

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K19305

研究課題名（和文）ガス・光複合環境がカット野菜の保蔵性に及ぼす影響

研究課題名（英文）Effect of lighting-gas combined surroundings on preservation of fresh-cut vegetables

研究代表者

小川 幸春（Ogawa, Yukiharu）

千葉大学・大学院園芸学研究科・准教授

研究者番号：00373126

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：光環境の例として近赤外光の照射が袋内に封入されたカットレタスの外観品質や生理活性に及ぼす影響を調査した。その結果、近赤外光照射が保蔵中の一般生菌数抑制や質量減少抑制に影響を及ぼすことが示された。しかし長時間の照射条件はレタスの褐変割合を増加させ外観品質の悪化を招く可能性があることも判明した。これは照射処理によりPAL活性が増加した結果であると考えられた。一方で短時間の処理条件では褐変割合の増加が確認されず、PAL活性、総ポリフェノール量ともにControlとの差は見出せなかった。以上の結果から、適切な条件での近赤外光照射処理のみがカット野菜の保蔵性向上に寄与することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではカット野菜の保蔵性を高めるための新たな保蔵技術確立を目標として、ガス・光複合環境の効果検証を目標とした。具体的にはカット野菜を包むパッケージ内を「閉鎖環境」とみなし、ガス、光などの雰囲気環境要素を局所的、複合的に調節することでカット加工された組織片に残存する生理機能の能動的な操作による保蔵性向上の可能性を検討した。研究の結果、適切な処理条件の範囲で保蔵中の物理的な環境要素を調節すれば、カット野菜の保蔵性向上を実現できる可能性のあることが示された。

研究成果の概要（英文）：The irradiation of near-infrared light was effective in suppressing the number of viable bacteria and weight loss during storage of fresh-cut lettuce. However, the browning rate increased slightly under the conditions of 30s and 60s near-infrared light irradiation that could deteriorate the appearance quality. It was considered that this result could be due to the increased PAL activity and total polyphenol content. In contrast, it was not increased in browning rate at 10 s, and there was no difference in PAL activity and total polyphenol content from Control. Thus, the range of irradiation conditions should be 10 seconds which was expected to be effective in suppressing the number of general viable bacteria and mass, without affecting polyphenol synthesis. The degree of those positive effects was slight, it would be necessary to consider the combined treatment with the existing quality maintenance technology such as MA packaging for the further improvement of storability.

研究分野：農産食品工学

キーワード：カット野菜 保蔵性 保蔵環境

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

個食や中食・外食の拡大を背景に、わが国においてもカット野菜の販売個数、販売金額は年々増加している。それらカット野菜は利便性が良いという絶大なメリットがある反面、カット加工に起因する「微生物の増殖」や「栄養成分の自然減少」など保蔵性に関わる重大な問題を抱えている。このうち「微生物増殖」に対しては、主に次亜塩素酸等の水溶性薬液で殺菌処理する方法が適用される。これにより微生物に対する安全性はある程度確保されるものの、洗浄時の薬液への浸漬やその後の流水洗浄によってビタミン C などの水溶性成分は溶出し、その含有量はほぼ半減する<sup>1)</sup>。加えて、保蔵中に生化学的な分解反応が生じて栄養機能成分は減少していく。すなわちカット野菜はその安全性や利便性を確保するため、通常の生野菜と含有成分の異なる別の食品になってしまっていると考える必要がある。この傾向は特にキャベツなどの葉菜類で顕著であり、カット野菜を摂取して生野菜を食べたつもりであってもビタミンなどの期待される栄養機能成分は低下する。

