

## 大気圧空気プラズマを用いた農産物殺菌のための最適オゾンCT値についての研究

川添, 泰輔  
九州大学総合理工学府先端エネルギー理工学専攻

<https://hdl.handle.net/2324/4067241>

---

出版情報 : 九州大学, 2019, 修士, 修士  
バージョン :  
権利関係 :

令和元年度

九州大学大学院 総合理工学府

先端エネルギー理工学専攻

# 修士論文

論文名

大気圧空気プラズマを用いた農産物殺菌のための最適オゾンCT値についての研究

氏名 川添 泰輔

指導教員名 林 信哉

# ・目次

第1章 序論 .....	1
1.1 研究背景 .....	1
1.1.1 食品ロスの現状 .....	1
1.1.2 プラズマ処理技術 .....	3
1.1.3 農産物へのプラズマ照射の効果 .....	3
1.1.4 オゾンと CT 値 .....	4
1.2 活性酸素種と抗酸化活性 .....	5
1.3 研究目的 .....	6
1.4 論文構成 .....	6
第2章 実験装置および方法 .....	7
2.1 大気圧空気プラズマ生成装置と殺菌装置の概要 .....	7
2.2 大気圧空気プラズマ .....	11
2.3 実験条件および方法 .....	12
2.4 活性酸素種生成の確認 .....	13
2.5 農産物の殺菌評価 .....	16
2.6 副生成物の確認 .....	19
2.7 抗酸化活性の測定 .....	21
2.7.1 リコペン(Lycopene)の分光光度計を用いた定量法 .....	21
第3章 実験結果および考察 .....	23
3.1 活性酸素種生成の確認 .....	23
3.1.1 オゾン濃度の測定結果 .....	23
3.1.2 ケミカルインジケータ (CI) による活性酸素種の確認 .....	24
3.2 農産物の殺菌評価 .....	26
3.2.1 外観 .....	23
3.2.2 殺菌効果 .....	23

3.2.3 腐敗率.....	30
3.3 副生成物生成の有無 .....	31
3.4 農産物の機能性評価 .....	34
3.4.1 抗酸化活性.....	34
第4章 まとめ.....	39
参考文献.....	41
謝辞.....	44

# 第 1 章 序論

## 1.1 研究背景

### 1.1.1 食品ロスの現状

食料のロスは、世界の最貧諸国における飢餓との闘い、所得の向上および食料安全保障の改善において極めて重要な問題である。食料のロスは、土地、水、エネルギーおよび投入資材といった生産に供される資源を無駄にしていることを意味する。消費されることがないであろう食料を生産することは、その食料の経済的価値を損なうばかりでなく、CO<sub>2</sub>の不要な排出につながる。

経済的に避けることができる食料のロスは、農家と消費者双方の所得に直接的な負のインパクトを持っている。多くの小規模農家が食料不安にさらされている状況で、食料のロスを減らすことは、彼らの暮らしに直接大きなインパクトを与える。貧しい消費者（食料不安にある、あるいはその危険に直面している世帯）にとって最も重要なことは、栄養があり、安全で、手の届く価格の食品を入手する確実な手段を持っていることである。食料不安はしばしば供給の問題よりも入手可能性（購買力および食料の価格）の問題がより大きいことに注目する必要がある。フードサプライチェーンの効率を改善することは、消費者に届けられる食料のコストを引き下げるとともに、その入手可能性を高める助けになりうる。食料ロスの規模によっては、ロスを減らすために有利な投資をすることも食料のコストを引き下げる 1 つの方策となるだろう。しかしそれにはもちろん、ロス低減に要するコストが、それによって得られる財政的な利益を上回らないことが要求される。

図 1.1 に各地域における消費および消費前の段階での 1 人当たりの廃棄量、図 1.2 に地域別、フードサプライチェーンの各段階で発生した廃棄量の当初生産量に占める割合（果実および野菜類）を示す[1]。

先進工業国における食料のロスは開発途上国と同じくらい多いが、開発途上国における食料ロスの 40%以上は収穫後と加工段階で発生しているのに対して、先進工業国では同じ割合のロスが小売および消費者の段階で発生している。

人の消費のために生産された食料の 3 分の 1 が世界中で失われ、捨てられており、その量は 1 年当たり約 13 億トンになる。食料は、最初の農業生産から最後の世帯での消費に至るフードサプライチェーン全体を通して捨てられている。これは、収穫貯蔵、運搬、加工などの生産者から消費者のもとへ届けられるまでの段階で、カビ・変色・萎えなどの農産物の鮮度低下や腐敗が原因で

ある。しかし、日本では収穫後に使用するいわゆるポストハーベスト農薬が禁止されており、薬剤に頼らず農産物を長期保存する技術が求められているのが現状である[2]。

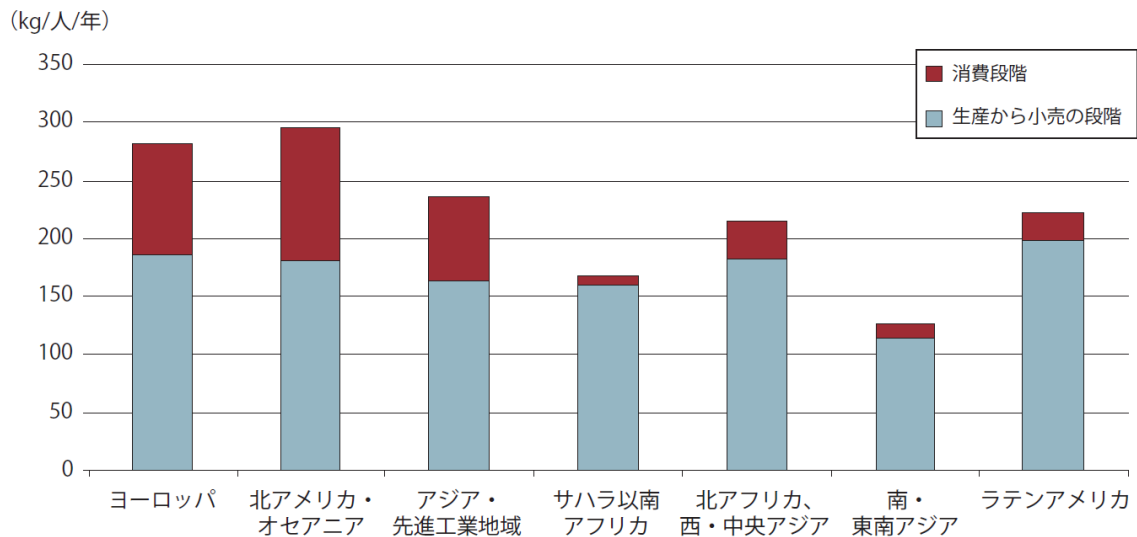


図 1.1 各地域における消費および消費前の段階での 1 人当たりの廃棄量(2007 年)

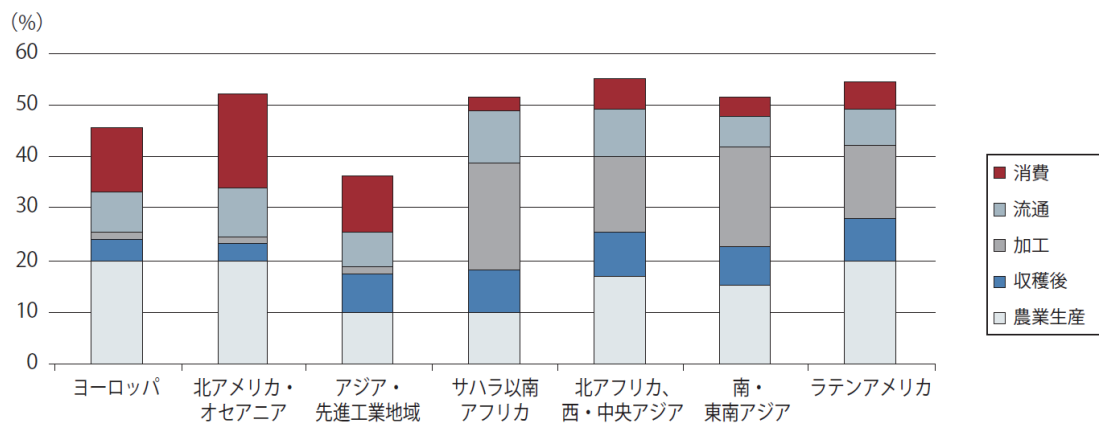


図 1.2 地域別、フードサプライチェーンの各段階で発生したロス・廃棄量の当初生産量に占める割合 (果実および野菜類) (2007 年)

### 1.1.2 プラズマ処理技術

プラズマは、気体、液体、固体に続く第4の状態であり、雷やオーロラは自然界におけるプラズマであることが知られており、電離によって生じたプラスの電荷を持つ粒子とマイナスの電荷を有する粒子がほぼ同じ密度で存在し、全体として電氣的にはほぼ中性状態にある粒子集団のことである。プラズマ中に存在する高エネルギー電子が原子や分子に衝突することにより、反応性の高いラジカルを作り出す。他方、コピー機や集塵機、アーク溶接など多方面でプラズマが利用されている[3]。

近年、プラズマが持つ電氣的、熱的、光学的、力学的及び化学的性質を活かし様々な分野での応用が期待されている。その中の一つが「医療分野」への応用である。現在、病院等の医療機関で用いられている高圧蒸気滅菌法、酸化エチレングス（EOG）滅菌法に代わる滅菌法としてプラズマ滅菌法が研究・開発されている。特に酸素プラズマガスを用いたプラズマ滅菌法では、低気圧化で酸素ラジカル（活性酸素種）を生成し、その強力な酸化力で微生物を不活化する。酸素プラズマ滅菌法は、人体と環境に無害な低温滅菌を実現した滅菌法である[4]。

もう一つが「農業分野」への応用である。例えば、カイワレ大根の種子を大気圧非熱プラズマジェットで処理することで、その後の成長が促進されることや促進効果が得られた処理では、種子中のグルコース濃度が増加することが研究で報告されている[5]。また、ローラーコンベア型殺菌装置では、農薬と同等の殺菌効果が得られる研究が報告されている[6]。このようにプラズマ応用の新たな分野として医療分野での滅菌、農業分野での殺菌・成長促進などの応用が注目されている。

### 1.1.3 農産物へのプラズマ照射の効果

殺菌法には物理的、化学的、生物学的方法があり、主として物理的、化学的方法が用いられる。農産物・食品の殺菌では、殺菌対象物を直接口にすることから、消費者は薬剤の残留に非常に敏感で、化学的方法は敬遠され、輸入農産物に対するポストハーベスト農薬の使用が大きな問題となったこともある。また、昨今では農産物・食品による食中毒事件が毎年のようにマスコミを賑わしている。農産物・食品を微生物による汚染や劣化から守り、高い安全性を得るには、増殖抑制、除菌、遮断、殺菌等の微生物制御を的確に行う必要がある。微生物制御は食中毒の原因微生物だけでなく、農産物・食品の腐敗性微生物に対して

も必要で、これにより農産物・食品の長期品質保持が可能となる。微生物制御法については、簡便性、経済性、人体への安全性、環境適合性が考慮すべき因子として挙げられている。物理的殺菌（除菌）法は、熱、機械的破壊、電磁波の照射、電場・電流、濾過に大別され、殺菌後に対象物を摂食しても健康被害がなく、人体に対する安全性に優れる。また、同時に環境に被害を及ぼすことも少なく、環境適合性も高い。一方で残留性の欠如は効果の持続性がないという点で欠点ともいえる[7]。

そこで、農産物輸出の際の無農薬の防菌防黴技術としてドライプロセスのため三次元的に処理ができ、残留性が無く人体に無害という点で大気圧プラズマによる殺菌法が注目されている。大気圧プラズマには、真空プラズマや低気圧プラズマと比べて高価な真空装置を使わないため、安価に装置を設計することができ、大気圧中で発生させるため操作が容易であること、高密度プラズマを発生させることで、処理速度が向上するなど多くの利点がある[8]。大気圧プラズマからは人体に有害であるとされる窒素化合物( $\text{NO}_x$ )が生成されるが、 $\text{NO}_x$ を除去する装置が実用化されており、 $\text{NO}_x$ の生成量を少量に抑えることが出来る大気圧プラズマ生成装置も存在するため人体への影響は無い。

近年、プラズマ照射による農産物への効果に対する研究が報告されており、大気圧放電により生成されたオゾンにより、果実表面付着菌の防黴防菌を行う農産物殺菌に関する報告がされている[9]。また、プラズマ処理を行ったトマトジュース中のリコペン濃度を増加させる農産物の抗酸化活性に関する報告がされている[10]。

#### 1.1.4 オゾンと CT 値

オゾン ( $\text{O}_3$ ) とは酸素 ( $\text{O}_2$ ) の同素体であり、常温において無色の気体で特有の刺激臭を有する。オゾンは常温で自然分解し、分解したときに生成される酸素原子には強い酸化力があり、脱臭・脱色・殺菌・滅菌などの用途で使用され、その効果はオゾン濃度・照射時間に依存する[11]。オゾンを用いて殺菌効果を検証する際、殺菌パラメーターとして CT 値が使用される。一般に CT 値はガス濃度 (Concentration) と照射時間 (Time) の積 CT で表される。CT 値が高いほど殺菌効果は増加し、CT 値が低いほど殺菌効果は低下する。

