

剣道防具倉庫から単離された細菌が発する悪臭物質の同定と かびの生育への影響

矢部 希見子^{*1}, 原 道寛^{*1}, 山口 真実^{*1}, 砂川 武義^{*2}, 竹下 達哉^{*1}, 西嶋 茂宏^{*2}

Identification of malodorous substances emitted by bacteria isolated from the kendo protective gear warehouse and their effects on fungal growth

Kimiko YABE^{*1}, Michihiro HARA^{*1}, Mami YAMAGUCHI^{*1}, Takeyoshi SUNAGAWA^{*2},
Tatsuya TAKESHITA^{*1}, and Shigehiro NISHIJIMA^{*2}

^{*1} Faculty of Environmental Studies, Department of Applied Chemistry and Food Science

^{*2} Faculty of Engineering, Department of Applied Nuclear Technology

Bacteria-emitting malodors were detected in the kendo protective gear warehouse. In this study, structures of the malodors were analyzed by using headspace Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that various species of the bacteria commonly and mainly produced organosulfur compounds such as methanethiol, dimethyl disulfide (DMDS), and dimethyl trisulfide (DMTS) as volatile organic compounds (VOCs). When the VOCs were collected at 37°C in GC-MS, DMDS was the major substance, whereas when they were collected at 80°C, DMTS was the major one, suggesting that temperature-induced structural changes from DMDS to DMTS occurred. To clarify the function of these organosulfur compounds, the bacteria were respectively incubated with two kinds of fungi. The VOCs significantly inhibited growth of *Aspergillus parasiticus* 95DM as well as *Penicillium citrinum* MI190. The organosulfur compounds also inhibited the same fungal growth. These results indicated that these bacteria inhibit fungal growth by producing these organosulfur compounds such as DMDS and DMTS in nature.

Key Words : *Aspergillus parasiticus*, dimethyl disulphide (DMDS), dimethyl trisulfide (DMTS), dual plate assay, Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), malodor, methanethiol (MeSH), *Penicillium citrinum*, Volatile Organic Compounds (VOCs)

1. 緒 言

剣道の防具倉庫内では不快な臭いが感じられる場合が多く、特に夏場はそれが顕著である。我々は、既に、福井工業大学武徳殿の剣道防具倉庫において、温度、湿度、臭いの強度などの環境条件の変化について詳細に検討し、さらに、面や胴、小手などの防具や胴着等に付着した微生物を採取して、種の同定を行った (p.61-71)。その結果、芽胞生産菌である *Bacillus* 属菌等の割合が高く、また、無芽胞菌である黄色ブドウ球菌など、既に臭いを有することが報告されている種々の菌が検出された。剣道防具に多様な微生物が存在することは他の施設でも報告されているが、この研究では、微生物を培養することで、防具倉庫内で感じられる不快臭を再現できることを確認され、微生物及びそれが生産する揮発性の代謝産物が不快臭の原因であることが示唆された。そこで、本

* 原稿受付 2024 年 5 月 9 日

^{*1} 環境学部 環境食品応用化学科

^{*2} 工学部 原子力技術応用工学科

E-mail: yabek@fukui-ut.ac.jp

研究では、これらの微生物がどのような揮発性有機化合物（Volatile Organic Compounds, VOCs）を生産しているかを明らかにするため、ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）を用いて解析し、同定した。更に、検出された VOCs が自然界においてどのような役割を有するかを明らかにするため、かびに対する影響を調べた。

2. 実験材料と実験方法

2.1 細菌の培養

使用した細菌及びかびを Table 1 に示した。このうち、K 番号が付いた細菌は剣道防具倉庫から単離されたものである。各細菌は、それぞれを 9 cm 直径プレートに入った標準寒天培地（0.5%ニッスイカゼインペプトン，0.25%酵母エキス，0.1%ブドウ糖，1.5%寒天，pH7.0～7.2）に、爪楊枝で培地表面全体に接種をして、37℃で2～4日間培養した。かびの培養には、GY 寒天培地（2%グルコース，0.5%酵母エキス，2%寒天）を用いて、28℃で培養した。