研究代表者らは上記の問題解決を図るため、カット野菜の栄養機能性確保のための新たな技術開発を検討してきた。これまでのところ、包装パック内の炭酸ガス濃度を高めることでカット加工により付着した微生物の増殖抑制(静菌作用)やカット組織の変色抑制が可能となることを確認している<sup>2, 3)</sup>。またカット加工後の野菜組織に特定波長の光を照射することで細胞レベルでの呼吸や変色の抑制や光合成によると思われる何らかの生理反応によって栄養機能成分の増加傾向も試験的に確認している。一方で、特定波長の近赤外線には栄養機能成分維持に関わる呼吸抑制効果を有することも報告されている。以上のことから、ガスと光を複合的に作用させれば保蔵中であっても栄養機能性の維持、向上が期待できる新たなカット野菜加工法の開発が可能になると考えられる。

本研究では、カット野菜保蔵時におけるガス・光複合環境を適切に調節することで、カット加工後の野菜組織に残存する生理活性向上を図る。本研究によりカット野菜の「野菜」としての栄養機能的な品質向上が期待できる。

### 2. 研究の目的

本研究は、カット野菜の栄養機能性を回復するための新たな保蔵技術の確立を目標とする。植物系の農産物は切り刻まれた後も個々の細胞レベルで呼吸などの生理活性を有している。通常、青果物の収穫後貯蔵にはそれら生理活性の抑制が重要とされているが、条件によっては、例えば特定波長の光を受光することで機能性成分の生合成が促進されるなどの現象も報告されている。本研究では、カット野菜を包むパッケージ内を「閉鎖環境」とみなし、ガス、光などの環境要素を局所的、複合的に調節することでカット加工された組織片に残存する生理機能を能動的に操作する。例えば、クロロフィル機能の維持による部分的な光合成活性の促進などによって栄養機能性の回復を図る。

### 3. 研究の方法

#### (1) 研究方法の概要

野菜の組織は物理的に切断されることで代謝機能が活発となり、呼吸などの生理活性による重量、含有成分の減少や褐変などの品質劣化が急速に進む。このため殺菌洗浄、製造加工の方法・条件をはじめ保蔵温度やパッケージ内環境の検討など、様々な観点からカット野菜の品質劣化を抑制するための研究が行われている。近赤外光は可視光と中赤外線の間に挟まれる波長域の電磁波で、家電製品のリモコンなどにも利用されるありふれた光源である。しかし近年、近赤外光の照射処理によって野菜の蒸散作用抑制作用が報告されたことから、関連する現象を利用すればカット野菜であっても保蔵中の品質劣化抑制効果が期待できる。そこで結球レタスをカット野菜試料とし、近赤外光の照射処理が試料の外観品質および外観変化に関連する生理活性に及ぼす影響を調査、検討した。

#### (2) 供試材料および材料の調製

供試材料として松戸市内のスーパーで購入した市販の結球レタス(茨城県産)を用いた。外葉を2, 3枚取り除いて表面を水道水で洗浄し、切片の大きさが3×4 cmとなるようカットしたレタス葉片(以下、試料)を得て実験に供した。試料は次亜塩素酸ナトリウム水溶液(100 mg/l)に1分間浸漬することで殺菌処理したのち、水道水の流水で1分間洗浄した。試料表面に残存した余分な水気はキムタオルを軽く当てて取り除いた。殺菌後の試料は洗浄した透明プラスチック製フードトレイ(190×123×40 mm)上に約30 gずつ秤量し、ガスバリア性を有するナイロン製ポリ袋(200×300 mm, 福助工業)に入れたのち真空脱気ガス充填シーラ(V-301G, 富士インパルス)を用いて約500 mLの乾燥空気を充填し密封した。封入空気のO<sub>2</sub>濃度は20.9%, CO<sub>2</sub>濃度は0.04%であった。密封後、ポリ袋のまま青果物鮮度保持用近赤外光照射装置(iR フレッシュャーIFDAA, 四国総合研究所)の下に静置し、ポリ袋を通して近赤外光を照射した。照射処理後、試料を5℃に設定したインキュベータ(MIR-153, Sanyo)内に移し、暗条件下で保蔵した。保蔵期間は8日間とし、保蔵0, 2, 4, 6, 8日後に各測定を行った。近赤外光の照射処

