



Title	Dextran 生産菌に関する研究
Author(s)	佐々木, 酉二; 吉田, 忠; 吉岡, 八洲男
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 3(1), 76-84
Issue Date	1958-03-14
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/11648">http://hdl.handle.net/2115/11648</a>
Type	bulletin (article)
File Information	3(1)_p76-84.pdf



[Instructions for use](#)

# Dextran 生産菌に関する研究

佐々木 酉二\*  
吉田 忠\*  
吉岡 八洲 男\*

## Studies on Dextran Producing Bacteria

By

Yuji SASAKI  
Tadashi YOSHIDA  
Yasuo YOSHIOKA

(Institute of Applied Microbiology, Faculty of Agriculture  
Hokkaido University)

乳酸菌の一種である *Leuconostoc mesenteroides* 及び *Leuconostoc dextranicum* が Sucrose に作用して生成する Polysaccharide である dextran が Sweden の Grönwall & Ingelman (1944) に依つて“代用血漿”として優秀である事が認められて以後、醸酵及び製菓分野で注目を浴び研究されつつある。

北大応用菌学教室に於ても此の dextran の重要性にかんがみ、dextran を生成する優秀菌株の分離を企て優秀菌株 24 株を得たので是等菌株に就ての分類学的位置の同定及び培養条件の解明並びに dextran 生成経過の実験を行った。

### 1. Dextran 生産菌の分離同定及び培養条件

#### I. Dextran 生産菌株の分離

##### a. 分離用培地

Dextran 生産菌分離用培地としては、次の様なものを用いた。

1. Czapek's solution 及び Czapek's agar.  
Sucrose 3%, NaNO<sub>3</sub> 0.2%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, KCl 0.05%, MgSO<sub>4</sub>·7 aq. 0.05%, FeSO<sub>4</sub>·7 aq. 0.001%.
2. 2% Sucrose-Nutrient agar.
3. Carruthers 氏 (1936)<sup>(2)</sup> 改変培地

Yeast extract 5%, Peptone 0.1%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2%, KCl 0.5%, Sucrose 10%.

##### 4. ビート根煮汁

ビート根、1 kg. を細割し、水 1 l. で煮沸抽出した液を滅菌後使用した。

##### b. 分離源

Dextran 生産菌の分離には、各種圃場の土壌、野菜類、根菜類、果実類、その搾汁及び搾粕、各種類の糖液、糖類を取扱う工場、飲食店の下水、畜舎の土壌、家畜の糞、堆肥等その他空中等からも分離を試みた。

##### c. 分離法

Dextran 生産菌の分離には、各種試料を液体培地に入れて培養するか、固体培地を用い流し込み平板培養を行い、27°C 及び 32°C で培養後、粘質物の比較的多いと思われる聚落を選択し、平板培養法により純粋分離を行った。

##### d. 分離結果

各種試料より粘質物の比較的多いと思われる菌株を純粋分離した結果、次表の如くに夫々の分離源より合計 84 株を得、是等の中、特に粘質物生産力大と思われるもの、台所空中より 9 株、土壌中より 5 株、黒砂糖より 1 株、味瓜腐敗部より 8 株及びビート粕より 1 株、合計 24 株を選出した。

#### II. 分離供試菌株の同定

分離供試菌株の同定には、Bergey (1948)<sup>(1)</sup> の分類

\* 北海道大学農学部応用菌学教室

第 1 表 分離源及び分離菌株

分 離 源	分離菌株数	供試菌株番号
ビート, 大豆, 麦, コーン, 馬鈴薯, 人蔘, キャベツ, 菊芋の各畠土壌	22	7, 8, 9
織詰の腐敗部	1	
各種糖液類	4	6
塵芥捨場, 堆肥, 家畜畜舎の土壌及び糞	13	10, 15
製パン, 製菓, 飲食店の下水, 流尻	7	
蔬菜類, 根菜類, 果実類の根, 葉, 果実及びその腐敗部, 搾汁, 搾粕	21	17~25
室内, 台所, 屋外の空中	16	1~5, 11~14

