

氏名	佐藤 順
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	論農博第2362号
学位授与の日付	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Studies on Microbiological Control during Tea Beverage Production with PET Bottle Filling (PET容器詰茶系飲料製造における微生物制御に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 村田 幸作 教授 松野 隆一 教授 清水 昌

論文内容の要旨

近年、清涼飲料市場におけるPET容器詰茶系飲料の普及は目覚しいが、その製造方式は「熱間充填法」と「無菌充填法」の二通りに大別される。緑茶やウーロン茶などのカテキン類含有茶では、内容物をUHT (ultra-high temperature) で殺菌後に熱間充填する。「熱間充填法」の汚染指標微生物としては、製造工程や容器由来の細菌芽胞が想定されるが、カテキン類の抗菌作用により微生物学的に安定した品質を維持していると考えられる。一方、混合茶はカテキン類濃度が低いいため、内容物をUHT殺菌した後、薬剤殺菌した容器に無菌の雰囲気下で充填する「無菌充填法」で製造される。その際、容器殺菌に使用されている薬剤に耐性を示す糸状菌類を、製造工程の汚染指標微生物に想定することが多い。

本研究は、PET容器詰茶系飲料製造における汚染指標菌やその微生物学的性状を明らかにし、これらの微生物を制御するために必要なカテキン類濃度や過酢酸による容器殺菌条件を確立することを目的としている。また、混合茶の商業的無菌性を更に向上させるために、原料となり得る各種植物抽出物の抗菌活性を調査し、「無菌充填法」における微生物制御に対する適用性を明らかにしている。

第1章では、「熱間充填法」における芽胞形成細菌の制御法を論じている。カテキン類含有茶を製造する際には、カテキン類濃度が35mg%以上必要であり、この濃度を境に「熱間充填法」と「無菌充填法」とに区分する方法論を提起している。また、*Bacillus coagulans* 芽胞はカテキン類含有茶の汚染指標菌として使用できることを示している。

第2章では、「無菌充填法」における汚染指標菌の同定と性状について明らかにしている。混合茶製造ラインの培地充填試験で発生した不合格品から分離された糸状菌類は、*Arthrimum sacchari* (Speg.) Ellis および *Chaetomium funicola* Cooke と同定された。両株の至適生育温度、至適生育 pH および基礎耐熱性について検討し、D 値 (nD 値: ある与えられた温度において微生物が $1/10^n$ に減少するのに要する加熱時間) が極めて小さいことから、当該培地充填試験では殺菌工程以降で汚染したことを明らかにした。また、両株とも緑茶やウーロン茶のようなカテキン類含有茶中での生育が遅いか、あるいは抑制されたが、カテキン類含有量の少ない麦茶および混合茶中では速やかに生育することを示した。

第3章では、「無菌充填法」における製品容器 (PET ボトルおよびキャップ) の過酢酸による殺菌条件を確立している。*C. funicola* M002の過酢酸耐性は強く、無菌充填の容器殺菌の指標微生物として適当であることを示した。また、*C. funicola* M002のD値と過酢酸濃度との関係を加熱温度毎に解析し、本株に対しては過酢酸濃度のみならず、作用温度の相乗効果も認められることを明らかにした。殺菌濃度指数の概念から、「無菌充填法」での目標殺菌価である6D値を求め、この殺菌価を満足する過酢酸濃度、作用温度、作用時間の組み合わせを明示している。

第4章では *Chaetomium* 対策として、29種類の植物抽出物の抗菌活性について検討している。これらの中で、目薬の木 (*Acer nikoense*)、甘草 (*Glycyrrhiza glabra*)、バナバ (*Lagerstroemia speciosa*)、グアバ (*Psidium guajava*) および緑茶 (*Thea sinensis*) の5試料に高い活性を認めた。このうち、目薬の木、甘草および緑茶の3抽出物について更に有機溶媒分画を進めたところ、甘草のクロロホルム可溶性画分の *A. sacchari* M001 および *C. funicola* M002 に対する最小生育阻止濃度 (MIC) は $62.5 \sim 125 \mu\text{g/ml}$ と低かった。更に、市販の甘草油性抽出物を用い製剤化した甘草製剤の糸状菌類5株に