理にはピーク波長 850 nm の LED 光を用いた。照射強度は 100 W/m<sup>2</sup> に設定し、照射時間を段階的に設定することで試料への積算エネルギー量を調節した。照射時間は 0 秒 (以下, Control), 10 秒 (以下, 10s), 30 秒 (以下, 30s), 60 秒 (以下, 60s) の 4 条件とした。

### (3) 測定・解析方法

試料の一般生菌数にはストマック処理による定法を適用した。ストマック処理した試料原液は 10 倍, 100 倍, 1000 倍, 10000 倍に希釈した後, 希釈液 0.1 ml を標準寒天培地で 35℃, 48 ± 3 時間培養した。培養後, 培地上に形成されたコロニー数を計測し, カットレタス 1 g 当たりのコロニー形成数 (APC, log<sub>10</sub>CFU/g) として表した。

試料保蔵中の袋内 O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> 濃度は Check Point (Dansensor) を用いて測定した。各保蔵期間経過後, 袋内にニードルを突き刺し, ガスを採取, 計測した。

試料保蔵中の褐変部位評価として, デジタルカメラ (E-510, Olympus) で撮影したデジタル画像を解析した。画像処理ソフト (Photoshop CC, Adobe) を用いて試料画像の褐変割合を算出し, 褐変程度を評価した。

褐変に関わる PAL 活性の測定には Chen et al. の方法を改変して適用した。4 g の試料に 5 mM の 2-メルカプトエタノールと 3% (w/v) のポリビニルピロリドンを含む 50 mM のホウ酸緩衝液 (pH 8.5) を 16 ml 加え, ホモジナイザ (HG-200, AS ONE) を用いて均質化 (10000 rpm, 60 秒) した。その後, 4 重に重ねたガーゼでろ過し, 4℃, 14000×g で 30 分間遠心分離し, その上清を粗酵素抽出液とした。粗酵素抽出液 1 ml を 20 mM の L-フェニルアラニン 1 ml と 2 ml のホウ酸緩衝液 (pH 8.5) の混合液に加え, 40℃ で 2 時間インキュベートした。インキュベート後 6 M の塩酸を 0.1 ml 加え反応を止めた後, 290 nm で吸光度の増加を測定した。1 時間当たり 1 μmol の桂皮酸が生成される活性を 1 unit として試料の乾物 1 g 当たりの酵素活性を算出した。一連の全ての作業は氷冷下で行った。

ポリフェノールの抽出操作として, 約 2 mm に細断した試料 4 g に 20 ml のメタノールを加え, ホモジナイザ (HG-200, AS ONE) で均質化 (10000 rpm, 60s) したものを 70℃ で 20 分間湯浴し, 還流した。これをろ紙 (定量濾紙, AS ONE) でろ過し, 残渣に再度メタノール 20 ml を加え, 同様に 70℃ で 20 分間湯浴の後, 抽出を行った。この抽出液に先にろ過したろ液を合わせてメタノールで 50 ml に定容し, これを抽出液とした。総ポリフェノール量の定量には Folin-Ciocalteu 法を適用した。

得られたデータは, 統計ソフト R-3.4.2 を用いて Tukey 法による有意差検定を行った。有意水準は 5% 未満 (p < 0.05) とした。

## 4. 研究成果

### (1) 一般生菌数

図 1 に各照射条件で処理したカットレタスの一般生菌数を示す。一般生菌数は Control と比較して保蔵 0 日および保蔵 2 日の照射 30s を除いた全ての近赤外光照射区で有意 (p < 0.05) に一般生菌の増殖が抑制された。しかし保蔵 4 日以降は各照射条件の間で有意差は見られなかった。これまでの報告<sup>4)</sup>によれば, 収穫後の青果物に近赤外光を照射することで照射面に ROS (活性酸素種) が発生することが判明している。また, 高 O<sub>2</sub> もしくは高 CO<sub>2</sub> 条件における腐敗微生物の増殖抑制や励起酸素による微生物の殺菌など, 高い酸化力を持つ ROS の微生物内外での発生が要因となる微生物数の減少は, 既存の研究でも多く報告されている。今回の実験でも同様な現象が生じ, 近赤外光照射後のカットレタス表面で生菌数の減少が生じたと考えられる。