書により, 細胞形態, グラム染色, 聚落の形状, 溶解性, Indol-H<sub>2</sub>S の生成, 亜硝酸試験, Litmus milk 培養の性状, 各種糖類よりの生酸性等について試験を行い, 此の際, 当教室保存菌株の *Leuconostoc mesenteroides* st. 2 を標準株として並行試験を行つた。糖類よりの生酸性試験には, Arabinose, Xylose, Glucose, Fructose, Galactose, Mannose, Lactose, Sucrose, Maltose, Raffinose, Mannit, Inulin, Dextrin, Rhamnose, Glycerine を Nutrient broth に各 1% の濃度に加え, 培養後, pH の低下, 酸度の上昇を調べた。是等試験結果を第 2, 第 3 表に示す。即, 分離菌株は, No. 1~15 の群 (A) と No. 17~25 の群 (B) とに 2 分される。B 群は, 細胞の大きさ 0.8~1.0  $\mu$  の球菌でグラム陽性, 聚落は灰白乃至白色で Indol-H<sub>2</sub>S を生成せず, 硝酸塩の還元は行なわない。Litmus milk では酸の生成及び還元状態が見られ, 凝固は殆ど起らない。糖類の中, Arabinose, Xylose, Glucose, Fructose, Galactose, Mannose, Lactose, Sucrose, Raffinose, Mannit を利用生酸するもので, *Leuconostoc mesenteroides* (CIENKOWSKI) VAN TIEGHEM に一致し, 比較並行試験に用いた当教室保存中の *Leuconostoc mesenteroides* st. 2 の形態的, 生理的性状との間に差異は見られなかつた。

A 群は, B 群と類似した性状を示すが, 此の二群の間の差は, 主として Arabinose, Xylose, の酸酵性の有無で, A 群に属するものは酸酵性を示さず, *Leuconostoc dextranicum* の記載と一致すると思われる。

是等の結果から分離菌株, A 群は, *Leuconostoc dextranicum* (BEIJERINCK) HUCKER and PEDERSON, B 群は, *Leuconostoc mesenteroides* (CIENKOWSKI) VAN TIEGHEM であると同定した。

### III. 生成 dextran の分離同定

#### a. 生成粘質物の分離及び同定法

Sucrose 10%, Yeast extract 5%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2%, Peptone 0.1%, KCl 0.5%

なる組成の培地を 200 cc. 三角フラスコに 100 cc. 宛分注, 滅菌し, 同組成の試験管前培養 25°C, 24 時間のものに 50% (容量) まで Ethanol を加えて白色餅状の沈澱を得る。是を 50% Ethanol で洗滌, 濾別し, 再沈, 精製を行い, 是を水に溶解, 2.5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> に依り煮沸, 加水分解 4 時間後, 透明液の少量を Paper chromatography にかけた。用いた展開剤は n-butanol : acetic acid : water = 4 : 1 : 2, 発色剤は n/10 AgNO<sub>3</sub> : 10% NH<sub>4</sub>OH = 1 : 1 で, 55°C で発色させた。Paper chromatography には, 比較対照の為, Glucose, Fructose の 0.2% 溶液も同時に展開発色させた。

#### b. 実験結果及び考察

粘性培養液より得た白色沈澱を加水分解して生成する透明液を Paper chromatography に依つて検定した処, 分離菌株の生成する粘性産物の総ての試料について得られた Rf 値が Glucose の標準液の示す Rf 値 0.21 に等しい値を示し, Glucose のスポットのみの現われた事から生成された粘質物が Glucose のみの重合物であると考えられ dextran と同定した。尚, 同時に行つた Fructose 標準液の示した Rf 値は 0.25 である。

### IV. Dextran 生産量比較

#### a. 実験方法

前記 10% Sucrose 培地 50 cc. を 150 cc. 三角フラスコに分注, 滅菌し, 同組成の試験管前培養 25°C, 24 時間のものから 1 白金耳接種, 25°C, で 6 日間培養, Ethanol 50% で沈澱, 精製し, absolute Ethanol で脱水, 80°C で乾燥, 秤量して分離各菌株及び教室保存菌株 *Leuconostoc mesenteroides* st. 2 につき dextran 生産量を比較した。