対する MIC は、*Aspergillus fumigatus* M008以外の全ての菌株に対し、混合茶中で25 µg/mlと低いことも明らかにした。

第5章では、甘草油性抽出物からの抗菌物質の単離および同定を試みている。甘草油性抽出物由来の抗菌成分は glabridin と決定された。本物質はトルエン中で結晶化が起こり、融点、232-234°C；比旋光度、 $[\alpha]_D^{20} = 14.53$ (c=0.234, CHCl₃) であった。Glabridin の MIC は、*A. sacchari* M001および *C. funicola* M002に対して各々6.3 µg/ml, 12.5 µg/ml と極めて低濃度であり、甘草油性抽出物の2~7倍の抗菌活性を有することを示した。以上により、「無菌充填法」で製造される混合茶の商業的無菌性を更に向上させる有効な抗菌剤の開発に成功した。

論文審査の結果の要旨

PET 容器詰茶系飲料の製造において微生物管理上重要な点は、汚染指標菌の設定、内容物のカテキン類濃度、容器殺菌条件、抗菌剤の開発などが挙げられる。近年の小型 PET 容器詰飲料の普及に呼応し、これら要因について検討を加え、最適な微生物制御法を構築することは、一製造メーカーとしてのみならず、清涼飲料業界全体としての使命とも言える。

本研究では、PET 容器詰茶系飲料を製造する際の汚染指標菌やその微生物学的性状を明らかにし、これらを制御するためのカテキン類濃度や過酢酸による容器殺菌条件を確立した。また、混合茶の原料となり得る各種植物抽出物の抗菌活性を調査し、「無菌充填法」における微生物制御に対する適用性を明らかにした。評価すべき点は、次の通りである。

1. 「熱間充填法」でカテキン類含有茶を製造する際に必要なカテキン類濃度を明らかにし、この濃度を境に「熱間充填法」と「無菌充填法」とに区分する方法論を提起した。また、*Bacillus coagulans* 芽胞は、カテキン類含有茶の汚染指標菌として使用可能であることを示した。
2. 「無菌充填法」における汚染指標菌が、糸状菌類の *Arthrimum sacchari* および *Chaetomium funicola* であり、両株の性状や製品中での生育挙動を明らかにし、混合茶製造における問題点を提起した。
3. *C. funicola* が、「無菌充填法」における容器殺菌の指標菌であることを示した。また、殺菌工学的な手法により、目標殺菌価である 6 D 値を満足する過酢酸濃度、作用温度、作用時間の組み合わせを求め、容器殺菌条件を確立し実用化した。
4. *Chaetomium* 対策として、植物抽出物の抗菌活性について検討し、甘草のクロロホルム可溶性画分に強い活性を認められた。市販の甘草油性抽出物を用い製剤化した甘草製剤の、糸状菌類に対する最小生育阻止濃度は、混合茶中で25 µg/ml と低いことを明らかにした。
5. 甘草油性抽出物の抗菌成分を glabridin と決定した。その抗菌活性は、甘草油性抽出物の2~7倍であり、「無菌充填法」で製造される混合茶の商業的無菌性を更に向上させる有効な抗菌剤を開発した。

以上のように、本論文は、PET 容器詰茶系飲料製造における微生物制御法を、食品衛生学または殺菌工学的な観点から構築し、工業レベルでの実用化に成功している。更に、市場における製品安全性をより向上させる有効な飲料製造技術を確立したものであり、昨今の食中毒事例や品質事故を鑑みると、清涼飲料業界のみならず、わが国の食品産業の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成13年1月11日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。