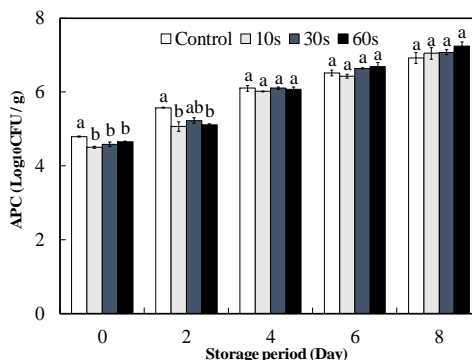


図 1 保蔵中の一般生菌数変化

### (2) 質量変化

図 2 に各照射条件で処理したカットレタス保蔵中の質量変化を示す。縦軸は 0 日の質量を 100% とした場合の百分率である。Control と比較して照射 10s と 30s の試料では保蔵 6, 8 日で有意 (p < 0.05) に質量の減少が抑制された。青果物を用いたこれまでの報告でも, 近赤外光の照射による気孔閉鎖誘導に伴う蒸散抑制とともに質量減少の抑制が確認されている。本実験で用いたカット処理後のレタスでも同様の現象が生じたと考えられる。しかし照射 60s の試料では Control との差が確認されなかった。このことから蒸散抑制の効果を示す近赤外光の積算エネルギー量には適正值があると推定され, その適正值を超

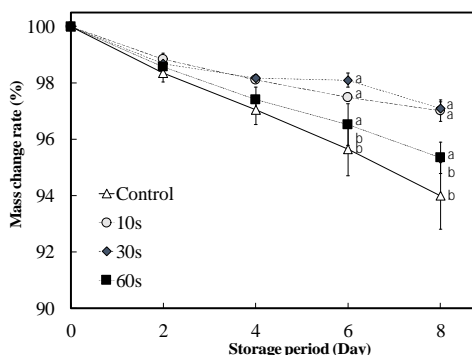


図 2 保蔵中の質量変化

えるまたは下回るなどの過不足があると蒸散を抑制する効果は弱まる可能性が考えられた。

### (3) 袋内ガス濃度

図3に各照射条件で処理したカットレタス保蔵中の袋内ガス濃度変化を示す。袋内に封入した空気量は一定であり袋のガス透過度も小さいことから袋内ガス濃度の変化は呼吸速度とある程度の相関がある。本実験では、保蔵期間を通して各照射条件間で呼吸速度に明確な差は見られなかった。近赤外光照射が収穫後青果物の気孔閉鎖を誘導すること<sup>4)</sup>や質量変化抑制の結果から、カット処理を受けた植物組織であっても近赤外光照射による気孔閉鎖の誘導で呼吸活性に影響を及ぼすことが推測された。しかし実験結果からは近赤外光照射の有無による呼吸速度の有意な差を確認することはできなかった。このことから近赤外光照射がカットレタスの呼吸活性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

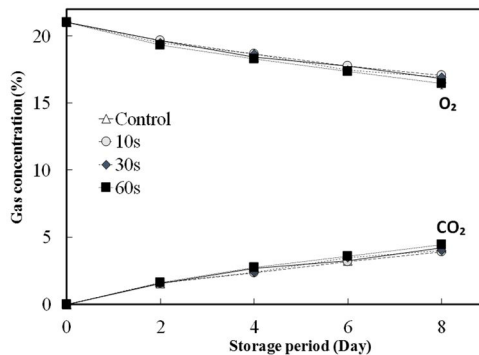


図3 保蔵中の袋内ガス濃度変化

### (4) 褐変割合

図4に各照射条件で処理したカットレタス保蔵中の褐変割合変化を示す。保蔵8日では有意な差を確認できなかったが、照射30sと60sはControlと比較して褐変割合の増加傾向が確認された。一般的にカット野菜の褐変は、植物細胞中のプラスチドもしくは葉緑体中存在するPPO(ポリフェノールオキシダーゼ)によって液胞中のポリフェノール類が酸化、重合することにより生じる。しかし、ポリフェノール含量の少ないレタスではカット処理後のPAL活性増大に起因するポリフェノール量の増加も褐変の主要因となる。そこで保蔵試料中のPAL活性および総ポリフェノール量を調査した。

