

学 位 論 文 の 要 約

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院生物資源学研究科 生物圏生命科学専攻	氏 名	高 橋 和 宏
学位論文の題名 洗淨・殺菌プロセスにおける塩素系酸化剤を用いた海洋性細菌の制御に関する研究 (Studies on the Control of Marine Bacteria using Chlorine-Based Oxidizing Agents in Cleaning and Disinfection Processes)			
学位論文の要約 本論文は、水産加工業をはじめとする食品産業全般における洗淨・殺菌技術の最適化を目的として、食品添加物に指定された塩素系酸化剤である次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)および亜塩素酸ナトリウム(NaClO_2)の固液界面における作用機序の解明と効率的な利用技術の開発に取り組んだ研究である。 次亜塩素酸 (HClO ; $\text{pK}_a=7.5$) と亜塩素酸 (HClO_2 ; $\text{pK}_a=1.9$) は弱酸であり、水溶液の pH に依存して非解離型(HClO , HClO_2)とイオン型(ClO^- , ClO_2^-)の存在割合が変化する。本研究では、 HClO と HClO_2 の解離状態の変化と洗淨・殺菌効果の因果関係に着目し、pH を関数として作用機序の解明を進めた。また、洗淨・殺菌効率を図る因子に時間がある。酸化反応は熱によって促進されることから、洗淨・殺菌効果に及ぼす温度の影響を速度論的に解析した。 魚介類由来の代表的な食中毒菌である <i>Vibrio parahaemolyticus</i> は、製造機器に付着して二次汚染の原因となる。メカニズムは不明であるが、微生物は固体表面に付着することにより次亜塩素酸ナトリウムに対する抵抗性が向上することが知られているため、付着菌の制御が重要になる。従来、付着菌の生菌数を測定するためには、水溶液中に一度回収する脱着操作が必要であり、測定誤差を生じる原因となっていた。 そこで、微生物熱量計を用いて <i>V. parahaemolyticus</i> の浮遊菌数および付着菌数を回収操作なしに直接測定する研究を行った。増殖中に発生する代謝熱から増殖サーモグラムを取得し、これが任意の熱生成量に達するまでの時間の变化から生菌数を概算した。その結果、希釈平板法および微生物熱量計で測定した生菌数に良好な相関関係が得られることを確認し、洗淨・殺菌操作後の固体表面上の生残菌数を測定する評価系を確立した。また、本測定系を用いて <i>V. parahaemolyticus</i> の $g(t)$ 曲線に及ぼす NaCl 濃度と pH の影響を調べ、静菌作用を示す場合は $g(t)$ 曲線の形状が変化することを確認するとともに、 NaCl 濃度が <i>V. parahaemolyticus</i> のアルカリ pH に対するストレス耐性に寄与していることを示した。 <i>V. parahaemolyticus</i> のステンレス鋼表面への付着・脱着挙動は、界面現象に焦点を当てるため、ステンレス鋼の微粒子を用いた液相微粒子分散系にて検討した。まず、電位差滴定法により <i>V. parahaemolyticus</i> およびステンレス鋼の表面電荷密度を測定した後、種々の pH において付着・脱着挙動における静電的相互作用の影響を検討した。その結果、 <i>V. parahaemolyticus</i> は静電的斥力が働く pH 領域でも自発的かつ不可逆的にステンレス鋼に付着すること、最大付着量は <i>V. parahaemolyticus</i> の零電荷点(6.1)付近の pH で得られること、洗淨における脱着量は洗淨液のアルカリ濃度(OH^-)の上昇とともに増大することを明らかにした。さらに、タンパク質やムチン、また <i>V. parahaemolyticus</i> に対する NaClO の洗淨効果は、アルカリ性で存在割合が多い ClO^- の濃度に依存することを示した。 次に、 <i>V. parahaemolyticus</i> の浮遊菌および固体表面付着菌に対する pH 調整 NaClO 水溶液の殺菌効果を速度論的に解析した。その結果、pH が低く非解離型 HClO の存在割合が高い弱酸性の			

NaClO 水溶液ほど一次殺菌速度定数が増大すること、付着により 6~7 倍も HClO に対する耐性が向上することを明らかにした。

続いて、NaClO よりも穏和な殺菌剤である NaClO₂ を用いて、*V. parahaemolyticus* に対する NaClO₂ の殺菌効果を速度論的に解析した。pH 4.0 以下の NaClO₂ 水溶液中には準安定性の非解離型 HClO₂ が存在し、時間経過とともに揮発性の高い二酸化塩素(ClO₂)に変換されて水溶液から失われる。そこで、ClO₂ が生成しない pH 4.0~6.5 の範囲で比較的高濃度(100~2,000 ppm)の NaClO₂ 水溶液を調製して殺菌作用を調べた。その結果、NaClO₂ 水溶液の殺菌力は pH が低いほど増大すること、主たる殺菌因子が非解離型 HClO₂ であること、弱酸性 NaClO₂ 水溶液が、*Pseudomonas* 属をはじめとした他の細菌に対しても殺菌効果を示すことを確認した。また、*V. parahaemolyticus* の殺菌曲線から得られた一次殺菌速度定数は Arrhenius 型の温度依存性を示し、見掛けの活性化エネルギー(E_a)は 43.5 kJ/mol と概算され、殺菌速度は 10℃毎に約 1.8 倍増加することを示した(化学反応律速)。

最後に、ステンレス鋼表面に付着したタンパク質と *V. parahaemolyticus* を対象に NaClO₂ の洗浄効果を速度論的に解析した。その結果、NaClO₂ 水溶液の洗浄力は、pH が低いほど増大し(HClO₂ が洗浄因子)、脱着したタンパク質は低分子断片に分解されていることを確認した。タンパク質および *V. parahaemolyticus* の脱着曲線から得られた一次脱着速度定数は Arrhenius 型の温度依存性を示し、 E_a は 100~120 kJ/mol と概算され、洗浄速度は 10℃毎に約 3.0~3.7 倍増加することを示した(化学反応律速)。また、これらの洗浄過程においてステンレス鋼に対する NaClO₂ の腐食性は NaClO よりも著しく低いことを確認した。

以上の通り、本研究では、微生物熱量計を用いて浮遊菌および付着菌の生菌数を測定する評価系を確立し、NaClO の洗浄力(アルカリ性)と殺菌力(弱酸性)は異なる pH 領域に最適条件が存在することを示す一方で、NaClO₂ の洗浄・殺菌力においてはいずれも HClO₂ (弱酸性)が主たる活性因子であること、そして温度の併用が極めて効果的であることを明らかにするなど、製造現場で効率的な洗浄・殺菌操作を実施するための学術的かつ実用的な知見の取得に成功した。