

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380147

研究課題名(和文) 光センシングによる食肉加工場の衛生評価技術の開発

研究課題名(英文) Development of hygiene monitoring method at a slaughter house by optical sensing

研究代表者

大下 誠一(Oshita, Seiichi)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：00115693

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：光センシングによる分光反射・吸収情報からのATP 検出を基本にして、豚肉表面に付着した一般生菌数を瞬時に評価できる技術を開発することを目的とする研究を行った。その結果、一般生菌数の対数値とATP量の対数値の間に高い相関が認められた。また、200nmから800nmの波長における豚肉表面の吸光度の二次微分値を用いることにより、ATP量および一般生菌数を精度よく推定するモデルが構築できた。

研究成果の概要(英文)：To detect the ATP and/or viable cell count instantaneously by optical sensing, the second derivative of absorbance ranging from 200 to 800 nm was utilized. Results obtained by using PLSR (Partial Least Square Regression) showed that both ATP amount and plate count could be estimated non-destructively by the second derivative of absorbance.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：光センシング 清浄度評価 一般生菌数 ATP 豚肉 部分最小二乗回帰

1. 研究開始当初の背景

ATP と微生物に関して、Gaunt et al.(1985)は ATP の測定が菌類バイオマスの推定に有効であるとした。また、Venkateswaran et al. (2003) は生菌のバイオマーカーとして細胞内の ATP 測定が有効としている。さらに、門司(2000)はメンブレンフィルタと生物発光法に微弱光検出を組合せ、迅速で高感度な ATP 測定が可能であるとした。また、生物テロ対策の分野で、生物発光法を用いた ATP 発光強度により大腸菌などの細菌数を鋭敏に推定できるとする報告もある(Fujinami et al.,2004)。

食品分野では、Hawronskyj and Holah (1997)が、生物発光法による ATP 測定が食品工業の各所で衛生指標として検討されていることを指摘した。また、Bautista et al. (1997)は、食鳥加工ラインのと体の微生物汚染を培養法と ATP 生物発光法で測定し、微生物学に基づいたシステムの適用が有効であるとしている。

このように、ATP 量と微生物数に相関を認める研究は多いが、食肉加工場では、多くがスポット検査のため汚染箇所を見落とす危険性がある。加えて、微生物の培養には時間を要し、ATP 測定には熟練を要すること等の問題がある。一方、豚肉の ATP 含量は、と殺 1 日以降はほとんど変化しない(堀内ら, 2002)。これに対して、食肉表面の一般生菌は時間と共に増加する。このように、バックグラウンドの ATP 量が一定であれば、表面付着微生物の増殖を ATP に特有な吸収波長を用いて推定可能であると考えられる。

研究代表者らは、ハウレンソウ葉の ATP を分光特性から検出しており(Ye et al., 2009) この手法を豚肉試料に適用して、豚肉表面の ATP および一般生菌数の推定を行い、分光反射特性から ATP や一般生菌数の推定が可能である基礎データを提示している(大下ら, 2010, 大戸ら, 2010)。

2. 研究の目的

食肉加工場では、安全確保を目的とした清浄度・衛生評価のため、“ふき取り検査”が普及している。ふき取り法は、食肉や加工装置の ATP 量や生菌数を測定する方法で、ATP 量が多ければ微生物汚染の危険がある。しかし、手作業のためライン全体の把握が困難であり、判定に時間も要する。このため、迅速に清浄度を評価できる技術が強く望まれている。

そこで、光センシングによる分光反射情報からの ATP 検出を基本にして、食肉表面に付着した生菌数を瞬時に評価できる技術を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

食肉表面の分光反射情報から、表面に付着した一般生菌数を非破壊で推定する技術を開発する。

試料は豚ロース肉赤身部とする。これを食肉加工場の解体作業室の上限温度である 15 で保存し、試料表面の分光反射スペクトルを測定する。これと同時に、ふき取り法により表面付着物質を採取して一般生菌数と ATP を測定する。これらの経時的な変化を解析し、「反射率と一般生菌数」および「反射率と ATP 量」とが高い相関を示す波長をいくつか特定する。これにより、特定した波長における反射率(及びその 2 次微分値)から一般生菌数を推定するモデルを提示する。また、反射率から ATP 量を推定するモデルも同時に検討し、ATP の近くに吸収極大があるとされるタンパク質などの影響を受けずに ATP を推定できるかどうかを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 一般生菌数と ATP 量