Table 1 The list of the bacterial and fungal strains used in this study

	Strain	Origin/features	References
1	<i>Bacillus cereus</i> K69	bacteria isolated from protective gear and body armor	
2	<i>Staphylococcus aureus</i> K6	bacteria isolated from protective gear and body armor	
3	<i>Micrococcus luteus</i> K85	bacteria isolated from protective gear and body armor	
4	<i>Priestia megaterium</i> K110	bacteria isolated from protective gear and body armor	
5	<i>Micrococcus luteus</i> K118	bacteria isolated from protective gear and body armor	
6	<i>Roseomonas mucosa</i> K121	bacteria isolated from protective gear and body armor	
7	<i>Actinomyces bacterium</i> K122	bacteria isolated from protective gear and body armor	
8	<i>Corynebacterium qintianiae</i> K126	bacteria isolated from protective gear and body armor	
9	<i>Mixta calida</i> K130	bacteria isolated from protective gear and body armor	
10	<i>Bacillus cereus</i> K12	bacteria isolated from protective gear and body armor	
11	<i>Bacillus subtilis</i> K71	bacteria isolated from protective gear and body armor	
12	<i>Micrococcus luteus</i> K73	bacteria isolated from protective gear and body armor	
13	<i>Priestia megaterium</i> K23	bacteria isolated from protective gear and body armor	
14	<i>Roseomonas</i> K106	bacteria isolated from protective gear and body armor	
15	<i>Brachybacterium faecium</i> K140	bacteria isolated from protective gear and body armor	
16	<i>Bacillus subtilis</i> var. natto	Bacteria from Natto (Japanese fermentation food)	
17	<i>Escherichia coli</i> GS780	NBRC JCM collection No. 3972	
18	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GS781	NBRC JCM collection No. 12689	
19	<i>Bacillus cereus</i> GS782	NBRC JCM collection No. 16305	
20	<i>Staphylococcus aureus</i> GS783	NBRC JCM collection No. 100910	
21	<i>Escherichia coli</i> GS784	NBRC JCM collection No. 102203	
22	<i>Moraxella osloensis</i> GS785	NBRC JCM collection No. 111460	(1)
23	<i>Moraxella osloensis</i> GS786	NBRC JCM collection No. 113844	(1)
24	<i>Moraxella osloensis</i> GS787	NBRC JCM collection No. 113899	(1)
25	<i>Aspergillus parasiticus</i> 95DM	<i>Aspergillus parasiticus</i> NRRL2999 mutant lacking aflatoxin productivity as well as accumulating aflatoxin red precursor "norsolorinic acid"	(2)
26	<i>Penicillium citrinum</i> MI190	Soil isolate	(3)

2.2 GC-MS 測定

GC-MS 測定には、JMS-Q1500GC (JEOL ソフトウェア msPrimo, msPrimoEditor, msPrimoConnector, msPrimoBackuper, LogViewer)を用いた。分析カラムは Zebtron ZB-XLB (30 m×0.25mm, 0.25μm), カラム温度は 40°C(3 min)-5°C/min -160°C(0 min)-30°C/min-280°C(3 min)-40°C/min-300°C(5.5 min) , 注入口温度は 250°C, インターフェース温度は 250°C, イオン源は 250°C, 注入法はスプリットレス(1 min)で 1 ml 注入, キャリヤーガスはヘリウム, 測定モードはトラップで, 抽出回数 3 回, サンプルブロック温度 80°Cまたは 37°C, トランスファー 200°C, で実施した。

細菌が生育した寒天培地の約 1 cm 四方を, 爪楊枝又はピンセットで寒天培地ごと切り出し, GC-MS のヘッドスペースバイアルの底に置いた。バイアルをシールした後, ヘッドスペースにセットした。ヘッドスペースバイアル内のガスの採取温度は 37°Cで, 必要に応じて 80°C又は 28°Cで行った。

2.3 細菌が生産する揮発性物質のかび生育への影響

剣道防具室から単離した細菌が生産する VOCs のかびへの影響を, Dual plate assay⁽⁴⁾を用いて調べた。かびとして *Aspergillus parasiticus* 95DM 及び *Penicillium citrinum* MI190 を用いた。*A. parasiticus* 95DM 株は, アフラトキシン (AF)生産株 *A. parasiticus* NRRL2999 の UV 照射変異株であり, AF 生産性は顕著に減少しているのに対して, 菌体中に赤色 AF 中間体ノルゾロリン酸を蓄積し, 赤色のコロニーを形成する⁽²⁾。*P. citrinum* MI190 株は土壌から単離した野生株で, シトリニン (CTN) を生産する。本研究では, 各細菌をそれぞれ標準寒天培地に広げて接種して 37°Cで 2 日間培養した後, 無菌室内でプレートの蓋をはずした。別に, かび胞子を 4 点接種した GY 寒天培地を準備して, プレートの蓋をはずした後に, 細菌のプレートと重ね合わせて, 2 枚のプレートをビニールテープでシールした。できた 2 枚重ねのプレートを, 28°Cで培養後, プレートの裏側から, 2 種のかびコロニーの生育の程度, 及び 95DM 株の赤色の程度 (ノルゾロリン酸の蓄積) を観察した。

