

# SolidWorksのAPIを利用した展開図作成機能の開発\*

外山 真也\*<sup>1</sup>

Study on the Program for the Sheet Metal Development with SolidWorks API

Masaya TOYAMA

本研究は、三次元CADを利用した展開図作成の省力化を目的としたものである。平成11年から15年において、動的計画法による展開図作成機能を利用して「TOMCAD」や「SolidWorks」上で動作可能な展開図作成コマンドを開発し、県内企業からの展開図作成に関する技術指導や相談の対応を実施してきた。しかし、SolidWorks2008年版では、このコマンドが全く機能せず、大幅な改善が必要であることがわかった。そこで、各種機能の改善と操作性の向上を考慮して新たな機能を開発し、比較的単純な形状に関しては展開図が求められるようになった。さらに、複雑な形状や断面が閉じてない形状において展開図が重なる場合、展開図を分割して生成する方法について検討し、開発できたので報告する。

キーワード：CAD、動的計画法、展開図、合理化、省力化

## 1 はじめに

筒状板金構造物における最適な展開図生成手法について検討し、動的計画法を用いた手法により、最適な展開図を求める手法を確立した。

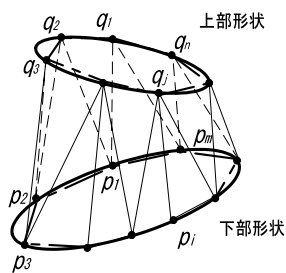


図1 上、下部形状と側面形状の例

表1 結線状態を示す行列  $X$

|          |      | 上断面形状の点群 |   |   |   |   |      |   |
|----------|------|----------|---|---|---|---|------|---|
| 下断面形状の点群 |      | 1        | 2 | 3 | 4 | 5 | .... | n |
|          | 1    | 1        | 1 | 0 | 0 | 0 | 0    | 0 |
|          | 2    | 0        | 1 | 1 | 0 | 0 | 0    | 0 |
|          | 3    | 0        | 0 | 1 | 0 | 0 | 0    | 0 |
|          | 4    | 0        | 0 | 1 | 1 | 0 | 0    | 0 |
|          | 5    | 0        | 0 | 0 | 1 | 0 | 0    | 0 |
|          | 6    | 0        | 0 | 0 | 1 | 1 | 0    | 0 |
|          | .... | 0        | 0 | 0 | 0 | 1 | .... | 1 |
|          | m    |          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0    | 1 |

これまでに、遺伝的アルゴリズムや動的計画法を用いて最適解を求められることを報告している。

板金加工を業務とする企業においては、ダクトなどの管状構造物の展開図作成は非常に重要な工程となっているが、そこで扱われる構造物の形状は多種多様である。一方、現存する展開図用CADシステムでは、これらの多様な板金構造物の展開図には対応できていないのが現状である<sup>1)</sup>。また、展開図に関する研究報告も、曲げ部分を伸ばして平坦化するという個別の技術的手法に関する報告が見受けられるにすぎない<sup>2)</sup>。

そこで、多種多様な形状の構造物に対する展開図の生成を単一のアルゴリズムで実現する手法の確立に向けて検討した。

これまでの研究では、まず、①加工の容易さ（曲げ加工線（結線）長を短くすること）<sup>3)</sup>、②側面形状の滑らかさ（側面の向きの変化率を均一にすること）<sup>5)</sup>などを評価基準とした評価関数を導入し、動的計画法<sup>4)5)</sup>を活用して最適な展開図が生成できることを示した。

この手法による展開図作成機能を開発して三次元CAD (SolidWorks) に実装し、実用化することを目指している。

\* 生産システムの高効率化・高精度化に関する研究（第三報）  
\* 1 機械電子部

## 2 SolidWorks API によるコマンドの開発

前記した加工の容易さと側面形状の滑らかさを評価した関数を組み込んで展開図作成コマンドを開発し、SolidWorks（2010年版）に実装した。開発はMicrosoft Visual Studio 2008 C#を利用した。SolidWorksはAPI（Application Program Interface）を有し、そのAPIを利用することでユーザー固有のコマンドを開発することが可能であり、その機能を利用して開発を進めた。前回までに、単純な形状モデルを作成し、そのモデルエッジを選択指定して、展開図を作成することを実現した。さらに、二つの自由曲線をスケッチ上で描き、それらの曲線を選択指定して展開図を作成する機能を開発した（図2および3を参照）。

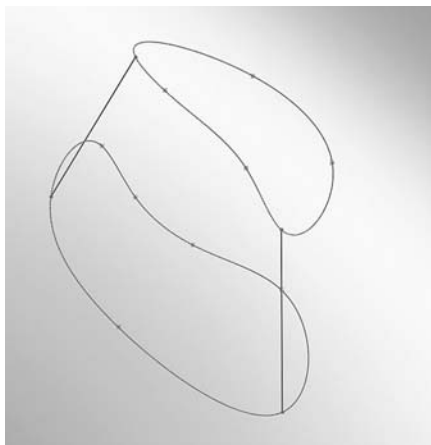


図2 自由曲線を描いた状態

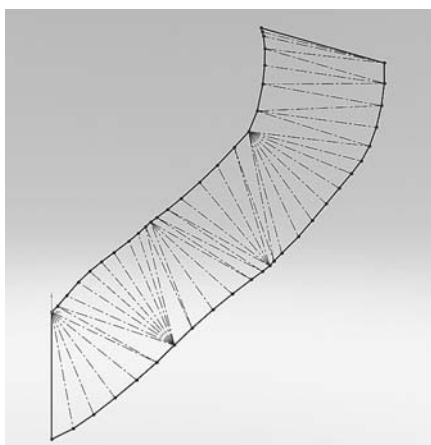


図3 自由曲線による展開図の作成

ところが、複雑な形状の場合は、適正な展開図が求められない場合がある。これは展開図を求めようとするモデル形状に凹凸があり、結線状態は適正な結果が得られているが、その結線状態の結果から展

開図を作成する段階で、展開した三角形平面を配置する方向によって重なりが発生し、もしくは新たな三角形平面を配置する余地がないことに起因していることが分かった。

この展開図が重なっている事例を図4および5に示す。図4におけるモデルにおいて、上側の輪郭図形と、下側の輪郭図形を指定して、求められた展開図を図5に示す。このとき、図4における上側の輪郭図形においては、凸角部分があるために展開図において、重なりを生じた。

そこで、そのような場合には、分割して展開図を作成する手法を検討した。

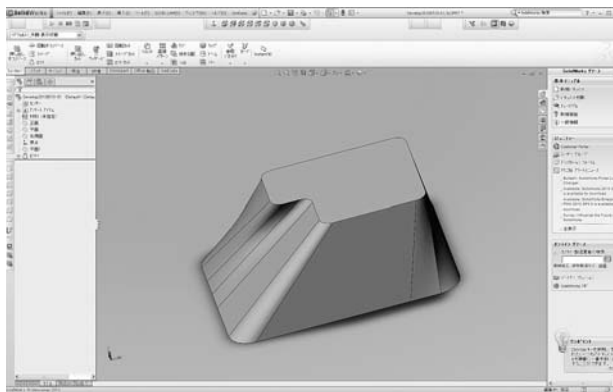


図4 展開図作成用モデルの例

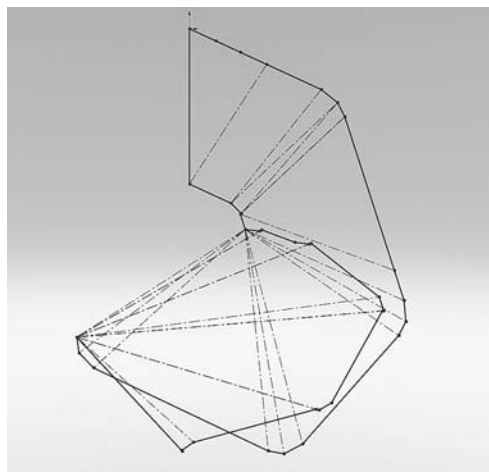


図5 作成された展開図の例

### 2-1 分割位置の設定と検索方法

分割位置を指定するために、それぞれの断面形状上に点を配置し、二つの断面形状において指定された二つの点を結ぶ線分として指定するようにした。そのようにすることで、二つの断面形状の対となる二つの点の関係を明確にした。

その分割点を指定したモデル形状を図6に、作成された展開図を図7及び8に示す。

閉じている形状において、分割点の指定は2か所以上が必要となる。その指定された分割点に対応して、断面形状を分割し、結線状態を求めている。このような形状の場合に、分割点は直線または円弧形状の端点となるので、API関数を利用して、各図形形状の端点を求めることは容易であった。

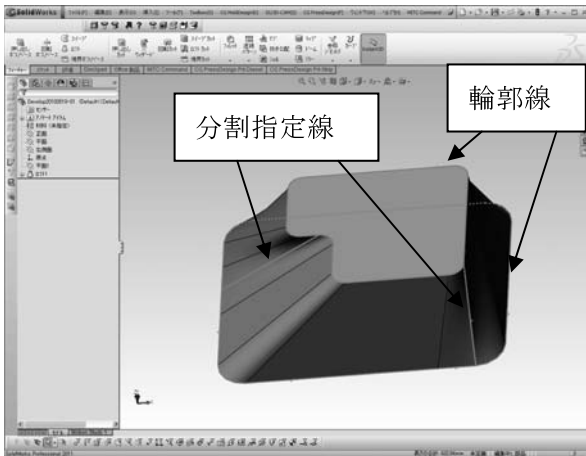


図6 展開図作成用モデルの例（その2）

## 2-2 自由曲線での分割位置の検索方法

次に、自由曲線で作成されたモデル形状の場合を図9に、求められた展開図を図10から13に示す。このモデルは、4つの曲面を輪郭曲線部分で張り合わせて作られた立体である。ここでは、その曲面の一つを指定して展開図を作成する試みを行った。この場合は、指定される断面形状が閉じてない状態である。この形状において、分割点を3カ所ずつ指定し、展開図を求めた。

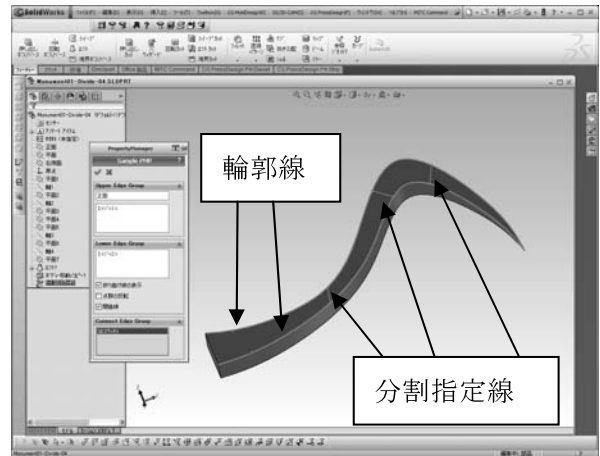


図9 展開図作成用モデルの例（自由曲線の例）

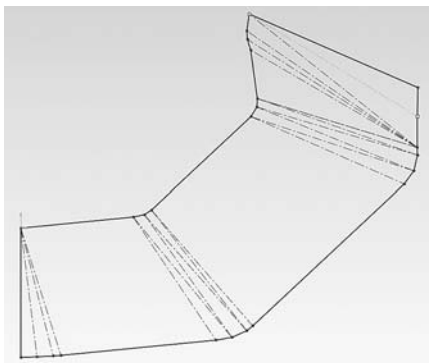


図7 作成された展開図の例（その2-1）

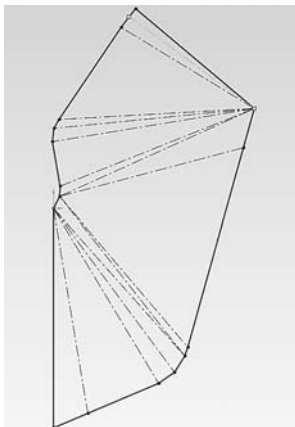


図8 作成された展開図の例（その2-2）

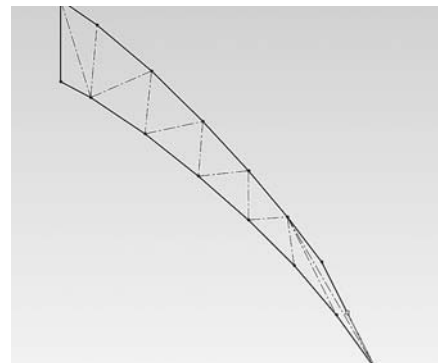


図10 作成された展開図（自由曲線-1）

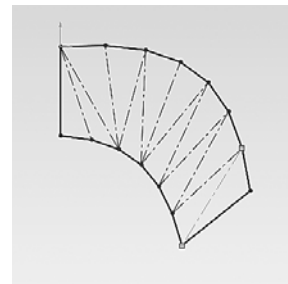


図11 作成された展開図（自由曲線-2）

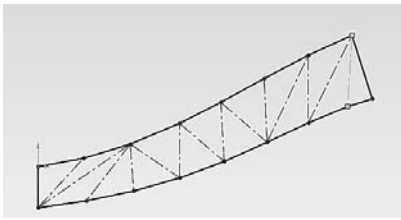


図12 作成された展開図（自由曲線-3）

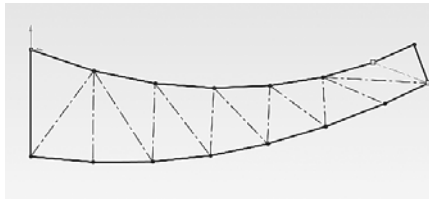


図13 作成された展開図（自由曲線-4）

また、求められた展開図を組み合わせて作成した平面図を図14に示す。

この形状において、分割点を指定しない条件で求められた展開図を図15に示す。このように分割点を指定しない場合は、ねじれを発生し、適正な展開図が求められなかった。

図9に示すような自由曲線（Spline等）を利用し

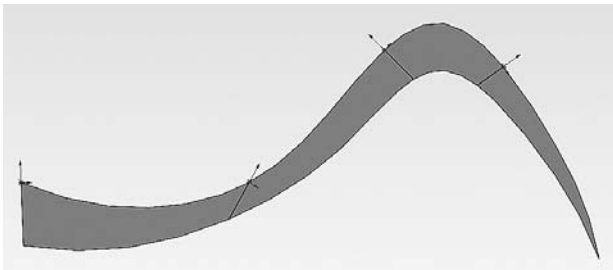


図14 組み合わせた展開図

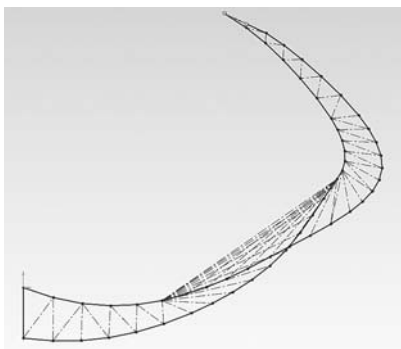


図15 分割点を指定しなかった場合

て作成した形状の場合は、モデル上で指定した分割点の座標とAPI関数を利用して求めた点群データにおける分割点の座標は、必ずしも一致しなかった。

そこで、このような場合は、APIで得られた図形形状の点群データと、分割点として指定したデータとの距離を調べ、最近接点を分割点として割り当てて結線状態を調べるようにした。

### 3 まとめ

今回の開発により単純な形状のモデルだけでなく、複雑な形状の場合でも、分割位置を指定することで、適正な展開図を作成することが可能になった。

今後、様々な展開図の作成に活用していきたい。

### 4 参考文献

- 1) 繁山 俊雄：板金製缶 展開板取りの実際，理工学社，(1973)
- 2) 松永省吾：システム工学入門，東京電機大学出版局，71-91 (1987)
- 3) 外山真也他：遺伝的アルゴリズムを用いた板金構造物の展開図作成手法，OR学会，44-3，230-250 (2001)
- 4) 外山真也他：動的計画法を用いた板金構造物の展開図作成のための結線決定法，日本応用数理学会，12-1，45-66 (2002)
- 5) 外山真也，富田重行：動的計画法を用いた最適板金展開図の自動設計システム，日本機械学会論文集（C編），69-679，256-262 (2003)



# エンドミル表面温度の工具寿命に及ぼす影響に関する研究\*

竹山 隆仁<sup>\*1</sup>・長友 良行<sup>\*1</sup>・塚田 美由紀<sup>\*2</sup>・佐藤 征重<sup>\*3</sup>・荒武 崇幸<sup>\*1</sup>

Study on Effect of Surface Temperature in End-milling on Tool Life

Takahito TAKEYAMA, Yoshiyuki NAGATOMO, Miyuki TSUKADA, Masatsugu SATO  
and Takayuki ARATAKE

本研究は、エンドミルによる切削加工中の刃先温度を測定する技術確立し、刃先温度と工具摩耗との相関を把握することで、工具の長寿命化と加工品質の向上を目的として取り組んだ。刃先温度測定方法として、①ファイバ式放射温度計による測定、②エンドミルに埋め込み固定した熱電対による測定、③低融点合金による推定の3種類を試みた。また、刃先温度を考慮した切削方法についても検討した。

キーワード：エンドミル、工具寿命、温度測定、低融点合金

## 1 はじめに

エンドミルとは先端と外周に切れ刃を有する回転切削工具である。切削加工において使用頻度の高いエンドミルの摩耗は、加工精度・加工表面性状・コストに影響を与える。この工具摩耗に関しては、物理的接触以外の要因として熱の影響が考えられる。本研究は、エンドミル加工中の刃先温度を測定する技術確立し、刃先温度と工具摩耗との相関を把握することによる工具の長寿命化と加工品質の向上を目的として取り組んだ。

本研究では、エンドミル加工中の刃先温度を測定するために、①ファイバ式放射温度計による測定、②エンドミルに埋め込み固定した熱電対による測定、③低融点合金を被削材に埋め込んで共削りすることによる推定、の3種類の方法を試み、それぞれの方法で刃先温度を計測し得られた結果を考察した。また、工具の長寿命化を主眼に、刃先温度を考慮した切削方法についても検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 温度測定方法

#### 2-1-1 ファイバ式放射温度計による測定

今回使用したファイバ式放射温度計（株式会社チノー、IR-FAI）は物体の赤外線放射を測定し温度に換算する温度計であり、計測される値は計測範囲φ5の平均値である。放射温度計では物質固有の放射率を設定する必要がある。測定対象のエンドミルの放射率は、表面に熱電対を貼りつけたエンドミルを300℃まで乾燥炉内で加熱したあと取り出し、熱電対の温度とファイバ式放射温度計の温度が一致する放射を計測しながら決定した。図1にファイバ式放射温度計および熱電対を取付けたエンドミルによる実験装置構成を示す。前報と同様にエンドミルをマシンングセンタ（株式会社牧野フライス製作所、V55）のテー

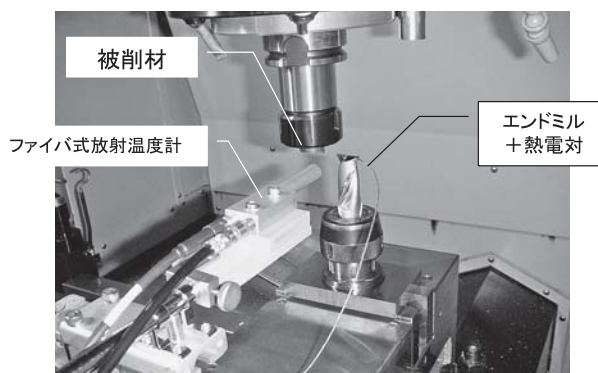


図1 装置構成

\* エンドミル表面温度の工具寿命に及ぼす影響に関する研究（第3報）

\*1 機械電子部

\*2 宮崎県県土整備部

\*3 財団法人宮崎県機械技術振興協会

ブル上に設置し、主軸側に被削材を取り付けた。被削材として炭素鋼S45Cを使用した。

### 2-1-2 熱電対による測定

図2に示す様に、エンドミル刃底の切り刃には影響しない箇所から外周逃げ面に貫通する穴を開け、刃先近傍に線径0.2 mmのK熱電対をセラミック接着剤により固定した。熱電対はエンドミルの刃先から直線距離にして約2 mmに位置している。熱電対のリード線をアナライジングレコーダー（横河電機㈱, AR1000）に接続し温度を記録した。



図2 熱電対埋め込みエンドミル

### 2-1-3 低融点合金の利用

低融点合金として一般に市販されているUアロイを使用した。以下、低融点合金をUアロイと記す。UアロイをSUS304と共削りし、エンドミルと接触した箇所でUアロイの溶融状況を確認し、そこからエンドミル刃先温度の推定を試みた。エンドミルでの加工は断続切削であり、1回転中実際に切削している時間は短時間である。ごく短時間の熱伝導の場合、「温度が伝わる領域は薄く、物体の大きさが有限であっても半無限物体として扱える」とされる<sup>1)</sup>。そのため、熱は表面で留まり、内部までは伝わらない。そこで、エンドミル形状は三次元だが、接触箇所での熱の移動を一次元として考え、エンドミル刃

先が被削材に食い込み、低融点合金に接触するまでと、低融点合金に接触した時点の熱の移動を図3のように考えた。

ここで、初期温度を  $T_0$ 、接触前の高まった刃先温度を  $T_s$ 、接触点での双方の温度を  $T_I$  とする。文献1では温度が  $T_{1,0}$ 、 $T_{2,0}$  の2つの半無限物体1、2が接触した時の熱伝導問題として、接触面の温度を求めている。この考え方を図3の状況に解釈しながら、エンドミル刃先が被削材に食い込み、低融点合金に接触するまでの時間を  $t_1$ 、エンドミル刃先と低融点合金に接触している時間を  $t_2$  とし、接触表面での熱の出入りを表すと式(1)が得られる。式中の  $\rho$  は密度、 $C$  は比熱、 $\lambda$  は熱伝導率を示し、各々の添字は、1がUアロイ、2がエンドミルの材質ハイスを示す。

$$\frac{\lambda(T_s - T_0)}{\sqrt{\pi \rho_2 C_2 t_1}} = \frac{\lambda(T_I - T_0)}{\sqrt{\pi \rho_1 C_1 t_2}} + \frac{\lambda(T_I - T_0)}{\sqrt{\pi \rho_2 C_2 t_2}} \quad (1)$$

式(1)から刃先温度  $T_s$  は式(2)で求まる。

$$T_s = T_0 + \frac{(T_I - T_0)(\sqrt{\rho_1 C_1 \lambda_1} + \sqrt{\rho_2 C_2 \lambda_2})}{\sqrt{\rho_2 C_2 \lambda_2}} \left( \sqrt{\frac{t_1}{t_2}} \right) \quad (2)$$

式(2)における  $t_1$  と  $t_2$  の比率については、切削を途中で中断し、Uアロイの溶融がどの時点で始まっているかを観察して求めた。また、計算で求めた刃先温度が、実際の刃先温度を表現しているかどうかの目安を得るために、赤外線サーモグラフィ（NEC Avio赤外線テクノロジー㈱, H2630）で加工の状況を30フレーム/秒で観察した。

実際に図3のような状態で熱が移動するかは、被削材に残ったUアロイの溶融状態を観察することで判断した。使用したUアロイは融点が200℃以下の範囲で、47℃のものから191℃までである。その熱物性で詳細に提示されているものとしてはUアロイ78とUアロイ138しかない。切削実験では、UアロイNo64, 70, 78, 91, 102.5, 109, 124, 138, 142を使用した。被削材はSUS304とし、幅12 mm、高さ30 mm、長さ70 mmのブロックを用いた。このブロックの30 mm×70 mm面に、幅2 mm、深さ6 mmの溝を、エンドミル送り方向に対し、傾斜を付けて掘り込み、溶融したUアロイを流し込み凝固させ、被削試料とした。

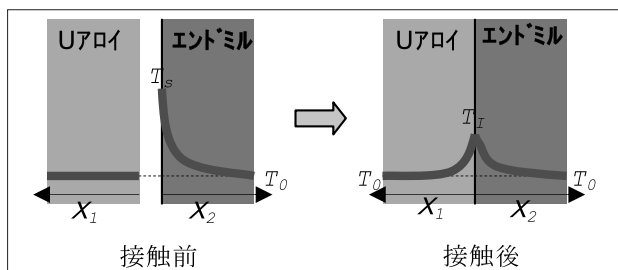


図3 エンドミル刃先の熱の移動

## 2-2 刃先温度を考慮した切削方法

それぞれの刃先温度測定法で得られた知見を元に、刃先温度に注目して、工具寿命が長くなる切削方法を検討した。検討する場合の被削材として、ステンレス鋼SUS304を用いた。

## 3 結果および考察

### 3-1 ファイバ式放射温度計による測定

ファイバ式放射温度計による測定温度例を図4に示す。前報では炭素鋼S45Cについて、切削距離8 mまで使用した工具による温度測定実験を報告した。今回切削距離16 mまで使用しさらに摩耗が進んだ状態の工具による切削実験を行った。

横軸に切削距離をとり、切削距離に応じた刃先温度をプロットしている。測定された温度から求めた近似直線を破線で追加した。併せて、エンドミルの逃げ面摩耗幅も記載した。一般的に工具寿命として扱われる摩耗幅と同程度である、逃げ面摩耗幅が0.3 mmを超えたあたりで刃先切削温度が急激に上昇した。

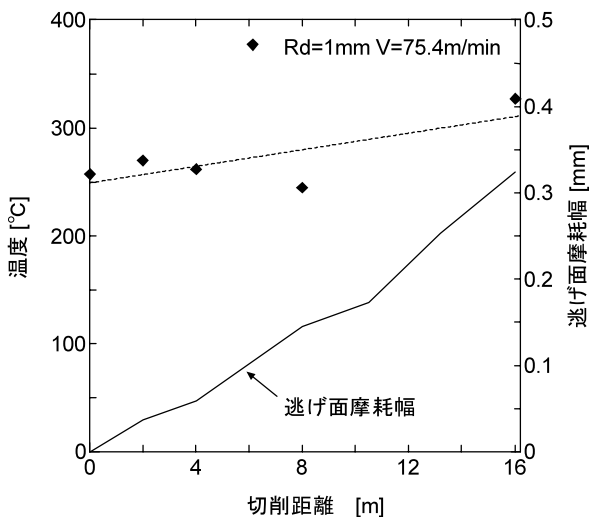


図4 切削距離と刃先温度

### 3-2 熱電対による測定

熱電対による測定温度例を図5に示す。測定された温度は他の測定方法で得られた刃先温度に比較して低い。これは、エンドミル刃先で発生した熱がごく短時間の熱伝導であり、熱が表面で留まり、内部までは伝わらないことに原因があると考えられる。CAEによる熱状態解析から推定してみると、実験

した切削条件では刃先から熱電対を埋め込んでいる位置までの距離が遠く、熱が十分に伝わらないことがわかる。熱電対をできるだけ刃先近傍に設置すれば、刃先温度と連動する変化が計測できると考えられるが、本研究での熱電対埋め込み位置は刃先から2 mmの位置であるため、刃先温度を計測できなかったことがわかった。

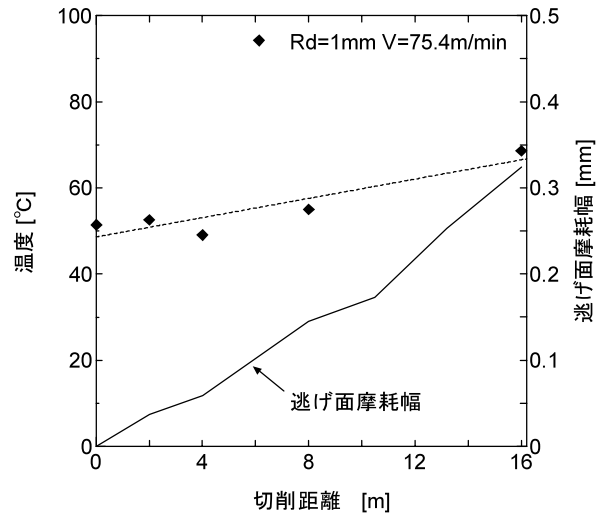


図5 切削距離と刃先温度（熱電対）

### 3-3 低融点合金の利用

#### 3-3-1 熱の移動

エンドミルの刃先と被削材の接触跡として、SUS304とUアロイの境界に幅約0.07~0.3 mmの溶融域がある。図6に一例を示す。その溶融域以外のUアロイ面は融けていない。このことから、図3のモデルのように、熱を持った刃先がUアロイに接触し、短時間で同一温度になったと考えられる。

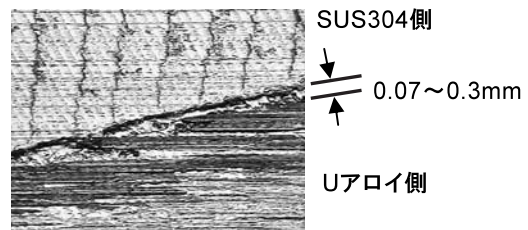


図6 SUS304とUアロイの切削境界状態

#### 3-3-2 時間比率

切削を途中で中断し、Uアロイの溶融がどの時点で始まっているかを観察した結果例を図7に示す。

エンドミルの刃先が被削材に食い込んでUアロイに接触するまでの状況を観察すると、ほぼ  $t_1 : t_2 = 1 : 1$  と思われ、そこから式(3)が得られる。

$$T_s = T_o + \frac{(T_i - T_o)(\sqrt{\rho_1 c_1 \lambda_1} + \sqrt{\rho_2 c_2 \lambda_2})}{\sqrt{\rho_2 c_2 \lambda_2}} \quad (3)$$

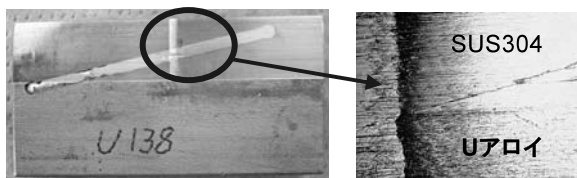


図7 エンドミルが被削材に食い込む点の状況

### 3-3-3 温度推定

異なった溶融温度のUアロイを埋め込んだSUS304を表1の切削条件で削った場合のUアロイとSUS304の境界部分を図8に示す。

表1 切削条件

| 工具                             | 直径20mmハイスエンドミル |
|--------------------------------|----------------|
| 回転数( $\text{min}^{-1}$ )       | 1000           |
| 送り速度( $\text{mm}/\text{min}$ ) | 200            |
| 側面切込量(mm)                      | 0.2            |



図8 Uアロイ別の溶融状態例

この状況では、Uアロイ142は溶融しておらず、Uアロイ138より低い融点のUアロイが溶融している。

そこで、表2に示すUアロイ138の物性値を使って式(3)で計算すると、この場合のエンドミル刃先温度  $T_s$  は約  $205^\circ\text{C}$  となる。

表2 Uアロイ138の物性値

|      |                              |
|------|------------------------------|
| 密度   | $8570 \text{ kg}/\text{m}^3$ |
| 熱伝導率 | $20.1 \text{ W}/(\text{mK})$ |
| 比熱   | $167 \text{ J}/(\text{kgK})$ |

計算で求めた刃先温度の検証として、Uアロイ138を埋め込んだSUS304を、表1の条件で切削加工す

る状況を、サーモグラフィにより観察した。エンドミルのような多面体で、部分によって光沢が異なり、回転しているものの場合の放射率は明確ではないが、文献<sup>2)</sup>より光沢を持った鉄の放射率0.15~0.20を選択した。観察画像から、1フレームずつ、切屑の部分を避け、エンドミル側面についての最高温度を計測した結果を図9、10に示す。同じ観察画像でも、放射率の違いにより最高温度は異なることがわかる。放射率が0.17程度において、刃先温度が計算で求めた  $205^\circ\text{C}$  に近い値となると推定でき、放射率も文献で示された範囲内にある。このことから、式(3)で求まる刃先温度が、実際の刃先温度と大きく外れていないのではないと思われる。

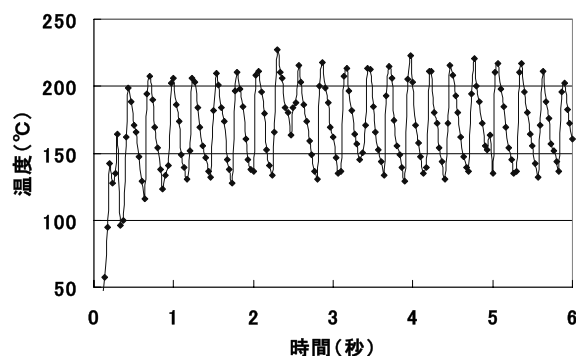


図9 放射率0.15の場合の刃先温度

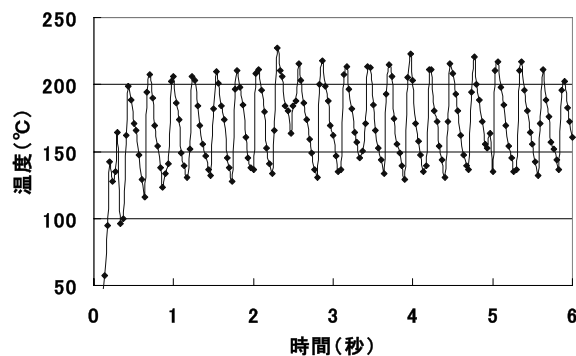


図10 放射率0.20の場合の刃先温度

### 3-4 刃先温度を考慮した切削方法

#### 3-4-1 刃先温度を上げない場合

刃先温度を上げないためには、クーラントの使用が考えられるが、そのほかに切れ味の良い状態で切削することも挙げられる。刃先の磨き具合やコーティングにより摩擦係数が低い場合、刃先温度は低く抑えられると考えられる。そこで、SUS304材にUア



ロイを埋め込み、新品のエンドミルと逃げ面磨耗が0.05 mm発生したエンドミルによる同一切削条件（表1）での切削面を図11, 12に示す．摩耗した状態の工具ではUアロイが溶融しており，刃先温度が高いことが確認できる．



図11 新品のエンドミルで加工した場合

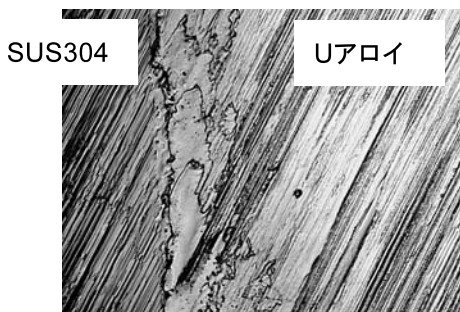


図12 逃げ面磨耗が0.05mm発生したエンドミルで加工した場合

### 3-4-2 高送り切削

刃先温度は送り速度と共に上昇していくが，荒加工では，単位加工時間当たりの切削量を増やし加工能率を上げたい場合がある．このとき送り速度を上げて，単位時間当たりの刃先と被削材間接触回数を減らすことで逃げ面磨耗が抑えられることもある．表3の切削条件でSUS304を削ったときの刃先温度変化をサーモグラフィで計測した結果は図13, 14のとおりである．送り速度が200 mm/minの場合，刃先最高温度は180℃程度だが，送り速度が1000 mm/minの場合，刃先最高温度は250℃程度となる．この切削条件で，逃げ面の磨耗進行状況を観察することにより図15の結果を得た．この図から，刃先の剛性を考慮しながら高送り切削を行うことも，高くなった刃先温度の工具寿命への影響を抑える効果があることがわかる．

表3 切削条件

| 工具                             | 直径20 mmハイスエンドミル |
|--------------------------------|-----------------|
| 回転数( $\text{min}^{-1}$ )       | 1000            |
| 送り速度( $\text{mm}/\text{min}$ ) | 144, 200, 1000  |
| 側面切込量(mm)                      | 0.2             |

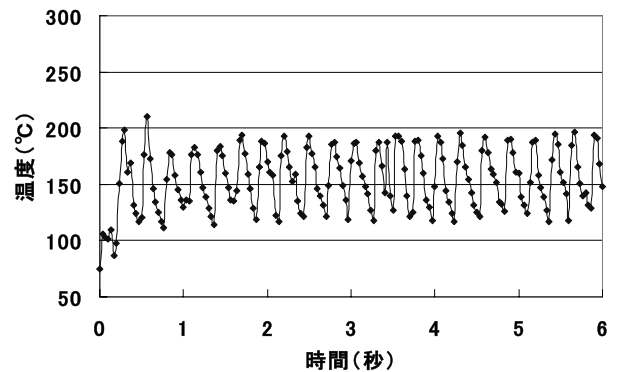


図13 送り速度：200mm/minの場合

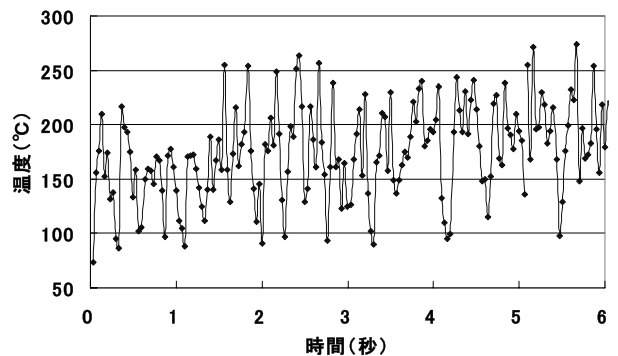


図14 送り速度：1000mm/minの場合

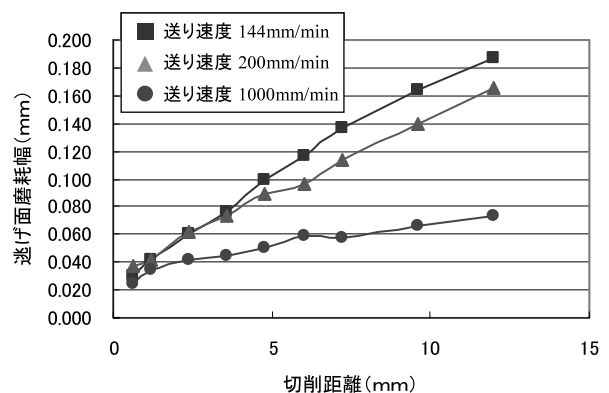


図15 逃げ面磨耗測定結果

#### 4 まとめ

エンドミル加工中の刃先温度を測定するために3種類の方法を試み、次の結果を得た。

- ・ファイバ式放射温度計により切削距離と刃先温度の関係を求めたところ、逃げ面摩耗が0.3 mmに達したところで温度が急激に上昇した。
- ・熱電対では刃先温度が計測できず、その原因はエンドミル刃先で発生した熱が表面で留まり、内部までは伝わらないためと考えられる。
- ・低融点合金を被削材に埋め込んで共削りし、その溶融状況から計算式を用いて刃先温度を推定することを試みた。本研究では低融点合金（Uアロイ）を用いたが、被削材より融点の低い熱物性の明確な金属であれば、同様な使い方ができるのではないと思われる。
- ・工具の長寿命化を主眼に、刃先温度を考慮した切削方法についても検討し、刃先状態による切削温度の違いや、高送り切削での切削温度について確認した。

#### 5 参考文献

- 1) 庄司正弘：伝熱工学，東京大学出版会，59-63（2009）
- 2) 槌田昭，山崎慎一郎，秋山光庸：伝熱工学演習，学献社，282（1974）

# CAEによるエンドミルの熱状態解析に関する研究\*

長友 良行<sup>\*1</sup>・塚田 美由紀<sup>\*2</sup>・佐藤 征重<sup>\*3</sup>・竹山 隆仁<sup>\*1</sup>・外山 真也<sup>\*1</sup>

Study on Thermal Condition for Cutting Tool with CAE

Yoshiyuki NAGATOMO, Miyuki TSUKADA, Masatsugu SATO, Takahito TAKEYAMA  
and Masaya TOYAMA

CAE技術では、実験で把握しにくい現象をシミュレーションできるため、開発工程での試作段階などにおけるリードタイムの短縮，コストの低減を目的として様々な分野で活用されてきている．本研究では，エンドミル切削加工において刃先で短時間に発生する熱の移動現象解明を，汎用CAEプログラムであるCosmos Works（現：SolidWorks Simulation）を用いて行った．解析は，エンドミルを固定した状態で，刃先に実際の切削時と同じように断続したパルス状の入熱状態を設定することにより行った．その結果，切削速度が上昇するにつれて摩擦熱などが発生し，さらに発生した熱がエンドミル本体に浸透しにくくなる現象と重なって刃先温度が上昇するということが考察できた．

キーワード：エンドミル，CAE，刃先温度

## 1 はじめに

エンドミル形状をモデリングし，刃先からの入熱をパルス状としてCAE解析を実施した．解析を実施する中で，同じ入熱量に対して，エンドミル回転数によって，刃先に発生する最高温度が異なる現象が発生した．この原因を考察した結果，エンドミルによる断続切削が短時間での熱の流入現象であることから，急激に表面温度が上昇しても，短時間では，表面から内部に伝わりきれず，ある深さに熱が溜まったためと考えられるので報告する．

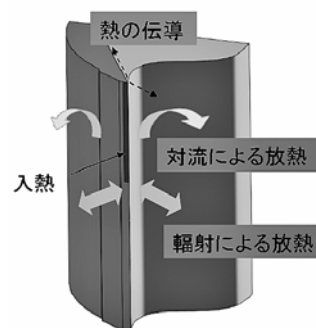


図1 解析モデル形状

## 2 実験方法

### 2-1 解析モデル

モデル形状は，図1に示すように，ねじれの無い直刃形状エンドミルとした．材質は高速度工具鋼（ハイス）とし，物性値と解析条件を表1と2に示す．

表1 高速度工具鋼の物性値

|      |                       |           |
|------|-----------------------|-----------|
| 密度   | 8100kg/m <sup>3</sup> |           |
| 熱伝導率 | [°C]                  | [W/(mK)]  |
|      | 20                    | 19.3      |
|      | 100                   | 22.2      |
|      | 200                   | 23.6      |
|      | 400                   | 26.2      |
|      | 500                   | 27.2      |
| 比熱   | [°C]                  | [J/(kgK)] |
|      | 20                    | 460.24    |
|      | 300                   | 585.76    |
|      | 500                   | 669.44    |
|      | 700                   | 836.8     |

\* CAEによるエンドミルの熱状態解析に関する研究  
（第3報）

\*1 機械電子部

\*2 宮崎県県土整備部

\*3 財団法人宮崎県機械技術振興協会

表2 単純形状モデルの解析条件

|                                |                 |
|--------------------------------|-----------------|
| 入熱量 [W]                        | 0.5~10          |
| 対流 熱伝達率 [W/(m <sup>2</sup> K)] | 100 / 200 / 250 |
| 輻射率                            | 0.3             |
| 初期温度 [°C]                      | 20              |

表3 入熱条件

| 回転数 (min <sup>-1</sup> ) | 1 パルス 時間 (秒) | 単位時間当たりに加えた熱量 (W) | 1 パルスで加えた熱量 (J) |
|--------------------------|--------------|-------------------|-----------------|
| 1000                     | 0.002        | 10                | 0.02            |
| 100                      | 0.02         | 1                 | 0.02            |

## 2-2 入熱・放熱条件設定

エンドミルによる断続切削においては、刃先から入ってくる熱量も断続的である。本研究では、エンドミルによる側面切削で、エンドミル直径を20 mm、回転数を100min<sup>-1</sup>と1000min<sup>-1</sup>、側面切込量を0.2 mmと想定した。エンドミルの一刀が一回転する間の入熱時間は100min<sup>-1</sup>の場合0.02秒、1000min<sup>-1</sup>の場合0.002秒として解析した。その入熱パターンは、矩形形状をしたパルス状のパターンとして計算を行った。

ただし、単純な矩形形状では、CAE解析ソフトウェアの特性上、同時間に2つの入熱量を定義することになるため、立上りと立下り時に傾斜を持った台形状のパルスで入熱パターンを定義した。解析ステップ時間は入熱時間に合わせて、0.02秒と0.002秒とした。

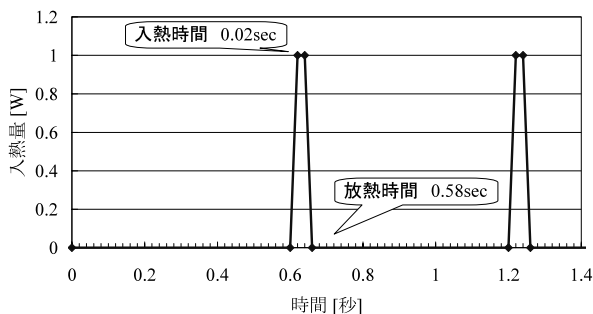


図2 断続切削に合わせた入熱タイミング

## 3 結果および考察

### 3-1 解析結果

入熱条件を表3として解析すると、1パルスの入熱量は100min<sup>-1</sup>、1000min<sup>-1</sup>とも0.02Jと同じであるにもかかわらず、エンドミルに発生する最高温度は、100min<sup>-1</sup>の場合約65°C、1000min<sup>-1</sup>場合、約160°Cとなった。その発生温度状況を図3、4に示す。

この状況は他の回転数でも同じ傾向で、それを図5に示す。最初の1パルス目における刃先最高温度は、回転数が高いほど高くなっていることがわかる。

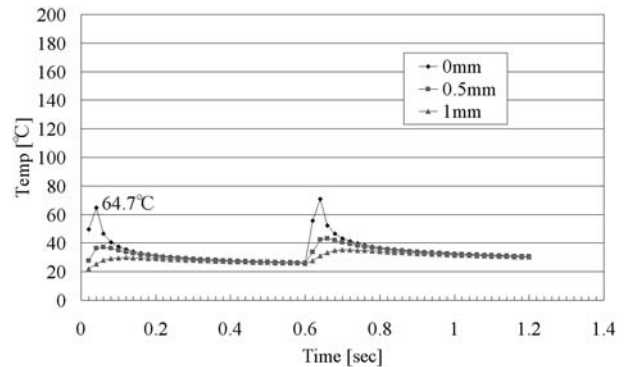
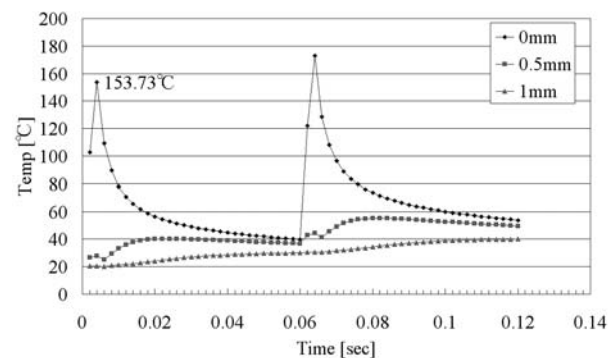
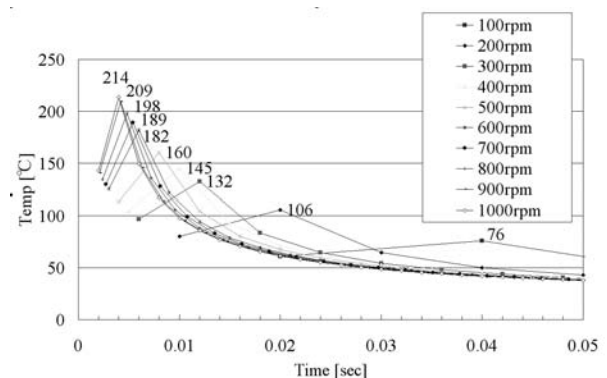
図3 100 min<sup>-1</sup>の場合の発生温度図4 1000 min<sup>-1</sup>の場合の発生温度

図5 回転数別1パルス目の発生最高温度変化



### 3-2 現象の他モデルでの検証

3-1での現象を、モデル形状を変えて検証した。モデルは、図6に示すように□0.5 mmの断面で、長さ10 mmの直方体とした。1パルスの入熱量を0.02Jとし、□0.5 mmの端面から入熱した。回転数に相当する入熱時間は100 min<sup>-1</sup>の場合0.02秒、1000 min<sup>-1</sup>の場合0.002秒とした。その結果、入熱時間が0.002秒の方が、最高温度が高かった。この解析は、COSMOS Worksだけでなく他の有限要素法解析ソフト（Pro/EやSCRYU/Tetra）で解いても同じ結果になった。

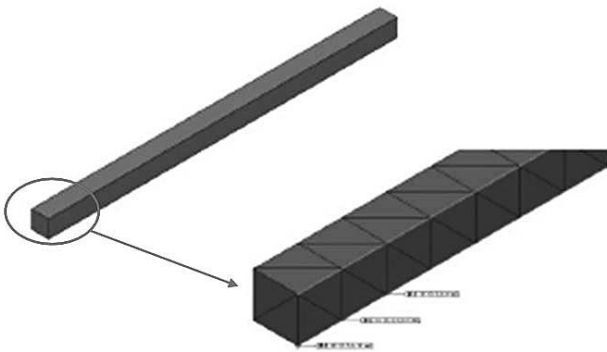


図6 断面□0.5 mm×長さ10 mmモデル

### 3-3 考察

発生温度が異なる原因について次の様に考察した。伝熱工学では、ごく短時間の熱伝導を問題にする場合には、「温度が伝わる領域は薄く、物体の大きさが有限であっても半無限物体として扱える」とされている。エンドミルでは実際の切削時間が0.02秒や0.002秒という短時間での熱の流入現象であることから、CAE解析結果の温度差は、急激に表面温度が上昇しても、短時間では、表面から内部に伝わりきれず、ある深さに熱が溜まったためと考えられる。このことを1次元熱伝導として表現してみると、初期温度 $T_0$ の一様な状態にあった半無限物体の表面に $q_s$ の熱流速が与えられた場合、表面から $x$ の距離における温度 $T$ は(1)式で表される。

$$T = T_0 + \frac{q_s}{\lambda} \left[ 2\sqrt{\frac{\alpha t}{\pi}} \exp\left(-\frac{x^2}{4\alpha t}\right) - \operatorname{erfc}\left(\frac{x}{2\sqrt{\alpha t}}\right) \right] \quad (1)$$

