他日発表することになる。

叙上のように、乳酸菌飲料に Dehydro acetic Acid が無条件で使用されていることは、乳酸菌飲料の内容的性格、即ち、本飲料には生活乳酸菌を多量に含有することを必須条件とするものである（又業者自身がそのことを強く標榜して販売している）ことから按じ、直ちに本剤の無条件使用の中止を著者は切望する。又該使用中止の措置は至極当然である。

乳酸菌飲料に Dehydro acetic Acid の証明された事の所以は、之は正しく該当業者による「故意」に、その端を発するものであることは疑う余地がないが、然し該事実の实在が被添加食品である乳酸菌飲料の生命とも見る可き、その含有する生活乳酸菌の命脈迄断つ事態の発生しようこと迄は、現在にあつては兎も角、その頭初に於いては恐らく添加者の夢想だにしかかつたことではなかつたろうかと思惟する。蓋し之が妥当な考え方であろう。

抑々乳酸菌飲料の加工生産に当つては、殊に夏季に於いては、その工程中に、酵母や、その他の嗜糖性、或は嗜酸性の雑菌類の繁殖に因をなす異常醗酵に極めて禍いされ易く、而も実験室を離れ、営業的工場作業ともなれば、総ての事業はその業種の如何を問わず、その性格の差こそあれ、夫々業務上の遂行に基だしき困難の伴うものである。従つて工場管理者や、工場技術責任者は、常に自己の技術向上を目指して研究を続行しつつ、四六時中、経済的運営に Match した工場技術の改善工夫に苦慮し、以つて円滑なる業務の運営を期し、従つて日常の総てに敏捷そのものである。そこで一部乳酸菌飲料メーカーに於けるデハイドロ酢酸使用等も、所謂目先の効いた先駆者の考案が拡大され浸透しつつあるものと信ずるが、只管夫れは製品の防腐、或は異常醗酵止め等のみの効用目標に使用重点を

おき、而も本剤が、公定の飲食品保存料でもあるところから、科学的、且つ分析的に、本剤の作用方向迄も研究する余裕もなく、寧ろ安心して使用していたものではなからうかと思う。

そして、其の結果が、乳酸菌飲料の内容的性格上に重要な生活乳酸菌に迄抗菌的作用が顕われようこと、即ち、醗酵止=抗菌剤であろうこと等は知る由もなかつたのではあるまいか。何故ならば、平田がひそかに聞込みによつて窺い知つたところによると、厚生省が Dehydro acetic Acid を、飲食品保存料として公定したことを、只管万能的に信じ、使用者はむしろ本剤を乳酸菌飲料に醗酵止めとして使用し得たことを、却つて得意とし、或はそれを抜け駆けの功名的観念すら持ち、秘法裡に使用しているやにすら考えられるからである。抑々乳酸菌飲料は、屢々述べたように、生活乳酸菌を含むのであるから、此の点から観て、単なる嗜好飲料とは特に違つた性格を持つことを特徴とするものであることに注意しなければならないのである。

第八章 デハイドロ酢酸及びその塩類の使用規定

1) Dehydro acetic Acid or Dehydro acetic Acid Sodium Salt を、飲食品の保存料として使用（添加）する場合についての規定は、昭和28年3月25日、昭和28年3月31日、及び昭和29年11月30日の三回に亘つて、厚生省の告示第九号、第九六号、第四一九号があるが、その被添加飲食品の種類等はチーズ、バター、マーガリン、清涼飲料水（但し炭酸を含有するものを除く）又は保存飲料水、及び味噌、あん類となつてゐるが、その使用要領は次の如く規定されてある。

即ち、チーズ、バター、マーガリンの場合には、その1キログラムに対して、デハイドロ酢酸として2グラム以下、清涼飲料水（炭酸を含有するものを除く）、又は保存飲料水の場合には、その1キログラムにつき0.05グラム以下、及び味噌、あん類では、その1キログラムにつき0.2グラム以下、と規定されている。