2.4 硫黄系揮発性物質試薬によるかび生育への影響

硫黄系揮発性物質であるメタンチオールナトリウム (約 15%水溶液) (methanethiol, MeSH, 東京化成), ジメチルジスルフィド(dimethyl disulphide, DMDS, 東京化成), またはジメチルトリスルフィド(dimethyl trisulphide, DMTS, 東京化成)を入手して, 実験に供した。*A. parasiticus* 95DM 株または *P. citrinum* MI190 株の胞子液を, それぞれ GY 寒天培地に 3 点接種した後, プレートを逆さにして, 蓋の内側に各試薬を一定量滴下した。プレートの蓋をした後, ビニールテープまたはパラフィルムでシールして 28°Cで培養した。培養後 3 日目に, かびコロニーの直径を測定した。

3. 実験結果

3.1 GC-MS 測定による臭い物質の同定

剣道防具倉庫から単離した細菌 (Table 1)を, 標準寒天培地で 37°C, 2 日間培養後, コロニーの一部 (1 cm角程度)を寒天培地ごと切り出し, ヘッドスペースバイアルに移した (Fig. 1a) 。バイアルを機器にセットした後, 37°Cのガス採取条件で, GC-MS 分析を行った。*B. cereus* K69 を分析した結果, クロマトグラム上, 5.10 min にメインピークが検出され, また, 6.11 min にもピークが検出され, MS 分析によりいずれも DMDS であることが確認された (Fig. 1b,d) 。さらに, 11.46 min にピークが検出され, DMTS であることが確認された。*P. megaterium* K110 を分析した場合には, 3.23 min に MeSH のピークが検出され, 5.39 min 及び 6.18 min の所に DMDS のピークが, そして, 12.04 min には DMTS のピークが検出された。この 2 種の細菌を 37°Cで培養した寒天培地からは強い不快臭がしたことから, 剣道防具倉庫の悪臭は, これらの有機硫黄化合物が原因していると推定された。興味深いことに, DMDS は GC クロマトグラム上, 常に 2 つのピークを生じた (Fig. 1b-d) 。DMDS 分子は不斉炭素を含まないが, GC カラム上, シス型とトランス型の 2 種類の構造をとり, それらが異なるピークとして検出される可能性が推定された。