$\alpha$  : 温度伝導率,  $t$  : 時間,  $\operatorname{erfc}()$  : 誤差関数

$\lambda$  : 熱伝導率

(1)式より、エンドミル材質を高速度工具鋼（ハイ

ス）と設定した場合、図7に示す様に、上昇した刃先の表面温度が内部に伝わり、まだ上昇していない内部の初期温度 $T_0$ に達するまでの距離は、100 min<sup>-1</sup>の場合1.5 mm、1000 min<sup>-1</sup>の場合、0.5 mm程度になる。

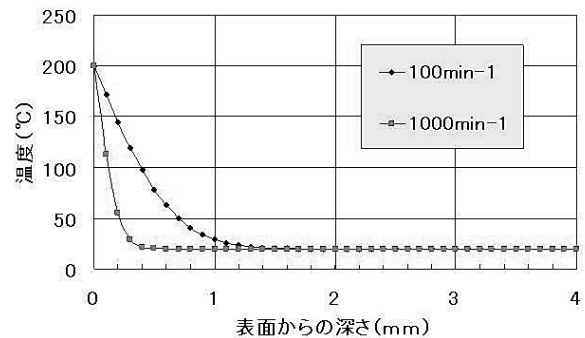


図7 エンドミル表面からの温度浸透状況

以上のことから、エンドミルの切削速度が上昇するに伴って、逃げ面やすくい面で摩擦熱が発生し、さらに熱がエンドミル本体内部に浸透しにくくなることによって、表面の薄い層に熱がこもるとい現象も重なり、刃先温度が上昇していることが考えられる。

## 4 まとめ

本研究では、乾式状態でのCAE解析を行った。エンドミルによる切削は断続切削であるため、刃先は、加熱と冷却を繰り返しながら徐々に温度を上昇させていく。そこに、今回考察したように、短時間では熱がエンドミル内部に浸透できず、さらに刃先に熱が溜まり刃先の温度は上昇していく。このことは、実加工では観察されにくい現象で、CAEでの解析を実施したからこそ考察できたことだと考える。そのため、刃先の熱対策を行う際に、摩擦熱や切屑内部のせん断変形熱で刃先の温度が上がることに加え、今まで考察されていなかった温度がエンドミル内部に浸透する深さの影響を考慮することが必要ではないかと考える。

## 5 参考文献

- 1) 庄司正弘：伝熱工学，東京大学出版会，59-63（2009）

# 身体機能をサポートする生活支援技術に関する研究\*

布施 泰史\*<sup>1</sup>・塚田 美由紀\*<sup>2</sup>

Study on the Life Support Technology Which Supports Body Function

Yasufumi FUSE and Miyuki TSUKADA

本研究では、介護現場における介護従事者の動作介助を中心とした体の動作に着目し、ベッドから車いす等への移乗において介護する側（以下、介護者）の手にかかる荷重を定量化するとともに、力のかかる範囲やかけ方など一連の動作を計測するセンシング技術について検討した。さらに、グローブセンサを試作し、介護者の手にかかる力を連続的に計測できるシステムを開発した。

加えて、バーチャルヒューマンモデルを用いたコンピュータシミュレーション技術により、介護姿勢における腰部負担量について予測計算できる可能性を確かめた。

キーワード：動作介助，グローブセンサ，バーチャルヒューマンモデル，Jackソフト

## 1 はじめに

介護や看護業務では、日常的に体位変換や動作介助など前屈みや中腰姿勢で介護される側（以下、要介護者）を持ち上げる作業が多く、腰、膝、肩などに大きな負担がかかる。特にベッドや車いすへの移乗介助、入浴介助では多大な労力が必要である。厚生労働省のデータによると2014年に要介護者は、約600～640万人になると予想され、介護者側の人員は、約140～160万人必要になると予測されている。

また近年、介護者の腰痛が報告されており、同省の「職場における腰痛発生状況の分析について」<sup>1)</sup>によると業種別では保健衛生業が最も多く、中でも特別養護老人ホームを含む施設関係が腰痛発生のリスクが高いと考えられる。介護者にとって要介護者を持ち上げる作業は、一定時間体を前屈みの姿勢に保ち、一日あたり在宅においては数回、施設等においては数十回この作業を繰り返すことなどから非常に苦痛を伴う。

そこで本研究では、介護者の手にかかる力を連続的に計測できるシステムを開発すること、介護姿勢

における腰部負担量の変化に関する人体モデルを用いたシミュレーション技術を確認することを目的とする。

## 2 実験方法

介護姿勢をセンシングする上でセンサを介護者側、要介護者側どちらに取り付けるかは非常に重要な要素である。昨年度の報告<sup>2)</sup>では、要介護者側の背部に加わる力計測にエアバック式空気圧センサを用いた実験を行った。その結果、介助時の同センサへの連続圧迫により、空気圧変動幅が予想よりも大きいことがわかり、測定精度に信頼性を欠くという知見を得た。このような経過から今回は、介護を行う介護者側の手に装着する専用グローブ（以下、グローブセンサ）を考案した。加えて、バーチャルヒューマンモデル（仮想人間モデル）を用いたシミュレーションによる作業性評価手法により、代表的な介護姿勢の腰部負担量の変化を予測計算した。

### 2-1 グローブセンサの試作開発

グローブセンサを設計するにあたって、介助する動きを妨げず、指などへの圧迫を軽減する構造を検討した。グローブ素材は、フィット感を高めるために伸縮性のあるラバー材を用いた。各指に取り付けるセンサには、曲げなどの影響を考慮し柔軟性のあ

\* 身体機能をサポートする生活支援技術の研究（第3報）

\*1 機械電子部

\*2 宮崎県県土整備部

る薄膜系フィルム材を採用した。このセンサは、感圧抵抗素子（FSR感圧センサ：INTERLINK製）と呼ばれ、応答特性が高く比較的安価で入手しやすい。その特徴は、荷重を加えると内部の抵抗値が減少する特性を持った高分子圧電フィルム的一种である。

実験では、丸型センサ（φ19 mm）を親指から小指までの五指用として用い、角型センサ（square 45 mm）を手のひらや手首用として用いた。図1に試作したグローブセンサを示す。丸型および角型センサ1個あたりの測定感度は約0～100 Nで、各センサの検出エリアを図中に示す。丸型センサの親指は①、人差し指は②、中指は③、薬指は④、小指は⑤とし、それぞれ指先の力を検出する。さらに、角型センサの手のひらを⑥、手首を⑦とし、各センサから発信された信号は、下図のシステムで演算処理される。図1の無線制御装置内には、あらかじめプログラムされたPICマイコンが内蔵され、グローブセンサからの信号をA/D変換し、RS232Cを用いて無線でコンピュータに転送する。コンピュータ側では、Visual Basic6.0で設計した専用ソフトにより、デジタル信号をリアルタイムに処理し、荷重値として換算することができる。

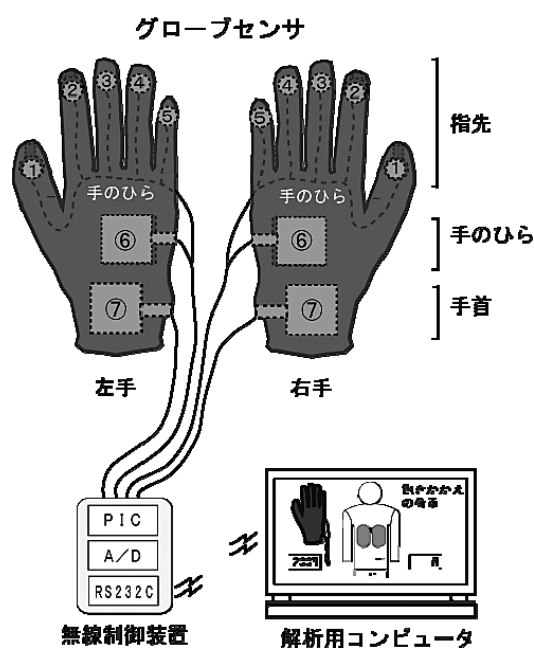


図1 グローブセンサおよびシステム構成

### 3 実験およびシミュレーション

#### 3-1 介護者を抱きかかえる力に関する実験

筆者らは、グローブセンサの測定精度を確かめるため図1のシステムを1組の被験者（介護者・要介護者）に装着し、基本的な介護姿勢であるベッドから車椅子への動作介助を行った。

図2に介護者が要介護者を抱きかかえる力を連続的に測定した結果を示す。縦軸は手にかかる荷重、横軸は経過時間を示しており、時間の経過とともに持ち上げ荷重の変化が読み取れる。経過時間3秒から抱き起こしが始まり、一端持ち直しを行い要介護者が起き上がるにしたがい全荷重約200 N（約20kg）で両手荷重が最大となる。その後、持ち上げ力は減少し要介護者がベッドサイドに端座位の姿勢（背中は垂直方向）をとったところで、持ち上げ力はゼロを示した。この時点で抱き起こし完了となり、最後に座位姿勢の調整を加えた。抱き起こしに要した時間は約5秒であった。

本実験は、グローブセンサからリアルタイムに出力される荷重データが、連続的に演算処理できることを研究室ベースの実験で確かめた。その結果、データの欠落もなく約200msecごとに荷重量の算出が可能となった。

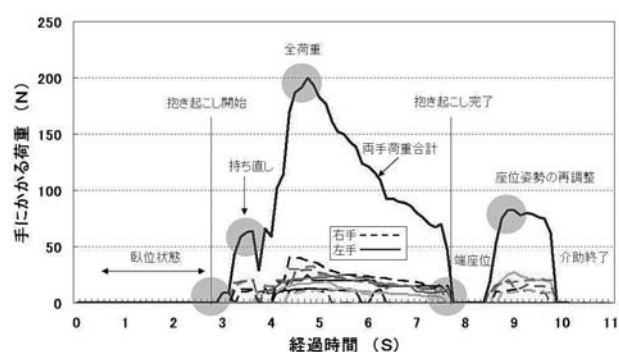


図2 介護者を抱きかかえる力の連続変化

#### 3-2 介護姿勢と人体モデルに関するシミュレーション

介護者の腰痛が各方面から指摘されていることから、介護姿勢における腰部負担量の変化を人体モデルを用いたシミュレーションで実験した。

厚生労働省の「職場における腰痛予防対策指針」<sup>3)</sup>によると、重量物の取り扱い重量で男性の場合自身の体重のおおむね40%以下、女性の場合24%以下に

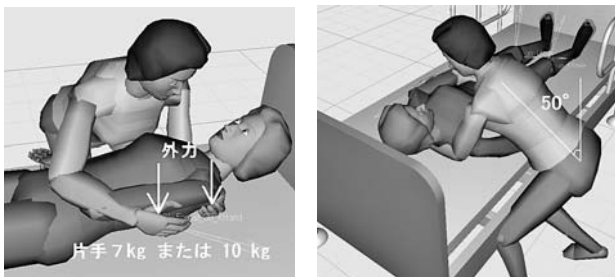


することが推奨されている．今回，宮崎県高齢者総合支援センターの介護専門職（女性）にベッドまわりの動作介助を実演（図3）してもらい，そのときの姿勢を人体モデルで再現し，腰部を中心に負担量を計算した．

介護者の基本情報は，身長157cm，体重57kg，介助姿勢は臥位から端座位までの動作介助である．前述の厚生労働省の「職場における腰痛予防対策指針」の重量物の取り扱いによると，本被験者の持ち上げ荷重は，約14kg以下が望ましいことになる．ここで，コンピュータによる人体モデルで動作介助姿勢を作成し（図4），腰部にかかる負担量をシミュレーション解析した．なお，人体モデルでの解析には，機構解析ツール「Jack」（SIEMENS製）<sup>4)</sup>を使用した．



図3 基本介護姿勢



(a) 外力の設定 (b) 前傾角度

図4 人体モデルを用いた解析

### 3-2-1 手に加わる外力の変化と予測計算

腰痛発生のメカニズムに基づき，腰痛多発部位（第4腰椎～第5腰椎：L4/L5）の椎間板にかかる圧迫力を予測計算できる．椎間板圧迫力は，姿勢と重力および外力から算出される．図2の実験結果から両手にかかる全荷重が最大200N（約20kg）であったことから，この値をシミュレーション解析の参考

値とする．解析では，前述の厚生労働省指針を参考に両手の持ち上げ荷重14kgとグローブセンサを用いた実験（図2）の最大荷重20kgで計算した．図4は，片手に7kgもしくは10kg（(a) 外力の設定/両手：14kgもしくは20kg）の外力と前傾角度（(b) 最大50°）を姿勢条件とし，その際の椎間板圧迫力を図5に予測計算した．

NIOSH（米国労働安全衛生研究所）のガイドライン<sup>5)</sup>によると，椎間板圧迫力の値が3,400Nを超えると腰痛発生率が高くなり，作業が危険であると判断される．両手荷重20kgの場合は，椎間板圧迫力の値が約3,542NとなりNIOSHの許容値を超えている．一方，両手荷重14kgの場合は，椎間板圧迫力は約2,960Nで，同基準の許容値以下と考えられる．

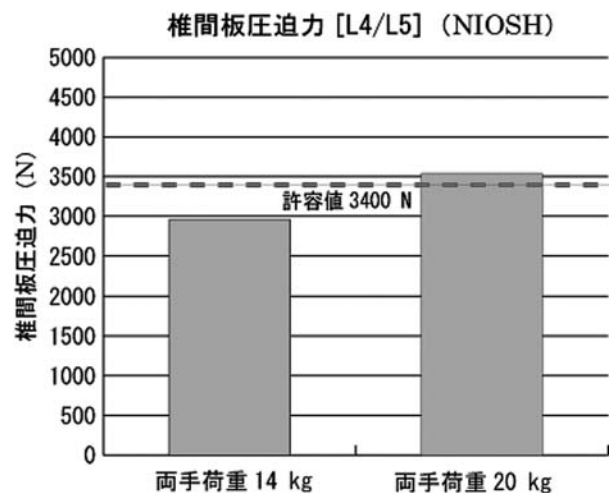


図5 両手荷重の違いによる椎間板圧迫力

### 3-2-2 腰や胴体のひねりに関する予測計算

重量物を持ち上げる作業では，体を左右にひねる動作を伴うケースがある．介護の場面では，体全体でひねる場合と上半身のみでひねる場合がある．

今回，100Nの作業箱を持つという想定を(a) 腰から右回転した姿勢（図6），(b) 腰固定，胴体のみ右回転した姿勢（図7）の2パターンで椎間板圧迫力を予測計算した．



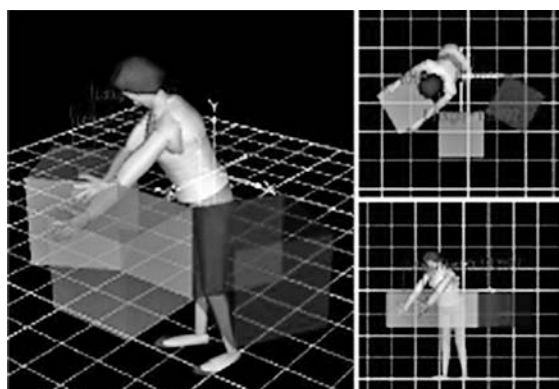


図6 (a) 腰から右回転した姿勢

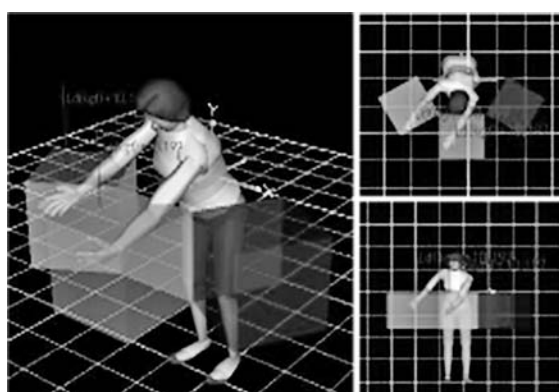


図7 (b) 腰固定、胴体のみ右回転した姿勢

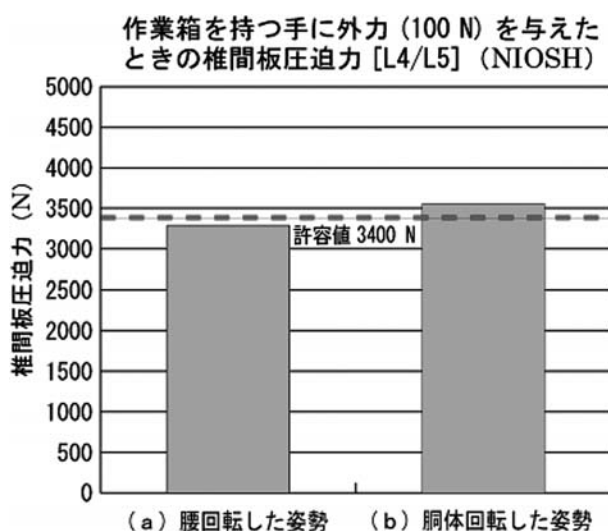


図8 腰、胴体回転姿勢の椎間板圧迫力

図8に(a), (b)姿勢のシミュレーション結果を示す。(a)腰回転した姿勢での椎間板圧迫力は、約3,286Nで許容値3,400N以下であった。一方、(b)腰固定、胴体回転の圧迫力は、約3,556Nで許容値を超える結果となった。このような動作を長時間続けると腰痛の可能性は非常に高くなると考えられる。

## 4 まとめ

### 4-1 介護者を抱きかかえる力に関する実験

今回、動作介助における持ち上げ荷重を計測するシステムを開発した。試作したグローブセンサを用いることにより、手の指先や手のひら、手首など手にかかる荷重値を連続的に求めることが可能となった。また、システム構成としてもグローブセンサと解析用コンピュータ間を無線化することが可能となったので、実験の自由度も高まり、より実用性が向上した。

### 4-2 介護姿勢と人体モデルに関するシミュレーション

基本介護姿勢を人体モデルで作成し、パラメータを設定することで椎間板に加わる圧迫力（許容値3,400N）から腰部負担量の予測計算が可能であることを示した。また、体のひねりによる椎間板圧迫力の計算においては、腰固定で胴体のみ回転では椎間板圧迫力が許容値を超えることが判明した。よって、腰から上半身全体を回転することの必要性が示唆された。このように人体モデルを用いた作業性評価を事前に予測計算することで、作業負担の少ない適正な介助方法を把握することが可能となった。

今後はこれらの研究結果を基に、ソフトウェアの充実を図り、介護初任者向けの動作介助教育システムへと展開する予定である。

## 5 参考文献

- 1) 厚生労働省基発第206001号(2008)：職場における腰痛発生状況の分析について
- 2) 布施泰史：身体機能をサポートする生活支援技術に関する研究，宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**55**，51-53(2011)
- 3) 厚生労働省基発第547号(1994)
- 4) Jack Engineering Animation：  
[http://www.plm.automation.siemens.com/ja\\_jp/products/tecnomatix/assembly\\_planning/jack/#lightview-close](http://www.plm.automation.siemens.com/ja_jp/products/tecnomatix/assembly_planning/jack/#lightview-close)
- 5) NIOSH：Work practices guide for manual lifting, Technical Report, DHHS (NIOSH) Publication, No.81-122, Cincinnati, Ohio (1981)

# 電磁波を用いた物質内部の異常点等の計測技術に関する研究\*

肥後 一彦<sup>\*1</sup>・小田 誠<sup>\*1</sup>・鳥原 亮<sup>\*1</sup>

Study on Technology of Abnormal Point Measurement in Inside of Material  
Using Electromagnetic Radiation

Kazuhiko HIGO, Makoto ODA and Ryo TORIHARA

本研究では、物質にミリ波を照射しその透過波または反射波を計測する方式（アクティブ方式）にて、木材の非破壊検査（腐朽、節、空洞、水分などの内部欠陥検出など）のための装置を開発することを目的としている。本報では、透過方式の装置を用いて、製材したばかりの木材を測定サンプルとして、木材を天然乾燥した場合の木材含水率とミリ波透過率の関係を実験で求めた結果について報告する。

キーワード：ミリ波、アクティブ方式、木材、透過率、含水率

## 1 はじめに

ミリ波とは、波長が1 mmから10 mm（周波数30 GHz～300 GHz）の電波のことである。ミリ波は携帯電話等で使われているマイクロ波などの電波と比べて、空間分解能が高いため、小型・軽量のシステムを実現できる。また、可視光線、赤外線に比べて、物質の透過性が良く、あらゆる分野の非破壊検査に応用できる可能性がある。本研究では、Ka帯（26.5 GHz～40 GHz）のミリ波を利用した木材の非破壊検査（腐朽、節、空洞、水分などの内部欠陥検出など）を行うための装置の開発に取り組んでいる。

本報では、透過方式の装置を用いて、ミリ波で木材の含水率を推定するための基礎実験として、製材したばかりの木材を測定サンプルとし、木材を天然乾燥した場合の木材含水率とミリ波透過率の関係を実験で求めた結果について報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 実験装置

実験は、図1の構成図および図2の外観写真で示したミリ波の透過方式の装置にて行った。図1のよ

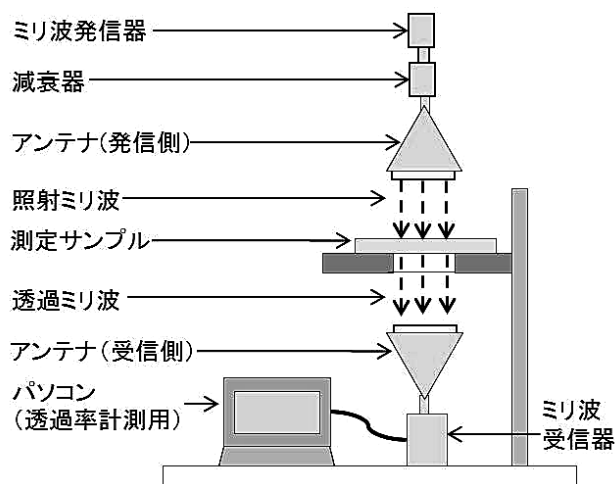


図1 実験装置（構成図）



図2 実験装置（外観写真）

\* 電磁波を用いた物質内部の異常点等の計測技術に関する研究（第3報）

\*1 機械電子部

うに、発信側の装置と受信側の装置を測定サンプルを挟んで対向に置く。発信側には35 GHz（波長約8.7 mm）の単波長発信器としてガンダイオードおよびガンダイオードの出力を減衰するための減衰器を配置し、さらにその後段に測定サンプルにミリ波を照射するためのアンテナを取り付けた。アンテナの先端には、片凸レンズ（測定サンプル側が平型で、もう片側が非球面のレンズ）を取り付け、なるべく測定サンプルの広い範囲にミリ波を照射するようにした。

受信側のアンテナにも片凸レンズ（測定サンプル側が平型で、もう片側が非球面のレンズ）が取り付けられており、測定サンプルを透過してきたミリ波を当該アンテナにて受信する。受信側のアンテナの後段には、微弱なミリ波でも受信できるよう増幅器が内蔵されたKa帯（26.5 GHz～40 GHz）のミリ波に受信感度を持つ受信器を配置し、これにより、測定サンプルを透過してきたミリ波の強度を計測する。

受信器はAD変換ボードが内蔵されたミリ波透過率計測用のパソコンに接続されており、受信器からの出力信号がAD変換され、当該パソコンに取り込まれる。なお、計測はVisual Basicで作成した自作プログラムを用いて、1時間ごとに自動計測できるようにした。

## 2-2 木材を天然乾燥した場合の木材含水率及びミリ波透過率の経時変化の測定

測定サンプルとして、スギ材、ヒノキ材について製材したばかりの材（厚さ30 mm、幅100 mm、長さ2000 mm）を用意した。その材からミリ波透過率計測用の1枚を300 mmの長さで切り出し、実験装置にセットし、セット直後からの経時変化を1時間ごとに自動計測した。

なお、ミリ波透過率は、予め、測定サンプルが置いていない状態でのミリ波透過量を測定しておき、測定サンプルを置いた場合の透過量との比率で換算した。

また、測定サンプルの含水率を求めるには、質量を別途測定する必要があるが、実験装置には測定サンプルを連続してセットした状態にしておく必要があるため、ミリ波透過率計測用の材の質量そのもの

は計れない。そこで、さらに、ミリ波計測用の材の両端から質量計測用の2枚（厚さ30 mm、幅100 mm、長さ300 mm）を切り出し、2枚の質量を測定した上で、便宜上、その平均を測定サンプルの質量と定めた。

質量は、最初に測定を行ったスギ材については、質量計を用いてマニュアルで経時変化を計測した。その後に測定を行ったヒノキ材については、質量もパソコンで自動計測できるよう前述の自作プログラムを改造し、ミリ波透過率計測と同時に1時間ごとに自動計測を行った。

測定サンプルはさらに測定終了後、105℃の乾燥機内で乾燥し、恒量となった時の質量を計測し、全乾重量とした。その全乾重量の数値をもとに、各時間に質量計で測定した質量から各時間の含水率に換算した。

なお、実験は、外気温の影響を取り除くために、22℃の恒温室にて行った。

## 3 実験結果及び考察

スギ材及びヒノキ材における含水率とミリ波透過率の経時変化の測定結果をそれぞれ図3、4に示す。また、含水率とミリ波透過率の関係を求め、その結果を図5に示す。

図によると、スギ材およびヒノキ材のいずれの場合においても、測定サンプルの含水率が20～30%付近まで天然乾燥が進んだ後、ミリ波透過率が急激に上昇していることがわかる。

一般的に、含水率28%近辺が繊維飽和点と呼ばれており（繊維飽和点となる含水率は、樹種、個体間によって異なる。）<sup>1)</sup>、この繊維飽和点を境目にして、木材内部の水の存在箇所が異なるとされている<sup>2)</sup>。また、繊維飽和点を下回る含水率から木材の収縮やヤング係数の上昇が始まるため、木材乾燥において繊維飽和点の把握は重要な意味を持つ。今回の結果は、この含水率近辺を境目として、急激にミリ波透過率が上昇した可能性があることを示すものである。

県内の木材業者は、木材のランクごとに定められた含水率以下まで乾燥したと思われる時期を経験により判断し、木材を出荷しているとのことである。そこで、天然乾燥現場においてミリ波透過率を長期的に測定し、透過率が急激に上昇した時点を基準と

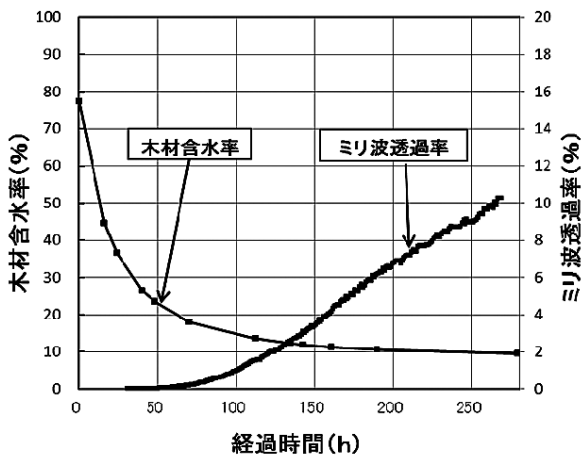


図3 木材含水率及びミリ波透過率の経時変化（スギ材）

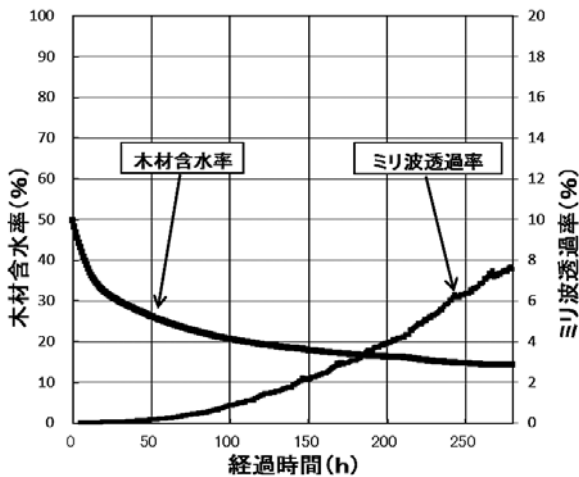


図4 木材含水率及びミリ波透過率の経時変化（ヒノキ材）

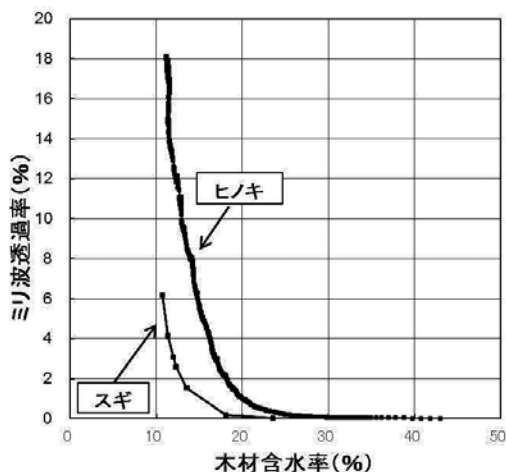


図5 木材含水率とミリ波透過率の関係

して、含水率を推定できるようになれば、出荷時期をある程度判断できるようになる可能性もある。

#### 4 まとめ

透過方式の装置を用いて、ミリ波で木材の含水率を推定するための基礎実験として、製材したばかりの木材を測定サンプルとし、木材を天然乾燥した場合の木材含水率とミリ波透過率の関係を実験で求めた。その結果、木材の含水率が20～30%近辺のいわゆる繊維飽和点付近まで乾燥が進んだ後、ミリ波透過率が急激に上昇することがわかった。

したがって、ミリ波透過率を測定することにより、木材の出荷時期を判断できるようになる可能性を示すことができた。

なお、本研究を進めるに際して、実験協力頂きました宮崎県木材利用技術センターに感謝申し上げます。

#### 5 参考文献

- 1) 高橋徹ら編：“木材科学講座3 物理”，海青社（1992）
- 2) 岡野健ら編：“木材科学ハンドブック”，朝倉書店（2006）



# 超短パルスレーダによるチョウザメの雌雄判別に関する研究\*

小田 誠<sup>\*1</sup>・間瀬 淳<sup>\*2</sup>・伊藤 直樹<sup>\*2</sup>・肥後 一彦<sup>\*1</sup>・鳥原 亮<sup>\*1</sup>

Study of Male and Female Distinction Method of Sturgeon using Ultrashort Pulse Radar

Makoto ODA, Atsushi MASE, Naoki ITO, Kazuhiko HIGO and Ryo TORIHARA

マイクロ波帯域において魚の精巣と卵巣の誘電率に違いがあることに着目し、チョウザメの非侵襲雌雄判別方法を検討した。パルス幅130 psのインパルス発生器を用いた超短パルスレーダによる測定方法を提案し、その有効性を示した。

キーワード：反射計，非侵襲，超短パルスレーダ，アンテナ，雌雄判別

## 1 はじめに

宮崎県の水産業関係者は、チョウザメ産地化と県産キャビアのブランド化を目指している。一方、宮崎県水産試験場がチョウザメ稚魚の大量生産技術を確立したこともあって、養殖業へ新規参入する県内水産業者等が増加している。キャビアの生産効率をあげるためには、チョウザメが若い段階で、雌雄を判別し、雌のみを確保することが望まれる。しかし、外見での雌雄判別は難しく（図1）、生殖腺の一部を採取して（図2）、顕微鏡等により雌雄を判別することが必要であるため手間がかかるうえに、採取後へい死する確率が高い。効率的なキャビア生産のためには、簡便で安全な雌雄判別装置の開発が必要である。これまでにチョウザメ以外の魚について、近赤外線や超音波などを用い、非侵襲で雌雄を判別する手法の開発が鋭意試みられてきたが、それぞれ欠点があり、いまだ確固たる雌雄判別手法は開発されていない。マイクロ波やミリ波などの電波を用いた方式は、①近赤外線方式に比べ光源の透過性が高く、②超音波方式に比べ波長が短い光源を用いているため分解能が高い、などの特長により雌雄判別が可能になると考えられる。

通常、電波による計測法は、電波を測定物に照射

し、その反射波を受信・解析することにより行う方法であり反射計と呼ばれるが、一般的な反射計では、精巣・卵巣に照射した電波の反射波が、魚表面での反射波に埋もれてしまうので、精度に限界がある。そこで本報告では、九州大学の間瀬教授等が乳がん検出を目的として開発してきた、パルス幅がピコ秒のインパルス（フーリエ周波数成分：～マイクロ波領域）を光源として用いる超短パルスレーダをチョウザメの非侵襲雌雄判別測定のために改良し、非侵襲雌雄判別を試みた。超短パルスレーダでは、反射波が検出器に達する時間差をもとにして、精巣・卵巣での反射波と魚表面での反射波を分離することができる。



図1 チョウザメの外観

\* 電磁波を用いた生体等の非侵襲計測技術に関する研究（第3報）

\*1 機械電子部

\*2 九州大学 産学連携センター



図2 チョウザメの生殖腺

## 2 実験装置・方法

### 2-1 誘電率測定方法

反射計は、誘電率の不連続面における反射波を測定し、誘電率の違いにより生ずる反射波の差異から、測定物の状態を推定する。誘電率が同じであれば、反射波に差異は生じない。そこで、まずマイクロ波・ミリ波帯域におけるチョウザメの精巣と卵巣の誘電率を測定した。複素誘電率は、終端開放の同軸プローブを用い、500 MHz-50 GHz における複素反射係数をネットワークアナライザで測定することにより求めた。誘電率には温度依存性があるため、測定にあたっては試料の温度を一定 (20°C) にした。

### 2-2 超短パルスレーダ装置

本研究の測定システムを図3に示す<sup>1), 2)</sup>。システムは、超短パルス（インパルス）発生装置、送受信アンテナ、信号収集装置およびデータ処理装置で構成される。超短パルス発生装置には、パルス幅130 psの出力をもつインパルス発生器（AVTECH : AVH-S-1）を使用し、そのインパルス信号をアンテナに給電した。これをアンテナから被測定物に照射する。媒質の表面や誘電率の不連続面で反射された信号は、受信アンテナで受信・検波・再度パルス化される。インパルス発生器からアンテナまでの伝送線路には、周波数0-18 GHzの帯域をもつ低損失同軸ケーブルを利用した。

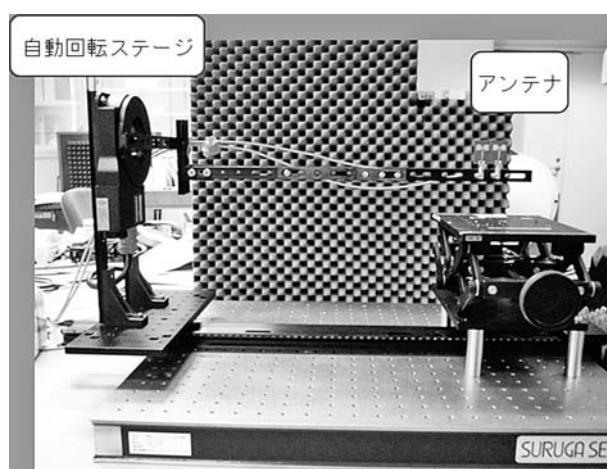


図3 超短パルスレーダ

### 2-3 アンテナの設計・試作と評価方法

パルス幅130 psのインパルス出力のフーリエ周波数成分は1-8 GHzである。測定の高空間分解特性を実現するためには、周波数特性が広帯域であるインパルスを効率よく放射および受信するアンテナが重要である。そこで、周波数3 GHzから8 GHzにわたって①反射特性 ( $S_{11}$ ) が-10 dB以下、②伝送特性 ( $S_{21}$ ) が平坦なピークをもち、③ゲインが $S_{21}$ と同様な平坦なピークを有するアンテナが必要である。そこで、平面基板アンテナを選択し、設計・試作及び評価を進めた。本研究では、ビバルディアンテナ (図4 (a)), ボウタイアンテナ (図4 (b)), 八木宇田アンテナ (図4 (c)) などの設計・試作を進め、評価を行った。アンテナのSパラメータ (① $S_{11}$ , ② $S_{21}$ ) は、同一アンテナを対向させ、ネットワークアナライザを用いて測定した。また、③ゲイン (無指向性アンテナと比較した利得) も測定し、それぞれの周波数特性をグラフにした。

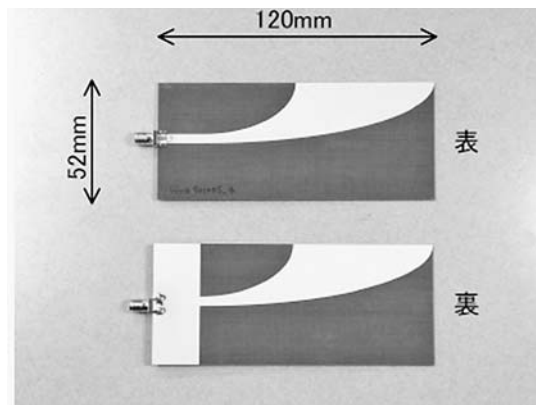


図4 (a) ビバルディアンテナ

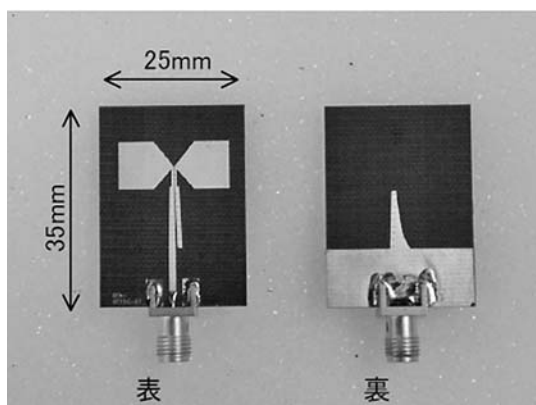


図4 (b) ボウタイアンテナ

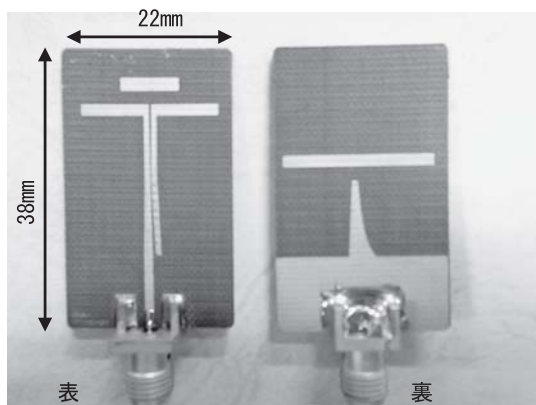


図4 (c) 八木宇田アンテナ

## 2-4 チョウザメ測定方法

測定システムは、送受信アンテナが独立したバイスタティック構造を採用しており、受信アンテナで検出した反射信号をサンプリグオシロスコープで収集した。送受信アンテナを隣り合わせに並べて治具に取り付け、自動回転ステージ（シグマ光機社製 SGSP-120YAW）に固定した。実験は、図5に示すように、発泡スチロールの枠にチョウザメを置き、送受信アンテナを魚の胸ひれから腹ひれの間で0°から180°まで、背びれの上を通るように5°ずつ回

転させた。測定には雌雄が判明している3組のチョウザメ（7歳魚）を使用し、この枠にチョウザメの胸ひれから腹ひれ間の体幹部体側（この部分に精巣・卵巣がある）をはめて測定を行った。今回使用した7歳魚チョウザメの体幅は、約70 mm程度であったので、枠の幅を70 mmとした。これにより、魚の中心を測定台の中央に配置できる。またアンテナ先端から試料表面までの距離を一定にできる。

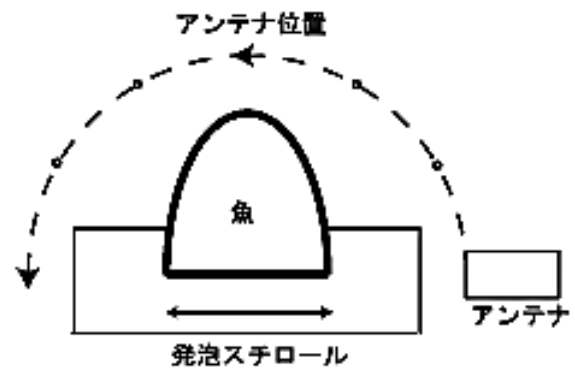


図5 測定方法

## 3 測定結果

### 3-1 誘電率測定結果

図6に複素誘電率の測定結果を示す。参考として精巣と卵巣に成長していないチョウザメの生殖腺と魚肉の誘電率も表示する。測定結果から、低誘電率の生殖腺が、誘電率の大きい精巣と卵巣に発達することがわかる。また、DC-10 GHzにおいて精巣と卵巣の誘電率の差が比較的大きく、魚肉の誘電率とも差があることから、精巣・卵巣の区別は可能であると考えられる。

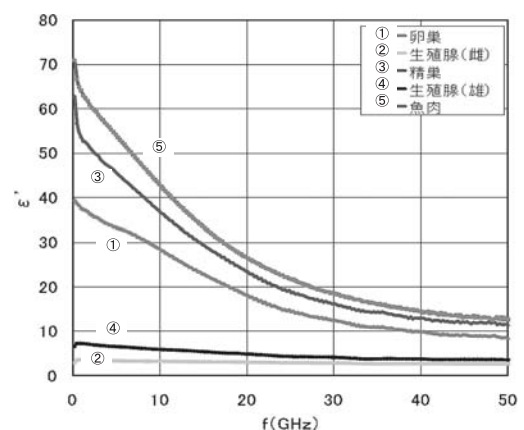


図6 誘電率（実部）



なお、誘電率（虚部）も同時に測定したが、同様だったので、ここでは省略する。

### 3-2 アンテナ特性測定結果

試作したアンテナの中で最もチョウザメの雌雄判別に適していると考えられる、ボウタイアンテナの評価結果を図7に示す。測定は、電波暗室内で行った。グラフの横軸は周波数、縦軸は強度を表している。

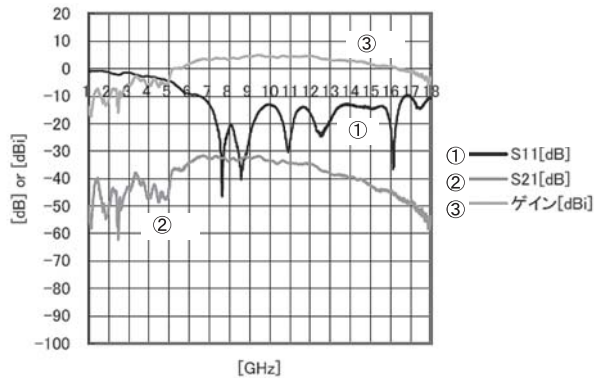


図7 ボウタイアンテナ特性

$S_{11}$ は、送信側アンテナ単独で接続した同軸ケーブルにおける入射波と反射波のパワー比である。これは、低い周波数から8 GHz程度にわたって-10 dB以下が維持されていることが望ましい。 $S_{21}$ は、同一アンテナを対向させて送信アンテナから放射されるマイクロ波パワーを受信アンテナで受け測定するもので、上記周波数領域で平坦なピークをもつことが期待される。ゲインは、 $S_{21}$ と同様な該当周波数帯域で平坦なピークを有することが望ましい。ボウタイアンテナは、5～8 GHzで、これらの条件をほぼ満足していることがわかる。

### 3-3 チョウザメ精巣・卵巣の測定結果

図8 (a) (b) (c) に7歳魚のチョウザメの雄と雌を測定したデータからチョウザメの精巣・卵巣があるアンテナ位置0-40°でのデータを抽出し、画像化した結果を示す。それぞれ (a) は1組目、(b) は2組目、(c) は3組目である。実験に使用した3組のチョウザメは、全て7歳魚であったが、大きさにはかなりのバラツキがあって、1組目は、雄2805 g、雌1905 g (小さめの魚) であり、測定を7回行った。2組目は、雄3685 g、雌4860 g (大きめの魚) であり、測定を5回行った。3組目は、雄2355 g、雌3395 g (小さめと大きめの魚) であり、

測定を10回行った。それぞれの結果の中から一例を示す。画像の濃淡は受信信号の振幅の大きさを、横軸は受信信号の遅れ時間を表している。

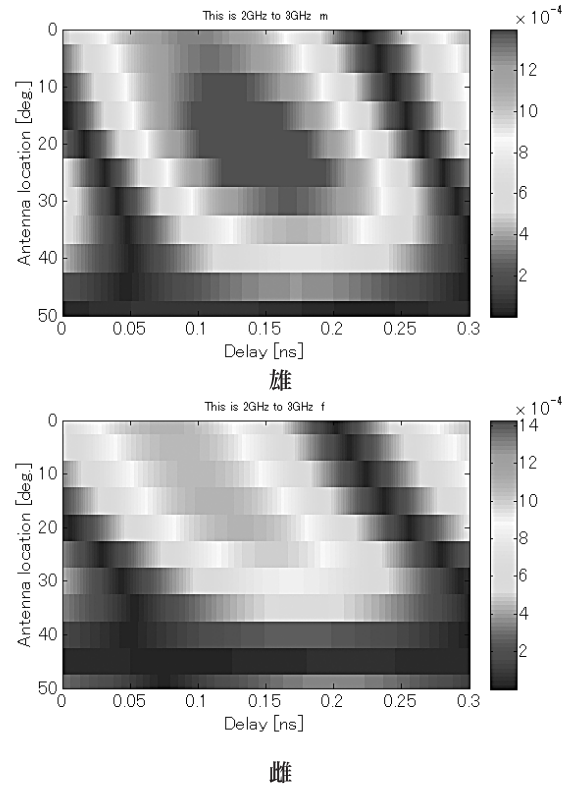


図8 (a) 測定結果 (1組目)

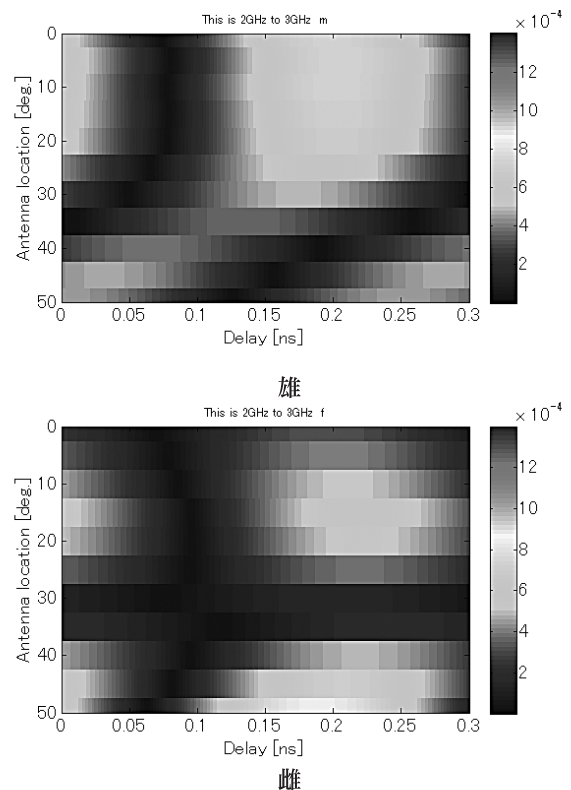


図8 (b) 測定結果 (2組目)



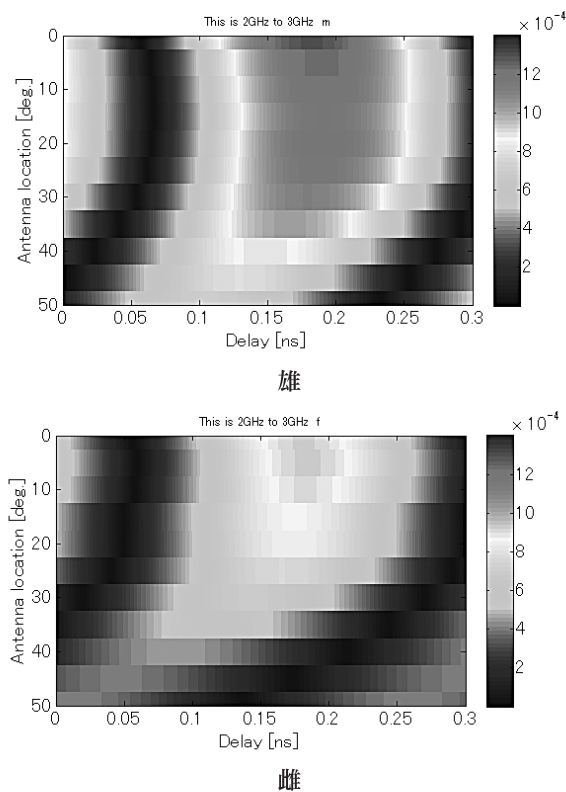


図8 (c) 測定結果 (3組目)

図8 (a) (b) (c) では、チョウザメの精巣・卵巣があるアンテナ位置0-40°での超短パルスの反射強度は、雄の方が強くなった。しかし、表示した2組目の結果は、1組目と3組目に比べコントラストが低くなっている。また、同じ組の測定結果でも測定電圧が異なることがあった。これは、発振器の出力が変動（温度ドリフト）するためと思われる。このため1回の測定は、雄雌、ほぼ同時刻に行った。

チョウザメの精巣・卵巣は、胸ひれから腹ひれの間の体幹部体側（脇腹）にあり、低誘電率の生殖腺の中に精巣または卵巣を持つ。また、精巣の誘電率は卵巣の誘電率よりも大きいことから、精巣での反射は卵巣での反射よりも強くなると考えられ、測定結果と一致する。測定は、異なる3組のチョウザメに対して、合計22回行ったが、同様な結果を19回得ることができた。

#### 4 考察

発振器の出力は変動（温度ドリフト）するため、測定の再現性向上には、発振器の安定化対策が必要である。

雌雄判別を実現するためには、性別、体重、年齢、測定強度でデータベースを作成する必要がある。

#### 5 まとめ

アンテナの開発を行ったうえで、マイクロ波帯域のフーリエ周波数成分をもつ超短パルスを用いたチョウザメの雌雄判別システムを試作した。

チョウザメの雌雄判別を非侵襲で行うことのできる技術は現在のところ見あたらない。超短パルス技術は、従来の反射計に比べ、試料表面での反射信号と試料内部での反射信号を分離できること、また、フーリエ周波数成分が透過性の高いマイクロ波帯であることを特長としている。