尚お又、清涼飲料水、及び保存飲料水に対する国立衛生試験場当局の見解を参考迄に摘録するに大体次の如くに述べてある。即ち、

嗜好飲料 { 1. 清涼飲料水
 2. 保存飲料水 } に二大別されている。

定 義

1. 清涼飲料水

炭酸又は有機酸を含有して、しかも夫等の酸は遊

離して存在し、そのまま酸味を呈する飲料であつて、保存を目的とした容器に入れられたもの、となつている。

2. 保存飲料水

酸味を有しない飲料で保存を目的とした容器に入れられたものと解釈されている。

(註) 即ち、清涼飲料水に比して酸味を取り去つた形のもの、

となつている。そして清涼飲料水に属するものの例示の内、その他の部類」の記事中、牛乳、または乳製品を原料とした酸性飲料、(乳酸飲料)等がある。との銘記のあることを更めて茲に紹介しておく。

従て従来、即ち、昭和32年10月1日以前であれば、乳酸菌飲料も、その含有する生活乳酸菌を無視して、之が所属を強いて求むるならば：「上記、その他の部類」即ち、牛乳、又は乳製品を原料とした酸性飲料(乳酸飲料)中に入り、故に清涼飲料水中に編入さる可きであつたであらうが、乳酸菌飲料は単なる酸乳とは違い、生活乳酸菌を需要者に供給することを主眼としていることは、既に度々述べた通りである。そこで政府も、昭和32年10月1日を期し、乳酸菌飲料は、一般清涼飲料とは区別して、独立の位置においたものと信ずる。従て乳酸菌飲料として取扱うべき性格の醗酵酸乳に Dehydro acetic Acid 等の如き抗菌性の強力なる食品保存料(剤)、或は他の防腐剤等の添加は厳に慎まねばならないのである。

尚お、今日の如く、乳酸菌飲料を特に**生活又は活性乳酸菌**の含有を標榜して、このことを本飲料の特徴となし、而もそのために本飲料を**滋養強壯剤**と唱え、或は**整腸的薬効**等を期待し得ることを主要販売目標とするならば、即ち、生活乳酸菌飲料を「所謂 Metschnikoff's theoly 張り」に薬効の説明を銘記するならば、現在の薬事法に準拠する市販品たる Biofermin (乳酸菌製剤)、或は、その他の乳酸菌製剤に準じ、**医薬品**扱ひとすることこそ至当ならんとも思推されるのである。

さて、絨上乳酸菌飲料の行政的取扱等に就いては、我々学究者が理論的根拠から述べる私見に過ぎないが、乳酸菌飲料等の如き内容性格のものに Dehydro acetic Acid のような抗菌性の強力な保存剤、或は防腐剤等は無条件に添加使用することは許容さるべきでないことを茲に重ねて強調し、擱筆するものである。

第九章 結 論

著者は、茲数年来全国的に市井に汎濫し、而も尚お

益々盛んな市販状況を極めんとしつつある、乳酸菌飲料に就いての細菌学的検討を企図し、1956年7月頃より該実験の準備に取りかかり、今夏(1957年)より愈々之が食品衛生学的見地から観た一部実験に着手し、聊か成果を得たので、茲に予報するものである。

