

令和元年6月6日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05010

研究課題名(和文)水分子ネットワークに着目した食品・農産物評価技術の開発

研究課題名(英文) Quality evaluation of food and agricultural products using water molecule network

研究代表者

小川 雄一 (Ogawa, Yuichi)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：20373285

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：水分子動態の情報を含むテラヘルツ(THz)分光法で農産物や食品を計測し、解析手法の開発およびその応用可能性を探索した。水溶液中の水和状態を評価する手法を確立するとともに、THz分光法は既存の水分活性と違う、より弱い水分子間の結合(バルク水)を計測していることを明らかにした。吸収スペクトルからデンプンの定量評価の可能性を示した。さらに、生体反応の場である水分子にTHz波を照射することで、アクチンの重合性が亢進することを発見した。詳細なメカニズムは不明であるものの、非熱的に対象物に作用させつつ反応性を変化させることが出来る、新しい食品や農産物加工技術への応用可能性を見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

農産物・食品の加工や分析への電磁波利用は、我々の食の安全や安心を支える基盤技術となっている。一方、多様化する消費者ニーズや激変する生産環境等を考えると、新たな分光分析手法の開発は必須である。テラヘルツ帯に水の吸収が多いことを考えると、水分子の詳細な情報が隠されていると期待される。これに基づいて農産物等を評価するという試みは世界的にも例を見ない。そこで本研究では、この挑戦的な課題に取り組み、計測手法や評価法および利用法を開発してきた。ここで得られた結果は、従来の分光法とは全く異なる品質評価法を提案するとともに、非加熱的に生体分子の反応性を制御するという新しい食品加工を提案するものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, terahertz (THz) spectroscopy, including information on water molecular dynamics, was applied to agricultural products and foods and the development of analysis methods and their potential applications were explored. We established a method to evaluate the hydration state in aqueous solution and were succeeded in revealing the bulk water dynamics with weak hydrogen bonds, which is different from existing water activity. The absorption spectrum showed the possibility of quantitative evaluation of starch. Furthermore, we found that the polymerization of actin is enhanced by irradiating THz waves to water molecules which are the place of biological reaction. Although the detailed mechanism is unknown, since the reactivity can be changed by non-thermal effects, the possibility of applying to new food and agricultural processing technology could be found.

研究分野：生物センシング工学

キーワード：テラヘルツ波 水分子 デンプン 水分活性 照射影響

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在、農産物の非破壊品質評価の中心は、近赤外分光法や可視光による内部品質と表面品質の評価手法であるが、近年の目覚ましい技術革新によりテラヘルツ帯の農産物評価も各国で検討が進んでいる。テラヘルツ帯は水の吸収が大きくその中に水分子ネットワークの情報が含まれる一方、その吸収スペクトルに他の溶質分子の寄与が小さいことが分かっている。また、可視光に比べて透過性を持つことから、農産物に対して適度に透過し、表層の吸収スペクトルの中に含まれる情報を解析することで、農産物の品質や鮮度を評価できるのではないかと考えられる。他方、食品中の水は、食品そのものの品質に関わるとともに、不要な自由水は細菌の温床となることから、水分活性値といった破壊検査による指標が設けられている。つまりどの程度結合水や自由水があるかを非侵襲的に理解することができると、高品質で安全な食品を検査出来るとともに、新たな機能を持った食品創出にも貢献できる技術と考えられる。このとき、テラヘルツ分光法は非破壊検査の可能性が考えられるものの、水分活性値と、テラヘルツ分光法で得られるバルク水との関係は明らかになっていない。このように水と食品・農産物は極めて密接に関係しているにも関わらず、食品や生体中の水そのもののダイナミクスを非破壊的に計測することは既存技術では困難であり、新しい計測手法が求められている。

### 2. 研究の目的

本研究では、テラヘルツ分光法を利用することで、農産物や食品に含まれる水分子を理解するための技術開発を目的とし、農産物や食品に対する新たな計測手法の開発や食品の吸収スペクトルの機序解明、水分活性値との比較によるテラヘルツ分光情報との関係性解明を行った。さらに、水を“生体反応の場”として捉えた場合、その場をテラヘルツ光で励起するとどういった現象が生じるのかという探索も実施した。特にここでは非熱的な効果を探査することで、新しい食品加工技術を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究は、以下の4つの項目について実施した。

