

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19380140  
 研究課題名(和文) 呼吸酵素の分光学的性質に基づく収穫後植物の酸素吸収と同化産物代謝速度の非侵襲予測  
 研究課題名(英文) Non-destructive prediction of oxygen uptake and assimilate metabolic rates based on spectroscopic properties of respiratory enzymes  
 研究代表者  
 牧野 義雄 (MAKINO YOSHIO)  
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授  
 研究者番号：70376565

研究成果の概要：トマト果実を試料として、植物の呼吸速度を、近赤外光を利用して非破壊かつ迅速に判定する手法を明らかにした。判定するための数式は、ニューラルネットワークと呼ばれる、人工知能の一種を利用して作成した。呼吸速度の大小は、収穫後植物の栄養分の消費速度に影響を及ぼすことから、本研究成果は、植物の品質保持期間の予測に有効な技術として利用可能であると期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	12,000,000	3,600,000	15,600,000
2008 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
年度			
総計	15,900,000	4,770,000	20,670,000

研究分野：生物プロセス工学

科研費の分科・細目：農業環境工学

キーワード：植物、呼吸酵素、近赤外分光分析

## 1. 研究開始当初の背景

消費者が青果物を購入する際には、鮮度を最も重視するという調査結果（日本農業新聞 2005.7.8 記事）がある。青果物の鮮度低下に大きく影響を及ぼす要因の一つが呼吸であり、保有する同化産物を消費する生物反応であることから、収穫後においては外観品質の劣化、栄養分の消耗、目減り等を引き起こす。青果物の呼吸速度が大きい品目ほど鮮度保持期間が短いという報告(Robinson et al., *Annals Appl. Biol.*, 81, 399-408, 1975)があり、呼吸の遅速(呼吸速度)が収穫後における青果物の鮮度保持期間に大きく影響を及ぼすことを裏付ける。

細胞内に取り込んだ O<sub>2</sub> 分子の 90%以上を呼吸鎖の末端に位置する酸化酵素である呼吸酵素(チトクローム *c* オキシダーゼ( EC 1.9.3.1))が消費する(Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell* 3rd ed., Garland Publishing, Inc., pp.672-684, 1994)。Makino et al. (*J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 132, 239-245, 2007)は、チトクローム *c* オキシダーゼの濃度とともに、青果物の O<sub>2</sub> 吸収速度と、823 nm における近赤外光の吸光度が増大することを確認した。この結果は、近赤外分光分析によって青果物内のチトクローム *c* オキシダーゼ濃度と O<sub>2</sub> 吸収速度を測定できる可能性を示唆する。なお、Jöbsis

(Science, 198, 1264-1267, 1977)は、チトクローム *c* オキシダーゼによる 822 nm における光の吸収が、活性化された銅イオンに由来すると報告している。

## 2. 研究の目的

収穫後植物の主要な鮮度低下要因は、生理活動としての同化産物の消費による保有栄養成分の損耗であり、その遅速は、呼吸によって制御される。そこで本研究では、収穫後植物内の呼吸酵素の分光学的特性を明らかにすることにより、分光分析により、迅速かつ非侵襲的に呼吸速度を判定する手法を検討する。

## 3. 研究の方法

実験試料としてトマト果実を選択した。

トマト果実中ミトコンドリア (チトクローム *c* オキシダーゼが存在する細胞小器官) を Yamanaka et al. (Drug Metabolism Letters, 1, 281-286, 2007)の方法に従って抽出した。抽出液の分光吸光スペクトル(800~900 nm)を紫外可視近赤外分光光度計(島津制作所 UV-3600)で測定した。

FQR-NIR-GUN (糖果実非破壊品質研究所)を用いて、トマト果実の分光吸光スペクトルを 600~1100 nm の範囲で測定した。同じ試料の 15°C における O<sub>2</sub> 吸収速度を密閉法 (Fonseca et al., J. Food Eng., 52, 99-119, 2002)で測定した。用意した果実は検量用および検証用の 2 種類に分別した。

検量用トマト果実の分光吸光スペクトルから O<sub>2</sub> 吸収速度を予測する数学モデルを、JMP 7.0 を利用して複数構築し、構築したモデル式に検証用データを当てはめることにより、モデル式の有効性を確認した。

さらに、O<sub>2</sub> 吸収速度予測モデルに組み込まれた吸光波長をミトコンドリア抽出液の分光吸光スペクトルデータと比較検討することにより、本研究成果の学術的な意義を考察した。

## 4. 研究成果

ミトコンドリア抽出液 (破線) およびトマト果実 (実線、100 個体) の吸光度 2 次微分スペクトルを図 1 に示す。Griffiths and Wharton (J. Biol. Chem., 236, 1850-1856, 1961)は、ウシ胸腺に存在するチトクローム *c* オキシダーゼが 830 nm 付近の波長の光を吸収することを報告し、Jöbsis (Science, 198, 1264-1267, 1977)はネコの脳、Richaud and Denis (Arch. Biochem. Biophys., 232, 8-16, 1984)はイモヅルを用いた研究で、同様の成果を報告するとともに、試料の種類や状態の違いによって光吸収極大がシフトすることも指摘されている。本研究の結果では、830 nm における吸光度が高く、光吸収極大が当

