

3P-141 硫黄酸化細菌を含む金属腐食微生物群集の構築とその解析

○平野 伸一, 長岡 亨, 松本 伯夫
(電中研)
s-hirano@criepi.denken.or.jp

【背景及び目的】微生物が金属設備の急速な腐食を誘引する現象「微生物腐食」が報告されている。これまで原因微生物として硫酸還元菌が主な研究対象とされてきた。しかし、近年、鉄を電子供与体として生育するメタン菌、酢酸菌、硝酸還元菌による金属腐食が相次いで報告されており、従来の想定よりも幅広い微生物種が金属腐食能を有している可能性がある。一方、我々が行った設備腐食箇所の解析結果から硫黄酸化細菌が鉄を電子供与体として利用し、腐食を誘引している可能性が示唆されている。そこで、本研究では腐食微生物に関する知見を拡充するために、硫黄酸化細菌に着目し、環境試料から腐食微生物群集を取得することを目的とした。

【方法及び結果】嫌気条件下、CO₂を炭素源とし、チオ硫酸を電子供与体、硝酸塩を電子受容体とした無機塩培地（淡水）を用い、30℃で、環境試料の培養を2週間行った。生育が確認された試料について、継代培養を繰り返し、硫黄酸化細菌（硝酸還元性）の集積培養体を複数得た。次に、電子供与体をチオ硫酸から鉄顆粒（1mm）に変更し、得られた培養液の鉄腐食試験を実施した。一部の試料において生育が見られ、無菌区の2.5倍程度の鉄の溶出量が確認された。また、鉄溶出の生じた試料では硝酸の減少と亜硝酸の生産が見られ、鉄腐食能と硝酸還元との相関が示唆された。これら培養液に含まれる微生物の群集構造解析を行った結果、これまでに金属腐食の報告のない硫黄酸化細菌 *Sulfuricella denitrificans* に近縁の微生物種を主とした群集であることが明らかとなった。現在、更なる純化を行うとともに腐食メカニズムについて解析を進めている。

Enrichment of iron corrosion bacterial community composed of sulfur oxidizing bacteria

○Shin-ichi Hirano, Toru Nagaoka, Norio Matsumoto
(CRIEPI)

Key words Microbiologically Induced Corrosion, iron oxidation, sulfur oxidizing bacteria

3P-142 嫌気性メタン資化性菌の分離とその性質

○伊藤 亮至¹, 北村 隆明², 藤島 秀雄¹, 鳥居 楓子¹, 高橋 結², 登尾 浩助², 村上 周一郎²
(¹明治大院・農, ²明治大・農)
smura@meiji.ac.jp

【背景・目的】近年、関心が高まっている地球温暖化は、大気中の温室効果ガス濃度の増加が原因であり、その代表的なものとして二酸化炭素やメタンなどが挙げられる。二酸化炭素に次いで地球温暖化におよぼす影響が大きいメタンの排出抑制を目的として、本研究では、嫌気条件下でメタンを資化できる微生物の分離を試みた。

【方法・結果】唯一炭素源としてヘッドスペースにメタンガスを封入し、唯一窒素源として12.5 mMのNO₃⁻を添加した培地を用いて、水田から採取した土壌を嫌気条件下で1ヶ月間集積培養した。その結果、メタンを資化し、生育している集積培養物を得た。最も生育の良好な試料では、ヘッドスペースのメタンを最大で約17%、NO₃⁻を95 μmol消費した。また、16S rRNA 遺伝子をターゲットとするPCR法により集積培養物中に生息する微生物を解析した結果、好気条件下で生育可能な種が多く含まれていた。そこで、肉汁平板培地を用いて好気的に微生物を単離したところ、5つの培養物から計10種類の純粋分離株が得られた。次に分離菌株について脱窒能の有無を調べ、増殖の比較的良好な4株について、唯一炭素源としてメタン、窒素源として25 mMのNO₃⁻と3 mMの塩化アンモニウムを添加した培地を用いて、嫌気条件下で1ヶ月間培養した。その結果、最も生育の良好な37-2株は、最大で65 μmolのメタンと100 μmolのNO₃⁻を消費した。以上の結果より、嫌気条件下においてメタン酸化が行われていることが示唆された。

Isolation and characterization of anaerobic methane-assimilating bacteria

○Ryoji Ito¹, Takaaki Kitamura², Hideo Fujishima¹, Kaede Tori¹, Yui Takahashi², Kousuke Noborio², Shuichiro Murakami²
(¹Grad. Sch. Agric., Meiji Univ., ²Sch. Agric., Meiji Univ.)

