

氏名(国籍)	ソントヤー ヌムトゥアム (タイ)		
学位の種類	博士(生物工学)		
学位記番号	博甲第5037号		
学位授与年月日	平成21年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Rapid Determination of Bacterial Contamination in Various Foods Using an Oxygen Electrode</b> (酸素電極による食品細菌汚染の迅速測定)		
主査	筑波大学教授	農学博士	佐竹隆顕
副査	筑波大学教授	博士(農学)	山口智治
副査	筑波大学教授	農学博士	杉浦則夫
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	北村豊
副査	筑波大学教授	博士(工学)	鈴木博章

### 論文の内容の要旨

近年、食品の偽装問題・消費切れ食品の再利用・使い回しなど食への信頼を揺るがす事件が頻発する一方、輸入食品・食素材にあっても残留農薬・使用禁止化学物質の混入が事件としてたびたび明らかとなり消費者の食の安全・安心に対する社会的ニーズが極めて高まりをみせている。このような社会情勢の下、農林水産業・飲食物品産業・醸造業等の生物系産業においては、扱う食品・食素材の安全性をいかにチェックし品質を保証するのかが経営上の大きな命題となっている。一方、経済活動の発展にともない食品などの流通手段は確実に迅速化が進んできており、検査法の簡易・迅速化への社会的要請も高くなっている。しかし、現状の体制は必ずしもこのニーズに対応できていない。例えば、食品・食素材に付着あるいは増殖する有害微生物の検査では、細菌学の創生期から今日に至るまで培養という手段を用いてきたため、最終的な菌の同定ができるまで検査期間は1週間近くを要してきた。近年、有害微生物の検査法の簡易・迅速化に向け、ATP測定法(バイオルミネッセンス法)、PCR法(遺伝子増幅法)、ELISA法(酵素免疫測定法)等が開発され実用に供されている。しかしこれらの測定法にあっても6時間~2日の菌の増菌培養時間や技術を要する前処理が必要であり、また欧米からの輸入技術であるが故に日本の検査事情に即した前処理技術の確立が必要といったさらに改善が望まれる点がある。

本研究においては、食品に付着あるいは含まれる一般生菌を酸素電極(以下BODセンサーという)により簡易かつ迅速に測定する可能性を明らかにする実験的研究を行った。すなわち液体食品の事例としてミルクさらにカットキャベツ、炊飯米およびパスタのクリームソースといった食品に付着あるいは含まれる一般性因数を、その菌体密度の影響下にある酸素消費量として電気信号の形で検出した。はじめに、BODセンサーによるミルク中の溶存酸素計測を行い、ミルクに含まれる一般生菌数の計量を試みた。サンプルは30℃の恒温水槽で2時間恒温処理され、その間の電流変化を連続記録した。一般生菌数の計量は電流減少法および電流減少率法の二つの方法により検討した。120分の測定時間において電流減少法では一般生菌数の計量に明確な傾向が認められなかったのに対し、電流減少率法による計量では一般生菌数と高い相関( $r = 0.90$ )

が認められた。また攪拌の有無にかかわらず高い相関 ( $r = 0.90$ ) を示したことから、BOD センサーにより測定した溶存酸素の減少率はミルクの一般生菌数の重要な指標であることが明らかとなった。

また、温度に関係する菌体の計量モデルを得るため、 $5 \sim 35^\circ\text{C}$  の温度範囲で BOD センサーによる菌体密度の計量を行った。サンプル温度  $10\text{--}35^\circ\text{C}$  において、電流減少率は  $1.9$  と  $7.3 \log$  (CFU/ml) 程度であり、含まれる一般生菌数と高い相関 ( $r \geq 0.90$ ) を認めたものの、 $5^\circ\text{C}$  においては十分な生菌数の検出には至らなかった。 $10 \sim 35^\circ\text{C}$  の分析結果を基に、温度依存型の予測モデル (TD モデル) を開発し、在来法予測モデルと検出精度の比較検討を行った結果、同程度の検出精度が得られることを明らかにした。

またカットキャベツ、炊飯米およびパスタのクリームソース等に含まれる一般生菌数の BOD センサーによる評価を行った。カットキャベツの一般生菌数を測定するため 2 種類の抽出溶液を用いた。抽出溶液 A は培養基なしの抽出溶液、抽出溶液 B は培地を含む抽出溶液である。抽出溶液 A から得られた結果は電流減少率と一般生菌数との相関 ( $r \leq 0.30$ ) が低いものの、抽出溶液 B においては 90 分以上の測定において電流減少率と一般生菌数との間で高い相関 ( $r \geq 0.90$ ) が認められた。これにより生菌数の計量に際しては培養基の添加が有効であることが明らかになった。培養基を添加することにより、炊飯米およびクリームソースに含まれる一般生菌計測においても高い相関が認められ、一般生菌数の簡易で迅速な計量方法としての BOD センサーの可能性が明らかとなった。

## 審査の結果の要旨

近年、消費者の食の安全・安心に対する社会的要請が極めて高くなる一方、経済活動の発展にともなう食品・食素材の流通過程の迅速化が進んでおり、有害微生物検査法の簡易・迅速化のニーズも高くなっている。しかし現行で最新の ATP 測定法・PCR 法等をもってしても 6 時間～2 日の菌の増菌培養時間や技術を要する前処理が必要であり、必ずしも簡易・迅速化が達成されたわけではない。このような社会的背景のもと、本論文は食品の微生物汚染の状況を把握するための新たな簡易・迅速測定方法として BOD センサーの適用の可能性を検討した研究の成果をとりまとめたものである。本研究において、BOD センサーによるミルク・カットキャベツ、炊飯米およびパスタのクリームソースといった多様な食品に含まれる一般生菌の菌体密度の計量評価が現行最新技術に比べて簡易かつ一層迅速に実現できることが明らかにされるとともに、温度依存型の菌体密度予測モデルが新たに提示され実用に向けた可能性が認められた。これらの研究成果は食品・食素材の生産流通過程における品質管理に貢献する貴重な成果であると判断される。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。