

## 確率論に基づく細菌挙動の数理モデル化： 細菌集団の死滅時間の予測

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学 小山健斗

### 1. はじめに

サルモネラや腸管出血性大腸菌は100個以下の細菌数で食中毒を引き起こす可能性があることが報告されている。乳幼児や高齢者といったハイリスク集団においては、さらに少数でも食中毒を引き起こす可能性がある。しかし、細菌挙動の評価に用いられている決定論的数理予測モデルにおいては、細菌集団の平均的な挙動を予測するのみで、個々の細菌挙動を予測できない。そのため、少数の細菌が生き残るかどうかが適切に評価できない。少ない細菌数で発症する食中毒を考慮すると、現実的な細菌挙動の評価を行うために、個々の細菌のランダムな挙動を加味した細菌挙動の予測をする必要がある。そのため近年、細菌挙動を確率分布として表す数理モデルが注目を集めている。チョコレート、アーモンドなどの低水分活性食品 ( $<0.85$ ) は細菌が増殖するのに十分な水分を含んでいないが、細菌は生残できるため食中毒の発生原因となっており、少ない細菌数での食中毒の報告事例がいくつか見られる。

本研究では、低水分活性食品を想定した乾燥環境下においてサルモネラの細菌集団の死滅に至る時間のばらつきを予測するモデルの開発を行った。乾燥環境下における時間経過による細菌集団の死滅確率を求めるために、96細菌集団の死滅確率を時間経過ごとに求め、確率分布で表記した。

### 2. 方法

過去に食中毒を引き起こした細菌である *Salmonella enterica* Typhimurium を Tryptic soy broth (TSB) に接種して  $37^{\circ}\text{C}$  で24時間2回培養を行った。培養後の菌液を遠心分離 ( $1000 \times g$ ) により、菌体を捕集し、細菌液を作成した。その後、目的の細菌数に適宜純水で希釈した。実験で用いた細菌数は  $1 \times 10^n$  ( $n=1, 2, 3, 4, 5$ ) [CFU/ $\mu\text{L}$ ] であった。作成した細菌液を96穴のマイクロプレートのウェルに  $2 \mu\text{L}$  ずつ分注した。シリカゲルを充填した容器内にマイクロプレートを設置して、 $5, 15, 25^{\circ}\text{C}$  で密閉保存した。細菌の生残を確認するために、TSB  $100 \mu\text{L}$  を各ウェルに分注し、 $25^{\circ}\text{C}$  で1週間培養した。1回の測定で96反復の生残/死滅を測定した。各ウェルの混濁で細菌集団の生死を判定した。結果の解析は Root Mean Square Error (RMSE) が最小になるように、細菌集団の死滅確率を累積ガンマ分布でフィッティングした。さらに、累積ガンマ分布をガンマ分布に変換し細菌集団が死滅に至る時間のばらつきの分布を求めた。

### 3. 結果と考察

細菌集団が死滅する時間のばらつきをガンマ分布で表記するモデルを開発した。時間経過にともなって変化する細菌集団の死滅確率を累積ガンマ分布で表記した。RMSEは0.12以下であり、良好な当てはまりを示した。また、細菌集団の死滅時間をガンマ分布で表記した結果、高濃度汚染や低温度では細菌集団が長く生残する傾向がみられた。細菌集団が長く生残する場合には、細菌集団の死滅時間のばらつきが大きく、確率分布による評価が点による評価より現実的であると考えられる。他の保存方法及び殺菌方法での細菌死滅挙動も今後検討を進めていく必要がある。細菌集団の死滅時間を適切に把握することは、食品の微生物学的安全性の適切な評価や適切な殺菌時間の設定に寄与するものと考えられる。