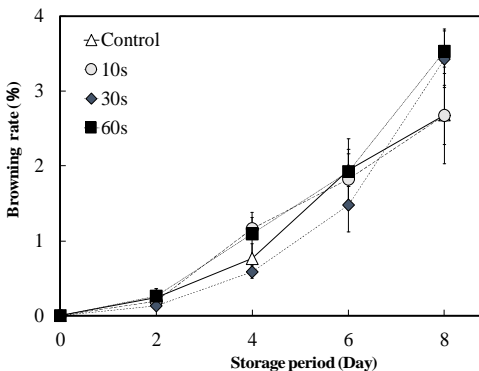


図4 保蔵中の褐変割合変化

### (5) PAL (フェニルアラニンアンモニアリアーゼ) 活性

図5に各照射条件で処理したカットレタス保蔵中のPAL活性変化を示す。照射60sのPAL活性はControlと比較して保蔵2,4日で増大する傾向があり、程度は小さいものの照射30sでも同様の傾向が見られた。PALはポリフェノール合成の鍵酵素であり、PALが活性化することでポリフェノール合成が促進される。PALの活性はカット処理やオゾン暴露などのストレスにさらされると増大することが報告されており、PALの活性増大にはROSが関与していることも知られている。近赤外光照射部でもROSが蓄積することは過去の文献でも報告されている。今回の実験でも近赤外光照射によってカットレタス内に蓄積したROSがストレスとなり、その結果PALも活性化したと推測される。しかし照射10sでは保蔵期間を通してControlとの差が見られなかった。このことから、照射10sではPAL活性を増大させる程のROSの蓄積が生じなかったと推測された。

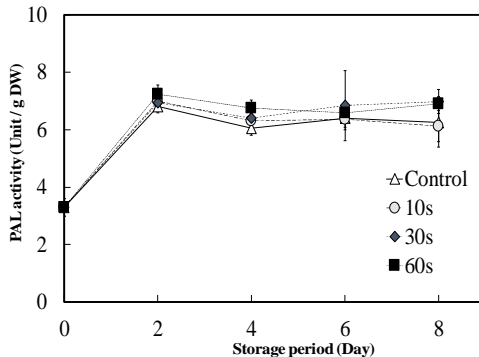


図5 保蔵中のPAL活性変化

### (6) 総ポリフェノール量

図6に各照射条件で処理したカットレタス保蔵中の総ポリフェノール量変化を示す。照射30sと60sの試料は保蔵6,8日でControlより大きな総ポリフェノール量を示す傾向が見られた。レタスはポリフェノール量の少ない野菜である。しかしカット処理後にその傷害応答でPAL活性が増大し、ポリフェノール合成が進むことでポリフェノール量も増加する。このため、カットレタスのポリフェノール量とPAL活性は相関関係が非常に強い。今回の結果でも、照射30sと60sでPAL活性、総ポリフェノール量ともにControlに比べ増加する傾向が見られたことから、近赤外光照射はPALを活性化させてポリフェノール合成を促進させる効果を持つ可能性が示された。また、照射10s処理でControlと差が見られなかったこともPAL活性の評価結果と一致していた。このことから、近赤外光の積算エネルギー量がごく少量であればポリフェノール合成に