#### b. 実験結果及び考察

分離菌株及び当教室保存菌株 *Leuconostoc mesenteroides* st. 2 (以下 L. m. st. 2 とす) の dextran 生産量を比較すると, 第 1 図の如くなる。即, 分離した *Leuconostoc dextranicum* (以下 L. d. とす) (No. 1~15) は収量 20~30%, *Leuconostoc mesenteroides* (以下 L. m. とす) (No. 17~25) は 80~90% に及び L. m. st. 2 の収量を上廻っている。

第 2 表 菌株 の 性 状

Strain	Spheres	Gram-	Nutrient agar Streak	Nutrient agar colony	Gelatin colony	Gelatin stab	Potato streak	Bouillon	Indol	H <sub>2</sub> S	-NO <sub>3</sub> Reduct.	Litmus milk			Opt. Temp.					
												Acid	Reduct.	Coagulat.						
1	0.6~1.0 μ., coccus, pair~ chain	+	scanty, grayish- white, entire~ fimbriate, iridescent	white~ grayish- white, circular, effused~ raised, iridescent	white~ grayish- white, small circular, effused~ raised, iridescent	grayish- white, filiform,  no lique- faction	white, filiform	white sediment, poor growth	-	-	-	+	+	-	25°C } 32°C					
4		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	
5		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
9		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
10		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
12		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
15		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
17		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
18		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
19		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
20		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
21		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
22		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
23		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
24		+							+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								
L.m.2		+							-	-	-	+	+	-						
* L.D.	0.6~1.0 μ., coccus, pair~ chain	+		small, gray, circular, slightly raised, entire		gray, filiform,  no lique- faction	no visible growth		-	-	-	+	+	-	21°C }					
* L.M.	0.9~1.2 μ., coccus, pair~ chain	+			small, white ~grayish- white, raised, nodular	no lique- faction			-	-	-				25°C					

\* BERGEY'S manual の記載  
L.D: *Leuconostoc dextranicum*  
L.M: *Leuconostoc mesenteroides*

第 3 表 糖 類 よ り の 生 酸 性

Strain	Arabinose	Xylose	Glucose	Fructose	Galactose	Mannose	Lactose	Maltose	Sucrose	Raffinose	Mannit	Inulin	Dextrin	Rhamnose	Glycerine
1	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	-	-	(-)	-	-
4	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	-	-	(-)	-	-
5	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	-	-	(-)	-	-
9	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	-	-	(-)	-	-
10	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	-	-	(-)	-	-
12	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	(+)	-	(-)	-	-
15	(+)	(+)	≠	≠	≠	+	±	+	+	-	(+)	-	(-)	-	-
17	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
18	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
19	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
20	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
21	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
22	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
23	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
24	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
25	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
L.m.2	≠	+	≠	≠	+	≠	(+)	+	≠	+	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
L.D.*	-	-	+	+	+	(+)	(+)	+	+	(-)	-	(-)	(-)	-	-
L.M.*	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

\* BERGEY'S manual の記載

L.D: *Leuconostoc dextranicum*

L.M: *Leuconostoc mesenteroides*

生酸性

≠: 強く生酸する

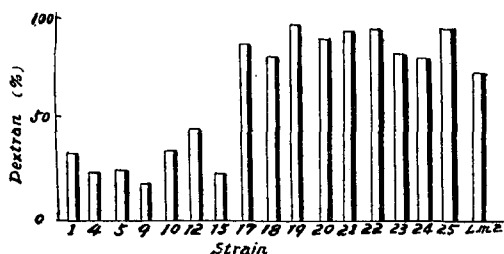
±: 生酸性非常に弱い

+: 生酸する

(-): 生酸性弱いか殆んどない

(+): 生酸性弱い

-: 生酸性なし



第 1 図 Dextran 収量の比較

V. 培養条件

培養条件は、分離した各菌株の中 dextran 生産率の高い菌株として夫々の species から、*L. d. No. 12*, *L. m. No. 19* を選び適温試験及び窒素源試験を行つて検討した。尚、並行して教室保存の *L. m. st. 2* について比較試験を行つた。

a. 適温試験

1. 実験方法

前記培養基の糖を 2% Glucose で置換した Glucose-Yeast extract-agar 培地の劃線培養に依つて生育状態を、2% Sucrose とした 2% Sucrose-Yeast extract-agar 培地の劃線培養について dextran 生成状態を観察した。培養は 6 日間、温度は 10°C, 20°C, 25°C, 32°C, 37°C で培養基上の聚落の大きさ及び粘質物の量によつて比較した。