実際のチョウザメを使用した検証実験を行った結果、精巣と卵巣の測定結果に違いがあらわれ、本方式によるチョウザメの雌雄判別の可能性を示すことができた。

#### 6 参考文献

- 1) 竹村素直, 間瀬淳, 近木祐一郎: 電子情報通信学会大会講演論文集, 2006, C-2-97 (2006).
- 2) 高市信也, 近木祐一郎, 間瀬淳: 電気関係学会九州支部連合大会講演論文集, **60**, 08-2P-07 (2007)
- 3) 高市信也, 間瀬淳, 近木祐一郎, 北條仁士, KIM Kang Wook: 電子情報通信学会大会講演論文集, 2009-エレクトロニクス1, 146 (2009)
- 4) 高市信也, 間瀬淳, 近木祐一郎: 電気学会全国大会講演論文集, 2008-1, 153 (2008)

# OpenCVを利用した画像処理ソフトの開発\*

外山 真也\*<sup>1</sup>・竹山 隆仁\*<sup>1</sup>・比良 貴浩\*<sup>2</sup>

Development of Image-Processing Software for Position Check using Open CV

Masaya TOYAMA, Takahito TAKEYAMA and Takahiro HIRA

株式会社ホンダロックでは、主に自動車用途のドアミラーやキーレスエントリーシステム等を生産している。現在生産されている自動車にはドアミラーにカメラを搭載している車種があり、カメラ取り付け時の位置ズレ検査工程において、良否判定の省力化を検討することとなり、共同研究を実施した。

キーワード：画像処理，位置検査，OpenCV，C#，ソフトウェア

## 1 はじめに

株式会社ホンダロックでは、主に自動車用途のドアミラーやキーレスエントリーシステム等を生産している。現在生産されている自動車には車庫入れ等の視覚支援を目的としたカメラをドアミラーにも搭載している車種がある。そのため生産ラインではカメラ取り付け時の位置ズレ検査工程がある。そこでは、液晶モニターにドアミラーカメラを接続し検査対象物を撮影し、それが合格範囲から逸脱していないかの良否判定を画像処理にて行っている。

現行の検査機概要を図1に、取込み画像を図2に示す。また本検査工程における問題点を以下に示す。

- 1) 高額
- 2) 開発メーカー廃業などによる検査機の改善や複製機の製作が容易ではない
- 3) 開発ソフトのブラックボックス化

上記問題点の対策として市販画像処理機器への代替が考えられるが、市販されているOMRON社やCOGNEX社等の画像処理製品には、車載カメラから画像を取込み画像処理検査できるものは見当たらなかった。

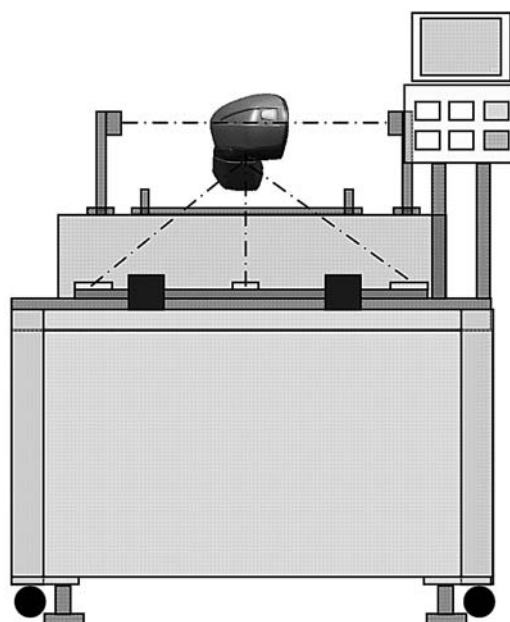


図1 現行の検査装置概要

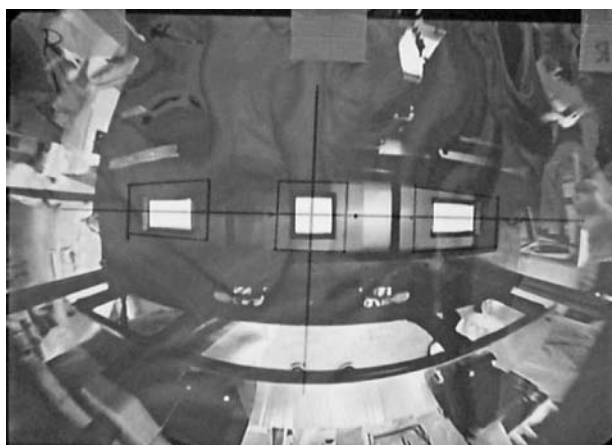


図2 車載カメラ取込み画像

\* 共同研究  
\*1 機械電子部  
\*2 株式会社 ホンダロック

そこで、オープンソースの画像処理ライブラリであるOpenCVを利用し、ドアミラーカメラ位置ズレ検査用画像処理ソフトの開発を行うことにした。

## 2 開発方法

当初、OpenCVを利用したソフト開発においては、提供されている関数にどのような機能があるかわからず、またその機能の意味が不明な点が多く、開発に苦慮した。また、サンプルプログラムのほとんどはC++言語によるものであり、それらを参考にして開発することとした。

そして、C++言語のプログラムに、C#で開発した関数を利用して、領域内判定などの機能を開発し、それらを組み合わせて開発を進めた。

ドアミラーカメラ検査画像処理の開発手順を以下に示す。

### 2-1 ドアミラーカメラ検査画像処理開発における課題

本研究開発に必要な課題を以下に示す。

- 1) 合格エリア内におけるターゲット有無検査アルゴリズムを構築すること。
- 2) 合格エリア表示機能を有すること。
- 3) 合格エリアは魚眼歪により台形状となるため、合格エリアを任意に設定可能であること。
- 4) 画像処理により安定的な検査ができること。
- 5) 検査工数は現状以下であること。

### 2-2 ドアミラーカメラ検査画像処理のアルゴリズム

上記課題を満たす画像処理検査を実現するためのフローチャートを図3に示す。

概要としては取込み画像における検査ターゲットを2値化し、エッジ検出を行ってからターゲットのコーナー位置を検出する。このターゲットが合格エリア内にあるか否かを検証し合否判定する。

### 2-3 Cannyのエッジ検出とハリスのコーナー検出によるターゲット検出

取込み画像からの検査ターゲットのエッジ検出には、Cannyのエッジ検出アルゴリズムを用いた。Canny検出処理を行ったサンプル画像の例を図4に示す。

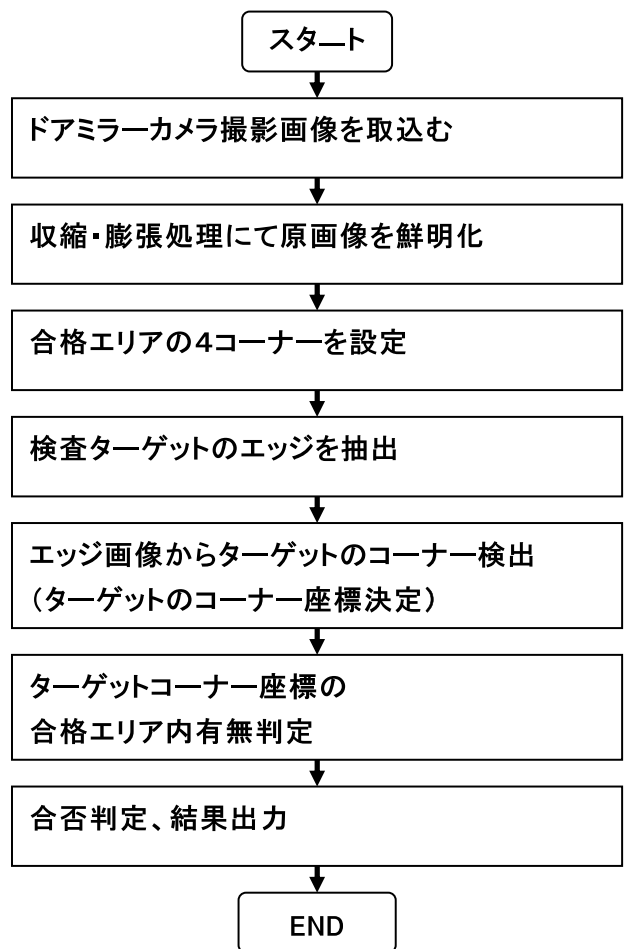


図3 検査画像処理のフローチャート



図4 Canny検出機能

得られたエッジから4隅のコーナー位置座標検出には、ハリスのコーナー検出アルゴリズムを用いた。ハリスのコーナー検出処理を行ったテスト画像を、図5に示す。

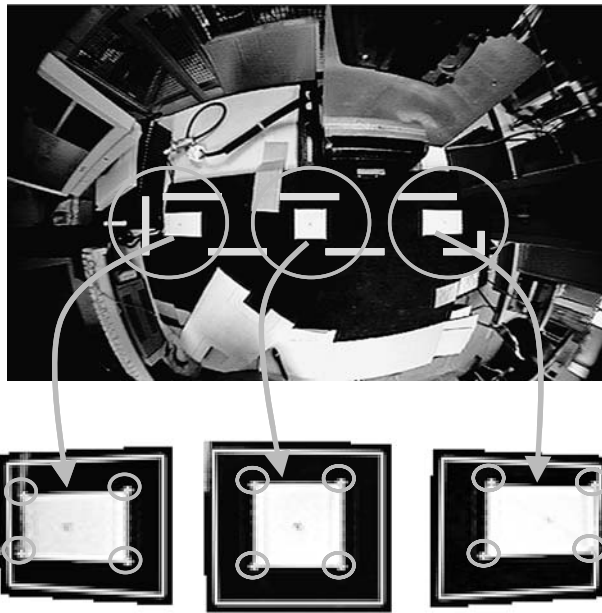


図5 コーナー検出機能

#### 2-4 良否判定原理

検査ターゲットの合格エリアからの逸脱検査については、まず検出されたコーナー座標値が、合格エリアの最大・最小値の範囲内に存在するかどうかの判定を行い、次に合格エリアの成す線分とコーナーの位置関係から判定した。

### 3 結果および考察

今回の開発において、ドアミラーカメラ検査画像処理プログラムを作成できた。開発したプログラムの画像を図6に示す。

この開発において、メインのプログラムはMicrosoft Visual Studio 2010 C++ Expressで開発した。また、領域判定においては、求められた角点における垂直線および水平線と、判定領域を示す直線との交点計算などの関数をC#で開発し、これらの関数を含むライブラリを利用した。このプログラムは、それらの複数のソフトを利用して開発した。

### 4 まとめ

現段階ではWindowsPC上でのソフトであるため、設備を制御するPLC（シーケンサ）とPCの両方が必要となりコスト的な課題がある。今後、組込みボードにLINUXなどのOS環境を構築し、本ソフトウェアをインストールすることで安価な検査システムの構築を図りたいと考えている。

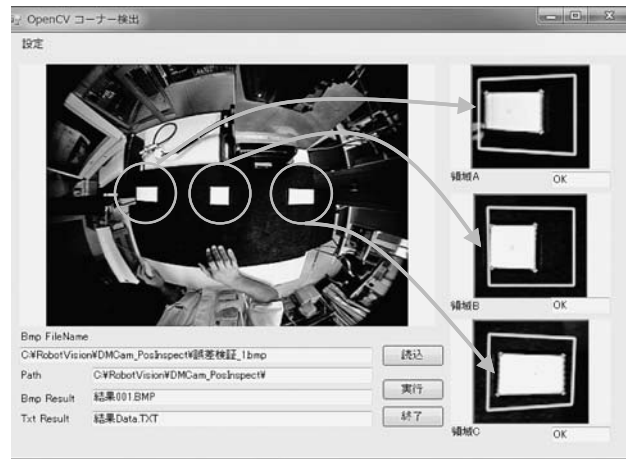


図6 ドアミラーカメラ画像処理ソフト

また、今回の画像処理検査システム開発により、OpenCVを利用した画像処理の技術的手法についてある程度習得することができた。今後さらに、画像処理に関連した開発にも利用したいと考えている。

### 5 謝辞

この研究開発は、宮崎大学においてOpenCVを利用した開発を進められている椎屋和久氏、森圭史朗氏らの助言及び協力を得て開発することができた。ここに謝意を記す。

### 6 参考文献

- 1) 北山洋幸：OpenCVで始める簡単動画プログラミング, 株式会社カットシステム
- 2) 北山洋幸：技術者のためのVisualC++実践プログラミング技法, 技術評論社
- 3) DonisMarshal株式会社 トップスタジオ訳：プログラミングVisual C#2005, 日経BPソフトプレス



# 冷間鍛造成形時の破断の解析に関する研究\*

外山 真也\*<sup>1</sup>・河野 通成\*<sup>2</sup>・山田 若雄\*<sup>2</sup>

Study on Damage of Slug Shape in the Cold Forging

Masaya TOYAMA, Michinari KAWANO and Wakao YAMADA

株式会社ニチワでは、冷間鍛造成形により溶接ナットをはじめ、カラー（筒状の部品）や複合ギアなどの各種自動車部品を製造している。今回、筒型形状の部品を鍛造成形する工程において破断を生じ、鍛造工程の変更、金型の修正などを余儀なくされた。

今後、このような事態を回避すべく、工程設計段階において、破断を予測できないかを検討することとなった。そのため、共同研究において破断原因の究明と、解析段階における破断の評価を検討した。

キーワード：冷間鍛造，CAD/CAM，CAE，有限要素法，塑性変形

## 1 はじめに

株式会社ニチワでは、冷間鍛造成形により溶接ナットをはじめ、カラー（筒状の部品）や複合ギアなどの各種自動車部品を製造している。今回、比較的単純な筒型形状の部品を鍛造成形する工程において破断を生じ、鍛造工程の変更、金型の修正などを余儀なくされた。その破断を生じた部品の概略寸法および破断状況を図1に示す。この部品の左側先端部より13 mmの部分において破断した。

今後、このような事態を回避すべく、工程設計段階において、破断を予測できないかを検討することとなった。

もし、鍛造工程設計の段階で破断を予測できれば、工程の変更による金型の設計・製作のコスト、納期への影響を低減できる。

さらに、通常4～6工程で実施されている鍛造工程の低減や、金型の維持管理などのコストの低減を目指して解析手法を検討することとした。

本報告では、塑性変形有限要素解析（Deform）を用いて鍛造成形工程でのダメージ（延性破壊条件式により求められる値）を解析することにより、破

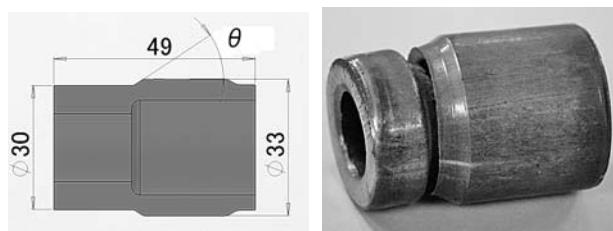


図1 成形品の概略寸法と破断状況

断の発生を予測できる基準や指標を示すための試みを行ったので報告する。

## 2 有限要素解析

破断を生じた鍛造工程での金型とスラグ形状モデルをCADで作成し、有限要素解析を実施した。解析において延性破壊条件式にOyaneの式を設定した。Oyaneの式を式(1)に示す。ここで $\sigma$ は相当応力 (MPa)， $\sigma_m$ は平均応力 (MPa) である。定数  $\alpha$  は0.320に設定して解析を行った。

$$D_f = \int \left( 1 + \frac{1}{\alpha} \frac{\sigma_m}{\sigma} \right) d\bar{\epsilon} \quad (1)$$

ここでダメージ  $D_f$  が塑性変形解析ソフトDeformにおいて求められる。このダメージの数値が1.0以上になると破断が生じるとされる。

また、今回の解析においては下方の金型はスライド型となっている。マシンストロークは370 mm，成

\* 共同研究「冷間鍛造成形工程における材料破断に関する研究」

\*1 機械電子部

\*2 株式会社 ニチワ

形ストローク23.05 mm，成形速度0.67ショット/sec，スライド量7 mm，バネ定数27.2 N/mm，初期荷重136 N，バネ数8本，摩擦係数0.08を設定している。

解析はDeform-3D Version6.1を使用した。また，改善した金型のモデルも作成し，解析を実施した。各解析結果について以下に示す。

### 2-1 破断を生じたモデルの解析

破断を生じたモデルでの解析結果を図2から4に示す。図2は，成形ストローク9.85 mmにおいてスラグの上部テーパ部が成形される初期段階でダメージが2.21と大きくなってきている。ここで破断が始まったと考えている。

また，図3は，成形ストローク13.0 mmにおいてスラグ上部のテーパ形状部分の成形がある程度進行し，ダメージは3.59を示し，抵抗も大きくなってきている段階である。図4は最終段階であり，ダメージは最大となり11.9にまで達している。図5に成形ストローク13.0 mmにおいて，ダメージが大きくなってきている部分を示す。

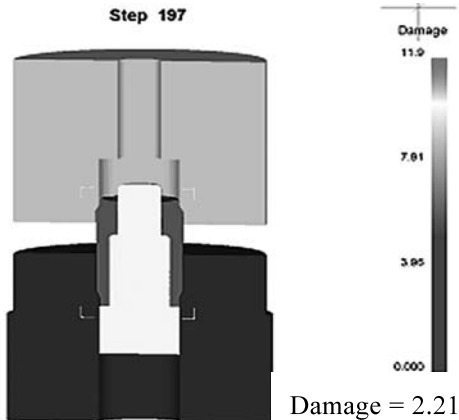


図2 破断したモデルでの解析結果（その1）

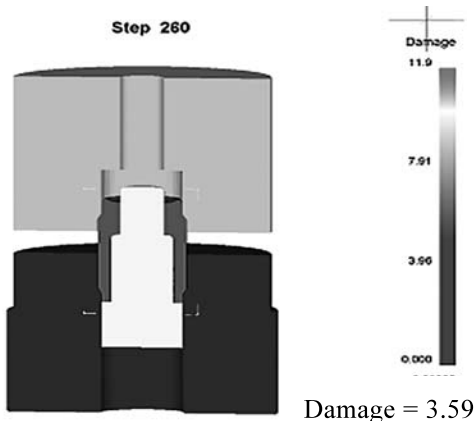


図3 破断したモデルでの解析結果（その2）

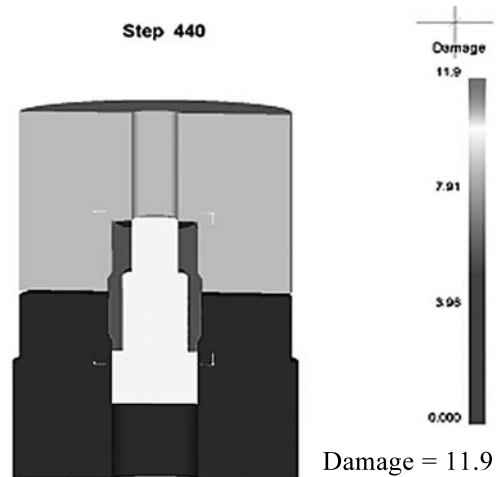


図4 破断したモデルでの解析結果（その3）

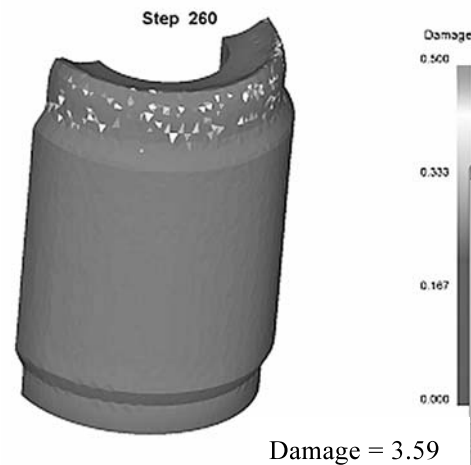


図5 破断位置での解析結果

### 2-2 改善モデルの解析

破断位置はテーパ部であり，その部分の成形時にダメージが急激に上昇することがわかったので，そのテーパ部の角度 $\theta$ （図1）を変更改善した金型モデルでの解析結果を図6から8に示す。図6は，改善前のモデルで破断が始まったと考えられる成形ストローク9.5 mm付近であるが，ダメージは0.124程度である。また図7は改善前のモデルで破断が始まりダメージが大きくなった付近であるが，ここでもダメージは0.364程度である。この解析結果においては，ダメージが最大でも0.544程度であり，破断したモデルよりもかなり低減されていることがわかった。

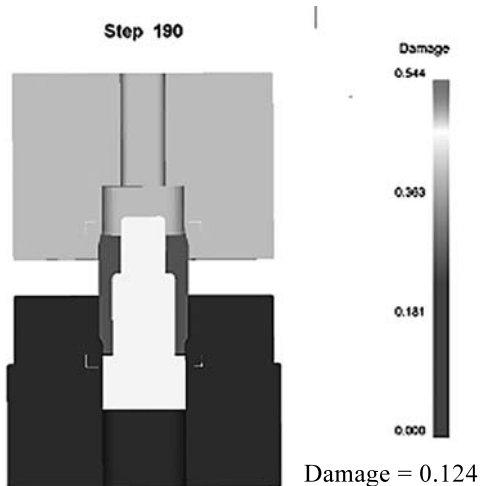


図6 改善したモデルでの解析結果（その1）

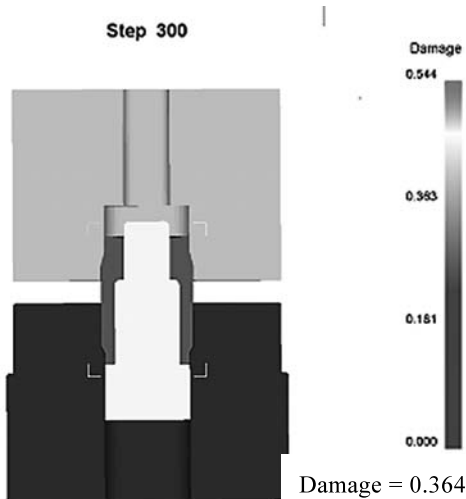


図7 改善したモデルでの解析結果（その2）

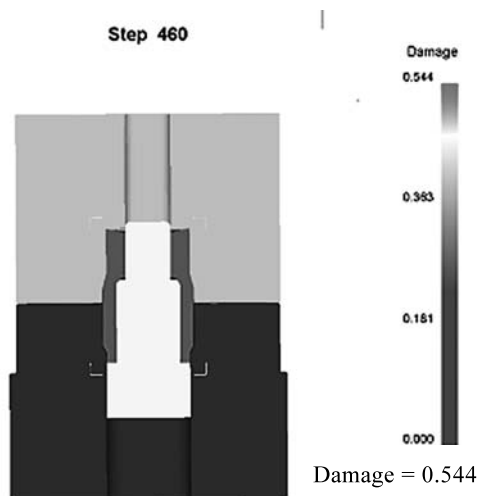


図8 改善したモデルでの解析結果（その3）

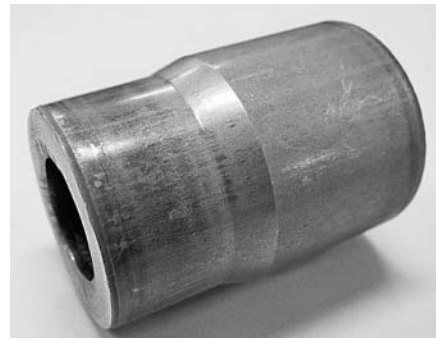


図9 改善した金型での鍛造成形結果

### 3 結果および考察

ここに示したパイプの鍛造成形工程は、通常6回の冷間鍛造工程を経て成形されるものである。このような比較的単純な形状の場合は、熟練技術者によりレイアウト設計がなされ、その設計指示に基づき金型の設計及び製作が進められる。

今回の事例は、そのような比較的単純な形状において、安易に考えたために、一種のマンネリ化した状況において発生したトラブル事例であると考えられる。また、このような失敗を防ぐためには、工程設計段階において、有限要素解析を実施し確認することは言うまでもないが、すべての工程について有限要素解析を実施することは容易ではない。この事例においても、解析時間は最低でも6時間を要し、モデルによっては10日間を要している場合も少なくない。

そこで、頻度の高い類似形状については、鍛造工程設計レイアウトの標準モデルの作成を検討している。

今回の塑性変形有限要素解析において、破断を生じたモデルからの改善点は、図1における外形のテーパー形状部分の角度 $\theta$ を30度程度から20度以下に変更しただけである。しかし、わずかな変更改善の結果、ダメージの数値を大きく低減することが可能であることがわかった。

### 4 まとめ

今回示した塑性変形解析は、事例の一つであるため、すべての破断の解析に対して適用できるというものではないが、技術として蓄積し、判断材料の基準を明確にしていきたいと考えている。

この破断事例は、設計段階では破断が生じることを予測できず、鍛造試験段階になって判明した。そ

のため、金型の修正などの対応で苦慮した。この研究は、その対策として塑性変形解析において破断を予測できるかどうかを検証するために実施した。

今回の塑性変形有限要素解析において、冷間鍛造成形時に生じた破断の状況を推測することができた。解析においては破断の状態を示すことは容易ではないが、ダメージの数値を詳細に調べることにより予知することが可能であると考える。

## 5 参考文献

- 1) 佐藤征亜, 木之下広幸, 外山真也ほか: 前方後方押し出しによる複合ギア成形, 日本機械学会論文(C編), 76-770, (2010-10)
- 2) Masaya TOYAMA, Hiroyuki KINOSHITA etc: Influence of Slug Shape on Metal Flow in Simultaneous Forward-Backward Extrusion of Compounds Gear, 602-603, The9-th International Conference on Technology of Plasticity (ICTP2008)
- 3) 社団法人日本塑性加工学会: 鍛造, 株式会社コロナ



# 超小型水力エネルギー回収装置に関する研究\*

平 栄蔵<sup>\*1</sup>・田中 康夫<sup>\*2</sup>・日吉 健二<sup>\*3</sup>

Development of Micro Hydraulic Energy Recovery Unit

Eizo HIRA, Yasuo TANAKA and Kenji HIYOSHI

本県は温暖・多雨で、中小河川が多く、農業用水路が整備されている。また、淡水魚等の養殖場も多い。そこで、農業用水路や淡水魚等養殖場から流下する未利用の水力エネルギー（具体的には落差1 m程度、水路幅0.5 m程度の開水路で、電気出力に換算して100～500 W程度の動力源）を回収して揚水ポンプの動力源、養殖場のエアレーション用圧縮空気源、通学路の照明用電源等へ活用する研究が開始された。本報では、農林水産省の研究資金を受けて実施された産学官共同研究開発事業「超小型水力エネルギー回収装置の開発」において、工業技術センターが担当した円弧羽根付軸流プロペラ、渦巻きケーシングおよび空気吸込防止コーンに関する実験結果等について概要を報告する。

キーワード：開水路、軽量・簡易構造、軸流プロペラ、渦巻きケーシング、空気吸込防止コーン

## 1 はじめに

本研究開発は、平成22年度～23年度の農林水産省「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業（超小型水力エネルギー回収装置を用いた農業及び水産施設等の省エネルギー化現場実証実験）」として実施され、工業技術センターと田中製作所は水力エネルギーの回収装置の開発を担当した。本研究で開発する装置は落差1 m程度、水路幅0.5 m程度の小規模の農業用水路や淡水魚等養殖場などから流下する水のエネルギーを回収して、揚水ポンプ、空気圧縮機、発電機の動力源として活用する。本装置は、開水路等への設置と撤去を容易化し、かつ製造コストを削減するために簡易構造・軽量化することとした。その方法として、①水の流れを制御する案内羽根の代わりに渦巻きケーシングを用い、取水した流水に強い旋回流を発生させて、下降管へ流下させること、②強い旋回流により発生する空気の吸込みを防止する簡易な仕組みを装着すること、③下降管に設置した軸流プロペラは製作が容易な薄板構造とす

ること、の3点について検討した。

図1は、上から見た取水口と渦巻きケーシングの形状を示す。流水は開水路から渦巻きケーシングへ流入し、さらに渦巻きケーシングに沿って旋回しながら中心部の下降管に流下する。

図2は図1を横方向から見た図である。渦巻きケーシングにより強い旋回流が発生すると下降管中心に強い水中渦が発生する。この水中渦は水面から空気泡を下降管へ吸い込む作用をする。下降管内の気泡は、下流へ流れる水の流れに逆らって、上昇・浮上

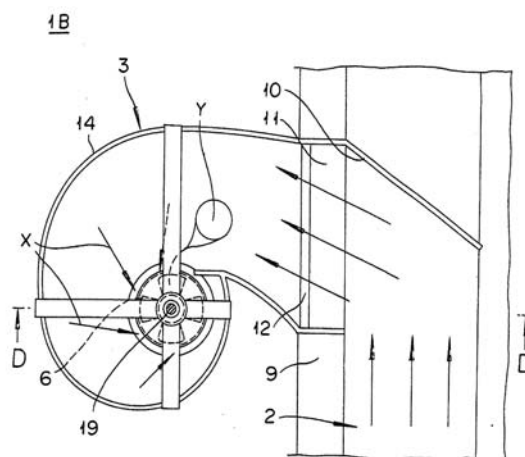


図1 渦巻きケーシングの形状

\* 農林水産省「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」

\*1 機械電子部

\*2 田中製作所

\*3 宮崎大学農学部

するため、下降流の速度および旋回流が減速・阻止される。こうなると、下降管内の途中に設置した軸流プロペラを駆動するエネルギーが減少して、水車効率が悪化する。これを防止するために、図2に示した円錐状のコーンを水没させて水中に設置する。

下降管に設置した軸流プロペラは、可能な限り下降管の上部に設置して、渦巻きケーシングで発生した旋回流を受けとめ、水力エネルギーを回転エネルギーへと変換する。

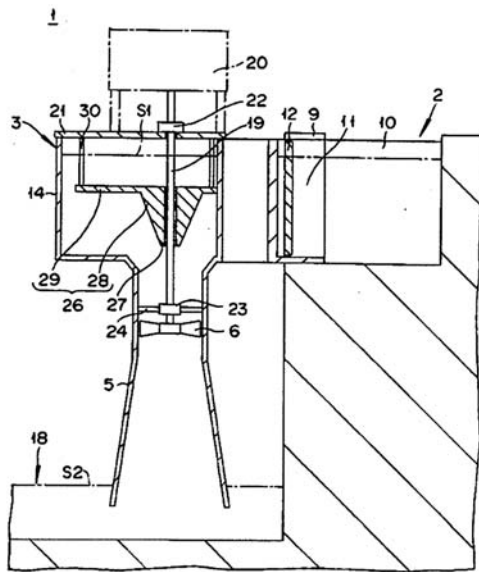


図2 空気吸込防止コーンと軸流プロペラ

本報では、工業技術センターと田中製作所が担当した「超小型水力エネルギー回収装置を構成する渦巻きケーシング、空気吸込防止コーンおよび軸流プロペラの形状・寸法に関する試作・実験」の概要を報告する。なお、実験データ収集のための実験等は宮崎大学農学部が担当した。

## 2 実験方法

図3に実験装置の概要を示す。実験は宮崎大学農学部農林水理学実験室内に設置された水循環系と発生動力測定装置などから構成した実験装置に、新たに試作した渦巻きケーシング等を設置して、流水の落差、水量等を変えた場合の発生動力等を測定した。

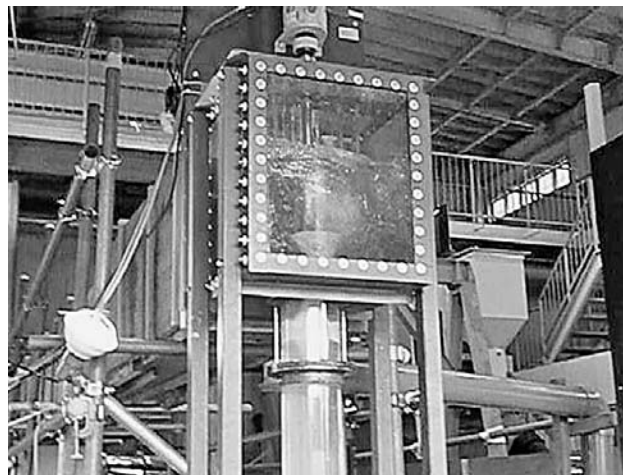


図3 宮崎大学農学部に設置された実験装置

## 3 結果および考察

### 3-1 円弧羽根付軸流プロペラに関する実験

図4に試作した軸流プロペラの形状を示す。プロペラの軸に厚み2 mmの円弧羽根を4枚または6枚を溶接した。プロペラ軸への羽根の取り付け角度は30度または40度とした。羽根の円弧比は図に示すようにB/Aと定義した。実験で、B/Aを、5、10、15%の3種類とした。

図5に試作した軸流プロペラを示す。また、図6に軸流プロペラに関する実験データの一部を示す。横軸に1分間あたり回転数を、縦軸に水車効率を示す。

実験は、円弧比が5、10、15%の3種類、羽根取り付け角度が30度または40度の2種類、羽根枚数が4枚または6枚の2種類の計12個のプロペラを作り、水車効率を求めた。本図は12個のプロペラの中から、もっとも高効率の3個を示す。最高効率を示すのは

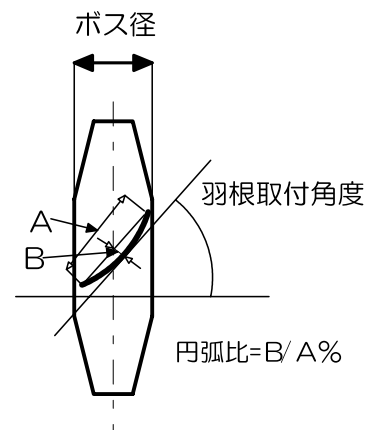


図4 試作した軸流プロペラ

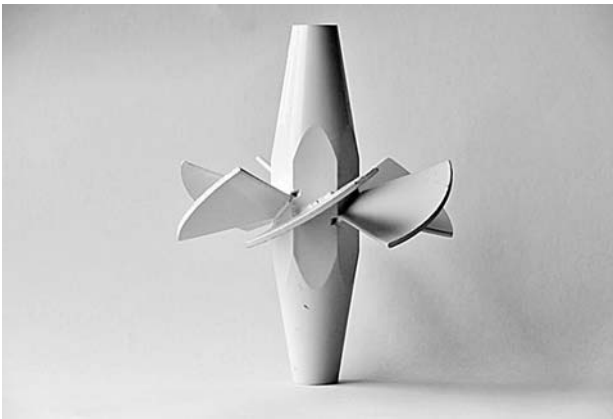


図5 軸流プロペラの写真 6枚羽根

○印の羽根枚数6枚，円弧比10%，取付角度30度であるが，広範囲の回転数に対応するのは□印の4枚羽根，円弧比10%，羽根取付角度30度の場合と考えられる。

広範囲の回転数に対して効率の高い組み合わせは，①円弧比は $10 \geq 15 \geq 5\%$ ，②羽根取付角度は $30 \geq 40$ 度，③羽根枚数 $4 \geq 6$ 枚の傾向があると考えられる。

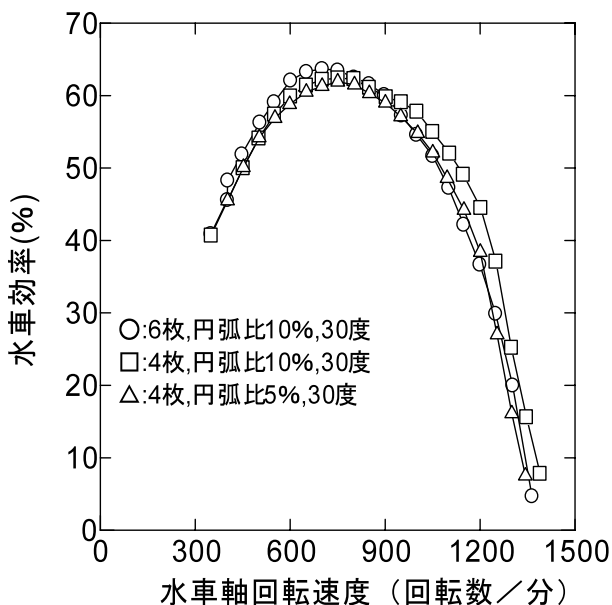


図6 軸流プロペラに関する実験結果

### 3-2 渦巻きケーシングに関する実験

開水路から水流を取り込む取水経路に渦巻きケーシングを設置することにより，強い旋回流を作り，軸流プロペラに付与して水車効率を改善することが可能である。この観点から，平成22年度作製したケー

シングの改善を目指して，平成23年度は流路を縮小したケーシングを用い，水車効率に与える影響について実験を行った。

図7は渦巻きケーシングを上から見た図である。渦巻きケーシングは中心部の下降管へ流れ込む水の流れを最適化するために，流路を通過する流速が一定となるように流路の幅を決める手法である。平成23年度は，前年度の基本線の流路幅を0.7倍に縮小して水車効率を実験した。その結果を図8に示す。本図より，△印の0.7縮小形は，最高効率の回転数付近で，□印の既存形をわずかに上回ることがわかる。すなわち，下降管へ水が流下する場合の水流は縮流の流れであり，流れの損失は差がないと考えられる。

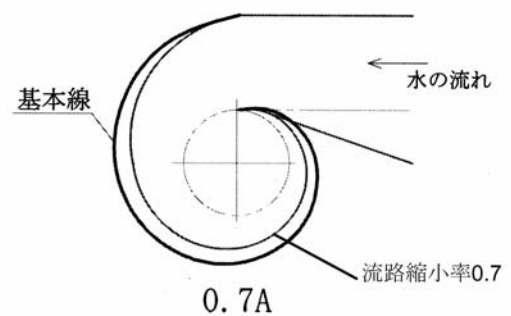


図7 渦巻きケーシングの説明

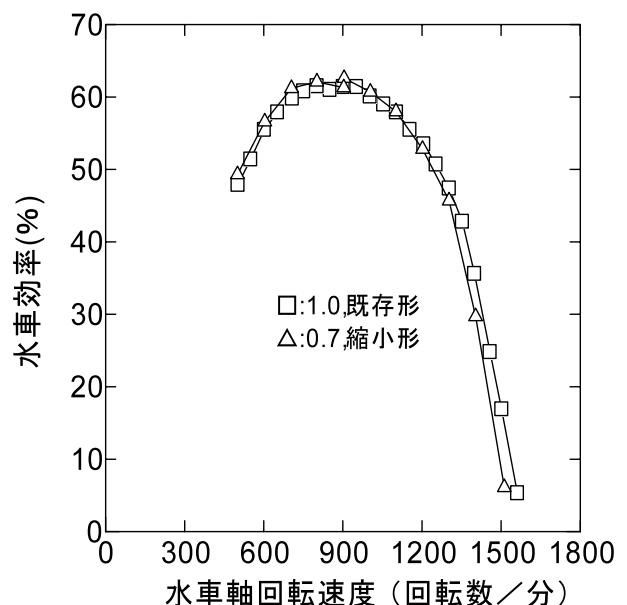


図8 渦巻きケーシングの実験結果

### 3-3 空気吸込防止コーンに関する実験

渦巻きケーシングを用いて、強い旋回流を発生させ、その旋回流を軸流プロペラへ付与して水車効率の向上を促すが、その目的とは裏腹に、水面から空気を吸い込む空気吸込み渦が発生する。すなわち下降管内の気泡は浮上するため、水の下降流れが阻止され、結果的に水車効率は激減する。この現象をもっとも簡易に防止する目的で、以下の空気吸込防止コーンに関する実験を行った。

図9は前年度設置した円錐形コーン、図10は半球形コーン、図11は双曲線形コーンである。

実験は、これらのコーンを下降管と水面の中間に水没させて設置する。これにより、空気渦が水面へ到達する作用を防止する。



図9 円錐形コーン



図10 半球形コーン



図11 双曲線形コーン

図12は空気吸込防止コーンの設置による水車効率の改善実験の結果を示す。本図より、水車の回転数の全域にわたり、□印の円錐コーンが優れていることがわかる。円錐コーンにより水中旋回流が安定し、空気吸込渦の発生を抑制したものと考えられる。

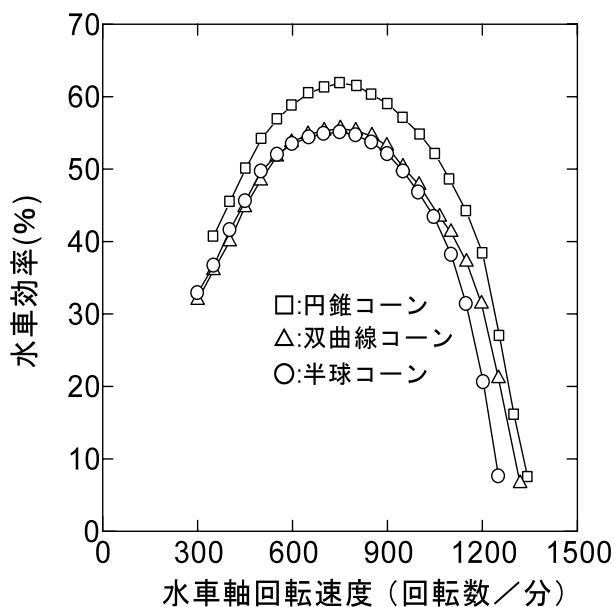


図12 空気吸込防止コーンの実験

## 4 まとめ

農業用水路等の開水路への設置を想定した超小型水力エネルギー回収装置を構成する円弧羽根付軸流プロペラ、渦巻きケーシング、空気吸込防止コーンに関する実験を行った。そして、以下の知見を得た。

- 1) 円弧羽根付軸流プロペラの最適な形状は、①円弧比は $10 \geq 15 \geq 5\%$ 、②羽根取付角度は $30 \geq 40$ 度、③羽根枚数 $4 \geq 6$ 枚と考えられた。
- 2) 渦巻きケーシングの形状については、下降管への水流は縮流であり、本実験範囲では大差がなかった。
- 3) 3種類の空気吸込防止コーンについては、円錐形コーンがもっとも優れていた。



# リン酸水溶液を電解液とした陽極酸化アルミナ多孔膜生成条件の検討

黒木 泰至<sup>\*1</sup>・福島 洋一<sup>\*2</sup>

The Reviewing of a Condition Creating Anodic Porous Alumina Membrane by the Electrolysis Liquid of the Phosphoric Acid Solution

Hiroyuki KUROKI and Youichi FUKUSHIMA

筆者らは、膜透過法での分散素子として利用するため、シュウ酸水溶液を電解液として均一な貫通孔を有する陽極酸化アルミナ多孔膜の作製を試み、生成条件を明らかにするとともに、作製した陽極酸化アルミナ多孔膜の孔はすべて水の透過に寄与していることを確認した。シュウ酸水溶液で作製できる陽極酸化アルミナ多孔体の細孔径の上限はおおよそ100 nm程度で、それ以上の細孔径を得るには電解液としてリン酸水溶液が適していると言われている。そこで、膜透過法の分散素子としての使用範囲の拡大を狙って、リン酸水溶液による陽極酸化アルミナ多孔膜の生成条件を検討した。その結果、条件を概ね明らかにすることができたが、膜が脆弱で壊れやすく、良好な膜の生成には至らなかった。

キーワード：陽極酸化、アルミナ多孔体、アルミナ多孔膜、リン酸電解液

## 1 はじめに

アルミニウム (Al) を陽極酸化すると、図1に示すように、均一なナノサイズの孔が規則的に配列した構造を持つ陽極酸化アルミナ多孔体 (以下、アルミナ多孔体) が生成する。アルミナ多孔体の生成に使用される電解液は硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 水溶液が最も一般的で、ほかにシュウ酸 ( $(\text{COOH})_2$ ) 水溶液やリン酸 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 水溶液が使われており、各電解液で得られるアルミナ多孔体の持つ細孔径は、硫酸水溶液、シュウ酸水溶液、リン酸水溶液の順に大きくなると言われている<sup>1)</sup>。筆者らは既報<sup>2)3)</sup>で0.4 Mシュウ酸水溶液を使い、作製したアルミナ多孔体

に形成されるバリア層 (緻密なアルミナの皮膜) を電流回復法で薄化した後、逆電剥離でアルミニウム板からアルミナ多孔体を剥離して、陽極酸化アルミナ多孔膜 (以下、アルミナ多孔膜) を作製し、バリア層側をエッチングで貫通孔化する一連の作製条件を明らかにし、さらに、孔はすべて水の透過に寄与していることを確認した。しかし、シュウ酸水溶液で作製できるアルミナ多孔膜の細孔径の上限はおおよそ100 nm程度であった。

そこで、本報では、必要とされるもっと大きな細孔、例えば200 nm程度の細孔径を有するアルミナ多孔膜を得るため、リン酸水溶液を電解液としたアルミナ多孔膜の生成方法を検討し、いくつかの知見が得られたので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 サンプルの作製

膜透過法の分散素子としての使用を想定した、直径25 mmの円形アルミナ多孔膜を作製するため、既報<sup>2)</sup>で良好なアルミナ多孔膜の生成が確認された純度99.99%のアルミニウム板 (昭和電工(株)製、厚さ500  $\mu\text{m}$ ) に、図2に示すサンプルの輪郭を描き、

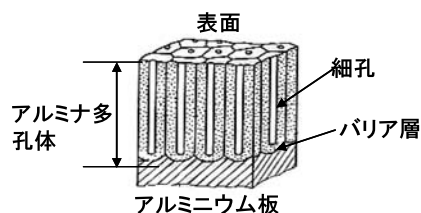


図1 アルミナ多孔体の構造

\*1 材料開発部

\*2 元 財団法人宮崎県産業支援財団

ハサミを用いて切り出し、エッジをヤスリで平滑にして、サンプルを作製した。

## 2-2 前処理

既報<sup>2)</sup>に基づき、サンプルをアセトンに浸漬し、5分間超音波処理で脱脂した後、混酸 ( $\text{H}_3\text{PO}_3$  75 vol% +  $\text{H}_2\text{SO}_4$  20 vol% +  $\text{HNO}_3$  5 vol%) に20分間浸漬して、蒸留水で洗浄後、さらに5%水酸化ナトリウム水溶液に10分間浸漬して表面の酸化物を除去した後、蒸留水で洗浄し、乾燥させたものを以後の実験に供した。

## 2-3 最適な電流密度

図3にアルミニウムの陽極酸化装置の概念を示す。電解槽は容量1 Lの冷却容器を、電解液には0.3 M リン酸水溶液を使用した。電源は直流安定化電源 (株)TEXIO, PA250-0.42B) を使用し、サンプルを陽極、 $W70 \times L100 \times t0.3$  mmのアルミニウム板を陰極とした。また、陽極酸化中は、電解液濃度を均一にするため、スターラーで電解液を攪拌するとともに、アルミナ多孔体表面の溶解を防止するため、電解液温度を20℃以下に維持した。

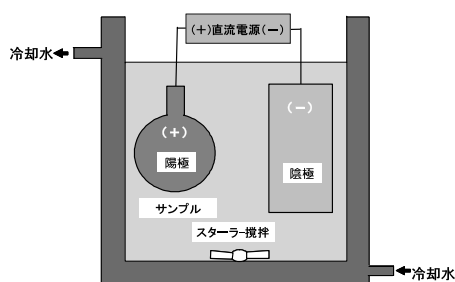


図3 陽極酸化装置の概念図

この装置を使い、電流50 mA (電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>)、100 mA (電流密度1.02 A/dm<sup>2</sup>)、150 mA (電流密度1.53 A/dm<sup>2</sup>)、200 mA (電流密度2.04 A/dm<sup>2</sup>) の条件で、既報<sup>2)</sup>で明らかにしたアルミナ多孔体の厚さと電流密度、電解時間の関係式(1)からアルミナ多孔体の厚さが90 μmとなる電解時間でアルミナ多孔体を試作し、良好なアルミナ多孔体が生成する電流密度を検討した。

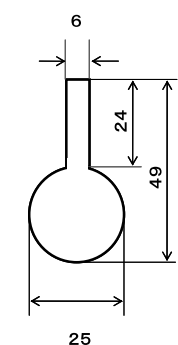


図2 サンプル図面(mm)

$$t = 0.28 \times DI \times T \quad (1)$$

t: アルミナ多孔体の厚さ (μm)

DI: 電流密度 (A/dm<sup>2</sup>)

T: 電解時間 (min)

## 2-4 最適なリン酸水溶液濃度

2-3で明らかにした、良好なアルミナ多孔体が生成する電流密度で、リン酸水溶液濃度0.05 M、0.1 M、0.3 M、0.5 Mの条件でアルミナ多孔体を試作し、良好なアルミナ多孔体が生成するリン酸水溶液濃度を検討した。

## 2-5 バリア層の薄化および逆電剥離

2-3および2-4で良好なアルミナ多孔体が生成された電流密度、リン酸水溶液濃度および厚さが90 μmとなる電解時間で試作したアルミナ多孔体を用い、既報<sup>2)</sup>で明らかにした、シュウ酸水溶液を電解液として作製したアルミナ多孔体からアルミナ多孔膜を調製するバリア層の薄化および逆電剥離条件の適用可能性について検討した。

## 2-6 化学エッチング法による貫通孔化

既報<sup>2)</sup>に基づき2%水酸化ナトリウム水溶液をエッチング液として、逆電剥離で得られたアルミナ多孔膜の表面の溶解を極力抑え、裏面を均一にエッチングできる最適なエッチング時間を検討した。

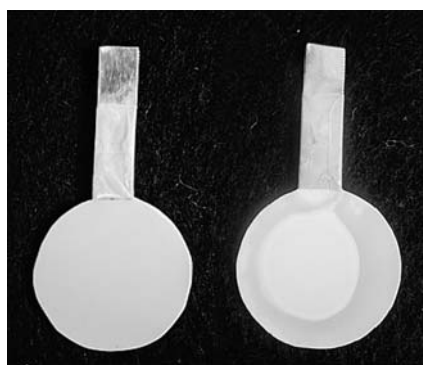
## 2-7 アルミナ多孔体等の評価

FE-SEM (株)日立ハイテクノロジーズ, S-4800) を用いて、作製したアルミナ多孔体やアルミナ多孔膜の微細構造の観察と細孔径の計測等を行なった。

## 3 結果および考察

### 3-1 最適な電流密度

電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>で半透明の均一なアルミナ多孔体が得られたが、1.02 A/dm<sup>2</sup>、1.53 A/dm<sup>2</sup>、2.04 A/dm<sup>2</sup>では焼けと思われる灰色変色部が発生した。焼けは高電流密度で陽極酸化すると発生することが一般的に知られており、0.3 Mリン酸水溶液を電解液とした場合、電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>程度の比較的低い電流密度がアルミナ多孔体の生成に適していると思われた。図4に電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>と2.04 A/dm<sup>2</sup>で得られたアルミナ多孔体の外観を示す。