図 1 に一般性菌数を、図 2 に ATP 量を、4 枚の試料の測定値とその平均を示した。横軸はいずれも保存時間、縦軸は、図 1 では一般生菌数の対数、図 2 では ATP 量の対数である。図に見られるように、一般生菌数および ATP 量は経時的に増加した。一方、図 3 に、横軸に一般生菌数の対数、縦軸に ATP 量の対数をとって両者の関係を示した。その結果、両者には決定係数が 0.8994 という高い相関が認められた。

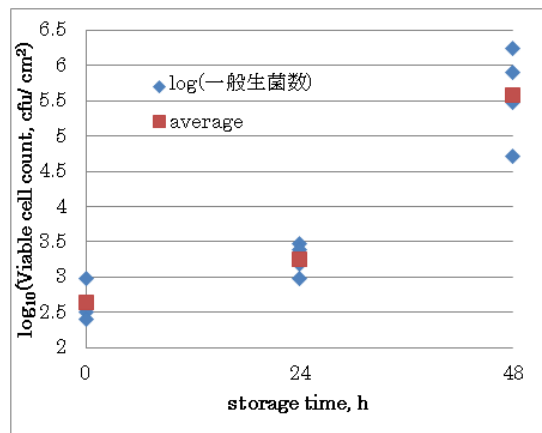


図 1 豚肉の保存時間と一般生菌数

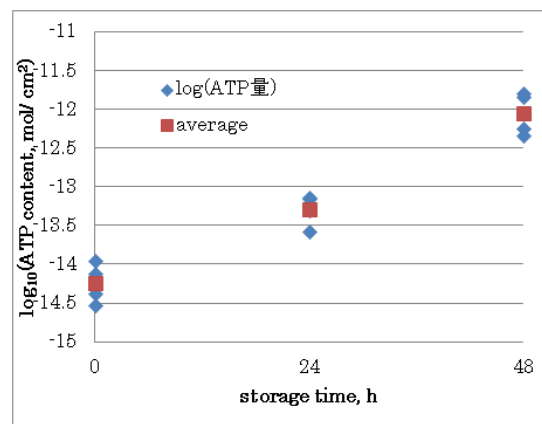


図 2 豚肉の保存時間と ATP 量

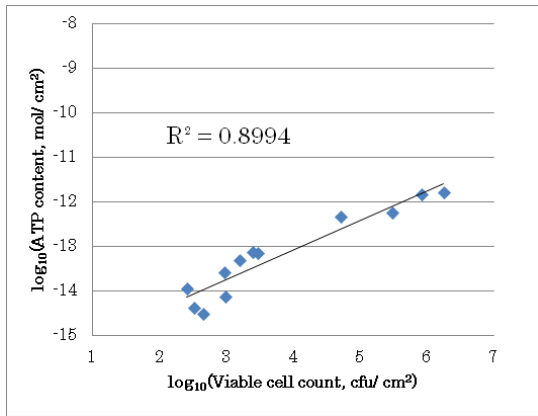


図3 \log_{10} (一般生菌数)と \log_{10} (ATP量)

(2) 分光吸収スペクトル

図4に、豚肉試料表面の波長200~800nmにおける吸光度を、図5に吸光度の二次微分値を示す。

図4では相対的に波長の短い領域における吸収が少ないことが分かる。過去の本研究室における結果(大戸, 2010)と比較すると、いずれも表面の鮮やかさがなくなる48時間後に吸光度が全体的に上昇していること、500nm~600nmの間にM字型のピークが現れ経時的に消失するといった特徴が一致した。このM字型のピークは微生物の増減に伴う

