

苛酷条件下の TM-N5 株による非接触抗カビ作用の検討

Study of Antimicrobial Ingredients Emitted from Strain TM-N5 under severe conditions

○大浦 皓紀(学生会員)¹⁾, 松本 未来(学生会員)¹⁾, 臼井 千尋(学生会員)¹⁾

山口 辰哉(会員)¹⁾, 浦川 真二²⁾, 中島 幸彦³⁾,

満生 慎二⁴⁾, 永石 雅基⁵⁾, 佐藤 博(会員)¹⁾

1) 長崎国際大学・薬学部, 2) 有 T.M エンタープライズ, 3) 福岡大学・薬学部

4) 九州産業大学, 5) 長崎県窯業技術センター

○ Koki OURA¹⁾, Miku MATSUMOTO¹⁾, Chihiro USUI¹⁾, Tatsuya YAMAGUCHI¹⁾, Shinji URAKAWA²⁾,

Yukihiko NAKASHIMA³⁾, Shinji MITSUIKI⁴⁾, Masaki NAGAISHI⁵⁾, Hiroshi SATO¹⁾

1) Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki International University, 2) T.M Enterprise,

3) Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University, 4) Kyusyu Sangyo University

5) Ceramic Research Center of Nagasaki

Abstract: We previously identified strain TM-N5 as *Bacillus* sp. and verified that they have contactless antibacterial and deodorizing actions, as well as the substances emitted from the bacterial that cause these phenomena. In this study, we examined whether strain TM-N5 can still have such antibacterial and deodorizing effects under severe conditions. When subjected to strenuous environmental circumstances, strain TM-N5 forms spores and continues to sublime some volatile antibacterial substances.

キーワード: 芽胞 (Spore), バチルス属 (*Bacillus*), カビ抑制 (Inhibition of mold generation), 消臭 (Deodorization), 苛酷条件 (Severe Conditions)

1. 緒言

これまで我々は長崎県内の土壌から採取した *Bullicus* 属に属する TM-N5 株について、非接触状態での消臭能と抗菌作用の有無を確認し、本菌から揮散する成分を解析してきた。最近では、乾燥状態においても、消臭能や抗菌作用を発揮するとの報告があったため、苛酷条件下での本菌の作用について検討を行った。

2. 方法

〈抗菌成分の分析〉

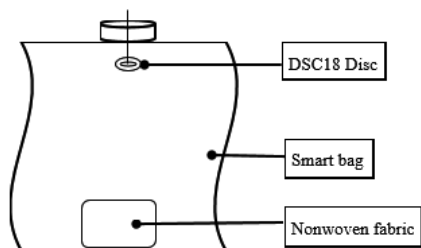


Fig.1 Structure of capture device

温度条件を2つ設定して以下の実験を行った。

乾燥パーライトに TM-N5 株を含浸させた粉体 4 g を不織布に封入し、これを検体とした。対照としては未含浸パーライト 4 g を封入した不織布を用いた。それらを、それぞれ(温度条件 1) 室温、(温度条件 2) 80 °C の条件下で 24 時間恒温した。

それぞれを 5 L スマートバッグにいれ、TM-N5 株から産出される気体を捕集するために、Mono Trap; DSC18 ディスク 1 枚をバッグ上部に取り付けた。これらを、それぞれ(温度条件 1) 37 °C、(温度条件 2) 80 °C 条件下で 24 時間恒温した。その後、それぞれの DSC18 ディスク 1 枚を取り出し、ジクロロメタン 1000 μL に浸し、5 分間超音波処理を施した。この抽出液を以下の条件で GC 分析した。

【GC 条件】

装置: 島津 GC-2014

カラム：DB-WAX(J&W)(0.25 mm×30 m, 0.25 μ m)
検出器：水素イオン化検出器 (FID)
キャリアガス：He 注入口：260 $^{\circ}$ C
注入量：1.0 μ L 検出温度：250 $^{\circ}$ C
流入量：1.5 mL/min

試料注入方法：スプリット (1:5)