左 電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>  
右 電流密度2.04 A/dm<sup>2</sup>

図4 生成したアルミナ多孔体

### 3-2 最適なリン酸水溶液濃度

電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>でアルミナ多孔体を試作したところ、原因はよく分からないが、リン酸水溶液濃度0.05 M、0.1 Mでは陽極酸化開始後10分程度の比較的早い時点で一部変色、剥離する現象が生じた。0.3 M、0.5 Mでは発生しなかった。図5にリン酸水溶液0.1 Mと0.5 Mで得られたアルミナ多孔体の外観を示す。



左 リン酸水溶液濃度0.1 M  
右 リン酸水溶液濃度0.5 M

図5 生成したアルミナ多孔体

### 3-3 バリア層の薄化および逆電剥離

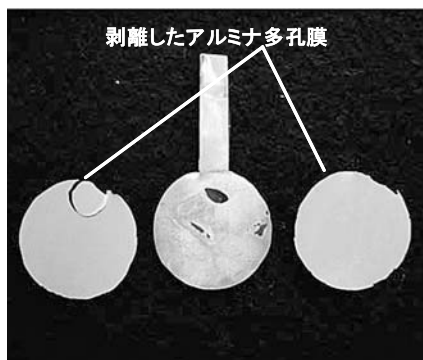


図6 剥離したアルミナ多孔膜

電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>、リン酸水溶液濃度0.5 M、電解時間630分で試作したアルミナ多孔体のバリア層を、既報<sup>2)</sup>の条件で薄化し、逆電剥離でアルミナ多孔膜の作製を試みたところ、図6のとおり剥離できたが、膜は脆弱で良好な膜の生成には至らなかった。また、膜厚は、目標の90 μm よりも薄い63 μmであったが、これは、後に述べるようにリン酸水溶液によるアルミナの溶解が原因と考えられた。

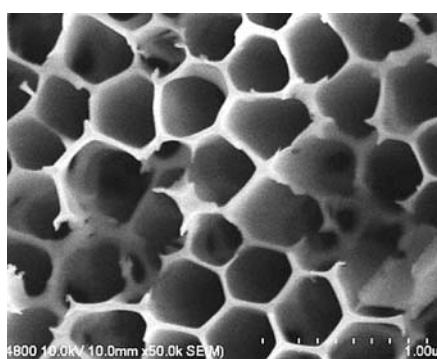
### 3-4 化学エッチング法による貫通孔化

2%水酸化ナトリウム水溶液によるエッチング前のアルミナ多孔膜の表面（以下、表面）およびバリア層側（以下、裏面）のSEM観察像を図7に、エッチング2分間のSEM観察像を図8に、エッチング3分間のSEM観察像を図9に、エッチング5分間のSEM観察像を図10に示す。エッチング前のアルミナ多孔膜表面は、電解液のリン酸水溶液によるアルミナの溶解が原因と思われる孔壁の薄化が認められた。細孔径は300 nm程度で、裏面は小さな孔が一部に認められたものの、ほとんど開孔していなかった。エッチング2分間でも裏面の開孔は不十分であった。エッチング3分間の裏面には、バリア層薄化の際発生した小さな孔の壁と思われる網状の構造体の後ろに円形のアルミナ多孔膜本体の孔らしきものが確認できた。エッチング5分間の裏面はエッチング3分間の裏面に比較して網状の構造体の溶解が進んでいるが、表面の孔壁の薄化、崩壊も進行していた。以上のことから、2%水酸化ナトリウム水溶液のエッチング時間は、3分が最適であった。

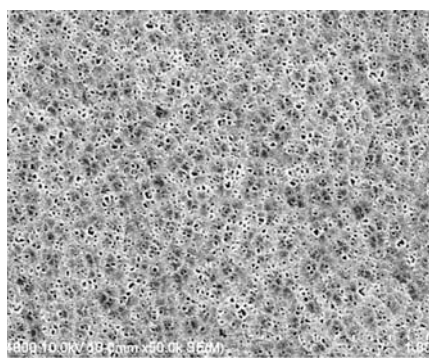
## 4 まとめ

- 1) 0.3 Mリン酸水溶液を電解液とした場合、電流密度1.02 A/dm<sup>2</sup>以上の条件で、焼けと思われる灰色変色部が発生した。
- 2) リン酸水溶液濃度0.5 M、電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>で変色部の無いアルミナ多孔体を得られた。
- 3) 既報<sup>2)</sup>で明らかにした、バリア層の薄化および逆電剥離条件でアルミナ多孔膜の作製を試みたが、リン酸水溶液を電解液として作製したアルミナ多孔膜は、シュウ酸水溶液を電解液として作製したアルミナ多孔膜に比べ脆弱で、壊れやすく、実用に耐えられる良好な膜は得られなかった。
- 4) リン酸水溶液濃度0.5 M、電流密度0.51 A/dm<sup>2</sup>



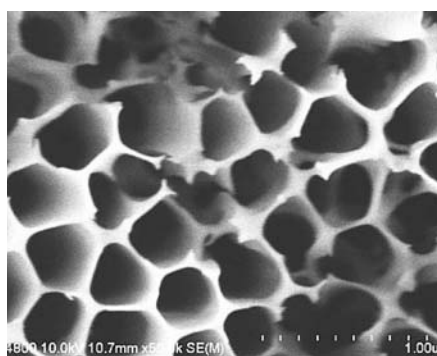


表面

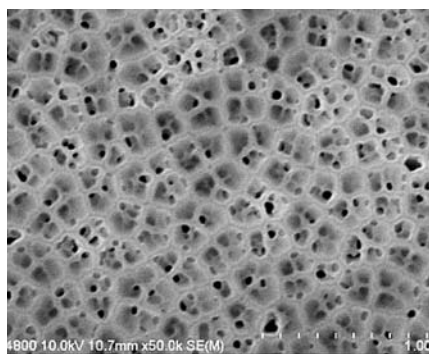


裏面

図7 エッチング前の SEM 観察像 (×50, 000)

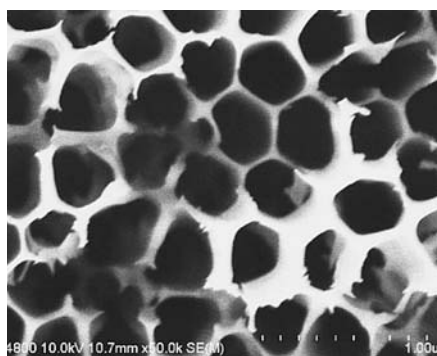


表面

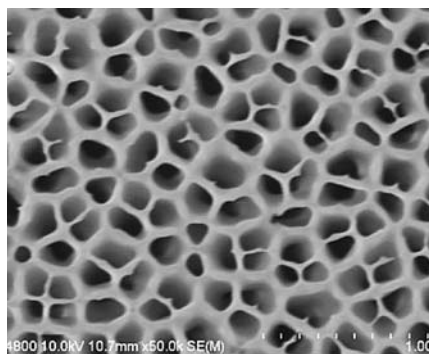


裏面

図8 2%水酸化ナトリウム水溶液エッチング2分間の SEM 観察像 (×50, 000)

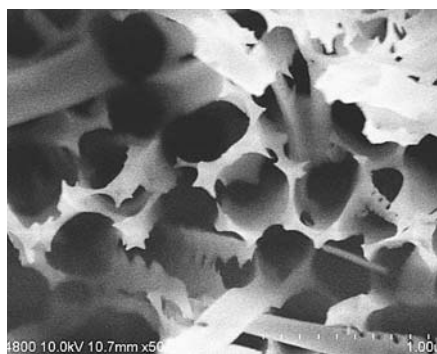


表面

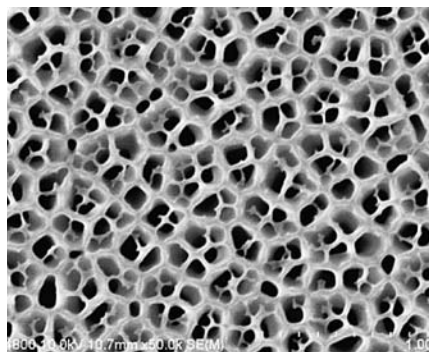


裏面

図9 2%水酸化ナトリウム水溶液エッチング3分間の SEM 観察像 (×50, 000)



表面



裏面

図10 2%水酸化ナトリウム水溶液エッチング5分間の SEM 観察像 (×50, 000)



で作製したアルミナ多孔膜の表面はリン酸水溶液によるエッチングと思われる孔壁の薄化が認められた。

- 5) 2%水酸化ナトリウム水溶液による化学エッチングでのアルミナ多孔膜裏面の貫通孔化には、エッチング時間3分が最適であった。

リン酸水溶液を電解液とした変色部の無いアルミナ多孔体の生成条件を明らかにし、バリア層の薄化および逆電剥離でアルミナ多孔膜を得ることができたが、①電流密度を低く抑えたため、製膜速度が遅い（生産性が悪い）、②リン酸水溶液によるエッチングで孔壁の薄化が起こるため、細孔径の制御が困難、③膜が脆弱なため剥離の際に割れやすいといった課題が残った。

今後は、細孔径200 nmのアルミナ多孔膜の製造に適し、しかも、これら課題を解決できる新たな電解液の探索を行いたいと考えている。

## 5 参考文献

- 1) 小野幸子；金属のアノード酸化皮膜の機能化部会（ARS）第76会例会講演予稿集，19-24（2010）
- 2) 福島洋一，清水正高，久木崎雅人，黒木泰至：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**55**，21-28（2010）
- 3) 福島洋一，清水正高，久木崎雅人，黒木泰至：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**55**，29-34（2010）

# 疎水性液体中において起泡力および泡安定度に寄与する 界面活性剤の探索

田中 智博<sup>\*1</sup>・大津 美沙<sup>\*2</sup>・清水 正高<sup>\*3</sup>・黒木 泰至<sup>\*1</sup>

Search of surfactants contributing to bubble-generating and foam stability in a hydrophobic liquid

Tomohiro TANAKA, Misa OHTSU, Masataka SHIMIZU and Hiroyuki KUROKI

SPG膜（シラス多孔質ガラス膜）を用いたナノ／マイクロバブル生成技術を、高分子系多孔質材の調製に利用するため、疎水性液体中において比較的起泡力が高いとされる13種類の界面活性剤を大豆油に添加したもののについて、起泡力試験および泡安定度試験を実施した。その結果、一部の界面活性剤については起泡力を確認することができたが、泡安定度は良好でないことが確認できた。また、大豆油において比較的高い起泡力および泡安定度が確認された界面活性剤を炭化水素系の疎水性液体に添加したもののについても同様に試験したが、起泡力および泡安定度とも確認できなかった。

キーワード：疎水性液体，界面活性剤，起泡力，泡安定度，SPG膜

## 1 はじめに

SPG膜を用いたナノ／マイクロバブル生成技術は、均一な孔径を有するSPG膜に気体を透過させて液体に吹き込むことで単分散の微細気泡を生成する技術<sup>1)</sup>であり、気泡の微細化により液中滞留時間や液体中へのガス溶解速度の向上が図られる。この特長を生かして、高い酸素濃度が求められる微生物や細胞の培養等のバイオテクノロジー分野、オゾンバブルによる排水処理等の環境浄化分野等の研究が行われているが<sup>2)3)</sup>、多孔質材の調製等の「ものづくり」への応用に関しては、ほとんど研究が行われていない。

また、SPG膜によるナノ／マイクロバブル生成技術を多孔質材調製に利用するには、高い気泡濃度と原材料が硬化するまでの気泡の安定性が必要であることから、気泡の発生と安定性に寄与する界面活性剤を探索することが必要である。

そこで本報では、多孔質材の原材料として疎水系樹脂材料を想定し、疎水性液体中で比較的起泡力が高いとされる界面活性剤を溶解した疎水性液体に

SPG膜を用いて気体を吹き込む方法により、界面活性剤の起泡力および泡安定度を評価したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 使用した界面活性剤および疎水性液体

今回供試した界面活性剤は表1にある13種類で、疎水性液体は、比較的粘度が高く、良好な泡安定度が期待できる大豆油（和光純薬工業㈱）を使用した。さらに、良好な結果が得られた界面活性剤については、炭化水素系の疎水性液体である灯油、軽油、n-ヘキサン（和光純薬工業㈱）、流動パラフィン（和光純薬工業㈱）およびスチレンモノマー（和光純薬工業㈱）を用いて同様の実験を行った。

### 2-2 界面活性剤を添加した疎水性液体の起泡力および泡安定度試験

起泡力および泡安定度試験（以下「起泡力等試験」という。）は、JIS K2518（石油製品一潤滑油一泡立ち試験方法）を参考とし、図1の装置を用い、特に断りのない限り室温にて行った。

容量1Lのメスシリンダー（ポリプロピレン製、以下同じ。）に、界面活性剤濃度を5 wt%に調製した大豆油300 mlを入れ、先端に孔径20 μmのSPG

\*1 材料開発部  
\*2 元 財団法人宮崎県産業支援財団  
\*3 材料開発部（現 企画・デザイン部）

表 1 供試界面活性剤の名称・組成等

| 名称                    | 組成                                   | 製造者        |
|-----------------------|--------------------------------------|------------|
| アデカソール CO             | ヤシ油脂肪酸<br>ジエタノールアミド                  | (株)ADEKA   |
| アデカソール COA            |                                      |            |
| アデカエコロイヤル<br>MSA-2000 | 不明                                   |            |
| TGI-20                | トリイソステアリン酸<br>ポリオキシエチレン(20)<br>グリセリル | 日光ケミカルズ(株) |
| OTP-75                | スルホコハク酸ジ<br>(2-エチルヘキシル)<br>ナトリウム     |            |
| ECTD-3NEX             | ポリオキシエチレン<br>トリデシルエーテル<br>酢酸ナトリウム    |            |
| HCO-40                | ポリオキシエチレン<br>硬化ヒマシ油                  |            |
| HCO-60                | ポリオキシエチレン<br>硬化ヒマシ油                  |            |
| ER-290                | ショ糖エルカ酸エステル                          | 三菱化学フーズ(株) |
| SAMPLE A              | 不明                                   | 太陽化学(株)    |
| SAMPLE B              | 不明                                   |            |
| SAMPLE C              | 不明                                   |            |
| SAMPLE D              | 不明                                   |            |

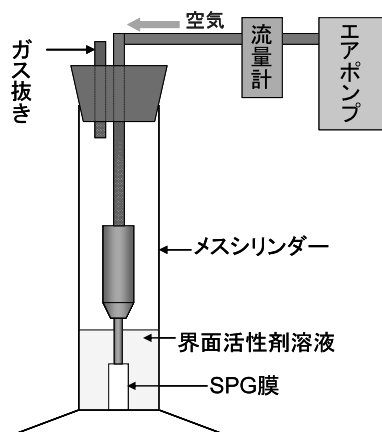


図 1 起泡力および泡安定度試験装置

膜を装着したガス導入管を挿入した。エアポンプの流量を100 ml/minに設定し、SPG膜を介して空気を2分間バブリングし、生成した気泡及び泡沫部分を含む全体積から液体部分の体積を引いた値（以下「泡の体積」という。）を10 ml単位で読み取り、その値を起泡力として評価した。

さらに、バブリング終了10分後に再度10 ml単位で泡の体積を読み取り、泡安定度として評価した。試験は各3回ずつ行い、それらの平均値で評価した。

上記の試験の結果、起泡力および10分経過後にお

ける泡安定度が比較的良好であった界面活性剤については、さらに30分経過後および60分経過後における泡安定度を確認し、その中から起泡力および泡安定度が比較的良好な結果が得られた界面活性剤1種類を選び、条件を変えての起泡力および泡安定度を確認するため、以下の試験を追加して行った。

①容量2 Lのメスシリンダーに、界面活性剤濃度を5 wt%に調整した大豆油を400 ml入れ、空気のバブリング量を700 ml (100 ml/min×7分間) に増加させた場合の起泡力等試験（バブリング量増加による起泡力等試験）

②容量1 Lのメスシリンダーに、界面活性剤の濃度を1 wt%, 5 wt%, 10 wt%とした大豆油300 mlを入れ、それぞれの温度を室温（約20℃）、50℃、70℃と変え、空気を100 ml/minで2分間バブリングした場合の起泡力等試験（界面活性剤濃度および温度の違いによる起泡力等試験）

③容量1 Lのメスシリンダーに、界面活性剤の濃度を5 wt%に調整した疎水性液体の灯油、軽油、n-ヘキサン、流動パラフィンおよびスチレンモノマーを300 ml入れ、空気を100 ml/minで2分間バブリングした場合の起泡力等試験（疎水性液体の種類の違いによる起泡力等試験）

### 3 結果および考察

#### 3-1 13種類の界面活性剤の起泡力等試験

表1に示した界面活性剤のうち太陽化学(株)製のSAMPLE A、SAMPLE CおよびSAMPLE Dについては、大豆油に溶解後、大豆油が室温で固化したことから、起泡力等試験は行わなかった。

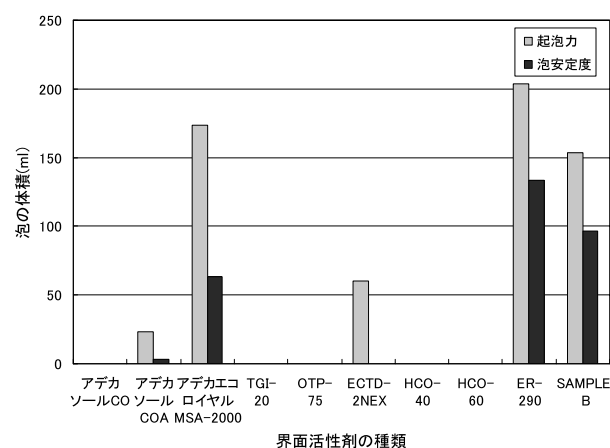


図 2 10種類の界面活性剤の起泡力等試験結果

残りの10種類の界面活性剤について起泡力等試験を行い、得られた結果を図2に示す。

10種類の界面活性剤のうち、アデカエコロイアルMSA-2000、ER-290およびSAMPLE Bの3種類については、他の界面活性剤と比較して起泡力および泡安定度の双方とも確認できた。

通常、界面活性剤の溶解した水を連続相とし、空気のバブリングにより気泡を発生させると、分散相となる気泡中の界面活性剤の分子配向は水側に親水基、ガス側に疎水基となる。今回、界面活性剤の溶解した油に空気をバブリングして気泡を発生させる方法による起泡力等試験において、試験に供した界面活性剤で起泡力および泡安定度ともに良好でないものが多かった理由としては、連続相となる油と分散相の空気がともに疎水性であり、気泡表面での界面活性剤の分子配向が不安定となったことが一因と考えられる。

### 3-2 泡安定度が比較的良好であった3種類の界面活性剤の起泡力等試験

起泡力および泡安定度が確認されたアデカエコロイアルMSA-2000、ER-290およびSAMPLE Bの3種類については、起泡力及び10分経過後の泡安定度のほかに、起泡直後からどれだけ泡の安定状態が継続するかを確認するために、30分経過後および60分経過後の泡安定度についても評価を行った。その結果を図3に示す。

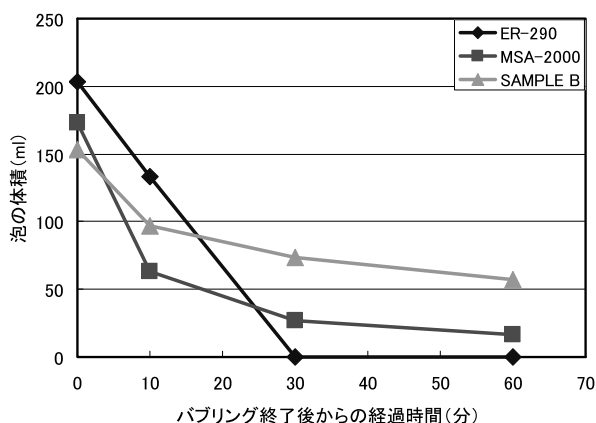


図3 3種類の界面活性剤の起泡力等試験結果

ER-290は起泡力および10分経過後の泡安定度が高く、60分経過後の泡安定度が最も高かったのはSAMPLE Bであった。

これら3種類の界面活性剤のうち、ER-290の組成はショ糖エルカ酸エステルであることが分かっているが、MSA-2000およびSAMPLE Bは具体的な組成が不明であるため、組成と起泡力および泡安定度との関係については確認することができなかった。

そこで、以後の試験については、最も起泡力が高く、組成が判明しているER-290を使用し、バブリング量、界面活性剤濃度、液体の温度および種類を変えて、起泡力等試験を行った。

### 3-3 バブリング量増加による起泡力等試験

バブリング空気量を700 mlに増やした条件での起泡力等試験の結果を図4に示す。

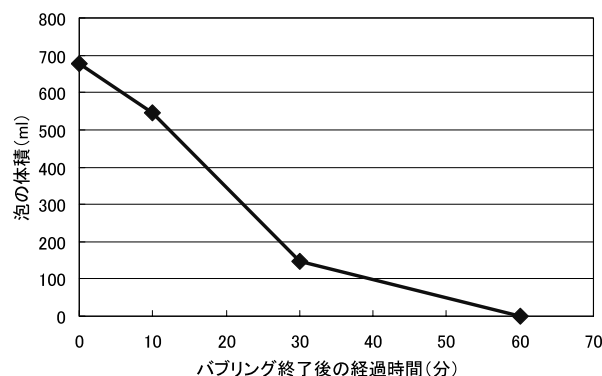


図4 ER-290のバブリング量増加による起泡力等試験結果

バブリング量を増やすことで相対的に泡の体積が増加したことから、30分経過時点においても泡が存在していたが、60分経過後は既に泡は消失していた。従って、バブリング量増加による泡安定度の確保は困難であると思われる。

### 3-4 界面活性剤濃度および溶媒温度の違いによる起泡力等試験

界面活性剤濃度および界面活性剤を添加した溶媒の温度を変えた条件下において行った起泡力等試験の結果を図5に示す。

通常、油中の界面活性剤は臨界ミセル濃度以上では逆ミセルを形成すると考えられるが、ER-290の濃度が1 wt%の場合は、5 wt%および10 wt%の場合よりも起泡力および泡安定度がともに低いことから、濃度が1 wt%では臨界ミセル濃度に達していなかったために、発生した気泡量が少なくなったと推察された。

一方、温度を変化させた場合の起泡力及び泡安定度とも室温の場合が最も高く、50℃および70℃では



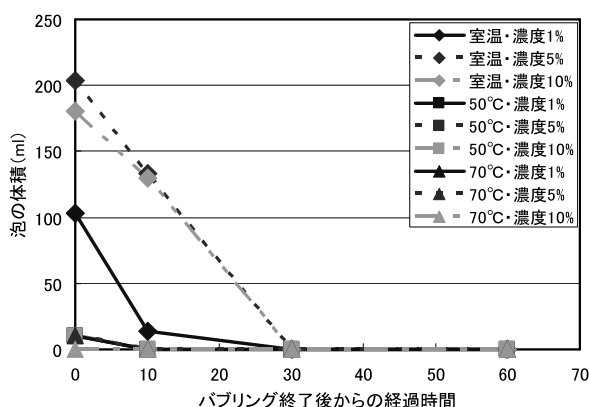


図5 ER-290の濃度及び溶媒温度を変化させた場合の起泡力等試験結果

起泡力はほとんどなく、泡安定度はなかった。

これは、温度が高くなると臨界ミセル濃度が増大する傾向があることから<sup>4)</sup>、この現象により気泡が生成されなかったと推察された。

### 3-5 溶媒の種類の違いによる起泡力等試験

さらに、ER-290を添加する疎水性液体の種類を変えて行った起泡力等試験の結果を表2に示す。

表2 溶媒の違いによる起泡力等試験結果

| 溶媒の種類    | 泡の体積<br>(ml) | バブリング<br>終了直後 | バブリング<br>終了10分後 | バブリング<br>終了30分後 | バブリング<br>終了60分後 |
|----------|--------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 大豆油      |              | 203           | 133             | 0               | 0               |
| 灯油       |              | 0             | 0               | 0               | 0               |
| 軽油       |              | 0             | 0               | 0               | 0               |
| ヘキサン     |              | 0             | 0               | 0               | 0               |
| 流動パラフィン  |              | 0             | 0               | 0               | 0               |
| スチレンモノマー |              | 0             | 0               | 0               | 0               |

その結果、大豆油以外は起泡しなかった。これは、大豆油以外は粘度が低いことが泡安定度の低下に作用し<sup>5)</sup>、それが起泡力に影響している可能性があること（大豆油の粘度が64 mPa・s (20℃)に対して、灯油2.4 mPa・s (20℃)、スチレンモノマー0.69 mPa・s (25℃)等）、ER-290のHLB値が約2と低いために、特に炭化水素系の疎水性液体では、界面活性剤そのものの消泡作用により気泡が安定しなかったことが原因と推察された<sup>6)</sup>。

## 4 まとめ

今回、SPG膜を用いたナノ／マイクロバブル生成技術を利用した多孔質材調製等の「ものづくり」に関する技術の開発を目指し、起泡力および泡安定

度に優れた界面活性剤の探索を実施した。

本報においては、その端緒として、大豆油その他の疎水性液体を、多孔質体を構成する連続相とみなして、空隙となる分散相として空気を用い、疎水性液体に添加した界面活性剤の起泡力等試験を実施し、以下の知見を得ることができた。

- 1) 大豆油中で起泡力が確認された界面活性剤は存在したが、泡安定度は良好でなかった。また、液温が上昇するに従い、起泡力および泡安定度が悪くなった。
  - 2) 界面活性剤を炭化水素系の疎水性液体に添加した場合、起泡力及び泡安定度は確認されなかった。
- 以上により、SPG膜によるナノ／マイクロバブル生成技術を用いて、疎水性の原材料を用いた多孔質体の調製可能性は低いことが確認できた。

今後は、親水性の原材料で多孔質体を調製することを目指して、最適な界面活性剤の選抜試験を行う。

## 5 参考文献

- 1) 久木崎雅人，中島忠夫：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**48**，13-16 (2003)
- 2) 奥村大成，小島秀藏，田原直樹：日揮ジャーナル，1-1，1-6 (2011)
- 3) 久木崎雅人，鳥越清，和田翼，大榮薫，大島達也，馬場由成：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**52**，17-19 (2007)
- 4) 吉田時行，遠藤新一，大垣忠義，山中樹好共編：新版界面活性剤ハンドブック，工学図書，137 (1987)
- 5) 吉田時行，遠藤新一，大垣忠義，山中樹好共編：新版界面活性剤ハンドブック，工学図書，159 (1987)
- 6) 近藤正敏，田嶋和夫共著：界面化学，丸善，161 (2001)

## 廃油の微生物分解に関する研究\*

下池 正彦<sup>\*1</sup>・小玉 誠<sup>\*1</sup>・落合 克紀<sup>\*1</sup>・久木崎 雅人<sup>\*1</sup>

Study on the Biodegradation of Waste Oil

Masahiko SHIMOIKE, Makoto KODAMA, Katsunori OCHIAI and Masato KUKIZAKI

食料品製造事業所や飲食店などに設置されているグリストラップに蓄積する廃油の処理を目的として、微生物分解法による廃油処理装置（有効容量 120 L）を試作し、植物油脂ならびに飲食店廃油の分解実証試験を実施した。その結果、処理基材に対して約 9 wt%の油脂に相当する飲食店廃油を 2 週間ではほぼ完全に分解することができた。また、試験期間中の微生物叢の推移をPCR-DGGE（変性剤濃度勾配ゲル電気泳動）法により解析した結果、微生物叢に大きな変化は見られなかった。

キーワード：グリストラップ、廃油、微生物分解、PCR-DGGE

### 1 はじめに

当県には豊富な農畜水産資源を生かした食料品製造事業所や飲食店が数多く存在する。これらの事業所から発生する排水は油脂を多く含む傾向にあり、自然環境への配慮ならびに浄化槽・下水配管設備の機能維持の観点から排水中の油脂を分離・貯留するためのグリストラップの設置が必要となる。グリストラップは排水の流れを減速し、水と油の比重差によって油を浮上分離する設備であり、油脂に富む汚泥（以下、廃油と称す。）が日々蓄積する。この蓄積した廃油はグリストラップの機能低下を引き起こすとともに、悪臭や害虫の発生源となるため、設置者はこれを定期的に回収し産業廃棄物として適正に処理しなければならない。

近年、蓄積する廃油を処理する目的でグリストラップへのオゾン曝気や油脂分解微生物と曝気を組み合わせた処理等が試みられている。しかし、曝気によるかくはん作用によって油の浮上分離が阻害され油脂が流出するとの理由から、一部自治体ではこれらの処理を行わないよう指導している<sup>1,2)</sup>。

このように、グリストラップで発生する廃油は発生現場で処理することが難しいため、焼却等の委託

処理に頼らざるを得ず、処理費用の負担が課題となっている。本研究では、微生物分解処理に着目し、廃油を発生現場で適正かつ効率的に処理するための研究開発を行った。前報<sup>3)</sup>では 200 mL の小規模な実験系において廃油の処理条件に関する検討を行っており、本報では、その結果をもとに試作した有効容量 120 L の処理装置における植物油脂ならびに飲食店廃油の分解実証試験について報告する。

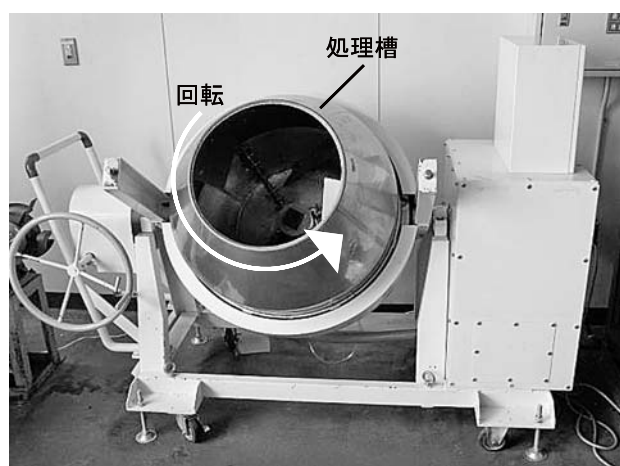
### 2 実験方法

#### 2-1 処理装置

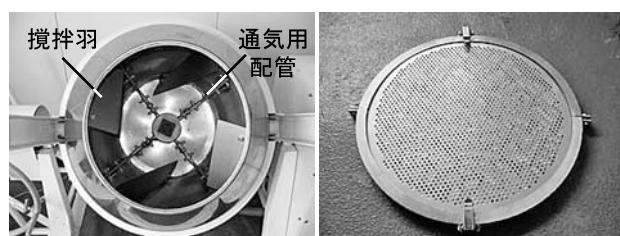
実験に使用した処理装置の外観を図 1 (a) に示す。有効容量は120 Lで、金属製のドラムをモーターで回転させることにより、小規模の動力でのかくはんを実現し、従来の同規模のコンポスト装置と比較して低コスト化を図った。処理槽の内壁には4枚のかくはん羽が設置されており（図 1 (b)）、ドラムが傾斜した状態で回転させることにより槽内のかくはんを行うことができる。処理槽の底部には通気用の配管が設置されており、油脂の好気性分解に必要な空気がブローアから供給される。また、処理槽の投入口にはパンチング板 2 枚で構成された上蓋（図 1 (c)）を取り付けることができ、パンチング板の間には必要に応じて断熱材や脱臭剤等を挟み込むことができる。

\* 廃油のコンポスト化における処理条件の検討（第 2 報）

\*1 資源環境部



(a) 装置の外観



(b) 処理槽の内部

(c) 上蓋

図1 処理装置

## 2-2 処理基材の調製

県内の油脂製造工場の土壌を植物油脂含有液体培地で集積培養することにより得られた *Bacillus licheniformis* を優占種とする培養液を初期微生物源として使用した。この培養液をオガクズと等量混合し、白絞油（日清オイリオグループ㈱，大豆なたね調合油）および栄養成分としてニュートリエントブロス（Difco社）を加え，50℃の恒温器内で馴化のための培養を行った。馴化後のオガクズ 10 L を未処理のオガクズ 110 L と混合し，含水率を約 50% に調整したものを処理装置に投入した。そして，1 kW のハロゲンランプによる加温のもと，白絞油およびニュートリエントブロスを加え微生物の増殖を促した。最終的な処理基材の重量は約 40 kg であった。処理基材の調製における微生物叢の推移を確認するため，定期的にサンプリングを行い，16S rRNA 遺伝子を対象とする PCR-DGGE 解析を行った。

## 2-3 植物油脂の分解実証試験

植物油脂として白絞油を用いて分解試験を行った。処理基材に対して約 5 wt% に相当する 2 kg の白絞油を 2 週間ごとに，栄養成分として 400 g の米ぬか

（県内農家より購入）を 1 週間ごとに投入した。かくはんは 1 日 2 分間とし，かくはんと同時に水を加え含水率が 50～60% の範囲になるように調整した。通気は 4 L/min で連続的に行い，1 kW のハロゲンランプによる加温条件下で試験を実施した。定期的にサンプリングを行い，ヘキサン抽出法による油脂含量の測定を行うとともに，PCR-DGGE 法による微生物叢の解析を行った。なお，油脂含量は処理基材がオガクズ，水分，油脂（ヘキサン抽出物）の 3 成分からなると仮定し，オガクズの単位乾燥重量あたりの油脂量として算定した。また，油脂分解率は油脂含量の減少量から算出した。油脂分解の評価は，前報<sup>3)</sup>では 1 週間を基準としたが，本報では油脂がほぼ完全に分解するのに約 2 週間を要したため，この期間で評価した。

## 2-4 飲食店廃油の分解実証試験

飲食店のグリストラップに蓄積した廃油を用いて分解試験を行った。使用した廃油は油脂 74%，水分 26% であり，5 kg の廃油（約 9 wt% の油脂に相当）を 2 週間ごとに投入した。その他の条件は植物油脂の分解試験と同じであった。

## 3 結果および考察

### 3-1 処理基材中の微生物叢の推移

処理基材の調製における PCR-DGGE プロファイルを図 2 に示す。液体集積培養で得られた培養液をオガクズと混合した直後に見られるバンド A は培養液中の優占種である *Bacillus licheniformis* に対応するものであり，その他，オガクズに由来する微生物のバンドが確認された。これを，まず，恒温器による培養を行ったところ，14 日目以降においてバンド A は確認されなくなった。いわゆる油脂分解微生物としての効果を期待して培養液をオガクズに加えたが，培養液中の優占種はオガクズ中で優占種とならなかった。それ以降，培養の進行とともに出現するバンドの数が減少しており，油脂を含むオガクズ中で生存可能な微生物が集積されたものと考えられる。次に，恒温器における馴化後のオガクズを未処理のオガクズと混合し，処理装置によって培養を継続した。これにより微生物叢はさらに大きく変化した。恒温器は常に 50℃ で閉鎖系に準ずる環境と考えられるのに対して，処理装置では昇温速度が緩や



かであり、他菌の混入が起りやすい開放系の環境である。このような環境の変化に対して、恒温器内で優占種であった微生物は順応できなかったものと考えられる。以上のことから、特定の微生物を長期的に優占種として維持する油脂分解用処理基材を調製するためには、純粋培養や最適条件による培養などの一般的な微生物学的手法を用いることよりも、実際の処理環境に酷似した条件において長期的に培養することが重要であると考えられた。液体集積培養で得られた微生物を活用した処理基材を調製することはできなかったが、結果的に、処理装置において構築された微生物叢が、実際の処理環境に順応した油脂分解に関する微生物からなると考え、この処理基材を用いて以後の試験を行った。

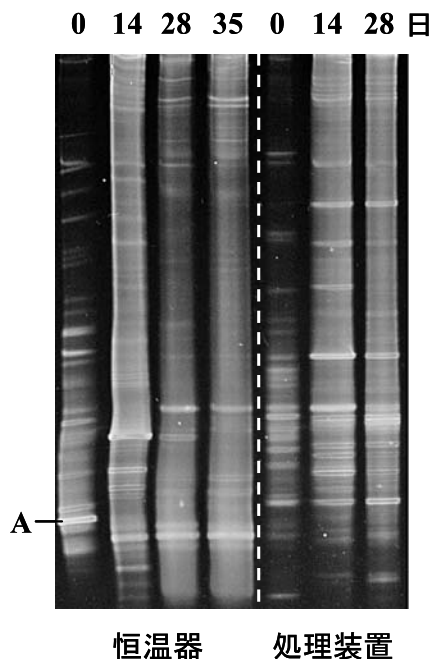


図2 処理基材の調製におけるPCR-DGGEプロファイル

### 3-2 植物油脂の分解

植物油脂の分解における処理槽中心部の温度変化を図3に示す。初日および14日目に白絞油と米ぬかを投入したところ、温度は速やかに上昇し、24時間後には約60℃に達した。その後、定期的に見られる急激な温度低下は、温度センサを処理槽から抜いたことと、かくはんを行ったことの双方に起因する。7日目および21日目に米ぬかのみを投入したところ

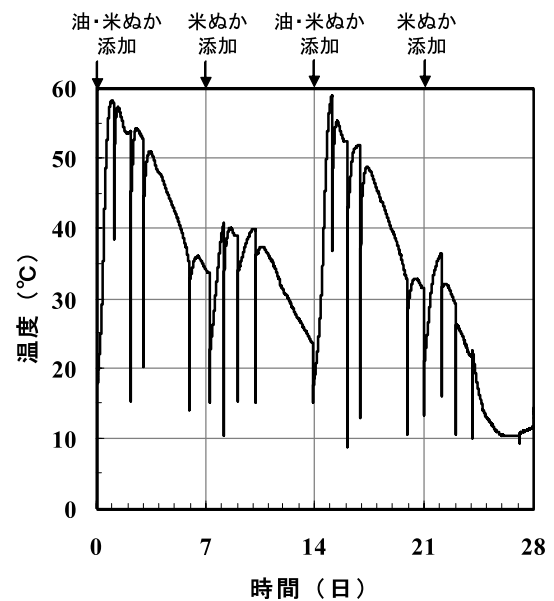


図3 植物油脂分解時の処理槽温度

温度は40℃程度までしか上昇せず、微生物活動に伴う熱の発生は植物油脂の資化によるところが大きいと推察される。

次に、処理槽内の油脂分解率の経時変化を図4に示す。処理基材に白絞油を2 kg投入し、分解試験を開始すると、徐々に油脂が分解された。2回の投入ともに14日後には投入前の油脂含量に戻ることから、本装置は、処理基材に対して約5 wt%の油脂添加のときに、約2週間で分解可能であった。

図5に植物油脂の分解におけるPCR-DGGEプロ

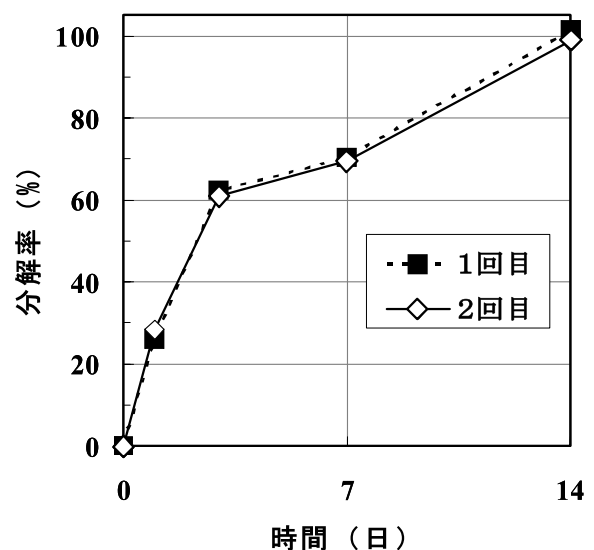


図4 植物油脂の分解における油脂分解率の変化



ファイルを示す．時間経過とともに消滅，出現するバンドも一部見られるが，4週間の分解試験を通して微生物叢に大きな変化は見られなかった．このような安定した微生物叢の推移が，2回の油脂の投入において安定した油脂分解を実現できた理由であると考えられる．

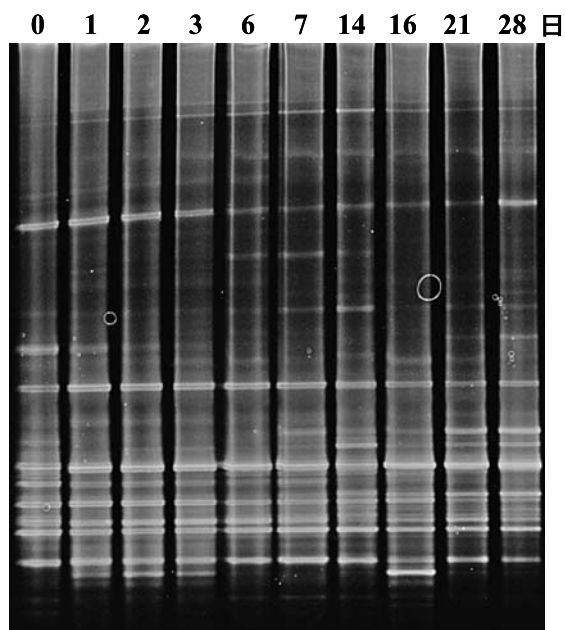


図5 植物油脂の分解におけるPCR-DGGEプロファイル

### 3-3 飲食店廃油の分解

飲食店廃油の分解における処理槽中心部の温度変化を図6に示す．実験に使用した廃油はグリストラップに約2か月蓄積したものであり，流動性がほとんどない状態であった．そのため，廃油を処理槽に投入してかくはんを行っても均一に分散せず，オガクズを巻き込んで塊状となる廃油が複数存在した．廃油投入後の温度上昇は植物油脂の場合に比べて低い，その原因は廃油が均一に分散しなかったためと考えられる．このような塊状の廃油は時間とともにほぐれやすくなり，定期的なかくはんによって最終的には槽内に分散した．

一方，21日目以降に温度が50℃付近まで上昇しているが，これは，2回目の廃油投入後にかくはんを一度しか行わず，塊状に存在していた廃油が21日目のかくはんによって槽内に分散したためと考えられる．以上のことから処理装置内に塊状の廃油を破

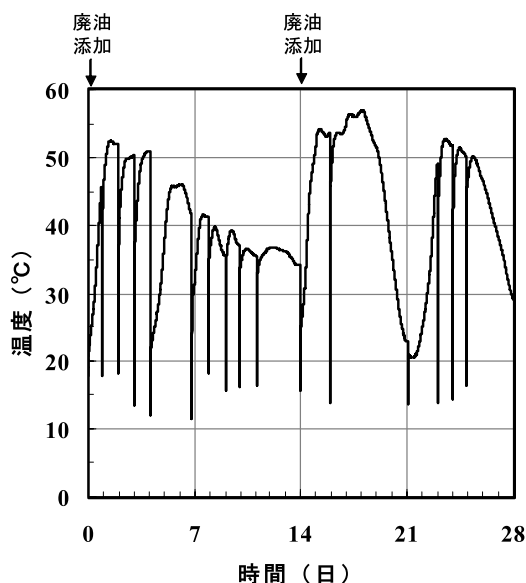


図6 廃油分解時の処理槽温度

砕する機構を付属することで更なる分解率の向上が期待できる．

次に，処理槽内の油脂分解率の経時変化を図7に示す．植物油脂と同様，廃油を投入した場合も油脂分解率は徐々に減少した．1回目の投入では，14日後の油脂分解率は投入した廃油の約80%の分解にとどまったが，2回目は投入量に相当する廃油が完全に分解され，蓄積量の増加は見られなかった．実験に使用した廃油は流動性がなく，植物油脂に比べて極めて低質なものであったが，本試験ではほぼ完

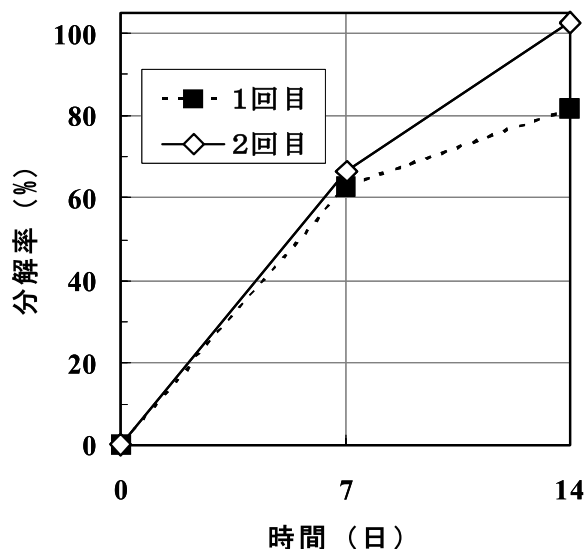


図7 廃油の分解における油脂分解率の変化

全に分解することができた。以上の結果から、廃油処理については、基材に対して約 9 wt% の油脂に相当する廃油を 2 週間間隔で連続投入可能であることが示唆された。

植物油脂の分解とそれに引き続く廃油の分解における PCR-DGGE プロファイルを図 8 に示す。処理装置内の微生物叢は一連の実証試験を通して大きく変化することはなく、特に多様な微生物が生存する廃油を投入した場合でも微生物叢は安定であった。DGGE プロファイルから処理基材には多くの微生物が存在することが確認され、多様な微生物が共存して油脂分解が行われていると考えられる。廃油に由来する外来菌の導入に対しても、この多様な微生物が集団として抵抗性を示したものと推察される。このことから、本処理装置において長期的に安定した油脂分解が可能であると示唆された。また、このような DGGE プロファイルは安定した堆肥化処理の過程においても確認されるものである<sup>4)</sup>。

以上の結果から、試作した処理装置は廃油を安定して処理することができ、グリストラップに蓄積する廃油の処理を実現できる可能性が高いと考えられる。今後、飲食店などに処理装置を設置して長期間の実証試験を行うとともに、装置や操作法を改良していく必要があると考えられる。

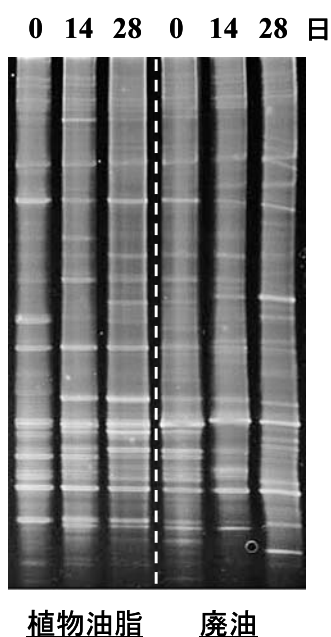


図 8 実証試験中の PCR-DGGE プロファイル

## 4 まとめ

グリストラップに蓄積する廃油処理を目的として、有効容量 120 L の処理装置を試作し、植物油脂と廃油の分解実証試験を実施し、次のことが明らかとなった。

- (1) 基材に対して約 5 wt% の植物油脂を添加したとき 2 週間で分解された。
- (2) 基材に対して約 9 wt% の油脂に相当する飲食店廃油を添加したとき 2 週間で分解された。
- (3) 実証試験を通して微生物叢の大きな変化は見られず、特に多種多様な微生物が生存している廃油を投入しても、微生物叢はほとんど変化しなかった。

## 5 参考文献

- 1) 堺市上下水道局  
[http://water.city.sakai.lg.jp/gesuidou/file/gesui\\_siyou01.pdf](http://water.city.sakai.lg.jp/gesuidou/file/gesui_siyou01.pdf)
- 2) 近江八幡市下水道課  
<http://www.city.omihachiman.shiga.jp/cmsfiles/contents/0000004/4348/tirashi.pdf>
- 3) 落合克紀, 小玉誠, 溝添暁子, 里岡嘉宏, 久木崎雅人: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **55**, 1-5 (2012)
- 4) 春田伸, 五十嵐泰夫: 環境バイオテクノロジー学会誌, **4-1**, 29-39 (2004)

# マイクロバブルを用いた微生物培養に関する研究

久木崎 雅人<sup>\*1</sup>・小玉 誠<sup>\*1</sup>・奥村 大成<sup>\*2</sup>・田原 直樹<sup>\*2</sup>・小島 秀藏<sup>\*2</sup>

Study on Microbial Culture Using Microbubbles

Masato KUKIZAKI, Makoto KODAMA,  
Taisei OKUMURA, Naoki TAHARA and Shuzo KOJIMA

抗体医薬品や酵素生産の分野では、微生物や細胞を高密度で培養することにより、これらを大量に効率良く生産できる培養装置（バイオリアクター）の開発が求められている。本研究では、工業技術センターが開発したシラス多孔質ガラス（SPG）膜を用いて、酸素を内包するマイクロバブルを培養液に供給し、酸素溶解速度の測定と微生物増殖の評価を行った。その結果、従来の散気管よりも培養液に対する酸素供給や微生物増殖の速度が増大した。この結果から、SPG膜は高い酸素供給性能を必要とする高密度の微生物培養に適した散気管として利用できる可能性が高いと考えられる。

