

〔醸酵工学 第56巻 第5号 538-552. 1978〕
照井会長退任記念特集号

総 説

独立栄養微生物の SCP—水素細菌への期待*—

養 田 泰 治

東京大学農学部

独立栄養微生物 SCP への期待

将来予想される世界のたんぱく不足に希望の灯をともしたのは、Champagnat のノルマルパラフィンからの酵母たんぱくの開発であった。食糧需給のゆるみや原油の値上がりや消費者の安全性への疑問によって、スローダウンはしたが、その技術と安全性評価の確立によって、実用化は一步一步進んで来ている。つづく SCP の原料としては、資源が豊富で廉価安定な供給への期待からメタン、メタノールの SCP が注目され、これも本格生産工場の完成が間近いといわれている。これらの地下資源が近い将来枯渇するとは考えられない。少なくともエネルギー源としての大量使用は制限されても炭素資源として中心的役割を果たす時代は、なお、当分続くであろう。しかしともかくも、これらは有限の資源であり、特にわが国は、そのほとんどを海外からの輸入に依存しており、産油国の政策によって、将来その価格が上昇し供給が不安定になることは当然予想される。

一方、わが国で供給できるたんぱくは水産資源を含めても 1 人 1 日 45 g といい、大量のたんぱく食飼料を海外に仰いでいるが、これも人口増加による絶対量の不足と、輸出国の政策によって、石油同様将来その価格と供給が不安定化する可能性は目に見えている。したがって、エネルギーと同様たんぱくも多面的な供給の方途、特に最低限の自給を保証する供給方法を考え、なるべく早い機会にこれを確立しておく必要がある。もちろん食糧問題の解決は、農業の振興が基本である

* SCP of Autotrophic Microorganisms—The Expectation for Hydrogen Bacteria.—A Monograph—MINODA, Y. (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113)

が、将来必要な 300 万トンのたんぱくを確保するのは、わが国の立地条件では容易でないようである。水産業も、200 海里問題等によって先細り状態に追い込まれており、魚の養殖や畜産業も飼料たんぱくが無ければ成り立たない。わが国のたんぱくの需要が急速に動物性たんぱくに移っていることを考え合わせ、たんぱく飼餌料の確保はますます緊急である。こう考えて来ると、自給可能な微生物たんぱく (SCP) が当然の期待となって来る。自給可能な炭素源として残された物は二酸化炭素であり、これは循環利用できるから資源としては無限である。

二酸化炭素からの SCP としては、先ず植物が光合成によって生産する有機物を原料とすることが考えられる。その場合、糖類やでん粉や油脂のように、そのまま食糧となる物もったいないから、農林産廃棄物が対象となる。廃糖蜜、亜硫酸パルプ廃液、でん粉かす、バガス、コーヒー工場廃水、カロブ豆、チーズホエー等からの SCP が世界各国で開発されているが、わが国でも稲わら、柑きつ粕、のこぎりくず、魚練製品廃水等が着目されている。これらの資源は、集荷、輸送、貯蔵といった立地条件、その複雑で難分解な成分から来る取り扱いの難しさ等から濃厚飼料の工業生産には適さず、むしろ地域的で小規模な粗なバイオマスとして飼料化するに適すると考えられるが、空気中の微量な二酸化炭素の植物の固定力を利用でき、廃棄物処理の利点を持つから重要である。しかしここではふれない。

二酸化炭素を直接炭素源として SCP を生産するには独立栄養微生物に頼らねばならない。これには Table 1 に示すように、光合成微生物と化学合成微生物とがある。前者には、葉緑体を持っている藻類や葉緑体類似の色素を持つ光合成細菌があり、藻類には真

Table 1. Autotrophic microorganisms.

| | |
|------------------------------------|--|
| Photolithotrophs | |
| Algae | |
| Green algae | |
| Blue-green algae | |
| Photosynthetic bacteria | |
| Sulfur purple bacteria | |
| Sulfur green bacteria | |
| Non-sulfur purple bacteria | |
| Chemolithotrophs | |
| Nitrifying bacteria | |
| Ammonia oxidizer | |
| Nitrite oxidizer | |
| Sulfur oxidizing bacteria | |
| Iron oxidizing bacteria | |
| Hydrogen bacteria | |
| Methane bacteria | |
| Carbon monoxide oxidizing bacteria | |

核細胞を持つ緑藻と原子核細胞を持つ藍藻がある。緑藻の SCP としては、ドイツや東欧で、古くからセネデスムスが研究され生産が行われている。わが国でもクロレラの培養は、25年の歴史を持ち、年間 180t ぐらい生産されているというが、二酸化炭素のみを炭素源として培養されているのは一部で、主として酢酸を原料として、SCP というよりは動物や乳酸菌の生長促進効果を持つ薬剤や健康食品または整味剤として、1kg 数千円で取り引きされている。藍藻では、大型のらせん藻スピリリーナが、回収が容易なことから注目され、フランス国立石油研究所が開発し、メキシコでもメキシコシティに近いテクスココ湖で、日産 1t の生産をあげているという。しかし太陽エネルギーは膨大であるが、地球にそそぐのは、1m² 当たり 160~180 熱 W 程度の希薄なエネルギーで、藻類の増殖収率は 0.02 gcell/kacl 程度であり、¹⁾ さらに昼夜、季節、天候によって変動するから、土地面積の割に補足できるエネルギーは小さい。また増殖には温度が影響するから、藻類の培養に有利なのは日照も多く高温な熱帯の砂漠地方や海洋に限られる。この様な地方では、たんぱく生産に適する作物は少なく、藻類はたんぱくの含量が高いから、優良な好熱藻や好塩藻が得られれば有効性を発揮すると思われるが、わが国のような国土が狭く土地の高価な国では、経済的にむずかしいのではないかと考えられる。また大量迅速培養には、空中の 0.03 % という低い二酸化炭素濃度を高めてやる必要があり、

浅い水槽に開放で通気する方法では、二酸化炭素の固定効率が低い、二酸化炭素圧入法等、²⁾ この面でも工夫を要する。なお光合成細菌は BOD や窒素含量の高い廃水処理に有効とされ、菌体は良質のたんぱくを含みビタミンも多く、動物性プランクトンの増殖によく、また直接魚や産卵鶏の飼料としても有効というが、³⁾ SCP としての大量培養は今後の問題である。

化学合成菌の SCP

二酸化炭素を使って SCP をつくるに、太陽エネルギーに頼ることが、わが国の立地条件としてむずかしいとすれば、残されたのは化学合成菌 (chemolithotroph) と呼ばれる主として無機物を酸化し、そのエネルギーを用いて二酸化炭素を同化する一群の微生物である。これには、Table 1 に示すような種類があって、それぞれ自然界の物質循環に関与し、人間の生活にもかかわりあって棲息している。これらの化学合成菌を比較して、たんぱく生産の面から適性を考えてみると、結果的には水素細菌が最も将来性があると思われる。その主な理由は、まず水素が将来のエネルギー源として開発が進められており、水から大量安価に生産される可能性があること、次に原料ガスの精製は比較的簡単である上、水素を酸化してエネルギーを得る際生成するのは水であって、硫黄や鉄の酸化菌、硝化菌等と比べてクリーンであること、栄養要求が単純で培養における雑菌汚染のおそれが少ないこと、さらに最近かなり増殖の速い菌が見出され、高いたんぱく生産性が期待されるようになったことである。Table 2 に独立栄養生物によるたんぱくの生産性を比較したが、著者らが採取した高温水素細菌を用いた予備的連続培養試験でも、たんぱくとして 20 ton/m³-year の生産が可能であり、従属栄養培養による酵母たんぱくの生産性とあまり遜色はない。また chemolithotroph の菌体収

Table 2. Protein productivity of various protein sources.