これまで、オゾンを用いた農産物表面付着菌の殺菌効果の検証を、CT 値をパラメーターとして行った研究はいくつか報告されてきた。しかし、農産物表面の殺菌できる最適な CT 値を導き出せてはいない。農産物表面菌は層状に分布しており、その種類も多いため、CT 値の差で殺菌効果に差が出る可能性が



ある。また、農産物表面菌の殺菌においては殺菌効果の検証とともに農産物へのダメージの検証も行う必要がある。農産物へのダメージについては検証項目が多く、パラメーターとして CT 値の妥当性の検証が行われていない項目もある。そのため、CT 値をパラメーターとして、農産物表面へのダメージは少なく、殺菌力のある最適な CT 値の選定が必要となる。

## 1.2 活性酸素種と抗酸化活性

活性酸素種とは、酸素分子が部分的に還元されたものであり、活性酸素自体やそれを発生させて有害微生物を殺菌させる作用を持つ。科学的に不安定で高い反応性を持つ酸素種であり、代表的なものとしてスーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシラジカルなどがある。活性酸素種は生体成分との高い反応性から老化や生活習慣病の原因とされている[12]。一方で、適度な活性酸素種は免疫系の活性化により体内に侵入した細菌等を殺すなど人体を外的から防御する機能を有している。

近年、食品機能性の 1 つであるとして、抗酸化活性が注目されている。抗酸化活性は、活性酸素など生命活動に必須であるが、過剰に産出されると細胞などに損傷を与える物質を除去する性質であり、抗酸化活性が大きいと活性酸素による障害を抑制することができる[13]。以上のことから、酸化による劣化や軟化を防ぐことで、農産物の機能性を向上させつつ、鮮度保持できるのではないかと考えた。本研究では、農産物殺菌を行なうために、活性酸素種の 1 つであるオゾンを使用する。オゾンは上述したように強い酸化力がある。オゾンによる農産物の殺菌酸化ストレスと農産物の抗酸化活性を測定することにより、殺菌と抗酸化活性との関係を明らかにし、農産物の機能性を向上させつつ、鮮度保持できるのではないかと考えた。

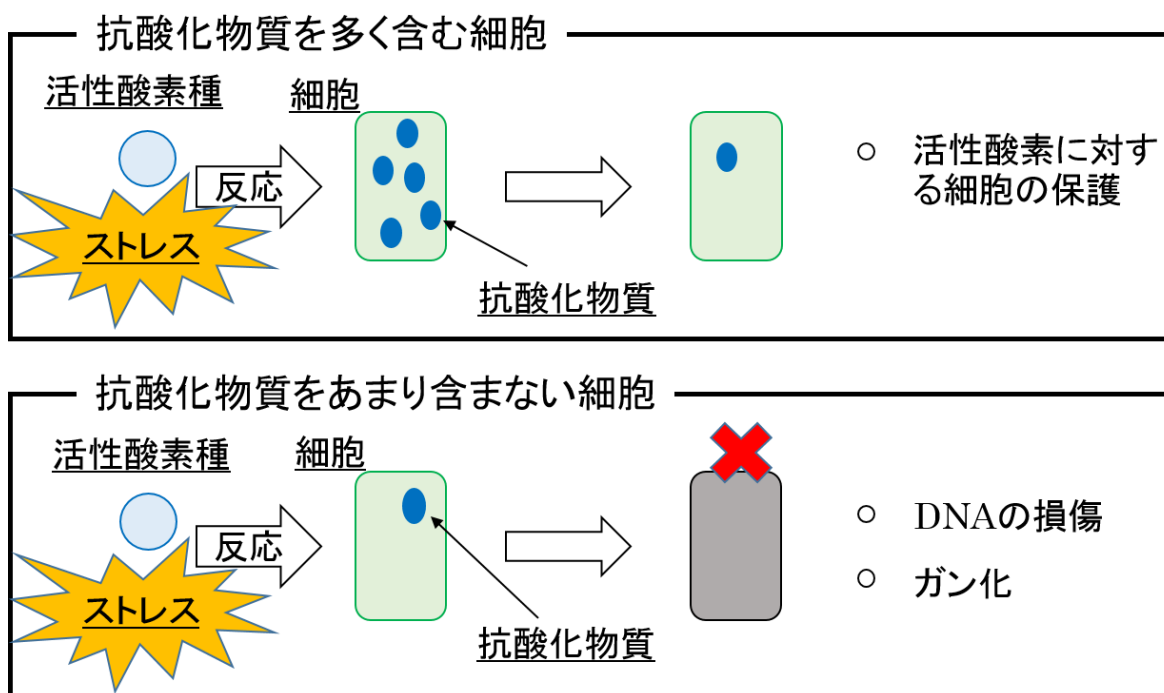


図 1.3 抗酸化活性の概略図

### 1.3 研究目的

本研究では、CT 値を変化させて農産物へ大気圧プラズマ照射を行うことで、一度のプラズマ照射により農産物の殺菌と機能性向上を実現させる。そして、農産物殺菌のための最適オゾン CT 値を選定することを目的とする。本研究の実現のために、1.大気圧空気プラズマ照射による殺菌評価を行う。この項ではシート培地を用いて大気圧空気プラズマ照射による農産物表面付着菌の殺菌評価を行い、CT 値の違いによる殺菌効果の差異を検証することを目的とする。2.大気圧空気プラズマ照射による副生成物の有無の確認を行う。この項では FTIR による農産物表面化学組成測定を行うことで、大気圧空気プラズマ照射により農産物表面に有害な副生成物が生成されていないか確認することを目的とする。3.農産物の抗酸化活性測定を行う。この項では、外観、内部成分の化学物質といった農産物の抗酸化活性の測定を行うことで、農産物の機能性向上を目的とする。これらの評価から、プラズマを用いた農産物殺菌のための最適オゾン CT 値の選定を試みることを目的とする。

## 1.4 論文構成

第 1 章では本研究の研究背景及び目的について述べる。第 2 章では大気圧空気プラズマを用いた実験装置、農産物表面の殺菌や副生成物生成の有無および抗酸化活性の測定方法について記載する。第 3 章では、記載した実験条件下で得られた結果および考察を記載する。第 4 章では、本論文の総括を述べる。

## 第 2 章 実験装置および方法

プラズマ生成のための実験装置、実験器具、農産物へのプラズマ照射実験の実験条件、農産物殺菌評価方法、副生成物調査方法、機能性評価方法について述べる。

### 2.1 大気圧空気プラズマ生成装置と殺菌装置の概要

#### ステンレス製容器

農産物を収納する空間を密閉し、酸化による劣化のない円筒型ステンレス製容器（内径 300 mm, 長さ 700 mm, 内容積 49 L）を用いた（図 2.1）。

図 2.2 に実験装置の概略図を図 2.3 にミニトマトへのプラズマ照射の様子を示す。容器底部に沿面放電電極を設置し、容器中央部に空気の流入口を設置した。実験対象物（ミニトマト）は沿面放電電極から 100 mm 離れた位置に設置した。エアープンプを用いて流量 3.5 L/min で容器内に空気を流入させ、ファンによって容器内の空気を攪拌し、沿面放電により生成した活性種を対象物に照射する構造である。

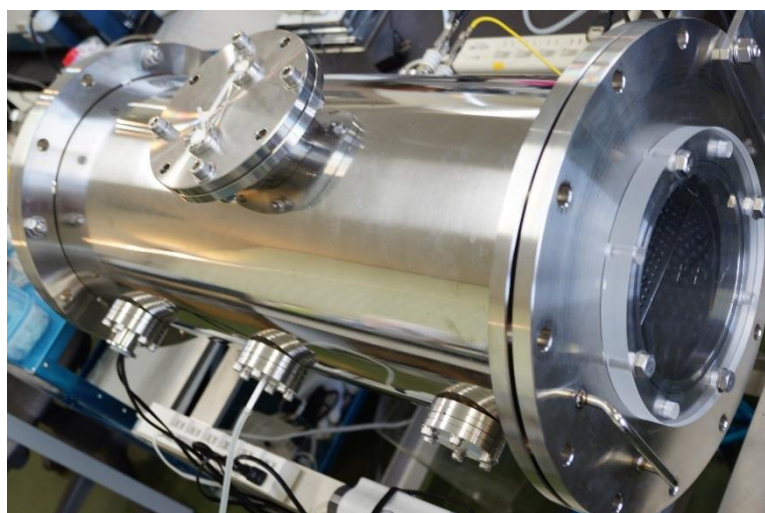


図 2.1 実験に使用したステンレス製容器

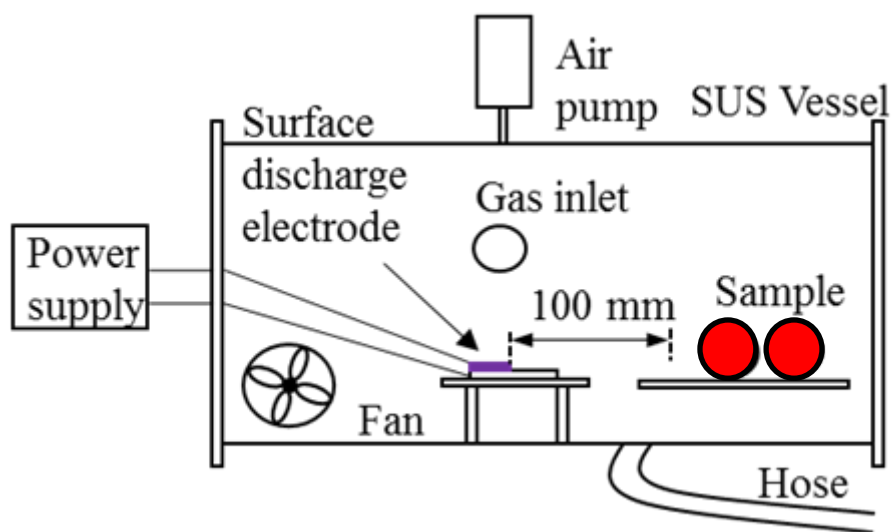


図 2.2 実験装置の概略図

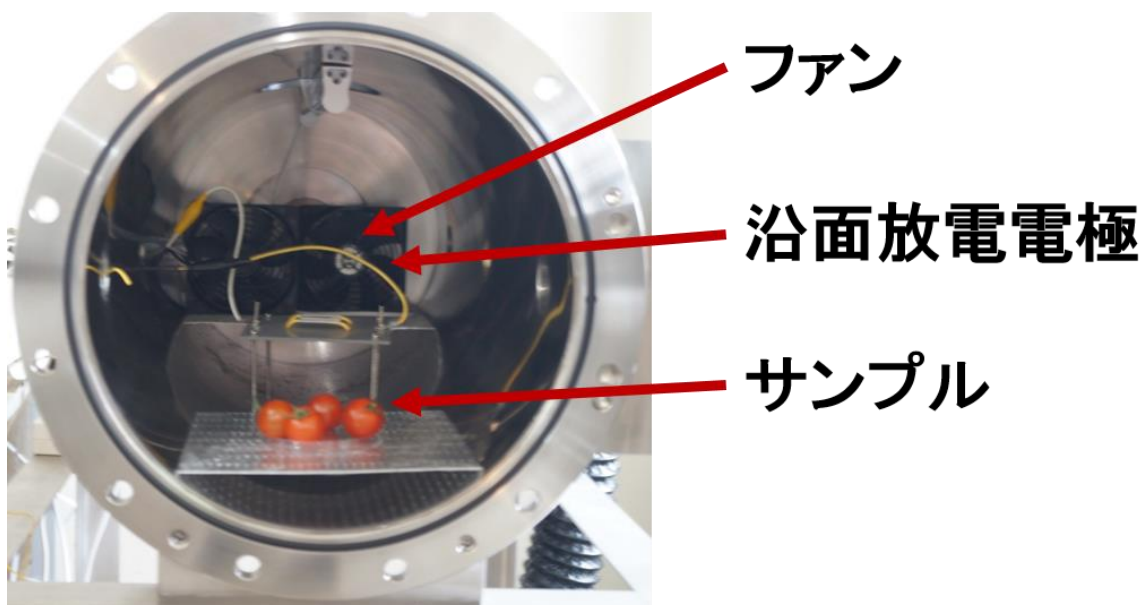


図 2.3 ミニトマトへのプラズマ照射の様子

## 沿面放電電極

沿面放電は誘電体バリア放電の一形態である。誘電体表面に線状電極を這わせるように設置することで、電極間に電界が発生し、電界によって加速された電子が原子との衝突で周辺ガスが電離し、電極周辺に放電が生成される。誘電体に電荷が蓄積することで、印加電界と逆の電界が形成されて放電が一時的に止まるため、パルス状の放電となる。その結果、ジュール熱による電極の消耗を防ぎ、非熱平衡のプラズマを生成することが出来、並列に接続することで大容量の処理が可能である。

図 2.4 に沿面放電電極素子の構造を示す。本研究に用いた沿面放電電極は誘電体が酸化アルミニウム（アルミナ）、電極が酸化ルテニウム等で構成されている。大気圧空気プラズマでは電極が放電により酸化劣化を起こすことが問題となるが、既に酸化させた酸化ルテニウムを用いることで酸化劣化の進行を緩やかにすることができる。