抑々、乳酸菌飲料の時下日々の全国的需給数量は約500万本、その生産者数が4000ヶ所余と中央では推定しているが、昭和32年10月1日を期し、乳酸菌飲料営業も、従来の醗酵乳と同様に許可制(食品衛生法)となつたために、当生産者数も、之が日々の全国的取扱数も、近く確数が得られるであらう。然して、是等商品の名称も各自思い思いにて様々であるが、夫等の内容は大同小異で、生活乳酸菌を含有することを本商品本来の共通の特徴とし、所謂 Metschnikoff's theoly、即ち、**不老長寿説**が、本飲料普及宣伝の趣旨である。つまり Metschnikoff 氏の云うところの乳酸菌による**整腸効果説**が又、彼れの唱導した不老長寿説の骨子であるが、その拠つて来たる所以は、ブルガリヤ醗酵乳 Bulgarian Acidic milk を常用する習慣のあるブルガリヤ人に、百才を越ゆる長寿者の多いことの科学的解明を、ブルガリヤ醗酵乳の作因微生物である、所謂 Bulgarian bacilli Grigoroff (1900年)、後ちの Bacillus bulgaricus の腸内定着に基く、腸内異常醗酵の防止作用に負荷したが、一方 Metschnikoff 氏は、人の腸内に異常醗酵の起ることは、該醗酵終末産物に因る**老化現象**の作因をなすとし、茲に於いて生活乳酸菌の作用は腸内に於いて乳酸醗酵を醸すこととなり、その乳酸々性による拮抗作用によつて、異常醗酵性微生物は繁殖を制せられて、乳酸菌の所謂整腸的効果が成立すると云うのである。(緒論参照のこと)、爾来色々の機会に種々の乳酸菌が発見され、その様々の効用が発表されていることは周知のところである。

乳酸菌の定義とその主な種類

乳酸菌の定義に就いて、まづここに要約しておく、即ち、乳酸菌 Lactic acid bacilli と称するものは、糖の醗酵、殊に Glucose fermentation が強く、そして乳酸 $C_2H_4(OH)COOH$ のみを産生して、瓦斯(CO_2)を作らぬことを原則としている。(Homofermentative Strain)。而し広義には乳酸以外の副生物、殊に CO_2 及びアルコール、酢酸等をも副生するところの、所謂 Heterofermentative Strain の存在することも忘れてはならない。

そこで前記の外、醗酵乳生産に応用される主な乳酸菌 Lactic acid bacilli 数種を挙げてみると、

1. *Bacillus caucasicus* (発見当初の名を *Dispora caucasicus* と云つた)。

文献的には本菌が乳酸菌として一番最初に発見されたものであつて、即ち、1881年 Kern 氏がコーカサスの山岳地帯に多く産する醗酵乳製品ケフィーヤ Kefir 及びチーズ Cheese から分離したものである。

2. *Bacillus vaginalis* (Döderlein's bacilli)

1892年、Döderlein 氏によつて、妊婦の膣分泌物より分離されたものである。本菌の効用としては膣内自浄作用が挙げられているが、之は膣内に分泌される Glycogen が全菌によつて分解されて乳酸が生じ、そのために膣内が酸性 (PH4.5内外) となり、雑菌に拮抗するによると云われる。而し、本菌は今日 *Bacillus acidophilus* と同視される傾向が強い。

3. *Bacillus bifidus*. (Tissier 1900年)

本菌は1899年、Tissier によつて、天然栄養乳児便より発見され1900年に公表された。本菌は天然栄養乳児の腸内に最も多く棲息し、該乳児腸内菌叢中の90%以上が本菌 (*Bacillus bifidus*) に占められ、そのために生ずる乳酸々性によつて乳児の腸内の異常醗酵は防止され、及び腸内病原菌、殊に赤痢菌に対し、強い拮抗性が期待されると云われる。

従つて天然栄養、即ち、母乳栄養の乳幼児に、赤痢及び疫痢の殆ど見られないことは *Bacillus bifidus* の腸内定着が、あづかつて力ありと謂う。例えば、Jehle 1905年、Siegel 1913年、Bauer 1918年、Vogt 1919年、等は、乳児期の赤痢は人工栄養児が殆どを占めていると云い、本邦でも、箕田教授、遠城寺教授が天然栄養の乳児に、赤痢菌の侵害をうけた例が無いと唱え、極最近には東大医学部小児科教室の本間氏等も亦天然栄養の乳児に赤痢菌の侵害することは極めて稀であると報告している。そして等は何れも *Bacillus bifidus* の腸内定着増殖に基く乳酸々性による拮抗作用に因る結果であるとなす。

