

食品鮮度の数値化～吸光度変化を測定する装置の開発～

6年C組 熊谷 充弘

指導教員 藤野 智美

1. 要約

魚肉などの鮮度低下に伴う変色は、その内部に含まれるミオグロビン(Mb)の酸化に伴うメトミオグロビン(metMb)の生成が原因である。本研究では、二種類の波長のLEDとフォトダイオード、トランジスタを用いて吸光度測定装置を自作し、Mbの酸化に伴う吸光度の変化を測定することで metMb の生成率を算出し、鮮度の一つの指標である酸化度合いの数値化を目指した。

キーワード ミオグロビン(Mb),metMb,フォトトランジスタ,吸光度比,メト化率

2. 研究の背景と目的

本研究は、以前に行っていた「眠気の数値化」の研究で知った「2種類の波長の光の吸光度比を用いた血中酸素濃度の測定技術」の応用として、酸化と相關のある食品鮮度が測定できるのではないかと考え、研究を開始した。今日の日本では賞味期限が切れた食品の多くは廃棄され、食中毒などの問題が表面化することは少ないと考え、研究を開始した。魚や家畜が生きている状態では、体内的還元酵素により metMb が deoxyMb に還元される。しかし死後は還元酵素が働くなくなるため、metMb の割合(メト化率)が時間経過とともに増加する。その結果、切り身が metMb 自体の暗褐色に近づいていくことが一般的に知られている。

3.2 吸光度と Mb の酸化度合いの関係

吸光度とは、ある物体を光が通過した際にその強度がどの程度弱まるかを示す無次元量である。吸光度は次式の「ランパート・ベル」の法則により定義され、入射光量と透過光量の測定により算出が可能である。

$$A_\lambda = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (1)$$

I_0 : 入射光量 I : 透過光量 c : モル濃度[mol/L]
 ε : モル吸光係数[L/(mol · cm)] d [cm] : 試料の厚み

3. 研究内容

3.1 魚肉や畜肉の鮮度低下による色の変化のメカニズム

魚肉や畜肉の赤身には、ミオグロビン(Mb)と呼ばれる赤色のタンパク質が豊富に含まれている。Mbには、還元され、酸素と

I_0 にはLEDとフォトトランジスタの間に何も入れていない時の電圧値、 I には LED とフォトトランジスタの間にマグロなどの試料を挟んだときの電圧値を用いた。

先行研究の調査により、魚肉や畜肉中の Mb が酸化することによって、各波長での吸光度が変化することがわかった(図 1)。

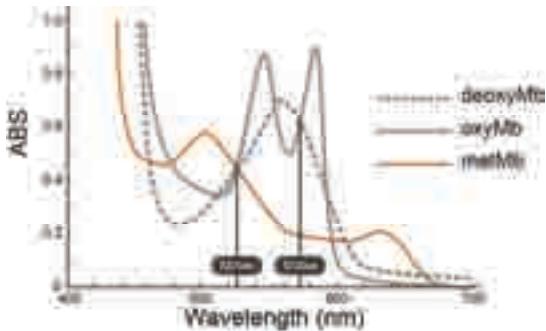


図 1 ヤギ肉の 3 種類の Mb の吸光度(参考文献[1]より)

図 1 より波長 527 nm と 572 nm での Mb の吸光度に特徴があることがわかった。次にその特徴を示す。

(1) 波長 527 nm での吸光度

図 1 より、3 種類の Mb が等しい吸光度を示しているため、吸光度は Mb の酸化度合いに依存せず、溶液の濃度変化によってのみ変化することがわかる。

(2) 波長 572 nm での吸光度

図 1 より、metMb のみが低い吸光度を示すため、この波長における吸光度は、溶液の濃度及びメト化率によって変化することがわかる。

(1)、(2)より、527 nm における吸光度を基準とした 572 nm における吸光度の比を算出することで、あらゆる溶液濃度に対応したメト化率の算出式を求めることが可能である。

3. 3 吸光度測定装置の製作

式(1)より、吸光度の測定には入射光量と

透過光量の情報が必要となるため、光源として 2 種類の波長(527 nm、572 nm)のチップ型 LED から光を照射し、光量の測定にはフォトダイオードとトランジスタを用いて電流値として光量を観測した。この際、出力される電流値の変化は非常に小さいため、オペアンプを用いて電流-電圧変換と反転增幅を行い(図 2)、Arduino pro mini でデータの記録と解析を行った(図 3)。