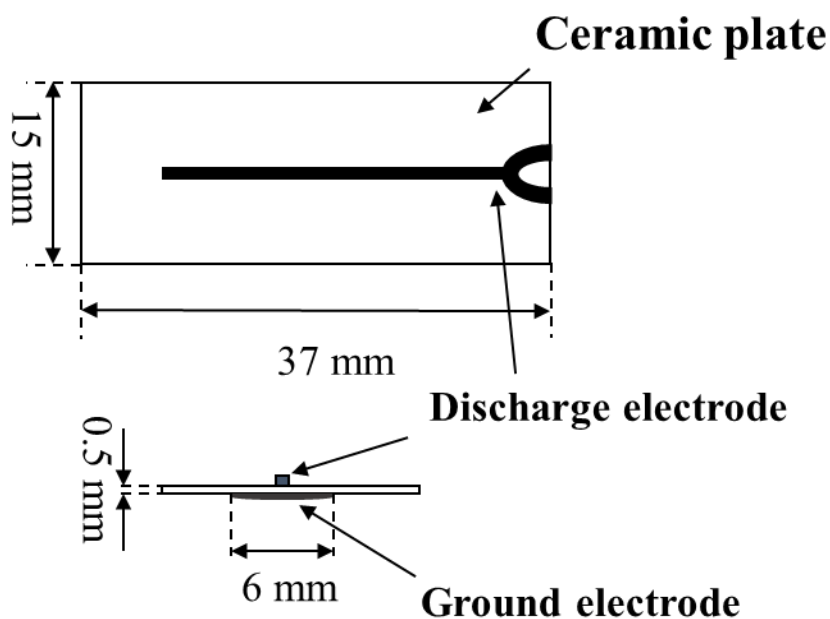


図 2.4 沿面放電電極素子の構造

## 沿面放電電極

本研究において、沿面放電電極装置を作製した。図 2.5 に示す沿面放電電極装置を用いて実験を行った。



図 2.5 沿面放電電極装置

## 2.2 大気圧空気プラズマ

大気圧空気プラズマは、真空装置が不要であるために装置本体並びに処理に要するコストが低い、加工対象や試料を真空排気処理せずに直接的プラズマ処理が可能であるため、連続処理が可能である特徴がある。ただし欠点もあり、低気圧プラズマ処理に比べて大気雰囲気中の温度やガス流に大きく左右されるために安定したプラズマ生成が難しいという点もある[14]。

大気圧プラズマによるオゾンの生成と消滅、他の活性種の生成、オゾンの分解反応は式(2.1)~(2.3)のように示される[15]。M は生成したオゾンから過剰なエネルギーを取り去って安定させる物質（第三体）、 $O(^1D)$ は励起された一重項の状態を示す。大気圧プラズマにおいて、オゾンは酸素原子と酸素分子、そして第三体（酸素分子や窒素分子など）が衝突することで生成される。

[オゾンの反応式]



## 2.3 実験条件および方法

本研究では、プラズマ照射対象農産物としてミニトマトを用いた。ミニトマトは病害・虫害を受けやすい農産物であり、残留薬剤の多い野菜の 1 つである。また、ミニトマトは表皮に凹凸が少なく、副生成物の有無の確認や鮮度評価を行うことに適している。農産物は収穫時期・栽培方法・品種などによって品質や個体差に大きく影響する。そのため、本研究で使用したミニトマトは全て同じ農園で収穫されたものを用いた。全ての実験において、図 2.6 に示す周波数 10 kHz の高周波電源、入力電力調整用としてスライダック（スライドトランス RSA-5、RIKO）を用いてプラズマを生成した。ステンレス容器内のガスを循環させるためにファンを回した。後述する殺菌評価、副生成物評価、機能性評価の際には、プラズマ照射条件としてオゾン CT 値を 10,100,1000,1500[ppm\*min] と変化させ、照射時間をそれぞれ 1.0,3.5,12.2,15.0 min (印加電圧: 5.5kV 一定) としてプラズマ照射を行った。電圧を変化すると、発生する活性酸素種が異なるため、電圧を一定にして実験を行なった。

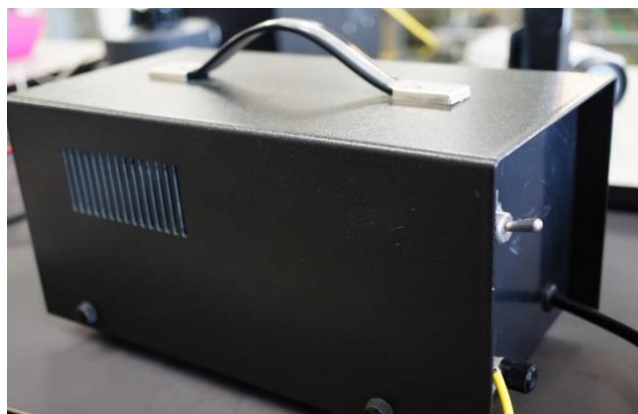


図 2.6 実験に使用した高周波電源



## 2.4 活性酸素種生成の確認

大空間でプラズマを生成する場合には、プラズマ密度が空間的に一様ではなく局所的に異なる場合があり、サンプル設置位置に生成された粒子種の密度を計測する手段が必要である。そのため、ケミカルインジケータ（CI）、気体検知管を用いて活性酸素種の生成量を測定した。

### ケミカルインジケータ（CI）

株式会社サクラクレパス製の CI を図 2.7 に示す。図 2.7 のように活性酸素種と反応して変色する。ケミカルインジケータは、国際規格 ISO 11140-1 で用途、性能別に分類される。CI はシートに塗布された色素が酸化反応により分解されることで活性酸素やイオンなどの粒子種やその粒子種の照射量を色の変化から定量的に測定できるインジケータである[16]。CI には色素が塗布されており、粒子の量を色の変化で確認できる構造となっている。

本研究では、サンプルに対して活性酸素種が照射されていることを確認するために、CI をサンプル位置に設置し、大気圧空気プラズマにより生成するオゾンで処理したときの CI の色の変化を調査した。CT 値を 10, 100, 1000, 1500 [ppm\*min] と変化させてプラズマ照射を行った。図 2.8 に容器上面から見た CI の配置を示す。

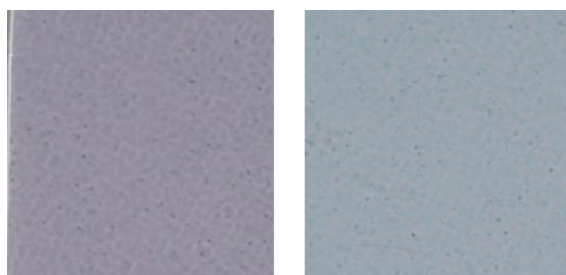


図 2.7 ケミカルインジケータ(CI)の外観 左：変色前、右：変色後

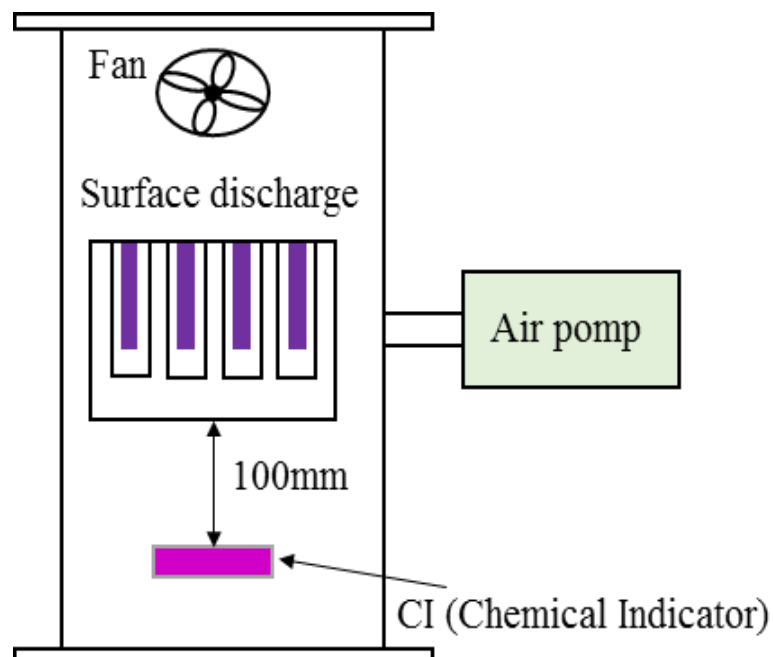


図 2.8 容器上面から見た CI の設置位置

### 気体検知管

気体検知管は対象とする気体に対して変色反応を示す検知剤をガラス管に充填しており、対象の気体と反応することで気体の濃度を定量的に測定する装置である。光明理化学工業株式会社製のオゾン測定用検知管、同社製のガス採取器を図 2.9 に示す。本研究で用いたオゾン測定用検知管は、検知管内に充填された青色のインジゴが酸化されて黄色のイサチンを生成することでオゾン濃度を測定可能である[17]。

本研究では、サンプルに対してオゾンが照射されているか確認を行うため、サンプル位置と平行な位置にある測定穴から気体検知管を挿入し、測定器を静止した状態で 1 分間測定を行った。プラズマ照射開始してからそれぞれ 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 15.0 分後にオゾン濃度を測定した。測定されたオゾン濃度から CT 値を求める。図 2.10 に容器上面から見た気体検知管測定位置を示す。



図 2.9 気体検知管

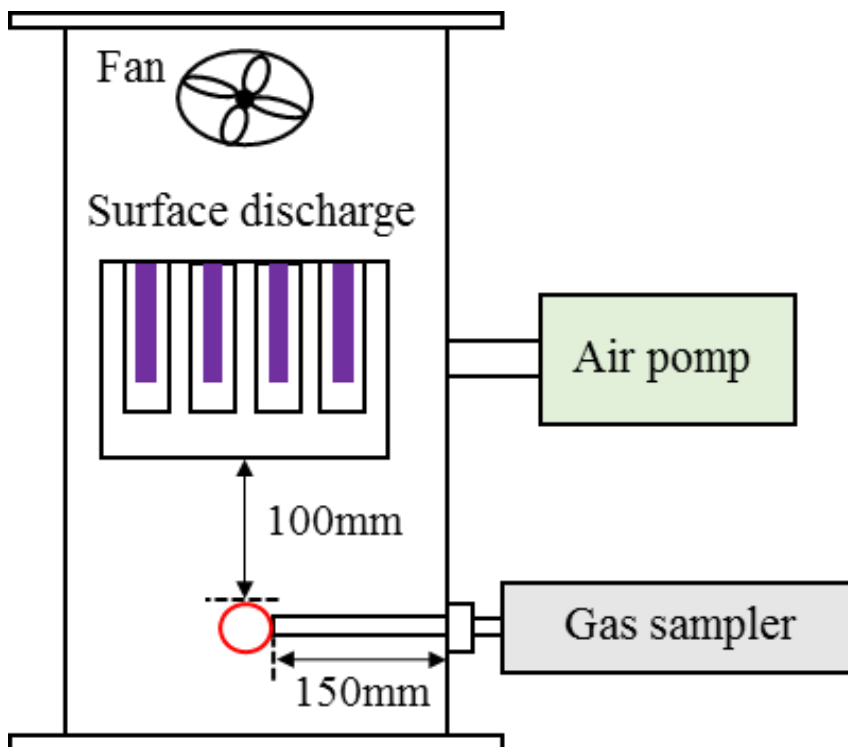


図 2.10 容器上面から見た気体検知管測定位置

## 2.5 農産物の殺菌評価

はじめに、微生物の抽出・培養に用いた実験器具、実験方法について述べる。農産物の腐敗を抑制するためには腐敗の直接的な原因となる表面付着菌の殺菌が求められる。農産物の微生物汚染の程度を表す最も有力な指標の一つに生菌数がある。生菌数とは、ある一定条件化で生育する中温性好気性菌数を意味し、農産物の汚染の度合いを示す最も代表的な指標である。また、あらゆる農産物における生菌数測定方法は公定法として定められている[18]。本研究では微生物検出キットを用いてプラズマによる農産物表面の殺菌効果を調査した。また、菌の抽出から培養まで全ての行程において二次感染を防止するため、無菌状態で作業を行うことができるクリーンベンチ内で作業を行った。

### 微生物検査用シート培地（サニ太くん）

微生物検査用シート培地である「サニ太くん」(図 2.11) は菌種ごとに分けて培養することができ、本研究では、ブドウ球菌やバチルス菌などの一般生細菌群とカビ、酵母菌などの真菌群の二つの検査キットを用いた。また、標準寒天培地に比べて手軽に検査を行える、保存の際にスペースをとらないといった利点がある[19]。

### ストマッカー法

微生物採取手法の一つで、サンプルを粉砕して微生物を採取する方法である。図 2.12 に示すアズワン社製のストマック袋にサンプルを入れて、ストマッカー（E-Mix primo）を用いてサンプルを粉砕した。

### 外観

消費者は農産物を購入する際、外観を見て選んでいることが分かっている。そのため、外観に大きな変化が無いか調査する必要がある。本研究では、貯蔵期間中のミニトマトの外観をカメラ用いて観察した。

### 腐敗率

ミニトマトはオールシーズンで消費され、大量に輸送されたため、長期間の保存が必要である。また、病気・害虫によって腐敗し、保存状態でもその影響を受けてしまう。そのため、実際の輸送を想定した 14 日間の鮮度保持は農産物の殺菌評価の一つの指標となる。本研究では、プラズマ未照射とプラズマ照射後 14 日間冷蔵状態で保存したミニトマトの腐敗率を調査することで、プラズ

マ照射による果実の殺菌効果の検証を行った。本研究における腐敗率とはミニトマト1パック（20粒）の内、14日間後に微生物による腐敗が確認されたミニトマト数の割合を示す。

