

日用品・食品の開発につながる微生物制御の基礎研究



花王株式会社 スキンケア研究所 久保田 浩 美

はじめに

我々の身の回りには様々な微生物が存在し、人は常に微生物と接していく。これらの微生物は時に人に危害を与える、また不快な思いをさせる。例えば、様々な感染症を発症させる、アレルギーの原因となる、食中毒を起こす等、人に対して直接的に危害を与えるのみではなく、自然環境あるいは生活環境において微生物は、腐敗、悪臭の発生、着色汚れの発生、基材の生物学的劣化等の人にとって不快な現象の発生の原因にもなっている。生活に身近な日用品、例えば、衣料用洗剤や仕上げ剤などのファブリックケア製品、台所用洗剤や住居用洗剤などのホームケア製品、歯磨き粉などのオーラルケア製品、シャンプーなどのヘアケア製品、化粧品類、洗顔料、ボディソープ、ハンドソープなどのスキンケア製品では、こういった微生物由来の危害を防いだり不快な現象を低減させたりするような機能を有することが期待される場合が多くある。このような機能を付加させる技術の一つとして、微生物を制御する技術の開発が必要となってくる。

一方、企業が製品を開発、製造し消費者に届ける際には、その品質を保証する責務があり、その一つに微生物学的品質の保証も含まれる。日用品では製造からお客様が使い終わるまで、食品や飲料等ではお客様の手に渡るまでの間、微生物学的品質の確保が必要である。例えば、食品の製造においては、原料、製造管理（環境、設備、方法等）、処方設計、包装容器設計、流通方法等様々な視点で微生物汚染対策を実施する。この対策が十分でないと、製品の変敗、異臭、あるいはパッケージの膨張などの品質劣化を引き起こすことがある。通常このような問題を引き起こす「危害菌」（「変敗菌」、「汚染菌」とも言う）を意識した制御対策を講じ、品質上問題のない製品が流通している。しかしながら製品の特性や危害菌の性質によってはその制御が難しく、制御のために特別な工夫が必要であったり、製造時に様々な制限が生じることで製造方法や商品設計の自由度が低くなったりするため、これらを解決できる微生物制御技術の開発が望まれている。

なお「微生物制御」を広義にとらえ、有用物質生産にむけた产生微生物の生育や代謝などのコントロール、活性汚泥のコントロール等の「有用微生物やその集合体のコントロール」を含める場合もあるが、ここでは、一般に「除菌」、「抗菌」、「静菌」、「殺菌」、「消毒」、「防腐・防黴」、「バイオフィルム除去」、「バイオフィルム分散」、などの言葉で代表されるような「人に害をもたらす微生物やその集合体のコントロール」を指す。

1. 研究戦略

日用品の商品機能としての微生物制御であっても製品の微生物学的品質を確保するための微生物制御であっても制御技術を開発する上では対象をしっかりと把握すること、すなわち、対

象となる環境と制御すべき微生物を正しく理解することが近道であると考えて研究を実施してきた¹⁾。すなわち、課題の発生する環境とその環境における微生物のありのままの姿をとらえる基礎研究が鍵になるとえた。

製品開発の最終段階では、実際の使用場面での評価が欠かせないのであるが、技術を開発する段階では、その技術の能力を正しく把握することが必要であり、そのためには適切な試験法・評価法を採用することが重要となる。演者らは得られた基礎的な知見が技術開発のヒントとなると同時に技術を適切に評価する評価系の構築につながると考えて研究を進めてきた。

本講演では、このような研究戦略で実施した微生物制御の基礎研究について代表的な3つの例を紹介する。

2. 衣類から発生する不快なニオイ²⁻⁵⁾

日本では洗濯ものを室内で干す場合が多く、干している間や乾燥後の使用時に、いわゆる「生乾きのニオイ（生乾き臭）」を経験し、不快に感じる人が多い。また、衣類の着用中、汗をかくような運動をした場合、衣類から汗のような（汗臭）を強く感じ不快になる人も多い。