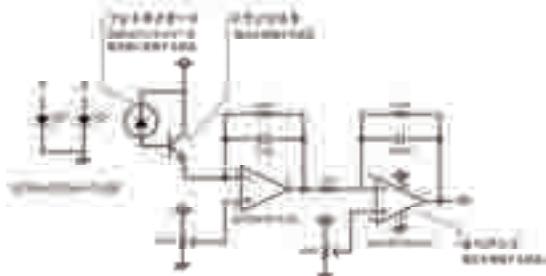


図 2 自作した装置の外観とセンサー部分の回路図

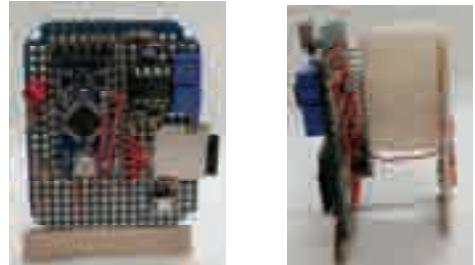


図 3 自作した液体の吸光度測定装置

自作した装置(以下「自作品」)による測定精度を検証するために、市販されている分光光度計 UVmini-1240(島津製作所、以下「市販品」)による測定結果との比較実験を 2 種類行なった。

3. 4 比較実験 1 (濃度変化の測定)

実験 1においては、ランパート・ベルの法則より吸光度が濃度に比例することがわかっているため、metMb 溶液の濃度を薄めた際の吸光度の変化を測定した。

[実験方法]

- (1)市販の Mb 粉末を購入し、0.9 %生理食塩水 5.00 mL に溶かして 0.15 %metMb 溶液を調製する。(なお、学校で可能な保存温度の関係で、購入した Mb 粉末は酸化が進んだ metMb の粉末となった)
- (2)調製した溶液に生理食塩水を 0.50 mL ずつ加えることで metMb 濃度を徐々に薄めていき、ランバート・ベルの法則を用いて 527 nm 及び 572 nm の波長の光に対する溶液の吸光度を自作品と市販品で測定を行い、吸光度を比較した。

[仮説]

ランバート・ベルの法則より、濃度を薄めるごとに吸光度は低下する。

[結果]

527 nm の波長による測定結果、572 nm の波長による測定結果を図 4、図 5 に示す。

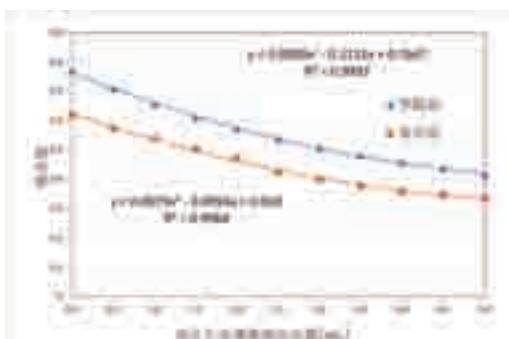


図 4 metMb の濃度変化による吸光度の変化(527 nm)

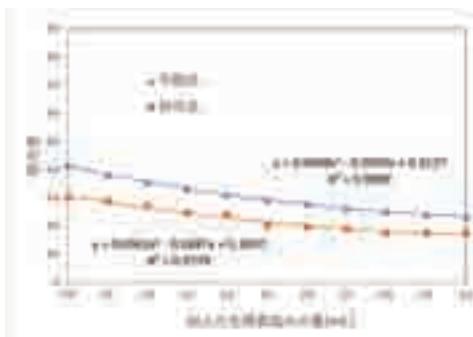


図 5 metMb の濃度変化による吸光度の変化(572 nm)

実験結果より、市販品と自作品での測定値には一定の差があるものの、近似曲線は

類似しており、仮説どおりに濃度が薄まるについて、市販品と同じような吸光度低下を測定することができた。

なお、市販品と自作品との間で吸光度の差が生じてしまった原因として、2 つの原因が考えられる。

(1)市販品では光線を絞り込むためにレンズでの集光を行い、散乱光を受け取らないようにフォトトランジスタを離れたところに配置しているが、自作品ではその仕組みがないため散乱光も感知している。

