

学 位 論 文 題 名

The role of antibacterial and aromatic materials to the preservation of milk

(天然の抗菌物質による牛乳の保存性向上に関する研究)

学位論文内容の要旨

本論文は英文で書かれ、インドネシアにおける飲用乳の細菌による品質劣化を防ぐために蜂蜜および香辛料をはじめとする天然の抗菌性物質の効果を調べたものである。本論文の前半部分では、まずインドネシアにおける酪農事情などについて簡単に説明し、次いでこれまで行ってきた研究に基づいた牛乳の品質劣化の原因およびそれらの研究状況について解説を試みた。後半部分では、抗菌性を持つといわれるハチミツや各種香辛料を牛乳に添加した際の品質の変化および添加物質の効果について検討した成果を述べた。

インドネシアでの酪農事情および牛乳の品質劣化に寄与する要因について

インドネシアの酪農事情は近年かなり改善されてきているが、原料乳段階における衛生状況は手放しで楽観できる状態ではない。一般に牛乳の殺菌目的は、病原性細菌からの汚染の危険性を無くすること、および一般細菌も除くことによって保存性を向上させることである。しかし、殺菌された牛乳でも、保存中に細菌の増殖がみられることは多い。これは牛乳が「なまもの」であるために致し方のないことではあるが、赤道直下にあるインドネシアのような熱帯地方では、搾乳後の生乳の衛生管理および殺菌乳の流通、保存における問題点は多い。適切な殺菌処理によって病原性細菌による食中毒や感染は避けることができるが、流通過程および家庭における一般細菌汚染が生じると、たとえ冷蔵していても細菌数の増加がみられ牛乳の品質は劣化する。本論文では牛乳の細菌による汚染と品質の変化および保存性を主題としているため、これらの点に焦点を絞り、これまでの関連文献を調査して解説した。

牛乳の品質劣化をもたらす細菌はグラム陰性菌である *Pseudomonas* 属が多く、それらが産生するプロテアーゼ、リパーゼ、グリコシダーゼによる乳成分の分解が牛乳の保存性および品質の劣化に大きく寄与している。また、*Pseudomonas fluorescens* は低温においても生育が盛んで、冷蔵庫中でも牛乳の劣化が進むため、殺菌した牛乳であっても十分に留意しなければならない。また、一般に、殺菌された全乳よりも殺菌脱脂乳の方が保存性に劣るといわれていることにも言及している。

インドネシア産抗菌性物質による殺菌乳の保存性の検討

蜂蜜には古くから殺菌力があるといわれており、インヒビンは細菌の増殖を抑える成分であると報告されている。そこで、蜂蜜を牛乳に混合した場合の保存効果を調べた。蜂蜜はインドネシアの Sumbawa 島産の rambutan の花の蜜であり、特に殺菌力が強いと信じられているものである。カートン入りで市販されている殺菌乳 100 ml に 10 g の蜂蜜を添加した。4℃

で10日間の保存中に生菌数を標準寒天平板培養法によって調べたところ、蜂蜜添加、無添加乳ともに菌数は増加したものの無添加乳では1000倍も高い値となり、蜂蜜添加による保存性の改善効果が顕著であった。また、脱脂乳では全乳よりも菌数の増加が大きい傾向が確かめられた。さらにフォルモル滴定法によってタンパク質分解度を、GC-MSを用いて揮発性物質の定性・定量を行ったが、それらの結果は菌数の増加データを反映したものであった。

次いで、インドネシア産の香辛料の添加による殺菌乳の保存性に対する効果を蒸気接触法によって検討した。18人のインドネシア人のパネラーによる官能試験を行ったところ、28種類の保存料添加乳の内、飲用に耐えないものは2種類（ラディシュとカルダモン）であった。さらに4℃で5日間保存し、生菌数、滴定酸度、プロテアーゼ活性（アゾカゼイン法）、リパーゼ活性（ドール法）、タンパク質分解度（フォルモル滴定法）によって保存中の変化を調べた。これらの内で結果の良かったものはシナモン、ジンジャー、ワイルドジンジャー、ターメリック、ショウガ、ナツメグ、コショウ、ガーリック、ガランガルであった。また、全乳と脱脂乳とは同じ香辛料を加えても保存性に差が見られる場合があった。