2. 実験結果及び考察

i) 生育状態

培養 15 時間後、25°C, 32°C の培養のものは、淡白色の聚落を形成、20 時間前後に於て最高に達する。20°C でも生育は認められるが、10°C, 37°C では殆ど生育は認められない。

従つて、生育適温は、25°C 乃至 32°C と考えられる。*L. d. No. 12* は *L. m. No. 19* 及び *L. m. st. 2* に比較して生育の度合は遅れる模様である。

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :	0%	0.05%	0.1%	0.2%	0.5%
NaNO <sub>3</sub> :	0%	0.05%	0.1%	0.2%	0.5%
Peptone:	0%	0.1%	0.2%	0.5%	1.0%
Yeast extract:	0%	1.0%	2.0%	5.0%	10.0%
Wort:	0°Blg.	1.25°Blg.	2.5°Blg.	5°Blg.	
Malt-root extract:	0%	1.0%	2.0%	5.0%	

ii) 実験結果及び考察

各窒素源、各濃度段階に於ける *L. d. No. 12*, *L. m. No. 19* 及び *L. m. st. 2* に依る dextran 生産量を第 2 図に示す。是を見るに、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>,

ii) Dextran 生産状態

Sucrose 培地上での粘質物生産状態は、菌の発育と同様の傾向を示し、15 時間培養で、25°C, 32°C の培養のものは、強い生産力を示して居り、20°C に於ても少量の粘質物生産が見られた。37°C の粘質物生産は極く少量で、10°C では生育、粘質物生産共に見られなかつた。25°C, 32°C に於ける粘質物生産は、24 乃至 48 時間で最高量に達すると思われる。*L. d. No. 12* は生育と同様、他の 2 株より生産力は劣る。以上の結果から dextran 生産には、供試 3 株共に、25°C 乃至 32°C での培養が最適と考えられる。

b. 窒素源試験

窒素源試験には、Hassid & Barker (1940)<sup>(8)</sup> の培地を基本培地とした。即、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5%, NaCl 0.1%, MgSO<sub>4</sub>·7aq 0.02% の組成のもので、是に炭素源として Sucrose 10% を加え、窒素源として (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, Urea, Peptone, Yeast extract, Wort, Malt-root extract を用い、窒素含量が略一定となる様な濃度を持つ段階で単一窒素源及び各種窒素源の組合せによる複合窒素源培地に就て dextran 収量の比較を行つて窒素源の選択を試みた。

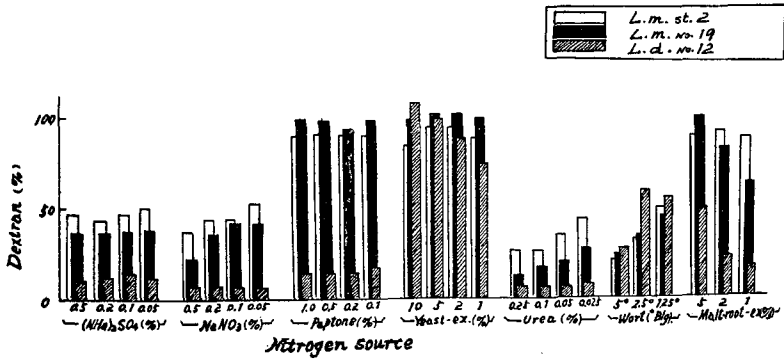
1. 単一窒素源

i) 実験方法

単一窒素源として (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, Urea, Peptone, Yeast extract, Wort, Malt-root extract, を用い、大体窒素含量 0.02% を中心とした数段階の濃度として、上記 10% Sucrose を含む基本培地に加え、150 cc, 三角フラスコに 50 cc 宛分注滅菌したものに、2% Sucrose を含む同培地に 25°C, 24 時間培養したものを 1 白金耳宛接種、25°C, 76 時間培養後、dextran 収量を測定した。dextran 収量は IV-a. と同法により測定した。

各窒素源の濃度段階は次の通りである。

Urea, は *L. m. No. 19* と *L. m. st. 2* では対糖理論収量の 30 乃至 50%, *L. d. No. 12* は 5 乃至 10% に過ぎない。発育も非常に悪く、各窒素源の減少に従つて dextran 収量の増加する傾向が見られている。



