

電気化学的手法を用いた微生物の基質酸化活性測定法の開発

食品や食品製造工程における微生物制御は、製品の品質管理上極めて重要であり、その基礎となる微生物の計数は重要な管理項目の一つです。また、発酵プロセスの分野では、微生物の数だけでなく、その活性を把握することが高品質の製品を作る上で必要です。食品分野で用いられるコロニー計数法は特殊な装置を必要とせず手軽にできますが、結果が出るまでに長時間を要するため、迅速な品質管理は不可能です。そこで微生物の数や活性を迅速に測定する必要がある場合には、濁度法、インピーダンス法、ATP 発光法や PCR 法などが用いられています。ここでは、それ以外の方法として、微生物の酸化還元活性を電気化学的に計測する手法を紹介します。

微生物は、細胞膜や細胞質中の様々な酸化還元酵素によりグルコース等の基質を酸化してエネルギーを獲得します。このような活性を持つ生細胞は、基質酸化に伴い、テトラゾリウム塩やメチレンブルーのような酸化還元色素を還元しますが、死細胞は色素を還元できません。一方、生細胞によって還元された色素は電極上で電気化学的に酸化可能であり、還元された色素の量に応じた電流を得ることができます。従って、微生物による色素還元反応と電極での酸化反応を共役させれば、微生物の活性を電流として捉えることができます。

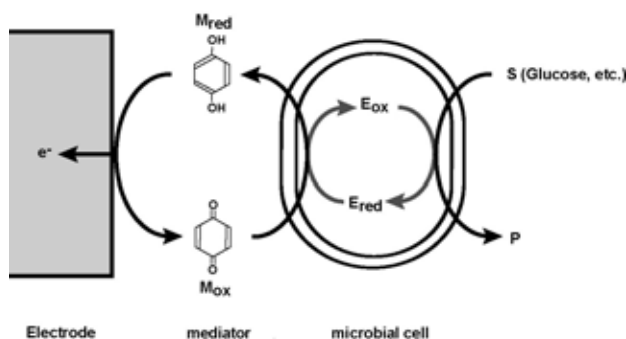


図1 微生物の基質酸化活性測定法の原理

そこで、この原理（図1）に基づいた微生物活性測定法を開発し、酢酸菌、大腸菌、乳酸菌等の様々な微生物の計測を試みたところ、いずれの微生物においても基質添加に伴う酸化電流の増加が観察されました。また基質の種類を変えたときの応答が微生物や培養条件により異なることもわかりました。そこで、本手法を発酵のモニタリングやストレス評価に適用したところ、(1)酢酸発酵において酢酸菌の生細胞を迅速にモニタリングできること、(2)生育速度の非常に遅い(培養時間7-10 日間)火落菌を細胞数が 10^6 - 10^9 個の範囲ならば30分以内に測定できること、(3)加熱や薬剤等のストレスによって様々な損傷を受け、通常の培養法では検出困難な損傷菌を本手法で測定できることを明らかにしました。一例を図2に示します。火落菌を様々な温度で加熱すると、加熱時間とともに電流応答や生菌数が低下しますが、その低下の度合いは電流応答に比べて生菌数のほうが大きいことがわかります。このことから、電流応答では検出できるが、コロニー計数法では検出できない損傷菌が、加熱処理中に出現することが示唆されました。

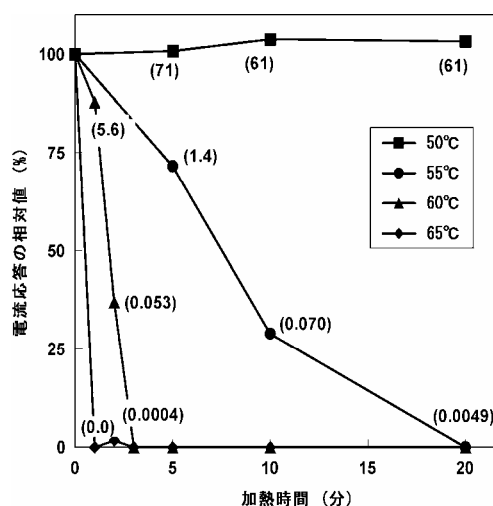


図2 火落菌の電流応答及び生菌数に及ぼす加熱の影響 (かっこ内の数字は生菌数の相対値)



食品工業技術センター 近藤徹弥

研究テーマ：微生物や酵素を活用した生物資源の機能開拓や機能評価法の開発

指導分野：微生物一般、食品包装