

学 位 論 文 要 旨

氏 名	アブトゥルスディ イッサ ザカリア
題 目	微酸性電解水による食品安全・衛生に関する研究 (Efficacy of slightly acidic electrolyzed water as a novel non-thermal sanitizer for microbiological food safety control)
<p>公衆衛生の考え方や消費者の知識、食品の処理や加工方法は進歩したにも関わらず、病原微生物によって引き起こされる食中毒は未だ世界中の国民にとって大きな脅威となっている。食品と農産物から食中毒菌を減少し、さらには除去するための有効な手段の開発が望まれている。本研究では、新しい非加熱殺菌剤として、微酸性電解水を生体外での微生物不活化ならびに収穫後の農産物に利用可能であることを評価することを目的として研究を進め、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 微酸性電解水の保存性について確認するため、微生物に対して殺菌力をもたらす物性値 (ACC, pH, ORP) の安定性を調べた。その結果、密閉した容器に 14 日間保存した後も微酸性電解水は殺菌効果を維持していることが確認された。 2. 純粋培養した食中毒菌 (サルモネラ菌, 黄色ブドウ球菌, および大腸菌) に微酸性電解水を 60 から 90 秒間接触させることで, 5 logCFU/ml 以上の菌減少効果が得られ, 強酸性水や次亜塩素酸ナトリウム同等以上の強い殺菌性能が確認された。 3. 食中毒菌に対する微酸性電解水の殺菌効果を農産物についても確認するため, 果実と野菜を使用した実験を行った。まず, ホウレンソウと水菜については, 好気性中温菌を 2 logCFU/g 以上減少できることを確認した。また, 日本で一般的に食されている生食用の野菜を用いた実験によって除菌効果があること, さらに野菜工場で微酸性電解水を使用可能であることを検証した。セルリー, レタスおよびカイワレ大根を用いた実験では, 微酸性電解水処理区と無処理区間の指数減少値が好気性一般細菌数で 2.5 logCFU/g 以上の有意な差を確認した。同様にセルリー, レタス, カイワレ大根の大腸菌とサルモネラ菌をそれぞれ確認したところ, 2.7 logCFU/g 以上と 2.9 logCFU/g 以上減少しており, 無処理区に比べて有意な差を得た。微酸性電解水の殺菌効果をイチゴが本来保有している好気性の中温菌 (一般細菌), および大腸菌とサルモネラ菌を接種して確認した。その結果, 一般細菌では 1.7 logCFU/g, サルモネラ菌と大腸菌では 2 logCFU/g 以上の減少が確認された。 <p>以上のように, 微酸性電解水は非加熱食品殺菌剤として低濃度で中性に近い pH により次亜塩素酸ナトリウム溶液以上の殺菌効果を示すことが明らかとなった。このことは, 微酸性電解水がカット野菜工場で使用している次亜塩素酸ナトリウムの代替となり, その塩素使用量を減らすことが期待できることを意味する。微酸性電解水のさらなる研究を行うことで, カット野菜工場において強酸性電解水と次亜塩素酸ナトリウムの代替品となる可能性を持っていると結論した。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Abdulsudi ISSA-ZACHARIA
題 目	Efficacy of slightly acidic electrolyzed water as a novel non-thermal sanitizer for microbiological food safety control (微酸性電解水による食品安全・衛生に関する研究)

Despite advances in hygiene, consumer knowledge, food treatment and processing, food borne diseases mediated by pathogenic microorganisms still represent a significant threat to public health worldwide. Therefore, developing effective method for reduction or elimination of such pathogens from food and agricultural products in the food industry is of utmost importance.

The objective of this research was to evaluate the potential of Slightly Acidic Electrolyzed Water (SAEW) as a novel non-thermal sanitizer for both *in vitro* microbial inactivation and its real-time post-harvest application on inactivation of microorganisms from different food and agricultural produces (*in vivo*). The obtained results are listed below.

1. The effects of storage conditions and time on the properties of SAEW responsible for its antimicrobial activity (pH, oxidation reduction potential; OPR, and available chlorine concentration; ACC) were assessed. SAEW was found able to maintain its ACC, pH and ORP for a period of 14 days when stored in a full and closed container, indicating that its antimicrobial activity would remain intact during storage.
2. The *in vitro* inactivation efficacy of SAEW against food pathogens of public health significance was examined. SAEW demonstrated a strong anti-microbial activity against pure cultures of *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and their population were reduced by >5 logCFU/ml after 60 -90 seconds of exposure. Its efficacy against food-borne pathogens *in vitro* was compared to strong acidic electrolyzed water (StAEW) and NaOCl solution. Despite of its low ACC, SAEW demonstrated similar or higher efficacy against the tested pathogens.
3. The bactericidal effectiveness of SAEW against food-borne pathogens of most public significance present on different fruits and vegetables (*in vivo*) was evaluated and results are presented. SAEW effectively reduced the population of aerobic microflora present on spinach (*Spinacia oleracea* L.) by more than 2 logCFU/g for a 5-min contact time. It was further evaluated for its decontamination efficacy of Japanese mustard green (*Brassica japonica*) from *E.coli* and its efficacy was compared to NaOCl. About 1.64 logCFU/g reduction of *E.coli* was achieved by SAEW and was again not significantly different from NaOCl. The effect of SAEW on decontamination of ready-to-eat vegetables and sprouts commonly consumed in Japan was examined to seek the possibility of its application on the fresh-cut industry. SAEW significantly reduced the total aerobic mesophilic bacteria from Chinese celery, lettuce and daikon sprouts by ≥ 2.5 logCFU/g relative to un-treated samples, while the population of *E.coli* and *Salmonella spp* was effectively reduced by about 3 logCFU/g. SAEW and NaOCl solution showed no significant sanitization difference during this test. Sanitization potential of SAEW against *E.coli* and *Salmonella spp*. inoculated was further investigated and ≥ 2 logCFU/g reduction of their population was achieved by SAEW treatment and its effect was equivalent to that of NaOCl.

