

微生物の培養条件

液体培養・・・栄養源を水に溶かして培養する方法。スープに細菌が増殖する現象など。

培地をかき混ぜることにより微生物細胞や栄養源、酸素などを均等に分散でき、微生物にとって良好な条件を与えられる。

大量培養し易い。

固体培養・・・水分を含ませた固体栄養培地で培養する方法。餅の表面にカビが生える現象など。

農産物およびその廃棄物をそのまま培地に利用でき、生産物の回収が簡単で、排水量も少ない。

微生物の栄養源は、エネルギー源の他に炭素源、窒素源、無機塩類が必要になる。これらの他に微生物によっては増殖因子と呼ばれる微量成分を必要とする。

1. エネルギー源

光合成微生物はエネルギー源として光を利用する。化学合成微生物は無機物を酸化してエネルギーを獲得する。

細菌	エネルギー源	酸化生成物	生産エネルギー[kcal/mol]
硝化細菌(Nitrosomonas)	NH_3^+	NO_2^-	65
(Nitrobacter)	NO_2^-	NO_3^-	18
硫黄酸化細菌(Thiobacillus)	$\text{S}, \text{H}_2\text{S}$	SO_4^{2-}	50 ~ 120
鉄酸化細菌	Fe^{2+}	Fe^{3+}	11
水素細菌	H_2	H_2O	56

2. 炭素源

炭酸ガスを利用できる微生物を独立栄養菌(autotroph)、利用できない微生物を従属栄養菌(heterotroph)という。上記の化学合成菌や光合成細菌、藻類などは独立栄養菌に属する。

培養で広く用いられる有機炭素源はグルコース、シュクロース、デンプンなどの炭水化物である。菌によってはセルロースや乳酸菌などは乳糖などを好む。加える炭水化物量は培地中濃度が0.1~5%程度。微生物によっては炭水化物ばかりでなく、炭化水素系化合物(メタノール、エタノールなどのアルコール類、エタン、プロパンなどのアルカン系気体、直鎖パラフィン系化合物など)も利用できる。驚くことに石油やガソリンにも生育できる微生物がいる。

3. 窒素源

無機窒素源・・・アンモニウム塩、硝酸塩、亜硝酸塩など。

有機窒素源・・・アミノ酸、尿素、ペプトン、酵母エキスなど。

(脱脂大豆、綿実油粕、CSL(corn steep liquor)、ふすまなど安価な天然物も利用される)

タンパク質(アミノ酸)、核酸などの窒素化合物の原料となるのが窒素源である。具体的な成分については以下の通りである。根粒菌(Rhizobium属菌)や非共生性土壌細菌(Azotobacter属菌)は窒素固定できるので空気中の窒素を利用できる。乳酸菌の中には特定のアミノ酸を必要とするものがある。

4. 無機塩類

必要な無機元素はP, S, Mg, Kなどである。具体的には、 KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ などを加える。海洋細菌や好塩性菌はNaを必要とし、NaClを加える。その他に微量ながら金属元素(Mn, Fe, Co, Znなど)を必要とする微生物がいる。これらは天然物や試薬、水の中に不純物として含有する量で十分なことが多いので、特に加えないこともある。

P・・・リン脂質, リンタンパク質, ATPなどの成分
 S・・・含硫アミノ酸, 補酵素などの成分
 Mg・・・Caとともに酵素の活性化や安定化

5. 増殖因子

特定の成分がないと増殖できない微生物がいる。これを増殖因子という。一部のビタミン(サイアミンV-B1, リボフラビンV-B2, ビオチン, パントテン酸など)、一部の塩基(プリン, ピリミジンなど)、一部のアミノ酸などを必要とする微生物がいる。これらは酵母エキス, CSL, ペプトンなどを加えて補給するか、必要とする成分を単独で加える。

合成培地 (組成が明らかな培地)		天然培地 (天然物のみで構成した培地)	半合成培地 (両者を組み合わせた培地)	
シュクロース	100.0g	コウジ汁	肉汁エキス	10g
アスパラギン	2.5g	麦芽汁	ペプトン	10g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.0g	など	NaCl	5g
K_2HPO_4	1.0g		水	1/
水	1/			

ハイダック氏液 (酵母用培地として使用)	(主にカビ , 酵母用培地として使用)	Nutrientブロス (細菌用培地として使用)
-------------------------	------------------------	-----------------------------

