食品を壊さずに菌の増え方を評価する新手法

―顕微鏡画像と数理モデルで植菌試験の効率化―

概要

京都大学大学院農学研究科の小川順教授、安藤晃規助教、日本新薬株式会社の田宮央登氏、津田謙太郎氏らの研究グループは、食品の微生物リスク評価や日持ち評価に用いられる植菌試験において、食品表面で増殖する微生物の比増殖速度を非破壊かつ定量的に推定できる新たな評価手法を開発しました。

本研究では、食品表面にメンブレンフィルターを載置し、その上に微生物を接種して顕微鏡で経時観察しました。顕微鏡画像では、不明瞭な細胞領域とその周囲に特徴的な暗色の環状領域が観察され、これらを合わせた領域を「Bounded area」と定義しました。さらに、Bounded area の画素数の経時変化を画像解析によって取得し、そのデータに基づいて、微生物の比増殖速度を推定可能な数理モデルを構築しました。乳酸菌を用いた検証では、数理モデルより推定した比増殖速度が、従来のコロニーカウント法から算出した比増殖速度と高い一致を示し、本手法の有効性が確認されました。本成果により、食品の日持ち評価、保存条件の検討および日持向上剤の効果検証などにおける、評価の省力化・迅速化への貢献が期待されます。

本研究成果は 2026 年 9 月 26 日に、国際学術誌「*Food Microbiology*」にオンライン掲載されました。



図 1. 食品を壊さずに菌の増え方を評価する新手法

試料を破壊する従来法に対し、本手法では同じ試料を繰り返し観察し、菌の増え方を画像から評価します。

（作成者：田宮央登、生成 AI：Microsoft Copilot）

１．背景

食品表面での微生物増殖は、食品の腐敗や品質劣化を引き起こす主要な要因の一つであり、品質管理や日持ち評価、微生物リスク評価における重要な課題です。食品分野では、食品に対象微生物を接種し、保存中の菌数変化から比増殖速度（μ）を評価する植菌試験が広く行われています。しかし、一般的に用いられるコロニーカウント法では、試料の破砕、希釈、培養およびコロニー計数など複数の工程が必要であり、多くの時間と労力を要します。また、試料を破壊して測定するため、同一試料における微生物増殖を連続的に観察することは困難でした。

研究グループはこれまでに、食品表面に親水性メンブレンフィルターを載置し、その上に微生物を接種することで、食品表面における微生物の増殖を顕微鏡で経時観察できる手法を開発しました。この手法では、不明瞭な細胞領域とその周囲に形成される特徴的な暗色の環状領域を合わせた領域を「Bounded area」と定義し、その経時変化を指標とすることで、食品表面における微生物増殖や保存料の効果を非破壊的に評価できることを報告しています（参考文献 1）。本研究では、本手法による微生物増殖の相対的な変化や試験群間の比較に加え、Bounded area の画素数の経時変化と微生物増殖との関係を記述する数理モデルを構築し、食品表面で増殖する微生物の比増殖速度（μ）を非破壊かつ定量的に推定できる新たな評価手法の開発を目指しました（図 2）。