第 2 図 単独窒素源に於ける Dextran 収量の比較

Wort では 3 菌株共に 30 乃至 50% の収量を上げて  
いる。L. m. No. 19, L. m. st 2 については Peptone,  
Malt-root extract, Yeast extract で非常な好収量を  
上げ L. d. No. 12 も Yeast extract に於て前二者に  
遜色ない好収量を見せている。唯, Peptone, Malt-  
root extract に於ては, 生産物に相当の着色があり,  
夾雑物も多い。従つて単一の窒素源としては, Yeast  
extract が最適であり, 2% で充分と思われる。

2. 複合窒素源試験

先に試験した単一窒素源の中, Yeast extract は各  
菌株について最も効果的である事が判明したが,  
dextran の代用血漿として用いると言う実用性から見  
て有機態窒素は思わしくないの、更に Yeast extract  
中の Growth factor その  
他の有効微量元素を利用す  
る事を眼目として, 他の無  
機態窒素との複合培地を造  
つて dextran 生産量を比  
較検討した。

i) 実験方法

組合せに用うる窒素源  
は,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  
Yeast extract の 3 種とし,  
単一窒素源試験に於て, 好  
収量を得た最低濃度として  
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$  は  
0.05%, 及び 0.1% を取り  
Yeast extract は 2% 以  
下比較的少量まで用いた。  
窒素源の組合せ濃度は第 4  
表の如き段階とし, 基本培  
地, 培養法, 収量測定法は

単一窒素源の場合と同様である。

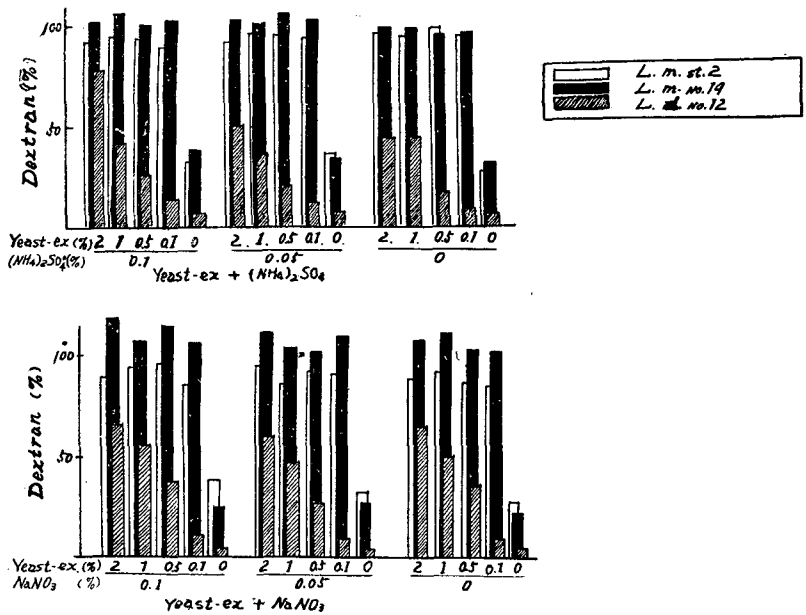
第 4 表 複合窒素源組合せ濃度

		Yeast extract %				
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	{ 0.	2	1	0.5	0.1	0
	{ 0.05	2	1	0.5	0.1	0
	{ 0.1	2	1	0.5	0.1	0
$\text{NaNO}_3$ %	{ 0.	2	1	0.5	0.1	0
	{ 0.05	2	1	0.5	0.1	0
	{ 0.1	2	1	0.5	0.1	0

基本培地:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5%  $\text{NaCl}$  0.1%  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{aq}$  0.02% Sucrose 10.0%

ii) 実験結果及び考察

各複合窒素源培地に於ける各菌株の dextran 収量を



第 3 図 複合窒素源に於ける Dextran 収量の比較

第3図に示す。是を見るに、何れも、Yeast extractの影響のみが見られて居り、*L. m. No. 19*, *L. m. st. 2* 共に対糖理論収量の100%前後の好収量を上げ、而もYeast extractは極少量でも有効である事が認められる。*L. d. No. 12*についても同様の事が言え、無機窒素源単用の場合に比してYeast extractを混用することにより、dextran収量は明らかに増大するがYeast extract単用の場合に比較すると寧ろ収量の減少傾向が見られる。無機窒素源がdextran生産に阻害的に働くか否かは詳でないが、何れの菌株に於ても窒素源としては、Yeast extract単用の方が有効で、その濃度は、2%で充分であると考えられる。尚此の実験と並行してYeast extract及びPeptoneの組合せによる培地についても検討したが、夫々の窒素源単用の場合に比較してdextran収量に認めるべき変化はなかつた。