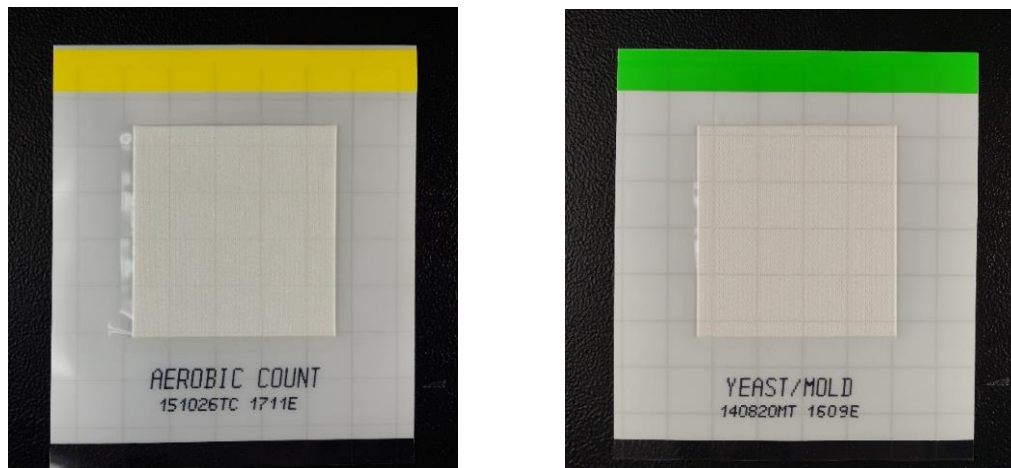


図 2.11 微生物検査用シート培地（サニ太くん）、左：一般生細菌用、右：真



図 2.12 ストマッカーとストマック袋



図 2.13 インキュベータ

### ミニトマト表皮からの菌の抽出方法および殺菌評価法

ミニトマトの表面菌評価をするためストマッカー法を用いて菌を採取した。農産物腐敗の主な原因の一つである一般生細菌・真菌を測定するために、微生物検査用シート培地（サニ太くん）を用いて、一般生細菌は  $35 \pm 1.0^\circ\text{C}$  に真菌は  $25 \pm 1.0^\circ\text{C}$  にそれぞれ設定したインキュベータ内で  $48 \pm 3$  時間培養した。プラズマ照射後、以下に示す手順でミニトマト表面の微生物の抽出・培養を行った。

- ① ミニトマト 1 パック（20 粒）からランダムに 4 粒採取した。
- ② 大気圧空気プラズマをミニトマトへ照射し、14 日間  $5^\circ\text{C}$  で保存した。
- ③ ミニトマトの重さを量り、ミニトマトをストマック袋に入れ、滅菌希釈液で 10 倍に希釈した。
- ④ ストマッカーを用いて 1 分間粉碎した。
- ⑤ シート培地に菌液を  $100 \mu\text{L}$  滴下した。
- ⑥  $35 \pm 1.0^\circ\text{C}$  と  $25 \pm 1.0^\circ\text{C}$  にそれぞれ設定したインキュベータ(図 2.13)内で  $48 \pm 3$  時間培養した。
- ⑦ コロニー数をカウントし、希釈倍率から菌数を算出した。

## 腐敗率測定方法

腐敗率の測定は、プラズマ照射後 14 日間保存した後に行った。腐敗率は(2.3)式を用いて算出した。腐敗の定義は、カビや腐敗が目視で確認できたものとした。保存にはプラスチック製の密閉容器を用い、通常の小ミニトマトの保存状態である冷蔵状態（5℃）で保存した。

$$\text{腐敗率}[\%] = \frac{\text{腐敗数}}{\text{サンプル総数}} \times 100 \quad (2.4)$$

## 2.6 副生成物の確認

はじめに、赤外吸収スペクトルと ATR (Attenuated Total Reflection)法の測定原理を説明し、実験装置および手順について述べる。農産物にプラズマ照射を行う際に注目しなければならないのは、農産物自体への影響である。プラズマ照射により農産物の殺菌効果の実現した場合でも、農産物表面の化学的変化を調査して安全性を確認する必要がある。そのため本研究では、ミニトマト表皮の化学組成の変化を調査することでプラズマ照射による副生成物の生成の有無の確認を行った。

### フーリエ変換赤外分光光度計 FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

農産物表面の化学組成を測定し、有害な副生成物が生成されていないかを確認するために、フーリエ変換赤外分光光度計 FTIR (図 2.14) を用いた。分子は決まった振動数で振動しており、分子振動は赤外光の波数と同期している。フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR, Fourier Transform Infrared Spectroscopy) は、連続光を試料に照射し、干渉波をフーリエ変換することで分子構造に応じた吸収スペクトルを取得し、物質中の原子基の情報を得る装置である[20]。FTIR を用いて吸収スペクトルを測定する表面分光分析法は ATR (Attenuated Total Reflection) , XPS(X-ray Photoelectron Spectroscopy), AES(Auger electron spectroscopy)等ある。本研究では、ミニトマト表皮を観察でき、他の表面分析法に比べて簡便である ATR 法 (全反射測定法) を用いた。ATR 法は赤外光を試料との界面にて全反射させ、その際試料側へわずかに赤外光が入り込むため、全反射光を検出することで赤外光吸収スペクトルを得る方法である[21]。

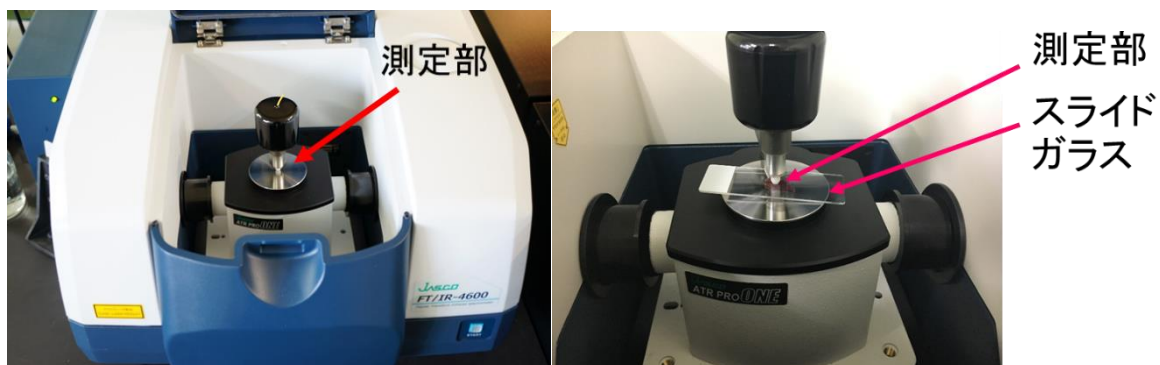


図 2.14 フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR)

ミニトマト表面の赤外吸収スペクトルの測定手順を以下に示す。サンプル表面の変化を測定するため、化学構造の中で **C-H** 結合、**O-H** 結合、**C-O-C** 結合に着目し増減率の算出を行った。赤外吸収スペクトルのピークの高さから照射前後の差を算出し、増減率を求めた。測定サンプルとしてそれぞれ 4 個を使用した。以下に示す手順で測定を行った。

- ① 大気圧空気プラズマをミニトマトへ照射する。照射し 5°C で 2 週間保存後のミニトマトの表皮を 1cm 角に切り取る。
- ② 切り取った表皮をカバーガラスに乗せる。
- ③ カバーガラス上のサンプルをプリズムに密着するように設置する。
- ④ **FTIR** で赤外吸収スペクトルを測定する。



## 2.7 抗酸化活性の測定

はじめに、抗酸化活性の測定方法および装置の説明、ミニトマトの抗酸化活性測定手順について述べる。

### 2.7.1 リコペン(Lycopene)の分光光度計を用いた定量法

リコペン(Lycopene)は、果物や野菜に存在するカロテノイドの一種で、トマトに多く含まれている。リコペンは抗酸化物質として作用し、光酸化損傷から細胞を保護、前立腺癌のリスク低下等の化学的予防剤として注目を集めている。また、美容・美肌、アンチエイジングへの効果がある[22]。以下に、ミニトマトの代表的な抗酸化活性であるリコペンの簡易定量法について述べる。

- ① ミニトマト 1 パック (20 粒) からランダムに 4 粒採取した。
- ② 大気圧空気プラズマをミニトマトへ照射する。
- ③ 照射し 5°C で 2 週間保存後のミニトマトをストマッカー (E-Mix primo) を用いて、蒸留水中で 60 秒潰す。
- ④ 暗所にて静止後、ろ過する。
- ⑤ 抽出液が無色になるまで②と③を繰り返す。
- ⑥ セル(図 2.15)にサンプルを入れ、505nm の吸光度を赤外可視分光光度計(図 2.15)を用いて測定する。
- ⑦ 505nm の吸光度と試料重から(2.4)式を用いて、リコペン含有量を算出する。リコペンの吸収係数(濃度 1%かつ光路長 1cm の時に吸光度 505nm で 3150)を用いる[23]。

$$\text{トマトリコペンの含有量}\left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}}\right) = 20 \times \frac{(\text{505nmの吸光度})}{(0.315 \times \text{試料重}[g])} \quad (2.4)$$



図 2.15 赤外可視分光用セル(左)と赤外可視分光光度計 (右)

## 第 3 章 実験結果および考察

### 3.1 活性酸素種生成の確認

#### 3.1.1 オゾン濃度の測定結果

図 3.1 にプラズマ照射時間とオゾン濃度(左軸)、オゾン CT 値 (右軸) の関係を示す。図 3.1 より、オゾン濃度はプラズマ照射時間の経過に伴って上昇しており比例の関係を示している。また、オゾン CT 値もプラズマ照射時間の経過に伴って上昇しており比例の関係を示している。オゾン濃度のグラフはおよそ直線を描いているのに対し、オゾン CT 値のグラフは指数関数的に増加していることが分かる。これは、CT 値がプラズマ照射時間とオゾン濃度の積で求められる、オゾン CT 値が積分値であるためである。

以上より、オゾン濃度測定点において浴面放電電極により、オゾンの生成が確認できた。オゾン生成チャンバーはバッチではなくワンパス処理であるため、単位時間当たりのオゾン生成量が少ないと排気により流出するオゾン量とのバランスによりチャンバー内のオゾン濃度が所望の濃度に達する前に飽和す

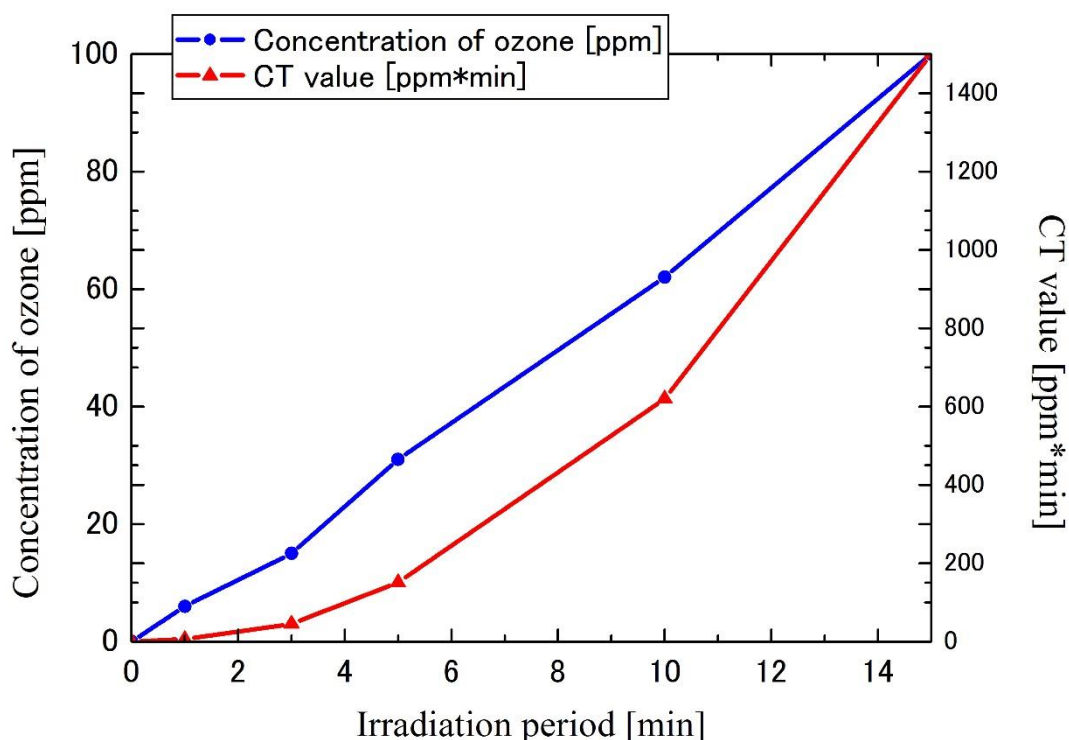


図 3.1 プラズマ照射時間とオゾン濃度、オゾン CT 値の関係

るため、プラズマ照射時間を長くしてもオゾン濃度の増加が抑えられている。そのため、本研究では、オゾン濃度が飽和するまでにある程度の時間が必要となるため、オゾン濃度が十分な値に達した CT=1500 を最大として、殺菌パラメーターであるオゾン CT 値を 10,100,1000,1500 とした。図 3.1 で求めたオゾン CT 値は殺菌評価、副生成物有無の確認、抗酸化活性評価の実験の際に使用されている。

### 3.1.2 ケミカルインジケータ(CI)による活性酸素種の確認

表 3.1 に大気圧空気プラズマ照射後のケミカルインジケータ(CI)の色の変化を示す。多少、色にムラがあるものの CT 値の増加に伴って CI の色が緑色から青緑色に変化している。CI は、表面上の色の変化によって、チャンバー内に生成された活性酸素を曝すことができる[24]。