Findings of this research demonstrate that SAEW is a potential sanitizer that would be used as an alternative for StAEW and NaOCl solution in the fresh fruit and vegetables industry.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏名	Abdulsudi ISSA-ZACHARIA
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 石黒 悦爾
	副査 鹿児島大学 教授 岩崎 浩一
	副査 琉球大学 教授 上野 正実
	副査 鹿児島大学 准教授 紙谷 喜則
	副査 佐賀大学 准教授 田中 宗浩
審査協力者	九州大学 准教授 田中 史彦
題目	Efficacy of slightly acidic electrolyzed water as a novel non-thermal sanitizer for microbiological food safety control (微酸性電解水による食品安全・衛生に関する研究)
<p>公衆衛生の考え方や消費者の知識，食品の処理や加工方法は進歩したにも関わらず、病原性微生物によって引き起こされる食中毒は未だ世界中の人々にとって大きな脅威となっている。そのため、食品と農産物に付着する食中毒菌を減少させ、さらには除去するための安全で有効な手段の開発が強く望まれている。本研究では、新しい非加熱殺菌手法として、微酸性電解水を取り上げ、微酸性電解水による微生物の不活化に関する基礎データを得ることと収穫後の農産物への適用性の評価を目的として研究を進め、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 微酸性電解水の保存性について、微生物に対する殺菌効力の指標となる物性値 (ACC, pH, ORP) の安定性ならびに大腸菌への殺菌効果を検討した。その結果、密閉した容器を用いれば 14 日間保存した後も微酸性電解水は殺菌効果を維持していることが確認された。 2. 微酸性電解水の食中毒菌に対する不活性化の効果を評価するため <i>in vitro</i> 実験を行った。その結果、純粋培養した食中毒菌 (サルモネラ菌、黄色 	

ブドウ球菌、および大腸菌) に対して、微酸性電解水を 60 から 90 秒間接触させることで、5 log CFU/ml 以上の菌減少効果が得られ、強酸性電解水や次亜塩素酸ナトリウムと同等以上の強い殺菌性能が確認された。

3. 果実と野菜に付着させた食中毒菌に対する微酸性電解水の実用上の殺菌効果を検討した。まず、ハウレンソウについては、5 分の接触時間で好気性中温菌を 2 log CFU/g 以上減少できることを確認した。さらに、ミズナについては大腸菌を 1.6 log CFU/g 減少させることができ、次亜塩素酸ナトリウムと効果に差異の無いことを示した。また、日本で一般的に食されている生食用の野菜を用いた実験によって除菌効果があることが証明されたことから、微酸性電解水が野菜工場で使用可能であることを検証した。セルリー、レタスおよびカイワレダイコンを用いた実験では、微酸性電解水処理区と無処理区の間で指数減少値が好気性一般細菌数で 2.5 log CFU/g 以上の有意な差を確認した。同様に、セルリー、レタス、カイワレダイコンについて大腸菌とサルモネラ菌への効果をそれぞれ確認したところ、2.7 log CFU/g 以上ならびに 2.9 log CFU/g 以上の減少を示してしており、無処理区に対して有意な差を得た。微酸性電解水の殺菌効果をイチゴが本来保有している好気性の中温菌 (一般細菌)、および大腸菌とサルモネラ菌を接種して確認した。その結果、一般細菌では 1.7 log CFU/g、サルモネラ菌と大腸菌では 2 log CFU/g 以上の減少が確認された。