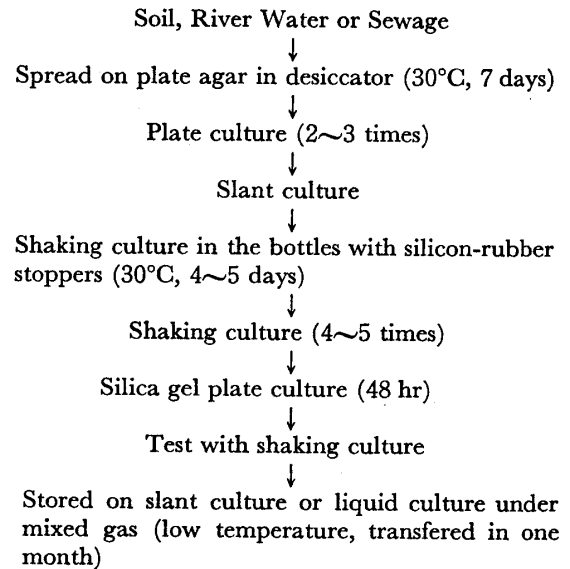
| Protein source | Productivity of protein |
|------------------------|---------------------------------|
| Chlorella (Natural) | 1.5-2.5 kg/m ² -year |
| Clover Leaf | 0.168 // |
| Grass | 0.067 // |
| Peanuts | 0.047 // |
| Wheat | 0.030 // |
| Chlorella (Artificial) | 30 kg/m ³ -year |
| Yeast | 15-20 ton/m ³ -year |

Table 4. Classification of hydrogen bacteria.

| |
|--|
| Gram-negative strains |
| <i>Pseudomonas saccharophila</i> |
| <i>P. facilis</i> |
| <i>P. ruhlandii</i> |
| <i>P. palleronii</i> |
| <i>P. flava</i> |
| <i>P. hydrogenovora</i> * |
| <i>P. hydrogenothermophila</i> * |
| <i>Alcaligenes eutrophus</i> |
| <i>A. paradoxus</i> |
| <i>A. autotrophicans</i> |
| <i>A. hydrogenophilus</i> |
| <i>Flavobacterium autotrophophilum</i> * |
| <i>Paracoccus denitrificans</i> |
| |
| <i>Hydrogenomonas carboxydovorans</i> |
| <i>H. pantotropha</i> |
| <i>H. vitrea</i> |
| <i>H. agilis</i> |
| <i>H. picnoticus</i> |
| <i>H. thermophilus</i> |
| Gram-positive strains |
| <i>Corynebacterium autotrophicum</i> |
| <i>Mycobacterium fortuitum</i> |
| <i>M. marinum</i> |
| <i>M. phlei</i> |
| <i>Nocardia autotrophica</i> |
| <i>N. petroleophila</i> |
| <i>N. opaca</i> |
| <i>N. saturnea</i> |

* Isolated by the authors.

る。固定経路は植物と同じく Ribulose 1,5-diphosphate cycle によると考えられている。このような細菌が存在することは前世紀から知られていたが、1906年 Kaserer が初めて分離した。⁷⁾ 従来水素細菌は分類学上、水素酸化性を持つ特別な細菌群として *Hydrogenomonas* 属にまとめられていたが、近年の研究⁸⁻¹¹⁾ によって有機物もよく酸化するのみならず、これまで従属栄養菌として分類されていた種々の属の菌の中に水素細菌としての能力を有する物があることが明らかにされ、Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 第8版では *Hydrogenomonas* という特別な属を設けることを改め、Table 4 に示すように、形態学的特徴ならびに生理的性質によっていくつかの既存の属に分類し直さ



Scheme 1. Isolation of hydrogen bacteria.

れている。すなわち、グラム陰性菌では *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Paracoccus*, グラム陽性菌では *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* 等であるが、今後の研究でさらに多くの属に水素酸化性を持つ菌が見出される可能性がある。水素酸化性は属を決定するような重要な性質でなく、単に1つの生理的性質として考えられるようになったわけであるが、これに関連し最近、*Nocardia opaca* の水素酸化性がプラスミッド支配であるとの証明がなされた¹²⁾ ことは興味深い。

著者らは、 NH_4NO_3 1.0 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.75 g, KH_2PO_4 0.25 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, 脱イオン水 1 l (pH 6.0 または 8.0) の培地を用い、gas phase を $\text{H}_2:\text{O}_2:\text{CO}_2 = 7:1:1$ として、Scheme 1 に示すような手順で土壌、河水、汚水より菌を分離した。

主として pH 6.0, 30°C の条件で100余の細菌を分離したが、最も増殖の速い No. 9-5 株を以下の培養実験に用いた。本菌は lophotrichous の極鞭毛を持つ桿菌で、GC 含量は62.3~62.5%, 生理的性質からも新菌と認められ、*Pseudomonas hydrogenovora* nov. sp. と命名した。

水素細菌の培養

培地^{6,14)} 水素細菌は無機塩のみで十分生育し、 Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Co^{2+} が有効との報告¹³⁾ があるが、著者らの菌は、微量無機成分の不足が問題になったことはなく、Table 5 に示す簡単な培地を用いている。

Table 5. Basal medium for autotrophic growth.

| | |
|---|-------|
| NH ₄ Cl | 3.0 g |
| KH ₂ PO ₄ | 3.0 |
| Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O | 2.0 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.3 |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 0.028 |
| Deionized water | 1 l |
| pH 6.0 | |
| Sterilized at 120°C instantly | |
| Gas phase: H ₂ : Air: CO ₂ = 65: 25: 10 (OD < 10) | |
| H ₂ : O ₂ : CO ₂ = 5: 2: 1 (OD ≥ 10) | |

鉄特に2価鉄イオンが増殖ならびに菌体収率に著効を示し (Table 6), 最適濃度は 0.2 mM であった。

前述のように, 水素細菌は一般に従属栄養性を併せ持っており, 本菌もグルコース, フラクトース, シュクロース, マンノース等をよく資化する. 特に接種量の少ない独立栄養培養の初期増殖には少量の有機物添加が著効を示し, 培養時間を大幅に短縮できる. グルコース添加培養では Fig. 2 に示すような培養経過をとり, 先ずグルコースを消費して増殖し, 完全に消費し終わった後, 短い誘導期を経て独立栄養増殖に切り換えられる. 独立栄養増殖では $\mu = 0.18 \sim 0.2$ で, グルコースに対する比増殖速度はその約2倍であった. 本

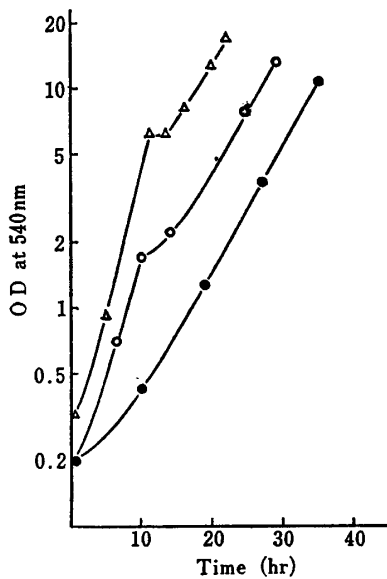


Fig. 2. Effect of glucose on cell growth.

Strain 9-5 was grown in the basal medium with or without glucose.

●—●, No addition; ○—○, 0.5 g/l; △—△, 2g/l

Table 6. Effect of the addition of ferrous and ferric ions.

| | μ (hr ⁻¹) | Specific cell yield* |
|--|---------------------------|----------------------|
| 1. Control | 0.117 | 100 |
| 2. Control + FeCl ₂ ·nH ₂ O 1 mg/l | 0.124 | 193 |
| 3. Control + FeCl ₃ ·6H ₂ O 1 mg/l | 0.119 | 147 |
| 4. Control + FeCl ₂ ·nH ₂ O 1 mg/l + FeCl ₃ ·6H ₂ O 1 mg/l | 0.128 | 175 |

* The values were obtained after 60 hr cultivation. (Control: 0.60 mg dried cells/ml).

菌の場合は, 培地中の無機塩濃度も lag の短縮に大きく影響することがわかった. Fig. 3 に示すように対数増殖期以後では良好な増殖を維持する basal medium の塩濃度では培養初期に lag を示し, この半分以下の濃度では lag がなくなっている.

lag time の短縮に培養ろ液の添加が有効であるという事実が見出された. 有効区分は主として培養ろ液の透析外液に存在していると考えられるが, その本体についてはなお不明である.