## 2. Dextran 生産の時間的観察

果実類その他から分離したdextran生産菌中、特に生産力の強大な*L. m. No. 19*, *L. d. No. 12*及び教室保存の*L. m. st. 2*の3株について前記1.に於て検討せる最適の培養条件で10日間に亘りdextran生産量、消費糖、pH、滴定酸度、及び培養液の粘度、の相互関係を時間的に比較観察した。

### I. 実験方法

#### a. 培養基

用いた培養基は次の組成をもつものである。

Sucrose	10%	Yeast extract	2%
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5%	NaCl	0.1%
MgSO <sub>4</sub> ·7aq	0.02%		

#### b. 実験法

150 cc 三角フラスコに50 cc 宛分注、滅菌した培地を各菌株につき60個宛用意し、25°C、2日間の前培養より1白金耳宛接種、25°Cで培養し、各菌株について2個宛取出して測定に供した。測定には、先づ取出した培養液を緩やかに攪拌して一様にし、10 ccの同一ピペットを以て培養液を取り、一定目盛間、5 ccの落下時間を測定して相対的な粘度とし、5 ccについてn/10 NaOHによる滴定酸度を測定し、他の5 ccを以て試験紙によるpH測定を行い、残留培養液40 ccにEthanolを加えて濃度50%として沈澱を生成、再沈、精製及びabsolute Ethanolで洗滌脱水を行い、80°Cで乾燥秤量してdextran収量を測定した。消費糖はBertrand氏法によりdextran濾別