キーワード：マイクロバブル、微生物培養、シラス多孔質ガラス膜、スパージャー、酸素溶解速度

## 1 はじめに

ワクチン等の抗体医薬品は主に、鶏卵を用いて製造されている。例えばインフルエンザワクチンの製造では、孵化鶏卵にワクチン株を接種し、増殖したウイルスを精製・不活性化して高純度のワクチンが作られ、これを安定して供給するため、高品質の孵化鶏卵を大量に準備する必要がある。しかしながら、ひとたび、鳥インフルエンザなどのパンデミック（大流行）が発生すると、雛から卵の準備までに長期間を要するため、パンデミックに対応できなくなる可能性が高い。このような鶏卵を用いたワクチン製造法では煩雑な手間と、製造に長期の時間を要するといった課題を抱えているのが現状である。このようなパンデミックに対応できる迅速で効率的なワクチン製造するため、鶏卵法から細胞培養によるワクチン製造法への転換が求められている。細胞培養法では無菌的な環境の培養槽内において、ウイルスが増殖できる細胞を大量に、しかも短期間で培養することが必要であり、細胞の増殖に必要な酸素を効率よく供給しなければならない。このための手段と

して、マイクロバブルを培養液に発生させ、酸素を培養液に溶解させる方法がある。マイクロバブルは径が小さいので、ガスと液との接触面積が大きく、気泡の液中滞留時間が長い特徴がある。

マイクロバブルの生成法は、ガスと液に強力なせん断力を加えて気泡を生成する方法と、細孔にガスを吹き込み、気泡を生成する方法に大別される。前者は、液を激しくかくはんしなければ微細気泡を生成できないため、培養液のかくはんにより細胞が損傷を受ける問題がある。一方、散気管の細孔から気泡を生成する方法では、大きな細孔から優先的に気泡が生成し、均一で微細な気泡を大量に生成することは難しい。工業技術センターでは、均一で微細な細孔を有するシラス多孔質ガラス（SPG）<sup>1)</sup>を散気管として用いることで、サイズの揃ったマイクロバブルを生成する技術を開発した<sup>2)</sup>。この技術では、膜の細孔を介してガスを液相に加圧することにより細孔径に対応したサイズのマイクロバブルを生成することができる。また、バブルのサイズはSPG膜の孔径を調節することでコントロールが可能である。一方、微生物や動物細胞の培養については、培養液への効率的な酸素溶解技術と、細胞へのダメージを極力抑制するためマイルドな条件下で微細気泡

\*1 資源環境部

\*2 日揮株式会社

を生成する技術の双方が求められており、本技術は細胞培養や微生物培養に極めて適した気泡生成法であると予想される。

本研究では、抗体医薬品を効率よく生産できる培養装置（バイオリアクター）の開発を目的として、SPG 膜を用いたマイクロバブル生成技術を微生物の培養に適用するための基礎的な検討を行った。すなわち、SPG 膜を用いて酸素を内包するマイクロバブルを培養液に供給したときの酸素の溶解速度を測定するとともに、大腸菌を用いて菌体増殖速度を調べ、一般的に用いられているオリフィススパージャーの結果と比較評価したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 培養液中への酸素溶解速度の測定

図1に実験装置の概念図を示す。酵母の培養に用いる培養液 2 L に通気速度 150 mL/min の条件で、図2(a)に示す管状SPG膜（SPGテクノ(株)製）のモジュールに空気を供給し、マイクロバブルを生成させた。培養液の液温は30℃一定とし、かくはんを行った。かくはんの回転数は 150~650 rpm の範囲で変化させた。SPG膜の平均孔径は約 1 μm で、膜の内側から外側にマイクロバブルを生成させた。培養液は一般に用いられている酵母用の液体培地を用いた。

培養液中への酸素供給の性能評価の指標として総括酸素移動容量係数( $K_La$ )を用いた。 $K_La$ は、液

相への酸素溶解速度を示す値であり、培養槽設計において通気かくはん効果を定量的に評価するために用いられている。また、比較のために、一般的な散気管として用いられているオリフィススパージャー（図2(b)）の $K_La$ を比較対象として測定した。培養液に溶解した酸素濃度は溶存酸素濃度計を用いて経時的に計測し、 $K_La$ を次式により求めた。

$$\ln \frac{C^* - C_{ini}}{C^* - C} = K_L a t \quad (1)$$

ここで $C^*$ 、 $C_{ini}$  および $C$  は、それぞれ飽和溶存酸素濃度(mg/L)、初期溶存酸素濃度(mg/L)および時間 $t$ (h)における溶存酸素濃度(mg/L)である。



(a) SPG膜モジュール



(b) オリフィススパージャー

図2 散気管の外観写真

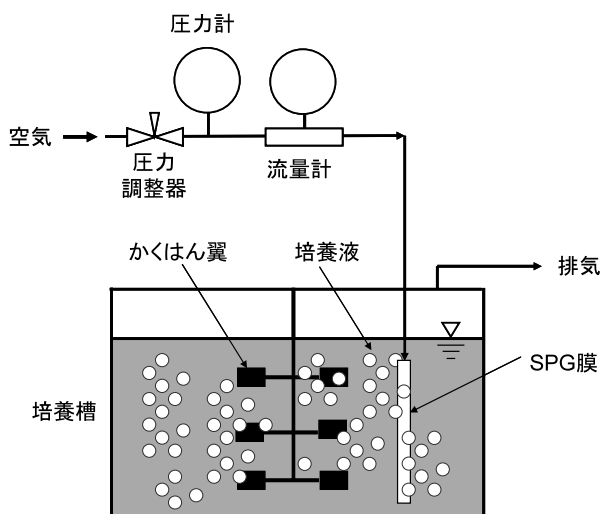


図1 実験装置の概念図

### 2-2 培養液中の菌体増殖速度の測定

マイクロバブルの微生物培養への適用性を評価するため、SPG 膜を用いたマイクロバブル生成法と、一般に用いられているオリフィススパージャーを用いたバブル生成法による培養の比較試験を行った。実験では大腸菌(*Escherichia coli*)を用いて、2 L の培養液に通気速度 150 mL/min の条件でバブルを生成し、このときの菌体増殖速度を求めた。培養液の液温は30℃で、かくはんの回転数は 350 rpm



一定とし、菌体濃度を濁度法（波長 600 nm）により求めた。なお、大腸菌を選択した理由は、大腸菌が溶存酸素濃度に依存して菌体の増殖量が変化する通性嫌気性菌であるためである。

### 3 結果および考察

#### 3-1 培養液中への酸素溶解速度の評価

図3に、SPG 膜およびオリフィススパージャーを用いたときの総括酸素移動容量係数の測定結果を示す。図からSPG 膜を用いた酸素供給性能は、培養液のかくはん回転数にかかわらず、オリフィススパージャーを用いた場合より優れていることがわかった。また、かくはん回転数が小さいほど、オリフィススパージャーとSPG 膜の酸素供給速度の差が増大し、SPG膜の方が最大で約10倍高い値となった。この結果はバブルのサイズを反映したものと考えられる。すなわち、SPG膜からはマイクロバブルが生成するのに対して、オリフィススパージャーでは粗大な気泡が発生するため、前者の方が気/液界面積が増大し、酸素溶解速度が高くなると推察される。

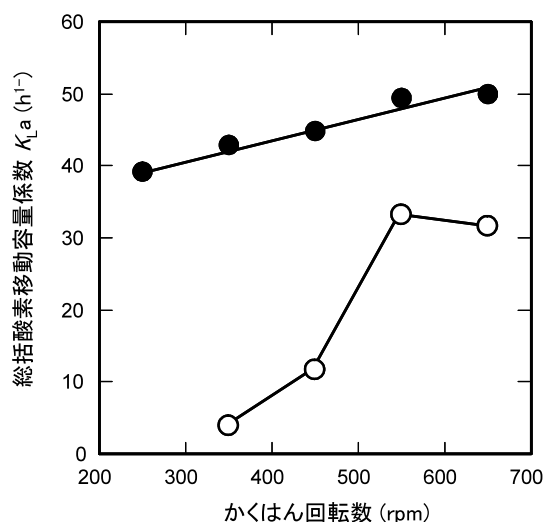


図3 かくはん回転数がマイクロバブルの総括酸素移動容量係数に及ぼす影響  
(●) SPG膜, (○)オリフィススパージャー

#### 3-2 培養液中の菌体増殖速度の評価

マイクロバブルを用いた微生物培養の適用可能性を検討するため、大腸菌の増殖速度を測定した。図4に SPG膜およびオリフィススパージャーを用いたときの大腸菌培養における菌体濃度の経時変化を

示す。SPG膜を用いた場合は、増殖速度および菌体の最終到達濃度のいずれもオリフィススパージャーを用いたときより高い値が得られた。なお、SPG膜から生成したマイクロバブルによる大腸菌の増殖阻害は認められなかった。

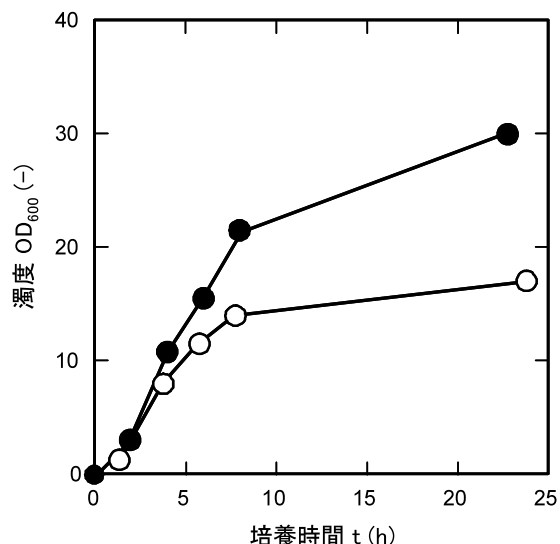


図4 大腸菌の培養における菌体濃度の経時変化  
(●) SPG膜, (○)オリフィススパージャー

### 4 まとめ

細胞培養法による抗体医薬品等の製造装置を開発することを目的に、SPG膜により生成したマイクロバブルを用いて培養液中への酸素供給能や菌体の増殖速度を評価し、一般に用いられているオリフィススパージャーを用いた場合と比較した。その結果、SPG膜を用いたとき微生物に損傷を与えない低かくはんの条件下で、高い酸素供給能と菌体増殖能の双方を有することを明らかにした。本研究の結果から、SPG膜は微生物を高密度で培養できる散気管と考えられた。今後、動物細胞を用いた試験を行い、装置開発に取り組む予定である。

### 5 参考文献

- 1) M. Kukizaki, *J. Membr. Sci.*, **360**, 426-435 (2010)
- 2) M. Kukizaki et al., *Colloids and Surfaces A*, **296**, 174-181 (2007)

# 米粉パンの膨らみに及ぼすグルテン添加量の影響と グルテンフリー米粉パンの試作\*

高橋 克嘉<sup>\*1</sup>・柚木崎 千鶴子<sup>\*1</sup>

Effects of Gluten Addition on Specific Volume of Rice Bread  
and Trial Manufacture of Gluten-Free Rice Bread

Katsuyoshi TAKAHASHI and Chizuko YUKIZAKI

米粉の利用普及拡大に向け、製パン時の最適なグルテン添加量について検討を行った。2種のグルテンについて最適な添加量を求めたところ、両方ともグルテンのタンパク質の量が米粉ミックス全体の11%となる量である可能性が示唆された。また、グルテンを用いないグルテンフリー製パンについても検討を行った。パンの膨らみは加水量により変化し、80%の加水量が最も膨らみが良くなった。また、製パン性の向上を目指し、増粘剤の添加についても検討を行った。増粘剤の添加により比容積は増加したが、パン内層の上部に空隙が発生した。ただ、一部増粘剤を添加したものは、その気泡が細かく、壁が薄くなっており、パンの内層を改善する効果があると期待された。

キーワード：米粉、米粉パン、グルテン、グルテンフリー

## 1 はじめに

現在、食糧自給率の向上や、水田利用率増加を目的として、炊飯以外の米利用が広く求められている。炊飯以外への米利用としては、米を「米粉」に加工し利用する研究が広く行われている。米粉利用法の一つとして「米粉パン」がある。米粉パンに関して様々な研究が行われており、その品質や膨らみは使用する米粉の特性により大きく変化することが分かってきている。そして米粉の特性は、原料である米の品種や、製粉方法等により異なる。当センターでは、通常は乾式で使用する衝撃式粉碎機でも、水分調整して粉碎することにより、製パンに適した米粉が製造可能であることを見いだしている<sup>1)</sup>。

米粉でパンを製造する場合、米粉には小麦粉と違ってグルテンが存在しないため、同じ製法では小麦粉と同様のパンを製造することが難しい。そこで、大部分の米粉パンは小麦から抽出されたグルテンを添加して製パンが行われている。本研究では、2種の

グルテンを使用し、適正なグルテン添加量について検討を行ったので報告する。

また、グルテンは小麦タンパク質であるため、グルテンを配合した米粉パンは、米粉がメインでありながらも小麦アレルギーの人は食することができない。このため、グルテンを用いずに製パンを行う技術の開発が重要となっている。そこで、グルテンを用いないグルテンフリー米粉パンについても検討を行ったので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 試験試料

グルテン添加試験に用いた米粉は、平成23年度宮崎県産米をミヤベイ直販(株)にて気流式粉碎した米粉(水分12.55%、平均粒径48.3 μm、損傷澱粉率4.2%)を使用した。グルテンは、シトギグルテンミックス((株)丸菱製)(以下、グルテンA)および小麦グルテン(日本製粉(株)製)(以下、グルテンB)を使用した。

グルテンフリー製パンに用いた米粉は、平成23年度宮崎県産米を当センターにて湿式粉碎(20分吸水

\* 県産米粉の加工適性向上に関する研究(第3報)  
\*1 食品開発部

後60分静置した米を、衝撃式粉碎機を用いて0.2mmスクリーンで粉碎した米粉（水分12.75%，平均粒径91  $\mu\text{m}$ ，損傷澱粉率2.2%）を使用した．増粘剤としては，グアガム（伊那食品工業(株)製，GR-10），タラガム（伊那食品工業(株)製，タラガムA），ローカストビーンガム（伊那食品工業(株)製，L-15），キサントガム（伊那食品工業(株)製，V-10K），カラギナン（伊那食品工業(株)製，E-150），ペクチン（伊那食品工業(株)製，JP-12）を使用した．

## 2-2 製パン試験

グルテンを添加する米粉パンは，表1に示す原料及び配合により，直捏生地法<sup>2)</sup>にて試作した．油脂を除く原料をミキサー（(株)愛工舎製作所製，KM-800）を用いて1速3分，2速2分のミキシング後，油脂を添加し1速3分，2速2～3分ミキシングした．生地は420 gに分割し，10分間ベンチタイムを取った．約1 cmの厚さに麺棒でのばした後，ワンローフ型に整形して，パン型（スルトン加工1斤型，内寸L180×W80×H90 mm）に詰め，38℃，RH80%に設定したホイロ（北沢産業(株)製，BPB-12）で60分発酵を行った後，電気オーブン（(株)ワールド精機製，FE-21DT）で20分焼成した（上火205℃，下火200℃）．

表1 米粉パンの原料及び配合（グルテン入り）

| 原料           | ベーカーズ%  |
|--------------|---------|
| 米粉ミックス       | 100     |
| 米粉（水分 13%換算） | (85～80) |
| グルテン         | (15～20) |
| 食塩           | 1.8     |
| 砂糖           | 6       |
| ドライイースト      | 1.5     |
| 脱脂粉乳         | 5       |
| ショートニング      | 3       |
| バター          | 3       |
| 水            | 74      |

グルテンフリーの米粉パンは，表2に示す原料及び配合により試作した．水，食塩，砂糖及び増粘剤をミキサー（(株)愛工舎製作所製，KM-800）を用いて2速2分ミキシングした後，米粉及びドライイーストを添加して1速2分ミキシングした．さらに菜種油を添加して1速2分，2速2分ミキシングした．生地は450 gをパン型（スルトン加工1斤型，内寸L180×W80×H90 mm）に入れ，表面が平らにな

るようヘラで成形した．35℃，RH80%に設定したホイロ（北沢産業(株)製，BPB-12）で65分発酵を行い，デッキ式オーブン（(株)ワールド精機製，FE-21DT）で200℃，25分焼成した．

表2 米粉パンの原料及び配合（グルテンフリー）

| 原料           | ベーカーズ%   |
|--------------|----------|
| 米粉ミックス       | 100      |
| 米粉（水分 13%換算） | (100～99) |
| 増粘剤          | (0～1)    |
| 食塩           | 1.8      |
| 砂糖           | 6        |
| ドライイースト      | 1.5      |
| 菜種油          | 6        |
| 水            | 75～100   |

## 2-3 各種物性測定試験

タンパク質含量はケルダール分析装置（スーパーケル1500，ACTAC製）で測定し，タンパク換算係数5.95を用いて換算した．

パン容積は，一定容器内にパンを静置し，空隙を菜種で充填することで容器内に占めるパンの体積を計算する方法（菜種置換法）で測定し，比容積（パン容積(mL) / パン重量(g)）を算出した．パン硬度は，厚さ2 cmにスライスし，クラムの中央部を4×4 cmにカットした試料をレオメーター（(株)サン科学製，CR-200DS）の試料台に設置し，直径2 cmの円盤形プランジャーを圧縮速度2.0 mm/sで作動させ，試料厚みに対する圧縮率が25%の時点の応力とした．パンの観察は，デジタルカメラによる撮影及び走査型電子顕微鏡（(株)日立製作所製，S-510）を用いて，加速電圧15 kV，倍率500倍で観察を行った．

## 3 結果および考察

### 3-1 グルテンによる製パン性の違い

試験に用いた2種のグルテンの水分量は，グルテンAが7.83%，日本製粉のグルテンBが7.65%であった．タンパク質含量は，グルテンAが59.5%，グルテンBが65.3%であった（水分13%換算）．グルテンAは麦芽糖を配合しているのでタンパク質含量が低い結果になっていると思われる．グルテンAを，グルテンBと同じタンパク量で配合しようとした場合，1%以上多く配合する必要がある．

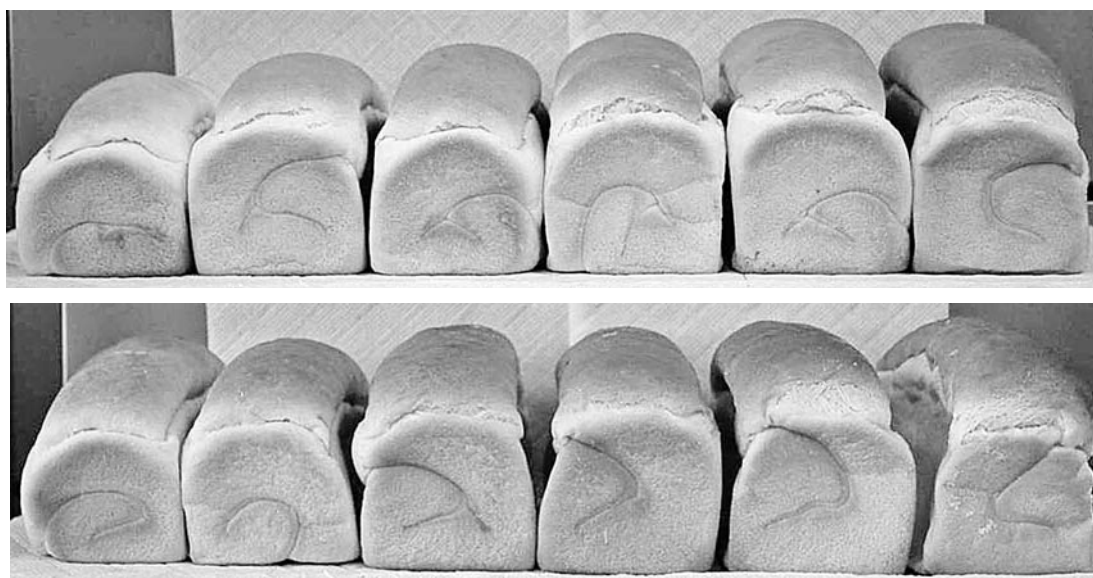


図1 焼成したパンの外観  
(左より、グルテン量15, 16, 17, 18, 19, 20% 上段：グルテンA 下段：グルテンB)

表3 グルテン量とパン品質（グルテンA）

| グルテン量<br>(%) | 比容積<br>(mL/g) | 硬度<br>(kPa) | パン高さ<br>(cm) |
|--------------|---------------|-------------|--------------|
| 15           | 2.66          | 3.0         | 9.5          |
| 16           | 3.02          | 2.2         | 10.5         |
| 17           | 3.08          | 2.1         | 10.9         |
| 18           | 3.19          | 1.9         | 11.3         |
| 19           | 3.25          | 1.6         | 11.7         |
| 20           | 3.21          | 1.7         | 11.7         |

表4 グルテン量とパン品質（グルテンB）

| グルテン量<br>(%) | 比容積<br>(mL/g) | 硬度<br>(kPa) | パン高さ<br>(cm) |
|--------------|---------------|-------------|--------------|
| 15           | 2.82          | 2.8         | 10.4         |
| 16           | 2.93          | 2.2         | 10.5         |
| 17           | 3.05          | 1.9         | 11.1         |
| 18           | 3.11          | 2.4         | 11.2         |
| 19           | 3.05          | 1.9         | 11.6         |
| 20           | 3.06          | 2.2         | 11.5         |

以前、当センターの福山ら<sup>3)</sup>は乾式製粉の米粉を用いた場合の米粉パンにはグルテン添加量22%が最適であると報告している。これは、米粉100に対しての添加割合であり、米粉とグルテンをミックスした米粉ミックスを100としたときのグルテン配合割合としては約18%となる。また、谷ら<sup>4)</sup>は、15、20、30%のグルテン配合割合では20%が最も良好であると報告している。このことから、グルテン配合割合を15～20%と変化させ、最適な配合割合を検討した。

グルテンAの場合、配合割合15%が、明らかに比容積が小さくなった（表3）。これは、今回水分量13%換算でグルテン量を決定したため、水分を計算せずに添加する場合と比べグルテン量が減少（150 g → 141.6 g）し、元々タンパク質含量の少ないグルテンAではグルテンの不足が顕著に表れたためと考えられる。比容積はグルテン量の増加と共に増大する傾向が見られ、19～20%で最大となった。しかし、パ

ンの形状を見ると、18%からわずかにケービング（パンの腰折れ）が発生し、19、20%と、くぼみがさらに大きくなった。総合的に判断すると、18～19%が膨らみも良くケービングも少ない配合割合であると考えられた。

グルテンBの場合、15%配合でもある程度の膨らみがあった（表4）。これは、グルテンAと比べタンパク質含量が高く、同じ配合割合でも米粉ミックス中のグルテン割合が高くなるためと考えられる。比容積は、グルテンAの場合と同様に、添加量の増加と共に増加する傾向が見られた。しかし、グルテンAの場合よりもさらにケービングが激しく、19、20%では逆に比容積が減少する傾向が見られた。グルテンBの場合は、配合割合は17%が良いと考えられた。

両者の最適と思われる配合割合は、グルテンAが18～19%、グルテンBが17%となった。これは福山らの報告と近い値となっている。2種のグルテンは



タンパク質含量が違うので、両者を米粉ミックスとして配合した場合の、米粉ミックス全体に占めるグルテンのタンパク質含量という点から比較を行った。それぞれのグルテンの最適配合割合（18～19%（A）、17%（B））で比較すると、両者ともに米粉ミックス中に占めるグルテンのタンパク質含量は約11%という結果になった（表5）。このことから、米粉ミッ

クス中にグルテンタンパク質として11%となるように配合するのが製パンに最も適しているのではないかと考えられた。グルテンが少ないと、うまくグルテンによる膜を形成しきれずに膨らまず、逆にグルテンが多すぎると構造を支える澱粉が足りず、一時的に膨らむが構造を支えきれずにケービングが発生すると考えられる。

表5 同じタンパク質含量になる配合割合（水分13%換算）

| タンパク質含量 (%) | 9.8  | 10.5 | 11.1 | 11.8 | 12.4 | 13   |
|-------------|------|------|------|------|------|------|
| グルテン A      | 16.5 | 17.6 | 18.7 | 19.8 | 20.9 | 21.9 |
| グルテン B      | 15.0 | 16.0 | 17.0 | 18.0 | 19.0 | 20.0 |

※米粉ミックスを 100 とした場合の割合 (%)



図2 パンの断面形状（左より加水量75%，80%，85%，90%，100%）

表6 加水量とパン品質

| 加水量 (%) | 比容積 (mL/g) | パン硬度 (kPa) | パン高さ |
|---------|------------|------------|------|
| 75      | 2.04       | 5.68       | 5.7  |
| 80      | 2.44       | 2.34       | 6.7  |
| 85      | 2.12       | 2.77       | 6.3  |
| 90      | 1.84       | 3.95       | 5.7  |
| 100     | 1.47       | 13.50      | 3.5  |

### 3-2 加水量による製パン性の違い

グルテンフリーの米粉パン試作に当たって、まず最適な加水量について検討を行った。加水量は75～100%と変化させた。発酵時の生地の様子を観察すると、加水量が75～90%と増加するにつれ、生地の膨張は増加する傾向が見られた。100%のものは、発生するガスが生地上面から大きく抜け出ている様子が観察され、発酵による膨らみは他と比べ大幅に小さくなった。これは生地の粘性が低く、発酵により発生する気泡を保持できていないためと考えられた。焼成を行うと、75%、80%のものはわずかに縮小しつつもその形状が保持されたが、85%、90%のものは縮小が大きく、中央部分が大きく凹んだ（図2）。比容積を比較すると、加水量80%が最も大き

く、パンの硬度も一番小さい結果となった（表6）。断面から気泡の状態を観察したところ、80%は小さな気泡が均一に存在していたのに対し、加水量の多いものは壁の厚い大きな気泡で構成されていた（図2）。これは水の増加により生地の粘性が低下し、焼成時の急激な膨張に対して気泡を保持することが出来ず、気泡が壊れて大きな空隙となったためと考えられた。また、中央部が凹んだのは、壁面が比較

表7 増粘剤とパン品質

| 増粘剤        | 添加量 (%) | 比容積 (mL/g) | パン硬度 (kPa) | パン高さ (cm) |
|------------|---------|------------|------------|-----------|
| グアガム       | 0.5     | 2.70       | 1.84       | 8.5       |
|            | 1.0     | 2.47       | 1.97       | 7.5       |
| タラガム       | 0.5     | 2.75       | 1.97       | 8.3       |
|            | 1.0     | 2.53       | 1.95       | 7.3       |
| ローカストビーンガム | 0.5     | 2.59       | 2.08       | 7.0       |
|            | 1.0     | 2.81       | 1.43       | 8.5       |
| キサンタンガム    | 0.5     | 2.44       | 1.89       | 7.5       |
|            | 1.0     | 2.61       | 1.46       | 8.5       |
| カラギナン      | 0.5     | 1.77       | 8.57       | 5.1       |
|            | 1.0     | 1.46       | 16.34      | 4.3       |
| ペクチン       | 0.5     | 2.59       | 2.23       | 6.9       |
|            | 1.0     | 2.56       | 1.66       | 7.5       |

的早く焼成され形状が保持されたのに対し、中央部は焼成されるまでに時間がかかり、その間ガスが抜け続けたためと考えられた。以上から、加水量80%が最適であると判断された。

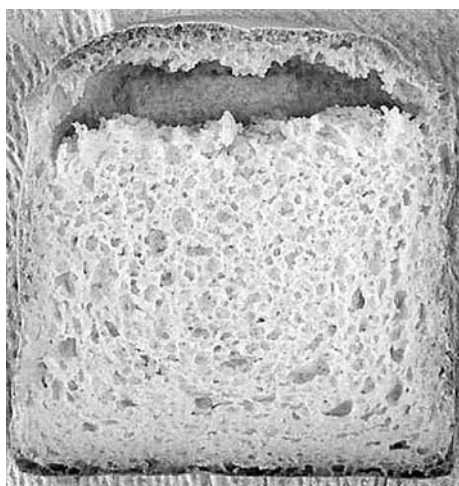


図3 増粘剤添加パンの断面形状  
(グアガム0.5%添加)

### 3-3 増粘剤による製パン性の違い

増粘剤の添加試験は、最もふくらみの良かった加水量80%にて実施した。添加した6種の増粘剤のうち、カラギナンのみは大幅に膨らみが低下した(表7)。カラギナンを添加すると生地 hardness が大幅に増加し、その状態は加水量が少ない生地の状態に類似していた。このことから、カラギナンに水が吸着され、生地の水が足りない状態になり膨らみが悪くなったと考えられた。その他の増粘剤は、比容積が増加したが、その断面を見てみると、上部に空洞ができていた(図3)。そのため、実質的な比容積増加は少ないと判断された。ただ、グアガム、タラガム、ペクチンを添加したものは、その気泡が細かく、壁が薄くなっており、パンの内層を改善する効果が期待された。

## 4 まとめ

- 1) 米粉パンにおけるグルテンの最適な添加量は、グルテンのタンパク質量が米粉ミックス全体の11%となる量である可能性が示唆された。
- 2) 米粉のみによる製パンでは、80%の加水量が最適であった。
- 3) 増粘剤の添加による膨らみの増加はわずかであっ

たが、内層の改善が期待された。

## 5 参考文献

- 1) 高橋克嘉, 奥西智哉, 鈴木啓太郎, 柚木崎千鶴子, 鈴木保宏, 日本食品科学工学会誌, **58**-2, 55-61 (2011)
- 2) 内田迪夫, パンの種類と製法, 「製パンプロセスの科学」第1版, 光琳, 13-14 (1991)
- 3) 福山明子, 日高照利, 十川隆博, 工藤哲三, 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, **49**, 89-93 (2005)
- 4) 谷洋子, 佐藤真実, 内田千晶, 仁愛大学研究紀要, **2**, 11-20 (2010)

# 漬物の加熱殺菌条件と品質評価に及ぼす影響\*

野上 麻美子\*<sup>1</sup>・柚木崎 千鶴子\*<sup>1</sup>・福山 明子\*<sup>1</sup>

Effect of the Pickles Quality by Condition of the Heat for Sterilization

Mamiko NOGAMI, Chizuko YUKIZAKI and Akiko FUKUYAMA

本研究では、宮崎県干したくあん・漬物研究会会員企業を訪問し、加熱殺菌時の漬物の中心部温度を確認した。また、たくあんの特徴である「歯切れ」等について、加熱殺菌の条件を変え、品質評価を行った。いずれの企業も「漬物の衛生規範」で規定されている「65℃で10分間(中心部)」の加熱殺菌条件がクリアされており、加熱殺菌による品質管理がしっかり成されていた。また、加熱処理直後のたくあんの評価については、干しおよび塩押しのいずれも未加熱のものと比較して、評価が低くなり、特に84℃以上、27分以上の加熱では肉質、香味に影響する傾向が見られた。また、塩押しについては外見の評価も低くなった。

キーワード：たくあん、加熱殺菌、中心部温度、官能評価、細菌検査

## 1 はじめに

当県は干したくあんに代表されるように、全国的に漬物生産の盛んな県である。その生産性の高さを維持・向上させていくには、徹底した品質管理が欠かせない。例えば、変敗の面においては、その原因となる微生物の繁殖をできるだけ抑える必要があり、対策法に加熱殺菌がある<sup>1)2)</sup>。漬物の加熱殺菌条件は「漬物の衛生規範」で「65℃で10分間(中心部)」、またはこれと同等以上の効力を有する方法」と規定されている<sup>3)4)</sup>。そこで、宮崎県干したくあん・漬物研究会会員企業を訪問し、加熱殺菌時の漬物の中心部温度を確認した。また、たくあんの特徴である「歯切れ」等について加熱殺菌の条件を変え品質評価を行うとともに、内容量が多いため中心部へ熱が伝わりにくい業務用漬物についてその製造工程を追って細菌検査を行った。

## 2 実験方法

### 2-1 漬物の加熱殺菌工程

加熱殺菌の工程を含む漬物製造においては、味付け(調味漬)後の漬物を包材に入れ、真空包装を行う。その後これを加熱殺菌槽に入れ、予め各社で設

定している温度および時間に応じて殺菌を行い、設定時間到達後は直ちに冷却槽に入れる。冷却後は水滴を落とす工程を経て製品としている。

### 2-2 各社加熱殺菌槽および加熱殺菌時における漬物の中心部温度測定

各漬物企業の製造ラインにおいて漬物の中心部に無線記憶式温度計(TMI-ORION社PicoVACQ)を差込んだ後、真空包装した。また、このサンプルの包装表面にも同型温度計を取付け、これを加熱殺菌槽に入れ、冷却工程を経たサンプルから温度計を取出し、温度の推移を確認した。

### 2-3 加熱殺菌条件の異なるたくあんの官能評価

2-2の結果を参考に加熱温度、時間を変えた3つの加熱殺菌条件(「81℃、24分」、「84℃、27分」、「87℃、29分」)を設定し、各条件で処理したたくあん(干し・塩押し)の官能評価を行った。評価は加熱殺菌直後と加熱殺菌から約3ヶ月(冷蔵保存)経過後の2回行い、外見、香味、肉質について3点方式(3:良い, 2:普通, 1:劣る)で行った。また、加熱処理約3ヶ月後については肉質の評価とF値(※)との相関を見た。(※) F値: このF値は基準温度65℃、Z値=5℃における殺菌時間を表している。

\* 干したくあんの機能性と品質向上に関する研究

\*1 食品開発部

## 2-4 業務用きざみ干したくあんの細菌検査

業務用きざみ干したくあん（2 kg）製造工程において、干したくあんに刻む前、刻んだ後および真空包装後の加熱殺菌85℃にて20分経過後、30分経過後、40分経過後の5つのサンプルについて一般生菌数、大腸菌群、真菌数の確認を行った。

## 3 結果および考察

### 3-1 各社の加熱殺菌状況

#### 1) 加熱殺菌槽の実測温度

漬物の種類によっては内容量や形状が異なるため、漬物の種類ごとに実測温度を見ていくと、たくあんでは平均80.9～86.8℃で、殺菌時間は23～29分であった。また、1～2 kg入りの業務用たくあんについては、82.1～85.0℃で、35～43分と一本物のたくあんよりも時間を掛けて加熱殺菌が行われている傾向が見られた。その他らっきょうや割干し大根等、中心部へ温度の伝わりやすい形状の漬物では80℃未満の77.3～79.7℃で20～21分の殺菌状況であった。

#### 2) 漬物中心部の実測温度

いずれの企業も中心部65℃、10分間の条件をクリアしていた。また、加熱殺菌前の品温が高いほど、中心部が65℃に到達するまでの時間が早い傾向が見られ、漬物の内容量や太さ等も熱の伝わり方に影響することが確認できた。

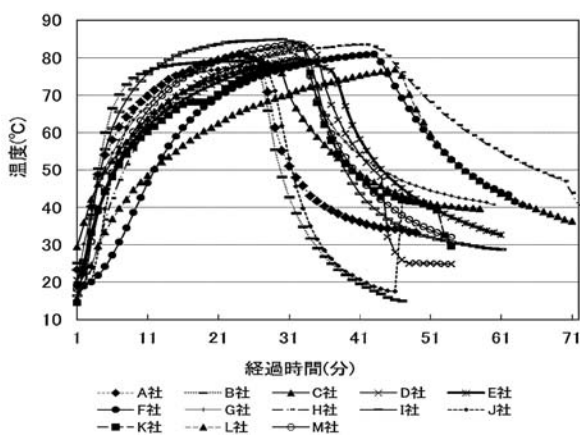


図1 加熱殺菌時における漬物中心部の温度

### 3-2 加熱殺菌条件の異なるたくあんの官能評価

#### 1) 加熱処理直後のたくあんの評価

干しおよび塩押ししたくあんのいずれも未加熱のものと比較して、評価が低くなった。特に84℃以上、

27分以上の加熱は肉質、香味に影響する傾向が見られた。また、塩押しについては外見の評価も低くなった。

表1 加熱処理直後のたくあんの評価結果

3：良い 2：普通 1：劣る

| 種類       | 加熱殺菌条件   | 肉質  | 香味  | 外見  | 総合  |
|----------|----------|-----|-----|-----|-----|
| 干したくあん   | 加熱前(未加熱) | 2.2 | 2.0 | 2.2 | 6.3 |
|          | 81℃/24分  | 2.1 | 1.8 | 1.9 | 5.8 |
|          | 84℃/27分  | 1.8 | 1.6 | 1.9 | 5.3 |
|          | 87℃/29分  | 1.7 | 1.5 | 1.8 | 5.1 |
| 塩押ししたくあん | 加熱前(未加熱) | 2.1 | 2.1 | 2.1 | 6.2 |
|          | 81℃/24分  | 2.0 | 1.9 | 1.9 | 5.8 |
|          | 84℃/27分  | 1.6 | 1.7 | 1.6 | 4.9 |
|          | 87℃/29分  | 1.5 | 1.6 | 1.3 | 4.4 |

#### 2) 加熱処理後約3ヶ月経過（冷蔵保管）したたくあんの評価

干しおよび塩押ししたくあんのいずれも全評価項目で「87℃、29分」の処理区が最も低くなった。

表2 加熱処理約3ヶ月経過後のたくあんの評価結果

3：良い 2：普通 1：劣る

| 種類       | 加熱殺菌条件  | 肉質  | 香味  | 外見  | 総合  |
|----------|---------|-----|-----|-----|-----|
| 干したくあん   | 81℃/24分 | 2.5 | 2.4 | 2.6 | 7.5 |
|          | 84℃/27分 | 2.4 | 2.3 | 2.4 | 7.1 |
|          | 87℃/29分 | 2.0 | 2.1 | 2.2 | 6.3 |
| 塩押ししたくあん | 81℃/24分 | 2.5 | 2.4 | 2.4 | 7.4 |
|          | 84℃/27分 | 2.2 | 2.3 | 2.4 | 6.8 |
|          | 87℃/29分 | 1.5 | 2.0 | 1.8 | 5.3 |

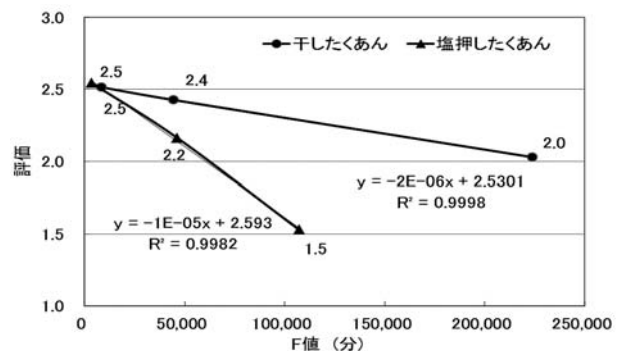


図2 加熱処理約3ヶ月後の各種たくあんにおける肉質評価とF値の相関



特に肉質についてはF値が増加するに従い直線的に評価が下がる傾向が見られ、この直線の傾きから干しよりも塩押ししたくあんの方がF値の増加に伴う肉質への影響が大きいことが分かった。

なお、各社漬物の中心部実測温度からF値を求めたところ、干したくあんでは8768.7～23800.9分、塩押ししたくあんでは2659.1～24745.6分であった。このことから、各社、加熱殺菌条件の違いにより、それぞれの漬物の肉質に特徴が現れている可能性があることが示唆された。

表3 各企業漬物の中心部におけるF値

| 企業名 | F値※ (分)  | 漬物の種類    |
|-----|----------|----------|
| A社  | 8768.7   | 干したくあん   |
| B社  | 8214.0   | その他      |
| C社  | 2958.1   | 塩押ししたくあん |
| D社  | 22299.8  | 塩押ししたくあん |
| E社  | 6804.7   | 塩押ししたくあん |
| F社  | 12861.1  | 業務用      |
| G社  | 24745.6  | 塩押ししたくあん |
| H社  | 56614.9  | 業務用      |
| I社  | 113012.1 | その他      |
| J社  | 3223.9   | その他      |
| K社  | 2659.1   | 塩押ししたくあん |
| L社  | 1529.4   | 業務用      |
| M社  | 23800.9  | 干したくあん   |

(※) F値：基準温度65℃、Z値=5℃における殺菌時間を表している。

### 3-3 業務用きざみ干したくあんの細菌検査

一般生菌数については、加熱殺菌したものはいずれも300 CFU/g以下であったが、実測値を見ると20分、30分、40分の順で少なくなった。

真菌数については、加熱殺菌したものはいずれも「0」であった。85℃、20分以上加熱したことで、

表4 業務用きざみ干したくあんの細菌検査結果

| サンプル                  | 一般生菌数<br>(CFU/g)              | 大腸菌群 | 真菌数<br>(CFU/g)    |
|-----------------------|-------------------------------|------|-------------------|
| 刻み前 (未加熱)             | $1.9 \times 10^3$             | 陰性   | $6.8 \times 10^3$ |
| 刻み後 (未加熱)             | $1.0 \times 10^4$             | 陰性   | $1.2 \times 10^4$ |
| 真空包装2kg<br>(85℃/20分後) | <300<br>(実測 $6.5 \times 10$ ) | 陰性   | <300<br>(実測0)     |
| 真空包装2kg<br>(85℃/30分後) | <300<br>(実測 $3.5 \times 10$ ) | 陰性   | <300<br>(実測0)     |
| 真空包装2kg<br>(85℃/40分後) | <300<br>(実測 $1.0 \times 10$ ) | 陰性   | <300<br>(実測0)     |

比較的熱に弱いカビや酵母は死滅したと考えられた。  
大腸菌群は全てにおいて陰性であった。

## 4 まとめ

当県の漬物メーカー（宮崎県干したくあん・漬物研究会会員企業）の加熱殺菌の状況と加熱殺菌条件による品質への影響について以下のことが分かった。

1) いずれの企業も「漬物の衛生規範」で規定されている「65℃で10分間（中心部）」の加熱殺菌条件がクリアされており、加熱殺菌による品質管理がしっかり成されていた。

2) 加熱処理直後のたくあんの官能評価については、干しおよび塩押しのいずれも未加熱のものと比較して、評価が低くなった。特に84℃以上、27分以上の加熱条件では肉質、香味に影響する傾向が見られた。また、塩押しについては外見の評価も低くなった。

3) 加熱処理後、冷蔵にて約3ヶ月保管したたくあんについては、干しおよび塩押しのいずれも肉質、香味、外見の全評価項目で「87℃、29分」の処理区が最も低くなった。特に肉質についてはF値が増加するに従い直線的に評価が下がる傾向が見られ、この直線の傾きから干したくあんよりも塩押ししたくあんの方がF値の増加に伴う肉質への影響が大きいことが分かった。

4) 業務用きざみ干したくあんの細菌検査において、一般生菌数については、85℃、20分以上加熱したものは300 CFU/g以下であり、実測値を見ると加熱時間が長くなるに従いその値が少なくなった。また、真菌数については85℃、20分以上の処理区で実測値が「0」で、比較的熱に弱いカビや酵母はこの処理により死滅したと考えられた。

## 5 参考文献

- 1) 太田英明, 他 編：食品鮮度・食べ頃事典, サイエンスフォーラム, 326-336(2002)
- 2) 食品産業戦略研究所 編：食品の腐敗変敗防止対策ハンドブック, サイエンスフォーラム, 137-140, 236-243(1996)
- 3) 厚生省 通知：漬物の衛生規範, 環食第214号, 昭和56年9月24日
- 4) 河端俊治, 他 共編：実務食品衛生, 中央法規出版, 276-277(1987)

# 規格外マンゴーの選果方法の検討

石井 明子<sup>\*1</sup>・福山 明子<sup>\*1</sup>・寺崎 三季<sup>\*1</sup>・柚木崎 千鶴子<sup>\*1</sup>

Examination of the Fruit-Sorting Method of a Substandard Mango

Akiko ISHII, Akiko FUKUYAMA, Miki TERASAKI and Chizuko YUKIZAKI

加工向け果実として青果用規格外マンゴーが利用される際の品質のバラツキを低減することを目的に、簡易に果実選別を行う方法として果皮色による選果方法の検討を行った。その結果、果実赤道部において、平均糖度が低くなるに伴い果皮の黄色味を示す $b$ 値が高くなる傾向が見られ、糖含量も同等の傾向が見られた。品質指標として用いられる糖度においては、赤味をほとんど示さず黄色味を強く示す果実を選別・排除することで、およそ目安として糖度12%以上の果実の選果が可能であると考えられた。

キーワード：マンゴー，一次加工，選果

## 1 はじめに

本県では温暖な気象条件を活かした果樹の産地化が図られており、なかでもマンゴーは、贈答用果実として定着し計画的に産地拡大が図られている。栽培面積の増加に伴い加工向け果実の出荷量も増加しており、平成21年産加工向け果実の出荷量は全体出荷量の約2.4% (20トン)<sup>1)</sup>と15年産と比較すると約2倍の出荷量となっている。宮崎県産農水産物を利用した一次加工品に関する調査結果によるとマンゴーはピューレなどの一次加工品としてのニーズも高い品目であり、県内でも加工向け果実を利用したピューレ等の製造が行われている。一次加工品を利用する実需者からは、青果に近い品質を求める声<sup>2)</sup>が高くなってきているが、主に加工向け果実として利用される規格外品の品質基準は明確に定められておらず、糖度条件や外観的要因、大きさなど様々な要因により選別されたものが利用される。このため、品質のバラツキが大きく一次加工品の品質安定が困難な場面が見られている。そこで、簡易に果実選別を行う方法として、果皮色による選果方法について検討を行ったので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 供試材料

試験には、宮崎県産マンゴー規格外品（アーウィン種）を8月に一次加工業者より購入し、果実赤道部の果皮色の程度により目視でA区（赤色の色調が強いもの）、B区（中間の色調のもの）、C区（黄色の色調が強いもの）の3区に選別を行った（図1）。果実は、即日急速冷凍し-20℃の冷凍庫で保存したものを使用し、試験区毎に6個体を供試した。

### 2-2 果皮色の測定

各試料果実赤道部の果皮色を分光測色計（（株）コニカミノルタ社製 CM-508d）を用いて $L^*a^*b^*$ 表色系により明度、色度を測定した。

### 2-3 成分分析

#### 1) Brix示度の測定

果実搾汁液を屈折糖度計（（株）アタゴ社製 RX5000）により測定した。

#### 2) 糖含量の測定

糖含量の測定は、フードプロセッサーで粉砕した果肉5 gに適量の蒸留水を加え摩砕後、遠心分離（3000 rpm, 10 min）し上澄みを採取した。上澄み採取後の果肉に蒸留水を加え同様に処理し合わせた後、蒸留水で100 mlに定容し0.45  $\mu$ mフィルターでろ過した。抽出液は蒸留水で適宜希釈を行い、高速液体クロマトグラフ（JASCO LC-2000 Series）を

\*1 食品開発部

用いて測定した．分析条件は次のとおりである．カラム：Shodex Asahipak NH<sub>2</sub>P-50 4E (4.6 mm×250 mm)，移動層：75%アセトニトリル溶液，流量：1 mL/min，カラム温度：40℃，検出器：示差屈折計．

### 3) 有機酸の測定

有機酸の測定は，糖含量の測定と同様に抽出した試料をHPLC有機酸分析システム（(株)島津製作所製 LC-10A）を用いて測定した．分析条件は次のとおりである．カラム：Shim-pack SCR-102H (8 mm×300 mm)，移動相：5 mM p-トルエンスルホン酸，緩衝液：5 mM p-トルエンスルホン酸，20 mM Bis-tris，100 μm EDTA，流速0.8 mL/min，カラム温度：40℃，検出機：電気伝導度検出計．

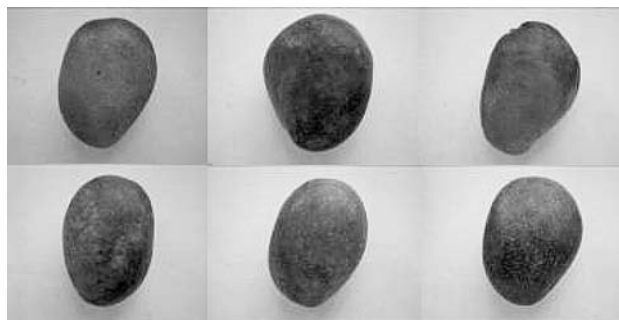


図1 選別果実（目視選別による）  
上 A区（赤色の色調が強いもの）  
中 B区（中間の色調のもの）  
下 C区（黄色の色調が強いもの）

## 3 結果および考察

### 3-1 果皮色

L\*a\*b\*表色系では，L値（明度：100(明るい)⇔0(暗い)，a値（色相：+(赤方向)⇔-(緑方向)，b値（色相：+(黄方向)⇔-(青方向)で色調を表すが<sup>3)</sup>，A区では，黄色味を示すb値より赤味を示すa値が高く果実の赤味が強いことを示した．一方，B区，C区はa値よりb値が高く果実は黄色味が強いことを示した．なかでも，C区はB区よりもb値が高くより黄色味が強いことを示した．また，明るさを示すL値はC区が一番高く，果実のなかで明るい色調を示す結果となった（図2）．

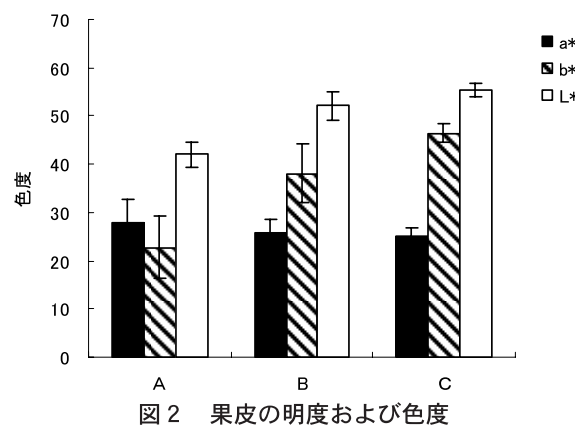


図2 果皮の明度および色度

### 3-2 成分分析

#### 1) Brix示度

A区のBrix値は12.6～16.6%（平均値14.9%），B区11.5～16.8（平均値14.2%），C区10.5～13.2%（平均値11.7%）と，A区，B区，C区の順で低くなった．果皮色は，黄色味が強く赤味の弱い果実がよりBrix値が低い傾向が見られた（図3）．