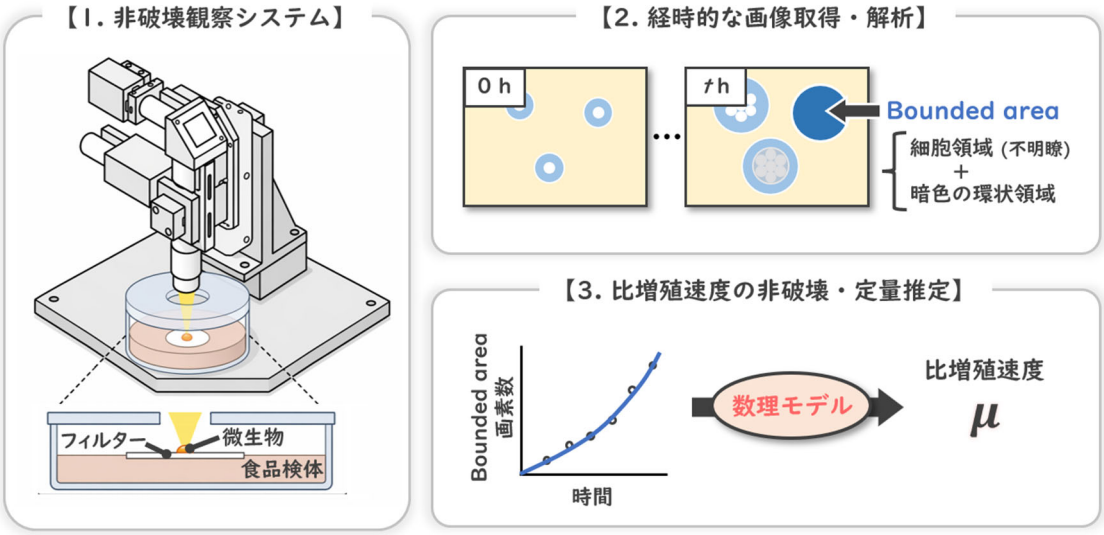


図 2．顕微鏡画像から比増殖速度を推定する仕組み

食品表面に載置したフィルター上の微生物を非破壊で経時的に観察し、画像解析で得られた Bounded area の画素数の変化情報を数理モデルに当てはめることで、比増殖速度を推定します。（作成者：田宮央登）

２．研究手法・成果

画像情報から比増殖速度を推定する数理モデルを構築

本研究では、食品表面に載置したメンブレンフィルター上に微生物を接種して顕微鏡で経時観察し、得られた画像から微生物の比増殖速度を推定する数理モデルを構築しました。

顕微鏡画像では実際のコロニー境界を明確に識別することが困難なため、不明瞭な細胞領域とその周囲に形成される特徴的な暗色の環状領域を合わせた領域として定義される Bounded area に対し、細胞領域と Bounded area の境界との間に一定の距離（マージン、$m^{(i)}$）が存在すると仮定しました（図 3A）。

さらに、微生物が指数関数的に増殖し、細胞領域（$C_t^{(i)}$）が円形に拡大すると仮定して、Bounded area の画素数（$S_t^{(i)}$）の時間変化を記述するモデル式を導出しました（図 2B-(1)）。この理論式を各コロニーから得られる $S_t^{(i)}$ の経時データに最小二乗法でフィッティングすることで、画像情報に基づく個々のコロニーの比増殖速度（$\mu_{\mathrm{img}}^{(i)}$）が推定できます。加えて、従来法との比較には、集団レベルの比増殖速度を算出する必要があるため、複数コロニーから得られた $\mu_{\mathrm{img}}^{(i)}$ を統合することで、画像情報に基づく集団レベルの比増殖速度（μ_{img}）を算出するモデル式を構築しました（図 3B-(2)）。