尚お、母乳栄養乳児の腸内は *Bifidus flora* であることが生理的狀態であると云われている。

Bacillus bifidus が、他の乳酸菌と特に異なつた性質は、Neisser 染色法によつて、菌体内に異染小体を有すること、及び分岐その他の変異形態が生じ易いこと、牛乳培地に於いて乳酸産生の早期且つ強力なるに拘らず、凝乳作用の疑わしいこと、乃至は之が全くないこと (Tissier, Weiss, Rettger 氏等の報告)、等と称せられる点である。而も本菌種は最近 (1953~1955年にかけて) 放線状菌類に所属する

との説が強くなつてゐることを附記しておく。

4. *Bacillus acidophilus*, (Moro.1900年)

本菌は1900年、Moro 氏によつて分離されたものであるが、特に嗜酸性乳酸菌 (又は酸好性乳酸菌) の別名がある如く、乳酸々性に抵抗力が非常に強いので著名である。*Bacillus acidophilus* も、人の腸内定着性が強固で、従て腸内容からよく分離される菌である。本菌は乳酸菌製剤、及び乳酸菌飲料 (yoghurt を含む) 加工用として好適な菌株である。

5. 乳酸球菌 Lactic acid cocci

乳酸球菌類としては *Micrococcus lactis* が、乳酸菌飲料に用いてある程度である。

その他 *Streptococcus* (以下 St. と略す) group で、St. thermophilus, St. lactis, St. Cremoris, St. faecalis 等があるが、之等の Lactoacidic *Streptococcus* group は醗酵乳加工には殆ど使用されず、却つて粉末又は錠剤としての乳酸菌製剤によく用ひてある。

一般に乳酸菌飲料 (Yoghurt を含む)、及び乳酸菌製剤等に常用の乳酸桿菌及び乳酸球菌類は、叙上列記の種類であるが、自家採取の乳酸球菌使用の場合には牛乳凝固性の比較的強い化膿球菌類、(病原性球菌類) の誤用なきように、特に注意すべきである。

乳酸菌の耐酸性 Acidotolerant

乳酸菌の耐酸性は、本菌類の牛乳内、及び人腸内に於ける生命力に関係が深いので重要なことである。平田の分離した菌による試験では、*Bacillus acidophilus* > *Lactic acid cocci* > *Bacillus bifidus* の順序で陳旧培養に耐えたが、此の成績は従来文献に一致する。

醗酵酸乳, Fermentative acidic milk

醗酵酸乳又は醗酵乳は、本邦ではクリーム状の所謂ヨーグルト Yoghurt、及び液状醗酵乳、即ち、1957年10月1日実施にて、食品衛生法上、公定された乳酸菌飲料の二群となつている。我国では1957年10月1日以前にあつては、乳酸菌飲料の製産販売に対する食品衛生上の法的措置が何等なかつたが、そのために乳酸菌飲料の営業は衛生的には全く野放しの状態にあつた。従て、従来は乳酸菌飲料は、食品衛生的には勿論、製品 (商品) の内容的規格にも統一性がなく、本飲料は商品としての道義的観点から、且つ又本邦に於いては乳酸菌飲料は特に幼児、小児、学童、生徒等、就中、夫等の虚弱者が供給の対象となる場合が多い傾向にあるので、食品衛生上には特に憂慮に耐えぬものがあつた。

而して醱酵酸乳の加工要領等については、本文を参照して貰うとして、茲には、市販の Yoghurt, 及び乳酸菌飲料に就いての食品衛生的、並にその内容の規格的観点から見た、細菌学的考察を実施中であるので、今日迄に得た結果の要点を予報として述べておく、