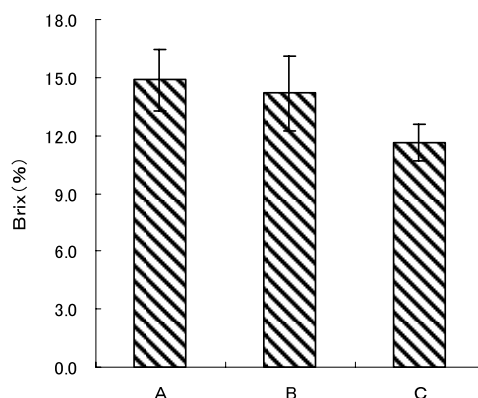


図3 果実のBrix値

## 2) 糖含量

果実の糖は果糖、ブドウ糖、ショ糖で構成され、A区12.6～16.6 g/100 gFW(平均値13.1 g/100 gFW)、B区11.5～16.6 g/100 gFW(平均値12.3 g/100 gFW)、C区10.5～13.2 g/100 gFW(平均値9.9 g/100 gFW)含まれていた。なかでもショ糖は52.8%～67.1%と最も多く、次に果糖であった。ブドウ糖は少量であった。全糖含量はBrix値と同様にA区、B区、C区の順で低くなり、果皮色の黄色味が強く赤味の弱い果実がより糖含量が低い傾向が見られた(図4)。

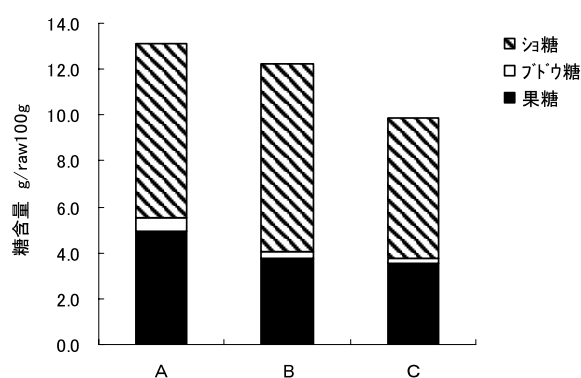


図4 果実の糖含量

## 3) 有機酸含量

有機酸はクエン酸、リンゴ酸、コハク酸で構成され、A区0.18～0.29 g/100 gFW(平均値0.26 g/100 gFW)、B区0.21～0.65 g/100 gFW(平均値0.41 g/100 gFW)、C区0.22～0.44 g/100 gFW(平均値0.31 g/100 gFW)含まれていた。有機酸はクエン酸が73.9%～82.0%と最も多く、コハク酸は少量であった。有機酸含量はB区、C区、A区の順で低くなり、果皮色による一定の傾向は見られなかった(図5)。

## 4 まとめ

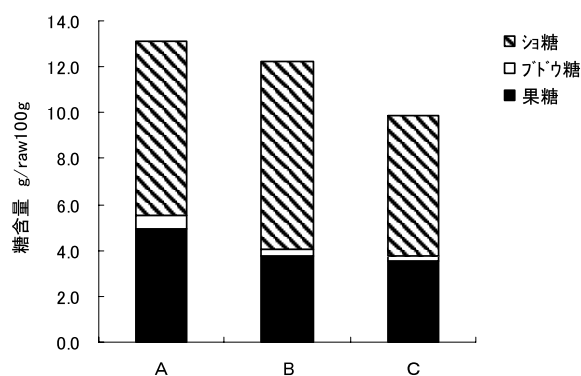


図5 果実の有機酸含量

1) 加工向け果実として利用される果実のうち果実赤道部が黄色味を強く示し赤味の弱い果実ほど、Brix値、糖含量は低い傾向にあることがわかった。

2) 有機酸含量は、果皮色による一定の傾向は見られなかった。

果皮色による選果方法として、果実赤道部が赤味をほとんど示さず黄色味を強く示す果実を選別、排除することで、おおよその目安として糖度12%以上の果実の選果が可能であると考えられた。

## 5 参考文献

- 1) 農林水産省, 特産果樹生産動態等調査(2009)
- 2) 福山明子, 柚木崎千鶴子, 後藤一寿: 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, **56**, (2011)
- 3) 色を読む話, コニカミノルタオプティクス株式会社



# 日向夏果皮におけるブランチング処理に伴う品質変化

福山 明子<sup>\*1</sup>・石井 明子<sup>\*1</sup>・寺崎 三季<sup>\*1</sup>・松浦 靖<sup>\*1</sup>・柚木崎 千鶴子<sup>\*1</sup>

Changes in Quality Associated with Blanching of the Peel of Citrus Tamurana Hort

Akiko FUKUYAMA, Akiko ISHII, Miki TERASAKI, Yasushi MATSUURA and Chizuko YUKIZAKI

当県の特産柑橘である日向夏果皮のブランチング処理後における総ビタミンC (V.C) 含量, 糖および有機酸含量, ヘスペリジン含量を測定した。その結果, 総V.C含量は70℃で最も保持された。また, 急速冷凍することで総V.C含量が保持された。糖, 有機酸含量は70℃~80℃でのブランチング処理で保持でき, ヘスペリジン含量は, 処理温度における減少率は小さかった。

以上より, 70℃でブランチング処理後, 急速冷凍し凍結保存することである程度成分を保持した日向夏果皮の製造が可能であることが明らかになった。

キーワード: 日向夏, 果皮, ブランチング, 冷凍

## 1 はじめに

日向夏は当県の代表的な特産柑橘であり、収穫量は全国1位である(平成21年産)。加工用としての出荷量は約4割を占めているが、近年栽培面積も増加しており、さらなる加工用としての用途開発も急務である。また、宮崎県食品関連企業実態調査<sup>1)</sup>において、カットした日向夏果皮に実需者ニーズがあることが明らかになった。日向夏は他の柑橘類と同様に抗酸化成分であるV.C含量が比較的高く、多種類のフラボノイドが含まれており、中でも果皮中のヘスペリジン含量が高いことが報告されている<sup>2)</sup>。また内果皮(アルベド)部分に糖分が含まれていることも特徴の一つである<sup>3)</sup>。そこで今回、カットした日向夏果皮の栄養成分や機能性成分等を指標として、それらを保持するためのブランチング条件および凍結方法を検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 使用原料および前処理

試験に用いた日向夏は、宮崎中央農業協同組合より購入した。洗浄後、1/2カットし剥皮した果実をパルパーフィッシャー((株)橋本缶詰研究所, HC-

P型)で処理し得られた果汁を試験に供した。また、果皮はブランチング(70℃, 80℃, 90℃)を5分間行い、水切り後、凍結処理(急速冷凍, 緩慢冷凍)した。また一部を凍結乾燥粉末とし、-20℃で保存した。

### 2-2 総V.C含量測定

総V.C含量の測定は池ヶ谷<sup>4)</sup>らの方法を用いた。凍結した試料を粉碎し、秤量後、直ちに5%メタリン酸を加え粉碎した。定容後0.45 μmフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)分析に供し、還元型V.C(AsA アスコルビン酸)の特異吸収波長242 nmで検出測定した。別に抽出液中の酸化型V.C(DAsA デヒドロアスコルビン酸)はジチオスレイトール(DTT)溶液で還元してAsAとして測定し総V.Cとし、先のAsA測定値を差し引いてDAsA値を算出した。表1にHPLCの条件を示した。

表1 V.Cの分析条件

|       |                              |
|-------|------------------------------|
| 装置    | 日本分光高速液体クロマトグラフ              |
| 検出器   | MD-980 紫外(242nm)             |
| カラム   | Inertsil ODS-3 (4.6mm×250mm) |
| カラム温度 | 30℃                          |
| 移動相   | 1%メタリン酸                      |
| 流量    | 1.0 mL/min                   |

\*1 食品開発部

## 2-3 糖および有機酸含量測定

凍結した試料を粉碎し、秤量後定容した。0.45  $\mu$ m フィルターでろ過し、HPLC分析に供した。表2、表3にHPLCの条件を示した。

表2 糖の分析条件

|       |                                 |
|-------|---------------------------------|
| 装置    | 日本分光高速液体クロマトグラフ                 |
| 検出器   | 示差屈折率カラム                        |
| カラム   | Asahi-pak NH2P-50 (4.6mm×250mm) |
| カラム温度 | 30℃                             |
| 移動相   | 75%アセトニトリル溶液                    |
| 流量    | 1.0 mL/min                      |

表3 有機酸の分析条件

|       |                                |
|-------|--------------------------------|
| 装置    | 島津高速液体クロマトグラフ                  |
| 検出器   | 電気伝導度                          |
| カラム   | Shim-pack SCR-102H (8mm×300mm) |
| カラム温度 | 40℃                            |
| 移動相   | p-トルエンスルホン酸                    |
| 流量    | 0.8mL/min                      |

## 2-4 ヘスペリジン含量測定

凍結乾燥粉末100 mgをメタノール：dimethyl sulfoxide (DMSO)=1：1で3回抽出し、抽出液をあわせて定容後、0.45  $\mu$ m フィルターでろ過しHPLC分析に供した。表4にHPLCの条件を示した<sup>5)</sup>。

表4 ヘスペリジンの分析条件

|        |                                                     |
|--------|-----------------------------------------------------|
| 装置     | 日本分光高速液体クロマトグラフ                                     |
| 検出器    | フォトダイオードアレイ                                         |
| カラム    | Mightsil RP-18 (4.6mm×250mm)                        |
| カラム温度  | 40℃                                                 |
| 移動相    | A液：10 mM リン酸溶液<br>B液：メタノール                          |
| 流量     | 0.75ml/min                                          |
| グラジェント | B液20% (2分)→45% (43分)→50% (5分)<br>→20% (5分)→20% (5分) |

## 3 結果および考察

### 3-1 日向夏の成分

日向夏の成分を表5に示した。総V.Cは果皮に多く含まれており、特にフラベド（外果皮）において多かった。また、糖は果糖、ブドウ糖、ショ糖で構成されており、果汁ではショ糖の割合が高。果皮ではアルベド（内果皮）において、果糖、ブドウ糖の割合が高かった。有機酸はクエン酸とリンゴ酸で構成されており、果汁に多く含まれていた。

表5 日向夏の成分

| 部位   | 総V.C<br>(mg/100g) | 糖類(g/100g FW) |      |     | 有機酸(mg/100gFW) |       |
|------|-------------------|---------------|------|-----|----------------|-------|
|      |                   | 果糖            | ブドウ糖 | ショ糖 | クエン酸           | リンゴ酸  |
| 果汁   | 16.6              | 2.3           | 1.8  | 4.9 | 1141.1         | 158.3 |
| 果皮   | 29.2              | 5.6           | 6.2  | 2.8 | 158.2          | 188.8 |
| アルベド | 6.7               | 2.0           | 2.3  | 1.1 | 98.8           | 35.0  |
| フラベド | 22.5              | 3.6           | 3.9  | 1.6 | 59.4           | 153.8 |

### 3-2 総V.C含量

ブランチング処理をしていない生果皮を対照としてブランチング処理区（70℃、80℃、90℃）の総V.C含量について検討した。処理温度が高くなるほど総V.C含量が低くなる傾向がみられた。（図1）。しかし乾物あたりの総V.C含量は減少していないことから（図2）処理温度が高いほど水分含量が増えたためだと考えられる（表6）。

またブランチング処理したAsAの割合は90%～97%であり大部分を占めていた。

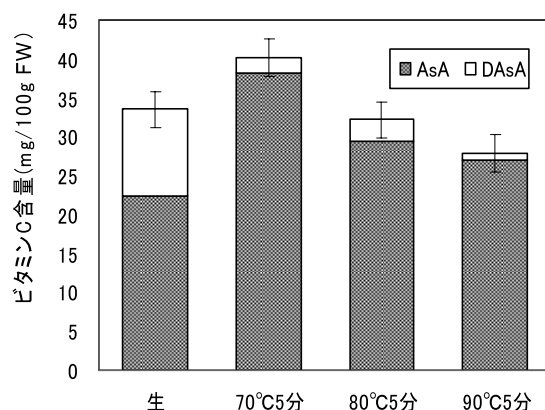


図1 ブランチング処理後の果皮の総V.C含量 (mg/100gFW) N=3 平均値±標準偏差

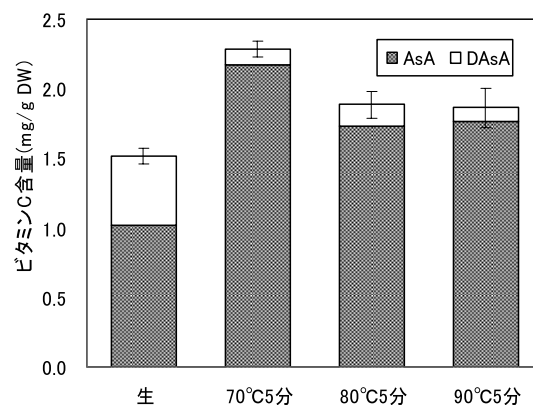


図2 ブランチング処理後の果皮の総V.C含量 (mg/gDW) N=3 平均値±標準偏差

表6 果皮の水分含量

| 試験区   | 生    | 70℃ 5分 | 80℃ 5分 | 90℃ 5分 |
|-------|------|--------|--------|--------|
| 水分(%) | 77.6 | 82.8   | 82.9   | 84.8   |

また、乾物あたりの総V.C含量はいずれの試験区で対照区より高くなった。これは組織を切断放置した際、総V.C含量が増加することが認められていることから<sup>6)</sup>、切断に伴うV.C含量の増加であることが推察された。

次に、上記果皮を凍結処理（急速冷凍、緩慢冷凍）後、-20℃で1年間保存し総V.C含量について検討した。その結果を図3、4に示す。凍結前の総V.C含量を100とすると、緩慢冷凍における1年保存後の総V.C含量は生果皮では約29%まで減少し、DAsAの割合が高かった。これは非加熱のため冷凍中も酵素反応が維持していると思われる<sup>7)</sup>。また、ブランチング処理温度が低いほど残存している総V.C含量が高い傾向がみられたが、この要因は不明である。急速冷凍は氷結晶での組織破壊による品質劣化を防止できる凍結法<sup>7)</sup>とされているが、今回の試験においても1年保存後の総V.C含量はいずれもほとんど減少していなかった。

以上の結果から総V.C含量を冷凍保存中にも保持するには70℃でブランチング処理後、急速冷凍することが良いと思われた。

### 3-3 糖および有機酸含量

ブランチング処理をしていない生果皮を対照としてブランチング処理（70℃、80℃、90℃）区の糖含量について検討した。その結果を図5に示す。

ブランチング処理するといずれの区でも糖含量が減少する傾向であった。これは糖は水の温度が高いと溶解度が上がるため<sup>8)</sup>、果皮中の糖がブランチング処理で水へ溶出したためだと推察される。

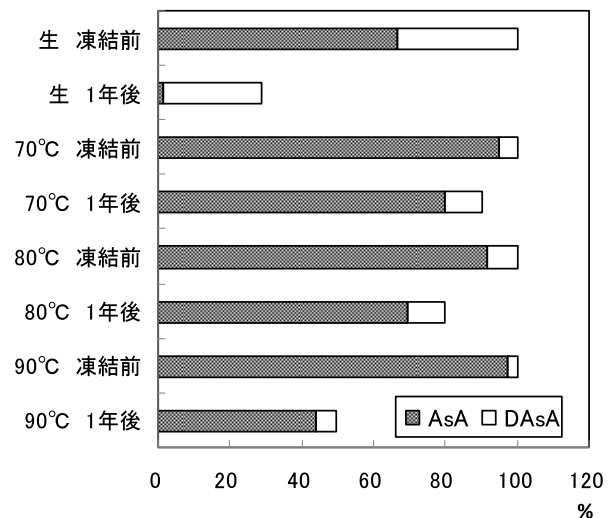


図3 1年保存後の総V.C含量（緩慢冷凍）凍結前の各V.C含量を100として相対値を記載

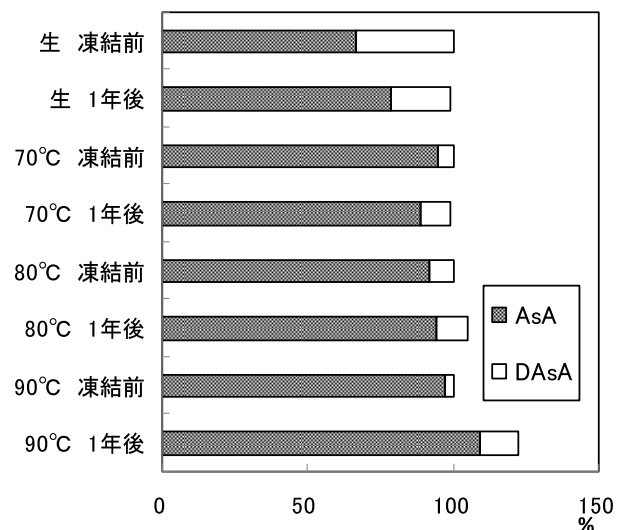


図4 1年保存後の総V.C含量（急速冷凍）凍結前の各V.C含量を100として相対値を記載

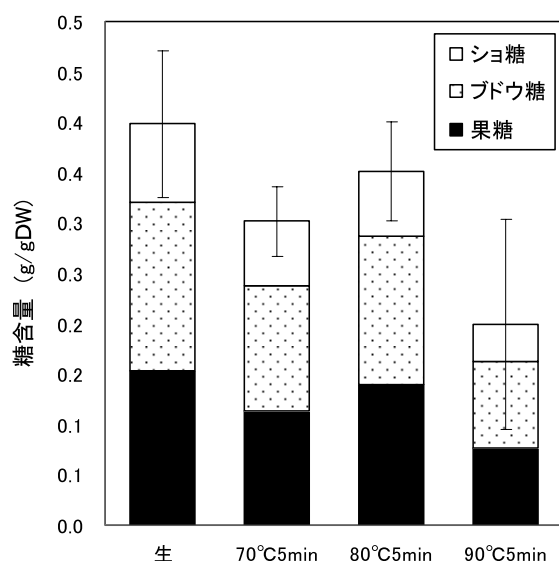


図5 ブランチング処理後の果皮の糖含量  
(mg/100gDW) N=3 平均値±標準偏差

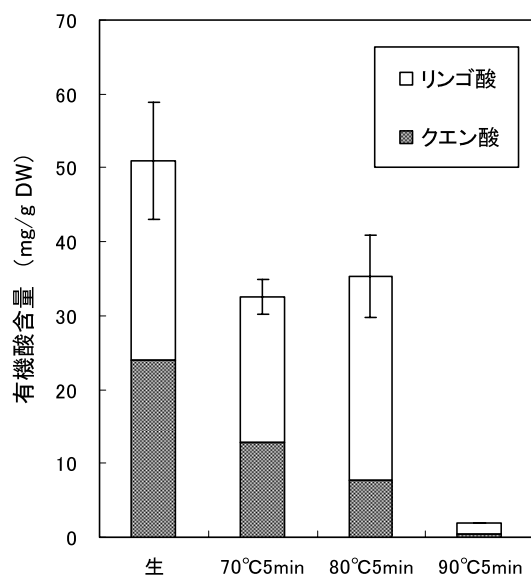


図6 ブランチング処理後の果皮の有機酸含量  
(mg/gDW) N=3 平均値±標準偏差

同様にブランチング処理区の有機酸含量について検討した結果を図6に示す。ブランチング処理するといずれの区でも有機酸含量が減少し、特に90°C処理区で減少していた。これは有機酸が糖と同様に水の温度が高いと水への溶解度が上がるためだと思われるが、特にクエン酸は温度依存的に減少していた。

以上の結果より、糖および有機酸含量を保持するには70°C～80°Cでのブランチング処理が良いと思われた。

### 3-4 ヘスペリジン含量

ブランチング処理をしていない生果皮を対照としてブランチング処理 (70°C, 80°C, 90°C) 区のヘスペリジン含量について検討した。その結果を図7に示す。対照区よりブランチング処理区はいずれもヘスペリジン含量が減少したが減少率は6%～13%程度だった。これはヘスペリジンは水にほとんど溶解しないためだと推察された<sup>9)</sup>。

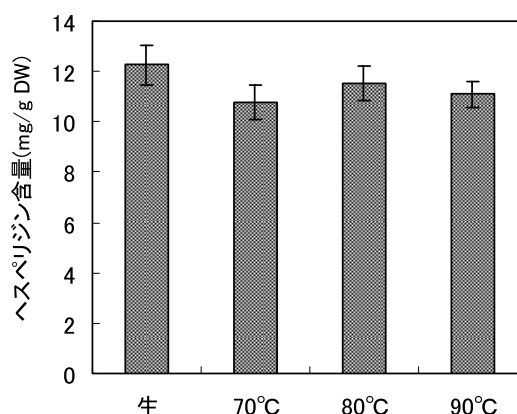


図7 ブランチング処理後の果皮のヘスペリジン含量  
(mg/gDW) N=3 平均値±標準偏差

## 4 まとめ

日向夏果皮における総V.C, 糖, 有機酸, ヘスペリジン含量を指標として、各成分を保持するためのブランチング処理方法および凍結方法について検討した結果、以下の知見が得られた。

- 1) 総V.C含量はブランチング処理が70°Cで最も保持された。また、冷凍保存する場合、急速冷凍することで総V.C含量が保持できることが明らかになった。
- 2) 糖, 有機酸含量はブランチング処理温度が高いほど減少する傾向があった。特に有機酸含量は90°C処理で減少していたため70°C～80°Cでのブランチング処理が適していることが示唆された。
- 3) 機能性成分であるヘスペリジン含量は、70°C～90°Cでブランチング処理しても減少率が小さかった。

以上より、70°Cでブランチング処理後、急速冷凍し凍結保存することで、ある程度成分保持が可能であることがわかった。



## 5 参考文献

- 1) 県工業支援課，食品開発センター：宮崎県食品  
関連企業実態調査結果, 45 (2012)
- 2) 牧田好高，地域特産物の生理機能・活用便覧，  
206- 207 (2004)
- 3) 吉倉幸博：地域特産物の生理機能・活用便覧，  
サイエンスフォーラム，468 (2004)
- 4) 池ヶ谷賢次郎，高柳博次，阿南豊正，茶業報告，  
71
- 5) 市ノ木山浩道,園芸学会雑誌別冊，第73巻，2号，  
P109
- 6) 大羽和子，調理科学と酵素
- 7) 亀田喜美治：最新冷凍食品辞典、朝倉書店，  
3(2004)
- 8) 山口美代子，樋上順子，園田学園女子大学論文  
集30，(1995)
- 9) 藤田忠，川瀬篤史，西島七恵，増田めぐみ，松  
田秀秋，岩城正宏，生薬学雑誌62 (1) 8-14，

# 過熱蒸気を用いたブルーベリー葉の乾燥\*

松浦 靖<sup>\*1</sup>・甲斐 孝憲<sup>\*2</sup>・亀長 浩蔵<sup>\*2</sup>・國武 久登<sup>\*3</sup>・柚木崎 千鶴子<sup>\*1</sup>

Drying of Blueberry Leaves by Super-Heated Steam Treatment

Yasushi MATSUURA, Takanori KAI, Kouzou KAMENAGA,  
Hisato KUNITAKE and Chizuko YUKIZAKI

過熱蒸気を用いてブルーベリー葉を乾燥し、加工による品質や機能性成分変化を検討した。

ブルーベリー葉を120, 150および180℃に設定した過熱蒸気処理装置で1, 3, 5および7分間加熱した結果、150℃以上の過熱蒸気処理では、水分含量5%以下の乾燥葉原料を5分以内で加工できた。しかし、180℃の過熱蒸気処理では、5分間以上加熱することで葉が焦げ始め、品質が低下するばかりでなく、ポリフェノール、プロアントシアニジン含量、またそれらに同調して抗酸化活性も低下する傾向にあった。これらの結果より、150℃の過熱蒸気でブルーベリー葉を5分間加熱することで、機能性成分を保持した乾燥葉原料を短時間で加工できることがわかった。

キーワード：ブルーベリー葉、過熱蒸気、乾燥

## 1 はじめに

ブルーベリー葉は抗酸化作用、脂肪肝抑制作用<sup>1)</sup>、血圧上昇抑制効果<sup>2)</sup>、抗C型肝炎ウイルス作用<sup>3)</sup>等の生理機能を有する農作物として見出され、当県において産地化が進められている。ブルーベリー葉は目的に応じて茶葉や抽出エキス末原料に加工され、様々な加工食品に利用されている。一般的に緑茶などの不発酵茶は、茶葉内の成分変化を抑制し保存性を高めるため、蒸し、乾燥工程を経て乾燥葉原料として貯蔵される<sup>4)</sup>。ブルーベリー葉エキス末原料も同様に蒸し、乾燥工程を経て製造されている。

近年では、食品の乾燥における加熱媒体として過熱蒸気が注目され、農産物のブランチング加工<sup>5)</sup>や乾燥などに利用されている。過熱蒸気は、加熱初期において食品表面の凝縮による潜熱の伝達と水蒸気自体の熱容量により迅速な表面加熱が行われる。また、低酸素雰囲気での加熱が可能であるため、食品

の酸化を抑制し、機能性成分を高く保持する特徴を持つ<sup>6)</sup>。Zanoeloらは、マテ茶葉を過熱蒸気と加熱空気を用いて乾燥し、乾燥マテ茶葉の総フェノール含量について検討した結果、過熱蒸気乾燥葉は熱風乾燥葉に比べ総フェノール含量が高かった<sup>7)</sup>ことを報告している。また、この実験において過熱蒸気乾燥は熱風乾燥に比べエネルギー要求量が少なかったことも報告している。この蒸しと乾燥工程を同時に進行可能な過熱蒸気の利用は、機能性を訴求したブルーベリー葉エキス末原料の加工にも応用でき、工程の簡素化、省力化が期待できる。

そこで本研究では、過熱蒸気を用いてブルーベリー葉を乾燥し、加工による品質や機能性成分の変化を検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 供試材料

宮崎大学農学部フィールドで栽培されたラビットアイブルーベリー葉を2011年11月に収穫し、-20℃の冷凍庫で保存したものを使用した。

### 2-2 乾燥葉の調製

ブルーベリー葉の乾燥は、ネットコンベア式の過

\* 農林畜水産物の機能性を活かした研究：ブルーベリー葉及び果実の機能性を活かした食品開発

\*1 食品開発部

\*2 株式会社なな葉コーポレーション

\*3 宮崎大学農学部

熱蒸気処理装置 (SO-2000, 清本鐵工(株)) を用い、L 730 × W 400 × H 230 mmの処理室内を通過させて行った。過熱蒸気はコンベア上下の噴出口より供給し、加熱温度を120、150および180℃に設定し、処理時間は1、3、5および7分とした。なお、各種条件で得た乾燥葉を評価するため、真空凍結乾燥装置 (Dura-Top MP & Dura Dry MP, FTS SYSTEM) を用いて乾燥葉を調製し、対照試料とした。

### 2-3 乾燥葉粉末の調製

超遠心粉碎機 (ZM200, Retsch Co., Ltd) で粉砕し、0.5 mmスクリーンを通して乾燥葉粉末を得た。

### 2-4 乾燥葉粉末からの抽出液の調製

湯量5 gに対して試料25 mgを使用し、95℃に設定したヒートブロックで5分おきに攪拌しながら15分間抽出を行った。抽出後は、0.45 μmフィルターでろ過し、試料溶液を得た。

### 2-5 乾燥葉の品質評価

#### 1) 水分含量の測定

常圧加熱乾燥法により、100℃で1時間乾燥し、水分含量を求めた。

#### 2) 明度、色度の測定

トリプルナイロン (NY-1, MICS化学(株)) に入れた乾燥葉粉末試料を分光測色計 (CM-508d, MINOLTA Co., Ltd) で測定し、ハンター表色系 ( $L^*a^*b^*$ ) で表示した。

### 2-6 乾燥葉の機能性評価

#### 1) ポリフェノールの測定

Folin-Ciocalteu法<sup>8)</sup> を用いてポリフェノール含量を測定し、乾燥葉粉末1 gあたりの没食子酸相当量で表した。

#### 2) プロアントシアニジンの測定

Li らの方法<sup>9)</sup> に準じ、試料溶液に0.1% p-dimethylamino-cinnamaldehyde (DMAC) 溶液を加え、20分間静置した後、640 nmの吸光度を測定した。標準溶液には(+)-カテキンを用い、作製した検量線によりプロアントシアニン含量を求め、乾燥葉粉末1 gあたりのカテキン相当量で表した。

#### 3) 抗酸化活性の測定

ORAC法による抗酸化活性測定は、食品機能性評

価マニュアル集 (第II集)<sup>10)</sup> に準じて行った。

試料溶液は、75 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) で適宜希釈し、測定に供した。希釈した試料溶液はTrolox溶液とともに96穴マイクロプレート (#3072, Becton Dickinson) に20 μL, 次に75 mM リン酸カリウム緩衝液に溶かした94.4 nMフルオレセイン溶液を200 μL加え、蛍光マイクロプレートリーダー (Synergy MX, Bio Tek) で蛍光強度を測定した。その後、75 mM リン酸カリウム緩衝液に溶かした31.7 mM 2,2'-Azobis (2-amidinopropane)-Di-hydrochloride (AAPH) 溶液を75 μL加えて振とう攪拌後、2分間隔で90分間、マイクロプレート下部から経時的に蛍光強度を測定した。試料存在下での蛍光強度の曲線下面積 (AUC: Area Under the Curve) と非存在下 (ブランク) でのAUCとの差 (net AUC) を求め、Trolox標準溶液で作製した検量線を用いてH-ORAC値を算出し、乾燥葉粉末1 gあたりのTrolox相当量で表した。

## 3 結果および考察

### 3-1 乾燥葉の品質評価

各加熱温度で過熱蒸気処理を行ったブルーベリー葉の水分含量の変化を図1に示した。加熱処理前の葉の水分含量は57.3%であった。120℃処理では、加熱時間の経過に伴い、水分含量は徐々に減少したが、

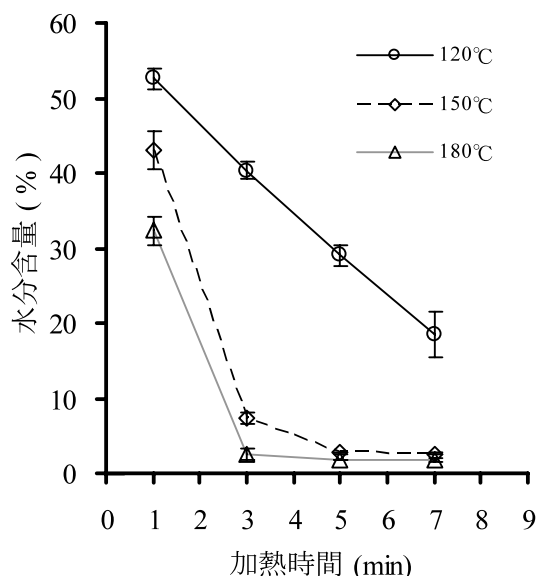


図1 各加熱温度における水分含量の変化

表 1 過熱蒸気処理したブルーベリー葉の色調変化

|                    |       |      | L*              | a*             | b*              |
|--------------------|-------|------|-----------------|----------------|-----------------|
| Lyophilization     |       |      | 56.55 ( 0.00 )  | -4.46 ( 0.00 ) | 22.46 ( 0.00 )  |
| Super-Heated Steam | 120°C | 1min | 54.56 ( -1.99 ) | 2.58 ( 7.04 )  | 22.45 ( -0.01 ) |
|                    |       | 3min | 54.73 ( -1.82 ) | 4.39 ( 8.85 )  | 20.89 ( -1.57 ) |
|                    |       | 5min | 54.06 ( -2.49 ) | 4.48 ( 8.94 )  | 20.36 ( -2.10 ) |
|                    |       | 7min | 53.48 ( -3.07 ) | 4.67 ( 9.13 )  | 19.12 ( -3.34 ) |
|                    | 150°C | 1min | 56.63 ( 0.08 )  | 2.67 ( 7.13 )  | 21.81 ( -0.65 ) |
|                    |       | 3min | 53.67 ( -2.87 ) | 4.50 ( 8.96 )  | 21.03 ( -1.43 ) |
|                    |       | 5min | 52.62 ( -3.93 ) | 4.72 ( 9.18 )  | 21.82 ( -0.64 ) |
|                    |       | 7min | 52.06 ( -4.49 ) | 5.17 ( 9.63 )  | 21.19 ( -1.26 ) |
|                    | 180°C | 1min | 54.38 ( -2.17 ) | 3.29 ( 7.75 )  | 22.97 ( 0.51 )  |
|                    |       | 3min | 52.20 ( -4.35 ) | 5.06 ( 9.52 )  | 21.47 ( -0.99 ) |
|                    |       | 5min | 48.91 ( -7.64 ) | 6.27 ( 10.73 ) | 17.87 ( -4.59 ) |
|                    |       | 7min | 46.68 ( -9.87 ) | 6.48 ( 10.94 ) | 14.78 ( -7.68 ) |

( ) 中の数字は、凍結乾燥葉と過熱蒸気乾燥葉の色調を比較し、その変化量を示した。

7分後の水分含量は19%であり乾燥不十分であった。そこで、更に加熱を続けた結果、水分含量は減少し、10分後には水分含量7.9%まで低下した（データ未掲載）。一方、150、180°C処理の場合、水分含量は一気に減少し、3分後には7.2%、2.6%となった。150°C処理では更に加熱を続けると、水分含量は5分後に2.7%となり5%を下回った。古谷らは、煎茶の貯蔵において水分5%以上では変質が激しく、品質が低下すること<sup>11)</sup>を報告している。ブルーベリー乾燥葉の水分含量も5%以下を目標としており、150°C以上の過熱蒸気処理では、効率的な熱伝達により5分以内に水分含量5%以下の乾燥葉を加工できた。

次に、各加熱温度で過熱蒸気処理を行ったブルーベリー葉の色調の変化を表1に示した。ブルーベリー葉は加熱処理により、a\*値は増加、b\*値およびL\*値は減少する傾向を示し、処理時間の経過に伴い、その変化割合は増大した。中でも180°C処理では明度、色度の変化が大きく、明度を示すL\*値は54.38、52.20、48.91、46.68と変化し、明るさが減少した。一方色度では、a\*値は3.29、5.06、6.27、6.48と増加し、緑色から赤色が強くなった。また、b\*値は22.97、21.47、17.87、14.78と減少し、黄色から青色が強くなった。これより、180°C処理では処理時間の経過に伴い、a\*値、b\*値、L\*値は茶色が示す値に近づく傾向にあった。なお、180°Cで5、7分間処理した乾燥葉では、官能評価において焦げ臭が認められたことから、葉が焦げ始めていることが伺えた（データ未掲載）。これより、乾燥が急激に進行する逆転温度<sup>12)</sup>以上の過熱蒸気処理では、焦げの発生によ

り品質低下が懸念された。

### 3-2 乾燥葉の機能性評価

各加熱温度で過熱蒸気処理を行ったブルーベリー葉のポリフェノール、プロアントシアニジン含量および抗酸化活性値を表2に示す。120°C、150°C処理では加熱時間の経過にかかわらずポリフェノール含量は高く保持されていた。しかし、180°Cで5分、7分間処理した乾燥葉のポリフェノール含量は、凍結乾燥葉の91.8%、91.3%であり、わずかに低値を示した。プロアントシアニジン含量は、全ての加熱温度において、時間の経過に伴い低下した。しかし、その低下割合は加熱温度により異なり、各加熱温度における7分後のプロアントシアニジン保持率を対照の凍結乾燥葉と比較すると、92.8%、91.4%、57.3%であり、特に180°C処理ではプロアントシアニジンが大きく減少した。一方、抗酸化活性の指標であるH-ORAC値は、ポリフェノール含量と同調して変動し、加熱温度180°Cでわずかに活性が低下した。

過熱蒸気は凝縮による潜熱の伝達と水蒸気自体の熱容量により迅速な表面加熱が行われるため、ポリフェノールオキシダーゼ（PPO）を失活させ、ブルーベリー葉に含まれるポリフェノール化合物の酸化抑制が期待できる。仲島らは、ヤーコン葉を30秒間蒸し処理した結果、PPO活性は不検出となり、ポリフェノールの損失を抑えることができた<sup>13)</sup>と報告している。今回行った120°C処理ではポリフェノール、プロアントシアニジン含量ともに高く保持されていたことから、過熱蒸気処理でも短時間でPPOを失活させ、ポリフェノール化合物の酸化を抑制し



表 2 過熱蒸気処理したブルーベリー葉のポリフェノール化合物および抗酸化活性値の変動

|                    |       |      | ポリフェノール<br>(mg-没食子酸相当量/g DW) | プロアントシアニジン<br>(mg-カテキン相当量/g DW) | H-ORAC<br>(mmol-Trolox相当量/g DW) |
|--------------------|-------|------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Lyophilization     |       |      | 138 ( 100 )                  | 14.5 ( 100 )                    | 2.83 ( 100 )                    |
| Super-Heated Steam | 120°C | 1min | 148 ( 107 )                  | 15.9 ( 110 )                    | 2.87 ( 101 )                    |
|                    |       | 3min | 142 ( 103 )                  | 14.6 ( 101 )                    | 2.93 ( 104 )                    |
|                    |       | 5min | 143 ( 104 )                  | 15.3 ( 106 )                    | 3.05 ( 107 )                    |
|                    |       | 7min | 138 ( 99.9 )                 | 13.5 ( 92.8 )                   | 2.72 ( 96.0 )                   |
|                    | 150°C | 1min | 142 ( 103 )                  | 14.7 ( 101 )                    | 2.89 ( 102 )                    |
|                    |       | 3min | 137 ( 99.6 )                 | 14.6 ( 101 )                    | 2.78 ( 98.0 )                   |
|                    |       | 5min | 138 ( 100 )                  | 14.0 ( 96.3 )                   | 2.88 ( 102 )                    |
|                    |       | 7min | 140 ( 101 )                  | 13.3 ( 91.4 )                   | 2.77 ( 97.7 )                   |
|                    | 180°C | 1min | 135 ( 98.2 )                 | 13.1 ( 90.5 )                   | 3.01 ( 106 )                    |
|                    |       | 3min | 138 ( 99.8 )                 | 12.2 ( 84.2 )                   | 2.87 ( 101 )                    |
|                    |       | 5min | 127 ( 91.8 )                 | 9.36 ( 64.4 )                   | 2.66 ( 93.9 )                   |
|                    |       | 7min | 126 ( 91.3 )                 | 8.32 ( 57.3 )                   | 2.54 ( 89.6 )                   |

( ) 中の数字は、凍結乾燥葉のポリフェノール、プロアントシアニジン含量および抗酸化活性値を 100 とし、過熱蒸気乾燥葉の各種値と比較し、その保持割合を示した。

たことが推察される。しかし、詳細の解明にはさらなる検討が必要である。一方で、各加熱温度でのプロアントシアニジン含量は時間の経過とともに低下し、その低下割合は過熱温度が高くなるほど大きくなった。樋口らは、栗渋皮を200°Cでロースト処理した結果、処理時間の増加とともにプロアントシアニジンが減少する<sup>14)</sup>ことを報告している。これより、逆転温度以上の過熱蒸気処理ではプロアントシアニジンが分解し易く、ブルーベリー葉エキスを末原料の機能性低下に繋がることを示唆された。しかし、ポリフェノールはプロアントシアニジンに比べ保持率が高く、それに伴い抗酸化性も高い結果となった。コーヒーは多糖類やタンパク質などが熱分解によりカルボニル化合物やアミノ化合物になり、ポリフェノール化合物も加わってアミノカルボニル反応などを起こすものと推定され、その反応化合物は抗酸化成分である<sup>15)</sup>ことがわかっている。ブルーベリー葉もコーヒー焙煎と同様に、高温加熱ではアミノカルボニル反応などより新たな化合物が生成し、抗酸化性を示すためにポリフェノールおよび抗酸化が保持されたものと推察された。

これらの結果を踏まえると、過熱蒸気を用いたブルーベリー葉の乾燥は、品質と機能性成分を保持しつつ、加工時間を短縮できる可能性を含んでいる。実用化に向けて、熱風乾燥による従来法との生産コストを比較検討していきたい。

#### 4 まとめ

本実験では、過熱蒸気を用いてブルーベリー葉を乾燥し、加工による品質や機能性成分変化を検討した結果、次のことがわかった。

- 1) 150°C以上の過熱蒸気処理では、水分含量5%以下の乾燥葉原料を5分以内の短時間で加工できた。
- 2) 180°Cの過熱蒸気処理では、5分以上の加熱で葉が焦げ始め、品質が低下する傾向にあった。
- 3) 180°Cの過熱蒸気処理では、機能性成分であるプロアントシアニジン含量が低下する傾向にあった。

以上より、過熱蒸気を用いてブルーベリー葉抽出エキスを末原料を加工する際は、150°Cで5分間加熱することで、品質および機能性成分を保持した乾燥葉原料を短時間で加工できることがわかった。

#### 5 参考文献

- 1) N.Inoue, K.Nagao, S.Nomura, B.Shirouchi, M.Inafuku, H.Hirabaru, N.Nakahara, S.Nishizono, T.Tanaka, and T.Yanagita, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **75**, 2304-2308 (2011).
- 2) H.Sakaida, K.Nagao, K.Higa, B.Shirouchi, N.Inoue, F.Hidaka, T.Kai, and T.Yanagita, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **71**, 2335-2337 (2007).
- 3) M.Takeshita, Y.Ishida, E.Akamatsu, Y.Ohmori, M.Sudoh, H.Uto, H.Tsubouchi, and H.Kataoka, *J Biol Chem.*, **284**, 21165-21176 (2009).
- 4) 村松敬一郎：茶の科学, 朝倉書店, 52-56 (1991).

- 5) 佐藤昭一, 眞正清司, 入来浩幸, 浅井淳也: 茶業研究報告, **106**, 81-90 (2008).
- 6) 宮武和孝: 電学誌, **128**-2, 97-100 (2008).
- 7) ZANOELO.F.E., CARDOZO.L., and CARDOZO.E.L., *J Food Process Eng*, **29**-3, 253-268 (2006).
- 8) 須田郁夫: 食品機能研究法, 218-221 (2000).
- 9) Li.Y.G., Tarner.G., and Larkin.P., *J Sci Food Agric*, **70**-1, 89-101 (1996).
- 10) 沖智之, 竹林純, 山崎光司: 食品機能性評価マニュアル集 (第II集), 79-86 (2008).
- 11) 古谷弘三, 原利男, 久保田悦郎: 茶業研究報告, **18**, 42-46 (1961).
- 12) 伊與田浩志, 野邑奉弘: 食品工業, **48**-14, 20-28 (2005).
- 13) 仲島日出男, 樋口誠一, 常見崇史, 茂木八千代, 矢嶋みづほ, 川田由香, 三浦理代: 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **4**, (2006).
- 14) 樋口誠一, 仲島日出男: 日食科工第59回大会講演要旨集, 131, 北海道 (2012).
- 15) 本間清一: 日栄食誌, **58**-2, 85-98 (2005).