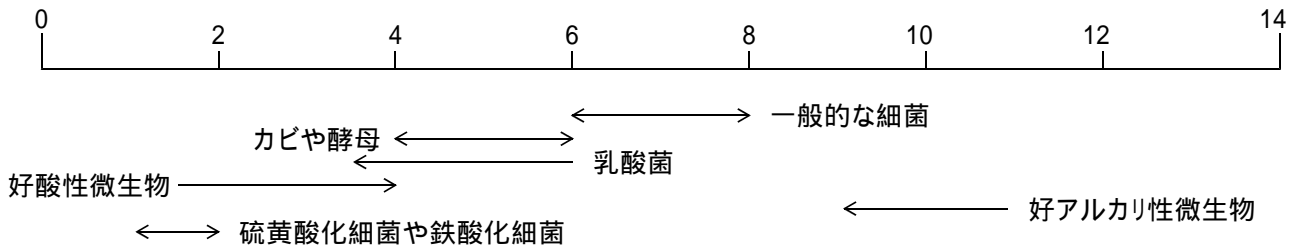
1) 温度

超好熱性細菌・・・80～100 を好む細菌。温度が高い方が化学反応が盛んなので増殖しやすい。
 好熱性細菌・・・55～75 を好む細菌。
 中温菌・・・20～40 を好む細菌。工業用微生物の多くがこの細菌である。
 好冷菌(低温菌)・・・10 以下を好む細菌。-5～0 でも増殖できるものがある。

一般の化学反応では、温度が10 上昇すると反応速度が2～3倍速まる。熱変性速度10 の温度上昇で10倍以上速まる。また、細菌にはこれらの方法では分類できない微生物も多い。

2) pH

微生物は増殖するために適度なpH域をもっている。



3) 酸素

種類	説明	例
通性好気性菌	増殖には酸素を必要とする。	カビ、ブドウ球菌、緑膿菌など
通性嫌気性菌	酸素があれば利用するが、なくても増殖する。	酵母、乳酸菌、大腸菌など
偏性嫌気性菌	酸素を全く必要としない。(酸素があると生育しない)	クロストリジウム、ビフィズス菌など

好気性菌の培養で液体培地を用いるときは、振とう機や通気攪拌槽を利用する。偏性嫌気性菌の場合は、炭酸ガスや窒素ガスに置換して培養する。

4) その他の環境因子

a. 水分活性・・・増殖に必要な最低の水分活性 (a_w) が以下の通り。

細菌	0.90
酵母	0.88 ~ 0.60
カビ	0.80 ~ 0.60

$$a_w = P_s (\text{溶液の蒸気圧}) / P_w (\text{純粋の蒸気圧})$$

b. 溶質濃度

増殖に大きな影響を与えるのは、食塩と糖である。

- ・好塩菌は、塩濃度が10%以上、飽和濃度に近い30%でも増殖できる。
- ・酵母は、50% ~ 60%のグルコースやシュクロースの中でも増殖できる。

c. 圧力

微生物は数百気圧の水圧下で増殖できる。

d. 光

光合成細菌や藻類は光を利用するが、それ以外の微生物は光を必要としない。むしろ短波長の光線は殺菌力を持ち、微生物にとって有害となる。15Wの紫外線殺菌灯から50cmの距離にある大腸菌は1分以内に死滅する。酵母やカビの殺菌にはその10倍程度の照射時間を要する。微生物細胞のDNAが260nm付近に吸収極大を有するためである。

[参考]

炭素源	無機炭素源 CO ₂ または炭酸塩 有機炭素源 単糖類 二糖類 乳糖 多糖類 その他	亜硝酸菌, 硝酸菌, 光合成硫黄細菌およびメタン酸化菌が主に利用する。) 一般細菌, 酵母, カビ類が利用する。 乳酸菌, 腸内細菌が利用する。 アミラーゼ, ペクチナーゼを持つカビ, 放線菌, 酪酸菌などが利用する。 有機酸塩類やアルコール, グリセリンなども利用する。酢酸菌はエタノールを酸化して酢酸にする。
窒素源	無機窒素源 硝酸塩 亜硝酸塩 アンモニウム塩 遊離窒素ガス 有機窒素源 アミノ酸 ペプトン タンパク質	カビ, 脱窒菌, 硝酸菌などが利用する。 大腸菌, 枯草菌, 酵母, カビや亜硝酸菌などが利用する。 根粒菌, 空中窒素固定菌が利用する。 カビ, 酵母, 細菌がよく利用する。) タンパク質分解酵素を分泌するカビや枯草菌が利用する。
無機塩類	P, S, Mg Fe, Mn, Cuなど K, Na, Ca	呼吸, 発酵, 菌体成分として微生物に必要) 微量元素として, 微生物の生育に必要
生育因子	ビタミン ペプチド 有機塩基など) 上記の炭素源, 窒素源, 無機塩類だけでは生育できないある特定の微生物に必要な生育因子

培地中の糖濃度: 細菌0.5~2.0%, 酵母・カビ2~10%

培地中の窒素源含有量: 0.1~0.5%(窒素として)

培地中のP, Mg, S量: 0.05~0.1%(塩として)