生乾き臭を有する衣類を集め、成分を解析したところ、4-メチル-3-ヘキセン酸（4M3H）（図1）という微量にしか存在しないが嗅覚閾値の非常に低い物質がキー成分であることが判明した。物質の構造からニオイの発生には微生物の関わりがあると考え、衣類上の微生物を分離して解析したところ、衣類上において4M3Hの発生に大きく関わる微生物として *Moraxella osloensis* の存在が明らかとなった。本菌種については衣類上での検出やニオイとのかかわりに関する報告はなかったが、様々な生活環境中から検出され、特にタオルなどの木綿の衣類にはニオイの有無にかかわらず頻度高くかつ数量多く存在すること、分離源によらず衣類の汚れ成分から4M3Hを生成させる能力を有することが見いだされた。さらに環境ストレス耐性を評価したところ、洗濯環境中に生存しやすい特徴を有することも明らかとなった。

一方、着用中に感じる汗臭については、主成分が单鎖・中鎖の種々の脂肪酸であること、ニオイの発生には汚れ成分と *Micrococcus* 属細菌の関与があることが分かってきた。

3. 浴室に見られるピンク色の汚れ（ピンク汚れ）⁶⁻⁸⁾

ピンク汚れは浴室の排水口、床、壁等に見られ、着色により目立つ、こすらないと落ちない、落としてもすぐに再発するといった問題があり、生活者が浴室において気になる汚れとして

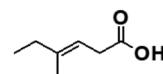


図1. 4-メチル-3-ヘキセン酸（4M3H）

カビ汚れに次いで多く挙げられていた。

様々な家庭の浴室からピンク汚れを採取し解析に供した。走査型電子顕微鏡(SEM)での観察、分離菌の解析、およびFluorescence in situ hybridization(FISH)による解析を行うことにより、ピンク汚れがいわゆるバイオフィルム状態であり、この中に優占する微生物種は *Methylobacterium* 属細菌であることが明らかとなった。浴室から分離された本属細菌は浴室で優占する要因としての様々な特性を有しており、その一つとしてバイオフィルム状態でなくとも洗浄剤成分に対し比較的高い耐性を有することも判明したため、本属に対して効果的に働く殺菌技術の開発を目指した。

Methylobacterium 属細菌に対し短時間では殺菌効果が認められない濃度の洗浄剤成分であっても長時間接触させた場合は殺菌性が認められたことから、基剤の微生物表層への浸透促進に着目し、殺菌性のある基剤の効力を増強させることを試みた。その結果、本属の殺菌に有効である界面活性剤と特定の溶剤の組み合わせが見いだされた。

4. 食品危害菌のバイオフィルム⁹⁻¹¹⁾

食品の危害菌の中でも依然として制御が難しい微生物の一つとして知られている乳酸菌について、より制御が難しくなると予想されたバイオフィルム状態に着目してその特性を把握することを試みた。食品原料であるタマネギより分離された乳酸菌43株及び標準株3株はすべてポリスチレン(親水化処理)上にバイオフィルムを形成した。最もバイオフィルム形成量が多かった *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* JCM1149 や分離株である *L. plantarum* M606株を用いて食品製造や処方設計における制御因子とされている種々の有機酸、エタノール、および次亜塩素酸ナトリウムに対する耐性を評価した。その結果、いずれに対してもバイオフィルム状態が浮遊状態に比べて高い耐性を有していた。

また、分離された *L. plantarum* では、2種類のコロニー形態、①大きさが比較的小さく粘着性の低いコロニー(Compact colony)と②粘着性のあるコロニー(Mucoid colony)が観察された。これらの可逆的な相変異が何らかの環境の変化と関連してその存在比の変化、バイオフィルムの構造の変化、ストレス耐性の変化が起こる可能性も考えられた。

おわりに

上述の2の研究では洗濯環境における制御の対象として *M. osloensis* や *Micrococcus* 属細菌の重要性が認識され、評価系の構築や制御技術開発につながり、衣料用洗剤や柔軟仕上げ剤等の開発の一助となった。また、*M. osloensis* が一般社団法人繊維評価技術協議会の抗菌性試験の「オプション菌」として採用された¹²⁾。3の研究によりピンク汚れの予防にも有効な洗浄剤の開発に寄与することができた。4の研究分野では、これまでバイオフィルムに関する研究は実学的研究のみで基礎的な研究の例が圧倒的に少なかったため、得られた知見は微生物試験系の構築、製造管理等にとって貴重なものとなった。日用品や食品等の製品開発のためには幅広い分野の基礎研究、処方開発研究、包装容器設計等多くの研究が必要である。演者らは微生物制御の基礎研究がその一端を担い、製品を通して社会や人々の生活のお役に立てるこことを願って研究を続けている。

(引用文献)

- 1) Kubota, H. How to study microbial biofilms in a company.