培養装置^{6,18)} 培養法としては基礎的試験には100 ml または 500 ml のフラスコにそれぞれ 10 ml または 50 ml の培地を入れ, フィルター付きのシリコンラバーで密栓してガス置換し, 毎分 130 往復の振とう機で培養した. 必要に応じてガスの補充交換を行う.

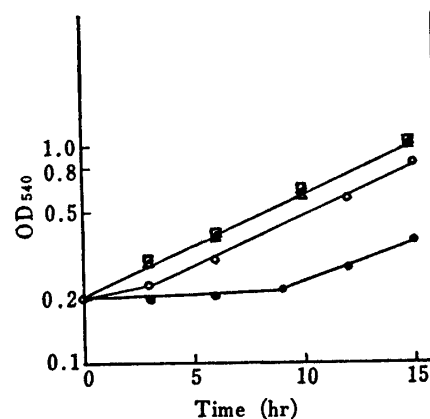


Fig. 3. Effect of inorganic salt concentrations in the medium on cell growth.

○—○, Basal medium; ●—●, Basal medium × 3; △—△, Basal medium × 1/2; ▲—▲, Basal medium × 1/4; □—□, Basal medium × 1/10.

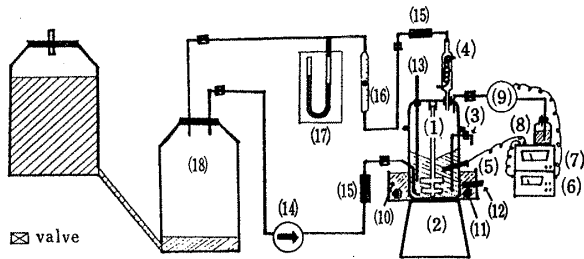


Fig. 4. Closed circuit system for cultivating hydrogen bacteria.

(1) culture vessel; (2) magnetic stirrer; (3) sampling device; (4) cooler; (5) pH-electrode; (6) control box; (7) pH-meter; (8) alkali-reservoir; (9) pump; (10) water bath; (11) heater; (12) temperature controller; (13) thermometer; (14) air-pump; (15) air-filter; (16) flow meter; (17) manometer; (18) gas-reservoir.

培養試験には、小型発酵槽を用い closed circuit system と continuous flow system を用いている。

closed circuit system は、Fig. 4 に示すように 20l のガス留を設けて圧をかけ、air-pump で混合ガスを供給しリサイクルする。ガスの利用効率はよいが、大量のガス貯槽を必要とし大規模の培養は行い難い。

Fig. 5 に continuous flow system を示す。供給ガス組成のコントロールはしやすいが、流し捨てにしているので、リサイクルの工夫を要する。供給ガス混合比と消費ガス比が異なる場合が普通なので、ガス分圧の検知と制御が必要である。

その他爆発限界内にある混合ガス通気を避け、発酵槽内で水を電気分解して水素と酸素を供給する装置が

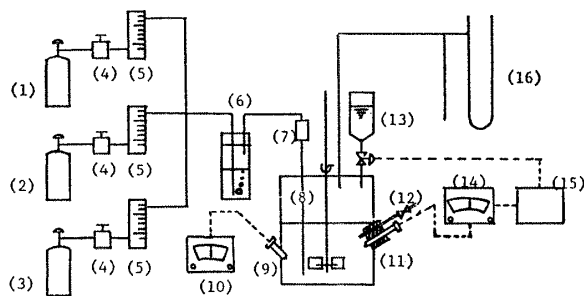


Fig. 5. Continuous flow system for cultivating hydrogen bacteria.

(1) H₂ cylinder (2) O₂ cylinder (3) CO₂ cylinder (4) Flow controller (5) Flow meter (6) Humidifier (7) Air filter (8) Jar fermenter (9) DO electrode (10) DO meter (11) pH electrode (12) Sampling tube (13) NH₄OH tank (14) pH meter (15) pH controller (16) Manometer

考案されているが、菌濃度を十分高めることができなかったという。¹⁹⁾

水素細菌の培養においては、当然基質ガスの供給が律速となるので、供給速度を大きく保ち得る培養槽が必要であるが、完全といえる装置は開発されていない。最近ソ連の研究者らは、ノズルからジェット方式でガス供給する発酵装置を開発し 2.0~4.5g/l-hr の生産速度で 51g dry cell weight/l まで菌体濃度を高め得たと報告している。¹⁶⁾

ガス供給^{18,21)}

水素細菌の増殖には基質ガス組成が大きく影響する。先ず *Ps. hydrogenovora* について振とうフラスコを用い、初発ガス組成を変えて菌体収量を見た結果は Fig. 6 に示す如くで水素65%、酸素23%、二酸化炭素12%が最もよかった。

しかし前にも述べたように一般に水素細菌は高い酸素分圧で阻害を受け易い。それはヒドロゲナーゼが酸素に感受性が高いからとされている。特に菌濃度が低い時に阻害度が大きい。Fig. 7 は初発の菌体増殖に対する酸素分圧の影響を見た結果である。この場合 CO₂ の分圧は一定 (0.10 atm) とし H₂ と O₂ の比率を変えてあるが、lag time は酸素分圧の最も低い 0.05 atm で最短であった。したがって培養初期には酸素分圧を低く抑える必要がある。

この酸素は酸素ポンベより供給したものである。ところがこの酸素の代わりに空気を用いた場合には、酸素分圧 0.10 (空気分圧 0.50) でも酸素を用いた場合分圧 0.05 atm で見られた lag は全く見られなかった。使用した酸素中の不純物に、初期独立栄養増殖を阻害する毒性物質の存在が考えられるが目下検討中である。

以上酸素の阻害は、培養初期の菌体濃度が小さい時に顕著に現れるので、菌の生育の phase によってガス

| Exp. No. | Composition of gas (%) | | | Cell produced (mg/10ml) O | Gas utilized (%) | | | |
|----------|------------------------|----------------|-----------------|---------------------------|------------------|----|----|-----|
| | H ₂ | O ₂ | CO ₂ | | 25 | 50 | 75 | 100 |
| 1 | 74 | 13 | 13 | 2.74 | [Bar chart] | | | |
| 2 | 72 | 17 | 11 | 4.32 | [Bar chart] | | | |
| 3 | 66 | 22 | 12 | 5.83 | [Bar chart] | | | |
| 4 | 65 | 23 | 12 | 8.01 | [Bar chart] | | | |
| 5 | 61 | 23 | 16 | 6.38 | [Bar chart] | | | |
| 6 | 56 | 28 | 16 | 4.71 | [Bar chart] | | | |
| 7 | 57 | 32 | 11 | 3.73 | [Bar chart] | | | |
| 8 | 54 | 37 | 9 | 2.15 | [Bar chart] | | | |
| 9 | 45 | 47 | 8 | 1.81 | [Bar chart] | | | |

□, H₂; ▨, O₂; ■, CO₂.

Fig. 6. Effect of gas phase composition on cell production.

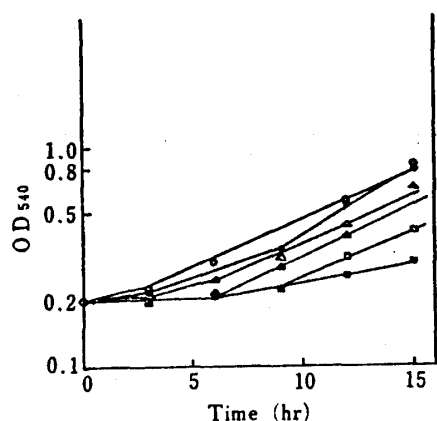


Fig. 7. Effect of initial P_{O_2} on cell growth. Strain 9-5 was grown in shaking flasks in the basal medium under various P_{O_2} .

○—○, 0.05 atm; ●—●, 0.135 atm; △—△, 0.20 atm; ▲—▲, 0.24 atm; □—□, 0.26 atm; ■—■, 0.365 atm.