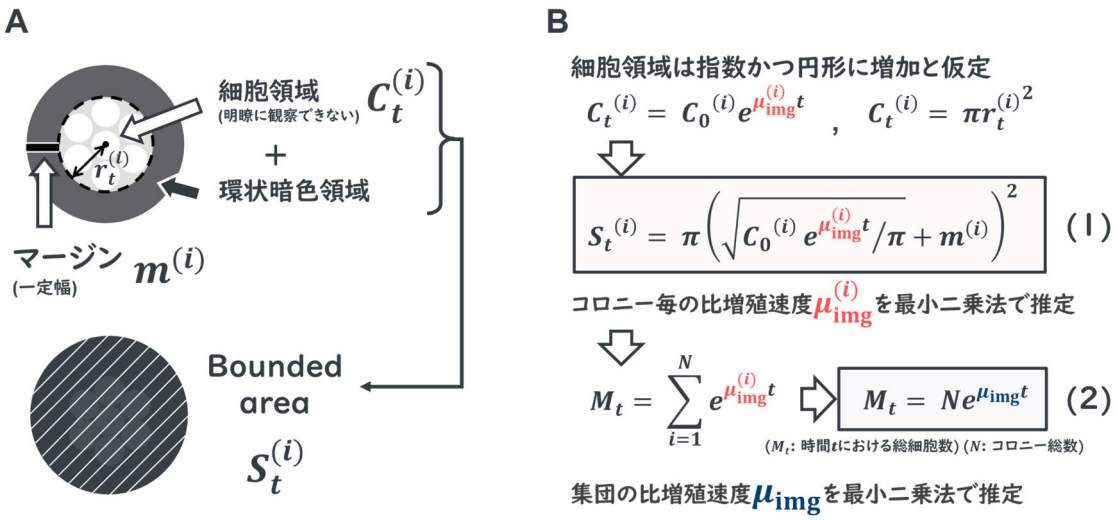


図 3. 顕微鏡画像に基づく比増殖速度推定の数理モデル

（A）細胞領域と Bounded area の境界との間に仮定した一定の距離（マージン）の概念図。（B）Bounded area の画素数の経時変化から個々のコロニーの比増殖速度を推定するモデル式（1）と、個々のコロニーの比増殖速度を統合して集団レベルの比増殖速度を算出するモデル式（2）。

推定した比増殖速度は従来法による測定値と概ね一致した

構築した数理モデルを、乳酸菌 *Leuconostoc mesenteroides* の Bounded area の画素数の経時変化に適用しました。その結果、図 4A に示す代表的な 3 つのコロニーでは、決定係数（R^2）が 0.997、0.995 および 0.996 と高く、RMSE が 0.016、0.022 および 0.021 と低い値を示し、数理モデルによる推定曲線は実測値に良好に適合しました。また、25 個のコロニーに本手法を適用し、最小二乗法により各コロニーのマージン $m^{(i)}$（図 4B）と比増殖速度 $\mu_{\mathrm{img}}^{(i)}$（図 3C）を推定しました。これらの $\mu_{\mathrm{img}}^{(i)}$ を統合して算出した集団レベルの比増殖速度（$\mu_{\mathrm{img}} = 0.150\ \mathrm{h^{-1}}$）は、従来のコロニーカウント法から得られた比増殖速度（$\mu_{\mathrm{count}} = 0.157\ \mathrm{h^{-1}}$）と良好に一致しました（図 4D）。

また、乳酸菌を用いた 10°C、20°Cおよび 30°Cでの検証において、本手法で推定した比増殖速度 μ_{img} はコロニーカウント法による比増殖速度 μ_{count} と高い相関（$R^2 = 0.996$）を示しました（図 5A）。実食品条件に近いモデルハムを用いた試験においても、本手法で推定した比増殖速度（$\mu_{\mathrm{img}} = 0.319\ \mathrm{h^{-1}}$）は、コロニーカウント法による比増殖速度（$\mu_{\mathrm{count}} = 0.322\ \mathrm{h^{-1}}$）と良好に一致しました（図 5B）。

