

枯草菌胞子の発芽・増殖過程の劣化を指標とした放射線照射による損傷菌生成機構の解析

Analysis of the injured microbial cells appeared by irradiation of *Bacillus subtilis* spores based on their germination and outgrowth deterioration as a probe

*古田雅一¹, 阪井俊夫¹, 普天間 章¹, 傳大輝¹, 坂元 仁², 土戸 哲明²

¹大阪府大院・工・量子、²大阪府大・21世紀科研・微制御センター

枯草菌胞子の⁶⁰Co γ 線と98℃加熱処理後の発育挙動の解析から、胞子の発育過程に与える影響は異なり、加熱と γ 線との複合殺菌における条件の最適化を図る指標を見出した。

キーワード：枯草菌，胞子，放射線照射，加熱，殺滅菌，損傷菌

1. 緒言

放射線滅菌は医薬品，医療用具の滅菌保証可能な滅菌法として加熱できない製品に対してすでに広く利用されている。一方、食品分野においても包装容器の滅菌に対する放射線利用は順調に伸びており、将来冷凍食品や生鮮食品への拡大する可能性も期待されている。冷殺滅菌法として放射線の特性を生かし、殺滅菌の高度化を図るためには加熱殺菌など既存の殺菌法と複合させる「ハードルテクノロジー」の構築が有効となる。本研究においては放射線、加熱など種々の殺菌に対して高い抵抗性を持つ *Bacillus subtilis* 168 株の芽胞の発芽・増殖過程に着目し、加熱と⁶⁰Co γ 線照射に対して芽胞の発芽・増殖過程のどの段階に殺菌効果が現れるのかについて検討し、複合化についての基礎的知見を得ることを目的とした。

2. 実験方法及び結果

Schaeffer 培地で *Bacillus subtilis* 168 *trpC2* の胞子を調製し、50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に懸濁し (濁度 (OD₆₀₀) 0.4)、98℃で加熱処理を行った。同様に、大阪府立大学放射線研究センターの放射線照射プールにおいて⁶⁰Co γ 線を照射した。処理後の各サンプルを回収液 (0.05% Tween80、0.1% ペプトン水) で段階希釈し、LB 寒天培地により 37℃で培養し、コロニー計数法により生残率を求めた。またマイクロプレートリーダー内で LB 液体培養し、OD₆₀₀ を経時計測することで芽胞の発育過程を追跡した。

その結果、98℃処理の胞子の生残曲線はシグモイド型 (D₁₀ 値は 11 分) を示し、 γ 線照射では直線型 (D₁₀ 値は 2.0 kGy) を示した。また同じ生残率を示した試料の液体培養により得られた増殖曲線は加熱の方が約 1.5 倍胞子の発育が遅れることを示し、さらに胞子の発芽過程の指標とされる培養開始直後の濁度減少に対してもガンマ線照射は影響しないのに対し、98℃加熱の場合は影響を受けることが見出された。

2. 結論

加熱による成分劣化により生じるとされる損傷菌を γ 線と組み合わせることにより、効果的に殺滅できる可能性が示唆された。今後は芽胞の発芽増殖過程の代謝活性、膜透過性などを詳しく調べ、条件の最適化を図る予定である。

*Masakazu Furuta¹, Toshio Sakai¹, Akira Futemma¹, Hiroki Den¹, Jin Sakamoto², and Tetsuaki Tsuchido²

¹Dept. Quantum Radiation Eng. Grad. School of Eng., ²Res. Cent. Microorganism Control, Osaka Prefecture University