CI はオゾンより酸化力の高い活性酸素種を検出する。このことから、大気圧空気プラズマを照射することで活性酸素種が生成され、サンプル付近まで到達していることが確認された。

表 3.1 から分かるように CI はオゾンの酸化作用によって紫色から青緑色へと変化するために、青緑色の波長域に着目した。図 3.2 に青緑色の波長(490~500nm)のスペクトルピーク値の増加率の CT 値依存性を示す。スペクトルピーク値の増加率とは未照射の CI のスペクトルピーク値を基準値としてプラズマ照射後のスペクトルピーク値がどれだけ増加したかを定義している(式 3.1)。未照射と比較して、CT=1000 は約 30%、CT=1500 は約 40%増加している。このことから、CI の色の変化は CT 値に依存していることが確認できた。

$$\text{スペクトルピーク値の増加率[\%]} = \frac{\text{照射後の CI のスペクトルピーク値}}{\text{未照射の CI のスペクトルピーク値}} \times 100 \quad (\text{式 3.1})$$

表 3.1 大気圧空気プラズマを照射後の CI の色の変化

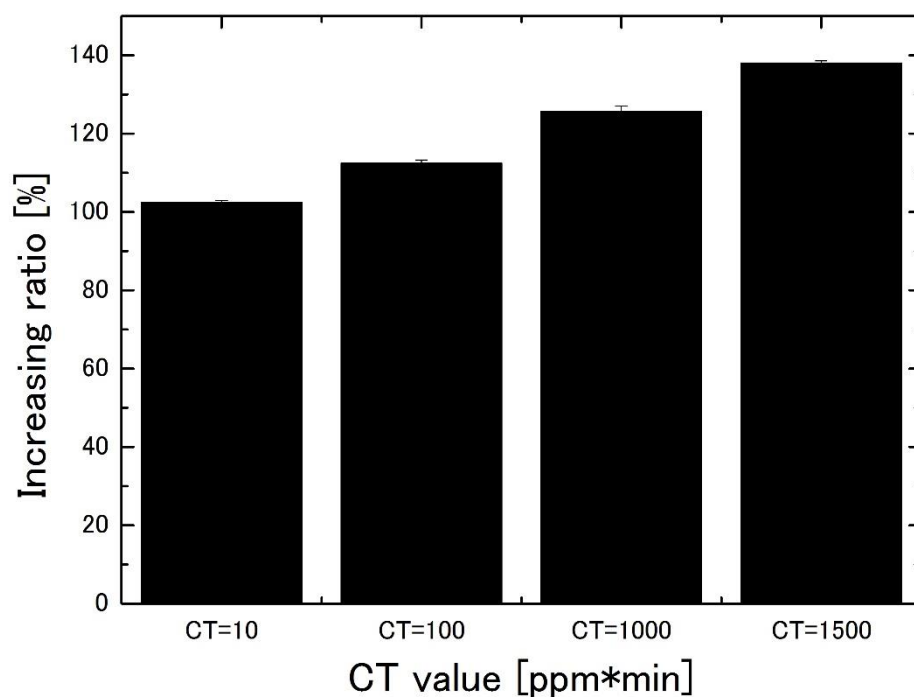
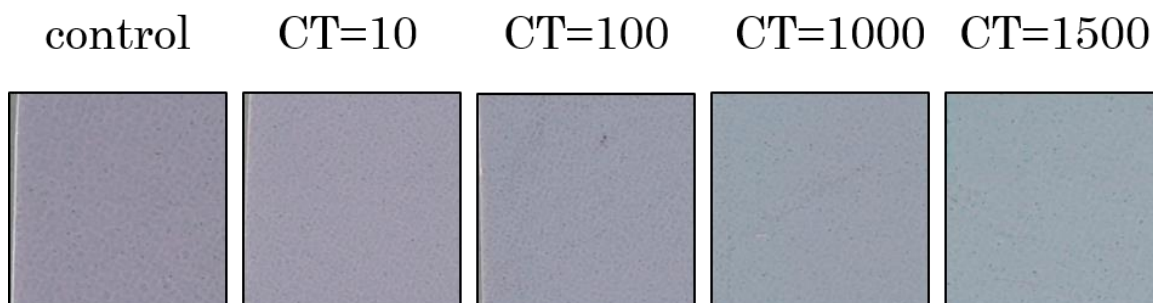


図 3.2 大気圧空気プラズマを照射後の CI の色の変化

## 3.2 農産物の殺菌評価

### 3.2.1 外観

ミニトマトに大気圧空気プラズマを照射し、14日間5°Cで保存した後の外観を図3.3に示す。未照射、CT=10ではミニトマトのヘタに乾燥による萎れ、ミニトマト表面にダメージが確認されたが、CT=100,1000ではミニトマト表面に大きな変化は見られなかった。しかし、CT=1500ではミニトマト表面に軟化が確認された。ミニトマトは完熟過程で収穫すると、細胞壁を構成する多

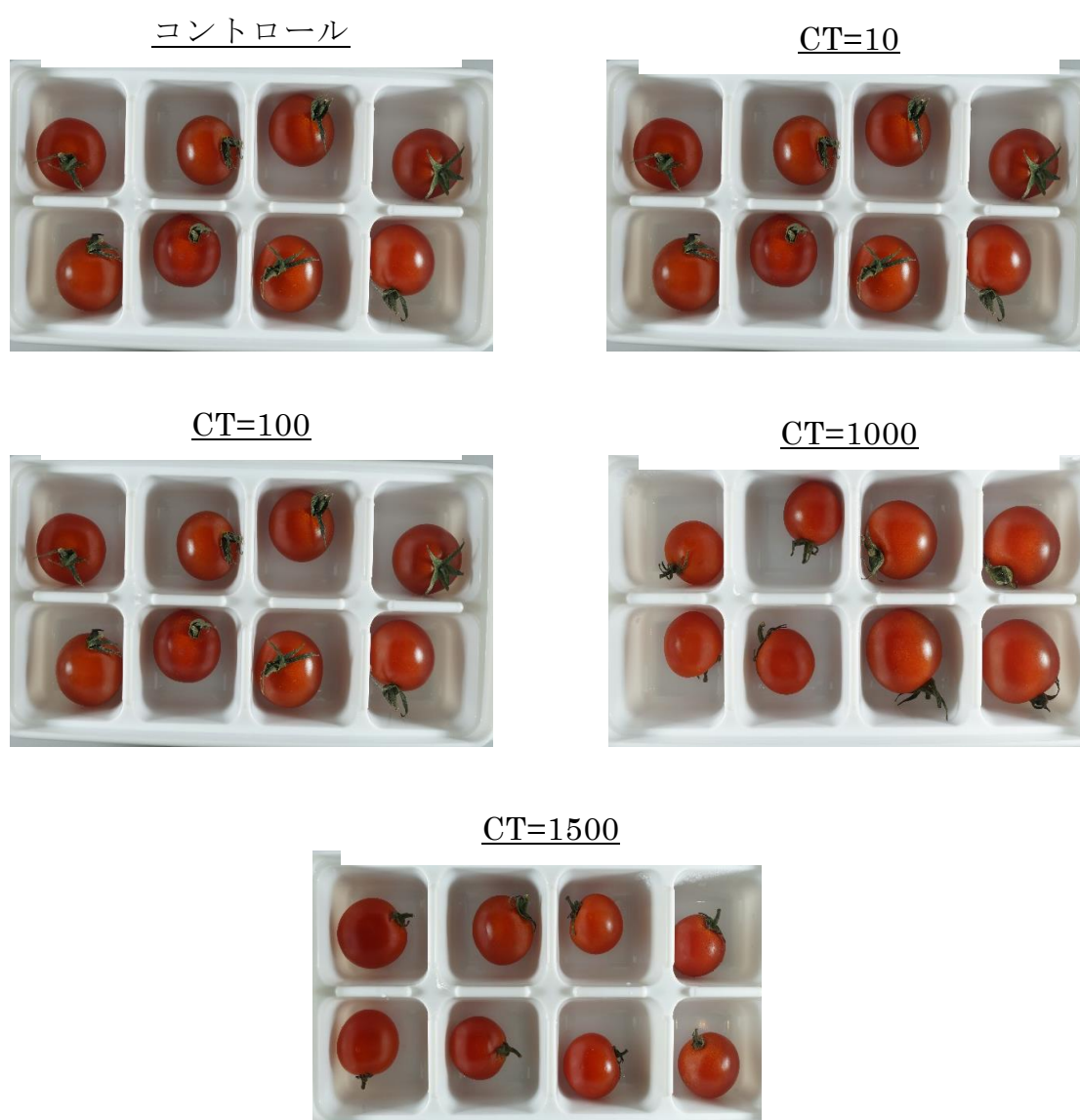


図 3.3 大気圧空気プラズマ照射 14 日間後のミニトマト外観の変化

糖類の可溶化によって流通過程で軟化する[25]。また、CT=1500においてミニトマト表面の軟化の原因は高濃度オゾンの影響により、オゾンの分解反応で発生した  $O^1(P)$  がミニトマト表皮であるクチクラ層を酸化して O-H 結合が増加したと考えられる[11]。

### 3.2.2 殺菌効果

オゾンを経済的に照射したときの典型的なコロニー形成の様子を図 3.3 に示す。オゾン照射時間は 1 分間(CT=10)、3.5 分間(CT=100)、12.2 分間(CT=1000)、15 分間(CT=1500)、照射後 14 日間 5°C で保存した。図 3.4 に示すシート培地で真菌(カビ、酵母菌)、一般生細菌のコロニー数をカウントし、カビ、酵母菌、一般生細菌の CT 値依存性をそれぞれ図 3.4、3.5、3.6 に示す。真菌をシート培地で培養する際、同培地でカビと酵母菌が培養される。それぞれのカウント方法として、形状が周囲不明瞭で比較的大きいものをカビ、比較的小さい真円状のものを酵母菌としてカウントを行った[26]。また、目視でカウントすることが不可能な場合、サニ太くんの発色見本表を用いてカウントを行った[27]。この際、コロニー数[cfu(Colony Forming Unit)/g]を[cfu/mm<sup>2</sup>]に換算した。

図 3.5 より、オゾン未照射と比較して CT=1000 は 50%、CT=1500 は 80% 殺菌率が向上した。CT=100 においてコロニー数が増加した原因は、オゾン抵抗性であるカビの影響であると考えられる。CT=10 においてオゾン抵抗性を有していないカビがオゾンによって殺菌され、CT=100 においてオゾン抵抗性を有しているカビが繁殖したと考えられる。CT=1000、1500 になると強力なオゾンの殺菌効果により、50%以上殺菌率が向上し殺菌できたと考えられる。

図 3.6 より、オゾン未照射と比較して CT=1000 は 80%、CT=1500 は 70% 殺菌率が向上した。酵母菌はオゾンにより容易に殺菌できるため、カビのコロニー数と比較して酵母菌が殺菌できたと考えられる[28]。

図 3.7 より、オゾン未照射と比較して CT=1000 は 60%、CT=1500 は 90% 殺菌率が向上した。真菌(カビ、酵母菌)と比較して、一般生細菌は大腸菌や病原菌、乳酸菌など様々な菌が含まれているため、オゾン抵抗性が異なる菌が様々な存在する。また、オゾンによる殺菌では菌体・芽胞の水分量が増加するに伴い殺菌効果が上昇する(オゾンの分解反応によって発生するヒドロラジカル基が強い酸化力を持つ)。