#### スペクトル解析技術の高度化

テラヘルツ帯の分光情報を解析する手法を開発するために、二糖類の水溶液を用い、水素結合ネットワークの破壊効果を評価した。0.5 GHz から 12 THz および 20 から 120 THz の帯域をカバーする分光スペクトルを取得した。FIR FT-ATR および IR FT-ATR で得た反射率スペクトルは、クラマース・クローニツヒ変換を介して反射率から位相情報を得、この位相差と s 偏光反射率から複素反射係数を導出した後、複素誘電率のスペクトルを取得した。さらにこの誘電率スペクトルを 緩和、 緩和、遅い緩和、速い緩和、分子間振動、ライブラーシヨンの関数にフィッティングし解析を行う技術を開発した。

#### テラヘルツ帯における農産物分光情報理解

テラヘルツ帯で農産物中のどういった情報が得られるのかを調べた。対象物には鮮度が重要なレタスやサツマイモを用いた。テラヘルツ分光を葉物野菜に利用し、鮮度等を評価する場合、表面や内部の散乱を考慮する必要がある。一方、葉物野菜の鮮度において、内部の空隙を支える構造の強度は鮮度とともに低下し、萎びを生じさせる。つまり、透過性を有するテラヘルツ光で、葉内の空隙率を評価できると、新しい鮮度評価になり得る。そこで、レタスを対象とし、貯蔵過程における空気間隙の変化を調べた。また、サツマイモに関してはデンプン粒が結晶構造を保っていることが知られているため、将来的に水分を含んだ状態でも計測できる可能性がある。またデンプンは加熱加工時や貯蔵過程において糖に変化することから、食品としてのポテンシャルを示す指標になることが考えられるため、テラヘルツ分光によるデンプンの定量性を調査した。

#### 水分活性値とテラヘルツ分光による水の情報の関係性

濃度の異なるスクロース水溶液を用いて、水分活性値による自由水とテラヘルツ分光法の解析で得られるバルク水との関係を調べた。さらに大腸菌の対数分裂期の増殖能の律速に自由水・バルク水が関わりとの仮定のもと、異なる自由水・バルク水濃度の培地中での大腸菌増殖能を評価し、テラヘルツ分光法で非破壊的に大腸菌の増殖しやすい環境であるかの判別が可能性について探索した。

#### 高強度テラヘルツ光源による生体分子の反応系に対する影響探索

水そのものがテラヘルツ光を吸収するという事は、その瞬間の水分子ネットワークが励起されている状態と考えることができ、水分子ネットワークを反応の場とする生体分子は、照射の有無でその反応性が変化すると着想した。そこで、高強度テラヘルツ光源として、ジャイロトロンを用いた照射実験を行った。水溶液中で重合・脱重合反応を示すアクチンを対象とし、その反応曲線を照射の有無で比較した。このとき、加熱してしまうとテラヘルツ光の効果とは言えなくなることから、照射条件は 0.46 THz, 10 ms pulse duration, 1 Hz repetition とし、このときのパルスエネルギー密度は 5.7 mJ/cm<sup>2</sup> であった。蛍光測定には Glomax 20/20(Promega Corp.)を用い、重合開始から 5 分間隔で 20 分間行った。なお、このときの温度上昇は 1 以下であり、照射した 0.46 THz は の研究から、水の速い緩和とピーク付近に相当することが分かっている。

#### 4. 研究成果

##### スペクトル解析技術の高度化

スクロースとトレハロース水溶液の広帯域なスペクトルによる水分子ダイナミクス解析法の開発を行った。二糖のもつ水素結合ネットワーク破壊効果を評価するため、THz 分光によって二糖水溶液中の水の複素誘電率を導出し、水和特性および水の水素結合による四面体構造の歪みを評価した。その結果、トレハロースはスクロースよりも大きな水和特性を示すことが確認された。さらに、本研究では水溶液中の水の濃度を補正するため、各試料の振動子強度をそれぞれの水の濃度で割り、純水の値が1となるよう規格化した振動子強度  $f_s'$  を求めた(図1)。これより二糖が水の水素結合の不均一さをもたらし、四面体構造を歪めていることが示された。さらに 5 THz 付近に観測される水の分子間伸縮振動モードからは、特に高濃度の二糖水溶液において、水和による強い水素結合や水分子同士の水素結合状態のばらつきに起因すると考えられる四面体構造の歪みが確認された。これらの基礎研究により、テラヘルツ分光法を中心に広い帯域の分光スペクトルを組み合わせることで、より詳細な水分子ダイナミクスを評価できる方法が構築でき、その一連の解析方法を提案することができた。

