

2. 芽胞の含水率と、走査型プローブ顕微鏡(SPM)走査型熱顕微鏡(SThM)システムによって求めた、芽胞の各物理項目との耐熱性の相関について

○中西 弘一¹、桑名 利津子²、高松 宏治²

1：ナノ・マイクロバイオ研究所—中西技術士事務所、2：摂南大学薬学部

1. 目的

ナノサーチ技術は、各種走査型プローブ顕微鏡 (Scanning Probe Microscope :SPM) を用いて、超微小レベルで細胞 1 個の様々な物理的評価を行う技術である。これまでに、芽胞形成細菌の芽胞の硬さから耐熱性評価法を、ナノサーマルアナリシス nanoTA-SPM システムで、加熱死滅温度や熱による線膨張率を計測し、転移温度が細胞の加熱死滅温度の新しい指標としての可能性となりうることを提案してきた。物理的特徴として、まずは芽胞の含水率とヤング率(硬さ)、転移温度、熱線膨張そして熱伝導率を、それぞれ比較し、特に、芽胞の耐熱性と深く関係のあろうと推定されるこれら各項目と比較検討を行った。

2. 方法

芽胞のヤング率は SPM によるナノインデンテーション(nano indentation)法で、転移温度や熱線膨張率は、SPM (島津製作所) に nanoTA (日本サーマルコンサルティング) を取り付けた nanoTA-SPM システムで計測を行い、転移温度に至るまでに要した熱エネルギーは熱プローブにかけた電力の積算から求めた (参考文献 1, 2)。また微生物細胞の熱伝導率は、SThM で計測した。SThM の熱プローブを栄養細胞では 60°C、芽胞では 80°Cの加熱温度を採用し、石英スライドガラス (熱伝導率 1.05 J/h・m・K) を基準に、加熱時に細胞内で自然放熱により低下した温度を測定し、これをもとに熱伝導率を求めた。評価対象微生物には、芽胞は芽胞形成細菌 7 株から調製したものをを用いた。栄養細胞については、細菌では *Bacillus* 系細菌に加え、芽胞非形成細菌 3 株を用いた。

3. 結果

微生物細胞 1 個当たりで、nanoTA-SPM により転移温度が、SThM により熱伝導率 (熱抵抗性) が計測可能となった。そして細菌の熱伝導率は、栄養細胞が 0.6~0.8 (J/m・s・K)、芽胞が 0.1~0.4 (J/m・s・K) で、栄養細胞の熱伝導率が高いことが分かった。また、細菌の種間による熱伝導率の差は小さかった。nanoTA-SPM の熱プローブに加えた熱エネルギーと nanoTA-SThM から求めた細胞の熱伝導率から、これまでの熱分析結果の各項目から加熱殺菌に必要な熱エネルギー計算が可能となった。

【参考文献】

1. Nakanishi K et al., :With respect to coefficient of linear thermal expansion, bacterial vegetative cells and spores resemble plastics and metals, respectively. *J. Nanobiotechnology*, (2013) 11:33 (9 October 2013).
2. Nakanishi K, et al., :The Heat Resistance of Microbial Cells Represented by D Values Can be Estimated by the Transition Temperature and the Coefficient of Linear Expansion, *Bicontrol Science*, (2015) 20, 291-294.