

■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と細菌 DNA への影響評価

■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。その殺菌メカニズムは、細胞破壊に加えて DNA 損傷により細胞が死滅すると考えられている。

これまで申請者らは、細菌の特定遺伝子（16S rRNA 遺伝子配列）を標的とした NGS 解析とそのデータを用いた統計解析（分子生態解析）から、水道水または電解水洗浄により食品表面から洗浄された細菌種には *Pantoea* 属、や *Escherichia* 属などが比較的高い存在比であることを明らかにした。同時に、電解水または次亜塩素酸ナトリウム水溶液洗浄液から得られた DNA は断片化していることを明らかにした。

本研究では、野菜表面の電解水処理により食品表面に生息する細菌数または細菌種がどの程度まで殺菌されるかについて明らかにすることを目的に次世代シーケンス解析（NGS 解析）と、生菌数との関係を明らかにすることにより電解水の食品表面への影響について解析を行った。

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

処理：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) で洗浄した。処理後の洗浄液 (1.5 L) を 0.22 μm 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。同時に洗浄処理液 (5 mL) および洗浄後のレタス (ホモジナイズ液) を全細菌用の培地で培養し、希釈平板法により菌数測定を行った。

【結果およびまとめ】PCR 増幅したサンプル (電解水、次亜塩素酸、水道水；各 3 サンプル) の細菌数は  $10^4 \sim 10^6$  cells/g であり細菌群集では、各サンプル間の顕著な優占種などを見出すことはできなかった。電解水および次亜塩素酸水で洗浄された微生物としては、*Pseudomonas* 科が優占し、水道水で洗浄された微生物としては、*Micrococcus* 科が優占していた。また、電解水および次亜塩素酸水で洗浄した DNA においては、レタス由来のクロロプラスト配列が大量に存在 (サンプルによっては、90%程度まで) しており、これらを

除いた細菌群集解析は、統計学的データとは言い難い結果であった。これは、NGS 解析用プライマーセットでは、クロロプラスト中の 16S rRNA 遺伝子類似配列が増幅しやすい状況であったことに起因していた。本研究結果を論文等に公表するにあたり、統計解析結果が妥当なものとするためには、クロロプラスト配列は可能な限り除去しなければならない。そこで、2023 年度は V3-V4 領域の周辺でプライマーを再設計し、クロロプラスト配列が除かれた状態のアンプリコンシーケンス解析を行う予定である。