

1P-224 酵素加水分解で得られたこんにゃく飛粉由来タンパク質・ペプチドの特性評価

○高屋 朋彰¹, 田中 雅幸², 白井 祥悟¹
 (¹小山高専・物質, ²小山高専専攻科・物質工)
 tkouya@oyama-ct.ac.jp

【目的】こんにゃく製造時に副産物として生じる飛粉は多くのタンパク質や糖質を含んでいる一方、えぐみや刺激臭があることなどから有効な利用法が確立されておらず、焼却によるCO₂の増加、焼却コスト増による農家への負担、悪臭などが問題となっている。本研究では、飛粉に含まれるタンパク質・ペプチドの有効利用を目的として、各種プロテアーゼによる飛粉タンパク質の加水分解を行い、得られたタンパク質・ペプチドの機能性について評価した。
 【実験方法】プロテアーゼおよびペプチダーゼを組み合わせて使用した。加熱処理(121℃, 20分間)した飛粉と50 mM Phosphate buffer (pH 7.0)を5:100 (w/w)で混合した後、タンパク質あたり1% (w/w)の酵素(2種類)をそれぞれ添加した。3時間の酵素反応後、遠心分離(20,000 × g, 10 min)により培養上清を回収した。得られた溶液は、限外ろ過膜(MWCO 10,000)を用いて高分子成分の除去を行った。タンパク質濃度はLowry法、分子量分布はポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を用いて評価した。微生物の増殖性評価は濁度法(O.D. 650 nm)を用いて行った。
 【結果】加熱処理した飛粉にババインとペプチダーゼを添加した結果、飛粉タンパク質の低分子化が確認された。タ調製した飛粉ペプチド溶液を限外ろ過(Mw<10,000)した後、有益微生物の増殖に対する影響を評価した。その結果、ビフィズス菌の増殖の促進効果が確認された。現在、増殖促進物質の特定を行っている。

Characterization of protein and peptide obtained from Tobiko by enzymatic hydrolysis.

○Tomoaki Kouya¹, Masayuki Tanaka², Syogo Usui¹
 (¹Dept. Mater. Chem. Bioeng., Oyama Natl. Coll. Technol., ²Adv. Crs. Mater. Chem. Bioeng., Oyama Natl. Coll. Technol.)

Key words Tobiko, peptide

1P-226 *Pseudomonas aeruginosa* RBによるセレン化カドミウム合成に及ぼす培養条件の影響

○綾野 裕之, 黒田 真史, 惣田 訓, 池 道彦
 (阪大院・工・環境エネ)
 ike@see.eng.osaka-u.ac.jp

【背景・目的】セレン化カドミウム(CdSe)は粒径(1-10 nm)に応じた波長の蛍光を示す量子ドット材料であり、様々な用途が開発されている。現在の合成法は高コストかつ、有害な薬品や高温を必要とするため、我々は微生物による環境調和型合成法の開発を目指し、CdSe合成細菌として亜セレン酸(Se(IV))還元能とカドミウム(Cd)耐性をもつ*Pseudomonas aeruginosa* RBを単離した。本研究ではCdSeナノ粒子の合成条件の最適化を目指し、培養条件の検討を行った。
 【方法】RB株をSe(IV)とCdを含む培地で、温度(25~45℃)、塩濃度(0.05~20 g/L)、pH(6~8)を変えて培養し、水相中のSe(IV)とCdの濃度変化を調べ、さらに透過型電子顕微鏡およびエネルギー分散型X線分析により生成粒子の観察と元素分析を行った。
 【結果・考察】水相からのSe(IV)とCdの除去速度、およびその比(Se/Cd比)を基準にRB株によるCdSe粒子合成の最適化条件を検討した。その結果、30℃、NaCl 0.05 g/L、pH 7において両者が良好に除去され、培養48時間後にSe/Cd比が理想値である1.0に最も近づいたため、これを最適条件と判断した。これより高温側では反応速度が低下したが、塩濃度は5 g/Lまでは大きな影響を及ぼさなかった。一方、高いpHほどSe/Cd比の低下が認められ、粒子中の硫化カドミウムの割合が増加することが示唆された。また、酸性~中性域ではSe/Cd比が1を超えたが、これは元素態セレンの生成によるものと考えられた。培養条件による生成粒子の粒径(約10 nmと約90 nmが混在)に大きな変化はなく、実用化には小粒径化条件の検討が求められる。

Effects of culture conditions on CdSe synthesis by *Pseudomonas aeruginosa* strain RB

○Hiroyuki Ayano, Masashi Kuroda, Satoshi Soda, Michihiko Ike
 (Div. Sustain. Energy Environ. Eng., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words biosynthesis, optimization, Cadmium selenide, Nanoparticles

