3Hp27 合成系を天然系添加剤に代替した化粧品用乳化物の機能性と因子分析による価値評価

○桃井 香奈, 佐田 静香, 大澤 敏
(金沢工大 バイオ・化学)
osawa@neputune.kanazawa-it.ac.jp

[目的] 本研究では、使用者の化粧品に対する意識調査結果を基に、化粧品の成分を合成系添加剤から天然系添加剤に代替した場合の乳化物の機能性と、因子分析による価値評価を行った。天然成分としてキトサン、コウジ酸、トコフェロール等に注目した。本研究では、ペースト状の微細化処理キトサン懸濁液を乳化物のベース基材として用いた。コウジ酸は、チロシナーゼ阻害効果を有する美白成分である。これら天然系成分の細胞毒性、保湿性、抗菌性を評価し、安全性の高い基礎化粧品クリームを作製を目的とした。

[方法・結果] 正常ヒト表皮角化細胞 (NHEK, 倉敷紡績株式会社製) を培養し、MTTアッセイ法により、各試料の細胞生存率を求め細胞毒性を評価した。抗菌性試験には大腸菌 (JM109) を用いた。さらに、キトサン含有の乳化クリームを作製し、乳化状態試験・保湿性評価試験を行った。その結果、体細胞毒性評価ではキトサン、コウジ酸には細胞毒性はなく、メチルパラベンには細胞毒性があることが分かった。特にキトサンには細胞を増殖させる効果があることが明らかになった。抗菌性評価ではコウジ酸がメチルパラベンよりも強い抗菌性があることが明らかとなった。保湿性評価、乳化状態試験のいずれもキトサンを配合するで既存クリームより向上した。

Evaluation of functions and values based on factor analysis for cosmetic emulsion replaced synthetic additives with natural ones

○Kana Momonoi, Shizuka Sata, Satoshi Osawa
(Graduate School of Bioengineering and Chemistry, Kanazawa Institute of Technology)

Key words biodegradable polymer, UV absorber, antioxidant, photo stability

3Ia02 偏性嫌気性細菌 *Megasphaera* 属の迅速検出技術の開発

○阿部 新子, 長谷川 裕士, 板東 由起子, 大西 章博, 藤本 尚志,
鈴木 昌治
(東農大・醸造)
alohnish@nodai.ac.jp

Megasphaera 属は5種の系統が知られており、食品工業、医療及び環境技術の分野において非常に重要な微生物である。しかし培養が困難であり、従来の培養法で *Megasphaera* 属の挙動を解析するには数週間を要するため、その分布や動態については殆ど理解が進んでいない。そこで本研究では、自然界の環境試料やバイオ燃料生産過程における *Megasphaera* 属の種レベルの分布及び挙動を、簡便かつ迅速に解析するための技術開発を試みた。

まず、16S rDNA 配列に基づき *Megasphaera* 属に特異的なプライマーを設計し、類縁菌種との識別試験に供した。その結果、Primer set Mega-142F/Mega-X を用いた Specific-PCR 法による属レベルでの検出が可能で一次スクリーニング技術を開発した。次に、増幅産物を制限酵素で制限することにより、Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 法による種レベルで判別可能な二次スクリーニング技術を開発した。

これらの技術を用いて発酵物や臨床、環境試料など約100の試料から *Megasphaera* 属を含む試料のスクリーニングを行ったところ、21試料で陽性反応を得た。さらにRFLP法と16S rDNA シーケンスにより、メタン発酵や水素発酵などの嫌気性の発酵物には *M. elsdenii*、人の口腔には *M. micronuciformis* が存在することを明らかにした。以上のことから、本技術は *Megasphaera* 属の自然界における広がりや振る舞いの理解に貢献できる。

Akihiro Ohnishi, Shinko Abe, et al. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 2011;77,5533-5

Development of rapid detection methodology for strictly anaerobic bacteria of the genus *Megasphaera*

○Shinko Abe, Yuji Hasegawa, Yukiko Bando, Akihiro Ohnishi, Naoshi Fujimoto, Masaharu Suzuki
(Dept. Brew. Ferment., Tokyo Univ. Agric.)

