

CO₂ 検出による細菌の世代時間測定法

○竹茂 求^{*1}・那須潜思^{*1}・小川廣幸^{*2}

(^{*1} 仙台電波工業高等専門学校, ^{*2} マイクロバイオ㈱)

1. はじめに

細菌の細胞分裂による世代時間に関する知見を得ることは、食品衛生管理において重要である。諸環境条件における細菌の増殖速度の簡易で定量的な測定方法として SensiMedia™ 法¹⁾ が知られている。本稿では、SensiMedia™ 法に対して理論的モデルを仮定し、細菌の培養実験データから細菌の世代時間を評価する方法、及び、その実験結果を報告する。

2. SensiMedia™ 法

細菌を液体培地で培養する。菌増殖時に産出される CO₂ の総量が一定量に達すると、それに反応して色変化する CO₂ センサを用い、菌の増殖を検出する。

3. モデルと理論解析

1 個の菌が Δt 時間に産出する CO₂ 量を $a\Delta t$ とする。1 個の細菌が β 時間で 2 個に分裂すると仮定すれば、時刻 $t=0$ での菌数が n のとき、時刻 t における菌数 N は

$$N = n2^{\frac{t}{\beta}}$$

である。センサが反応するまでの時間を T とすると、 $t=T$ までに菌が産出する CO₂ の総量 A は

$$A = an \int_0^T 2^{\frac{t}{\beta}} dt$$

で与えられる。 $T \gg \beta$ の条件下では、この式から

$$\log_{10} n \cong (\log_{10} e) \cdot \log_e \frac{A \log_e 2}{a\beta} - \frac{\log_{10} 2}{\beta} T$$

の関係式が得られる。

従って、菌数 n が異なるいろいろな濃度で培養実験を行い、センサの反応時間 T を測定し、縦軸を $\log_{10} n$ 、横軸を T としてプロットすれば、グラフの傾きから世代時間 β が計算される。ここで、細菌試料の 10 倍希釈系列を作成して培養実験を行う場合は、各希釈系列

に対する $\log_{10} n$ の値は 1 ずつ変化するので、グラフの傾きを求めるために n の値を計測する必要がなく、 T を計測するだけで β が簡単に得られることが重要である。

4. 実験方法

E. coli 25922 の 10 倍希釈系列を作成し、37°C で培養実験を行い、センサの反応時間 T を測定した。実験では、CO₂ センサの色変化を自動判定する Biomatic™ VDCS を使用し、一般細菌用の培地を用いた。また、モデルと理論解析による世代時間の評価方法の妥当性を確認するために、個々の希釈系列の培養開始時の菌数 n と CO₂ センサ反応時の菌数 N を測定した。菌数の測定には、平板法による菌の培養過程を培養開始時から継続的に観測し^{2, 3)}、コロニー数を短時間で正確に自動計数できる Biomatic™ DMCS を用いた。

5. 実験結果と考察

グラフの傾きから求められた *E. coli* 25922 の世代時間 β は約 21 分であり、よく知られている値と一致した。さらに、CO₂ センサ反応時の菌数 N の実測値は、世代時間 β から期待される値 (約 5×10^{10} 個) とほぼ一致し、モデルと理論解析の妥当性が確認された。

本方法の利点は、温度、pH 等の諸条件下で、菌の個数を計数することなく、簡単に世代時間を評価できることである。精度に関する議論をするために、他の菌を含めた系統的な実験を行うことが必要である。

文献

- 1) 小川廣幸：センシメディア法，“食品微生物の簡便迅速測定法はここまで変わった！”，サイエンスフォーラム，pp. 158-167 (2002)
- 2) 小川廣幸：デジタル顕微鏡法，“食品微生物の簡便迅速測定法はここまで変わった！”，サイエンスフォーラム，pp. 168-174 (2002)
- 3) 竹茂 求，那須潜思，佐々木正明，高田 稔，鹿股昭雄，小川廣幸：コロニー増殖過程逐次観測による生菌数の計数法，計測自動制御学会論文集，Vol. 39, N06, pp. 521-527 (2003)