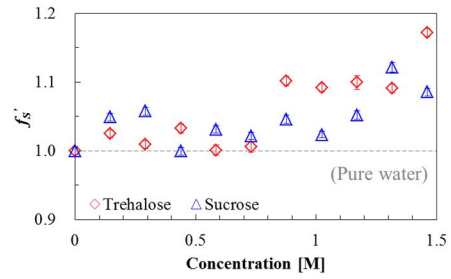


図1 溶質濃度と規格化した振動子強度

##### テラヘルツ帯における農産物分光情報理解

デンプンの標準品と発芽過程のリョクトウの凍結乾燥サンプルのテラヘルツ吸収スペクトルを図2に示す。リョクトウの種子にもデンプン由来と思われる吸収ピークを見ることができ、発芽過程において、その吸収ピークの強度が低くなる様子が確認された。さらに確認するためにリョクトウの種子に含まれるデンプンを加水分解してその後でスペクトルを確認すると、同様に吸収ピークが見えなくなっていた。特に9 THz にみられるピークはデンプン量と相関があり、決定係数は0.95であった。サツマイモの場合、加熱により甘みが増すことが知られており、これはアミラーゼによる分解である。そこで本研究では、サツマイモの加熱過程におけるデンプン量の推移とスペクトルの関係を調べた。デンプン量はHPLCで測定し、相関を調べたところ、やはり9THz 付近の吸収ピークが分解とともに小さくなる傾向が見られ、決定係数0.93を得た。つまり、サンプリングして凍結乾燥し、分光測定するとデンプン由来の吸収ピークが観測され、これは分子内振動を計測する赤外分光法では測定が困難と考えられることから、テラヘルツ分光法のひとつの特徴と言える。

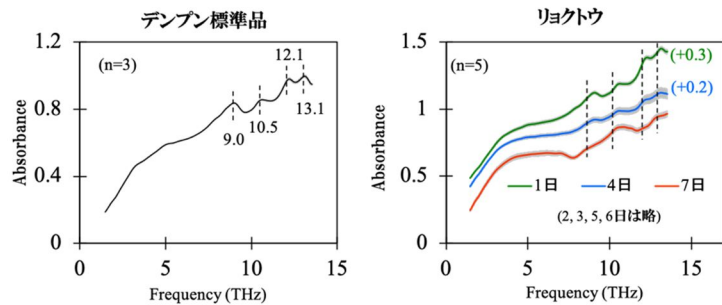


図2 デンプン標準品と発芽過程のリョクトウの凍結乾燥品のテラヘルツ吸収スペクトル

と、同様に吸収ピークが見えなくなっていた。特に9 THz にみられるピークはデンプン量と相関があり、決定係数は0.95であった。サツマイモの場合、加熱により甘みが増すことが知られており、これはアミラーゼによる分解である。そこで本研究では、サツマイモの加熱過程におけるデンプン量の推移とスペクトルの関係を調べた。デンプン量はHPLCで測定し、相関を調べたところ、やはり9THz 付近の吸収ピークが分解とともに小さくなる傾向が見られ、決定係数0.93を得た。つまり、サンプリングして凍結乾燥し、分光測定するとデンプン由来の吸収ピークが観測され、これは分子内振動を計測する赤外分光法では測定が困難と考えられることから、テラヘルツ分光法のひとつの特徴と言える。

レタスを対象とし、テラヘルツ透過スペクトルから得た、貯蔵過程における空気間隙(気相)の変化を調べた。貯蔵時間におけるこれらの変化を観察すると、液相は内部の水分なので、徐々に減少していく様子が見られ、固相は変化が見られなかった。それに対し、気相は6時間にかけて上昇し、その後徐々に減少する傾向が見られた。この結果は、水分減少に伴う新たな空隙の出現や細胞自体が収縮しているためと考えられ、テラヘルツ光の透過特性には細胞レベルでの構造変化の情報が含まれていることを示唆する結果を得た。

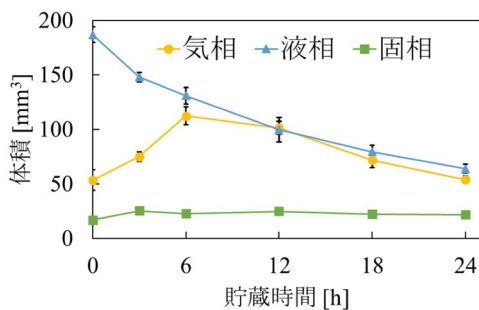


図3 THz 透過光を元に解析したレタス3相の体積変化(貯蔵条件 10℃, 90%RH)