(2)市販品では回折格子を用いて高い精度で特定波長の照射が可能だが、自作品で使用した LED は発光する波長領域に幅があるため、誤差が生じている。

しかしこの吸光度の差は、酸化の度合いを算出する際に吸光度の比を用いるため、酸化の度合いの算出には影響が少ないと考えた。

3.5 比較実験 2 (Mb の酸化の測定)

実験 2においては、図 1 より Mb は酸化するに従って 572 nm での吸光度のみが低下することがわかっているため、deoxyMb 溶液の酸化による吸光度の変化を測定した。以下に実験結果を示す。

[実験方法]

- (1)実験 1 と同様の方法で調製した metMb 溶液に、還元剤である「ハイドロサルファイトナトリウム($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)」を 0.04% 添加し、deoxyMb 溶液を調製する。
- (2)その溶液を 20 秒ずつ手で攪拌し、徐々に酸化させ、1 回ごとに 527 nm 及び 572 nm の波長の光での溶液の吸光度変化を自作品と市販品で測定し、比較した。

[仮説]

図 1 より、527 nm では酸化によらず吸光度は一定となり、572 nm では酸化が進むにつれて吸光度が徐々に低下していく。

[結果]

527 nm での吸光度の変化のグラフを図 6、572 nm でのグラフを図 7 に示す。

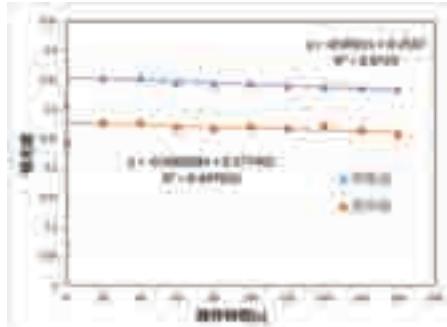


図 6 deoxyMb の酸化による吸光度の変化(527 nm)

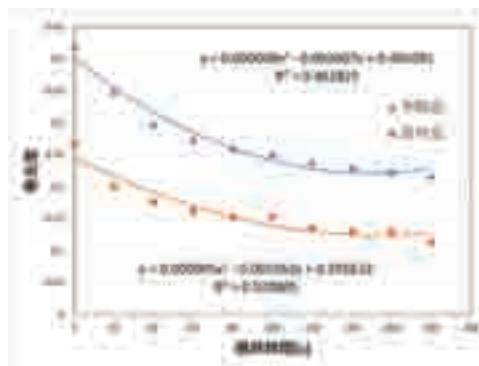


図 7 deoxyMb の酸化による吸光度の変化(572 nm)

実験結果より、比較実験 1 同様、自作品の測定値は一定の割合で低いものの、予想どおりに 527 nm では搅拌前の値(0 秒での値)を除き吸光度はほぼ一定であり、572 nm では酸化に伴って吸光度の低下を測定することができた。

なお、527 nm の搅拌前の異常値については、セルへの不純物の付着によるものと考えられる。

3. 6 メト化率算出式の決定と測定

3.4 及び 3.5 の実験結果から、自作品が高い精度で吸光度の変化を捉えられているこ

とが確かめられたため、最終的に測定したいと考えていたメト化率の算出を行なった。算出式の決定方法については、尾藤氏による先行研究において確立された吸光度比を用いる方法を採用し(図 8)、3.5 でのデータを用いて次の算出式を得た(式 2)、(式 3)。

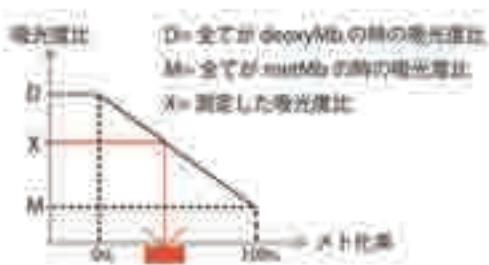


図 8 メト化率算出式のイメージ

$$metMb(\%) = -101 \times \text{吸光度比} + 133 \quad (2)$$

$$metMb(\%) = -162 \times \text{吸光度比} + 200 \quad (3)$$

式(2)と式(3)を用いて、3.5 における実験の測定データからメト化率の変化を算出し、市販品と自作品との測定値の比較を行った。その結果のグラフを図 9 に示す。