混合比を変えていくのが有機物添加同様培養を安定させるのに役立つ。なお、著者らはスクリーニング時の酸素分圧を高くすることにより、0.4 atm 以上の高酸素分圧下でも良好に生育する菌を得ており、このような菌によってこの問題は解決される可能性がある。

3種の基質ガスの培養液への移動速度を考えると、二酸化炭素については水素細菌の培養が行われる中性付近で水に対する溶解度(H)が大きいので問題はない。しかし水素と酸素は H が小さいため、増殖律速因子となり易い。単位体積の培養液中の基質ガスの最大供給速度は $H K_L a P_g$ で示され、ガス供給が菌の増殖にとって律速にならないようにこれをできるだけ大きくとるようにしなければならない。

この検討のために水素の $[K_L a]_{H_2}$ を測らねばならず、そのためには溶存水素 C_{H_2} の正確な測定法を確立せねばならない。

3枚の邪魔板と4枚羽根タービン型かくはん翼を備えた2lジャーフェーマンターを用い、水素の溶解した液を水素の泡を除きながら注射器でサンプリングする装置を考案し、このサンプルから窒素ガスにより溶存水素を追い出し、ガスクロマトグラフで定量した。文献値の95%以上の回収率が得られた。

ジャーフェーマンターを先ず減圧にして液中の溶存ガスを除き、空間に水素を充たして1気圧とすると同時に水素の通気とかくはんを開始し、経時的に C_{H_2} を測定して次式により $[K_L a]_{H_2}$ を測定した。

$$K_L a(t-t_0) = \ln \left(\frac{(C_{H_2})_i - (C_{H_2})_0}{(C_{H_2})_i - C_{H_2}} \right)$$

Where

$K_L a$: volumetric mass transfer coefficient (hr^{-1})

t : time (hr)

t_0 : time at which hydrogen supply was initiated (hr)

C_{H_2} : dissolved hydrogen concentration (ml H_2 /ml H_2O)

$(C_{H_2})_i$: saturated dissolved hydrogen concentration (ml H_2 /ml H_2O)

$(C_{H_2})_0$: C_{H_2} at time t_0

測定結果はTable 7に示す。一方亜硫酸ソーダ法で測定した $[K_L a]_{O_2}$ の値を用い、 a が同一通気かくはん条件ではガス組成に関係ないと仮定し、 K_L がガス拡散係数またはその平方根に比例するとして計算した $[K_L a]_{H_2}$ 値と測定値を比べると、拡散係数をWilkeの式で計算し K_L が拡散係数の平方根に比例するとした

Table 7. Comparison of observed and estimated $[K_L a]_{H_2}$.

| rpm | Observed $[K_L a]_{O_2}$ (hr^{-1}) | Estimated $[K_L a]_{H_2}$ (hr^{-1}) | | | | Observed $[K_L a]_{H_2}$ (hr^{-1}) |
|------|---|--|-----|-----|-----|---|
| | | A | | B | | |
| | | a | b | a | b | |
| 400 | 105 | 245 | 155 | 161 | 128 | 104 |
| 600 | 230 | 538 | 340 | 352 | 280 | 250 |
| 800 | 400 | 936 | 592 | 612 | 488 | 460 |
| 1000 | 620 | 1450 | 918 | 949 | 756 | 869 |

A 2-l jar fermentor containing 1 l of water was used. Gas flow rate was 1 vvm for both hydrogen and air.

A, Estimated assuming that K_L is proportional to D ; B, Estimated assuming that K_L is proportional to $D^{1/2}$; a, Estimated from D of the literature; b, Estimated from D calculated according to Wilke's equation.

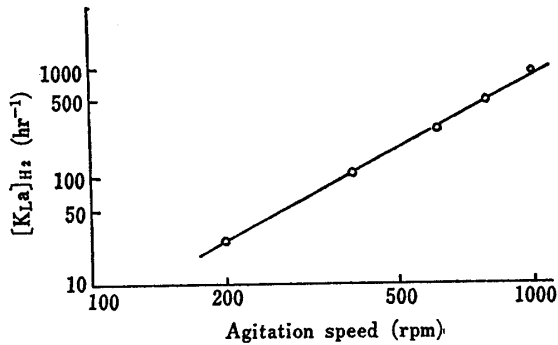


Fig. 8. Correlation between $[K_{La}]_{H_2}$ and agitation speed.

場合にかなりよく測定値と一致した。

$[K_{La}]_{H_2}$ とかくはん速度との関係は Fig. 8 に示すように両対数のグラフで直線関係となった。

次に、培養中の溶存水素および酸素の測定を行った。2 l ジャーフェーマンターに 1 l の培地を入れ、種菌液 5% 接種し、30°C、かくはん 1,000 rpm で pH を 6.0 に調節しつつ培養を行った。ガス供給は continuous flow system で毎分 1 l 通気し、最初はガス組成 $H_2 : O_2 : CO_2 = 63 : 5 : 12$ で 1 日培養後 (Fig. 9 中矢印で示す)、closed culture method で最も菌体収量のよかった 65 : 23 : 12 の混合ガスに切り替え、培養を続けた。対数増殖は菌濃度 6.8 g/l まで続いたが、この時点で Fig. 9 に示すように溶存水素濃度は 0 となり、水素が制限因子となって対数増殖が終了したと考えられるが、なお溶存酸素は 1 ppm あるので、ガス組成を改良すること

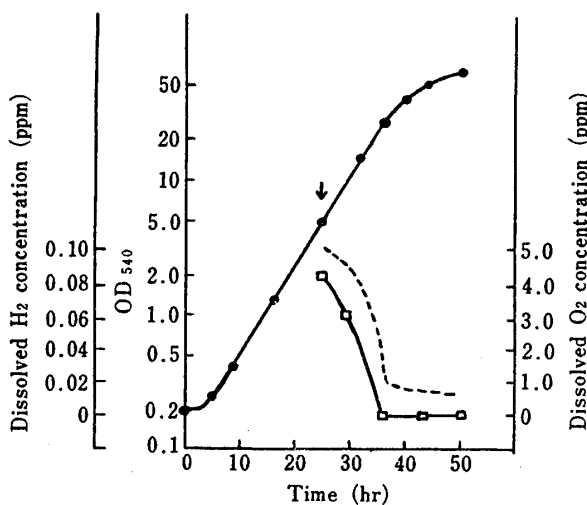


Fig. 9. Cultivation of strain 9-5 in a jar fermentor under the final gas composition of $H_2 : O_2 : CO_2 = 65 : 23 : 12$.

●—●, Growth; -----, Dissolved O_2 concentration; □—□, Dissolved H_2 concentration.

Table 8. Values of H , K_{La} , Y and $HK_{La}Y$ for oxygen and hydrogen.

| | H at 30°C (mg/l atm) | K_{La} at 1,000 rpm (hr ⁻¹) | Y | $HK_{La}Y$ (mg/l atm·hr) |
|-------|-------------------------|---|------|--------------------------------|
| H_2 | 1.52 | 860 | 1.24 | 1620 |
| O_2 | 37.3 | 620 | 0.20 | 4630 |

によって対数増殖期間を延長し高い菌濃度を得ることが可能と考えられた。

すなわち対数増殖終了時の限界菌濃度を X_c 収量係数を Y (g.cell/g.substrate) とするとそれは、

$$HK_{La}P_gY = \mu X_c$$

で与えられる。Table 8 に水素および酸素の H , K_{La} および Y を示す。 $[HK_{La}Y]_{O_2}$ と $[HK_{La}Y]_{H_2}$ の比は $4630/1620 = 2.85$ となった。水素と酸素についての X_c を等しくするには、 $[HK_{La}P_gY]_{O_2}$ と $[HK_{La}P_gY]_{H_2}$ を等しくとればよい。すなわち全圧を 1 気圧とし二酸化炭素の分圧を 0.1 気圧と固定すれば、残り 0.9 気圧を $P_{gO_2} : P_{gH_2} = 1 : 2.85$ に分割すればよく、 $H_2 : O_2 : CO_2 = 67 : 23 : 10$ となる。このガス混合比で培養した結果を Fig. 10 に示す。対数増殖は菌濃度 7.4 g/l まで延長し、その時溶存水素と溶存酸素は同時に 0 となった。その後は linear growth に入り 48 時間で菌濃度 24 g/l に達した。

