

エタノール資化性酵母の高菌体濃度培養

(名大・農・食工化) 〇森 博徳, 矢野卓雄, 小林 猛, 清水祥一

1. 目的 近年, SCP生産に関連した研究分野において, C_1 微生物であるメタノール資化性微生物の他に, エタノール資化性微生物が注目さあびつつある。エタノール資化性微生物の高菌体濃度培養に際し, 重要なポイントは, 培養液中のエタノール濃度の制御と酸素供給である。エタノールが培養液中に過剰量存在すると増殖阻害を引き起こすので, 阻害効果のないレベルにエタノール濃度を維持することが必要であり, 一方酸素も高濃度存在すると酸素毒性を呈し, 不足すると増殖が制限を受けるので, 適度なレベルに酸素を供給せねばならない。今回の研究では, 酸素供給に DO-stat システムを使用し, エタノールの供給は, エタノール欠乏に基づく DO の急激なピークを指標として添加した場合と, エタノールを検出するセンサをガスクロと連結し, ガスクロマトグラム上のピークを指標として添加した場合で実施し, 高菌体濃度下での回分培養を試みた。

2. 方法 エタノール資化性酵母として, *Candida brassicae* sp. nov. E-17 (山梨大・天野氏ら分離) を用いた。培養槽には, いわしや製 MB 型小型培養槽を用い, working volume 1 ℓ で回分培養を行なった。培地として, KH_2PO_4 12.0, K_2HPO_4 1.0, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0, NH_4Cl 0.5, Yeast extract 6.0, $\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.4, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.04, $\text{MnSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 0.01, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.01, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.004, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.002, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001, H_3BO_3 0.0005, いずれも (g/ℓ) を用いた。pH と温度は常に 5.5 と 36°C に保った。エタノールの補給には, 蠕動ポンプを用い, エタノール以外の諸栄養源については随時欠乏にならぬ様添加し, 発泡の際には Silicone KH-72 を添加した。分析法として, 無機リンに Allen 法, アシモニアに Nessler 法, 無機金属に原子吸光法, エタノールにガスクロマト法を用いた。ガスクロマトグラフには日立 163 ガスクロ (検出器; FID), カラムとして Chromosorb 101 を充填したステンレスカラムを使用した。

3. 結果 センサを使用した場合には, 応答にかなり時間がかかるために, 比較的菌体活性の高くなる培養後半期では実際上使用できなくなり, DO を指標としてエタノールを添加する方法を併用する必要性が生じ, 一方, 培養開始時から DO をほぼ一定レベルに保ち, 急激な DO のピークを極力出さない様に, しかも阻害効果のおこらないレベルにエタノールを供給して回分培養を行なったところ, 最終時には 138 g dry cells/liter という高菌体を得ることができた。この菌体濃度は粘度から計算した最大菌体濃度の約 5 割に相当した。しかし, このように DO のみを指標としてエタノールを添加した場合にはエタノール濃度を直接知ることができないので, もっと応答時間の短いセンサがあれば, より直接的にエタノール濃度を把握しながら培養することが可能になると考えられる。