Key words anaerobic methane oxidation, denitrification, *Chelatococcus*

3P-143 浴室ピンク汚れの実態解析と界面活性剤と溶剤の併用による制御

○矢野 剛久, 宮原 佳子, 横畑 綾治, 花井 淳也, 松尾 申達, 平塚 絵美, 岡野 哲也, 久保田 浩美
(花王)
yano.takehisa@kao.co.jp

【背景と目的】生活者が浴室の微生物汚れで最も問題視しているものの一つがピンク汚れである。しかし、その主要原因菌を定量的に明らかにした例はなかった。そこで、このピンク汚れの原因微生物を特定してその特徴を調べ、制御方法の開発を目指した。

【方法】浴室ピンク汚れを直接 FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) に供することで原因菌を明らかにした。さらに、明らかになった原因菌と他の分離菌における、浴室洗剤に対する耐性や乾燥に対する耐性を調査した。次に、バイオフィルム状態でも同様の挙動をとるか明らかにする為にモデル汚れを作成し、モデル汚れ条件下の菌の耐性を比較した。最後に、抗菌剤と様々な浸透促進剤を併用することで短時間でも高い抗菌性が得られる組合せをスクリーニングした。

【結果と考察】ピンク汚れの優占菌種は *Methylobacterium* 属細菌であった。分離された *Methylobacterium* 属細菌は比較的増殖速度が速く、他の分離菌と比較して乾燥や洗剤、抗菌剤に対して特に短時間の接触条件下で耐性が高かった。さらに、この傾向はモデル系でも同様であった。そこで、*Methylobacterium* 属細菌に対して塩化ベンザルコニウムと様々な溶剤を併用することで短時間接触でも高い殺菌効果が得られるか検討したところ、特定の溶剤種との組み合わせで高い殺菌性が得られた。同様の組合せの組成物を浴室で供してもピンク汚れの顕著な再発生抑制効果が確認できた。

Analyses of pink biofilms and the regulation by combination of surfactants and organic solvents

○Takehisa Yano, Yoshiko Miyahara, Ryouji Yokohata, Junya Hanai, Shinryou Matsuo, Emi Hiratsuka, Tetsuya Okano, Hiromi Kubota
(Kao Corp.)

Key words biofilm, regulation, FISH, antibacterial

3P-144 発電を伴う有用物質生産の試み

○谷口 右起, 江邊 正平, 大池 達矢, 岡南 政宏, 阿野 貴司
(近畿大院・生物理工)
bm5005tu@waka.kindai.ac.jp

微生物燃料電池 (microbial fuel cell: MFC) は、微生物が有機物等の基質を分解し、エネルギー生産を行うときに生じる電子を電極で回収し、電気エネルギーとして利用するシステムである。微生物を触媒として用いるため、様々な有機物が含まれる廃水等を基質として利用でき、廃水処理と同時に電力生産を行う応用が期待されている。

本研究では、MFCによる発電と同時に有用物質生産を行い、廃水処理及び電力生産、有用物質生産を同時に行うシステムの構築を目的とする。研究室保有株である *Pseudomonas protegens* DE は幅広い抗真菌スペクトルを有するフェニルピロール系の抗生物質である pyrrolnitrin を生産する。そこで *P. protegens* DE を有用物質生産微生物とした。

初めに *P. protegens* DE の振盪及び静置培養を行い、生菌数と抗生物質生産の比較を行った。両培養条件で菌数及び植物病原菌 *Rhizoctonia solani* に対する抗真菌活性試験の結果が同程度である事が認められたことから、振盪培養と静置培養における物質生産への影響が小さいと判断し、MFCにおける培養にも適していると考えた。そこで二槽式の MFC を構築し、培養した *P. protegens* DE の菌液を添加し、10 kΩ の抵抗と接続した発電条件及び抵抗を接続しない非発電条件で6日間稼働した培養液からの粗抽出物を用いた抗真菌活性試験を行った。その結果、*P. protegens* DE を用いた MFC は稼働5日目で最大電力 3.6 mW/m² を示した。発電条件と非発電条件において、同程度の抗真菌活性が認められたため、発電と抗生物質の生産を同時に行えることが示された。今後、発電と抗生物質生産条件の最適化、廃水などの産業廃棄物を利用した MFC の検討を行う。

An attempt at generating electricity during pyrrolnitrin biosynthesis

○Yuki Taniguchi, Shohei Ebe, Tatsuya Ohike, Masahiro Okanami, Takashi Ano
(Grad. Sch. BOST, Kindai Univ.)

Key words microbial fuel cell, *Pseudomonas*, pyrrolnitrin