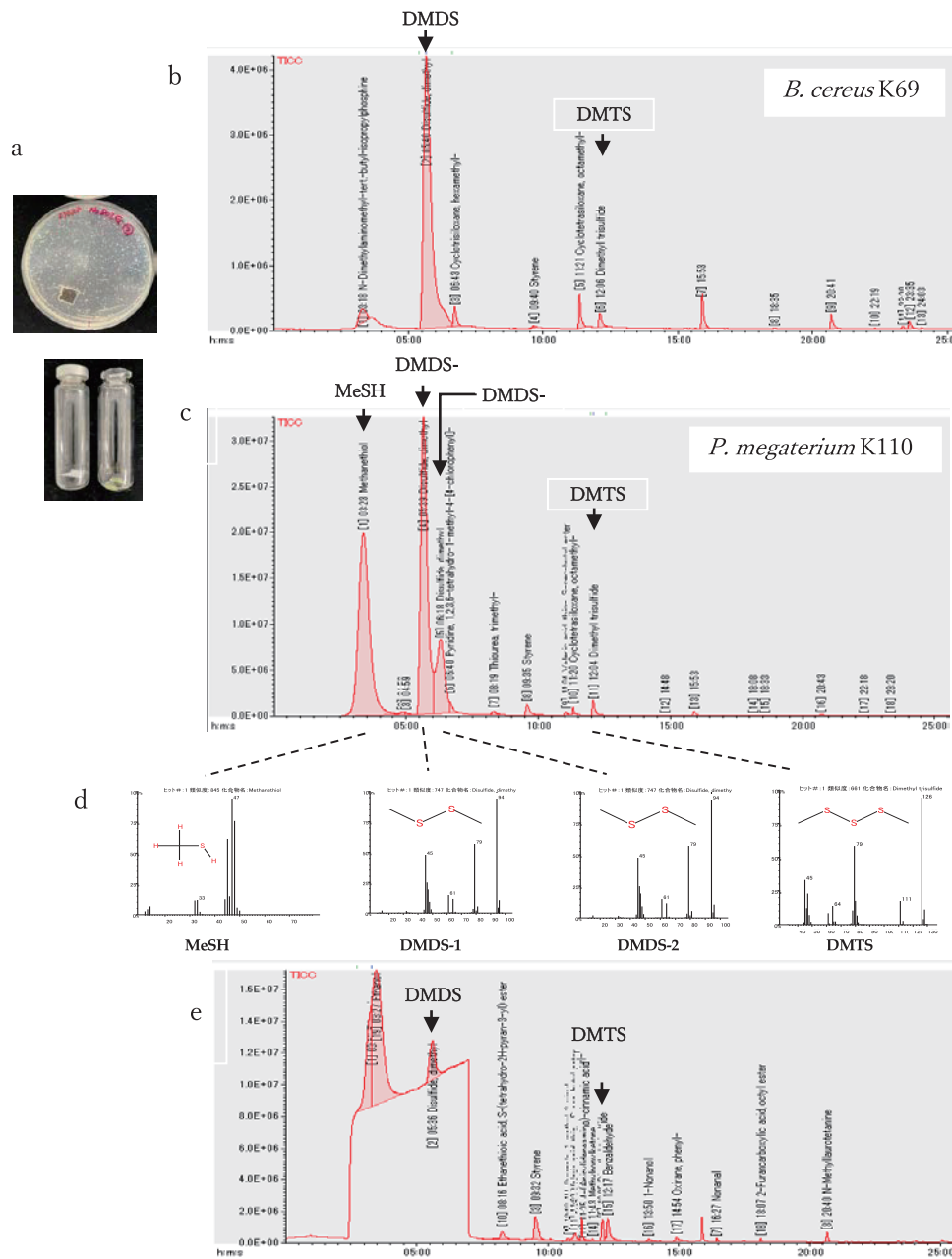


Fig. 1 GC-MS analysis of bacterial colonies. a. Bacterial colonies incubated at 37°C were cut into approximately 1 cm squares along with agar medium and placed in headspace vials for GC-MS analysis. b. Gas chromatograms of VOCs of *B. cereus* K6 when the VOCs were collected at 37°C. c. Gas chromatograms of VOCs of *P. megaterium* K110 when the VOCs were collected at 37°C. d. MS spectra of the organosulfur compounds. e. Gas chromatograms of VOCs of *B. cereus* K6 when the VOCs were collected at 80°C. MeSH, methanethiol; DMDS, dimethyl disulfide; DMTS, dimethyl trisulfide

細菌ごとに、GC クロマトグラム上の各有機硫黄化合物のピーク面積を Table 2 にまとめた。ほとんどの細菌が主要 VOCs として同様の有機硫黄化合物を生産した。*P. aeruginosa* GS 781 では、さらに、3.10 min のジメチルスルフィド (DMS) が検出された。*E. coli* ではこれらの有機硫黄化合物にくわえて、糞便臭の原因であるインドールが検出された。また、*Moraxella osloensis* GS 787 についても、DMDS 及び DMTS の生産が確認された。以上の結果から、剣道防具倉庫から単離された細菌の多くが、臭い物質として有機硫黄化合物を生産していることが明らかとなった。

Table 2 VOCs produced by bacteria isolated from armor warehouses (relative values)^a

Exp. No.	Bacteria	DMS	MeSH	DMDS-1 ^b	DMDS-2 ^b	DMTS
1	<i>B. cereus</i> K69			4.0E+07		1.6E+06
2	<i>S. aureus</i> K6			7.0E+06		1.0E+05
3	<i>M. luteus</i> K85		5.2E+07	1.3E+08	7.5E+07	1.6E+06
4	<i>P. megaterium</i> K110			6.6E+07	2.7E+07	5.2E+05
5	<i>E. coli</i> GS780			9.0E+06	4.4E+06	
6	<i>P. aeruginosa</i> GS781	3.1E+08		6.2E+07	1.7E+07	
7	<i>B. cereus</i> GS782			3.2E+07	4.3E+06	3.4E+05
8	<i>S. aureus</i> GS 83			1.8E+07	1.7E+06	
9	<i>E. coli</i> GS GS784			9.3E+06	3.8E+06	
10	<i>M. osloensis</i> GS785			7.5E+05	8.1E+05	
11	<i>M. osloensis</i> GS786			7.6E+06	1.8E+05	
12	<i>M. osloensis</i> GS787			1.9E+07	2.6E+06	2.9E+05

^a Collected at 37°C. Relative measurements are noted.

^b The two separate DMDS peaks are described as DMDS-1 and DMDS-2 in elution order.

DMS, dimethyl sulfide; MeSH, methanethiol; DMDS, dimethyl disulfide; DMTS, dimethyl trisulfide

GC-MS 分析における揮発性物質の採取には、多くの場合、80°C以上の条件が設定される。しかし、80°Cで採取した予備実験において、多数のピークが検出され、防具倉庫の臭い成分を特定することは困難と思われた。また、防具倉庫の室温は夏場でも37°C以上になることはほとんどなく、37°C程度でも顕著な不快臭が感じられることから、室温程度のVOCsが悪臭の原因となっていることが推定された。そこで、本研究では37°Cの採取条件でVOCsを測定し（Fig. 1b,c, Table 2）、また、80°Cでも採取して結果の比較を行った（Fig. 1d, Fig. 2）。その結果、80°C条件では37°C条件に比較してDMDS量（ピーク面積）は顕著に減少し、DMTSのピーク面積値が顕著に上昇することが確認された。このことから、高温条件では、非酵素的に有機硫黄化合物が多有機硫黄化合物に変換することが示唆された。また、80°Cのガス採取条件では、GCクロマトグラフ上、2.5 min から 7.5 min までの範囲でベースラインが大きく上昇し、MS解析によってこの上昇値がH₂Oに対応していることが確認された（Fig. 1e）。したがって、80°Cではサンプルが含む水分の一部が気化して結果に影響すると推定された。さらに、80°Cの条件では、37°Cに比較してより多くのピークが検出された。28°Cでの採取も試みたが、37°Cとほぼ同様の結果が得られた。以上、環境中の臭い物質の検出にはGC-MS測定において37°CでのVOCs採取が適していることが示唆された。