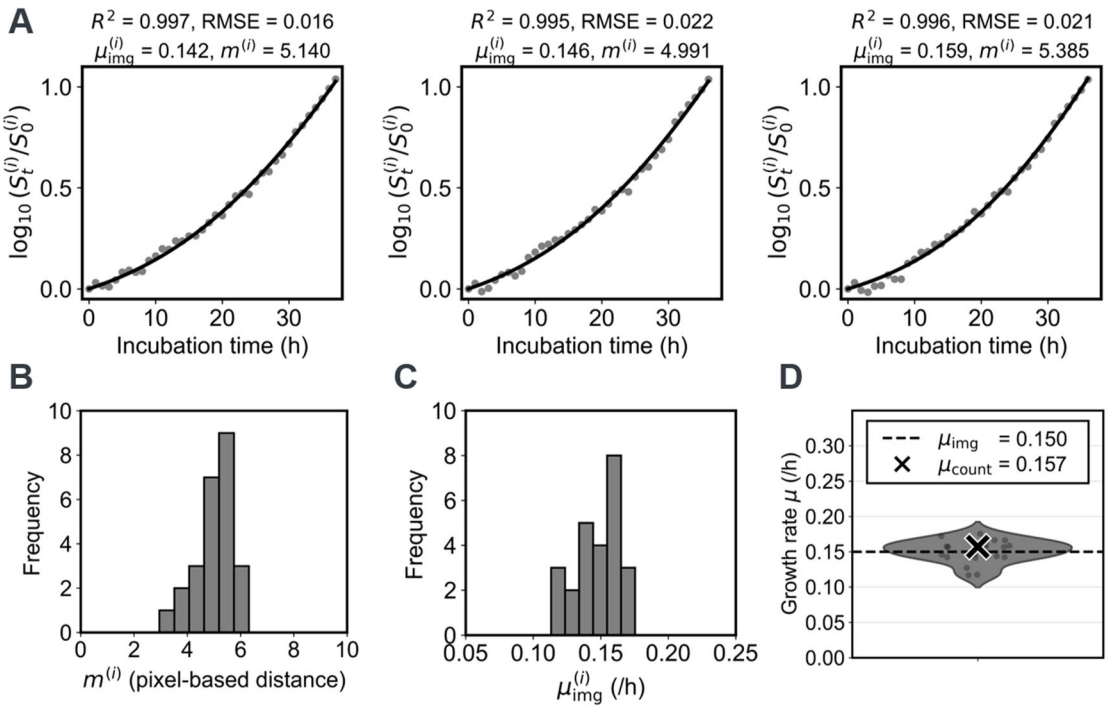


図 4. 数理モデルによる比増殖速度の推定と従来法との比較

（A）10°Cにおける Bounded area の画素数の経時変化と数理モデルによる推定曲線。（B）25 個のコロニーについて推定した個々のマージンの分布。（C）25 個のコロニーについて推定した個々の比増殖速度の分布。（D）集団レベルの比増殖速度と、コロニーカウント法から得られた比増殖速度との比較。

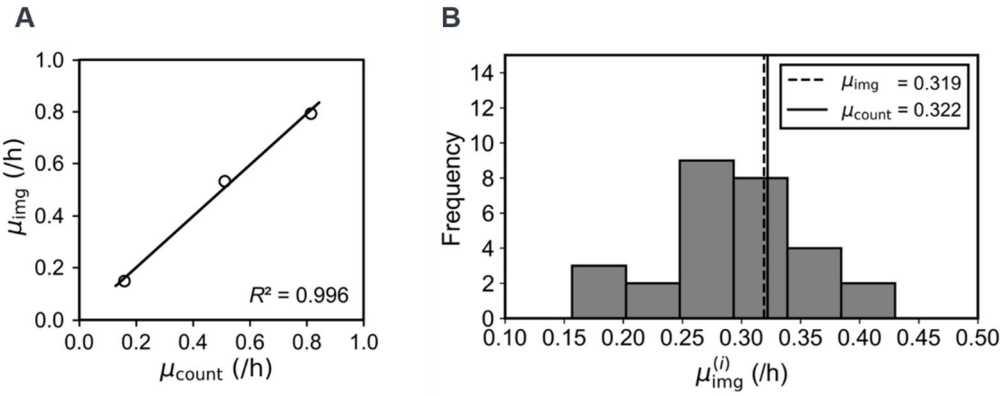


図 5. 異なる温度条件およびモデル食品における本手法の妥当性評価

（A）乳酸菌を用いた 10°C、20°Cおよび 30°C条件における、本手法で推定した比増殖速度とコロニーカウント法による比増殖速度との関係。（B）モデルハムを用いた試験における、個々のコロニーの比増殖速度の分布ならびに、本手法で推定した集団レベルの比増殖速度とコロニーカウント法による比増殖速度との比較。

