

■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への影響評価

ー正確な統計学的解析を可能にする新規プライマー設計ー

■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により食器や調理器具の洗浄など衛生管理面で有用とされ、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。昨年度まで申請者らは、細菌分類遺伝子（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細菌種の存在および電解水処理においては DNA の分解が起こっている可能性を明らかにしてきた。また、NGS 解析において細菌の遺伝子だけでなく食品（レタス）由来の DNA に含まれるクロロプラスト配列が 90%程度増幅してくるサンプルが電解水、次亜塩素酸水、水道水処理において多数検出されることを明らかにした。

そこで本研究では、従来の NGS 解析用プライマー（16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域）を基に新プライマーを設計し、クロロプラスト配列が減少するか検証した。

電解水、次亜塩素酸ナトリウム溶液、水道水（各 1.5 L）レタスを洗浄した後の溶液中の細菌などをフィルターで捕集し、DNA を抽出した。この DNA を鋳型として従来のプライマーおよび新プライマーで PCR を実施し、増幅した各 DNA を NGS 解析に供した。各サンプルから得られたリードは、Qimme2 による細菌科の分類および α -, β -多様性解析を行った。さらに分類された細菌科の各リードと洗浄実験で得られたいくつかの環境要因（生存細菌数 (Cc)、有効塩素濃度 (ACC)、pH (pH)）を合わせた統計学的解析（非尺度型多次元尺度構成法：NMDS）解析を行った。

その結果、従来のプライマーと新プライマー間では、分類されてきた細菌科に顕著な変化は見出されなかったが、新プライマーでは水道水で検出されなかった *Enterobacter* 科の検出感度が高い（リード数が多くなる）傾向を見出した。また、新プライマーではクロロプラスト配列を減ずることはできなかったが、ミトコンドリア配列は、10%程度減少させることが分かった。一方、新旧のプライマーによる結果においても電解水と水道水で検出された細菌科は顕著に異なっていた。分類された細菌科の NMDS 解析から、水道水の細菌科はいずれのサンプル間で非常に類似していたが、電解水（あるいは次亜塩素酸ナトリウム溶液）では、サンプル間の多様性が大きく異なることが分かった。また、NMDS と環境要因の関連については、生存細菌数が水道水のデータへ影響を与えていたが、有効塩素濃度や pH は電解水サンプルへの影響が低いことが分かった。さらにこのような方法によるサン

ブル洗浄では、表面細菌のみならず、食品表面（レタス細胞）の剥離が顕著なことが明らかとなった。これらのことから、設計したプライマーを用いることで、電解水と水道水による洗浄では洗い流される細菌科が異なる、すなわち電解水では *Enterobacter* 科をはじめとする腸内細菌科群に対して洗浄効果があることが明らかとなった。