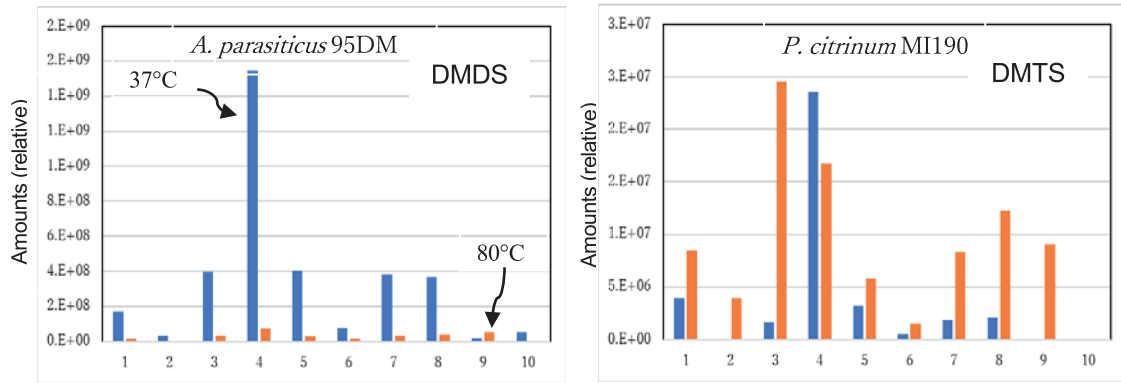


Fig. 2 Effect of sampling temperature in the headspace on the amount of DMDS or DMTS detected. Collection temperature in GC-MS: 37°C (blue bar graph); 80°C (orange bar graph). 1. *B. cereus* K69; 2. *S. aureus* K6; 3. *M. luteus* K85; 4. *P. megaterium* K110; 5. *M. luteus* K118; 6. *R. mucosa* K121; 7. *A. bacterium* K 122; 8. *C. qintianiae* K126; 9. *M. calida* K130; 10. *B. natto*. DMDS showed the total of the areas of DMDS-1 and DMDS-2.

3.2 細菌が生産する揮発性物質（VOCs）によるかびの生育への影響

これまでの結果から、多くの細菌種が有機硫黄化合物を主要な VOCs として共通に生産することが明らかとなった。そのため、細菌にとってこれらの有機硫黄化合物の生産が、何らかの生理的機能を有することが推定された。Garveva らは菌食性土壌細菌である *Collimonas* 属菌の VOCs が、6 種類のかび (*Mucor hiemalis*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium* sp., *Trichoderma harzianum*, *Fusarium solani*, *Pythium ultimum*) の生育を抑制することを報告している⁽⁵⁾。そこで本研究では、他の属の糸状菌、*A. parasiticus* 及び *P. citrinum* への影響を調べた(Fig. 3)。 *A. parasiticus* 95DM は AF 生成体中間体である赤色色素のノルゾロリン産の蓄積株であることから、かびの生育への影響だけではなく、AF 生産性への影響を調べることも目的とした。

