

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K14948

研究課題名（和文）分光法によるデンプン非破壊計測に基づく農産物の甘味と産業用途の推定

研究課題名（英文）Rapid starch measurement for evaluating food taste and industrial application with spectroscopy

研究代表者

中島 周作（Nakajima, Shusaku）

神戸大学・農学研究科・助教

研究者番号：00896938

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、これまで簡易測定が困難であった農産物内のデンプンをラマン分光で測定してきた。ラマン分光の低波数領域では分子構造がスペクトルに反映されるため、農産物切断面を測定すると、生体内でも結晶構造を保つデンプンのピークが選択的に得られることを発見した。またピーク強度と化学分析で定量したデンプン量に相関も得られたため、これまで数日を要していたデンプン計測がわずか数十秒に短縮された。一方で、切らずの表皮がある状態で測定すると色素の蛍光がスペクトルに強く表れ、微弱なラマン散乱光は埋もれてしまう。従って、表皮ごとの非破壊計測を達成するには、蛍光をいかに抑えるかが今後のカギとなる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デンプンは農産物の食味や産業用途を決める重要な成分であるが、巨大分子であるため既存の分析技術で簡便に測定できなかった。これに対して、本研究結果によりラマン分光を用いて農産物断面を測定することでデンプンをわずか数十秒で簡易測定できることが示された。現状、蛍光物質の影響で皮ごとの非破壊計測を達成するにはさらなる工夫が必要となるが、低蛍光の農産物や断面を測定することで、収穫時のデンプン量から『農産物の食味や産業用途』を評価できることから、高付加価値化の推進や産業の発展に寄与するだけでなく、これまでデンプン量が把握できないために起きていた食品ロスの削減にも貢献していく技術となり得る。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we measured starch content in agricultural produces using Raman technology. Because Raman spectra in the low wavenumber regions are sensitive to a molecular structure, we measured cutting surface of banana and selectivity observed Raman peaks attributed to starch which has a crystalline structure even in agricultural produces. In addition, the Raman peak at 469 cm^{-1} was correlated with starch content measured by a chemical analysis. Although a conventional enzyme method takes several days for starch quantification, measurement time is just several second in our Raman approach. These results indicated that Raman technology can be a rapid analytical method for starch quantification. However, high fluorescence masked Raman signals without cutting, because peel has several fluorescence components. Therefore, a restriction of high fluorescence is required for a next step.

研究分野：農業工学

キーワード：デンプン ラマン分光 農産物 食味 産業用途

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

デンプンは農産物の甘味や産業用途を決める重要な成分であるが、巨大分子であるため既存の分析技術で簡便な計測方法は無かった。これに対して、我々の研究チームでは生体内でも結晶構造を保つデンプン特有の性質に着目し、分子構造に敏感なテラヘルツ分光法を用いて乾燥させた植物や農産物を計測してきた。その結果、夾雑物の影響を受けずにデンプンの情報を選択的に得られることを発見し、非破壊計測に展開できる段階にある。ただし、テラヘルツ波は水の吸収が極めて大きく水を多く含む青果物を測定すると、デンプンの情報は埋もれてしまうため水の影響をどのように抑えるかがカギとなる。そこで本研究では、低波数ラマン分光を用いて青果物内のデンプン計測に挑んだ。この分光法はテラヘルツと同様に分子構造に敏感な上、水の影響を受けにくいという利点があるため、青果物であってもデンプンの情報だけを選択的に得られると考えた。また、工業製品とは異なり農産物は均一ではなく部位ごとに含有成分が異なるため、部位ごとのスペクトルを調べることは重要である。さらに植物種によってデンプンの大きさや物性は大きく異なり、特にラマン散乱にサンプルの粒子径が影響を与えることから、異なる農産物由来で粒子径も違うデンプンを測定した際、ラマンピークの強度がどのように変わるかも基礎的な知見として把握しておく必要がある。そこで本研究では、デンプンとラマン分光スペクトルの関係性を調べるため、農産物を対象とした実験、とデンプン粉末を対象とした実験を実施した。

2. 研究の目的

- : 低波数ラマン分光によるデンプン簡易計測
ラマン分光を用いることで青果物内デンプンの情報を選択的に得られるかを明らかにすること。
- : 農産物部位ごとのラマン分光測定
部位ごとにラマン分光スペクトルがどのように変わるかを明らかにすること。
- : ラマン分光スペクトルとデンプン粒子径の関係
デンプン粒子径の違いがラマン分光スペクトルに与える影響を明らかにすること。

3. 研究の方法

: 低波数ラマン分光によるデンプン簡易計測
スーパーで購入した未成熟なバナナを10日間常温で追熟させた。その間、2日ごとに切断面をラマン分光装置 (LSA-SYS-L785/M35/AD, 東京インスツルメント) で測定した。測定条件は、励起光 785 nm、帯域 200-1000 cm^{-1} 、分解能 2 cm^{-1} 、測定時間 20 秒に設定した。分光測定後、液体窒素で直ちにサンプルを凍結させ、デンプンと糖の計測に供試した。これらの成分を高速液体クロマトグラフィ (島津製作所) で定量し、ラマン分光スペクトルとの比較を行った。保存日数ごとに $n=5$ として、計 $n=30$ で単回帰と PLS からデンプン量推定の検量モデルを作成した。