# 液体大麦麴のクエン酸生成に関する研究

越智 洋<sup>\*2</sup>・山本 英樹<sup>\*1</sup>・高山 清子<sup>\*1</sup>・水谷 政美<sup>\*1</sup>

Study on Citric Acid Productivity by Liquid Barley Koji

Hiroshi OCHI, Hideki YAMAMOTO, Kiyoko TAKAYAMA and Masami MIZUTANI

液体大麦麴のクエン酸生成に適した培養条件について検討を行った。原料大麦の精麦度、原料状態、培養方法及び培養時間のクエン酸生成に及ぼす影響を調べた。精麦度では、低精麦度で麴酸度が高く、クエン酸生成が多くなり、原料状態では、原麦を粒のまま用いた際に麴酸度が高く、培養方法では、振とう器による巡回方式の培養で麴酸度が高くなることがわかった。また、培養時間は72時間が最も酸度が高くなった。

キーワード：大麦，液体，麴，クエン酸

## 1 はじめに

焼酎麴の固体培養は、醸造に必要な多種類の酵素やクエン酸を大量に生成できる培養法である。一方、液体培養は、培養制御や品質管理が容易で、効率的な生産に適した培養方法であるが、麴に用いる原料によっては、酵素やクエン酸の生産性の低下が課題となっている。この課題を解決し、固体培養と同様の酵素やクエン酸の生産性を有する液体培養が確立できれば、様々な産業分野での応用が可能となる。今回クエン酸の生産性の向上条件について検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 供試験種麴と原料

種麴は市販されている焼酎用白麴菌を、大麦は精麦度65, 70, 75, 80, 85, 90原麦7種類を試験に用いた。大麦はミルで粉砕したものと粒のままのもの2種類を試験に用いた。

### 2-2 マグネチックスターラーによる液体大麦麴培養

大麦2.5 gと水50 mlを100 mlの三角フラスコに入れ、オートクレーブ滅菌後、種麴菌の胞子を $2.0 \times 10^6$ 個/mlになるように接種した。35°Cの恒温器に

入れ、マグネチックスターラーにより培養液を攪拌しながら48, 68, 90時間培養を行った。

### 2-3 振とう器による液体大麦麴培養

大麦2.5 gと水50 mlを200 mlの三角フラスコに入れ、オートクレーブ滅菌後、種麴菌の胞子を $2.0 \times 10^6$ 個/mlになるように接種した。その後、37°Cの振とう培養器に入れ、巡回方式で培養液を攪拌しながら48, 72, 96時間培養を行った。

### 2-4 液体大麦麴培養液の麴酸度測定

酸度は国税庁所定分析法<sup>1)</sup>に従い、0.1 N水酸化ナトリウムで滴定した。なお、酸度は大麦と水の量を考慮して、固体麴として換算して示した。

### 2-5 振とう器による液体大麦麴培養液の有機酸分析

麴酸度測定の結果から精麦度65,85及び原麦について、24, 48, 72, 96時間培養を行い、有機酸組成を調べた。

有機酸の測定は、培養液を10倍希釈し、0.45  $\mu$ m フィルターでろ過後、有機酸分析システム (LC-20AD：島津製作所) を用いて測定した。分析条件は次のとおりである。カラム：Shim-packSCR-102H ( $\phi$ 8 mm  $\times$  300 mm, 2本直列) 移動相：5mM p-トルエンスルホン酸、緩衝液：5 mM p-トルエンスルホン酸, 20 mM Bis-tris, 100  $\mu$ M EDTA, 流速0.8 mL/min, カラム温度：40°C, 検出器：電気伝導度検出器。

\*1 応用微生物部

\*2 現 衛生環境研究所

### 3 結果および考察

#### 3-1 液体培養麴と固体培養麴の顕微鏡写真

通常の固体培養麴では、図1のような菌糸の先端に孢子形成が確認されるが、液体培養麦麴では孢子形成が観察されなかった（図2）。

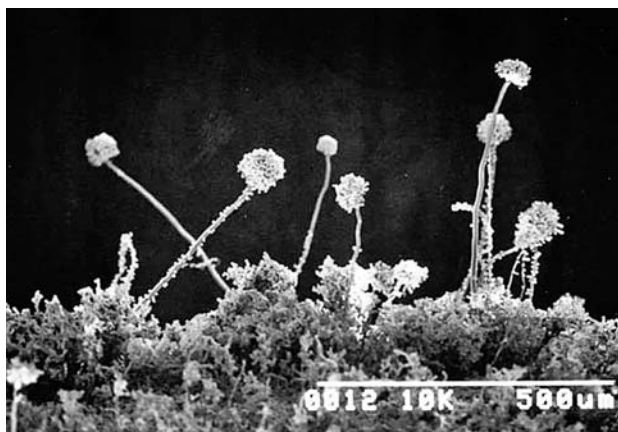


図1 固体培養麴写真



図2 液体培養麦麴写真

#### 3-2 マグネチックスターラーによる液体大麦麴培養液の麴酸度とpH

酸度は、培養時間が長いほど高い傾向が見られた（表1）。粒のままの場合、48, 68時間培養では原麦が、90時間培養では精麦度90が最も酸度が高く、原麦を除くと精麦度が低い方が酸度が高い傾向が見られた。粉碎では、いずれの培養時間でも精麦度70が最も酸度が高く、精麦度70の90時間培養において最大で酸度12.9であった。また、90時間培養したものは、精麦度85を除き、粒のままより酸度が高かった。

pHと酸度の相関はほとんどなかった（表1, 2）。粒のままのpHは3.5～4.5の範囲であった。粉碎では、pH 3.0～6.8と粒のままより幅がみられた。酸度が

最も高い粉碎した精麦度70で90時間培養したものがpHが最も低く3.0であった。

表1 培養時間と麴酸度

| 酸度  | 大麦粒子 |      |      | 大麦粉碎物 |      |      |
|-----|------|------|------|-------|------|------|
| 精麦度 | 48時間 | 68時間 | 90時間 | 48時間  | 68時間 | 90時間 |
| 65  | 2.2  | 3.4  | 3.9  | 2.6   | 3.4  | 8.4  |
| 70  | 5.2  | 2.8  | 3.9  | 7.1   | 8.6  | 12.9 |
| 75  | 2.2  | 3.9  | 4.1  | 3.0   | 3.3  | 6.4  |
| 80  | 3.5  | 2.8  | 4.0  | 3.1   | 1.0  | 9.0  |
| 85  | 1.7  | 3.9  | 5.3  | 3.4   | 5.0  | 0.2  |
| 90  | 1.8  | 3.4  | 5.8  | 2.6   | 6.7  | 11.9 |
| 原麦  | 9.3  | 7.5  | 3.6  | 1.9   | 6.0  | 8.8  |

表2 培養時間とpH

| pH  | 大麦粒子 |      |      | 大麦粉碎物 |      |      |
|-----|------|------|------|-------|------|------|
| 精麦度 | 48時間 | 68時間 | 90時間 | 48時間  | 68時間 | 90時間 |
| 65  | 4.2  | 3.9  | 4.0  | 4.5   | 3.7  | 3.1  |
| 70  | 3.5  | 4.2  | 3.9  | 3.4   | 3.2  | 3.0  |
| 75  | 4.3  | 4.0  | 4.0  | 4.1   | 4.1  | 3.4  |
| 80  | 4.2  | 4.4  | 4.1  | 4.0   | 5.2  | 3.7  |
| 85  | 4.5  | 4.1  | 4.1  | 4.1   | 4.1  | 6.8  |
| 90  | 4.4  | 4.0  | 4.0  | 4.5   | 3.6  | 3.5  |
| 原麦  | 4.2  | 4.2  | 4.0  | 4.9   | 4.0  | 3.7  |

#### 3-3 振とう器による液体大麦麴培養液の麴酸度とpH

酸度は、ほとんどの試験区で72時間培養の時間が最も高く、48時間から72時間付近にかけて最大となり、それ以降低くなると考えられた。粒のままの72時間培養の原麦が最も酸度が高く17.2であった。粒のままでは、いずれの培養時間でも原麦が最も酸度が高かった。粉碎したものでは、各培養時間における精麦度の違いによる酸度の差は小さいものであった。精麦度の違いで比較すると粒のままの原麦がほかと比較して飛躍的に酸度が高かった。原麦は他の精麦度と比較して窒素分が多いため、麴菌の増殖が早く、多くのクエン酸を生成したと考えられた（表3）。

pHと酸度の相関はほとんど認められなかった（表3, 4）。また、試験区間におけるpHの差はほとんどなかった。

酸度と比較してpHの変化が小さい原因としては、大麦中のたんぱくが麴菌の生産するプロテアーゼによりアミノ酸になり、麴培養液の緩衝能が高まり



pHの低下が抑えられたことが考えられた。

培養液中の麴菌の菌糸の状態は、原麦の粒のままを除いて、どの試験区でも菌糸が長く、菌体量は多かったが、原麦の粒のままは、菌糸が短く、菌体量もやや少なかった（図3）。

表3 培養時間と麴酸度

| 酸度  | 大麦粒子 |      |      | 大麦粉砕物 |      |      |
|-----|------|------|------|-------|------|------|
|     | 48時間 | 72時間 | 96時間 | 48時間  | 72時間 | 96時間 |
| 精麦度 |      |      |      |       |      |      |
| 65  | 3.9  | 4.7  | 3.7  | 3.9   | 4.6  | 3.3  |
| 70  | 3.9  | 4.3  | 3.7  | 3.9   | 4.6  | 3.4  |
| 75  | 4.5  | 4.3  | 3.9  | 4.3   | 5.0  | 3.7  |
| 80  | 4.3  | 5.2  | 3.3  | 4.3   | 5.2  | 3.2  |
| 85  | 4.5  | 4.7  | 3.0  | 3.9   | 4.7  | 3.0  |
| 90  | 4.3  | 4.4  | 2.6  | 3.9   | 3.9  | 2.7  |
| 原麦  | 13.8 | 17.2 | 9.3  | 3.4   | 3.0  | 2.2  |

表4 培養時間とpH

| pH  | 大麦粒子 |      |      | 大麦粉砕物 |      |      |
|-----|------|------|------|-------|------|------|
|     | 48時間 | 72時間 | 96時間 | 48時間  | 72時間 | 96時間 |
| 精麦度 |      |      |      |       |      |      |
| 65  | 3.2  | 3.3  | 3.3  | 3.2   | 3.3  | 3.7  |
| 70  | 3.2  | 3.3  | 3.6  | 3.2   | 3.4  | 3.7  |
| 75  | 3.2  | 3.3  | 3.6  | 3.2   | 3.4  | 3.7  |
| 80  | 3.3  | 3.4  | 3.7  | 3.4   | 3.5  | 4.1  |
| 85  | 3.3  | 3.5  | 4.0  | 3.4   | 3.6  | 4.2  |
| 90  | 3.4  | 3.7  | 4.1  | 3.5   | 3.8  | 4.2  |
| 原麦  | 3.1  | 3.1  | 3.5  | 3.5   | 4.0  | 4.4  |



図3 液体培養麦麴

### 3-4 振とう器による液体大麦麴培養液の有機酸組成

大麦麴培養液の有機酸は、クエン酸とリンゴ酸の2種類であった。粒のままの精麦度85の96時間培養と原麦の24時間培養を除いて、有機酸に占めるクエン酸量が約70%以上を占めていた。

粒のままと粉砕を比較すると、精麦度65、85の72時間培養と原麦の24時間培養を除き、粒のままの方

が有機酸含量が高かった。原麦の48、72、96時間培養では、特に粒のままと粉砕のクエン酸含量の差が大きく、約4倍～10倍であった。粒のままの原麦の72時間培養麴は、麴酸度と同様に有機酸量が1,850 mg/lと最も多く（図4、5）、実用的な液体麴の製麴が可能であると考えられた。

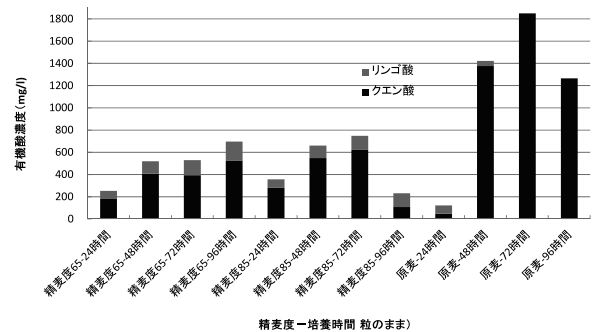


図4 液体培養麦麴の有機酸組成（大麦粒子）

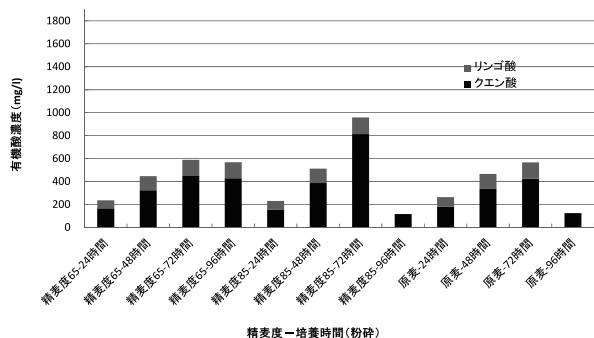


図5 液体培養麦麴の有機酸組成（大麦粉砕物）

## 4 まとめ

液体大麦麴の培養において以下の結果を得た。

- ① 同じ精麦度でも原料の状態の違いでクエン酸生成量に差があった。
- ② 原麦を粒のまま用い72時間培養した際に、最も多くクエン酸を生成した。
- ③ 粒のままと粉砕で比較したとき、原麦においてクエン酸生成の差が最も大きかった。
- ④ 有機酸にはクエン酸とリンゴ酸が含まれており、クエン酸がそのほとんどを占めていた。
- ⑤ 液体大麦麴の培養で、焼酎製造に必要なクエン酸の生成が可能であることが示唆された。

## 5 参考文献

- 1) 第四回改正国税庁所定分析法注解，221-222（2003）

# 乳酸菌を利用した食品廃棄物のリサイクルに関する研究\*

森永 樹<sup>\*1</sup>・山田 和史<sup>\*2</sup>・高山 清子<sup>\*2</sup>・山本 英樹<sup>\*2</sup>・越智 洋<sup>\*3</sup>・水谷 政美<sup>\*2</sup>

Research on Recycling of Food Waste using Lactic Acid Bacteria

Itsuki MORINAGA, Kazufumi YAMADA, Kiyoko TAKAYAMA, Hideki YAMAMOTO,  
Hiroshi OCHI and Masami MIZUTANI

腐敗しやすい食品廃棄物であるおから、甘藷等の保存性を高め飼料としてリサイクルすることを目的として、乳酸発酵試験を行った。乳酸菌は、当センターで焼酎もろみから分離した<sup>1)</sup> *Lactobacillus plantarum* DM1および*Pediococcus acidilactici* LM2等を用い、必要に応じて市販のサイレージ用乳酸菌製剤も使用した。その結果、おから、甘藷、トマトの乳酸発酵に適した乳酸菌を見出すことができた。

キーワード：乳酸菌，酵素，おから，甘藷，トマト

## 1 はじめに

これまでにおから等の腐敗しやすい食品廃棄物を乳酸発酵により保存性を高め、飼料化する方法について検討してきた<sup>2)</sup>。

今回、これまでに開発してきた乳酸菌を利用した技術を応用し、米ぬかを基材とした乳酸菌製剤の保存試験やおから、甘藷等の食品廃棄物に適した乳酸菌の検討を行った。また、生成する有機酸やアミノ酸についての検討も行ったので、その結果について報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 供試材料

乳酸菌は、焼酎もろみから分離した*L.plantarum* DM1, *P.acidilactici* LM2, *L.rhamnosus*, 独立行政法人理化学研究所から入手した*L.amylovorus* JCM2010を、市販のサイレージ用乳酸菌製剤は、雪印種苗(株)製のアクレモコンク、LPコンクスプレー、サイロSPスプレーを用いた。

米ぬかやおからは県内業者から提供を受けたものを使用した。焼酎粕は、当センターで芋焼酎を試作

した際生じたものを-20℃で保存した。

また、トマトは、畜産試験場川南支場から提供されたものを使用した。

### 2-2 米ぬか乳酸菌製剤の保存試験

米ぬか40 gを滅菌(121℃で20分)し、100℃で30分乾燥させ、MRS培地で前培養した乳酸菌培養液(*L.plantarum* DM1, *P.acidilactici* LM2) 20 mlをそれぞれ加え、40℃で2時間熱風乾燥を行い、米ぬか乳酸菌製剤を作製した<sup>3)</sup>。乾燥後の水分量は、赤外線水分計(㈱ケット科学研究所, FD-600)で110℃で60分乾燥して測定した。作製した乳酸菌製剤を、4℃と-20℃でそれぞれ保存し、1週間、1, 3, 5, 6, 8, 10ヶ月後に製剤中の乳酸菌数を測定した。生菌数の測定は、製剤1 gに9 mlの生理食塩水を加え、適宜希釈したものを1 mlずつシャーレに分注し、BCP加プレートカウント寒天培地(日水製薬(株))を加え、嫌気状態で37℃、72時間培養後、生育したコロニーを計数した。

### 2-3 おからの乳酸発酵試験

#### 2-3-1 乳酸発酵の検討

乳酸菌として、*L.plantarum* DM1, *P.acidilactici* LM2, *L.rhamnosus*を用いて、おからの乳酸発酵試験を行った。おから50 g(未殺菌、または121℃で20分滅菌)に、乳酸菌前培養液1 ml、水5 mlをそ

\* 食品廃棄物のリサイクルに関する研究(第2報)

\*1 宮崎県産業支援財団(現 宮崎大学医学部)

\*2 応用微生物部

\*3 応用微生物部(現 衛生環境研究所)

れぞれ加え、袋に入れよく混合して団子状にまとめ、30℃で発酵試験を行った。5日後、それぞれ10 gを測り取り蒸留水を加え50 mlに定容し、ろ液のpH、有機酸を測定した。

有機酸分析は、ろ液を20倍希釈し、0.45  $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過後、高速液体クロマトグラフ (LC-20AD: 島津製作所) を用いて測定した。分析条件は次のとおりとした。カラム: Shim-packSCR-102H ( $\phi$ 8 mm $\times$ 300 mm, 2本直列), 移動相: 5 mM p-トルエンスルホン酸, 緩衝液: 5 mM p-トルエンスルホン酸, 20 mM Bis-tris, 100  $\mu$ M EDTA, 流速0.8 mL/min, カラム温度: 40℃, 検出器: 電気伝導度検出器。

### 2-3-2 プロテアーゼ系酵素製剤を併用した乳酸発酵試験

おから50 gを高温高压滅菌 (121℃で20分) し、3種の乳酸菌 *L.plantarum* DM1, *P.acidilactici* LM2, *L.rhamnosus*の前培養液1 ml, 蒸留水1 ml, 蛋白質分解酵素0.01 gを加え、30℃で乳酸発酵試験を行い、5日後に10 gを分取し、pH, 有機酸, アミノ酸を測定した。

蛋白質分解酵素としては、パンチダーゼMP, ユニアーゼ30 (いずれもヤクルト薬品(株)製) をそれぞれ使用した。

アミノ酸の測定は、ろ液を0.02 N HClで10倍希釈し0.2  $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過後、高速アミノ酸分析(L-8900, 日立製作所製)を用いてニンヒドリン発色法により測定した。

### 2-4 甘藷の乳酸発酵試験

さいの目カッター (DC-202, 榎村鐵工所製) を用いて、5 mm角のさいの目にした甘藷 (黄金千貫) 50 gに乳酸菌として、*L. amylovorus* JCM2010, *L.plantarum* DM1, *P.acidilactici* LM2をそれぞれ1 mlと蒸留水50 mlを加え、乳酸発酵を行った。甘藷は、生又は蒸したものをそれぞれ用い、1週間乳酸発酵させた後、pHと有機酸の測定を行った。また、さいの目にカットした生甘藷25 gに芋焼酎粕50 mlを加え、1週間乳酸発酵試験を行った後、pHと有機酸を測定した。

### 2-5 トマトの乳酸発酵試験

大玉トマトおよびミニトマト10 kgをそれぞれ破砕機 (ART-23、PILLAN社製) で潰し乳酸発酵試

験に供した。乳酸菌として *L.plantarum* DM1, *P.acidilactici* LM2, *L.rhamnosus*の3種、乳酸菌製剤として、アクレモコンク, LPコンクスプレー, サイロSPスプレーの3種を用いた。

トマト150 mlに乳酸菌前培養液1.5 mlまたは乳酸菌製剤0.1 gをそれぞれ加え、30℃で培養し、5日後に、pH, 有機酸を測定した。トマトの糖分析には、高速液体クロマトグラフ (LC-2000Plus, 検出器: 示差屈折計, 日本分光(株)) を使用した。

## 3 結果および考察

### 3-1 米ぬか乳酸菌製剤の保存試験

40℃で熱風乾燥を2時間行った米ぬか乳酸菌製剤中の水分量は、*L.plantarum* DM1で17.0%, *P.acidilactici* LM2で23.0%であった。

また、初発の乳酸菌数は、*L.plantarum* DM1が $1.3 \times 10^{11}$  CFU/g, *P.acidilactici* LM2が $1.5 \times 10^{10}$  CFU/gであった。10ヶ月間 (300日) 保存した時の乳酸菌数の経時変化を図1に示した。-20℃で10ヶ月保存した後の乳酸菌数は、それぞれ、 $5.8 \times 10^{10}$  CFU/g,  $3.9 \times 10^{10}$  CFU/gであり、4℃で保存した場合は、乳酸菌数が減少したが、-20℃では、ほとんど減少しておらず、乳酸菌製剤を安定して保存できることが分かった。

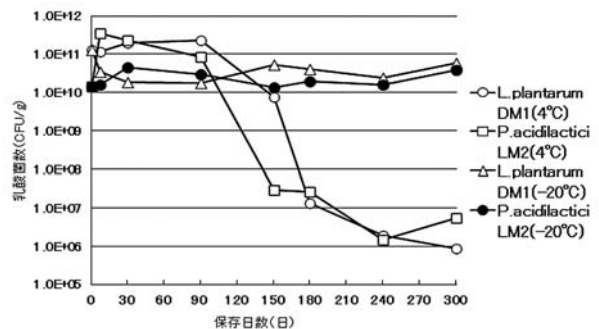


図1 米ぬか乳酸菌製剤中の乳酸菌数の推移

### 3-2 おからの乳酸発酵

#### 3-2-1 乳酸発酵の検討

おからを滅菌した場合、*P.acidilactici* LM2と *L.plantarum* DM1で5,200 mg/L以上の乳酸が生成されており、*L.plantarum* DM1と *L.rhamnosus*では、酢酸が3,000 mg/L程度生成されていた (図2)。未殺菌の場合では、乳酸の生成には大きな差は見ら

れなかった．未殺菌のおからで乳酸生成量が滅菌したものより多くなったのは，おからにもともと存在する乳酸菌（*Lactobacillus fermentum*：遺伝子解析により同定）の影響と考えられた．

### 3-2-2 プロテアーゼ系酵素製剤を併用した乳酸発酵試験

酵素製剤を添加した乳酸発酵試験5日目の有機酸生成量を図3に示した．パンチダーゼMPを添加した場合，すべての乳酸菌において乳酸量が増加していた．表1に示したとおり，*Pacidilactici* LM2にパンチダーゼMPを添加した場合，遊離アミノ酸総量が5日後に乳酸菌のみの約38倍，オルニチンが約10倍になっており，酵素の添加がアミノ酸生成に有効であると考えられた．

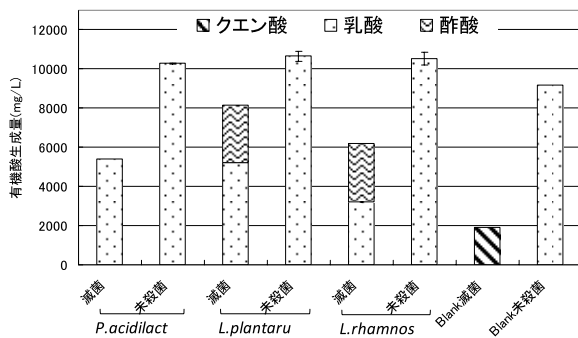


図2 おからの乳酸発酵での有機酸生成量

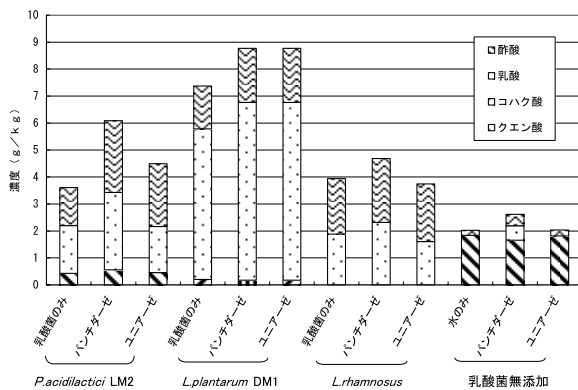


図3 酵素剤を併用した乳酸発酵試験

表1 遊離アミノ酸量

単位：mg/100 g

|                            |        | 総量   | Glu | GABA | Orn | Arg |
|----------------------------|--------|------|-----|------|-----|-----|
| <i>P. acidilactici</i> LM2 | 乳酸菌のみ  | 45   | 3.1 | 4.7  | 12  | 0   |
|                            | パンチダーゼ | 1700 | 220 | 5.2  | 129 | 1.9 |
|                            | ユニアーゼ  | 400  | 36  | 9.7  | 41  | 0   |
| <i>L. plantarum</i> DM1    | 乳酸菌のみ  | 39   | 0.4 | 4.8  | 0.2 | 18  |
|                            | パンチダーゼ | 840  | 110 | 22   | 1.0 | 82  |
|                            | ユニアーゼ  | 1000 | 150 | 26   | 6.3 | 100 |
| <i>L. rhamnosus</i>        | 乳酸菌のみ  | 68   | 14  | 4.6  | 3.2 | 14  |
|                            | パンチダーゼ | 860  | 100 | 7.1  | 0.6 | 94  |
|                            | ユニアーゼ  | 330  | 25  | 11   | 3.2 | 31  |
| 乳酸菌無添加                     | 水のみ    | 56   | 9.1 | 4.7  | 0.6 | 13  |
|                            | パンチダーゼ | 910  | 47  | 8.9  | 13  | 81  |
|                            | ユニアーゼ  | 200  | 12  | 6.0  | 0.4 | 29  |

### 3-3 甘藷の乳酸発酵試験

甘藷を使用した乳酸発酵試験を行った結果を図4，5に示す．生の甘藷および蒸した甘藷の両方で乳酸が生成した．いずれの乳酸菌でも蒸した甘藷より生の方が乳酸の生成量が多く，生の甘藷のデンプンを資化し乳酸を生成することが確認された．なお，生の甘藷では無添加のものでも乳酸を生成しており，甘藷に付着していた乳酸菌の影響と考えられた．

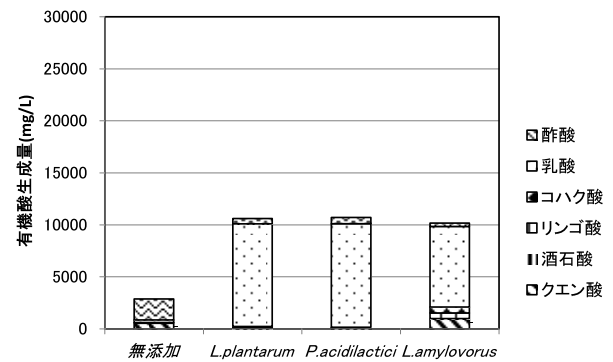


図4 蒸した甘藷での乳酸発酵試験

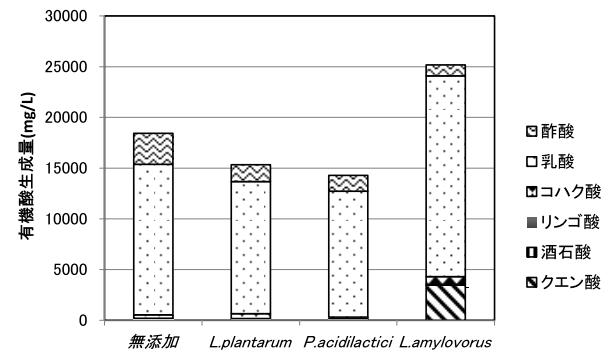


図5 生甘藷での乳酸発酵試験



### 3-4 トマトの乳酸発酵試験

トマトには、果糖、ブドウ糖がそれぞれ1～2%含まれており、大玉トマトよりミニトマトの方が糖含量は、1.5倍ほど多い(表2)。

5 日後の pH は、*L.plantarum* DM1、*L.rhamnuosus*、LPコンクスプレーが pH3.3 と低かった。図6、7に示したように、大玉トマトでは、*L.plantarum* DM1 および *L.rhamnuosus* の乳酸生成量が多く、ミニトマトでは、アクレモコング、*L.plantarum* DM1、LPコンクスプレーで乳酸生成量が多かった。どちらのトマトでも乳酸の生成量が多い *L.plantarum* DM1 がトマトの乳酸発酵に適していると考えられた。

表2 トマトの糖濃度分析結果

| 濃度 (%) | ミニトマト | 大玉トマト |
|--------|-------|-------|
| 果糖     | 2.05  | 1.43  |
| ブドウ糖   | 1.73  | 1.18  |

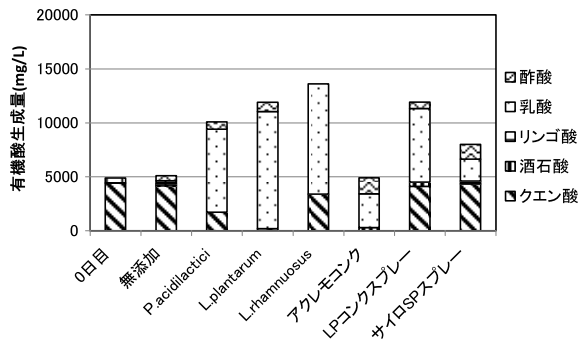


図6 大玉トマトを用いた乳酸発酵試験

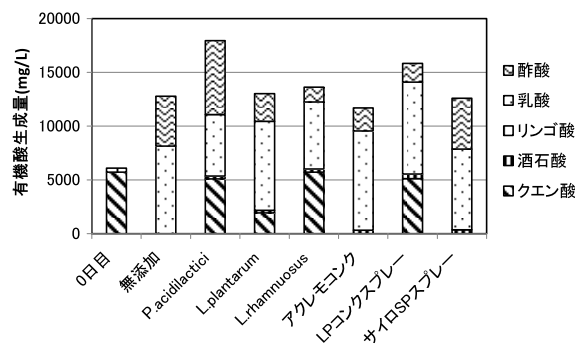


図7 ミニトマトを用いた乳酸発酵試験

### 4 まとめ

- ① 米ぬか乳酸菌製剤は、 $-20^{\circ}\text{C}$ で10ヶ月間保存が可能であることが確認され、安価な製剤として使用することができると考えられた。
- ② おからの乳酸発酵では、プロテアーゼ系酵素製剤の添加が遊離アミノ酸の生成に有効であることが確認された。
- ③ プロテアーゼ系酵素製剤パンチダーゼMPの併用により、*P.acidilactici* LM2では、遊離アミノ酸量が増加し、特にオルニチンが乳酸菌単独の場合より約10倍に増加した。
- ④ 生の甘藷やトマトが乳酸発酵できることが確認され、食品廃棄物の飼料化の可能性が広がることが示唆された。

### 5 参考文献

- 1) 竹下淳子，工藤哲三，山本英樹，水谷政美，柏田雅徳：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**49**，119（2004）
- 2) 森永樹，水谷政美，高山清子，山本英樹，越智洋，工藤哲三：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**55**，95（2010）
- 3) 水谷政美，森永樹，高山清子，山本英樹，越智洋，工藤哲三：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**54**，97（2009）

## 食品産業における一次加工品のニーズと一次加工業者の課題 —宮崎県食品関連企業実態調査結果から—

福 山 明 子 (宮崎県食品開発センター)

柚木崎 千鶴子 (宮崎県食品開発センター)

後 藤 一 寿 (九州沖縄農業研究センター)

Needs of the primary artifact and Problem of the primary processor in the food industry  
—Miyazaki Prefecture Food Industry Survey Results—

Akiko Fukuyama (Miyazaki Prefectural Food R&D Center)

Chizuko Yukizaki (Miyazaki Prefectural Food R&D Center)

Kazuhisa Goto (NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center)

In the midst of a sluggish manufacturing value added to the national food, in order to revitalize the food industry is important to understand the needs of real demand food industry. In this report we will conduct a survey on the needs and challenges of primary fabricators of primary processing products were verified.

As a result, the actual demand for the food industry has the strongest potential needs primary

processed products' quality and convenience, and then" functional nutrients Show "," domestic or Miyazaki Prefecture ".

In addition, the potential needs of the most intense primary fabricators "functional nutrients Show," followed by "cost reduction", "respond to diverse lot," "high added value" to make value-added products and strong desire to enhance the technology

### 1. はじめに

全国的にも食料品製造業の付加価値額が伸び悩んでいる中、本県食料品製造業の付加価値額は近年増加傾向である。本県は全国有数の農業県で農業産出額は全国第5位 (2009)<sup>1)</sup>であることから両産業は本県経済の基幹産業となっている。今後、さらなる付加価値額の増加および農水産物の需要拡大を図るためには、食品産業実需者ニーズの把握は重要である。

近年、農商工連携が進む中で、矢吹 [1] は「川上」である生産者および「川中」の一次加工業者は、「川下」の最終加工業者・小売業者・飲食店のニーズに対して疎いことをあげており、農産物の需要拡大、付加価値額増加のためには食品産業実需者ニーズの把握が極めて重要である。

そのような中、食品産業実需者ニーズを解析し試験研究に役立てる研究も行われており、後藤他 [2] 堤・後藤 [3] らは青果物・一次加工品の食品産業実需者ニーズを明らかにし、食品産業の支援に活用している。

そこで本報告では、一次加工品に対する食品産業実需者ニーズに加えて、ニーズに対応するための一次加工業者の課題についても明らかにする。

### 2. 調査の対象と方法

今回実施したアンケート調査では、宮崎県内の食品産業実需者及び一次加工業者に対して事前にヒアリング調査を実施し、調査項目の検討を行った上で調査票を設計し対象事業者へ郵送調査を行った。調査対象は、県内外の中食産業、外食産業、一次加工

業者を除く製造業及び県内の一次加工業者である。

調査時期は、平成23年1月であり、配布数は1,478部（回収率は25%）である。調査票の主な構成は以下のとおりである。

#### ■) 食品産業実需者

- ・属性項目
- ・一次加工品の利用状況及とニーズ
- ・宮崎県産一次加工品の利用上の問題点 など

#### ■) 一次加工業者

- ・属性項目
- ・一次加工品の製造状況
- ・一次加工品を製造する際の問題点 など

なお、一次加工業者の中には二次加工品等を製造するために、原料として一次加工品を利用している事業所もあるため、一次加工品の利用に関する調査結果中では一次加工業と表記して区分している。

### 3. 結果と考察

#### (1) 調査結果の概要

アンケート調査結果の概要を表1に示す。業種別では一次加工業者を除く製造業が最も多く、次いで一次加工業者、外食、中食となっている。従業員規模別の全体では10名未満が54%と多く、10名以上100名未満が37%、100名以上の大規模事業所は9%であった。

表1 アンケート調査結果の概要

| 従業員規模    | 中食      |         | 外食      |         | 一次加工業   |         | 一次加工業を除く製造業 |         | 合計      |         |
|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------------|---------|---------|---------|
|          | 事業数 (%) | 事業数 (%) | 事業数 (%) | 事業数 (%) | 事業数 (%) | 事業数 (%) | 事業数 (%)     | 事業数 (%) | 事業数 (%) | 事業数 (%) |
| 0～10名    | 12      | 38.7    | 14      | 42.4    | 26      | 40.6    | 108         | 63.9    | 160     | 53.9    |
| 10名～100名 | 17      | 54.8    | 13      | 39.4    | 31      | 48.4    | 48          | 28.4    | 109     | 36.7    |
| 100名以上   | 2       | 6.5     | 6       | 18.2    | 7       | 10.9    | 13          | 7.7     | 28      | 9.4     |
| 合計       | 31      | 100.0   | 33      | 100.0   | 64      | 100.0   | 169         | 100.0   | 297     | 100.0   |

#### (2) 一次加工品について

##### 1) 一次加工品の利用割合

購入原料のうち一次加工品が占める割合を表2に示す。全体では「3割未満」が64%を占め「5割以上」は30%で、一次加工品の利用割合は低い。しかし業種別では一次加工業者を除く製造業では「5割以上」が26%を占め、業種間で最も利用割合が高かった。

表2 一次加工品の利用割合

| 使用割合      | 中食<br>(n=10) |     | 外食<br>(n=21) |     | 一次加工業<br>(n=15) |     | 一次加工業を除く製造業<br>(n=57) |     | 合計<br>(n=103) |     |
|-----------|--------------|-----|--------------|-----|-----------------|-----|-----------------------|-----|---------------|-----|
|           | 度数           | 比率  | 度数           | 比率  | 度数              | 比率  | 度数                    | 比率  | 度数            | 比率  |
| 1割未満      | 2            | 20% | 8            | 38% | 7               | 47% | 22                    | 39% | 39            | 38% |
| 1割以上3割未満  | 2            | 20% | 8            | 38% | 4               | 27% | 13                    | 23% | 27            | 26% |
| 3割以上5割未満  | 4            | 40% | 3            | 14% | 1               | 7%  | 5                     | 9%  | 13            | 13% |
| 5割以上8割未満  | 0            | 0%  | 2            | 10% | 1               | 7%  | 6                     | 11% | 9             | 9%  |
| 8割以上9割未満  | 1            | 10% | 0            | 0%  | 1               | 7%  | 1                     | 2%  | 3             | 2%  |
| 9割以上      | 1            | 10% | 0            | 0%  | 0               | 0%  | 3                     | 5%  | 4             | 5%  |
| すべて (10割) | 0            | 0%  | 0            | 0%  | 1               | 7%  | 5                     | 9%  | 6             | 6%  |
| わからない     | 0            | 0%  | 0            | 0%  | 0               | 0%  | 2                     | 4%  | 2             | 2%  |

#### 2) 購入して利用している一次加工品の形態

購入して利用している一次加工品の形態を、表3に示す。全体では「冷凍」50%が最も多く、「ピューレ／ペースト」31%「乾燥粉末」24%が続いた。中食及び外食では冷凍（カット野菜、カット果物、果皮のみ含む）が多く利用されていた。一次加工業者が利用している形態では「乾燥」が最も多く、「塩蔵」、「濃縮果汁」が続いた。一次加工業者を除く製造業では、「ピューレ／ペースト」、「乾燥粉末」、「濃縮果汁」、「ストレート果汁」が続き、業種別で最も多くの形態が利用されていた。

表3 利用している一次加工品の形態

| 形態                      | 中食<br>(n=10) |      | 外食<br>(n=14) |      | 一次加工業<br>(n=12) |     | 一次加工業を除く製造業<br>(n=38) |     | 合計<br>(n=74) |     |
|-------------------------|--------------|------|--------------|------|-----------------|-----|-----------------------|-----|--------------|-----|
|                         | 度数           | 比率   | 度数           | 比率   | 度数              | 比率  | 度数                    | 比率  | 度数           | 比率  |
| 冷凍 (カット野菜、カット果物、果皮のみ含む) | 10           | 100% | 25           | 179% | 0               | 0%  | 2                     | 5%  | 37           | 50% |
| ピューレ／ペースト               | 0            | 0%   | 2            | 14%  | 1               | 8%  | 20                    | 53% | 23           | 31% |
| 乾燥粉末                    | 0            | 0%   | 1            | 7%   | 1               | 8%  | 16                    | 42% | 18           | 24% |
| 塩蔵 (カット野菜、カット果物、果皮のみ含む) | 6            | 60%  | 3            | 21%  | 2               | 17% | 5                     | 13% | 16           | 22% |
| 乾燥                      | 5            | 50%  | 1            | 7%   | 7               | 58% | 3                     | 8%  | 16           | 22% |
| 濃縮果汁                    | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 3               | 25% | 9                     | 24% | 12           | 16% |
| ストレート果汁                 | 2            | 20%  | 1            | 7%   | 0               | 0%  | 9                     | 24% | 12           | 16% |
| 皮むき                     | 0            | 0%   | 3            | 21%  | 0               | 0%  | 4                     | 11% | 7            | 9%  |
| 缶詰                      | 0            | 0%   | 3            | 21%  | 0               | 0%  | 4                     | 11% | 7            | 9%  |
| 塩蔵                      | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 5               | 42% | 1                     | 3%  | 6            | 8%  |
| シロップ漬け                  | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0               | 0%  | 6                     | 16% | 6            | 8%  |
| ジャム                     | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0               | 0%  | 5                     | 13% | 5            | 7%  |
| 水煮                      | 1            | 10%  | 0            | 0%   | 0               | 0%  | 0                     | 0%  | 1            | 1%  |
| レトルト                    | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0               | 0%  | 1                     | 3%  | 1            | 1%  |
| その他                     | 0            | 0%   | 0            | 0%   | 0               | 0%  | 4                     | 11% | 4            | 5%  |

注：1)複数回答

2)比率は回答事業所数に対する割合

#### 3) 利用している一次加工品の原料に宮崎県産品が占める割合

次に、利用している一次加工品の原料に宮崎県産品が占める割合を表4に示す。全体では「1割未満」34%が最も多く、次いで「10割」が18%、「1割以上3割未満」17%だった。

表4 一次加工品の原料に宮崎県産品が占める割合

| 使用割合     | 中食<br>(n=10) |     | 外食<br>(n=21) |     | 一次加工業<br>(n=15) |       | 一次加工業を<br>除く製造業 |     | 合計<br>(n=103) |     |
|----------|--------------|-----|--------------|-----|-----------------|-------|-----------------|-----|---------------|-----|
|          | 度数           | 比率  | 度数           | 比率  | 度数              | 比率    | 度数              | 比率  | 度数            | 比率  |
| 1割未満     | 2            | 20% | 9            | 56% | 3               | 23.1% | 14              | 32% | 28            | 34% |
| 1割以上3割未満 | 2            | 30% | 3            | 19% | 2               | 15.4% | 7               | 16% | 14            | 17% |
| 3割以上5割未満 | 3            | 30% | 1            | 6%  | 0               | 0.0%  | 2               | 5%  | 6             | 7%  |
| 5割以上8割未満 | 1            | 10% | 3            | 19% | 1               | 7.7%  | 8               | 18% | 13            | 16% |
| 8割以上9割未満 | 0            | 0%  | 0            | 0%  | 1               | 7.7%  | 3               | 7%  | 4             | 5%  |
| 9割以上     | 1            | 10% | 0            | 0%  | 1               | 7.7%  | 1               | 2%  | 3             | 4%  |
| すべて(10割) | 1            | 10% | 0            | 0%  | 5               | 38.5% | 9               | 20% | 15            | 18% |

中食では「3割以上5割未満」、外食では「1割未満」、一次加工業者では「10割」、一次加工業者を除く製造業では「1割未満」が最も多かった。このことから、一次加工業者は生産地と直結していることが示唆される。

#### 4) 宮崎県産一次加工品の問題点

宮崎県産一次加工品の問題点を表5に示す。全体では、「価格が高い」40%が最も多く、「品質が一定でない」36%、「産地情報等の情報不足」、「産地側との交渉が煩雑」31%が続いた。事前に行ったヒアリング調査時に、宮崎県産農産物の産地情報や一次加工品の製造状況の情報が入手しづらいという意見が寄せられ、情報だけでなく情報収集の手段さえもわからない実情があることが明らかになった。中食、外食、一次加工業者を除く製造業では「価格が高い」が最も多かった。一次加工業者では「品質が一定でない」「通年での仕入れが難しい」「数量調節が難しい」が多く、仕入れに関する問題が多かった。

表5 宮崎県産一次加工品の問題点

| 形態                 | 中食<br>(n=16) |     | 外食<br>(n=25) |     | 一次加工業<br>(n=26) |     | 一次加工業<br>を除く製造業<br>(n=95) |     | 合計<br>(n=162) |     |
|--------------------|--------------|-----|--------------|-----|-----------------|-----|---------------------------|-----|---------------|-----|
|                    | 度数           | 比率  | 度数           | 比率  | 度数              | 比率  | 度数                        | 比率  | 度数            | 比率  |
| 価格が高い              | 8            | 50% | 14           | 56% | 6               | 23% | 37                        | 39% | 65            | 40% |
| 品質が一定でない           | 5            | 31% | 10           | 40% | 8               | 31% | 36                        | 38% | 59            | 36% |
| 産地情報等の情報不足         | 5            | 31% | 6            | 24% | 6               | 23% | 33                        | 35% | 50            | 31% |
| 産地側との交渉が煩雑         | 5            | 31% | 6            | 24% | 6               | 23% | 33                        | 35% | 50            | 31% |
| 通年での仕入れが難しい        | 5            | 31% | 7            | 28% | 8               | 31% | 26                        | 27% | 46            | 28% |
| 数量調節が難しい           | 4            | 25% | 4            | 16% | 8               | 31% | 21                        | 22% | 37            | 23% |
| 量(ロット)が合わない        | 5            | 31% | 0            | 0%  | 4               | 15% | 20                        | 21% | 29            | 18% |
| 流通ルートが複雑           | 2            | 13% | 6            | 24% | 0               | 0%  | 20                        | 21% | 28            | 17% |
| 特にな                | 2            | 13% | 3            | 12% | 5               | 19% | 13                        | 14% | 23            | 14% |
| 天候不順のリスクを一方向的に負われる | 3            | 19% | 4            | 16% | 5               | 19% | 8                         | 8%  | 20            | 12% |
| 相手先の事務処理能力が低い      | 0            | 0%  | 2            | 8%  | 2               | 8%  | 4                         | 4%  | 8             | 5%  |
| 品質が悪い              | 2            | 13% | 0            | 0%  | 2               | 8%  | 3                         | 3%  | 7             | 4%  |
| 契約違反が多い            | 0            | 0%  | 0            | 0%  | 2               | 8%  | 0                         | 0%  | 2             | 1%  |
| その他                | 0            | 0%  | 1            | 4%  | 3               | 12% | 1                         | 1%  | 5             | 3%  |

注：1)複数回答  
2)比率は回答事業所数に対する割合

#### 5) 一次加工品に対するニーズ

利用したい一次加工品を表6に示す。全体では「ピューレ/ペースト」37%が最も多く、「乾燥」「冷凍(カット野菜、果物、果皮の実も含む)」「冷蔵(カット野菜、果物、果皮のみも含む)」が同数で20%と続いた。中食では「冷蔵(カット野菜、果物、果皮の実も含む)」外食では「冷凍(カット野菜、果物、果皮の実も含む)」が最も多かった。一次加工業者と一次加工業者を除く製造業では「ピューレ/ペースト」が最も多かった。

表6 利用したい一次加工品

| 形態                      | 中食<br>(n=7) |     | 外食<br>(n=7) |     | 一次加工業<br>(n=8) |     | 一次加工業<br>を除く製造業<br>(n=37) |     | 合計<br>(n=59) |     |
|-------------------------|-------------|-----|-------------|-----|----------------|-----|---------------------------|-----|--------------|-----|
|                         | 度数          | 比率  | 度数          | 比率  | 度数             | 比率  | 度数                        | 比率  | 度数           | 比率  |
| ピューレ/ペースト               | 1           | 14% | 1           | 14% | 6              | 75% | 14                        | 38% | 22           | 37% |
| 冷蔵(カット野菜、カット果物、果皮のみも含む) | 4           | 57% | 1           | 14% | 1              | 13% | 6                         | 16% | 12           | 20% |
| 冷凍(カット野菜、カット果物、果皮のみも含む) | 1           | 14% | 6           | 86% | 3              | 38% | 2                         | 5%  | 12           | 20% |
| 乾燥                      | 1           | 14% | 0           | 0%  | 4              | 50% | 7                         | 19% | 12           | 20% |
| 乾燥粉末                    | 0           | 0%  | 0           | 0%  | 4              | 50% | 6                         | 16% | 10           | 17% |
| ジャム                     | 0           | 0%  | 0           | 0%  | 0              | 0%  | 7                         | 19% | 7            | 12% |
| シロップ漬け                  | 1           | 14% | 1           | 14% | 0              | 0%  | 5                         | 14% | 7            | 12% |
| 濃縮果汁                    | 0           | 0%  | 0           | 0%  | 0              | 0%  | 7                         | 19% | 7            | 12% |
| 皮むき                     | 0           | 0%  | 0           | 0%  | 1              | 13% | 2                         | 5%  | 3            | 5%  |
| ストレート果汁                 | 0           | 0%  | 0           | 0%  | 0              | 0%  | 3                         | 8%  | 3            | 5%  |
| 塩蔵                      | 0           | 0%  | 0           | 0%  | 3              | 38% | 0                         | 0%  | 3            | 5%  |
| 水煮                      | 2           | 29% | 1           | 14% | 0              | 0%  | 0                         | 0%  | 3            | 5%  |
| 缶詰                      | 0           | 0%  | 1           | 14% | 0              | 0%  | 1                         | 3%  | 2            | 3%  |
| その他                     | 0           | 0%  | 1           | 14% | 0              | 0%  | 3                         | 8%  | 4            | 7%  |

注：1)複数回答  
2)比率は回答事業所数に対する割合

次に、一次加工品に対するニーズを5件法(5：非常にそう思う～1：全くそう思わない。)で評価してもらった結果を表7に示す。全体では「安定して仕入れられるか関心がある」が4.13で最も高く、次いで「味・風味などがよい一次加工品に関心がある」が4.00、「産地情報・品種特性がわかる一次加工品に関心がある」、「宮崎県産で製造された一次加工品に関心がある」が3.95だった。外食では他の業種より平均点が高い項目が多かった。具体的には、「国内で製造された一次加工品に関心がある」「産地情報・品種特性がわかる一次加工品に関心がある」「特別栽培農産物を原料とした一次加工品に関心がある」が他の業種より高く、原料も含めた製造情報に関心があることがうかがえる。また、「一次加工品の栄養成分の表示に関心がある」「一次加工品の抗酸化力の表示に関心がある」「栄養価が高い一次加工品に関心がある」も同様に高く、一次加工品に



対して栄養価や表示に対する関心が他の業種より高いことがうかがえる。さらに、「味・風味などがよい一次加工品に関心がある」「使いやすい量・形態があるか関心がある」「保存性の高い一次加工品に関心がある」も同様に関心が高く、味だけでなく利便性も重視していることがわかる。一次加工業者では「宮崎県内で製造された一次加工品に関心がある」や「農薬等の生産履歴がはっきりわかる原料を使った一次加工品に関心がある」「食品添加物を使用していない一次加工品に関心がある」が他の業種より高く、また「宮崎県内の一次加工業者との直接取引に関心がある」も高いことから県内で製造された一次加工品の直接取引を望んでいることがうかがえる。

表7 一次加工品に対するニーズ

| 項目                                   | 中食   | 外食   | 一次加工業 | 一次加工業を除く製造業 | 合計   |
|--------------------------------------|------|------|-------|-------------|------|
| 【10】安定して仕入れられるか関心がある                 | 4.15 | 4.22 | 4.24  | 4.07        | 4.13 |
| 【13】味・風味などがよい一次加工品に関心がある             | 3.70 | 4.22 | 4.04  | 3.99        | 4.00 |
| 【9】産地情報・品種特性がわかる一次加工品に関心がある          | 3.85 | 4.04 | 3.96  | 3.95        | 3.95 |
| 【2】宮崎県内で製造された一次加工品に関心がある             | 3.90 | 3.93 | 4.04  | 3.94        | 3.95 |
| 【7】使いやすい量・形態があるか関心がある                | 3.80 | 4.07 | 3.92  | 3.93        | 3.94 |
| 【8】食品添加物を使用していない一次加工品に関心がある          | 3.80 | 3.89 | 3.92  | 3.88        | 3.88 |
| 【5】農薬等の生産履歴がはっきりわかる原料を使った一次加工品に関心がある | 3.70 | 3.78 | 4.28  | 3.83        | 3.87 |
| 【17】保存性の高い一次加工品に関心がある                | 3.75 | 4.04 | 3.77  | 3.85        | 3.86 |
| 【6】簡単に仕入れられる一次加工品に関心がある              | 3.90 | 3.85 | 3.79  | 3.76        | 3.80 |
| 【1】国内で製造された一次加工品に関心がある               | 3.55 | 3.89 | 3.84  | 3.78        | 3.78 |
| 【14】一次加工品の栄養成分の表示に関心がある              | 3.15 | 3.78 | 3.65  | 3.50        | 3.53 |
| 【16】栄養価が高い一次加工品に関心がある                | 3.35 | 3.63 | 3.60  | 3.50        | 3.51 |
| 【11】宮崎県内の一次加工業者との直接取引に関心がある          | 3.30 | 3.30 | 3.88  | 3.51        | 3.50 |
| 【12】特別栽培農産物を原料とした一次加工品に関心がある         | 3.25 | 3.59 | 3.54  | 3.47        | 3.47 |
| 【4】健康機能性が高い一次加工品に関心がある               | 3.35 | 3.48 | 3.58  | 3.47        | 3.47 |
| 【15】一次加工品の抗酸化力の表示に関心がある              | 2.95 | 3.48 | 3.44  | 3.41        | 3.37 |
| 【3】一次加工品が国産（県産）であれば価格が高くても利用する       | 2.85 | 2.89 | 2.96  | 3.07        | 3.00 |

注：1）各項目に対する同感度に対する5段階評価（5：非常にそう思う～1：全く思わない）の平均評価得点

そこで、一次加工品に対する潜在的ニーズを明らかにするため、この結果を用いて因子分析（主因子法、スクリープロットによる因子数決定、プロマックス回転）を行った。その結果を表8に示す。第1因子は【17】【7】【6】【10】【13】【9】の負荷量が高く、抽出された因子の中でニーズへの影響力が最も大きな因子であり「利便性・高品質ニーズ」とした。第2因子は【15】【16】【14】【12】

表8 因子分析結果（一次加工品に対するニーズ）

| 変数                                        | 因子負荷量      |               |            |
|-------------------------------------------|------------|---------------|------------|
|                                           | 利便性・高品質ニーズ | 栄養成分・機能性表示ニーズ | 国産・宮崎県産ニーズ |
| 【17】保存性の高い（品質が劣化しにくい）一次加工品に関心がある          | 1.064      | .122          | -.393      |
| 【10】安定して仕入れられるか関心がある                      | .924       | -.111         | .013       |
| 【6】簡単に仕入れられる一次加工品（調達しやすい）に関心がある           | .914       | -.137         | .014       |
| 【7】使いやすい量・形態があるか関心がある                     | .900       | -.090         | .061       |
| 【13】味・風味などがよい一次加工品に関心がある                  | .619       | .221          | .072       |
| 【9】産地情報・品種情報がわかる一次加工品に関心がある               | .618       | .104          | .139       |
| 【15】一次加工品の抗酸化力の表示に関心がある                   | -.106      | 1.060         | -.088      |
| 【16】栄養価が高い一次加工品に関心がある                     | .197       | .924          | -.211      |
| 【14】一次加工品の栄養成分の表示に関心がある                   | .032       | .895          | -.047      |
| 【12】特別栽培農産物（減農薬・減化学肥料栽培）を原料とした一次加工品に関心がある | -.066      | .761          | .105       |
| 【4】健康機能性が高い一次加工品に関心がある（ビタミンCが多く含まれる等）     | -.194      | .701          | .286       |
| 【2】宮崎県内で製造された一次加工品に関心がある                  | .127       | -.165         | .890       |
| 【3】一次加工品が国産（県産）であれば価格が高くても利用する            | -.269      | .023          | .830       |
| 【1】国内で製造された一次加工品に関心がある                    | .189       | -.012         | .590       |
| 【5】農薬等の生産履歴がはっきりわかる原料をつかった一次加工品に関心がある     | -.003      | .396          | .404       |
| 固有値                                       | 9.123      | 1.248         | .934       |
| 累積寄与率%                                    | 60.8       | 69.1          | 75.4       |

注：1）因子抽出法：主因子法 2）回転：プロマックス回転

【4】の負荷量が高く、「栄養成分・機能性表示ニーズ」とした。第3因子は【2】【3】【1】【5】の負荷量が高く、抽出された3つの因子の中ではニーズへの影響力が最も小さな因子であり「国産（県産）ニーズ」とした。これらの結果から、食品産業実需者は、利便性があり高品質な一次加工品に潜在的に最も関心が高く、栄養成分や抗酸化力といった健康機能性がある一次加工品にも関心が高いことが明らかになった。また第3因子における項目【3】「一次加工品が国産（県産）であれば価格が高くても利用する」の負荷量が高いことから、第1及び第2因子の潜在的ニーズが満たされれば、国産あるいは宮崎県産一次加工品の許容価格は高くなり、利用する可能性があることを示唆している。

### （3）一次加工品の製造について

#### 1）製造している一次加工品の形態

次に、宮崎県内の一次加工業者が製造している一次加工品の形態を表9に示した。「冷凍（カット野菜、果物、果皮のみも含む）」が47%と最も多く、「塩蔵」36%「ピューレ／ペースト」35%が続いた。また「乾燥粉末」「乾燥」も割合が高かった。一方「水煮」「素揚げ」「レトルト」はいずれも低かった。