##### 水分活性値とテラヘルツ分光による水の情報の関係性

食品や農産物の保存において、劣化に関わる微生物が自由水を増殖に用いるとされていることから自由水の評価は重要である。自由水の評価方法としては水分活性が挙げられ、微生物の増殖と良い相関があることは知られている。本研究では、スクロース水溶液の水和量をコントロー

ルすることで、テラヘルツ分光法と水分活性値を比較する実験から、以下の知見を得た。

テラヘルツ分光法によるバルク水測定と水分活性による自由水測定を比較した結果、「バルク水」とはスクロースから離れたスクロース分子の影響が小さい水であり、水分活性で分かる「自由水」とは、テラヘルツ分光法では水和水とみなされる水も一部含んだ水であることを示唆する結果を得た。また大腸菌増殖能とテラヘルツ分光法によるバルク水濃度は、比増殖速度と増殖を律速する基質の濃度を表す経験式である Monod の式を元にした、修正 Monod の式と一致することがわかった。その結果、水分活性で計測される自由水だけでなく、バルク水濃度と大腸菌増殖にも関係がある可能性が示唆された。よって今回は検討されなかった溶質による大腸菌への直接的な影響についても考える必要があるものの、テラヘルツ分光法によっても水分子ダイナミクスの観点から、大腸菌の増殖しやすい環境であるかの判別ができる可能性があるとの結論を得た。

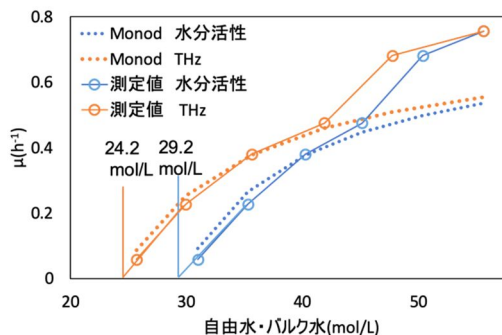


図4 比増殖速度と自由水・バルク水量の関係( THz 分光でバルク水量を計測し、水分活性値で自由水量を算出し、基質が0でない場合の修正 Monod の式と比較すると、40 mol/L 以下の領域で良い一致)

#### 高強度テラヘルツ光源による生体分子の反応系に対する影響探索

アクチンは細胞中では細胞骨格を形成し、細胞の増殖、分裂、成長に關与する重要なタンパク質である。重合過程において温度依存性が小さいことやその機能の重要性から重合反応について数多くの研究事例があり、生体分子の中で最も研究が進んでいる分子と言える。また、この重合反応は溶液系でも再現するため、本研究ではこの分子をターゲットとして照射実験を行った。図5に示すようにアクチンのピレン蛍光強度がテラヘルツ光照射により有意に増加した。この結果から、テラヘルツ光照射によりアクチンの重合が促進されていること、そしてそれは変性や凝集体といった不可逆的な過程を経ていないと予想される。一方、テラヘルツ光による加熱の効果が考えられたが、この照射時の温度上昇が0.5°C程度であったことや、この反応系が、+20°Cの環境でも蛍光強度に差が見られなかったことから、照射影響は単純な加熱効果ではないと示唆される結果を得た。周辺の水分子がテラヘルツ光の電場で変化し、反応性が変化していると予想している。

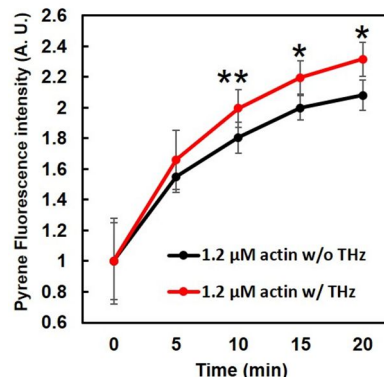


図5 THz 光照射有無によるアクチンの重合化度の違い

以上の各実験の結果を整理すると、テラヘルツ分光を応用して水分子ダイナミクスを解析する技術を構築し、その結果、多くの水合に関する情報を得ることが出来た。この場合、水溶液のような単純な系であることが望ましく、農産物や食品に直接応用することは困難であることも分かった。しかし、抜き取り検査ではあるものの、既存の化学分析法でないと測定が困難なデンプンのような巨大分子の分光スペクトルを農産物に見出し、定量分析にも成功した。一方で、テラヘルツ光とレタスとの関係性を3相(固相、液相、気相)に分けて詳細に検討した結果、鮮度とともに変化する気相割合が透過テラヘルツ光の散乱として計測できている可能性を示唆する結果を得た。これは透過測定の結果が鮮度の指標になる可能性を示唆していると考えられる。さらに、水分活性とテラヘルツ分光で見ている水の状態が異なることを示唆する結果を得、菌増殖とバルク水との関係性が明らかとなった。逆にテラヘルツ光と水分子との関係を使って、生体分子の反応系に影響を与える基礎実験を行ったところ、テラヘルツ光がアクチンの重合反応に比熱的に影響を与えることが分かった。