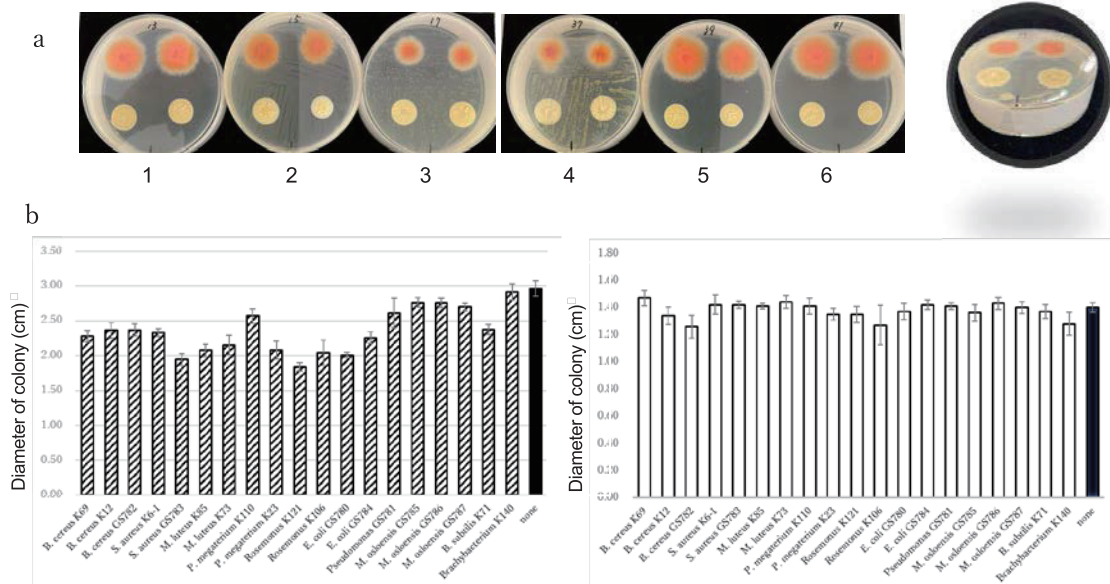


Fig. 3 Effect of VOCs produced by bacteria on fungal growths. a. Effect of coexistence with various bacteria on fungal colonies (*A. parasiticus* 95DM (upper two colonies in each plate); *P. citrinum* MI190 (lower two colonies)). Plate 1. *P. aeruginosa*; 2. *B. cereus* GS782; 3. *S. aureus* GS783; 4. *R. mucosa* K106; 5. *B. faecium* K140; 6. No bacteria. Two layers of plates (right photo). b. Effect of VOCs emitted by each bacterium on fungal growths. *A. parasiticus* 95DM (left); *P. citrinum* MI190 (right). Black bar shows no bacterium.

その結果、剣道防具倉庫から単離された4種類の細菌はいずれも、*A. parasiticus* 95DMの生育に対して顕著な阻害効果を示した (Fig.3a)。一方、ノルゾロリン酸 (赤色) の蓄積は、いずれのコロニーでも同様に観察されたことから、VOCsはAF生産に対して有意な阻害活性はないことが明らかとなった。*P. citrinum* MI190の生育に対しても有意な生育阻害が観察されたが、その阻害程度は95DM株に対してより弱かった。

同様の実験を18コ of 細菌 (上記4種含む) について行ったところ、やはり、*A. parasiticus* 95DMに対して顕著な生育阻害が見られた (Fig. 3b)。*S. aureus* や *Roseomonas* 等では35%程度の阻害を示し、洗濯物の生乾き臭の原因菌 *M. osloensis*⁽²⁾では、その程度は軽微であった。*M. osloensis*は嫌気性菌であるため他の細菌と比べて生育速度が遅かったことから、他の細菌よりも細菌数が少なかったことが原因である可能性がある。同様に、*P. citrinum* MI190への影響を調べたところ、やはり阻害程度は95DM株に対してより低かった。このことから、かびの属の違いによって、感受性が異なる可能性が示唆された。

3.3 硫黄系揮発性物質のかび生育への影響

MeSH, DMDS, または DMTS をそれぞれ 5 μ l, 50 μ l を蓋の中に入れて、*A. parasiticus* 95DM と *P. citrinum* MI190 の生育への影響を調べた。3日目のコロニーの直径を調べると、MeSH, DMDS では量依存的にかびの生育阻害が見られ、DMTS は 5 μ l 添加でさえも生育が完全に阻害された (Fig. 4a)。そこで、より少ない DMTS 量を添加したところ、3 μ l または 4 μ l で完全に生育が抑えられた。この際、阻害程度は、かびによって大きな違いは見られなかった (Fig. 4b)。

