

147

海洋メタノール資化細菌

(第2報) 培養条件の検討

(三葉オーシャン中研) 山本理雄, 芥生良博, 岡本六郎, 五嶋慎治, 乾 泰治

1. 目的 前報で得られた海洋メタノール資化細菌について, 菌体生産のための培養の諸条件について, 海水を培地用水として利用する事を中心に検討を加えた。

2. 方法 培養容器はフラスコ類及び1L, 5L, 20L容ジャーファーメンターを用いた。菌体量は3%食塩水で希釈後610nmの吸光度又は遠心分離菌体を0.01M $MgCl_2$ で洗滌後凍結乾燥したものの重量を測定した。メタノールはガスクロマトグラフにより測定した。培地組成は前報の単離に用いた培地を基本に構成(NaCl培地)したが, ジャーファーメンターはアンモニア水によるpHコントロールを行う為 K_2HPO_4 は除いた。海水を培地用水として用いる場合 NaCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Trace metal 溶液は除き, Fe^{++} , Mn^{++} 各2ppm 添加した(海水培地)。用いた海水は江の島海岸より採取したもので総塩分はNaCl換算で2.6%であった。

3. 結果 培養条件の設定に際し, 基本的問題として, 初発メタノール濃度による生育阻害, 最適食塩濃度, ビタミン B_{12} の要求量を求めた結果, メタノールは菌株によって若干変動するが4~6(%)%で阻害が著しい。食塩の最適値は対数増殖期の比増殖速度から1~4%が好適であった。ビタミン B_{12} はフラスコ培養1%メタノールに対し50~100 $\mu g/L$ 以上で生育はほぼ正常に達した。

最適温度及びpHはそれぞれ30~37℃, 6.8~7.0 であった。特にpHは海水培地とNaCl培地で若干の差が認められた。又海水培地の場合 KH_2PO_4 の殺菌方法により増殖に差が見られ, 別殺菌が好ましい結果を得た。

これらの基礎条件をもとに, 海水培地を次の如く設定した。 $(NH_4)_2SO_4$ 0.3%, KH_2PO_4 0.1% (別殺菌), 肉エキス 0.05%, Fe^{++} , Mn^{++} 各2ppm 及びメタノールを海水に添加。pHはアンモニア水で6.9にコントロール。

この海水培地, バッチ培養で各グループの菌株の比較試験を行ったが何れも良く増殖する事を確認した。

更に供試菌の中からYK2030, YK4030の2菌株を用い20g/Lのメタノールで連続培養を5L容のジャーファーメンターで行い, 添加基質に対し50%の収率で菌体を得る事が出来た。以上海洋メタノール資化細菌は収率が良い事と, 前報での溶菌特性から見て工業的観点から菌体構成成分の分離, 採取に有用な微生物と考えられる。