

■研究・実践の課題（テーマ）

電解水による食品洗浄処理が及ぼす細菌群集構造変化の分子生態解析

■主任研究者 岸本 満

■共同研究者 細田晃文

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

電解水はその液性により使用目的は異なり、アルカリ性ではタンパク質や脂質の分解による洗浄効果があり、酸性では細菌やウイルスへの殺菌効果があるとされ、食器や調理器具の洗浄などに用いられる衛生管理面で有用とされている。本研究では、その電解水を利用して洗浄することで食品表面から消失（あるいは残留する）特定の細菌種が存在するか（細菌群集構造）について、細菌の特定遺伝子（16S rRNA 遺伝子配列など）を標的とした動態の解析（次世代シーケンスによる分子生態解析）から明らかにすることを目的とした。

実験方法としては、水道水、電解水または次亜塩素酸水で処理を施した（さらに無処理として未洗浄のサンプル）食品表面（市販レタス）に存在する細菌を 0.45 μm のセルロースアセテート膜に捕集、あるいは増菌培養し、それらのサンプルから DNA を抽出、16S rRNA 遺伝子（V3-V4 領域）を標的とした PCR を行った。電気泳動により遺伝子増幅が確認されたサンプルは、次世代シーケンス（NGS, Miseq）を用いたアンプリコンシーケンス解析に供し、約 4 万リードの細菌種 DNA の情報を得た。得られた情報を基に細菌の分類学的解析および統計学的解析（非計量多次元尺度構成法：NMDS）などを行い、電解水洗浄処理が食品表面に存在する特定の細菌種の選択的洗浄が可能かどうか検討を行った。

その結果、PCR 増幅したサンプル（31 サンプル）の細菌群集については、各サンプル間で顕著な優占種などを見出すことはできなかったが、次亜塩素酸水で洗浄された微生物としては、*Pseudomonas* 科および *Rhizobium* 科が優占し、水道水で洗浄された微生物としては、*Flavobacterium* 科が優占していた。しかし、電解水で洗浄したサンプルからは PCR による遺伝子を得ることができなかった。また、洗浄液の培養物から、*Flavobacterium* 科、*Enterobacter* 科、*Burkholderia* 科および *Sphingomonas* 科が優占的であることが明らかとなった。NGS で得た代表配列には、洗浄液培養物からはエンドファイトとして報告のある *Duganella* 属など野菜の病気や食中毒に関わる細菌属・種が含まれることが分かった。NMDS 解析から、洗浄液の微生物種と洗浄液培養物の微生物種は異なるクラスターを形成することが分かった。これらの結果から、次亜塩素酸水などの洗浄により、検出される微生物の種構成は異なることが示唆された。電解水処理後の、サンプルから DNA が得られず、洗浄液の培養でも増菌が認められなかったことは、電解水処理が細菌の溶菌などを引き起こし DNA が得られなかったと推察された。今後、以下の 2 点を考慮した実験方法の見直し

と改良により、電解水処理が食品表面に存在する細菌へ及ぼす影響を解明する予定である。

(1) 洗浄処理水の量（各サンプルから収集する微生物量）を増やす

(2) RNA を標的として生菌を対象とした解析