光発熱集合効果を用いた高速細菌数測定法の原理構築

Construction of principle for a fast bacterial counting method using photothermal effect

○山本 靖之[1,2]，清水 恵美[2]，西村 勇姿[1]，床波 志保[2]，飯田 琢也[1,*]

(1. 阪府大院理, 2. 阪府大院工)

○Yasuyuki Yamamoto[1,2], Emi Shimizu[2], Yushi Nishimura[1], Shiho Tokonami[2], Takuya Iida[1,*]

(1. Grad. Sch. Sci. & 2. Grad. Sch. Eng. of Osaka Pref. Univ.)

*Email: t-iida@p.s.osakafu-u.ac.jp

細菌数測定法は，食中毒による健康被害を未然に防ぐための食品製造過程における細菌分析や，院内感染を防ぐための感染源の細菌分析で必要とされ，いずれの用途でも迅速かつ正確な測定法が要求される。現在の主要な細菌数測定法として，培養法や蛍光染色法が挙げられる。培養法では，低コストに細菌数を測定できるが，約 24~48 時間の測定時間を要する[1]。また，蛍光染色法では測定時間は培養法に比べると短いが，培養法との相関はあまり高くなく，高コストな蛍光試薬や熟練した技術が必要である[2]。一方で、光発熱効果が誘起する対流を利用して流動性媒質中の微小物質を集合化する光発熱集合法に関する研究も盛んにおこなわれている[3,4]。

本研究ではこれらの背景の下，狙った場所に対象物体を集合できる光発熱集合法の特徴に注目し，全く新しい迅速かつラベルフリーな細菌数測定法の原理構築を目指した。図 1(a)のような実験系で，レーザー光を光吸収性基板に照射した際に生じる局所熱によって生じる対流と気泡を利用して，液中の分散体(微粒子や細菌)を気泡と基板の間に集合させて集合率を見積もった[4]。その後，様々な濃度の細菌分散液で同様の実験を行い(図 1(b))，微粒子を用いた実験で得られた集合率(約 1.7%)を用いて 90 秒レーザー照射して，気泡近傍に集合した細菌数から細菌分散液の初期濃度の推定を試みた。さらに比較実験として，培養法でも同条件の分散液の濃度を調べ，光発熱集合法との相関を調べた。

本手法で見積った濃度は 6.1×10^8 cells/mL であり，培養法で得られた 5.6×10^8 cells/mL との差異が 10%以内と高い相関を有しているとともに(図 1(c))，わずか数分で測定可能であるため迅速な細菌数測定法として前途有望である。さらに，分散体を対流によって運ぶため，様々な種類の細菌に適用できる可能性を有している。本手法が確立されれば，食品や医療分野，そして細菌を扱う研究室の細菌数測定に多大な波及効果が期待される。

[1] J. L. Johnson, C. L. Brooke, and S. J. Fritschel, Appl. Environ. Microbiol. **64**, 4390 (1998)
[2] A. Pascaud, S. Amellal, M. L. Soulas, and G. Soulas, *J. Microbiol. Methods* **76**, 81 (2009)
[3] S. Fujii, K. Kanaizuka, M. Haga, *et al.*, *Langmuir* **27**, 8605 (2011)
[4] Y. Nishimura, S. Tokonami, T. Iida, *et al.*, *J. Phys. Chem. C* **118**, 18799 (2014)
[5] Y. Yamamoto, E. Shimizu, Y. Nishimura, T. Iida, S. Tokonami, **submitted** (2016)

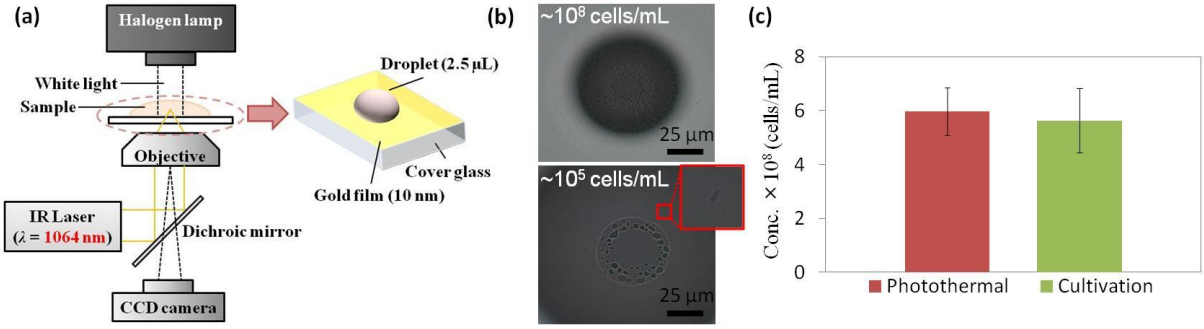

図 1　(a)実験系の概略図, (b)細菌の光発熱集合後の光学顕微鏡像, (c)濃度比較

© 2016年 応用物理学会