

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学 術)	氏名	Waraporn Kusalaruk
学位授与の要件	学位規則第4条第1・2項該当		
論 文 題 目			
<p style="text-align: center;">Application of ethanolic plant extract combined with other hurdles in controlling <i>Escherichia coli</i> (植物エタノール抽出液と他の複合ハードルによる大腸菌の制御)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	中 野 宏 幸	
審査委員	教 授	島 本 整	
審査委員	教 授	羽 倉 義 雄	
〔論文審査の要旨〕			
<p>腸管出血性大腸菌 O157:H7 による食中毒は世界中で問題となっており，食品の生産から流通，消費に至るすべての段階での微生物制御は食の安全確保に必須である。一方，近年の食環境や消費者の嗜好から，低塩・無添加食品，マイルド加熱食品など，微生物リスクの高い食品が増加している。また，消費者の健康志向により化学合成添加物は敬遠されることから，バイオプレザバティブとしてハーブ・スパイス抽出物の微生物制御への利用が注目され研究されている。ところが，大腸菌のようなグラム陰性菌はその外膜が透過障害になり耐性を示すことが知られ，EDTA 等のキレート剤が感受性を高めたという報告はあるものの食品への使用は実用的ではない。一方，食品の微生物制御法として，温度，pH，静菌剤などの制御要因をハードルに例え，それらを適切に複数組み合わせることにより食品の安全性を高めるハードルテクノロジーが注目されている。本研究では，抗菌性を有するハーブ，スパイスなどのエタノール抽出液とグリシン，酢酸ナトリウムといった既知の静菌剤や，pH や低温加熱等のハードルを組み合わせ，大腸菌を増殖制御あるいは殺菌できる有効な植物や併用効果について明らかにしたものである。</p> <p>本論文は5章で構成されており，第1章は「序論」で本研究の背景，目的，意義について書かれている。まず，大腸菌 O157 の特性や食中毒の発生状況が述べられた後，本研究で用いた植物抽出液による微生物制御やその機序についての先行研究が総括されている。さらに，ハードルテクノロジーの理論について述べられ，同時に本研究で取り上げた静菌剤や低温加熱殺菌について紹介している。</p> <p>第2章では，22種類の植物からエタノール抽出液を作製し，まずこれら単独での大腸菌(標準株，O157)とグラム陽性菌(黄色ブドウ球菌，バチルス属細菌)に対する抗菌性を，ディスク拡散法で調べたところ，グラム陽性菌には多くの検体が抗菌性を示したのに対し，大腸菌に対し阻止円を形成したのはローズマリーとクローブのみであった。クローブの大腸菌に対する MIC (最小発育阻止濃度) と MBC (最小殺菌濃度) は 0.4% と同じで殺菌的</p>			

に作用していた。さらに GC-MS 分析によりオイゲノールが主たる抗菌成分であることを確認した。次に、植物抽出液に他のハードルとして弱酸性条件 (pH 5.5), 既存の食品添加物 (グリシン, 酢酸ナトリウム) を組み合わせて試験し, 相乗作用・相加作用の指標となる FIC Index 解析を行っている。その結果, たとえば 0.1%クローブ抽出液は 1%グリシンあるいは 0.1%酢酸ナトリウム添加条件で完全発育阻止を示し相加効果を示した。弱酸性条件やローズマリー抽出液でも同様の併用効果を証明した。

第 3 章では, 前章の結果をもとに植物抽出液, 2%グリシン, 2%酢酸ナトリウムを添加した培地 (普通ブイヨン) での大腸菌 O157 の挙動を調べた。その結果, それぞれ単独で使用するよりこれらを組み合わせると菌数は著しく減少し, 例えば 0.1%クローブあるいは 0.2%ローズマリーを添加した NB (35°C) では 24 時間以内に完全に殺菌した。同様の結果が PBS (リン酸緩衝生理食塩水) においても得られている。

第 4 章では, 食品への応用としてトマトジュースでの大腸菌 O157 の接種保存試験を行った。0.2%クローブ単独では 4°C保存により 7 日で 4D (対数オーダー), 15°C保存は 4 日で検出限界以下まで減少した。55°Cあるいは 60°Cで保持した場合, コントロールでは 1 時間の加熱でも 2 オーダー程度の減少にとどまったが, 0.1%濃度添加するとそれぞれ 15 分, 10 分で検出限界以下 (5D 以上減少) となった。官能試験では 0.1%濃度の添加でも良好な成績が得られたことから, これらの条件をジュースの低温殺菌に適用することで安全で栄養劣化の少ない高品質なジュースの製造が可能なことを明らかにした。

以上, 審査の結果, 本論文の著者は博士 (学術) の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。