

## 論文の内容の要旨

生物・環境工学 専攻  
平成 22 年度博士課程 進学  
氏 名 金 仙 女  
指導教員名 大下 誠一

論文題目 分光分析を利用した野菜付着生菌数の非破壊評価に関する研究

食生活の多様化がすすむ現在、野菜の消費者ニーズは高品質で安全な農産物・食品へ向かう傾向にある。生鮮野菜の鮮度低下や劣化の早さは、食品の多量廃棄(農林水産省, 2009)や消費量の低下を引起す深刻な問題である(津志田, 2003)。さらに食生活の簡便化、健康志向に伴い、一人当たりの野菜消費量全体では、減少傾向で推移しているが、サラダを食べている傾向が増えている(農林水産省, 2010)。一方、野菜は土壌に接触することが多いため、微生物に汚染されやすい食材である。生鮮野菜の腐敗の原因は種々あるが、主なものは微生物汚染によるもので、生鮮野菜には一般生菌数が  $10^3$  CFU/g $\sim 10^7$  CFU/g 付着しており、この増殖は品質劣化の一因であり、腐敗に至る(Beuchat,1996)と同時に、野菜の鮮度にも関わっている。そのため、農産物が生産されて消費者の口に入るまでのすべての段階で衛生的に管理されることが重要であり、適切な品質管理が求められている。従って、衛生的に野菜を管理する解決策としては、収穫後、野菜の品質評価技術の開発が期待されている。

葉菜に付着した微生物は葉表面に多く存在すると考えられる。一方、葉の表皮組織には UV-B (280~320nm) の紫外光を吸収する機構があり、表皮組織を透過する UV-B は 10%以下であるとされている (寺島, 2001)。そこで、葉表面の情報を検出するには、分光反射スペクトルの利用が有効と考えられる。この分光分析により野菜の表面に付着した一般生菌数を評価できれば、一般に利用されている標準平板菌数測定法 (SPC) の問題点である破壊検査をせず、生鮮野菜の一般生菌による汚染状況をリアルタイムで評価し、衛生的な管理技術の基礎となることが期待される。

本研究では、市販されている生鮮野菜の一般生菌数の経時変化を測定し、生鮮野菜の表面一般生菌数と葉表面の分光反射スペクトルとの関係を検討し、一般生菌数を非破壊的に推定するモデルを提案すること目的とした。

本論は 6 章から構成され、第 1 章では序論、第 2 章で既往の研究における問題点の抽出および解決策と本研究の目的を記した。

第 3 章は、ホウレンソウ葉の分光スペクトルと葉表面付着生菌数との相関関係について検討した。このため、分光反射スペクトルを吸光度に変換し、さらにデータの前処理として二次微分をした。単回帰法による吸光度二次微分スペクトル (250nm~490nm) と一般生菌数との相関関係と並行して、部分最少二乗 (PLS) 回帰分析法による一般生菌数の推定を行った。単回帰結果では、250nm~490nm 全波長域で、相関係数の絶対値が 0.5 以上であり、高い相関関係を示した。よって、単回帰法による一般生菌数の吸収波長の精査は難しい。PLS 回帰モデルによる結果、潜在変数 (LV) が 4 のときに Calibration は相関係数  $R=0.95$ , RMSEC 0.19 CFU/g, Cross-Validation には相関係数  $R=0.94$ , RMSCVC 0.26 CFU/g であり、予測精度が高いモデルが構築された。これらの方法で評価を行うことで、一般生菌が持つ ATP の吸収波長域を精査する手法を提案した。さらに、スコア値とローディングの検討により、吸光度二次微分スペクトルとも対応している 292nm の吸収波長が一般生菌数に関係することが推定された。一方、430nm~470nm 付近のローディングの重みが高い結果であるが、恐らくはクロロフィルに関すると考えられます。

第4章では、ホウレンソウ葉のクロロフィル含有量について検討を行った。第3章では、高い精度のモデルが構築されたが、モデルの作成に寄与した430nm～470nm付近の波長帯の吸収物質が一体クロロフィルで間違いないかの問題点を解決するために、ホウレンソウ葉の分光スペクトルからクロロフィル含有量の推定モデルを構築し、第3章と同じ解析方法をもちいて、スコア値とローディングの検討による、ホウレンソウ葉の生体内におけるクロロフィルの吸収極大を精査することを目的とした。葉の吸光度二次微分値とクロロフィル含有量のPLS回帰分析により、潜在変数(LV)が2のときにCalibrationでは相関係数 $r=0.93$ 、RMSEC=0.08mg/g、Cross-Validationについては相関係数 $r=0.90$ 、RMSECV=0.10mg/gという結果から高い推定モデルが得られた。さらに、スコア値とローディングの検討により、吸光度二次微分スペクトルとも対応している466nmの吸収波長がクロロフィルに関係することが推定された。従って、第3章での回帰モデルに寄与が高い430nm～470nmはクロロフィルの吸収であることが裏付けられる。

第5章では、野菜の一般生菌数を推定する手法を実用化するために、教務用に流通されるカットレタスを用いて、第3章で示した評価手法を用いて検討した。PLS回帰分析により、吸光度および一般生菌数の検量線の作成、推定精度の検証を行った結果第3章で得られた結果潜在変数(LV)が7のときにCalibrationは相関係数 $R=0.98$ 、RMSEC 0.18 CFU/g、Cross-Validationには相関係数 $R=0.53$ 、RMSCVC 1.07 CFU/gであり、一般生菌数の検量線の作成には高い相関関係である。しかし、Cross-Validationから一般生菌数を予測するには、RMSCVCが1.07 CFU/gとなっており、一般生菌数を推定すると予測値が実際値の十分の一か百倍となり、比較的精度が低く、正確に一般生菌数を予測する結果には至らない。この原因は、カットレタスは袋済みのものであり、複数の品種が混ざっていること、実験の測定には毎回同じ部位の測定が不可能だった点が挙げられる。

第6章は、本論分で得られた結論を総括し、また、分光分析を利用した野菜に付着一般生菌数を非破壊的に推定する手法の利点・問題点を占示し、今後の課題を述べた。

以上、本論文では、生鮮野菜の付着菌数について分光反射スペクトルを用いる方法を利用した非破壊評価について検討した。品種を揃えたホウレンソウでは、高い相関関係である推定モデルが構築された。しかし、カットレタスでは、**Cross-Validation** によるモデルの精度は低いため、一般生菌数の推定には至らなかった。さらに、それぞれの実験における一般生菌数の推定に寄与している波長域は、ホウレンソウ葉における実験では 292nm、カットレタスにおける実験では 306nm であることが示唆された。また、既往の研究において、ATP は pH7 で 259nm に吸収極大を示すことが知られ、生体内において吸収極大が純物質のそれに比べて長波長側にシフトする現象は一般的に認められており、10~50nm ほどシフトするといわれていることを確認した。