以上の結果から、本手法により、従来法と整合する集団レベルの比増殖速度を推定でき、食品表面における微生物増殖を非破壊かつ定量的に評価できることが示されました。

３．波及効果、今後の予定

本研究では、食品表面で増殖する微生物の比増殖速度を、顕微鏡画像解析と数理モデルの組み合わせにより、非破壊かつ定量的に推定できることを示しました。従来のコロニーカウント法では、評価に多くの時間と工程を要し、試料を破壊する必要があるのに対し、本手法は、より少ない工程で同一試料を非破壊かつ連続的に評価できることが特徴です。

本成果は、植菌試験における微生物増殖を非破壊かつ連続的に評価するための新たな技術基盤となるものであり、本手法の活用により、食品の日持ち評価、腐敗リスク評価、保存条件の検討および日持向上剤の効果検証などにおいて、評価の迅速化・省力化への貢献が期待されます。

また、本手法では、個々のコロニーの比増殖速度を推定できるため、微生物集団内における増殖速度のばらつきを捉えられる可能性があります。これは、微生物集団全体の菌数を測定する従来法では得ることが難しい情報であり、食品表面における微生物の増殖特性や集団動態の理解を深めることにつながると期待されます。

今後は、対象とする微生物や食品の種類を拡大し、本手法の適用範囲を検証するとともに、実用化に向けた検討を進めます。

４．研究プロジェクトについて

本研究は、京都大学大学院農学研究科と日本新薬株式会社による共同研究の一環として実施されました。

＜用語解説＞

※1 植菌試験

食品に対象となる微生物を接種し、保存中の菌数変化や増殖挙動を評価する試験です。食品の日持ち評価や微生物リスク評価、保存条件の検討などに広く利用されています。

※2 比増殖速度（μ）

微生物の菌数が単位時間当たりにどの程度の割合で増加するかを表す指標です。温度、食品成分、保存料などの条件によって変化し、食品の日持ち評価や微生物リスク評価における基本的な指標として用いられます。

※3 コロニーカウント法

試料中の微生物を寒天培地上で培養し、形成されたコロニー数を計数することで菌数を測定する方法です。食品分野で広く用いられる標準的な評価手法ですが、試料の破砕や希釈、培養、コロニー計数など、複数の工程を必要とします。

※4 メンブレンフィルター

微生物を食品表面で安定して観察するために用いる薄膜状のフィルターです。本研究では、食品表面に載置したメンブレンフィルター上に微生物を接種することで、食品表面の環境を反映しながら、顕微鏡による経時観察を可能にしました。

※5 Bounded area

顕微鏡画像中で観察される、不明瞭な細胞領域と、その周囲に形成される特徴的な暗色の環状領域を合わせ

た領域です。本研究では、Bounded area の画素数の経時変化を画像解析し、そのデータに基づいて微生物の比増殖速度を推定しました。

＜参考文献＞

タイトル：*“Construction of a convenient microbial-growth observation system based on microscopic image analysis applicable to the evaluation of preservative effects.”*
著　　者：Hisato Tamiya, Kentaro Tsuda, Naoki Akasaka, Ryota Kikuchi and Jun Ogawa
掲 載 誌：***Food Control***, 163 (2024), 110541.
DOI：https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110541

＜研究者のコメント＞

「本研究では、食品開発や品質評価の現場で課題となっている微生物増殖評価の効率化を目指し、顕微鏡画像解析と数理モデルを組み合わせた新たな比増殖速度推定手法を開発しました。本手法は、食品表面における微生物増殖を非破壊かつ連続的に評価できる新たな技術として位置づけられます。今後、食品の日持ち評価や品質管理の効率化に加え、食品表面における微生物の挙動や生態の理解にも貢献することを期待しています。」（小川順）

＜論文タイトルと著者＞

タイトル：*“Non-destructive and quantitative estimation of microbial growth rates on food surfaces using microscopic image analysis.” (顕微鏡画像解析を用いた食品表面における微生物増殖速度の非破壊的かつ定量的な推定)*
著　　者：Hisato Tamiya, Kentaro Tsuda, Akinori Ando, and Jun Ogawa
掲 載 誌：***Food Microbiology***, 142 (2027), 105317.
DOI：https://doi.org/10.1016/j.fm.2026.105317