1. 著者の今夏(1957年夏)に於ける市販の叙上醱酵酸乳に関する調査では、従来当加工々場の施設内容から想像して、食品衛生上最も憂慮された *Shigella*, *Salmonella group* and *E. Coli group* の生菌混入は著者の実験範囲では認めなかつたので、このことは幸とするも、*B. subtilis group* の生菌及び無名の気中球桿菌類は之が多数培養証明された。即ち、細菌学的には一般細菌による汚染度の非常に高い商品が多々あり、衛生的な絶対安全性は、尚ほ保証出来ないと思惟される。従て此の点は、尚ほ将来適切な措置が検討されることを切望する。
2. 著者は市販の Yoghurt, 及び乳酸菌飲料中の乳酸菌培養検索を、市販の Biofermin tablet を本実験の対照におき実施したが、市販の Yoghurt には幾分かの発育菌数の差はあるが、各メーカー品ともに生活乳酸菌の含有が認められた。ところが一方、所謂市販の夏季乳酸菌飲料にあつては、一、二の商品を除き、生活乳酸菌の培養証明は出来なかつた。のみならず、中には、実に嘆息の外なき、枯草菌乳液の名にも相応しき、所謂雑菌乳液の商品が比較的多く認められ、**恰も缶詰のフラツトソー flat sour** 的感じすら持たれる商品が認められた。
3. 次いで著者は、市販乳酸菌飲料中及び牛乳培養中の乳酸菌の生活消長を Yoghurt よりの自家分離菌に就いて検討したところ、市販乳酸菌飲料中に混入した乳酸菌は本飲料調製後20日間迄、生活乳酸菌を培養的に確証し得たが、後は侵入雑菌のために検査不能に陥つた。而し本実験によつて少くとも現在の市販乳酸菌飲料中にて乳酸菌が、**そう短命に終るものでない**ことは之を確認し得た訳である。他方牛乳培養基に培養した乳酸菌は、2ヶ月間、或は菌株の別によつては3ヶ月以上尚ほ生命力を克く保ち得ることを平田自身が市販醱酵乳から分離採取した乳酸桿菌に付き確認し得た。(詳細は本文参照のこと)又平田の分離採取した乳酸球菌でも牛乳陳旧培養中に約50日間は生命を保つことを認めた。(尚ほ本試験に於ける牛乳培養中の酸度は PH 値3.8~4.2 であつたことを附記しておく)。

そこで著者は、市販乳酸菌飲料の大部分の種類(京都市内にて入手したもの)に、生活乳酸菌の培養証

明の出来ない原因に就き、種々検討の要が必然的に生じたので、その実験を進めた結果、次項の事実を発見した。

4. 著者は、本実験に於いて(1957年8月)二、三の市販乳酸菌飲料の所謂販売用原液(濃厚液)、或は処理場向け発送用の濃厚商品(処理場では該濃液を数倍に浄水にて稀釈して消費者に供給している)。中に、*Dehydro acetic Acid* の添加されている事実を、厚生省指定の呈色反応試験によつて確証した。而して此の事実は検体(乳酸菌飲料)が生活乳酸菌を含むことを主眼とし、又このことを銘記して営業されている立て前から、絶対に目過出来ない**保存剤の誤用**であることを指摘するものである。
5. *Dehydroacetic Acid* は、1865年に発見され、1949年に、米国のダウ・ケミカル会社が、飲食品保存剤として使用することの特許権を獲得したもので、本邦では昭和28年、全29年の間に三回に亘つての厚生省告示によつて食品保存料として被使用品指定と共に、夫々使用量を定め、公定された薬品である。
6. *Dehydro acetic Acid* 又は *Dehydro acetic Acid Sodium Salt* の使用量は、*Dehydro acetic Acid* としてチーズ、バター、マーガリン、に対しては、その1キログラムに対して、2グラム以下、又味噌、あん類に対しては、その1キログラムに対し、0.2グラム以下、及び清涼飲料水(炭酸を含むものを除く)、並に保存飲料水(今回の食品衛生法の改正によつて清涼飲料水に含めて扱われることになつた)、にあつては、その1キログラムに対して、0.05グラム以下を添加することが許可されているものである。
7. *Dehydro acetic Acid* は抗菌性、並に防黴性が極めて強く、他面、人畜に対する毒性は、従来公定の食品防腐剤の何れよりも微弱で之が食品防腐必要量以内では絶対に人畜に危害はないと云われる優秀な公定薬品ではあるが、乳酸菌飲料の如き、生活有効細菌(乳酸菌)を含むことを、唯一の特徴として、一般需要者に供給される商品に、無条件に本剤を添加することは絶対に許容出来ないことである。
8. 乳酸菌飲料の加工理論は、細菌学者の容易に口述するところであるが、之が営利的に立脚した工場技術操作には、極めて困難の伴うものである。