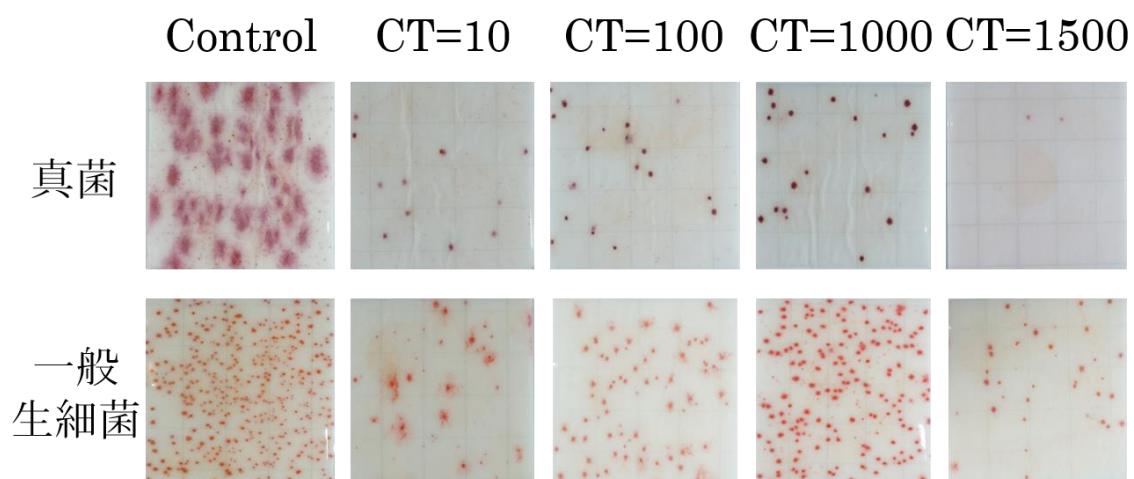


図 3.4 シート培地の様子（上段：真菌、下段：一般生細菌）

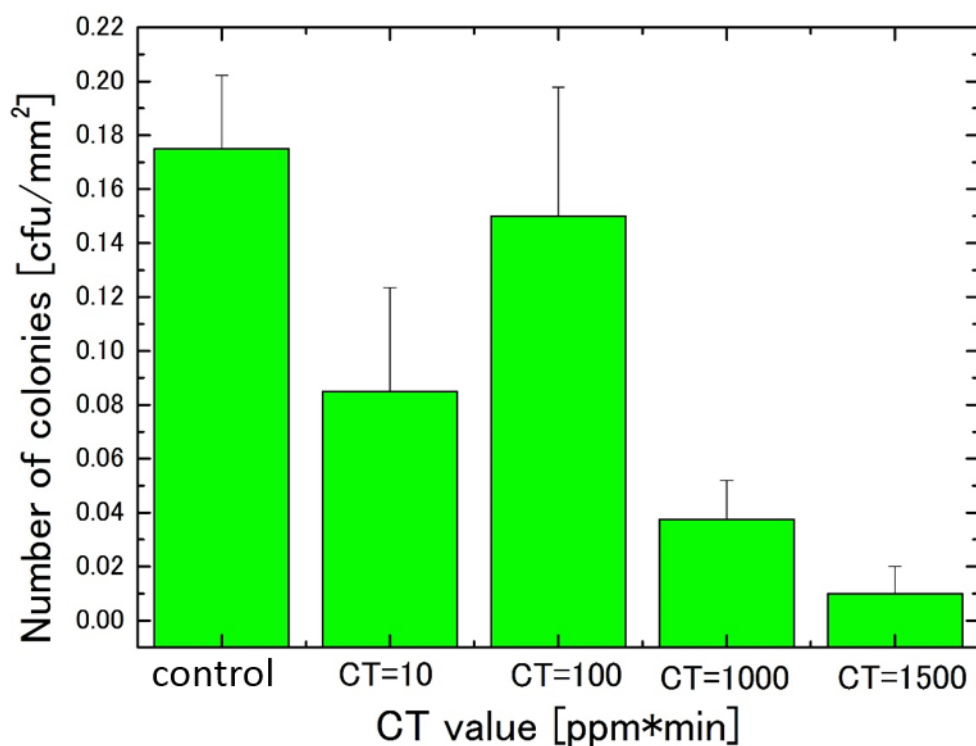


図 3.5 大気圧空気プラズマ照射 14 日間後のカビのコロニー数



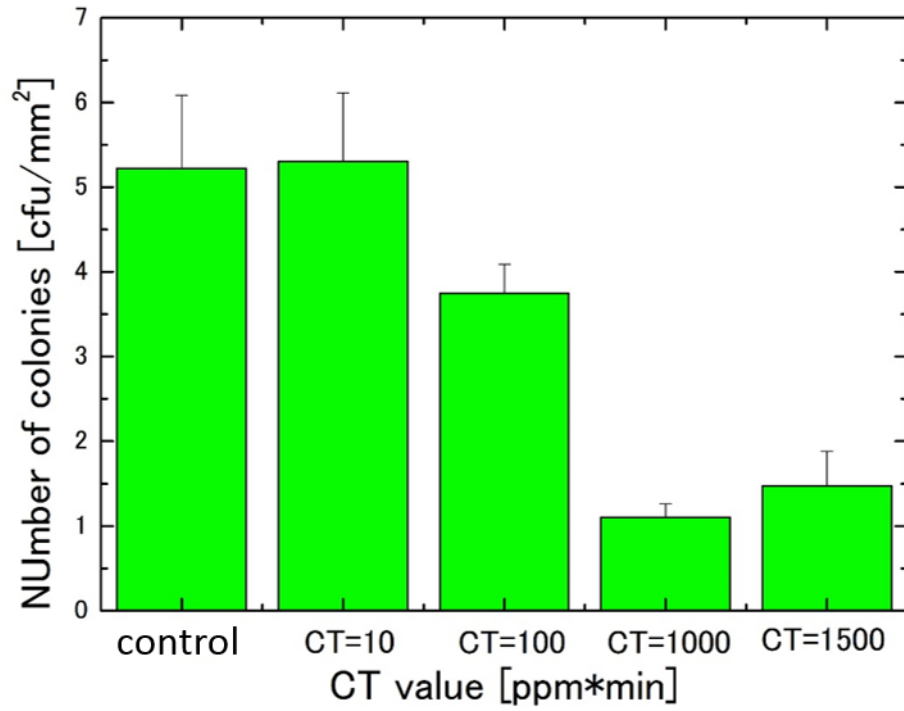


図 3.6 大気圧空気プラズマ照射 14 日間後の酵母菌のコロニー数

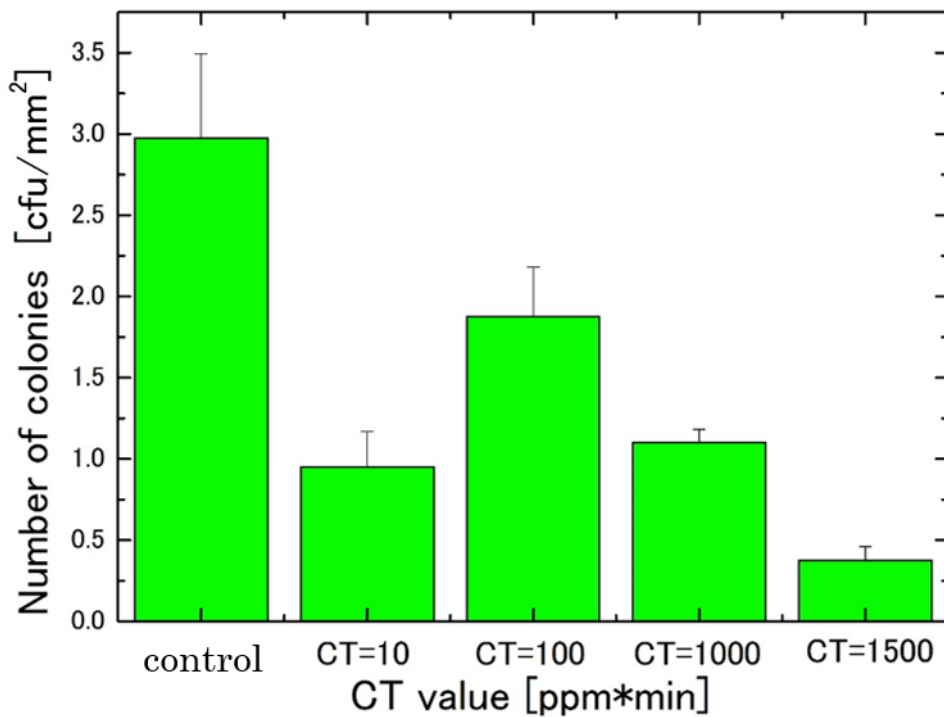


図 3.7 大気圧空気プラズマ照射 14 日間後の一般生細菌のコロニー数

### 3.2.3 腐敗率

表 3.2 に大気圧空気プラズマ照射し、14 日間保存した後のミニトマトの腐敗率を示す。これは、3.2.1 外観の結果を基に算出した。未照射と比較してプラズマ照射を行った条件では腐敗率が低くなり、CT=10,100 では約 20%、CT=1000 では約 30%、CT=1500 では約 5%未照射と比較して腐敗率を抑制できた。また、CT=1000 の条件が最も腐敗率が低く、CT=1500 が最も高かった。3.2.2 殺菌効果の結果より、CT=1000 において腐敗率が低くなった原因はカビ、酵母菌は殺菌されたことが原因だと考えられる。CT=1500 において腐敗率が高くなった原因は高濃度オゾンの影響により、ミニトマト表面のクチクラ層が酸化され軟化したことが原因であると考えられる。

表 3.2 14 日間保存した後のミニトマトの腐敗率

条件	腐敗率[%]
Control	50.0
CT = 10	31.3
CT = 100	25.0
CT = 1000	18.9
CT = 1500	43.8

### 3.3 副生成物生成の有無

大気圧空気プラズマ照射前後でのミニトマト表面の赤外吸収スペクトルを図 3.8 に示す。900~1200  $\text{cm}^{-1}$  の波長領域に C-O-C 結合、1735  $\text{cm}^{-1}$  の波長領域に C=O 結合、2840~3000  $\text{cm}^{-1}$  の波長領域に 2 つのピークを持つ C-H 結合、3400  $\text{cm}^{-1}$  付近に O-H 結合がそれぞれ確認された。これらは、ミニトマト表面を覆う成分であるクチクラ層を構成する結合である。クチクラ層は、不飽和脂肪酸の重合体であるクチンと非水溶性の脂肪酸エステルで構成された細胞壁の外側になる透明で水を通さない層である。また、乾燥しているときに水分の蒸発を防ぐ働きがある[29]。

図 3.8 により、大気圧空気プラズマを照射後に特徴的な新たなピークが生成されていないことが分かる。そのため、大気圧空気プラズマ照射により、ミニトマト表面に過酸化資質などの有害な副生成物は生成されなかったと考えられる。

図 3.9 にミニトマト表面の C-O-C 結合、C=O 結合、C-H 結合、O-H 結合の赤外吸収スペクトルピーク値の個体差を示す。C-O-C 結合では約 13% のスペクトルピーク値の差が確認された。測定誤差が 10% 以上のとき測定値の信頼性が小さい。一方で C=O 結合、C-H 結合、O-H 結合では約 10% のスペクトルピーク値の差が確認された。プラズマ照射前後で得られた赤外吸収スペクトルピーク値の差が以上に示す数値の範囲内であれば大気圧空気プラズマ照射による影響は無いと考えられる。このスペクトルピーク値の差は FTIR 装置の測定誤差と個体差によって生じる。ATR 法では試料押し付け強度を一定とした場合 4~9% ほどの測定誤差が生じる[30]。また本研究では、ミニトマトの表皮をスライドガラス上にのせて測定を行った。ミニトマトの表皮の厚さには個体差があり、比較したときに赤外吸収スペクトルのピーク値に差が生じた。

図 3.10 に各 CT 値におけるミニトマト表面の C-O-C 結合、C=O 結合、C-H 結合、O-H 結合の赤外吸収スペクトルピーク値の増減率を示す。CT=100、1000 の条件では、各結合の赤外吸収スペクトルピーク値の増減率は似た傾向を示した。O-H 結合が約 30% 増加していることから、オゾンの分解反応より発生した  $\text{O}^1(\text{D})$  がクチクラ層を酸化して O-H 結合が増加したと考えられる[11]。上述したように、ミニトマト表面には、クチン、ワックスで構成されたクチクラ層が存在する。ミニトマトの場合、図 3.11 に構造式を示すジヒドロキシヘキサデカン酸が大部分を占めている[31]。クチンの成分であるジヒドロキシヘキサデカン酸が分解されて O-H 結合が増加した。また、式(3.2)に示すようにミニトマト表面の糖類やタンパク質の OH と R-CH との反応により、R-C-OH が

生成されることで O-H 結合が増加すると推察される。従ってオゾン照射により、ミニトマト表皮を形成する化学結合が酸化されたことが考えられる。

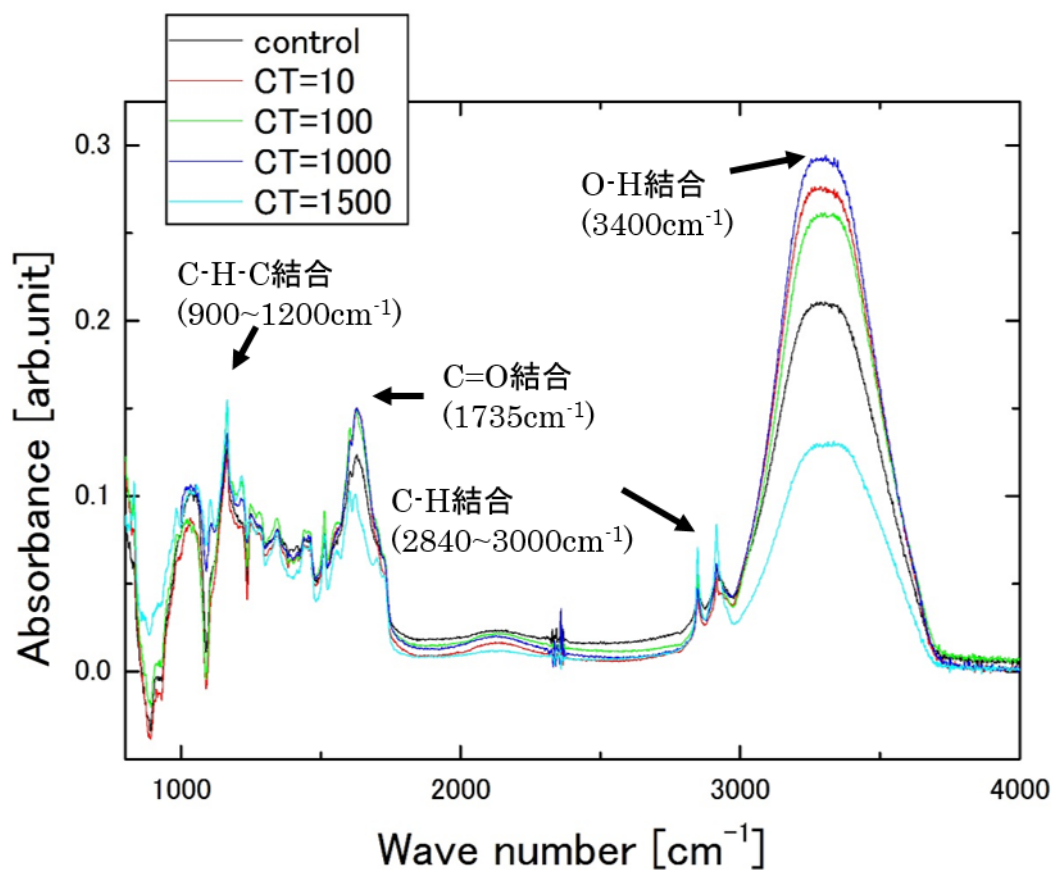
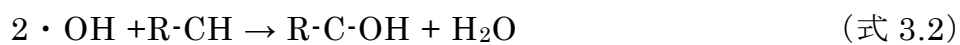


