

## 芽胞は1個から増殖するか—食品中における増殖に関する実測実験からの検証の試み

中西 弘一 1、桑名 利津子 2、高松 宏治 2

1. ナノ・マイクロバイオ研究所—中西技術士事務所、2. 摂南大学薬学部

### 1. 要約

「食品における微生物安全保証」において、芽胞菌の芽胞は食品中1個でも増殖するか、実測実験で検証した。

### 2. 背景並びに目的

#### 【背景】

微生物は通常、1個の細胞から増殖する。清涼飲料の微生物制御で一番対象として問題になるのは、耐熱性を有する芽胞形成細菌（以下芽胞菌）である。多様な飲料品種の各殺菌管理指標菌はほとんどが芽胞菌である（文献1）。芽胞菌は、非芽胞菌とは異なり、汚染時は通常芽胞の状態である。増殖では、芽胞の発芽という前段階が加わる。そのため、芽胞が発芽するかどうかポイントとなる。

#### 【目的】

飲料という比較的均一な食品中で、芽胞菌が1個でも存在すれば、増殖して品質に危害を及ぼすのか。あるいは無菌ではないが、微生物が複数個存在しても増殖せず、初発菌数レベルはある程度許容されという考え「商業的無菌」も存在するのか。実際の増殖試験を行い確認した。

#### 【方法】

##### 1. 芽胞の調製と精製

芽胞菌は、*Bacillus cereus*、*B. coagulans*そして *B. subtilis* の3菌種を使用した。常法による培養後、菌体を回収し、リゾチーム処理により芽胞を得た。それぞれの芽胞はさらに精製度を上げるため、密度勾配遠心法で処理を行った。

##### 2. 芽胞1個の接種法

接種法は位相差顕微鏡下でマイクロマニピュレーターにより各芽胞を採取し、標準液体培地に接種した。培地の量は増殖速度に大きく影響するので、芽胞1個あたりを、培地1mL、10mLそして100mLの3水準を設定した。これを100個ずつ3回繰り返し培養し、発芽（ケルビン力走査型顕微鏡で観察）、増殖を評価した。また培地には発芽剤として0.05%アラニンを加えた。培養は30℃で行った。

#### 【結果】

発芽結果は確定ではないが、マスで行った芽胞の発芽率の同様くらいで、60～70%と予想される。研究発表会当日までに、確実な結果を報告する予定である。