蒸気接触法による殺菌乳の保存性の検討

牛乳の腐敗防止効果を有する日本およびインドネシアの香辛料などの植物性天然素材30数種についてスクリーニングを行い、有効な素材を10種類ほどに絞り込んだ。この中からさらに日本でよく使われるワサビ、マスタード、ガーリック、ショウガ、山椒、およびペパーミントを選択して実験を行った。前述の直接接触法では牛乳にこれらの香辛料を混合するために、日本人には味覚の点で許容されないことが多かった。そこで直接に混合しないで抗菌性有効成分の揮発性を利用した蒸気接触法を行った。また、負荷試験的に市販殺菌乳（130℃、2秒の殺菌）に *Pseudomonas fluorescens* を接種し、25℃に保温して、菌数を化学発光法によって経時的にモニターした。これは、細菌の有するキノン酸化還元酵素とメナジオンとの反応によって生成する活性酸素を発光強度として測定し、生菌数と関連付ける方法である。その結果、ワサビとマスタードが最も強い細菌増殖抑制を示し、また、牛乳の色調の変化も試験期間（5日間）中には観察されなかった。

最後に、日本で一般に市販されている弁当用抗菌シートの牛乳保存性への効果も調べた。有効成分がマスタード抽出物のもの2種、ユーカリ抽出物1種、銀イオン1種である。上記と同様な実験条件で、マスタード抽出物含有シートおよびユーカリ抽出物含有シートが有効であったが、銀イオン含有シートも3日目まで菌の増殖を抑制できた。しかし、非接触な条件下で牛乳中の細菌の増殖を抑制するメカニズムは不明である。これらのシートはいずれも非接触の条件においても抗菌性がある程度認められたこと、および牛乳に吸着する異臭がないことから、開封後の牛乳の保存性向上に利用できる可能性もある。

まとめ

本研究は、熱帯地帯であるインドネシアにおける牛乳の保存性の向上に寄与することを目的として行い、ここに述べた成果は特にインドネシアの乳業関係者から期待されているところである。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 島 崎 敬 一
副 査 教 授 横 田 篤
副 査 准教授 玖 村 朗 人

学 位 論 文 題 名

The role of antibacterial and aromatic materials to the preservation of milk

(天然の抗菌物質による牛乳の保存性向上に関する研究)

本論文は本文 118 ページからなる英語論文である。インドネシアにおける飲用乳の細菌による品質劣化を防ぐために蜂蜜および香辛料をはじめとする天然の抗菌性物質の効果を調べたものである。本論文の前半部分では、まずインドネシアにおける酪農事情などについて簡単に説明し、次いでこれまで行ってきた研究に基づいた牛乳の品質劣化の原因およびそれらの研究状況について解説を試みている。後半部分では、抗菌性を持つといわれるハチミツや各種香辛料を牛乳に添加した際の品質の変化および添加物質の効果について検討した成果を述べた。

インドネシアでの酪農事情および牛乳の品質劣化に寄与する要因について

インドネシアの酪農事情は近年かなり改善されてきているが、原料乳段階における衛生状況は手放しで楽観できる状態ではない。一般に牛乳の殺菌目的は、病原性細菌からの汚染の危険性を無くすること、および一般細菌も除くことによって保存性を向上させることである。しかし、殺菌された牛乳でも、保存中に細菌の増殖がみられることは多い。これは牛乳が「なまもの」であるために致し方のないことではあるが、インドネシアのような熱帯地方では、搾乳後の生乳の衛生管理および殺菌乳の流通、保存における問題点は多い。適切な殺菌処理によって病原性細菌による食中毒や感染は避けることができるが、流通過程および家庭における一般細菌汚染が生じると、たとえ冷蔵していても細菌数の増加がみられ牛乳の品質は劣化する。本論文では牛乳の細菌による汚染と品質の変化および保存性を主題としているため、これらの点に焦点を絞り、これまでの関連文献を調査して解説している。