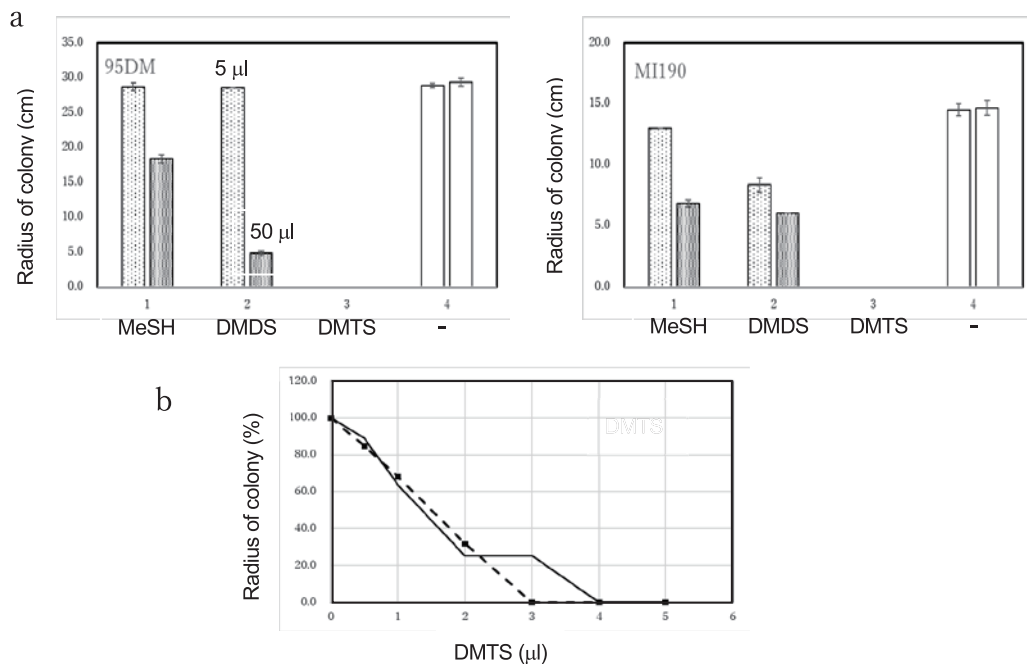


Fig. 4 Effects of organosulfate compounds on strain growth. a. Effects on the growth of two fungal species (*A. parasiticus* 95DM, *P. citrinum* MI190) were examined by adding 5 μ l or 50 μ l of three organosulfur compound reagents (MeSH, DMDS, and DMTS). b. Effects of various amounts of DMTS reagents were used to examine the effect on the growth of two fungal species (solid line, *A. parasiticus* 95DM; dashed line, *P. citrinum* MI190).

4. 考 察

我々は、既に金井学園武徳殿剣道防具倉庫の防具や胴着から単離された細菌が、防具倉庫の不快臭の原因であることを明らかにし、それらの細菌は、*Bacillus* 属菌などの芽胞菌が多いこと、しかし、芽胞非生産菌も不快臭を示すものがあることを明らかにした。そこで、本研究では、これらの細菌が生産する VOCs を、ヘッドスペース GC-MS をもちいて解析した。その結果、主に DMDS 及び DMTS が検出されたが、細菌によってはこれらに加えて MeSH, DMS 等を作っており、この結果から剣道防具倉庫の不快臭の原因は、有機硫黄化合物と推定された。実際、有機硫黄化合物はいずれも不快臭を示し、MeSH は腐ったタマネギの臭いがする無色の気体である。DMDS は刺激性が強く、ニンニクに似た特有の硫黄臭、またはタマネギ様の臭気やキャベツが腐った臭いとも表現される悪臭成分をもっており、特定悪臭物質に指定されている。DMTS は、新鮮なタマネギ様の臭気を持つ無色ないし淡黄色の液体と知られている。従って、防具倉庫の臭いの主な原因は有機硫黄化合物であることが強く示唆された。しかし、*E. coli* では、これら有機硫黄化合物に加えて、糞便臭の原因であるインドールも検出されたことから、他の悪臭物質も複合的に関与している可能性がある。これまで、アンモニアやイオノンなども生物が発する臭い成分と知られており、4-メチル-3-ヘキセン酸は雑巾様臭の原因と報告されているが、本実験では検出されなかった。また、GC-MS 測定で異なる解析条件を用いた際には、DMTS に加えて、ジフェニルアミンが検出されたことがあるため、実験条件によって、さらに多様な VOCs が検出される可能性があると考えている。いずれにしろ、本実験で 37°C において検出された有機硫黄化合物種は、剣道防具倉庫で人が感じる不快臭の主要な原因であることが強く示唆された。

本研究では、異なる細菌種であっても、有機硫黄化合物を共通に生産するが明らかとなった。また、納豆菌においても少量の DMDS を生産することを確認した。既に、*Pseudomonas donghuensis* が DMS, *S*-methyl thioacetate, *S*-methyl thiocyanate (MTA), DMTS などの有機硫黄化合物をつくることが報告されている。また、これらの有機硫黄化合物はアミノ酸であるメチオニンから生成されており⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾、有機硫黄化合物の生合成メカニズムは多くの細菌が普遍的に有している。さらに、本研究では、GC-MS 測定において、VOCs の採取温度を 37°C から 80°C に変更した際、DMDS が減少して、DTMS が増加することを見出した。このことから、自然界においては、細菌の代謝による VOCs 生成とともに、有機硫黄化合物間の非酵素的変化も起きると推定され、これにより、より複雑な臭いが生じるものと推定される。VOCs の詳細な生合成経路及びその制御機構については今後の課題である。

Ossowicki らは、MTA(5'-methylthioadenosine), DMDS, DMTS が、2 種の糸状菌 (*Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*) の生育を有意に阻害することを「bottom-top approach」を用いて報告している⁽⁸⁾。Garbeva らは、菌食性 (mycophagous) 土壌細菌である *Collimonas fungivola* 及び *Collimonas pratensis* が生産する VOCs が、4 種類の *Mucor hiemalis*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium* sp., *Trichoderma harzianum* の生育を阻害することを報告している⁽⁹⁾。Into らは、稲から単離された様々な酵母が、病原性菌 *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium moniliforme*, *Helminthosporium oryzae*, *Curvularia lunata* の生育をやはり阻害することを報告している⁽⁴⁾。そこで、本研究では、MeSH, DMDS, DMTS の試薬を用いて、*A. parasiticus* 及び *P. citrinum* の生育に対する効果を調べた。その結果、いずれの物質も生育阻害を示したが、DMTS が最も阻害活性が高いことが確認された。以上の結果から、自然界においては、細菌が生産する有機硫黄化合物が近隣のかびの生育を阻害して、細菌自身の生育に有利な環境を維持するなどの意味があると考えられる。近年、細菌とかび、属の異なるかび間の相互作用など、微生物レベルで多様な相互作用が報告されている。このような視点で、有機硫黄化合物の機能についても、さらに研究を進めていくことが必要である。