Key words *Megasphaera*, strictly anaerobic bacteria, PCR-RFLP, Mega-X

3Ia01 微生物により作製した還元水から溶存水素の検出

○及川 栄作¹, 下田 直², 及川 胤昭³
(¹呉高専・環境都市工,²呉高専・専攻科,³創造的生物工学研)
oikawa@kure-nct.ac.jp

[目的] 水素化金属 CaH₂ を含有したセラミックボール (CB) を用いて、マイナス水素 (ヒドリド) イオンを豊富に含む水素水が開発されている。この水は通常の水には観察されていない、次のような様々な性質が示されている。(1)酸化還元電位 (ORP) が -200mV で pH が 9 を超え、20ppb 以上の溶存水素 (DH) が検出される。(2)CB の N 極から水素ガスが発生する。(3)外部から添加した水素ガスを溶解することができ、この際の DH 濃度を長時間持続することができる。(4)酢酸などの酸添加により、容易に水素ガス (H⁺+H⁻→H₂↑) を発生させることができる。(5)CB の数により植物の開花の制御や根を発生させることができる。このような中、植物に対する作用がこの CB と似た性質を示す天然の湧水が見つかり、この湧水より微生物の単離を行った。【方法】湧水は蔵王山の中腹の湧水を用いた。湧水から単離した微生物の培養液を遠心により集菌し、この菌体を透析チューブに入れた上で、蒸留水を加えたビーカに投入した。この後、水素ガスを注入した場合と注入しない場合の DH と ORP および pH 値の変化を測定した。また、DH と ORP 値が安定したところで、酢酸を添加し、DH 値を測定した。【結果】単離した *Mesorhizobium* sp. GN1 株は蒸留水の ORP 値を -100mV 程度まで低下させる作用を有していた。この GN1 株による還元水の作製には初めに水素ガスの添加が重要であり、この後に酢酸を添加したところ、水素の発生を示す優れた DH 濃度の上昇が検出された。この結果より、GN1 株を用いて作製した還元水は CB で作製した水素水と同じように、水中に H⁻ イオンが生成していると推測された。

Detection of dissolved hydrogen in a redox water made using microorganisms

○Eisaku Oikawa¹, Nao Shimoda², Taneaki Oikawa³
(¹Dept. Civ. & Env. Eng. Kure NCT., ²Advanced Eng. Kure NCT., ³ICB. INC.)

Key words hydride ion, dissolved hydrogen, spring water, microorganisms

3Ia03 乳酸を単一の基質として水素燃料を生産可能な微生物の獲得

○長谷川 裕士, 阿部 新子, 板東 由起子, 大西 章博, 藤本 尚志,
鈴木 昌治
(東農大・醸造)
alohnish@nodai.ac.jp

水素発酵は生物燃料を生産する有効な手法であるが、従来の水素発酵では主にデンプンやグルコースを基質としており、乳酸は基質として適さないとされている。また乳酸菌の存在による水素発酵能の低下が報告されており、基質や植種源をヒートショック処理することによって乳酸菌の増加を防いでいる。しかしながら、ヒートショック処理によるエネルギーの投入は水素発酵における正味のエネルギー収支をマイナスにする主因となっているのが現状である。そこで本研究では、ヒートショックのような前処理を必要とせず、乳酸を単一の基質として水素燃料を生産可能な微生物の獲得を目的とした。

まず、乳酸を基質として水素発酵能を示す微生物群の獲得を行った。その結果、無処理のメタン発酵システムの処理物を植種に用いることで乳酸を基質として安定した水素発酵能を示す微生物群を獲得した。その水素収率は平均 0.39mol/mol-Lactate であった。発酵物を PCR-DGGE 法および FISH 法に供した結果、*Megasphaera elsdenii* に近縁な菌種が優占菌種であることが明らかとなった。本微生物は当研究グループで乳酸菌との共存下で水素を生産する偏性嫌気性菌であることを報告している。

次に、集積培養後の発酵物から *M. elsdenii* の分離を試みた。その結果、2株の *M. elsdenii* を獲得し、発酵試験に供した結果、平均 0.39mol/mol-Lactate の収率で水素を生産することが確認された。このように乳酸を単一の基質として効率的に水素燃料を生産可能な微生物として *M. elsdenii* を獲得した。

Discovery of hydrogen producing bacteria using lactate as a sole carbon source

○Yuji Hasegawa, Shinko Abe, Yukiko Bando, Akihiro Ohnishi, Naoshi Fujimoto, Masaharu Suzuki
(Dept. Brew. Ferment., Tokyo Univ. Agric.)

Key words *Megasphaera elsdenii*, hydrogen, lactate, LU-HPB