而して、該困難の生ずる所以の殆ど大部分は、加工過程中頻発する、一般雑菌の混入、殊に野生酵母類の迷入に因る異常醱酵現象の発呈である。斯る異常醱酵の招来は、該商品のメーカーにとつては、最も恐しい生産破壊である、そこで、乳酸醱酵後の製品

(特に地方輸送用の濃厚原液)の防腐、並に異常醗酵止めの目的にて、Dehydro acetic Acidの本商品への使用が考按されたものの如くであるが、そのために乳酸菌飲料の供給目的である、その内容中の生活乳酸菌の死滅することに想到せず、不如意に之が使用されていたことは極めて遺憾である。

この問題は将来、学究者は勿論、行政当局にあつ

ても共に業者指導の見地に立脚して追究検討の急を必要とする重要な問題点であらう。

私達は、目下尚お引続き、叙上の点に関し、諸実験を重ねているので、後日にその結果を公にする機会を持つてあらうことを茲に約束し、今回は稿を終るものである。(1957年、11月10日脱稿、於京都女子大学衛生研究室)。

表一 市販クリーム状酸乳 (Yoghurt) の菌培養成績

1957年 8月 5日 実験

検体の別	培養の種類, その他 検査対象	培養温度 及全時間	培地 I		培地 II		分離乳酸菌の凝乳作用			分離乳の Gram 染色性	備考
			乳酸菌	雑菌	乳酸菌	雑菌	培養 24時間	48時間	72時間		
クリーム状酸乳 (Yoghurt) I	36°C内	24時間	++	+	++	+	凝	〃	〃	陽	乳酸桿菌 (凝乳作用強し)
		48時間	++	+	++	++					
		72時間	++	++	++	++					
	室温内	5日	卅	++	++	++	固	〃	〃	性	
		7日	卅	++	卅	++					
〃 II	36°C内	24時間	+	++	++	++	凝	〃	〃	陽	乳酸桿菌並びに乳酸球菌を分離す (凝乳作用強し)
		48時間	++	++	++	++					
		27時間	卅	++	++	++					
	室温内	5日	卅	卅	++	++	固	〃	〃	性	
		7日	卅	卅	卅	++					
〃 III	36°C内	24時間	+	+	++	+	凝	〃	〃	陽	乳酸桿菌 (凝乳作用強し)
		48時間	++	+	++	+					
		72時間	++	++	++	+					
	室温内	5日	卅	++	++	++	固	〃	〃	性	
		7日	卅	++	卅	++					
Biofermin (T) 対照区	36°C内	24時間	卅	+	卅	+	凝	〃	〃	陽	乳酸桿菌 (凝乳作用あり)
		48時間	卅	+	卅	+					
		72時間	卅	+	卅	+					
	室温内	5日	卅	+	卅	+	固	〃	〃	性	
		7日	卅	++	卅	++					

