

細菌鑄型の迅速作製技術を応用する食品分析リアルタイムセンサの開発

25020A

分野

食品 -
食の安全性

適応地域

全国

【研究グループ】

大阪府立大学 工学研究科・生命環境科学研究科、
農研機構 果樹研究所、グリーンケム株式会社

【研究総括者】

大阪府立大学 長岡 勉

【研究タイプ】

Aタイプ

【研究期間】

平成25年～27年(3年間)

キーワード 肉牛・レタス、細菌センサ、迅速対応、リアルタイム分析、大腸菌群

1 研究の背景・目的・目標

食品の細菌汚染が度々社会問題となっている。これは食品の生産・加工現場においてリアルタイムで経済性に優れ、かつ取り扱いも容易な細菌計測システムが、未だ開発されていないことに一因がある。この研究では、食品分析のこのような現状を打破し、より安全な食品の供給に資する分析システムの開発を試みた。この研究では、我々がこれまで開発してきた鑄型ポリマ作製法を利用して高精度な細菌センサを作製することを目標とした。

2 研究の内容・主要な成果

- ① 細菌計測センサが抗体などのバイオ手法を用いず、極めて簡便な手法で開発可能となった。
- ② 開発した手法では細菌の種類によらず同一手順でセンサの作製が可能となった。生肉や野菜など食品に存在する細菌分析を行った。また、果樹の病原性細菌を検出可能とするセンサの開発にも成功した。
- ③ 細菌の鑄型を有するポリマ・金属ナノ粒子からなるナノコンポジットの作製に成功し、細菌分析に応用した。
- ④ 細菌鑄型膜、ナノコンポジットを用いるディスプレイセンサチップ、光学機器の開発に成功した。食品の細菌分析に応用し、既存手法と一致する結果が迅速に得られた。

公表した主な特許・論文

- ① Shiigi, H. *et al.* "Efficient Collection and Sensitive Detection using Conducting Magnetic Microbeads" *Anal. Chem.*, **86**, 4977-4981 (2014).
- ② Tokonami, S. *et al.* "Recognition of gram-negative and gram-positive bacteria with a functionalized conducting polymer film" *Res. Chem. Intermed.*, **40**, 2327-2335 (2014).
- ③ Shiigi, H. *et al.* "Nanoantennas as Biomarkers for Bacterial Detection" *Anal. Chem.* **87**, 4042-4046 (2015).

3 今後の展開方向、見込まれる波及効果

- ① 細菌検出センサが極めて簡便な方法で開発できるようになったことから、新たな細菌検出が必要となった場合にも迅速な対応が可能となった。また、培養法よりも迅速に測定結果が得られることから、細菌の簡易分析にも応用できる。
- ② 一般的な微生物の検出、発酵過程の管理などへの応用が期待できる。リアルタイムセンサであることから、水質管理などの連続モニタリング用途にも応用可能である。果樹など、植物細菌の検出にも応用可能である。

4 開発した技術・成果が活用されることによる国民生活への貢献

- ① 大腸菌などの簡易検査が極めて迅速に可能となり、衛生管理、食品の安全性に貢献できる。
- ② 新たな細菌による衛生上の問題が発生した場合にも、検出システムが短時間で構築できる。
- ③ リアルタイム連続モニタリングが可能であることから、水質管理や種々の工業プロセスの管理に応用できる。

(25020A)細菌鑄型の迅速作製技術を応用する食品リアルタイムセンサの開発

研究の達成目標

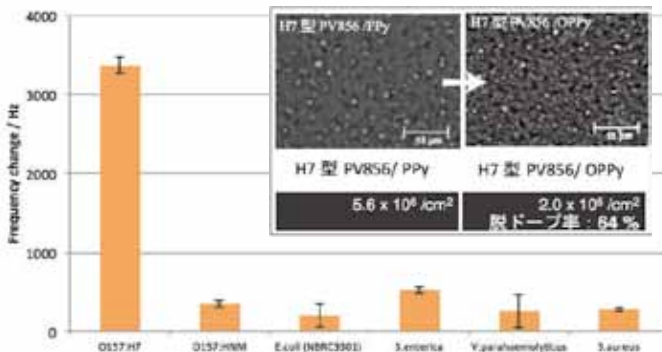
食品中の細菌を検出可能とするリアルタイムセンサを開発する。

主要な成果

- * 従来法(培養法)に比べて迅速に計測可能。
- * 細菌の鑄型はすぐ作製できるので、新たな細菌に対しても対応可能
- * 抗体や酵素を用いないのでランニングコストが小さい。
- * 多種細菌の同時検出(複数鑄型)が可能→細菌群

成果A: 多様な細菌に対する鑄型膜の作製とリアルタイム高感度検出

- ❖ 形状の異なる桿菌, 球菌およびグラム陰性菌, グラム陽性菌の鑄型膜作製と検出に成功
- ❖ 全ての細菌検出において迅速検出(300 s以内)が達成された。感度も目標値(10 cells/mL)に達した。
- ❖ 複数の細菌鑄型をセンサ膜に作製することにより精肉や野菜試料中の大腸菌群の測定にも成功



開発したセンサの選択性、鑄型はO157:H7で作製

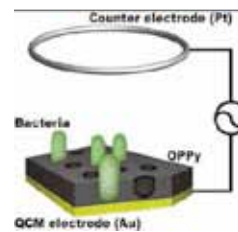
既存検出手法 — 培養法



- * 長い分析時間 (1~7日)
- * 煩雑な操作

技術革新:
培養法からセンサへ

本課題で試作した細菌センサ

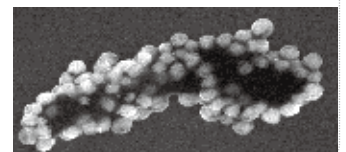


- * 迅速容易な鑄型作製
- * 短い測定時間
- * 熟練作業なし
- * モバイルシステム
- * 安価なシステム構成

成果B: 細菌特異性を有するナノ粒子コンポジットの作製と利用技術開発

- ❖ ポリマーの検討: 目標を上回る透明ポリマコンポジット(400nmの透過率90%以上)の作製に成功
- ❖ 抗体や鑄型導入により, O157への選択性の獲得に成功

細菌に吸着したナノコンポジット → 強力な散乱光を発生し、高感度検出が可能



今後の展開方向、波及効果

- ① 選択性の制御による応用範囲の拡大: 特異的(強毒性大腸菌)、非特異的(大腸菌群)鑄型の開発
- ② 多様な食品試料での分析手法の確立、食中毒細菌だけでなく、発酵など有用微生物センサの開発

国民生活への貢献

- ① 食中毒細菌の簡易作製技術により、食中毒センサが普及し、それによる感染抑制が可能となる。
- ② 果樹病原菌などの検査システムの構築により、農業生産の安定化に寄与できる。