図 3.8 大気圧空気プラズマ照射前後のミニトマト表面の赤外吸収スペクトル

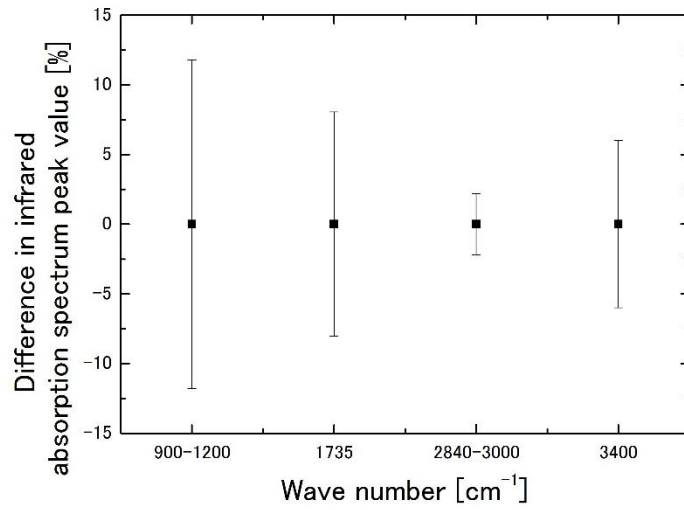


図 3.9 ミニトマト表面の C-O-C 結合、C=O 結合、C-H 結合、O-H 結合の赤外吸収スペクトルピーク値の差

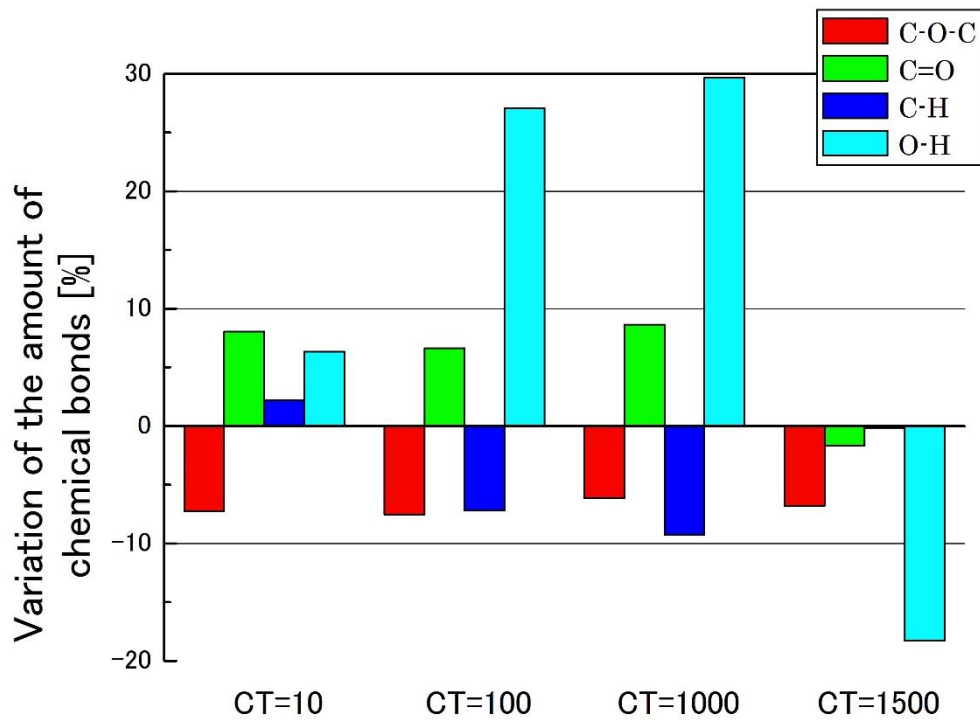


図 3.10 ミニトマト表面の C-O-C 結合、C=O 結合、C-H 結合、O-H 結合の赤外吸収スペクトルピーク値の増減率

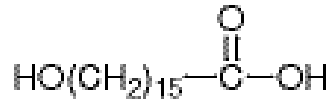


図 3.11 ジヒドロキシヘキサデカン酸の構造式

### 3.4 農産物の機能性評価

14 日間にわたる長期輸送のためには、農産物に大気圧空気プラズマを照射し殺菌することが有効だと考えられる。抗酸化活性とは過剰な酸化ストレスから身を守るために生体が持つ活性酸素消去機能のことで、抗酸化活性が大きいと活性酸素による弊害を防ぐことができる。このため、大気圧空気プラズマを照射した後の抗酸化活性の調査を行うことで、農産物表面を殺菌しつつ、農産物の機能性を向上できるのではないかと考えた。本研究では、ミニトマトの代表的な抗酸化活性であるリコペンの測定を行った。

#### 3.4.1 抗酸化活性

大気圧空気プラズマ照射後、リコペンの含有量を測定した。照射直後、3 日間後、7 日間後、14 日間後のリコペン含有量をそれぞれ図 3.13、3.14、3.15、3.16 に示す。横軸はそれぞれオゾン CT 値を表しており、縦軸はミニトマト 100g あたりのリコペン含有量を表している。

図 3.13、3.14、3.15 より、大気圧空気プラズマ照射前後でリコペン含有量の大きな変化は見られなかった。リコペンはカロテノイドの 1 種であり、図 3.12 に示すように長鎖の共役二重結合を持つため、ラジカル補足や一重項酸素の物理的消去などの抗酸化活性を有する[32]。抗酸化活性の向上は、抗酸化遺伝子の発現がされ、抗酸化物質が増えたことによるものだと考えられる。リコペンは上記の通り、物理的消去活性を持つことから、抗酸化物質の量が増えることなく、リコペンの含有量にも大きな変化は見られなかった。