1P-225 廃基板のバイオリーチングに適用可能な好酸性鉄酸化菌集積系の増殖特性

○東條 ふゆみ¹, 宮田 直幸¹, 福島 淳¹, 梁 瑞録², 谷 幸則³
 (¹秋田県大・生資, ²秋田県大・システム, ³静岡県大・食栄)
 nmiyata@akita-pu.ac.jp

【背景と目的】先端産業の技術革新と普及により、有用金属資源の確保が求められる一方、使用済み機器類は有用金属が残存したまま廃棄されている。これら廃棄物からの有用金属の再資源化技術のひとつにバイオリーチングがある。当研究室では環境水中から集積培養した好酸性鉄酸化菌を用いて、既往研究に比べ低Fe²⁺濃度で効率的に廃基板をバイオリーチングできることに成功した。そこで本研究では、この集積培養系の詳細な増殖特性を明らかにすることを目的とした。
 【方法】TSBを含む硫酸酸性培地(pH1.9)50 mlにFe²⁺を終濃度で1~60 mM添加し、植菌した。これらを28~55℃で培養し、経時的にFe²⁺濃度変化を測定した。また、クローンライブラリー法により群集構造解析を行った。
 【結果と考察】集積培養系は28℃では1~7 mMのFe²⁺を、その他の温度では1~15 mMを36時間までに酸化した。廃基板のバイオリーチングに関する既往研究では多くの場合30 mM以上のFe²⁺を添加するが、そのような高濃度条件では増殖が遅くなることがわかった。得られた集積培養系は低濃度のFe²⁺に対して増殖速度が速いことが明らかになった。さらに、この集積培養系はおおよそ80%を*Sulfobacillus*属細菌が占めていることがわかった。
 【謝辞】本研究は平成25年度環境研究総合推進費補助金(課題番号3K133012)の助成を受けて行った。

Growth characteristics of acidophilic iron-oxidizing microorganisms enrichment culture useful for bioleaching from PCB

○Fuyumi Tojo¹, Naoyuki Miyata¹, Jun Fukushima¹, Rutili Liang², Yukinori Tani³
 (¹Bioresour. Sci., Akita Pref. Univ., ²Syst. Sci. Technol., Akita Pref. Univ., ³Sch. Food Nutr. Sci., Univ. Shizuoka.)

Key words bioleaching, acidophilic iron-oxidizing microorganisms, metal recovery, *Sulfobacillus* sp.

1P-227 *Geobacter* sp. AOG5株で見出された結晶性酸化鉄に対する高い還元活性

○青柳 智¹, 佐藤 由也¹, 花田 智^{1,2}, 尾形 敦¹, 鎌形 洋一², 堀 知行¹
 (¹産総研・環境管理, ²産総研・生物プロセス)
 aoyagi-to@aist.go.jp

【目的】地球の大部分を占める嫌気土壌圏には様々な結晶性酸化鉄が豊富に存在するため、その生物学的還元反応は地球の炭素・エネルギー循環を理解する上で重要である。しかし、結晶性酸化鉄の微生物還元に関する知見は乏しい。本研究では、結晶性酸化鉄による集積培養系から分離した新鋭な*Geobacter*属細菌5種(AOG1~5株)、*Pelobacter*属細菌1種(AOP6株)を結晶性酸化鉄および溶解性鉄を基質とした培養試験により生理学的に特徴づける事を目的とした。
 【方法・結果】結晶性酸化鉄(Hematite, Goethite, Lepidocrocite, Magnetite)または溶解性のニトリロ三酢酸鉄を電子受容体、酢酸を電子供与体として用い、上述の分離菌6株を25℃で嫌氣的に培養した。独自に最適化した鉄の3N塩酸抽出法を用いて結晶性酸化鉄による培養一ヶ月後の二価鉄生成を評価した。溶解性鉄による培養試験では、二価鉄生成と酢酸分解、微生物の生育をプラトーに達するまで追跡した。その結果、全ての分離株が溶解性鉄の還元により生育することが示された一方で、結晶性酸化鉄の還元活性はAOG5株で他の分離株と比べ有意に上昇していた。特筆すべきは、高い結晶性を示すHematite, GoethiteがAOG5株によってのみ還元され、さらに本株のLepidocrocite培養では対照系に比べ約80倍の二価鉄生成が観察されたことである。現在、その還元メカニズムを明らかにすべくゲノム解読を試みており、発表ではその結果を合わせて議論する。

High reduction activity of crystalline iron(III) oxides by *Geobacter* sp. strain AOG5

○Tomo Aoyagi¹, Yuya Sato¹, Satoshi Hanada^{1,2}, Atsushi Ogata¹, Yoichi Kamagata², Tomoyuki Hori¹
 (¹AIST EMTech, ²AIST BPRI)

Key words crystalline iron oxide, iron(III)-reducing bacteria, physiological characteristics