表中、+は平板の Colony 50個以内
 ++は 〃 〃 100個以内
 卅は 〃 〃 100個以上 } を示す、以下総て倣之。

表二 市販乳酸菌飲料の菌培養成績

1957年8月10日実験

検体の別	培養の種類, その他 検査対象	培地 I		培地 II		分離乳酸菌の凝乳作用			分離乳酸菌のGram染色性	備考
		乳酸菌	雑菌	乳酸菌	雑菌	培養24時間	48時間	72時間		
乳酸菌飲料 I	36°C内	24時間目	-	卅	-	卅				B. Subtilis その他雑菌多数発育
		48時間目	-	卅	-	卅				
		72時間目	-	卅	-	卅				
	室温内 5日目	-	卅	-	卅					
〃 II	36°C内	24時間目	+	卅	+	+	陽性	〃	陽性	乳酸桿菌 (凝乳作用強し)
		48時間目	卅	卅	卅	+				
		72時間目	卅	卅	卅	卅				
	室温内 5日目	卅	卅	卅	卅					
〃 III	36°C内	24時間目	-	+	-	+				市販商品では乳酸菌不発育。 試供品では凝乳作用の強い乳酸桿菌が多数発育した。
		48時間目	-	卅	-	+				
		72時間目	-	卅	-	卅				
	室温内 5日目	-	卅	-	卅					
〃 IV	36°C内	24時間目	-	+	-	-				
		48時間目	-	卅	-	+				
		72時間目	-	卅	-	+				
	室温内 5日目	-	卅	-	卅					
〃 V	36°C内	24時間目	+	卅	-	卅	凝固	〃	陽性	乳酸桿菌 (凝乳作用強し)
		48時間目	+	卅	+	卅				
		72時間目	+	卅	卅	卅				
	室温内 5日目	卅	卅	卅	卅					
〃 VI	36°C内	24時間目	-	卅	-	卅				市販商品では乳酸菌の培養証明が出来なかつたが試供品では培養証明が出来た。(凝乳作用の強い乳酸桿菌が多数発育す)。
		48時間目	-	卅	-	卅				
		72時間目	-	卅	-	卅				
	室温内 5日目	-	卅	-	卅					
〃 VII	36°C内	24時間目	-	卅	-	+				
		48時間目	-	卅	-	+				
		72時間目	-	卅	-	+				
	室温内 5日目	-	卅	-	卅					

Biofermin (Tablet)	36°C内	24時間目	卅	+	卅	+	凝 固	〃	〃	陽 性	乳 酸 桿 菌 (凝乳作用強し)
		48時間目	卅	+	卅	+					
		72時間目	卅	+	卅	+					
	室温内	5 日 目	卅	+	卅	+					
表一検体 Ⅲの濃厚 原 液	36°C内	24時間目	-	-	-	-					Dehydro acetic Acid 反応陽性 (呈色反応)
		48時間目	-	+	-	+					
		72時間目	-	+	-	+					
	室温内	5 日 目	-	卅	-	卅					
表二検体 Ⅵの濃厚 原 液	36°C内	24時間目	-	+	-	+					Dehydro acetic Acid 反応陽性 (呈色反応)
		48時間目	-	+	-	+					
		72時間目	-	+	-	+					
	室温内	5 日 目	-	+	-	卅					

(註) 1. 菌の発育判定は72時間できめた。2. 卅, 卅, +は菌の発育程度(数)を示す。(倣前)
3. (-) は不発育を符号す。

表三 市販乳酸菌飲料中の乳酸菌の消長

(1957年7月28日試験開始)

検体別	調製後の 経過時間	当日	時間	時間	時間	時間	5日	10日	15日	20日	25日	30日	Dehydro acetic acid (呈色反応)	
			24	48	72	69								
乳酸菌飲料 (初回)	No. Ⅲ	濃厚原液	卅	+	-	-	中止							陽 性
		(市販品濃度) 稀釈液	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	+	+	不明 (∞)	中止	
	No. Ⅵ	濃厚原液	卅	卅	-	-	中止							陽 性
		(市販品濃度) 稀釈液	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	+	+	+	不明 (∞)	中止	
乳酸菌飲料 (2回)	No. Ⅲ	濃厚原液	卅	卅	-	-	中止							陽 性
		(市販品濃度) 稀釈液	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	+	+	+	不明 (∞)	不明	不明	中止	
	No. Ⅵ	濃厚原液	卅	+	-	-	中止							陽 性
		(市販品濃度) 稀釈液	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	+	+	不明 (∞)	不明 (∞)	中止	