以上のガス組成に関する考察は、水素細菌の培養を

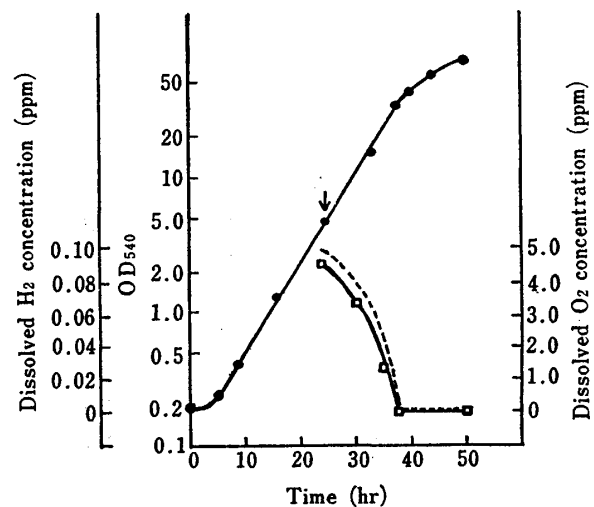


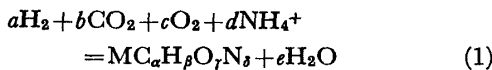
Fig. 10. Cultivation of strain 9-5 in a jar fermentor under the final gas composition of $H_2 : O_2 : CO_2 = 67 : 23 : 10$.

●—●, Growth; -----, Dissolved O_2 concentration; □—□, Dissolved H_2 concentration.

改良するのに役立つと考えるが、なおガス組成は収量係数に影響し、対水素菌体収量は H_2/O_2 の変動によって変化し、酸素律速条件で高まること、²²⁾ ガスの吸収効率もガス組成によって変わること、²²⁾ また菌体たんぱく含量は H_2/O_2 モル比の小さい時、すなわち水素律速条件で高く 80% に達するに対し、 H_2/O_2 モル比 3~4 以上では急激に低下して 60% 程度になること、PHB は逆に酸素律速条件において高くなること等が知られており、²⁰⁾ 最も重要な因子としてさらに検討を要する。

物質収支とエネルギー効率²³⁾

水素細菌培養による物質収支は、密閉培養によって消費したガスと生成した菌体および生産物の分析によって得られる。一方、菌体以外に何等有機物を生成しなかったと仮定すれば、生成菌体とフラスコ内圧の低下から次のように考察される。物質収支式を次のように立てる。



a, b, c, d, e はそれぞれ消費 H_2, CO_2, O_2, NH_4^+ および生成 H_2O の m-mol 数、 $C_\alpha, H_\beta, O_\gamma, N_\delta$ は菌体分子量を 100 とした時の菌体組成で M はその m-mol 数である。フラスコ内圧の低下を ΔH [mmHg] とす

ると

$$\Delta H = A(a + b + c) \quad (2)$$

A [mmHg/m-mol gas] はフラスコ中単位消費ガス量当たりの内圧低下量である。フラスコの容量と培地液量を V_f, V_m とすると

$$A = \frac{22.4 \times T / 273 \times 760}{V_f - V_m} \quad (3)$$

No. 9-5 株の菌体分析値は C: 49.2%, H: 6.99%, N: 10.97%, ash: 5.18% で ash 中の硫黄、りんを無視すると 0:27.66% となり、 $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ の値はそれぞれ 4.10, 6.99, 1.73, および 0.78 となる。したがって $\Delta H, M$ および A を測定すれば a, b, c, d, e が (1)~(3) 式より求められる。 A は振とうフラスコで 182.6 (mmHg/mmol gas) 振とうビンで 31.5 であった。

Table 9 は各ガス組成での培養結果より求めた $\Delta H, M$ 並びにこれから計算した消費ガスの m-mol 数およびガスクロマトグラフで測定した消費ガス m-mol 数の実測値を示す。水素と酸素については計算値と実測値が比較的良好に一致しているが、二酸化炭素については実測値がかなり大きい。

Table 10 は $M=1$ とした時の各消費基質および生成した水の m-mol 数の計算値を示すが、各ガス組成によって大きな差はない。その平均値をとった場合の物質収支式は

Table 9. Gas consumption in connection with total pressure drop and cell production in shaking culture.

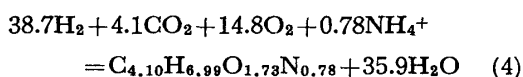
| Gas composition (%) | | | ΔH mmHg | M μ -mol | Gas consumed (m-mol) | | | | | |
|---------------------|-------|--------|--------------------|-------------------|----------------------|------|-------|------|--------|------|
| H_2 | O_2 | CO_2 | | | H_2 | | O_2 | | CO_2 | |
| | | | | | calc. | obs. | calc. | obs. | calc. | obs. |
| 72 | 17 | 11 | 457 | 43.2 | 1.67 | 2.50 | 0.63 | 0.71 | 0.18 | 0.33 |
| 66 | 18 | 16 | 476 | 46.3 | 1.74 | 2.41 | 0.65 | 0.75 | 0.19 | 0.42 |
| 66 | 22 | 12 | 570 | 58.3 | 2.08 | 2.75 | 0.76 | 0.92 | 0.24 | 0.46 |
| 66 | 24 | 10 | 432 | 42.5 | 1.52 | 1.54 | 0.59 | 0.71 | 0.17 | 0.21 |
| 62 | 19 | 19 | 534 | 46.8 | 1.95 | 2.29 | 0.78 | 0.79 | 0.19 | 0.46 |
| 61 | 23 | 16 | 609 | 63.8 | 2.23 | 2.37 | 0.81 | 0.96 | 0.26 | 0.46 |
| 57 | 32 | 11 | 417 | 37.3 | 1.53 | 1.79 | 0.58 | 0.67 | 0.15 | 0.33 |
| 56 | 28 | 16 | 498 | 47.1 | 1.82 | 2.00 | 0.68 | 0.87 | 0.19 | 0.37 |
| 62 | 19 | 19* | 281 | 146 | 5.95 | 4.83 | 2.36 | 3.41 | 0.60 | 1.21 |
| 62 | 19 | 19* | 295 | 151 | 6.25 | 5.07 | 2.49 | 3.14 | 0.62 | 1.21 |

Cultivation was performed under various compositions of gases as indicated, at 30°C for 44 hr in shaking bottles.

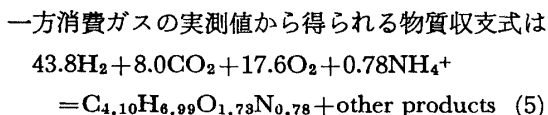
* Cultivated in shaking flasks.

Table 10. Material balance based on gas consumption and formation of bacterial cells (Calcd.).

| Gas composition (%) | | | M m-mol | H ₂ m-mol | O ₂ m-mol | CO ₂ m-mol | NH ₃ ⁺ m-mol | H ₂ O m-mol |
|---------------------|----------------|-----------------|------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| H ₂ | O ₂ | CO ₂ | | | | | | |
| 72 | 17 | 11 | 1.0 | 38.7 | 14.5 | 4.1 | 0.78 | 35.4 |
| 66 | 18 | 16 | 1.0 | 37.6 | 14.0 | 4.1 | 0.78 | 34.4 |
| 66 | 22 | 12 | 1.0 | 35.4 | 13.1 | 4.1 | 0.78 | 32.6 |
| 66 | 24 | 10 | 1.0 | 35.9 | 13.9 | 4.1 | 0.78 | 34.0 |
| 62 | 19 | 19 | 1.0 | 41.7 | 16.7 | 4.1 | 0.78 | 39.8 |
| 61 | 23 | 16 | 1.0 | 35.0 | 12.7 | 4.1 | 0.78 | 31.8 |
| 57 | 32 | 11 | 1.0 | 40.9 | 15.5 | 4.1 | 0.78 | 37.5 |
| 56 | 28 | 16 | 1.0 | 38.7 | 14.5 | 4.1 | 0.78 | 35.4 |
| 62 | 19 | 19 | 1.0 | 40.8 | 16.2 | 4.1 | 0.78 | 38.8 |
| 62 | 19 | 19 | 1.0 | 41.4 | 16.5 | 4.1 | 0.78 | 39.5 |
| Average | | | 1.0 | 38.7 | 14.8 | 4.1 | 0.78 | 35.9 |