これらの結果から、テラヘルツ光の特徴を活かした農業食料工学分野への応用可能性を整理すると、1)デンプン等の巨大分子の定量分析、2)水分活性に変わる非侵襲バルク水計測による細菌増殖の危険性評価、3)透過テラヘルツ光による鮮度評価、4)高強度テラヘルツ光による生体反応の操作などが考えられる。これらを実現するにはより詳細な実験や、新規計測手法の開発を実施し、農産物や食品の多様性を考慮した計測手法の開発が必要である。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

Keiichiro Shiraga, Aya Adachi, Masahito Nakamura, Takuro Tajima, Katsuhiko Ajito, Yuichi Ogawa, Characterization of the hydrogen-bond network of water around sucrose

and trehalose: Microwave and terahertz spectroscopic study, The journal of Chemical Physics, 査読有, 146, 2017, 105102  
<https://doi.org/10.1063/1.4978232>  
Keiichiro Shiraga, Aya Adachi, Yuichi Ogawa, Characterization of the hydrogen-bond network of water around sucrose and trehalose: H-O-H bending analysis, Chemical Physics Letters, 査読有, 678(16), 2017, 59-64  
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2017.04.023>  
Shusaku Nakajima, Keiichiro Shiraga, Tetsuhito Suzuki, Naoshi Kondo, Yuichi Ogawa, Chlorophyll, Carotenoid and Anthocyanin Accumulation in Mung Bean Seedling Under Clinorotation, Microgravity Science and Technology 査読有, 6, 2017, 427-432  
<https://doi.org/10.1007/s12217-017-9561-x>  
Keiichiro Shiraga, Yuichi Ogawa, Koichiro Tanaka, Takashi Arikawa, Naotaka Yoshikawa, Masahito, Nakamura, Katsuhiko Ajito, Takuro Tajima, Coexistence of Kosmotropic and Chaotropic Impacts of Urea on Water as Revealed by Terahertz Spectroscopy, The Journal of Physical Chemistry B, 査読有, 122, 2018, 1268-1277  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b11839>  
Shota Yamazaki, Masahiko Harata, Toshitaka Idehara, Kenji Konagaya, Ginji Yokoyama, Hiromichi Hoshina, Yuichi Ogawa, Actin polymerization is activated by terahertz irradiation, Scientific Reports, 査読有, 8, 2018, 9990  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-28245-9>  
Shusaku Nakajima, Tetsuhito Suzuki, Yuichi Ogawa, Monitoring starch degradation and biosynthesis in mung bean plants with terahertz spectroscopy, Proc. of 2018 ASABE Annual International Meeting, 査読無, 4, 2018  
<https://doi.org/10.13031/aim.201800792>  
Shusaku Nakajima, Yuichi Ogawa, Tetsuhito Suzuki, Naoshi Kondo, Enhanced Antioxidant Activity in Mung Bean Seedlings Grown under Slow Clinorotation, Microgravity Science and Technology, 査読有, 2019, 1-7  
<https://doi.org/10.1007/s12217-019-9699-9>  
Shusaku Nakajima, Keiichiro Shiraga, Tetsuhito Suzuki, Naoshi Kondo, Yuichi Ogawa, Quantification of starch content in germinating mung bean seedlings by terahertz spectroscopy, Food Chemistry, 査読有, 294, 2019, 203-208  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.065>

[学会発表](計 17 件)