Bacterial Adherence & Biofilm. 27, 11-16, (2013)

- 2) Takeuchi, K., Hasegawa, Y., Ishida, H., and Kashiwagi, M. Identification of novel malodour compounds in laundry. Flavour. Fragr. J. 27, 89-94, (2012)
- 3) Kubota, H., Mitani, A., Niwano, Y., Takeuchi, K., Tanaka, A., Yamaguchi, N., Kawamura, Y., and Hitomi, J. *Moraxella* species are primarily responsible for generating malodor in laundry. Appl. Environ. Microbiol. 78, 3317-3324, (2012)
- 4) Goto T., Hirakawa, H., Morita, Y., Tomida, J., Sato, J., Matsuura, Y., Mitani, A., Niwano, Y., Takeuchi, K., Kubota, H., and Kawamura, Y. Complete genome sequence of *Moraxella osloensis* strain KMC41, a producer of 4-methyl-3-hexenoic acid, a major malodor compound in laundry. Genome Announcements. 4, 1-2, (2016)
- 5) 半田拓弥、松村佑太、佐藤惇、今井真美、大野哲、久保田浩美、牧昌孝、柳澤友樹 衣類の汗臭とその原因菌の解析、繊維学会予稿集、71, 2E03, (2016)
- 6) Yano, T., Kubota, H., Hanai, J., Hitomi, J., and Tokuda, H. Stress tolerance of *Methylobacterium* biofilms in bathrooms. Microbes Environ 28, 87-95, (2013)
- 7) Miyahara, Y., Yano, T., Hanai, J., Yokohata, R., Matsuo, S., Hiratsuka, H., Okano, T., and Kubota, H. Development of novel strategies to control pink biofilms in bathrooms. Bacterial Adherence & Biofilm 27, 55-58, (2013)
- 8) Yano, T., Miyahara, Y., Morii, N., Okano, T., and Kubota H. Pentanol and benzyl alcohol attack bacterial surface structures differently. Appl. Environ. Microbiol. 82, 402-408, (2016)
- 9) Kubota, H., Senda, S., Nomura, N., Tokuda, H. and Uchiyama, H. Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress J. Biosci. Bioeng. 106, 381-386, (2008)
- 10) Kubota, H., Senda, S., Tokuda, H., Uchiyama, H., and Nomura, N. Stress resistance of biofilm and planktonic *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*. Food Microbiology, 26, 592-597, (2009)
- 11) Ehashi, Y., Kawashima, I., Obana, N., Kubota, H., Kiyokawa, T., Yashiro, S., Kakihara, K., Koyama, N., Hasumi, M., and Nomura, N. Two types of colony morphologies detected in *Lactobacillus plantarum* environmental isolates Bacterial Adherence & Biofilm, 30, 25-27, (2016)
- 12) 一般財団法人繊維技術評議会製品認証部、JEC301 SEKマーク繊維製品認証基準、2019年4月1日改定版、p14

謝 辞 ここに紹介いたしました2および3の研究は、花王株式会社において演者の旧所属である安全性学科学研究所のほか、ハウスホールド研究所、感覚科学研究所(旧香料開発研究所)、解析科学研究所および生活者研究部(旧生活者研究センター)のコラボレーションにより多くの研究員とともにに行われたものです。 *Moraxella* 属の分類・同定におきましては、愛知学院大学薬学部教授河村好章先生にご指導いただきました上、お力添えを賜りましたことに厚く御礼申し上げます。また、4の研究の多くは花王株式会社と筑波大学との共同研究により実施されたものです。筑波大学名誉教授内山裕夫先生、筑波大学生命環境系・微生物サステイナビリティ研究センター教授野村暢彦先生、筑波大学医学医療系助教尾花望先生に多大なご指導を賜りましたことに心より御礼申し上げますとともに貢献いただきました学生の皆様に感謝申し上げます。一連の研究を通し、研究環境を整えていただきました花王株式会社の各研究所長、および共に研究に携わって参りました各研究所の研究員の方々に深く感謝いたします。最後になりましたが、本賞にご推薦下さいました花王株式会社生物科学研究所影山泰主席研究員に御礼申し上げます。