



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Survival strategy of foodborne pathogenic bacteria under low water activity environment: Contribution of glass transition phenomenon of bacterial cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	李, 京珉
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14371号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81124
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Lee_Kyeongmin_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 Kyeongmin Lee

審査担当者	主 査	教 授	小関 成樹
	副 査	教 授	岩渕 和則
	副 査	助 教	小山 健斗

学位論文題名

Survival strategy of foodborne pathogenic bacteria under low water activity environment:

Contribution of glass transition phenomenon of bacterial cells

(低水分活性環境における食品媒介食中毒細菌の生存戦略：
細菌細胞のガラス転移現象の寄与)

本論文は英文 85 頁，図 10，表 7，5 章からなり，参考論文 1 編が付されている。乾燥は食品保存の効果的な技術の一つであり，世界中で古くから使用されている最も基本的な食品保存技術の一つである。乾燥操作は，微生物が利用できる食品中の遊離水分を減らすことにより，微生物の代謝活動を抑制する。しかし，乾燥食品に由来する食中毒事故は世界中で多発している。水分活性（Water activity, a_w ）の低い食品では細菌の活動を維持することが難しいことは広く知られているが，細菌細胞が低 a_w 環境下で生き残る理由は明らかになっていない。低 a_w ストレスに対する病食中毒細菌細胞の環境ストレス耐性の原因を明らかにするために，本研究では従来の生化学的アプローチではなく，細菌細胞の物理的特性の変化であるガラス転移現象に焦点を当て各種の検討を行なった結果をまとめたものである。

1. *Salmonella enterica* のガラス転移温度と耐熱性の関係解明

Salmonella enterica は，世界中のさまざまな乾燥食品で報告されている食品由来の病原菌である。低 a_w 環境下での乾燥食品中の *S. enterica* の生存の原因を明らかにするために，物質の状態変化であるガラス転移現象に焦点を当てた。新たに開発した熱レオロジー分析法を用いて，異なる水分活性条件下での 5 種類の *S. enterica* 血清型のガラス転移温度（ T_g ）を明らかにした。低 a_w 条件（ $a_w < 0.75$ ）では，すべての *S. enterica* 血清型は，45～62℃ などの比較的高い T_g を示した。これらの結果は，*S. enterica* が室温下あるいは乾燥食品条件下において，ガラス状態で存在する可能性を示唆した。さらに，さまざまな a_w 条件で乾燥調整した *S. enterica* の耐熱性を

60°C で 10 分間検討した結果、低 a_w 条件下での *S. enterica* がより高い耐熱性を示したことから、ガラス状態と耐熱性とが互いに関連していることを明らかにした。これらの結果は、乾燥食品中の *S. enterica* の長期間に及ぶ生存を理解する基礎知見と言える。

2. *Cronobacter sakazakii* のガラス転移温度の解明

Cronobacter sakazakii は、粉末乳児用調製粉乳を汚染する病原菌として世界中で広く知られている。しかし、低 a_w の粉末乳児用調製粉乳における *C. sakazakii* の汚染原因と長期間にわたる生存の理由は、これまで長い間不明であった。細菌細胞のガラス転移現象は、低 a_w 条件下での *C. sakazakii* の生存と関係がある可能性があるため、*C. sakazakii* の 6 菌株の T_g を明らかにした。検討した 6 菌株間において、*C. sakazakii* の T_g に有意差があることを示した。しかし、*C. sakazakii* の T_g は、菌株に関係なく、低 a_w 条件下 ($a_w < 0.57$) で 35~60°C の範囲でした。このことは、*C. sakazakii* が室温以下において、ガラス状態で存在することを示唆していた。以上のように、乳児用調製粉乳での *C. sakazakii* の生存は、細菌細胞のガラス転移に起因する結果を示した。

3. 保存中の生存率と耐熱性に及ぼす *Cronobacter sakazakii* の乾燥方法の影響

乾燥食品を製造するために様々な乾燥方法が食品産業界では用いられているが、乾燥細菌細胞の生存と耐熱性に対する乾燥方法の影響については、これまでに注目されることがなかった。しかし、食品業界にとって、低 a_w 条件下での保管中の細菌の生存に対する乾燥方法の影響を特定することは重要である。低 a_w 条件下での *C. sakazakii* の生存挙動を明らかにするために、風乾および凍結乾燥細菌細胞の T_g の比較と、貯蔵中の生存動態を検討した。*C. sakazakii* の T_g は乾燥方法に依存し、風乾した *C. sakazakii* は凍結乾燥細胞よりも高い T_g を示した。また、風乾した *C. sakazakii* 細胞は、凍結乾燥した細胞に比べて、保存期間中の長期間の生存率が高かった。さらに、風乾した *C. sakazakii* 細胞は、40°C での保存中に凍結乾燥した細胞よりも高い生存率を示した。凍結乾燥した *C. sakazakii* の T_g (約 33° C) が室温程度と低いことから、乾燥方法によって細菌細胞の T_g が変化して、乾燥食品の微生物食品の安全性を確保する上で重要な役割を果たす、といった学術的にも産業利用場においても重要な新たな知見を得た。

以上、本研究では食中毒の原因となる細菌細胞が乾燥条件下においてガラス転移することで、長期間にわたる生存を可能とする極めて重要な新知見を見出していることから、審査員一同は、Kyeongmin Lee 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。