

# 呼吸酵素濃度分布の可視化に基づく 青果物鮮度保持期間の非破壊推定

東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授 牧野 義雄

## ■ 目的

青果物の鮮度低下に大きく影響を及ぼす要因の一つが呼吸であり、保有する同化産物を消費する生物反応であることから、収穫後においては外観品質の劣化、栄養分の消耗、目減り等を引き起こす。そこで、細胞内に取り込んだ O<sub>2</sub> 分子の 90% 以上を消費し、鮮度保持期間と関係が深い呼吸酵素「シトクロム *c* オキシダーゼ」の青果物組織中での活性分布を、光センシングを利用して非破壊的に予測する手法を確立する。

## ■ 方法

部分的に呼吸速度と品質変化の程度が異なり、呼吸酵素濃度分布と鮮度低下速度の関係に関する研究を行う実験試料として適しているブロッコリーを試料として研究を行った。花蕾部を少量採取し、包埋剤とともに -100°C で凍結した後、クリオスタットで 100 μm の厚さの切片を作成した。顕微紫外可視近赤外分光光度計で切片を観察するとともに、74 箇所の微小空間 (30 μm φ) における分光吸収スペクトル (波長範囲 400 ~ 900 μm) を測定した。同じ試料について、3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochlorine を用いた酵素活性染色を行い、染色前と同じ微小空間の 520 nm における吸光度を測定することにより、酵素活性を評価した。染色前の吸収スペクトルを説明変数、染色後の吸光度を目的変数として部分最小二乗回帰分析 (PLSR) を行い、分光分析により酵素活性を非破壊で推定するモデル式を作成した。さらに、ブロッコリー花蕾部に含まれるミトコンドリアを濃度勾配超遠心分離によって純粋に抽出・精製し、分光吸収スペクトルを測定するとともに、プロテオーム解析を行うことにより、シトクロム *c* オキシダーゼの光吸収特性を確認する実験を行った。

## ■ 結果および考察

ブロッコリー花蕾部組織内の微小空間における分光吸収スペクトルは部位によって異なり、特に 440nm および 680nm における吸光度に違いがみられた。PLSR の結果、酵素活性は相関係数 0.81、予測標準誤差 0.50 の精度で、非破壊予測が可能であることが明らかになった。野菜組織におけるシトクロム *c* オキシダーゼの存在は微量であるかもしれないが、過去にはネコの脳において当該酵素の光吸収を非破壊で測定した研究例も存在する。従って、本研究で得られた成果は、野菜中における当該酵素活性の非破壊予測も十分可能であることを示唆する。440nm における光吸収はシトクロム *c* オキシダーゼに由来することが過去の研究例で報告されていることと、本研究の PLSR で得られたスコアプロットから示された結果から、当該波長における光吸収が、シトクロム *c* オキシダーゼ活性の非破壊推定に寄与していると考えられた。

ミトコンドリア精製物の分光吸収スペクトルを測定した結果、440nm における光吸収が認められた。この精製物についてプロテオーム解析を行った結果、シトクロム *c* オキシダーゼのサブユニットが検出された。このことから、当該酵素は 440nm における光を吸収することが確認された。

## ■ 結語

光センシングによるシトクロム *c* オキシダーゼ活性の推定が可能であり、当該酵素による 440nm における光吸収が予測精度に寄与することが、2 種類の実験データから確認された。当該酵素は青果物の鮮度保持期間に影響を及ぼすことから、本成果が選果選別ラインに実装されれば、非破壊でブロッコリーの品質保持期間が予測でき、適切な流通条件を選択することで、青果物廃棄率抑制につながるものと考えられる。