図 3.16 より、未照射と比較して、CT=10,100 では大きな変化は見られな



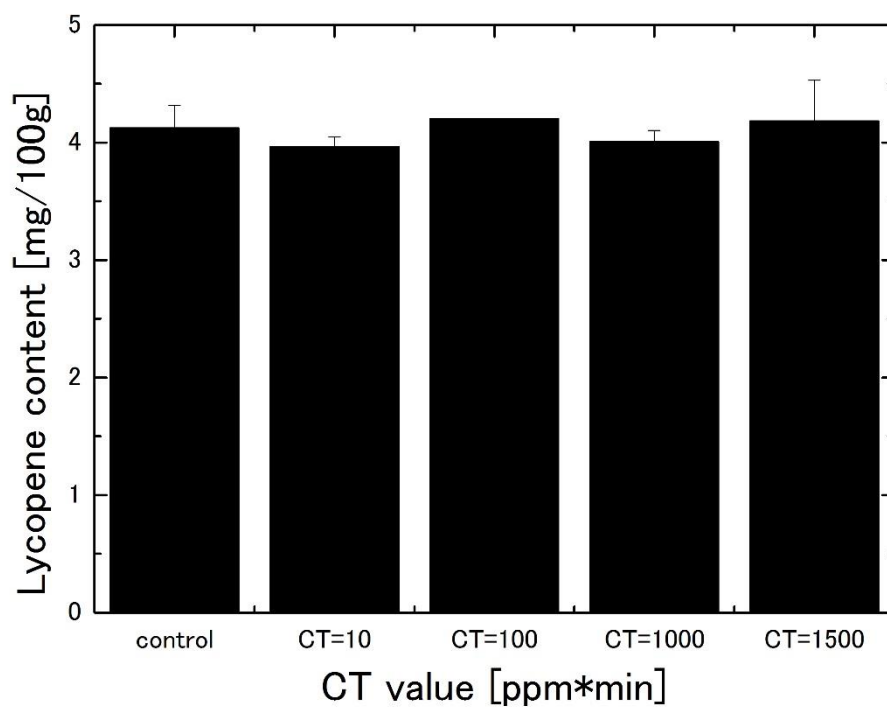


図 3.13 大気圧空気プラズマ照射直後のリコペンの含有量

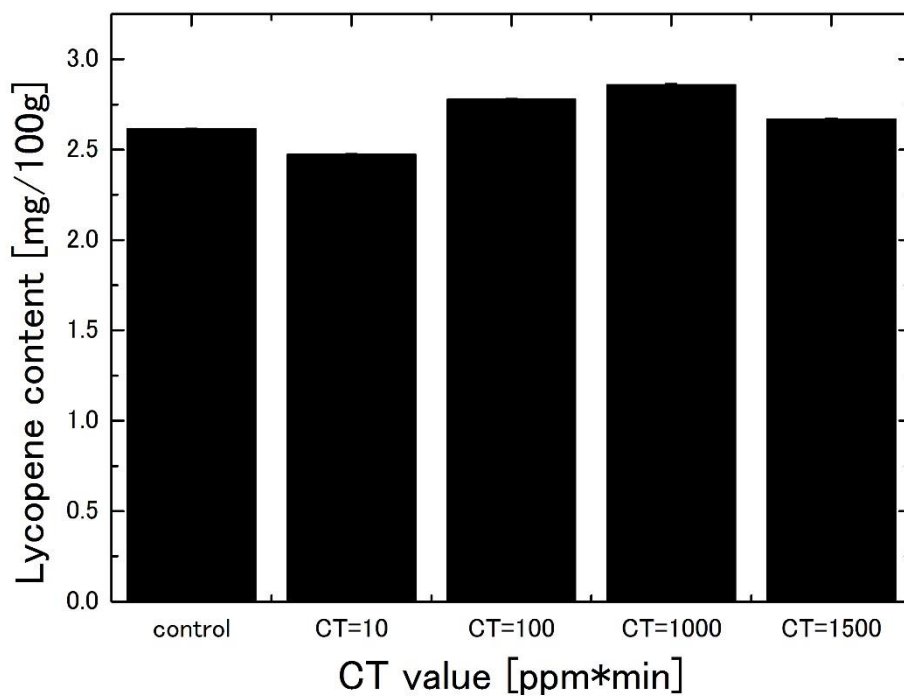


図 3.14 大気圧空気プラズマ照射 3 日間後のリコペンの含有量



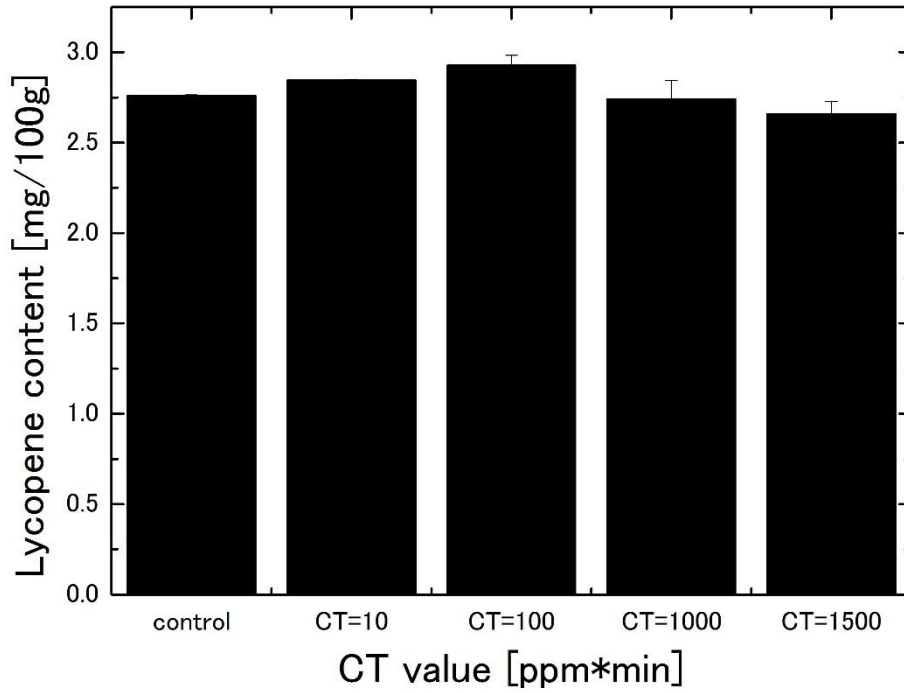


図 3.15 大気圧空気プラズマ照射 7 日間後のリコペンの含有量

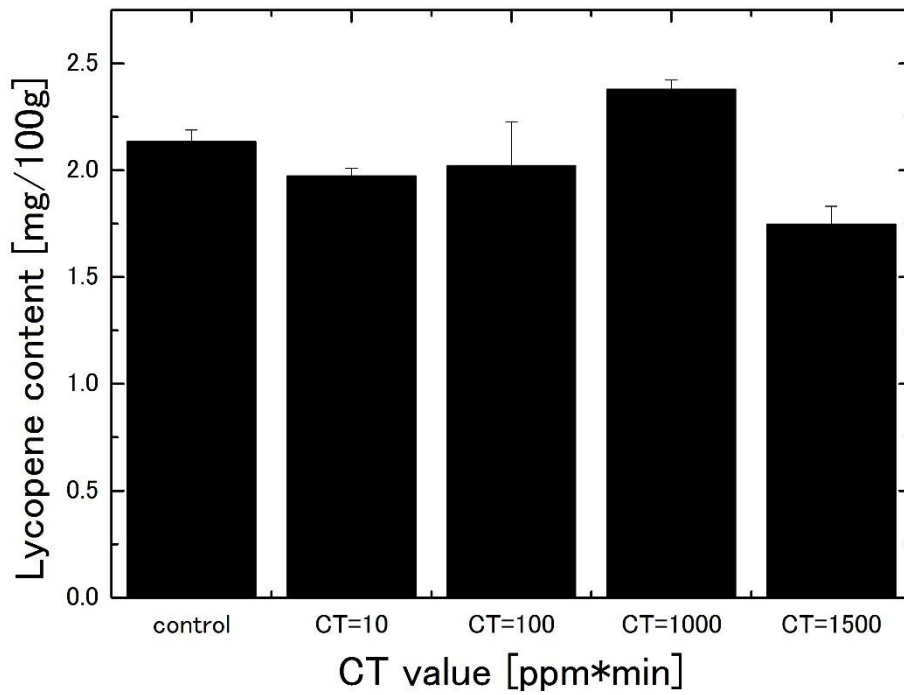


図 3.16 大気圧空気プラズマ照射 14 日間後のリコペンの含有量

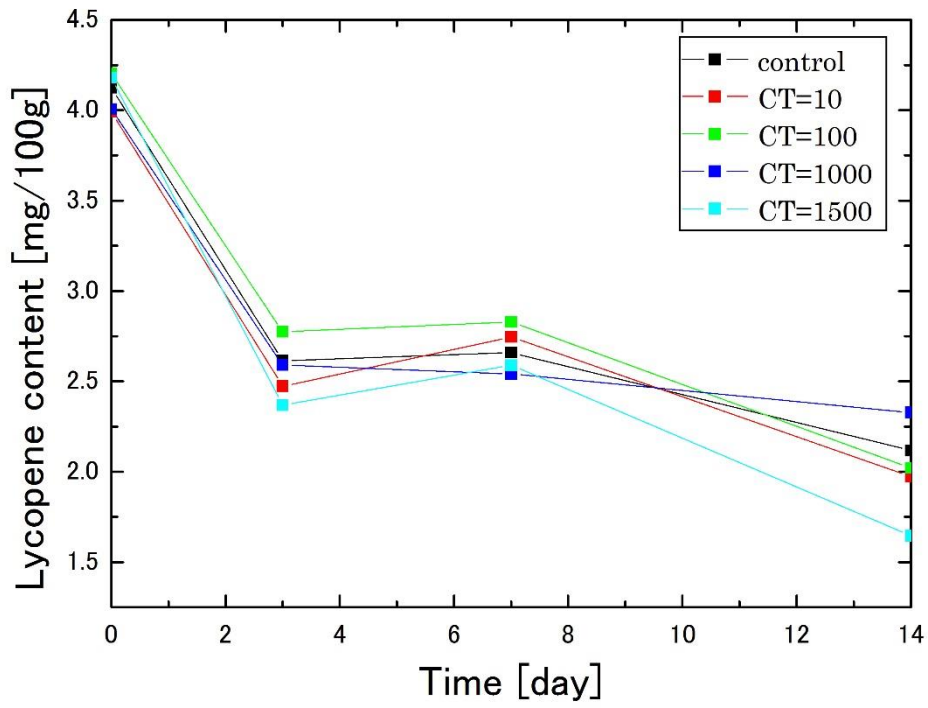


図 3.17 リコペンの含有量の時間特性

## 第4章 まとめ

本研究では、ミニトマトを対象物としてオゾン CT 値を変化させて農産物への大気圧空気プラズマ照射を行い、大気圧空気プラズマを用いた農産物殺菌のための最適オゾン CT 値の選定を行うことを目的として、①殺菌評価、②副生成物生成の有無、③機能性評価に関する研究を行った。その結果、以下の結論が得られた。

### ①殺菌評価

(1) CT=1000、1500 では真菌（カビ、酵母菌）、一般生細菌に対して殺菌効果が得られた。CT=10 においても殺菌効果は得られたが、オゾン抵抗性が強い菌群を殺菌することができず繁殖するため、ミニトマト表面殺菌するためには CT=1000 以上が必要である。

(2) CT=1500 では外観に軟化が見られた。オゾンの高い酸化力によってミニトマト表皮のクチクラ層が酸化したことが原因である。

### ②副生成物生成の有無

(1) オゾン照射前後の赤外吸収スペクトルから特出するスペクトルは発見されなかった。つまり、オゾン照射により、過酸化水素などの有害な副生成物の生成は確認されなかった。

(2) オゾン照射前後の赤外吸収スペクトルから O-H 結合の増加が確認された。これは、オゾンの分解反応より発生した  $O^1(P)$  がクチクラ層を酸化して O-H 結合が増加したと考えられる。

### ③機能性評価

(1) オゾン照射により、リコペン含有量に大きな変化は見られなかった。これは、リコペンは、長鎖の共役二重結合を持ち、ラジカル補足や一重項酸素の物理的消去などの抗酸化活性を有するため、抗酸化物質の量が増えることなく、リコペンの含有量にも大きな変化が見られなかったと考えられる。

(2) 長期保存 (14 日間) するにあたり、リコペン含有量はプラズマ未照射と比較して CT=1000 では増加し、CT=1500 では減少した。

以上の結論より、大気圧空気プラズマ照射を行うことで、ミニトマト表面の殺菌を行うためには、CT=1000 以上必要であることが確認されたが、CT=1500 では、オゾンの酸化力によりミニトマト表面のクチクラ層が酸化し軟化が見られた。また、新たに有害な副生成物は発生しなかったため、長期輸送の際、およそ CT=1000 で殺菌を行なうことが有効だと考えられる。また、リコペン含有量も長期輸送 (14 日間) の観点から大きな変化は見られなかった。しかし、時間経過に伴って、リコペン含有量の低下が確認された。従って、ミニトマト殺菌のための最適オゾン CT 値はおよそ CT=1000 であることが推測できた。

## 参考文献

- [1] 世界の食糧ロスと食料廃棄,2011  
[http://jaicaf.or.jp/fao/publication/shoseki\\_2011\\_1.pdf](http://jaicaf.or.jp/fao/publication/shoseki_2011_1.pdf)
- [2] 農林水産省：食品ロス及びリサイクルをめぐる情勢  
[https://www.maff.go.jp/j/shokusan/recycle/syoku\\_loss/attach/pdf/161227\\_4-128.pdf](https://www.maff.go.jp/j/shokusan/recycle/syoku_loss/attach/pdf/161227_4-128.pdf)
- [3] 水中プラズマの衛生分野、農業分野への応用  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/sfj/67/6/67\\_302/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/sfj/67/6/67_302/_pdf/-char/ja)
- [4] 酸素プラズマを用いた人に優しく環境無負荷な医療用滅菌器の研究開発  
[https://airimaq.kyushu-u.ac.jp/ja/seeds\\_young/file\\_download.php?code=50&file\\_no=1](https://airimaq.kyushu-u.ac.jp/ja/seeds_young/file_download.php?code=50&file_no=1)
- [5] 衛藤啓：大気圧L Fプラズマジェットの植物への照射による影響  
[http://elecls.cc.oita-u.ac.jp/plasma/research/article/plant\\_IJSJ\\_Eto14.pdf](http://elecls.cc.oita-u.ac.jp/plasma/research/article/plant_IJSJ_Eto14.pdf)
- [6] ガスプラズマを用いた農産物の殺菌法の開発 [http://www.kannousuiken-osaka.or.jp/\\_files/00052191/h26\\_18gasplasma.pdf](http://www.kannousuiken-osaka.or.jp/_files/00052191/h26_18gasplasma.pdf)
- [7] 農産物の物理的殺菌技術,2013  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsam/75/2/75\\_56/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsam/75/2/75_56/_pdf/-char/ja)
- [8] 農業分野に向けた大気圧プラズマの利用  
[http://library.kct.ac.jp/content/files/ResRep51/07\\_tanoue.pdf](http://library.kct.ac.jp/content/files/ResRep51/07_tanoue.pdf)
- [9] 大気圧放電プラズマを用いた果実表面付着菌不活化における活性酸素種濃度効果,2019
- [10] Agnieszka Starek,“Evaluation of selected microbial and physicochemical parameters of fresh tomato juice after cold atmospheric pressure plasma treatment during refrigerated storage”(2018)
- [11] 日本オゾン協会：“オゾンハンドブック”，(サンユー書房，2004)，第4章 ‘オゾンの性質’
- [12] 中村成夫：活性酸素と抗酸化物質の化学,2013年
- [13] 細菌の酸化ストレス防御システムと酸化系抗菌剤の作用メカニズム,日本食品微生物学会雑誌 23(2),41-52,2006
- [14] 大気圧プラズマによる組織の活性化と医療応用,2015
- [15] 山部長兵衛：プラズマ・核融合学会誌, 74 (1998), 134.
- [16] 日本医療機器学会：“改訂第 4 版 医療現場の滅菌”，(ヘルス出版, 2015)
- [17] “182SA オゾン”，6 Jun 2004,

- <[http://www.komyokk.co.jp/pdata/tpdf/182SA\\_0.pdf](http://www.komyokk.co.jp/pdata/tpdf/182SA_0.pdf)> (accessed 23 Jan 2019) [in Japanese].
- [18] 鶴飼良平：“食品衛生検査指針 微生物編 2015”，(公益社団法人日本食品衛生協会, 2015)150.
- [19] “サニ太くん”，22 Oct 2018,
- [20] [FT-IR]フーリエ変換赤外分光法  
<https://www.mst.or.jp/method/tabid/151/Default.aspx>
- [21] IR 測定法 (ATR 法) 株式会社 UBE 科学分析センター  
[https://www.ube-ind.co.jp/usal/documents/o546\\_141.htm](https://www.ube-ind.co.jp/usal/documents/o546_141.htm)
- [22] リコペン(Lycopene)コスモ・バイオ株式会社  
[https://www.cosmobio.co.jp/product/detail/lycopene-lkt.asp?entry\\_id=15824](https://www.cosmobio.co.jp/product/detail/lycopene-lkt.asp?entry_id=15824)
- [23] トマトのリコペンの最適抽出溶媒の選定とこれを用いた簡易迅速定量法  
<http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/vegetea/2010/vegetea10-11.html>
- [24] ケミカルインジケーター  
<http://tokkyoj.com/data/tk2001-13129.shtml>
- [25] 収穫後トマト果実の着色、軟化に関する検討
- [26] 微生物検出用シート培地サニ太くん真菌用 (カビ・酵母検出用)  
[https://www.jnc-corp.co.jp/sanita/pdf/20150918\\_sanita\\_AOAC\\_PTM.pdf](https://www.jnc-corp.co.jp/sanita/pdf/20150918_sanita_AOAC_PTM.pdf)
- [27] サニ太くん発色見本表  
[https://www.jnc-corp.co.jp/sanita/pdf/seiiku\\_taisyuu.pdf](https://www.jnc-corp.co.jp/sanita/pdf/seiiku_taisyuu.pdf)
- [28] 食品工場の微生物制御へのオゾン利用技術 “食品分析開発センター  
<http://www.mac.or.jp/mail/120102/04.shtml>
- [29] クチクラとクチクラ表面のワックス  
<https://ww1.fukuoka-edu.ac.jp/~fukuhara/keitai/1-4.html>
- [30] 瀧美沙子, 石井純子, 中山清貴, 関税中央分析所報, **48** (2008-10), 69-71
- [31] 金原淳司 “pelg 変異体を用いたトマトのクチクラ層の特性に関する研究”
- [32] カロテノイドの吸収と体内動態  
[http://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/publications/pdf/sousetsu/kanko\\_sou48/p079.pdf](http://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/publications/pdf/sousetsu/kanko_sou48/p079.pdf)
- [33] 収穫後のトマト果実におけるフェトエンシンターゼ遺伝子の働き, 2019
- [34] 元永佳孝 “貯蔵農産物の 2 次代謝としての色発現”  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsam1937/58/Supplement/58\\_Suppleme](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsam1937/58/Supplement/58_Suppleme)

nt\_347/\_pdf

## 謝辞

本研究の遂行と修士論文の作成に当たり、多くのご支援とご指導を賜りました。指導教官である九州大学大学院総合理工学研究院林研究室 林信哉教授に深く感謝しております。研究の進め方や考え方といった研究の基本から、実用化に向けての研究の応用まで幅広くご教示頂きました。また、社会に出て必要なスキル、考え方を教えていただきました。厚く御礼申し上げます。

福岡県農林業総合試験場資源活用研究センター 馬場紀子様には、農産物や微生物の知識を生物学的観点よりご教示頂き、深く御礼申し上げます。

九州大学大学院総合理工学府先端エネルギー理工学専攻同研究室の皆様には深くお礼を申し上げます。同研究グループの卒業生である山本強太さんには研究に関する知識や考え方のご教示頂き、大変お世話になりました。修士課程2年の井手裕介君、濱名優弥君松村速人君は同期として研究および就職活動などの相談にも快く応じてくれました。修士課程1年の岡林良太君には同研究グループとして研究を進めるに当たり数多くのご支援・ご協力を頂きました。心から感謝致します。

最後に、常に暖かく見守ってくださった家族や親戚、友人に対して深く感謝の意を表して謝辞と致します。