: 農産物部位ごとのラマン分光測定
ジャガイモ、サトイモ、サツマイモ由来のデンプン粉末を用意した。ジャガイモとサツマイモ由来のデンプンは試薬を購入し、サトイモは農産物から以下の方法で精製した。スーパーで購入したサトイモの皮を剥き、亜硫酸ナトリウム水溶液に浸し、ミキサーで粉碎した。懸濁液を 150 μm のメッシュに通した後、遠心分離を行い上層の不純物を取り除き、40 $^{\circ}\text{C}$ で一晩乾燥させた。これら 3 種類のデンプン粉末をラマン分光装置 (EzRaman-N-785-A1S, Enwave Optronics) で測定した。さらにジャガイモ、サトイモ、サツマイモをスーパーで購入して、切断面の内側と外側をラマン分光装置で同様に測定した。条件は、励起光 785 nm、帯域 100-2000 cm^{-1} 、分解能 1 cm^{-1} とした。サンプル数は各条件で $n=3$ とした。

: ラマン分光スペクトルとデンプン粒子径の関係

コーン、ジャガイモ、バナナ、サフラン由来のデンプン粉末を用意した。コーンとジャガイモ由来のデンプンは試薬を購入し、バナナとサフランは農産物から精製した。これらの粒子径とアミロース含有量を測定し、ラマン分光スペクトルとの関係性を調べた。デンプン精製方法、ラマン分光測定条件、サンプル数は実験と同様である。

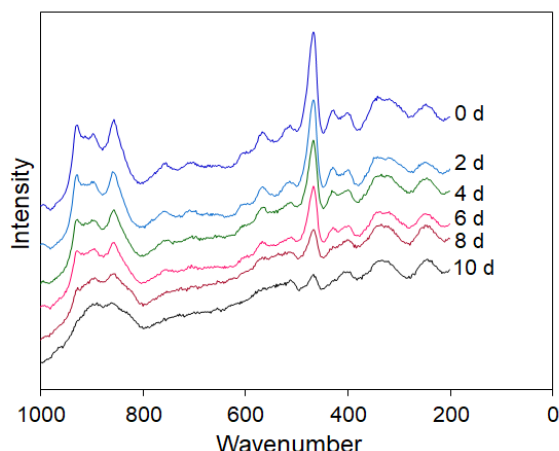


図 1: バナナ切断面のラマン分光スペクトル

4. 研究成果

：低波数ラマン分光によるデンプン簡易計測

バナナの追熟過程で、デンプン量が17.6%減少したのに対して、糖は18.2%増加した。これは追熟に伴い、酵素が働きデンプンを糖に分解したためである。また、追熟前のバナナではデンプン標準品の試薬と極めて類似したラマン分光スペクトルが得られたが、追熟が進むにつれデンプン由来のピークが消えていった(図1)。一方で、増加した糖のピークは追熟後も確認されなかった。このように農産物内で結晶構造を保つデンプンの情報のみが選択的に得られることが確認された。さらに、 469 cm^{-1} のピーク強度を単回帰の説明変数、全波数のスペクトルをPLSの説明変数として、酵素法で定量したデンプン量を目的変数としたモデルを作成した。単回帰モデルでは $R^2=0.88$ 、 $RMSE=2.8\%$ 、PLSモデルでは $R^2=0.87$ 、 $RMSE=2.8\%$ となり、いずれのモデルも同様な精度となった(図2)。この要因として図1で観察されたデンプン由来の全てのピーク強度の変化率が同期しており、単回帰でもPLSでも同様な情報しか得られていないためと考えている。この結果からも、低波数ラマン分光では、やはりデンプンを選択的に計測できることが裏付けられた。

従来、デンプンの定量には複雑な工程が必要であり最低でも数日を要していたが、本研究成果によりわずか数十秒に短縮された。一方で、バナナだけでなく複数の農産物を対象として切らずに皮ごと測定することも試みたが、表皮に含まれる色素の蛍光が強く表れラマンピークを確認できなかった。従って、切らずに皮ごと測定するには、蛍光をどのように抑えていくかが今後の課題として残った。

：農産物部位ごとのラマン分光測定

まず、デンプン標準品の粉末測定において、サツマイモのみ 1200 cm^{-1} を中心にベースラインが急激に上昇してピークが埋もれる結果となった。実際の農産物測定では、ジャガイモとサトイモで測定部位が変わってもラマン分光スペクトルに違いはなかったが、サツマイモでは内側と外側で大きな違いが見られた。サツマイモ切断面の内側ではデンプンのピークが明確に確認されたが、外側では粉末と同様にベースラインが大きく上昇する結果となった(図3)。サツマイモのみベースライン上昇が起きた要因は不明であるが、ベースラインに変動を与える物質がデンプンに結合していたことなどを予想している。これらの結果からラマン分光を用いたデンプン計測では、農産物ごとに最適な測定部位を予め検討する必要性が示された。

