

■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由来 DNA と群集構造への影響

■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

電解水は細菌やウイルスへの殺菌効果が期待され、食器や調理器具の洗浄など衛生管理面で有用とされている。今年度の本研究では、電解水処理を施した（あるいは処理しない）野菜などの食品表面に存在する細菌を洗浄水から捕集（あるいは食品破砕物の上清から捕集）し、得られる DNA から次世代シーケンズを用いたアンプリコンシーケンズ解析を行い、電解水処理により影響がある細菌種の同定と鋳型 DNA の状態を明らかにするためのリアルタイム PCR を行った。

【実験方法】市販のレタスを用い、以下の2つの方法でレタスを洗浄後、洗浄液から DNA を抽出した。

処理 A：レタス（125 g, 5 cm 角にカット）を各洗浄液 {水道水(W), 次亜塩素酸溶液(H), 電解水(E)} (1.5 L) で洗浄；処理 B レタス（125 g, 5 cm 角にカット）に大腸菌 (10^6 cfu/g) 液を接種し、各洗浄液 {水道水(W), 次亜塩素酸溶液(H), 電解水(E)} (1.5 L) で洗浄。処理 A, B の各洗浄液 (1.5 L) などを 0.22 μ m のフィルター (Cellulose acetate) でろ過し、DNA 抽出までフィルターを -20 °C で保存した。DNA 抽出は、フィルターを裁断 (3 mm 角程度) し、Extrap Soil DNA kit Plus ver2 (BDL 社) のプロトコルに従った。得られた各 DNA を鋳型として NGS 解析用のプライマーセットで 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を増幅した。得られた PCR 産物は、1.5%アガロースで電気泳動を行い、増幅を確認した。また、PCR による増幅が認められなかったサンプルについては、上記のプライマーセットの内側に設計されたプライマーセットによるリアルタイム PCR を行い、鋳型 DNA が断片化しているかどうか確認した。

【結果およびまとめ】PCR による増幅確認において、水道水洗浄では全ての DNA サンプルから増幅産物が得られたが、電解水および次亜塩素酸ナトリウム水溶液洗浄においては、一部の DNA で増幅があったが、多数の DNA サンプルからの増幅が認められなかった。一方、大腸菌を接種したサンプルにおいては、水道水、電解水の処理に関わらず、全ての DNA サンプルから増幅が認められた。NGS 解析およびその配列を用いた統計処理の結果、水道水洗浄液で優占的と考えられる細菌は腸内細菌群の *Pantoea* 属であり、電解水（または次亜塩素酸）洗浄液では、腸内細菌群の *Escherichia* 属が優占的であることが分かった。また、リアルタイム PCR を用いた解析から電解水（および次亜塩素酸ナトリウム水溶液）洗浄による鋳型 DNA の断片化が認められた。以上の結果より、電解水（または次亜塩素酸）によ

る洗浄処理では、分光学的に存在する DNA は断片化し、増幅がわずかに認められた PCR 産物を用いた NGS 解析では、水道水洗浄とは異なる細菌種の DNA が残存していることが明らかとなった。しかし、電解水処理により洗浄された細菌の生残性は確認していないことから、今後は電解水洗浄による食品表面の細菌生残性への影響を明らかにする必要があると考えられた。