となる。100 g の菌体を得るに約 40 moles の水素を必要とし、水素、酸素よりの収量係数 Y_{H_2} ($=100M/a \times 2$), Y_{O_2} ($=100M/c \times 32$) はそれぞれ 1.29 および 0.211 となる。



となる。(4)式と(5)式を比較すると、計算式に比べ実測式では同一生成菌体量に対し水素、酸素の消費は

大差ないが、二酸化炭素の消費は実測では約2倍となっており、菌体外有機物生成が考えられた。事実、かなりの多糖類の生成が認められた。

(4)式より収量を見ると菌体1kgを得るのに8.6m³の水素を要し、対二酸化炭素菌体収率は55%であった。水素細菌培養の物質収支を考察するとTable 11のごとくで菌体合成は(1)式、エネルギー供給は(2)式のように表され、 n を如何にとるかによって変わってくる。Ruhland²⁴⁾は $n=4$ として(3)式を立てたが、Parker および Vichiniac²⁵⁾は増殖の旺盛な最も効率のよい時期には $n=2$ として(4)式を立てた。さらに細胞内呼

Table 11. Material balance of hydrogen bacteria.

| | |
|---|----------------------------------|
| CO ₂ reduction and cell biosynthesis | |
| $2\text{H}_2 + \text{CO}_2 \longrightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{H}_2\text{O}$ | (1) |
| Energy supply | |
| $n(\text{H}_2 + 1/2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O})$ | (2) |
| $n=4$ | |
| $6\text{H}_2 + 2\text{O}_2 + \text{CO}_2 \longrightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + 5\text{H}_2\text{O}$ | (3) |
| $n=2$ | |
| $4\text{H}_2 + \text{O}_2 + \text{CO}_2 \longrightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + 3\text{H}_2\text{O}$ | (4) |
| Considering endogeneous respiration | |
| $4\text{H}_2 + 1.1\text{O}_2 + 0.9\text{CO}_2 \\ \longrightarrow 0.9(\text{CH}_2\text{O}) + 3.1\text{H}_2\text{O}$ | (5) |
| Cell yield from CO ₂ | 68% |
| H ₂ consumption | 3.3 m ³ /kg dry cells |
| Data on closed system experiment | |
| $38.7\text{H}_2 + 14.8\text{O}_2 + 4.1\text{CO}_2 + 0.78\text{NH}_4^+ \\ \longrightarrow \text{C}_{4.10}\text{H}_{6.99}\text{O}_{1.73}\text{N}_{0.78} + 35.9\text{H}_2\text{O}$ | (6) |
| Cell yield from CO ₂ | 55% |
| H ₂ consumption | 8.6 m ³ /kg dry cells |

* Analytical data of 100 g cells.

Table 12. Efficiency of energy conversion, Y_E , by the hydrogen bacteria 9-5.

| Gas composition (%) | | | Dry cell weight (mg) | H ₂ consumed (m-mol) | Y_E (%) |
|---------------------|----------------|-----------------|----------------------|---------------------------------|-----------|
| H ₂ | O ₂ | CO ₂ | | | |
| 72 | 17 | 11 | 4.32 | 1.67 | 22.2 |
| 66 | 18 | 16 | 4.63 | 1.74 | 22.9 |
| 66 | 22 | 12 | 5.83 | 2.08 | 24.1 |
| 66 | 24 | 10 | 4.25 | 1.52 | 24.0 |
| 62 | 19 | 19 | 4.68 | 1.95 | 20.6 |
| 61 | 23 | 16 | 6.38 | 2.23 | 24.6 |
| 57 | 32 | 11 | 3.73 | 1.53 | 21.0 |
| 56 | 28 | 16 | 4.71 | 1.82 | 22.3 |
| 62 | 19 | 19 | 14.6 | 5.95 | 21.1 |
| 62 | 19 | 19 | 15.1 | 6.25 | 20.8 |
| Average | | | — | — | 22.4 |

吸を考慮すると(5)式が考えられる。この場合には、菌体1kgを得るのに水素消費は3.3m³、対二酸化炭素菌体収率は68%となる。著者らの値は密閉フラスコによるバッチ培養の結果で、条件のよい対数増殖期のみをとればこの値に近づくであろう。

水素の燃焼熱を56.5 kcal/mole、菌体の燃焼熱を485 kcal/100g とすると、水素エネルギーの菌体エネルギーへの転換効率 Y_E は

$$Y_E = \frac{M \times 4.85}{a \times 56.5} \times 100 (\%)$$

となる。Table 12 に各ガス組成の培養結果から計算したエネルギー効率を示す。その値はガス組成によって大きく変わらず20~24%であるが、文献値(25~30%)よりやや小さく、これも培地中に有機物が分泌されたためと考えられる。

高温性水素細菌²⁶⁾

発酵生産に高温菌を使用する利点は一般に発酵熱の除去が容易であり、雑菌汚染のおそれが少ないこと等があるが、大きな利点は高温菌が普通増殖速度が高く、連続培養では幅広い希釈率がとれ、生産効率が高いことである。化学合成菌の中では水素細菌は比較的増殖速度が大であるが、従来分離された菌では従属栄養菌の域には達せず、Bongers²⁷⁾ が *Alcaligenes eutrophus* で得た $\mu=0.4$ が従来の最も大きい値と思われる。この data では菌濃度3.5 g/l で連続培養を行っているから、生産効率は1.4 g/l·hr となる。

一方ガス供給からすると高温では H は減少するが K_{La} は増大し、Table 13 に示すように HK_{La} は各ガスについて30°Cより50°Cで高いことがわかる。こ

こで水素および二酸化炭素の K_{La} は、亜硫酸ソーダ法で求めた酸素の K_{La} から拡散係数の平方根に比例するとして求めた値である。

そこで高温性水素細菌の分離を試みた。従来高温菌として *Hydrogenomonas thermophilus* の報告²⁸⁾があるが、培養、生育に関しては不明である。前述の方法でガス組成を $H_2:O_2:CO_2=7:1:1$ とし、50°Cで温泉地の土壌、水等より菌の分離を行った。

4株を分離したがいずれもグラム陰性で、うち2株 TH-1, TH-2 は極鞭毛運動性の桿菌、他の2株 TH-3, TH-4 は運動性のない桿菌で cyst をつくる。その他の生理的性質、GC含量等より新菌と認め、前者を *Pseudomonas hydrogenothermophila* n. sp., 後者を *Flavobacterium autothermophilum* n. sp. と命名した。

TH-1 が最も増殖速度が大きいので以下の実験にはこれを用いた。本菌はぶどう糖をはじめ、試験した糖のいずれをも資化できなかったが、酢酸、プロピオン酸、酪酸、こはく酸、ピルビン酸等の有機酸にはよく増殖する。しかし独立栄養条件の方が増殖はむしろよい。窒素源としては尿素では増殖が遅れ、亜硝酸塩は阻害を示す。窒素ガスでは生育しなかった。試験した中では硫酸が最もよく濃度5 g/l が最適であった。微量金属の要求はなかったが、 Ca^{2+} の添加が有効であった。 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 濃度は0.1 mg~10 mg/l にわたって差はないが、マグネシウム、りん酸の濃度には最適値があった。

ガス組成の検討の結果、Table 14 に示すように二酸化炭素の分圧は増殖速度に関係し、0.09 atm 以下では低下する。この現象は、他の水素細菌では認められていない。酸素分圧は0.09~0.33 atm の範囲で増殖速度

Table 13. Values of H , K_{La} and HK_{La} for hydrogen, oxygen and carbon dioxide at 30°C and 50°C.

| | H^* (mg/l·atm) | | K_{La} (hr ⁻¹) | | HK_{La} (mg/l·atm·hr) | |
|-----------------|---------------------|------|---------------------------------|----------|----------------------------|--------------------|
| | 30°C | 50°C | 30°C | 50°C | 30°C | 50°C |
| H ₂ | 1.52 | 1.46 | 869** | 1570**** | 1.32×10^3 | 2.30×10^3 |
| O ₂ | 37.3 | 30.4 | 620*** | 1290*** | 2.31×10^4 | 3.91×10^4 |
| CO ₂ | 1320 | 864 | 569**** | 1180**** | 7.50×10^5 | 10.2×10^5 |

* From the "International Critical Tables."