以上のように、微酸性電解水は中性に近い pH であるにもかかわらず、次亜塩素酸ナトリウム溶液と同等以上の殺菌効果を有することを明らかにした。この研究結果は、微酸性電解水が使用後はただの水に戻り、残留性のない安全な非加熱食品殺菌剤として利用できることを示したものである。このことは、微酸性電解水がカット野菜工場で使用されている次亜塩素酸ナトリウムの代替となり、その使用量を減らすことが期待できることを意味している。本研究は食品安全性の向上に貢献する成果として評価できるものであり、博士 (農学) の学位を与えるのに十分に価値あるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	Abdulsudi ISSA-ZACHARIA
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 石黒 悦爾
	副査 鹿児島大学 教授 岩崎 浩一
	副査 琉球大学 教授 上野 正実
	副査 鹿児島大学 准教授 紙谷 喜則
	副査 佐賀大学 准教授 田中 宗浩
審査協力者	九州大学 准教授 田中 史彦
実施年月日	平成 22年 12月 24日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)	
<input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査および副査は審査協力者の同席の下に、平成22年12月24日の公開審査会において学位申請者に対して、学位論文について説明を求め、その内容および関連項目について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることが出来た。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	Abdulsudi ISSA-ZACHARIA
<p>[質問 1] 論文では、数種類の野菜・果実について微酸性電解水の殺菌効果が確認されていますが、微酸性電解水 (SAEW) が適さない農産物があるとすればどのようなものが考えられますか。</p> <p>[回答 1] 微酸性電解水の殺菌効果は次亜塩素酸によるものであると考えています。そのため、食品表面が油などで覆われている場合には直接菌と微酸性電解水が接触できないため殺菌効果が期待できません。その場合は強酸性電解水と同時に生成されるアルカリ水等にて表面を清浄化して次亜塩素酸が直接接触できるようにしなくてはならないと考えています。</p> <p>[質問 2] 本論文にて食品に付着する食中毒原因菌に対する殺菌効果があることが示されましたが、品質への影響のうち栄養素に関してどのような影響がありますか。</p> <p>[回答 2] 栄養素は大事な問題だと考えていますが、この博士課程の研究ではまずは殺菌効果について焦点を絞りました。ご指摘の件はこの後の研究課題として検証していきたいと思えます。</p> <p>[質問 3] イチゴを用いた殺菌検証実験では、付着菌数が 10^8 個と多ですが、殺菌前に菌を付着した方法はどのように行いましたか。</p> <p>[回答 3] 対象菌を培養した懸濁液 (10^6 個から 10^8 個) にイチゴを浸漬させて触菌しました。詳細は論文に書かれています。</p> <p>[質問 4] 水道水の性状による変化と電気分解強度による生成水の物理化学的特性の変化は確認しましたか。</p> <p>[回答 4] 水道水は鹿児島大学の上水道を使用したが、水の特性は測定していません。また、使用した装置は電解条件が固定であるため電気分解強度による生成水の特性的変化についても検証していません。今後の課題としたいと思います。</p> <p>[質問 5] インビトロによる殺菌の結果とインビボによる結果に何らかの相関性はありましたか。</p> <p>[回答 5] インビトロでは 5~6 桁のオーダーで細菌数の減少が見られたが、インビボで</p>	

は2~3桁の減少でした。これは、食品組織の隙間など直接微酸性電解水が接触出来ない場所に菌が存在していること、および菌集落にバイオフィルムが付着していることで直接的に菌をアタックしなかったためと思われます。インビトロで殺菌効果が高いとインビボでも殺菌効果が高くなる関係がみられています。

[質問 6]

殺菌効果を指数減少値で評価していますが、初期菌数を決定した根拠は何ですか。

[回答 6]

食品を使った殺菌効果を検証する実験を行っている論文が多数報告されています。とくに、強酸性電解水分野で行われた実験は、本研究で行った実験の目的と近いのでこれらを参考にして決定しました。詳細は論文内に参考文献として記載してあります。

[質問 7]

食品と対象水との接触（浸漬）時間を5,10,15,20分としていますが、この浸漬時間は何を根拠として決定されましたか。

[回答 7]

食品衛生法（日本）では、生食用食材の殺菌方法が開示されています。それによると、次亜塩素酸ナトリウムで100ppm-10分、200ppm-5分が推奨されています。この基準に従って浸漬時間を5-20分に決めました。

* アドバイス

既存方法より微酸性電解水が優れた殺菌効果を示す可能性があるため、もっと短い接触時間で殺菌効果を検証するとさらにこの微酸性電解水の有用性が増すと思われます。

品質の面からのアプローチ（栄養素・表面）、安全性の面から（人体、手指への影響）を確認すると良い研究となると思います。

[質問 8]

この論文の新規性、および社会に対する貢献を具体的に説明してください。

[回答 8]

微酸性電解水が食品に付着している食中毒菌の殺菌に有効であることをインビトロとインビボで実証した研究に新規性があると評価され、学会誌に掲載されました。

同様に電気分解で得られる強酸性電解水の弱点である塩素ガスの揮発が抑制されたために保存性が改善されたこと、それと大気中への塩素ガスの放出がなされないため、周辺機器への腐食が抑制されたことで、高価な装置を使用している食品工場でも使用が可能となったこと、さらには、薬剤が入手困難な発展途上国でも、水と電気と塩酸があれば大量に製造でき、簡易に利用でき、しかも従来の薬剤と同程度の殺菌レベルが保持できることから、社会で多く利用される技術になると考えています。