

499.1

C52

(H0)

# 高密度嫌気性メタン菌の培養による新規ビタミン B<sub>12</sub> 生産技術の開発における基礎研究

(課題番号：11660320)

平成11年度～平成12年度科学研究補助金(基盤研究(C)(2))研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 張 振 亜  
(筑波大学農林工学系 講師)

寄	贈
張	平成
振	年
亜	月
氏	日

01001793

## 研究組織

研究代表者：張 振 亜(筑波大学 農林工学系 講師)

研究分担者：前川 孝昭(筑波大学 農林工学系 教授)

研究分担者：院多本華夫(筑波大学 農林工学系 講師)

(研究協力者：楊 英男、呂 君、張 燕生)

## 研究経費

平成 11 年度	2200 千円
平成 12 年度	1200 千円
計	3400 千円

## 研究発表

1) Yan Sheng ZHANG, Zhen Ya ZHANG, and Takaaki MAEKAWA: Determination of extracellular vitamin B-12 compounds in anaerobic microbial THE XIV MEMORIAL CIGR WORLD CONGRESS 2000

2) 張 振亜・楊 英男・呂 君・前川孝昭：CD<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> 資化性メタン菌培養液からビタミン B12 の分離・精製に関する研究、日本食品工学会第 1 回(2000 年)年次大会講演要旨集

3) 呂 君・楊 英男・張 振亜・張 燕生・前川孝昭：メタン培養液の Co/Fe 比とビタミン B12 生産性との関係、平成 12 年度農業施設学会大会講演要旨

4) 楊 英男・呂 君・張 振亜・張 燕生・前川孝昭：メタン菌活性とビタミン B12 含有濃度との関係、平成 12 年度農業施設学会大会講演要旨

## 目次

第1章	序論	1
第2章	既往の研究	7
2-1	ビタミン B <sub>12</sub> について	7
2-2	コリノイド (ビタミン B <sub>12</sub> ) の生産	8
2-3	メタン生成細菌によるコリノイドの生産	12
2-4	メタン発酵液からビタミン B <sub>12</sub> の抽出と精製	13
2-5	メタン発酵液から抽出したビタミン B <sub>12</sub> の定量分析	14
第3章	メタン菌培養液からビタミン B <sub>12</sub> の精製と定量分析	16
3-1	序	16
3-2	実験材料及び方法	16
3-2-1	実験材料	16
3-2-2	実験装置	18

3-2-3	実験方法	20
3-3	結果及び考察	21
3-3-1	ビタミン B <sub>12</sub> の抽出と精製について	21
3-3-2	HPLC を用いる ビタミン B <sub>12</sub> の定量分析	24
3-3-3	明暗培養条件と培養液のビタミン B <sub>12</sub> 含有濃度	25
3-3-4	サンプル処理条件とビタミン B <sub>12</sub> の分析結果との関係	25
3-4	まとめ	29
第4章	メタン菌菌体活性とビタミン B <sub>12</sub> 含有濃度の相関関係	31
4-1	序	31
4-2	実験材料及び方法	32
4-2-1	実験装置	32
4-2-2	菌種	32
4-2-3	培地	33
4-2-4	実験方法	34
4-2-5	分析方法	34

4-3	結果及び考察	36
4-4	まとめ	38
第5章	担体を用いた高効率連続メタン発酵とビタミン B <sub>12</sub> の生産	39
5-1	序	39
5-2	実験材料及び方法	40
5-2-1	実験装置	40
5-2-2	菌種	42
5-2-3	培地	42
5-2-4	実験方法	46
5-2-5	分析方法	47
5-3	結果及び考察	48
5-3-1	微量金属液の添加によるメタン菌への影響	48
5-3-2	メタン生成速度と HRT との関係	49
5-3-3	固定床発酵槽におけるビタミン B <sub>12</sub> の生産	53
5-3-4	ヘチマを固定床とした発酵槽の菌体密度	57

5-3-5	固定床発酵槽における pH の検討	61
5-4	まとめ	62
第 6 章	総括	63
	引用文献	67
	謝辞	74