

# 過酢酸製剤の殺芽胞効果に耐性を示す セレウス菌芽胞の構造特性

応用技術部応用技術G 小林哲也

## 成果の概要

- セレウス菌芽胞に対する過酢酸製剤の殺芽胞効果は一律ではなく、菌株によって大きく異なることを明らかにしました。
- セレウス菌芽胞に対する過酢酸製剤の殺芽胞効果の違いには、芽胞の表面疎水性やコルテックス層の厚みなどが関連していることが推察されました。
- 本研究で得られた知見は、過酢酸製剤を用いたセレウス菌芽胞の新たな制御方法の開発に活用できます。

## 背景、目的

- 過酢酸製剤は、2016年に食品の表面殺菌用途として食品添加物に認可されました。
- 細菌芽胞に対しても殺菌効果を示しますが、その効果に十分な知見があるとは言えません。
- 本研究では、セレウス菌芽胞に対する過酢酸製剤の殺芽胞効果を明らかにすることを目的としました。

## 成果

### (1) 過酢酸製剤の殺芽胞効果は菌株により大きく異なる

セレウス菌2菌株 (*Bacillus cereus* NBRC15305、*Bacillus cereus* MAFF118598) の芽胞を過酢酸製剤で処理し、経時的に生残芽胞数を測定しました。

NBRC15305株を80ppmの過酢酸製剤で25、30、35、40および45°Cで30分間処理したときには、芽胞数はそれぞれ0.6、0.8、1.1、2.4 および4.1 log 減少しました (図1A)。なお、対照 (滅菌蒸留水処理) ではいずれの温度でも芽胞数は減少しませんでした。また、160、320 および640ppmの過酢酸製剤で30°Cで30分間処理したときには、芽胞数はそれぞれ1.2、2.1 および4.1 log 減少しました (図1B)。一方、MAFF118598株を同様に処理したときには、芽胞数はほとんど減少せず (図1CおよびD)、セレウス菌芽胞の過酢酸感受性は菌株によって大きく異なることが示唆されました。

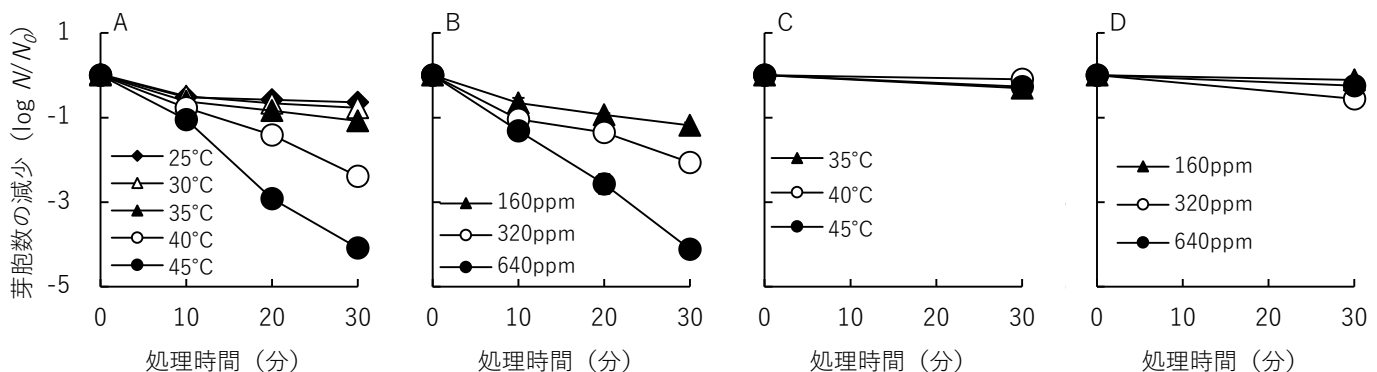


図1 過酢酸製剤で処理した*B. cereus* NBRC15305 (A、B) および*B. cereus* MAFF118598 (C、D) 芽胞の死滅挙動。処理温度の影響 (A、C) は80ppmの過酢酸製剤で評価した。処理濃度の影響 (B、D) は処理温度30°Cで評価した。