該波長付近にあることから、トマト果実においても、当該波長付近の光を吸収することが実証された。

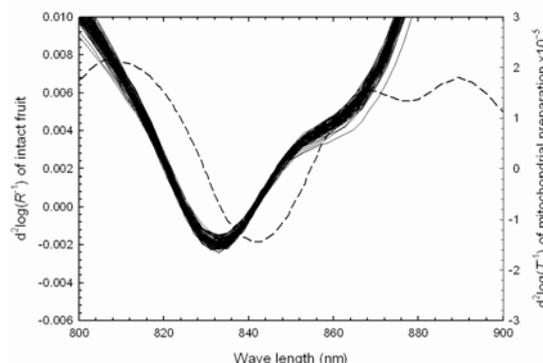


図 1. ミトコンドリア抽出液 (破線) およびトマト果実 (実線、100 個体) の吸光度 2 次微分スペクトル

さらに、トマト果実の O<sub>2</sub> 吸収速度を近赤外分光分析により非破壊判定する手法を検討した。

まず、O<sub>2</sub> 吸収速度予測に有効な光波長を選択するために、各波長における吸光度 2 次微分値と O<sub>2</sub> 吸収速度の間の単相関係数を算出した。その結果、645、679、793、819、833、852、874、906、935、957、979 nm の 11 波長が有効と考えられた。この中で、645、833、957、979 nm の 4 波長の相関係数が負の値となった。吸光度が正の値の場合、2 次微分値は負となる。このことから、当該 4 波長における吸光度はトマト果実中の成分濃度に比例すると考えられる。中でも、833 nm は図 1 の結果や既往の文献から判断すれば、チトクローム *c* オキシダーゼによる光の吸収と関係が深いと考えられるため、O<sub>2</sub> 吸収速度予測のための説明変数として選択されたことは、妥当な結果と考えられる。

次に検量用データを用い、O<sub>2</sub> 吸収速度を目的変数、選択された各波長における吸光度 2 次微分値を説明変数として数学モデルの構築を試みた。重回帰分析、部分最小自乗重回帰分析、ニューラルネットワークの 3 種類の手法でモデル化を試みた結果、ニューラルネットワークによる予測が最も精度が高かった。このことは、線形モデルでは予測が困難であることを示しており、非線形的な要素を組み込んだモデル化が必要であることを示唆する。しかし、ニューラルネットワークでも十分な精度ではなかったため、果実質量を説明変数として加えて、再度ニューラルネットワークによるモデル化を試みた。構築した計算式に検証用のデータを代入し、予測精度を検証した結果、検証の相関係数は 0.79、予測標準誤差は 0.091 mmol/kg/h となった。これはおおよそのスクリーニングに利用できる水

準であり (Williams and Norris, Near-infrared technology, American Association of Cereal Chemists, Inc., 2001)、トマト果実の選果選別に利用可能な予測モデルを提案することができた。なお、計算式には 833 nm の吸光度値も組み込まれていたことから、当該波長における光の吸収が呼吸酵素に由来することと、呼吸速度の予測に有効であることが示唆された。このことから、本研究成果は、分光分析による迅速な植物の呼吸速度判定の可能性を示唆するものである。呼吸速度の大小は、収穫後植物の栄養分の消費速度に影響を及ぼすことから、本研究成果は、植物の品質保持期間の予測に有効な技術として利用可能であると期待される。

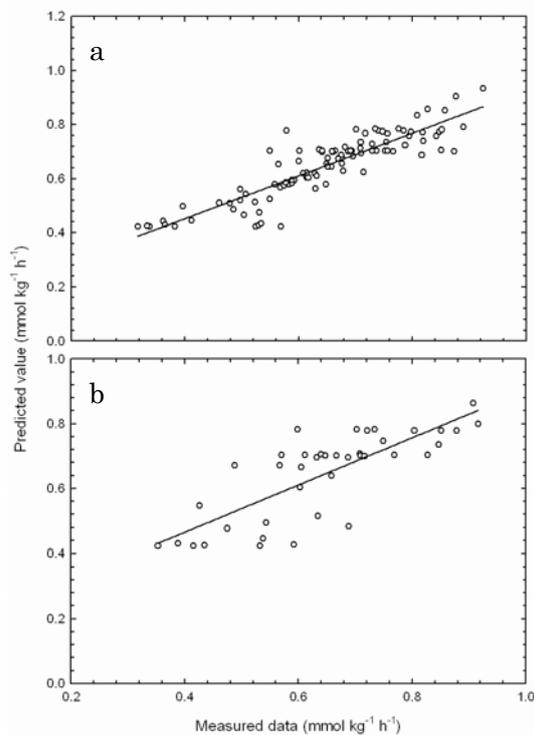


図 2. 分光吸光スペクトルおよび果実質量を説明変数とするニューラルネットワークモデルを用いたトマト果実 O<sub>2</sub> 吸収速度予測(a: 検量線、b: 検証結果 相関係数 0.79、予測標準誤差 0.091mmol/kg/h)