：ラマン分光スペクトルとデンプン粒子径の関係

顕微鏡観察の結果、それぞれのデンプン粒子径はコーン： $14.37\pm 1.37\text{ }\mu\text{m}$ 、ポテト： $47.33\pm 7.00\text{ }\mu\text{m}$ 、バナナ： $42.59\pm 5.75\text{ }\mu\text{m}$ 、サフラン： $8.38\pm 0.82\text{ }\mu\text{m}$ となった。アミロース含有量はコーン： $13.00\pm 0.30\%$ 、ポテト： $20.30\pm 0.30\%$ 、バナナ： $19.54\pm 0.55\%$ 、サフラン： $19.24\pm 0.52\%$ であった。また、ラマン分光スペクトルで観察される 470 cm^{-1} 付近のピーク強度を比較すると、サフランのような細かい粒子径のサンプルほど強くなることが確認された。これまで同一農産物由来で粒子径が同程度のデンプンの場合、アミロース・アミロペクチン比がラマン分光スペクトルのピーク強度に影響するとされていたが、本研究において粒子径が明確に異なるデンプン間では、アミロース・アミロペクチン比よりも粒子径が分光スペクトルに影響することを明らかにした。

これらの研究成果は既に3本の国際誌に掲載された他、国際会議2件と国内学会2件で発表し、国際会議ではYoung Scientist Awardも受賞している。

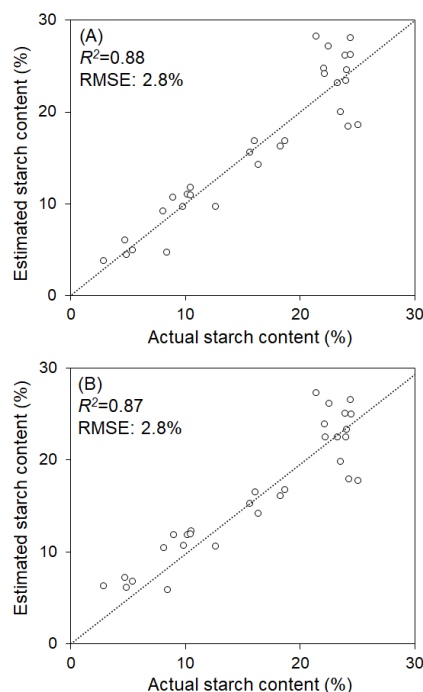


図2：(A)単回帰モデル、(B)PLSモデル

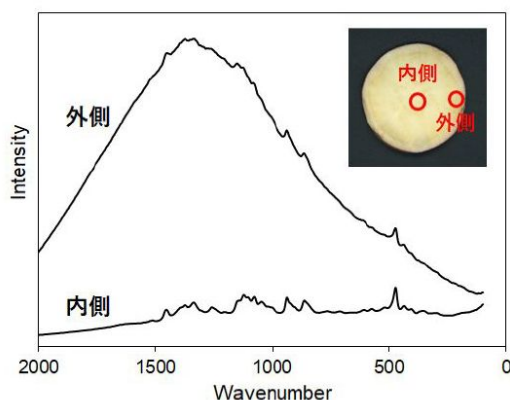


図3：サツマイモのラマン分光スペクトル

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakajima Shusaku, Nagata Masayasu, Ikehata Akifumi	4. 巻 7
2. 論文標題 Mechanism for enhancing the growth of mung bean seedlings under simulated microgravity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 npj Microgravity	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41526-021-00156-6	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 該当する

1. 著者名 Nakajima Shusaku, Yamamoto Masaki, Kuroki Shinichiro, Itoh Hiromichi	4. 巻 74
2. 論文標題 Structural and Spectroscopic Characterization of Saffron Starches at Different Growth Stages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Starch - Stärke	6. 最初と最後の頁 2200119 ~ 2200119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/star.202200119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakajima Shusaku, Kuroki Shinichiro, Ikehata Akifumi	4. 巻 401
2. 論文標題 Selective detection of starch in banana fruit with Raman spectroscopy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 134166 ~ 134166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.foodchem.2022.134166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 中島周作, 永田雅靖, 池羽田晶文
2. 発表標題 微小重力下での植物栽培の可能性：近赤外イメージングと 遺伝子計測による評価
3. 学会等名 第37回近赤外フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中島周作
2. 発表標題 分子間振動モードを活用した農産物内のデンプン計測
3. 学会等名 第26回テクノフェスタ(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shusaku Nakajima, Shinichiro Kuroki, Akifumi Ikehata
2. 発表標題 Starch detection in fresh banana fruit with 785 nm Raman system
3. 学会等名 The 8th Asian NIR Symposium(国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shusaku Nakajima, Shinichiro Kuroki, Akifumi Ikehata
2. 発表標題 Structure - UV spectra and antioxidant activity relationships of oligosaccharides
3. 学会等名 The XX CIGR World Congress 2022(国際学会)
4. 発表年 2022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
---------	---------