

携帯型の迅速生菌数センサーの開発

○道島さゆ美¹、竹山駿平²、山本貴志²、牛島ひろみ¹

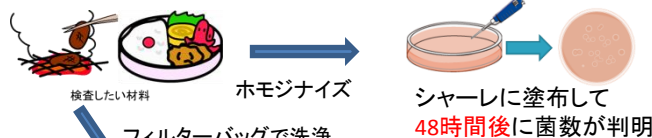
1. (有)バイオデバイステクノロジー、2. (株)ゲイト



GATE CO., LTD.

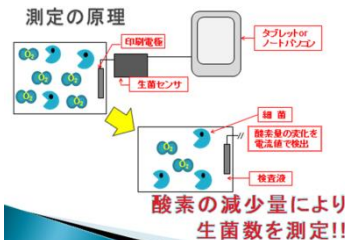
1. INTRODUCTION

近年食に対する安全性確保へのニーズが高まっている。食品衛生法に定められている各種基準のうち基本的な項目の一つに一般生菌数がある。現状では主に培養法によって測定されているが、結果が出るまでに2-3日を要することから、より迅速な測定手法が求められている。そこで、様々な現場で数時間以内に結果を得ることのできる小型軽量測定装置とセンサーおよび前処理キットの開発を行った。指標として菌の酸素消費量を用いて培養時間を無くし、迅速性を高めるとともに、菌をメンブラン上に捕集濃縮して高感度化を図った。



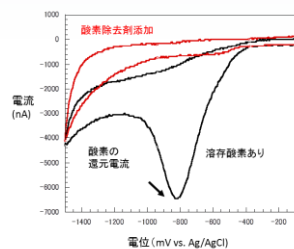
前処理含めて2-3時間で菌数が判明

測定の原理



2. METHODS

酸素消費量は、水溶液中の酸素濃度を電気化学的に測定することで定量した。Cyclic Voltammetryにより-0.8V付近に溶存酸素のピークが認められ、その高さを酸素濃度の指標とした。



CV(Cyclic Voltammetry) 50mV/sec

モデル生菌としてE.ColiやN-3株を用いた場合は培養液を適宜希釈し、必要な濃度の基準菌液を作成した。食品サンプル(野菜、魚、肉、惣菜等)は、1パックを2に分け、一方は等重量の抽出用バッファーをフィルターバッグに加え、良く揉んで菌を抽出した。抽出液をプレカラムで濾過後、メンブランフィルターで濾過して菌体を濃縮し、培地を添加して酸素のピークの高さを測定した。もう一方のサンプルは培養法により一般生菌数を算出した。

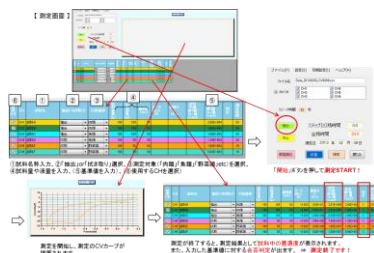
3. RESULTS AND DISCUSSIONS

3-1 生菌数測定装置とセンサー

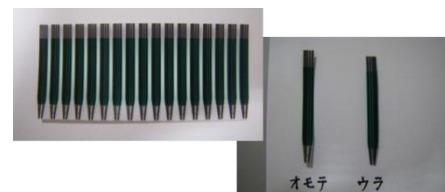
生菌数測定装置として6チャネルの小型電気化学測定装置を開発した。サイズ(cm)は10 x 10 x 1.5、重量170gで電源はUSB接続した制御用ノートパソコンやタブレットから供給される。



生菌数測定装置と測定プログラム画面。ソフトウェアはWindows7対応。

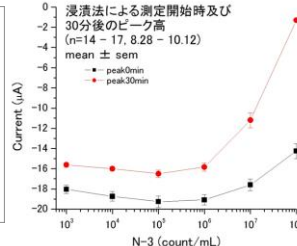
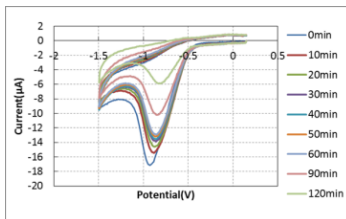


センサー部分はディスプレイの印刷電極(三極式)でエッペンチューブに差し込みやすく、メンブラン法でも使用しやすい形状とした。



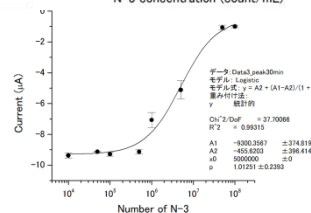
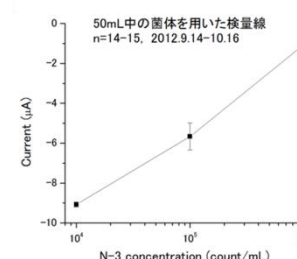
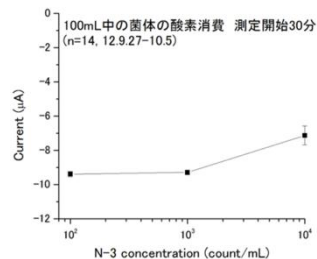
3-2 電極浸漬による測定

食品等の固形サンプルを洗浄もしくはホモジナイズした溶液中の菌濃度を酸素消費量を指標として測定出来るかについてN-3株およびE.Coliの培養液を用いて検討した。エッペンチューブ中の培養液に電極を挿入し、酸素ピークが経時的に減少することが確認できた。測定開始20-30分後のピークを指標としたとき、 10^7 個/mL以上の濃度で検出できた。



3-3 メンブラン法による測定

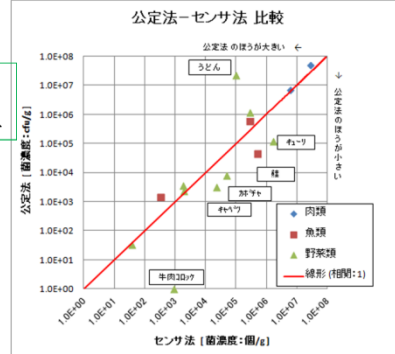
高感度化のために、菌濃度をメンブラン上に捕集し、これをフィルムにはさんで少量の培地中での酸素濃度の変化を測定した。その結果、 10^3 個/mLと 10^4 個/mLの間に有意な差が認められ、この方法で 10^4 個/mLまで検出が可能であることが明らかとなった。



特願2012-250981

3-4 実サンプルでの測定

測定対象品目毎に、存在する菌の種類による酸素消費量が異なる場合を想定し、「肉類」「魚類」「野菜類」とカテゴリー分けして関係式(検量線)を作成、また、測定時間もカテゴリー毎に最も相関の高い時間を模索、測定精度の向上を図った。その結果、検出感度は測定対象によって異なるものの、 10^3 個/g - 10^6 個/gであり、公定法である培養法と比較的高い相関を得ることができた。



4. CONCLUSIONS

- 培地中の酸素濃度を指標として30分以内に生菌数を測定することができた。
- 6チャネルの小型生菌数測定装置を開発し、ディスプレイの印刷電極で細菌培養液だけでなく、肉や野菜など実サンプルの生菌数を測定することができた。
- 測定結果は公定法である培養法の結果と比較的高い相関を示した。