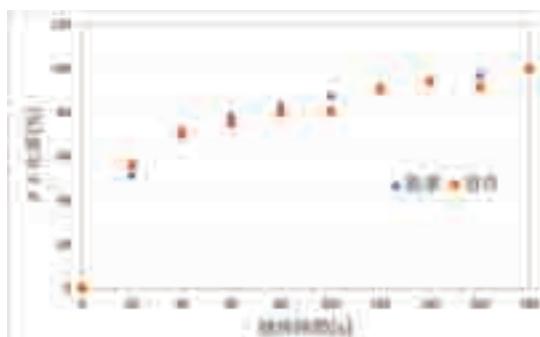


図 9 deoxyMb の搅拌によるメト化率の変化

実験結果より、メト化率を算出する際に吸光度比を用いる為、吸光度の差に影響されず、ほぼ同様のメト化率を算出することができた。よって、メト化率の算出は、レンズや回折格子などを用いない、簡易な仕組みをもつ小型かつ安価な装置で測定できると考えた。

3.7 キハダマグロの鮮度の測定

自作装置が高い精度で吸光度の変化およびメト化率を測定できることがわかつたため、目標としていた食品鮮度の測定を行なう装置を開発し、キハダマグロの切り身を用いて実証実験を行った。以下に実験方法を示す。



図 10 自作したマグロの鮮度測定装置

[実験方法]

- (1)センサーに試料を挟めるようなケースをBlenderで設計し、印刷した。(図 10)
- (2)装置に1cm角に切ったキハダマグロの赤身を入れ、常温で3時間放置しながらメト化率の推移を測定した。

[仮説]

キハダマグロは空気中の酸素と触れることで時間経過と共に酸化していき、メト化率が上昇していく。

[結果]

測定結果(図 11)より、仮説どおり時間経過と共にメト化率の上昇を測定することができた。つまり、自作品による測定データからキハダマグロのメト化率の算出が可能であり、鮮度の数値化の可能性が見られた。

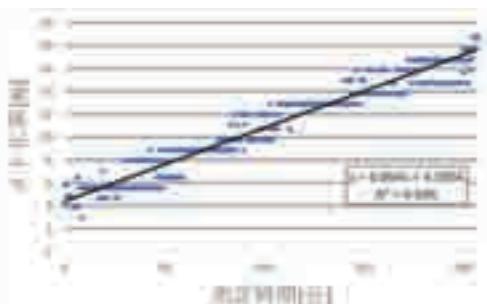


図 11 マグロの時間経過によるメト化率の変化

4. 今後の課題

現段階では、「キハダマグロ」のみでの検証実験しか行っていないため、違う種類のマグロや畜肉でのメト化率の変化を捉えられるのかの実験が必要である。

現在はランバート・ベルの法則を用いるために透過光を使用したが、この方法では鮮度測定の際に「マグロを切る」という手順が必要である。その手間を省くために独自に反射光量と吸光度の相関を実験によって調べ、バーコードリーダーのように、試料にかざすだけで鮮度測定ができる装置を開発したいと考えている。

吸光度測定の際に必要である增幅率の調整が難しいため、最適な增幅率を自動調節するプログラムを実装したい。

食品鮮度の指標である「K値」の測定が可能である装置との比較実験を行いたい。

5. 参考文献

- [1] 帯広畜産大学学術研究報告,vol11(3)
「ミオグロビンの自動酸化速度の測定法について」三浦弘之・泉本勝利・塙見雅志(1979年)
- [2] 日本水産学会誌,vol81(3)「魚類筋肉ミオグロビンのメト化率測定法の検討」
井ノ原康太・尾上由季乃・木村郁夫(2015年)

6. 謝辞

本研究活動において、本校の松浦先生、奈良女子大学の小倉先生には化学や生物の質問をさせていただきました。また、顧問の藤野先生には多大なるご協力とアドバイスをいただきました。この場をお借りして、深く感謝申し上げます。