後の濾液について加水分解前後の還元糖量の差を以てSucrose残量とした。

### II. 実験結果及び考察

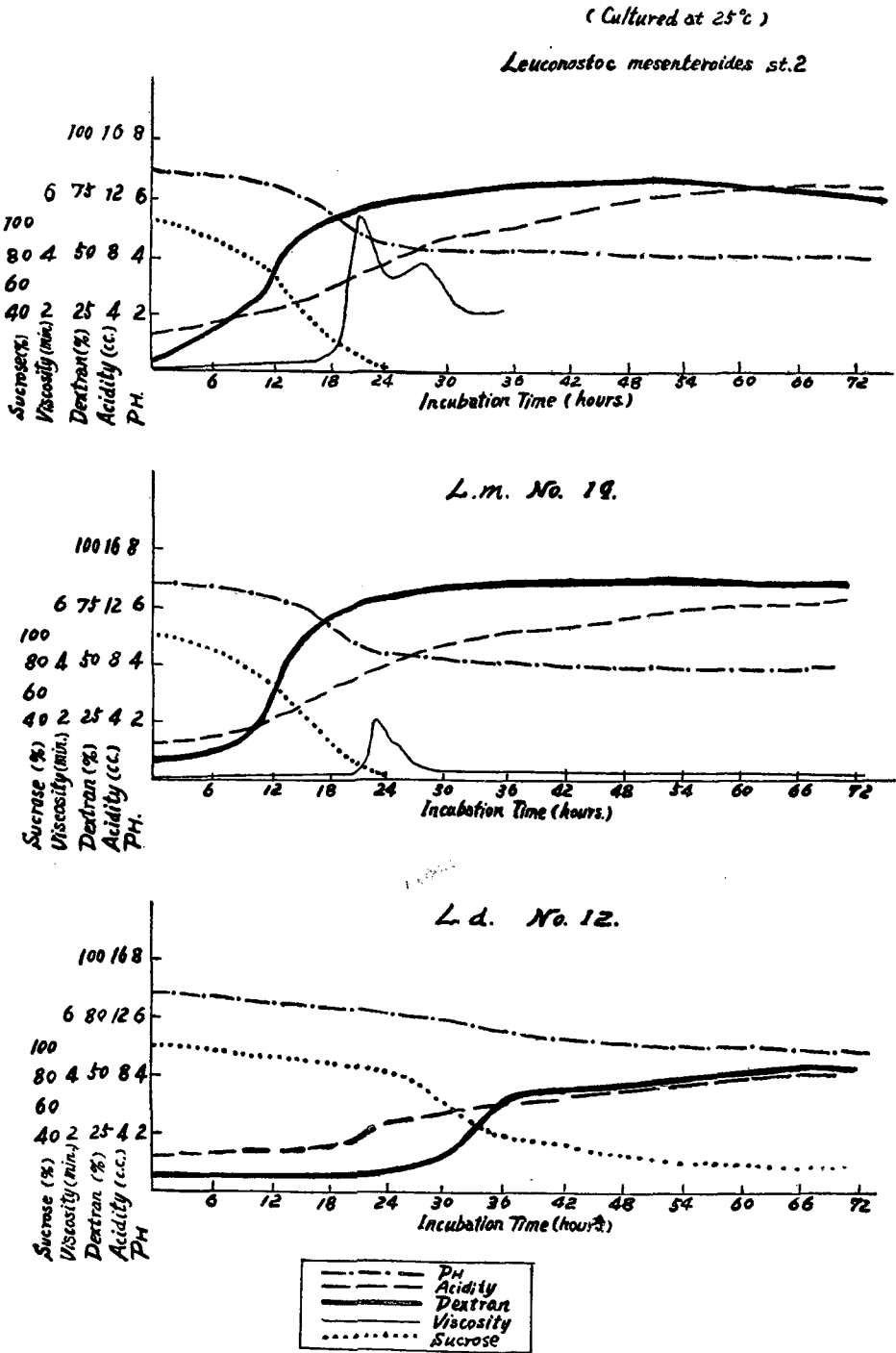
*L. d. No. 12*, *L. m. No. 19*及び*L. m. st. 2*について行つたdextran生産の時間的観察の結果を第4図に示す。此の結果を見るに、*L. m. No. 19*及び*L. m. st. 2*の場合は、醗酵極めて速やかで、培養14時間から、24時間までの間に、dextran生産量が急激に増加し、対糖理論値の80乃至90%に達し、その後目立つた増加は見られず、又低下する事もない。粘度は18時間目から急に増加し22時間を頂点として減少し、30時間目以後一定となる。pHは初発の6.8から培養24時間では4.2、更に7日後には3.5に低下する。糖の消費を見ると、12時間でSucroseの約40%が、24時間で殆どが消費される。Sucroseから遊離して来るFructoseの量は24時間で最高となり、その後菌体に消費される為減少する。Sucroseの消費、Fructose及びdextran生産量とから*L. m. No. 19*はGlucose-radicalの殆どをdextranに合成し、*L. m. st. 2*では、その一部がdextranに合成されずに菌体に消費されるものと考えられ、為にdextran収量は、*L. m. No. 19*に於て優るものと思われる。又*L. m. No. 19*の方が*L. m. st. 2*に比して粘度の低い点も注目される。即、これは、合成されたdextranが*L. m. No. 19*の方が分子量小なる為と考えられる。此の両菌株に於て、粘度、dextran生産量が最高に達する点と、pH、酸度が急激な変化を示す点とが時間的に一致している。

分離菌株*L. d. No. 12*の場合は、他の2株と比較して醗酵著しく緩慢で24乃至36時間に於て、糖消費量、dextran生産量に急激な変化が見られるが、48時間、72時間に於ける糖の消費は夫々60%、70%である。従つてdextran生産も遅れているが、消費糖に対する収率は非常に良く、Glucose-radicalが定量的にdextranに変わる事を示している。培養日数6日でSucroseは大部分消費され、dextranの収量も殆ど対糖理論値に達する。此の菌の生産するdextranは、他菌株の生産するdextranと異り、器底に分離沈澱する為、粘度の測定は不可能である。

