

735

鉄酸化細菌 *Thiobacillus ferrooxidans* JCM7811 を用いたバイオセンサー
によるアスコルビン酸の定量 (山梨大学・工・化学生物工)

○ 黒澤 尋、加藤雅彦、中村和夫、天野義文

〔目的〕鉄酸化細菌 *Thiobacillus ferrooxidans* (Tf) は、鉄及び硫黄化合物を酸化して生育する独立栄養細菌であり、バクテリアリーフや脱硫等に利用されている。一方アスコルビン酸 (AsA) は、主要な栄養素であると同時に強い還元能を有するため、栄養強化及び酸化防止の目的で食品に添加されている。本研究では Tf の鉄酸化能と AsA の還元力 ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$) を利用して、食品中の AsA をバイオセンサ法により測定した。

〔方法及び結果〕*Thiobacillus ferrooxidans* JCM7811 を FeSO_4 を基質とする Silverman 9K 培地で培養し集菌した。菌体を硝酸セルロース膜で固定化し微生物膜とした後、酸素電極先端に取り付けバイオセンサを構築した。50mM の Fe^{3+} 溶液に 0~5mM の AsA を添加すると、AsA により Fe^{3+} が還元され、AsA の濃度に比例して Fe^{2+} が生成した。この Fe^{2+} は Tf によって特異的に酸化され、結果として添加した AsA 濃度とバイオセンサの電圧値減少の間に直線関係が得られた。ビタミンC飲料、レモン果汁等の実試料を測定した結果、センサによる測定値は公定法の DNH 法によるものとほぼ一致した。センサによる AsA の定量限界は 0.1mM であった。センサの出力(微生物膜の活性)は、6週間後でも 70% 以上を維持した。

Microbial electrode of *Thiobacillus ferrooxidans* JCM7811 for ascorbic acid determination.

○ Hiroshi Kurosawa, Masahiko Kato, Kazuo Nakamura, Yoshifumi Amano
(Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Fac. Eng., Yamanashi Univ. Kofu 400)

[Key words] ascorbic acid, *T. ferrooxidans*, microbial electrode

736

腐食電流による硫酸還元菌の培養挙動の追跡
(山梨大・工・化学生物工)

○ 山本 英二、黒澤 尋、中村 和夫、天野 義文

〔目的〕硫酸還元菌は絶対嫌気下で乳酸やエタノールなどの有機化合物を用い、硫酸を硫化水素に還元して生育する。通常の培養では菌体により生産された硫化水素は培地中に含まれる金属イオンと結合し、黒色の硫化物沈殿を形成する。この黒色の硫化物は菌体との分離が容易でなく、濁度法による菌体濃度の測定を困難なものにしている。本研究では、菌体の硫酸還元能と硫化水素の腐食作用に着目し、硫化水素によって生じる腐食電流を状態変数として菌体濃度や硫酸濃度に代表される培養状態の変化を追跡した。

〔方法及び結果〕硫酸還元菌 *Desulfovibrio desulfuricans* IFO 13699 を使用菌株とした。菌体の培養には乳酸、硫酸、窒素源、無機塩等を含む培地 (pH9.0) を用い、37℃で嫌気的に培養した。陽極には炭素棒 (グラファイト) を用い、硫化水素と反応する負極 (腐食電極) には金属銅を用いた。腐食電極の実効表面積は 1cm^2 とした。腐食電流は電流計 (ADVANTEST DIGITAL MULTIMETER TR6848) を用い測定した。硫化ナトリウムを標準物質として種々の硫化水素濃度において生じる腐食電流を測定した結果、発生した腐食電流は溶存する硫化水素濃度に比例し、15~35℃において温度の影響をほとんど受けなかった。また培養液中の硫化水素に対しても高い比例性を示した。さらにこの腐食電流は菌体濃度、硫酸濃度にも高い相関性を示し、その相関係数はそれぞれ 0.992, 0.997 であった。以上より、腐食電流を測定することで、硫化水素濃度だけでなく、菌体濃度、硫酸濃度などの培養環境の変化を監視できることが示唆された。

Monitoring of sulfate reducing bacteria by the corrosion current measurement of culture broth.

○ Eiji Yamamoto, Hiroshi Kurosawa, Kazuo Nakamura, and Yoshifumi Amano
(Dept. Appl. Chem. and Biotechnol., Fac. Eng., Yamanashi Univ., Kofu 400)

[Key Words] sulfate reducing bacteria, corrosion current, sulfide