中島周作, 鈴木哲仁, 近藤直, 小川雄一, テラヘルツ波を用いた緑豆初期生育過程の分光スペクトル, シンポジウムテラヘルツ科学の最先端, 2016 年 11 月, 三国観光ホテル, 福井  
小川雄一, 農業工学分野でのテラヘルツ波研究, 平成 28 年度日本分光学会中部支部長野ブロック講演会, 2016 年 11 月, 信州大学, 長野  
小川雄一, テラヘルツ技術による生体中水分子ダイナミクスの理解とその応用可能性, 理研シンポジウム第 4 回「光量子工学研究 若手・中堅研究者から見た光量子工学の展開」, 2016 年 11 月, 理化学研究所鈴木梅太郎記念ホール, 埼玉  
巽鮎子, 中島周作, 今井康貴, 鈴木哲仁, 近藤直, 小川雄一, レタス表面の微視的な形状変化を利用した鮮度評価に関する基礎研究, 農業食料工学会関西支部第 137 回例会, 2017 年 3 月, 大阪府立大学, 大阪  
鈴木哲仁, テラヘルツ波を利用した細胞計測への挑戦, 応用物理学会 テラヘルツ電磁波技術研究会主催『先端テラヘルツ研究と応用展開』, 2017 年 5 月, 大阪大学中之島センター, 大阪  
鈴木哲仁, テラヘルツ波を用いた農産物・食品検査への可能性, 日本食品科学工学会 第 64 回大会、シンポジウム「最新イメージング技術と食品分野への応用」, 2017 年 8 月, 日本大学, 神奈川  
今井康貴, 中島周作, 白神慧一郎, 鈴木哲仁, 近藤直, 小川雄一, テラヘルツ帯複素誘電率によるスクロース水溶液中の自由水量の推定と水分活性および大腸菌 (*Escherichia coli*) 繁殖との相関, シンポジウムテラヘルツ科学の最前線, 2017 年 12 月, KKR ホテル熱海, 静岡  
黒羽 仁, 小長谷圭志, 鈴木哲仁, 小川雄一, 近藤直, テラヘルツ帯で動作する CSRR を用いた糖水溶液の水和評価, 農業食料工学会 関西支部 第 139 回例会, 2018 年 3 月, 京都大学, 京都  
長谷川恵美, 中島周作, 鈴木哲仁, 小川雄一, 近藤直, テラヘルツ分光法によるサツマイモのデンプンの評価, 農業食料工学会 関西支部 第 139 回例会, 2018 年 3 月, 京都大学, 京都  
Yuichi Ogawa, Cell detection using dielectric properties of intracellular water in sub-THz region, Laser Solutions for Space and the Earth 2018, April 2018, Pacifico Yokohama, Kanagawa

Shusaku Nakajima, Tetsuhito Suzuki, Yuichi Ogawa, Monitoring starch degradation and biosynthesis in mung bean plants with terahertz spectroscopy, 2018 ASABE Annual International Meeting, July 2018, Detroit, United States

巽鮎子, 鈴木哲仁, 近藤直, 小川雄一, レタス葉の三相割合に基づくテラヘルツ波透過特性の理解, 農業環境工学関連学会 2018 年合同大会, 2018 年 9 月, 愛媛大学, 愛媛  
堀内周平, 中島周作, 鈴木哲仁, 近藤直, 小川雄一, 加熱時間が異なるサツマイモ (ベにはるか) の THz スペクトル計測, 農業環境工学関連学会 2018 年合同大会, 2018 年 9 月, 愛媛大学, 愛媛

小川雄一, テラヘルツ波はバイオ分野にどう貢献するか?, 光とレーザーの科学技術フェア, 2018 年 11 月, 科学技術館, 東京

小川雄一, 農業分野へのテラヘルツ波応用研究とサブミリ波近接場アレイセンサの開発, MWE2018 ワークショップ 農畜水産分野における IoT 技術, 2018 年 11 月, パシフィコ横浜, 神奈川

Yuichi Ogawa, Development of the cell measurement system combining a gyrotron and 60 GHz near-field array sensor, The 7th International Workshop on Far-Infrared Technologies, 2019 年 3 月, 福井大学遠赤外領域研究開発センター, 福井

上原翔, 堀内周平, 中島周作, 鈴木哲仁, 近藤直, 小川雄一, サツマイモ (*Ipomoea batatas* L.) の初期デンプン量と加熱過程における糖度変化の関係性, 農業食料工学会 関西支部 第 141 回例会, 2019 年 3 月, 神戸大学, 神戸

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

該当なし

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名: 鈴木哲仁

ローマ字氏名: Tetsuhito Suzuki

研究協力者氏名: 白神慧一郎

ローマ字氏名: Keiichiro Shiraga

研究協力者氏名: 中島周作

ローマ字氏名: Syuusaku Nakajima

研究協力者氏名: 今井康貴

ローマ字氏名: Yasutaka Imai

研究協力者氏名: 堀内周平

ローマ字氏名: Syuuhei Horiuchi

研究協力者氏名: 巽鮎子

ローマ字氏名: Ayuko Tatsumi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。