

石油醗酵に関する研究

1. 核酸高含有細菌の分離とその培養条件

九大 食化工 熊澤田 上田誠之助

1. 目的：多成分（250～300種類）の炭化水素量質軽油（以下はHGOと称します）を利用し、得る且つ高温耐性の菌のスクリーニング及びその基礎培養に関する2,3の検討を行った。

2. 方法：培養液中菌体濃度の定量に際しては一定量培養液を遠沈した後上層の油分と菌体を有機溶媒で処理した後その菌体と0.5Nの熱塩酸や過塩素酸と数分間振盪し均一に懸濁させ、その吸光度を測定し吸光度と菌体量との検量曲線から菌体量を求めた。残油分の定量については培養液をn-ヘキサンで処理、抽出液をシリカゲルカラムを通した後n-ヘキサンを蒸発し油分の重量を求めた。其他有機燐はAllen法で、リボースはオルシノール発色法で、窒素はミクロケルダール法でそれぞれ定量した。

3. 結果：本研究に於いて菌体内に核酸を多量に生成できる桃色から橙色の細菌拾数菌株を分離した。それらの核酸としての燐は2.0～3.3%、蛋白態窒素は5.0～8.0%であった。それらの菌株中の一種 *Brevibacterium* A25 R sp. は増殖が早く、定常期の菌体では核酸含量27%、蛋白26%、リポッド17%であった。生育は40℃の方が30℃50℃より増殖が早かった。又本菌の培地組成としては炭素源以外は無機塩だけでよく、芳香族炭化水素もわずかながらこの菌により質化される事が認められた。次に振盪培養用フラスコや、ミニジャーファメンターを使用してHGO、n-ヘキサデカン、n-パラフィン等の基質を炭素源とした培地で増殖其他の培養特性を追究した。炭化水素の濃度に関係なく対数増殖期に於て同一の増殖速度率(0.35 hr⁻¹)が得られ、その値はグルコースを炭素源とした場合($\mu = 0.131 \text{ hr}^{-1}$)の約3倍であった。n-ヘキサデカン、n-パラフィンと炭素源とした場合、増殖後期にはいると菌体の凝集現象が認められ、その菌塊の直径は0.5～5.0 mmであるので、濾布を用いての菌体の回収が容易でその回収率を90%以上にあげる事ができた。この現象は他の数種類の細菌にも認められ、細菌培養の問題点の一つである菌体回収が菌の種類によっては容易であることが判明した。2,3の研究指針により指摘されているように此の菌においても培地中の炭化水素量が増すと増殖は定常期に達しにくく、溶存酸素や攪拌条件以外に尚不明の原因が存在していた。濃度は4V%ほどの種々の濃度のHGOやn-ヘキサデカンを用いてこの点を追究した。PHを制御する為に苛性ソーダを添加した際、油滴の表面張力に変化が起り、附着している菌が離れるようになり定常期に達しにくい。しかしアンモニア水を中和剤とした場合、この現象が認められなく比較的高濃度炭化水素培地の場合でも低濃度の場合と同じように増殖は容易に定常期に達した。単位菌体当りのRNA含量は対数増殖期では42% (Schneider法に従った)、定常期では27%であった。回分培養において種々の培養条件から得られた各種比増殖速度率 μ とRNA含量の関係を調べたところ両者の間には正の相関が得られた。菌体収率(Yield factor)についてはHGOの場合は0.8[%/mg]であり、最高菌体濃度は10% HGOの場合30時間回分培養で16[%/ml]であった。