カラム条件：50 $^{\circ}$ C(5 min)-10 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C/min

同定としては、標準品の保持時間の直接比較を行った。

〈濁度上昇による芽胞化の評価〉

BactoTM Tryptic Soy 液体培地で TM-N5 株を 48 時間培養した。この菌液 1 mL を 1.5 mL のディスプレイセルに入れ、更にマイクロ回転子(6 $\times$ ϕ 4)を入れた。これを、紫外線可視分光光度計(日光分析 V-530/温度調節装置付き)を用いて、波長 650nm での OD (Optical Density) を 10 秒間隔で 120 分まで測定し、濁度曲線を得た。測定時は、スターラーをオンの状態にし、温度条件は(1)37 $^{\circ}$ C, (2)70 $^{\circ}$ Cに設定した。

3. 結果

〈抗菌成分の分析〉

温度条件 1 では、GC 分析の結果、limonene, benzaldehyde, 1-butanol, 2-butanol が検出された。温度条件 2 は、加熱によって生菌は死滅し芽胞状態のみの菌が残った状態を想定し測定を行った。GC 分析の結果、limonene, 1-butanol, 2-butanol が検出された。

〈濁度上昇による芽胞化の評価〉

Fig.2 から、温度条件が 37 $^{\circ}$ Cの時は、OD₆₅₀ は時間経過と共に、徐々に減少し、2 時間後には、初期の OD₆₅₀ と比べて、約 0.07 の減少を示した。一方、70 $^{\circ}$ Cの時は、OD₆₅₀ は時間経過と共に、徐々に上昇し、初期の OD₆₅₀ と比べて約 0.18 の上昇を示した。

4. 考察

〈抗菌成分の分析〉

抗菌成分の分析において、温度条件 1 は、通常生菌と芽胞状態の混在した状態を想定して測定された。これより、TM-N5 株は通常状態で、limonene や benzaldehyde といった抗菌成分で知ら

れる物質を発していると推定される。一方、温度条件 2 は、加熱によって生菌は死滅し芽胞状態のみの菌が残った状態を想定し測定を行った。これより、TM-N5 株は苛酷条件下でも、limonene といった抗菌成分を発している可能性が示唆された。

〈濁度上昇による芽胞化の評価〉

温度条件が 37 $^{\circ}$ Cの時は、TM-N5 株の OD₆₅₀ は減少を示しており、発芽が徐々に促進されたと推定される。一方、温度条件が 70 $^{\circ}$ Cの時は、TM-N5 株は OD₆₅₀ が上昇しており、高温という苛酷条件下では芽胞化が進むと考えられる。

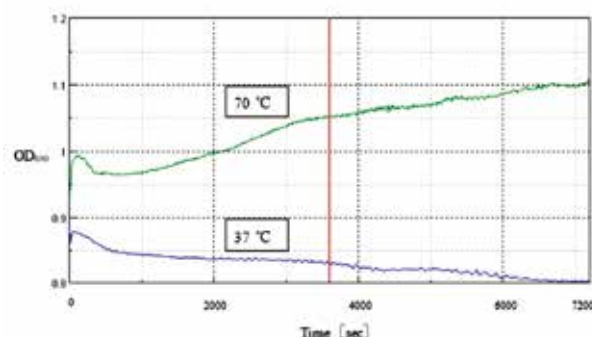


Fig.2 Time-dependent change at OD₆₅₀ and 37 $^{\circ}$ C versus 70 $^{\circ}$ C

5. 文献

- 1) TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd.,
Bacterial identification Premium Report (2015)
- 2) Patent application (2015-028161)
Microorganism having antibacterial and deodorizing action/Antibacterial agent and method and deodorizing agent and method using this microorganism
- 3) Patent application (2016-131236),
T.M Enterprise, Inc., Antibacterial agent and method using substances emitted from bacterial spores
- 4) Yoshio Aoyama, Germination Behavior of *Moorella thermoacetica* Spores, Toyo Institute of Food Technology Research Reports, **30**, pp.49-54. (2014)