

(9) 食品製造・加工における環境型の同定検査技術の研究開発

(平成26年度～平成28年度)

1. 研究のねらい

消費者の食の安全性に対する意識の高まりを背景に、函館地域の企業からもクレーム処理に関する相談が多く寄せられており、原因究明に役立つ迅速な同定検査技術に対する需要が高まっている。また、検査技術においては環境負荷の低減化が重要視され始めている。一般的な異物同定で良く使われている赤外分光分析法は、近年、臭素などのハロゲン化合物を直接使用しない ATR 法が開発され普及しているが、この方法が適用できない例が工業技術センターへの相談に散見される。また、同定に利用できる分光スペクトルデータは、食品の異物のような混成物に関して十分な蓄積はない。また生物系異物の同定に有効である DNA 分析では、DNA 抽出精製で使用するフェノール等の劇薬が排出されることや、生産地が限定される生物資源の DNA 情報がほとんど無いために同定が困難となることが課題である。また、食品の変敗では多くの微生物が関与しており、従来の培養法や DNA シーケンス法によりそれらを同定するには多くの時間が必要である。

そこで本研究は、同定検査技術である 1) 分光分析と顕微鏡及び 2) DNA 分析について、環境負荷の低減化及び簡易迅速化について検討することとした。本テーマは、これまでに地元企業から多くの相談が寄せられている異物に関連しており、実際の事例等を参考に企業と連携して進めることが可能であり、さらに食品に関係する企業が集積する函館地域においては、得られた成果を速やかに移転することが可能である。

2. 研究の方法

1) 顕微鏡による同定検査：加工食品であって流通後に同定検査の対象となる相談のうち、赤外分光分析が用いられるケースは、今年度で200例を超える。これらの相談事例については共通性がほとんどない。定法である ATR 法の適用が難しい例を抽出し、顕微鏡と FT-IR 装置と組み合わせた分析方法の有効性について検討している。本年は顕微鏡の3つの観察方法を組み合わせたマッピング用の写真データを作成する技術について検討した。光学顕微鏡鏡の観察方法の切り替えを活用し、得られる写真データを演算して、観察対象物の特徴を証明する検査技術を検討した。

2) DNA 分析：H27年度で検討した葉緑体ユニバーサルプライマーで増幅したコンブ、ワカメ、ダルスの各 PCR 産物について、塩基配列を解読し、公共データベースと比較することにより有効性を評価した。また H27年度に検討した簡易抽出法にて調製したワカメ DNA について、次世代シーケンサ (Ion Torrent PGM System) を用いて分析を行い、近縁種であるマコンブ葉緑体 DNA 配列を参照配列としたマッピング解析から未知のワカメ葉緑体 DNA 配列の取得を試みた。

3. 研究成果の概要

1) 顕微鏡による同定検査：相談事例の中から、2次元マッピング法が有効となるケースがあることを見出しているが、その時のマッピング用の写真データを開示する際、一見して検査対象の特性が理解できるような写真合成が可能になることを示した。通常の透過光による観察像に対して、位相差観察像と暗視野観察像の写真データを画像処理し、1枚の写真とすることが可能である。例えば、演算を適切に設定すると、その効果は透過光では黒く、暗視野法（中上）では白く見える点は、実際の外見に近い立体固形物であることが表現できた。また、白色半透明の部分には、ゲル状の流線が形成されていることが判りやすくなった。原理的には、色調補正ではなく、顕微鏡照明光に対する観察対象物の透過、反射、散乱といった光の特性を合成し見え方の欠点を補間する技術になった。この研究では、これまでのフィルム写真による画像の重ね合わせではなく、画像信号の乗算を基本として、観察像の照明効果の特徴を表現する。デジタル画像の取得と画像処理ソフトの開発による進歩が大きく貢献している。専門的な証明事実を第三者へ日常の印象に近いイメージとして伝え易いが、ここ2-3年は、真正性の捏造に発展するという疑念が社会的に注目されたこともあり、現在はこの種の画像処理技術の写真への利用は、線引きの合意が難しい環境にあると判断された。この方法によれば、3つ顕微鏡観察方法を比較して観察する専門的な方法に比べて、第三者にイメージを伝え易いと判断された。

2) DNA分析：PCRにより、コンブ、ワカメ、ダリスのそれぞれの葉緑体部分配列が正確に増幅されていたことから、本ユニバーサルプライマーは様々の種に共通で利用できることが考えられた。また次世代シーケンサを用いたマッピング解析から、ワカメ葉緑体DNAのほぼ全長（約130,600塩基）と考えられる配列情報が取得された。本研究で使用したIon Torrent PGM Systemは、次世代シーケンサの中では解読能力の低い装置であるが、近縁種の参照配列を組み合わせることにより、数十万塩基程度の大きさの未知配列をデータベース化できるものと考えられた。

担当者 清水健志、青木央、木下康宣