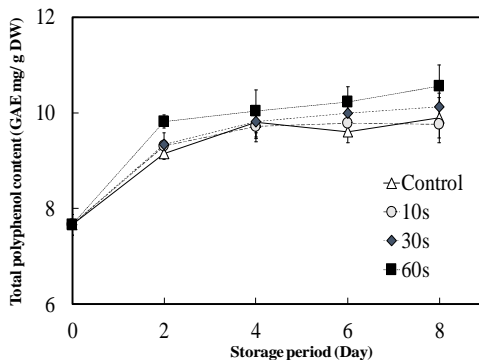


図6 保蔵中の総ポリフェノール量変化

及ぼす影響は小さいことが明らかとなった。

本研究の結果より、カットレタスへの近赤外光照射処理は、保蔵中の一般生菌数抑制や重量減少抑制などの効果を有する可能性が示された。しかし照射 30s および 60s の条件では、僅かではあるが褐変割合が増加して外観品質を悪化させる可能性があることも示された。これは PAL 活性、総ポリフェノール量が増加した結果であると考えられた。一方で照射 10s では褐変割合の増加が確認されず、PAL 活性、総ポリフェノール量ともに Control との差は見られなかった。このことから本研究で設定した照射条件の範囲では、10s 程度のごく少量の近赤外光の積算エネルギー量であればポリフェノール合成に影響を与えずに一般生菌数の抑制や質量減少抑制に効果が期待できる可能性が示された。ただし、それら効果の程度はわずかであったため、さらなる保蔵性向上には MA 包装などの既存の品質保持技術との複合的な処理を検討する必要があると考えられた。

#### <引用文献>

- (1) Y. Ogawa, M. Hashimoto, Y. Takiguchi, T. Usami, P. Suthiluk, K. Yoshida, N. Yamamoto, Y-C Hung, Effect of decontamination treatment on vitamin C and potassium attributes of fresh-cut bell pepper at post-washing stage, *Food and Bioprocess Technology*, 11(6), 2018, 1230-1235
- (2) 特許第 6011780 号, 青果物用容器及びこれを用いた青果物の保存方法, 小川幸春
- (3) 鈴木悠介, 石川恵子, 塩見慎次郎, 山本奈美, L.V. Man, 小川幸春, 保蔵時の低濃度 O<sub>2</sub> かつ高濃度 CO<sub>2</sub> 環境が未熟果および完熟果カットピーマンに及ぼす影響, *農業生産技術管理学会誌*, 20(2), 2013, 53-58.
- (4) A. Hada-Kozuki, Y. Ishida, K. Kakibuchi, T. Mishima, N. Sakurai, Y. Murata, R. Nakano, K. Ushijima, Y. Kubo, Effect of postharvest short-term radiation of near infrared light on transpiration of lettuce leaf, *Postharvest Biology and Technology*, 108, 2015, 78-85.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 KOBAYASHI Kota, TAKIGUCHI Yoshiharu, TAKASHIO Masachika, TAKEI Toshinori, KAKIBUCHI Kazumasa, HADA Ayako, ISHIDA Yutaka, OGAWA Yukiharu	4. 巻 21
2. 論文標題 Effect of Near Infrared Irradiation on Quality of Fresh-cut Lettuce During Storage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japan Journal of Food Engineering	6. 最初と最後の頁 75～80
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11301/jsfe.19561	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林航汰, 小川幸春, 高塩仁愛, 武井俊憲, 垣渕和正, 秦亜矢子, 石田豊
2. 発表標題 保蔵前の近赤外線照射がカットレタスの品質に及ぼす影響
3. 学会等名 2019年農業食料工学会・農業施設学会・国際農業工学会第6部会合同国際大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林航汰, 滝口祥春, 小川幸春
2. 発表標題 近赤外線の照射処理がカット野菜の保蔵性に及ぼす影響
3. 学会等名 2018年農業施設学会学生・若手研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 滝口祥春, 小川幸春, 高塩仁愛, 武井俊憲, 石田豊, 垣渕和正, 秦亜矢子
2. 発表標題 カットキャベツの保蔵性に関する研究
3. 学会等名 第76回農業食料工学会年次大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------