

501

メタン酸化性菌 *Methylomonas flagellata* nov. sp. (AJ3670) の培養特性

(味の素中研) 〇森永 康, 吉村 実, 山中 茂, 滝波弘一, 広瀬義夫

1. 目的 我々は土壌から生育速度の比較的高い 'Methylomonas' group に属するメタン酸化性菌 (AJ 3670) を分離し, その菌学的性質について既に報告した (*Methylomonas flagellata* と命名)¹⁾。本報告では, ジャーフェンターを用いた回分培養, 連続培養により, 本菌の培養上の諸特性を検討し, 培養条件と菌体濃度, 生産性, 収率, 菌体組成との関係を明らかにすることを目的とした。

2. 方法 培地組成は表に示した。フラスコ培養では 500 ml 容振盪フラスコに 20 ml の培地を仕込み, 菌を接種した後, CH₄-air 混合気を封じ込み 34°C で振盪培養した。ジャーフェンターは 1 l 容ガラス製ミニジャーを用い, 0.4 l の培地を仕込み, 接種後 CH₄-air の各種混合気を通気し, 34°C に通気攪拌培養を行なった。攪拌数 1200 r.p.m. pH は NH₃ ガスで 6.5 に制御した。

	フラスコ培養	ジャー培養
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 g/l	0.2 g/l
KH ₂ PO ₄	0.3	1.0
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	1.8	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	0.4
FeSO ₄ ·7H ₂ O	10 mg/l	10 mg/l
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.0 mg/l	10 mg/l
pH (NaOH 中和)	7.2	6.5

連続培養ではマイクロチューブポンプにて培地の導入を行なり, dilution rate (D) を 0.03 ~ 0.1 hr⁻¹ とした。

ガス流量の測定は, 積算流量計および上島ブルックス社製サーマルマス・フローメーターにより行なり, ガス組成は島津製ガスクロ GC-3BT により, He をキャリアーガスとし, モレキュラーシーブ 5A, チャコールのカラムを用いて分析した。

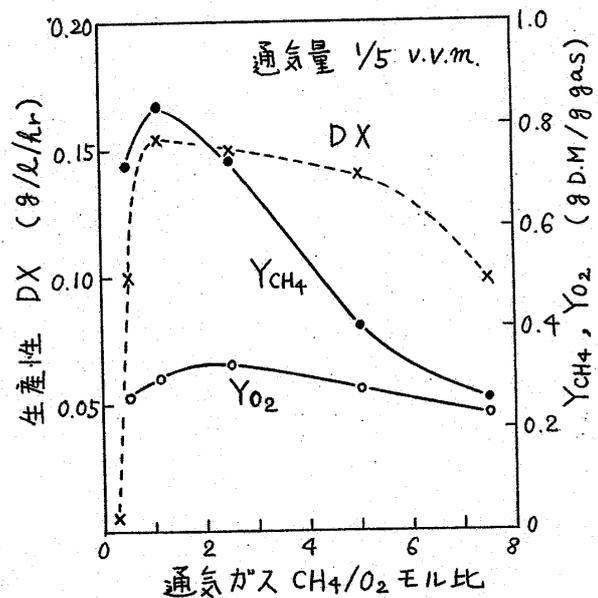
菌の臨界溶存酸素分圧 (P_ccrit) は, 菌体の thick suspension (5 ~ 6 g d.c.w./l) を用いて, 種々の CH₄/O₂ 比の CH₄-air 混合気を通気攪拌し, 溶存酸素分圧 (P_L) と酸化還元電位 (E_h) を測定し, その値より推算した。P_L 測定はバックマン Model 778 溶存酸素計, E_h は Redox 電極 DKK 6021 を用いて測定した。