** From the previous paper.²¹⁾

*** Determined by sodium-sulfite oxidation method.

**** Estimated from $(K_{La})_{O_2}$ values under the assumption made in the previous paper.²¹⁾

Table 14. Effect of gas composition on cell growth.

| H ₂ :O ₂ \ H ₂ :CO ₂ | | H ₂ :O ₂ | | | |
|--|-----|--------------------------------|------|------|------|
| | | 7:1 | 7:2 | 7:3 | 7:4 |
| H ₂ :CO ₂ | 7:1 | 0.30 | 0.30 | 0.31 | 0.30 |
| | 7:2 | 0.35 | 0.38 | 0.40 | 0.41 |
| | 7:3 | 0.40 | 0.38 | 0.41 | 0.39 |
| | 7:4 | NT* | 0.39 | 0.40 | 0.41 |

Each figure indicates the specific growth rate (hr⁻¹).

* Not tested.

にあまり影響しない。ガス組成としては H₂:O₂:CO₂ = 7:3:3 程度が適当と考えられた。培養 pH は Fig. 11 に示すように 7.0 付近が最高の増殖速度を示したが、50°C、24時間後の菌濃度は 6.2~8.0 の間で差はな

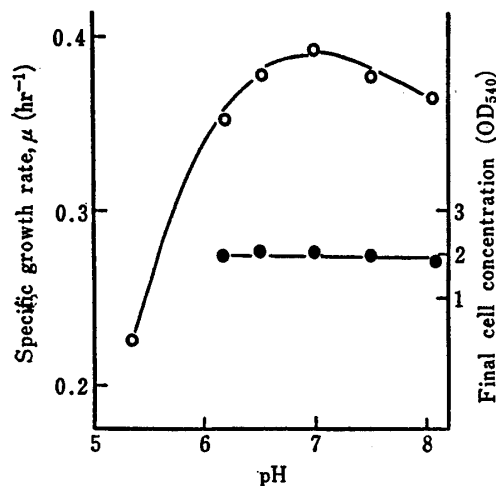


Fig. 11. Effect of pH on cell growth.

○—○, Specific growth rate; ●—●, Final cell concentration.

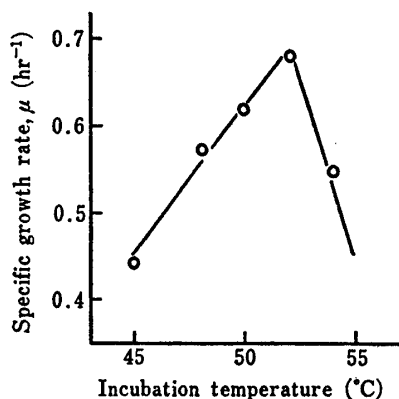


Fig. 12. Effect of incubation temperature on cell growth in the optimal medium.

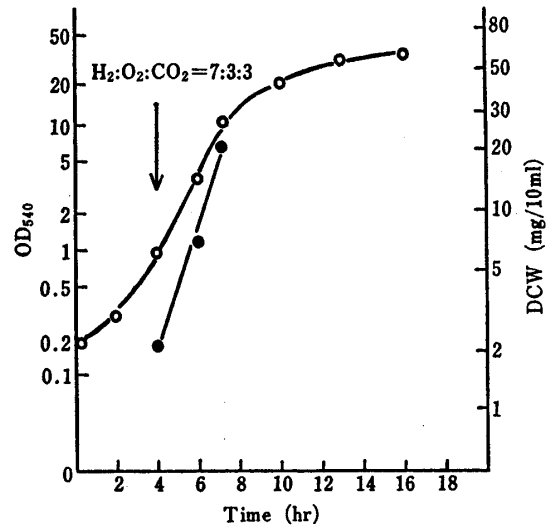


Fig. 13. Growth curve of strain TH-1.

Cultivation of strain TH-1 was performed in a jar fermentor at 52°C and agitation speed 1,000 rpm in the optimal medium.

○—○, Optical density at 540 nm; ●—●, Dried cell weight.

かった。以上の結果から最適培地として次のごとく定めた。

(NH₄)₂SO₄ 5 g/l NaCl 0.5 g/l
 KH₂PO₄ 5.66 g/l CaCl₂ 30 mg/l
 K₂HPO₄ 2.38 g/l FeSO₄·7H₂O 0.10 mg/l
 MgSO₄·7H₂O 1 g/l pH 7.0

ガス組成: H₂:O₂:CO₂ = 7:3:3

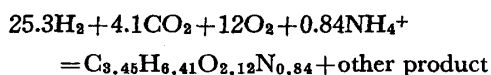
培養温度と増殖速度の関係を Fig. 12 に示す。温度依存性は高く、30°C では生育困難、55°C では良好な対数増殖を示さない。52°C で最高の増殖を示し μ = 0.68, doubling time 1 時間弱で一般の従属栄養菌に劣らない。植物、藻類、細菌を含めたすべての炭酸固定生物の中で最高の値と思われる。

ジャー培養による増殖曲線を Fig. 13 に示す。この際初期の通気ガス組成は酸素分圧を下げて H₂:air:CO₂ = 65:25:10 とし、矢印の点で H₂:O₂:CO₂ = 7:3:3 に切り換えた。2 時間の lag の後、対数増殖に入り限界濃度 (X_c) = 2.3 g/l まで続き、24 時間で菌濃度 6.8 g/l に達した。現在連続培養試験をはじめているが、生産効率 DX = 3.14 g/l·hr を得ており、なお改善できると考えている。

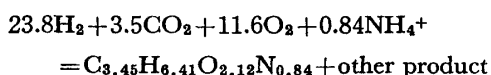
密閉フラスコ培養によって対数増殖期に培養を止め、ガス減少量、菌体生成量を測定して得た収量係数を Table 15 に示す。この平均値と菌体分析値より物質収支式を求めると、

Table 15. Yield factors of thermophilic hydrogen bacteria TH-1

| H ₂ | Gas composition (%) | | | | |
|----------------|---------------------|-----------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | O ₂ | CO ₂ | Y _{H₂} | Y _{O₂} | Y _{CO₂} |
| 86 | 6 | 7 | 2.05 | 0.23 | 0.50 |
| 83 | 8 | 9 | 1.76 | 0.28 | 0.51 |
| 75 | 16 | 9 | 1.92 | 0.26 | 0.53 |
| 68 | 23 | 9 | 2.10 | 0.27 | 0.65 |
| 78 | 7 | 15 | 1.88 | 0.24 | 0.50 |
| 75 | 9 | 16 | 1.95 | 0.26 | 0.59 |
| 72 | 17 | 10 | 2.01 | 0.26 | 0.61 |
| 63 | 25 | 12 | 2.17 | 0.27 | 0.52 |
| Average value | | | 1.98 | 0.26 | 0.55 |



となり、最も対基質収率のよかった H₂:O₂:CO₂=68:23:9 の場合では、



となり、菌体 1kg 当たり 5.4m³ の水素を消費したこととなり、対二酸化炭素収率は65%であった。連続培養を行って対数増殖期の値をとれば、さらに高い対基質収率が得られるであろう。

水素細菌 SCP の評価

水素細菌においても菌体組成は有機物で培養した一般の細菌と大差はない。細菌であるからたんぱく含量は酵母より高い、*Alcaligenes eutrophus* について74.26%³⁰⁾ および78.7%³¹⁾ との値が得られており、著者らの *Pseudomonas hydrogenothermophila* では75.0%であった。アミノ酸組成は Table 16 に示すように大豆よりは動物性たんぱくに近く優れている。リジン含量は高く、一般に微生物や植物たんぱくに不足しがちなメチオニンが比較的多い。