(註) 1. 実験期間中各検体は冷暗所(15°C)に保存した。
2. 検体は毎回1cc宛を採り各区3枚宛のペトリー氏シャーレにして糖加白聖寒天に混合培養した。
3. 卅, 卅, +は前に同じ()内は雑菌数を示す。
4. 発育乳酸菌は桿菌で凝乳作用強し。
5. 菌数は三プラッテの平均数とした。
6. 濃厚原液とは一般市販乳酸菌飲料の5~6倍全成分が濃厚で処理場及地方発送用製品。
7. 稀釈液とは上記濃厚原液をその調製直後浄水にて所定濃度に稀釈したもの。

表四 牛乳培養中に於ける乳酸菌の消長

(牛乳カゼイン凝固試験によつて生活乳酸菌を確認した)

市販商品より分離した乳酸桿菌	Iso. Strain No.	培養5日目	培養10日目	培養15日目	培養20日目	培養30日目	培養40日目	培養50日目	培養60日目	培養70日目	培養80日目	培養90日目	培養100日目
	No. 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
No. 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
No. 4	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
No. 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 6	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
全乳球 上酸菌	No. 7 (1回)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	No. 7 (2回)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

(註) 1. 1957年8月1日培養開始 (培養温度 36°C)

2. 菌移植は元培養より 20mg エーゼにて2杯宛とした。

3. 凝固試験は5日間観察にて成績を判定した。但し陽性例は培養24~48時間にて既に凝乳作用を認めた。

4. 此表中の+は凝乳作用の陽性を示す。

参 考 文 献

1. Bergey : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, the Willams & Willkins Company. Baltimore, 1948年。
2. Topley and Wilson : Topley and Wilson's of Bacteriology and Immunity London, Edward Arnold & Co. 1948年。
3. 小島三郎~外 : 腸内細菌, 医学書院。
4. 箕田教授 : 福岡医科大学雑誌, 13巻5号及び14巻1号。
5. 遠城寺 : 児科雑誌, 363号, 昭和5年7月号, 8月号。
6. 久保 : 医学研究, 12号, 昭和13年。
7. 池田 : 熊本医学会雑誌, 15巻12号, 昭和14年12月号。
8. 池田 : 熊本医学会雑誌, 16巻1号, 昭和15年1月号。
9. 川面 : 日児誌, 58巻1号, 2号, 1954年。
10. 宮尾 : 日児誌, 57巻5号, 6号, 1953年。
11. 川崎 : 日児誌, 57巻12号, 1953年。
12. 片桐~他, : 日本農芸化学会誌, 10, P. 952. 959. 1934年。

13. 宮路教授 : 応用細菌学, 1953年。
14. 長瀬~他 : 愛知県衛生研究所報, 第7号, 1956年。
15. 長瀬~他 : 愛知県衛生研究所報第8号, 1957年。
16. 北原 : 日本農芸化学会誌, 第14号, 1939年。
17. 矢野 : 日本畜産学会, (学会報告) 昭和32年,
18. Briggs, : M.j. of Dairy Research. 20. 36. 1953年
19. Rogosa, M, et al, : j. of Bacteriology, 54. 13. 1947年。
20. Briggs, M. : j. of Gen, Micrology 9. 1953年。
21. Rogosa, M, : et al; j. of Bacteriology, 59. 303. 1950年。
22. Weater, D, M. : j. of Gen, Microbiology, 12. 133. 1955年。
23. Difco manual, 9th Ed.; 1953年。
24. A. P. H.; Standard method for the Examination of Dairy Products 9th Ed.; 1948年。
25. 中村敬三~他, : 細菌学。
26. Modern Media; Vol. 3. No. 10. 1957年。