3. 結果

	CH ₄ /O ₂	X _c (g/l)	μ (hr ⁻¹)
(i) 回分培養で CH ₄ /O ₂ 比 1.1 ~ 5.4 の CH ₄ -air 混合気を 1/4 v.v.m. (100 ml/min.) 通気し, ガス組成と生育速度 (μ), および臨界菌濃度 (X _c : 生育がガス基質の供給速度で律速される時点の菌濃度) の関係を検討したところ, 右表に示すように, CH ₄ /O ₂ = 1.5 ~ 1.7 で X _c が最大となり, CH ₄ , O ₂ の両基質がバランスして供給されるガス組成が, CH ₄ 25% + air 75% 付近にあることが推察された。CH ₄ /O ₂ = 1.7 の場合には 72 時間培養で 16 g/l の乾燥菌体重量に達した。また, CH ₄ /O ₂ 比 1 ~ 3 では μ = 0.12 ~ 0.15 hr ⁻¹ であり, ガス組成による大きな差は認められなかった。	1.1	4.0	0.14
	1.5	7.4	0.15
	1.7	7.9	0.13
	2.0	5.8	0.12
	3.1	1.9	0.12
	5.4	1.6	0.08

シンポジウム (SCPとくにC₁微生物、光合成培養)

(ii) 連続培養では CH₄ 34% + air 66% (CH₄/O₂ = 2.46) の混合気を 1/5 ~ 1/3 v.v.m 通気 (た条件下で $D = 0.05 \sim 0.08 \text{ hr}^{-1}$ で高い生産性が得られ, $D > 0.1 \text{ hr}^{-1}$ では washout する傾向が認められた。 $D = 0.05 \text{ hr}^{-1}$ で通気ガスの組成を変化させ定常状態を得て, ガス組成の生産性, 収率に与える影響を検討したところ, 右図に示すようにガス組成は生産性, 対 CH₄ 収率 (Y_{CH_4}) に大きく影響し, 生産性は CH₄/O₂ = 1 ~ 5 では比較的高く, CH₄/O₂ 比が 1 以下および 5 以上では低下した。 Y_{CH_4} は CH₄/O₂ = 1 ~ 2 で最大 (0.8 g D.M./g CH₄) となり, CH₄/O₂ = 10 のような O₂ の極めて制限された条件では, 0.1 ~ 0.2 に低下した。対 O₂ 収率 (Y_{O_2}) は Y_{CH_4} に比して変化は少なく, 各ガス組成で 0.2 ~ 0.3 g D.M./g O₂ であった。



(iii) 菌体の thick suspension を用いて通気ガス組成と P_L , E_L の関係を検討した結果, CH₄/O₂ < 1.6 で P_L および E_L が急激に上昇し, CH₄/O₂ > 1.6 では P_L が $P_{L,crit.}$ 以下に低下し, 呼吸が溶存酸素濃度により制約されると推定できた。また, この時の $P_{L,crit.}$ を E_L の値より求めると 10^{-6} M/l のレベルとなり, この値は Sheehan²⁾ の値に比して, やや低いものであった。

(iv) 以上の結果をまとめると, 回分培養で X_c が CH₄/O₂ = 1.5 ~ 1.7 で最大になること, および, $P_{L,crit.}$ に達する点のガス組成が CH₄/O₂ = 1.6 であることより, ガス基質制限下での連続培養系では CH₄/O₂ = 1.6 (CH₄ 25% + air 75%) 付近の通気ガス組成で制限基質が CH₄ から O₂ に切り換わることが推定された (CH₄/O₂ < 1.6 では CH₄ 律速, CH₄/O₂ > 1.6 では O₂ 律速)。また, このようなガス組成では生産性, Y_{CH_4} がともに高い値を示すことから至適のガス組成であることが明らかになった。

本報告では, この他, ガス組成と菌体組成との関係などについても報告する。

1) Y. Morimaga, S. Yamamaka and Y. Hirose: Agr. Biol. Chem., 40, (1976) [8] in press.

2) B. T. Sheehan and M. J. Johnson: Appl. Microbiol., 21, (1971) 511 ~ 515