



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the color improvement of meat products using LAB that form ZnPP aerobically and the formation mechanism [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Alam, Md. Kauser-UL
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14370号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81080
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Md_Kauser_UL_Alam_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学） 氏名 Md. Kauser-Ul-Alam

審査担当者 主 査 准教授 若 松 純 一
副 査 教 授 玖 村 朗 人
副 査 教 授 小 林 泰 男
副 査 助 教 早 川 徹

学 位 論 文 題 名

Studies on the color improvement of meat products using LAB that form ZnPP
aerobically and the formation mechanism

（好氣的に ZnPP を形成する乳酸菌を用いた食肉製品の色調改善技術と
そのメカニズムに関する研究）

本論文は、図 45（補足図 4 を含む）、表 18、参考・引用文献 129 を含む総ページ数 179 の英語論文である。他に参考論文 1 編（査読付き論文）が添えられている。

第 1 章では、食肉製品における発色剤の功罪を概説し、発色剤の発癌性のリスクを懸念する消費者と、製品の購買意欲を低減させないことを鑑み、亜鉛プロトポルフィリン IX (ZnPP) を形成させて色調を改善する技術に着目した。そこで本論文では、食経験が豊富な乳酸菌の中に、食肉製品中に大量の ZnPP を形成し、色調改善に役立つ可能性があると仮説を立て、様々なものから ZnPP 形成能の高い乳酸菌の単離を行い、発色剤の代替として食肉製品の色調改善効果を検討した。さらに、分離・同定された高 ZnPP 形成乳酸菌が食肉中で好氣的に ZnPP を形成する機構を解明することを目的とした。

第 2 章では、様々な食品および環境からのサンプルから分離した 450 コロニーから、形態学的ならびに、無菌肉モデル実験系における ZnPP 形成能を指標として、69 株の ZnPP 形成細菌を得た。さらに、酸生成能ならびに、16S rRNA シーケンシングにより 25 株が乳酸菌であることが確認された。重複した種を排除した 13 株が、食肉の色調に及ぼす影響を調べるために、塩を含む無菌豚挽き肉に接種して ZnPP 形成能を評価したところ、全ての乳酸菌が ZnPP を形成した。しかし、*Enterococcus faecium* (EF)、*Lactobacillus curvatus* (LC)、*Lactobacillus plantarum* (LP)、*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (LLC)、および *Leuconostoc lactis* (LL) の 5 株では ZnPP 形成能が高く、明るい赤色を呈したため、有望な候補として選抜した。次に、5 株の高 ZnPP 形成乳酸菌を用いて、亜硝酸塩を含まないドライソーセージを製造し、ZnPP 形成能を検討した。乳酸菌接種ソーセージでは、LC と LP を接種したソーセージでは内部は赤色を示したが、表層部は茶色を示した。しかし、LLC、LL および EF を接種したソーセージでは内部だけでなく表層部も赤色を示し、特に LLC を接種したソーセージの色調は亜硝酸塩添加群の色調に近かった。さらに、モデル実験系においても、表層部の明るい赤色と ZnPP の好氣的形成能との関係性が示された。このため、LLC は好氣的および嫌氣的に ZnPP を形成させ、ドライソーセージ全体の色調を改善できることが示唆された。

第 3 章では、前章で分離・同定され、色調改善効果の高い LLC における好氣的な ZnPP 形

成機構について検討した。初めに、食肉内在性の ZnPP 形成機構も酸素によって阻害されることが知られているが、どのように阻害しているのか明らかになっていないため、ZnPP の各種前駆物質の添加促進効果を検討した。食肉内在性機構では、ミオグロビン (Mb) やヘモグロビン (Hb) などのヘムタンパク質からヘムが遊離して、脱鉄されてプロトポルフィリン IX (PPIX) となった後、亜鉛が挿入されて ZnPP を形成するが、好気性では PPIX 添加したものだけが ZnPP を形成したことから、食肉内在性の ZnPP 形成機構では PPIX 形成までが酸素により阻害されることが示された。一方、LLC 自身が好气的条件で ZnPP を形成するかどうかを、外因性の Hb や Mb を添加した液体培地で検討したが、ZnPP は形成されなかった。さらに、ZnPP 形成に関与している食肉内在性ならびに微生物のフェロケラターゼ (FECH) について、FECH 阻害剤やブランチング処理により検討したところ、食肉内在性の FECH ならびに、高い ZnPP 形成能を有するが好气的には形成できない LC の FECH は酸素によって活性が阻害されたが、LLC の FECH は酸素の影響を受けないことが明らかにされた。一方、LLC による好气的 ZnPP 形成は、生菌だけでなく菌体を除いた培養液の添加によっても増加し、LLC の代謝分泌物に効果がみられた。培養液中の有効成分の好气的な ZnPP 形成効果を検討したところ、限外濾過による低分子量のものや加熱したものでも効果がみられたが、凍結乾燥したものでは大きく低下した。さらに、GC-MS を用いて、培養液中に LC よりも LLC に多く含まれ、かつ、凍結乾燥により減少する化合物として、9 種の化合物が同定された。したがって、LLC の代謝分泌物中の揮発性の熱安定な低分子量の 9 種の化合物の中に、ZnPP 形成を促進する可能性が示されたが、どのように促進するかについては明らかにできなかった。

第 4 章では、各章の検討が総括され、分離した LLC は、その FECH が酸素に影響を受けないために、酸素の存在下または非存在下の両方で ZnPP を形成し、乾塩漬食肉製品全体の鮮赤色を呈したことから、高 ZnPP 形成能を有する LLC は色調改善のための亜硝酸塩/硝酸塩の代替となり得ることを明らかにした。また、LLC 由来の揮発性の低分子代謝分泌物が ZnPP 形成の促進効果を有することが示唆され、非発酵食肉製品においても ZnPP を形成させて色調を改善できる可能性が示された。以上の成果は、新たな食肉製品の品質改善技術に大きく貢献できるものとして、学術的、実用的に高く評価される。

よって、審査員一同は、Md. Kauser-Ul-Alam 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。