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Makino Y., Oshita S., Tanaka A., Influence of O<sub>2</sub> transmission rate through micro-perforated pouches on shelf life of light red tomato fruits, *Journal of Packaging Science & Technology, Japan*, 16, 2007, 199-206,

査読有り

- ② Makino Y., Oshita S., Kawagoe Y., Tanaka A., Simultaneous prediction of oxygen and carbon dioxide concentration in a perforated pouch with light red tomato fruits by a mathematical model, *Transactions of the ASABE*, 51, 2008, 559-565, 査読有り
- ③ Makino Y., Soga N., Oshita S., Kawagoe Y., Tanaka A., Stimulation of  $\gamma$ -aminobutylic acid production in vine-ripe tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits under modified atmospheres, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2008, 7189-7193, 査読有り
- ④ 牧野義雄、包装による環境 O<sub>2</sub> 濃度制御が青果物の品質に及ぼす影響、*日本包装学会誌*, 17, 2008, 417-425, 査読無し
- ⑤ 牧野義雄、青果物の調整気相包装に関する研究、*日本包装学会誌*, 18, 2009, 101-110, 査読無し
- ⑥ Makino Y., Ichimura M., Oshita S., Kawagoe Y., Yamanaka H., Estimation of oxygen uptake rate of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits by artificial neural networks modelled using near-infrared spectral absorbance and fruit mass, *Food Chemistry*, 121, 2010, 533-539, 査読有り

[学会発表] (計 10 件)

- ① 市村優幸、牧野義雄、川越義則、大下誠二、トマト果実の近赤外分光分析による呼吸特性評価、2007 年農業機械学会関東支部第 43 回年次大会、2007 年 7 月 9 日、那須塩原市
- ② Makino Y., Oshita S., Kawagoe Y., Tanaka A., Simultaneous prediction of oxygen and carbon dioxide concentrations in a perforated pouch with light red tomato fruits by a mathematical model, *Commission Internationale du Génie Rural (CIGR) VI 3rd International Symposium*, 2007 年 9 月 25 日、ナポリ
- ③ Makino Y., Soga N., Oshita S., Kawagoe Y., Tanaka A., Influence of in-package atmosphere on the concentration of amino acids related to the gamma-aminobutyric acid shunt in vine-ripe tomato fruits, 16th IAPRI World Conference on Packaging, 2008, 2008 年 6 月 11 日、バンコク
- ④ Makino Y., Ichimura M., Kawagoe Y.,

Oshita S., Evaluation of respiration rate of a tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit using near-infrared spectrophotometry, American Society for Horticultural Science 2008 Annual Conference, 2008年7月24日, オーランド

- ⑤ 牧野義雄、前信和、大下誠一、川越義則、田中敦、包装貯蔵ガス組成と完熟トマト果実中の  $\gamma$ -アミノ酪酸シヤント関連アミノ酸濃度の関係、日本食品科学工学会第55回大会、2008年9月6日、京都市
- ⑥ 牧野義雄、青果物のMA包装による機能性成分の向上について、エダマメ研究会第7回研究集会特別講演「鮮度保持技術の最近の動き」、2008年10月3日、岐阜市
- ⑦ 牧野義雄、国内外のMA包装に関する基礎研究の最新動向、MAP研究会第9回例会「国際化に対応したMA包装の新展開」、2009年6月22日、東京
- ⑧ 牧野義雄、科学の眼で見る食の安全保障、高温高压流体技術研究所 研究成果発表会・特別講演会、2009年6月29日、高松市
- ⑨ 前信和、牧野義雄、大下誠一、川越義則、田中敦、赤間一仁、小池悟志、松倉千昭、江面浩、貯蔵環境ガス組成が完熟トマト果実中  $\gamma$ -アミノ酪酸経路関連アミノ酸濃度の変動に及ぼす影響、2009年農業機械学会関東支部第45回年次大会、2009年7月11日、松戸市
- ⑩ 前信和、牧野義雄、大下誠一、川越義則、田中敦、赤間一仁、小池悟志、松倉千昭、江面浩、貯蔵環境ガス組成が完熟トマト果実中  $\gamma$ -アミノ酪酸経路関連アミノ酸濃度の変動に及ぼす影響、農業環境工学関連学会2009年合同大会、2009年9月17日、東京

[図書] (計1件)

- ① 牧野義雄 (分担執筆)、社団法人 農業電化協会、人工光源の農林水産分野への応用 第4章 人工光の応用 2.収穫物の品質評価、2010、pp.158-165

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

- ① トマトの鮮度保持用包装袋及びトマトの保存方法、牧野義雄、田中敦、東京大学、住友ベークライト(株)、特開 2009-35306、2007年8月2日出願、国内

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

牧野 義雄 (MAKINO YOSHIO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：70376565

(2)研究分担者

大下 誠一 (Oshita Seiichi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：00115693

川越 義則 (Kawagoe Yoshinori)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：80234053