ペプシンを用いた消化率はカゼインの98.9%に対し、加熱処理菌体で93.8%とかなりよい値が得られており、生物価もほぼ等しい。また菌体たんぱくの純資化率は72%でカゼインの76%をやや下回る程度の成績を示した。³¹⁾

Table 16. Amino acid composition.³¹⁾

| Amino acid (%) | Casein | <i>Alcaligenes eutrophus</i> | <i>Pseudomonas saccharophila</i> | <i>P. hydrogenothermophila</i> | <i>A. autotrophicans</i> |
|-------------------|--------|------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| Try | 1.34 | | | | |
| Thr | 4.30 | 4.52 | 5.37 | 5.29 | 5.37 |
| Lys | 8.06 | 8.61 | 5.73 | 6.39 | 6.45 |
| Met | 3.10 | 2.69 | 2.03 | 2.82 | 3.37 |
| Cys | 0.38 | | 0.36 | | trace |
| Ile | 6.59 | 4.58 | 4.14 | 5.34 | 4.73 |
| Leu | 10.11 | 8.52 | 8.35 | 9.45 | 8.66 |
| Phe | 5.42 | 3.96 | 3.56 | 5.12 | 5.07 |
| Tyr | 5.86 | 3.26 | 2.32 | 3.45 | 4.01 |
| Val | 7.44 | 7.13 | 7.55 | 8.13 | 6.82 |
| His | 3.04 | 2.48 | 1.81 | 2.84 | 2.11 |
| Arg | 4.10 | 8.00 | 5.01 | 7.99 | 7.07 |
| Ala | 3.38 | 8.80 | 13.57 | 9.21 | 9.43 |
| Asp | 7.44 | 9.57 | 9.72 | 9.21 | 9.96 |
| Glu | 2.32 | 11.17 | 10.52 | 12.75 | 12.16 |
| Gly | 2.00 | 5.47 | 9.65 | 6.63 | 6.31 |
| Pro | 11.82 | 3.46 | 5.59 | 0.50 | 4.40 |
| Ser | 6.69 | 3.47 | 4.64 | 3.79 | 4.09 |
| Total | 93.39 | 95.69 | 99.92 | 100 | 100 |
| Crude protein (%) | — | 78.7 | — | 75.0 | 65.9 |

たんぱく以外の成分は核酸、多糖類、脂質である。核酸は一般に細菌に多く、体内で分解されて尿酸となり、痛風などの原因になるとされている。しかし飼料として与えた場合動物肉中の核酸含量は変わらずほとんど問題はなく、また培養方法によって核酸含量を減らすことができる。

多糖数や脂質は成分的にはあまり重要でないが、細胞表層にあって消化の難易に関係する。水素細菌の消化率は悪くないとのデータは先に述べたとおりである。ただ、従来水素細菌について問題とされたのは、場合によって菌体に poly- β -hydroxy butyric acid (PHB) がかなり蓄積することである。これは高等動物にはほとんど消化されないといわれ、毒物ではないが、これを多量に含む菌体をマウスに与えたところ、障害を起こした例があるという。そこでこの蓄積を少なくするための検討が種々行われた。その結果、窒素源が少なく、炭素源、エネルギー源の多い場合、酸素分圧が小さく生育の制限因子になる場合に PHB の蓄積が増すことがわかった。また、突然変異による菌の改良により、PHB をほとんど生産しない変異種が造成される等、この問題は解決できると考えられる。^{15,17,20)}

水素細菌を食飼料とした場合の安全性については、いくつかの試験が行われたが、病原性、毒性についてはなお慎重にして詳細な検討を必要とする。水素を利用する細菌は多くの属にまたがっているのでそれぞれについて安全性の確認が必須であるが、十分使用できる物があると期待している。水素細菌の培養には単純な無機培地を用いており、供給ガスの精製は比較的容易と考えられるから、少なくとも原料から有害物質が混入するおそれはない。

SCP としての水素細菌はまだ開発途上において将来の食糧である。飼料価値の試験、安全性の確認、培養工学的検討を待ってその技術は完成する。特別な問題として前述の混合ガス組成は水素の爆発限界内にあり、その安全対策も確立しなければならない。また現在では、企業化のデータが揃ったとしてもなお経済性に乏しい。水素だけを考えても 1kg の菌体をつくるに 5m³ 必要とすれば、現在水素 1m³ 20円として 100円かかることになる。したがってその実用化は将来の水素などの原料の動向とたんぱくのニーズにかかっている。しかし、日本のような資源もなく、土地も狭く、人口の多い国で海外に資源を依存することが難しくなった時、国民のたんぱく供給をどうするかを考えると、国内資源で何とかまかなえる食糧の 1つの可能性であ

ることが水素細菌への大きな期待である。

文 献

- 1) Aiba, S., Ogawa, T.: *J. Gen. Microbiol.*, **102**, 179 (1977).
- 2) Nakayama, O.: (Abstr.) *Sec. Internatl. Symp. Microbial Growth on C₁-Compounds*, Puschino, USSR, p. 203 (1977).
- 3) 小林: 化学と生物, **8**, 604 (1970).
- 4) 大山: 醸協誌, **32**, 273 (1974).
- 5) Foster, J. F.: *Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 441, (1964).
- 6) Kodama, T., Igarashi, Y., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 77 (1975).
- 7) Kaserer, H.: *Zentbl. Bakt. Parasitkde.*, Abt II, **16**, 681 (1906).
- 8) Davis, D. H., Doudoroff, M., Stanier, R. Y., Mandel, M.: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, **19**, 375 (1969).
- 9) Davis, D. H., Stanier, R. Y., Doudoroff, M., Mandel, M.: *Arch. Mikrobiol.*, **70**, 1 (1970).
- 10) Aggag, M., Schlegel, H. G.: *Arch. Mikrobiol.*, **88**, 299 (1973).
- 11) Baumgarten, J., Reh, M., Schlegel, H. G.: *Arch. Mikrobiol.*, **100**, 207 (1973).
- 12) Schlegel, H. G.: *Antonie van Leeuwenhoek*, **42**, 181 (1976).
- 13) Repaske, R., Repaske, A. C.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 585 (1976).
- 14) 児玉: 農芸化学会大会要旨集, p. 553 (1978).
- 15) Schlegel, H. G., Gottschalk, G., Bartha, R. V.: *Nature*, **191**, 463 (1961).
- 16) Shmelev-Shampanov, O. A. et al.: *Mikrobiologiya*, **45**, 389 (1976).
- 17) Tunail, N., Schlegel, H. G.: *Arch. Mikrobiol.*, **100**, 341 (1974).
- 18) Goto, E., Suzuki, K., Kodama, T., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 521 (1977).
- 19) Schlegel, H. G.: *Fermentation Advances*, p. 807 Academic Press, London (1970).
- 20) Repaske, R., Mayer, R.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 592 (1976).
- 21) Kodama, T., Goto, E., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 2373 (1976).
- 22) 森永, 山中, 石崎, 広瀬: 農芸化学会大会要旨集,

- p. 198 (1975).
- 23) Kodama, T., Igarashi, Y., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 83 (1975).
- 24) Ruhland, W.: *Jahrb. Wiss. Botanik*, **63**, 321 (1924).
- 25) Packer, L., Vichiniac, W.: *J. Bacteriol.*, **70**, 216 (1955).
- 26) Goto, E., Kodama, T., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 685 (1977).
- 27) Bongers, L.: *J. Bacteriol.*, **104**, 145 (1970).
- 28) McGee, J. M., Brown, L. R., Tischer, R. G.: *Nature*, **214**, 715 (1967).
- 29) Schuster, E., Schlegel, H. G.: *Arch. Mikrobiol.*, **58**, 380 (1967).
- 30) Foster, J.F., Litchfield, J.H.: *Biotechnol., Bioeng.*, **6**, 441 (1964).
- 31) Calloway, D. H., Kumar, A. M.: *Appl. Microbiol.*, **17**, 176 (1969).

(昭53. 6.12受付)