芽胞数は表面塗抹培養法 (標準寒天培地、30°C、1日) で測定した。

$N_0$ : 処理前の芽胞数、 $N$ : 処理後の芽胞数

エラーバーは標準誤差を示す。

## (2) 過酢酸製剤感受性に差がある2菌株は芽胞の構造が異なった

過酢酸製剤の殺芽胞効果が菌株によって大きく異なったことは、芽胞の構造に起因するものと考え、いくつかの性状を評価しました。

n-ヘキサデカンを用いたMATH法<sup>※</sup>で芽胞の表面疎水性を測定したところ、NBRC15305株は約65%、MAFF118598株は約94%でした。

※MATH法：Rosenberg, M. (1984) *FEMS Microbiol.*, 22, 289-295

走査型電子顕微鏡で観察した芽胞について、長径（図2矢印間）を測定したところ、NBRC15305株は約1.0 $\mu\text{m}$ 、MAFF118598株は約1.8 $\mu\text{m}$ でした。

透過型電子顕微鏡で観察した芽胞について、コルテックス層<sup>※</sup>の厚み（図3矢印間）を測定したところ、NBRC15305株は約118nm、MAFF118598株は約174nmでした。

※コルテックス層：コート層とコアに挟まれた部分。ペプチドグリカンで構成される。

以上のことから、過酢酸製剤が効きにくい菌株（MAFF118598）の芽胞は、効きやすい菌株（NBRC15305）の芽胞と比較して表面疎水性が高く、コルテックス層が厚い大きな芽胞であったと言えます。

すなわち、過酢酸製剤の殺芽胞効果が菌株によって大きく異なったことは、表面疎水性の違いにより過酢酸と芽胞が接触しにくかったことや、芽胞サイズやコルテックス層の厚みの違いにより過酢酸が芽胞内部まで浸透しにくかったことに起因すると推察されました。

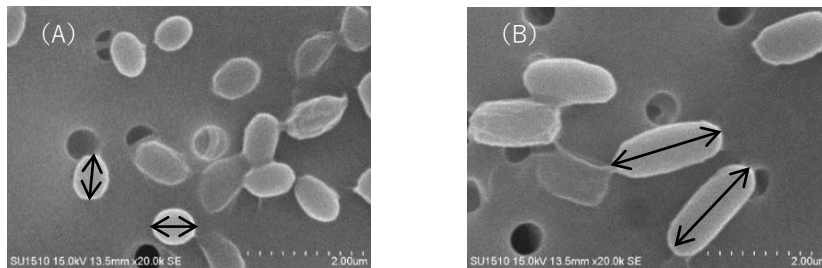


図2 走査型電子顕微鏡による *B. cereus* NBRC15305 (A) および *B. cereus* MAFF118598 (B) 芽胞の観察1万倍観察画像について、画像解析ソフトImageJを用いて5.00 $\mu\text{m}$ /250pixelsとして長径を求めた。

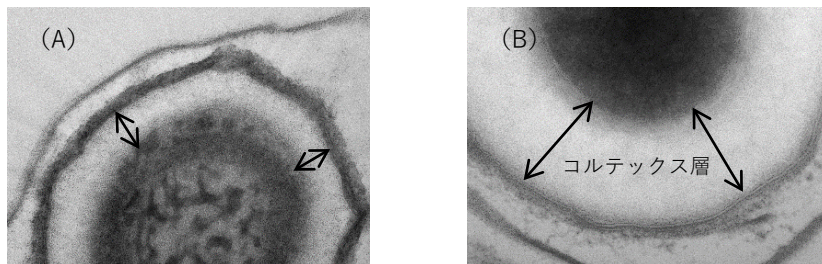


図3 透過型電子顕微鏡による *B. cereus* NBRC15305 (A) および *B. cereus* MAFF118598 (B) 芽胞の観察20万倍観察画像について、画像解析ソフトImageJを用いて100nm/600pixelsとしてコルテックス層の厚みを求めた。

## 成果の普及、活用方法

本成果は、セレウス菌芽胞の制御技術開発に向けた知見として活用できます。

事業名：公募型研究（東洋水産財団2019年度学術奨励金、令和元年度）  
研究課題名：芽胞の損傷を利用したセレウス菌の新たな制御技術に関する研究  
共同研究機関：北海道大学大学院水産科学研究院