## 総 括

1. 代用血漿dextran生産能の強力な菌株の分離を行い、その分類学的検討、培養条件、並びにdextran生成経過に関する実験を行つた。





第 4 図 Dextran の生産経過

2. 土壌、糖類、果実類等より粘質物生産菌株 84 株を分離し、その中特に粘質物生産力強大な 24 株を選び、分類を行つた結果、15 株は *Leuconostoc dextranicum* (BEIJERINCK) HUCKER and PEDERSON, 9 株は *Leuconostoc mesenteroides* (CIENKOWSKI) VAN TIEGHEM であると同定した。
3. 生産された粘質物は、加水分解後、Paper chromatography に依り、Glucose の重合物であることを認め dextran と同定した。
4. 培養条件を検討し、適温試験の結果、生育及び dextran 生産共に 25°C 乃至 32°C が最適であり、窒素源試験の結果、Yeast extract が窒素源として最適であり、その濃度は 2% で充分である。
5. Dextran 生産の時間的経過を検討する為、培養基の酸度、pH、粘度、dextran 生産量、還元糖量を、分離菌株 *Leuconostoc dextranicum* No. 12 (*L. m. No. 12*), *Leuconostoc mesenteroides* No. 19 (*L. m. No. 19*) 及び教室保存菌株 *Leuconostoc mesenteroides* st. 2 (*L. m. st. 2*) について測定した結果、*L. m. st. 2* 及び *L. m. No. 19* は培養 20 時間乃至 24 時間で pH、酸度、粘度、dextran 収量の急激な変化を見、dextran 収量は此の附近で最高に近い値を示し、以後、余り変化しない。*L. d. No. 12* では殆ど不溶性の dextran が器底に沈澱する為、粘度は測定出来なかつたが、pH、酸度、dextran 収量の変化が非常に緩慢で、Sucrose の消費及び dextran の収量最高に達するのに 6 日を要する。
6. 生産された dextran は菌株によつて、性質、分子量を異にするとと思われる。
7. Dextran 生産状態と、pH、酸度、粘度、還元糖量の変化は、密接な関係を持ち、醗酵の進行経過は、是等の因子の測定から推定出来ると思われる。
8. Dextran 生産の目的には、*L. m. No. 19* が最も適していると考えられる。

本研究は文部省試験研究費の補助を得た「代用血漿 dextran に関する研究」の一部である。

### 参考文献

1. BERGEY'S A manual of determinative Bacteriology 6th. Ed. 346 (1948)
2. A. CARRUTHERS. & E. Y. COOPER; Biochem. J., **30**, 1001 (1936)
3. W. Z. HASSID & H. A. BARKER; J. Biol. Chem., **134**, 163-170 (1940)

### Summary

1. Isolation and identification of bacteria producing a dextran in high yield were made, and its cultural conditions and dextran producing process were studied.

2. 84 strains producing slimy substances were isolated from soils, sugars, fruits and in air, and 24 strains were selected from them for its strong productivity of slimy substances.

These were classified and identified into two species as follows: 15 strains of them were identified into *Leuconostoc dextranicum* (*L. d.*) and other 9 strains were identified into *Leuconostoc mesenteroides* (*L. m.*).

3. Slimy products of these strains were proved to be a polymer of glucose by paper chromatography after hydrolysis and then identified as dextran.

4. 25°C-32°C was the temperature for good growth and good yield of dextran for these both strains, and as a nitrogen source yeast extract was the most suitable and sufficient in the concentration of 2%.

5. For the examination of dextran producing process, acidity, pH, viscosity, dextran yield and reducing sugar in culture media were measured, using two isolated strains of *L. d. No. 12*, *L. m. No. 19* and, as the parallel, *L. m. st. 2* of the culture collection of our institute.

As the results it was found that in the culture of *L. m. st. 2* and *L. m. No. 19*, acidity, pH, viscosity and dextran yield were changed abruptly after 20-24 hours cultivation, dextran yield showed nearly maximum at this culture time and no visible change after that.

In the culture of *L. d. No. 12*, viscosity could not determined for its insolubility in the medium, acidity, pH, and dextran yield were changed so slowly that it took 6 days long for dextran yield and sucrose consumption reached to the maximum value.

6. It was seemed that the produced dextran should be different in its character and molecular weight by each strains.

7. Dextran producing process seems to be closely connected with the change of the acidity, pH, viscosity and reducing sugar, and shall be presumable by measuring these factors.

8. For the purpose of dextran production *L. m. No. 19* will be one of the best strains.