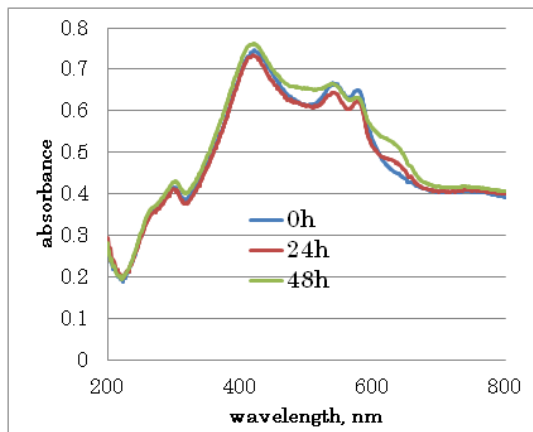


図4 豚肉表面の吸光度スペクトル

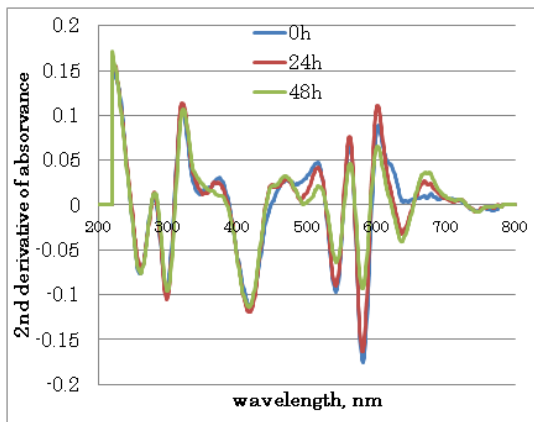


図5 吸光度二次微分値の経時変化

ミオグロビンとその誘導体の変化に由来するものである。

それに伴い、二次微分においても578nmに負のピークが現れており、この波長における吸光度二次微分値と \log_{10} (一般生菌数)および \log_{10} (ATP量)の間には、それぞれ単回帰により決定係数0.81、0.71の検量線を作成できた(図はなし)。

(3) PLSRによる一般生菌数およびATP量の推定モデル

保存0時間から48時間における吸光度二次微分値を用いて、部分最小二乗回帰(PLSR)により一般生菌数およびATP量を推定するモデルを求め、その結果を表1に示す。

ただし、変数Xは200~800nmにおける吸光度二次微分値、変数Yは \log_{10} (一般生菌数)および \log_{10} (ATP量)として、LVは潜在変数の最適数を表している。この結果から、PLSRにより一般生菌数およびATP量を高い精度で推定できることがわかった。

表1 PLSRの結果

実験および変数	キャリブレーション			クロスバリデーション	
	R ²	RMSEC	LV	R ²	RMSECV
\log_{10} (生菌数)	0.85	0.51	1	0.81	0.62
\log_{10} (ATP量)	0.86	0.34	1	0.82	0.42

(4) 結論

豚肉表面の一般生菌数とATP量に高い相関があるという川岸(2009)および大戸(2010)の結果と本研究における結果が48時間までの保存時間範囲で一致し、再現性が確認できた。

さらに、吸光度の二次微分値のスペクトルにより、PLSRを用いて一般生菌数およびATP量の推定モデルを作ることができた。

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2件)

N. Oto, S. Oshita, S. Kawagishi, Y. Makino, Y. Kawagoe, M.I. Al-Haq, S. Shinozaki, N. Hiruma, Non-destructive estimation of ATP contents and plate count on pork meat surface by UV-Vis reflectance spectrum analysis, Journal of Food Engineering 110, 査読有, 2012, 9-17

doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.017

大下誠一, 大戸尚美: 紫外・可視分光分析による食肉表面の非破壊清浄度評価, 冷凍, 87(1018), 査読なし, 2012, 541-546, (特集記事)

〔学会発表〕(計6件)

大下誠一, 牧野義雄, 外9名: 光センシングによる食肉加工場における清浄度評価法の開発. 2012 国際食品工業展アカデ

ミックプラザ研究発表会，2012年6月5日-8日、東京ビッグサイト
金仙女，叶旭君，川越義則，牧野義雄，大下誠一：分光反射情報によるハウレンソウ葉の鮮度評価に関する研究，第70回農業機械学会年次大会，2011年9月27日、弘前大学
Oto N., Al-Haq M. I., Makino Y., Kawagoe Y., Oshita S.: Non-destructive estimation of ATP content on pork meat surface by optical sensing, CIGR International Symposium on Sustainable Bioproduction - Water, Energy, and Food, Tokyo, 2011年9月20日、Tower Hall Funabori (Tokyo)
大戸尚美，牧野義雄，川越義則，大下誠一，杉山純一：蛍光分光分析による食肉表面の清浄度評価，日本食品工学会第12回年次大会，2011年8月6日、京都テルサ（京都）
金仙女，鈴木康平，川越義則，牧野義雄，大下誠一，竹田和明，廣野学：カット野菜の鮮度評価に関する研究，日本食品工学会第12回年次大会，2011年8月6日、京都テルサ（京都）
大下誠一，牧野義雄，川越義則，外14名：光センシングによる食肉の清浄度評価法の開発，2011国際食品工業展アカデミックプラザ研究発表会，2011年6月7日-10日、東京ビッグサイト

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

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

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：70376565

叶 旭君 (YE XUJUN)
弘前大学・農学生命科学部・准教授
研究者番号：10708168

(3) 連携研究者 なし

()