食品産業実需者が利用したい一次加工品の形態（表6）と比較してみると、塩蔵を除く上位の6つの形態は同じであるため、条件が合えば食品産業実需者ニーズに対応した一次加工品の製造が可能だと考えられる。

表9 製造している一次加工品の形態

| 形態                      | 度数 | 比率     |
|-------------------------|----|--------|
| 冷凍（カット野菜、カット果物、果皮のみも含む） | 41 | 47.10% |
| 塩蔵                      | 31 | 35.60% |
| ピューレ /ペースト              | 30 | 34.50% |
| 乾燥粉末                    | 23 | 26.40% |
| 乾燥                      | 22 | 25.30% |
| 冷蔵（カット野菜、カット果物、果皮のみも含む） | 17 | 19.50% |
| ジャム                     | 12 | 13.80% |
| シロップ漬け                  | 9  | 10.30% |
| ストレート果汁                 | 8  | 9.20%  |
| 皮むき                     | 6  | 6.90%  |
| 缶詰                      | 6  | 6.90%  |
| 濃縮果汁                    | 2  | 2.30%  |
| 水煮                      | 1  | 1.10%  |
| 素揚げ                     | 1  | 1.10%  |
| レトルト                    | 1  | 1.10%  |
| その他                     | 25 | 28.70% |

注：1）複数回答  
2）比率は回答事業所数に対する割合

n=87

## 2）製造できなかった一次加工品の有無

要望があったにもかかわらず、製造できなかった経験があるかは「要望を受けたことがない」39%が最も多いが、「製造できないものがある」が26%を占めており、ニーズに対応できない経験があることが明らかになった。その理由として「設備・器機が対応できなかった」、「価格の折り合いがつかない」78%が最も多く、「技術的理由」72%が続いた。また、「県産の原料に関する情報がなかった」も多くを占めていた。機器設備が不十分といったハード面における問題と、技術不足および情報不足といったソフト面における問題が表れた結果だった。

## 3）一次加工業者のニーズ

一次加工業者のニーズ調査を実施し、その結果を表10に示す。「製造技術を向上することに関心がある」が4.59と最も多く、次いで「保存性が高い加工法に関心がある」が平均4.56、「製造コストに関心がある」が平均4.52、

「味・風味などが良い一次加工品を製造することに関心がある」が平均4.52、「付加価値のある製品を製造することに関心がある」

が平均4.49であり、付加価値のある製品を作るために技術を高めたい意向がうかがえる。

表10 一次加工業者のニーズ

| 項目                             | 平均得点 |
|--------------------------------|------|
| 【1】製造技術を向上することに関心がある           | 4.59 |
| 【12】保存性が高い加工法に関心がある            | 4.56 |
| 【3】製造コストに関心することに関心がある          | 4.52 |
| 【8】味・風味などが良い一次加工品を製造することに関心がある | 4.49 |
| 【6】付加価値のある製品を製造することに関心がある      | 4.37 |
| 【2】設備の稼働率をあげることに関心がある          | 4.31 |
| 【11】栄養価を保持する加工法に関心がある          | 4.11 |
| 【4】市場ニーズに応じたロットを製造することに関心がある   | 4    |
| 【5】物流コストに関心することに関心がある          | 3.98 |
| 【7】同業者との情報交換に関心がある             | 3.97 |
| 【9】一次加工品の栄養成分の表示に関心がある         | 3.74 |
| 【10】一次加工品の抗酸化力の表示に関心がある        | 3.58 |

注：1）各項目に対する同感度に対する5段階評価（5：非常にそう思う～1：全く思わない）の平均評価得点

一次加工品に対するニーズ同様、一次加工業者の潜在的ニーズを探るため、先の結果を用いて因子分析（主因子法、固有値1以上の条件で因子を抽出、プロマックス回転）を行った。その結果を表11に示す。第1因子は【10】【9】【11】の負荷量が高く、抽出された因子の中でニーズへの影響力が最も大きな因子であり「栄養成分・機能性表示ニーズ」とした。第2因子は【2】【3】【1】の負荷量が高く、「コスト低下ニーズ」とした。第3因子は【4】【5】の負荷量が高く、「多様なロットへの対応ニーズ」とした。第4因子は【12】【8】【6】【7】の負荷量が高く、抽出された因子の中でニーズへの影響力が最も小さな因子であり「高付加価値化ニーズ」とした。これらの結果から、一次加工業者の最も強いニーズとして栄養成分・機能性の表示、次いでコスト低減、多様なロットへの対応、付加価値のある一次加工品の製造の順に潜在的ニーズがあることが明らかになった。また、栄養成分・機能性表示ニーズは実需者および一次加工業者の共通潜在ニーズであることが明らかになった。しかし機能性成分の表示は化学的根拠の必要性や、関係法令を遵守する必要がある[4] 単独で実施するのが困難な事業所もあると考えられるため、試験研究機関が一体となって取り組む必要がある。

表 11 因子分析結果（一次加工業者のニーズ）

| 変数                             | 因子負荷量 |       |       |       |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                | 因子 1  | 因子 2  | 因子 3  | 因子 4  |
| 【10】一次加工品の抗酸化力の表示に関心がある        | 1.040 | -.023 | .105  | -.249 |
| 【9】一次加工品の栄養成分の表示に関心がある         | .690  | -.108 | .137  | .160  |
| 【11】栄養価を保持する加工法に関心がある          | .624  | .110  | -.079 | .325  |
| 【2】設備の稼働率をあげることに関心がある          | .089  | .911  | -.107 | -.127 |
| 【3】製造コストに関することに関心がある           | -.165 | .627  | .329  | .027  |
| 【1】製造技術を向上することに関心がある           | .004  | .544  | .029  | .138  |
| 【4】市場ニーズに応じたロットを製造することに関心がある   | .116  | .052  | .758  | -.085 |
| 【5】物流コストに関することに関心がある           | .051  | -.031 | .751  | .233  |
| 【12】保存性が高い（品質が劣化しにくい）加工法に関心がある | .114  | -.115 | -.025 | .794  |
| 【8】味・風味などが良い一次加工品を製造することに関心がある | .347  | .214  | -.182 | .438  |
| 【6】付加価値のある製品を製造することに関心がある      | .106  | .164  | .284  | .431  |
| 【7】同業者同士との情報交換に関心がある           | -.158 | .015  | .206  | .401  |
| 固有値                            | 4.251 | 1.688 | 1.464 | 1.213 |
| 累積寄与率%                         | 35.4  | 49.5  | 61.7  | 71.8  |

因子抽出法：主因子法 回転法：Kaiser の正規化を伴うプロマックス法

#### 4 まとめ

本報告では食品産業における一次加工品のニーズと一次加工業者のニーズ及び課題をアンケート調査により検証した。

その結果、次の 5 点が明らかになった。

第 1 に一次加工業者を除く製造業 26% が原料として一次加工品を 50% 以上利用しており、産業廃棄物処理の問題や経営の合理化などの理由から、今後も利用は増加すると見込まれる。

第 2 に、利用したい一次加工品の形態は業種全体では「ピューレ／ペースト」が最も多く、他に「乾燥」「冷凍（カット野菜、果物、果皮の実も含む）」「冷蔵（カット野菜、果物、果皮のみも含む）」が多い。これらは県内一次加工業者でも多く製造されている形態のため、安定供給等の条件が合えば食品産業実需者ニーズに対応した一次加工品の製造が可能だと考えられる。

また、一次加工品に対する実需者ニーズは業種によって異なることが確認できた。

第 3 に、宮崎県産一次加工品の課題として価格の高さがあげられるが、実需者の潜在ニーズである利便性や高品質、栄養成分・機能性の表示ニーズを満たせば、宮崎県産一次加工品に対する許容価格が高くなることが期待できる。

第 4 に、26% の一次加工業者が食品産業実需者ニーズに対応できない経験があることが明らかになった。その理由として機器設備が不十分といったハード面における問題と、技術不足および情報不足といったソフト面の問題があげられた。

第 5 に、一次加工業者の最も強い潜在ニーズは栄養成分・機能性の表示、次いでコスト低減、多様なロットへの対応、付加価値のある一次加工品の製造であることが明らかになった。中でも、栄養成分・機能性表示ニーズは食品産業実需者の潜在ニーズとも一致する結果であった。

本研究で食品産業実需者ニーズに加え、ニーズに対応するための一次加工業者の課題について把握できたことは、一次加工業者の今後の支援に役立つものである。

今後は生産者、一次加工業者、食品産業実需者の互いの情報交換を行う方法やニーズに対応できる一次加工業者の育成を調査研究の課題としたい。

注) 1) 農林水産省大臣官房統計部「農林水産統計」より

#### 引用・参考文献

- [1] 矢吹雄平、『地域マーケティング論』、有斐閣、2010、p160
- [2] 後藤一寿・堤えみ・豆塚木美・野間口壽子（2006）「食品産業の求める青果物・一次加工品ニーズの分析－熊本県食品産業ニーズ調査結果から－」『農業経営研究』p74～p78
- [3] 堤えみ・後藤一寿（2009）「食品産業における青果物の一次加工品利用に関する意識-熊本県産農産物活用のためのニーズ調査結果より-」『食農と環境』p127～132
- [4] 高田裕也「農産物の機能性を活かした新食品・新素材事業化の推進－新需要創造対策－」、『豆類時報』NO.62（2011）p12～p17

# Isolation and Characterization of *Shochu* Yeasts with Superior Brewing Ability from *Shochu* Mash

H. Yamamoto<sup>1,2,\*</sup>, S. Morimura<sup>2</sup>, M. Mizutani<sup>1</sup>, K. Yamada<sup>1</sup>, H. Ochi<sup>1</sup>, K. Takayama<sup>1</sup>,  
T. Kudo<sup>1</sup>, H. Ohta<sup>2</sup> and K. Kida<sup>2</sup>

## ABSTRACT

J. Inst. Brew. 117(4), 627–633, 2011

Seven yeasts with superior ability in terms of alcohol fermentation and aromatic ingredient generation were isolated from 272 wild yeasts obtained from *shochu* mash of *shochu* breweries. These seven yeasts were examined for their fermentation ability with rice and sweet potato using small scale of fermentation tests. Moreover, their thermotolerance was evaluated by growth tests and fermentation tests with barley *koji*. Among the isolated seven yeasts, the *shochu* yeast “MF062” was superior in the characteristics of fast fermentation, high alcohol production, aromatic ingredient generation and thermotolerance. It was named the “Heisei Miyazaki Yeast”. From the results of analyses of physiological and genetic characteristics of MF062, it was shown to be a *Saccharomyces cerevisiae*, but it showed different characteristics from the industrial yeasts used in *shochu* production. Using a sweet potato *shochu* brewing test, with 60 kg of raw materials and yeast MF062, it was confirmed that a high alcohol production yield and a high quality *shochu* could be obtained.

**Key words:** Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, screening, *shochu* yeast, thermotolerance.

## INTRODUCTION

In *shochu* production, it is important that *shochu* mash is fermented well and alcohol production yields are high. Therefore excellent *shochu* yeasts that have strong alcohol fermentation power, appropriate resistance against citric acid and thermotolerance are needed. *Shochu* yeasts also need to generate a good flavor to produce high quality *shochu*. At present, there are many kinds of brewer's yeasts which have been used for *shochu* production. Some of these are the following: Miyazaki Yeasts, Kagoshima Yeasts, Kumamoto Yeasts, Awamori Yeasts

and Kyokai Yeasts. These are sold to *shochu* breweries by prefectural research institutions, alcoholic beverage associations, and the Brewing Society of Japan.

Recently, shipments of *shochu* are increasing and consumer preferences have been diversified. Diversification with good qualities of *shochu* is mainly supported by quality of raw materials at first, and then by various kinds of microorganisms such as yeasts. Thirdly, manufacturing methods such as fermentation, distillation, storage, refinement, and blend are also important. From these backgrounds, it has become necessary to make selections of various *shochu* yeasts for *shochu* production to support the diversity of tastes of consumers and also to utilize the features of the raw materials well. This tendency for *shochu* production is the same as *sake* brewing, and new yeasts have been developed for the purpose of supporting diversification of *sake*. Oba et al.<sup>9,10,11</sup> bred nine yeast strains, which could produce 2–3 times higher malic acid compared with the parent strains. These yeast strains were used for brewing *sake* at an industrial scale and showed their usefulness for *sake* production with a fruity taste. Komuro et al.<sup>3</sup> isolated yeasts which characteristically produced organic acid. Enriched medium with *koji* juice was used to separate *sake* yeasts from flowers, with the addition of the antibiotic ‘yeastcidin’ produced by *Aspergillus oryzae*. Sasaki et al.<sup>13</sup> studied floral yeasts which were isolated from “Kanhi cherry blossoms” and “flowers of peaches” in Tochigi Agricultural High School, and produced characteristic *sake* with them. Ohashi et al.<sup>12</sup> tried to isolate the useful yeasts, which could produce *sake* with a sweet and sour taste, low alcohol, and a fruity flavour from flowers called “Naranoyaezakura”. As for *shochu* yeasts, Tanimura et al.<sup>14</sup> isolated the *shochu* yeast from the coastal area in Miyazaki Prefecture called *Hyuga-nada*. The salt and alcohol tolerance of the yeast was high, and the fermentation of mash was conducted very well. The isolated yeasts could produce *shochu* with a brilliant aroma and sweetness. Although researchers have tried to isolate new types of *shochu* yeasts as described above, the variations in the *shochu* yeasts are still less than those of the *sake* yeasts.

There is a high possibility that wild yeasts isolated from *shochu* mash could have the good characteristics that are required for *shochu* production. In this research, isolated yeasts from *shochu* mash in Miyazaki Prefecture were evaluated from the point of brewing ability.

<sup>1</sup>Miyazaki Prefectural Food Research and Development Center, 16500-2 Higashikaminaka, Sadowaracho, Miyazaki City, Miyazaki 880-0303, Japan.

<sup>2</sup>Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University, 2-39-1 Kurokami, Kumamoto City, Kumamoto 860-8555, Japan.

\*Corresponding author. E-mail: hideyama@iri.pref.miyazaki.jp



Their characteristics were examined and the selected yeasts were tested for fermentation ability in sweet potato *shochu* brewing.

## MATERIALS AND METHODS

### Tested yeasts

The 272 wild yeast strains, which were isolated from *shochu* mash in *shochu* breweries in Miyazaki Prefecture and were stored in Miyazaki Prefectural Food Research and Development Center, were used in this research. Moreover eight industrial yeasts were used as controls. One of them was the Miyazaki yeast (MK021), which was stored in the Centre, and the others were the industrial brewer's yeasts A-G stored in other agencies.

### Selection of yeasts with excellent brewing ability by fermentation tests

Yeasts were first prepared by pre-cultivation for 24 h at 28°C with MYGP medium (0.3% malt extract, 0.3% yeast extract, 0.5% peptone, 1% glucose, pH 4.0). Then, 70 mL of water was poured into 40 g dry rice *koji* (MKS, Tokushima Seikiku Corporation) for *shochu* brewing with the 100 µL of pre-cultivated yeasts to make mash. These were fermented for 7 days at 28°C. As an index of fermentation progress, the weight of the mash was measured regularly. Aromas of matured mash at the 8th day, immediately after the end of the fermentation examination, were also measured and evaluated.

### Evaluation of thermotolerance of yeasts by growth tests

The seven isolated yeasts were used in these tests. The eight industrial yeasts, namely A-G and Miyazaki Yeast (MK021), were used as the controls. First, each of the yeasts was shaken for 24 h at 28°C with 5 mL MYGP medium. The 100 µL of the pre-cultivated yeasts was added to 10 mL MYGP medium in L-shape tubes. These were cultivated for 120 h at 20, 28 or 38°C by shaking in a Biophotorecorder (Advantec TN-2612, Osaka, Japan). Optical density at 660 nm ( $OD_{660}$ ) was measured regularly and the growth rate of the yeasts ( $h^{-1}$ ) was calculated. Moreover, cell number and viable cell percentage of the yeasts were measured by methylene blue staining<sup>5</sup> after 120 h cultivation and reported as the viable yeast cell percentage.

### Evaluation of thermotolerance of yeasts by fermentation tests using barley *koji*

The seven isolated yeasts and the eight industrial yeasts as the control were used in these tests. Each of the yeasts was shaken for 24 h at 28°C with 5 mL MYGP

medium. Barley *koji* was made with *A. kawachii* as seed strain in a general way. Then 60 mL of water was poured into 50 g barley *koji*, and the 100 µL of pre-cultured yeast was added to the mash. These were fermented for 9 days at 20, 28 and 38°C. As an index of fermentation, weight of the mash was measured with the passage of time. The alcohol content of the matured mash was measured immediately after 9 days of fermentation.

### Small scale fermentation tests for rice and sweet potato *shochu* production

Table I shows the proportion of raw materials for small scale *shochu* brewing. *Koji* was made with polished rice and *A. kawachii* as the seed strain. The seven isolated yeasts or the Miyazaki Yeast (MK021) as the control were used as seed mash. Each of the yeasts was shaken for 24 h at 28°C with MYGP medium. Then the cultivated yeasts and water were added to rice *koji*. These were fermented for 4 days in rice *shochu* production and for 6 days in sweet potato *shochu* production. At this time, the initial yeast concentration was  $1 \times 10^5$  cells/mL. Rice as the main material and water were added to the seed mash. These were fermented for 13 days as the main mash in rice *shochu* production. In case of sweet potato *shochu* production, steamed and shattered sweet potatoes and water were added to the seed mash. These were fermented for 14 days as the main mash. Rice and sweet potato *shochu* were obtained by atmospheric distillation with these matured mash.

### Fermentation tests for sweet potato *shochu* production

Sweet potato *shochu* was produced by the selected superior yeast MF062 or the Miyazaki Yeast (MK021) as the control according to the proportion of raw materials shown in Table I. Each of the yeasts was cultured statically for 2 days at 28°C with 5 mL MYGP medium. Then 100 µL of pre-cultivated yeast was added to 50 mL of MYGP medium. Each of the yeasts was incubated for 2 days at 28°C. The *koji* was made with polished rice and *A. kawachii* as the seed strain. Then yeasts and water were added to rice *koji* as mentioned above. These were fermented for 6 days as seed mash. The initial concentration of yeasts was  $1 \times 10^5$  cells/mL. Moreover, sweet potatoes as the main raw material and water were added to the seed mash and these were fermented for 14 days as the main mash. Sweet potato *shochu* was obtained by atmospheric distillation with these matured mash. Sensory tests of the sweet potato *shochu* were performed and *shochu* was evaluated by a three point method (1: Excellent, 2: Good, 3: Poor) from the viewpoint of flavor, attractive taste, sweetness, roundness, dryness taste, aroma, sweet potato like characteristics, rough taste, etc.

Table I. Proportion of raw materials for *shochu* brewing tests.

| Raw materials         | Small scale rice <i>shochu</i> brewing |           |       | Small scale sweet potato <i>shochu</i> brewing |           |       | Sweet potato <i>shochu</i> brewing test |           |       |
|-----------------------|----------------------------------------|-----------|-------|------------------------------------------------|-----------|-------|-----------------------------------------|-----------|-------|
|                       | Seed mash                              | Main mash | Total | Seed mash                                      | Main mash | Total | Seed mash                               | Main mash | Total |
| <i>Koji</i> rice (kg) | 0.5                                    | -         | 0.5   | 0.5                                            | -         | 0.5   | 10                                      | -         | 10    |
| Rice (kg)             | -                                      | 1         | 1     | -                                              | -         | -     | -                                       | -         | -     |
| Sweet potato (kg)     | -                                      | -         | -     | -                                              | 2.5       | 2.5   | -                                       | 50        | 50    |
| Water (L)             | 0.6                                    | 1.95      | 2.55  | 0.6                                            | 1.5       | 2.1   | 12                                      | 27        | 39    |

### Characteristics of the yeasts

To judge the difference between MF062 and the industrial yeasts, their morphological characteristics were observed. MF062 and the eight industrial brewer's yeasts (A-G and MK021) were cultured statically for 2 days at 28°C with MYGP medium, and their forms were observed by use of both an optical microscope and a scanning electron microscope. MF062 and the eight industrial yeasts were also cultivated for 2 days at 28°C on MYGP agar plates (1.5% agar) and the forms of their colonies were observed.

They were cultivated for 7 days at 25°C with potassium acetate medium plates (1% potassium acetate, 0.1% yeast extract, 0.05% glucose, 2% agar at pH 6.5), and their sporulation was observed by optical microscopic observation<sup>2</sup>.

Sugar fermentation of MF062 or the eight industrial yeasts was evaluated as follows. One loop of yeast was inoculated into the YP liquid medium (0.5% yeast extract and 1% peptone), which contained one of the following sugars at 2% (glucose, galactose, sucrose, maltose, lactose, raffinose, trehalose, melibiose), and coloured with bromothymol blue (BTB) solution. These were incubated for 2 days at 25°C. Yeasts were deemed to have sugar fermentation ability when the carbon dioxide gas accumulated in the Durham tube and the color of medium containing BTB changed to yellow from yellowish green<sup>4</sup>.

Assimilation tests of each element such as sugar, alcohol, amino acid, and organic acid salt were performed using agar plates. Agar plates, which included one kind of element whose concentration was 2% for the assimilation tests, were first prepared with yeast nitrogen base (where the element for assimilation was a carbon source of sugar etc.) or yeast carbon base (when the element for assimilation was a source other than a carbon source such as ammonium sulphate, ethyl amine, L-lysine, potassium nitrate, sodium nitrite, cadaverine) of Bacto Inc. Yeast cells were inoculated onto these plates by platinum loop and were cultured for 4 days at 30°C. It was judged “+” in case where growth of yeasts could be observed, “-” where no growth could be observed, “±” where growth of yeasts could not be judged<sup>4</sup>.

The 2,3,5-trimethyltetrazolium chloride (TTC) dye-affinity test, using glucose as a carbon source (hereinafter, we call “Glucose-TTC dye-affinity test”), was carried out. The colonies of MF062 or the eight industrial yeasts were diluted to grow about 200 cells on a plate. Then, the cells were inoculated on substratum medium plates (2.0% glucose, 2.5% agar, 0.1% yeast extract, 0.2% peptone, 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.04% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, pH 6.5) and were incubated at 30°C for 2 days. After dissolving the upper medium containing glucose as the carbon source (0.5% glucose, 0.05% TTC, 1.0% agar, pH 6.5), they were allowed to cool to about 45°C and were gently layered on the colonies formed on the substratum medium plates. These were left for 2–3 h at 30°C, and the coloration of the colonies was observed<sup>1</sup>. Moreover, TTC dye-affinity tests by using maltose,  $\alpha$ -methyl-D-glucoside ( $\alpha$ -MG) or galactose instead of glucose as the carbon source in the same manner above mentioned were conducted. Hereinafter we called these “non-Glucose-TTC dye-affinity test” and the coloration of the colonies was observed<sup>7</sup>.

For detection of acid phosphatase activity, the colonies of MF062 or the eight industrial yeasts were prepared in the same way as for TTC staining. The upper medium soft agar (0.025%  $\alpha$ -naphthyl sodium acid phosphate, 0.025% Fast Blue Salt B, 1.5% agar in 0.005M acetic acid buffer solution (pH 4)) was prepared and was cooled to about 45°C. Then the soft agar was gently layered on the colonies formed on the substratum medium plates. These were left for 30–60 min at room temperature. Yeasts that had acid phosphatase activity had colonies that stained dark red<sup>6</sup>.

DNA samples were prepared according to the protocol using CHEF Genomic DNA Plug Kits (Bio-Rad Laboratories, Richmond, Calif.), and the pulse field gel electrophoresis was performed with the Bio-Rad CHEF-DR II system.

The sequence of rRNA gene D2 region was analyzed. The DNA was extracted from yeasts and was purified with the kit “Gentle-kun™” (for yeasts) (Takara Bio Inc., Shiga, Japan). PCR amplification and refinement processing for obtained samples was conducted according to the protocol of MicroSeq™ D2 LSU rDNA Fungal Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA, USA). The sequence analysis was conducted with ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA, USA) and 323 bp of sequence was determined. The homology search of the obtained sequence was performed using database of MicroSeq™ D2 Fungal Database v. 0050 c (Applied Biosystems, CA, USA).

### Analytical method

The analyses of pH and acidity of *shochu* mash were performed according to Official Analytical Method of the National Tax Administration Agency of Japan<sup>8</sup>. The alcohol content of the samples obtained by filtration of *shochu* mash with the No. 2 filter paper was measured by Hewlett Packard 5890 SERIES II gas chromatograph (DB-WAX; I.D. 0.53 mm  $\times$  30 m, 1  $\mu$ m of film, 55→170°C (4°C/min), FID detector). By adding 10 mL hexane and 1 g sodium chlorides to 10 mL mash, the aromatic ingredients were extracted in hexane fractions. Aromatic ingredients content was also measured by Hewlett Packard 5890 SERIES II gas chromatograph with temperature-shift program of 55→225°C (4°C/min). Organic acid content was measured by organic acid analysis system LC-10A (Shimadzu Corp., Japan) with ion-exclusion chromatography using conductivity detector CCD-6A. A series of two SCR-102 columns was used for separation and mobile phase was 5 mM *p*-toluenesulfonic acid.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Selection of yeasts with superior brewing abilities by fermentation tests

The fermentation tests of *shochu* with dry *koji* were carried out by using the 272 wild yeasts and the eight industrial yeasts. Alcohol content, pH and acidity of matured mash after fermentation for 7 days are shown in Table II. The seven wild yeasts, MF059, MF062, MF068, MF165, MF182, MF197 and MF224, showed good fermentation ability equal to or more than the industrial

yeasts. The pH, acidity and aromatic ingredients content with the seven wild yeasts were similar to those of the eight industrial yeasts. The *shochu* of the seven wild yeasts had no aroma of aldehyde, ethyl acetate, acetic acid etc., which become off flavors when excessively included in *shochu*. It was confirmed that the *shochu* made by the seven wild yeasts had a brilliant and sweet good fragrance. Therefore, these seven wild yeasts were examined in detail regarding their brewing characteristics.

#### Small scale fermentation tests for *shochu* production

At first, small scale fermentation tests of rice *shochu* using the seven isolated yeasts or Miyazaki yeast (MK021) were performed. MK021 has been used widely in the alcoholic beverages factories in Miyazaki Prefecture. The alcohol content, pH and acidity of the matured main mash of rice *shochu* with MF059, MF062, MF197 and MF224 were equal to those with MK021. However, the values of MF068, MF165 and MF182 were lower than the others. There were no differences between the seven isolated yeasts and MK021 regarding pH and acidity. By measuring the aromatic ingredient content, it was observed that the n-propyl alcohol concentration of the seven isolated yeasts was lower than that of MK021, but that the i-butyl alcohol concentration was higher. Therefore, the i-amyl alcohol / n-propyl alcohol (A/P), and i-butyl alcohol / n-propyl alcohol (B/P) ratios of the seven isolated yeasts were higher and i-amyl alcohol / i-butyl alcohol (A/B) ratios were lower than that of MK021. These differences indicated that the seven isolated yeasts and MK021 were different in terms of their metabolism.

**Table II.** General components of *shochu* mash fermented by isolated and industrial yeasts using *shochu* dry rice-*koji*.

| Strains           |       | Alcohol (%) | pH  | Acidity |
|-------------------|-------|-------------|-----|---------|
| Isolated yeasts   | MF059 | 19.4        | 3.8 | 14.7    |
|                   | MF062 | 19.8        | 3.8 | 14.7    |
|                   | MF068 | 19.9        | 3.8 | 15.9    |
|                   | MF165 | 19.2        | 3.8 | 14.2    |
|                   | MF182 | 19.9        | 3.8 | 14.6    |
|                   | MF197 | 19.3        | 3.8 | 14.8    |
|                   | MF224 | 19.7        | 3.9 | 14.2    |
| Industrial yeasts | A     | 16.8        | 3.7 | 15.5    |
|                   | B     | 16.6        | 3.6 | 15.9    |
|                   | C     | 18.0        | 3.7 | 16.4    |
|                   | D     | 17.5        | 3.7 | 16.3    |
|                   | E     | 18.9        | 3.7 | 15.5    |
|                   | F     | 19.0        | 3.7 | 16.1    |
|                   | G     | 17.9        | 3.7 | 15.2    |
|                   | MK021 | 19.0        | 3.8 | 14.6    |

Small scale fermentation tests of sweet potato *shochu* were also carried out similar to those of rice *shochu*. The pH values with the seven isolated yeasts were the same as that with MK021 as shown in Table III. The acidity values of MF062, MF165 and MF197 were a little higher than that of MK021. The alcohol content and pure alcohol acquirement quantity of the mash with the seven isolated yeasts were higher than those with MK021. The acetic acid and lactic acid contents of the mash with the seven isolated yeasts were almost equal to those with MK021. Table IV shows the results of the aromatic ingredients content of the sweet potato *shochu*. Ethyl acetate, which becomes an off flavor when excessive levels are present in *shochu*, was lower than that with MK021 with the seven isolated yeasts. The n-propyl alcohol concentration with the seven isolated yeasts was lower than that with MK021, and the i-butyl alcohol concentration of *shochu* with the seven isolated yeasts was higher than that with MK021, except for MF224. As for the main alcohol ratios, the A/P and B/P ratios of the selected yeasts were higher than those of MK021, and A/B ratios of the selected yeasts were lower than that of MK021. This tendency was the same as the results of the fermentation tests of rice *shochu*. These results showed that there were differences in the main aromatic ingredients between the selected yeasts and MK021.

#### Growth tests of yeasts

According to the measurement of the specific growth rates of the yeasts at 20, 28, and 38°C, the values of selected MF062 and the industrial yeast C at 38°C were higher than those at 28°C as shown in Table V. At 28°C, the specific growth rates of the selected yeasts were 0.292–0.340 h<sup>-1</sup> and those of the industrial yeasts were 0.303–0.352 h<sup>-1</sup>. At 20°C, the specific growth rates of the selected yeasts were 0.159–0.200 h<sup>-1</sup> and those of the industrial yeasts were 0.158–0.203 h<sup>-1</sup>. There were few dif-

**Table III.** General components of sweet potato *shochu* mash brewed on a small scale.

| Strains | pH  | Acidity | Alcohol (%(v/v)) | Amount of absolute acquired alcohol (L/t(raw materials)) |
|---------|-----|---------|------------------|----------------------------------------------------------|
| MF059   | 4.4 | 5.2     | 13.8             | 203                                                      |
| MF062   | 4.3 | 5.5     | 13.8             | 203                                                      |
| MF068   | 4.3 | 5.2     | 13.6             | 198                                                      |
| MF165   | 4.4 | 5.4     | 13.8             | 202                                                      |
| MF182   | 4.4 | 5.1     | 13.7             | 201                                                      |
| MF197   | 4.4 | 5.6     | 13.6             | 202                                                      |
| MF224   | 4.4 | 5.0     | 13.5             | 199                                                      |
| MK021   | 4.4 | 5.2     | 13.4             | 197                                                      |

**Table IV.** Volatile components of sweet potato *shochu* brewed on a small scale.

| Strains | mg/L          |                  |                 |                |                        |                        |
|---------|---------------|------------------|-----------------|----------------|------------------------|------------------------|
|         | Ethyl acetate | n-Propyl alcohol | i-Butyl alcohol | i-Amyl alcohol | β-Phenyl ethyl acetate | β-Phenyl ethyl alcohol |
| MF059   | 2             | 139              | 217             | 577            | 4.8                    | 79                     |
| MF062   | 3             | 125              | 255             | 566            | 5.8                    | 81                     |
| MF068   | 4             | 128              | 231             | 532            | 5.1                    | 67                     |
| MF165   | 7             | 153              | 238             | 591            | 5.1                    | 76                     |
| MF182   | 2             | 127              | 213             | 573            | 4.3                    | 80                     |
| MF197   | 3             | 127              | 212             | 619            | 3.8                    | 84                     |
| MF224   | 2             | 135              | 179             | 500            | 4.6                    | 69                     |
| MK021   | 8             | 208              | 199             | 597            | 4.3                    | 68                     |

ferences between the selected yeasts and the industrial yeasts at 28°C and 20°C. On the other hand, the specific growth rate of the selected yeast MF197 at 38°C was very low (0.034 h<sup>-1</sup>). It was thought to be difficult for that yeast to grow at the high temperature. As for the specific growth rates of the other yeasts at 38°C, those of the selected yeasts were 0.241–0.329 h<sup>-1</sup> and those of the industrial yeasts were 0.205–0.328 h<sup>-1</sup>. At 38°C, the differences in the specific growth rates were more remarkable than at 20 and 28°C. At 38°C, the specific growth rate of the selected yeast MF062 was 0.329 h<sup>-1</sup>, which was the highest. Next to that it, the value of the industrial yeast C was 0.328 h<sup>-1</sup>. It was confirmed that the characteristics of growth of the selected yeast MF062 at the high temperature was excellent. The viable cell percentage of all yeasts after 120 h cultivation was equal to or more than 95% at 20°C and 28°C, and there were no differences between yeast strains. The viable cell percentage of all of the industrial yeasts after 120 h cultivation fell below 90% at 38°C. That of the selected yeast MF062 showed 93.2% viability, which was the highest confirming that the se-

lected yeast MF062 had a high thermotolerance among the tested yeast strains.

### Thermotolerance by fermentation tests with barley *koji*

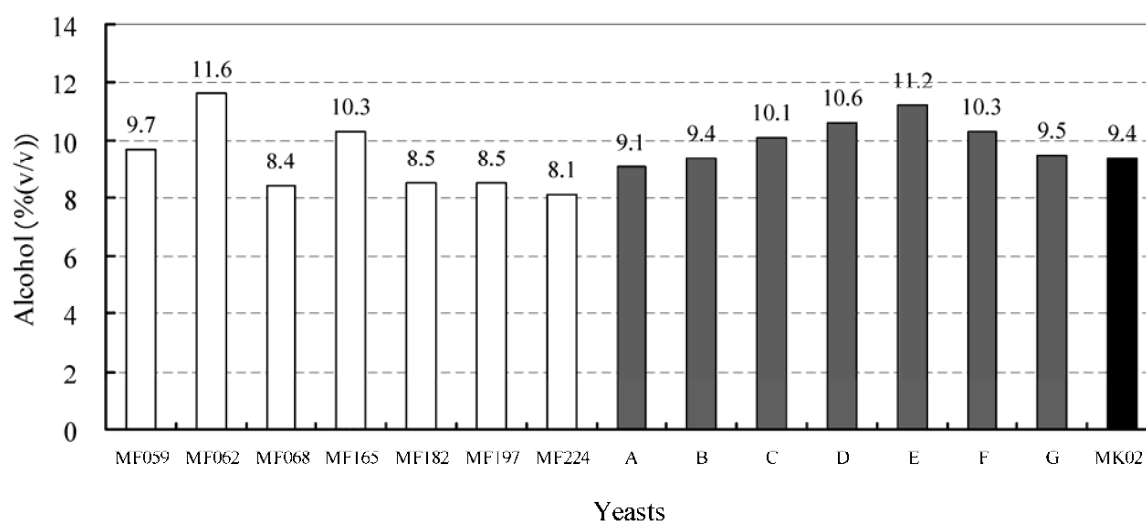
At 28°C, the carbon dioxide gas loss in weight had increased smoothly during fermentation. At 20°C, the increases of the carbon dioxide gas loss in weight at early stages were slow compared with 28°C. The increases in the second half of the fermentation were smooth. At 38°C, the increases of the carbon dioxide gas loss in weight were smooth until the 4th day after which they hardly increased. The carbon dioxide gas loss in weight from the early stages by the selected yeast MF062 at 38°C was higher than that of the control MK021. The alcohol content of the matured mash after 9 days of fermentation with any yeast was sufficiently high at 20 and 28°C, and low at 38°C. The alcohol content of the matured mash at 38°C is shown in Fig. 1. The alcohol content of the matured mash with the selected yeast MF062 was 11.6% (v/v) at 38°C, which was the highest of the yeasts. Generally, fermentation involves a competition of growth and nutrient consumption between the yeasts and the contaminating bacteria. Therefore, it is important for the yeasts to grow fast and to start the alcohol fermentation early thus avoiding pollution by lactobacillus, a cause of poor mash. It was thought that the alcohol fermentation of *shochu* mash could be performed preferably with the selected yeast MF062, because the beginning of the alcohol fermentation was early and alcohol production was high. From these results, it was confirmed that the alcohol fermentation could be conducted efficiently in the high temperature area with the selected yeast MF062. The yeast MF062, which had excellent brewing aptitude, was named the “Heisei Miyazaki Yeast (MF062)”, and was thus researched further.

### Physiological characteristics of MF062

From the results of the scanning electron microscope observation of MF062, the sizes of the vegetative cells

**Table V.** Specific growth rate of isolated and industrial yeasts at 20°C, 28°C and 38°C on growth tests.

| Strains | Specific growth rate (h <sup>-1</sup> ) |       |       |
|---------|-----------------------------------------|-------|-------|
|         | 20°C                                    | 28°C  | 38°C  |
| MF059   | 0.185                                   | 0.313 | 0.284 |
| MF062   | 0.180                                   | 0.312 | 0.329 |
| MF068   | 0.159                                   | 0.292 | 0.241 |
| MF165   | 0.198                                   | 0.314 | 0.269 |
| MF182   | 0.178                                   | 0.312 | 0.241 |
| MF197   | 0.192                                   | 0.334 | 0.034 |
| MF224   | 0.200                                   | 0.340 | 0.298 |
| A       | 0.190                                   | 0.315 | 0.205 |
| B       | 0.164                                   | 0.314 | 0.223 |
| C       | 0.200                                   | 0.322 | 0.328 |
| D       | 0.166                                   | 0.352 | 0.261 |
| E       | 0.188                                   | 0.317 | 0.267 |
| F       | 0.185                                   | 0.331 | 0.298 |
| G       | 0.158                                   | 0.303 | 0.268 |
| MK021   | 0.203                                   | 0.335 | 0.291 |



**Fig. 1.** Alcohol concentration after 9 days of fermentation using *shochu* barley *koji* at 38°C. White bars, isolated yeasts; grey bars, industrial yeasts; black bar, Miyazaki yeast (industrial yeast of Miyazaki Prefecture).



were about 4–8  $\mu\text{m}$ , and the shapes were oval and growth was by budding. By liquid cultures of yeasts for 2 days at 28°C with MYGP medium, no differences of the shapes were observed between MF062 and the eight industrial yeasts. On the agar plates, the colonies of MF062, whose diameter were 2–3 mm, were white and opaque; their surfaces were lustrous and smooth. They were convex and their brims were smooth circular forms. The forms of the colonies of the eight industrial yeasts were the same as those of MF062. Spore forming tests of the yeasts by optical microscopic observation were performed. All the yeasts except for the industrial yeast A formed spores. In the sugar fermentation tests, there were differences between MF062 and the industrial yeast A. However, the fermentation ability of MF062 was the same as that of the other seven industrial yeasts. None of the yeasts produced films. In the assimilation tests of carbon sources, except for the industrial yeast A, the assimilation of MF062 was the same as those of the other seven industrial yeasts. All the superior yeasts for *sake* brewing such as Kyokai No. 6, No. 7, No. 9, and No. 10 stained red by TTC, while wild yeasts stained pink. As the dye-affinities of yeasts were changed by the kinds of sugar sources, the yeasts could be distinguished in detail. As shown in Table VI, the colonies of MF062 stained red with the Glucose-TTC dye-affinity tests, but stained pink by the non-Glucose-TTC dye-affinity tests. All the colonies of the eight industrial yeasts stained red with the Glucose-TTC dye-affinity tests like those of MF062. On the other hand, as for the non-Glucose-TTC dye-affinity tests, only the colonies of

the industrial yeast A stained pink with all the carbon sources (maltose,  $\alpha$ -methyl-D-glucoside, galactose) similar to MF062. Those of the other seven industrial yeasts stained a different color. The results of the acid phosphatase activity are shown in Table VI. The colonies of MF062 appeared dark red and their acid phosphatase was active. Among the eight industrial yeasts, the colonies of B, C, D and F appeared dark red similar to MF062, but the acid phosphatase of A, E, G and MK021 was not active.

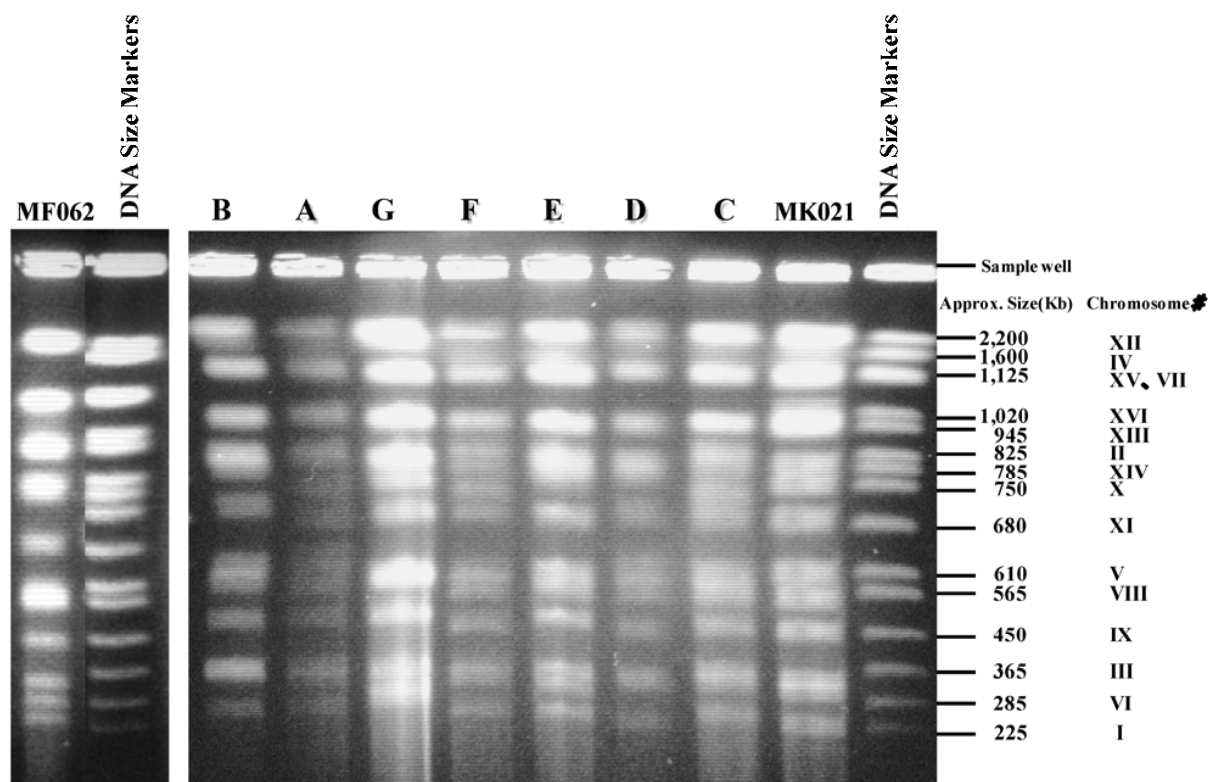
### Genetic analyses of MF062

The pulse-field gel electrophoresis photographs of MF062 and the industrial yeasts are shown in Fig. 2. For the chromosomes of about 225–365 kb size, three band

**Table VI.** TTC staining with different carbohydrate media and acid phosphatase activity of selected MF062 and industrial yeasts\*.

| Strains | TTC-staining |         |              |           | Acid phosphatase |
|---------|--------------|---------|--------------|-----------|------------------|
|         | Glucose      | Maltose | $\alpha$ -MG | Galactose |                  |
| MF062   | R            | P       | P            | P         | +                |
| A       | R            | P       | P            | P         | –                |
| B       | R            | P       | W            | P         | +                |
| C       | R            | P       | W            | R         | +                |
| D       | R            | P       | W            | P         | +                |
| E       | R            | P       | W            | P         | –                |
| F       | R            | P       | W            | P         | +                |
| G       | R            | R       | R            | R         | –                |
| MK021   | R            | R       | P            | R         | –                |

\* Abbreviations: R, red; P, pink; W, white; +, positive; –, negative.



**Fig. 2.** Pulse field gel electrophoresis of selected yeast MF062 and the industrial yeasts.

patterns with regular intervals can be seen on MF062. At this point, MF062 appears different from the industrial yeasts. Chromosomes of ~750 kb size were seen on all the industrial yeasts, but these were not seen on MF062. The band patterns of MF062 were different from those of the industrial yeasts. Sequences in the rRNA genes D2 area of MF062 were also analyzed. A BLAST homology search was conducted. MF062 coincided with the well known yeast *Saccharomyces cerevisiae* by 100%. It was confirmed that the characteristics of MF062 were maintained in 20 series of subcultures.

### Brewing tests for sweet potato *shochu* production

The alcohol content of the mash of sweet potato *shochu* in brewing tests were measured and the changes with MF062 and MK021 were almost the same (Fig. 3) and the absolute alcohol acquirement quantities in the matured mash were about 200 L per one ton of raw-material confirming that MF062 had good fermentation power and high alcohol productivity with sweet potato *shochu* brewing. Sensory tests of the sweet potato *shochu* were performed by four *shochu* technical experts. Tastes were evaluated by a three point method with 1 (very good), 2 (good) and 3 (bad). The average score of *shochu* with MK021 was 2.0, whereas that with MF062 was 1.3, an excellent evaluation (Table VII). The quality of *shochu* produced with MF062 was very good, the *shochu* did not have a rough taste and had a sweetness, maturity, good dryness, and good aroma. Since yeasts are stressed from the strong alcohol in the latter period of *shochu* mash, they tend to die easily. Off-flavors occur by autolysis of yeasts and the quality of the *shochu* worsens. High stress tolerance and the survival ratio of strain MF062 during the second half of *shochu* mash could lead to few generations of off-flavors due to stress and yeast death. The *shochu* made by MF062 received a high organoleptic evaluation.

**Table VII.** Results of sensory tests of sweet potato *shochu*<sup>a</sup>.

| Strains | Sensory evaluation | Comments                                                                                                                        |
|---------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MK021   | 2.0                | good flavor, good taste, mellow, characteristic of raw materials                                                                |
| MF062   | 1.3                | sweetness (3), mellow (3), clear (2), aromatic (2), good taste, light, characteristic of raw materials, potato like, pure taste |

<sup>a</sup> Evaluations were performed using a 3 point scale: 1 (very good), 2 (good), 3 (bad). Values are the average of 4 panellists.

### REFERENCES

1. Furukawa, T. and Akiyama, H., A microbiological control of sake brewing. Part IV. On the TTC-agar overlay method for grouping of yeasts. *J. Agric. Chem. Soc. Japan* (in Japanese), 1963, **37**, 398-402.
2. Hasegawa, T. (Ed.), Classification and Identification of Microorganisms, Vol. I, Gakkai Shuppan: Tokyo, 1984, pp. 167-174.
3. Komuro, Y., Shimizu, D., Kato, Y., Hosaka, M. and Nakata, H., Sake brewing test of yeasts isolated from flowers by using *koji* extract medium. *J. Brew. Soc. Japan*, 2005, **100**, 454-460.
4. Kurtzmann, C.P. and Fell, J.W. (Eds.), The Yeasts – A Taxonomic Study, 4th edition, Elsevier: New York, 1998.
5. Mitsuda, H., Chiba, H. and Tochikura, T. (Ed.), Food Engineering Experiment Book. Vol. II. Department of Food Engineering, Eds., Faculty of Agriculture: Kyoto University, 1979, p. 38.
6. Mizoguchi, H. and Fujita, E., Rapid detection of wild yeasts by assaying acid phosphatase in *sake* mash. *J. Fermentation and Technology* (in Japanese), 1981, **59**, 185-188.
7. Murakami, H., Yoshida, K., Noro, F., Inahashi, M. and Hattori, H., Grouping of the *kyokai* yeasts by TTC-staining used some carbohydrates as carbon source. Studies on the *kyokai* yeast (Part 1). *J. Brew. Soc. Japan*, 1982, **77**, 181-184.
8. National Tax Agency. Official Analytical Method of the National Tax Administration Agency of Japan. The 4th revision National Tax Administration Agency Prescribed Analysis Method Annotation. Annotation Edit Committee: Japan, 2000, p. 20 and p. 30.
9. Oba, T., Suenaga, H. and Ichimatsu, T., Breeding of Fukuoka-ginjo sake yeast. *Fukuoka Industrial Technology Center Report*, 2008, **18**, 40-42.
10. Oba, T., The development of “the Fukuoka original soft sake” by the industry-university-government cooperative research. *J. Brew. Soc. Japan*, 2008, **103**, 510-516.
11. Oba, T., Suenaga, H., Ichimatsu, T., Hatano, Y., Mitsui, S., and Suzuki, M., Isolation and characterization of a high acid-producing yeast strain from *sake*-mash obtained from *sake* breweries. *J. Brew. Soc. Japan*, 2008, **103**, 949-953.
12. Ohashi, M., Tsuduki, M., Shimizu, H., Matsuzawa, K., Fujino, C., Suzuki, T. and Iwaguchi, S., Isolation of useful yeasts from flowers called Naranoyaezakura (*Prunus verecunda* ‘Antiqua’) and development of Japanese *sake* brewing with the isolated yeast. *Nara Prefectural Institute of Industrial Technology Report*, 2009, **35**, 35-38.
13. Sasaki, T., Okamoto, T. and Oki, T., Development of *sake* using flower yeast. *Industrial Technology Center of Tohigi Prefecture Report*, 2009, **6**, 29-31.
14. Tanimura, T., Hamada, A., Onitsuka, N., Nozaki, N., Kai, T. and Ogawa, K., Isolation and some properties of *shochu* yeast from *Hyuga-nada* of the Miyazaki coast. *J. Brew. Soc. Japan*, 2005, **100**, 56-64.

(Manuscript accepted for publication December 2011)