5. 結 論

剣道防具倉庫から不快臭を発する様々な細菌が検出されることから、これらの細菌が生産する VOCs をヘッドスペース GC-MS を用いて解析した。その結果、様々な細菌が、共通に MeSH, DMDS, DMTS などの有機硫黄化合物を生産していた。ガスの採取温度を、37°C から 80°C に変えた場合、検出される DMDS 量は顕著に減少して DMTS が増加した。この結果から、温度によって有機硫黄化合物間で変化することが示唆された。さらに、これらの有機硫黄化合物の機能を解明するため、かびの生育に対する影響を調べた。細菌が生産する VOCs は *A.*

parasiticus 95DM の生育を顕著に阻害し、また、*P. citrinum* の生育も有意に阻害した。以上のことから、剣道防具倉庫内の不快臭は、防具や胴着に付いている細菌が生産する DMSA や DMTS などの有機硫黄化合物が原因であることが明らかとなった。剣道防具倉庫の除臭には、これらの有機硫黄化合物の除去方法を検討する必要がある。

謝 辞

本研究は、金井学園理事長特別研究費「剣道防具倉庫除臭研究」の補助を受けて実施しました。

金井 兼 理事長に深謝いたします。

GC-MS 測定については、日本電子(株) 岡本 裕也様に多大なご教授・ご支援をいただきました。感謝を表します。

引用文献

- (1) H. Kubota, A. Mitani, Y. Niwano, K. Takeuchi, A. Tanaka, N. Yamaguchi, Y. Kawamura, and J. Hitomi, "Moraxella Species Are Primarily Responsible for Generating Malodor in Laundry", *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 78, (2012), pp. 3317–3324.
- (2) K. Yabe, P.S. Yan, Y. Song, M. Ichinomiya, H. Nakagawa, Y. Shima, Y. Ando, E. Sakuno, and H. Nakajima "Isolation of Microorganisms and Substances Inhibitory to Aflatoxin Production". *Food Addit. Contam. Part A. Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* Vol. 25, (2008), pp. 1111–1117.
- (3) M. Ichinomiya, A. Kawamoto, T. Yamaguchi, K. Iwashita, H. Nagashima, H. Hatabayashi, H. Nakajima, and K. Yabe "Detoxication of Citrinin with Kojic Acid by the Formation of the Citrinin-Kojic Acid Adduct, and the Enhancement of Kojic Acid Production by Citrinin via Oxidative Stress in *Aspergillus Parasiticus*". *J. Fungi* Vol. 9, (2023), pp. 1–17.
- (4) P. Into, P. Khunnamwong, S. Jindamoragot, S. Am-in, W. Intanoo, and S. Limtong "Yeast Associated with Rice Phylloplane and Their Contribution to Control of Rice Sheath Blight Disease". *Microorganisms*, Vol. 8, No.3 (2020), pp. 362.
- (5) O. Carrión, A.R.J. Curson, D. Kumaresan, Y. Fu, A.S. Lang, E. Mercadé, and J.D. Todd "A Novel Pathway Producing Dimethylsulphide in Bacteria Is Widespread in Soil Environments". *Nat. Commun.* Vol. 6, (2015), pp. 6579
- (6) I. Mogilnicka, P. Bogucki, and M. Ufnal "Microbiota and Malodor — Etiology and Management". (2020), pp. 1–21.
- (7) O. Carrión, J. Pratscher, K. Richa, W.G. Rostant, M.F.U. Haque, J. Colin Murrell, and J.D. Todd "Methanethiol and Dimethylsulfide Cycling in Stiffkey Saltmarsh". *Front. Microbiol.* Vol. 10, (2019), pp. 1–15.
- (8) A.Ossowicki, S. Jafra, and P. Garbeva "The Antimicrobial Volatile Power of the Rhizospheric Isolate *Pseudomonas Donghuensis* P482". *PLoS One* Vol. 12, (2017), pp. 1–13.
- (9) P. Garbeva, C. Hordijk, S. Gerards, and W. de Boer "Volatiles Produced by the Mycophagous Soil Bacterium *Collimonas*". *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 87, (2014), pp. 639–649.

(2024年8月2日受理)