牛乳の品質劣化をもたらす細菌はグラム陰性菌である *Pseudomonas* 属が多く、それらが産生するプロテアーゼ、リパーゼ、グリコシダーゼによる乳成分の分解が牛乳の保存性および品質の劣化に大きく寄与している。また、*Pseudomonas fluorescens* は低温においても生育が盛んで、冷蔵庫中でも牛乳の劣化が進むため、たとえ殺菌した牛乳であっても十分に留意しなければならない。また、一般に、殺菌された全乳よりも殺菌脱脂乳の方が保存性に劣るといわれていることにも言及している。

インドネシア産抗菌性物質による殺菌乳の保存性向上の検討

蜂蜜には古くから殺菌力があるといわれており、インヒビンは細菌の増殖を抑える成分であると報告されている。そこで、蜂蜜を牛乳に混合した場合の保存効果を調べた。蜂蜜はインドネシアの Sumbawa 島産の rambutan の花の蜜であり、特に殺菌力が強いと信じられているものである。カートン入りで市販されている殺菌乳 100 ml に 10 g の蜂蜜を添加した。4℃で 10 日間の保存中に生菌数を標準寒天平板培養法によって調べたところ、蜂蜜添加、無添加乳ともに菌数は増加したものの無添加乳では 1000 倍も高い値となり、蜂蜜添加による保存性の改善効果が顕著であった。また、脱脂乳では全乳よりも菌数の増加が大きい傾向が確かめられた。さらにフォルモル滴定法によってタンパク質分解度を、GC-MS を用いて揮発性物質の定性・定量を行ったが、それらの結果は菌数の増加データを反映したものであった。

次いで、インドネシア産香辛料の殺菌乳の保存性に対する効果を抗菌性有効成分の揮発性を利用した「蒸気接触法」によって検討した。18 人のインドネシア人パネラーによる官能試験を行ったところ、28 種類の試料の内、飲用に耐えないものは 2 種類（ラディッシュとカルダモン）のみであった。さらに、生菌数、滴定酸度、プロテアーゼ活性（アゾカゼイン法）、リパーゼ活性（ドール法）、タンパク質分解度（フォルモル滴定法）の測定によって保存中の乳質の変化を調べた。これらの結果の良かったものはシナモン、ジンジャー、ワイルドジンジャー、ターメリック、ショウガ、ナツメグ、コショウ、ガーリック、ガラングルであった。また、全乳と脱脂乳とは同じ香辛料を加えても保存性に差が見られた。

「蒸気接触法」による殺菌乳の保存性の検討

牛乳の腐敗防止効果を有する日本およびインドネシアの香辛料などの植物性天然素材 30 数種についてスクリーニングを行い、有効な素材を 10 種類ほどに絞り込んだ。この中からさらに日本でよく使われるワサビ、マスタード、ガーリック、ショウガ、山椒、およびペパーミントを選択して実験を行った。「直接接触法」では牛乳にこれらの香辛料を混合するために、日本人には味覚の点で許容されることが多かった。そのため「蒸気接触法」を行った。負荷試験的に市販殺菌乳（130℃、2 秒の殺菌）に *Pseudomonas fluorescens* P33 を接種し、15℃に保温して、菌数の変化を化学発光法によって経時的にモニターした。これは、細菌の有するキノン酸化還元酵素とメナジオンとの反応によって生成する活性酸素を発光の強度を測定し、生菌数と関連付ける方法である。その結果、ワサビとマスタードが最も強い細菌増殖抑制を示し、また、試験期間（5 日間）における牛乳の色調の変化もみられなかった。

最後に、日本で一般に市販されている弁当用抗菌シートの牛乳保存性への効果も調べてみた。有効成分がマスタード抽出物のもの 2 種、ユーカリ抽出物 1 種、銀イオン 1 種である。上記と同様な実験条件で、マスタード抽出物含有シートおよびユーカリ抽出物含有シートが有効であったが、銀イオン含有シートも 3 日目まで菌の増殖を抑制できた。これらのシートはいずれも非接触の条件においても抗菌性がある程度認められたこと、および牛乳に吸着する異臭が少ないことから、開封後の牛乳の保存性向上に利用できる可能性が示唆された。

本研究は、熱帯地帯であるインドネシアにおける牛乳の保存性の向上に寄与することを目的として行い、ここに述べた成果は特にインドネシアの乳業関係者から期待されているところである。また、学術的にも興味ある事柄を提供している。

よって、審査員一同は、TATIK KHUSNIATI が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。