

氏名(本籍)	邱 曉麗 (中国)
学位の種類	博士(生物工学)
学位記番号	博甲第6316号
学位授与年月日	平成24年7月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Development and Application of μTAS for Detection of Foodstuff Freshness Level (食品の新鮮度計測用 μ TAS の開発と応用)
主査	筑波大学教授 農学博士 佐竹隆顕
副査	筑波大学准教授 博士(農学) 北村豊
副査	筑波大学准教授 博士(学術) 中島敏明
副査	筑波大学准教授 博士(農学) 吉田滋樹
副査	筑波大学教授 博士(工学) 鈴木博章

論文の内容の要旨

近年、食の安全・安心に対する社会的要請は高く、鮮度の高さが購入時の大きな目安となる。わが国の主食である米や主要なタンパク源である豚肉とてその例外ではない。貯蔵中の米の脂質、蛋白質などの栄養物質は特定の酵素の作用の下で分解され、カビにより発ガン物質として高い毒性を持つアフラトキシンが生成される。一方、屠殺後の肉は細菌に感染し易く、汚染の程度によっては中毒を引き起こすことがある。このため米や豚肉の鮮度評価には大きな社会的要請がある。米の新鮮度を測る測定法として脂肪酸定量法、pH法などが知られている。米の脂質は貯蔵過程でリパーゼの作用により極めて容易に分解され脂肪酸を遊離するため、脂肪酸度は鮮度の重要な指標の一つと考えられる。また豚肉の鮮度を測る測定法としてHPLC法、pH法などが知られている。屠殺後の肉は種々の成分に変化が生じ、中でも、核酸は酵素の働きにより極めて容易に分解され、生成した種々の核酸関連物質の含有量を総合的に示すK値、Ki値、H値は肉の鮮度指標として極めて重要な指標となっている。従来これらの鮮度指標の測定はHPLC、生物センサーなどを用いて行われてきた。しかし、米と豚肉の鮮度測定の従来法は、測定に時間とスキルが必要なため実験室内における測定に限られ、測定装置は一般にベンチスケールのサイズのものであり携帯して使用することは困難である。一方、 μ TAS (micro total analysis systems) はその利用のメリットから医療や臨床検査、環境計測等多方面で利用が進んでいるものの、食品の分析には殆ど利用されていない。本研究では米と豚肉の鮮度評価において、鮮度の指標として脂肪酸度とK (Ki/H) 値を測定する μ TAS を新たに試作開発し、従来法との比較検討を通じてその性能評価を行った。

はじめに、米の鮮度評価において、脂肪酸度を測定する μ TAS を試作開発した。試作した μ TAS のサイズは 11mm × 45mm であり、ガラスの基板上にポリジメチルシロキサンシートを溶着し、同プレートに2つのインジェクションポート、マイクロチャネル、定容量化セル(液溜め)、および ϕ 4.0 mm 反応セル等を形成した。マイクロチャネルの流路の高さは 150 μ m である。この試作開発した μ TAS は化学分析の中和滴定のマイクロチップ化を実現したものであり、その性能を検証するため2005年から2010年にかけて収穫され

た玄米と精米の鮮度を測定した。また μ TAS による測定に合わせて従来の鮮度評価技術である中和滴定法による測定を行い、測定した脂肪酸度の比較検討を行った。その結果、両者の測定値の間には高い相関 ($R^2 = 0.980-0.984$) が認められたことから、開発した μ TAS は米の鮮度の評価技術として十分な可能性を有すると判断された。

次に、豚肉の鮮度評価において、鮮度の指標として K 値、Ki 値と H 値を測定する μ TAS を試作開発した。

試作した μ TAS のサイズは W (14mm) \times L (32mm) であり、ガラス基板とポリジメチルシロキサンシートから構成される。ガラス基板には基準・作用・補助の 3 つの電極からなるセンサーを 4 つ構成した。それらのセンサーの上にポリジメチルシロキサンシート基板により各反応セルを形成した。センサー 1 は 1 種類の酵素を用いてヒポキサンチンの合算量を計測する。センサー 2 は 2 種類の酵素を用いてイノシン、ヒポキサンチンの合算量を計測する。センサー 3 は 3 種類の酵素を用いてイノシン酸、イノシン、ヒポキサンチンの合算量を計測する。センサー 4 は 4 種類の酵素を用いて ATP 関連化合物の総量を計測する。従ってこれら 4 つのセンサー出力から各定義式により K 値、Ki 値、H 値を同時に求めることが可能である。なお、各反応セルにおける核酸関連物質の検出は可溶性酵素と固定化酵素のコンビネーション法により行った。また μ TAS による測定に合わせて従来の鮮度評価技術である UPLC 法による測定を行い、測定した K 値および Ki 値の比較検討を行った。その結果、両者の測定値の間には高い相関 ($R^2=0.878-0.924$) が認められた。なお、試作した μ TAS の 1 度の測定に要する時間は、UPLC による測定が 10 分程度要するのに対して概ね 2 分程度と約 1/5 に短縮することができた。以上のことから、試作開発した μ TAS は豚肉の新機軸の鮮度評価技術としての可能性を有すると判断された。

審査の結果の要旨

近年、食素材の安全・安心に対する社会的関心の高まりを受け、食の安全・安心を評価する技術開発が注目を集めている。また、安全・安心を保証する食素材の評価項目の中で特に素材の鮮度評価は重要な項目である。素材の鮮度評価のための従来の測定法は一般にベンチスケールサイズの装置が必要であり、オンサイトでかつリアルタイムでの測定は困難であった。このため専門的な知識やスキルを必要とせず、オンサイトでの測定を実現するセンサーの開発には産業界から強い期待があった。一方、本論文で研究を行った μ TAS はこれらの諸問題を解決することが可能である。従来、 μ TAS は医療や臨床検査、環境計測等多方面で利用が進んでいるものの食品を対象とした分野での開発事例は皆無であった。

本研究はわが国の主食の米や主要なタンパク源である豚肉の鮮度の簡易な計測を可能とする μ TAS の試作開発を行ったものである。新たに開発した μ TAS による測定結果は従来の中和滴定や UPLC を用いた計測値と高い相関を示したことから、試作開発した μ TAS の実用化の可能性が認められた。オンサイトでの実利用に向けては、今後、計測システムとしての完成度を高める必要があるものの、本研究の成果は将来的に可搬型の食品の鮮度評価装置開発に向けた方向性を示した貴重な研究成果であると判断された。

平成 24 年 6 月 14 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。